



Ric c 3 mutante, proteína derivada de um importante alérgeno de *Ricinus communis* com potencial para imunoterapia alérgeno-específica

Mariana Giarola Benedito Bartholazzi¹, André Oliveira Carvalho², Olga Lima Tavares Machado¹

¹ Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos – CBB-UENF,

² Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos – CBB-UENF, RJ, Brasil

Encontrados no ambiente ou nos alimentos, os alérgenos têm sido amplamente estudados, e cada vez mais proteínas recombinantes são produzidas para o uso em imunoterapias específicas. Dentre as estratégias, estão as imunoterapias derivadas de recombinantes hipoalergênicos. Estas ganham destaque pois minimizam os efeitos adversos decorrentes da imunoterapia. Epítomos ligantes de IgE dos alérgenos da mamona (Ric c 1 e Ric c 3) foram identificados e a presença de reação cruzada com alérgenos de diversas fontes como soja, milho, amendoim, camarão e pólen foi verificada. A produção de hipoalérgenos derivados de Ric c 3, é, portanto, promissora para a Imunoterapia. Embasados nisso, nosso objetivo é produzir uma mutante hipoalergênica derivada de Ric c 3 (mrRic c 3) em meios que permitam caracterizações bioquímicas e de hipoalergenicidade. Para a caracterização da atividade alérgica, foram produzidos alérgenos recombinantes contendo mutações em resíduos de ácido glutâmico presentes em epítomos ligantes de IgE, onde foi observado através de ensaio de desgranulação de mastócitos, que as células isoladas de ratos Wistar incubados com mrRic c 3, desencadearam apenas 22% de desgranulação celular, valor próximo ao controle negativo, contra 70% de desgranulação observada no controle positivo (pool de Albuminas 2S – Ric c 1 + Ric c 3). Porém, em ensaio de Anafilaxia Cutâneo Passiva (PCA) com ratos Lou-M, verificamos uma reação positiva na pele dos animais desafiados com nossa proteína mutante. Dessa forma optamos por realizar novas mutações na região codificante de Ric c 3. Para tanto, o gene sintético contendo mutações pontuais foi construído e ligado a um vetor de clonagem por técnicas de PCR, obtendo como produto o plasmídeo denominado mRic c 3-pET. A cepa bacteriana de superexpressão (*E. coli*) foi transformada e tratada com IPTG para a tradução da proteína. A expressão da proteína foi confirmada por Eletroforese em Gel de Poliacrilamida (SDS-PAGE). Etapas de purificação serão empregadas, por cromatografia de fase reversa (colunas C-18), clivagem com enteroquinase e novamente por cromatografia, para obtermos assim mrRic c 3. Ensaio para confirmar a hipoalergenicidade da nova mutante serão realizados possibilitando novas perspectivas de imunoterapia para indivíduos alérgicos à mamona e aos componentes que apresentem respostas cruzadas descritos previamente.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia – Centro de Biociências e Biotecnologia - UENF
Fomento da bolsa: FAPERJ, CAPES, CNPq, UENF