



Desenvolvimento de um Imunossupressor a partir da Hsp70 de *Mycobacterium tuberculosis*

Rafael Lisboa¹, Cristina Bonorino¹

¹ Instituto de Pesquisas Biomédicas, HSL / PUCRS

A Hsp70 é uma proteína de choque térmico que possui uma similaridade de sequência em seus aminoácidos muito grande entre as espécies animais. Ela tem como função biológica ajudar no dobramento de proteínas recém sintetizadas, além de auxiliar na manutenção e recuperação da estrutura terciária de proteínas que estão sofrendo degradação. Algumas linhas de pesquisa acreditam que a Hsp70 possui um papel imunomodulador. O nosso grupo provou que a TBHsp70 (Hsp70 de *Mycobacterium tuberculosis*) é um antígeno potente para a geração de resposta humoral. Sabendo que a Hsp70 possui um caráter anti-inflamatório e imunossupressor, buscaremos desenvolver um imunossupressor a partir da Hsp70 de *Mycobacterium tuberculosis*. Primeiramente, há a produção e purificação da proteína através do crescimento de bactérias *E. coli* que possuem a sequência da proteína inserida em um plasmídeo. Tais bactérias crescem em meio LB ágar, depois são pescadas e crescidas em LB líquido, centrifugadas, sonicadas para lisar a estrutura celular e deixar a proteína sintetizada mais acessível. Há a purificação em coluna por afinidade ao ATP, a troca de tampão para PBS, concentra-se a proteína com centrifugações seriadas em tubos com filtro amicon e limpa-se o LPS da proteína para o efeito anti-inflamatório ser eficaz. Foram também escolhidos peptídeos através do programa IEDB Analysis Resource que analisa a probabilidade dos peptídeos ligarem-se no MHCII. Peptídeos de alta, média e baixa afinidade foram escolhidos e sintetizados pela empresa JPT Innovative Peptide Solutions. Foi avaliada a toxicidade da TBHsp70 através da administração tópica de 0,5 mL da proteína no dorso de coelhos neozelandeses. A purificação da proteína foi realizada com sucesso, visto que foi possível visualizar as bandas no gel de acrilamida na altura de 70 kDa. No teste de toxicidade, a TBHsp70 não ocasionou nenhum tipo de manifestação cutânea nos animais. O efeito

imunossupressor da TBHsp70 não foi observado no tratamento com peptídeos sintéticos da proteína. Além desses resultados, nosso trabalho está buscando revelar o mecanismo envolvido no comportamento anti-inflamatório da Hsp70, avaliando, por exemplo, os níveis de TNF-alfa, IFN-gama, MCP-1, a downregulation de fatores de transcrição característicos da resposta inflamatória, como C/EBP-beta e C/EBP-gama. Ainda assim, são necessários mais estudos para chegarmos a mecanística mais exata de como se dá a sinalização que leva a essa imunossupressão gerada pela Hsp70.