

BRISIGHELLO; Camila Sillos Rosas¹, DUTRA; Brunhild Maia², MARINHO; Anna Carolina Machado³,
PONTES; Larissa Queiroz⁴, FURTADO; Gilvan Pessoa⁵, FERNANDES; Carla Freire Celedonio⁶

RESUMO

Camelídeos, em adição aos anticorpos convencionais produzem imunoglobulinas G (IgG) funcionais desprovidas de cadeia leve. Conhecidos como anticorpos de cadeia pesada, a região de reconhecimento antigênico dessas IgGs é constituída pelo domínio único, denominado VHH ou nanocorpo. Os VHHs, com um décimo do tamanho dos anticorpos convencionais e dimensões em escala nanométrica, possuem alta similaridade com o VH humano, capacidade de atravessar tecidos densos e baixa imunogenicidade. Ainda, são capazes de reconhecer sítios antigênicos inacessíveis a anticorpos humanos, possuem alta solubilidade, estabilidade e podem ser produzidos em microrganismos. Essas características têm permitido aplicações no diagnóstico e desenvolvimento de biofármacos. Considerando que no Brasil cerca de 30.000 pessoas são vítimas de acidentes ofídicos anualmente; que as espécies do gênero *Bothrops* são as principais responsáveis pelo agravo e que a soroterapia possui limitações relacionadas principalmente aos danos locais do envenenamento, nosso grupo busca desenvolver ferramentas alternativas para o tratamento do ofidismo. Nesse sentido, foram selecionados VHHs capazes de reconhecer e inibir fosfolipases isoladas (BthTX-I e II) do veneno de *Bothrops jararacussu*. Com vistas ao incremento da afinidade e da capacidade de neutralização *in vitro* e *in vivo* dos VHHs monoméricos selecionados, construtos diméricos têm sido desenvolvidos por nosso grupo. Como continuidade a esses estudos, o presente trabalho objetivou expressar e purificar uma construção dimérica de VHH e avaliar a capacidade de reconhecimento das fosfolipases BthTX-I e II por ensaio imunoenzimático, do tipo ELISA. Após síntese gênica do dímero de VHH, o clone foi expresso em sistema microbiano utilizando a cepa *E. coli* SHuffle plysY. A expressão protéica foi induzida com Isopropil-β-D-thiogalactopiranosídeo (IPTG) 0,3 mM. Subsequentemente, a cultura foi centrifugada, o sobrenadante descartado e o precipitado bacteriano armazenado em -30°C. A purificação foi realizada em sistema AKTA Pure por cromatografia de afinidade, utilizando resina de cobalto HisGraviTrap TALON (GE Healthcare Life Sciences, 3 Little Chalfont, BKM). O material purificado foi analisado após eletroforese em gel de poliacrilamida. Para avaliação da capacidade de reconhecimento das fosfolipases, placas de fundo chato Nunc Maxisorp® foram adsorvidas com 500 ng por poço de BthTX- I, BthTX-II ou veneno de *Bothrops jararacussu*. O construto dimérico de VHH foi capaz de reconhecer as fosfolipases botrópicas e o veneno testado em diferentes diluições (1 µg, 500 ng, 250 ng, 125 ng), em ELISA. Os dados preliminares incentivam o uso de nanocorpos e construtos relacionados no desenvolvimento de antivenenos de próxima geração. Agradecimentos: Fiocruz (VPPIS-004-FIO18-35).

PALAVRAS-CHAVE: VHH, nanocorpo de camelídeo, BthTX-I, BthTX-II

¹ Fiocruz Ceará, camilasillos@gmail.com

² Fiocruz Ceará, brunimaia@yahoo.com.br

³ Fiocruz Ceará, anna.marinho@fiocruz.br

⁴ Fiocruz Ceará, lariqbiotec@gmail.com

⁵ Fiocruz Ceará, gilvan.furtado@fiocruz.br

⁶ Fiocruz Ceará, carla.celedonio@fiocruz.br