

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

Rafael Lisboa<sup>1,2</sup>, Cristina Bonorino<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratório de Imunologia Celular  
Instituto de Pesquisas Biomédicas, IPB - Hospital São Lucas  
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, PUCRS;*

<sup>2</sup> *Universidade Federal do Rio Grande do Sul (graduação)  
Rua Sarmiento Leite, 500 Campus Centro - Porto Alegre*

A Hsp70 (*Heat Shock protein 70 kDa*) 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 Hsp70 é um antígeno potente para a geração de resposta humoral. Sabendo que a Hsp70 possui um caráter anti-inflamatório e imunossupressor, buscaremos investigar parte dos mecanismos que geram tal resposta. Primeiramente, há a produção através do crescimento de bactérias *E. coli* que possuem a sequência da proteína insertada em um plasmídeo. Tais bactérias crescem em meio LB ágar, depois transferidas para LB líquido, centrifugadas e sonicadas. 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 investigados os mecanismos que levavam a diminuição do nível basal de citocinas pró-inflamatórias em células dendríticas derivadas de medula óssea (BMDCs) e se isso é dependente de C/EBP- $\delta$  e C/EBP- $\beta$ . Foram feitas culturas de BMDCs, para isso, células da medula óssea de camundongos TLR2 KO e IL-10 KO foram colocadas em cultura juntamente com GM-CSF e IL-4 e no quinto dia de cultura foram dados estímulos com LPS, PGN, TBHsp70 e OVA. O sobrenadante de cultura foi recolhido para análise de

citocinas por citometria de fluxo e o RNA total foi extraído para análise dos fatores de transcrição de interesse. Para o bloqueio de ERK e JAK2/STAT3 foram utilizados inibidores dessas moléculas previamente ao estímulo com TBHsp70. Foi observado uma diminuição no nível basal de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MCP-1, assim como a diminuição da expressão dos fatores de transcrição C/EBP- $\delta$  e C/EBP- $\beta$ . Além disso, tal diminuição na expressão desses fatores de transcrição produção de citocinas é dependente de TLR2 e da via da ERK e STAT3. Desta forma, observamos um efeito significativo da Hsp70 quanto ao efeito anti-inflamatório em BMDCs e que esse mecanismo é dependente de receptores e moléculas cruciais da resposta inflamatória.

Hsp70; imunossupressão; célula dendrítica