

## OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE ANTICORPOS DE DOMÍNIO ÚNICO POR CROMATOGRAFIA DE AFINIDADE

**Emanuelle de Souza Santos<sup>1</sup>; Nairo Brilhante da Silva<sup>2</sup>; Soraya dos Santos Pereira<sup>2</sup>; Nidiane Dantas Reis Prado<sup>2</sup>**

1. Centro Universitário São Lucas

2. Laboratório de Engenharia de Anticorpos - Fiocruz Rondônia

**Introdução/Objetivo:** Os acidentes ofídicos representam um importante problema de saúde pública. Anualmente no mundo ocorrem cerca de 420 mil casos de acidentes ofídicos com cerca de 20.000 mortes. A soroterapia antiofídica utilizada atualmente é capaz de reverter efeitos sistêmicos, porém, não é tão eficaz na redução dos danos locais. Em detrimento da lacuna sobre o tratamento dos danos locais, os referidos VHH ou nanocorpos de camelídeos, que correspondem ao domínio único de reconhecimento à antígeno de anticorpos de cadeia pesada, se apresentam como coadjuvante ao tratamento do ofidismo. Assim, este estudo teve como objetivo otimizar o processo de purificação de VHH responsivo contra toxinas de serpentes com importância no envenenamento ofídico. **Material e Métodos:** Os VHHs foram expressos em bactéria *Escherichia Coli* cepas BL21DE3 e Shuffle, para viabilizar o processo de purificação, a cultura bacteriana foi submetida a lise celular por sonicação, onde foram testados 4 protocolos distintos, variando o tempo (10 segundos a 5 minutos) com amplitudes (20 a 63%). Para a purificação, foi utilizada a técnica de cromatografia de afinidade com os íons metálicos cobalto e níquel. Foram utilizados ainda, diferentes tampões no processo de lise, variando concentrações de NaCl de 500 mM a 1M e 8 M uréia. A avaliação do perfil de proteínas obtidos após purificação foi realizada por corrida eletroforética em SDS-PAGE 15%. **Resultados e Discussão:** Após análise do perfil eletroforético das frações purificadas, verificou-se a presença de bandas com peso molecular de cerca de 15 kDa, correspondente a massa molecular média dos VHHs

monoméricos. Dentre os protocolos de lise testados, o tempo de 10 segundos de sonicação com intervalos de 2 minutos apresentou os melhores resultados. Quando testado tampão com uréia foi observado um melhor rendimento, indicando a presença predominante de VHHs solúveis. As diferentes concentrações de NaCl foram utilizadas com intuito de melhorar a solubilização do VHH e a ureia foi utilizada com o objetivo de promover uma desnaturação proteica visando aumentar a exposição da cauda de histidina para otimizar a interação com os íons cobalto ou níquel, durante o processo de purificação por cromatografia de afinidade. Sobre as diferentes cepas de E.coli foi verificada que a Shuffle, apresentou concentrações de VHH insolúvel, porém com a presença de VHHs com solubilidade, permitindo a purificação de uma proporção solúvel. **Conclusão:** Os resultados indicaram que os tampões contendo ureia demonstraram perfis de bandas mais evidentes de VHH após eluição, sugerindo maior interação da cauda de histidina com a resina da coluna cromatográfica, além de possibilidade de purificação do VHH sem utilização de ureia quando utilizando a E.coli cepa Shuffle para expressão. **Agradecimentos:** Agradecimento ao CNPQ/PIBIC e ao Centro Universitário São Lucas (UNISL) pela oportunidade de realização da iniciação científica. À Fiocruz Rondônia pela estrutura e recursos necessários para a realização das pesquisas. À toda equipe do Laboratório de Engenharia de Anticorpos da Fiocruz Rondônia.

**Palavras-chave:** Nanocorpos; Terapêutica Antiofídica; Purificação.

**Email:** emanuellepvro@hotmail.com