



MUTAÇÕES EM RESÍDUOS DE RIC C 1 E RIC C 3, PRINCIPAIS ALÉRGENOS DE MAMONA, CONSERVAM A FUNÇÃO DE DEFESA E REDUZEM A ALERGENICIDADE - ESTUDOS “*IN SILICO*”

Viviane Veiga do Nascimento.¹; Thais Pacheco Soares.²; André de Oliveira Carvalho.³;
Olga Lima Tavares Machado.³

1. Pós-Dos. Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) vveigadonascimento@yahoo.com.br; 2. Mestranda da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) tata_poares@hotmail.com; 3. Professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) olgaueuf@yahoo.com.br

RESUMO- As albuminas 2S de mamona, Ric c 1 e Ric 3 são proteínas de reserva e de defesa constitutiva destas sementes. Entre as funções de defesa, incluímos a inibição de α -amilase larval dos insetos *Tenebrio molitor*, *Callosobruchus maculatus* e *Zabrotes subfasciatus*. Apesar destas importantes funções para as sementes, Ric c 1 e Ric c 3 apresentam propriedades alergênicas que promovem riscos à saúde dos trabalhadores rurais e distribuidores de sementes ou de torta de mamona. Recentemente identificamos seis epitopos responsáveis pelo desencadeamento da alergia (epitopos ligantes de IgE), sendo dois em Ric c 1 e quatro em Ric c 3. A reação cruzada entre IgE e estas proteínas alergênicas, etapa responsável pela deflagração da alergia, é mediada por dois resíduos de ácidos glutâmicos presentes em cada um dos seis epitopos previamente identificados. Objetivou-se com esse trabalho a mutagênese sítio dirigida nestes aminoácidos, visando à redução da alergenicidade e conservação da atividade inibitória de α -amilase. Inicialmente foi proposto um modelo de estrutura tridimensional para a proteína Ric c 1, utilizando o programa Swiss model Server, baseada na estrutura de Ric c 3 determinada por RMN. O modelo de Ric c 1 apresenta estrutura geral semelhante a Ric c 3 com um padrão de 5 hélices organizadas em uma superhélice de direita. A qualidade do modelo construído foi avaliada utilizando o “plot” de Ramachandran. O modelo apresentou uma boa estereoquímica, visto que 67,1 % dos resíduos se encontram em regiões mais favoráveis. Modelos do complexo entre Ric c 1 e Ric c 3 e a α -amilase do inseto *T. molitor* (TMA) foram também elaborados para identificar os sítios dos aminoácidos envolvidos na interação inibidor-enzima. Verificamos que somente um resíduo de ácido glutâmico de um dos epitopos alergênicos é necessário para a interação entre α -amilase e o inibidor, tanto em Ric c 1 quanto em Ric c 3. Com o propósito de conservar a função de defesa e reduzir a alergenicidade, simulações de mutações em resíduos de ácido glutâmico, não envolvidos na interação com α -amilase, foram realizadas. Por meio de estudos efetuados por modelagem molecular observa-se que a substituição de alguns resíduos estratégicos de ácido glutâmico, presentes nos epitopos, por resíduos de leucina não interfere na atividade inibitória de α -amilase. Para validar os estudos de modelagem estamos adequando as condições pra expressão das proteínas alergênicas Ric c 1 e Ric 3, mutadas ou não, em *Escherichia coli*. As condições de extração do DNA de folhas, bem como a clonagem em *E. coli* já foram estabelecidas. Em conclusão, os estudos teóricos por modelagem molecular com mutações em resíduos responsáveis pelo desencadeamento da alergia mostraram que é viável tornar estas isoformas menos alergênicas e manter sua atividade de inibição de α -amilase. Esta pode ser uma importante estratégia para contornar problemas de saúde desencadeados por esta importante oleaginosa.

Palavras-chave: *R. communis*, albuminas 2S, alergia.

Apoio: FAPERJ, UENF CNPq