

ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES DE PRODUÇÃO DE ABATACEPT E BELATACEPT EM CÉLULAS EXPI293

APRESENTAÇÃO: 01 A 03 DE MAIO DE 2025
FORMA DE APRESENTAÇÃO (FINAL): E-POSTER

MAGALHÃES, LEONARDO FERREIRA¹;
SACCONI NUNES, JOSÉ EDUARDO²;
BONORINO, CRISTINA².

¹ CENTRO UNIVERSITÁRIO RITTER DOS REIS, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL;
² UFCSPA, PORTO ALEGRE - RS - BRASIL

Fundamentação/Introdução: O transplante de órgãos é uma técnica para substituir órgãos que não desempenham suas funções adequadamente, representando risco à saúde do paciente. O transplante ocorre quando um enxerto é retirado de um doador e implantado em um receptor. O sistema imune do receptor reconhece o enxerto como algo estranho, causando uma resposta inflamatória. Isso é contornado com o uso de drogas imunossupressoras, como os inibidores de calcineurina, mas que geram efeitos colaterais. Alternativas estão sendo exploradas para bloquear a interação entre CD28 e CD80/86, inibindo a ativação dos linfócitos T e evitando a rejeição. Medicamentos combinando CTLA-4 a Fc de IgG, como o abatacept e o belatacept são indicados para doenças inflamatórias, e imunossupressão em transplantes. A Bristol Myers Squibb, fabricante dos medicamentos, decidiu interromper estudos envolvendo o belatacept. O desinteresse da empresa pelo medicamento abre oportunidades para a sua produção na forma de biossimilar e maiores estudos por parte do meio acadêmico. **Objetivos:** Produzir Abatacept e Belatacept de maneira recombinante por meio da transfecção de células Expi 293. **Delineamento e Métodos:** Construção do vetor: A sequência do abatacept foi recuperada do banco de dados drugbank e clonada em um vetor pCI-Neo. **Transfecção:** As células Expi293 foram cultivadas a 37°C e 125 rpm. A transfecção foi realizada utilizando Expifectamine293 com 1ug de DNA para cada mL de cultura. No dia seguinte, melhoradores da expressão foram adicionados. Amostras foram coletadas e analisadas por SDS-PAGE e Dot Blot. **Purificação:** O sobrenadante do dia 6 foi centrifugado e submetido à cromatografia de afinidade com Proteína A. A coluna HiTrap Prisma foi equilibrada com tampão de ligação, lavada e eluída com tampão Citrato de Sódio. A purificação foi analisada por SDS-PAGE. **Resultados:** As amostras de sobrenadante dos dias 4, 5 e 6 pós-transfecção indicaram a presença da proteína em análises por dot blot. No entanto, as análises por SDS-PAGE do sobrenadante não indicaram a presença de uma banda específica de expressão que não existisse no controle negativo. Ainda assim, as amostras do sobrenadante do dia 6 foram submetidas à cromatografia de afinidade, onde mais uma vez as amostras eluídas analisadas por SDS-PAGE não indicaram a presença da proteína, mas a análise por Dot Blot sim. **Conclusões/Considerações Finais:** São necessárias mais análises como Western Blot para concluir sobre a presença da molécula no sobrenadante das culturas.

Palavras-Chave: CTLA-4; Imunossupressão; Transplante.