

Reactividad IgE de una proteína multi-epítotope recombinante diseñada a partir de alérgenos de interés en el trópico - hallazgos preliminares

Luis Fang,¹ Dalgys Martínez,^{1,2} Catherine Meza-Torres,^{1,3} Nicole Pereira-Sanandrés,¹ Ana Moreno-Woo,¹ Gloria Garavito,¹ Eduardo Egea¹

¹Universidad del Norte. División de Ciencias de la Salud, Departamento de Medicina, Barranquilla, Colombia

²Universidad de Cartagena. Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Cartagena, Colombia

³Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Correspondencia:

Luis Fang

Lfang@uninorte.edu.co

Rev Alerg Mex 2024; 71 (1): 68

<https://doi.org/10.29262/ram.v71i1.1366>

Resumen

Objetivo: Diseñar una proteína multiepitope a partir de alérgenos de *A. lumbricoides* y APD; y evaluar preliminarmente su reactividad IgE.

Métodos: Mediante herramientas computacionales se diseñó *In Silico*, una molécula que contiene múltiples epítotos T, de alérgenos derivados de *A. lumbricoides* y APD. Esta proteína multiepitope (MP1) se expresó utilizando un sistema de *E. coli*, y se purificó mediante cromatografía de afinidad, empleando agarosa Ni-NTA. La reactividad IgE anti-MP1 y anti-extracto de APD, se evaluó mediante Dot-Blot y ELISA indirecta, a partir de suero de pacientes alérgicos a APD, e individuos no alérgicos procedentes de Barranquilla, Colombia. Los individuos alérgicos contaron con prueba cutánea positiva a una batería estandarizada de alérgenos inhalados (EUROLINE - Ref: DP 3704-1601-1 E) e IgE específica para ácaros.

Resultados: La proteína multiepitope MP1 se expresó y purificó con alta pureza. El resultado del Dot-Blot, mostró que todos los sueros de pacientes alérgicos tuvieron una reactividad IgE menor a MP1 en comparación al extracto de APD. Por ELISA, se observaron concentraciones significativamente menores de IgE anti-MP1 (Mediana: 270,86 ng/ml; RIQ: 90,3), en contraste a los niveles de IgE anti-APD (Mediana: 988,5 ng/ml; RIQ: 1117,6), en suero de pacientes alérgicos a APD.

Conclusiones: Se diseñó, expresó y purificó una proteína compuesta por múltiples epítotos de alérgenos de *A. lumbricoides* y APD. Los resultados preliminares de Dot-Blot sugieren que esta molécula muestra propiedad hipoaalérgica con una reactividad IgE muy baja, en comparación con el extracto de ácaros. Se necesita continuar con estudios funcionales para comprender mejor la respuesta inmune inducida por esta molécula.

Palabras clave: Alergia; Alérgenos; Ácaros del polvo doméstico; *Ascaris lumbricoides*; Epítotos de células T; Multiepitotos; Inmunoterapia.

Abstract

Objective: The objective of the present study was to design a multi-epitope protein from *A. lumbricoides* and APD allergens and to evaluate its IgE reactivity preliminarily.

Methods: Using computational tools, a molecule containing multiple "T" epitopes of allergens derived from *A. lumbricoides* and APD was designed "in silico". This multi-epitope protein (MP1) was expressed using an *E. coli* system and purified by affinity chromatography using Ni-NTA agarose. Anti-MP1 and anti-HDM extract IgE reactivity was evaluated by Dot-Blot and indirect ELISA from sera of HDM-allergic patients and non-allergic individuals from Barranquilla-Colombia. Allergic individuals had a positive skin test to a standardized battery of inhaled allergens (EUROLINE - Ref: DP 3704-1601-1 E) and mite-specific IgE.

Results: Multi-epitope (MP1) protein was expressed and purified with high purity. Dot-Blot result showed that all sera from allergic patients showed lower IgE reactivity to MP1 compared to HDM extract. By ELISA, significantly lower concentrations of anti-MP1 IgE (Median: 270.86 ng/ml; IQR: 90.3) were observed in contrast to anti-HDM IgE levels (Median: 988.5 ng/ml; IQR: 1117.6) in sera of patients allergic to HDM.

Conclusions: A protein composed of multiple epitopes of *A. lumbricoides* and HDM allergens was designed, expressed, and purified. Preliminary Dot-Blot results suggest that this molecule shows hypoallergenic properties with very low IgE reactivity compared to mite extract. Further functional studies are needed to understand better the immune response induced by this molecule.

Keywords: Allergy; Allergens; House dust mites; *Ascaris lumbricoides*; T-cell epitopes; Multi-epitopes; Immunotherapy.