UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em Tecnologia- Bioquímico-
Farmacêutica
Área de Tecnologia Fermentações

ALEXY OROZCO VALENCIA

Estudo da conjugação da IL-2 com o peptídeo apoptótico pep5, no
contexto das doenças autoimunes e inflamatórias

Tese apresentada para obtenção de título
de DOUTOR ao Programa de Pós-
Graduação em Tecnologia Bioquímica
Farmacêutica da Universidade de São
Paulo

São Paulo

2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-graduação em Tecnologia- Bioquímico-
Farmacêutica
Área de Tecnologia Fermentações

Estudo da conjugação da IL-2 com o peptídeo apoptótico pep5, no
contexto das doenças autoimunes e inflamatórias

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Stephano

Versão Original

São Paulo

2021

Resumo

VALENCIA, A. O. **Estudo da conjugação da IL-2 com o peptídeo apoptótico pep5, no contexto das doenças autoimunes e inflamatórias.** 2021. 211f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

As doenças autoimunes são o resultado de falhas da imunotolerância, em que anticorpos produzidos pelo sistema imunológico atacam as próprias células do organismo com uma estrita relação com as interleucinas. As interleucinas, denominadas também como citocinas, são proteínas secretoras que se ligam a receptores específicos e desempenham um papel crítico na comunicação intercelular das células do sistema imune. Dentre suas funções, estão: a ativação e supressão de respostas do sistema imunológico; indução à divisão celular além da função em células de memória. A interleucina 2 é uma glicoproteína monomérica secretora, composta por 149 aminoácidos, com um peptídeo sinal de 20 aminoácidos, classificada na família das citocinas do tipo I. Esta molécula apresenta alta afinidade com o receptor de IL-2R e desempenha uma função de sinalização, que promove a ativação de vários subtipos de linfócitos durante o processo de diferenciação celular, como uma resposta imunológica ou homeostática. Existe uma relação entre as IL-2 e as doenças autoimunes, devido à sua interação com outras citocinas em processos de respostas imunológicas, sendo elementos chaves no controle e diminuição desse tipo de doenças. Nesse contexto, o objetivo central deste trabalho foi estudar a conjugação da IL-2 com o peptídeo apoptótico pep5, através de um PEG heterobifuncional, e avaliar sua atividade em células T com receptores IL-2R de humano e camundongo, mastócitos humanos e células leucêmicas. Observou-se uma supressão na linhagem HMC 1.2 de mastócitos e na linhagem de células T HEK-Blue, a diferença das linhagens HMC 1.1 e células leucêmicas Jurkat, em que não foi confirmado o mesmo efeito. Os resultados também revelaram a expressão dos três receptores para interleucina-2 (alfa, beta e gama) na linhagem HMC 1.2 e a ativação via intracelular JAK/pTAT5, após estimulação com a mesma citocina.

Palavras chaves: Interleucina 2 (IL-2), doenças autoimunes e inflamatórias, peguilação, peptídeo apoptótico, supressão.

Abstract

VALENCIA, A. O. **Study of the conjugation of IL-2 with the apoptotic peptide pep5, in the context of autoimmune and inflammatory diseases.** 2021. 211f. Thesis (Ph.D) – Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

Autoimmune diseases are the result of mistake the immunotolerance where antibodies produced for the immunologic system attack their cells and organs and by close liaison with the interleukins. The interleukins also called cytokines, secretory proteins that bind to specific receptors and play a critical role in the intercellular communication of cells of the immune system. These cytokines are mainly produced by T lymphocytes, macrophages, and eosinophils. Among its functions are the activation and suppression of immune system responses, induction of cell division beyond function in memory cells. Interleukin 2 is a secretory monomeric glycoprotein composed of 149 amino acids with a signal peptide of 20 amino acids, classified in the family of type I cytokines. This molecule exhibits a high affinity for the IL-2R receptor and performs the signaling function that promotes the activation of various subtypes of lymphocytes during the process of cell differentiation as an immune or homeostatic response. The specificity of IL-2 depends on its binding to low, medium, or high-affinity receptors. There is a relationship between IL-2 and autoimmune diseases due to its interaction with other cytokines in the processes of immunological responses being key elements in the control and reduction of this type of disease. In this context, the central objective of this work was to study the conjunction of IL-2 with the apoptotic peptide pep5 through a hetero-bifunctional PEG and to evaluate its activity in T cells with human and mouse IL-2R receptors, human mast cells, and leukemic cells. . A suppression was observed in the HMC 1.2 line of mast cells and the HEK-Blue T cell line, unlike the HMC 1.1 lines and Jurkat leukemic cells where the same effect was not confirmed. The results also revealed the expression of the three receptors for interleukin-2 (alpha, beta, and gamma) in the HMC 1.2 strain and the activation via intracellular JAK / pTAT5 after stimulation with the same cytokine.

Keywords: Interleukin 2 (IL-2), inflammatory and autoimmune diseases, pegylation, apoptotic peptide, suppression.