Seleção e caracterização de ligantes contra proteínas de Mycobacterium tuberculosis

FILIPE DE LIMA PIZZICO[1,2], ANDREA BALAN[1], RICARDO JOSÉ GIORDANO[2]

[1.] UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS, SÃO PAULO - SP, BRASIL
[2.] UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, INSTITUTO DE QUÍMICA, SÃO PAULO - SP, BRASIL

Introdução: *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), agente etiológico da tuberculose, permanece como importante problema de saúde pública, agravado pela persistência bacteriana e pelo surgimento de cepas resistentes. A sobrevivência do bacilo depende da captação de nutrientes essenciais por transportadores de membrana, incluindo sistemas de transporte tipo ABC. SubI é uma proteína ligadora associada ao transporte de sulfato, nutriente necessário ao metabolismo de enxofre e à biossíntese de micotiol. Rv1819c está associado à captação de vitamina B12 e compostos hidrofílicos, sendo relevante para a adaptação metabólica de Mtb. Assim, ligantes peptídicos capazes de reconhecer esses alvos podem servir como ferramentas para estudos funcionais e futuras estratégias de bloqueio da aquisição de nutrientes.

Objetivos: Selecionar, validar e caracterizar ligantes peptídicos contra SubI e epítopos de Rv1819c apresentados no sistema *RAD-display*, utilizando bibliotecas de *phage display*, visando identificar sequências capazes de reconhecer esses alvos e subsidiar estudos de interação, competição e potencial bloqueio funcional.

Material e Métodos: A seleção foi realizada por *phage display* contra SubI purificada e epítopos de Rv1819c em *RAD-display,* utilizando bibliotecas peptídicas linear e cíclica. Após ciclos sucessivos de *biopanning*, clones enriquecidos foram triados por PCR de colônia e encaminhados para sequenciamento. As sequências serão analisadas quanto à recorrência, motivos conservados e propriedades físico-químicas. Os candidatos prioritários serão avaliados por ensaios de ligação, competição e ELISA, e análises de *docking molecular* apoiarão a interpretação das interfaces peptídeo–proteína.

Resultados: As proteínas-alvo foram produzidas de forma estável e em quantidade compatível com as etapas de seleção. Para SubI, foram obtidos 32 clones positivos por PCR de colônia, sendo 16 derivados da biblioteca linear X6 e 16 da biblioteca cíclica CX8C. Para Rv1819c/*RAD-display*, foram identificados 30 clones positivos. Os clones foram encaminhados para sequenciamento, etapa que permitirá determinar sequências enriquecidas, comparar o desempenho das bibliotecas e identificar possíveis motivos consensuais associados ao reconhecimento dos alvos.

Discussão: A seleção de ligantes contra proteínas envolvidas na captação de nutrientes em Mtb permite explorar vulnerabilidades funcionais do bacilo. SubI e Rv1819c estão relacionados, respectivamente, ao metabolismo de enxofre e à aquisição de vitamina B12/compostos hidrofílicos. Peptídeos específicos

contra esses alvos poderão atuar como ferramentas moleculares para estudos mecanísticos e ensaios de bloqueio competitivo. A validação por ELISA, competição e modelagem molecular será essencial para distinguir ligantes específicos de clones enriquecidos por interações inespecíficas com a placa, o sistema *RAD-display* ou componentes bacterianos.

Conclusão: SubI e Rv1819c/RAD-display foram produzidos e utilizados com sucesso em ciclos de *biopanning*, resultando na identificação de clones positivos. O trabalho encontra-se em etapa de sequenciamento dos clones. As próximas etapas incluirão análise das sequências, identificação de motivos recorrentes e validação experimental dos melhores candidatos, visando gerar ligantes úteis para caracterizar proteínas associadas à captação de nutrientes em *M. tuberculosis* e apoiar futuras estratégias de interferência em sistemas essenciais à sobrevivência do bacilo.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento (88887.007164/2024-00).