

Universidade de São Paulo  
Instituto de Física de São Carlos

XIV Semana Integrada do Instituto de  
Física de São Carlos

Livro de Resumos da Pós-Graduação

São Carlos  
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos  
(13: 21-25 ago.: 2023: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XIII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo / Organizado por Adonai Hilário da Silva [et al.]. São Carlos: IFSC, 2023.  
358p.

Texto em português.

1.Física. I. Silva, Adonai Hilário da, org. II. Título.

ISSN: 2965-7679

176

## Caracterização estrutural da ThiL em *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* para o desenvolvimento de inibidores antibióticos

FARRO, Erick Giancarlo Suclupe<sup>1</sup>; NASCIMENTO, Alessandro Silva<sup>1</sup>

esuclupf@ifsc.usp.br

<sup>1</sup>Instituto de Física de São Carlos - USP

A resistência a antibióticos é uma crise de saúde pública global, com a Organização Mundial da Saúde (OMS) projetando até 10 milhões de mortes anuais em 30 anos devido a infecções causadas por microrganismos resistentes. (1) Este cenário é agravado pela limitação dos mecanismos de ação dos antibióticos atuais, que atuam sobre apenas cinco vias, e pela disseminação crescente de cepas resistentes, aliada à escassez de novas moléculas terapêuticas. (2) Neste contexto, a enzima tiamina fosfato quinase (ThiL) foi validada como um alvo terapêutico promissor contra *Pseudomonas aeruginosa*. (3) A ThiL é uma enzima envolvida na via de síntese de novo de tiamina (vitamina B1), presente em muitos microrganismos e plantas, mas ausente em mamíferos. Isso a torna um alvo atrativo para o desenvolvimento de novos antibióticos, dado que sua inibição não afetaria as células humanas. Este estudo tem como objetivo investigar a relação estrutura-função da ThiL em organismos de relevância clínica, como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Para isso, os genes que codificam as enzimas ThiL de *K. pneumoniae* (KpThiL) e *E. coli* (EcoThiL) foram sintetizados com otimização de códons para expressão em *E. coli*. As proteínas resultantes foram expressas na cepa *E. coli* Rosetta2 e purificadas utilizando cromatografia de afinidade e exclusão por tamanho, obtendo-se rendimentos de 12 mg/L e 9 mg/L de cultura, respectivamente. A estabilidade das proteínas foi avaliada por ensaios de DSF (differential scanning fluorimetry), que indicaram maior estabilidade a pH 8.0 e 700 mM de sal. Além disso, foi observado um aumento da estabilidade térmica na presença de Mg<sup>2+</sup> e ADP, sugerindo a importância desses cofatores na função da enzima. Cristais das duas proteínas foram obtidos e utilizados em experimentos de difração de raios X na linha de luz MANACA, permitindo a determinação das suas estruturas cristalográficas com resoluções de 1,6 Å para KpThiL e 2,2 Å para EcoThiL. Esses dados fornecem informações detalhadas sobre os sítios ativos das enzimas e suas possíveis interações com inibidores. Embora ainda seja necessário conduzir mais estudos sobre a atividade enzimática e a busca por inibidores específicos, os resultados até agora obtidos reforçam o potencial da ThiL como um alvo terapêutico para o desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas, especialmente contra patógenos resistentes como *K. pneumoniae* e *E. coli*. Com base nesses achados, estudos prospectivos focados na identificação de inibidores eficazes contra a ThiL estão em andamento, visando contribuir significativamente para o combate à resistência antimicrobiana.

**Palavras-chave:** Tiamina fosfato quinase; Patógenos multirresistentes; Desenvolvimento de antibióticos.

**Agência de fomento:** Fapesp (2022/04298-3)

**Referências:**

- 1 TACCONELLI, E. *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 318–327, 2018.
- 2 WALSH, C. T.; WENCEWICZ, T. A. Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. **Journal of Antibiotics**, v. 67, p. 7–22, 2014.
- 3 KIM, H. J. *et al.* The ThiL enzyme is a valid antibacterial target essential for both thiamine biosynthesis and salvage pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, p. 10081–10091, 2020.