

**LAIS GOMES DA SILVA**

**Caracterização *in silico* e biológica de peptídeos presentes no veneno do escorpião  
*Tityus serrulatus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia Universidade de São Paulo, Instituto Butantan e Instituto de Pesquisas Tecnológicas para a obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

São Paulo

2023

## RESUMO

SILVA, LG. **Caracterização *in silico* e biológica de peptídeos presentes no veneno do escorpião *Tityus serrulatus***. 2023. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

O escorpionismo é considerado um problema de saúde pública em países tropicais e subtropicais. No Brasil, a espécie *Tityus serrulatus* é a principal responsável por acidentes devido à toxicidade de sua peçonha. Estudos recentes mostraram que o veneno de *T. serrulatus* é composto principalmente por peptídeos, a maioria dos quais possuem funções biológicas desconhecidas. Neste cenário, nosso grupo vem trabalhando na seleção de peptídeos de baixo peso molecular para uma melhor compreensão do veneno e para o desenvolvimento biotecnológico de novos fármacos. O principal objetivo foi realizar as análises *in silico* de 700 sequências peptídicas encontradas no veneno de *T. serrulatus*, anteriormente identificadas pelo nosso grupo e avaliar a função biológica dos peptídeos sintetizados. As análises *in silico*, foram realizadas em plataformas bioinformáticas com foco nas atividades antimicrobianas, anti-hipertensivas, imunomoduladoras, hemolíticas e tóxicas. As análises *in silico* indicaram que 21 sequências podem apresentar potencial biotecnológico de interesse e, após refinamento da análise, 12 sequências foram selecionadas para síntese. As atividades dos peptídeos sintéticos foram avaliadas em testes *in vitro* e celulares. A verificação da atividade anti-hipertensiva indicou que cinco peptídeos são inibidores competitivos da ECA I, dentre os quais, três se destacaram por apresentarem o  $K_i$  entre 0,34  $\mu\text{M}$  e 0,81  $\mu\text{M}$ . Também verificamos que dois dos peptídeos apresentaram maior especificidade de inibição do sítio C da ECA I, indicando um potencial biotecnológico para estas moléculas. Nos ensaios antimicrobianos realizados, alguns peptídeos apresentaram maior inibição para *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, com inibição acima de 40% do crescimento destes microrganismos, sem apresentarem efeitos hemolíticos sobre eritrócitos humanos. Em nossos ensaios de imunomodulação, três peptídeos induziram de forma leve algumas citocinas pró-inflamatórias, sendo que esses também reduziram o crescimento de *C. albicans*, apontando assim para possíveis aplicações biotecnológicas destas moléculas. A continuidade da caracterização destes peptídeos pode ajudar a compreender o mecanismo de ação da peçonha durante o envenenamento, bem como servir de protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos.

**Palavras-chave:** Escorpião. *Tityus serrulatus*. Veneno. Peptídeos.

## ABSTRACT

SILVA, LG. ***In silico* and biological characterization of peptides present in the venom of the scorpion *Tityus serrulatus***. 2023. Masters thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Scorpionism is considered a public health problem in tropical and subtropical countries. In Brazil, the species *Tityus serrulatus* is the mainly responsible for accidents due to the toxicity of its venom. Recent studies have shown that *T. serrulatus* venom is mostly composed of peptides, most of which have unknown biological functions. In this scenario, our group has been working on the selection of low molecular weight peptides for a better understanding of the venom and for the biotechnological development of new drugs. The main objective was to perform *in silico* analyses of 700 peptide sequences found in *T. serrulatus* venom, previously identified by our group, and to evaluate the biological function of the synthesized peptides. The *in silico* analyses were performed on bioinformatics platforms focusing on antimicrobial, antihypertensive, immunomodulatory, hemolytic and toxic activities. The *in silico* analyses indicated that 21 sequences may present biotechnological potential of interest and, after refinement the analysis, 12 sequences were selected for synthesis. The activities of the synthetic peptides were evaluated in *in vitro* and cellular tests. The verification of antihypertensive activity was verified using angiotensin I converting enzyme (ACE I), and our results showed that five peptides are competitive inhibitors of ACE I, among which, three stood out as having  $K_i$  between 0.34  $\mu\text{M}$  and 0.81  $\mu\text{M}$ . We also found that two of the peptides showed higher specificity for inhibiting of the ACE I C site, indicating a biotechnological potential for these molecules. In the antimicrobial assays performed, some peptides showed higher inhibition for *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, with inhibition above 40% of the growth of these microorganisms, without showing hemolytic effects on human erythrocytes. In our immunomodulation assays, three peptides mildly induced some pro-inflammatory cytokines, and these also reduced the growth of *C. albicans*, thus pointing to possible biotechnological applications of these molecules. Further characterization of these molecules may help to understand the mechanism of action of the venom during envenomation, as well as serve as a prototype for the development of new drugs.

**Keywords:** Scorpion.*Tityus serrulatus*. Venom. Peptide.