SISTEMA DRT3 E DEFENSOMA BACTERIANO: PROSPECÇÃO E POTENCIAL APLICAÇÃO CONTRA ARBOVIROSES NO BRASIL

Mariana de Oliveira Carvalho[1], Maria Clara Duran[2], Maria Cristina Modesto Clementino de Toledo[1], Bruno Henrique Godoi[3]

[1] Centro Universitário Internacional (UNINTER), Rua Santa Clara, 417, Vila Adyanna - 12.243-630 - São José dos Campos - SP, Brasil, marianacarvalho19053@gmail.com, maria.t@uninter.com.

[2] Faculdade Anhanguera de Taubaté, Avenida Charles Schnneider, 585, Parque Senhor do Bonfim - 12040-000 - Taubaté - SP, Brasil, mariad.biomed@gmail.com.

[3] Universidade de Taubaté (UNITAU), Avenida Tiradentes, 500, Bom Conselho - 12.030-180 - Taubaté - SP, Brasil, bruno.hgodoi@unitau.br.

Resumo

A recente descoberta da Transcriptase Reversa Associada à Defesa 3 (DRT3) revelou um mecanismo procariótico com suposta capacidade de inativação viral, no qual um complexo de notável simetria (DRT3A, DRT3B e ncRNA) sintetiza DNA repetitivo a partir de ncRNA e molde proteico. O estudo investigou o defensoma e sistemas mediados por transcriptase reversa em oito genomas bacterianos presentes no microbioma de vetores (*Aedes* e *Culex*) e de modelos biológicos, identificando 126 sistemas antivirais. Observou-se ampla heterogeneidade genômica, com destaque para sistemas de Restrição-Modificação (15,9%), Retrons/DRTs (4,8%), MazEF (4,8%) e SoFIC (3,2%), além de retrons dos tipos I-B, I-C e II em *Klebsiella pneumoniae*, *Asaia bogorensis* e *Bacillus thuringiensis*. No contexto epidemiológico, as arboviroses representam uma grave ameaça à saúde pública no Brasil, exigindo novas abordagens biotecnológicas de controle. Dessa forma, os achados fundamentam o uso do DRT3 e do microbioma dos vetores de Arboviroses como um novo ponto de partida para paratransgênese e desenvolvimento de biofármacos antivirais.

Palavras-chave: Arboviroses. Defensoma bacteriano. DRT3. Genômica comparativa. Transcriptase reversa.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde / Biomedicina.

Introdução

Francis Crick instituiu o Dogma Central da Biologia Molecular, que consiste no fluxo unidirecional do conteúdo genético de DNA – RNA – Proteína, declarando ainda, categoricamente, que a transferência de informação de proteína para ácidos nucleicos seria impossível (Crick, 1958). Contudo, a recente descoberta do sistema bacteriano de defesa antifágica DRT3 (Defense-associated Reverse Transcriptase 3) introduziu uma nova quebra dogmática nos princípios da Biologia Molecular (Deng *et al*., 2026). Constituído por duas transcriptases reversas (DRT3A e DRT3B) e um RNA não codificante (ncRNA), o complexo DRT3 impressiona pela notável simetria 6:6:6 de unidades entre seus constituintes, sendo capaz de polimerizar fitas complementares repetitivas de DNA por meio de reconhecimento de resíduos de aminoácidos no sítio da DRT3B, sugerindo atuação como "esponjas moleculares" de DNA que sequestram fatores virais essenciais (Deng *et al*., 2026; Tong, 2026).

No contexto brasileiro, as arboviroses acendem um alerta persistente e crescente de saúde coletiva. Os vírus da Dengue, Chikungunya e Zika, somados à emergência do vírus Oropouche, mantêm centenas de municípios sob alerta, com elevado índice de hospitalizações e óbitos (Brasil, 2025). As medidas tradicionais já se demonstram carentes de efetividade, como o controle de insetos baseado em inseticidas químicos devido à resistência de mosquitos *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*, o que evidencia a urgência no desenvolvimento de estratégias antivirais e biológicas alternativas.

Nesse contexto, a microbiota comensal e endossimbionte dos vetores (como *Wolbachia*, *Asaia*, *Serratia* e enterobactérias) exerce influência direta sobre a competência vetorial e o sistema imune dos insetos (Weiss; Aksoy, 2021). Os sistemas imunes bacterianos contra bacteriófagos frequentemente compartilham homologia profunda e ancestralidade comum com sistemas de restrição viral e imunidade

inata de eucariotos, a exemplo das vias cGAS-STING e proteínas da família IFITM (Li; Liang, 2024; van den Berg *et al*., 2023).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi mapear e caracterizar a distribuição do sistema de defesa e dos sistemas mediados por transcriptase reversa (DRTs e Retrons) bacterianos da microbiota de vetores e linhagens modelo (bactérias comumente utilizadas em laboratório), analisando em nível molecular a viabilidade do emprego do sistema DRT3 no desenvolvimento de estratégias biotecnológicas contra arbovírus.

Metodologia

O estudo baseou-se em uma abordagem in silico de prospecção genômica comparativa e modelagem estrutural. Foram selecionados genomas bacterianos de referência depositados no banco de dados NCBI RefSeq representativos do microbioma de vetores de arboviroses e organismos de interesse biotecnológico: *Klebsiella pneumonia*e, *Bacillus thuringiensis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli K-12*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Asaia bogorensis*, *Serratia marcescens* e o endossimbionte obrigatório *Wolbachia pipientis* (cepa wAlbB).

A anotação e categorização dos operons de defesa antiviral foram executadas com o auxílio das plataformas DefenseFinder e PADLOC, as quais utilizam perfis HMM (Hidden Markov Models) calibrados para a identificação sistemática de sistemas de imunidade procariótica (Rousseau *et al*., 2022). Também foram realizadas buscas por similaridade e domínio conservado via HMMER, Pfam e NCBI Conserved Domain Database (CDD) para DRT3A, DRT3B e transcriptases reversas associadas.

Para a identificação molecular do sistema DRT3, foram analisadas sequências depositadas no UniProt Consortium (2026) e estruturas cristalográficas e criomicroscópicas modeladas disponíveis no AlphaFold Protein Structure Database e Protein Data Bank (PDB). Investigou-se o arranjo oligomérico hexamérico, as interações entre resíduos proteicos conservados (Glu26, Arg253 e Tyr650 em DRT3B) e o mecanismo de polimerização das fitas poly(TG) e poly(AC), além de buscas por homologia estrutural com fatores antivirais eucarióticos humanos (família IFITM) via ferramentas de alinhamento estrutural tridimensional (Foldseek e DALI Server).

Resultados

Foram identificados um total de 126 sistemas de defesa antiviral nos oito organismos analisados, revelando heterogeneidade no tamanho e composição do defensoma (Tabela 1). Bactérias de vida livre e que circulam por diferentes ambientes apresentaram os maiores repertórios de defesa: *Klebsiella pneumoniae* (32 sistemas), *Bacillus thuringiensis* (26 sistemas), *Enterobacter cloacae* (22 sistemas) e *Escherichia coli* (20 sistemas). Em contraste, bactérias que vivem em locais mais específicos exibiram defensomas compactos: *Pseudomonas aeruginosa* (10 sistemas), *Asaia bogorensis* (8 sistemas), *Serratia marcescens (*6 sistemas) e *Wolbachia wAlbB* (2 sistemas).

Tabela 1 - Distribuição dos principais sistemas de defesa antiviral identificados por genoma bacteriano.

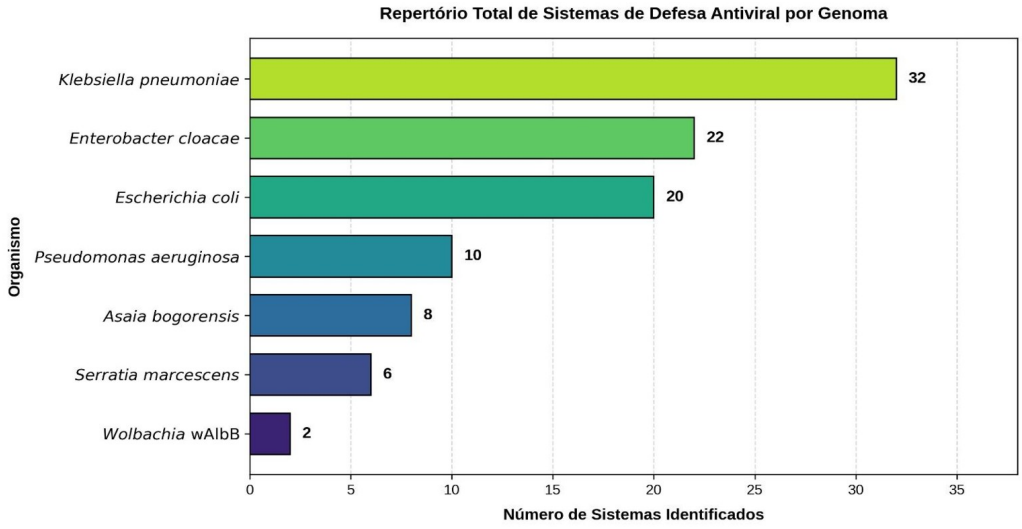
Organismo	RM Tipo I	Retron/DRT	MazEF	SoFIC	PrrC	Demais	Total
Klebsiella pneumoniae	2	2	0	0	0	28	32
Bacillus thuringiensis	10	2	0	2	2	10	26
Enterobacter cloacae	2	0	2	0	0	18	22
Escherichia coli	2	0	4	0	0	14	20
Pseudomonas aeruginosa	2	0	0	0	0	8	10
Asaia bogorensis	2	2	0	0	2	2	8
Serratia marcescens	0	0	0	0	0	6	6

Wolbachia wAlbB	0	0	0	2	0	0	2
Total Global	**20**	**6**	**6**	**4**	**4**	**86**	**126**

Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

A análise quantitativa individual evidenciou um gradiente de complexidade do defensoma (Figura 1). As bactérias de vida livre e colonizadoras acumularam os maiores repertórios de defesa, lideradas por *Klebsiella pneumoniae* (32 sistemas), *Bacillus thuringiensis* (26 sistemas), *Enterobacter cloacae* (22 sistemas) e *Escherichia coli* (20 sistemas). Por outro lado, microrganismos adaptados a locais específicos exibiram conjuntos reduzidos e altamente especializados, como *Pseudomonas aeruginosa* (10 sistemas), *Asaia bogorensis* (8 sistemas), *Serratia marcescens* (6 sistemas) e *Wolbachia pipientis* cepa *wAlbB* (2 sistemas).

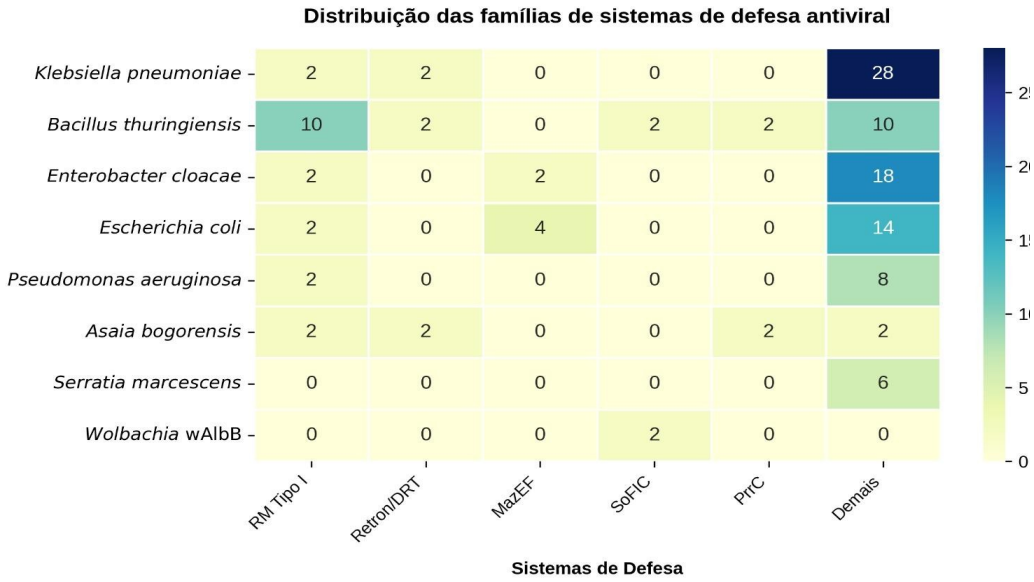
Figura 1 - Repertório total de sistemas de defesa antiviral identificados por genoma bacteriano.



Fonte: Elaborada pelos próprios autores a partir de dados do DefenseFinder e NCBI RefSeq.

A distribuição das famílias de defesa antiviral entre os genomas revelou padrões de coocorrência e especificidade de linhagem (Figura 2). Enquanto os sistemas do tipo Restrição-Modificação (RM Tipo I) apresentaram ampla dispersão (com destaque para *B. thuringien*sis, que abriga 10 cópias funcionais), sistemas toxina-antitoxina como MazEF restringiram-se a *E. coli* e *E. cloacae*. O sistema SoFIC foi detectado de forma exclusiva em *B. thuringiensis* e no endossimbionte intracelular *Wolbachia wAlbB*, sugerindo conservação evolutiva em nichos simbióticos específicos.

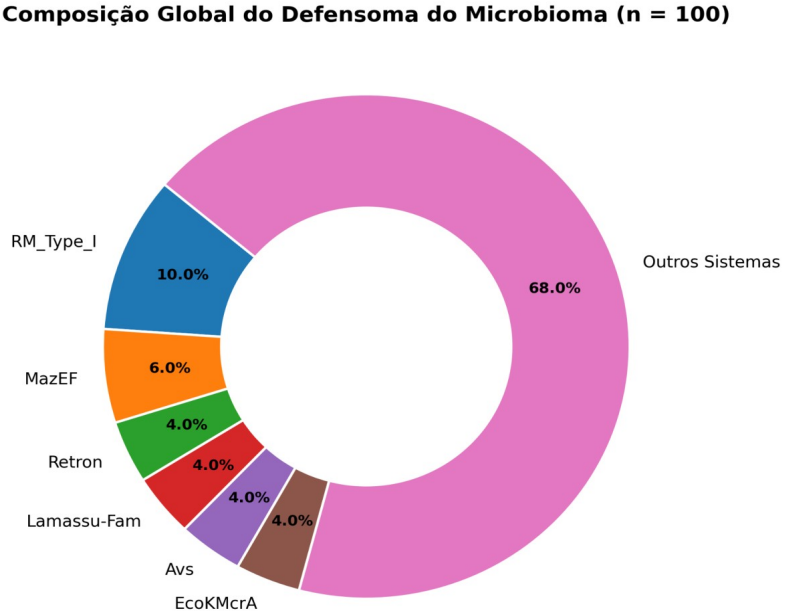
Figura 2 - Mapa de calor da distribuição das famílias de sistemas de defesa antiviral no microbioma.



Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

Na composição percentual consolidada do defensoma global (n = 126) (Figura 3), os sistemas de Restrição-Modificação Tipo I representaram 15,9% do total, seguidos por Retrons/DRTs (4,8%), MazEF (4,8%), SoFIC (3,2%), PrrC (3,2%), Other Type IV (3,2%) e um grupo heterogêneo de outros sistemas (65,1%, englobando Gabija, Lamassu, Ceres, Hachiman, CAS, SDIC3, entre outros).

Figura 3 - Composição percentual global das famílias do defensoma no microbioma analisado (n = 126).



Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

A investigação focada nos sistemas mediados por transcriptase reversa permitiu a anotação detalhada de arquiteturas gênicas completas (Tabela 2). Foram identificados três subtipos distintos de retrons com módulos efetores associados: Retron I-C em *Asaia bogorensis* (codificando a RT central

monomérica), Retron I-B em *Klebsiella pneumoniae* (efetor ATPase-TOPRIM) e Retron II em *Bacillus thuringiensis* (toxina/nuclease NDT acoplada à RT).

Tabela 2 - Anotação dos sistemas mediados por transcriptase reversa (Retron/DRT) identificados no microbioma.

Identificador do Sistema	Subtipo	Componente/Gene Anotado	Código de Acesso (NCBI)	Organismo Hospedeiro
*Asaia_bogorensis*_Retron_I_C_2	Retron I-C	RT_1_C1 (Transcriptase Reversa)	WP_083510621.1	*Asaia bogorensis*
*Klebsiella_pneumoniae*_Retron_I_B_12	Retron I-B	Efetor ATPase_TOPRIM	YP_005227795.1	*Klebsiella pneumoniae*
*Klebsiella_pneumoniae*_Retron_I_B_12	Retron I-B	RT_Tot_3 (Transcriptase Reversa)	YP_005227796.1	*Klebsiella pneumoniae*
*Bacillus_thuringiensis*_Retron_II_5	Retron II	Efetor NDT (Nuclease/Toxina)	WP_012535958.1	*Bacillus thuringiensis*
*Bacillus_thuringiensis*_Retron_II_5	Retron II	RT_Tot_4 (Transcriptase Reversa)	WP_012535959.1	*Bacillus thuringiensis*

Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

Em relação à estrutura do sistema DRT3, os modelos revelaram que ele funciona como uma 'máquina molecular' organizada e equilibrada, formada pela união de três componentes principais em proporções iguais: duas enzimas (DRT3A e DRT3B) e uma molécula guia de RNA. O funcionamento em conjunto é coordenado; a enzima DRT3A lê uma instrução específica no RNA para fabricar uma das fitas do DNA. Ao mesmo tempo, a DRT3B produz a fita complementar usando a sua própria estrutura como molde, um mecanismo no qual pontos específicos da proteína selecionam e encaixam as peças certas para iniciar e estender o filamento de DNA.

Discussão

A distribuição assimétrica dos sistemas de defesa reflete a pressão seletiva e a evolução dos microrganismos associados aos mosquitos. Espécies expostas a frequentes trocas genéticas no intestino, como *K. pneumoniae* e *E. cloacae*, acumulam múltiplos genes antivirais que conferem proteção contra ampla gama de bacteriófagos (Rousseau *et al*., 2022). Em contraste, *Wolbachia* exibe um genoma reduzido, mantendo sistemas de defesa especializados como SoFIC, os quais desempenham papel na regulação da densidade bacteriana e na imunidade do hospedeiro (Weiss; Aksoy, 2021).

A identificação de um sistema Retron I-C em *Asaia bogorensis* assume relevância biotecnológica. *Asaia* é uma bactéria explorada em programas de paratransgênese devido à sua capacidade de colonizar estavelmente o intestino, tecidos reprodutivos e glândulas salivares de *Aedes aegypti* e *Anopheles spp*. (Weiss; Aksoy, 2021). A presença da retrotranscrição em *Asaia* levanta a possibilidade de aplicação de técnicas de engenharia genética nesses operons para a produção de cDNAs e pequenos RNAs no trato digestório de vetores.

O mecanismo singular de síntese de DNA repetitivo presente no DRT3 (Deng *et al*., 2026) abre perspectivas para aplicações terapêuticas contra vírus de RNA, como os arbovírus DENV, ZIKV e OROV. Em bactérias, a geração massiva de fitas repetitivas poly(TG)/poly(AC) sequestra proteínas virais de ligação ao genoma, inviabilizando a replicação fágica. A translação desse princípio para sistemas eucarióticos poderia ocorrer por meio de duas vertentes: (i) expressão de proteínas recombinantes quiméricas que liguem domínios de ancoramento viral (como os domínios transmembrana de IFITM3) ao complexo enzimático DRT3, direcionando a síntese de DNA para os sítios de replicação viral intracelular (Li; Liang, 2024; van den Berg *et al*., 2023); ou (ii) entrega de

mRNAs funcionais do complexo DRT3 transportados por nanopartículas lipídicas (LNP) para ativação de transcrição proteica transitória sob demanda de infecção.

No entanto, a viabilidade de aplicação do sistema DRT3 requer a superação de gargalos biotecnológicos fundamentais. Conforme demonstrado por Deng *et al*. (2026), a ativação do conjunto de genes responsável pela expressão da DRT3 depende de proteínas indutoras específicas de fagos (ST61). Portanto, o redesenho do sítio de ativação e a engenharia de sensores moleculares sensíveis a proteínas não estruturais de arbovírus (ex.: protease NS2B-NS3 ou RNA polimerase NS5 de Flavivirus) representam etapas indispensáveis para garantir a especificidade e evitar a citotoxicidade em células hospedeiras.

Conclusão

A prospecção genômica evidenciou um defensoma rico e diversificado no microbioma de vetores de arboviroses, com a anotação de múltiplos genes mediados por transcriptase reversa em espécies-chave como *Asaia bogorensis* e *Klebsiella pneumoniae*. A polimerização de DNA por meio de proteína, característica do sistema DRT3, consolida um novo paradigma molecular com potencial aplicação biotecnológica. Os dados obtidos fornecem informações úteis para futuras investigações em biologia sintética e paratransgênese, visando o bloqueio da transmissão de arbovírus no Brasil.

Referências

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº 31/2025/SEI/COVIG/GGPAF/DIRE5/ANVISA: orientações e atualização das atividades de vigilância epidemiológica de Dengue, Chikungunya, Zika e Oropouche. Brasília: Anvisa, 2025.

CRICK, F. On Protein Synthesis. Symposia of the Society for Experimental Biology, Cambridge, v. 12, p. 138-163, 1958.

DENG, P. *et al*. Protein-templated synthesis of dinucleotide repeat DNA by an antiphage reverse transcriptase. **Science**, Washington, v. 388, n. 6745, p. aed1656, 2026.

LI, M.; LIANG, X. Bacterial defense systems: mechanisms, homology to eukaryotic immunity, and biotechnological applications. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 15, p. 1389421, 2024.

ROUSSEAU, F. *et al*. DefenseFinder: systematic search and annotation of bacterial antiviral systems. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 50, n. 11, p. e64, 2022.

TONG, Y. Defense-associated reverse transcriptases define an emerging enzymology for synthetic biology. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 86, p. 103082, 2026.

UNIPROT CONSORTIUM. UniProtKB database entry P17763 and DRT3 bacterial repertoire. Geneve: UniProt, 2026. Disponível em: https://www.uniprot.org. Acesso em: 20 jul. 2026.

VAN DEN BERG, D. F. *et al*. Deep evolutionary and structural homology across bacterial antiphage and eukaryotic innate immunity systems. **Science**, Washington, v. 379, n. 6634, p. eade0584, 2023.

WEISS, B. L.; AKSOY, S. Microbiome-mediated modulation of vector competence in arbovirus transmission. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 675200, 2021.

Agradecimentos

Registro meus sinceros agradecimentos ao orientador e co-orientadora desta pesquisa pela disponibilidade, pelo incentivo constante e pelas orientações que contribuíram para o refinamento metodológico e desenvolvimento bem-sucedido deste estudo.