

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 02/12/2024.

RAFAEL DA FONSECA ALVES

**Abordagens bionalíticas baseadas em peptídeo recombinante
selecionado por *Phage Display* visando a detecção e caracterização
de câncer de mama**

Tese de Doutorado apresentada ao Conselho do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” campus Araraquara, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Del Pilar Taboada Sotomayor

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Thaise Gonçalves de Araújo

Araraquara

2023

A474a	Alves, Rafael da Fonseca Abordagens bionalíticas baseadas em peptídeo recombinante selecionado por Phage Display visando a detecção e caracterização de câncer de mama / Rafael da Fonseca Alves. -- Araraquara, 2023 163 f. : il. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara Orientadora: Maria Del Pilar Taboada Sotomayor Coorientadora: Thaíse Gonçalves de Araújo 1. Câncer - Diagnóstico. 2. Peptídeos. 3. Biossensores. 4. Ensaio de imunoabsorção enzimática. 5. Exossomos. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta tese é inovadora ao apresentar novas ferramentas para a detecção e caracterização molecular do câncer de mama, abrindo novos caminhos para a prática clínica. A pesquisa realizada nesta tese tem um potencial significativo para beneficiar a sociedade de várias maneiras. Em primeiro lugar, o desenvolvimento de métodos de detecção mais precisos e sensíveis para o câncer de mama pode contribuir para um diagnóstico mais precoce, levando a melhores resultados de tratamento e aumento das taxas de sobrevivência. O ensaio ELISA e o biossensor desenvolvidos nesta pesquisa demonstraram um bom desempenho, indicando seu potencial como uma ferramenta de diagnóstico mais eficiente e confiável.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This thesis is innovative in presenting new tools for the detection and molecular characterization of breast cancer, opening new avenues for clinical practice. The research conducted in this thesis holds significant potential to benefit society in several ways. Firstly, the development of more precise and sensitive detection methods for breast cancer can contribute to earlier diagnosis, leading to improved treatment outcomes and increased survival rates. The ELISA assay and biosensor developed in this research has demonstrated a good performance, indicating its potential as a more efficient and reliable diagnostic tool.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE:

"Abordagens bionálticas baseadas em peptídeo recombinante selecionado por Phage Display visando a detecção e caracterização de câncer de mama"

AUTOR: RAFAEL DA FONSECA ALVES

ORIENTADORA: MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR

COORIENTADORA: THAISE GONÇALVES DE ARAÚJO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR
Data: 05/06/2023 09:09:49-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Prof.^a Dr.^a MARIA DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof.^a Dr.^a HIDEKO YAMANAKA (Participação Presencial)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química UNESP Araraquara

Prof. Dr. LUCAS FRANCO FERREIRA (Participação Virtual)
Instituto de Ciência e Tecnologia / Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM - Diamantina

Prof.^a Dr.^a YARA CRISTINA DE PAIVA MAIA (Participação Virtual) Faculdade
de Medicina / Universidade Federal de Uberlândia - Uberlândia MG

Prof. Dr. ADRIANO DOS SANTOS (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia, Física e Matemática / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 02 de junho de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Rafael da Fonseca Alves

Nome em citações bibliográficas: ALVES, R. F.; DA FONSECA ALVES, RAFAEL

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

Doutorado em Biotecnologia

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara/SP.

Período: 02/2019 – 06/2023

Título da Tese: “Abordagens bionalíticas baseadas em peptídeo recombinante selecionado por *Phage Display* visando a detecção e caracterização de câncer de mama.”

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria del Pilar Taboada Sotomayor.

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Thaise Gonçalves de Araújo.

Bolsa: FAPESP Proc. nº 2019/10452-2

Doutorado Estágio Pesquisa no Exterior

Universitat Autònoma de Barcelona - UAB. Barcelona, Espanha.

Período: 04/2022 – 03/2023

Título: “Application of recombinant peptides selected by *Phage Display* as biorecognition platforms in lateral flow assays for the diagnosis of Breast Cancer.”

Supervisora no exterior: Prof.^a Dr.^a María Isabel Pivadori

Bolsa: BEPE - FAPESP - Proc. nº 2021/12307-0

Mestrado em Biotecnologia

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara/SP.

Período: 03/2016 – 02/2019

Título da dissertação: “Modificação e caracterização de eletrodos de baixo custo com material derivado de ácido 3-amino-4-hidroxibenzóico visando o desenvolvimento de genossensor aplicado ao diagnóstico do Zika vírus.”

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria del Pilar Taboada Sotomayor

Bolsa: FAPESP Proc. nº 2017/ 07436-0

Mestrado Estágio Pesquisa no Exterior

Universitat Autònoma de Barcelona - UAB. Barcelona, Espanha.

Período: 09/2018 – 01/2019

Título: “Molecularly imprinted biotin polymer for isolation and detection of zika-specific oligonucleotides biotinylated viruses with lateral flow and electrochemical system.”

Supervisora no exterior: Prof.^a Dr.^a María Isabel Pivadori

Bolsa: BEPE (FAPESP - Proc. nº 2018/ 09596-7)

Graduação em Biotecnologia

UFU - Universidade Federal de Uberlândia, Campus - Patos de Minas, Patos de Minas/MG

Período: 2013-1 / 2016-2

Título do trabalho de conclusão de curso: “Estudo das propriedades elétricas e morfológicas de camadas automontadas e materiais derivados de ácido 4-mercaptobenzóico para o desenvolvimento de genossensores.”

Orientador: Prof. Dr. Diego Leoni Franco.

3. PUBLICAÇÕES

3.1 Artigos completos publicados em periódicos:

DA FONSECA ALVES, RAFAEL; MARTINS, ISABELLA CASTRO; FRANCO, DIEGO LEONI; SILVA, ADRIANE DAS GRAÇAS; DE SOUZA SANTOS, PAULA; GOULART, LUIZ RICARDO; CRISTINA DE PAIVA MAIA, YARA; FARIA SILVA, ALINNE TATIANE; GONÇALVES DE ARAÚJO, THAISE; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, MARIA. A novel peptide-based electrochemical biosensor for breast cancer characterization over a poly 3-(3-aminophenyl) propionic acid matrix. **BIOSENSORS & BIOELECTRONICS**, v. 205, p. 114081, 2022. (JCR 12,545)

WONG, ADEMAR; SANTOS, ANDERSON MARTIN; DA FONSECA ALVES, RAFAEL; VICENTINI, FERNANDO CAMPANHÃ; FATIBELLO-FILHO, ORLANDO; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, MARIA. Simultaneous determination of direct yellow 50, tryptophan, carbendazim, and caffeine in environmental and biological fluid samples using graphite pencil electrode modified with palladium nanoparticles. **TALANTA**, v. 222, p. 121539, 2020. (JCR 6,556)

DA FONSECA ALVES, RAFAEL; FRANCO, DIEGO LEONI; CORDEIRO, MARLI TENÓRIO; DE OLIVEIRA, ERNESTO MARQUES; FIREMAN DUTRA, ROSA AMALIA; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, MARIA. Novel electrochemical genosensor for Zika virus based on a poly-(3-amino-4-hydroxybenzoic acid)-modified pencil carbon graphite electrode. **SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL**, v. 296, p. 126681, 2019. (JCR 9,221)

SOARES, I.P.; DA SILVA, A.G.; DA FONSECA ALVES, RAFAEL; CORRÊA, R.A.M.S.; FERREIRA, L.F.; FRANCO, D.L. Electrochemical enzymatic biosensor for tyramine based on polymeric matrix derived from 4-mercaptophenylacetic acid. **JOURNAL OF SOLID-STATE ELECTROCHEMISTRY**, v. 23, p. 985-995, 2019. (JCR 2,747)

DA FONSECA ALVES, RAFAEL, SILVA, A.G., FERREIRA, L.F., FRANCO, D.L. Synthesis and characterization of a material derived from 4-mercaptobenzoic acid: A novel platform for oligonucleotide immobilization. **TALANTA**, v 165, 69–75, 2017. (JCR 6,556)

3.2 Capítulos de livros publicados:

DA FONSECA ALVES, RAFAEL; MARTINS, ISABELLA CASTRO; RIBEIRO, M. A.; TABOADA-SOTOMAYOR, M. P.; ARAUJO, T. G. *Phage Display* no desenvolvimento de biossensores aplicados à oncologia. In: Marcia Arantes Marques. (Org.). **Avanços Científicos em Medicina** 3. 1ed.São Paulo: Bookerfield, 2022, v. 1, p. 117-130.

DA FONSECA ALVES, RAFAEL; da Silva, Lucas Neres Chagas; Matos Neto, Gilberto; Ierick, Isabela Fernandes; Ferreira, Thiago Lima; Sotomayor, Maria Del Pilar Taboada. Magnetic MIPs: Synthesis and Applications. **Methods in Molecular Biology**. 1ed.New York: Springer US, 2021, v. 2359, p. 85-96.

3.3 Resumos publicados em anais de congressos:

ALVES, R. F.; PALLARES-RUSINOL, A.; TUXANS-SERRANO, M.; ARAUJO, T. G.; MARTI, M.; TABOADA-SOTOMAYOR, M. P.; PIVIDORI, M. I. Biosensing approaches based on recombinant peptide selected by *Phage Display* for breast cancer exosomes. In: XXVI Transfrontier Meeting on Sensors and Biosensors, 2022, BARCELONA. Anais do XXVI Transfrontier Meeting on Sensors and Biosensors, 2022.

ALVES, R. F.; DUTRA, R. A. F.; PIVIDORI, M. I.; TABOADA-SOTOMAYOR, M. P. Desenvolvimento de um sensor amperométrico, visando a detecção de oligonucleotídeos específicos do Zika Vírus. In: XXII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA - XXII SIBEE, 2019, RIBEIRÃO PRETO - SP. Anais do XXII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, 2019.

ALVES, R. F.; FRANCO, D. L.; TABOADA-SOTOMAYOR, M. P.; DUTRA, R. A. F. Nova plataforma para o desenvolvimento de genossensor para Zika vírus baseado em eletrodos de baixo custo modificados com poli(3-amino-4-hidroxibenzóico). In: I Simpósio de Biotecnologia Avanços e Perspectivas, 2018, Patos de Minas - MG. Anais do I Simpósio de Biotecnologia Avanços e Perspectivas, 2018.

ALVES, R. F.; FRANCO, D. L.; DUTRA, R. A. F.; Sotomayor, M.D.P.T. Detección electroquímica del virus del Zika basada en un electrodomodificado de grafito carbono con un nuevo poli-(ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico). In: Congreso Iberoamericano de Química y XXIX Congreso Peruano de Química: La química Peruana rumbo al Bicentenario, 2018, Lima. CD de resúmenes, 2018. p. QPV-038.

ALVES, R. F.; FRANCO, D. L.; TABOADA-SOTOMAYOR, M.D.P.; DUTRA, R. A. F. Nova plataforma para o desenvolvimento de genossensor para zika vírus baseado em eletrodos de baixo custo modificados com poli(3-amino-4-hidroxibenzóico). In: I Simpósio de Biotecnologia Avanços e Perspectivas, 2018, Patos de Minas - MG.

SILVA, A. G.; ALVES, R. F.; SOARES I.P.; FRANCO, D. L. Otimização de técnicas eletroquímicas utilizando eletrodos de baixo custo para detecção de tiramina. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - XXI SIBEE, 2017, Natal - RN.

ALVES, R. F.; SILVA, A. G.; SOARES I.P.; FRANCO, D. L. Uma nova plataforma para imobilização de oligonucleotídeos baseado em eletrodos modificados com ácido 4-

mercaptobenzóico. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - XXI SIBEE, 2017, Natal - RN.

ALVES, R. F.; SOARES I.P.; FRANCO, D. L.; DUTRA, R. A. F.; TABOADA-SOTOMAYOR, M. P. Caracterização espectroscópica de um novo material polimérico derivado de ácido 3-amino- 4-hidroxibenzóico. In: VII Congresso Científico da UNESP e III Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2017, Araraquara – SP.

SOARES I.P.; ALVES, R. F. ; SILVA, A. G. ; FRANCO, D. L. . Modificação de eletrodos de carbono grafite de baixo custo com ácido 4-hidróxibenzóico para desenvolvimento de biossensor. In: VI Congresso Científico da UNESP e II Jornada de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, 2017, Araraquara - SP.

SILVA, A. G.; ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Estudo das propriedades elétricas de eletrodos de carbono grafite com derivados do monômero Ácido 4-mercaptofenilacético. In: XXI Jornada em Engenharia Química, 2016, Uberlândia - MG.

ALVES, R. F.; SILVA, A. G.; FRANCO, D. L. Caracterização espectroscópica de um novo material polimérico derivado de ácido 4-mercaptobenzóico. In: 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência - SimTeCi, 2016, Patos de Minas - MG.

SILVA, A. G.; ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Utilização de eletrodo de trabalho de carbono grafite de baixo custo para modificação: Estudo comparativo. In: 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência - SimTeCi, 2016, Patos de Minas - MG.

ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Modificação de eletrodos de ouro e de grafite com ácido 4-mercaptobenzóico para construção de genossensores. In: VI ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UFU, 2016, Uberlândia – MG

SILVA, A. G.; ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Estudo da caracterização de derivados do ácido 4-mercaptofenilacético em eletrodos de minas de grafite. In: XXX ERSBQ - Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2016, Uberlândia-MG.

ALVES, R. F.; SILVA, A. G.; FRANCO, D. L.. Estudo da detecção eletroquímica de oligonucleotídeos baseado em sistemas contendo ácido 4-mercaptobenzóico. In: XXX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2016, Uberlândia - MG.

ALVES, R. F.; SILVA, A. G.; FRANCO, D. L. Effect of pH on carbon graphite electrodes with derivatives of acid 4-mercaptobenzoic. In: 23rd International Congress of the IUBMB and 44th Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), 2015, Foz do Iguaçu - Paraná.

ALVES, R. F.; SILVA, A. G.; FRANCO, D. L. Imobilização e detecção de oligonucleotídeos sobre superfícies de eletrodos de ouro modificadas com Ácido 4-Mercaptobenzóico. In: XXIX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG, 2015, Belo Horizonte - MG.

ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Modificação eletroquímica e estudos morfológicos de derivado de Ácido 4-Mercaptobenzóico sobre eletrodos de carbono grafite. In: V

Encontro de Iniciação Científica e Tecnológica da UFU, 2015, Uberlândia - MG.

ALVES, R. F.; SOUZA, A.C.; FRANCO, D. L. Study of an eletrochemical modification of 4-Mercaptobenzoic Acid Self-Assembled monolayer on Au electrodes. In: XIII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, 2014, João Pessoa-PB.

SOUZA, A.C.; ALVES, R. F.; VIEIRA, S. N.; FRANCO, D. L. Eletropolimerização e caracterização de eletrodos de carbono grafite com derivado de ácido fólico. In: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Poços de Caldas-MG.

ALVES, R. F.; SOUZA, A.C.; VIEIRA, S. N.; FRANCO, D. L. Caracterização eletroquímica da modificação de eletrodos de ouro com ácido 4-mercaptobenzóico. In: 1º Simpósio de Tecnologia e Ciência, 2014, Patos de Minas - MG.

SOUZA, A.C.; ALVES, R. F.; VIEIRA, S. N.; FRANCO, D. L. Análise de reações redox da modificação de eletrodos de carbono grafite com derivado de ácido fólico. In: 1º Simpósio de Tecnologia e Ciência - UFU, 2014, Patos de Minas-MG.

ALVES, R. F.; SOUZA, A.C.; FRANCO, D. L. Modificação e caracterização eletroquímica e morfológica de derivado de Ácido 4-Mercaptobenzóico sobre eletrodos de carbono grafite. In: XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Poços de Caldas - Minas Gerais.

SOUZA, A.C.; ALVES, R. F.; FRANCO, D. L. Effect of pH in the modification of carbon graphite electrodes with derivatives of folic acid. In: XIII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais, 2014, João Pessoa-PB.

4. Outros:

Bolsista de Iniciação científica PIBIC - CNPq/UFU, Carga horária: 20 h
Períodos: 2014 – 2015; 2015 – 2016; 2016 – 2017.

Monitor no curso de graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia - Campus Patos de Minas, das disciplinas: Biologia Celular; Química Orgânica; Bioquímica I; Bioquímica II; Biotecnologia de Produtos Naturais; Biorreatores e Bioprocessos.

Participação como Membro de Banca Examinadora:

Defesa de Seminário da discente Elis Marina Fonseca Almeida, realizada em 11 de dezembro de 2019, cujo trabalho foi intulado “Metodologia Eletroanalítica para determinação de pesticidas carbamatos: mancozebe”.

4.1 Prêmios:

BEST POSTER COMMUNICATION, The Organizing Committee of XXVI Transfrontier Meeting on Sensors and Biosensors. 2022.

1º lugar na apresentação de trabalhos durante o I Simpósio de Biotecnologia, Comissão organizadora do - I SiBiotec. 2018.

2º melhor trabalho do eixo de Biotecnologia no 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência, Universidade Federal de Uberlândia - UFU. 2016.

Prêmio de destaque da apresentação de trabalhos do Eixo de Engenharia de Alimentos no 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência, Universidade Federal de Uberlândia - UFU. 2016.

Melhor trabalho da área de Eletroquímica e Eletroanalítica na sessão de pôsteres do XXX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Universidade Federal de Uberlândia - UFU. 2016.

Menção honorífica pela apresentação de trabalho no eixo de Biotecnologia no 1º Simpósio de Tecnologia e Ciência, Universidade Federal de Uberlândia - UFU. 2014.

*Dedico esta tese à
minha mãe, por todos os sacrifícios
que fizemos juntos para chegarmos
até o fim desta árdua caminhada.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por todas as graças recebidas, dando-me força nos momentos difíceis, coragem e sabedoria.

À minha amada mãe, Gláucia, não há palavras que possam expressar a gratidão que sinto. O amor e o cuidado que sempre dedicou a mim são inestimáveis e eu sou verdadeiramente abençoado por tê-la na minha vida. A senhora é minha fonte constante de força e inspiração. Chegar até aqui não foi nada fácil, foi um longo caminho, mas a senhora sempre esteve ao meu lado. Obrigado por dividir esse sonho comigo, sempre me apoiando, aconselhando, orando e me ouvindo.

Ao meu irmão Douglas, obrigado por todo apoio! Obrigado também por cuidar e estar presente ao lado da mamãe, sempre que eu estive longe fisicamente.

À minha avó Maria (*in memoriam*) que sempre dizia “O Rafael vai ser nosso Doutor”, pois é vovó a senhora estava certa, quem imaginaria naquela época que hoje eu estaria aqui? Bem, a senhora não só imaginava, como dizia com total convicção. Sei que a senhora esteve todo esse tempo ao meu lado, obrigado!

Ao meu avô João, por todos os ensinamentos, sábios conselhos e carinho que sempre teve por mim.

À minha família, pelo apoio e por entender os momentos que eu não pude estar com vocês.

Às minhas amigas, Bruna e Raíssa, que apesar da distância física, sempre estão presentes, prontas para apoiar, ouvir, me fazer sorrir e ajudar nos dias difíceis.

À Prof.^a Dr.^a Maria del Pilar Taboada Sotomayor, pela orientação, pelos ensinamentos essenciais ao desenvolvimento deste trabalho e construção da minha carreira, também por todas as oportunidades concedidas, portas abertas e principalmente pela confiança. Muito Obrigado!

À Prof.^a Dr.^a Thaise Gonçalves de Araújo, pela coorientação, oportunidades, paciência em me ensinar tanto mesmo a distância sempre muito presente. Sua dedicação e entusiasmo sempre foram combustível para mim. Muito Obrigado!

Ao Prof Dr. Diego Leoni, obrigado por todas as oportunidades, dedicação e ensinamentos, profissionais e pessoais, desde a minha Iniciação Científica até aqui.

A Prof.^a Dr.^a Hideko Yamanaka e o Prof. Dr. Lucas Franco Ferreira pela avaliação e contribuições para o desenvolvimento deste trabalho no Exame Geral de Qualificação.

À Prof.^a Dr.^a María Isabel Pivadori pela supervisão durante o ano de intercâmbio na Universitat Autònoma de Barcelona, Espanha. E aos membros do grupo, Carol, Marina, Mireia, Arnau, Melania, Rosanna, Berta, Anaixis, Juan Carlos e Jenny, pelo acolhimento, paciência e momentos divertidos.

Aos amigos que Barcelona me trouxe, Patrícia, Carol, Giovanna, Iracema, Pedro, Luan, Matheus. Obrigado pela amizade construída nesse período, por todo apoio e suporte emocional de sempre, a vida na Aragò foi muito mais leve e divertida graças a nossa amizade. Amo muito vocês! P.S. Eu odeio o Matheus.

Aos amigos, Max, Bárbara, Willian, Alysson, Lílian, João Ângelo, Edervaldo, Fernanda, Maísa. Obrigado pela amizade, por todos os momentos de descontração, pelo suporte, e por toda a parceria. A todos os colegas do GEAR pelas discussões científicas e momentos de descontração.

Aos membros do Grupo de pesquisa da Prof.^a Dr.^a Thaise Gonçalves de Araújo, GBio, pelos ensinamentos, ajudas e paciência. Muito obrigado.

A todos os professores que tive desde o início da minha vida escolar até aqui. Muito obrigado por compartilharem seus conhecimentos e ensinamentos, hoje sou um pedacinho de cada um de vocês.

Ao Instituto de Química (IQ - UNESP- ARARAQUARA), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão das bolsas durante o período de realização deste Doutorado - Processo nº 2019/10452-2 e BEPE - Processo nº 2021/12307-0 e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

*“O conhecimento é o processo de acumular informação;
a sabedoria reside na sua simplificação.”
(Martin Fischer)*

RESUMO

O câncer de mama (CM) é o tumor maligno mais comum na população mundial. Assim, métodos mais precisos e que detectem a doença precocemente são necessários, de modo que técnicas inovadoras como o *Phage Display* (PD) vêm sendo amplamente exploradas. Nesse contexto, a construção de sensores biológicos e imunoensaio do tipo ELISA baseados em peptídeos ligantes selecionados por PD se mostra como uma promissora alternativa no desenvolvimento de novas abordagens bioanalíticas, sendo que estas se destacam pela sensibilidade e seletividade. Esta Tese, portanto, em consonância com as atuais demandas da área oncológica, objetivou desenvolver novas metodologias bioanalíticas voltadas para o CM. No Capítulo II, uma nova matriz para o acoplamento de biomoléculas na superfície de eletrodos de grafite de lapiseira (PGEs) foi gerada através da modificação eletroquímica com um novo material derivado do ácido 3-(3-aminofenil)propiónico (3-3-AAFP). Foram realizadas caracterizações eletroquímicas e morfológicas, sendo proposto o mecanismo de eletropolimerização do poli(3-3-AAFP), no qual os grupos carboxilato são mantidos na estrutura do polímero formado. Um novo teste ELISA e um biossensor eletroquímico, foram testados com o soro de pacientes diagnosticados com CM ou doença benigna da mama (DBM), visando detectar antígenos circulantes, ambos utilizando o peptídeo Biotina-H2 ou Biotina-C3. Foram plotadas curvas ROC, sendo para cada resultado significativo e realizados os cálculos da análise de desempenho, para os testes ELISA e o biossensor, respectivamente. O peptídeo Biotina-H2 apresentou um desempenho inferior (AUC de 0,677 e 0,806) comparado ao peptídeo Biotina-C3 que, além de manter o potencial diagnóstico (AUC de 0,771 e 0,951), caracterizou CM luminal de acordo com o status p53 (AUC de 0,886 e 0,748) e a expressão de HER2 (AUC de 0,748 e 0,833), sendo o biossensor uma melhor estratégia quando comparado ao teste ELISA. Além disso, no Capítulo III, por meio de um estudo proteômico, foram identificados 38 possíveis alvos para o peptídeo Biotina-C3, sendo estes presentes em membrana plasmática e membranas de organelas celulares, principalmente de mitocôndrias. Visando a detecção e caracterização de exossomos derivados de linhagens celulares de CM, ensaios de citometria de fluxo foram conduzidos. Para isso, exossomos imobilizados diretamente em partículas magnéticas e indiretamente em partículas magnéticas modificadas com anticorpos anti-CD9, anti-CD63 e anti-CD81 foram utilizados para validar a capacidade do peptídeo Biotina-C3 de se ligar aos exossomos. Estes também foram detectados por magneto-ELISA e por biossensor eletroquímico magnético, com LODs menores para a linhagem MCF-7, sendo (LOD magneto-ELISA de 330 exossomos μL^{-1}) e (LOD Biossensor de 175 exossomos μL^{-1}) em comparação com as outras linhagens celulares. A detecção de exossomos derivados da linhagem Luminal (MCF-7), em soro humano foi realizada com sucesso, e a combinação de partículas magnéticas modificadas com anti-CD63, seguida da detecção baseada no peptídeo Biotina-C3 proporcionou resultados promissores em termos de especificidade e recuperação, para o teste ELISA (108,8%) e para o Biossensor (111,9%). Estas novas abordagens bioanalíticas permitirão o desenvolvimento de novas plataformas rápidas e inovadoras para a caracterização do CM e seus subtipos moleculares.

Palavras-chave: Ácido 3-(3-aminofenil)propiónico; Biossensores; ELISA; magneto-ELISA; Exossomas; Biomarcadores; Câncer de Mama.

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is the most common malignant tumor in the world population. Therefore, more precise methods that can detect the disease early are needed, and innovative techniques such as Phage Display (PD) have been extensively explored. In this context, the construction of biological sensors and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) based on PD-selected binding peptides emerges as a promising alternative in the development of new bioanalytical approaches, notable for their sensitivity and selectivity. This thesis, therefore, aimed to develop new bioanalytical methodologies focused on BC in line with the current demands of the oncology field. In Chapter II, a novel matrix for coupling biomolecules onto the surface of pencil graphite electrodes (PGEs) was generated through electrochemical modification using a new material derived from 3-(3-aminophenyl)propionic acid (3-3-AAFP). Electrochemical and morphological characterizations were performed, and the electro-polymerization mechanism of poly(3-3-AAFP) was proposed, in which carboxylate groups are retained in the structure of the formed polymer. A new ELISA test and an electrochemical biosensor were tested with serum samples from patients diagnosed with BC or benign breast disease (BBD) to detect circulating antigens, both using the peptide Biotin-H2 or Biotin-C3. ROC curves were plotted, and performance analysis calculations were carried out for the ELISA test and the biosensor, respectively. The peptide Biotin-H2 exhibited inferior performance (AUC of 0.677 and 0.806) compared to the peptide Biotin-C3, which maintained diagnostic potential (AUC of 0.771 and 0.951) and characterized luminal BC according to p53 status (AUC of 0.886 and 0.748) and HER2 expression (AUC of 0.748 and 0.833). The biosensor proved to be a better strategy when compared to the ELISA test. Additionally, in Chapter III, a proteomic study identified 38 potential targets for the Biotin-C3 peptide, predominantly present in the plasma membrane and cellular organelle membranes, especially mitochondria. Flow cytometry assays were conducted to detect and characterize exosomes derived from BC cell lines. For this purpose, exosomes immobilized directly on magnetic particles and indirectly on magnetic particles modified with anti-CD9, anti-CD63, and anti-CD81 antibodies were used to validate the binding capacity of the Biotin-C3 peptide to exosomes. They were also detected by magnetic ELISA and magnetic electrochemical biosensor, with lower limits of detection (LOD) for the MCF-7 cell line (LOD of 330 exosomes μL^{-1} for magnetic ELISA and LOD of 175 exosomes μL^{-1} for the biosensor) compared to other cell lines. Successful detection of exosomes derived from the Luminal cell line (MCF-7) in human serum was achieved, and the combination of anti-CD63-modified magnetic particles followed by detection based on the Biotin-C3 peptide provided promising results in terms of specificity and recovery for the ELISA test (108.8%) and the biosensor (111.9%). These new bioanalytical approaches will enable the development of rapid and innovative platforms for the characterization of BC and its molecular subtypes.

Keywords: 3-(3-aminophenyl)propionic acid; Biosensors; ELISA; magneto-ELISA; Exosomes; Biomarkers; Breast cancer.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I: Fundamentação Teórica

FIGURA 1. COMPOSIÇÃO DOS EXOSSOMOS	34
FIGURA 2. BIOGÊNESE DE EXOSSOMOS	36
FIGURA 3. ESQUEMA REPRESENTATIVO DO BACTERÍÓFAGO M13	39
FIGURA 4. FLUXO DE TRABALHO PARA A SELEÇÃO DE LIGANTES POR PHAGE DISPLAY.	41
FIGURA 5. PRINCÍPIO DO BIOSENSOR	45
FIGURA 6. ESQUEMA DA OXIDAÇÃO DE OPD CATALISADA PELA ENZIMA HRP	54
FIGURA 7. DESLOCAMENTO BATOCRÔMICO SOFRIDO PELO DAP APÓS ADIÇÃO DE H ₂ SO ₄	55
FIGURA 8. ESQUEMA DE DIFERENTES ABORDAGENS E FORMATOS DE TESTE ELISA	56
FIGURA 9. ESQUEMA INDICATIVO DA INFLUÊNCIA DO PONTO DE CORTE NA SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DE UM TESTE DE DIAGNÓSTICO EM DESENVOLVIMENTO	59

Capítulo II: Desenvolvimento de um biossensor eletroquímico baseado em peptídeos sobre uma matriz de ácido poli 3-(3-aminofenil) propiônico para caracterização do câncer de mama

FIGURA 1. VARIAÇÃO ENTRE POTENCIAL E TEMPO EM UMA VOLTAMETRIA CÍCLICA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 2. ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO 3-(3-AMINOFENIL)PROPIÔNICO E ANILINA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 3. VALIDAÇÃO DOS PEPTÍDEOS LIGANTES A PROTEÍNAS DO CÂNCER DE MAMA (CM)	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 4. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 5. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 6. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS EM PGES MODIFICADOS EM SOLUÇÃO AQUOSA, CONTENDO 1,0 mM DE 3-3-AAFP EM $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, APÓS APLICAÇÃO DE DIFERENTES NÚMEROS DE CICLOS DE POTENCIAL	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 7. VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS EM PGES, EM SOLUÇÃO AQUOSA, CONTENDO 1,0 mM DE 3-3-AAFP EM $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, 20 CICLOS.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
FIGURA 8. IMAGENS DE MEV	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

FIGURA 9. ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO 3-3-AAFP... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 10. PROPOSTA DE MECANISMO PARA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DO 3-3-AAFP **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 11. ESPECTROS DE INFRAVERMELHO (FT-IR) OBTIDOS DO MONÔMERO (3-3-AAFP) E DO POLÍMERO (POLI(3-3-AAFP)) **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 12. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DAS ETAPAS DE CONSTRUÇÃO DO BIOSSENSOR **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 13. INVESTIGAÇÃO DA SELETIVIDADE DO BIOSSENSOR EM POOLS SOROLÓGICOS DE PACIENTES COM DBM E CM **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 14. ESTUDO DA REPETIBILIDADE DO BIOSSENSOR COM PEPTÍDEO BIOTINA-C3 E PEPTÍDEO BIOTINA-H2 EM POOL SOROLÓGICO DE PACIENTES COM CM **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 15. ESTUDOS DE ESTABILIDADE DE ARMAZENAMENTO DE BIOSSENSOR **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 16. ANÁLISE DO DESEMPENHO DE LIGAÇÃO DOS PEPTÍDEOS BIOTINA-C3 E BIOTINA-H2 A AMOSTRAS SOROLÓGICAS DE PACIENTES..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 17. ANÁLISE DO DESEMPENHO DE LIGAÇÃO DO PEPTÍDEO BIOTINA-C3 A AMOSTRAS SOROLÓGICAS DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA (CM) **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

Capítulo III: Detecção de exossomos de câncer de mama baseada em peptídeo recombinante selecionado por *Phage Display*

FIGURA 1. ESQUEMA DE ISOLAMENTO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES (Ves) DO SOBRENADANTE DE CULTURA DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA, UTILIZANDO ULTRACENTRIFUGAÇÃO DIFERENCIAL. **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 2. ANÁLISE DAS PROTEÍNAS IDENTIFICADAS POR SEQUENCIAMENTO NAS AMOSTRAS DE IMUNOPRECIPITADAS COM O PEPTÍDEO BIOTINA-C3 **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 3. ESTRUTURAS DE SUPERFÍCIE MAIS PROVÁVEIS OBTIDAS POR SIMULAÇÕES DE DOCKING MOLECULAR PARA OS COMPLEXOS DE PROTEÍNAS COM PEPTÍDEO BIOTINA-C3 **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 4. CARACTERIZAÇÃO POR NTA DE AMOSTRAS PURIFICADAS DE EXOSSOMOS DE LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA, MCF-7, MDA-MB231, SKBR3 E LINHAGEM CELULAR DE FIBROBLASTOS MRC-5. **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 5. ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO BASEADO EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DE LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA. **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 6. ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO BASEADO EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DE LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA**ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 7. ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO BASEADO EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DE LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA**ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 8. ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO BASEADO EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DE LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA**ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 9. ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO BASEADO EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DE LINHAS CELULARES DE CÂNCER DE MAMA**ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 10. ENSAIO MAGNETO-ELISA PARA DETECÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DAS LINHAGENS DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA MCF-7, MDA-MB231, SKBr3 E DA LINHAGEM DE CÉLULAS DE FIBROBLASTOS MRC- 5 (CONTROLE) **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

FIGURA 11. BIOSSENSOR ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DE EXOSSOMOS DERIVADOS DAS LINHAGENS DE CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA MCF-7, MDA-MB231, SKBr3 E DA LINHAGEM DE CÉLULAS DE FIBROBLASTOS MRC-5 **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

LISTAS DE TABELAS

Capítulo I: Fundamentação Teórica

TABELA 1. COMBINAÇÃO BINÁRIA DE RESULTADOS ENTRE O DIAGNÓSTICO FEITO POR TESTE PADRÃO OURO E OS POSSÍVEIS RESULTADOS DE UM TESTE DE DIAGNÓSTICO EM DESENVOLVIMENTO 58

TABELA 2. RELAÇÃO ENTRE A ÁREA SOB A CURVA ROC E A PRECISÃO DO DIAGNÓSTICO 60

Capítulo II: Desenvolvimento de um biossensor eletroquímico baseado em peptídeos sobre uma matriz de ácido poli 3-(3-aminofenil) propiônico para caracterização do câncer de mama

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES (N = 118). ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

Capítulo III: Detecção de exossomos de câncer de mama baseada em peptídeo recombinante selecionado por Phage Display

TABELA 1. GRADIENTE UPLC ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

TABELA 2. RESULTADOS DAS SIMULAÇÕES DE INTERAÇÃO MOLECULAR POR *DOCKING*, UTILIZANDO O SERVIDOR HDOCK ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

TABELA 3. DETERMINAÇÃO DE EXOSSOMOS EM MATRIZ SOROLÓGICA ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Inclinação da reta
α	Grau de reversibilidade do sistema
3-3-AAFP	Ácido 3-(3-aminofenil)propiónico
ALP	<i>Alkaline Phosphatase</i>
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
AUC	<i>Area under the ROC curve</i>
BR	<i>Britton-Robinson</i>
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
CM	Câncer de Mama
CM HER2E	Câncer de Mama HER2-enriquecido
DAP	2, 3-diaminofenazina
DAPH2+	2, 3-diaminofenazina protonado
DBM	Doença Benigna da mama
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
<i>E</i>	Especificidade clínica
E	Potencial
EDC	[1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
EIE	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
Epa	Potencial de pico anódico
EUA	Estados Unidos da América
F	Constante de Faraday
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
FT-IR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
HER2	Receptor do crescimento epidérmico humano do tipo 2
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i>
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
IHQ	Imunohistoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Ipa	Corrente de pico anódico
IR	Índice de reatividade

Ki67	Marcador de índice de proliferação
LA	Câncer de Mama Luminal A
LB	Câncer de Mama Luminal B
LOD	<i>Limit of detection</i>
MES	2 (N-Morpholino) Ethanesulfonic Acid
MEV-FEG	Microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo
MIP	<i>Molecularly Imprinted Polymers</i>
MPs	<i>Magnetic Particles</i>
MS	<i>Mass spectrometry</i>
<i>n</i>	Número de elétrons envolvidos na reação
NHS	N-hidroxisuccinimida
NTA	<i>Nanoparticle tracking analysis</i>
OPD	Ortofenilenodiamina
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PBS-T	<i>Phosphate-buffered saline with Tween</i>
PD	<i>Phage Display</i>
PGE	<i>Pencil Graphite electrode</i>
pH	Potencial de hidrogênio
pKa	Constante de dissociação ácida
poly-HRP	Estreptavidina-poliHRP
PrD	Precisão diagnóstica
PS	Prevalência sorológica
R	Constante dos gases
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RE	Receptor de estrogênio
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RP	Receptor de progesterona
RVN	Razão de verossimilhança negativa
RVP	Razão de verossimilhança positiva
S	Sensibilidade clínica
SPE	Eletrodos de carbono <i>screen-printed</i>
strep-HRP	Estreptavidina-HRP
t	Tempo
T	Temperatura

T-DM1	Ado-trastuzumabe entasina
TMB	3,3',5,5'- tetrametilbenzidina
TN	Câncer de Mama triplo negativo
Tris	Trisaminometano
UPLC	Ultra-High Performance Liquid Chromatography
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
V	Volt
VC	Voltametria cíclica
VE	Vesícula extracelular
VN	Verdadeiro negativo
VOQ	Voltametria de onda quadrada
VP	Verdadeiro positivo
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

PREFÁCIO

A presente Tese encontra-se organizada em três capítulos, nos quais é demonstrada a aplicação de peptídeos selecionados por *Phage Display* na detecção de marcadores tumorais em células e exossomos de câncer de mama.

O Capítulo I apresenta a fundamentação teórica com a revisão bibliográfica dos principais temas abordados na Tese, como câncer de mama, seus subtipos moleculares, exossomos e utilização do *Phage Display* na seleção de novos peptídeos para bioanálises, destacando-se sua aplicação em biossensores e imunoensaios.

No Capítulo II um biossensor eletroquímico é desenvolvido a partir de peptídeos selecionados por *Phage Display* que se ligam especificamente às células de câncer de mama. Esse biossensor apresentou resultados superiores ao teste ELISA, além de possibilitar a caracterização molecular dos tumores luminais de acordo com o *status* de p53 e HER2.

O Capítulo III apresenta um estudo proteômico que identificou possíveis alvos do peptídeo selecionado na superfície das membranas de exossomos, o que viabilizou sua aplicação na detecção de exossomos em soro humano. Para isso foi desenvolvido um biossensor, com LODs menores em comparação com outros biossensores descritos na literatura.

Portanto, esta Tese é inovadora ao apresentar novas ferramentas para a detecção de câncer de mama e para sua caracterização molecular, bem como abre novos caminhos para a prática clínica. O conhecimento adquirido nesta Tese é importante para a compreensão da biologia do câncer de mama e pode ser aplicado em outras áreas da biotecnologia.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	28
1. CÂNCER.....	29
1.1 CÂNCER DE MAMA.....	29
1.2 SUBTIPOS MOLECULARES.....	30
1.2.1 Luminal A (LA).....	30
1.2.2 Luminal B (LB).....	31
1.2.3 HER2E.....	31
1.2.4 Triplo negativo.....	32
1.3 DIAGNÓSTICO.....	32
1.4 VESÍCULAS EXTRACELULARES.....	33
2. PHAGE DISPLAY.....	38
2.1 DEFINIÇÃO.....	38
2.2 BACTERIÓFAGOS E BIBLIOTECAS UTILIZADOS NO PD.....	38
2.3 BIOPANNING.....	40
2.4 DESAFIOS E LIMITAÇÕES DO <i>PHAGE DISPLAY</i>	42
2.5 APLICAÇÕES DE LIGANTES SELECIONADOS POR <i>PHAGE DISPLAY</i>	43
3. BIOSSENSORES.....	45
3.1 DEFINIÇÃO.....	45
3.2 HISTÓRIA DOS BIOSSENSORES.....	46
3.3 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOSSENSORES.....	46
3.4 MÉTODOS DE IMOBILIZAÇÃO DO ELEMENTO BIOLÓGICO.....	48
3.5 POLÍMEROS CONDUTORES APLICADOS EM BIOSSENSORES.....	50
3.6 ELEMENTO DE RECONHECIMENTO BIOLÓGICO.....	51
4. NOVOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.....	54
4.1 IMUNOENSAIOS DO TIPO ELISA: O PADRÃO-OURO.....	54
4.2 A BUSCA POR NOVOS MÉTODOS.....	56
4.3 CURVA ROC.....	60
REFERÊNCIAS.....	63
CAPÍTULO II.....	74

1. INTRODUÇÃO.....	75
2. OBJETIVOS.....	79
3. MATERIAL E MÉTODOS	80
3.1. REAGENTES E EQUIPAMENTOS	80
3.2. CULTIVO DE CÉLULAS E EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS	81
3.3. ELISA EM EXTRATO DE PROTEÍNA	81
3.4. ELETROPOLIMERIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.....	82
3.5. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL	82
3.6. AMOSTRAS DE SORO DE PACIENTES COM CM E DBM PARA ENSAIO ELISA E BIOSSENSOR	82
3.7. ELISA COM SORO DE PACIENTES	84
3.8. BIOSSENSOR APLICADO EM SORO DE PACIENTES.....	84
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	85
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
4.1. ELISA EM EXTRATO PROTEICO	86
4.2. ELETROPOLIMERIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA PLATAFORMA	87
4.3. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE PGE MODIFICADO COM POLI(3-3-AAFP)90	
4.4. INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE CICLOS NA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DO 3-3-AAFP 90	
4.5. EFEITO DO PH NA ELETROPOLIMERIZAÇÃO DO 3-3-AAFP	92
4.6. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE PGE MODIFICADO COM POLI(3-3-AAFP)95	
4.7. PROPOSTA DE MECANISMO DE ELETROPOLIMERIZAÇÃO PARA O 3-3-AAFP.....	97
4.8. CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA DE FT-IR	103
4.9. DESENVOLVIMENTO DO BIOSSENSOR	104
4.10. ANÁLISE DA CURVA ROC	108
4.11. CARACTERIZAÇÃO DOS SUBTIPOS MOLECULARES DE CM	111
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	113
REFERÊNCIAS.....	114
CAPÍTULO III.....	119
1. INTRODUÇÃO.....	120
2. OBJETIVOS.....	123
3. MATERIAL E MÉTODOS	124

3.1	REAGENTES E EQUIPAMENTO	124
3.2	CULTURA DE CÉLULAS	124
3.3	EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS.....	125
3.4	IMUNOPRECIPITAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE PROTEÍNAS.....	125
3.5	DIGESTÃO EM SOLUÇÃO E ANÁLISE LC-MS/MS	125
3.6	DOCKING MOLECULAR DA LIGAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA.....	127
3.7	ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE EXOSSOMOS	127
3.8	CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS POR NTA.....	128
3.9	IMOBILIZAÇÃO COVALENTE DE EXOSSOMOS E ANTICORPOS EM PARTÍCULAS MAGNÉTICAS	128
3.10	CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS POR CITOMETRIA DE FLUXO UTILIZANDO PARTÍCULAS MAGNÉTICAS	129
3.11	MAGNETO-ELISA.....	130
3.12	BIOSSENSOR ELETROQUÍMICO.....	130
3.13	ABORDAGENS DE BIOSSENSORIZAMENTO PARA A DETECÇÃO DE EXOSSOMOS EM SORO	131
3.14	ANÁLISE ESTATÍSTICA	132
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	133
4.1	IMUNOPRECIPITAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE PROTEÍNAS.....	133
4.2	DOCKING MOLECULAR DA LIGAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA.....	137
4.3	CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS POR NTA.....	141
4.4	CARACTERIZAÇÃO DE EXOSSOMOS POR CITOMETRIA DE FLUXO	142
4.5	MAGNETO-ELISA	149
4.6	MAGNETO-BIOSSENSOR ELETROQUÍMICO.....	151
4.7	ABORDAGENS DE BIOANÁLISES PARA A DETECÇÃO DE EXOSSOMOS EM SORO...	153
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	154
	CONCLUSÃO	155
	REFERÊNCIAS.....	156

Capítulo I

Fundamentação teórica

1. Câncer

A manutenção das funções vitais dos tecidos é alcançada graças à capacidade das células de se renovarem constantemente. Tal processo é controlado por diversas vias de sinalização geneticamente programadas para regular quando e onde essas células devem se multiplicar. Entretanto, podem surgir mutações herdadas ou espontâneas em genes associados a esses mecanismos, comprometendo a fisiologia intracelular e desencadeando o crescimento celular desenfreado (GRIFFITHS, A. J. F. W., S.R.; LEWONTIN, R.C.; CARROL, [s.d.]). O surgimento de uma massa não agressiva e semelhante ao tecido original é denominado tumor benigno. Já a multiplicação celular desordenada e invasiva define sua malignidade. O câncer inclui um conjunto superior a mais de 100 doenças, sendo estas classificadas de acordo com o tecido de origem: carcinomas quando epitelial e sarcomas quando se iniciam em tecidos conjuntivos (ósseo, muscular e cartilaginoso), por exemplo. A velocidade de multiplicação das células e a capacidade de originar metástases também são fatores utilizados para diferenciar os diversos tipos de câncer (INCA, 2023).

1.1 Câncer de Mama

O Câncer de mama (CM), no mundo, é o mais comumente diagnosticado e, no Brasil, os números relacionados ao diagnóstico desse tumor só são superados pelos de câncer de pele não melanoma. A origem da doença ainda é pouco compreendida e envolve diversos fatores de risco, incluindo os ambientais, biológicos e hereditários (INCA, 2023). Além disso, trata-se de uma lesão complexa do ponto de vista histológico e molecular (ONCOMED, 2019).

O CM é estatisticamente definido como sendo responsável por 30% de novos casos de câncer a cada ano e, apesar de menos frequente (em torno de 1% dos casos), também acomete homens (INCA, 2023). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o CM é a principal causa de morte por câncer em mulheres no Brasil. Estima-se que em cada ano do biênio 2022-2023 ocorram cerca de 17.760 óbitos por CM no país, com um risco de 16 óbitos a cada 100 mil mulheres. Espera-

Fundamentação Teórica

se que em cada ano do triênio 2023-2025 ocorram cerca de 73.610 novos casos de CM no Brasil, com um risco de 66,54 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2023). De fato, o CM se encontra em uma escala epidêmica e representa um problema para a saúde pública, afetando seriamente a qualidade de vida dos pacientes acometidos pela doença (GOLUBNITSCHAJA et al., 2016). Além disso, existem vários subtipos moleculares, que são classificados com base nos biomarcadores encontrados nas células tumorais mamárias.

1.2 Subtipos Moleculares

Após a instalação e desenvolvimento do tumor maligno, é necessária a intervenção clínica. O prognóstico e as decisões de gerenciamento do tratamento têm sido tradicionalmente baseados por marcadores avaliados por imunohistoquímica (IHQ) como o receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP), receptor de crescimento epidérmico humano do tipo 2 (HER2) e marcador de índice de proliferação (Ki67), juntamente com tamanho, diferenciação celular (grau do tumor) e *status* linfonodal. Os avanços no desenvolvimento e validação dos testes genômicos, possibilitaram maior entendimento sobre a biologia tumoral e como fornecer melhor tratamento individualizado, além de uma compreensão mais profunda dos subtipos do CM. Estes são classificados, de forma geral, como o Luminal (A e B), HER-2-enriquecido (HER2E) e triplo negativo (TN) (GAO; SWAIN, 2018; PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018; RAKHA et al., 2010; SØRLIE et al., 2001).

1.2.1 Luminal A (LA)

No CM LA os receptores hormonais para estrógeno e progesterona estão altamente expressos e não são positivos para HER2. Esse subtipo é um dos mais prevalentes e menos agressivos, correspondendo a cerca de 40% dos casos. Comparativamente aos demais, os tumores LA não apresentam alto índice proliferativo (ki67<14%) e exibem maior diferenciação celular. Além disso, possuem melhor prognóstico e respondem favoravelmente à terapia hormonal (EROLES et al., 2012; GAO; SWAIN, 2018; STENMARK TULLBERG et al., 2019). Nesta são utilizados moduladores seletivos do RE, como tamoxifeno, agonistas competitivos desse receptor, como o fulvestrant, ou inibidores de aromatase, como o anastrozol. Em

Fundamentação Teórica

algumas circunstâncias, a terapia hormonal pode ser combinada com radioterapia ou quimioterapia. É importante ressaltar que o LA pode evoluir para um subtipo de CM mais agressivo e invasivo quando não tratado oportunamente (AL-MAHAYRI; PATRINOS; ALI, 2020; GOLDBIRSCH et al., 2013; LI; MA, 2020; STENMARK TULLBERG et al., 2019).

1.2.2 Luminal B (LB)

O subtipo molecular LB possui duas subclassificações distintas. A primeira é caracterizada pela alta expressão de Ki67 e pela ausência de HER2. Já a segunda conhecida como híbrida, apresenta uma alta expressão de HER2. Cerca de 20% dos casos de CM se enquadram no subtipo LB, que é considerado intermediário em termos de agressividade. Comparativamente a outros subtipos de CM, os tumores LB tendem a crescer mais rapidamente e exibem um nível moderado de diferenciação celular. Além disso, têm um prognóstico moderado e podem reagir de maneira diferente à terapia hormonal. A decisão terapêutica depende da expressão de receptores hormonais e HER2. Em alguns casos, o tratamento hormonal e a quimioterapia podem ser combinados. Semelhante ao subtipo LA, o LB também pode evoluir para um subtipo de CM mais agressivo e invasivo, quando não devidamente tratado (GONCALVES et al., 2021; KENNECKE et al., 2010; PRAT et al., 2013).

1.2.3 HER2E

A superexpressão de HER2 estimula a proliferação celular descontrolada e, quando as lesões são RE e RP negativas, os tumores são classificados como HER2E. Este subtipo é agressivo e representa cerca de 15-20% dos casos. Tendem a crescer rapidamente e apresentam alto grau de indiferenciação celular, com pior prognóstico e maior risco de recorrência após a terapia. Anticorpos anti-HER2 como trastuzumabe, pertuzumabe e ado-trastuzumabe entansina (T-DM1) bloqueiam a cascata de sinalização desse receptor e, por conseguinte, são utilizados no tratamento dos pacientes com tumores HER2-positivos, com impacto significativo nas sobrevidas livre e global (CRONIN et al., 2010; GOBBINI et al., 2018; MARTÍNEZ-SÁEZ; PRAT, 2021; SLAMON et al., 2001).

Fundamentação Teórica

1.2.4 Triplo negativo

Os tumores TN são considerados um subtipo molecular mais agressivo de CM, representando entre 10 e 20% dos diagnósticos. Esses tumores não expressam RE, RP e HER2 e, portanto, não são elegíveis à hormonioterapia e a terapia alvo anti-HER2. Assim, a principal estratégia de tratamento é a quimioterapia seguida de radioterapia, geralmente administrada em regime neo ou adjuvante. Pacientes TN têm uma probabilidade maior de recidiva em relação aos outros subtipos de CM, e geralmente, apresentam uma menor sobrevida global e livre de doença. O prognóstico é ainda pior para pacientes com tumores TN de grau histológico mais elevado e com metástases linfonodais. Além disso, mulheres mais jovens, particularmente aquelas com mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* do inglês *breast cancer susceptibility gene*, têm um risco maior de desenvolver CM TN. (GEYER et al., 2017; SCHMID et al., 2020; TUTT et al., 2021; ZAGAMI; CAREY, 2022).

1.3 Diagnóstico

Atualmente, o diagnóstico do CM é baseado em testes por imagens como a mamografia diagnóstica, ultrassonografia e ressonância magnética, confirmado histopatologicamente após biópsia do tecido afetado. Testes genômicos, embora dispendiosos, podem ser adotados para prever o risco de recorrência, como o *Oncotype Dx* e *MammaPrint* (KÖPKE; AKTAS; DITSCH, 2023a). Contudo, devido à complexidade molecular da doença, novas ferramentas vêm sendo amplamente exploradas, destacando-se a biópsia líquida. Esta permite o rastreamento e monitoramento não invasivos da doença, utilizando, como amostra, fluidos corporais como sangue, saliva ou urina (ALIMIRZAE; BAGHERZADEH; AKBARI, 2019; KÖPKE; AKTAS; DITSCH, 2023b; MANOOCHERI et al., 2023).

De fato, os avanços na tecnologia da biópsia líquida permitiram a identificação de células malignas circulantes e de fragmentos de DNA tumorais no sangue de pacientes com CM (POULET; MASSIAS; TALY, 2019; STERGIOPOULOU et al., 2023). Além disso, a biópsia líquida pode fornecer informações sobre as alterações moleculares que impulsionam o crescimento do tumor, permitindo que os médicos ajustem o tratamento de acordo com as necessidades de cada paciente (PIÑEIRO-

Fundamentação Teórica

PÉREZ; ABAL; MUINELO-ROMAY, 2022; STERGIOPOULOU et al., 2023).

A biópsia líquida é uma ferramenta ainda em desenvolvimento e não deve ser vista como uma substituta da biópsia convencional (HEIDRICH et al., 2021). Contudo, é particularmente promissora para a detecção de biomarcadores em diferentes tumores, uma vez que são enriquecidas com vesículas extracelulares (VEs), as quais são secretadas contendo ácidos nucleicos e proteínas passíveis de detecção (WANG et al., 2022b).

1.4 Vesículas extracelulares

As VEs são estruturas membranosas liberadas pelas células no ambiente extracelular que desempenham funções cruciais na comunicação intercelular. Encontram-se associadas a vários processos fisiológicos e patológicos, como resposta imunológica, regeneração tecidual, tumores e doenças neurológicas, sendo, portanto, exploradas clinicamente (VEZIROGLU; MIAS, 2020).

Microvesículas, vesículas apoptóticas e exossomos são alguns dos diferentes tipos de VEs (HAN et al., 2022). As microvesículas se originam da membrana plasmática e possuem em torno de 100 a 1000 nm de tamanho. Carregam proteínas, lipídios e, ocasionalmente, ácidos nucleicos (YÁÑEZ-MÓ et al., 2015). As vesículas apoptóticas são formadas a partir da apoptose, sendo detectadas e fagocitadas por células do sistema imunológico, carregando proteínas e fragmentos de DNA (SANTAVANOND et al., 2021). Já os exossomos são pequenas vesículas (30 a 200 nm de tamanho) de formato esférico contendo lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (**Figura 1**). Como podem interagir com diferentes células e tecidos do corpo, os exossomos têm ganhando expressiva atenção como reguladores críticos da função celular e da comunicação intercelular (GURUNG et al., 2021).

Fundamentação Teórica

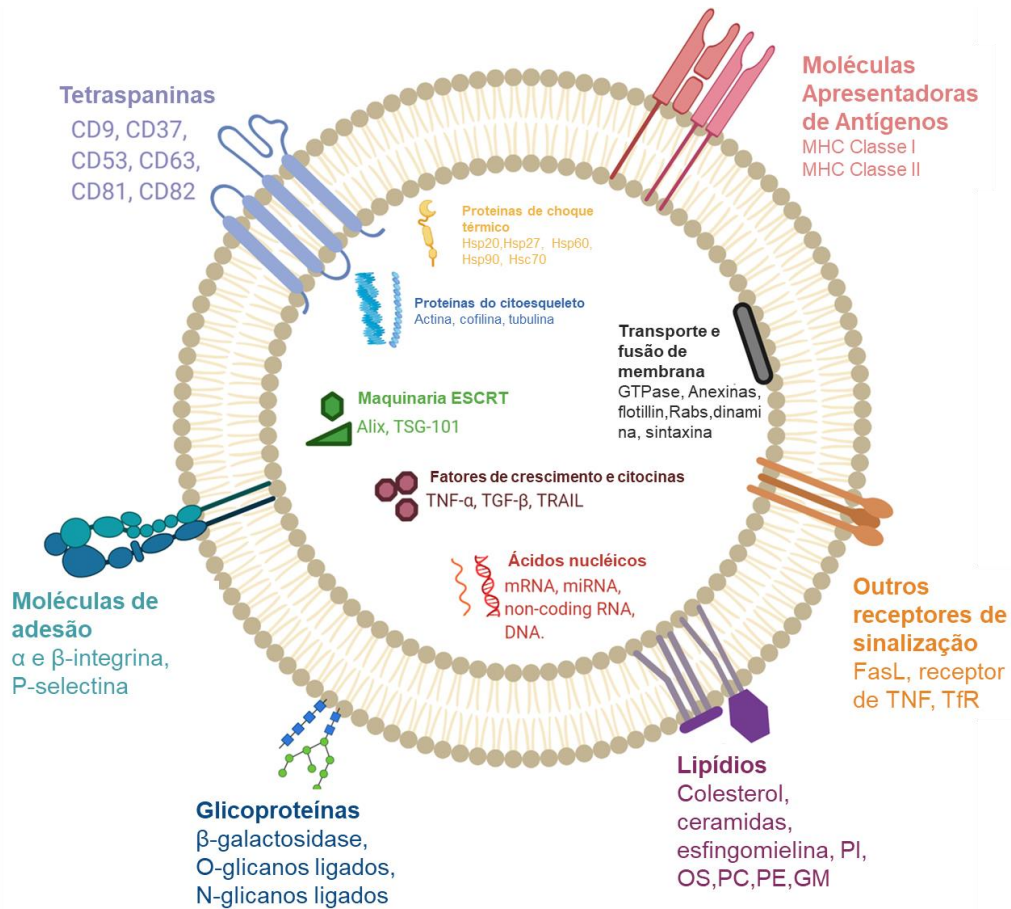


Figura 1. Composição dos exossomos. Os exossomos são compostos de várias proteínas: proteínas transmembrana como tetraspaninas, moléculas apresentadoras de antígenos, glicoproteínas e moléculas de adesão; proteínas no lúmen do exossomo, como proteínas de choque térmico, proteínas do citoesqueleto, componentes ESCRT, transporte de membrana, proteínas de fusão, fatores de crescimento e citocinas. Os exossomos também possuem lipídios, como colesterol, ceramidas, esfingomiélin, fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) e gangliosídeos (GM), juntamente com ácidos nucleicos como mRNA, miRNA, RNAs não codificantes e DNA em seu lúmen. Hsc = Choque térmico cognato; TSG = gene de suspeita de tumor; TNF = fator de necrose tumoral; TGF = Fator transformador de crescimento; TRAIL = ligando indutor de apoptose relacionado com TNF; FasL = ligando Fas; Tfr = Receptor de transferrina, Major Histocompatibility Complex (MHC). Adaptado de (GURUNG et al., 2021).

Exossomos são geralmente formados por via endossomal (GURUNG et al., 2021; JIN et al., 2023), conforme esquematizado na **Figura 2**. Quando uma seção da membrana plasmática da célula se dobra internamente a biogênese do exossomo se inicia. O endossoma é uma organela celular responsável pelo transporte, reciclagem e degradação de diversas substâncias. O processo de formação do endossoma começa quando uma vesícula se funde com a membrana plasmática. Essa estrutura inicial é conhecida como endossoma precoce e tem como função capturar moléculas

Fundamentação Teórica

provenientes do meio extracelular. Posteriormente, o endossoma precoce sofre modificações e se transforma em um endossoma tardio. Esse processo envolve a incorporação de vesículas intracelulares geradas a partir da membrana plasmática e de substâncias químicas que precisam ser recicladas ou destruídas. Assim, o endossoma tardio apresenta uma mistura de moléculas que foram capturadas e transportadas a partir do meio extracelular e de outras moléculas que foram geradas no interior da célula (GURUNG et al., 2021).

As moléculas contidas no endossoma tardio são finalmente quebradas quando essa estrutura se funde com um lisossomo. Os lisossomos são organelas que abrigam enzimas digestivas responsáveis pela quebra e reciclagem dos materiais celulares. A fusão do endossoma tardio com o lisossomo permite a liberação dessas enzimas no interior da organela, o que resulta na quebra e digestão das moléculas contidas no endossoma. Desse modo, o endossoma e o lisossomo trabalham em conjunto para garantir o transporte, reciclagem e degradação adequados das substâncias celulares. (HAN et al., 2022). As vesículas intracelulares criadas a partir da membrana plasmática, no entanto, podem ocasionalmente evitar o processo de degradação e serem expelidas pela célula como exossomos, detectáveis em fluidos corporais (THÉRY; ZITVOGEL; AMIGORENA, 2002).

Fundamentação Teórica

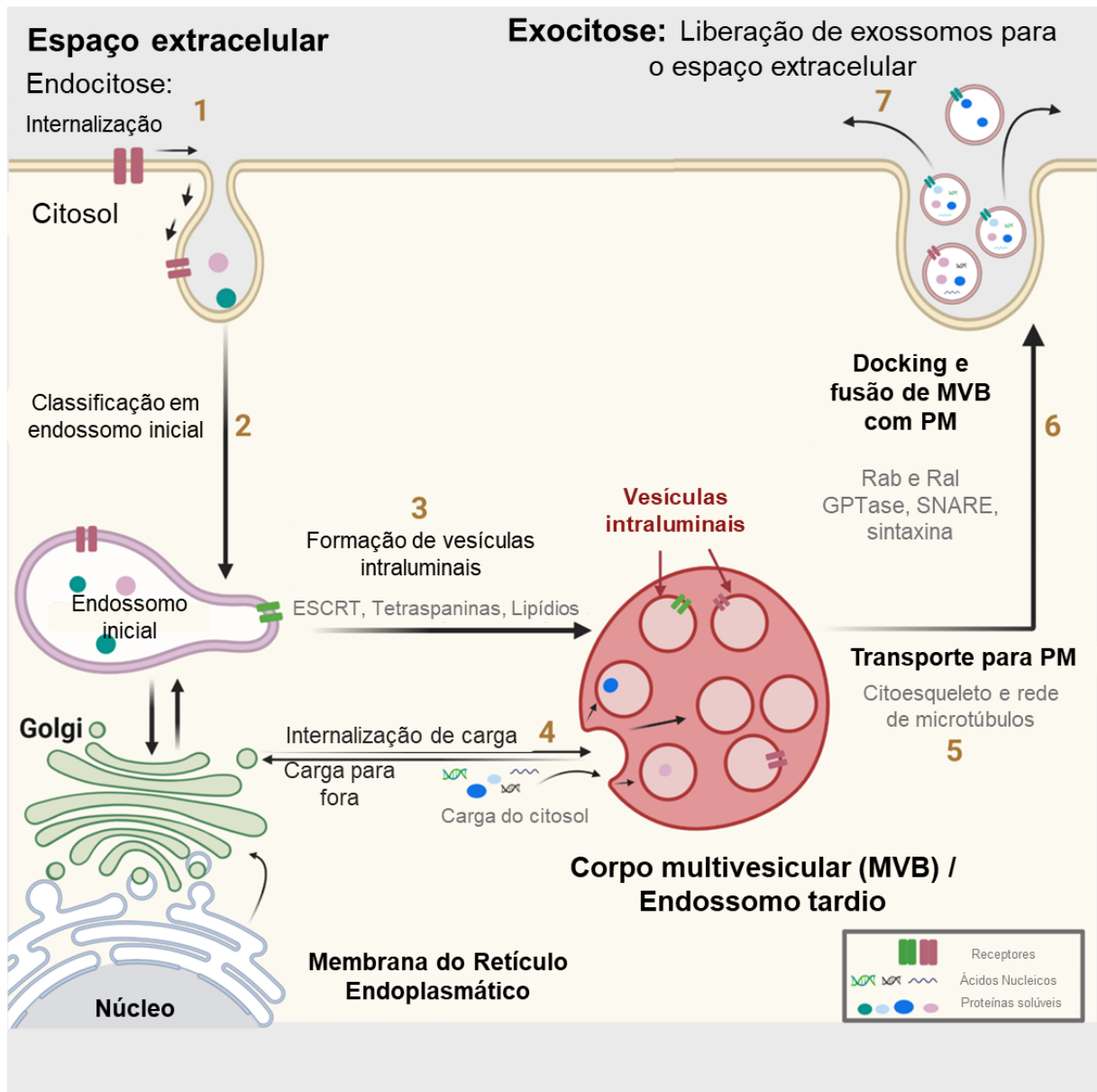


Figura 2. Biogênese de exossomos. Componentes internalizados são [1] classificados em endossomos iniciais [2] dentro do sistema endossomal, [3] que amadurecem em endossomos tardios ou corpos multivesiculares. As vesículas intraluminais, que sequestram proteínas, lipídios, compartimentos citosólicos e potenciais componentes de exossomos, são encontradas em abundância nos compartimentos endossomais especializados conhecidos como endossomos tardios/corpos multivesiculares. [4] A rede trans-Golgi e potencialmente o citosol também são usados para a entrega dos componentes. Corpos multivesiculares portadores de componentes de exossomos são transportados para a membrana plasmática, fundem-se com a superfície celular e, então, são secretados como exossomos. Adaptado de (GURUNG et al., 2021).

Fundamentação Teórica

Com a crescente demanda por biomarcadores mais precisos e eficientes, torna-se cada vez mais importante a identificação de novas moléculas com potencial aplicação para diagnóstico e prognóstico de diversas doenças. Além disso, detectar e caracterizar exossomos se mostra ainda mais promissor. Nesse contexto, a técnica de *Phage display* (PD) se destaca uma vez que permite a identificação de ligantes para alvos complexos e ainda não conhecidos, com nítida interface com a prática clínica. Assim, o PD pode contribuir significativamente para a identificação de novos biomarcadores, permitindo um diagnóstico mais preciso e um melhor acompanhamento de diversas doenças.

2. *Phage display*

2.1 Definição

A técnica de *Phage Display* (PD) foi criada na década de 1980 por George P. Smith e Sir Gregory P. Winter e garantiu aos seus criadores o Prêmio Nobel de Química em 2018. É baseada na biologia molecular para selecionar peptídeos, proteínas ou anticorpos de uma biblioteca de fagos (bacteriófagos) que exibem a proteína ou peptídeo de interesse na superfície de seu capsídeo. Basicamente, a técnica permite a seleção de fagos que apresentam a proteína ou peptídeo ligante a um alvo de interesse, enquanto a lavagem remove os demais fagos da biblioteca. O PD é uma das ferramentas mais poderosas e versáteis em biotecnologia, amplamente utilizada na descoberta de novos ligantes para diferentes fins (BARDERAS; BENITO-PEÑA, 2019; GOMES et al., 2023; LEDSGAARD et al., 2022; SMITH, 1985). Entre as aplicações mais importantes do PD está a descoberta de novos ligantes para a área médica, podendo ser utilizados no diagnóstico, prognóstico, monitoramento e tratamento de doenças, inclusive o câncer (PANDE; SZEWCZYK; GROVER, 2010).

2.2 Bacteriófagos e bibliotecas utilizados no PD

O PD possui as quatro principais características comuns a todas as plataformas de seleção: diversidade genotípica, genótipo/fenótipo de acoplamento, pressão de seleção e amplificação. É eficiente, robusto e específico (SILVA, 2017). Os peptídeos selecionados são pequenos, entre 5 e 20 aminoácidos, o que agrega uma estabilidade conformacional, além de menor custo de síntese e purificação. Pode ser utilizado para reconhecer diferentes agentes biológicos, como proteínas, vírus, bactérias, células cancerígenas e até substâncias inorgânicas (ANAND et al., 2021; BERNEDO-NAVARRO; YANO, 2016; VODNIK et al., 2011; WANG et al., 2019).

O PD utiliza a maquinaria biológica de bacteriófagos não envelopados e filamentosos para clonagem e expressão. Os fagos f pilus-específico (Ff), incluindo as cepas f1, M13 ou fd, e bacteriófagos líticos T7 são os mais amplamente utilizados

Fundamentação Teórica

sendo capazes de infectar procariotos, especificamente bactérias gram negativas. Essas partículas possuem DNA fita simples, o qual contém somente informações para a replicação e a formação do capsídeo viral (BARBAS; BURTON; SILVERMAN, 2004; RUSSEL; LOWMAN; CLACKSON, 2004).

A partícula de fago filamentososo M13 exibe uma forma cilíndrica com cerca de 930 nm de comprimento e 6 nm de diâmetro. O genoma do fago M13 é um DNA de 6407 bp composto por nove genes, codificadores de 11 proteínas diferentes (VAN WEZENBEEK; HULSEBOS; SCHOENMAKERS, 1980). A composição do capsídeo viral dos fagos se dá pela junção de cinco proteínas diferentes: pVII (33 aa, 5 cópias), pIX (32 aa, 5 cópias), pVIII (50 aa, 2700 cópias), pVI (112 aa, 5 cópias) e pIII (406 aa, 5 cópias) conforme a **Figura 3** (KEHOE; KAY, 2005).

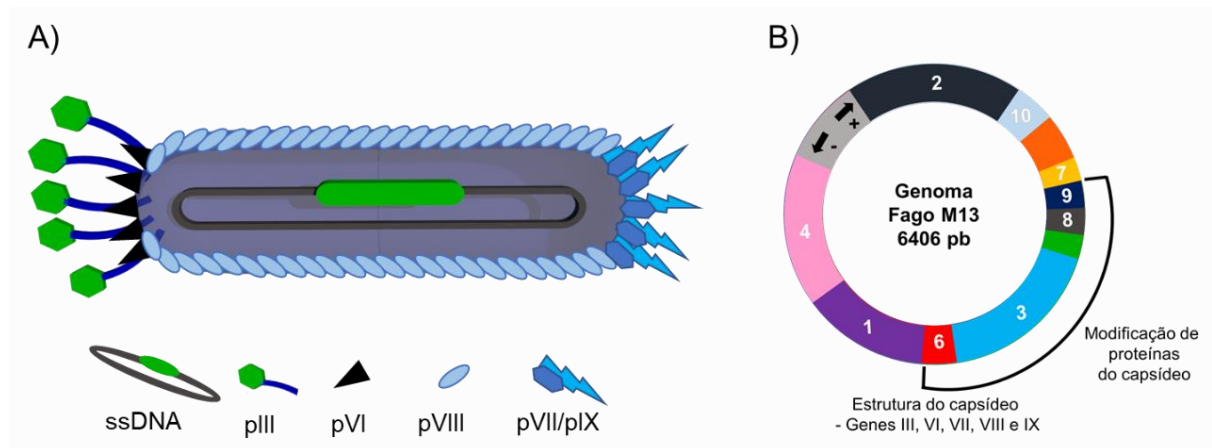


Figura 3. Esquema representativo do bacteriófago M13. **A)** biologia estrutural e **B)** genoma do fago mostrando as posições dos genes I ao X e locais de possíveis modificações de superfície por meio de engenharia genética. Fonte: Próprio autor.

As proteínas de revestimento dos fagos são sintetizadas e integradas à membrana bacteriana até serem reunidas em volta do DNA viral para liberação. Na técnica de PD, a sequência codificadora para o peptídeo a ser traduzido é inserida em uma região de restrição próxima ao gene III, codificador para a proteína integral de membrana pIII. Assim, a pIII não tem sua função comprometida e o peptídeo recombinante está acessível para seleção contra o alvo (BARBAS; BURTON; SILVERMAN, 2004; SMITH, 1985).

No PD, a estrutura e o ciclo de vida dos bacteriófagos são explorados para exibir proteínas ou peptídeos de interesse na superfície do fago. A infecção inicia com

Fundamentação Teórica

a ligação da pIII a receptores específicos na superfície da bactéria hospedeira. O fago, então, injeta seu material genético que é replicado pela maquinaria bacteriana, produzindo milhões de partículas virais. Assim, compreender a estrutura e o ciclo de vida dos bacteriófagos é fundamental para o sucesso da técnica de PD (RAKONJAC et al., 2017).

Uma biblioteca de PD é composta por fagos geneticamente modificados expressando uma ampla diversidade de peptídeos ou proteínas (incluindo anticorpos) (BÖTTGER; BÖTTGER, 2009). As bibliotecas de peptídeos são compostas de cadeias curtas de aminoácidos, geralmente de 7 a 20 resíduos, que são exibidos na superfície do fago. Podem ser sintéticas ou semi-sintéticas, o que significa que os peptídeos são criados quimicamente ou modificando sequências existentes (KONG et al., 2020). Já as bibliotecas de anticorpos são compostas de cadeias pesadas e leves de anticorpos encontrados na superfície do fago, incluindo fragmentos Fab, scFv e *nanobodies*. Cada um desses formatos tem suas próprias vantagens e desvantagens, e são escolhidos conforme a aplicação desejada. Por exemplo, os fragmentos scFv podem ser utilizados para a identificação de alvos terapêuticos, enquanto os *nanobodies* são altamente estáveis e podem ser utilizados no diagnóstico. São normalmente construídas a partir de células B de animais imunizados, como camundongos e coelhos (LEDSCGAARD et al., 2022).

2.3 Biopanning

A biosseleção, ou *biopanning*, é baseada na interação entre bibliotecas contendo bilhões de fagos recombinantes e o alvo de interesse. Nesse processo, fagos ligantes são capturados e os fagos não-ligantes, ou com interações fracas (não específicas), são descartados após sucessivas rodadas de lavagens (WU et al., 2016). Um esquema do processo é apresentado na **Figura 4**, o qual inclui, de maneira geral, a exposição dos fagos à molécula alvo, a lavagem para remoção dos não ligados e a eluição dos fagos de interesse. O processo de seleção é geralmente repetido várias vezes para aumentar a especificidade dos vírus recombinantes selecionados. Por fim, estes são sequenciados para identificar a sequência de aminoácidos dos peptídeos ou proteínas que se ligam ao alvo. Assim, a escolha da molécula alvo é crítica para o sucesso de seleção, podendo ser uma proteína purificada, uma célula ou um tecido. Dependendo da aplicação, pode ser escolhida por sua relevância clínica, capacidade

Fundamentação Teórica

de interagir com outras proteínas ou disponibilidade comercial. (FINLAY et al., 2017; RAHBARNIA et al., 2017; WU et al., 2016).

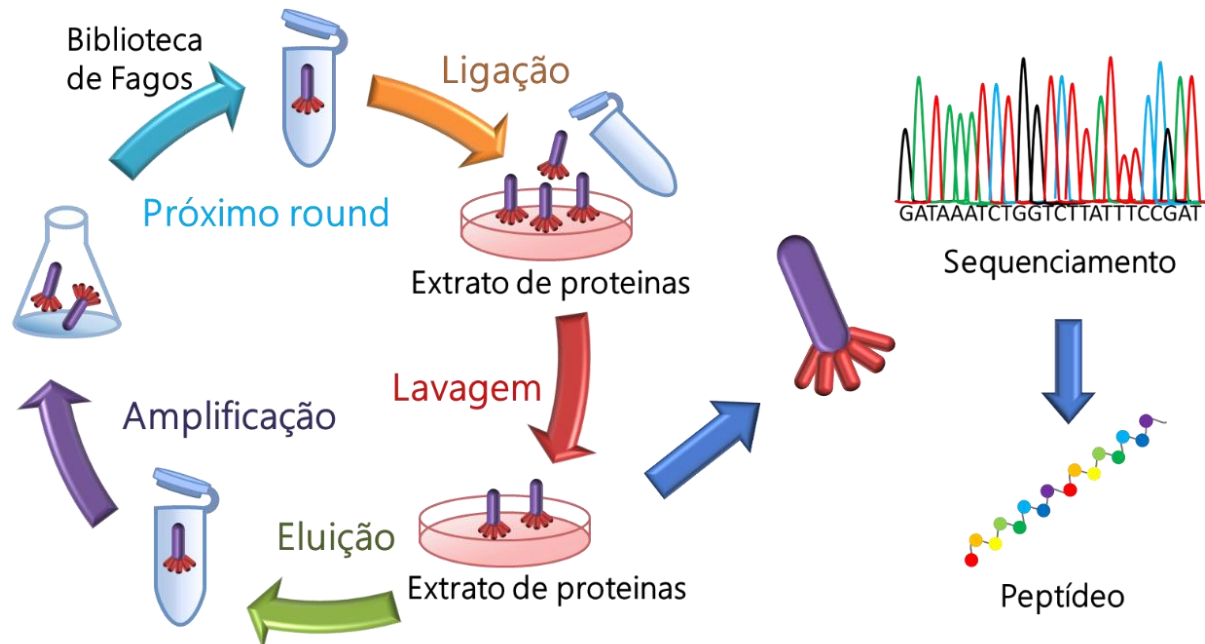


Figura 4. Fluxo de trabalho para a seleção de ligantes por Phage Display. Bibliotecas de fagos recombinantes podem ser construídas por engenharia genética, ao inserir sequências aleatórias de material genético codificante em regiões específicas do genoma viral. A triagem é realizada por 3 a 5 ciclos de seleção contra os alvos de interesse. Depois de capturados os fagos expressando os peptídeos ligantes são amplificados em *Escherichia coli*. Cada ciclo inclui os passos de interação/lavagem/amplificação, visando aumentar a pressão de seleção em favor de clones específicos. Após o *biopanning*, os clones individuais são caracterizados por sequenciamento de DNA e suas sequências sintetizadas para validação e análises subsequentes. Fonte: Próprio autor.

O desenho experimental também pode incluir diferentes estratégias, perfazendo seleções positivas e negativas. No *screening* positivo ocorre a seleção de fagos que se ligam especificamente ao alvo de interesse exposto à biblioteca (MIMMI et al., 2019). No *screening* negativo fagos que se ligam a componentes ou alvos que não interessam são eliminados. Uma matriz sem o alvo de interesse pode ser utilizada para esse fim e exposta à biblioteca de fagos. Nesse caso, os não ligantes, presentes no sobrenadante, são os que serão utilizados, posteriormente, na seleção positiva (XU et al., 2021a).

Após todo esse processo, os peptídeos/proteínas ligantes devem ter afinidade e especificidade suficientes para serem, de fato, aplicados. Para isso, diferentes

Fundamentação Teórica

estratégias podem ser utilizadas como introdução de mutações pontuais no gene que codifica o ligante, o uso de bibliotecas de mutantes aleatórios e a melhoria das configurações de triagem, entre outras. É fundamental observar que a otimização da afinidade e especificidade dos ligantes deve ser feita com cautela para evitar a perda de outros recursos importantes, como estabilidade e funcionalidade. Além disso, para evitar possíveis efeitos colaterais ou interações indesejáveis, a especificidade dos ligantes deve ser avaliada em relação a proteínas homólogas ou com estruturas semelhantes ao alvo (FINLAY et al., 2017; HAMMERS; STANLEY, 2014; SOKULLU; GAUTHIER; COULOMBE, 2021).

2.4 Desafios e limitações do *Phage Display*

Embora robusta, a tecnologia de PD apresenta algumas limitações. Primeiramente, a biblioteca precisar ser variável suficiente para o sucesso do processo de seleção, de modo que a eficácia e a especificidade podem ser influenciadas pela qualidade da biblioteca. Outra dificuldade é garantir que haja cópias suficientes do peptídeo ou proteína na superfície do fago para que a interação por afinidade seja identificada durante a seleção. Portanto, o tamanho da biblioteca deve ser grande o suficiente para representar a diversidade de variantes, mas não tão grande que dificulte a seleção (ALMAGRO et al., 2019).

Estratégias de *biopanning* inadequadas podem resultar em baixa eficiência e na seleção de ligantes não específicos. Adicionalmente, ao lidar com alvos que possuem sítios de ligação altamente conservados ou uma grande variedade de conformações estruturais, a seleção de ligantes individuais pode ser problemática (PRUDENCIO, 2004). Outras limitações também se destacam:

- **Tamanho dos peptídeos e proteínas exibidos:** Como o tamanho dos peptídeos e proteínas exibidos na superfície do fago é limitado, a seleção de ligantes com alta afinidade e especificidade pode ser restrita (ANAND et al., 2021).
- **Especificidade dos ligantes:** A escolha de ligantes de alta afinidade pode ser difícil, pois aumentar a pressão de seleção durante o processo de aumenta a probabilidade de escolher ligantes não específicos (KONG et al., 2020).

Fundamentação Teórica

- **Conformação e atividade:** Como os peptídeos exibidos não são capazes de exibir todas as conformações concebíveis, podem não ser úteis para a seleção de ligantes que reconhecem epítomos conformacionais ou dependentes de atividade (ALMEIDA et al., 2015; PRUDENCIO, 2004; WILLIAMS; SOOTER, 2015).

Contudo, os pesquisadores têm se dedicado ao aprimoramento da tecnologia de PD para superar suas limitações, incluindo o uso de bibliotecas mais diversas, desenhos experimentais mais sofisticados e processos de seleção mais rigorosos, aumentando a probabilidade de selecionar ligantes de alta afinidade e especificidade (BODER; RAEESZADEH-SARMAZDEH; PRICE, 2012; HEINIS, 2021; SCHIRRMANN et al., 2011). Outra possibilidade é a utilização de técnicas complementares ao PD, como cristalografia de raios X, espectrometria de massa e microscopia eletrônica, que possibilitam uma análise mais detalhada das interações entre o ligante e o alvo, auxiliando na validação dos ligantes (FINLAY et al., 2017).

Por fim, abordagens mais avançadas, como a biologia sintética (CRISPR-Cas9) e técnicas de engenharia genética para a produção de bibliotecas mais complexas e customizadas, com a introdução de mutações específicas em sequências de peptídeos ou anticorpos, têm sido utilizadas (KONG et al., 2020).

2.5 Aplicações de ligantes selecionados por *Phage Display*

O PD é um método eficaz para descobrir novos ligantes com potencial terapêutico. A abordagem inclui a seleção de peptídeos ou proteínas com alta afinidade e especificidade para uma determinada molécula-alvo, levando à descoberta de novos medicamentos (MIMMI et al., 2019; SOKULLU; GAUTHIER; COULOMBE, 2021). O anticorpo monoclonal Humira (Adalimumabe), por exemplo, foi selecionado por PD e é utilizado no tratamento da artrite reumatoide (RAHBARNIA et al., 2017).

Pode ser empregado para melhorar as propriedades funcionais de proteínas e enzimas, identificar novas moléculas para uso em terapia celular e selecionar ligantes para purificação de proteínas (GULIY; EVSTIGNEEVA; DYKMAN, 2022; MARTINS; REIS; AZEVEDO, 2016). Além disso, a técnica tem se mostrado eficaz para a engenharia de proteínas e enzimas, viabilizando uma maior estabilidade, afinidade ou atividade dessas moléculas (SCHIRRMANN et al., 2011). De fato, a síntese de

Fundamentação Teórica

enzimas com ação específica é uma das aplicações mais promissoras da engenharia de proteínas e enzimas (DALBY, 2007). Na medicina, o PD é também utilizado para encontrar variantes de proteínas terapêuticas com melhores características, incluindo estabilidade e seletividade (OMIDFAR; DANESHPOUR, 2015).

A capacidade de produzir e selecionar fragmentos de anticorpos humanos é um dos principais benefícios do PD. Esse fato é particularmente significativo no imunodiagnóstico, em que é necessário evitar a imunogenicidade, reduzir a possibilidade de reações cruzadas com outras espécies e aumentar a sensibilidade. Além disso, o PD permite a seleção de anticorpos específicos para epítopos dependentes de conformação, bem para proteínas de membrana (FRENZEL; SCHIRRMANN; HUST, 2016; MOREIRA et al., 2022).

Peptídeos bioativos, *antibody-like*, podem ser selecionados por PD, sendo também potencialmente promissores no diagnóstico por meio de biossensores (PARK, 2020), imunoenaios do tipo ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) (SUO et al., 2015) e de fluxo lateral (*Lateral Flow*) (KULABHUSAN et al., 2017). Neste sentido, os peptídeos apresentam vantagens, pois são estáveis e resistentes a ambientes agressivos, podem ser mais receptivos que anticorpos, no nível molecular, com menor imunogenicidade. Podem ser sintetizados quimicamente em grandes quantidades e pureza, tornando-os uma escolha econômica e prática para uso em abordagens bioanalíticas. A combinação de peptídeos com várias técnicas de detecção pode produzir metodologias e dispositivos altamente sensíveis e seletivos, capazes de detectar uma ampla gama de analitos (KARIMZADEH et al., 2018; VANOVA et al., 2021; WU et al., 2016).

3. Biossensores

3.1 Definição

Os biossensores são instrumentos analíticos que combinam um elemento de reconhecimento biológico, como enzimas, anticorpos ou células vivas, com um transdutor que transforma o sinal biológico em um sinal quantificável (TURNER, 2013). Destinam-se a detectar e quantificar substâncias específicas em amostras complexas, como sangue, saliva, urina, alimentos e água. Os biossensores se comparam, podendo superar os métodos de análise tradicionais em termos de sensibilidade, seletividade, resultados rápidos, mobilidade, baixo custo e facilidade de uso. Possuem inúmeras aplicações, incluindo na medicina, biotecnologia, meio ambiente, segurança alimentar e agricultura (KIM et al., 2022; TURNER, 2013), a **Figura 5**, esquematiza os elementos principais de um biossensor.

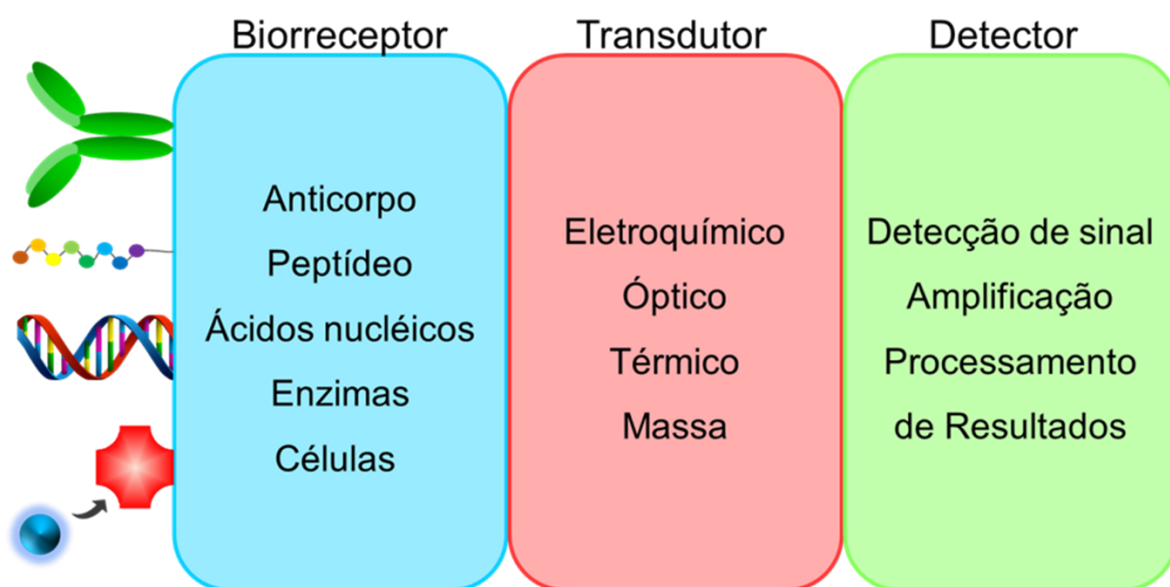


Figura 5. Princípio do biossensor. O biorreceptor identifica o analito na amostra, gerando um sinal primário que é transformado em um sinal mensurável pelo transdutor, que é, então, reconhecido e processado em um formato legível. Fonte: Próprio autor.

Fundamentação Teórica

3.2 História dos biossensores

Clark e Lyons, em 1962, demonstraram o primeiro experimento a utilizar um elemento biológico para detectar uma substância química, através da detecção de ácido glucônico após a glicose ser oxidada a ácido glucônico em uma solução contendo oxigênio e uma enzima chamada glicose oxidase. O que abriu caminho para o desenvolvimento de biossensores diversos (HARPER; ANDERSON, 2010).

Muitas melhorias foram alcançadas no campo desde então, incluindo a descoberta de novos elementos biológicos, o desenvolvimento de novos transdutores e o avanço das técnicas de integração e miniaturização. Os primeiros biossensores comerciais para detecção de glicose em amostras de sangue foram criados na década de 1960 e passaram a ser amplamente empregados no monitoramento de pacientes diabéticos. Na década de 1980 houve um aumento no interesse em biossensores, frente aos avanços da biologia molecular e engenharia de materiais. Como resultado, foram desenvolvidos novos tipos de biossensores, como os imunossensores e genossensores, capazes de detectar biomoléculas com seletividade e sensibilidade (LI et al., 2021).

Nos últimos anos, é nítida a busca pelo *downsizing* e pela portabilidade dos biossensores, com o desenvolvimento de dispositivos compactos e de baixo custo que podem ser utilizados como dispositivos *point-of-care*, como consultórios médicos e farmácias. Além disso, a combinação de vários biossensores em um único dispositivo oferece o potencial de aumentar os recursos do biossensor e permitir a análise simultânea de várias substâncias em uma única amostra (LI et al., 2021).

3.3 Classificação dos biossensores

Os biossensores são categorizados baseados no tipo de transdutor ou no tipo de biomolécula utilizada. O tipo de transdutor adotado para transformar o sinal biológico em um sinal elétrico, óptico ou mecânico é a classificação mais prevalente. Assim, os biossensores são classificados em quatro tipos (THÉVENOT et al., 2001):

- **Transdutores eletroquímicos:** Um transdutor eletroquímico é utilizado nesta forma de biossensor para converter o sinal biológico em um sinal elétrico. Transdutores eletroquímicos são comumente empregados em biossensores

Fundamentação Teórica

para detectar substâncias como glicose, colesterol, ácido úrico, lactato, neurotransmissores, hormônios e muitos mais. Apresentam inúmeras aplicações na medicina, meio ambiente e segurança alimentar. Além disso, o desenvolvimento contínuo de novos materiais e tecnologias de eletrodos permitiu a criação de biossensores mais sensíveis, seletivos e específicos para um amplo espectro de analitos (KUMAR; KACHHAWA, 2023).

- **Transdutores ópticos:** Um transdutor óptico é usado em biossensores para transformar um sinal biológico em um sinal de luz. A presença ou quantidade de um determinado analito pode ser detectada medindo uma propriedade óptica da amostra, como absorção, fluorescência ou refração. Os transdutores ópticos são altamente sensíveis e seletivos, com várias vantagens, incluindo a capacidade de detectar múltiplos analitos ao mesmo tempo e sem a necessidade de contato direto com a amostra. Fibras ópticas e *waveguide*, são transdutores ópticos usados na análise de proteínas e ácidos nucleicos (CHEN; WANG, 2020).
- **Transdutores piezoelétricos:** Um transdutor de massa transforma um sinal biológico em um sinal mecânico, como uma mudança de massa ou uma mudança na ressonância de um cristal piezoelétrico. Os transdutores de massa são extremamente sensíveis e podem detectar mudanças na massa de uma única molécula. Também podem detectar pequenas alterações ou mudanças conformacionais, que podem ser utilizadas para identificar alterações na atividade enzimática ou na estrutura da proteína. Pequenas substâncias como glicose, lactose e colesterol são frequentemente detectadas com esses sensores. Os transdutores de massa, por outro lado, são mais lentos do que os transdutores eletroquímicos e ópticos e são mais difíceis de miniaturizar e integrar em dispositivos portáteis (YADAV et al., 2023).
- **Outros Transdutores:** Outros transdutores que podem ser empregados em biossensores incluem transdutores térmicos, que medem a variação de temperatura causada pela interação do elemento de reconhecimento biológico e o analito. Esse tipo de biossensor pode detectar uma ampla gama de substâncias, como proteínas, enzimas, metabólitos e infecções. Existem outros biossensores baseados em transdutores de campo, como transdutores de campo elétrico e magnético, que podem detectar a interação entre o elemento

Fundamentação Teórica

de reconhecimento biológico e o analito alterando o campo elétrico ou magnético nas proximidades do sensor (POLAT et al., 2022; XIE; DANIELSSON, 2007).

Além da categorização do transdutor, os biossensores podem ser classificados dependendo do tipo de elemento de reconhecimento biológico utilizado, como enzimas, anticorpos, células vivas e ácidos nucleicos. Esta classificação auxilia na escolha do melhor tipo de biossensor para uma determinada aplicação (KUMAR; KACHHAWA, 2023).

3.4 Métodos de imobilização do elemento biológico

A seleção de elementos de reconhecimento biológico é crucial para a seletividade e sensibilidade do biossensor. A detecção precisa e confiável requer a capacidade de se conectar especificamente ao alvo pretendido. Além disso, sob condições ambientais especificadas, o elemento de reconhecimento biológico deve ser estável e funcional (TURNER, 2013).

A imobilização do elemento biológico é uma etapa crucial no projeto de um biossensor, pois é responsável por ancorar e manter o elemento biológico em contato com o transdutor do sensor de forma ativa, permitindo detecção seletiva do analito de interesse. O componente biológico pode ser imobilizado por diferentes métodos. A abordagem escolhida é determinada pelo tipo de elemento biológico, pelas características do transdutor e pelo tipo de amostra que está sendo estudada (BUERK, 2014; MALHOTRA, 2017). Assim, os elementos biológicos podem ser imobilizados através das seguintes estratégias:

- **Adsorção física:** é uma das abordagens mais simples e diretas para imobilizar o elemento de reconhecimento biológico em um transdutor. Este método envolve a fisissorção do elemento biológico na superfície da matriz de transdução, sem a necessidade de ligantes ou agentes químicos. Interações não covalentes, incluindo forças de *Van der Waals*, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, são usadas na adsorção. Essa abordagem tem algumas vantagens, incluindo sua simplicidade e facilidade de implementação. A adsorção física, por outro lado, pode resultar em estabilidade de imobilização limitada devido à probabilidade de dessorção do elemento biológico durante a

Fundamentação Teórica

operação do biossensor (MAURYA; SINGH, 2019; NARESH; LEE, 2021).

- **Aprisionamento físico:** os elementos de bioreconhecimento são fisicamente confinados dentro das matrizes 3D por ligações covalentes ou não covalentes durante este procedimento. O processo de imobilização ou aprisionamento pode ocorrer por duas vias: a enzima é misturada a uma solução de monômero, seguida da polimerização da solução de monômero por uma reação química ou por alteração das condições experimentais, e a enzima é combinada à solução de monômero. Os elementos de biorreconhecimento estão interligados em uma rede tridimensional de materiais orgânicos ou inorgânicos. Polidimetilsiloxano, fotopolímero, gelatina, alginato, celulose, acetato ftalato, polipropileno modificado e poliacrilamida são os materiais orgânicos empregados, enquanto carvão ativado e materiais cerâmicos porosos são os elementos inorgânicos. Esta abordagem geralmente emprega (i) eletropolimerização, (ii) o processo sol-gel e (iii) técnicas de microencapsulação (KUDDUS, 2018).
- **Ligação covalente:** é uma forma de imobilizar um elemento de reconhecimento biológico que envolve a formação de uma ligação química entre o elemento e a matriz de transdução. Essa abordagem, que é mais estável do que a adsorção física, pode imobilizar proteínas, enzimas e anticorpos em superfícies de metal, vidro e polímero. As ligações covalentes podem ser criadas por grupos reativos, como grupos amino, carboxila, hidroxila e tiol encontrados no elemento de reconhecimento biológico ou na matriz de transdução. A forma e as condições de imobilização são determinadas pela natureza dos grupos reativos e sua compatibilidade com o material da matriz de transdução. A imobilização por ligação covalente aumenta a estabilidade e a reprodutibilidade do biossensor, o que é vital para seu uso em análises quantitativas e em situações hostis. No entanto, como essa abordagem pode afetar a atividade biológica do elemento de reconhecimento, é necessário um gerenciamento cuidadoso das condições de imobilização para evitar qualquer dano (NARESH; LEE, 2021; SASSOLAS; BLUM; LECA-BOUVIER, 2012).
- **Crosslinking:** a reticulação ocorre pela formação de ligações cruzadas covalentes intermoleculares entre elementos de biorreconhecimento (enzimas) ou elementos de bioreconhecimento e proteínas funcionalmente inativas. (por

Fundamentação Teórica

exemplo, albumina de soro bovino). Este procedimento é realizado com o auxílio de produtos químicos multifuncionais que servem como um *linker* para unir moléculas de enzimas em agregados reticulados 3D à superfície do transdutor. As condições ideais de reticulação são pH, temperatura e força iônica. Essa estratégia de imobilização permite um tempo de resposta mais rápido, adesão mais forte e melhor atividade catalítica da enzima. Os benefícios incluem menos vazamento da biomolécula, ligação química mais forte e a capacidade de modificar o ambiente para o elemento de biorreconhecimento usando agentes estabilizadores apropriados. As desvantagens são que as ligações cruzadas covalentes são formadas entre proteínas e não entre a matriz e a proteína, e que a desnaturação parcial da estrutura da proteína limita o uso de imobilização de ligação cruzada (NARESH; LEE, 2021; SASSOLAS; BLUM; LECA-BOUVIER, 2012).

3.5 Polímeros condutores aplicados em biossensores

O sucesso dos biossensores depende, em grande parte, da eficiência das técnicas de imobilização utilizadas nas interfaces biológicas. Uma excelente opção de aprimoramento é a modificação da superfície do transdutor com polímeros condutores que possuam grupos funcionais em suas estruturas, de modo que estas possam interagir com determinados grupos de biomoléculas (RAZA et al., 2021).

A geração de polímeros pode ser iniciada eletroquimicamente. Os polímeros eram conhecidos por suas propriedades passivantes até a década de 1970. No entanto, pesquisadores que trabalharam com poliacetileno descobriram, em 1977, que, dopando o polímero com vapores de cloro, bromo ou iodo, a sua condutividade aumentava para um valor comparável ao dos metais, condutores conhecidos. Os pesquisadores receberam o Prêmio Nobel de Química em 2000 por seu trabalho e os polímeros condutores se tornaram um novo campo de estudo (PRIZE ANNOUNCEMENT - NOBELPRIZE.ORG, [s.d.]).

Os filmes eletropolimerizados são um tipo de material comumente utilizado em biossensores. São formados de polímeros condutores ou não, que são depositados eletroquimicamente em um eletrodo. A eletropolimerização permite o controle da espessura da camada e da densidade da ligação química, produzindo uma superfície estável. Polianilina, polipirrol e politiofeno são os polímeros condutores mais populares

Fundamentação Teórica

usados em filmes eletropolimerizados. As características elétricas e eletroquímicas distintas desses polímeros possibilitam a identificação de proteínas específicas em amostras complexas, como sangue e urina (COSNIER, 2003).

Além disso, filmes eletropolimerizados superam métodos alternativos para imobilizar biomoléculas em eletrodos, como a adsorção física. O filme eletropolimerizado forma uma matriz tridimensional que protege as biomoléculas de danos eletroquímicos e da perda de atividade biológica. Os biossensores baseados em filmes eletropolimerizados encontraram ampla aplicação, incluindo a detecção de glicose, ácido úrico, colesterol, proteínas e enzimas. Esses dispositivos também têm sido empregados no diagnóstico de doenças, monitoramento de processos biotecnológicos e controle ambiental (COSNIER; HOLZINGER, 2010).

3.6 Elemento de reconhecimento biológico

O elemento de reconhecimento biológico é responsável por reconhecer e se ligar a um alvo biológico como um anticorpo, enzima, peptídeo ou ácido nucleico (LIU; LIN, 2006). O tipo de interface selecionado é determinado pelo tipo de transdutor e pelo tipo de sinal biológico empregado. As interfaces de sinalização enzimática, imunológica e de ácido nucleico são exemplos de interfaces de sinalização (FU; LU; LAI, 2019; SONG et al., 2021).

Uma das interfaces mais comuns usadas em biossensores é a enzimática. Esta funciona utilizando enzimas para catalisar reações químicas específicas. Os biossensores enzimáticos são amplamente empregados no monitoramento da glicose de pacientes diabéticos (RIDHUAN; ABDUL RAZAK; LOCKMAN, 2018). Os biossensores enzimáticos fornecem diversas vantagens, incluindo alta sensibilidade e seletividade, baixo custo, facilidade de operação e tempo de resposta rápido. Apresentam, no entanto, algumas limitações, como a necessidade de uma fonte externa de substrato para a reação enzimática e a suscetibilidade a interferentes que podem alterar a atividade enzimática como fatores ambientais agressivos, incluindo temperatura e pH (SADANI et al., 2022).

A interface imunológica baseia-se na interação de antígenos e anticorpos, o que resulta na produção de complexos imunológicos detectáveis. Os biossensores imunológicos são frequentemente empregados na detecção de doenças infecciosas e monitoramento de alergias. Dependendo do mecanismo de transdução empregado, a

Fundamentação Teórica

detecção pode ser realizada por meio de transdutores eletroquímicos, ópticos ou de massa. Esses biossensores são frequentemente utilizados em diagnóstico clínico, análise ambiental, detecção de hormônios, gerenciamento de qualidade de alimentos, bebidas, proteínas, bactérias e vírus (ALHADRAMI, 2018). A principal vantagem dos biossensores imunológicos é a alta especificidade e seletividade na detecção do analito devido à interação extremamente específica entre o anticorpo e o antígeno. Contudo, fatores ambientais podem alterar a estabilidade dos anticorpos, comprometendo a sensibilidade e a precisão dos biossensores. Além disso, a imobilização de anticorpos pode ser uma tarefa desafiadora, pois é necessário que permaneça estável para o sucesso do método (MATA CALIDONIO; GOMEZ-MARQUEZ; HAMAD-SCHIFFERLI, 2022).

Os biossensores de ácido nucleico são dispositivos que detectam a presença de material genético em amostras biológicas, como DNA e RNA. O funcionamento destes biossensores baseia-se numa interação específica entre uma sonda de ácido nucleico complementar e o ácido nucleico presente na amostra. Este contato produz um sinal detectável e quantificável. Os biossensores de ácido nucleico podem ser baseados em eletroquímica, óptica e piezoresistência com potencial para melhorar a saúde pública e a segurança alimentar devido à sua excelente sensibilidade e especificidade (DU; DONG, 2017).

Os biossensores de células vivas são dispositivos que permitem o monitoramento em tempo real da atividade celular. São baseados em tecnologias que utilizam células vivas para reconhecimento biológico. Essas células são modificadas geneticamente ou fisiologicamente para responder a estímulos específicos e podem ser de origem animal, vegetal ou bacteriana. Os biossensores de células vivas são capazes de detectar produtos químicos, venenos e infecções, além de monitorar processos biológicos, como o crescimento celular, diferenciação e apoptose. Para garantir a estabilidade e a utilidade das células, esses biossensores geralmente envolvem sua imobilização em uma matriz tridimensional, como hidrogéis ou membranas. A interface de sinalização geralmente é baseada em abordagens eletroquímicas, ópticas ou mecânicas que permitem a detecção em tempo real de respostas biológicas (GUI et al., 2017; ZHAO et al., 2021). Esses biossensores são muito específicos e sensíveis e podem ser facilmente personalizados para detectar diferentes analitos. Além disso, esses biossensores podem fornecer informações valiosas sobre a toxicidade e a atividade biológica dos compostos avaliados. No

Fundamentação Teórica

entanto, é essencial preservar a viabilidade e a funcionalidade das células vivas ao longo do processo de análise (GUI et al., 2017).

Os biossensores baseados em polímero de impressão molecular (MIP) são dispositivos de detecção com alta especificidade e sensibilidade que usam MIPs como elementos de reconhecimento. Esses polímeros são criados pela adição de um molde (análogo ao analito alvo) durante a polimerização, resultando em locais de reconhecimento altamente específicos para o analito alvo. Os biossensores MIP têm várias vantagens sobre os biossensores padrão, incluindo grande seletividade, estabilidade excepcional e longa vida útil. Esses dispositivos são aplicáveis na análise ambiental, diagnóstico clínico, monitoramento da qualidade dos alimentos e detecção de drogas. Além disso, podem substituir sistemas de detecção mais complexos e caros (CRAPNELL et al., 2020; PILETSKY; TURNER; LAITENBERGER, 2006).

A interfase baseada em peptídeos também é uma opção interessante. Os peptídeos podem ser fabricados quimicamente em grandes quantidades com grande pureza, tornando-os uma escolha econômica e prática para uso em biossensores. Além disso, as sequências peptídicas podem ser facilmente alteradas para melhorar a afinidade e a especificidade para uma determinada molécula alvo. A imobilização de peptídeos em matrizes de transdução pode ser realizada por meio de ligações covalentes ou abordagens de adsorção física. A interface de sinalização de um biossensor baseado em peptídeo pode ser elétrica, óptica ou baseada em mudanças de massa. A detecção pode ser feita diretamente, pelo contato do peptídeo com o analito, ou, indiretamente, pela detecção de uma molécula sinalizadora criada pela interação do peptídeo com o analito. A combinação de peptídeos com várias técnicas de detecção e transdução pode produzir biossensores altamente sensíveis e seletivos, capazes de detectar uma ampla gama de analitos (BULUT et al., 2023; ESCOBAR et al., 2023; KONG et al., 2023; SUN et al., 2020; UCAR et al., 2020; WANG et al., 2022a).

4. Novos métodos de diagnóstico

4.1 Imunoensaios do tipo ELISA: o padrão-ouro

O ensaio imunoenzimático do tipo ELISA é considerado o padrão-ouro dos imunoensaios. Apresenta alta sensibilidade e é usado para detectar e quantificar anticorpos, antígenos, proteínas, glicoproteínas e hormônios. A detecção do analito é realizada pela marcação enzimática de uma das espécies do par imunológico (antígeno ou anticorpo) necessitando de pequenas quantidades de uma amostra-teste (ALHAJJ; FARHANA, 2021). São realizadas etapas de lavagens para que o excesso de reagentes seja removido e permaneça, na fase sólida (poço), apenas o imunocomplexo formado. O marcador enzimático pode ser quantificado através da adição dos substratos específicos. As enzimas mais utilizadas para marcação são a peroxidase de rábano (HRP), e a fosfatase alcalina (ALP) (SADASIVAM; MANICKAM, 1996). A enzima HRP catalisa a oxidação de seu substrato, orto-fenilenodiamina (OPD), produzindo uma solução amarela contendo como produto desta reação o corante 2, 3-diaminofenazina (DAP) (**Figura 6**) (BYSTRYAK; SANTOCKYTE, 2015), e pode ser utilizado como substrato para a reação o 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB).

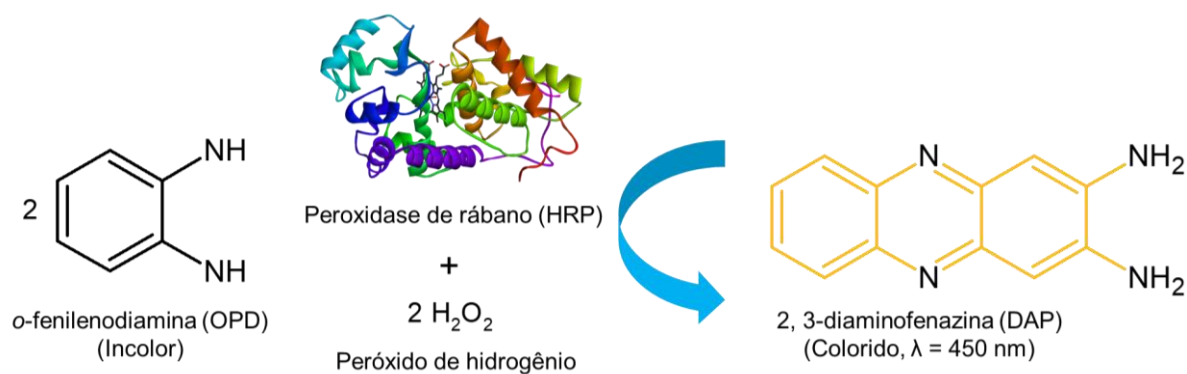


Figura 6. Esquema da oxidação de OPD catalisada pela enzima HRP. Fonte: Próprio autor.

Fundamentação Teórica

A adição de ácido sulfúrico concentrado interrompe a reação e muda a cor do DAP para laranja (**Figura 7**). Nesse contexto, a cor produzida é diretamente proporcional à concentração de HRP presente nas moléculas marcadas que estão envolvidas no ensaio, sendo mensurado com máximo de absorbância em 492 nm em um espectrofotômetro.

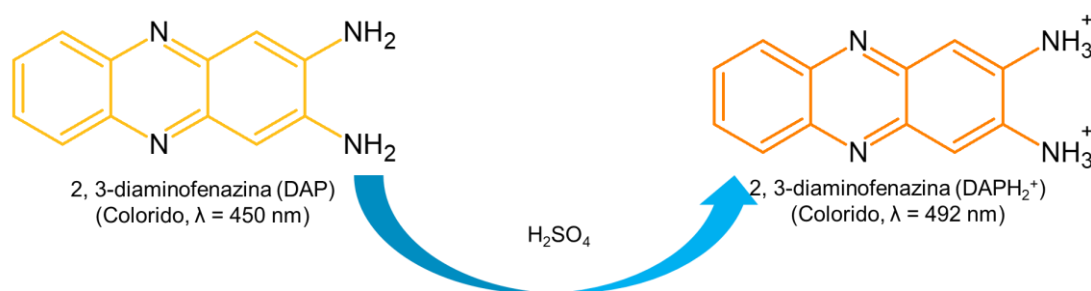


Figura 7. Deslocamento batocrômico sofrido pelo DAP após adição de H_2SO_4 . Fonte: Próprio autor.

Diferentes formatos do teste ELISA podem ser realizados, sendo os mais comuns: (i) direto, em que o antígeno é imobilizado na fase sólida e o anticorpo específico contra o antígeno já é marcado; (ii) indireto, em que o antígeno é imobilizado na fase sólida e o anticorpo primário específico contra o antígeno é reconhecido por um anticorpo secundário marcado, usualmente policlonal, o que garante um ganho expressivo na amplificação do sinal e na sensibilidade; (iii) sanduíche, quando o antígeno é incubado entre dois anticorpos diferentes, sendo um anticorpo imobilizado na fase sólida e o outro anticorpo marcado. Este formato é limitado a antígenos multivalentes e o sinal é proporcional à concentração deste na amostra e (iv) competitivo, o qual depende da competição do antígeno a um inibidor marcado. Este formato é útil para haptenos e sua coloração é inversamente proporcional à concentração do antígeno na amostra (ALEGRET et al., 2004). A **Figura 8**, ilustra os diferentes formatos do teste ELISA, anteriormente exemplificados:

Fundamentação Teórica

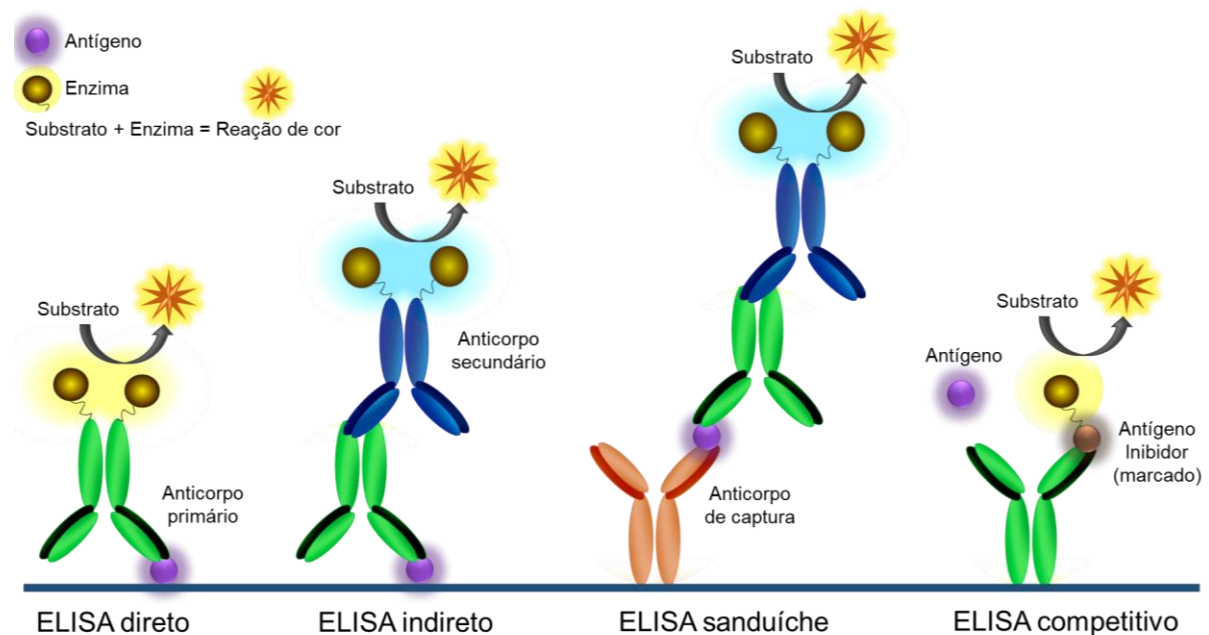


Figura 8. Esquema de diferentes abordagens e formatos de teste ELISA. Fonte: Próprio autor.

4.2 A busca por novos métodos

O gerenciamento oncológico moderno tem priorizado a medicina personalizada, alicerçada no conhecimento acerca da biologia do tumor, direcionando o tratamento e melhorando o prognóstico dos pacientes. Dessa forma, as classificações moleculares dos subtipos de CMs oferecem o potencial de revolucionar o tratamento individual. Porém, as técnicas atualmente disponíveis são dispendiosas em comparação com os métodos-padrão, como a imuno-histoquímica, além da enorme quantidade de dados gerados exigirem análises bioinformáticas complexas, limitando seu uso clínico (MAIA et al., 2017; PROVENZANO; ULANER; CHIN, 2018).

O diagnóstico precoce é fundamental para o sucesso do tratamento e cura do CM (BHUSHAN; GONSALVES; MENON, 2021), portanto, o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico pode ser um fator chave para salvar vidas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

A avaliação de um novo método de diagnóstico é uma tarefa complexa que exige um processo rigoroso e bem definido para garantir sua eficácia e segurança. Os parâmetros-chave que devem ser avaliados incluem a especificidade, a sensibilidade, o valor preditivo positivo, o valor preditivo negativo, a acurácia, a precisão, a

Fundamentação Teórica

reprodutibilidade e a robustez. Esses parâmetros podem ser avaliados em diferentes etapas do processo de validação, desde os estudos pré-clínicos até os ensaios clínicos em humanos (LEEFLANG; ALLERBERGER, 2019).

Ao comparar um teste em desenvolvimento com um padrão ouro devem ser consideradas as seguintes variáveis:

- Falso positivo (FP) que é a possibilidade de um indivíduo saudável ser classificado como doente;
- Falso negativo (FN) que é a possibilidade de um indivíduo doente ser classificado como saudável;
- Verdadeiro positivo (VP) que é a possibilidade de um indivíduo doente ser classificado como doente; e
- Verdadeiro negativo (VN) que é a possibilidade de um indivíduo saudável ser classificado como saudável.

Para a avaliação do desempenho de um teste os valores de acerto, VP e VN, são significativamente relevantes e, entre as condições de erro, os valores de FN necessitam de maior atenção que os valores de FP. Um laudo FN pode trazer consequências irreparáveis para o indivíduo portador da doença, uma vez que passa a não ser elegível ao tratamento. As implicações de um resultado FP também são igualmente danosas, conduzindo a um tratamento desnecessário e, por vezes, com efeitos colaterais preocupantes. Contudo, uma decisão acerca do resultado de um teste deverá estar acompanhada do conhecimento e da experiência do profissional que investiga a doença, o que garante uma análise técnica do caso (VAZ, 2009).

A relação entre os pacientes classificados como doentes ou não doentes pelo teste diagnóstico padrão-ouro e os pacientes classificados como positivo ou negativos de um teste em desenvolvimento é mostrada na **Tabela 1**.

Fundamentação Teórica

Tabela 1. Combinação binária de resultados entre o diagnóstico feito por teste padrão ouro e os possíveis resultados de um teste de diagnóstico em desenvolvimento. Fonte: Adaptado de (VAZ, 2009).

		PADRÃO-OURO		
TESTE		Doente	Não doente	Total
	Positivo	VP	FP	VP+FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
	Total	VP+FN	FP+VN	VP+FP+FN+VN

Abreviaturas: VP, verdadeiro positivo; FN, falso negativo; FP, falso positivo; VN, verdadeiro negativo.

Para que essa análise seja aplicável a respostas ordinais ou contínuas (MARTINEZ, 2001) é estabelecido um ponto de corte (*cut off*), o que permite que os dados sejam dicotomizados em positivos e negativos. Assim, podem ser estimadas a sensibilidade (*S*) e a especificidade (*E*) clínica, para diferentes pontos de corte, dentre os possíveis valores que o teste em desenvolvimento apresenta (VAZ, 2009).

A sensibilidade clínica pode ser calculada a partir da razão entre o número de resultados VP e o número de todos os pacientes VP e FN (Equação 1). Nesse sentido a sensibilidade de um teste está associada a taxa de verdadeiros positivos, ou seja, é a probabilidade de o teste fornecer um resultado positivo, quando a doença em questão está, de fato, presente.

$$S = \frac{VP}{(VP + FN)} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Já a especificidade clínica pode ser calculada como o número de resultados VN dividido pelo número de todos os indivíduos sem a doença VN e FP (Equação 2). Desta forma a especificidade clínica indica a taxa de verdadeiros negativos, ou seja, é a probabilidade de o teste fornecer um resultado negativo, quando a doença em questão está, de fato, ausente.

$$E = \frac{VN}{(VN + FP)} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Assim a **Figura 9** mostra uma representação genérica da distribuição de possíveis resultados de um teste de diagnóstico. Em α é definido o ponto de máxima sensibilidade, a partir do qual o número de resultados FN é menor. Este é o ponto de

Fundamentação Teórica

corte em que se encontra a maior probabilidade de um diagnóstico VN para indivíduos não doentes. Já em γ é definido o ponto de máxima especificidade, a partir do qual o número de resultados FP é menor. Neste se encontra a maior probabilidade de um diagnóstico VP para indivíduos doentes. Como a sensibilidade e a especificidade são inversamente proporcionais, o ponto de corte β é definido onde a máxima especificidade e a máxima sensibilidade coexistem. Porém, esse ponto descarta todos os resultados FN e inclui todos os FP, o que deve ser analisado cuidadosamente com base na doença em estudo.

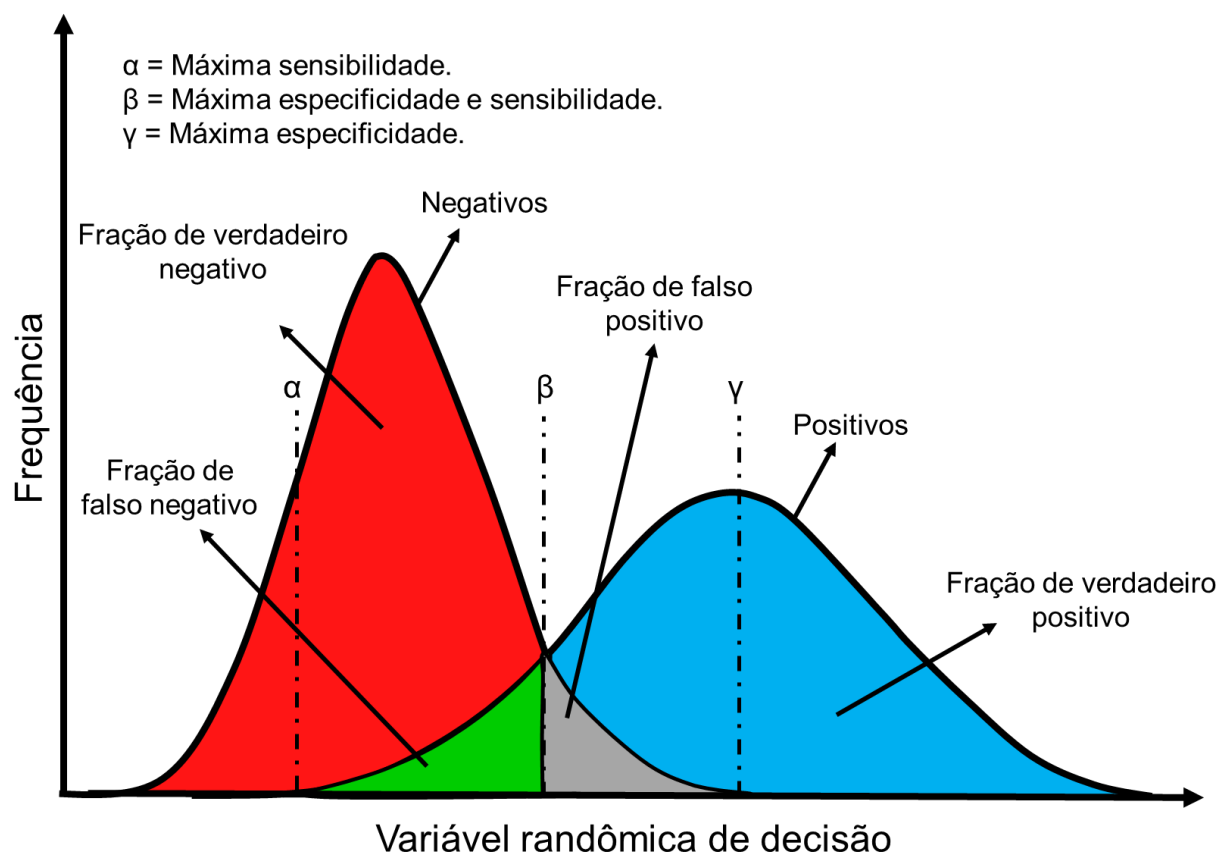


Figura 9. Esquema indicativo da influência do ponto de corte na sensibilidade e especificidade de um teste de diagnóstico em desenvolvimento. Fonte: Próprio autor.

A aplicação de uma metodologia que possa valorizar o ponto de corte se torna bastante interessante, uma vez que a definição de um ponto adequado é essencial para que sejam minimizados falsos resultados. Uma das metodologias disponíveis mais utilizadas é a curva ROC do inglês *Receiver Operating Characteristic*.

Fundamentação Teórica

4.3 Curva ROC

A curva ROC é definida como a descrição gráfica do desempenho de um teste representado pela relação entre a taxa de VP (sensibilidade) e a taxa de FN (especificidade). Com esse recurso é possível definir de forma mais segura a região na qual há sobreposição de dados de amostras de indivíduos doentes e sadios, de forma a representar a precisão intrínseca do teste. Para cada ponto de decisão são colocados os índices de sensibilidade que estarão representados no eixo das ordenadas e os índices de falsos positivos ($1 - \text{especificidade} = \text{inverso da especificidade}$) que estarão representados no eixo das abscissas, mostrando as variações ponto a ponto, para cada *cut-off* possível.

Deste modo, a curva ROC é uma função contínua de Sensibilidade *versus* 1–Especificidade, para diversos valores de corte. Então, cada ponto de corte é associado a um único par ($1 - \text{Especificidade}$, Sensibilidade). De uma maneira geral, quanto menor for o ponto de corte, maior será a habilidade do teste em classificar os doentes como positivos, isto é, maior será a sensibilidade. Inversamente, quanto maior for o ponto de corte, maior será a habilidade do teste em classificar os indivíduos sadios como negativos, isto é, maior será a especificidade.

A área sob a curva do inglês, *area under the ROC curve* (AUC) representa a acurácia do teste, considerando todos os valores de sensibilidade e especificidade para cada valor de corte. Um teste com pequeno poder diagnóstico tem curvas mais retilíneas. Já para um teste com maior poder diagnóstico, sua curva se aproxima do canto superior esquerdo (LOPES et al., 2014). A **Tabela 2** apresenta indicadores de desempenho para um teste em desenvolvimento, com base na área sob a curva ROC.

Tabela 2. Relação entre a área sob a curva ROC e a precisão do diagnóstico. Fonte: Adaptada de (BORGES, 2016).

AUC	Precisão diagnóstica
0,9 – 1,0	Excelente
0,8 – 0,9	Muito bom
0,7 – 0,8	Bom
0,6 – 0,7	Suficiente
0,5 – 0,6	Ruim
< 0,5	Não utilizar o teste

Abreviaturas: AUC, área sobre a curva.

Fundamentação Teórica

Outras duas variáveis envolvidas no processo de teste de desempenho são os valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN). Os valores preditivos definem a precisão de um teste em prever uma condição clínica, sendo referências que indicam qual a probabilidade de um indivíduo de um ensaio realmente portar ou não a doença, caso o resultado seja positivo ou negativo, respectivamente. Os valores preditivos são fortemente influenciados pela sensibilidade e especificidade do teste, bem como pela prevalência da doença, sendo calculados conforme as seguintes equações:

$$VPP = \frac{VP}{(VP + FP)} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

$$VPN = \frac{VN}{(VN + FN)} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Adicionalmente são considerados os parâmetros de verossimilhança positiva (RVP), a qual expressa quantas vezes é mais provável encontrar um resultado positivo em pessoas doentes quando comparado a pessoas não doentes. Já a verossimilhança negativa (RVN) expressa quantas vezes é mais provável encontrar um resultado negativo em pessoas doentes quando comparado com pessoas não doentes. As RV são calculadas pelas equações:

$$RVP = \frac{S}{(1 - E)} \quad \text{Equação 5}$$

$$RVN = \frac{(1 - S)}{E} \quad \text{Equação 6}$$

Por fim, a precisão ou acurácia diagnóstica (PrD) é a proporção de acertos de um teste. A prevalência sorológica (PS), por sua vez, é a porcentagem de indivíduos doentes em uma população, sendo ambas calculadas com as seguintes equações:

$$\text{Precisão diagnóstica} = \frac{(VP + VN)}{N} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

$$\text{Prevalência sorológica} = \frac{(VP + FN)}{N} \times 100 \quad \text{Equação 8}$$

Fundamentação Teórica

A técnica de PD permitiu, em estudo anterior do grupo de pesquisa da co-orientadora, a identificação de peptídeos específicos ligantes de linhagens celulares de CM (SILVA, 2017). O desenvolvimento de novos testes de diagnóstico, aplicáveis a biópsia líquida, utilizando estes marcadores selecionados, pode ser um caminho promissor na detecção precoce caracterização molecular e direcionamento no tratamento do CM.

Conclusão

Conclusão

Em conclusão, a presente Tese teve como objetivo desenvolver novas plataformas bioanalíticas para a detecção, diagnóstico e prognóstico do CM por meio do uso de peptídeos selecionados por PD. As plataformas consistem em um na detecção de marcadores tumorais e a identificação de exossomos em amostras sorológicas. Os resultados obtidos mostram que os peptídeos biotinilados Biotina-C3 e Biotina-H2 possuem alta afinidade pelas células luminais de CM e foram capazes de distinguir subtipos moleculares de CM, além de apresentarem melhor desempenho nos biossensores desenvolvidos em relação ao teste ELISA. Além disso, foi possível identificar possíveis alvos do peptídeo Biotina-C3 em exossomos de CM e desenvolver um método eficaz para a detecção de exossomos em soro humano.

Essas plataformas representam uma importante contribuição para a detecção precoce do CM e para a caracterização molecular de tumores, abrindo novas perspectivas para o diagnóstico e tratamento personalizado dessa doença. Futuros estudos são necessários para avaliar a eficácia e segurança dessa plataforma em estudos clínicos e sua implementação em larga escala.

Referências

- ALEGRET, S.; VALLE, M. DEL.; MERKOÇI, ARBEN.; UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. SERVEI DE PUBLICACIONS. SENSORES ELECTROQUÍMICOS : INTRODUCCIÓN A LOS QUIMIOSENSORES Y BIODENSORES : CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO. [S.L.] : UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA, 2004. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://BOOKS.GOOGLE.ES/BOOKS/ABOUT/SENSORES_ELECTROQUÍMICOS.HTML?ID=R39GOT4R0UGC&REDIR_ESC=Y](https://books.google.es/books/about/Sensores_electroquímicos.html?id=R39GOT4R0UGC&redir_esc=y)>. ACESSO EM: 12 DEZ. 2018.
- ALHADRAMI, H. A. BIODENSORS: CLASSIFICATIONS, MEDICAL APPLICATIONS, AND FUTURE PROSPECTIVE. BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOCHEMISTRY, UNITED STATES, V. 65, N. 3, P. 497–508, 2018.
- ALHAJJ, M.; FARHANA, A. ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY. [S.L.] : STATPEARLS PUBLISHING, 2021. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://WWW.NCBI.NLM.NIH.GOV/PUBMED/32310382](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32310382)>. ACESSO EM: 12 MAR. 2021.
- ALIMIRZAIE, S.; BAGHERZADEH, M.; AKBARI, M. R. LIQUID BIOPSY IN BREAST CANCER: A COMPREHENSIVE REVIEW. CLINICAL GENETICS, [S. L.], V. 95, N. 6, P. 643–660, 2019.
- ALMAGRO, J. C.; PEDRAZA-ESCALONA, M.; ARRIETA, H. I.; PÉREZ-TAPIA, S. M. PHAGE DISPLAY LIBRARIES FOR ANTIBODY THERAPEUTIC DISCOVERY AND DEVELOPMENT. ANTIBODIES, [S. L.], V. 8, N. 3, P. 44, 2019.
- AL-MAHAYRI, Z. N.; PATRINOS, G. P.; ALI, B. R. TOXICITY AND PHARMACOGENOMIC BIOMARKERS IN BREAST CANCER CHEMOTHERAPY. FRONTIERS IN PHARMACOLOGY, [S. L.], V. 11, P. 445, 2020.
- ALMEIDA, G.; JAPOLLA, G.; CAMPOS, I.; BATAUS, L. A.; SOUZA, G. PHAGE DISPLAY E SUA APLICAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA. ENCICLOPEDIA BIOSFERA, [S. L.], V. 11, N. 22, 2015.
- ANAND, T.; VIRMANI, N.; BERA, B. C.; VAID, R. K.; VASHISTH, M.; BARDAJATYA, P.; KUMAR, A.; TRIPATHI, B. N. PHAGE DISPLAY TECHNIQUE AS A TOOL FOR DIAGNOSIS AND ANTIBODY SELECTION FOR CORONAVIRUSES. CURRENT MICROBIOLOGY, [S. L.], 2021. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://DOI.ORG/10.1007/S00284-021-02398-9](https://doi.org/10.1007/s00284-021-02398-9)>
- BARBAS, C. F.; BURTON, D. R.; SILVERMAN, G. J. PHAGE DISPLAY: A LABORATORY MANUAL. [S.L.] : COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, 2004. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://BOOKS.GOOGLE.COM.BR/BOOKS?ID=UCNAAY6pVAgC](https://books.google.com.br/books?id=UCNAAY6pVAgC)>
- BARDERAS, R.; BENITO-PEÑA, E. THE 2018 NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY: PHAGE DISPLAY OF PEPTIDES AND ANTIBODIES. ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY, [S. L.], V. 411, P. 2475–2479, 2019.
- BERNEDO-NAVARRO, R. A.; YANO, T. PHAGE DISPLAY AND SHIGA TOXIN NEUTRALIZERS. TOXICON, [S. L.], V. 113, P. 60–69, 2016.
- BHUSHAN, A.; GONSALVES, A.; MENON, J. U. CURRENT STATE OF BREAST CANCER

Referências

- DIAGNOSIS, TREATMENT, AND THERANOSTICS. PHARMACEUTICS, [S. L.], v. 13, n. 5, p. 723, 2021.
- BODER, E. T.; RAEESZADEH-SARMAZDEH, M.; PRICE, J. V. ENGINEERING ANTIBODIES BY YEAST DISPLAY. ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, [S. L.], v. 526, n. 2, p. 99–106, 2012.
- BORGES, L. S. MEDIDAS DE ACURÁCIA DIAGNÓSTICA NA PESQUISA CARDIOVASCULAR. INT J CARDIOVASC SCI, [S. L.], v. 29, n. 3, p. 218–222, 2016.
- BÖTTGER, V.; BÖTTGER, A. EPITOPE MAPPING USING PHAGE DISPLAY PEPTIDE LIBRARIES. EPITOPE MAPPING PROTOCOLS: SECOND EDITION, [S. L.], p. 181–201, 2009.
- BUERK, D. G. BIOSENSORS: THEORY AND APPLICATIONS. [S.L.] : CRC PRESS, 2014.
- BULUT, A.; TEMUR, B. Z.; KIRIMLI, C. E.; GOK, O.; BALCIOGLU, B. K.; OZTURK, H. U.; UYAR, N. Y.; KANLIDERE, Z.; KOCAGOZ, T.; CAN, O. A NOVEL PEPTIDE-BASED DETECTION OF SARS-CoV-2 ANTIBODIES. BIOMIMETICS, [S. L.], v. 8, n. 1, p. 89, 2023.
- BYSTRYAK, S.; SANTOCKYTE, R. INCREASED SENSITIVITY OF HIV-1 P24 ELISA USING A PHOTOCHEMICAL SIGNAL AMPLIFICATION SYSTEM. JOURNAL OF ACQUIRED IMMUNE DEFICIENCY SYNDROMES (1999), ALLIED INNOVATIVE SYSTEMS, HILLSBOROUGH, NJ (SANTOCKYTE IS NOW WITH BRISTOL-MYERS SQUIBB, PRINCETON, NJ), v. 70, n. 2, p. 109–114, 2015.
- CHEN, C.; WANG, J. OPTICAL BIOSENSORS: AN EXHAUSTIVE AND COMPREHENSIVE REVIEW. ANALYST, [S. L.], v. 145, n. 5, p. 1605–1628, 2020.
- COSNIER, S. BIOSENSORS BASED ON ELECTROPOLYMERIZED FILMS: NEW TRENDS. ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY, [S. L.], v. 377, n. 3, p. 507–520, 2003.
- COSNIER, S.; HOLZINGER, M. BIOSENSORS BASED ON ELECTROPOLYMERIZED FILMS. EM: ELECTROPOLYMERIZATION. [S.L: S.N.]. P. 189–213.
- CRAPNELL, R. D.; DEMPSEY-HIBBERT, N. C.; PEETERS, M.; TRIDENTE, A.; BANKS, C. E. MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER BASED ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS: OVERCOMING THE CHALLENGES OF DETECTING VITAL BIOMARKERS AND SPEEDING UP DIAGNOSIS. TALANTA OPEN, [S. L.], v. 2, p. 100018, 2020.
- CRONIN, K. A.; HARLAN, L. C.; DODD, K. W.; ABRAMS, J. S.; BALLARD-BARBASH, R. POPULATION-BASED ESTIMATE OF THE PREVALENCE OF HER-2 POSITIVE BREAST CANCER TUMORS FOR EARLY STAGE PATIENTS IN THE US. CANCER INVESTIGATION, [S. L.], v. 28, n. 9, p. 963–968, 2010.
- DALBY, P. A. ENGINEERING ENZYMES FOR BIOCATALYSIS. RECENT PATENTS ON BIOTECHNOLOGY, [S. L.], v. 1, n. 1, p. 1–9, 2007.
- DU, Y.; DONG, S. NUCLEIC ACID BIOSENSORS: RECENT ADVANCES AND PERSPECTIVES. ANALYTICAL CHEMISTRY, UNITED STATES, v. 89, n. 1, p. 189–215, 2017.
- EROLES, P.; BOSCH, A.; PÉREZ-FIDALGO, J. A.; LLUCH, A. MOLECULAR BIOLOGY IN BREAST CANCER: INTRINSIC SUBTYPES AND SIGNALING PATHWAYS. CANCER TREATMENT REVIEWS, NETHERLANDS, v. 38, n. 6, p. 698–707, 2012.

Referências

- ESCOBAR, V.; SCARAMOZZINO, N.; VIDIC, J.; BUHOT, A.; MATHEY, R.; CHAIX, C.; HOU, Y. RECENT ADVANCES ON PEPTIDE-BASED BIOSENSORS AND ELECTRONIC NOSES FOR FOODBORNE PATHOGEN DETECTION. *BIOSENSORS*, [S. L.], v. 13, n. 2, p. 258, 2023.
- FINLAY, W. J. J.; BLOOM, L.; GRANT, J.; FRANKLIN, E.; SHÚILLEABHÁIN, D. N.; CUNNINGHAM, O. PHAGE DISPLAY: A POWERFUL TECHNOLOGY FOR THE GENERATION OF HIGH-SPECIFICITY AFFINITY REAGENTS FROM ALTERNATIVE IMMUNE SOURCES. *PROTEIN CHROMATOGRAPHY: METHODS AND PROTOCOLS*, [S. L.], p. 85–99, 2017.
- FRENZEL, A.; SCHIRRMANN, T.; HUST, M. PHAGE DISPLAY-DERIVED HUMAN ANTIBODIES IN CLINICAL DEVELOPMENT AND THERAPY. EM: MABS 2016, ANAIS... : TAYLOR & FRANCIS, 2016.
- FU, Z.; LU, Y.-C.; LAI, J. J. RECENT ADVANCES IN BIOSENSORS FOR NUCLEIC ACID AND EXOSOME DETECTION. *CHONNAM MEDICAL JOURNAL*, [S. L.], v. 55, n. 2, p. 86–98, 2019.
- GAO, J. J.; SWAIN, S. M. LUMINAL A BREAST CANCER AND MOLECULAR ASSAYS: A REVIEW. *THE ONCOLOGIST*, [S. L.], v. 23, n. 5, p. 556–565, 2018.
- GEYER, F. C.; PAREJA, F.; WEIGELT, B.; RAKHA, E.; ELLIS, I. O.; SCHNITT, S. J.; REIS-FILHO, J. S. THE SPECTRUM OF TRIPLE-NEGATIVE BREAST DISEASE: HIGH-AND LOW-GRADE LESIONS. *THE AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY*, [S. L.], v. 187, n. 10, p. 2139–2151, 2017.
- GOBBINI, E.; EZZALFANI, M.; DIERAS, V.; BACHELOT, T.; BRAIN, E.; DEBLED, M.; JACOT, W.; MOURET-REYNIER, M. A.; GONCALVES, A.; DALENC, F. TIME TRENDS OF OVERALL SURVIVAL AMONG METASTATIC BREAST CANCER PATIENTS IN THE REAL-LIFE ESME COHORT. *EUROPEAN JOURNAL OF CANCER*, [S. L.], v. 96, p. 17–24, 2018.
- GOLDHIRSCH, A.; WINER, E. P.; COATES, A.; GELBER, R.; PICCART-GEHBART, M.; THÜRLIMANN, B.; SENN, H.-J.; ALBAIN, K. S.; ANDRÉ, F.; BERGH, J. PERSONALIZING THE TREATMENT OF WOMEN WITH EARLY BREAST CANCER: HIGHLIGHTS OF THE ST GALLEN INTERNATIONAL EXPERT CONSENSUS ON THE PRIMARY THERAPY OF EARLY BREAST CANCER 2013. *ANNALS OF ONCOLOGY*, [S. L.], v. 24, n. 9, p. 2206–2223, 2013.
- GOLUBNITSCHAJA, O.; DEBALD, M.; YEGHIAZARYAN, K.; KUHN, W.; PEŠTA, M.; COSTIGLIOLA, V.; GRECH, G. BREAST CANCER EPIDEMIC IN THE EARLY TWENTY-FIRST CENTURY: EVALUATION OF RISK FACTORS, CUMULATIVE QUESTIONNAIRES AND RECOMMENDATIONS FOR PREVENTIVE MEASURES. *TUMOR BIOLOGY*, [S. L.], v. 37, n. 10, p. 12941–12957, 2016.
- GOMES, M.; FLECK, A.; DEGAUGUE, A.; GOURMELON, F.; LÉGER, C.; AUMONT-NICAISE, M.; MESNEAU, A.; JEAN-JACQUES, H.; HASSAINE, G.; URVOAS, A. DESIGN OF AN ARTIFICIAL PHAGE-DISPLAY LIBRARY BASED ON A NEW SCAFFOLD IMPROVED FOR AVERAGE STABILITY OF THE RANDOMIZED PROTEINS. *SCIENTIFIC REPORTS*, [S. L.], v. 13, n. 1, p. 1339, 2023.
- GONCALVES, A.; FINETTI, P.; BIRNBAUM, D.; BERTUCCI, F. THE CINSARC SIGNATURE PREDICTS THE CLINICAL OUTCOME IN PATIENTS WITH LUMINAL B BREAST CANCER. *NPJ BREAST CANCER*, [S. L.], v. 7, n. 1, p. 48, 2021.
- GRIFFITHS, A. J. F. W., S.R.; LEWONTIN, R.C.; CARROL, S. B. INTRODUÇÃO À GENÉTICA. [S.L: S.N.].

Referências

- GUI, Q.; LAWSON, T.; SHAN, S.; YAN, L.; LIU, Y. THE APPLICATION OF WHOLE CELL-BASED BIOSENSORS FOR USE IN ENVIRONMENTAL ANALYSIS AND IN MEDICAL DIAGNOSTICS. *SENSORS*, [S. L.], v. 17, n. 7, p. 1623, 2017.
- GULIY, O. I.; EVSTIGNEEVA, S. S.; DYKMAN, L. A. RECOMBINANT ANTIBODIES BY PHAGE DISPLAY FOR BIOANALYTICAL APPLICATIONS. *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS*, [S. L.], p. 114909, 2022.
- GURUNG, S.; PEROCHÉAU, D.; TOURAMANIDOU, L.; BARUTEAU, J. THE EXOSOME JOURNEY: FROM BIOGENESIS TO UPTAKE AND INTRACELLULAR SIGNALLING. *CELL COMMUNICATION AND SIGNALING*, [S. L.], v. 19, n. 1, p. 47, 2021.
- HAMMERS, C. M.; STANLEY, J. R. ANTIBODY PHAGE DISPLAY: TECHNIQUE AND APPLICATIONS. *THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY*, [S. L.], v. 134, n. 2, p. E17, 2014.
- HAN, Q.-F.; LI, W.-J.; HU, K.-S.; GAO, J.; ZHAI, W.-L.; YANG, J.-H.; ZHANG, S.-J. EXOSOME BIOGENESIS: MACHINERY, REGULATION, AND THERAPEUTIC IMPLICATIONS IN CANCER. *MOLECULAR CANCER*, [S. L.], v. 21, n. 1, p. 1–26, 2022.
- HARPER, A.; ANDERSON, M. R. ELECTROCHEMICAL GLUCOSE SENSORS—DEVELOPMENTS USING ELECTROSTATIC ASSEMBLY AND CARBON NANOTUBES FOR BIOSENSOR CONSTRUCTION. *SENSORS*, [S. L.], v. 10, n. 9, p. 8248–8274, 2010.
- HEIDRICH, I.; AČKAR, L.; MOSSAHEBI MOHAMMADI, P.; PANTEL, K. LIQUID BIOPSIES: POTENTIAL AND CHALLENGES. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER*, [S. L.], v. 148, n. 3, p. 528–545, 2021.
- HEINIS, C. COMBINING BIOLOGICAL AND CHEMICAL DIVERSITY. *NATURE CHEMISTRY*, [S. L.], v. 13, n. 6, p. 512–513, 2021.
- INCA. CÂNCER DE MAMA — INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. 2023. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.GOV.BR/INCA/PT-BR/ASSUNTOS/CANCER/TIPOS/MAMA](https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/mama)>. ACESSO EM: 29 MAR. 2023.
- JIN, X.; XIA, T.; LUO, S.; ZHANG, Y.; XIA, Y.; YIN, H. EXOSOMAL LIPID PI4P REGULATES SMALL EXTRACELLULAR VESICLE SECRETION BY MODULATING INTRALUMINAL VESICLE FORMATION. *JOURNAL OF EXTRACELLULAR VESICLES*, [S. L.], v. 12, n. 4, p. 12319, 2023.
- KARIMZADEH, A.; HASANZADEH, M.; SHADJOU, N.; GUARDIA, M. DE LA. PEPTIDE BASED BIOSENSORS. *TRAC TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 107, p. 1–20, 2018.
- KEHOE, J. W.; KAY, B. K. FILAMENTOUS PHAGE DISPLAY IN THE NEW MILLENNIUM. *CHEMICAL REVIEWS*, UNITED STATES, v. 105, n. 11, p. 4056–4072, 2005.
- KENNECKE, H.; YERUSHALMI, R.; WOODS, R.; CHEANG, M. C. U.; VODUC, D.; SPEERS, C. H.; NIELSEN, T. O.; GELMON, K. METASTATIC BEHAVIOR OF BREAST CANCER SUBTYPES. *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY*, UNITED STATES, v. 28, n. 20, p. 3271–3277, 2010.
- KIM, E. R.; JOE, C.; MITCHELL, R. J.; GU, M. B. BIOSENSORS FOR HEALTHCARE: CURRENT AND FUTURE PERSPECTIVES. *TRENDS IN BIOTECHNOLOGY*, [S. L.], 2022.

Referências

- KONG, H.; YANG, G.; HE, P.; ZHU, D.; LUAN, X.; XU, Y.; MU, R.; WEI, G. SELF-ASSEMBLY OF BIOINSPIRED PEPTIDES FOR BIOMIMETIC SYNTHESIS OF ADVANCED PEPTIDE-BASED NANOMATERIALS: A MINI-REVIEW. *NANO FUTURES*, [S. L.], 2023.
- KONG, X.-D.; CARLE, V.; DÍAZ-PERLAS, C.; BUTLER, K.; HEINIS, C. GENERATION OF A LARGE PEPTIDE PHAGE DISPLAY LIBRARY BY SELF-LIGATION OF WHOLE-PLASMID PCR PRODUCT. *ACS CHEMICAL BIOLOGY*, [S. L.], v. 15, n. 11, p. 2907–2915, 2020.
- KÖPKE, M. M.; AKTAS, B.; DITSCH, N. RECOMMENDATIONS FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PATIENTS WITH EARLY BREAST CANCER: UPDATE 2023. *CURRENT OPINION IN OBSTETRICS AND GYNECOLOGY*, [S. L.], v. 35, n. 1, p. 67–72, 2023. A.
- KÖPKE, M. M.; AKTAS, B.; DITSCH, N. RECOMMENDATIONS FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PATIENTS WITH EARLY BREAST CANCER: UPDATE 2023. *CURRENT OPINION IN OBSTETRICS AND GYNECOLOGY*, [S. L.], v. 35, n. 1, p. 67–72, 2023. B.
- KUDDUS, M. ENZYMES IN FOOD BIOTECHNOLOGY: PRODUCTION, APPLICATIONS, AND FUTURE PROSPECTS. [S. L.], 2018.
- KULABHUSAN, P. K.; RAJWADE, J. M.; SAHUL HAMEED, A. S.; PAKNIKAR, K. M. LATERAL FLOW ASSAY FOR RAPID DETECTION OF WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) USING A PHAGE-DISPLAYED PEPTIDE AS BIO-RECOGNITION PROBE. *APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY*, [S. L.], v. 101, n. 11, p. 4459–4469, 2017.
- KUMAR, A. M.; KACHHAWA, K. BIOMEDICAL APPLICATIONS OF BIOELECTROCHEMICAL SENSORS. EM: MULTIFACETED BIO-SENSING TECHNOLOGY. [S.L.] : ELSEVIER, 2023. P. 239–260.
- LEDSCGAARD, L.; LJUNGARS, A.; RIMBAULT, C.; SØRENSEN, C. V.; TULIKA, T.; WADE, J.; WOUTERS, Y.; MCCAFFERTY, J.; LAUSTSEN, A. H. ADVANCES IN ANTIBODY PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY. *DRUG DISCOVERY TODAY*, [S. L.], 2022.
- LEEFLANG, M.; ALLERBERGER, F. HOW TO: EVALUATE A DIAGNOSTIC TEST. *CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION*, [S. L.], v. 25, n. 1, p. 54–59, 2019.
- LI, C.; TEIXEIRA, A. F.; ZHU, H.-J.; TEN DIJKE, P. CANCER ASSOCIATED-FIBROBLAST-DERIVED EXOSOMES IN CANCER PROGRESSION. *MOLECULAR CANCER*, [S. L.], v. 20, n. 1, p. 154, 2021.
- LI, Y.; MA, L. EFFICACY OF CHEMOTHERAPY FOR LYMPH NODE-POSITIVE LUMINAL A SUBTYPE BREAST CANCER PATIENTS: AN UPDATED META-ANALYSIS. *WORLD JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY*, [S. L.], v. 18, n. 1, p. 316, 2020.
- LIU, G.; LIN, Y. BIOSENSOR BASED ON SELF-ASSEMBLING ACETYLCHOLINESTERASE ON CARBON NANOTUBES FOR FLOW INJECTION/AMPEROMETRIC DETECTION OF ORGANOPHOSPHATE PESTICIDES AND NERVE AGENTS. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 78, n. 3, p. 835–843, 2006.
- LOPES, B.; RAMOS, I. C. DE O.; RIBEIRO, G.; CORREA, R.; VALBON, B. DE F.; LUZ, A. C. DA; SALOMÃ\POUNDSO, M.; LYRA, J. M.; AMBRÃ\TEXTTHREESUPERIORSIO JUNIOR, R. BIOESTATÍSTICAS: CONCEITOS FUNDAMENTAIS E APLICAÇÕES PRÁTICAS. *REVISTA BRASILEIRA DE OFTALMOLOGIA*, [S. L.], v. 73, p. 16–22, 2014.

Referências

- MAIA, A.-T.; SAMMUT, S.-J.; JACINTA-FERNANDES, A.; CHIN, S.-F. BIG DATA IN CANCER GENOMICS. *CURRENT OPINION IN SYSTEMS BIOLOGY*, [S. L.], v. 4, p. 78–84, 2017.
- MALHOTRA, B. D. BIOSENSORS: FUNDAMENTALS AND APPLICATIONS. [S.L.] : SMITHERS RAPRA, 2017.
- MANOOCHEHRI, M.; BORHANI, N.; GERHÄUSER, C.; ASSENOV, Y.; SCHÖNUNG, M.; HIELSCHER, T.; CHRISTENSEN, B. C.; LEE, M. K.; GRÖNE, H.; LIPKA, D. B. DNA METHYLATION BIOMARKERS FOR NONINVASIVE DETECTION OF TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER USING LIQUID BIOPSY. *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER*, [S. L.], v. 152, n. 5, p. 1025–1035, 2023.
- MARTINEZ, E. Z. MÉTODOS ESTATÍSTICOS PARA ESTUDOS DE DESEMPENHO DE TESTES DIAGNÓSTICOS. 2001. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM ESTATÍSTICA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, [S. L.], 2001.
- MARTÍNEZ-SÁEZ, O.; PRAT, A. CURRENT AND FUTURE MANAGEMENT OF HER2-POSITIVE METASTATIC BREAST CANCER. *JCO ONCOLOGY PRACTICE*, [S. L.], v. 17, n. 10, p. 594–604, 2021.
- MARTINS, I. M.; REIS, R. L.; AZEVEDO, H. S. PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY IN BIOMATERIALS ENGINEERING: PROGRESS AND OPPORTUNITIES FOR APPLICATIONS IN REGENERATIVE MEDICINE. *ACS CHEMICAL BIOLOGY*, [S. L.], v. 11, n. 11, p. 2962–2980, 2016.
- MATA CALIDONIO, J.; GOMEZ-MARQUEZ, J.; HAMAD-SCHIFFERLI, K. NANOMATERIAL AND INTERFACE ADVANCES IN IMMUNOASSAY BIOSENSORS. *THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY C*, [S. L.], v. 126, n. 42, p. 17804–17815, 2022.
- MAURYA, P. K.; SINGH, S. NANOTECHNOLOGY IN MODERN ANIMAL BIOTECHNOLOGY ELSEVIER, , 2019.
- MIMMI, S.; MAISANO, D.; QUINTO, I.; IACCINO, E. PHAGE DISPLAY: AN OVERVIEW IN CONTEXT TO DRUG DISCOVERY. *TRENDS IN PHARMACOLOGICAL SCIENCES*, [S. L.], v. 40, n. 2, p. 87–91, 2019.
- MOREIRA, G. M. S. G.; GRONOW, S.; DÜBEL, S.; MENDONÇA, M.; MOREIRA, Â. N.; CONCEIÇÃO, F. R.; HUST, M. PHAGE DISPLAY-DERIVED MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST INTERNALINS A AND B ALLOW SPECIFIC DETECTION OF LISTERIA MONOCYTOGENES. *FRONTIERS IN PUBLIC HEALTH*, [S. L.], v. 10, p. 449, 2022.
- NARESH, V.; LEE, N. A REVIEW ON BIOSENSORS AND RECENT DEVELOPMENT OF NANOSTRUCTURED MATERIALS-ENABLED BIOSENSORS. *SENSORS*, [S. L.], v. 21, n. 4, p. 1109, 2021.
- NASCIMENTO, F.; PITTA, M.; RÉGO, M. ANÁLISE DOS PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE CÂNCER DE MAMA COMO PROPULSORES NO PROCESSO INOVATIVO. *ARQUIVOS DE MEDICINA*, [S. L.], v. 29, p. 153–159, 2015.
- OMIDFAR, K.; DANESHPOUR, M. ADVANCES IN PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY FOR DRUG DISCOVERY. *EXPERT OPINION ON DRUG DISCOVERY*, [S. L.], v. 10, n. 6, p. 651–669, 2015.
- ONCOMED, 2019. CÂNCER DE MAMA - ONCOMED. 2019. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://ONCOMEDBH.COM.BR/TIPO-DE-CANCER/MAMA/](http://oncomedbh.com.br/tipo-de-cancer/mama/)>. ACESSO EM: 3 ABR. 2019.

Referências

- PANDE, J.; SZEWCZYK, M. M.; GROVER, A. K. PHAGE DISPLAY: CONCEPT, INNOVATIONS, APPLICATIONS AND FUTURE. *BIOTECHNOLOGY ADVANCES*, [S. L.], v. 28, n. 6, p. 849–858, 2010.
- PARK, M. SURFACE DISPLAY TECHNOLOGY FOR BIOSENSOR APPLICATIONS: A REVIEW. *SENSORS*, [S. L.], v. 20, n. 10, 2020. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.MDPI.COM/1424-8220/20/10/2775](https://www.mdpi.com/1424-8220/20/10/2775)>
- PILETSKY, S. A.; TURNER, N. W.; LAITENBERGER, P. MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS IN CLINICAL DIAGNOSTICS—FUTURE POTENTIAL AND EXISTING PROBLEMS. *MEDICAL ENGINEERING & PHYSICS*, [S. L.], v. 28, n. 10, p. 971–977, 2006.
- PIÑEIRO-PÉREZ, R.; ABAL, M.; MUINELO-ROMAY, L. LIQUID BIOPSY FOR MONITORING EC PATIENTS: TOWARDS PERSONALIZED TREATMENT. *CANCERS*, [S. L.], v. 14, n. 6, p. 1405, 2022.
- POLAT, E. O.; CETIN, M. M.; TABAK, A. F.; BILGET GÜVEN, E.; UYSAL, B. Ö.; ARSAN, T.; KABBANI, A.; HAMED, H.; GÜL, S. B. TRANSDUCER TECHNOLOGIES FOR BIOSENSORS AND THEIR WEARABLE APPLICATIONS. *BIOSENSORS*, [S. L.], v. 12, n. 6, p. 385, 2022.
- POULET, G.; MASSIAS, J.; TALY, V. LIQUID BIOPSY: GENERAL CONCEPTS. *ACTA CYTOLOGICA*, [S. L.], v. 63, n. 6, p. 449–455, 2019.
- PRAT, A.; CHEANG, M. C. U.; MARTÍN, M.; PARKER, J. S.; CARRASCO, E.; CABALLERO, R.; TYLDESLEY, S.; GELMON, K.; BERNARD, P. S.; NIELSEN, T. O. PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PROGESTERONE RECEPTOR–POSITIVE TUMOR CELLS WITHIN IMMUNOHISTOCHEMICALLY DEFINED LUMINAL A BREAST CANCER. *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*, [S. L.], v. 31, n. 2, p. 203, 2013.
- PRIZE ANNOUNCEMENT - NOBELPRIZE.ORG. [S. L.], [S.D.]. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.NOBELPRIZE.ORG/PRIZES/CHEMISTRY/2000/PRIZE-ANNOUNCEMENT/](https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2000/prize-announcement/)>
- PROVENZANO, E.; ULANER, G. A.; CHIN, S.-F. MOLECULAR CLASSIFICATION OF BREAST CANCER. *PET CLINICS*, [S. L.], v. 13, n. 3, p. 325–338, 2018.
- PRUDENCIO, C. R. UTILIZAÇÃO DO “PHAGE DISPLAY” PARA A IDENTIFICAÇÃO DE PEPTÍDEOS RECONHECIDOS POR IMUNOGLOBULINAS Y POLICLONAIS ANTI-PROTEÍNAS TOTAIS DE LARVAS DO BOOPHILUS MICROPLUS. [S. L.], 2004.
- RAHBARNIA, L.; FARAJNIA, S.; BABAEI, H.; MAJIDI, J.; VEISI, K.; AHMADZADEH, V.; AKBARI, B. EVOLUTION OF PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY: FROM DISCOVERY TO APPLICATION. *JOURNAL OF DRUG TARGETING*, [S. L.], v. 25, n. 3, p. 216–224, 2017.
- RAKHA, E. A.; REIS-FILHO, J. S.; BAEHNER, F.; DABBS, D. J.; DECKER, T.; EUSEBI, V.; FOX, S. B.; ICHIHARA, S.; JACQUEMIER, J.; LAKHANI, S. R. BREAST CANCER PROGNOSTIC CLASSIFICATION IN THE MOLECULAR ERA: THE ROLE OF HISTOLOGICAL GRADE. *BREAST CANCER RESEARCH*, [S. L.], v. 12, n. 4, p. 1–12, 2010.
- RAKONJAC, J.; RUSSEL, M.; KHANUM, S.; BROOKE, S. J.; RAJIČ, M. FILAMENTOUS PHAGE: STRUCTURE AND BIOLOGY. *RECOMBINANT ANTIBODIES FOR INFECTIOUS DISEASES*, [S. L.], p. 1–20, 2017.
- RAZA, T.; QU, L.; KHOKHAR, W. A.; ANDREWS, B.; ALI, A.; TIAN, M. PROGRESS OF

Referências

- WEARABLE AND FLEXIBLE ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS WITH THE AID OF CONDUCTIVE NANOMATERIALS. *FRONTIERS IN BIOENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY*, [S. L.], v. 9, 2021. DISPONÍVEL EM:
<[HTTPS://WWW.FRONTIERSIN.ORG/ARTICLES/10.3389/FBIOE.2021.761020](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.761020)>
- RIDHUAN, N. S.; ABDUL RAZAK, K.; LOCKMAN, Z. FABRICATION AND CHARACTERIZATION OF GLUCOSE BIOSENSORS BY USING HYDROTHERMALLY GROWN ZNO NANORODS. *SCIENTIFIC REPORTS*, [S. L.], v. 8, n. 1, p. 13722, 2018.
- RUSSEL, M.; LOWMAN, H. B.; CLACKSON, T. INTRODUCTION TO PHAGE BIOLOGY AND PHAGE DISPLAY. *PHAGE DISPLAY: A PRACTICAL APPROACH*, [S. L.], p. 1–26, 2004.
- SADANI, K.; NAG, P.; THIAN, X. Y.; MUKHERJI, S. ENZYMATIC OPTICAL BIOSENSORS FOR HEALTHCARE APPLICATIONS. *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS: X*, [S. L.], v. 12, p. 100278, 2022.
- SADASIVAM, S.; MANICKAM, A. *BIOCHEMICAL METHODS*. [S.L.] : NEW AGE INTERNATIONAL, 1996. DISPONÍVEL EM:
<[HTTPS://BOOKS.GOOGLE.ES/BOOKS/ABOUT/BIOCHEMICAL_METHODS.HTML?ID=JUWBG_D1MIC&REDIR_ESC=Y](https://books.google.es/books/about/BIOCHEMICAL_METHODS.HTML?ID=JUWBG_D1MIC&REDIR_ESC=Y)>. ACESSO EM: 12 DEZ. 2018.
- SASSOLAS, A.; BLUM, L. J.; LECA-BOUVIER, B. D. IMMOBILIZATION STRATEGIES TO DEVELOP ENZYMATIC BIOSENSORS. *BIOTECHNOLOGY ADVANCES*, [S. L.], v. 30, n. 3, p. 489–511, 2012.
- SCHIRRMANN, T.; MEYER, T.; SCHÜTTE, M.; FRENZEL, A.; HUST, M. PHAGE DISPLAY FOR THE GENERATION OF ANTIBODIES FOR PROTEOME RESEARCH, DIAGNOSTICS AND THERAPY. *MOLECULES*, [S. L.], v. 16, n. 1, p. 412–426, 2011.
- SCHMID, P.; CORTES, J.; PUSZTAI, L.; MCARTHUR, H.; KÜMMEL, S.; BERGH, J.; DENKERT, C.; PARK, Y. H.; HUI, R.; HARBECK, N. PEMBROLIZUMAB FOR EARLY TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER. *NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE*, [S. L.], v. 382, n. 9, p. 810–821, 2020.
- SILVA, A. D. G. IDENTIFICAÇÃO DE PEPTÍDEOS LIGANTES A PROTEÍNAS DE CÉLULAS TUMORAIS MAMÁRIAS. 2017. UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, [S. L.], 2017.
- SLAMON, D. J.; LEYLAND-JONES, B.; SHAK, S.; FUCHS, H.; PATON, V.; BAJAMONDE, A.; FLEMING, T.; EIERMANN, W.; WOLTER, J.; PEGRAM, M. USE OF CHEMOTHERAPY PLUS A MONOCLONAL ANTIBODY AGAINST HER2 FOR METASTATIC BREAST CANCER THAT OVEREXPRESSES HER2. *NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE*, [S. L.], v. 344, n. 11, p. 783–792, 2001.
- SMITH, G. P. FILAMENTOUS FUSION PHAGE: NOVEL EXPRESSION VECTORS THAT DISPLAY CLONED ANTIGENS ON THE VIRION SURFACE. *SCIENCE*, [S. L.], v. 228, n. 4705, p. 1315–1317, 1985.
- SOKULLU, E.; GAUTHIER, M.-S.; COULOMBE, B. DISCOVERY OF ANTIVIRALS USING PHAGE DISPLAY. *VIRUSES*, [S. L.], v. 13, n. 6, p. 1120, 2021.
- SONG, M.; LIN, X.; PENG, Z.; XU, S.; JIN, L.; ZHENG, X.; LUO, H. MATERIALS AND METHODS OF BIOSENSOR INTERFACES WITH STABILITY. *FRONTIERS IN MATERIALS*, [S. L.], v. 7, p. 583739, 2021.

Referências

SØRLIE, T.; PEROU, C. M.; TIBSHIRANI, R.; AAS, T.; GEISLER, S.; JOHNSEN, H.; HASTIE, T.; EISEN, M. B.; VAN DE RIJN, M.; JEFFREY, S. S.; THORSEN, T.; QUIST, H.; MATESE, J. C.; BROWN, P. O.; BOTSTEIN, D.; LØNNING, P. E.; BØRRESEN-DALE, A. L. GENE EXPRESSION PATTERNS OF BREAST CARCINOMAS DISTINGUISH TUMOR SUBCLASSES WITH CLINICAL IMPLICATIONS. PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, [S. L.], v. 98, n. 19, p. 10869–10874, 2001.

STENMARK TULLBERG, A.; LUNDSTEDT, D.; OLOFSSON BAGGE, R.; KARLSSON, P. POSITIVE SENTINEL NODE IN LUMINAL A-LIKE BREAST CANCER PATIENTS-IMPLICATIONS FOR ADJUVANT CHEMOTHERAPY? ACTA ONCOLOGICA, [S. L.], v. 58, n. 2, p. 162–167, 2019.

STERGIOPOULOU, D.; MARKOU, A.; STRATI, A.; ZAVRIDOU, M.; TZANIKOU, E.; MASTORAKI, S.; KALLERGI, G.; GEORGOULIAS, V.; LIANIDOU, E. COMPREHENSIVE LIQUID BIOPSY ANALYSIS AS A TOOL FOR THE EARLY DETECTION OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN BREAST CANCER. SCIENTIFIC REPORTS, [S. L.], v. 13, n. 1, p. 1258, 2023.

SUN, L.; CHEN, Y.; CHEN, F.; MA, F. PEPTIDE-BASED ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR MATRIX METALLOPROTEINASE-14 AND PROTEIN-OVEREXPRESSING CANCER CELLS BASED ON ANALYTE-INDUCED CLEAVAGE OF PEPTIDE. MICROCHEMICAL JOURNAL, [S. L.], v. 157, p. 105103, 2020.

THÉRY, C.; ZITVOGEL, L.; AMIGORENA, S. EXOSOMES: COMPOSITION, BIOGENESIS AND FUNCTION. NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY, [S. L.], v. 2, n. 8, p. 569–579, 2002.

THÉVENOT, D. R.; TOTH, K.; DURST, R. A.; WILSON, G. S. ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS: RECOMMENDED DEFINITIONS AND CLASSIFICATION. ANALYTICAL LETTERS, [S. L.], v. 34, n. 5, p. 635–659, 2001.

TURNER, A. P. F. BIOSENSORS: SENSE AND SENSIBILITY. CHEMICAL SOCIETY REVIEWS, [S. L.], v. 42, n. 8, p. 3184–3196, 2013.

TUTT, A. N.; GARBER, J. E.; KAUFMAN, B.; VIALE, G.; FUMAGALLI, D.; RASTOGI, P.; GELBER, R. D.; DE AZAMBUJA, E.; FIELDING, A.; BALMAÑA, J. ADJUVANT OLAPARIB FOR PATIENTS WITH BRCA1-OR BRCA2-MUTATED BREAST CANCER. NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, [S. L.], v. 384, n. 25, p. 2394–2405, 2021.

UCAR, A.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, E.; STADERINI, M.; AVLONITIS, N.; MURRAY, A. F.; BRADLEY, M.; MOUNT, A. R. MINIATURISATION OF A PEPTIDE-BASED ELECTROCHEMICAL PROTEASE ACTIVITY SENSOR USING PLATINUM MICROELECTRODES. ANALYST, [S. L.], v. 145, n. 3, p. 975–982, 2020.

VAN WEZENBEEK, P. M. G. F.; HULSEBOS, T. J. M.; SCHOENMAKERS, J. G. G. NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE FILAMENTOUS BACTERIOPHAGE M13 DNA GENOME: COMPARISON WITH PHAGE FD. GENE, [S. L.], v. 11, n. 1, p. 129–148, 1980.

VANOVA, V.; MITREVSKA, K.; MILOSAVLJEVIC, V.; HYNEK, D.; RICHTERA, L.; ADAM, V. PEPTIDE-BASED ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS UTILIZED FOR PROTEIN DETECTION. BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS, [S. L.], v. 180, p. 113087, 2021.

VAZ, J. C. L. REGIÕES DE INCERTEZA PARA A CURVA ROC EM TESTES DIAGNÓSTICOS. [S. L.], 2009.

Referências

- VEZIROGLU, E. M.; MIAS, G. I. CHARACTERIZING EXTRACELLULAR VESICLES AND THEIR DIVERSE RNA CONTENTS. *FRONTIERS IN GENETICS*, [S. L.], v. 11, p. 700, 2020.
- VODNIK, M.; ZAGER, U.; STRUKELJ, B.; LUNDER, M. PHAGE DISPLAY: SELECTING STRAWS INSTEAD OF A NEEDLE FROM A HAYSTACK. *MOLECULES*, [S. L.], v. 16, n. 1, 2011.
- WANG, M.; LI, L.; ZHANG, L.; ZHAO, J.; JIANG, Z.; WANG, W. PEPTIDE-DERIVED BIOSENSORS AND THEIR APPLICATIONS IN TUMOR IMMUNOLOGY-RELATED DETECTION. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 94, n. 1, p. 431–441, 2022. A.
- WANG, X.; TIAN, L.; LU, J.; NG, I. O.-L. EXOSOMES AND CANCER - DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC BIOMARKERS AND THERAPEUTIC VEHICLE. *ONCOGENESIS*, [S. L.], v. 11, n. 1, p. 54, 2022. B.
- WANG, Y.; GAO, S.; LV, J.; LIN*, Y.; HAN, L. Z. AND L. PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY AND ITS APPLICATIONS IN CANCER IMMUNOTHERAPY. *ANTI-CANCER AGENTS IN MEDICINAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 19, n. 2, p. 229–235, 2019.
- WILLIAMS, R. M.; SOOTER, L. J. IN VITRO SELECTION OF CANCER CELL-SPECIFIC MOLECULAR RECOGNITION ELEMENTS FROM AMINO ACID LIBRARIES. *JOURNAL OF IMMUNOLOGY RESEARCH*, [S. L.], v. 2015, 2015.
- WU, C.-H.; LIU, I.-J.; LU, R.-M.; WU, H.-C. ADVANCEMENT AND APPLICATIONS OF PEPTIDE PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY IN BIOMEDICAL SCIENCE. *JOURNAL OF BIOMEDICAL SCIENCE*, [S. L.], v. 23, p. 8, 2016.
- XIE, B.; DANIELSSON, B. THERMAL BIOSENSOR AND MICROBIOSENSOR TECHNIQUES. EM: *HANDBOOK OF BIOSENSORS AND BIOCHIPS*. [S.L.: S.N.].
- XU, P.; GHOSH, S.; GUL, A. R.; BHAMORE, J. R.; PARK, J. P.; PARK, T. J. SCREENING OF SPECIFIC BINDING PEPTIDES USING PHAGE-DISPLAY TECHNIQUES AND THEIR BIOSENSING APPLICATIONS. *TRAC TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 137, p. 116229, 2021.
- YADAV, S.; SAINI, A.; DEVI, R.; LATA, S. TRANSDUCERS IN BIOSENSORS. EM: KUMAR, P.; DASH, S. K.; RAY, S.; PARWEEN, S. (Eds.). *BIOMATERIALS-BASED SENSORS: RECENT ADVANCES AND APPLICATIONS*. SINGAPORE: SPRINGER NATURE SINGAPORE, 2023. P. 101–125.
- YÁÑEZ-MÓ, M.; SILJANDER, P. R.-M.; ANDREU, Z.; BEDINA ZAVEC, A.; BORRÀS, F. E.; BUZAS, E. I.; BUZAS, K.; CASAL, E.; CAPPELLO, F.; CARVALHO, J. BIOLOGICAL PROPERTIES OF EXTRACELLULAR VESICLES AND THEIR PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS. *JOURNAL OF EXTRACELLULAR VESICLES*, [S. L.], v. 4, n. 1, p. 27066, 2015.
- ZAGAMI, P.; CAREY, L. A. TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER: PITFALLS AND PROGRESS. *NPJ BREAST CANCER*, [S. L.], v. 8, n. 1, p. 95, 2022.
- ZHAO, S.; WEN, H.; OU, Y.; LI, M.; WANG, L.; ZHOU, H.; DI, B.; YU, Z.; HU, C. A NEW DESIGN FOR LIVING CELL-BASED BIOSENSORS: MICROGELS WITH A SELECTIVELY PERMEABLE SHELL THAT CAN HARBOR BACTERIAL SPECIES. *SENSORS AND ACTUATORS B: CHEMICAL*, [S. L.], v. 334, p. 129648, 2021.
- ALVES, R. DA F.; DA SILVA, A. G.; FERREIRA, L. F.; FRANCO, D. L. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF A MATERIAL DERIVED FROM 4-MERCAPTobenzoic acid: A NOVEL

Referências

PLATFORM FOR OLIGONUCLEOTIDE IMMOBILIZATION. *TALANTA*, [S. L.], v. 165, n. DECEMBER 2016, p. 69–75, 2017.

CAPÍTULO II

ALVES, R. DA F.; FRANCO, D. L.; CORDEIRO, M. T.; DE OLIVEIRA, E. M.; FIREMAN DUTRA, R. A.; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, M. NOVEL ELECTROCHEMICAL GENOSENSOR FOR ZIKA VIRUS BASED ON A POLY-(3-AMINO-4-HYDROXYBENZOIC ACID)-MODIFIED PENCIL CARBON GRAPHITE ELECTRODE. *SENSORS AND ACTUATORS B: CHEMICAL*, [S. L.], v. 296, p. 126681, 2019.

AYDIN, E. B.; AYDIN, M.; SEZGINTÜRK, M. K. HIGHLY SENSITIVE ELECTROCHEMICAL IMMUNOSENSOR BASED ON POLYTHIOPHENE POLYMER WITH DENSELY POPULATED CARBOXYL GROUPS AS IMMOBILIZATION MATRIX FOR DETECTION OF INTERLEUKIN 1B IN HUMAN SERUM AND SALIVA. *SENSORS AND ACTUATORS B: CHEMICAL*, [S. L.], v. 270, p. 18–27, 2018.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. *ELECTROCHEMICAL METHODS: FUNDAMENTALS AND APPLICATIONS*, NEW YORK: WILEY, 2001, 2ND ED. *RUSSIAN JOURNAL OF ELECTROCHEMISTRY*, [S. L.], v. 38, n. 12, p. 1364–1365, 2002.

BENYOUCEF, A.; HUERTA, F.; FERRAHI, M. I.; MORALLON, E. VOLTAMMETRIC AND IN SITU FT-IRS STUDY OF THE ELECTROPOLYMERIZATION OF O-AMINO BENZOIC ACID AT GOLD AND GRAPHITE CARBON ELECTRODES: INFLUENCE OF PH ON THE ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF POLYMER FILMS. *JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY*, [S. L.], v. 624, n. 1, p. 245–250, 2008.

BOLLELLA, P.; BOEVA, Z.; LATONEN, R.-M.; KANO, K.; GORTON, L.; BOBACKA, J. HIGHLY SENSITIVE AND STABLE FRUCTOSE SELF-POWERED BIOSENSOR BASED ON A SELF-CHARGING BIOSUPERCAPACITOR. *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS*, [S. L.], v. 176, p. 112909, 2021.

BRADLEY, R. ET AL. TRASTUZUMAB FOR EARLY-STAGE, HER2-POSITIVE BREAST CANCER: A META-ANALYSIS OF 13 864 WOMEN IN SEVEN RANDOMISED TRIALS. *THE LANCET ONCOLOGY*, [S. L.], v. 22, n. 8, p. 1139–1150, 2021.

CHEMAXON. CHEMICALIZE - INSTANT CHEMINFORMATICS SOLUTIONS. 2020. DISPONÍVEL EM:

<[HTTPS://CHEMICALIZE.COM/APP/CALCULATION/NC1%3DCC\(CCC\(O\)%3DO\)%3DCC%3DC1%7CLP%3A0%3A1%2C7%3A2%2C8%3A2%7C](https://chemicalize.com/app/calculation/NC1%3DCC(CCC(O)%3DO)%3DCC%3DC1%7CLP%3A0%3A1%2C7%3A2%2C8%3A2%7C)>. ACESSO EM: 15 JUL. 2020.

CHEN, L.; KÄTELHÖN, E.; COMPTON, R. G. PARTICLE-MODIFIED ELECTRODES: GENERAL MASS TRANSPORT THEORY, EXPERIMENTAL VALIDATION, AND THE ROLE OF ELECTROSTATICS. *APPLIED MATERIALS TODAY*, [S. L.], v. 18, p. 100480, 2020.

CORDEIRO, T. A. R.; MARTINS, H. R.; FRANCO, D. L.; SANTOS, F. L. N.; CELEDON, P. A. F.; CANTUÁRIA, V. L.; DE LANA, M.; REIS, A. B.; FERREIRA, L. F. IMPEDIMETRIC IMMUNOSENSOR FOR RAPID AND SIMULTANEOUS DETECTION OF CHAGAS AND VISCERAL LEISHMANIASIS FOR POINT OF CARE DIAGNOSIS. *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS*, [S. L.], v. 169, p. 112573, 2020.

Referências

- DA FONSECA ALVES, R.; MARTINS, I. C.; FRANCO, D. L.; SILVA, A. DAS G.; DE SOUZA SANTOS, P.; GOULART, L. R.; CRISTINA DE PAIVA MAIA, Y.; FARIA SILVA, A. T.; GONÇALVES ARAÚJO, T.; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, M. A NOVEL PEPTIDE-BASED ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR BREAST CANCER CHARACTERIZATION OVER A POLY 3-(3-AMINOPHENYL) PROPIONIC ACID MATRIX. *BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS*, [S. L.], v. 205, p. 114081, 2022.
- DING, S.-J.; CHANG, B.-W.; WU, C.-C.; LAI, M.-F.; CHANG, H.-C. ELECTROCHEMICAL EVALUATION OF AVIDIN–BIOTIN INTERACTION ON SELF-ASSEMBLED GOLD ELECTRODES. *ELECTROCHIMICA ACTA*, [S. L.], v. 50, n. 18, p. 3660–3666, 2005.
- DONALD L. PAVIA, GARY M. LAMPMAN, GEORGE S. KRIZ, J. A. V. INTRODUCTION TO SPECTROSCOPY. [S.L: S.N.]. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://BOOKS.GOOGLE.COM.BR/BOOKS?ID=N-ZKAGAAQBAJ&PRINTSEC=FRONTCOVER&DQ=INTRODUCTION+TO+SPECTROSCOPY&HL=PT-BR&SA=X&VED=0AHUKEwi4NO7i3CROAhWxH7kGHSYABMMQ6AEINTAB#v=ONEPAGE&Q=INTRODUCTION+TO+SPECTROSCOPY&F=FALSE](https://books.google.com.br/books?id=N-ZKAGAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=introduction+to+spectroscopy&hl=pt-BR&sa=X&ved=0AHUKEwi4NO7i3CROAhWxH7kGHSYABMMQ6AEINTAB#v=onepage&q=introduction+to+spectroscopy&f=false)>. ACESSO EM: 2 ABR. 2020.
- EROLE, P.; BOSCH, A.; PÉREZ-FIDALGO, J. A.; LLUCH, A. MOLECULAR BIOLOGY IN BREAST CANCER: INTRINSIC SUBTYPES AND SIGNALING PATHWAYS. *CANCER TREATMENT REVIEWS*, NETHERLANDS, v. 38, n. 6, p. 698–707, 2012.
- ESCOBAR, V.; SCARAMOZZINO, N.; VIDIC, J.; BUHOT, A.; MATHEY, R.; CHAIX, C.; HOU, Y. RECENT ADVANCES ON PEPTIDE-BASED BIOSENSORS AND ELECTRONIC NOSES FOR FOODBORNE PATHOGEN DETECTION. *BIOSENSORS*, [S. L.], v. 13, n. 2, p. 258, 2023.
- FLAUZINO, J. M. R.; PERES, R. C. S.; ALVES, L. M.; VIEIRA, J. G.; DOS SANTOS, J. G.; BRITO-MADURRO, A. G.; MADURRO, J. M. DNA ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR DETECTION OF ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS UTILIZING HOECHST 33258 AS INDICATOR. *BIOELECTROCHEMISTRY*, [S. L.], v. 140, p. 107801, 2021.
- FUEYO-GONZÁLEZ, F.; HERRANZ, R.; PLESSELOVA, S.; GIRON, M. D.; SALTO, R.; PAREDES, J. M.; ORTE, A.; MORRIS, M. C.; GONZÁLEZ-VERA, J. A. QUINOLIMIDE-BASED PEPTIDE BIOSENSOR FOR PROBING P25 IN VITRO AND IN LIVING CELLS. *SENSORS AND ACTUATORS B: CHEMICAL*, [S. L.], v. 339, p. 129929, 2021.
- GALUS, Z. FUNDAMENTALS OF ELECTROCHEMICAL ANALYSIS. [S.L.] : HALSTED PRESS, 1976.
- GAO, J. J.; SWAIN, S. M. LUMINAL A BREAST CANCER AND MOLECULAR ASSAYS: A REVIEW. *THE ONCOLOGIST*, [S. L.], v. 23, n. 5, p. 556–565, 2018.
- HARBECK, N.; PENAULT-LLORCA, F.; CORTES, J.; GNANT, M.; HOUSSAMI, N.; POORTMANS, P.; RUDDY, K.; TSANG, J.; CARDOSO, F. BREAST CANCER. *NATURE REVIEWS DISEASE PRIMERS*, [S. L.], v. 5, n. 1, p. 66, 2019.
- HEALY, D. A.; HAYES, C. J.; LEONARD, P.; MCKENNA, L.; O'KENNEDY, R. BIOSENSOR DEVELOPMENTS: APPLICATION TO PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN DETECTION. *TRENDS IN BIOTECHNOLOGY*, [S. L.], v. 25, n. 3, p. 125–131, 2007.
- IARC. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. CANCER TODAY. 2020. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.IARC.WHO.INT/CANCER-TYPE/BREAST-CANCER/](https://www.iarc.who.int/cancer-type/breast-cancer/)>.

Referências

ACESSO EM: 26 MAR. 2023.

INCA, 2021. TIPOS DE CÂNCER | INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. 2022.

DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.GOV.BR/INCA/PT-BR/ASSUNTOS/CANCER/O-QUE-E-CANCER](https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer)>. ACESSO EM: 26 MAR. 2023.

KAYA, H. O.; CETIN, A. E.; AZIMZADEH, M.; TOPKAYA, S. N. PATHOGEN DETECTION WITH ELECTROCHEMICAL BIOSENSORS: ADVANTAGES, CHALLENGES AND FUTURE PERSPECTIVES. JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY, [S. L.], v. 882, p. 114989, 2021.

KENNECKE, H.; YERUSHALMI, R.; WOODS, R.; CHEANG, M. C. U.; VODUC, D.; SPEERS, C. H.; NIELSEN, T. O.; GELMON, K. METASTATIC BEHAVIOR OF BREAST CANCER SUBTYPES. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY : OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, UNITED STATES, v. 28, n. 20, p. 3271–3277, 2010.

KULABHUSAN, P. K.; RAJWADE, J. M.; SAHUL HAMEED, A. S.; PAKNIKAR, K. M. LATERAL FLOW ASSAY FOR RAPID DETECTION OF WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) USING A PHAGE-DISPLAYED PEPTIDE AS BIO-RECOGNITION PROBE. APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, [S. L.], v. 101, n. 11, p. 4459–4469, 2017.

KUMAR, P.; AGGARWAL, R. AN OVERVIEW OF TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER. ARCHIVES OF GYNECOLOGY AND OBSTETRICS, GERMANY, v. 293, n. 2, p. 247–269, 2016.

LAVIRON, E. GENERAL EXPRESSION OF THE LINEAR POTENTIAL SWEEP VOLTAMMOGRAM IN THE CASE OF DIFFUSIONLESS ELECTROCHEMICAL SYSTEMS. JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY AND INTERFACIAL ELECTROCHEMISTRY, [S. L.], v. 101, n. 1, p. 19–28, 1979.

LEE, S.-J.; ANANDAN, V.; ZHANG, G. ELECTROCHEMICAL FABRICATION AND EVALUATION OF HIGHLY SENSITIVE NANOROD-MODIFIED ELECTRODES FOR A BIOTIN/AVIDIN SYSTEM. BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS, [S. L.], v. 23, n. 7, p. 1117–1124, 2008.

LUKKARI, J.; KLEEMOLA, K.; MERETOJA, M.; OLLONQVIST, T.; KANKARE, J. ELECTROCHEMICAL POST-SELF-ASSEMBLY TRANSFORMATION OF 4-AMINOTHIOPHENOL MONOLAYERS ON GOLD ELECTRODES. LANGMUIR, [S. L.], v. 14, n. 7, p. 1705–1715, 1998.

MATTOSO, L. H. C. POLIANILINAS: SÍNTESE, ESTRUTURA E PROPRIEDADES. QUÍMICA NOVA, [S. L.], v. 19(4), p. 1–12, 1996.

MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; UR REHMAN, DR. I. FOURIER TRANSFORM INFRARED (FTIR) SPECTROSCOPY OF BIOLOGICAL TISSUES. APPLIED SPECTROSCOPY REVIEWS, [S. L.], v. 43, n. 2, p. 134–179, 2008.

MURRAY, R. W.; EWING, A. G.; DURST, R. A. CHEMICALLY MODIFIED ELECTRODES. MOLECULAR DESIGN FOR ELECTROANALYSIS. ANALYTICAL CHEMISTRY, [S. L.], v. 59, n. 5, p. 379A-390A, 1987.

NASCIMENTO, F.; PITTA, M.; RÊGO, M. ANÁLISE DOS PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE CÂNCER DE MAMA COMO PROPULSORES NO PROCESSO INOVATIVO. ARQUIVOS DE MEDICINA, [S. L.], v. 29, p. 153–159, 2015.

NATIONAL CANCER INSTITUTION. FINANCIAL BURDEN OF CANCER CARE | CANCER

Referências

TRENDS PROGRESS REPORT, 2021. DISPONÍVEL EM:

<[HTTPS://PROGRESSREPORT.CANCER.GOV/AFTER/ECONOMIC_BURDEN](https://progressreport.cancer.gov/after/economic_burden)>. ACESSO EM: 24 DEZ. 2021.

PARK, M. SURFACE DISPLAY TECHNOLOGY FOR BIOSENSOR APPLICATIONS: A REVIEW. SENSORS, [S. L.], v. 20, n. 10, 2020. DISPONÍVEL EM: <[HTTPS://WWW.MDPI.COM/1424-8220/20/10/2775](https://www.mdpi.com/1424-8220/20/10/2775)>

PELLISSIER, M.; BARRIÈRE, F.; DOWNARD, A. J.; LEECH, D. IMPROVED STABILITY OF REDOX ENZYME LAYERS ON GLASSY CARBON ELECTRODES VIA COVALENT GRAFTING. ELECTROCHEMISTRY COMMUNICATIONS, [S. L.], v. 10, n. 6, p. 835–838, 2008.

PEROU, C. M.; SØRLIE, T.; EISEN, M. B.; VAN DE RIJN, M.; JEFFREY, S. S.; REES, C. A.; POLLACK, J. R.; ROSS, D. T.; JOHNSEN, H.; AKSLEN, L. A.; FLUGE, Ø.; PERGAMENSCHIKOV, A.; WILLIAMS, C.; ZHU, S. X.; LØNNING, P. E.; BØRRESEN-DALE, A.-L.; BROWN, P. O.; BOTSTEIN, D. MOLECULAR PORTRAITS OF HUMAN BREAST TUMOURS. NATURE, [S. L.], v. 406, n. 6797, p. 747–752, 2000.

PROVENZANO, E.; ULANER, G. A.; CHIN, S.-F. MOLECULAR CLASSIFICATION OF BREAST CANCER. PET CLINICS, [S. L.], v. 13, n. 3, p. 325–338, 2018.

QI, X.; WANG, S.; JIANG, Y.; LIU, P.; HAO, W.; HAN, J.; ZHOU, Y.; HUANG, X.; LIANG, P. ADDITIONAL POLYPYRROLE AS CONDUCTIVE MEDIUM IN ARTIFICIAL ELECTROCHEMICALLY ACTIVE BIOFILM (EAB) TO INCREASE THE SENSITIVITY OF EAB BASED BIOSENSOR IN WATER QUALITY EARLY-WARNING. BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS, [S. L.], v. 190, p. 113453, 2021.

RAHBARNIA, L.; FARAJNIA, S.; BABAEI, H.; MAJIDI, J.; VEISI, K.; AHMADZADEH, V.; AKBARI, B. EVOLUTION OF PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY: FROM DISCOVERY TO APPLICATION. JOURNAL OF DRUG TARGETING, [S. L.], v. 25, n. 3, p. 216–224, 2017.

RAKHA, E. A.; REIS-FILHO, J. S.; BAEHNER, F.; DABBS, D. J.; DECKER, T.; EUSEBI, V.; FOX, S. B.; ICHIHARA, S.; JACQUEMIER, J.; LAKHANI, S. R. BREAST CANCER PROGNOSTIC CLASSIFICATION IN THE MOLECULAR ERA: THE ROLE OF HISTOLOGICAL GRADE. BREAST CANCER RESEARCH, [S. L.], v. 12, n. 4, p. 1–12, 2010.

ROSTAMI, A.; OMRANI, A.; HAMEDIAN, N. FLOWER-LIKE MORPHOLOGY OF POLY(M-AMINOBENZOIC ACID) DEPOSITED AT GC SURFACE IN THE PRESENCE OF SILICA NANOPARTICLES: ELECTROPOLYMERIZATION AND CHARACTERIZATION. MONATSHFTE FÜR CHEMIE - CHEMICAL MONTHLY, [S. L.], v. 144, n. 12, p. 1775–1782, 2013.

SANTOS, C. DA C.; PIMENTA, T. C.; THOMASINI, R. L.; VERLY, R. M.; FRANCO, D. L.; FERREIRA, L. F. ELECTROPOLYMERIZATION OF PHENOL AND ANILINE DERIVATIVES: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND APPLICATION AS ELECTROCHEMICAL TRANSDUCERS. JOURNAL OF ELECTROANALYTICAL CHEMISTRY, [S. L.], v. 846, p. 113163, 2019.

SMITH, G. P. FILAMENTOUS FUSION PHAGE: NOVEL EXPRESSION VECTORS THAT DISPLAY CLONED ANTIGENS ON THE VIRION SURFACE. SCIENCE, [S. L.], v. 228, n. 4705, p. 1315–1317, 1985.

SOARES, I. P.; DA SILVA, A. G.; DA FONSECA ALVES, R.; DE SOUZA CORRÊA, R. A. M.; FERREIRA, L. F.; FRANCO, D. L. ELECTROCHEMICAL ENZYMATIC BIOSENSOR FOR TYRAMINE BASED ON POLYMERIC MATRIX DERIVED FROM 4-MERCAPTOPHENYLACETIC ACID.

Referências

JOURNAL OF SOLID STATE ELECTROCHEMISTRY, [S. L.], v. 23, n. 3, p. 985–995, 2019.

SØRLIE, T.; PEROU, C. M.; TIBSHIRANI, R.; AAS, T.; GEISLER, S.; JOHNSEN, H.; HASTIE, T.; EISEN, M. B.; VAN DE RIJN, M.; JEFFREY, S. S.; THORSEN, T.; QUIST, H.; MATESE, J. C.; BROWN, P. O.; BOTSTEIN, D.; LØNNING, P. E.; BØRRESEN-DALE, A. L. GENE EXPRESSION PATTERNS OF BREAST CARCINOMAS DISTINGUISH TUMOR SUBCLASSES WITH CLINICAL IMPLICATIONS. PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, [S. L.], v. 98, n. 19, p. 10869–10874, 2001.

STÉFANNE E SILVA, T.; SOARES, I. P.; GONÇALVES LACERDA, L. R.; REIS CORDEIRO, T. A.; FERREIRA, L. F.; FRANCO, D. L. ELECTROCHEMICAL MODIFICATION OF ELECTRODES WITH POLYMERS DERIVED FROM OF HYDROXYBENZOIC ACID ISOMERS: OPTIMIZED PLATFORMS FOR AN ALKALINE PHOSPHATASE BIOSENSOR FOR PESTICIDE DETECTION. MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS, [S. L.], v. 252, p. 123221, 2020.

SUO, S.; WANG, X.; ZARLENGA, D.; BU, R.; REN, Y.; REN, X. PHAGE DISPLAY FOR IDENTIFYING PEPTIDES THAT BIND THE SPIKE PROTEIN OF TRANSMISSIBLE GASTROENTERITIS VIRUS AND POSSESS DIAGNOSTIC POTENTIAL. VIRUS GENES, [S. L.], v. 51, n. 1, p. 51–56, 2015.

TAN, Y.; TIAN, T.; LIU, W.; ZHU, Z.; J. YANG, C. ADVANCE IN PHAGE DISPLAY TECHNOLOGY FOR BIOANALYSIS. BIOTECHNOLOGY JOURNAL, [S. L.], v. 11, n. 6, p. 732–745, 2016.

TOMŠÍK, E.; DALLAS, P.; ŠEDĚNKOVÁ, I.; SVOBODA, J.; HRUBÝ, M. ELECTROCHEMICAL DEPOSITION OF HIGHLY HYDROPHOBIC PERFLUORINATED POLYANILINE FILM FOR BIOSENSOR APPLICATIONS. RSC ADV., [S. L.], v. 11, n. 31, p. 18852–18859, 2021.

VULCZAK, A.; ALBERICI, L. C.; BISSON, G. S. EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBICO DE INTENSIDADE MODERADA REDUZ A VELOCIDADE DE CRESCIMENTO E MODULA O METABOLISMO ENERGÉTICO TUMORAL EM MODELO EXPERIMENTAL DE CÂNCER DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO, 2018. DISPONÍVEL EM: <[HTTP://WWW.TESES.USP.BR/TESES/DISPONIVEIS/22/22133/TDE-27032019-155119/PP](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/22/22133/TDE-27032019-155119/PP)> - RIBEIRÃO PRETO>

WANG, J. ELECTROCHEMICAL NUCLEIC ACID BIOSENSORS. ANALYTICA CHIMICA ACTA, [S. L.], v. 469, n. 1, p. 63–71, 2002.

WANG, S.; MA, Y.; WANG, Y.; JIAO, M.; LUO, X.; CUI, M. ONE-STEP ELECTRODEPOSITION OF POLY(M-AMINOBENZOIC ACID) MEMBRANE DECORATED WITH PEPTIDE FOR ANTIFOULING BIOSENSING OF IMMUNOGLOBULIN E. COLLOIDS AND SURFACES B: BIOINTERFACES, [S. L.], v. 186, p. 110706, 2020.

WANG, Y.; GUO, H.; YUAN, M.; YU, J.; WANG, Z.; CHEN, X. ONE-STEP LASER SYNTHESIS PLATINUM NANOSTRUCTURED 3D POROUS GRAPHENE: A FLEXIBLE DUAL-FUNCTIONAL ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR GLUCOSE AND PH DETECTION IN HUMAN PERSPIRATION. TALANTA, [S. L.], v. 257, p. 124362, 2023.

WEIGELT, B.; GEYER, F. C.; REIS-FILHO, J. S. HISTOLOGICAL TYPES OF BREAST CANCER: HOW SPECIAL ARE THEY? MOLECULAR ONCOLOGY, [S. L.], v. 4, n. 3, p. 192–208, 2010.

CAPÍTULO III

ABDELZAHER, E.; MOSTAFA, M. F. Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (LPCAT1) upregulation in breast carcinoma contributes to tumor progression and predicts early tumor recurrence. **Tumor Biology**, [s. l.], v. 36, n. 7, p. 5473–5483, 2015.

ALLISON, K. H.; HAMMOND, M. E. H.; DOWSETT, M.; MCKERNIN, S. E.; CAREY, L. A.; FITZGIBBONS, P. L.; HAYES, D. F.; LAKHANI, S. R.; CHAVEZ-MACGREGOR, M.; PERLMUTTER, J.; PEROU, C. M.; REGAN, M. M.; RIMM, D. L.; SYMMANS, W. F.; TORLAKOVIC, E. E.; VARELLA, L.; VIALE, G.; WEISBERG, T. F.; MCSHANE, L. M.; WOLFF, A. C. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP guideline update. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 38, n. 12, p. 1346–1366, 2020.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Breast Cancer Gene, Protein, and Blood Tests**. 2023. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/understanding-a-breast-cancer-diagnosis/other-breast-cancer-gene-protein-blood-tests.html>>. Acesso em: 30 mar. 2023.

ANDREU, Z.; YÁÑEZ-MÓ, M. Tetraspanins in extracellular vesicle formation and function. **Frontiers in immunology**, [s. l.], v. 5, p. 442, 2014.

ARNOLD, M.; MORGAN, E.; RUMGAY, H.; MAFRA, A.; SINGH, D.; LAVERSANNE, M.; VIGNAT, J.; GRALOW, J. R.; CARDOSO, F.; SIESLING, S. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. **The Breast**, [s. l.], v. 66, p. 15–23, 2022.

BERNABÉ-ORTIZ, A.; ZAFRA-TANAKA, J. H.; MOSCOSO-PORRAS, M.; SAMPATH, R.; VETTER, B.; MIRANDA, J. J.; BERAN, D. Diagnostics and monitoring tools for noncommunicable diseases: a missing component in the global response. **Globalization and health**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–5, 2021.

BHARDWAJ, A.; PATEL, G. K.; LAURINI, J. A.; ROVEDA, K.; TAN, M. C.; PATTON, M. C.; SINGH, S.; TAYLOR, W.; SINGH, A. P. Exosomal Markers (CD63 and CD9) expression pattern using immunohistochemistry in resected malignant and non-malignant pancreatic specimens. **Pancreas**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 782, 2017.

BRÖER, A.; GAUTHIER-COLES, G.; RAHIMI, F.; VAN GELDERMALSEN, M.; DORSCH, D.; WEGENER, A.; HOLST, J.; BRÖER, S. Ablation of the ASCT2 (SLC1A5) gene encoding a neutral amino acid transporter reveals transporter plasticity and redundancy in cancer cells. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 294, n. 11, p. 4012–4026, 2019.

BROWN, C. W.; AMANTE, J. J.; CHHOY, P.; ELAIMY, A. L.; LIU, H.; ZHU, L. J.; BAER, C. E.; DIXON, S. J.; MERCURIO, A. M. Prominin2 drives ferroptosis resistance by stimulating iron export. **Developmental cell**, [s. l.], v. 51, n. 5, p. 575–586, 2019.

Referências

- BROWN, R. A. M.; RICHARDSON, K. L.; KABIR, T. D.; TRINDER, D.; GANSS, R.; LEEDMAN, P. J. Altered Iron Metabolism and Impact in Cancer Biology, Metastasis, and Immunology. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 10, 2020.
- CAPPELLO, F.; LOGOZZI, M.; CAMPANELLA, C.; BAVISOTTO, C. C.; MARCILLA, A.; PROPERZI, F.; FAIS, S. Exosome levels in human body fluids: A tumor marker by themselves? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 96, p. 93–98, 2017.
- CASSIM, S.; VUČETIĆ, M.; ŽDRALEVIĆ, M.; POUYSSEGUR, J. Warburg and beyond: the power of mitochondrial metabolism to collaborate or replace fermentative glycolysis in cancer. **Cancers**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 1119, 2020.
- CHEN, Y. J.; HONG, W. F.; LIU, M. L.; GUO, X.; YU, Y. Y.; CUI, Y. H.; LIU, T. S.; LIANG, L. An integrated bioinformatic investigation of mitochondrial solute carrier family 25 (SLC25) in colon cancer followed by preliminary validation of member 5 (SLC25A5) in tumorigenesis. **Cell Death and Disease**, [s. l.], v. 13, n. 3, 2022.
- CHENG, S.; KONG, Q.; HU, X.; ZHANG, C.; XIAN, Y. An ultrasensitive strand displacement signal amplification-assisted synchronous fluorescence assay for surface proteins of small extracellular vesicle analysis and cancer identification. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 94, n. 2, p. 1085–1091, 2022.
- COUDERT, E.; GEHANT, S.; DE CASTRO, E.; POZZATO, M.; BARATIN, D.; NETO, T.; SIGRIST, C. J. A.; REDASCHI, N.; BRIDGE, A.; CONSORTIUM, T. U. Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. btac793, 2023.
- DA FONSECA ALVES, R.; MARTINS, I. C.; FRANCO, D. L.; SILVA, A. das G.; DE SOUZA SANTOS, P.; GOULART, L. R.; CRISTINA DE PAIVA MAIA, Y.; FARIA SILVA, A. T.; GONÇALVES ARAÚJO, T.; DEL PILAR TABOADA SOTOMAYOR, M. A novel peptide-based electrochemical biosensor for breast cancer characterization over a poly 3-(3-aminophenyl) propionic acid matrix. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 205, p. 114081, 2022.
- D'ACUNZO, P.; PÉREZ-GONZÁLEZ, R.; KIM, Y.; HARGASH, T.; MILLER, C.; ALLDRED, M. J.; ERDJUMENT-BROMAGE, H.; PENIKALAPATI, S. C.; PAWLIK, M.; SAITO, M. Mitovesicles are a novel population of extracellular vesicles of mitochondrial origin altered in Down syndrome. **Science advances**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. eabe5085, 2021.
- DONG, H.; CHEN, H.; JIANG, J.; ZHANG, H.; CAI, C.; SHEN, Q. Highly sensitive electrochemical detection of tumor exosomes based on aptamer recognition-induced multi-DNA release and cyclic enzymatic amplification. **Analytical chemistry**, [s. l.], v. 90, n. 7, p. 4507–4513, 2018.
- ESCOBAR, V.; SCARAMOZZINO, N.; VIDIC, J.; BUHOT, A.; MATHEY, R.; CHAIX, C.; HOU, Y. Recent Advances on Peptide-Based Biosensors and Electronic Noses for Foodborne Pathogen Detection. **Biosensors**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 258, 2023.
- FOULON, A.; RYBARCZYK, P.; JONCKHEERE, N.; BRABENCOVA, E.; SEVESTRE, H.; OUADID-AHIDOUCH, H.; RODAT-DESPOIX, L. Inositol (1,4,5)-Trisphosphate Receptors in Invasive Breast Cancer: A New Prognostic Tool?

Referências

International Journal of Molecular Sciences, [s. l.], v. 23, n. 6, 2022.

GAO, L.-F.; ZHONG, Y.; LONG, T.; WANG, X.; ZHU, J.-X.; WANG, X.-Y.; HU, Z.-Y.; LI, Z.-G. Tumor bud-derived CCL5 recruits fibroblasts and promotes colorectal cancer progression via CCR5-SLC25A24 signaling. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 81, 2022.

GAO, P.; LI, X.; DU, X.; LIU, S.; XU, Y. Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in neurodegenerative diseases. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s. l.], v. 13, p. 916, 2021.

GRASSO, D.; ZAMPIERI, L. X.; CAPELÔA, T.; VAN DE VELDE, J. A.; SONVEAUX, P. Mitochondria in cancer. **Cell Stress**, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 114–146, 2020.

GUO, Q.; LI, L.; HOU, S.; YUAN, Z.; LI, C.; ZHANG, W.; ZHENG, L.; LI, X. The Role of Iron in Cancer Progression. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 11, 2021.

GURUNG, S.; PEROCHEAU, D.; TOURAMANIDOU, L.; BARUTEAU, J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. **Cell Communication and Signaling**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 47, 2021.

HARTJES, T. A.; MYTNYK, S.; JENSTER, G. W.; VAN STEIJN, V.; VAN ROYEN, M. E. Extracellular vesicle quantification and characterization: common methods and emerging approaches. **Bioengineering**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 7, 2019.

HEMLER, M. E. Tetraspanin proteins mediate cellular penetration, invasion, and fusion events and define a novel type of membrane microdomain. **Annual review of cell and developmental biology**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 397–422, 2003.

HLOUSCHEK, J.; HANSEL, C.; JENDROSSEK, V.; MATSCHKE, J. The mitochondrial citrate carrier (SLC25A1) sustains redox homeostasis and mitochondrial metabolism supporting radioresistance of cancer cells with tolerance to cycling severe hypoxia. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 8, n. MAY, 2018.

HO-YEN, C. M.; JONES, J. L.; KERMORGANT, S. The clinical and functional significance of c-Met in breast cancer: a review. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–11, 2015.

HUANG, S.; DONG, M.; CHEN, Q. Tumor-Derived Exosomes and Their Role in Breast Cancer Metastasis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 22, p. 13993, 2022.

JABALEE, J.; TOWLE, R.; GARNIS, C. The role of extracellular vesicles in cancer: Cargo, function, and therapeutic implications. **Cells**, [s. l.], v. 7, n. 8, p. 93, 2018.

JACKSON, C.; GARBETT, P.; NISSEN, B.; SCHRIEBER, L. Binding of human endothelium to Ulex europaeus I-coated Dynabeads: application to the isolation of microvascular endothelium. **Journal of cell science**, [s. l.], v. 96, n. 2, p. 257–262, 1990.

JANG, S. C.; CRESCITELLI, R.; CVJETKOVIC, A.; BELGRANO, V.; OLOFSSON BAGGE, R.; SUNDFELDT, K.; OCHIYA, T.; KALLURI, R.; LÖTVALL, J. Mitochondrial protein enriched extracellular vesicles discovered in human melanoma tissues can be detected in patient plasma. **Journal of extracellular vesicles**, [s. l.], v. 8, n. 1, p.

Referências

1635420, 2019.

JOHNSEN, K. B.; GUDBERGSSON, J. M.; ANDRESEN, T. L.; SIMONSEN, J. B. What is the blood concentration of extracellular vesicles? Implications for the use of extracellular vesicles as blood-borne biomarkers of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1871, n. 1, p. 109–116, 2019.

KAMADA, S.; TAKEIWA, T.; IKEDA, K.; HORIE, K.; INOUE, S. Emerging roles of COX7RP and mitochondrial oxidative phosphorylation in breast cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], p. 151, 2022.

KARLSSON, M.; ZHANG, C.; MÉAR, L.; ZHONG, W.; DIGRE, A.; KATONA, B.; SJÖSTEDT, E.; BUTLER, L.; ODEBERG, J.; DUSART, P.; EDFORS, F.; OKSVOLD, P.; VON FEILITZEN, K.; ZWAHLEN, M.; ARIF, M.; ALTAY, O.; LI, X.; OZCAN, M.; MARDINOGLU, A.; FAGERBERG, L.; MULDER, J.; LUO, Y.; PONTEN, F.; UHLÉN, M.; LINDSKOG, C. **A single-cell type transcriptomics map of human tissues** Sci. Adv. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.proteinatlas.org>.

KELLER, S.; RIDINGER, J.; RUPP, A.-K.; JANSSEN, J. W.; ALTEVOGT, P. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. **Journal of translational medicine**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–9, 2011.

KIM, M. S.; GERNAPUDI, R.; CEDEÑO, Y. C.; POLSTER, B. M.; MARTINEZ, R.; SHAPIRO, P.; KESARI, S.; NURMEMMEDOV, E.; PASSANITI, A. **Targeting breast cancer metabolism with a novel inhibitor of mitochondrial ATP synthesis** Oncotarget. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.oncotarget.com>.

KLEIN, K.; HE, K.; YOUNES, A. I.; BARSOUMIAN, H. B.; CHEN, D.; OZGEN, T.; MOSAFFA, S.; PATEL, R. R.; GU, M.; NOVAES, J.; NARAYANAN, A.; CORTEZ, M. A.; WELSH, J. W. Role of Mitochondria in Cancer Immune Evasion and Potential Therapeutic Approaches. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 11, 2020.

LI, C.; TEIXEIRA, A. F.; ZHU, H.-J.; TEN DIJKE, P. Cancer associated-fibroblast-derived exosomes in cancer progression. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 154, 2021.

LIU, A. R.; LIU, Y. N.; SHEN, S. X.; YAN, L. R.; LV, Z.; DING, H. X.; WANG, A.; YUAN, Y.; XU, Q. Comprehensive Analysis and Validation of Solute Carrier Family 25 (SLC25) and Its Correlation with Immune Infiltration in Pan-Cancer. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2022, 2022.

LIU, Y.; LOIJENS, J. C.; MARTIN, K. H.; KARGINOV, A. V.; PARSONS, J. T. The association of ASAP1, an ADP ribosylation factor-GTPase activating protein, with focal adhesion kinase contributes to the process of focal adhesion assembly. **Molecular Biology of the Cell**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 2147–2156, 2002.

LIU, Y.; WANG, Z.; LIU, H.; WANG, X.; ZHANG, Z.; XIAO, B.; AN, B.; ZHANG, J. Derlin-1 functions as a growth promoter in breast cancer. **Biological Chemistry**, [s. l.], v. 401, n. 3, p. 377–387, 2020.

LOGOZZI, M.; DI RAIMO, R.; MIZZONI, D.; FAIS, S. Immunocapture-based ELISA to characterize and quantify exosomes in both cell culture supernatants and body fluids. **Methods in enzymology**, [s. l.], v. 645, p. 155–180, 2020.

Referências

- LOZANO-RAMOS, I.; BANCU, I.; OLIVEIRA-TERCERO, A.; ARMENGOL, M. P.; MENEZES-NETO, A.; PORTILLO, H. A. D.; LAUZURICA-VALDEMOROS, R.; BORRÁS, F. E. Size-exclusion chromatography-based enrichment of extracellular vesicles from urine samples. **Journal of extracellular vesicles**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 27369, 2015.
- LYTOVCHENKO, O.; KUNJI, E. R. S. Expression and putative role of mitochondrial transport proteins in cancer. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, [s. l.], v. 1858, n. 8, p. 641–654, 2017.
- MAISANO, D.; MIMMI, S.; DATTILO, V.; MARINO, F.; GENTILE, M.; VECCHIO, E.; FIUME, G.; NISTICÒ, N.; ALOISIO, A.; DE SANTO, M. P. A novel phage display based platform for exosome diversity characterization. **Nanoscale**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 2998–3003, 2022.
- MARTÍNEZ-REYES, I.; CHANDEL, N. S. Cancer metabolism: looking forward. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 21, n. 10, p. 669–680, 2021.
- MATHIEU, M.; MARTIN-JAULAR, L.; LAVIEU, G.; THÉRY, C. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. **Nature cell biology**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 9–17, 2019.
- MATHIEU, M.; NÉVO, N.; JOUVE, M.; VALENZUELA, J. I.; MAURIN, M.; VERWEIJ, F. J.; PALMULLI, R.; LANKAR, D.; DINGLI, F.; LOEW, D.; RUBINSTEIN, E.; BONCOMPAIN, G.; PEREZ, F.; THÉRY, C. Specificities of exosome versus small ectosome secretion revealed by live intracellular tracking of CD63 and CD9. **Nature Communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 4389, 2021.
- MCANDREWS, K. M.; KALLURI, R. Mechanisms associated with biogenesis of exosomes in cancer. **Molecular cancer**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 1–11, 2019.
- MEI, K.; YAN, T.; WANG, Y.; RAO, D.; PENG, Y.; WU, W.; CHEN, Y.; REN, M.; YANG, J.; WU, S. Magneto-Nanomechanical Array Biosensor for Ultrasensitive Detection of Oncogenic Exosomes for Early Diagnosis of Cancers. **Small**, [s. l.], v. 19, n. 9, p. 2205445, 2023.
- MON, E. E.; WEI, F.-Y.; AHMAD, R. N. R.; YAMAMOTO, T.; MOROISHI, T.; TOMIZAWA, K. Regulation of mitochondrial iron homeostasis by sideroflexin 2. **The Journal of Physiological Sciences**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 359–373, 2019.
- MOUND, A.; RODAT-DESPOIX, L.; BOUGARN, S.; OUADID-AHIDOUCH, H.; MATIFAT, F. Molecular interaction and functional coupling between type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and BKCa channel stimulate breast cancer cell proliferation. **European Journal of Cancer**, [s. l.], v. 49, n. 17, p. 3738–3751, 2013.
- MOURA, S. L.; MARTÍN, C. G.; MARTÍ, M.; PIVIDORI, M. I. Electrochemical immunosensing of nanovesicles as biomarkers for breast cancer. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 150, p. 111882, 2020.
- NICOLAS, E.; TRICARICO, R.; SAVAGE, M.; GOLEMIS, E. A.; HALL, M. J. Disease-Associated Genetic Variation in Human Mitochondrial Protein Import. **American Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 104, n. 5, p. 784–801, 2019.
- PALLARES-RUSIÑOL, A.; BERNUZ, M.; MOURA, S. L.; FERNÁNDEZ-SENAC, C.;

Referências

- ROSSI, R.; MARTÍ, M.; PIVIDORI, M. I. Advances in exosome analysis. **Advances in clinical chemistry**, [s. l.], p. 69, 2023.
- PANDE, J.; SZEWCZYK, M. M.; GROVER, A. K. Phage display: concept, innovations, applications and future. **Biotechnology advances**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 849–858, 2010.
- PARK, H. A.; BROWN, S. R.; KIM, Y. Cellular mechanisms of circulating tumor cells during breast cancer metastasis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 14, p. 1–19, 2020.
- PELTOMAA, R.; BENITO-PEÑA, E.; BARDERAS, R.; MORENO-BONDI, M. C. Phage display in the quest for new selective recognition elements for biosensors. **ACS omega**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 11569–11580, 2019.
- PENG, J.-M.; LIN, S.-H.; YU, M.-C.; HSIEH, S.-Y. CLIC1 recruits PIP5K1A/C to induce cell-matrix adhesions for tumor metastasis. **The Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 131, n. 1, 2021.
- PERETTI, M.; ANGELINI, M.; SAVALLI, N.; FLORIO, T.; YUSPA, S. H.; MAZZANTI, M. Chloride channels in cancer: Focus on chloride intracellular channel 1 and 4 (CLIC1 AND CLIC4) proteins in tumor development and as novel therapeutic targets. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [s. l.], v. 1848, n. 10, Part B, p. 2523–2531, 2015.
- PÉREZ-AMADO, C. J.; TOVAR, H.; GÓMEZ-ROMERO, L.; BELTRÁN-ANAYA, F. O.; BAUTISTA-PIÑA, V.; DOMINGUEZ-REYES, C.; VILLEGAS-CARLOS, F.; TENORIO-TORRES, A.; ALFARO-RUIZ, L. A.; HIDALGO-MIRANDA, A.; JIMÉNEZ-MORALES, S. Mitochondrial DNA Mutation Analysis in Breast Cancer: Shifting From Germline Heteroplasmy Toward Homoplasmy in Tumors. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 10, 2020.
- RAK, M.; BÉNIT, P. P.; CHRÉTIEN, D.; BOUCHEREAU, J.; SCHIFF, M.; EL-KHOURY, R.; TZAGOLOFF, A.; RUSTIN, P. Mitochondrial cytochrome c oxidase deficiency. **Clinical Science**, [s. l.], v. 130, n. 6, p. 393–407, 2016.
- REZAUL, K.; KUMAR THUMAR, J.; LUNDGREN, D. H.; ENG, J. K.; CLAFFEY, K. P.; WILSON, L.; HAN, D. K. Differential protein expression profiles in estrogen receptor-positive and -negative breast cancer tissues using label-free quantitative proteomics. **Genes and Cancer**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 251–271, 2010.
- SAEEDI, S.; ISRAEL, S.; NAGY, C.; TURECKI, G. The emerging role of exosomes in mental disorders. **Translational psychiatry**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 122, 2019.
- SAEZ, R. A.; MCGUIRE, W. L.; CLARK, G. M. Prognostic factors in breast cancer. Em: 1989, **Anais... . Em: SEMINARS IN SURGICAL ONCOLOGY**. : Wiley Online Library, 1989.
- SAHA, S. K.; ISLAM, S. M. R.; KWAK, K.-S.; RAHMAN, M. S.; CHO, S.-G. PROM1 and PROM2 expression differentially modulates clinical prognosis of cancer: a multiomics analysis. **Cancer gene therapy**, [s. l.], v. 27, n. 3–4, p. 147–167, 2020.
- SALHIA, B.; KIEFER, J.; ROSS, J. T. D.; METAPALLY, R.; MARTINEZ, R. A.; JOHNSON, K. N.; DIPERNA, D. M.; PAQUETTE, K. M.; JUNG, S.; NASSER, S.

Referências

- Integrated genomic and epigenomic analysis of breast cancer brain metastasis. **PloS one**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. e85448, 2014.
- SCHWARZENBACH, H.; GAHAN, P. B. Exosomes in immune regulation. **Non-coding RNA**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 4, 2021.
- SINGH, R. K.; SAINI, S. K.; PRAKASAM, G.; KALAIRASAN, P.; BAMEZAI, R. N. K. Role of ectopically expressed mtDNA encoded cytochrome c oxidase subunit I (MT-COI) in tumorigenesis. **Mitochondrion**, [s. l.], v. 49, p. 56–65, 2019.
- SMITH, G. P. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. **Science**, [s. l.], v. 228, n. 4705, p. 1315–1317, 1985.
- SUH, K. S.; MUTOH, M.; GERDES, M.; CRUTCHLEY, J. M.; MUTOH, T.; EDWARDS, L. E.; DUMONT, R. A.; SODHA, P.; CHENG, C.; GLICK, A. Antisense suppression of the chloride intracellular channel family induces apoptosis, enhances tumor necrosis factor α -induced apoptosis, and inhibits tumor growth. **Cancer research**, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 562–571, 2005.
- SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.
- THÉRY, C.; WITWER, K. W.; AIKAWA, E.; ALCARAZ, M. J.; ANDERSON, J. D.; ANDRIANTSITOHAINA, R.; ANTONIOU, A.; ARAB, T.; ARCHER, F.; ATKIN-SMITH, G. K. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. **Journal of extracellular vesicles**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1535750, 2018.
- VALADI, H.; EKSTRÖM, K.; BOSSIOS, A.; SJÖSTRAND, M.; LEE, J. J.; LÖTVALL, J. O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. **Nature cell biology**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 654–659, 2007.
- VASAN, K.; WERNER, M.; CHANDEL, N. S. Mitochondrial metabolism as a target for cancer therapy. **Cell metabolism**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 341–352, 2020.
- VOLGERS, C.; BENEDIKTER, B. J.; GRAULS, G. E.; SVELKOU, P. H.; STASSEN, F. R. Bead-based flow-cytometry for semi-quantitative analysis of complex membrane vesicle populations released by bacteria and host cells. **Microbiological Research**, [s. l.], v. 200, p. 25–32, 2017.
- WAN, Y.; CHENG, G.; LIU, X.; HAO, S.-J.; NISIC, M.; ZHU, C.-D.; XIA, Y.-Q.; LI, W.-Q.; WANG, Z.-G.; ZHANG, W.-L. Rapid magnetic isolation of extracellular vesicles via lipid-based nanoprobe. **Nature biomedical engineering**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 0058, 2017.
- WANG, X.; TIAN, L.; LU, J.; NG, I. O.-L. Exosomes and cancer - Diagnostic and prognostic biomarkers and therapeutic vehicle. **Oncogenesis**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 54, 2022.

Referências

- WENG, J.; XIANG, X.; DING, L.; WONG, A. L.-A.; ZENG, Q.; SETHI, G.; WANG, L.; LEE, S. C.; GOH, B. C. Extracellular vesicles, the cornerstone of next-generation cancer diagnosis? Em: 2021, **Anais...** . Em: SEMINARS IN CANCER BIOLOGY. : Elsevier, 2021.
- WHO. **Breast cancer**. 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>>. Acesso em: 30 mar. 2023.
- XAVIER, C. P. R.; CAIRES, H. R.; BARBOSA, M. A. G.; BERGANTIM, R.; GUIMARÃES, J. E.; VASCONCELOS, M. H. The role of extracellular vesicles in the hallmarks of cancer and drug resistance. **Cells**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 1141, 2020.
- XU, P.; GHOSH, S.; GUL, A. R.; BHAMORE, J. R.; PARK, J. P.; PARK, T. J. Screening of specific binding peptides using phage-display techniques and their biosensing applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 137, p. 116229, 2021.
- YAN, Y.; TAO, H.; HE, J.; HUANG, S.-Y. The HDock server for integrated protein–protein docking. **Nature protocols**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 1829–1852, 2020.
- YÁÑEZ-MÓ, M.; SILJANDER, P. R.-M.; ANDREU, Z.; BEDINA ZAVEC, A.; BORRÀS, F. E.; BUZAS, E. I.; BUZAS, K.; CASAL, E.; CAPPELLO, F.; CARVALHO, J. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. **Journal of extracellular vesicles**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 27066, 2015.
- YANG, J.; PAN, B.; ZENG, F.; HE, B.; GAO, Y.; LIU, X.; SONG, Y. Magnetic colloid antibodies accelerate small extracellular vesicles isolation for point-of-care diagnostics. **Nano Letters**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 2001–2009, 2021.
- YANG, Y.; LI, C.; SHI, H.; CHEN, T.; WANG, Z.; LI, G. A pH-responsive bioassay for paper-based diagnosis of exosomes via mussel-inspired surface chemistry. **Talanta**, [s. l.], v. 192, p. 325–330, 2019.
- YORDANOVA, M.; HASSAN, S. The Role of the 21-Gene Recurrence Score® Assay in Hormone Receptor-Positive, Node-Positive Breast Cancer: The Canadian Experience. **Current Oncology**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 2008–2020, 2022.
- YU, D.; LI, Y.; WANG, M.; GU, J.; XU, W.; CAI, H.; FANG, X.; ZHANG, X. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 56, 2022.
- YU, W.; HURLEY, J.; ROBERTS, D.; CHAKRABORTTY, S.; ENDERLE, D.; NOERHOLM, M.; BREAKFIELD, X.; SKOG, J. Exosome-based liquid biopsies in cancer: opportunities and challenges. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 466–477, 2021.
- YUAN, D.; LIU, J.; SANG, W.; LI, Q. Comprehensive analysis of the role of SFXN family in breast cancer. **Open Medicine**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 20230685, 2023.
- ZAMBRANO-MILA, M. S.; BLACIO, K. E. S.; VISPO, N. S. Peptide phage display: Molecular principles and biomedical applications. **Therapeutic innovation & regulatory science**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 308–317, 2020.
- ZHAI, L.-Y.; LI, M.-X.; PAN, W.-L.; CHEN, Y.; LI, M.-M.; PANG, J.-X.; ZHENG, L.;

Referências

CHEN, J.-X.; DUAN, W.-J. In situ detection of plasma exosomal microRNA-1246 for breast cancer diagnostics by a Au nanoflare probe. **ACS applied materials & interfaces**, [s. l.], v. 10, n. 46, p. 39478–39486, 2018.

ZHANG, L.; WEI, Y.; YUAN, S.; SUN, L. Targeting Mitochondrial Metabolic Reprogramming as a Potential Approach for Cancer Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 4954, 2023.

ZHOU, Q.; RAHIMIAN, A.; SON, K.; SHIN, D.-S.; PATEL, T.; REVZIN, A. Development of an aptasensor for electrochemical detection of exosomes. **Methods**, [s. l.], v. 97, p. 88–93, 2016.