



14/05/2021

RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome do projeto	Moléculas inibitórias das proteases quimiotripsina-like protease (Mpro) and papain-like protease (PLpro), com atividade antiviral contra o Sars-Cov2			Nº SEI	
Local de execução	UnB ES DOURADO				
Coordenador	HAS10S	Instrumento jurídico	TOA nº 00193-00000529/2020-29		
Demandante(s)	FAPDF	Vigência do projeto	12 Meses		
Valor do projeto	R\$ 390.000,00	Data assinatura	31/07/2020	Data fim (previsão)	10/09/2021

RESUMO DO PROJETO

Objeto	Expressar e purificar as proteases quimiotripsinalike protease (Mpro) and papain-like protease (PLpro), bem como realizar a prospecção de moléculas inibitórias (naturais e/ou sintéticas) para as referidas proteases e avaliar a atividade antiviral dos compostos com melhores atividades inibitórias.
Metas	M1- Produção das enzimas recombinantes M2- Ensaios de inibição enzimática e caracterização dos inibidores para os ensaios M3- Ensaios antivirais

Indicadores de Desempenho (KPIs)

	NOK	ATENÇÃO	OK
Orçamento			
Cronograma		X	
Governança			X
Escopo			X
Time / pessoas			X
Gestão de riscos			X
Comunicação			X

Principais etapas programadas	Data Prevista	Estágio atual	Status
Etapa 1: síntese de plasmídeos contendo o gene Mpro ou PLPro (Meta 1).	10/11/20	Os plasmídeos foram entregues no dia 22/01/2021, porém, após os primeiros teste, constatamos que um deles apresentou erro na síntese. A empresa já enviou o plasmídeo mas ainda não recebemos no laboratório.	Concluído
Etapa 2: obtenção de moléculas (óleos essenciais, moléculas oriundas da quimioteca do Museu Nacional de História Natural de Paris e moléculas resultantes de triagem virtual) para avaliar o potencial inibitório das protease PLPro e Mpro.	30/01/21	Óleos essenciais a serem adquiridos já foram escolhidos, bem como os inibidores (controle) das duas proteases. Os substratos das proteases Mpro e PL-pro também já foram selecionados.	Em processo de aquisição.
Etapa 3: expressão e purificação das enzimas recombinantes (Meta 1)	10/06/21	essa etapa foi iniciada, mas devido ao problema com um plasmídeo, somente o estudo da Mpro está em andamento. Estamos com dificuldades técnicas de obter a proteína recombinante da Mpro, por isso estamos padronizando a expressão, o que está atrasando o início da etapa de purificação.	Iniciado
Etapa 4: triagem dos compostos fornecidos pela biblioteca de compostos do MNHN e óleos essenciais pelos ensaios de inibição enzimática (Meta 2). Triagem computacional (virtual screening) das proteases com base nessa referida biblioteca.	10/07/21	Triagem experimental será iniciada após a etapa 3. Etapa de triagem computacional já iniciada: 1) catalogação das estruturas químicas dos compostos da biblioteca do MNHN; 2) preparação dos compostos, para realização dos cálculos de docking molecular 3) análise e seleção das estruturas 3D e conformações das enzimas Mpro e PLpro disponíveis no Protein Data Bank.	Iniciado
Etapa 5. Determinar o valor da concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática (IC50) dos compostos mais promissores provenientes da etapa de triagem; (Meta 2)	01/08/20	Triagem experimental será iniciada após a etapa 3.	Não iniciado
Etapa 6: Realizar a caracterização bioquímica dos melhores inibidores (Meta 2)	15/08/21	será iniciada após a etapa 5	Não iniciado
Etapa 7: - Realizar ensaios antivirais dos compostos com melhores atividade inibitórias (Meta 3).	01/09/21	será iniciada após a etapa 6	Não iniciado

Pontos de atenção	Nível risco	Resolução / Providência	Responsável
Atraso na conclusão da Meta 1, devido a problemas técnicos identificados no caso da PLPro, que consistiu no erro de síntese de plasmídeo, por parte da	ainda baixo	estamos trabalhando para identificar a falha na expressão das proteínas recombinantes. Possível erro de síntese, como já constatado previamente.	

PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)

Mês/Ano

abr/21

Neste período foram realizadas reuniões semanais com a equipe de pesquisadores e estudantes envolvidos no projeto. O projeto se encontra com atraso devido a dois erros de síntese cometido pela empresa contratada, conforme já mencionado no relatório anterior. No entanto, desde janeiro de 2021 as alunas envolvidas no desenvolvimento desse projeto, realizam uma formação de bioinformática com a Dra. Melina Mottin e nesse mês de maio estamos aplicando esse conhecimento numa nova abordagem. Como alternativa para o andamento do projeto, começamos um estudo de screening computacional de moléculas inibitórias da Mpro e PLPro o que vai ampliar os objetivos iniciais do projeto e obtenção de resultados. Nessa etapa, iremos realizar uma triagem computacional dos compostos da quimioteca do MNHN que irá nos direcionar na realização dos testes in vitro. Além do mais, análises de docking molecular contribuirão para elucidar o modo de ligação dos inibidores, e determinação do mecanismo catalítico. Etapa de triagem computacional já iniciada: 1) catalogação das estruturas químicas dos compostos da biblioteca do MNHN; 2) preparação dos compostos, para realização dos cálculos de docking molecular 3) análise e seleção das estruturas 3D e conformações das enzimas Mpro e PLpro disponíveis no Protein Data Bank.

PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)

Mês/Ano

mai/21

As próximas etapas serão: preparação das estruturas da Mpro e PLpro, para realização dos cálculos de docking molecular; priorização de compostos, através dos cálculos de docking; predição da atividade dos compostos e priorização destes, em modelos QSAR fenotípico de SARS-CoV-2; realização dos ensaios enzimáticos. Expressão das proteases recombinantes.

INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS