



Data do relatório: 20/11/2021

RELATÓRIO EXECUTIVO DO PROJETO

Nome do projeto	Prospecção de moléculas inibitórias das proteases quimiotripsina-like protease (Mpro) and papain-like protease (PLpro), com atividade antiviral contra o Sars-Cov2			
Partícipe(s)	FAPDF, FINATEC, UnB			
Coordenador	IZABELA MARQUES DOURADO BASTOS	Instrumento jurídico	TOA nº 00193-00000529/2020-29	Nº SEI
Demandante(s)	FAPDF	Vigência do projeto	12 Meses (+6 meses)	
Valor do projeto	R\$ 390.000,00	Data assinatura	31/07/2020	(previsão) 10/03/2022

RESUMO DO PROJETO

Objeto	Expressar e purificar as proteases quimiotripsinalike protese (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
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.	Concluído
Etapa 3: expressão e purificação das enzimas recombinantes (Meta 1)	20/07/21	essa etapa foi iniciada, mas devido ao problema com um plasmídeo, somente o estudo da Mpro está em anadamento. Estamos com dificuldades técnicas de obter a proteína recombinante da Mpro, por isso estamos padronizando a expressão, o que está atrasando o	em desenvolvimento

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.	10/08/21	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.	em desenvolvimento
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)	20/11/21	Triagem experimental será iniciada após a etapa 3.	em desenvolvimento
Etapa 6: Realizar a caracterização bioquímica dos melhores inibidores (Meta 2)	15/01/22	será iniciada após a etapa 5	Não iniciado
Etapa 7: - Realizar ensaios antivirais dos compostos com melhores atividade inibitórias (Meta 3).	15/02/22	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 indetificados no caso da PLPro, que consistiu no erro de síntese de plasmídeo, por parte da empresa contratada. Com relação a Mpro, identificamos que houve outro erro de síntese por parte da empresa.	ainda baixo	Foi adquirido um novo plasmídeo.	

PRINCIPAIS AÇÕES REALIZADAS (PERÍODO ANTERIOR)		out/21
<p>No período, solicitamos o encaminhamento dos compostos priorizados da quimioteca MNHN para PLpro para o Brasil, para realização dos ensaios experimentais de validação. Iniciamos a busca por uma nova biblioteca de compostos comercial, da empresa ChemDiv, para realizarmos uma nova triagem virtual contra PLpro . Em relação a protease Mpro, iniciamos o preparo das estruturas dos compostos e das 4 estruturas 3D da Mpro e geramos os grids de docking. A enzima MPro foi expressa e purificada com sucesso, porém é necessário a ativação da enzima por meio de remoção da porção GST.</p>		
PRINCIPAIS AÇÕES PLANEJADAS (PRÓXIMO PERÍODO)		nov/21
<p>As próximas etapas serão: 1) realização dos ensaios de atividade enzimática da PLpro frente aos compostos do MNHN; testes de ativação da MPro. 2) realização dos dockings com ativos e inativos da Mpro contra todas as 4 estruturas; 3) cálculo das métricas de validação do docking.</p>		
INFORMAÇÕES RELEVANTES PARA STAKEHOLDERS		

