

Universidade de São Paulo Instituto de Física de São Carlos

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

13^a edição

Livro de Resumos

São Carlos
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(13: 21-25 ago.: 2023: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XIII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo / Organizado por Adonai Hilário da Silva [et al.]. São Carlos: IFSC, 2023.
358p.

Texto em português.

1.Física. I. Silva, Adonai Hilário da, org. II. Título.

ISSN: 2965-7679

PG125

Descoberta de inibidores do complexo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) de SARS-CoV-2 como candidatos a compostos líderes para covid-19.

OLIVA, Glaucius¹; OLIVEIRA, Juliana Roberta Torini de Souza¹; GUIDO, Rafael Victório Carvalho¹; GODOY, Mariana Ortiz de¹

mortizdegodoy@usp.br

¹Instituto de Física de São Carlos - USP

Os vírus emergentes com potencial pandêmico representam uma ameaça constante para a saúde pública global. A infecção humana pelo novo coronavírus, COVID-19, resultou em uma pandemia sem precedentes. Até maio de 2023, foram registrados mais de 670 milhões de casos confirmados e mais de 6,8 milhões de mortes em todo o mundo. (1) O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de cadeia simples e polaridade positiva. Após entrar na célula, seu genoma viral é usado como mRNA para sintetizar poliproteínas virais pelos ribossomos, que são então clivadas por proteases para gerar proteínas não estruturais. Em seguida, são produzidos RNAs subgenômicos que impulsionam a produção de novos RNAs genômicos e proteínas estruturais necessárias para a formação de novos vírus. Esse processo de transcrição/replicação viral é mediado por um complexo de replicase composto por subunidades de proteínas não estruturais (nsp7-nsp12-nsp8), sendo a enzima nsp12 uma RNA polimerase dependente de RNA fundamental nesse complexo. A RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) é um alvo promissor para fármacos antivirais devido à sua natureza exclusivamente viral e alto grau de conservação estrutural em comparação com outros coronavírus. (2) A proteína RdRp (nsp12) foi expressa em células de inseto usando o sistema de Baculovírus e posteriormente purificada em três etapas de cromatografia. As proteínas cofatoras foram expressas em sistema bacteriano e purificadas em dois passos de cromatografia. A atividade da polimerase, isoladamente e em complexo, foi avaliada usando uma técnica de medição direta que monitora o alongamento de um RNA modelo, utilizando a fluorescência de uma sonda intercalante (SYBR Green I - SGI). A formação do complexo aumenta consideravelmente a eficiência do processo de alongamento da cadeia peptídica. Até o momento, aproximadamente 160 compostos com potencial inibitório foram testados contra o complexo replicase. Esses compostos foram obtidos de coleções comerciais e da biblioteca disponível em nosso grupo. Alguns desses compostos já foram descritos na literatura como inibidores de RdRp de outros vírus, como Zika e Chikungunya. A maioria dos compostos testados não inibiu a atividade do complexo replicase, no entanto, identificamos quatro moléculas que demonstraram inibição promissora com valores de IC₅₀ na faixa de baixo micromolar (0,9 a 6,0 μ M). Os ensaios de deslocamento térmico (Differential Scanning Fluorimetry – DSF) revelaram alterações significativas na temperatura de fusão (T_m) da proteína em sua forma apo, em comparação com a proteína incubada com cada um desses quatro ligantes (3 a 20°C), indicando que a proteína apresenta afinidade pelos ligantes. Esses resultados abrem caminho para a descoberta de novos inibidores de RdRp como candidatos a fármacos antivirais.

Palavras-chave: SARS-Cov-2. RdRp. Inibidores.

Agência de fomento: CAPES (88887.506832/2020-00)

Referências:

- 1 YIN, W. *et. al.* Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. **Science**, v. 368, n. 6498, p. 1499-1504, 2020.
- 2 LIPSITCH , M.; SWERDLOW, D. L.; FINELLI, L. Defining the epidemiology of Covid-19 : studies needed. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 13, 1194-1196, 2020.