

Design *De novo* de Proteínas Antivirais: Alvejando os Mecanismos de Entrada Viral do SARS-CoV-2, Chikungunya e Dengue

Danilo Kiyoshi Matsubara

Peter Park, Hernan Chaimovich

Iolanda Midea Cuccovia

Instituto de Química/Universidade de São Paulo

danilokiyoshi@usp.br

Objetivos

Desenvolver computacionalmente proteínas sintéticas (*binders*) projetadas para interagir com componentes críticos de entrada viral e bloquear interações chave. Este trabalho focou em proteínas alvo de três vírus: SARS-CoV-2 (RBD), Chikungunya (Envelope) e Dengue (Envelope - *Loop* de Fusão). Os *binders* gerados aqui podem ser potenciais antivirais contra os vírus selecionados.

Métodos e Procedimentos

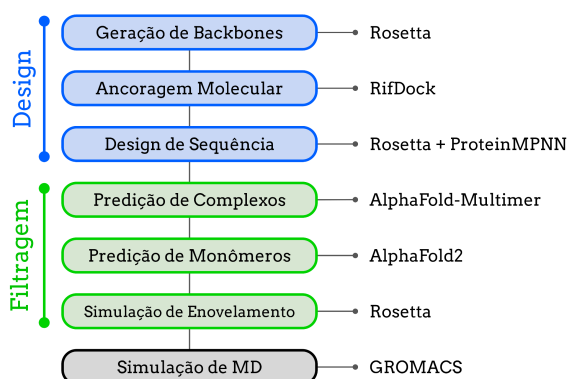


Figura 1. Protocolo de design (azul) e filtragem (verde) de modelos. Para analisar os complexos e monômeros, simulações de MD foram realizadas ao final (cinza). Programas utilizados em cada etapa estão indicados à direita.

As estruturas alvo foram retiradas do PDB. Os softwares Rosetta [1], RifDock [2] e a rede neural ProteinMPNN [3] foram utilizadas para gerar backbones iniciais, ancorar e calcular a sequência mais provável para os *binders*. Modelos com alta viabilidade experimental foram selecionados com base em previsões estruturais de complexos e monômeros (*binder*) realizadas com o AlphaFold-Multimer [4] e o AlphaFold2 [5], respectivamente; simulações de enovelamento para os melhores *binders* também foram realizadas com o Rosetta. Por fim, para modelos selecionados, simulações MD de complexos e monômeros foram realizadas com o pacote GROMACS [6].

Resultados

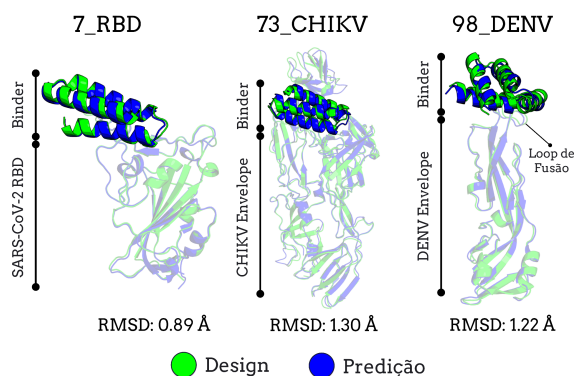


Figura 2. Alinhamento estrutural dos complexos desenhados e preditos. Com enfoque no *binder*.

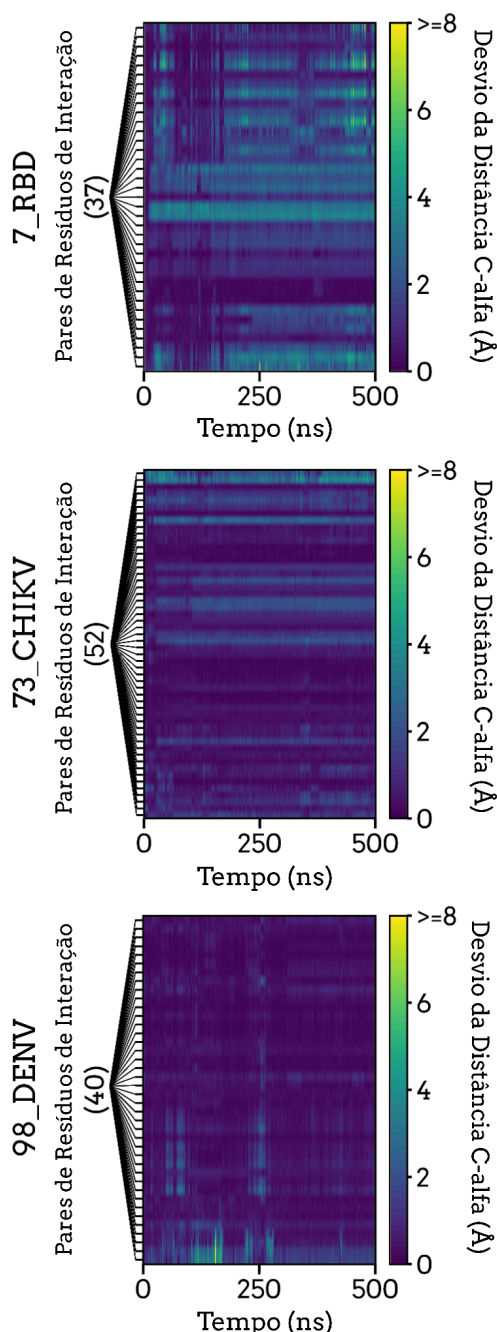


Figura 3. Análise da estabilidade dos pares de resíduos de interação entre o *binder* e o alvo ao longo da simulação de MD.

Um *binder* para cada vírus é apresentado aqui. Seus complexos desenhados são similares ao complexo predito (Fig. 2). Nas simulações de MD dos complexos, a maioria dos pares de resíduos de interação se mantiveram estáveis, com baixo desvio de suas distâncias originais (Fig. 3), indicando estabilidade de interação. Simulações dos *binders* fora de complexo indicam estabilidade estrutural (dados não apresentados).

Conclusões

Os ligantes gerados aqui representam potenciais biofármacos contra os vírus selecionados. Por meio de estudos experimentais, a eficácia *in vitro* pode ser validada. Essa abordagem pode ser aplicada a outras proteínas alvo de interesse.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq – 465259/2014-6, CAPES, INCT-FCx, FAPESP – 2014/50983-3 pelo incentivo financeiro e ao LNCC pelos recursos computacionais.

Referências

- [1] LEMAN, J. K. et al. Macromolecular modeling and design in Rosetta: recent methods and frameworks. *Nature Methods*, v. 17, n. 7, p. 665–680, 1 jun. 2020.
- [2] DOU, J. et al. De novo design of a fluorescence-activating β -barrel. *Nature*, v. 561, n. 7724, p. 485–491, 1 set. 2018.
- [3] DAUPARAS, J. et al. Robust deep learning-based protein sequence design using ProteinMPNN. *Science*, v. 378, n. 6615, p. 49–56, 7 out. 2022.
- [4] EVANS, R. et al. Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer. *BioRxiv*, 4 out. 2021
- [5] JUMPER, J. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, v. 596, n. 7873, p. 583–589, 15 jul. 2021.
- [6] ABRAHAM, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, v. 1-2, p. 19–25, set. 2015.