

# LIVRO DE RESUMOS

# SIFSC11

DÉCIMA PRIMEIRA SEMANA DA  
GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO DO  
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS - USP

# 2021



Universidade de São Paulo  
Instituto de Física de São Carlos

XI Semana Integrada do Instituto de  
Física de São Carlos

Livro de Resumos

São Carlos  
2021

# Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

SIFSC 11

## Coordenadores

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

Diretor do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Luiz Vitor de Souza Filho

Presidente da Comissão de Pós Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Luís Gustavo Marcassa

Presidente da Comissão de Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

## Comissão Organizadora

Arthur Deponte Zutião

Artur Barbedo

Beatriz Kimie de Souza Ito

Beatriz Souza Castro

Carolina Salgado do Nascimento

Edgard Macena Cabral

Fernando Camargo Soares

Gabriel dos Reis Trindade

Gabriel dos Santos Araujo Pinto

Gabriel Henrique Armando Jorge

Giovanna Costa Villefort

Inara Yasmin Donda Acosta

Humberto Ribeiro de Souza

João Hiroyuki de Melo Inagaki

Kelly Naomi Matsui

Leonardo da Cruz Rea

Letícia Cerqueira Vasconcelos

Natália Carvalho Santos

Nickolas Pietro Donato Cerioni

Vinícius Pereira Pinto

## Normalização e revisão – SBI/IFSC

Ana Mara Marques da Cunha Prado

Maria Cristina Cavarette Dziabas

Maria Neusa de Aguiar Azevedo

Sabrina di Salvo Mastrantonio

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos  
(11: 06 set. - 10 set. : 2021: São Carlos, SP.)  
Livro de resumos da XI Semana Integrada do Instituto de  
Física de São Carlos/ Organizado por João H. Melo Inagaki [et al.].  
São Carlos: IFSC, 2021.

412 p.

Texto em português.

1. Física. I. Inagaki, João H. de Melo, org. II. Título

ISBN 978-65-993449-3-0

CDD 530

## PG174

### Bases estruturais do mecanismo de maturação da enzima Main Protease (Mpro) do vírus SARS-CoV-2

NOSKE, G. D.<sup>1</sup>; GODOY, A.<sup>1</sup>; OLIVA, G.<sup>1</sup>; NAKAMURA, A.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, V. G. F.<sup>1</sup>; FERNANDES, R. S.<sup>1</sup>; LIMA, G.; ROSA, H. V. D.<sup>1</sup>; PEREIRA, H.<sup>1</sup>; ZERI, A. C. M.<sup>2</sup>; NASCIMENTO, A. S.<sup>3</sup>; FREIRE, M. C. L. C.<sup>1</sup>

gabriela.noske@usp.br

<sup>1</sup>Instituto de Física de São Carlos - USP

<sup>2</sup>CNPEM

<sup>3</sup>Laboratório Nacional de Luz Síncrotron

O vírus SARS-CoV-2 é o agente causador da COVID-19, uma doença infecciosa altamente contagiosa responsável pela pandemia que teve início em março de 2020. (1) O genoma viral contém uma ORF (ORF1ab), que codifica duas poliproteínas (pp1a e pp1ab) contendo proteínas não-estruturais do vírus, essenciais para sua replicação. Uma das proteínas não estruturais, a enzima nsp5 Mpro é pertencente à família das cisteíno proteases, possui estrutura dimérica e é responsável pela clivagem das poliproteínas virais em 11 sítios, auxiliando na liberação das proteínas virais maduras.(2) Dada sua importância no ciclo de replicação, é evidente que ela representa um importante alvo no planejamento de potenciais candidatos antivirais, sendo uma das proteínas de SARS-CoV-2 mais estudadas, possuindo diversas estruturas cristalográficas resolvidas. No entanto, seu processo de maturação ainda permanece pouco caracterizado.(3) Desta forma, o objetivo principal deste projeto é a elucidação deste mecanismo, além da busca por inibidores. Inicialmente, amplificamos a região codificante da Mpro utilizando como molde o cDNA viral, gentilmente cedido pelo Dr. Edison Durigon (ICB-USP). A sequência amplificada foi clonada no vetor de expressão pET\_M11, em três construções diferentes: uma forma imatura da enzima (IMT Mpro), uma forma nativa (Mpro) e um mutante inativo (C145S Mpro) que contém a sequência de auto-clivagem da enzima na região N-terminal. Ambas as proteínas foram purificadas e cristalizadas. A coleta de dados foi realizada na linha MANACA, no SIRIUS e a resolução da estrutura feita utilizando o método de substituição molecular. Realizamos também a caracterização em solução das enzimas, a partir de ensaios de atividade baseados em FRET e determinação dos estados oligoméricos por SEC-MALS. Por fim, a enzima IMT Mpro foi utilizada para realização de um fragment screening. A estrutura cristalográfica desta forma imatura da enzima revelou uma série de mudanças estruturais comparada a forma nativa, incluindo seu sítio de ligação ao substrato. Além disso, mostrou atividade significativamente reduzida e monomérica em solução, em contraste com a enzima nativa. Como resultados do fragment screening, obtemos diversas estruturas em complexo com fragmentos, incluindo um deles da interface dimérica, sítio este que ainda não havia sido descrito. Também obtivemos a estrutura da enzima C145S Mpro, que se apresentou em complexo com ambas as regiões N e C-terminal de reconhecimento da enzima, demonstrando que o mutante ainda possui atividade catalítica residual e foi capaz de realizar a auto-clivagem de seu peptídeo N-terminal. Por sua vez, o peptídeo C-terminal é proveniente de uma cadeia relacionada por simetria. Esta construção em solução, revelou conter uma mistura dos estados oligoméricos monômeros, dímeros, trímeros e tetrâmeros. Assim, propusemos um mecanismo de maturação para a enzima, que tem início com a formação de um dímero intermediário para clivagem da região N-terminal, seguida da associação de dois dímeros para remoção do C-terminal, resultando

na liberação da enzima madura. A elucidação deste mecanismo possibilita o planejamento de inibidores tendo como alvo etapas intermediárias da maturação da enzima. Nas próximas etapas realizamos a triagem de inibidores, tal como obtenção de complexos e otimização destes, utilizando as informações estruturais obtidas.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2. Main-protease. Maturação

#### **Referências:**

- 1 ZHU, N. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019, **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 727–733, 2020. DOI:10.1056/NEJMoa.2001017.
- 2 ZHANG, D.L.*et al*, Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors,**Science**, v. 368, n.6489,p. 409–412, 2020.
- 3 XIA,B. ; KANG,X. Activation and maturation of SARS-CoV main protease,**Protein Cell**, v. 2, n.4,p. 282–290, 2011.