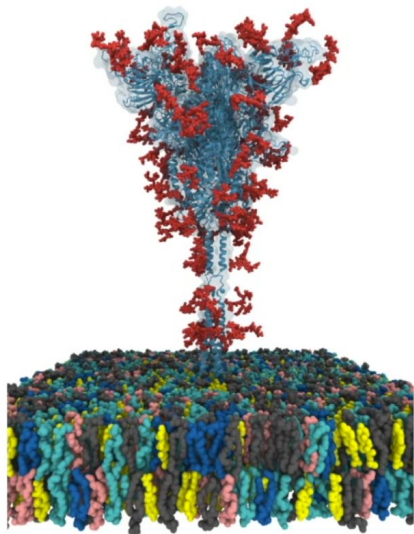

Simulações moleculares na exploração de ativos no combate ao coronavírus em ambientes imersivos



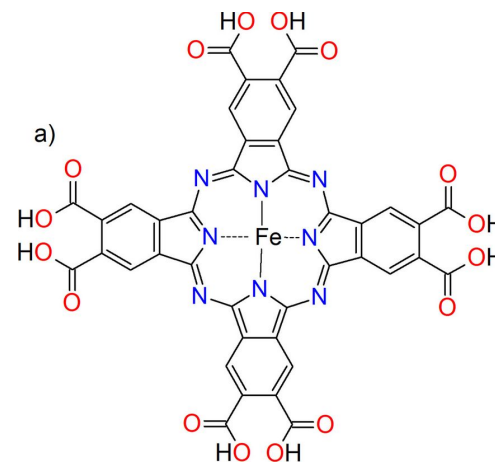
Teresa Lanna

SAMPA - DFMT

Instituto de Física

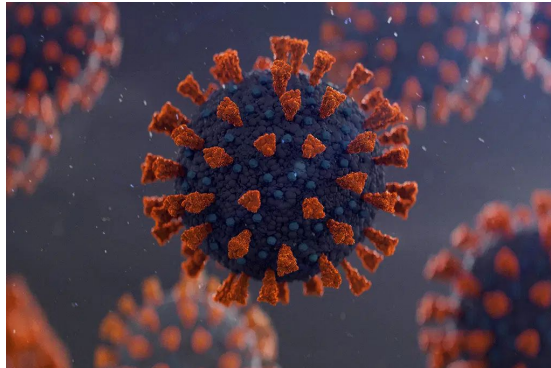
Universidade de São Paulo

Orientador: Caetano Rodrigues Miranda



Apresentação do problema

- COVID-19: SARS-CoV-2 → sobrecarga no sistema público de saúde;
- Problema social e econômico mundial → ameaça à saúde pública global;



Apresentação do problema

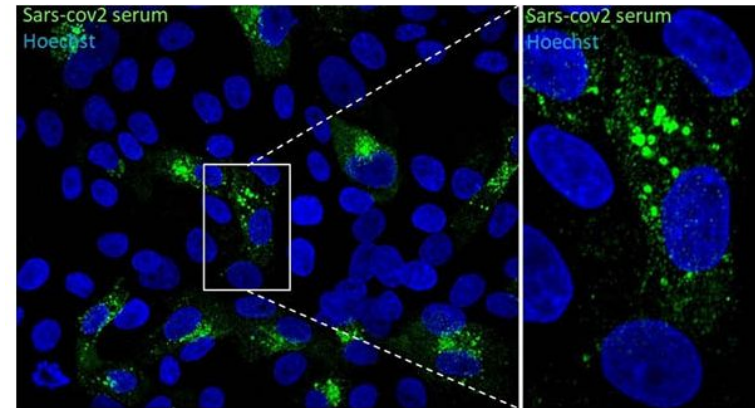
- Desenvolvimento de drogas para o combate ao vírus;
 - Caracterização estrutural do vírus e o melhor entendimento da interação com diferentes materiais e receptores virais;
 - Através de simulações computacionais (de multiescala) → **acelerar** descoberta de novos ativos (drogas);
 - Propriedades termodinâmicas e cinéticas, alterações estruturais da interação ativo-receptor.
-

Enxaguante bucal antiviral

- Cavidade oral → infecção e transmissão pela saliva;
 - Reduzir carga viral: não evolução para condição crítica do COVID-19;
 - **IQ-USP & Golden: ativo** no formato de enxaguante bucal no combate a covid:
 - Reduzir a carga viral,
 - Melhora clínica de pacientes infectados;
 - Autoativação, na presença de oxigênio molecular, produção contínua de oxigênio reativo, capaz de inativar o vírus e portanto reduzir a carga viral na boca.
-

Estudos *in-vitro* e clínicos

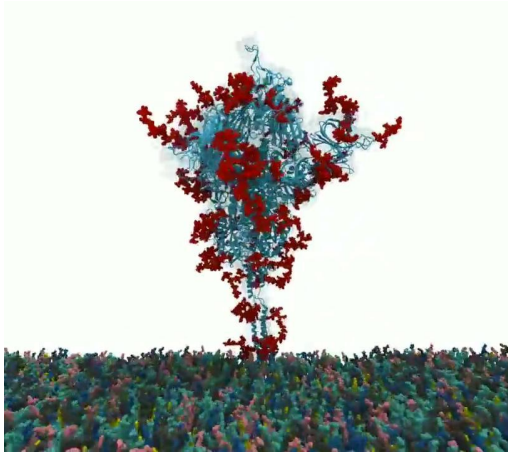
- *In-vitro* → atividade virucida do ativo de 30 segundos e cerca de 90% de partículas virais SARS-CoV-2 inativadas.
- Estudo clínico → pacientes gargarejaram com 5 mL durante 1 minuto, cinco vezes ao dia, durante 14 dias;
- Redução significativa dos sintomas clínicos;
- Tratamento significativo:
 - Reduzir os sintomas na região das vias aéreas superiores,
 - Recuperação mais rápida,
 - Sem efeitos adversos.



Microscopia de imunofluorescência de células Vero-E6 infectadas com SARS-CoV-2. No campo de maior ampliação (direita) é possível observar as vesículas em detalhes (Crédito: Edison Durigon/ICB-USP)

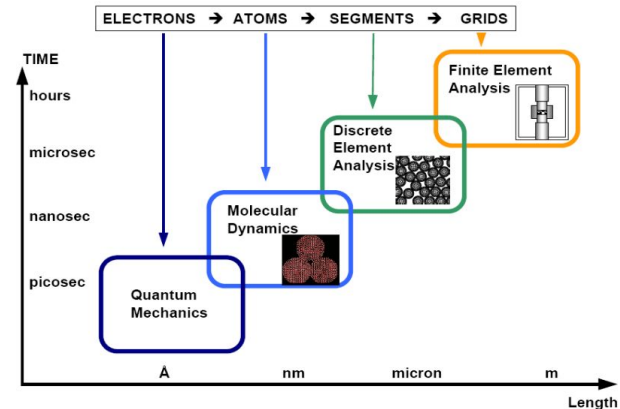
Objetivos

- Entendimento dos mecanismos e os sítios chaves que tornam o ativo funcional nesse combate;
- Simulações de multiescalas para mapeamento das interações ativo-receptor na estrutura do vírus;



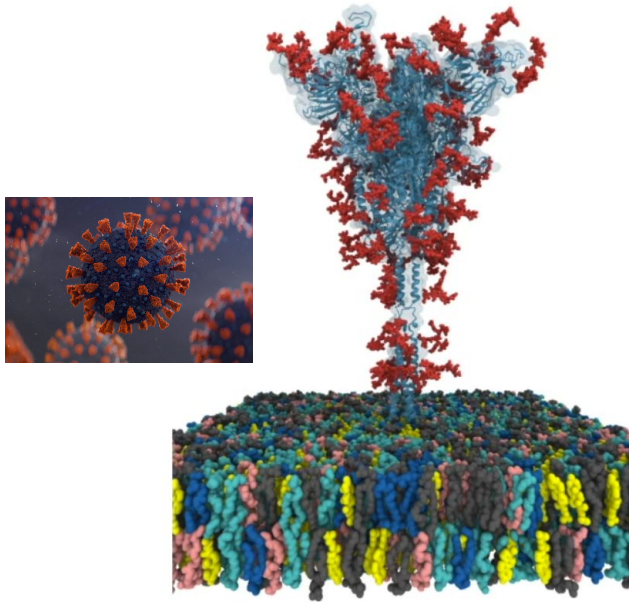
Modelo de proteína SARS-CoV-2 de comprimento total totalmente glicosilado em uma membrana viral

Multi-scale Computational Hierarchy of Materials Simulations

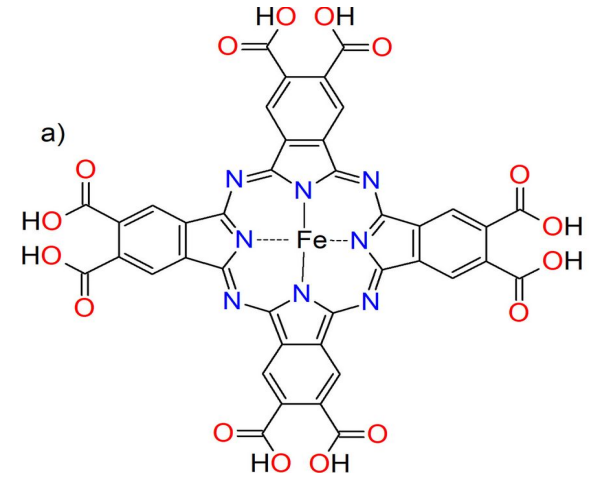


Modelos do sistema

Estrutura viral



Estrutura do ativo



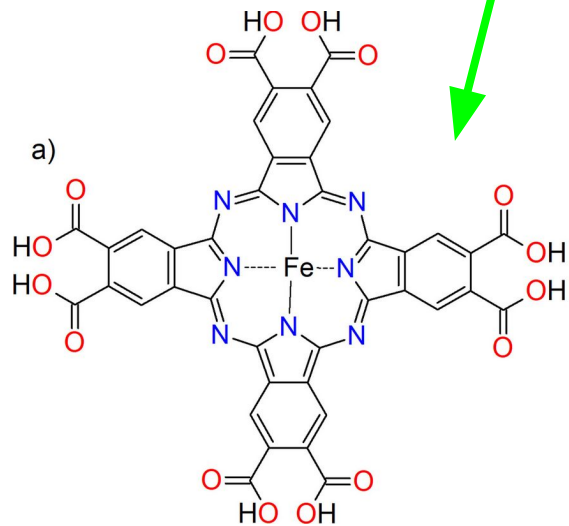
Fe_2PcOC

Metodologia

- Cálculos de simulação computacional de **dinâmica molecular** para estudo do receptor viral:
 - Proteína ou um complexo de proteínas e membrana,
 - Reconhecimento das interação com um mensageiro molecular, ativo ligante.
 - Mecanismos das alterações estruturais e termodinâmicas induzidas pela ligação dos ativos ao receptor viral.
 - Estudos aprofundados da estrutura eletrônica do ativo com **cálculos de DFT**;
 - Emular experimentos com infravermelho a partir do mapeamento de frequências e modos vibracionais.
-

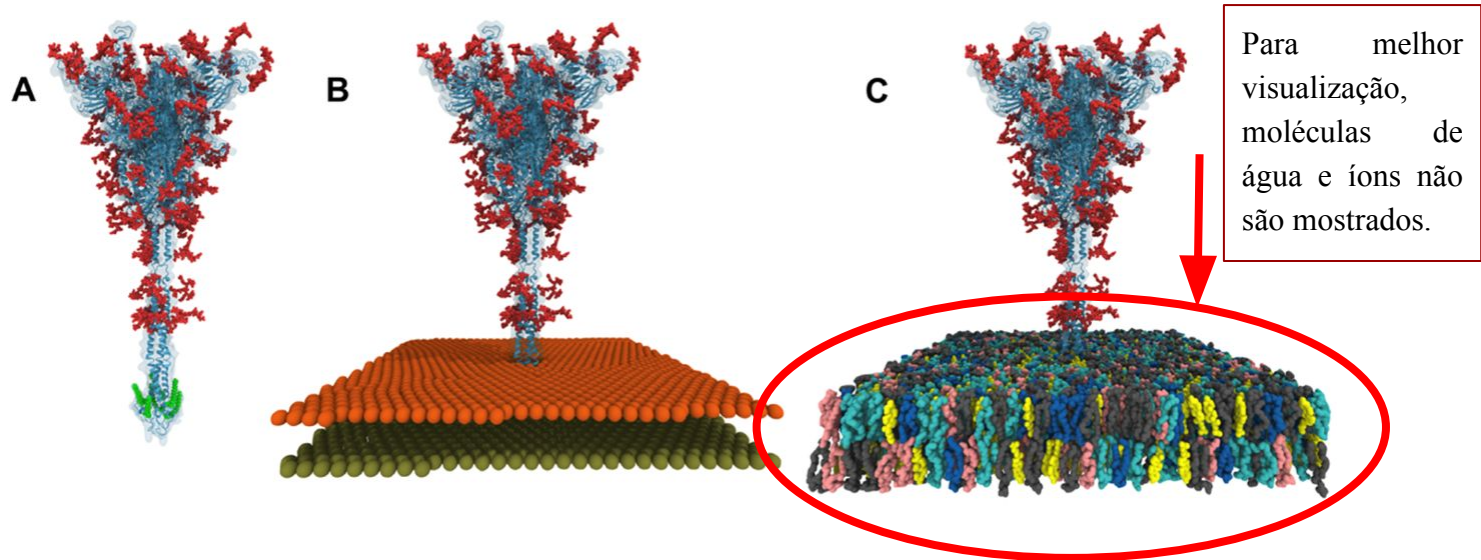
Estrutura do ativo - DFT

Cálculos de DFT para relaxação da estrutura
Geometria otimizada, cargas e propriedades de espectroscopia



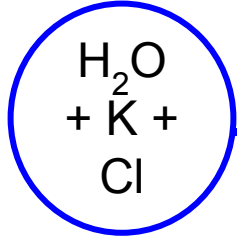
Derivado de octacarboxifalocianina de ferro aniônico (Fe_2PcOC)

Estrutura viral - Membrana viral



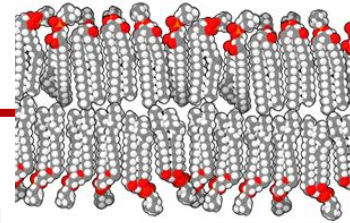
Montagem da estrutura molecular do sistema a ser simulado, material disponibilizado pelo arquivo de proteínas da COVID do CHARMM-GUI. (A) Estrutura do modelo da proteína spike. (B) Proteína conectada a (C) Sistema final gerado: proteína SARS-CoV-2 S de comprimento total em um membrana viral [11].

Dinâmica molecular - Membrana celular lipídica



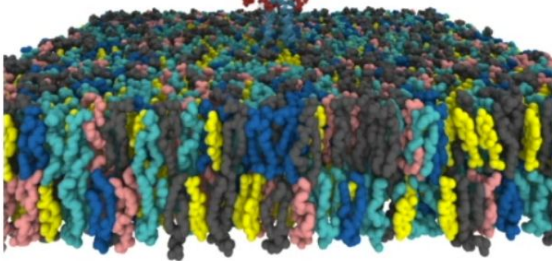
Meio fisiológico

- Cálculos de DM da bicamada em solução (Frações adequadas dos lipídios)
- GROMACS e/ou LAMMPS

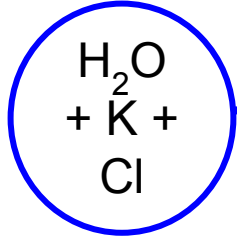


Propriedades a serem obtidas:

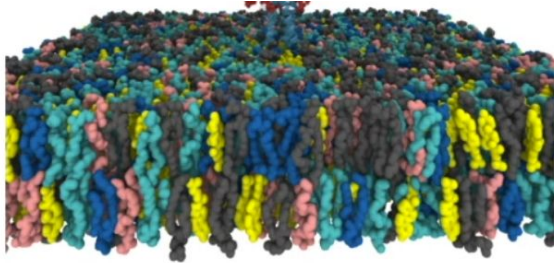
- Energias (potencial, cinética e total);
- Distribuição radial de pares da água em torno dos lipídios;
- Difusão lateral dos lipídios;
- Curvatura (suAVE).



Dinâmica molecular - Membrana celular lipídica



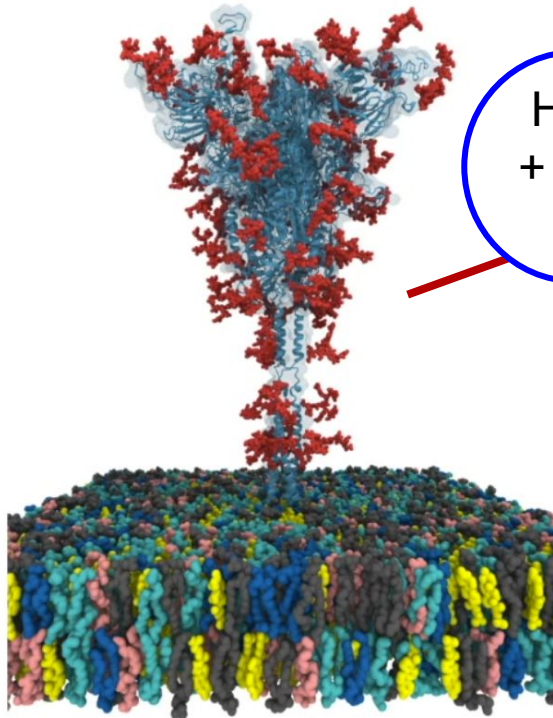
- Cálculos de DM da bicamada em solução
- GROMACS e/ou LAMMPS



Efeitos da curvatura na membrana

- suAVE
 - Monitorar o comportamento e obter a curvatura normal da membrana → referência nos estudos com o ativo.
-

Dinâmica molecular - Membrana e spike



- Cálculos de DM da bicamada e spike em solução
- GROMACS e/ou LAMMPS

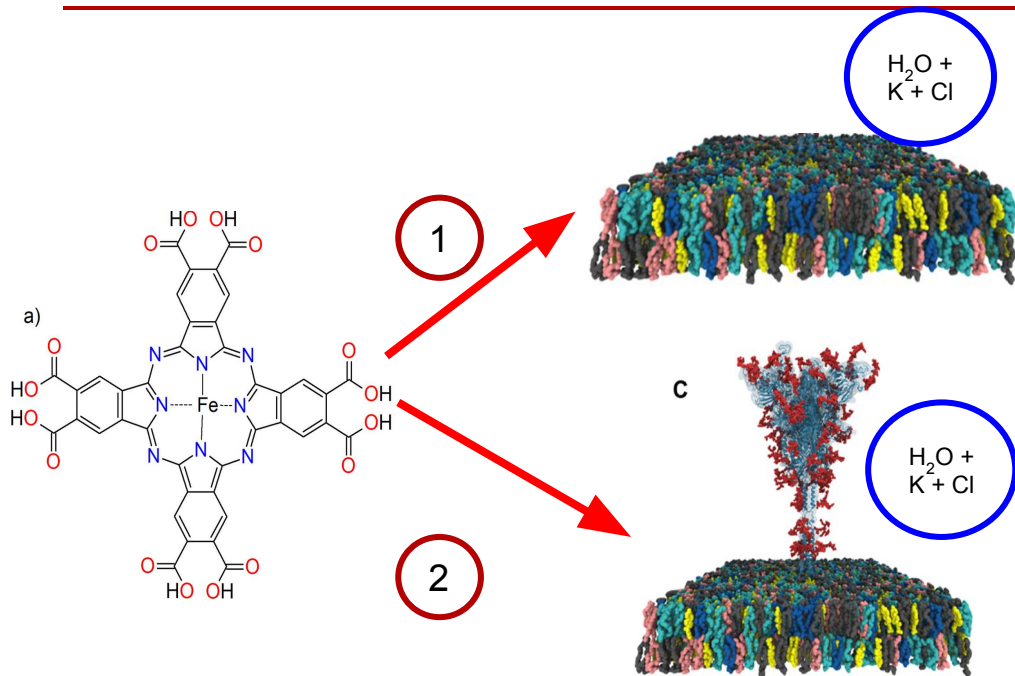
Propriedades a serem obtidas:

- Energias (potencial, cinética e total);
 - Distribuição radial de pares da água em torno dos lipídios;
 - Difusão lateral dos lipídios;
 - Curvatura (suAVE).
-

Dinâmica molecular



DM Interativa com realidade virtual

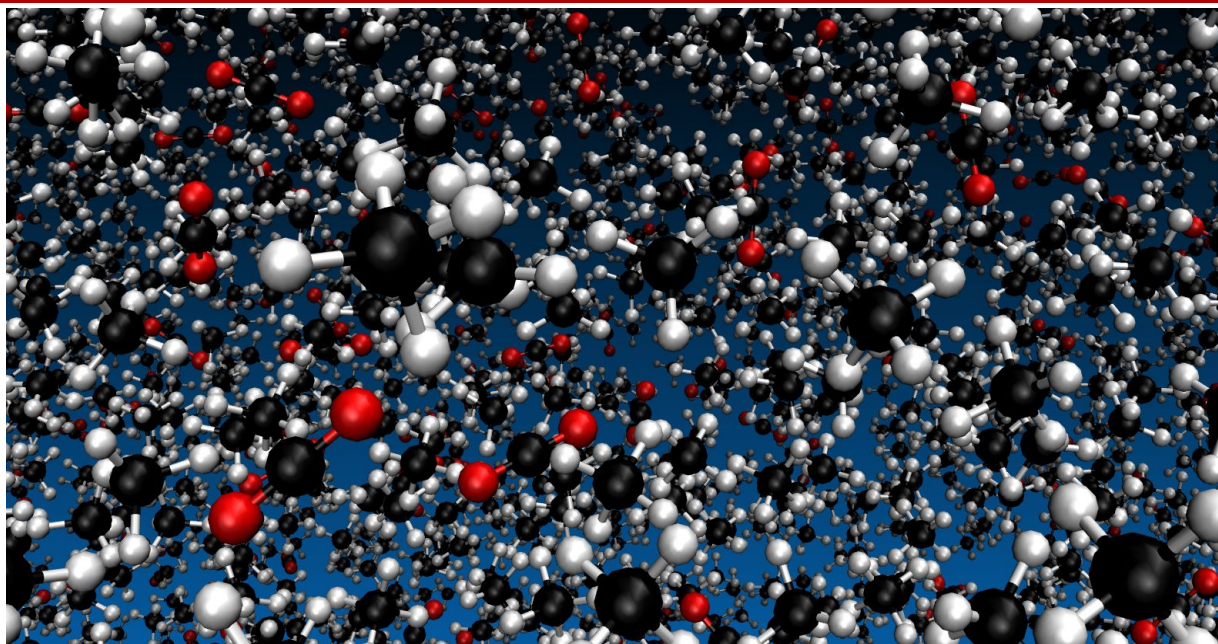


Propriedades a serem obtidas:

- Energias (potencial, cinética e total);
- Distribuição radial de pares da água em torno dos lipídios;
- Difusão lateral dos lipídios;
- Curvatura (suAVE).

Alterações

Obrigada

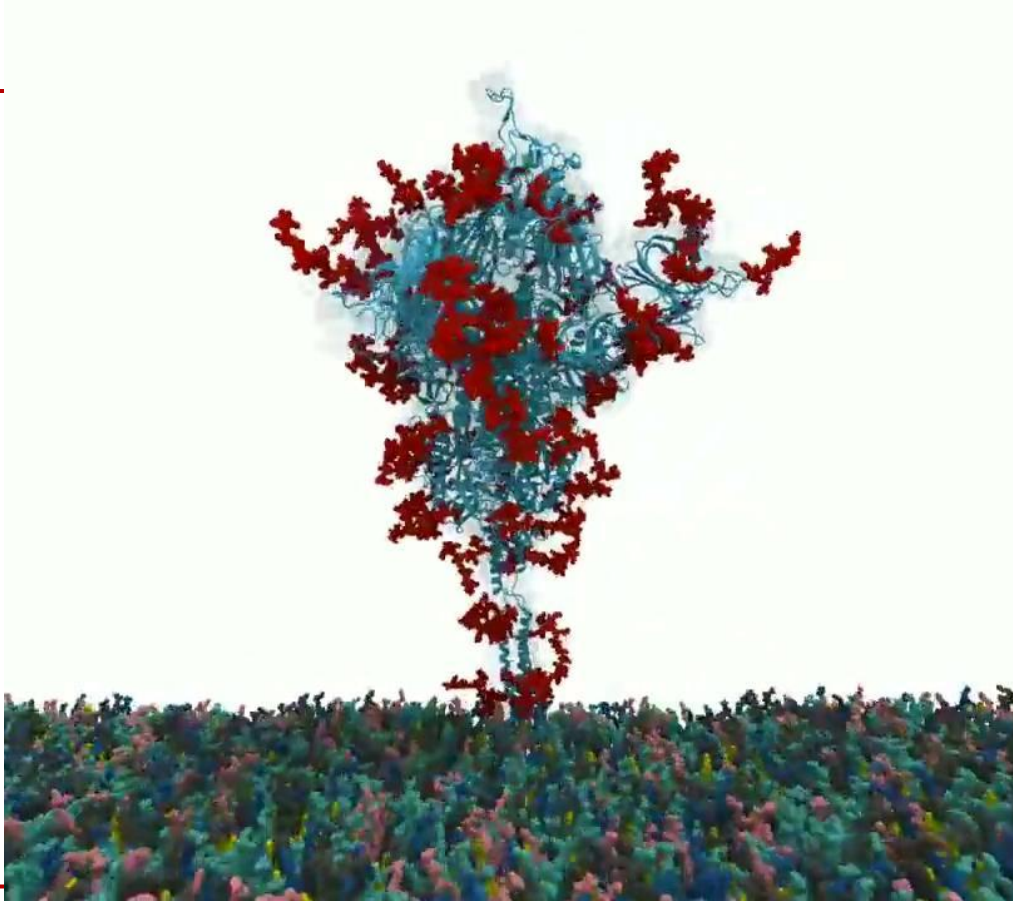


sampa



Dinâmica molecular - CHARMM-GUI

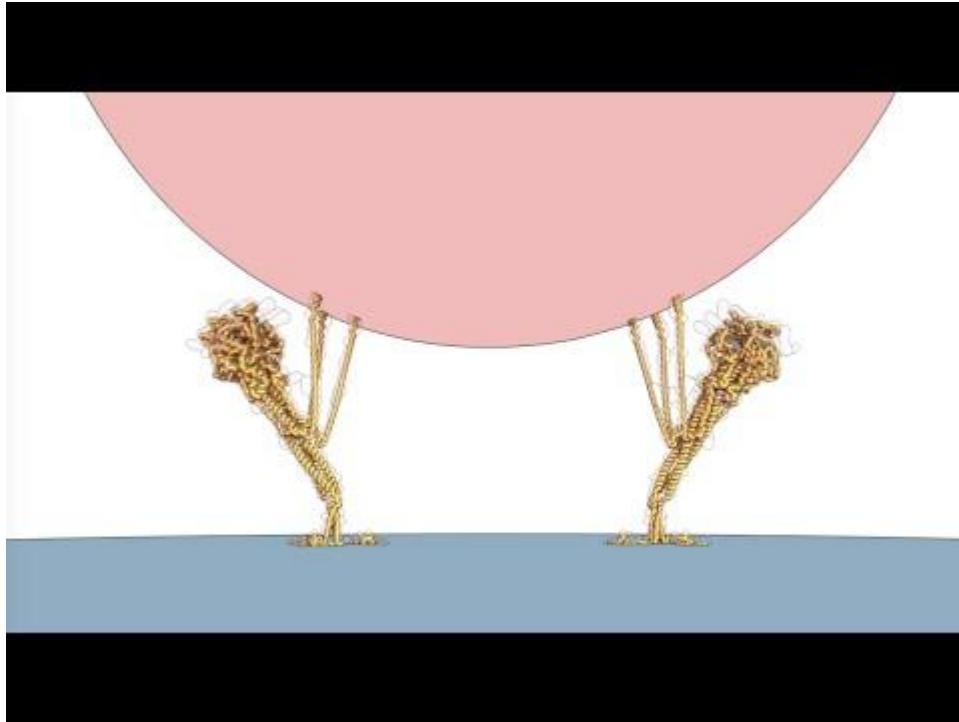
- Software GROMACS
 - Campo de força CHARMM para proteínas, lipídios e carboidratos
 - Modelo de água TIP3P foi usado juntamente com solução de KCl 0,15 M
 - Concentração de sal → manter as condições fisiológicas.
 - Total de átomos: 2.343.394
 - (6VSB_1_1_1: 668.899 moléculas de água, 2128 K⁺, e 1857 Cl⁻)
 - Van der Waals (< 10–12 Å)
 - Metodo de Ewald de malha de ~1 Å
 - 310,15 K, Nosé-Hoover
 - 1 bar, semi-isotrópico de Parrinello-Rahman.
 - Na equilibração
 - NVT, dt = 1 fs por 250 ps
 - NPT, dt = 1 fs por 2 ns, e dt = 2 fs por 18 ns.
 - Produção dt = 4 fs e técnica de de repartição da massa do hidrogênio
-



Developing a Fully Glycosylated Full-Length SARS-CoV-2 Spike Protein Model in a Viral Membrane

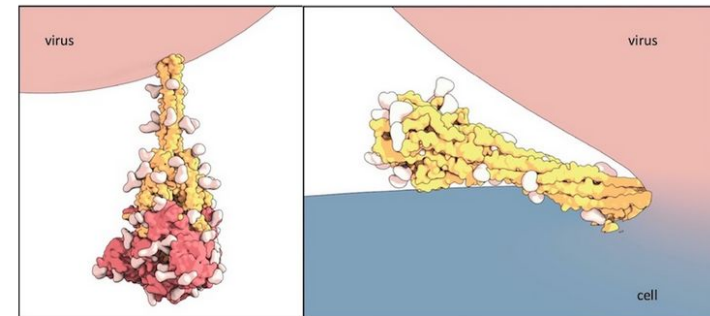
Capturing SARS-CoV-2's shape-shifting spike protein

Nancy Fliesler | [Basic/Translational](#), [Research](#)



S1 subunit binds to a host cell receptor.

Receptor binding destabilizes the prefusion trimer, resulting in **shedding of the S1 subunit** and **transition of the S2 subunit** to a stable **postfusion conformation** (9).



The two alternate shapes of the SARS-CoV-2 spike protein, before and after fusion of the viral and cell membranes. (Image created with Molecular Maya by Jonathan Khao, PhD, and Gaël McGill, PhD, Digizyme Inc.)

A DFT Study on Application of Dual-Atom Fe₂/Phthalocyanine

Catalyst for N₂ Reduction Reaction

L. Yang*, X. Ma, Y. Y. Xu, J. Y. Xu, Y. D. Song

- DFT framework by DMol₃ code.
- GGA–PBE to describe exchange and correlation effects
- DSPP core treat method is implemented for relativistic effects
- DNP is chosen as the basis set
- A smearing of 0.005 Ha (1 Ha = 27.21 eV) is applied to accelerate electronic convergence
- Convergence tolerances of energy, maximum force and displacement are 1.0×10^{-5} Ha, 0.002 Ha/Å and 0.005 Å, respectively. The spin unrestricted method is used for all calculations.
- A conductor-like screening model (COSMO) was used to simulate a H₂O solvent environment, where the dielectric constant is set as 78.54 for H₂O.
- In order to describe van der Waals (vdW) interactions, the Grimme scheme is adopted herein
- ~~During the geometrical optimization, the systems are free to relax. To avoid the artificial interactions, the 15Å-thick vacuum is added vertically to the Pc surfaces.~~

A DFT Study on Application of Dual-Atom Fe₂/Phthalocyanine

Catalyst for N₂ Reduction Reaction

L. Yang*, X. Ma, Y. Y. Xu, J. Y. Xu, Y. D. Song

The adsorption energies E_{ads} are calculated by

$$E_{\text{ads}} = E_{\text{system}} - E_{\text{catalyst}} - E_{\text{m}} \quad (1)$$

where E_{system} , E_{catalyst} and E_{m} represent the total energy of the adsorption system, the catalyst and the adsorbates, respectively

According to the computational hydrogen electrode (CHE), the $\Delta E(U)$ for elementary step at the potential U can be determined by

$$\Delta E(U) = \Delta E - eU \quad (2)$$

where ΔE is energy from the DFT calculations, e is the electron and U is the bias voltage. $\Delta E(U) < 0$

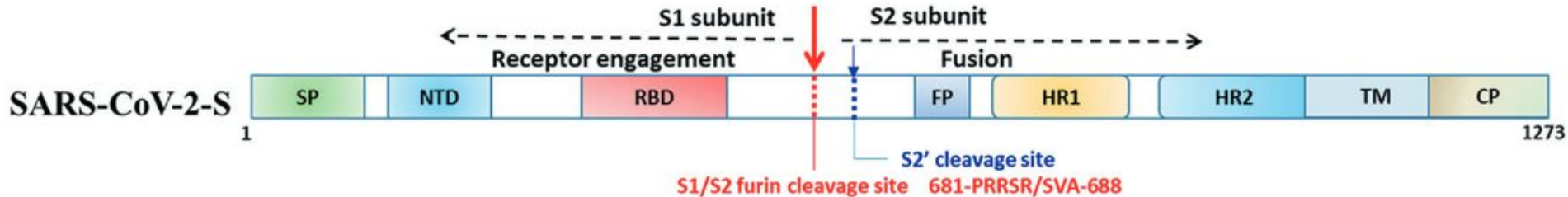
means an exothermic adsorption process, vice versa.

Multiescala com aplicação ao objeto de estudo

Apresentamos um procedimento para o uso de simulações de dinâmica (MD) para fornecer fluido essencial e propriedades de interface para uso posterior em computação cálculos de dinâmica de fluidos (CFD) de fluxos de fluidos em nanoescala. As pré-simulações de MD nos permitem obter uma equação de estado, relações constitutivas e condições de fronteira para qualquer combinação de fluido / sólido, em uma forma que pode ser convenientemente implementado dentro de uma convenção solucionador nacional Navier – Stokes. Nossos resultados demonstram que essas simulações de CFD aprimoradas são, então, capazes de fornecer bons resultados de campo de fluxo em uma variedade de geometrias em nanoescala. A comparação para validação é com simulações de MD em grande escala aqui, mas o computador custo do CFD aprimorado é insignificante em comparação com o MD. É importante ressaltar que previsões precisas podem ser obtidas em geometrias que são mais complexas do que o MD planar geometria de pré-simulação que fornece o fluido em nanoescala propriedades. A robustez do CFD aprimorado é testada vpor aplicação ao fluxo de água ao longo de um (15,15) carbono nano- tubo, e descobriu-se que informações úteis sobre o fluxo podem ser obtido

LETTEROPEN

The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin



Schematic representation of SARS-CoV-2 S protein and the location of S1/S2 and S2' cleavage site. SP, signal peptide; FP, fusion peptide; HR, heptad repeat domain; TM, transmembrane domain; CP, cytoplasmic domain.

RRAR, a unique furin-like cleavage site (FCS) in the spike protein (S), which is absent in other lineage B β CoVs, such as SARS-CoV, is responsible for its high infectivity and transmissibility.

SARS-CoV-2 variants

- MERS-CoV (causador da Síndrome Respiratória do Oriente Médio ou MERS);
- SARS-CoV (causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave ou SARS);
- **nCoV-2019: novo tipo de vírus do agente coronavírus, chamado de novo coronavírus, que surgiu na China em 31 de dezembro de 2019.**
- Alpha coronavírus 229E e NL63;
- Beta coronavírus OC43 e HKU1;

Variantes de preocupação

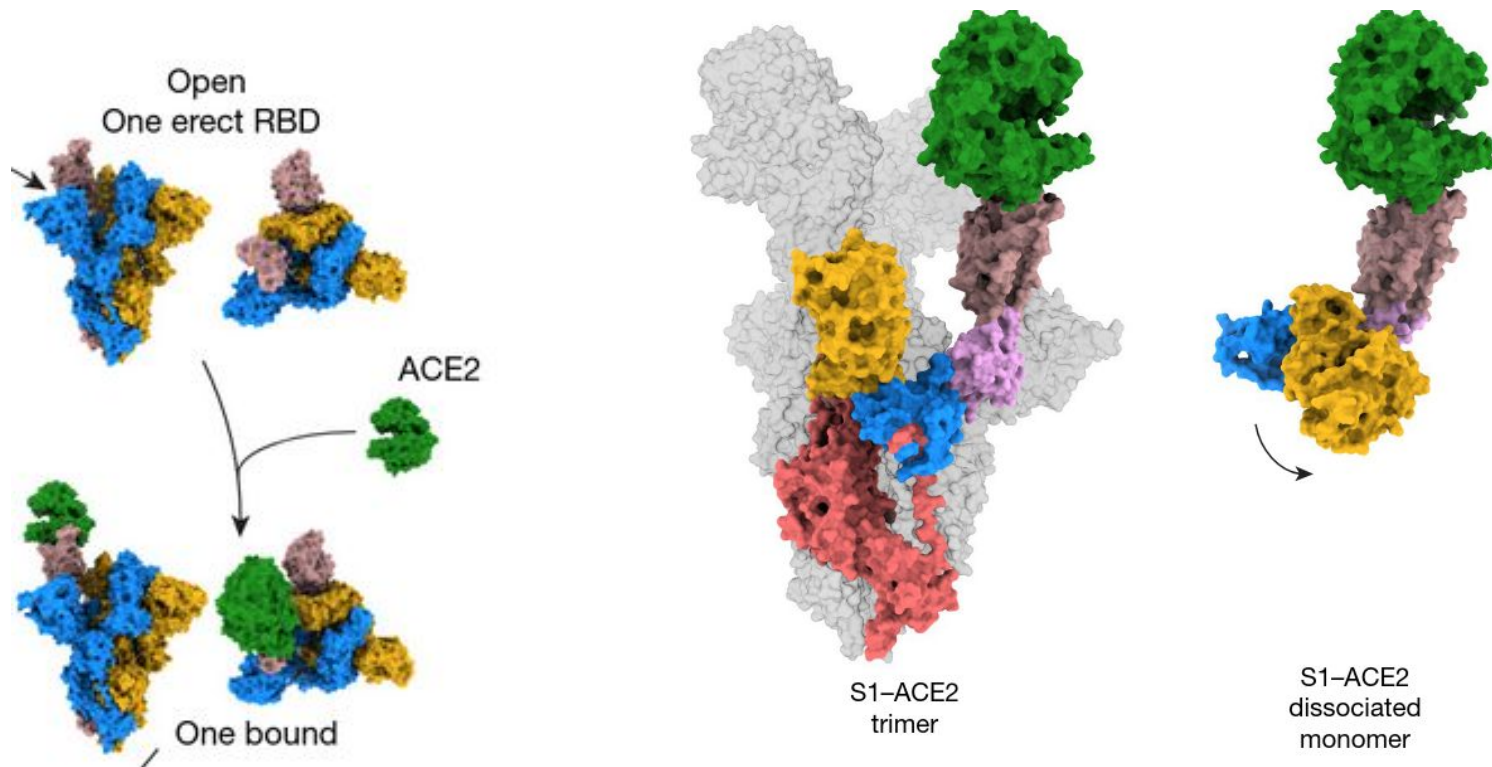
- Delta - Índia (B.1.617.2)
- Alfa - Reino Unido (B.1.1.7)
- Beta - África do Sul (B.1.351)
- Gama - Brasil (P1)

Variantes de interesse

Cepas que apresentam menor grau de transmissão e gravidade.

- Variante Épsilon (B.1427 e B.1429): encontrada na Califórnia;
 - Variante Zeta (P.2): encontrada no Brasil;
 - Variante Eta (B.1525): encontrada na Nigéria;
 - Variante Teta (P.3 e B.1.616): encontrada nas Filipinas e na França;
 - Variante Iota (B.1526): encontrada nos Estados Unidos;
 - Variante Capa (B.1617.1; B1.620 e B.1.621): encontrada na Índia e Colômbia;
 - Variante Lambda (C.37), encontrada no Peru.
-

Receptor binding and priming of the spike protein of SARS-CoV-2 for membrane fusion



Spike Protein prefusion conformations: up and down

- Trimeric class I fusion protein;
- Exists in a **metastable prefusion conformation**:

To engage a host cell receptor, the receptor-binding domain (RBD) of S1 undergoes hinge-like conformational movements that **transiently hide or expose the determinants** of the receptor binding:

→ **Down conformation**: the receptor-inaccessible state. In the closed conformation, the surface of the RBD, which would interact with the ACE2 receptor, is buried inside the trimer and is not accessible for receptor binding.

→ **Up conformation**: the receptor-accessible state, opened to expose the RBD for ACE2 binding, **which is thought to be less stable**
