UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

UFRJ

PLANO DE TRABALHO

1) Apresentação

Este plano de trabalho apresenta o detalhamento do projeto, executado na modalidade de convênio, a ser celebrado entre a Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ e a Fundação Universitária José Bonifácio.

2) Objeto do Convênio Específico

"Desenvolvimento pré-clínico de vacinas para COVID-19 através da atenuação do SARS-CoV-2".

3) Objetivo

Desenvolvimento de uma vacina de vírus atenuado recombinante segura e eficaz contra o SARS-CoV-2 combinando duas estratégias: a atenuação viral através de passagens seriadas em células de espécies diferentes e a recombinação do genoma viral através da eliminação de um gene acessório, seguida da substituição por um gene sintético codificante da timidina quinase que confere sensibilidade ao fármaco aciclovir.

4) Período de Execução

A partir da assinatura do convênio até 26/07/2024

5) Valor Global do Projeto

R$ 2.974.462,00 (dois milhões, novecentos e setenta e quatro mil, quatrocentos e sessenta e dois reais)

6) Justificativa para a Celebração do Instrumento

A pandemia do COVID-19 no Brasil acometeu, até o momento, 22 milhões de brasileiros, além de levar a óbito cerca de 610 mil, de diferentes faixas etárias (OpenDataSUS). Esta pandemia evoluiu rapidamente e revelou as extremas desigualdades entre os países. Embora no Brasil tenham sido realizados testes das estratégias vacinais contra SARS-CoV-2 desenvolvidas em outros países, a transferência de tecnologia para a produção nacional destas vacinas foi realizada tardiamente. Em janeiro de 2021, o Brasil iniciou sua campanha de vacinação e até o momento 59% da população brasileira acima de 12 anos de idade já foi vacinada completamente. O desenvolvimento de múltiplas estratégias vacinais, que complementem as tecnologias utilizadas em território nacional, contribuirá para a soberania do Brasil na produção e detenção de diferentes plataformas biotecnológicas de vacinas contra o SARS-CoV-2. Uma vez que estas vacinas precisam de reforço, a produção nacional é de suma importância, considerando a demanda constante de vacinas.

Diversas plataformas de vacinas (vetor Adenoviral, mRNA, inativada, etc) já foram desenvolvidas e são utilizadas para COVID-19 no mundo, porém, até o momento, vacinas baseadas em vírus atenuado ainda estão em fase pré-clinica/Fase I (WHO, 2021).
As vacinas de vírus atenuados (menor virulência) são historicamente as mais bem sucedidas na prevenção de doenças virais humanas, sendo utilizadas contra o sarampo, caxumba, rubéola, varíola, febre amarela, poliomielite e Influenza (MINOR, 2015). Quando tratamos de vírus respiratórios, as vacinas de vírus atenuado podem ser administradas via intranasal e induzir, de maneira geral, a produção de anticorpos do tipo IgA, os quais estão associados à resposta imune em regiões de mucosas (SEALY,2013;YADAV,2014). O SARS-CoV-2 utiliza a mucosa do trato respiratório superior como sítio de entrada e replicação no hospedeiro, por isso, esse tipo de resposta imune seria muito interessante no controle e combate à pandemia de COVID-19. Além disso, as vacinas de vírus atenuado induzem uma resposta imune robusta e de longo prazo (PULENDRAN; AHMED 2001). Outra vantagem das vacinas de vírus atenuados é a indução de resposta imune à múltiplos antígenos tanto de proteínas estruturais (proteínas S, M, N e E) quanto não estruturais, levando a uma resposta imune mais ampla contra estes diferentes componentes da infecção viral, diferentemente do que se observa nas vacinas de vetor viral e de mRNA, que tem como único alvo a proteína S.
A atenuação viral pode ser realizada adaptando o vírus a condições desfavoráveis (como por exemplo, propagação viral em baixas temperaturas ou em crescimento em células de hospedeiros não naturais) ou por modificação racional do vírus como por exemplo, por edição ou deleção de genes virais envolvidos na virulência. A estratégia de deleção de genes acessórios tem sido empregada no desenvolvimento de vacinas contra coronavírus que causam doenças veterinárias (HAIJEMA, 2004; VAN BEURDEN, 2018). Estas variantes são isoladas, purificadas e testadas quanto a sua patogenicidade em modelos apropriados.
Um aspecto importante no desenvolvimento de vacinas atenuadas virais é garantir a segurança do indivíduo, pois há possibilidade que o vírus possa reverter a atenuação e recuperar sua capacidade de causar doenças (MAK, 2006). Por isso, é essencial o desenvolvimento de estratégias que evitem a reversão do fenótipo de atenuação nos indivíduos infectados. Neste projeto, propomos o desenvolvimento de uma vacina de vírus atenuado através de dois processos distintos: a) deleção do gene acessório, ORF 3a, associado à patogênese viral e b) adaptação do vírus através de passagens seriadas em baixas temperaturas de cultivo. Ainda será inserido um gene de timidina quinase do HSV no genoma viral tornado a nova cepa sensível ao antiviral aciclovir, que poderá ser usado para evitar uma possível reversão da atenuação. Este já foi utilizado como gene suicida em terapia gênica (MOOLTEN,1990).

7) Caracterização dos interesses recíprocos

Disponibilizar uma vacina candidata contra a COVID-19, pronta para seguir parafase clínica, a partir de vírus atenuado recombinante com elevado potencial imunizante de longo prazo, com características satisfatórias de biossegurança para evitar a reversão do fenótipo de atenuação nos indivíduos vacinados. A mesma visa uma proteção longeva com aplicação de caráter nacional, garantindo o acesso em massa da população brasileira.

8) Relação entre a proposta e os objetivos e diretrizes do programa

Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde (PNCTIS), prevista no Artigo 8°, inciso III na Portaria de Consolidação n° 2, de 28 de setembro de 2017, que prevê o fomento à pesquisa científica e tecnológica em saúde

- PORTARIA Nº 188, DE 3 DE FEVEREIRO DE 2020, que declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) em decorrência da Infecção Humana pelo novo Coronavírus (2019-nCoV).

9) Público alvo

Direto: Pesquisadores e demais players da área da saúde que poderão ter disponível informações sobre uma estratégia nacionalinovadora de desenvolvimento de vacinas; gestores da saúde que terão disponível uma solução nacional inovadora paraenfrentamento da pandemia, não ficando dependente de outros países para fornecimento. Indireto: a população que poderá teracesso a uma vacina segura e eficaz contra Covid-19 e consequentemente todos os setores do país atingidos pela crise econômicae social.

10) Problema a ser resolvido

O desenvolvimento de múltiplas estratégias vacinais, que complementem as tecnologias utilizadas em território nacional, contribuirá para a soberania do Brasil na produção e detenção de diferentes plataformas biotecnológicas de vacinas contra o SARS-CoV-2. Uma vez que estas vacinas precisam de reforço, a produção nacional é de suma importância, considerando a demanda constante de vacinas.
Diversas plataformas de vacinas (vetor Adenoviral, mRNA, inativada, etc) já foram desenvolvidas e são utilizadas para COVID-19 no mundo, porém, até o momento, vacinas baseadas em vírus atenuado ainda estão em fase pré-clinica/Fase I (WHO, 2021).

11) Resultados esperados

Obter um candidato vacinal contra COVID-19, seguro e com potencial imunogênico capaz de seguir para as fases clínicas de desenvolvimento.

12) Quadro de Referência Geral

Item de Despesa – Descrição Bens/Serviços	Valor total (R$)
Bolsas de Pesquisa	290.400,00
Serviço de terceiro Pessoa Jurídica	25.000,00
Material de Consumo	1.101.753,80
Passagens	22.200,00
Serviços de Apoio Administrativo, Técnico e Operacional (DOA)	297.446,20
Equipamento – processamento de dados	10.013,00
Equipamento - Extrator / Purificador material genético	452.821,00
Equipamento - Sequenciador de DNA	774.828,00
Valor total	**2.974.462,00**

13) Equipe Executora

Participantes na execução do Projeto.

A equipe executora do projeto será composta por: 07 integrantes, sendo 06 integrantes/UFRJ e 01 integrante/UFMG, entre professores, técnicos ... envolvidos com o projeto.

PARTICIPANTE	SIAPE	CPF	REMUNERAÇÃO
AmilcarTanuri(coordenador)	7366068	706.953.007-25	Não Remuneração
Orlando da Costa Ferreira Junior(coordenador substituto)	7242270	665.890.707-25	Não Remuneração
Herbert Leonel de Matos Guedes	1871933	085.250.347-46	Não Remuneração
Luciana Jesus da Costa	2447551	021.832.967-98	Não Remuneração
Luiza Mendonça Higa	1069148	095.353.507-06	Não Remuneração
Lendel Correia da Costa	3185970	119.539.617-11	Não Remuneração
Renato Santana de Aguiar	1509515	000.086.336-06	Não Remuneração

Previsão de bolsistas no projeto conforme a Resolução CONSUNI nº 55, de 26 de maio de 2022, de acordo com o Art. 6o, ficam estabelecidos os seguintes valores para as bolsas:

Tipo de Bolsa	Valor da Bolsa
Bolsa de Pesquisa - Nível A	Entre R$ 6.200,00 até R$ 9.900,00
Bolsa de Pesquisa - Nível B	Entre R$ 5.200,00 até R$ 8.200,00
Bolsa de Pesquisa - Nível C	Entre R$ 4.200,00 até R$ 6.600,00

Tipo de Bolsa	Valor da Bolsa
Bolsa atividade técnica - Nível Superior	Entre R$ 550,00 até R$ 2.500,00
Bolsa atividade técnica - Nível Médio	Entre R$ 400,00 até R$ 1.500,00

Caso tenha previsão:

- **Bolsista** - a relação só poderá ser preenchida e entregue após a conclusão da seleção feita por análise curricular em conformidade com artigo 6°, §1°, inciso III e artigo 7° do Decreto 7.423/2010.

- **Pessoa Física e Pessoa Jurídica** - A previsão de pagamentos a serem realizados a pessoas físicas e jurídicas, conforme referenciado no artigo 6°, §1°, inciso IV, do Decreto 7.423/2010 não se apresenta possível, vez que a fundação de apoio precisa contratar mediante prévio processo licitatório que garanta isonomia e impessoalidade, sendo que quando de sua contratação pela IFES ainda não é possível, por óbvio, saber quem irá vencer essa ou aquela seleção. Por conta disso, fica inviabilizada a indicação, desde logo, do CPF ou do CNPJ dos profissionais/empresas que serão contratadas.

14) Cronograma Físico/Financeiro (Metas e Etapas a Serem Atingidas)

META 1	Produção de vírus SARS-CoV-2 atenuado e recombinante e sob controle.	**Etapas**	**Duração**	
Etapa	**Especificação**	**R$**	**Início**	**Término**
1.1	Construção dos Cassetes 5'TK-HSV 1-2A-Blasticidina 3.	R$48.208,00	Assinatura do convênio	Julho/24
1.2	Clonagem em plasmídeos Pet 3a para produção do RNA da região viral 5'-TK-HSV 1-2A-Blasticidina – Região viral 3' através do sistema de transcrição in vitro pela T7 RNA polimerase.	R$44.289,00	Assinatura do convênio	Julho/24
1.3	Transfecção do cassete sítio direcionada por CRISPR-cas 13 in vitro para o início do gene da ORF3a concomitante com o RNA do gene sintético (TK-T2A-BLAST)	R$96.338,00	Assinatura do convênio	Julho/24
1.4	Transfecção do cassete em concomitância com RNA helicase do SARS-CoV-2 (NPS13) in vitro.	R$ 96.530,00	Assinatura do convênio	Julho/24
Total da Meta		R$285.365,00		

META 2	Adaptação in vitro da cepa viral de SARS-CoV-2 selvagem.	**Etapas**	**Duração**	
Etapa	**Especificação**	**R$**	**Início**	**Término**

2.1	Infecção do Vírus SARS-CoV-2 selvagem e recombinante ORF3a deletado.	R$61.250,00	Assinatura do convênio	Julho/24
2.2	Averiguar a capacidade de virulência da cepa em cultura em células CALU-3.	R$81.250,00	Assinatura do convênio	Julho/24
2.3	Avaliar genoma viral após período de adaptação e recombinação do gene.	R$144.500,00	Assinatura do convênio	Julho/24
Total da Meta		R$287.000,00		

META 3	Avaliar vírus atenuado recombinante em animais.	**Etapas**	**Duração**	
Etapa	**Especificação**	**R$**	**Início**	**Término**
3.1	Administrar vírus adaptado e atenuado em camundongos transgênicos C57Black/K18 ACE através da inoculação intranasal de 105 pfu e avaliação da carga viral e mortalidade comparando com omesmo inoculo da cepa selvagem original. Observação de sinais clínicos estáveis, sem indicação de instalação de doença.	R$98.333,00	Assinatura do convênio	Julho/24
3.2	Desafiar camundongos C57Black/K18 ACE com SARS-CoV-2 selvagem.	R$88.333,00	Assinatura do convênio	Julho/24
3.3	Teste da eficácia da vacina de vírus atenuado dose intranasal e intramuscular.	R$156.666,00	Assinatura do convênio	Julho/24
3.4	Produção da vacina de vírus atenuado recombinante e sob controle.	R$206.668,00	Assinatura do convênio	Julho/24
Total da Meta		R$ 550.000,00		

META 4	Eficácia da estratégia vacinal.	**Etapas**	**Duração**	
Etapa	**Especificação**	**R$**	**Início**	**Término**
4.1	Teste de imunogenicidade e virulência da vacina atenuada do SARS-CoV-2 em hamsters.	R$65.570,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.2	Acompanhamento da estratégia vacinal por 42 dias.	R$30.570,00	Assinatura do convênio	Julho/24

4.3	Avaliação histopatológica dos tecidos.	R$35.570,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.4	Avaliação 1 da resposta celular	R$131.141,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.5	Teste da eficácia da vacina com desafio do SARS-CoV-2 em Hamsters.	R$85.570,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.6	Acompanhamento da estratégia vacinal por 42 dias.	R$83.725,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.7	Avaliação histopatológica dos tecidos.	R$51.141,00	Assinatura do convênio	Julho/24
4.8	Avaliação 2 da resposta celular	R$131.148,00	Assinatura do convênio	Julho/24
Total da Meta		R$614.435,00		

META 5	Aquisição dos equipamentos permanentes para a execução do projeto	**Etapas**	**Duração**	
Etapa	**Especificação**	**R$**	**Início**	**Término**
5.1	Aquisição de equipamentos	R$ 1.237.662,00	Assinatura do convênio	Julho/24
Total da Meta		R$1.237.662,00		

Valor Total das Metas	**R$ 2.974.462,00**

15) Cronograma de Desembolso

Parcela	Valor (R$)	Liberação	Mês Liberação	Associada a Meta
01	1.736.800,00	CONCEDENTE	novembro/2022	1 até 4
02	1.237.662,00	CONCEDENTE	novembro/2022	5

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

UFRJ

16) Plano de Aplicação Detalhado

Item	Rubrica	Natureza de Despesa	Valor Total (R$)
1	3390.20.01	Auxílio Financeiro a Pesquisador Bolsa de Pesquisa	290.400,00
2	3390.39.17	Outros Serviços de Terceiros – Pessoa Jurídica Manutenção e conservação de maquinas e equipamentos	25.000,00
3	3390.30.35	Material de Consumo Laboratorial	1.101.753,80
4	3390.33.01	Passagens DespesascomLocomoção Passagensparao País	22.200,00
5	3390.39.79	Serviços de Terceiros - Pessoa Jurídica Serviço de Apoio Administrativo, Técnico e Operacional (DOA)	297.446,20
6	4490.52.34	Equipamentos e Material Permanente Máquinas, utensílios e equipamentos diversos	10.013,00
7	4490.52.35	Equipamentos e Material Permanente Equipamentos de processamento de dados	1.227.649,00

Valor Global	2.974.462,00

17) Descentralização para a Fundação (de acordo com TED e/ou Emenda)

Classificação por Natureza	Despesa	Valor Total (R$)
335039	Custeio	1.736.800,00
445052	Capital	1.237.662,00

UFRJ

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Dados Gerais

Recursos Oriundos	**Fundo Nacional de Saúde - MS**
Número do TED ou Emenda	**TED 30/2022 e TED 47/22**
Natureza Descentralizada	**335039 e 445052**
Processo UFRJ	**23079.225988/2022-23**
Instituição de Vínculo UFRJ	**Instituto de Biologia -IBIOL**
Coordenação do Projeto	**Amilcar Tanuri**
E-mail	atanuri1@gmail.com

Rio de Janeiro, 23 de novembro de 2022.

Dr. Amilcar Tanuri Prof. Titular Mat. SIAPE 7366088 **Professor Amilcar Tanuri** **Coordenador do projeto**	UFRJ **Rodrigo Moura Neto** **Diretor da Unidade do Instituto de Biologia – UFRJ**