

SARS-CoV-2 (Covid-19)

Los primeros días: la actividad científica

Carlos Rolz

Centro de Ingeniería Bioquímica, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala - carlosrolz@uvg.edu.gt

Enero 10

El grupo de científicos que estudiaron los coronavirus detectados en el 2003 (SARS-CoV-1) y en el 2012 (MERS) se pusieron en alerta cuando fueron informados que se había colocado en línea el genoma completo de un virus nuevo detectado en Wuhan, el cual causaba el contagio entre humanos en forma acelerada. Inmediatamente dicha red global de biólogos estructurales cambió el trabajo científico en marcha en sus laboratorios hacia una meta común: **encontrar las estructuras proteicas del virus**. Para lograrlo, necesitaban escudriñar las 29,811 bases de ácido ribonucleico (ARN) del genoma, buscando las instrucciones de las 25-29 proteínas posibles.

Una vez conocidas, las proteínas serían creadas en el laboratorio para su estudio, y luego, en forma optimista, se identificarían estructuras químicas que bloquearan su acción, o, por otro lado, permitieran desarrollar vacunas que incitaran al sistema inmunológico contra ellas. Dicha tarea requería una cooperación científica internacional sin precedentes.

Enero 11

Andrew Mesecar, Director del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Purdue en West Lafayette, Indiana empezó a escudriñar el genoma buscando secuencias proteicas conocidas.

No le tomó mucho tiempo ya que muchas secuencias le eran familiares, dada su experiencia de 17 años estudiando los coronavirus. Exclamó: **esto es SARS**. Inmediatamente se puso en contacto con Karla Satchell, microbióloga de la Universidad de Northwestern, Feinberg School of Medicine en Chicago, Illinois. Satchell es co-Directora del Centro para Genómica Estructural de Enfermedades Infecciosas (CSGID), un consorcio de ocho centros de investigación. especializados cabalmente para afrontar esta situación.

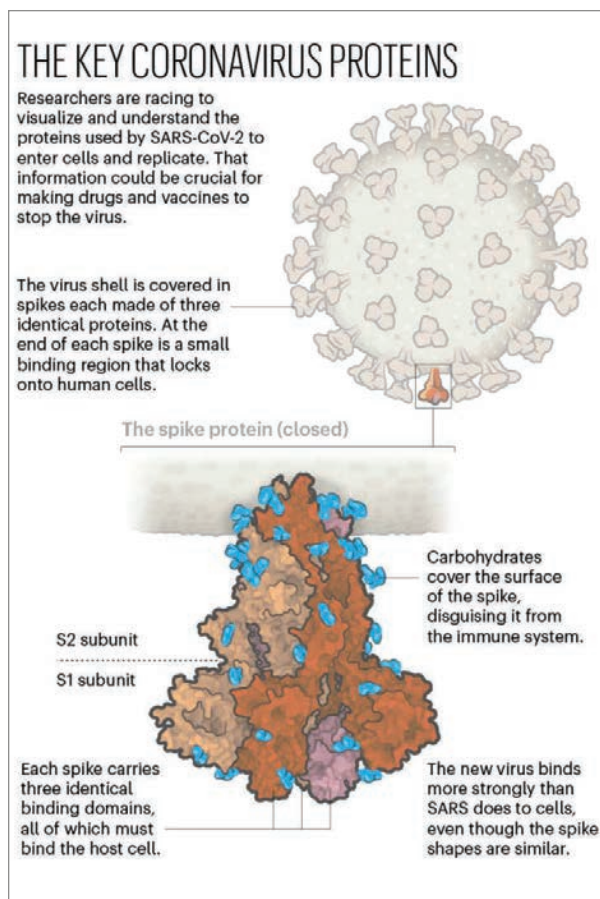
Para definir la estructura 3D de alta resolución, los científicos diseñan primero una construcción genética, es decir una secuencia de ácido deoxi-ribonucleico (ADN) con las instrucciones de la proteína, junto con secuencias reguladoras para controlar donde y como se expresa. Lo insertan en una célula, generalmente de la bacteria *Escherichia coli*, la que, a su vez, en un cultivo controlado, produce la cantidad necesaria de la proteína. Se purifica la proteína y se logra visualizar su estructura empleando cualquiera de dos métodos: cristalografía de rayos X o la microscopía crio-electrónica. Ambos procesos pueden tomar meses, o años en una proteína novel. No era el caso, muchas de las proteínas del virus nuevo tenían una semejanza entre 70-80 % con las del SARS-CoV. Mesecar, investigador del consorcio, seleccionó la proteína Mpro, la proteasa principal del virus que genera proteínas de una secuencia grande que el virus produce al invadir una célula humana. Sin esta enzima, el virus no puede replicarse.

¹ Notas transcritas en traducción libre del artículo siguiente: Megan Scudellari (2020) *The sprint to solve coronavirus protein structures - and disarm them with drugs Stopping the pandemic could rely on breakneck efforts to visualize SARS-CoV-2 proteins and use them to design drugs and vaccines* Nature 581: 252-255. doi: 10.1038/d41586-020-01444-z

² Zhou, P. et al. (2020) *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin* Nature 579 (7798): 270-273

Enero 13

En el laboratorio de Jason McLellan Profesor Asociado de Biociencias Moleculares, Universidad de Texas, Austin, se diseñó una construcción genética para otra proteína clave del virus, aquella que constituye la protuberancia en la superficie, la cual le otorga al virus su apariencia de una corona y de ahí su nombre. Previamente en dicho laboratorio se habían determinado las estructuras de protuberancias de otros coronavirus, HKU1 (causante de resfriados comunes) y MERS. El estudio se había realizado en cooperación con el biólogo estructural Andrew Ward del Scripps Research Institute en La Jolla, California y el virólogo Barney Graham del US-NIAID-Centro de Investigaciones de Vacunas en Bethesda, Maryland. De manera que McLellan y su grupo poseían suficiente experiencia para atacar el problema nuevo. Mientras esperaban la llegada de la construcción genética, la cual se le había otorgado a una empresa privada, McLellan conversó con la empresa Moderna Therapeutics, Cambridge, Massachusetts, llegando a un acuerdo para la manufactura de una posible vacuna.



Fuente: Nature 581: 252-255

Enero 26

Rihe Rao, Haitao Yang y demás colegas de la Universidad Técnica de Shangai trabajaron día y noche, sacrificando la semana del Año Nuevo Lunar que es feriado, con el objetivo de resolver la estructura de la proteína M^{pro} y otras tres proteínas que el virus emplea para replicarse. Usaron los datos de rayos X generados en el laboratorio de radiación sincrotrón y resolvieron la estructura de la proteína acoplada a un inhibidor de la misma. En el 2003, cuando habían realizado el mismo trabajo con SARS-CoV-1 les llevó dos meses terminarlo. **Ahora, les tomó una semana.** La proteína M^{pro} consta de dos subunidades similares en forma de corazón, con un sitio activo en cada una. La información fue depositada en el Banco de Datos Proteicos (PDB), lugar de acceso libre de estructuras en 3D de moléculas biológicas. Ya para esa fecha Rao y Yang habían recibido alrededor de 300 solicitudes de información. Rao contactó a David Stuart, un colega que es el Director de Ciencias de la Vida en el Diamond Light Source, Universidad de Oxford. Estos dos grupos tienen un convenio de colaboración en donde comparten datos experimentales y coordinan para no duplicar los esfuerzos, beneficiándose ambos de las diferentes técnicas empleadas en los dos laboratorios de investigación. El grupo de Oxford, después de 17,000 experimentos, lograron desarrollar el protocolo para cristalizar la proteína purificada.

Febrero 1

En Lubek, Alemania, Rolf Hilgenfeld, experto en coronavirus, interrumpió el proceso de vaciar su oficina porque debía retirarse; **en este momento no puedo hacerlo**, aseveró. Su colaboradora, Linlin Zhang recibió la construcción genética de la proteína M^{pro} , y en 10 días logró cristalizarla y la llevó al sincrotrón BESSY II en Berlín. Previamente le habían acoplado un nuevo inhibidor denominado 13b. En los siguientes diez días tenían resuelta la estructura molecular de la proteína M^{pro} .

El grupo de McLellan en Texas obtuvo la información estructural de la proteína de la protuberancia en la superficie del virus de los datos de microscopía electrónica de alta resolución obtenidos en el laboratorio criogénico de microscopía electrónica de la universidad. Inmediatamente se la envió a Graham del Centro de Investigaciones de Vacunas. La protuberancia proteica consistía en tres moléculas idénticas conformando una pirámide, la cual tenía una puerta dinámica. Dicha puerta la emplea el virus para anclarse en un receptor proteico de las células humanas denominado ACE2, en una unión diez veces más poderosa que los anteriores virus SARS-CoV. Graham ensayó la proteína de la protuberancia en ratones, con el objetivo de optimizar los niveles de expresión y el impacto sobre el sistema inmunológico. Luego envió la secuencia a Moderna, empresa que el 7 de febrero obtuvo **el primer lote experimental de la posible vacuna.** McLellan por su parte remitió el 10 de febrero la estructura proteica obtenida al PDB.

En la Universidad de Minnesota, Fang Li y su grupo de investigación deseaban conocer cuál era la causa de que en el virus nuevo la unión de la proteína de la protuberancia y el receptor celular ACE2 se afianzaran con tal afinidad. Colectaron datos experimentales de la Fuente Avanzada de Protones (APS) del Laboratorio Nacional Argonne, cerca de Chicago. Encontraron que la proteína de la protuberancia tenía diferencias moleculares en la región de la unión diferentes a los virus SARS conocidos hasta la fecha. En esa semana el nuevo virus fue bautizado con el apelativo de SARS-CoV-2.

Febrero 18

Hilgenfeld, Zhang y sus colegas sometieron un artículo que describía la estructura de la proteína M^{pro} y lo pusieron el 20 de ese mes en el servidor bioRxiv para asegurar una difusión amplia. Fue rápido dijo Hilgenfeld, el periodo más largo de tiempo fue la publicación de los resultados.

Hasta esa fecha el consorcio CSGID había resuelto la estructura de doce proteínas específicas del SARS-CoV-2 acompañándolas de su información genómica, siendo depositadas en una base de datos nueva. Adam Godzik, informático de la Universidad de California en Riverside y miembro del consorcio, explicó que ese esfuerzo ocurrió espontáneamente en el transcurso de un par de semanas, recordando que por el contrario, una actividad similar en torno al cáncer **llevó cinco años en organizarse**.

Marzo 16

Las estructuras proteicas no son suficientes, dijo Mesecar; deben obtenerse los productos de esa información: los compuestos antivirales y las vacunas. En ese día, **solamente después de 65 días** de tener al acceso en forma pública del genoma del virus, la empresa Moderna inyectó la primera dosis de la posible vacuna a una persona participante en un ensayo de fase 1, patrocinado por el Instituto Nacional de Salud (NIH).

Sin embargo, a pesar de este desarrollo logrado con una rapidez nunca antes vista, Satchell, mencionó que la forma más rápida de contribuir para lograr una solución al problema sería la de encontrar un compuesto químico antiviral efectivo con conocimiento previo de su seguridad.

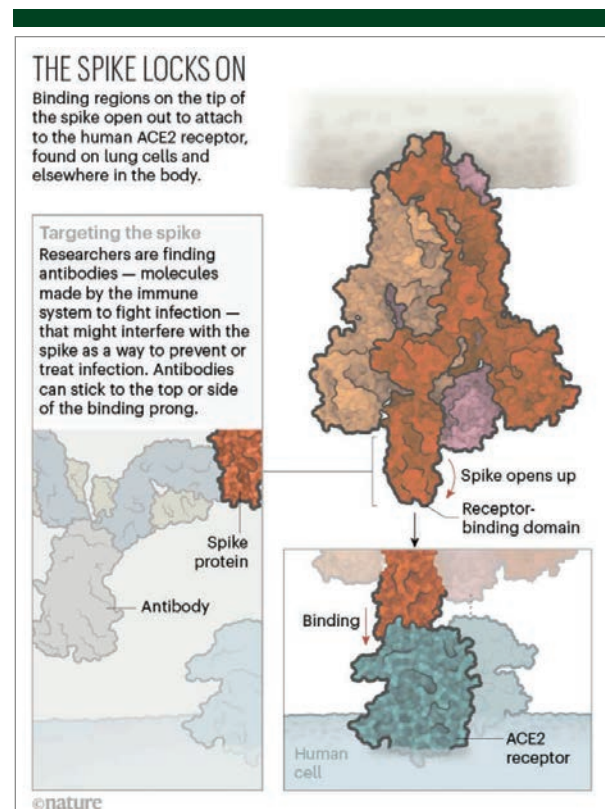
Ese era el objetivo de Andrew Hopkins, jefe ejecutivo de Exscientia, empresa asentada en Oxford dedicada al descubrimiento de nuevos fármacos empleando inteligencia artificial. Recibieron de Investigaciones Scripps en La Jolla, California, una hielera portátil con hielo seco conteniendo muestras de 12,000 compuestos químicos, seguros para ser empleados en humanos. El equipo de Exscientia junto con el de Diamond empezaron el estudio dirigido a bloquear la acción de cuatro de las proteínas del virus: M^{pro}, la proteína de la protuberancia, una proteasa y la maquinaria de replicación.

En forma similar el grupo en Shanghai procedían a ensayar un grupo de 10,000 compuestos químicos que ya se encontraban en ensayos clínicos, con el objetivo de bloquear la proteína M^{pro}. Identificaron seis posibles candidatos, uno de ellos fue seleccionado para llevar a cabo pruebas en animales y estudiar su actividad *in vivo*.

El 10 de abril, Rao, Yang y colaboradores publicaron la estructura del complejo proteico de replicación del virus, denominada RdRp o nsp12, el cual se asocia con otros dos, nsp7 y nsp8. También modelaron el **mecanismo de unión de la proteína con el compuesto antiviral Remdesivir**, originalmente desarrollado para atacar el virus Ebola, y que actualmente se encuentra en pruebas de fase III para tratar el nuevo coronavirus.

Abril 22

El trabajo básico de diseñar antivirales contra las proteínas del SARS-CoV-2 posiblemente tome meses o años para identificar aquellos que mostrasen resultados satisfactorios. El grupo de Shanghai Tech ha diseñado una serie de compuestos capaces de bloquear la proteína M^{pro}. Publicaron los datos de uno en particular que evitaba la reproducción viral en células y no mostraba toxicidad en ratas y perros. El grupo Diamond identificó 19 fragmentos que se acoplaban a M^{pro}. Convocaron a la comunidad científica para emplear dichos fragmentos como base para descubrir moléculas completas con la misma acción. A esa fecha habían recibido 4,600 respuestas con propuestas innovadoras de síntesis química. En Alemania, Katharina Rox



Fuente: Nature 581: 252-255

del Centro de Enfermedades infecciosas en Braunschweig, ensayó exitosamente el compuesto 13b de Hilgenfeld, mostrando que era seguro y se acumulaba en los pulmones. Mientras, Mesecar reportó en un estudio, el cual todavía no se ha publicado, que el compuesto 77 de su creación, mostraba actividad antiviral en células.

Las investigaciones prosiguen a una tasa de publicación de resultados sin precedentes en la ciencia. Se estima que desde enero a la fecha se han publicado en revistas internacionales de ciencia alrededor de 23,000 artículos relacionados con Covid-19 (como comúnmente se conoce) revisados por pares, cifra que se duplica cada 20 días. Nunca antes se había visto una explosión de conocimiento científico como la anterior. Para los científicos investigadores estar al día en los descubrimientos representa una tarea descomunal.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, 21 empresas de biotecnología han terminado, o están por terminar, las fases 1 y 2 del desarrollo de vacunas, y 106 están realizando ensayos de eficacia y seguridad en el laboratorio. Otras empresas de biotecnología se encuentran desarrollando anticuerpos monoclonales y varias llevan a cabo ensayos de compuestos anti-virales. Es probable que los productos con más éxito en un futuro no tan distante estén disponibles para la población mundial.

Las breves notas presentadas ilustran el enorme esfuerzo inicial de cooperación científica que logró descifrar la estructura del virus, su funcionamiento y sus puntos débiles, información indispensable para poder continuar la laboriosa tarea de producir, esperamos en el futuro cercano, los productos finales que logren controlar esta caótica situación.