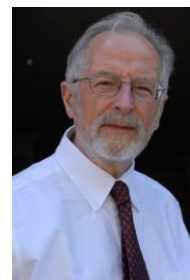


SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



Coronavirus emergentes humanos: patogénesis y protección

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_ANC.2017.01.1

Luis Enjuanes

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC). Departamento de Biología Molecular y Celular, Campus Universidad Autónoma, Madrid.

<http://www.user.cnb.csic.es/~webcoron/>

Biografía *Resumen*

Luis Enjuanes lleva más de 40 años trabajando en virología, 28 de los cuales se ha dedicado al estudio de los coronavirus. Actualmente su trabajo se centra en el estudio del mecanismo de replicación, la transcripción, la virulencia y la interacción virus-huésped en los coronavirus. Ha publicado cerca de 200 artículos y 58 capítulos de libro. En la actualidad, es Profesor de Investigación y Director del Laboratorio de Coronavirus en el Centro Nacional de Biotecnología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CNB-CSIC). Obtuvo una beca NIH Fogarty, en Bethesda, MD, y fue también investigador visitante en el FCRC, NIH, MD. Es profesor de Virología en la Universidad de Madrid y el Instituto Pasteur de París. Ha sido nombrado "Distinguido Virólogo Senior" por la Sociedad Española de Virología, y es miembro de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. También es miembro de la Academia Americana de Microbiología. Y Editor Jefe de Virus Research.

El objetivo actual del grupo de Coronavirus es el estudio de las bases moleculares de inducción y resolución del edema pulmonar en las infecciones por coronavirus (CoV), como una estrategia para prevenir y tratar las infecciones por CoV respiratorios humanos. Para conseguirlo estamos aplicando dos aproximaciones. Una es la identificación de rutas de señalización implicadas en la interacción de los CoVs con el hospedador y de mecanismos que dan lugar a una enfermedad pulmonar grave. La segunda estrategia es la identificación de genes virales implicados en virulencia, porque su delección da lugar a virus atenuados, que son candidatos a vacunas.

Summary

The aim of the Coronavirus group is the study of the molecular basis of the induction and resolution of lung edema caused by coronavirus (CoV) infections, as a strategy to prevent and treat infections by human respiratory CoVs. To this end two goals have been addressed. One is the identification of signaling pathways involved in virus-host interactions and the mechanisms leading to acute lung disease and lung edema that may cause death. The second strategy is the identification of viral genes responsible for virus virulence, as their deletion would lead to the selection of attenuated viruses, which in principle are vaccine candidates.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El desarrollo de estos estudios lo hemos dividido en tres objetivos:

El primero propone identificar los factores del hospedador implicados en la inducción de edema pulmonar (Fig. 1A). En estudios previos de nuestro laboratorio se ha mostrado que tanto el CoV del síndrome respiratorio agudo y grave (SARS-CoV) que apareció en China, como el CoV causante del síndrome respiratorio que emergió en Oriente Medio (MERS-CoV) tienen proteínas que incluyen un dominio estructural (PBM) que se une a dominios PDZ presentes en proteínas celulares. La relevancia de esta observación es que los dominios PDZ, formados por unos 80 aminoácidos, están presentes en unas 400 proteínas celulares. En total se conocen 256 motivos PDZ diferentes, y una proteína puede incluir de 1 a 13 de estos dominios, lo que les confiere la capacidad de ser un centro aglutinador de proteínas con motivos PBM, formando complejos activos. Ello hace que el virus pueda cambiar el funcionamiento de la célula en beneficio propio.

Una de las interacciones entre el motivo viral PBM de la proteína de la envuelta (E) del virus con la proteína celular sintenina que hemos identificado, ha tenido especial relevancia. Esta unión da lugar a un aumento de la fosforilación de la proteína p38 MAPK, que está implicada en la activación de la inflamación (Fig. 1B). La selección de inhibidores de la p38 MAPK dio lugar a la protección de la casi totalidad de los ratones

SEBBM
SEBBM

Sociedad Española
de Bioquímica y
Biología Molecular

SEBBM DIVULGACIÓN

infectados por el SARS-CoV, lo que representa la identificación de un antiviral efectivo para este coronavirus mortal humano. Los CoVs letales para el hombre inducen edema pulmonar que, en condiciones normales, se resuelve por el transporte de iones mediado fundamentalmente por tres proteínas: Na^+/K^+ ATPasa, el canal epitelial de iones Na^+ (ENC) y el regulador de la conductancia a través de membranas de la fibrosis quística (CFTR). Estas tres moléculas contienen dominios PDZ y hemos comprobado que los virus SARS-CoV y MERS-CoV incluyen proteínas que interactúan con estos transportadores iónicos, lo que da lugar a edema pulmonar.

Por ello estamos centrando nuestros esfuerzos en estudiar el proteoma de interacciones entre los dominios PBM del MERS-CoV y proteínas celulares que incluyen dominios PDZ. La relevancia de estos estudios radica en que hemos mostrado que el motivo PBM viral es un factor de virulencia y que las interacciones PBM-PDZ forman parte de rutas de señalización implicadas en patogénesis viral. La identificación de péptidos o compuestos químicos que interfieran con estas uniones PBM-PDZ facilitará la selección de antivirales.

El segundo objetivo propone estudiar la relevancia de los RNAs no codificantes (ncRNAs) en la inflamación inducida por los coronavirus humanos SARS- y MERS-CoV. Este estudio está dirigido fundamentalmente por Isabel Sola y se describe en la sección "Rincón del profesor de ciencias" de esta web.

El tercer objetivo propone el diseño de vacunas para prevenir infecciones por el MERS-CoV. En particular proponemos obtener vacunas basadas en mutantes atenuados generados mediante la delección de genes no esenciales utilizando un cDNA infectivo que hemos ensamblado en un cromosoma artificial de bacterias (BAC). Los virus atenuados así obtenidos se están evaluando para determinar su estabilidad genética y el grado de protección que confieren frente al desafío con un virus virulento. Probablemente el candidato más interesante que hemos construido es el que se basa en un virus competente en replicación, pero defectivo en propagación, lo que le convierte en un virus que se auto elimina y por tanto debe de ser bioseguro.

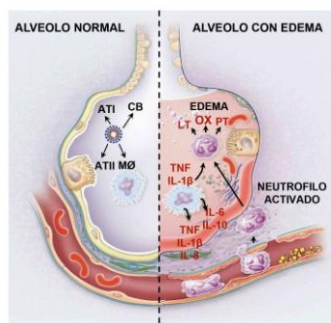


Fig. 1A. Enfermedad respiratoria aguda causada por los virus SARS-CoV y MERS-CoV

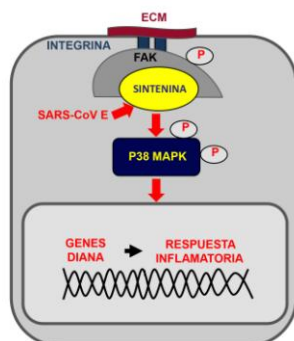


Fig. 1B. La proteína E del virus SARS-CoV interactúa con la sintenina y promueve la activación de la p38 MAPK dando lugar a inflamación pulmonar y edema

La seguridad de los candidatos a vacuna que diseñamos es una de nuestras prioridades. Por ello, introducimos en las vacunas al menos tres mutaciones que atenúan el virus nativo basándose en distintos principios: reducción de su crecimiento, eliminación de su capacidad para inhibir la respuesta inmune innata, o la de optimización de codones, lo que hace a los virus menos competitivos.

La evaluación de la eficacia en protección de los candidatos a vacuna es posible porque en colaboración con otros laboratorios de EE.UU. hemos obtenido dos modelos animales de infección por SARS-CoV y el MERS-CoV. El primero utiliza ratones convencionales que son infectados por un virus adaptado a los mismos, que hemos construido incluyendo en el cDNA infectivo las mutaciones que le confieren esta propiedad. En el caso del MERS-CoV, hemos construido ratones "knock in" en los que el receptor del virus, la proteína DPP4, se ha "humanizado" mediante la reconstrucción de los tres exones que son relevantes en la interacción con el virus.

La viabilidad y éxito potencial del trabajo de nuestro laboratorio sin duda depende del diseño de un sistema de genética reversa para los CoV, y de los modelos de ratón susceptible al virus, que reproducen fielmente las patologías que estos CoVs producen en humanos.

Trabajos seleccionados del grupo

- Almazan, F., Gonzalez, J. M., Penzes, Z., Izeta, A., Calvo, E., Plana-Duran, J., Enjuanes, L. 2000. Engineering the largest RNA virus genome as an infectious bacterial artificial chromosome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97, 5516-5521.
- Almazan, F., De Diego, M.L., Sola, I., Zuniga, S., Nieto-Torres, J.L., Marquez-Jurado, S., Andres, G., Enjuanes, L. 2013. Engineering a replication-competent, propagation-defective Middle East respiratory syndrome coronavirus as a vaccine candidate. *mBio* 4, e00650-00613.
- Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S., Enjuanes, L., 2015. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses. *Annu. Rev. Virol.* 2 (265-288).
- De Diego, M. L., Nieto-Torres, J. L., Jimenez-Guardaño, J. M., Regla-Nava, J. A., Alvarez, E., Oliveros, J. C., Zhao, J., Fett, C., Perlman, S., and Enjuanes, L. 2011. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein regulates stress response and inflammation. *PLoS Pathog.* 7, e1002315.
- Nieto-Torres, J. L., De Diego, M. L., Verdía-Baguena, C., Jimenez-Guardaño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernández-Delgado, R., Castano-Rodríguez, C., Alcaraz, A., Torres, J., Aguilera, V. M., Enjuanes, L. 2014. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog.* 10, e1004077.
- Jimenez-Guardaño, J. M., Nieto-Torres, J. L., De Diego, M. L., Regla-Nava, J. A., Fernández-Delgado, R., Castano-Rodríguez, C., Enjuanes, L. 2014. The PDZ-Binding Motif of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Is a Determinant of Viral Pathogenesis. *PLoS Pathog.* 10, e1004320.
- Regla-Nava, J. A., Nieto-Torres, J. L., Jimenez-Guardaño, J. M., Fernández-Delgado, R., Fett, C., Castano-Rodríguez, C., Perlman, S., Enjuanes, L., De Diego, M. L. 2015. SARS coronaviruses with mutations in E protein are attenuated and promising vaccine candidates. *J. Virol.* 89, 3870-3887.
- Jimenez-Guardaño, J.M., Regla-Nava, J.A., Castano-Rodríguez, C., Fernández-Delgado, R., Torres, J., Enjuanes, L. 2015. Identification of the mechanisms causing reversion to virulence and in an attenuated SARS-CoV for the design of a genetically stable vaccine. *Plos Pathog.* 11, e1005215.