

Introducción: La controversia del COVID-19 [1]

El SARS-CoV-2 es un virus que pertenece a la familia Coronavirus, el causante de la pandemia COVID-19. Ha sido aislado para su estudio genético, donde se ha encontrado relación con los murciélagos, fuente zoonótica primaria del virus.

Pero, la incertidumbre que ha generado la pandemia por la desinformación acerca del virus originó especulaciones con relación a la procedencia del virus, cuestionando si este fue creado en un laboratorio o tiene manipulación humana a propósito.

¿POR QUÉ EL SARS-CoV-2 NO ES UN VIRUS CREADO POR EL SER HUMANO?

Se ha encontrado que el SARSCoV-2 ha mutado su dominio de unión al receptor, cambiando cinco de los seis residuos que le conforman, lo cual le confiere una afinidad notablemente mayor para la unión al receptor ACE2 específicamente humano. Lo anterior podría ser una composición original del genoma viral del SARS-CoV-2, o bien, podría ser una mutación que no tiene manipulación humana, sino que es natural (espontánea), y que le confiere al virus la gran afinidad al momento de la infección.

Con relación al origen del SARS-CoV-2 basándonos en los estudios realizados de su material genético, si se hubiese realizado alguna manipulación genética, se habría usado algún esqueleto de virus usado previamente mediante un sistema genético inverso disponible para los betacoronavirus. Sin embargo, los datos genéticos permiten afirmar indiscutiblemente que el SARS-CoV-2 no se deriva de ningún esqueleto de otro virus.

Virus artificiales no patógenos

Por las grandes epidemias que ha sufrido la humanidad en las últimas décadas, ocasionadas por el VIH, el de la influenza o el causante del Síndrome Respiratorio Agudo Severo, estos agentes biológicos generalmente son vistos como sinónimo de enfermedad o muerte.

Sin embargo, no todos los virus son patógenos e incluso algunos de ellos se usan como herramientas para combatir enfermedades. Estas partículas virales artificiales tienen múltiples usos: como modelos para el estudio de virus naturales o el desarrollo de organismos sintéticos; como plataformas

para producir nuevos materiales o bien como vehículos para la administración de ácidos nucleicos dentro de la terapia génica.

Líneas de estudio recientes han dado un paso adelante con un nuevo enfoque que consiste en replicar el trabajo que hace la naturaleza para diseñar y producir en laboratorio, mediante la manipulación de secuencias de ácidos nucleicos (ADN y ARN) y de proteínas, nuevos tipos de virus artificiales.

Los científicos han dejado de ver a los ácidos nucleicos (ADN y ARN) sólo como material de información biológica, ya que ahora lo están utilizando para construir diversas estructuras de tamaño nanométrico.

Este cambio ha dado paso a lo que se conoce como **nanotecnología del ADN**, es decir la programación de secuencias de ADN con sus bases nitrogenadas para que formen cadenas largas que pueden reconocerse y plegarse en formas y tamaños controlados. Esto es posible debido a que los virus tienen la capacidad de autoensamblarse, además de estructuras muy bien organizadas, con tamaños y formas definidos.

¿Es posible imitar la organización física y las propiedades químicas y biológicas de los virus?

Al estudiar el virus del Mosaico del Tabaco (**que infecta a esta y otras plantas** de la familia de las solanáceas y les produce unas manchas características de forma cuadrangular), el más sencillo que existe -pues un solo tipo de proteína se acopla alrededor de su genoma- los expertos del IQ encontraron que necesita desempeñar tres funciones vitales: unir al ARN, ensamblar distintas proteínas para formar la partícula viral y darle estabilidad.

El equipo de expertos pudo identificar los módulos, esto es, las secuencias de aminoácidos encargados de ejecutar esas tres funciones -unir, auto ensamblar y dar estabilidad coloidal a la partícula viral- y a partir de ellos fabricar una nueva proteína, completamente artificial, capaz de replicarlas.

Las secuencias de aminoácidos con las que trabajaron eran relativamente simples y estaban conformadas por módulos con diferentes funciones, que los expertos pudieron manipular en el laboratorio, ya sea quitando o añadiendo algunas de ellas. Su meta era obtener moléculas capaces de controlar las propiedades del material genético viral.

Estos trabajos abren la puerta a la posibilidad de diseñar y ensamblar diferentes tipos de partículas virales que podrían aprovecharse en numerosas aplicaciones en los campos de la bionanotecnología y la biomedicina.

Por ejemplo, podrían diseñarse y emplearse virus artificiales como plataformas para desarrollar nanomateriales o bien crear recubrimientos de proteínas que faciliten el ingreso de material genético a ciertos grupos de células.

Otra aplicación potencial sería su empleo como vehículos (una especie de "caballitos de Troya" modernos) para la administración de fármacos o vacunas que vayan directamente al blanco específico, sin ser atacados por el sistema inmunitario o degradados por enzimas en su paso por el tracto gastrointestinal.

<http://ciencia.unam.mx/leer/947/virus-artificiales-nueva-herramienta-de-la-bionanotecnologia>

Artificial viruses: Conceptual model [2]

An artificial virus should remain stable during its transport through the body and should be able to 'sense' its environment and disassemble in a controlled fashion once taken up by target cells. The controlled intracellular disassembly should eventually lead to the delivery of associated plasmid DNA into the cell's nucleus, where the transgene can be expressed.

The three main structural components of this artificial gene delivery system are the plasmid vector, engineered for optimal expression; the artificial virus core, consisting of pDNA, condensing agents and functional peptides; and finally the hydrophilic shell, exposing targeting ligands for cell-type-specific gene delivery.

DISASSEMBLY

Similarly to natural viruses, artificial viruses should function dynamically and be able to react to changes in their surroundings. The encounter with target cells should trigger a cascade of events that ultimately results in the delivery of the plasmid DNA into the nucleus of target cells. These events include controlled disassembly of the nanoparticle and sequential activation or exposure of associated functional domains that assist in the intracellular transport of DNA towards the nucleus. As the artificial virus is not an intelligent device that can anticipate which functionality is needed at a given stage in the cell-entry process, the controlled disassembly and functional activation of the

carrier should be induced by biological triggers, such as change in pH, redox potential or the presence of specific degrading enzymes

Virus artificiales: requisitos [2]

- Bio-compatible, bio-degradable and bio-invisible

Un virus artificial debe construirse preferiblemente a partir de materiales que sean biocompatibles y biodegradables para evitar las toxicidades inducidas por el portador y la acumulación de componentes del portador en el cuerpo.

Además de la biodegradabilidad y biocompatibilidad, el virus artificial debe ser "invisible" para el sistema inmunológico innato y adquirido del paciente con el fin de prevenir reacciones inmunes no deseadas contra el portador y, en consecuencia, una rápida eliminación de los portadores de la circulación sanguínea después de la administración intravenosa. This can be achieved by adding a hydrophilic coat around the carrier.

- Cell binding and internalization

Esta modificación en la superficie reduce la absorción inespecífica en las membranas celulares permitiendo dirigir los portadores de genes hacia tipos de células específicas mediante la conjugación de ligandos a la capa hidrófila alrededor del portador de genes que se unen específicamente a receptores de superficie celular internalizados. De esta manera, el suministro del transgén y la expresión posterior se pueden restringir a las células diana.

- Endosomal escape

After cellular uptake of the gene carriers, the carrier should somehow escape the confines of the endosomal compartment in order to reach the cytosol and, from there, the nucleus. This requires dissociation of the internalized carrier from the receptors that triggered the internalization process.

- Cytosolic trafficking

The cytoplasm is composed of a fluid portion in which a mesh-like network of microfilaments and microtubules and several different subcellular organelles are embedded. It limits the diffusion of large structures such as macromolecules and intracellular vesicles. Therefore, the cell uses different kinds of molecular

motors to transport intracellular vesicles and large macromolecules, including mRNA through the cytoplasm.

Artificial gene carriers or pDNA molecules can be actively transported towards the nucleus if they expose peptides or proteins that can specifically interact with the dynein molecular motor complex. Such active transport will greatly reduce the cytosolic residence time and enhance survival of the gene carrier and the DNA inside the harsh environment of the cytoplasm.

- Nuclear import

Nuclear import of exogenous DNA from the cytosol is very inefficient and is considered as the predominant limiting step in gene delivery. The size of the plasmid DNA prevents passive diffusion through the nuclear pore complexes (NPC) into the nucleus. It is needed to use the nuclear import machinery that could be achieved by cytoplasmic karyopherins that recognize and bind specific amino-acid sequences in karyophilic proteins called nuclear localization sequences. They then dock onto the cytoplasmic side of the NPC, and the complex is then translocated into the nucleus.

- Controllable and sustained transgene expression

Besides delivery, control over transgene expression is another requirement for effective gene therapy. Currently used plasmid vectors in non-viral gene-delivery systems give transient and uncontrolled expression of the transgene.

Gene regulatory systems have been developed that allow chemical control over transgene expression.

Plasmid vectors normally used for gene delivery cannot replicate in human cells and are therefore lost upon degradation or during cell division. For this reason, transgene expression with regular plasmid vectors generally lasts for only 1–2 weeks at most. If persistent (months to years) transgene expression is desired, either self-replicating vectors or vectors that can stably and safely integrate into the genome of the host cells are needed

Artificial virus-like gene-delivery systems

TABLE 2 shows a selection of some of the work done on non-viral gene delivery systems that can be certified as artificial virus systems. Although the building blocks used to make the artificial viruses differ in each study, the concept is in principle the same: try to mimic viruses in delivering genetic material into specific host cells.

Although there is still room to improve the transfection efficiency of these systems, they clearly show that artificial viruses can be constructed from both synthetic and biological components, and can be based on the features and architecture of native viruses.

Algunos virus sintetizados por el hombre

El equipo de Myongsoo Lee, de la Universidad de Yonsei, en Seúl lograron crear el primer virus artificial con forma de filamento. Lo que hicieron los investigadores fue crear un molde molecular para construir el virus. Este molde consiste en una estructura proteica en forma de hebra doble. Cada segmento de la hebra está pensado para atraer moléculas de características precisas, lo que permite controlar la forma y el tamaño.

En la parte externa de la doble hilera se hicieron crecer brazos de proteína unidos a pequeñas piezas de ácido nucleico. Y he aquí la gracia: Estas piezas de ácido nucleico pueden diseñarse químicamente para conferirles la capacidad de acoplarse a genes específicos, y así lograr bloquear su activación. En realidad estas pequeñas hebras están hechas de ARN de interferencia, un tipo de ácido nucleico descubierto en los últimos años y que se caracteriza por destruir el gen diana al que se acopla. Es un mecanismo que se ha convertido, desde su descubrimiento, en una de las técnicas de laboratorio más habituales para silenciar genes, y una herramienta esencial para el avance de la terapia génica.

Los virus artificiales como el presentado por el equipo de Seúl son nanoestructuras sintetizadas químicamente. Pero hay otros virus artificiales en los laboratorios contruidos con técnicas biológicas y a imagen y semejanza de microorganismos ya existentes en la naturaleza. Puede que ambos abordajes acaben en lo mismo, microorganismos vivos sintetizados en el laboratorio para cumplir una función definida, pero con un punto de partida distinto. En el segundo caso, los investigadores están empezando por copiar seres que ya existen en la naturaleza, para poner a prueba su capacidad de crear “vida artificial”.

En 2002, un grupo estadounidense sintetizó el virus del polio, en un trabajo que duró varios años. Los investigadores, con la secuencia genética del virus en la mano, se dedicaron a reproducirla uniendo pieza a pieza en el orden correcto.

En 2006, el padre de la revolución genética, Craig Venter, desarrolló una nueva técnica con la que ensambló un virus artificial completo en sólo dos semanas. Se trataba de un virus que ataca bacterias y es inocuo para el hombre, pero el trabajo enseguida activó las alarmas sobre la posibilidad de sintetizar virus como arma biológica.

A principios de 2008, Venter ha dado un paso más allá sintetizando en el laboratorio el mayor genoma artificial completo de un ser vivo: el de la “Mycoplasma genitalium”, una bacteria con vida independiente con el genoma más simple: 485 genes en un solo cromosoma. Los investigadores aún no han demostrado que este genoma sea funcional, es decir, que pueda dirigir el funcionamiento de un ser vivo o que contenga efectivamente las instrucciones para desarrollarlo.

<https://www.consumer.es/salud/investigacion-medica/virus-artificiales-para-curar.html>

El caso de la influenza H5N1

En 2012 en un laboratorio científico de alta seguridad de Rotterdam, Holanda, un hurón al que le habían inyectado el virus de la gripe aviar H5N1 le pasó la enfermedad a un congénere por el aire, a través de una tos o un estornudo. La cadena de contagios continuó, y más hurones sufrieron fiebre, moqueo y estornudos característicos de la enfermedad.

Por primera vez, una variante del H5N1 había evolucionado para transmitirse entre mamíferos.

La gripe aviar H5N1 no se transmite entre personas, sino sólo de aves a humanos. El valor del virus de Rotterdam era por ello incalculable. Su estructura genética permitía averiguar qué mutaciones son necesarias para que la gripe aviar salte la barrera entre especies y comience a transmitirse entre mamíferos.

En ese mismo año un panel científico de bioseguridad del Gobierno de EEUU, el NSABB, recomendó que aquel estudio no se publicase. Los 22 investigadores que respaldaban la decisión advertían de que, si el virus

escapaba del laboratorio o si supuestos terroristas lograban replicarlo, sucedería una "catástrofe inimaginable".

¿Podrían los datos usarse para crear un arma biológica? "La respuesta es simplemente no". El experto argumenta que ya hay fármacos que han demostrado efectividad contra las gripes H5. Por otro lado, crear ese arma biológica requeriría complejos laboratorios, conocimientos muy avanzados en biología molecular y experiencia en recomponer genéticamente virus de la gripe.

<https://www.publico.es/ciencias/primer-virus-creado-y-censurado.html>

COVID-19: pruebas de creación en laboratorio

Hipótesis [3]:

- El análisis de la secuencia genómica revela que el virus ZC45, o un coronavirus de murciélago estrechamente relacionado como ZXC21, debería ser la columna vertebral utilizada para la creación de SARS-CoV-2. Biotecnológicamente es posible.
- El motif de unión al receptor (RBM) dentro de la proteína Spike del SARS CoV-2, que determina la especificidad del virus como huésped, se asemeja al del SARS-CoV-1 de la epidemia de 2003 de una manera sospechosa en un 80%.
- Adicionalmente, se afirma que otro coronavirus llamado RaTG13 descubierto en 2013, cuya secuencia puede haber sido fabricada y este virus no existe en la naturaleza, tiene una homología secuencial del 96% con el SARS-CoV-2 tras realizar un alineamiento entre ambos.
- El SARS-CoV-2 fue hecho en la Tercera Universidad Médica Militar (Chongqing, China) y el Instituto de Investigación de Medicina del Comando de Nanjing (Nanjing, China).
- La secuencia del coronavirus RaTG13 cargada en GenBank se puede fabricar, es decir, no proviene de una muestra biológica y fue hecha de forma fraudulenta y aleatoria por humanos [4].

Refutaciones:

- Si se hubiera utilizado un coronavirus de murciélago como base para la creación del SARS-CoV-2, se tendrían ciertos rastros en su secuencia. Al analizar la secuencia del SARS-CoV-2, se encuentran miles de mutaciones en los aminoácidos con respecto a otros coronavirus de animales.

- Si la proteína Spike del SARS-CoV-1 se hubiera ingresado en algún aminoácido del virus ZC45 o ZXC21 dentro de un laboratorio, la secuencia no mostraría estas mutaciones.
- Hay un 20% de diferencia entre el SARS-CoV-1 y el SARS-CoV-2 y un 4% de diferencia entre el RaTG13 y el SARS-CoV-2. Aunque suene poco, estas diferencias entre secuencias expresan mutaciones a lo largo del genoma en aproximadamente 3 a 4 mil aminoácidos. Esta evidencia es suficiente para refutar la creación artificial del SARS-CoV-2 a partir de estos dos coronavirus animales, pues es más propio de la selección natural y no es viable hacerla manualmente.
- La naturaleza tiene más tiempo y posibilidad de crear un nuevo virus en contraste con los laboratorios en China que empezaron a operar hace apenas 17 años.
- Investigadores del Instituto de Inmunología de La Jolla, California, tomaron una muestra de este virus con el objetivo de re-analizar su secuencia para compararla con la original obtenida en 2013, por medio de lecturas amplificadas por PCR se obtuvieron fragmentos de la secuencia que posteriormente fueron ordenados por computadora. Los datos de los que la dra. Li-Meng Yan habla son de hace 17 años, y no toma en cuenta estos nuevos experimentos más recientes.

<https://www.youtube.com/watch?v=6UawCeugmyl>