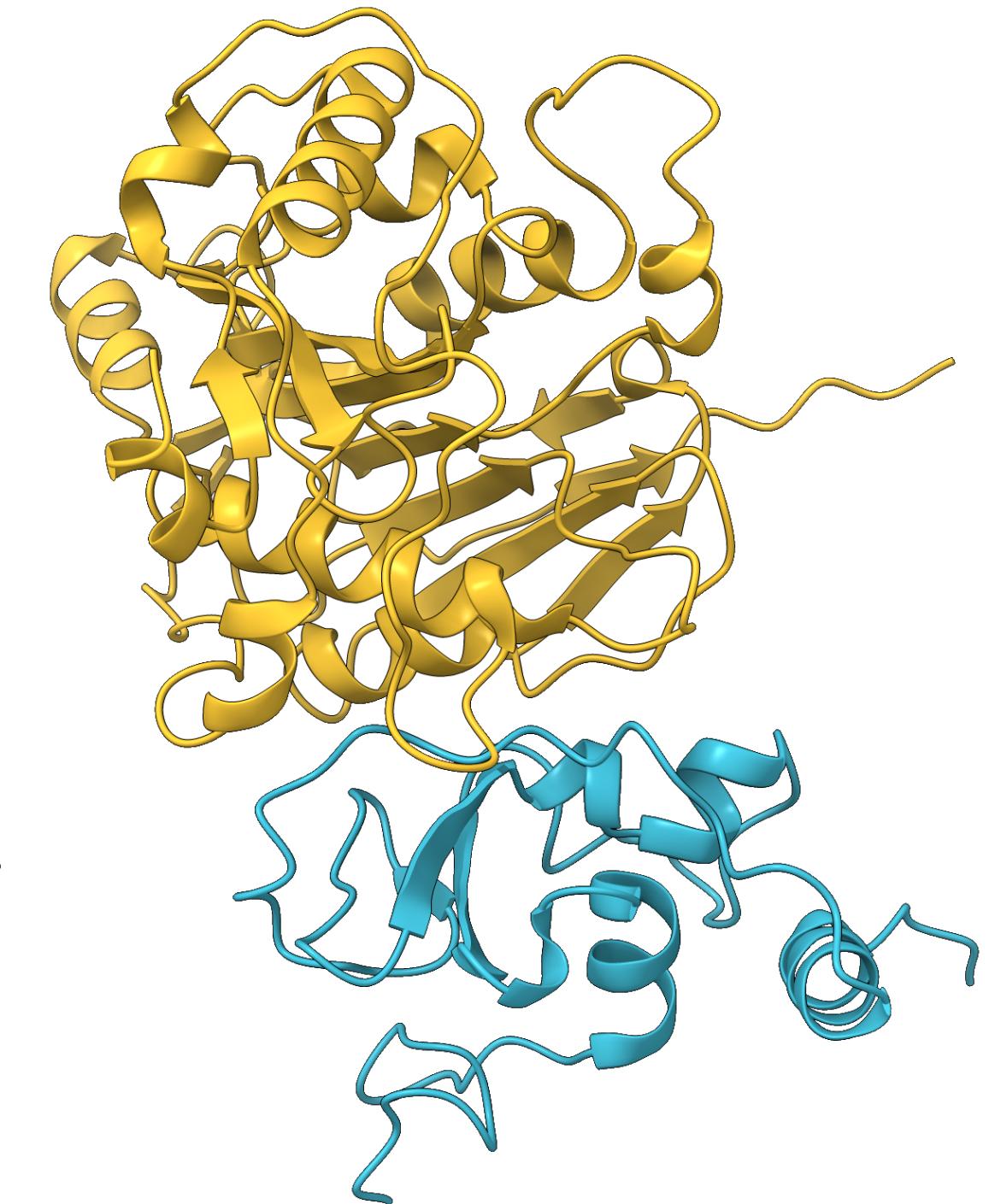
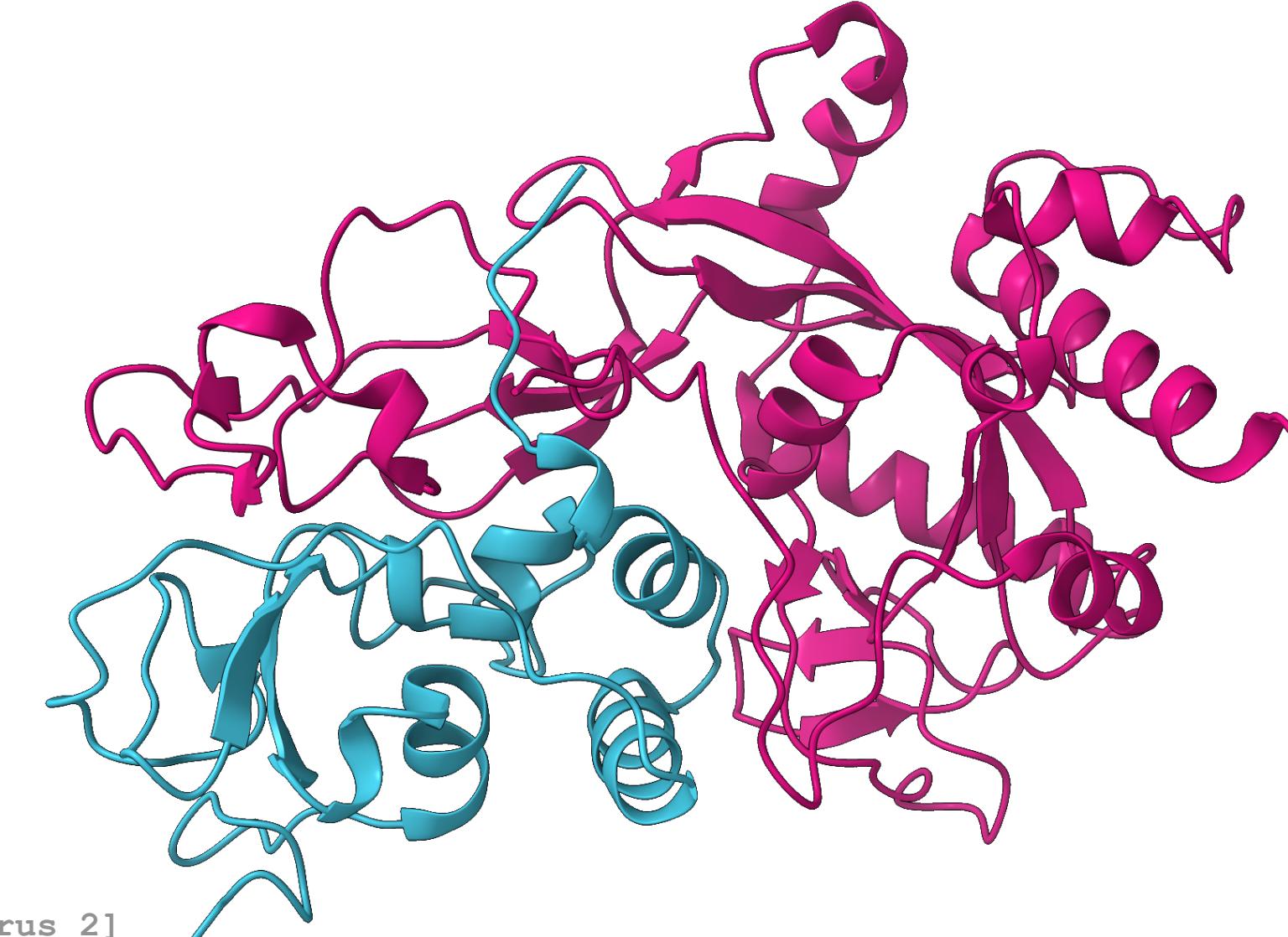


# Análisis evolutivo y estructural de las proteínas nsp10, nsp14 y nsp16 para el diseño de una terapia antiviral pancoronavírica

**Francisco José Villena González**

Área de Genética. Dpto. de Biología Celular,  
Genética y Fisiología

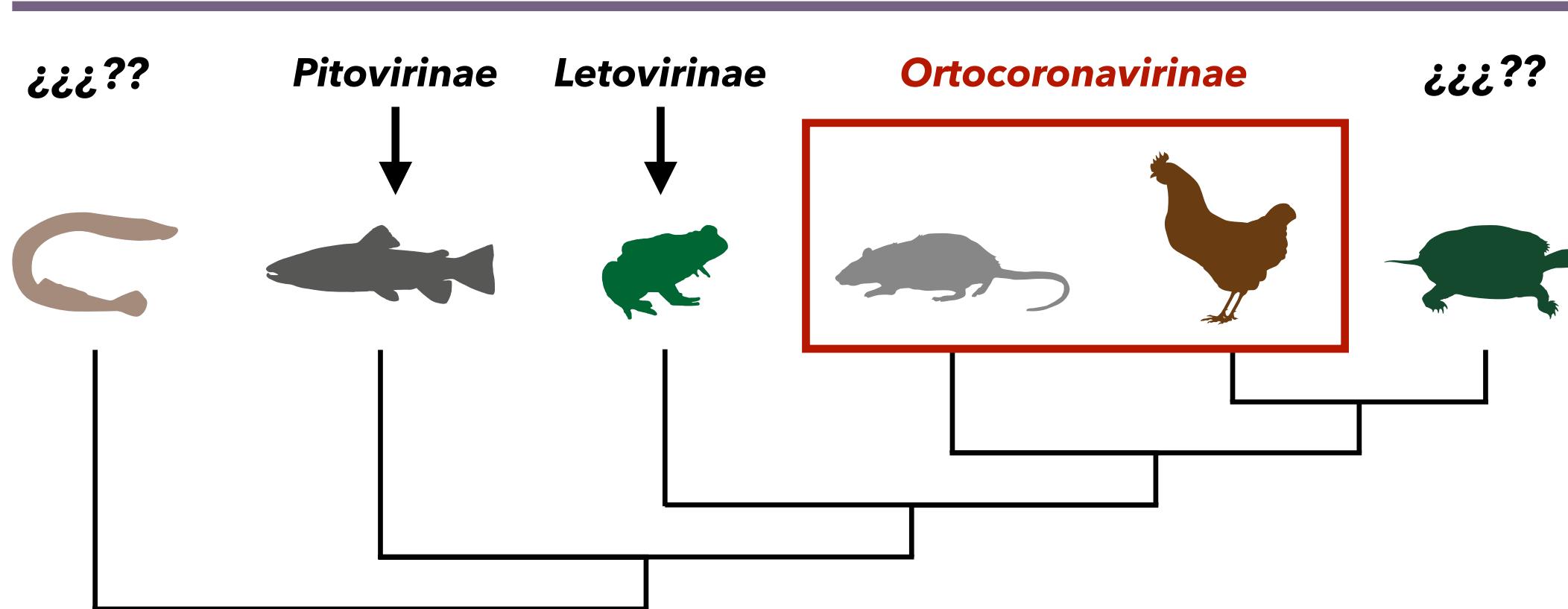


>YP\_009724389.1 ORF1ab polyprotein [Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2]

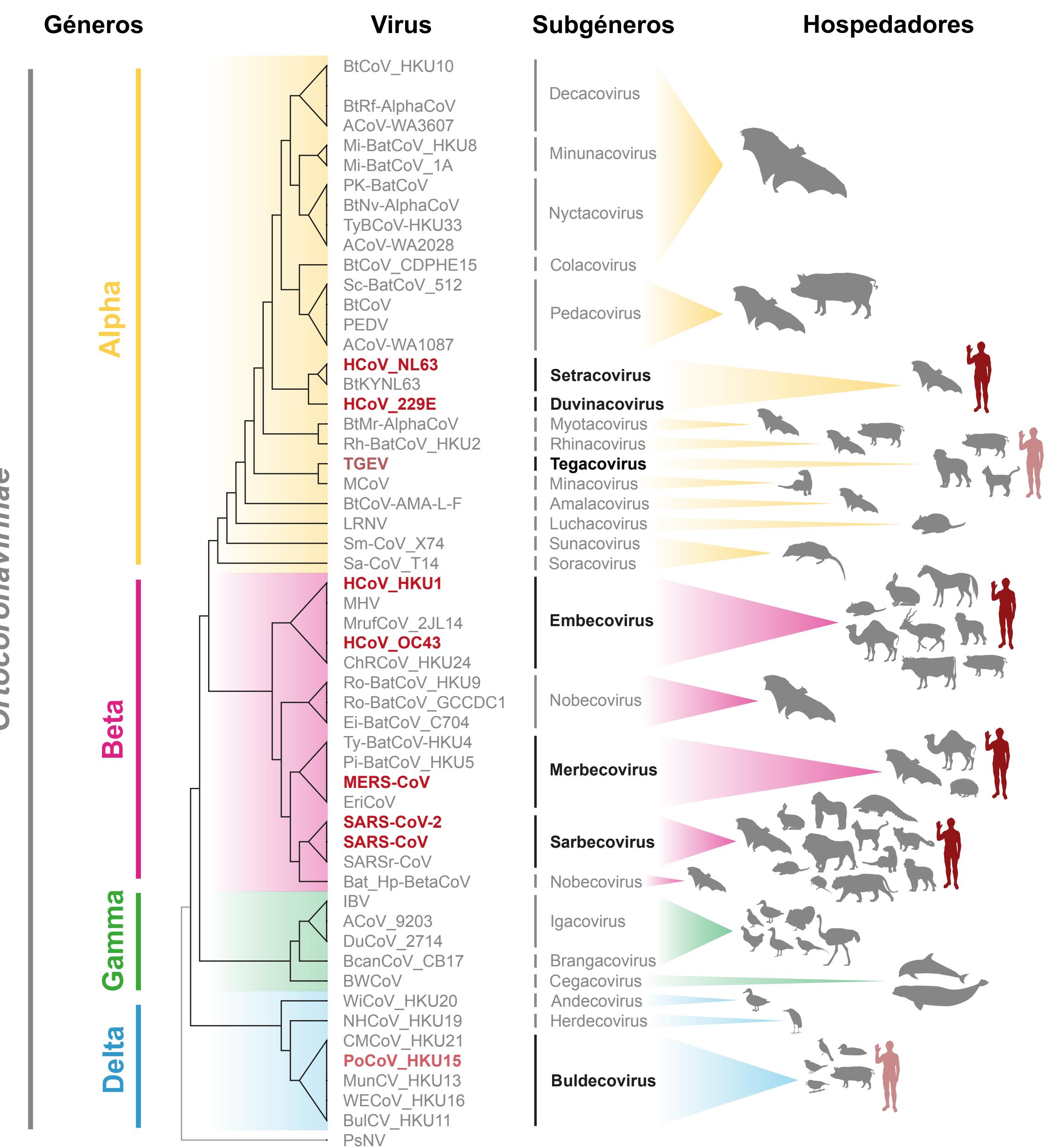
LPSTLATVAYFNMVYMPASWVMRIMTFLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVVLLILMARTVYDDGARRVWTLMNVLTLVYKVVYGNALDQAISMWALIISTSNYGVVTTVMFLARGIVFMCVEYCPPIFFITGNTLQCIMLVCFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVSTQEFRYMNSQGLLPPKNSIDAFKLNKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTS VLLSVLQLRVESSSKLWAQCVQLHNDILLAKDTTEAFEKMSVLLSMQGAVIDINKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPSIAAFATAQEAYEQAVANGDSEVVLKKLKKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMAQMTQMYQARSEDKRAKVTSAMQTMLFTMLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTTAAKLMVVIIPDYNTYKNTCDGTTFYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISM DNSPNLAWPLIVTALRANS AVKLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQTACTDDNALAYNTTKGGRFVIALLSLDQLDKWARFPKSDGTGTIYTELEPPCRFTDPKGPKVVKYLYFIKGLNNLNRMVILGSLAATVRLQAGNATEVPANSTVLSFCAFAVDAAKAYKDYLASGGQPITNCVKMLCTHTGTGQAITVTPPEANMDQESFGGACCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGKYVQIPTTCANDPGFTLKN TVCTVGMWKGYGCSCDQLREPMLQSADAQSFLNRVCVGVAARLTPCGTGTSTDVYVRAFDIYNDK VAGFAKF LKTNCCRQEKDEDDNLLIDS YFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCAVAKHDFFKFRIDGMPHI SRQRLLTKYT MIDL VYALRHFDEGNCDTLKEI LVTY NCDDDFY NKKDWYDFVENPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFC DAMRNAGIVGVLTLDNQDLNGNWYDFGDFI QTTPGS GPV VVD SYSSLLMPILT LTRALTAESHVD TDLKPYIKW DLLK YDFT EERL KLF DRY FK YWD QTYHPNCVNCLDDRCILH CANFNVLFSTVFPPTSF G P I L R K I F V D G V P F V S T G Y H F R E L G V V H N Q D V N L H S S R L S F K E L L V Y A A D P A M H A S G N L L D K R T T C F S V A A L T N N V A F Q T V K P G N F N K D F Y D F A V S K G F K E G S S V E L K H F F F A Q D G N A A I S D Y D Y Y R Y N L P T M C D I R Q L L F V V E V V D K Y F D C Y D G G C I N A N Q V I V N N I D K S A G F P N K W G K A R L Y Y D S M S Y E D Q D A L F A Y T K R N V I P T I T Q M N L K Y A I S A K N R A R T V A G V S I C S T M T N R Q F H Q K L L K S I A A T R G A T V V I G T S K F Y G G W H N M L K T V Y S D V E N P H I L M G W D Y P K C D R A M P N M L R I M A S I V L A R K H T T C S L S H R F Y R L A N E C A Q V L S E M V M C G G S L Y V K P G G T S S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V T A N V A L L S T D G N K I A D K Y V R N L Q H R L Y E C L Y R N R D V D T D F V N E F Y A Y L R K H F S M M I L S D D A V V C F N S T Y A S Q G L V A S I K N F K S V L Y Y Q N N V F M S E A K C W T D L T K G P H E F C S Q H T M L V K Q G D D Y V Y L P Y P D P S R I L G A G C F V D D I V K T D G T L M I E R F V S L A I D Y P L T K H P N Q E Y A D V F H L Y Q I R K L H D E L T G H M L D M Y S V M L T N D N T S R Y W E P E F Y A M Y T P H T V L Q A V G A C V L C N S Q T S L R C G A C I R R P F L C C K Y D H V I S T S H K L V L S V N P V C N A P G C D V T D V T Q L Y L G G M S Y Y C K S H F A I G I L A L Y Y P S A R I V Y T A C S H A A V D A L C E K A K Y L P I D K C S R I I P A R A V E C F D K F K V N S T L E Q Y V F C T V N A L P E T T A D I V V F D E I S M A T N Y D I S V N A R L R A K H Y V Y I G D P A Q L P A P R T I I T K G T L E P E Y F N S V C R I M K T I G P D M F L G T C R R C P A E I V D T V S A L V Y D N K L K A H K D K S A Q C F K M F Y K G V I T H D V S S A I N R P Q I G V V R E F L T R N P A W R K A V F I S P Y N S Q N A V A S K I L G L P T Q T V D S S Q G S E Y D Y V I F T Q T T E A H S C N V N R F N V A I T R A K V G I L C I M S D R D L Y D K L Q F T S L E I P R R N V A T I Q A E N V T G L F K D C S K V I T G L H P T Q A P T H L S V D T K F K T E G L C V D I P G I P K D M T Y R R L I S M M G F K M N Y Q V N G Y P N M F I T R E E A I R H V R A W I G F D V E G C H A T R E A V G T N L P L Q L G F S T G V N L V A V P T G Y V D T P N N T D F S R V S A K P P P G D Q F K H L I P L M Y K G L P W N V V R I K I V Q M L S D T I L K N L S D R V F V L W A H G F E L T S M K Y F V K I G P E R T C C L C D R R A T C F S T A S D T Y A C W H H S I G F D Y V V N P F M I D V Q Q W G F T G N L Q S N H D L Y C Q V H G N A H V A S C D A I M T R C L A V H E C F V K R V D W T I E Y P I I G D E L K I N A A C R K V Q H M V V K A A L L A D K F P V L H D I G N P K A I K C V P Q A D V E W K F Y D A Q P C S D K A Y K I E L F Y S A T H S D K F T D G V C L F W N C N V D R Y P A N S I V C F D T R V L S N L N L P G C D G G S L Y V N K H A F T P A F D K S A F V N L K Q L P F F Y Y S D S P C E S H G K Q V V S D I Y V P L K S A T C I T R C N L G G A V C R H H A N E Y R Y L D A Y N M M I S A G F S L W V Y K Q F D T Y N L I W N T F T R L Q S L E N V A F N V V N K G H F D G Q Q G E V P V S I I N N T V T K V D G V D V E L F E N K T T L P V N V A F E L W A K R N I K P V P E V K I L N N L G V D I A A N T V I W D Y K R D A P A H I S T I G V C S M T D I A K K P T E T I C A P L T V F F D G R V D G Q V D I F V R N A R G V I L I T E G S V K G L Q P S V G P K Q A S I N G V T L I G E A V K T Q F N Y Y K K V D G V V Q Q L P E T Y F T Q S R N L Q E F K P R S Q M E I D F L E L A M D E F I E R Y K L E G Y A F E H I V Y G D F S H S Q L G G L H L L I G L A K R F K E S P F E L D F I P M D S T V K N Y F I T D A Q T G S S K C V C S V I D I L L D D F V E I I K S Q D L S V S V K V V K T I D Y T E I S F M L W C K D G H V E T F Y P K L Q S S Q A W Q P G V A M P N L Y K M Q R M L L E K C D I L Q N Y G D S A T L P K G I M M N V A K Y T Q L C Q Y L N T L T L A V P Y N M R V I H F G A G S D K G V A P G T A V L R Q W L P T G T L L V D S D L N D F V S D A D S T L I G D C A T V H T A N K W D L I I S D M Y D P K T K N V T K E N D S K E G F F T Y I C G F I Q Q K L A L G G S V A I K I T E H S W N A D L Y K L M G H F A W W T A F V T N V N A S S S E A F L I G C N Y L G K P R E Q I D G Y V M H A N Y I F W R N T N P I Q L S S Y S L F D M S K F P L K L R G T A V M S L K E G Q I N D M I L S L S K G R L I I R E N N R V V I S S D V L V N N

# INTRODUCCIÓN

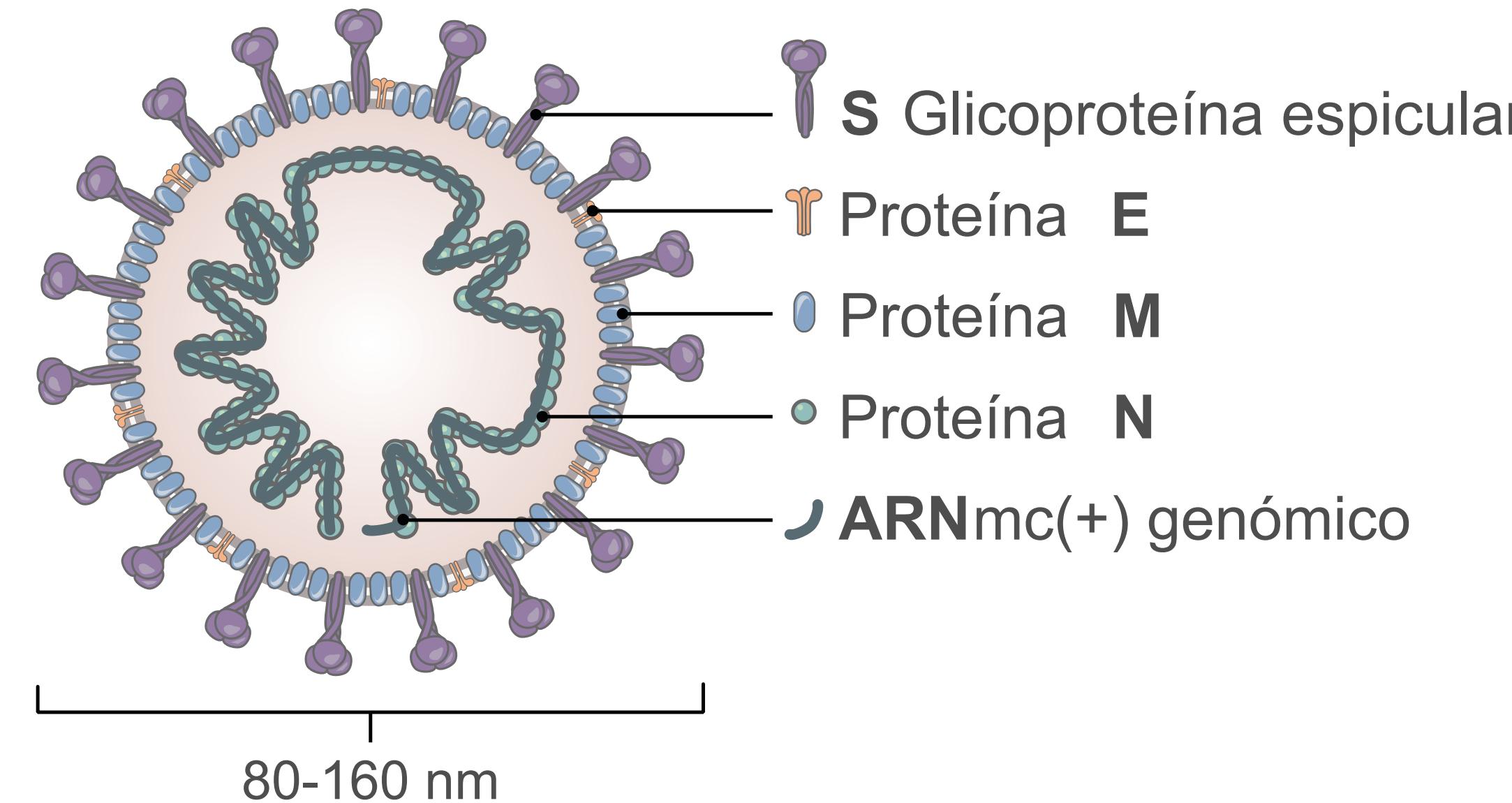
# Coronaviridae



- Hasta hace pocos años solo se conocían como coronavirus a la actual subfamilia *Orthocoronavirinae*
  - La metagenómica ha desvelado la existencia de coronavirus que infectan a otros grupos de vertebrados
  - Las emergencias virales de esta familia que afectan a humanos se encuadran hasta la fecha dentro de *Orthocoronavirinae*

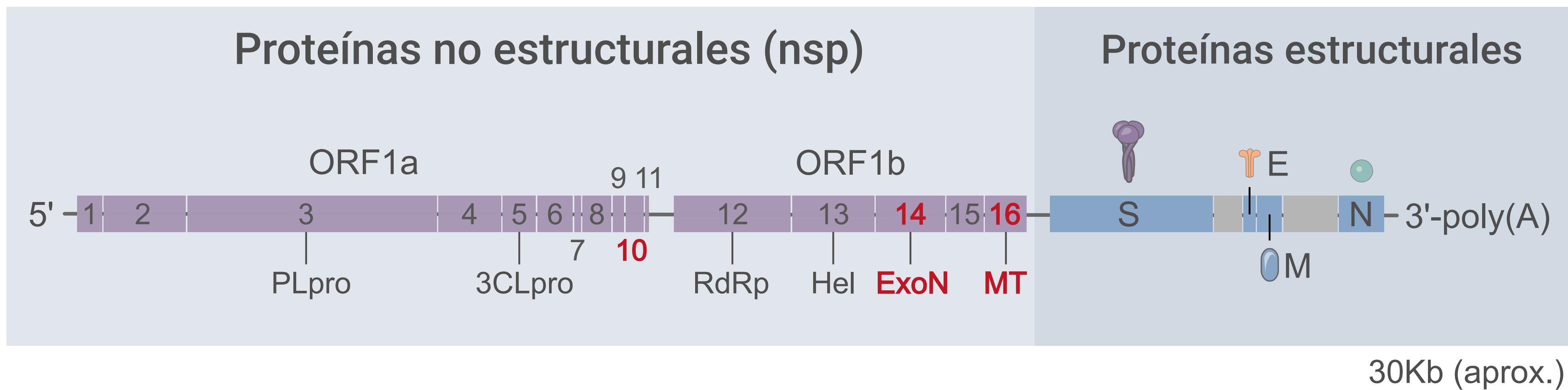


# INTRODUCCIÓN



# Virión y genoma de los coronavirus

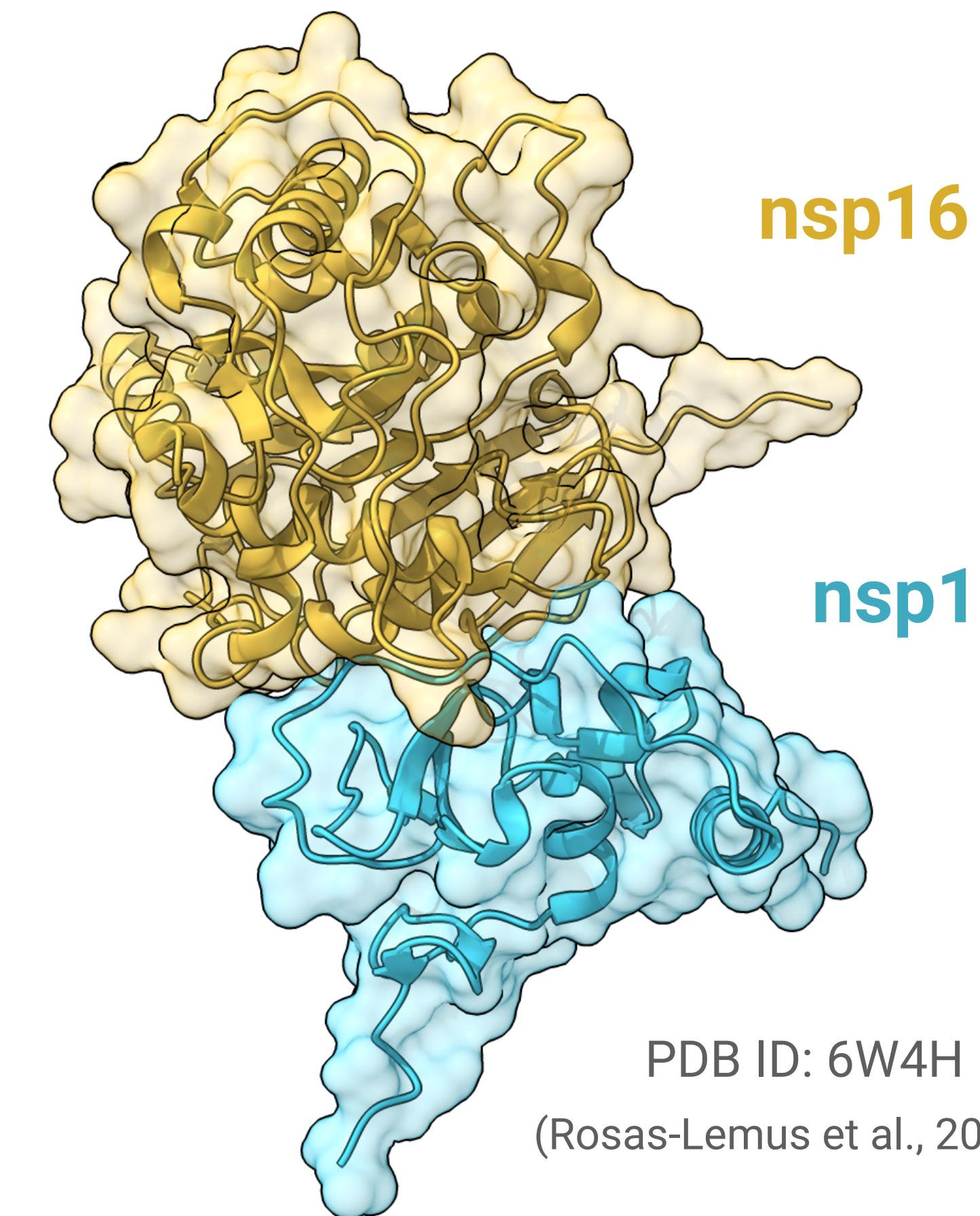
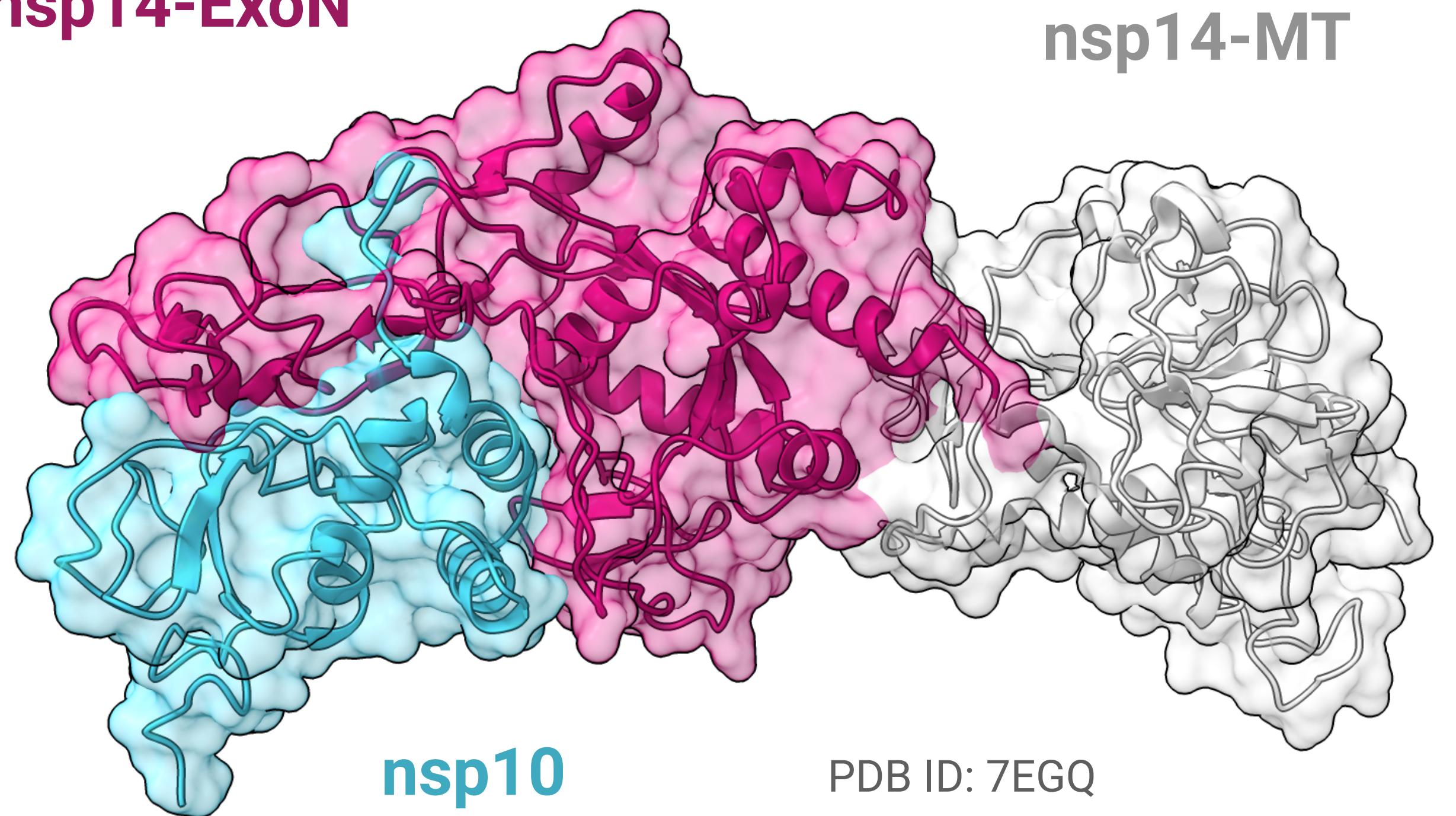
- Genoma lineal con **cap-5'** y 3'-poly(A)
- Los **tamaños de sus genomas** (22-36 kb) son bastante superiores respecto a la mayoría de virus de ARN (1-15 kb)
- Ambas características tienen en común la necesidad de un **mismo cofactor enzimático**



# INTRODUCCIÓN

## Interacciones de nsp10 con nsp14 y nsp16

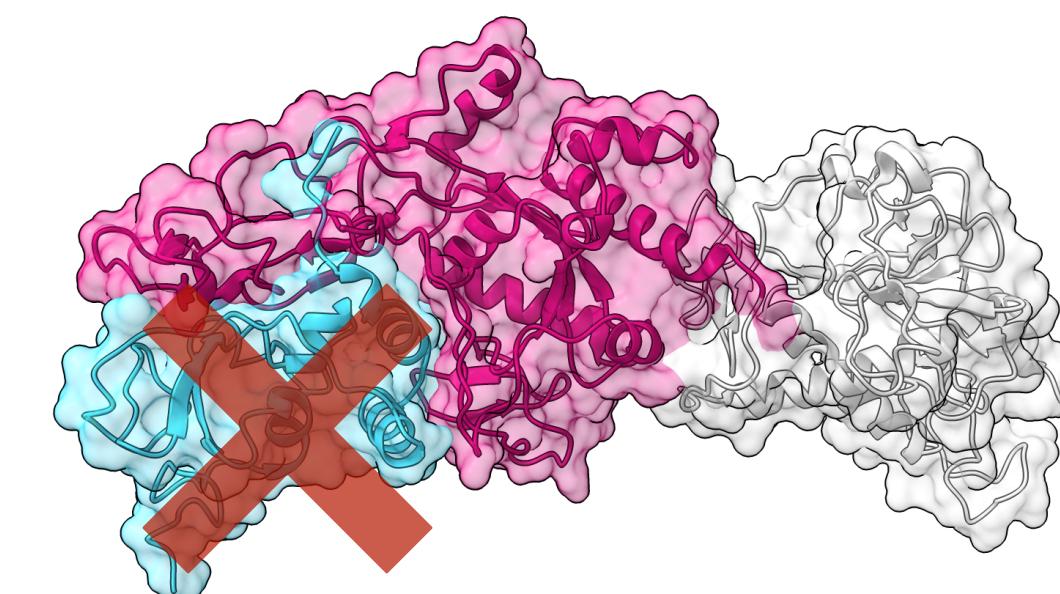
**nsp14-ExoN**



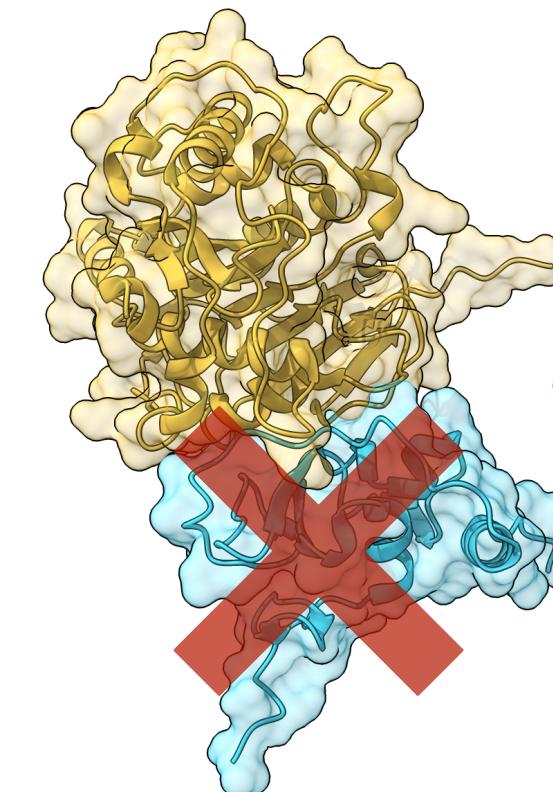
# INTRODUCCIÓN

## Estrategia antiviral combinada

Pseudoligando  
basado en nsp10



Actividad correctora



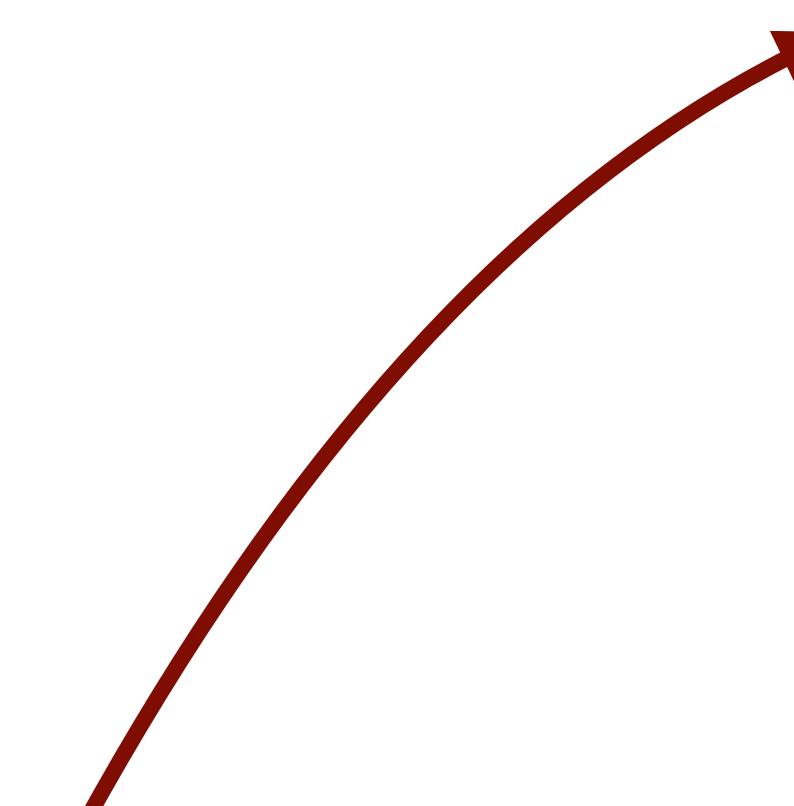
Formación cap-5'

RESPUESTA  
ANTIVIRAL INNATA

Análogos de bases  
Nucleósidos

Catástrofe de error

MUTAGÉNESIS LETAL



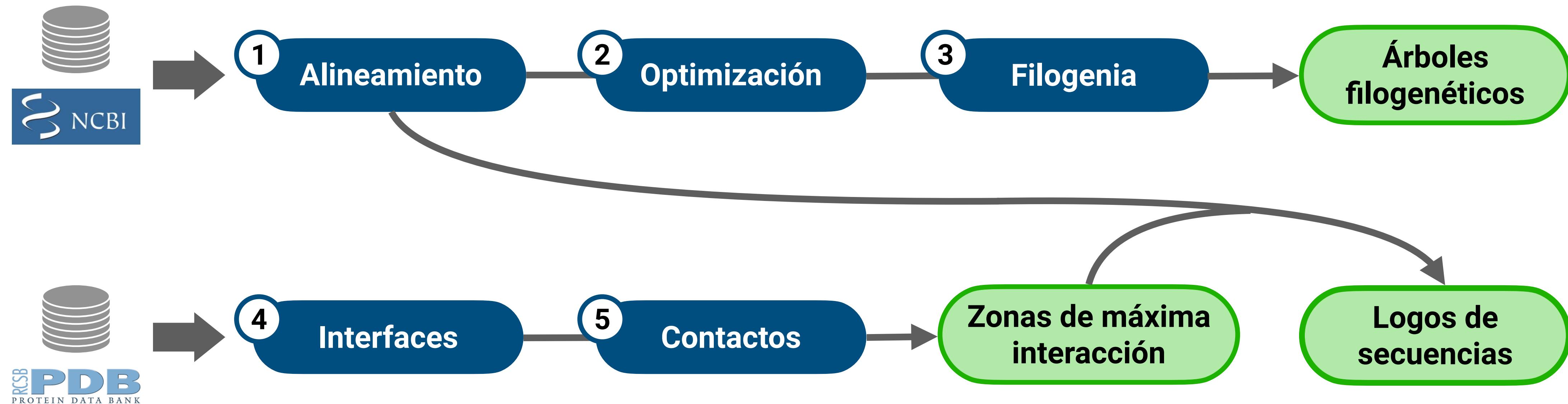
## OBJETIVOS

## ¿Es posible hacer pancoronavírica a esta estrategia?

1. Evaluar la conservación y evolución de las proteínas nsp10/14/16 dentro del subfamilia Orthocoronavirinae
2. Identificar la región de nsp10 con máxima interacción con nsp14-ExoN y nsp16
3. Analizar la conservación de los residuos de la región de nsp10 identificada, así como de los residuos de nsp14-ExoN y nsp16 involucrados en su interacción

# METODOLOGÍA

## Flujo de tareas para la obtención de resultados



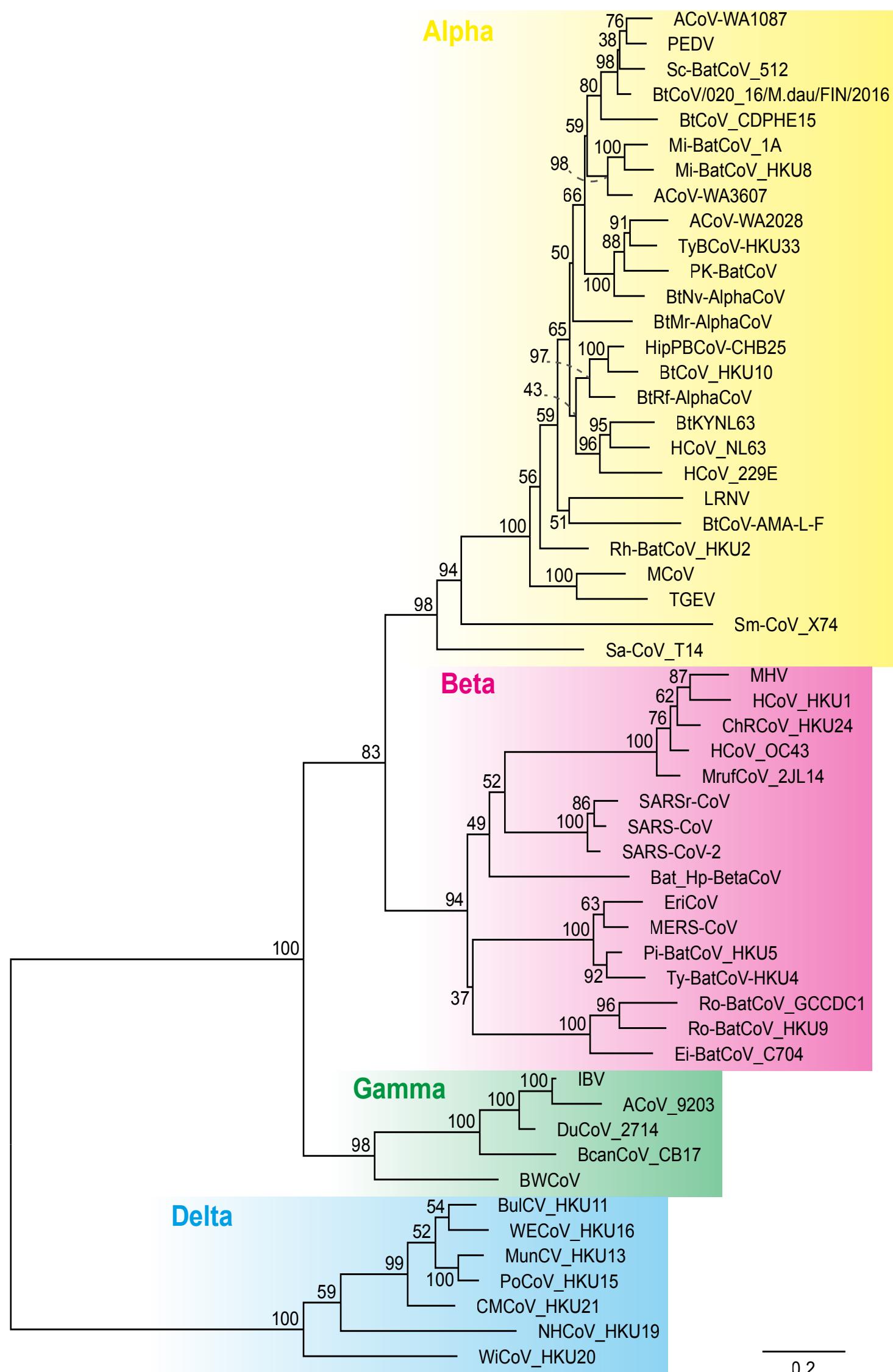
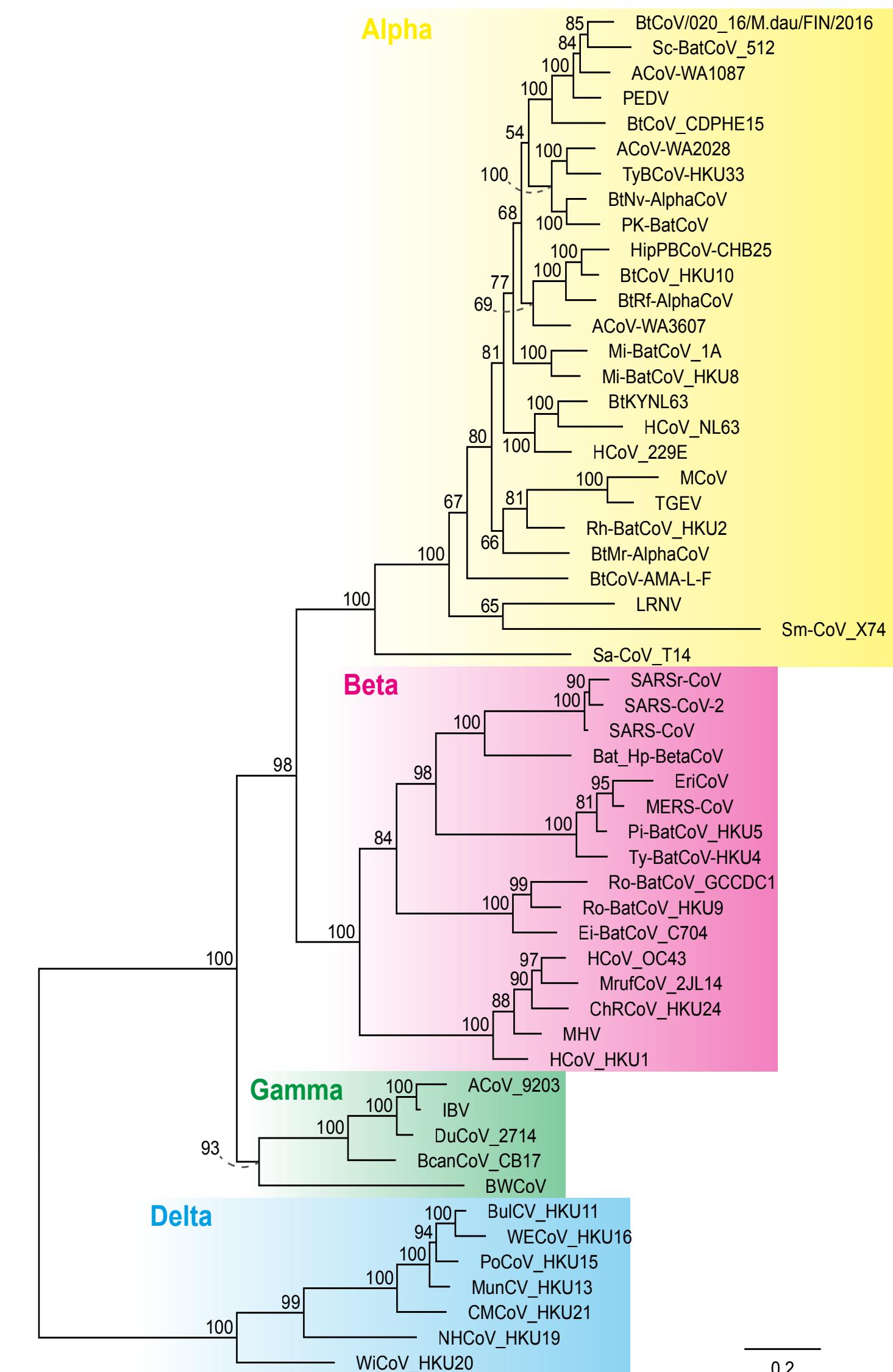
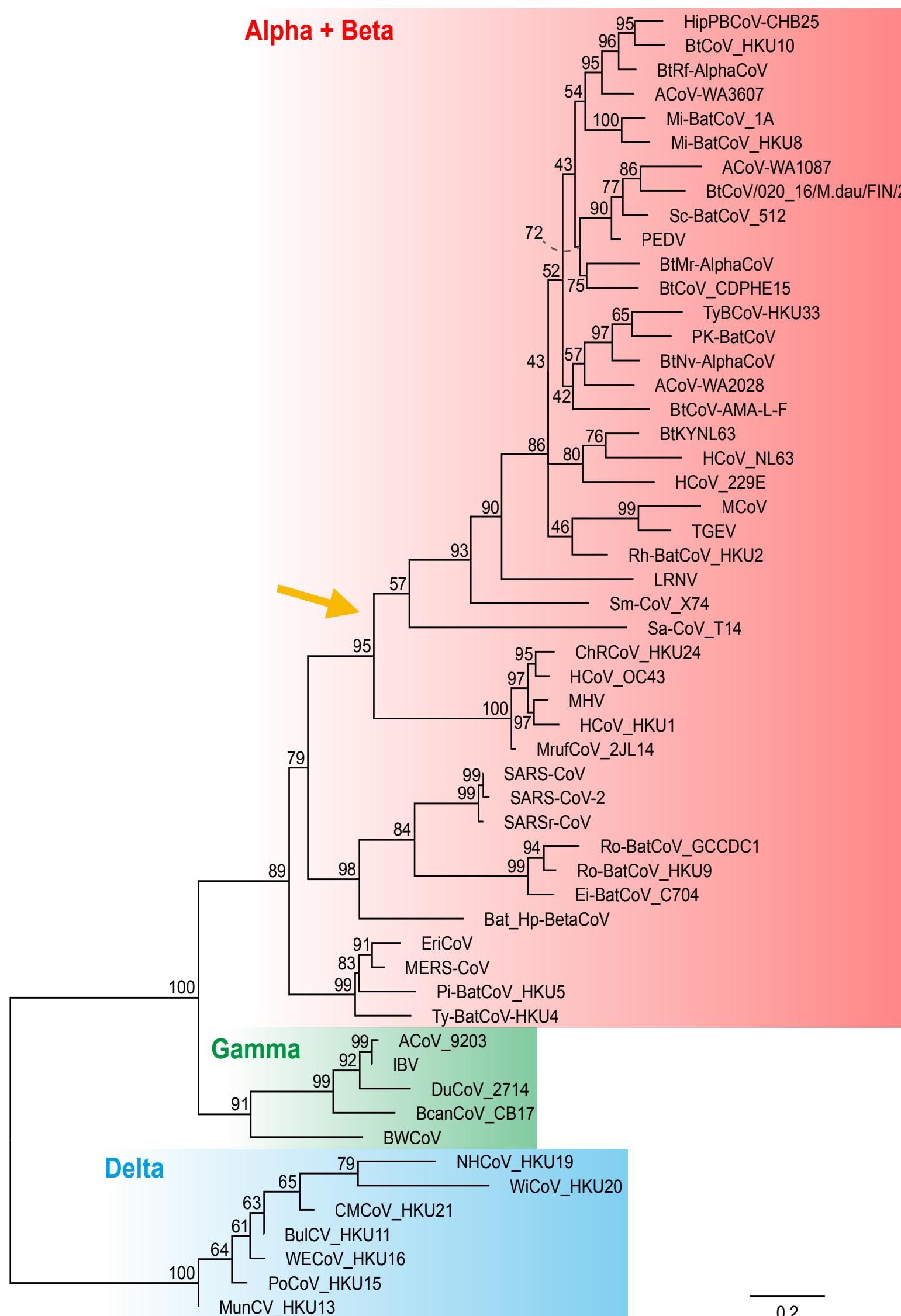
- Descargar ficheros
- Ejecutar los análisis
- Extraer conclusiones
- Generar gráficos

- Buscar y estudiar bibliografía para encontrar los programas
- Instalar los binarios de los programas en la variable PATH de macOS

- Manejar una terminal de comandos UNIX
- Resolver errores en la ejecución de los comandos

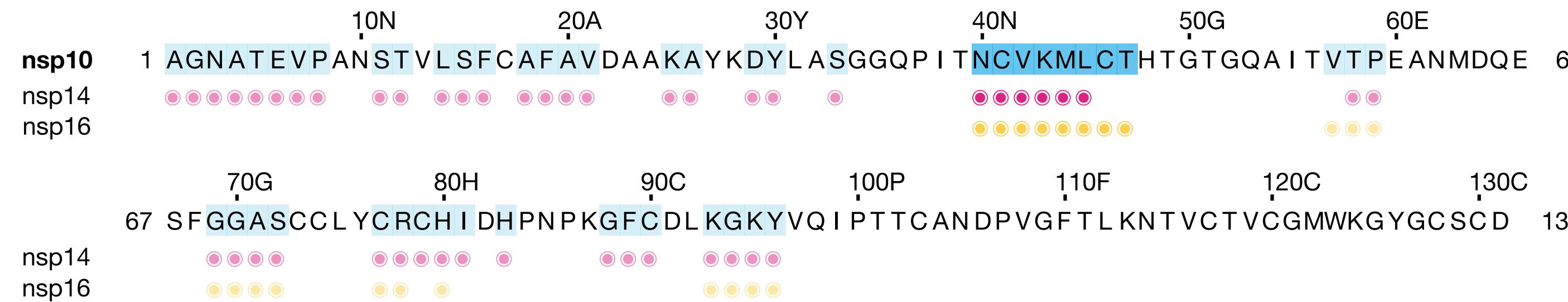
# RESULTADOS

# Filogenias de nsp10, nsp14 y nsp16

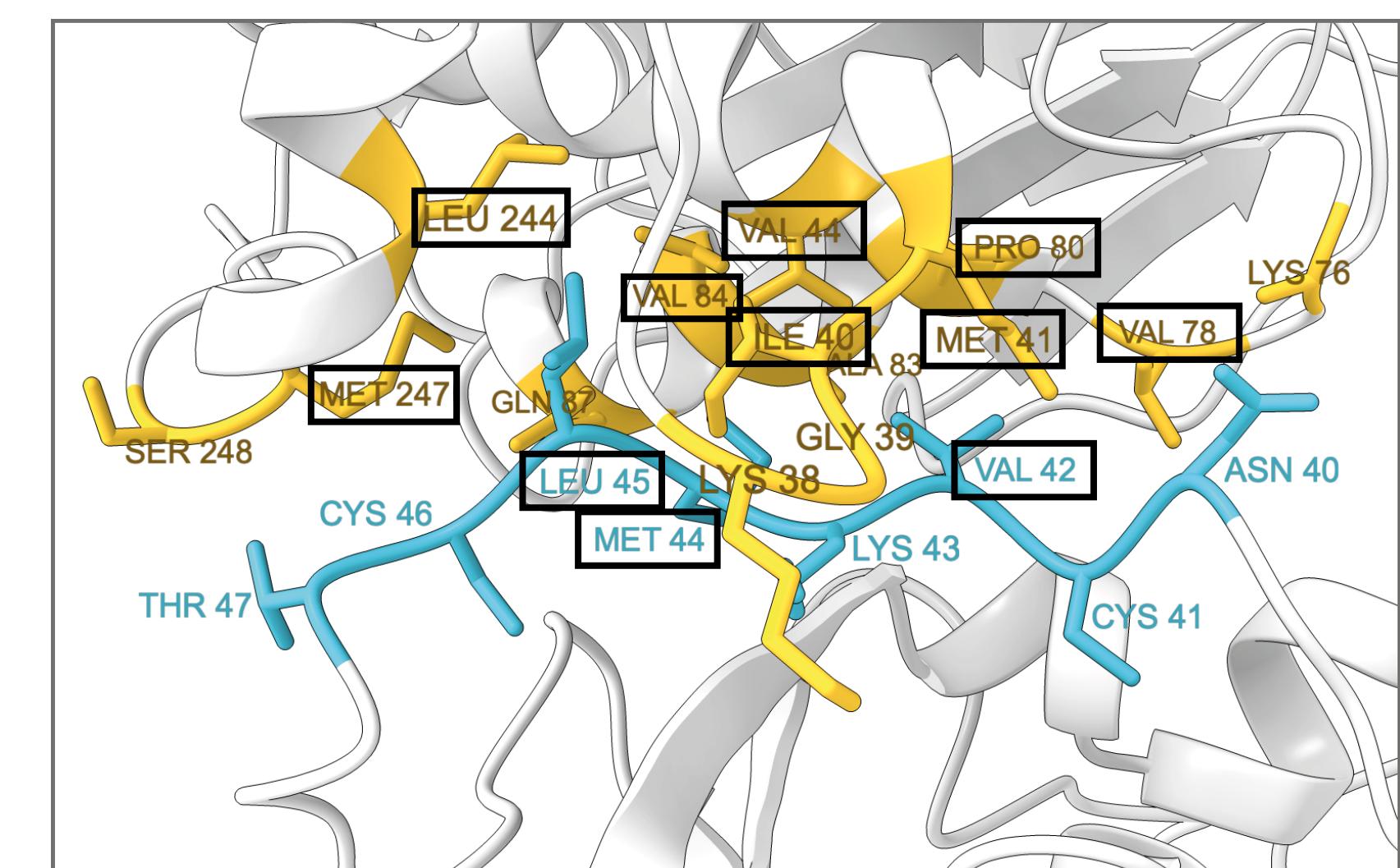
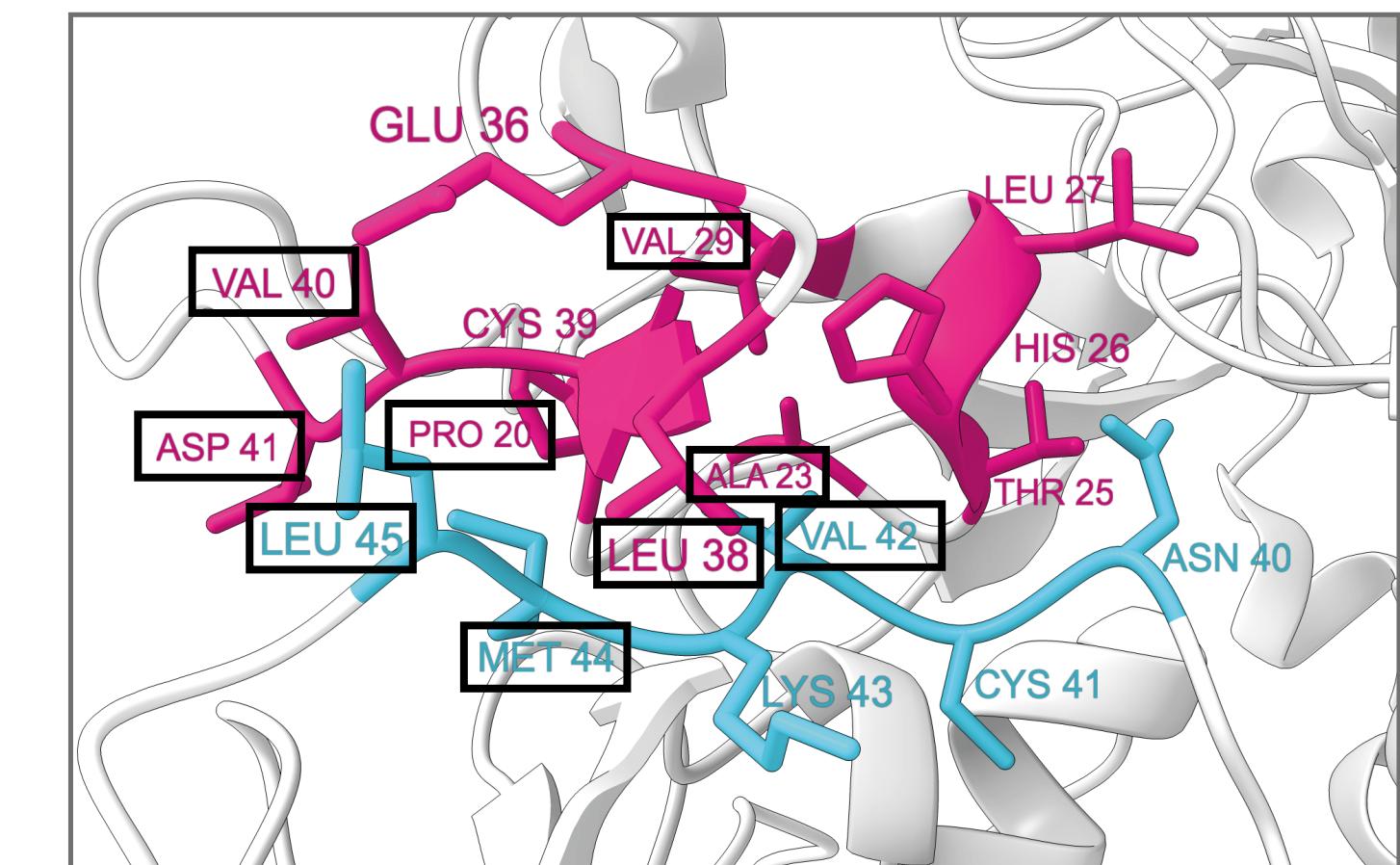
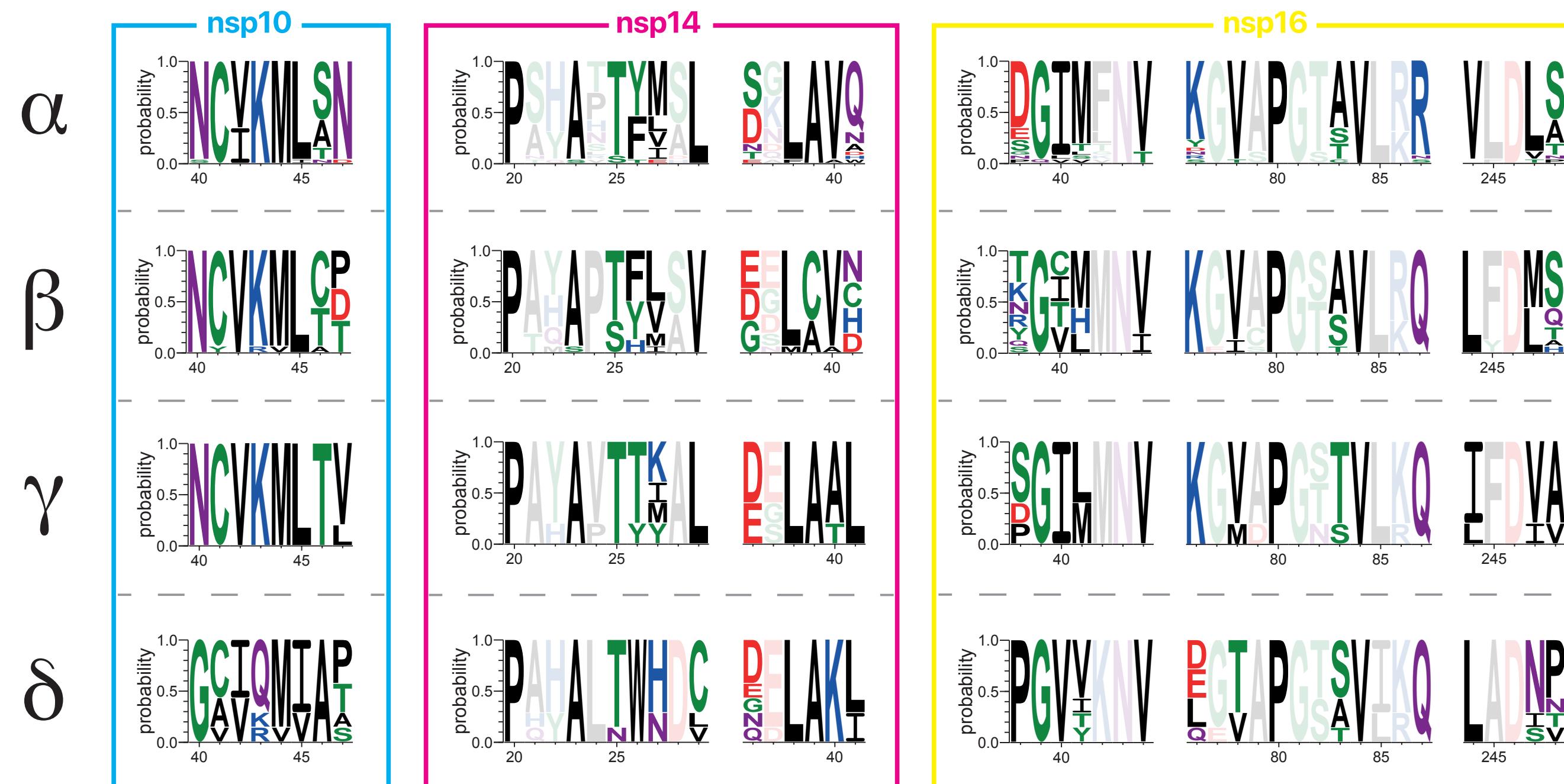


# RESULTADOS

# Interacciones en estructuras de SARS-CoV-2



## Zonas de interacción en *Orthocoronaviridae*



Esquema de residuos de nsp10 involucrados en las interacciones con nsp14-ExoN y nsp16 elaborado con Jalview v2.11.2.6, a partir de los análisis con ChimeraX v1.6.

Logos de secuencias de los dominios de interacción fueron elaborados con WebLogo v3.7.12

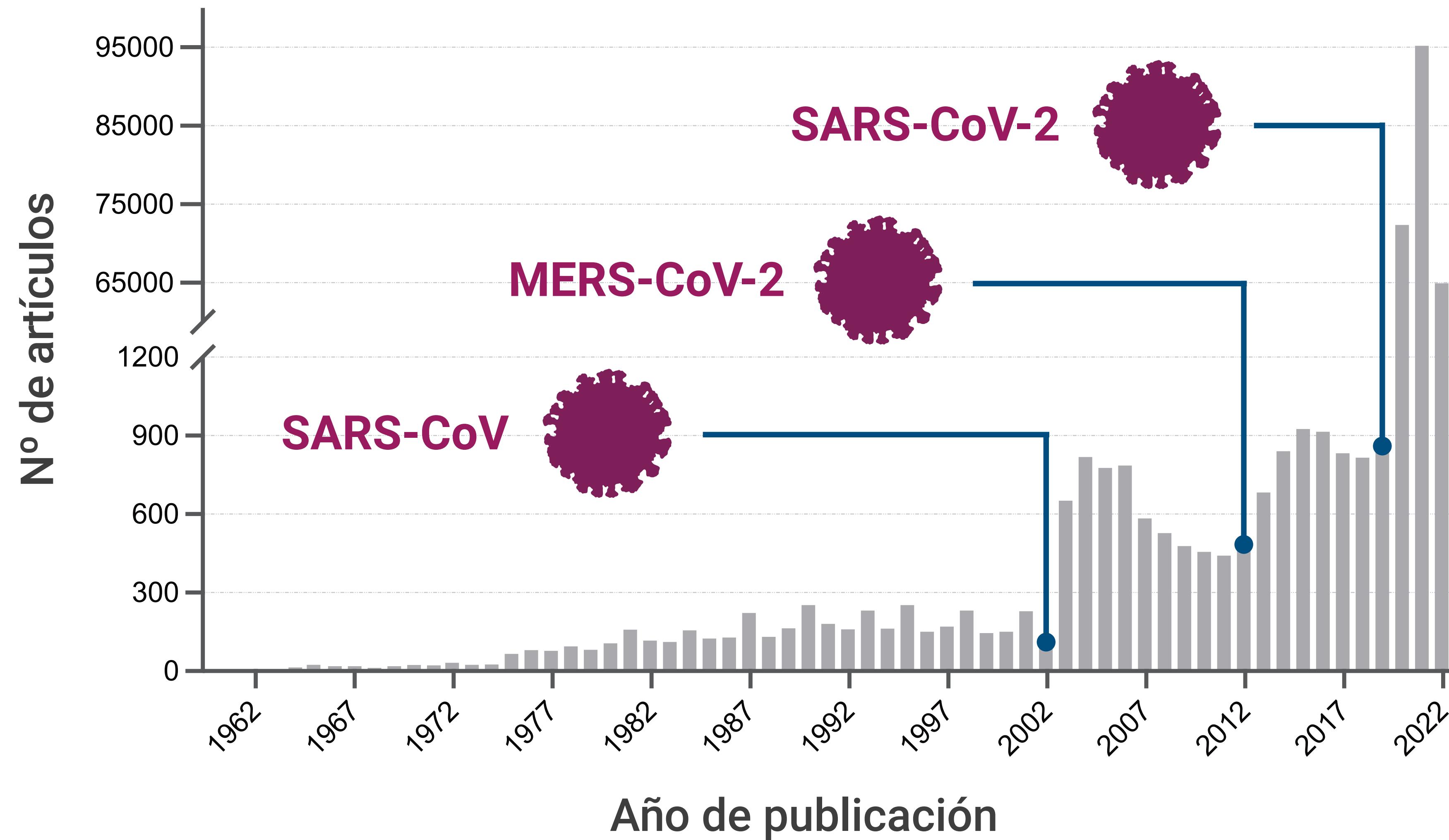
# CONCLUSIONES

1. En *Orthocoronavirinae* las **nsp10/14/16 de están bastante conservadas**, especialmente las relativas a los géneros que reúnen a casi todos los coronavirus capaces de infectar a humanos: *Alphacoronavirus* y *Betacoronavirus*.
2. Según las estructuras experimentales de SARS-CoV-2 tomadas como referencia, la **región de nsp10 con máxima interacción** con nsp14-ExoN y nsp16 está constituida por **6 aminoácidos** que configuran una cadena extendida sin estructura secundaria
3. Las posiciones de la región de nsp10 citada en el apartado anterior están bastante conservadas; **3 posiciones hidrofóbicas son comunes** para toda la subfamilia *Orthocoronavirinae*, concentrándose la mayor variabilidad de esta región en las posiciones hidrofílicas.

**Los análisis *in silico* de este trabajo apoyan la idoneidad de la región de nsp10 con máxima interacción con nsp14-ExoN y nsp16 para su uso como molde en el diseño de posibles pseudoligandos con actividad antiviral pancoronavírica.**

## CONTENIDO ADICIONAL

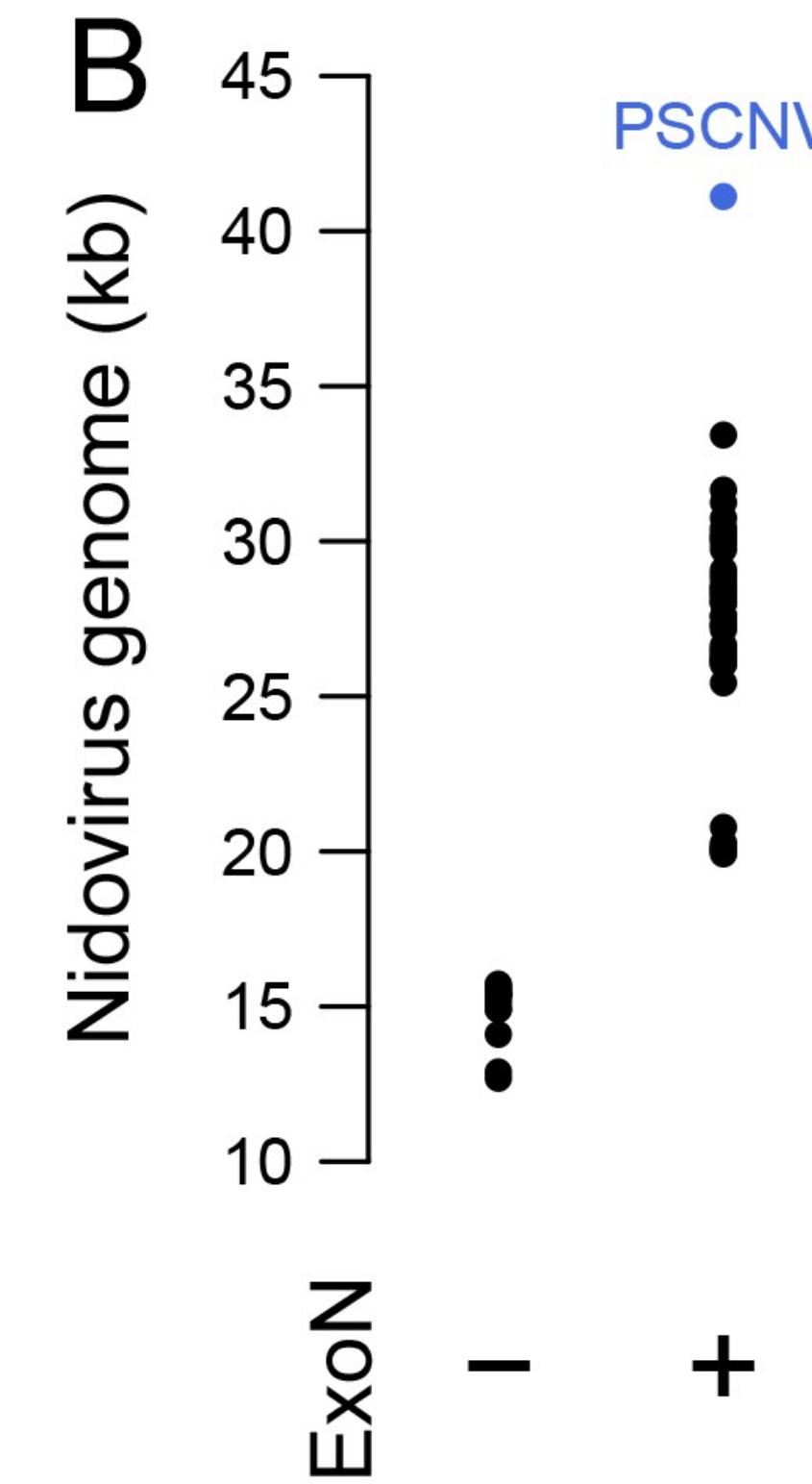
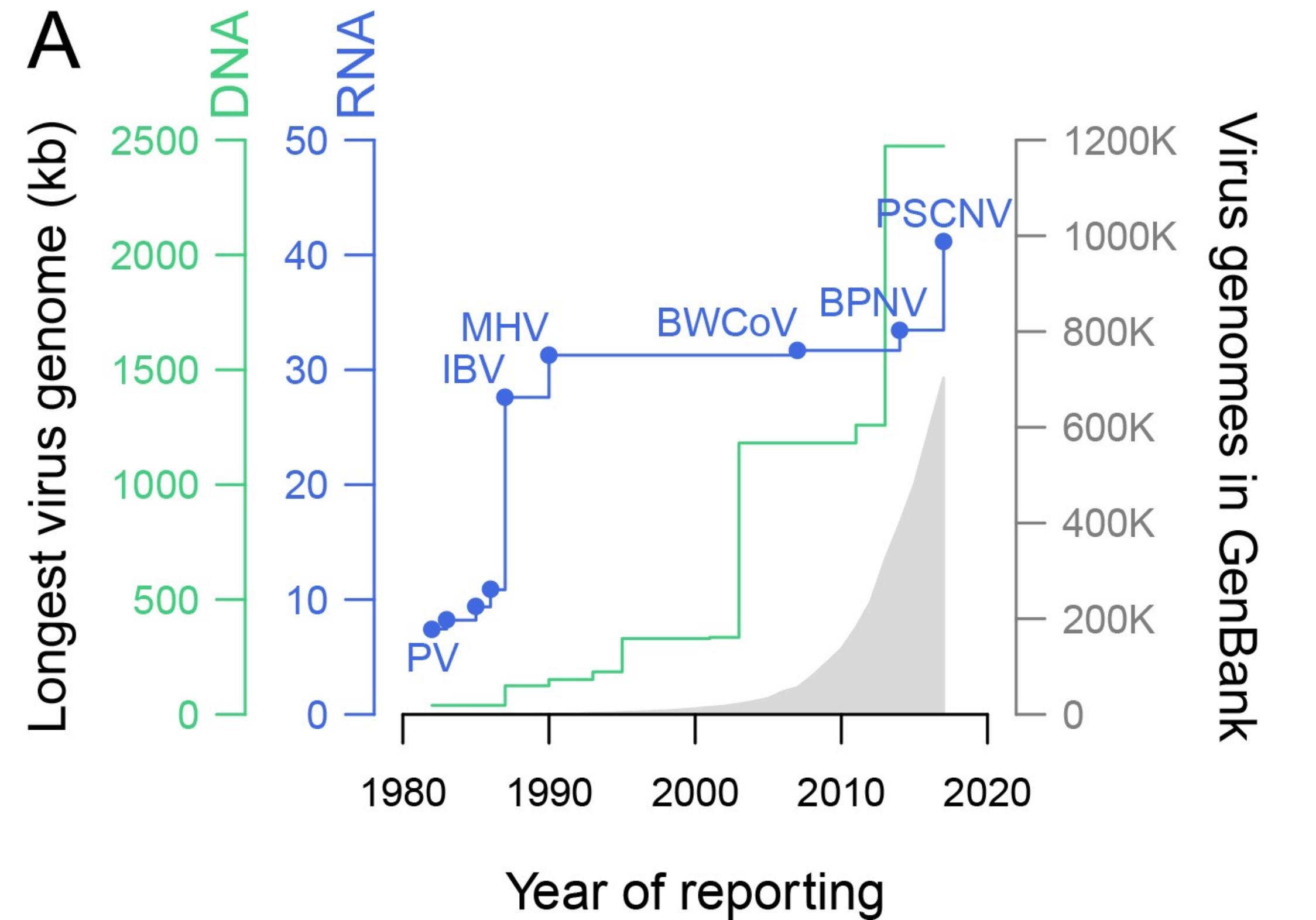
## Búsqueda de "coronavirus" en PubMed



# CONTENIDO ADICIONAL Organización y expresión de SARS-CoV-2



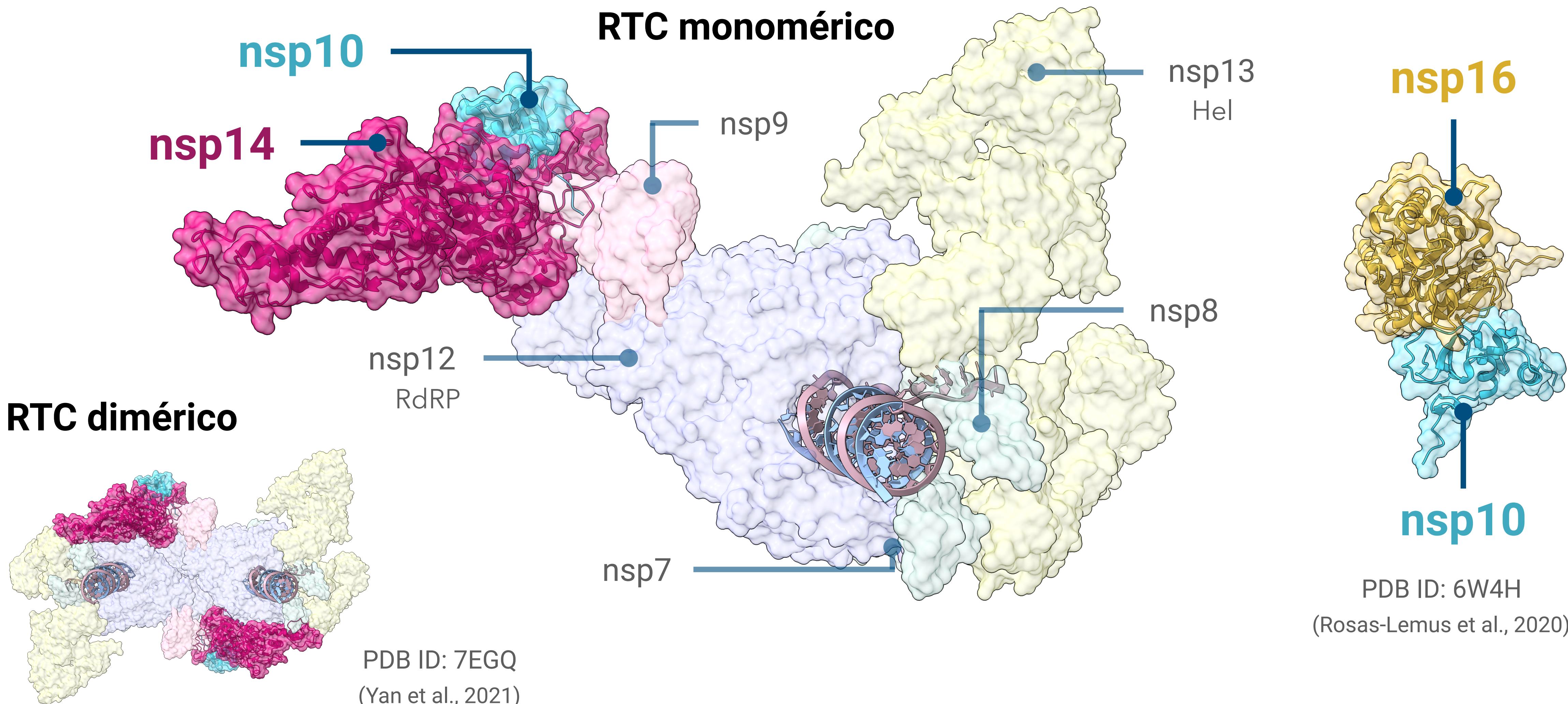
A novel nidovirus resets RNA genome-size limits

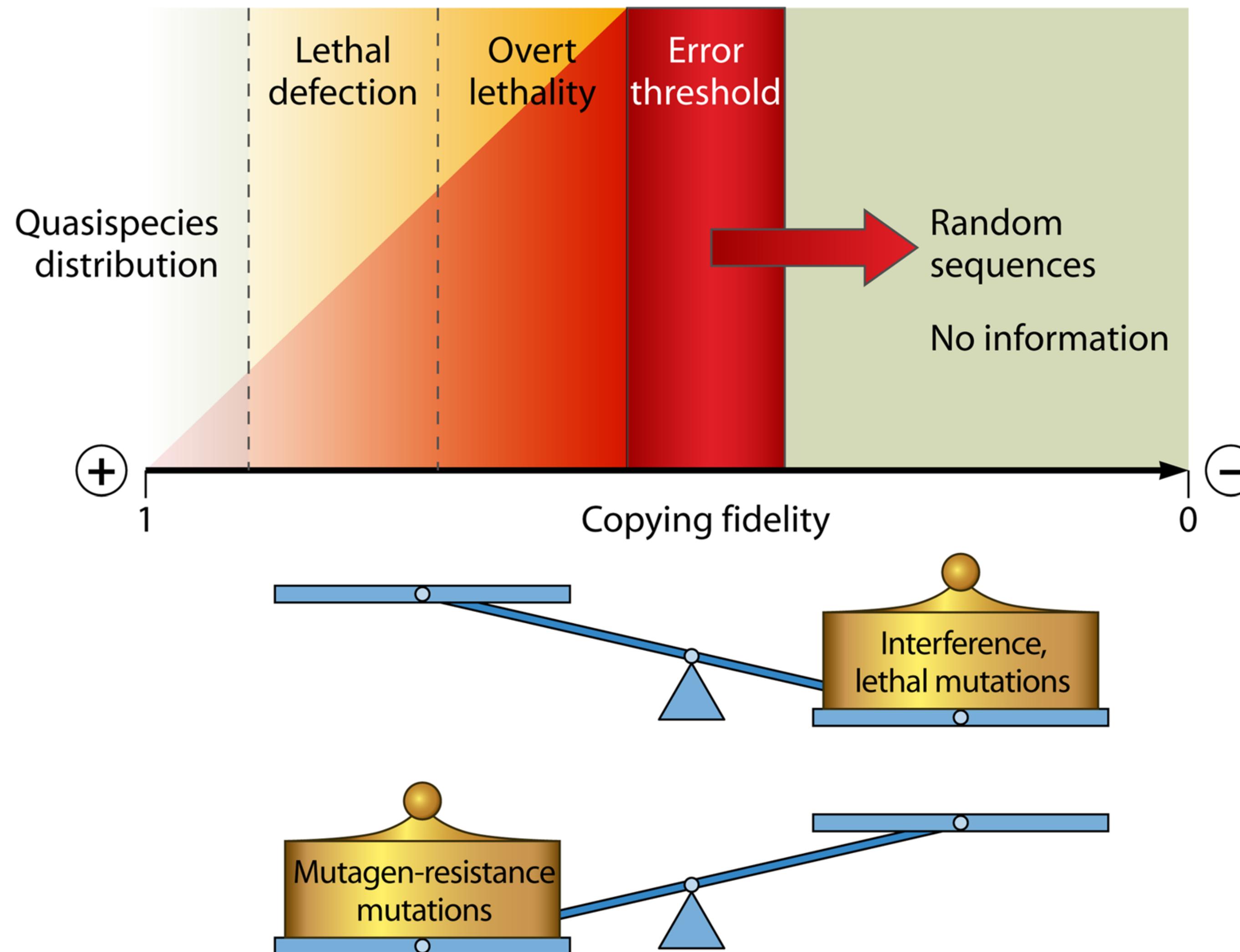


**Fig 1. Genome sizes of nidoviruses.** (A) Timeline of discovery of largest RNA and DNA virus genomes versus accumulation of virus genome sequences in GenBank (1982–2017). PV, poliovirus; and nidoviruses: IBV, avian infectious bronchitis virus; MHV, mouse hepatitis virus; BWCov, beluga whale coronavirus SW1; BPNV, ball python nidovirus; and PSCNV, planarian secretory cell nidovirus. (B) Comparison of genome sizes between nidoviruses that do not encode an ExoN domain, and those that do. Percentage indicates the difference between sizes of PSCNV and the next-largest entity.

# CONTENIDO ADICIONAL

# Complejo de replicación y transcripción





# TIEMPO DE TRABAJO

Ejecutar los análisis

Descargar ficheros

Buscar y estudiar  
bibliografía

Instalar los binarios de los  
programas en la variable  
PATH de macOS

Resolver errores en la  
ejecución de los comandos

Extraer conclusiones

Generar gráficos

Manejar una terminal de  
comandos UNIX

Aprender a manejar los  
programas