

[Centro de Información de COVID \(CIC\): Charlas científicas de relámpago](#)

Transcripción de una Presentación por Kazushige Yokoyama (SUNY Geneseo), enero 30 de 2024.



Título: [Investigación de la Agregación Reversible del SARS-CoV-2 coloide de oro recubierto de la proteína espícula](#)

[Perfil de la base de datos de CIC de Jani Lewis](#)

Premio NSF #: [2117780](#)

[Grabación de YouTube con diapositivas](#)

[Información del seminario web del CIC del Invierno de 2024](#)

Traductor: Yonara Anastacio

Transcripción

Diapositiva 1

Bien, muchas gracias por su paciencia. Espero que puedan ver mi pantalla aquí. Vale, mi charla se centrará en la química. ¡Espero que no sea demasiado aburrida para ustedes! Me voy a enfocar en el estudio que realizamos sobre la proteína espiga del virus SARS-CoV-2. Esa es la icónica formación de espiga del coronavirus.

Diapositiva 2

Me gustaría comenzar con el agradecimiento a mi grupo. Aquellos que estuvieron profundamente involucrados están indicados en texto en negrita. Quiero agradecer especialmente a la NSF por la importante subvención.

Diapositiva 3

Hablando de la proteína espiga, quiero mostrarles una animación de la parte de la proteína de la espícula que tiene una subunidad S1 y S2. En el lado izquierdo, estoy mostrando el proceso en el que la S2 actúa como un receptor que separa la parte S1. Ahora, la parte S2 se ancla a otra membrana humana. Luego, estas se repliegan y fusionan la célula del virus con la célula humana. Después, el virus libera ARN en el cuerpo humano, lo que provoca que se infecte. Este es el inicio de la infección, por lo que la proteína de la espícula desempeña un papel crucial en el comienzo de la infección. Además, como quizás hayan escuchado, la vacuna ARNm básicamente instruye a las células humanas a copiar la proteína de la espícula y entrenar a nuestro cuerpo para desarrollar anticuerpos que luchan contra ella. Por lo tanto, la proteína de la espícula puede estar un poco "en segundo plano", pero es un tema muy interesante para discutir.

Diapositiva 4

La metodología que me gusta usar aquí es la siguiente: dado que quiero centrarme únicamente en las proteínas de la espícula, no quiero pensar en el resto del virus. Así que, simplemente, intento anclar o colocar la proteína de la espícula en una partícula. En este caso, voy a usar una nanopartícula de oro, una partícula de oro. Esta tiene las dos partes aceptando la parte S2 y quitando la parte S1. Luego, la parte S2 es la proteína de fusión que vieron en la animación. Esta se unirá a la célula e intentará fusionarse.

Diapositiva 5

Ahora, la primera pregunta, por supuesto, es si esta proteína de la espícula se adhiere a la superficie de oro. Nadie lo sabía. Así que utilicé la microscopía que emplea electrones para sondear el objeto. Como pueden ver, es algo muy borroso, pero estaba muy emocionado de verlo. Si te enfocas en el lado izquierdo y observas el borde de esta nanopartícula de oro, una esfera oscura, notarás una parte muy borrosa que claramente sobresale. Es realmente obvio en comparación con el caso en el que tienes una condición ácida. Entonces, suceden dos cosas: primero, si miras la superficie de la nanopartícula de oro, no hay nada borroso; en su lugar, actúa como una lámina. Al mismo tiempo, intentan interactuar con otras nanopartículas y se unen entre sí, formando interacciones. Eso, de hecho, es una pista para el siguiente punto que quiero abordar. La razón por la que estoy tan interesado en estudiar las proteínas de la espícula es porque en el artículo que publicamos se reporta que la proteína de la espícula genera amiloidogénesis. Forma fibra. Entonces, es similar a lo que se observa en la enfermedad de Alzheimer. En ese caso, se cree que el amiloide beta es el principal responsable de las fibras. Esa es la razón, el principal motivo de interés.

Diapositiva 6

Ahora, estoy seguro de que se están preguntando por qué quiero usar nanopartículas de oro. Aquí está la primera razón: porque tienen color, lo que me permite monitorear lo que está ocurriendo. Por ejemplo, si utilizo el ejemplo de ABeta 1-40, que es la proteína icónica de la enfermedad de Alzheimer, bajo condiciones de pH 7 o pH 10, es decir, condiciones neutras o básicas, estas proteínas no tienden a formar agregados. Prefieren mantener la estructura de la proteína plegada. En estas condiciones, no interactúan entre sí y la solución mantiene un color rojo. Sin embargo, si modificamos el pH a 4, lo que representa una condición ácida, podemos controlar la estructura de esta proteína. En este caso, se desdoblán y comienzan a interactuar entre sí, invitando a otras proteínas a unirse. Esto conecta las nanopartículas de oro entre sí, y se puede observar un conjunto de agregados. Además, el color cambia a azul. Por lo tanto, al observar el color de la solución, podemos determinar qué está ocurriendo con la proteína en la superficie del oro, siendo una gran ventaja.

Diapositiva 7

Además, deseo mostrarles este ejemplo. Creo que es muy artístico, pero en realidad proviene de los agregados de coloides de oro. Estos agregados de coloides de oro tienen beta amiloide en la superficie. Mi punto aquí es que, al crear agregados de coloides de oro, podemos establecer un

escenario para detectar algo que contendría la inducción proteína-proteína. En otras palabras, si no hay interacción entre proteínas, en este caso, entre proteínas espícula, entonces no se formarán los agregados. Por lo tanto, el hecho de encontrar agregados de coloides de oro, este conjunto de partículas, demuestra que tenemos algo relevante para estudiar acerca de la interacción proteína-proteína.

Diapositiva 8

Esto es un poco complicado, y dudo en avanzar más o menos rápido, pero lo que están viendo aquí en el panel izquierdo es como llevar a cabo el experimento. Esto es exactamente lo que hicimos: añadimos ácido o base de forma externa para ajustar las condiciones de pH a 4 o 10, de manera alternada. ¿Por qué hacemos esto? Porque queremos observar si los agregados de proteína en los coloides de oro pueden desensamblarse. Ya sea formar agregados o desensamblarse, de modo que podamos controlar la estructura de la proteína en la superficie del oro. En este caso, observamos que el proceso es casi reversible. Podemos trazar que el pico no es exactamente reversible, pero podemos notar cómo fluctúa hacia adelante y hacia atrás. Este video no está realmente sincronizado con los paneles, pero ilustran la idea. Creo que permite entender qué tipo de color se podría observar. Esto es fantástico. Es lo que probablemente esperábamos ver si la proteína espícula está unida. También veremos si actúan de manera similar al comportamiento de la beta amiloide 1-40.

Diapositiva 9

Aquí está el resultado para la proteína espícula. Estoy graficando el desplazamiento del pico. Como pueden ver arriba, va de un lado a otro. Si se lo preguntan, estoy mostrando muchas ondas aquí, y tienen una etiqueta de D de 10 a 100 nanómetros. Lo que hice fue cambiar el tamaño del núcleo de la nanopartícula de oro para observar si hay un umbral específico a partir del cual comienzan a realizar este proceso reversible de agregación. Podemos observar claramente que entre 20 y 30 nanómetros hay una diferencia: parece que la proteína espícula se adhiere y realiza este proceso reversible si el tamaño del núcleo supera los 30 nanómetros. Según el informe, hasta donde sé, el tamaño general de la proteína espícula se reporta como de 100 nanómetros. Además, el informe señala que la proteína espiga en sí tiene aproximadamente 10 nanómetros. Pienso que la proteína espiga que estamos observando corresponde al caso en que D es igual a 80 nanómetros, donde sobresale una espiga de 10 nanómetros. Mi punto aquí es que estoy muy emocionado de ver que la proteína espiga puede formar agregados. Esto es exactamente la razón por la que quería estudiarla, ya que proporciona una buena plataforma para investigar cómo interactúan y conducen a la formación de fibras.

Diapositiva 10

Eso es básicamente como hacemos las cosas. En las tres o cuatro diapositivas restantes voy a hablar de un estudio en progreso. Tengo dos preguntas por hacer, la número uno, ya sé cómo es que la proteína espiga y el coloide de oro pueden formar agregados. Eso es bueno. Sin embargo, como es que la proteína espícula se adhiere a la superficie de oro? ¿Cuál es la primera etapa para

que interactúe con la nanopartícula? Luego, la segunda pregunta es: ¿cuál es la estructura o conformación de las proteínas espícula cuando están formando agregados?

Para esto, recientemente publiqué un artículo sobre la beta amiloide 1-40 llegando a la superficie de oro. En él se revela que la parte que contiene el anillo de benceno, ya sea de la tirosina (Y) o la fenilalanina (F), se acerca a la superficie. Luego, la formación de hojas beta se utiliza para crear una red con la proteína. Eso podría ser quizás la pista o tal vez la respuesta para el caso de la proteína espícula. Para este estudio utilicé esto – es un poco confuso, pero no es SARS, es SERS, que significa *Surface Enhanced Raman Scattering* (Dispersión Raman Mejorada en Superficie). Básicamente, son imágenes creadas utilizando señales Raman. Esta es otra razón por la que se usó una nanopartícula de oro, porque genera una señal muy fuerte en la superficie del oro.

Diapositiva 11

Muy rápidamente, quiero hablar de los resultados preliminares. Cuando tengo la proteína espícula en el coloide de oro y trato de obtener imágenes Raman, logro obtenerlas con éxito. Es algo similar a una cámara térmica: si observas a las personas, puedes ver diferentes temperaturas con distintos colores. Aquí muestro algo similar, pero con colores espectroscópicamente diferentes que corresponden a distintos componentes del espectro, permitiendo así visualizar la partícula. Este es el agregado de nanopartículas de oro con la proteína espiga que presenta diferentes componentes. He logrado identificar algunas partes alrededor de esta región, conocida como la región de huella dactilar. Esta área está bien estudiada y sabemos qué tipo de movimiento molecular ocurre allí. Sin embargo, estoy más interesado en la parte que no está bien documentada. Esta es la área en la que estoy trabajando con más detalle.

Diapositiva 12

También, es posible crear diapositivas tridimensionales del espectro y determinar la sección particular de la parte conectada o desconectada de la red.

Diapositiva 13

También, por último, se puede hacer que la sección móvil de la proteína espícula se active agregando ACE2. Este es el desencadenante de la infección, y al agregar ACE2, se puede hacer que los agregados de coloides sean móviles

Diapositiva 14

Esto nos permite estudiar qué sección de la proteína espícula sería móvil. Esto es solo para mostrarles el video y también la imagen. Yo puedo identificar qué parte del color corresponde a las secciones móviles

Diapositiva 15

Perdónenme por extenderme, pero esta es mi conclusión. Tengo tres conclusiones: la proteína espícula probablemente se adhiere en la superficie de oro y, además, la nanopartícula de oro recubierta con la proteína spike puede formar agregados y puede ser utilizada para estudiar

detalles adicionales. También, al agregar el ACE2, somos capaces de crear un conjunto diferente de estudios para determinar la movilidad de la proteína espícula. Muchas gracias.