

2. Estructura de la partícula viral, organización del genoma y ciclo de replicación*

Melina Elizabeth Herrera

Palabras claves

SARS-CoV 2 — RNA — Genoma — Transcripción — Replicación — Nucleocápside

Los coronavirus constituyen un grupo de virus envueltos, de forma esférica, con un tamaño promedio de 80-120 nm de diámetro, con un rango entre 50 y 200 nm. Poseen un genoma ARN simple cadena de polaridad positiva de 26 a 32 kb de longitud. La estructura de la partícula viral consiste en una nucleocápside, formada por el genoma viral al que se encuentran unidas múltiples copias de la proteína N. La nucleocápside, de simetría helicoidal, presenta forma de ovillo y se encuentra rodeada de la envoltura lipídica en la cual se insertan las proteínas virales S, M y E (1). (Ver figura 1).

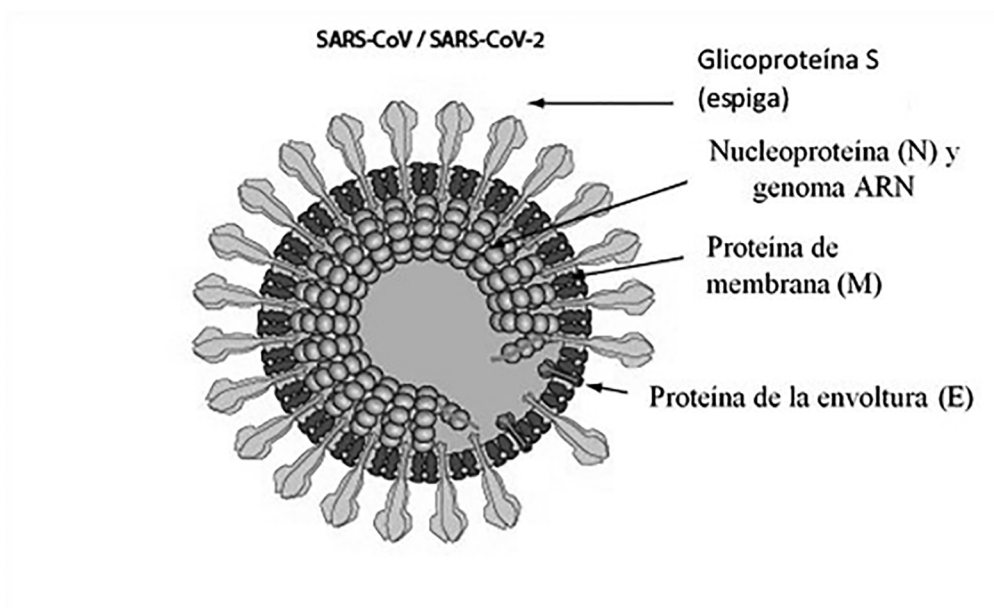


Figura 1. Estructura de la partícula viral de SARS-CoV2
ViralZone, <https://viralzone.expasy.org/8996>

* No existen conflictos de intereses.

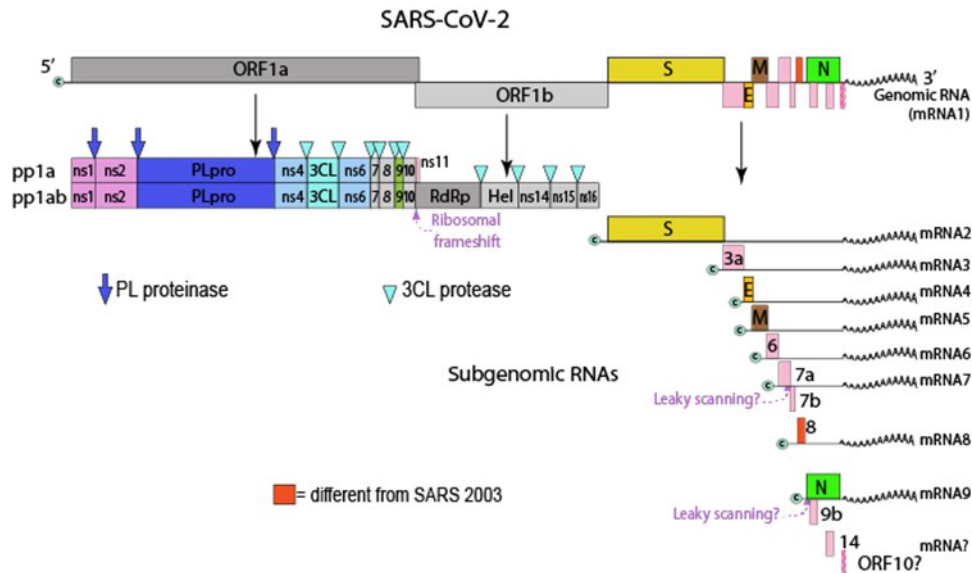


Figura 2. Estructura y organización del genoma de SARS-CoV2
ViralZone, <https://viralzone.expasy.org/8996>

El genoma del SARS-CoV2 posee al menos 6 marcos de lectura abierto, ORF (*Open Reading Frame*), que son comunes a otros coronavirus y otros genes accesorios (2). (Ver figura 2).

El ARN genómico, en su primer ORF, se utiliza como templado para traducir poliproteínas pp1a y pp1b, dos grandes polipéptidos que son procesados en 16 proteínas no estructurales (nsps) por una proteasa similar a quimotripsina codificadas viralmente o proteasa principal y una o dos proteasas tipo papaína (3,4). Estas proteínas

no estructurales están implicadas en los procesos de transcripción y replicación. Otro ORF, que se encuentra en un tercio del genoma cercano al extremo 3' codifica al menos 4 proteínas estructurales: glicoproteína S (espiga), M (proteína de membrana), E (proteína de envoltura) y N (proteína de la nucleocápside) (ver figura 1). Además, los distintos coronavirus sintetizan otras proteínas accesorias y estructurales, como por ejemplo HE (hemoaglutinina), proteína 3 a/b, y proteína 4 a/b (5).

Proteínas virales estructurales

A continuación, se describen las principales características de las proteínas estructurales, cuya

principal función está relacionada con el ensamblaje del virión y la capacidad de infección.

Proteína S

Forma las espículas (espiga) que se proyectan en la superficie del virión y tienen una función clave en la fusión de la membrana y unión al receptor en la célula del hospedador. Está constituida por homotrímeros de la proteína y funcionalmente se encuentra dividida en dos dominios (S1 y S2). Los dos dominios se generan mediante

clivaje de la proteína S por una proteasa tipo furina. Este sitio de clivaje tipo furina no se encuentra en el resto de los beta-coronavirus (6). El dominio S1 se encarga de la unión al receptor, mientras que el S2 es responsable de la fusión con la membrana celular del hospedador, que permite la entrada del genoma viral al interior celular (7).

Generalmente, el dominio S2 es muy conservado entre los distintos coronavirus, mientras que el S1 es más variable, haciendo que los diversos coronavirus se unan a diferentes receptores.

Por ejemplo, ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) es el receptor para el SARS-CoV y CD26 el receptor para MERS-CoV. En el caso del SARS-CoV2, se ha observado que el dominio

Proteína N

Es la proteína que conforma la nucleocápside, mediante su unión a lo largo del genoma viral. La proteína de 43 a 50 kDa contiene tres dominios distintos y altamente conservados que tienen la capacidad de unirse al genoma ARN del virus, constituyendo un complejo con el mismo y formando de esta manera la nucleocápside que protege al genoma y asegura su replicación en el momento oportuno. La proteína N está implicada en los procesos de regulación de la replicación viral y transcripción, para lo cual es fosforilada en residuos de serina y treonina; produce un cambio conformacional que favorecería el reconocimiento del genoma viral y permitiría su unión. Además, cumple un

Proteína E

Es una pequeña proteína integral de la membrana (8,4 a 12 kDa, con 76-109 aminoácidos) que se encuentra en la envoltura viral y está implicada en varios aspectos del ciclo de vida del virus, tales como el ensamblaje, la liberación, la formación de la envoltura, así como también en la patogénesis

Proteína M

Es la proteína estructural más abundante de la partícula viral y se encuentra en la membrana, constituida por tres dominios transmembrana. Es la encargada de definir la forma de la envoltura de los viriones y promover la curvatura de estos. Se considera que tiene un rol fundamental en la organización del ensamblaje de los viriones, interactuando con todas las otras proteínas estructurales. La interacción de M con S ayuda a la retención de S en el compartimiento intermedio Retículo

de unión al receptor S1 presenta gran similitud en cuanto a la composición de residuos de aminoácidos en la proteína con el correspondiente dominio S1 presente en los virus SARS-CoV, lo que ha permitido inferir la posibilidad de que compartan el mismo tipo de receptor en la célula hospedadora, ACE2 (8).

rol importante en el mejoramiento de la eficiencia de la transcripción y el ensamblaje.

Se ha reportado también que la proteína N se podría unir a la proteína no estructural 3 (nsp 3) para colaborar con la unión del genoma viral al complejo replicación-transcripción y para ayudar en el empaquetado de la nucleocápside (9). Además, se ha comprobado que actúa como antagonista de la síntesis de interferón β y que participa en la protección del ARN viral de los procesos de silenciamiento por ARN de interferencia de la célula hospedadora. Por otro lado, la proteína N interactúa con la proteína de la membrana M durante el ensamblaje del virión (9,10,11).

viral. Durante el ciclo de replicación viral, la proteína E se expresa de forma abundante en el interior de la célula hospedadora, pero luego solo una pequeña cantidad es incorporada en las nuevas partículas virales (12).

endoplasmático-Complejo de Golgi (ERGIC). La unión de M y N estabiliza la nucleocápside y promueve en última instancia la finalización del ensamblaje viral. Las proteínas M y E forman la envoltura viral e interactúan para llevar a cabo la producción y liberación de las partículas de tipo viral (VLPs) del interior de las células eucariotas (13,14).

Proteínas virales no estructurales

La mayoría de las proteínas no estructurales han sido asociadas con funciones en el proceso de replicación y transcripción (ver tabla 1) (15). Además de las proteínas no estructurales en el genoma viral de los diversos coronavirus, se codifican otras proteínas accesorias, que no tienen implicancia en los procesos de replicación, pero parecería que son importantes para la virulencia del virus y servirían para modular la respuesta antiviral del hospedador. Otras proteínas accesorias han demostrado tener actividad hemoaglutininaesterasa (HE) y actividad supresora del sistema inmune innato (1).

Tabla 1. Proteínas virales no estructurales y sus funciones principales

Proteína no estructural (nsp)	Función
nsp1	Degradación del ARNm celular. Facilita la propagación del virus en las células
nsp2	Desconocida
nsp3	Procesamiento de la poliproteína. Componente esencial del complejo replicación/transcripción. Bloquea la respuesta inmune innata del hospedador, promoviendo la expresión de citoquinas
nsp4	Formación de vesículas de doble membrana
nsp5	Proteasa similar a quimotripsina (3CLpro), proteasa principal (Mpro), intervienen en la escisión de polipéptidos. Inhibición de la señalización de interferón
nsp6	Restricción de la expansión del autofagosoma. Formación de vesículas de doble membrana
nsp7	Cofactor con nsp8 y nsp12
nsp8	Cofactor con nsp7 y nsp12. Primasa
nsp9	Dimerización y unión al ARN viral
nsp10	Cofactor para la activación de enzimas replicativas
nsp11	Desconocida
nsp12	Actividad ARN-polimerasa-ARN dependiente
nsp13	Actividad ARN-helicasa, 5' trifosfatasa
nsp14	Actividad exorribonucleasa
nsp15	Endorribonucleasa. Evasión de sensores de virus ARN doble cadena
nsp16	Regulación negativa de la inmunidad innata. Promueve la proliferación viral

Ciclo de replicación viral

Los coronavirus entran a la célula hospedadora previo reconocimiento, unión y posterior fusión de la proteína S con su receptor específico. Hay estudios que demuestran que el SARS-CoV2 utiliza el mismo receptor que SARS-CoV, la denominada enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), la cual se expresa en las células epiteliales del pulmón y el intestino delgado, que son los blancos primarios del SARS-CoV, y también es expresada en otros tejidos como riñón y corazón. Se ha sugerido que el SARS-CoV2 se une de manera más eficiente al receptor ACE2 que el SARS-CoV, incrementando su habilidad de transmitirse de humano a humano (16,17). Los diferentes niveles de expresión

de ACE2 en las células humanas podrían tener importancia crítica en la susceptibilidad, las manifestaciones clínicas y el resultado de la infección (18).

Una vez que la nucleocápside ingresa al citoplasma, el genoma viral de polaridad positiva (gRNA+) se traduce con una gran poliproteína replicasa. El autoclivaje de las poliproteínas pp1a y pp1b genera las proteínas no estructurales que conforman el RTC (complejo de la replicasa-transcriptasa).

Luego, mediante intermediarios de polaridad negativa (sgRNAs-), se sintetizan los ARN genómico y subgenómicos (sgRNAs+), los cuales son traducidos en proteínas estructurales (S, E, M y N) y proteínas accesorias. Luego, las proteínas de la membrana se insertan en el retículo endoplasmático (ER), desde donde se dirigen al compartimiento intermedio retículo endoplasmático-complejo de Golgi (ERGIC), (ver figura 3).

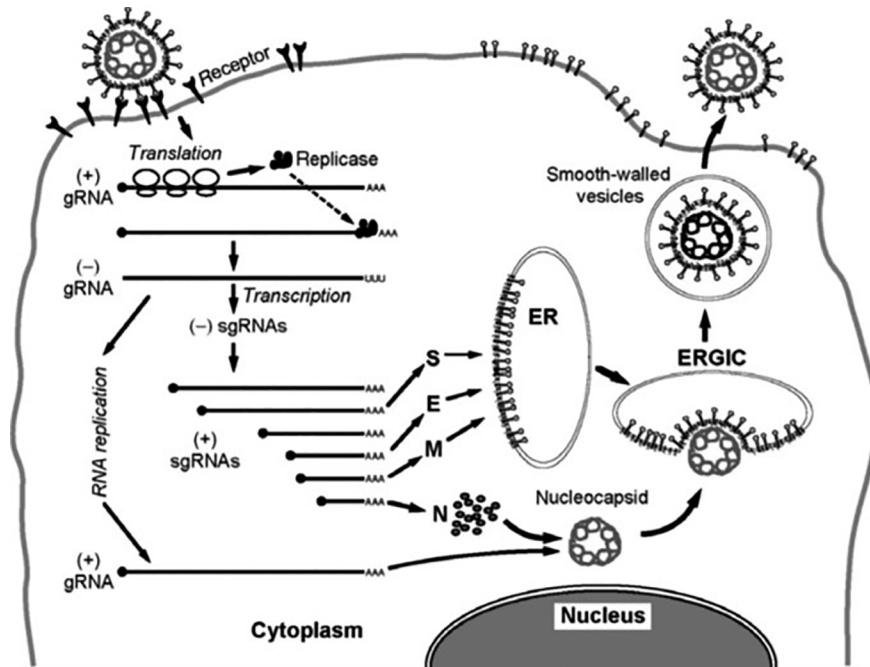


Figura 3. Ciclo de replicación de los coronavirus (Masters PS, 2006)

Las nucleocápsides se forman por la encapsidación de los genomas de las progenies con la proteína N y estos luego se unen a los componentes de la membrana en el ERGIC, formando los viriones

por gemación. Por último, los viriones son transportados en vesículas del complejo de Golgi hacia la membrana plasmática de la célula infectada, mediante exocitosis (3).

Melina Elizabeth Herrera
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Adventista del Plata
Entre Ríos, Argentina
melina.herrera@uap.edu.ar

Ingreso: 27 de abril
Aceptado: 30 de abril

Lista de abreviaturas

ACE2: enzima convertidora de angiotensina 2

ARN: ácido ribonucleico

CD26: cluster de diferenciación 26

ERGIC: retículo endoplasmático-Complejo de Golgi

HE: hemoaglutinina

Kb: kilobase

kDA: kilo Dalton - unidad de masa atómica

MERS-CoV: Middle East respiratory syndrome-related coronavirus

Nm: nanómetro

Nsp: nonstructural protein

ORF: open reading frame

Pp1a: protein phosphatase 1 alfa

Pp1b: protein phosphatase 1 beta

RTC: complejo de la replicasa-transcriptasa

SARS-CoV: severe acute respiratory syndrome coronavirus

SARS-CoV2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

sgRNA: RNA subgenómico

VLPs: virus-like particles

Bibliografía

1. Masters PS, Perlman S. Coronaviridae. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2013: 825-58.
2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-73.
3. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*. 2006;66:193-292.
4. Ziebuhr J, Snijder EJ, Gorbalenya AE. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *J Gen Virol*. 2000;81:853-79.
5. Hussain S, Pan J, Chen Y, Yang Y, Xu J, Peng Y, et al. Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*. 2005;79(9):5288-95.
6. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res*. 2020;176:104742.
7. Li F. Structure, function, and evolution of Coronavirus spike proteins. *Annu Rev Virol*. 2016;3(1):237-61.
8. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-74.
9. Cong Y, Ulasli M, Schepers H, Mauthe M, V'kovski P, Kriegenburg F, et al. Nucleocapsid protein recruitment to replication-transcription complexes plays a crucial role in Coronavirus life cycle. *J Virol*. 2020;94(4). pii: e01925-19.
10. Cui L, Wang H, Ji Y, Yang J, Xu S, Huang X, et al. The nucleocapsid protein of Coronaviruses acts as a viral suppressor of RNA silencing in mammalian cells. *J Virol* 2015;89(17): 9029-43.
11. McBride R, van Zyl M, Fielding BC. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 2014;6(8):2991-3018.
12. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J*. 2019;16(1):69.
13. Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol*. 2011;174(1):11-22.
14. Perrier A, Bonnin A, Desmarests L, Danneels A, Goffard A, Rouillé Y, et al. The C-terminal domain of the MERS coronavirus M protein contains a trans-Golgi network localization signal. *J Biol Chem*. 2019; 294(39):14406-21.
15. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020;92(4):418-23.
16. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020;46(4):586-90.

17. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virol.* 2020; 94(7). pii: e00127-20.
18. Cao Y, Li L, Feng Z, Wan S, Huang P, Sun X, et al. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus(2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell Discov.* 2020;6:11.