

PROYECTO MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN

CONVOCATORIA 2020

Investigador principal: Dr. Rubén Agudo Torres

Referencia: PID2020-115432RB-I00

Título: “DESARROLLO Y APLICACION DE PLATAFORMAS DE ALTO RENDIMIENTO BASADA EN FLUORESCENCIA PARA LA PARA LA SELECCION DE COMPUESTOS ANTIVIRALES FRENTE AL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL Y SARS-COV-2”

Entidad Financiadora: Ministerio de Ciencia e Innovación, Agencia Estatal de Investigación

Cantidad concedida: 113.377 €

Fecha inicio: 01/09/2021

Fecha fin: 31/05/2025

Resumen:

Las polimerasas virales tienen un papel central en la replicación y transcripción del genoma de estos patógenos. Estas proteínas son capaces de desempeñar múltiples funciones relacionadas con la síntesis de ácidos nucleicos. En función del tipo del genoma (de RNA o de DNA) y las necesidades específicas de cada familia de virus, las polimerasas víricas utilizan estrategias y mecanismos muy diversos para asegurar la copia del material genómico. Como principales proteínas encargadas de la replicación del genoma viral, estas enzimas han sido objeto de numerosos estudios que se han traducido en un conocimiento significativo de su estructura y función. Esto ha permitido demostrar el alto potencial biotecnológico de estas enzimas en procesos de amplificación, genotipado y secuenciación. Además, el estudio de estas polimerasas también ha estado enfocado a su utilización como diana de agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades de origen vírico. Mientras que las polimerasas de los virus de DNA catalizan la reacción de polimerización mediante una reacción similar al de las polimerasas utilizadas por los organismos que infectan, los virus de RNA sintetizan polimerasas con una capacidad enzimática es exclusiva, ya que son capaces de usar RNA como molde para generar nuevas moléculas de DNA (polimerasas que se denominan retrotranscriptasas), o de RNA (polimerasas de RNA dependientes de RNA o RdRp). Debido a este hecho diferencial, este tipo de polimerasas son dianas muy atractivas para el diseño de agentes antivirales de acción directa específica. Actualmente, las RdRps ya están siendo utilizadas como dianas terapéuticas en enfermedades tan importantes desde el punto de vista clínico como el SIDA o la hepatitis crónica causada por el virus de la hepatitis C.

Dos enfermedades causadas por virus de RNA pandémicos frente a los que no existe todavía ningún tratamiento clínico específico son la enfermedad causada por el virus del Nilo Occidental, que en 2020 ha causado 77 muertes en Europa (7 de ellas en España) y la COVID-19, causada por el SARS-CoV-2, y que a nivel global ha producido sólo en este año más de 1,5 millones de muertes.



Teniendo en cuenta estas premisas, el objetivo principal del proyecto es el desarrollo y aplicación de sistemas de alta eficiencia para el cribado de compuestos con actividad inhibitoria frente a las polimerasas del virus del Nilo Occidental y el SARS-CoV-2. Estos métodos permitirán evaluar el efecto inhibitorio de diferentes compuestos contra la RdRp de estos dos virus de manera eficiente y sin requerir la utilización de instalaciones especiales para su funcionamiento.

La principal metodología utilizada será el uso de técnicas fluorimétricas para medir la actividad de polimerización. Se usará un fluoróforo que aumenta específicamente su emisión de fluorescencia al unirse a RNA bicatenario (dsRNA). La actividad polimerasa se determinará midiendo el incremento de fluorescencia emitida por el fluoróforo tras su fuerte unión al dsRNA, que es sintetizado por las polimerasas a lo largo del tiempo. El potencial efecto inhibitorio de los compuestos se observará como una disminución en la emisión de esta fluorescencia.

Los resultados obtenidos en este proyecto tendrán un marcado carácter translacional, creando una herramienta biotecnológica que tendrá efecto inmediato en la búsqueda de una terapia antiviral, lo que redundará en un beneficio directo para el bienestar de la sociedad.