

Cartas al editor

Entrada de SARS-CoV-2 en la célula: la clave de su diseminación y capacidad infectiva

Quintero, C. A.

Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina

Corresponding autor:

Dr. Cristián Andrés Quintero

Av. Acceso Este, Lateral Sur 2245,

Guaymallén, Mendoza, Argentina.

Estimado Editor:

El nuevo coronavirus, SARS-CoV-2 (SARS del inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*) que es foco de la atención debido a su rápida diseminación entre los seres humanos, pertenece a una familia de virus que se conoce desde hace tiempo. Hace 90 años fue descrito el primer miembro de la familia del coronavirus, en 1930 (1), desde ese momento tenían importancia veterinaria, afectando a mamíferos y aves. Adquirieron mayor importancia en salud humana y se hicieron más conocidos cuando estos llegaron a producir dos grandes epidemias, causando en 2003 el Síndrome respiratorio agudo severo (SARS) y en 2012 el Síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS; Middle East Respiratory Syndrome), llamando la atención su capacidad de saltar entre especies. La pandemia actual ya ha causado cerca de 4.000.000 de contagiados y 300.000 muertes hasta los primeros días de mayo de 2020.

Los coronavirus pertenecen a la subfamilia *Coronavirinae* que junto con *Torovirinae* forman la familia *Coronaviridae* en el orden de *Nidovirales*. Los coronavirus se clasifican en cuatro géneros diferentes, en base a estudios serológicos inicialmente y genéticos actualmente: alfa, beta, gamma y delta-CoV(2).

Los coronavirus son virus envueltos, generalmente esféricos o pleiomórficos, y su tamaño varía entre los 80 y los 120 nm. Se caracterizan además por poseer el genoma viral de RNA más grande, de hasta 32Kb. Tiene entre 6 y 11 marcos de lectura abiertos (ORF, del inglés Open Reading Frame), que pueden codificar hasta 16 proteínas no estructurales. Las cuatro proteínas estructurales principales son denominadas spike surface glycoprotein (S), small envelope protein (E), matrix protein (M), y nucleocapsid protein (N) (3). La proteína S juega un papel muy importante en la adhesión del virus a la célula huésped, su posterior ingreso y el tropismo por el huésped (4).

La proteína S es una proteína de membrana tipo I, de gran tamaño, entre 180-200 KDa, altamente glicosilada, con 21 a 35 sitios de N-glicosilación, variando en cada miembro de la familia *Coronaviridae*. Su extremo N-Terminal está orientado hacia el espacio extracelular y un tallo C-Terminal corto intracelular. La proteína spike forma trímeros en la superficie del virus, dando la apariencia de corona distintiva para la especie. En el segmento N-terminal expuesto se distinguen dos dominios, S1 y S2, que tienen la función de interaccionar con el receptor de la célula huésped (Región de unión al receptor RBM) y mediar la fusión respectivamente. A su vez, el dominio S1 posee dos subdominios, el dominio N-terminal (NTD) y el dominio C-terminal (CTD). Uno o ambos subdominios pueden servir como el dominio de unión al receptor (RBD) (5).

Tanto el SARS-CoV como el SARS-CoV-2 utilizan el CTD para unir la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) (6). Esta es una proteína de membrana tipo I, que se expresa abundantemente en pulmones, es una enzima mono carboxipeptidasa que hidroliza angiotensina II. La relación entre la proteína spike y los receptores es clave, no sólo en el ingreso del virus a la célula, sino también en su tropismo por los diferentes huéspedes.

Los genomas del SARS-CoV-2 y del SARS-CoV tienen una serie de diferencias entre sus secuencias, lo que dá lugar a 380 aminoácidos diferentes entre ambos virus (7). Se ha demostrado recientemente que la proteína S tiene cuatro aminoácidos diferentes en la región RBM (residuos 482-485: Gly-Val-Glu-Gly) en el SARS-CoV-2, mutación que aumenta su afinidad por el receptor ACE2, lo que lo hace más infectivo que su primo SARS-CoV(6,8,9).

Muchas de las proteínas virales que median la fusión e infección de la célula huésped, son expresadas como precursores inactivos, y necesitan ser activadas mediante un corte proteolítico. Este es el caso de la proteína spike, cuyas enzimas proteolíticas son una serina proteasa denominada transmembrane protease/serine subfamily member 2 (TMPRSS2) (10), proteína de transmembrana tipo II de la familia de proteínas a la activación de virus (type II transmembrane serine proteases (TTSPs)). Esta proteasa corta a la proteína spike entre sus subdominios de adhesión y fusión de la región N-Terminal (11). De la misma forma que el SARS-CoV y el MERS, la proteína spike SARS-CoV-2 de puede activarse en la membrana plasmática (vía temprana) o en su ruta de ingreso vía endosomal (vía tardía) de manera proteasa dependiente (12).

Los virus con cubierta pueden ingresar a la célula directamente o por la vía endocítica una vez que se han unido a su receptor. La fusión del virus con las membranas de la célula huésped requieren de cambios conformacionales en la proteína spike. En el caso de los coronavirus, este ingreso varía en cada uno de los miembros de la familia. Para SARS-CoV, una vez que se ha realizado el contacto, la proteína viral spike induce la traslocación del receptor del SARS-CoV, ACE2, desde la membrana plasmática hacia el citoplasma, de manera dependiente del pH (13). La misma proteína spike purificada es capaz de inducir la endocitosis, llevando al citoplasma al receptor ACE2 (14).

La fusión de membranas depende del colesterol y la composición lipídica (raft lipídicos) (15). Algunos autores sugieren un ingreso independiente de clatrina y cavelolinas, pero dependiente del colesterol y los rafts lipídicos (13) donde ACE2 es una proteína de presente en rafts. La presencia de fosfoinosítidos es de suma importancia en su ingreso, por lo que enzimas relacionadas a la síntesis de estos lípidos como Fosfatidilinositol 3-fosfato 5-kinasa (PIKfyve) enzima clave de la síntesis de PI (3, 5) P2, al ser inhibidas, disminuyen la entrada del virus al citosol (16). En una vía alternativa pueden utilizar la macropinocitosis para ingresar a la célula (17).

En el caso del coronavirus, el ingreso mediante la fusión directa a la membrana plasmática es entre 100 y 1000 veces más eficiente que la vía endosomal (3). La disponibilidad de proteasas es fundamental en este proceso. En el caso de SARS-CoV-2, la proteína spike utiliza el receptor ACE2 que colocaliza con TMPRSS2 en la membrana celular, la enzima encargada del corte y activación. Al tener mayor afinidad por su receptor, hace que las células sean invadidas con mayor facilidad, facilitando su diseminación a células vecinas y a los demás individuos.

Bibliografía

- 1 **Hudson CB, Beaudette FR.** Infection of the cloaca with the virus of infectious bronchitis. Vol. 76, *Science*. 1932. p. 34.
- 2 **Schoeman D, Fielding BC.** Coronavirus envelope protein: Current knowledge. *Virol J*. 2019;16(1):1-22.
- 3 **Matsuyama S, Ujike M, Morikawa S, Tashiro M, Taguchi F.** Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(35):12543-7.
- 4 **Perlman S, Netland J.** Coronaviruses post-SARS: Update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(6):439-50.
- 5 **Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC.** Structural biology: Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science* (80-). 2005;309(5742):1864-8.
- 6 **Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Li et al.** *Nature* 2003. 2003;426(NOVEMBER). Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7095016/pdf/41586_2003_Article_BFnature02145.pdf
- 7 **Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al.** Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe*. 2020;27(3):325-8.
- 8 **Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al.** Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;
- 9 **Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al.** Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;(March).
- 10 **Shulla A, Heald-Sargent T, Subramanya G, Zhao J, Perlman S, Gallagher T. A.** Transmembrane Serine Protease Is Linked to the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Receptor and Activates Virus Entry. *J Virol*. 2011;85(2):873-82.
- 11 **Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al.** SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-80.
- 12 **Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al.** SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8.
- 13 **Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G, et al.** SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res*. 2008;18(2):290-301.
- 14 **Wang S, Guo F, Liu K, Wang H, Rao S, Yang P, et al.** Endocytosis of the receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein together with virus receptor ACE2. *Virus Res*. 2008;136(1-2):8-15.
- 15 **Chernomordik L, Kozlov M.** Mechanics of membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol* [Internet]. 2008 [cited 2013 Oct 8];15(7):675-83. Available from: <http://www.nature.com/nsmb/journal/v15/n7/abs/nsmb.1455.html>
- 16 **Ou X, Liu Y, Lei X, Li P, Mi D, Ren L, et al.** Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):1620. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-15562-9>
- 17 **Freeman MC, Peek CT, Becker MM, Smith EC, Denison MR.** Coronaviruses induce entry-independent, Continuous macropinocytosis. *MBio*. 2014;5(4):1-10.