

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

Transcripción de una presentación de John Yin (Universidad de Wisconsin-Madison), 9 de diciembre de 2020



Título: [RAPID: Dinámica Ecológica del Coronavirus Humano](#), [EAGER: Pruebas de Drogas Rápidas y Sensibles para COVID-19](#)

[Perfil de John Yin en la base de datos de CIC](#)

Subvención de La Fundación Nacional de Ciencias (NSF, por sus siglas en inglés) # [2029281](#), # [2030750](#)

[Grabación de YouTube con diapositivas](#)

[Información del seminario web del CIC de Diciembre 2020](#)

Editora de la Transcripción: Macy Moujabber

Editora de la Traducción: Isabella Graham Martínez

Transcripción

John Yin:

Diapositiva 1

Bueno, yo soy John Yin. Soy un profesor de Ingeniería Química y Biológica en la Universidad de Wisconsin-Madison. También estoy con el Instituto de Descubrimiento de Wisconsin y tengo el honor de compartir parte de nuestro trabajo. Este es un trabajo en curso durante los últimos 15 años que hemos centrado para enfocarnos en la coronavirus. Se trata de activar el dial en las infecciones por coronavirus. Nosotros tenemos dos premios. Una de ellas consiste en subir el dial para infecciones y otra consiste en bajar el dial. Trataré de explicar lo que eso significa.

Diapositiva 2

No hice nada del trabajo. Las personas que hicieron el trabajo están todas aquí, pasadas y presentes, muchas de ellas ahora en la industria o la academia. Creo que dos de mis compañeros de trabajo, Nan Jiang y Huicheng Shi, están con nosotros hoy. Por lo tanto, estas son las personas que hacen el trabajo real.

Diapositiva 3

Para ayudarte a entender de dónde vengo, tengo que decirte cómo cuantificamos el virus infeccioso. Hay una forma estándar de cuantificar el virus infeccioso. Por lo tanto, tenemos una solución de stock de virus aquí que nos gustaría averiguar cuánto virus está realmente allí? Por lo general, hay millones o decenas de millones de partículas que nos gustaría averiguar cuántas partículas y contarlas. Y la forma

en que lo hacemos es hacer una serie de diluciones, diluciones conocidas, es como diluir la bebida hasta que tengamos unos cuantos tubos. Esos tubos- volúmenes conocidos de esos tubos de alta dilución se ponen en capas mono de células que se muestran aquí en rojo y se superponen con gel de agar, y se les permite reproducirse. Los virus se propagan localmente y matan las células. Luego teñimos las células de azul y donde sea que este virus haya matado las células hay un pequeño agujero allí. El agujero se llama placa, una región de células muertas causadas por un solo virus que ahora podemos ver a simple vista. Contando esos agujeros, o placas, podemos deducir sabiendo qué volúmenes teníamos y cuánto aguamos el stock original, podemos averiguar cuántas partículas teníamos en el stock original. Por lo tanto, esta es una herramienta clave que utilizamos para cuantificar la infección y que utilizaremos para caracterizar cómo rechazamos o activamos los virus. que solo tienen números numerables de partícl

Diapositiva 4

Así que, lo primero que hicimos aquí fue tratar de explorar maneras de que pudiéramos obtener más señal de este tipo de ensayo y lo que hicimos fue en lugar de superponer con agar, así que aquí muestro en los casos de no flujo, estas son una especie de placas estándar que podrían ver placas de Petri donde tienen placas y contamos esas placas. Llevamos a cabo la infección en presencia de líquido en lugar de recubrimiento de agar y encontramos que si no se tocan las placas, surgen flujos espontáneos- flujos radiales hacia afuera y crean morfologías de cometas como estas placas. Así que, hay flujo que está sucediendo automáticamente allí que está ayudando a propagar el virus. Y para las placas que tienen el mismo nivel de virus, vemos una señal mucho más brillante, por lo que tenemos una señal mucho mayor al ruido. Hemos hecho algunos modelos teóricos- modelos computacionales de este proceso y en esencia dijimos: esto podría ser una herramienta útil para caracterizar las drogas. Entonces, ¿qué pasa si añades drogas contra el virus a este tipo de señal?

Diapositiva 5

Aquí en la parte superior izquierda, aquí, tenemos una muestra que no tiene drogas en ella y luego tenemos otras cinco muestras que tienen diferentes grados de aumento de cantidades de drogas y lo que se encuentra es los fuegos artificiales tenues a medida que vamos a un nivel más alto de drogas. Eso significa que cada vez tenemos menos virus y menos infección. Podemos cuantificar eso aquí, y en la parcela se ve un ensayo de cometa mejorado flujo mejorado frente al ensayo de reducción de placa, que actualmente es el estándar de oro. Por lo tanto, nuestro ensayo es aproximadamente 20 veces más sensible y más rápido de ejecutar que el ensayo de placa existente para las drogas. Por lo tanto, esto es algo que patentamos hace cinco años y con el financiamiento del NIH [Instituto Nacional de Salud] - lo siento NSF [Fundación Nacional de Ciencia]. Ahora vamos a adaptar este ensayo para probar drogas contra el coronavirus. Eso aumentó la infección y facilitó la propagación. También estamos interesados en rechazar la infección.

Diapositiva 6

¿Cómo se reducen las infecciones por virus? Puede estar sucediendo en la naturaleza. Aquí hay tres escenarios. La primera es que el virus infecta la célula y hace un montón de partículas de virus. Típicamente para coronavirus, hace cerca de 100 partículas de coronavirus por célula. Entre esas partículas de virus, puede haber algunas defectuosas. Por lo tanto, los defectuosos- esta naranja como he mostrado en la naranja aquí, si entra en una celda no hace nada. No es capaz de crecer. Sin embargo, la partícula defectuosa retiene algunos aspectos de So, si tanto un virus intacto que se muestra aquí en

azul y el virus defectuoso que se muestra en naranja entran en la misma celda que una coinfección, entonces puede tener el virus defectuoso que se reproduce, robar recursos del crecimiento del virus normal. Por lo tanto, estas partículas defectuosas se denominan partículas interferentes defectuosas porque interfieren con el crecimiento normal del virus. Han sido conocidos desde los años 50, y en los años 70 he tomado este resumen de este artículo de revisión- artículo de revisión muy prominente en 1970. Así que, hace 50 años, la gente estaba especulando que estos podrían desempeñar algún papel en las enfermedades virales. Así que, basándonos en eso, pensamos que sería interesante tratar de cuantificar la interferencia. ¿Cómo cuantificar la interferencia? el virus. La capacidad de utilizar la maquinaria de replicación de virus.

Diapositiva 7

Bueno, establecimos algo como el ensayo de placa y los detalles aquí no son tan importantes aparte de que tuvimos que hacer algunas diluciones y en lugar de proporcionar virus en lugar de proporcionar células vivas a los virus de la manera que lo hacemos para el ensayo de placa, tenemos que proporcionar células infectadas a las partículas defectuosas. De eso se alimentan las partículas defectuosas.

Diapositiva 8

Así que, si voy a la siguiente diapositiva podemos ver los datos tales que a medida que vamos a los niveles más altos de estas partículas interferentes defectuosas va de izquierda a derecha en el eje x aquí la producción de virus cae, y luego vuelve a subir. Si nos fijamos en la producción de las caídas de las partículas defectuosas- cómo dependen de sus propios niveles de entrada, tenemos este otro tipo de comportamiento que está aumentando hasta un punto y luego cayendo muy bruscamente. Por lo tanto, el punto clave aquí es que los dips exhiben un comportamiento complejo con respecto a su capacidad para inhibir el crecimiento del virus, y también con respecto a su capacidad para influir en su propia replicación. Así que, para entender mejor esto, hemos estudiado un tipo diferente de virus, un virus similar a la rabia y hemos diseñado dos tipos de virus. Una que lleva una proteína fluorescente roja, así que cuando infecta células, vuelve a las células rojas, y una que es una partícula defectuosa que lleva una proteína fluorescente verde.

Diapositiva 9

Así que, el escenario está aquí. Hay dos virus diferentes. Uno es el virus rojo y el otro es el virus verde defectuoso. Y lo que hacemos es infectar una sola célula con ambos y luego ver cómo se propagan a lo largo de varias generaciones. Por lo tanto, en este plato, se puede ver a las tres horas después de la infección, no se ve ninguna proteína fluorescente y si se mira la esquina superior derecha verá el tiempo haciendo tictac mientras tomamos imágenes en varios momentos. Esto es 300 micras o un tercio de milímetro. Bueno, así que ver el temporizador y ver los patrones.

Esta es nuestra pandemia en una placa de Petri. Por lo tanto, millones de células están siendo infectadas por ese único virus partículas y partículas defectuosas liberadas de esa célula se están extendiendo en este período de tiempo de menos de un día más o menos. Por lo tanto, hemos utilizado esto para estudiar en profundidad lo que está sucediendo a nivel de una sola célula y este tipo de patrones a continuación, verá que son bastante complejos. Es realmente un comportamiento depredador-presa en el sentido de que el virus defectuoso se está aprovechando de las células infectadas.

Diapositiva 10

Si observamos el grado de propagación normal del virus en ausencia de cualquier partícula defectuosa, podemos ver el rojo expandiéndose. En presencia de partículas defectuosas por sí solas, no hay infección, pero en presencia de ambos obtenemos una propagación de coinfección que se inhibe en relación con el virus normal. Por lo tanto, nos preguntamos ¿podría el coronavirus defectuoso ser utilizado para tratar COVID-19 de una manera de inhibir o retrasar la propagación?

Diapositiva 11

Así que, hoy les he hablado de dos casos en los que llamamos a la propagación de la infección y esto es bueno para las pruebas antivirales porque nos da un análisis más sensible, y también he hablado de marcar la infección. Hay partículas naturales que surgen de estas infecciones que pueden inhibir el crecimiento y la propagación de virus. Esperamos investigar esto para reducir la gravedad de COVID-1, COVID-19 Lo siento que debe ser 19. Si desea obtener más información, estaré encantado de responder a preguntas de chat o correo electrónico. Muchas gracias.