

EL RETO DEL SARS-COV-2

UN RELATO SOBRE EL ESFUERZO COLECTIVO
DEL CENTRO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA
EN LA INVESTIGACIÓN ACERCA DEL NUEVO CORONAVIRUS

AUTORA **Leyre Flamarique Pérez**
ILUSTRACIONES **Alicia Calvo-Villamañán**



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

EL RETO DEL SARS-COV-2

EL RETO DEL SARS-COV-2

UN RELATO SOBRE EL ESFUERZO COLECTIVO
DEL CENTRO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA
EN LA INVESTIGACIÓN ACERCA DEL NUEVO CORONAVIRUS

AUTORA **Leyre Flamarique Pérez**
ILUSTRACIONES **Alicia Calvo-Villamañán**

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
Madrid, 2023

La versión electrónica de este libro está disponible en acceso abierto en editorial.csic.es y se distribuye bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución-Non Comercial-No Derivadas 4.0. La información completa sobre dicha licencia puede ser consultada en <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>. Esta licencia afecta solo al material original del libro. El uso del material proveniente de otras fuentes (indicadas en las referencias), como diagramas, ilustraciones, fotografías o fragmentos de textos, requerirá permiso de los titulares del *copyright*.

Las noticias, los asertos y las opiniones contenidos en esta obra son de la exclusiva responsabilidad del autor o autores. La editorial, por su parte, solo se hace responsable del interés científico de sus publicaciones.

Cómo citar: *El reto del SARS-COV-2* / Leyre Flamarique Pérez. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2023.

Contenido realizado dentro del Programa de Ayudas CSIC-Fundación BBVA de Comunicación Científica, Convocatoria 2021.

Catálogo de publicaciones de la Administración General del Estado:
<https://cpage.mpr.gob.es>

EDITORIAL CSIC: <http://editorial.csic.es> (correo: publ@csic.es)



Fundación
BBVA

© CSIC

© Leyre Flamarique Pérez (textos) y Alicia Calvo-Villamañán (ilustraciones)

ISBN: 978-84-00-11228-8

e-ISBN: 978-84-00-11229-5

NIPO: 833-23-159-5

e-NIPO: 833-23-160-8

Depósito Legal: M-33581-2023

Diseño y maquetación: Ángel Merlo

Impresión y encuadernación: Egesa

Impreso en España. *Printed in Spain*

En esta edición se ha utilizado papel ecológico sometido a un proceso de blanqueado ECF, cuya fibra procede de bosques gestionados de forma sostenible.

ÍNDICE

PERFIL ACADÉMICO	10
PRÓLOGO	12
BLOQUE 0	
PUESTA EN MARCHA DEL PROYECTO SARS-COV-2	16
UN NUEVO VIRUS ENTRA EN EL CNB	18
PUESTA A PUNTO DEL CENTRO	22
UN LABORATORIO A PRUEBA DE COVID	30
LOS RATONES DE ORO	35
LA ATENCIÓN MEDIÁTICA	39
OLEADA DE DONACIONES	42
DEL LABORATORIO A LA SOCIEDAD	46
BLOQUE 1	
CONOCER AL VIRUS: ESTRUCTURA Y ACTUACIÓN DEL SARS-COV-2	50
RETRATAR EL MOVIMIENTO DE LA FAMOSA PROTEÍNA S	52
EL CENTRO DEL SARS-COV-2: ESTRUCTURA DE LA NUCLEOCÁPSIDE	59
CADENA DE MONTAJE DE VIRUS	64
EL SECUESTRO DEL METABOLISMO CELULAR	68
UNA IMAGEN HOLÍSTICA Y MOLECULAR DEL DESBARATE CELULAR DURANTE LA INFECCIÓN	71
LA DESORGANIZADA RESPUESTA INMUNITARIA	77
LOS SECRETO LOS GUARDAN LAS PROTEÍNAS	82
BLOQUE 2	
VACUNAS	86
UNA VACUNA DE SEGUNDA GENERACIÓN	88
LA FAMILIA DEL VIRUS DE LA VIRUELA COMO PROTAGONISTA	93
PROTEÍNAS QUE BAILAN EN PAREJA	98
ANDAMIOS PARA SOSTENER PROTEÍNAS	101

BLOQUE 3

TRATAMIENTO

106

UNA PLATAFORMA PARA CRIBAR MILES DE COMPUESTOS

108

LA VIRULENTE PROTEÍNA E DEL VIRUS COMO OBJETIVO

114

BUSCAR ANTIVIRALES EN FÁRMACOS EN EL MERCADO

116

PREGUNTANDO A LAS PLANTAS

120

LOS EXTRAORDINARIOS FLAVONOIDES

123

ANTIVIRALES A ESCALA NANOMÉTRICA

125

FRENAR AL SARS-COV-2 CORTANDO SUS GENES

129

DROMEDARIOS QUE PRODUCEN ANTICUERPOS

133

UN MISMO GRUPO, MUCHOS ANTICUERPOS

137

ANTICUERPOS *MADE IN EUROPE*

140

BLOQUE 4

COMPRENSIÓN, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PANDEMIA

146

UN TEST PARA LA OMS

148

«SOPLE AQUÍ, POR FAVOR»

156

MODELOS PARA NO PREDECIR LA PANDEMIA

158

ESTIMAR LA DURACIÓN DE LA INMUNIDAD ANTES DE TIEMPO

163

VIRUS *VERSUS* VIRICIDAS

166

ANEXO

LAS PERSONAS DETRÁS DE LA CIENCIA

170

LISTADO DEL PERSONAL DEL CENTRO

171

BIBLIOGRAFÍA

180

PERFIL ACADÉMICO

LEYRE FLAMARIQUE PÉREZ (Madrid, 1994) es graduada en Psicología de formación, pero periodista y comunicadora de profesión. Durante sus estudios de grado en la UNED formó parte del Comité Organizador del XXX Congreso Internacional de la Sociedad Española de Psicología Comparada. Su formación curricular continuó con el máster en Periodismo BCN NY de la Universidad de Barcelona y la de Columbia de Nueva York, tras el cual se incorporó al canal de ciencia Big Vang del periódico catalán *La Vanguardia*. La trayectoria de la periodista fue reconocida en el 2021 con la concesión de una de las I Ayudas CSIC-Fundación BBVA de Comunicación Científica. El desarrollo durante un año de estancias periodísticas en varios centros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas le ha permitido conocer de primera mano la labor científica del organismo público, así como el desarrollo de la actividad investigadora. En la actualidad trabaja como periodista *freelance* y trata de canalizar su formación en Psicología virando su producción periodística de la ciencia hacia contenidos que aborden la salud mental. Principalmente colabora para *La Vanguardia*, pero también ha publicado sus trabajos en *El País*, AgenciaSinc, RNE, revista CTXT o los medios de comunicación del CSIC. Desde hace dos años cursa el grado en Filosofía por la UNED.

ALICIA PEREIRA CALVO-VILLAMAÑÁN (Madrid, 1993) es doctora en Genética por la Universidad de París y el Instituto Pasteur de París. Además de sus labores de investigación, trabaja en divulgación e ilustración científica, dos aspectos del trabajo científico que considera esenciales e infravalorados. De doble nacionalidad española y portuguesa, comenzó su formación en Lisboa, con un grado en Biología Celular y Molecular por la Universidad Nova de Lisboa, y un máster en Microbiología por el Instituto Superior Técnico de la Universidad de Lisboa. En 2021 obtuvo el grado de Doctora por la Universidad de París, en Genética, Ómicas, Bioinformática y Biología de Sistemas. A lo largo de su carrera científica ha publicado artículos en revistas de alto impacto científico, presentado su trabajo en congresos internacionales e impartido clases en diferentes universidades. Sus ilustraciones han sido publicadas tanto en medios científicos, como la revista *Nature Microbiology*, como en periódicos de información general, como ABC. Actualmente, trabaja como investigadora posdoctoral en microbiología en el Centro Nacional de Biotecnología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, con el apoyo de la prestigiosa beca posdoctoral EMBO.

PRÓLOGO

La actividad científica, básica o aplicada, se debe a la sociedad que la financia y tiene que volcar sus resultados en ella. Dicha máxima, en la que todos podemos estar de acuerdo, con más o menos matices, se convierte en una verdad absoluta cuando la sociedad busca respuestas porque está abrumada por los acontecimientos y angustiada por la incertidumbre. Esta es la situación que se produjo cuando, en marzo de 2020, se declaró la pandemia causada por un virus minúsculo, de aproximadamente 0,1 micras, conocido mundialmente como SARS-CoV-2. Los cimientos de la sociedad se tambalearon y los acontecimientos demostraron que nadie está a salvo de estas infecciones y que la enfermedad puede afectar a cualquier persona en cualquier lugar del mundo sin que las fronteras lo puedan detener.

En el último siglo hemos asistido a una explosión de conocimiento científico mediado, en gran medida, por el desarrollo de avances tecnológicos e informáticos. Quizás por esta razón, los humanos nos creíamos capaces de responder con prontitud a cualquier urgencia que nos afectase como sociedad y de encontrar soluciones rápidas y efectivas. Sin embargo, la reciente pandemia ha hecho tambalear muchos conceptos que creíamos inamovibles. Nos ha trastocado normas, costumbres, hábitos, hasta el punto de llevar a muchos a pensar que el miedo a una infección y muerte indiscriminada nos ha cambiado para siempre, aunque hayamos ya normalizado la enfermedad y aprendido a convivir con ella.

Aunque ha causado un drama social, desde el punto de vista científico, el SARS-CoV-2 ha representado un enorme reto, una oportunidad que pocas veces la carrera científica ofrece. Ha sido la ocasión perfecta para romper moldes, para sacar a los científicos de sus ámbitos habituales del conocimiento y organizarse para aportar experiencia y colaboración ante un reto común. Hemos aunado esfuerzos interdisciplinares que nos

han permitido conocer el virus desde una óptica caleidoscópica y aportar soluciones para resolver los problemas complejos que ha generado. La información obtenida por los científicos se ha compartido a muchísima velocidad por lo que hemos accedido casi instantáneamente a datos que hasta hace poco tardábamos meses en conocer. Este esfuerzo colectivo nos ha obligado además a compartir nuestros propios avances con el resto del mundo científico y ello ha redundado en importantes avances en beneficio de todos, aún a costa de no ser los primeros en conseguir el éxito.

El Centro Nacional de Biotecnología (CNB) es un instituto de investigación multidisciplinar del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) que incluye casi 700 trabajadores agrupados en 71 grupos de investigación, unidades de apoyo científico y personal de servicios y administración. En él se desarrollan proyectos muy variados que incluyen, entre otros, análisis de la estructura atómica de las proteínas, evaluación de distintos aspectos microbiológicos, infecciones virales, análisis de las condiciones de cultivos de plantas, estudios de enfermedades inflamatorias y de procesos tumorales o investigación de los organismos entendidos como poblaciones complejas. Una visión simplista de la investigación que realizamos en el CNB puede considerar que es un instituto excesivamente atomizado y, por lo tanto, débil a la hora de responder ante este tipo de eventualidades complejas. Quien mucho abarca poco aprieta se dice, sin embargo, podéis creerme, nada más lejano de la realidad. Los científicos del CNB han desarrollado una enorme actividad colaborativa para conocer el SARS-CoV-2, atacarlo y apoyar a las autoridades a planificar y evaluar las medidas que imponían a la sociedad a la vez que intervenían en los medios de comunicación para dar su opinión y explicar sus actividades. Este trabajo colectivo y colaborativo de los grupos de investigación y de los servicios que los apoyan ha convertido al CNB en uno de los centros de vanguardia en la investigación contra la covid en España.

El CNB presentó en el primer trimestre de 2020, justo cuando se declaraba la pandemia, un proyecto de investigación colectivo y recibió una importante financiación del

Ministerio de Ciencia e Innovación para ponerse en cabeza de la investigación sobre la covid. Con ilusión colectiva y conocimientos en distintas especialidades para afrontar el problema desde diferentes puntos de vista, desarrollamos nuestro trabajo coordinado en siete áreas: desarrollo de vacunas contra el SARS-CoV2, desarrollo de tratamientos antivirales, generación de anticuerpos para neutralizar el virus, puesta a punto de ensayos para evaluar la seroprevalencia, análisis de las proteínas del virus para localizar zonas con potencial terapéutico, estudios de la evolución de la infección en la sociedad y procesamiento de imágenes de la estructura de las proteínas del virus.

En perfecta coordinación con el Ministerio de Ciencia e Innovación y con la dirección del CSIC, exploramos campos y vías no abordados conjuntamente hasta la fecha. Ello nos llevó a diseñar, por ejemplo, un ensayo clínico en fase I para un prototipo vacunal que depositamos en la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios o a ceder los derechos de un ensayo de análisis de seroprevalencia a la Organización Mundial de la Salud para su uso en países en vías de desarrollo.

Este libro es en realidad un diario de bitácora que no pretende relatar los éxitos individuales, sino contar los acontecimientos y cómo los vivimos desde el CNB. En él se recoge cómo nos organizamos en la emergencia, los proyectos generados y la envergadura de muchas de nuestras actividades. Sirva también para destacar y agradecer la actividad de muchos actores científicos y no científicos, de dentro y fuera del CNB, cuya generosidad fue fundamental para desarrollar nuestro trabajo. El presente texto representa a su vez un homenaje a instituciones, fundaciones y donantes públicos y privados que, en un ejercicio de altruismo nunca antes vivido en el centro, nos posibilitaron financiar toda la actividad y sentir muy cerca el apoyo de la propia sociedad.

Mario Mellado García

Director del Centro Nacional de Biotecnología (CNB), CSIC

NOTA AL LECTOR

El proceso de escritura de este libro empezó en septiembre del 2022 y acabó en febrero del 2023, por lo que, desde ese momento hasta su publicación, se han podido producir algunas actualizaciones en las investigaciones incluidas.

BLOQUE 0

PUESTA EN MARCHA DEL PROYECTO SARS-COV-2



UN NUEVO VIRUS ENTRA EN EL CNB

«Misterioso brote de neumonía en China». Estas palabras empaparon las noticias durante la primera semana del año 2020. Supusieron la carta de presentación del ya archiconocido SARS-CoV-2, que entraba en nuestras vidas como un conglomerado de casos de neumonía en la lejana ciudad asiática de Wuhan.

Los primeros contagiados habían sido reportados a finales del 2019. De ellos se recogieron muestras para su posterior análisis. El microorganismo detrás de la fiebre, la dificultad para respirar y las lesiones en los pulmones no coincidía con nada conocido.

El 7 de enero del 2020 las autoridades chinas determinaron que se trataba de un nuevo coronavirus, el séptimo con capacidad para infectar a humanos. Primero fue conocido como 2019-nCoV o WH-Human 1 coronavirus (WHCV) hasta que finalmente se nombró SARS-CoV-2 y quedó incluido en la categoría de primo hermano del SARS-CoV o coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave, que pasó a denominarse SARS-CoV-1. El nombre de la mortal neumonía derivada de su infección, COVID-19, o su versión lexicalizada y simplificada «covid», es otro término más de nuestro vocabulario actual.

Si alguna palabra podía definir la situación durante aquellos momentos esa era la de incertidumbre. Se elucubraba sobre el posible devenir de la historia, la cual tenía de referencia al SARS-CoV-1, aparecido también en China en el 2002. Este cercano pariente del nuevo virus se había cobrado cerca de un millar de víctimas mortales y había infectado a menos de una decena de miles de personas. Pero ya era historia.

Así que, pocos previeron la magnitud del problema. La transmisión por aire del SARS-CoV-2 llevó a un crecimiento exponencial de los casos, que rápidamente escaparon de

China. En menos de un mes el nuevo coronavirus arribó a España y a finales de febrero Italia se convertía en el epicentro en Europa de la aún epidemia.

Esta era la situación cuando la dirección del Centro Nacional de Biotecnología (CNB) recibió la llamada del organismo que lo ampara, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), que marcaría el devenir del centro: «vuestro instituto reúne a algunos de los mayores expertos sobre coronavirus del Consejo y queremos asesoramiento».

Entre los grupos del CNB se encuentra el Laboratorio de Coronavirus, cuyo jefe, Luis Enjuanes, lleva ya 40 años investigando sobre este tipo de virus y lidera un equipo de referencia a nivel mundial en su campo. El grupo trabajaba en SARS-CoV-1 y MERS-CoV o coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio. Este último emergió en el 2012 en la región que lo nombra y, aunque muy letal, solo ocasiona brotes locales. Ambos representaban la díada de coronavirus humanos mortales hasta que llegó el SARS-CoV-2, el cual incorporaron inmediatamente a sus investigaciones.

Pocos días después de aquella llamada, la cúpula directiva del CSIC recibió a la dirección del CNB, con Mario Mellado y Fernando Rojo, recién nombrado director y anterior director, respectivamente, además de los representantes del mencionado laboratorio. Enjuanes, la codirectora del grupo Isabel Sola y la investigadora senior Sonia Zúñiga informaron sobre el nuevo coronavirus y la situación de la pandemia. En esa reunión también explicaron el trabajo realizado hasta la fecha sobre el virus emergente y cuáles eran las necesidades del laboratorio al respecto. El CSIC se ofreció a ayudarles en lo que necesitaran.

Empujado, en parte, por el papel del Laboratorio de Coronavirus en el Instituto y ya con la evidente situación de futuro colapso mundial, el CNB presentó al Consejo un proyecto destinado al Ministerio de Ciencia e Innovación: un plan de trabajo a dos años vista

que recogía varios proyectos científicos, en el contexto de la epidemia, basados en la experiencia de algunos grupos de investigación.

Las temáticas a abordar incluyeron estudios sobre la estructura del virus, desarrollo de vacunas, búsqueda de antivirales y otros tratamientos para tratar la enfermedad derivada de la infección, kits de diagnóstico, y estudios computacionales. El borrador se redactó en un fin de semana, el del 8 de marzo, a las puertas del estado de alarma que mandaría a casi toda la población española a casa durante tres meses, y estuvo montado en la estresante mañana del lunes siguiente. La escritura se realizó basándose en la información que, con urgencia, enviaron los distintos laboratorios, coordinados por el comité directivo. Este estaba integrado por el director, Mario Mellado, el vicedirector, Fernando Rojo, y el vicedirector técnico, Peter Klatt.

La propuesta salió publicada en el Real Decreto-ley de medidas urgentes extraordinarias frente a la covid aprobado por el Consejo de Ministros el 17 de marzo. El resultado supuso una inyección de 3,9 millones de euros al centro de investigación, de un total de 4,45 millones de euros otorgados al CSIC, para hacer realidad el proyecto, cuyo pistoletazo de salida tuvo lugar el 31 de marzo de ese mismo año.

Pero el virus ya había entrado en el CNB mucho antes, figuradamente hablando. Lo primero, las noticias, que atravesaron las paredes del centro con su correspondiente inquietud entre el personal, al igual que ocurrió para el resto de la ciudadanía. Algunos científicos vivían las nuevas más desde la barrera, bien porque su línea investigadora estaba alejada de las infecciones virales, bien porque lo alejado era una eventual emergencia mundial. Otros seguían más de cerca el curso de los acontecimientos. Por si acaso.

La publicación el 11 de enero de la secuencia genética del SARS-CoV-2 por científicos chinos supuso contar con su carnet de identidad, que venía a confirmar el tipo de patógeno que era,

e iniciar las investigaciones sobre el recién llegado virus. En este momento movieron ficha en el CNB el ya mencionado Laboratorio de Coronavirus junto con el de Poxvirus y Vacunas. De lo que sabe el primer grupo es de reconstruir virus sintéticos y trabajar a partir de ellos para desvelar sus secretos, por lo que las instrucciones sobre cómo hacerlo eran clave. Y estas instrucciones van en los genes de los patógenos. Por su parte, el Laboratorio de Poxvirus y Vacunas, liderado por Mariano Esteban, se ponía en marcha para el desarrollo de una vacuna. El equipo cuenta con una plataforma de desarrollo de estos sueros frente a enfermedades infecciosas humanas, habiendo trabajado en candidatos vacunales dirigidos a virus emergentes como el Ébola, y no podía obviar el patógeno que empezaba a infectar el mundo.

Tímidamente, otros grupos del CNB empezaron a centrarse también en el nuevo protagonista con la incertidumbre de si iba a haber financiación. La partida millonaria del Ministerio aún ni se concebía en enero. Sí que se pusieron en marcha algunos de los denominados Proyectos Intramurales Especiales (PIE) para dotar económicamente con fondos propios del CSIC a las primeras aproximaciones a la comprensión del SARS-CoV-2, en las que entraron las dos mencionadas en el párrafo anterior y alguna otra del Consejo.

Pasaron los días y el clima que acabó por imponerse entre el personal del centro era el de querer ayudar como fuera a revertir la situación. Así que, cuando el 11 de marzo se declaró la pandemia, algunos laboratorios tenían ya su proyecto iniciado o esbozado antes de la organización formal a cargo de la dirección del CNB. En ese contexto llegó el dinero y el estado de alarma. Toda experimentación no relacionada con coronavirus quedó paralizada. El CNB se vació. Solo mantuvieron su presencia los pocos elegidos de cada laboratorio con proyectos relacionados con el SARS-CoV-2 y los servicios mínimos para que dicha labor pudiera desempeñarse.

No empezar a investigar no excluyó de no haberse puesto a pensar en ello. Otros lo hicieron ya en sus casas, con la cuarentena de por medio. Conversaciones con la familia

o grupos de WhatsApp informales con colegas sirvieron de lluvia de ideas para dar con la forma de arrimar el hombro. Entre medias, voluntarios se ofrecían para ayudar a los equipos ya en marcha con las investigaciones sobre el nuevo virus o incluso para hacer pruebas PCR de diagnóstico si hiciera falta. Las intenciones estaban, por tanto, ahí. Solo quedaba el cómo llevarlas a cabo.

El CSIC organizó para ello un foro que puso en contacto a personal investigador de todos sus centros. Estos canales de intercambio de información fueron el germen de la Plataforma Temática Interdisciplinar (PTI)¹ Salud Global lanzada por el CSIC para dar respuesta a la pandemia, la cual aunó proyectos a lo largo del territorio nacional organizados en varias áreas temáticas. Al frente de la coordinación de los más de 300 grupos de investigación que la componen se sitúa la investigadora Margarita del Val, del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBM, CSIC-UAM). Nació así una segunda oleada de investigaciones del CNB sobre el coronavirus que se sumaba a los proyectos ya iniciados, los cuales fueron integrados también en la PTI Salud Global. De esta manera, el resto de las fichas de dominó fueron cayendo hasta que el virus de las mil incógnitas permeó todas las plantas del edificio.

PUESTA A PUNTO DEL CENTRO

La inquietud previa al estado de alarma bullía a fuego lento. Ciertas noticias como la cancelación del Mobile World Congress en Barcelona, el primer gran evento que se anuló en

1 Las PTI son un instrumento mixto de investigación e innovación del Consejo consolidado en el plan Estratégico CSIC 2021 para abordar retos multidisciplinares relativos a los Objetivos de Desarrollo Sostenible, establecidos por la Organización para las Naciones Unidas (ONU). En su seno trabajan equipos interdisciplinares de investigación que prestan su colaboración con la clínica y el sector industrial. El proyecto de la PTI Salud Global estaba adscrita a la pandemia y finalizaba el 31 de diciembre del 2022, aunque ha sido prorrogado un año.

España por la emergencia sanitaria, la segunda semana de febrero del 2020, o las varias localidades italianas aisladas presagiaban el futuro colapso mundial. Ante semejante goteo de información, resultaba casi imperativo preparar el centro para un posible cierre.

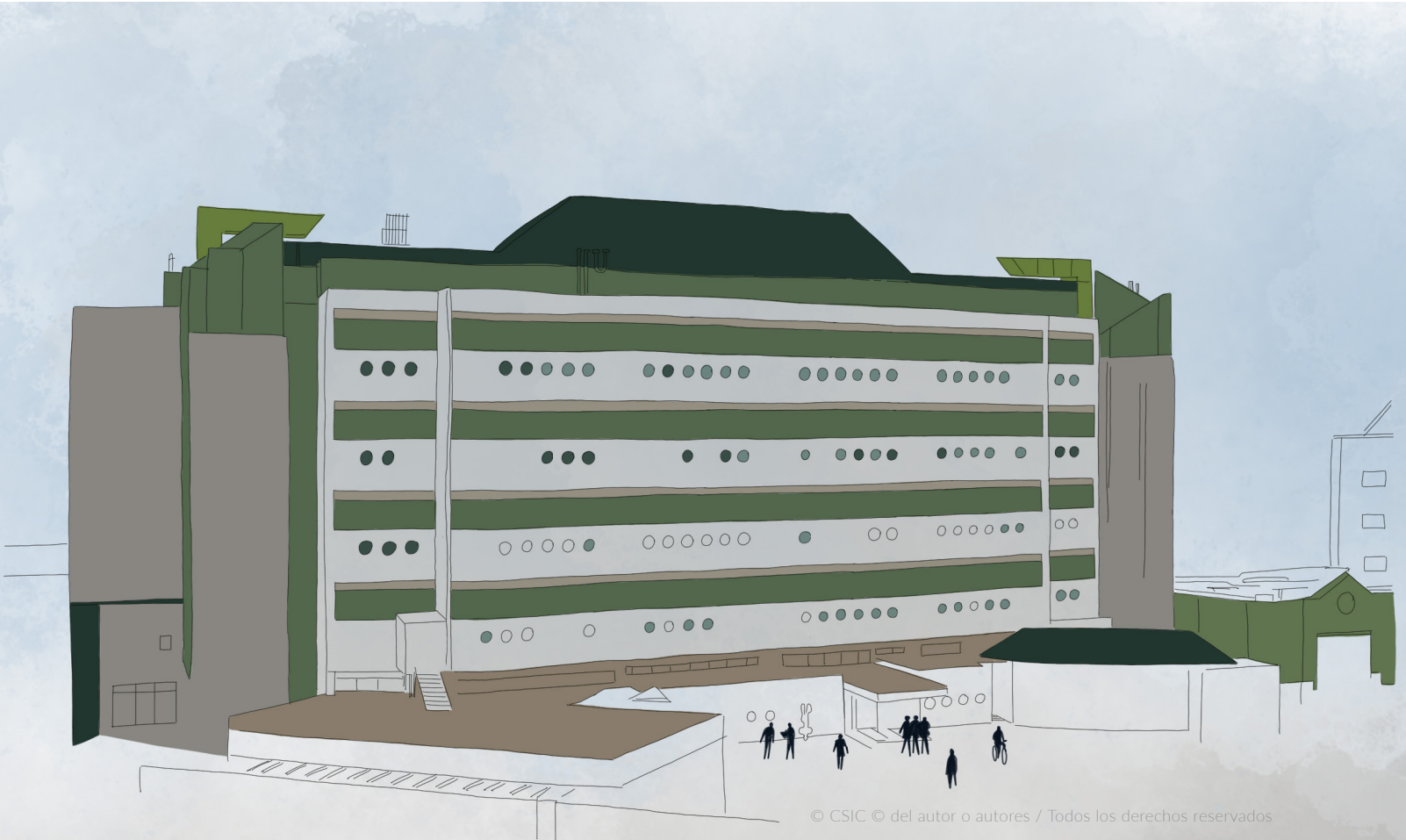
El CNB es como un iceberg donde la punta equivale al personal científico, mantenido a flote gracias a la gruesa base del resto de la plantilla, que abarca desde el equipo de Dirección hasta Almacén, pasando por Comunicación, el Servicio de Limpieza o el de Administración y Finanzas. Todo ese entramado de personas debía seguir trabajando durante la pandemia. Como unas hormiguitas, fueron organizando los diferentes grupos, de tal forma que antes del confinamiento ya estaba todo preparado para afrontar la excepcional y sobrevenida situación.

En el proceso emergió un conflicto. Por un lado, era absolutamente estratégico que las líneas de investigación en coronavirus, sobre todo las relacionadas con vacunas, continuaran en marcha. Pero, por otro, gran parte del personal probablemente no podría acudir al centro. Ello implicaba decidir quiénes debían quedarse en casa, la mayoría, y cómo se organizarían aquellas personas cuya presencialidad resultaba imprescindible, para las cuales había que garantizar unas condiciones adecuadas de seguridad y un plan de acción ante los posibles casos positivos.

Desde el Ministerio de Ciencia e Innovación se estableció que el CNB contaba con la mismas especificaciones y restricciones que un centro sanitario, lo que permitió que mantuviera sus puertas abiertas durante el confinamiento. Acotar la presencialidad de los laboratorios científicos resultó esencial en aquellos con proyectos covid que ya requirieran labor experimental y únicamente el personal mínimo. Durante las primeras semanas de confinamiento prácticamente acudieron solo los jefes e investigadores más senior de cada laboratorio, quienes volvieron a remangarse las batas para coger pipetas y desarrollar largas jornadas de solitaria investigación. No obstante, también pudieron

finalizarse los proyectos experimentales sobre otras temáticas iniciados con anterioridad a la pandemia para evitar tirar meses de trabajo.

Pero la actividad presencial requería no solo del personal científico, sino también de personas que limpiaran las instalaciones o esterilizaran los utensilios, que recibieran pedidos de material, que manejaran microscopios para leer resultados...servicios de apoyo a la investigación cuyos integrantes se incluyeron como trabajadores esenciales. La idiosincrasia de cada servicio supuso una cirugía más fina en cuanto a su organización



interna, si bien solo se mantuvieron en el centro aquellos que precisaban sí o sí de un desarrollo presencial. Nuevamente las directrices eran el menor número de personas y con las mínimas interacciones posibles entre ellas.

Un caso ilustrativo es el del Servicio de Animalario. El CNB dispone de un animalario dedicado a la producción y mantenimiento de ratones con fines experimentales —los animales de experimentación resultan una pieza fundamental en la investigación, pues sirven de modelo de los seres humanos y sus enfermedades—. En un servicio como este, no cabe el teletrabajo. Diariamente, los trabajadores, con Ángel Naranjo al frente, deben acudir al centro para asegurarse del bienestar de los ratones.

Las instalaciones del CNB pueden albergar hasta 20.000 ejemplares cuyo número se decidió reducir. La incertidumbre acerca de si iba a ser posible mantener a tantos animales por la falta de suministros o de personal que pudiera acceder al centro dada la probable, y finalmente realizada, medida de confinamiento motivó la medida. Se mantuvieron estrictamente aquellos relacionados con la investigación sobre SARS-CoV-2 o aquellos animales modificados genéticamente que luego fuera difícil recuperar. Estos animales resultan únicos y su propio mantenimiento se considera legalmente un experimento.

El desempeño del equipo de Bioseguridad ha sido clave para poder funcionar en medio de la pandemia. Este servicio es el encargado de controlar los riesgos derivados de la actividad experimental, que pueden incluir riesgos químicos, radiológicos, por microorganismos o fuentes de calor. Así que en cuanto hubo que empezar a organizar el centro, el equipo, dirigido por Fernando Usera, generó un protocolo de actuación y de toma de decisiones para contener al virus y proteger a los trabajadores presenciales.

La idea fundamental para proceder pasó por el establecimiento de grupos burbuja. Los responsables de cada laboratorio o servicio organizaron turnos para que no coin-

cidiera todo el personal a la misma hora. De esta forma se reducía la posibilidad de infección al disminuir el número de personas por metro cuadrado y se evitaba que, en caso de un positivo, todo el equipo se contagiara de covid y hubiera que parar el trabajo. Más adelante llegaron directrices por parte del Área de Prevención de Riesgos Laborales del CSIC, a partir de la cuales Bioseguridad generó un plan de contingencia donde quedaban especificadas las normas de higiene, el rastreo de casos o cómo acceder al centro. Gracias a los protocolos, en todo el 2020 solo hubo un caso de transmisión interna.

Con todo ello, cuando Pedro Sánchez, presidente del Gobierno, anunció la implantación del estado de alarma en aquella famosa rueda de prensa del 13 de marzo del 2020, los deberes ya estaban hechos: todos los servicios necesarios se encontraban preparados y las decisiones sobre cómo proceder, al menos durante las próximas jornadas, tomadas. El mismo día del anuncio se celebró una reunión en el salón de actos de CNB con los servicios y Administración para ponerse en marcha.

Gracias a la organización previa, el centro no cerró sus puertas ningún día, si bien quedó bajo mínimos en personal. Llegaron a acudir solo unas pocas decenas de personas de las 656 que integraban la plantilla en esos momentos. A partir de ahí los ritmos se bifurcaron. El trabajo de quienes marcharon a casa no paró con su partida. Llegaron tiempos de ordenar datos, escribir artículos o solicitar proyectos. En definitiva, de continuar con la tarea de otra forma, aprendiendo a gestionar confinamiento y trabajo en remoto, así como las plataformas de videollamadas.

En Gerencia, que ya en febrero empezó a gestionar la compra de ordenadores de cara al posible teletrabajo del personal administrativo, los ritmos se aceleraron. Con la partida millonaria del Ministerio de Ciencia e Innovación había entrado mucha financiación de golpe y las gestiones debían ser muy ágiles. Este trabajo en la sombra implicó generar

todo el apoyo necesario a los investigadores para que pudieran ejecutar sus fondos lo antes posible. Así que además de la gestión económica, el departamento integrado por Isabel Sevillano se encargó de coordinar los contratos de personal de refuerzo, las compras de nuevos aparatos para hacer mejor y más rápido el trabajo o la adquisición de todo lo imprescindible para llevar a cabo las investigaciones en un momento en el cual ciertos productos escaseaban. El Real Decreto del 17 de marzo incluyó también medidas extraordinarias, como abrir la contratación de emergencia, lo que ofreció un poco de flexibilidad al facilitar las operaciones.

Bioseguridad constituyó uno de los servicios reforzados dada su demandada labor. Al equipo se sumó un nuevo miembro y pasados los meses se incorporaría una unidad de Prevención de Riesgos Laborales, cuya responsable es Nuria Martín. Esta unidad se encargó de la gestión de riesgos no relacionados con las actividades experimentales, y que, por tanto, no entran dentro de las competencias del Servicio de Bioseguridad, lo que incluyó la coordinación de los servicios de empresas externas, como la plantilla de Limpieza. Prevención de Riesgos Laborales también colaboró en la importante tarea durante aquellos días de rastreo y seguimiento de posibles casos de covid. Por otro lado, los Servicios Generales del centro, dirigidos por Gabriel Sánchez de Lamadrid, tuvieron el arduo trabajo de señalizar el recinto y generar caminos de entrada y salida evitando los cruces entre trabajadores, con el objetivo de minimizar los riesgos de contagio.

Respecto a algunos de los demás servicios con presencialidad, el Animalario reorganizó a todo el personal para asegurar su funcionamiento, reduciendo al máximo las horas presenciales sin que afectara ni al trabajo de los investigadores ni al bienestar de los animales. Tareas como dar pienso y agua a los ratones, limpiar las cubetas en las que viven o hacer los chequeos correspondientes sobre su estado físico quedaron concentradas en las cuatro o cinco horas intensivas a las que hubo que comprimir la jornada laboral como medida para evitar contagios. Con ello, algunos compañeros pasaron meses sin verse.

El equipo de Limpieza se tornó más esencial si cabe todavía. Si bien muchas zonas del centro se cerraron porque sus ocupantes se trasladaron a sus casas, ello no supuso un descenso en la faena. Más bien al contrario. Su trabajo, liderado por Pilar Cutillas, conllevaba un mantenimiento diario de casi todos los espacios del centro, lo que incluía también el laboratorio de bioseguridad de nivel 3, un espacio con acceso restringido y estrictas medidas de contención donde se llevaban a cabo los experimentos con el SARS-CoV-2. Los protocolos de limpieza y desinfección cambiaron a unos más estrictos que implicaban varias repeticiones, lo que los llevó también a reforzar el personal. Por otra parte, se dejaron de usar productos más básicos y se empezó a trabajar con viricidas por todas las áreas para su desinfección.

Otros equipos vieron reducida su carga laboral en paralelo al descenso de investigaciones. La poca actividad experimental en marcha exigía un mínimo de utensilios limpios, como frascos de vidrio o placas de Petri, de cuya limpieza se ocupa el Servicio de Lavado, Esterilización y Medios de Cultivo, organizado por Rosa Bravo, que pasó a acudir solo una vez a la semana al centro en turnos rotativos. En una semana normal se programan 75 ciclos de lavado de material de laboratorio. En el primer mes de la pandemia el número se redujo a dos semanales.

Instrumentación también quedó en servicios mínimos. Su papel es asegurarse de que el personal investigador cuenta con los equipos que necesita, como por ejemplo termocicladores, las máquinas para realizar pruebas de PCR,² y los tiene a punto. De esta manera, además de hacer de nexo de unión entre Gerencia y los laboratorios para la

2 La prueba PCR (del inglés *polymerase chain reaction*, reacción en cadena de la polimerasa) se conoció por la ciudadanía como método de diagnóstico de la covid, pero es una prueba rutinaria en cualquier laboratorio de biología molecular. La técnica permite localizar y amplificar fragmentos de material genético, de ahí que se haya usado para la detección del ARN del SARS-CoV-2.

compra de nuevos equipos, Instrumentación también se encarga de dar apoyo técnico y reparar todo lo que esté en su mano. Los requerimientos del Servicio, coordinado por Ismael Gómez, disminuyeron, por tanto, al haber en esos momentos menos personas con experimentos en marcha.

Un caso parecido es el de Mantenimiento, dirigido por Antonio Dueñas y encargado del bienestar del centro. Su misión consiste en mantener las instalaciones en unas condiciones óptimas de funcionamiento y que haya los menos problemas posibles, que siempre los hay. Elementos como la electricidad pueden fallar igual que ocurre en cualquier casa. Por ello siempre debe haber alguien en el centro para solucionar los incidentes que se sumen a las revisiones rutinarias. La reducción de personal trajo consigo el descenso de avisos y la consecuente disminución de carga de trabajo. Una actividad vital para la seguridad de las personas llevada a cabo por el servicio consistió en modificar los flujos de aire del edificio con el objetivo de multiplicar la ventilación del centro. De ese modo se disminuía la potencialidad de infección de un virus de transmisión aérea como el que nos amenazaba.

En el Departamento de Almacén y Compras, que también fue declarado esencial, se llevó a cabo un especial esfuerzo de cara a la investigación sobre la covid. Este equipo adquiere cualquier elemento necesario para la investigación, desde ratones a folios. La pandemia priorizó la investigación sobre SARS-CoV-2 a nivel global, así que las necesidades eran comunes en muchos centros de investigación de todo el mundo, a la par que la producción había bajado. El equipo, que coordina Julio Díez, tuvo que poner todo su empeño para conseguir los suministros que llegaban con retrasos de meses.

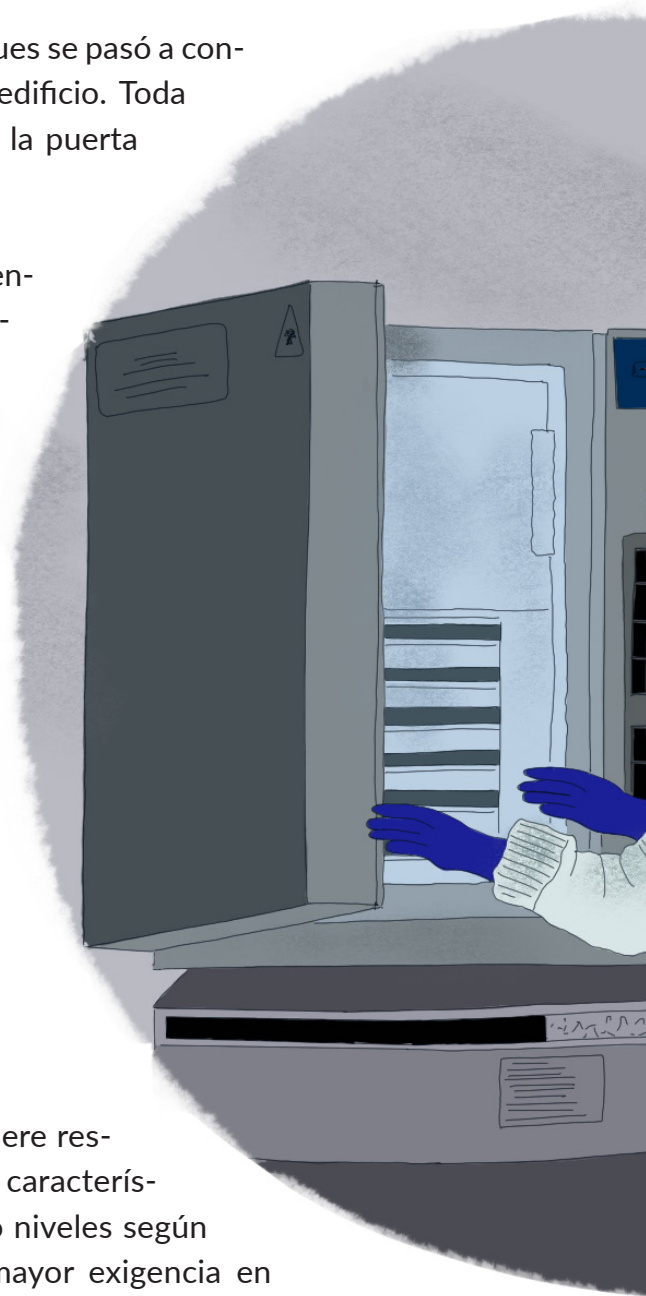
Otros servicios se mantuvieron en su línea, como Seguridad, con Sócrates Gutiérrez al mando. Sus funciones se extienden a las 24 horas del día, fines de semana incluidos, y así se mantuvo durante el confinamiento, aunque con el mínimo personal posible. Sí

que hubo un cambio en cuanto al control de acceso, pues se pasó a contabilizar en todo momento las personas dentro del edificio. Toda entrada o salida al CNB pasó por ello a hacerse por la puerta principal del centro.

Era evidente que el CSIC también tenía que estar presente de alguna manera en la gestión del CNB. Otras tantas personas pertenecientes al Consejo, a destacar las adscritas a la Vicepresidencia de Investigación Científica y Técnica (VICYT), que abarcaría casi todos los elementos necesarios para hacer efectiva la ciencia del CNB, teletrabajaron jornadas maratonianas para que las investigaciones sobre coronavirus salieran adelante. En su caso, el trabajo hubo de ser repartido también para los demás centros del CSIC pues, aunque en la mayoría el SARS-CoV-2 no tenía un peso tan importante en la investigación y casi todo el trabajo era remoto, mantuvieron sus proyectos en marcha.

UN LABORATORIO A PRUEBA DE COVID

La manipulación segura de un agente biológico requiere respetar unos protocolos de seguridad en función de las características del microorganismo. Estos se dividen en cuatro niveles según los estándares internacionales y van de menor a mayor exigencia en



correlación con el riesgo potencial de los patógenos. Por ser un virus potencialmente mortal, incluso para adultos sin afecciones previas, que se transmite fácilmente por el aire, el SARS-CoV-2 requiere de un manejo dentro del nivel tres de contención biológica (NCB3). Ello implica una zona totalmente aislada, con sistemas de gestión de residuos y de filtrado del aire, donde llevar a cabo una escrupulosa manipulación de las muestras que precisa de trajes específicos para ello. Quien contara con un laboratorio de bioseguridad con estas características durante la pandemia tenía, por tanto, un tesoro.

El CNB dispone de uno, como ya se ha adelantado en el apartado anterior, no especialmente espacioso, pero que ha permitido agilizar las investigaciones sobre el peligroso virus sin esperas de acceso en otras instituciones. La autorización para el trabajo con SARS-CoV-2, lo que comprendía el manejo de virus modificados genéticamente, se incluyó en la cartera de medidas especiales de cara a la pandemia recogidas en la publicación del *BOE* del 17 de marzo.

Con el coloquialmente denominado P3 se persigue que ni el trabajador se contagie ni el virus salga del recinto. Esto quiere decir muchas medidas de contención solapadas. La zona ocupa parte de la primera planta del centro, pero una puerta de cierre hermético, cuya apertura solo es posible previa identificación de la persona usua-



ria, la separa del espacio común. Los ojos de buey que asoman al pasillo representan todo lo cerca que alguien no autorizado puede estar de su interior. A través de ellos se observa la zona común con ultracongeladores donde guardan los patógenos³ y las entradas a los tres sublaboratorios cerrados e independientes, uno de los cuales es de uso exclusivo para el grupo de Coronavirus. En estos laboratorios existen a su vez unas cabinas, que es donde realmente ocurre la manipulación de los virus, las cuales generan un flujo de aire a modo de barrera física extra para que el agente infectivo no escape de ellas.

En el interior del laboratorio se trabaja completamente «disfrazado» con un equipo de protección individual que requiere un orden de puesta específico y haberse quitado antes toda la ropa. Otro paso de contención física para esquivar a los patógenos. Dentro de los sublaboratorios la indumentaria aumenta su parecido al de un traje espacial, pues también resulta obligatorio el uso de una escafandra con un circuito de aire limpio para evitar respirar alguna partícula viral que salga de la cabina.

La descontaminación es el otro gran pilar de contención. Una vez acabado el experimento, la propia persona ha de limpiar con desinfectante absolutamente todos los materiales empleados y la zona de trabajo, y encender unas lámparas de radiación ultravioleta que completarán la tarea. Todo lo que salga de dentro también requiere ser escurpulosamente desinfectado, lo que incluye a las personas, que tendrán que ducharse con esmero. Por ello, el personal no puede entrar con nada prendido al cuerpo. Ni horquillas, ni relojes, ni piercings. Incluso, quien use gafas deberá tener dos pares, uno externo y otro en el laboratorio.

3 El P3 es espacio de manejo también de los virus de la hepatitis B y C, el dengue o los coronavirus de alto riesgo SARS-CoV-1 y MERS-CoV.

Prácticamente todos los proyectos de investigación del CNB que necesitaban hacer experimentos con SARS-CoV-2 han pasado por el P3 del centro. El estudio sobre cómo el patógeno infecta a las células implica llevar a cabo infecciones dentro de este laboratorio. Comprobar si posibles antivirales en desarrollo protegen del coronavirus requiere a su vez de células infectadas y, por tanto, de recurrir a la seguridad del P3. También exige de pruebas con el virus conocer si un candidato a vacuna protege de este, las cuales se llevan a cabo dentro del especial recinto. Hasta la observación al microscopio del patógeno lo requiere, pues antes hay que preparar las muestras para ello, tarea que debe hacerse dentro del laboratorio de nivel 3 de bioseguridad. Pero si bien los experimentos se llevan a cabo en el P3, el análisis de los resultados es trasladado a los laboratorios convencionales. Gracias a unos protocolos de inactivación del virus, que básicamente lo matan sin interferir en el rendimiento de los ensayos, se puede sacar el SARS-CoV-2 de manera segura.

El P3 es, en definitiva, un laboratorio bastante complejo cuya administración implica muchos aspectos a tener en cuenta. Uno de los cometidos esenciales del Servicio de Bioseguridad consiste precisamente en gestionar su uso, junto con el de los varios laboratorios de nivel 2 repartidos por el centro. La labor del equipo abarca desde la gestión de residuos hasta instruir a los nuevos usuarios —quien entre en su interior requiere de una formación especializada— o velar por su seguridad. Y es que, aunque dentro se trabaje aislado, desde el exterior se controla que todo vaya bien a través de cámaras junto con teléfonos fijos en cada sublaboratorio para comunicarse con el exterior, a la par que se llevan a cabo chequeos médicos. Por ejemplo, a aquellos que trabajan con el SARS-CoV-2 les hacen un seguimiento rutinario con análisis para testar la covid.

La demanda de uso del P3 durante el pico de pandemia fue máxima, si bien en la actualidad las aguas han vuelto a su cauce. Aprovechando la situación, se planea ejecutar una mejora durante el año 2023, que parará el laboratorio unos meses, gracias a la finan-

ciación otorgada por el Ministerio junto con recursos propios del centro. El P3 del CNB entró en funcionamiento en el año 1997, convirtiéndose en una de las primeras instalaciones de su clase en España. Los estándares de diseño han cambiado desde entonces, a lo que se suma la existencia de sistemas bastante usados que requieren una renovación.

De manera independiente, se ha puesto sobre la mesa la idea de construir un edificio de nivel 3 de contención biológica en el Campus de Cantoblanco,⁴ el cual pertenece a la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y es el emplazamiento del CNB. La idea inicial, impulsada por el CSIC, sería que la plataforma de servicios resulte mixta CSIC-UAM.

El objetivo sería potenciar la investigación en patógenos peligrosos, que cada vez causarían más epidemias o pandemias, al disponer de infraestructuras más accesibles y mejoradas. Un argumento de peso aquí para el CNB implica lograr la independencia respecto al laboratorio de bioseguridad 3 del Centro de Investigación en Sanidad Animal del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (CISA-INIA, CSIC). En el NCB3 actual del centro de Cantoblanco se puede trabajar con el SARS-CoV-2 *in vitro*, en células, pero no en modelos animales. Para las infecciones realizadas en roedores, el personal del CNB debe trasladarse hasta las instalaciones del CISA en Valdeolmos, a unos 35 kilómetros del mismo.

4 La futura plataforma CSIC-UAM está englobada dentro de una estrategia más amplia del CSIC de apuesta por este tipo de instalaciones. Actualmente son cuatro los proyectos en marcha, en los que se incluye el edificio de Cantoblanco. Se trabaja también en la remodelación del laboratorio del nivel 3 del Instituto de Investigación Biomédica de Cantabria (IBBTec), al Instituto de Biología de Sistemas (IBS) se le dotará de un laboratorio de nivel 3, y por último, en el Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) se trabaja en la construcción de un futuro laboratorio de nivel 4, el máximo nivel de seguridad.

LOS RATONES DE ORO

Los investigadores saben de ciencia, pero todo lo relacionado con los animales de experimentación se lo proporcionan los servicios de Animalario y Transgénesis, este último compartido con el CBM y encargado específicamente de ofrecer el acceso a ejemplares genéticamente modificados. La pandemia les añadió la ardua empresa de conseguir los ratones para probar vacunas y tratamientos frente al SARS-CoV-2.

El cometido empezó de la mano de las primeras investigaciones del centro sobre el nuevo virus, las de los grupos de Poxvirus y Vacunas, y de Coronavirus. Animalario y ambos equipos mantuvieron conversaciones relativas a la parte de las investigaciones que requiriera de pruebas en animales. Aclararon detalles técnicos sobre cómo proceder con los ensayos en ratones que incluían desde ayudar en el diseño experimental hasta sacar sangre a los roedores. Y es que, además de conseguir animales y su posterior mantenimiento en las condiciones necesarias para los ensayos, el Servicio también ofrece apoyo en los requerimientos que deseen aplicar los científicos a los animales solicitados.

Los dos grupos de investigación trabajaban en una vacuna y necesitaban ratones a los que inyectar el suero en cuestión para ver si despertaba el sistema inmunitario de los roedores. Si esto salía bien, el siguiente paso sería ver si dicha respuesta protegía frente al virus, es decir, si su candidato en desarrollo realmente actuaba como una vacuna. En el animalario ya había miles de ratones, menos de los usuales por aquello de recortar los recursos al mínimo, pero ni uno servía para inocular SARS-CoV-2 y ensayar las vacunas.

Los roedores no disponen en la superficie de sus células del receptor gracias al cual el virus puede desencadenar la infección, el ACE2 —siglas correspondientes al vocablo inglés de enzima convertidora de angiotensina 2—, por lo que no enferman. O, mejor dicho, sí disponen de él, pero difiere de la versión humana por lo que al SARS-CoV-2 no

le sirve para hacer de las suyas. Y si los ratones no desarrollan la infección, no representan un modelo válido de lo que ocurre en las personas. Hacen falta especímenes que sí tengan un ACE2 útil y esto se consigue con animales modificados genéticamente.

La primera actuación del equipo de Animalario consistió en buscar los ratones tan pronto como los investigadores los solicitaron, lo que ocurrió muy al inicio de la pandemia. El único distribuidor de estos animales era un laboratorio estadounidense especializado en el mantenimiento y la venta de ratones de experimentación llamado Jackson. Pese a ello, el equipo de Animalario revisó en sus propias bases de datos.

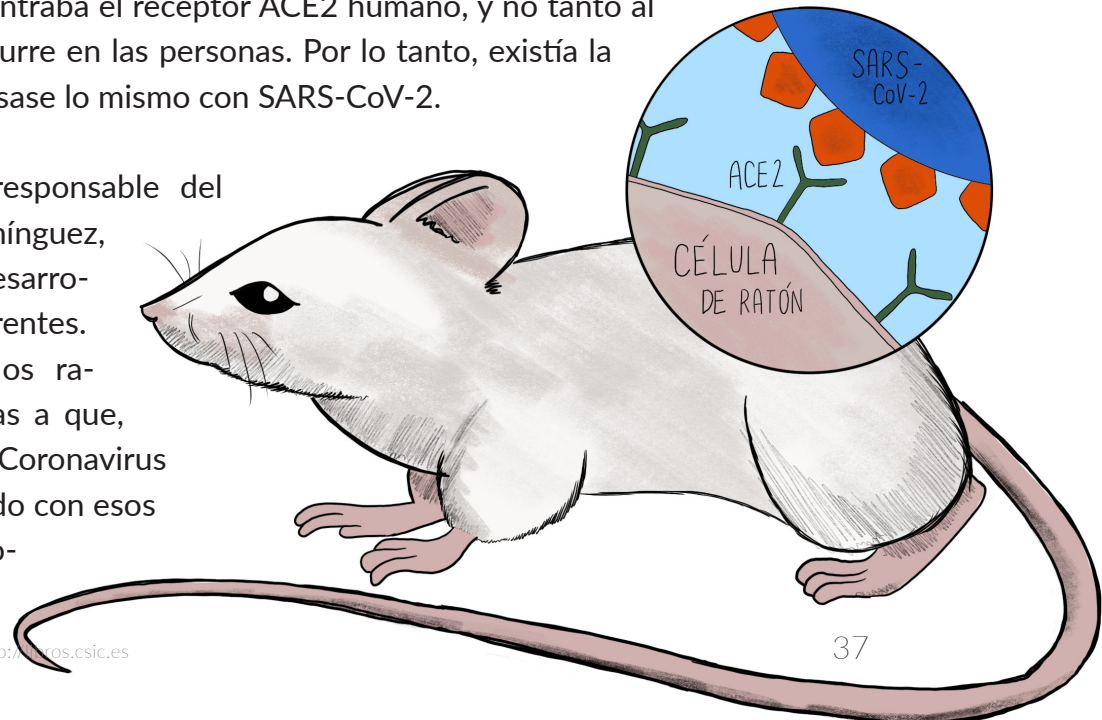
Y es que la historia es caprichosa. Con la epidemia del SARS-CoV-1, el Laboratorio de Coronavirus del CNB trabajó con ratones modificados precisamente para que dispusieran del receptor ACE2 humano, pues también es la cerradura de entrada de dicho coronavirus a nuestras células. Esos animales habían sido diseñados por investigadores de la Universidad de Iowa, en Estados Unidos, liderados por Stanley Perlman, con quienes colaboraba el laboratorio de Enjuanes. Precisamente esa línea de animales era la que ahora todo el mundo científico buscaba para la investigación en SARS-CoV-2. Así que se revisaron todos los ficheros, sin éxito, en busca de embriones o espermatozoides congelados con los que revivir y criar los ansiados roedores.

Al igual que el CNB, ningún laboratorio del mundo había guardado los animales tras la epidemia del SARS-CoV-1. Solo el equipo de Perlman tenía bajo su custodia espermatozoides de los ratones mutantes, del cual donó parte a Jackson con la llegada de la pandemia. El laboratorio debía ahora generar una colonia de animales para distribuirlos según el orden de solicitudes y así satisfacer las necesidades de la comunidad científica. La fecha más temprana que se manejaba para recibir a los ratones en el CNB era julio. Con todo ello, el Servicio de Animalario los solicitó, dispuso la documentación para poder traerlos y estuvo preparado para la recepción.

En paralelo, el Servicio de Transgénesis se puso en marcha para «fabricar» los ratones. Si habían podido generarlos una vez para SARS-CoV-1, podían hacerlo una segunda y, empezando en marzo, era posible que para finales de verano tuvieran los animales igualando tiempos, o incluso recortándolos, a aquellos en camino. Pero esta vez fue distinto. No solo se limitaron a replicar los roedores de la Universidad de Iowa, sino que el equipo diseñó sus propios ratones mutantes para dar con animales que reprodujeran lo más fielmente la patología causada por el nuevo coronavirus.

Lo último se explica, en parte, por la incertidumbre sobre si los ratones de Jackson realmente iban a funcionar para modelizar la enfermedad. Técnicamente llamados K18-hACE2, estos animales habían sido diseñados para trabajar con la infección producida por el anterior SARS, de tal manera que el virus era capaz de matar a los ratones. Esto permitía probar la eficacia de antivirales y vacunas para salvar la vida de los animalillos. Sin embargo, esos ratones no reproducían fielmente la enfermedad causada por SARS-CoV-1. El virus se dirigía fundamentalmente a su cerebro, puesto que era en esas células donde encontraba el receptor ACE2 humano, y no tanto al pulmón, cosa que no ocurre en las personas. Por lo tanto, existía la preocupación de que pasase lo mismo con SARS-CoV-2.

Entre Belén Pintado, responsable del Servicio, y Verónica Domínguez, de la parte del CBM, desarrollaron tres modelos diferentes. Primero reprodujeron los ratones de Jackson gracias a que, como el Laboratorio de Coronavirus del centro había trabajado con esos ratones hace años, dispo-



nía del gen modificado a introducir en el genoma del ratón. El objetivo era dirigir el virus a las vías respiratorias, principalmente en los pulmones, haciendo para ello que expresaran ACE2 humano en la superficie de las mismas. Esos ratones están actualmente en evaluación para ver si resultan un modelo mejor, igual o peor que los de Jackson.

El segundo modelo generado expresa la proteína ACE2 humana en todas las células del cuerpo. En vez de abrir un boquete en la pared para que entrara el virus, como pasa en los ratones de Jackson, optaron por tirarla directamente y dar con un modelo súper sensible a la enfermedad.

Por último, ambas expertas buscaron qué alterar en los pequeños roedores para que reprodujeran fielmente la enfermedad causada por el SARS-CoV-2. Si ocurría lo mismo que con el coronavirus anterior, los ratones de Jackson no resultaban una buena simulación de la enfermedad porque ni el virus se dirige al cerebro en las personas ni todas las que se infectan de covid fallecen. Pintado y Domínguez querían dar con un tercer tipo de ratón que representara un modelo más fino, más realista.

El equipo modificó para ello el receptor ACE2 de los ratones sustituyendo una mínima parte de su estructura por la homóloga humana gracias a la técnica CRISPR⁵ de edición genética. Era un cambio conformacional mínimo, pero suficiente para que el ratón se infectara con SARS-CoV-2. O sea, que ni abrieron un boquete ni tiraron la pared, sino que fabricaron una puerta especial para que el virus entrara. El grupo ha conseguido probar que los ratones se infectan, que es un modelo que funciona en este sentido, pero desconoce los detalles sobre cómo expresan la infección los animales. Esta parte de caracterización le corresponderá a un laboratorio encargado de tipificar la enfermedad en estos ratones transgénicos.

5 Esta técnica de edición genética es explicada en el capítulo «Frenar al SARS-CoV-2 cortando sus genes», incluido en el bloque 3.

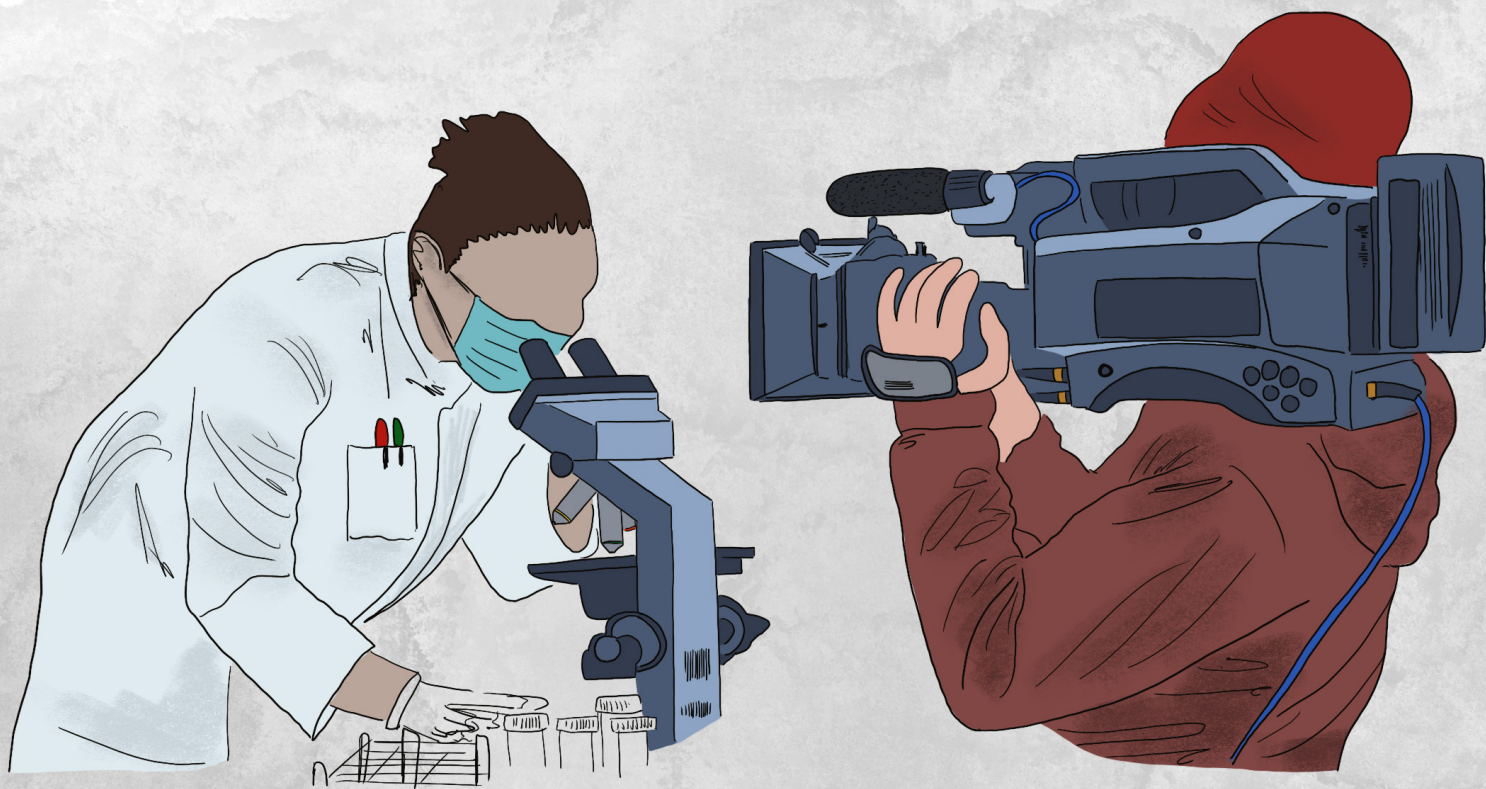
LA ATENCIÓN MEDIÁTICA

El CNB empezó a recibir con cuentagotas las primeras consultas de algunos avispaditos periodistas conocedores de la existencia de un grupo experto en coronavirus en el centro. Eran principios de enero y estaban interesados en saber qué tipo de virus son esos cuyo nuevo miembro parecía no dejar a nadie indiferente. La propia responsable de comunicación del centro, Susana de Lucas, quien también es doctora en Biología, les ayudaba con las dudas del momento y gestionaba las solicitudes para entrevistar al personal experto en coronavirus.

El goteo de peticiones de la prensa pronto pasó a un arroyo que, en seguida, acabó por convertirse en un torrente. Ni un mes había pasado cuando el grupo de Coronavirus avisó a de Lucas de un número excepcional de entrevistas concertadas. Como expertos en el tema, todos los medios querían hablar con ellos.

El laboratorio llegó a convertirse durante un tiempo en un desfile de cámaras, focos y periodistas ávidos de información. Querían conocer más de los virus, de los coronavirus y, sobre todo, del ya bautizado SARS-CoV-2. En los primeros momentos el grupo transmitió optimismo, pues no pensaba que la situación fuera alcanzar las dimensiones a las que escaló dada la información disponible. Con la llegada de nuevos datos científicos, como el hecho de que los asintomáticos también contagian, diferencia clave respecto a otros coronavirus humanos letales, fueron ajustando su discurso. El grupo de Poxvirus y Vacunas tampoco se libró, aunque su explosión mediática llegaría más tarde, a mediados de abril, con la presentación de su primer prototipo de candidato vacunal.

Con los primeros logros de las investigaciones en marcha, los ojos se fijaron más si cabe en los investigadores de uno y otro laboratorio, para quienes siempre se repetía la misma cuestión: ¿cuándo va a estar lista la vacuna? A ambos grupos se sumaron otros



tantos expertos en virología, inmunología, contención de agentes infecciosos, desarrollo de tratamientos o biología molecular que atendieron a periodistas.

El interés mediático en el Centro fue total, sobre todo al inicio de la pandemia. Los datos hablan por sí solos: en los años 2020 y 2021, las publicaciones que incluyeron al CNB como protagonista pasaron de las 2000 en prensa escrita. Las piezas emitidas en televisión y radio se encuentran en torno a las 100 en ambos formatos, si bien no están contabilizadas en su totalidad. Aquellas en medios digitales resultan «inabarcables» de medir. Esa es la palabra que emplea el Departamento de Comunicación del CSIC a la hora de remitir las cifras.

Este departamento fue el principal encargado de gestionar las peticiones de los medios, en coordinación con Susana de Lucas, para aquellas centradas en el CNB. Ni ellos ni los propios investigadores estaban acostumbrados a semejante avalancha mediática. La demanda de entrevistas era tal que, para evitar la cascada de correos electrónicos, tuvieron que retirar de la página web del centro las direcciones de correo de algunos científicos. Los expertos y expertas atendían a los medios fuera de su horario laboral, fines de semanas incluidos, y, además, se veían casi obligados a estar al tanto de la actualidad científica al minuto para responder a las dudas de las varias entrevistas diarias que podían tener en un día normal.

Llegó un momento en el que un porcentaje muy alto de las peticiones al CSIC eran para un puñado de investigadores, casi todos del CNB, que prácticamente incluía a Luis Enjuanes, Isabel Sola, Sonia Zúñiga, Mariano Esteban y Juan García Arriaza, este último del Laboratorio de Poxvirus y Vacunas. El Consejo estableció un protocolo para evitar sobrecargar a los científicos, que además debían seguir investigando, y crearon para ello un segundo grupo de portavoces dispuestos a atender las peticiones de los periodistas. Si bien era comprensible que las dudas sobre proyectos concretos debieran resolverse

por los investigadores principales, cuestiones más abiertas relativas a la inmunidad y eficacia de las vacunas o a la actuación de los antivirales o de los virus de ARN como el SARS-CoV-2 eran abarcables para otro personal experto.

A esta parte más reactiva se sumó un trabajo proactivo de comunicación, con especial atención a las líneas de investigación de los candidatos vacunales de los laboratorios de Coronavirus y de Poxvirus y Vacunas, para sacar notas de prensa y así actualizar a la sociedad los avances transmitidos por los investigadores. En conjunto, el esfuerzo de todos los agentes permitió que se facilitara la información requerida y necesaria en todo momento, a la par que abrió una ventana de comunicación directa entre aquellas personas dedicadas a la investigación y la sociedad.

OLEADA DE DONACIONES

No solo la prensa se interesó por el centro o, precisamente por ello, la sociedad también se volcó en el CSIC en general y en el CNB en particular. Volcó miedos, dudas, frustraciones, energía y solidaridad en forma de correos electrónicos y llamadas. El punto álgido se sitúa en marzo, con el confinamiento en marcha. La situación había abrazado entonces la incertidumbre y pérdida de control absolutos con la necesidad de encarrilar la situación como fuera gobernando los pensamientos.

Así que gente preocupada hacía consultas al centro para las que en ocasiones no había respuestas. Otras escribían deseando ánimo y suerte con las investigaciones, a las que se sumaban quienes agradecían el esfuerzo puesto en los proyectos en marcha. Incluso se presentaron voluntarios para probar los candidatos vacunales cuando fuera necesario. Algunos también lanzaban insultos conspiranoicos. Y entre esos contactos de

principios de confinamiento, espejo social de las vidas en las casas, apareció algo completamente novedoso para el CNB: las donaciones.

Las personas volcaron en la ciencia sus esperanzas y qué mejor que apoyar económicamente los proyectos, aunque fuera con lo mínimo. Igual que las llamadas de la prensa, el goteo se convirtió en riada. La multitud de muestras de interés se iban gestionando a marchas forzadas con procedimientos muy farragosos administrativamente cuya aplicación hasta el momento había sido anecdótica. Semejante gesto desde luego no era algo habitual ni para este ni para los otros centros del Consejo. Ahora resultaba imposible asumir las donaciones mediante los mecanismos establecidos, por lo que hubo que aprender a gestionar este nuevo patrimonio.

Para ello se creó una entrada específica en la web del Consejo a través de la cual canalizar las solicitudes, que llegaban por diversos frentes. También se actualizó la forma de gestión y así absorber y dirigir el flujo de dinero de una manera más eficiente, tarea centralizada por la Unidad de Comercialización y Contratos del CSIC. El capital pasó de tramitarse como un contrato de donación tras el cual se hacía el ingreso a la cuenta bancaria del instituto en cuestión, el CNB en este caso, a que todas las donaciones fueran destinadas a la cuenta central del CSIC. También se eliminó la necesidad de contrato para cuantías inferiores a 5000 euros. Con una transferencia a dicha cuenta bastaba.

A qué o quién quería dirigir su dinero el donante dictaba el uso de este. Si la muestra de interés llegaba al CNB para la investigación sobre coronavirus, aunque se tramitara de forma centralizada desde el CSIC, el centro se quedaba con la cantidad íntegra y decidía cómo gestionarlo. Si en el asunto se especificaba el grupo o el proyecto al cual quería ir destinado, el dinero se redirigía a la cuenta bancaria de ese proyecto. Y si el dinero iba destinado al CSIC, el Consejo elegía cómo repartirlo entre sus centros. Precisamente, con estos ingresos al Consejo se financiaron muchos de los proyectos impulsados por la PTI Salud Global.

Entre las historias más personales que riegan el correo de donantes se encuentra el contacto de Javier Vispe Mur, en aquel entonces maestro del Colegio Rural Agrupado Cinca-Cinqueta, en el Pirineo de Huesca. Como proyecto de clase durante el curso anterior a la pandemia, su alumnado había elaborado un libro ilustrado escrito en las diferentes variedades del aragonés de la zona, que muchos de estos niños y niñas ya ni entienden. La temática era el carnaval, una de las celebraciones más populares de la comarca de Sobrarbe, a la que pertenecen las seis escuelas que componen el colegio. Tal es así que la festividad resta protagonismo incluso a las fiestas estivales.

El proyecto contaba con una segunda parte enfocada en la educación en valores del alumnado. Otros años habían acudido a ferias locales para vender marcapáginas y donar luego el dinero de las producciones a diversas ONG. En esta ocasión, de la posterior venta de los ejemplares, sobre todo entre familiares y conocidos, disponían de una pequeña cantidad de dinero que, dada la situación, Vispe Mur vio especialmente interesante donar a la investigación contra la covid. Otra motivación para apostar por la ciencia era que llevaban un tiempo tratando el tema de los referentes científicos para las niñas y, de esta forma, gracias a la donación podrían hacer mayor hincapié en el asunto.

De cultura tradicional y proyectos literarios trata también la historia en torno a la aportación del Ayuntamiento de Verín. Este municipio de la provincia de Ourense organiza desde la década de los ochenta la *Festa dos Maios* o Fiesta de los Mayos. Los *maios* son una tradición popular gallega de celebración de la primavera. Para ello se organiza un desfile por calles y plazas en torno a una escultura, el *maio*, elaborada con elementos como hojas o flores a modo de representación de la naturaleza. Los festejos se acompañan con unos versos en forma de coplas en clave humorística e irónica sobre los acontecimientos del año. La manifestación ha ido evolucionando en Verín y en la actualidad todas las personas involucradas en la fiesta participan en una copla conjunta. El Ayuntamiento luego la edita en una publicación en forma de folleto y la recaudación por su venta se destina a alguna acción social.

Con la coyuntura de la pandemia no pudieron hacer realidad la *Festa dos Maios* en la forma habitual. Así que el Concello promovió una copla solidaria con la vacuna contra la covid que se divulgó en formato digital, a través de un enlace de libre acceso con éxito de descargas. Con el dinero no gastado en las fiestas en la calle, Verín apoyó la investigación del CNB para la vacuna contra la covid. El Ayuntamiento eligió tal causa al considerarla como la iniciativa más movilizadora a nivel social, pues buscaba que no solo la entidad se implicara, sino alentar a la población y al tejido asociativo del pueblo a que también lo hiciera. Los ánimos calaron en Verín, pues diversas asociaciones y personas del municipio también colaboraron.

Moisés Cerezo es otro particular que quiso apoyar al CNB, solo que él lo hizo en forma de pintura al óleo. Este pintor y músico autodidacta ha donado un cuadro donde aparecen las figuras principales de los dos laboratorios del centro más citados en la lucha contra el SARS-CoV-2: los laboratorios de Poxvirus y Vacunas, y de Coronavirus.

La idea surgió en pleno confinamiento, tras haber visto el artista un reportaje en televisión que mostraba la labor de los científicos durante la pandemia. Cerezo quiso, de alguna manera, contribuir con sus pinceles a modo de agradecimiento. Se puso en contacto con el centro, explicó su historia y, gracias a la intermediación de Susana de Lucas, creó la pieza. La obra se llama «Grupo de investigadores del CNB» y representa al grupo de científicos inclinado sobre la representación de una placa con SARS-CoV-2 inactivo. La creación se inspira en el cuadro «Una investigación», de Joaquín Sorolla, una idea de proyecto que ya llevaba varios años rondando la cabeza de Cerezo, quien pensaba que una escena parecida flotaría ahora en el imaginario colectivo.

Al otro lado de los modestos particulares quedan grandes empresas y fortunas que donaron cantidades muy suculentas para los grupos de investigación del centro. Nombres como Ferrovial, Grupo Catalana Occidente a través de la Fundación Jesús

Serra, HP o World Leadership Alliance-Club de Madrid protagonizan algunos de los mayores pellizcos.

En este apartado de grandes empresas hay espacio también para historias singulares como Makro, que donó al CNB parte de la cantidad recaudada por la venta de una edición solidaria de su vino «La Sastrería» lanzada para la ocasión y de cestas de Navidad. O Fundación Multiópticas, la cual llevó a cabo una recaudación para el Laboratorio de Coronavirus por la venta de productos solidarios a lo largo del 2020. A la labor de dicho laboratorio contribuyó a su vez la galerista Helga de Alvear quien, de alguna manera, estaba relacionada con el grupo. El ya fallecido comisario de la colección de Alvear, José María Viñuela, era hermano del investigador Eladio Viñuela, quien a su vez fue jefe del director del grupo, Luis Enjuanes. La Ganadería el Pilar, por su parte, sorteó objetos históricos como la cabeza disecada del toro «Pucherero» para contribuir a la investigación del Laboratorio de Poxvirus y Vacunas.

La lista no acaba aquí y delimitarla resulta una tarea cuanto menos compleja. Una placa en la entrada del CNB homenajea a algunas de las empresas e instituciones que apoyaron económicamente al centro. Todas ellas y algunos particulares fueron invitados a un acto celebrado en septiembre del año 2022, donde se presentó el estado de algunos de los proyectos que habían contribuido a financiar. Los asistentes pudieron asimismo conocer a los investigadores que los desarrollan y parte de las instalaciones científicas del centro.

DEL LABORATORIO A LA SOCIEDAD

La ciencia se puso en marcha para dar con soluciones a la pandemia. Pero ¿cómo hacer efectivos esos resultados? ¿Cómo una posible vacuna en su versión más inmadura

dentro de un tubo de ensayo acaba siendo comercializada? El engranaje que materializa la investigación en respuestas prácticas requiere de la participación de compañías que sepan dar forma y hacer realidad un producto en el mercado.

Aquí entra en acción el personal encargado de la transferencia de conocimiento del CSIC, cuyo organismo responsable es la Vicepresidencia Adjunta de Transferencia de Conocimiento (VATC) dirigida por Ana Castro, y del CNB, integrado por Cristina Merino. Su labor implicó, e implica, gestionar y apoyar los avances científicos que iban saliendo del centro para que llegaran a la sociedad lo antes posible. De esta forma, los frutos de las investigaciones podían implementarse y ejercer su papel en la contención de la pandemia. El trabajo supuso la protección de los resultados, la búsqueda de empresas interesadas en su desarrollo, su comercialización y la firma de contratos con dichas empresas.

Normalmente el traslado de conocimiento y tecnología al mercado llega hacia el final de un largo proceso que comienza con una pregunta científica. La transferencia se pone en marcha una vez van apareciendo ciertos logros en la investigación sobre los que empezar la partida comercial. Los científicos responsables contactan en ese momento con las personas expertas en transferencia, que revisarán los resultados para dar con la forma más eficiente de protegerlos mediante patentes o secreto industrial, entre otras. Una vez seguros de que la invención está convenientemente protegida, da inicio la búsqueda de una empresa interesada en continuar su desarrollo al mercado y explotar dichos resultados científicos. A partir de ahí se negocia un acuerdo de licencia para la transferencia de los derechos de explotación por parte de la compañía de ese avance científico del CSIC. Una especie de «alquiler de la ciencia» para que los frutos de la investigación lleguen al mercado.

En el caso de la pandemia no fue así. Había prisa por lo que las conversaciones con las compañías llegaron desde el minuto uno, sin esperar a tener los datos sobre la mesa. A

partir de un listado de los proyectos de investigación relacionados con el SARS-CoV-2 en desarrollo en el CSIC, se empezaron a buscar empresas interesadas en los mismos. Semejante aproximación otorgaba dos ventajas principales. Además de asegurar las compañías para el futuro desarrollo de los productos, nadie mejor que estas sabe las exigencias requeridas a la hora de sacar una vacuna, terapia o método de diagnóstico al mercado. Así que contar con una empresa que colabore con la investigación desde un primer momento puede guiar el camino teniendo en cuenta los requisitos comerciales y, de esta manera, acelerar el proceso de hacer efectiva la solución.

En algunos casos, la misión de emparejar compañías y ciencia se llevó a cabo en unas pocas semanas, las primeras de la pandemia, gracias al ofrecimiento por ambas partes. Tanto investigadores como empresas contactaban con el personal experto en transferencia del Consejo y del propio CNB para ofrecer lo que estuviera en su mano. Sinergias anteriores facilitaron mucho el trabajo presente al haber forjado ya relaciones de confianza previas que allanaban el camino. Por ejemplo, en el desarrollo del test serológico que acabaría por llegar a la Organización Mundial de la Salud (OMS),⁶ participó la empresa Immunostep que, desde hacía años, colaboraba con algunos de los investigadores del proyecto. Así que en cuanto se ideó la investigación, empezaron a trabajar juntos en este nuevo método de diagnóstico.

La búsqueda de soluciones para la pandemia se ha traducido en un incremento en el número de contratos empresariales en el CNB. En el año 2019, se gestionaron 152 contratos. El total para el año 2020 ascendió a 256 de los cuales 148 estaban relacionados con investigaciones covid. Para reforzar el avance de estas invenciones, y otras muchas del CSIC, se creó en septiembre del 2020 la Oficina de Apoyo al Desarrollo de Terapias

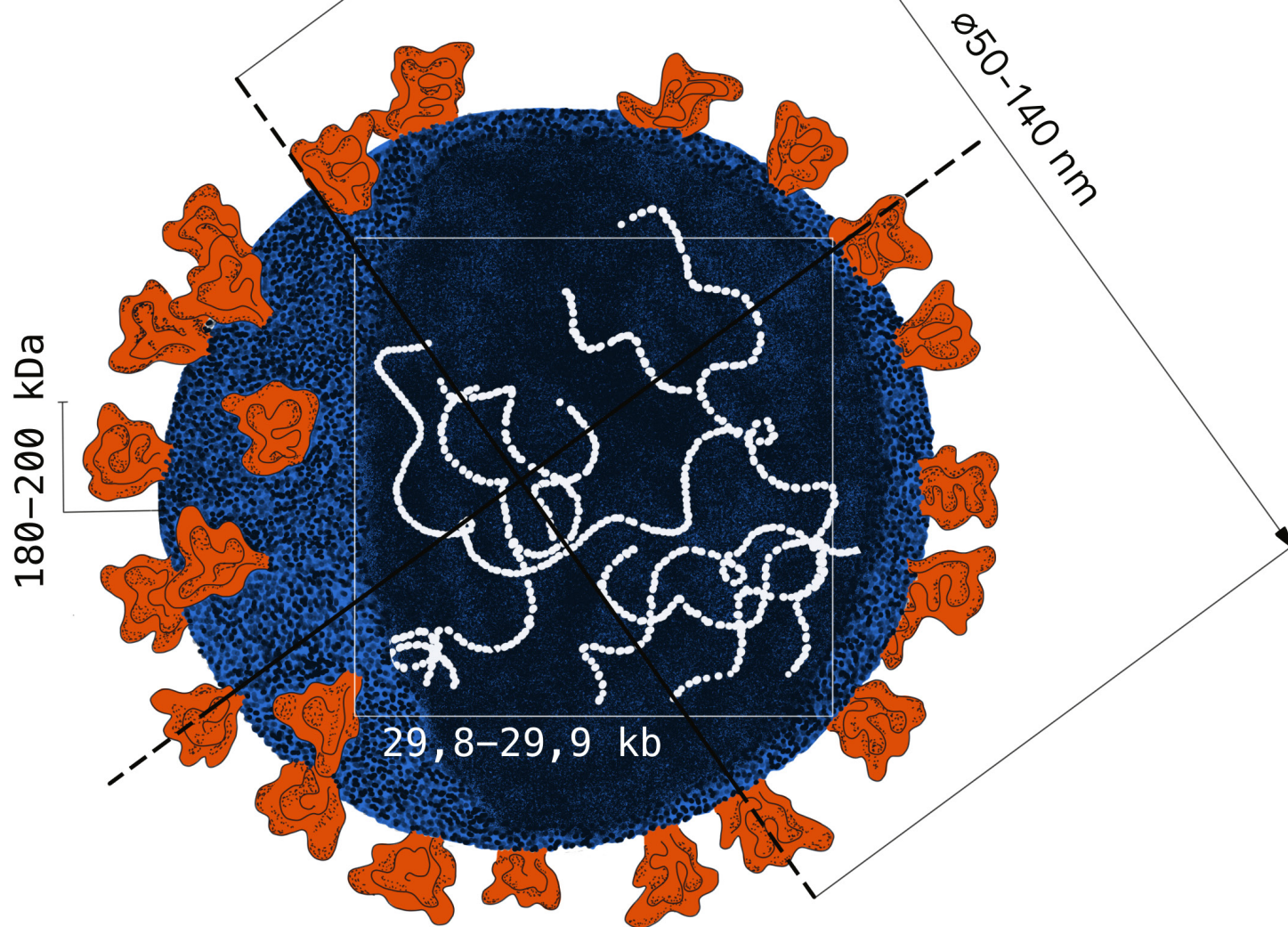
6 Se explica en el capítulo «Un test para la OMS», incluido en el bloque 4.

y Vacunas COVID-19, liderado por Ana Sanz y adscrito a la VATC. Este departamento exclusivo para temas relacionados con el coronavirus ha gestionado proyectos al más alto nivel, especialmente para las vacunas, que implicaban un seguimiento semanal con el Ministerio de Ciencia e Innovación y una estrecha relación con la VICYT. Eran reuniones muy estratégicas y ejecutivas para analizar el estado de cada proyecto y decidir los siguientes pasos a dar. El trabajo aquí no se limitaba a buscar empresas que licenciaran las tecnologías, sino a participar, junto con tales compañías, en su desarrollo hasta al menos las primeras etapas de los ensayos clínicos.

Para lo último, el CSIC se puso en contacto con la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) y lo hizo ya desde los inicios de la pandemia. La AEMPS es la encargada de aprobar los ensayos clínicos en España, así que puede marcar qué datos necesita para ello. Se estableció una relación muy estrecha con el organismo, con reuniones bastante frecuentes en las que el equipo de transferencia y el personal investigador implicado presentaban los avances de los proyectos. Precisamente el asesoramiento de la AEMPS reforzó aún más esta puesta en marcha de dar con compañías que escalaran industrialmente las investigaciones.

BLOQUE 1

CONOCER AL VIRUS: ESTRUCTURA Y ACTUACIÓN DEL SARS-COV-2



El SARS-CoV-2 llegó como un coronavirus similar a otros ya existentes, pero nuevo, al fin y al cabo. Había que conocerlo. Algunos de los pasos básicos para ello eran comprender su estructura, cómo se acopla a la célula para infectarla o qué hace una vez dentro del organismo. Porque los virus, que prácticamente se componen de un libro de instrucciones narrado en sus genes, no son autosuficientes. Requieren de una célula hospedadora en la que replicarse. Se adentran en ella y secuestran la maquinaria celular para usarla en su beneficio. De esta manera, pueden generar copias de su material genético, a la par que crean nuevas partículas virales con las que colonizar más células arrasando con todo por el camino. Ello los convierte en entes entre lo muerto y lo vivo que necesitan de otros organismos para sobrevivir como especie.

Por semejante idiosincrasia, las múltiples aproximaciones llevadas a cabo en el CNB para revelar la naturaleza del novedoso patógeno han puesto el foco tanto en el virus en sí, como en su interacción con nuestro cuerpo. Con ello, buscan arrojar luz sobre el proceso infectivo. Ciencia básica para llegar al objetivo final donde ha estado hermanada globalmente la comunidad científica: frenar al SARS-CoV-2 como sea.

RETRATAR EL MOVIMIENTO DE LA FAMOSA PROTEÍNA S

Una parte clave de la estructura del coronavirus en la infección es la proteína S de su envuelta, también conocida como espícula o *spike*. Además de configurar la característica corona de pinchos⁷ alrededor del virus y desencadenar la respuesta

⁷ La familia coronavirus o *Coronaviridae*, a la que pertenecen SARS-CoV-1, SARS-CoV2 y MERS-CoV, recibe su nombre por la apariencia de estos virus en el microscopio electrónico, con numerosas proteínas en su superficie en forma de una especie de corona.

inmunitaria⁸ en el organismo, la espícula ejerce de llave para que el SARS-CoV-2 se adentre en las células. Lo hace mediante la unión al receptor ACE2 de la superficie de estas, lo que induce la fusión de la membrana del virus a la de la célula con la consiguiente inyección del genoma viral. A partir de ese momento el invasor toma las riendas. La fábrica de virus está en marcha.

Entender la estructura de la proteína S ayuda, por tanto, a comprender cómo el SARS-CoV-2 inicia la infección. Y conocer el funcionamiento de la llave en su cerradura, tal vez permita bloquearlo para que no se abra la puerta. Una aproximación al estudio de la proteína de la espícula es la llevada a cabo por la Unidad de Biocomputación del centro, coliderada por Carlos Oscar Sorzano y José María Carazo. Su trabajo consiste en implementar métodos computacionales para obtener la estructura en tres dimensiones de la espícula a partir de imágenes, que son bidimensionales, de la proteína. Por un lado, desarrollan las ecuaciones y algoritmos para dar con programas informáticos que extraigan dicha información tridimensional. Por otro, procesan las imágenes del virus con estos programas.

Las «fotos» de las que parten se obtienen mediante criomicroscopía electrónica. El virus es minúsculo y la proteína S aún más. Esta mide unos 10 nanómetros, por lo que hacen falta muchos aumentos para poder visualizarla. Las mayores lupas existentes son estos enormes microscopios, que alcanzan resoluciones atómicas gracias a emplear electrones en vez de luz⁹ y requieren la conservación de las muestras a casi -200°C . Los aparatos producen miles de capturas en forma de ráfagas tomadas durante horas. A partir de estas colecciones de imágenes compuestas por píxeles en blanco y negro, la

8 No es la única proteína del SARS-CoV-2 con capacidad para ello, pero sí la principal.

9 La explicación reside en que la longitud de onda de los primeros es menor que la de los fotones de la luz que usa un microscopio estándar. Y ese tamaño de longitud de onda determina el límite del aumento.

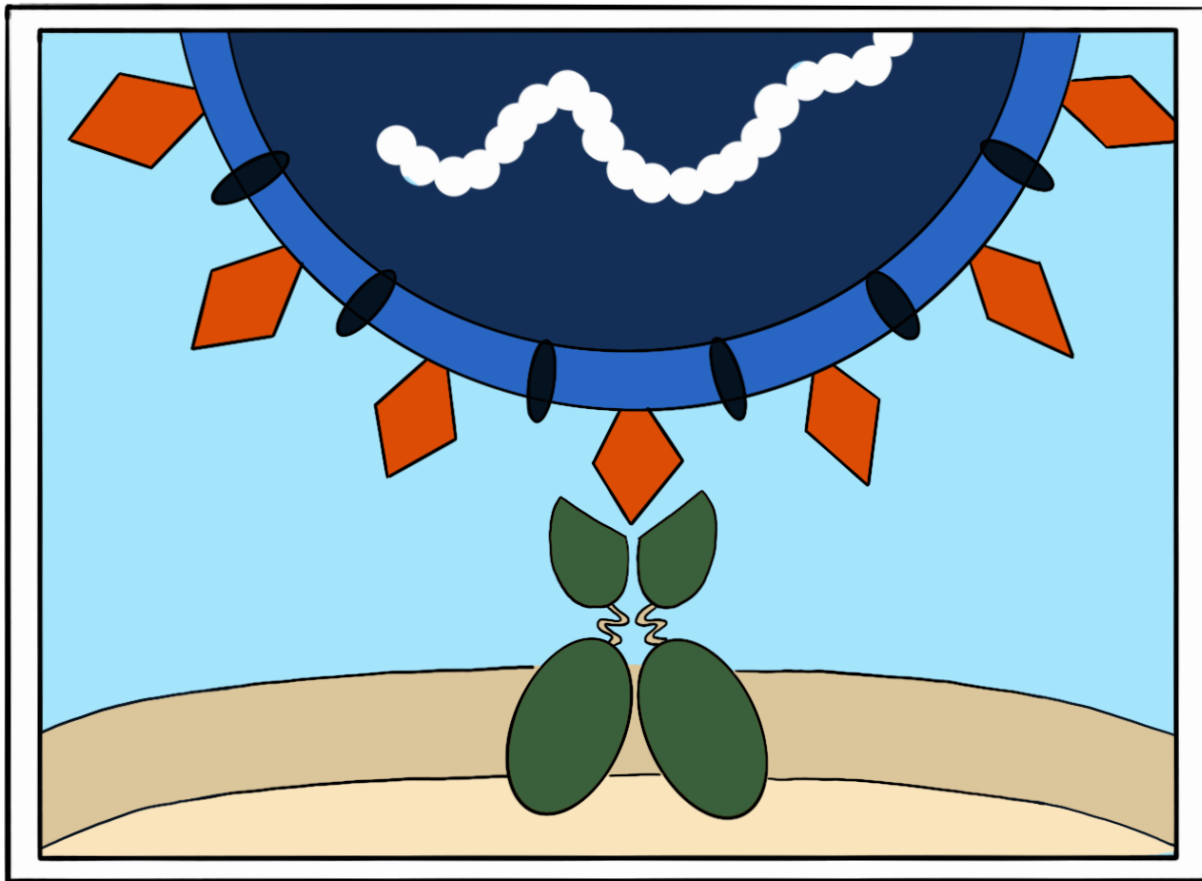
Unidad de Biocomputación trata de desvelar la organización de los átomos y, por ende, de la proteína.

Antes de la llegada de la pandemia, el grupo trabajaba en el diseño de un nuevo programa que permitiera estudiar estructuras biológicas con una característica compartida por la proteína S: la flexibilidad. En el caso del SARS-CoV-2 resulta básico entender cómo la parte que se acopla a las células humanas, el dominio RBD (del inglés *receptor-binding domain*, dominio de unión al receptor celular), interacciona con el receptor celular. Es como si cada pincho de la corona contara con un dedo en el extremo que se mueve para buscar las células y engancharse. Dicha interacción implica cierta flexibilidad.

Tener en cuenta esa característica es un problema matemático complicado de resolver porque implica entender el movimiento a partir de imágenes y la esencia de las imágenes es, precisamente, congelarlo. Tanto así, que la versión anterior del programa, diseñado en el 2007 por el grupo y ampliamente usado en todo el mundo, asumía que las macromoléculas se movían a trompicones, a pesar de no ser cierto. Habían simplificado la cuestión para poder abordarla. Ahora, 15 años después, se acercaban a captar el movimiento continuo del mundo microscópico.

Si bien las ecuaciones y algoritmos definitivos aún no estaban listos cuando llegó el SARS-CoV-2, la Unidad de Biocomputación pudo aplicar una primera generación del nuevo programa, llamado Zernike 3d. El trabajo resultante, desarrollado en plena presión pandémica, obtuvo la primera información sobre la flexibilidad de la espícula. Se publicó en julio del 2020 y en él se revela el movimiento coordinado de diversas partes de la espícula. En el proceso de buscar y acoplarse al receptor ACE2 de la célula, no solo se mueve la zona que interacciona con esta, el dominio RBD. En cambio, toda una zona anterior llamada dominio N-terminal acompaña el desplazamiento. O sea, no solo se modifica la llave, la mano que la introduce en la cerradura, también lo hace.

Los datos de partida del grupo venían de un laboratorio de la Universidad de Texas en Austin (EE.UU.), liderado por Jason McLellan, el cual ya en febrero del 2020 había revelado la estructura de la espícula. De hecho, el desarrollo de las primeras vacunas contra la covid se basó en sus resultados. El programa antiguo de la Unidad del CNB sirvió para que McLellan y su equipo procesaran sus imágenes de criomicroscopía electrónica. Ha sido el reprocesamiento de los mismos datos, pero con las nuevas matemáticas, lo que ha permitido desvelar el movimiento de la espícula.



El final de los confinamientos supuso la libre circulación de las personas y con ella la aparición de las variantes.¹⁰ A principios de verano del 2020 emergió una nueva variante en España, en pocos meses predominante en el territorio y en Europa. El CSIC constituyó un grupo de trabajo¹¹ entre varios institutos del Consejo y coordinado por José María Carazo; una treintena de personas que llevó a cabo un análisis muy profundo de dicha variante, bautizada 20A.EU1. Específicamente se centraron en una mutación de su espícula que reaparecería un año más tarde de manera independiente en la versión Delta del virus. Si la mutación estaba volviendo, es porque hacía algo importante.

El trabajo, en colaboración con el Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV, CSIC), el Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB, CSIC) y el Instituto de Investigación Biomédica (IRB Barcelona) mostró que el cambio era mínimo: tan solo un aminoácido alejado del dominio RBD, pero con un efecto muy claro en la dinámica de este. La modificación se hallaba precisamente en el dominio N-terminal y provocaba que el RBD explorara un mayor espacio de conformaciones, es decir, movía más la mano que lleva la llave. El grupo hipotetizó sobre el posible efecto de la alteración en las vacunas del momento. Los datos sugerían que carecería de impacto, pero realmente no pudo ser comprobado porque delta y ómicron se hicieron con el mapa.

Ómicron es precisamente el objetivo de la Unidad de Biocomputación en la actualidad, en paralelo al desarrollo de la matemática de Zernike 3d. Puestos en marcha

10 Cuando hay una transmisión alta del virus, este tiene más oportunidades de replicarse y, por tanto, de generar mutaciones durante el proceso de copia de su genoma. Algunas de esas mutaciones podrán ser beneficiosas para el virus y podrán ser seleccionadas.

11 El trabajo se engloba dentro de la red de vigilancia genómica, impulsada por el Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV), CSIC y el Instituto de Biología Integrativa y de Sistemas (I2SysBio, CSIC-Universidad de Valencia), establecida para detectar las variantes del virus y caracterizar su posible impacto en salud pública. La identificación de la variante 20A.EU1, imprescindible para el posterior estudio, se llevó a cabo gracias al trabajo de ambos centros.

los mecanismos para estudiar la flexibilidad continua de la espícula, ahora los están aplicando a las distintas subvariantes del virus actual. Quieren observar la diferente flexibilidad en cada una, así como la de ómicron inicial. La intención del grupo es mantener la línea de trabajo para las futuras versiones de coronavirus más relevantes en cada momento.

Esta investigación se nutre de un proyecto canadiense que genera datos de criomicroscopía electrónica liderado por Sriram Subramaniam, de la Universidad de Columbia Británica, en Vancouver. Su equipo está haciendo un seguimiento de las variantes del SARS-CoV-2 y produce unas excelentes imágenes. Gracias al trabajo de los canadienses, los biocomputadores del CNB no necesitan dar los pasos previos aplicados en el estudio de la variante española, sino que directamente analizan unas imágenes de la más alta resolución, un proceder similar al de su primer estudio.

Al igual que el proyecto canadiense y los trabajos nacionales descritos, numerosos científicos de todo el globo desarrollaron investigaciones para desenmascarar la estructura de la proteína S. La información se recoge dentro de la base de datos 3DBionotes implementada por el grupo del CNB. Este portal recopila información desde una perspectiva estructural que conecta con aquella bioquímica y biomédica. Se trata de un recurso para la integración e interoperabilidad de datos biomédicos promovido por la infraestructura bioinformática europea ELIXIR. Dicha organización nació en el 2013 para coordinar los recursos de almacenamiento, acceso y desarrollo del *software* para el análisis de información biológica de todo el continente.

Durante la pandemia, el grupo del CNB desarrolló una versión específica, 3DBionotes COVID-19 edition, para información relacionada con coronavirus de tal forma que todos los estudios estructurales sobre el SARS-CoV-2 quedaran ahí reflejados. La plataforma incluye infografías hiperrealistas del virus, secuencias genéticas o resultados de

fármacos experimentales. Todo un esfuerzo para unir estructura y función en un portal accesible para cualquiera.

Cribado virtual de fármacos y análisis genómicos

La biocomputación tiene multitud de aplicaciones. El equipo del CNB también ha colaborado a la causa covid diseñando una extensión de un *software* para cribar antivirales mediante ordenador. Ha participado a su vez en la identificación de aquellas mutaciones del SARS-CoV-2 asociadas con cuadros clínicos graves.

Un cribado experimental de fármacos requiere un montón de recipientes donde cultivar células a las que infectar con el virus y añadir el compuesto a probar para ver si las protege de la infección. Esta aproximación, aunque necesaria, tiene en su contra que es cara y requiere de recursos materiales y temporales. Por su parte, el cribado virtual implica seleccionar posibles fármacos, pero con un ordenador, con el resultado de evitar la parte experimental y ser mucho más rápido.

La Unidad de Biocomputación ha desarrollado para ello Scipion-Chem. Se trata de una ampliación del *software* Scipion, diseñado hace años por el grupo para el procesamiento de imágenes de microscopía electrónica, específica para el cribado de fármacos. Con Scipion-Chem el equipo ha logrado un formato de cribado muy fácil de utilizar y con resultados fiables. Porque si bien los cribados virtuales cuentan con las ventajas mencionadas anteriormente, también se «equivocan» bastante. Cuando se prueba una serie de compuestos en un determinado programa informático, es muy probable que el resultado de potenciales antivirales difiera del obtenido mediante otros programas diseñados con el mismo objetivo. En cambio, si se combinaran muchos programas diferentes sería más probable llegar a un punto de acuerdo. Scipion-Chem se encarga precisamente de

eso al extraer información común a varios *softwares* empleados en el cribado de fármacos y, por tanto, más robusta.

El segundo proyecto mencionado versa sobre el análisis del efecto de las mutaciones del SARS-CoV-2 en la gravedad de los pacientes. Cada vez que el virus se multiplica y copia su información genética va introduciendo errores al azar, las mencionadas mutaciones, las cuales pueden modificar el comportamiento del virus. Este proyecto, liderado desde la PTI Salud Global, buscaba dar con aquellas modificaciones ligadas a una mayor gravedad en las infecciones.

A partir de más de 27 000 secuencias genéticas de SARS-CoV-2 extraídas cada una de un paciente diferente, el grupo del CNB tuvo que dar con la forma informática para identificar aquellas mutaciones relacionadas con los casos graves. El cometido no era nada trivial pues cada secuencia cuenta con 28 000 letras entre las que buscar aquellas mal copiadas y, de esas, cuales tienen como resultado un efecto perjudicial para las personas.

EL CENTRO DEL SARS-COV-2: ESTRUCTURA DE LA NUCLEOCÁPSIDE

Los virus tienen genes. Algunos los escriben en forma de ADN y otros en forma de ARN,¹² como el SARS-CoV-2. En algunos de ellos el material genético se presenta como una nucleocápside, un complejo que hace las veces de núcleo y donde se producen las funciones más importantes de los patógenos. La nucleocápside es responsable de originar las copias del mensaje genético y, a partir de ellas, producir las proteínas para ge-

12 El hecho de guardar su información genética en forma de ARN le lleva a mutar con mayor rapidez que si fuera un virus de ADN, de ahí la velocidad en la aparición de nuevas variantes.

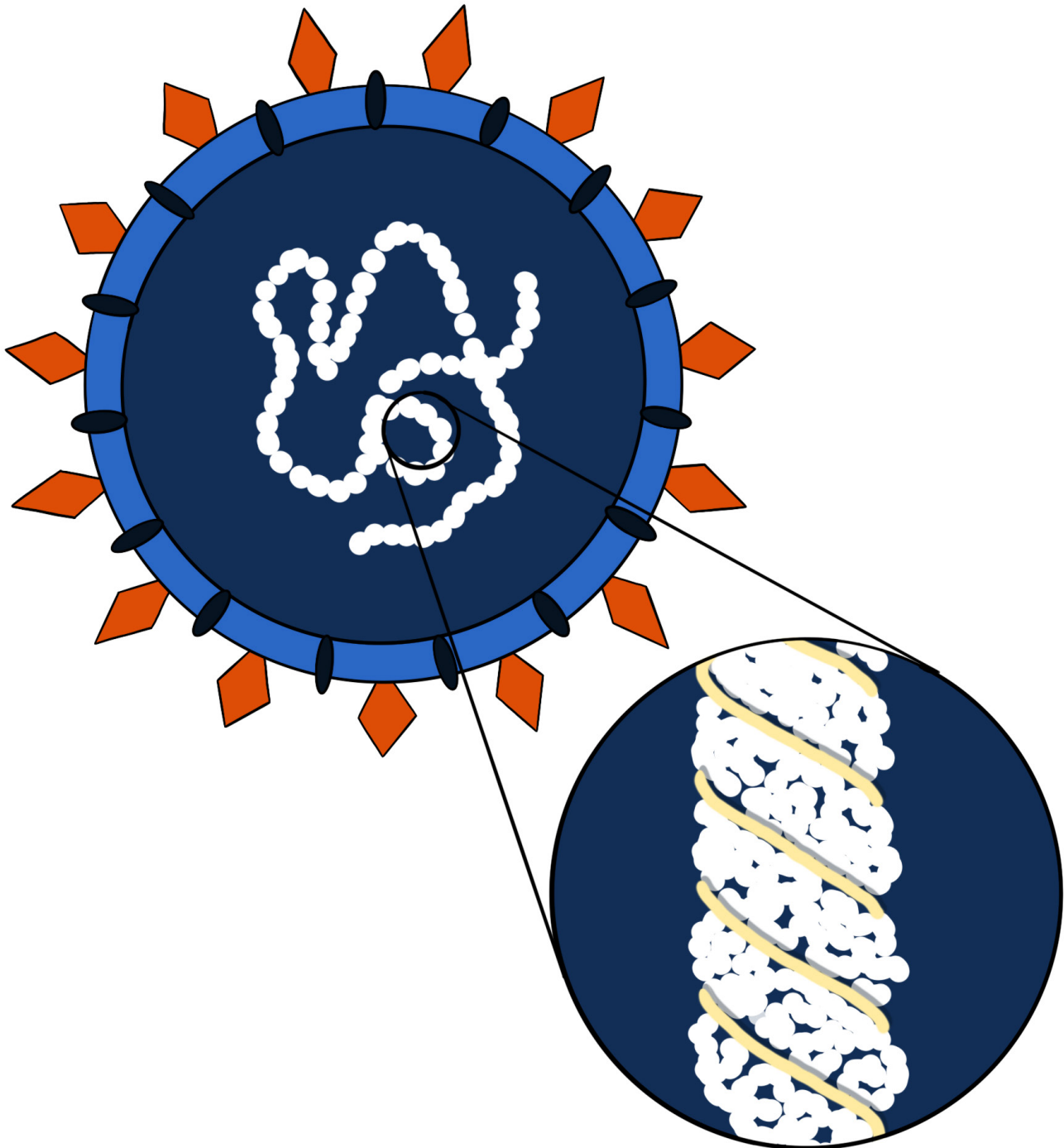
nerar la descendencia viral. Por otro lado, las hebras de genes pueden encontrarse desparramadas por el interior del virus. O pueden establecerse unidas a proteínas y formar un complejo conocido como ribonucleoproteína, la forma elegida por los coronavirus.

En entender la nucleocápside con sus ribonucleoproteínas en el SARS-CoV-2 ha centrado su interés el grupo de Ultraestructura de Virus y Agregados Moleculares, dirigido por Jaime Martín-Benito. La experiencia del Laboratorio sobre este pseudonúcleo en el virus de la gripe A ha hecho posible el nuevo proyecto covid.

La nucleocápside es la parte más compleja de un virus y estructuralmente muy difícil de estudiar. De hecho, la primera vez que se vio en el microscopio la del patógeno de la gripe fue en el año 1972. Pero hubo que esperar hasta el año 2012 para que se resolviera cómo era esa estructura. Lo hizo el grupo de Martín-Benito y les llevó cinco años.

El primer motivo para ello es que se trata de una molécula «gigantesca», especialmente en el caso de los coronavirus. El ARN del SARS-CoV-2 tiene unos 30000 nucleótidos —las piezas que construyen el ADN y el ARN— estructurados en una única cadena unida a proteínas. El ARN del virus de la gripe A, en contraste, lo forman 8 segmentos de diferente tamaño con un promedio de 2000 nucleótidos cada uno.

Pero el mayor reto es, de nuevo, la flexibilidad. Se trata de una molécula muy larga que puede enrollarse de muchas maneras. Como un espagueti. Por ello resulta inviable hacer estudios estructurales sencillos, porque cada vez se toma una imagen de un virus o de su nucleocápside esta aparece como un ovillo diferente. Hay que estudiarla mediante fragmentos. ¿Cómo? Analizando trozos homogéneos entre sí lo más pequeños posible para observar bien la unión de las proteínas al genoma. Determinada la estructura del fragmento individual, que incluye cuatro o cinco de estas proteínas con su trozo de ARN, se puede deducir la estructura completa de la repetición del mismo.



El laboratorio de Martín-Benito es uno de los pocos capaces de lidiar con la estructura de nucleocápsides flexibles como la de la gripe A. Por esa razón pensaron en intentarlo con el SARS-CoV-2. Cuando se empezaba a hablar de un virus en Wuhan de procedencia animal, el grupo se intranquilizó un poco. Los virus zoonóticos como este pueden resultar bastante complicados, sobre todo si son de transmisión respiratoria. La población no tiene anticuerpos protectores contra un patógeno nuevo para su especie, con lo cual se puede convertir en un problema de salud bastante grave. El equipo lo sabía porque la gripe A es un virus procedente de aves que afecta a mamíferos como nosotros. Por ello, cuando en marzo la dirección del CNB contactó con su departamento para solicitar una propuesta de investigación, en este laboratorio ya la tenían pensada.

El trabajo ha comenzado como un proyecto piloto con el coronavirus porcino TGEV o virus de la gastroenteritis transmisible. El SARS-CoV-2 ha de manejarse en espacios especiales con un alto nivel de bioseguridad que complica y ralentiza las tareas que el TGEV no requiere. Es inocuo para los humanos, por lo que se puede experimentar con él en laboratorios de menor nivel de seguridad. En cambio, los cerdos sufren unas terribles diarreas cuando se infectan. Pero ambos virus resultan estructuralmente iguales. Al estudiar primero la nucleocápside del coronavirus porcino, el equipo está poniendo a punto la tecnología para luego abordar la del SARS-CoV-2, pues los mismos pasos dados con el TGEV, los dará luego con el coronavirus humano, pero en condiciones de mayor nivel de seguridad biológica.

El plan es obtener imágenes mediante criomicroscopía electrónica. El Laboratorio lo hará de dos formas. En una romperán el virus para ver la nucleocápside aislada. La segunda aproximación supone someter el virus a una especie de TAC, siglas de tomografía axial computarizada. Igual que en los hospitales nos escanean en tres dimensiones alguna parte del cuerpo para retratar su forma, al virus completo se le hace un tomograma para observar el interior con la nucleocápside.

El posterior procesamiento de las imágenes para determinar la estructura correrá a cargo del laboratorio de Jaime Martín-Benito. Esta parte no resulta de hecho nada banal al ser un proceso de tratamiento de datos realmente complicado. Conseguir las imágenes del virus es cuestión de días. El trabajo de ordenador se puede extender durante meses o años.

Las características de la investigación la convierten en un proyecto a muy largo plazo y de ciencia básica, por lo que no derivará luego en la búsqueda directa de antivirales, pero sí puede valer para sentar las bases de por donde indagar. En el caso de la gripe A, conocer la estructura de la nucleocápside permitió al grupo dar con el mecanismo físico, cómo se movía esta para producir el ARN mensajero, aquel que lleva el mensaje para hacer las proteínas codificadas en los genes. Pero también les permitió descubrir el mecanismo de acción del antiviral experimental Nucleozina.

Conscientes del largoplacismo de la investigación, el Laboratorio se ha involucrado a su vez en proyectos con resultados más inmediatos. Uno de ellos trabaja en conseguir anticuerpos terapéuticos frente al SARS-CoV-2 y lo dirige la también científica del CNB Leonor Kremer.¹³ El equipo de Martín-Benito junto con el Servicio de Criomicroscopía Electrónica del centro se han encargado de retratar la unión al SARS-CoV-2 del más prometedor de los anticuerpos terapéuticos generados. Como los anticuerpos se han originado para ir dirigidos hacia la proteína S y evitar así la fusión del virus con la célula, en las imágenes se ve en qué punto se han enganchado a ella. Así, han logrado reconstrucciones donde se observa claramente cómo es esta unión.

13 La investigación se explica con mayor detalle en el capítulo «Un mismo grupo, muchos anticuerpos», incluido en el bloque 3.

CADENA DE MONTAJE DE VIRUS

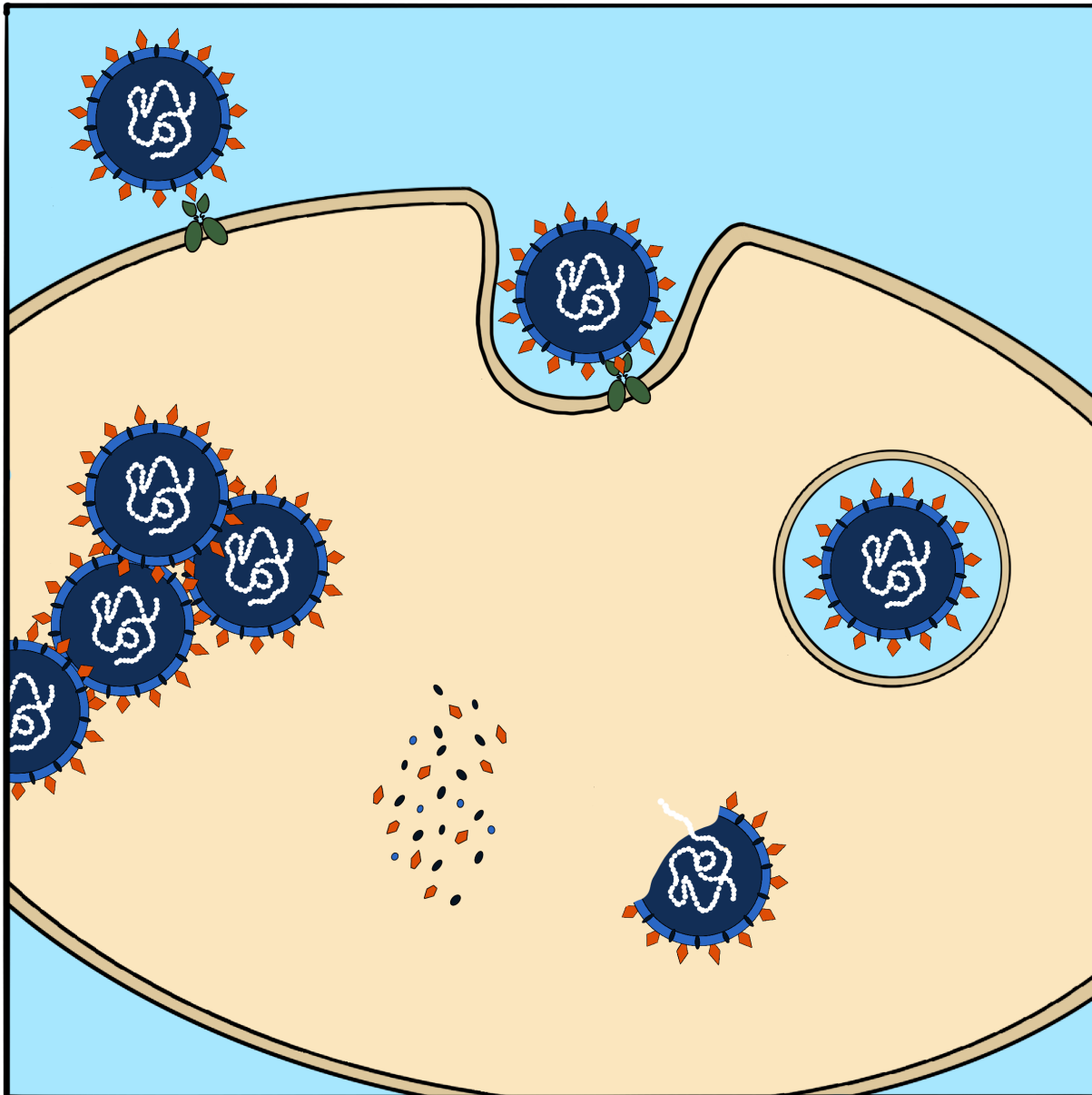
Una vez en el interior de la célula, con las copias del genoma hechas y las proteínas que van a formar las siguientes partículas virales sintetizadas, un virus debe ensamblar sus partes. El proceso no queda a merced del azar. Todo está orquestado para dar con una progenie perfectamente competente.

El grupo de Determinantes Físicos y Estructurales del Ensamblaje Viral, dirigido por Carmen San Martín, trabaja en entender los principios que gobiernan este paso, técnicamente conocido como morfogénesis. Con la necesidad de conocer mejor al patógeno recién llegado, los integrantes del grupo pusieron sus conocimientos al servicio de la comprensión de este. Necesitaban para ello partir de algo que dominaran. Y si una cosa saben hacer para responder a las preguntas del equipo, esa es la obtención de imágenes de virus, adenovirus¹⁴ en su caso, mediante microscopía electrónica.¹⁵ En consecuencia, montaron un proyecto donde poder aplicar esta metodología al que suponía un tipo de virus nuevo para el Laboratorio.

La investigación sobre SARS-CoV-2 realmente empezó con una persona, la investigadora Gabriela N. Condezo, quien se ha encargado de llevarla a cabo bajo la coordinación de San Martín. Ya con el confinamiento en marcha y la partida del Ministerio de Ciencia e Innovación aprobada, Condezo comenzó a estudiar sobre los virus de ARN en general y de este coronavirus en particular. Quería conocer cuáles eran las estrategias que utiliza el patógeno para su ensamblaje en las células y dar con el nicho donde el grupo pudiera contribuir

14 Grupo de virus de interés tanto en campo de la virología básica como en el de la biomedicina y que causa muchas infecciones comunes como resfriados, gastroenteritis o conjuntivitis.

15 La técnica difiere de la criomicroscopía electrónica en que las muestras no se conservan a temperaturas criogénicas y se visualiza con menor detalle.



a mejorar este conocimiento. Fue una experiencia totalmente nueva para ella porque los virus con los que trabajaban guardan su información genética en forma de ADN.

Las mayores dudas por despejar en la literatura científica versaban sobre el recorrido del ARN del virus dentro de la célula del hospedador. Cuando el virus infecta, su ARN es reconocido por la célula. De él genera copias completas a la par que replica otros fragmentos más pequeños. Con estos, la propia célula producirá las proteínas que harán de ladrillos para conformar los virus «hijos». El posterior montaje de las copias junto con las proteínas dará lugar a las partículas virales. Encontrar dónde se acumulan todos estos tipos de ARN y cómo viaja por la célula el largo ARN genómico, con las proteínas de la nucleocápside acopladas, eran las preguntas a responder para el Laboratorio.

Uno de los principales pasos para iniciar el proyecto fue hacerse con el material necesario: células infectadas por el SARS-CoV-2. Los laboratorios generalmente han empleado una línea celular¹⁶ llamada Vero procedente de riñón de mono verde africano. Gracias a la colaboración de la investigadora del CNB Marta López de Diego, quien a su vez formaba parte un proyecto de investigación en el nuevo patógeno,¹⁷ contaron con las células plagadas de coronavirus y con quien las manipulara. Como agente biológico potencialmente letal, el manejo del SARS-CoV-2 debe hacerse en un laboratorio con un nivel de bioseguridad 3 para lo cual el grupo de San Martín no estaba capacitado.

Encontrar un hueco libre en las seguras instalaciones del CNB no resultaba nada fácil en los inicios de la pandemia. La mayoría de los numerosos grupos que se volcaron en el estudio del nuevo coronavirus requerían en algún momento del manejo del virus y, por tanto, del P3. Debido al hándicap del lento acceso al laboratorio P3, Carmen San

16 Cultivo de células del mismo tipo que proliferan indefinidamente.

17 Consultar el capítulo «Antivirales a escala nanométrica», incluido en el bloque 3.

Martín y Gabriela N. Condezo decidieron iniciar una aproximación paralela que aportara información útil sin el engorro de la peligrosidad de SARS-CoV-2. Optaron por estudiar también el coronavirus porcino TGEV dando comienzo la colaboración con el grupo de Jaime Martín-Benito, el cual ya tenía experiencia en el virus.

Para observar en el microscopio electrónico las células infectadas es necesario cortarlas en rodajitas ultrafinas, de unas decenas de nanómetros de grosor. El problema es que, a ojos del instrumento, todo resulta en blanco y negro, y un poco difuso por lo que mirar directamente las secciones no permite discernir qué representa cada mancha. Resulta necesario marcar el ARN o las proteínas de interés para diferenciarlos del resto.

Las técnicas empleadas para ello se llaman inmunomarcaje, en el caso de las proteínas, o hibridación *in situ* para el ARN. Ambas siguen el mismo principio que es unir una partícula de oro, que sí se ve claramente en las imágenes como un círculo negro, a la molécula objeto de la observación. Pero el oro no se pega directamente a las proteínas o al ARN. En el caso de la nucleocápside, el metal se acopla a anticuerpos específicos contra ella, y para el ARN, la partícula de oro se pega a una molécula de ARN complementaria que se hibridará con él.

En este punto surgió un problema que ha paralizado la búsqueda de ARN en las células infectadas por SARS-CoV-2. La estrategia pensada para marcar las moléculas de ARN no valía porque en este virus señalaba también otros elementos de las células. Por ello, junto con los retrasos por la espera para acceder al P3, las investigadoras han decidido centrar su estudio únicamente en el coronavirus porcino, manteniendo la colaboración con el grupo de Jaime Martín-Benito.

Otra colaboración fundamental para el desarrollo del trabajo es la del grupo Biología Estructural de Fibras Virales. Dirigido por Mark J. van Raaij, este laboratorio estudia

estructuras de proteínas a las que previamente transforma en cristales dentro de una técnica llamada cristalografía de rayos X. En el contexto de la emergencia del SARS-CoV-2, el equipo había iniciado un proyecto para estudiar en alta resolución la estructura del complejo proteína-ARN que constituye la nucleocápside mediante esta técnica, aunque también mediante criomicroscopía electrónica gracias a la ayuda del grupo de Jaime Martín-Benito. Se trataba de una aproximación complementaria al trabajo del este último. Se dispusieron para ello a diseñar estos complejos en el laboratorio. La intención es que todos fueran iguales, permitiendo estudiar la estructura como si se tratara de uno solo. Tras varios intentos resultó imposible alcanzar la homogeneidad requerida y no se continuó por esta línea de investigación a pesar de contar con la experiencia para lograrlo.

Las nucleoproteínas diseñadas en el laboratorio sí sirvieron para que sus colegas San Martín y Condezo llevaran a cabo las técnicas de inmunomarcaje. Porque generar un anticuerpo requiere primero de la proteína hacia la cuál queramos que se dirija el anticuerpo en cuestión, para luego inyectarla a un animal que produzca anticuerpos contra ella. En esta investigación emplearon ratas cuyo organismo, ante la presencia de la intrusa, produjo los buscados anticuerpos. Mientras que la nucleoproteína del SARS-CoV-2 fue relativamente fácil de producir, la proteína del coronavirus porcino se está resistiendo y mantiene ocupado al grupo.

EL SECUESTRO DEL METABOLISMO CELULAR

Nuestro cuerpo, y a pequeña escala las células, necesita energía y materiales para llevar a cabo sus funciones. La consecución de ambos elementos se produce mediante una serie de reacciones químicas que, en conjunto, constituyen el metabolismo.

Un mecanismo recurrente de la patogenicidad viral es la reprogramación metabólica. Los virus modifican el metabolismo de las células en su propio beneficio de tal manera que los recursos celulares pasan a ser suyos en este secuestro que tanto les gusta a los dependientes patógenos. De esta forma, consiguen sustancias como nucleótidos, ácidos grasos o aminoácidos para la biosíntesis de las partículas virales.

Aunque todos los virus llevan a cabo dicha alteración, cada uno usa estrategias específicas. Una colaboración de dos laboratorios del CSIC, liderada por Fernando Almazán y Francisco Iborra, ha estudiado los cambios que induce el SARS-CoV-2 en el metabolismo celular con la identificación de nuevas terapias en el horizonte del proyecto. Porque conocer a fondo la reprogramación metabólica puede ayudar a identificar los procesos esenciales para la replicación del virus y la progresión de la infección, puntos estratégicos a la hora de intervenir farmacológicamente.

Ambos investigadores habían formado anteriormente un grupo conjunto en el CNB donde se focalizaron en la interacción de los virus con las mitocondrias —elemento de la célula responsable de la producción de energía— usando como modelo diversos coronavirus y el virus de la gripe, entre otros. Sabían que las mitocondrias tenían cierto papel en el devenir de la infección viral así que se pusieron a estudiarlo a fondo. La investigación continuó hasta que Iborra se mudó al IBV justo antes de la pandemia. Con la llegada del SARS-CoV-2, volvieron a unir fuerzas para poner en el punto de mira al nuevo patógeno.

Cuando un virus modifica el metabolismo de la célula, lo acopla a su propia productividad para funcionar lo mejor posible. En este proceso, los patógenos suelen desbaratar la función mitocondrial al utilizar la fase de la glucólisis, que es el primer paso de degradación de la glucosa. Las mitocondrias, al fin y al cabo, a lo que se dedican es a producir energía a partir de glucosa. En el proceso se generan productos intermedios como los aminoácidos, ácidos grasos o nucleótidos, ladrillos para fabricar proteínas, lípidos y ácidos nucleí-

cos, respectivamente, todos ellos compuestos esenciales para formar nuevos virus. De ahí que a estos microorganismos les interese intervenir en la función mitocondrial.

El primer objetivo de este grupo pasaba por estudiar las alteraciones que el SARS-CoV-2 induce en el metabolismo de las células para así identificar la ruta metabólica afectada. El consorcio planteó, tras ello, explorar cómo el uso de fármacos dirigidos a las rutas identificadas interfiere con la infección. Cada virus usa estrategias metabólicas únicas. Debido a esto, a veces es difícil encontrar tratamientos generales, incluso para aquellos de la misma familia. En el laboratorio de bioseguridad 3 del CNB se desarrolló toda la parte del proyecto que incluía la utilización del SARS-CoV-2 infectivo. Las muestras generadas, una vez inactivadas, se enviaron al IBV para su análisis.

El trabajo, actualmente finalizado y pendiente de publicar, ha permitido confirmar que el SARS-CoV-2 induce reprogramación metabólica, como ocurre con otros virus, y se han identificado qué vías y proteínas están alteradas. Así que ya tenían la primera parte solventada para dar el salto a la segunda: revertir este efecto.

Con las alteraciones en el metabolismo inducidas por el SARS-CoV-2, o cualquier virus, lo que el patógeno intenta en último término es optimizar el ambiente, asegurarse la energía y componentes de la fábrica de nuevos virus. La estrategia farmacológica en este punto pasa por lograr que el virus no se acomode. Se puede o bien corregir la función desregulada, o bien facilitar a las células los productos usados o alterados por el virus. La idea es que el patógeno se replique lo menos posible para que la carga viral no se dispare y el organismo, la persona, tenga oportunidad para vencer la infección. En definitiva, ganar tiempo.

En este sentido, la investigación también resultó exitosa. Analizaron diferentes tratamientos dirigidos a las rutas alteradas los cuales mostraron una reducción de la infec-

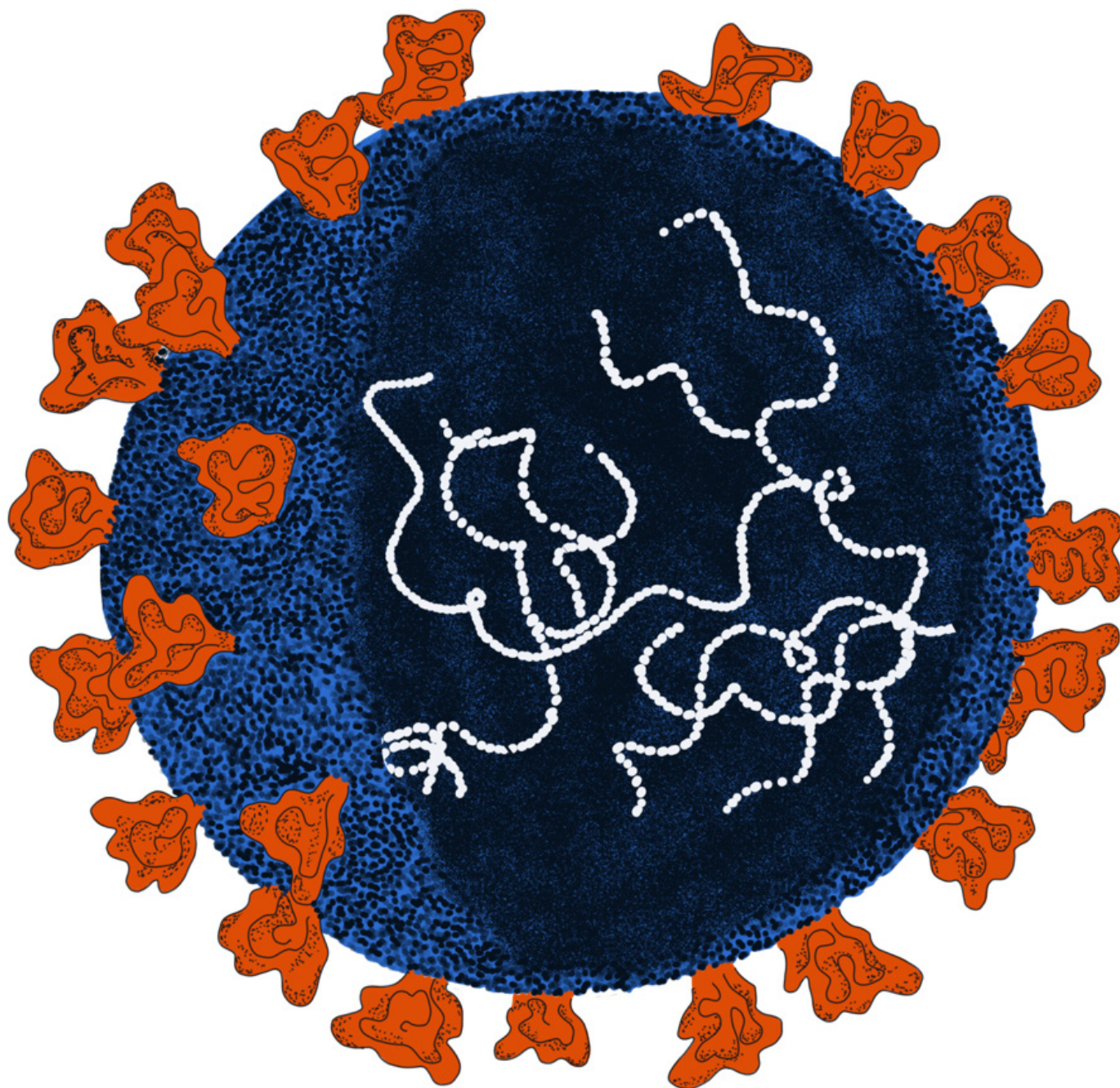
ción viral de entre un 60% y un 70% en cultivos celulares. La estrategia era igual de eficaz infectando las células antes del tratamiento o después del mismo. Lo último es especialmente significativo ya que en la aplicación clínica los fármacos se dan en una persona ya infectada, no de manera preventiva como ocurre con una vacuna.

Dado el éxito del proyecto, el equipo se planteó ampliarlo y dar el salto a modelos animales para comprobar si en ratones se frenaba a su vez el curso de la infección. Finalmente han optado por publicar los resultados de la idea original con la intención de que resulten útiles para que otros laboratorios puedan llevar a cabo los ensayos en organismos vivos.

UNA IMAGEN HOLÍSTICA Y MOLECULAR DEL DESBARATE CELULAR DURANTE LA INFECCIÓN

Eran ya 35 los años que el Laboratorio de Coronavirus del CNB llevaba estudiando esta familia de virus. A la cabeza Luis Enjuanes e Isabel Sola, nombrada codirectora unos años antes de la pandemia. Por ello, la confirmación del agente detrás de la misteriosa neumonía como miembro de su familia de virus predilecta inició el resorte para incorporarlo a la cartera de patógenos explorados.

No son solo los virus en sí lo que interesa al grupo, sino su interacción con las células infectadas, es decir, qué tienen escrito en los genes estos microorganismos para enfermarnos. Traducido a jerga científica, el equipo estudia las bases moleculares detrás de la replicación y de la virulencia. Ambos aspectos resultan básicos de cara al devenir de la infección. Si el virus no replica, quiere decir que no se multiplica y entonces deja de ser un problema. La virulencia, por su parte, se corresponde con el daño que causa en el organismo.



En la emergencia del SARS-CoV-2, se conoció muy pronto que este se copia a sí mismo y se propaga muy eficientemente, además de contar con la capacidad de provocar una importante inflamación con su característica neumonía bilateral. Ahora bien, ¿cuál de las distintas piezas que forman el virus está implicada en estos eventos? Algunas respuestas resultaban más obvias y la literatura previa podía ayudar a responderlas. Otras cuestiones requerían de una investigación más profunda, como la desempeñada por este laboratorio. Precisamente, en el esfuerzo por resolver las incógnitas de la interacción del virus con la célula, se ha sustentado el desarrollo de candidatos vacunales, tratamientos y otros proyectos en los que el grupo se ha embarcado.

La herramienta básica y fundamental de partida del grupo para investigar el papel de los genes es la reconstrucción del virus. El equipo fue pionero en desarrollar un sistema de ensamblaje del genoma de los coronavirus para así manipularlo a su antojo. El ARN, que es el formato en el que guarda el SARS-CoV-2 su información genética, es una molécula que se degrada con facilidad por lo que trabajar directamente con el genoma del virus resulta inviable. A la dificultad de manejo contribuye también el gran tamaño del genoma. Pero, sobre todo, existe el problema de que la edición genética del ARN no es tan sencilla. Así que el grupo manipula lo que representaría el molde, una cadena de ADN complementaria a la información del coronavirus, a partir del cual luego podrán rescatar virus sintéticos modificados según el objetivo perseguido. Porque la intención del Laboratorio es ver el comportamiento del virus ante el cambio de ciertos genes gracias a esta aproximación conocida como genética reversa.

Contar con este preciado ADN convirtió al grupo en un suministrador de genes para otras investigaciones sobre SARS-CoV-2 del CNB. Más adelante conseguirían también un virus aislado de un paciente del Hospital Universitario 12 de Octubre, en Madrid, que emplearían a modo de referencia respecto a los virus sintéticos.

El objetivo global del Laboratorio se divide en otros bloques más específicos: el estudio de la proteína E de la envuelta; el papel de los genes menos esenciales para el virus, así como de otros ARNs pequeños generados durante la infección; y la identificación de factores de la célula que interaccionan con la importante proteína de la nucleocápside. Estas líneas de trabajo no han sido específicamente ideadas para hacer frente a la pandemia. Realmente han supuesto una actualización de lo que venían haciendo desde hace años con los otros dos coronavirus mortales anteriores, a saber, el SARS-CoV-1 y el MERS-CoV.

Como la información genética de los virus está condensada en unos pocos elementos, no les queda más remedio que «pluriemplearlos» para llevar a cabo todas sus funciones y así sobrevivir. Hay una proteína muy pequeña, la proteína E, con la que los coronavirus fabrican su envuelta pero que también les otorga la capacidad de intervenir en varios procesos de la célula infectada, siendo fatal para el organismo. El Laboratorio de Coronavirus descubrió por primera vez hace ocho años en el SARS-CoV-1 que la existencia en esta proteína del conocido como motivo PBM era determinante para los efectos perniciosos del virus. El dominio son solo 12 letras de las 30000 del genoma total, pero tan letales que, en su presencia, ningún ratón experimental sobrevive a la infección. En cambio, si se eliminan del genoma del virus, los roedores viven.

El PBM arrasa de esa manera porque permite al virus entender el idioma de las células. En la célula hay muchas proteínas que se relacionan entre sí. Para lograr una buena comunicación, muchas de estas relaciones están mediadas por las llamadas interacciones PBM-PDZ.¹⁸ Sería como dos piezas de Lego y unas proteínas tienen la pieza PBM y otras

¹⁸ Las siglas PBM se corresponden de hecho con *PDZ-binding motif* o motivo de unión PDZ. El término PDZ es un acrónimo formado por la combinación de la primera letra de los nombres de las tres primeras proteínas donde se identificó este dominio: de densidad postsináptica (PSD-95), supresora de tumores en *Drosophila* (DlgA) y zonula occludens-1 (ZO-1).

la pieza PDZ. Su unión les permite formar andamiajes esenciales para las funciones celulares. Es, por tanto, un código que los coronavirus, así como otros virus, también hablan gracias al cual desestabilizan la estructura y funciones celulares.

Con la llegada del también mortal coronavirus MERS-CoV, el Laboratorio buscó el motivo PBM en el virus y lo encontró. Lo mismo ha ocurrido para el caso del SARS-CoV-2.¹⁹ La investigación en el nuevo virus ha llevado al equipo a identificar dos proteínas celulares que tienen mucho que decir en la gravedad de la enfermedad: la CFTR y la sintenina.²⁰ Ambas intervienen en la respuesta inflamatoria debida a la infección por estos virus.

La CFTR tiene un papel fundamental en revertir el edema en los alveolos pulmonares producido por el virus. Es decir, achica agua de los pulmones. Cuando el coronavirus arrasa en el organismo disminuye los niveles de la proteína, mermando así la capacidad de reparar el daño que él mismo produce. Y eso lo hace el virus a través de las interacciones PBM-PDZ con las células. El encharcamiento de los pulmones causa los fallecimientos, en último término, porque un pulmón encharcado no puede intercambiar oxígeno.

A la proteína CFTR también llegó el grupo por otro camino. El funcionamiento celular no es todo instrucciones en genes para orquestrar los procesos a través de la síntesis de proteínas. Hay también un ajuste fino del cual se encargan unas cadenas muy cortas de ARN que son los microARNs. Tales microARNs regulan a su vez los valores de CFTR y,

19 Los coronavirus atenuados, como los que provocan catarros, también cuentan con un motivo PBM al final de la proteína E solo que la secuencia es distinta y no lleva a la virulencia de SARS-CoV-1, MERS-CoV y SARS-CoV-2.

20 La investigación relativa a la sintenina se explica con más detalle en el capítulo «La virulenta proteína E del virus como objetivo», incluido en el bloque 3.

probablemente, podrían estar alterados en la covid, puesto que lo están en la infección por SARS-CoV-1.

Aquí es donde entra el segundo gran bloque de estudio del Laboratorio. El grupo pudo describir, ya desde el SARS-CoV-1, que cuando el virus infecta la célula, la revoluciona y altera todo lo alterable. No solo las proteínas, sino también los microARNs, encargados del perfecto equilibrio de nuestro sistema. Esa revolución deriva, en ocasiones, en consecuencias negativas como procesos inflamatorios desmedidos o no poder recuperar los pulmones en el caso de la disminución de los niveles de CFTR.

Otra parte importante de la patogenicidad del virus se adjudica a los genes accesorios. Se trata de aquellos aparentemente no esenciales para las funciones básicas del patógeno. Fundamentalmente tienen que ver con el daño que causan los coronavirus a través de la modulación de la respuesta inmune innata.²¹

El interés del grupo en estos genes extras viene porque coronavirus más leves, como los causantes del resfriado común, prácticamente no cuentan con genes accesorios, a diferencia de coronavirus muy virulentos y mortales como el SARS-CoV-2, donde hay bastantes. Así que parte del equipo trabaja en caracterizar bien el papel de estos genes aparentemente no tan importantes. Si se confirma que están implicados en la virulencia, su delección del genoma atenuará al virus. Además, conocer cómo contribuyen al daño de las células ayudará a identificar antivirales.

21 Cuando un patógeno entra en el cuerpo, la primera línea de defensa no consiste en estrategias específicas como los anticuerpos, porque no ha dado tiempo a que se generen, sino en la inmunidad innata, una respuesta muy rápida e inespecífica que cuenta con recursos como la inflamación.

El último gran bloque de interés del Laboratorio lo constituye la proteína de la nucleocápside. Como se ha visto previamente, esta ejerce un papel esencial para el virus dado que la necesita para multiplicarse. La también denominada proteína N protege de alguna manera al ARN al acompañarlo durante el proceso de duplicación y también lo compacta para que los nuevos virus incorporen el material genético.

Pero los genes del virus, y por tanto las proteínas, están pluriempleados y esta no iba a ser menos. La proteína N interactúa a su vez con las células al unirse a una serie de proteínas celulares, lo que la implicará en la patología de manera similar al caso de la proteína E. Y, de igual forma a la investigación con la proteína de la envuelta, el grupo trata en la actualidad de identificar a cuáles se une y la función que desempeñan estas durante la infección.

LA DESORGANIZADA RESPUESTA INMUNITARIA

El SARS-CoV-2 entra en el cuerpo como un elefante en una cacharrería, con platillos, trompetas y confeti. Un cebo succulento para el atento sistema inmunitario, que vaya si lo detecta. Hasta el punto de pasarse de frenada en algunos casos dando lugar a una respuesta inflamatoria desmesurada a veces mortal.

Entre la lluvia de ideas que los investigadores llevaron a cabo durante el confinamiento, obviamente apareció la atención a dicha respuesta inmunitaria, muy desconocida en aquel momento. El CSIC centralizó todos los posibles trabajos relacionados con el tema en la PTI Salud Global, a través de Margarita del Val. Con ella se puso en contacto Isabel Mérida. Su grupo, Señalización por Lípidos, está muy interesado en la respuesta inmunitaria antitumoral, sobre todo en cómo los tumores la evaden. Porque las células

cancerosas se hacen invisibles a los ojos del sistema inmunitario para seguir creciendo. Justo al contrario que el SARS-CoV-2.

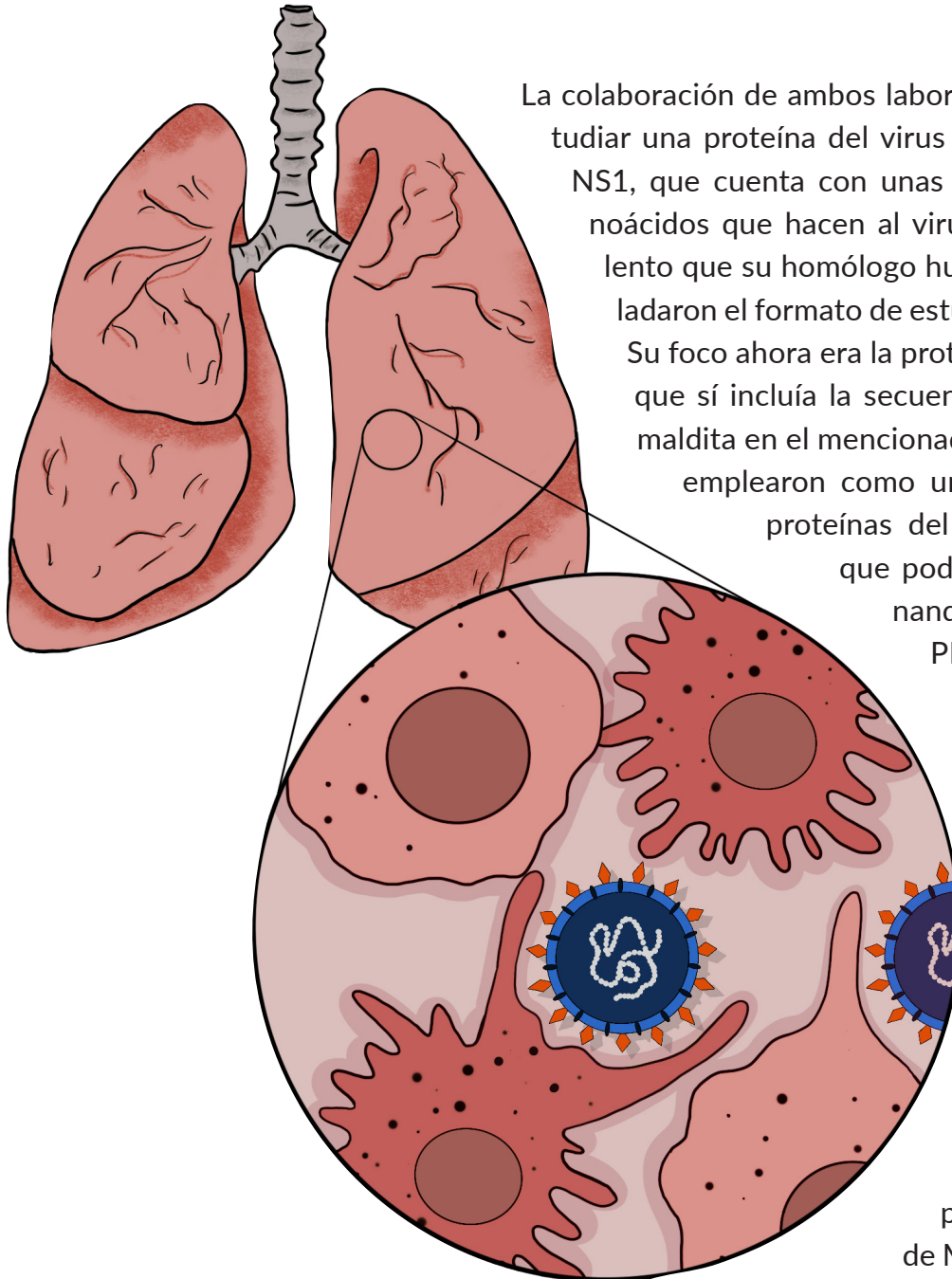
El Laboratorio tímidamente había dado sus primeros pasos en el mundo de los virus, con especial protagonismo del trabajo de Antonia Ávila y Dante Barreda, en colaboración con un grupo del Instituto de Enfermedades Respiratorias en México. Su directora, Teresa Santos, fue estudiante de Doctorado en el laboratorio dirigido por Isabel Mérida. Trabajaban en la gripe aviar para intentar entender por qué patógenos procedentes de animales son mucho más agresivos que su versión humana. Ante la primera convocatoria de financiación de la PTI Salud Global, propusieron un proyecto y entraron en la investigación del SARS-CoV-2.

Cuando los linfocitos²² responden para placar a un patógeno, lo hacen porque unas células, las células presentadoras de antígenos,²³ enseñan quién es el intruso. En el caso de la covid, tales células no alertan bien ya que ellas mismas tienen una especie de reacción hipersalvaje. Empiezan a secretar al torrente sanguíneo de forma desmesurada una sustancia tremendamente inflamatoria llamada interleucina 6, entre otras. Esta pequeña proteína protagoniza una inflamación muy potente que básicamente mata a la persona: la famosa tormenta de citoquinas.²⁴ De hecho, la OMS recomendó en los casos graves tratamientos que bloquearan la acción de la interleucina 6. La pregunta que se hizo el laboratorio del CNB era cómo funciona el SARS-CoV-2 para llevar a una respuesta tan exagerada a las células.

22 Células del sistema inmunitario encargadas de regular la respuesta inmune adaptativa, aquella que se hace a la carta frente a un patógeno concreto. Se dividen en linfocitos T, responsables de la inmunidad celular, y los linfocitos B, responsables de generar anticuerpos o inmunidad humoral.

23 Un antígeno, o el aquí denominado intruso, es cualquier sustancia capaz de provocar una respuesta del sistema inmunitario, como un virus o partes de este.

24 Las citoquinas son unas proteínas muy pequeñas que hacen de mensajeras durante la respuesta inmunitaria y que cuentan con una importante actividad proinflamatoria. La interleucina-6 es una citoquina.



La colaboración de ambos laboratorios venía de estudiar una proteína del virus de la gripe aviar, la NS1, que cuenta con unas secuencias de aminoácidos que hacen al virus mucho más virulento que su homólogo humano. Así que trasladaron el formato de estudio al SARS-CoV-2. Su foco ahora era la proteína E del patógeno que sí incluía la secuencia de aminoácidos maldita en el mencionado dominio PBM. La emplearon como un cebo para buscar proteínas del organismo con las que podría estar interaccionando gracias al código PBM-PDZ y así ofrecer una explicación a la virulencia.

El Laboratorio de Coronavirus del CNB ya había observado el papel de la proteína E en la virulencia en experimentos con células de los pulmones. El grupo de Mérida vio interesan-

te estudiarlo en células de la respuesta inmunitaria. No se sabía mucho sobre si el nuevo virus infectaba estas células ni a cuáles y quién mejor que un grupo de expertos en respuesta inmunitaria para indagarlo.

La pesca costó un poco, pero al final salió. Se identificaron nueve proteínas, una de las cuales ya se había caracterizado en su momento con el SARS-CoV-1, que se expresaban en monocitos y macrófagos.²⁵ Esto último no se había observado previamente para ninguna de ellas. Esta parte del proyecto fue llevada a cabo gracias al Servicio de Proteómica del CNB, dirigido por Fernando Corrales.

La investigación continúa en la actualidad pues queda saber más acerca de tales proteínas: qué funciones tienen y, especialmente, cómo contribuyen a que la interacción del virus dé lugar a respuestas inmunitarias un poco desorganizadas y excesivamente potentes que no ayudan contra la infección. El grupo mexicano está a su vez analizando la expresión de estas proteínas en células de sistema inmunitario en respuesta a otro tipo de infecciones.

En paralelo, el laboratorio del CNB empezó a trabajar también en la proteína S del SARS-CoV-2. Ya era conocida como la parte del virus con mayor capacidad para generar una respuesta inmunitaria en el organismo y, por tanto, empleada en el diseño de las vacunas, lo cual hacía pensar que las células presentadoras de antígenos la reconocían. Se sabía de su funcionamiento de esta manera porque las inyecciones protegían, pero no había ningún estudio que explicara claramente cómo.

²⁵ Los monocitos y los macrófagos representan dos de los numerosos tipos de células de la plantilla del sistema inmunitario. Los monocitos son un tipo de glóbulos blancos que viajan por el torrente sanguíneo hacia los tejidos donde se convierten en células dendríticas o en macrófagos. Estos últimos se encargan principalmente de «ingerir» lo que no interesa, como cuerpos extraños, que incluyen patógenos, o sustancias de desecho.

El objetivo concreto que perseguía el equipo de Mérida era conocer la respuesta que la proteína S desencadenaba en las células dendríticas, que son el tipo de células presentadoras de antígenos más potentes. Para ello, cultivaron células humanas de este tipo a las que añadieron tanto la proteína S al completo como únicamente su dominio RBD. Esta parte del trabajo pudieron llevarla a cabo con la colaboración de otros grupos del centro, los de José Francisco Rodríguez y José María Casasnovas, que prepararon ambos componentes.

En los dos casos, las células reaccionaban y promovían una respuesta proinflamatoria, lo que confirmaba su hipótesis. No esperaban, sin embargo, que las células dendríticas fueran a responder de una forma tan potente como lo hicieron, sobre todo ante el dominio RBD. Además de mostrar una maduración, significando el reconocimiento de los antígenos y su muestra a los linfocitos, estas células generaban muchas citoquinas.

El equipo también observó una respuesta muy variable. Las células para los experimentos provenían de paquetes leucocitarios de diferentes donantes de un banco de sangre. Cuando una persona dona sangre, generalmente apartan los glóbulos rojos y las plaquetas para las transfusiones. Las otras células presentes en la sangre, principalmente los glóbulos blancos, son estos paquetes leucocitarios, no empleados por lo general en las transfusiones y que incluyen a las células dendríticas. Aunque todas las muestras tenían la misma tendencia, la intensidad era variable, lo que se correspondía con la diferente gravedad en la enfermedad de las personas. Los resultados vieron la luz en un artículo a finales del 2021.

El SARS-CoV-2 no solo les ha dado esta publicación. También les ha abierto nuevas perspectivas. Antes de la pandemia, solo una persona del Laboratorio trabajaba en la parte de los virus. Ahora está implicada prácticamente la mitad del grupo. Se trata de una ampliación en sus intereses que pretenden mantener.

LOS SECRETOS LOS GUARDAN LAS PROTEÍNAS

Las proteínas controlan casi todo en un organismo: la mayor parte de los procesos biológicos en las células los efectúan ellas. Lo único en lo que tienen algo menos que ver es en el mantenimiento de la información hereditaria, almacenada en el ADN o el ARN. Y ni con esas, pues el contenido de los genes se ejecuta mediante su traducción a proteínas en un proceso a su vez orquestado por estas moléculas, formadas por la concatenación de aminoácidos, entre otras funciones. Por ello, no es de extrañar que el estudio de los cambios de las proteínas se imponga como algo fundamental en la comprensión de la infección por SARS-CoV-2. Sobre dicha base ha pivotado el equipo de Proteómica del CNB liderado por Fernando Corrales, que, además de desarrollar su trabajo más rutinario de producción y control de calidad de proteínas para otros laboratorios, se implicó en varios proyectos desde los más tempranos momentos de la pandemia.

Una cuestión muy repetida en muchas investigaciones es qué ocurre en la célula cuando el virus la infecta. Ya se ha mencionado que el nuevo coronavirus arrasa a su paso porque entiende el idioma de las células y puede interactuar con sus proteínas. A semejante capacidad se suma que el virus secuestra los procesos celulares en su beneficio. El resultado más probable de todo ello es que las proteínas de las células infectadas se encuentren totalmente alteradas. ¿Cómo averiguarlo? Mediante la comparación de una célula sana con una colonizada por SARS-CoV-2.

A partir de esta simplificada concepción, el grupo de Proteómica, junto con los laboratorios expertos en los virus de la hepatitis B y C, liderados por Urtzi Garaigorta y Pablo Gastaminza, respectivamente, plantearon un proyecto. Partieron de células de pulmón humano sanas e infectadas por SARS-CoV-2. Las segundas las analizaron en diferentes momentos temporales desde que fueron enfrentadas al virus, esto es a las 3, 6, 9 y 16

horas. Estudiaron todas sus proteínas —unas 6000— para dar con aquellas que cambiaban en cada uno de esos tiempos y respecto a las células libres de patógeno.

De especial relevancia aquí es conocer qué ocurre en los primeros momentos de la actividad viral. Cualquier paso dado por el coronavirus en los inicios de la invasión celular será necesario para la continuación de su cometido. Por tanto, si se identifica bien qué ocurre se podría tratar de interferir y evitar que la infección vaya a más, convirtiéndose en una posible aproximación terapéutica para el diseño de, por ejemplo, un antiviral.

La coalición de científicos ya ha logrado describir la respuesta celular en la infección a partir del mapa de proteínas elaborado. El resultado ha consistido en perfiles diferenciales de estas moléculas que sirven para establecer una interpretación biológica funcional. Es decir, gracias a ellos se puede conocer qué funciones biológicas se alteran en una célula infectada por SARS-CoV-2 y hacerlo de acuerdo con el avance de la infección.

Con toda la información recopilada sobre la biología celular, el equipo pudo aprehender y describir los mecanismos de la infección, pero también se le ocurrió otra utilidad para los datos. El virus cambia muchas proteínas, ¿podrían detectarlas en muestras de sangre y que sirvan así de marcador para clasificar pacientes en función de su posible gravedad?

La idea viene ligada a un estudio previo, en el cual también participó el grupo de Proteómica. El análisis de la sangre de individuos leves, graves o que fallecieron por la covid, los llevó a identificar una serie de proteínas que variaban y lo hacían en mayor medida según aumentaba la severidad de los pacientes. La diferencia de este estudio respecto a la nueva idea reside en que desconocían de dónde procedían esas proteínas y, por tanto, qué función biológica había sido alterada.

El planteamiento actual supone enriquecer dicha aproximación con la información sumamente específica y detallada de los cambios proteicos a nivel celular. Análisis computacionales han permitido llevar a cabo una predicción más o menos aproximada de las proteínas alteradas en las células que podrían ser detectadas en los pacientes. Con esa guía, el consorcio va a volver a las muestras para ver si puede encontrarlas.

Las proteínas no solo narran lo ocurrido dentro de las células. En la superficie celular se desarrollan una serie de actividades donde estas innegables protagonistas desempeñan otros papeles. Cuando un patógeno infecta una célula, otras del sistema inmunitario, como los macrófagos, se la «comen» —la fagocitan—, la rompen y muestran sobre ellas trozos del invasor responsable como parte de la defensa inmunitaria. Estas serían las células presentadoras de antígenos mencionadas en apartados anteriores.

A dichas células les interesa mostrar aquellos fragmentos que vayan a generar una respuesta inmunitaria lo más potente posible contra ellos. Por ello, identificar las piezas elegidas por las células presentadoras de antígenos tiene multitud de utilidades, desde guiar los segmentos del virus a incluir en una vacuna hasta saber hacia dónde van a ir dirigidos los anticuerpos, tanto de nuestro cuerpo como aquellos generados a modo de terapia.

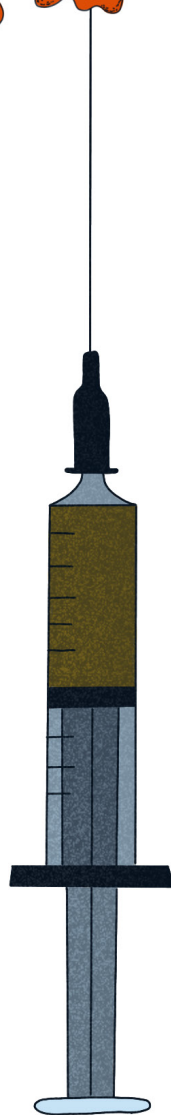
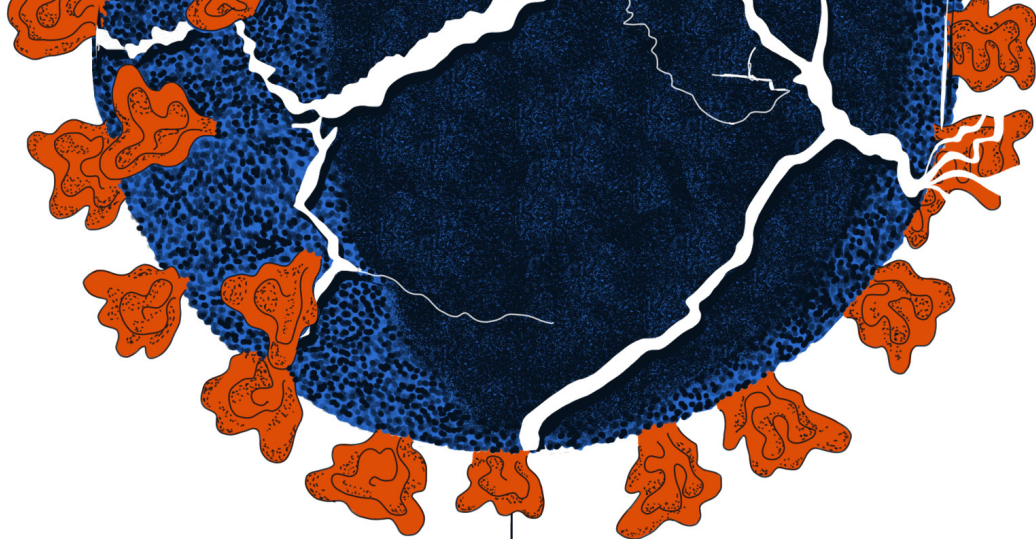
El equipo de Proteómica cuenta con la tecnología para conocer cuáles son los fragmentos presentados, las secciones de proteínas del virus conocidas como péptidos que pone en su superficie. Este campo de estudio recibe el nombre de inmunopeptidómica y en ello trabaja el Servicio junto con el grupo del CNB de Hugh Reyburn, el cual estudia el funcionamiento básico del sistema inmunitario y lo aplica a la respuesta frente a cáncer y virus. El laboratorio de Reyburn se encarga de expresar de una en una algunas de las principales proteínas del SARS-CoV-2, como S o E, en células que luego presentan los trozos de la proteína en su superficie. El Servicio de Proteómica caracteriza luego los fragmentos presentados.

La proteómica es un área de estudio que sirve para todo lo descrito y mucho más. Otra iniciativa asumida por el equipo del CNB ha sido la producción de péptidos sintéticos para programar linfocitos T, de tal manera que respondan contra el virus y así potenciar la respuesta inmunitaria. Esta colaboración se ha llevado a cabo con el equipo de Inmunología Viral dirigido por Margarita del Val en el CBM.

De nuevo, aquí resulta clave saber cuáles son las zonas de las proteínas que mejor despiertan al sistema inmunitario. Con este objetivo en mente, se sintetizaron 71 péptidos cuya actividad habían predicho de forma teórica computacionalmente. El grupo guiado por del Val lo está probando de forma experimental en células T de pacientes con distintos grados de afección.

BLOQUE 2

VACUNAS



La aparición de las vacunas contra la covid cambió el curso de la pandemia. Con una población inmunizada, los casos fueron controlados, con el consiguiente alivio en los centros médicos, y se evitaron cantidad de fallecimientos. Gracias a ellas, ya se pudo empezar a pensar en dejar atrás las medidas de contingencia, especialmente el confinamiento que tanto difuminó nuestras vidas aquel 2020. Las mascarillas nos han seguido acompañando mucho más tiempo.

En enero de ese año, con el mundo ajeno a los acontecimientos venideros, dos grupos del CNB empezaban a desarrollar sus candidatos vacunales. Representan las primeras investigaciones puestas en marcha en el centro sobre el nuevo virus, iniciadas en cuanto se conoció la secuencia genética del SARS-CoV-2. A ambos proyectos se sumaron más tarde otros dos prototipos. Cada grupo ha vivido un camino muy diferente con obstáculos propios y compartidos que han llevado a tres investigaciones aún en marcha y otra parada en su momento.

UNA VACUNA DE SEGUNDA GENERACIÓN

Entre las múltiples líneas de trabajo sobre SARS-CoV-2 del Laboratorio de Coronavirus, tal vez la más relevante, incluso a nivel de centro, es la iniciativa conjunta para el desarrollo de una vacuna capaz de evitar la infección. Los sueros ya autorizados consiguen mermar las fuerzas del virus cuando entra en nuestro organismo, pero este sigue infectando las personas, lo que supone su salto de una a otra mientras muta en su viaje. De ahí las múltiples variantes que nos han ido acompañando hasta ahora. El candidato vacunal del grupo de Luis Enjuanes e Isabel Sola persigue el objetivo de ejercer de muro de contención que impida la entrada del nuevo coronavirus a nuestro organismo, es decir, una vacuna esterilizante.

Al igual que en el estudio de la acción del virus en la célula, el primer paso hacia la consecución de esta vacuna es ensamblar el ARN de base, un virus sintético, en el laboratorio. Así que cuando el grupo encargó el molde para la fabricación del virus sintético, pidió otros especiales para el proyecto de la vacuna. A esos les faltaban varios genes. Ese quita y pon de información genética es precisamente con lo que juega el equipo para crear su candidato a vacuna. Buscan así dar con las teclas para generar un virus sin capacidad de infectar ni de propagarse, pero sí de replicarse a sí mismo para aumentar la potencia de inmunización. Lo que se conoce como un replicón.

Un virus atenuado es una vacuna en potencia. Pero si un laboratorio hace un número determinado de experimentos para modificar un virus y volverlo inofensivo, el microorganismo hace otros miles de cambios en el proceso de copiar su genoma, que es donde se producen las mutaciones, y alguno podría revertir la modificación artificial. Por ello, este grupo elimina genes del SARS-CoV-2 que lo convierten también en deficiente en propagación. Si un virus no se puede propagar ni siquiera a la célula vecina, no se puede diseminar y si no se puede diseminar, ya no es un virus. Al no tener la oportunidad de extenderse se convierte en una vacuna mucho más segura.

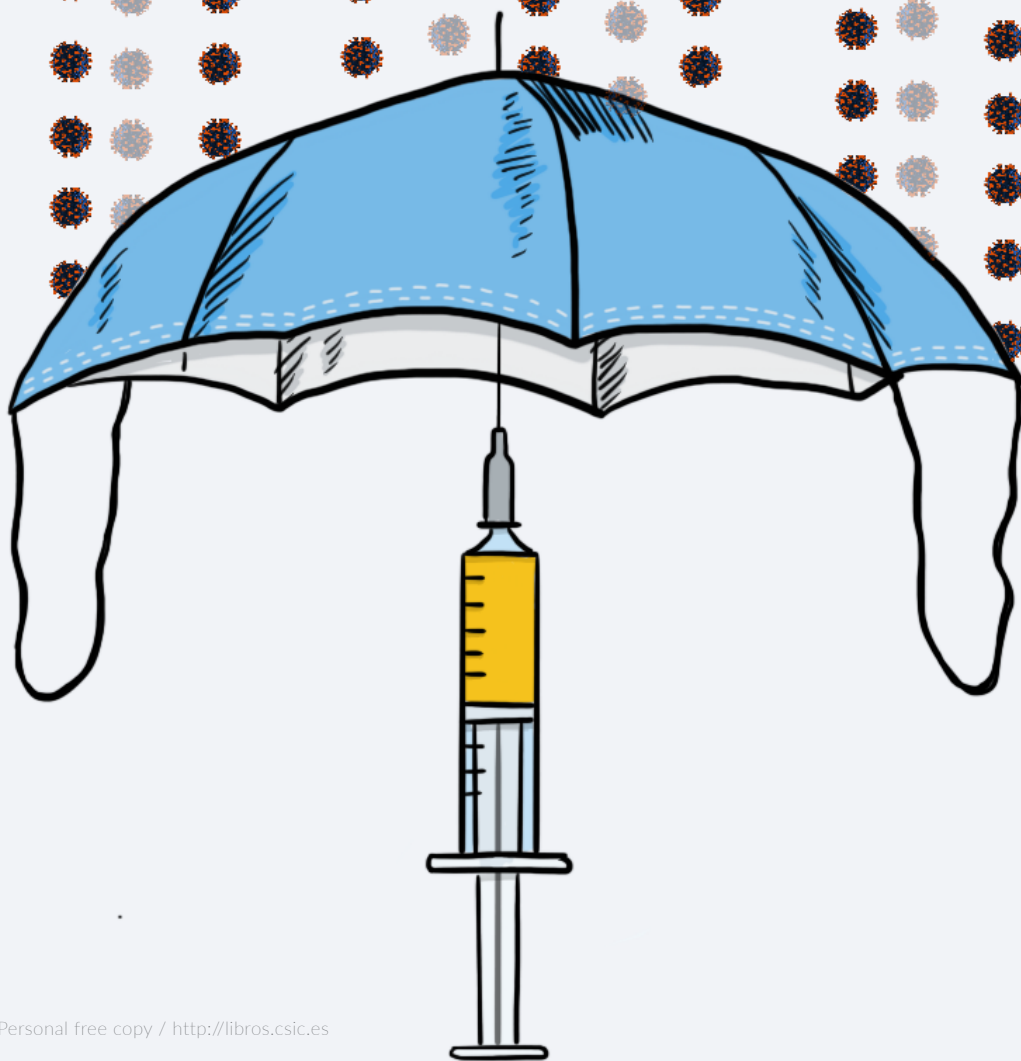
Las características del candidato en desarrollo lo convierten en un prototipo vacunal de segunda generación, un salto cualitativo respecto a las inyecciones de ARN actuales. El grupo es consciente de que habiendo ya vacunas eficaces contra la covid, la suya no supone una necesidad inminente. Pero, al igual que la pandemia impulsó las vacunas de ARN, podría ahora aparecer una nueva forma de diseñar sueros mucho más eficaces en comparación con todo lo desarrollado hasta el momento. En la actualidad no existe ninguna vacuna en el mercado con la tecnología del replicón de ARN en desarrollo por este laboratorio.

Manteniendo la estrategia llevada a cabo para los virus SARS-CoV-1 y MERS-CoV, para los cuales ha trabajado en sendos candidatos vacunales, el Laboratorio de Coronavirus

del CNB ha diseñado un candidato tipo VLP, correspondiente con las siglas en inglés *virus-like particles*. Como la traducción del término indica, se trata de partículas similares al virus real a las que se les han eliminado aquellos genes que hacen al virus patogénico y que permiten su diseminación. Lo bueno de parecerse tanto al virus original es, que mantienen los genes que codifican varias proteínas reconocibles por el sistema inmunitario. Estas pueden ser, además de la proteína S, que es la que suelen incluir las vacunas para coronavirus, la nucleoproteína o la proteína E de la envuelta. Ello potencialmente induce una respuesta protectora más amplia y robusta.

El replicón ha sido evaluado en ratones y funciona como vacuna proporcionando una protección total frente al SARS-CoV-2. Esta parte se engloba dentro de la etapa pre-clínica, necesaria antes de dar el salto a los ensayos clínicos en personas. Sin embargo, un solo modelo animal no vale para obtener el visto bueno de las agencias reguladoras. La idea del grupo es probarla primero en ratones, después en hámsteres y finalmente en macacos. Para los primeros no hay problema porque en las instalaciones del CISA pueden trabajar con estos animales y, de hecho, ya han hecho alguna prueba preliminar con ellos. Los ensayos en macacos entrañan cierta complejidad. En España no hay centros autorizados para investigar con estos animales ni los integrantes del laboratorio del CNB poseen las autorizaciones pertinentes para ello. La colaboración con un centro extranjero será, por tanto, imprescindible para superar esta etapa.

La estrategia de las VLP se ha desarrollado en paralelo con otra completamente novedosa para el grupo que supone dar también con un diseño lo más sintético posible. Dada la complejidad y dificultad de síntesis de algunos medicamentos, vacunas o similares, en vez de producirse químicamente, los producen células que hacen de factorías. Son los fármacos biológicos. El candidato vacunal del grupo entra dentro de esta clasificación: las células generan el replicón como harían con el virus real si las infectara. Pero las agencias reguladoras ven con mejores ojos que la síntesis de las moléculas sea lo más



controlada posible, sin la intervención de agentes biológicos. Así se han llevado a cabo precisamente las vacunas de Pfizer/BioNTech o Moderna. Estas compañías, de hecho, han introducido por primera vez en el mercado las vacunas sintéticas fabricadas con una molécula de ARN envuelta en una nanopartícula que lo protege. Son las vacunas químicamente definidas.

El problema es que el ARN del candidato del CNB es mucho más largo que el ARN que incluyen los otros dos sueros. Si Moderna o Pfizer/BioNTech han fabricado una vacuna con unas 4.000 letras o nucleótidos, el replicón del CNB cuenta con más de 20 000. Ello complica mucho su producción en un tubo de ensayo, así como el escalado a niveles industriales. Parte del trabajo de este proyecto consiste en acortar el replicón eliminando genes, pero sin afectar a su capacidad protectora.

Para ambas formas de producción el grupo está probando dos estrategias de administración de la vacuna. La inyección intramuscular, por un lado, es el estilo clásico con el que funcionan todas las vacunas covid en el mercado y la mayoría de las vacunas en general. Por otro, este laboratorio trabaja en la administración intranasal, clave para lograr la inmunidad esterilizante. La inmunidad sistémica, que es la que se nos viene a la cabeza cuando hablamos de inmunidad y que se distribuye por el sistema circulatorio, se induce de forma distinta a la inmunidad en las mucosas. Una buena protección solo se logrará actuando en ambas. Así que, para establecer una barrera inmunitaria en el sistema respiratorio, una estrategia es la inmunización intranasal, es decir, administrar la vacuna a través de la nariz para que llegue a los tejidos de este sistema.

Tras los ensayos en el laboratorio, toca la parte más complicada de escalar el prototipo a un producto industrial. Ello requiere de una serie de condiciones más allá de un buen rendimiento, como no usar antibióticos en el proceso, un recurso empleado en los experimentos, para evitar resistencias a estos fármacos. El mayor desafío lo protagoniza el

diseño químicamente definido de la vacuna porque implica más obstáculos tecnológicos, como puede ser dar con la nanopartícula que envuelva al replicón, lo proteja de la degradación y le facilite la entrada en las células. En definitiva, se trata de toda una serie de condiciones y pasos que solamente pueden realizar compañías especializadas, con las cuales el CSIC ya entabló conversaciones durante la escritura de este libro.²⁶

LA FAMILIA DEL VIRUS DE LA VIRUELA COMO PROTAGONISTA

Radicalmente diferente es la aproximación del Laboratorio de Poxvirus y Vacunas. El grupo, dirigido por Mariano Esteban, trabaja con una plataforma de generación de candidatos vacunales basada en el Virus Vaccinia Modificado de Ankara (MVA). Se trata de un virus atenuado de la misma familia que el de la letal viruela, la de los poxvirus. El MVA es un microorganismo muy maleable, cuyo genoma se puede modificar de una forma relativamente fácil y así insertar genes de interés procedentes de otros patógenos. Para generar la vacuna contra la covid, al equipo le interesó incluir el gen del SARS-CoV-2 con las instrucciones para fabricar la proteína S. La lógica detrás de ello es que, debido a la inyección, nuestro organismo sintetice la proteína de la espícula pues, como ya se ha visto, se trata de la parte del virus con mayor capacidad para desencadenar la respuesta inmunitaria.

El grupo tiene muy instaurada la plataforma, pues ya llevaban tres décadas trabajando en candidatos vacunales frente a diferentes enfermedades infecciosas humanas. Justo antes de la pandemia, se ocupaban de vacunas para las infecciones causadas por va-

26 Semejante forma de proceder es extrapolable al resto de productos en desarrollo frente a la pandemia explicados en este libro.

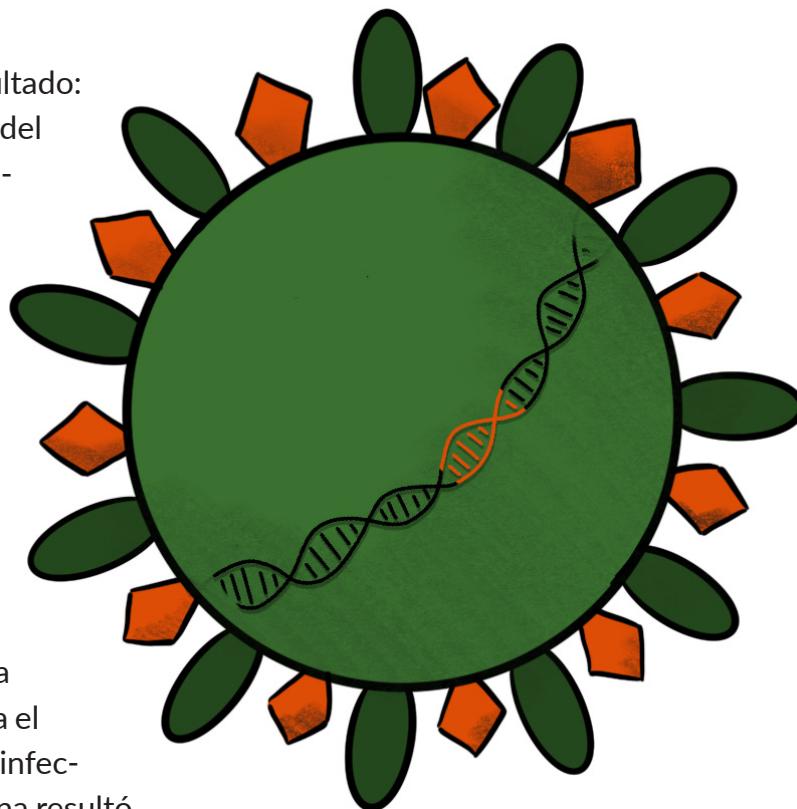
rios virus emergentes, como los virus chikunguña, zika y Ébola, siendo la enfermedad causada por este último especialmente grave. El equipo también trabajaba en otros prototipos frente a los virus de la hepatitis C y de la inmunodeficiencia humana (VIH). De hecho, algunos de sus candidatos vacunales para el VIH han llegado a ensayos en humanos mostrándose seguros y con capacidad para activar la respuesta inmunitaria.

El trabajo en patógenos emergentes llevaba al grupo a mantenerse ojo avizor ante la aparición de un nuevo microorganismo con potencial para generar un evento similar al vivido. Así que la alerta ante los casos de neumonía en China no les pilló por sorpresa, desde el punto de vista científico. Al día siguiente de conocerse la secuencia del genoma del virus y, por tanto, del patógeno en cuestión, Mariano Esteban junto con el investigador senior Juan García Arriaza decidieron embarcarse en la aventura de generar un candidato vacunal frente al SARS-CoV-2. García Arriaza aparcó las otras investigaciones en desarrollo y se dedicó en su totalidad al nuevo y desafiante proyecto.

El proceso es relativamente fácil y rápido, aunque requiere de muchas horas de laboratorio. Después de elegir a la proteína S como el antígeno que hiciera despertar al sistema inmunitario, había que insertar el gen que la codifica dentro del MVA. Ello se hace gracias a un plásmido, que no es más que un círculo de ADN portador de la información, cuya síntesis se encargó a una empresa externa. Ese plásmido contenedor del gen de la espícula serviría luego a muchos otros grupos del CNB, y de otros centros de investigación, especialmente a aquellos que sintetizaban proteínas del SARS-CoV-2.

En la segunda quincena de febrero recibieron el pedido. Ahí fue cuando dio inicio la fabricación del candidato vacunal. Un resumen simplificado del proceso es que se infectaron células con el virus MVA a la vez que se les añadió el plásmido. Con ello se persigue incrustar el gen de la proteína S en el genoma del MVA por un proceso de recombinación en el interior de las células. De esta manera, y tras mucho esfuerzo, se pudo conse-

guir a principios de abril del 2020 el resultado: un virus MVA que expresa la proteína S del SARS-CoV-2. Por esa época visitó el laboratorio el entonces ministro de Ciencia e Innovación, Pedro Duque, lo que provocó el interés ministerial y mediático en el candidato generado. Al trabajo diario de bata y pipeta hubo entonces que añadirle las reuniones semanales con el CSIC y el Ministerio, y las llamadas de la prensa.



Con este material de partida, tocó el turno de pasar a los ensayos en animales para demostrar si el candidato vacunal activaba el sistema inmunitario y protegía frente a la infección por el coronavirus. La potencial vacuna resultó capaz de producir anticuerpos y activar los linfocitos T en ratones. Tras los buenos resultados, los investigadores pasaron a medir la capacidad de protección. Nuevamente los datos fueron prometedores. Con dos dosis, el 100% de los roedores infectados por SARS-CoV-2 ni fallecía ni perdía peso, un signo típico de la infección. Aquí contaron con la ayuda del Laboratorio de Coronavirus del CNB que disponía de muestras del virus aisladas del madrileño Hospital Universitario 12 de Octubre, las cuales emplearon para las infecciones.

Por implicar el uso de SARS-CoV-2 y ratones, esta segunda parte hubo que llevarla a cabo en las instalaciones de seguridad biológica de nivel 3 del CISA, requiriendo todo un proceso de montaje de una zona habilitada y de formación del personal para desarrollar

el trabajo en un laboratorio con esas características. Es decir, el grupo empezó de cero a abordar la nueva etapa. El ritmo del proyecto pegó, por ello, un frenazo y redujo marchas. Si bien el primer candidato vacunal lo consiguieron en abril del 2020, hasta finales de verano no empezaron los ensayos de eficacia en animales y los primeros resultados llegaron en otoño de ese mismo año. De ratones pasaron a hámsteres y de ahí a macacos. Los experimentos con los simios también tardaron por la alta demanda mundial de las instalaciones requeridas para ello.

Mientras tanto, el grupo mejoró el candidato inicial trabajando en una versión optimizada de la proteína S respecto a la empleada al inicio. Este suero pasó también por el escrutinio de los modelos animales de hámster y ratón, y demostró mejores resultados que el anterior, confirmando las expectativas del grupo: con una sola dosis protegía al 100% de los animales. Quedó, por ello, como el elegido para continuar el proceso y tratar de llegar a las pruebas en personas.

Durante los ensayos en modelos animales, los investigadores ya habían mantenido conversaciones con empresas nacionales y extranjeras para la producción de los viales de vacuna necesarios para los ensayos clínicos. La farmacéutica española Biofabri fue la encargada del trabajo, no sin antes tener lugar toda una serie de preparativos para ello, como asegurar la producción con unos estándares de calidad aptos para su eventual comercialización. Estos costaron y llevaron su tiempo para el candidato de vacuna original, pero, cuando hubo que ponerlos al servicio de la opción optimizada, ya se encontraban completamente engranados.

Con todo este recorrido, quedaron a las puertas de probar su nueva apuesta en personas. La Agencia Europea del Medicamento había avalado la experimentación y el desarrollo industrial llevado a cabo. Sin embargo, la velocidad de aparición de nuevas variantes junto con una situación epidemiológica mucho más favorable, imposibilitaron finalmente

realizar un ensayo clínico en España. Este iba a llevarse a cabo en el verano del 2021. Así que el CSIC optó por retirar el dossier de evaluación a finales de ese mismo año.

El grupo se vio obligado a repensar la estrategia a la par que continuó mejorando la segunda versión de la vacuna para lograr una mayor inmunidad, además de la búsqueda de protección frente a las nuevas variantes aparecidas. Una de las opciones barajadas era la administración de su prototipo como dosis de refuerzo. Ello supondría un ensayo que demuestre la mayor eficacia frente a las inyecciones empleadas para tal fin en la actualidad.

La paciencia y tesón del Laboratorio de Poxvirus y Vacunas se ha visto, finalmente, recompensada. Fruto del buen comportamiento de la vacuna en los ensayos en animales, el CSIC ha logrado un acuerdo con la OMS y la Organización de las Naciones Unidas (ONU) para el desarrollo de la vacuna en países en vías de desarrollo, con poco acceso a los sueros actuales.²⁷ La licencia ha sido firmada con la organización de salud pública Medicines Patent Pool (MPP)²⁸ que facilitará el avance a ensayos clínicos y la llegada de la tecnología a los países más necesitados. La firma se enmarca en la iniciativa COVID-19 Technology Access Pool (C-TAP), creada por la OMS en mayo de 2020 para facilitar el acceso a todos los países de los productos relacionados con el nuevo coronavirus. Esta vacuna representa el segundo producto del CSIC puesto a disposición de la C-TAP junto con un test para la detección de la covid.²⁹ Ambos han sido desarrollados en el CNB.

27 Aunque la elaboración del libro acabó en febrero de 2023, esta noticia llegó justo a tiempo de su inclusión en la edición.

28 La Medicines Patent Pool (MPP) es una organización respaldada por la ONU y bajo la supervisión de la OMS que trabaja para aumentar el acceso y facilitar el desarrollo de medicamentos a países en vías de desarrollo.

29 En el capítulo «Un test para la OMS», incluido en el bloque 4, se amplía la información sobre el desarrollo del test de diagnóstico.

PROTEÍNAS QUE BAILAN EN PAREJA

Como muchas historias en el mundo de la ciencia, este proyecto empezó con otro objetivo. El Laboratorio de Biología Molecular de Birnavirus del CNB es uno de los muchos del centro que sabe producir proteínas. Hacia ello se dirigieron sus integrantes con la intención de desarrollar un test para la detección de la covid. Pero el camino se bifurcó y apareció en el horizonte la posibilidad de producir un candidato a vacuna.

La escasez de sistemas de diagnóstico al inicio de la pandemia, sumado a la existencia de personas asintomáticas, convertía en una empresa complicada conocer el porcentaje real de la población infectada o que ya hubiera contraído la covid. Ello, sin embargo, resultaba crucial para manejar de forma efectiva la situación.

Con tal perspectiva, este grupo de investigación, dirigido por José Francisco Rodríguez, se puso en marcha para generar una prueba que reconociera a las personas infectadas según los anticuerpos —o inmunoglobulinas— presentes en su sangre.³⁰ Al igual que nuestro cuerpo produce anticuerpos dirigidos contra el SARS-CoV-2, especialmente hacia la proteína S, para pararle los pies, estos mismos anticuerpos pueden reconocer a esta misma proteína en otro contexto. Tal contexto sería un test serológico. Así que el Laboratorio empezó a generar proteínas basadas en la espícula del coronavirus para pescar a las inmunoglobulinas presentes en nuestro torrente sanguíneo.

El equipo nunca había trabajado con coronavirus —el grupo investiga sobre un virus que fundamentalmente infecta a pollos, llamado virus de la bursitis infecciosa o IBDV—, pero contaba con la tecnología y experiencia necesarias para la expresión

30 En el capítulo «Un test para la OMS», incluido en el bloque 4, se amplía la información sobre el desarrollo del test de diagnóstico.

de proteínas que podrían resultar útiles ahora. Para ello, se sirven de otros virus ampliamente empleados con este fin, los baculovirus, que pueden ser modificados para producir las proteínas de interés.

El Laboratorio contactó con Florian Krammer, de la Escuela de Medicina Icahn del Hospital Monte Sinaí de Nueva York (EE.UU.). El laboratorio de Krammer había diseñado un sistema de diagnóstico similar a la idea que barajaba el grupo de Rodríguez y les facilitó los vectores que había empleado para ello. Esos vectores eran plásmidos a los que habían incorporado el gen que contiene las instrucciones para generar la proteína que les interesaba a los científicos del CNB: el dominio RBD.

La proteína S es altamente inmunogénica —es capaz de inducir una respuesta inmunitaria frente a sí misma— siendo justo la parte que se une a las células, el RBD, el objetivo de muchos de nuestros anticuerpos. Por ello tiene sentido que, para detectar a estos defensores del sistema inmunitario en un test serológico, se emplee de objetivo su diana en una infección real.

Gracias a los vectores prestados, el Laboratorio de Biología Molecular de Birnavirus incrustó el gen con las instrucciones para la síntesis del dominio RBD en el genoma de los baculovirus. Ya con el virus modificado, el siguiente paso supuso infectar células que leerían el genoma del virus y expresarían así sus proteínas, incluida aquella del gen añadido, al igual que harían en una infección normal.

El préstamo resultó una solución a un problema de rapidez, no tecnológico. Como el laboratorio de Monte Sinaí ya tenía los plásmidos listos se acortaban los tiempos en esa época de urgencia, pero el grupo del CNB generó luego los suyos propios. Entre estos últimos había uno que expresaba en mayor proporción la proteína RBD con características diferentes al resto. Además de generarlas sueltas, de forma individual, una

gran proporción aparecían como dos proteínas idénticas unidas en lo que se conoce como un dímero. Un dímero es una versión más pesada que una proteína individual y la literatura sobre el tema recoge que las aquellas con mayor peso molecular podrían inmunizar mejor. La vacuna candidata de Hipra, de hecho, ha sido diseñada con dímeros de la estructura del receptor RBD de la espícula del SARS-CoV-2. Por ello, Rodríguez y su grupo decidieron investigarlo.

Establecieron una colaboración con Esther Blanco, cuyo laboratorio está enfocado al diseño de nuevas estrategias de control de patógenos en el CISA, para realizar los experimentos de inmunidad en ratones. Esta fase supuso inyectar las proteínas en animales sanos y examinar cómo respondía su sistema inmunitario. Observaron que el número de anticuerpos en aquellos inyectados con el dímero era diez veces mayor que en los animales inmunizados con la proteína suelta o en forma monomérica. Ahí fue cuando pensaron que, en vez de continuar con el proyecto del test, sería más interesante emplear el dímero de RBD para el desarrollo de una vacuna.

El equipo de producción del candidato vacunal ya había ampliado antes sus integrantes y dejado de implicar solo al Laboratorio de Biología Molecular de Birnavirus. Cesar Santiago, quien integra la Unidad de Cristalografía de Rayos X, diseñó un sistema para aislar el RBD producido por las células, un paso para nada sencillo. El objetivo era lograr la mayor cantidad posible de la proteína. Al proyecto se sumaban a su vez el grupo conjunto formado por el ya mencionado Fernando Almazán y por Dolores Rodríguez, quienes también investigan sobre el IBDV.

El prototipo vacunal desarrollado con los dímeros superó con éxito la siguiente fase en los ensayos en ratones: enfrentarse al SARS-CoV-2. Todos los animales vacunados superaron la enfermedad gracias a la defensa inducida por la inmunización. Por ello, el grupo de investigadores trabaja ahora en optimizar la producción, en el sentido de ob-

tener dímeros de RBD en mayor proporción —aunque se generaran bastantes proteínas pegadas también seguían apareciendo proteínas individuales— para así mejorar la capacidad inmunogénica de la proteína.

En paralelo, el equipo está implementando la experimentación necesaria para que empresas del sector se interesen en llevar el producto a fases de ensayo que ya impliquen personas. Aquí se incluyen estudios de escalado para poder eventualmente generar grandes cantidades del candidato vacunal, pruebas con distintas dosis o el estudio del adyuvante, que es prácticamente la mayor parte del contenido de una vacuna.

La intención que persiguen con este prototipo es cubrir aspectos aun parcialmente resueltos por los sueros actuales, como puede ser la resistencia a altas temperaturas. En este sentido, están estudiando la estabilidad de la molécula a distintas condiciones térmicas. El grupo trabaja a su vez en un sistema de producción que facilite la rapidez de generación de vacunas frente a nuevas variantes y aún esfuerzos para tratar de abaratar el sistema de producción.

ANDAMIOS PARA SOSTENER PROTEÍNAS

El virus de la bursitis infecciosa o IBDV, ya presentado de forma tangencial en las páginas anteriores, representa el papel protagonista en la presente historia. Cada especie cuenta con sus propios virus, a no ser que se rompan las barreras ecológicas y estos salten de unas a otras dando lugar a, por ejemplo, una pandemia mundial. El IBDV afecta principalmente a pollos, aunque puede infectar también a pavos, patos o avestruces. Un pollo enfermo verá su sistema inmunitario debilitado y tal vez la muerte. Animales inmunodeprimidos acabarán por resultar más susceptibles a otras enfermedades lo que

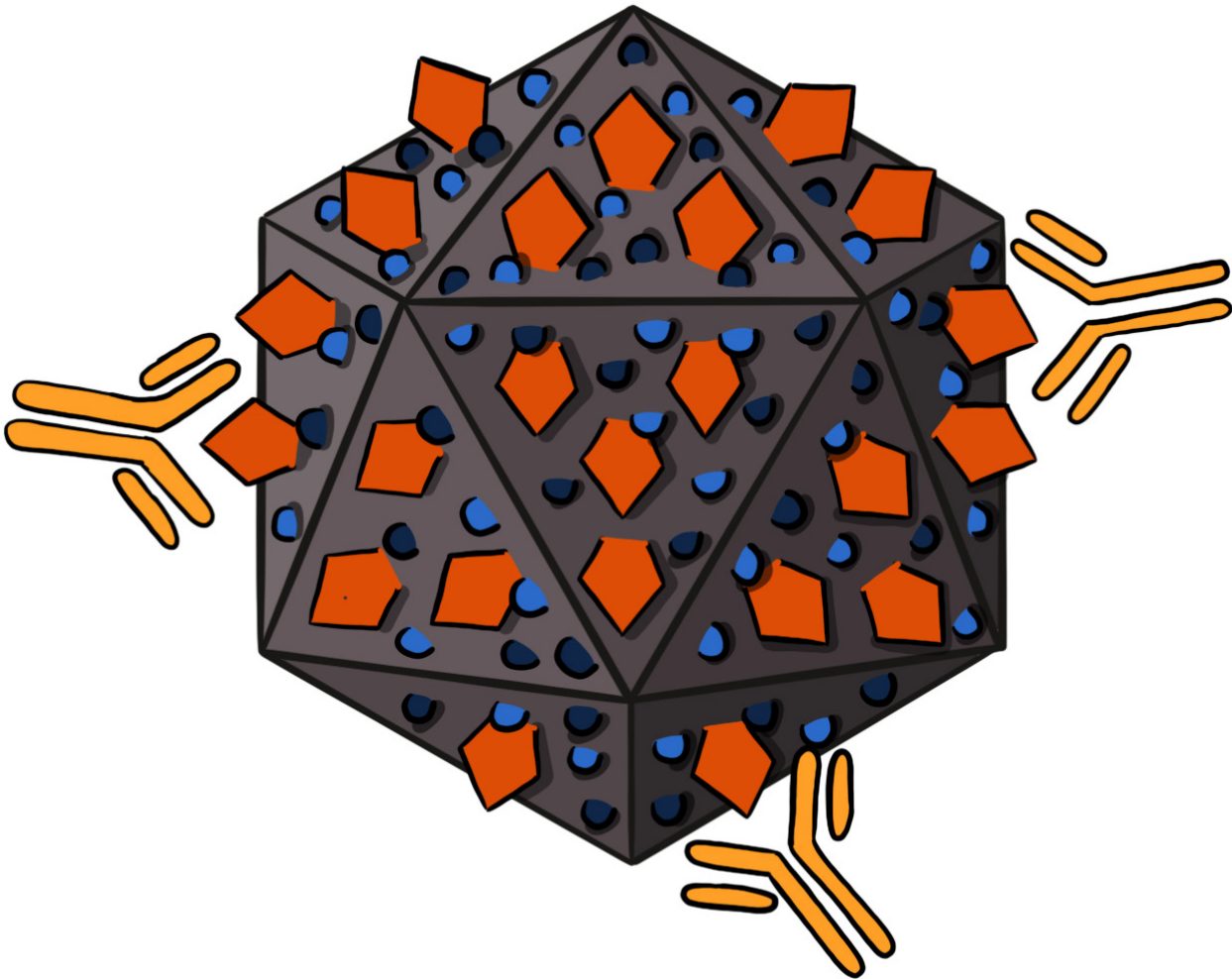
lleva no solo al empeoramiento de la salud de las aves, sino también al de la economía de quienes comercian con ellas.

Más allá de la parte negativa, el IBDV sirve de herramienta biotecnológica. Una vacuna, por ejemplo. Esta ha sido la antorcha que ha guiado al Laboratorio de Máquinas Macromoleculares Virales. El grupo, dirigido por José R. Castón, conoce la estructura tridimensional del microorganismo mejor que la palma de su mano. Este laboratorio ha dado con la posición hasta del último átomo, especialmente en la estructura de la cápside, una envuelta proteica con forma de icosaedro que recoge el genoma del virus. La curiosa apariencia no se debe al azar. El icosaedro,³¹ una figura geométrica tridimensional —un poliedro— de 20 caras formadas por triángulos regulares, representa la organización más eficiente con la que cuentan los virus para ensamblar las proteínas de la cápside.

El proyecto del grupo tenía un enfoque estructural: describir las proteínas M y S del SARS-CoV-2 ayudándose para ello de la cápside del virus del IBDV. La proteína M o de membrana representa la última integrante del cuarteto conformado por las proteínas estructurales del virus, junto con las ya mencionadas espícula o S, nucleoproteína y proteína E. Como su propio nombre indica, forma la membrana del coronavirus, donde comparte espacio con E y S, y es la más abundante de las cuatro. La cápside haría de andamiaje sobre el que insertar dicha proteína y su compañera.

Como el grupo conoce tan bien este agregado macromolecular, es capaz de comparar la cápside original con aquella modificada para incluir las proteínas del SARS-CoV-2 y, de esta forma, extraer la deseada información. La intuición puede llevarnos a pensar que

31 Otra curiosidad sobre el icosaedro es que pertenece al selecto grupo de los poliedros platónicos, apodo en honor a Platón, a quien se atribuye su descubrimiento allá por el siglo IV a.C. El conjunto incluye a aquellos poliedros en los que todas sus caras son polígonos regulares y de los que solo hay cinco representantes entre los que se encuentra el cubo.



resultaría más sencillo estudiar directamente las proteínas sueltas. En parte sí y por eso otros grupos lo hacen de esta manera, pero la forma de proceder del equipo cuenta con la ventaja de que, al mantener las proteínas sujetas, resultan más estables. Y si algo se queda quieto, la fotografía saldrá más nítida. Ambas alternativas no dejan de ser, no obstante, complementarias. La investigación contaba también desde el inicio con una vertiente apli-

cada para buscar la utilidad de las versiones quiméricas como vacuna. La idea no era descabellada puesto que el grupo de Castón ya lo había logrado para el virus de la gripe humana en una investigación previa donde llegaron a proteger ratones frente a la infección.

La esencia de todas las inyecciones frente al SARS-CoV-2 supone incluir, de alguna manera, la proteína de la espícula o parte de ella, especialmente el dominio RBD, para despertar la respuesta inmunitaria. Este equipo quería emplear la proteína S junto con la M, que también activa la protección, pero repetidas muchas veces sobre su tan estudiada cápside de IBDV. Una especie de partícula viral de imitación con los característicos pinchos a su alrededor. De ahí que el icosaedro modificado también se considera en la categoría de VLP o partículas similares al virus como la vacuna del Laboratorio de Coronavirus. El motivo para ello es que muchas copias de las proteínas en cada partícula intensifican la protección en comparación con si solo aparece una vez o se encuentran sueltas. Por eso los virus son, de hecho, tan inmunogénicos.

El procedimiento consistió, a grandes rasgos, en introducir los genes que codifican S y M³² en el genoma de la cápside para que los expresaran en sus proteínas. Las quimeras resultantes se introdujeron luego en un baculovirus, con el que se infecta a células de la misma forma que se hace en el proyecto del candidato vacunal anterior. Las células infectadas acabarán por generar las cápsides en su interior por lo que habrá que romperlas para extraer el preciado tesoro.

En biología dos más dos no siempre son cuatro. Aunque se sigan a rajatabla los pasos de un procedimiento a veces las cosas no salen como se espera, pues han podido mediar

32 Realmente no introdujeron el gen al completo, sino únicamente la secuencia codificante correspondiente con la parte más inmunogénica de las proteínas S y M. El resultado es que solo se expresaban en la cápside quimérica los dominios de ambas proteínas con mayor efecto en la respuesta inmunitaria.

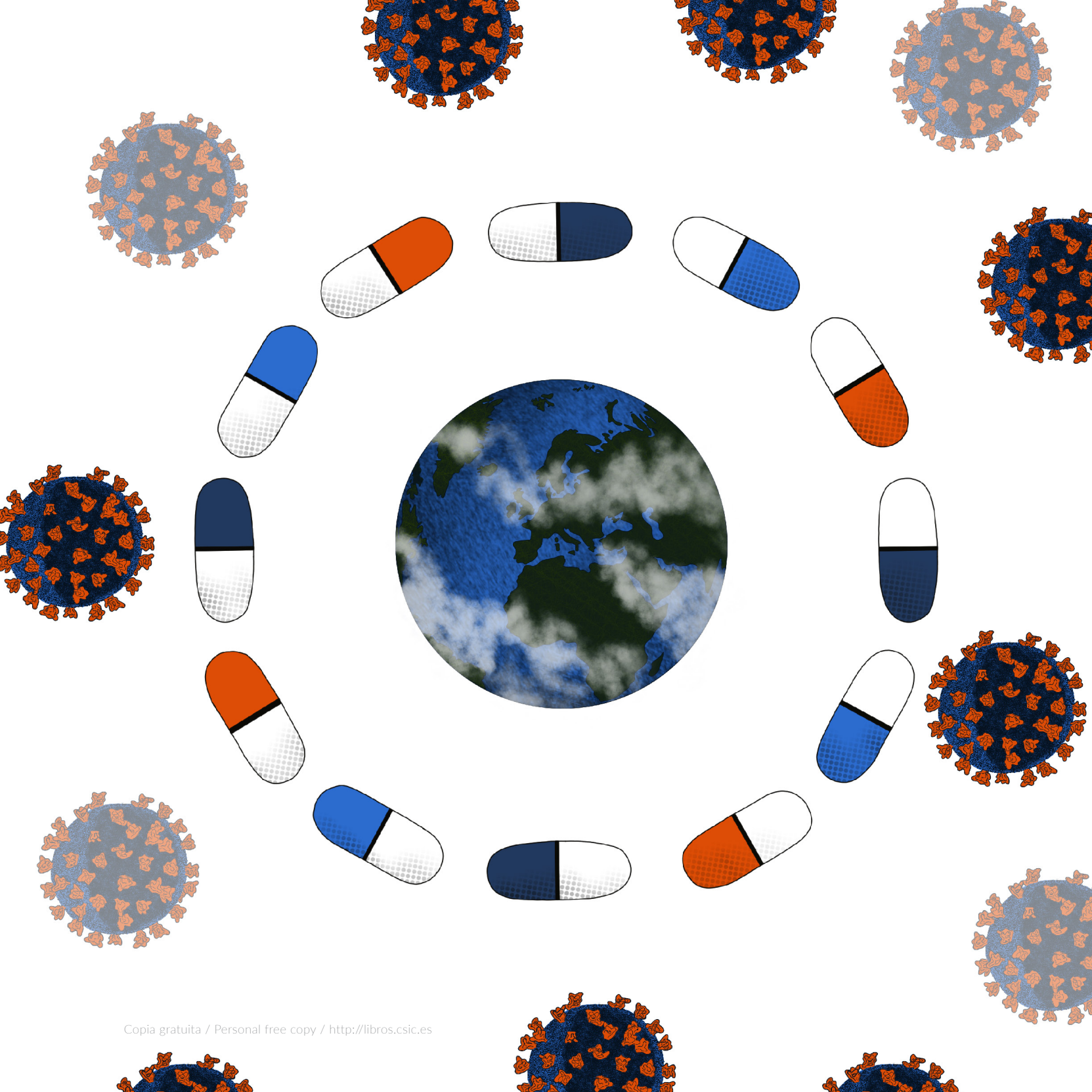
otros factores no tenidos en cuenta. En este caso ocurrió que los ensamblados no resultaron todos icosaedros idénticos, sino que las proteínas se autoorganizaron en diferentes y variadas conformaciones. Esto quería decir que ya no se podían hacer comparaciones con la cápsida original para resolver la estructura de las proteínas del SARS-CoV-2. La parte positiva fue que, aunque diferentes entre sí, se habían generado ensamblados. Es decir, se trataba de material particulado, VLP, con sus numerosas proteínas S y M injertadas, por lo que seguía siendo interesante para las inmunizaciones.

Así que testaron en ratones si estos generaban inmunoglobulinas ante la presencia de las partículas sintetizadas, trabajo posible gracias a la colaboración de otros laboratorios del centro. De nuevo la suerte no acompañó. El sistema inmunitario de los roedores no leía las proteínas del SARS-CoV-2, sino que las propias proteínas del IBDV las enmascaraban, así que las cápsides quiméricas no generaron anticuerpos protectores frente a la covid en los niveles de interés.

Esta experiencia es el pan de cada día en la investigación. En circunstancias normales, el siguiente paso hubiera sido comprobar por qué no había funcionado y ver qué se podía hacer para remediarlo. Optimizar el proceso, en resumidas cuentas. Pero el proyecto se había planteado en respuesta a una situación de todo menos normal. El objetivo era dar con una vacuna lo antes posible, o con una mejor comprensión de las proteínas del SARS-CoV-2, y en el momento en el que obtuvieron los resultados ya habían salido al mercado las primeras inyecciones. Además, continuar para encontrar la explicación al fallo implicaba tiempo, dinero y recursos personales que repartir con las otras investigaciones del Laboratorio en marcha. Por ello, el equipo consideró como la opción más sensata plantarse en este punto.

BLOQUE 3

TRATAMIENTO



Si bien las esperanzas estaban puestas en las vacunas, la otra pata para mantener a raya la infección por SARS-CoV-2, medidas de contención aparte, la constituían los tratamientos. Esta carrera empezó también en los primeros momentos de la pandemia, cuando ya se había visto que las personas llegaban a caer muy enfermas, efecto a paliar de alguna manera. Las principales herramientas para ello eran los antivirales y anticuerpos terapéuticos. Los primeros representan fármacos que bloquean la infección del virus al atacar directamente al patógeno o a los recursos que emplea en la célula para multiplicarse. Los anticuerpos terapéuticos son una especie de ayudas externas a las defensas producidas por nuestro sistema inmunitario, nuestros propios anticuerpos. De esta forma, resultan capaces de impedir la entrada del virus en las células, así como de reconocer a las partículas virales y las células infectadas.

El CNB ha buscado dar con tratamientos de ambos tipos, a la par que ha encarado otras aproximaciones que implican ingeniería genética o partículas nanométricas para calmar al demasiado despierto sistema inmunitario durante la infección.

UNA PLATAFORMA PARA CRIBAR MILES DE COMPUESTOS

El mundo de los antivirales es algo bien conocido para los laboratorios dirigidos por Pablo Gastaminza y Urtzi Garaigorta. El primer grupo ha buscado fármacos contra la hepatitis C y actualmente trabaja en compuestos contra virus transmisibles por mosquitos como la fiebre del Nilo. El grupo de Garaigorta, por su parte, trata de dar vida antiviral a moléculas frente al virus de la hepatitis B.

No es de extrañar que ya rondara por la cabeza de los investigadores ampliar el cribado a otros virus e implementar una forma más robusta de llevarlo a cabo. Pero para que

eso sucediera, hacía falta un cierto empuje que tirara del carro. O la emergencia de una pandemia que arrollara con todo.

La propuesta con la que partió el proyecto era ambiciosa a la par que concreta y realista dentro de sus posibilidades: establecer una plataforma de cribado de compuestos químicos para analizar su capacidad antiviral frente al SARS-CoV-2. La filosofía del proyecto consistía en probar en el laboratorio el efecto antiviral de moléculas independientemente del uso para el que hubieran sido concebidas. Si alguna daba buenos resultados, pasaría a las siguientes fases para cada vez afinar más el conocimiento sobre el compuesto en cuestión y su mecanismo de acción.

Por tanto, lo primero era hacerse con los químicos. El CNB contactó con instituciones de toda España para solicitar el envío de las colecciones. La gran acogida de la propuesta se tradujo en la recepción de miles de compuestos. Más de una treintena de instituciones pusieron sus quimiotecas al servicio de la plataforma.

Pensando en la urgencia social, las primeras moléculas testadas fueron sobre todo fármacos ya en el mercado empleados para otras patologías. La lógica detrás de esto es que, ante un resultado positivo, podían administrarse casi inmediatamente sin necesidad de pasar por el largo proceso que implica conseguir la autorización de las agencias reguladoras. En esta fase se evaluaron aproximadamente 2.400 moléculas que revelaron resultados para el tratamiento de la covid similares a los de otros estudios.

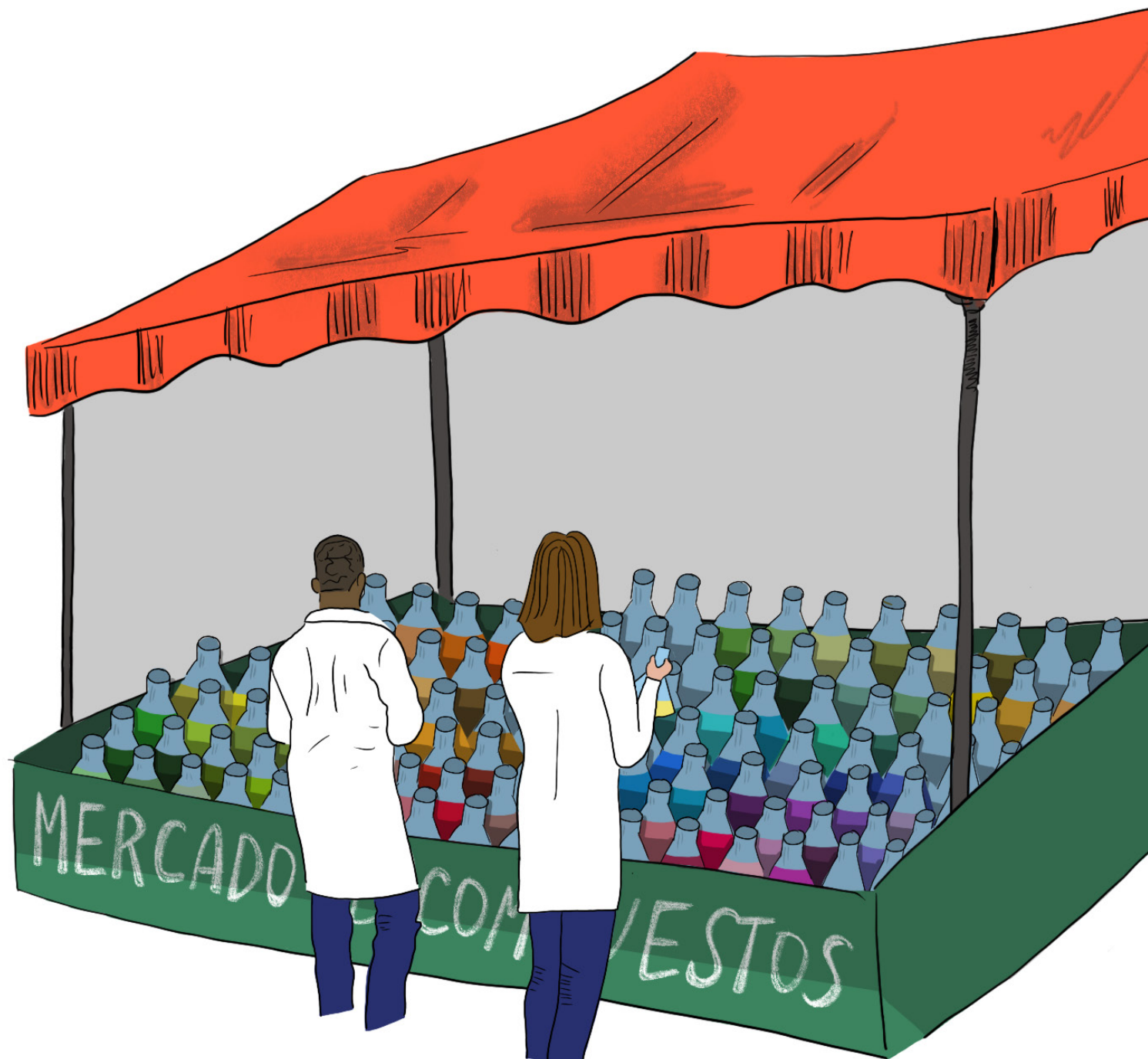
El proyecto funciona ahora con compuestos no comercializados creados para diversas aplicaciones, los cuales se añaden a células cultivadas en el laboratorio e infectadas con el nuevo coronavirus. El personal científico saca luego fotos a los cultivos y «cuenta» la tasa de infección para evaluar la capacidad de acción del virus en presencia del candida-

to. En paralelo, se llevan a cabo estudios de toxicidad, así como de los mecanismos de acción de los compuestos.

Por las manos de las personas que sostienen la plataforma de cribado no están pasando solo las moléculas de interés para el proyecto. También se han ofrecido ensayos a otros grupos del CNB para avanzar en proyectos conjuntamente. Por ejemplo, el Laboratorio de Poxvirus y Vacunas ha testado la capacidad de sus candidatos vacunales para neutralizar la entrada del virus en las células, mientras que otros equipos han medido la acción de anticuerpos terapéuticos o de diversos antivirales en investigación.

En cuanto a las colaboraciones con los químicos externos al CNB, las sinergias van más allá del mero envío de moléculas. Una vez evaluada la actividad antiviral de estas, la información retorna a ellos de manera que puedan optimizar los compuestos más prometedores para dar con mejores candidatos que volverán a ser testados. Se trata, por tanto, de un trabajo de interacción constante entre ambas patas del proyecto.

Este perfecto engranaje de evaluación y mejora de potenciales antivirales contra el SARS-CoV-2 en el que se ha convertido la plataforma del CNB tuvo unos comienzos un poco más complicados. Cuando aún no habían llegado los compuestos ni los equipos solicitados, Garaigorta y Gastaminza decidieron recurrir a lo que disponían más a mano. Las primeras moléculas evaluadas fueron aquellas presentes en sus laboratorios, que estaban relacionadas sobre todo con el virus de la hepatitis C. Literalmente empezaron con lo que guardaban en las neveras. Tampoco contaron desde un principio con el virus del SARS-CoV-2, sino que los primeros experimentos los hicieron con un coronavirus de catarro común, el coronavirus humano 229E, que tenían de investigaciones anteriores y el aparato con el que medían la cantidad de infección lo tomaron prestado de otro laboratorio del CNB. Ya en julio del 2020 llegaron nuevos equipos y pudieron coger ritmo. Una vez que contaron con el SARS-CoV-2, volvie-



ron a cribar con el virus las nuevas colecciones de compuestos que iban recibiendo continuamente.

Hasta la fecha se han testado unas 10 000 moléculas distintas que, en función de su actividad y naturaleza, se agrupan en familias. Cada una de ellas se somete luego a escrutinios en función de su actividad lo que conlleva cientos de experimentos. Del total de compuestos han salido varios finalistas para su evaluación en ratones. Esta parte de la cadena se está llevando a cabo por el equipo de Zoonosis Virales del INIA en los laboratorios del CISA. Los resultados de los primeros ensayos aún tardarán en llegar. Hacen falta varias pruebas con diferentes niveles de concentración o diferentes momentos en la administración del fármaco para alcanzar unas conclusiones robustas. Aquí los químicos tienen de nuevo un papel relevante. Al igual que en los casos de los cultivos celulares, los datos obtenidos en ratones vuelven a sus laboratorios para optimizar los compuestos.

La búsqueda de antivirales implica un desarrollo posterior que supone entender los mecanismos de acción, identificar con qué factores del virus interacciona el medicamento. Porque el cribado precisamente criba, hace un barrido de grano gordo, pero desconoce cómo actúan aquellos que funcionan. La filosofía de trabajo en este punto es que, si un medicamento interacciona con una proteína X del virus, si se cambia dicha proteína dejará de interaccionar y, por tanto, ese deberá representar el mecanismo de acción del fármaco.

La realidad, sin embargo, es que los mecanismos farmacológicos no resultan tan sencillos ya que pueden depender de múltiples elementos, así que la tarea se complica un poco más en la práctica. Para el desarrollo de esta parte se estableció una colaboración con el Laboratorio de Coronavirus del CNB ya que con su sistema de ingeniería genética pueden modificar el virus a la carta. Otro equipo con el que han trabajado ha

sido con la Unidad de Proteómica, encargada de caracterizar las vías celulares con las que interactúan algunos fármacos basándose para ello en el estudio de las proteínas de la célula.

El desarrollo de la orquestada actividad entre las personas integrantes de la plataforma ha llevado a poner en marcha, dentro de esta, decenas de proyectos paralelos. Entre los hitos intermedios alcanzados se encuentran, por el lado más académico, compuestos con capacidad antiviral totalmente inéditos los cuales han patentado y están investigando para describir su funcionamiento.

En el otro extremo se sitúan dos familias de compuestos ya muy avanzadas en su caracterización. Y muy interesantes. Una de ellas parece específica para coronavirus, así que en principio no tiene actividad frente a otros virus, lo cual indica que su mecanismo de acción es muy selectivo. Precisamente, los compuestos que ya han probado en ratones pertenecen a este grupo. Lo que sí sabe el equipo, según las características de dicha familia química, es que son moléculas muy potentes, muy poco tóxicas y muy interesantes. Por lo tanto, sus favoritas. También se ha presentado una patente para proteger la propiedad intelectual de las moléculas, que han ofrecido a las farmacéuticas.

La plataforma de cribado probablemente no acabará con el fin de la pandemia. Tanto la infraestructura material como el tejido de personas y conocimiento se quiere aprovechar para la búsqueda de antivirales frente al potencial desafío de otros virus como los transmitidos por mosquitos. Otra idea más consolidada y ya en marcha es la prueba de los compuestos de la quimioteca como antibióticos frente a bacterias resistentes a los fármacos. Las superbacterias representan otro quebradero de cabeza sanitario a nivel mundial y varios equipos del CNB aprovecharán para probar la eficacia de los compuestos en bacterias resistentes sobre las que investigan.

LA VIRULENTE PROTEÍNA E DEL VIRUS COMO OBJETIVO

El Laboratorio de Coronavirus había descubierto ya para el SARS-CoV-1 y para el MERS-CoV la existencia de unas piezas al final de la proteína de su envuelta o proteína E que constituyen el mencionado dominio PBM. Este se puede unir a muchas de las proteínas celulares y explica parte de la virulencia de ambos virus. El grupo observó que el SARS-CoV-2 funcionaba de forma similar, así que se planteó el bloqueo de esta unión como una estrategia para dar con antivirales.

En la célula hay más de 400 proteínas con las que potencialmente pueden interactuar estos coronavirus por los explicados enlaces PBM-PDZ. El grupo descubrió que la proteína celular sintenina, la cual está muy relacionada con la metástasis y la invasión de tumores, entre otros procesos, es una con la que sí ocurre la unión. Dicha interacción explica muchos síntomas de la infección, especialmente la activación de la inflamación ya que media en la producción de citoquinas, y, sin ella, se pierde la virulencia.

El objetivo del trabajo del laboratorio de Luis Enjuanes e Isabel Sola es entender bien cómo funciona el acoplamiento entre las dos proteínas —proteína E y sintenina— para luego buscar tratamientos que inhiban esa unión, algo que han ampliado ahora al SARS-CoV-2. Lo han hecho desde una aproximación computacional gracias a la Unidad de Informática Científica del CNB, con José Ramón Valverde al mando.

El primer paso consistió en hacer modelos de interacción. ¿El PBM de la proteína E ya desencadena por sí mismo la activación de la sintenina o necesita de algo más? Los resultados confirmaron que este motivo valía por sí solo para desencadenar la fatal respuesta inflamatoria. Estos primeros modelos sugerían, además, que posiblemente la forma en que ambos interactuaban era muy rápida.

Pero como los modelos por ordenador no dejan de ser predicciones, la hipótesis fue puesta a prueba en experimentos con SARS-CoV-2. Unos virus se obtuvieron de muestras de pacientes y otros fueron coronavirus artificiales sintetizados con diferentes mutaciones en la proteína E para ver cómo afectaban a la interacción. Los mutantes resultaban de utilidad a la hora de identificar qué modificaciones daban lugar a una infección menos grave y cuáles lograban una mejor unión respecto al virus original. El objetivo que perseguían con ello era generar fármacos en forma de péptidos, secuencias muy cortas de aminoácidos de fácil diseño y síntesis que pueden interactuar con los receptores de la célula. Los péptidos se unirían a la sintenina, bloqueándola para que el SARS-CoV-2 no pudiera engancharse y activar a las células. Con este fin, probaron una gran cantidad de mutaciones para asegurarse de que los cambios en los mutantes llevaban a una unión mejor que la del virus dañino, pero sin su efecto perjudicial.

Sin embargo, semejante estrategia no era del todo eficiente en la emergencia de la pandemia. Diseñar un péptido, fabricarlo y hacer los ensayos puede llevar mucho tiempo y el nuevo coronavirus se nos había echado encima. Hacía falta una solución más rápida. Así que el equipo probó con fármacos ya en el mercado con el fin de evitar las pruebas de toxicidad y demás burocracia, requeridas para el visto bueno de las agencias reguladoras. Gracias a esta aproximación se han rescatado un par de fármacos que podrían ser buenos para tratar la covid. El siguiente paso será probarlos experimentalmente en el laboratorio para ver si funcionan.

En paralelo, el Laboratorio de Coronavirus está pendiente de evaluar el efecto antiviral frente al SARS-CoV-2 de otro fármaco experimental que se dirige a la sintenina y ensayado en ratones para tratar la metástasis. El compuesto ha sido ideado por un laboratorio del Centro de Investigación en Cáncer de Marsella, en Francia, experto en los dominios PDZ de la sintenina y su relación con el cáncer y la metástasis.

Pero la sintenina no es el único punto en torno a la proteína E del SARS-CoV-2 sobre el que se puede actuar para inhibir la virulencia. La también alterada proteína CFTR emergía como otro objetivo claro para el grupo. La fibrosis quística, que igualmente produce problemas pulmonares, se trata con fármacos para restablecer los niveles de CFTR. Por ello, el equipo probó dos de los medicamentos empleados en estos pacientes para tal fin, que se administran como terapia combinada. Eligieron aquellos con mejores resultados y de los que se habían hecho más experimentos y ensayos para así poder diseñar mejor el procedimiento. Esto les permitió comprobar que, al infectar ratones con una dosis letal del virus, pero añadiendo ambos fármacos, salvaban al menos al 80% de los animales. En el horizonte del grupo planea la posibilidad de dar el salto a personas mediante un ensayo clínico.

Aunque los resultados son buenos, no llegan a una efectividad total, por lo que el equipo continúa en la mejora de los tratamientos. Una parte importante aquí pasa por entender sus mecanismos de acción. El grupo baraja la hipótesis de una serie de proteínas intermedias interviniendo en los resultados, así que su objetivo radica en comprobarlo y descubrir cuáles son las protagonistas. En paralelo, están estudiando otros fármacos de nueva generación frente a la fibrosis quística, ya en el mercado, que también modifican los niveles de CFTR.

BUSCAR ANTIVIRALES EN FÁRMACOS EN EL MERCADO

La investigadora Cristina Risco, confinada en su casa, dudaba sobre si adentrar su laboratorio en el océano del coronavirus o mantenerlo al margen. Los integrantes del grupo de Estructura Celular que dirige en el CNB la animaban a zambullirse en el agua. El equipo es experto en el estudio de cómo ciertos virus que afectan a humanos, algunos muy preocupantes como la familia de los bunyavirus, alteran las células cuando las

infectan y buscan antivirales para remediarlo. Sin embargo, no habían lidiado nunca con un coronavirus. Y puede parecer que, entendido un virus, entendidos todos, pero nada más lejos de la realidad.

Fue un mensaje por correo electrónico el que venció la balanza. M^a del Carmen Martínez Jiménez, profesional del Hospital Nuestra Señora de Sonsoles, en Ávila, había removido cielo y tierra para explicar a algún investigador o investigadora del CNB sus ideas sobre la posibilidad de uso de ciertos compuestos vegetales como antivirales. Y es que, recordemos que en la época de la pandemia las direcciones electrónicas de determinado personal científico se ocultaron como medida contra la avalancha de correos que estaban recibiendo.

La propuesta no era nueva ni descabellada, pues muchos fármacos vienen de los vegetales. Las esperanzas de ella recaían especialmente en los extractos de pino silvestre. Había trabajado y estudiado mucho sobre ellos, así como en otros aislados de vegetales, y pensaba que podían contener antivirales y antiinflamatorios válidos para el SARS-CoV-2. Dicha información la recogió en una muy completa investigación bibliográfica, donde incluyó las aplicaciones en medicina, y la envió a Risco, quien no pudo resistirse a su entusiasmo.

Que el grupo no hubiera iniciado por el momento la investigación en SARS-CoV-2 no quería decir que se hubiera mantenido al margen. El Laboratorio pasó un mes estudiando sobre el nuevo coronavirus y sobre qué otros laboratorios de bioseguridad 3 había en Madrid. Porque si en algún momento trabajaban con el virus, iban a necesitar de uno y las instalaciones del CNB estaban más que solicitadas.

Madrid dispone de otros laboratorios NCB3 pertenecientes a instituciones públicas de investigación además del CISA, mencionado en numerosas ocasiones a lo largo del libro y que alcanza el nivel 3+ de contención biológica. Entre ellos se encuentran el del Centro

de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), perteneciente a la Universidad Complutense; el del Instituto de Salud Carlos III, y el del CBM. Todas las instalaciones se encontraban igual de saturadas que la del CNB. Pero un grupo de Barcelona llegó al rescate.

Ajena a los problemas del Laboratorio, Nuria Izquierdo Useros, científica en IrsiCaixa, donde lidera un grupo de investigación sobre patógenos emergentes y amenazas microbianas, contactó con el grupo de Risco para proponer una investigación conjunta sobre SARS-CoV-2. La investigadora trabajaba en sus propias estrategias de búsqueda de antivirales y necesitaba obtener imágenes de microscopía electrónica, algo en lo que el grupo de Estructura Celular es experto. La llamada no venía de la nada pues ambos equipos se encontraban en conversaciones para colaborar en un nuevo proyecto sobre el virus del dengue. Los dos equipos llegaron a un acuerdo para su nuevo objetivo, el SARS-CoV-2: el laboratorio del CNB haría el trabajo de obtención de imágenes por microscopía del equipo de IrsiCaixa, mientras que el grupo de Barcelona llevaría a cabo los experimentos del equipo del CNB en su NCB3.

Al barco subió también José Pedro Cerón, del Centro Universitario de la Defensa de San Javier, adscrito a la Universidad Politécnica de Cartagena, en Murcia, con quien el Laboratorio de Estructura Celular ya venía trabajando. Cerón se ha especializado en elaborar computacionalmente modelos de moléculas para predecir sus propiedades químicas, es decir, puede anticipar la capacidad antiviral de una molécula antes de probarla en células o en organismos vivos. De esta colaboración habían dado con una cartera de antivirales que tenían buen pronóstico para bunyavirus. Dicha colección, más los extractos de pino, fueron puestos a prueba contra el SARS-CoV-2.

Los componentes de los que partían eran fármacos ya autorizados para otras enfermedades que no atacan a un virus específico. En cambio, modifican elementos en la célula que los patógenos, en general, emplean para su propio beneficio, por lo que un fármaco

podría cubrir varios virus a la vez. Es lo que se conoce como antivirales de amplio espectro y muchas medicinas que tomamos siguen esta estrategia de tener como blanco nuestras células. Por otra parte, muchos grupos de investigación de todo el mundo se volcaron al comienzo de la pandemia en determinar la estructura molecular de posibles dianas a las que dirigir fármacos frente al nuevo coronavirus. Así que el equipo disponía de un conocimiento en el que basarse para cambiar ahora la pareja del baile del bunyavirus al SARS-CoV-2 y enfrentar los antivirales contra este virus.

El papel de Cerón consistió en predecir cómo de buenos inhibidores de las proteínas celulares que le interesan al SARS-CoV-2 eran cada uno de los compuestos. Con la ayuda de un supercomputador los fue enfrentando contra las partes de las proteínas donde era viable que se insertaran para ver si lo lograban y cómo de bien se unían.

El investigador, por curiosidad, miró también si los fármacos eran a su vez capaces de atacar al SARS-CoV-2. Como se trataba de moléculas muy pequeñas pensó que encontrarían algún recoveco del diminuto patógeno, en comparación con las células humanas, al que engancharse. La intuición no le falló en absoluto. Varios de los fármacos encajaban perfectamente en los sitios activos de proteínas del virus como la espícula o la proteasa principal del virus, que es la encargada de cortar y pegar el genoma del virus. La proteasa es un objetivo contra el que van dirigidos otros antivirales, como Remdesivir, y contra el que los fármacos ahora testados se enganchaban con mayor afinidad.

Una parte importante en esta etapa fue la estabilidad en el tiempo de los elementos testados. Una molécula puede interaccionar con su diana formando un enlace permanente. Luego hay otras que encajan muy bien en su objetivo, pero no permanecen para siempre aferradas. De ahí que haya que repetir la toma de medicamentos. Al grupo le interesan antivirales que interaccionen de esta segunda manera. A priori podría parecer peor opción, sin embargo, aquellos fármacos con enlaces permanentes producen, en general, más efectos secundarios.

Este primer cribado seleccionó 47 fármacos de los 116 iniciales. La siguiente prueba sería más difícil de superar por los concursantes: enfrentarse a un virus de verdad. Le tocaba el turno ahora de coger las pipetas al laboratorio del CNB. El primer ensayo se llevó a cabo con el coronavirus de catarro 229E, para cuyo manejo resulta suficiente un laboratorio de bioseguridad 2, para saltar luego al SARS-CoV-2. La eficacia de los componentes fue estudiada en cultivos en presencia y ausencia de virus de forma parecida a la aproximación de la plataforma de cribado de antivirales.

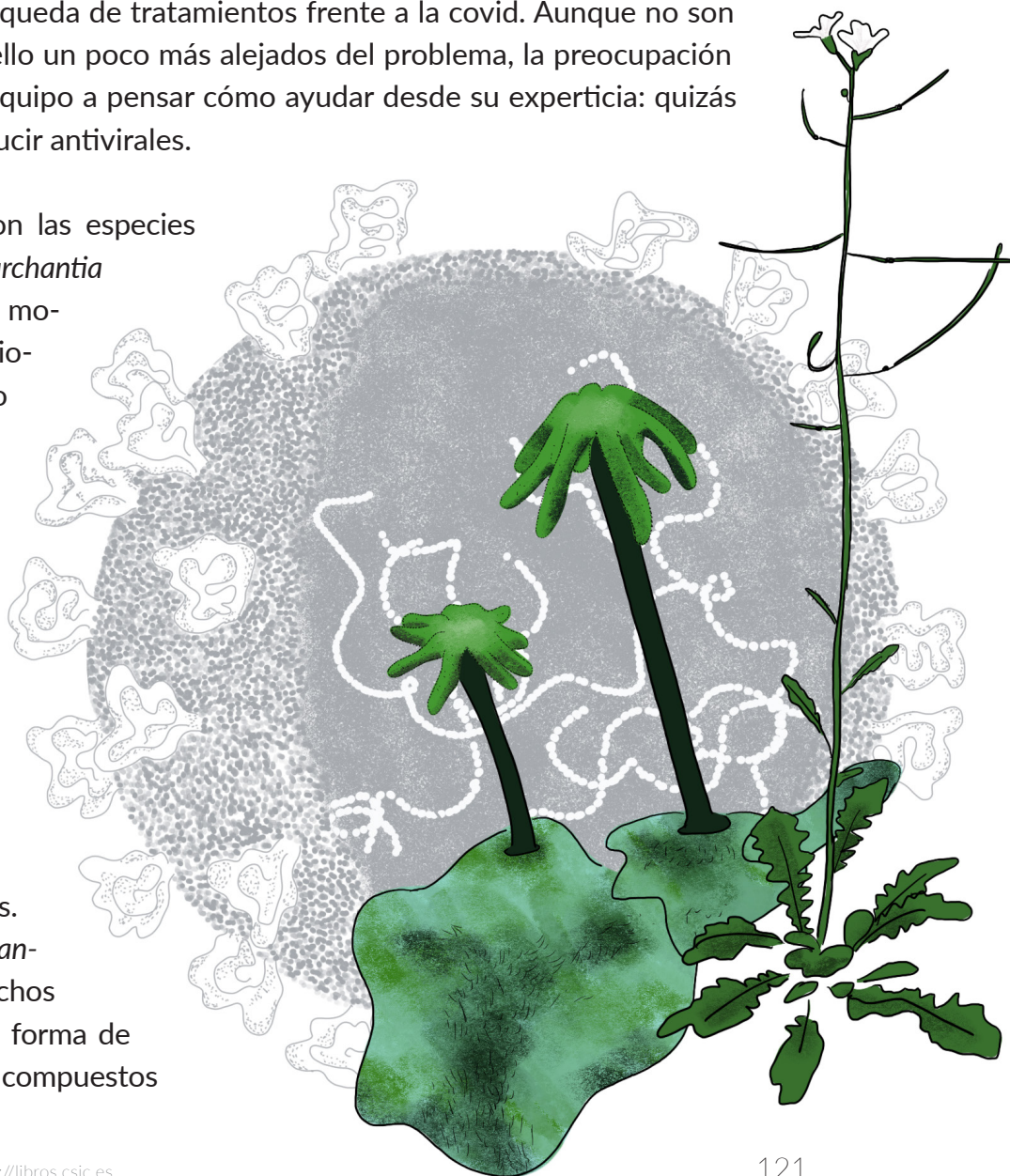
Cuatro finalistas, entre los que se encontraba uno de los compuestos activos aislados del extracto de pino, superaron todos los experimentos. Dos de ellos alcanzaron muy buenos resultados incluso a dosis bajas. El problema es que se trataba de moléculas muy caras de producir por lo que su comercialización resulta inviable. El componente aislado del extracto de pino resultó eficaz a dosis al límite de la toxicidad, para la sorpresa del grupo, así que también quedó por el camino. El cuarto componente sí que ha pasado el aprobado general y ya se está testando en hámsteres. Es un compuesto muy prometedor ya usado en clínica para encapsular fármacos y en la industria alimentaria y, sobre todo, es barato. Semejantes cualidades han llevado al consorcio a presentar una patente de uso para protegerlo. La decisión de dar el siguiente paso de adentrarse en los ensayos en personas se hará, tras la consecución de fondos para ello, si los resultados de las pruebas en animales son buenos.

PREGUNTANDO A LAS PLANTAS

Desde sus inicios, la humanidad ha encomendado a las plantas la cura de muchas afecciones. La confianza en los vegetales se mantiene en la actualidad y no solo para los tratamientos naturales a base de hierbas, sino que bastantes fármacos más «químicos» se extraen también de ellos.

No es, por tanto, descabellado que el grupo dirigido por Roberto Solano, el cual estudia los mecanismos moleculares que permiten a las plantas adaptarse al medio ambiente, quisiera ayudar en la búsqueda de tratamientos frente a la covid. Aunque no son virólogos y estaban por ello un poco más alejados del problema, la preocupación de la pandemia llevó al equipo a pensar cómo ayudar desde su experticia: quizás sus plantas podrían producir antivirales.

El Laboratorio trabaja con las especies *Arabidopsis thaliana* y *Marchantia polymorpha*, organismos modelo en investigaciones biológicas, con el foco puesto en el jasmonato. Esta hormona es imprescindible para responder al estrés al que se ven sometidas las plantas. Los vegetales no pueden desplazarse, así que desarrollan un arsenal químico impresionante para mantenerse a salvo del calor, la sequía o los patógenos. Precisamente la *Marchantia polimorfa* genera muchos químicos de este tipo en forma de metabolitos secundarios, compuestos



derivados de aquellos generados durante su metabolismo, que ejercen una función defensiva sobre todo frente a patógenos y herbívoros, principalmente insectos. El grupo pensó que la función protectora de los metabolitos en la planta podría servir para defendernos del SARS-CoV-2. Otro motivo de la elección es que los briofitos, familia a la que pertenece *Marchantia polymorpha* y que incluye a los musgos y otras plantas muy sencillas, están poco explorados como recurso para extraer medicamentos. Toda una mina por excavar.

El proceso supuso machacar las pequeñas y aplanadas plantas para extraer en crudo sus compuestos, que fueron enfrentados al SARS-CoV-2. La prueba se llevó a cabo en la plataforma de cribado de antivirales del CNB como una de las numerosas sinergias que aprovechó el potencial de esta iniciativa. Los resultados fueron positivos. Sin embargo, el grupo desconocía el compuesto detrás del éxito, así que el trabajo consistió en ir fraccionando más cada uno de ellos hasta identificar al responsable.

La sorpresa para el grupo resultó máxima ya que el potencial antiviral no representaba un metabolito secundario, sino que era un derivado de uno de los compuestos más abundantes en la biosfera por estar presente en todas las plantas: la clorofila. Se trata del Pheophorbide a, un elemento muy conocido y disponible comercialmente procedente de la degradación de la clorofila que puede darse en plantas envejecidas o si esta se calienta.

El posible antiviral mostraba unos efectos muy potentes pues prevenía la infección de las células sin resultar tóxico para ellas. Otro punto a favor es que resultó a su vez efectivo frente a diversos virus como el de la hepatitis C y el del Nilo occidental, además de otros coronavirus. Analizando su mecanismo de actuación, el grupo descubrió que en realidad se trataba de un viricida, que impedía la entrada del SARS-CoV-2 en las células. Por una parte, eso es bueno porque se puede usar para frenar el virus. Pero si el virus ya ha entrado en las células, la actividad de este compuesto es baja, lo que supone un hándicap para el tratamiento ya que los antivirales se administran una vez acontecida la infección y no antes.

A lo anterior se sumó el problema de que no se acumulaba en el pulmón de los ratones, algo que conocieron a partir de ensayos con animales descritos en la literatura publicada sobre el tema. Contar con esta cualidad resulta vital para un tratamiento antiviral frente al SARS-CoV-2, cuyo principal problema es la afección pulmonar. Si bien cierto personal del CNB los animó a continuar la investigación, ya que existe la tecnología para dirigir el compuesto al pulmón, el resultado los decepcionó un poco y han decidido dejarlo aquí, al menos por el momento, añadiendo el argumento de que esta aproximación queda muy alejada de su campo de estudio.

LOS EXTRAORDINARIOS FLAVONOIDES

Del anteriormente mencionado metabolismo secundario de las plantas surgen otros interesantes compuestos: los flavonoides. Si uno abre un buscador y teclea la palabra, aparecerán píldoras de información que apuntan hacia una imagen casi milagrosa de estas moléculas. «Por qué son buenos para la salud», «Propiedades y acciones antioxidantes» o «Definición, tipos y beneficios» suponen solo algunos de los titulares que ensalzan a los flavonoides. ¿Hay algo de cierto en ellos? La respuesta es un rotundo sí.

Los flavonoides son un grupo de sustancias químicas muy extendidas en las plantas donde fundamentalmente ejercen funciones de defensa, a la par que resultan en parte responsables de los fuertes colores rojizos y azulados de muchas de ellas. Estos compuestos también cuentan con la propiedad de dar sabor sin aportar calorías, por lo que se han empleado como saborizantes. A lo anterior, se suman las valiosas propiedades antioxidantes, antimicrobianas o antiinflamatorias recogidas en una extensa literatura científica y ya aprovechadas en la medicina tradicional.

Los flavonoides aparecen de forma natural, pero también pueden ser modificados artificialmente para lograr nuevas moléculas con diferentes propiedades. El Laboratorio de Biología de Sistemas del CNB, con Juan Nogales al frente, participa como coordinador del proyecto europeo Synbio4Flav que persigue la producción de flavonoides enfocada, sobre todo, en la consecución de compuestos saborizantes. El grupo pensó que, de alguna manera, podrían reposicionar o aplicar su tecnología en el contexto de la covid y buscar compuestos con propiedades antivirales.

Antes de lanzarse a la piscina, el equipo revisó la literatura en busca de evidencia científica sobre las propiedades antivirales de los flavonoides frente a los coronavirus. Nuevamente un rotundo sí emergió como respuesta. Una gran diversidad de ellos actuaba a lo largo del ciclo de este tipo de virus. Algunos flavonoides impedían el acceso a las células, otros la replicación, otros la maduración de las partículas virales y su salida de la célula dispuestas a la colonización de la siguiente. Incluso dieron con lo que en ese momento eran las primeras evidencias experimentales relacionadas con el SARS-CoV-2 relativas a la inhibición de algunas enzimas del virus, en concreto, la proteasa principal.

Cuando la información genética del SARS-CoV-2 entra en la célula, la cadena de ARN que forma su genoma se lee y la información se traduce en una larga cadena de muchos péptidos, una especie de macroproteína. La segmentación de esta permitirá conseguir las proteínas de los futuros viriones. Es como si fuera una plancha con un montón de figuritas de plástico producidas a partir de un molde que luego hay que ir separando. La enzima conocida como proteasa principal, junto con una proteasa compañera, se encargan de cortar parte de esta cadena polipeptídica en un paso, por tanto, vital para la multiplicación del virus. Por ello, esta enzima se ha establecido como una importante diana a la que dirigir antivirales. Y muchos flavonoides son capaces de inhibirla según la revisión llevada a cabo, y publicada, por el equipo.

Con las evidencias en la mano, se dispusieron a crear una librería de flavonoides contra la proteasa del SARS-CoV-2. Para ello desarrollaron un sensor que, al añadirlo a células, fuera capaz de identificar flavonoides que bloquearan esta enzima. La esencia del mecanismo es una proteína fluorescente que se encuentra apagada al estar continuamente frenada por la proteasa, la cual formaría parte también del circuito del sensor. Cuando algún flavonoide bloquea la proteasa, la proteína puede emitir fluorescencia marcando la presencia de un candidato.

Las propias células serían la fábrica de compuestos mediante biología sintética. La idea que maneja el equipo es añadir a las células la capacidad de generar modificaciones al azar en flavonoides ya sintetizados, con la intención de que alguno de los nuevos se pudiera dirigir contra la proteasa. Esta segunda parte del trabajo está aún empezando a rodar y, de momento, no cuentan con candidatos.

Todo el conjunto actuaría, por tanto, como una plataforma de cribado de compuestos en miniatura, ya que los flavonoides se estarían generando a la vez que el biosensor iría seleccionando aquellos de interés. La fortaleza de la aproximación reside en que a partir de una molécula se pueden generar cientos de derivadas nuevas, muchas de las cuales no existen en la naturaleza, y el biosensor se puede modificar de cara a detectar compuestos para cualquier objetivo deseado.

ANTIVIRALES A ESCALA NANOMÉTRICA

La ciencia aparenta un quehacer aséptico, con la búsqueda de conocimiento o de soluciones para mejorar nuestras vidas como los principales motores que guían su ruta. Sin embargo, como cualquier otra actividad realizada por individuos, las historias personales se cruzan por el camino y muchas veces determinan décadas de colaboraciones.

Domingo Francisco Barber y María del Puerto Morales llevan más de 15 años trabajando conjuntamente. Ambos comparten la investigación dentro del mundo de los nanomateriales y dirigen sendos laboratorios, aunque cada uno pertenezca a un centro diferente, el CNB y el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (ICMM), CSIC respectivamente. Lo que inicialmente les aproximó, sin embargo, fue coincidir dejando a sus hijos, primero en la guardería y luego en el colegio de la UAM. En esos breves encuentros charlaban sobre la vida y los trabajos, que en su caso no estaban tan distantes.

A fuerza de estas improvisadas reuniones ya sabían lo suficiente el uno de la ciencia del otro como para aventurarse allá por el año 2005 en un proyecto común. Su objetivo pasaba por emplear nanopartículas de óxido de hierro como tratamiento oncológico. Mediante una especie de imán se retendrían en las células tumorales gracias a su composición ferrosa y allí podrían liberar los fármacos adheridos a ellas.

Por otro lado, y dando un salto temporal, poco antes de la pandemia un grupo nuevo llegó al CNB, el de Marta López de Diego, y acabó compartiendo laboratorio con el de Barber. El recién arribado equipo trabaja en virus respiratorios, como los coronavirus y el virus de la gripe, y la respuesta inmunitaria que induce en las personas. Nuevamente la charla informal llevó a la elucubración sobre el uso de nanopartículas contra dicho virus, una posible colaboración a punto de hacerse realidad.

Con la explosión del SARS-CoV-2, López de Diego³³ y Barber reorientaron parte de la idea del proyecto hacia el coronavirus, iniciativa en la que también está implicado el

33 Este laboratorio, denominado Efecto de Factores Celulares y Virales en la Inducción de Respuestas Inmunes Innatas, Replicación y Patogénesis de Virus Respiratorios, se adentró un año después en un proyecto propio para determinar factores celulares que afectan la infección por SARS-CoV-2, cuyos primeros resultados publicó en enero del 2023.

equipo de Morales con su experticia en las nanométricas esferas de óxido de hierro, la cual era clave en la historia. El nuevo consorcio pensó en reposicionar como antivirales nanopartículas ya aprobadas para uso médico. Era lo más rápido para aportar soluciones al problema presente dentro de su campo de conocimiento. Más tarde ampliaron la propuesta al añadir sus propias nanopartículas, que ya tenían muy caracterizadas, a la par que incorporaron la búsqueda de nanotratamientos para la gripe. El planteamiento contaba con una segunda parte para dotar a las partículas antivirales de capacidad inmunosupresora al añadirles una sustancia concreta para ello. Ya se ha visto en páginas anteriores que una respuesta inmunitaria desorbitada es el fatal efecto de la interacción del SARS-CoV-2 con nuestro organismo.

Las candidatas a testar en un inicio incluían agentes de contraste para resonancia magnética³⁴ y algunas nanopartículas empleadas para el tratamiento de la anemia, principalmente compuestas por óxido de hierro, aunque también se incluía una de oxihidróxido de hierro.³⁵ Investigaciones previas ya habían demostrado la posible capacidad antiviral y, sobre todo, viricida de algunas nanopartículas. Al añadirles a medios contaminados con virus como el de la gripe, estas conseguían «matar» a los patógenos.

Pero en la búsqueda de un tratamiento frente al SARS-CoV-2 interesaba actuar contra el virus ya dentro de las células puesto que es donde ocurre la infección. Para ello, las nanopartículas debían penetrar en las células. El equipo sabía por sus estudios previos que aquellas de óxido de hierro se internalizan por las células en una especie de vesículas y

34 Los agentes de contraste son sustancias administradas al paciente para que las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética, en este caso, permitan discriminar las formas en ellas captadas.

35 Ambas nanopartículas tienen en común contar con hierro y oxígeno en su composición química. El uso de este tipo de nanomateriales para aplicaciones clínicas se basa principalmente en su biocompatibilidad en dosis moderadas. Las rutas metabólicas del hierro se conocen relativamente bien y se pueden producir en una amplia gama de tamaños y formas con potencial de modificarlos añadiendo otras moléculas.

terminan degradándose. Al hacerlo, las microscópicas esferas inducen estrés oxidativo³⁶ y el cambio del metabolismo del hierro en las células. El estrés oxidativo afectaba precisamente a la estabilidad de la membrana del virus de la gripe en las investigaciones anteriores. Así que pensaron que lo mismo podría ocurrir con el SARS-CoV-2 y, de esta forma, poder inactivarlo.

Los resultados han sido muy positivos en cultivos de células infectadas por el coronavirus, pues muestran el ansiado efecto antiviral, aunque el estrés oxidativo solo explica parte del resultado. Este efecto se intenta eliminar al máximo en las nanopartículas desarrolladas para su aplicación en biomedicina ya que no interesa. Por ello, el grupo pensó que otra contribución muy importante del efecto antiviral de las nanopartículas era debida a la alteración del metabolismo de hierro. A raíz de los datos, han iniciado estudios de la actividad antiviral en modelos de ratón de SARS-CoV-2. En paralelo, el equipo ha demostrado la actividad antiviral contra el virus de la gripe tanto en pruebas en células como en animales.

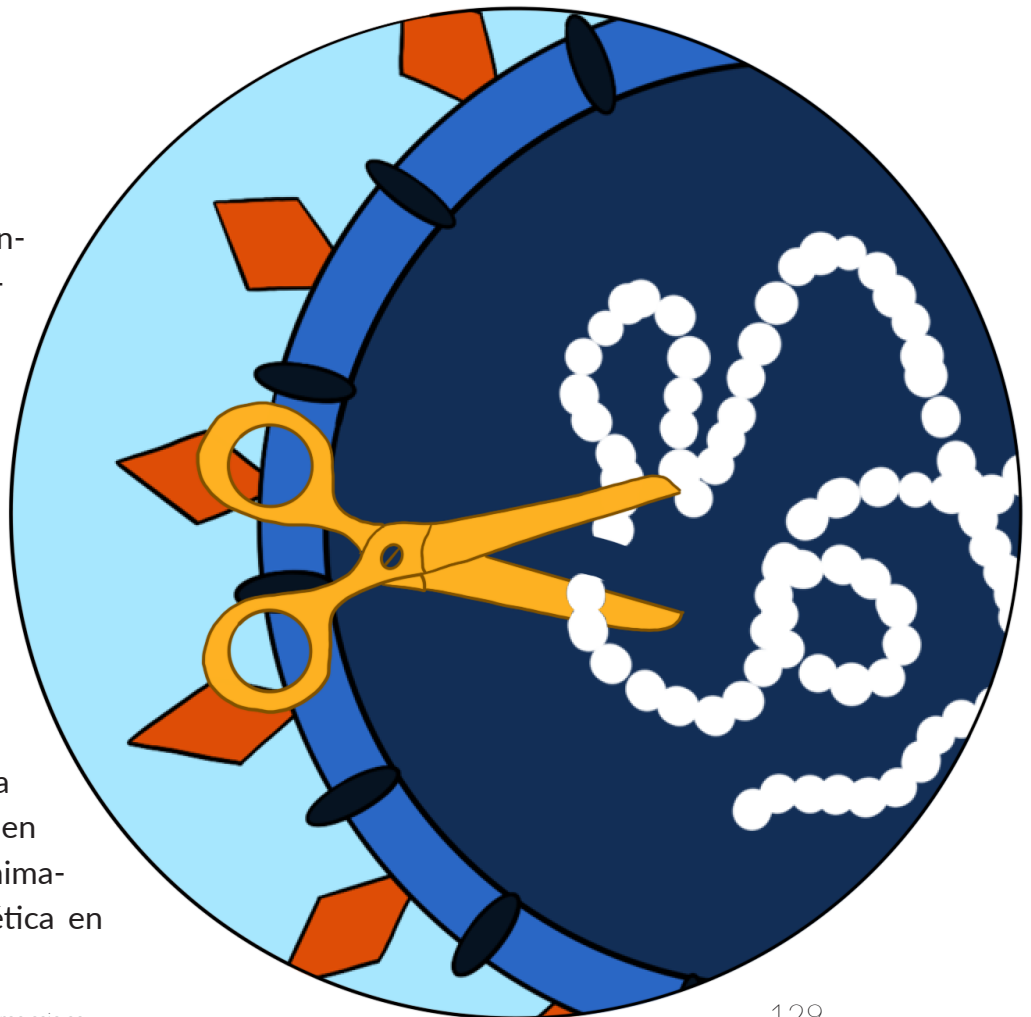
Como se ha indicado con anterioridad, el objetivo del consorcio incluía también lograr un efecto inmunosupresor. Para ello trabajan en acoplar a las nanopartículas interleucina 10, una pequeña proteína con propiedades inmunosupresoras, la cuales dirigirán al pulmón para que liberen ahí su carga. El efecto esperable es que las diminutas partículas disminuyan la inflamación de la zona a la par que ejerzan el efecto antiviral descrito. La idea que tiene el consorcio de científicos es extrapolar tal planteamiento a otras enfermedades respiratorias con casos graves, donde la inflamación emerge como una problemática común al SARS-CoV-2.

36 El estrés oxidativo muy a largo plazo y sostenido en el tiempo no es bueno, pero supone una forma de defensa de nuestro organismo. Por ejemplo, los macrófagos pueden inducir estrés oxidativo y eso puede ayudar a matar a los patógenos.

Las perspectivas de futuro exceden las fronteras de la investigación en marcha. La creación del consorcio ha sembrado la semilla para embarcarse en nuevos proyectos con aspiraciones similares, algunos de los cuales ampliarán los colaboradores. Son varias las convocatorias internacionales solicitadas para lograr nanoantivirales, tanto específicos para el virus de la gripe como frente a otros virus emergentes sin tratamientos disponibles en la actualidad.

FRENAR AL SARS-COV-2 CORTANDO SUS GENES

Si el SARS-CoV-2 sale adelante porque, a partir de su información genética, sintetiza proteínas con las que ensambla nuevas partículas virales, ¿por qué no frenarlo evitando que consiga dichas proteínas? ¿Por qué no pegar algún corte en el genoma que trunque la lectura de sus genes? Más o menos esta fue la reflexión llevada a cabo por Lluís Montoliu, quien dirige el grupo Modelos Animales por Manipulación Genética en



el CNB. El equipo es experto en genes y en modificarlos, especialmente mediante el uso de la tecnología CRISPR. Dicha herramienta de ingeniería genética, que protagonizó el Nobel de Química en el 2020, corta ADN o ARN permitiendo de esta manera editarlo. De ahí que reciba el nombre popular de tijeras genéticas.

La tecnología se basa en un sistema de defensa natural de algunas bacterias y arqueas³⁷ para protegerse de sus propios virus. El descubrimiento llegó de la mano del investigador español Francis Mojica, quien halló unas secuencias repetitivas y palindrómicas —que se leen igual en ambos sentidos— insertadas en el ADN de bacterias de las salinas de Santa Pola. A estas secciones las denominó CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* o Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas). Lo más relevante es que las secuencias contienen fragmentos del material genético de los virus que han atacado a las bacterias y arqueas en el pasado. Así, cuando se enfrentan de nuevo al mismo patógeno, lo reconocen y se defienden de él cortando su genoma de una forma parecida a la idea que ahora cruzaba por la mente de Montoliu.

Con tal fin, el investigador contactó con Miguel Ángel Moreno, científico del Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD) de la Universidad Pablo de Olavide. Moreno es especialista en la aplicación biotecnológica de una variante de las herramientas CRISPR denominada Cas13d. Cuando las bacterias quieren cortar el genoma del virus, lo hacen gracias a una proteína llamada Cas, siglas correspondientes con *CRISPR associated system* o sistema asociado a CRISPR. Esta proteína es guiada al lugar preciso por el mencionado segmento de información genética guardado de infecciones anteriores.

37 Las arqueas son un grupo de microorganismos unicelulares, sin núcleo y muy similares a las bacterias, pero con las suficientes diferencias como para formar un dominio en sí mismo.

Hay muchos tipos de Cas en función de su labor concreta y la Cas13d representaba la opción perfecta para destruir el genoma del coronavirus ya que posee dos características fundamentales para ello: corta ARN —el formato en que escribe sus genes el SARS-CoV-2— en vez de ADN y es capaz de hacerlo de forma muy específica.

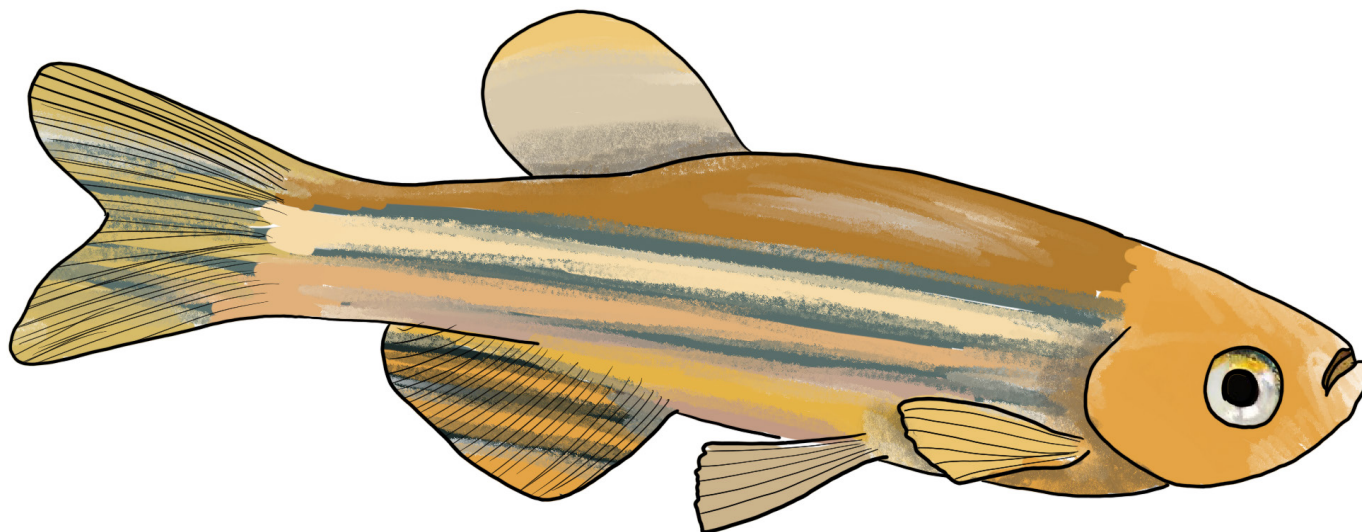
El proyecto necesitaba a su vez de virólogos, papel representado por los laboratorios de Dolores Rodríguez y Fernando Almazán, también del CNB, donde investigan sobre torovirus, un virus del mismo orden que los coronavirus. Almazán además cuenta con la experiencia y las acreditaciones para manipular el SARS-CoV-2 en el laboratorio de bioseguridad P3, que es un paso previsible en algún punto de la parte experimental de la investigación. El equipo incluyó a su vez a la especialista en tecnología CRISPR Almuena Fernández, del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, perteneciente al Instituto de Salud Carlos III, que trabaja en el laboratorio de Montoliu.

Para que la Cas13d ejerciera su labor de cirujana había que indicarle dónde. El consorcio eligió seleccionar los genes del SARS-CoV-2 que codifican las proteínas de la nucleocápside y la polimerasa, ambas clave para la multiplicación viral. Anularlas sería como tirar los pilares de una casa para derribarla.

Las guías se diseñaron para que llevaran a ambos genes y probaron en peces cebras que, efectivamente, hacían bien su trabajo. Los investigadores generaron guías no solo para SARS-CoV-2 sino también para torovirus y el coronavirus humano de catarro 229E. Así contaban con otros dos modelos de virus en los que asegurarse que todos los pasos resultaban exitosos antes de embarcarse en los ensayos con SARS-CoV-2 y sus exigentes medidas de bioseguridad.

Tras el paso de los peces, el sistema estaba puesto a punto para empezar a probar si frenaba la infección en células. Aquí es dónde se ha complicado la historia, pues no les

está resultando nada fácil que las guías y la proteína Cas13d entren en las células para defenderlas. Digamos que tienen todos los pasajeros implicados, pero no han logrado dar con el vehículo que los lleve a su destino.



Han probado varios métodos que, en algunos casos, han supuesto también la colaboración de laboratorios de otros centros, sin unos resultados lo suficientemente convincentes por el momento. La aproximación más reciente, en marcha durante la escritura de este libro, implica el uso de otro tipo de nanopartículas también a modo de vehículo que conduzca las guías y la Cas13d. El trabajo lo están realizando gracias a una colaboración con Begoña Sot, del Instituto Madrileño de Estudios Avanzados en Nanociencia (IMDEA Nanociencia).

Si este intento funciona para frenar la infección por SARS-CoV-2 en células, ya podrían saltar a las pruebas en ratones. En dicho estadio experimental emerge el nuevo reto de

la administración de las nanopartículas, o el vehículo que finalmente ideen, a los animales. Una idea que ronda por las cabezas del consorcio es que los ratones las aspiren con sistemas parecidos a los que se usan para anestesiarnos. Dicha forma sería trasladable a las personas mediante nebulizadores similares a los empleados en el tratamiento de la fibrosis quística. De hecho, ya hay terapias génicas administradas de esta manera para la enfermedad. Por el momento, todo son ideas a la espera de unos resultados robustos en las pruebas en cultivos celulares.

DROMEDARIOS QUE PRODUCEN ANTICUERPOS

Los anticuerpos de humanos y de la mayoría de animales tienen forma de Y. Cada saliente superior está compuesto por dos cadenas de proteínas, como si el trazo de la letra fuera doble, que crean la zona de unión al patógeno en cuestión. De esta forma, lo bloquean e impiden su entrada en las células. La azarosa selección natural ha querido que tiburones y camélidos —familia que incluye camellos, dromedarios, llamas y alpacas— produzcan unos anticuerpos un tanto diferentes. Sus inmunoglobulinas son más sencillas, como una Y de un solo trazo, por lo que ejercen la unión con una sola cadena de proteínas. Esto las hace más eficientes en el reconocimiento de virus y bacterias al alcanzar las regiones más recónditas en la superficie de los patógenos, algo a lo que se le puede sacar provecho. En ello se centra el presente proyecto, el cual, uniendo parte de un anticuerpo humano y parte de un anticuerpo de dromedario, plantea crear una especie de molécula Frankenstein dirigida a neutralizar el SARS-CoV-2. Investigaciones a nivel internacional también trabajan en esta línea empleando llamas o alpacas para dar con anticuerpos eficaces, algunos de los cuales han mostrado un gran potencial terapéutico.

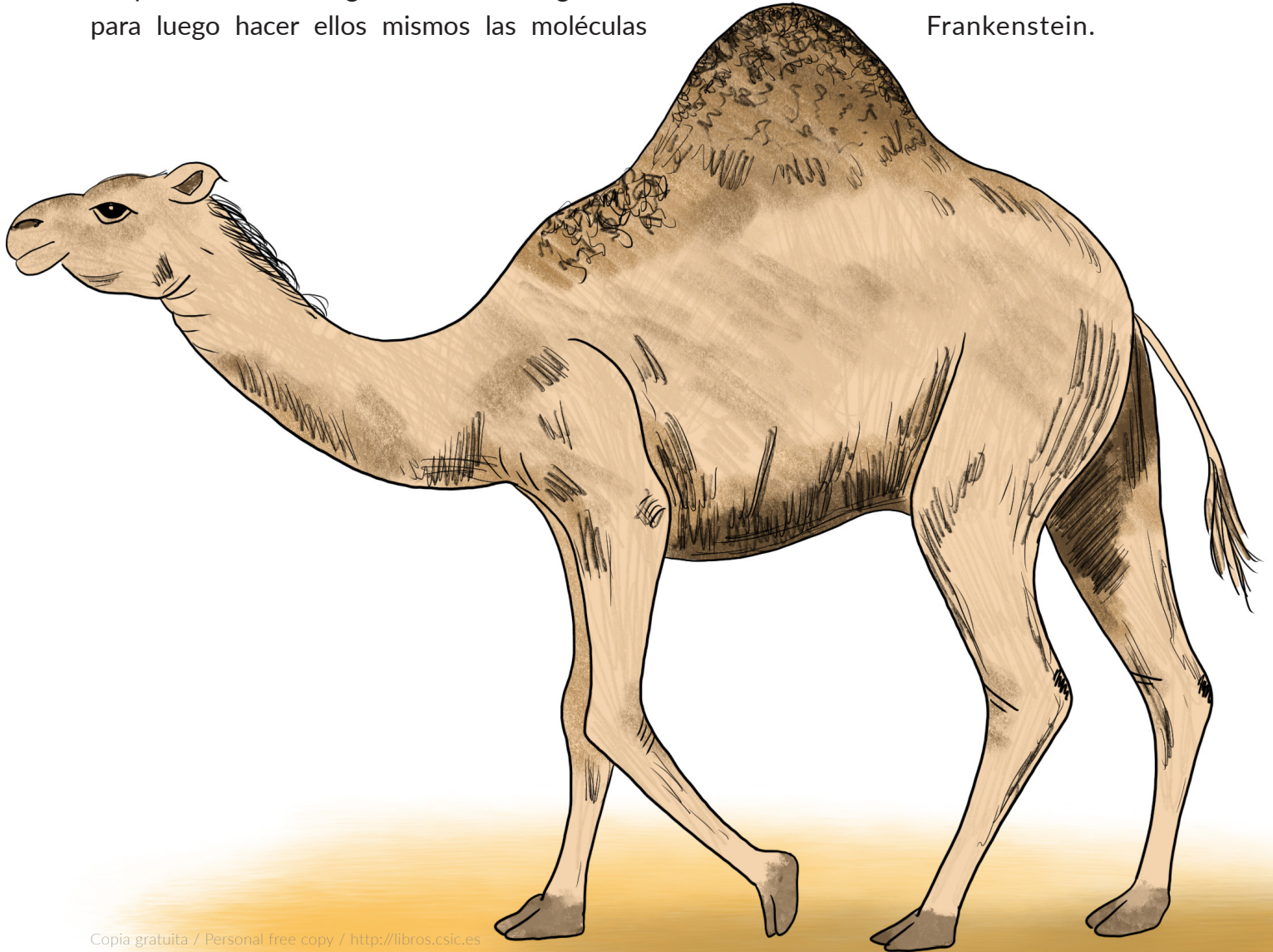
El germen de la idea se remonta años atrás. Ciertos grupos del CNB habían estudiado otros coronavirus antes de la pandemia, centrados en la determinación de la estructura de algunas proteínas de estos virus y en su producción. El Laboratorio de Interacciones entre Virus y Células, dirigido por José María Casasnovas, era uno de ellos. Por su parte, el grupo de Ingeniería Bacteriana para Aplicaciones Biomédicas, con Luis Ángel Fernández a la cabeza, sabía modificar bacterias para generar proteínas a la carta como, por ejemplo, anticuerpos. Ambos laboratorios colaboraron en el pasado para desarrollar anticuerpos frente al virus del Ébola, así que decidieron volver a hacerlo para generar inmunoglobulinas basadas en camélidos con potencial terapéutico frente a SARS-CoV-2.

Definieron en el nuevo virus el dominio RBD como la diana principal para bloquearlo, por lo que propusieron generar los anticuerpos frente a ese dominio. Ya se ha comentado anteriormente que se trata de una parte de la proteína de la espícula cuya función es la de aferrarse a las células y así permitir la entrada del material genético del virus en ellas, con la consecuente infección. La llave para abrir la cerradura. Por tanto, tenía sentido dar con inmunoglobulinas que se adhirieran a esta parte del SARS-CoV-2. Además, tras la infección del SARS-CoV-2, el organismo induce una respuesta inmunitaria frente a la proteína S siendo justo el RBD el objetivo de muchos de los anticuerpos que nuestro cuerpo genera.

El grupo de Casasnovas diseñó y produjo el dominio RBD en el laboratorio, que cruzó el Atlántico para ser inyectado a varios dromedarios canarios gracias a la colaboración con Juan Alberto Corbera, de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. La lógica detrás de este paso es la misma que la de las vacunas: el organismo de los dromedarios responde a la introducción del agente extraño que supone el RBD, del antígeno, produciendo anticuerpos frente a él.

Varias muestras de sangre de los animales volaron al CNB. La sangre es una mezcla diversa, desde los glóbulos rojos que dan al fluido su característico color, hasta los esperados

anticuerpos camuflados entre otros fabricados por los dromedarios para enfermedades previas. Millones de ellos entre los que pescar los mejores. El grupo fue a por los linfocitos B, que representan las células responsables de producir estas proteínas protectoras. Y es que, aunque interesados en los anticuerpos contra el RBD, lo que realmente querían los investigadores eran los genes con sus instrucciones para luego hacer ellos mismos las moléculas Frankenstein.



Y la información genética para sintetizar las inmunoglobulinas estaba precisamente en las células que los habían fabricado, es decir, los linfocitos.

De estos, aislaron los genes de los anticuerpos y los pusieron en bacterias. Ahora tenían los millones de posibles anticuerpos es su granja bacteriana. Ya podía comenzar la pesca. Empleando como cebo la proteína RBD, rescataron a las bacterias que generaban las proteínas protectoras de interés. Estas eran aquellas que producían anticuerpos reconocedores del dominio RBD y que, por tanto, tendrían papeletas para taponar la entrada del SARS-CoV-2 en las células. Y lo más importante, el equipo rescató luego los genes insertados para fabricar sus inmunoglobulinas medio dromedario, medio humano.

Eligieron nueve finalistas que produjeron en células de mamífero. De los anticuerpos animales interesaba solo la parte que se aferra al antígeno, los salientes superiores de la Y de un solo trazo. Ese trozo lo completaron luego con las regiones correspondientes de anticuerpo humano. La molécula resultante cuenta, de esta forma, con una mayoritaria parte humana coronada con la sección de dromedario, que será la que haga el trabajo de reconocimiento.

Las pruebas de las moléculas *in vitro*, con células, seleccionaron varios de estos anticuerpo con la capacidad de evitar que el virus entrara en las células y las infectara. Gracias nuevamente al equipo de Zoonosis Víricas del INIA, en los laboratorios del CISA se llevaron a cabo los ensayos en ratones en un experimento de protección, lo más parecido a un eventual tratamiento terapéutico. Es decir, primero el animal se infecta y luego se le administra el anticuerpo para determinar si le protege. Nuevamente los resultados fueron excelentes.

Las expectativas se iban cumpliendo con creces, hasta que llegó ómicron. El RBD a partir del que habían sido generados estas inmunoglobulinas correspondía a la cepa original de Wuhan. Las variantes que fueron emergiendo a partir de ella, con alfa y delta como

protagonistas, seguían siendo bloqueadas por las moléculas mestizas. Pero ómicron, la variante escapista, lograba zafarse de la protección tan eficientemente que inutilizó a los prometedores anticuerpos. El virus contenía ahora tantos cambios que no era reconocido por estos. Los investigadores se desmoralizaron un poco, pues sus moléculas no resultaban útiles y habría que diseñarlas de nuevo.

En este punto de la investigación no podían permitirse volver a andar los pasos ya caminados. Hubo que repensar la estrategia. La necesidad de sacar adelante el trabajo de casi tres años de esfuerzo los llevó a la idea de probar si entre los millones de anticuerpos generados había alguno que reconociera el RBD de ómicron. A partir de los resultados con vacunas, es posible que así fuera, aunque serían los menos. Por lo tanto, se inició de nuevo la búsqueda de anticuerpos para la recién aparecida variante. El equipo está utilizando para ello su granja de bacterias, ya que pueden hacer que estas evolucionen los anticuerpos para adaptarlos a los cambios del virus.

UN MISMO GRUPO, MUCHOS ANTICUERPOS

Cada pieza de conocimiento es importante para abordar el puzle del coronavirus. La del laboratorio que dirige Leonor Kremer son, sin duda, los anticuerpos. El grupo es experto en generar y caracterizar anticuerpos terapéuticos, tanto para oncología como para infecciones virales. Así, ha trabajado en moléculas de este tipo frente a leucemia, otras que inhiben la entrada del virus del Ébola y del VIH y, anteriormente, anticuerpos frente al SARS-CoV-1.

Contando con un grupo de investigación con semejante currículum, en el CNB se iniciaron varios proyectos para conseguir anticuerpos efectivos frente al SARS-CoV-2, en

los que estaban implicados ella y parte del personal que dirige. El equipo participó a su vez en diversas investigaciones que implicaban este tipo de proteínas, no directamente dirigidas al tratamiento de la enfermedad, pero sí en estudios relacionados con el nuevo virus.

Para la búsqueda de anticuerpos terapéuticos, el equipo se alió por un lado con el Laboratorio de Coronavirus y, por otro, con el de Poxvirus y Vacunas. Ambos proyectos siguen más o menos los mismos pasos salvo el inicial, pues el elemento con el que se inmuniza a los ratones para que generen inmunoglobulinas difiere. Porque estas moléculas terapéuticas no se fabrican artificialmente. En cambio, los anticuerpos son generados por un organismo, como un ratón, a modo de respuesta de su sistema inmunitario ante un agente intruso, lo que significa inyectar este intruso, como ya se ha adelantado anteriormente.

En estas dos aproximaciones, el inmunógeno o disparador de la respuesta inmunitaria al que se dirigen los anticuerpos ha sido la proteína S del virus. Para el primer proyecto se eligió la proteína S producida en el laboratorio. Más específicamente, solo se incluyó una parte de esta en la que se incluía el dominio RBD. Con el segundo proyecto se optó por emplear el primer candidato vacunal en desarrollo por el Laboratorio de Poxvirus y Vacunas, que expresaba dicha proteína.

Los ratones generaron una gran variedad de anticuerpos diferentes, de los cuales había que elegir los específicos contra el inmunógeno inyectado y, dentro de esos, los más protectores. Para ello estudiaron qué animales tenían mejor respuesta frente a la proteína de la espícula mediante un test serológico de forma similar a lo aplicado para el diagnóstico de la covid en personas. A los ratones con una mejor respuesta se les extrajo el bazo, que es el órgano que produce linfocitos B, que son a su vez los que producen los anticuerpos, para poder hacerse con estos últimos.

Las células de dicho órgano se cultivan y se analizan las sustancias que secretan, entre las que se encontrarán anticuerpos de todo tipo, para dar con los mejores. Estos son los que además de reconocer a la proteína S, inhiben la interacción entre esta y el receptor ACE2 de las células para que el virus no pueda abrirse camino en ellas. El objetivo del grupo es quedarse con aquellos linfocitos que producen a los que reúnen tales características para así disponer de su propia «fábrica» de inmunoglobulinas. En ambas etapas de selección de anticuerpos, es decir, en su cribado y caracterización, se contó con la colaboración del equipo de José María Casasnovas. Su papel fue sintetizar los antígenos, la región a la que se enganchan los anticuerpos constituida por la proteína S o el dominio RBD, empleados para comprobar si los anticuerpos efectivamente estaban presentes.

El grupo de Luis Enjuanes e Isabel Sola ya ha caracterizado la actividad biológica en cultivos celulares, trabajo analizado por la plataforma de cribado de antivirales, y la eficacia protectora de sus inmunoglobulinas finalistas. Esta segunda parte se ha llevado a cabo en ratones. Uno de estos anticuerpos ha logrado resultados muy positivos en los roedores, pues es capaz de inhibir el desarrollo de la enfermedad, tanto inyectado antes de la infección como después. El candidato terapéutico consigue que los animales salgan indemnes de la covid a pesar de haberse infectado. Para conocer mejor su mecanismo de acción, se ha llevado a cabo también el estudio estructural de la interacción del anticuerpo y la espícula del virus en colaboración con el Servicio de Criomicroscopía Electrónica del CNB.

Por su parte, con el grupo de Mariano Esteban y Juan García Arriaza, han obtenido un amplio panel de anticuerpos con la espícula del virus como diana de acción. De ellos, han seleccionado tres que neutralizan la interacción del virus con el receptor celular, el ACE2, con alta afinidad y especificidad protegiendo completamente a los ratones, tanto inyectados antes como después de ser infectados por SARS-CoV-2. Pero el trabajo no acaba aquí. El equipo al completo, con los laboratorios de Kremer y Casasnovas, conti-

núa caracterizando las prometedoras proteínas, a la vez que trabaja en generar nuevos anticuerpos terapéuticos basados en los otros prototipos vacunales en desarrollo por el Laboratorio de Poxvirus y Vacunas.

Hay que tener en cuenta que no se puede administrar anticuerpos hechos en ratón directamente a humanos, sino que, previamente, hace falta humanizarlos. De lo contrario, nuestro organismo podría atacarlos al detectarlos como elementos extraños. Este será el siguiente paso, en cualquiera de los dos proyectos, en caso de que se proceda a ensayos con personas. Humanizar quiere decir modificar el anticuerpo para hacerlo lo más parecido posible a uno generado por una persona, pero sin que pierda su capacidad de acción. Sería algo similar al proyecto anterior, en el cual se seleccionaba la región de las inmunoglobulinas de los camélidos que reconoce al virus y se le acoplaba la estructura restante correspondiente a un anticuerpo humano, lo que daría lugar a una proteína humanizada.

Junto con la generación de anticuerpos terapéuticos, el segundo gran bloque de trabajo del equipo de Kremer ha sido caracterizar la respuesta inmunitaria de ratones frente a otros formatos de proteínas de SARS-CoV-2. Aquí destaca la colaboración con el grupo de José Ruiz Castón y sus prototipos vacunales basados en cápsides. El equipo de expertos en anticuerpos se encargó de la vacunación de los ratones con las cápsides y el posterior análisis de la respuesta inmunitaria de los animales. Para lo último se contó, nuevamente, con antígenos del equipo de Casasnovas y también con los del grupo de Hugh Reyburn.

ANTICUERPOS MADE IN EUROPE

En respuesta a la pandemia, la Comisión Europea puso en marcha una primera acción de financiación de emergencia como parte del programa Horizonte 2020 que permitió se-



leccionar 18 proyectos con 140 equipos de investigación involucrados. Una de esta casi veintena de iniciativas es MANCO, del inglés *Monoclonal Antibodies Against 2019-New Coronavirus*, dedicada al desarrollo de anticuerpos contra la covid y en la que el CNB tiene un papel fundamental. El proyecto echó a andar en marzo del 2020 con un plazo de duración hasta mayo del 2023.

Hace falta remontarse unos años atrás para entender el origen de MANCO. Con la emergencia del virus MERS-CoV en 2012, un grupo internacional de investigadores puso en marcha una colaboración científica para buscar tratamientos. El Centro Médico Erasmus, afiliado a la Universidad Erasmus, junto con la Universidad de Utrecht, ambos en Países Bajos, se encargaron de generar y caracterizar anticuerpos contra el también mortal coronavirus mientras los demás integrantes se hacían cargo de las sucesivas etapas de la investigación. Entre los colaboradores, se encontraba el Laboratorio de Coronavirus, que evaluó en modelos de ratón si las inmunoglobulinas funcionaban como herramienta terapéutica. La investigación en este modelo animal concluyó que los anticuerpos frente a la proteína S protegían de la infección con MERS-CoV.

De dicha colaboración científica surgió el germen para el actual proyecto europeo. Prácticamente los mismos colaboradores científicos se han implicado ahora en MANCO, que cuenta con muchos paralelismos a aquel del MERS-CoV. Al igual que para la anterior investigación, el papel del laboratorio del CNB es la evaluación *in vivo* de los anticuerpos, ver si protegen a los ratones. Los resultados obtenidos los van poniendo en común con el resto del consorcio de la misma manera que hacen los demás grupos con sus parcelas de trabajo.

El CNB representa el nodo español de los ocho socios que reúne el programa de investigación provenientes de, además de España, Países Bajos, Alemania y Francia. La coordinación depende del Centro Médico Erasmus, con Frank Grosveld como investigador

principal. Si bien la colaboración para el MERS-CoV finalizó en los estudios animales, la relevancia de MANCO es que tiene por objetivo llegar a ensayos clínicos de fase I, en personas sanas.

De la síntesis de los anticuerpos se ha encargado la compañía holandesa Harbour Antibodies fundada y dirigida por Grosveld. Para ello, se emplearon ratones modificados genéticamente de tal manera que generaran inmunoglobulinas ya humanizadas. De hecho, la compañía fue establecida en el 2006 para utilizar la tecnología de ratones transgénicos desarrollada por el grupo del investigador.

Las inmunoglobulinas fueron diseñadas para que se unieran a la proteína de la espícula del SARS-CoV-2 y neutralizaran al virus. Se llevó a cabo de manera similar a lo expuesto en apartados anteriores: se inyecta la espícula a los animales para que generen anticuerpos contra ella, luego los investigadores los recogen y seleccionan los mejores. Gracias a que los anticuerpos de estos ratones ya se asemejan a los humanos, no hacen falta tantas modificaciones antes de su uso en personas.

El problema de los anticuerpos es que, debido a su especificidad, son más sensibles a que las nuevas variantes sean resistentes a ellos en comparación con cualquier otro medicamento. Por eso en MANCO se está trabajando en dar con inmunoglobulinas para todas las variantes actuales, lo que implica administrar a los ratones la proteína S correspondiente a cada una de ellas.

Del cribado y la selección de las mejores inmunoglobulinas se está encargando sobre todo el nodo representado por la Universidad de Utrecht. Las candidatas más prometedoras se evaluarán en el modelo de ratón, donde entra en acción el equipo del CNB, y de ahí se saltará a un modelo más similar a los humanos representado por los macacos.

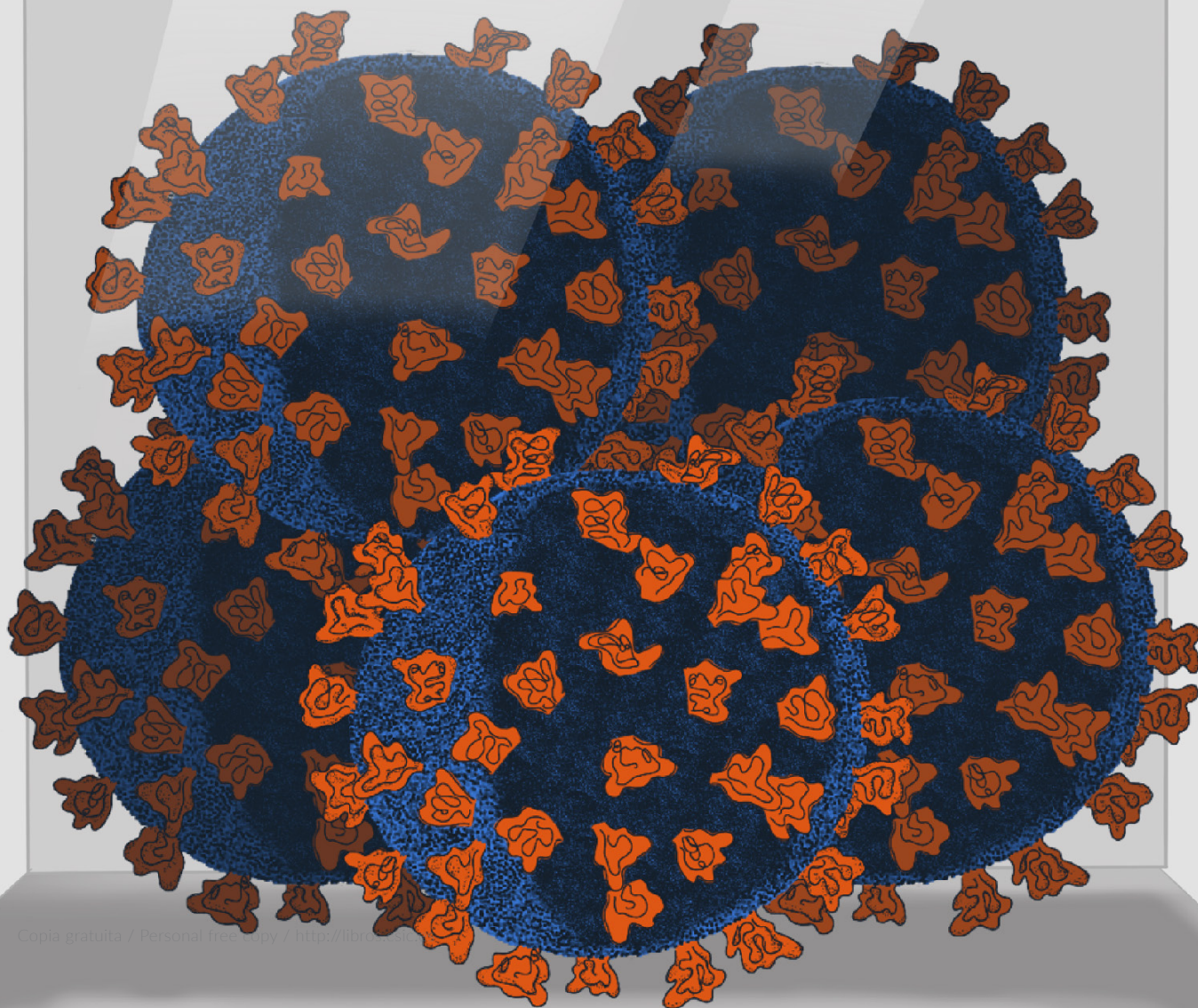
Finalmente, y una vez demostrada la eficacia en ambos animales, tocará el turno de las pruebas en personas. El proyecto no pretende abarcar un ensayo clínico completo sino únicamente la primera etapa con el fin de evaluar, en un grupo reducido de personas sanas, que la administración de los anticuerpos no tiene ningún efecto adverso y es segura. El ensayo se podrá completar dentro de los tres años previstos gracias a la experiencia clínica, la infraestructura y la red vigente para otros proyectos en curso centrados en candidatos vacunales contra diversas enfermedades.

Para los ensayos clínicos ya hacen falta cantidades considerables de producto. En un estadio anterior se habrán tenido que implementar formas de fabricación de los anticuerpos finalistas que sean rápidas y escalables para producir grandes lotes en condiciones compatibles con el uso con personas.

Durante la escritura del presente libro, el programa europeo de investigación había logrado dar con un prometedor anticuerpo, el 87G7, que neutralizaba potentemente a casi todas las variantes preocupantes, incluida ómicron, al evitar su entrada en las células. El candidato protegía a ratones y hámsteres de la infección, administrado tanto antes como después del contacto de los roedores con una dosis letal de SARS-CoV-2. Esta circunstancia es de vital importancia ya que resulta más realista ante un eventual uso del tratamiento.

BLOQUE 4

COMPRENSIÓN, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA PANDEMIA



Uno de los grandes problemas al inicio de la aparición del SARS-CoV-2 era el desconocimiento del porcentaje real de la población infectada o que ya hubiera contraído la enfermedad. Mientras que algunas personas desarrollaban una patología que podía escalar a una gravedad mortal, otras vivían la infección sin pena ni gloria por lo que, en ausencia de un sistema de diagnóstico, era imposible detectarlas. Ante tanta incertidumbre, varios grupos del centro se pusieron en marcha para dar con test de diagnóstico que ayudaran a los saturados hospitales.

Conocer con precisión las cifras de contagiados resultaba a su vez condición necesaria para diseñar buenos modelos de predicción de la pandemia, gráficas a las que se sumaban las estimaciones sobre la duración de la inmunidad de las personas. Ambos tipos de estudios constituyeron una veleta que orientó la toma de decisiones en el control de la emergencia mundial.

Por último, un virus que todo lo impregna con sus partículas requiere de sistemas validados de descontaminación. El laboratorio de bioseguridad de nivel 3 ha servido como lugar de ensayo con el patógeno para solicitantes externos, así como de centro de pruebas para saber más sobre la propagación del SARS-CoV-2.

UN TEST PARA LA OMS

Cuando un virus entra en nuestro cuerpo, el sistema inmunitario genera anticuerpos y activa células, como los linfocitos, para pararle los pies. Los primeros pueden servir para conocer si una persona ha sido infectada. Su detección es la base de un ensayo o test serológico.

La parte esencial de una prueba de este tipo son las proteínas incluidas, a modo de chivatas, que alertan de la presencia de los anticuerpos: los antígenos. Estos se fijan en

un soporte y se les añade la muestra de la persona, que será suero sanguíneo.³⁸ En caso de detectar anticuerpos y debido a una serie de reacciones químicas, se produce un cambio de color que avisa de la existencia de un positivo. Los antígenos empleados representan una reproducción de las partes del virus frente a las que nuestro organismo reacciona produciendo los anticuerpos. La reina de esas partes es la proteína S, pues es aquella con una mayor capacidad de llamar la atención de los anticuerpos, aunque no la única.

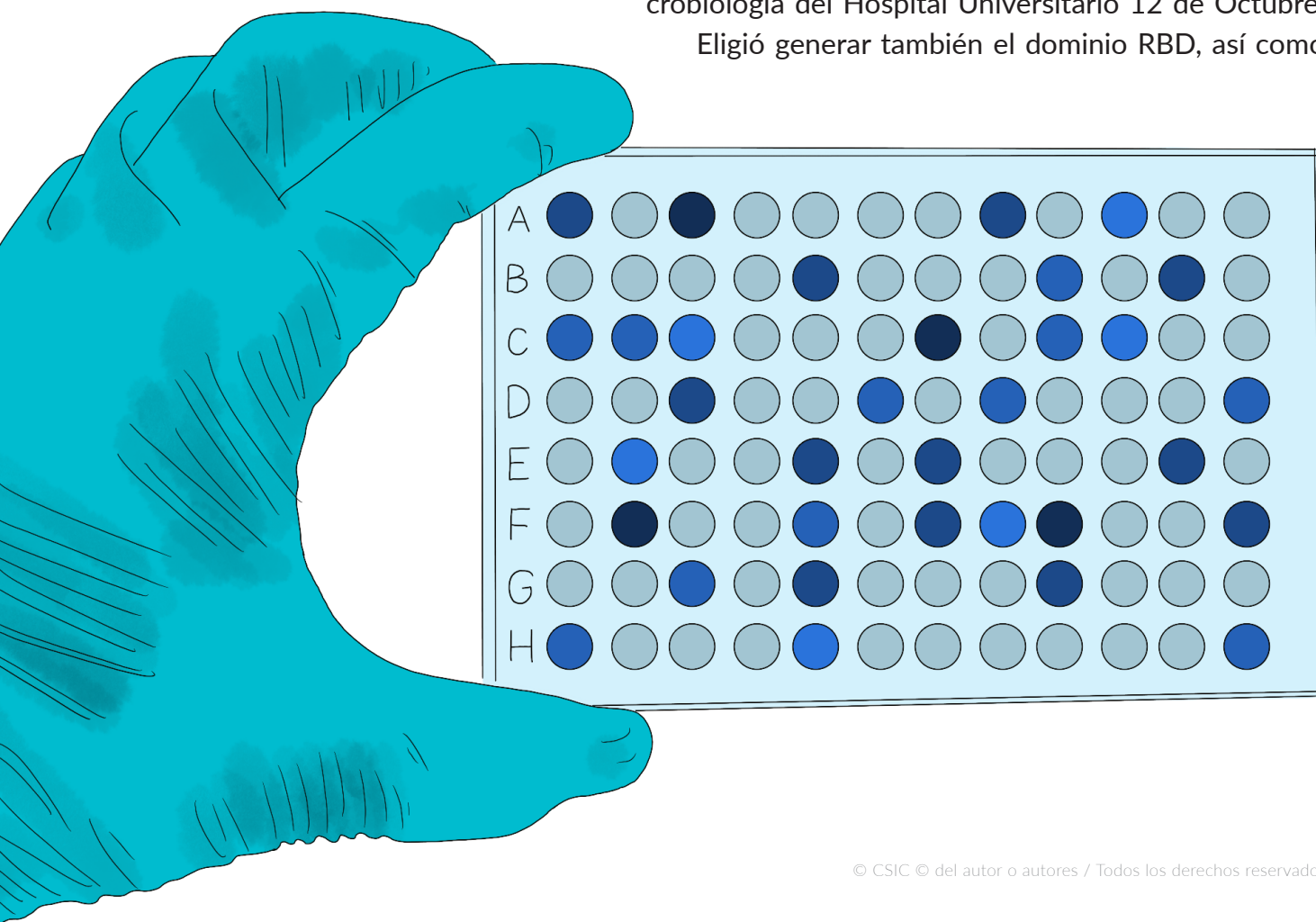
Al principio de la pandemia no había pruebas diagnósticas o no eran fiables, y se desconocía cuándo llegaría la primera vacuna ni si habría para toda la población, por lo que podría ser necesario racionar su uso entre quienes no hubieran pasado la covid. Un ensayo serológico permite saber qué individuos han tenido ya contacto con el virus y, como respuesta, generado inmunidad frente al mismo. Por ello, varios grupos empezaron a sintetizar proteínas con el objetivo de lograr esta forma de diagnóstico. Entre esos, se encontraba el ya mencionado Laboratorio de Biología Molecular de Birnavirus, dirigido por José Francisco Rodríguez, el cual se había puesto en marcha para generar proteínas basadas en el dominio RBD de la espícula que reconocieran a los anticuerpos presentes en la sangre de las personas infectadas. El grupo contó también con la colaboración de César Santiago, integrante del servicio de Cristalografía de Rayos X.

En paralelo, otro equipo se puso en marcha. Hugh Reyburn y Mar Valés, ambos jefes de laboratorios expertos en inmunología y cáncer, habían colaborado durante muchos años y tenían las herramientas y técnicas para fabricar proteínas. Además, estaban en

38 El suero sanguíneo es la parte líquida de la sangre que queda tras la coagulación de esta. Conformado principalmente por agua, contiene las preciadas inmunoglobulinas. El suero sería el equivalente al plasma sanguíneo, pero sin los factores de coagulación, que nos sirven para contener hemorragias.

contacto directo con personal del entorno clínico, por lo que sabían de primera mano la acuciante necesidad de pruebas de diagnóstico. Contactaron a su vez con José María Casanovas, quien era experto en generar proteínas a la carta, como se ha visto en páginas anteriores, y con el también científico del CNB José Miguel Rodríguez-Frade, que tenía gran experiencia en el desarrollo de ensayos serológicos.

Por su parte, Casanovas había comenzado a generar antígenos para hacer test serológicos en colaboración con Rafael Delgado, jefe del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario 12 de Octubre. Eligió generar también el dominio RBD, así como



la espícula al completo. El primero sirvió para testar la sangre de varias personas que Delgado había ido siguiendo y, efectivamente, funcionaba.

Con tanta proteína en marcha, había que poner algo de orden. Desde la dirección del CNB se promovió aunar esfuerzos para, en colaboración, lograr un kit de diagnóstico que sirviera a hospitales y centros de investigación. Con los mejores antígenos se montaría la prueba definitiva.

El laboratorio de José Francisco Rodríguez utilizaba una proteína cedida por otro laboratorio, con su propia licencia comercial detrás. Así que, si se incluía en el kit, no se podría comercializar la tecnología como propia del CSIC. El equipo acabó por generar sus propios antígenos, pero optó por andar el camino hacia una vacuna, en vez de hacia un test de diagnóstico, dadas las especiales características de sus proteínas, como se ha explicado en páginas anteriores.

En la senda de lograr una forma de diagnóstico se centraron pues los laboratorios de Valés, Rodríguez-Frade, Reyburn y Casasnovas. Del montaje de los test se encargaron, sobre todo, los dos primeros. Hay muchos formatos para generar una prueba serológica. Uno de ellos, y el que manejan estos laboratorios, es el test tipo ELISA. Su funcionamiento ya se ha resumido en parte en los párrafos iniciales: en una placa que cuenta con muchos huecos a modo de pequeños recipientes se adhieren las proteínas generadas. Estas se vinculan a una enzima³⁹ específica que es la encargada de producir la reacción química que da el color de los positivos y el nombre al test (*enzyme linked immunosorbent assay*, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). Así que el trabajo de ambos consis-

39 Una enzima es un tipo de proteína encargada de catalizar, de impulsar, reacciones químicas.

tió en montar las placas con los diferentes antígenos que se iban sintetizando para luego probar si detectaban anticuerpos.

Se incluyeron cuatro tipos de proteínas diferentes, aunque irían mejorándose a lo largo del proyecto. Las ya mencionadas espícula y dominio RBD eran las más obvias por su inmunogenicidad en el virus y, por tanto, las más mencionadas en la literatura científica. Pero el consorcio, de la mano de los grupos de Reyburn y Valés, también decidió probar con la nucleoproteína y la proteasa principal del SARS-CoV-2 como posibles chivatas. La última era una propuesta original —no se había usado nunca antes en ensayos serológicos en coronavirus— que funcionó muy bien.

Así, en el laboratorio observaron que el sistema experimental, con todas las proteínas mencionadas, cumplía su cometido de detectar anticuerpos frente al SARS-CoV-2 de maravilla. Pero la validación del ensayo requería repetir el éxito con muestras de pacientes. Para ello, la dirección del CNB contactó con varios hospitales madrileños, con los que algunos integrantes del consorcio ya colaboraban. Se implicaron los hospitales universitarios La Paz y, especialmente, La Princesa con el Instituto de Investigación Sanitaria adscrito al centro. En muy poco tiempo analizaron las muestras reales con el test, que demostró una gran eficacia en su cometido de detectar positivos. Con una fiabilidad cercana al 100 % determinaba si una persona poseía anticuerpos contra el SARS-CoV-2, y permitía discriminar si dichos anticuerpos se habían generado como consecuencia de la vacunación o por haber pasado la covid. La prueba ya estaba lista para su uso. Tocaba el turno ahora de producirla.

Prácticamente desde el principio de la iniciativa, los investigadores habían contactado con una empresa para su manufacturación. Se trataba de la salmantina Immunostep, dedicada a las soluciones biotecnológicas para investigación y diagnóstico, y con la cual ya tenían proyectos en marcha. Ello permitió que la compañía fuera probando y

adaptando la tecnología a lo que luego debería fabricar para llegar al mercado. También se ofreció para aumentar la producción de test con el fin de ayudar a los colaboradores clínicos a testar a su personal. Empezó de esta forma desde las más tempranas fases de su concepción a poner en formato comercial lo que acabaría siendo un kit de diagnóstico.

El personal responsable de transferencia de conocimiento, tanto del CSIC como del CNB, estuvo, por tanto, presente desde el inicio del proyecto, cuando aún no era más que un puñado de proteínas desperdigadas por varios laboratorios. Como respuesta a los contactos que hacía el CSIC, diversas empresas se interesaron en estos productos. Asimismo, muchos investigadores externos contactaron con el CNB, o directamente con los propios investigadores, para solicitar proteínas.

El resultado que ha salido al mercado es un kit que incluye, además de la placa con los antígenos pegados, todos los compuestos y soluciones para llevar a cabo la prueba de forma similar a los test que podemos comprar en la farmacia. La diferencia es que estos kits requieren una manipulación especializada y equipos de laboratorio. Los cuatro tipos de proteínas se han incluido en el test, pero solo la proteasa, por presentar una aplicación novedosa, ha sido patentada. La metodología también se protegió para facilitar la transferencia de tecnología.

En el contrato de licencia y explotación con Immunostep se negoció priorizar la fabricación de los test para cubrir en primer lugar la demanda nacional, ya que se habían desarrollado con fondos públicos españoles. La firma del mismo se produjo en junio del 2020 y a principios de otoño el kit llegó al mercado.

En dicho contrato también se estableció una cláusula de no exclusividad, lo que implicaba que el CSIC podía firmar contratos con otros organismos o empresas para

comercializar el producto. El acuerdo incluye que, tanto el CSIC como el CNB renuncian a las regalías⁴⁰ en el caso de comercializarse en países en vías de desarrollo y los investigadores se comprometen a prestar su apoyo para que los kits lleguen a estos países.

Ello permitió negociar con la MPP y la OMS, organizaciones que habían creado la iniciativa C-TAP, con el objeto de facilitar el acceso a todos los países de los productos relacionados con el nuevo coronavirus. La patente de los test serológicos del CSIC se convirtió en la primera del mundo en ponerse a disposición de esta iniciativa. La no exclusividad ha dado sus frutos. La empresa biotecnológica sudafricana Biotech Africa fabricará y distribuirá los test serológicos en los países africanos en un acuerdo firmado con la MPP.

A raíz de la colaboración con la OMS se ha establecido una alianza con el organismo para licenciar y hacer que tecnologías del CSIC lleguen, especialmente, a países en vía de desarrollo. La también inclusión del candidato vacunal del Laboratorio de Poxvirus y Vacunas en la iniciativa C-TAP se encuadra precisamente dentro de esta relación.

En paralelo y a petición de Immunostep, el equipo desarrolló otra prueba serológica basada en la técnica de citometría de flujo. Esta técnica de análisis se fundamenta en hacer pasar una suspensión de partículas de una en una por delante de un haz láser. El diferente impacto de la luz ofrecerá información simultánea de varios parámetros en cada partícula.

⁴⁰ Las regalías son las contraprestaciones que deben pagarse a cambio del uso de una propiedad intelectual ajena.

La ventaja de este test respecto al anterior es que posibilita con un único tubo, llevar a cabo el análisis equivalente a 12 en una prueba de tipo ELISA. Esto es porque permite identificar de una tacada tres tipos de anticuerpos diferentes frente a los cuatro antígenos mencionados con anterioridad. De esta forma, ofrece mucha información con una pequeña muestra de la persona y se simplifica la manipulación. El kit también ha sido comercializado con Immunostep, pero en este caso la licencia fue de exclusividad para la compañía salmantina.



«SOPLE AQUÍ, POR FAVOR»

Si el SARS-CoV-2 se transmite por el aire, una prueba ideal para detectarlo podría ser soplando. Sobre este sencillo razonamiento se cimenta la iniciativa consistente en el desarrollo de un dispositivo de diagnóstico con similitudes a las pruebas de alcoholemia.

El proyecto surgió al inicio del confinamiento, cuando Mar Valés plasmó la idea en los foros de comunicación habilitados por el CSIC para los investigadores. Allí transmitió la reflexión sobre si sería posible desarrollar una prueba de detección que, pidiéndole a los individuos soplar a través de un filtro, captara el virus. La idea fue recogida por el Consejo con entusiasmo y, a nivel más personal, por el investigador Juan Rodríguez Hernández, miembro del grupo de Funcionalización de Polímeros (FUPOL), en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (ICTP, CSIC), quien es experto en la síntesis de polímeros, así como en impresión 3D.

Sin más dilación, los laboratorios de Rodríguez y Valés se pusieron, en la distancia, manos a la obra con el dispositivo. Realmente no existían muchos sistemas de este tipo, tampoco en la literatura científica a modo de proyecto piloto. Tenían por delante algo novedoso a lo que dar forma.

El diseño del aparato fue un proceso intenso, con mucha ida y venida de ideas a través de teleconferencias, hasta que llegaron a la convicción de generar un sistema inspirado en las espirometrías. Esta prueba se emplea para medir la capacidad pulmonar e implica soplar en un instrumento, el espirómetro, que mide el volumen de aire expulsado. En el dispositivo se encontraría un primer filtro que atraparía las partículas virales, seguido de un segundo encargado de impedir la expulsión de las sobrantes al entorno. El filtro inicial se extraería para analizar la presencia de virus mediante la técnica de PCR.

Gracias a la colaboración altruista de varias empresas de Barcelona, que enviaron material de espirometría, y otras extranjeras, que les facilitaron filtros para la captación del virus, pudieron hacer realidad un diseño hasta entonces plasmado solo sobre papel. A partir de esas piezas, Valés comunicaba a Rodríguez las medidas exactas para que él las diseñara y creara gracias a una impresora 3D. Todos los componentes se ensamblaron luego en el CNB.

En el laboratorio de la investigadora pusieron a punto la recogida de muestras en los dispositivos. Esto supuso comprobar que el prototipo era capaz de captar ácidos nucleicos, ADN o ARN, procedentes del soplido de individuos sanos. Al fin y al cabo, el objetivo final era realizar diagnósticos basándose en la presencia o no de material genético del virus, por lo que este paso previo resultaba fundamental.

Al mismo tiempo que el original sistema iba tomando forma, se empezaron a buscar colaboradores que tomaran las muestras en personas infectadas por SARS-CoV-2 y que hicieran posible los diagnósticos mediante PCR. Aquí es donde emergieron varios obstáculos que han impedido la culminación del proyecto.

Para validar el aparato hacía falta que personas contagiadas lo usaran y analizar el filtro con el virus. No era un procedimiento sencillo y requería de personal sanitario totalmente protegido por un equipo de protección individual completo. Cabe recordar aquí que el principio de la pandemia, momento temporal donde se sitúa esta fase de la iniciativa, estuvo marcado por el desconocimiento, el miedo y, sobre todo, la saturación de los centros médicos, por lo que dar con colaboradores no resultó un asunto baladí. Finalmente consiguieron que en el Hospital Universitario La Paz se tomaran algunas muestras para luego analizarlas mediante PCR. Este centro era uno de los pocos hospitales y laboratorios autorizados en esos momentos para emitir diagnósticos mediante dicha prueba. Con los análisis se obtuvieron unos pocos datos que no llegaron a ser conclu-

yentes, a la par que llegaron las vacunas y su consecuente alivio parcial de la situación, por lo que el proyecto quedó en este estadio.

A pesar de no ser una historia con un final del todo feliz, los investigadores hicieron todo lo que estuvo su mano y avanzaron mucho el proyecto, además de contar con la atención del Ministerio de Ciencia e Innovación. Así, de desconocer por completo el mundo de las espirometrías, llegaron a montar un prototipo inspirado en estas que podría servir como herramienta diagnóstica.

MODELOS PARA NO PREDECIR LA PANDEMIA

Las noticias sobre contagios por SARS-CoV-2 llegaban a cuentagotas al inicio de la aparición del virus. Sin embargo, el crecimiento exponencial de casos no tardaría en producirse y la avalancha de nuevos infectados era algo que esperar cada mañana.

Como otras tantas, cuatro personas hablaban por WhatsApp sobre la progresión de contagiados. Estaban inquietas por la subida de las curvas. La diferencia es que ellas eran expertas en predicción de dinámicas como la del comportamiento de un virus en una población. El grupo lo componían Mario Castro, de la Universidad Pontificia Comillas; José A. Cuesta, de la Universidad Carlos III de Madrid, y Susanna Manrubia y Saúl Ares, ambos del CNB.

Su interés y conocimiento los llevó a embarcarse, de manera informal en un inicio, en la elaboración de predicciones sobre la evolución de la aún epidemia, que comentaban en discusiones científicas extendidas hasta la madrugada, una vez que las otras tareas de su día a día habían sido cubiertas. A partir de los datos facilitados casi diariamente

por el Gobierno y los recogidos por el Ministerio de Sanidad, trataban de esclarecer qué podían afirmar y qué no acerca la progresión de casos en los días venideros.

Algo perceptible desde el inicio de la aparición del SARS-CoV-2 fue que el número de contagiados subía exponencialmente, en un primer momento, para empezar luego a curvarse. Parecía que se acercaba a un pico que marcaría un descenso. Así, empezamos a hablar de olas. Acabaríamos por familiarizarnos con el término.

El primer pico vino acompañado, por tanto, de esperanzas. Las numerosas predicciones que se estaban llevando a cabo generaron afirmaciones en los medios de comunicación sobre un posible fin del embiste del virus. Y eso puso los pelos de punta a este grupo de investigadores. Porque sabían que el comportamiento de forma no lineal de la propagación de casos en una epidemia no permite hacer predicciones a un futuro muy distante. De alguna manera, aquello se convirtió en una de sus motivaciones para embarcarse en el proyecto, que básicamente consistió en discernir hasta dónde se podía llegar con las predicciones.

La iniciativa supuso analizar el desarrollo de la epidemia en España, extraer los mecanismos que debían encontrarse operando detrás, darles forma matemática y trasladar todo ello a un modelo computacional. Para desarrollar este trabajo no hace falta un laboratorio. Basta con lápiz y papel para apuntar ideas, y ordenadores para traducirlas e implementar las computaciones. Ello les permitió dar una respuesta rápida, muy rápida. A finales de abril del 2020 ya habían enviado el borrador del artículo científico en el cual recogieron sus conclusiones.

El modelo epidemiológico más utilizado para ajustar los datos de progresión de infectados por covid es el conocido como SIR. Este supone una sencilla representación de cómo evolucionan las epidemias con el paso del tiempo. Para ello se divide a la pobla-

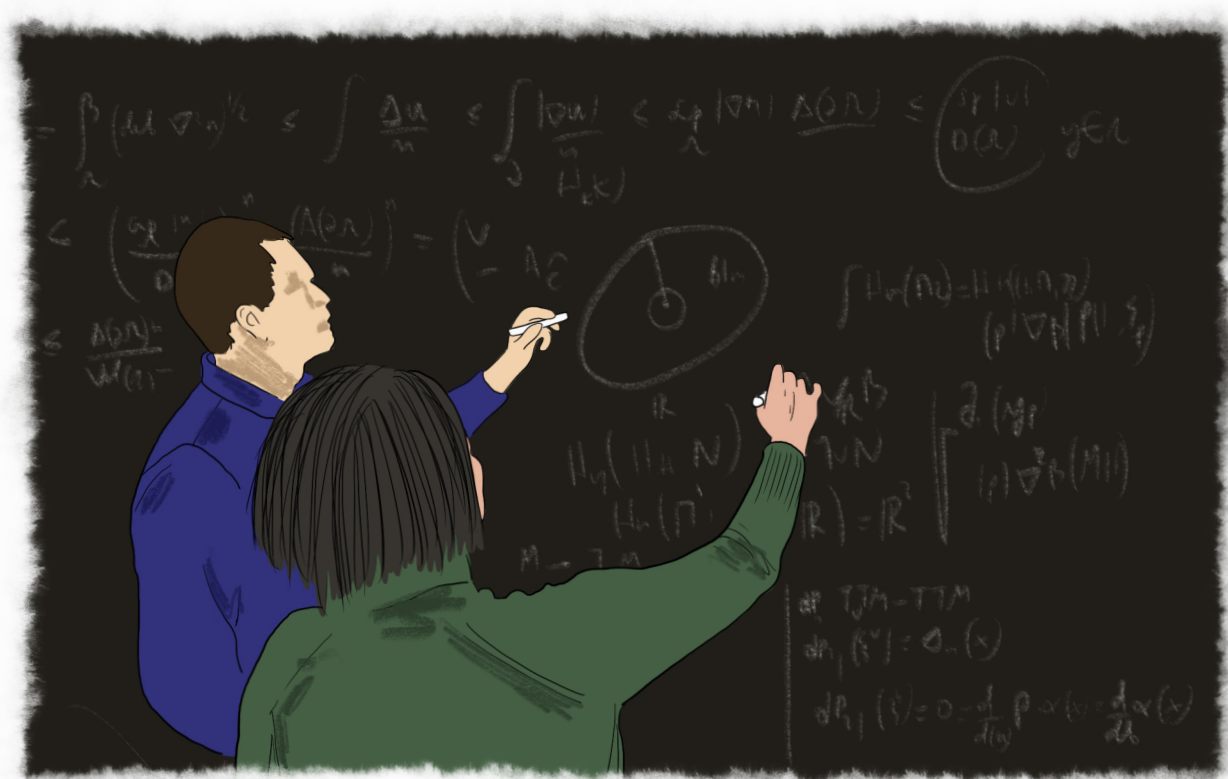
ción en tres compartimentos: los susceptibles, los infectados y los recuperados o inmunes. El modelo concibe que, durante la actuación de una enfermedad como la covid en una población, las personas irán pasando de unos compartimentos a otros.

Las predicciones del modelo SIR establecen un crecimiento de casos muy rápido al principio que, llegado a un pico, acaba por bajar ante la falta de nuevas personas que infectar. Precisamente lo que mostraban las gráficas correspondientes con las distintas olas. El modelo servía, por tanto, para representar la realidad. Eso llevó a pensar, de forma generalizada, que también permitiría establecer predicciones, pero estas no acababan por mostrar lo que ocurría realmente. Por ejemplo, no todos los susceptibles contraían la covid al haber una parte muy grande de la población aislada en sus casas, sumado a las reinfecciones, que truncaban las predicciones de alivio.

Así que el equipo decidió implementar un sencillo modelo de prueba en el que estudiar otros aspectos que pudieran influir en las dinámicas, como, por ejemplo, tener en cuenta el confinamiento, medida que estaba siendo efectiva para controlar la expansión de contagiados. Porque una epidemia no avanza sola, sino que lo hace en función de las respuestas que estén dando los individuos en cada momento.

Lo observado por el grupo fue que esa curvatura, tras el crecimiento exponencial de los casos, podía derivarse luego en una bajada hasta la extinción de la pandemia. O no. Y es que las previsiones también contemplaban una situación en la que, tras el esperanzador cambio en las gráficas, la línea de crecimiento de los casos seguía al alza, aunque no tan rápido.

Emergía lo que llamaron un punto de inestabilidad, de bifurcación, decisivo para controlar la pandemia. Ello dependía del comportamiento de las personas en aspectos como el cumplimiento del confinamiento o el uso de mascarillas. El problema residía en que



actuar conforme a unas predicciones que identificaban la curvatura con la llegada al pico de la ola supondría relajar dichas medidas. En ese caso, el punto de inestabilidad, en vez de optar por el camino a la baja, mantendría el camino al alza haciendo que las optimistas previsiones no se cumplieran.

Por tanto, la conclusión a la que llegó el equipo fue que las predicciones podían hacerse con cierta certeza solo a unos pocos días vista. Más allá de esa ventana temporal, la incertidumbre gana la balanza. Y no era cuestión de tener unos mejores datos de partida para elaborar pronósticos, que también. Algo intrínseco a la dinámica de una epidemia

es que cualquier ligero cambio puede alterar el devenir de esta, lo que abre la opción a múltiples futuros escenarios. Es una cuestión estructural que tiene algo en común con el caos, con aquello de que el aleteo de una mariposa puede generar un tsunami en la otra punta del mundo. Así que, incluso con datos perfectos, estos modelos conllevan una imposibilidad intrínseca para establecer predicciones a medio plazo, por lo que hay muchos futuros posibles.

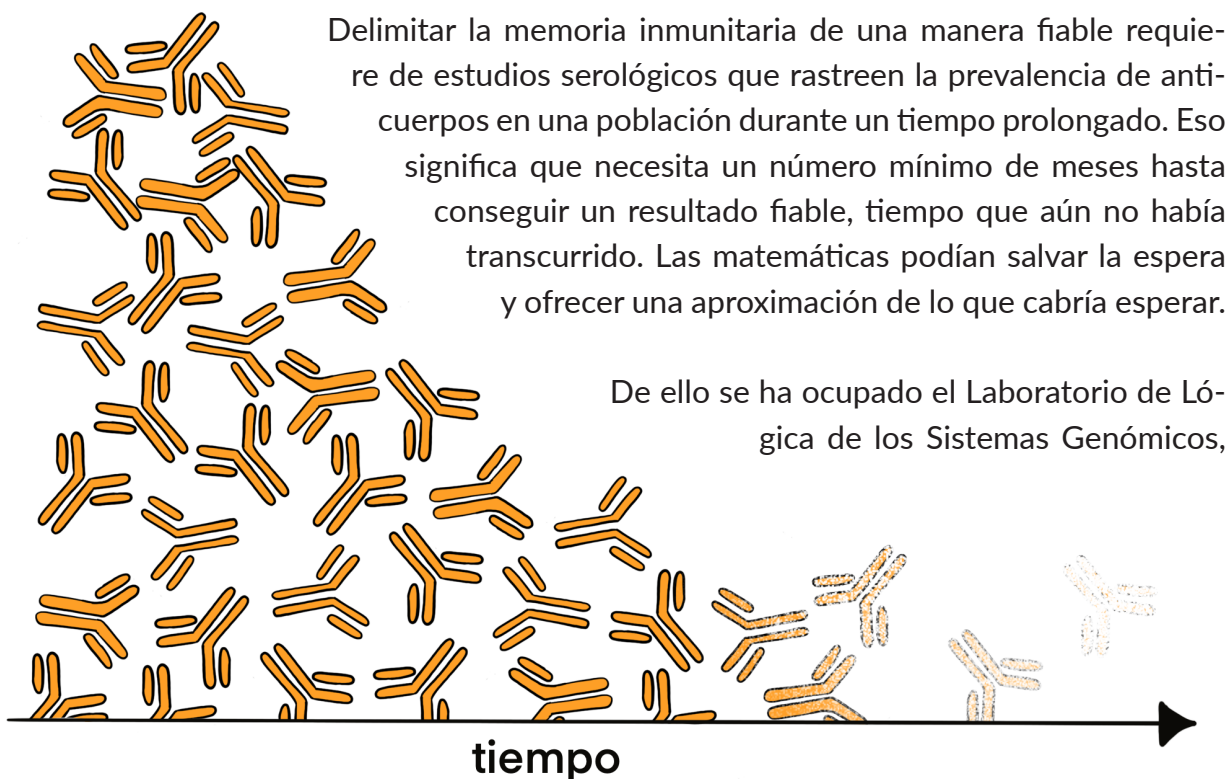
Las luces también acompañaron las conclusiones del equipo. Los modelos sí eran útiles. En concreto, servían para comparar escenarios. Los laboratorios de Manrubia y Ares se centraron en discernir cuál era el protocolo óptimo de vacunación. En particular, qué grupo de edad había que inmunizar primero y a quién había que dar prioridad. Plantearon para ello un modelo más detallado que incluyera variables como la estructura demográfica de la población, pues es bien sabido que la covid resulta más letal cuanto más mayor es la persona afectada. También contemplaron cuáles son los contactos entre los distintos grupos de edad en función de los diferentes países. Podría ser que los países mediterráneos tengan más contacto intergeneracional, mientras que en otras culturas se relacionen menos entre diferentes grupos de edad.

De esta forma pudieron representar una sociedad a la carta y simular qué pasaría en diferentes escenarios de vacunación. Según sus simulaciones, para la infección por SARS-CoV-2, el efecto que tiene esta enfermedad en los mayores es tan fuerte que no hay protocolo mejor que el que se implementó en España. El resultado de alguna manera ayudaba a cerrar el debate sobre si la preferencia debía ser para trabajadores de cara al público o para los ancianos.

Si bien la primera parte de este trabajo se encuentra acabada y publicada de forma provisional, el grupo sigue explorando en la actualidad algunos otros aspectos de su modelo, como el mayor detalle en el análisis demográfico, entre otros.

ESTIMAR LA DURACIÓN DE LA INMUNIDAD ANTES DE TIEMPO

La duración de la inmunidad frente al SARS-CoV-2, definida como el tiempo que tarda una persona en poder volver a infectarse, era un misterio al inicio de la emergencia del coronavirus. En parte, lo sigue siendo en la actualidad. Por la relación filogenética con otros virus, se pensaba que podía situarse en torno al año, pero no dejaban de ser elucubraciones. Sin embargo, conocer la extensión de la inmunidad es el mayor bastón sobre el que apoyarse para controlar una pandemia, pues de ella depende la tanto la efectividad de las vacunas como la protección natural de las personas frente al coronavirus, lo que a su vez condiciona las decisiones sociosanitarias.



dirigido por Juan F. Poyatos en el CNB. Se trata de un equipo interdisciplinar de físicos y biólogos dedicados, en términos generales, a los límites de la predictibilidad en sistemas biológicos como puede ser el comportamiento de un virus en una población. Así que este problema se ajustaba a sus intereses y experiencia.

El proyecto arrancó un poco de manera espontánea, impulsado por la curiosidad relativa a la duración de la inmunidad del personal del equipo. En discusiones científicas prácticamente diarias vía Skype, los investigadores compartían aquello que les llamaba la atención sobre la cuestión y cómo resolverla. Esto empezó a ocupar cada vez más tiempo del día a día hasta converger en lo que acabó siendo una publicación científica. En la iniciativa estuvieron trabajando desde abril de 2020.

El grupo compartía con el proyecto anterior la problemática de la incertidumbre inherente a la dinámica de las epidemias o pandemias. Las variables a tener en cuenta para entender el sistema, como la población confinada o el cumplimiento de las medidas de distancia social, pueden seguir multitud de caminos diferentes y no es posible saber cuál hasta que no lo hagan. Ello implica que hacer predicciones a través de modelos que presuponen cierto determinismo sea ineficiente.

Establecieron de esta forma un modelo, que no es más que una descripción simplista de la realidad a estudiar, con el fin de llevar a cabo dicha estimación. Primero, definieron qué grupos de personas se tendrían en cuenta. Es decir, definieron cómo sería esta realidad simplificada. En el contexto de una epidemia, una población se puede dividir en categorías, principalmente compuestas por la mencionadas en el apartado anterior de susceptibles, infectados e inmunes. Las personas van de esta manera transaccionando de una a otra con una determinada probabilidad. Así que, con esto definido, su modelo tenía que resolver cómo de frecuentemente ocurren tales transiciones.

Sí contaban, sin embargo, con algo por donde tirar del hilo. La dinámica de una epidemia en la que las personas recuperadas se vuelven inmunes durante un cierto periodo de tiempo, difiere de aquella en la que los recuperados rápidamente se vuelven susceptibles a la reinfección. Explotar esa diferencia de tiempos podría servir para estimar la duración de la inmunidad.

Para verificar si su modelo funcionaba, emplearon lo que se conoce como datos sintéticos. Se trata de datos generados por el propio modelo, por lo que los investigadores ya saben de antemano los resultados que van a conseguir a partir de ellos. En caso de que no se estime lo esperado, es que hay algo en esta simulación de la realidad que debe ser revisado. Este paso fue superado con éxito por el Laboratorio. El modelo estaba, por tanto, ajustado para resolver el problema de la duración de la inmunidad al SARS-CoV-2.

De los datos «de mentira» pasaron a datos reales sobre los que hallar la ansiada respuesta. Consideraron para ello registros sobre la mortalidad en una treintena de regiones de todo el mundo muy afectadas por el virus, aunque con especial protagonismo de Estados Unidos. Finalmente se centraron en la ciudad de Nueva York por la mejor calidad de sus datos y la mayor tasa de fallecimientos. Los análisis revelaron que la inmunidad predicha debería situarse entre los 105 y los 211 días.

Con el paso del tiempo, se ha podido estudiar en la realidad la duración de la inmunidad. Se sabe que la protección dura varios meses, de ahí que las reinfecciones se vayan sucediendo en la población y la pauta de dosis de refuerzo en la vacunación. Los datos no son, sin embargo, del todo concluyentes. La inmunidad es, al fin y al cabo, un parámetro muy complejo y numerosas variables pueden entrar en juego a la hora de delimitar su duración. La llegada de ómicron fue, por ejemplo, un punto de inflexión que le dio una vuelta de 180 grados al SARS-CoV-2 por sus grandes diferencias respecto a las variantes anteriores.

VIRUS VERSUS VIRICIDAS

En época de pandemia, se comprobó que no había mayor tesoro que poder disponer de un laboratorio de bioseguridad de nivel 3, aseveración reforzada con el presente proyecto. El seguro espacio del CNB abrió la oportunidad de establecer una pequeña plataforma para la validación de viricidas frente al SARS-CoV-2 y otros patógenos. Las entidades externas interesadas podían testar en ella sus métodos de desinfección, tanto de superficies como ambientales, para comprobar su efectividad.

Del proyecto se ha encargado el Servicio de Bioseguridad gracias a la colaboración con el Laboratorio de Coronavirus, que les ha permitido acceder a los tres coronavirus humanos mortales y al de catarro común 229E. Así, disponen de virus en los que probar la eficacia de los métodos. El trabajo consiste principalmente en hacer un estudio detallado sobre la eficacia de los sistemas. También se está analizando la seguridad de uso en presencia de personas. Ello permitiría desinfectar espacios como, por ejemplo, hospitales, que además de resultar puntos calientes de transmisión de virus, difícilmente quedan vacíos de gente.

La plataforma ha propiciado la firma con diferentes empresas de cuatro proyectos de apoyo tecnológico, ya finalizados, más un quinto todavía en marcha durante la elaboración de este libro. A ellos se suma una iniciativa para testar el ozono en forma de colaboración científica con la Universidad Complutense de Madrid que ha producido unos resultados muy prometedores incluso a dosis no tóxicas para los humanos. En las pruebas completadas se han valorado como métodos de desinfección el plasma atmosférico, el agua peroxidada⁴¹ y fuentes que emiten radiación ultravioleta. A la última categoría pertenece el trabajo en curso.

41 El agua peroxidada contiene agua oxigenada (H_2O_2), pero también otras moléculas reactivas, fundamentalmente radicales libres.

De los sistemas evaluados, y también adscrito al campo de la radiación, cabe destacar el efecto de un robot de luz pulsada ultravioleta. La luz ultravioleta es una forma de radiación electromagnética con más energía que la luz visible, pero menos que los rayos X, con capacidad para dañar ADN y ARN. Por ello se emplea como método de desinfección, ya que inactiva los virus y bacterias al destruir sus ácidos nucleicos. Además, presenta la ventaja de ser un método rápido y limpio, pues no deja restos de productos químicos en las superficies. Como factor en contra se encuentra el riesgo que supone la radiación para las personas. Ello implica que durante su aplicación el espacio debe estar vacío.

Estos robots emiten una radiación muy potente en forma de pulsos que le ha permitido lograr una eficacia casi total para desinfectar, en solo dos minutos, superficies contaminadas con los diferentes coronavirus humanos previamente mencionados. El desempeño del aparato superaba al de las lámparas empleadas normalmente para tal fin.

El uso de plasma atmosférico aporta otra forma de descontaminación sin necesidad de productos químicos. Los estados de la materia no se limitan a sólido, líquido y gaseoso. La ionización del gas genera una cuarta forma que es el plasma.⁴² Supone un paso más, en el escalado de energía de un estado a otro, que lleva a los átomos a estar cargados eléctricamente. De ahí que alrededor de los rayos se pueda encontrar plasma. La *start-up* española CEDRION se ha encargado de aprovechar las características del gas ionizado para eliminar el SARS-CoV-2 del ambiente. La empresa comenzó sus andanzas en el campo de la aeronáutica, diseñando sistemas de refrigeración basados en el plasma atmosférico. El brote de listeriosis del 2019, surgido en una empresa andaluza de carne mechada, llevó a los integrantes del equipo a probar si sus iones eliminaban las bacte-

42 Los estados de la materia no acaban con el plasma. El condensado de Bose-Einstein es otra forma de agregación de la materia, que no se encuentra de manera natural, y se forma cuando un grupo de átomos se enfría hasta cerca del cero absoluto (-273 °C). La lista tampoco concluye aquí, pues la ciencia experimenta con otras exóticas formas.

rias. Y, de igual forma, con la llegada de la pandemia dirigieron su tecnología a inactivar el nuevo virus. Los resultados preliminares ofrecen casi un 100% de eficacia para inactivar otros coronavirus, así como bacterias. Los datos con SARS-CoV-2 son también positivos, pero están pendientes de ser publicados.

Además de contribuir a desactivar el SARS-CoV-2, el Servicio de Bioseguridad también ha participado en la investigación sobre la pervivencia en el ambiente y transmisión del virus. Aún no se entiende del todo bien cómo un virus bastante lábil se las arregla para mantenerse viable sobre las superficies incluso días. Tampoco por qué los aerosoles ultrafinos, que son gotas minúsculas de saliva, pueden mantener durante horas cierta cantidad de virus viable, la cual se ha establecido como la vía preponderante de transmisión. Estos aerosoles llevan muy poca carga viral, pero en espacios poco ventilados donde la presencia del personal se mantenga durante un tiempo se puede producir el contagio por acumulación. Por eso, el SARS-CoV-2 no se transmite de forma lineal, sino grupal, lo que representa una de sus armas para diseminarse tan fácilmente entre la población.

Esta iniciativa supone una colaboración con la Universidad Carlos III de Madrid y con el Instituto de Cerámica y Vidrio, centro adscrito al CSIC. El objetivo pasa por estudiar por qué el coronavirus se mantiene tanto tiempo en superficies y aerosoles. El trabajo sigue en desarrollo.

ANEXO

LAS PERSONAS DETRÁS DE LA CIENCIA

Puede parecer una obviedad la siguiente afirmación, pero la ciencia no se hace sola. Las vacunas tienen caras y nombres. También los antivirales, anticuerpos, estudios sobre la naturaleza del virus o las predicciones epidemiológicas. A lo largo del libro ya han aparecido algunos protagonistas, los más representativos en cada caso por ser quienes dirigían los movimientos de la telaraña para atrapar el SARS-CoV-2 en la que se ha convertido el CNB. Faltan, sin embargo, la mayoría.

Las siguientes páginas recogen el listado de todas las personas que trabajaban en el centro en el año 2020. La mayoría lo siguen haciendo en la actualidad, otras ya no. Y otras tantas nuevas incorporaciones han llegado para seguir contribuyendo a este gran reto que es el SARS-CoV-2. Asimismo, se incluye una mención especial a las 70 personas que han sido entrevistadas para la realización de este libro, algunas de ellas no pertenecientes al CNB ni, incluso, al mundo de la investigación.

LISTADO DEL PERSONAL DEL CENTRO

Acosta, Miguel	Alonso, Tamara	Aparicio, Tomas
Aguilera, Alfonso	Almazán, Fernando	Ara, Pilar
Aicart, Clara	Almena, Inés Carmen	Aragón, Julio César
Aizpurúa, Gonzalo María	Almendro, Aránzazu	Ardavín, Carlos
Albacete, Martín	Almonacid, Luis	Ares, Saul
Albericioc, Guillermo	Álvarez, Beatriz	Arranz, María Teresa
Algar, Elena	Álvarez, Enrique	Arranz, Rocío
Alonso, Aida	Álvarez, Eva	Asgais, Abderrahim
Alonso, Carlos	Álvarez, Natalia	Astorgano, David
Alonso, Juan Carlos	Antón, Inés María	Atienza, Iker

Ávila, Juana Antonia	Cabrerizo, Ana María	Canalejo, Francisco Javier
Ayala, Rosa	Cabrerizo, Aurora	Cano, Lidia
Ayora, Silvia	Calavia, Celia	Cantero, Marta María
Balaguer, Francisco de Asís	Calitescu, Dumitru	Cañibano, Esther
Balomeno, Dimitrios	Dragos	Caño, Laura del
Barbado, Laura	Calles, María Belén	Casado, Sara
Barber, Domingo Francisco	Calvo, Ane	Castanheira, Sónia Marisa
Barranco, Santos Esteban	Calvo, Gema	Castro, Tomas
Barrasa, Alejandro	Calvo-Villamañán, Alicia	Castro, Victoria
Bartolomé, María Teresa	Carazo, José María	Cayuela, Ana
Bello, Melissa Loreto	Carballo, Alba	Ceballos, Álvaro
Benítez, Blanca Elena	Carlero, Diego	Cebrián, Esmeralda
Benítez, Yolanda	Carmona, Lorena	Cebrián, María de la
Berdeal, Carmen	Carranza, Darwin	Encarnación
Bermudo, Juan Carlos	Carrera, Ana Clara	Cerdán, Lidia
Bernad, Antonio	Casal, Beatriz	Chagoyen, Mónica
Berreiros, Carmen	Casanova, María de las	Checa, Ana Isabel
Blasco, María Luz	Mercedes	Chichón, Francisco Javier
Blázquez, Blas	Casasnovas, José María	Chico, José Manuel
Blázquez, Jesús	Cascón, Tomás	Chini, Andrea
Bragado, Irene	Castells, Irene	Ciobu, Nicolae
Bragança, Sara de	Castillo, Gema	Ciordia, Sergio
Bragg, Lorena	Castillo, Luis	Collado, Javier
Bravo, Gema	Castón, José R.	Condezo, Gabriela Nérida
Bravo, Rosa María	Castresana, Carmen	Conesa, José Javier
Bueno, María Teresa	Castrillo, Marta	Conesa, Pablo
Bueno, Paula	Carrasco, Begoña	Corral, María del Pilar
Cabrera, Alba	Camuñas, Sandra María	Corrales, Fernando José

Corraliza, Isabel	Enjuanes, Luis	Fonseca, Yunior César
Costas, Coloma	Espinosa, María Loreto	Fraile, Sofía
Cortes, Christian Camilo	Esteban, Jorge	Franco, José Manuel
Crespo, Diego	Esteban, Mariano	Fütterer, Agnes
Cubas, Pilar Almudena	Esteban, Paula	Gallardo, José
Cuéllar, Jorge	Esteso, Gloria	Garaigorta, Urtzi
Cuenca, Juan Carlos	Fajardo, María del Pilar	García, Adela
Cuenda, Ana Isabel	Felgueres, María José	García, Alberto
Cuervo, Ana	Felipe, Margarita	García, Alberto
Cuesta, Trinidad	Fernández, Alejandro	García, Alfonso
Cutillas, Pilar	Fernández, Ariadna	García, Álvaro Fernando
Daviu, Neus	Fernández, Daniel	García, Ana
D'Agostino, Gianluca	Fernández, Gemma	García, Beatriz
Delgado, David	Fernández, José María	García, Carlos
Delgadillo, María Otilia	Fernández, Juliana	García, Celia
Díaz, Elisabet	Fernández, Luis Ángel	García, Eva María
Díaz, Emma	Fernández, María de la	García, Francisco
Díaz, Ester	Estrella	García, Jorge
Diego, Sonia de	Fernández, Nuria	García, Juan Antonio
Díez, Julio	Fernández de Castro,	García, Juan Antonio
Dios, Lucía de	Isabel María	García, Juan Francisco
Dobczynska, Anna Beata	Fernández de Cordoba,	García, Julia
Domínguez, Isabel María	Jaime	García, María de los
Dopazo, José Manuel	Fernández, Sara Yolanda	Ángeles
Dove, Clive Alexander	Fernández, Yolanda	García, Pablo
Dueñas, Antonio	Ferriz, Margarita	García, Rafael
Egea, David	Fischer, Jacques	García, Raúl
Encina, Aránzazu de la	Flores, Sara	García, Samuel

García-Agullo, Juan
 Gardeta, Sofia Rosa
 Gargantilla, Álvaro
 Gastaminza, Pablo
 Gento, Francisco
 Gil, David
 Gil, Erica
 Gil, Teresa
 Giménez, Selenia
 Giménez, Sergio
 Giraldo, Rafael
 Godoy, Marta
 Golpe, Juan Ignacio
 Gómez, Álvaro
 Gómez, Andoni
 Gómez, Carmen Elena
 Gómez, Carmen Patricia
 Gómez, Concepción
 Gómez, Guillermo
 Gómez, Ismael
 Gómez, Sergio
 Gómez-Caro, Ruth
 González, Ana María
 González, Carlos
 González, Diego
 González, Eduardo
 González, Erika
 González, Ezequiel

González, Henar
 González, Jesús
 González, Margarita
 González, María
 Gonzalo, Irene
 Gracia, Alicia Lou
 Gragera, Marcos
 Grande, Julián Miguel
 Grande, Manuel
 Grau, Joaquín
 Gregorio, María José
 Guardia, Ana María
 Guerra, Miriam
 Guerrero, Laura
 Gullón, Sonia
 Gutiérrez, Alejandra
 Gutiérrez, David
 Gutiérrez, Estela
 Gutiérrez, Julio
 Gutiérrez, Raquel
 Gutiérrez, Sócrates
 Guzmán, María
 Heras, Tomas
 Hernández, María del
 Carmen
 Hernando, Marina
 Hernando, Sara
 Herreros, David

Hierro, María Jesús del
 Higuera, Marina
 Honrubia, José Manuel
 Hormeño, Silvia
 Hoyo, Daniel del
 Hoz, María Herminia de la
 Huete, Jorge
 Hurtado, Jesús
 Iceta, Mikel
 Iniesta, Alberto
 Isidro, Federico Pedro de
 Izquierdo, Yovanny
 Jareño, Iván
 Jiménez, Jorge
 Kiewisz, Robert
 Klatt, Peter Maximilian
 Kremer, Leonor Judith
 Krieger, James Michael
 Krupka, Marcin
 Labella, Vicente
 Lacalle, Rosa Ana
 Lamas, José Ramón
 Lauzirika, Oier
 Leo, Yolanda
 Leyva, Antonio de
 Liébana, Rosa María
 Lixandru, Daniela Cristina
 Lobato, Damián

López, Beika Zulema
 López, Bran
 López, Daniel
 López, Darío
 López, Darío
 López, María
 López, Marta
 López, Rafael
 López, Silvia
 López-Bravo, María
 López-Ibáñez, Javier
 Lombardía, Manuel
 Lorenzo, Víctor de
 Losana, Patricia
 Lucas, Susana de
 Lucero, Leticia
 Luque, Juan Manuel
 Quero, Carlos
 Quijada, Adriana
 Quiroz, Elva Yadira
 Macías, José Ramón
 Majano, Carmen
 Manchado, Alfonso
 Manrubia, Susanna
 Manzanero, Rocío
 Mañes, Santos
 Marchán, Daniel
 Alejandro

Marchena, Ana
 Marchisone, Chiara
 Marcilla, Miguel
 Marcos, Elia
 Marcos, Laura
 Margolles, Yago
 Marín, Mikel
 Marín, Silvia
 Martín, Altea
 Martín, Ana María del
 Carmen
 Martín, Beatriz
 Martín, Cristina
 Martín, Daniel
 Martín, Eva María
 Martín, Francisco Javier
 Martín, Isabel
 Martín, Iván
 Martín, José
 Martín, María Teresa
 Martín, Miguel
 Martín, Nuria
 Martín-Benito, Jaime
 Martín-Dorado, Isabel
 María
 Martínez, Carlos
 Martínez, Cristina
 Martínez, Eladio Bernardo

Martínez, Esteban
 Martínez, Iris
 Martínez, José Luis
 Martínez, María Marta
 Martínez, Natalia
 Martínez, Samuel
 Martínez, Sandra
 Matías Da, Sandra
 Cristina
 Matveyeva, Kateryna
 Mejía, Enrique Pablo
 Melero, Roberto
 Mellado, Mario
 Méndez, Almudena
 Méndez, Fernando
 Méndez de Vigo, Belén
 Mérida, María Isabel
 Merino, Cristina
 Merino, Inés
 Meza, Guillermo
 Michavila, Santiago
 Milhano, Fátima Raquel
 Mira, Emilia
 Modrego, Andrea
 Montalbán, Soledad
 Mora, Daniel
 Morales, Antonio
 Moreno, Fabián

Moreno, María
 Moreno, Renata
 Moreno de Alborán,
 Ignacio
 Montero, Ana
 Montoliu, Lluís
 Moreno, Fernando
 Moreno, Francisco
 Moreno-Ortiz, María del
 Carmen
 Moya, Jennifer
 Muñoz, Aitor
 Muñoz, Diego
 Muñoz, Eduardo
 Murillo, Alba Esteli
 Naranjo, Ángel Fernando
 Naranjo, José Ramón
 Noriega, María de los
 Ángeles
 Navajas, Rosa Ana
 Navarro, Cristina
 Navarro, Micaela Andrea
 Nicolas, Michael Claude
 Alexandre
 Nieto, Ana Isabel
 Nieto, Marta
 Nogales, Carolina
 Nogales, Juan

Notario, Aileen
 Novoa, Guy Axl
 Novoa, Jorge
 Oficialdegui, Iñigo
 Oliveros, Juan Carlos
 Olm, Irene del
 Olmeda, Héctor
 Oña, Ana María
 Ortega, Esther
 Ortiz, Javier
 Otaegi, Sara
 Pacios, Cristina
 Pajares, Elena
 Palacios, César
 Paradela, Alberto
 París, Andrés
 Pascual, Alberto
 Pascual, María Carmen
 Paredes, María del Pilar
 Pares, Elena
 Parra, Alberto Manuel
 Pastor, Jaime
 Pastora, Daniel
 Patiño, Cristina
 Payan, Jesús
 Paz-Ares, Javier
 Pazos, Florencio
 Pavón, Virginia

Pawelczyk, Anna
 Pedros, Carlos
 Peinado, María Luisa
 Pelletier, James Francis
 Perales, Celia Belén
 Perdiguero, Beatriz
 Peregil, Rosa María
 Pérez, Carlos
 Pérez, Alberto
 Pérez, Josefa
 Pérez, Mario
 Pérez, Patricia
 Pérez, Paula
 Pérez, Sonia
 Piccirillo, Gabriel
 Pico, Eva
 Pintado, María Belén
 Pipaón, Sergio
 Pitarch, Borja
 Polo, Sergio
 Pons, Tirso
 Poyatos, Juan Fernando
 Poza, César
 Prado, Pablo
 Puerto, Ana María
 Puga, María Isabel
 Pulido, Pablo José
 Purificación, Julia

Ramírez, Erney	Rodríguez, Juan Ramón	Sánchez, José Juan
Ramiro, María Mercedes	Rodríguez, María del Rocío	Sánchez, Juan José
Ramos, Rosita	Rodríguez, María Esther	Sánchez, Manuela
Redondo, Álvaro	Rodríguez, María Isabel	Sánchez, María Lourdes
Requejo, José María	Rodríguez, María Jesús	Sánchez, Marta
Reyburn, Hugh Thomson	Rodríguez, Mario Enrique	Sánchez, Miguel Ángel
Reyes, Ana Agustina	Rodríguez, Virginia	Sánchez, Miriam
Ricardo, Platek	Rodríguez, Yolanda	Sánchez, Óscar Javier
Rico, Ana Isabel	Roldán, Iris	Sánchez de Lamadrid, Gabriel
Ricón, Irati	Romo, Ainhoa	Santander, Noelia
Ripoll, Jorge	Rojo, Enrique	Santiago, César Augusto
Risco, Ana María	Rojo, Fernando	Santidrián, Ignacio
Risco, Cristina	Rubio, Vicente	Santos, Alfonso
Rivas, Juan	Ruiz, Ainhoa	Sanz, Alejandro José
Rivas, María del Carmen	Ruiz, Ángel	Sanz, Juan José
Rivero, Vanessa Carolina	Rus, Patricia	Sanz, Lorena
Robledo, Cristina	Salvador, Jesús María	Sanz, Marta
Roda, Margarita	San León, David	Sanz, Patricia
Rodamilans, Bernardo	San Millán, Álvaro	Sanz, Ruth
Rodríguez, Alexandra	San Martín, Carmen	Sastre, Gloria del
Rodríguez, Cristina	San Sebastián, Enara	Sastre, Jorge
Rodríguez, David	Sánchez, Ainhoa	Sastre, Martín
Rodríguez, Dolores	Sánchez, Carlos	Secaira, Henry Patricio
Rodríguez, Francisco	Sánchez, Álvaro	Seco, Elena María
Ángel	Sánchez, Cristina	Seoane, Luis Francisco
Rodríguez, Javier María	Sánchez, Gustavo Adolfo	Serroukh, Nadia
Rodríguez, José Francisco	Sánchez, Irene	Sevillano, María Isabel
Rodríguez, José Miguel		

Sierra, Sergio
 Simón, María del Carmen
 Sola, María Isabel
 Sola, Pablo
 Solano, Roberto
 Soler, Blanca
 Sorzano, Carlos Óscar
 Sow, Aboutalib
 Tamames, Javier
 Tenorio, Raquel
 Torán, José Luis
 Toribio, Laura
 Tortosa, Javier
 Torre, Antonio Luis de la
 Torres, Rafael
 Torres, Rubén
 Ukleja, Marta
 Usera, Fernando José
 Valera, Ángel Manuel
 Vales, María del Mar
 Valli, Alejandro
 Valpuesta, José María
 Valverde, José Ramón
 Varas, Antonio Jesús
 Varela, Irene
 Vargas, Carlota Elena
 Van Wely, Karel
 Van Raaij, Mark Johan

Vara, Vanesa
 Vaz, María Carmen
 Vázquez, Paula
 Veiga, Esteban
 Velázquez, Elena
 Venturini, Víctor
 Vicente, Jorge
 Vicente, Miguel
 Vila, Álvaro
 Vilas, José Luis
 Vílchez, Jesús
 Villanueva, Ariadna
 Villarejo, Marta
 Villares, Ricardo Jesús
 Villegas, Sonia Marcela
 Yuste, Luis
 Yuste, Mario
 Zacarias, Letizia
 Zamarreño, Noelia
 Zarco, Francisco Javier
 Zúñiga, Sonia

MENTIÓN ESPECIAL

Almazán, Fernando
 Barber, Domingo
 Francisco
 Bravo, Rosa
 Carazo, José María

Casasnovas, José María
 Castón, José R.
 Cerezo, Moisés
 Cerón, José Pedro
 Condezo, Gabriela N.
 Corrales, Fernando
 Cutillas, Pilar
 Díaz, Abel
 Díez, Julio
 Domínguez, Verónica
 Dueñas, Antonio
 Enjuanes, Luis
 Esteban, Mariano
 Fernández, Almudena
 Fernández, Luis Ángel
 Garaigorta, Urtzi
 García Arriaza, Juan
 Gastaminza, Pablo
 Gómez, Ismael
 González, Xoxé Antón
 Gutiérrez, Sócrates
 Honrubia, José Manuel
 Iborra, Francisco
 Klatt, Peter
 Kremer, Leonor
 López, Daniel
 López de Diego, Marta
 Lucas, Susana de

Maira, Javier	Sola, Isabel
Manrubia, Susanna	Solano, Roberto
Marco, Jesús	Sorzano, Carlos Óscar
Martín, Javier	Usera, Fernando José
Martín, Nuria	Valés, Mar
Martín-Benito, Jaime	Valverde, José Ramón
Martínez, Eladio	Van Raaij, Mark
Martínez, María del Carmen	Villares, Ricardo
Mellado, Mario	Vispe, Javier
Mérida, Isabel	Yubero, Pablo
Merino, Cristina	Zúñiga, Sonia
Moreno, Victoria	
Naranjo, Ángel	
Nogales, Juan	
Oña, Ana	
Parrilla, Alejandro	
Pintado, Belén	
Poyatos, Juan	
Risco, Cristina	
Rodríguez, Dolores	
Rodríguez, José Francisco	
Rodríguez, Juan Ramón	
San Martín, Carmen	
San Millán, Álvaro	
Santiago, César	
Sanz, Ana	
Sevillano, Isabel	

BIBLIOGRAFÍA

ABELLÁN GARCÍA, A., ACEITUNO NIETO, P., ALLENDE, A., ANDRÉS, A. D., ARENILLAS, A., BARTOMEUS, F., ... & MARCO, J. (2020). *Una visión global de la pandemia COVID-19: qué sabemos y qué estamos investigando desde el CSIC*. Editorial CSIC. Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/218312>.

ALMAZÁN, F., SOLA, I., ZÚÑIGA, S., MÁRQUEZ-JURADO, S., MORALES, L., BECARES, M., & ENJUANES, L. (2014). «Coronavirus reverse genetic systems: infectious clones and replicons». *Virus research*, 189, 262-270.

AMANAT, F., STADLBAUER, D., STROHMEIER, S., NGUYEN, T. H., CHROMIKOVA, V., McMAHON, M., ... & KRAMMER, F. (2020). «A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans». *Nature medicine*, 26(7), 1033-1036.

ANSEDE, M. (29 de octubre de 2020). «Una nueva variante del coronavirus detectada en junio en España ya es una de las más frecuentes en Europa». *El País*. Disponible en: <https://elpais.com/ciencia/2020-10-29/una-nueva-variante-del-coronavirus-detectada-en-junio-en-espana-ya-es-una-de-las-mas-frecuentes-en-europa.html> [Fecha de consulta 06/10/2022].

ARRANZ, R., COLOMA, R., CHICHÓN, F. J., CONESA, J. J., CARRASCOSA, J. L., VALPUESTA, J. M., ... & MARTÍN-BENITO, J. (2012). «The structure of native influenza virion ribonucleoproteins». *Science*, 338(6114), 1634-1637.

BANCO DE SANGRE Y TEJIDOS DE ARAGÓN (s.f.). *Procesamiento de la sangre*. Disponible en: <https://www.bancosangrearagon.org/procesamiento-de-la-sangre/> [Fecha de consulta 20/02/2023].

BARBOSA, N.S.; CONCHA, J.O.; DA SILVA, L.L.P. BUNYAVIRUS (2022). En *Encyclopedia of Infection and Immunity*; Rezaei, N., Ed.; Elsevier: Oxford: 207-218.

- BARREDA, D., SANTIAGO, C., RODRÍGUEZ, J. R., RODRÍGUEZ, J. F., CASASNOVAS, J. M., MÉRIDA, I., & ÁVILA-FLORES, A. (2021). «SARS-CoV-2 spike protein and its receptor binding domain promote a proinflammatory activation profile on human dendritic cells». *Cells*, 10(12), 3279.
- BAYOUMI, M., & MUNIR, M. (2021). «Potential use of CRISPR/cas13 machinery in understanding virus–host interaction». *Frontiers in Microbiology*, 12, 743580.
- BEAN, A. G., BAKER, M. L., STEWART, C. R., COWLED, C., DEFFRASNES, C., WANG, L. F., & LOWENTHAL, J. W. (2013). «Studying immunity to zoonotic diseases in the natural host—keeping it real». *Nature Reviews Immunology*, 13(12), 851-861.
- BELLO-PEREZ, M., ESPARZA, I., DE LA ENCINA, A., BARTOLOMÉ, T., MOLINA, T., SANJUAN, E., ... & USERA, F. (2022). «Pulsed-Xenon Ultraviolet Light Highly Inactivates Human Coronaviruses on Solid Surfaces, Particularly SARS-CoV-2». *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(21), 13780.
- BIOSLAB PLATAFORMA DE FORMACIÓN EN BIOSEGURIDAD EN LABORATORIOS Y ANIMALARIOS (s.f.). *Niveles de Bioseguridad*. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VIVASET). <https://www.visavet.es/es/bioslab/niveles-de-bioseguridad.php> [Fecha de consulta 23/11/2022].
- CÁCERES-MARTELL, Y., FERNÁNDEZ-SOTO, D., CAMPOS-SILVA, C., GARCÍA-CUESTA, E. M., CASASNOVAS, J. M., NAVAS-HERRERA, D., ... & VALÉS-GÓMEZ, M. (2021). «Single-reaction multi-antigen serological test for comprehensive evaluation of SARS-CoV-2 patients by flow cytometry». *European Journal of Immunology*, 51(11), 2633-2640.
- CASPAR, D. L., & KLUG, A. (1962). «Physical principles in the construction of regular viruses». *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 27, 1-24.

CASTRO, M., ARES, S., CUESTA, J. A., & MANRUBIA, S. (2020). «The turning point and end of an expanding epidemic cannot be precisely forecast». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(42), 26190-26196.

CELARDO, I., PACE, L., CIFALDI, L., GAUDIO, C., & BARNABA, V. (2020). «The immune system view of the coronavirus SARS-CoV-2». *Biology Direct*, 15(1), 1-11.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (s.f.). *Chikungunya Virus*. Recuperado el 28 de octubre de 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/chikungunya/index.html> [Fecha de consulta 28/10/2022].

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (s.f.). *Overview of COVID-19 Vaccines*. Recuperado el 6 de noviembre de 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/different-vaccines/overview-COVID-19-vaccines.html> [Fecha de consulta 06/11/2022].

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (s.f.). *Zika Virus*. Recuperado el 28 de octubre de 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/zika/index.html> [Fecha de consulta 28/10/2022].

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) (s.f.). *Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. Recuperado el 7 de enero de 2023. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html> [Fecha de consulta 07/01/2023].

CENTRO DE BIOLOGÍA MOLECULAR SEVERO OCHOA (CBM), CSIC-UAM (s.f.). *Oferta de Laboratorio de Cultivos y Animalario NC3*. Disponible en: <https://www.cbm.uam.es/es/inicio/oferta-para-empresas-e-instituciones> [Fecha de consulta 14/11/2022].

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA (VIVASET) (s.f.). VIVASET. Disponible en: <https://www.visavet.es/es/visavet.php#instalaciones-ncb3> [Fecha de consulta 14/11/2022].

CENTRO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA (CNB) (s.f.). *El CNB en cifras*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Disponible en: <http://www.cnb.csic.es/index.php/es/el-cnb/datos> [Fecha de consulta 30/11/2022].

COLOMA, R., ARRANZ, R., DE LA ROSA-TREVÍN, J. M., SORZANO, C. O., MUNIER, S., CARLERO, D., ... & MARTÍN-BENITO, J. (2020). «Structural insights into influenza A virus ribonucleoproteins reveal a processive helical track as transcription mechanism». *Nature microbiology*, 5(5), 727-734.

COMMUNITY RESEARCH AND DEVELOPMENT INFORMATION SERVICE (CORDIS) (s.f.). *Synthetic microbial consortia-based platform for flavonoids production using synthetic biology*. European Commission (CE). Recuperado el 12 de noviembre de 2022. Disponible en: <https://cordis.europa.eu/project/id/814650> [Fecha de consulta 12/11/2022].

COMMUNITY RESEARCH AND DEVELOPMENT INFORMATION SERVICE (CORDIS) (s.f.). *Monoclonal Antibodies against 2019-New Coronavirus (MANCO)*. European Commission (EC). Recuperado el 14 de diciembre de 2022. Disponible en: <https://cordis.europa.eu/project/id/101003651/es> [Fecha de consulta 14/12/2022].

COMPANS, R. W., CONTENT, J., & DUESBERG, P. H. (1972). «Structure of the ribonucleoprotein of influenza virus». *Journal of virology*, 10(4), 795-800.

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) (abril de 2021). *Manual de Gestión de Proyectos y Actividad Científica en el CSIC*. Disponible en <https://www.csic.es/>

sites/www.csic.es/files/manual_proyectos_cientificos.pdf [Fecha de consulta 22/11/2022].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) (s.f.). *Donación COVID-19*. Disponible en: <https://www.csic.es/es/donacion-covid19> [Fecha de consulta 25/11/2022].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) (s.f.). *Llevando el conocimiento a la sociedad. Vicepresidencia Adjunta de Transferencia de Conocimiento (VATC)*. Disponible en: https://eventos.corp.csic.es/event/71/attachments/132/305/Presentacion_General_VATC.pptx [Fecha de consulta 20/02/2023].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC Comunicación) (12 de mayo de 2021). «El CSIC diseña un test serológico que diferencia a las personas vacunadas de las que han padecido la covid-19». Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Disponible en: <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/el-csic-disena-un-test-serologico-que-diferencia-las-personas-vacunadas-de-las> [Fecha de consulta 09/02/2023].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC Comunicación) (23 de noviembre de 2021). «El CSIC firma una licencia para facilitar que sus test de anticuerpos de covid-19 lleguen a los países más necesitados». Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Disponible en: <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/el-csic-firma-una-licencia-para-facilitar-que-sus-test-de-anticuerpos-de-covid> [Fecha de consulta 21/03/2023].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC Comunicación) (27 de junio de 2022). «Los test serológicos para la covid-19 del CSIC se producirán en Sudáfrica para llegar a los países africanos». Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Disponible en: <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/los-test-serologicos-para-la-covid-19-del-csic-se-produciran-en-sudafrica-para> [Fecha de consulta 09/02/2023].

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC Comunicación) (4 de febrero del 2021). «El CSIC recibe 15.000 euros de Fundación Multiópticas para apoyar el trabajo de la vacuna contra la covid-19». Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Disponible en: <https://www.csic.es/es/actualidad-del-csic/el-csic-recibe-15000-euros-de-fundacion-multioplicas-para-apoyar-el-trabajo-de> [Fecha de consulta 07/01/2023].

CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (2020) «The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2». *Nature microbiology*, 5 (4), 536-544.

CUBUK, J., ALSTON, J. J., INCICCO, J. J., SINGH, S., STUCHELL-BRERETON, M. D., WARD, M. D., ... & HOLEHOUSE, A. S. (2021). «The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein is dynamic, disordered, and phase separates with RNA». *Nature communications*, 12(1), 1936.

D'ALESSIO, V. (26 de mayo de 2020). *Alpacas and antibodies: How scientists hope to stop coronavirus in its tracks*. Horizon: The EU Research & Innovation Magazine. European Commission (EC). <https://ec.europa.eu/research-and-innovation/en/horizon-magazine/alpacas-and-antibodies-how-scientists-hope-stop-coronavirus-its-tracks> [Fecha de consulta 11/11/2022].

DAI, L., ZHENG, T., XU, K., HAN, Y., XU, L., HUANG, E., ... & GAO, G. F. (2020). «A universal design of betacoronavirus vaccines against COVID-19, MERS, and SARS». *Cell*, 182(3), 722-733.

DALL'ACQUA PETERSON, J. (25 de marzo de 2020). *Expediting COVID-19 research*. The Jackson Laboratory. Disponible en: <https://www.jax.org/news-and-insights/2020/March/expediting-covid-19-research> [Fecha de consulta 18/01/2023].

DAVIS, D. M. (2013). *The Nature and Power of Mathematics*. Dover Publications.

DE LA ROSA-TREVÍN, J. M., QUINTANA, A., DEL CANO, L., ZALDÍVAR, A., FOCHE, I., GUTIÉRREZ, J., ... & CARAZO, J. M. (2016). «Scipion: A software framework toward integration, reproducibility and validation in 3D electron microscopy». *Journal of structural biology*, 195(1), 93-99.

DEAN, T. (17 de diciembre de 2020). *Groundwork for COVID-19 Vaccine Laid at Dartmouth (Updated)*. Dartmouth Geisel School of Medicine. Disponible en: <https://geiselmed.dartmouth.edu/news/2020/groundwork-for-covid-19-vaccine-laid-at-dartmouth/> [Fecha de consulta 11/10/2022].

DE DIEGO, M. L., PORTILLA, Y., DAVIU, N., LÓPEZ-GARCÍA, D., VILLAMAYOR, L., MULENS-ARIAS, V., ... & BARBER, D. F. (2022). «Iron oxide and iron oxyhydroxide nanoparticles impair SARS-CoV-2 infection of cultured cells». *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 1-24.

DEL HOYO, D., ULZURRUN, E., CAMPILLO, N., SORZANO, C.O.S. (2022). *Scipion-Chem: a traversal tool for the development of antiviral drugs*. [Abstract]. II Jornadas Científicas PTI+ Salud Global 2022. Disponible en: <http://i2pc.es/coss/Articulos/Hoyo2022.pdf> [Fecha de consulta 11/10/2022].

DIRECTORATE-GENERAL FOR RESEARCH AND INNOVATION (31 de marzo de 2021). *Emergency coronavirus research: Commission selects 18th project to develop rapid diagnostics*. European Commission (EC). Disponible en: https://research-and-innovation.ec.europa.eu/news/all-research-and-innovation-news/emergency-coronavirus-research-commission-selects-18th-project-develop-rapid-diagnostics-2020-03-31_en [Fecha de consulta 14/12/2022].

DRAKE, C. G., JAFFEE, E., & PARDOLL, D. M. (2006). «Mechanisms of immune evasion by tumors». *Advances in immunology*, 90, 51-81.

DU, W., HURDISS, D. L., DRABEK, D., MYKYTYN, A. Z., KAISER, F. K., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, M., ... & BOSCH, B. J. (2022). «An ACE2-blocking antibody confers broad neutralization and protection against Omicron and other SARS-CoV-2 variants of concern». *Science immunology*, 7(73), eabp9312.

EMPRENDE IN HEALTH (EiH). (10 de septiembre de 2020). *Una startup española diseña un sistema de esterilización que podría neutralizar el Sars-CoV-2 en 14 minutos*. Disponible en: <https://assets.ctfassets.net/fqfkufria9xc/2qDlprcH2m3WcPLp8HCOY/bf541165e-502c11835e24a0dd4d4258d/startup-cedrion-desarrolla-sistema-esterilizacion-coronavirus.pdf> [Fecha de consulta 07/02/2023].

ENJUANES, L., SOLA, I., ZÚÑIGA, S. (24 de agosto de 2021). *Virus frente a vacunas, una batalla evolutiva que debe ganar la ciencia*. Estrategia de vacunación COVID-19. Gobierno de España. Disponible en: <https://www.vacunacovid.gob.es/voces-expertas/virus-frente-vacunas-una-batalla-evolutiva-que-debe-ganar-la-ciencia> [Fecha de consulta 10/01/2023].

ENJUANES, L., SOLA, I., ZÚÑIGA, S., HONRUBIA, J. M., BELLO-PÉREZ, M., SANZ-BRAVO, A., ... & RIPOLL, J. (2022). «Nature of viruses and pandemics: Coronaviruses». *Current Research in Immunology*, 3, 151-158.

EUROPA PRESS (5 de enero de 2020). «China confirma 59 afectados, siete de ellos graves, por un brote de neumonía de origen desconocido». Disponible en: <https://www.europapress.es/internacional/noticia-china-confirma-59-afectados-siete-ellos-graves-brote-neumonia-origen-desconocido-20200105170504.html> [Fecha de consulta 01/10/2022].

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC) (s.f.). *MERS-CoV worldwide overview*. Recuperado el 6 de enero de 2023. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers-cov-situation-update> [Fecha de consulta 06/01/2023].

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC) (4 de septiembre del 2020). *Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Microbiología - EUPHEM*. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/en/instituto-de-salud-carlos-iii-centro-nacional-de-microbiologia-euphem> [Fecha de consulta 14/11/2022].

FALCÓ, J. (s.f.). *Simulación del Modelo SIR*. Universitat de València (UV). Recuperado el 10 de enero de 2023. Disponible en: <https://www.uv.es/falbe/MatExp/aplicada/modelizacion/SIR/> [Fecha de consulta 10/01/2023].

FLAMARIQUE, L. (11/6/2020). «El quinto estado de la materia se consigue en el espacio». *La Vanguardia*. <https://www.lavanguardia.com/ciencia/20200611/481711783197/quinto-estado-materia-se-consigue-espacio-condensado-bose-einstein.html> [Fecha de consulta 07/02/2023].

GANADERÍA EL PILAR S.L. (28 de abril de 2020). *Bases sorteo*. Disponible en: <https://www.ganaderiaelpilar.com/wp-content/uploads/2020/04/SORTEO-10-DE-MAYO-.pdf> [Fecha de consulta 04/12/2022].

GARCÍA, E. (30 de diciembre de 2020). «Xenex, la primera tecnología de desinfección con luz ultravioleta capaz de destruir la COVID». *elDiario*. https://www.eldiario.es/edcreativo/xenex-primera-tecnologia-desinfeccion-luz-ultravioleta-capaz-destruir-covid_1_6537611.html [Fecha de consulta 10/01/2023].

GARCIA, M., HOFFER, L., LEBLANC, R., BENMANSOUR, F., FERACCI, M., DERVIAUX, C., ... & BARRAL, K. (2021). «Fragment-based drug design targeting syntenin PDZ2 domain involved in exosomal release and tumour spread». *European Journal of Medicinal Chemistry*, 223, 113601.

GARCÍA-ARRIAZA, J., GARAIGORTA, U., PÉREZ, P., LÁZARO-FRÍAS, A., ZAMORA, C., GASTAMINZA, P., ... & ESTEBAN, M. (2021). «COVID-19 vaccine candidates based on modified vaccinia

virus Ankara expressing the SARS-CoV-2 spike protein induce robust T-and B-cell immune responses and full efficacy in mice». *Journal of virology*, 95(7), e02260-20.

GINEX, T., MARCO-MARÍN, C., WIECZÓR, M., MATA, C. P., KRIEGER, J., RUIZ-RODRÍGUEZ, P., ... & CARAZO, J. M. (2022). «The structural role of SARS-CoV-2 genetic background in the emergence and success of spike mutations: The case of the spike A222V mutation». *PLoS Pathogens*, 18(7), e1010631.

GÓMEZ, C. E., PERDIGUERO, B., GARCÍA-ARRIAZA, J., CEPEDA, V., SÁNCHEZ-SORZANO, C. Ó., MOTHE, B., ... & ESTEBAN, M. (2015). «A phase I randomized therapeutic MVA-B vaccination improves the magnitude and quality of the T cell immune responses in HIV-1-infected subjects on HAART». *PLoS One*, 10(11), e0141456.

GONZÁLEZ, R., RODRÍGUEZ MARCOS, J. (10 de junio de 2022). «Muere el comisario José María Viñuela durante la inauguración de su exposición en el museo Helga de Alvear». *El País*. Disponible en: <https://elpais.com/cultura/2022-06-10/muere-el-comisario-jose-maria-vinuela-durante-la-inauguracion-de-su-exposicion-en-el-museo-helga-de-alvear.html>

GORIS, T., PÉREZ-VALERO, Á., MARTÍNEZ, I., YI, D., FERNÁNDEZ-CALLEJA, L., SAN LEÓN, D., ... & NOGALES, J. (2021). «Repositioning microbial biotechnology against COVID-19: the case of microbial production of flavonoids». *Microbial Biotechnology*, 14(1), 94-110.

GURIB-FAKIM, A. (2006). «Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow». *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ, J., HONRUBIA, J. M., SANZ-BRAVO, A., GONZÁLEZ-MIRANDA, E., FERNÁNDEZ-DELGADO, R., REJAS, M. T., ... & ENJUANES, L. (2021). «Middle East respiratory syndrome coronavirus vaccine based on a propagation-defective RNA replicon elicited

sterilizing immunity in mice». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(43), e2111075118.

HAMERS-CASTERMAN, C. T. S. G., ATARHOUCHE, T., MUYLDERMANS, S. A., ROBINSON, G., HAMMERS, C., SONG, E. B., ... & HAMMERS, R. (1993). «Naturally occurring antibodies devoid of light chains». *Nature*, 363(6428), 446-448.

HARBOUR ANTIBODIES BV. (s.f.). *About*. Disponible en: <https://harbourantibodies.com/about/#.ZBnBAXbMK3D> [Fecha de consulta 14/12/2022].

HARBOUR BIOMED (5 de diciembre de 2017). *Harbour Biomed will give a presentation at Antibody Engineering and Therapeutics Conference 2017 in San Diego*. Disponible en: <https://www.harbourbiomed.com/news/51.html> [Fecha de consulta 14/12/2022].

HIPRA. (s.f.). *HIPRA ha desarrollado una nueva vacuna frente al SARS-COV-2, el virus que ha causado la pandemia Covid-19*. Recuperado el 26 de octubre de 2022. Disponible en: <https://www.hipra.com/es/covid-19-estamos-investigando-una-nueva-vacuna-frente-coronavirus> [Fecha de consulta 26/10/2022].

HODCROFT, E. B., ZUBER, M., NADEAU, S., VAUGHAN, T. G., CRAWFORD, K. H., ALTHAUS, C. L., ... & NEHER, R. A. (2021). «Spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020». *Nature*, 595(7869), 707-712.

HOLMES, E. (10 de enero del 2020). «Novel 2019 coronavirus genoma». *Virological*. Disponible en: <https://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>

HONRUBIA, J. M., GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ, J., SANZ-BRAVO, A., GONZÁLEZ-MIRANDA, E., MUÑOZ-SANTOS, D., CASTAÑO-RODRIGUEZ, C., ... & ENJUANES, L. (2023). «SARS-CoV-2-Mediated

Lung Edema and Replication Are Diminished by Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Modulators». *Mbio*, e03136-22.

HUANG, Y., YANG, C., XU, X. F., XU, W., & LIU, S. W. (2020). «Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19». *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(9), 1141-1149.

IMMUNOSTEP (s.f.). *Anti-SARS-Cov-2 "Mpro" ELISA IgG*. Recuperado el 15 de enero de 2023. Disponible en: <https://sars-cov-2-test.immunostep.com/wp-content/uploads/2021/05/Anti-SARS-CoV-2-IgG-Espanol.pdf> [Fecha de consulta 15/01/2023].

IMMUNOSTEP (s.f.). *Anti-SARS-CoV-2 Test Multiantígeno para IgG+IgA+IgM*. Recuperado el 15 de enero de 2023. Disponible en: <https://sars-cov-2-test.immunostep.com/sars-cov-2-multiantigen-igg-iga-assay/?lang=es> [Fecha de consulta 15/01/2023].

IMMUNOSTEP (s.f.). *Ensayo serológico SARS-CoV-2 Multiplex*. [Archivo PDF]. Recuperado el 15 de enero de 2023. Disponible en: <https://sars-cov-2-test.immunostep.com/wp-content/uploads/2022/06/TDS-SARS-CoV-2-Multiplex-IgGIgAlgM-ESP-V12-1.pdf> [Fecha de consulta 15/01/2023].

IMMUNOSTEP (s.f.). *SARS-COV-2 ELISA Mpro Kit*. Recuperado el 15 de enero de 2023. Disponible en: <https://sars-cov-2-test.immunostep.com/sars-cov-2-elisa-igg-iga-assays/?lang=es> [Fecha de consulta 15/01/2023].

INSTITUT DE RECERCA DE LA SIDA (IrsiCaixa) (s.f.). *Nuria Izquierdo Useros*. Disponible en: <https://www.irsicaixa.es/es/nuria-izquierdo-useros> [Fecha de consulta 14/10/2022].

INSTITUTO DE SALUD CARLOS III (ISCIII) (24 de marzo de 2020). *Pruebas de diagnóstico del coronavirus: ¿qué es la PCR?, ¿qué son los test rápidos? ¿en qué se diferencian?* Disponible en: https://www.isciii.es/InformacionCiudadanos/DivulgacionCulturaCientifica/DivulgacionISCIII/Paginas/Divulgacion/COVID19_PCR_test.aspx [Fecha de consulta 06/01/2023].

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA) (s.f). *Nuevas estrategias de control de patógenos*. Disponible en: <https://www.inia.es/investigacion/animal/sanidad/Nuevas%20estrategias%20de%20control%20de%20pat%C3%B3genos/Pages/Home.aspx> [Fecha de consulta 21/01/2023].

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA) (s.f.) *Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA)*. Disponible en: <https://www.inia.es/nosotros/centrosdepartamentos/Centros/CISA/Pages/Home.aspx> [Fecha de consulta 14/11/2022].

ISAH, T. (2019). «Stress and defense responses in plant secondary metabolites production». *Biological research*, 52.

JENSEN, E. (2014). «Technical review: In situ hybridization». *The Anatomical Record*, 297(8), 1349-1353.

JIMÉNEZ GUARDEÑO, J.M. (15 de junio del 2015). *Relevancia del motivo de unión PDZ de la proteína E del coronavirus causante del síndrome respiratorio agudo y grave en patogénesis*. [Memoria de doctorado, Universidad Autónoma de Madrid (UAM)]. Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/667518/jimenez_guardeno_jose_manuel.pdf?sequence=1 [Fecha de consulta 17/01/2023].

- JIMÉNEZ-ALEMÁN, G. H., CASTRO, V., LONDAITSBEHERE, A., GUTIÉRREZ-RODRÍGUEZ, M., GARIGORTA, U., SOLANO, R., & GASTAMINZA, P. (2021). «SARS-CoV-2 fears green: the chlorophyll catabolite Pheophorbide a is a potent antiviral». *Pharmaceuticals*, 14(10), 1048.
- JIMÉNEZ-GUARDEÑO, J. M., NIETO-TORRES, J. L., DEDIEGO, M. L., REGLA-NAVA, J. A., FERNÁNDEZ-DELGADO, R., CASTAÑO-RODRÍGUEZ, C., & ENJUANES, L. (2014). «The PDZ-binding motif of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein is a determinant of viral pathogenesis». *PLoS pathogens*, 10(8), e1004320.
- JIN, Z., DU, X., XU, Y., DENG, Y., LIU, M., ZHAO, Y., ... & YANG, H. (2020). «Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors». *Nature*, 582(7811), 289-293.
- KANG, S., YANG, M., HONG, Z., ZHANG, L., HUANG, Z., CHEN, X., ... & CHEN, S. (2020). «Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites». *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 10(7), 1228-1238.
- KARUNAMOORTHY, K., JEGAJEEVANRAM, K., VIJAYALAKSHMI, J., & MENGISTIE, E. (2013). «Traditional medicinal plants: a source of phytotherapeutic modality in resource-constrained health care settings». *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 18(1), 67-74.
- KASHYAP, R., ROUCOURT, B., LEMBO, F., FARES, J., CARCAVILLA, A. M., RESTOUIN, A., ... & GHOSSE, R. (2015). «Syntenin controls migration, growth, proliferation, and cell cycle progression in cancer cells». *Frontiers in Pharmacology*, 6, 241.
- KENNEDY, M. B. (1995). «Origin of PdZ (Dhr, Glgf) domains». *Trends in biochemical sciences*, 20(9), 350-350.

KHAN, F. I., KANG, T., ALI, H., & LAI, D. (2021). «Remdesivir strongly binds to RNA-dependent RNA polymerase, membrane protein, and main protease of SARS-CoV-2: indication from molecular modeling and simulations». *Frontiers in Pharmacology*, 12, 710778.

KIM, L., HAYES, J., LEWIS, P., PARWANI, A. V., CHANG, K. O., & SAIF, L. J. (2000). «Molecular characterization and pathogenesis of transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) and porcine respiratory coronavirus (PRCV) field isolates co-circulating in a swine herd». *Archives of virology*, 145, 1133-1147.

KOMDEUR, F. L., SINGH, A., VAN DE WALL, S., MEULENBERG, J. J., BOERMA, A., HOOGEBOOM, B. N., ... & DAEMEN, T. (2021). «First-in-human phase I clinical trial of an SFV-based RNA replicon cancer vaccine against HPV-induced cancers». *Molecular therapy*, 29(2), 611-625.

KOST, T. A., CONDREAY, J. P., & JARVIS, D. L. (2005). «Baculovirus as versatile vectors for protein expression in insect and mammalian cells». *Nature biotechnology*, 23(5), 567-575.

KUMAR, R., NAYAK, M., SAHOO, G. C., PANDEY, K., SARKAR, M. C., ANSARI, Y., ... & DAS, P. (2019). «Iron oxide nanoparticles based antiviral activity of H1N1 influenza A virus». *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(5), 325-329.

LA MONCLOA (13/3/2020). «El Gobierno declarará mañana el estado de alarma por el coronavirus». Presidencia del Gobierno. Disponible en: <https://www.lamoncloa.gob.es/presidente/actividades/Paginas/2020/130320-sanchez-declaracio.aspx> [Fecha de consulta 04/08/2023].

LA MONCLOA (16 de abril de 2020). «El ministro Pedro Duque visita el Centro Nacional de Biotecnología, del CSIC». Presidencia del Gobierno. Disponible en: <https://>

www.lamoncloa.gob.es/serviciosdeprensa/notasprensa/ciencia-e-innovacion/paginas/2020/160420-biotecnologia.aspx [Fecha de consulta 30/11/2022].

LAI, C. C., LIU, Y. H., WANG, C. Y., WANG, Y. H., HSUEH, S. C., YEN, M. Y., ... & HSUEH, P. R. (2020). «Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Facts and myths». *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 53(3), 404-412.

LEBLANC, R., KASHYAP, R., BARRAL, K., EGEA-JIMENEZ, A. L., KOVALSKYY, D., FERACCI, M., ... & ZIMMERMANN, P. (2020). «Pharmacological inhibition of syntenin PDZ2 domain impairs breast cancer cell activities and exosome loading with syndecan and EpCAM cargo». *Journal of extracellular vesicles*, 10(2), e12039.

LEE, N., LE SAGE, V., NANNI, A. V., SNYDER, D. J., COOPER, V. S., & LAKDAWALA, S. S. (2017). «Genome-wide analysis of influenza viral RNA and nucleoprotein association». *Nucleic acids research*, 45(15), 8968-8977.

LILLY ESPAÑA (11 de agosto de 2020). *Cedrión, la alternativa para limpiar el aire de SARS-CoV-2 en espacios cerrados y superficies, se desarrolla gracias a Emprise inHealth*. Lilly. Disponible en: <https://www.lilly.es/historias/RSE/Cedrion-la-alternativa-para-limpiar-el-aire-de-SARS-COV-2> [Fecha de consulta 07/02/2023].

LIU, B., LI, M., ZHOU, Z., GUAN, X., & XIANG, Y. (2020). «Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)?». *Journal of autoimmunity*, 111, 102452.

LLUIS MONTOLIU (26/04/2020). ¿Cómo las herramientas CRISPR sirven también para detectar y atacar al coronavirus? www.youtube.com/watch?v=qn-Jwi95YYE [Fecha de consulta 20/12/2022].

LOZANO JIMÉNEZ, Y. Y., SÁNCHEZ MORA, R. M., & QUINTERO, G. (2020). «Potenciales estrategias terapéuticas basadas en péptidos para mitigar la infección por SARS-CoV-2». *Nova*, 18(SPE35), 61-66.

LUCAS, S., VILLARES, R., CNB DIRECTIVE TEAM (Coords.). (2021). *2019–2020 CNB Report. Research, Development, Innovation*. CSIC–Centro Nacional de Biotecnología (CNB).

LYNCH, J. P., FISHBEIN, M., & ECHAVARRIA, M. (2011, August). «Adenovirus». *Seminars in respiratory and critical care medicine*, 32(4), 494–511.

MA, H., ZENG, W., MENG, X., HUANG, X., YANG, Y., ZHAO, D., ... & JIN, T. (2021). «Potent neutralization of SARS-CoV-2 by hetero-bivalent alpaca nanobodies targeting the spike receptor-binding domain». *Journal of virology*, 95(10), e02438-20.

MACÍAS, J. R., SANCHEZ-GARCIA, R., CONESA, P., RAMIREZ-APORTELA, E., MARTÍNEZ GONZALEZ, M., WERT-CARVAJAL, C., PARRA-PÉREZ, A. M., SEGURA MORA, J., HORRELL, S., THORN, A., SORZANO, C. O. S., CARAZO, J. M., «3DBIONOTES COVID-19 EDITION» (15 Nov 2021. *Bioinformatics*, 37(22), 4258–4260.

MAKRO (17 de noviembre de 2020). *Las cestas y lotes navideños de Makro apoyan la investigación sobre la COVID-19*. Disponible en: https://www.makro.es/prensa/2020/los-lotes-y-cestas-navidenos-de-makro-apoyan-la-investigacion-sobre-covid19?itm_pm=cookie_consent_accept_button [Fecha de consulta 04/12/2022].

MAKRO (22 de septiembre de 2020). *Makro lanza un vino solidario de su marca “La Sastrería” para luchar contra la Covid-19*. Disponible en: <https://www.makro.es/prensa/2020/makro-lanza-un-vino-solidario-de-su-marca-la-sastreria-para-luchar-contra-la-covid19> [Fecha de consulta 04/12/2022].

- MARIANO, E., & ARRIAZA, J. G. (2020). «Hacia la vacuna española contra el SARS-CoV-2, causante de la pandemia Covid-19». *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 137(02), 234-238.
- MARÍN, M. Q., PÉREZ, P., LJUNGBERG, K., SORZANO, C. Ó. S., GÓMEZ, C. E., LILJESTRÖM, P., ... & GARCÍA-ARRIAZA, J. (2019). «Potent anti-hepatitis C virus (HCV) T cell immune responses induced in mice vaccinated with DNA-launched RNA replicons and modified vaccinia virus Ankara-HCV». *Journal of Virology*, 93(7), e00055-19.
- MARTÍNEZ-FLETA, P., ALFRANCA, A., GONZÁLEZ-ÁLVARO, I., CASASNOVAS, J. M., FERNÁNDEZ-SOTO, D., ESTESO, G., ... & VALÉS-GÓMEZ, M. (2020). «SARS-CoV-2 cysteine-like protease antibodies can be detected in serum and saliva of COVID-19-seropositive individuals». *The Journal of Immunology*, 205(11), 3130-3140.
- MCCRAY JR, P. B., PEWE, L., WOHLFORD-LENANE, C., HICKEY, M., MANZEL, L., SHI, L., ... & PERLMAN, S. (2007). «Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus». *Journal of virology*, 81(2), 813-821.
- MEDZHITOV, R. (2007). «Recognition of microorganisms and activation of the immune response». *Nature*, 449(7164), 819-826.
- MELERO, R., SORZANO, C. O. S., FOSTER, B., VILAS, J. L., MARTÍNEZ, M., MARABINI, R., ... & CARAZO, J. M. (2020). «Continuous flexibility analysis of SARS-CoV-2 spike prefusion structures». *IUCrJ*, 7(6), 1059-1069.
- MÉNDEZ, J. (28 de noviembre de 2017). «El editor genético CRISPR explicado para principiantes». Agencia SINC. Disponible en: <https://www.agenciasinc.es/Reportajes/El-editor-genetico-CRISPR-explicado-para-principiantes> [Fecha de consulta 19/12/2022].

MINGARRO, I., TUÑÓN, I. (25 de junio del 2020). *Las proteasas del coronavirus: un objetivo prioritario en la búsqueda de antivirales*. Mètode (Universitat de València). Disponible en: <https://metode.es/noticias/proteasas-coronavirus-diana-antivirales.html> [Fecha de consulta 14/11/2022].

MINISTERIO DE CIENCIA E INNOVACIÓN (s.f.). *Proyectos en desarrollo de vacunas*. Disponible en: <https://www.ciencia.gob.es/en/Ministerio/Coronavirus/Investigaciones/Proyectos-en-desarrollo-de-vacunas.html> [Fecha de consulta 22/11/2022].

MINISTERIO DE SANIDAD (25/03/2021). *Información microbiológica acerca de SARS-CoV-2*. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Documento_MICROBIOLOGIA.pdf [Fecha de consulta 21/02/2023].

MINISTERIO DE SANIDAD (s.f.). *Enfermedad por nuevo coronavirus, COVID-19. Gobierno de España*. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/Informacion_inicial_alerta.pdf [Fecha de consulta 20/09/2022].

MODY, V., HO, J., WILLS, S., MAWRI, A., LAWSON, L., EBERT, M. C., ... & TAVALL, S. (2021). «Identification of 3-chymotrypsin like protease (3CLPro) inhibitors as potential anti-SARS-CoV-2 agents». *Communications biology*, 4(1), 93.

MOJICA, F. J., DÍEZ-VILLASEÑOR, C. S., GARCÍA-MARTÍNEZ, J., & SORIA, E. (2005). «Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements». *Journal of molecular evolution*, 60, 174-182.

MORALES, L., OLIVEROS, J. C., ENJUANES, L., & SOLA, I. (2022). «Contribution of host miRNA-223-3p to SARS-CoV-Induced lung inflammatory pathology». *Mbio*, 13(2), e03135-21.

- MUÑOZ, R., PANTELONI, A. (12/02/2020). «Los organizadores cancelan el Mobile World Congress de Barcelona por la crisis del coronavirus». *El País*. Disponible en: https://el-pais.com/tecnologia/2020/02/12/actualidad/1581509148_414423.html [Fecha de consulta 30/11/2022].
- MURRAY, C. J., IKUTA, K. S., SHARARA, F., SWETSCHINSKI, L., AGUILAR, G. R., GRAY, A., ... & NAGHAVI, M. (2022). «Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis». *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- MURRAY, C. J., IKUTA, K. S., SHARARA, F., SWETSCHINSKI, L., AGUILAR, G. R., GRAY, A., ... & TASAK, N. (2022). «Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis». *The Lancet*, 399(10325), 629-655.
- NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE (NIH) (s.f.). *Anticuerpo*. Disponible en: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Anticuerpo> [Fecha de consulta 27/10/2022].
- NOAD, R., & ROY, P. (2003). «Virus-like particles as immunogens». *Trends in microbiology*, 11(9), 438-444.
- NUÑEZ, E., ORERA, I., CARMONA-RODRÍGUEZ, L., PAÑO, J. R., VÁZQUEZ, J., & CORRALES, F. J. (2022). «Mapping the Serum Proteome of COVID-19 Patients; Guidance for Severity Assessment». *Biomedicines*, 10(7), 1690.
- PANCHE, A. N., DIWAN, A. D., & CHANDRA, S. R. (2016). «Flavonoids: an overview». *Journal of nutritional science*, 5, e47.
- PASCUAL, E., MATA, C. P., GÓMEZ-BLANCO, J., MORENO, N., BÁRCENA, J., BLANCO, E., ... & CASTÓN, J. R. (2015). «Structural basis for the development of avian virus capsids that

display influenza virus proteins and induce protective immunity». *Journal of virology*, 89(5), 2563-2574.

PÉREZ MENDOZA, S. (22 de marzo de 2022). «Mariano Esteban: “Íbamos muy bien con la vacuna, pero ha sido una carrera de obstáculos”». *elDiario*. Disponible en: https://www.eldiario.es/sociedad/mariano-esteban-ibamos-vacuna-sido-carrera-obstaculos_1_8851193.html [Fecha de consulta 28/10/2022].

PÉREZ, P., LÁZARO-FRÍAS, A., ZAMORA, C., SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J., ASTORGANO, D., LUCZKOWIAK, J., ... & GARCÍA-ARRIAZA, J. (2022). «A single dose of an MVA vaccine expressing a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spike protein neutralizes variants of concern and protects mice from a lethal SARS-CoV-2 infection». *Frontiers in immunology*, 12, 6014.

PURCELL, A. W., RAMARATHINAM, S. H., & TERNETTE, N. (2019). «Mass spectrometry-based identification of MHC-bound peptides for immunopeptidomics». *Nature protocols*, 14(6), 1687-1707.

REAL DECRETO-LEY 8/2020, DE 17 DE MARZO, DE MEDIDAS URGENTES EXTRAORDINARIAS PARA HACER FRENTE AL IMPACTO ECONÓMICO Y SOCIAL DEL COVID-19. *BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO (BOE)*, 73, de 18 de marzo de 2020. Disponible en: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2020-3824 [Fecha de consulta 02/10/2022].

RIOJA SALUD (s.f.). *Espirometría*. Disponible en: <https://www.riojasalud.es/servicios/neumologia/articulos/espirometria> [Fecha de consulta 21/03/2022].

RIORDAN, J. R., ROMMENS, J. M., KEREM, B. S., ALON, N. O. A., ROZMAHEL, R., GRZELCZAK, Z., ... & TSUI, L. C. (1989). «Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA». *Science*, 245(4922), 1066-1073.

- ROBLES-ROMERO, J. M., CONDE-GUILLÉN, G., SAFONT-MONTES, J. C., GARCÍA-PADILLA, F. M., & ROMERO-MARTÍN, M. (2022). «Behaviour of aerosols and their role in the transmission of SARS-CoV-2; a scoping review». *Reviews in Medical Virology*, 32(3), e2297.
- RODRÍGUEZ-MAROTO, G., ATIENZA-DIEZ, I., ARES, S., & MANRUBIA, S. (2021). «Vaccination strategies in structured populations under partial immunity and reinfection». *medRxiv*, 2021-11.
- RTVE (31 de enero de 2020). «Sanidad confirma el primer caso de coronavirus en España en la isla canaria de La Gomera». Disponible en: <https://www.rtve.es/noticias/20200131/se-confirma-primer-caso-coronavirus-espana-gomera/1998244.shtml> [Fecha de consulta 02/11/2022].
- SAGE WORKING GROUP ON COVID-19 VACCINES (22 de diciembre de 2020). *mRNA vaccines against COVID-19: Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine BNT162b2*. World Health Organization (WHO). Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338096> [Fecha de consulta 21/11/2022].
- SANTIRSO, J. (9 de enero de 2020). «Un virus similar al SARS, responsable de la misteriosa neumonía china». *El País*. Disponible en: https://elpais.com/sociedad/2020/01/09/actualidad/1578556344_366873.html [Fecha de consulta 01/10/2023].
- SCHERES, S. H., GAO, H., VALLE, M., HERMAN, G. T., EGGERMONT, P. P., FRANK, J., & CARAZO, J. M. (2007). «Disentangling conformational states of macromolecules in 3D-EM through likelihood optimization». *Nature methods*, 4(1), 27-29.
- SCHLÖR, A., HIRSCHBERG, S., AMOR, G. B., MEISTER, T. L., ARORA, P., PÖHLMANN, S., ... & HANACK, K. (2022). «SARS-CoV-2 neutralizing camelid heavy-chain-only antibodies

as powerful tools for diagnostic and therapeutic applications». *Frontiers in immunology*, 5135.

SCHULZE, I. T. (1972). «The structure of influenza virus: II. A model based on the morphology and composition of subviral particles». *Virology*, 47(1), 181-196.

SCUDELLARI, M. (2020). «The sprint to solve coronavirus protein structures—and disarm them with drugs». *Nature*, 581(7808), 252-256.

SERVICIO DE PRENSA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) (6 de julio de 2021). *La OMS recomienda los antagonistas de los receptores de interleucina 6 para salvar vidas frente a la COVID-19*. OMS. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/06-07-2021-who-recommends-life-saving-interleukin-6-receptor-blockers-for-covid-19-and-urges-producers-to-join-efforts-to-rapidly-increase-access> [Fecha de consulta 17/10/2022].

SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME (SARS) Epidemiology Working Group (2003). *Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS)*. World Health Organization (WHO). Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70863> [Fecha de consulta 06 de enero de 2023].

SEVILLA-REYES, E. E., CHAVARO-PÉREZ, D. A., PITEN-ISIDRO, E., GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ, L. H., & SANTOS-MENDOZA, T. (2013). «Protein clustering and RNA phylogenetic reconstruction of the influenza A virus NS1 protein allow an update in classification and identification of motif conservation». *PLoS One*, 8(5), e63098.

SHARMA, J. M., KIM, I. J., RAUTENSCHLEIN, S., & YEH, H. Y. (2000). «Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression». *Developmental & Comparative Immunology*, 24(2-3), 223-235.

- SHEARER, W. T., ROSENWASSER, L. J., BOCHNER, B. S., MARTINEZ-MOCZYGEMBA, M., & HUSTON, D. P. (2003). «Biology of common β receptor–signaling cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF». *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(4), 653-665.
- SLOT, J. W., & GEUZE, H. J. (2007). «Cryosectioning and immunolabeling». *Nature protocols*, 2(10), 2480-2491.
- SUTTER, G., & STAIB, C. (2003). «Vaccinia vectors as candidate vaccines: the development of modified vaccinia virus Ankara for antigen delivery». *Current Drug Targets-Infectious Disorders*, 3(3), 263-271.
- TAKAYAMA, K. (2020). «In vitro and animal models for SARS-CoV-2 research». *Trends in pharmacological sciences*, 41(8), 513-517.
- THAKER, S. K., CH'NG, J., & CHRISTOFK, H. R. (2019). «Viral hijacking of cellular metabolism». *BMC biology*, 17, 1-15.
- THE JACKSON LABORATORY (s.f). *B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2PrImn/J*. Disponible en <https://www.jax.org/strain/034860> [Fecha de consulta 12/12/2022].
- THE ROYAL SWEDISH ACADEMY OF SCIENCES (7 de octubre de 2020). *The Nobel Prize in Chemistry 2020. Press release*. The Nobel Prize. Disponible en: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2020/press-release/> [Fecha de consulta 17/02/2023].
- THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA (s.f.). *Siriam Subramaniam*. UBC COVID-19 Research. Recuperado el 11 de octubre de 2022. Disponible en: <https://covid19.research.ubc.ca/people/sriram-subramaniam> [Fecha de consulta 11/10/2022].

THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA (s.f.) *Cryo-electron microscopy (Cryo-EM) and drug design*. Program in Cryo-EM Guided Drug Design. Disponible en: <https://electron.med.ubc.ca/> [Fecha de consulta 11/10/2022].

ULZURRUN, E., DEL HOYO, D., ÁLVAREZ-HERRERA, M., RUIZ-RODRÍGUEZ, P., NAVARRO-DOMÍNGUEZ, B., RODRÍGUEZ SANTANA, S., GARCÍA RASINES, D., NAVEIRO, R., GIL, C., CARAZO, J.M., COSCOLLÁ, M., SORZANO, C. O. S., CAMPILLO, N. (2022). «Bioinformatics analysis of mutations in SARS-CoV-2 and clinical phenotypes». [Abstract]. II Jornadas Científicas PTI+ Salud Global 2022. Disponible en: <http://i2pc.es/coss/Articulos/Ulzurrun2022.pdf> [Fecha de consulta 09/01/2023].

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID (UAM) (s.f.). «Laboratorio de citometría de flujo». Recuperado el 27 de marzo de 2023. Disponible en: <https://www.uam.es/uam/sidi/unidades-de-analisis/unidad-citometria-de-flujo/citometria-de-flujo> [Fecha de consulta 27/03/2023].

US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (s.f.). *Accelerated emergency use authorization (EUA) summary COVID-19 ELISA IgG antibody test (Mount Sinai Laboratory)*. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/137029/download> [Fecha de consulta 04/08/2023].

V'KOVSKI, P., KRATZEL, A., STEINER, S., STALDER, H., & THIEL, V. (2021). «Proinflammatory activation profile on human dendritic cells». *Cells*, 10(12), 3279.

V'KOVSKI, P., KRATZEL, A., STEINER, S., STALDER, H., & THIEL, V. (2021). «Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2». *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 155-170.

VAN DOREMALEN, N., BUSHMAKER, T., MORRIS, D. H., HOLBROOK, M. G., GAMBLE, A., WILLIAMSON, B. N., ... & MUNSTER, V. J. (2020). «Aerosol and surface stability of SARS-

CoV-2 as compared with SARS-CoV-1». *New England journal of medicine*, 382(16), 1564-1567.

VERDÚ, D. (23 de febrero del 2020). «El coronavirus paraliza el norte de Italia». *El País*. Disponible en: https://elpais.com/sociedad/2020/02/23/actualidad/1582453882_750674.html [Fecha de consulta 02/11/2022].

VILLAMAYOR, L., RIVERO, V., LÓPEZ-GARCÍA, D., TOPHAM, D. J., MARTÍNEZ-SOBRIDO, L., NOGALES, A., & DeDIEGO, M. L. (2023). «Interferon alpha inducible protein 6 is a negative regulator of innate immune responses by modulating RIG-I activation». *Frontiers in Immunology*, 14:1105309.

WIDJAJA, I., WANG, C., VAN HAPEREN, R., GUTIÉRREZ-ÁLVAREZ, J., VAN DIEREN, B., OKBA, N. M., ... & BOSCH, B. J. (2019). «Towards a solution to MERS: protective human monoclonal antibodies targeting different domains and functions of the MERS-coronavirus spike glycoprotein». *Emerging microbes & infections*, 8(1), 516-530.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (23 de febrero de 2021). *Ebola virus disease*. Disponible en: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease?gclid=Cj0KCQjw-2aBhD5ARIsALiRlwB7WRQXjUzStwqCkFKlssTHnjdWxO2QfBNHuFM4_P-HHIPcOLmEUBEaAuFiEALw_wcB [Fecha de consulta 08/10/2022].

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (s.f.). *WHO COVID-19 Technology Access Pool*. Recuperado el 15 de febrero de 2023. Disponible en: <https://www.who.int/initiatives/covid-19-technology-access-pool> [Fecha de consulta 15/02/2023].

WRAPP, D., WANG, N., CORBETT, K. S., GOLDSMITH, J. A., HSIEH, C. L., ABIONA, O., ... & McLELLAN, J. S. (2020). «Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation». *Science*, 367(6483), 1260-1263.

WU, F., ZHAO, S., YU, B., CHEN, Y. M., WANG, W., SONG, Z. G., ... & ZHANG, Y. Z. (2020). «A new coronavirus associated with human respiratory disease in China». *Nature*, 579, 265–269.

WU, H. Y., & RUSSELL, M. W. (1997). «Nasal lymphoid tissue, intranasal immunization, and compartmentalization of the common mucosal immune system». *Immunologic research*, 16(2), 187.

XU, J., XU, K., JUNG, S., CONTE, A., LIEBERMAN, J., MUECKSCH, F., ... & CASELLAS, R. (2021). «Nanobodies from camelid mice and llamas neutralize SARS-CoV-2 variants». *Nature*, 595(7866), 278-282.

ZHANG, Y. Z., & HOLMES, E. C. (2020). «A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2». *Cell*, 181(2), 223-227.

ZHANG, Y. Z., WU, F., CHEN, Y. M., PEI, Y. Y., XU, L., WANG, W. ...& ZHU, T. Y. (12 de enero de 2020). *Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome*. GenBank Bethesda MD. National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.1> [Fecha de consulta 29/01/2023].

ZHANG, Z., NOMURA, N., MURAMOTO, Y., EKIMOTO, T., UEMURA, T., LIU, K., ... & SHIMIZU, T. (2022). «Structure of SARS-CoV-2 membrane protein essential for virus assembly». *Nature Communications*, 13(1), 4399.

ZHAO, Y., SUI, L., WU, P., WANG, W., WANG, Z., YU, Y., ... & WANG, G. (2021). «A dual-role of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in regulating innate immune response». *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6, 331.

- ZHENG, J., WONG, L. Y. R., LI, K., VERMA, A. K., ORTIZ, M. E., WOHLFORD-LENANE, C., ... & PERLMAN, S. (2021). «COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice». *Nature*, 589(7843), 603-607.
- ZHOU, P., YANG, X. L., WANG, X. G., HU, B., ZHANG, L., ZHANG, W., ... & SHI, Z. L. (2020). «A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin». *Nature*, 579(7798), 270-273.
- ZHU, J. D., MENG, W., WANG, X. J., & WANG, H. C. R. (2015). «Broad-spectrum antiviral agents». *Frontiers in microbiology*, 6, 517.
- ZHU, N., ZHANG, D., WANG, W., LI, X., YANG, B., SONG, J., ... & TAN, W. (2020). «A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019». *New England journal of medicine*, 382(8), 727-733.

EPÍLOGO

Estas páginas han recogido lo que fueron más de dos años de trabajo intenso que continúa en la actualidad. Con ello, se ha narrado parte de una realidad común que nos azotó a todos, la pandemia causada por el SARS-CoV-2, pero desde un concreto punto de vista: el de la actividad investigadora.

Quienes hacen ciencia saben cómo funciona. A los demás nos cuesta un poco más entender que la consecución de una vacuna o un fármaco no involucra únicamente a un reducido grupo de protagonistas. Tampoco se trata de logros alcanzados en abstracto, desligados de un momento histórico concreto, ni fruto de la inmediatez.

La colectividad supone, sin embargo, el término protagonista en el avance científico. En todos los sentidos. Desde la colaboración con el laboratorio vecino o personal de otros



ámbitos, como el administrativo o político, hasta servirse de años de conocimiento previo. El retrato del CNB en su labor sobre el SARS-CoV-2 muestra esto a la enésima potencia. La desafiante situación obligó a una coordinación sin precedentes, con sus más y sus menos, pero desde luego admirable.

Ello no implica disolver al individuo. Los hombros de los sujetos cargaron un gran peso donde lo personal se mezclaba con lo laboral. Se ha mostrado algún ejemplo de ello con los representantes de los diferentes proyectos o áreas de trabajo. Extiéndanlos a las casi 700 personas que constituían la plantilla de este centro de investigación. Porque quien no investigaba sobre SARS-CoV-2, siguió haciéndolo en sus proyectos y quien no era investigador, siguió trabajando también.

Junto con el funcionamiento de la ciencia, el contenido de la misma es algo que nos resulta cuanto menos escurridizo. Pero ningún conocimiento es opaco. Solo hay que ajustar la lente con la que se observa. La presente obra ha buscado acercar a cualquier interesado esta parte de la realidad, muchas veces inaccesible, tendiendo un puente con sus protagonistas y con el técnico lenguaje científico. Todo ello sin pecar de simplista y buscando satisfacer la curiosidad. Esperamos haberlo logrado.



EL RETO DEL SARS-COV-2

El Centro Nacional de Biotecnología (CNB, CSIC) se implicó, con un grado de colaboración sin precedentes, en atender la emergencia que el SARS-CoV-2 planteó en todo el mundo. Este diario de a bordo ofrece una imagen general sobre el trabajo y la organización de un centro de investigación que contó con las herramientas, las personas y los medios para aportar soluciones frente a la pandemia.

