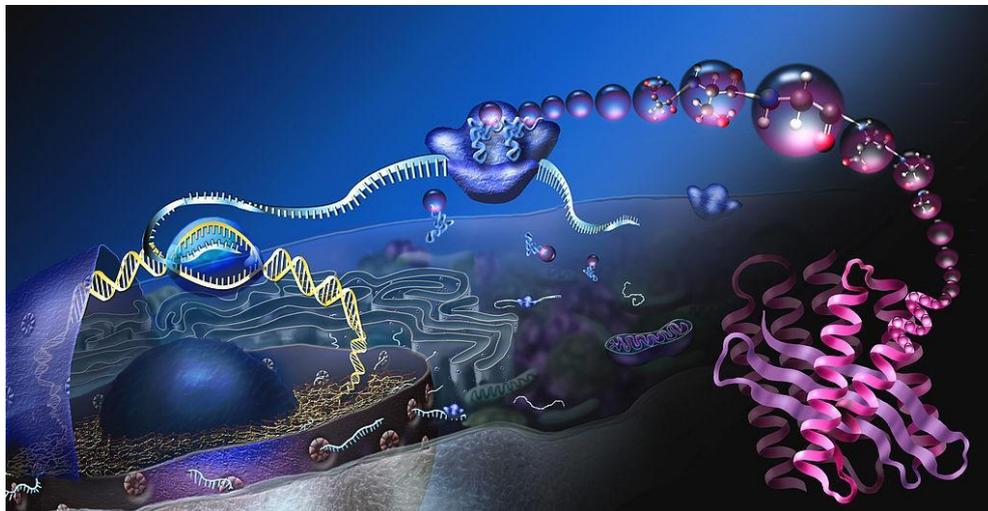


Ficha de propuesta de proyecto 1 - ARNm en células de mamífero

Usted es el científico número 1. Su tarea es conseguir financiación para investigar el uso de ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) modificados para el estudio de la función de las proteínas en células vivas de mamíferos. Utiliza la información que aparece a continuación para argumentar para conseguir dinero de tus financiadores.

Proponemos desarrollar ARNm modificado (diseñado y producido en el laboratorio) para expresar proteínas en sistemas celulares de mamíferos vivos. Esto mejoraría significativamente el estudio de la función de las proteínas.

El ADN es un material de almacenamiento. Es como una base de datos de todo lo que una célula puede ser o fabricar. El ARNm es la forma activa del código que controla todas las proteínas y metabolitos producidos en un momento determinado en la célula. Al crear el código del ARNm para una proteína de interés y entregar ese código a la célula, podríamos estudiar su función en las células para obtener nuevos conocimientos sobre el funcionamiento de las proteínas. Esto nos permitiría estudiar las proteínas en su contexto natural en sistemas vivos y no sólo aisladas en tubos de ensayo.

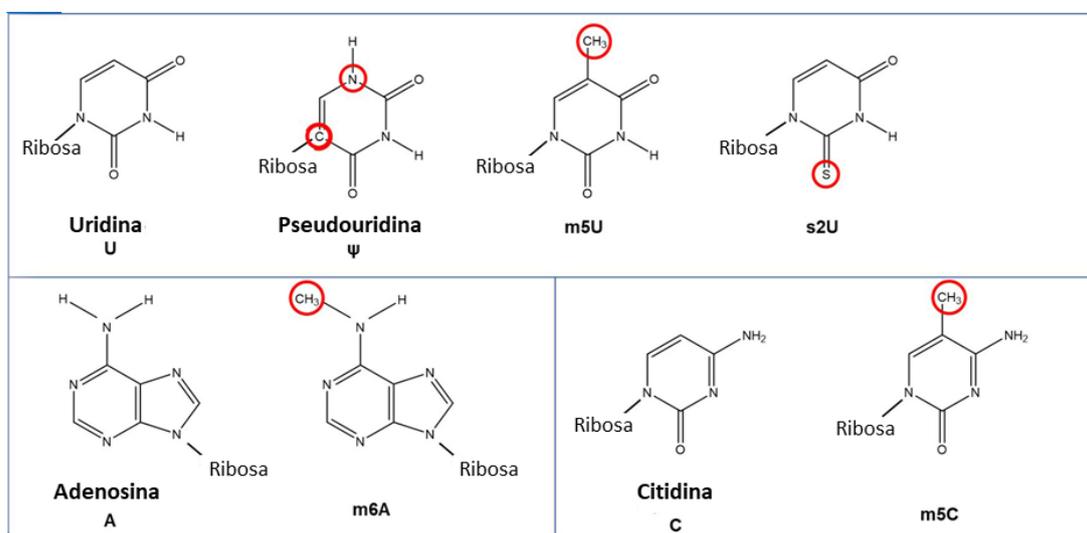


Del ADN al ARN y a las proteínas
[Public Domain](#)

Nuestros estudios anteriores sobre otras proteínas han proporcionado una prueba de concepto para la producción de proteínas de ingeniería a partir de ARNm introducido en las células, pero también han identificado graves cuellos de botella relacionados con la estabilidad del código del ARNm cuando se introduce en las células de un organismo vivo. Anteriormente, se diseñó una serie de secuencias codificadoras de ARNm y se introdujeron en células humanas aisladas, lo que dio lugar a un aumento significativo de la producción de proteínas en el 89% de las células. Sin embargo, una

vez introducido en un organismo completo, hemos comprobado que el código se degrada y no sobrevive lo suficiente para funcionar.

Solicitamos financiación para investigar la modificación química de los nucleósidos que componen el código del ARNm para hacerlo más estable en las células de un organismo vivo. Esto debería permitir la producción estable de proteínas objetivo, utilizando el sistema nervioso central como caso modelo. Creemos que una pequeña modificación química podría proteger el código de ARNm del sistema de defensa del huésped, que lo reconoce como extraño y lo degrada. Y lo que es más importante, nuestros datos preliminares sugieren que las células del huésped seguirán reconociendo el ARNm modificado y traducirán el código en una proteína funcional.



Ejemplos de modificaciones químicas en los nucleósidos del ARNm. Obsérvese que cuando se añade un azúcar ribosa a una nucleobase para hacer un nucleósido, el nombre cambia: adenina→adenosina, guanina→guanosina, citosina→citidina uracilo→uridina

Imagen cortesía del autor

Se sintetizará una serie de moléculas de ARNm para investigar si la estabilidad del ARNm puede mejorarse para permitir la producción a largo plazo de proteínas, incluidas las de ingeniería, en sistemas de mamíferos. Se utilizará ARNm que codifique proteínas de ingeniería unido a una proteína fluorescente para permitirnos seguir la producción de proteínas a partir de cada ARNm modificado y medir la estabilidad del ARNm en función del tiempo que se siga produciendo la proteína. La señal fluorescente también nos permitirá estudiar en qué parte del organismo se produce la proteína para comprobar si podemos dirigir el ARNm a lugares específicos.

Esta investigación tendrá un impacto significativo en la comunidad científica en general, proporcionando una oportunidad única para estudiar la función de las proteínas en células vivas y expresar de forma estable proteínas clínicamente importantes.



Argumentos claves

- Se trata de una investigación nueva, que podría tener infinitas posibilidades.
- Este trabajo permitiría conocer las propiedades de los ácidos nucleicos y el proceso fundamental de traducción de las proteínas.
- Si conseguimos desarrollar un sistema eficaz para añadir ARNm externos a las células y hacer que produzcan nuevas proteínas, se abrirían nuevas vías para estudiar la función de las proteínas en todas las disciplinas biológicas. Por ejemplo, podría utilizarse para comprender mejor el papel que desempeñan las distintas proteínas en enfermedades como el cáncer.
- Si podemos introducir eficazmente el ARNm modificado en un sistema de células vivas, ¿podríamos copiar el proceso para otras sustancias bioquímicas? Si estandarizamos el método, podría utilizarse en laboratorios de todo el mundo.
- Esta investigación también podría permitir el desarrollo de sistemas celulares artificiales, trabajando en conjunto con otros elementos de ingeniería para crear una célula viva y funcional. Para que esto se haga realidad, será necesaria la colaboración interdisciplinar con colegas de redes internacionales.

Ficha de propuesta de proyecto 2 - sincrotrones y simulaciones

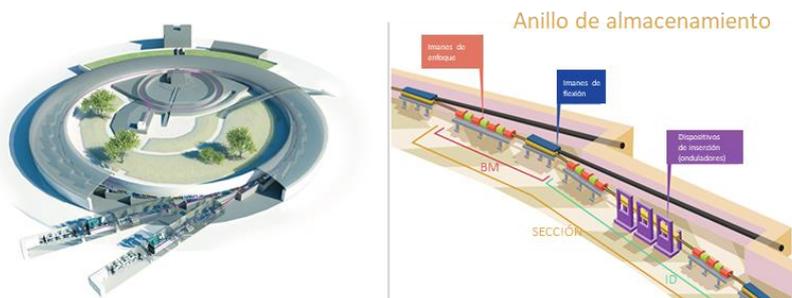
Usted es el científico número 2. Buscas dinero para desarrollar métodos de identificación de estructuras químicas. Utiliza la siguiente información para pedir dinero a tus financiadores.

Para entender el mundo, tenemos que comprender de qué está hecho, cómo se unen esas piezas y cómo interactúan. La determinación de las estructuras químicas, junto con las fórmulas atómicas y la forma en que los átomos están conectados en tres dimensiones, tiene multitud de aplicaciones, desde la paleontología hasta la ciencia de los materiales y la electrónica molecular.

Este objetivo puede lograrse utilizando la radiación de rayos X. Cuando se proyectan rayos X en un cristal de la sustancia que se quiere estudiar, el haz es difractado por las moléculas del cristal, y los patrones de difracción resultantes revelan la forma de la molécula. Los pequeños difractómetros de rayos X son aparatos estándar en un laboratorio químico y se utilizan a diario para verificar la estructura de moléculas simples.

Esta técnica también puede utilizarse para las proteínas y los ácidos nucleicos, que son grandes biomoléculas compuestas por miles de átomos. Sin embargo, la resolución de las estructuras de estas moléculas complejas de gran tamaño es mucho más difícil que la de los compuestos simples. El mayor número de átomos dificulta la penetración de los rayos X en la muestra, y además los compuestos biológicos son "frágiles" y pueden destruirse si se exponen a la radiación durante demasiado tiempo. Por lo tanto, no es posible obtener estructuras de difracción de rayos X de alta resolución de biomoléculas utilizando difractómetros normales de laboratorio.

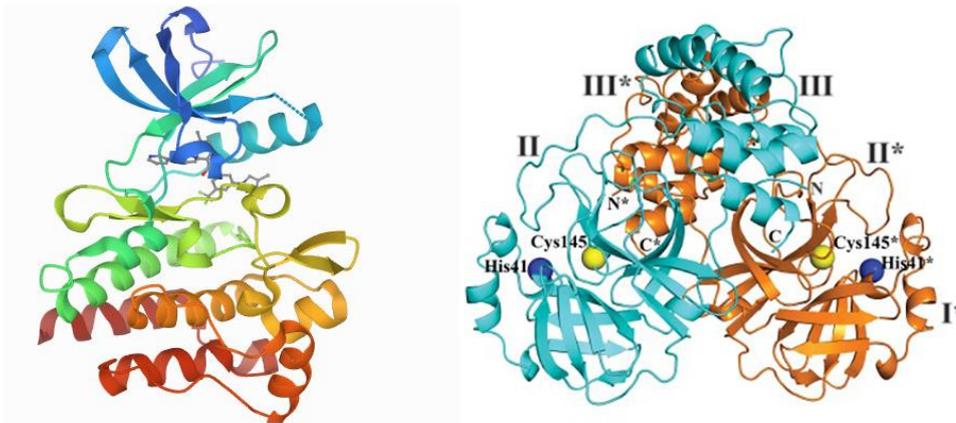
Este problema podría resolverse utilizando sincrotrones, que son aceleradores de partículas que aceleran los electrones a altas velocidades y luego cambian su dirección. Esto hace que se libere energía en forma de rayos X que son mil veces más potentes que los rayos X de un difractómetro estándar. Estos rayos X más potentes penetran en lo más profundo de los materiales y pueden aplicarse en haces muy focalizados, a una longitud de onda determinada y en destellos cortos y brillantes.



Esquema del anillo de almacenamiento de la Instalación Europea del Sincrotrón de Radiación (ESRF), destacando los elementos que dirigen y enfocan los electrones

ESRF

Nuestro objetivo es utilizar la financiación de la investigación para desarrollar esta técnica para revelar las estructuras de las proteínas complejas. Las estructuras precisas de las proteínas pueden darnos una idea de cómo funcionan o funcionan mal las proteínas relacionadas con las enfermedades. Por ejemplo, podría ayudarnos a entender por qué una proteína que funciona mal provoca cáncer, cómo los patógenos como los virus entran en nuestras células o cómo los anticuerpos se unen a sus antígenos objetivo. La información sobre la estructura de las proteínas también podría ayudar a desarrollar compuestos farmacológicos que se unan a las proteínas para modificar su función.



Ejemplos de estructuras de proteínas obtenidas por difracción de rayos X. Izquierda: La enzima quinasa ABL humana (PDB ID: [3CS9](#)), que suele estar mutada en la leucemia, unida al fármaco contra la leucemia nilotinib. A la derecha: Una estructura recientemente resuelta de la enzima proteasa del SARS-CoV-2 (PDB ID: [6Y2E](#)).
Proteasa del SARS-CoV-2 adaptada de Zhang L, Sun X, Hilgenfeld R (2020) Science 368:409–412.

Si podemos obtener información estructural de alta resolución, también nos gustaría utilizarla para construir modelos computacionales para simulaciones que ayuden a desarrollar y probar teorías relacionadas con la función de las proteínas en la salud y la enfermedad.

Argumentos claves

- El uso de sincrotrones permitiría obtener estructuras moleculares más detalladas de muchas sustancias importantes.
- La información estructural detallada es clave para la ingeniería de moléculas para diferentes aplicaciones.
- Esta técnica podría ayudarnos a comprender mejor las funciones de importantes biomoléculas, como las proteínas.
- La información estructural sobre las proteínas relacionadas con las enfermedades podría aportar ideas para el desarrollo de fármacos para estas enfermedades.
- No se sabe a dónde podría llevarnos el análisis de las proteínas relacionadas con las enfermedades en términos de asistencia sanitaria y medicina preventiva.

Ficha de propuesta de proyecto 3 - fabricación de vacunas

Usted es el científico número 3. Su tarea es conseguir financiación para un nuevo enfoque de fabricación de vacunas mediante polinucleótidos. Utiliza la información que aparece a continuación para argumentar y conseguir dinero de tus financiadores.

El objetivo de esta propuesta de investigación es el desarrollo de un proceso de purificación a gran escala de polinucleótidos para mejorar su fabricación para vacunas y otras aplicaciones biomédicas. Es de vital importancia disponer de cantidades suficientes de polinucleótidos altamente purificados para el proceso de producción de vacunas. Los polinucleótidos son los componentes activos de las vacunas de ADN y ARN; codifican la proteína que desencadena el desarrollo de anticuerpos específicos para la enfermedad de interés. Normalmente, en el laboratorio, los polinucleótidos se purifican mediante técnicas de precipitación o columnas de filtrado con centrifugación. Estas técnicas no son adecuadas para la fabricación a gran escala por una serie de razones, entre las que destacan las siguientes:

- Uso de productos químicos peligrosos que suponen un riesgo para la seguridad de las personas que producen los polinucleótidos
- Dificultad para escalar a grandes cantidades
- Baja pureza de los polinucleótidos finales, lo que los hace inseguros para su administración a los seres humanos
- Bajo rendimiento de los polinucleótidos finales, lo que encarece su producción

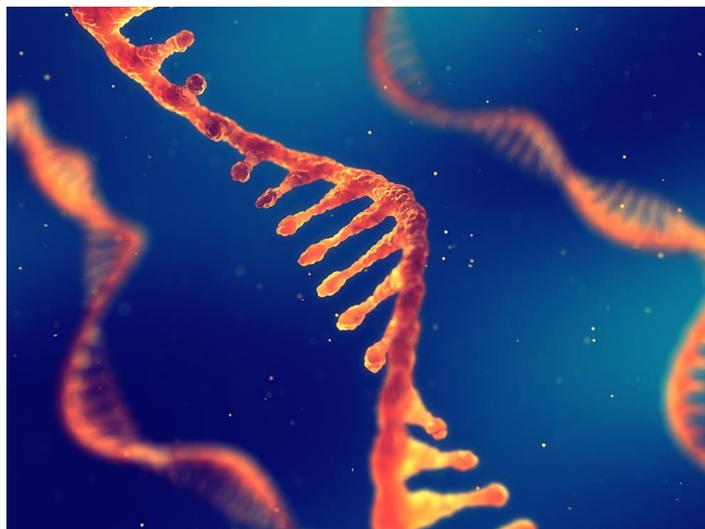
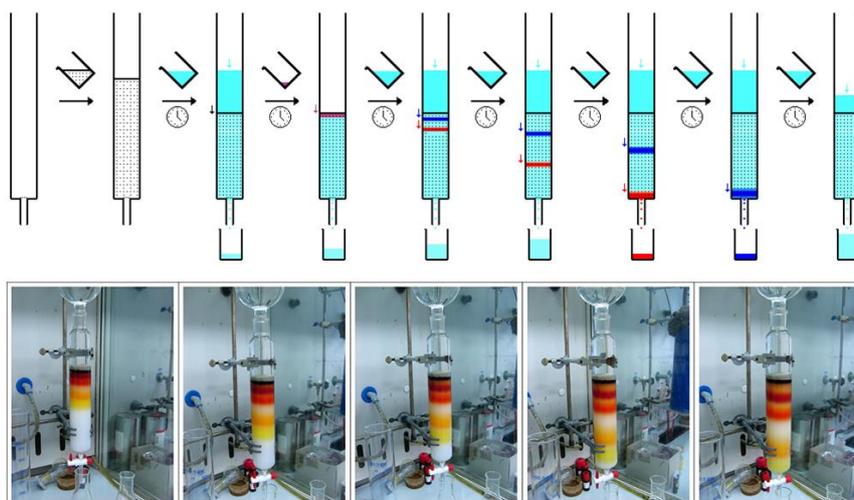


Ilustración en 3D del ARN monocatenario
nobeastsofierce/Shutterstock.com

Entre los polinucleótidos, las moléculas de ARN son especialmente difíciles de purificar suficientemente. Son moléculas grandes e inestables, sensibles a la rotura y la degradación. También son susceptibles de contaminarse con impurezas, como el ADN. Cuanto más parecido sea el contaminante, más difícil será separarlo del producto.

La cromatografía es una técnica que separa los componentes de una mezcla de compuestos en función de su interacción con una fase estacionaria, por ejemplo, una resina. Es un método altamente eficiente y escalable para la purificación de polinucleótidos, pero requiere un mayor desarrollo. Hay muchos tipos de cromatografía, por ejemplo, la cromatografía de afinidad, la cromatografía de interacción hidrofóbica, la cromatografía de fase inversa, la cromatografía de intercambio aniónico y la cromatografía de intercambio catiónico. Para purificar suficientemente los polinucleótidos, puede ser necesaria la combinación de uno o más tipos.

Cada tipo de cromatografía puede utilizar diferentes tipos de resina. Las resinas suelen ser uno de los elementos más caros del proceso de producción de vacunas. Por lo tanto, es importante seleccionar la resina más eficiente para la aplicación. Parámetros como la temperatura, el pH y el caudal también afectan al rendimiento del procedimiento cromatográfico. Es importante identificar una combinación segura de estos parámetros que permita que el proceso de purificación proporcione polinucleótidos altamente purificados sin perder grandes cantidades ni dañar las delicadas moléculas de polinucleótidos.



Esquema (arriba) y fotografía (abajo) de una columna de cromatografía, que muestra la separación de diferentes componentes de una mezcla

Fotos de Alexiots A. Zlatich/[Wikimedia](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chromatography_column), [CC BY-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/)

Para mejorar la purificación de polinucleótidos, se busca financiación para desarrollar una plataforma de purificación por cromatografía que maximice la pureza y el rendimiento de los polinucleótidos y minimice el coste del proceso de purificación. La plataforma será aplicable a todas

las moléculas de ARN producidas mediante transcripción in vitro, que es la forma más común de fabricar ARN para vacunas.



La cromatografía moderna suele realizarse con máquinas automatizadas (derecha) y a menudo se combina con la espectrometría de masas (izquierda) para analizar los componentes separados.

Imagen cortesía de Rosaria Cercola

Argumentos claves

1. La producción de polinucleótidos altamente purificados es un paso crítico en la fabricación de vacunas de polinucleótidos, como muchas de las vacunas COVID-19, que son seguras para su administración a los seres humanos.
2. Se necesitan grandes cantidades de ARNm altamente puro para producir suficientes dosis de vacunas de ARN para inocular y proteger a un gran porcentaje de la población mundial, lo que es especialmente importante durante una pandemia.
3. El desarrollo de un proceso estándar de purificación de polinucleótidos ayudará al rápido desarrollo de nuevas vacunas de polinucleótidos u otros medicamentos de polinucleótidos en el futuro.

Ficha de propuesta de proyecto 4 – encapsulación de nano partículas

Usted es el científico número 4. Su tarea es conseguir financiación para investigar el uso de lípidos para ayudar a la administración de fármacos. Utiliza la siguiente información para pedir dinero a sus financiadores.

Muchos fármacos presentan altos niveles de toxicidad para las células (citotoxicidad), lo que puede provocar graves efectos secundarios. Además, las moléculas de los fármacos están sujetas a la degradación metabólica cuando se administran, lo que obliga a utilizar dosis mayores y más frecuentes (lo que, a su vez, aumenta el riesgo de efectos secundarios). Esto conlleva riesgos inaceptables para los pacientes, que podrían minimizarse mediante nuevas estrategias de administración de fármacos. Proponemos la síntesis química de nuevos lípidos ionizables que podrían utilizarse para encapsular moléculas de fármacos empaquetándolas en esferas protegidas conocidas como nano partículas.



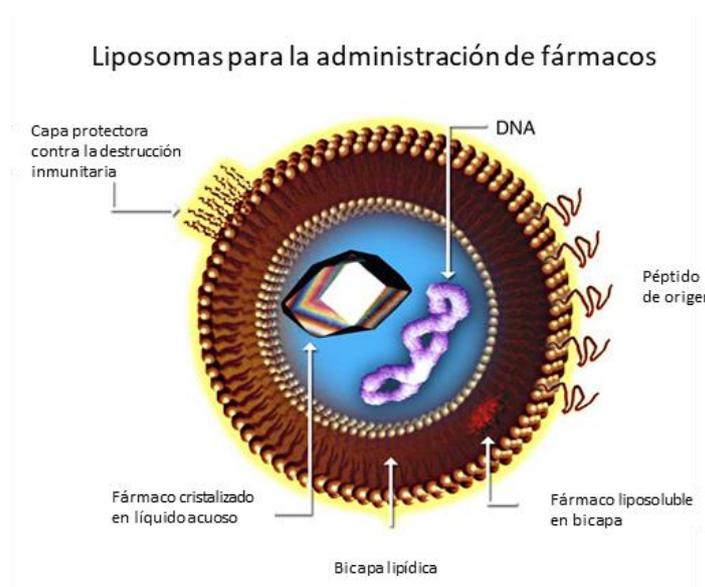
Una visión general de diferentes tipos de nano partículas
VectorMine/Shutterstock.com

Mediante la química sintética moderna, se preparará una selección de lípidos iónicos y se comprobará su idoneidad para actuar como portadores de fármacos mediante la formación de nano

partículas. De esta manera se acoplarán diversas moléculas de varias cadenas de carbono con aminos básicas para crear una biblioteca de lípidos aplicables.

En concreto, se propone generar nuevos lípidos ionizables que no posean una carga positiva permanente, pero que puedan convertirse en catiónicos en condiciones fisiológicas (por ejemplo, en el torrente sanguíneo). Aprovecharemos la química para preparar una biblioteca de lípidos iónicos fundamentalmente nuevos que contengan grupos aminos ionizables, para generar una variedad de nano partículas diferentes. La investigación se dirigirá a afinar la basicidad de los grupos aminos para obtener lípidos con carga positiva capaces de transportar moléculas de fármacos aniónicos a los tejidos objetivo. Además de sintetizar los candidatos a estos lípidos iónicos, un paso clave es la purificación y la determinación de la estructura de estas moléculas. Esta información es fundamental para que otros químicos puedan reproducir la síntesis química.

A continuación, investigaremos su idoneidad para la formación de nano partículas y estudiaremos su tamaño y estabilidad en condiciones fisiológicas. Además, se estudiará la incorporación de moléculas de fármacos con carga negativa. Esto es importante porque muchos fármacos modernos contienen cargas negativas características de los ácidos carboxílicos o fosfóricos. Estos últimos son importantes en las estructuras basadas en el ADN y el ARN que pueden convertirse en fármacos en el futuro. Se prevé que este enfoque abrirá nuevas vías para la administración selectiva de fármacos, en particular, para la entrega de moléculas cargadas en, o a través de, las membranas celulares o el tejido graso.



Una nano partícula lipídica (liposoma) para el suministro de fármacos o ácidos nucleicos
Kosi Gramatikoff/Wikimedia, Public Domain



www.scienceinschool.org

Argumentos claves

- Se trata de una investigación nueva, que podría tener infinitas posibilidades.
- Si el trabajo tiene éxito, podríamos reducir los efectos secundarios tóxicos de los tratamientos médicos o administrar dosis más bajas de medicamentos.
- Podríamos crear una biblioteca de sustancias químicas fisiológicamente estables en el organismo. Esta biblioteca estará abierta a los científicos de todo el mundo, para que puedan utilizarla en una amplia gama de aplicaciones.