

La variabilidad de los virus como incertidumbre en tiempos de pandemia

Esteban Domingo

*-Centro de Biología Molecular
“Severo Ochoa”(CSIC-UAM),
Cantoblanco, Madrid*

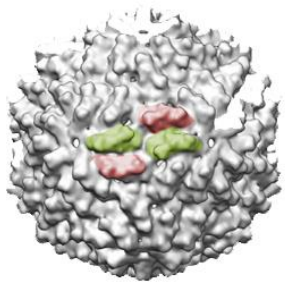
edomingo@cbm.csic.es

*-Centro de Astrobiología
(CSIC-INTA), Torrejón de
Ardoz, Madrid*

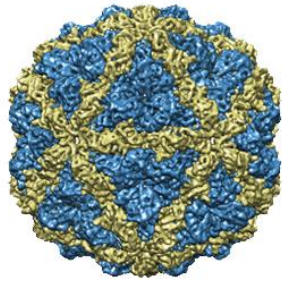
*-Centro de Investigación Biomédica
en Red de Enfermedades Hepáticas
y Digestivas (CIBERehd), Barcelona*



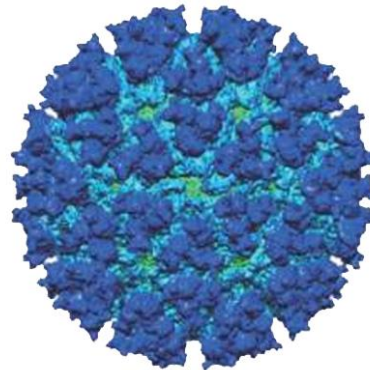
20 nm



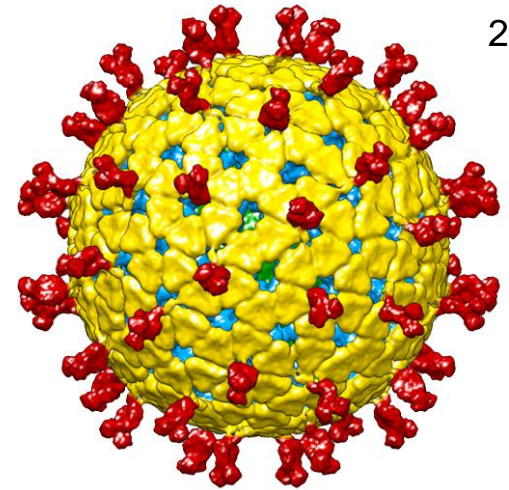
L-Av



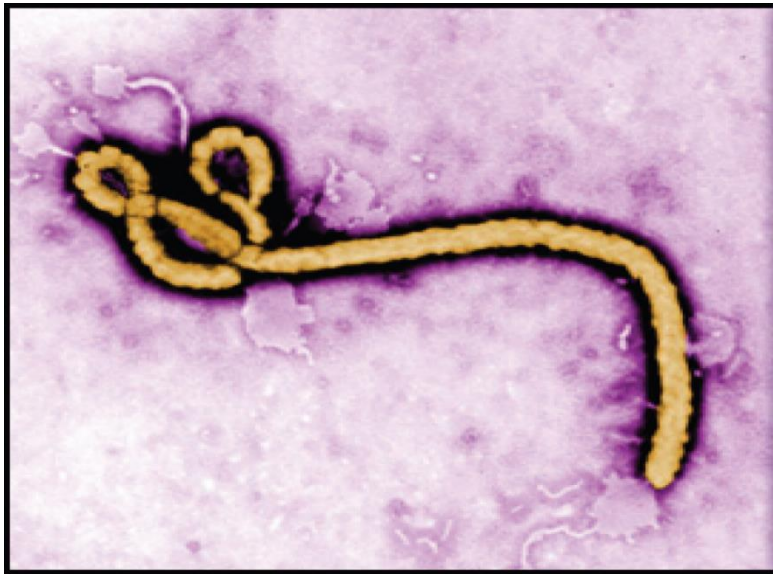
PcV



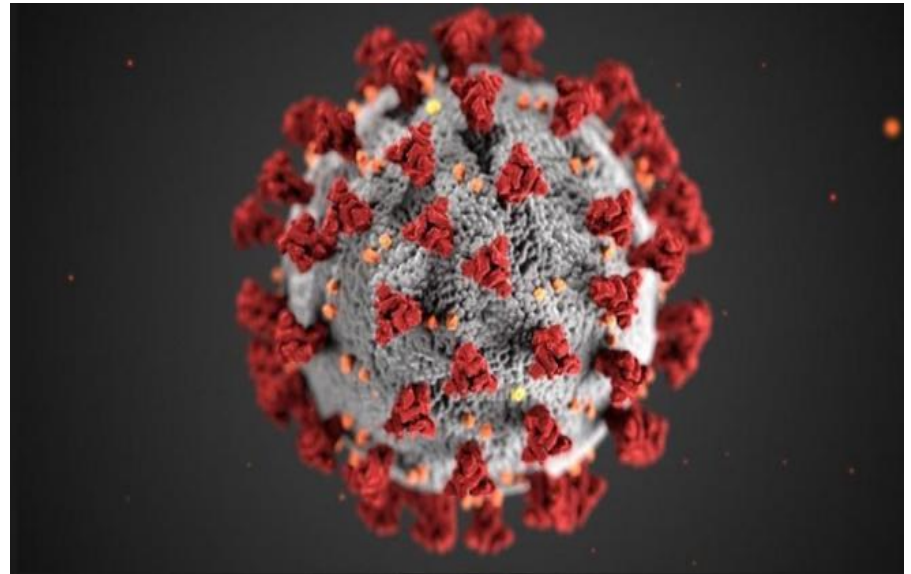
SINV



RV

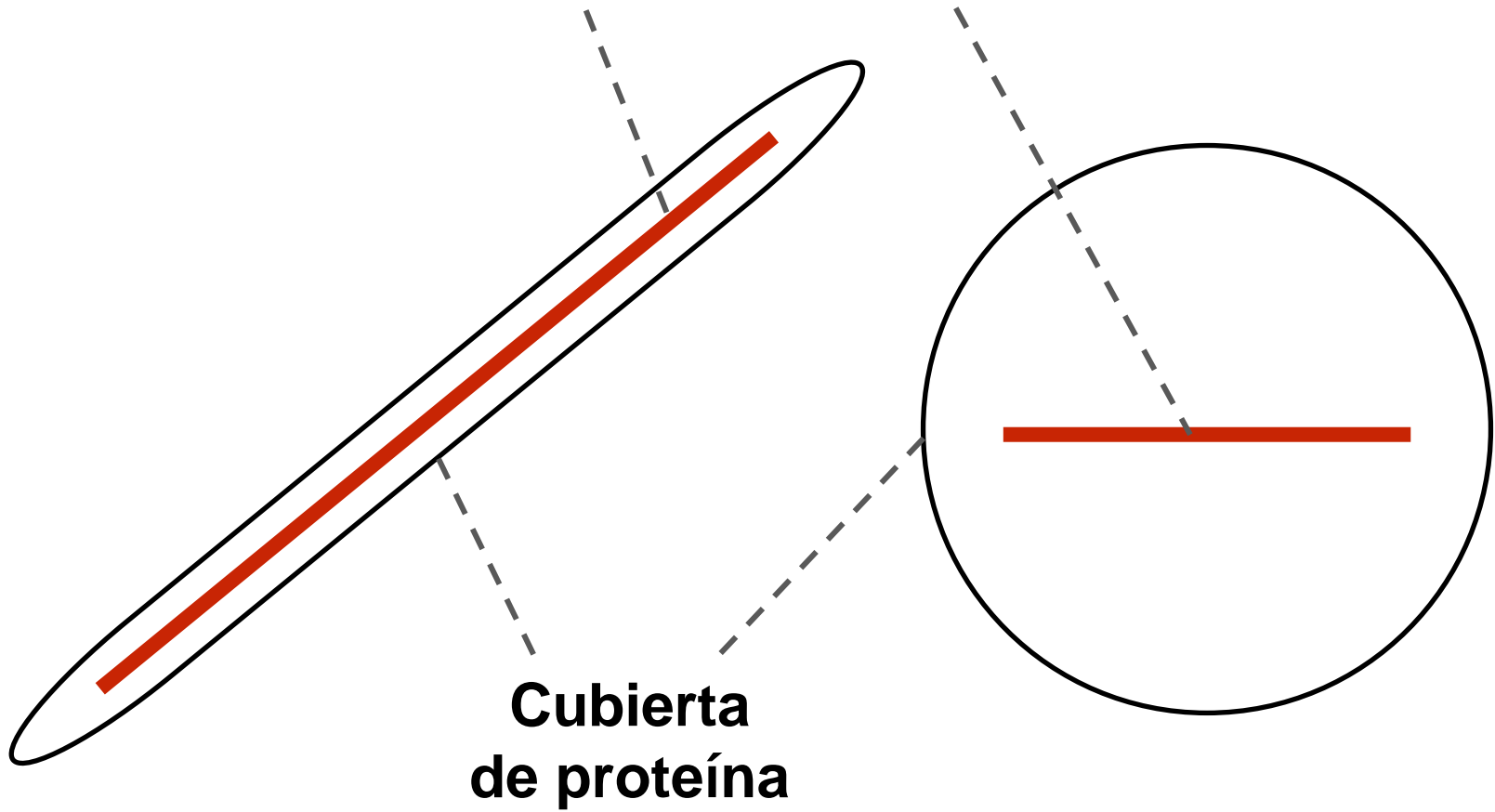


Ebola



SARS-CoV-2

Material genético, DNA o RNA

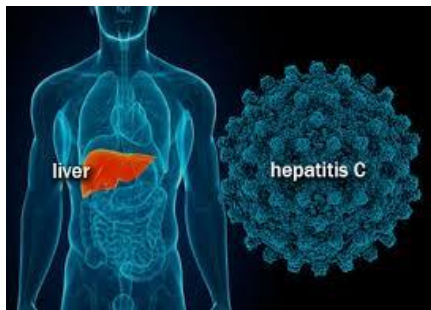


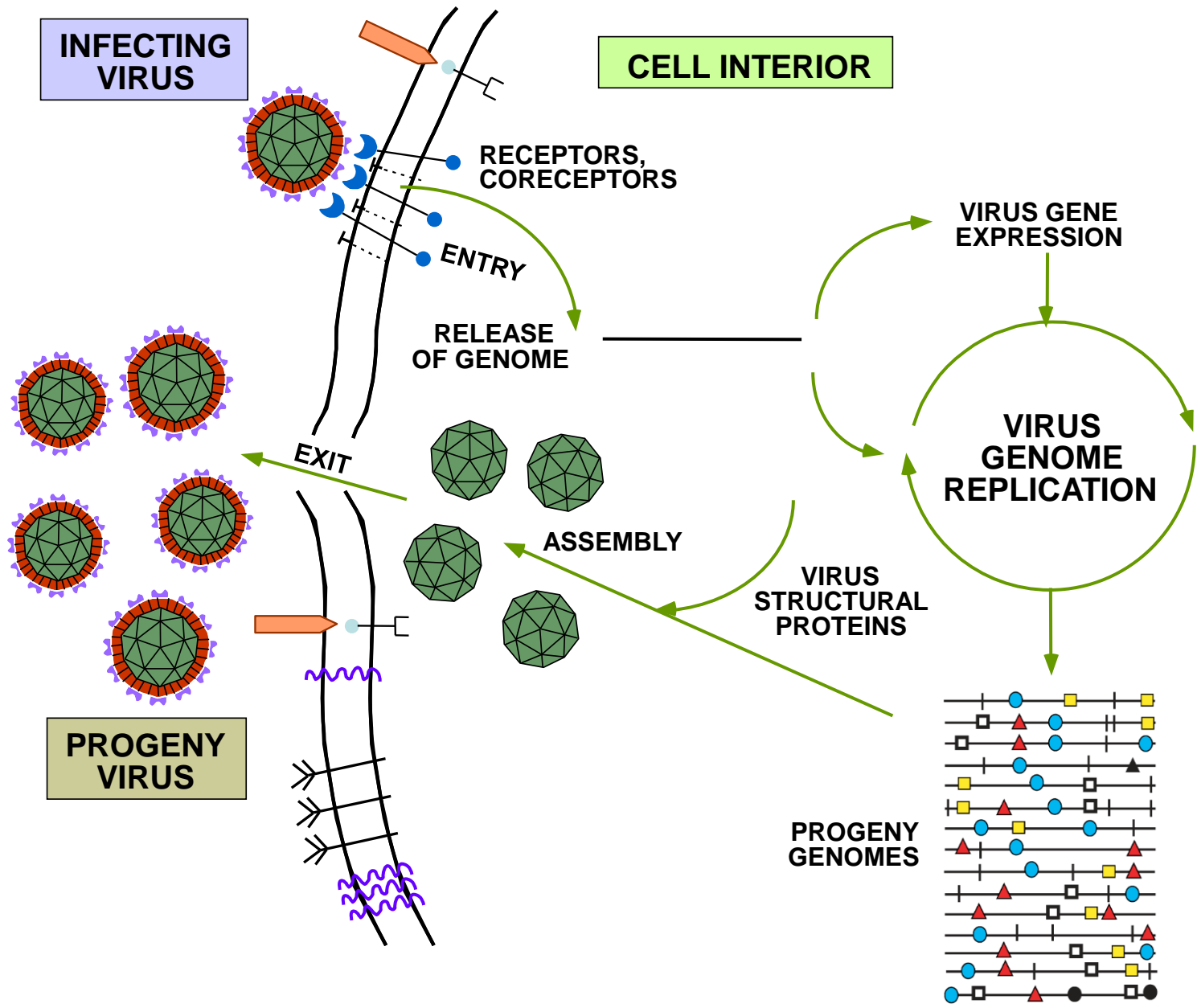
¿Qué son los virus?

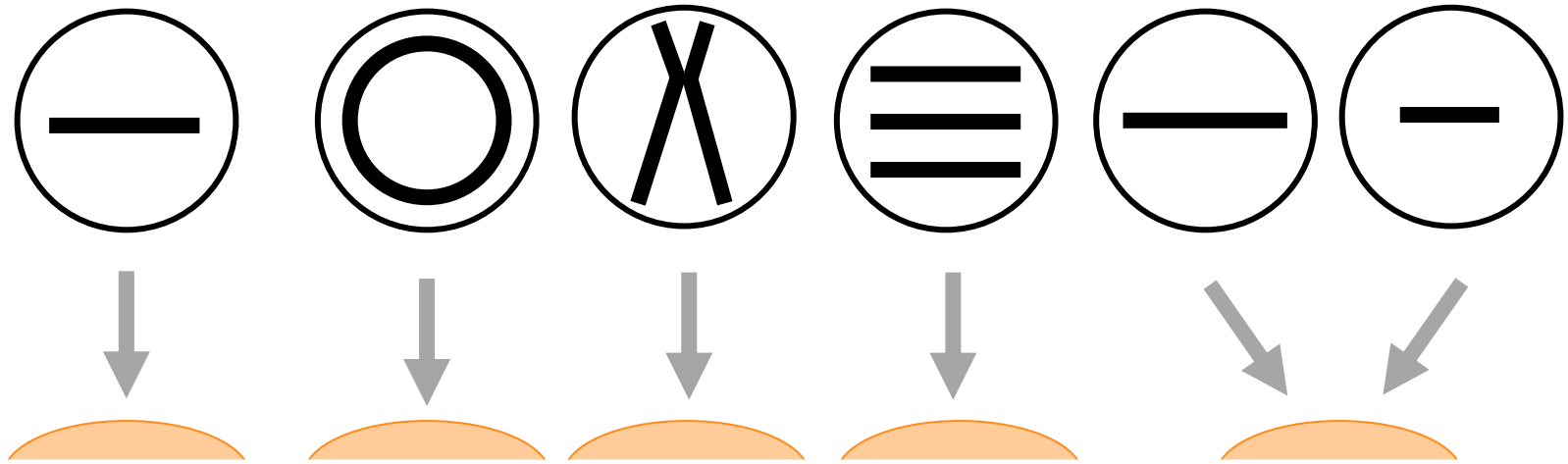
- *Partículas infecciosas transmisibles compuestas por una o más moléculas de ácido nucleico (el material genético), rodeadas de proteína y a veces, además, de lípidos y azúcares*
- *Solamente se multiplican dentro de una célula*
- *Tienen dos de las propiedades características de la vida: replicación y capacidad de evolución. Las otras son metabolismo y compartimentación*

RNA viruses represent a permanent threat to human health

- *Sudden and unpredictable appearance*
- *Potencial for rapid spread in the human population*
- *Ability to evolve resistance to antiviral therapies*
- *No vaccines against several important viral diseases are available*

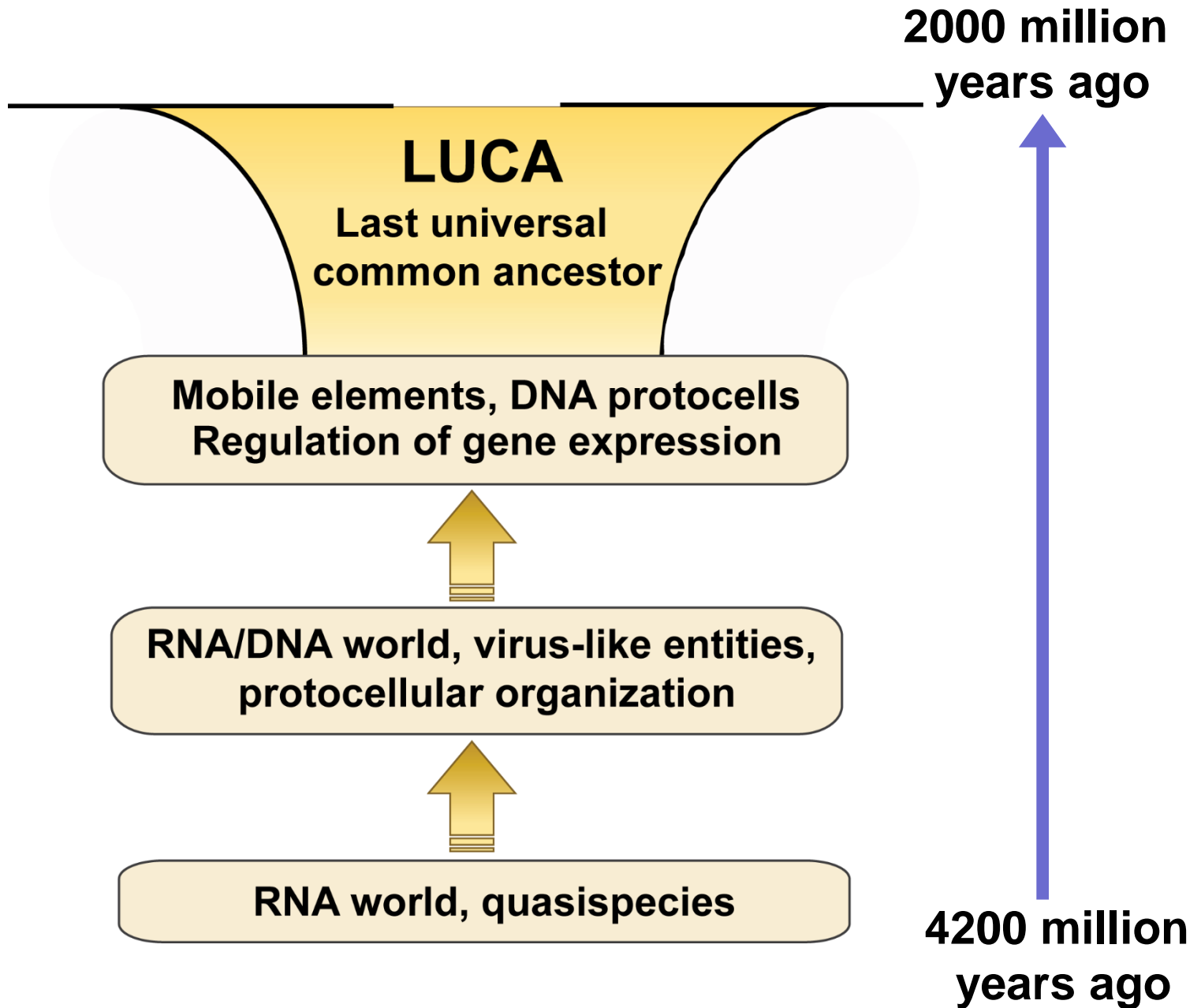






- *10^8 virus particles in 1 ml sea water*
- *$10^{31} - 10^{32}$ virus particles in the biosphere (200 million tons of C)*
- *10 times more virus particles than cells*
- *10^{23} infections per second; 1-10 min to copy a viral genome*
- *An infected organism may contain 10^{10} to 10^{12} infectious particles at any given time*

Domingo, E. Virus as Populations, 2nd ed. Elsevier, 2020



MUTATION

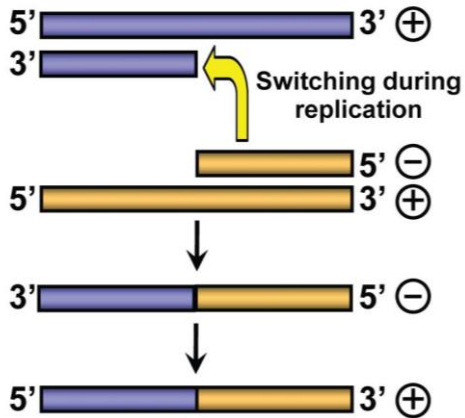
TRANSITIONS

A → G G → A U (T) → C C → U (T)

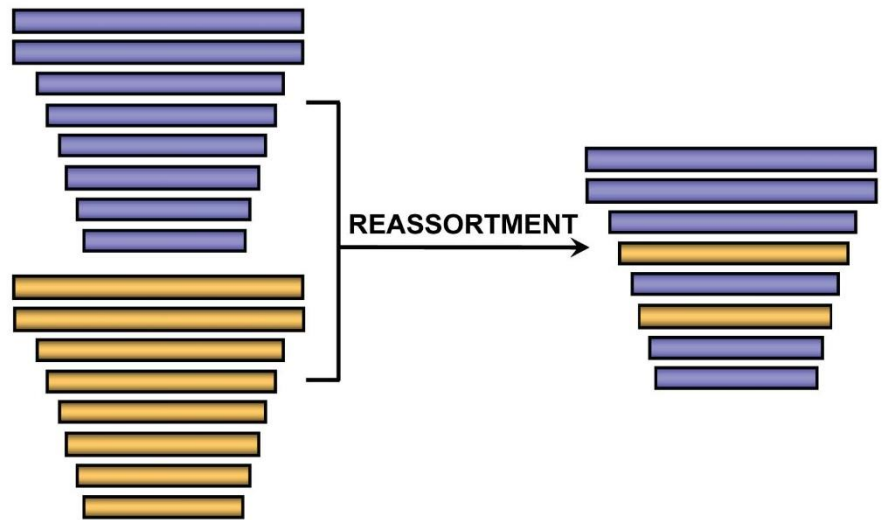
TRANSVERSIONS

A → U (T) G → U (T) A → C G → C
U (T) → A U (T) → G C → A C → G

REPLICATIVE RECOMBINATION



GENOME SEGMENT REASSORTMENT



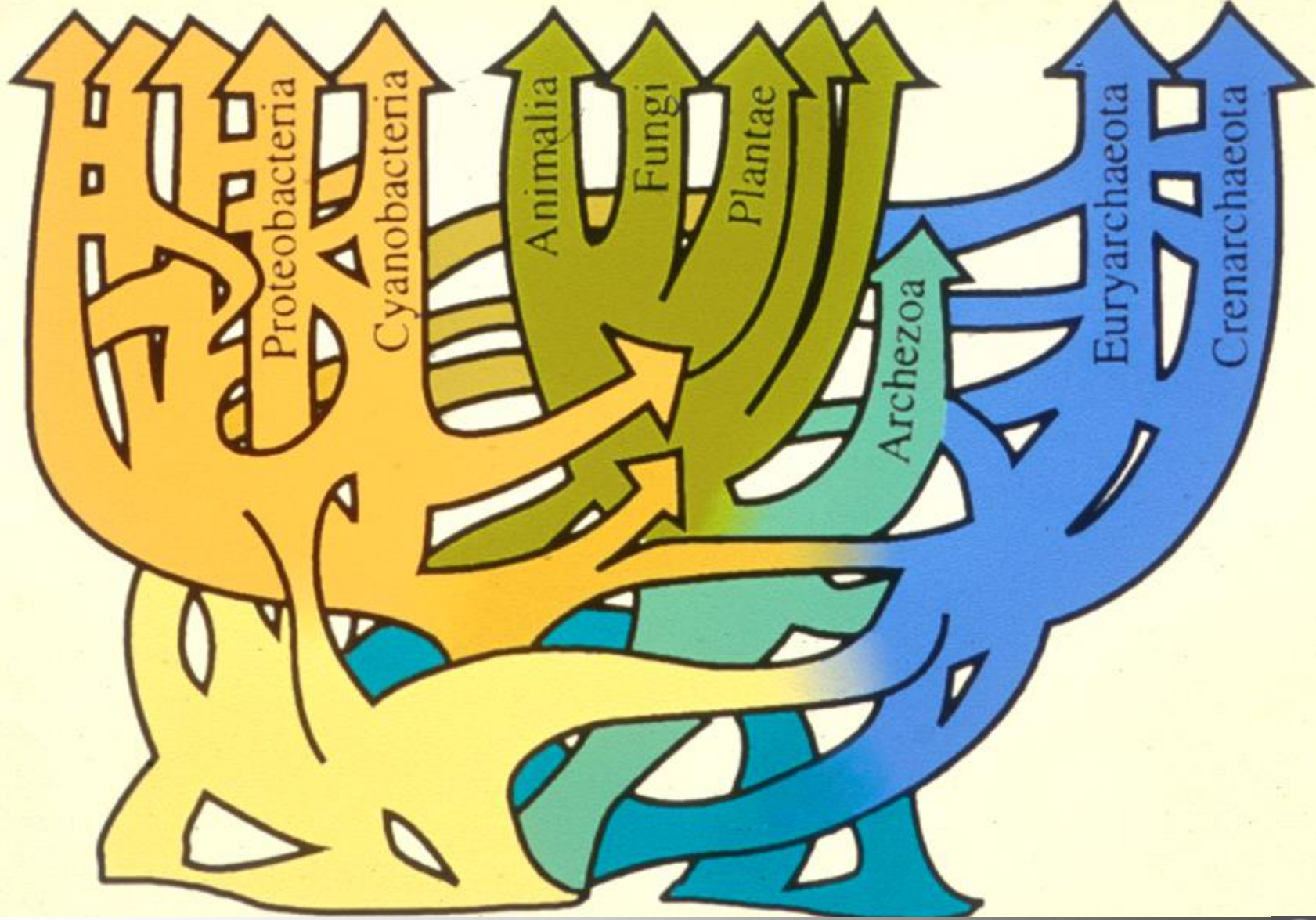
¿Por qué es importante la mutación?

- *Sin mutación, la vida en la tierra no hubiera evolucionado. Otras formas de variación (por ejemplo, la recombinación) amplían su sentido biológico gracias a la mutación*
- *Los virus probablemente jugaron un papel decisivo en la construcción del mundo celular del que formamos parte*
- *La enfermedad puede considerarse un efecto secundario de la interacción entre virus y células*

Bacteria

Eukarya

Archaea



Proteobacteria

Cyanobacteria

Animalia

Fungi

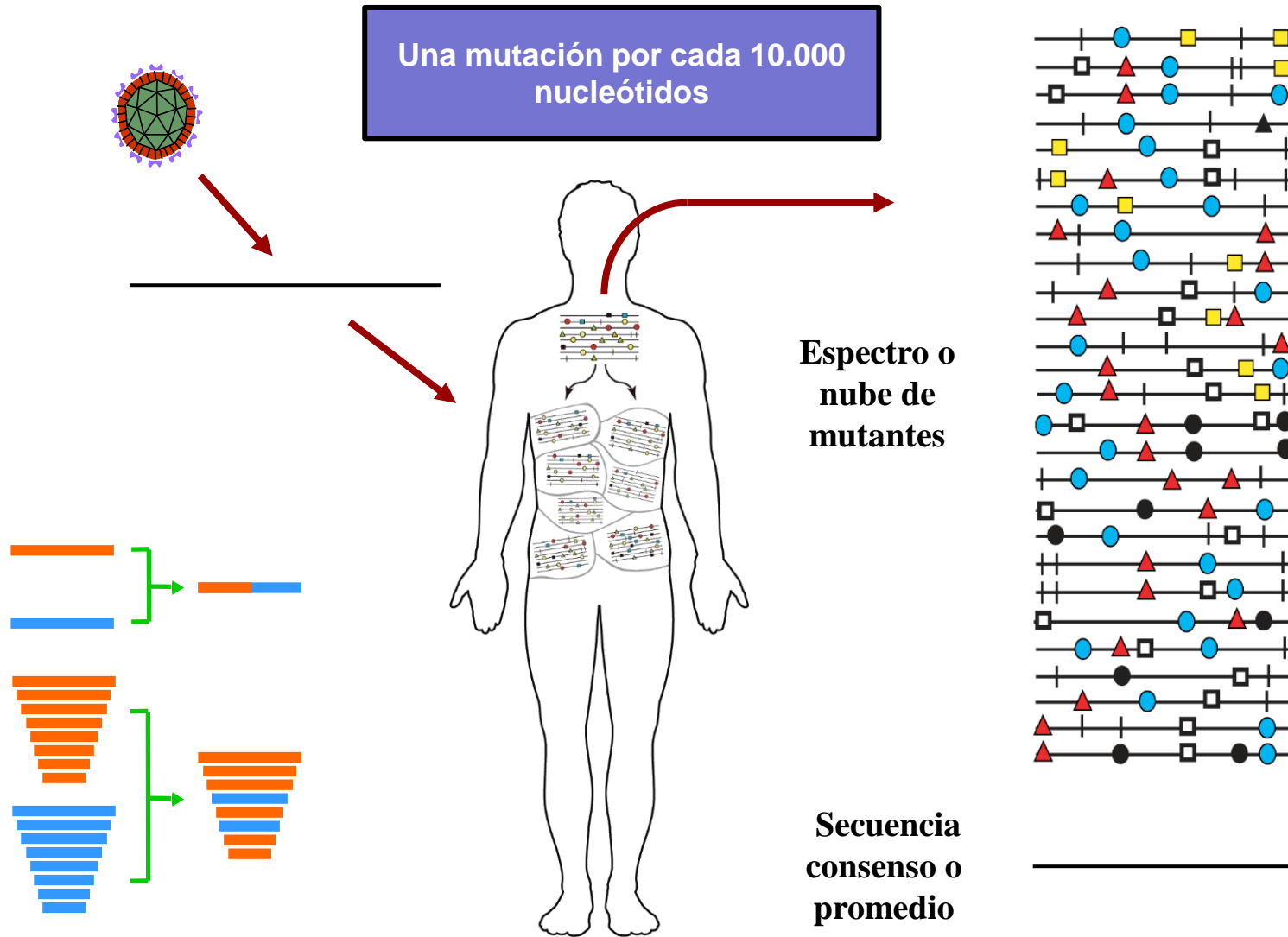
Plantae

Archezoa

Euryarchaeota

Crenarchaeota

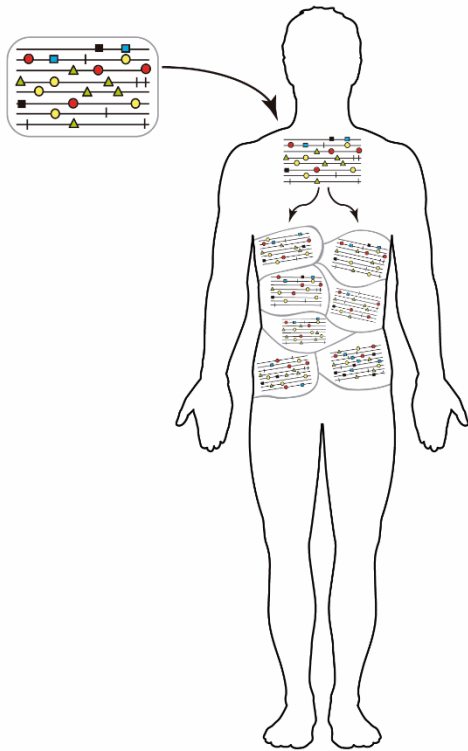
Quasiespecies víricas



Domingo et al. Cell 13:735-44, 1978

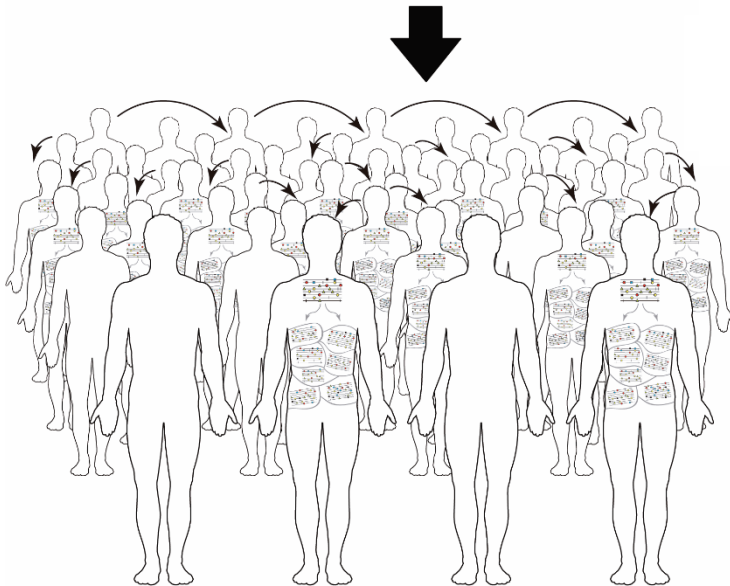
Domingo and Perales PloS Genetics 15:e1008271, 2019

Domingo, García-Crespo and Perales Annual Review Virology, 8: 51-72, 2021



Fase 1: Variación dentro de un hospedador

Distintas vías de transmisión, facilitadas por alta densidad de población y el mundo globalizado



Fase 2: Expansión epidémica

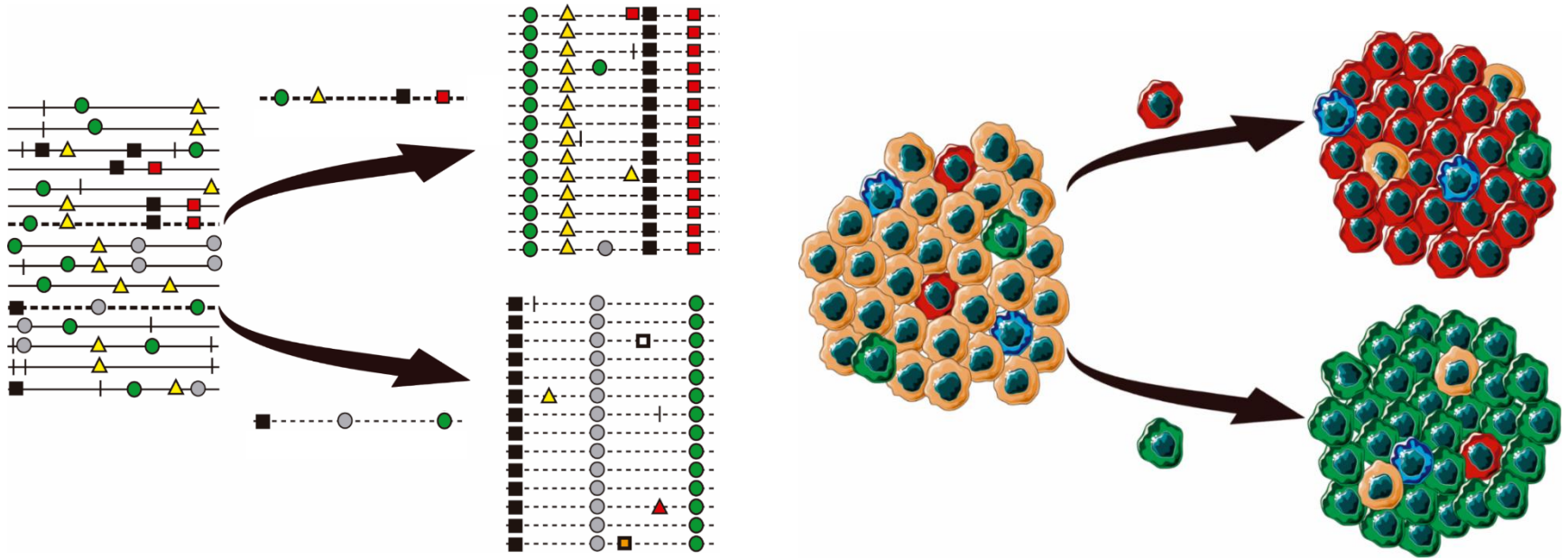
- *Se piensa que la elevada mutabilidad de los virus es una reliquia de formas de vida ancestrales, presentes antes de la existencia de las primeras células, en un “mundo RNA”*
- *El término “cuasiespecies” se introdujo para referirse a la composición en espectros de mutantes de los genomas primitivos y que también se observa en los virus actuales*
- *Ello incluye los virus patógenos estudiados hasta ahora: los causantes del SIDA, hepatitis, gripe o de la COVID-19, entre otros virus que infectan a animales, plantas o microorganismos*

Bases de la dinámica de cuasiespecies de los virus

- *Altas tasas de mutación y de velocidad de evolución*
Millones de veces más altas que para los organismos celulares
- *Replicación rápida y recambio de virus durante una infección*
- *Principios de evolución Darwiniana*
Reproducción con variación genética
Competición entre variantes
Selección de los más aptos
Participación de fenómenos de azar: cuellos de botella
- *Interacciones dentro de una población: complementación, cooperación, interferencia*

*Extensiones a células
(notablemente cáncer) y a priones*

Parallel between tumor cell and viral quasispecies dynamics

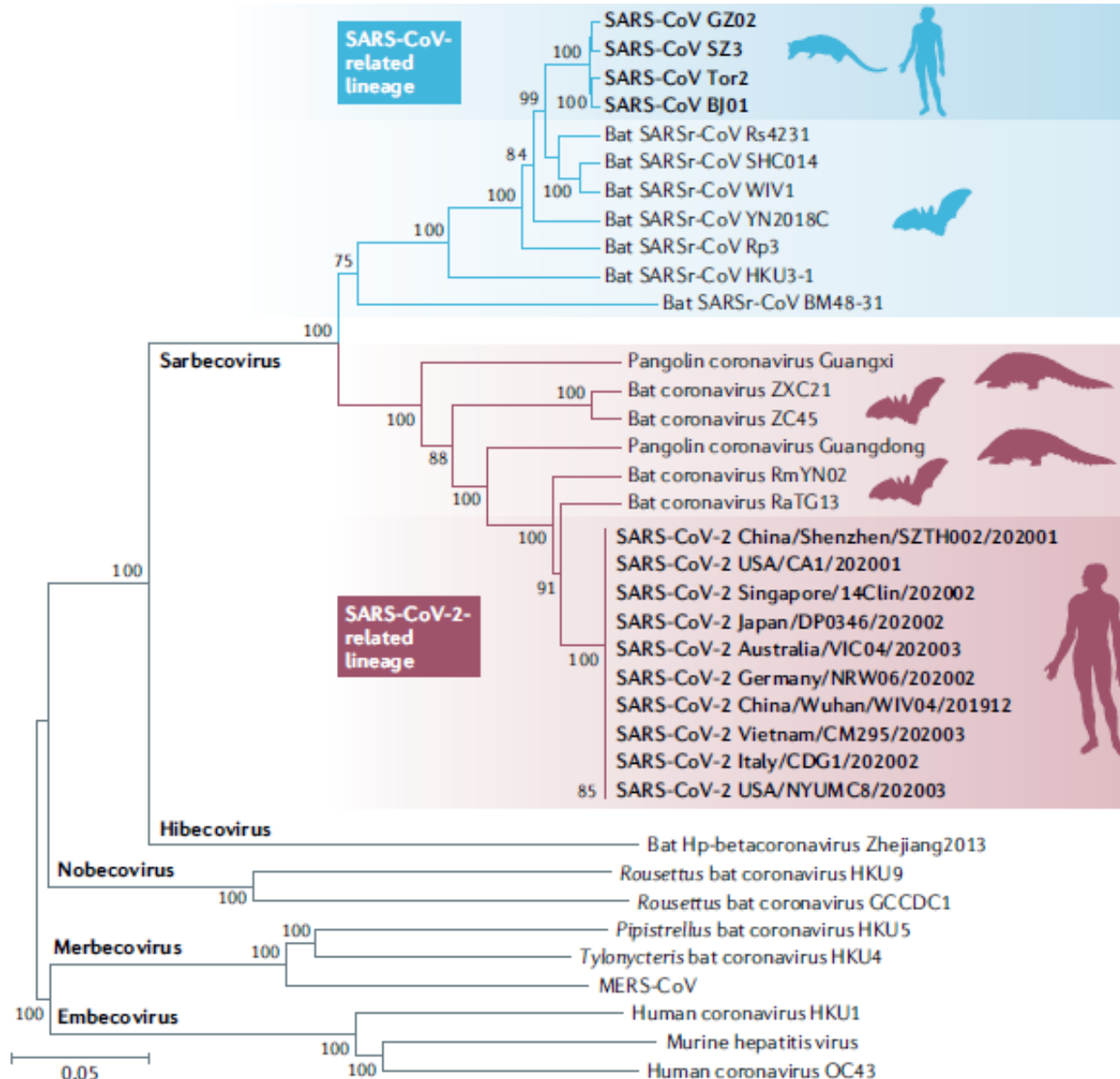


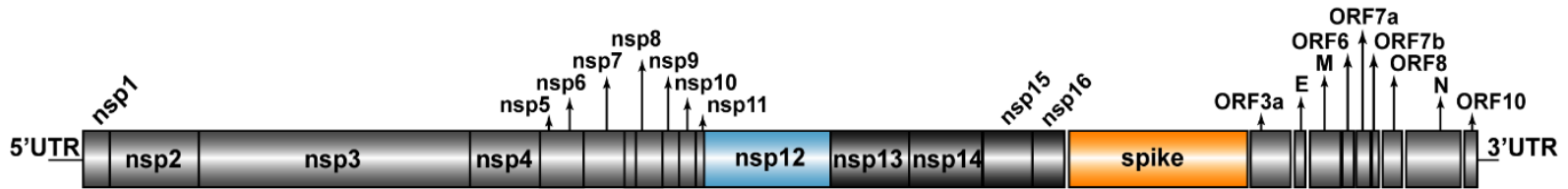
There are genetic, epigenetic, and stochastic factors that influence tumor heterogeneity, with consequences for cancer treatment failure

Domingo, E. Virus as Populations, 2nd ed. Elsevier, 2020

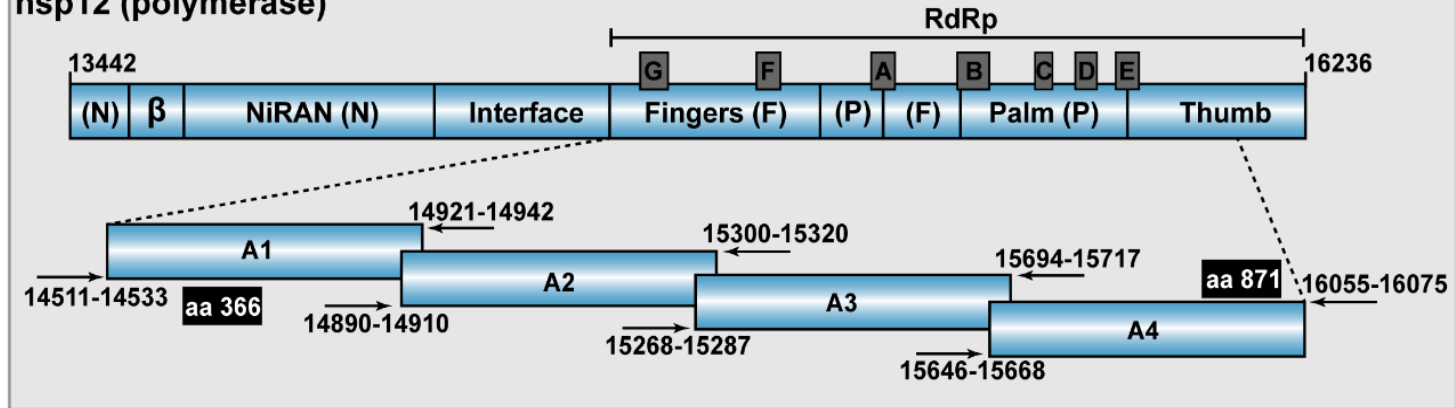
Hayford, C.E. et al. PLoS Biol. 19(6): e3000797, 2021

Evolution of SARS-CoV

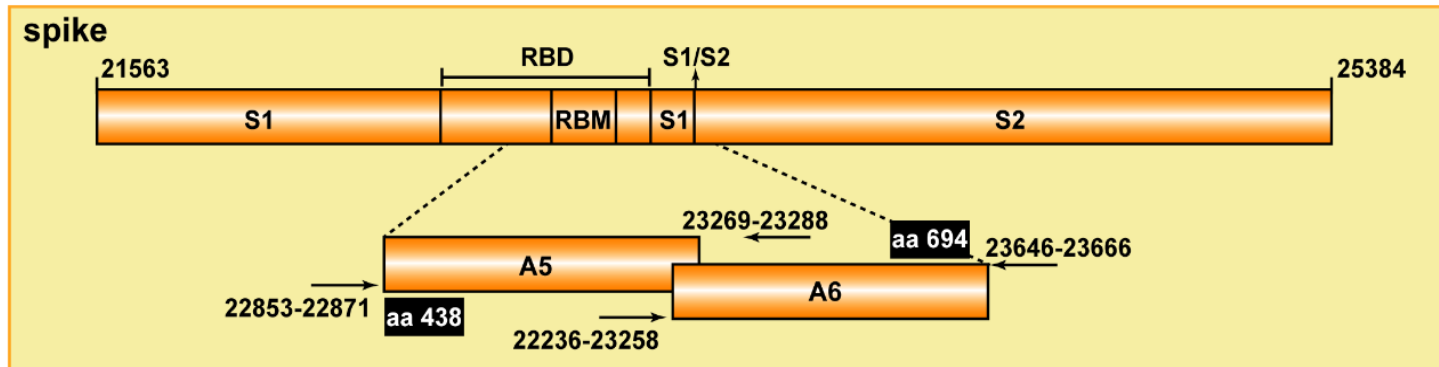




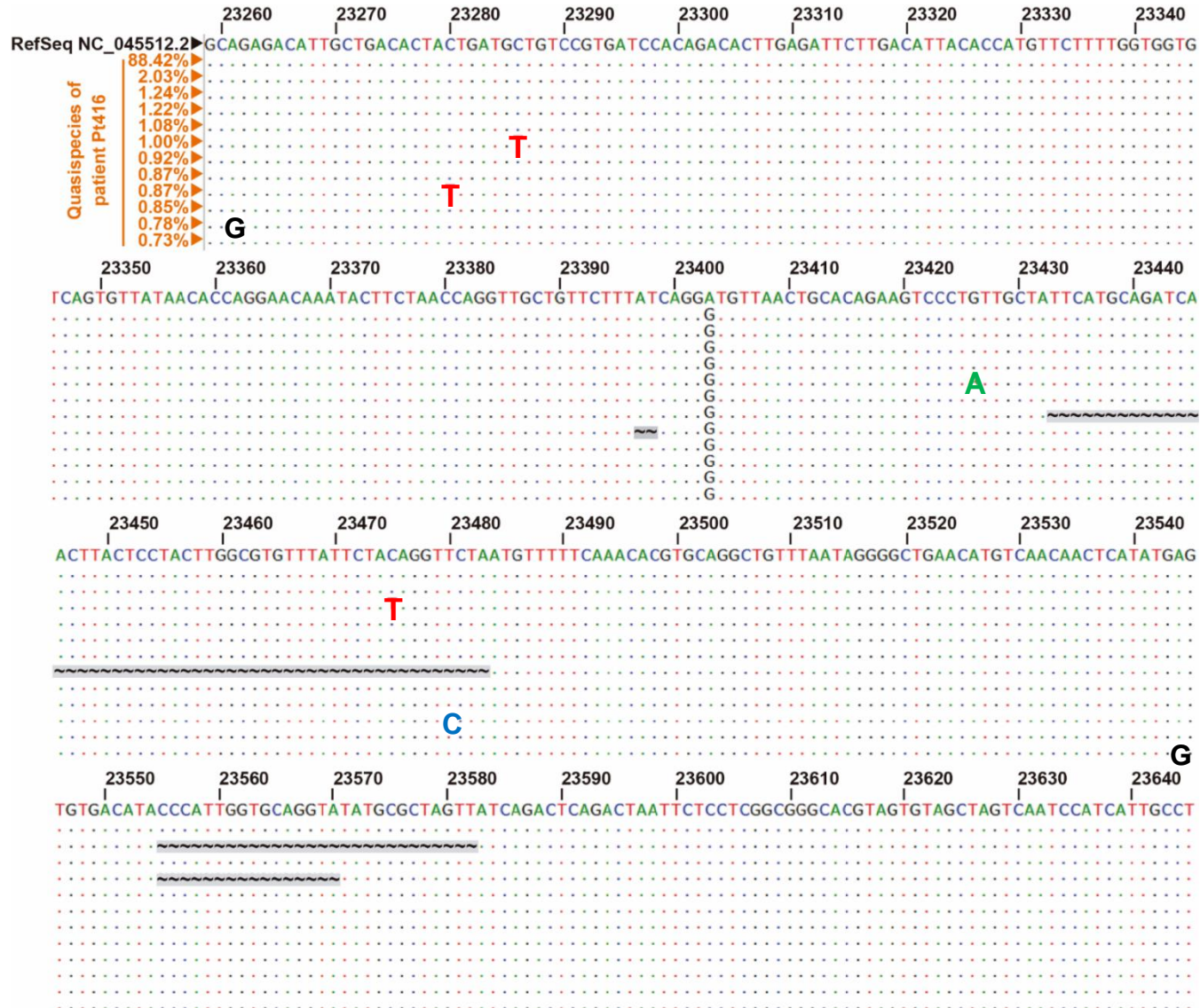
nsp12 (polymerase)



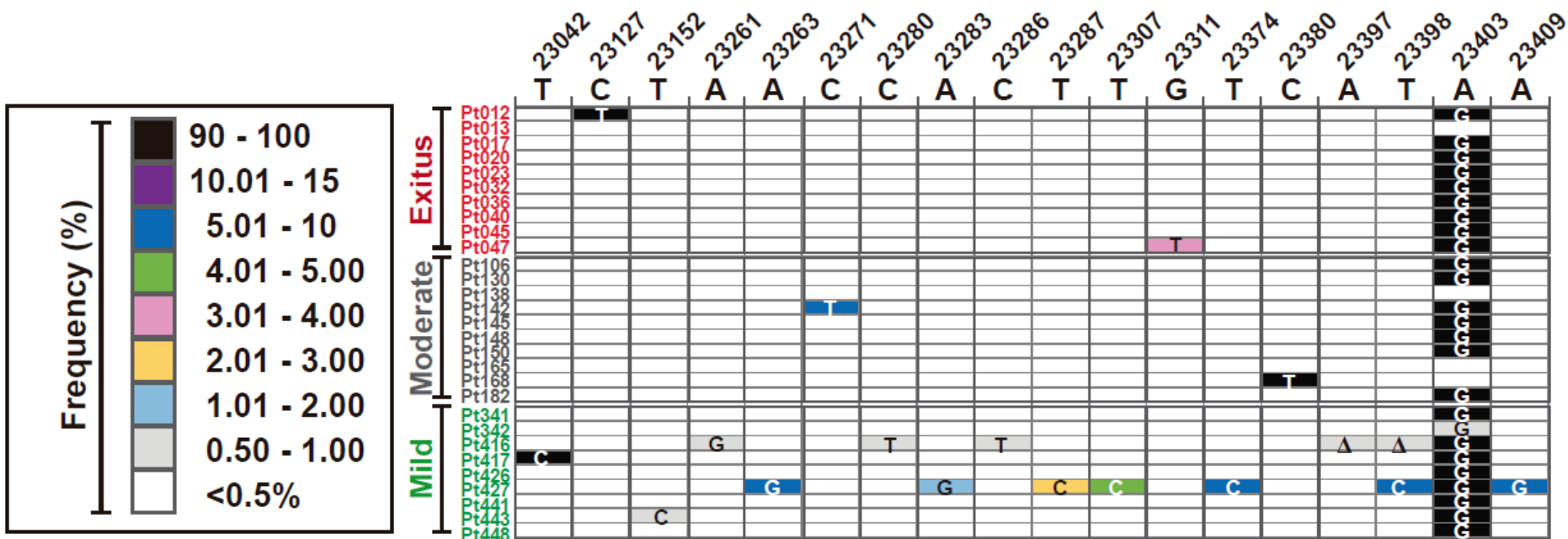
spike



Espectro de mutantes de SARS-CoV-2 en un paciente de COVID-19 (Fundación Jiménez Díaz)



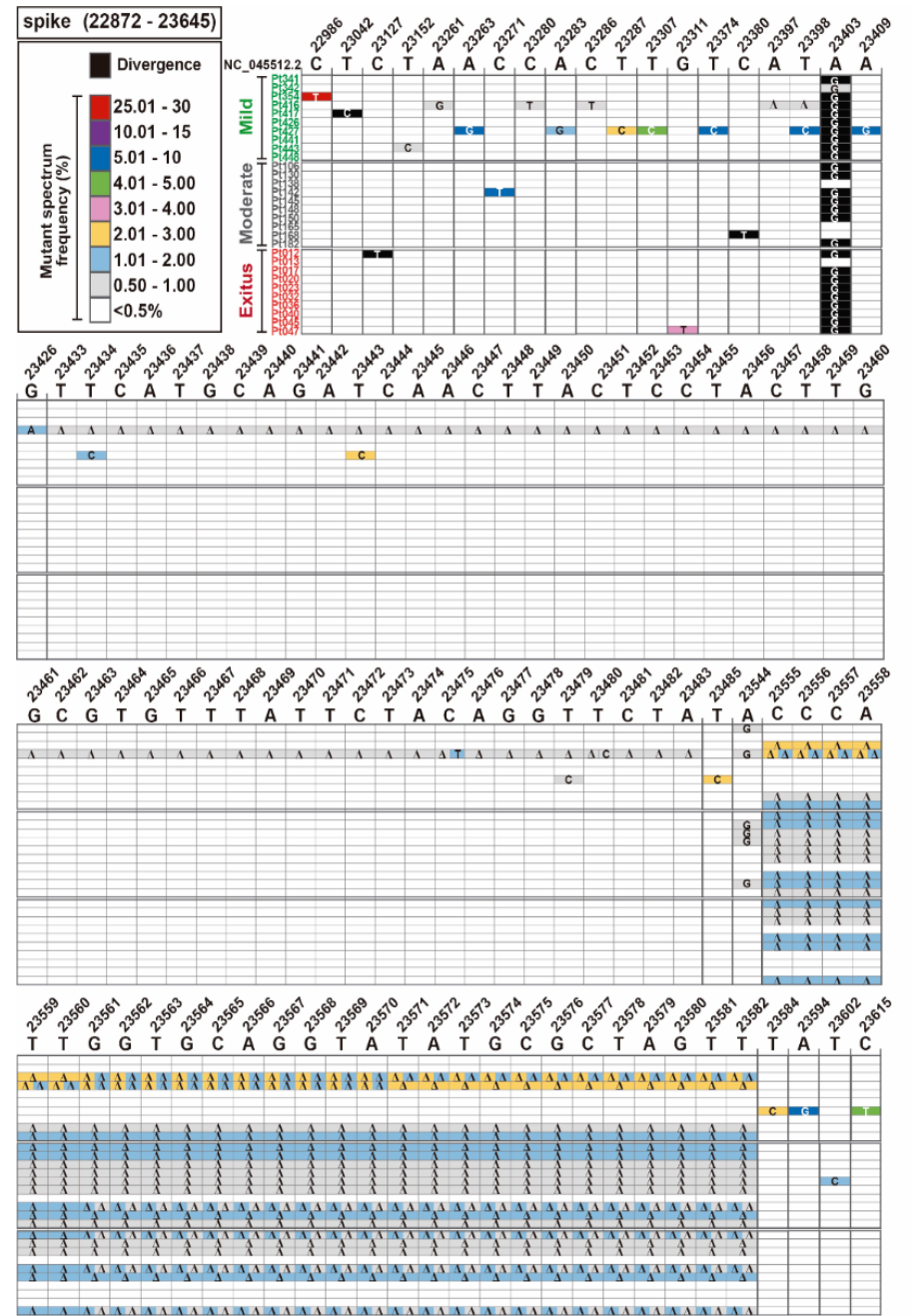
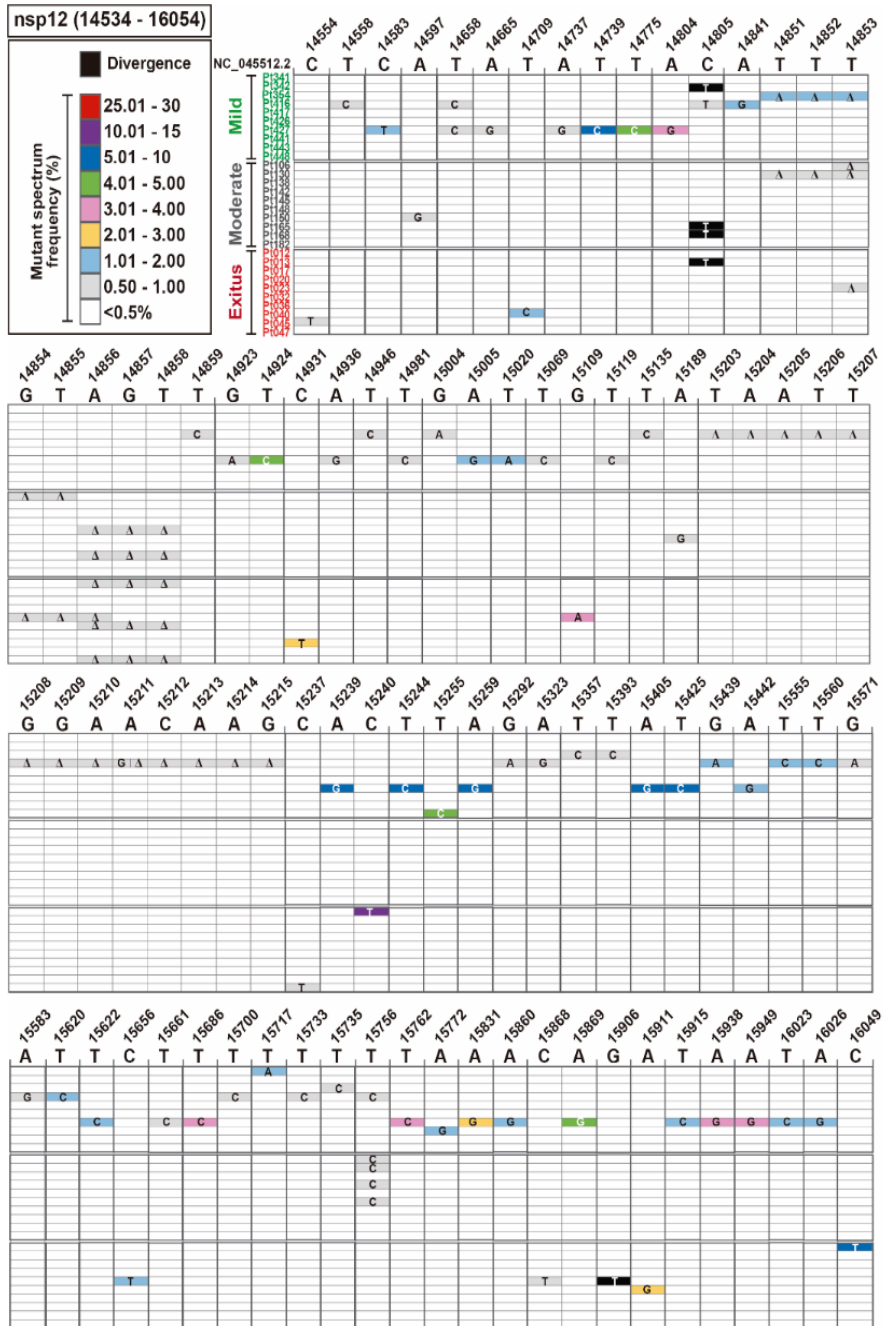
Heat map of frequencies

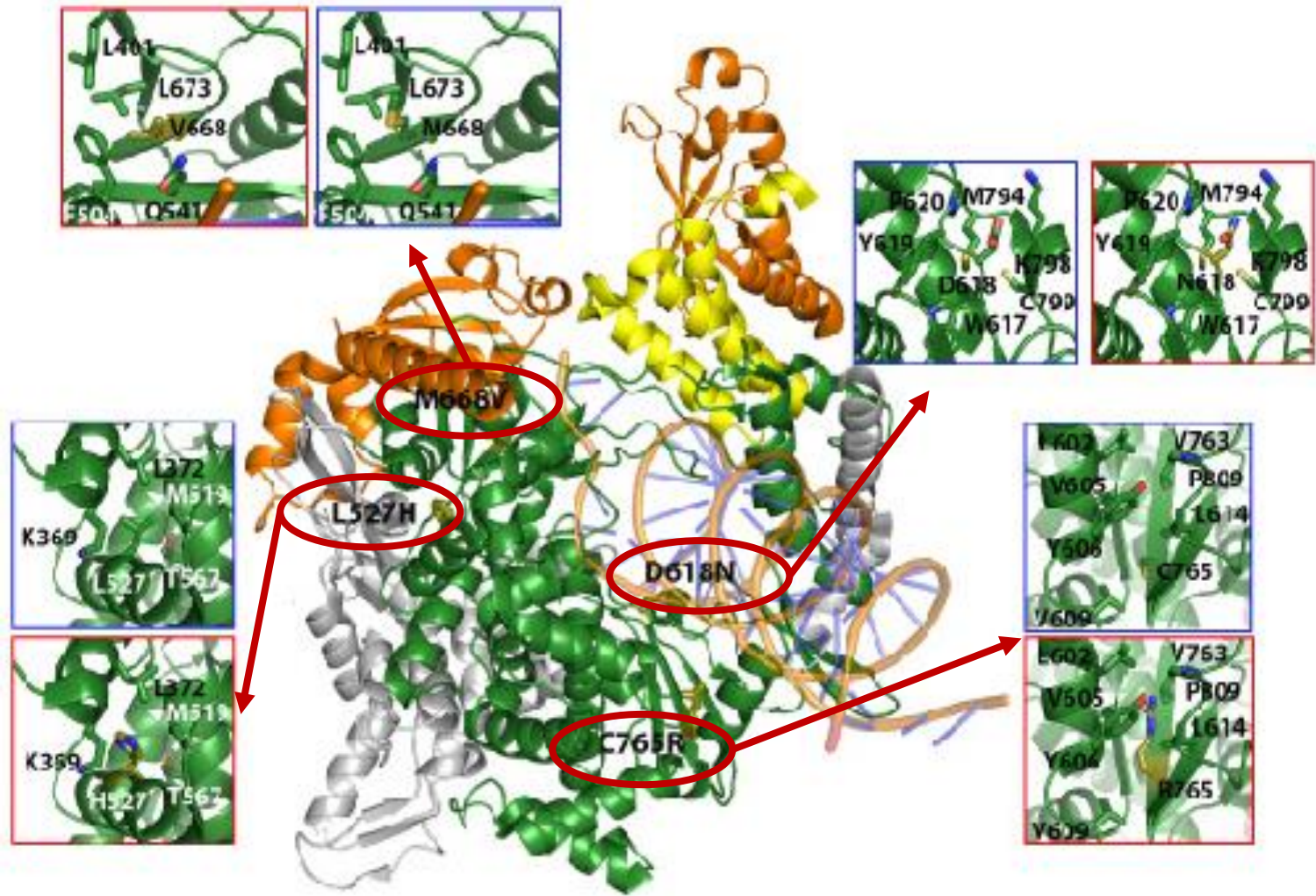


The frequency at which a mutation is found is calculated based on a minimum of 10,000 reads of this sequence (also named reads).

For example, a mutation found at 1% in the mutant spectrum of a patient means that is detected in 100 out of 10,000 sequences analyzed.

D614G





Cambios de aminoácido que se hallan en individuos infectados y que también encontramos a nivel epidemiológico (variantes Alfa, Delta, Omicron etc.)

Hechos e incógnitas acerca de la variación de SARS-CoV-2

- *Se hallan espectros de mutantes de SARS-CoV-2 en pacientes de COVID-19. Los espectros varían entre pacientes y también en distintas localizaciones dentro de un mismo paciente. El virus posee una proteína con actividad exonucleasa pero no se sabe si repara mutaciones producidas por la maquinaria replicativa. Si su actividad fuese similar a la de otros coronavirus, la reducción de la tasa de error sería de unas 15 veces*
- *La velocidad de evolución de SARS-CoV-2 es de $(1.2 \pm 0.5) \times 10^{-3}$ mutaciones acumuladas por nucleótido y año, un valor comparable al calculado para otros virus RNA*
- *Hemos propuesto que incluso una disminución de 15 veces en la tasa de error, no alteraría de modo sustancial el comportamiento epidemiológico del virus (Domingo E. et al. Viruses, 2021)*
- *Los espectros de mutantes de SARS-CoV-2 se caracterizan por mutaciones distintas a baja frecuencia y un elevado número de deleciones*
- *Cuestiones importantes acerca de la COVID-19 son si surgirán nuevos variantes resistentes a las vacunas y la naturaleza y duración de secuelas después de la infección*

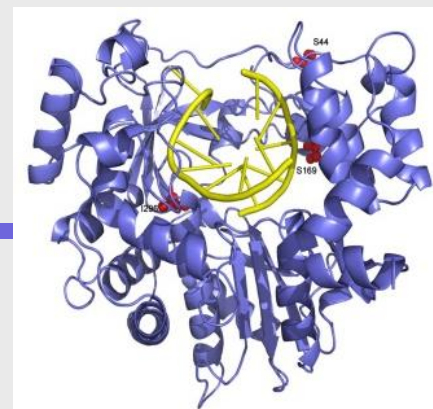
Conclusiones

- *Los virus RNA mutan con alta frecuencia dando lugar a poblaciones complejas y dinámicas que se denominan cuasiespecies víricas*
- *La evolución de los virus RNA tiene lugar por sustitución de unas subpoblaciones de mutantes por otras, según dicten las condiciones ambientales, con perturbaciones asociadas a cuellos de botella*
- *Muchos virus también varían mediante recombinación, lo que facilita saltos evolutivos no accesibles mediante mutación*
- *Combatir la capacidad adaptativa de las cuasiespecies víricas es uno de los principales desafíos que tiene la prevención y tratamiento de las enfermedades asociadas a virus RNA*
- *El SARS-CoV-2 muestra dinámica de cuasiespecies cuyas consecuencias para la COVID-19 y su control deben investigarse*



*Carlos Briones
Jordi Gómez*

*Nuria Verdaguer
Cristina Ferrer-Orta*



Celia Perales, Ana Isabel de Ávila, Isabel Gallego

*Carlos García-Crespo
María Eugenia Soria
Brenda Martínez-González
Lucia Vázquez-Sirvent
Pilar Somovilla
Toni Durán*

*Carmen Ayuso
Ignacio Gadea
Soledad Delgado
Federico Morán
Cecilio López-Galíndez*

*Pablo Mínguez
Carlos Llorens
Beatriz Soriano
Ricardo Ramos*

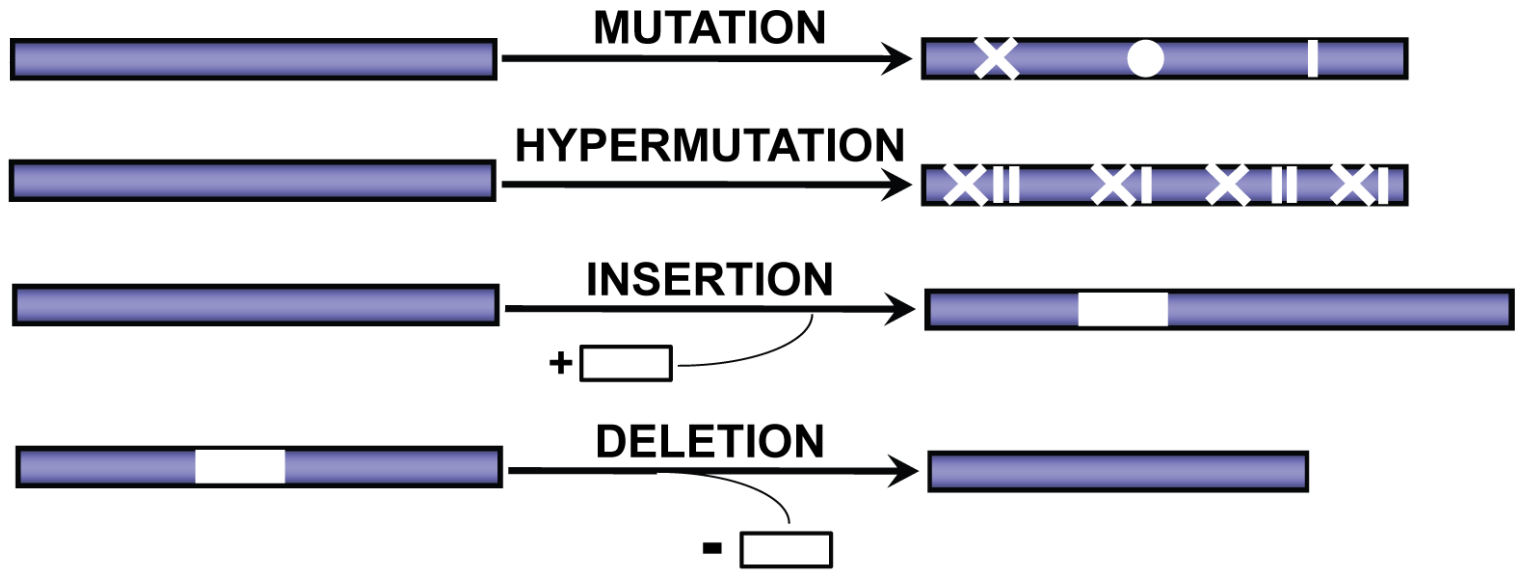
MUTATION

TRANSITIONS

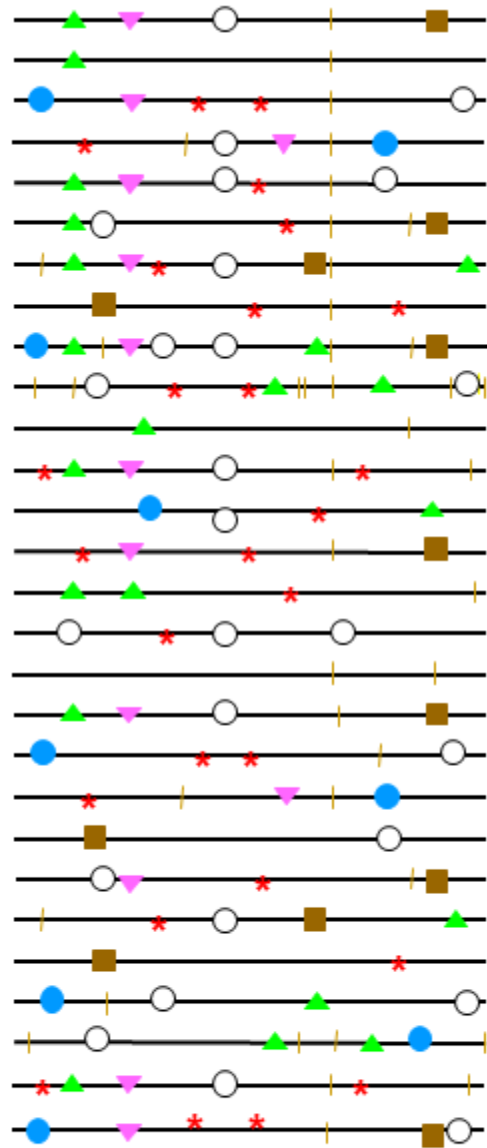
A → G G → A U (T) → C C → U (T)

TRANSVERSIONS

A → U (T) G → U (T) A → C G → C
U (T) → A U (T) → G C → A C → G



- *La evolución de la vida sobre la tierra ha sido posible gracias a la mutación y otras formas de variación genómica. Sin ellas no existiríamos*
- *Se piensa que la elevada mutabilidad de los virus es una reliquia de formas de vida ancestrales, presentes antes de la existencia de las primeras células*
- *El término “cuasiespecies” se refiere a la composición en espectros de mutantes de los genomas primitivos, que se observa en los virus actuales*
- *Ello incluye los virus patógenos estudiados hasta ahora: los causantes del SIDA, hepatitis, gripe o de la Covid-19*



Partial resistance to inhibitors, antibodies, CTLs

Cyclic adaptations

Molecular memory

Altered cell tropism or host range (receptor recognition, other)

Switch between acute and persistent infection

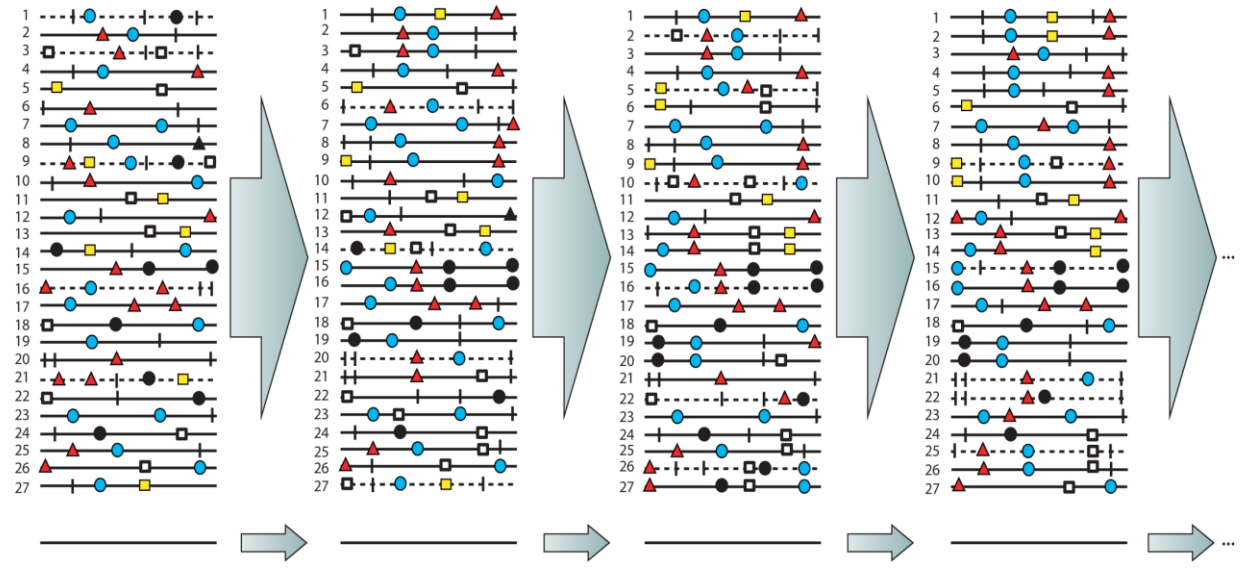
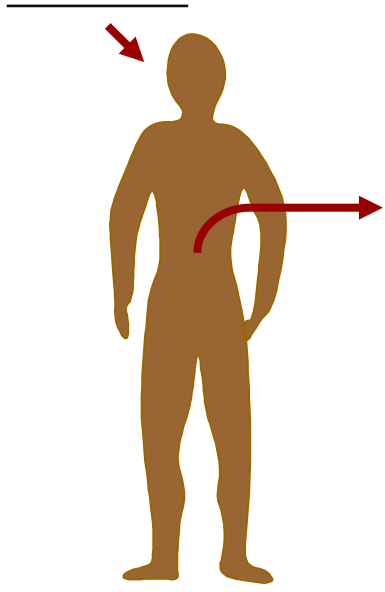
Altered IFN induction or sensitivity

Altered capsid stability, pH sensitivity

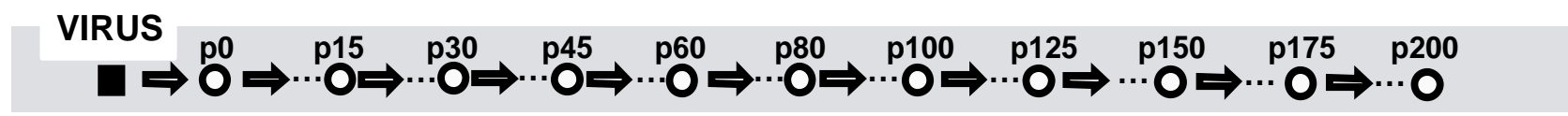
Altered virulence



Virus



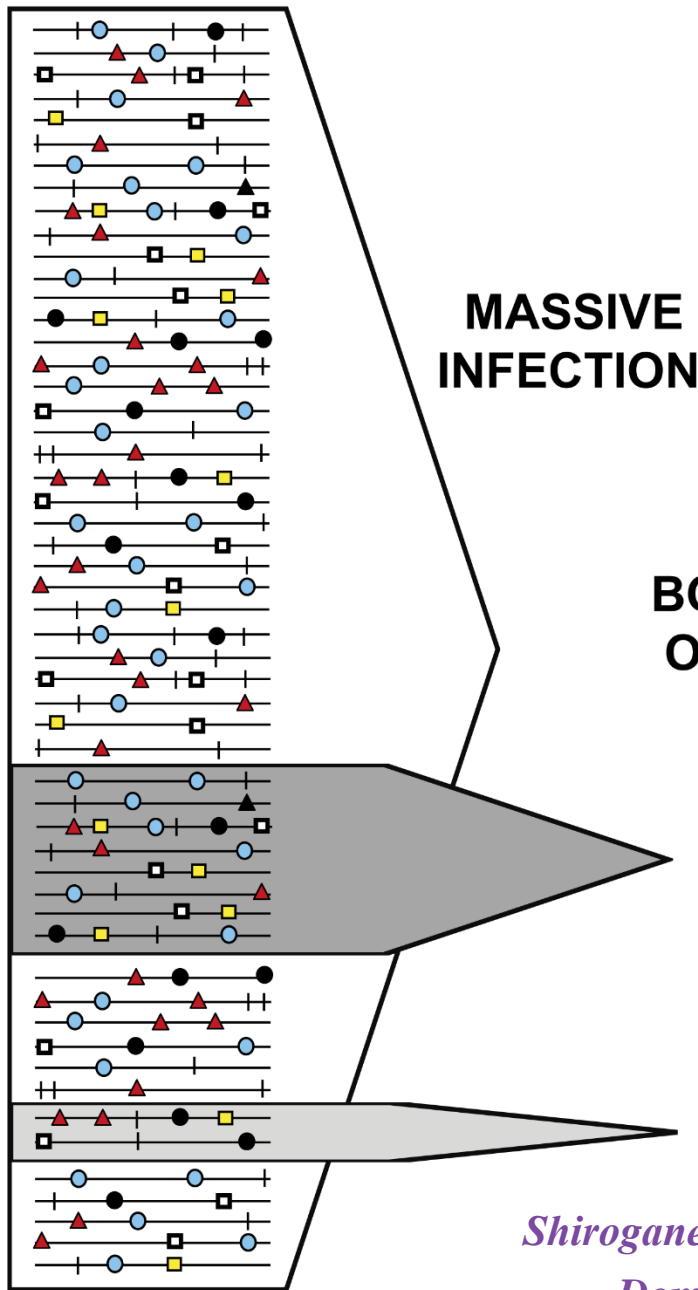
Fitness gain



Basis of quasispecies dynamics of RNA viruses

- *High mutation rates*
 10^{-3} to 10^{-5} subst./nt
~ 10^6 -fold higher than for cellular DNA
- *Rapid genome replication and high virus turnover in infected hosts*
- *Principles of Darwinian evolution*
Reproduction with genetic variation
Competition
Selection
- *Intra-population interactions: complementation and interference*
- *Bottleneck events*

Extensions:
Cellular communities (tumor cells, eukaryotic parasites, bacteria) and prions

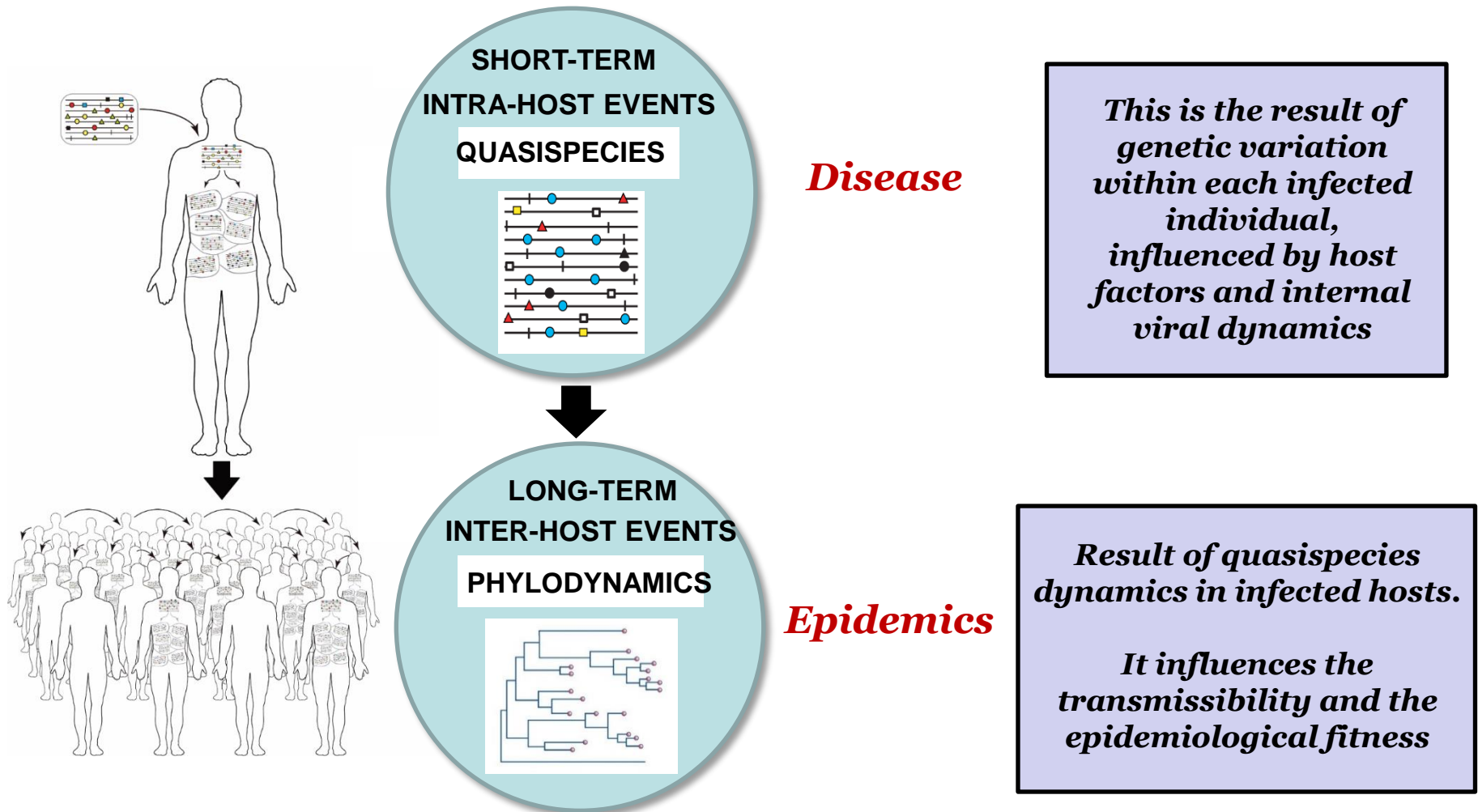


Individual genomes from the same mutant swarm may interact (often through their expression products) and give rise to positive interactions (complementation) or negative interactions (interference)

Bottlenecks may relieve interactions and promote genetic drift

Shirogane Y et al. Curr Top Microbiol Immunol 392: 219-229, 2016
Domingo, E., Perales, C., PLoS Genet. 15(10):e1008271, 2019

Two phases in viral evolution



Geoghegan J.L. and Holmes E.C. Genetics 210: 1151–1162, 2018

Domingo, E. et al. Infection Genetics and Evolution, 82:104278, 2020

Major influences

QUASISPECIES

Founder genome, host individual (alleles of susceptibility and response genes), virus genome variation, competition, selection

Intra-mutant spectrum interactions: cooperation, complementation, interference

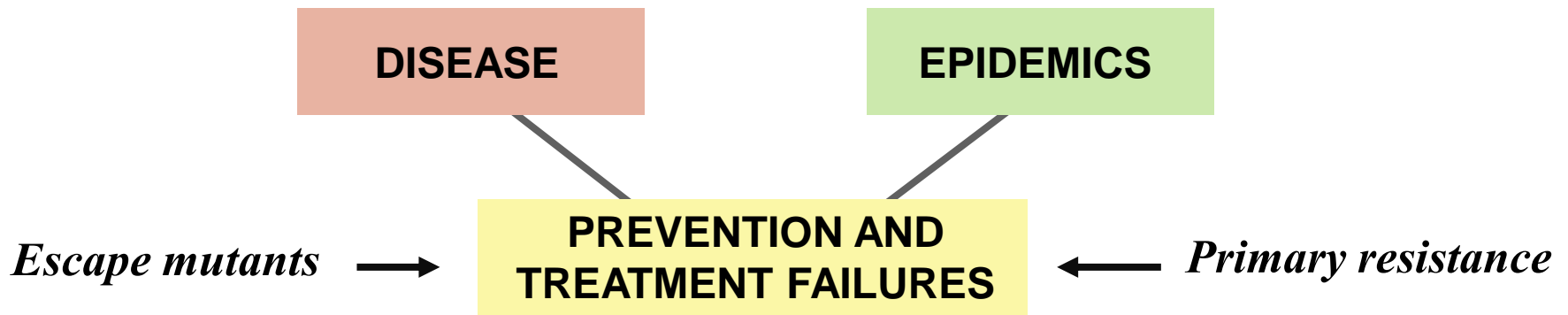
Intra-host bottlenecks

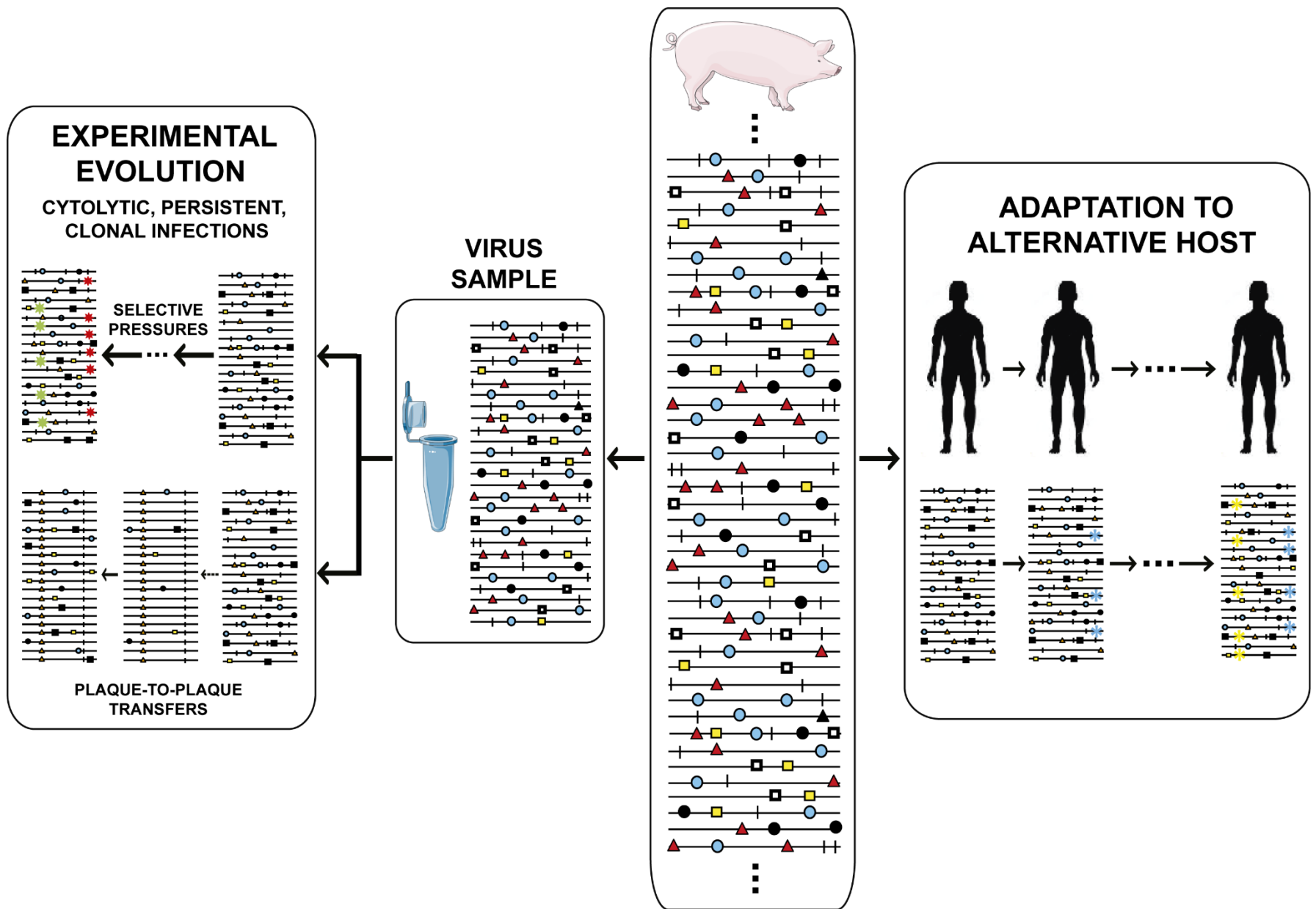
PHYLODYNAMICS

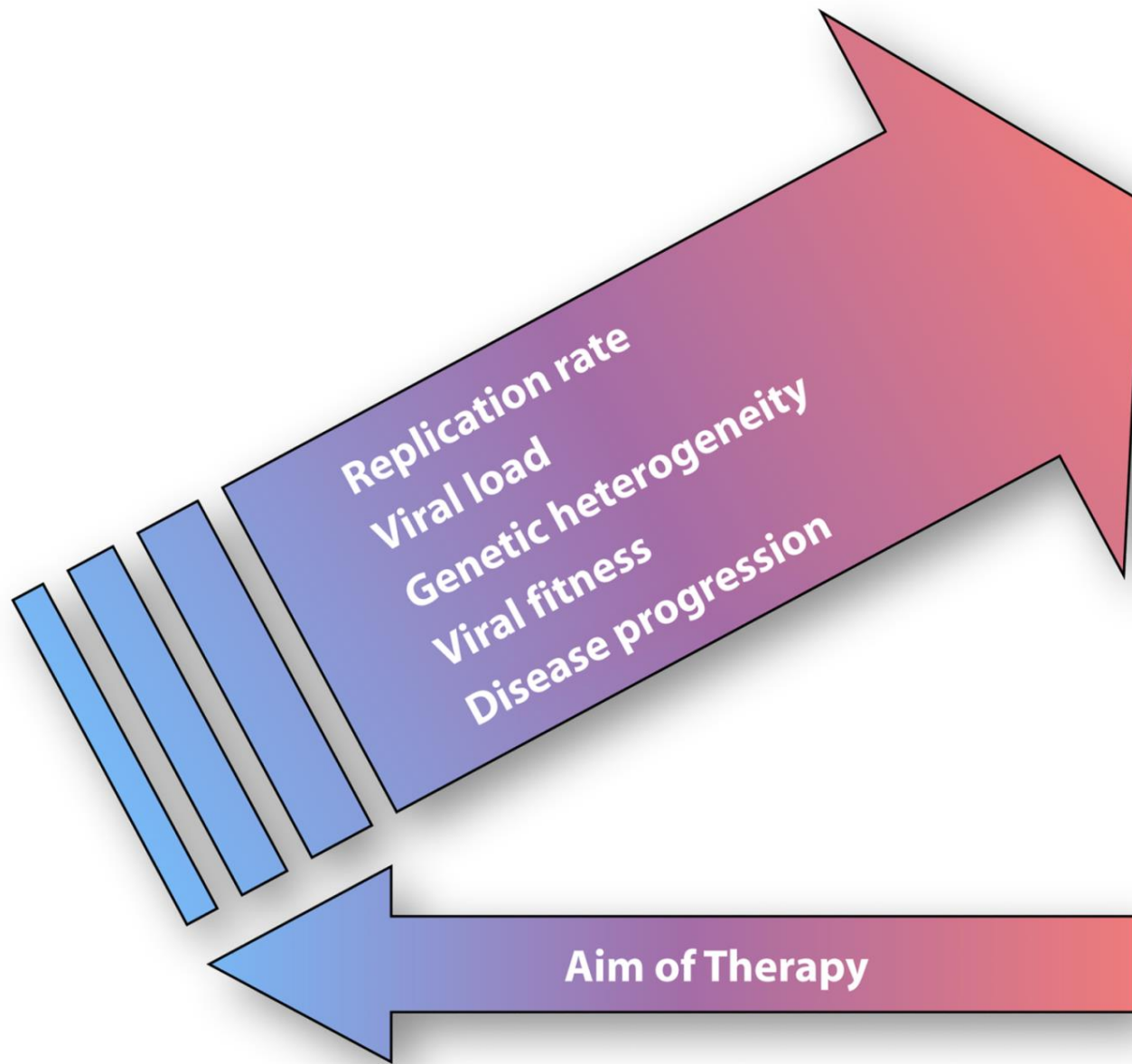
Result of quasispecies dynamics in infected hosts

Transmissibility, and random sampling in transmission

Several host and environmental influences: epidemiological fitness

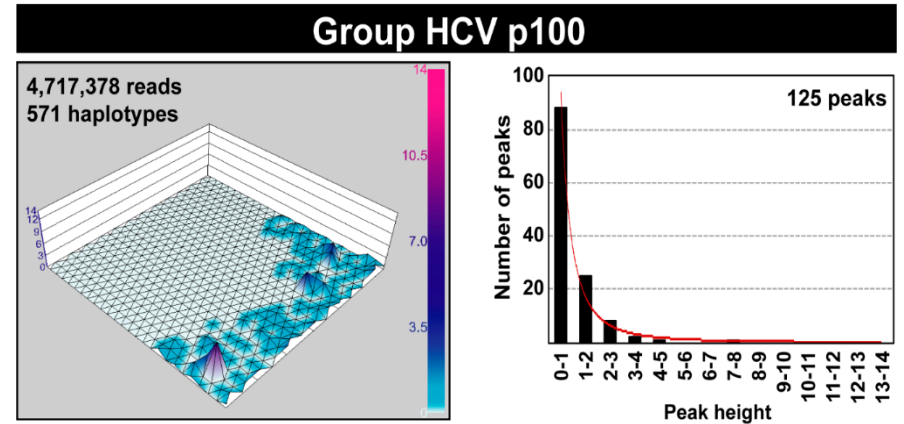
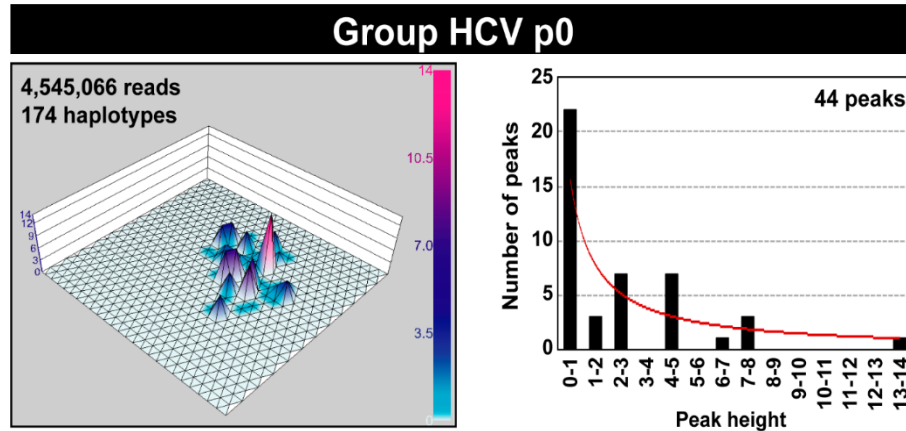




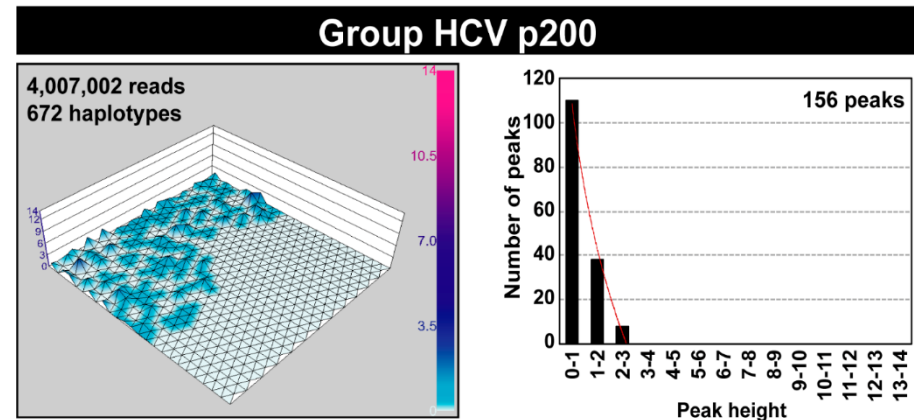


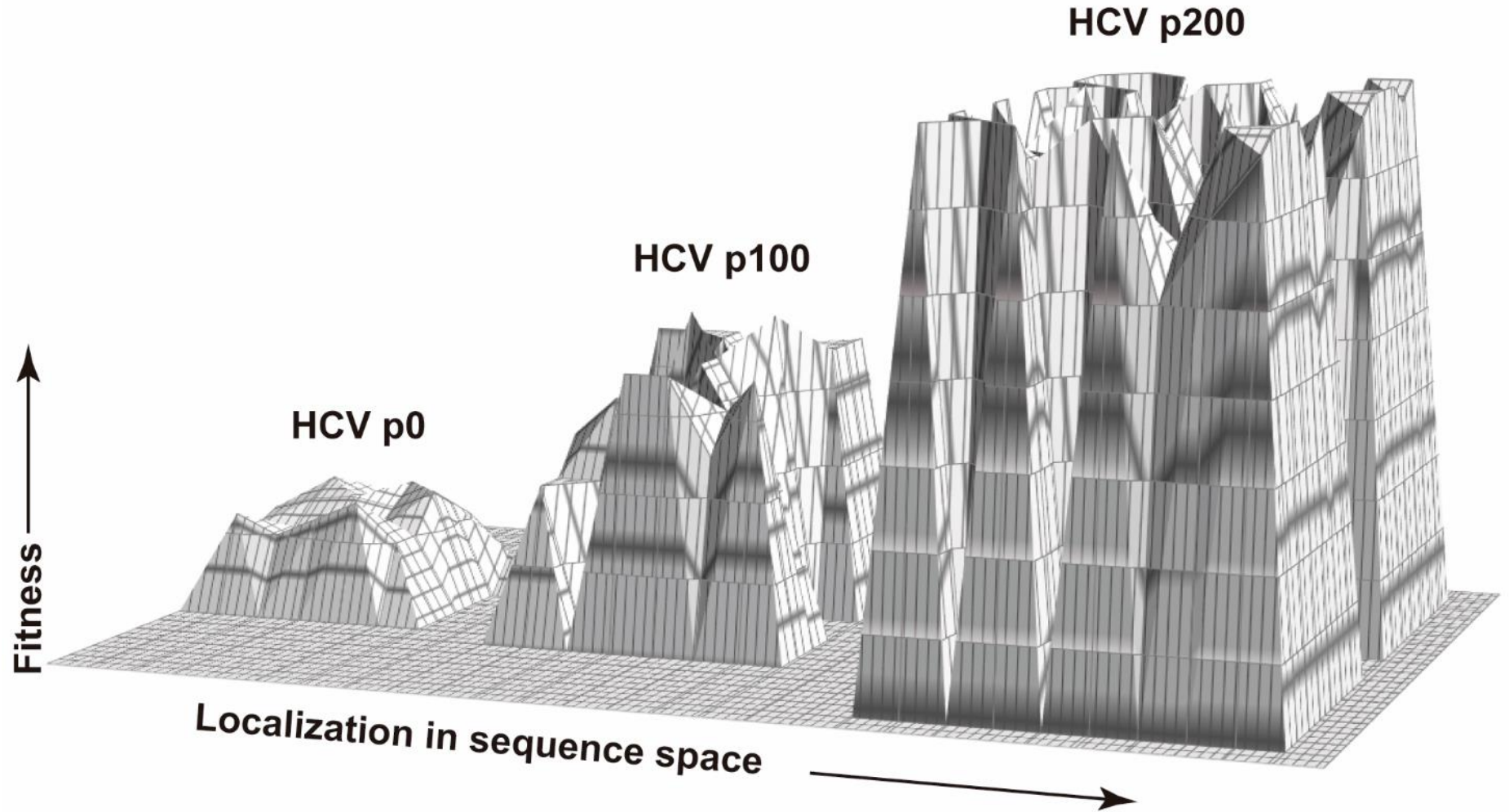
Domingo, E., Sheldon, J., Perales, C., MMBR, 2012

Aplicación de mapas auto-organizados (SOMs) a haplotipos de HCV



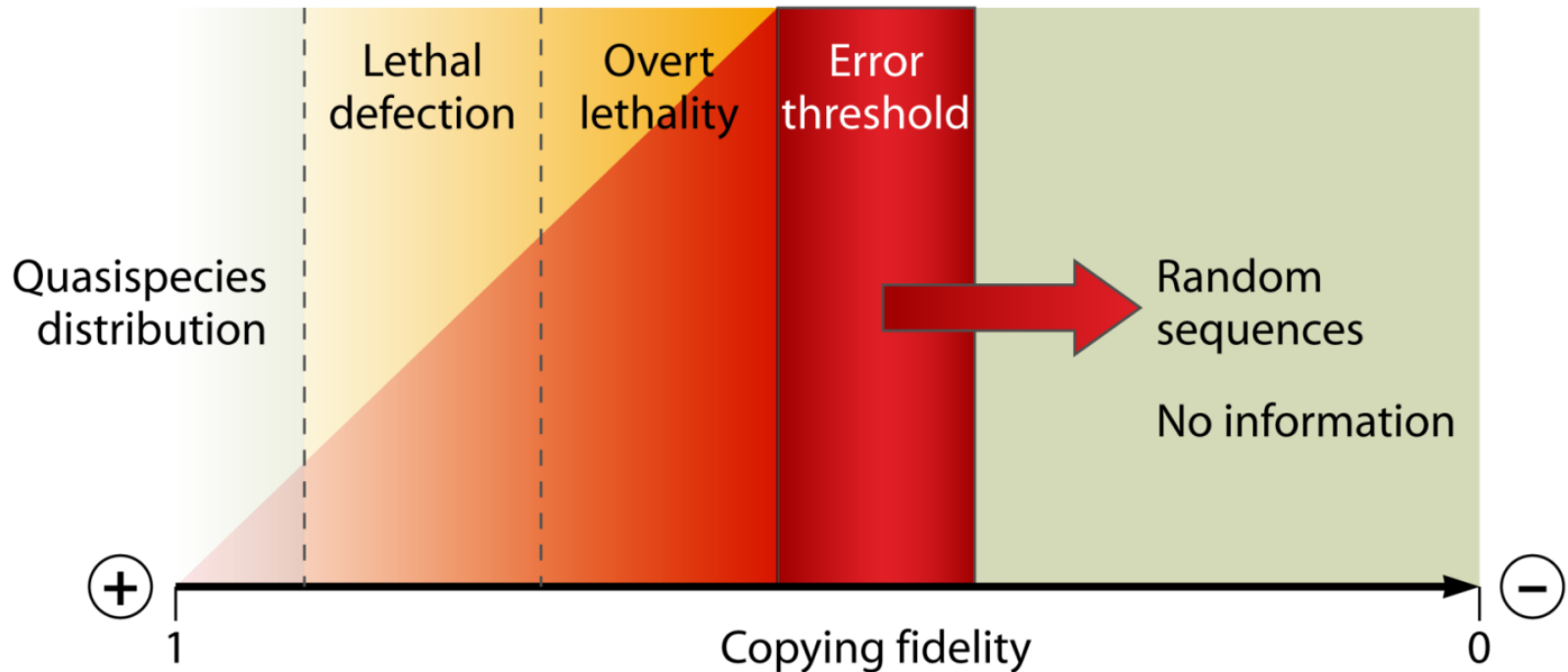
Los mapas SOM permiten inferir los paisajes de fitness que dibujan los componentes de un espectro de mutantes. En este caso se documenta la dinámica de HCV cuando se multiplica un cultivos celulares (Huh 7.5) sin presiones selectivas externas





Domingo, E. et al. Infection Genetics and Evolution 82:104278, 2020

Lethal mutagenesis of viruses produced by nucleotide analogues



Error threshold: maximum mutation rate at which the dominant (master) sequence can stabilize the mutant ensemble

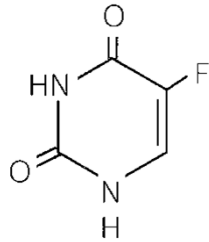
Lethal mutagenesis: loss of infectivity due to an excess of mutations

Loeb, L.A., Nat. Rev. Cancer 11: 450-457, 2011

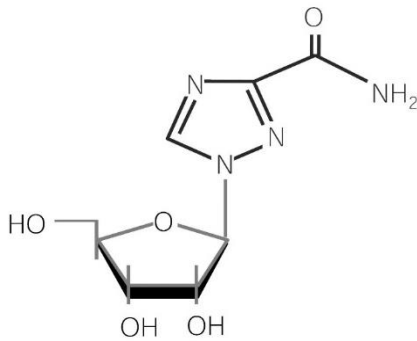
Perales et al Future Medicinal Chemistry 11(13): 1645-1657, 2019

Base pairing behavior of nucleotide analogues

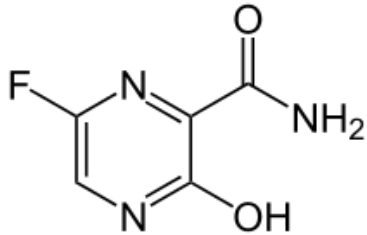
5-Fluorouracil



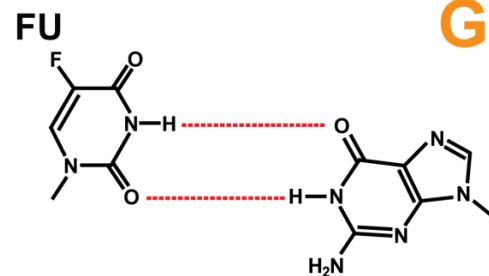
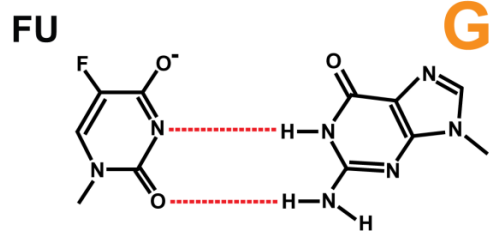
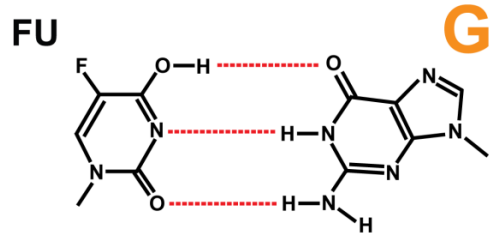
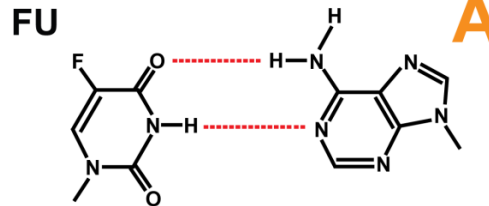
Ribavirin



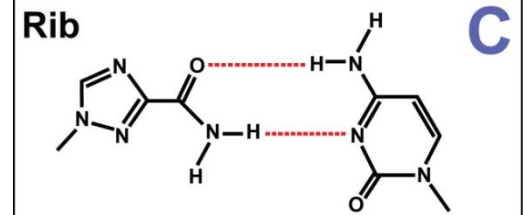
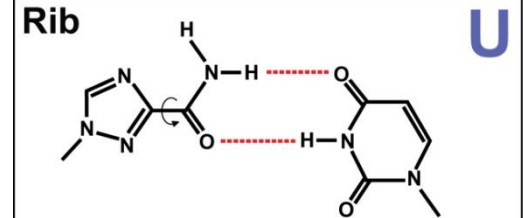
Favipiravir



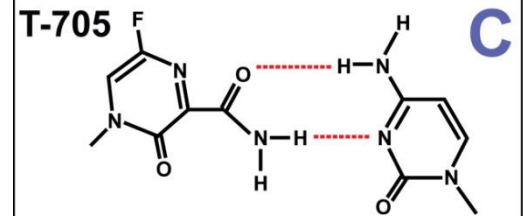
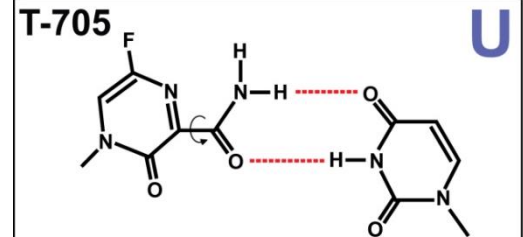
5-FLUOROURACIL



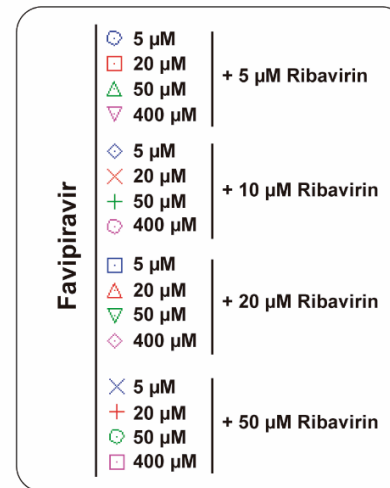
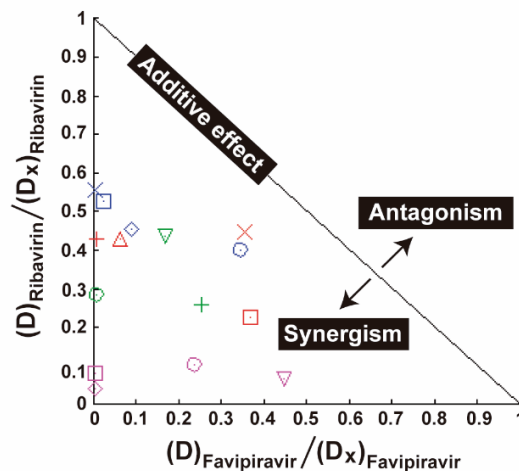
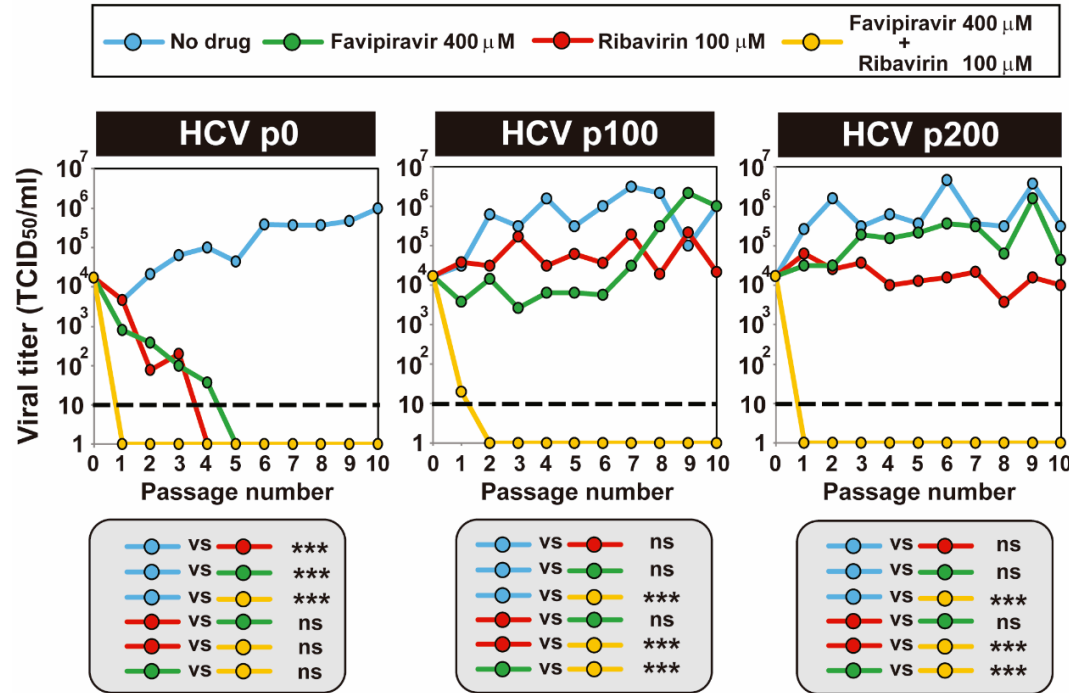
RIBAVIRIN



T-705, FAVIPRAVIR



Synergy between favipiravir and ribavirin



Knowns and unknowns regarding SARS-CoV-2 variation

- *Mutant spectra of SARS-CoV-2 are present in COVID-19 patients, and they exhibit organ compartmentalization. The virus has an active Exo N domain in protein nsp14, but it is not known whether it reduces the mutation rate of the virus and to what extent. If the activity were similar to that of the coronavirus murine hepatitis virus (MHV), the error rate reduction due to Exo N would be 15-fold*
- *The rate of evolution of SARS-CoV-2 at the peak of the pandemic was $(1.2 \pm 0.5) \times 10^{-3}$ mutations accumulated per site and year (average of ten studies). This value is comparable to those reported for other RNA viruses*
- *We have proposed that even a 15-fold difference in mutation rate would not alter substantially the epidemiological behavior of the virus (Viruses, submitted)*
- *A salient feature of SARS-CoV-2, as compared with other RNA viruses, is the high frequency of deletions, probably reflecting high recombination rates typical of coronaviruses*
- *A big question is whether new variants will render current vaccines ineffective, as it happens with influenza virus, albeit through other mechanisms*
- *Infection sequels (also reported for HCV infections) raise the question: When is an infection really terminated?*