

Virología Física, Molecular y Computacional

Curso PEDECIBA - 2024

Laboratorio de Simulaciones Biomoleculares

Institut Pasteur de Montevideo

Docentes responsables: Claudia Ortega y Sergio Pantano

Docentes participantes (PEDECIBA): Lucianna Silva dos Santos, Natalia Olivero, Natalia Ramos y Martín Soñora.

Estudiantes de posgrado colaboradores: Antonella Alba, Federico Carrión, Andrés Camilo Ballesteros, Florencia Fadel.

Docentes invitados:

Mauricio Comas-García, Universidad de San Luis Potosí, México. Experto en la producción de VLPs en diferentes sistemas y aplicaciones biotecnológicas. Contribuirá a la organización global y ofrecerá una charla científica y conferencias prácticas/teóricas.

Juan Perilla, Universidad de Delaware, EE. UU. Experto en simulaciones de virus completos. Contribuirá a la organización global y ofrecerá una charla científica y conferencias teóricas/prácticas.

Daniel Luque, Instituto de Salud Carlos III (España), virólogo. Experto en virología estructural y microscopía crioelectrónica. Ofrecerá una charla científica y conferencias teóricas/prácticas.

Leandro Martínez, Universidad de Campinas, Brasil. Experto en biología computacional. Desarrollador de PackMol, uno de los paquetes de software más utilizados para construir grandes ensamblajes macromoleculares como virus. Ofrecerá una charla científica y conferencias teóricas/prácticas.

Simón Poblete, Universidad Austral, Chile. Experto en biología computacional, modelos de grano grueso y empaquetamiento de virus. Ofrecerá una charla científica y conferencias teóricas/prácticas.

Alessandro Marcello, ICGEB, Trieste, Italia. Experto en virología molecular. Contribuirá a la organización global y ofrecerá charlas científicas y conferencias teóricas.

Objetivos:

Este curso está dirigido principalmente a estudiantes de posgrado del PEDECIBA de áreas afines como Biología, Maestría en Bioinformática, Física, Química, Matemática, a estudiantes avanzados de grado de todas las ramas de las ciencias naturales y exactas y a jóvenes investigadoras/es de campos como la Biología Computacional o las Ciencias de la Vida, de Uruguay y la región, con interés en el área de simulaciones biomoleculares y producción de partículas virales.

El objetivo principal del curso es exponer a los participantes a un amplio espectro de técnicas utilizadas para

avanzar en el conocimiento sobre la estabilidad e interacciones de los componentes virales. Buscamos cubrir una amplia gama de métodos, técnicas y aplicaciones para la virología molecular, física y computacional. Se hará especial énfasis en el estudio y producción de partículas similares a virus (VLP) y su potencial biotecnológico como vectores y candidatos a vacunas.

La parte práctica del curso estará dedicada a la producción de VLP de circovirus como un caso práctico de aplicación. La familia Circoviridae constituye la familia viral más pequeña que infecta a los mamíferos. Son virus de ADN de hebra sencilla con genomas circulares de entre 1.7 y 2 kb. Esta familia viral es de gran importancia porque es responsable de importantes pérdidas ganaderas e infecta a humanos en todo el mundo.

Desde el punto de vista estructural, la cápside del circovirus comprende 60 capsómeros dispuestos en una VLP con simetría icosaédrica con radios aproximados de 9 nm. Estas características estructurales brindan la oportunidad única de estudiar estos virus mediante métodos de laboratorio y simulaciones moleculares utilizando exactamente las mismas VLP en un período de tiempo de unos pocos días, lo que los hace adecuados para un curso de las características propuestas aquí.

Planeamos aprovechar esta característica para realizar dos actividades prácticas paralelas. Por un lado, los estudiantes orientados experimentalmente trabajarán en la producción y aislamiento de VLP. Por otro lado, los estudiantes computacionales aprenderán cómo construir y ejecutar simulaciones de dinámica molecular en las mismas VLP utilizando métodos de simulación multiescala eficientes desarrollados en el grupo de Simulaciones Biomoleculares del Institut Pasteur de Montevideo.

Queremos impulsar el interés científico en virología aplicada/física en el país y en la región de América Latina (como ha sido el caso en EE.UU. y Europa durante los últimos 20 años) mediante la difusión de técnicas experimentales y computacionales de vanguardia. En cuanto a los métodos computacionales, hay muy pocos grupos en nuestra región trabajando en simulaciones de virus completos, a pesar del crecimiento constante de la potencia informática y la disponibilidad actual de métodos computacionalmente eficientes, algunos de ellos incluso desarrollados por colegas latinoamericanos. Además, en nuestra experiencia, hay una desconexión entre los "mundos" in silico y experimental con intereses superpuestos pero que hablan diferentes idiomas. Por lo tanto, iniciar una comunidad de virología física dentro del país y la región que tenga objetivos científicos e intereses comunes es crucial. Esto permitirá en el futuro cercano expandir no solo la red sino también las áreas de interés.

Estamos convencidos de que este curso tiene el potencial de impulsar efectivamente el desarrollo de la virología molecular, física, aplicada y computacional y sembrar interacciones regionales entre grupos con intereses similares y experiencia complementaria. Esto ayudará a aumentar la efectividad de los escasos recursos disponibles para los grupos de investigación locales.

El curso combina clases teóricas y prácticas con los siguientes objetivos:

- Entender los conceptos fundamentales de las distintas aproximaciones así como su aplicación a la investigación básica y aplicada.
- Adquirir experiencia en el uso de herramientas computacionales de ensamblado y simulación de VLPs en el campo de las simulaciones biomoleculares y sus posibles aplicaciones.
- Adquirir experiencia en el uso de herramientas moleculares para el ensamblado de VLPs en el laboratorio y sus aplicaciones biotecnológicas.
- Desarrollar una experiencia práctica en uso de herramientas para el análisis e integración de datos tanto desde fuentes teóricas como experimentales.

Al finalizar el curso, las/os participantes habrán adquirido habilidades teóricas y prácticas, a través de aproximaciones y herramientas tanto computacionales como experimentales, para el ensamblado de sistemas biológicos complejos como las VLPs. Asimismo, las/os participantes adquirirán conceptos claves para la correcta ejecución de flujos de trabajos tanto en simulaciones de dinámicas moleculares como en biología experimental.

Conocimientos previos exigidos:

Para aquellos estudiantes con un perfil bioinformático y que tomen la actividad práctica computacional, se les solicitará conocimientos básicos en línea de comandos linux y bash. Nociones generales de bioinformática. Conocimientos de programación en algún lenguaje (python, R, etc).

Para aquellos estudiantes con un perfil experimentalista y que tomen la actividad práctica experimental, se les solicitará conocimientos básicos de bioquímica, biofísica, biología celular y molecular.

A todos los estudiantes se les solicitará conocimientos elementales sobre estadística como los cubiertos en los cursos generales de las Licenciaturas en Biología o Bioquímica de la Facultad de Ciencias, Udelar.

Conocimientos previos recomendados:

Nociones de Virología Molecular, Biología Molecular y Celular, Bash, Programación en R y/o Python. Fundamentos básicos de estadística. Nociones generales sobre simulaciones de dinámica molecular.

Metodología de enseñanza:

Presencial, clases teóricas y prácticas (Módulo Computacional y Módulo Experimental).

Las clases teóricas consistirán en presentaciones a cargo de los docentes responsables. Las clases prácticas serán divididas en dos módulos. En el Módulo Computacional se trabajará en la sala de informática del Instituto Pasteur de Montevideo utilizando equipos preparados especialmente para el curso. En el Módulo Experimental se trabajará en la sala de cursos Prácticos del mismo instituto.

Además se brindarán clases teóricas que estarán registradas en la nube, cuyos contenidos serán obligatorios. Para aumentar la interactividad, el equipo docente realizará 3 instancias de consulta respecto a los contenidos registrados. Estas instancias se realizarán con anterioridad a las clases presenciales a impartirse desde el 27 de Octubre.

Asistencia:

Asistencia obligatoria al 80% de las clases teóricas y prácticas.

Forma de evaluación:

Se realizará una evaluación escrita durante la semana del 11 al 15 de noviembre en fecha a acordar con los estudiantes. La evaluación incluirá todos los contenidos del curso, entre los que se cuentan los conceptos introductorios que estarán disponibles en la nube.

Programa:

Módulo 1: Conocimientos previos básicos disponibles en la nube (20 horas)

Pondremos a disposición sesiones y tutoriales grabados que cubran elementos básicos de biología estructural orientados hacia conceptos de virología y nociones básicas sobre visualización/modelado/edición molecular, simulaciones y análisis computacionales de estructuras. Esto proporcionará a los participantes un nivel básico necesario para seguir los contenidos del curso.

1. BASH/LINUX (3 horas)

Introducción a BASH/LINUX (1.5 h)

Fundamentos de navegación y manipulación de archivos en la línea de comandos (1.5 h)

2. Dinámica Molecular (MD) (6 horas)

Conferencista invitado Adrián Roitberg (Introducción a MD 1 h)

Conferencista invitada Jodi Hadden-Perilla (MD en sistemas virales (1 h))

Selección y curado de archivos (equipo docente (1 h))

Configuración de simulaciones de MD (equipo docente (1 h))

Ejecución de simulaciones de MD (equipo docente (1 h))

Análisis de resultados de simulaciones de MD (equipo docente (1 h))

3. Visualización Molecular (2 hs)

Introducción a la visualización molecular (equipo docente)

Herramientas de software: VMD y Grace (equipo docente)

Ejercicios prácticos (equipo docente)

4. Conferencias de invitados (9 hs)

Introducción a MD por el Prof. Adrián Roitberg, Univ. Florida USA (1h)

Introducción a simulaciones de MD de partículas virales por la Prof. Jodi Hadden, Univ. Delaware USA (1h)

Visión general de CG por la Dra. Lucianna Silva, Institut Pasteur de Montevideo (1h)

Introducción a SIRAH y Simulación Multiescala de Virus por el Prof. S. Pantano, Institut Pasteur de Montevideo (1h)

Visión general de Biología Estructural por el Prof. Luque (1h)

Visión general de Rayos X y Criomicroscopía Electrónica por el Prof. Daniel Luque (1h)

Virología Estructural por la Prof. Adriana Delfraro (1h)

Virología Molecular por el Prof. J. Cristina (1h)

Flavivirus y Virus Emergentes por el Prof. A. Marcello (1h)

Módulo 2: Taller (27 al 30 de octubre) (10 hs)

Conferencias de profesores invitados que cubren varios temas relacionados con la virología física y computacional. El equipo docente ofrecerá charlas científicas sobre su investigación actual para ilustrar las capacidades de los métodos. Todos los estudiantes tendrán un espacio de 5 minutos para presentarse, compartir sus intereses y expectativas para el curso. Además de la utilidad formativa de las presentaciones orales, esto maximizará las interacciones, ayudando a identificar colegas con experiencia/intereses similares o complementarios.

A. Marcello (1 h)

J. Perilla (1 h)

M. Comas-García (1 h)

S. Poblete (1 h)

D. Luque (1 h)

L. Martínez (1 h)

L. Silva (1 h)

M. Soñora (1 h)

N. Olivero (1 h)

N. Ramos (1 h)

Módulo 3: Clases Teóricas (Preparatorias para Sesiones Prácticas)

(31 de octubre, 1 de noviembre) (10 hs)

Clases teóricas a niveles experimental y computacional. Esperamos que todos los participantes sigan tanto los módulos teóricos como los experimentales para ayudarles a comprender las dificultades, capacidades y limitaciones de los experimentos y simulaciones.

Sesiones teóricas preparatorias para las sesiones prácticas en la próxima semana:

Simulaciones de MD: Ideas del equipo de Amber, dirigido por Adrian Roitberg (1 h)

Simulaciones de MD: Consejos y trucos por Juan Perilla (1 h)

Simulaciones Grano Grueso (CG): Campo de Fuerzas SIRAH y tutoriales de herramientas por miembros del Grupo de Pantano. (1 h)

Simulaciones Grano Grueso (CG): Campo de Fuerzas SIRAH y tutoriales de herramientas por miembros del Grupo de Pantano. (1 h)

Técnicas experimentales por Natalia Olivero (1 h)

Técnicas experimentales por Federico Carrion (1 h)

Técnicas de producción de VLPs por Mauricio Comas-García (1 h)

Visión general de técnicas experimentales por Claudia Ortega (2 h)

Módulo 4: Sesiones Prácticas (44 hs)

(Dividir a los estudiantes en dos grupos: Experimental y Computacional) (31 de octubre a 8 de noviembre)

Sesiones Experimentales: Experimentos de laboratorio prácticos que cubren técnicas experimentales en producción de VLP y virología. El grupo experimental abordará la construcción de VLPs utilizando células bacterianas *E. coli* y/o células mamíferas Expi293F. Utilizaremos técnicas básicas pero valiosas para caracterizar las propiedades bioquímicas y biofísicas de las VLP producidas (TEM, DLS, nanotemperatura, ELISA).

Sesiones Computacionales: Ejercicios prácticos centrados en métodos computacionales en virología computacional, incluida la configuración de sistemas VLP, simulaciones de MD de VLP y análisis de datos. El grupo computacional utilizará estructuras 3D depositadas en bases de datos públicas para construir y ejecutar simulaciones de dinámica molecular que agregarán una dimensión estructural y dinámica a la caracterización bioquímica/biofísica.

Finalmente, asignaremos 2 talleres de discusión de 2 horas cada uno después de las sesiones prácticas para una mesa redonda con todos los participantes.

Bibliografía:

Klein F, Soñora M, Helene Santos L, et al. The SIRAH force field: A suite for simulations of complex biological systems at the coarse-grained and multiscale levels. *J Struct Biol.* 2023;215(3):107985. doi:10.1016/j.jsb.2023.107985

Machado MR, Zeida A, Darré L, Pantano S. From quantum to subcellular scales: multi-scale simulation approaches and the SIRAH force field. *Interface Focus.* 2019;9(3):20180085. doi:10.1098/rsfs.2018.0085

Soñora M, Martínez L, Pantano S, Machado MR. Wrapping Up Viruses at Multiscale Resolution: Optimizing PACKMOL and SIRAH Execution for Simulating the Zika Virus. *J Chem Inf Model.* 2021;61(1):408-422. doi:10.1021/acs.jcim.0c01205

Gres AT, Kirby KA, McFadden WM, Du H, Liu D, Xu C, Bryer AJ, Perilla JR, Shi J, Aiken C, Fu X, Zhang P, Francis AC, Melikyan GB, Sarafianos SG. Multidisciplinary studies with mutated HIV-1 capsid proteins reveal structural mechanisms of lattice stabilization. *Nat Commun.* 2023;14(1):5614. doi: 10.1038/s41467-023-41197-7

Nath BK, Das S, Roby JA, Sarker S, Luque D, Raidal SR, Forwood JK. Structural Perspectives of Beak and Feather Disease Virus and Porcine Circovirus Proteins. *Viral Immunol.* 2021 Jan- Feb;34(1):49-59. doi: 10.1089/vim.2020.0097.

Colunga-Saucedo M, Rubio-Hernandez EI, Coronado-Ipiña MA, Rosales-Mendoza S, Castillo CG, Comas-Garcia M. Construction of a Chikungunya Virus, Replicon, and Helper Plasmids for Transfection of Mammalian Cells. *Viruses.* 2022 Dec 31;15(1):132. doi: 10.3390/v15010132.

Comas-Garcia M, Colunga-Saucedo M, Rosales-Mendoza S. The Role of Virus-Like Particles in Medical Biotechnology. *Mol Pharm.* 2020 Dec 7;17(12):4407-4420. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00828.

Khayat R, Wen K, Alimova A, Gavrilov B, Katz A, Galarza JM, Gottlieb P. Structural characterization of the PCV2d virus-like particle at 3.3 Å resolution reveals differences to PCV2a and PCV2b capsids, a tetranucleotide, and an N-terminus near the icosahedral 3-fold axes. *Virology.* 2019 Nov;537:186-197. doi: 10.1016/j.virol.2019.09.001.

Fecha de inicio y finalización:

Inicio: domingo 27 de octubre de 2024.

Finalización: viernes 8 de noviembre de 2024.

Los estudiantes contarán con material disponible en la nube sobre el cual podrán realizar consultas en instancias previas a las clases presenciales. En este sentido, las clases virtuales se cuentan como parte

integrante del curso para su creditización.

Institución, Salón y Horario:

Institut Pasteur de Montevideo, Salón de Actos, Sala de Informática y Sala de Laboratorios Prácticos.

.
