

Comentarios de Artículos

Virus de plantas

COORDINADOR:

Ricardo Flores

rfloros@ibmcp.upv.es

Mecanismo de transmisión transovárica de un virus de plantas en su insecto vector

Elvira Fiallo-Olivé

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y
Mediterránea "La Mayora" (IHSM-UMA-CSIC)
Algarrobo-Costa, Málaga.

Los begomovirus (género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*) son virus de plantas cuyo genoma está constituido por DNA circular de simple cadena y son transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Este insecto es capaz de alimentarse de más de 1000 especies de plantas pertenecientes a más de 100 familias botánicas, lo que ha contribuido a la diseminación de los begomovirus por todo el mundo, causando multitud de enfermedades destructivas para cultivos tan importantes como el tomate, la judía, el algodón o la yuca.

La posible transmisión de los begomovirus por las hembras de *B. tabaci* a su descendencia ha sido una cuestión controvertida, sin evidencias sólidas que apoyen o refuten esta hipótesis. En el trabajo publicado recientemente, Wei *et al.* confirman la transmisión transovárica del begomovirus *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV, el denominado virus de la cuchara del tomate, en España) y proporcionan claves para comprender los mecanismos implicados en este proceso.

Por una parte, la entrada del TYLCV en los órganos reproductivos de su insecto vector depende del estado de desarrollo del ovario, y la transmisión transovárica a la descendencia se incrementa con la edad de las hembras. Además, estos autores han mostrado que la interacción entre la proteína de la cápsida (CP) del virus y la vitelogenina (Vg) del insecto es necesaria para la entrada del virus en el ovario. Cuando se inhibe la expresión de Vg mediante RNAi, la entrada del TYLCV en el ovario se inhibe y la eficiencia de la transmisión disminuye. Por el contrario, la CP de otro begomovirus, *papaya leaf curl China virus*, no interacciona con la Vg y el virus no se transmite transováricamente a la descendencia. Por otra parte, los autores encontraron que el TYLCV se mantiene en el insecto durante al menos dos generaciones en ausencia de plantas infectadas por el virus y la progenie adulta fue capaz de infectar plantas sanas tanto en condiciones de laboratorio como de campo.

En resumen, este estudio presenta por primera vez un modelo que describe el mecanismo implicado en la transmisión transovárica de un begomovirus en su insecto vector. La confirmación de este fenómeno puede explicar la rápida diseminación global del TYLCV y abre nuevas perspectivas para el desarrollo de estrategias de control basadas en el bloqueo de la transmisión transovárica.



ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

■ Wei, J. *et al.* (2017).
"Vector development and vitellogenin determine the transovarial transmission of begomoviruses". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**:
6746-6751.

La primera caracterización funcional de una desmetilasa de N⁶-metiladenosina (m⁶A) en plantas muestra su implicación en defensa frente a infecciones virales

José Antonio Navarro Bohigues

Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP)
Valencia

En los últimos años, la epitranscriptómica ha surgido como una nueva "ómica" que se ha sumado de pleno derecho a la "revolución epigenética" que vivimos actualmente. Sin embargo, el conocimiento de la existencia de una "quinta base" en la composición del RNA no es algo reciente. La N⁶-metiladenosina (m⁶A) fue identificada hace ya más de cuatro décadas, pero no fue hasta 2011 cuando, gracias al desarrollo de las nuevas técnicas

Virus de plantas

analíticas de mapeo, se despertó el interés de la comunidad científica por ella. Fue el momento en el que se identificaron más de 12000 sitios de metilación no aleatorios en cerca de 7000 RNA mensajeros (mRNA) y, además, se mostró la reversibilidad de esta modificación postranscripcional, premisa fundamental de todo proceso regulatorio. Desde entonces, muchos investigadores han confirmado que el dinamismo de la m⁶A contribuye en gran medida a la regulación de la expresión génica en muchos e importantes procesos fisiológicos. La presencia de m⁶A es capaz de alterar la estabilidad o estructura local del mRNA, provocando un cambio en su destino hacia un procesado diferencial, la traducción o la degradación. Al mismo tiempo, esta modificación ha irrumpido como un nuevo rasgo distintivo en algunas enfermedades y en las interacciones con los virus en humanos. Como si de un RNA celular se tratase, se ha mostrado que el genoma de algunos virus de gran relevancia epidemiológica puede ser sujeto de metilación. Curiosamente, su ciclo replicativo puede verse afectado positivamente, como en el virus del sida (HIV-1), o negativamente, como en los miembros de la familia *Flaviviridae*, virus de la hepatitis C (HCV) y del Zika (ZIKV).

Desde que en 2011 se caracterizase FTO, un factor asociado a la obesidad humana, como una desmetilasa, muchos de los copartícipes implicados en este proceso regulador han sido identificados en animales. Según su actividad, estos factores responden básicamente a tres tipologías: las metilasas, las desmetilasas y las denominadas proteínas “lectoras” que, como si de una máquina “Enigma” se tratase, escriben, borran o descifran, respectivamente, el código subyacente en el mRNA. Sin embargo, la identificación de la primera desmetilasa de plantas ha tardado más de seis años en aparecer. Una sección del grupo de investigación del profesor Vicente Pallás, encabezada por Mireya Martínez y el Dr. Frederic Aparicio, ha caracterizado funcionalmente la primera desmetilasa de RNA en plantas. La denominada AtALKBH9B de *Arabidopsis thaliana* ha resultado ser una ortóloga de ALKBH5, una desmetilasa de RNA de humanos. La proteína AtALKBH9B se identificó inicialmente en un rastreo de doble híbrido en levadura por su interacción con la proteína de cubierta (CP) del virus del mosaico de la alfalfa (AMV), un virus con un genoma tripartito de RNA que provoca graves pérdidas en alfalfa. La capacidad de unión al RNA y la eliminación de grupos metilo del RNA –dos condiciones *sine qua non* para considerar a la AtALKBH9B como una desmetilasa– se comprobaron mediante ensayos *Northwestern* con His-AtALKBH9B e incubación de GST-AtALKBH9B con un RNA sintético marcado con m⁶A, seguido de espectrofotometría de masas, respectivamente. Los autores proponen también que la AtALKBH9B funcionaría como un nuevo componente del sistema de control de calidad del mRNA. Esta idea vendría sugerida, en parte, por su localización subcelular en cuerpos de silenciamiento citoplasmáticos (siRNA *bodies*) y su asociación espacial a los cuerpos de procesamiento (P-*bodies*), ambos implicados en la represión de la traducción y degradación de mRNA.

Sin embargo, la segunda y definitiva prueba de la funcionalidad de la proteína AtALKBH9B como desmetilasa supone en sí misma una novedad que aporta, si cabe, más originalidad e interés a este trabajo. Los autores muestran, mediante inmunoprecipitación y MeRIPseq, que el genoma del AMV presenta hasta seis potenciales sitios de metilación distribuidos por sus tres RNA genómicos. Pero, curiosamente, los niveles de metilación vienen condicionados por la presencia/ausencia de AtALKBH9B y afectan a la eficacia viral. En el mutante nulo de *Arabidopsis* denominado *atalkbh9b*, el genoma viral presentó un mayor grado de metilación, mientras que el título viral disminuyó considerablemente y se inhibió el movimiento sistémico. Por tanto, como en el HCV y el ZIKV, el proceso regulatorio mediado por m⁶A podría representar una nueva faceta de la inmunidad innata de las plantas frente a los virus. En este contexto, la respuesta del AMV para escapar de este marcaje perjudicial sería subvertir la propia maquinaria celular. La interacción de la CP con la AtALKBH9 –que actuaría, por tanto, como un factor de susceptibilidad– podría representar una forma eficaz de dirigir la actividad desmetilasa celular hacia el genoma viral que, obviamente, debe estar vinculado a la CP en algún momento del ciclo replicativo.

Este trabajo, junto con las publicaciones recientes del grupo de Guifang Jia sobre ALKBH10B, una desmetilasa de RNA relacionada con la transición floral de *Arabidopsis*, y ECT2, una “lectora” implicada en la morfología del tricoma, han supuesto un impulso considerable en el conocimiento de este fenómeno epigenético en plantas, cuyo nivel debería alcanzar o superar, en un tiempo razonablemente breve, el nivel obtenido en animales.

ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

- Martínez-Pérez *et ál.* (2017). “*Arabidopsis* m⁶A demethylase activity modulates viral infection of a plant virus and the m⁶A abundance in its genomic RNAs”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**: 10755-10760.

Las infecciones por múltiples virus aceleran la evolución del huésped

Pedro Gómez López

Plant Pathology Group

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)-CSIC

Campus de Espinardo. Murcia

Este estudio aborda la interacción entre un huésped y múltiples virus mediante un modelo experimental sencillo de coevolución, donde las poblaciones de bacterias y sus virus (bacteriófagos; fagos) experimentan una evolución recíproca en términos de resistencia e infectividad, respectivamente, llamada *coevolución* antagonista. Este tipo de coevolución entre huéspedes y parásitos tiene importantes implicaciones para los campos de ecología evolutiva, agricultura y medicina. Por ejemplo, estas interacciones tienen un papel clave en el origen y el mantenimiento de la biodiversidad, y además pueden alterar las dinámicas poblacionales y evolutivas dentro de las comunidades, lo cual es de relevancia en la selección y aparición de elevadas tasas de mutación en bacterias y en su potencial asociación con la resistencia a antibióticos y emergencia de nuevos patógenos^[1, 2].

Sin embargo, el conocimiento previo acerca de la coevolución antagonista entre huésped y parásito proviene del estudio de interacciones simples entre pares de especies, a pesar de que a menudo los organismos son parasitados por múltiples patógenos. En este trabajo se da un paso más, y se estudia la coevolución antagonista entre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* y cinco fagos que son capaces de infectarla en medio de cultivo líquido. Los autores muestran que la presencia de múltiples virus acelera la evolución de la bacteria como resultado de un aumento en los niveles de resistencia del huésped, lo que implica una reducción de la infectividad del virus. Además, esta mayor diversidad viral afectó a las dinámicas coevolutivas y provocó una transición desde una dinámica de selección fluctuante (mecanismos de resistencia específicos que fluctúan en el tiempo) a una dinámica de selección direccional (mecanismos de resistencia general que se incrementan con el tiempo). En las comunidades de fagos, la secuenciación del genoma completo reveló cambios a nivel ecológico, donde la composición de las comunidades fue variando con el tiempo, así como cambios a nivel genético, donde se encontraron altas proporciones de cambios nucleotídicos en posiciones no sinónimas, principalmente beneficiosos. Por otro lado, en los huéspedes, a nivel genético se encontraron mutaciones que afectaban principalmente a genes asociados con la biosíntesis de lipopolisacáridos, *pili* tipo IV y receptores Ton-B, genes implicados en el reconocimiento y unión de fagos. Estos resultados confirman, por tanto, una coevolución recíproca entre el huésped y el parásito a lo largo del tiempo.

Según los autores del trabajo, realizado en la Universidad de Oxford, este estudio podría ayudar a comprender mejor los procesos que determinan la biodiversidad y estructura de las comunidades de bacterias y fagos. En particular, los resultados son de importancia en aquellos contextos donde hay tasas elevadas de evolución y especiación, estimuladas por múltiples parásitos. Además, creo que este estudio también podría tener una importante vertiente aplicada con el uso de bacteriófagos como agentes terapéuticos o desinfectantes para controlar patógenos bacterianos. No obstante, este aspecto necesitaría estudiar estas interacciones bacteria-virus en ambientes heterogéneos^[3] donde se pueda determinar cómo mantener o eliminar dichas comunidades bacterianas en condiciones naturales.

En resumen, este estudio muestra que una mayor diversidad de bacteriófagos (virus que infectan a bacterias) incrementa la tasa evolutiva de las bacterias, alcanzando una evolución genómica más rápida dentro de las poblaciones y mayor divergencia entre las poblaciones. El trabajo pone de manifiesto que múltiples virus pueden impulsar diferentes dinámicas evolutivas y modular la evolución del huésped.

Referencias

- [1] Pal, C. *et al.* (2007). "Coevolution with viruses drives the evolution of bacterial mutation rates". *Nature* **450**: 1079-1081.
- [2] Paterson, S. *et al.* (2010). "Antagonistic coevolution accelerates molecular evolution". *Nature* **464**: 275-278.
- [3] Gómez, P. y Buckling A. (2011). "Bacteria-phage antagonistic coevolution in soil". *Science* **332**: 106-109.

ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

- Betts, A. *et al.* (2018). "High parasite diversity accelerates host adaptation and diversification". *Science* **360**: 907-911.

Virus de animales

COORDINADOR

Miguel Ángel Martínez
MMartinez@irsicaixa.es

Un nuevo mecanismo de evasión inmune basado en el corte del sensor viral LGP2 por la proteasa *Leader* del virus de la fiebre aftosa

Margarita Sáiz Zalabardo

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

El virus de la fiebre aftosa (*foot-and-mouth disease virus*, FMDV) es responsable de una enfermedad muy contagiosa y devastadora que afecta a animales domésticos y silvestres. El FMDV está considerado un patógeno altamente exitoso, capaz de esquivar eficientemente la respuesta inmune del hospedador, multiplicándose rápidamente y originando nuevos brotes de la enfermedad.

La respuesta inmune innata, basada principalmente en inducción del interferón (IFN) tipo I, es la primera línea de defensa frente a la infección. Las helicasas citoplásmicas RLR (*RIG-I-like receptors*) actúan como centinelas detectando patrones moleculares específicos asociados a la replicación del RNA viral. Su activación desencadena la inducción y secreción de IFN y la expresión de centenares de genes con actividad antiviral. En este trabajo se describe la proteólisis específica de LGP2, uno de los tres miembros de la familia RLR, por la proteasa *Leader* (Lpro) del FMDV. La Lpro es un factor de virulencia importante, habiéndose descrito varias proteínas celulares que son sustrato de su actividad proteasa o desubiquitinasa, incluyendo el eIF4G y algunos efectores de la ruta del IFN. A diferencia de las otras dos RLR (RIG-I y MDA5), la LGP2 carece de la capacidad de señalización posterior a la interacción con el RNA viral. Sin embargo, su papel crucial en la regulación de la respuesta antiviral se está desvelando en publicaciones recientes y se sabe que su expresión inhibe la replicación del FMDV.

La degradación de LGP2 sólo se observó durante la infección con otros virus del mismo género *Aphthovirus* que comparten con FMDV la expresión de una proteasa *Leader* como rasgo diferencial frente al resto de los picornavirus. El efecto inductor del IFN y de actividad antiviral promovidos por la expresión de LGP2 pudo ser revertido al coexpresar una Lpro catalíticamente activa en células que fueron posteriormente infectadas con FMDV. La interacción intracelular de LGP2 y Lpro fue confirmada mediante ensayos de coimmunoprecipitación y colocalización por microscopía óptica. Se ha identificado la región de corte en LGP2 que escindiría dominios conservados en la helicasa, generando una proteína no funcional. Este trabajo describe un nuevo mecanismo de evasión inmune basado en el corte de LGP2 por una proteasa viral, ilustrando el amplio repertorio de estrategias adquiridas por los distintos virus durante su coevolución con los hospedadores para combatir su respuesta antiviral. Un conocimiento más profundo de los mecanismos de interacción virus-huésped que subyacen a la patogénesis contribuirá positivamente al diseño de estrategias más eficientes frente a enfermedades infecciosas.

ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

■ Rodríguez Pulido, M. *et ál.* (2018). "Innate immune sensor LGP2 is cleaved by the *Leader* protease of foot-and-mouth disease virus". *PLoS Pathog.* **14**: e1007135.

La supresión de los dinucleótidos CG permite la defensa antiviral dirigida a ARN que no es el propio

Maria Nevot Banús

IRSIKAIXA-Institut de Recerca de la SIDA
Hospital Germans Trias i Pujol
Badalona (Barcelona)

Una característica ampliamente descrita en organismos vertebrados es la de presentar un contenido del dinucleótido CG en sus genomas menor al esperado. Algunos virus, tanto de genoma ADN como de ARN, muestran cierta tendencia a mimetizar este fenómeno, aunque no está claro qué es lo que les lleva a reducir los niveles de CG en sus genomas. Recientemente, Takata y colaboradores han aportado nuevos datos, los cuales sugieren que es justamente mediante las regiones con alto contenido de CG por las que la proteína antiviral ZAP (*zinc-finger antiviral protein*) es capaz de detectar el ARN no propio y proceder a su eliminación.

Virus de animales

Con el objetivo de estudiar en el RNA elementos importantes para la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), los autores generaron 16 mutantes conteniendo, cada uno de ellos, un número máximo de mutaciones sinónimas posibles sin alterar la secuencia de aminoácidos de la proteína. Los mutantes obtenidos presentaron diferentes capacidades replicativas, lo que les permitió separarlos en tres grupos diferenciados: el primero incluyó a los mutantes con replicación muy similar al virus salvaje (*wild-type*, WT); un segundo grupo englobó a mutantes no replicativos; y un tercer grupo en el que los mutantes fueron defectivos en ensayos de propagación en células susceptibles a la infección. El análisis de las mutaciones sinónimas introducidas en los mutantes de este último grupo mostró un incremento del contenido de CG, por lo que desarrollaron variantes con un mayor y menor contenido de CG. A pesar de que todos ellos presentaron títulos virales similares tras transfectarlos en células 293T, los mutantes con alto contenido de CG fueron defectivos en los posteriores ensayos de propagación y presentaron niveles reducidos respecto al virus WT y a los mutantes con bajo contenido CG, de las proteínas virales Gag y Env, así como del ARN no procesado (*unspliced* RNA) a nivel citoplasmático. Mediante ensayos de inhibición empleando siRNA dirigidos contra las proteínas implicadas en las vías de degradación del ARN, observaron que, al inhibir a la proteína ZAP, se conseguía reestablecer el título viral de manera similar a las células infectadas con el virus WT. Este resultado quedó confirmado al propagar los diferentes mutantes en células MT4 *knockout* para ZAP, células en las que los mutantes con alto contenido CG replicaron de manera similar al WT y no mostraron diferencias en cuanto a la cantidad de ARN no procesado y a la producción de las proteínas virales Gag y Env. Aunque la capacidad de ZAP de unirse al ARN ya se había descrito, es la utilización de la metodología de CLIP-seq (*crosslinking-immunoprecipitation-sequencing*) realizada en este trabajo lo que permitió determinar que la proteína ZAP se une predominantemente a las regiones del genoma ricas en CG.

ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

■ Takata, M. A. *et ál.* (2017). "CG dinucleotide suppression enables antiviral defence targeting non-self RNA". *Nature* **550**: 124-127.

En resumen, los datos aportados por este trabajo sugieren que la supresión del contenido CG observada en muchos virus sería un mecanismo de adaptación viral generado por la presión ejercida por ZAP. Dado que ZAP es una proteína producto de un ISG (*interferon-stimulated gene*), este hallazgo resulta especialmente interesante para explicar, al menos parcialmente, el mecanismo por el cual la introducción masiva de mutaciones sinónimas, tanto para optimizar como para *desoptimizar* la secuencia, y en las que "involuntariamente" se eleva el contenido CG, da lugar a mutantes con fenotipo atenuado.

