

## La activación del silenciamiento por RNA debida a la fuerte inducción de Dicer por un virus puede interferir con la replicación de otro virus no relacionado

M. Carmen Cañizares

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora"

(IHSM-UMA-CSIC). Algarrobo Costa, Málaga

El silenciamiento génico mediado por RNA es un mecanismo de inactivación del RNA dependiente de homología de secuencia, que se encuentra conservado en la mayoría de los organismos eucariotas, y que se induce por la presencia de moléculas de RNA de doble hebra (dsRNA). Estas moléculas se procesan por proteínas Dicer o Dicer-like (DCL), dando lugar a RNAs interferentes pequeños (siRNA) de longitud entre 21-26 nucleótidos, que se incorporan a un complejo efector del silenciamiento (RISC) cuyo componente principal es una proteína de la familia Argonauta (AGO) o Argonauta-like (AGL). El complejo RISC es guiado por el siRNA hasta el RNA diana e induce su inactivación. El silenciamiento por RNA es parte de un mecanismo de defensa del huésped que funciona principalmente frente a virus. Este proceso es responsable de la mayoría de los casos descritos de interferencia o protección cruzada entre virus, donde es necesario que exista homología de secuencia entre la cepa menos virulenta del virus que preinfecta e induce el silenciamiento por RNA, y la cepa más agresiva del virus cuya replicación se ve afectada.

En este estudio se muestra un ejemplo sin precedentes de interferencia viral mediada por silenciamiento por RNA entre virus no relacionados, en el hongo filamentoso *Cryphonectria parasitica*. La transmisión lateral y la replicación de un totivirus, Rosellinia necatrix victorivirus 1 (RnVV1), fue abolida en coinfecciones con un reovirus o con un mutante de delección del supresor de silenciamiento del hipovirus *Cryphonectria hypovirus 1*, e incluso al expresar transgénicamente una estructura en horquilla de un gen endógeno del propio hongo. Dicha interferencia está asociada a una fuerte inducción transcripcional de los genes clave en el silenciamiento por RNA antiviral Dicer-like 2 (*dcl2*) y Argonauta-like 2 (*agl2*). Sin embargo, sólo la interrupción de *dcl2* anuló completamente la interferencia, indicando que *dcl2* tiene un papel más relevante. Los autores concluyen que mientras los niveles de transcripción de *dcl2* sean suficientemente elevados en *C. parasitica*, bien por infección con los virus heterólogos mencionados o por expresión transgénica del dsRNA, no es necesario que exista homología de secuencia entre los elementos que interfieren y el virus susceptible. Aunque la razón por la que en estas coinfecciones RnVV1 es altamente susceptible al silenciamiento por RNA no queda clara, los autores sugieren que podría estar asociada al hecho de que RnVV1 es un virus de un hongo heterólogo, *Rosellinia necatrix*, que no se ha adaptado al nuevo huésped, *C. parasitica*. Estos resultados aportan una información valiosa sobre el control viral de amplio espectro mediado por silenciamiento por RNA.

### ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

- Chiba, S. y Suzuki, N. (2015). "Highly activated RNA silencing via strong induction of dicer by one virus can interfere with the replication of an unrelated virus". *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **112**: E4911-E4918.

## Virus de hongos

## El análisis de mutantes del hongo fitopatógeno *Colletotrichum higginsianum* deficientes en componentes clave de la maquinaria de silenciamiento génico revela la presencia inesperada de un nuevo micovirus

Alberto Carbonell

Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV), Valencia

El silenciamiento génico mediado por RNA controla la expresión génica en animales, plantas, hongos y otros organismos eucariotas, en los que regula procesos biológicos tan importantes como el desarrollo, la respuesta a estrés y la defensa frente a patógenos. Las rutas de silenciamiento génico son activadas por RNAs bicatenarios (dsRNA) que se procesan por enzimas de tipo RNasa III denominadas Dicer (o Dicer-like, DCL) en varios dúplex de pequeños RNA (sRNA) de unos 21-30 nucleótidos de longitud. Una de las cadenas del dúplex se incorpora a un complejo enzimático donde hay acoplada una proteína Argonauta (AGO) a la que guía hasta los RNA de secuencia complementaria, para inactivarlos.

Aunque el reino de los hongos incluye más de tres millones de especies distintas, se sabe muy poco acerca de las funciones biológicas del silenciamiento génico en estos organismos. El género *Colletotrichum* está considerado como uno de los grupos más importantes de patógenos de plantas, causando la enfermedad de la antracnosis en más de 3000 especies de plantas. Dentro de este género de hongos fitopatógenos, la especie *Colletotrichum higginsianum* resulta de particular interés para estudios de interacciones planta-patógeno, ya que su genoma ha sido secuenciado, y además infecta plantas de la familia *Brassicaceae* que incluye la especie modelo *Arabidopsis thaliana*.

El objetivo principal del estudio de Campo *et al.* era la identificación y el análisis de la maquinaria de silenciamiento de *C. higginsianum*, con objeto de esclarecer las funciones biológicas del silenciamiento génico en esta especie de interés fitopatológico. Para ello realizaron un análisis funcional de una serie de mutantes de *C. higginsianum* comprometidos en la expresión de diversos componentes clave de la maquinaria de silenciamiento génico como DCL o AGO. Observaron que ninguno de los mutantes presentaba defectos en crecimiento vegetativo en ninguna de las condiciones experimentales estudiada. Sin embargo, los mutantes *dcl1* y *ago1* sí mostraron defectos tanto en la producción de conidios como en la morfología de los mismos. Al analizar librerías genómicas de transcritos y sRNA tanto de la cepa silvestre como de los diversos mutantes, observaron que, precisamente en los mutantes *dcl1* y *ago1*, una alta fracción de sus secuencias no se correspondía con la del genoma del hongo. En lugar de ignorar dichas secuencias, un análisis más exhaustivo de las mismas reveló que en realidad correspondían a un virus de RNA desconocido que se mantenía silenciado en la cepa silvestre de *C. higginsianum* pero que se acumulaba masivamente en ausencia de DCL1 o AGO1. Es un micovirus de genoma no segmentado compuesto por dsRNA, bautizado como ChNRV1 (*Colletotrichum higginsianum non-segmented dsRNA virus 1*), que presenta similitudes con miembros de las familias *Partitiviridae* y *Totiviridae*. Al tratar la cepa silvestre de *C. higginsianum* con cicloheximida (para obtener una libre de ChNRV1) y al generar cepas mutantes *dcl1*, la producción de conidios se restauró. Por lo tanto, estos resultados ponen de manifiesto que el papel principal del silenciamiento génico en la cepa estudiada de *C. higginsianum* podría ser el de controlar los niveles de ChNRV1 para así asegurar la capacidad reproductiva del hongo.

## ARTÍCULO DE PROCEDENCIA

■ Campo, S., Gilbert, K. B. y Carrington, J. C. (2016). "Small RNA-Based Antiviral Defense in the Phytopathogenic Fungus *Colletotrichum higginsianum*". *PLoS Pathogens* **12**: e1005640.

En definitiva, el trabajo de Campo *et al.* es un claro ejemplo de cómo el análisis exhaustivo de aquellas secuencias "basura" sin relación con el genoma de referencia pueden dar lugar a un descubrimiento muy interesante, como en este caso la presencia del virus ChNRV1 en *C. higginsianum*. ¿Pero cómo y, sobre todo, por qué el ChNRV1 logra sobrevivir a la defensa antiviral del hongo? Es posible que el ChNRV1 confiera una cierta ventaja adaptativa a *C. higginsianum* en condiciones ambientales todavía por determinar, o al infectar a sus huéspedes. Alternativamente, el ChNRV1 podría actuar como vector de variabilidad genética para el hongo contribuyendo a su plasticidad genómica y favoreciendo la aparición de nuevos caracteres de virulencia durante el transcurso de la coevolución virus-hongo.

## Aplicaciones del sistema CRISPR/Cas en virología

Puri Fortes

Departamento de Terapia Génica y Hepatología  
Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA)  
Pamplona (Navarra)

Bajo el confuso nombre de sistema de "repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas unidas a la proteína 9" (CRISPR/Cas9, de sus iniciales en inglés), se esconde una tecnología revolucionaria. El sistema CRISPR/Cas9, y sus variantes menos conocidas, permiten acceder de forma eficaz y sencilla a zonas concretas del DNA incluso en células humanas. Con él podemos cumplir un sueño anhelado por generaciones de científicos: modificar el genoma a la carta. Introduciendo en la célula unas secuencias de DNA o RNA diseñadas específicamente y siguiendo un protocolo extraordinariamente sencillo se pueden mutar genes concretos, eliminar o añadir secuencias en una posición determinada o acercar a una zona concreta del genoma enzimas reguladoras, que puedan, por ejemplo, activar o impedir la expresión de un gen. Las aplicaciones científicas

Virus de animales

COORDINADOR:

Miguel Martínez

MMartinez@irsicaixa.es