



Núria Verdaguer, Ignasi Fita y Jordi Querol Audí estudian desde hace varios años la caracterización estructural de virus ARN en el Instituto de Biología Molecular de Barcelona del CSIC. Verdaguer se formó en la Universidad de Barcelona y en la Universidad Politécnica de Cataluña. Fita, licenciado en biología y física por la Universidad Autónoma de Barcelona, obtuvo su doctorado en ciencias en el mismo centro; completó sus estudios en la Universidad de Purdue y es miembro del Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona. Querol Audí obtuvo su doctorado en biología en la Universidad de Barcelona; en la actualidad investiga en la Universidad de California en Berkeley.

MICROBIOLOGÍA

El virus del resfriado común

Superan el centenar los rinovirus que causan, en humanos, la mayor parte de los resfriados. Acceden a las células mediante la unión a receptores específicos alojados en la superficie de la membrana

Núria Verdaguer, Ignasi Fita y Jordi Querol Audí

EL RESFRIADO COMÚN CONSTITUYE UNA DE LAS enfermedades más frecuentes. A pesar de tratarse de un trastorno leve, con síntomas que duran de una a dos semanas, es la causa principal de consultas médicas y absentismo laboral. Se estima que los niños sufren alrededor de seis a diez resfriados al año; los adultos, entre dos y cuatro, de promedio. El impacto económico del resfriado común es, por tanto, notable.

La primera identificación de un virus como el agente causante del resfriado común se debe a Walter Kruse, quien en 1914 realizó un experimento crucial. Recogió secreciones nasales de un compañero enfermo de resfriado, las pasó a través de un filtro que retenía bacterias y otros microorganismos e inoculó el filtrado a varios voluntarios. La tercera parte de los voluntarios inoculados desarrolló resfriados en tres días.

Kruse llegó a la conclusión de que los virus («veneno», en latín) del filtrado eran los responsables de la enfermedad. Pero no fue hasta mediados de los años cincuenta cuando científicos de la Unidad de Investigación sobre el Resfriado Común, en Gran Bretaña, cultivaron virus del resfriado.

En la actualidad se conocen más de 200 tipos de virus, de familias distintas, que causan los síntomas del resfriado común; los rinovirus o virus nasales (*rino* significa «nariz» en griego) son los principales. Los rinovirus humanos (HRV, por sus siglas en inglés), más de un centenar de virus con características serológicas distintas, integran el grupo más nutrido de la familia *picornaviridae*; su nombre compuesto deriva de «pico» (mínimo, los de menor tamaño), «RNA» (porque su genoma consta de una molécula de ARN) y «virus». Se numeran, entre ellos, otros patógenos humanos como el virus de la polio, los coxsackievirus y el virus de la hepatitis A. En total, la familia comprende unos 230 virus que, por su importancia médica y económica, han sido objeto de intensos estudios.

El ciclo infeccioso se inicia con la unión del virus a la membrana de la célula huésped, seguida de la penetración en el citoplasma vía endocitosis. Cuando el virus entra en el citoplasma, se desensambla, libera el ARN genómico y replica su información genética, que se traduce luego en una poliproteína de unos 250 kilodalton. Esa proteína precursora experimenta un procesamiento proteolítico posterior y da lugar a las proteínas estructurales y a las enzimas del virus. Posteriormente, las proteínas de la cápside se ensamblan alrededor de los nuevos genomas; se crea así la progenie de virus infecciosos, que por fin se liberan de la célula por lisis.

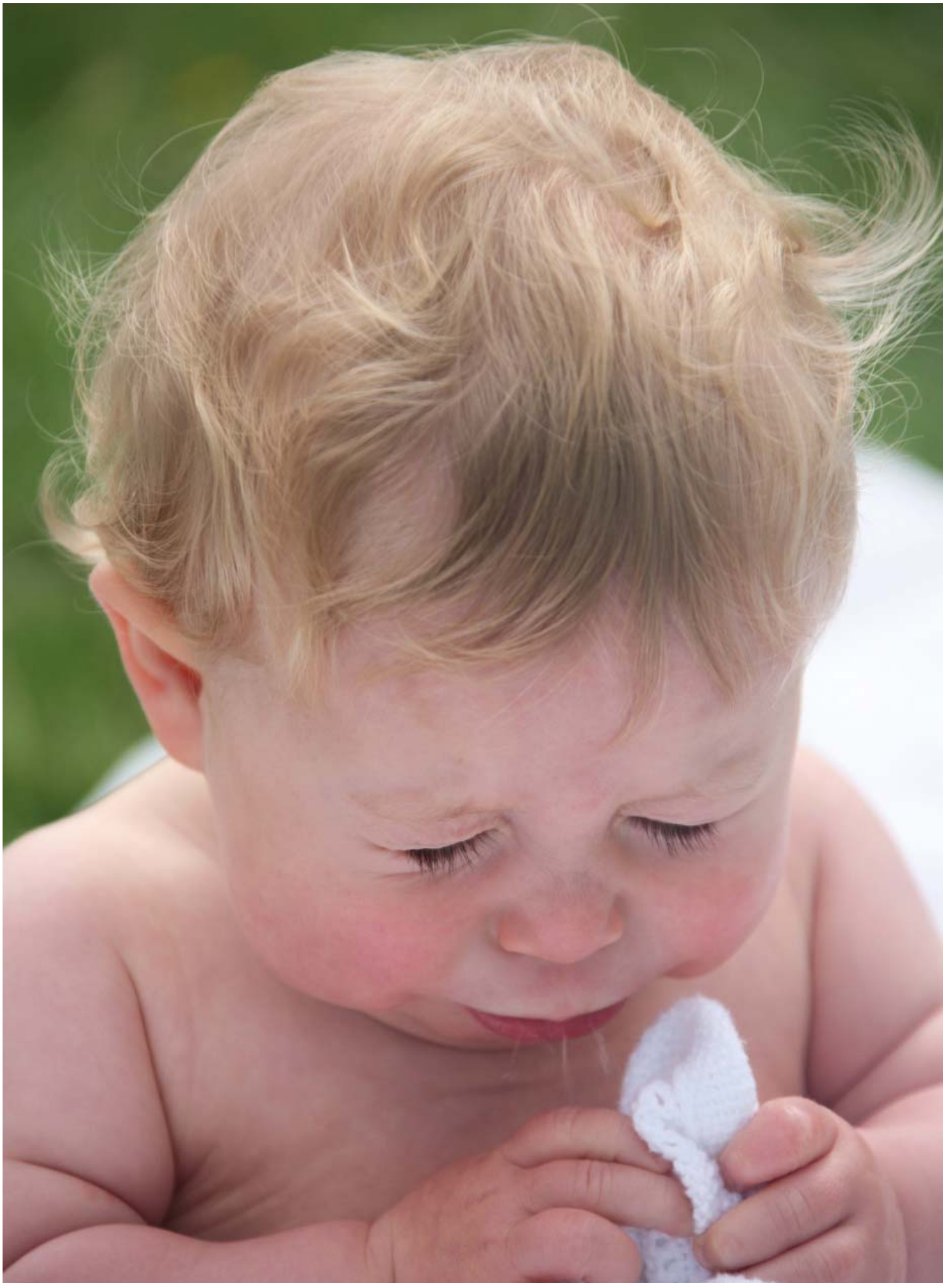
EN SÍNTESIS

La partícula vírica está formada por una cápside icosaédrica de unos 30 nanómetros de diámetro que envuelve y protege a una molécula de ARN de cadena sencilla, de unos 7100 nucleótidos.

El ciclo infeccioso se inicia con la unión del virus a receptores específicos de la célula huésped. La natura-

leza de esa proteína receptora determina la clasificación de los rinovirus, los principales virus causantes del resfriado común.

Una vez unido a la célula huésped, el virus sufre un cambio estructural que le permite traspasar su genoma al interior del citoplasma de la célula huésped, donde se iniciará la replicación.

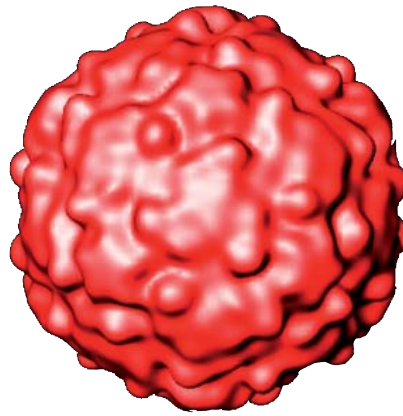


INTERACCIÓN CON EL HUÉSPED

Para que se presente una infección, el virus debe unirse, pues, a receptores específicos alojados en la superficie de la membrana de la célula huésped. Esa unión implica una interacción entre una proteína vírica y el receptor. Los HRV reconocen específicamente a dos receptores que utilizan para entrar en la célula. Atendiendo a esta especificidad, se clasifican en dos grupos: los del «grupo mayor» (89 representantes) se unen a la célula huésped mediante la molécula de adhesión intercelular de tipo 1 («intercelular adhesion molecule 1», ICAM-1); los del «grupo menor» (12 representantes) lo hacen mediante receptores de las lipoproteínas de baja densidad (*low density lipoprotein receptor*, LDL-R).

El conocimiento de las interacciones entre el virus y el receptor requiere, en último término, un análisis estructural detallado. La aplicación de la cristalografía de rayos X a partículas víricas ha permitido determinar la estructura tridimensional, a una resolución casi atómica, de las proteínas que forman las cápsides. Sin embargo, la obtención de cristales virus-receptor resulta, en numerosos casos, inabordable. La mayoría de los complejos entre los HRV del grupo mayor y su receptor ICAM-1 son inestables y, por tanto, inaccesibles para el análisis cristalográfico.

La microscopía electrónica y la reconstrucción tridimensional de imágenes de partículas aisladas han abierto un nuevo



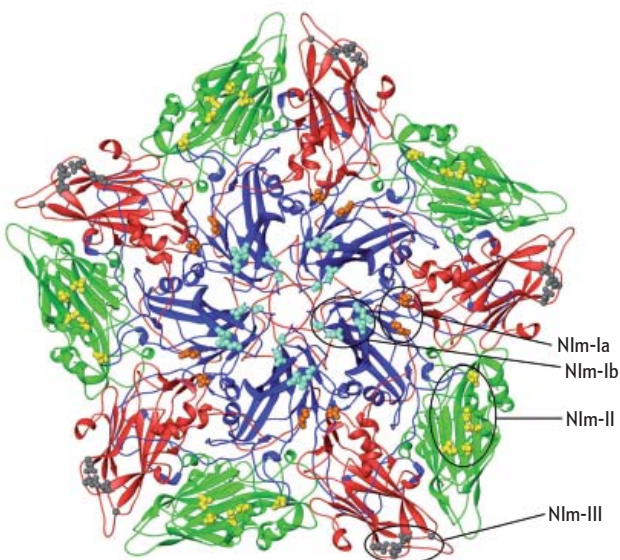
Un surco estrecho y profundo rodea los doce ejes quíntarios de la cápside rinovírica icosaédrica. La anchura de este «cañón» permite al virus escapar de la respuesta inmunitaria, puesto que los anticuerpos, de mayor tamaño, no logran penetrar en él.

camino para la elucidación de la estructura de esos complejos. Para ello se combinan las estructuras atómicas de los componentes del complejo, obtenidos mediante cristalografía de rayos X, con los mapas de menos resolución que proporciona la reconstrucción de imágenes de microscopía electrónica.

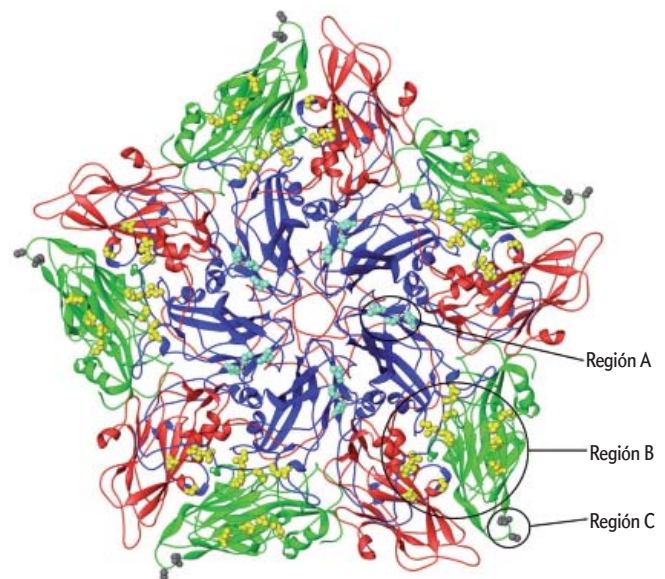
En contraste con lo observado en los HRV del grupo mayor, los complejos del grupo menor (HRV-LDL-R) son estables, propiedad que los convierte en candidatos ideales para el análisis cristalográfico. En nuestro laboratorio obtuvimos la primera estructura cristalográfica de un complejo entre virus y receptor proteínico: el complejo entre el rinovirus del grupo menor HRV2 y los módulos de unión al ligando V2V3 del receptor de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-R).

LA PARTÍCULA VÍRICA

Los rinovirus, igual que el resto de picornavirus, son virus protegidos con una cápside icosaédrica de unos 30 nanómetros de diámetro formada por 60 copias de cada una de las cuatro proteínas estructurales (VP1-VP4). Cumple a esa estructura envolver el genoma durante el tránsito del virus y mediar las interacciones con la célula huésped. El genoma de los rinovirus consta de una molécula de ARN de cadena sencilla y polaridad positiva, de unos 7100 nucleótidos. Se trata de un ARN poliadenilado en su extremo 3' y unido mediante un enlace covalente por su



Regiones antigénicas de los serotipos HRV14 y HRV2 representadas sobre un pentámero del rinovirus. En HRV14 (*izquierda*) se han localizado cuatro regiones antigénicas: NIm-Ia (*rojo*), NIm-Ib (*azul*), NIm-II (*amarillo*) y NIm-III (*gris*). En HRV2 tres: A (*azul*), B (*amarillo*) y C (*gris*). La región antigénica A se halla en el bucle B-C de la proteína VP1, rodeando al eje quíntario de la partícula icosaédrica. Ese bucle muestra una gran variabilidad en longitud y secuencia entre los serotipos: en HRV14 es



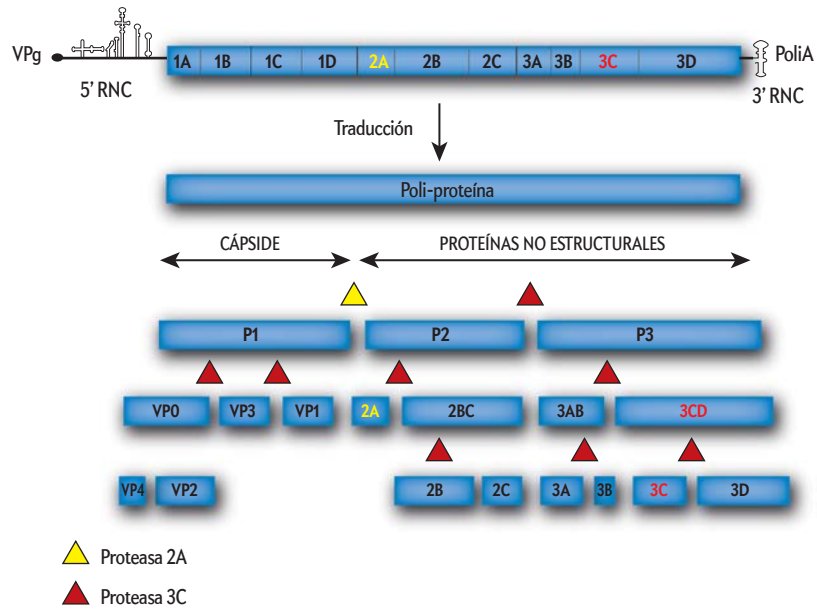
más largo que en HRV2, lo que explicaría que en HRV14 distintos aminoácidos del mismo bucle B-C formen parte de dos sitios antigénicos NIm-Ia y NIm-Ib. La región B, muy extensa, consta de aminoácidos de las tres proteínas VP1, VP2 y VP3. El sitio antigénico C incluye un bucle expuesto de VP2 que no corresponde a ninguno de los sitios antigénicos descritos en HRV14. Este bucle presenta también una elevada variabilidad en forma, longitud y secuencia entre los serotipos de rinovirus.

Genoma de los rinovirus

La organización de los rinovirus es común a la del resto de picornavirus. La molécula de ARN posee una sola pauta de lectura abierta, que da lugar a una poliproteína que posteriormente es procesada por proteasas víricas para obtener las proteínas maduras. La región 5' no codificante es bastante larga, si se compara con su homóloga en los ARN mensajeros celulares; su estructura en forma de hoja de trébol contiene elementos importantes para la replicación del ARN vírico, el inicio de la traducción y quizá también señales que permiten el ensamblaje. Entre esos elementos se encuentra la secuencia de unión a ribosoma IRES (*internal ribosome entry site*), que facilita la traducción de ARN vírico.

La poliproteína se divide en tres regiones: P1 codifica para las proteínas estructurales; P2 y P3 codifican para las no estructurales. La región P1 codifica para las proteínas de la cápside: VP4, VP2, VP3 y VP1. La región P2 codifica para la proteína 2A, una de las proteasas implicadas en el procesamiento de la poliproteína vírica, y para las proteínas 2B y 2C o su precursor 2BC. La función de la proteasa 2A en el proceso de maduración de la proteína consiste en separar la región P1 del resto de la poliproteína mediante un corte entre su extremo aminoterminal y el extremo carboxilterminal de la proteína estructural VP1. La región P3 contiene los precursores 3AB (que dan lugar a las proteínas 3A y 3B) y 3CD (que originan las proteínas 3C y 3D). La proteína 3A afecta a la secreción de proteínas. La proteína 3B es un péptido de 22 aminoáci-

dos, denominado también VPg, que se une, mediante enlace fosfodiéster, al extremo 5' de la molécula de ARN vírico; sirve como cebador en la síntesis de ARN. Parece ser que una de las funciones del precursor 3AB sería anclar la proteína VPg a membranas. La proteína 3C y su precursor 3CD actúan como proteasas; realizan la mayoría de los cortes de la poliproteína. La proteína 3D es una ARN polimerasa dependiente de ARN. La región no codificante 3' es corta (47 nucleótidos en HRV14). El extremo poliadenilado es también de longitud variable (100 nucleótidos en HRV14).



extremo 5' a VPg (*virion protein genome*), una proteína diminuta (22 aminoácidos) codificada por el propio virus.

En 1985, Michael G. Rossmann, de la Universidad de Purdue, determinó la primera estructura cristalográfica de un rinovirus, el HRV14. La estructura revelaba que las tres proteínas mayores (VP1, VP2 y VP3) se organizaban en la superficie de la partícula icosaédrica, mientras que VP4 residía en la cara interna de la partícula, en estrecho contacto con la molécula de ARN.

Conocemos ya la estructura atómica de cinco representantes del género *Rhinoviridae*: tres del grupo mayor (HRV14, HRV3 y HRV16) y dos del grupo menor (HRV1A y HRV2). De la comparación entre las cinco estructuras se desprende que los rinovirus presentan una homología estructural elevada. Las tres proteínas mayores (VP1, VP2 y VP3) comparten características estructurales: constan de un dominio central muy conservado, formado por un barril β de ocho cadenas antiparalelas en forma de cuña.

Las diferencias entre las tres proteínas equivalentes en los distintos rinovirus estriban en el tamaño, secuencia y estructura de los bucles que conectan las cadenas β del barril central. Es precisamente en esos bucles más accesibles donde se hallan los sitios de unión de los anticuerpos neutralizantes; tales regiones determinan la superficie antigénica de los rinovirus.

La proteína estructural más pequeña (VP4), que se aloja en la superficie interna de la cápside, presenta una conformación

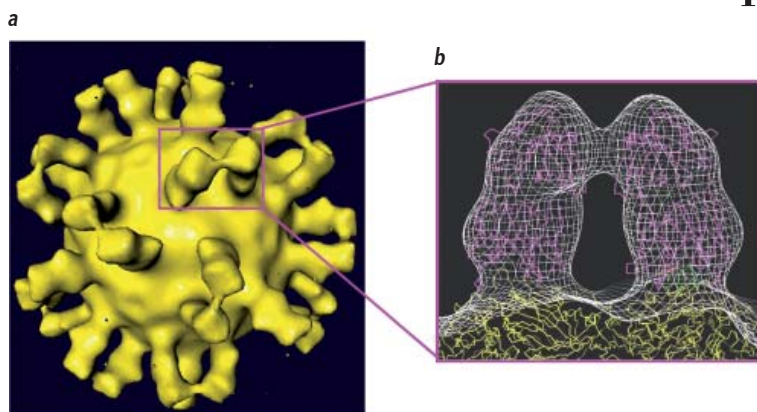
extendida de su cadena polipeptídica; su extremo amino terminal se halla modificado por la unión covalente a una molécula de ácido mirístico, un ácido graso de 14 carbonos que parece intervenir en las interacciones con las membranas celulares.

Una característica notable de las cápsides de los rinovirus es la presencia de un surco estrecho y profundo, que rodea los doce ejes quaternarios de la partícula icosaédrica y está delimitado por residuos de las proteínas VP1 y VP3. Cuando Rossmann resolvió la estructura de HRV14 predijo que esa zona, el «cañón», sería la responsable de la unión con el receptor. La anchura de tal depresión impediría el acceso a los residuos del fondo por parte de los anticuerpos, pero permitiría acomodar componentes específicos más estrechos que se proyectaran desde el receptor celular. Los receptores deberían ser moléculas largas y estrechas, con capacidad para interactuar con los aminoácidos alojados en la base del cañón. Esa forma de unión permitiría al virus escapar de la respuesta inmunitaria, puesto que los anticuerpos neutralizantes no podrían penetrar en el cañón, dado su mayor tamaño.

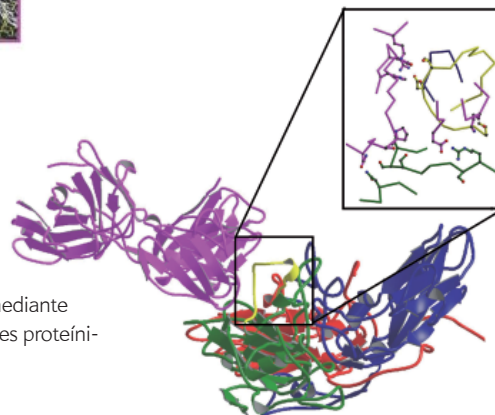
En la actualidad se ha confirmado que el sitio de unión reside en el interior del cañón, pero solo para los rinovirus del grupo mayor, no los del grupo menor.

Todos los rinovirus estudiados presentan en el interior del barril β de la proteína VP1, justo por debajo de la base del cañón, una hendidura rica en aminoácidos hidrofóbicos. Esa ca-

Neutralización del patógeno



Mediante ese procedimiento hemos determinado la estructura de complejos entre el virus HRV2 y dos anticuerpos con distintas propiedades de neutralización. El anticuerpo 8F5 se une bivalentemente a la superficie de HRV2 a través del eje binario del icosaedro, una unión que bloquea la lisis de la cápside del virus. El anticuerpo 3B10 (*derecha*) se une de forma monovalente a la cápside del virión mediante contactos con cadenas laterales de aminoácidos que se localizan en diferentes bucles proteínicos; neutraliza al patógeno mediante la agregación de viriones.



vidad se encuentra a menudo ocupada por un ligando de naturaleza lipídica (*pocket factor*) que desempeña una función de suma importancia: estabiliza el virión durante el tránsito de una célula huésped a otra.

Se han identificado varios tipos de compuestos de bajo peso molecular que desplazan el ligando de la cavidad. Reprimen la infectividad del virus mediante la inhibición de funciones de la cápside. Los más estudiados de esos compuestos son los WIN, la tercera generación de antivirales neutralizantes derivados de la rhodanina. En algunos rinovirus, la unión de esos compuestos provoca una deformación del cañón y la consiguiente pérdida de afinidad por ICAM-1.

Se ha demostrado que los HRV exponen temporalmente algunas regiones internas de las proteínas de la cápside. Este fenómeno de «respiración vírica» es inhibido por los compuestos WIN cuando se unen a la hendidura hidrofóbica de VP1. Se están llevando a cabo ensayos clínicos sobre la eficacia de alguno de los antivirales aludidos en el tratamiento de resfriados producidos por picornavirus.

SUPERFICIE ANTIGÉNICA

El desarrollo de vacunas y antivirales constituye uno de los objetivos principales para mejorar la prevención y el tratamiento de las infecciones causadas por picornavirus. Se han desarrollado vacunas contra las infecciones de poliovirus y de HAV que se están aplicando con éxito. En el caso del resfriado común, en cambio, la obtención de vacunas entraña una dificultad formidable, dadas la multiplicidad de serotipos y la débil protección cruzada que existe entre ellos. Definimos un serotipo por la capacidad que tiene un antisuero (suero con anticuerpos) monoespecífico de neutralizar la infección vírica. Un antisuero monoespecífico es el que se obtiene de un animal

que no ha sido expuesto previamente a un virus relacionado. Los anticuerpos pueden, en principio, unirse a cualquier región de la superficie del virión. Sin embargo, se ha observado que solo ciertas áreas limitadas de la superficie son dianas para anticuerpos neutralizantes. Nos referimos a las regiones antigénicas.

La antigenicidad en rinovirus se ha estudiado ampliamente en dos serotipos: un representante del grupo mayor, HRV14, y un representante de grupo menor, HRV2. Para ello se ha aplicado una técnica fundada en la selección de virus mutantes con capacidad de escapar a la neutralización por un anticuerpo monoclonal específico. Mediante la secuenciación del ARN se identifican los aminoácidos alterados en el mutante. Posteriormente, a partir de las estructuras tridimensionales obtenidas por difracción de rayos X, se localizan sobre la superficie del virus las mutaciones.

Todas las regiones neutralizantes caracterizadas se hallan concentradas en las regiones más expuestas o protuberantes de la superficie del virus, alojadas sobre todo en los bucles que conectan las cadenas del barril β . Las zonas más prominentes de la superficie de las cápsides aparecen así constituidas por residuos potencialmente variables, para enmascarar, quizás, a residuos más críticos ante la respuesta inmunitaria.

La identificación de los sitios «de escape» (que le permiten escapar de la respuesta inmunitaria) en la superficie del virión reviste importancia para el análisis de los mecanismos de neutralización, para entender la base molecular de los serotipos y para el desarrollo de vacunas basadas en subunidades de la cápside. Los anticuerpos pueden neutralizar la infectividad vírica mediante diversos mecanismos: agregación de virus, estabilización de las cápsides (lo cual impide la desencapsidación), inducción de cambios conformacionales en las partí-

culas y bloqueo de la unión con el receptor celular. La determinación estructural de los complejos virus-anticuerpo ha resultado de utilidad en ese tipo de estudios, pues ha permitido definir las propiedades de neutralización según las orientaciones relativas de los fragmentos Fab de los anticuerpos unidos a las cápsides.

RECEPTORES DEL GRUPO MAYOR

El receptor del grupo mayor de rinovirus es la molécula de adhesión intercelular de tipo 1 (ICAM-1). Como su nombre indica, interviene en la unión de las células a otras moléculas u otras células. La molécula ICAM-1, que tiene como ligandos naturales la integrina LFA-1 (de *Leucocyte Function-Associated Antigen-1*), el fibrinógeno y Mac-1 (de *Macrophage-1 antigen*), se encuentra implicada en la respuesta inmunitaria e inflamatoria; se le asocia la acumulación de leucocitos en tejidos inflamados. Los rinovirus utilizan ICAM-1 a modo de puerta trasera para entrar en las células humanas.

La molécula ICAM-1 corresponde a una glicoproteína de membrana de la superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig). Consta de una región extracelular formada por cinco dominios, que presentan un plegamiento de inmunoglobulina (D1-D5), seguida de un dominio hidrofóbico transmembrana y un pequeño dominio citoplasmático. La forma de ICAM-1 guarda semejanza con un brazo dividido en cinco dominios, o secciones, que se extiende desde un codo que penetra en la membrana celular; el dominio amino terminal D1 contiene los aminoácidos responsables del reconocimiento del virus.

Los estudios de microscopía electrónica muestran que ICAM-1 se une a los HRV por una región distinta de la que utiliza para hacerlo con otros ligandos. El extremo de ICAM-1 recuerda, por su forma, a una mano, con un pulgar y tres proyecciones a modo de dedos. Los leucocitos se unen a la zona que correspondería al pulgar; los tres bucles digitiformes interactúan con la base del cañón de los HRV del grupo mayor mostrando una superficie de contacto perfectamente complementaria en cuanto a la forma y a la distribución de cargas. La secuencia y conformación de esos bucles es distinta de la de otros tipos ICAM de animales diferentes, excepto la molécula ICAM de chimpancé. Por eso, solo los humanos y los chimpancés se encuentran expuestos a la infección por rinovirus.

El hecho de que el virus se una a un lugar distinto del que se unen los leucocitos abre una puerta al desarrollo de métodos para el bloqueo específico de la interacción. Si se logra impedir, mediante fármacos o ingeniería genética, la interacción virus-receptor, podríamos eliminar un porcentaje sustantivo de resfriados, sin entorpecer la función normal del receptor ICAM-1.

RECEPTORES DEL GRUPO MENOR

El grupo menor de rinovirus utiliza diversos miembros de la familia de receptores de las lipoproteínas de baja densidad (LDL, de *low density lipoprotein*) para unirse a la célula. En particular, se une a los receptores de LDL, VLDL (*very low density lipoprotein*) y LRP (*LDL related protein*). Se trata de proteínas modulares transmembrana que se unen a una gran variedad de ligandos de función y estructura variadas, para introducirlos así en la célula. Además de desarrollar una función clave en el metabolismo del colesterol, los miembros de esta familia proteínica participan en la señalización celular; operan como transductores de señales externas.

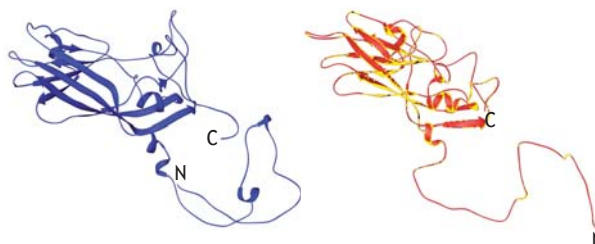
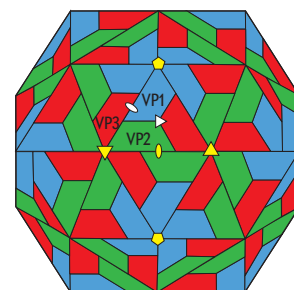
La fracción extracelular de esas proteínas se divide en dos regiones. Por un lado, el dominio de unión a ligando: una serie de módulos de unos 40 aminoácidos ricos en cisteína en cuya zona carboxi-terminal se aloja una agrupación de aminoácidos ácidos que coordinan un ion Ca^{2+} , indispensable para mantener la integridad del módulo. Por otro lado, un dominio que comprende una región de unos 400 residuos, homólogos al precursor del factor de crecimiento epidérmico (EGF).

A ese par de dominios les sigue una región transmembrana y un dominio citoplasmático, que contienen las señales de internalización. El receptor se une a sus ligandos, mediante los módulos ricos en cisteína, en la superficie celular a pH neutro; tras la internalización, libera el ligando en los endosomas a pH ácido. La internalización, esencial para la liberación de los li-

CÁPSIDE

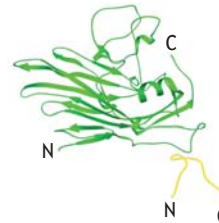
Simetría icosaédrica

Los rinovirus poseen una cápside esférica con simetría icosaédrica, es decir, 20 caras triangulares con 12 vértices. Posee seis ejes de simetría quaternarios (*pentágono amarillo*) que pasan a través de pares de vértices opuestos, 10 ejes ternarios (*triángulo amarillo*) que pasan a través del centro de las caras y 15 ejes binarios (*elipse amarilla*) a través de los puntos medios de las aristas. En la figura se indican también los ejes de pseudosimetría ternarios (*triángulo blanco*) y binarios (*elipse blanca*) locales.

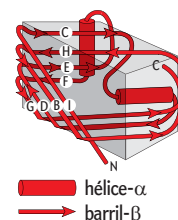


La cápside icosaédrica consta de 60 copias de cada una de las cuatro proteínas estructurales. VP1, VP2 y VP3 se alojan en la superficie:

VP1 (azul) alrededor de los ejes quaternarios; VP2 (verde) y VP3 (rojo) alrededor de los ejes binarios y ternarios, en sucesión alterna. VP4 (amarillo) reside en el interior de la partícula. (Las representaciones de las proteínas están orientadas de tal suerte que la parte superior del dominio quede expuesta en la superficie del virión.)



Las tres proteínas mayores (VP1, VP2 y VP3) comparten características estructurales: un dominio central formado por un barril β de ocho cadenas antiparalelas en forma de cuña (de la B a la I) que forman dos láminas (BIDG y CHEF).



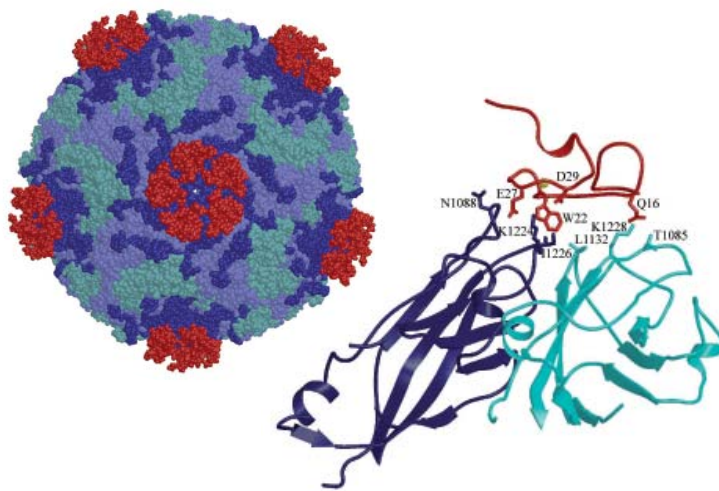
— hélice- α
— barril- β

gandos al endosoma, se lleva a cabo por endocitosis mediante vesículas recubiertas de clatrina.

En contraste con lo observado en el grupo mayor, los receptores del grupo menor de rinovirus se unen a una protuberancia asteriforme, alojada en el vértice quinario de la partícula, sin penetrar en el cañón. Los complejos HRV2-VLDL-R son estables, puesto que la unión de este receptor a la superficie del virus no induce los cambios conformacionales que conducirán a la desencapsidación de las partículas. Ello ha facilitado la obtención de cristales y su posterior análisis por difracción de rayos X. Hemos determinado la estructura cristalográfica de HRV2 en complejo con los módulos de unión a ligando V2V3 del receptor VLDL; conocida la estructura, pudimos identificar las interacciones responsables del reconocimiento virus-receptor.

El lugar de reconocimiento del virus consta exclusivamente de aminoácidos de la proteína VP1. Cierta lisina conservada en el grupo menor de rinovirus desempeña una función crucial: el grupo ε-amino de la cadena lateral de esa lisina, alojada en el centro del bucle HI de VP1, tiende dos puentes salinos con el complejo ácido de la región carboxi-terminal del módulo, a la vez que su región alifática contacta con la cadena lateral de un triptófano, también conservado en la mayoría de los módulos.

La lisina de marras constituye el único aminoácido del virus en la interfase de interacción que se mantiene conservado en todo el grupo menor de rinovirus. Además, parece esencial para la viabilidad de esos virus, según han demostrado diversos experimentos de mutagénesis dirigida. La combinación exclusiva de interacciones iónicas e hidrofóbicas, mediadas por la cadena lateral de la lisina, parecen constituir la base de la especificidad de unión de los rinovirus del grupo menor a su receptor VLDL-R.



Estructura cristalográfica del complejo entre HRV2 y el módulo V3 del receptor de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-R). El receptor (*rojo*) se une cerca del vértice quinario de la partícula icosaédrica de los rinovirus del grupo menor. Se muestran las tres proteínas del virus: VP1 (*azul oscuro*), VP2 (*azul claro*) y VP3 (*violeta*). La proximidad entre los extremos aminoterminal y carboxilterminal de módulos adyacentes alrededor del pentámero sugiere un reconocimiento multivalente.

Además de la lisina, otros aminoácidos de los lazos de superficie de BC, DE y HI completan la interfase de interacción. Esos residuos, solo parcialmente conservados, modulan la afinidad de unión al receptor en los serotipos del grupo menor. Parece que la ausencia de esa lisina en el bucle HI de VP1, en la mayoría de los virus del grupo mayor, es la causa de la incapacidad de este grupo para unirse a los receptores de la familia LDL-R.

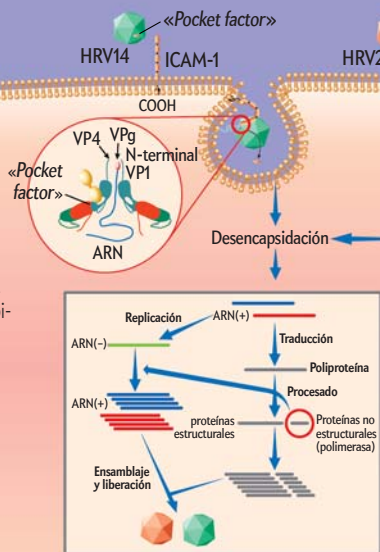
INFECCIÓN

El ciclo vírico en rinovirus

Para que tenga lugar la infección, el virus debe unirse a receptores específicos alojados en la superficie de la membrana de la célula huésped. Los rinovirus humanos reconocen específicamente a dos de esos receptores: los del «grupo mayor» se unen a la célula huésped mediante la molécula de adhesión intercelular de tipo 1 (ICAM-1, de *intercellular adhesion molecule 1*); los del «grupo menor» mediante receptores de las lipoproteínas de baja densidad. La desencapsidación se lleva a cabo de forma distinta en los grupos mayor (*verde*) y menor (*naranja*).

Grupo mayor

Tras un reconocimiento inicial, ICAM-1 se une más profundamente en el cañón. Desplaza así al ligando que ocupa la cavidad (*pocket factor*), lo que induce la desestabilización del virus.



Grupo menor

La interacción con el receptor no induce la desencapsidación. Los virus viajan con el receptor a través de las vesículas recubiertas de clatrina hasta el endosoma, donde el medio ácido induce la desencapsidación.

Una vez que el ARN se ha liberado al citoplasma, se inicia la replicación. Este ARN se traduce a una poliproteína precursora, que sufre un procesamiento proteolítico para dar lugar a las proteínas víricas maduras. Las proteínas de la cápside se ensamblan luego alrededor de los nuevos genomas dando lugar a la progenie de virus infecciosos que por fin se liberan por lisis celular.

Cabe destacar que ese sitio de unión al receptor es totalmente accesible a los anticuerpos. El bucle BC forma la región antigénica A del virus. Ello ilustra el modo en que un sitio de unión al receptor poco extenso puede hallarse en un lugar expuesto a los anticuerpos; los aminoácidos adyacentes a la región de reconocimiento pueden mutar, lo que da lugar a virus viables y les permite escapar de la detección de los anticuerpos.

La interfase de interacción HRV2-receptor es limitada, en comparación con otros complejos proteína-proteína. Ello, junto con la disposición de los módulos de unión a ligando en la superficie del virus, donde los extremos aminoterminal y carboxiterminal de módulos adyacentes se encuentran muy próximos, sugiere un tipo de reconocimiento multivalente, donde varios módulos de un mismo receptor se unirían a un mismo tiempo.

El reconocimiento multivalente se ha demostrado también en varios experimentos de neutralización en cultivo celular: se observa que la concatenación de módulos de unión a ligando recombinantes incrementa la protección de las células frente a la infección de todos los serotipos del grupo menor. Una construcción con esas características podría interactuar con el virus a modo de anillo, firmemente unido a la cúpula del eje quinario; ello explicaría el efecto inhibitorio de la infección observado en experimentos *in vitro*.

APERTURA DE LA CÁPSIDE

Una vez se ha unido a la célula huésped, el virus sufre un cambio estructural: abandona su forma nativa empaquetada para adoptar una conformación con capacidad de traspasar el genoma vírico hasta el interior celular. Esa transformación procede en el grupo mayor de manera distinta que en el menor.

En el grupo mayor de HRV, la unión del ICAM-1 al cañón cataliza el proceso. Tras el reconocimiento inicial, el receptor se une a mayor profundidad en el cañón, compitiendo con el ligando que ocupa la cavidad inferior; la pérdida de este ligando provoca la desestabilización del virus y el posterior desensamblaje y liberación del ARN genómico al citoplasma celular.

En cambio, la unión de los HRV del grupo menor a su receptor no cataliza el desensamblaje o el desplazamiento del ligando que ocupa la cavidad: las partículas viajan con el receptor de lipoproteínas en su itinerario normal a través de las vesículas recubiertas de clatrina hacia el endosoma, donde se produce la lisis de la cápside inducida por la acidificación del medio.

Se conoce cada vez mejor el mecanismo por el cual los receptores que se unen al cañón de los HRV promueven el proceso de pérdida de la cápside. Sin embargo, poco se sabe acerca de la función del medio ácido en la catálisis del desensamblaje. Esa y otras cuestiones requieren nuevos estudios de los mecanismos de desensamblaje en los rinovirus.

PARA SABER MÁS

Picornavirus-receptor interactions. M. G. Rossmann, Y. He y R. J. Kuhn en *Trends in Microbiology*, vol. 10, págs. 324-331, 2002.

The concerted conformational changes during human rhinovirus 2 uncoating. E. A. Hewat, E. Newman y D. Blaas en *Molecular Cell*, vol. 10, págs. 317-326, 2002.

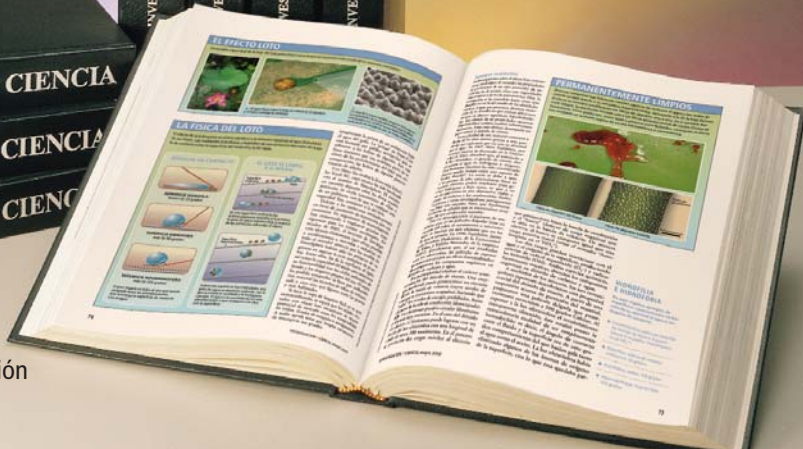
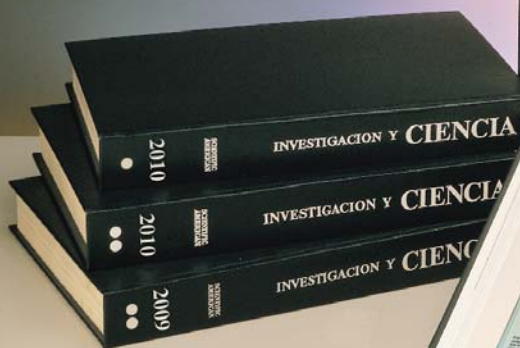
X-Ray structure of a minor group human rhinovirus bound to a fragment of its cellular receptor protein. N. Verdaguier, I. Fita, M. Reithmayer, R. Moser y D. Blaas en *Nature Structural and Molecular Biology*, vol. 11, págs. 429-434, 2004.

Minor group human rhinovirus-receptor interactions: geometry of multimodular attachment and basis of recognition. J. Querol-Audi, T. Konecni, J. Pous, O. Carugo, I. Fita, N. Verdaguier y D. Blaas en *FEBS Letters*, vol. 583, n.º 1, págs. 235-240, 5 de enero de 2009.

Uncoating of human rhinoviruses. R. Fuchs, y D. Blaas en *Reviews in Medical Virology*, vol. 20, n.º 5, págs. 281-297, septiembre de 2010.

LOS EJEMPLARES DE INVESTIGACION Y CIENCIA

FORMAN VOLUMENES
DE INTERES PERMANENTE



Para efectuar su pedido:

934 143 344

administracion@investigacionyciencia.es

www.investigacionyciencia.es

Para que pueda conservar y consultar mejor la revista, ponemos a su disposición tapas para coleccionar sus ejemplares.