

REPLICACIÓN, INTERACCIÓN VIRUS-HUÉSPED Y PROTECCIÓN EN CORONAVIRUS



Luis Enjuanes

Resumen

Los coronavirus tienen un genoma RNA de cadena sencilla y positiva con un tamaño de 30 kb, y son responsables de infecciones en las mucosas del tracto respiratorio y entérico. Los coronavirus tienen un alto impacto en salud humana y animal. Nuestro grupo está interesado en las bases moleculares de la replicación y transcripción, ensamblamiento e

interacción virus-huésped utilizando como modelos experimentales el coronavirus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV) y el virus productor del síndrome respiratorio agudo y severo (SARS-CoV). La información derivada de estos estudios se está aplicando a la ingeniería de vectores basados en genomas de coronavirus.

La replicación y transcripción, así como las interacciones virus-huésped, están mediadas por uniones entre el RNA y proteínas virales y del huésped, y por interacciones proteína-proteína. Nosotros hemos postulado que la replicación y transcripción del genoma de coronavirus implica la interacción de los extremos 5' y 3' del genoma y estamos comprobando esta hipótesis e identificando las proteína virales y

celulares implicadas en este proceso. La transcripción de coronavirus requiere la síntesis discontinua de RNA, mediante la que el líder se une a las secuencias codificantes, en un proceso de selección de copia mediada por recombinación de RNA asistida por homología de secuencias. Basándonos en una colección de datos generados por genética reversa, nuestro laboratorio ha propuesto un mecanismo de transcripción. Hemos demostrado que la extensión del apareamiento entre la cadena naciente de RNA y secuencias del líder regulan la cantidad de RNA subgenómico. No obstante, existen mecanismos reguladores adicionales que modulan la cantidad de RNA subgenómico producido, tales como las interacciones RNA-proteína. Un objetivo importante de nuestro programa es el estudio del papel de

las chaperonas RNA en el cambio de molde durante la síntesis de RNA viral.

En la segunda área de trabajo del grupo, interacción virus-huésped, hemos postulado que proteínas específicas del virus, tales como la proteína N que se ha encontrado en el

núcleo de la célula, y proteínas virales no esenciales, modulan estas interacciones. Utilizando estrategias de genética reversa, basadas en la construcción de dos clones cDNA infectivos producidos en nuestro laboratorio para los virus TGEV y SARS-CoV, estamos estudiando

la influencia de los genes de coronavirus en la atenuación de estos virus, sobre el ciclo celular, o sobre funciones relevantes del huésped tales como la respuesta inmune. La información generada por proteómica y genómica funcional será esencial para estos estudios.

CORONAVIRUS TRANSCRIPTION

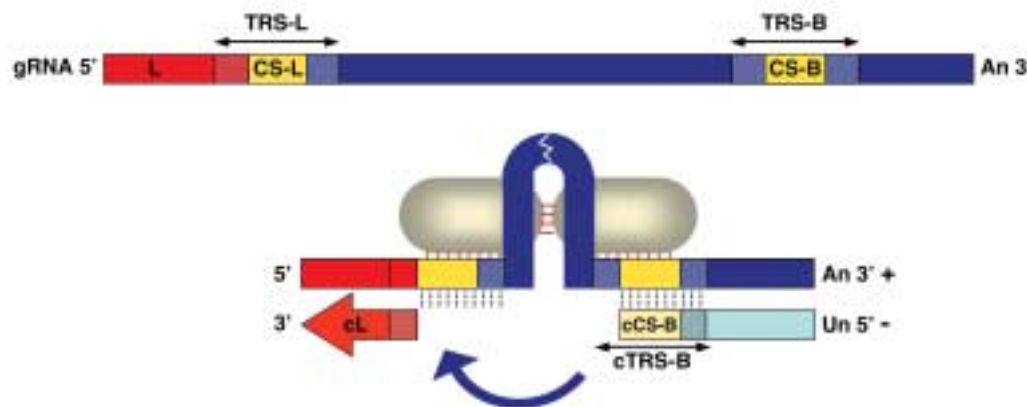


Figura 1. Diagrama de los elementos estructurales implicados en la transcripción de coronavirus. En la barra superior se indican las secuencias implicadas en la síntesis discontinua de la cadena de RNA negativa. CS-L y CS-B, secuencias conservadas del líder y de la zona codificante, respectivamente. TRS-L y TRS-B, secuencias reguladoras de la transcripción situadas a continuación del líder y precediendo a cada gen, respectivamente. An, Poli A. En la parte inferior de la figura se muestra un esquema de la transcripción en coronavirus, en el que se indica la producción discontinua de la cadena negativa. Los acrónimos CS-B y cTRS-B representan las secuencias complementarias CS-B y cTRS-B, respectivamente. Un, Poli U. Las secuencias del líder y las secuencias codificantes probablemente se encuentran próximas en el espacio debido a la formación de estructuras de orden superior que se mantienen por interacciones RNA-proteína y proteína-proteína.

PERSONAL



Jefe de Línea:

Luis Enjuanes

Becarios Postdoctorales:

Fernando Almazán

Isabel Sola

Javier Ortego

Sara Alonso

David Escors

Sonia Zúñiga

Becarios Predoctorales:

Carmen Galán

Carmen Capiscol

Jose L. Moreno

Marta L. DeDiego

Juan Ceriani

Aitor Nogales González

Técnicos de Investigación:

Carlos M. Sánchez

Diana Dorado

Margarita González

Visitantes:

Caroline Lassnig, Vienna, Austria.

Kersting Saenger, Riems, Germany.

Patricia Sabella, Fort-Dodge, Gerona, Spain.

Índice sección

Índice general

HOME

PUBLICACIONES

Ortego, J., Sola I., Almazan F., Ceriani J. E., Riquelme, C., Balasch, M., Plana J. and Enjuanes, L. (2003). Transmissible gastroenteritis coronavirus gene 7 is not essential, but affects *in vivo* replication and virulence. *Virology*. **308**, 13-22.

Sola, I., Alonso, S., Zuñiga, S., Balach, M., Plana-Durán, J. y Enjuanes, L. (2003). Engineering transmissible gastroenteritis virus genome as an expression vector inducing latogenic immunity. *J. Virol.* **77**, 4357-4369.

Holmes, K.V. and Enjuanes, L. (2003). The SARS coronavirus: a postgenomic era. *Science* **300**, 1377-1378.

Escors, D., Izeta, A., Capiscol, C., Enjuanes, L. (2003). Transmissible gastroenteritis coronavirus packaging signal is located at the 5' end of the virus genome. *J. Virol.* **77**, 7890-7902.

González, J.M., Gómez-Puertas, P., Cavanagh, D., Gorbalenya, A.E. and Enjuanes, L. (2003). A comparative sequence analysis to revise the current taxonomy of the family *Coronaviridae*. *Arch. Virol.* **148**, 2207-2235.

Zuñiga, S., Sola, I., Alonso, S. and Enjuanes, L. (2004). Sequence motifs involved in the regulation of discontinuous coronavirus subgenomic RNA synthesis. *J. Virol.* **78**, 980-994.

Bailey, M., Haweson, K., Jones, P., Miller, B., Sola, I., Enjuanes, L. and Stokes, C.R. (2004). Effect of infection with transmissible gastroenteritis virus on concomitant immune responses to dietary and injected antigens. *Clin. Diagn. Lab. Immun.* **11**, 337-343.

Schwegmann-WeBels, C., Al-Falah, M., Escors, D., Wang, Z., Zimmer, G., Deng, H., Enjuanes, L., Naim, H.Y., Herrler, G. (2004). A novel sorting signal for intracellular localization is present in the S protein of a porcine coronavirus but absent from SARS-associated coronavirus. *J. Biol. Chem.* **279**, 43661-43666.

Escors, D., Capiscol, C. and Enjuanes, E. (2004). Immunopurification applied to the study of virus protein composition and encapsidation. *J. Virol.* **119**, 57-64.

Enjuanes, L., Sola, I., Alonso, S. and Zuñiga, S. (2004). Coronavirus reverse genetics: viral based vectors for gene expression. *Curr. Top. Microbiol. & Immunol.* **287**, 161-197.

Almazan, F., Galan, C. and Enjuanes, L. (2004). The nucleoprotein is required for efficient coronavirus genome replication. *J. Virol.* **78**, 12683-12688.

Enjuanes, L. (2004). Diseño y bioseguridad de vacunas y vectores virales. In: La Real Expedición Filantrópica de la Vacuna. Doscientos Años de Lucha Contra la Viruela. Eds. Susana Ramírez, Luis Valenciano, Rafael Nájera, Luis Enjuanes. CSIC. Madrid, España, 347-381.

LIBROS / BOOKS

Enjuanes, L., Almazán, F and Ortego, J. (2003). Virus based vectors for gene expression in mammalian cells: coronavirus. In: "Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells. Eds. S. C. Makrides. Elsevier Science. Amsterdam. Holanda.

Enjuanes, L. (2004). Coronavirus replication and reverse genetics. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer Verlag. Heidelberg, Germany.

Walker, P.J., Bonami, J. R., Boonsaeng, V., Chang, P.S., Cowley, J.A., Enjuanes. L., Flegel, T. W., Lightner, D. V., Loh, P. C., Snijder, E.J., Tang, K. (2004). Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses Roniviridae. In: Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Academic Press. San Diego. USA.

Enjuanes, L. (2004). La Real Expedición Filantrópica de la Vacuna. Doscientos Años de Lucha Contra la Viruela. Eds. S. Ramírez, L. Valenciano, R. Nájera, L. Enjuanes. CSIC. Madrid, Spain.

ARTICULOS DE DIVULGACIÓN / DIVULGATION ARTICLES

Escors, D., Enjuanes, L. (2003). Las enfermedades virales emergentes: el coronavirus del sindorme respiratorio agudo y severo. *Historia Natural*. Vol 1. PP. 48-52. October.

Enjuanes, L. (2004). Vacunacion y bioseguridad. "La Real Expedicion Filantropica de la Vacuna. Doscientos Años de Lucha Contra la Viruela". CSIC. Madrid. Spain. November.

PROYECTOS CIENTÍFICOS

Enjuanes, L.

Immunotherapy of enteric infections by rotaviruses and coronaviruses using plantibodies.

Organismo financiador: UE, Proyecto: Ref. CE: QLK2-CT-2000-00739; CSIC: LIFE/992/0587, 2000 - 2003.

Enjuanes, L.(Coordinador del proyecto)

Biosafe coronavirus vaccine vector for the prevention of human infections of the enteric and respiratory tracts.

Organismo financiador: UE, Proyecto: Ref. CE: QLK2-CT-2001-00874; CSIC: LIFE/992/0859, 2001 – 2005.

Enjuanes, L.

Biosafe coronavirus vector-based vaccine for prevention of foot-and-mouth disease.

Organismo financiador: UE, Proyecto: Ref. UE: QLK2-CT-2002-00825, CSIC: LIFE/001/1282, 2002 – 2006.

Enjuanes, L.

Targeting immunostimulating complex production in plants.

Organismo financiador: UE., Proyecto: Ref. UE: QLK2-CT-2002-01050, CSIC: LIFE/001/1273, 2002 – 2005.

Enjuanes, L.

Ingeniería de genomas de coronavirus para el diseño de vectores bioseguros.

Organismo financiador: CICYT, Proyecto: Ref. BIO2001-1699, Duración: 2001 – 2004.

Enjuanes, L.(Coordinador del proyecto)

Development of intervention strategies against SARS in a European-Chinese taskforce.

Organismo financiador: UE, Proyecto: Ref. UE: SP22-CT-2004-511060, CSIC:SSP/STREP/02/0324, 2004 – 2007.

Enjuanes, L.

Replicación, interacción virus-huesped y protección en coronavirus.
Organismo financiador: CICYT, Proyecto: Ref. BIO2004-00636, 2004 – 2007.

Enjuanes, L.

Vectores virales y no virales en terapia génica. Aplicación de sistemas poliméricos inteligentes para la formación de complejos de baja toxicidad. Organismo financiador: CSIC, Proyecto: Ref. 200420F0294, 2004 – 2005.

Enjuanes, L.

Genomic inventory, forensis markers, and assessment of potential therapeutic and vaccine targert for viruses relevant in biological crime and terrorism.
Organismo financiador: UE, Proyecto: FP6-2004-SSP-4, 2004 – 2007.

Índice sección

Índice general

HOME

TESIS DOCTORALES

Cristina Riquelme Gabriel. (1998-2004).
Vectores basados en genoma del coronavirus TGEV.
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.

Carmen Galán Avella. (2002-05).
Estudio de la replicación del coronavirus TGEV.
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.

M. Carmen Capiscol Perez de Tudela. (2003-05).
Estudio de la señal de encapsidación del virus coronavirus TGEV.
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.

Juan E. Ceriani. (2003-05).
Construcción de partículas análogas a rotavirus (VLP's) utilizando vectores virales basados en genomas de coronavirus.
Universidad Autonoma of Barcelona. Barcelona.

José Luis Moreno. (2004-05).
Estudio de la regulación de la transcripción de coronavirus. Diseño de un vector viral para vacunas y terapia génica.
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.

Marta L. De Diego. (2004-05).
Interacción del coronavirus SARS con el huésped y protección frente a infecciones producidas por este virus
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.

Aitor Nogales González. (2005).
Proteínas virales y celulares implicadas en la replicación del coronavirus TGEV.
Universidad Autonoma de Madrid. Madrid.



PATENTES

Enjuanes, L., Almazán Toral, F., González Martínez, J.M., Izeta, A., Péñzes, Z., Alonso Villanueva, S., Sánchez, C.M., Sola Gurpegui, I., Sánchez Morgado, J.M., Calvo Alcocer, E., Ortego Alonso, J., Escors, D., Barrado Guerrero, P., Riquelme Gabriel, C. y Plana Durán, J.
Nº Registro: CECT 5265(P 9902673).

Índice sección

Índice general

HOME