

¿QUÉ HACEN AQUÍ ESTOS VIRUS GIGANTES?: NUEVOS ASPECTOS SOBRE LA EXPLICACIÓN DEL ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LOS VIRUS

WHAT ARE THESE GIANT VIRUSES DOING HERE?: NEW ASPECTS ON THE EXPLANATION OF THE ORIGIN AND EVOLUTION OF VIRUSES

por JUAN JOSÉ BORREGO

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

jjborrego@uma.es

Palabras clave: Megavirus, origen y evolución de los virus, filogenia

Keywords: Megaviruses, origin and evolution of the viruses, phylogeny

Enviado: 8 de septiembre de 2017

Aceptado: 2 de noviembre de 2017

Los Megavirus son un grupo de virus gigantes que infectan fundamentalmente a amebas y que poseen características únicas en el mundo de los virus. Los viriones tienen tamaños entre 2 y 15 veces mayores que los virus más grandes conocidos, como poxvirus, herpesvirus e iridovirus, y sus genomas contienen de 50 a 250 veces más genes, con grandes proporciones de genes únicos entre los virus, y muchos de ellos con funciones desconocidas. Además, estos virus penetran en las amebas a través de un proceso de fagocitosis sin necesidad de una interacción específica con los receptores celulares, como ocurre en el resto de los virus conocidos. Una importante controversia se ha planteado sobre si estos Megavirus conforman un cuarto brazo del árbol de la vida, aparte de los dominios *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. No se han detectado genes que sean compartidos por todos los Megavirus, y solo cinco grupos principales de virus se ha demostrado que son monofilético.

Megaviruses or giant viruses infect amoebas and exhibit remarkable features inside of the viral world. The sizes of their virions are between 2 and 15 times larger than the known large viruses, such as pox-, herpes- and iridoviruses, and their genomes contains about 50-250 times more genes, among which large proportions are unique amongst viruses, and a high proportion of them with unknown functions. Moreover, they enter amoebas through phagocytosis; no specific interaction with cell receptors is needed, unlike for traditional viruses. A major controversy is whether giant amoebal viruses comprise a fourth branch in the tree of life, aside Bacteria, Archaea, and Eukarya. No gene has been detected that is shared by all viruses, and only five major viral groups could be shown being monophyletic.

Descubrimientos de los virus gigantes

Clásicamente se ha considerado a los virus como las entidades biológicas más pequeñas dentro del mundo microbiano (a excepción de los viroides y priones). Las características más importantes que define a los virus son su pequeño tamaño, su parasitismo estricto a nivel genético, la presencia de ADN o ARN como material genético (nunca los dos), y la ausencia de un aparato de traducción.

En 1992 durante un brote de neumonía en el hospital de Bradford en Reino Unido, se tomaron muestras de agua del sistema de aire acondicionado para detectar *Legionella*, que causa neumonías y que vive dentro de las amebas que se multiplican en estos sistemas de refrigeración. Dentro de las amebas, se observó al microscopio óptico lo que entonces se describió como una pequeña bacteria con forma redondeada que se teñía como las bacterias Gram-positivas y que se denominó el «coco de Bradford». No se pudo aislar, ni amplificar su ADN, y se añ-

dieron antibióticos a las amebas para inhibir el crecimiento del microorganismo, pero nada funcionaba. El «coco de Bradford» era una bacteria «muy rara». Más de diez años después, en 2003, se logró descubrir qué era en realidad el «coco de Bradford». Se trataba de un nuevo tipo de virus muy peculiar: los **Mimivirus**^[1]. Se denominaron así porque se confundieron con bacterias debido a su tamaño y a que «imitaban» (del inglés *mimicking microbe*) la tinción Gram-positiva. El genoma de estos Mimivirus era el mayor genoma viral conocido, hasta este momento y poseía genes no encontrados en ningún otro virus y que hasta entonces se creía exclusivo de organismos celulares.

El descubrimiento de los Mimivirus cambió el paradigma del concepto de los virus y abrió nuevos debates sobre la definición y clasificación de los virus. De hecho, los Mimivirus son visibles al microscopio óptico y su contenido genético es mucho mayor que el resto de virus conocidos, y de algunas ultrabac-

terias. Además, algunos de estos genes sugieren una relativa autonomía de su célula hospedadora, tanto para su transcripción como para su traducción.

Desde entonces se han descubierto otros virus gigantes similares, como el *Megavirus chilensis*, que también se replica en el interior de las amebas y que se descubrió en 2011 durante una campaña en la estación marina de Las Cruces en Chile. Estos Mimivirus son realmente grandes, con un tamaño de $0,7 \mu m$ y con un genoma de 1,2 millones de pares de bases con unos 1120 genes, que los hace mayores que las bacterias más pequeñas como *Mycoplasma*. La mayoría de los Mimivirus descritos se han aislado del interior de la ameba *Acanthamoeba polyphaga*. También se han descrito en esponjas y corales y un tipo de virus gigante, el *Cafeteriavirus*, se ha aislado de un flagelado unicelular del zooplancton marino. Por eso, se sugiere que los Mimivirus pueden jugar un papel importante en los ecosistemas acuáticos^[2].

Durante el cultivo de los Mimivirus en su ameba hospedadora se descubrió un hecho insólito, la presencia de un nuevo tipo de virus en el cultivo, denominado Virofagos^[3], que no replica autónomamente en los cultivos de *Acanthamoeba spp.*, pero replica en presencia de un mimivirus como hospedador en sus factorías víricas (*parásito de un parásito*). Los virofagos inhibían la lisis de las amebas por los mimivirus, y son capaces de integrarse en el genoma de los mimivirus como provirofagos o como transpoviriones^[4].

En 2009, se aisló un nuevo virus gigante el **Marseillevirus** a partir de co-cultivos sobre *A. polyphaga* de aguas de una torre de refrigeración de aire acondicionado. Este virus tiene una cápside de $250 nm$ (mucho menor a los Mimivirus) y representa una nueva familia de virus denominada Marseilleviridae, que incluye además a otros representantes como Lausannevirus, virus de Cannes, Tunisvirus y Melbournevirus (todos aislados de agua), el virus Insectomime (aislado de insectos) y Senegalvirus (aislado de una muestra humana). Lo más sorprendente de esta familia de virus es su considerable mosaicismo genético, es decir, los Marseillevirus poseen genes que codifican proteínas similares a las histonas y genes para la ADN-topoisomerasa II, que «eran» exclusivos de eucariotas^[5]. Pero también, los Marseillevirus contienen genes que codifican para proteínas bacterianas y de algunos hongos.

En 2013, se describió otro nuevo tipo de virus gigantes, los **Pandoravirus**^[6]. Como los anteriores, también se multiplican dentro de la ameba *Acanthamoeba*. Se han aislado en muestras de sitios tan alejados como Chile y Australia. Son incluso más grandes que los Mimivirus, pueden tener hasta $1,2 \mu m$, con genomas de más de 2,8 millones de pares

de bases y más de 2500 genes. La estructura de los Pandoravirus sin embargo es muy diferente a la de los Mimivirus, y los análisis genéticos demuestran que no están relacionados. Curiosamente estos pandoravirus no poseen genes que codifiquen para las proteínas de su cápside, fenómeno que solo ha sido descrito en virus de muy pequeño tamaño^[7].

En 2014 a partir de muestras congeladas a $30 m$ de profundidad en un permafrost de Siberia de más de 30000 años, se aisló un cuarto tipo de virus gigante (**Pithovirus**) diferente a los anteriores que se denominó *Pithovirus sibericum*^[8]. Probablemente este sea el virus más grande hasta ahora conocido con $1,5 \mu m$ de tamaño, pero sorprendentemente aunque su tamaño es mayor que el de los Mimivirus y Pandoravirus, su genoma es más pequeño, con unos 610.000 pares de bases y tan «solo» 467 genes. Su morfología es más parecida a los Pandoravirus, pero genéticamente son más similares a los Mimivirus, Marseillevirus e Iridovirus. En las mismas muestras del permafrost siberiano se descubrió otro tipo de virus gigante, denominado Mollivirus sibericum, con un tamaño entre 500-600 nm, su genoma muestra mucha similitud con los pandoravirus^[9].

Los **Faustovirus** son los primeros virus gigantes que se han aislados de otras especies de amebas de vida libre^[10]. Su tamaño es inferior a otros virus ($200 nm$), y su estudio filogenético lo incluye dentro de la familia *Aspharviridae*.

Controversias sobre el origen y evolución de los virus

Se piensa que los virus gigantes han evolucionado a partir de microorganismos de vida independiente que surgieron de otras formas de vida existentes hace billones de años. No obstante, la revolucionaria idea de que los virus gigantes representan una rama independiente del árbol de la vida es controvertida, y no todos los investigadores la aceptan. Si los virus gigantes pueden o no causar enfermedades es una pregunta que aún no tiene respuesta. Además, el nuevo estudio revela que los virus gigantes no son en absoluto extraños. Poco después del descubrimiento del Pandoravirus en sedimentos del suelo marino, un equipo de la CNRS Aix-Marseille Université, los volvió a aislar de un lago en Australia, a más de 16.000 Km de distancia del primer aislamiento. De hecho, los virus gigantes deben ser tan comunes que pueden detectarse incluso en el hombre. En un estudio publicado en el *Journal of Infectious Diseases*^[11], los investigadores franceses ofrecían una evidencia clara de que estos virus gigantes afectan a la salud de los humanos. Aislaron un nuevo virus gigante de la

sangre donada por un voluntario, y encontraron anticuerpos y antígenos víricos en otros cuatro donantes. Luego es posible que los virus gigantes actúen como controladores de las amebas que alberga el hombre.

Esta última teoría se vio respaldada por el descubrimiento, hace una década, de virus gigantes que son más similares a organismos celulares. Pero un nuevo estudio, publicado también en *Frontiers in Microbiology*^[12], sobre los genomas de estos virus gigantes pone en cuestión esa idea. Esta tremenda dependencia de las células hospedadoras los sitúa en los límites de la definición de la vida, de modo que algunos los consideran seres vivos y otros no, pero la gran pregunta es: ¿de dónde provienen? Existen teorías contrapuestas^[13] que intentan explicar la evolución de los virus. Una de ellas presenta a los virus como descendientes de un antiguo linaje de organismos celulares que vivían dentro de otras células y cuya estructura se fue simplificando con el tiempo. Esto los convertiría en los únicos supervivientes de un cuarto dominio de seres vivos, desaparecido hace mucho tiempo, que dejó atrás la estructura celular. Si los virus evolucionaron a partir de organismos vivos, ahora tendría sentido considerar que están vivos. Otra teoría propone que los virus surgieron como entes genéticos independientes que se liberaron de su confinamiento celular. Podrían estar relacionados con los transposones, capaces de copiarse o recortarse del genoma y luego integrarse en otras zonas del ADN. En este caso, los virus serían el resultado de accidentes moleculares que se volvieron evolutivamente estables. Lo que significaría que nunca han sido organismos vivos completos. Ambas teorías tienen puntos débiles. La primera no consigue explicar la simplicidad de los virus. No existe ningún otro organismo conocido con ese grado de simplificación tan extremo. Por otro lado, la segunda teoría no explica por qué los virus son mucho más complejos que otros elementos genéticos móviles, ninguno de los cuales tiene una envoltura comparable a la cápside.

Un estudio muy reciente^[14] ha confirmado la naturaleza «prestada» de todos estos genes de los virus. La investigación emplea los métodos más avanzados, denominados secuenciación de nueva generación (NGS, por su sigla en inglés) para mapear el ADN tomado en una planta de tratamiento de aguas residuales de Klosterneuburg (Austria). Esta técnica ha permitido descubrir un linaje completamente nuevo de virus gigantes, los **Klosneuvirus**. Entre todos los virus gigantes, los Klosneuvirus poseen el mayor conjunto de genes implicados en la fabricación de proteínas. Comparando los genomas de los distintos virus gigantes y reconstruyendo cuidadosamente su evolución, los investigadores ponen de manifiesto,

convincientemente, que la maquinaria de fabricación de proteínas de estos virus gigantes es una adición genética relativamente reciente (no los restos de un genoma ancestral más grande).

En el estudio se sostiene que las células hospedadoras de estos virus podrían haber desarrollado una estrategia de defensa basada en ocultarles las proteínas a los invasores. En consecuencia, los virus se adaptaron incorporando algunos de estos genes a su genoma. Los investigadores llegan a la conclusión de que los virus gigantes analizados en este estudio han evolucionado en distintas ocasiones a partir de virus más pequeños, lo que descarta la idea de que evolucionasen a partir de organismos celulares.

El descubrimiento de los virus gigantes o «girus» (Mimivirus, Marseillevirus, Pandoravirus, Pithovirus, Faustovirus y Klosneuvirus) ha abierto un debate sobre el origen y evolución de los virus. Algunos piensan que estos virus son en realidad «ladrones de genes» que han adquirido todo su enorme arsenal genético por transferencia horizontal de otros virus y organismos celulares. Quizá hayan podido evolucionar a partir de un genoma celular ancestral mediante un proceso de evolución reductiva, frecuente en otros microorganismos parásitos intracelulares. Otros autores sugieren incluso que estos virus gigantes tienen un ancestro común y representan un cuarto dominio entre los seres vivos, además de *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. Por eso, han propuesto agruparlos todos en un nuevo orden, los **Megavirales**. Este material genético adicional contiene instrucciones para fabricar proteínas, algo de lo que otros virus carecen en gran medida, pero que sí se encuentra en otras formas de vida. El sistema molecular no está completo y los virus gigantes también tienen que invadir células para fabricar más virus gigantes. Pero algunos investigadores señalan^[15] que estos genes podrían ser restos de un pasado celular, lo que respaldaría la existencia de un cuarto dominio de seres vivos. Por otra parte, la «saltarina» naturaleza genética de los virus los vuelve proclives a adquirir genes de otros organismos. Lo cual ha llevado a otros autores a plantear la hipótesis de que todos estos genes adicionales de los virus gigantes son consecuencia del robo evolutivo^[16].

Esta cuarta rama del árbol filogenético no se puede considerar como un dominio adicional a los tres existentes, ya que se basa en genes ribosómicos de los que carecen los virus gigantes. Por tanto, esta nueva rama de la vida se ha denominado como una cuarta TRUC (un acrónimo de *Things Resisting Uncompleted Classification*)^[17]. TRUC corresponde a una nueva clasificación de los microorganismos que divide al mundo microbiano en cuatro ramas, incluyendo

Bacteria, Archaea, Eukarya y los virus gigantes, lo que permite incluir a estos virus en el árbol de la vida.

Referencias

- ¹La Scola B. y otros. 2003. A giant virus in *Amoebae*. *Science* 299 (5615): 2033. doi:10.1126/science.1081867.
- ²Abrahão J.S. y otros. 2014. *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus and other giant viruses: An open field to outstanding discoveries. *Virol. J.* 11: 120. doi:10.1186/1743-422X-11-120.
- ³La Scola B. y otros. 2008. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature* 455: 100-104. doi:10.1038/nature07218.
- ⁴Desnues C. y Raoult D. 2012. Virophages question the existence of satellites. *Nat. Rev. Microbiol.* 10: 234. doi:10.1038/nrmicro2676-c3.
- ⁵Thomas V. y otros. 2011. Lausannevirus, a giant amoebal virus encoding histone doublets. *Environ. Microbiol.* 13: 1454-1466. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02446.x
- ⁶Philippe N. y otros. 2013. Pandoraviruses: Amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. *Science* 341 (6143): 281-286. doi:10.1126/science.1239181.
- ⁷Koonin E. V. y Dolja V. V. 2014. Virus world as an evolutionary network of viruses and capsidless selfish elements. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 78: 278-303.
- ⁸Durzynska J. y Gozdzicka-Josefiak A. 2015. Viruses and cells intertwined since the dawn of evolution. *Virol. J.* 12: 169. doi:10.1186/s12985-015-0400-7.
- ⁹Legendre M. y otros. 2015. In-depth study of *Mollivirus sibericum*, a new 30,000-y-old giant virus infecting *Acanthamoeba*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112: E5327-E5335. doi:10.1073/pnas.1510795112.
- ¹⁰Reteno D. G. y otros. 2015. Faustovirus, an asfarvirus-related new lineage of giant viruses infecting amoebae. *J. Virol.* 89: 6585-6589. doi:10.1128/JVI.00115-15.
- ¹¹Popgeorgiev N. y otros. 2013. Marseillevirus-like virus recovered from blood donated by asymptomatic humans. *J. Infect. Dis.* 208: 1042-1050. doi:10.1093/infdis/jit292.
- ¹²Aherfi S. y otros. 2016. Giant viruses of amoeba: An update. *Front. Microbiol.* 7: 349. doi:10.3389/fmicb.2016.00349.
- ¹³Legendre M. y otros. 2014. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111 (11): 4274-4279. doi:10.1073/pnas.1320670111.
- ¹⁴Schulz F. y otros. 2017. Giant viruses with an expanded complement of translation system components. *Science* 356 (6333): 82-85. doi:10.1126/science.aal4657.
- ¹⁵Legendre M. y otros. 2012. Genomics of Megavirus and the elusive fourth domain of Life. *Commun. Integr. Biol.* 5: 102-106.
- ¹⁶Moreira D. y López-García, P. 2015. Evolution of viruses and cells: do we need a fourth domain of life to explain the origin of eukaryotes?. *Phil. Trans R. Soc. B* 370 (1678): 20140327. doi:10.1098/rstb.2014.0327.
- ¹⁷Raoult D. 2013. TRUC or the need for a new microbial classification. *Intervirology* 56: 349-353. doi:10.1159/000354269.