

Visualización de la partícula Viral

Jean-Yves Sgro

Los virus son partículas infecciosas submicroscópicas que no pudieron ser visualizadas directamente hasta la invención del microscopio electrónico, en 1931. En la década de los 80, con los rápidos desarrollos de la cristalografía de rayos X, se produjeron finalmente las coordenadas tridimensionales a resolución atómica de partículas virales. Recientemente, las técnicas de criolectromicroscopía con reconstrucción tridimensional de imagen, permitieron adquirir datos de la estructura tridimensional de los virus que no pueden ser cristalizados. Estos adelantos, adicionales a los avances simultáneos en la velocidad de computación y de las técnicas computarizadas de visualización, ayudaron a crear figuras moleculares de los virus que suministran información sobre las relaciones entre estructura y función y permiten, por ejemplo, visualizar sitios antigénicos o mutaciones de amino ácidos en las cápsides virales.

Simetría, datos y coordenadas

Los virus son muy simétricos y están formados por la repetición de elementos estructurales básicos. En 1956, Caspar y Klug, sugirieron que los virus icosaédricos tenían simetría cúbica y los virus cilíndricos simetría helicoidal. La publicación de las coordenadas contiene sólo datos mínimos; apenas una sesentava de la cápside icosaédrica del virus, porque el resto puede ser calculado aplicando matrices de rotación simples que algunas veces son suministradas, directamente por los autores, en el archivo de las coordenadas.

Los datos están disponibles para el público en el Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) en <http://www.rcsb.org/pdb>, desde donde se pueden recuperar los archivos individuales. Los archivos están identificados por un número de entrada de cuatro caracteres. Por ejemplo el número de entrada para el virus del polio tipo 1 Mahoney es 2PLV. Una nueva fuente de coordenadas e imágenes es el sitio VIPER (Virus Particle Explorer)(<http://mmtsb.scripps.edu/viper/viper.html>). Las coordenadas que se suministran en

este sitio han sido transformadas para que estén en la misma posición espacial tridimensional; entonces un solo grupo de matrices de rotación se puede usar para calcular el conjunto completo de la cápside de cada virus. Desafortunadamente ningún sitio ofrece todavía el conjunto completo de coordenadas precalculadas. Las imágenes de los virus también se ofrecen en <http://www.bocklabas.wisc.edu>. Todavía no hay una política para suministrar el acceso a los datos publicados en crioelectromicroscopía.

Gráficos por computador y señales de profundidad

Los computadores de mesa, que tienen ahora procesadores más grandes y con gran capacidad de memoria, se pueden usar para abrir y visualizar estructuras virales pequeñas y medianas, como una representación del esqueleto de las moléculas. Sin embargo se requieren computadores más grandes, tipo workstation, para producir imágenes de alta calidad y más complejas, como superficies moleculares o aquellas que puedan suministrar gráficos suficientemente rápidos que permitan una manipulación interactiva.

Dentro de la mayoría de los programas de gráficos, los objetos tienen señales de profundidad, esto quiere decir que a las porciones del objeto que aparecen más atrás, más lejos del observador, se les asigna una sombra más oscura que da la impresión de profundidad y tridimensionalidad. Los virus son estructuras muy grandes y este tipo de señales de profundidad no es suficiente para mostrar los detalles del relieve de la superficie. El relieve de los virus es el equivalente geográfico en miniatura de valles, precipicios, cañones o montañas. Además de las señales de profundidad, es posible mejorar visualmente el panorama de la superficie mediante la aplicación de señales radiales de profundidad en los virus icosaédricos, o de señales cilíndricas para virus de simetría helicoidal. Por ejemplo, se pueden aplicar colores más claros a las cimas y colores más oscuros a los valles. Si no se usa este tipo de coloración, la estructura de un virus icosaédrico parecería más bien un disco plano.

Estructura icosaédrica

La figura 1 muestra una vista estérica del virus de polio tipo 1 Mahoney. Es muy fácil distinguir los accidentes de la superficie los cuales son fuertemente reforzados por el juego de colores oscuros y claros. Alrededor del eje de simetría quintuple se puede reconocer una depresión profunda en forma de cañón, que posiblemente es el área donde se encuentra el receptor del virus. La rejilla amarilla superpuesta, encima de la partícula, puede ayudar a visualizar los ejes de simetría. El virión está orientado mirando hacia abajo con un eje de simetría triple, localizado en el centro de cada imagen. Tres ejes de simetría quintuple pueden ser reconocidos, uno arriba y dos abajo, a los lados. Desde el eje de simetría triple el centro de cuatro vértices de la porción roja de la

rejilla une este eje triple al eje doble de la izquierda, al eje quíntuple de la parte de arriba, al eje doble de la derecha y de la parte de atrás del eje triple. La rejilla roja corresponde; de manera aproximada, a la localización de las proteínas individuales de la cápside: VP1 en el área de arriba, VP2 en el área de la derecha y VP3 en el área izquierda. La rejilla amarilla es el duplicado de la rejilla roja que se presenta en la simetría icosaahédrica.

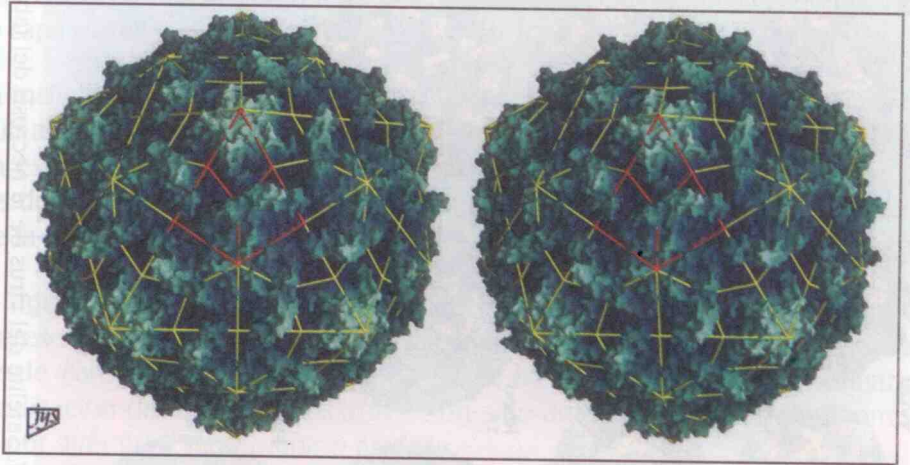


Figura 1: Vista estérica del poliovirus tipo mahoney. La rejilla roja representa la localización aproximada de la VP1 (arriba), VP2 (derecha) y VP3 (izquierda).

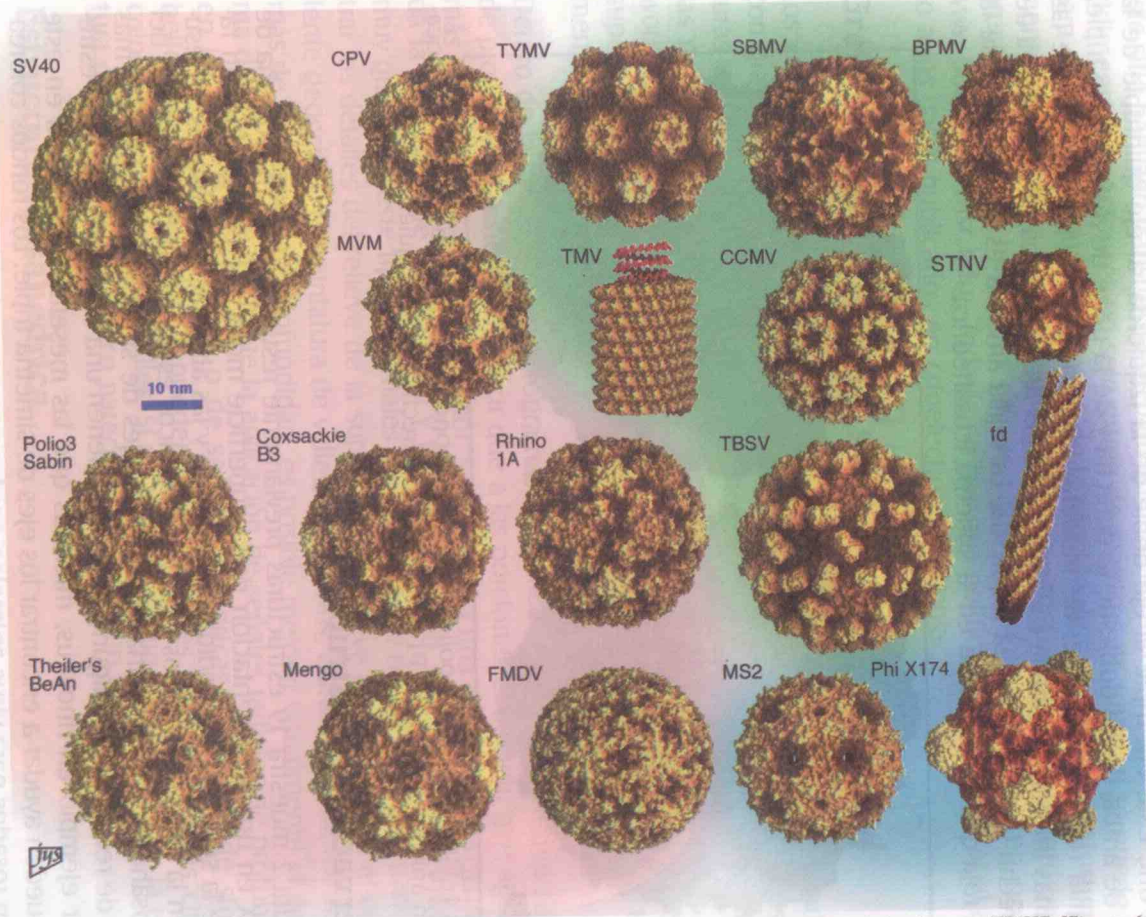
Observación de estructuras

La figura 2 muestra 19 estructuras previamente resueltas por cristalografía de rayos X en una representación de la superficie molecular con graduación radial de la señal de profundidad. El nombre y las abreviaciones usadas se resumen en la tabla 1. Todos los virus icosaahédricos están orientados a lo largo del eje icosaahédrico de simetría doble. Los ejes de simetría quíntuple son más fáciles de reconocer en algunos virus que tienen una región en forma de estrella, por ejemplo en rinovirus, mientras que las mesetas triangulares en este virus pueden ayudar a encontrar los ejes de simetría triple. Los fondos coloreados son rosados para virus animales, verdes para virus de plantas y azules para bacteriófagos.

Los virus usan las simetrías para construir su cápside proteica pero no se ven como icosaahedros. De hecho, aunque estos virus comparten la misma simetría muchos de ellos tienen características propias que los diferencian de los demás. Estas diferencias son el resultado de posiciones específicas de la cubierta proteica y con frecuencia de horquillas proteicas protruyentes. La mayoría de los virus parece que tuvieron un eje de simetría preferido para crear y mostrar sus decoraciones y arandelas. La simetría rotacional es una herramienta perfecta para multiplicar pequeños dominios protruyentes en grandes ornamen-

Figura 2: Interpretación de 19 partículas virales resuelta por cristalografía de rayos X y consignadas en el RCSB (mirar texto). La abreviación de los virus se resumen en la tabla 1. El color de fondo rosado es para los virus con hospederos animales, verde para plantas y azules para bacterias. Todos los virus tienen simetría icosaédrica excepto TMV y fd los cuales tienen simetría helicoidal. Todos los virus icosaédricos.

SIGLAS: SV40: Simian virus 40, CPV: Canine parvovirus, TYMV: Virus del mosaico amarillo del rábano, SBMV: Virus del mosaico del frijol sureño, BPMV: Virus del frijol moteado del frijol, MVM: Virus minuto del ratón, TMV: Virus del mosaico del tabaco, CCMV: Virus de la clorosis moteada del garbanzo, STNV: Satellite del virus de la necrosis del tabaco, TBSV: Virus del enanismo del tomate, fd: Bacteriófago fd, FMDV: Virus de la fiebre aftosa, MS2: Bacteriófago MS2, Phi X 174: Bacteriófago Phi X 174.



SV40: Simian virus 40, CPV: Canine parvovirus, TYMV: Virus del mosaico amarillo del rábano, SBMV: Virus del mosaico del frijol sureño, BPMV: Virus del frijol moteado del frijol, MVM: Virus minuto del ratón, TMV: Virus del mosaico del tabaco, CCMV: Virus de la clorosis moteada del garbanzo, STNV: Satellite del virus de la necrosis del tabaco, TBSV: Virus del enanismo del tomate, fd: Bacteriófago fd, FMDV: Virus de la fiebre aftosa, MS2: Bacteriófago MS2, Phi X 174: Bacteriófago Phi X 174.

tos. PhiX174, BPMV, SBMV, STNV, rinovirus y otros picornavirus tienen una preferencia clara por el eje quintuple de simetría icosaédrica (figura 2). En el caso de CPV y MVM la protrusión más grande está localizada en el eje triple. Estas pirámides grandes, que resultan de horquillas de la cápside proteica, exponen sitios antigénicos y determinantes hospedero-específicos. Por otro lado, excepto por TBSV el cual tiene una protrusión grande en el eje doble, la mayoría de los virus muestran una depresión grande en el eje doble y en muchos casos la capa proteica es más delgada en estas áreas.

La inclinación de la proteína con relación a la tangente también puede contribuir al aspecto general de la partícula viral tal como en CCMV, donde la proteína está inclinada 45 grados. Entonces se pueden reconocer en esta estructura los dos bordes que van, desde las puntas, hasta los fondos de las depresiones de la parte de debajo de los ejes de simetría quintuple o triple (ver figura 2).

La figura 3 muestra una interpretación de un virus de aftosa en una forma de representación de superficie de maya. Aquí la señal de profundidad radial va desde café hasta amarillo, verde y azul. Las áreas rojas sólidas muestran la localización del asa del virus aftoso, un sitio antigénico prominente compuesto por alrededor de 25 amino ácidos.

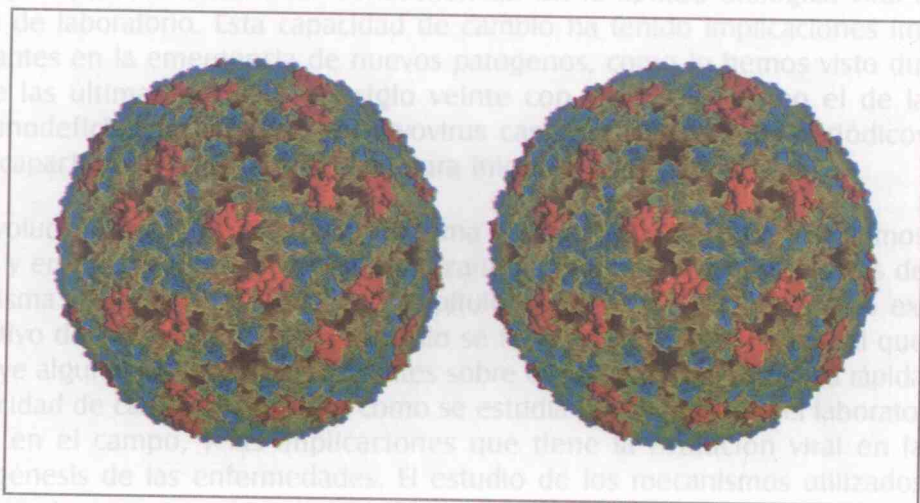


Figura 3: Vista en estéreo del virus de la fiebre aftosa como una red superficie

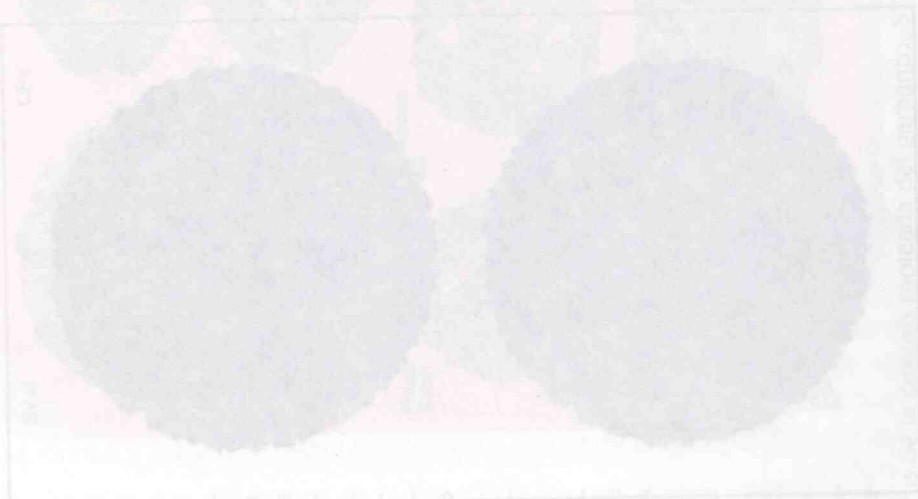
Conclusión

Recordemos que todos los seres vivos mutan, pero la rapidez con la cual lo hacen varía. Los avances presentes en técnicas biofísicas y gráficos computarizados nos proveen con una visión moderna de los virus. Los virus pueden de esta manera ser representados en fotos muy reales que pueden ilustrar claramente la estructura y la función. Varios componentes pueden ser ilustrados encima de la

superficie tales como sitios antigénicos. La visualización de los virus en forma de partículas completas o sus componentes forma una parte vital del análisis de los virus y de la interpretación de los resultados experimentales.

Bibliografía

- Grant RA, Cranic S. and Hogle JM. Radial depth provides the cue. *Current Biology* 2 (2): 86-87. 1992.
- Spencer SM, Sgro JY, Dryden KA, Baker TS Nibert ML. IRIS explorer software for radial depth cueing reovirus particles and other macromoleculr structures determined by cryoelectron microscopy and image reconstruction. *J Struct Biol* . 120(1): 11-21. 1997.



Conclusion

Los avances recientes en técnicas biofísicas y genómicas computarizadas han permitido la visualización de los virus y sus componentes en alta resolución. Esto ha permitido comprender mejor la estructura y la función de los virus, lo que es esencial para el desarrollo de vacunas y terapias antivirales.