

UN NUEVO «MUNDO» DE ARN

Marcos de la Peña

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

<https://doi.org/10.18567/sebbmrev.226.202509.dc2>



Vida

El fenómeno natural que todos conocemos como vida, y que en general solemos contraponer a todo aquello que es inerte, es en realidad un concepto difícil de definir satisfactoriamente. Ya el origen de la palabra «Vida», del latín *vita*, está íntimamente relacionado con la simple idea de existencia. Y algo similar ocurre desde *Life* en inglés o *Leben* en alemán (del indoeuropeo *Leip*, permanecer), así como el término chino 生 (*sheng*, existir) o el hindi जीवित्वा (*jivivisha*, persistir). Obviamente, no todo aquello que simplemente exista se puede considerar como vida, y al final nuestra definición está inevitablemente ligada a la experiencia humana en la que seguimos unos criterios, en parte arbitrarios, para distinguir lo vivo de lo no vivo.

Existen sistemas tanto naturales como artificiales que comparan o simulan muchos aspectos de la vida biológica, como las tormentas y otros fenómenos meteorológicos -que se autoorganizan, intercambian energía y mueren disipándose en el ambiente-, los cristales -que crecen, replican patrones y compiten- o incluso la inteligencia artificial (IA) o los virus informáticos -que replican,

mutan y evolucionan en entornos digitales-. Por eso, se han definido características exclusivas de la vida biológica, como (i) la capacidad de transformar materia y energía en crecimiento ordenado, (ii) la existencia de un programa o propósito funcional codificado en su estructura molecular que dirige mecánicamente su supervivencia y reproducción (lo que se conoce como «teleonomía interna»), y (iii) la capacidad de evolución darwiniana, en la que la información se hereda con variación y es sometida a selección a lo largo de las generaciones. Sin embargo, la vida puede ser considerada un fenómeno mucho más amplio si relajamos algunos de estos requisitos. Y esto es algo necesario, casi obligatorio, si queremos entender dos fenómenos límite en biología íntimamente relacionados: el origen de la vida (abiogénesis) y los microorganismos de genomas mínimos (virus y entidades biológicas similares), donde la frontera entre lo inerte y lo vivo se vuelve algo muy poroso.

Y si queremos reconstruir los primeros pasos en el origen de la vida, necesariamente hay que aceptar que éstos se tuvieron que dar con entidades replicantes muy

sencillas, o al menos muy alejadas de la complejidad del organismo vivo «canónico» más simple conocido actualmente (típicamente, una bacteria con cientos de genes en un genoma de cientos de miles de pares de bases). Por lógica evolutiva, y siguiendo principios de máxima parsimonia, esos primeros genomas replicantes debieron ser pequeñas moléculas, quizás con decenas o cientos de nucleótidos a lo sumo, que pudieron surgir y organizarse al azar. Solo cuando estas *protoentidades* adquirieron una mínima capacidad de copiarse, pudo comenzar la carrera para incrementar su complejidad de forma gradual mediante errores de replicación y selección darwiniana, una carrera para persistir en el mismo sitio que aún sigue en nuestros días. Tras al menos cuatro mil millones de años de evolución desde ese origen, el árbol de la vida actual despliega una complejidad asombrosa, desde enormes organismos multicelulares hasta entidades biológicas mínimas y tan extremadamente simples que quizás podrían emular a los primeros replicadores ancestrales.

En los peldaños más básicos de esta escala encontramos a los que llamaríamos en general como «replicones de ARN», un grupo de entidades virales y subvirales con genomas de ARN que los sitúa en el límite de la definición de vida. Ejemplos extremos de dicha sencillez son los viroides de plantas descubiertos hace medio siglo (Figura 1) y que consisten en meros genomas desnudos de ARN circular de tan solo unos 300 nucleótidos. Otro ejemplo paradigmático de replicón mínimo es el virus de la Hepatitis D o Deltavirus humano, un ARN circular parecido a los viroides pero de mayor tamaño, unos 1.600 nucleótidos, y considerado el parásito molecular más sencillo conocido en humanos (Figura 1). La existencia de todos estos replicones depende

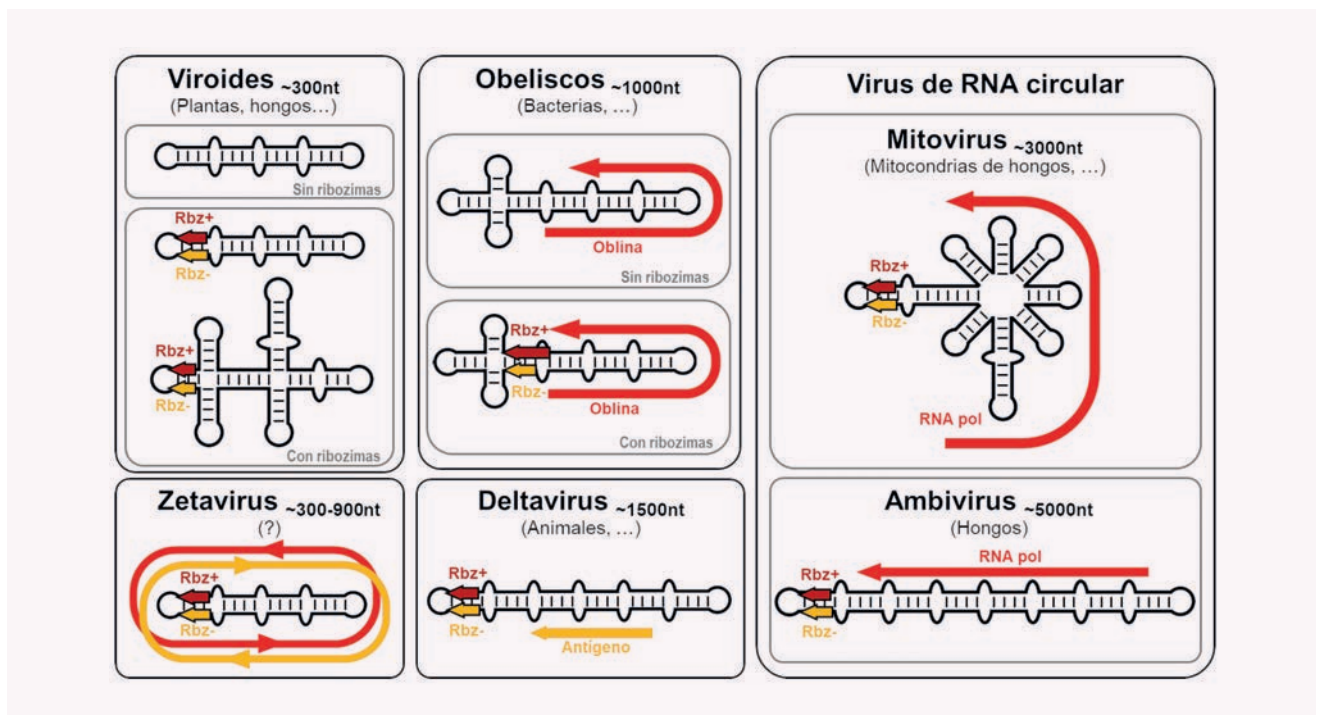


Figura 1

Representación esquemática de los principales genomas de ARN circular descritos hasta la fecha y ordenados por el tamaño de sus genomas. De izquierda a derecha, y de arriba abajo: viroides, Zetavirus, Obeliscos, Deltavirus y virus de ARN circular de hongos. Rbz: ribozima, RNA pol: RNA polimerasa.

por completo de células vivas a las que parasitan para reproducirse. Un rasgo notable de estos microorganismos es que, curiosamente, emplean ARN como material genético, el cual además llega a catalizar por sí mismo algunas reacciones químicas. Esto es algo excepcional en los seres vivos convencionales, basados en genomas de ADN y con una bioquímica basada casi exclusivamente en las proteínas.

El Mundo de ARN: la llave para el origen de la vida en la tierra

El descubrimiento de ARNs con actividad catalítica o ribozimas en los años 80 revolucionó esta narrativa. Saber que el ARN puede actuar tanto como material genético (replicones virales y subvirales) como desempeñar funciones catalíticas apoyó la hipótesis de un Mundo de ARN primigenio. Según esta idea, existió un escenario prebiótico donde moléculas de ARN autoreplicantes cumplirían simultáneamente funciones genómicas

y biocatalizadoras que pudieron evolucionar hasta organismos cada vez más y más complejos hasta finalizar en seres vivos basados en ADN y proteínas. Entre las pruebas que apoyan este hipotético Mundo tenemos el ribosoma actual, una ribozima que decodifica y cataliza la síntesis proteica en todos los seres vivos (virus incluidos) y que sería un fósil molecular clave de aquel periodo. Otra prueba apoyando una era prebiótica de ARN son los genomas mínimos de ARN actuales, que por su extrema simplicidad y la presencia habitual de ribozimas estarían emulando a los agentes replicantes primigenios. Sin embargo, y durante medio siglo, persistió una paradoja sobre estos sencillos replicones, ¿por qué apenas existían unos pocos ejemplos de agentes viroidales (aproximadamente 50 especies descubiertas en casi 50 años), y todos ellos replicándose en los organismos más complejos y recientes de la biosfera como son plantas o humanos? Todo ello

también empujaba a pensar que estos raros genomas de ARN circular quizás no tuvieran mucho que ver con entidades replicantes primigenias, sino que su origen podría ser mucho más reciente, o quizás ambas cosas.

Replicones de ARN circular en todas partes

La solución a esta paradoja ha llegado de manera progresiva y sorprendente en los últimos años. Así, en 2018 varios trabajos desvelaron casi simultáneamente que el único Deltavirus conocido, el humano, en realidad no era único. Hasta seis nuevos genomas similares se detectaron en serpientes, patos, anfibios, peces e incluso insectos como las termitas. Curiosamente, alguno de estos nuevos Deltavirus animales no empleaban las clásicas ribozimas del Deltavirus humano sino las ribozimas descritas en viroides de plantas, lo que evolutivamente permitía conectar aún más a todos estos replicones mínimos. En 2022, el análisis

bioinformático de las ingentes bases de datos genéticos recopiladas durante décadas reveló la existencia de docenas de ejemplos de Deltavirus en mamíferos y otros animales, tanto vertebrados como invertebrados, confirmando que estos extraños agentes infecciosos están en realidad ampliamente distribuidos en el reino animal. Pero no solo eso, también se detectaron genomas de Deltavirus ancestrales en muestras medioambientales de suelos, lagos u océanos entre otros, sugiriendo que estos replicones de ARN estarían utilizando como hospedadores otros organismos más sencillos que los animales, y muy probablemente unicelulares.

Más sorprendente aún fue descubrir que muchas de estas muestras medioambientales escondían también cientos de curiosos genomas mínimos (~300 a 900 nt) de ARN circular con ribozimas, a medio camino entre viroides y Deltavirus, y que fueron bautizados como Zetavirus (Figura 1). Los Zetavirus muestran unas características asombrosas, empezando por su matemático tamaño, siempre múltiplo de tres nucleótidos. Además, tienen capacidad para codificar una ribozima y una proteína por cada una de sus dos polaridades (positiva y negativa). Pero no solo eso, las dos proteínas predichas carecen de codones de parada, por lo que al tratarse de genomas circulares con un tamaño múltiplo de tres, su traducción en teoría no pararía nunca, produciendo polipéptidos «infinitos» compuestos de la repetición de la secuencia codificada por el Zetavirus. Por ahora, se desconocen los posibles huéspedes de estos intrigantes ARNs circulares, si es que en realidad son agentes replicantes. Lo que sí se deduce de sus curiosas características es que podemos estar ante entidades con un novedoso lenguaje genético implicado quizás

en parasitar los ribosomas de las células en las que habitan.

En conjunto, todos estos resultados empujaban en la misma dirección: existen muchos más ARNs circulares tipo viroide en la naturaleza que han pasado desapercibidos desde su descubrimiento en plantas allá por los años 70 del siglo pasado (Figura 2). En el año 2023, dos trabajos con fuerte componente bioinformática terminaron de confirmar estas sospechas al extender en varios órdenes de magnitud lo que hasta entonces era una minúscula familia de agentes de ARN circular. El análisis computacional de miles de estudios de metagenómica y metatranscriptómica permitió detectar decenas de miles de nuevos genomas de ARN circular con ribozimas. Prácticamente la mitad de esta colección de ARNs eran ejemplos de los pequeños Zetavirus. Sin embargo, también se detectaron en diversas especies de hongos la existencia de agentes no codificantes similares a viroides de plantas, confirmando la existencia de viroides fúngicos descrita por otros grupos. También se detectaron varias familias de ARNs de gran tamaño (entre 3.000 y 5.000 nucleótidos) que resultaron ser los primeros ejemplos de virus con genomas de ARN circular con ribozimas. Estos correspondieron a dos familias de virus de hongos: los Mitovirus (genoma de ~3.000 nt) y los Ambivirus (genoma de ~5.000 nt) (Figura 1). Como todo virus de ARN, éstos también codifican para la clásica ARN polimerasa dependiente de ARN, y a su vez, también contenían en sus dos polaridades algunas de las ribozimas típicas de viroides y Deltavirus, así como otras familias de ribozimas nunca antes descritas en agentes viroidales. Se trataba por tanto de agentes infecciosos híbridos, mitad virus de ARN mitad agente viroidal.

A pesar de la enorme cantidad de novedades encontradas en unos pocos años, estos descubrimientos parecen ser solo el principio de todo un nuevo Mundo de novedosos replicones de ARN. Los resultados desvelados indican que nos adentramos en una *terra incognita* compuesta por una vasta y variada colección de ARNs circulares que necesitará años de investigación para conocer con detalle, tanto sus posibles hospedadores y modos de replicación como los secretos moleculares que atesoran. En esta línea de trabajo, en 2024 se publicó la caracterización bioinformática y molecular de toda una nueva familia de genomas de ARN circular que ha resultado especialmente reveladora. Estos nuevos agentes fueron inicialmente detectados en datos de secuenciación de ARN de muestras de heces humanas, donde se comprobó que aproximadamente el 7 % de los individuos contenían unos curiosos ARNs circulares de tamaño en torno a los 1.000 nucleótidos. Dichos ARNs adoptaban una estructura de cuasi-varilla similar a la de viroides y Deltavirus, por lo que fueron bautizados como Obeliscos (Figura 1). Como característica diferenciadora de los Obeliscos se encontró que podían codificar al menos una proteína de unos 200 residuos, denominadas Oblinas, que no mostraban homología alguna con proteínas conocidas, por lo que su papel biológico es aún un completo misterio.

A través de aproximaciones bioinformáticas se detectó la existencia de cerca de 30.000 especies distintas de Obeliscos presentes en todo tipo de entornos y nichos ecológicos, pero muy notablemente en los microbiomas de animales de todo tipo. Entre todas estas especies de Obeliscos se encontró una subfamilia caracterizada por codificar en sus dos polaridades las típicas

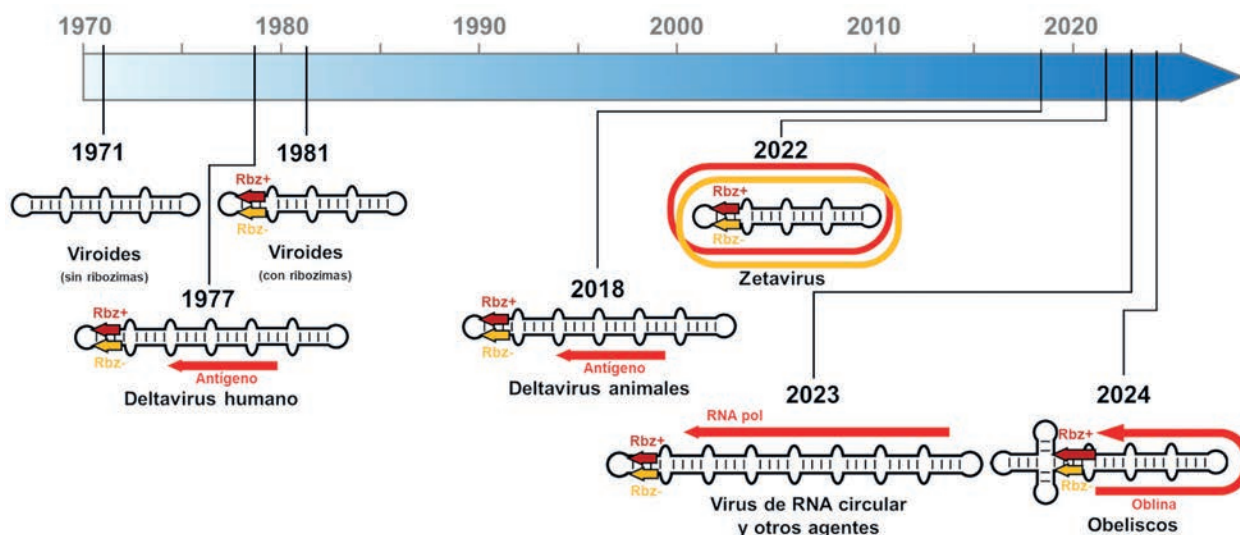


Figura 2

Descubrimiento de los principales replicones de ARN circular por orden cronológico. En los años 70 del siglo XX se describen los primeros viroides de plantas y el Deltavirus humano. Durante 40 años únicamente se encontraron nuevas especies de viroides de plantas, hasta que en 2018 se describen nuevos Deltavirus animales, y posteriormente los Zetavirus (2022), Mitovirus y otros virus circulares (2023) y Obeliscos bacterianos (2024), entre otros.

ribozimas de los viroides de plantas, reforzando posibles conexiones evolutivas entre estos minúsculos agentes de ARN circular. Más aún, al menos una especie de Obelisco se halló en cepas de la bacteria *Streptococcus sanguinis* aislada de la cavidad oral humana. Este resultado permitió confirmar la abundante acumulación de Obeliscos en bacterias, lo que constituye el primer ejemplo de un agente de ARN circular tipo viroidal replicándose en un organismo procariótico. Con estos resultados se está por fin cerrando el círculo que comenzó hace ya 50 años con el descubrimiento pionero de un agente infeccioso atípico de ARN circular en plantas superiores. Ahora ya podemos decir que esos minúsculos genomas, históricamente considerados anomalías biológicas, tan solo eran una pequeña muestra de todo un nuevo «Mundo» de ARNs circulares que habitan a lo largo y ancho de este planeta, y cuyo origen muy probablemente haya que buscarlo hace miles de millones de años, tras los cuales aún parecen persistir.

Para leer más

Chang WS, Pettersson J, Le Lay C, Shi M, Lo N, Wille M, Eden JS, Holmes EC. Novel hepatitis D-like agents in vertebrates and invertebrates. *Virus Evolution* 5 (2019) vez021. <https://doi.org/10.1093/ve/vez021>

de la Peña M, Ceprián R, Casey JL, Cervera A. Hepatitis delta virus-like circular RNAs from diverse metazoans encode conserved hammerhead ribozymes. *Virus Evolution* 7 (2021) veab016. <https://doi.org/10.1093/ve/veab016>

Edgar RC, Taylor J, Lin V, Altman T, Barbera P, Meleshko D, Lohr D, Novakovsky G, Buchfink B, Al-Shayeb B, Banfield JF, de la Peña M, Korobeynikov A, Chikhi R, Babaian A. Petabase-scale sequence alignment catalyses viral discovery. *Nature* 602 (2022)1–6. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04332-2>

Forgia M, Navarro B, Daghino S, Cervera A, Gisel A, Perotto S, Aghayeva DN, Akinyuwa MF, Gobbi E, Zheludev IN, Edgar RC, Chikhi R, Turina M, Babaian A, Di Serio F, de la Peña M. Hybrids of RNA viruses and viroid-like elements replicate in fungi. *Nature Communications* 14 (2023) 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38301-2>

Lee BD, Neri U, Roux S, Wolf YI, Camargo AP, Krupovic M, RNA Virus Discovery Consortium, Simmonds P, Kyrpides N, Gophna U, Dolja VV, Koonin EV. Mining metatranscriptomes reveals a vast world of viroid-like circular RNAs. *Cell* 186 (2023) 646-661.e4. DOI: [10.1016/j.cell.2022.12.039](https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.039)

Zheludev IN, Edgar RC, Lopez-Galiano MJ, de la Peña M, Babaian A, Bhatt AS, Fire AZ. Viroid-like colonists of human microbiomes. *Cell* 187 (2024) 6521-6536.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.09.033>