

RELACIÓN EVOLUTIVA ENTRE RETROELEMENTOS LTR Y RETROVIRIDAE

Bach. Valeria Romero

Trabajo Especial I de la Licenciatura en Bioquímica

Orientador: Dr. Ruben Pérez
Sección Genética Evolutiva
Facultad de Ciencias
2011

INTRODUCCIÓN

Los elementos transponibles (Ets) son secuencias de DNA que poseen la capacidad de cambiar su localización genómica, dentro de una misma molécula de DNA, entre moléculas distintas, e incluso entre los genomas de distintas especies.

Los Ets se encuentran ampliamente distribuidos entre organismos muy diversos: plantas, hongos, insectos, nemátodos, equinodermos y vertebrados. Son un principal componente de la fracción de DNA medianamente repetitivo, y representan una fracción variable del genoma: 22% en *Drosophila* (Kapitonov & Jurka 2003), 45% en ratón y humano (Yoder *et al.* 1997), y más del 50% en maíz (SanMiguel *et al.* 1996).

La movilización de los Ets dentro del genoma puede tener importantes consecuencias para el huésped, tanto a nivel individual como de especie. Estos elementos pueden provocar cambios en la expresión génica, a través de la activación de genes silentes o pseudogenes, o por la inactivación de genes funcionales. También pueden promover reordenamientos cromosómicos tales como inversiones, translocaciones o duplicación de genes, y participar en la generación de nuevos genes y funciones (recombinación V(D)J, reparación del DNA, metilación). Los Ets intervendrían además en la evolución de las especies al actuar como mecanismos de aislamiento reproductivo y adaptación (Capy 1998).

Existen diversos criterios para clasificar a los Ets. Respecto a la autonomía en la transposición, se pueden clasificar en autónomos (elementos que codifican las enzimas requeridas para su movilización), y no autónomos (no codifican sus propias enzimas y dependen de los autónomos) (Capy 1998). Respecto a su organización estructural y modo de transposición, pueden dividirse en tres clases. Los elementos de clase I o retroelementos, utilizan un modo de transposición mediado por RNA. Los elementos de clase II o transposones, usan solo DNA como intermediario directo de la transposición. Los elementos de clase III comprenden a los MITEs (Miniature Inverted-Repeats Transposable Elements), cuyo mecanismo de transposición aún no ha sido claramente dilucidado. A su vez, cada clase pueden clasificarse en familias, ramas, clusters, y clados; en base a la presencia de dominios nucleotídicos o aminoacídicos, por la presencia y orden de los genes, y por la similitud de secuencias a nivel aminoacídico.

Dentro de la clase I de Ets, se encuentran los retroelementos LTR, que se distinguen por tener repetidos terminales directos o LTRs (Long Terminal Repeats). Los retroelementos LTR se agrupan en tres familias: Ty1/Copia, Ty3/Gypsy y Bel/Pao, que comprenden a los retrotransposones LTR y a un nuevo grupo de retroelementos, denominados retrovirus de invertebrados. Estos últimos se diferencian de los retrotransposones LTR por su capacidad infectiva.

Los retroelementos LTR presentan una gran similitud estructural y mecánica con los Retroviridae, una gran y diversa familia de virus RNA envueltos, conocidos por causar numerosas enfermedades en vertebrados, particularmente en humanos. Los Retroviridae también poseen repetidos terminales directos en sus extremos, codifican las mismas proteínas que los retroelementos LTR, y utilizan por lo tanto, las mismas estrategias de replicación. Esto ha suscitado un gran interés en torno al origen, evolución y taxonomía de los Retroviridae y los retroelementos LTR.

En el presente trabajo, se exponen las similitudes y diferencias entre Retroviridae y retroelementos LTR, en cuanto a estructura y expresión se refiere, así como las hipótesis para sus respectivos orígenes.

RETROVIRIDAE

Los Retroviridae infectan células de vertebrados, y son definidos por su estructura, composición y estrategia de replicación (Coffin 1992a; 1992b). Son virus RNA envueltos, que sintetizan DNA doble hebra para luego integrarlo en el genoma celular en forma de un provirus. Según su transmisión pueden ser endógenos o exógenos. Los endógenos ingresan a la línea germinal del huésped y se transmiten verticalmente en forma mendeliana (sin etapa extracelular). Los exógenos se transmiten horizontalmente, vía infección, de un huésped a otro. Los virus endógenos pudieron originarse de exógenos que infectaban células germinales y se volvieron defectivos por la acumulación de mutaciones (Boeke & Stoye 1997; Gifford & Tristem 2003). Sin embargo, algunos endógenos son activos, y pudieron ser aprovechados por el huésped para su propia evolución (Ikeda & Sugimura 1989; Andersson *et al.* 1998; Blond *et al.* 2000; Mi *et al.* 2000; Griffiths 2001; Frendo *et al.* 2003).

De acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía de Virus o ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) (Fauquet *et al.* 2005), los Retroviridae se dividen en siete géneros pertenecientes a tres clases principales (Tabla 1).

Los *Alpharetroviridae*, *Betaretroviridae*, *Gammaretroviridae*, *Deltaretroviridae* y *Epsiloretroviridae*, representan a los Oncovirus, que actúan como carcinógenos naturales. Los *Lentiviridae* pueden causar enfermedades neuro o inmunológicas, al provocar la pérdida de función de células específicas, mientras que los *Spumaretroviridae* no producen ninguna enfermedad conocida.

Tabla 1 – Retroviridae

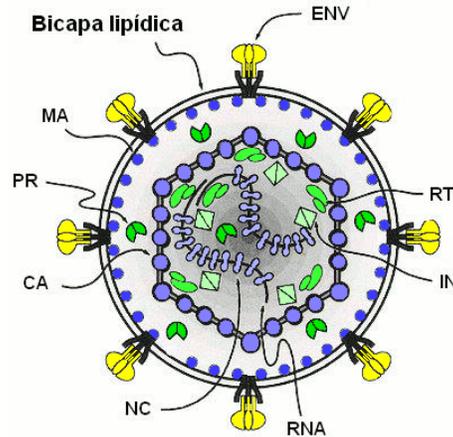
Clase	Género	Ejemplo
I	<i>Gammaretroviridae</i>	MLV (Murine Leucemia Virus)
I	<i>Epsiloretroviridae</i>	Walley Dermal Sarcoma Virus
II	<i>Alpharetroviridae</i>	ASLV (Avian Sarcoma Leucemia Virus)
II	<i>Betaretroviridae</i>	MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus)
II	<i>Deltraretroviridae</i>	BLV (Bovine Leucemia Virus)
II	<i>Lentiviridae</i>	HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus type 1)
III	<i>Spumaretroviridae</i>	HFV (Human Foamy Virus)

Aunque muchos de los Retroviridae endógenos no han sido asignados a un género viral particular, existe una tendencia a agruparlos según su similitud con Retroviridae exógenos (Wilkinson *et al.* 1994; Lander *et al.* 2001; Gifford *et al.* 2005). En otros trabajos se los puede encontrar incluidos dentro de retrotransposones LTR, debido a su ciclo de replicación intracelular (Dewannieux *et al.* 2004).

Estructura de una partícula retroviral

La partícula retroviral está constituida por un genoma RNA, proteínas específicas y eventualmente, una envoltura lipídica de origen celular (Fig. 1). Las partículas tipo A o IAP (Internal type A Particles), expresadas mayoritariamente por Retroviridae endógenos, no presentan envoltura y son intracelulares, mientras que los tipo B, C y D son extracelulares y envueltas. Cada partícula contiene dos moléculas de RNA idénticas, de entre 7 – 12 Kb, monohebras, no segmentadas y de polaridad positiva, unidas por sus extremos 5'. La presencia del dímero RNA probablemente sea una estrategia para asegurar la replicación retroviral en caso de rupturas en alguna de las moléculas.

Fig. 1 – Estructura de una partícula retroviral. NC: nucleocápside, RT: retrotranscriptasa/RNAsa H, IN: integrasa, PR: proteasa, CA: cápside, MA: matriz, ENV: proteína de envoltura (modificado de Swanstrom & Wills 1997)



Secuencias terminales repetidas

En los extremos del provirus integrado, se encuentran repetidos terminales directos o LTRs (Long Terminal Repeats) (Fig. 2). Estas secuencias están formadas por tres regiones: U3 – R – U5, en este orden. U3 y U5 son regiones que se encuentran sólo en los extremos 3' y 5' del RNA, respectivamente; y R es una secuencia que se repite en ambos extremos. Los LTRs contienen todos los elementos regulatorios en cis requeridos para la transcripción y poliadenilación.



Fig. 2 – Estructura de los LTRs.

La región U3 de ambos LTRs contienen un promotor: el del LTR 5' inicia la transcripción del Retroviridae (TATA box), mientras que el del LTR 3' podría favorecer la expresión de genes huéspedes que se encuentren río abajo al sitio de integración.

Río abajo del LTR 5' se encuentra el sitio de unión al cebador o PBS (Primer Binding Site), altamente conservado. Río arriba del LTR 3' se encuentra el tracto polipurínico o PPT (Poly Purinic Tract), conformado por un trecho de 10 pb o más residuos de purina (A o G) (Morgante *et al.* 2002). Ambos sitios están involucrados en la síntesis de DNA.

Aunque los LTRs 5' y 3' de un mismo Retroviridae son estructuralmente muy similares entre sí, funcionalmente son distintos. Ambos LTRs tienen la señal de poliadenilación AAUAAA entre las regiones R y U5, pero sólo el transcripto completo es poliadenilado. Esto puede deberse a diferencias sutiles en las secuencias de ambos LTRs (Cherrington & Ganem 1992; Guntaka 1993) o por la estructura de la cromatina y superenrollamiento (Conklin & Groudine 1984).

ORFs gag, pol y env

Los LTRs flanquean a la región codificante del genoma retroviral, organizado en tres marcos de lectura abiertos u ORFs (Open Reading Frames): *Gag*, *Pol* y *Env*, en este orden (Fig. 3). También existen Retroviridae complejos que poseen genes accesorios localizados entre los ORFs *Pol* y *Env*, río abajo de *Env*, o solapando porciones de *Env*.

El ORF *Gag* codifica las siguientes proteínas estructurales de la partícula viral:

- Proteína de matriz (MA): proteína no integral de membrana implicada en el brotamiento de la partícula;
- Proteína de cápside (CP): forma el core proteico que contiene al genoma viral;
- Proteína de nucleocápside (NC): involucrada en el empaquetamiento del genoma viral.



Fig. 3 – Estructura del genoma retroviral.

El ORF *Pol* codifica las siguientes enzimas necesarias para la replicación:

- Proteasa (PR): cliva las poliproteínas precursoras para dar lugar a las proteínas funcionales individuales;
- Retrotranscriptasa o transcriptasa inversa (RT): cataliza la retrotranscripción del genoma RNA a DNA doble hebra complementario;
- RNAsa H (RNH): degrada el componente RNA del híbrido RNA – DNA;
- Integrasa (IN): inserta el DNA complementario generado por retrotranscripción en el genoma huésped.

El ORF *Env* codifica los componentes de superficie y transmembrana que constituyen la glicoproteína de envoltura viral, responsable de la unión del virus al receptor celular y fusión de las membranas retroviral y celular.

Ciclo de expresión

El ciclo de expresión o de infección de los Retroviridae comienza con el reconocimiento y entrada del virus a la célula diana. Posteriormente tiene lugar la generación de DNA doble hebra, mediante el proceso de retrotranscripción; que entrará al núcleo y se integrará en el genoma celular. Una vez integrado, el provirus se transcribe y se expresan las proteínas codificantes, con la concomitante encapsidación del RNA, ensamblaje y brotamiento de nuevas partículas virales.

Reconocimiento y entrada viral

El primer paso en una infección viral es el reconocimiento y entrada del virus a la célula. La glicoproteína de superficie Env reconoce y se une a moléculas receptoras específicas en la célula diana, provocando la fusión de las membranas viral y celular, y el ingreso del genoma viral en el citoplasma de la célula. La proteína Env es codificada por el ORF *Env*, y clivada para generar los polipéptidos de superficie (SU) y transmembrana (TM) que se mantienen unidos por puente disulfuro (Fig. 4). Los receptores celulares son moléculas específicas con funciones celulares normales.

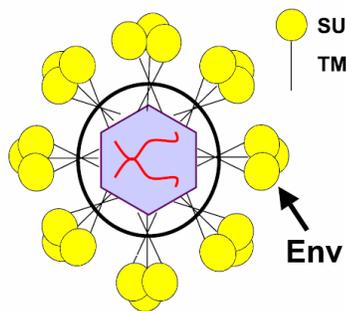


Fig. 4 – Estructura de la proteína Env. En la superficie del virión, las cadenas polipeptídicas forman proyecciones que se observan como espinas (modificado de Sitbon *et al.* 2004).

El componente de superficie es responsable del reconocimiento y unión del virus al receptor celular (Swanstrom & Wills 1997), determinando el tropismo viral (Hunter y Swanstrom 1990). El componente transmembrana ancla la proteína Env a la membrana viral y es responsable de la fusión de las membranas viral y celular. El componente SU es una de las regiones más variables del genoma viral, mientras que el componente TM es muy conservado (Kobe *et al.* 1999; Lerat & Capy 1999). En la Fig. 5 se representa el modelo de fusión de membranas viral y celular propuesto por Eckert & Kim (2001).

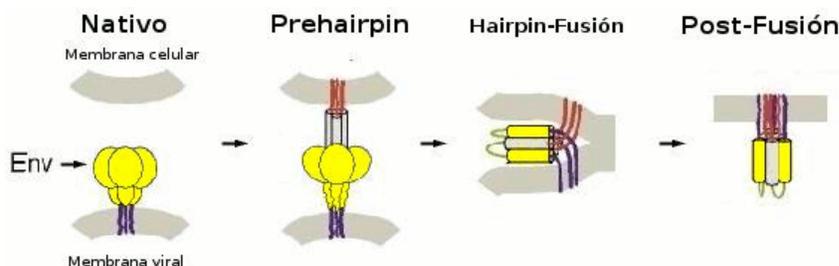


Fig. 5 – Fusión de las membranas celular y viral. Env sufre cambios conformacionales, y una porción peptídica se inserta en la membrana celular para permitir su fusión con la viral (modificado de Eckert & Kim 2001).

Retrotranscripción

Una vez fusionadas las membranas viral y celular, ingresa la partícula viral, y el genoma RNA es utilizado como molde para sintetizar el DNA proviral. Este proceso, catalizado por la enzima retrotranscriptasa o transcriptasa inversa, ocurriría dentro de la partícula (Mellor *et al.* 1985), probablemente para evitar que el RNA sea degradado ante los mecanismos de defensa celular.

La composición de la forma activa de la retrotranscriptasa puede variar entre distintos retrovirus. En ALV (Avian Leukosis Virus), la forma activa es un heterodímero retrotranscriptasa – integrasa, mientras que en HTLV-1 (Human T – Lymphotropic Virus) es un oligómero (Trentin *et al.* 1998).

La síntesis de la hebra DNA negativo (complementario al RNA positivo), utiliza como cebador a un tRNA celular, incluido en la partícula viral, que se une al sitio de unión al cebador (PBS) (Fig. 6A). Diferentes tRNAs son utilizados por diferentes Retroviridae: ASLV utiliza como cebador el tRNA^{Trp}; MLV utiliza el tRNA^{Pro}, y HIV-1, el tRNA^{Lys}.

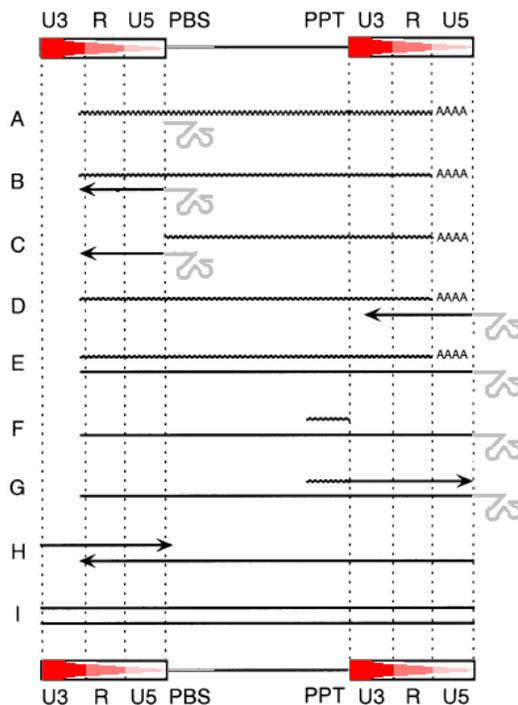


Fig. 6 – Retrotranscripción. [A] unión del cebador al PBS; [B] – síntesis de hebra DNA negativo ; [C] – degradación del extremo 5' del RNA molde por RNasa H; [D] – transferencia de hebra DNA negativo hacia el extremo 3' de un nuevo molde RNA; [E] – continuación de la reacción; [F] – generación de cebadores para sintetizar la hebra DNA positivo; [G] – síntesis de hebra DNA positivo; [H] – transferencia de hebra DNA positivo hacia el extremo 3' de hebra DNA negativo; [I] – formación de LTRs.

Cuando se genera una secuencia de DNA de entre 100 y 200 bases (Fig. 6B), la enzima RNasa H degrada al extremo 5' del RNA (Fig. 6C), permitiendo que la enzima cambie de molde, llevándose con ella el DNA recién sintetizado (Fig. 6D). El nuevo molde puede ser el extremo 3' de la misma molécula de RNA (apareamiento intramolecular), o el de la otra molécula (apareamiento intermolecular). La región R del DNA recién sintetizado se va a aparear con la del extremo 3' del nuevo molde (Fig. 6E). De esta manera se añade un segmento U5 al extremo 3', formando el tramo de secuencia U3 - R - U5 o LTR. Posteriormente, la actividad RNasa H de la retrotranscriptasa degrada al RNA molde, a excepción de regiones conteniendo trectos polipurínicos (PPT) resistentes a la degradación (Fig. 6F). Estos fragmentos ceban la síntesis de la hebra DNA positivo catalizada por la actividad DNA polimerasa de la retrotranscriptasa (Fig. 6G). La hebra DNA positivo se transfiere al extremo 3' de la hebra DNA negativo (fig. 6H), utilizando la región R para aparearse, y se completan ambos extremos, generándose los LTRs dúplex 3' y 5' (fig. 6I).

Entrada al núcleo e integración

El DNA doble hebra generado en la retrotranscripción se localiza en el citoplasma formando un complejo de preintegración. Este complejo está integrado básicamente por proteínas virales, pero también puede contener proteínas celulares (Lee & Craigie 1994; Farnet & Bushman 1997).

Para integrarse en el genoma huésped, el DNA doble hebra debe transportarse hacia el núcleo. Aún no se ha determinado el mecanismo de transporte, pero sí se le ha sugerido una participación a la poliproteína gag, debido a que mutaciones en su secuencia alteran la localización subcelular de intermediarios virales (Rhee & Hunter 1991).

Al llegar al núcleo, el complejo de preintegración utiliza diferentes estrategias para ingresar al mismo. En Oncoretrovirus el ingreso se produce durante la mitosis cuando se desensambla la membrana nuclear, debido a que el complejo de preintegración es muy grande para atravesar el complejo del poro nuclear (Bowerman *et al.* 1989). En *Lentiviridae* el ingreso del complejo se produce de forma activa durante la interfase, mediado por una señal de localización nuclear en la proteína de matriz (Bukrinsky *et al.* 1993; Heinzinger *et al.* 1994).

Una vez dentro del núcleo, la enzima integrasa elimina dos bases de cada extremo 3' del DNA viral dúplex, convirtiendo los extremos romos en cohesivos. Los OH – 3' generados atacan los enlaces fosfodiéster del DNA huésped, y la energía liberada es utilizada para la formación de nuevos enlaces entre el DNA viral y del huésped. Se reponen los nucleótidos del DNAs a través de síntesis reparativa, por proteínas virales o por la propia retrotranscriptasa, y se duplica el sitio diana que constituyen los repetidos directos que flanquean al provirus.

Aparentemente, la integración retroviral no es secuencia específica (Carteau *et al.* 1998). Algunos estudios sugieren una preferencia por regiones transcripcionalmente activas, especulando que, como las células infectadas son eliminadas en cuestión de pocos días, el virus se integraría en dichas regiones para producir el mayor número de viriones en el menor tiempo posible (Jordan *et al.* 2003). No obstante, otros trabajos proponen que la actividad transcripcional disminuye la tasa de integración, debido a que el aparato transcripcional bloquea el acceso del complejo de preintegración al DNA (Weidhaas *et al.* 2000).

Transcripción y expresión génica

El provirus integrado es transcrito por la RNA polimerasa II DNA dependiente del huésped, la cual reconoce el TATA box localizado en el LTR 5'. El RNA generado puede traducirse o empaquetarse en nuevas partículas virales.

El gen *Gag* se expresa mediante un mRNA monocistrónico, mientras que el gen *Pol* requiere un mRNA policistrónico que incluye la secuencia codificante de *Gag*. Para obtener este mRNA policistrónico, se debe ignorar el codón de terminación de *Gag*. Esto se logra mediante la supresión del codón de terminación con un tRNA^{Glu} que lo reconoce (cuando *Gag* y *Pol* se encuentran en el mismo marco de lectura), o por un desplazamiento ribosómico (cuando se encuentran en marcos de lectura diferentes o frameshift). La mayoría de los Retroviridae presentan un frameshift -1. El mRNA *Env* es monocistrónico, y se forma por la remoción de las regiones codificantes de *Gag* y *Pol* del transcripto primario (Fig. 7).

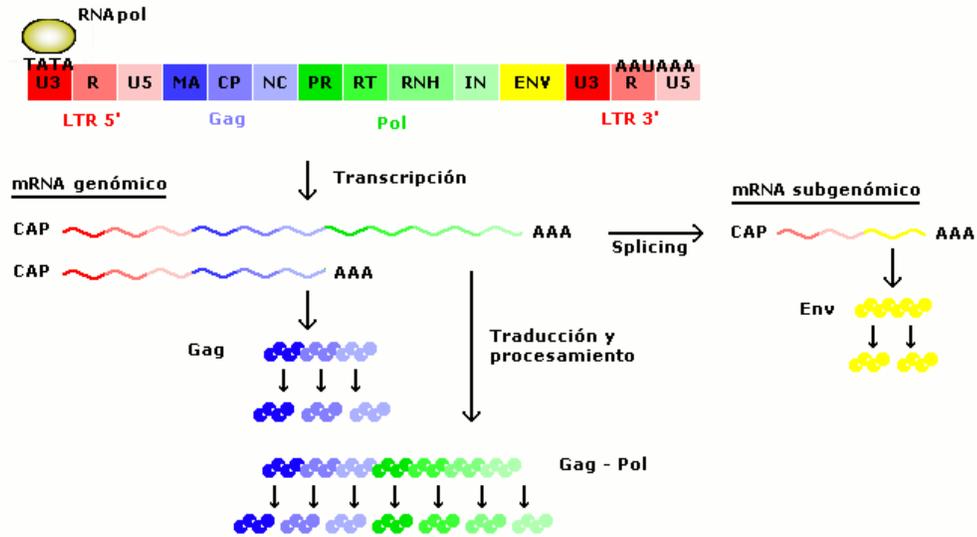


Fig 7 – Expresión de un Retroviridae. El ORF *Pol* puede expresarse por supresión de un codón stop o desplazamiento ribosómico. El ORF *Env* se expresa por splicing de un mRNA subgenómico.

Las poliproteínas Gag y Gag – Pol son procesadas cuando se ensambla la partícula viral. Env es procesada por enzimas celulares en el retículo endoplasmático rugoso para generar los componentes de superficie y transmembrana, los cuales serán expuestos en la superficie celular.

Ensamblaje, encapsidación y brotamiento

Una vez sintetizadas, las poliproteínas Gag y Gag-Pol se autoensamblan para formar la partícula viral (Fig. 8). Puede darse en distintas localizaciones celulares: en el citoplasma, en la cara interna de la membrana plasmática, o en el lumen del retículo endoplasmático rugoso (Retroviridae endógenos).

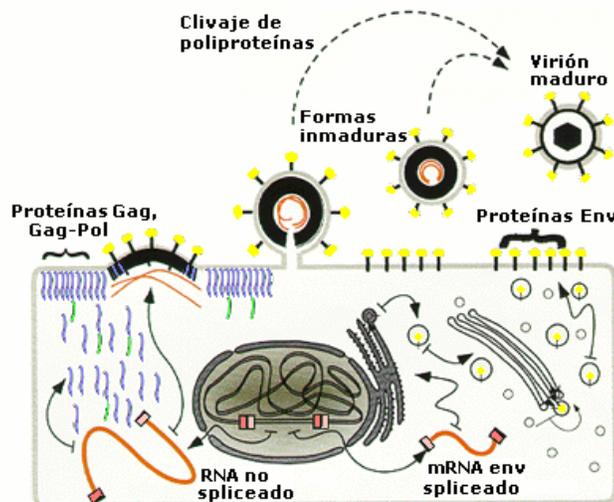


Fig - 8. Ensamblaje, encapsidación y brotamiento retroviral. Gag y Gag – Pol forman las partículas virales, y Env inserta en la membrana plasmática interactúa con Gag para formar la envoltura. El virión inmaduro emerge de la célula infectada, y dentro de la partícula, la proteólisis de las poliproteínas lleva a su maduración (modificado de Swanstrom & Wills 1997)

Se ha demostrado experimentalmente que Gag es quien dirige a las poliproteínas Gag y Gag – Pol hacia el sitio de ensamblaje (Weldon *et al.* 1990; Wang *et al.* 1994), probablemente a través de interacciones con elementos del citoesqueleto (Edbauer & Naso 1983). También se ha demostrado que la expresión de Gag – Pol por sí sola no es suficiente para el ensamblaje, sino que requiere la coexpresión de Gag (Felsenstein & Goff 1988; Craven *et al.* 1991).

Por lo general se encapsida específicamente el RNA retroviral y el cebador tRNA, aunque pueden ser empaquetados otros RNAs celulares. Ciertas secuencias de encapsidación en el RNA viral, así como la proteína de nucleocápside, estarían implicadas en el empaquetamiento selectivo del RNA viral (Sakalian *et al.* 1994). En el caso de los tRNAs estaría involucrada la porción retrotranscriptasa de la poliproteína Gag-Pol (Peters & Hu 1980).

Luego del ensamblaje y encapsidación de la partícula, se adquiere la envoltura y se produce la liberación del virión inmaduro. La envoltura está compuesta por una porción de la bicapa lipídica celular con proteínas Env insertas, que interactúan con la proteína de matriz que aún integra la poliproteína Gag (Pepinsky & Vogt 1984; Bugelski *et al.* 1995). El proceso de brotamiento no está claro, pero se sugiere que la estructura esférica de la partícula tiene una alta afinidad por la membrana como para que pueda interactuar y cubrirse con los lípidos, llevando a la separación de la partícula envuelta por la membrana de la célula.

La maduración del virión requiere el clivaje de las poliproteínas Gag y Gag – Pol en las proteínas individuales funcionales, proceso catalizado por la proteasa viral incluida en la partícula.

En general, las partículas tipo A internas (IAPs) de Retroviridae endógenos no contienen un gen *Env* o contienen uno defectivo, quedando restringidas al medio intracelular. Pero se han observado IAPs que poseen un gen *Env* funcional, y por tanto pueden emerger de la célula (IAPE, de IAP-related retroviral elements containing an Envelope gene) (Reuss & Schaller 1991).

RETROELEMENTOS LTR

Los retroelementos LTR están integrados por retrotransposones LTR y retrovirus endógenos de invertebrados, y se dividen en las familias Ty1/Copia, Ty3/Gypsy y Bel/Pao.

Los retrovirus endógenos de invertebrados son clasificados como retroelementos LTR, aunque pueden ser infecciosos. Debido a que su rango específico de huéspedes abarca a invertebrados, y a que son infecciosos en condiciones particulares, no se consideran como Retroviridae y se mantienen como retroelementos LTR.

Los retroelementos LTR poseen una organización general muy similar a la de Retroviridae: un tamaño de 5 – 9 kb, LTRs, y ORFs correspondientes a las regiones *Gag* y *Pol* tipo retrovirales, y en algunos casos, también a *Env* tipo retroviral (Fig. 9).



Fig. 9 – Organización general de un Retroelemento LTR. La región *Env* usualmente se encuentra ausente.

Las familias se definen en base a la similitud de secuencia del dominio retrotranscriptasa, y por el orden de los dominios del ORF *Pol*. En Ty1/Copia el orden es PR – IN – RT – RNH, mientras que en Ty3/Gypsy y Bel/Pao es igual que en Retroviridae: PR – RT – RNH – IN (Fig. 10).

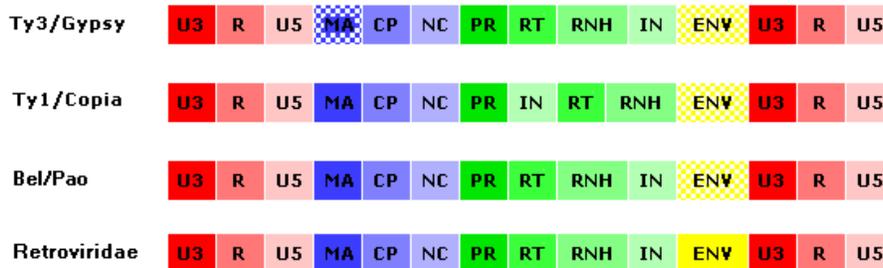


Fig. 10 – Comparación de la estructura de las familias de Retroelementos LTRs y Retroviridae. Los miembros de las tres familias de retroelementos LTR pueden contener el ORF *Env*, alteraciones en el orden del ORF *Pol*, y en el caso de Ty3/Gypsy, algunos elementos pueden no contener al dominio matriz dentro del ORF *Gag*.

Existen nuevos elementos transponibles que no pueden clasificarse con los criterios actuales. Por ejemplo, el retrotransposón Gmr1 del pez *Gadus morhua*, sería miembro de la familia Ty3/Gypsy por la similitud de la secuencia de su retrotranscriptasa. Sin embargo, el orden de los dominios del ORF *Pol* corresponde al de la familia Ty1/Copia (Butler *et al.* 2001). Este caso y otros más han llevado a la proposición de nuevos grupos de retroelementos, tales como los tirosina quinasa y retrotransposones Penelope.

Familia Ty3/Gypsy

Esta familia incluye a retroelementos LTR que se distribuyen en plantas, hongos y animales. Los estudios filogenéticos realizados con el ORF *PoI*, los dividen en dos ramas: la primera comprende a los cromovirus, que contienen un dominio remodelador de la cromatina (cromodominio) en el dominio integrasa, con probable función en la especificidad de la integración del elemento (Malik & Eickbush 1999). Los cromovirus se dividen en tres clusters: los llamados “plantas” y “hongos/vertebrados”, bien sustentados, y un tercero que incluye otros elementos fúngicos sin clasificación. La segunda rama comprende a los linajes de retrotransposones LTR no cromovirus y a retrovirus de invertebrados (Tabla 2).

Tabla 2 – Familia Ty3/Gypsy

Rama	Cluster	Clado	Ejemplos	Huésped (taxonomía)	
Cromoviridae	Plantas	Del	Del	<i>Lilium henryi</i> (planta)	
		Reina	Reina	<i>Zea mays</i> (planta)	
		CRM	CRM	<i>Zea mays</i> (planta)	
		Galadriel	Galadriel	<i>Lycopersicon esculentum</i> (planta)	
	Hongos y Vertebrados	TF1-2	TF-1, TF-2	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (hongo)	
		Pyggy	Pyggy	<i>Pyrenophora graminea</i> (hongo)	
		Pyret	Piret	<i>Magnaporthe grisea</i> (hongo)	
		Maggy	Maggy	<i>Magnaporthe grisea</i> (hongo)	
		V-clade	Sushi-ichi	<i>Takifugu rubripes</i> (vertebrado)	
	Indefinidos		Amn-ni	<i>Danio rerio</i> (vertebrado)	
			Ty3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (hongo)	
			Skipper	<i>Dictyostelium discoideum</i> (ameba)	
	Rama 2	Metaviridae	Micropia/	Micropia	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)
			Mdg3	Mdg3	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)
Cer2-3			Cer2, Cer3	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo)	
412/Mdg1			412, Mdg1	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	
Gmr1			Gmr1	<i>Gadus morhua</i> (vertebrado)	
Osvaldo			Osvaldo	<i>Drosophila buzzatii</i> (insecto)	
CsRN-1			CsRN-1	<i>Clonorchis sinensis</i> (platelminto)	
Cer1			Cer1	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo)	
Tor1			Tor1	<i>Oikopleura dioica</i> (tunicado)	
Mag			Clado A	Mag	<i>Bombyx mori</i> (insecto)
		DRM		<i>Danio rerio</i> (vertebrado)	
		Clado B	Gulliver	<i>Schistosoma japonicum</i> (platelminto)	
			Cer4	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo)	
Athila/Tat		Athila	Athila4-1	<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta)	
		Tat	Tat4-1	<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta)	
Errantivirus		Gypsy	Gypsy	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	
			Nomad	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	
			Yoyo	<i>Ceratitis capitata</i> (insecto)	
		17.6	Ted	<i>Trichoplusia ni</i> (insecto)	
			Zam	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	
	17.6		<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)		
	297		<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)		
	Tom	<i>Drosophila ananassae</i> (insecto)			

Familia Ty1/Copia

La familia Ty1/Copia también incluye a retroelementos LTR presentes en plantas, hongos y animales. Los estudios filogenéticos basados en el ORF *PoI* dividen a esta familia en dos ramas. La rama 1 comprende retrotransposones de hongos (Ty), de bilaterias marinos (GalEA) y de diatomeas (CoDI). La rama 2 agrupa al resto de retrotransposones LTR y retrovirus de invertebrados, en su mayoría de insectos y plantas (Tabla 3).

Tabla 3 – Familia Ty1/Copia

Rama	Cluster	Clado	Ejemplos	Huésped (taxonomía)	
Rama 1	CoDI-B		CoDI5,4	<i>Thalassiosira pseudonana</i> (cromoalveolado)	
	GalEA		Zeco1	<i>Danio rerio</i> (vertebrado)	
			Cico1	<i>Ciona intestinalis</i> (tunicado)	
	Pseudoviridae		Ty1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (hongo)	
	CoDI-A		CoDI4,5	<i>Thalassiosira pseudonana</i> (cromoalveolado)	
	CoDI-C		CoDI6,1	<i>Thalassiosira pseudonana</i> (cromoalveolado)	
Rama 2	Retrofit		Retrofit	<i>Oriza longistaminata</i> (planta)	
	Tork		Sto4	<i>Zea mays</i> (planta)	
			Tork4	<i>Solarum lycopersicum</i> (planta)	
			Tnt-1	<i>Nicotiana tabacum</i> (planta)	
	Sirevirus	Oryco	Oryco	Oryco	<i>Oriza sativa</i> (planta)
		Sire	Endovir1-1	Endovir1-1	<i>Arabidopsis thaliana</i> (planta)
			Sire1-4	Sire1-4	<i>Glycine max</i> (planta)
		Opie-2	Opie-2	<i>Oriza sativa</i> (planta)	
	1731		1731	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)	
	pCreto		cCreto	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (hongo)	
	Copia		Copia	<i>Drosophila simulans</i> (insecto)	
	Hydra1-2		Hydra1-2	<i>Danio rerio</i> (vertebrado)	
Osser		Osser	<i>Volvox carteri</i> (planta)		

Familia Bel/Pao

El grupo Bel/Pao contiene a retroelementos LTR descritos únicamente en animales, y se divide en cinco clados (Tabla 4). En base a filogenias del ORF *PoI*, estos clados son agrupados en tres ramas; la rama 1 comprende a Tas y Bel (en cnidarios y protostomados), la rama 2 a Pao y Sinbad (en protostomados y deuterostomados); y la rama 3 a Suzu (en vertebrados).

Tabla 4 – Familia Bel/Pao

Rama	Cluster	Clado	Ejemplos	Huésped (taxonomía)
Rama 1	Semotivirus	Bel	Max	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)
			Bel	<i>Drosophila melanogaster</i> (insecto)
		Tas	Tas	<i>Ascaris lumbricoides</i> (nematodo)
			Cer7	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo)
Rama 2		Sinbad	Sinbad	<i>Schistosoma mansoni</i> (platelminto)
		Pao	Ninja	<i>Drosophila simulans</i> (insecto)
			Pao	<i>Bombyx mori</i> (insecto)
Rama 3		Suzu	Suzu	<i>Takifugu rubripes</i> (vertebrado)

Ciclo de expresión

El ciclo de expresión de los retroelementos LTR comparte la mayoría de las etapas del ciclo retroviral: transcripción y expresión del elemento integrado; encapsidación y ensamblaje de una partícula tipo virus; retrotranscripción del mRNA; entrada al núcleo e integración en el genoma (Tabla 5).

Transcripción y expresión génica

Al igual que en Retroviridae, el ORF *Gag* se expresa a través de un mRNA monocistrónico, y el ORF *Pol* a través de un mRNA policistrónico, mediante supresión o desplazamiento ribosómico. Los miembros de la familia Ty3/Gypsy, como la mayoría de los Retroviridae, tienen los ORFs *Gag* y *Pol* separados por un frameshift – 1, por lo que utilizan el desplazamiento ribosómico (Vogt 1997). Una excepción es el elemento Ty3 cuyo frameshift no es – 1, sino +1 (Farabaugh *et al.* 1993). Los miembros de la familia Ty1/Copia y la mayoría de Bel/Pao, al poseer los ORFs *Gag* y *Pol* en el mismo marco de lectura, utilizan la supresión. En algunos elementos, tales como Ty1, Ty4, Opie – 2 y PREM – 2, los ORFs se encuentran en marcos de lectura distintos (Peterson-Burch & Voytas 2002).

Encapsidación y ensamblaje

Luego de la transcripción, se procede en el citoplasma, a la encapsidación y ensamblaje de partículas tipo virus o VLPs (Viral Like – Particles) que, a diferencia de sus contrapartes retrovirales, no brotan. Esto podría deberse a la ausencia de una señal de destino en el dominio matriz dentro de *Gag*, que en Retroviridae dirige las partículas hacia la membrana plasmática. La restitución de esta señal en el retrotransposón *MusD* de *Mus musculus*, dirige a las VLPs a la membrana plasmática donde se liberan hacia el sobrenadante (Ribet *et al.* 2007). Algunos elementos, como por ejemplo Copia, forma VLPs en el núcleo, sugiriendo que la proteína *Gag* tiene una señal de localización nuclear (Yoshioka *et al.* 1992).

Retrotranscripción

Dentro de la partícula ensamblada, ocurre la retrotranscripción. En general, los miembros de la familia Ty3/Gypsy utilizan tRNA^{Lys} o tRNA^{Ser} como cebador para la síntesis de DNA negativo (Terzian *et al.* 2001); los de Bel/Pao utilizan tRNA^{Arg} o tRNA^{Gly}; y los de Ty1/Copia utilizan tRNA^{Met}. El elemento Copia utiliza un fragmento de tRNA, generado por el clivaje con una RNasa P celular (Kikuchi *et al.* 1990).

Algunos elementos LTR no utilizan tRNA como cebador. Este es el caso del retrotransposón Tf1 de *S. pombe*, en el cual los primeros 11 nucleótidos de su mRNA se pliegan para unirse al PBS y se clivan por la RNasa H, generando así el cebador (Levin 1995; Levin 1996).

Entrada al núcleo e integración

Por lo general, la entrada del complejo de preintegración al núcleo requiere el desensamblaje de la membrana nuclear durante la mitosis, pero existen excepciones. Por ejemplo, el elemento Copia no lo requiere debido a que la formación de la partícula y retrotranscripción ocurren en el núcleo (Yoshioka *et al.* 1992).

En *S. cerevisiae*, la membrana nuclear no se desensambla durante la mitosis (“mitosis cerrada”). Para explicar la entrada de los complejos de preintegración, se ha propuesto que los mismos ingresan al núcleo a través de una señal de localización nuclear en el dominio de la integrasa (Moore *et al.* 1998).

En genomas con mayor proporción de secuencias intragénicas (*Drosophila*, mamíferos), los retroelementos LTR parecen insertarse azarosamente (Labrador & Corces 1997), mientras que en genomas compactos como el de levadura, suele existir una tendencia a insertarse en regiones de baja densidad génica, como lo hacen Ty1, Ty3 y Ty5 (Sandmeyer *et al.* 1990; Voytas & Boeke 1993; Kinsey & Sandmeyer 1995; Zou *et al.* 1996). Se cree que los sistemas de integración de los elementos en levaduras interactúan con factores de transcripción o componentes de la cromatina telomérica que controlan su inserción (Zou & Voytas 1997; Shapiro 1999).

Tabla 5 – Comparación de estructura y expresión de Retroelementos LTR y Retroviridae

	Retroviridae	Ty3/Gypsy	Ty1/Copia	Pao/Bel
Estructura				
Tamaño	7 – 12 kb	5 - 9 kb	5 - 9 kb	5 - 9 kb
LTRs	Sí	Sí	Sí	Sí
ORFs principales	3	2 – 3	2 – 3	2 – 3
Orden dominios <i>Pol</i>	PR-RT-RNH-IN	PR-RT-RNH-IN	PR-IN-RT-RNH	PR-RT-RNH-IN
Dominio MA en <i>Gag</i>	Sí	A veces	Sí	Sí
ORF <i>Env</i>	Sí	A veces	A veces	A veces
Ciclo de expresión				
Reconocimiento e ingreso				
Fusión de membranas	Sí	No	No	No
Proteína <i>Env</i>	Sí	A veces	A veces	A veces
Retrotranscripción				
tRNA celular cebador	Lys, Trp, Pro	Lys, Ser	Met	Arg, Gly
Entrada al núcleo e integración				
Ruptura membrana	Sí (oncovirus)	Sí	Sí	Sí
	No (lentivirus)	No (levadura)	No (levadura)	
Integración al azar	Sí	Sí	Sí	Sí
		No (levadura)	No (levadura)	
Transcripción y expresión				
RNA pol celular	Sí	Sí	Sí	Sí
mRNA CAP 5' y poliA	Sí	Sí	Sí	Sí
Expresión ORF <i>Pol</i>	Desplazamiento ribosómico	Desplazamiento ribosómico	Supresión	Supresión
Encapsidación y ensamblaje				
Brotamiento	Sí	No	No	No

Retrovirus Endógenos de Invertebrados

Como se mencionó anteriormente, los retroelementos LTR poseen la misma organización estructural que los Retroviridae en relación a los LTRs y ORFs. Por lo general, poseen los ORFs *Gag* y *Pol*, pero eventualmente pueden contener al ORF *Env* (Tabla 6).

Tabla 6 – Algunos Retroelementos LTR con ORF tipo env retroviral.

Familia	Rama/Cluster/Clado	Elemento	Huésped	Referencia
Ty3/Gypsy	2/Errantivirus/Gypsy	Gypsy	<i>D. melanogaster</i>	(Marlor <i>et al.</i> 1986)
		Yoyo	<i>C. capitata</i>	(Zhou & Haymer 1997)
		Nomad	<i>D. melanogaster</i>	(Whalen & Grigliatti 1998)
	2/Errantivirus/17.6	TED	<i>T. ni</i>	(Ozers & Friesen 1996)
		ZAM	<i>D. melanogaster</i>	(Leblanc <i>et al.</i> 1997)
		17.6	<i>D. melanogaster</i>	(Saigo <i>et al.</i> 1984)
		297	<i>D. melanogaster</i>	(Inouye <i>et al.</i> 1986)
		Tom	<i>D. ananassae</i>	(Tanda <i>et al.</i> 1994)
		Athila	<i>A. thaliana</i>	(Wright & Voytas 1998)
Ty1/Copia	2/Athila-Tat/Athila	Oswaldo	<i>D. buzaatii</i>	(Pantazidis <i>et al.</i> 1999)
	2/Metaviridae/Oswaldo	Sire1-4	<i>G. max</i>	(Laten <i>et al.</i> 1998)
Bel/Pao	1/Semotivirus/Tas	Endovir1	<i>A. thaliana</i>	(Kapitonov & Jurka 1999)
		Tas	<i>A. lumbricoides</i>	(Felder <i>et al.</i> 1994)
		Cer7	<i>C. elegans</i>	(Bowen & McDonald 1999)

Entre ellos, se ha evidenciado que Gypsy, Tom, TED y ZAM pueden expresar la proteína Env con las mismas características que la retroviral: péptido líder, sitios de N-glicosilación y dominio transmembrana (Song *et al.* 1994; Tanda *et al.* 1994; Ozers & Friesen 1996; Leblanc *et al.* 2000).

En particular, los elementos Gypsy y ZAM son actualmente los únicos descritos capaces de producir partículas virales (Mevel-Ninio *et al.* 1989; Leblanc *et al.* 2000), pero sólo Gypsy puede producir partículas infecciosas que le permiten transmitirse horizontalmente entre células *in vivo* (Mevel-Ninio *et al.* 1989). Como Gypsy y ZAM pertenecen al cluster Errantivirus, todos los elementos de este grupo se consideran como retrovirus endógenos de insectos o IERVs (Insect Endogenous Retro Viruses) (Terzian *et al.* 2001) (o Insect ERrantivirus) (Fauquet *et al.* 2005).

Gypsy

Los primeros indicios de la producción de partículas tipo virus, fueron la presencia del mRNA *Env* (Pelisson *et al.* 1994), y la identificación de presuntas proteínas Env mediante anticuerpos específicos en *Drosophila melanogaster* (Song *et al.* 1994). La existencia de las partículas fue confirmada posteriormente por microscopía electrónica, localizadas subyacentes a dominios de la membrana plasmática de células foliculares que contenían proteínas Env insertas (Fig. 11) (Lecher *et al.* 1997).



Fig. 11 – Microscopía electrónica de partículas tipo virus (VLPs) de elementos Gypsy encontradas en células foliculares de *D. melanogaster*. Estas partículas se hallan cercanas a membranas conteniendo proteína Env (imagen de Lecher *et al.* 1997).

Las células foliculares se encuentran muy cerca de los oocitos y células nodrizas de la línea germinal (Fig. 12), en las cuales también se han detectado partículas, pero no se sabe si provinieron de las células foliculares, ni cómo ingresaron (Lecher *et al.* 1997).

Como no se han evidenciado partículas extracelulares ni brotamientos (tal vez por ausencia del dominio matriz en el ORF *Gag*), se ha propuesto que las partículas presentes en oocitos y células nodrizas pudieron transferirse desde las células foliculares por endocitosis (Chalvet *et al.* 1999). Esta propuesta es sustentada por elementos Gypsy defectivos para Env que se insertan con alta frecuencia en la progenie de hembras que expresan Gypsy (Chalvet *et al.* 1999).

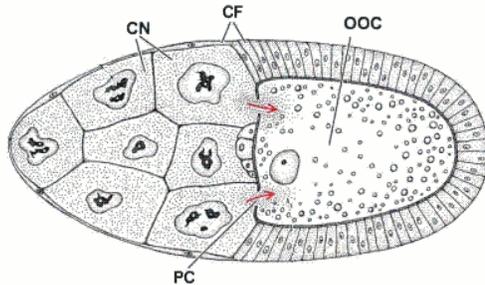


Fig. 12 – Folículo ovárico de *Drosophila*. Las células foliculares somáticas (CF) rodean a las células nodrizas (CN) y al oocito (OOC), ambos pertenecientes en origen a la línea germinal. Las células nodrizas se conectan entre sí y con el extremo anterior del oocito a través de puentes citoplasmáticos (PC).

La expresión de Gypsy es controlada por el gen *flamenco* (*Flam*) (Pelisson *et al.* 1994), localizado en la heterocromatina centromérica del cromosoma X (Prud'homme *et al.* 1995). En poblaciones naturales, *Flam* tiene dos alelos: uno dominante que restringe la transposición de Gypsy (*FlamR*), y el otro recesivo que la permite (*FlamP*) (Pelisson *et al.* 1997). El alelo *FlamR* activa una vía de pequeños RNA de interferencia asociados a repetidos (rasiRNA: Repet - Assoiated Small Interfering RNA) que degrada a los transcritos Gypsy (Sarov *et al.* 2004; Pelisson *et al.* 2007). Se ha propuesto que *Flam* y Gypsy tendrían orientaciones opuestas (Mével-Ninio *et al.* 2007), y que la expresión de *FlamR* generaría RNAs antisentido a secuencias reguladoras en el UTR 5' de Gypsy, activando la vía rasiRNA (Pelisson *et al.* 2007).

La infectividad de Gypsy se demostró finalmente con la reversión de la mutación *ovoD1*. Ésta es dominante, ligada al cromosoma X, produce infertilidad y presenta hot spots para inserciones Gypsy. Mével-Ninio y cols inyectaron el citoplasma de huevos fertilizados de una cepa portadora de Gypsy, en embriones de una cepa no portadora (Mével-Ninio *et al.* 1989). Si las partículas Gypsy eran infecciosas, se esperaba su transmisión a la línea germinal, por lo que todos los individuos de la F1 de los embriones inyectados serían portadores. Las hembras que se desarrollaron a partir de estos embriones inyectados se cruzaron con machos mutantes *ovoD1*, y se midió la fertilidad de las hembras hijas. Todas las hembras F1 del cruzamiento control fueron infértiles, porque recibieron el cromosoma X paternal con el locus *ovoD1*. Sin embargo, un porcentaje de las hembras hijas del cruzamiento prueba fueron fértiles, debido a que las partículas Gypsy resultaron infecciosas y el provirus se insertó en el alelo mutante, silenciándolo.

NEXO EVOLUTIVO ENTRE RETROELEMENTOS LTR Y RETROVIRIDAE

El alto grado de similitud entre los Retroviridae y los retroelementos LTR, tanto a nivel estructural como mecánico (Fig. 10 y Tabla 5), llevó a considerar alguna posible relación evolutiva entre ellos.

Varios trabajos concuerdan en que tanto los Retroviridae como los retroelementos LTR, debieron formarse a partir de elementos celulares más simples que inicialmente contenían algunos dominios u ORFs y que fueron adquiriendo nuevos módulos (LTRs, sitios de unión a cebador, etc.) (Temin 1971; 1980; Boeke & Stoye 1997; Capy 1998; Malik & Eickbush 2001).

El paso crítico en la transición Retroviridae–Retroelementos LTR pudo ser la pérdida/adquisición del gen *Env*. Algunos autores señalaron que los Retroviridae pudieron haber originado algunos de los retroelementos LTR (Coffin 1993), por la retrotranscripción de un mRNA mal procesado carente del gen *Env* (Laten *et al.* 1998). Sin embargo, actualmente la hipótesis más aceptada es que los retroelementos LTR fueron los precursores de los Retroviridae, y que dicho proceso estuvo asociado a la adquisición del gen *Env*.

Adquisición del gen *env* en Retroelementos LTR

El gen *Env* aparece esporádicamente en retroelementos LTR de distintas familias (Tabla 6), lo cual puede deberse a que el gen es ancestral y se perdió en algunos grupos, o que fue adquirido posteriormente por los distintos taxones en forma independiente. La segunda hipótesis es la que se encuentra mejor sustentada, ya que ciertos grupos de retroelementos LTR parecen haber obtenido el gen *Env* a partir de virus preexistentes, según la homología encontrada entre la proteína Env de los retroelementos LTR y las virales (Malik *et al.* 2000 (Malik *et al.* 2000)). Si una infección viral ocurrió simultáneamente con la retrotransposición de un retroelemento LTR, una recombinación heteróloga pudo provocar que el gen *Env* fuese adquirido por el elemento LTR (Malik *et al.* 2000).

Los elementos del clado Gypsy pudieron obtener el gen desde Baculovirus, los cuales poseen una proteína de fusión viral F, homóloga a Env (Pearson & Rohrmann 2002). Los Baculovirus son virus DNA doble hebra de insectos que no utilizan un intermediario RNA. Un caso interesante es el elemento TED del lepidóptero *Trichoplusia ni* (Friesen & Nissen 1990), que se encuentra inserto en el genoma de un baculovirus donde pudo acceder al gen *Env* baculoviral. Posiblemente su localización en esa posición le permitió expresarse a elevados niveles, aprovechando que la RNA polimerasa viral reconoce una secuencia promotora en su LTR (Rohrmann 1986).

Los elementos Cer7 de *C. elegans* y Tas de *A. lumbricoides*, pertenecientes a la familia BEL/Pao, habrían obtenido sus genes *Env* desde Phlebovirus y Herpesvirus respectivamente (Felder *et al.* 1994; Bowen & McDonald 1999). Los Phlebovirus son virus RNA simple hebra que infectan artrópodos y vertebrados, y los Herpesvirus son virus DNA doble hebra sin intermediario RNA que infectan solamente vertebrados.

Adquisición del gen env en Retroviridae

Existe escasa información del origen del gen *Env* en los Retroviridae. Se conocen casos de genes *Env* quiméricos formados por eventos de recombinación entre virus endógenos y exógenos (Benson *et al.* 1998). También se han descrito adquisiciones entre Retroviridae de distintas especies. Es probable que después de la encapsidación conjunta de dos genomas retrovirales heterólogos, ocurriera un evento de recombinación que permitiera a uno de ellos obtener el gen *Env* del otro (Katz & Skalka 1990).

Un ejemplo de adquisición entre Retroviridae endógenos de distintas especies, es el retrovirus de felino RD114, que emergió luego de sucesivos eventos de adquisición del gen *Env* entre Retroviridae de felinos y de primates (Sitbon *et al.* 2004). Entre Retroviridae exógenos, un ejemplo de adquisición son MLV (Murine Leucemia Virus) y HTLV (Human T – Lymphotropic Virus), prototipos de los géneros *Gamma* y *Deltaretroviridae* respectivamente. Dentro de Retroviridae, estos géneros son los más distantes entre sí desde el punto de vista filogenético (Tristem 2000). Sin embargo, Sitbon *et al.* reportaron que los genes *Env* de ambos Retroviridae están cercanamente relacionados, que presentan una organización modular y motivos del componente SU muy similares, sugiriendo que estos genes podrían tener un ancestro en común (Sitbon *et al.* 2009). Estos ejemplos de adquisición entre Retroviridae, sugieren que el gen *Env* tuvo un origen polifilético en los mismos.

Origen celular de env?

La estructura y función de los componentes SU y TM de la proteína Env podrían relacionarse con proteínas normales de una célula. La estructura del dominio de unión al receptor del componente SU de la proteína Env, se asocia con la superfamilia de inmunoglobulinas (Fass *et al.* 1997), mientras que la capacidad de fusión de membranas del componente TM lo asocia con proteínas de fusión celular y proteínas de membrana involucradas en el tráfico de membrana (Poumbourios *et al.* 1999; Weissenhorn *et al.* 1999). Se ha sugerido que el gen *Env* pudo formarse por recombinación de exones no alélicos (exon shuffling), y posteriormente ser adquirido por virus (Boeke & Pickeral 1999; Sitbon *et al.* 2004), o que secuencias de retroelementos LTR hayan sido “domesticadas” por el genoma huésped para cumplir funciones en el mismo.

Relaciones filogenéticas

Las relaciones evolutivas entre especies pueden inferirse a partir del alineamiento de secuencias, tanto nucleótidas como aminoácidas, y su posterior análisis filogenético. Las secuencias utilizadas pueden corresponder a módulos que codifiquen alguna función, como lo son los dominios del ORF *Pol* o *Gag*.

Filogenias RT

Análisis filogenéticos basados en el dominio retrotranscriptasa indican que los retroelementos LTR de la familia Ty3/Gypsy se encuentran más estrechamente relacionados con los Retroviridae (Xiong & Eickbush 1990; McClure 1991). La familia Ty3/Gypsy, la cual incluye a los retrovirus de invertebrados, se sitúa como un grupo hermano de los Retroviridae, compartiendo un único ancestro común (grupo monofilético) (Fig. 13). Estos resultados se sustentan también por el orden de los dominios del ORF *Pol*, ya que ambos grupos tienen el mismo orden (PR – RT – RNH – IN).

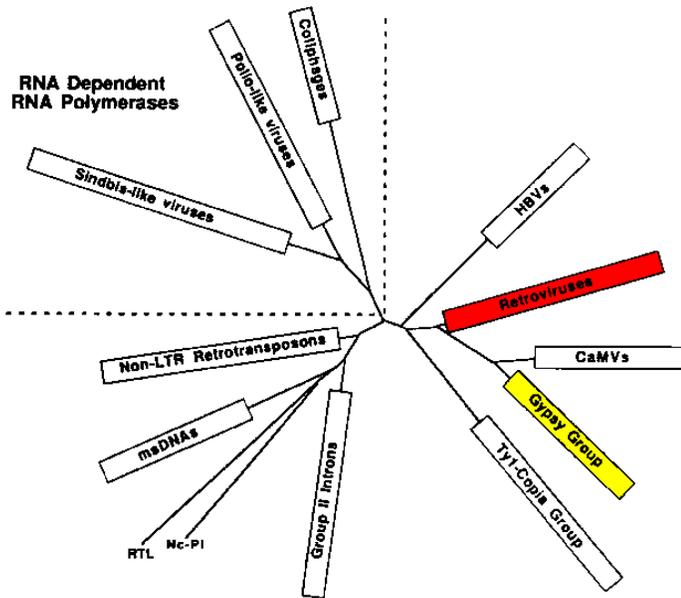


Fig. 13 – Árbol filogenético del dominio retrotranscriptasa de todos los elementos que lo poseen, utilizando el método Neighbor-Joining (modificado de Xiong & Eickbush 1990).

Filogenias RNH

A diferencia de los análisis filogenéticos basados en el dominio RT, los estudios de RNH sitúan a los Retroviridae más distantes a los retroelementos LTR (Fig. 14) (Malik & Eickbush 2001). Para explicar estos resultados se ha sugerido que los Retroviridae adquirieron un nuevo dominio RNH más efectivo (Malik & Eickbush 2001). Sin embargo, parecen haber conservado parte del dominio RNH previo, ahora denominado “tether” o “connection”, localizado entre los dominios RT y RNH actuales (Kohlstaedt et al. 1992). El “nuevo” dominio RNH es el dominio enzimáticamente activo, mientras que el dominio “tether” podría realizar funciones estructurales ancestrales, tales como la formación del heterodímero RT (Divita *et al.* 1994; Wang *et al.* 1994; Debyser & De Clercq 1996) y la incorporación de la RT en la partícula viral (Mak *et al.* 1997).

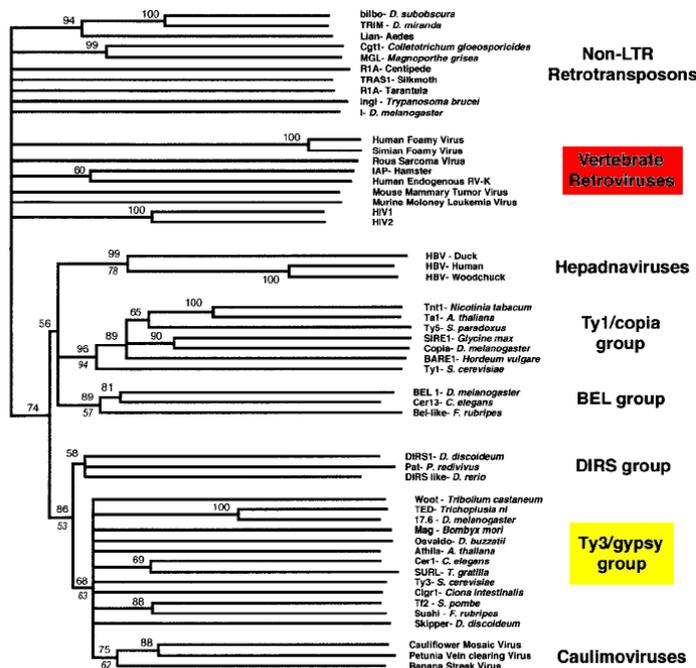


Fig. 14 – Árbol filogenético del dominio RNasa H, utilizando el método Neighbor-Joining (modificado de Malik & Eickbush 2001).

Filogenias IN

Los subdominios del dominio IN también se han utilizado para análisis filogenéticos. Con los subdominios N-terminal y central, los más conservados, los resultados fueron similares a los obtenidos con la RT (Capy *et al.* 1997). Pero en el caso del subdominio C-terminal, los resultados fueron dispares, según fuese el método de análisis utilizado. Neighbor Joining apoya las relaciones previamente observadas con el análisis de la RT, pero Máxima Parsimonia divide a Retroviridae en dos ramas con probable origen polifilético (Llorens *et al.* 2008). Esto puede deberse a la presencia del módulo GPY/F, localizado dentro del subdominio C-terminal. Un árbol filogenético con Máxima Parsimonia que no contemple al módulo GPY/F, coincide con el obtenido con Neighbor Joining (Llorens *et al.* 2008). Probablemente el módulo GPY/F fue una adquisición posterior en el dominio integrasa (Malik & Eickbush 1999).

Filogenias Gag, Pol y Gag – Pol

Llorens y colaboradores (2008) hicieron análisis filogenéticos con dominios concatenados de Retroviridae y Ty3/Gypsy (incluyendo retrovirus de invertebrados), mostrando relaciones más estrechas entre los miembros de ambos grupos. La filogenia de la concatenación de los ORFs *Gag-Pol*, también los propone como grupos hermanos e independientes, con orígenes monofiléticos, siendo el de los Retroviridae cercano al clado Micropia/Mdg3 (Fig. 15a). La filogenia de los dominios concatenados del ORF *Pol* sustenta lo mismo, excepto que el origen monofilético de los Retroviridae se ubica cercano al clado Errantivirus (Fig. 15b). Contraria a estas últimas interpretaciones, la filogenia de la concatenación de los dominio del ORF *Gag*, muestra un origen polifilético de los Retroviridae, donde cada una de las clases estaría relacionada con uno o más linajes de la familia Ty3/Gypsy (Fig. 15c).

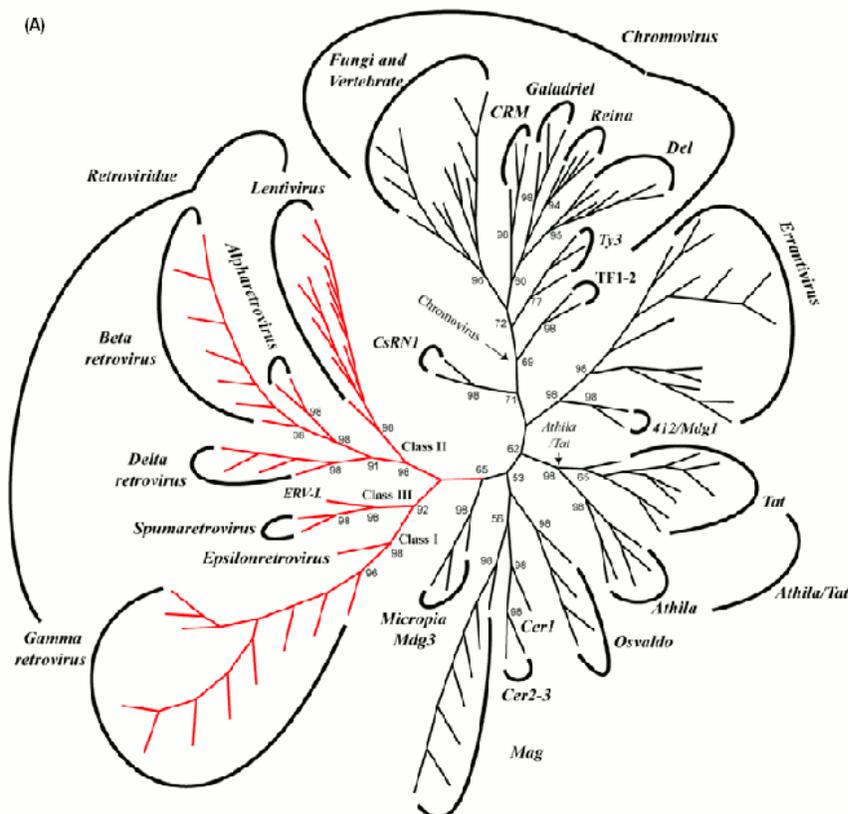
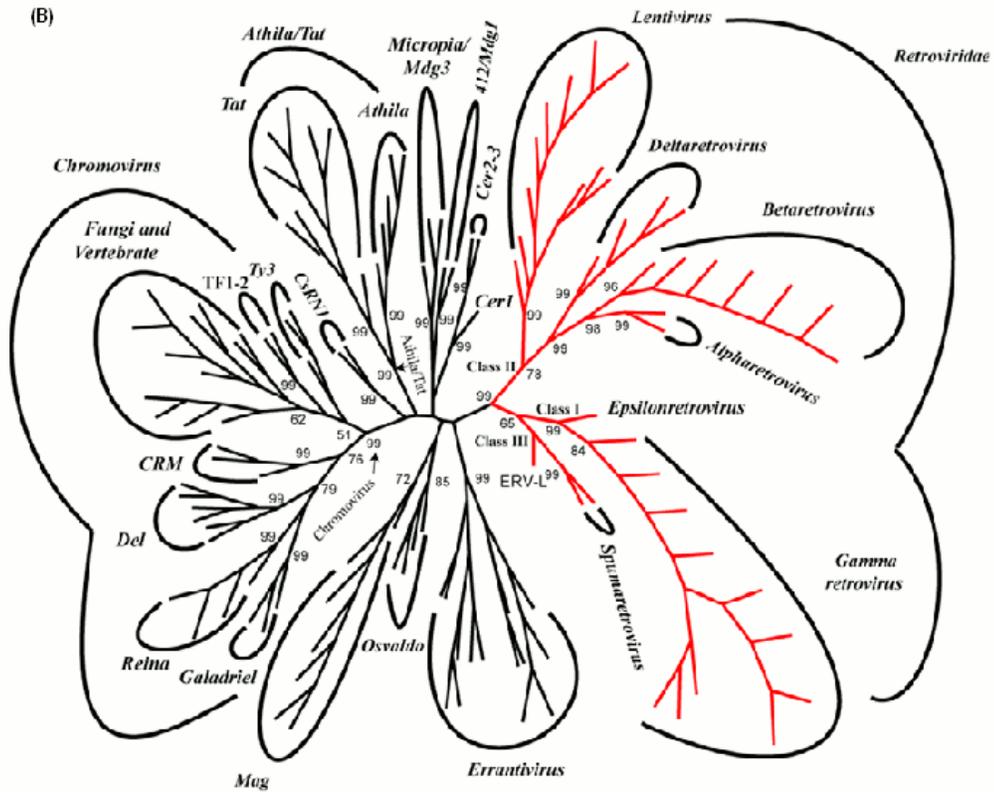
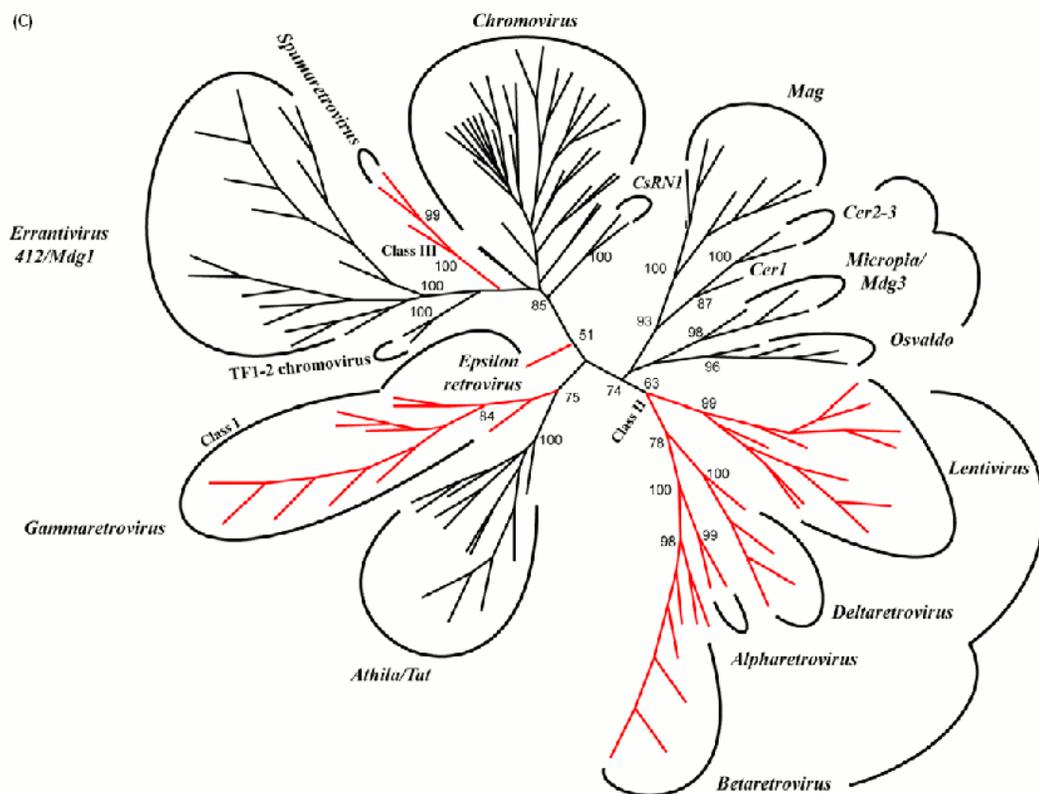


Fig. 15 – Árboles filogenéticos de dominios concatenados de retroelementos LTR (en color negro) y Retroviridae (en color rojo). A – dominios del ORF *Gag – Pol*, sugieren que los Retroviridae tienen un origen monofilético, cercano al clado Micropia/Mdg3. B – dominios del ORF *Pol*, sugieren que los Retroviridae tienen un dominio monofilético, cercano al clado Errantivirus. C – dominios del ORF *Gag*, sugieren que los Retroviridae tienen un origen polifilético, a partir de distintos linajes de la familia Ty3/Gypsy (modificado de Llorens *et al.* 2008).





Según la filogenia de los dominios concatenados del ORF Gag, La clase II de Retroviridae se agrupa con los clados Microplia/Mdg3, Osvaldo, Mag, Cer1 y Cer2-3; la clase I se agrupa con el clado Athila/Tat, y la clase III con los Errantivirus y 412/Mdg1. Los autores plantean que cada una de las clases de Retroviridae se remonta al menos a tres ancestros Ty3/Gypsy que emergieron en diferentes momentos evolutivos, previo a la divergencia protostomados-deuterostomados, denominándola “Hipótesis de los tres reinos” (Llorens *et al.* 2008). Se denomina de “los tres reinos” porque los retroelementos LTR utilizados en estos análisis filogenéticos, se distribuyen en plantas, hongos y animales.

Evolución de los retroelementos LTR, Retroviridae y sus huéspedes

El estudio realizado por Llorens *et al.* (2009), superpone la historia evolutiva de los retroelementos LTR, los Retroviridae y sus huéspedes eucariotas para establecer los eventos macroevolutivos que llevaron a su actual distribución (Fig. 16).

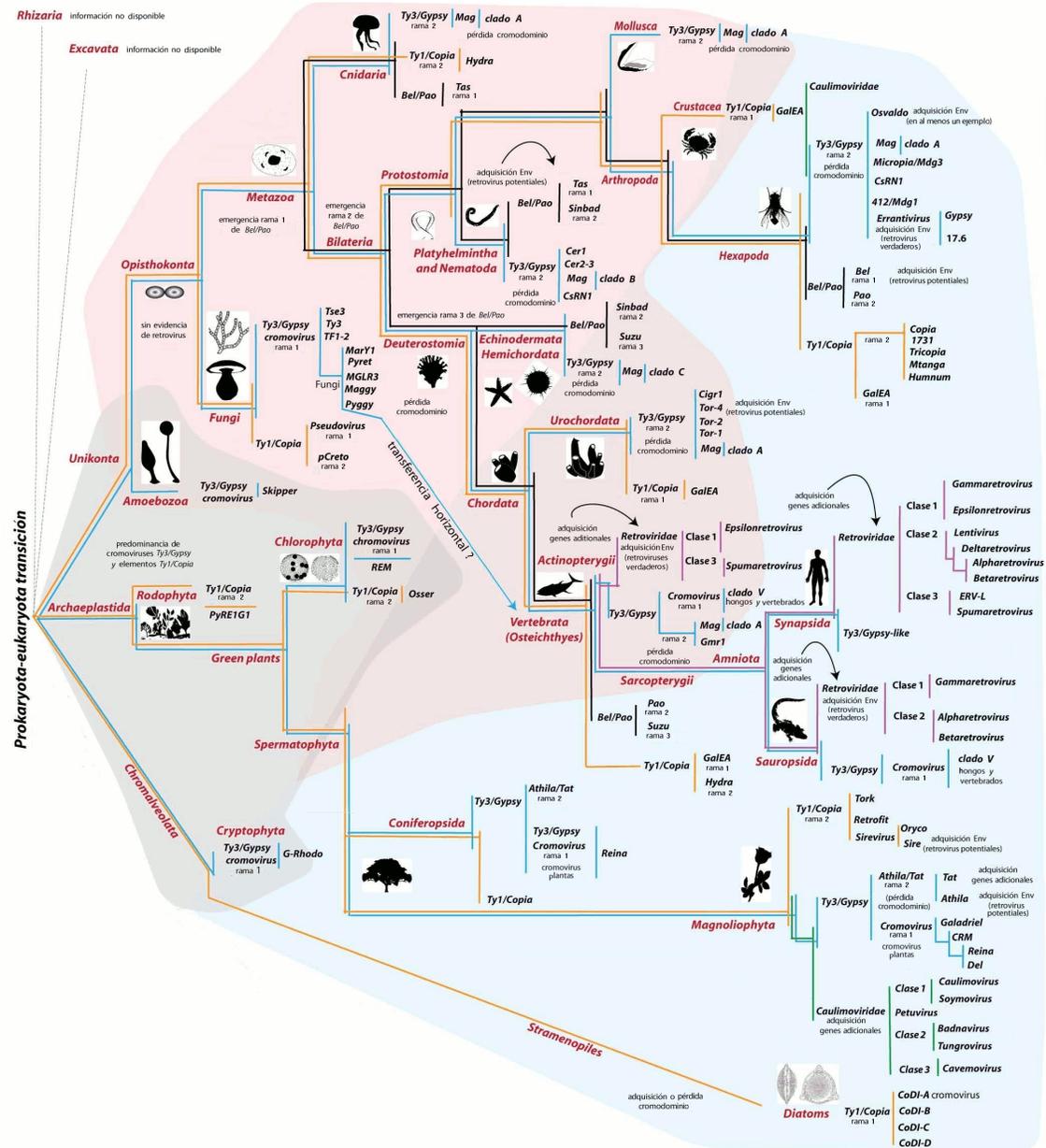


Fig. 16 – Superposición de la evolución de los retroelementos LTR y Retroviridae, con sus respectivos huéspedes (modificado de Llorens *et al.* 2009).

Durante la separación de los eucariotas en los principales supergrupos (Keeling *et al.* 2005), el ancestro de los retroelementos LTR diversificó en las familias Ty1/Copia y Ty3/Gypsy, probablemente por el reordenamiento genómico del ORF *Pol*. Este ancestro pudo tener el mismo orden que la familia Ty1/Copia, debido a que ésta se considera la más antigua de los retroelementos (Xiong & Eickbush 1990). Posteriormente, emergieron los elementos Bel/Pao y Retroviridae.

Dentro de la familia Ty3/Gypsy, los cromovirus (rama 1) serían los más antiguos, debido a su amplia distribución en los eucariotas. Su ausencia en animales invertebrados podría deberse a su extinción local, o a su aparición en otros eucariotas y consecuente transferencia horizontal a vertebrados (Miller *et al.* 1999; Llorens *et al.* 2009). Por otro lado, la rama 2 se encuentra sólo en plantas y animales.

Los elementos Bel/Pao habrían aparecido junto con los animales, debido a que no se encontraron en hongos y plantas. Los elementos Ty1/Copia muestran una gran distribución en todos los eucariotas, con algunas excepciones. Al parecer, habrían diversificado menos que los elementos de la familia Ty3/Gypsy (Llorens *et al.* 2009).

Los Retroviridae probablemente aparecieron durante la evolución de vertebrados. Las distribuciones de Retroviridae y Ty3/Gypsy se solapan en peces, reptiles y mamíferos, pero no en aves, donde no se han encontrado retrotransposones LTR pero sí Retroviridae. En mamíferos particularmente, se han identificado algunos pocos retrotransposones LTR autónomos (Lynch & Tristem 2003; Dewannieux *et al.* 2004), pertenecientes a la familia Ty3/Gypsy.

CONCLUSIONES

Los retroelementos LTR y los Retroviridae, poseen una organización estructural casi idéntica, y utilizan los mismos mecanismos para su replicación. Esto llevó a indagar sobre sus orígenes, sugiriendo que los Retroelementos LTR fueron los precursores de los Retroviridae.

Dentro de los retroelementos LTR, la familia Ty3/Gypsy presenta el mayor grado de similitud con los Retroviridae, tanto a nivel estructural (orden de los dominios del ORF *Po*) como de replicación (utilizan el desplazamiento ribosómico en la expresión, un mismo cebador para la retrotranscripción, etc.), sugiriendo que la transición se dio entre estos dos grupos. Análisis filogenéticos basados en distintos dominios proteicos confirman que ambos son muy cercanos. Estos análisis también indican, según las variaciones en las topologías de los árboles, la evolución modular de los retroelementos LTR.

La transición entre los retroelementos LTR y los Retroviridae estaría asociada a la adquisición del gen *Env*, que codifica a una glicoproteína que otorgaría propiedades infectivas a los Retroviridae, permitiendo su entrada a otras células. Su introducción en los retroelementos LTR fue polifilética, a partir de distintas fuentes virales. Mientras que en Retroviridae, los numerosos casos de transferencia de genes *Env* así como análisis filogenéticos de los dominios concatenados del ORF *Gag*, indican la naturaleza quimérica de estos elementos, dificultando establecer posibles fuentes del gen *Env*.

El retrovirus endógeno Gypsy representaría el mejor ejemplo de esta transición, debido a que su gen *Env* provendría de baculovirus, con los cuales comparte el rango de huéspedes. A pesar de no poseer el dominio matriz, gypsy ha demostrado ser infeccioso y capaz de utilizar otras vías de salida de la célula donde se expresa, vías que también pueden ser utilizadas por algunos Retroviridae.

La generación de nuevos niveles de complejidad durante la evolución de los eucariotas probablemente influyeron en la evolución y radiación de los retroelementos LTR, y en la emergencia de los Retroviridae. La superposición de sus historias apoya los resultados de los estudios comparativos y filogenéticos: que en la evolución de los retroelementos LTR y Retroviridae, se combinaron procesos graduales de divergencia con eventos modulares y reordenamientos genómicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Andersson G, Svensson AC, Setterblad N and Rask L 1998. Retroelements in the human MHC class II region. *Trends Genet* 14(3): 109-114.
- Benson SJ, Ruis BL, Fadly AM and Conklin KF 1998. The unique *envelope* gene of the subgroup J avian leukosis virus derives from ev/J proviruses, a novel family of avian endogenous viruses. *J Virol* 72: 10157-10164.
- Blond JL, Lavillette D, Cheynet V, Bouton O, Oriol G, Chapel-Fernandes S, Mandrand B, Mallet F and Cosset FL 2000. An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J Virol* 74(7): 3321-3329.
- Boeke JD and Pickeral OK 1999. Retroshuffling the genomic deck. *Nature* 398(6723): 108-109, 111.
- Boeke JD and Stoye JP 1997. Retrotransposons, endogenous retroviruses, and the evolution of retroelements. In *Retroviruses*. (eds., Coffin, J.M., Hughes, S.H. and Varmus, H.E.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York: 343-435.
- Bowen NJ and McDonald JF 1999. Genomic analysis of *Caenorhabditis elegans* reveals ancient families of retroviral-like elements. *Genome Res* 9(10): 924-935.
- Bowerman B, Brown PO, Bishop JM and Varmus HE 1989. A nucleoprotein complex mediates the integration of retroviral DNA. *Genes Dev* 3(4): 469-478.
- Bugelski PJ, Maleeff BE, Klinkner AM, Ventre J and Hart TK 1995. Ultrastructural evidence of an interaction between Env and Gag proteins during assembly of HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 11(1): 55-64.
- Bukrinsky MI, Haggerty S, Dempsey MP, Sharova N, Adzhubel A, Spitz L, Lewis P, Goldfarb D, Emerman M and Stevenson M 1993. A nuclear localization signal within HIV-1 matrix protein that governs infection of non-dividing cells. *Nature* 365(6447): 666-669.
- Butler M, Goodwin T and Poulter R 2001. An unusual vertebrate LTR retrotransposon from the cod *Gadus morhua*. *Mol Biol Evol* 18(3): 443-447.
- Capy P 1998. Evolutionary biology. A plastic genome. *Nature* 396(6711): 522-523.
- Capy P, Langin T, Higuete D, Maurer P and Bazin C 1997. Do the integrases of LTR-retrotransposons and class II element transposases have a common ancestor? *Genetica* 100(1-3): 63-72.
- Carteau S, Hoffmann C and Bushman F 1998. Chromosome structure and human immunodeficiency virus type 1 cDNA integration: centromeric alphoid repeats are a disfavored target. *J Virol* 72(5): 4005-4014.
- Coffin JM 1992a. Genetic diversity and evolution of retroviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 176: 143-164.
- Coffin JM 1992b. Retroviral DNA integration. *Dev Biol Stand* 76: 141-151.
- Coffin JM 1993. Reverse transcriptase and evolution. In *Reverse transcriptase*. (eds., Skalka, A.M. and Goff, S.P.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York: 445-479.
- Conklin KF and Groudine M 1984. Chromatin structure and gene expression. In *DNA Methylation*. (eds., Razin, A., Cedar, H. and Riggs, A.D.). Springer-Verlag, New York: 293-351.
- Craven RC, Bennett RP and Wills JW 1991. Role of the avian retroviral protease in the activation of reverse transcriptase during virion assembly. *J Virol* 65(11): 6205-6217.
- Chalvet F, Teyssset L, Terzian C, Prud'homme N, Santamaria P, Bucheton A and Pelisson A 1999. Proviral amplification of the Gypsy endogenous retrovirus of *Drosophila melanogaster* involves env-independent invasion of the female germline. *EMBO J* 18(9): 2659-2669.
- Cherrington J and Ganem D 1992. Regulation of polyadenylation in human immunodeficiency virus (HIV): contributions of promoter proximity and upstream sequences. *EMBO J* 11(4): 1513-1524.
- Debyser Z and De Clercq E 1996. Chemical crosslinking of the subunits of HIV-1 reverse transcriptase. *Protein Sci* 5(2): 278-286.
- Dewannieux M, Dupressoir A, Harper F, Pierron G and Heidmann T 2004. Identification of autonomous IAP LTR retrotransposons mobile in mammalian cells. *Nat Genet* 36(5): 534-539.
- Divita G, Restle T, Goody RS, Chermann JC and Baillon JG 1994. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase dimerization using synthetic peptides derived from the connection domain. *J Biol Chem* 269(18): 13080-13083.
- Eckert DM and Kim PS 2001. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Annu Rev Biochem* 70: 777-810.
- Edbauer CA and Naso RB 1983. Cytoskeleton-associated Pr65gag and retrovirus assembly. *Virology* 130(2): 415-426.
- Farabaugh PJ, Zhao H, Pande S and Vimaladithan A 1993. Translational frameshifting expresses the *POL3* gene of retrotransposon Ty3 of yeast. *Cell* 74: 93-103.
- Farnet CM and Bushman FD 1997. HIV-1 cDNA integration: requirement of HMG I(Y) protein for function of preintegration complexes in vitro. *Cell* 88(4): 483-492.
- Fass D, Davey RA, Hamson CA, Kim PS, Cunningham JM and Berger JM 1997. Structure of a murine leukemia virus receptor-binding glycoprotein at 2.0 angstrom resolution. *Science* 277(5332): 1662-1666.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U and Ball LA. (eds.) 2005. Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy Viruses. E.A., P. San Diego, California.
- Felder H, Herzceg A, de Chastonay Y, Aeby P, Tobler H and Muller F 1994. Tas, a retrotransposon from the parasitic nematode *Ascaris lumbricoides*. *Gene* 149(2): 219-225.
- Felsenstein KM and Goff SP 1988. Expression of the Gag-Pol fusion protein of Moloney murine leukemia virus without Gag protein does not induce virion formation or proteolytic processing. *J Virol* 62(6): 2179-2182.

- Frendo JL, Olivier D, Cheynet V, Blond JL, Bouton O, Vidaud M, Rabreau M, Evain-Brion D and Mallet F 2003. Direct involvement of HERV-W Env glycoprotein in human trophoblast cell fusion and differentiation. *Mol Cell Biol* 23(10): 3566-3574.
- Friesen PD and Nissen MS 1990. Gene organization and transcription of TED, a lepidopteran retrotransposon integrated within the baculovirus genome. *Mol Cell Biol* 10(6): 3067-3077.
- Gifford R, Kabat P, Martin J, Lynch C and Tristem M 2005. Evolution and distribution of class II-related endogenous retroviruses. *J Virol* 79(10): 6478-6486.
- Gifford R and Tristem M 2003. The evolution, distribution and diversity of endogenous retroviruses. *Virus Genes* 26(3): 291-315.
- Griffiths DJ 2001. Endogenous retroviruses in the human genome sequence. *Genome Biol* 2(6): REVIEWS1017.
- Guntaka RV 1993. Transcription termination and polyadenylation in retroviruses. *Microbiol Rev* 57(3): 511-521.
- Heinzinger NK, Bukinsky MI, Haggerty SA, Ragland AM, Kewalramani V, Lee MA, Gendelman HE, Ratner L, Stevenson M and Emerman M 1994. The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(15): 7311-7315.
- Ikeda H and Sugimura H 1989. *Fv-4* resistance gene: a truncated endogenous murine leukemia virus with ecotropic interference properties. *J Virol* 63(12): 5405-5412.
- Inouye S, Yuki S and Saigo K 1986. Complete nucleotide sequence and genome organization of a *Drosophila* transposable genetic element, 297. *Eur J Biochem* 154(2): 417-425.
- Jordan A, Bisgrove D and Verdin E 2003. HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells in vitro. *EMBO J* 22(8): 1868-1877.
- Kapitonov VV and Jurka J 1999. Molecular paleontology of transposable elements from *Arabidopsis thaliana*. *Genetica* 107(1-3): 27-37.
- Kapitonov VV and Jurka J 2003. Molecular paleontology of transposable elements in the *Drosophila melanogaster* genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(11): 6569-6574.
- Katz RA and Skalka AM 1990. Generation of diversity in retroviruses. *Annu Rev Genet* 24: 409-445.
- Keeling PJ, Burger G, Durnford DG, Lang BF, Lee RW, Pearlman RE, Roger AJ and Gray MW 2005. The tree of eukaryotes. *Trends Ecol Evol* 20(12): 670-676.
- Kikuchi Y, Sasaki N and Ando-Yamagami Y 1990. Cleavage of tRNA within the mature tRNA sequence by the catalytic RNA of RNase P: implication for the formation of the primer tRNA fragment for reverse transcription in copia retrovirus-like particles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(20): 8105-8109.
- Kinsey PT and Sandmeyer SB 1995. Ty3 transposes in mating populations of yeast: a novel transposition assay for Ty3. *Genetics* 139(1): 81-94.
- Kobe B, Center RJ, Kemp BE and Pombourios P 1999. Crystal structure of human T cell leukemia virus type 1 gp21 ectodomain crystallized as a maltose-binding protein chimera reveals structural evolution of retroviral transmembrane proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(8): 4319-4324.
- Labrador M and Corces VG 1997. Transposable element-host interactions: regulation of insertion and excision. *Annu Rev Genet* 31: 381-404.
- Lander ES, Linton LM and Birren B 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409(6822): 860-921.
- Laten HM, Majumdar A and Gaucher EA 1998. SIRE-1, a copia/Ty1-like retroelement from soybean, encodes a retroviral envelope-like protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(12): 6897-6902.
- Leblanc P, Desset S, Dastugue B and Vaury C 1997. Invertebrate retroviruses: ZAM a new candidate in *D. melanogaster*. *EMBO J* 16(24): 7521-7531.
- Leblanc P, Desset S, Giorgi F, Taddei AR, Fausto AM, Mazzini M, Dastugue B and Vaury C 2000. Life cycle of an endogenous retrovirus, ZAM, in *Drosophila melanogaster*. *J Virol* 74(22): 10658-10669.
- Lecher P, Bucheton A and Pelisson A 1997. Expression of the *Drosophila* retrovirus Gypsy as ultrastructurally detectable particles in the ovaries of flies carrying a permissive *flamenco* allele. *J Gen Virol* 78 (Pt 9): 2379-2388.
- Lee MS and Craigie R 1994. Protection of retroviral DNA from autointegration: involvement of a cellular factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(21): 9823-9827.
- Lerat E and Capy P 1999. Retrotransposons and retroviruses: analysis of the *envelope* gene. *Mol Biol Evol* 16(9): 1198-1207.
- Lynch C and Tristem M 2003. A co-opted Gypsy-type LTR-retrotransposon is conserved in the genomes of humans, sheep, mice, and rats. *Curr Biol* 13(17): 1518-1523.
- Llorens C, Fares MA and Moya A 2008. Relationships of Gag-Pol diversity between Ty3/Gypsy and Retroviridae LTR retroelements and the three kings hypothesis. *BMC Evol Biol* 8: 276.
- Llorens C, Munoz-Pomer A, Bernad L, Botella H and Moya A 2009. Network dynamics of eukaryotic LTR retroelements beyond phylogenetic trees. *Biol Direct* 4: 41.
- Mak J, Khorchid A, Cao Q, Huang Y, Lowy I, Parniak MA, Prasad VR, Wainberg MA and Kleiman L 1997. Effects of mutations in Pr160gag-pol upon tRNA(Lys3) and Pr160gag-plo incorporation into HIV-1. *J Mol Biol* 265(4): 419-431.
- Malik HS and Eickbush TH 1999. Modular evolution of the integrase domain in the Ty3/Gypsy class of LTR retrotransposons. *J Virol* 73(6): 5186-5190.
- Malik HS and Eickbush TH 2001. Phylogenetic analysis of ribonuclease H domains suggests a late, chimeric origin of LTR retrotransposable elements and retroviruses. *Genome Res* 11(7): 1187-1197.
- Malik HS, Henikoff S and Eickbush TH 2000. Poised for contagion: evolutionary origins of the infectious abilities of invertebrate retroviruses. *Genome Res* 10(9): 1307-1318.
- Marlor RL, Parkhurst SM and Corces VG 1986. The *Drosophila melanogaster* Gypsy transposable element

- encodes putative gene products homologous to retroviral proteins. *Mol Cell Biol* 6(4): 1129-1134.
- McClure MA 1991. Evolution of retroposons by acquisition or deletion of retrovirus-like genes. *Mol Biol Evol* 8(6): 835-856.
- Mellor J, Malim MH, Gull K, Tuite MF, McCready S, Dibbayawan T, Kingsman SM and Kingsman AJ 1985. Reverse transcriptase activity and Ty RNA are associated with virus-like particles in yeast. *Nature* 318(6046): 583-586.
- Mével-Ninio M, Mariol MC and Gans M 1989. Mobilization of the Gypsy and Gopia retrotransposons in *Drosophila melanogaster* induces reversion of the ovo dominant female-sterile mutations: molecular analysis of revertant alleles. *EMBO J* 8(5): 1549-1558.
- Mével-Ninio M, Pelisson A, Kinder J, Campos AR and Bucheton A 2007. The *flamenco* locus controls the Gypsy and ZAM retroviruses and is required for *Drosophila* oogenesis. *Genetics* 175(4): 1615-1624.
- Mi S, Lee X, Li X, Veldman GM, Finnerty H, Racie L, LaVallie E, Tang XY, Edouard P, Howes S, Keith JC, Jr. and McCoy JM 2000. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* 403(6771): 785-789.
- Miller K, Lynch C, Martin J, Herniou E and Tristem M 1999. Identification of multiple Gypsy LTR-retrotransposon lineages in vertebrate genomes. *J Mol Evol* 49(3): 358-366.
- Moore SP, Rinckel LA and Garfinkel DJ 1998. A Ty1 integrase nuclear localization signal required for retrotransposition. *Mol Cell Biol* 18(2): 1105-1114.
- Morgante M, Policriti A, Vitacolonna N and Zuccolo A 2002. Automated search for LTR retrotransposons. *AI*IA Notizie* 4: 50-52.
- Ozers MS and Friesen PD 1996. The Env-like open reading frame of the baculovirus-integrated retrotransposon TED encodes a retrovirus-like envelope protein. *Virology* 226(2): 252-259.
- Pantazidis A, Labrador M and Fontdevila A 1999. The retrotransposon Osvaldo from *Drosophila buzzatii* displays all structural features of a functional retrovirus. *Mol Biol Evol* 16(7): 909-921.
- Pearson MN and Rohrmann GF 2002. Transfer, incorporation, and substitution of envelope fusion proteins among members of the *Baculoviridae*, *Orthomyxoviridae*, and *Metaviridae* (insect retrovirus) families. *J Virol* 76(11): 5301-5304.
- Pelisson A, Payen-Groschene G, Terzian C and Bucheton A 2007. Restrictive *flamenco* alleles are maintained in *Drosophila melanogaster* population cages, despite the absence of their endogenous Gypsy retroviral targets. *Mol Biol Evol* 24(2): 498-504.
- Pelisson A, Song SU, Prud'homme N, Smith PA, Bucheton A and Corces VG 1994. Gypsy transposition correlates with the production of a retroviral envelope-like protein under the tissue-specific control of the *Drosophila flamenco* gene. *EMBO J* 13(18): 4401-4411.
- Pelisson A, Teyssset L, Chalvet F, Kim A, Prud'homme N, Terzian C and Bucheton A 1997. About the origin of retroviruses and the co-evolution of the Gypsy retrovirus with the *Drosophila flamenco* host gene. *Genetica* 100(1-3): 29-37.
- Pepinsky RB and Vogt VM 1984. Fine-structure analyses of lipid-protein and protein-protein interactions of Gag protein p19 of the avian sarcoma and leukemia viruses by cyanogen bromide mapping. *J Virol* 52(1): 145-153.
- Peters GG and Hu J 1980. Reverse transcriptase as the major determinant for selective packaging of tRNA's into Avian sarcoma virus particles. *J Virol* 36(3): 692-700.
- Peterson-Burch BD and Voytas DF 2002. Genes of the *Pseudoviridae* (Ty1/copia retrotransposons). *Mol Biol Evol* 19(11): 1832-1845.
- Poumbourios P, Center RJ, Wilson KA, Kemp BE and Kobe B 1999. Evolutionary conservation of the membrane fusion machine. *IUBMB Life* 48(2): 151-156.
- Prud'homme N, Gans M, Masson M, Terzian C and Bucheton A 1995. *Flamenco*, a gene controlling the Gypsy retrovirus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 139(2): 697-711.
- Reuss FU and Schaller HC 1991. cDNA sequence and genomic characterization of intracisternal A-particle-related retroviral elements containing an *envelope* gene. *J Virol* 65(11): 5702-5709.
- Rhee SS and Hunter E 1991. Amino acid substitutions within the matrix protein of type D retroviruses affect assembly, transport and membrane association of a capsid. *EMBO J* 10(3): 535-546.
- Ribet D, Harper F, Dewannieux M, Pierron G and Heidmann T 2007. Murine MusD retrotransposon: structure and molecular evolution of an "intracellularized" retrovirus. *J Virol* 81(4): 1888-1898.
- Rohrmann GF 1986. Polyhedrin structure. *J Gen Virol* 67 (Pt 8): 1499-1513.
- Saigo K, Kugimiya W, Matsuo Y, Inouye S, Yoshioka K and Yuki S 1984. Identification of the coding sequence for a reverse transcriptase-like enzyme in a transposable genetic element in *Drosophila melanogaster*. *Nature* 312(5995): 659-661.
- Sakalian M, Wills JW and Vogt VM 1994. Efficiency and selectivity of RNA packaging by Rous sarcoma virus Gag deletion mutants. *J Virol* 68(9): 5969-5981.
- Sandmeyer SB, Hansen LJ and Chalker DL 1990. Integration specificity of retrotransposons and retroviruses. *Annu Rev Genet* 24: 491-518.
- SanMiguel P, Tikhonov A, Jin YK, Motchoulskaia N, Zakharov D, Melake-Berhan A, Springer PS, Edwards KJ, Lee M, Avramova Z and Bennetzen JL 1996. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. *Science* 274(5288): 765-768.
- Sarot E, Payen-Groschene G, Bucheton A and Pelisson A 2004. Evidence for a piwi-dependent RNA silencing of the Gypsy endogenous retrovirus of the *Drosophila melanogaster flamenco* gene. *Genetics* 166(3): 1313-1321.
- Shapiro JA 1999. Transposable elements as the key to a 21st century view of evolution. *Genetica* 107(1-3): 171-179.

- Sitbon M, Abe H, Cournaud V, Biovannini D, Kim F, Lavanya M, Manel N, Touhami J, Switzer WM, Castelneau P, Lagrue E, Nadal-Desvarats L, de Guillen K, Roumestand C and Battini J 2009. Capture in the metabolic arena: co-selection of *gamma* and *deltaretrovirus* envelope glycoproteins and their receptors. *Retrovirology* 6.
- Sitbon M, Kim FJ, Battini J and Manel N 2004. Emergence of vertebrate retroviruses and envelope capture. *Virology* 318: 183-191.
- Song SU, Gerasimova T, Kurkulos M, Boeke JD and Corces VG 1994. An Env-like protein encoded by a *Drosophila* retroelement: evidence that Gypsy is an infectious retrovirus. *Genes Dev* 8(17): 2046-2057.
- Swanstrom R and Wills JW 1997. Synthesis, assembly and processing of viral proteins. In *Retroviruses*. (eds., Coffin, J.M., Hughes, S.H. and Varmus, H.E.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York: 263-334.
- Tanda S, Mullor JL and Corces VG 1994. The *Drosophila* Tom retrotransposon encodes an envelope protein. *Mol Cell Biol* 14(8): 5392-5401.
- Temin HM 1971. The provirus hypothesis: speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 46(2): 3-7.
- Temin HM 1980. Origin of retroviruses from cellular moveable genetic elements. *Cell* 21(3): 599-600.
- Terzian C, Pelissou A and Bucheton A 2001. Evolution and phylogeny of insect endogenous retroviruses. *BMC Evol Biol* 1: 3.
- Trentin B, Rebeyrotte N and Mamoun RZ 1998. Human T-cell leukemia virus type 1 reverse transcriptase (RT) originates from the *Pro* and *Pol* open reading frames and requires the presence of RT-RNase H (RH) and RT-RH-integrase proteins for its activity. *J Virol* 72(8): 6504-6510.
- Tristem M 2000. Identification and characterization of novel human endogenous retrovirus families by phylogenetic screening of the human genome mapping project database. *J Virol* 74(8): 3715-3730.
- Vogt VM 1997. Retroviral virions and genomes. In *Retroviruses*. (eds., Coffin, J.M., Hughes, S.H. and Varmus, H.E.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York: 27-69.
- Voytas DF and Boeke JD 1993. Yeast retrotransposons and tRNAs. *Trends Genet* 9(12): 421-427.
- Wang CT, Stegeman-Olsen J, Zhang Y and Barklis E 1994. Assembly of HIV GAG-B-galactosidase fusion proteins into virus particles. *Virology* 200(2): 524-534.
- Weidhaas JB, Angelichio EL, Fenner S and Coffin JM 2000. Relationship between retroviral DNA integration and gene expression. *J Virol* 74(18): 8382-8389.
- Weissenhorn W, Dessen A, Calder LJ, Harrison SC, Skehel JJ and Wiley DC 1999. Structural basis for membrane fusion by enveloped viruses. *Mol Membr Biol* 16(1): 3-9.
- Weldon RA, Jr., Erdie CR, Oliver MG and Wills JW 1990. Incorporation of chimeric Gag protein into retroviral particles. *J Virol* 64(9): 4169-4179.
- Whalen JH and Grigliatti TA 1998. Molecular characterization of a retrotransposon in *Drosophila melanogaster*, *Nomad*, and its relationship to other retrovirus-like mobile elements. *Mol Gen Genet* 260(5): 401-409.
- Wilkinson DA, Mager DL and Leong J 1994. Endogenous human retroviruses. In *The Retroviridae*. (eds., Levy, J.A.). Plenum Press, New York: 465-535.
- Wright DA and Voytas DF 1998. Potential retroviruses in plants: Tat1 is related to a group of *Arabidopsis thaliana* Ty3/gypsy retrotransposons that encode envelope-like proteins. *Genetics* 149(2): 703-715.
- Xiong Y and Eickbush TH 1990. Origin and evolution of retroelements based upon their reverse transcriptase sequences. *EMBO J* 9(10): 3353-3362.
- Yoder JA, Walsh CP and Bestor TH 1997. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet* 13(8): 335-340.
- Yoshioka K, Kanda H, Takamatsu N, Togashi S, Kondo S, Miyake T, Sakaki Y and Shiba T 1992. Efficient amplification of *Drosophila simulans* Copia directed by high-level reverse transcriptase activity associated with copia virus-like particles. *Gene* 120(2): 191-196.
- Zhou Q and Haymer DS 1997. Molecular structure of Yoyo, a Gypsy-like retrotransposon from the mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Genetica* 101(3): 167-178.
- Zou S, Ke N, Kim JM and Voytas DF 1996. The *Saccharomyces* retrotransposon Ty5 integrates preferentially into regions of silent chromatin at the telomeres and mating loci. *Genes Dev* 10(5): 634-645.
- Zou S and Voytas DF 1997. Silent chromatin determines target preference of the *Saccharomyces* retrotransposon Ty5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(14): 7412-7416.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	2
Retroviridae	3
Estructura de una partícula retroviral.....	4
Secuencias terminales repetidas	4
ORFs gag, pol y env	5
Ciclo de expresión.....	6
Reconocimiento y entrada viral	6
Retrotranscripción.....	7
Entrada al núcleo e integración.....	8
Transcripción y expresión génica.....	8
Ensamblaje, encapsidación y brotamiento	9
Retroelementos LTR	11
Familia Ty3/Gypsy	12
Familia Ty1/Copia	13
Familia Bel/Pao.....	13
Ciclo de expresión.....	14
Transcripción y expresión génica.....	14
Encapsidación y ensamblaje.....	14
Retrotranscripción.....	14
Entrada al núcleo e integración.....	14
Retrovirus Endógenos de Invertebrados	16
Gypsy	16
Nexo evolutivo entre retroelementos LTR y Retroviridae	18
Adquisición del gen env en Retroelementos LTR.....	18
Adquisición del gen env en Retroviridae	19
Origen celular de env?.....	19
Relaciones filogenéticas.....	19
Filogenias RT.....	19
Filogenias RNH.....	20
Filogenias IN.....	21
Filogenias Gag, Pol y Gag – Pol	21
Evolución de los retroelementos LTR, Retroviridae y sus huéspedes.....	24
Conclusiones	26
Bibliografía.....	27
Tabla de contenido.....	31