



# **SENSORES DE ARN DE CADENA DOBLE EN LA INMUNIDAD INNATA**



*Trabajo Fin de Grado. Blanca García Japón*

*Grado en Farmacia*

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular*

*Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla*



Universidad de Sevilla  
Facultad de Farmacia  
Trabajo Fin de Grado  
Grado en Farmacia

# **SENSORES DE ARN DE CADENA DOBLE EN LA INMUNIDAD INNATA**

Autor/a: Blanca García Japón

Tutor/a: Consuelo Santa María Pérez

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Revisión bibliográfica

Facultad de Farmacia. Sevilla, Julio 2021

## RESUMEN

La inmunidad innata es uno de los mecanismos principales en la defensa contra la infección viral. La detección de dsARN viral es uno de los instrumentos que tenemos para combatir la infección. Este dsARN es reconocido por las proteínas de unión a dsARN que distinguen entre el dsARN exógeno y el endógeno gracias a ciertas características que presenta el dsARN viral.

Entre estas proteínas encontramos a la familia RLR (RIG-I, MDA5 y LGP2) que se encarga de activar una cascada de señalización que termina con la producción de IFN tipo I, citoquinas, inflamación e ISGs. Otras proteínas importantes son PKR (inhibición de la traducción viral), ADARs (edición del ARN, tanto viral como endógeno), OASes (supresión de la transcripción), Dicer/Drosha (biogénesis de miARN y siARN; silenciamiento del ARN viral), TRBP/PACT (cofactor en el silenciamiento del ARN) y otras helicasas DExD/H (helicasas DEAD-box y helicasas DEAH-box) que actúan como cofactores en la defensa antiviral y en la activación de RIG-I y MDA5.

Estudios sobre la interacción entre algunas de ellas describen un aumento de la actividad antiviral de la proteína potenciada o, al contrario, una inhibición de esta actividad. Esta inhibición se da principalmente cuando el sustrato dsARN es endógeno para evitar cualquier complicación como enfermedades neurodegenerativas (p.ej. síndrome de Aicardi-Goutières), aunque la inhibición de ciertas proteínas también se da cuando existe infección viral.

En esta revisión bibliográfica nos vamos a centrar en recoger, de forma resumida, las principales funciones de cada una de las proteínas de unión a dsARN y principales interacciones entre ellas estudiadas hasta el momento.

**Palabras clave:** dsARN, RIG-I, PKR, ADAR1, OASes, Dicer/Drosha

## **ABSTRACT**

Innate immunity is one of the main mechanisms in the defense against viral infection. Detection of viral dsRNA is one of the tools we have to fight infection. This dsRNA is recognized by dsRNA-binding proteins that distinguish between exogenous and endogenous dsRNA by certain characteristics of the viral dsRNA.

Among these proteins are the RLR family (RIG-I, MDA5 and LGP2) which are responsible for activating a signaling cascade that leads to the production of type I IFN, cytokines, inflammation and ISGs. Other important proteins include PKR (inhibition of viral translation), ADARs (RNA editing, both viral and endogenous), OASes (suppression of transcription), Dicer/Drosha (miRNA and siRNA biogenesis; viral RNA silencing), TRBP/PACT (cofactor in RNA silencing) and other DExD/H helicases (DEAD-box helicases and DEAH-box helicases) that act as cofactors in antiviral defense and in the activation of RIG-I and MDA5.

Studies on the interaction between some of them describe an enhancement of the antiviral activity of the enhanced protein or, on the contrary, an inhibition of this activity. This inhibition occurs mainly when the dsRNA substrate is endogenous to avoid any complications such as neurodegenerative diseases (e.g., Aicardi-Goutières syndrome), although the inhibition of certain proteins also occurs when there is viral infection.

In this review we will focus on summarizing the main functions of each of the dsRNA-binding proteins and the main interactions between them that have been studied to date.

**Key words:** dsRNA, RIG-I, PKR, ADAR1, OASes, Dicer/Drosha

## ÍNDICE

1. Introducción.....	6
1.1. Inmunidad innata.....	6
1.2. ARN de cadena doble (dsARN).....	7
2. Objetivos.....	9
3. Metodología.....	9
4. Resultados y discusión.....	11
4.1. Receptores de tipo RIG-I (RLRs).....	11
4.2. Adenosina desaminasa específica de ARN bicatenario (ADARs).....	14
4.3. Proteína quinasa R (PKR).....	17
4.4. Oligoadenilato sintetasas (OASes) y RNaseL.....	20
4.5. Dicer y Drosha .....	24
4.6. PACT y TRBP.....	27
4.7. Otras helicasas implicadas en la respuesta antiviral.....	30
5. Conclusiones .....	31
6. Bibliografía.....	32
7. Anexo: Abreviaturas.....	37

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 . INMUNIDAD INNATA

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra los agentes infecciosos (Actor, 2012). Está compuesta por elementos que se encuentran en el organismo antes de la infección (Barrier, 2010). Estos elementos se pueden clasificar en barreras físicas, humorales y en células efectoras.

La unión de todos estos componentes conduce a una cascada de señalización que promueve una respuesta inflamatoria en el organismo por la liberación de citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucinas (IL-1, IL-6) (Actor, 2012). Esta respuesta es específica debido a los receptores que se encuentran en la superficie de las células, que son capaces de reconocer polisacáridos, glucolípidos, lipoproteínas, nucleótidos y ácidos nucleicos (PAMP) del cuerpo extraño (Riera Romo *et al.*, 2016). Éstos son conocidos como **receptores de reconocimiento de patógenos** (PRRs), que abarca cuatro grandes familias como lo son los receptores de tipo Toll (TLRs), los receptores de tipo RIG -I (RLRs), los receptores de lectina tipo C (CLRs) y los receptores de tipo NOD (NLRs).

Entre las principales **células del sistema inmune innato** están los monocitos y macrófagos. Estos reconocen el cuerpo extraño a través de los PRRs, pero en vez de inducir una respuesta inflamatoria, inducen una cascada de señalización que acaba con la fagocitosis. El proceso de fagocitosis consiste en ingerir al agente infeccioso por medio de una vacuola, que denominamos fagosoma. Este fagosoma, dentro de la célula, se une con lisosomas, que contienen sustancias tóxicas que destruyen al organismo invasor (Barrier, 2010).

Antes se pensaba que la inmunidad innata sólo era importante para el reclutamiento de respuestas del sistema inmune adquirido y la activación de la inflamación, pero ahora sabemos que el sistema inmune innato tiene sus propias características distintivas. Además, estudios recientes enfatizan su importante rol en la defensa del organismo y su supervivencia (Frizinsky *et al.*, 2019).

## 1.2. ARN DE CADENA DOBLE

Uno de los mecanismos centrales de defensa de la inmunidad innata es la detección de ácidos nucleicos extraños y uno de los más destacados es el **ARN de cadena doble** (dsARN) (Hur, 2019). Se sabe que la unión a dsARN es suficiente para activar la defensa antiviral.

La hélice del dsARN adopta la forma A que es diferente a la forma B de la hélice de dsADN. El surco principal es más estrecho y profundo que el del dsADN, mientras que el surco menor es más ancho y menos profundo (Peisley and Hur, 2013), (Figura 1). Las diferentes configuraciones del esqueleto de fosfatos y los 2' hidroxilos en el surco menor median en la unión entre dsARN y el dominio de unión a dsARN (dsRBD) (Chang and Ramos, 2005), ya que el dominio es capaz de diferenciar entre dsARN y dsADN gracias a estas características (Masliah *et al.*, 2013). Este dominio lo encontramos en las proteínas de unión a dsARN (Tabla 1) y estas tienen diferentes funciones que incluyen la localización, edición del ARN y la supresión traslacional, entre otras. Además, recientemente, se ha visto que también están envueltos en el silenciamiento génico postranscripcional (Doyle and Jantsch, 2002).

Figura 1. Estructura de dsADN y dsARN (Peisley and Hur, 2013)

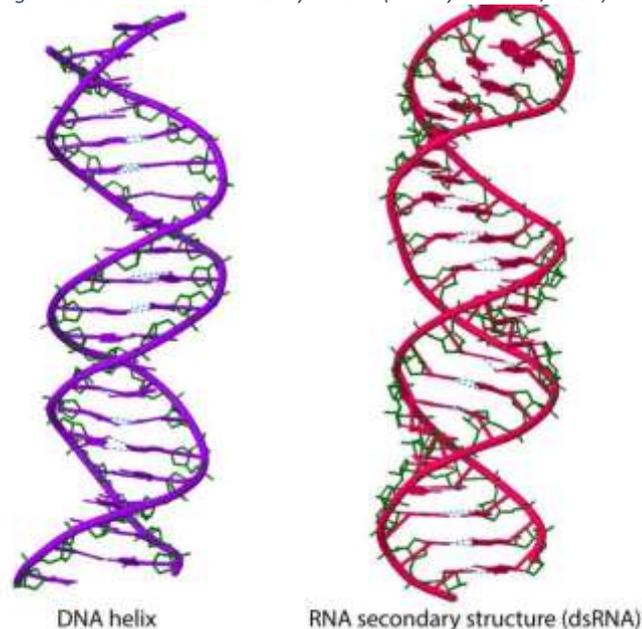


Tabla 1. Características y funciones de las familias de proteínas de unión a dsARN

Proteínas de unión a dsARN	Localización	Dominio de unión	Función	Interacciones
RLRs	Citoplasma	Dominios helicasa y C-terminal	Activación de la señal antiviral	Induce PKR, OASes y ADARs a través de señalización de interferón
ADARs	Núcleo	dsRBD	Edición del ARN	Inhibe RLR, PKR y OASes. Ayuda a Dicer
PACT	Citoplasma	dsRBD	Modulador de PKR, Dicer y RLRs	Inhibe/induce PKR. Ayuda a Dicer y RLRs
TRBP	Núcleo y citoplasma			
PKR	Citoplasma (20% en núcleo)	dsRBD	Supresión de la traducción, defensa viral inducida por interferón, apoptosis	Amplifica la señal de RLRs
RNase L	Núcleo	NTase	Supresión de la replicación	Amplifica la señal de RLRs
OASes				
Dicer	Citoplasma	dsRBD	Procesamiento del dsARN	Induce/inhibe RLRs
Drosha	Núcleo			
Otras helicasas	Citoplasma	Dominio helicasa	Cofactores en la respuesta antiviral	Ayuda a RLRs

Abreviaciones: RLRs, receptores tipo RIG-I; ADARs, adenosina desaminasa específica de ARN bicatenario; dsRBD, dominio de unión a dsARN; PKR, proteína quinasa R; RNase, ribonucleasa; OAS, oligoadenilato sintasa

Algunas de estas proteínas como DICER, ADARs y TRBP residen en el núcleo, a comparación de, por ejemplo, PKR y PACT que se encuentran en el citoplasma (Saunders and Barber, 2003).

## **2. OBJETIVOS**

Las infecciones virales son y han sido siempre de gran importancia, por lo cual el conocimiento de los mecanismos mediante los cuales nuestro organismo actúa frente a estos patógenos es primordial. Entre estos mecanismos esenciales de defensa se encuentra la inmunidad innata activada por el dsARN exógeno viral que es detectado en el organismo por las proteínas de unión al dsARN. Por lo tanto, los objetivos de esta revisión bibliográfica son:

1. El conocimiento sobre los diferentes tipos de proteínas de unión a dsARN. Es decir, como se unen al dsARN, cuál es su función y otras características distintivas.
2. Resumir los conocimientos actuales de las nuevas funciones o características conocidas de cada una de las proteínas.

## **3. METODOLOGÍA**

El presente Trabajo Fin de Grado se ha realizado mediante la búsqueda de artículos científicos, tanto experimentales como revisiones bibliográficas, en diferentes bases de datos como Pubmed y Medline, priorizando los artículos con fecha de publicación más recientes.

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda con palabras clave más generalizadas como inmunidad innata (innate immunity), ARN de cadena doble (double stranded RNA), proteínas de unión a dsARN (dsRNA binding proteins). Una vez revisado dichos artículos se pasó a buscar conceptos más concretos como RIG-5, ADAR, PKR, OAS, Dicer o PACT; y, también, la unión de estas con inmunidad innata (innate immunity). Además, de la bibliografía citada en estos artículos se ha podido llegar a otros relacionados con el tema de estudio.

Entre los artículos más importantes sobre el tema destacan el de Saunders y Barber de 2003 y el de Hur de 2019, los cuales hacen un resumen de todos los tipos de proteína de unión a dsARN.

Por último, los artículos seleccionados han sido almacenados en Mendeley que se ha utilizado como base de datos y, también, como gestor bibliográfico a la hora de insertar la bibliografía en el trabajo.

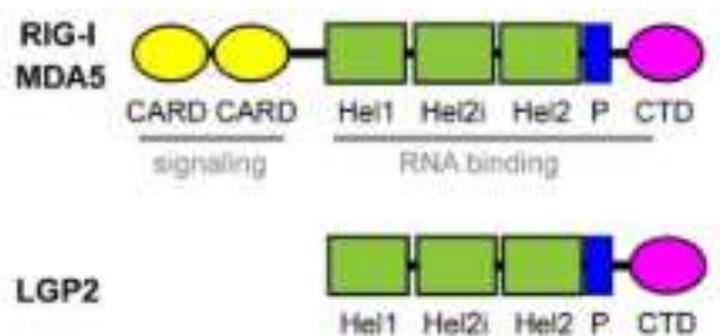
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RECEPTORES DE TIPO RIG-I (RLRs)

La familia de RLRs consiste en tres proteínas, RIG-I, MDA5 y LGP2. RIG-I y MDA5 detectan dsARNs virales y activan una cascada de señalización para la producción de interferones (INF) como respuesta antiviral. Sin embargo, aunque tienen muchas similitudes, LGP2 no actúa igual, sino que se piensa actualmente que podría ser un regulador negativo de RIG-I y MDA5 (Yoneyama *et al.*, 2005).

La estructura de estas tres proteínas es similar, pero no igual. RIG-I y MDA5 se componen de tres diferentes regiones: un extremo N-terminal que consiste en dos dominios de reclutamiento y activación de caspasas (2CARD), en el centro un dominio helicasa que contiene los dos dominios tipo RecA (Hel1, Hel2) y, además, un dominio de inserción Hel2i y, por último, el dominio C-terminal (CTD) (Ahmad and Hur, 2015). Mientras tanto, LGP2 carece del dominio 2CARD, pero sí conserva el dominio central helicasa y el dominio CTD (Figura 2).

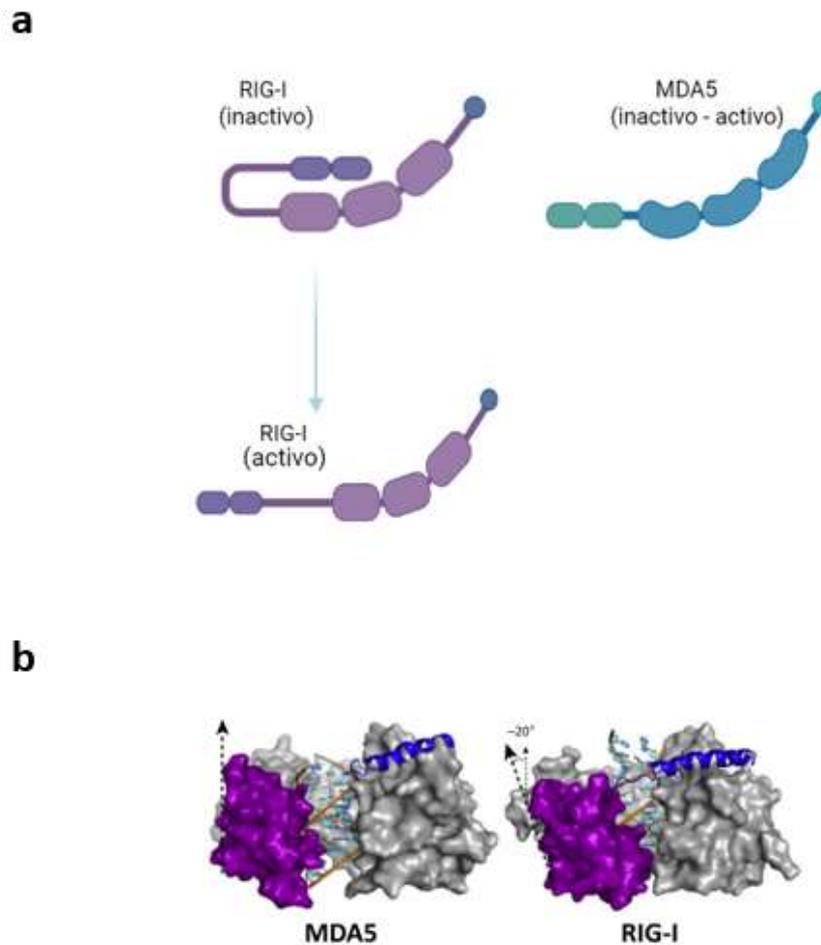
Figura 2. Estructura de RIG-I, MDA5 y LGP2 (Ahmad and Hur, 2015)



Estas proteínas existen en el organismo inactivas (Figura 3a), en forma fosforilada, cuando no han sido activadas por algún PAMP, en este caso el dsARN. RIG-I principalmente reconoce dsARN de corto tamaño con grupos 5' trifosfatos, mientras que MDA5 reconoce dsARN de largo tamaño. Además, el dominio Hel-CTD adopta diferentes posiciones con relación a dsARN según sea RIG-I o MDA5. El dominio Hel-CTD de RIG-I

esta inclinado hacia el final del dsARN y el dominio Hel-CTD de MDA5 está colocado paralelamente al eje de dsARN (Ahmad and Hur, 2015) (Figura 3b). Una vez las proteínas

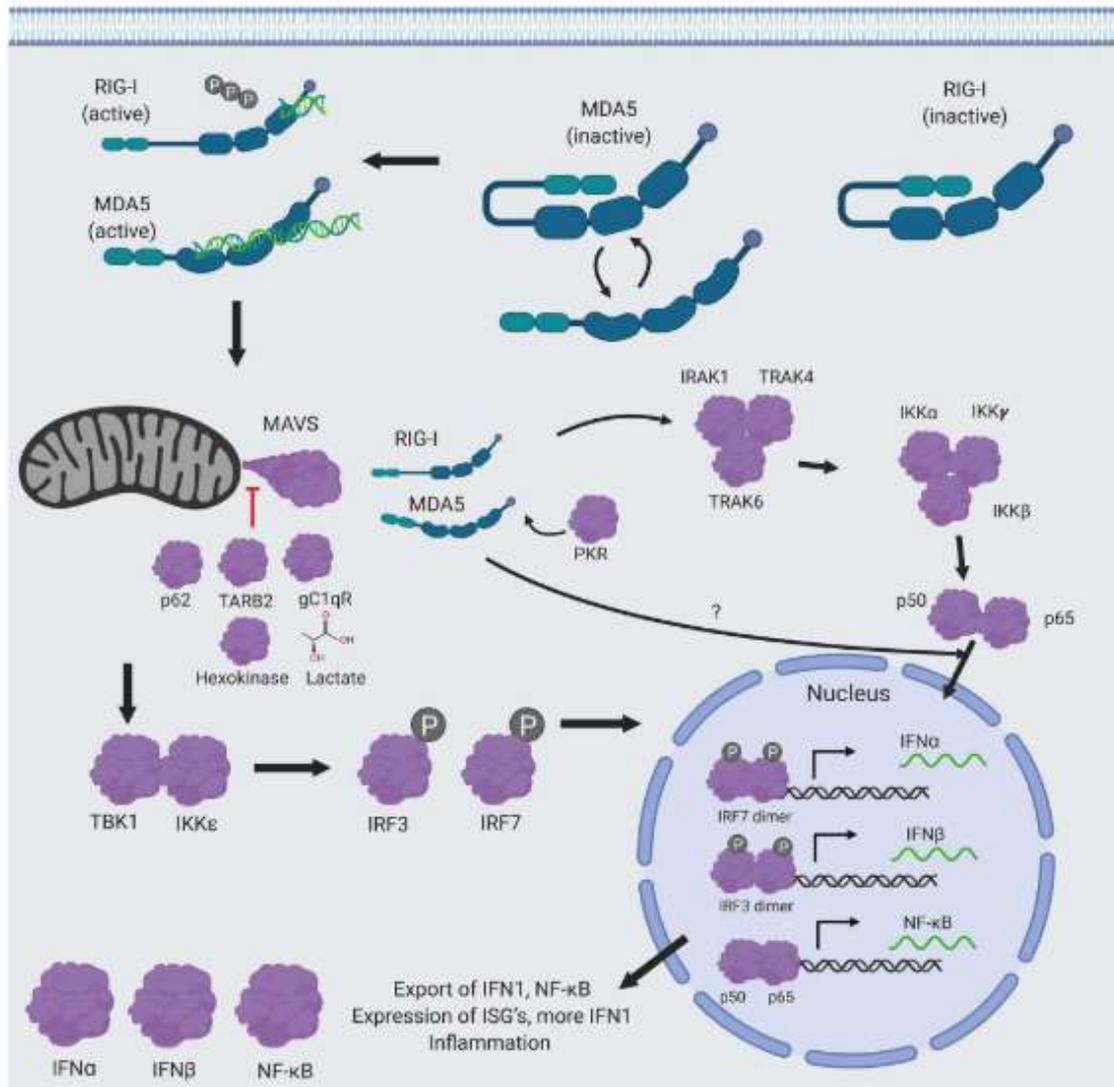
Figura 3. (a) Formas inactivas y activas de RIG-I y MDA5 (Creado con biorender). (b) Posicionamiento del dominio Hel-CTD con respecto a dsARN en MDA5 y RIG-I (Ahmad and Hur, 2015)



están activas, se unen a la proteína mitocondrial de señalización antiviral (MAVS) y empieza la cascada de señalización con moléculas como TRAFs y TBK1 para activar la fosforilación de los factores de transcripción IRF 3 e IRF7 que luego son llevados al núcleo donde forman dímeros y transcriben INF de tipo I ( $\text{INF}\alpha$  e  $\text{INF}\beta$ ) y citoquinas proinflamatorias (Brisse and Ly, 2019) (Figura 4). Más importante aún, como los receptores RLRs son genes estimulados por interferón (ISGs) se da una autorregulación positiva, es decir, se siguen sintetizando INF de tipo I (Onomoto *et al.*, 2021).

También, parece ser que RIG-I interfiere en la activación de NF- $\kappa$ B induciendo la translocación de las dos unidades principales de NF- $\kappa$ B, que son p50 y p65, en el núcleo. Esto inicia la transcripción de NF- $\kappa$ B. Sin embargo, MDA5 parece actuar independientemente de esta ruta (Figura 4).

Figura 4. Cascada de señalización inducida por la unión de RIG-I y MDA5 a MAVS (Brisse and Ly, 2019)



Al contrario que RIG-I y MDA5, LGP2 no tiene el dominio 2CARD, pero sí el dominio Hel-CTD. Su función reguladora de los otros dos RLRs aún no está clara como funciona, pero se sabe que inhibe la señal y actividad de RIG-I, mientras que la señal de MDA5 se ve estimulada por la propia presencia de LGP2. LGP2 se une específicamente a dsARN de

forma independiente a 5' trifosfato y reconociendo estructuras finales de este (Pippig *et al.*, 2009).

Otra forma de regulación de la actividad de RLRs son las demás proteínas de unión a dsARN. Por ejemplo, la familia OAS amplifica la señal de RLRs porque tiene un dominio tipo ubiquitina que imita al resto de poliubiquitina unido a K63 e induce la oligomerización de RIG-I en los sustratos de ARN (Zhu *et al.*, 2014). Otras familias que amplifican la señal de RLRs son PKR y, PACT y TRBP, a través de la regulación de PKR (Onomoto *et al.*, 2021).

## 4.2. ADENOSINA DESAMINASA ESPECÍFICA DE ARN BICATENARIO (ADARs)

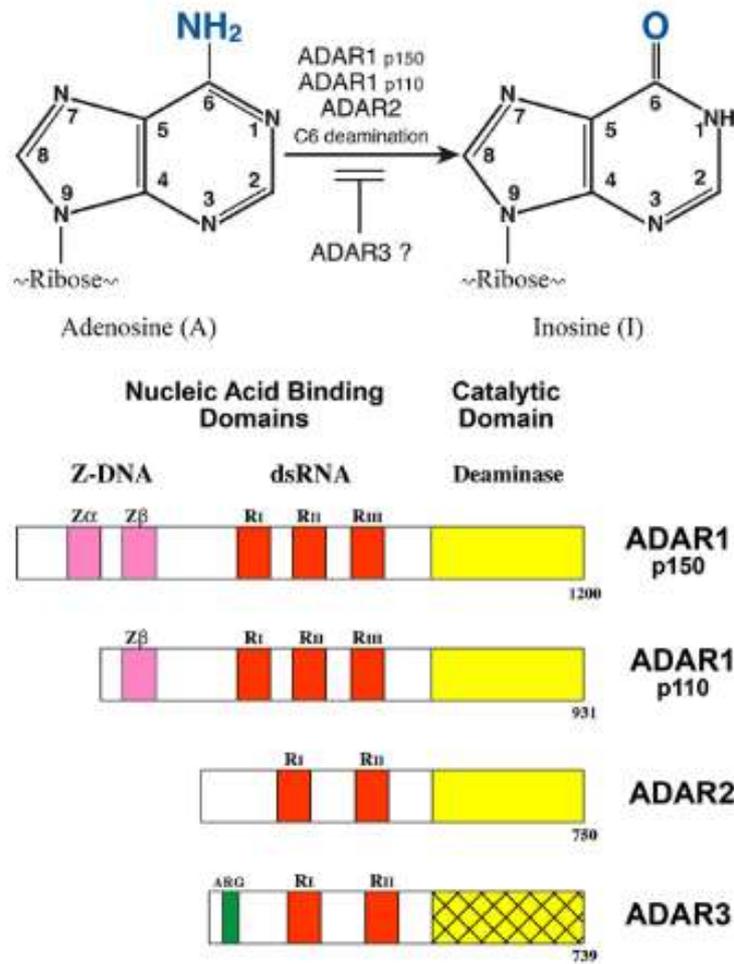
ADARs son enzimas responsables de unirse al dsARN y convertir la adenosina a inosina por desaminación (Figura 5). Este proceso se conoce como *A-to-I RNA editing*. La desaminación de la adenosina resulta en una desestabilización del ARN en las regiones no codificantes ya que la pareja de bases I:U es más débil que A:U (Samuel, 2019). En las zonas codificantes, sin embargo, pueden ocurrir mutaciones debido a que la inosina es reconocida como guanosina por la transcriptasa inversa y ribosomas (Hur, 2019).

Existen tres miembros en la familia ADARs: ADAR1, ADAR2 y ADAR3. ADAR1 y ADAR2 son ubicuas, pero ADAR1 está expresada más fuertemente por lo que está a cargo de la mayor parte de la edición. Además, existen dos isoformas de ADAR1, p150 que se encuentra tanto en el núcleo como en el citoplasma y p110 que se encuentra casi exclusivamente en el núcleo. Al contrario que ADAR1 y ADAR2, ADAR3 es inactiva catalíticamente y una de las posibles explicaciones que se han obtenido es porque se ha visto que para que se dé *A-to-I editing* es necesario la formación de dímeros que en ADAR3 no se da (Valente *et al.*, 2013).

La estructura de la familia ADARs (Figura 5) consiste en:

- ADAR1: la región N-terminal difiere entre las dos isoformas. P150 contiene dos dominios de unión a Z-ADN (ZBDs), mientras que p110 solo tiene uno, Z $\beta$ . En la zona central encontramos tres copias del dominio dsRBD y en la región C-terminal el dominio catalítico, la desaminasa.
- ADAR2: en la zona central observamos dos copias del dominio dsRBD y en la región C-terminal el dominio catalítico. No contiene región N-terminal.
- ADAR3: en la región N-terminal tiene un dominio de unión a ssARN rico en arginina, en la región central dos copias del dominio dsRBD y en la región C-terminal el dominio catalítico, aunque aún no está demostrada la actividad enzimática de ADAR3.

Figura 5. (Arriba) Desaminación de adenosina a inosina por ADARs. (Abajo) Estructura de ADAR1, ADAR2 y ADAR3 (Samuel, 2019)



ADAR1 se encarga predominantemente de la edición del ARN en las regiones no codificantes que forman estructuras duplex, mientras que ADAR2 se encarga de las regiones codificantes. El objetivo principal de ADAR2 es la región Q/R de GluRB, sin embargo, si ADAR3 se une al pre-ARN de GluRB inhibe la edición de la región Q/R por parte de ADAR2 (Samuel, 2019).

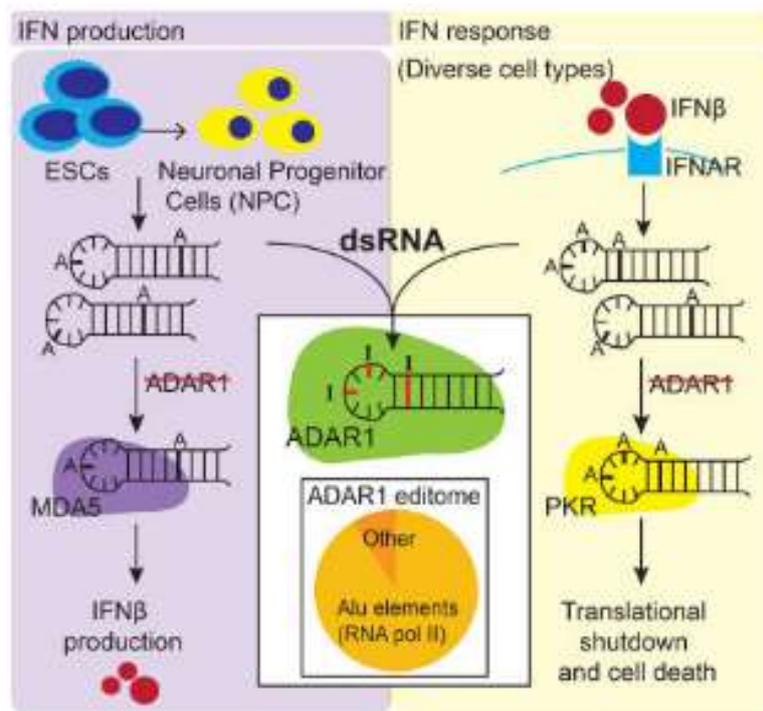
Por otro lado, la función de ADAR1 es sin duda la más importante de la familia ADARs. Se ha demostrado que ADAR1 previene la activación del sistema inmune innato gracias a la edición del dsARN endógeno. El dsARN endógeno se parece mucho al dsARN viral por lo que puede activar a MDA5. ADAR1 lo que hace es cambiar los pares de bases hasta el punto que MDA5 no es capaz de reconocer el dsARN (Figura 6) y, por lo tanto, no se activa la cascada de señalización del sistema inmune (Eisenberg and Levanon,

2018). Además, también inhibe la supresión traslacional y apoptosis inducida por PKR (proteína de unión a dsARN). Todo esto ayuda a que la traducción durante la respuesta IFN sea eficaz.

Adicionalmente, ADAR1 puede actuar como una proteína de unión a dsARN independientemente de su actividad de edición. Por ejemplo, puede modular la ruta de microARN formando un complejo con Dicer (Ota *et al.*, 2013).

Por último, se ha visto que mutaciones en la proteína ADAR1 puede causar enfermedades como el síndrome de Aicardi-Goutières (AGS), y que estas mutaciones están relacionadas con la regulación positiva de la señal del IFN tipo I en la ausencia de infección viral (Rice *et al.*, 2017).

Figura 6. ADAR1 previene la activación del sistema inmune (MDA5 y PKR) por dsARN endógeno (Chung *et al.*, 2018).

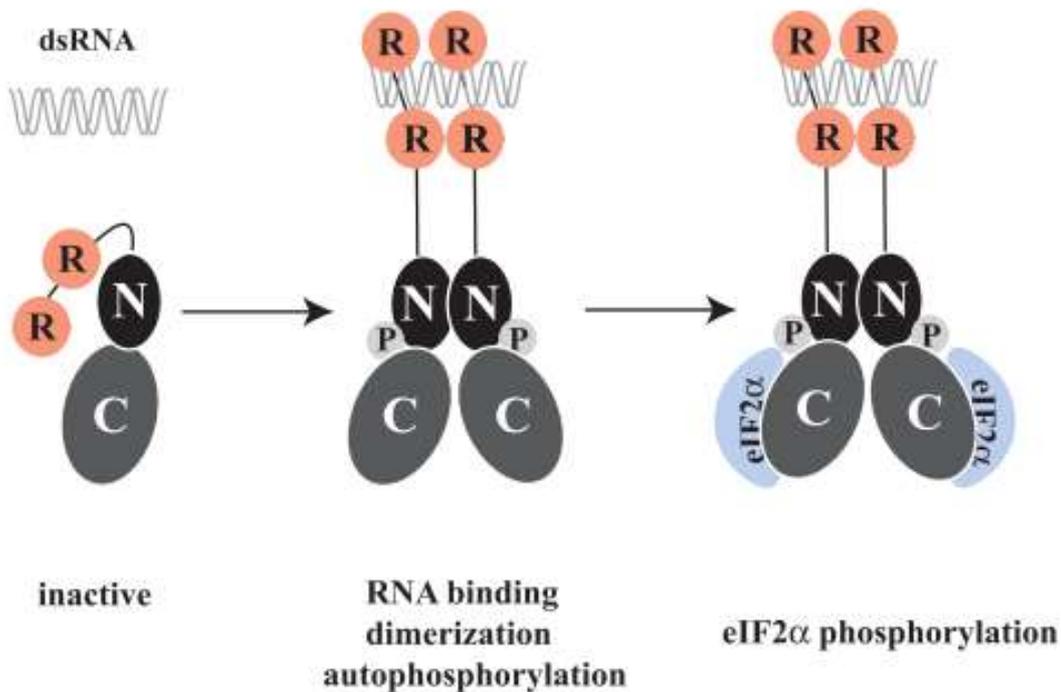


### 4.3. PROTEÍNA QUINASA R (PKR)

La proteína quinasa R (PKR) es una proteína inducida por interferón activada por dsARN. Esta proteína es sintetizada en su forma latente, pero al unirse al dsARN, ocurre una dimerización de PKR y, posteriormente, una serie de autofosforilaciones en residuos de serina y treonina que la activan. La principal función de PKR es inhibir la traducción mediante la fosforilación de la subunidad  $\alpha$  del factor de iniciación eucariota 2 (eIF2 $\alpha$ ) (Figura 7) (Ucci *et al.*, 2007). Por tanto, la producción de dsARN durante la infección viral activa a PKR y, en consecuencia, se produce la inhibición de la síntesis de proteínas virales.

Como parte de la respuesta antiviral, PKR también media la apoptosis celular y puede hacerlo incluso en ausencia de infección viral (García *et al.*, 2006). La sobreexpresión de

Figura 7. Esquema de la activación de PKR por la unión a dsARN (García *et al.*, 2006).



PKR en ausencia de infección viral resulta en la fosforilación de eIF2 $\alpha$  y la inducción de la apoptosis por la vías de la caspasa 8 y 9 (Xu *et al.*, 2018).

La habilidad del dsARN para unirse a PKR y producir la autofosforilación depende de la longitud de éste. Por lo menos se necesita 30bp para la activación de PKR. El mecanismo por el cual es activado todavía está siendo objeto de investigación, pero la hipótesis más aceptada es la de la dimerización de dos monómeros de PKR (Hesler *et al.*, 2021). Una vez dimerizada, el dominio quinasa se autofosforila en *cis* (Figura 8b), lo que estabiliza la estructura de dímero incluso en ausencia de dsARN (Dey *et al.*, 2014).

La composición estructural de PKR consiste en (Figura 8a):

- Región N-terminal: dos copias del dominio de unión a dsARN (dsRBD; dsRBD1 y dsRBD2). Aunque se ha visto que dsRBD1 actúa como la principal unión con dsARN, las dos copias de dsRBD son necesarias para una alta afinidad en esta unión (Gal-Ben-Ari *et al.*, 2019).
- Región C-terminal: proteína quinasa que es el dominio catalítico. Este dominio requiere de una  $\alpha$ -hélice específica para la unión con el sustrato eIF2 $\alpha$  situada en la superficie del dominio (Dar *et al.*, 2005).

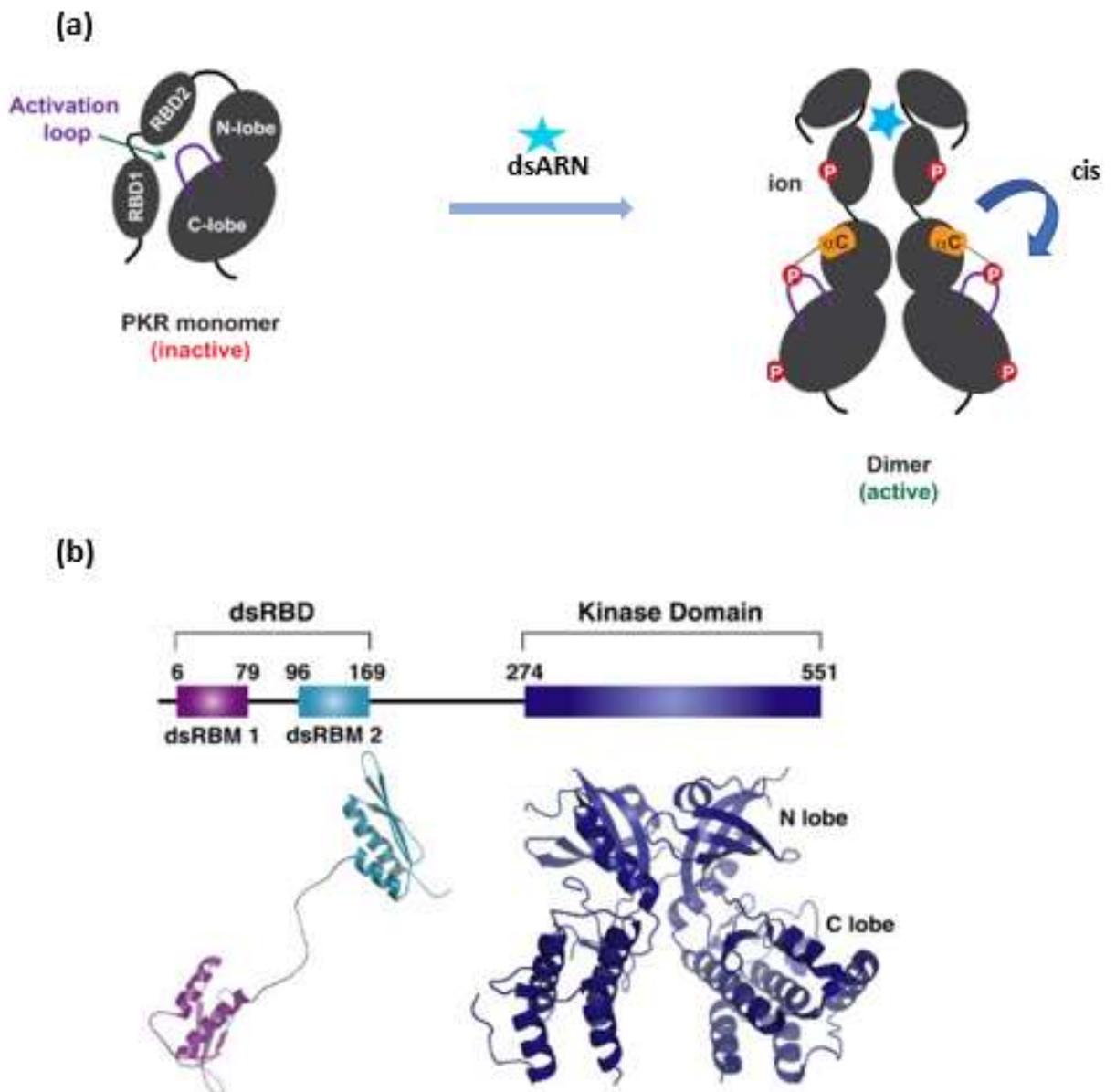
Para contrarrestar la acción de PKR, numerosos virus han desarrollado mecanismos para inhibir a la quinasa y prevenir la inhibición de la síntesis de proteínas virales. Por ejemplo, el virus vacuna codifica dos proteínas que impiden la actividad de PKR. La proteína E3L tiene un dominio dsRBD y compite por el dsARN e incluso llega a unirse a él impidiendo así la unión de PKR y dsARN. Otra proteína del virus vacuna, conocida como K3L, es estructuralmente homóloga al sustrato de PKR, eIF $\alpha$ , y se piensa que compite con ella por PKR, inhibiendo así la fosforilación del sustrato eIF $\alpha$  y, en consecuencia, la inhibición de la traducción y síntesis de proteínas virales (Saunders and Barber, 2003).

La correlación entre PKR y diferentes enfermedades neurodegenerativas se conoce desde hace años. Unos niveles altos de PKR son observados en pacientes con VIH, Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Huntington y demencia (Gal-Ben-Ari *et al.*, 2019).

Actualmente hay algunos estudios relacionados con la función antibacteriana de PKR. Su función antiviral se conoce desde hace más de 30 años, pero se ha visto recientemente que PKR puede ejercer también una función antibacteriana mediante el lipopolisacárido (LPS) que se encuentra en la pared bacteriana de las gram (-), como

*Escherichia coli*. El LPS es capaz de inducir la autofosforilación de PKR con la consecuente inhibición de la traducción. Además, se ha observado que la mutación o inhibición de PKR deriva en un aumento de la microbiota intestinal provocando infecciones (Yang *et al.*, 2021).

Figura 8. (a) Activación de PKR con autofosforilación en cis (Dey *et al.* 2014). (b) Composición estructural de PKR (Nallagatla *et al.*, 2011).



#### 4.4. OLIGOADENILATO SINTETASAS (OASes) Y RNaseL

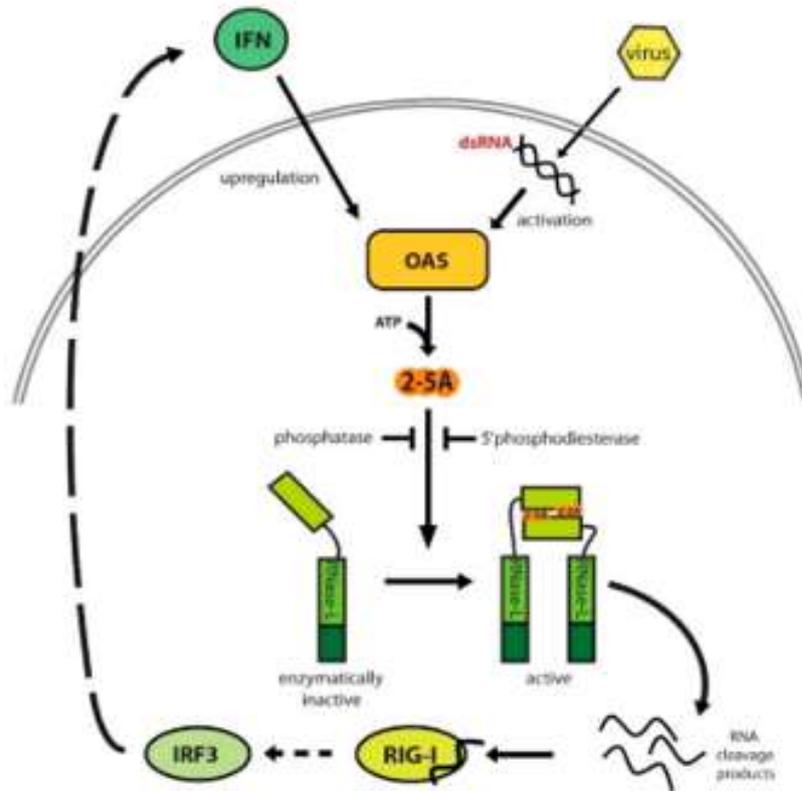
Las oligoadenilato sintetasas son sensores citoplasmáticos, que al unirse al dsARN, sintetizan 2'-5 oligoadenilato (2'-5'A) con ayuda de ATP. Esta molécula, entonces, activa al RNaseL latente formando un dímero. El RNaseL activo hace escisiones en el ssARN de las regiones ricas en uracilo (U), normalmente después de un UU o UA, e inducen la autofagia y apoptosis de las células virales e inhibe la replicación (Chakrabarti *et al.*, 2011). Estos ARN pequeños pueden ser detectados por RIG-I ampliando así la producción de IFN y, por tanto, regulando positivamente la expresión de OAS ya que el IFN induce la transcripción de los genes OAS (Figura 9a). Al ser una ruta común en la defensa antiviral, algunos virus han desarrollado algunos mecanismos para inhibirla. Uno de ellos es, por ejemplo, la degradación de 2'-5'A por una 2'fosfoesterasa (2'PDE). Otro de los mecanismos conocidos es mediante una fosfatasa que retira el grupo 5'fosfato de 2'-5'A (Ezelle *et al.*, 2016).

Existen 4 isoformas de OAS en el humano, tres activas catalíticamente (OAS1, OAS2 y OAS3) y una inactiva (OASL). Las tres isoformas activas catalíticamente contienen en su estructura 1, 2 o 3 dominios NTase respectivamente. Mientras que OASL contiene, además, dos dominios tipo ubiquitina (UBL) en la región C-terminal (Figura 9b). OAS2 y OAS3, a pesar de tener dos o tres dominios catalíticos, solo uno de ellos es activo. Sin embargo, se ha demostrado que estos dominios inactivos también ejercen una función a la hora de unirse al dsARN, al hacerlo de manera similar al dominio catalítico activo de OAS1 (Hur, 2019).

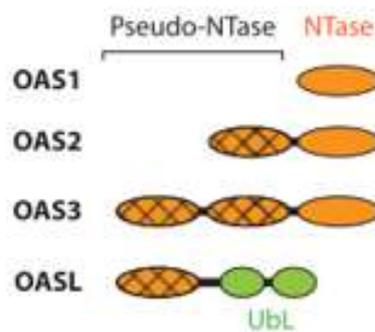
Existe una hipótesis sobre la oligomerización de estas enzimas y la actividad enzimática de las mismas. Entonces, OAS1 formaría monómeros, dímeros o tetrámeros; y OAS2 formaría dímeros. La oligomerización de OAS3 aún no es conocida, posiblemente porque carece de los tres residuos de aminoácidos en el dominio que posiblemente medien en la oligomerización de las enzimas (Koul *et al.*, 2020). OAS1 reconoce dsARN de una longitud de, aproximadamente, ~ 17bp; OAS2 prefiere una longitud de ~ 35bp y OAS3 de ~ 50bp. Por lo tanto, OAS2 solo es activada cuando esta forma un dímero y el dsARN tiene una longitud de ~ 35bp (Figura 10).

Figura 9. (a) Esquema de la ruta OAS/RNaseL en la inmunidad innata (Ezelle et al., 2016). (b) Estructuras de las 4 isoformas de la familia OAS (Hur, 2019).

**a**



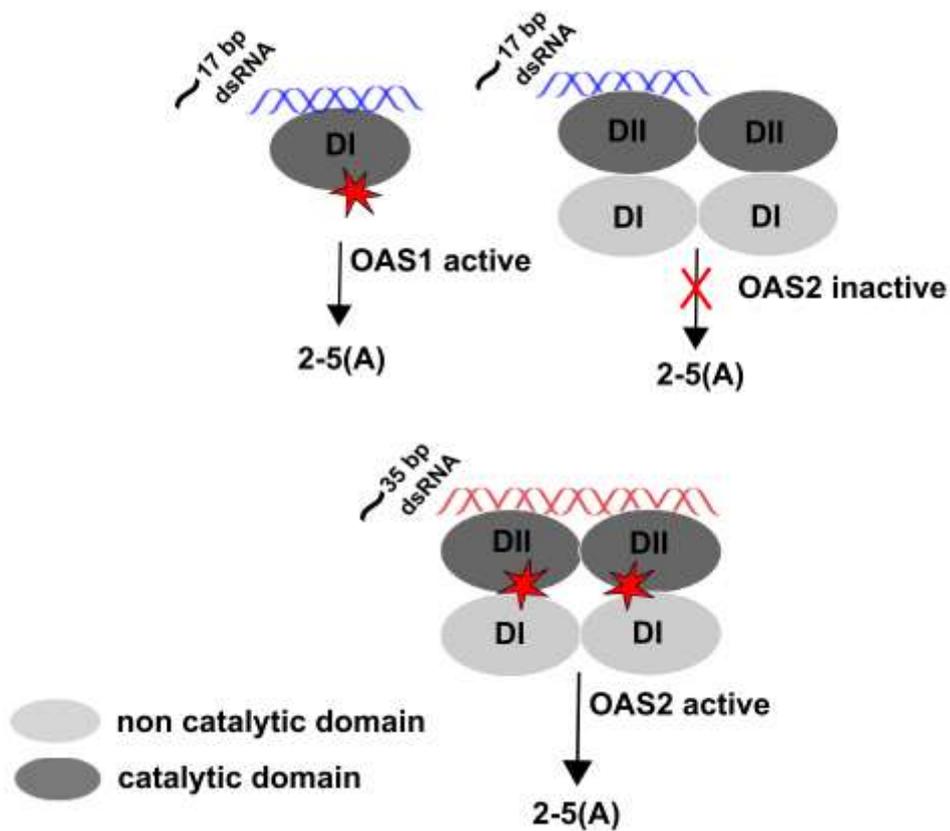
**b**



Como hemos visto anteriormente, una de las funciones de esta ruta OAS/RNaseL es la apoptosis y autofagia de la células virales exógenas. RNaseL es capaz de inducir la

transcripción de genes antivirales y antitumorales. Uno de los genes que son inducidos es el gen DRAK1, miembro de la familia de las proteínas quinasas asociadas a la muerte (DAPK). La función de DRAK1 es inducir la apoptosis mediante la translocación de Bax a la mitocondria acompañado de la pérdida de potencial en la membrana mitocondrial y la escisión de la caspasa 3 y PARP (Manivannan *et al.*, 2019).

Figura 10. Esquema de como OAS2 es activada en forma de dímero y con un dsARN de longitud ~ 35bp (Koul *et al.*, 2020).



RNaseL induce la autofagia gracias a la señal de c-Jun N-terminal quinasa y PKR, lo que resulta en la degradación de p62 y la acumulación de autofagosomas. Se ha visto anteriormente que la autofagia suprime a la apoptosis, pero sí la autofagia es excesiva, entonces puede haber un cambio a apoptosis. Este cambio está fomentado por los productos de la escisión llevada a cabo por RNaseL (Ezelle *et al.*, 2016).

Un estudio sobre la interacción de la vía OAS/RNaseL con ADAR1 en células endógenas muestra que la mutación de ADAR1 conduce a la auto activación de una o más isoformas de OAS lo que resulta en activación de RNaseL y, por tanto, de la apoptosis celular. Esta muerte celular contribuye potencialmente en la enfermedad neurodegenerativa de Aicardi-Goutières (AGS) (Li *et al.*, 2017).

#### 4.5. DICER Y DROSHA

Dicer y Drosha pertenecen a la familia de las ribonucleasas (RNasa) III. Estas dos proteínas están implicadas en la vía de interferencia del ARN. En esta vía la primera proteína en actuar es Drosha que realiza una escisión en el micro-ARN (miARN) primario para obtener una pequeña horquilla denominada pre-mARN. Esta pequeña horquilla sale del núcleo hacia el citoplasma y es fragmentada por Dicer generando el miARN maduro (Kwon *et al.*, 2016). Además, Dicer es capaz de hacer escisiones en el dsARN viral obteniendo como resultado ARN pequeño de interferencia (siARN) (MacKay *et al.*, 2014). Tanto el miARN como el siARN se une al complejo efector Argonauta formándose el denominado complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) que inhibe la traducción en los ARN mensajeros diana virales (Figura 11) (Andika *et al.*, 2019).

La estructura general de Dicer y Drosha es (Figura 12):

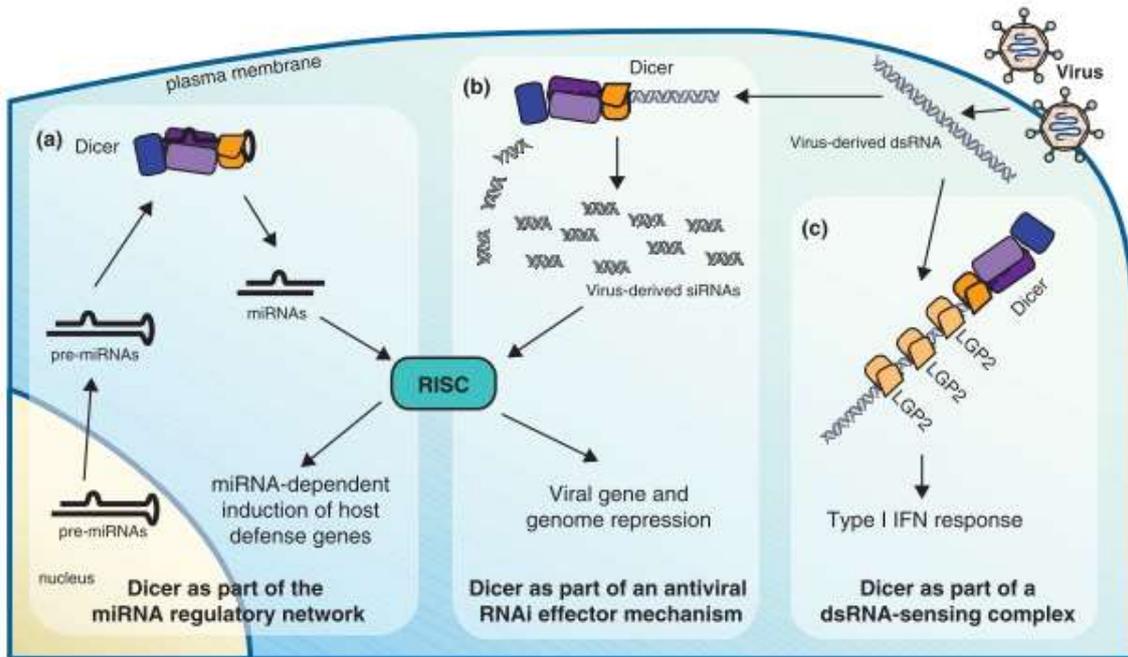
- Dicer: empezando por el extremo N-terminal observamos el dominio helicasa, un dominio PAZ, un dominio Duf283, el dominio RNasa III y el dominio de unión a dsARN (dsRBD).
- Drosha: contiene también un dominio PAZ, el dominio RNasa III y el dominio dsRBD. Pero, además, los dominios P-rich y RS-rich.

Como podemos contemplar las estructuras de ambas proteínas son bastantes similares, pero con algunas diferencias. Los dominios que comparten las dos son el dominio PAZ, RNasa III y dsRBD. El dominio PAZ es el que reconoce los extremos 5' fosforilados del dsARN (Song and Rossi, 2017) y posiciona a este de la mejor forma para que el dominio RNasa III haga la escisión (Kwon *et al.*, 2016).

El dominio helicasa de Dicer es idéntico al dominio helicasa de la familia RLRs. Están presentes Hel1 y Hel2 que se conservan entre todos los miembros de la familia helicasa y, además, está presente Hel2i al igual que en RIG-I, MDA5 y LGP2 (Ahmad and Hur, 2015). Con este dominio, las dos familias se unen a dsARN de una forma similar. Esta unión similar puede implicar que Dicer forme un complejo de detección de dsARN junto a uno de los RLRs. Un ejemplo de esto es el complejo formado junto con LGP2 que induce

la señalización de RIG-I y MDA5, y la consecuente potenciación de la inducción de IFN (Figura 11) (MacKay *et al.*, 2014).

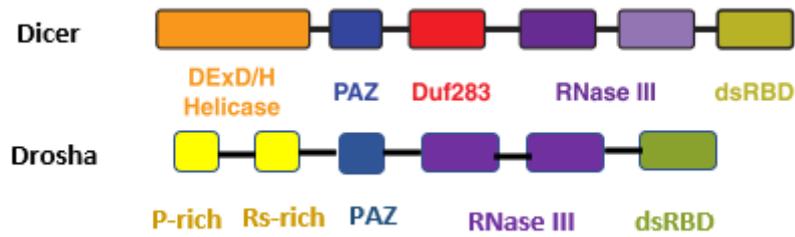
Figura 11. Tres mecanismos por los que Dicer actúa en la inmunidad innata (MacKay *et al.*, 2014)



Este mecanismo de defensa antiviral es uno de los más importantes en las plantas e invertebrados, pero su función exacta en los mamíferos todavía sigue siendo un misterio. En células humanas parece ser que la ruta de ARNi no se da porque la mayoría de los virus que producen infección contienen los denominados supresores virales del silenciamiento del ARN (VSRs) que bloquean la ruta.

En recientes estudios se ha demostrado que la inducción de uno o más ISGs inhibe la ruta ARNi. Más concretamente, es LGP2 quien interactúa con Dicer y bloquea la respuesta antiviral por inhibición de la síntesis de siARN (Veen *et al.*, 2018).

Figura 12. Estructura general de Dicer y Drosha (MacKay et al., 2014).



Otra interacción importante es la que se da entre ADAR1 y Dicer. Esta interacción es conocida desde hace tiempo. El *A-to-I editing* de los dsARN diana de la ruta ARNi produce alteraciones en la estructura de estos lo que conlleva a una reducción de la producción de siARNs o miARNs y, por tanto, inhibición de la eficacia de la vía ARNi. Sin embargo, en estudios más recientes se ha observado la función completamente contraria a la explicada anteriormente. ADAR1 es capaz de estimular la velocidad a la que Dicer hace escisiones en el pre-miARN y dsARN viral para formar los miARN y siARN maduros. Esta estimulación se lleva a cabo mediante la formación de un complejo ADAR1/Dicer. Esta unión se realiza a través del segundo dominio dsRBD de ADAR1 y el dominio Duf283 y la parte N-terminal del dominio helicasa de Dicer (Ota *et al.*, 2013).

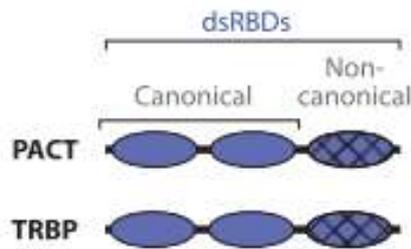
A pesar de todo esto todavía hacen falta más estudios sobre estas proteínas de la vía del ARNi para completamente entender su funcionamiento en las células humanas y cómo interaccionan con las demás proteínas de unión al dsARN.

#### 4.6. TRBP Y PACT

La proteína de unión a VIH TAR ARN (TRBP) y la proteína activadora de PKR (PACT) son dos proteínas de unión a dsARN que participan tanto en la biogénesis de miARN y siARN, mediante la interacción con Dicer; como en la respuesta antiviral del organismo junto con PKR (Heyam *et al.*, 2015). Además, se descubrió una nueva interacción entre PACT y RIG-I que amplifica la activación de la cascada de señalización que acaba con la fabricación de INF tipo I, citoquinas e inflamación (Kok *et al.*, 2011).

Tanto TRBP como PACT contienen tres dominios de unión a dsARN (dsRBD) (Figura 13). Los primeros dos dominios pueden unirse a dsARN, mientras que el tercero no puede. Sin embargo, este tercer dominio es esencial en la unión con Dicer y PKR (Chukwurah and Patel, 2018).

Figura 13. Estructura general de TRBP y PACT (Hur, 2019).

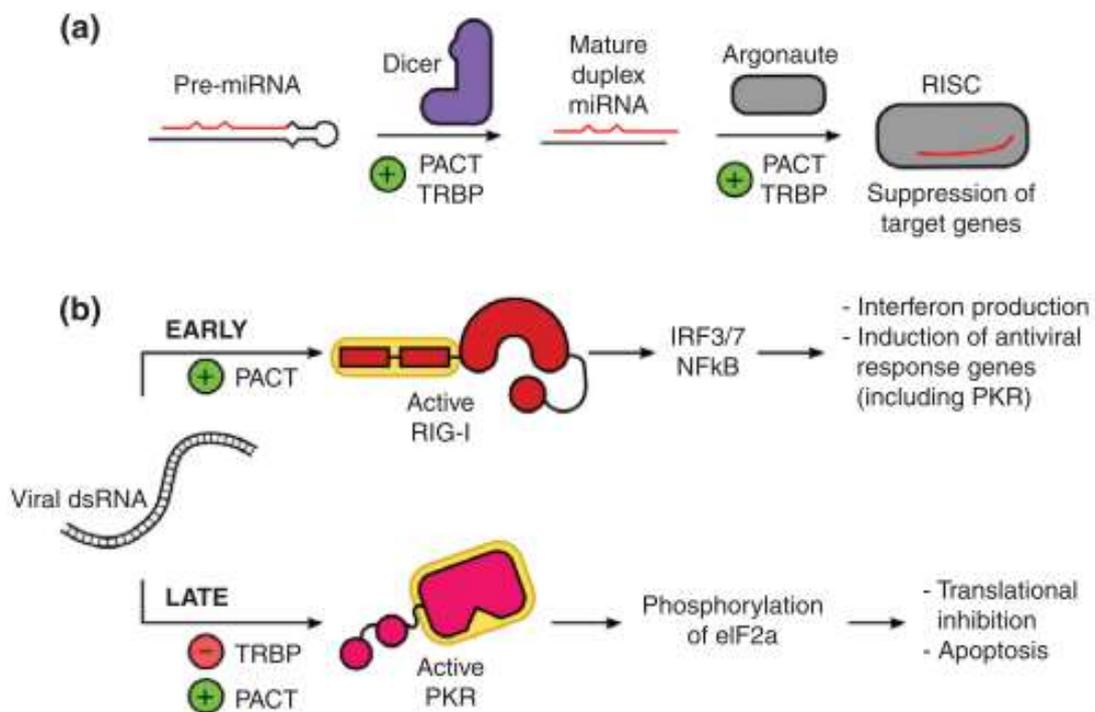


Es conocido que TRBP y PACT están asociados a la vía de ARNi. Estas proteínas se unen al complejo formado por Dicer/Ago2, denominado RISC, ayudando así en la escisión de los ARNm diana (Figura 14a) (Daniels and Gatignol, 2012).

La unión con PKR puede ser inhibitoria si es TRBP quien se une o estimulante si es PACT. PACT y PKR se unen gracias a la fosforilación del tercer dominio dsRBD de PACT en respuesta al estrés celular tras haber pasado poco tiempo de este, lo que lleva a la activación de PKR (Heyam *et al.*, 2015). TRBP, por el contrario, en respuesta al estrés celular prolongado se fosforila e inhibe la actividad de PKR para proteger a la célula de la apoptosis (Figura 14b) (Chukwurah and Patel, 2018).

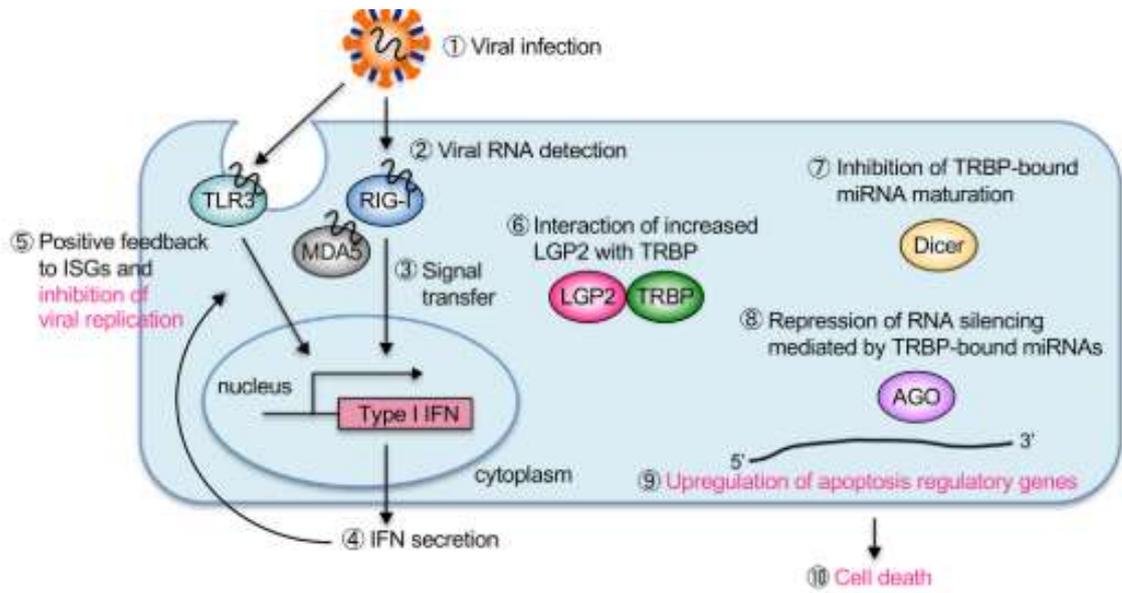
La otra actividad en la que PACT forma parte es la estimulación de la activación de RIG-I en respuesta a varios virus. Esta unión es mediada por la directa interacción con el dominio CTD de RIG-I que activa la función ATPasa y un cambio conformacional que induce la cascada de señalización (Figura 14b) (Kok *et al.*, 2011).

Figura 14. Esquema de las funciones realizadas por TRBP y PACT ante una infección viral (Heyam *et al.*, 2015).



En un estudio reciente se ha descubierto la implicación de LGP2 en la modulación del silenciamiento del ARN durante la infección viral. Se ha visto que niveles altos de LGP2 interactúan con TRBP haciendo que se rompa la unión entre este y el pre-miARN reduciendo así la síntesis de miARN maduros. Los genes diana de esta sobreexpresión de LGP2 son aquellos que regulan la apoptosis, promoviendo la muerte celular (Takahashi *et al.*, 2021). Por tanto, la interacción entre estas dos proteínas inhibe el silenciamiento del ARN por parte de Dicer, TRBP y PACT; y potencia la apoptosis (Figura 15).

Figura 15. La proteína LGP2 potencia la muerte celular e inhibe el silenciamiento del ARN mediante la unión a TRBP (Takahashi et al., 2021)



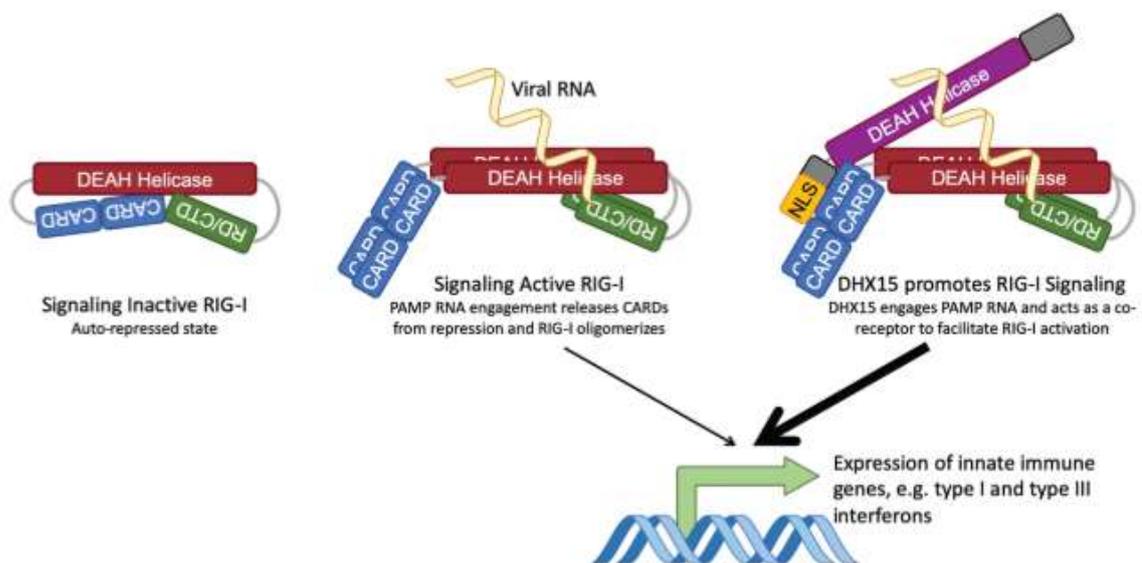
#### 4.7. OTRAS HELICASAS IMPLICADAS EN LA RESPUESTA ANTIVIRAL

Como hemos visto anteriormente, las proteínas RLRs pertenecen a una gran familia denominada helicasas DExD/H. Se ha observado que, además de RIG-I, MDA5 y LGP2; existen otras proteínas de esta familia que tienen su función en la respuesta antiviral. Dentro de esta familia existen dos subgrupos, la familia de las helicasas DEAH-box y las helicasas DEAD-box. Dentro de estos grupos el dominio principal helicasa se conserva, pero los extremos N-terminal y C-terminal pueden variar haciendo que las dianas de estas proteínas en la función antiviral sean diferentes (Taschuk and Cherry, 2020).

Según sus funciones las podemos agrupar en helicasas RLRs y helicasas no RLRs. Estas últimas son, por ejemplo, DDX21, DHX36, DDX1 y DHX9 que participan en la regulación de los receptores tipo Toll. DHX33 actúa como PRR activando MAVS en respuesta al dsARN. Además, DDX3, DHX29, DHX36, DDX60, DHX15 y DDX24 participan en la regulación de la vía de las RLRs (Figura 16) (Pattabhi *et al.*, 2019).

En conclusión, las helicasas DExD/H no RLRs participan en la respuesta antiviral e, incluso, algunas actúan como cofactores de las RLRs.

Figura 16. Las helicasas DExD/H actúan como cofactores en la defensa antiviral del organismo (Pattabhi *et al.*, 2019).



## 5. CONCLUSIONES

El estudio de las proteínas de unión a dsARN supone un avance en el conocimiento de los mecanismos utilizados por el organismo en la defensa antiviral. Muchas de las funciones de las principales proteínas ya se conocían desde hace muchos años, pero con el tiempo se ha seguido investigando sobre ello y aumentando el nivel de entendimiento sobre ellas.

Hemos observado que la mayoría no actúan por su propia cuenta, sino que interactúan entre ellas para ejercer una acción potenciada como RIG-I y PKR; o, también, para inhibir esa actividad como TRBP a PKR.

Se ha visto que muchas de ellas son la causa principal o secundaria de enfermedades autoinmunes cuando son activadas por dsARN endógeno en vez de dsARN exógeno viral. Una de las principales enfermedades causada por mutaciones en ADAR1 es el síndrome de Aicardi-Goutières, enfermedad neurodegenerativa.

Aunque ha crecido mucho el número de estudios sobre estas proteínas aún queda un largo camino para conocer detalladamente muchos de los mecanismos por el cual ejercen su función en las células humanas.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Actor JK. Introduction to Immunity and Immune Systems. Elsevier's Integr Rev Immunol Microbiol. 2012;3–6. *Definición inmunidad innata.*
- Ahmad S, Hur S. Helicases in Antiviral Immunity: Dual Properties as Sensors and Effectors. Trends Biochem Sci [Internet]. 2015;40(10):576–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2015.08.001>. *Estructura de los receptores de tipo RIG-I.*
- Andika IB, Kondo H, Suzuki N. Dicer functions transcriptionally and posttranscriptionally in a multilayer antiviral defense. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019;116(6):2274–81. *Mecanismo de acción de Dicer y Drosha.*
- Barrier P. Innate immunity. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(2):S346. *Características de la inmunidad innata.*
- Brisse M, Ly H. Comparative structure and function analysis of the RIG-I-like receptors: RIG-I and MDA5. Front Immunol. 2019;10(JULY):1–27. *Mecanismo de acción de los receptores tipo RIG-I.*
- Chakrabarti A, Jha BK, Silverman RH. New insights into the role of RNase L in innate immunity. J Interf Cytokine Res. 2011;31(1):49–57. *Mecanismo de acción de OASes.*
- Chang KY, Ramos A. The double-stranded RNA-binding motif, a versatile macromolecular docking platform. FEBS J. 2005;272(9):2109–17. *Unión entre el dsARN y el dsRBD.*
- Chukwurah E, Patel RC. Stress-induced TRBP phosphorylation enhances its interaction with PKR to regulate cellular survival. Sci Rep [Internet]. 2018;8(1):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19360-8>. *Interacción entre PKR y TRBP.*
- Chung H, A Calis JJ, Wu X, Sun T, Yu Y, Sarbanes SL, et al. Human ADAR1 prevents endogenous RNA from triggering translational shutdown. Cell [Internet]. 2018;172(4):811–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5831367/pdf/nihms934719.pdf>. *Mecanismo de acción de ADAR1 en la prevención de la activación del sistema inmune con dsARN endógeno.*
- Daniels SM, Gagnon A. The Multiple Functions of TRBP, at the Hub of Cell Responses to Viruses, Stress, and Cancer. Microbiol Mol Biol Rev. 2012;76(3):652–66. *Unión de TRBP y PACT con el complejo RISC.*
- Dar AC, Dever TE, Sicheri F. Higher-order substrate recognition of eIF2 $\alpha$  by the RNA-dependent protein kinase PKR. Cell. 2005;122(6):887–900. *Requerimiento para la unión de PKR con el sustrato eIF2 $\alpha$ .*
- Dey M, Mann BR, Anshu A, Mannan MAU. Activation of protein kinase PKR requires dimerization-induced cis-phosphorylation within the activation loop. J Biol Chem [Internet]. 2014;289(9):5747–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.527796>. *Activación de PKR.*

- Doyle M, Jantsch MF. New and old roles of the double-stranded RNA-binding domain. *J Struct Biol.* 2002;140(1–3):147–53. *Nueva función de las proteínas de unión a dsARN.*
- Eisenberg E, Levanon EY. A-to-I RNA editing - Immune protector and transcriptome diversifier. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2018;19(8):473–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41576-018-0006-1>. *Mecanismo de acción de ADARs.*
- Ezelle HJ, Malathi K, Hassel BA. The roles of RNase-L in antimicrobial immunity and the cytoskeleton-associated innate response. *Int J Mol Sci.* 2016;17(1):1–24. *Mecanismo de acción de OASes.*
- Frizinsky S, Haj-Yahia S, Machnes Maayan D, Lifshitz Y, Maoz-Segal R, Offengenden I, et al. The innate immune perspective of autoimmune and autoinflammatory conditions. *Rheumatol (United Kingdom).* 2019;58:VI1–8. *Características sobre la inmunidad innata.*
- Gal-Ben-Ari S, Barrera I, Ehrlich M, Rosenblum K. PKR: A kinase to remember. *Front Mol Neurosci.* 2019;11(January):1–20. *Correlación entre PKR y enfermedades neurodegenerativas.*
- García MA, Gil J, Ventoso I, Guerra S, Domingo E, Rivas C, et al. Impact of Protein Kinase PKR in Cell Biology: from Antiviral to Antiproliferative Action. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2006;70(4):1032–60. *Mediación de la apoptosis por parte de PKR.*
- Hesler S, Angeliadis M, Husain B, Cole JL. Contribution of dsRBD2 to PKR Activation. *ACS Omega.* 2021; 6:11367–11374. *Activación de PKR.*
- Heyam A, Lagos D, Plevin M. Dissecting the roles of TRBP and PACT in double-stranded RNA recognition and processing of noncoding RNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2015;6(3):271–89. *Definición de TRBP y PACT.*
- Hur S. Double-Stranded RNA Sensors and Modulators in Innate Immunity. *Annu Rev Immunol.* 2019;37:349–75.
- Kok KH, Lui PY, Ng MHJ, Siu KL, Au SWN, Jin DY. The double-stranded RNA-binding protein PACT functions as a cellular activator of RIG-I to facilitate innate antiviral response. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2011;9(4):299–309. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2011.03.007>. *Activación de RIG-I por parte de PKR.*
- Koul A, Gemmill D, Lubna N, Meier M, Krahn N, Booy EP, et al. Structural and Hydrodynamic Characterization of Dimeric Human Oligoadenylate Synthetase 2. *Biophys J.* 2020;118(11):2726–40. *Oligomerización de OASes.*
- Kwon SC, Nguyen TA, Choi YG, Jo MH, Hohng S, Kim VN, et al. Structure of Human DROSHA. *Cell* [Internet]. 2016;164(1–2):81–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.019>. *Mecanismo de acción de Dicer y Drosha.*
- Li Y, Banerjee S, Goldstein SA, Dong B, Gaughan C, Rath S, et al. Ribonuclease I mediates the cell-lethal phenotype of double-stranded RNA editing enzyme ADAR1 deficiency in a human cell line. *Elife.* 2017;6:1–18. *Implicación de OAS con*

*ADAR en la enfermedad de Aicardi-Goutières.*

- MacKay CR, Wang JP, Kurt-Jones EA. Dicer's role as an antiviral: Still an enigma. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 2014;26(1):49–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2013.10.015>. *Mecanismo de acción de Dicer y Drosha.*
- Manivannan P, Reddy V, Mukherjee S, Clark KN, Malathi K. RNase L Induces Expression of A Novel Serine/Threonine Protein Kinase, DRAK1, to Promote Apoptosis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(14):6–10. *RNase L induce apoptosis.*
- Masliah G, Barraud P, Allain FHT. RNA recognition by double-stranded RNA binding domains: A matter of shape and sequence. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(11):1875–95. *Diferenciación entre dsARN endógeno y exógeno.*
- Nallagatla SR, Toroney R, Bevilacqua PC. Regulation of innate immunity through RNA structure and the protein kinase PKR. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. 2011;21(1):119–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sbi.2010.11.003>. *Estructura de PKR.*
- Onomoto K, Onoguchi K, Yoneyama M. Regulation of RIG-I-like receptor-mediated signaling: interaction between host and viral factors. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2021;(September 2020):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-020-00602-7>. *Autorregulación positiva de RLRs.*
- Ota H, Sakurai M, Gupta R, Valente L, Wulff BE, Ariyoshi K, et al. ADAR1 forms a complex with dicer to promote MicroRNA processing and RNA-induced gene silencing. *Cell* [Internet]. 2013;153(3):575–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.03.024>. *Interacción entre ADAR y Dicer.*
- Pattabhi S, Knoll ML, Gale M, Loo YM. DHX15 Is a Coreceptor for RLR Signaling That Promotes Antiviral Defense Against RNA Virus Infection. *J Interf Cytokine Res.* 2019;39(6):331–46. *Actuación de otras helicasas como cofactores de RIG-I.*
- Peisley A, Hur S. Multi-level regulation of cellular recognition of viral dsRNA. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(11):1949–63. *Estructura del dsARN.*
- Pippig DA, Hellmuth JC, Cui S, Kirchhofer A, Lammens K, Lammens A, et al. The regulatory domain of the RIG-I family ATPase LGP2 senses double-stranded RNA. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(6):2014–25. *Función de LGP2.*
- Rice GI, Kitabayashi N, Barth M, Briggs TA, Burton ACE, Carpanelli ML, et al. Genetic, Phenotypic, and Interferon Biomarker Status in ADAR1-Related Neurological Disease. *Neuropediatrics.* 2017;48(3):166–84. *Correlación de mutaciones de ADAR1 con la enfermedad de Aicardi-Goutières.*
- Riera Romo M, Pérez-Martínez D, Castillo Ferrer C. Innate immunity in vertebrates: An overview. *Immunology.* 2016;148(2):125–39. *Características de la inmunidad innata.*
- Samuel CE. Adenosine deaminase acting on RNA (ADAR1), a suppressor of double-stranded RNA-triggered innate immune responses. *J Biol Chem.* 2019;294(5):1710–20. *Mecanismo de acción de ADARs.*

- Saunders LR, Barber GN. The dsRNA binding protein family: critical roles, diverse cellular functions. *FASEB J.* 2003;17(9):961–83. *Inhibición de PKR por parte de ciertos virus.*
- Song MS, Rossi JJ. Molecular mechanisms of Dicer: Endonuclease and enzymatic activity. *Biochem J.* 2017;474(10):1603–18. *Estructura de Dicer y Drosha.*
- Takahashi T, Nakano Y, Onomoto K, Yoneyama M, Ui-Tei K. LGP2 virus sensor enhances apoptosis by upregulating apoptosis regulatory genes through TRBP-bound miRNAs during viral infection. *Nucleic Acids Res.* 2021;48(3):1494–507. *Interacción entre LGP2 y TRBP.*
- Taschuk F, Cherry S. DEAD-Box Helicases: Sensors, Regulators, and Effectors for Antiviral Defense. *Viruses.* 2020;12(2)(181). *Estructura de helicasas DExD/H.*
- Ucci JW, Kobayashi Y, Choi G, Alexandrescu AT, Cole JL. Mechanism of interaction of the double-stranded RNA (dsRNA) binding domain of protein kinase R with short dsRNA sequences. *Biochemistry.* 2007;46(1):55–65. *Función de PKR.*
- Valente L, Kawahara Y, Zinshteyn B, Iizasa H, Nishikura K. Posttranscriptional Gene Regulation by an Editor: ADAR and its Role in RNA Editing. *Post-Transcriptional Gene Regul RNA Process Eukaryotes.* 2013;41–81. *Dimerización de ADAR.*
- Veen AG, Maillard P V, Schmidt JM, Lee SA, Deddouche-Grass S, Borg A, et al. The RIG-I-like receptor LGP2 inhibits Dicer-dependent processing of long double-stranded RNA and blocks RNA interference in mammalian cells. *EMBO J.* 2018;37(4):1–14. *Interacción entre Dicer y LGP2.*
- Xu C, Gamil AAA, Munang'andu HM, Evensen Ø. Apoptosis induction by dsRNA-dependent protein kinase R (PKR) in EPC cells via caspase 8 and 9 pathways. *Viruses.* 2018;10(10). *Inducción de la apoptosis por parte de PKR en ausencia de infección viral.*
- Yang Y, Xie L, Zhong Y, Zhong X, Meng R, Xue Q, et al. Double-Stranded RNA Dependent Kinase R Regulates Antibacterial Immunity in Sepsis. *J Innate Immun.* 2021;13(1):26–37. *Función antibacteriana de PKR.*
- Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, et al. Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *J Immunol.* 2005;175(5):2851–8. *Función de LGP2.*
- Zhu J, Zhang Y, Ghosh A, Cuevas RA, Dhar J, Ibsen MS, et al. Antiviral activity of human oligoadenylate synthetases-like (OASL) is mediated by enhancing retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) signaling. *Immunity.* 2014;40(6):936–48. *Activación de RIG-I por parte de OAS.*

## **7. ANEXO: ABREVIATURAS**

**ADAR** – Adenosina desaminasa específica de ARN bicatenario

**ARNi** – ARN de interferencia

**dsARN** – ARN de doble cadena

**dsRBD** – Dominio de unión a dsARN

**eIF2 $\alpha$**  - Subunidad  $\alpha$  del factor de iniciación eucariota 2

**INF** – Interferón

**ISGs** – Genes estimulados por interferón

**LPS** – Lipopolisacárido

**MAVS** - Proteína mitocondrial de señalización antiviral

**miARN** - micro-ARN

**OASes** - Oligoadenilato sintetasas

**PAMP** – Patrón molecular asociado a patógenos

**PKR** – Proteína quinada R

**PRRs** – Receptores de reconocimiento de patógenos

**RISC** – Complejo de silenciamiento inducido por ARN

**RLRs** – Receptores de tipo RIG-I

**RNasa** – Ribonucleasas

**siARN** - ARN pequeño de interferencia

**VSRs** - Supresores virales del silenciamiento del ARN