**Referencia:** PID2023-149245NB-I00

**Área:** Biociencias y biotecnología

**Subárea:** Biotecnología

**Investigador/a principal** PALLAS BENET, VICENTE APARICIO HERRERO / FREDERIC

**Título:**

EL PAPEL DE LA MODIFICACION N6-METILADENOSINA EN LAS INTERACCIONES VIRUS-PLANTA: BASES MOLECULARES Y POTENCIALES APLICACIONES BIOTECNOLOGICAS

**Resumen:**

Los virus de plantas son una gran amenaza para la seguridad alimentaria y la economía. Debido a su naturaleza biotrófica, los virus de plantas necesitan tejido vivo para su multiplicación y por ello el proceso de infección de estos patógenos debe implicar numerosas interacciones entre los componentes del virus (ARN y proteínas) y el huésped (ARN, proteínas, membranas, lípidos). Durante el transcurso del último proyecto demostramos que un virus de ARN de plantas (alfalfa mosaic virus, AMV) secuestra la maquinaria de modificación de N6-metiladenosina (m6A) como un posible nuevo mecanismo regulador en su ciclo de infección. La modificación m6A está regulada dinámicamente por metiltransferasas (escritoras) y desmetilasas (borradoras). Además, m6A puede ejercer su función alterando la estructura del ARN modificado para regular las interacciones del ARN o directamente al ser reconocido por proteínas efectoras (lectoras) de unión a m6A específicas. Así, identificamos la primera proteína vegetal con actividad N6-metiladenosina (m6A) desmetilasa y obtuvimos pruebas sólidas de que el estado de metilación del genoma viral desempeña un papel clave en el ciclo de infección de un virus de plantas, ampliando el vasto repertorio que los virus ARN de las plantas utilizan para colonizar y perpetuarse en sus huéspedes. Recientemente, pudimos demostrar que las proteínas vegetales YTHDF (lectoras ETC) son efectores directos de la inmunidad antiviral contra un virus de ARN que contiene N6-metiladenosina. Sin embargo, a pesar de la gran atención que este tema ha atraído en los últimos años entre la comunidad de virólogos de plantas, el conocimiento sobre los componentes y mecanismos de la maquinaria vegetal m6A es todavía muy limitado. Así, el objetivo global de este proyecto será seguir profundizando en el conocimiento de las proteínas implicadas en la modificación m6A del ARN (escritoras, borradoras y lectoras) que participan en el ciclo de infección de un virus ARN vegetal y explorar las posibles aplicaciones biotecnológicas que podría derivarse de este conocimiento. En particular, nuestro objetivo en este proyecto es: i) intentar identificar la posible implicación de las metiltransferasas m6A en la infección de un virus ARN de plantas; ii) descifrar las funciones de los diferentes dominios (NES, rico en RG y RBP) y regiones intrínsecamente desordenadas (IDR) en la desmetilasa en ALKBH9B en la localización subcelular y la propensión a la separación de fases; iii) descifrar la mecánica molecular que rige la función de las ECT lectoras como efectores de la inmunidad antiviral contra los virus de ARN; iv) determinar la funcionalidad de los dominios AlkB presentes en virus que infectan plantas leñosas/perennes y v) uso de desmetilasas similares a ALKBH9B para aumentar el rendimiento y la biomasa del cultivo de tomate.

**PROYECCIÓN DE LOS DOCTORES FORMADOS EN EL GRUPO**

- The working **Plant Virology Group of the IBMCP** has directed 14 Doctoral Thesis and 25 Thesis Master or Thesis of Degree for the last 20 years. Most of these 14 Doctors have been able to continue their research career in different Centres of prestige whereas others have obtained other positions directly or indirectly related to their doctoral background. Dra Paloma Mas, the first Phd student, got a Fulbright Fellowship to work in the Institute Scripps of San Diego with Dr. R. Beachy and later on with Dr. S. Kay. Finally, she got a permanent position at the CSIC in Barcelona. Dr. J. A. Sánchez-Navarro got a Marie Curie for his postdoc in Holland and he joined the Group with a permanent position of the CSIC. Dra. MC Cañizares got an I3P contract from the CSIC at the Malaga Institute. Dra. S. García Castillo enjoys a postdoc of the Séneca Foundation. Dr. F. Aparicio got a Ramon y Cajal Contract and later on a permanent position as Professor at the UPV. Dra. MC Herranz got a postdoctoral fellowship to work at the IBMP in Strasbourg and later on a contract of the Program ‘Juan de la Cierva’. Dr. A. Khalid got a postdoctoral fellowship and he is nowadays at the IBMP in Strasbourg. Dra. A. Genoves got her PhD in 2008, received the prize to the best UPV Thesis by the Consejo Social of the UPV, and joined the Structural Protein Group of the Principe Felipe Research Centre. Nowadays, she is the responsible for the Innovation Area of the Instituto de Investigation Sanitaria L Fe, Valencia. Dr. German Martinez-Arias (2011) got a fellowship for the Dr. Slotkin lab in USA and later on he succeeded in getting a Marie Curie fellowship. Recently, he got a position of Assistant Professor at the Uppsala University for 5 years. The last FPI fellow, Marta Serra Soriano, after getting her PhD, was hired by the internationally recognized pharmaceutical company Grifols, working at the I+D Department. Therefore, the people that have carried out their Doctoral Theses so far in our Group have obtained a formation of enough quality to guarantee their future scientific formation. We have also contributed to complete the formation of several Postdoctorals that have stabilized their scientific career. Dr. J. Marcos was in our Group for 3 years, after which he got a permanent position at the IATA-CSIC of Valencia. Dra. Juana Díez was for 3 years in our laboratory, after which she got a permanent position as Professor of the University Pompeu Fabra of Barcelona. The formation of a technician of the program I3P has been completed, after this he has been hired by Biopolis, a company related to the AgroFood Sector. Another formed technician has been recently hired by the company Zeraim Iberica SA, Agricultural Seeds. Therefore, we really think that the incorporation of a fellowship to the present Project will guarantee a complete formation for the corresponding applicant allowing him/her to continue his/her scientific career in the future.

**RELEVANT Publications during the last 10 years**

Martinez, G., Castellano, M., Tortosa, M., Pallas, V. and Gomez, G. (2014). A pathogenic non-coding RNA induces changes in dynamic DNA methylation of ribosomal RNA genes in host plants. **Nucleic Acids Research**, 42, (3): 1553–1562. doi:10.1093/nar/gkt968.

Garcia, J.A. & Pallas, V. (2015). Viral factors involved in plant pathogenesis. **Current Opinion in Virology** 11:21–30. Doi: 10.1016/j.coviro. 2015.01.001

Castellano, M., Pallas, V. and Gomez, G. (2016). A pathogenic long noncoding RNA redesigns the epigenetic landscape of the infected cells by subverting host Histone Deacetylase 6 activity. **New Phytologist** 211(4): 1311-1322.

Martinez-Perez, M. Aparicio, F. Lopez-Gresa, M.P. Belles, J.M., Sanchez-Navarro, J.A. and Pallas, V. (2017). Arabidopsis m(6)A demethylase activity modulates viral infection of a plant virus and the m(6)A abundance in its genomic RNAs. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 114: 10755-10760. DOI: 10.1073/pnas.17031391.

Navarro, J.A., Sanchez-Navarro, J.A., Pallas, V. (2019). Key checkpoints in the movement of plant viruses through the host. **Advances in Virus Research**, 104: 1-64.

Marquez-Molins, J., Gomez, G., Pallas, V. (2021). Hop stunt viroid: A polyphagous pathogenic RNA that has shed light on viroid–host interactions. **Molecular Plant Pathology,** 22 (2), 153-162. DOI: 10.1111/mpp.13022.

Navarro, J.A., Saiz-Bonilla, M., Sanchez-Navarro, J.A. and Pallas, V. (2021). The mitochondrial and chloroplast dual targeting of a multifunctional plant viral protein modulates chloroplast-to-nucleus communication, RNA silencing suppressor activity, encapsidation, pathogenesis and tissue tropism. **Plant J.** 108, 197–218.

Marquez- Molins, J., Navarro, J.A., Seco, L.C., Pallas, V. and Gomez, G. (2021). Might exogenous circular RNAs act as protein-coding transcripts in plants?. **RNA Biol.** 18:sup1, 98-107, DOI: 10.1080/15476286.2021.1962670.

Martınez-Perez, M., Aparicio, F., Arribas-Hernandez, L., Tankmar, M.D., Rennie, S., von Bulow, S., Lindorff-Larsen, K., Brodersen, P. and Pallas, V. (2023). Plant YTHDF proteins are direct effectors of antiviral immunity against an N6-methyladenosine-containing RNA virus. **EMBO J.** 42: e113378 DOI 10.15252/embj.2022113378.

Sáiz-Bonilla, M., Martín-Merchán, A., Pallas, V. and Navarro, J.A. (2023). A viral protein targets mitochondria and chloroplasts by subverting general import pathways and specific receptors. **J Virology** 97(10: doi 10.1128/jvi.01124-23