

Caracterización de la vía de internalización del *Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar*

M. C. Giménez¹; J. F. Rodríguez³; M. I. Colombo^{1,2}; L.R. Delgui^{1,2}

¹Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina ²IHEM, UNCuyo-CONICET, Mendoza, Argentina ³CNB-CSIC, España.

Recursos Humanos en Formación: M.C. Giménez y Marina Montenegro
Correo electrónico de contacto: ldelgui@fcm.edu.ar

Objetivo, Metodología y Resultados obtenidos

El *Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar* (IBDV) es un importante patógeno aviar integrante de la familia *Birnaviridae*, cuyo genoma está compuesto de ARN de doble cadena cubierto por una cápside proteica. Es el agente etiológico de una severa enfermedad inmunosupresora que produce una altísima mortalidad de las aves afectadas. Con el objetivo de caracterizar la vía de internalización viral, se ha abordado el estudio de la vía endocítica como posible mecanismo involucrado en la infección por IBDV.

En primer lugar se analizó el efecto del pretratamiento de células susceptibles con los inhibidores de la acidificación endosomal cloruro de amonio y Bafilomicina A1 sobre la infección por IBDV. Utilizando las técnicas de Western blotting y Microscopía Confocal se pudo observar una marcada disminución en la infección viral en células pretratadas en relación a la situación control. Posteriormente, para confirmar el papel de la vía endocítica en la infección viral, se emplearon células que sobreexpresan las proteínas de endosomas tempranos y tardíos (Rab 5 y Rab7, respectivamente), wild-type o mutantes, pudiéndose comprobar que la infección viral requiere de estos dos tipos de estructuras, observación que confirmó el papel de la vía endocítica en la infección viral.

Luego, con el objetivo de caracterizar la vía endocítica involucrada en la infección, exploramos el papel de la proteína dinamina (requerida en la escisión de la vesícula endosomal naciente de la membrana plasmática) en la infección viral y para ello utilizamos el inhibidor de dinamina, Dynasore. Pretratamos células susceptibles con el inhibidor, las infectamos con el virus y determinamos, mediante Western blotting, la capacidad del virus de internalizarse en las células. Así, demostramos que IBDV no requiere de la esta dinamina para completar su internalización en las células habiendo obtenido niveles de infección similares en células tratadas con Dynasore o en situación control. También, hemos analizado el papel

del colesterol de la membranas plasmática en la internalización viral. Para ello hemos utilizado dos compuestos: β -metil-ciclodextrina, que secuestra el colesterol de las membranas, y Filipina III, que se une al colesterol de la membrana dejando a este inaccesible. Mediante análisis de Western blotting observamos niveles de infección similares en células tratadas con los mencionados compuestos o en situación control demostrando que la internalización del virus no requiere de la presencia de colesterol en la membrana de la célula.

Por último se realizó un análisis ultraestructural de células infectadas a tiempos tempranos postinfección mediante Microscopía Electrónica de Transmisión. Se pudieron observar partículas virales adheridas a la membrana plasmática y en el interior de vesículas cercanas a la membrana plasmática con un aspecto compatible con el de componentes de la vía endocítica.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que la internalización del virus en las células ocurre mediante compartimentos de la vía endocítica y que el mecanismo de internalización comprendería una vía dinamina y colesterol independientes.

Conclusiones

Hasta la actualidad, hemos realizado un importante avance en relación al conocimiento de la vía de internalización celular del *Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar* (IBDV). Este primer proceso en el ciclo de replicación de un agente viral comprende un paso central en la infección, dado que si un virus no ingresa a su célula hospedadora no será capaz de replicarse y causar una patología. IBDV, así como otros virus, utiliza la vía endocítica de la células para ingresar al interior de la misma. Actualmente, nos encontramos realizando experimentos para describir el mecanismo celular y molecular concreto utilizado por IBDV.

Publicaciones

- V. Di Francesco; M.F. Quevedo; M.C. Giménez, M.I. Colombo, L.R. Delgui. Estudio del posible papel de la vía endocítica en la internalización del Virus de la Bursitis

Infecciosa Aviar (IBDV). En: III Jornadas de la Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza, 2011.

- M.C. Giménez; J.F. Rodríguez; M.I. Colombo; L.R.

Delgui. Caracterización de la vía de internalización del Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar. En: IV Jornadas de la Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza, 2012.

- M.C. Giménez, J.F. Rodríguez, M.I. Colombo, L.R. Delgui. Study of the internalization pathway involved in Infectious Bursal Disease Virus infection. En: XLVII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigaciones en Bioquímica y Biología Molecular. Mendoza. Publicado en la Revista BIOCELL 36 (Suppl.), 2012.

Formación de Recursos Humanos: En el marco del presente proyecto de investigación se está formando la alumna avanzada de la carrera de Bioquímica de la U. Maza María Cecilia Giménez. Cecilia se encuentra en su tercer año de formación en investigación científica ya que ha sido becaria del proyecto de investigación 2010-2012

titulado: “Estudio del posible papel de la vía autofágica en el ciclo de replicación del Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar (IBDV)”. Cecilia está involucrada tanto en el diseño y realización de los experimentos pertinentes así como en la discusión y análisis de los resultados obtenidos. Su formación incluye, también, el manejo de las distintas formas de comunicación del trabajo de investigación como es la escritura de resúmenes para congresos e informes de grado de avance, la elaboración de posters científicos, dar comunicaciones orales, etc.