

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}

Recursos Humanos en Formación: M. C. Giménez; Marina Montenegro

¹Universidad Juan Agustín Maza ²IHEM, UNCuyo-CONICET, Mendoza, Argentina 3CNB-CSIC, España
ldelgui@fcm.uncu.edu.ar

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.

Objetivos

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.

Metodología

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.

Resultados

Demostramos que IBDV no requiere de 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 membrana 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.

Conclusiones

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.