

Determinación de la respuesta autofágica en células infectadas por el virus de la Bursitis infecciosa aviar (IBDV)

M. C. Giménez¹, M. F. Quevedo¹, M. I. Colombo^{1,2}, L. R. Delgui^{1,2}

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza.

²Instituto de Histología y Embriología Mendoza, Fac. de Ciencias Médicas UNCuyo-CONICET, Mendoza.

La autofagia es un proceso catabólico altamente conservado en eucariotas, en el cual componentes del citoplasma son secuestrados en vesículas de doble membrana y liberados dentro del lisosoma para su degradación. IBDV es un virus de dsRNA no envuelto, perteneciente a la familia *Birnaviridae*, y uno de los patógenos aviares más importantes. Hemos propuesto estudiar el papel de la vía autofágica en el ciclo de replicación del IBDV, dado que múltiples antecedentes sugieren que los virus con genoma RNA pueden utilizar la maquinaria de la mencionada vía celular para su propio ciclo de replicación en las células infectadas.

Para este estudio se implementó la puesta en marcha de cultivos celulares (células QM7, MEF, HeLa) herramienta básica para el desarrollo del proyecto. Por otro lado se procedió a generar un stock viral para lo que se han utilizado técnicas de biología celular, molecular y de virología. Para ello, se utilizaron viriones de la cepa Soroa cuyo título fue 9×10^4 Unidades Formadoras de Placa por mililitro (UFP/ml), con los que se infectaron monocapas de células QM7, susceptibles a la infección por el virus. Se estableció el título viral obtenido que correspondió a 1×10^6 UFP/ml. Para comprobar la correcta expresión de las proteínas virales mayoritarias se realizó la técnica de Western blot. Los resultados obtenidos demostraron claramente la eficacia de la infección con los stocks virales producidos.

Posteriormente, se procedió a determinar la posible existencia de una respuesta autofágica durante la infección de diferentes líneas celulares susceptibles, con viriones de IBDV. Para ello se monitoreó la conversión de la proteína marcadora de la autofagia LC3 en células infectadas a distintos tiempos post-infección, mediante la técnica de Western blot. Como aproximación alternativa se determinó el número de vesículas LC3 positivas generadas en respuesta a la infección viral. Para ello se transfectaron células con el plásmido que porta la secuencia codificante de la proteína LC3 fusionada a la proteína fluorescente verde (GFP) y posteriormente se infectaron con viriones de IBDV. Para la obtención de las imágenes se utilizó el Microscopio confocal Nikon Eclipse E-600 del IHEM, Mendoza. Los resultados obtenidos por ambos métodos sugerirían que, en las condiciones experimentales utilizadas, no existiría una respuesta autofágica en la infección por IBDV.

Los resultados preliminares obtenidos sugieren que si bien no se observa una respuesta autofágica como consecuencia de la infección por IBDV, es posible que ciertos genes involucrados en la vía autofágica tengan un papel clave en la infección por el agente viral.