

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DE MECANISMOS PATOGENICOS COMO ESTRATEGIA ANTIVIRAL FRENTE A VIRUS ARN DE IMPORTANCIA EN MEDICINA VETERINARIA

Colina, Santiago Emanuel

Metz, Germán Ernesto (Dir.), Serena, María Soledad (Codir.)

Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA).

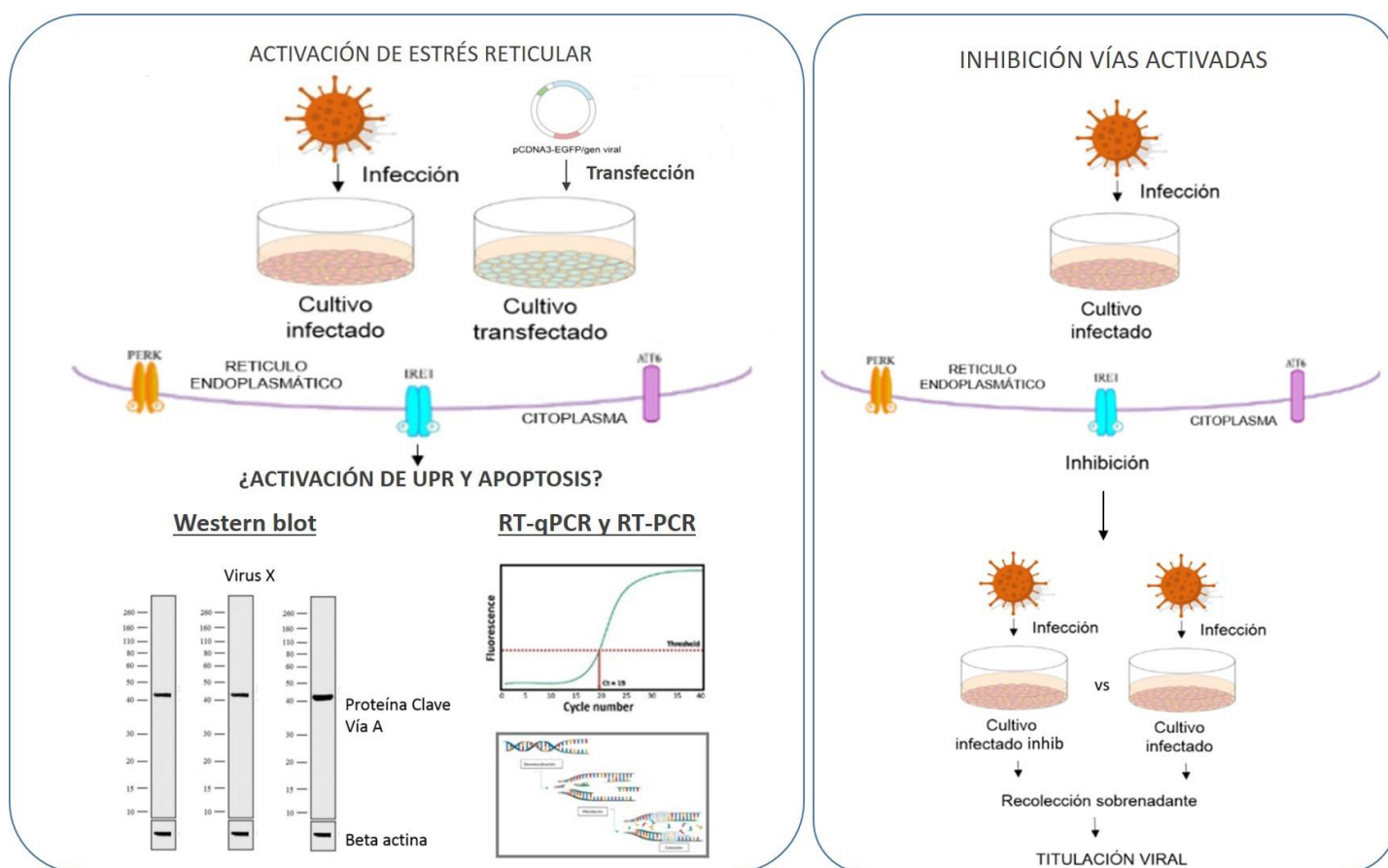
scolina@fcv.unlp.edu.ar

PALABRAS CLAVE: infección viral, estrés de retículo endoplásmico, UPR, apoptosis.

STUDY OF THE REGULATION OF PATHOGENIC MECHANISMS AS AN ANTIVIRAL STRATEGY AGAINST RNA VIRUSES OF IMPORTANCE IN VETERINARY MEDICINE

KEYWORDS: viral infection, endoplasmic reticulum stress, UPR, apoptosis.

Resumen gráfico



Resumen

El retículo endoplasmático (RE), además de ser una organela de importancia en diversas funciones celulares, constituye un centro activo de replicación y de protección viral induciendo estrés reticular. Existen 3 proteínas transmembrana PERK, IRE1 y ATF6, que censan y activan la respuesta a proteínas desplegadas (UPR), intentando disminuir dicho estrés. De no ser posible reestablecer la homeostasis celular, la célula es conducida a la muerte celular por apoptosis mediada por la caspasa 12. Dado que esta apoptosis está relacionada con el proceso de replicación y patogenia en una amplia mayoría de virus con genomas ARN, las vías de señalización involucradas en el estrés de RE se han convertido en blancos atractivos para el desarrollo de antivirales selectivos.

El siguiente trabajo tiene como objetivo general estudiar la regulación del mecanismo de estrés de retículo y la inducción de la muerte celular por apoptosis como estrategia antiviral para diferentes modelos de virus ARN de importancia veterinaria: virus de arteritis viral equina (VAE), virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y virus del distemper canino (VDC). Como objetivos específicos se plantea: (1) Analizar la interacción de los modelos virales seleccionados con las diferentes proteínas transmembrana que median la activación del estrés de retículo: PERK, IRE1 y ATF6. (2) Estudiar la activación de la caspasa 12 inductora de la

apoptosis celular inducida por estrés de retículo. (3) Clonar y expresar proteínas virales seleccionadas y analizar su participación en el proceso de estrés reticular y apoptosis celular. (4) Investigar el efecto de la inhibición de los mecanismos en la replicación viral. (5) Evaluar la selección de las diferentes proteínas virales expresadas y/o de las vías de señalización estudiadas como blancos terapéuticos antivirales.

Las actividades y metodologías a desarrollar, se seleccionaron las siguientes cepas virales: Bucyrus-VAE, Singer-VDVB y Onderstepoort-VDC. A partir de ellas, se diseñarán primers para levantar genes candidatos y obtener construcciones recombinantes. Tanto con dichas construcciones como cada una de las cepas virales, se transfectarán/infectarán monocapas celulares a partir de las cuales se recolectarán células a diferentes tiempos postinfección. Se prevé la detección por Western Blot de las proteínas activadas PERK, IRE1, ATF6 y caspasa 12 involucradas en la UPR y en la apoptosis inducida por estrés reticular respectivamente. Del mismo modo, se estudiará la expresión de genes BIP, ATF4, ATF6 y caspasa 12, por qPCR y XBP1 spliced y unspliced por la técnica RT-PCR. Finalmente, se procederá a la inhibición de las vías activadas de la UPR y evaluación, por titulación viral, del efecto en la replicación viral en los cultivos infectados.