

Estudio de la vía de internalización celular del Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar (IBDV).

Study of the internalization pathway of Infectious Bursal Disease Virus (IBDV).

Director: DELGUI, Laura Ruth

Correo Electrónico: ldelgui@yahoo.com

Co-Director: -

Integrantes: -

Palabras Clave: birnaviridae, internalización, endocitosis

Resumen Técnico: IBDV, miembro que pertenece al género Avibirnavirus de la familia Birnaviridae, es uno de los patógenos aviares mas importantes siendo el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa en pollos jóvenes. Este sistema viral ha comprendido el modelo de estudio durante la realización de mi Tesis Doctoral en la identificación del receptor celular a la infección por el virus (CNB-CSIC, Madrid). El proyecto propuesto comprende la utilización de una serie de herramientas moleculares y celulares para el estudio de la vía de internalización celular de IBDV, paso subsiguiente en el ciclo de replicación viral y en relación con la célula hospedadora. Dado que existen fuertes antecedentes que sugieren a la endocitosis como vía celular utilizada por el virus para su ingreso en las células, se propone el estudio del posible papel de diversos componentes involucrados en dicho proceso. La endocitosis es un proceso celular constitutivo mediante el cual porciones de la membrana plasmática junto a material extracelular son internalizados en la célula. Esta vía es empleada por diversos patógenos para ingresar en las células, constituyendo el mecanismo mayormente utilizado por los agentes virales durante su internalización. Concretamente, se estudiarán los siguientes componentes involucrados en la vía: el pH ácido endosomal, la proteína del citoesqueleto actina, las proteínas endosomales Rab5, Rab7, y EEA-1, las proteínas dinamina II, clatrina y caveolina 1, y el colesterol. Por otro lado, se propone la utilización de la microscopía electrónica para llevar a cabo un estudio ultraestructural de la internalización viral. Entre las herramientas celulares que se utilizarán se encuentran: compuestos farmacológicos moduladores de distintos aspectos de la endocitosis, siRNAs, y construcciones plasmídicas que codifican proteínas endosomales mutantes dominantes negativas. Para la detección viral y el análisis de los resultados obtenidos se utilizarán métodos basados en el inmunomarcado de las proteínas virales estructurales mayoritarias y la titulación de viriones infectivos. La realización del proyecto propuesto permitirá contribuir fuertemente al conocimiento de las vías celulares involucradas en la replicación de IBDV. Teniendo en cuenta que soy un Investigador Asistente de reciente reincorporación en Argentina, la financiación del proyecto propuesto permitirá, además, el inicio en el proceso de establecer una línea de virología celular en el IHEM (CONICET-UNCUyo), Mendoza.

Keywords: birnaviridae, entry, endocytosis

Summary: IBDV, a member belonging to the genus Avibirnavirus of the Birnaviridae family, is one of the most important avian pathogens been the etiologic agent of a highly contagious disease in young chickens. This viral system has been the study model for the realization of my PhD in identifying the cellular receptor for the infection by the virus (CNB-CSIC, Madrid). The proposed project involves using a series of molecular and cellular tools to study the pathway of cellular internalization of IBDV, subsequent step in the viral replication cycle and in relationship to the host cell. Since there are strong scientific background that suggest the endocytosis pathway been used by the virus for entry into the cells, this study proposes the research of the possible role of various endocytosis components involved in virus entry. Endocytosis is a constitutive cellular process by which portions of the plasma membrane together with extra cellular material internalize into the cell. This pathway is used by various pathogens to enter the cells, constituting the major mechanism used by viral agents during its internalization. Specifically, I will study the following components involved in the endocytic pathway: the acidic endosomal pH, the cytoskeletal protein actin, endosomal protein Rab5, Rab7, and EEA-1, dynamin II protein, clathrin and caveolin 1, and cholesterol. On the other hand, I propose the use of electron microscopy to perform an ultra structural study of viral internalization. Among the cellular tools I propose to use are: drug compounds that modulate various aspects of endocytosis, siRNA and plasmid constructs encoding dominant negative mutants of endosomal proteins. For viral detection and analysis of the obtained results I will employ methods based on immunolabelling of viral structural proteins and quantitation of infectious virions. The realization of the proposed project will strongly contribute to the knowledge of cellular pathways involved in the replication of IBDV. Given that I am a researcher recently reinstated in Argentina, the funding of the proposed project will also allow the process of establishing a virology cell line in the IHEM (CONICET-UNCuyo), Mendoza.