

## ESTUDIO DE LOS LIPID DROPLETS DURANTE LA INFECCIÓN CON EL ARENAVIRUS JUNÍN

Vazquez, Cecilia Alejandra<sup>1,2</sup>; García, Cybele Carina<sup>2</sup>; Cordo Sandra Myriam<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Procesos Moleculares de la Interacción Virus-Célula, Departamento de Química Biológica (QB), FCEyN, UBA- IQUIBICEN, CONICET.

<sup>2</sup>Laboratorio de Estrategias Antivirales, Departamento de Química Biológica (QB), FCEyN, UBA- IQUIBICEN, CONICET.

Los lipid droplets (LD) son organelas constituidas por un núcleo de lípidos neutros, rodeado por una monocapa de fosfolípidos. En esta monocapa se insertan diferentes proteínas que confieren a los LD diversos roles dentro del metabolismo celular. Entre sus funciones se encuentra actuar como reservorio energético, almacenar moléculas hidrofóbicas, evitar la lipotoxicidad y participar de la respuesta inmune innata. Además, los LD están involucrados en la replicación de diversos virus, como dengue y hepatitis C.

El virus Junín (JUNV), perteneciente a la familia *Arenaviridae*, es el agente etiológico de la fiebre hemorrágica argentina. Es un virus con genoma de ARN que está formado por cuatro proteínas: la nucleoproteína (N), la glicoproteína (G), la proteína de matriz (Z) y la ARN polimerasa viral (L). Nuestros trabajos anteriores demostraron la participación del metabolismo de lípidos en la correcta replicación de JUNV, sugiriendo la importancia del estudio detallado de las estructuras lipídicas y su función en el ciclo de multiplicación del virus. En este trabajo se evaluó el efecto de la modulación de los LD sobre la multiplicación viral. Se utilizaron las líneas celulares HepG2 (hepatocarcinoma humano) y A549 (carcinoma de pulmón humano). Para modular la morfogénesis de los LD, se trataron durante 24 horas monocapas de células con ácido oleico (AO) o el inhibidor de la síntesis de ácidos grasos C75. Las monocapas fueron fijadas y teñidas con Oil Red-O (ORO) para su análisis por microscopía y para la cuantificación de lípidos neutros mediante la medición por absorbancia del colorante retenido. Luego, se estudió el efecto de la modulación de los LD sobre los niveles de replicación viral. Para ello monocapas de células tratadas se infectaron con JUNV (MOI de 0,1) y se analizó la proliferación viral mediante RT-qPCR y mediante titulación de las partículas infectivas generadas. Monocapas tratadas e infectadas de la misma manera se analizaron también por inmunofluorescencia, utilizando anticuerpos específicos contra las proteínas virales o contra la proteína marcadora de los LDs, perilipina 2.

Se pudo verificar mediante la tinción con ORO que los tratamientos con AO y C75 estimulan e inhiben la morfogénesis de LDs, respectivamente. Se comprobó además que la estimulación de los LDs se ve acompañada por un aumento en la multiplicación viral mientras que su inhibición, por una disminución de la misma. Los ensayos de inmunofluorescencia de cultivos tratados con AO, marcando las diferentes proteínas virales y perilipina 2, sugieren una asociación entre la nucleoproteína viral y estas organelas. Por otro lado se observó que en cultivos infectados con JUNV hay una disminución en el número de LDs respecto del número de LDs en las células no infectadas.

En conclusión, mediante el uso de técnicas que permiten el estudio específico de los LD se demostró que la modulación de estas estructuras afecta la replicación de JUNV, así como el patrón de expresión de la nucleoproteína viral. En conjunto, estos resultados sugieren que los LDs tiene un rol relevante en el ciclo de multiplicación de JUNV. El estudio acabado del mismo permitirá identificar nuevos blancos para el desarrollo de terapias antivirales.

Sesión: Interacción Lípido-proteína