

La infección con Chikungunya induce cambios en la localización de la proteína celular reguladora del splicing RBM10

Tejerina, M(1); Magalnik, M(2); Pozzi, B(2); Srebrow, A(2); Álvarez, D(1).

(1) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina; (2) Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE), Universidad de Buenos Aires (UBA) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Contacto: mtejerinacibello@iib.unsam.edu.ar

El virus Chikungunya es un virus de ARN cuya replicación ocurre en el citoplasma y depende de factores celulares del hospedador. Al igual que otros alfavirus, ha desarrollado mecanismos para evadir la respuesta antiviral de la célula mediada por interferón y para inhibir la transcripción celular, provocando un efecto citopático significativo en la célula infectada. Se ha observado que la proteína no estructural 2 (nsp2), además de sus funciones de proteasa y helicasa, transloca al núcleo celular donde desempeña un papel fundamental en la regulación de la respuesta antiviral de la célula. Resultados previos empleando como modelo el virus del Dengue demostraron que la infección impacta en el proceso de splicing alternativo de ARNm celulares como parte de los mecanismos que permiten contrarrestar la respuesta antiviral. En particular, la polimerasa viral NS5 induce la degradación de la proteína de unión al ARN, RBM10, un regulador del splicing alternativo que se localiza en dominios puntiformes irregulares en el núcleo. La disminución de los niveles de RBM10 resulta en la alteración del patrón de splicing de transcritos implicados en la respuesta mediada por interferón, lo que sugiere un papel antiviral para RBM10 en infecciones por Dengue. En base a estos antecedentes, el objetivo de nuestro estudio fue determinar el papel de RBM10 en células infectadas con Chikungunya enfocándonos en el estudio de la localización de RBM10 y en el proceso de splicing en un contexto de infección por dicho virus. Para ello, empleamos un plásmido reportero que sobreexpresa RBM10 y paralelamente, un anticuerpo monoclonal para detectar la expresión endógena de esta proteína en células de mamíferos. Adicionalmente, utilizamos replicones de Chikungunya y plásmidos que codifican proteínas virales estructurales y no estructurales, algunas de ellas fusionadas a genes reporteros. Utilizando microscopía de epifluorescencia y confocal observamos que, en el contexto de una infección por Chikungunya, la localización nuclear de RBM10 se ve alterada, y que la sobreexpresión de proteínas no estructurales del virus es suficiente para modificar el patrón de distribución de RBM10. Específicamente, RBM10 parece formar cúmulos o cuerpos nucleares de mayor tamaño bajo estas condiciones. Para estudiar cambios en el transcriptoma celular ante infección con Chikungunya, analizamos datos de RNA-Seq de células HEK-293T infectadas y no infectadas. Encontramos que la infección produce un enriquecimiento en los

niveles de transcritos de varias proteínas de unión al ARN, muchas de las cuales están asociadas a funciones de splicing, según los análisis de ontología génica. Esto sugiere que el virus Chikungunya podría modular el proceso de splicing. Se abordará como perspectiva si esta modulación reduce la respuesta antiviral y crea un entorno favorable para la replicación y propagación del virus.