

### **Activación de la vía del inflamosoma por Baculovirus dependiente de MyD88**

Carriquiriborde, F(1); Álvarez, C(1); Taboga, O(2); Rumbo, M(1); Molinari, P(2); Biedma, M(1).

(1) Instituto de estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos-CONICET-UNLP-CIC;  
(2) INSTITUTO DE AGROBIOTECNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR  
(IABIMO)-CONICET-INTA

Contacto: *franciscopcarri@gmail.com*

Los Baculovirus son virus a dcADN envueltos que naturalmente infectan insectos. Debido a que son bioseguros y pueden incorporar grandes fragmentos de ADN exógeno, son utilizados como vectores en diversas aplicaciones. Además, son capaces de activar la respuesta inmune innata a través del reconocimiento de su genoma por las vías de TLR-9-MyD88 y cGAS-STING, lo que los posiciona como atractivos vectores vacunales. Con el fin de profundizar el estudio de la respuesta inmune inducida por los baculovirus, en este trabajo analizamos su capacidad de activar otra vía inmune de relevancia, la vía del inflamosoma. Un paso clave de esta vía es la formación de un complejo multiproteico, el inflamosoma, que se activa por 2 pasos secuenciales produciendo piroptosis y liberación de IL-1 $\beta$  e IL-18. El primer paso, "prime", es generado por la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B que promueve la sobreexpresión de los componentes del inflamosoma, así como la pro IL-1 $\beta$  y la pro IL-18. Seguidamente la "señal 2" promueve el ensamblado de los componentes del inflamosoma en su forma activa en un "speck", lo que promueve el clivaje y liberación de dichas citoquinas. Se ha visto que la activación de esta vía es relevante en diversas enfermedades, y la liberación de IL-1 $\beta$  está asociada a la respuesta inmune Th-1/17. Para estudiar la activación del inflamosoma por baculovirus empleamos la línea celular de macrófagos humanos THP1 ASC-GFP, que tiene asociada GFP a la proteína ASC del inflamosoma facilitando la detección de su ensamblado. Esta línea fue estimulada, con distintas dosis de virus en presencia y ausencia de prime (LPS). Mediante citometría de flujo y microscopia evidenciamos la formación del speck clásico de esta vía de manera dependiente de la dosis de baculovirus. Al cuantificar la liberación de IL-1 $\beta$  en los sobrenadantes de estos cultivos confirmamos la activación del inflamosoma. Sorprendentemente, los resultados obtenidos por citometría de flujo y microscopia para los ensayos sin prime muestran niveles equivalentes de formación de speck a los tratamientos con prime; al cuantificar la liberación de IL-1 $\beta$  a los sobrenadantes de los cultivos tampoco se observaron diferencias con los tratamientos con prime. Como control de activación de TLR-9 se midió la liberación de IL-8 en estos sobrenadantes, observándose que los tratamientos con prime liberaron mayores niveles de IL-8. Para estudiar el rol de la rama TLR-9 en la activación del inflamosoma por estos virus utilizamos la línea celular THP1-XBlue™-defMyD88.

La medida de IL-1 $\beta$  en los sobrenadantes de estos cultivos redujo a niveles basales la liberación de la citoquina indicando su dependencia con MyD88. Los resultados obtenidos muestran una fuerte activación de la vía innata del inflamosoma por los baculovirus sin necesidad de un estímulo “prime” y dependiente de la rama TLR-MyD88. Estos estudios aportan a dilucidar los mecanismos inmunológicos que fundamentan la capacidad adyuvante de estos vectores