

Investigación

Rol del complejo motor dineína/dinactina de la célula hospedadora en la biogénesis de la vacuola que contiene a *Coxiella burnetii*

*Role of the dynein/dynactin motor complex of the host cell in the biogenesis of the vacuole containing *Coxiella burnetii*.*

AUTORES

RODOLFO M. ORTIZ FLORES (1 ¶)
JESÚS S. DISTEL (1 ¶)
MILTON O. AGUILERA (1 ¶)
WALTER BERÓN (1*)

1 - Instituto de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo - CONICET, Mendoza, 5500, Argentina.

¶ - Los autores contribuyeron de igual forma a este trabajo.

***** - Autor correspondiente

RESUMEN

En el transporte retrógrado participa el complejo motor dineína/dinactina. *Coxiella burnetii* (Cb) es un patógeno intracelular obligado que transita a través de la vía fagocítica para formar la vacuola replicativa que contiene a Cb (VCC). Existe poca evidencia acerca de la interrelación entre el tráfico intracelular de Cb y proteínas motoras. Para estudiar esa interrelación se analizó la sobreexpresión de las formas WT de las subunidades del complejo motor dineína/dinactina, y la sobreexpresión de las mutantes no funcionales respectivas, alterando la formación de la VCC. Nuestros resultados sugieren que los fagosomas que contienen *C. burnetii*, se transportan utilizando dineína/dinactina para formar la VCC, donde Cb se multiplica.

Palabras clave: *Coxiella burnetii*; dineína/dinactina.

ABSTRACT

In the retrograde transport, the dynein/dynactin motor complex is involved. Coxiella burnetii (Cb) is an obligate intracellular pathogen that transits through the phagocytic pathway to form the replicative vacuole containing Cb (VCC). There is little evidence about the interrelationship between intracellular Cb trafficking and motor proteins. To study this interrelation, we analysed the overexpression of the WT forms of the dynein/dynactin motor complex subunits, and overexpression of the respective non-functional mutants, altering the formation of the VCC. Our results suggest that C. burnetii-containing phagosomes are transported using dynein/dinactin to form the VCC, where Cb is multiplied.

Key words: *Coxiella burnetii*; dynein/dynactin.

INTRODUCCIÓN

Las dineínas citoplasmáticas son en realidad grandes y complejos motores compuestos por dos cadenas pesadas, dos intermedias, una intermedia liviana y una liviana. La cadena pesada pertenece a la familia AAA ("ATPase associated

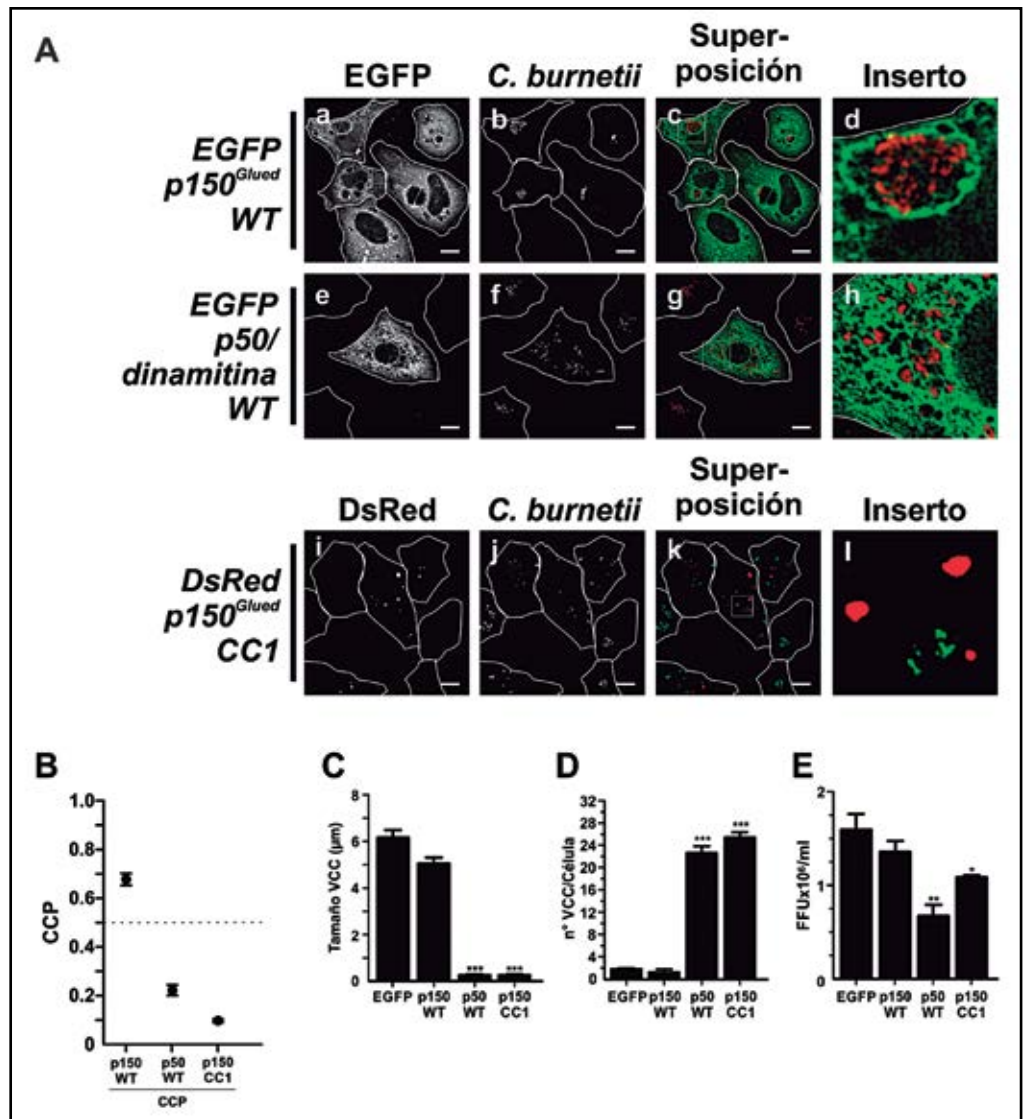
with different activities") de ATPasas y se pliega para formar un anillo heptamérico que posee una corta extensión "coiled-coil" a través de la cual se une a los microtúbulos, y un dominio extendido a través del cual se une a la segunda cadena pesada para formar un dímero y

a las cadenas intermedias y livianas. Si bien existen 7 sitios posibles de unión e hidrólisis de ATP dentro del dominio AAA, la hidrólisis en el sitio AAA1 es necesaria y suficiente para la motilidad a lo largo de los microtúbulos [1]. La dineína trabaja junto con otro complejo

Rol del complejo motor dineína/dinactina de la célula hospedadora en la biogénesis de la vacuola que contiene a *Coxiella burnetii*

Rodolfo M. Ortiz Flores; Jesús S. Distel; Milton O. Aguilera; Walter Berón

Figura 1: El complejo motor dineína/dinactina interviene en la formación de la VCC. Células HeLa previamente infectadas y transfectadas con lipofectamina™2000 fueron fijadas y procesadas para IFI. Anti-*C. burnetii* (Pseudocolor rojo en panel a - h, Pseudocolor verde en panel i - l). (A) Sobreexpresión en células HeLa de EGFP-p150gluedWT (panel a - d), EGFP-p50/dinamitinaWT (panel e - h) y DsRed-p150gluedCC1 (panel i - l). Barra = 10µm. (B) Gráfico de CCP mostrando correlación del constructo con la VCC. (C) Análisis estadístico de la cuantificación del tamaño de la VCC. (D) Análisis estadístico de la cuantificación del número de VCC por célula. (E) Análisis estadístico de la multiplicación bacteriana expresada en FFUx106/ml. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, a partir de tres ensayos independientes, contando treinta células por ensayo.



grande de proteínas, llamado dinactina que se requiere para prácticamente todas las funciones conocidas dineína [2]. Este complejo motor llamado dineína/dinactina, "camina" sobre el microtúbulo [3]. Su dirección y el tiempo que permanece unido este complejo, al microtúbulo, aún está en discusión. El complejo dinactina contiene muchas subunidades proteicas de interés, pero de todas, este manuscrito se centrará en dos de ella: p150glued y p50/dinamiti-

na. p150glued es uno de los componentes más extensos del complejo dinactina con sitios de contacto para interactuar con el microtúbulo, hacia la región N-terminal, sitios de unión para el complejo dineína (llamado coiled-coil), y sitios de unión con otros elementos del complejo, en la región C-terminal. Gracias a estos dominios, p150glued proporciona estabilidad al complejo motor dineína/dinactina, tanto para su movimiento, como para el transporte del cargo [4].

Por otro lado, autores han demostrado que la subunidad p50/dinamitina cumple una función central en este complejo ya que esta es quien dispone la unión de p150glued al complejo, y, por ende, la estabilidad del complejo motor dineína/dinactina, regulando la organización estructural de este. Además, se ha demostrado que este complejo está regulado por la expresión de esta proteína ya que al sobreexpresarla, se produce una desestabilización y disociación del