

La proteina ANK1, codificata dal polydnavirus *TnBV*, induce apoptosi *in vivo* e *in vitro* interagendo con la proteina Alix

R. Salvia¹, G. Grossi¹, A. Amoresano², C. Scieuzo¹, M. Nardiello¹, A. Scala¹, M. Petrone¹, S. Laurino¹, H. Vogel³, S. B. Vinson⁴, M. Carmosino¹, P. Pucci², P. Falabella¹

¹ Università degli Studi della Basilicata - Dipartimento di Scienze; ² Federico II University - Department of Chemical Sciences; ³ Max Planck Institute for Chemical Ecology - Department of Entomology; ⁴ Texas A&M University - Department of Entomology

Toxoneuron nigriceps (Hymenoptera, Braconidae) è un parassitoide endofago degli stadi larvali di *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae). L'espressione dei geni del bracovirus associato a *T. nigriceps* (*TnBV*), nelle larve parassitizzate, gioca un ruolo importante nella soppressione della risposta immunitaria e nelle alterazioni dell'equilibrio endocrino dell'ospite. Il genoma di tale polydnavirus è attualmente in fase di studio: sono stati isolati diversi geni virali espressi nei tessuti delle larve parassitizzate ed il loro possibile ruolo è stato in parte chiarito. Una delle famiglie geniche identificate, è caratterizzata da ripetizioni di anchirine e mostra similarità significativa con il gene IκB, un inibitore del fattore nucleare di trascrizione κB (NF-κB). È stato dimostrato che la proteina ANK1, in cellule di mammifero, è in grado di modulare negativamente la via di segnalazione NF-κB, impedendone la sua traslocazione nel nucleo e quindi la sua funzione di regolatore della risposta immunitaria.

Riportiamo il ruolo di *TnBVank1* sia *in vitro* che *in vivo*, rispettivamente nelle cellule policlonali di insetto *Drosophila Schneider's S2* che esprimono il gene *TnBVank1* stabilmente, e negli emociti di *H. virescens* precedentemente trasfettati transientemente con il gene *TnBVank1*. Nelle cellule *S2* sono stati osservati nuclei apoptotici e un incremento dell'attività della caspasi-3. Questo risultato è in accordo con quanto osservato negli emociti, infatti il saggio fluorimetrico della caspasi-3 ha rilevato un'elevata attività di questo enzima quando questi esprimevano il gene *TnBVank1* mediante transfezione transiente *in vivo*.

Al fine di studiare le vie biochimiche in cui *TnBVank1* è coinvolto e per investigare il meccanismo attraverso il quale induce apoptosi, sono stati effettuati esperimenti di co-immunoprecipitazione delle proteine estratte dalla linea di cellule *S2* che esprime stabilmente *TnBVank1*. È emerso che ANK1 interferisce con il pathway di NFκB, interagendo con NFκB e con diverse altre proteine coinvolte nella morte cellulare programmata. Tra queste, la nostra attenzione si è focalizzata su Alix (ALG-2-interacting protein X), un interattore di ALG-2 (apoptosis-linked gene protein 2). Il possibile ruolo dell'interazione ANK1-Alix è stato analizzato mediante silenziamento genico di Alix, (RNA interference), *in vitro* e *in vivo*, ed è stata valutata l'attività apoptotica nei campioni silenziati. I risultati hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli di apoptosi sia nelle cellule policlonali *S2* che negli emociti di *H. virescens* che esprimevano il gene *TnBVank1*.

Questi risultati indicano che ANK1 induce apoptosi interagendo con Alix, suggerendo che questo ruolo potrebbe essere rilevante nella soppressione della risposta immunitaria osservata nelle larve di *H. virescens* parassitizzate da *T. nigriceps*.