

Análisis | Investigación en León

Análisis de dianas celulares frente a nuevos antimicrobianos

Investigadores de la Universidad han controlado el gen responsable de la división y elongación celular en ciertas bacterias a fin de diseñar nuevas estrategias para combatirlas

Michal Letek Polberg

LEÓN

■ Las bacterias, en general, tienen una capacidad extraordinaria de hacerse resistentes a los antibióticos usados en medicina, agricultura o sanidad animal. En los últimos años ha habido un rebrote de enfermedades bacterianas, en parte debido al uso indiscriminado y abuso de antibióticos y a la aparición y diseminación de bacterias multirresistentes. Un ejemplo lo constituye la cepa *Mycobacterium tuberculosis* XDR TB (extensively drug-resistant tuberculosis), resistente a todos los antibióticos utilizados y extremadamente virulenta, que recientemente fue aislada en Sudáfrica y ha sido motivo de alarma social durante la XVI Conferencia Internacional de SIDA (Toronto, Canadá, Agosto 2006).

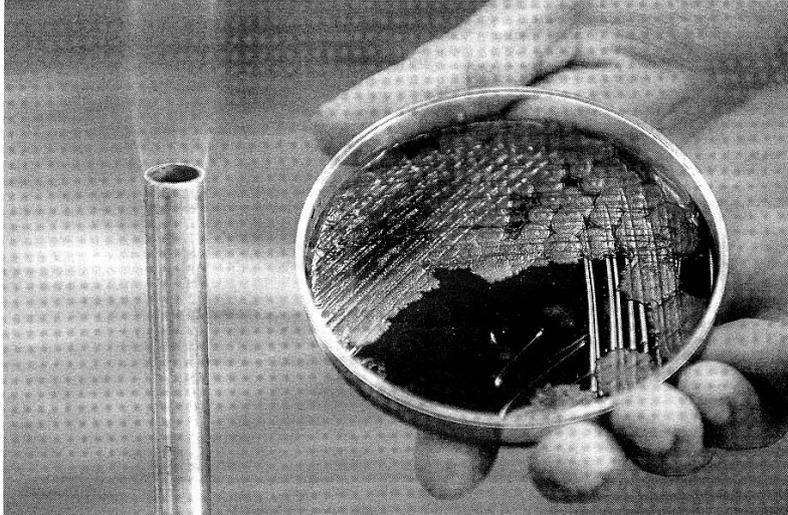
La diseminación de las resistencias a antibióticos limita totalmente las opciones terapéuticas para el tratamiento de enfermedades bacterianas importantes, en especial en pacientes inmunosuprimidos: tuberculosis, trastornos gastrointestinales, meningitis, neumonías, etcétera.

El objetivo general del estudio de la división y elongación celular en bacterias es el de identificar dianas celulares frente a nuevos agentes antimicrobianos con el objeto de conocer su funcionamiento y diseñar nuevas estrategias para combatir infecciones humanas producidas por bacterias.

Las especies patógenas de corinebacterias y micobacterias se caracterizan por presentar múltiples resistencias frente a antibióticos, siendo por ello cada vez más difícil su tratamiento, en especial en el caso de pacientes inmunosuprimidos. La tasa de propagación de estas resistencias frente a los antibióticos utilizados actualmente para combatir estas infecciones es mucho mayor que la velocidad a la que se consiguen encontrar nuevos agentes antimicrobianos.

Producción de antibióticos

Las especies de corinebacterias no patógenas han sido ampliamente utilizadas en la producción de metabolitos primarios (aminoácidos o nucleótidos) o secundarios.



VÍCTOR R. CAIVANO

Se ha analizado un gen esencial en el crecimiento de una peligrosa bacteria

Los resultados de la presente investigación demuestran que es posible conseguir una expresión controlada del gen de elongación celular en corinebacterias

Entre los usos industriales más frecuentes de las corinebacterias se pueden destacar además el interés en la producción de antibióticos (corinecinas) y compuestos antitumorales. Otras aplicaciones industriales incluyen la degradación de hidrocarburos y producción de agentes emulsificantes. En el grupo heterogéneo constituido por las bacterias corineformes algunas cepas se caracterizan por excretar aminoácidos, entre ellos ácido glutámico como *Corynebacterium glutamicum*, que es el microorganismo modelo usado en nuestro laboratorio.

Las bacterias poseen una pared celular compuesta por peptidoglicano o mureína, también denominado «exoesqueleto» bacteriano, que se considera un andamio externo que recubre totalmente la célula bacteriana. Este andamio externo protege las bacterias y evita su ruptura. Estudios recientes apuntan a que existe también un citoesqueleto interno formado por homólogos de la tubulina eucariótica (FtsZ), de la actina (MreB/Mbl), e incluso de los filamentos intermedios cuya función sería la de servir de andamio interno para la síntesis de pared celular.

La mayoría de las bacterias bacilares presentan un sistema de elongación celular (crecimiento) mantenido por las estructuras helicoidales del citoesqueleto bacteriano. Estas estructuras recorren toda la célula y sustentan la síntesis de peptidoglicano a nivel de las paredes laterales de la célula. Sin embargo, en corinebacterias y en otros actinomicetos la síntesis de pared celular durante la elongación se produce en los polos celulares (crecimiento apical) y carecen de ese andamio interno típico de las bacterias bacilares.

El gen del crecimiento

Nuestro grupo ha estudiado el gen *divIVA*, un gen esencial implicado en el crecimiento polar de *C. glutamicum*. La proteína codificada por este gen se descubrió inicialmente en *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium leprae* pero se desconocía su función. Con los estudios realizados en nuestro laboratorio de la Universidad de León, enmarcados en el trabajo titulado «Implicación de la proteína *Diviva* en el crecimiento polar de *Corynebacterium glutamicum*» desarrollado por el autor de este artículo y dirigidos por los doctores

José Antonio Gil Santos y Luis Mariano Mateos Delgado, hemos podido averiguar la función de este gen tanto en *Corynebacterium* como en *Mycobacterium* y hemos descifrado el porqué se encuentran anticuerpos frente a esta proteína en pacientes con tuberculosis o lepra, lo que abre la posibilidad del uso de este gen/proteína en el diagnóstico de dichas enfermedades.

Tradicionalmente la caracterización de cualquier gen se basa en analizar el fenotipo de cepas en las que se ha alterado la expresión de este gen con el fin de aumentar o disminuir el producto de expresión correspondiente. Este objetivo es difícil de cumplir cuando se trata de genes esenciales como el estudiado en esta investigación, en los que una pequeña alteración en su expresión puede ser letal para el organismo. Además, cualquier alteración de la morfología celular puede provocar directa o indirectamente otros cambios fisiológicos que complican enormemente la interpretación de los resultados. Para caracterizar estos genes esenciales se recurre frecuentemente al uso de determinadas herramientas que nos permitan modular la expresión de los genes objeto de estudio. Una de las estrategias más usadas lo constituyen los promotores regulables, que son como los motores que permiten la expresión de los genes. Los resultados de la presente investigación demuestran que es posible conseguir una expresión controlada del gen de elongación celular *divIVA* y por tanto regular la expresión de genes esenciales en corinebacterias usando los promotores de los genes de utilización de glucónico (*gnt*).

Utilizando este sistema se ha conseguido reducir la expresión del gen esencial *divIVA*, obteniéndose cepas con morfología cocoide como consecuencia de una ausencia total de crecimiento polar. La falta de *DivIVA* en las cepas de expresión reducida de *C. glutamicum* sólo fue complementada por *DivIVAs* de otros actinomicetos, pero no por proteínas *DivIVA* de *Bacillus subtilis* o *Streptococcus pneumoniae*. La proteína *DivIVA* está formada por varios dominios, y se pudieron obtener proteínas quimera funcionales usando los dominios de varios microorganismos. De esta forma se han caracterizado las funciones biológicas realizadas por cada uno de los dominios estudiados. Finalmente, como aplicación práctica de los resultados obtenidos, y en colaboración con el servicio de Microbiología del Hospital de León, se ha utilizado el gen *divIVA* como diana de amplificación por PCR con objeto de identificar corinebacterias patógenas.