

SEBBM DIVULGACIÓN

ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



La conjugación bacteriana y el desafío de la resistencia a antibióticos

Itziar Alkorta

Unidad de Biofísica Centro Mixto CSIC-UPV

Biografía *Resumen*

Itziar Alkorta es licenciada en Química por la Universidad del País Vasco UPV/EHU (1989), donde también se doctoró en Bioquímica en 1994. Durante su estancia postdoctoral en el Lawrence Berkeley Laboratory, UC Berkeley, trabajó en la caracterización de la topoisomerasa I de Rhodobacter capsulatus. Tras sus estudios en Berkeley, en 1996 se incorporó al Grupo de Biomembranas del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad del País Vasco UPV/EHU de donde es profesora titular. Actualmente dirige un grupo de investigación en la Unidad de Biofísica Centro Mixto CSIC-UPV cuyo mayor objetivo es contribuir al conocimiento del mecanismo molecular de la conjugación bacteriana en general y de las proteínas acopladoras en particular para poder así aportar soluciones al problema de la diseminación de resistencias a antibióticos entre bacterias.

Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes representan uno de los mayores problemas de salud pública. La conjugación bacteriana es el principal mecanismo responsable de la diseminación de resistencias a antibióticos entre bacterias. En particular la proteína acopladora (T4CP) es esencial en el proceso. Por tanto, el estudio del mecanismo molecular de estas proteínas puede aportar las claves necesarias para desarrollar estrategias terapéuticas alternativas en el tratamiento de dichas infecciones.

Summary

Infections caused by multiple antibiotic resistant bacteria represent one of the most important health problems. Bacterial conjugation is the main mechanism responsible for the spread of antimicrobial resistance among bacteria. In particular, the type IV coupling proteins (T4CP) are essential for bacterial conjugation. Therefore, the study of the molecular mechanisms of these proteins will contribute to the development of new therapeutic strategies against these infections.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA: http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107

El descubrimiento de los antibióticos ha sido uno de los mayores logros de la medicina moderna. No obstante, en las últimas décadas, el problema de la **resistencia a antibióticos** se ha extendido a un gran número de cepas de bacterias patógenas. En concreto, alrededor del 70% de las infecciones bacterianas hospitalarias presentan resistencia a más de un antibiótico, hecho que complica extraordinariamente su tratamiento. Es por ello que la resistencia a antibióticos se ha convertido en una seria amenaza para la salud pública global; por otra parte, la creciente prevalencia de cepas bacterianas multirresistentes supone un grave problema económico y social [1].

El abuso y mal uso de los antibióticos, tanto en medicina como en veterinaria, destaca como la causa principal de la resistencia a antibióticos y, asimismo, contribuye a incrementar la presión ambiental requerida para mantener y diseminar los genes de resistencia a antibióticos en el mundo bacteriano. De forma preocupante, en la actualidad, esta situación se ha agravado como resultado de la disminución de recursos dedicados a la investigación en nuevos agentes antibacterianos y, de forma concomitante, la escasez de propuestas novedosas en el campo del tratamiento de las infecciones bacterianas. A la luz de esta problemática se hace imprescindible encontrar soluciones innovadoras que maximicen la eficacia de los tratamientos de control de las infecciones bacterianas.

La **conjugación bacteriana** es el mecanismo de transferencia de material genético más sofisticado y con mayor influencia en el flujo de genes entre bacterias, responsable de la citada adquisición de resistencia a antibióticos. La información genética necesaria para la

conjugación bacteriana se encuentra codificada en los **plásmidos conjugativos** y se transfiere de la bacteria donadora (aquella que contiene el plásmido) a la bacteria receptora (aquella que carece de dicho plásmido) mediante un mecanismo que implica el contacto directo entre ambas células. Los genes que codifican las proteínas necesarias para la resistencia a antibióticos y los factores de virulencia son, asimismo, transferidos mediante conjugación bacteriana. En consecuencia, los plásmidos conjugativos tienen una gran relevancia epidemiológica, como se deriva de su capacidad para promover la **diseminación horizontal de genes de resistencia a antibióticos entre bacterias**, contribuyendo al incremento de cepas patógenas multirresistentes.

El proceso de la conjugación bacteriana se puede dividir en tres etapas: (i) el **procesamiento del ADN sustrato** o formación del relaxosoma, (ii) su **reclutamiento** hasta el canal de secreción (T4SS) y (iii) la **translocación** del plásmido a la célula receptora a través del T4SS [2]. El plásmido conjugativo codifica todas las proteínas implicadas en el proceso, las cuales se clasifican en cuatro grupos funcionales: proteínas que procesan el plásmido para ser transferido, ATPasas que aportan energía, proteínas que forman el canal de secreción y proteínas formadoras del pilus.

La **proteína acopladora** (T4CP), una ATPasa que actúa como conector entre el relaxosoma y el T4SS, es un elemento clave en los sistemas conjugativos. La mayoría de las T4CP son proteínas integrales de membrana, formadas por un dominio transmembrana pequeño (TMD) y un dominio citosólico muy voluminoso, el cual está constituido por los dominios de unión a nucleótidos Walker A y Walker B característicos de las F_0F_1 ATPasas. Además de conectar el relaxosoma y el T4SS, las proteínas T4CP podrían estar implicadas en el aporte de la energía necesaria para transportar el relaxosoma a través del T4SS. A pesar de su importancia, no son muchas las T4CP estudiadas, siendo la T4CP del plásmido R388, TrwB, el prototipo de esta familia de proteínas. TrwB es una proteína integral de membrana de 507 aminoácidos en donde el dominio TMD está compuesto por los 70 primeros residuos N-terminales [3]. A pesar de la

presencia de los motivos de unión a nucleótidos en su dominio citosólico, hasta la fecha, la actividad ATPasa ha sido descrita únicamente en una proteína mutante soluble de TrwB a la que se había eliminado el TMD, TrwB Δ N70. Esta proteína mutante presenta actividad ATPasa dependiente de ADN [4]. Por otra parte, estudios sobre la unión a nucleótidos realizados con la proteína salvaje TrwB, purificada en presencia de detergente o reconstituida en liposomas, indican que tanto el dominio TMD como la propia membrana regulan la unión a nucleótidos de TrwB. Esta proteína silvestre muestra especificidad por ATP, a diferencia de TrwB Δ N70 que une indiscriminadamente cualquier nucleótido [5]. Los resultados de unión a nucleótidos y actividad ATPasa sugieren que el dominio TMD ejerce un papel regulador en la actividad de TrwB. Además de su interacción con el relaxosoma, TrwB interacciona con el T4SS a través de su TMD [6], subrayando el papel esencial del TMD en la comunicación de TrwB con los elementos del sistema conjugativo.

En la actualidad se están llevando a cabo estudios con otras T4CP con el fin de elucidar el mecanismo molecular de esta familia de proteínas. En concreto, el conocimiento de la regulación de la actividad ATPasa, mediante la comunicación entre los dominios transmembrana y citosólico de las T4CP, contribuirá al diseño de inhibidores específicos de estas proteínas en particular y de la conjugación bacteriana en general. El objetivo último de esta investigación es contribuir a la solución del problema de la adquisición de nuevas resistencias a antibióticos en bacterias patógenas.

Referencias

- [1] World Health Organization 2014, ISBN 978 92 4 156474 8.
- [2] Bhatti, M., Laverde Gomez, J. A. y Christie, P. J. (2013) *Res. Microbiol.* 164, 620-639.
- [3] Hormaeche, I., Alkorta, I., Moro, F., Valpuesta, J. M., Goñi, F. M. y de la Cruz, F. (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 46456-46462.
- [4] Tato, I., Zunzunegui, S., de la Cruz, F. y Cabezon, E. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 8156-8161.
- [5] Vecino, A. J., Segura, R. L., Ugarte-Urbe, B., Águila, S., Hormaeche, I., de la Cruz, F., Goñi, F. M. y Alkorta, I. (2010) *BBA Biomembranes* 1798, 2160-2169.
- [6] Segura, R. L., Aguila-Arcos S., Ugarte-Urbe B., Vecino A. J., de la Cruz F., Goñi F. M. y Alkorta I. (2013) *BBA Biomembranes* 1828, 2015-2025.

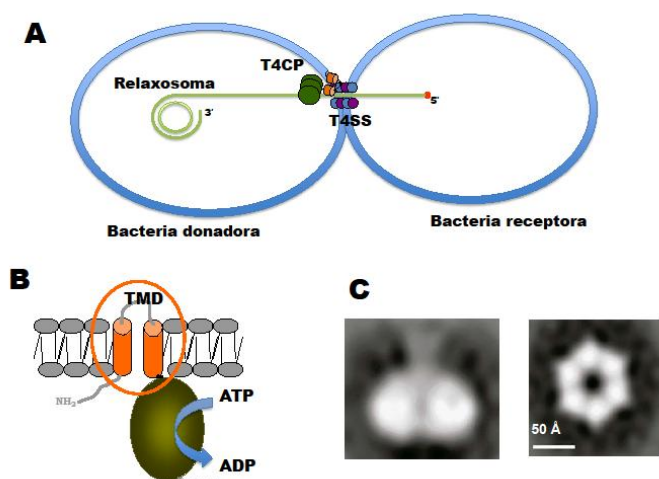


Figura. A) Esquema general de la conjugación bacteriana. B) Representación esquemática de un monómero de la proteína acopladora. C) Imagen de microscopía electrónica de un hexámero de la proteína acopladora TrwB [3].