

29 DE JUNIO DE 2000

Cómo la bacteria *E. coli* lleva a las células intestinales al borde de la muerte

Un equipo de biólogos moleculares y de cristalógrafos de rayos X ha producido la primer imagen detallada que muestra cómo la bacteria patógena *E. coli* logra poner a las células intestinales al borde de la muerte molecular. La estructura podría revelar los pasos fundamentales en la adhesión de *E. coli* que los científicos pueden atacar con drogas diseñadas para bloquear la infección, al detener la unión de la bacteria.

La bacteria *E. coli* incluye cepas enteropatógenas que son una causa importante de diarrea infantil en países en vías de desarrollo, y matan a cerca de un millón de niños por año debido a deshidratación y a otras complicaciones. Esta familia de patógenos también incluye a *E. coli* O157:H7, una cepa muy relacionada que contamina hamburguesas y otros alimentos. *E. coli* O157:H7 causa por lo menos 20.000 casos de diarrea sanguinolenta y más de 200 muertes al año en los Estados Unidos, debido a insuficiencia renal que ocurre especialmente en niños pequeños y ancianos.

"Es la primera vez que alguien ha resuelto la estructura de un complejo bacteriano de adhesina y de su receptor. Y en este caso, se ha dado un giro estupendo porque el receptor es, en realidad, una proteína bacteriana que *E. coli* utiliza para arponear a las células de mamíferos."

— **Brett Finlay**

Natalie C. J. Strynadka y B. Brett Finlay en la Universidad British Columbia condujeron al equipo de los investigadores colaboradores que resolvió la estructura del complejo formado por la interacción entre el receptor y la intimina de *E. coli*. Los investigadores informaron sus resultados en un artículo en el número del 29 de junio de 2000, de *Nature*. Finlay es un becario de investigación internacional del HHMI en Canadá. Yu Luo, becario postdoctoral en el laboratorio de Strynadka, fue el primer autor del informe.

La intimina es una proteína, llamada adhesina, que se ancla en la membrana externa de la bacteria. La bacteria se une primeramente a una célula intestinal blanco "arponando" y encajando su receptor, llamado receptor translocador de intimina (Tir, por sus siglas en inglés), en la membrana de la célula epitelial huésped. La nueva información estructural demuestra cómo la bacteria se une a las células intestinales al unir sus proteínas intiminas a las proteínas Tir insertadas.

"Sabíamos que estas moléculas estaban implicadas en la adhesión y que esta unión era esencial para la enfermedad, pero no teníamos ninguna idea sobre cómo se ligaban realmente a nivel molecular", dijo Finlay.

Los investigadores obtuvieron la imagen del complejo compuesto por intimina y Tir, utilizando cristalografía de rayos X. En esta técnica extensamente usada, los rayos X se emiten a través de los cristales de una proteína y los patrones intrincados que resultan de la difracción de los rayos X emergentes son analizados, usando una computadora, para deducir la estructura de la proteína.

En el caso del complejo intimina-Tir, sin embargo, los cristales de todo el complejo proteico eran demasiado inestables para ser analizados.

"Abordamos la solución del complejo de estas dos proteínas de membrana al crear varias docenas de preparaciones de ADN para intentar llegar a obtener fragmentos funcionales más pequeños de cada una de las proteínas", dijo Strynadka. "Una vez que los tuvimos, fuimos capaces de producir los cristales para el análisis".

Con la becaria posdoctoral Elizabeth Frey que creaba los fragmentos de la proteína y con el becario posdoctoral Luo, del laboratorio de Strynadka, quien realizaba el análisis cristalográfico, los científicos finalmente obtuvieron una imagen del complejo intimina-Tir completo.

La estructura revela que el complejo proteico presenta "brazos" rígidos con "manos" sujetadoras ubicadas en el extremo de la intimina, que se estiran para asir al receptor. Los brazos de la proteína están doblados de tal forma que son capaces de aferrar la bacteria a la superficie de la célula intestinal.

"Es la primera vez que alguien ha resuelto la estructura de un complejo bacteriano de adhesina y de su receptor", dijo Finlay. "Y en este caso, se ha dado un giro estupendo porque el receptor es, en realidad, una proteína bacteriana que *E. coli* utiliza para arponear a las células de mamíferos".

Un hallazgo particularmente importante, dijo Finlay, es que la estructura cristalográfica demuestra que cada Tir consiste de dos unidades unidas, que forman una estructura llamada dímero.

"Esa dimerización entrecruza al sistema", dijo. "Como las superficies de un cierre de abrojo que se pegan una con otra. Cuando se tiene un solo par de puntas entrecruzadas, el cierre no se pega muy bien, pero si se tiene todo un grupo de ellas, se logra una buena adhesión". Al unirse a la célula intestinal,

la bacteria utiliza probablemente innumerables uniones entre intimina y Tir, dijo Finlay.

"Es una bacteria grande, y como en el acoplamiento de Hindenburg, una cuerda no va a sujetarlo", dijo. "Pero cuando se tienen muchos de estos complejos pegando la bacteria a la superficie, se consigue una adherencia fuerte porque esos elementos son resistentes".

También fue sorprendente, dijo, que la estructura de la proteína de la intimina - que se une a un receptor que la bacteria dispara al interior de su célula huésped - es muy semejante a otra proteína bacteriana de adhesión, llamada invasina, que se encuentra en un patógeno bacteriano diferente. La proteína invasina, en claro contraste, se une a un receptor encontrado naturalmente en la membrana de su célula mamífera huésped.

"Fue sorprendente que estas dos moléculas bacterianas que se unen a diversas clases de receptores parecieran ser tan similares", dijo. Estudios adicionales sobre estas interacciones entre intimina y Tir podrían generar un entendimiento fundamental e importante sobre cómo otros tipos bacterianos se unen a las células, y cómo las células en general se unen unas a otras, dijeron Finlay y Strynadka. Finlay también enfatizó que la estructura del complejo intimina-Tir ofrecerá una valiosa comprensión para ayudar al diseño de drogas.

"Una vez que se conoce la estructura molecular de este complejo, se puede pensar en hacer un diseño racional de drogas inhibitorias", dijo Finlay. "Al conocer la estructura de la secuencia de las proteínas implicadas, se sabe qué piezas son absolutamente claves para la adherencia, y se puede diseñar drogas para bloquear esa adhesión". Según Finlay, tal información estructural podría conducir al desarrollo de una vacuna para la niñez para prevenir la infección con *E. coli*. Dado que la infección con *E. coli* se puede transmitir del ganado a los seres humanos, los investigadores también están trabajando en el desarrollo de una vacuna similar para el ganado, dijo.