

2016 Mayo, 6(2): 1-1

INTERACCIÓN DE LA TOXINA ALFA HEMOLISINA DE E. COLI CON SISTEMAS MODELO DE MEMBRANAS

Vazquez, R1*; Daza Millone, A2*; Vela, M.E2; Bakás,L3; Herlax,V1; Maté,S1.

1-Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

2-Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), UNLP

3-Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP * Ambos autores contribuyeron de igual manera al trabajo. Dirección electrónica: smate@med.unlp.edu.ar

Introducción

La toxina alfa hemolisina (HlyA) constituye un importante factor de virulencia de diversas cepas uropatógenas de E. coli; la misma es secretada al medio extracelular donde lisa un amplio rango de células blanco. Un paso clave en su mecanismo de acción es la interacción con la membrana de la célula blanco. Los sistemas modelo de membranas constituyen una herramienta muy útil para el estudio de la interacción proteína-membrana. Como sistemas modelo, las monocapas y bicapas lipídicas, permiten estudiar la interacción de distintos compuestos, entre ellos fármacos y proteínas, variando su composición y propiedades físicas de manera controlada. Las bicapas soportadas permiten emplear técnicas de fisicoquímica de superficies, entre las cuales, la resonancia de plasmones superficiales (SPR) constituye una técnica muy valiosa para el estudio de interacciones entre biomoléculas. En general, permite la determinación de forma rápida y directa de las velocidades de asociación y disociación, sin necesidad de marca, purificación extra y con una alta sensibilidad de detección.

Objetivos

Emplear técnicas analíticas avanzadas para el estudio de la interacción de HlyA con membranas de distinta composición lipídica con el objetivo de comprender su mecanismo de inserción.

Materiales y métodos

La inserción de HlyA en monocapas lipídicas de distinta composición se midió utilizando una balanza de Langmuir, tomando registros de presión superficial y evaluando el grado de inserción de la toxina a través del incremento observado en la presión superficial. Las constantes de afinidad y la cinética de interacción con bicapas lipídicas soportadas se realizó mediante SPR utilizando un equipo BioNavis (SPR Navi 200) en flujo continuo.

Resultados

Se evaluó la interacción de HlyA con monocapas compuestas por los lípidos más abundantes en la membrana celular, comprobándose que la toxina se inserta en todas ellas generando un aumento de la presión superficial. Las medidas de SPR permitieron monitorear en tiempo real la interacción de la toxina con bicapas soportadas permitiendo analizar la cinética de unión y la afinidad por las mismas.

Conclusiones

El estudio de las interacciones entre biomoléculas, como una toxina bacteriana, o compuestos que pueden alterar la membrana celular, como fármacos, con la membrana resulta de vital importancia para el desarrollo de estrategias terapéuticas. Distintas técnicas pueden ser aplicadas para el estudio de estas interacciones, desde las más simples como la interacción con monocapas hasta técnicas de más reciente desarrollo como SPR utilizando bicapas soportadas. Este trabajo demuestra la utilidad del uso de sistemas modelo de membrana y la aplicación de estas dos metodologías como herramientas para el estudio de la interacción de la toxina HlyA con membrana.

Palabras claves: toxinas, membranas, SPR