

Envolturas microbianas

Característica	Bacterias	Hongos	Protistas
Tipo celular	Procariotas	Eucariotas	Eucariotas
Membrana plasmática	Sí (bicapa lipídica)	Sí (con ergosterol)	Sí (composición variable)
Pared celular	Presente en la mayoría	Presente	Variable (puede faltar)
Composición de la pared	Peptidoglicano (mureína)	Quitina + glucanos + manoproteínas	Celulosa, sílice, CaCO ₃ o ausente
Organización de la envoltura	Simple o doble (Gram + / Gram -)	Compleja, multicapa	Muy diversa
Estructuras adicionales	Membrana externa (Gram -), LPS, periplasma	Matriz fibrilar compleja	Pellicle*, cubiertas minerales
Rigidez estructural	Alta	Alta pero dinámica	Variable
Función principal	Protección, forma, resistencia osmótica	Soporte, protección, crecimiento	Protección, soporte, adaptación
Particularidades clave	Gram + (pared gruesa) / Gram - (membrana externa)	Ergosterol (blanco antifúngico)	Alta diversidad estructural

Pellicle* película proteica

El Origen de la Envoltura Celular y la Divergencia de Dominios

El Desafío Biofísico

¿Cómo puede una estructura de escala micrométrica resistir presiones osmóticas masivas sin colapsar?

Frente a un entorno de caos químico (ácidos, sales, xenobióticos): ¿Quién regula el "derecho de admisión"? ¿Qué sería de las células sin las envolturas?

¿Es la envoltura una barrera estática o un sistema inteligente de adaptación ante los cambios en el medio ambiente?

*La respuesta a estos interrogantes determinó el éxito biológico en nuestro planeta: la **envoltura como una adaptación dinámica** ante desafíos de presión y energía.*

Línea de tiempo evolutiva. Necesidad de confinar las moléculas y separar cargas (PMF) y contrarrestar la presión osmótica interior

1-Protocélulas. Bolsas de ác. grasos simples que rodean el ARN o ADN

2-Divergencia procarionte. Invento de la pared arqueas y bacterias.

3- Eucariogénesis: Flexibilización de la pared y de las membranas.

4- Especialización secundaria. Nueva armadura-Quitina y celulosa

Esta divergencia estructural entre las envolturas dictó su capacidad de colonización de nichos ecológicos divergentes

Envolturas microbianas, el invento más exitoso de la evolución

- La envoltura **no es solo una "bolsa"**, es un mecanismo de ingeniería sofisticado que decide qué entra, qué sale y cómo resistir la presión.
- La envoltura microbiana **no es una frontera pasiva**; es el motor de la quimiosmosis y la primera línea de defensa ante el estrés ambiental
- La evolución no solo diseñó una barrera, **sino una interfaz de transferencia de información y energía altamente especializada**
- Entenderemos que la arquitectura molecular de las envolturas **no es azarosa** es la respuesta mecánica a presiones osmóticas masivas y la solución termodinámica para mantener la vida fuera del equilibrio.
- Evoluciono de ser una simple bolsa de grasa **a una multicapa inteligente** que dicta donde puede vivir un MO y que tan difícil es matarlo
- **Vamos a analizar cómo la química de estos polímeros ha dictado el éxito evolutivo de los distintos dominios de la vida**

Envolturas Microbianas-Paredes celulares

”

Característica	Bacterias/arqueas	Hongos	Protistas
Tipo celular	Procariotas	Eucariotas	Eucariotas
Membrana	Sí	Sí (ergosterol)	Sí (variable)
Pared celular	Sí (mayoría)	Sí	Variable
Composición pared	Peptidoglicano/pseudomureina/micólicos	Quitina + glucanos+mano proteínas	Celulosa / sílice / CaCO_3 / ausente

La pared celular es una parte de la envoltura, la envoltura es el todo incluyendo la membrana citoplasmática

Envolturas Microbianas

Característica	Bacterias/arqueas	Hongos	Protistas
Organización	Gram + / Gram - /BAAR/arqueas	Multicapa compleja	Muy diversa
Estructuras extra	M Externa/LPS, micólicos, teicoicos/otros	Matriz fibrilar	Películas, cubiertas minerales
Rigidez	Alta	Alta (dinámica)	Variable
Función	Protección y forma	Soporte/crecimiento , forma/protección	Adaptación/soporte/pro tección
Clave	Variabilidad Gram	Ergosterol	Alta diversidad

La envoltura celular es la interfaz clave entre el microorganismo y su ambiente

Las paredes celulares determinan estructura, protección y capacidad de adaptación

Sus variaciones explican la diversidad microbiana y su éxito evolutivo

Son fundamentales en diagnóstico, patogenicidad y tratamiento

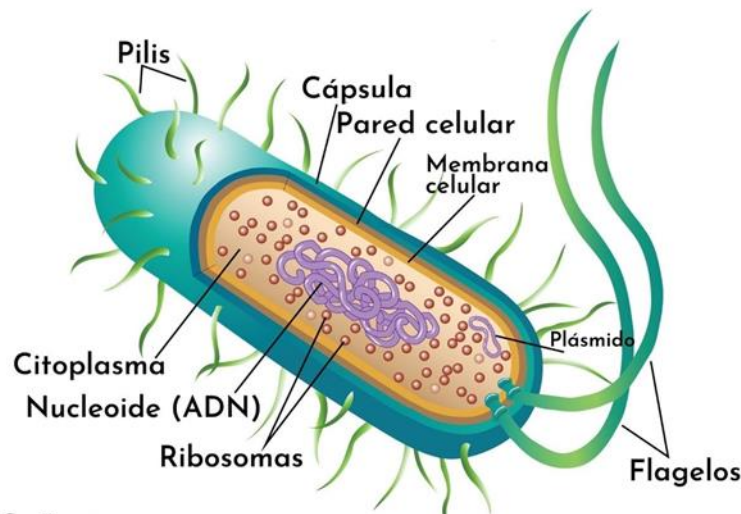
Rol de la envoltura celular en la evolución de los microorganismos.

- 1. Protección y supervivencia** (estrés de distintos ambientes)
- 2. Adaptación a nichos ecológicos** (colonización de diversos nichos ecológicos, cambios en las envolturas ME y paredes especiales, nuevas capacidades)
- 3. Innovaciones metabólicas** (organelas que generan energía)
- 4. Origen de la complejidad eucariota** (la evolución de sistemas de membranas internas estuvo asociada al origen de la complejidad celular en eucariotas, favoreciendo la compartimentalización y mayor eficiencia funcional)
- 5. Diversificación estructural** (Distintas soluciones evolutivas, PG, quitina y en protistas → enorme diversidad)
- 6. Interacción biológica y coevolución** (reconocimiento, patogenicidad, respuesta inmune)

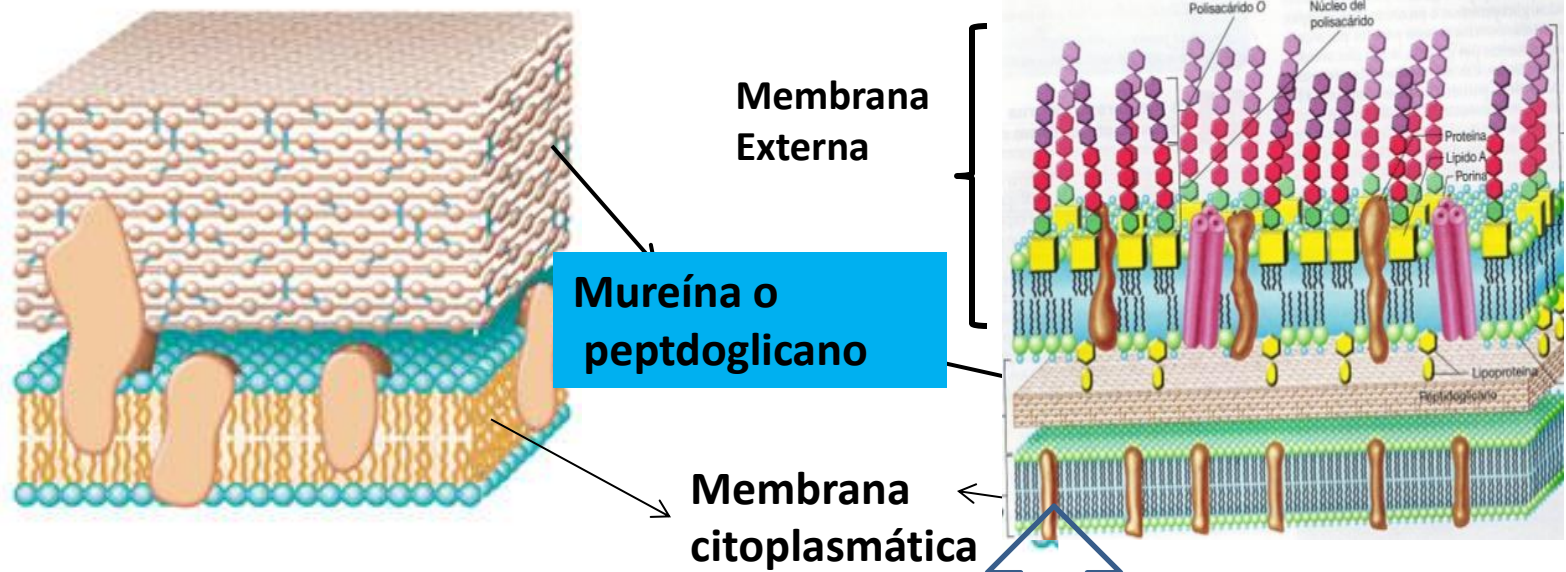
La envoltura celular es una estructura dinámica que no solo protege a la célula, sino que define su interacción con el ambiente, condicionando su evolución, diversificación y éxito ecológico

Paredes bacterianas. La arquitectura de la supervivencia

El objetivo de esta clase es el estudio de las paredes (eu) bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas, con sus principales variantes, bacterias ácido alcohol resistentes y los principales modelos de paredes de arqueas



Estructura global de Gram positivas y Gram negativas

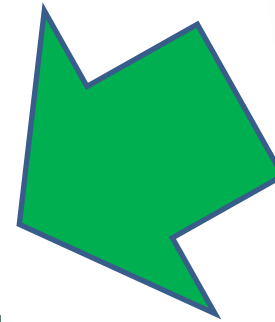
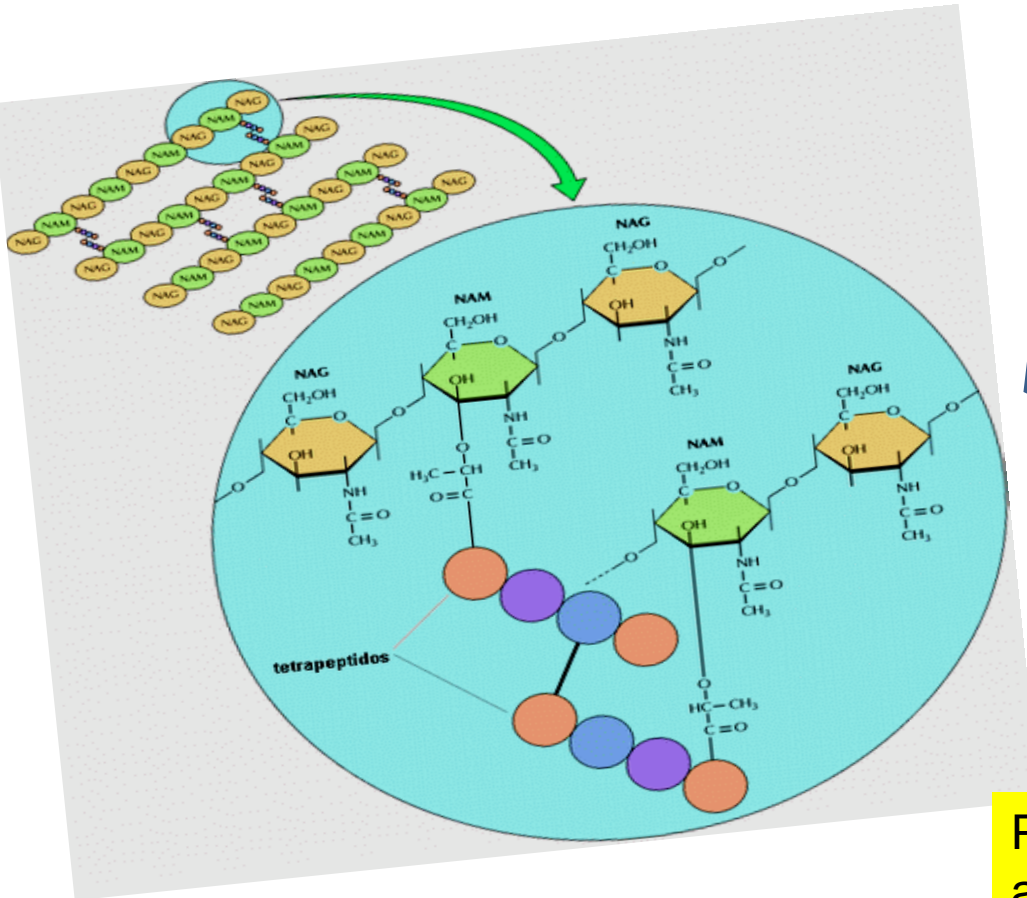


Gram positiva

Gram negativa

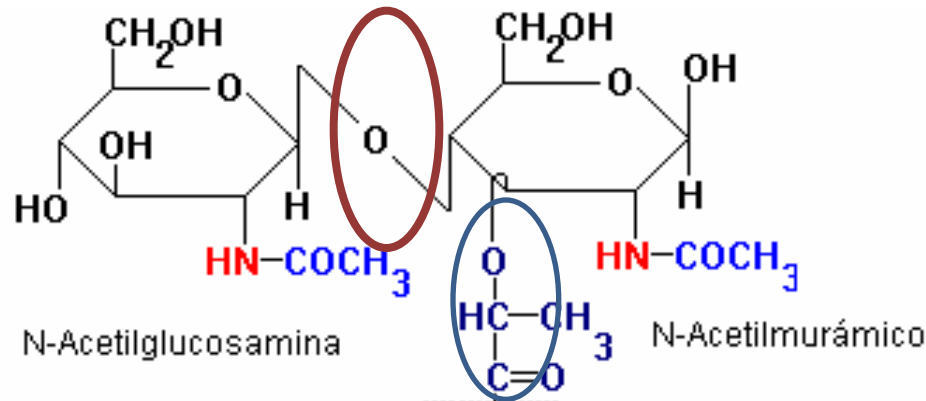
Estructura general del PG o mureína

¿Que es el péptido glicano?

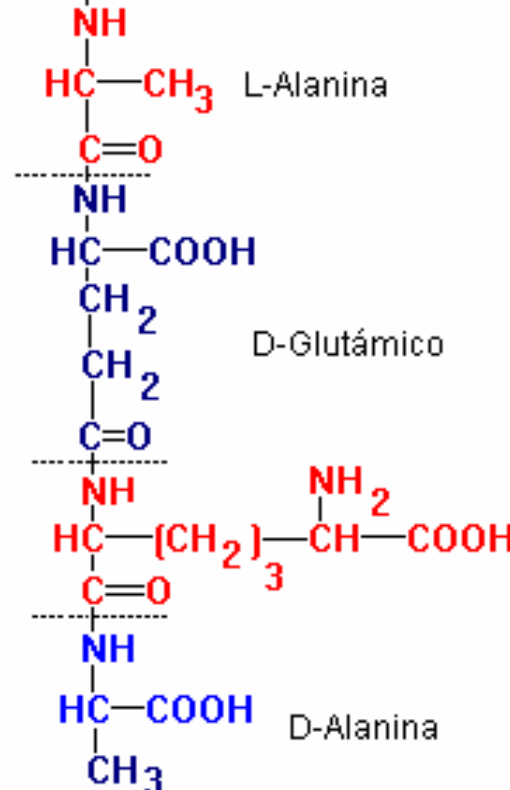
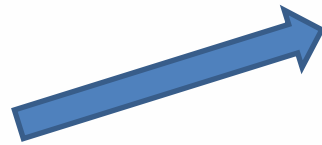


Polímero formado por cadenas de azúcares, covalentemente unidas entre si por puentes perpendiculares peptídicos

Unidad estructural del péptido glicano o PG



Enlace amido

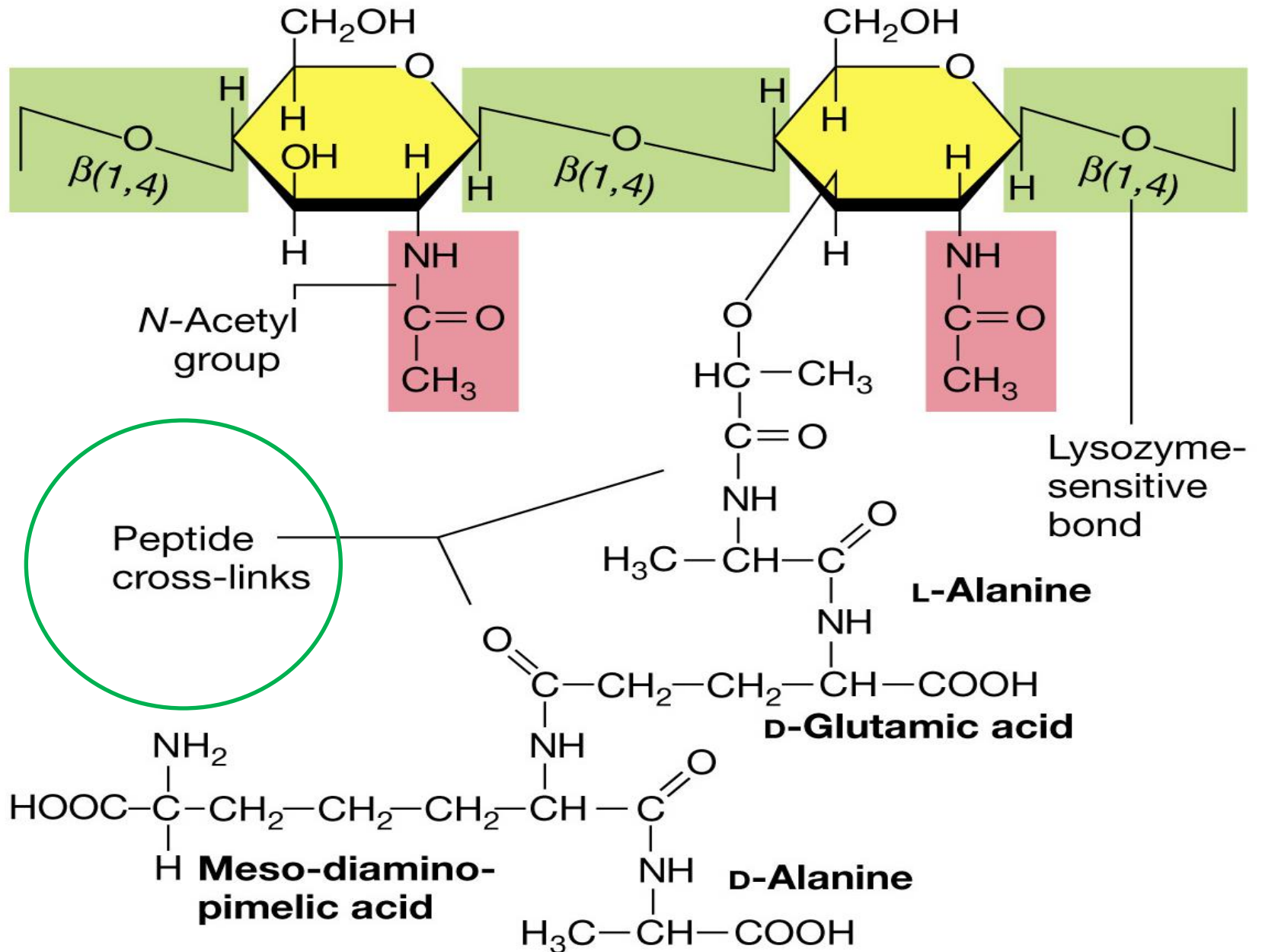


Alternancia de aminoácidos D y L
en el tetrapéptido

Cadena
peptídica

NAc-Glucosamina

NAc-Murámico



Peptidoglicano: unidad disacarídica

- La unidad disacarídica que se repite esta formada por
 - *N*-acetilglucosamina (NAG)...
 - ... *N*-acetilmurámico (NAM) (deriva de unir el ácido D-láctico con el OH del C-3 de la NAG)
- Las distintas unidades disacarídicas se unen entre mediante enlaces $\beta(1-4)$
 - Este enlace puede ser roto por la lisozima
 - Carbono anomérico en posición β

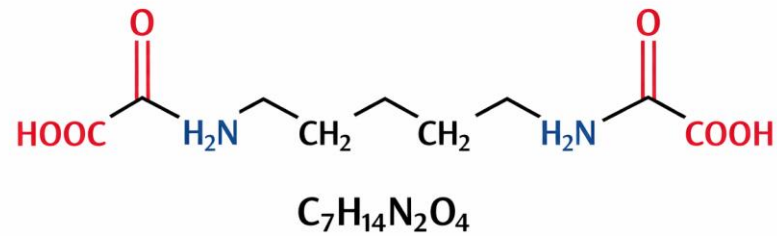
Cadenas de distinta longitud dependiendo de la bacteria

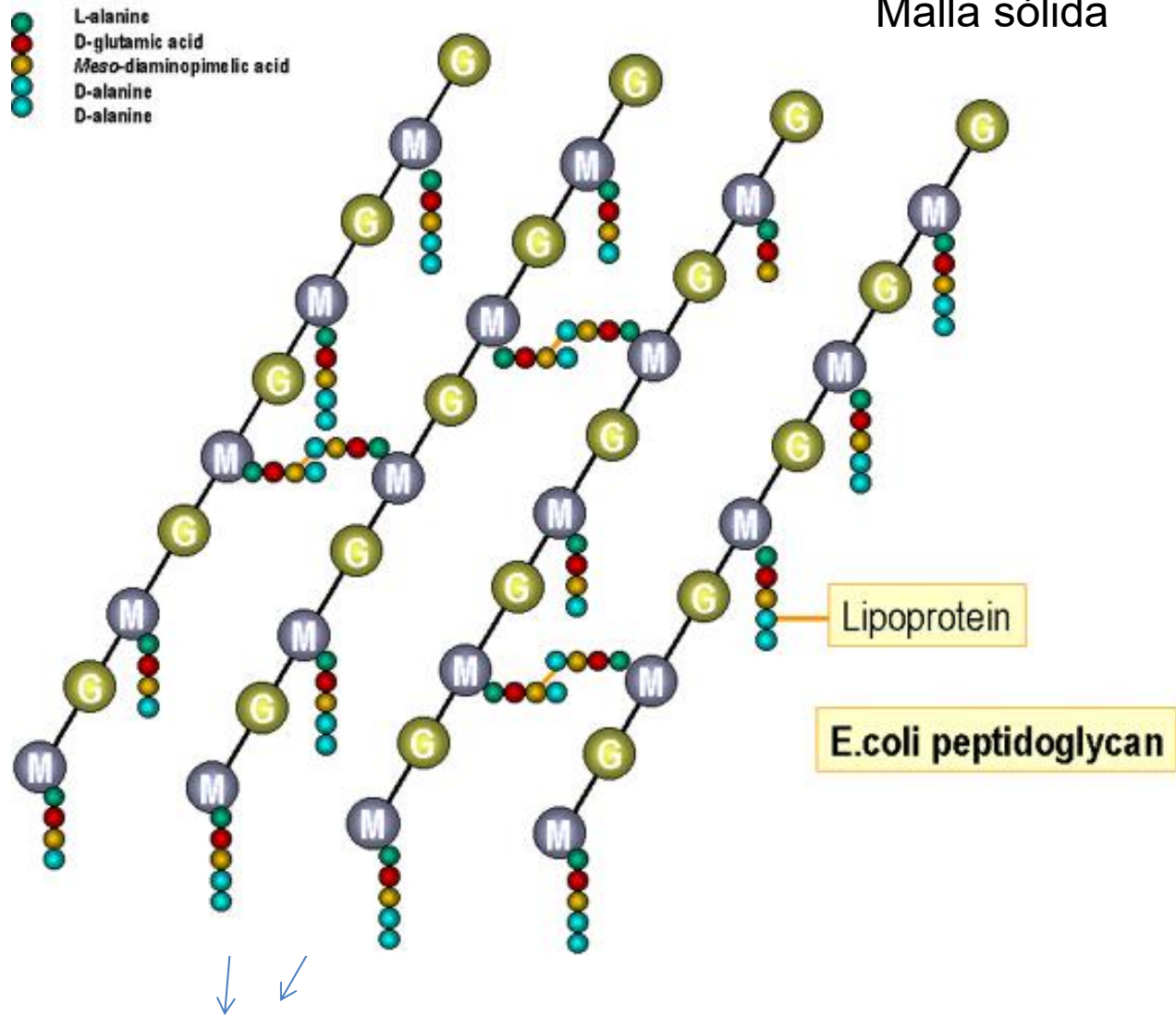
Cadena o tallo peptídico que sale del lactilo

- La cadena tetrapeptídica sale desde el grupo $-\text{COOH}$ del lactilo de cada NAM y suele ser:
 - L-ala \rightarrow D-glu \rightarrow m-DAP \rightarrow D-ala
 - L-alanina
 - D-glutámico
 - meso-diaminopimélico m-DAP (o Lys en G +)
 - D-alanina

Alternancia D y L y los D no están en proteínas y en el tercer lugar hay un AA dibásico para formar el puente.

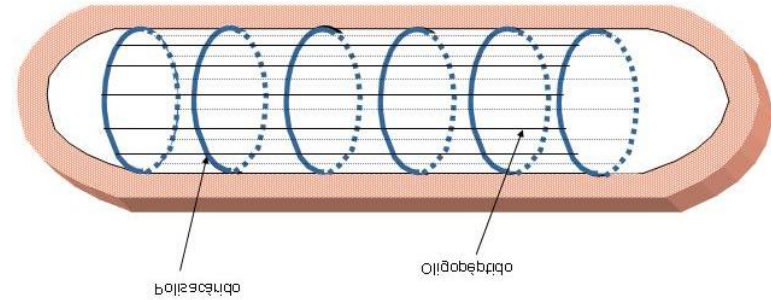
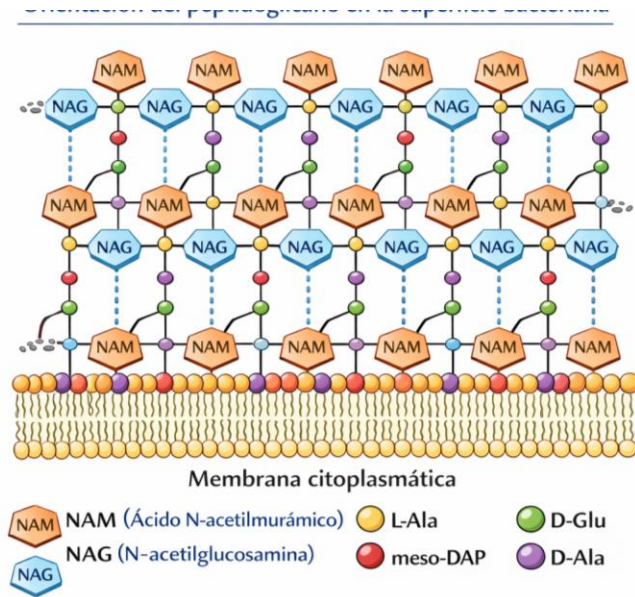
meso-Diaminopimelic Acid



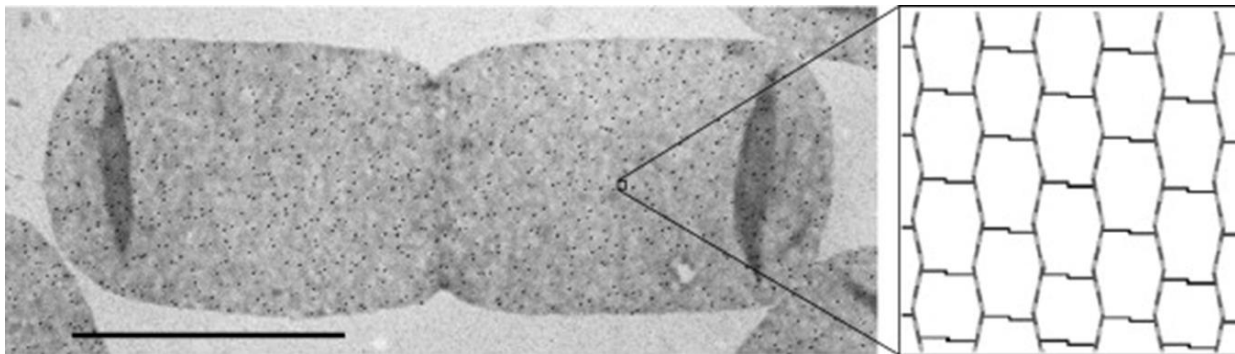


Puentes peptídicos entre algunas cadenas. –estructura conservada pero existen variaciones de la estructura fina según las condiciones de crecimiento, fase y medio extracelular

Disposición del péptidoglicano...un modelo



Forma un sáculo que le confiere diferentes propiedades biofísicas.



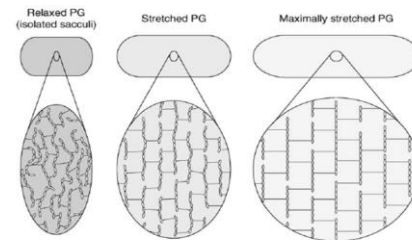
Micrografía electrónica de un sáculo de una célula *de E. coli* en división (lado izquierdo). Los puntos negros son partículas de oro de 6 nm que se utilizan para visualizar un anticuerpo anti-mureína unido al sáculo. El lado derecho muestra un modelo de la capa de mureína en una sección. Las hebras de glicano (líneas en zigzag) corren perpendiculares al eje longitudinal y los péptidos (líneas finas) corren en la dirección del eje longitudinal del sáculo.

Propiedades físicas del PG

Estructura heterogénea y flexible, depende de varios factores

- **Rigidez:** Las cadenas de glucano otorgan rigidez, el enlace $\beta(1-4)$ es muy compacto y estable
- **Flexibilidad:** La red de mureína puede expandirse y encogerse tres veces de manera reversible sin romperse.

- Puede “inflarse y contraerse”



- Es parcialmente permeable permite el paso de proteínas (20kDa)
- Condiciona la forma celular
- La alternancia de AA D y L (confiere fuerza estructural, y facilita la formación de puentes de H). Ello colabora, a soportar variaciones amplias de la tensión osmótica del protoplasto.

PG variaciones en la estructura fina

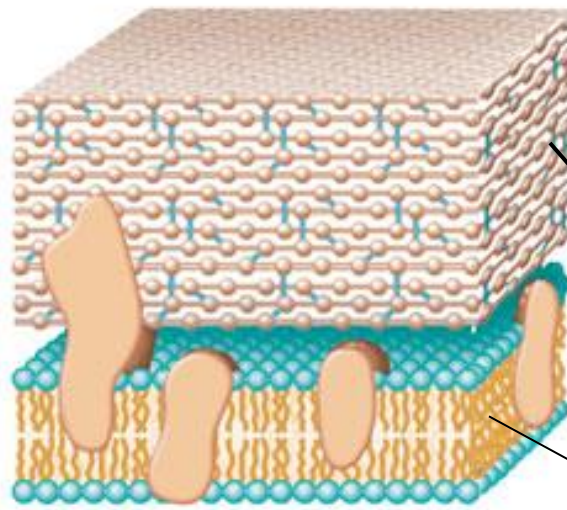
- La estructura global es una macromolécula gigante que forma un sáculo rígido alrededor del protoplasto bacteriano
- Repeticiones ($n=10-100$) de una unidad disacáridica, unida a su vez a un tetrapéptido es variable y no se relaciona con el espesor de la pared. Pueden presentar modificaciones secundarias acetilación, glicosilación o deacetilaciones
- Distintas cadenas de PG se unen entre sí por determinados enlaces peptídicos entre tetrapéptidos de cadenas diferentes formando una sola macromolécula gigante. Existen diferencias en el enlace entre cadenas cambios en porosidad y permeabilidad
- Existen diferencias entre Gram (+) y Gram (-)
- Existen variaciones en las distintas bacterias y también en la misma bacteria dependiendo de las condiciones de crecimiento son capaces de “afinar su estructura”

El peptidoglicano es una estructura dinámica cuya composición y grado de entrecruzamiento pueden modificarse, permitiendo a las bacterias ajustar su rigidez, resistencia y adaptación al ambiente

Diversidad estructural

- Paredes de (eu)bacterias (Poseen PG)
 - Pared de bacterias Gram-positivas
 - Pared de Gram-negativas
 - Pared de bacterias ácido alcohol resistentes
 - Algunas tienen proteínas (*Planctomyces*)
- Paredes de arqueas : No tienen PG algunas tienen otro polisacárido, algunas tienen proteínas

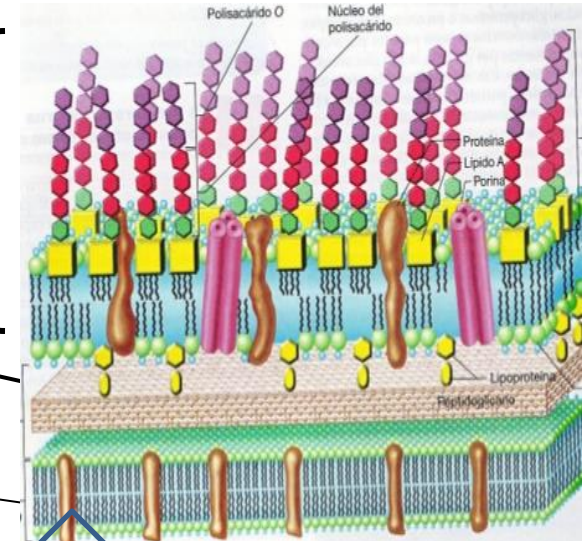
Esquema global de la envoltura de (eu)bacterias



Membrana Externa

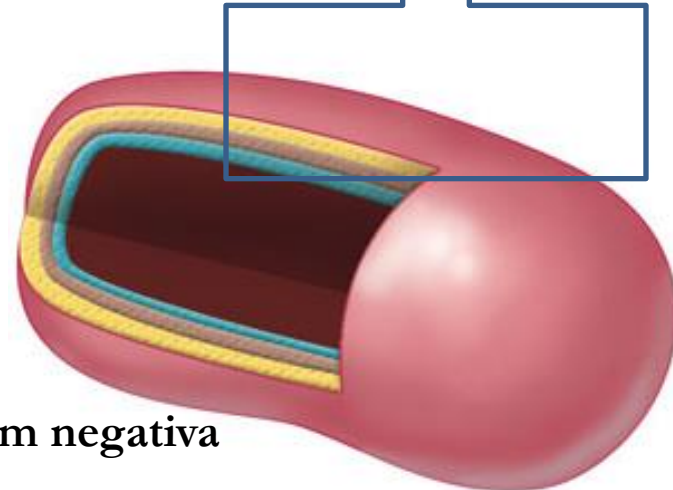
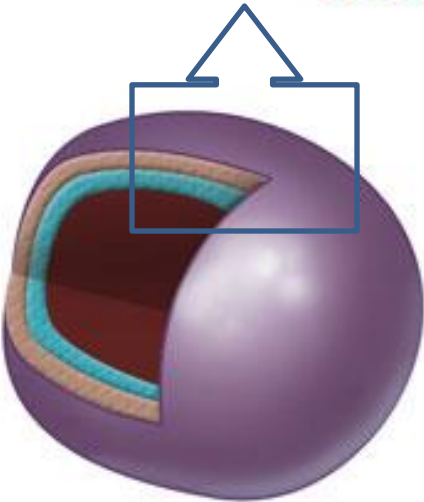
Mureína

Membrana citoplasmática



Gram positiva

Gram negativa



Características del PG de bacterias Gram (-)

- Normalmente: 1 o unas pocas capas de PG
- Solo el 50% de las cadenas participan en entrecruzamientos.
- Las distintas cadenas se unen por enlaces peptídicos directos entre el grupo ϵ -NH₂ del m-DAP (3) de una cadena con el -COOH de la D-ala (4) de otra cadena

El resultado:

Capa simple de PG (de 1 nm de espesor)

A modo **de malla floja, con grandes poros** (zonas donde no hay enlaces peptídicos).

En la coloración de Gram:

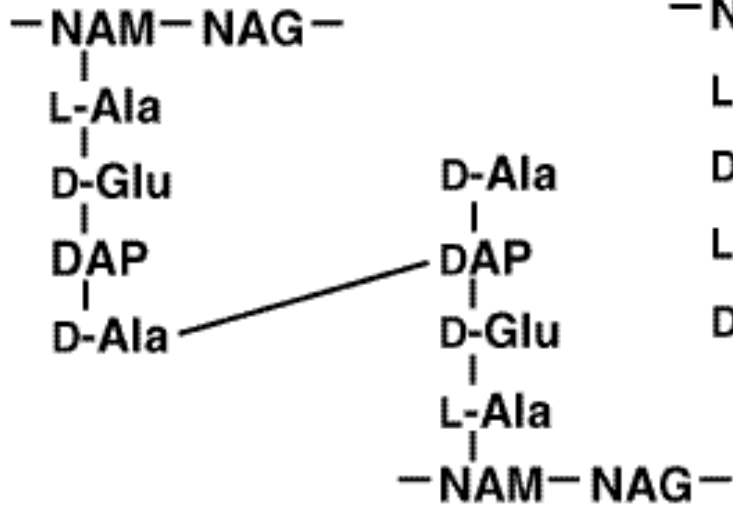
El alcohol acetona produce una deshidratación que tiende a contraer la estructura del PG, pero los poros son grandes → el violeta sale y la bacteria se tiñe con el colorante de contraste (Fucsina o safranina)

El PG de bacterias Gram (+)

- Múltiples capas de PG (distintos niveles, hasta 50 en especies de *Bacillus*) muy entrecruzada
- Existe entrecruzamientos tanto entre cadenas adyacentes en el mismo nivel como entre niveles distintos.
- Resultado: Red tridimensional gruesa y más compacta que en Gram (-)
- El grado de compacidad varía entre especies, y depende de:
 - número de NAM que contengan tetrapéptidos que participen en entrecruzamientos
 - longitud del puente peptídico
- Ello condiciona a su vez la intensidad de la grampositividad en la tinción de Gram.

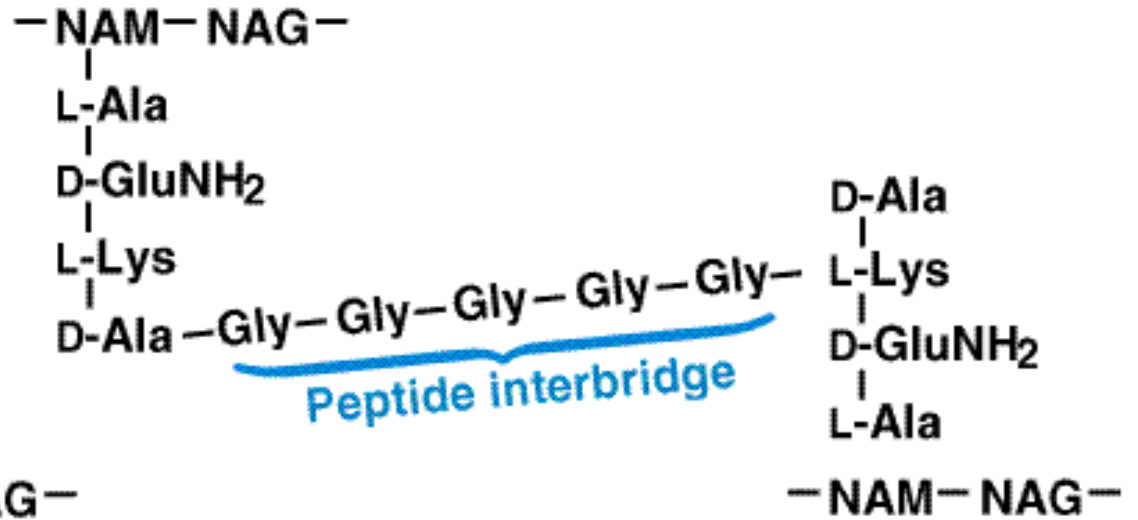
Entrecruzamientos en el PG

(a)

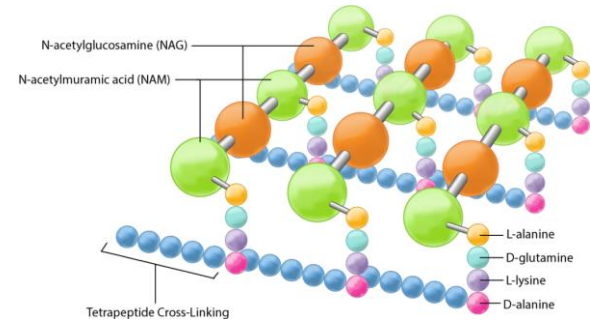


Directo (muchas Gram-negativas)

(b)



Puente pentaglicina (algunas Gram positivas)



Modalidades de uniones interpeptídicas

-Enlace directo D-ala (4)-y el-NH₂ del diaminoácido(3) en Gram (-)

-Que en gram positivas no suele ser mesoDAP y puede ser:

1 solo aa: L-ala

Un péptido corto:

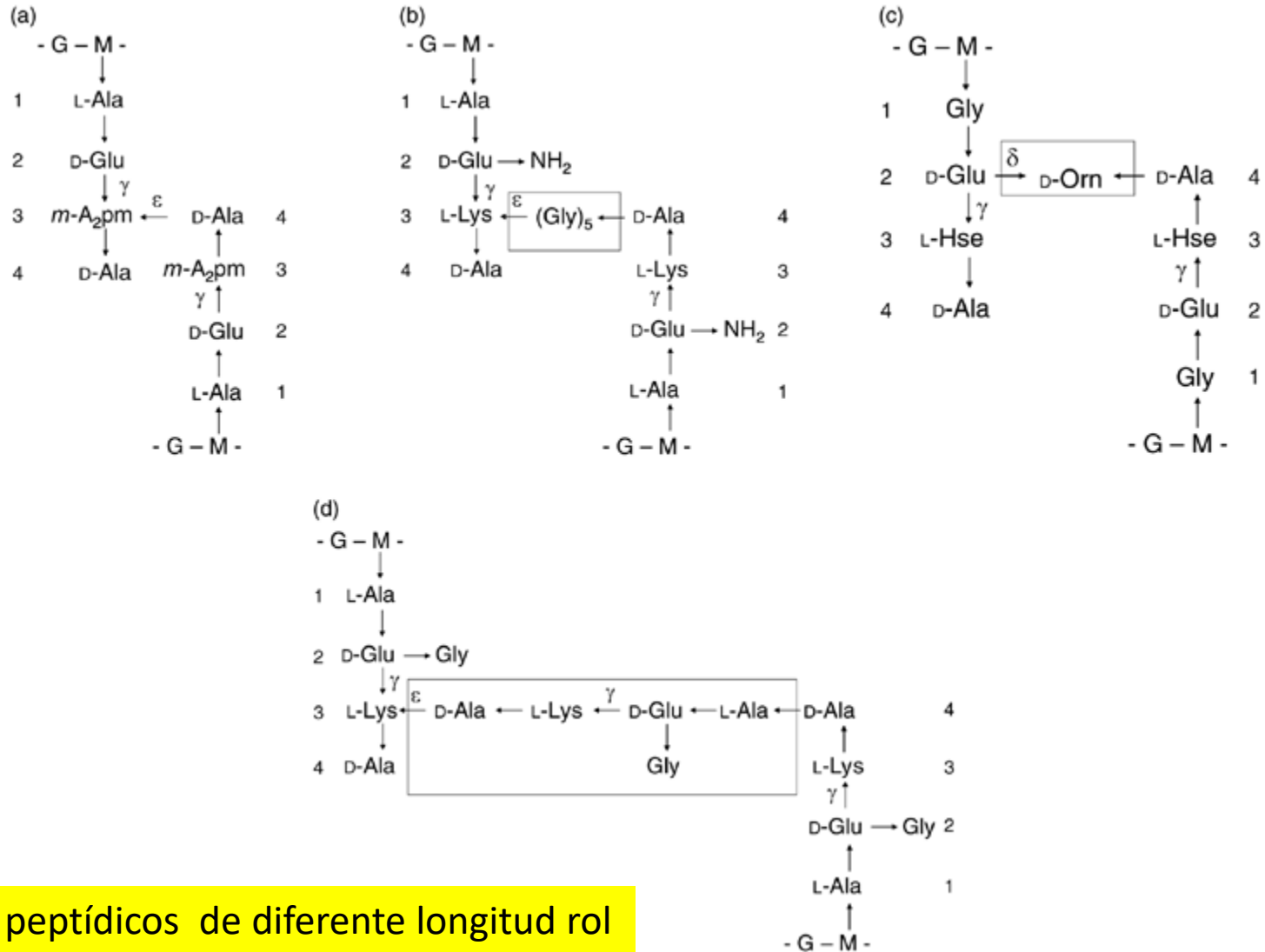
L-ala-L-ala

L-ala-L-ala-L-ala

Puente de pentaglicina (Gly- Gly- Gly- Gly- Gly)

-Enlace D-ala(4) – D-glu(2) mediante péptido con un diaminoácido (D-lys, D-ornitina)

Variaciones en el entrecruzamiento

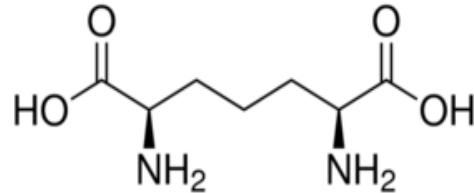


Puentes peptídicos de diferente longitud rol en la porosidad y compacidad del PG

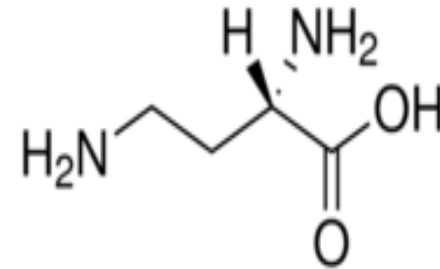
Algunas variantes de PG en Gram-(+)

- Muchas Gram+ poseen en (3) distintos di-AAs

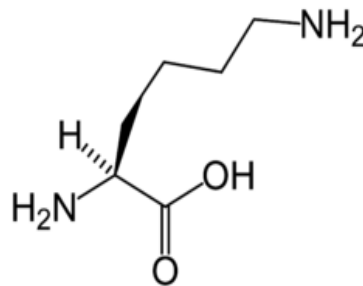
- L-DAP



- L-DAB (diaminobutírico)

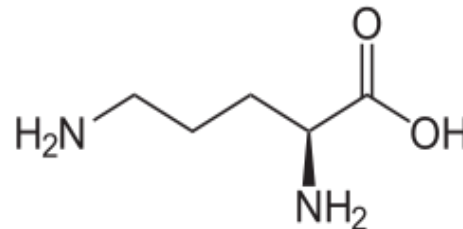


- L-lisina

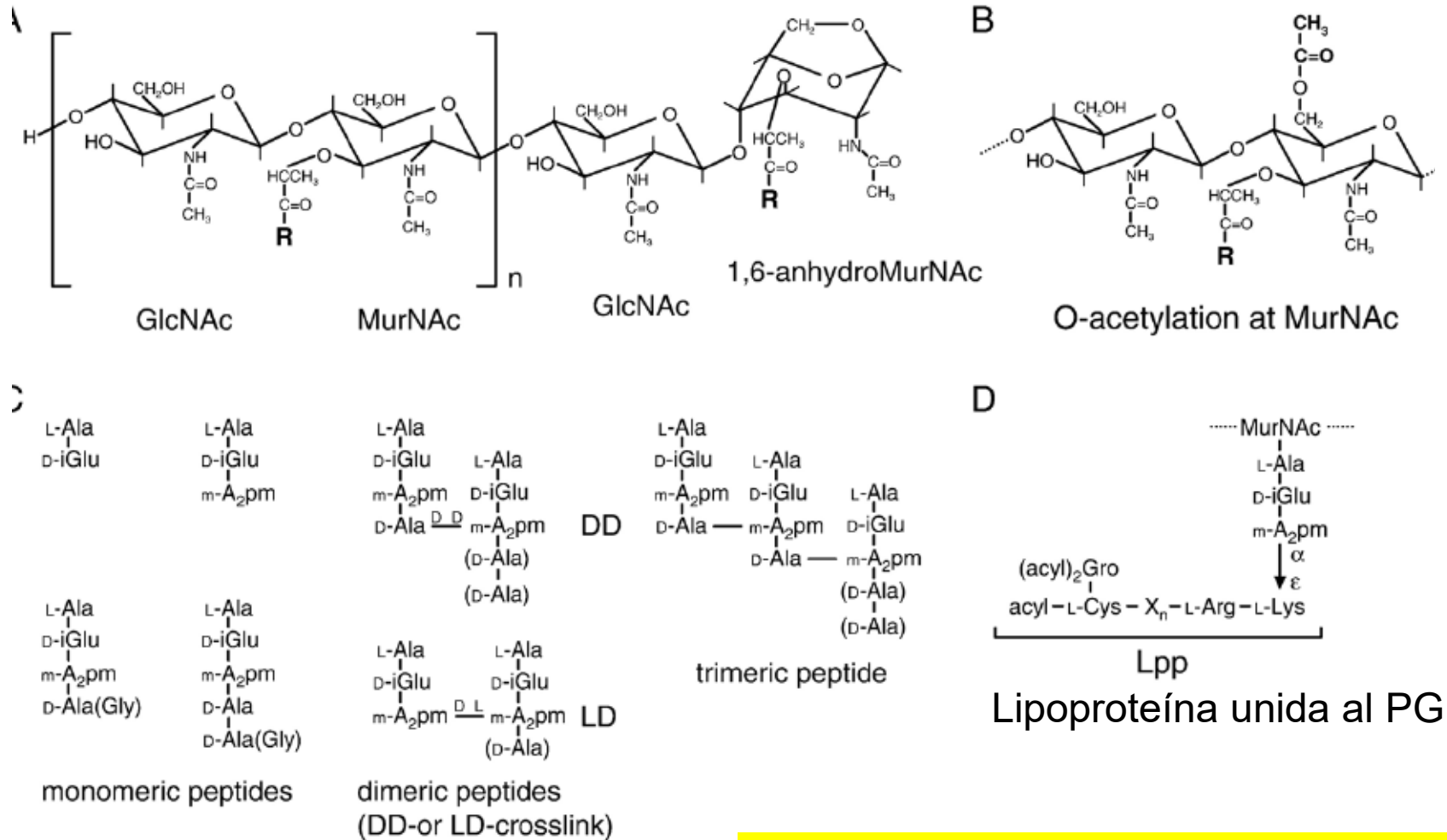


- L-homoserina

- L-ornitina

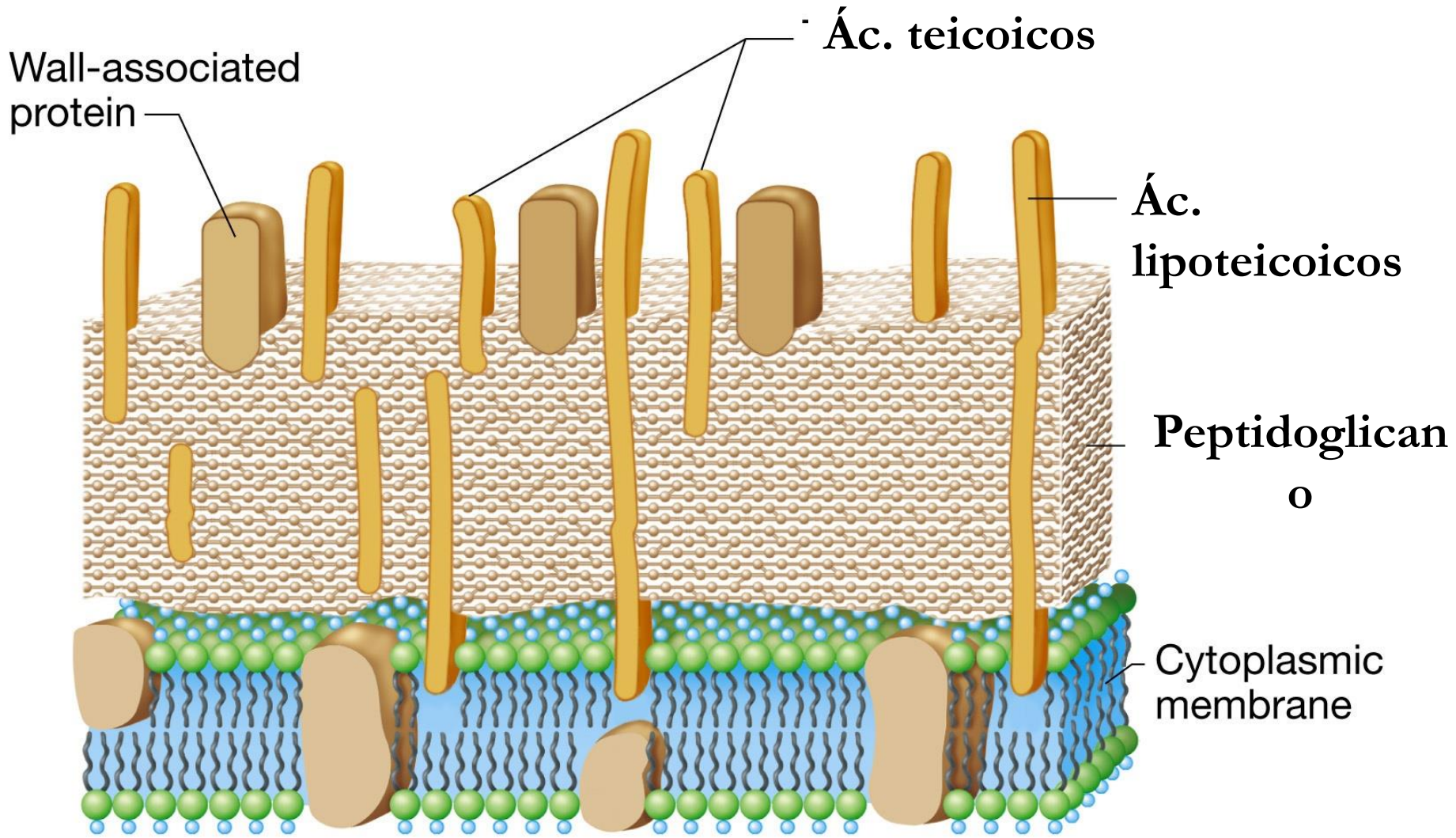


Plasticidad del PG. Modificaciones estructurales



Las consecuencias de las modificaciones
Resistencia a las hidrolasas, lisozima

La matriz de la pared celular de las Gram-(+)



(b)

La pared celular de las Gram-(+)

- El PG de Gram-(+) está inmerso en una matriz aniónica (hasta 60%) de polímeros compuesta por

- **Polímeros aniónicos**

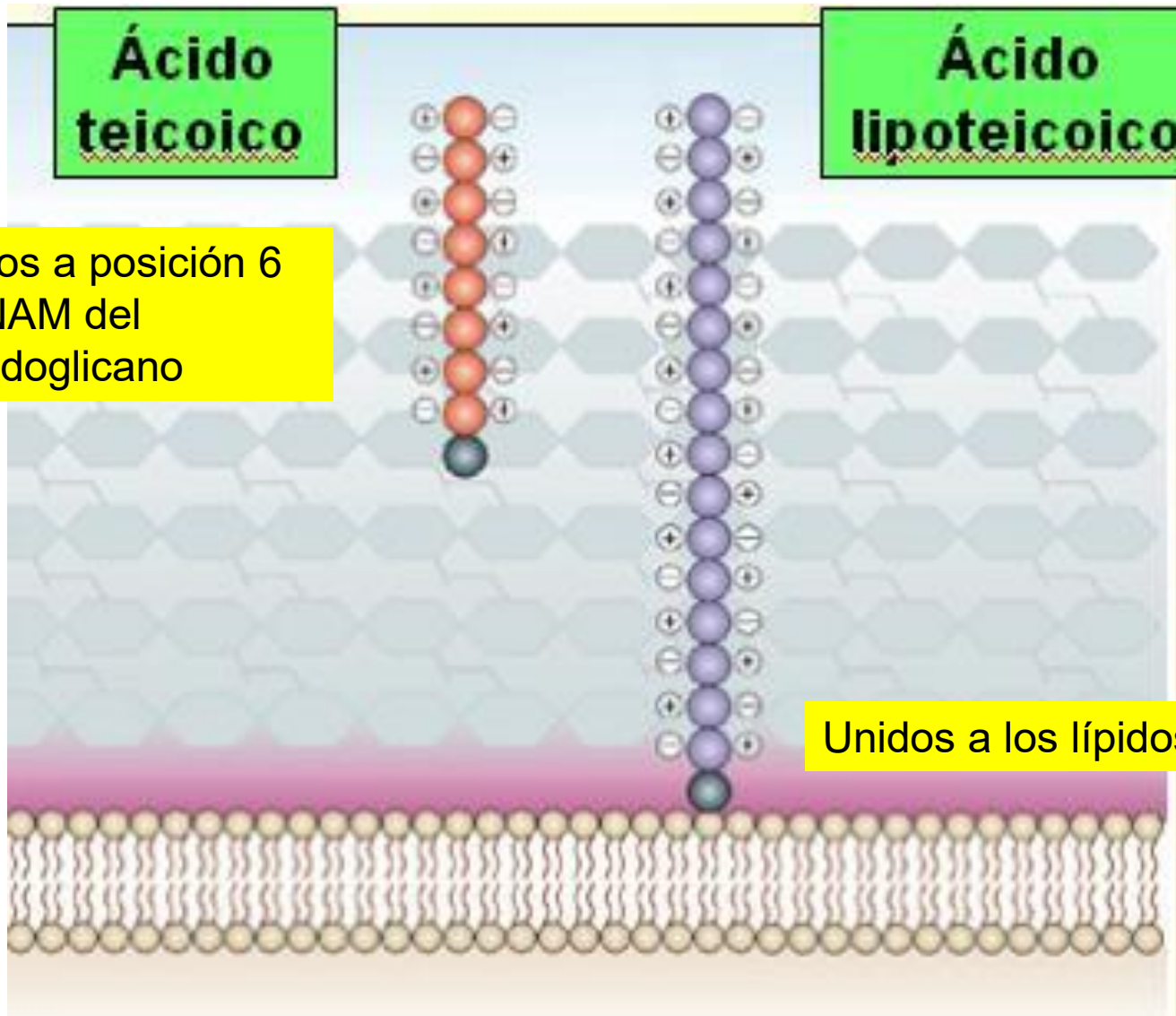
- Ácidos teicoicos:
- Ácidos teicurónicos
- Ácidos lipoteicoicos:

Los ácidos teicoicos no solo forman parte de la pared, sino que la organizan y le dan funcionalidad

Ácidos teicoicos

- Presentes en muchas bacterias Gram+, pero no en todas.
- **Son polímeros de glicerol-fosfato o ribitol-fosfato , con –OH sustituidos por –H, azúcares, aminoazúcares o D-ala**
- Pueden ser de hasta 30 unidades.
- **Están unidos covalentemente al peptidoglicano**
- Es variable según las especies
- No se sintetizan en limitación de fosfato
- Alternativa en baja disponibilidad de fosfato → **ácidos teicurónicos (ATU)**. Es el Plan B evolutivo
- Los ATU son polisacáridos aniónicos, acídicos formados por la alternancia de ácidos urónicos y otros azúcares

Ácidos teicoicos y lipoteicoicos



Ácido teicoico

Ácido lipoteicoico

Unidos a posición 6 del NAM del peptidoglicano

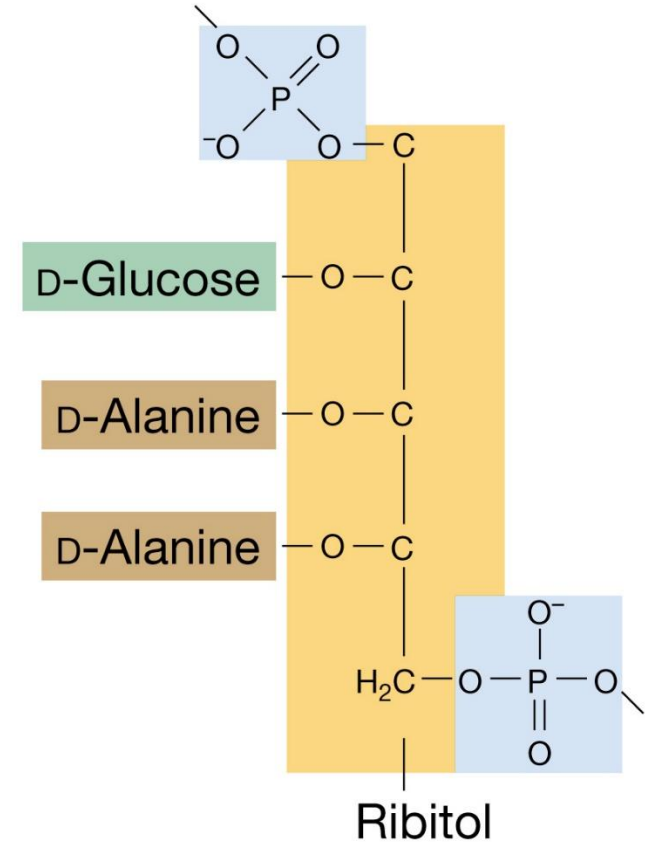
Unidos a los lípidos de la membrana

Ácidos teicoicos estructura

Polímero de glicerol fosfato unidos por uniones fosfodiéster



Polímero de ribitol fosfato



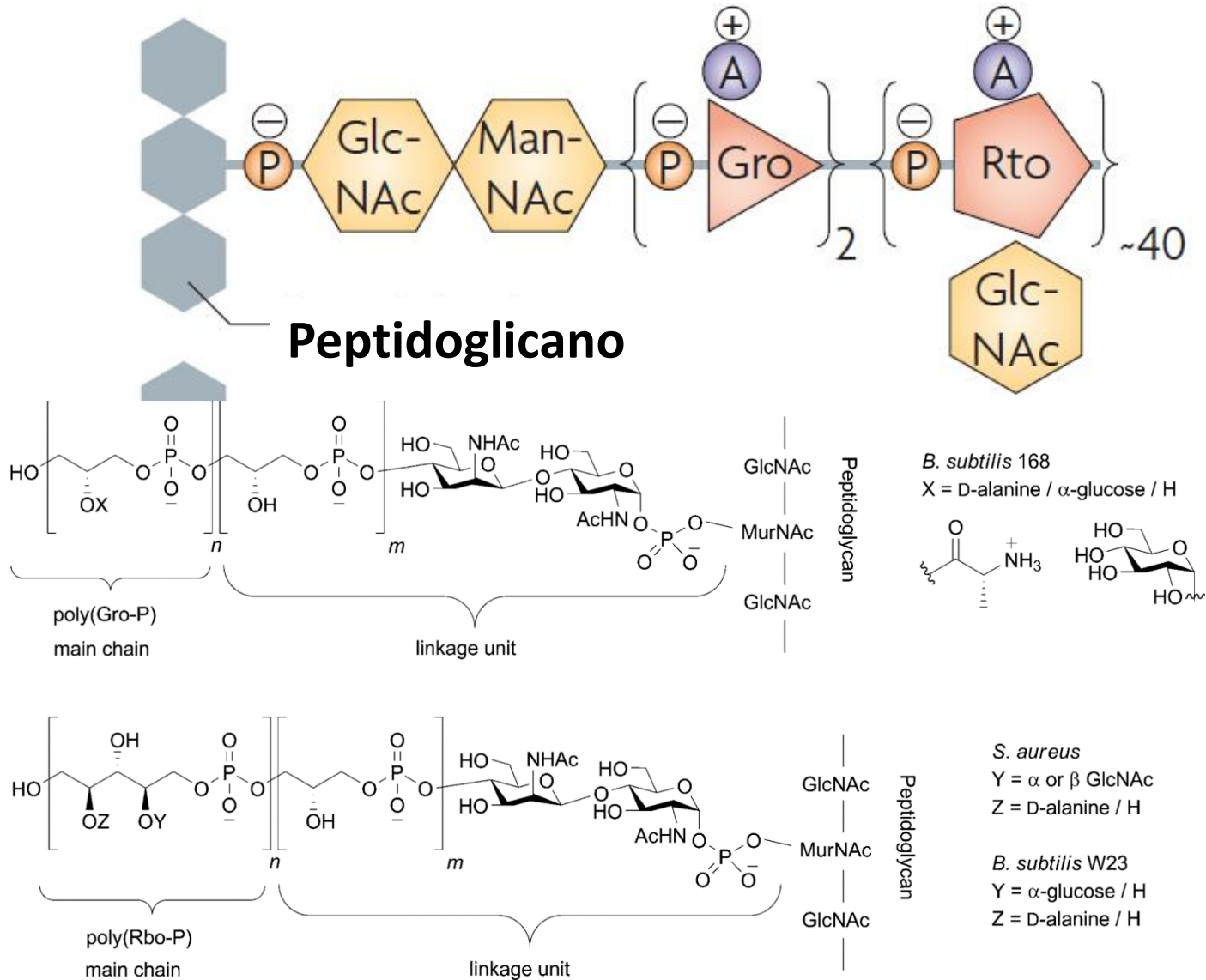
la mayoría de los grupos -OH están sustituidos por -H, azúcares

(a)

Se unen a través de azúcares variables al Carbono 6 del PG

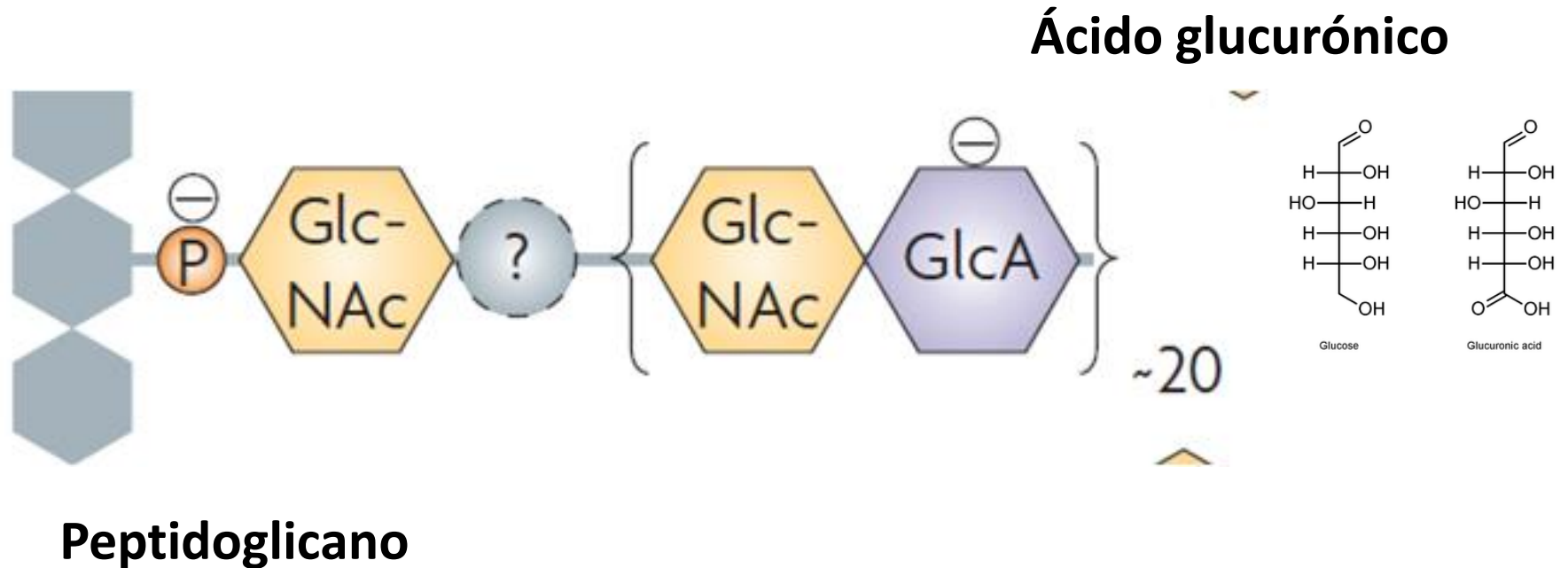
Ácidos teicoicos: unión a través de azúcares

posición 6 del NAM



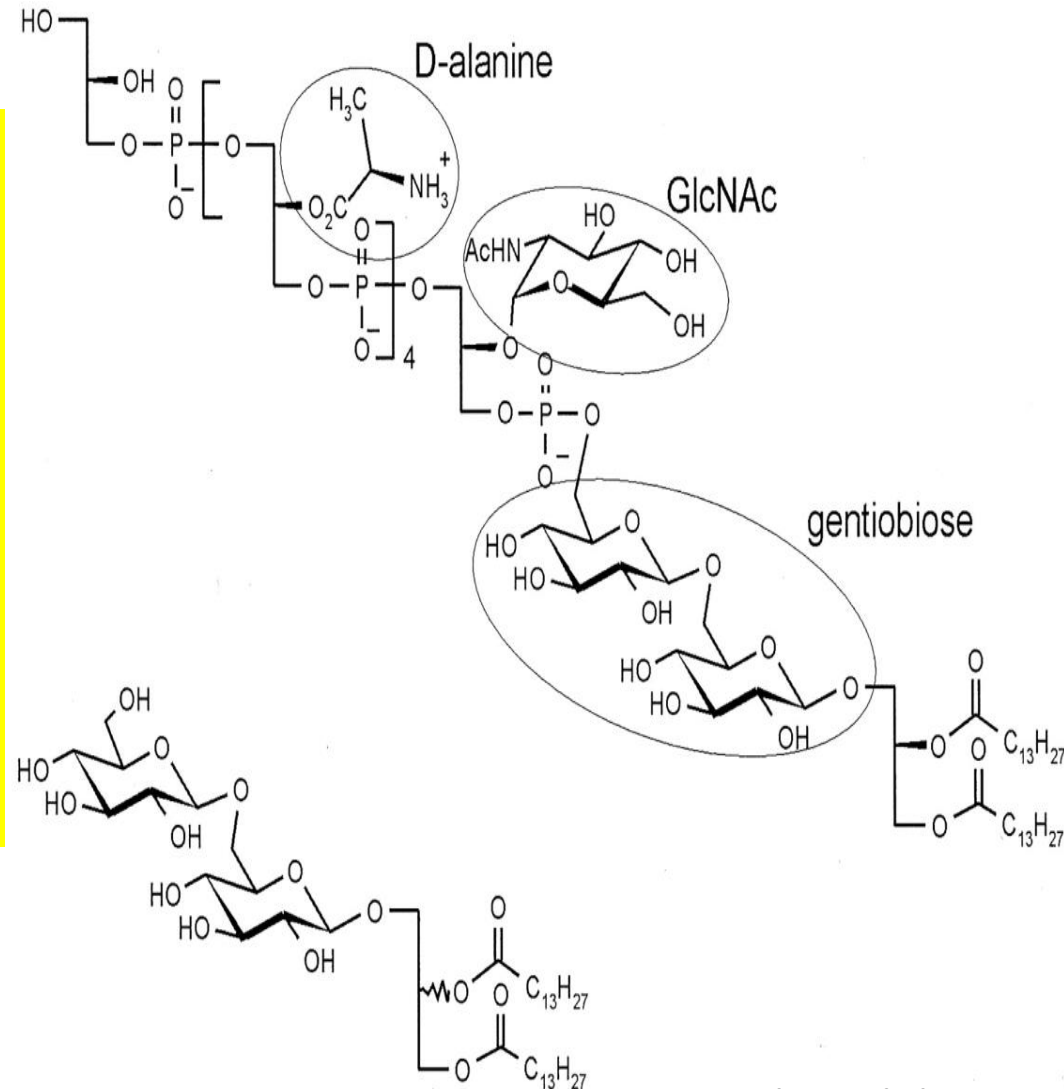
Ácidos teicurónicos

Los ac. teicurónicos consisten en polímeros aniónicos formados por la alternancia de ácidos urónicos (que tienen grupos -COOH libres) y aminoazúcares



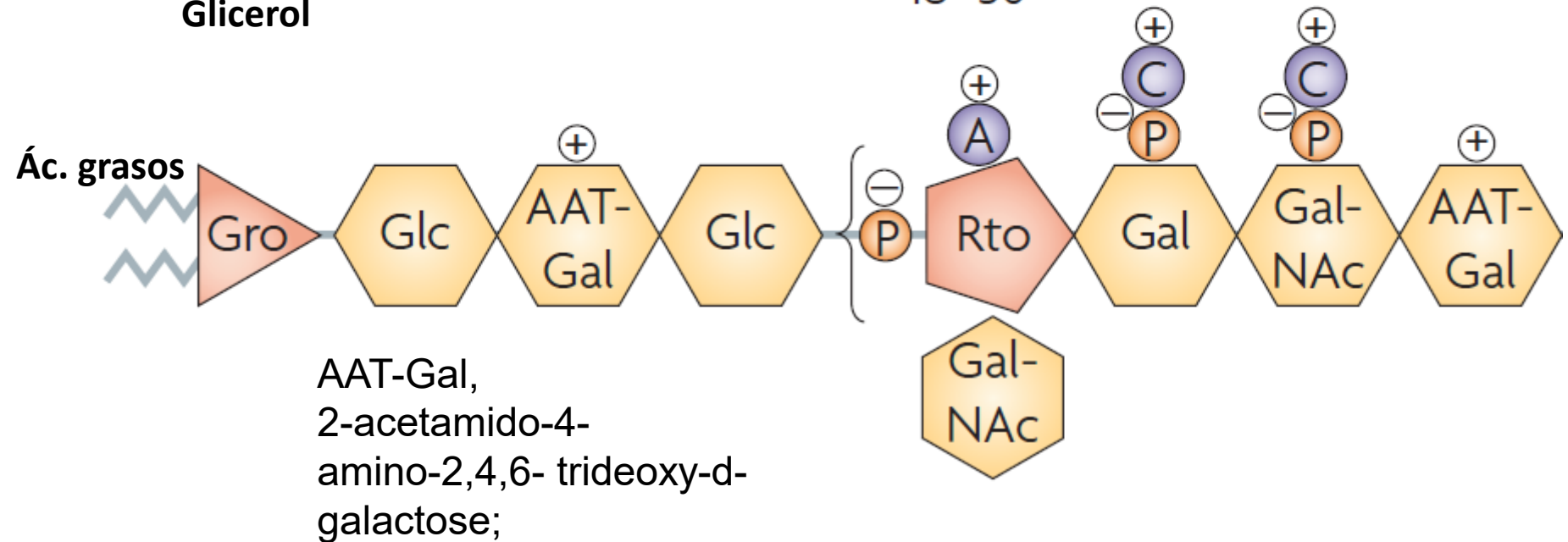
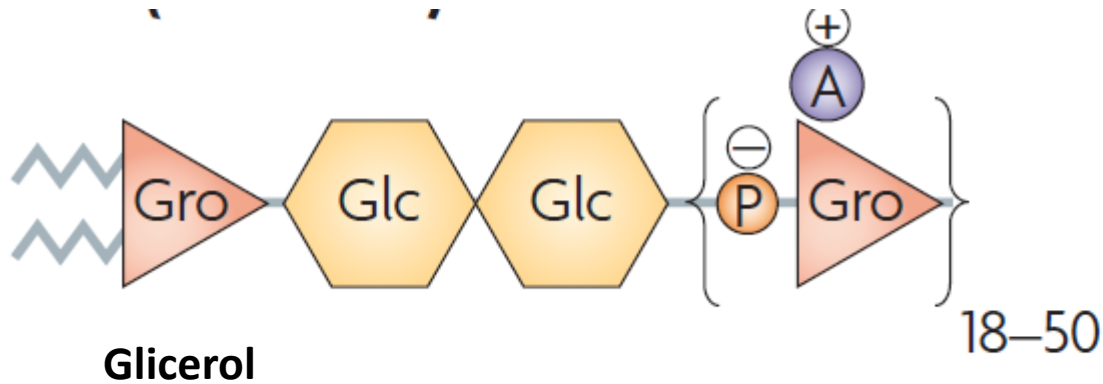
Ácidos lipoteicoicos (LTA)

- Presentes en todas las bacterias
- Gram +
- Generalmente, son ácidos glicerol-teicoicos
- Se encuentran unidos a la membrana citoplásmica.*
- Unidos a la membrana por enlace fosfodiéster con diacil glicerolP
- Su extremo terminal queda expuesto al exterior
- Suministran especificidad antigénica
- Pueden actuar como adhesinas



Glicerol de PL

Acidos lipoteicoicos (LTA)



Funciones de los polímeros de la matriz

- Suministrar una carga neta (-) a la PC
- Para que?
 - Captar cationes (Mg^{++}), homeostasis de iones, que participan en actividades enzimáticas (morfogénesis y división de la PC)
- Son buenos antígenos
- En algunas bacterias actúan como receptores específicos para la adsorción de ciertos bacteriófagos.
- Regulan las **autolisinas** de la pared (agujeros en la pared que permiten la inserción de PG naciente
- LTA ancla la pared a la membrana celular, algunas veces es secretado y actúa como **adhesina**

Rol de los ácidos teicoicos y teicurónicos (Gram +)

- Captación y regulación de cationes Unión de Mg^{2+} y Ca^{2+} → estabilización de la envoltura
- Mantenimiento de la estructura de la pared. Contribuyen a la rigidez y organización del peptidoglicano
- Organización de procesos celulares. Participan en la localización de enzimas de síntesis y remodelación
- Interacción con el entorno. Median adhesión y contacto con superficies
- Reconocimiento y respuesta inmune Especialmente los lipoteicoicos → activación del sistema inmune
- Identidad y variabilidad celular. Alta diversidad estructural → “firma” de la bacteria
- Adaptación a disponibilidad de fosfato
- Los ácidos teicurónicos reemplazan a los teicoicos en condiciones de bajo fosfato

Son componentes activos de la pared Gram positiva que combinan funciones estructurales, fisiológicas y ecológicas.

Otros componentes de Gram (+)

- Polisacáridos neutros

- Otros glicolípidos

Lípidos cerosos de *Mycobacterium*

Pared de las bacterias ácido-alcohol resistentes (AAR)

- Pared especial de ciertas Gram-(+) mas complejas
Nocardia, Mycobacterium (tuberculosis, lepra), corineformes
- Resisten la decoloración con clorhídrico-etanol (→ ácido-alcohol resistentes) No se tiñen bien con Gram
- Estas bacterias son de crecimiento muy lento
- Estas propiedades derivan de los componentes de la pared:

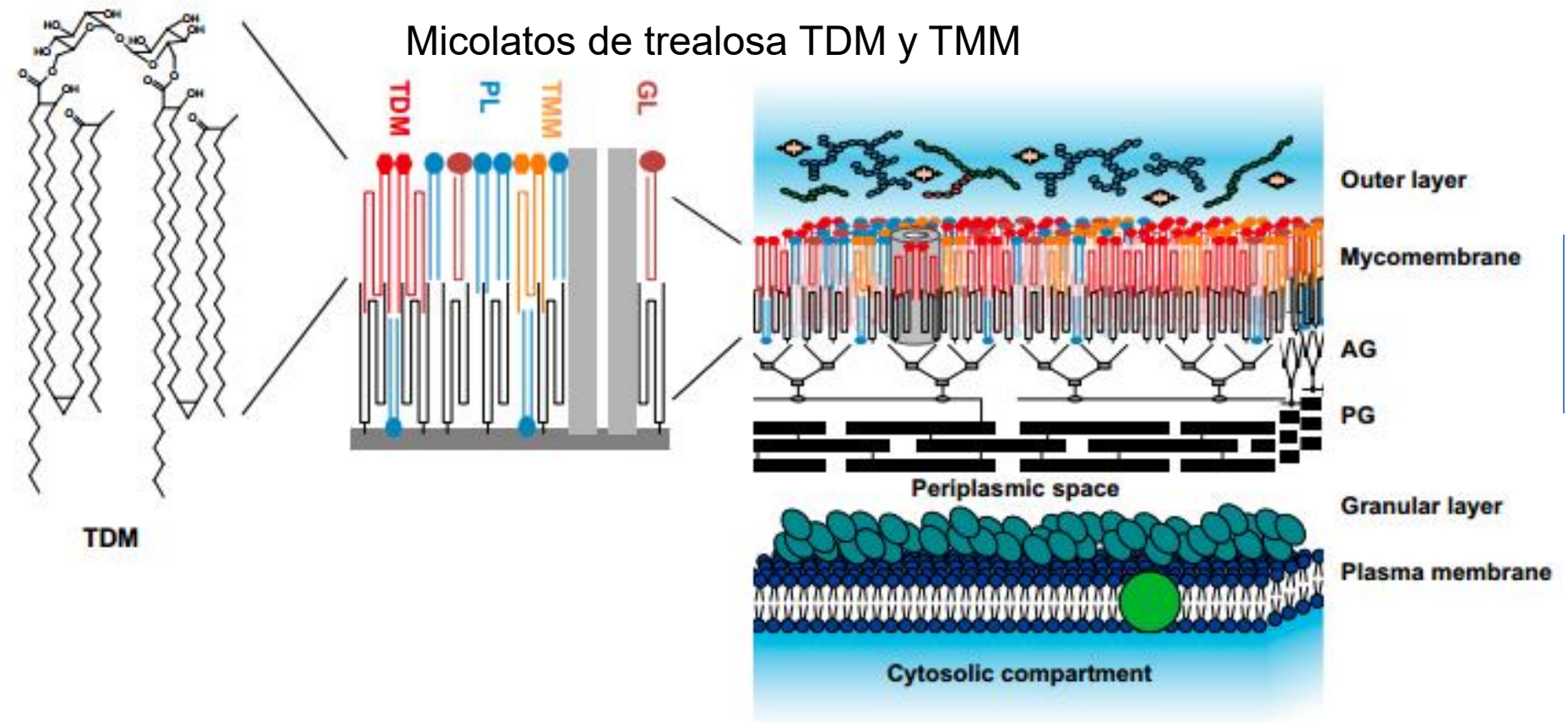
El complejo micolil-arabinogalactano-peptidoglicano (mAGP), una macromolécula compuesta por tres elementos unidos covalentemente: peptidoglicano (PG), arabinogalactano (AG) y ácidos micólicos,

Pared de las bacterias ácido-alcohol resistentes (AAR)

- Pared celular muy compleja con abundantes lípidos.
- Composición química del complejo
 - Peptidoglicano especial
 - Arabinogalactano
 - Ácidos micólicos (AM) unidos al polímero anterior(micomembrana)
 - Lípidos superficiales

Esta pared esta unida covalentemente al PG, sólidamente unido a arabinogalactano, cuyos extremos pentasacáridos están esterificados por ácidos grasos de cadena muy larga (ácidos micólicos). Estos AG forman la cara interna de una membrana externa, llamada micomembrana, cuya cara externa está formada por una gran variedad de lípidos y glicolípidos unidos de forma no covalente

Pared de *Mycobacterias*



Esta pared esta unida covalentemente al PG, sólidamente unido a arabinogalactano, cuyos extremos pentasacáridos están esterificados por ácidos grasos de cadena muy larga (ácidos micólicos). Estos AG forman la cara interna de una membrana externa, llamada micomembrana, cuya cara externa está formada por una gran variedad de lípidos y glicolípidos unidos de forma no covalente

Pared de AAR

El peptidoglucano, es similar al de las bacterias, presentando dos diferencias: algunos o todos los residuos de NAM están N-glicosilados y los entrecruzamientos en las cadenas laterales peptídicas ocurren entre dos residuos de DAP, así como también entre un residuo de éste y D-alanina

Los residuos de ácido murámico tanto en *M. tuberculosis* como en *Mycobacterium smegmatis* contienen una mezcla de derivados N-acetilo y N-glicolilo, por lo que la función N-acetilo se ha oxidado a una función N-glicolilo para formar MurNGly

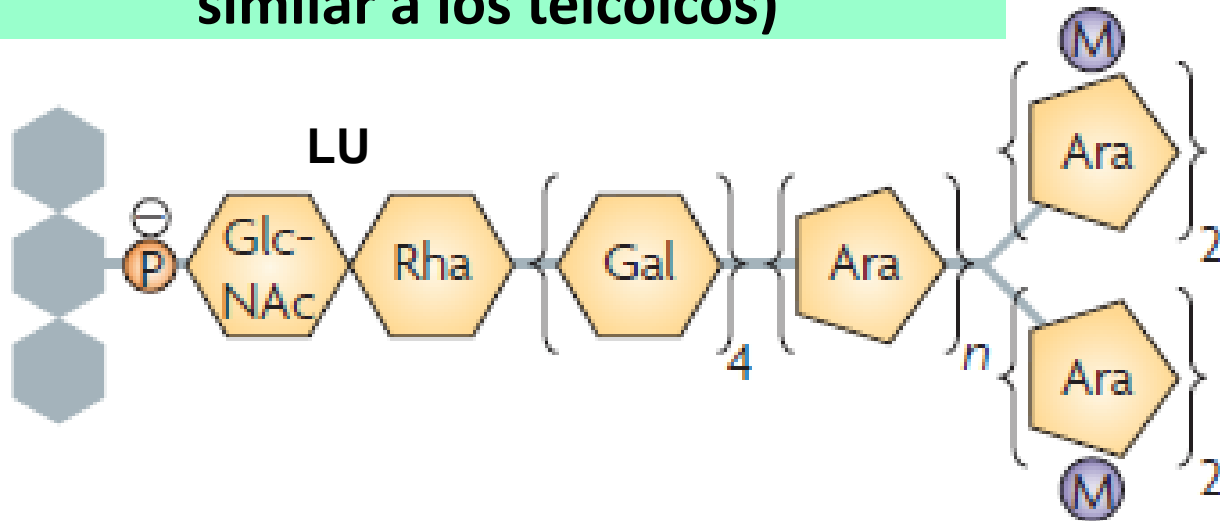
-Arabinogalactano. Polímero de gran PM unido al Ac. Murámico en la posición C6. Heteropolisacárido complejo que consta de una cadena lineal formada por residuos de **D-galactofuranosa**, al cual se unen a su vez dos o tres cadenas laterales de **arabinano**, estas últimas compuestas por residuos de D-arabinofuranosil que forman la micomembrana. (similar a un teicoico pero de galactosa y arabinosa)

-Los ácidos micólicos se ubican unidos a los extremos no reductores disponibles de estas unidades de arabinogalactano. Forman la cara interna de la micomembrana

- Gran variedad de lípidos y glicolípidos unidos no covalentemente

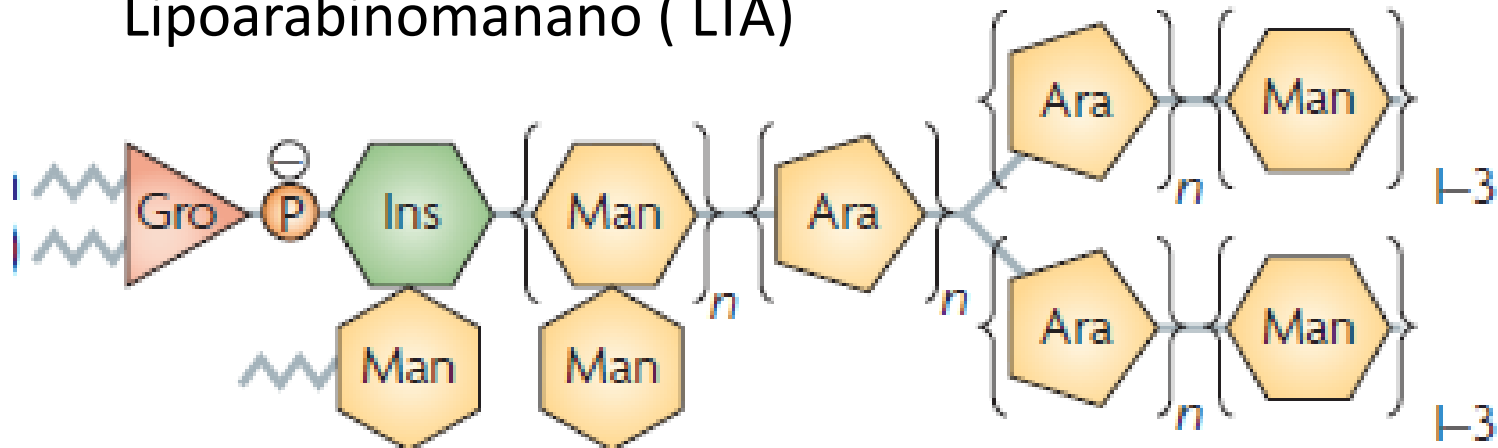
Pared muy impermeable al ingreso de nutrientes.

Arabinogalactano AG (estructura similar a los teicoicos)



La estructura molecular de AG se puede segmentar en tres constituyentes separados: la unidad enlazadora (LU), galactano (n residuos) y arabinano.

Lipoarabinomanano (LTA)



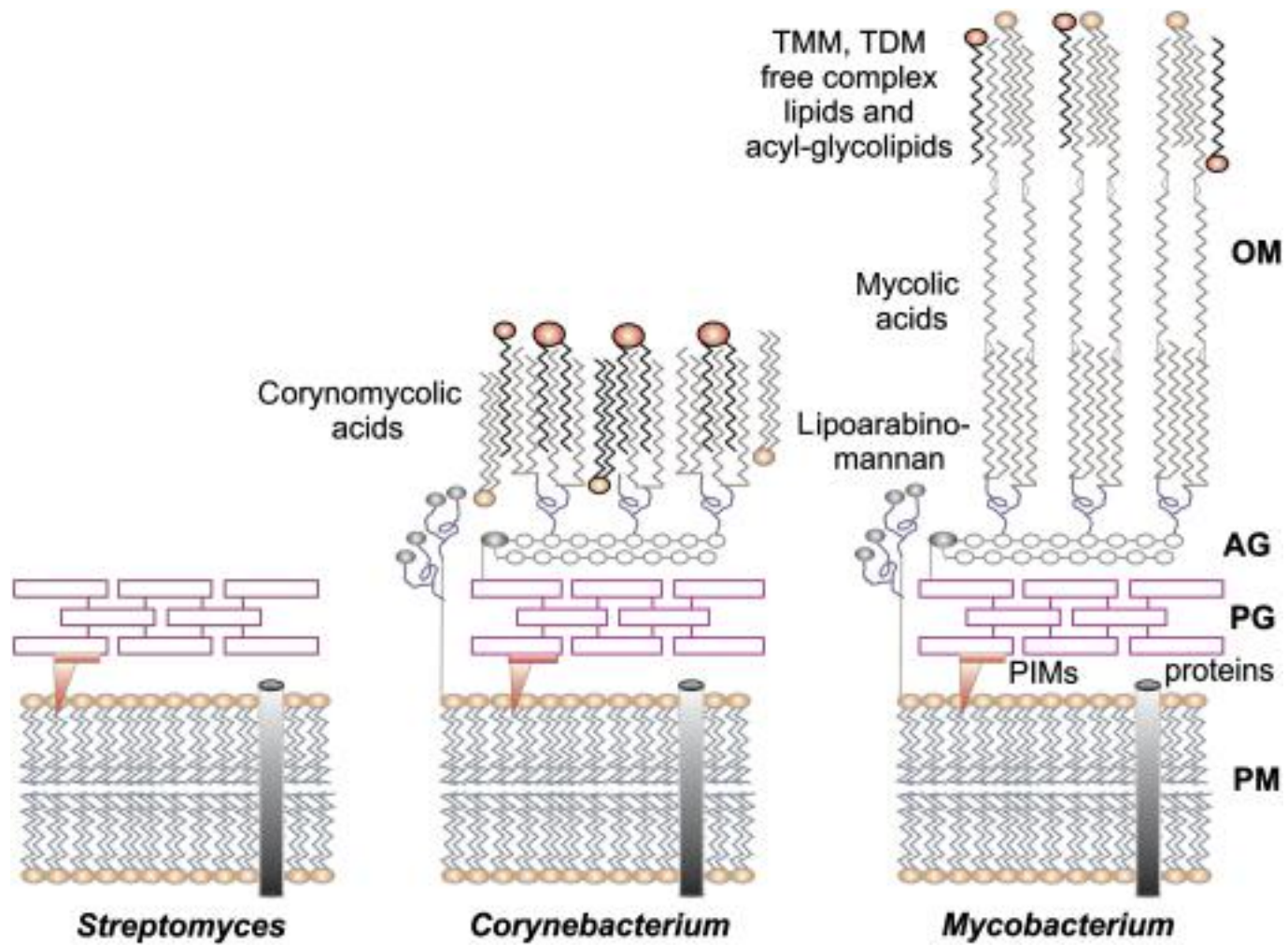
Ácidos micólicos

- Son β -hidroxiácidos grasos ramificados en α , de cadena muy larga (hasta 91 C)
- Están en la cara interna de la pseudo ME constituyendo la micomembrana esterificados al arabinogalactano(arabinosa+galactosa o trealosa)
 - PG \rightarrow arabinogalactano \rightarrow ácidos micólicos

Otros lípidos de en la pared de bacterias AAR

- Glucolípidos
- **Micolatos de trehalosa:** dos unidades de trehalosa unidos entre si. Constituyen el llamado **factor de crecimiento en cuerdas (cord factor)** → responsables de la agregación de las bacterias en forma de “cuerdas” (factor de virulencia)
- **Sulfolípidos de trehalosa:** Importantes **factores de virulencia**. En *M. tuberculosis* funcionan como **evasinas** (evade la acción de los MØ inhibiendo la formación del fagolisosoma)
- **Micósidos:** Factores de virulencia (micólicos +azúcares)
- Ceras: Unión de ácidos micólicos con ftioceroles (alcoholes de alto peso molecular)

Esquema de pared de otros actinomicetos



Papeles conferidos por la pared AAR

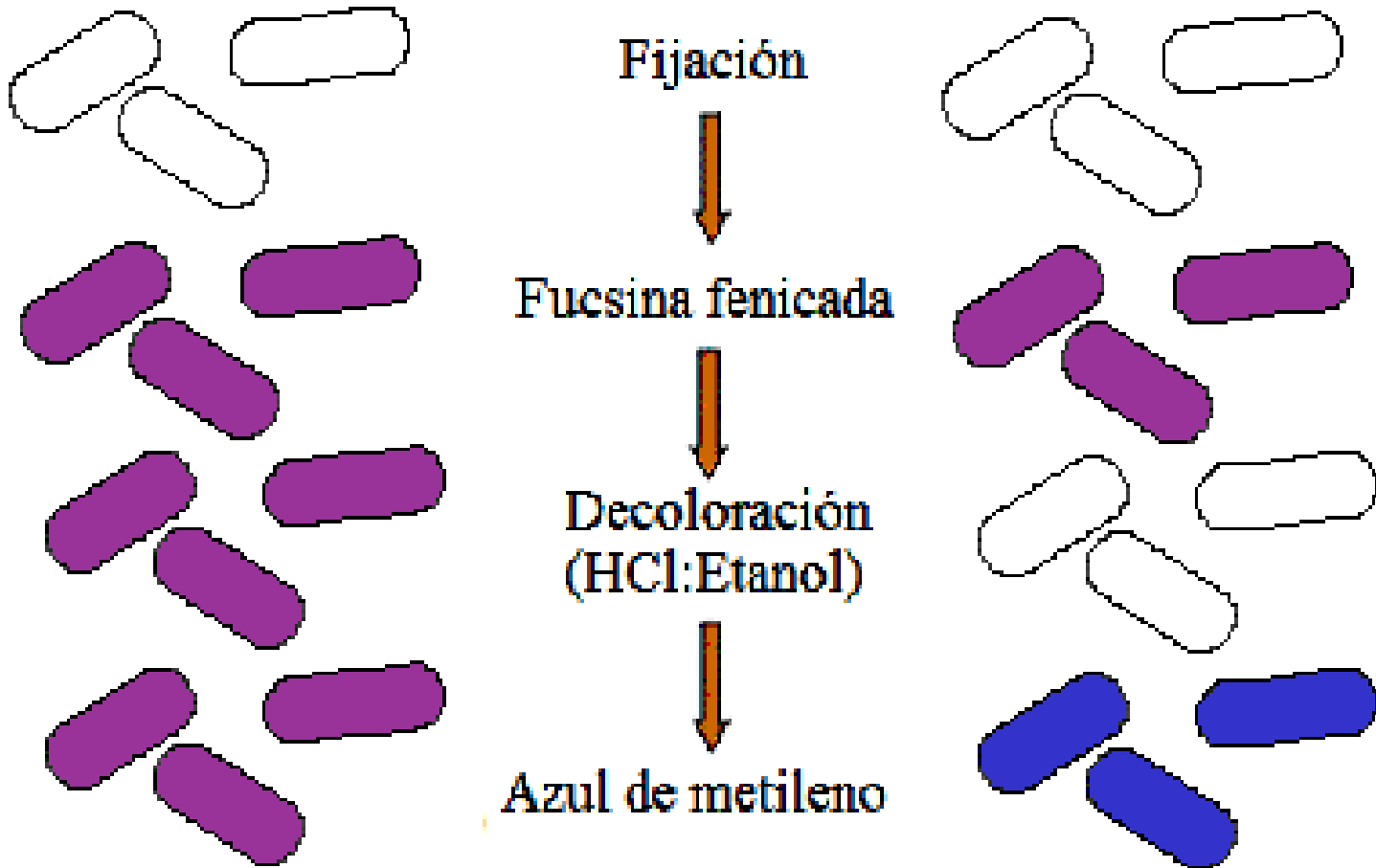
- Aspecto y consistencia c erea de las colonias en placas de Petri
- Forma de serpentina (factor cordón) en medios líquidos
- En líquidos crecen formando grumos
- Gran impermeabilidad
 - Resistencia a desecación
 - Resistencia a agentes antibacterianos
 - Detergentes
 - Oxidantes
 -  cidos y bases
 - nutrientes



Coloración de Ziehl Neelsen

Ácido-Alcohol resistentes

Resto



Las bacterias ácido-alcohol resistentes no son difíciles de teñir... son difíciles de “desteñir”, y eso refleja una envoltura extraordinariamente robusta

Bacterias AAR famosas

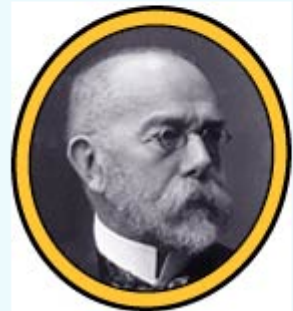
Importantes patógenos
humanos

Mycobacterium leprae

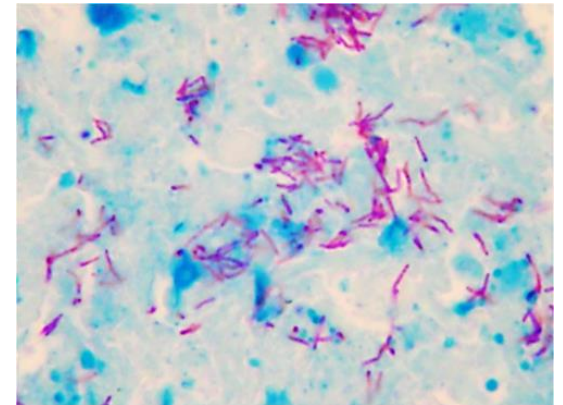
Mycobacterium tuberculosis (1882 bacilo de Koch)

Robert Koch and Tuberculosis

Koch's Famous Lecture



Robert Koch, Nobel Laureate, 1905.



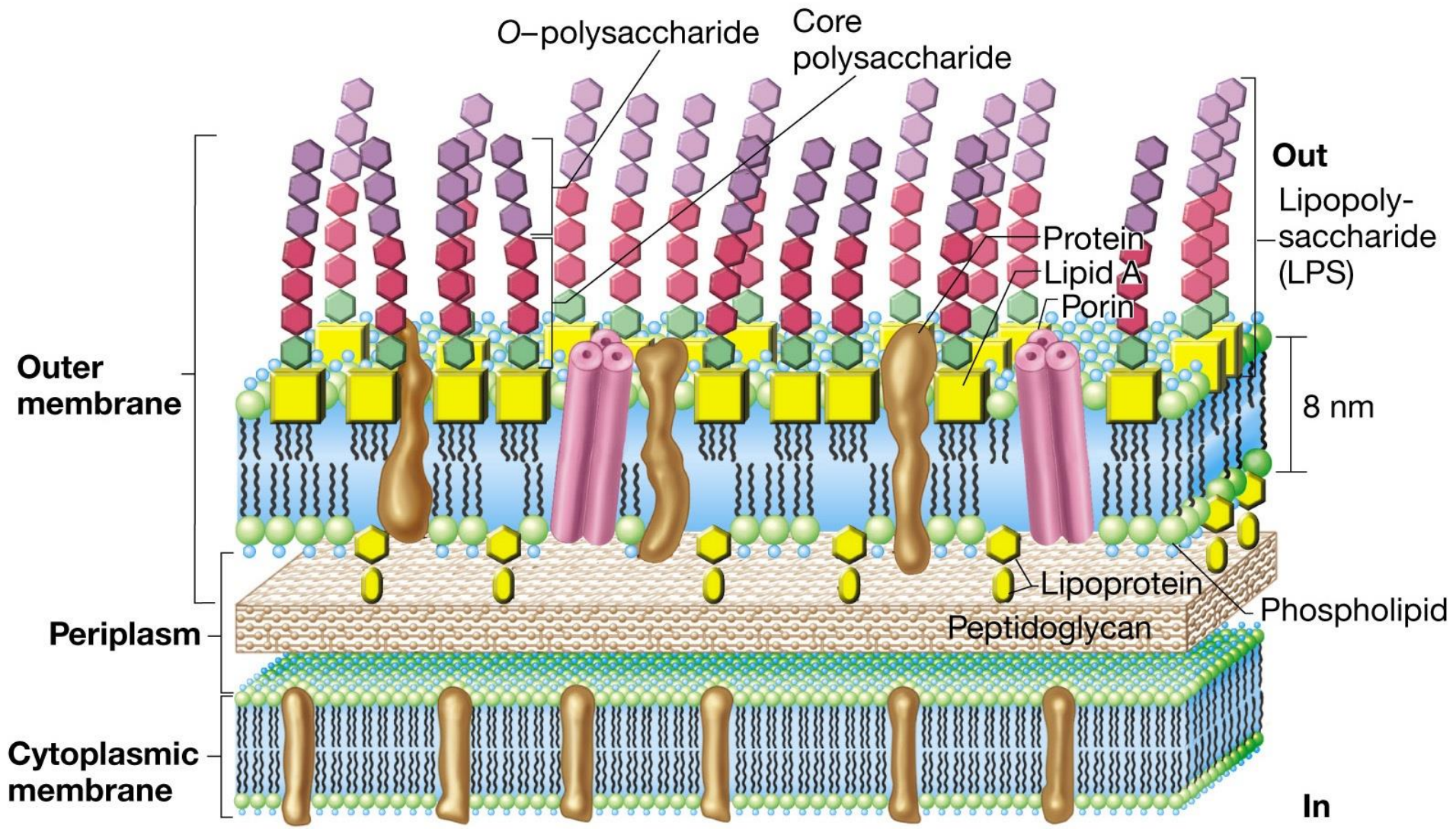
Bacilo de Koch
Bacillus antracis
Postulados de Koch

Paredes de Gram negativas

La envoltura celular de Gram negativas

- Estructuralmente más compleja que Gram (+)
 - capa delgada de PG inmerso en un compartimento llamado ...
 - ... espacio periplásmico el cual a su vez limita con la membrana externa (ME) y la membrana citoplasmática
 - La membrana externa está compuesta por :
 - Lipopolisacárido (LPS)
 - Fosfolípidos
 - Proteínas (Porinas)

Envoltura de las bacterias Gram (-) detalle de la Membrana Externa (ME)



La ME de bacterias Gram (-)

- Bicapa proteolípídica muy asimétrica:
 - En la lámina externa:
 - 60% de proteínas
 - 40% de lipopolisacárido LPS (el 99% de la fracción lipídica de esta capa es LPS)
 - En la lámina interna:
 - No hay lipopolisacárido
 - Existen
 - Fosfolípidos (=MI)
 - Lipoproteínas
 - Otras proteínas

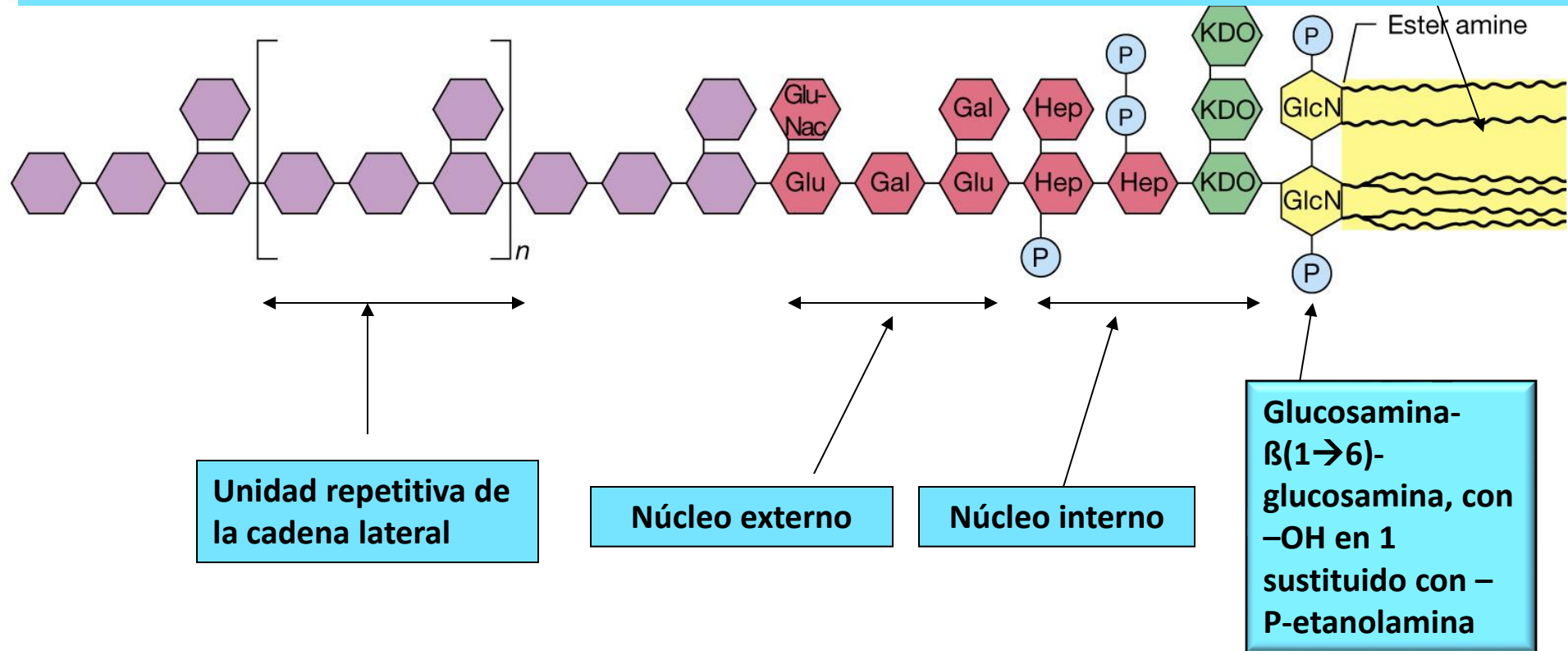
Componentes del lipopolisacárido o LPS

A.G. saturados
(C-14): beta-
hidroximirístico

O-antígeno específico

Núcleo o Core polisacárido

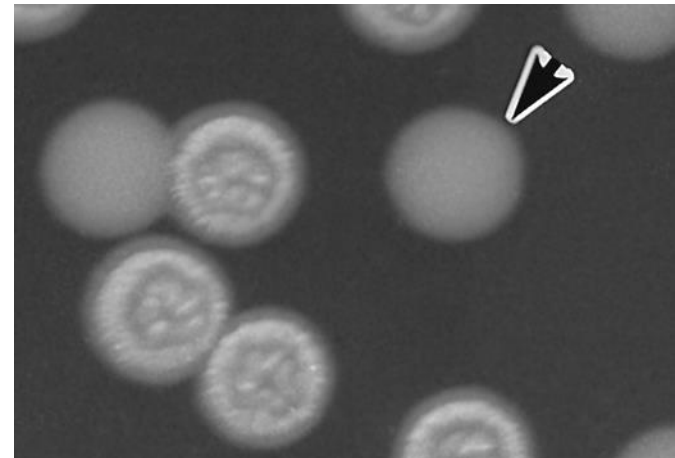
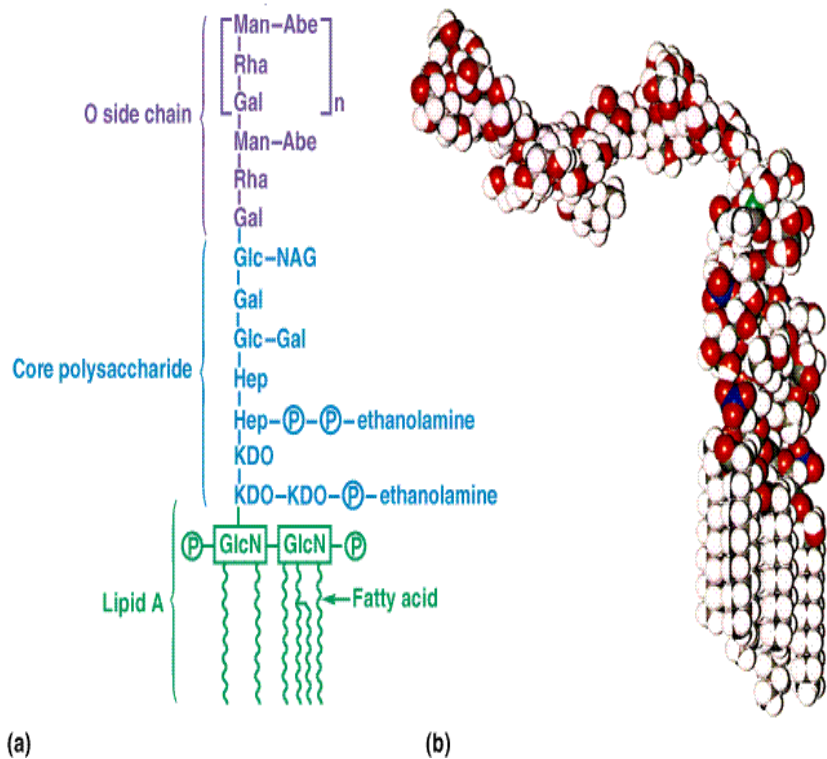
Lípido A



Composición del lipopolisacárido (LPS)

- Región proximal: Lípido A (hidrófobo)
- Región intermedia: oligosacárido central o “core”
- Región distal: cadena lateral específica, polisacarídica (hidrófila) repeticiones de azúcares llamada: Antígeno somático “O” de bacterias Gram-negativas

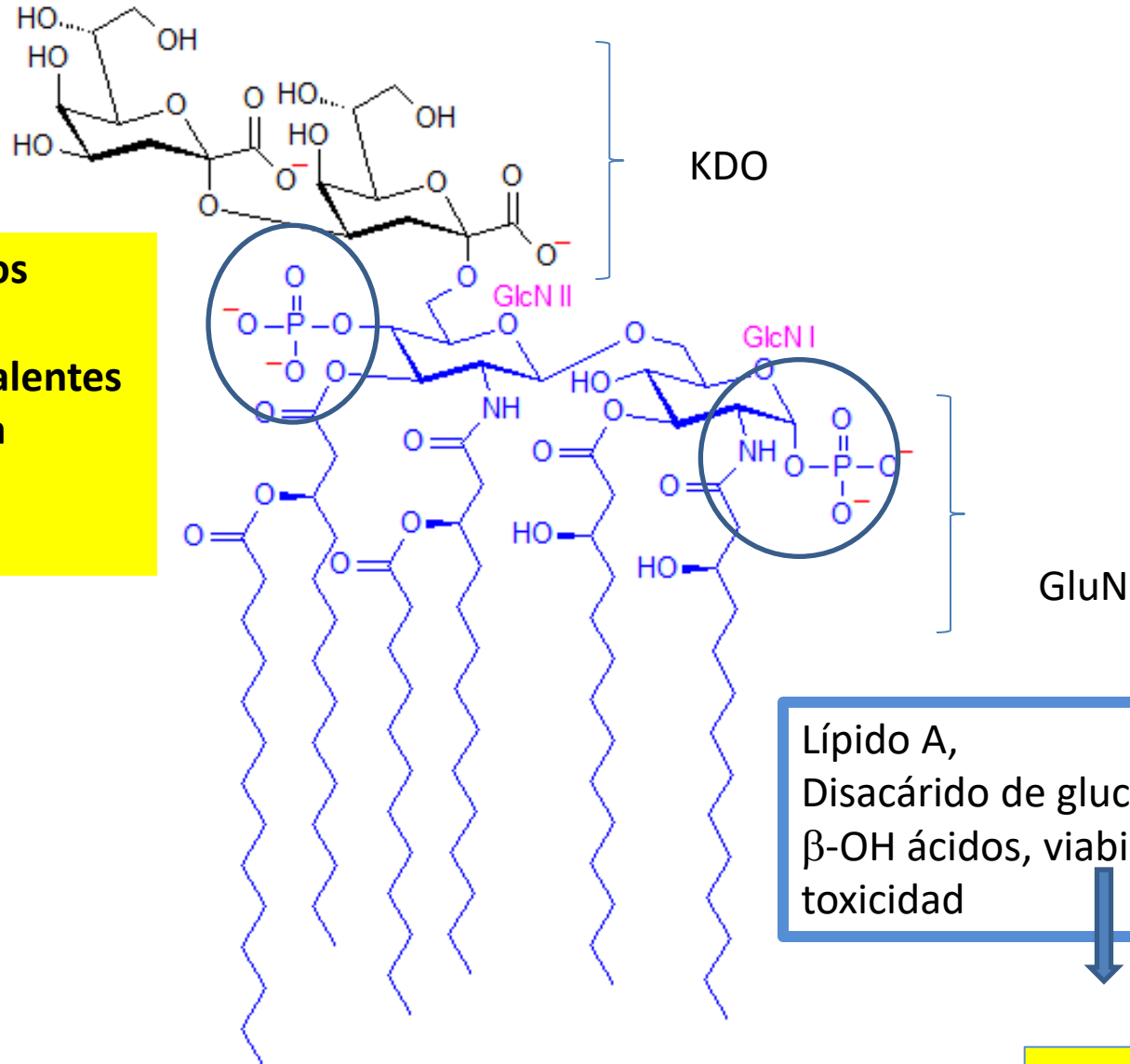
Estructura del LPS y morfología de colonias que no tienen cadenas de azúcares o el antígeno O



Los mutantes incapaces de sintetizar las cadenas laterales o el oligosacárido medular dan colonias rugosas y están afectados en distintas propiedades biológicas, pero pueden sobrevivir

El LPS no solo es una barrera estructural: es un determinante central de la interacción bacteria-huésped y de la virulencia.

Estructura del lípido A unido al KDO



2 grupos fosforilos estabilizan la ME quelan iones divalentes que estabilizan la membrana son esenciales

Lípido A,
Disacárido de glucosamina
 β -OH ácidos, viabilidad anclaje y toxicidad



Endotoxina

The basic lipopolysaccharide of *E. coli*, incorporating lipid A (blue portion of the structure).

Papeles y funciones del LPS

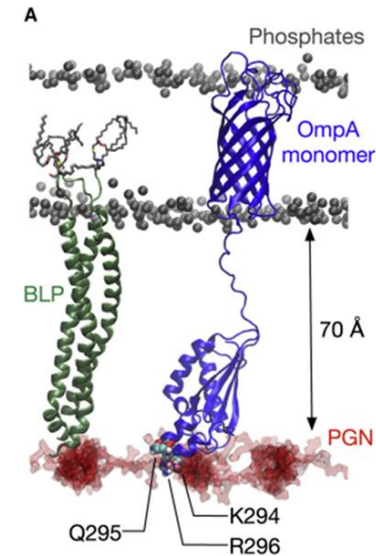
- Papel estructural: lípido A → contiene SFA
 - Menor fluidez de esta membrana
 - Más resistente a detergentes y solventes
- Las cadenas laterales → interacciones covalentes
 - menos permeable a moléculas hidrofóbicas (Ej.: resisten mejor muchos antibióticos)
 - Antígeno somático “O” bacterias Gram-negativas
 - Condiciona virulencia en bacterias patógenas
- Se une a cationes Mg^{++} , Zn^{++}
 - Si añadimos agente quelante, como EDTA → desorganización de la membrana externa

Papeles y funciones del LPS

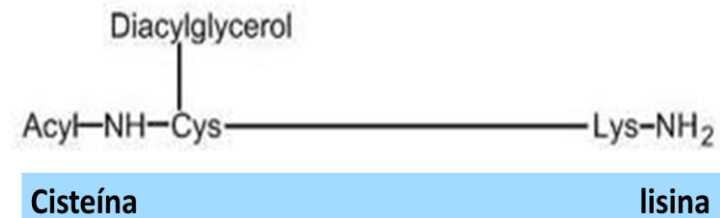
- Región del lípido A: endotoxina
 - **Papel positivo:**
 - El macrófago reconoce el LPS, y libera citoquinas → activa el sistema inmune
 - **Papel negativo:**
 - A veces, el sistema inmune se activa “en exceso” por el LPS, dando síntomas patológicos
 - Inducción de fiebre (pirogenicidad)
 - Hipotensión, a veces con fallo cardiaco
 - Actividad necrótica en tejidos

La lipoproteína de Braun (LPP)- unión entre ME y PG

- Su parte proteica (7-2 kDa) está inmersa en el espacio periplásmico, formando trímeros
- Es muy abundante en la ME de configuración alfa hélice
- El AA N-terminal de la parte proteica es una cisteína
 - Su -SH se une por tioéter a un diglicérido de la lámina interna de la ME.
 - Su -NH se une por amido a un ácido graso.
- El AA C-terminal es una lisina
 - Se une por su -NH con el -COOH libre del m-DAP del PG → anclaje firme entre LPP y PG
 - Una Lpp por cada 20 unidades disacarídicas de PG

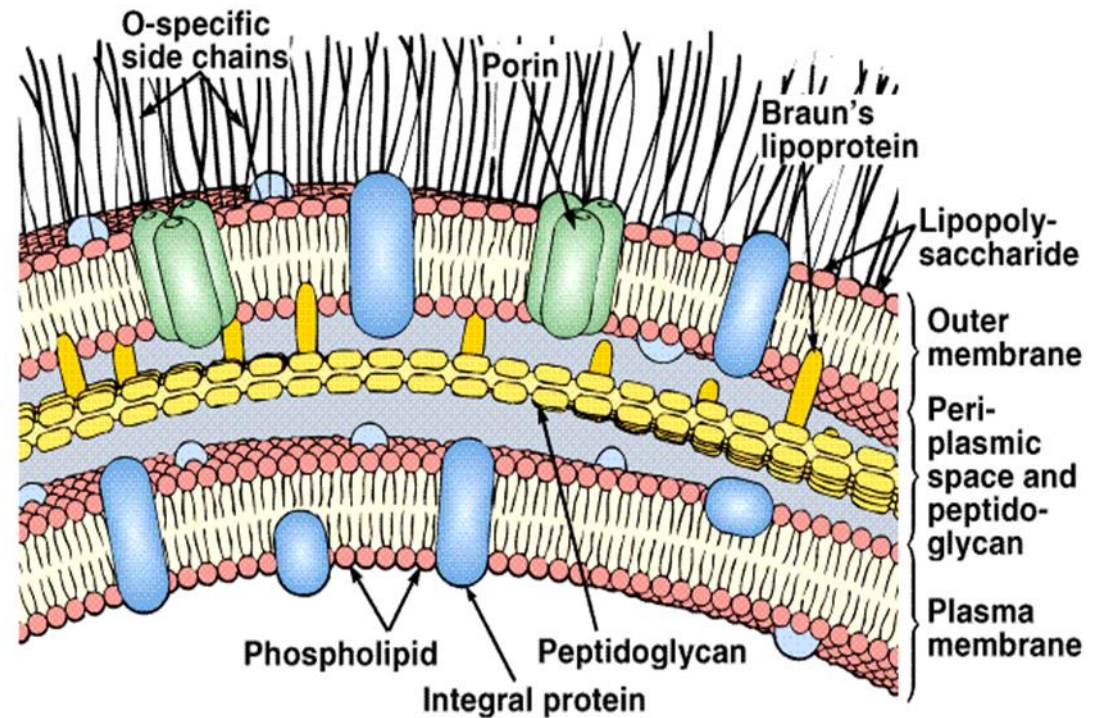


Porción embebida en la ME
Interacción hidrofóbica

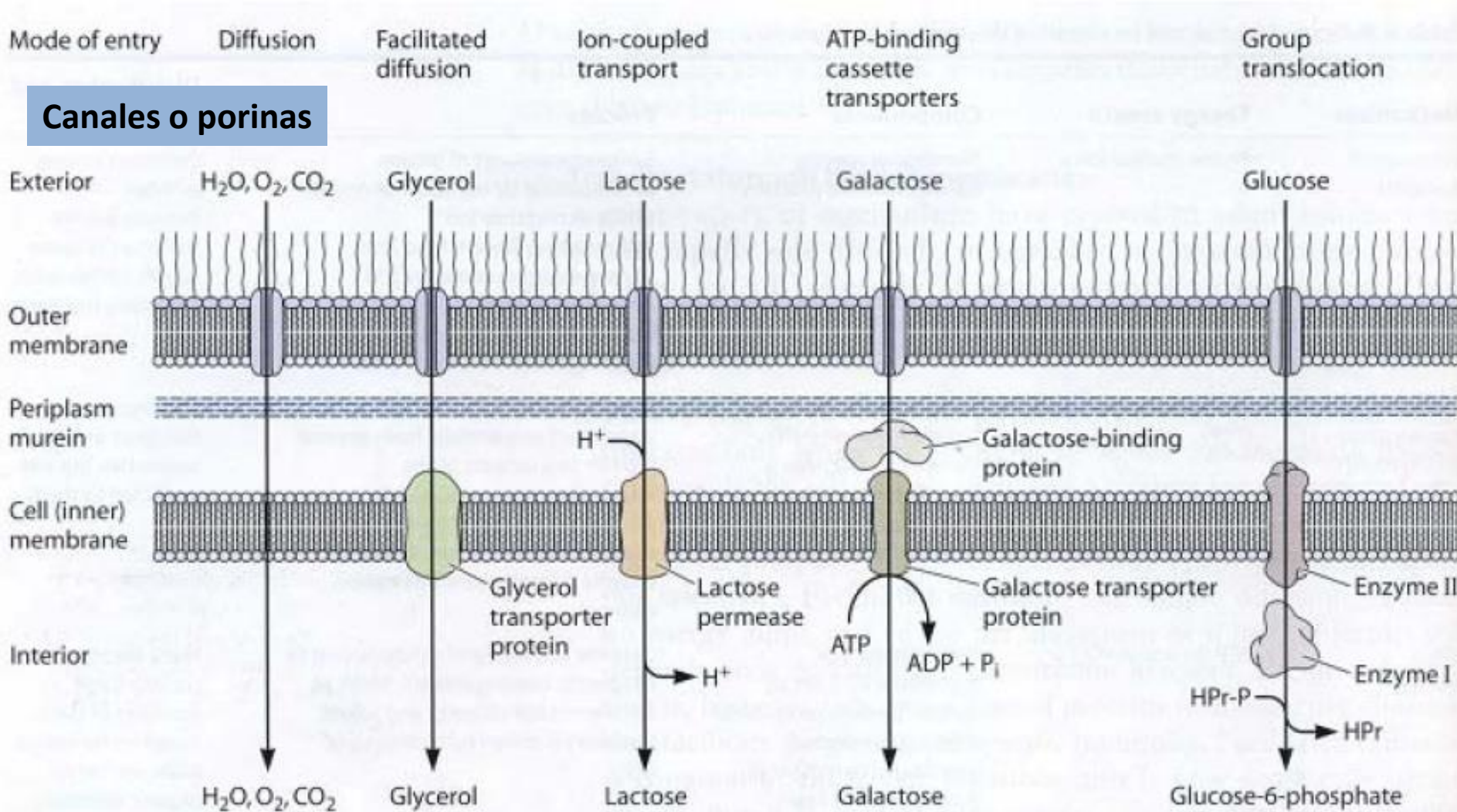


Papeles y funciones de las lipoproteínas

- Rol estructural :
Estabiliza la envoltura de Gram negativas
- Mantiene unida la ME a la superficie celular
- Es una proteína muy abundante y aumenta en el PG maduro

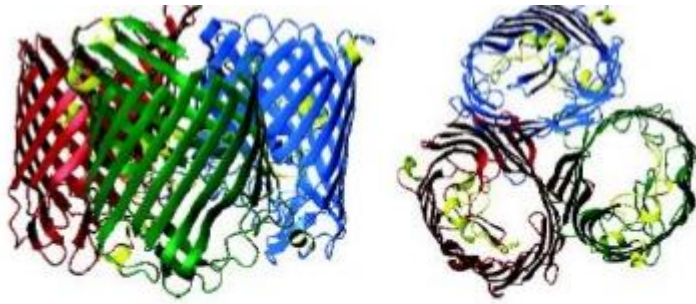


El Cruce de las Dos Membranas



Proteínas de la membrana externa

- **Porinas:** Canales pequeños no específicos que permiten el paso de moléculas **hidrofílicas**. **Funcionan como “puertas” para moléculas pequeñas**
- Forman trímeros, con canales interiores que atraviesan la membrana externa
- Solo dejan pasar moléculas por debajo de cierto tamaño (<500-700 Da)
- En enterobacterias: protección frente a sales biliares
- Otras proteínas son canales específicos:
 - Para vitamina B12 (BtuB)
 - Para quelatos de Fe
 - Para ciertos nutrientes
 - LamB canales de maltosas y maltodextrinas



Las porinas: transportan Azucares iones y AA sin gasto de E

Periplasmic space and peptidoglycan

Las porinas son barriles beta transmembranales

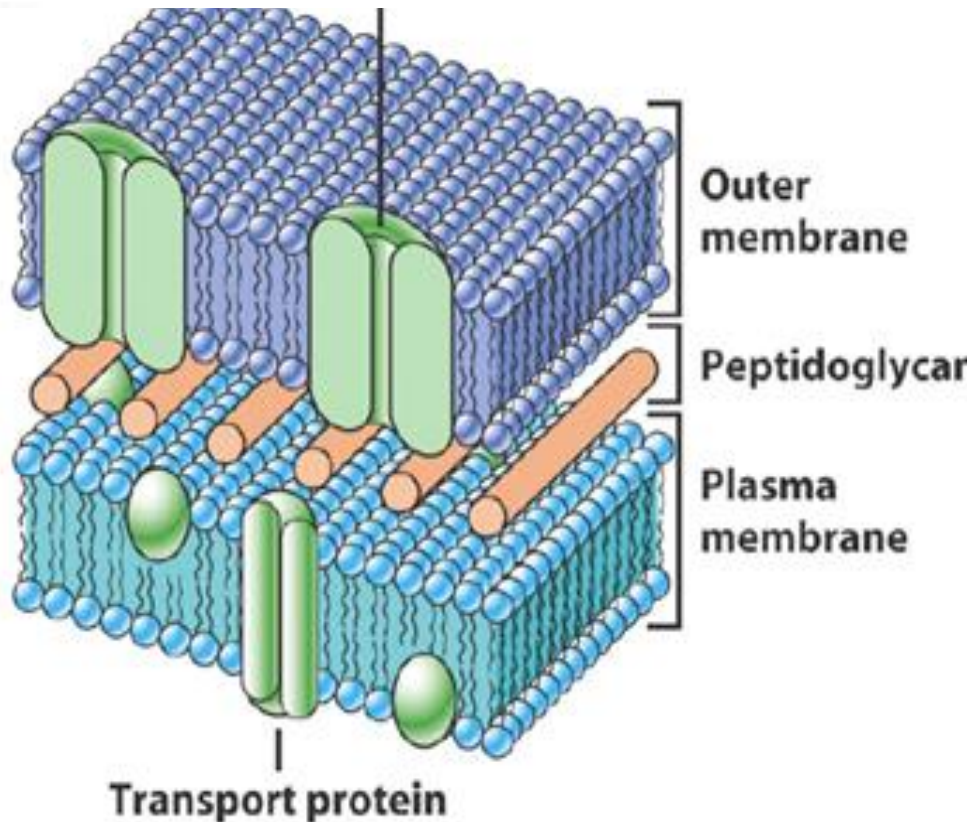
Porinas mayoritarias

OmpF: poro grande

OmpC: poro chico

PhoE

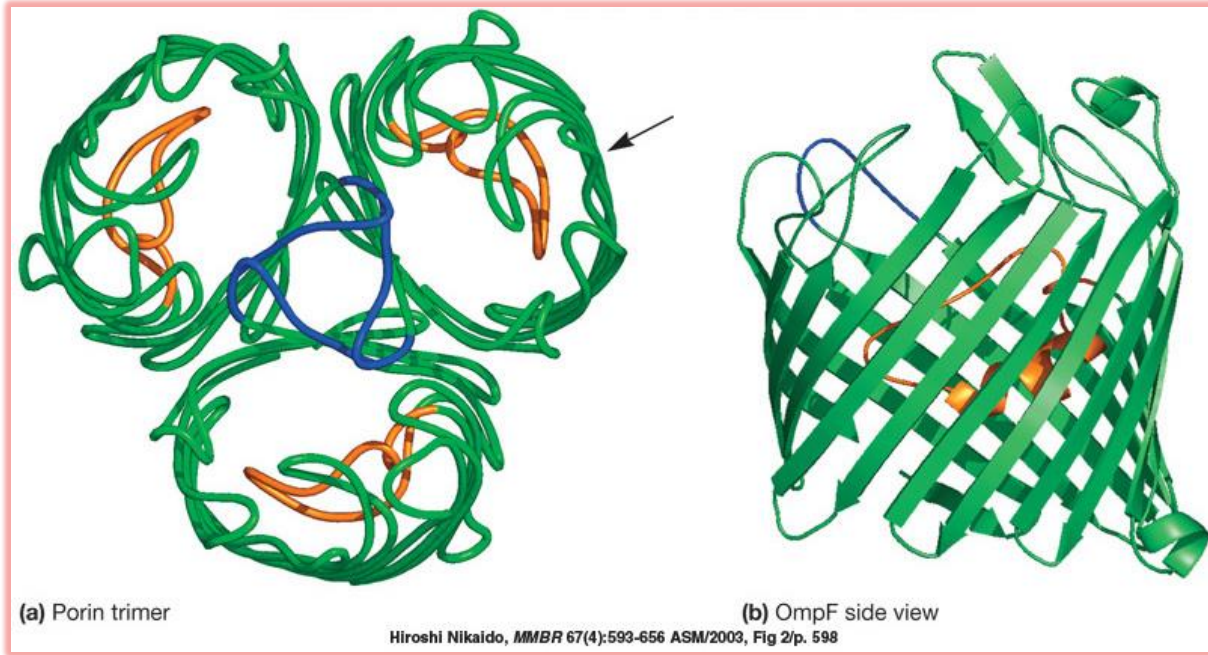
OmpC y OmpF están presentes siempre



IMPORTANCIA
Nutrición
Resistencia a ATB

Las porinas

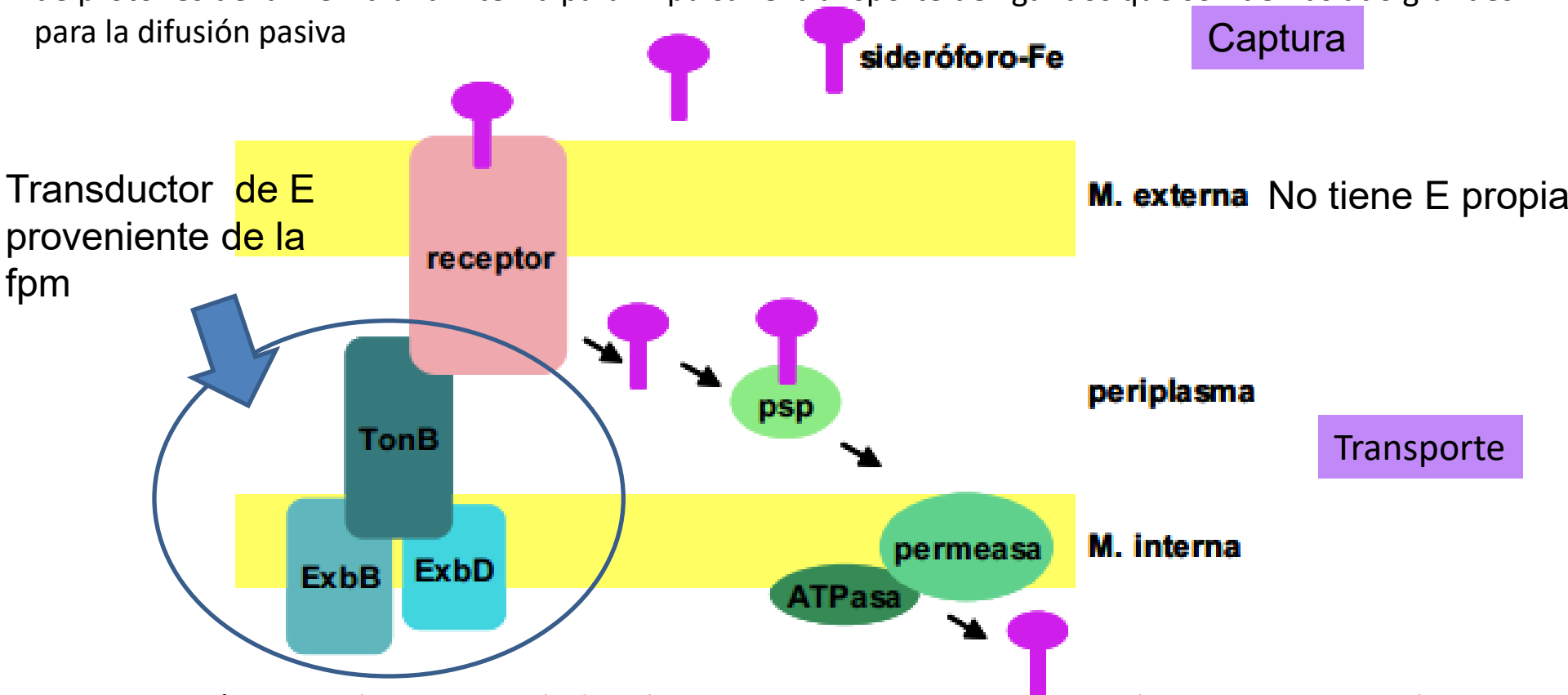
OmpF



Porina	Tamaño del canal	Peso molecular	Expresión a baja osmolaridad	Expresión a alta osmolaridad
OmpF	0.58 nm radius	38,306 Da	alta	reprimida, muy baja
OmpC	0.54 nm radius	37,083 Da	Muy baja	alta

Transportadores dependientes de TonB(TBTD)

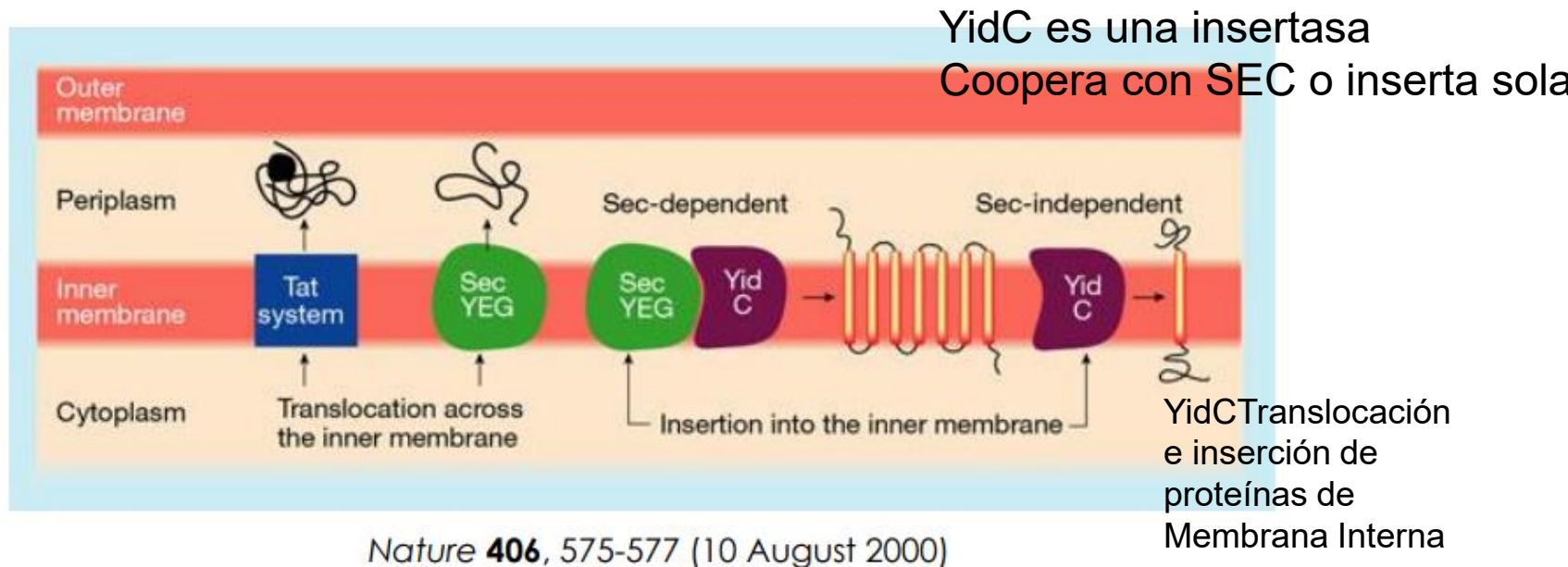
El sistema **TonB-ExbB-ExbD** es un complejo de proteínas esencial en G(-) que permite el **transporte activo de nutrientes escasos (como hierro, vitamina B) a través de la membrana externa.** Utiliza la fuerza motriz de protones de la membrana interna para impulsar el transporte de ligandos que son demasiado grandes para la difusión pasiva



TonB. Proteína periplásmica anclada a la MI y que tiene contacto con la ME, es requerida para el transporte de varios solutos que no pasan por las porinas y que requieren receptores en la ME, ej los sideroforos. TonB es energizado por la energía de la membrana, sufre un cambio conformacional lo transduce al receptor y resulta en la traslocación del soluto.

Sistemas generales de transporte de proteínas al exterior del citoplasma-Moléculas grandes

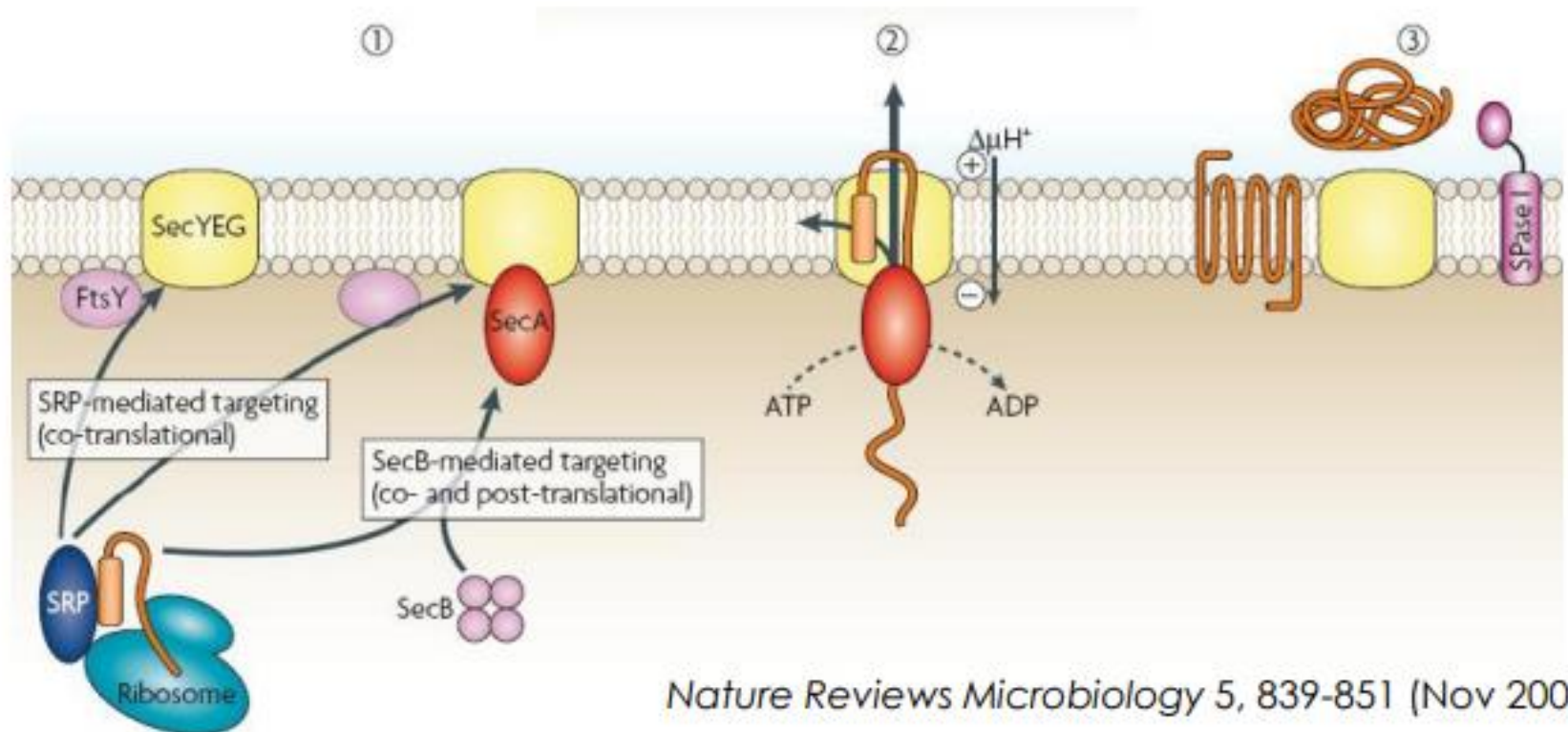
- Sistema Sec (General Secretory Pathway "GSP"). Sistema de translocación y exportación de proteínas no plegadas.
- Sistema Tat (Twin arginine translocation). Sistema de translocación y exportación de proteínas plegadas.
- Translocasa YidC. Sistema de translocación de proteínas de Membrana Interna.



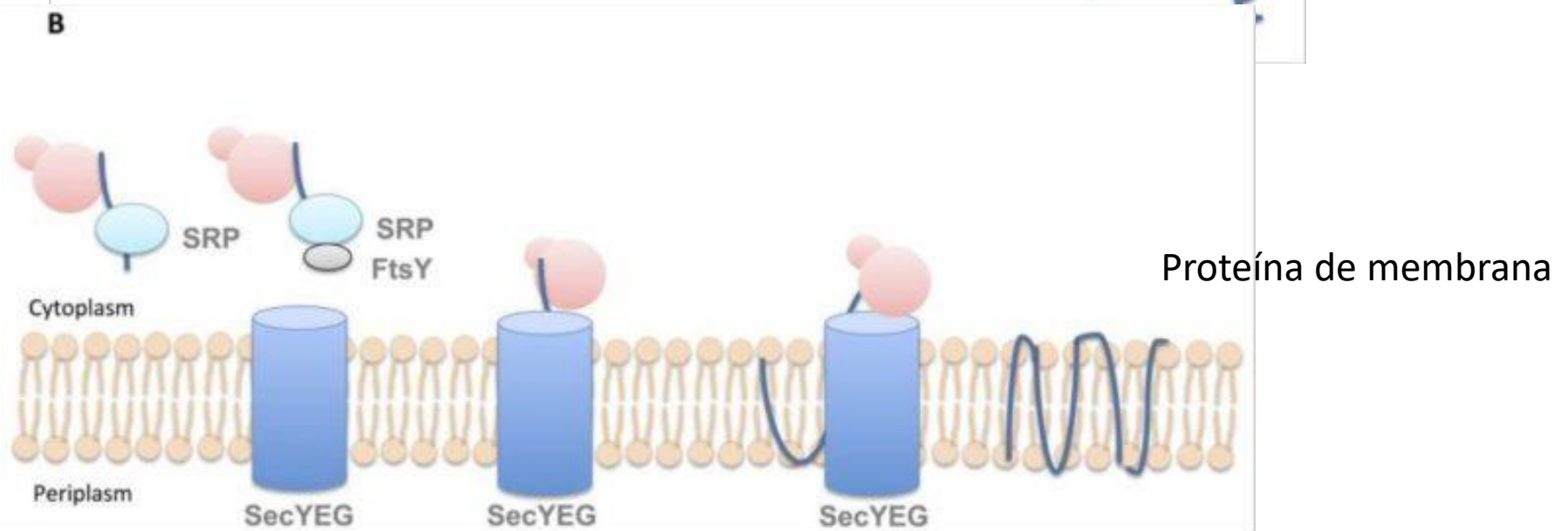
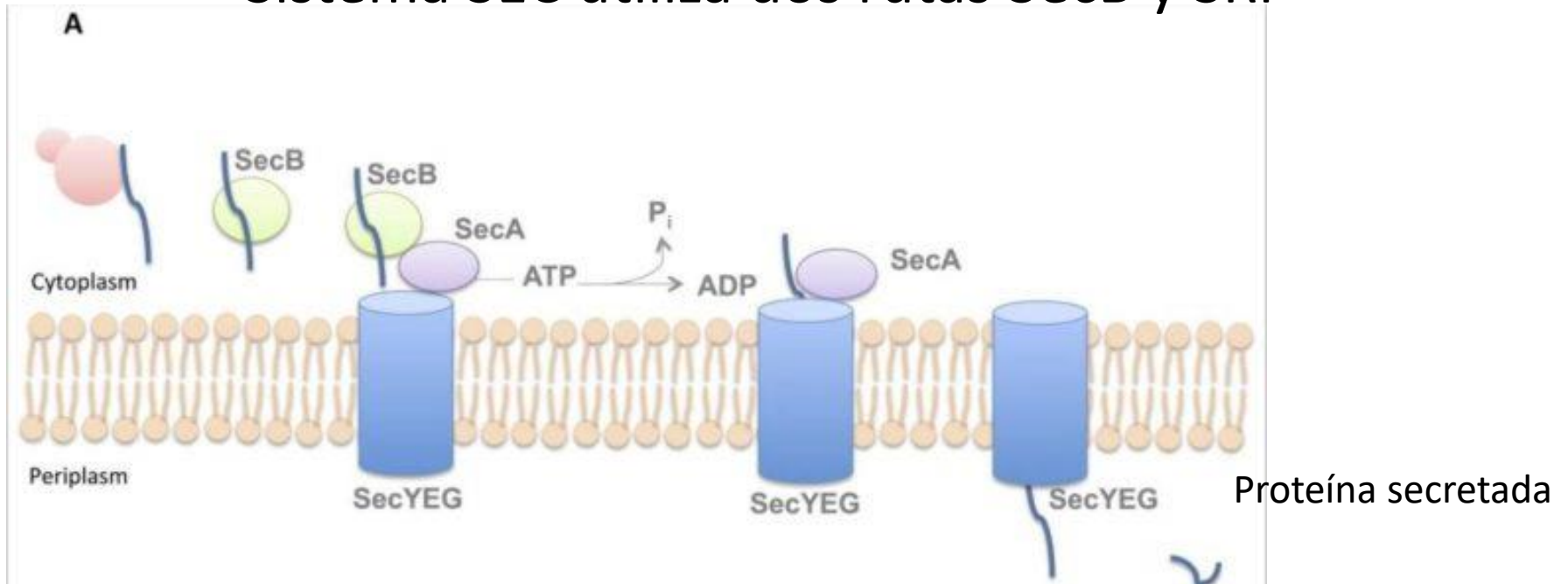
Sistema Sec

Autopista principal

1. Reconocimiento y guía a la proteína (translocación co-traduccionales y post-traduccionales)
2. Translocación.
3. Liberación y maduración.

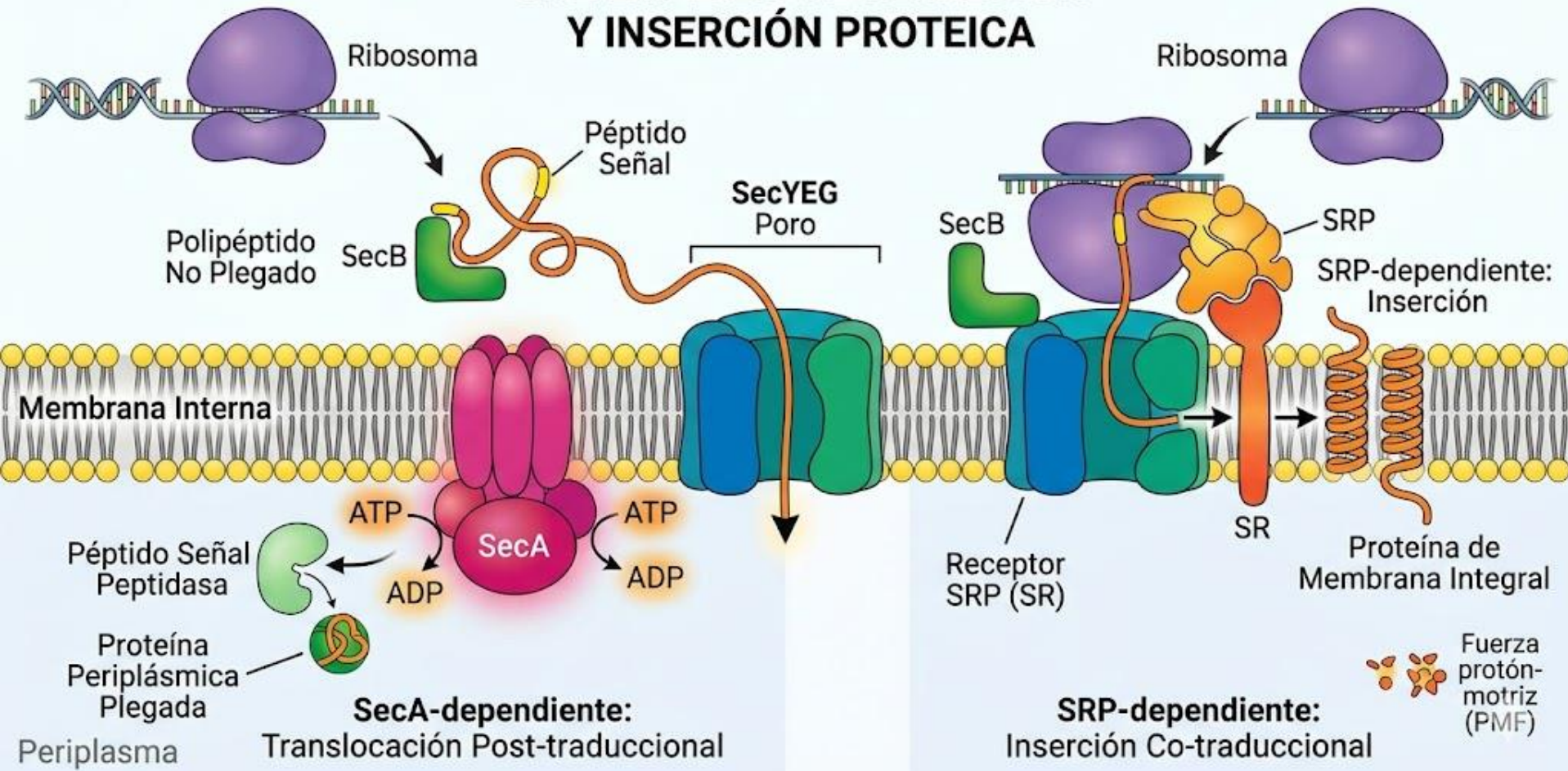


Sistema SEC utiliza dos rutas SecB y SRP



Citoplasma

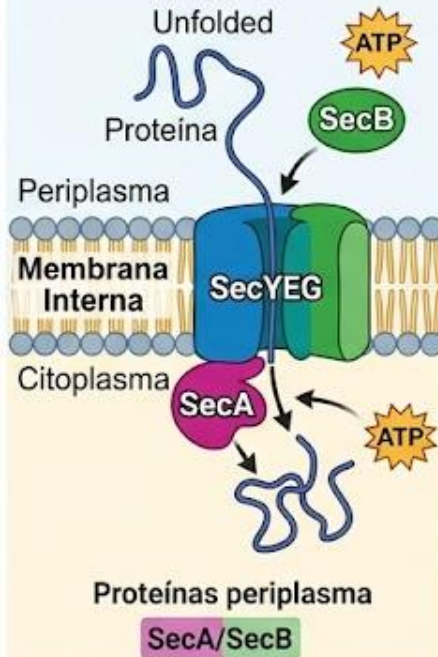
SISTEMA SEC DE SECRECIÓN Y INSERCIÓN PROTEICA



VÍA SEC (Sec-dependiente)

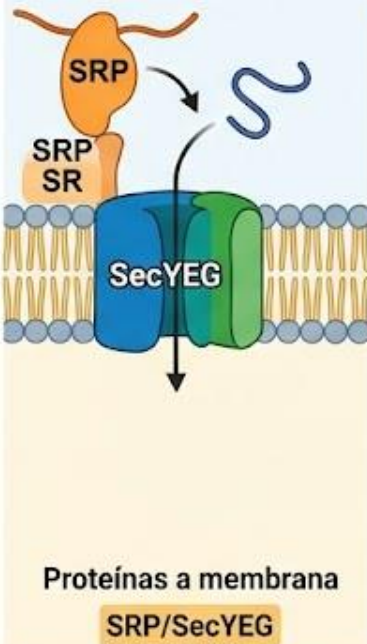
1. Post-traduccional (SecA/SecB)

Proteínas periplasmicas



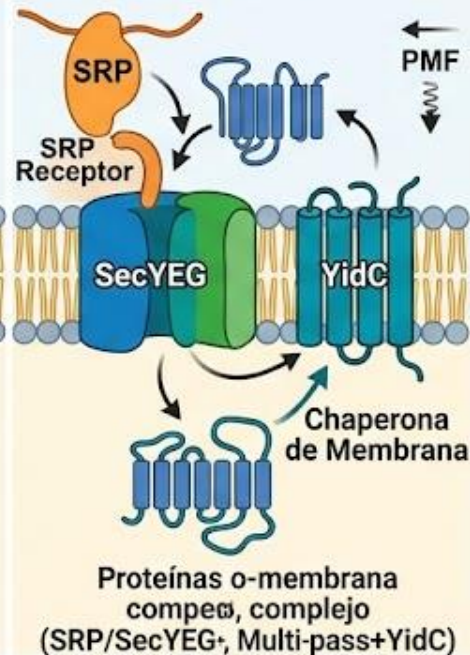
2. Co-traduccional (SRP/SecYEG)

Proteínas membran de uina single-paso



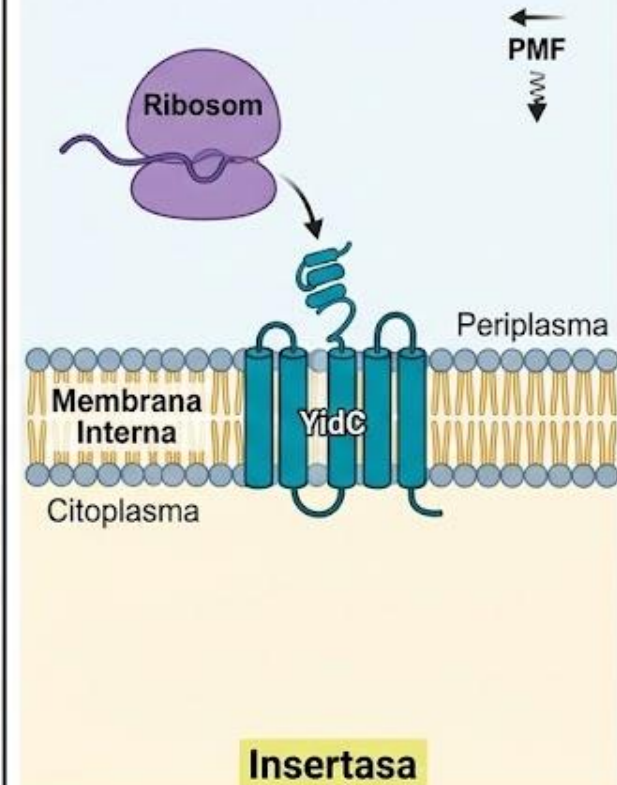
3. Co-traduccional (SRP/SecYEG+YidC)

Proteínas membrana complecs, complejo, multi-pasas



Mecanismo: **Translocón**

VÍA YidC (YidC-solo)



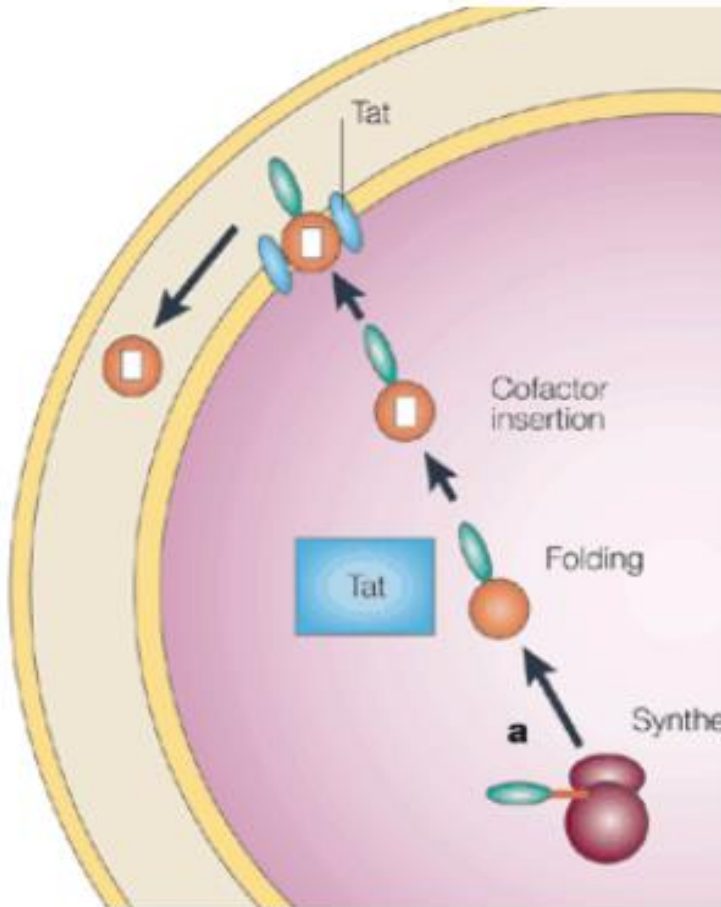
Mecanismo: **Insertasa**

Sistema Tat (twin arginine translocation)

Twin arginine translocation (Tat). Sistema de translocación y exportación de proteínas plegadas.

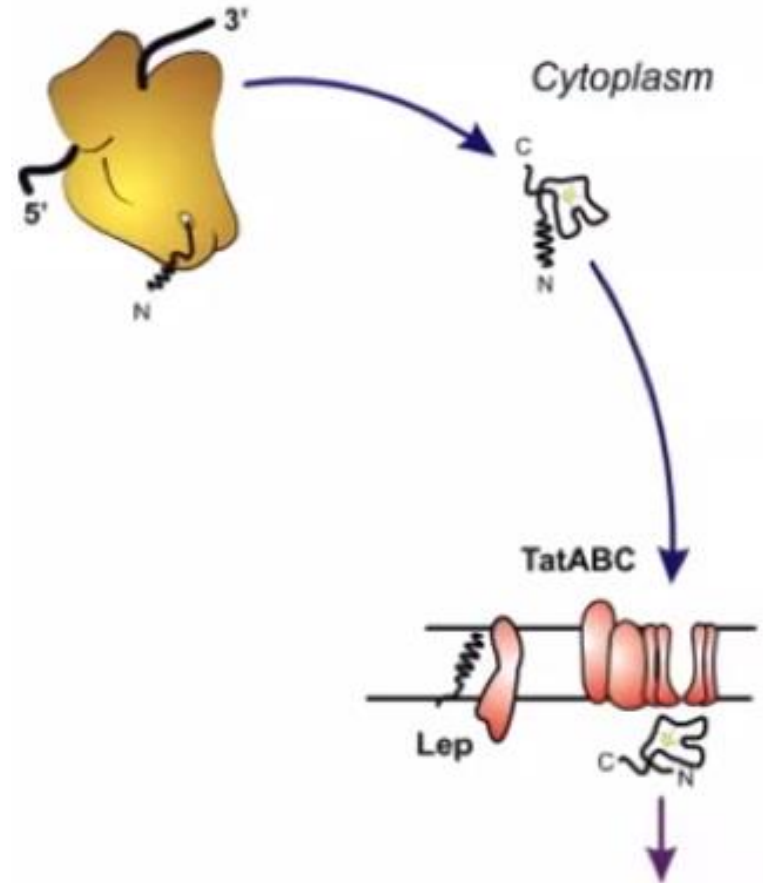
Se ha encontrado en:

- La membrana citoplasmática en bacterias y arqueas.
- Membranas tilakoides de los cloroplastos en plantas.
- Posiblemente en la membrana interna de la mitocondria.



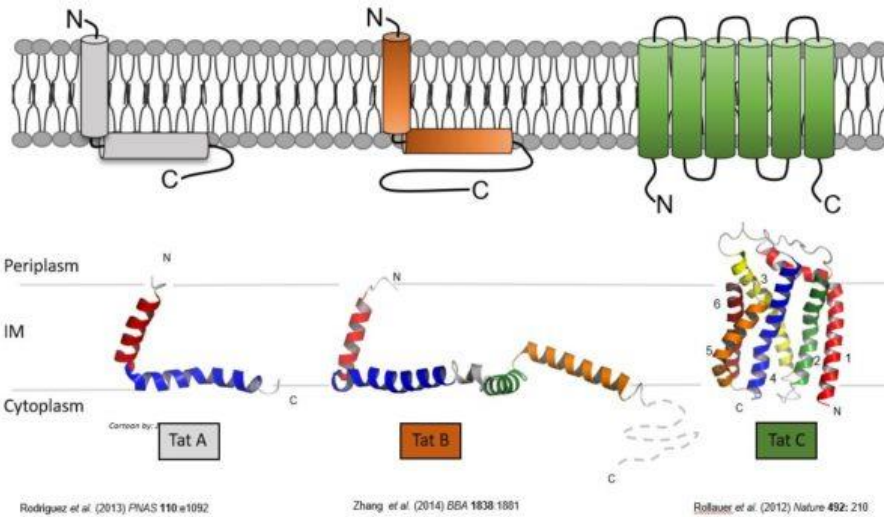
Sistemas TAT

- Mecanismo preferencial de secreción de proteínas en las arqueas halófilas extremas, su importancia es secundaria en las bacterias.
- Ausente en eucariotas
- Esencial para la virulencia de algunas bacterias y la división celular
- Transporta proteínas en estado parcial o totalmente nativo y enzimas con cofactores.
- Proteínas sustratos poseen péptido señal en extremo N-terminal con motivo característico que contiene dos argininas.
- Depende de FPM.
- Exporta proteínas secretadas al medio
- Remodelación de la membrana
- Traslocasa TatABC



Natale *et al* 2008

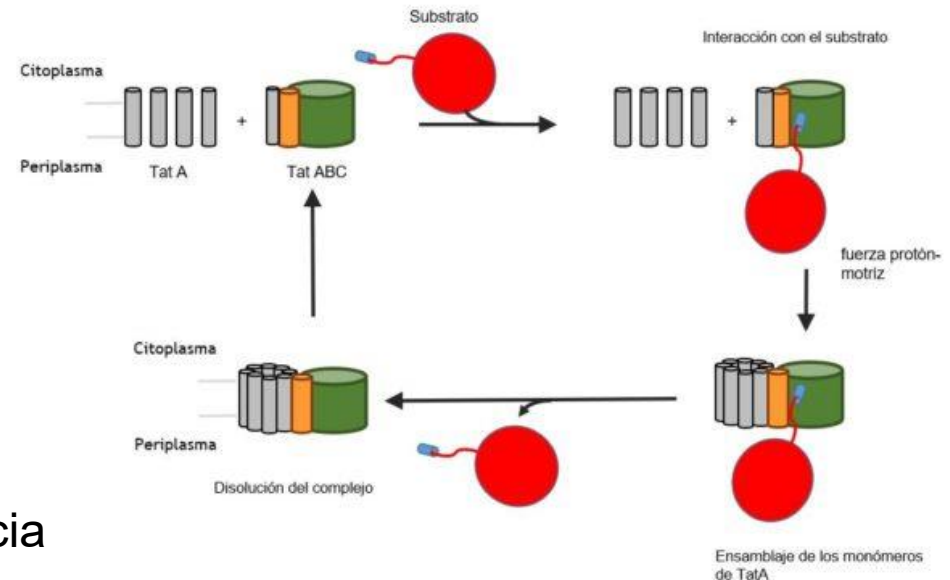
Translocasa TAT



En *E. coli* encontramos tres componentes básicos para el sistema Tat: Tat A, Tat B y TatC.

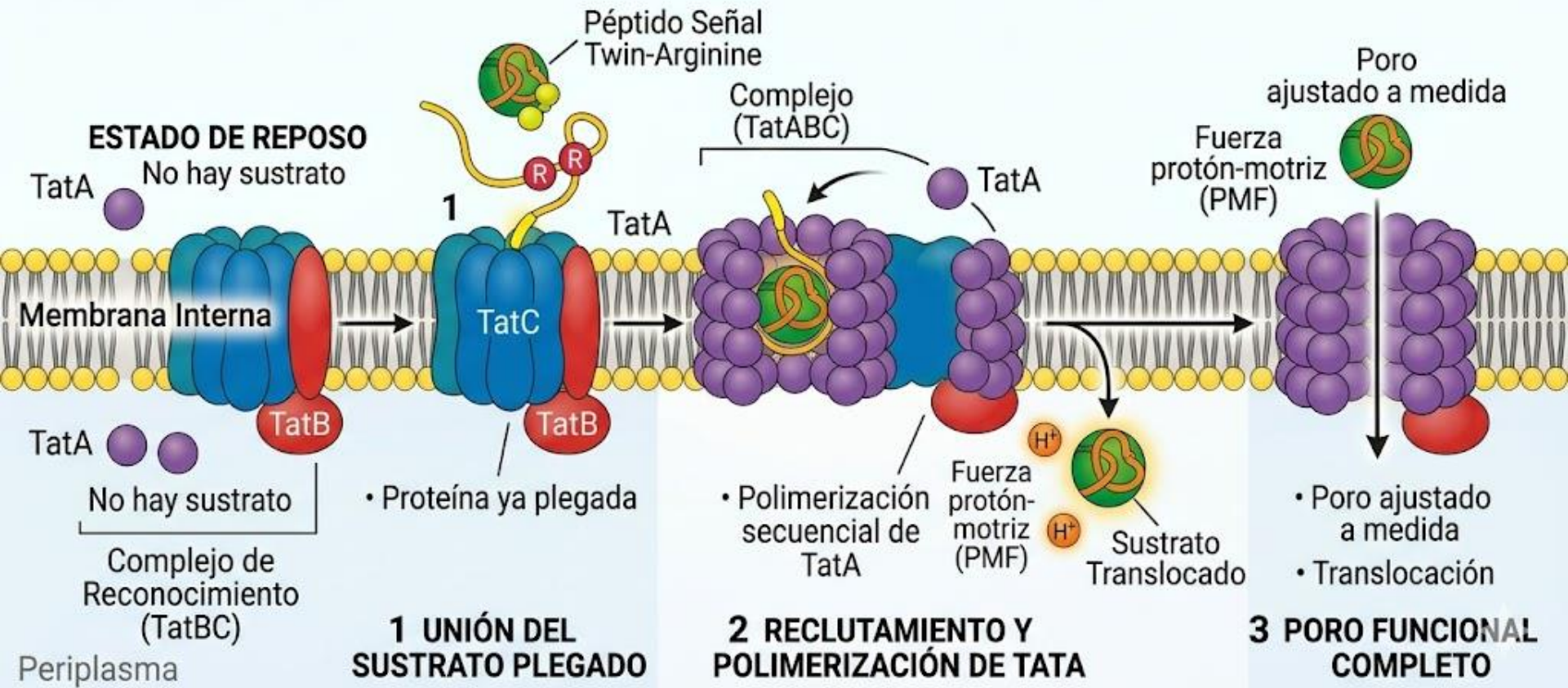
TatC es mucho mayor, posee 6 helices que cruzan la membrana y es el “andamio” sobre el que los otros componentes se reúnen para el transporte.

Sabemos que existe probablemente un complejo en la membrana formado por los componentes ABC en igual proporción. Parece ser que cuando una proteína (sustrato) entra en contacto con TatC, se disparan una serie de modificaciones que desencadenan en el reclutamiento de muchas unidades de TatA que de alguna forma transportan el sustrato al exterior de la membrana intern



Remodelación de la MC, división , virulencia

Citoplasma



Como es el transporte hacia el exterior en Gram positivas

1. Sistema Sec (El más importante) Está presente y es vital. En las Gram positivas, el sistema Sec (SecYEG + SecA) se encarga de: Secretar proteínas al exterior: las proteínas que pasan por el Sec terminan en la pared celular o se liberan al medio ambiente (como muchas toxinas y enzimas digestivas). Insertar proteínas en la única membrana
2. Sistema Tat También está presente en muchas Gram positivas (como *Bacillus subtilis* o *Streptomyces*). Se usa para exportar proteínas ya plegadas que a veces contienen cofactores metálicos. Al atravesar la membrana, estas proteínas quedan atrapadas en la malla del peptidoglicano o son liberadas al exterior.
3. Sistema YidC Es esencial. De hecho, en bacterias Gram positivas como *Bacillus*, se han encontrado incluso dos copias de YidC (llamadas SpoIIIJ y YqjG). Su función es la misma: ayudar a insertar proteínas en la membrana interna, especialmente las de la cadena respiratoria.

Característica	Bacteria Gram Negativa	Bacteria Gram Positiva
Barreras a cruzar	Membrana Interna + Membrana Externa.	Membrana Citoplasmática.
Sistemas Sec / Tat	Envían proteínas al Periplasma.	Envían proteínas al Exterior (o pared).
Sistema YidC	Inserta proteínas en la Membrana Interna.	Inserta proteínas en la Membrana Única.
Complejo TonB	Esencial para transducir energía a la membrana externa.	Inexistente (no es necesario).
Entrada de Hierro	Requiere TBDT + TonB + ABC.	Requiere solo el Transportador ABC.

Sec: "Salida rápida" (proteínas lineales).

Tat: "Carga voluminosa" (proteínas ya plegadas).

YidC: "Instalador interno" (proteínas de membrana).

Sortasa: "Remachador externo" (solo en Gram positivas).

Papeles y funciones de la membrana externa

- Tamiz molecular
 - Permite el paso de moléculas relativamente pequeñas
 - protección frente a agentes antibacterianos
 - Colorantes
 - Antibióticos
 - Enzimas (ej.: lisozima)
 - Ácidos biliares

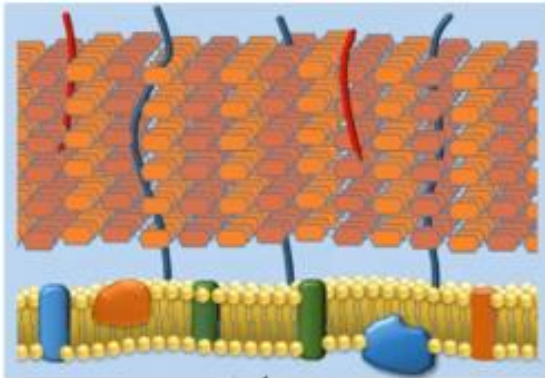
Papeles y funciones de la membrana externa

- Condiciona propiedades de superficie:
 - Grado de humedad
 - Adhesividad
 - Carga eléctrica
- Lugar donde se fijan las proteínas del sistema defensivo : Complemento del hospedador
- Lugares de adsorción de ciertos fagos
- Uniones de Bayer. Puntos de contacto con la MI

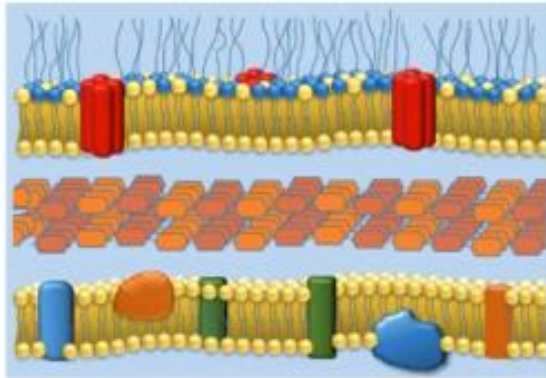
El espacio periplásmico (periplasma)

- Compartimento acuoso, contiene proteínas, sales, oligosacáridos y peptidoglicano. Estos últimos existen en forma hidratada formando un gel.
- Compartimiento con actividades especializadas
 - RNasas y fosfatasas
 - Proteínas de transporte de ciertos nutrientes
 - Proteínas de unión a señales químicas
 - Enzimas hidrolíticas
 - proteínas de transporte de electrones
 - Proteína TonB
 - Función de osmoregulación :MDO (membrane derivate oligosaccharide)

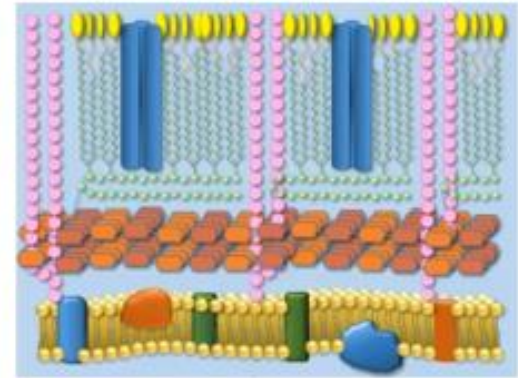
Gram Positive



Gram Negative

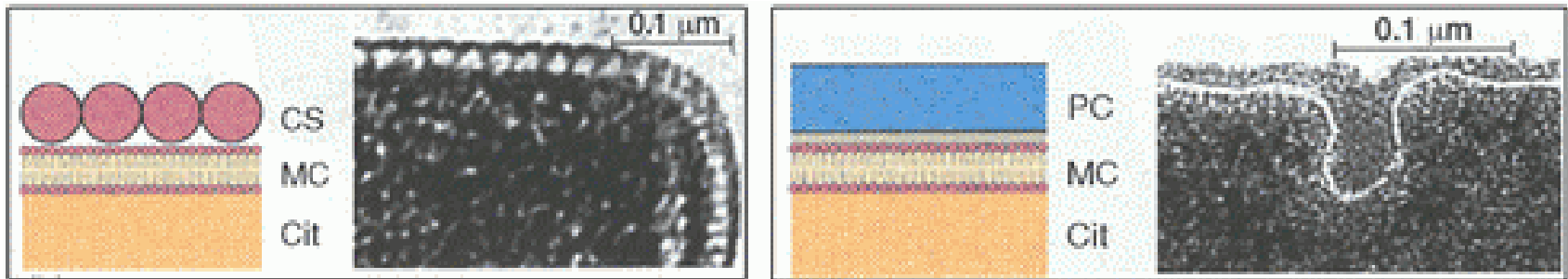


Acid Fast



Característica	Gram +	Gram -	AAR
Pared celular	Gruesa	Delgada	Intermedia
Peptidoglicano	Abundante	Escaso	Presente (base)
Membrana externa	No	Sí (con LPS)	No clásica
Componentes distintivos	Ácidos teicoicos	LPS, porinas	Ácidos micólicos
Permeabilidad	Moderada	Selectiva	Muy baja
Tinción	Violeta	Rosa	Rosa fuerte (Ziehl-Neelsen)
Resistencia a antibióticos	Variable	Alta (barrera externa)	Muy alta (barrera lipídica)
Ejemplo	Bacillus	Escherichia coli	Mycobacterium

Paredes de las arqueas



CS: capa superficial, MC: membrana citoplasmática, PC: pared celular, Cit: citoplasma

Aunque las arqueas pueden comportarse como Gram-positivas o como Gram-negativas, no se suele aludir a esto en este dominio de procariotas, ya que sus paredes tienen poco que ver con las de eubacterias

Paredes de las arqueas

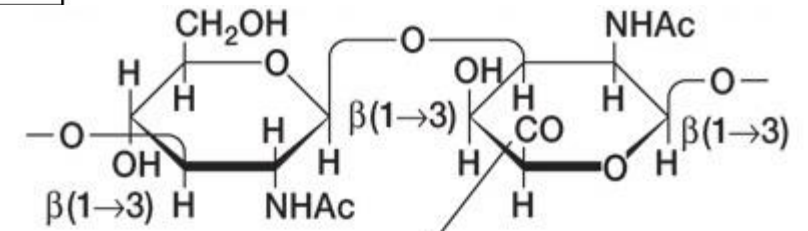
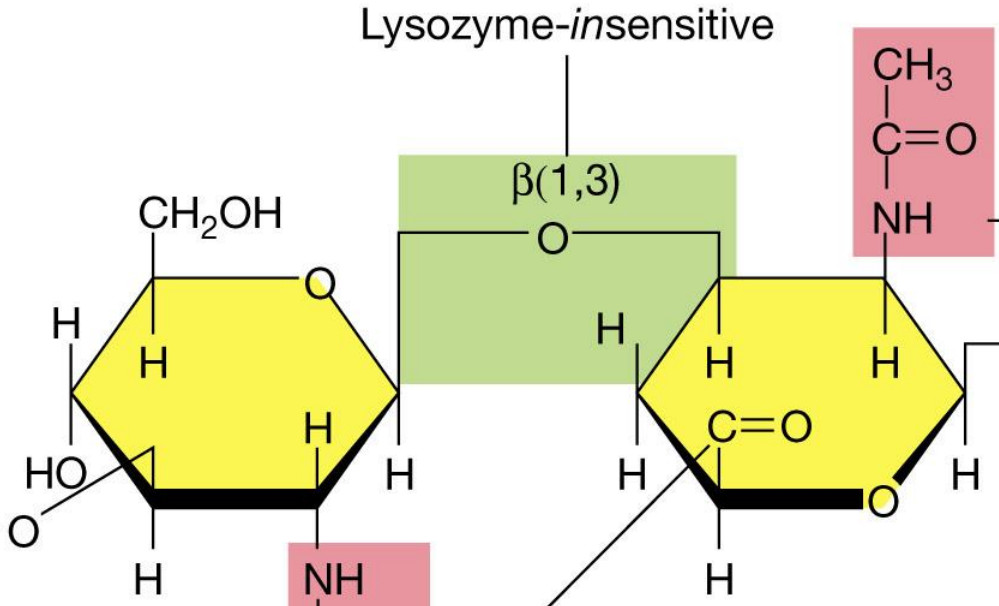
- No poseen peptidoglicano
- No poseen membrana externa
- Todas poseen algún tipo de estructura por fuera de la membrana que funciona como pared cubierta compuesta de proteínas o carbohidratos.... excepto en *Thermoplasma*
- Algunas poseen capa S

Pseudomureína

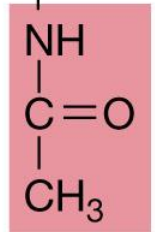
- En Metanobacteriales: existe la pseudomureína:
 - Unidades repetitivas de $\text{NAG} \rightarrow \beta(1-3) \rightarrow \text{NAT}$ (N-acetil-talosaminourónico)
 - Del grupo $-\text{NH}$ del NAT sale un tetrapéptido, con aminoácidos de la serie L
 - Cadenas se entrecruzan por puentes peptídicos entre aa(4) de una y di-aa(3) de otra

Lysozyme-insensitive

N-Acetyl group



NAG

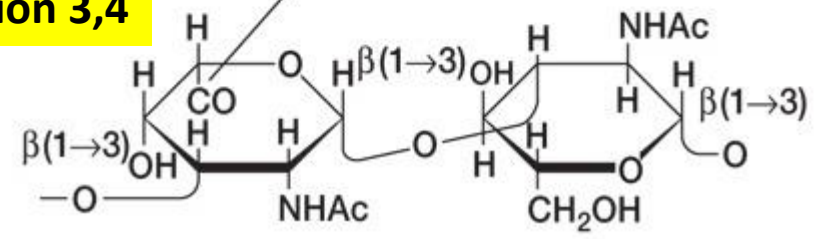
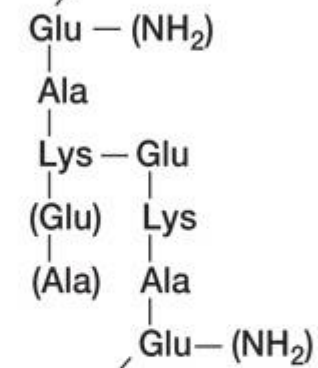


NAT

Peptide cross-links



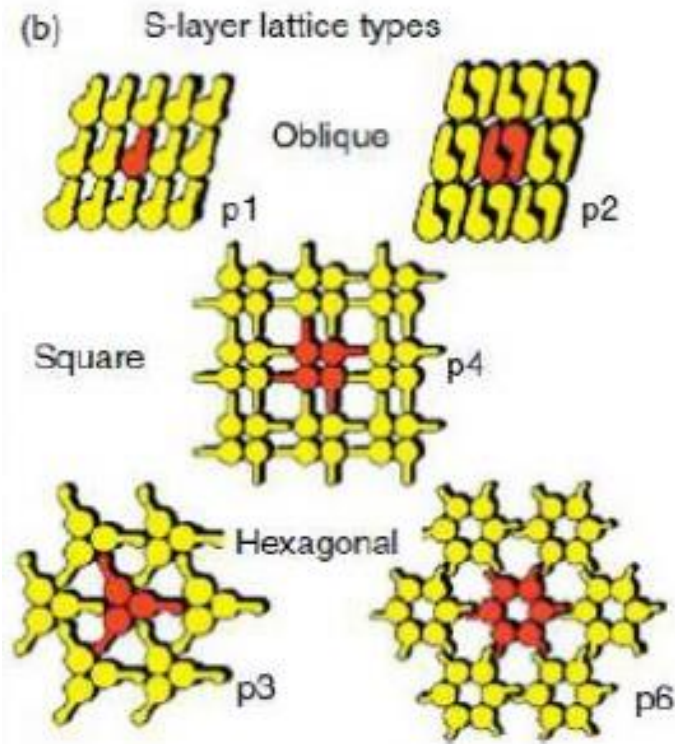
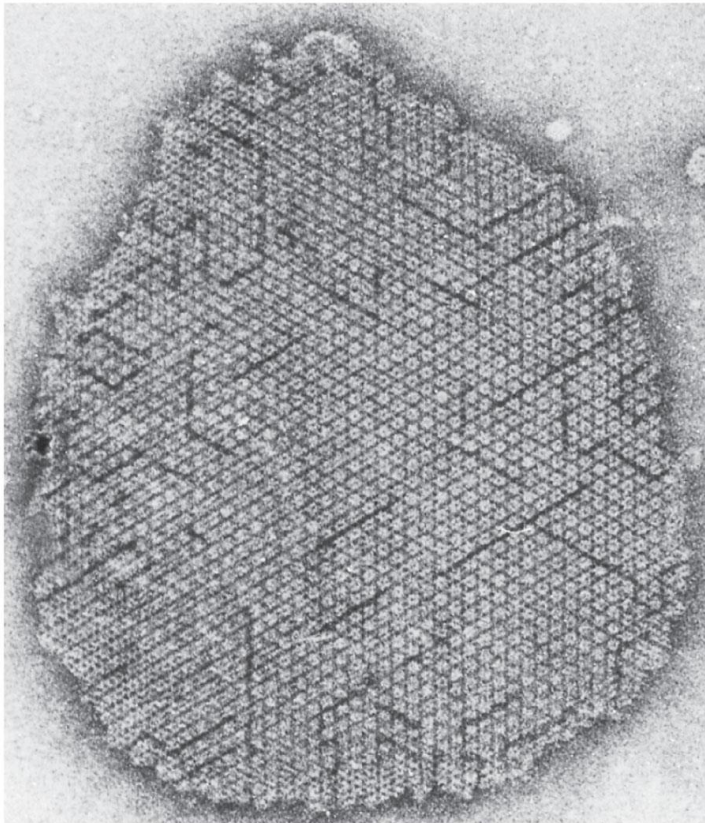
Solo serie L, unión 3,4



N-acetylglucosamine N-acetylglucosamine

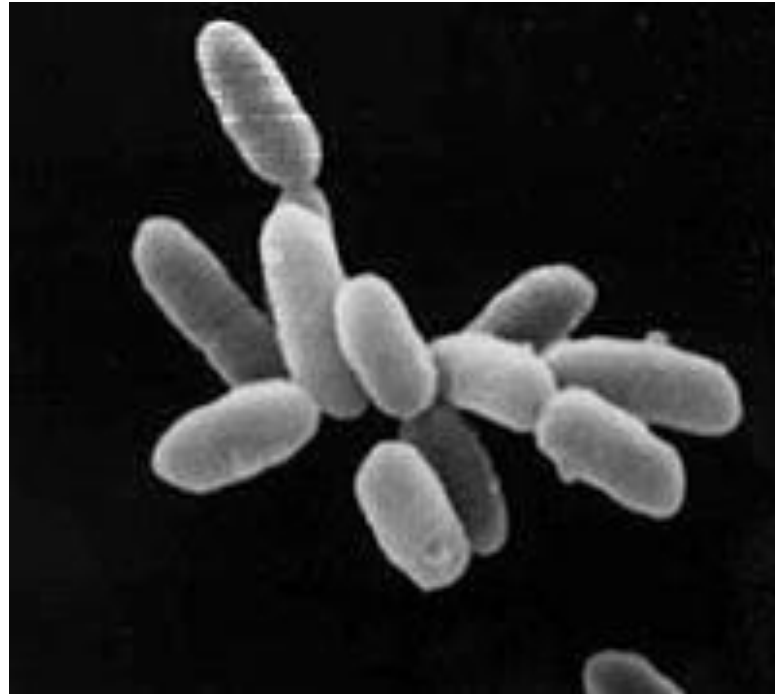
Capa S: Estructura proteica muy ordenada

Es el tipo mas común de pared en *Archaea*
Constituída por proteínas o glicoproteínas
Con estructura paracristalina



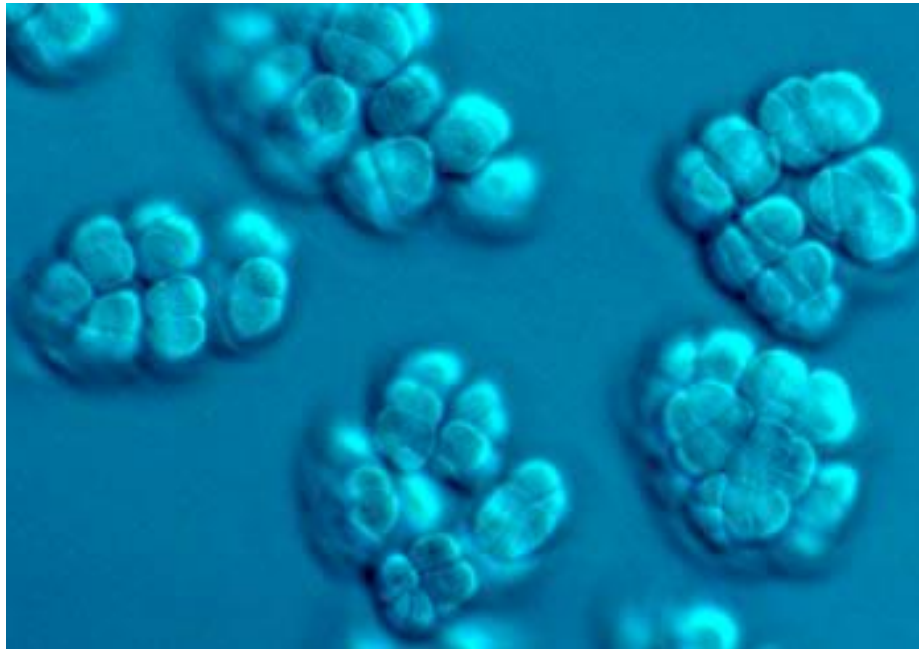
Paredes de las arqueas. Capa S

En ciertas arqueas de ambientes extremos, esta capa S está estabilizada por factores de esos ambientes: En el **halófilo obligado** *Halobacterium* las subunidades de glucoproteína se estabilizan por altas concentraciones de ión Na⁺. En el **termoacidófilo** *Sulfolobus* la estabilidad la confieren los bajísimos pH.

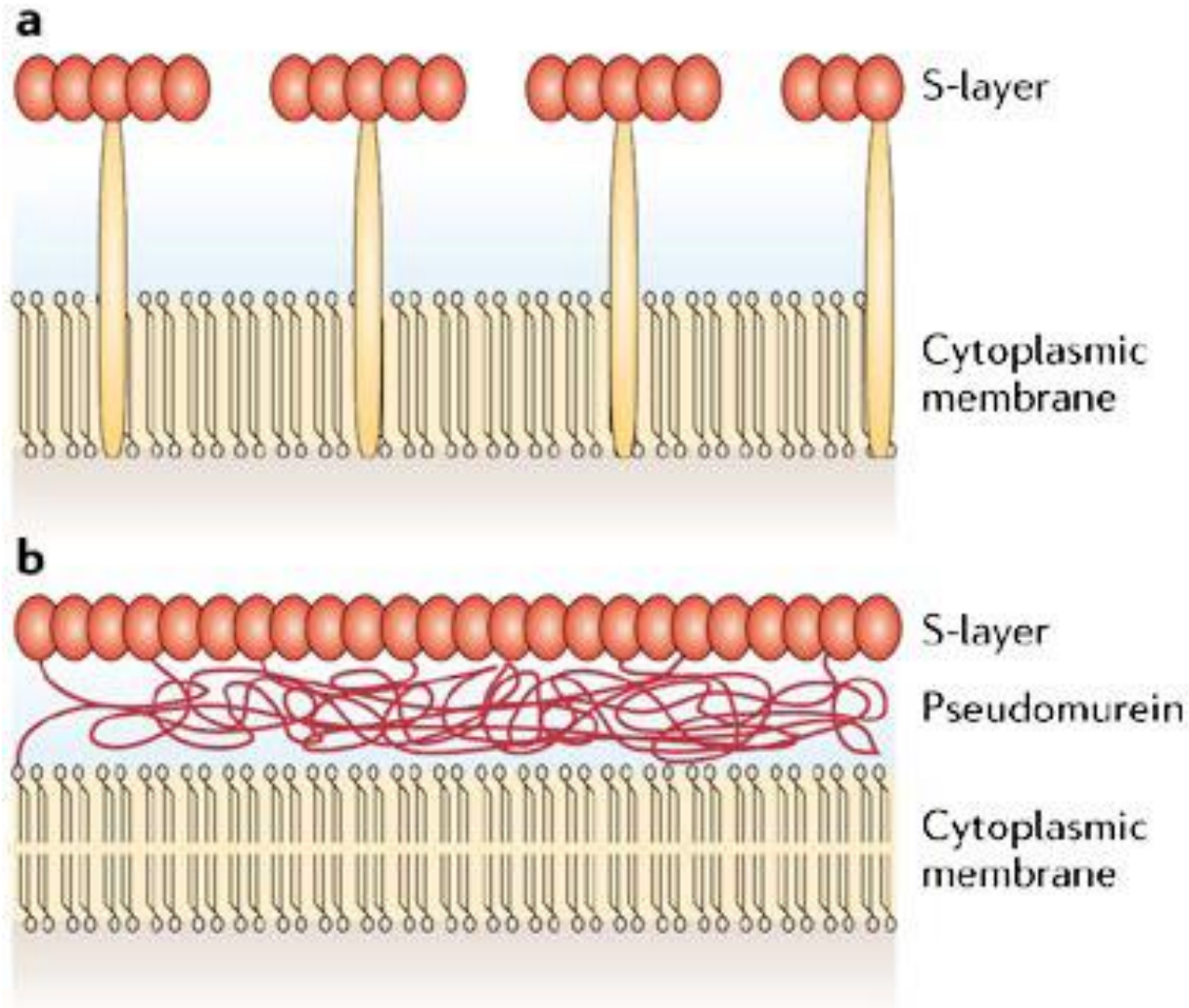


Paredes de las arqueas. Capa S y otro polímero

En *Methanosarcina* y *Halococcus* la capa S se encuentra rodeada de metanocondroitina, un polímero a base de N-acetilgalactosamina, glucurónico, glucosa y manosa. (Esta metanocondroitina es similar al condroitín sulfato presente en tejido conjuntivo de animales).



Variantes de pared en arqueas



Bacterias sin pared

- Micoplasmas: Son bacterias pequeñas
- **Características**
 - Pleomórficas
 - Gran plasticidad
 - Afinidad por las membranas celulares
 - Sensibilidad a la lisis osmótica
 - Resistencia a los AB que actúan sobre la pared
 - Tienen esteroides en su membrana
- Existen como bacterias sin pared (Micoplasmas) o como bacterias que han perdido su pared (formas L, protoplastos o esferoplastos.)

