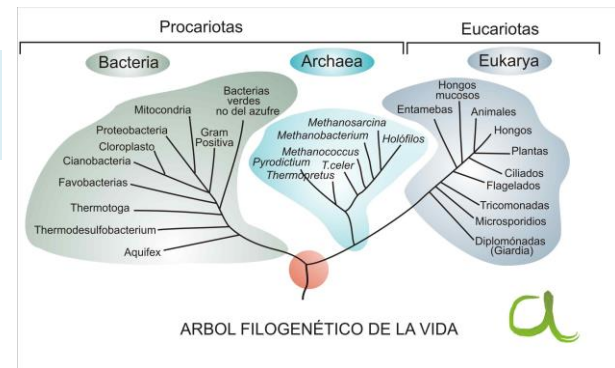


Envolturas microbianas

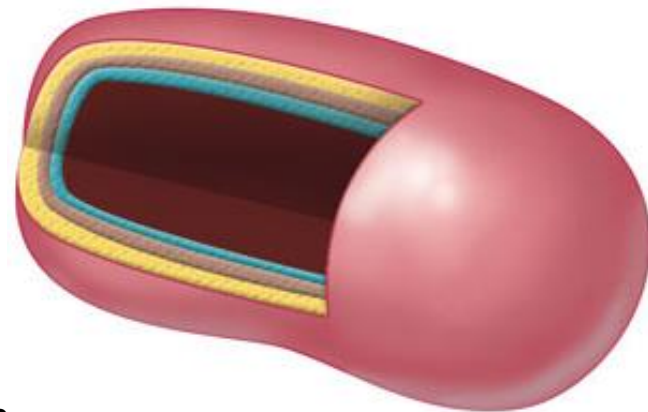
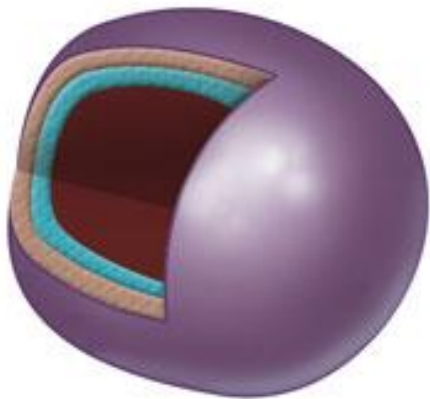
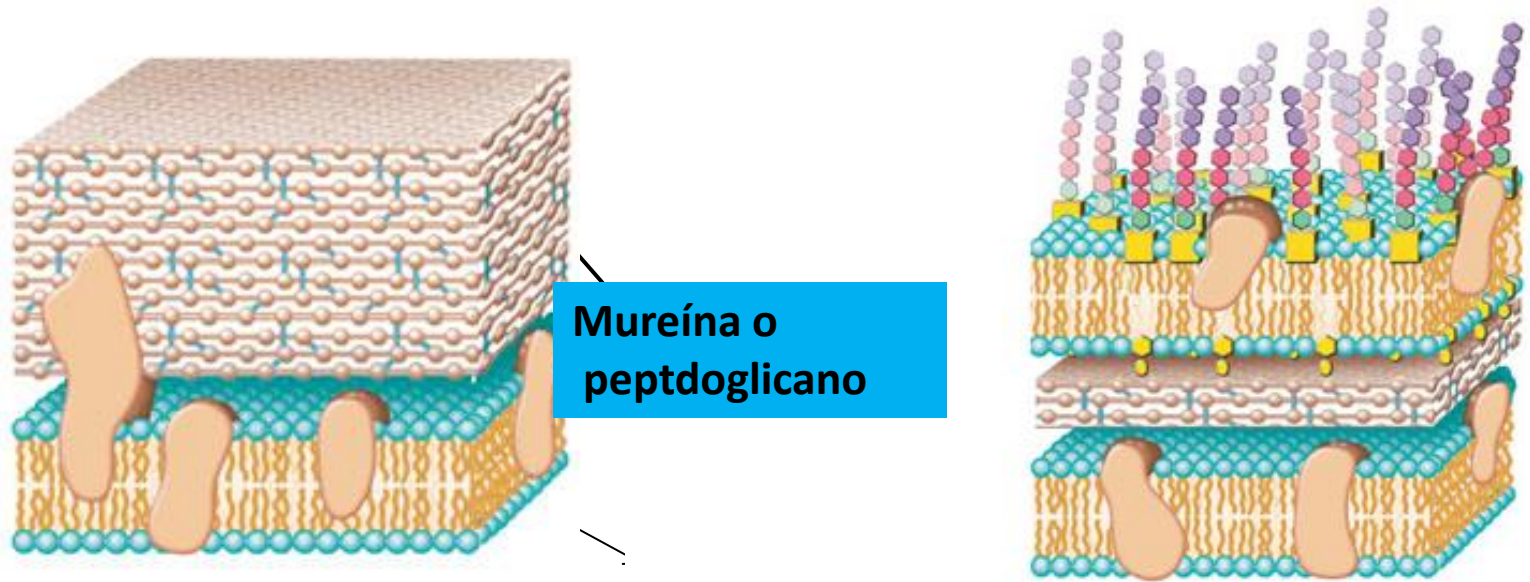


Característica	Bacterias/arqueas	Hongos	Protistas
Organización	Gram + / Gram - /BAAR/arqueas	Multicapa compleja	Muy diversa
Estructuras extra	M Externa/LPS, micólicos, teicoicos/otros	Matriz fibrilar	Películas, cubiertas minerales
Composición pared	Peptidoglicano/pseudo mureina/capa S/micólicos y otros	Quitina + glucanos+manoproteinas	Celulosa / sílice / CaCO ₃ / ausente
Rigidez	Alta	Alta (dinámica)	Variable
Función	Protección y forma	Soporte/crecimiento, forma/protección	Adaptación/soporte/protección
Clave	Sin colesterol	Ergosterol	Alta diversidad

Envolturas microbianas, el invento más exitoso de la evolución

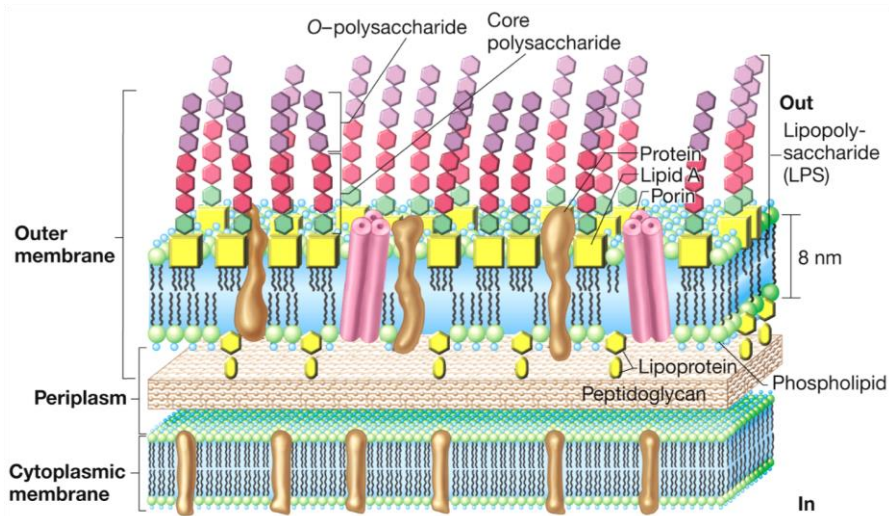
- **No es solo una barrera**
- **La envoltura celular es una estructura dinámica que no solo protege a la célula, sino que define su interacción con el ambiente, condicionando su evolución, diversificación y éxito ecológico**
- **Vamos a desarmar esa cubierta para entender cómo la química de estos polímeros ha dictado el éxito evolutivo de los distintos dominios de la vida**

Paredes bacterianas. La arquitectura de la supervivencia



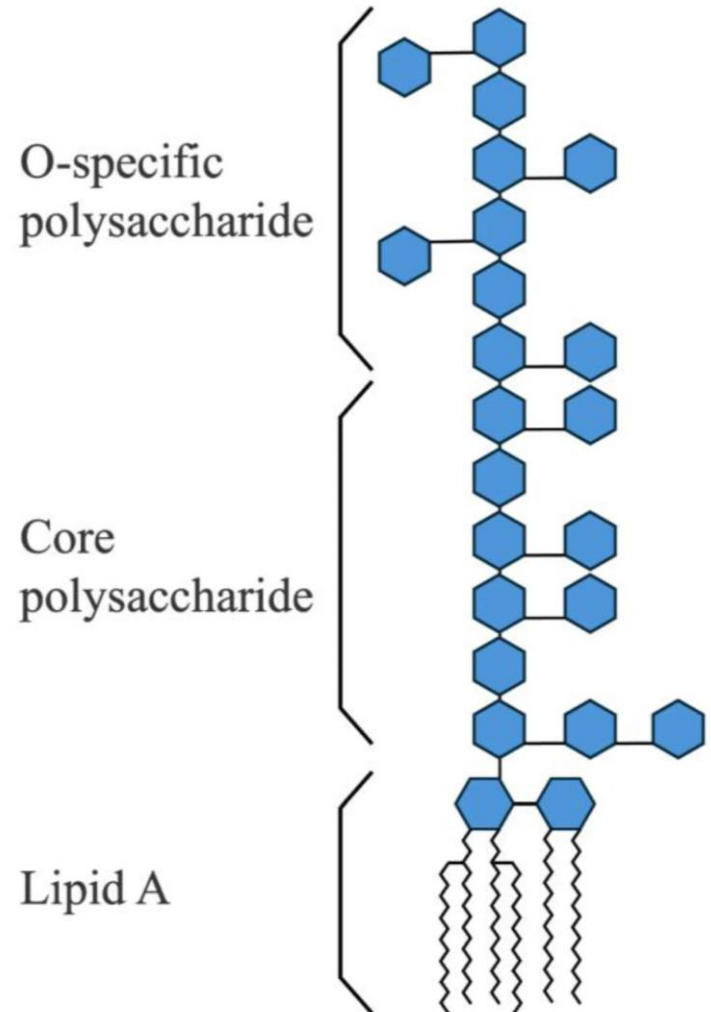
um

Bacterias Gram negativas



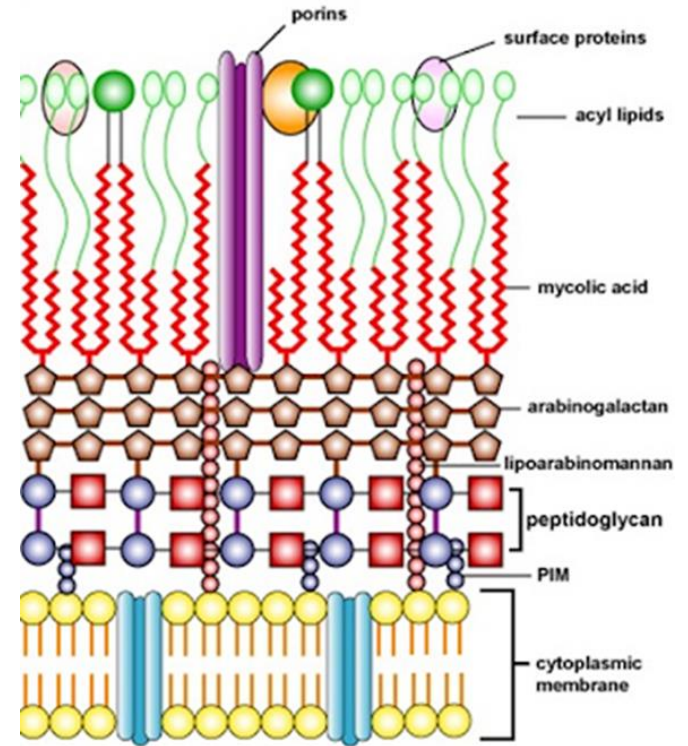
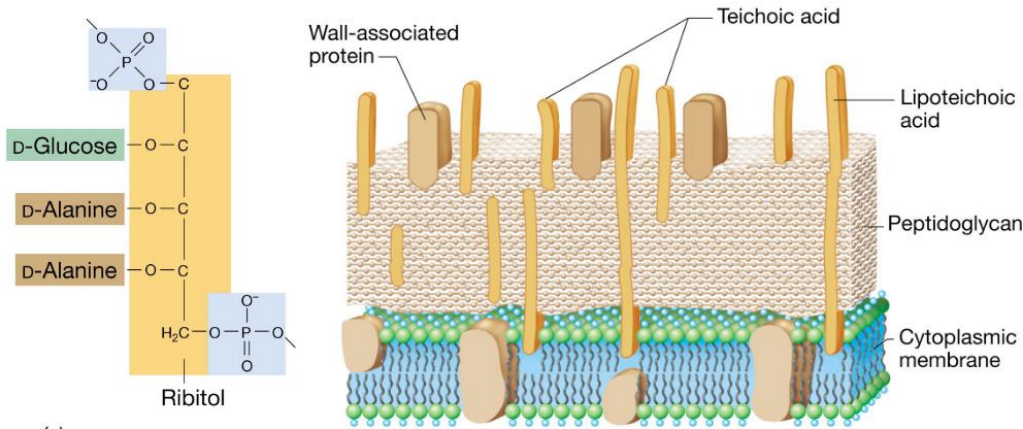
- PG con enlace directo 4,3
- Poco entrecruzado
- Capa delgada
- ME bicapa compuesta por LPS y PL
- LPS con tres regiones
- Porinas y sistemas de transporte

B Lipopolysaccharide (LPS)



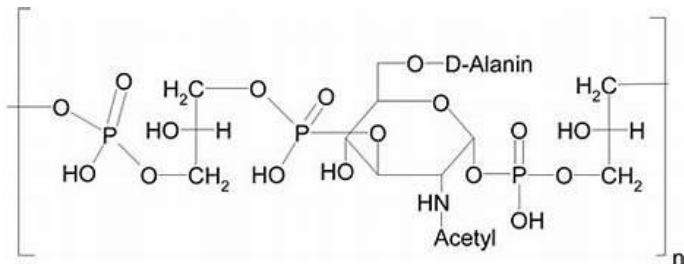
Gram positivas

Bacterias ácido alcohol resistentes



Pared celular gruesa de peptidoglucano
Ausencia de membrana externa.
Ácidos teicoicos y lipoteicoicos
Ausencia de lipopolisacáridos (LPS).

**Envoltura compuesta por una capa de
 PG+arabinogalactanos+ácidos micólicos
 +lipoarabinomananos
 (micomembrana)+otros lípidos y
 proteínas**



Biosíntesis del Peptidoglicano y Lipopolisacárido

Porque estudiamos la envoltura?

- **Identidad Bacteriana**: Es el rasgo que define y diferencia a las bacterias de otros organismos.
- **Química única**. Contiene moléculas que no existen en ningún otro lugar de la naturaleza (ej. peptidoglicano).
- **Factor de Virulencia**: Muchos de sus componentes son los responsables directos de causar enfermedades (antígenos, toxinas).
- **Blanco Terapéutico**: Sus enzimas de síntesis son el "punto débil" donde atacan los antibióticos más potentes (como las penicilinas).

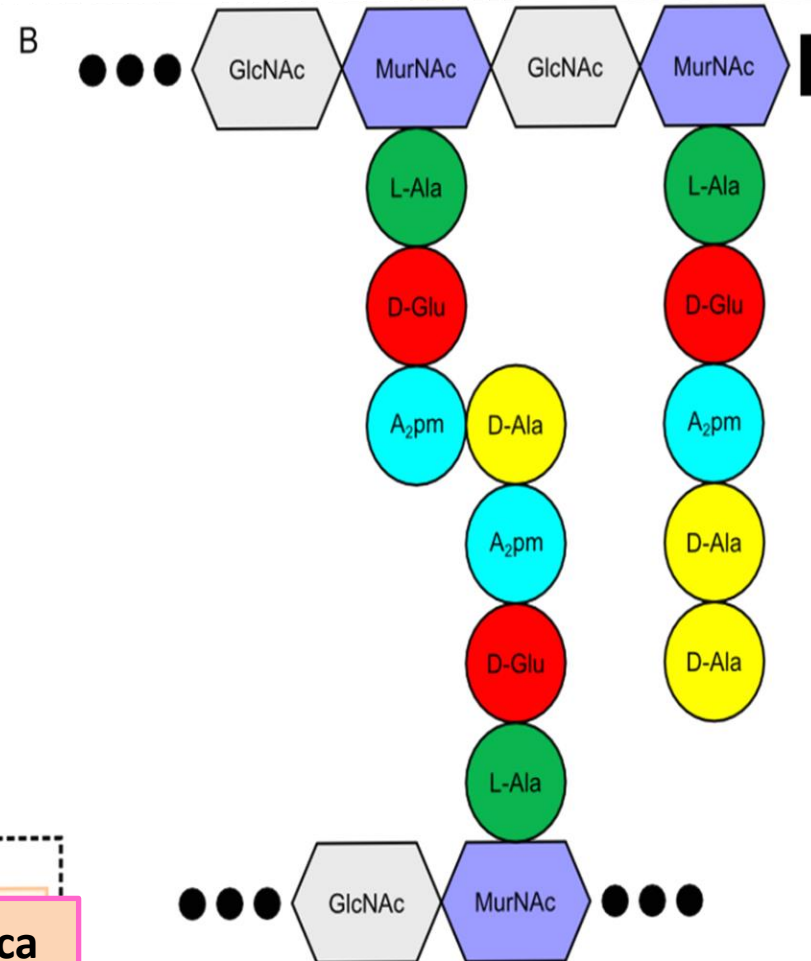
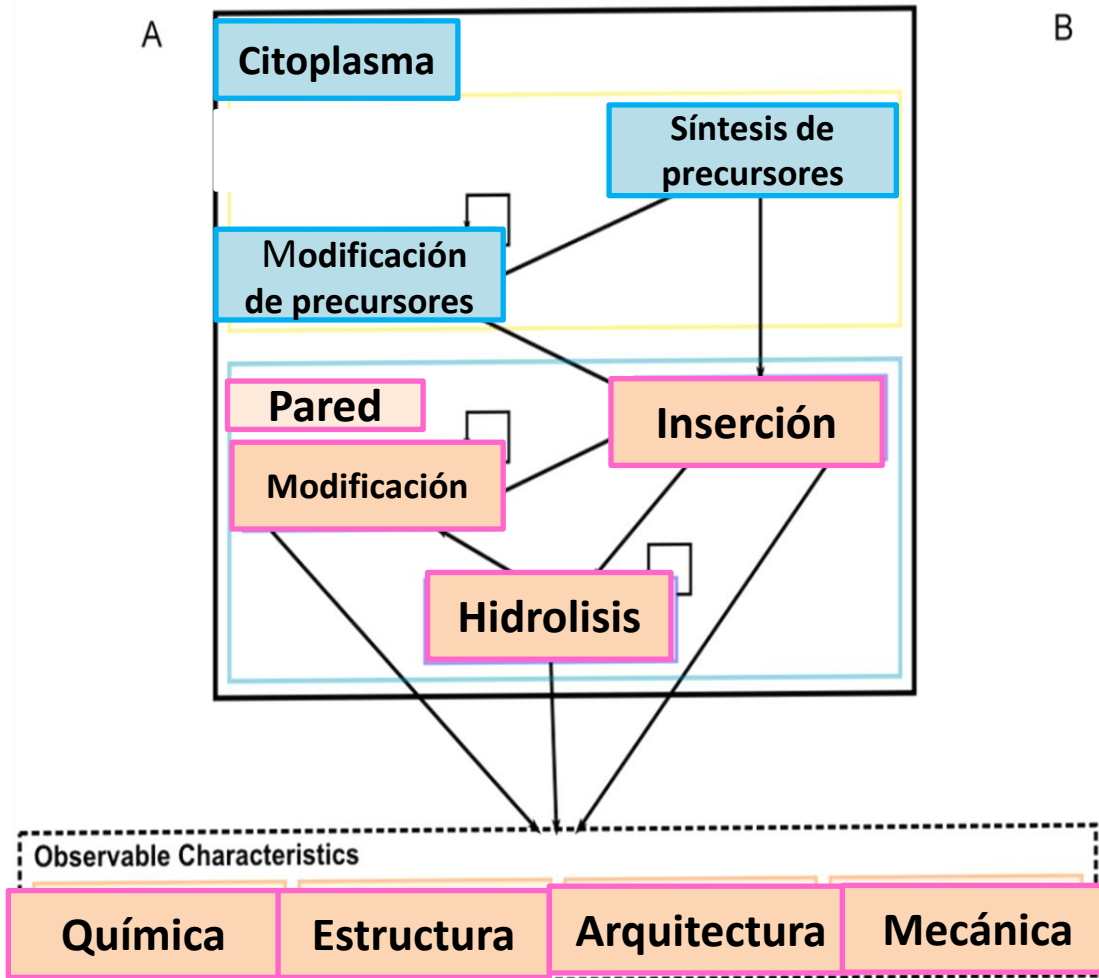
Que vamos a estudiar?

- Cómo se sintetizan los principales tipos de macromoléculas,
- Cómo se ensamblan en la arquitectura global, y
- Cómo se produce el proceso general de crecimiento de la pared, incluyendo el evento particular de formación del septo transversal que marca el "nacimiento" de dos células hijas
- Nos centraremos en la biosíntesis del PG y el LPS

Consideraciones sobre la envoltura celular

- **Integridad y Continuidad:** Son superficies cerradas y físicamente continuas. Cruciales para la viabilidad celular. Es una sola molécula gigante que debe tener.....
- **Capacidad de Expansión:** Deben permitir el crecimiento mediante la incorporación constante de nuevos materiales.
- **Crecimiento Coordinado:** Todos los constituyentes deben ensamblarse en el lugar y momento precisos.
- **Facilitación de la División:** La envoltura debe ser flexible para permitir el proceso de división celular.
- **El Desafío Energético:** *este es el punto clave. La biosíntesis requiere energía, pero el **ATP no puede salir del protoplasto.**
- El LPS es enorme y tóxico si se acumula adentro.se requiere de un puente que lo lleve de la MI a la ME
Requiere estrategias de transporte y activación externa.

Biosíntesis del peptidoglicano. Etapas



Composición química

Etapas de la síntesis

- **Etapa I-Etapa citoplasmática.**

Síntesis de precursores: Formación de los ladrillos básicos (UDP-azúcares).

- **Etapa II. Membrana (El "Ferry" Lipídico)**

- Ensamblado parcial en la membrana (unión al bactoprenol)
- Modificaciones del precursor (cadenas laterales según la especie)
- Transporte a la cara externa de la membrana flip-flop y flipasas

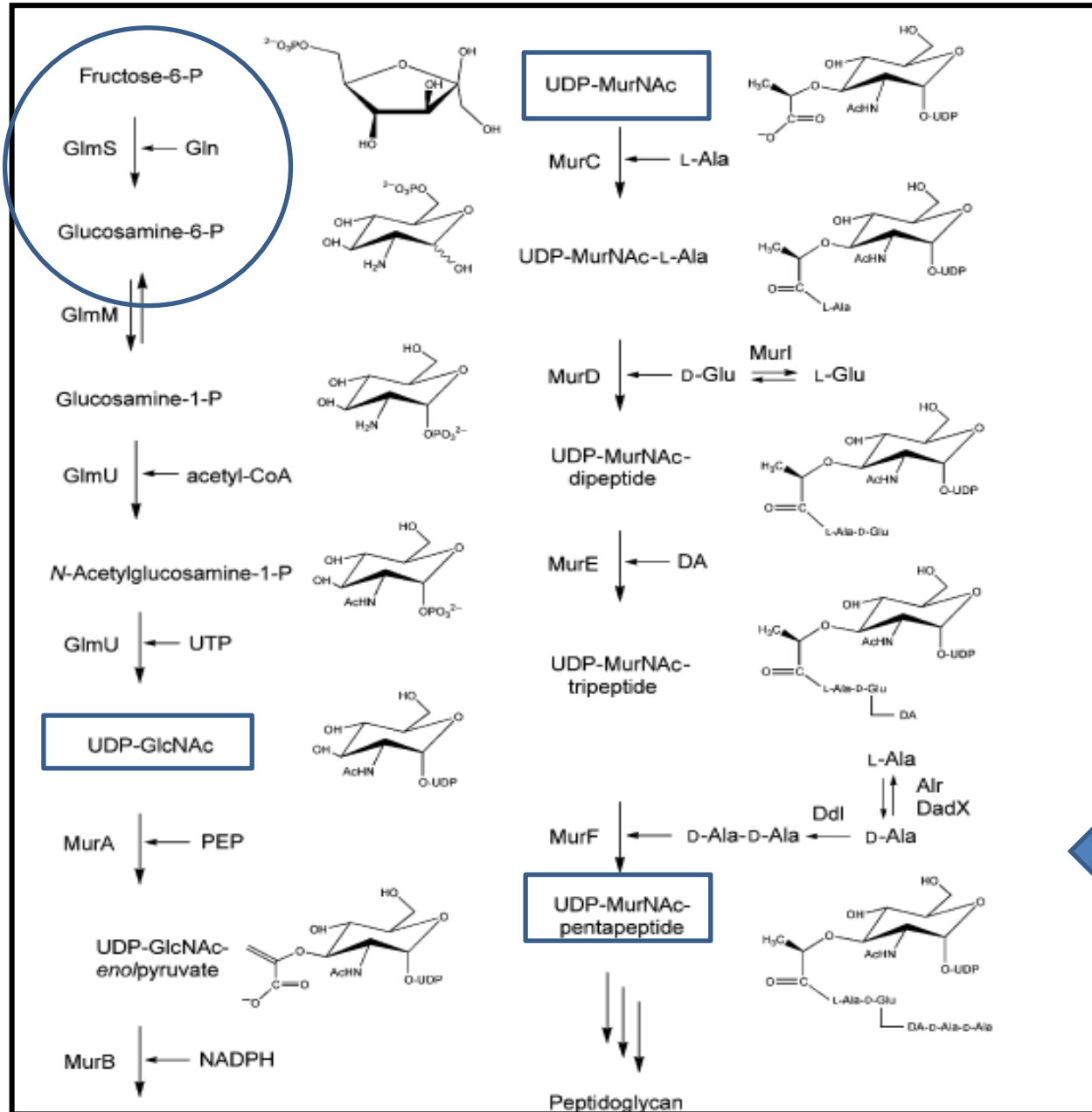
- **Etapa III: Espacio Periplásmico o lado externo**

- Ensamblado final en el exterior e inserción en el sáculo
- Reciclado del bactoprenol-fosfato
- Maduración del peptidoglicano

Síntesis de precursores periplásmicos

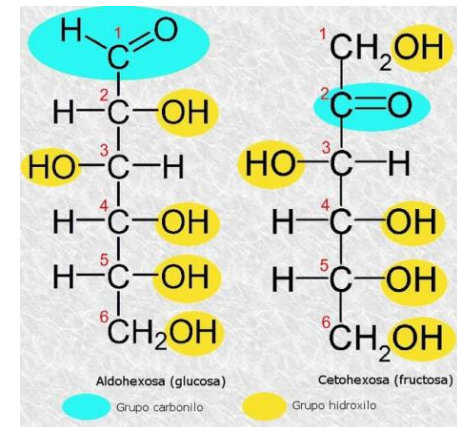
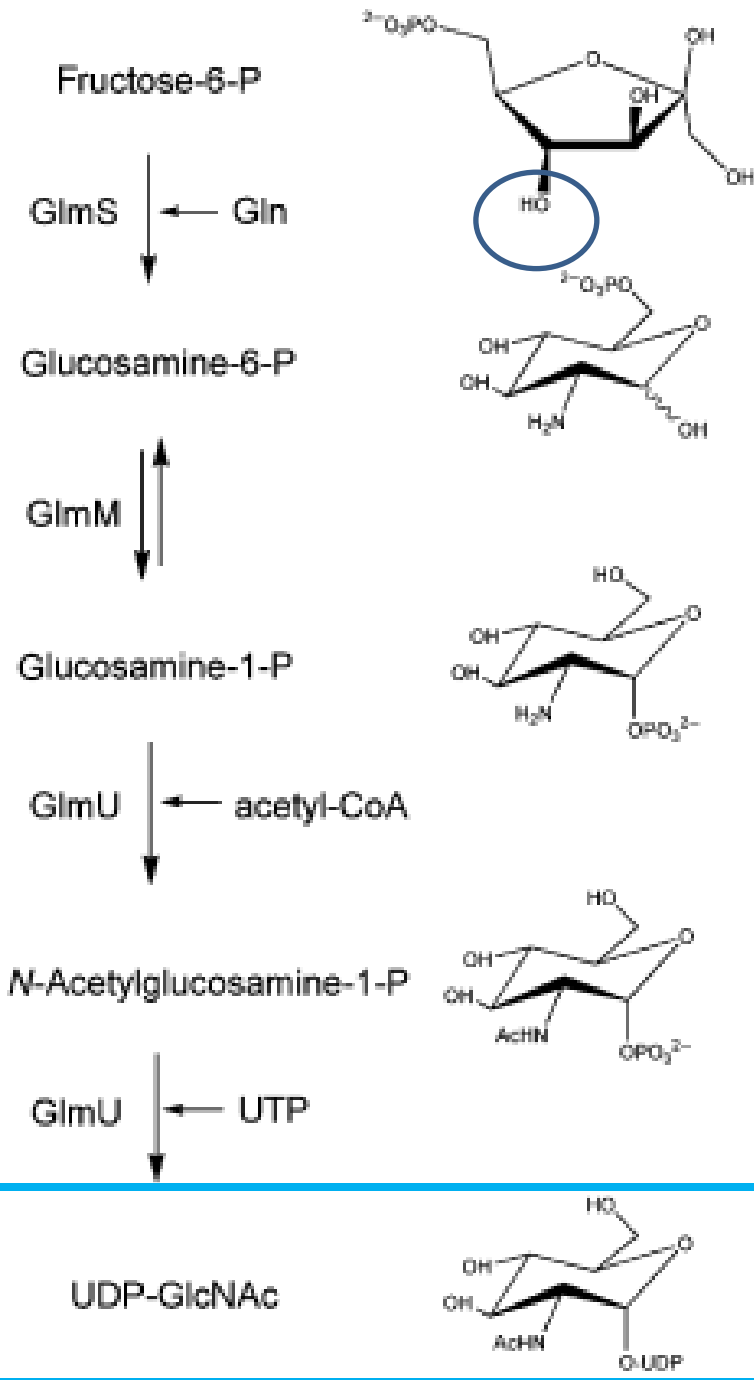
1. Formación del UDP-GlucNac a partir de fructosa-6-P (los monosacáridos se activan mediante unión a nucleósidos fosfato)
2. Formación del UDP-MurNac a partir del UDP-GlucNac
3. Ensamblado de la cadena peptídica para formar el UDP-MurNac-pentapéptido
4. Reacciones anexas para formar el ácido glutámico y del dipéptido D-ala-D-ala #laterales#

Detalle de las reacciones citoplasmáticas



1-Biosíntesis de UDP-GlcNac

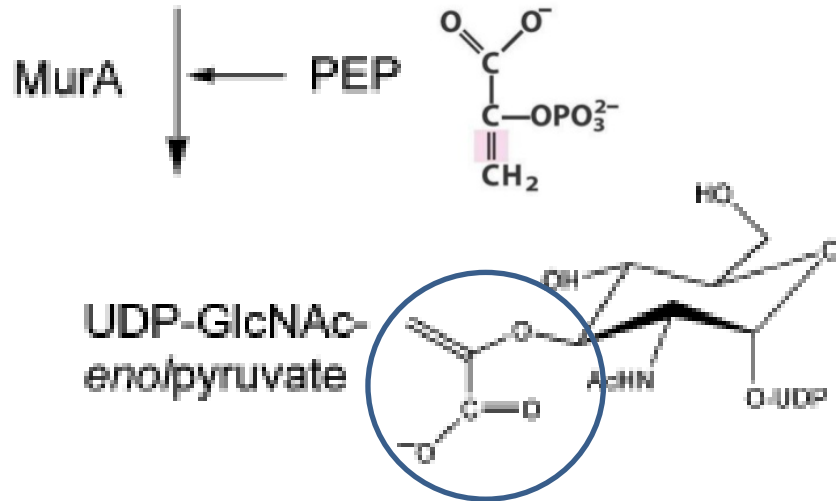
1. Glucosamina 6-P-sintasa (**GlmS**) es una amidotransferasa
2. Fosfoglucosamina **mutasa** (**GlmM**)
3. Glucosamina-1-P-acetiltransferasa (**GlmU**)
4. N-acetilglucosamina 1-P-uridil transferasa (**GlmU**) bifuncional transfiere acetilo de acetilCoA y uridilo a partir de UTP



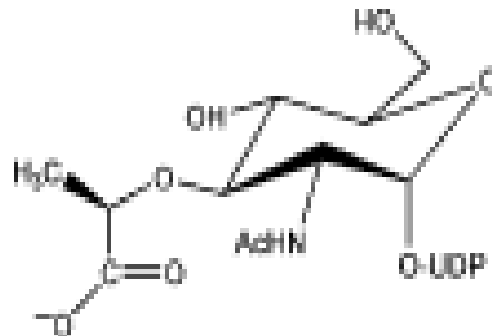
GlmS: amido transferasa e isomerasa

+Pi

2-Biosíntesis del UDP-NAM



UDP-MurNAc



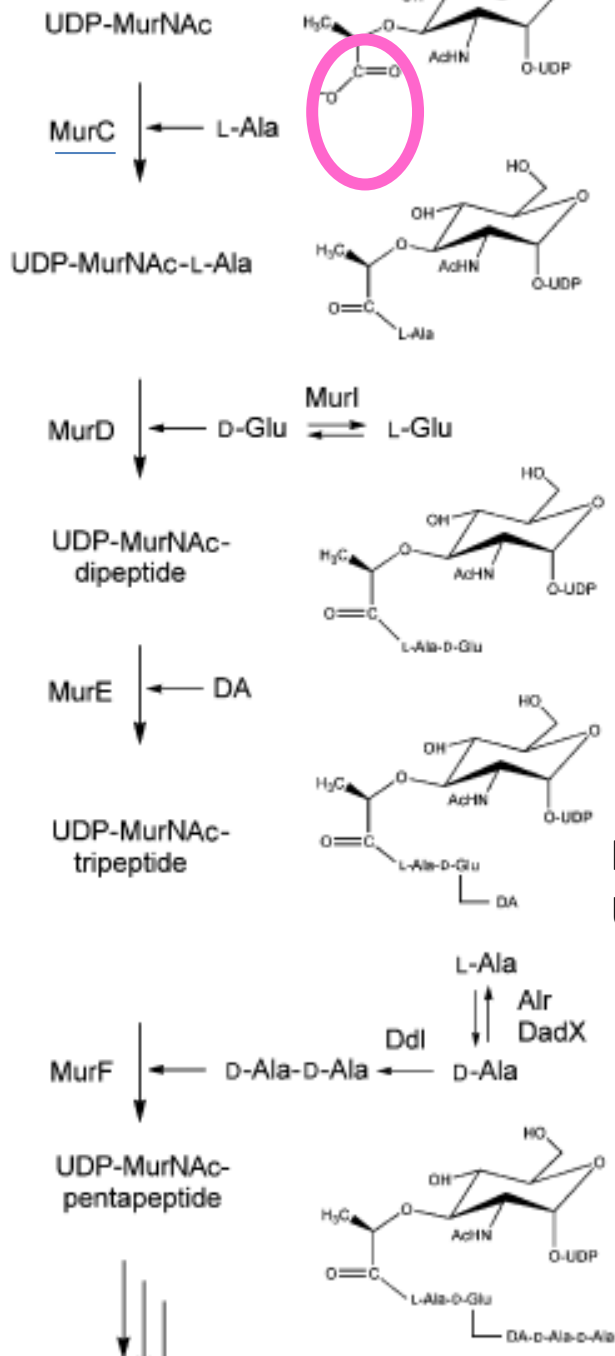
MurA: transfiere el grupo “enol” del PEP al 3'-OH del UDP-GlcNAc liberando Pi

MurB: reduce el “enol piruvato” del UDP-GlcNAc-enol-piruvato utilizando un equivalente de reducción del NADPH para dar el UDP-MurNAc

3-Biosíntesis del UDP-MurNac-pentapéptido. Ligasas Mur

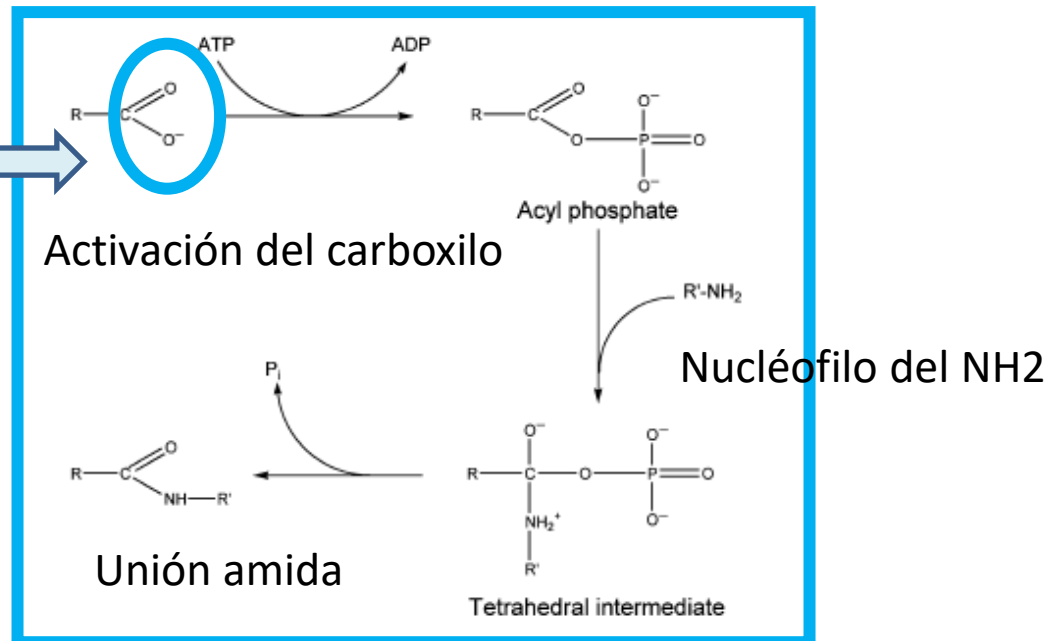
Intervienen cuatro enzimas llamadas **Mur ligasas** MurC, D,E y F.

Catalizan la adición de L-alanina, D-glutámico, un diaminoácido *meso*-DAP o L-lisina y el dipéptido D-Ala-D-Ala en el grupo lactilo del UDP-MurNac. Algunas son estereo específicas otras no.

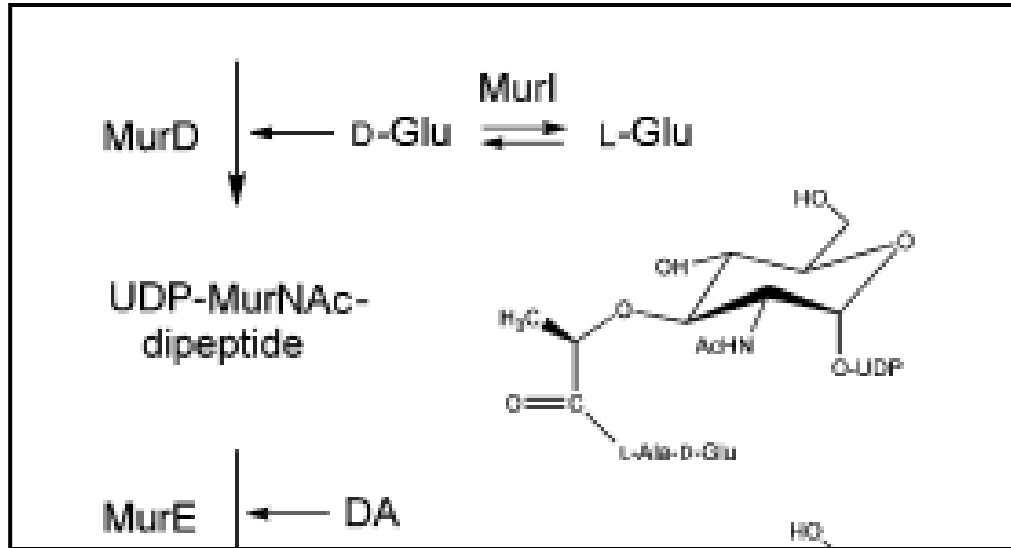


Mecanismo de reacción de las ligasas Mur

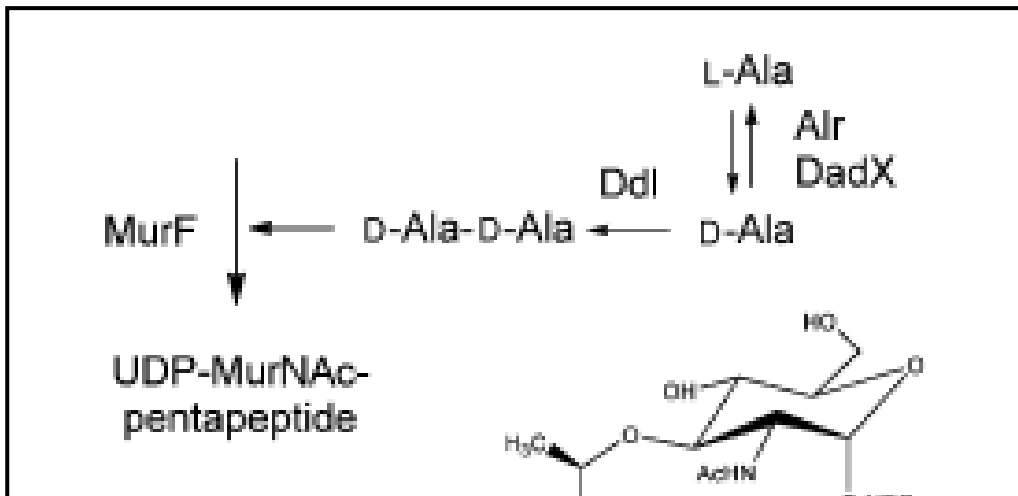
Precursor
UDP



4-Reacciones anexas

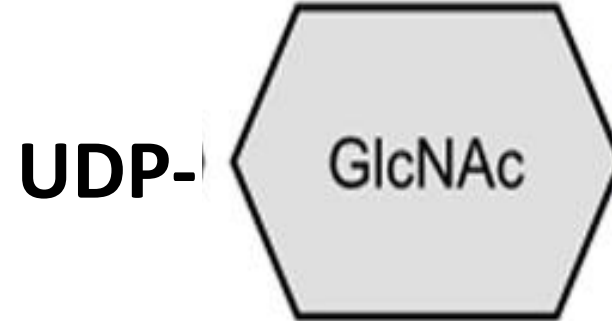
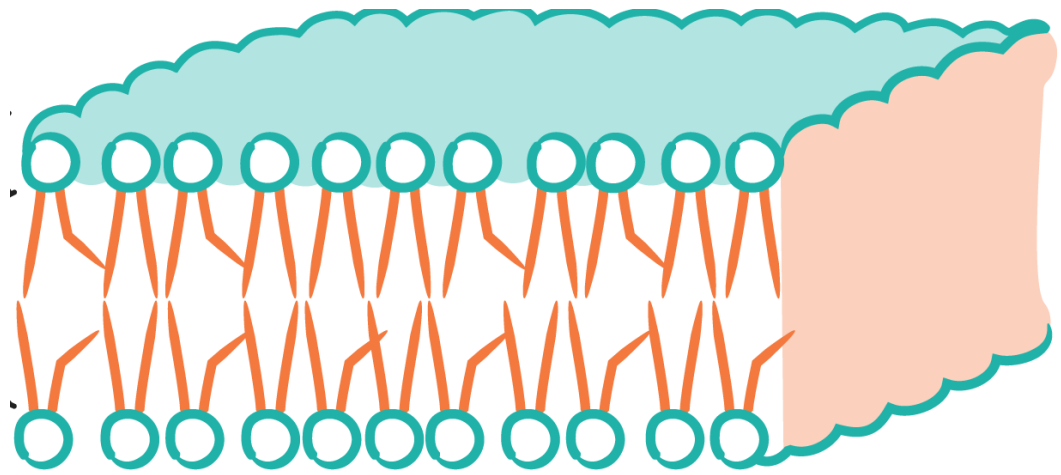
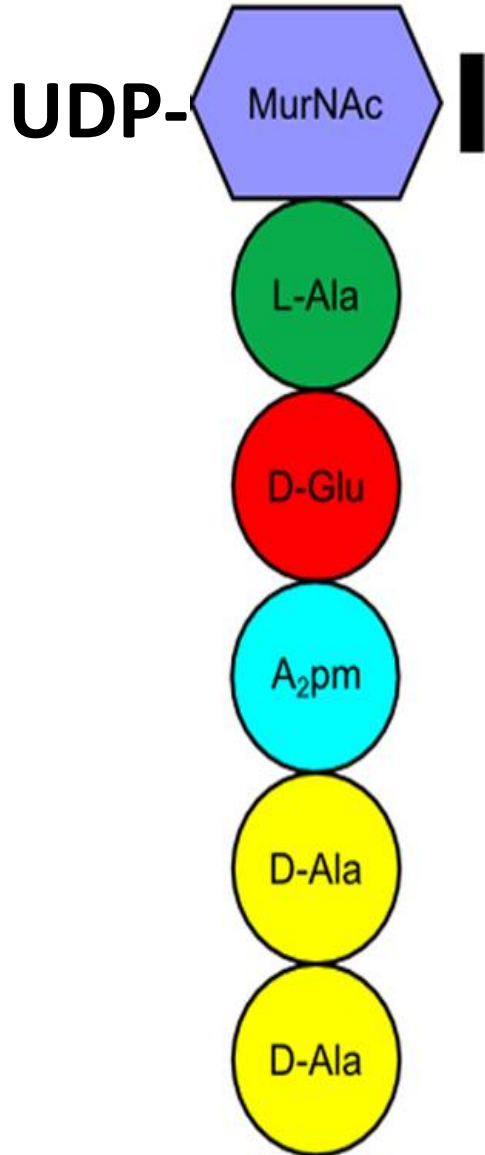


MurI: D-glutamato racemasa y D-aminoácido transferasa (D-AAT) que cataliza otra reacción
D-Ala + α -cetoglutarato \sim D-glutamato + piruvato



La formación del D-Ala es producida por la alanina racemasa (**Air** o **DadX**)
La condensación de dos moléculas de Ala es catalizada por una D-Ala:D-Ala ligasa dependiente de ATP (**Ddl**)

Sustratos de las vías metabólicas: UTP, PEP, NADPH, ATP, AcCoA



Precursores hidrofílicos para ser ensamblados y transportados a través de la membrana hidrofóbica

El Legado de Luis Federico Leloir

(Premio Nobel de Química en 1970) descubrió precisamente los "ladrillos" que mencionamos en la síntesis del peptidoglicano.

En la etapa citoplasmática que acabas de ver, mencionamos al **UDP-GlcNAc** y al **UDP-MurNAc**.

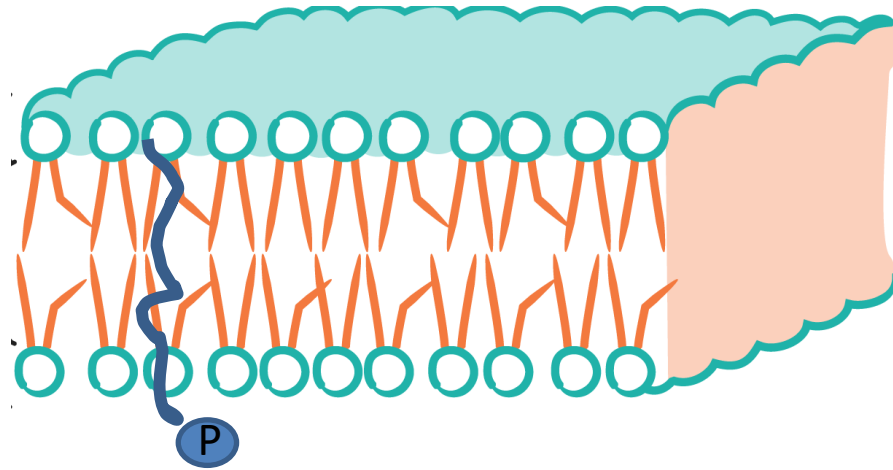
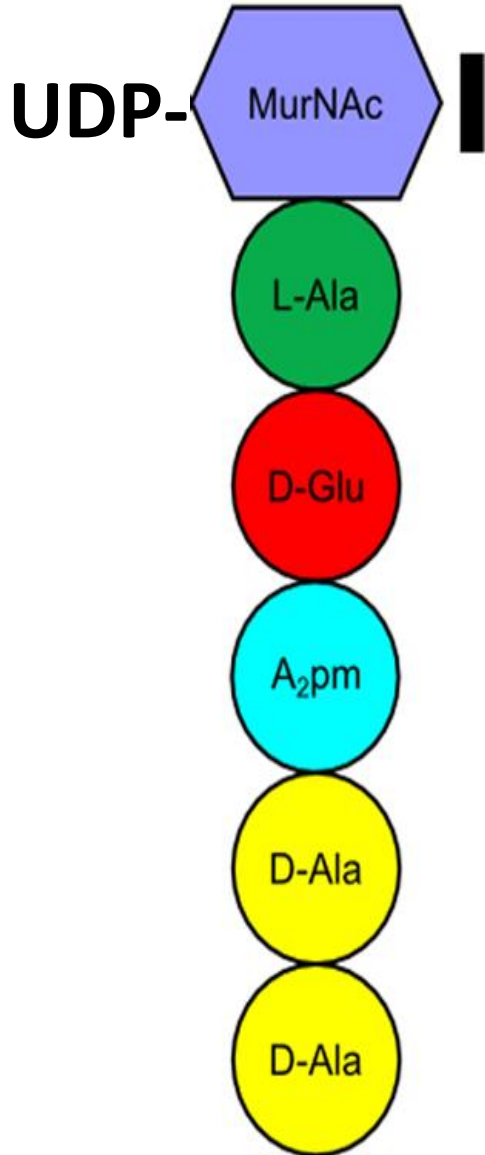
- Antes de Leloir, no se sabía cómo se activaban los azúcares para poder unirse y formar polímeros complejos como la pared celular.
- Leloir descubrió que el **UDP** (Uridina difosfato) funciona como un "transportador de energía" que activa al azúcar, permitiendo que la célula pueda construir estructuras mayores.
- Sin los nucleótidos de azúcar que él descubrió, no existiría la etapa 1 de la síntesis del PG



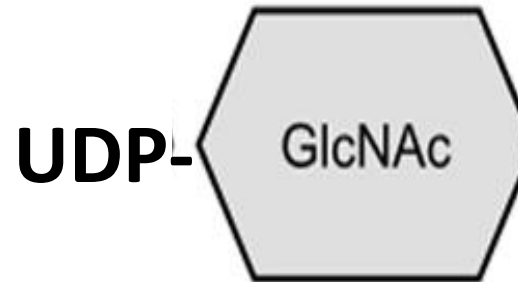
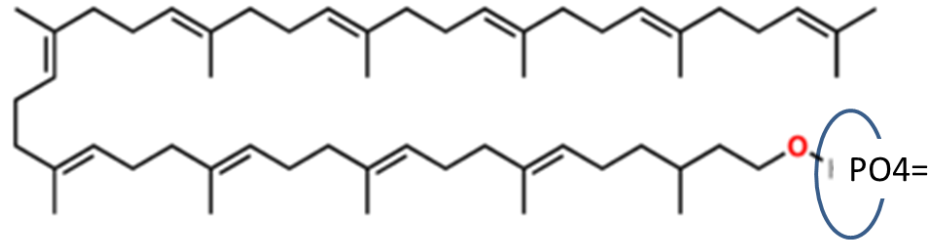
Descubrimiento de los nucleótido- azúcares y el rol que cumplen en la fabricación de los hidratos de carbono..

Dr. Luis Federico Leloir-Premio Nobel de Química 1970



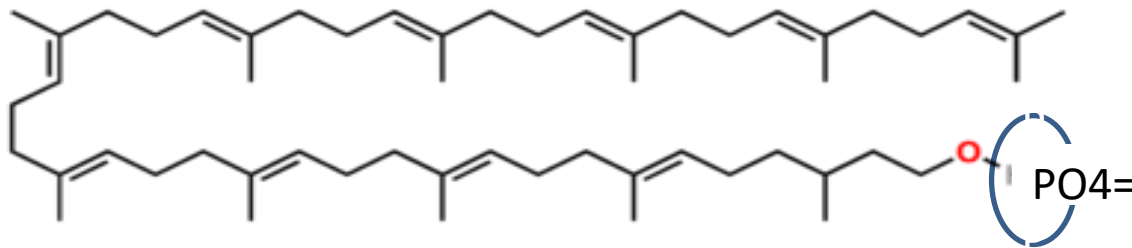


Lípido transportador: bactoprenol

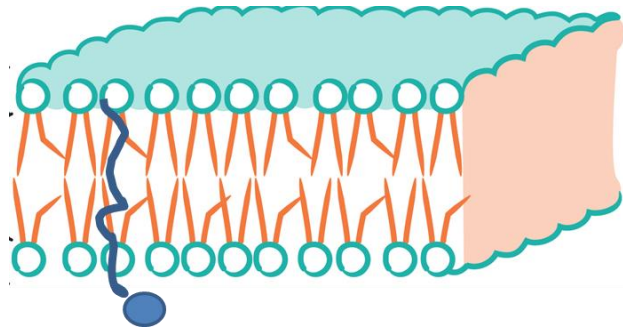


Lípido transportador: bactoprenol

Que es ?? El undecaprenil-fosfato es un poliisoprenoide de 55 átomos de C



Lípido anfipático

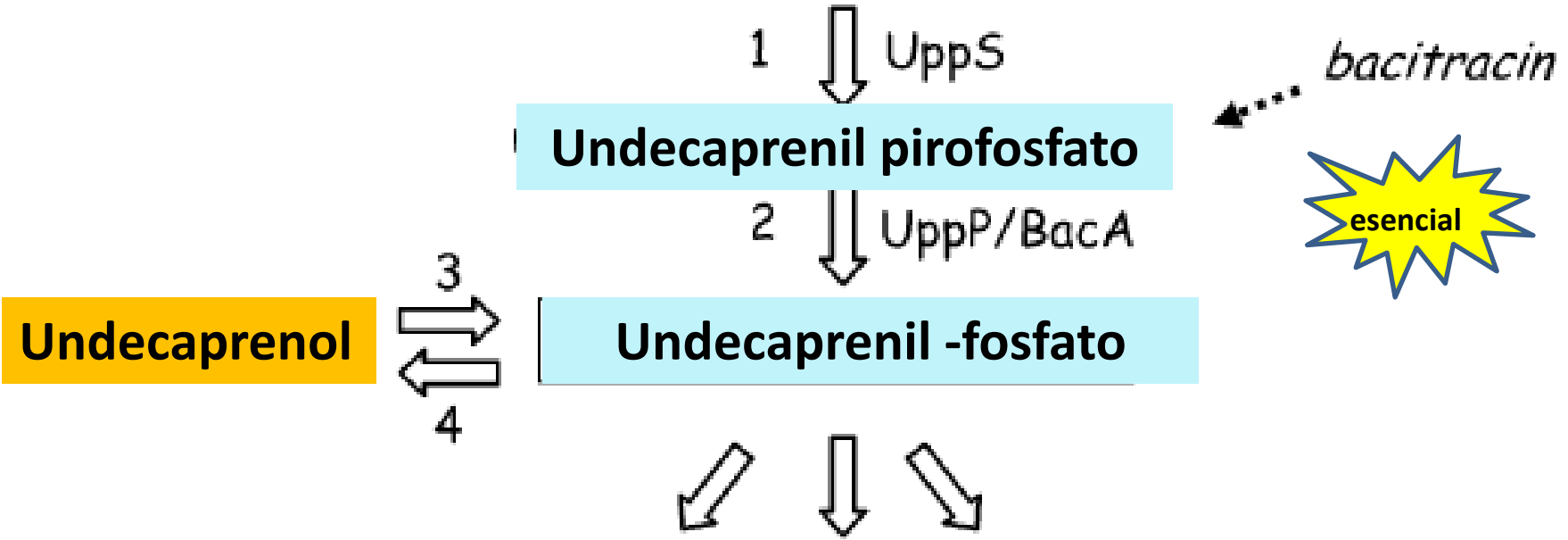


Unido a la membrana. Mueve los precursores a través de ella

Polímero de isopentenil fosfato, de C55, undecaprenil fosfato que se encuentra unido a membrana por el extremo lipídico y el fosfato esta por fuera de la membrana. Este compuesto reacciona con los precursores para formar la unidad repetitiva y traslocarla al sitio de la pared en crecimiento.

Metabolismo de undecaprenil-P en bacterias

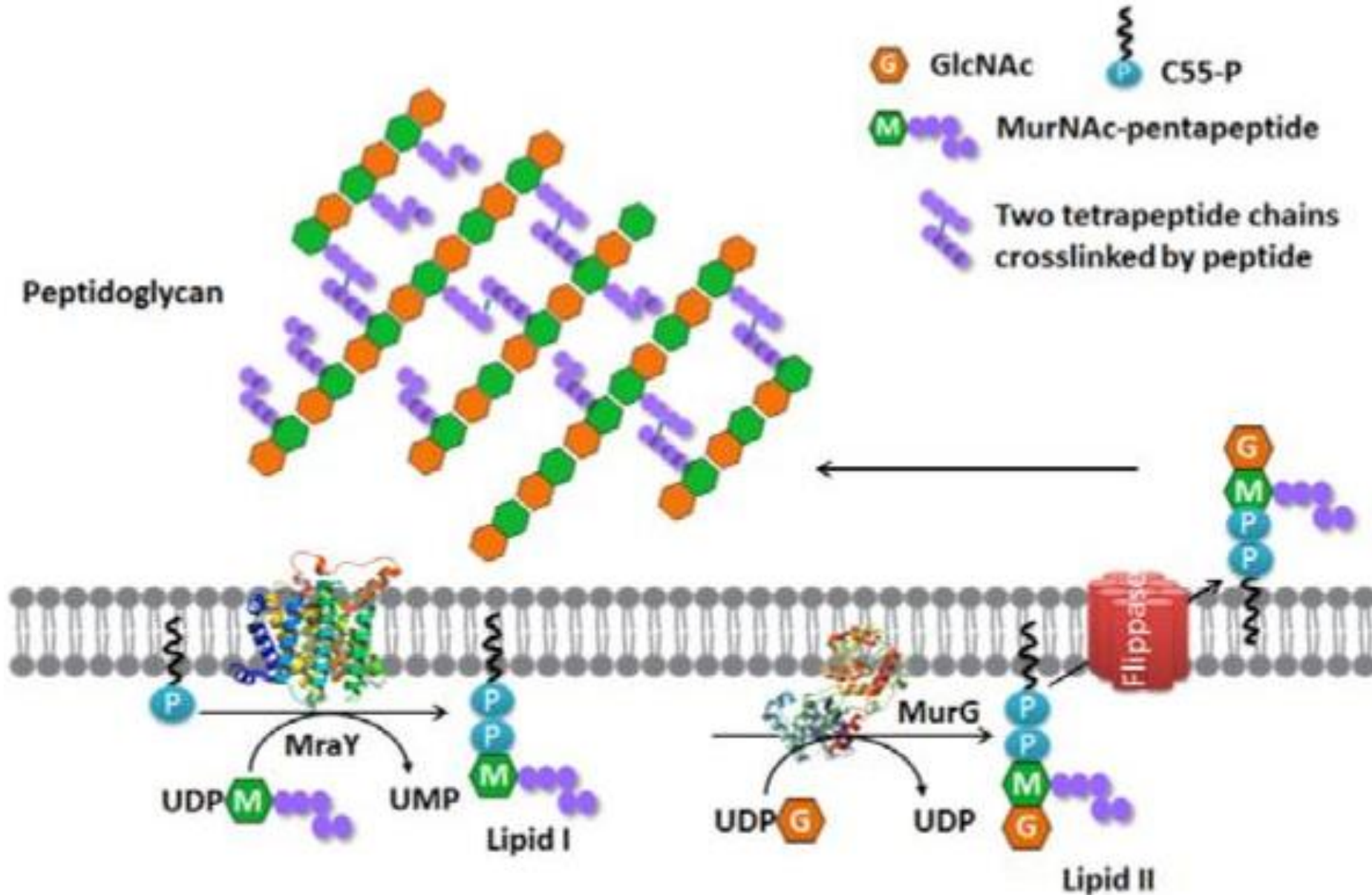
Farnesil pirofosfato(C15) + 8 isopentenil pirofosfatos (C5)



Biosíntesis de varios polímero de pared
(peptidoglicano, ácidos teicoicos, LPS, cápsula
etc)

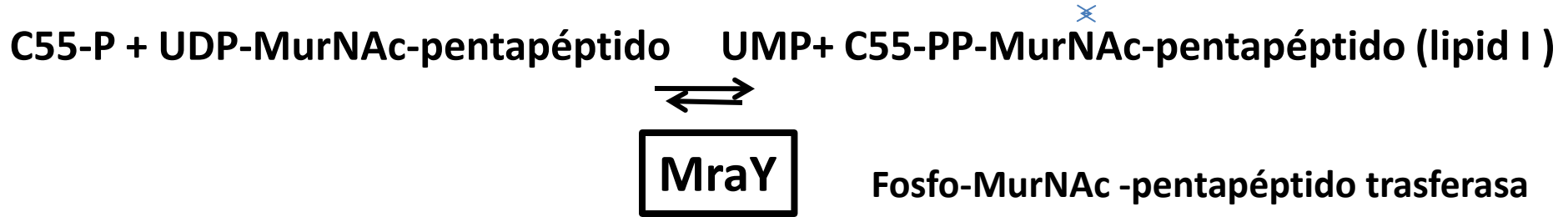
UppS y UppP: undecaprenil pirofosfato sintasa y fosfatasa respectivamente

Etapas de membrana: Biosíntesis del Lípido I y II

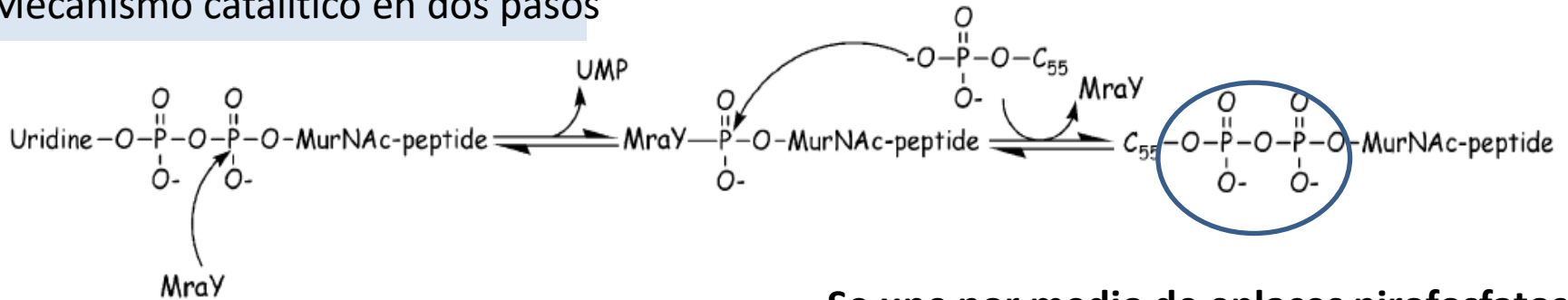


Primer reacción de membrana

Detalles de la Biosíntesis del Lípido I

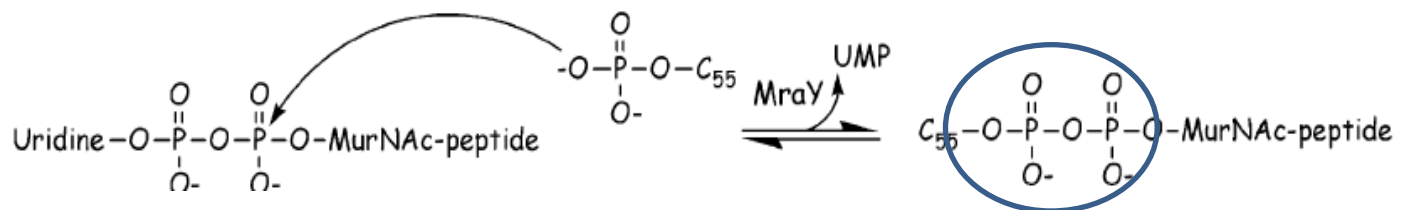


Mecanismo catalítico en dos pasos



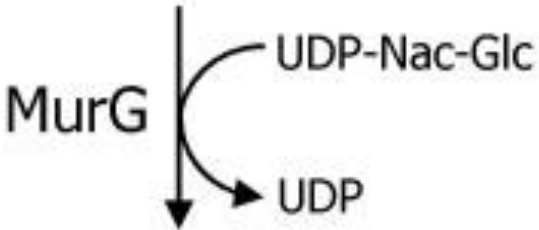
Se une por medio de enlaces pirofosfatos

Mecanismo catalítico en un solo paso



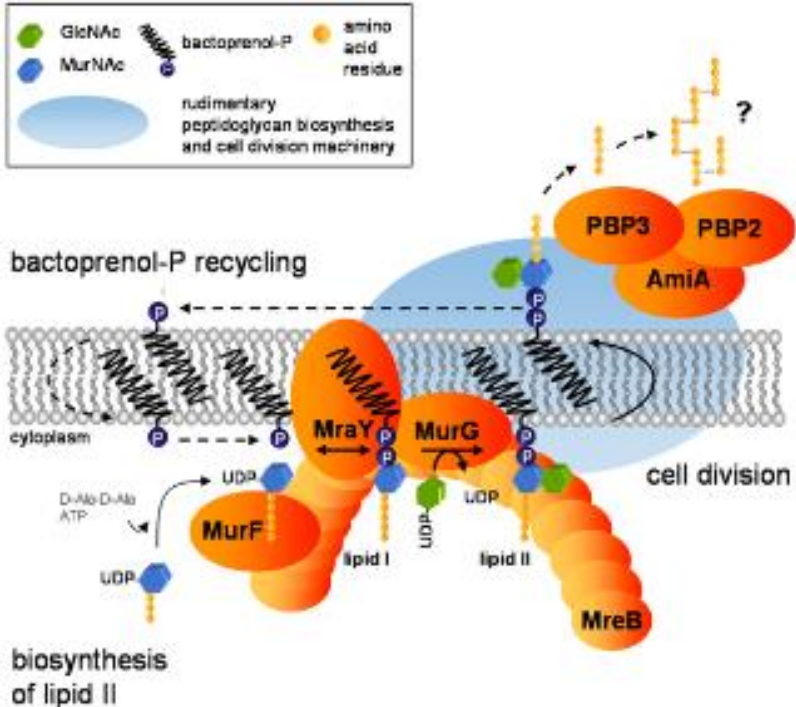
Biosíntesis del Lípido II

Nac-Mur pentapeptide pyrophosphoryl undecaprenol
(lipid I)



La transferasa MurG cataliza la formación del lípido II a partir del Lípido I y UDPGNac

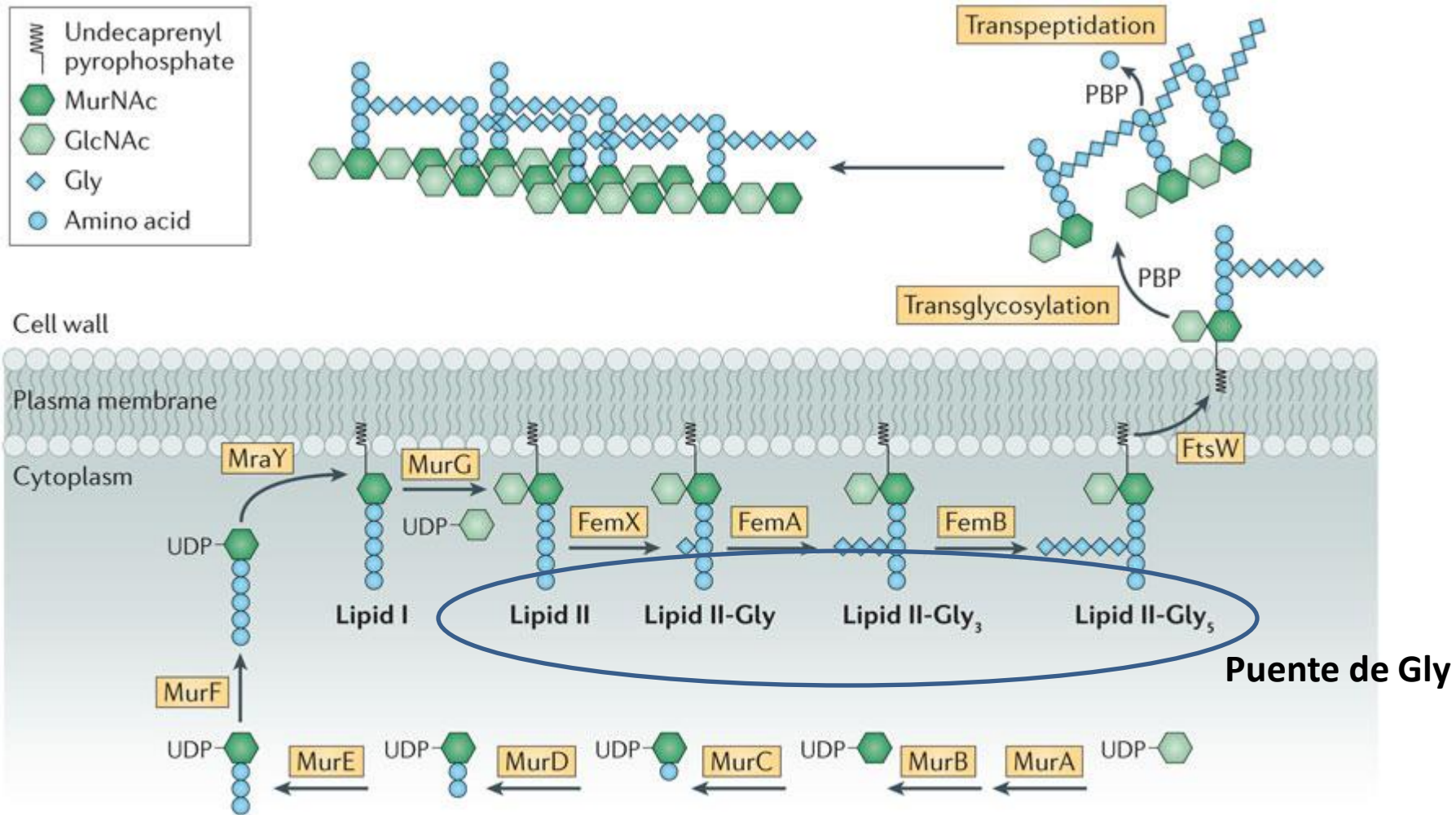
Nac-Glc-Nac-Mur pentapeptide pyrophosphoryl undecaprenol
(lipid II)



Esta proteína interactúa con proteínas MraY and MreB (citoesqueleto) y participa en multicomplejos involucrados en la división y la elongación celular.

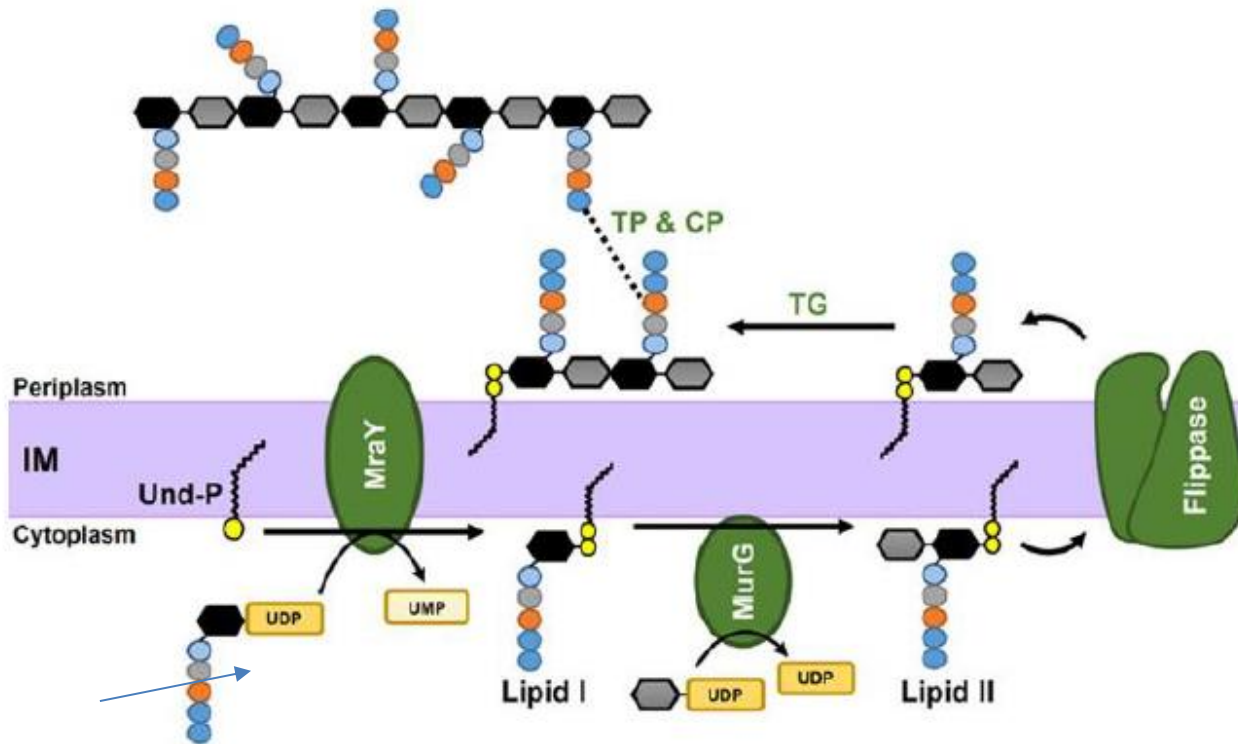
Modificación enzimática del Lípido II

Adición de cadenas de pentaglicina a partir de tRNA



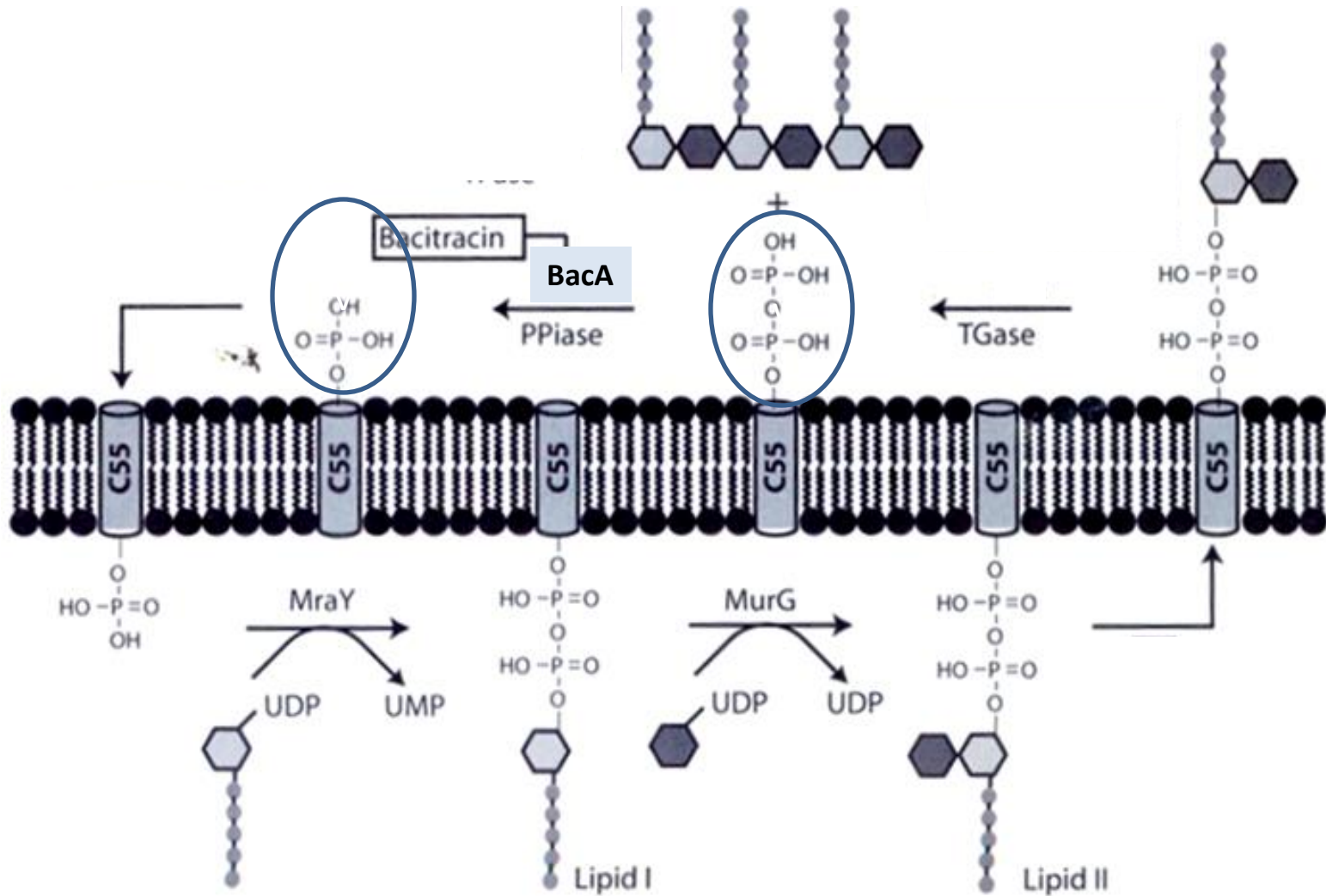
Translocación a través de membrana-Flipasas

El lípido II es una molécula muy grande (~1900 Da), flexible y con una fuerte carga negativa (aniónica). Debido a estas propiedades, no puede atravesar la bicapa lipídica de forma espontánea por difusión pasiva y requiere de este transporte facilitado para mantener la viabilidad bacteriana



MurJ
FtsW
RodA

Ciclo del lípido transportador



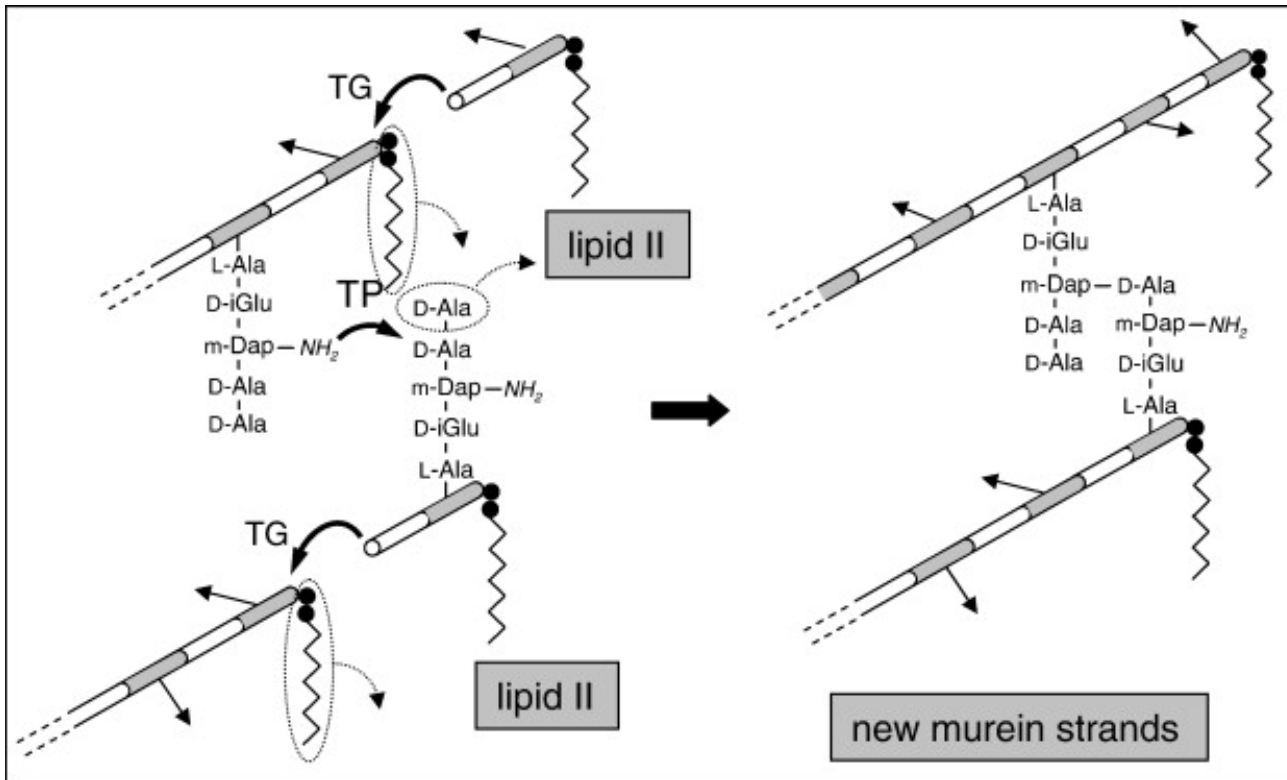
Reacciones del lado externo de la membrana

Reacción de Transglicosilación TG. Alarga las cadenas, se forman enlaces glucosídicos entre los azúcares de la cadena existente y el nuevo precursor.. Enlace covalente (azúcar-azúcar)beta 1-4.

Reacción de Transpeptidación TP

Esta reacción crea enlaces cruzados entre las cadenas de azúcares mediante los pentapéptidos que cuelgan de los ácidos NAM. Se forma un enlace peptídico entre el aminoácido en la posición 4 (generalmente D-Alanina) de una cadena y el aminoácido en la posición 3 (como la L-Lisina o m-DAP) de una cadena adyacente. La energía para el enlace se obtiene al romper el enlace entre las dos D-Alaninas terminales (liberando la última D-Ala). Une cadenas, enlace peptídico. Transpeptidasas

Reacciones del lado externo de la membrana

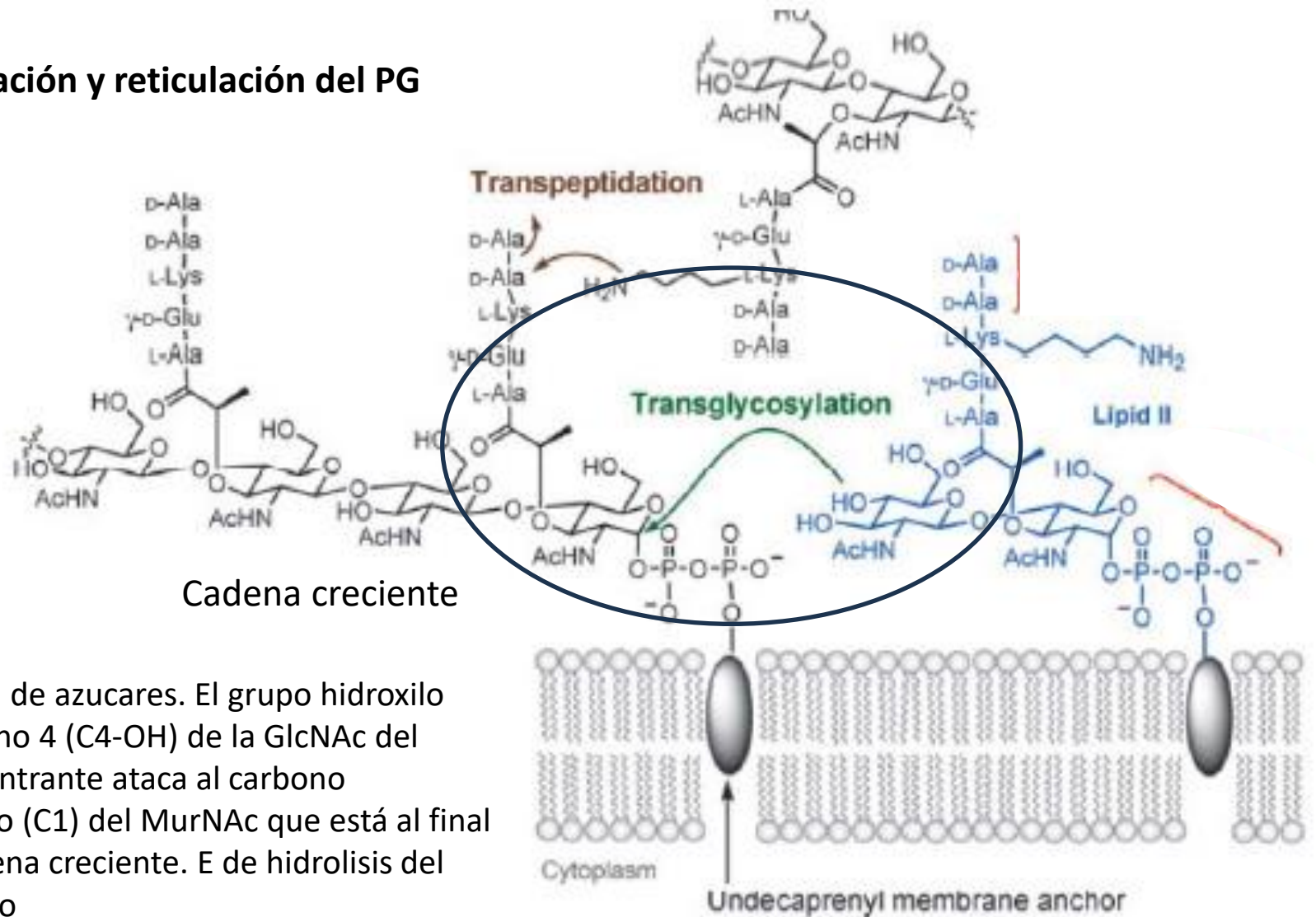


TG toman la energía de la hidrólisis del ppi del bactoprenol
 Lípido II
 TP de la hidrólisis del enlace D-ala-D-ala

Reacciones de síntesis de mureína catalizadas por **transglucosilasas** que une las cadenas de azúcares (TG) formando cuerdas y **las transpeptidasas** forman enlaces cruzados entre las cadenas peptídicas (TP). Barras grises, MurNAC; barras blancas, GlcNAc; línea en zigzag, residuo de undecaprenilo; círculo negro, grupo fosfato

Detalle de la reacción de transglucosilación

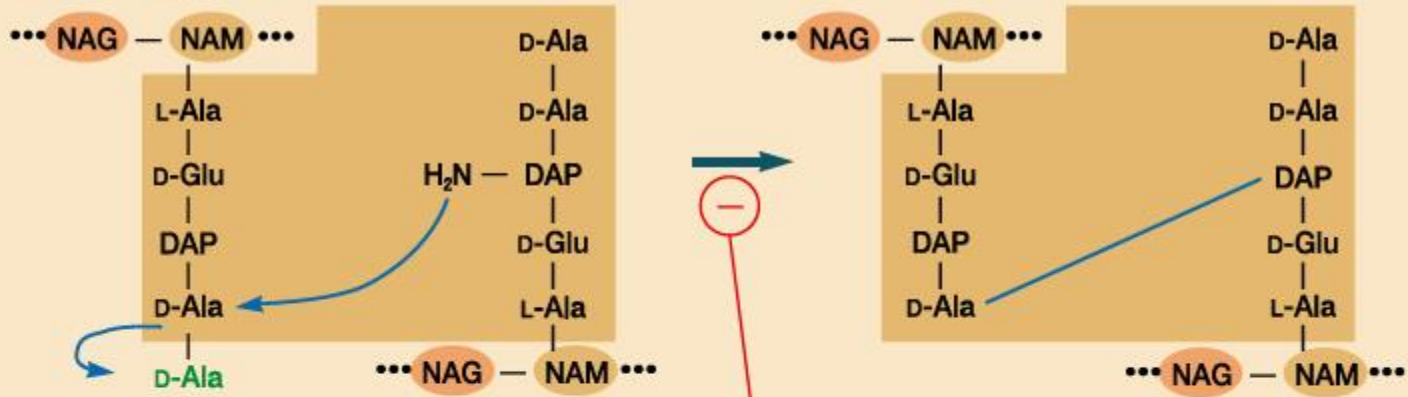
Polimerización y reticulación del PG



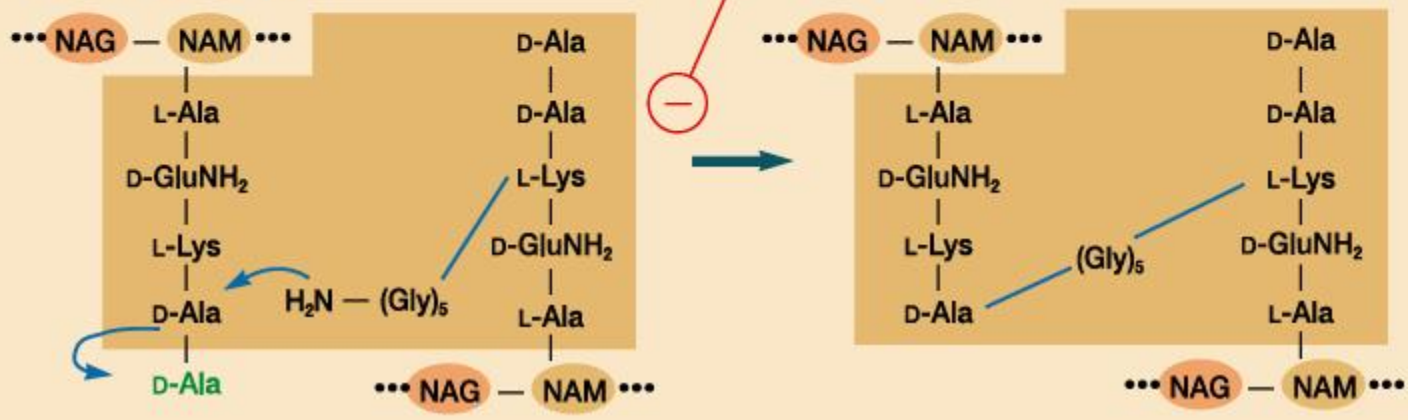
TG. Unión de azúcares. El grupo hidroxilo del carbono 4 (C4-OH) de la GlcNAc del Lípido II entrante ataca al carbono anomérico (C1) del MurNAc que está al final de la cadena creciente. E de hidrólisis del pirofosfato

Reacción de transpeptidación en G(-) y G(+)

E. coli transpeptidation



S. aureus transpeptidation



Penicillins

Detalle de la reacción de transpeptidación

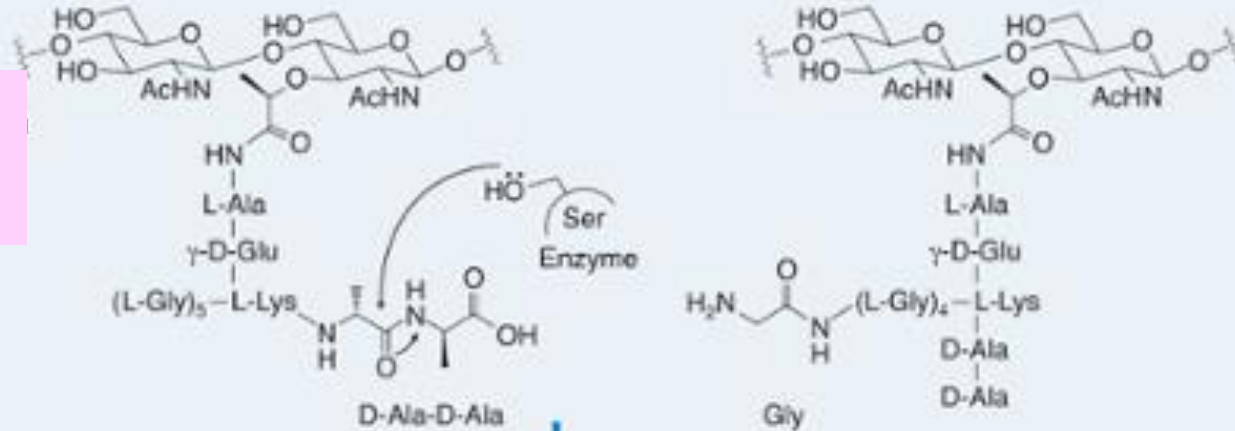
Reacción ocurre en dos etapas

- 1-Formación del acil-Ez y eliminación de D-Ala (de la posición 5)
- 2-Transferencia del mureimil tetrapéptido de la Ez a un $-NH_2$ del péptido de la cadena vecina que actúa como aceptor

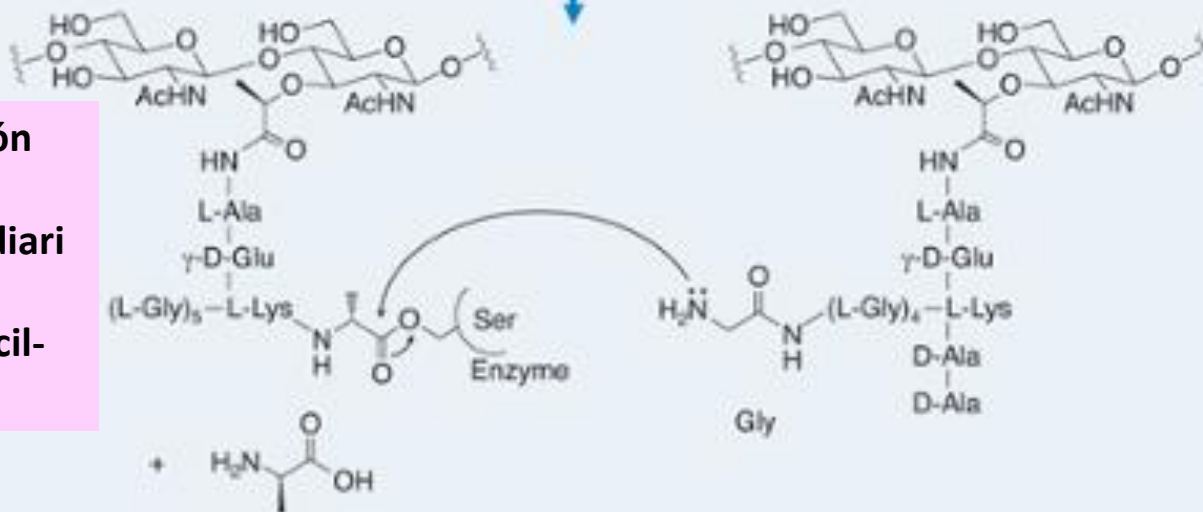
- **La energía para la reacción proviene de la hidrólisis del D-Ala-D-Ala**
- Se realiza del lado externo de la MC al igual que la TG
- La reacción es catalizada por una clase de transpeptidasas conocidas como PBPs, que son acil-serina transferasas
- La parte crítica es el reconocimiento de D-Ala-D-Ala del NAM, la interferencia de este proceso rompe la pared celular(p ej. penicilina)

Detalle de la reacción de transpeptidación

Dos cadenas de PG

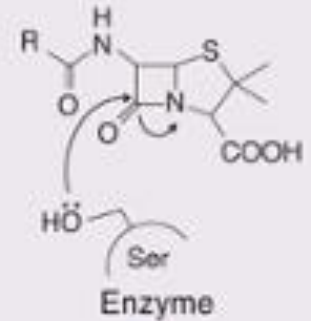


Paso de activación

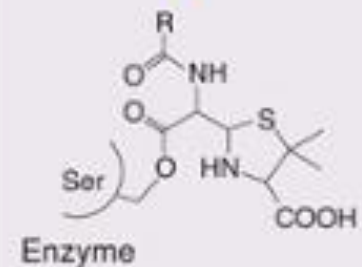


Alanina desplazada

Coupling step



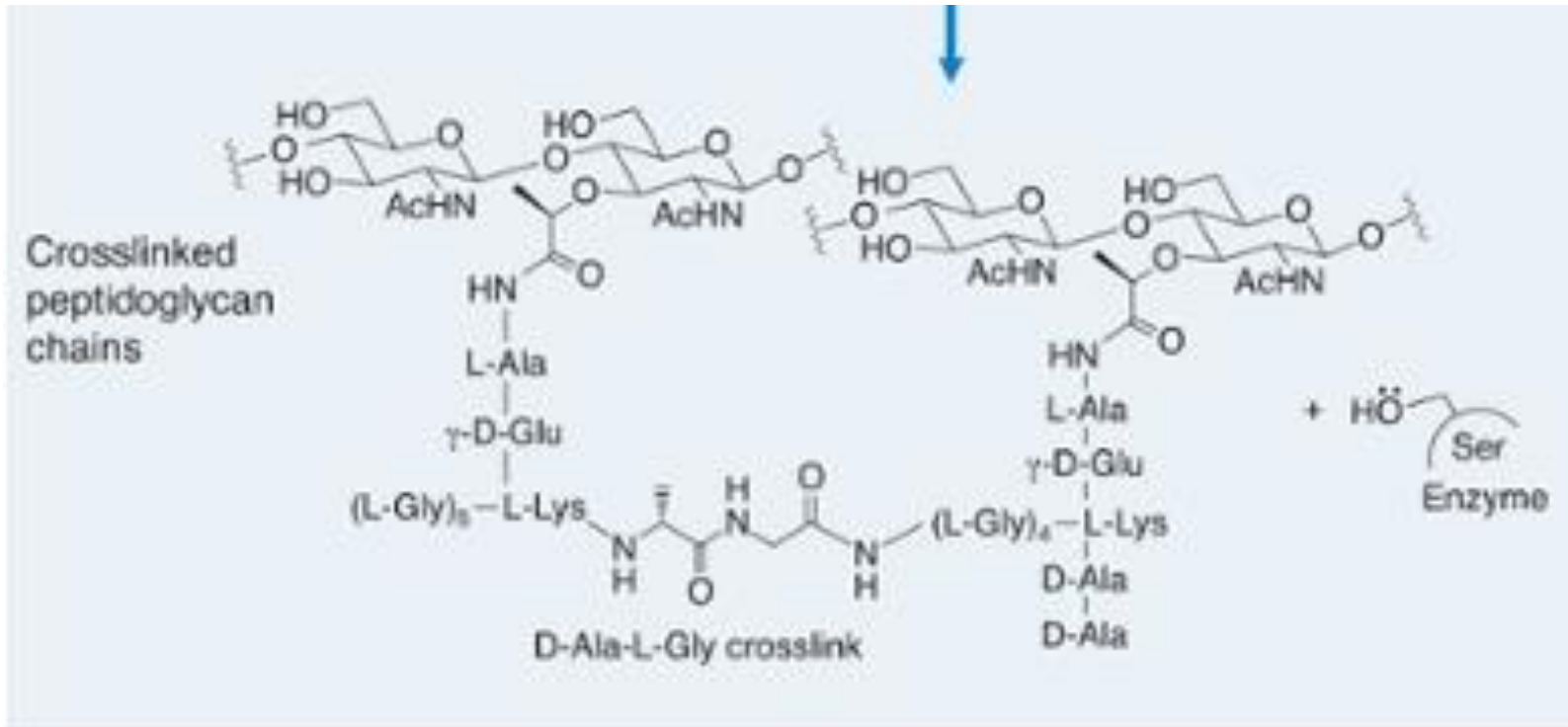
Residuo de serina cuando se une a penicilina



"Dead-end" enzyme penicillin complex

Formación del intermediario PG-EZ (acil-EZ)

Reacción de transpeptidación. Puente formado



- .La mayoría de los puentes son D,D
- .Algunos puentes son D,L entre dos meso –DAP
- .Algunos pueden formar puentes trimétricos con AA de cadenas que estén abajo o arriba

Distintos tipos de péptidoglicano o mureína sintasas

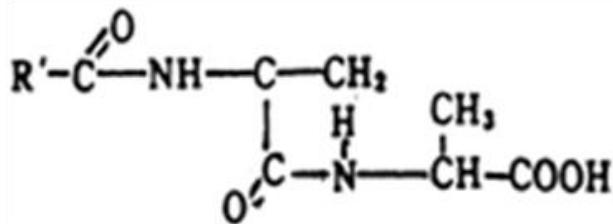
Las mureínas sintasas catalizan el agrandamiento del sáculo mediante la incorporación del precursor del lípido II. Estas proteínas están presentes en 120 a 220 copias por célula **y son TG monofuncionales, TG/TP bifuncionales o TP monofuncionales**

Todas las mureínas sintasas están ancladas a la membrana citoplasmática mediante una única región transmembrana cerca de su extremo N. Tienen una parte citoplasmática N-terminal corta, mientras que los dominios de transglicosilación catalítica (TG) y transpeptidación (TP) se encuentran en el periplasma

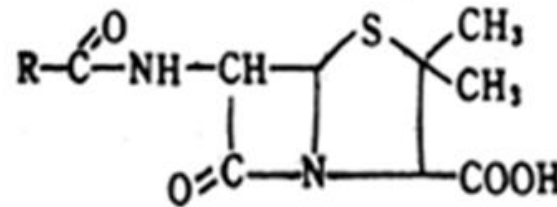
Las mureínas sintasas que contienen actividad TP se conocen como proteínas de unión a penicilina (PBP) debido a su capacidad para unirse covalentemente a penicilina y otros β -lactámicos, que tienen similitud estructural con los extremos D-Ala-D-Ala de las cadenas laterales de pentapéptido. PBP viene del inglés “Penicilin binding proteins “ por su capacidad de unión a penicilina.

Proteínas de unión a penicilina-PBPs

Debido a su parecido estructural entre los sustratos naturales y el extremo D-Ala-D-Ala del precursor y la penicilina, las enzimas de este último paso son sensibles a la penicilina con la cual forman compuestos acil-enzima muy estables que inhiben su actividad. Las enzimas de estos dos grupos pertenecen a la familia acil-serina transferasa (al cual pertenecen las PBP y las B-lactamasas).



D-Ala-D-Ala



Penicilin

Reconocen el extremo terminal con analogía estructural.

Distintos tipos de péptidoglicano o mureína sintasas

1- Glucosiltransferasas-Transpeptidasas (GT-TPasas) bifuncionales
PBPs clase A de alto PM

2-Glucosiltransferasas (GTasa) o transglicosilasas, monofuncionales

TG . Capaces de polimerizar las cadenas de glucano pero no de entrecruzar los péptidos

3-DD-TPasas monofuncionales (PBPs clase B)

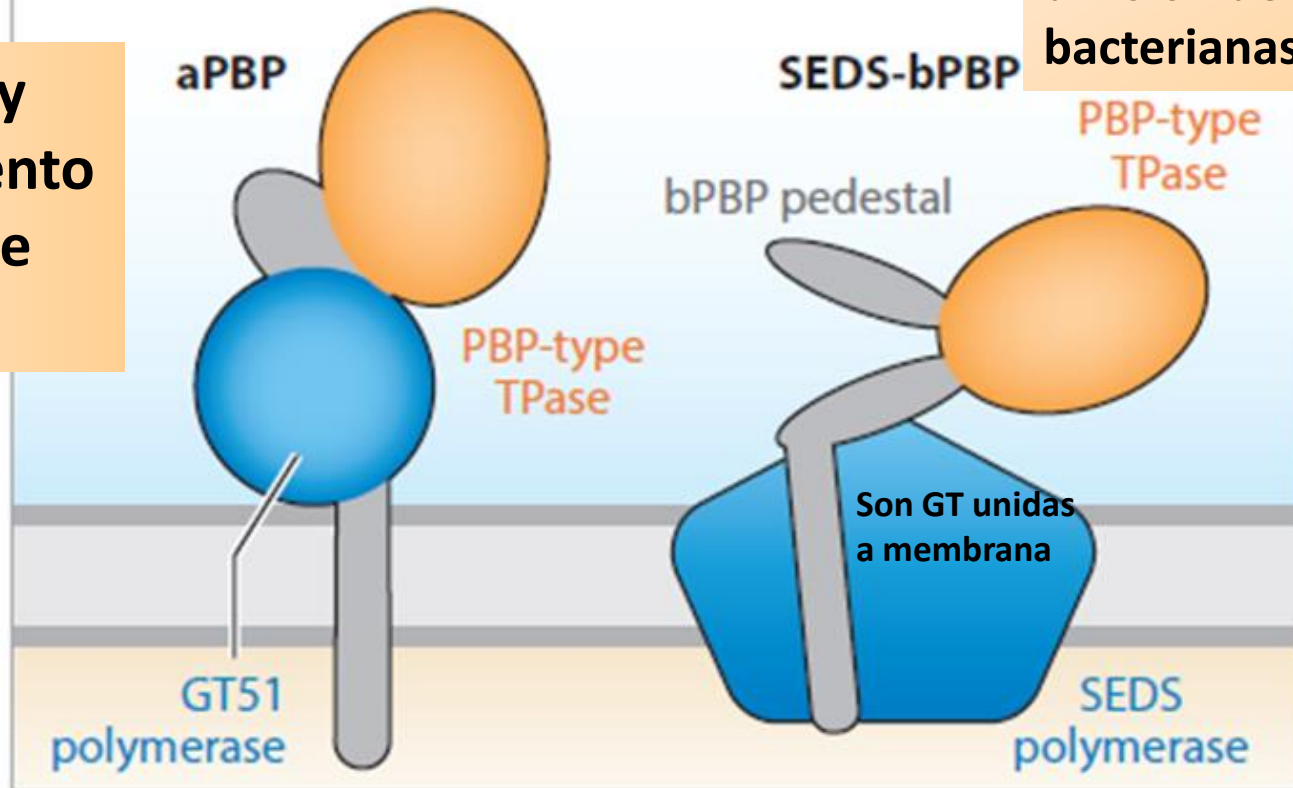
Las transpeptidasas monofuncionales PBP2 y PBP3 pertenecen a las PBP de clase B y parecen tener funciones específicas durante el ciclo celular. PBP2 es necesaria para el alargamiento celular, mientras que PBP3 se localiza en la mitad de la célula durante la septación y es necesaria para la división celular

4-Complejos SEDS (2y3): Las proteínas de forma, elongación, división y esporulación (SEDS) son una familia altamente conservada de glucosiltransferasas transmembrana que funcionan en conjunto con las proteínas de unión a penicilina de clase B (bPBP) para construir la pared celular de peptidoglicano bacteriano

Otra forma de agrupar las PG sintetetasas

Responsables de sintetizar PG durante el crecimiento y la división de las células bacterianas

b Peptidoglycan synthases



Clases A (aPBP)

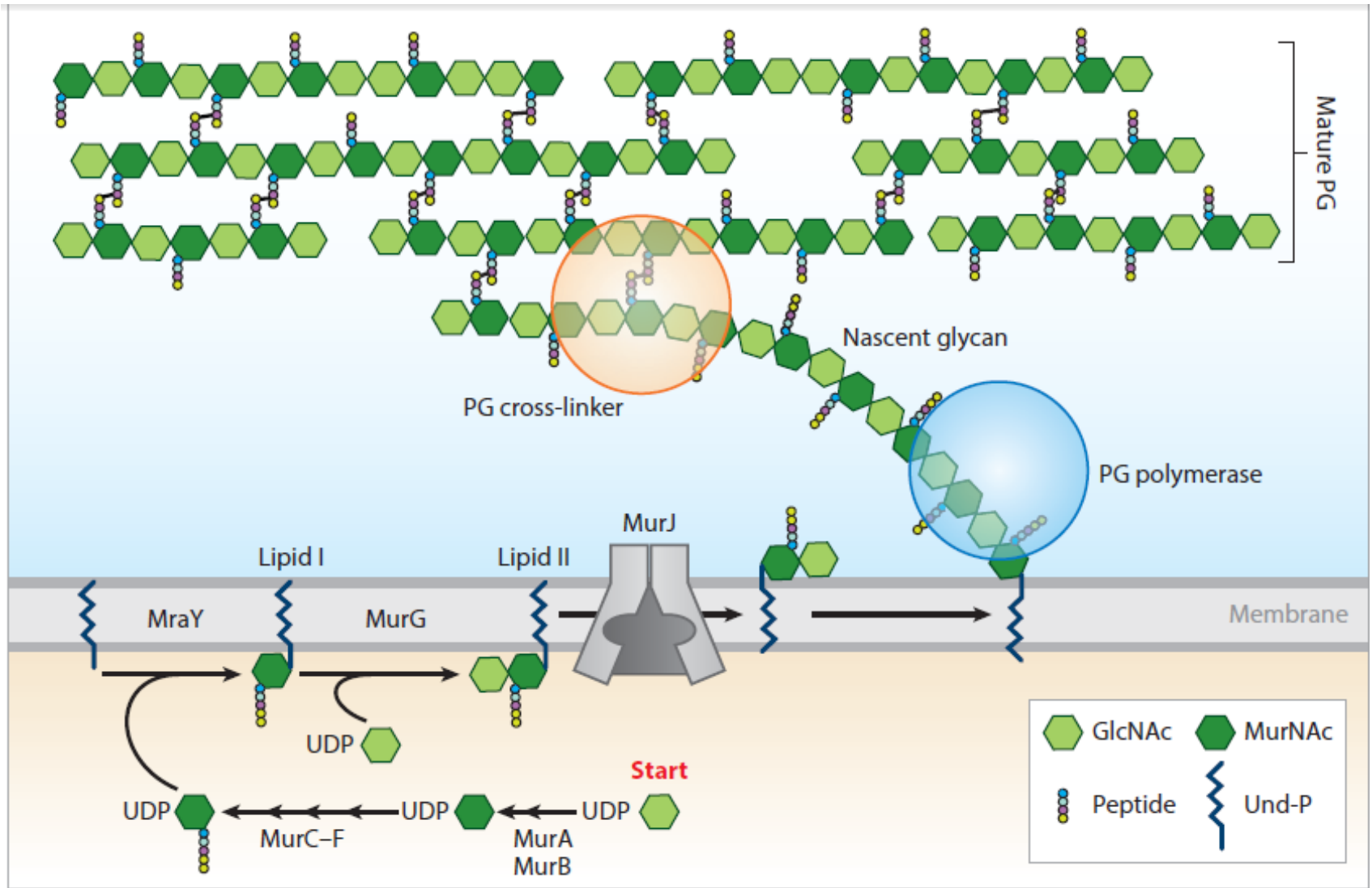
Poseen subdominios

Clase B (bPBP)

GT unidas a membrana que actúan con bPBP

Reparación y mantenimiento de la capa de PG

Síntesis del péptidoglicano



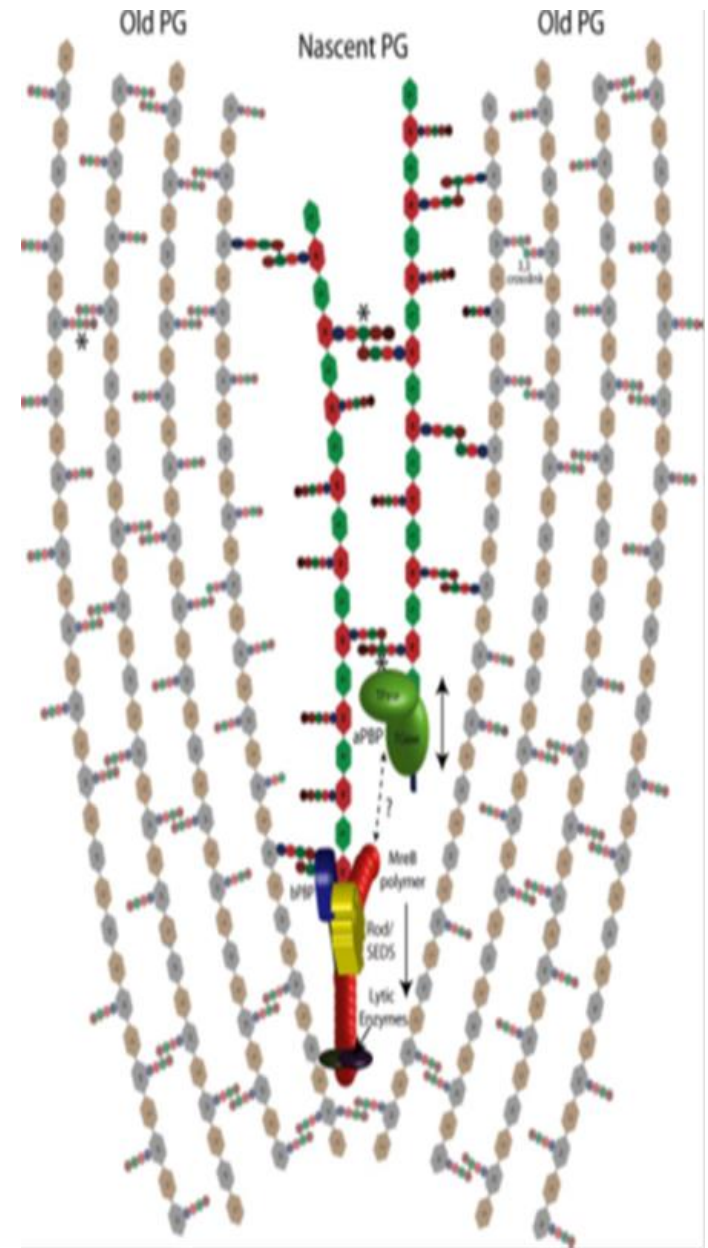
Intervienen mureína sintasas e hidrolasas

Crecimiento y elongación del PG: requiere la acción de hidrolasas o autolisinas

Para que la célula crezca sin perder su integridad mecánica, las enzimas trabajan en un complejo multienzimático (el elongasoma):

Hidrólisis controlada: Las autolisinas rompen enlaces específicos en la red de PG vieja.

Inserción simultánea: Al mismo tiempo que se abre el hueco, las transglicosilasas y transpeptidasas insertan y amarran las nuevas hebras.



Hidrolasas del PG que son y que hacen??

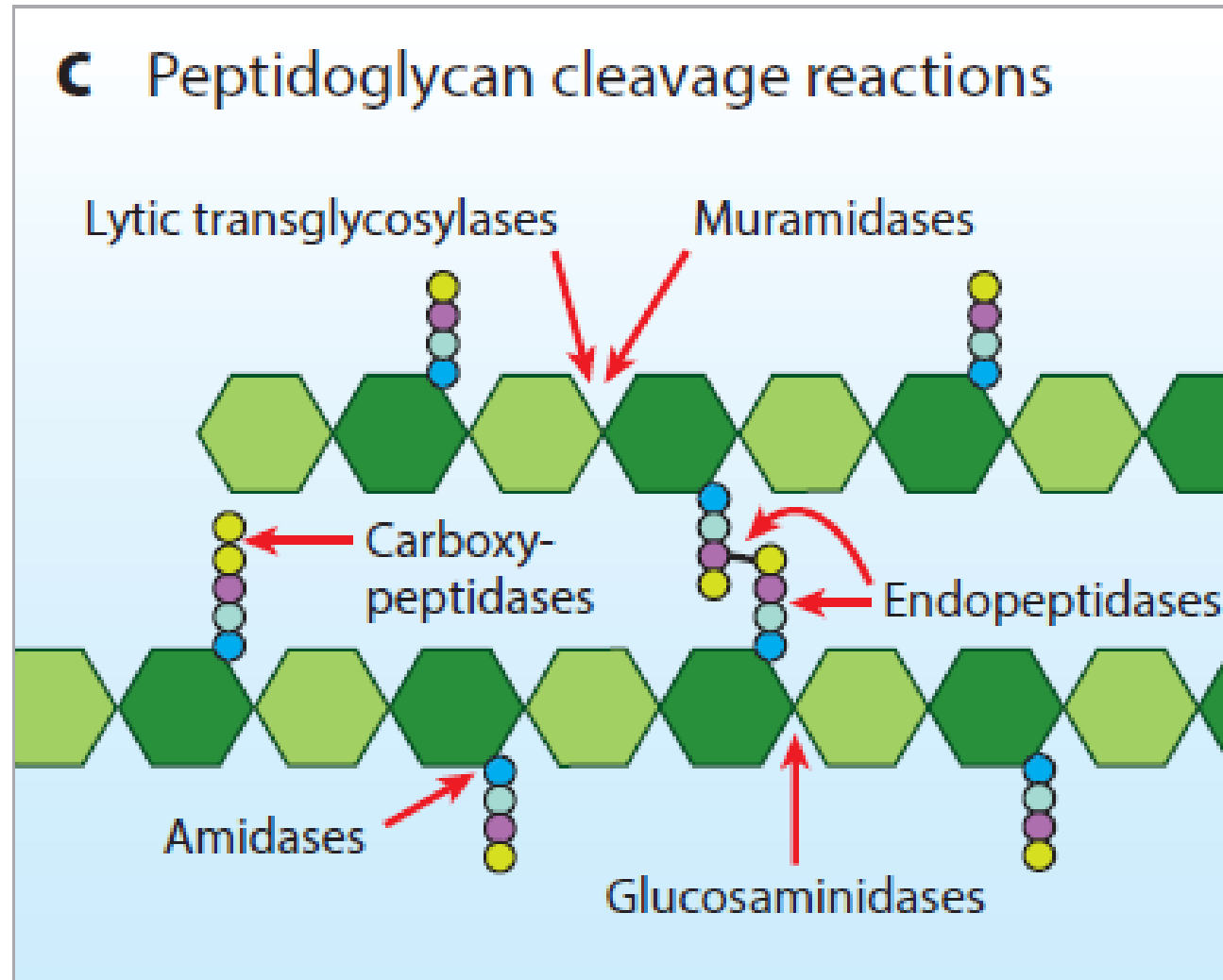
- Son llamadas autolisinas: rompen enlaces glicosídicos y amida algunas de ellas tienen características de PBPs
- Algunas están ancladas a la pared y participan creando puntos de crecimiento del PG
- Contribuyen a la síntesis la cual es una combinación de autólisis controlada y biosíntesis .
- Ac teicóicos y otros azúcares interaccionan con estas enzimas para controlar su acción
- Liberan fragmentos durante el crecimiento y septación que son reciclados para ser reutilizados (alrededor del 2% del PG se recicla)

Hidrolasas del PG que son y que hacen??

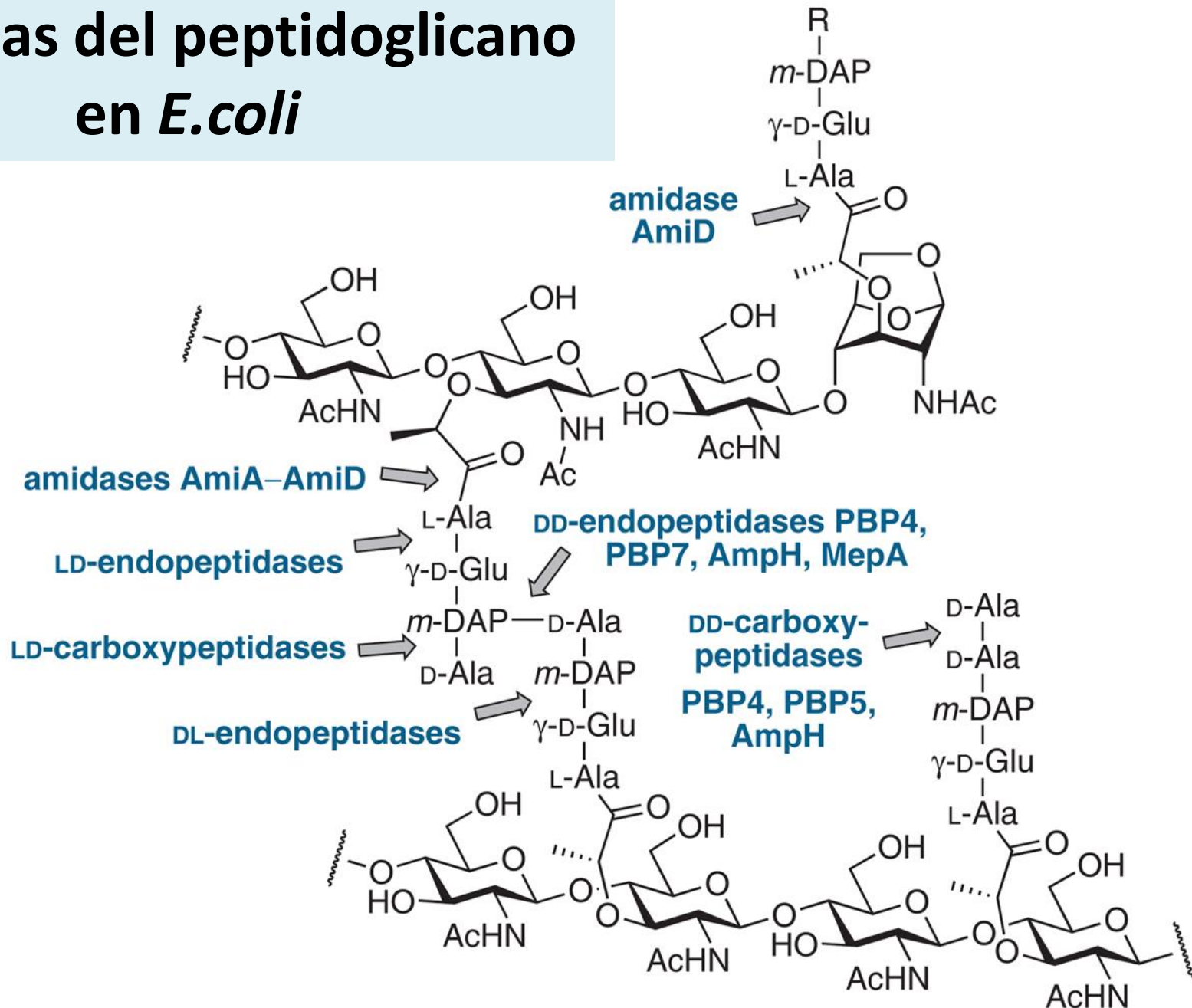
Las hidrolasas tienen un rol importante en el crecimiento del PG, división celular, espesor del PG, la forma de la bacteria, Separación de las células en la división

En E. coli algunas de ellas son
D,D-Carboxipeptidasas (PBP 5, PBP4B, PBP6, PBP6B)
D,D-Endopeptidasas (PBP 4 y PBP 7)
Amidasas
LT Transglicosilinas líticas

Enzimas que cortan y remodelan el peptidoglicano

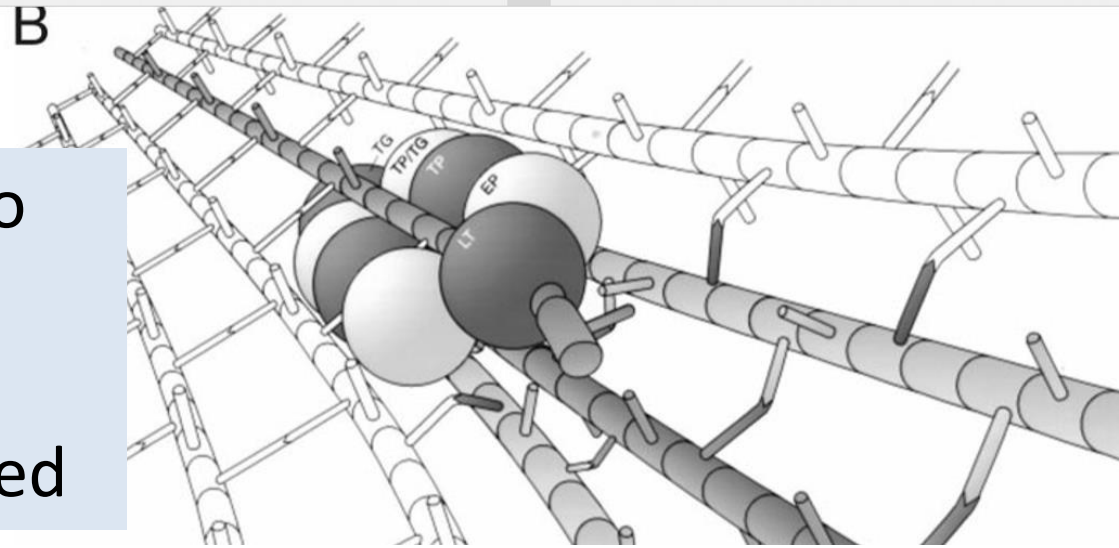
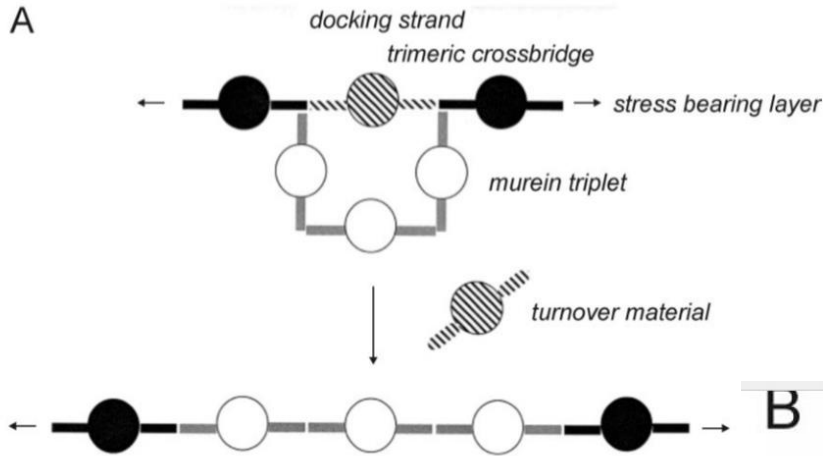


Hidrolasas del peptidoglicano en *E.coli*



Modelo de inserción de la nueva pared en G(-)

Mecanismo tres por uno

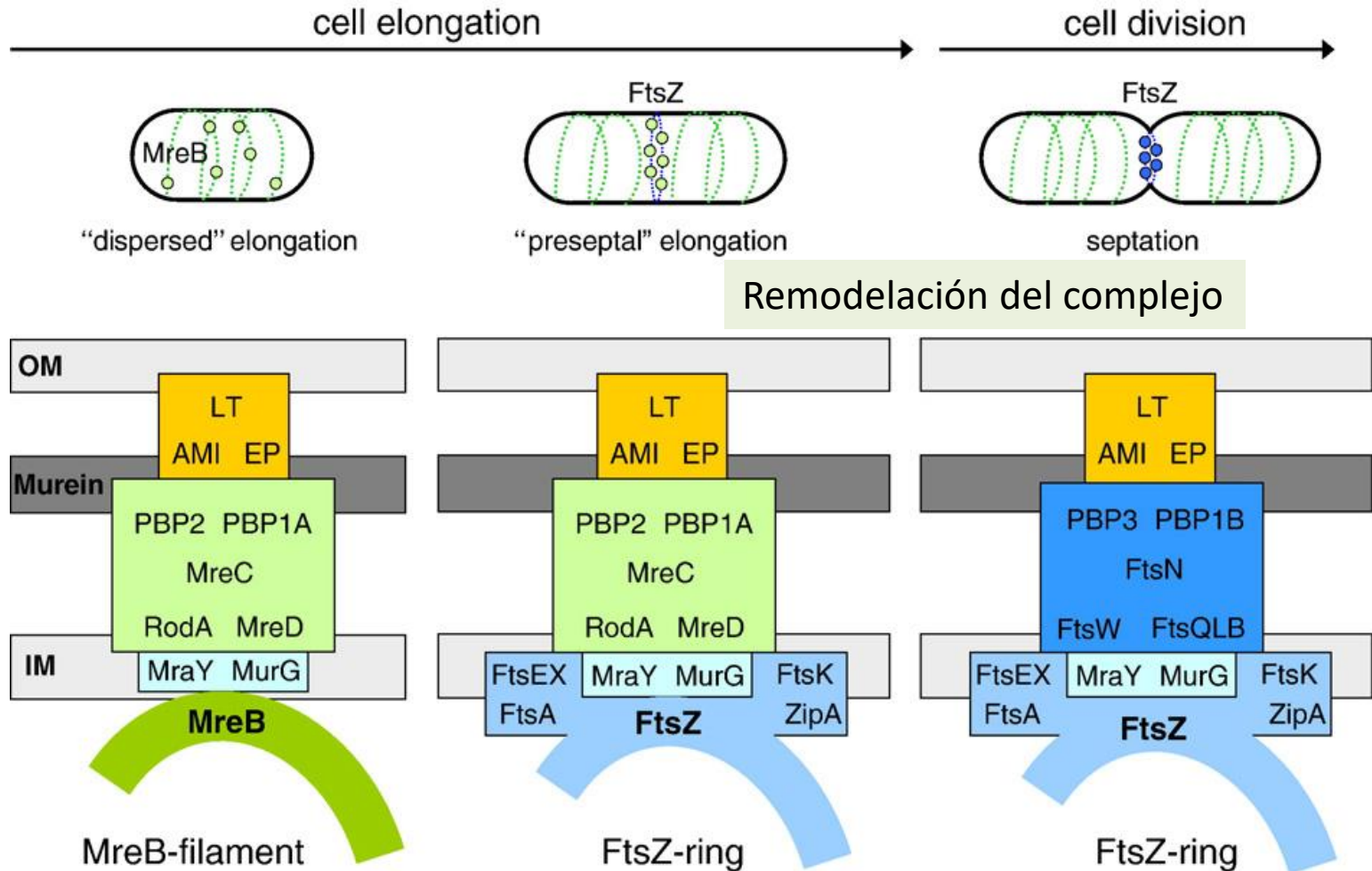


·Complejo mutienzimático que acopla la degradación con la inserción de la nueva pared



<https://www.youtube.com/watch?v=50v3vp6Qyg>

Regulación del crecimiento de la pared celular por elementos del citoesqueleto

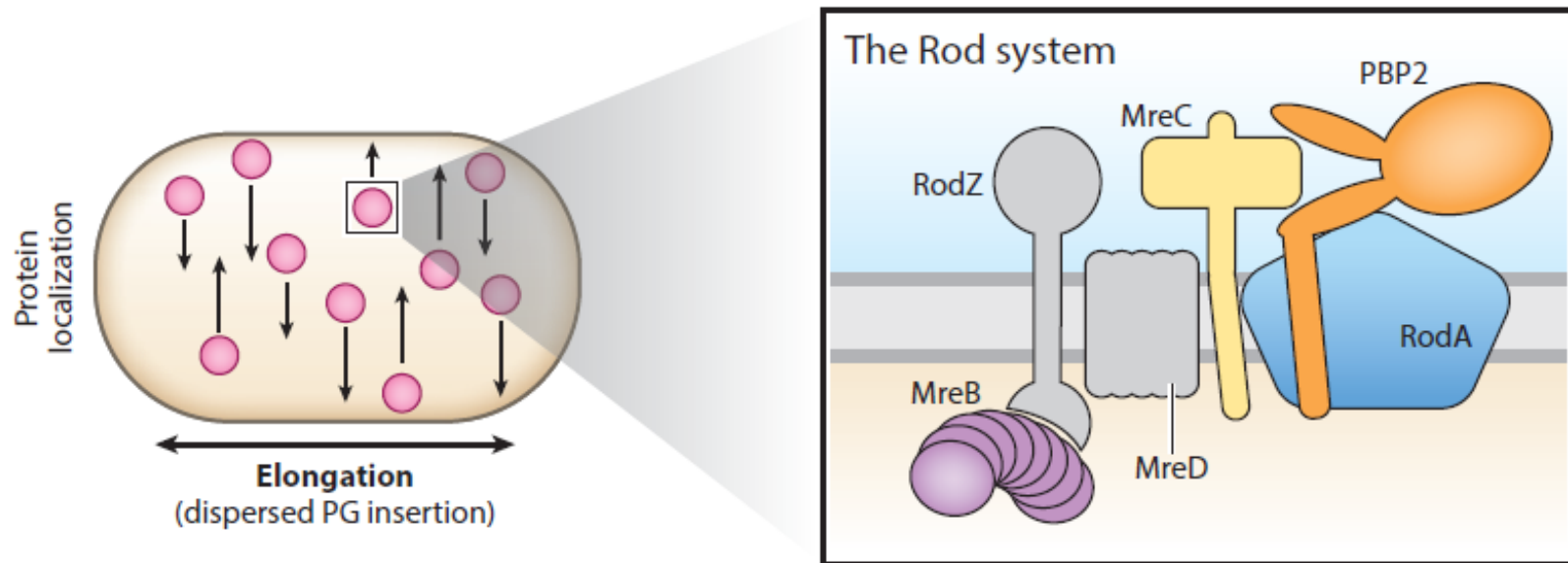


Las proteínas del citoesqueleto MreB y FtsZ y de la división controlan la posición de las sintetas y las hidrolasas. Son de localización dinámica. Regulan el crecimiento de la pared mediante la formación de complejos multienzimáticos. (Volmer2008)

Elongasoma: Hidrolasas, sintetisas y proteínas adicionales

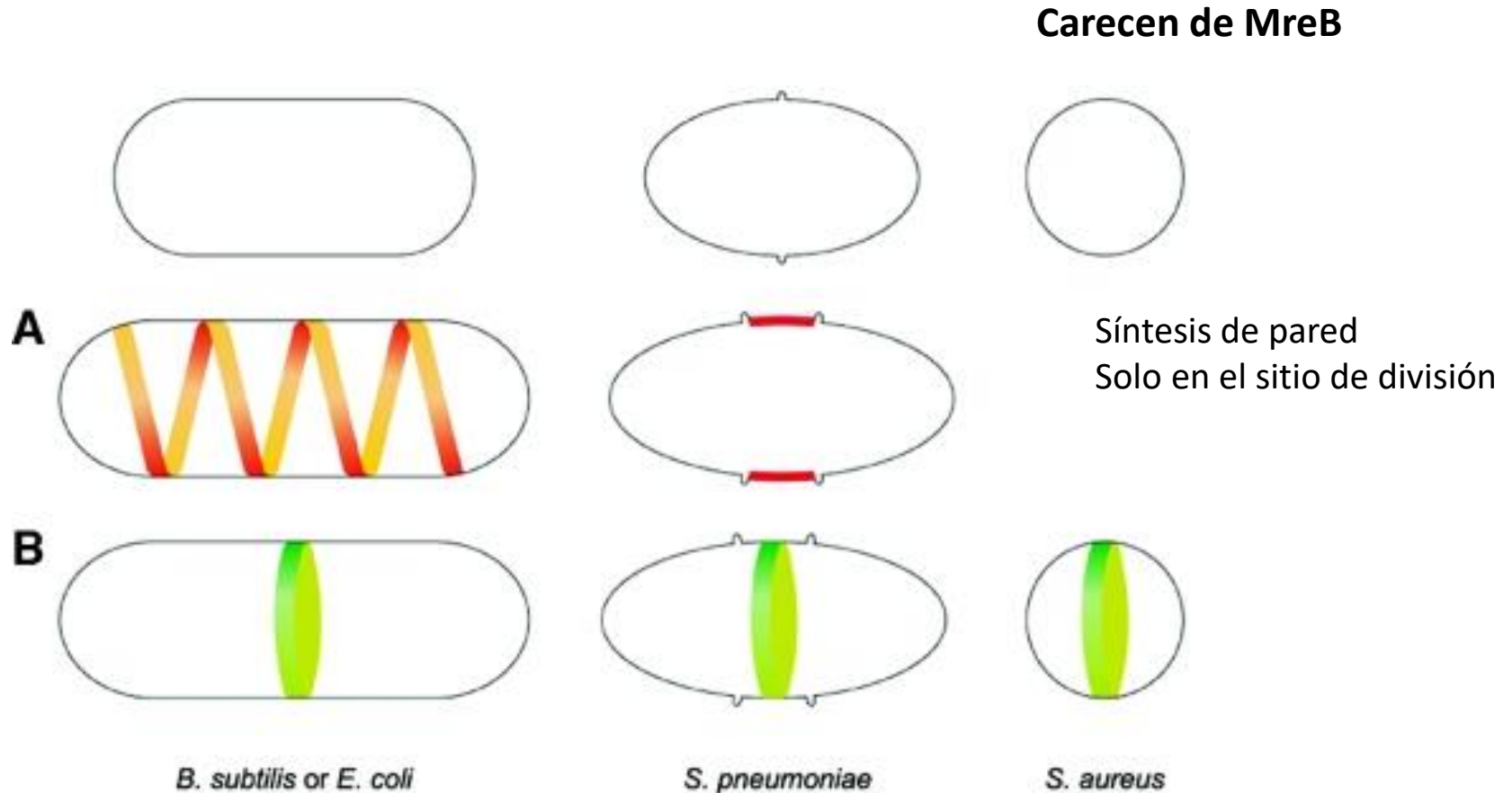
Los filamentos de MreB en la cara interna de la membrana interna organizan el complejo. Orienta la síntesis del PG

MreB interactúa con proteínas enlazadoras como MreC/D y RodZ



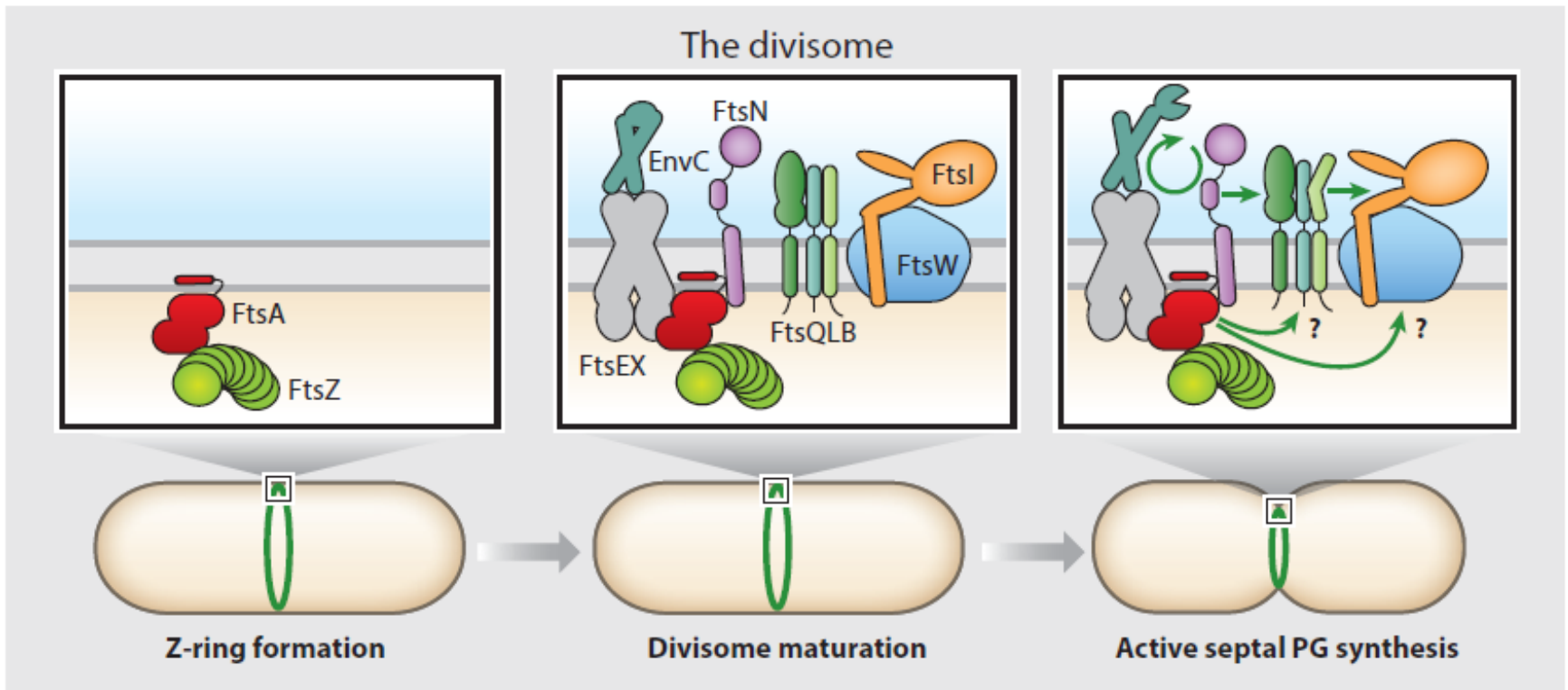
Maquinas multiproteicas. Las nuevas hebras de PG se sintetizan siguiendo el rastro de una proteína del citoesqueleto llamada **MreB**. La **MreB** se mueve de forma circular o helicoidal por la cara interna de la membrana, guiando al complejo de síntesis para que deposite el nuevo PG como si fuera una cinta envolviendo un tubo. Esto permite que el bacilo mantenga su forma alargada.

Incorporación de nueva pared celular en bacterias de formas diferentes



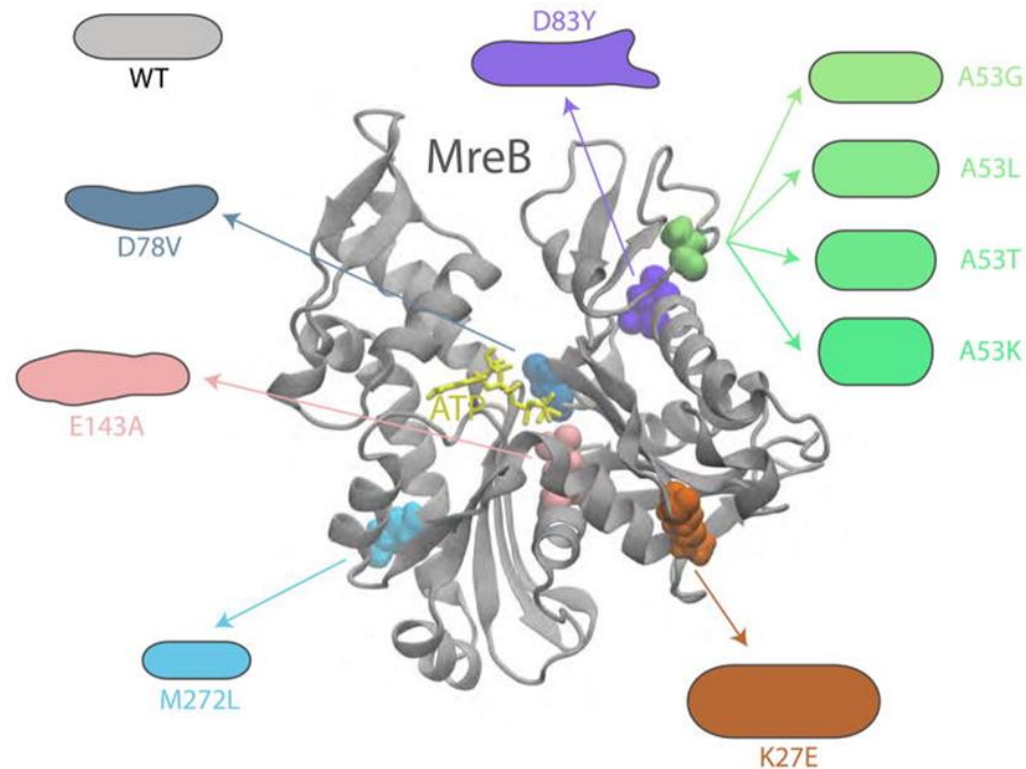
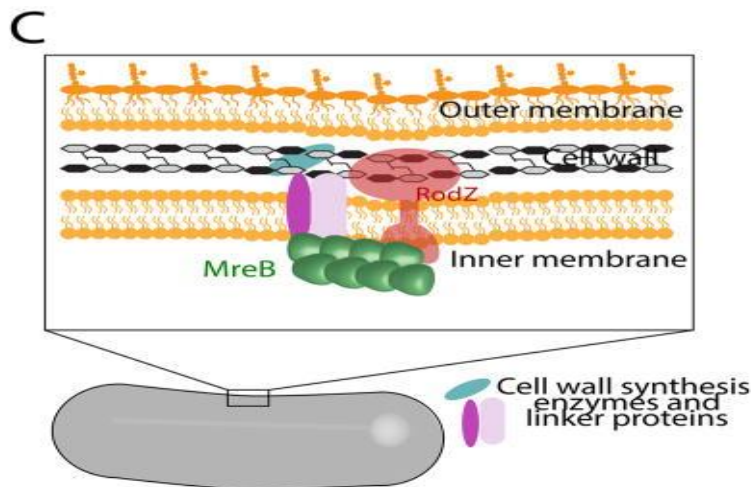
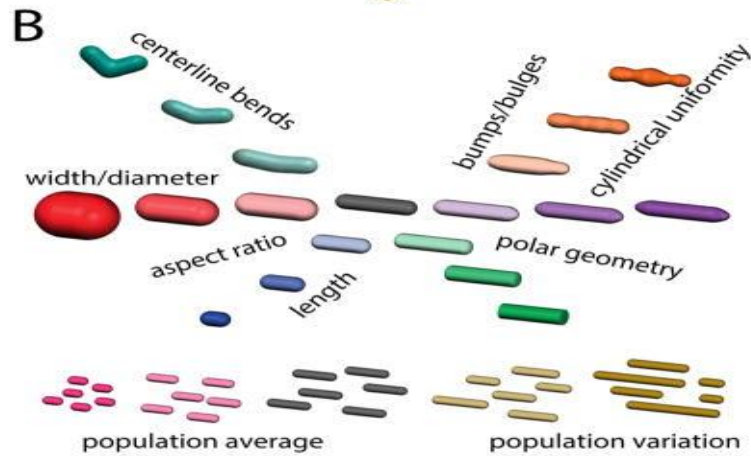
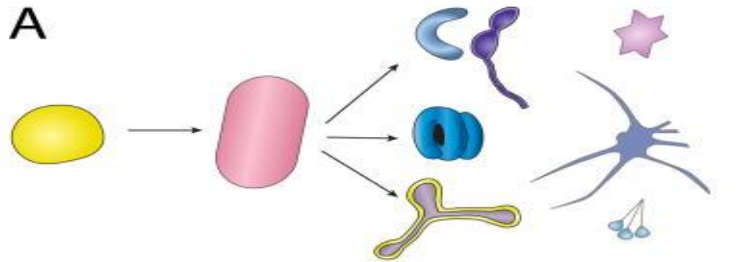
El crecimiento está limitado casi exclusivamente al sitio de división celular. Se forma un tabique (septo) central mediante el complejo divisoma (guiado por la proteína FtsZ), y el PG nuevo se expande desde el centro hacia afuera para separar las dos células hijas.

Divisoma, ensamblado y activación



MreB: El arquitecto de la forma y tamaño celular

Las mutaciones puntuales en el gen *mreB* pueden alterar drásticamente las formas y tamaños celulares. Dependen de MreB que es altamente mutable

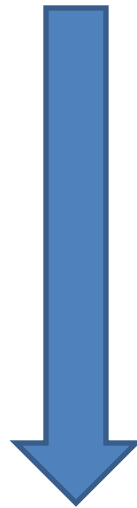


Las mutaciones alteran la estabilidad de los filamentos de MreB

Maduración del peptidoglicano

Al comienzo el nuevo material incorporado tiene distinta composición que el PG preexistente. En fase estacionaria de crecimiento, el crecimiento del PG es mas lento y remodela la estructura. También reparan en condiciones de estrés o presencia de antibióticos

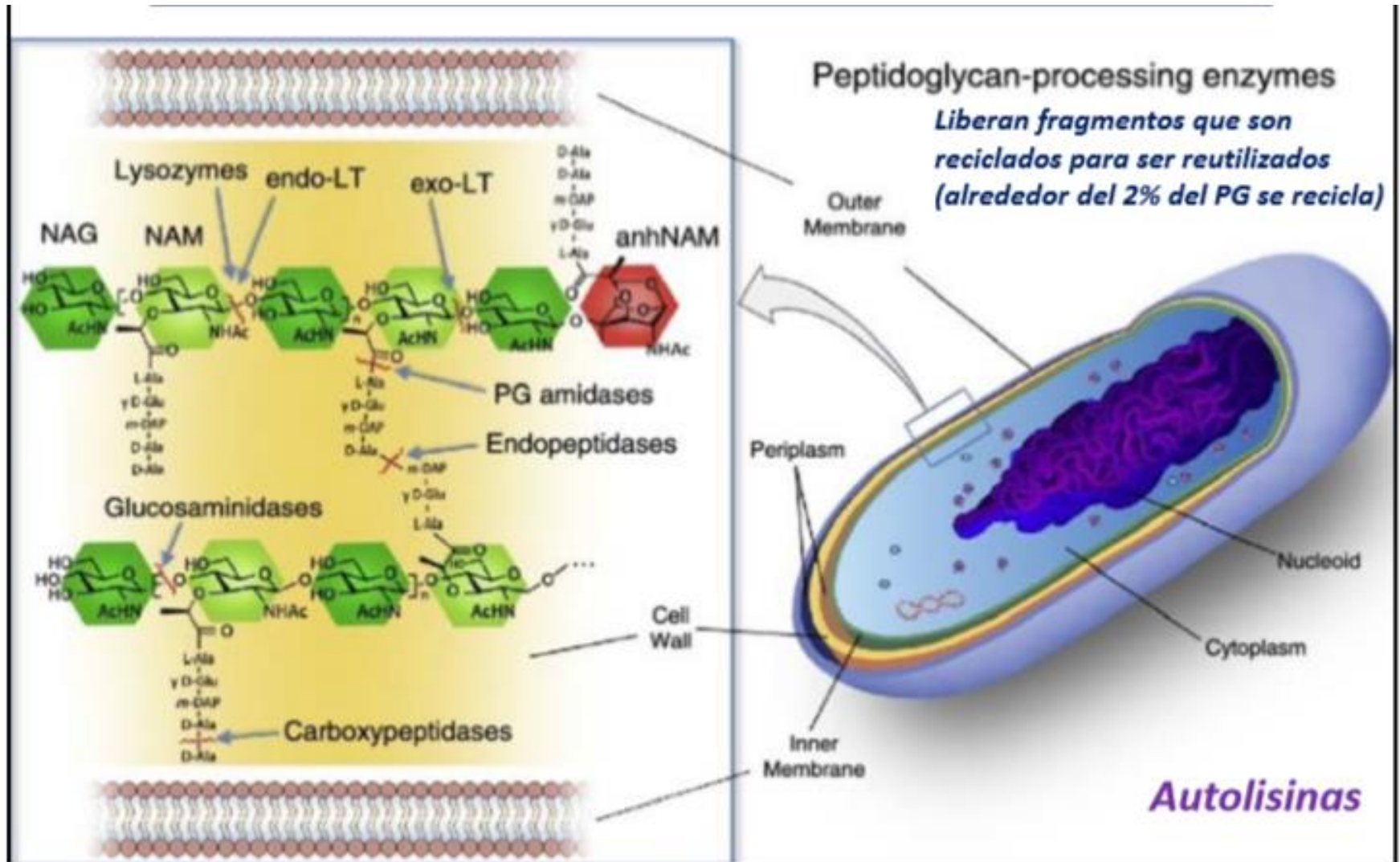
Maduración



- 1-Aumento de los entrecruzamientos D,D
- 2-Incremento en la proporción de LppB unida a PG
- 3- Perdida de la D-Ala terminal de los pentapéptidos no entrecruzados por acción de las carboxipeptidasas
- 4- Entrecruzamientos L,D
- 5-Cambios en la longitud de las cadenas de PG
- 6-Modificaciones secundarias, polímeros de superficie acetilaciones y amidaciones que protegen de la acción de la lizosima

PG nuevo adquiere una estructura indistinguible del PG de la célula original

Reacciones adicionales que ocurren en la pared

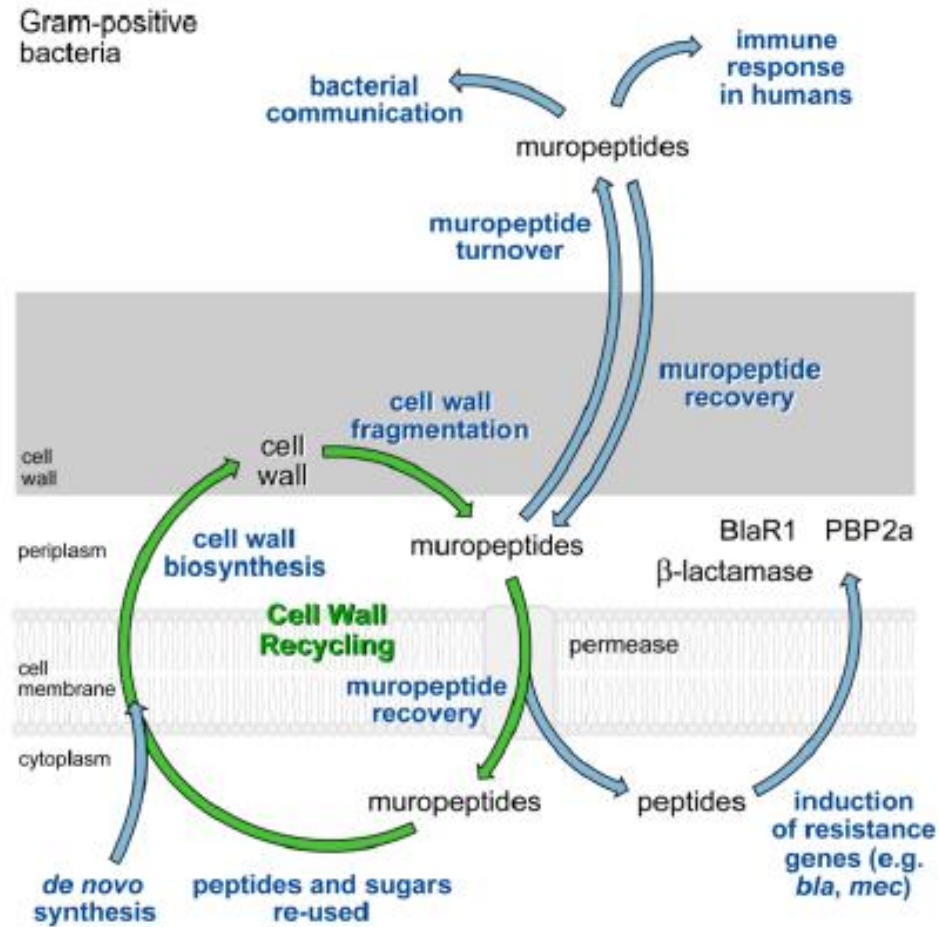
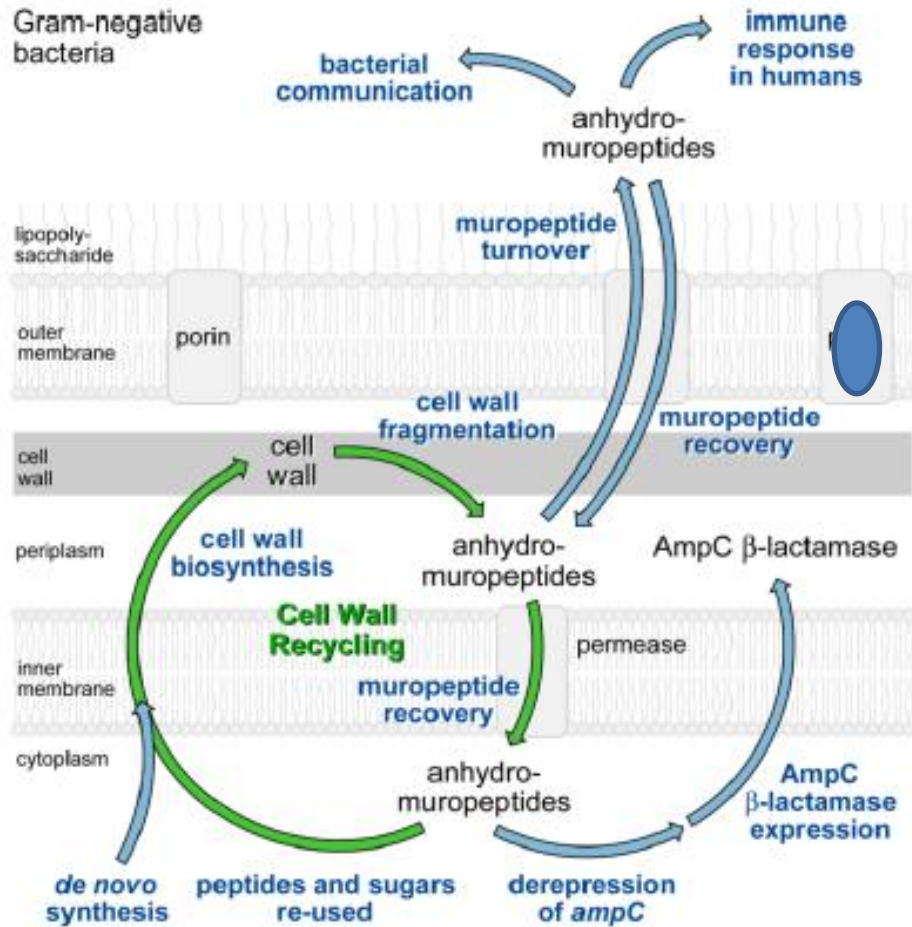


Reciclado de mureína

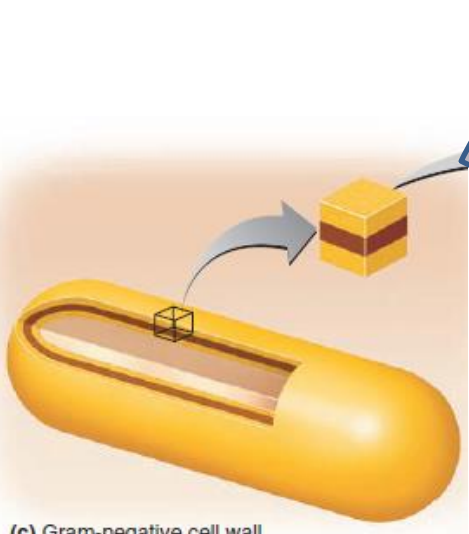
Recuperación del material y mensajeros

Relación con la resistencia a ATB

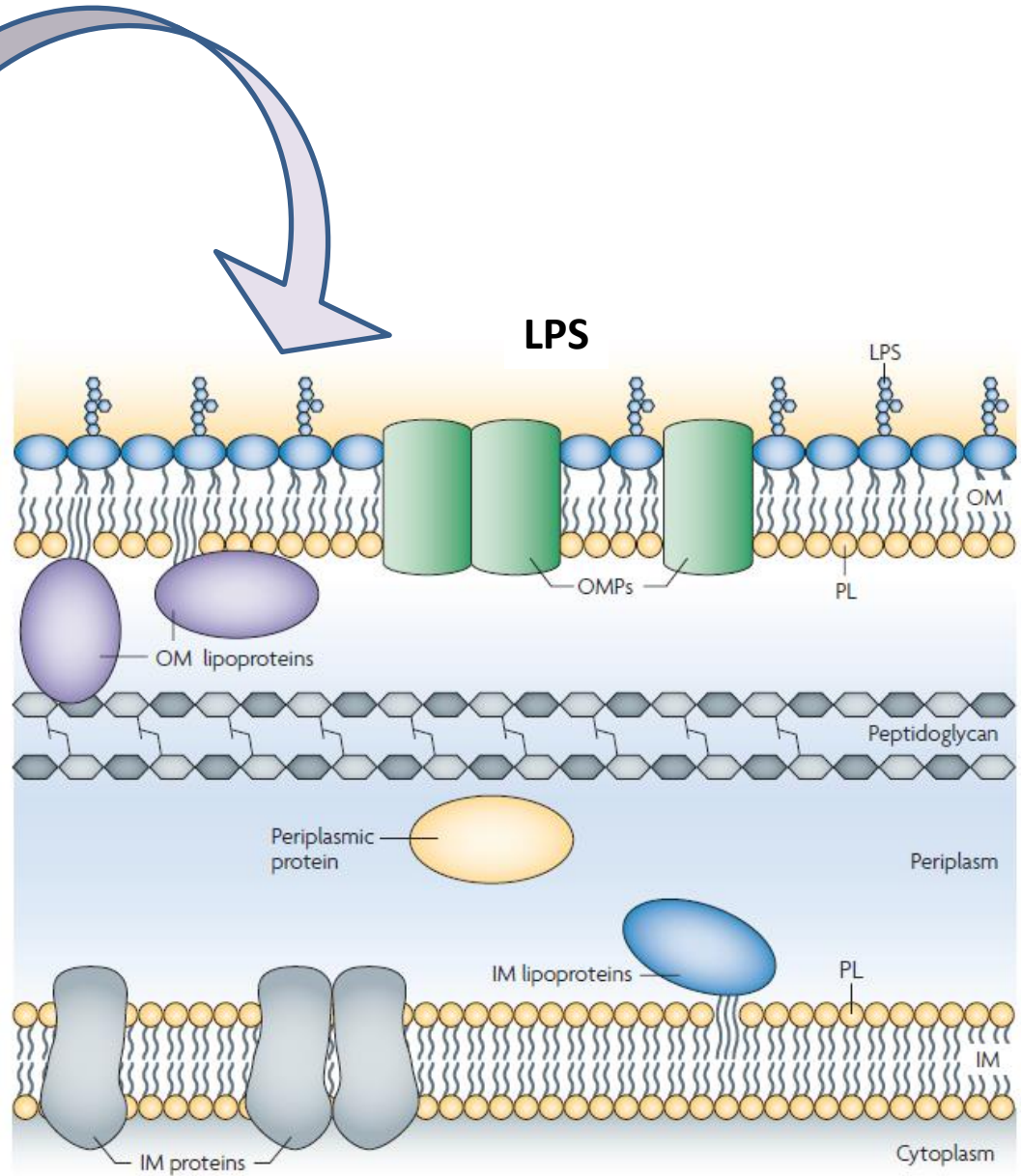
Fragmentos al medio



Pared de Gram negativas. ME.LPS



(c) Gram-negative cell wall



Lipopolisacárido o LPS

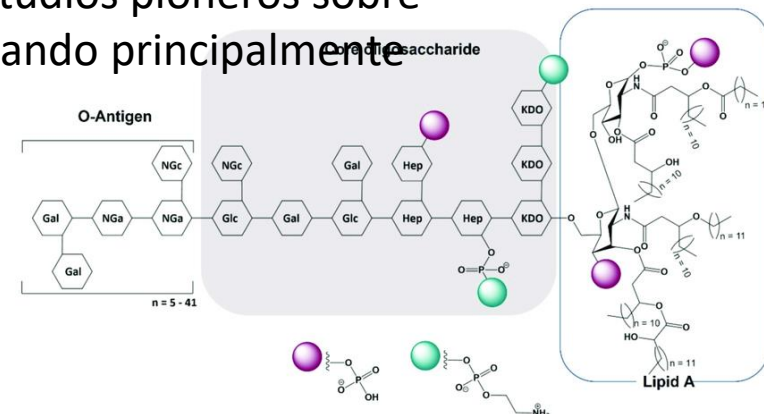
Una de las moléculas de superficie bacteriana más estudiadas es el glicolípido conocido como lipopolisacárido (LPS), que es producido por la mayoría de las bacterias Gram-negativas.

Gran parte de la atención inicial que recibió el LPS a principios del siglo XX se debió a su capacidad para estimular el sistema inmunológico, por lo que el glicolípido se conocía comúnmente como **endotoxina**.

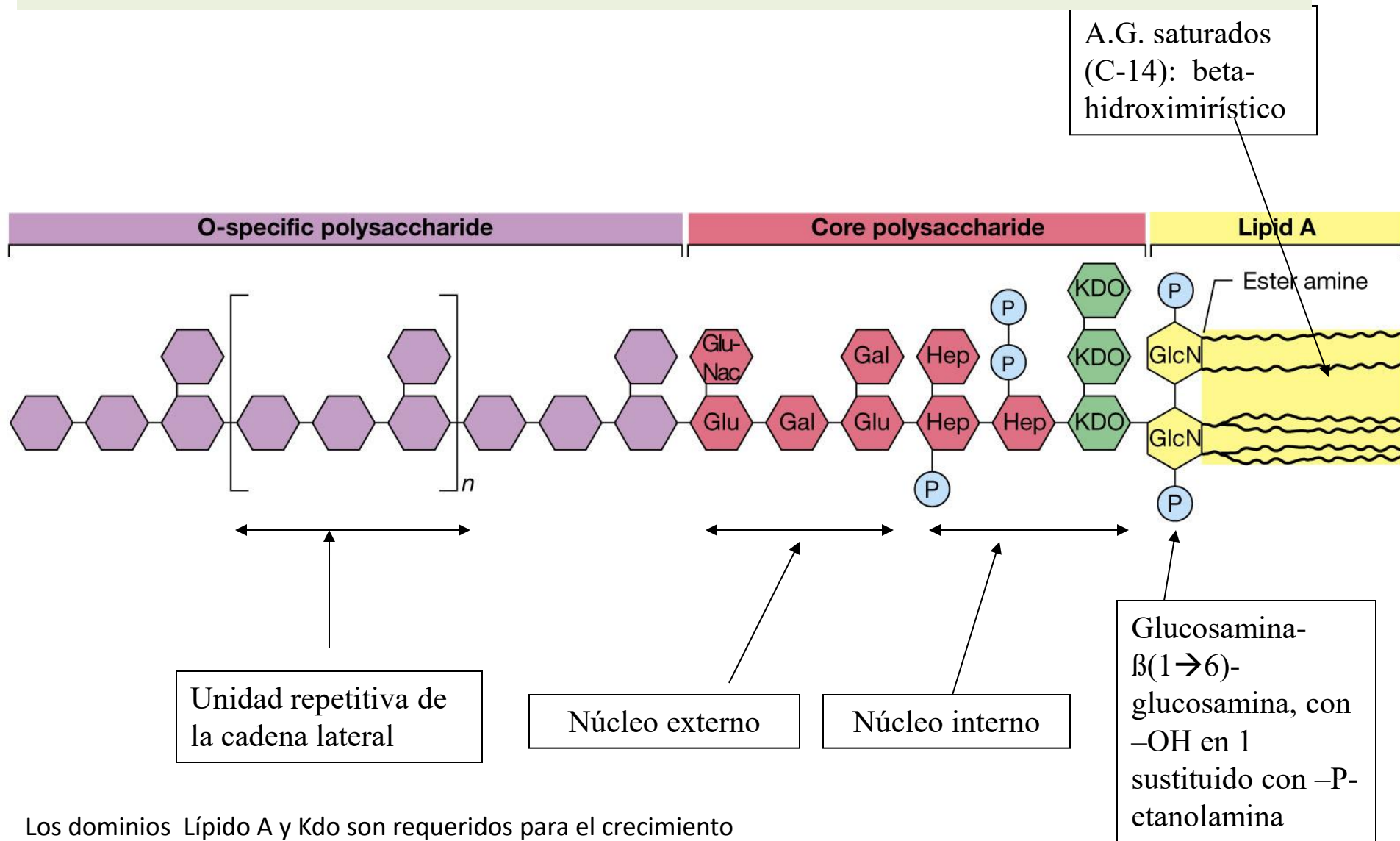
Más tarde se descubrió que el LPS también crea una **barrera de permeabilidad** en la superficie celular protege de sustancias tóxicas, sales biliares y es uno de los principales contribuyentes a la **resistencia innata** que muestran las bacterias Gram-negativas contra muchos antimicrobianos.

Desempeña un papel muy importante en **la patogenicidad bacteriana**

La investigación sobre LPS también ha dado lugar a estudios pioneros sobre biogénesis y fisiología de la envoltura bacteriana utilizando principalmente *Escherichia coli* y *Salmonella* como sistemas modelo.



El lipopolisacárido



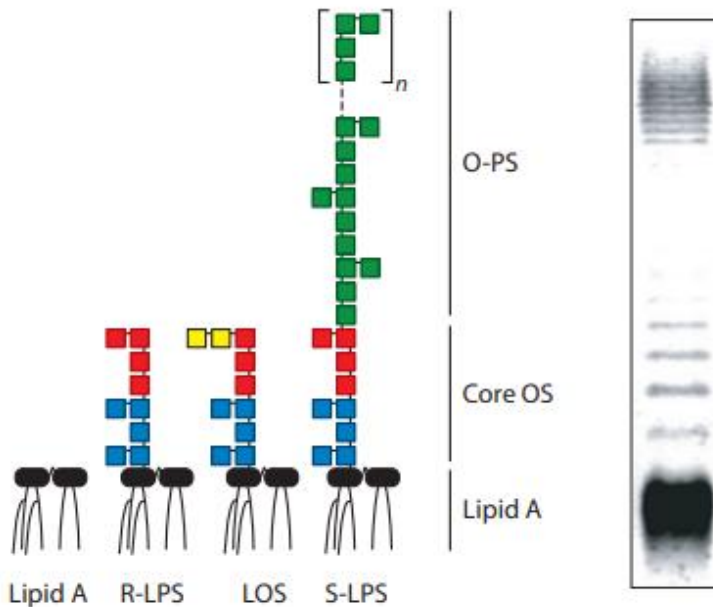
Los dominios Lípido A y Kdo son requeridos para el crecimiento
Los azúcares del antígeno O no son necesarios para el crecimiento,
pero protegen de los antibióticos y la lisis mediada por el complemento
El núcleo y el antígeno O son requeridos para la virulencia

Estructura general y biogénesis del (LPS)

Interacción con el medio ambiente y las defensas del huésped

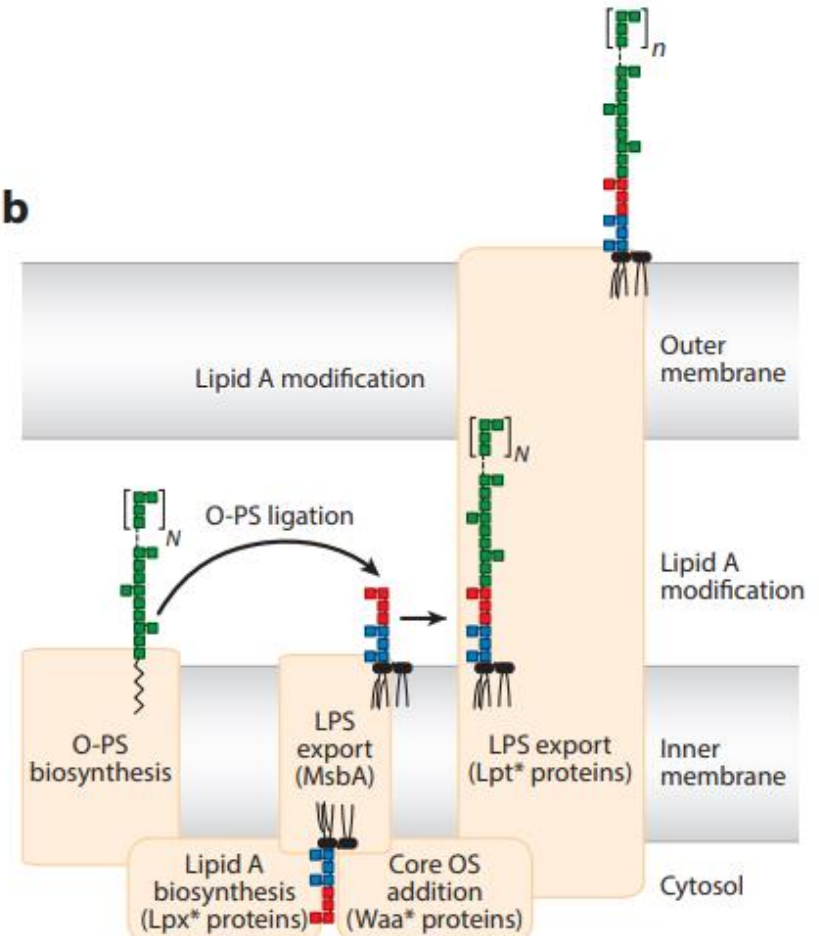
Responsable de la integridad y permeabilidad de la ME

a



Pasos de la biosíntesis

b



Composición del lipopolisacárido (LPS)

- **Lípido A: endotoxina propiamente dicha, estructura muy conservada**
- **Región intermedia: núcleo del polisacárido, estructura conservada, se divide en NI y NE**
- **Región distal o antígeno O: cadena lateral específica, polisacarídica, son repeticiones de pocos azúcares, muy variable.**

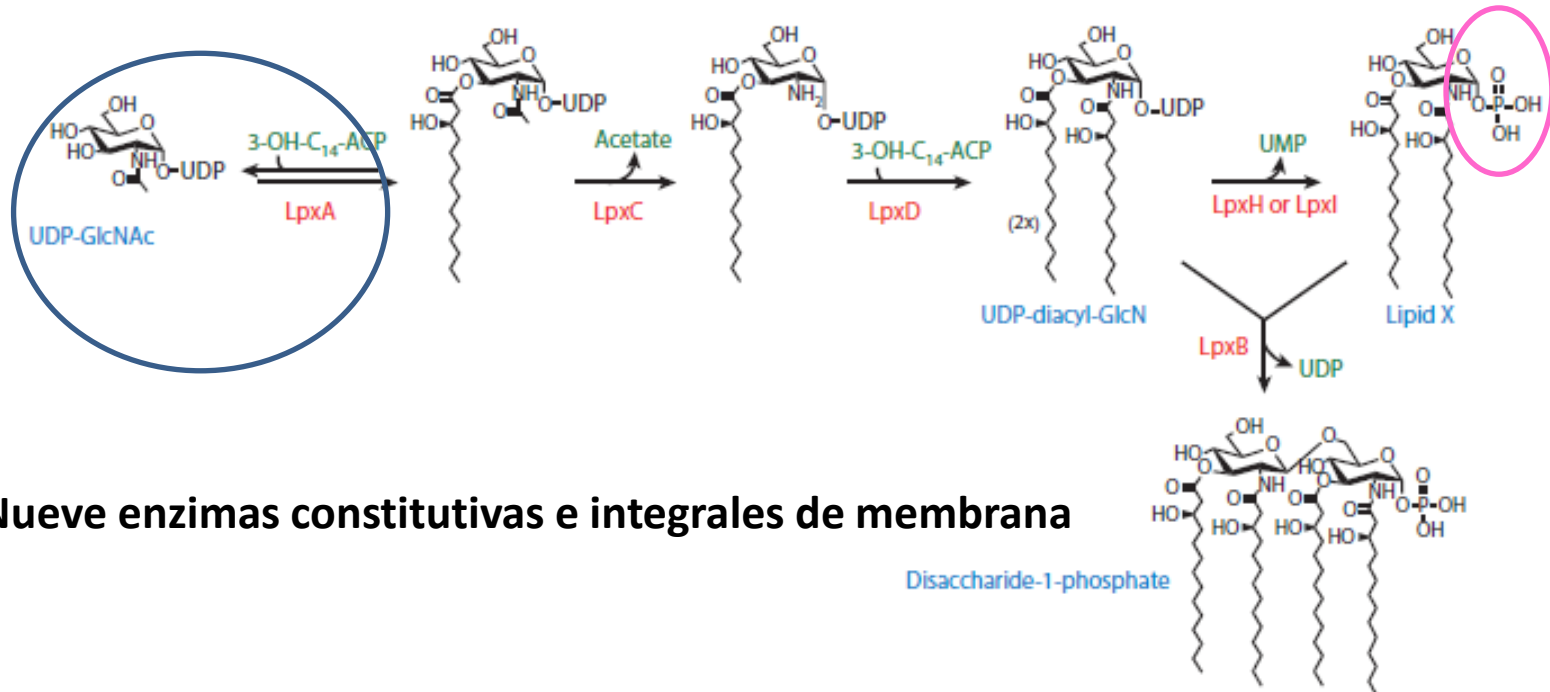
Biosíntesis del LPS

La síntesis del LPS se divide en dos procesos claramente diferenciados:

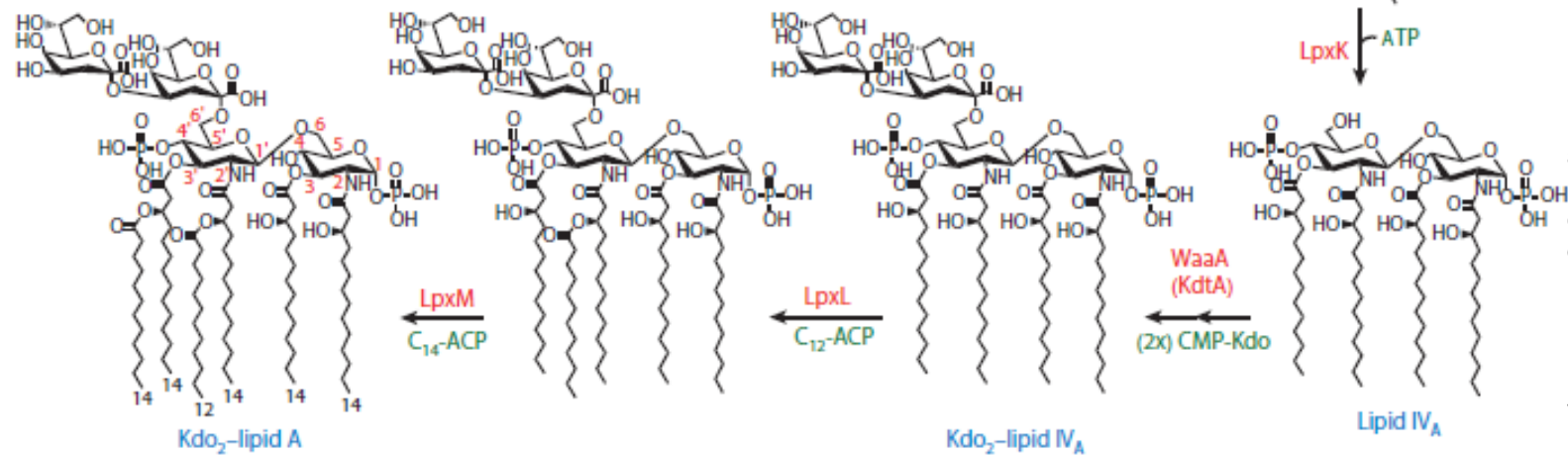
- **la formación del lípido A y del núcleo del LPS, y**
- **la síntesis del antígeno O.**

Una vez sintetizados estos dos componentes tiene lugar la unión de los mismos, su modificación y transporte hacia la membrana externa

Biosíntesis del lípido A y núcleo interno –Vía de Raetz



Nueve enzimas constitutivas e integrales de membrana



Lípido IVA: un lípido tetraacíclico intermedio en el biosíntesis del lípido A; representa lo mínimo molécula para la viabilidad de E. coli

Biosíntesis del lípido A y núcleo interno –Vía de Raetz

Los precursores necesarios para la síntesis del lípido A son:

UDP-Nacetilglucosamina(UDP-GlcNAc), R-3-hidroximiristoil-ACP, miristoil-ACP, lauroil-ACP, ATP y CMP-Kdo

Reacciones:

1- Consiste en la transferencia del grupo acilo del OH-miristoil-ACP a la posición 3 de la UDP-GlcNAc. LpxA

2-Luego interviene una deacetilasa LpxC, se pierde el grupo acetilo en la posición 2 permite la transferencia de un segundo grupo acilo hasta la molécula de UDP-3-acil-Glc LpxD

3-Interviene una pirofosfatasa que da UMP y el lípido X

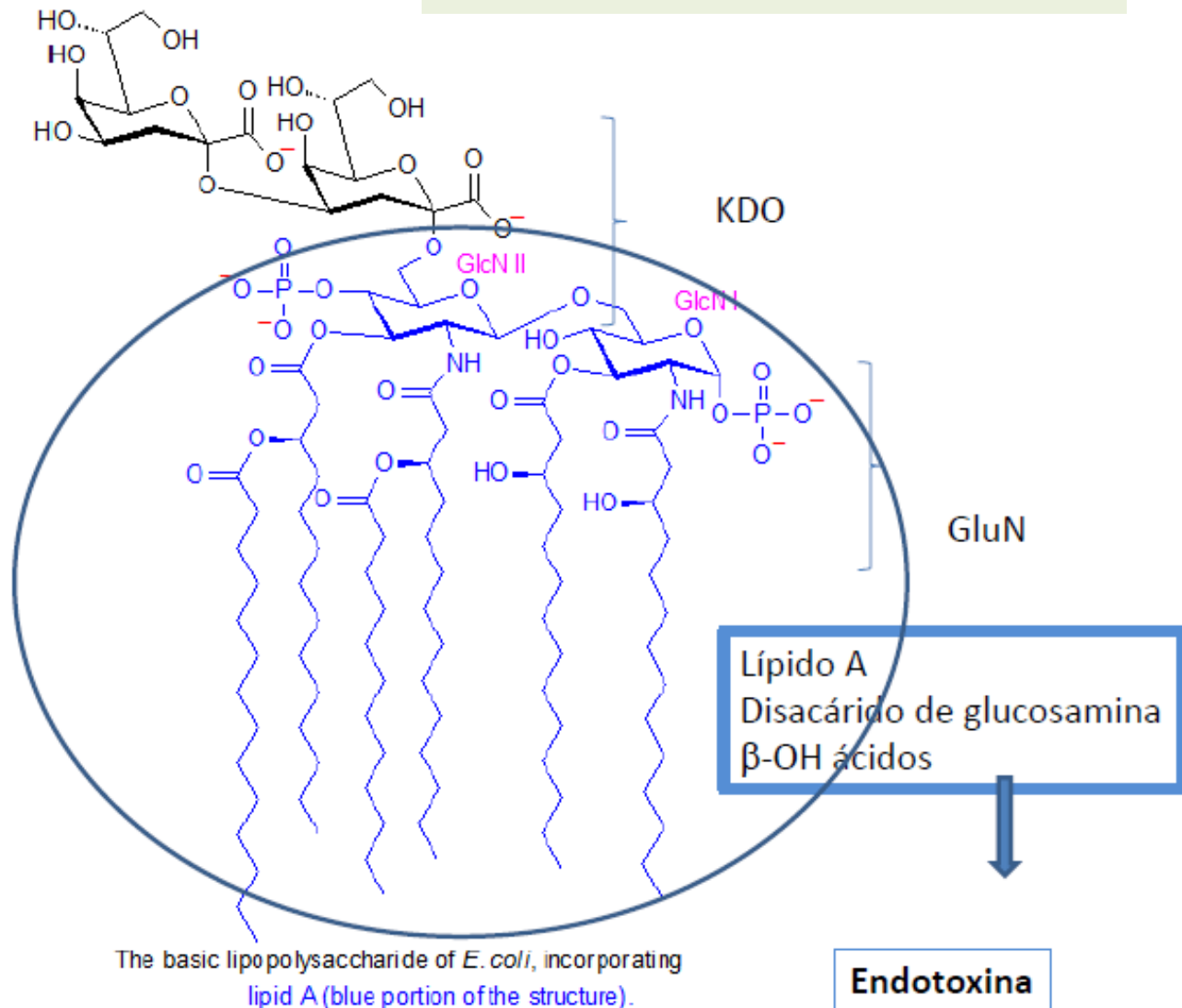
4-Lípido X reacciona con otra molécula de UDP_{2,3} diacilglucosamina para dar el disacárido tetracilado el lípido A. LpxB

5- Actúa una quinasa que pone un fosfato en posición 4´ generando el lípido IVA, el primer intermediario de la ruta que exhibe algunas de las propiedades biológicas de endotoxina, este grupo fosfato es indispensable para la transferencia de KDO posición

6-Se unen los Kdo a partir de CMP-Kdo

7- La molécula madura de lípido A contiene dos residuos acil adicionales, lauroil y miristoil. Sin embargo, la adición de estos dos grupos no es posible sin la incorporación previa de los residuos de Kdo (LpxLy M)

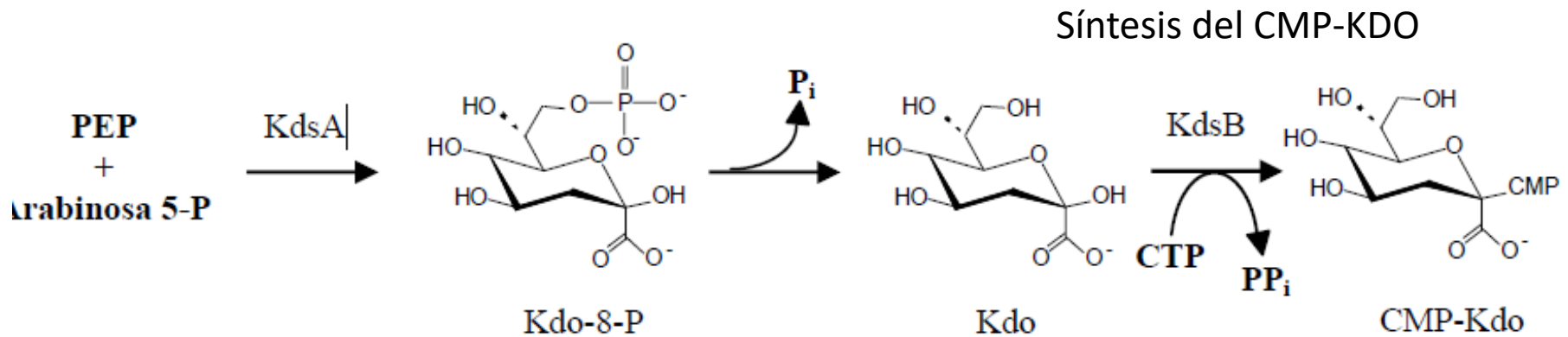
Estructura del Lípido A-Kdo



Biosíntesis del núcleo del polisacárido

Núcleo interno : α -ceto deoxi octulónico (KDO) y D, D Heptosa o D,L heptosa región de las heptosas (pueden tener decoraciones)

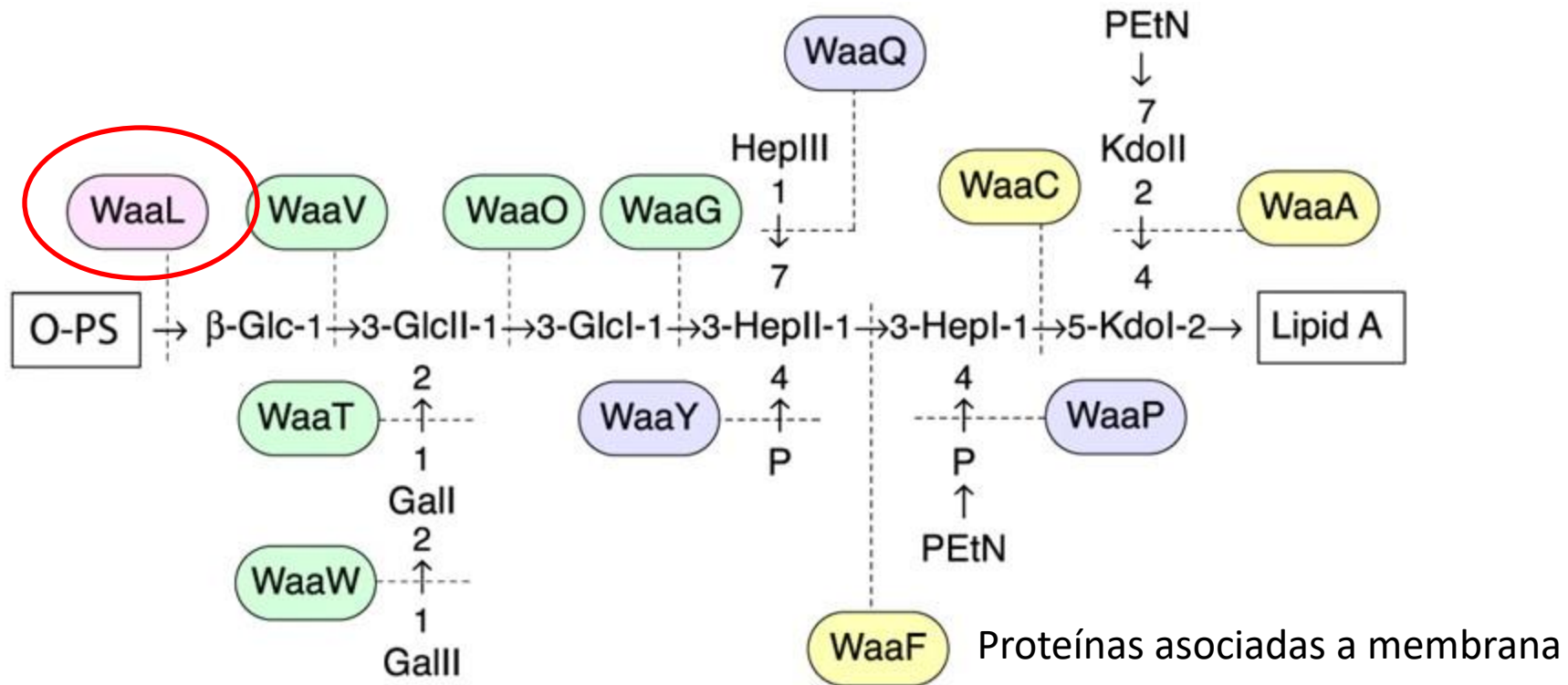
Núcleo externo : glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina (región de las hexosas) pueden tener decoraciones



El KDO se agrega al lípido A por la Kdo sintasa (esencial para la viabilidad de las bacteria)
Luego se agregan las heptosas que son sintetizadas por una isomerasa que cataliza la conversión de la sedoheptulosa 7-fosfato a D,D-heptosa-7-fosfato que por acción de otras enzimas se llega a ADP-L,D Heptosa (paso esencial para la integridad de la ME)

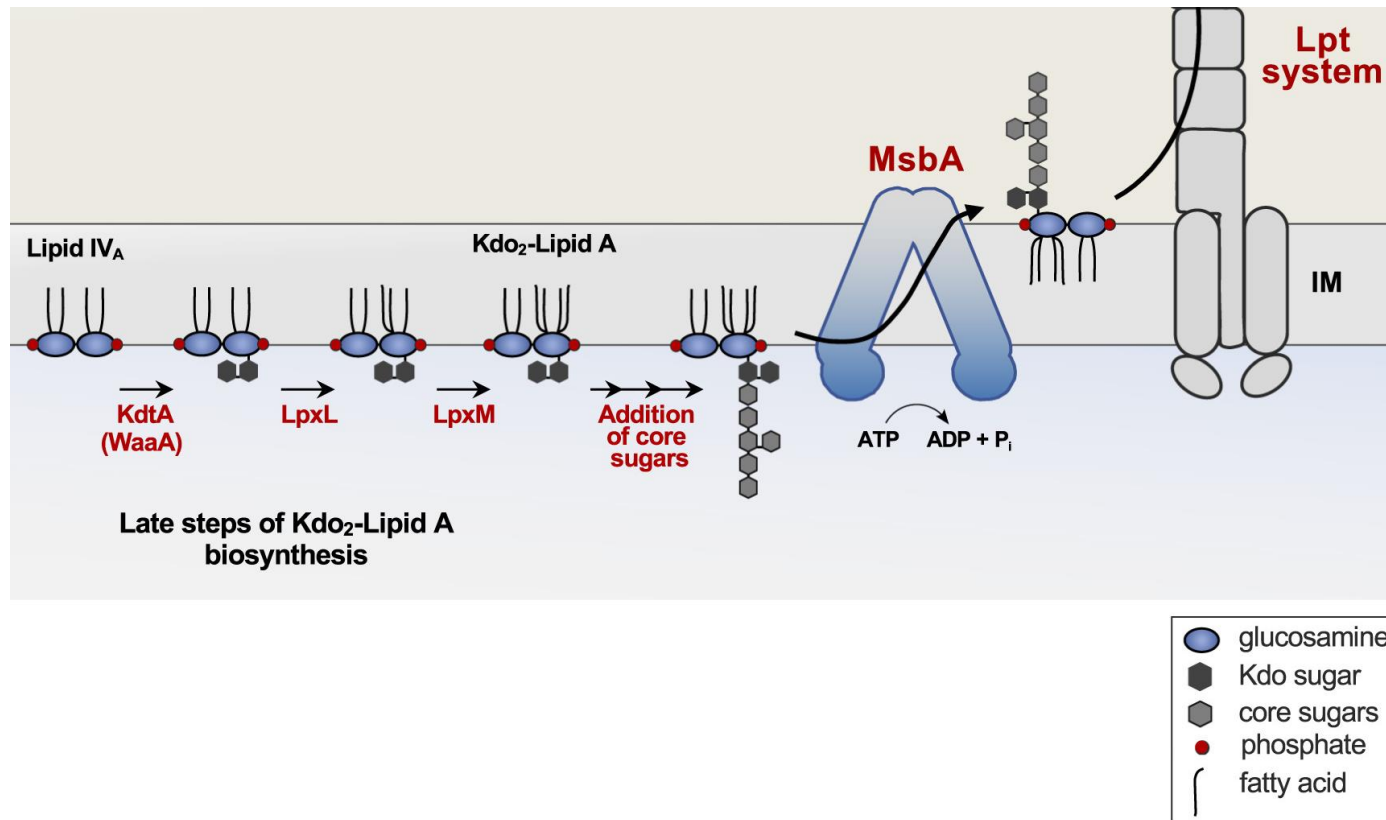


Ensamblado del núcleo interno y externo sobre el lípido A-Kdo



Se ensambla por acción de glucosil transferasas que utilizan como sustratos nucleótidos azúcares. *Las enzimas que forman el núcleo interno están marcadas en amarillo, mientras que las que modifican la estructura están en azul. Las verdes son las glucosiltransferasas del núcleo externo y la ligasa está marcada en rosa.* Raetz y Whitfield, 2002.

Trasporte del Lípido A desde el citosol al periplasma

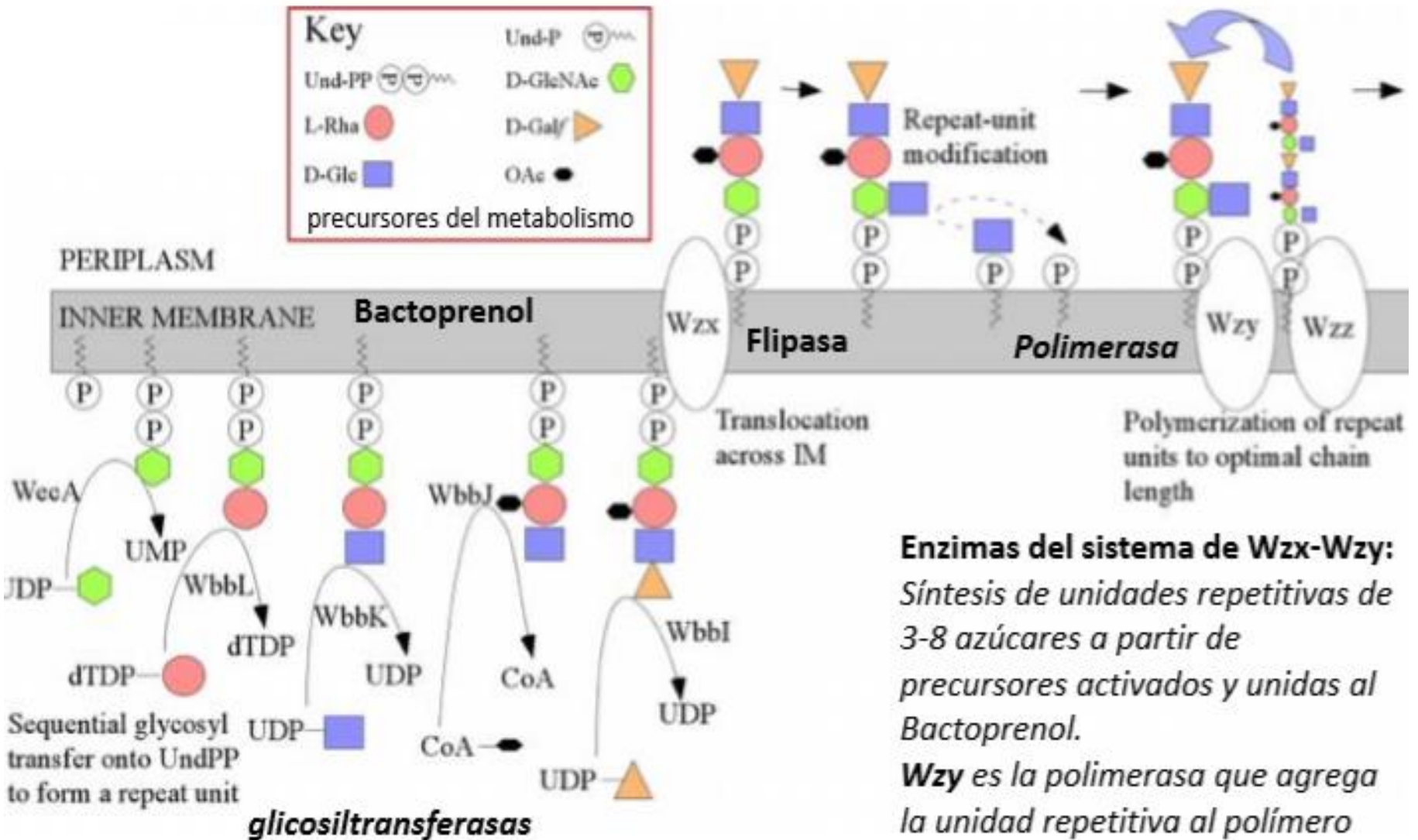


El transporte de la molécula de lípido central A desde la cara interna de la MC a la cara externa de la MC está mediado por un homodímero de MsbA, una flippasa que pertenece a la superfamilia de transportadores ABC. Esta flippasa tiene una cavidad en gran medida hidrofóbica dentro del homodímero de MsbA que permite la unión del LPS antes de ser traslocado.

Biosíntesis del antígeno O

- El antígeno O es la parte más externa del LPS y a su vez la más inmunogénica y variable.
- Algunos precursores se obtienen del metabolismo central de la bacteria. UDP-glucosa, de la UDP-galactosa o de la UDP-N-acetilglucosamina, que se incorporan directamente al polímero en formación, o son intermediarios de GDP-manosa, TDP-ramnosa y otros azúcares presentes exclusivamente en los diversos antígenos O.
- Se forma sobre el undecaprenil-P
- Intervienen glicosiltransferasas
- Los oligosacáridos se forman en la cara interna de la MI y luego son traslocados.
- El antígeno O se ensambla separadamente sobre el undecaprenil-P y es traslocado por un transportador Wzx (existen al menos tres formas de traslocación estudiamos una sola de ellas a modo de ejemplo).
- Los oligosacáridos son polimerizados en la cara periplásmica de la membrana interna por Wzy y Wzz y luego transferidos al lípido A por WaaL.

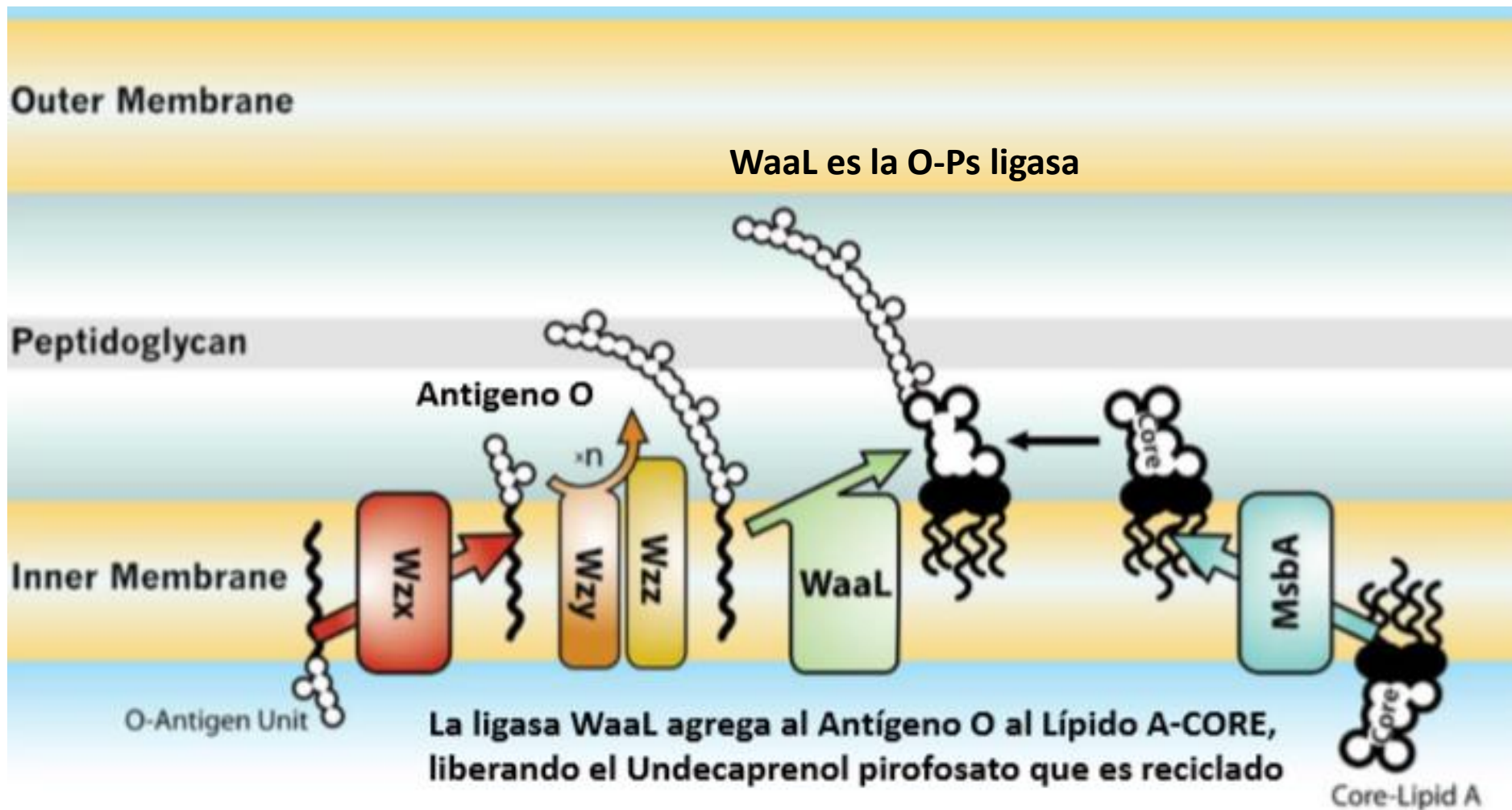
Síntesis del antígeno O



Enzimas del sistema de Wzx-Wzy:
Síntesis de unidades repetitivas de 3-8 azúcares a partir de precursores activados y unidas al Bactoprenol.
Wzy es la polimerasa que agrega la unidad repetitiva al polímero

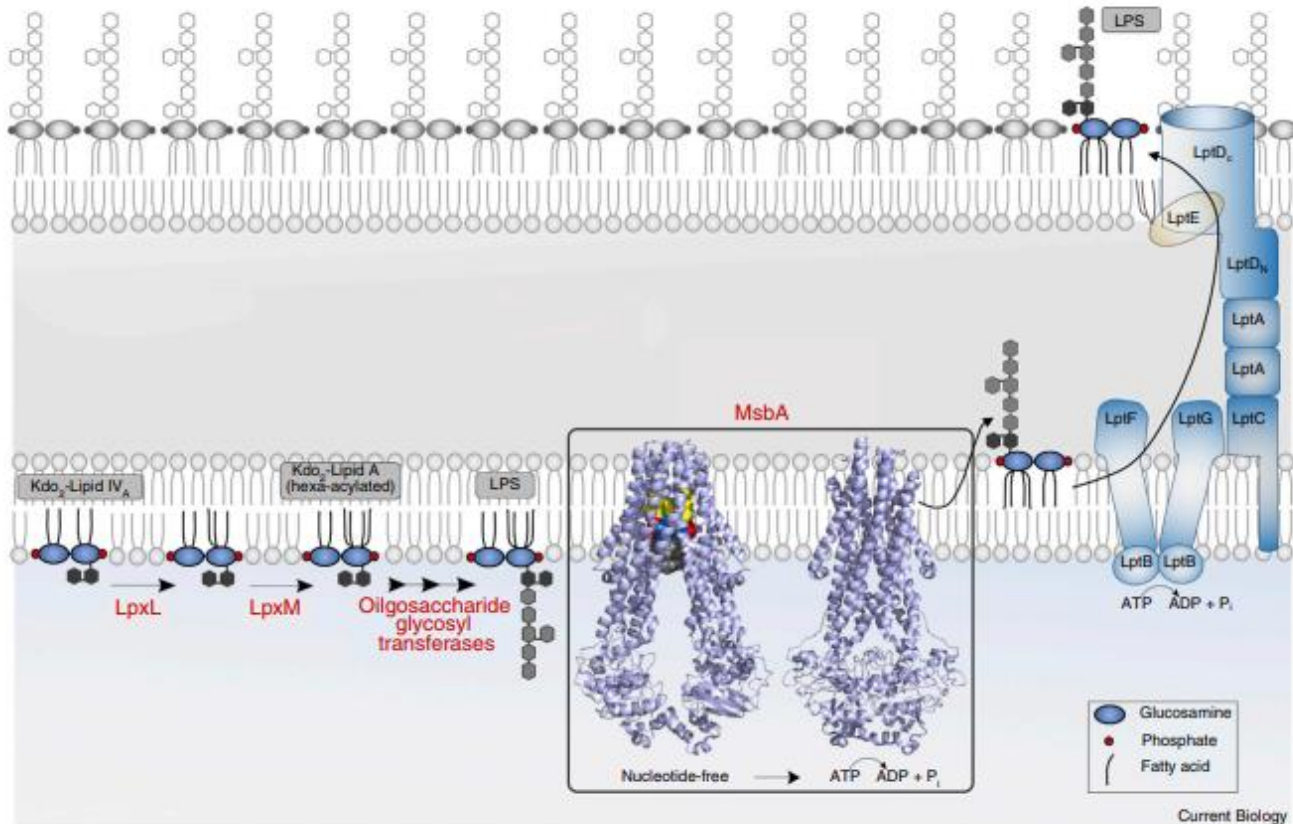
Síntesis de las unidades repetitivas

Ensamblado final del LPS en la cara externa de la membrana interna



Modelo de Wzx(traslocasa) WzY

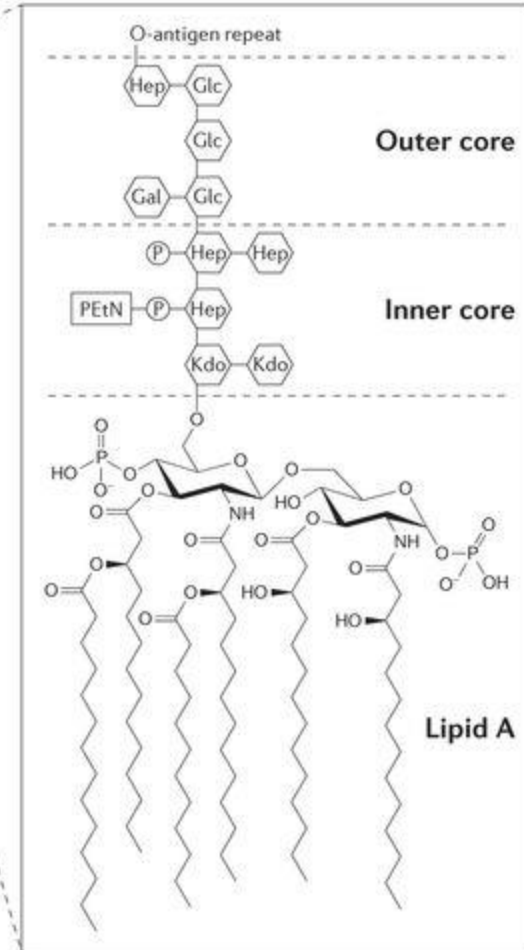
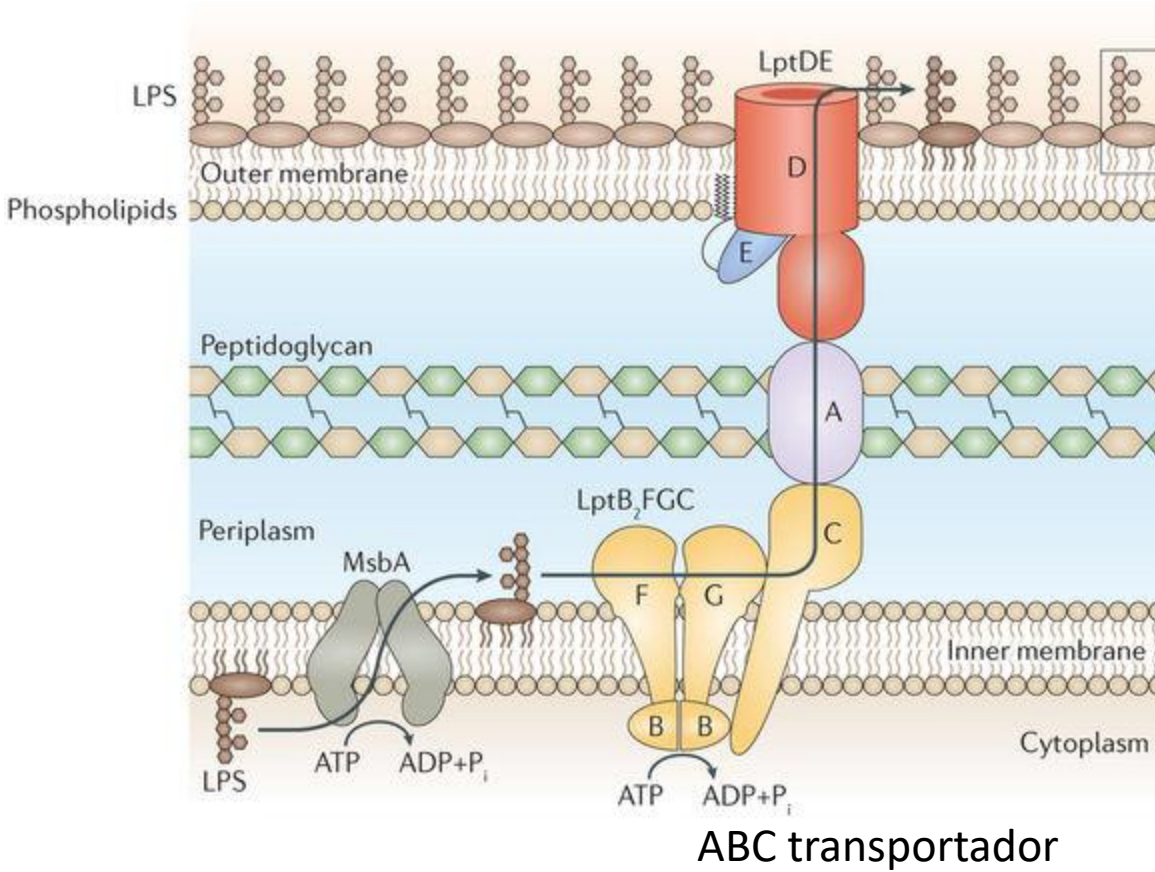
Proteína MsbA- Lipido A-Core flipasa



Atrapa y trasloca

MsbA es un transportador de tipo ABC que atrapa y trasloca el LipidoA- Core

Vía de transporte de LPS en *E. coli*

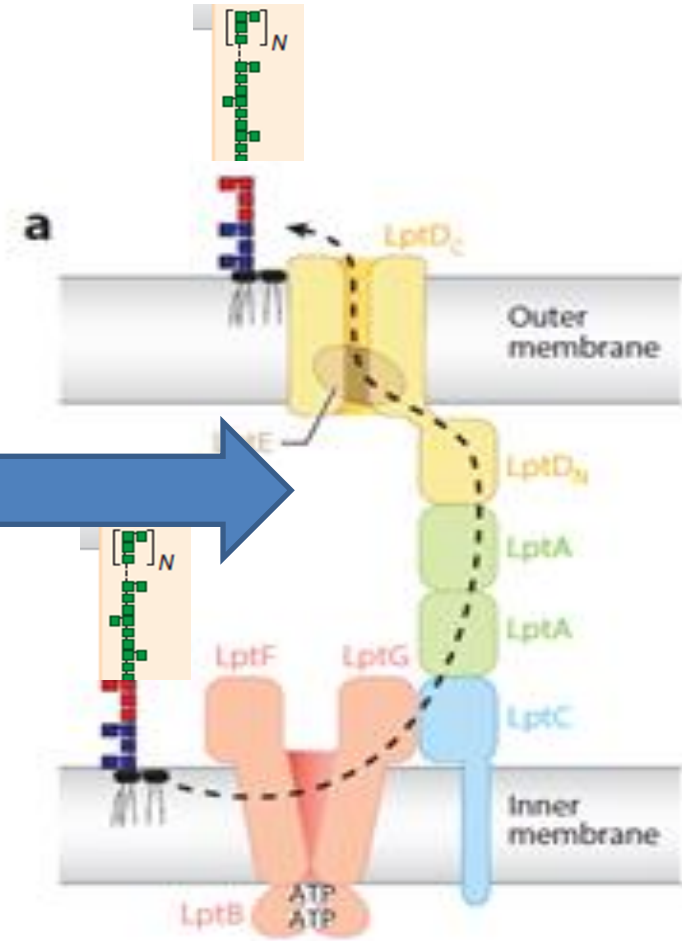
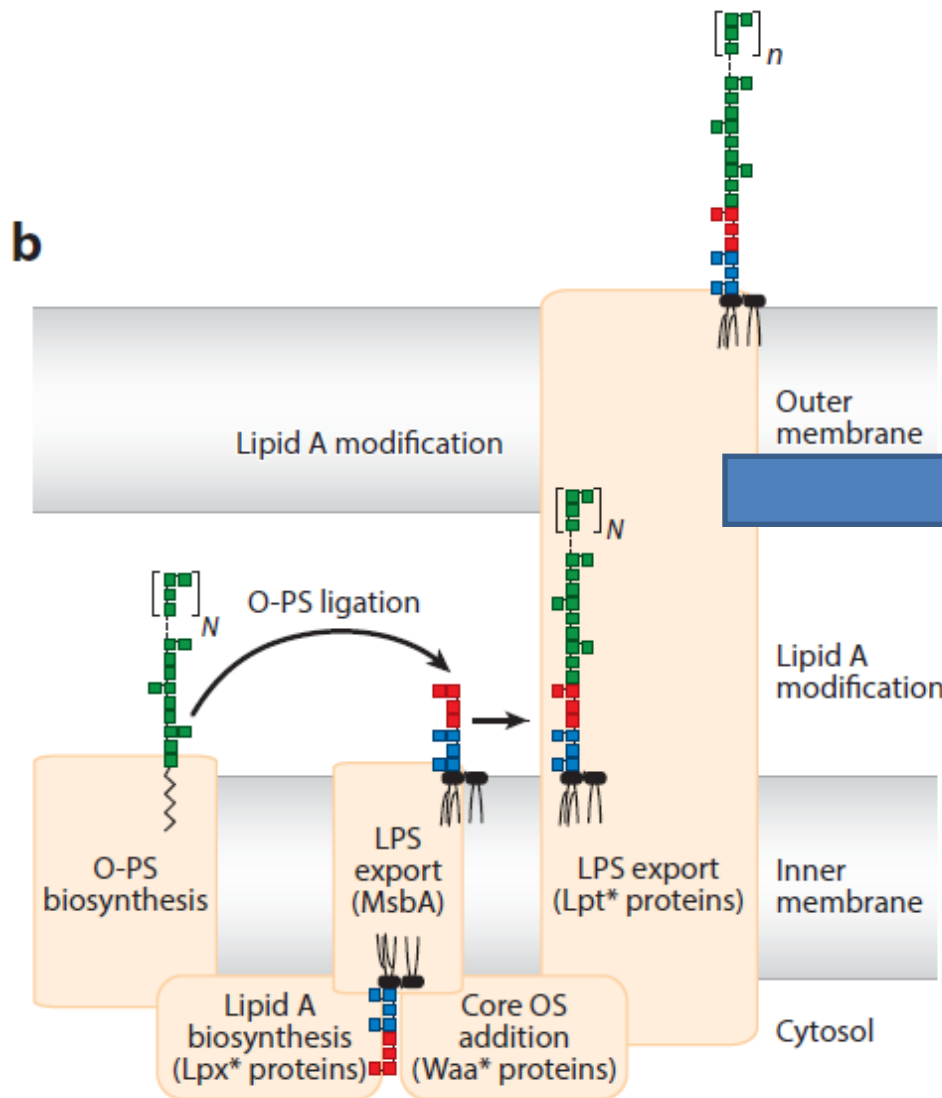


MsbA ABC transportador

Nature Reviews | Microbiology

Las proteínas Lpt forman un canal de exportación del LPS a la membrana externa

Transporte del LPS nuevo

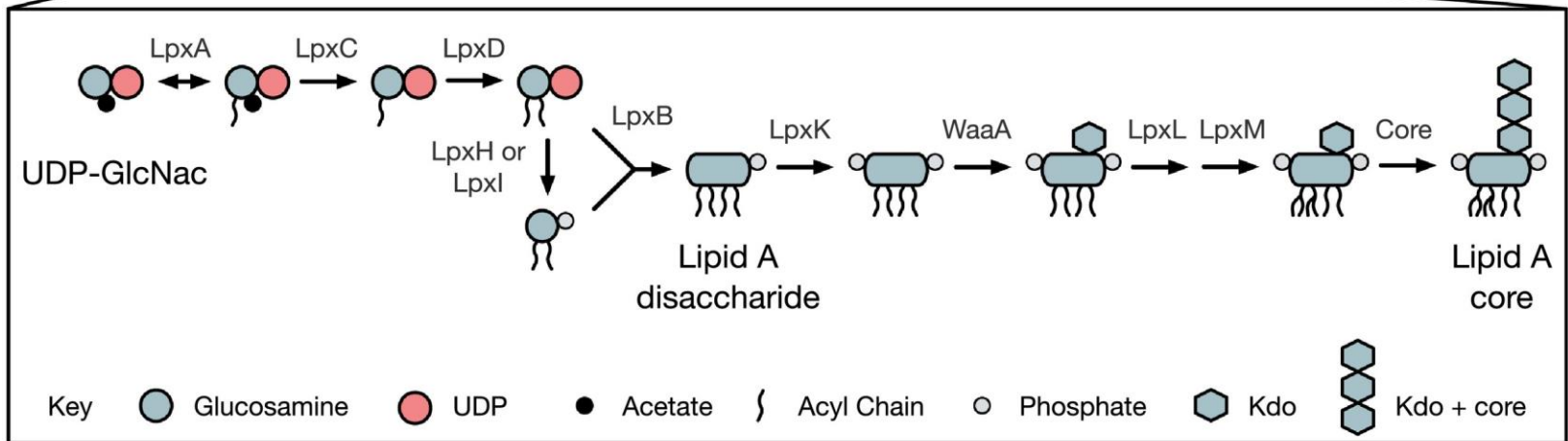
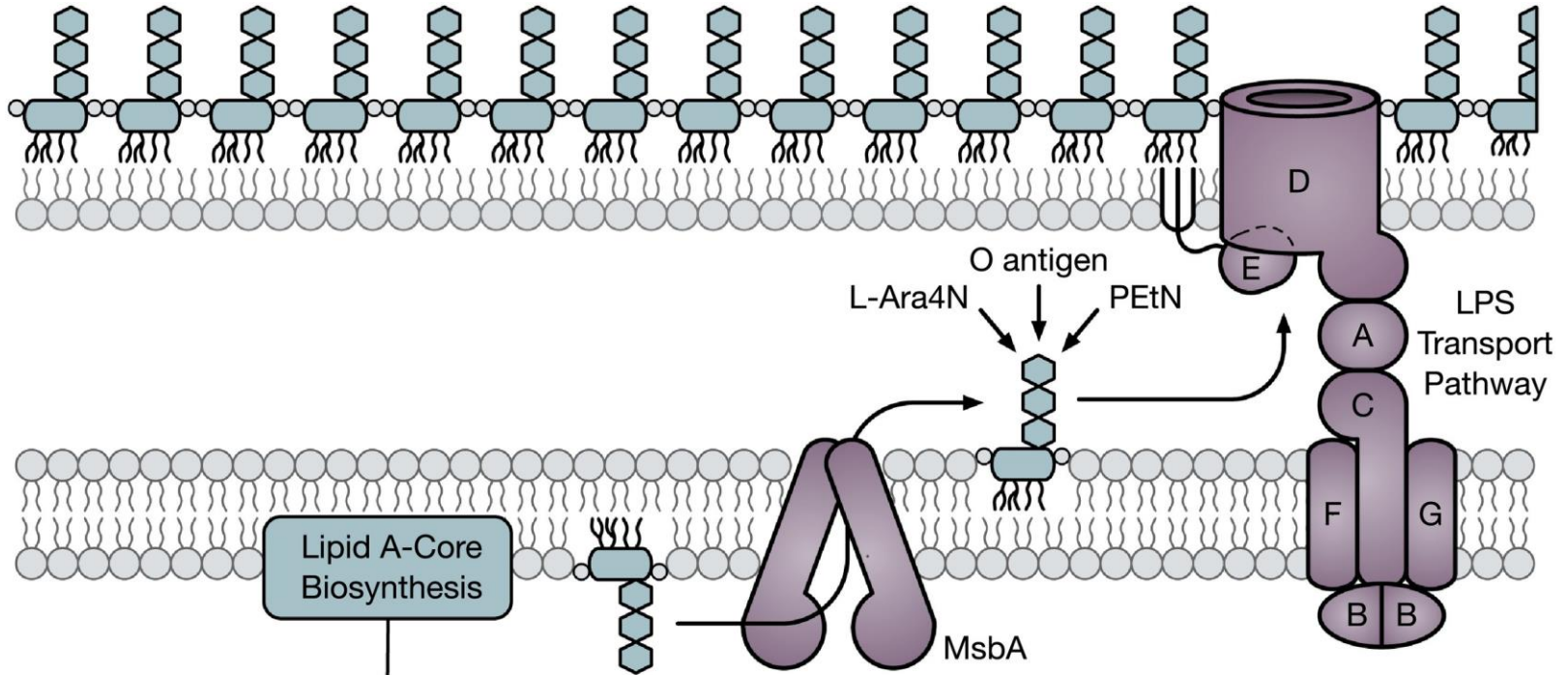


Aparato de exportación
Siete proteínas Lpt

Resumen

1. LPS es un glicolípido complejo compuesto de hasta tres regiones estructurales : lípido A , núcleo del sistema operativo , y la larga cadena hiper variable del O- PS
2. Las moléculas de LPS juegan un papel crucial en la integridad de la membrana externa y son esenciales para la viabilidad de bacterias G(-)
3. Los primeros pasos en la síntesis de LPS son objetivos válidos para el desarrollo de agentes antibacterianos
4. Las bacterias pueden afinar las estructuras de LPS , la promoción de la supervivencia en sus respectivos nichos en el huésped y otros entornos. Los tipos de modificaciones del LPS y la forma en que están regulada son muy variables .
5. La biosíntesis de LPS implica componentes en las caras citosólicas y periplásmicas del interior membrana.
6. La exportación final de LPS a la membrana externa es realizada por una máquina molecular dependiente de ATP compuesta de siete proteínas LPT .

Resumen



Las envolturas microbianas, resultado de un compromiso evolutivo:

❖ Bacterias Gram-positivas (El búnker de una sola pieza):

Química: Una membrana simple protegida por una capa **gigante de peptidoglicano** (hasta 40 capas de grosor) entrelazada con **ácidos teicoicos**.

Éxito: Esta envoltura es como un neumático de tractor. Es tan resistente mecánicamente que les permite sobrevivir a la desecación extrema (como los *Bacillus* en el desierto). El polímero exterior es el que manda aquí.

❖ Bacterias Gram-negativas (El sistema de doble filtro):

Química: Membrana interna + capa fina de peptidoglicano + **membrana externa de LPS**.

Éxito: Aquí la clave es la **asimetría**. La membrana externa no es solo grasa; tiene azúcares hacia afuera que actúan como un escudo químico. Esto les permitió colonizar ambientes tóxicos (como nuestro intestino, lleno de bilis) donde las Gram-positivas suelen morir.

❖ Arqueas (El diseño "Lego" de proteínas):

Química: Membrana de **isoprenoides con enlaces éter** + **Capa S** (una red de proteínas perfectamente encajadas).

Éxito: Al no usar peptidoglicano (que es sensible a muchas enzimas), las Arqueas son invisibles para muchos ataques biológicos. Su envoltura es un sistema de piezas encajables que no se degrada con el calor extremo o el pH ácido de un volcán.

❖ Micoplasmas (Los minimalistas):

Química: **Sin pared celular**, solo una membrana reforzada con **esteroles** (que roban de sus huéspedes).

Éxito: Son los "espías" del mundo microbiano. Al no tener la rigidez de los polímeros externos, son pleomórficos (cambian de forma) y pueden pasar por filtros donde otras bacterias se quedan atascadas.

❖ Bacilos ácido alcohol resistentes, como la de la tuberculosis, usan un blindaje de cera.

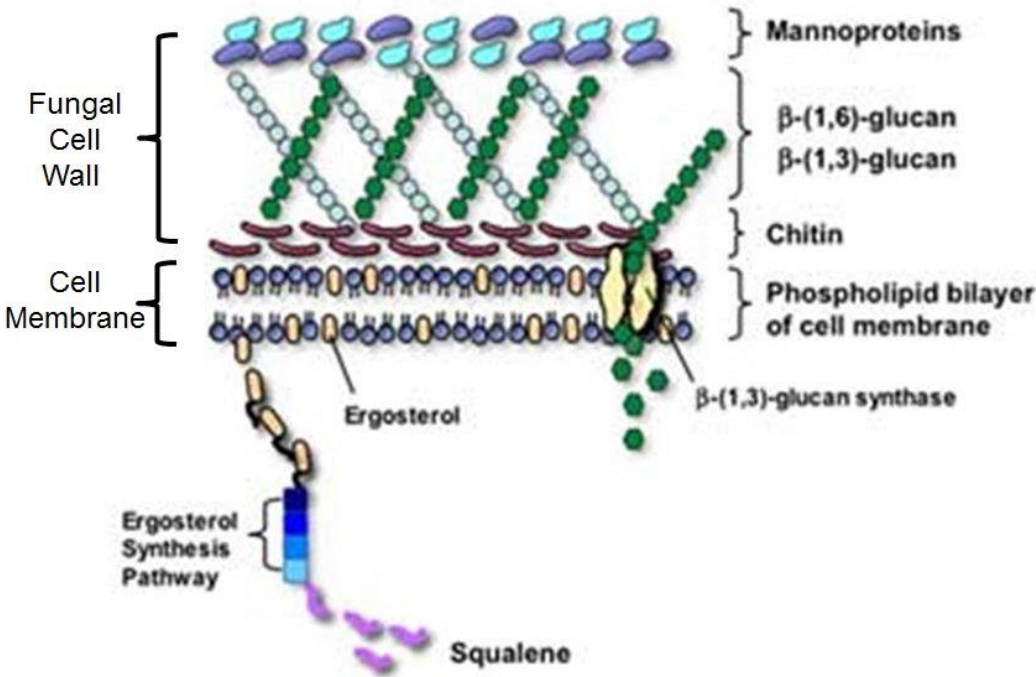
Química: Sobre el peptidoglicano tienen una capa espesa de ácidos micólicos (grasas larguísimas). Es, básicamente, una envoltura cerosa e impermeable.

Éxito evolutivo: Impermeabilidad, resistencia química. Los ATB y desinfectantes no pueden entrar.

Supervivencia: Resisten la digestión dentro de las células de nuestro sistema inmune (macrófagos).

Persistencia: Pueden vivir meses en el ambiente (polvo) sin secarse.

Envoltura de hongos

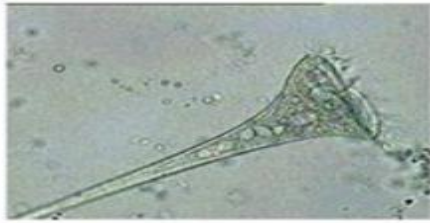


La mayoría de los hongos tienen un núcleo común insoluble en álcalis de β -(1,3) glucano ramificado, β -(1,6) glucano y quitina (NAcGlc β -(1,4)), pero difieren sustancialmente en los componentes que se unen a estos, otros glucanos mananos e hidrofobinas

Química de la Envoltura: Su membrana tiene **ergosterol** (en lugar de colesterol), lo que la hace más rígida. Pero la clave es su pared: una matriz densa de glucanos (azúcares complejos) reforzada con una red interna de quitina

La **quitina** es uno de los polímeros más resistentes de la naturaleza. Esta "coraza" química les permite soportar presiones osmóticas altísimas (como vivir en soluciones saturadas de azúcar o alcohol) sin reventar. Son los maestros de la fermentación gracias a que su envoltura aguanta ambientes químicamente agresivos.

Protistas o Protoctistas: Los maestros del blindaje variable



Protozoo



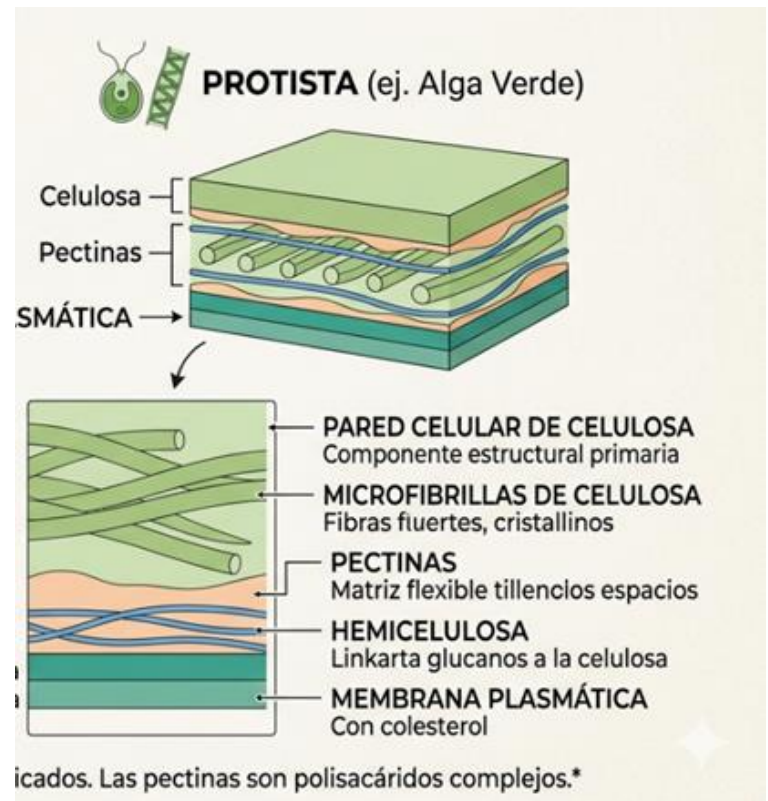
Alga unicelular



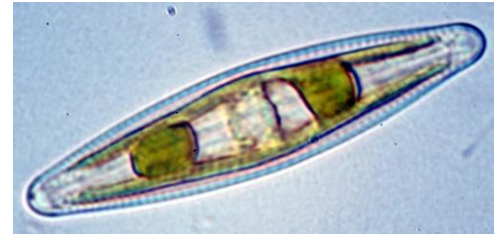
Hongo (moho)

- Protozoo
- Algas
- Hongos Mucilaginosos (Slime Molds)

Algas Unicelulares: La eficiencia fotosintética: Usan paredes de **celulosa**, pero a menudo mezcladas con **glucoproteínas** o incluso carbonato de calcio. Esta envoltura protege la maquinaria fotosintética del oleaje y la abrasión, permitiendo que el fitoplancton sea la base de casi toda la vida marina.



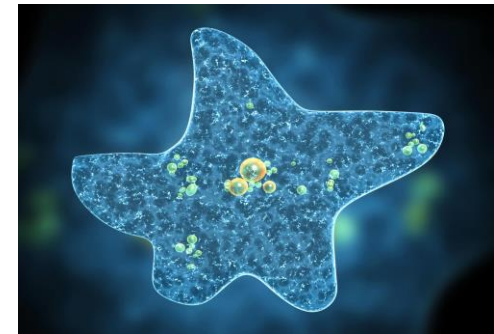
Diatomeas: No poseen pared celular, pero están recubiertos por una estructura de sílica formada por dos piezas que encastran una dentro de la otra. Su envoltura se llama **frústula**. Está hecha de **sílice** (dióxido de silicio polimerizado) incrustada en una matriz orgánica. Es ligera, transparente para la fotosíntesis y extremadamente dura contra depredadores. Es químicamente inerte y mecánicamente casi indestructible. Esto les permite flotar en el océano sin ser degradadas y resistir la presión de los depredadores



Dinoflagelados (Celulosa): Poseen placas de **celulosa** dentro de vesículas (teca), lo que les da una apariencia de armadura medieval. Esta "armadura interna" les da una rigidez aerodinámica para moverse velozmente en el agua mediante sus flagelos



Amebas (muy flexibles): Muchas carecen de pared rígida, pero tienen un **glicocálix** (capa de azúcares y proteínas) extremadamente grueso y pegajoso. *Éxito:* Al no tener una "caja" rígida, su membrana puede deformarse totalmente para emitir pseudópodos. Su éxito es la **movilidad absoluta** para cazar a otros microorganismos.



En este nivel, la evolución dejó de jugar solo con "capas de protección" y empezó a usar materiales compuestos (vidrio, celulosa, quitina) para conquistar nichos específicos

Conclusiones de un balance evolutivo

La envoltura no es solo un "empaque", es la interfaz estratégica que decide quién vive y quién muere en la naturaleza.

El éxito evolutivo de cada grupo se resume en cómo resolvieron el dilema entre protección y nutrición



No existe la estructura perfecta, sino la adaptación estratégica:

El Sacrificio: Energía, velocidad de crecimiento y flexibilidad.

La Clave: Cada capa celular es una solución única a un desafío ambiental.

La Recompensa: Una ventaja específica para dominar un nicho

La evolución de las envolturas es una "carrera armamentista". Cada microorganismo ha sacrificado algo (energía, velocidad de crecimiento o flexibilidad) para obtener una ventaja específica que le permite dominar su nicho.

