

Modelos microbianos en biotecnología

Mecanismos biológicos de hongos, levaduras y bacterias arrojan nuevas pistas para la medicina y la biotecnología

La transducción de señales es un mecanismo común en biología. Los expertos lo definen como el proceso que emplean las células como respuesta a estímulos del ambiente. El estudio de estas vías, implicadas en los fenómenos celulares más característicos, desde la proliferación hasta la formación de estructuras fundamentales, puede llevar a la elaboración de propuestas de interés en biotecnología. El grupo liderado por César Nombela en la Universidad Complutense de Madrid investiga estas vías en microorganismos para la determinación de patogenicidad y su posible uso biotecnológico.

XAVIER PUJOL GEBELLÍ

Cuando una célula recibe un estímulo del ambiente, su dotación genética activa una maquinaria que puede desencadenar un sinfín de respuestas biológicas. Entre ellas, algunas esenciales como la formación de estructuras básicas de la propia célula, pero también otras igualmente importantes como la expresión de proteínas que participan de reacciones bioquímicas fundamentales de las que depende el correcto funcionamiento de todo ser vivo.

Cuando en este proceso de transmisión que lleva del estímulo a la respuesta media la fosforilación de proteínas, el mecanismo recibe el nombre de transducción de señales, un fenómeno común en biología que «está en la esencia de todo cuanto refiere a dotación genética y respuesta al ambiente», explica César Nombela, titular del Departamento de Microbiología en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

De alguna forma, este tipo de mecanismos son los que conducen a la expresión de numerosos genes, tras ser activados por factores ambientales, en las más diversas respuestas celulares. «Cuando una célula recibe un estímulo se da un primer proceso de amplificación de señal», explica. Posteriormente, esta señal puede diseminarse y focalizar la producción de una respuesta que concierne a alguno de los fenómenos más característicos de la célula, desde su proliferación hasta la propia división celular, pasando por la generación de estructuras fundamentales.

Estudio de la pared celular

El grupo de Nombela se interesa por el conocimiento de estos mecanismos en organismos eucariotas inferiores, es decir, en levaduras y hongos microscópicos, aunque también maneja sistemas bacterianos como modelo. Su interés en este campo procede del estudio de la pared celular, propia de todos los organismos microbianos, que representa la estructura más externa de la célula y su capa de protección frente a agresiones externas o al ambiente. Se trata de una estructura «muy



César Nombela (a la izquierda) junto a sus colaboradores.

La transducción de señales es un fenómeno esencial en biología que media la respuesta de una célula tras recibir un estímulo del ambiente

[Ver ficha técnica](#)

clásica» como objeto de estudio por parte de los microbiólogos. «Muchos antibióticos», razona el investigador, «actúan destruyendo la pared celular [de hecho, interfieren en la formación de la pared]».

Hace años, el grupo inició aproximaciones genéticas a la pared celular de levaduras y hongos filamentosos basadas en el análisis de mutantes con el objetivo de identificar los genes necesarios para la pared celular y posteriormente clonarlos. Manejando mutantes alterados en la formación de la pared celular, de interés para el desarrollo de antibióticos y agentes quimioterápicos, clonaron un primer gen. De él se esperaba que codificara para proteínas que participan en la formación de algún elemento de la pared. Para su sorpresa, sin embargo, resultó ser un gen que codificaba para una quinasa de proteína, es decir, una proteína que fosforila otras proteínas. «Era una de las primeras veces que se conseguía relacionar un fenómeno propio de una estructura exterior al citoplasma celular con procesos básicos de la biología de las células», explica Nombela.

Esta proteína, de nombre SLT 2, resultó ser del grupo de las MAP (quinasas activadas por mitógenos), homólogas a las que existen en animales superiores y humanos, que forman parte esencial de la transducción de señales. Este grupo de proteínas son las que reciben el estímulo de fosforilación para fosforilar factores de transcripción que actúan sobre la expresión genética.

El hallazgo fue «muy revelador» porque ponía en relación por primera vez fenómenos de la propia pared con la biología de la célula. Al mismo tiempo, abría las puertas a una línea de investigación entera con mil caminos por andar. Entre otros, las propias rutas de transducción. «Hay por lo menos 6 rutas similares en estos organismos eucarióticos sencillos, cada una con su quinasa MAP», aclara el investigador. La suya es conocida como la «ruta de integridad celular».

La ruta, según han podido establecer con posterioridad, «es de una activación casi permanente» cuando las levaduras crecen por encima de los 25 grados. En estas condiciones, se manifiesta de forma clara en el desarrollo de la pared celular e, indirectamente, en el propio desarrollo de la célula (crecimiento y división).

Estudio del potencial patógeno

La aproximación al estudio de las características de la pared celular llevó al grupo de Nombela a participar de un proyecto europeo para el análisis funcional del genoma de la levadura. «Si una levadura tipo tiene de 6.000 a 6.500 genes, los relacionados con esa estructura compleja son cerca del 20%». Para ese grupo de genes «se buscan aplicaciones».

¿De qué tipo? Una de las fundamentales y en la que se ha empleado un buen número de equipos de investigación en el mundo es el desarrollo de estudios de patogenicidad. Nombela y su grupo han orientado estos estudios a la levadura *Candida albicans*, un microorganismo que desarrolla estructuras filamentosas que la hacen crecer como un hongo y que es responsable de la gran mayoría de las infecciones micóticas



Para investigar en genómica, el grupo cuenta con instrumental muy sofisticado.

El estudio de la pared celular de levaduras puede conducir al desarrollo de nuevos fármacos y a distintas aplicaciones biotecnológicas

[Ver ficha técnica](#)

sistémicas en el mundo. La levadura se ceba especialmente en personas con el sistema inmunitario afectado, como es el caso de enfermos de SIDA o inmunodeprimidos a causa de un trasplante de órganos. Normalmente, afecta las mucosas con infecciones superficiales. En situaciones de falta de reservas grave puede llegar a provocar la muerte.

El principal objetivo de este tipo de estudios, que abarcan hongos y levaduras, no es sólo entender las claves de su poder patógeno. Se trata también de desarrollar métodos de diagnóstico e incluso terapias mucho más efectivas y eficaces que las actualmente disponibles. Por ejemplo, como destaca Nombela, en terapia hasta hace poco no había ningún fármaco capaz de interferir con la pared celular de *Candida albicans*.

Hace un par de años se introdujo una primera molécula «pero continúa siendo un objetivo por resolver». Probablemente, añade, por la gran redundancia que presenta el genoma de estos organismos o, lo que es lo mismo, algo así como una duplicidad de funciones en muchos genes que lleva a que la inactivación de uno de ellos suele compensarse con la activación de otro idéntico o similar que acaba ejecutando la misma función.

El estudio de patogenicidad con *Candida albicans* se complementa en el área bacteriana con el de *Salmonella*, un microorganismo patógeno de gran interés en materia de seguridad alimentaria. Esta bacteria introduce algunos componentes propios en el interior de la célula animal que interfieren en la transducción de señales. El grupo ha encontrado algunos de estos componentes que también interfieren en el desarrollo de la levadura. Con ellos se está intentando desarrollar un sistema para evaluar este mecanismo.

Aplicaciones en biotecnología

El conocimiento adquirido en este campo está resultando de utilidad para su aplicación en otras áreas, en especial, de tipo biotecnológico. Por ejemplo, con levaduras de interés industrial, como *Picchia*, pero también de interés farmacológico para el desarrollo de agentes antifúngicos. En este área, no obstante, el interés de la industria parece haberse especializado mucho más los últimos años aunque la identificación y validación de nuevas «dianas farmacológicas» para el desarrollo de estos antimicrobianos sigue siendo una cuestión pendiente.

En aplicaciones biotecnológicas es donde el grupo de Nombela ha logrado por el momento desarrollos más concretos. A partir de sus investigaciones en la ruta de integridad celular, el grupo ha conseguido poner a punto un sistema para la liberación de proteínas fuera de la célula de levadura por un procedimiento sencillo: desarrollando cepas que en ciertas condiciones, básicamente de tipo térmico, provocan que su pared celular se labilice y libere el contenido citoplasmático. Este mecanismo ha propiciado ya una patente y está siendo evaluado por distintas empresas.

La liberación al medio de proteínas al medio, mediante este procedimiento, evita el tener que diseñar construcciones de genes destinadas a la secreción de la proteína (humana, animal o vegetal) que se pretende

Ver ficha técnica

producir, ya que se puede controlar la desorganización de la propia célula. «Es un proceso complejo que persigue la producción a gran escala de proteínas heterólogas en levadura», señala Nombela. El proceso implica manipular el gen para sintetizar la proteína y liberarla, algo que sólo era posible si se rompía mecánicamente la pared celular. «Si se rompe con detergentes puede alterarse la proteína». Gracias al procedimiento desarrollado, un choque térmico controlado a 37 grados, según han podido determinar en su modelo, conduce a una abundante liberación de la proteína del interior celular.

Otra línea actualmente en marcha pretende aplicar este modelo de levadura a enfermedades humanas. Se trata de buscar homologías: «se incorpora el gen humano a la levadura, se busca como actúa y se analizan sus alteraciones». Con esta metodología podrían llegar a desarrollarse sistemas para evaluar el efecto de un fármaco.

De Cajal al complejoma

La cátedra que desempeña Nombela fue la primera de Microbiología de la universidad española, dotada en 1900. Entre sus antecedentes figura la que fue ocupada por Francisco de Castro tras oposiciones ante un tribunal presidido por Santiago Ramón y Cajal. ¿Reconocería el gran científico ahora esta cátedra convertida en laboratorios de genómica y proteómica? Por su capacidad de anticipación y visión de futuro, seguramente que sí, aunque en aquellos años se ignorase la dimensión exacta de un gen y de su función. Aquella cátedra tenía como principal cometido doctorar a nuevos farmacéuticos, y abrió líneas de investigación en sueros y vacunas.

Desde ahí, otros catedráticos como Lorenzo Vilas (el primer titular de la Cátedra) y Gastón de Iriarte, propiciaron los primeros estudios microbianos, suficientemente importantes como para que la industria farmacéutica hiciera un primer acercamiento que se ha mantenido con posterioridad gracias, entre otros muchos aspectos, a los resultados obtenidos con los estudios de patogenicidad y de aplicaciones biotecnológicas en el campo de la transducción de señales. En ellos, la genómica y la proteómica juegan un «papel esencial».

En esencia, porque en modelos microbianos la capacidad de desarrollar cepas transgénicas y sobre todo de evaluar qué tipo de respuesta ofrecen a distintos estímulos, es lo que puede acabar marcando la diferencia entre un grupo de calidad u otro que sólo puede presentar sus aspiraciones de serlo como credencial. Es por este motivo que el grupo liderado por Nombela ha desarrollado una intensa labor en los últimos tiempos por incorporar estas «herramientas esenciales» en su laboratorio y por las que pugnan otros muchos laboratorios en España.

No en vano son los instrumentos de unos tiempos modernos que, en el caso de levaduras, han permitido el análisis de su genoma, la obtención de los primeros bancos de cepas transgénicas para todos

los genes ya identificados y noqueados, y los primeros estudios proteómicos a fondo. En estos microorganismos se plantean ahora otros dos tipos de estudios pioneros: el conocimiento de los complejos de proteínas a partir del genoma como paso posterior al trabajo con proteínas puras. La genómica y la proteómica de levaduras están permitiendo desentrañar el resultado fenotípico de la acción de un complejo de proteínas y definir redes de interacciones, lo que podría llamarse el complejoma. «Es la puerta de entrada a la biología de sistemas», defiende Nombela.

FICHA TÉCNICA

Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal, s/n. Ciudad Universitaria, 28040 Madrid

Contacto: César Nombela Cano

Teléfono: 913 94 17 12 / 913 94 63 93 cnombela@rect.ucm.es

Líneas de investigación:

El grupo se centra en mecanismos de transducción de señales en microorganismos y las múltiples aplicaciones que tiene tanto para la determinación de patogenicidad como el empleo en biotecnología de organismos microbianos. Fundamentalmente centrados en levaduras, mantienen alguna línea bacteriana como salmonela.