

Modelos experimentales en enfermedades infecciosas

Ángel Domínguez Olavarri

Departamento de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca



Nuestro colaborador en el Instituto Politécnico de Bragança en Portugal, Altino Choupina.



Miembros del grupo en la Universidad de Salamanca: de Izquierda a Derecha Laura Durán, M^a Carmen López, Carlos Cívicos, Manuel Sánchez, Ángel Domínguez, Luis Fernández-Lago, Elisa Muñoz y M^a Ángeles Pérez.

NÚMERO 55

70

SEM@FORO

JUN.
2013

El grupo de investigación **«Modelos experimentales en enfermedades infecciosas»** reconocido como grupo de Investigación por la Universidad de Salamanca bajo la dirección del Prof. Ángel Domínguez está estructurado en tres subunidades:

La dirigida por el Prof. Luis Fernández-Lago **«Mecanismos de virulencia de *Brucella sp.* e Inmunidad frente a la Infección»** estudia, al tratarse *Brucella* de un microorganismo parásito extracelular e intracelular facultativo, los distintos factores celulares implicados en la penetración de la bacteria en macrófagos y células dendríticas, con el fin de establecer nuevas estrategias encaminadas a controlar la penetración en el interior de estas células y evitar, en consecuencia, la cronicación de la infección. En la actualidad estamos analizando la participación de las balsas lipídicas

(*lipid rafts*) y de la fosfatidilinositol quinasa de la clase III en estos procesos. Además, nuestro grupo de investigación también se encuentra trabajando en determinar el papel de distintas citoquinas, como la interleucina 12/23 (IL-12/23), IL-18, IL-10, IL-17, Interferón-gamma, Factor de Necrosis Tumoral-alfa, además de los linfocitos T-reguladores y T-supresores, a lo largo del proceso infeccioso, como estrategia encaminada a conocer más exactamente las interacciones entre la inmunidad innata y adquirida en la brucelosis. Estos estudios pueden en un futuro incidir en el desarrollo de vacunas más eficaces frente a la infección.

La dirigida por el Prof. Altino Choupina estudia la enfermedad conocida como **«Tinta del Castaño»**. En Europa (Portugal, España y Francia) el cultivo del casta-

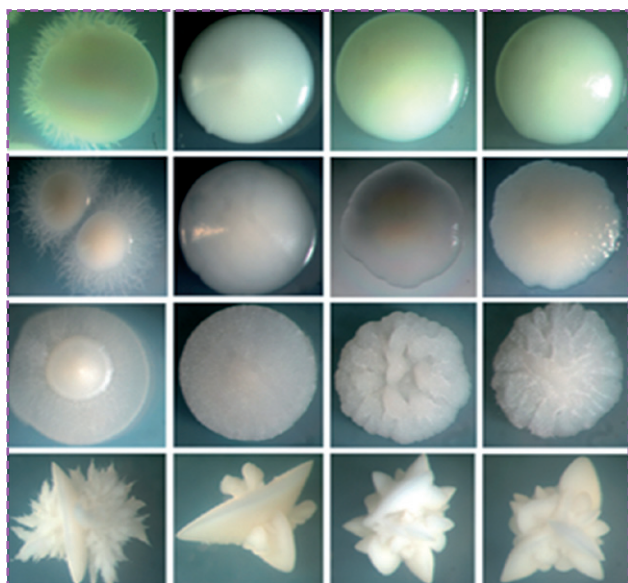


Fig. 1. Diversas morfologías coloniales de *Candida albicans*.

ño, *Castanea sativa* Mill. es extremadamente importante. El mayor porcentaje de pérdida de la producción se debe a la enfermedad conocida como tinta del castaño, cuyo agente causante es el oomiceto, *Phytophthora cinnamomi*. La mayor parte de nuestra investigación se centra en los genes que caracterizan aspectos importantes de la interacción entre *P. cinnamomi*-huésped, particularmente aquellos involucrados en los procesos de infección. Utilizamos técnicas genómicas. Nuestro grupo ya ha identificado proteínas implicadas en la infección por *P. cinnamomi* i.e. una endo-1,3-beta-glucanasa y una exoglucanasa, responsable de la adherencia, la penetración y colonización de tejidos del huésped; así como una transglutaminasa que induce respuestas de defensa. En resumen, estamos secuenciando el genoma de *P. cinnamomi* y caracterizando su transcriptoma durante la infección de *C. sativa*, lo que nos permitirá la identificación de los factores moleculares (genes y proteínas) responsables de la enfermedad «tinta del castaño» y la identificación de inductores o represores de dichas moléculas con el fin de desarrollar una estrategia científica adecuada para el tratamiento de la enfermedad.

Nuestra tercera línea de investigación «*Candida albicans* y patogenicidad» se subdivide a su vez en dos. La primera «**Glicosilación de proteínas en *Candida albicans* y su implicación en patogenicidad**» está dirigida por la Prof. M^a Carmen López. *Candida albicans* se ha adaptado a vivir como comensal en la superficie de las mucosas del hombre. Sin embargo, tiene una prominente capacidad de invadir los tejidos cuando el hospedador presenta defectos naturales o adquiridos en su sistema inmunológico. Se han propuesto

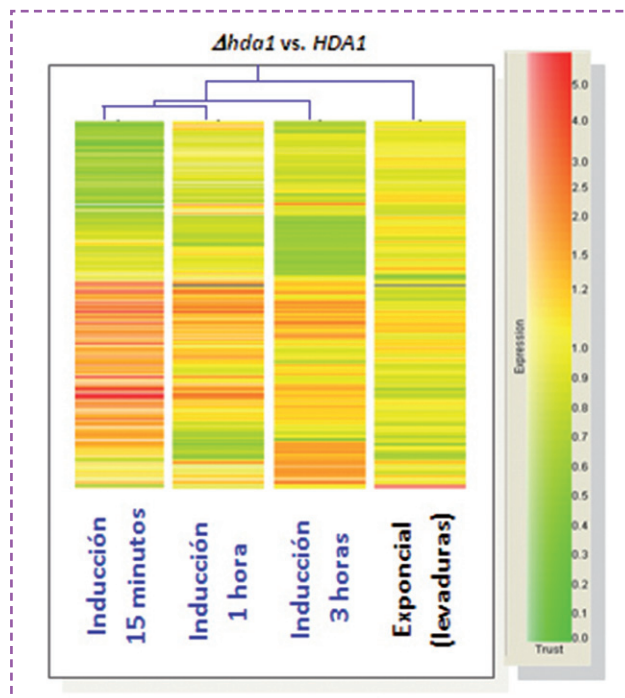


Fig. 2. Clustering de datos transcriptómicos obtenidos en mutantes de modificación de histonas en *Candida albicans*.

un conjunto de factores de virulencia que pueden contribuir a este proceso entre los que se encuentran la secreción de enzimas hidrolíticas, la capacidad de llevar a cabo la transición morfológica (levadura-hifa), la variabilidad antigénica, la capacidad de cambio entre diferentes fenotipos celulares y la adhesión a sustratos inertes y biológicos. La parte más externa de la célula, la pared, interviene en el primer contacto físico entre el hongo y el huésped, por lo que es una estructura muy importante a considerar en la patogenicidad de *C. albicans*. Contiene manoproteínas de alto peso molecular que contribuyen al 30-40% del peso seco de la pared celular. Variaciones en la glicosilación pueden afectar a la conformación de estas proteínas y a la abundancia relativa de las estructuras fibrilares en que se organizan algunas, llevando a cambios de hidrofobicidad y en la exposición de antígenos en la superficie celular que pueden afectar a la virulencia. Estamos construyendo mutantes defectivos en distintas etapas del proceso de glicosilación de proteínas (cepas delecionadas en los genes *CaALG3*, y en ortólogos de *MNT4* y *MNN1* de *Saccharomyces cerevisiae*) y analizando los efectos sobre virulencia y morfogénesis, así como los cambios globales a nivel de transcriptoma y proteoma que tienen lugar en ellos.

La línea «**Histona acetiltransferasas en *Candida albicans*, efecto sobre dimorfismo y virulencia. Una aproximación Post-Genómica**» está dirigida por el Prof. Ángel

Domínguez. Un importante mecanismo de regulación de la expresión génica es la acetilación reversible de histonas de los nucleosomas. Las actividades de dos clases de enzimas competitivas, las acetil-transferasas (HATs) y las desacetilasas de histonas (HDACs), dan como resultado patrones específicos celulares de expresión génica. Hat1p es el único ejemplo conocido de acetiltransferasas de histonas del tipo B. Las histonas acetiltransferasas del tipo B se distinguen por su especificidad de sustrato y su localización subcelular. La enzima acetila específicamente la lisina 12 y, en un grado menor, la lisina 5 de la histona H4 libre (no unida a cromatina). El complejo se aísla habitualmente en la fracción citosólica y se piensa que está implicado en el ensamblaje de la cromatina. En *Saccharomyces cerevisiae* los complejos HAT-B contienen también la proteína Hat2p que parece estimular la actividad catalítica de Hat1p. Varios autores han detectado complejos HAT en el núcleo y, en nuestra anotación del genoma de *Candida*, no hemos sido capaces de detectar un ortólogo de la proteína Hif1p. Estamos trabajando en la localización celular de las proteínas Hat1p y Hat2p, en el transcriptoma de los mutantes nulos simples y del mutante doble *hat1Δ hat2Δ* durante la transición levadura-hifa y durante el cambio morfológico. Finalmente tratamos de analizar la función de la proteína Hat1p humana en levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- Banerjee D, Martin N, Nandi S, Shukla S, Dominguez A, Mukhopadhyay G, Prasad R. (2007) A genome-wide steroid response study of the major human fungal pathogen *Candida albicans*. *Mycopathologia* 164: 1-17.
- Morín M, Monteoliva L, Insenser M, Gil C, Domínguez A. (2007) Proteomic analysis reveals metabolic changes during yeast to hypha transition in *Yarrowia lipolytica*. *J Mass Spectrometry* 42: 1453-1462.
- Caro-Hernández P, Fernández-Lago L, De Miguel MJ, Martín-Martín AI, Cloeckaert A, Grilló MJ, Vizcaíno N. (2007) Role of the Omp25/Omp31 family in the outer membrane properties and virulence of *Brucella ovis*. *Infect Immun* 75: 4050-61.
- Ramírez-Zavala B, Domínguez A. (2008) Evolution and phylogenetic relationships of APSES proteins from hemiascomycetes. *FEMS Yeast Res* 8: 511-519.
- Martín-Martín AI, Caro-Hernández P, Orduña A, Vizcaíno N, Fernández-Lago L. (2008) Importance of the Omp25/Omp31 family in the internalization and intracellular replication of virulent *B. ovis* in murine macrophages and HeLa cells. *Microb Infect* 10: 706-10.
- Mantecón MA, Gutiérrez MP, Zarzosa MP, Fernández-Lago L, Colmenero JD, Vizcaíno N, Bratos MA, Almaraz A, Cubero A, Muñoz MF, Rodríguez-Torres A, Orduña A. (2008) Influence of Brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis. *J Infect* 57: 397-03.
- Martín-Martín AI, Caro-Hernández P, Sancho P, Tejedor C, Cloeckaert A, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2009) Analysis of the occurrence and distribution of the Omp25/Omp31 family of surface proteins in the six classical *Brucella* species. *Vet Microbiol* 137: 74-82.
- Martín-Martín AI, Vizcaíno N, Fernández-Lago L. (2010) Cholesterol, Ganglioside GM(1) and class A scavenger receptor contribute to infection by *B. ovis* and *B. canis* in murine macrophages. *Microb Infect* 12: 246-51.
- Rashki-Ghalehnoo Z, Rashki A, Najimi M, Domínguez A. (2010) The role of diclofenac sodium in the dimorphic transition in *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis* 48: 110-115.
- Meirinho S, Carvalho M, Domínguez A, Choupina A. (2010) Isolation and characterization by asymmetric PCR of the END01 gene for glucan endo-1,3-β-glucosidase in *Phytophthora cinnamomi* associated with the ink disease of *Castanea sativa* Mill». *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 513-518.
- Rodríguez C, Tejera P, Medina B, Guillén R, Domínguez A, Ramos J, Siverio JM. (2010) Ure2 Is Involved in Nitrogen Catabolite Repression and Salt Tolerance via Ca²⁺ Homeostasis and Calcineurin Activation in the Yeast *Hansenula polymorpha* *J Biol Chem* 285: 37551-37560.
- Brena S, Cabezas-Olcoz J, Moragues MD, Fernández De Larrinoa I, Domínguez A, Quindós G, Pontón J. (2011) Fungicidal Monoclonal Antibody C7 Interferes with Iron Acquisition in *Candida albicans* *Antimicrob. Agents Chemother* 55: 3156-3163.
- Martín-Martín AI, Sancho P, Tejedor C, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2011) Differences in the outer membrane-related properties of the six classical *Brucella* species. *Vet J* 189: 103-5.
- Morales-Vargas AT, Domínguez A, Ruiz-Herrera J. (2012) Identification of dimorphism-involved genes of *Yarrowia lipolytica* by means of microarray analysis. *Res Microbiol* 163: 378-387.
- Morín M, Asturias J, Domínguez A. (2012) Expression of Alt a 1 allergen from *Alternaria alternata* in the yeast *Yarrowia lipolytica* *FEMS Microbiol Lett* 333: 121-128.
- Hodurova Z, Ferreira L, Sánchez-Juanes F, Domínguez A, Gbelska Y. (2012) Cytosolic proteome of *Kluyveromyces lactis* affected by the multidrug resistance regulating transcription factor KIPdr1p. *J Proteomics* 75: 5316-5326.
- Rashki A, Rashki-Ghalehnoo Z, Domínguez A. (2012) The early response of *Candida albicans* filament induction is coupled with wholesale expression of the translation machinery. *Comp Clin Pathol* 21: 1533-1545.
- Martín-Martín AI, Sancho P, De Miguel MJ, Fernández-Lago L, Vizcaíno N. (2012) Quorum-sensing and BvrR/BvrS regulation, the type IV secretion system, cyclic glucans, and BacA in the virulence of *Brucella ovis*: similarities and differences from smooth brucella. *Infect Immun* 80: 1783-93.