

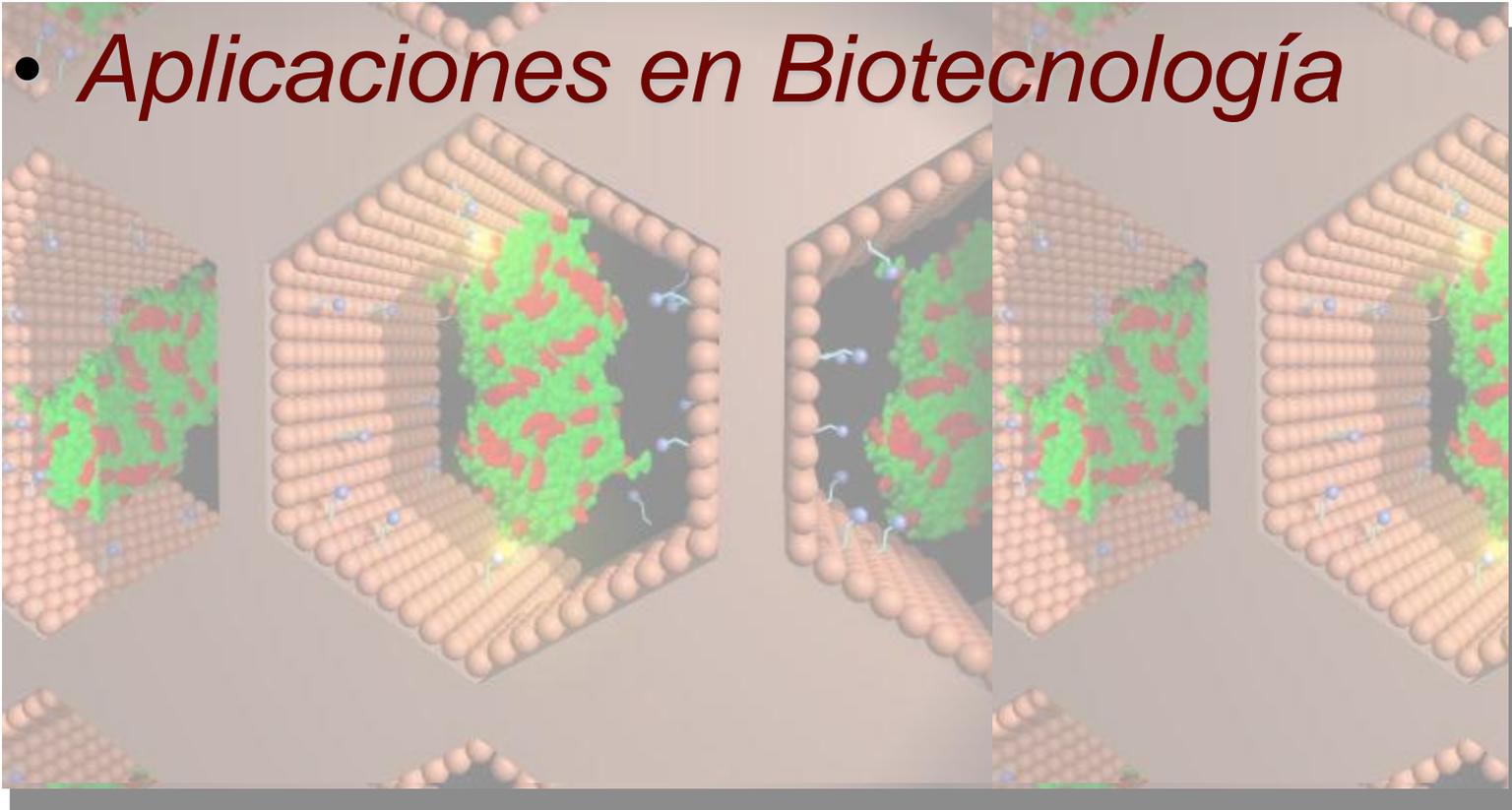
The background is a purple and blue textured collage. It features several 3D molecular models: a blue and white ribbon structure in the top left, a red and blue ribbon structure in the top center, a yellow and red ribbon structure in the top right, a cyan and purple surface model in the middle left, a yellow and red ribbon structure in the middle right, a yellow and red ribbon structure in the bottom left, a yellow and red ribbon structure in the bottom center, a yellow and red ribbon structure in the bottom right, and a blue and red surface model in the bottom right. A large yellow and red ribbon structure is also visible in the top right.

Cristalografía: Aplicaciones en Biotecnología y Biomedicina

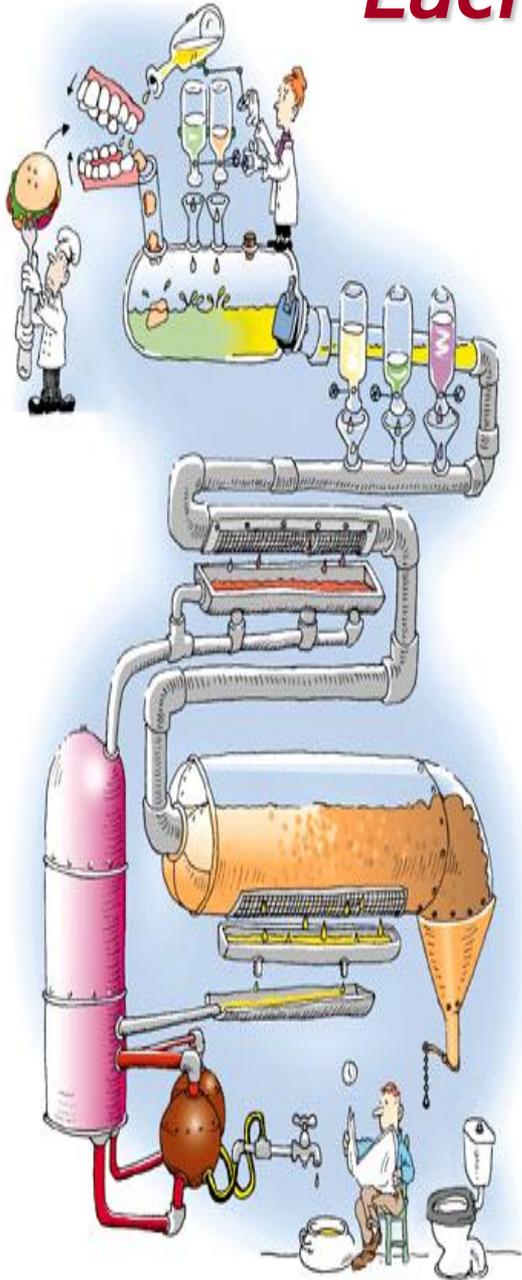
Juan A. Hermoso

***Curso Oficina de Patentes
Madrid. Octubre 2009***

- *Aplicaciones en Biotecnología*



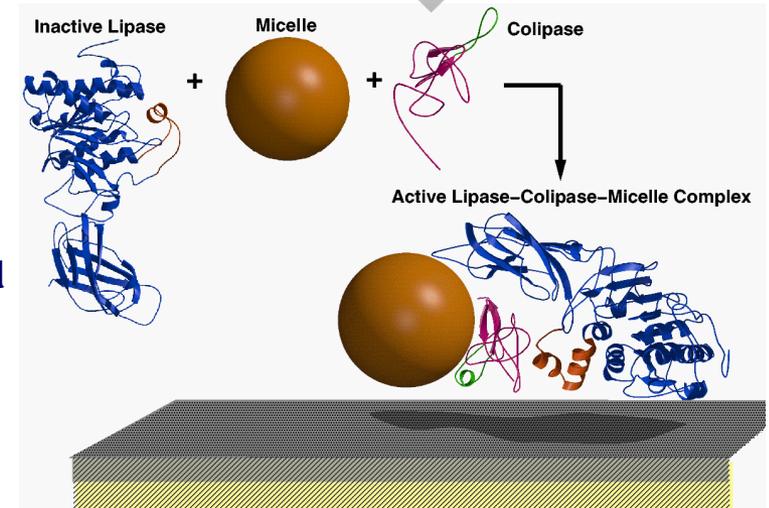
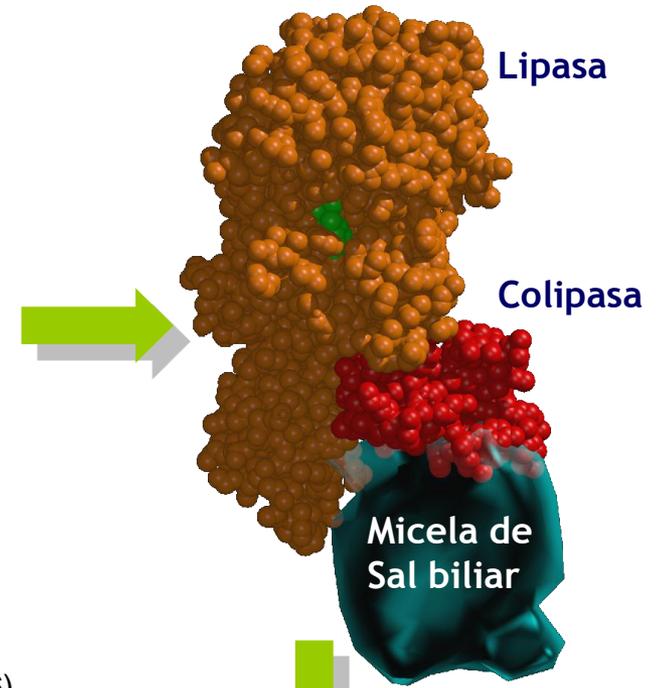
Luchando contra la obesidad



Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .

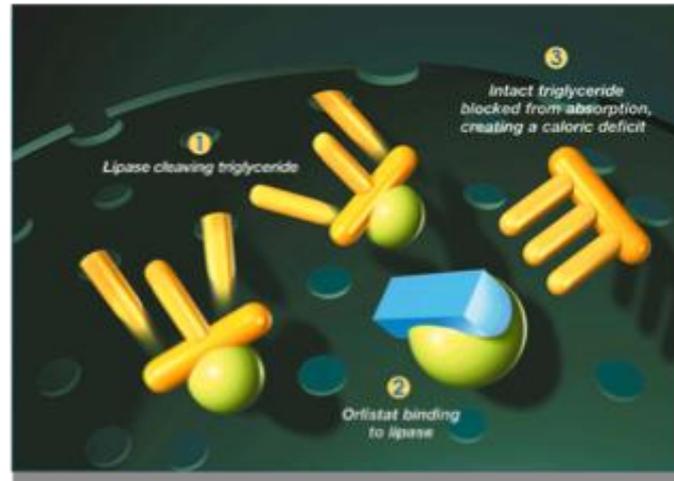
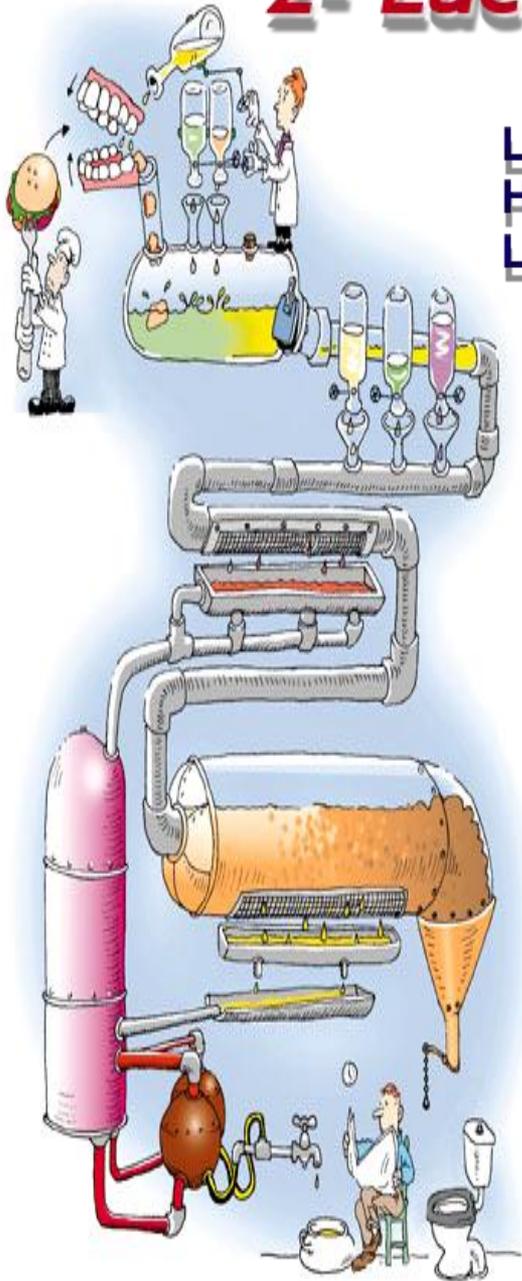
Hermoso et al. J. Biol. Chem (1996)
Hermoso et al. EMBO J. (1997)

La determinación estructural ha permitido postular un mecanismo de activación de la enzima.



2- Luchando contra la obesidad

La comprensión del mecanismo de activación de la lipasa
Ha permitido el desarrollo de nuevos fármacos que bloquean
La enzima:

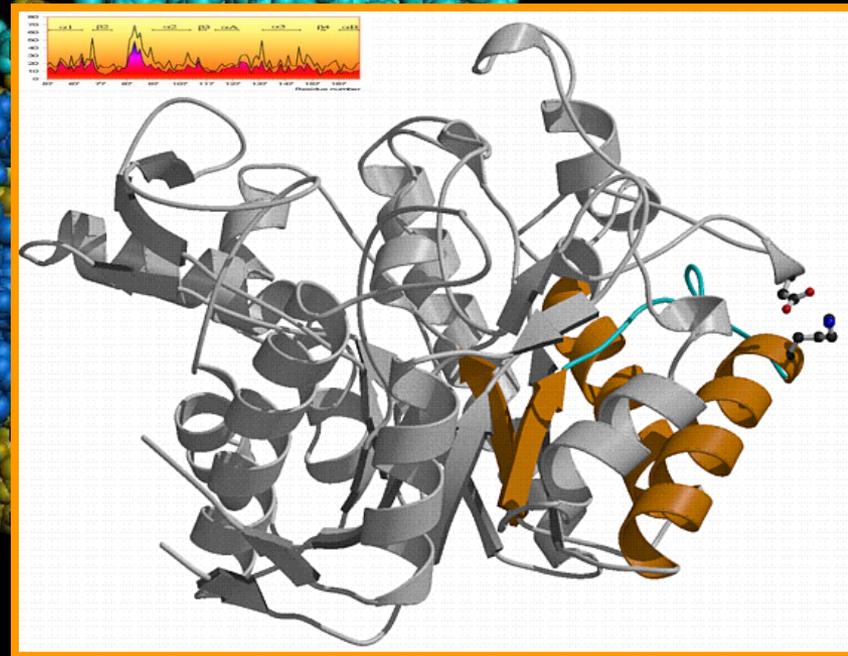
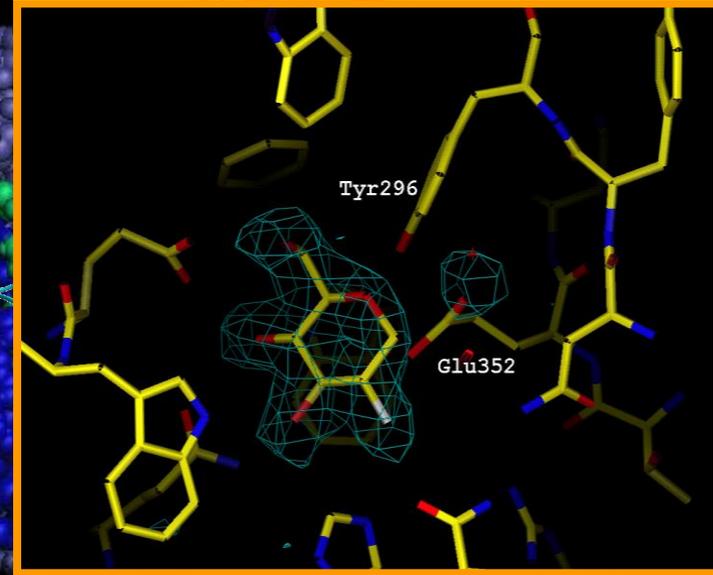


El 30% de las grasas ingeridas
No se absorben.

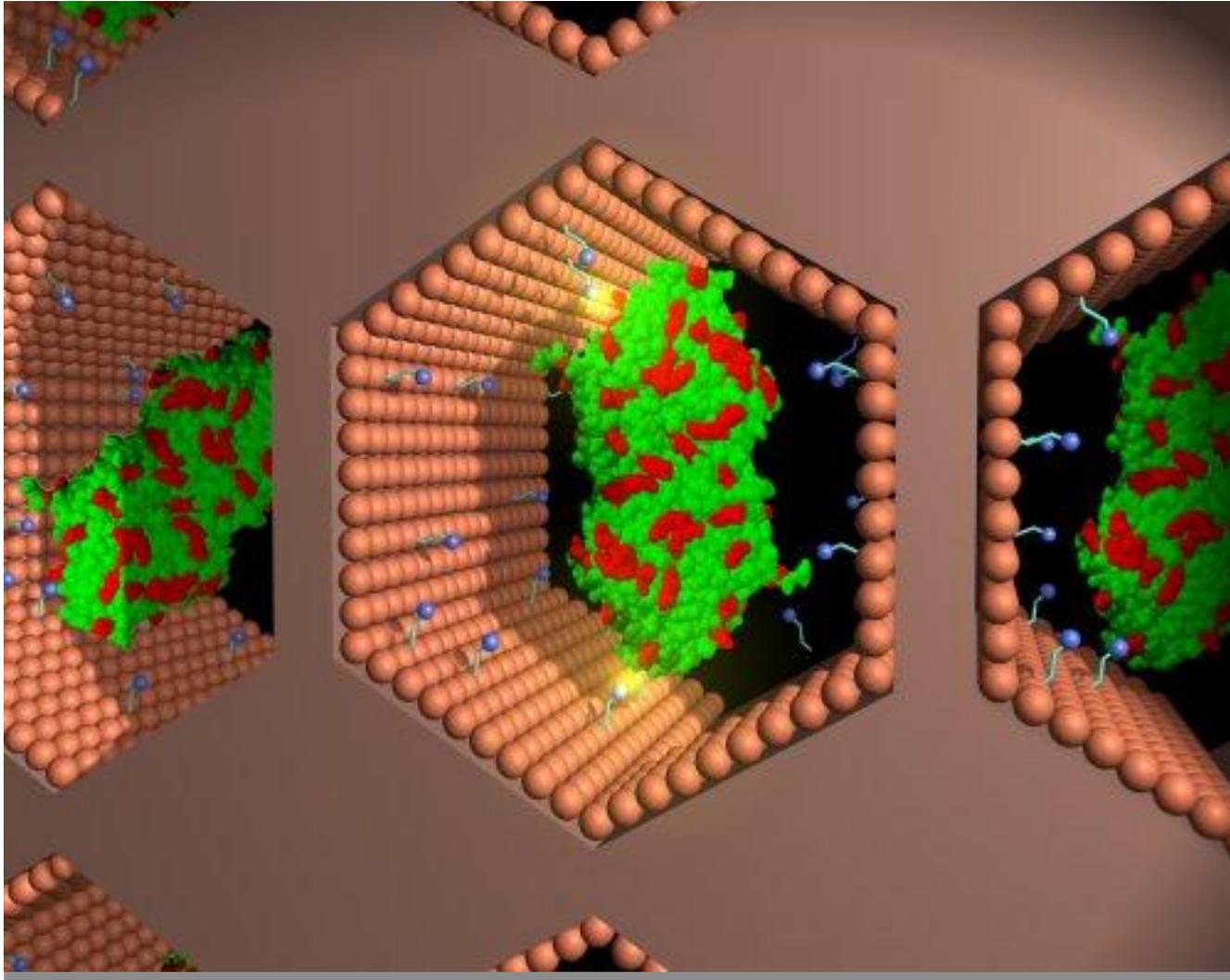
Diseño Racional de Hidrolasas Específicas y Resistentes



BGLA
(400 kDa)



Uso biotecnológico de enzimas

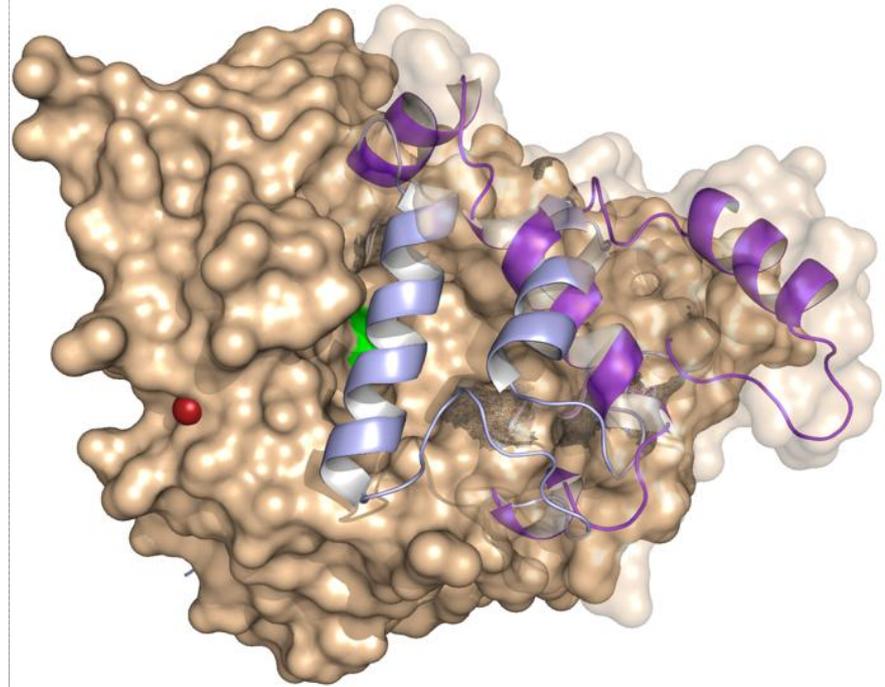


Uso biotecnológico de enzimas

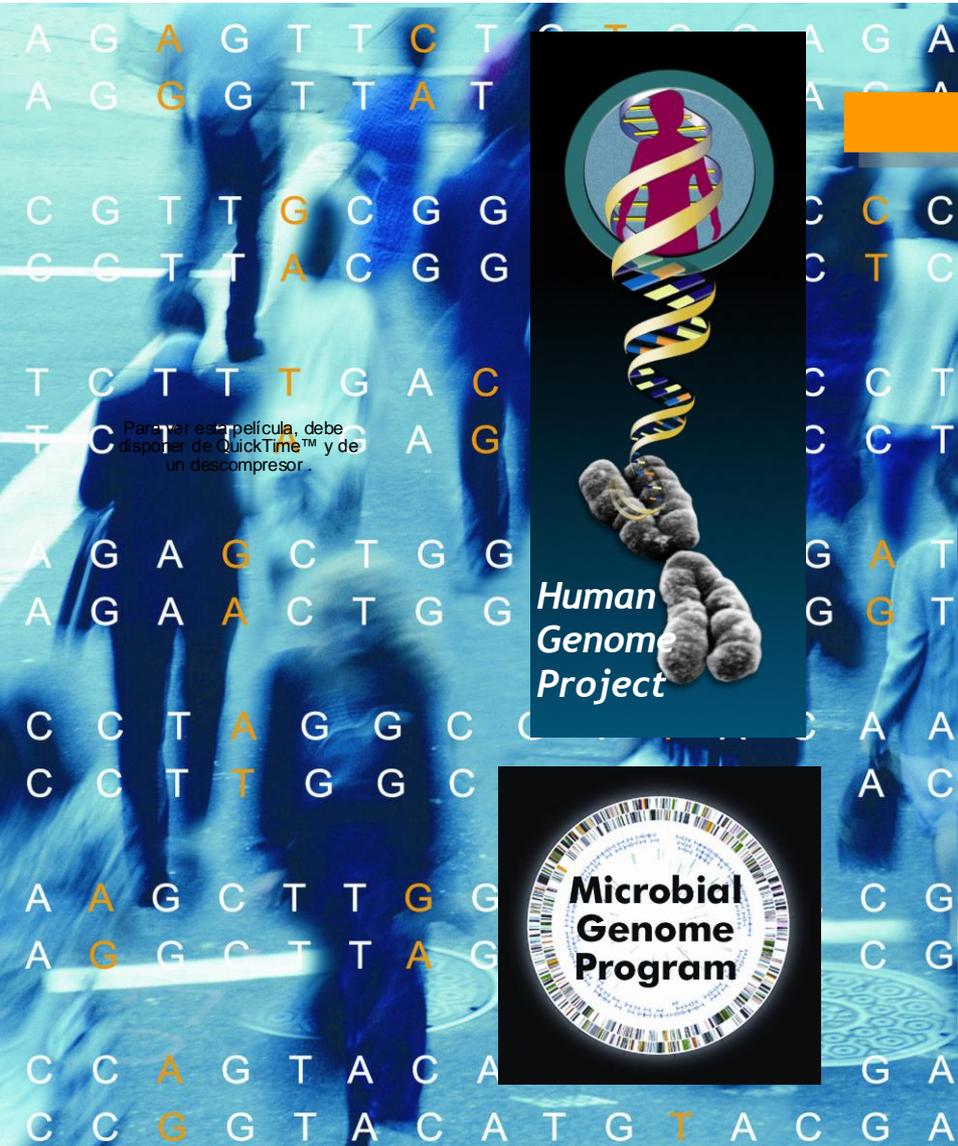
The bacterial thermoalkalophilic lipases are among the most biocatalytically relevant extremozymes due to their resistance to proteases, detergents and chaotropic agents together with their extreme stability at elevated temperatures and in organic solvents



Thermoalkalophilic lipases show optimal activity at 60–75 °C and pH 8–10 !!!!



S. XXI, la era Post-Genómica: Biología Estructural y Medicina



Necesitamos información detallada de la estructura, la función y la interacción entre las miles de proteínas codificadas por estos genomas.

LA ERA POST-GENÓMICA

Bases Moleculares de la Enfermedad

- Enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson..)
- Huntington

Mecanismos de Infección de los patógenos

- SIDA
- Tuberculosis
- Malaria

¿Qué son las proteínas?

Las proteínas son las micromáquinas moleculares que llevan a cabo todas las reacciones químicas que sustentan la vida

La alfa-keratina forma El pelo, uñas y es el mayor Componente de plumas, lana...

La hemoglobina transporta el oxígeno en tu sangre a cada parte de tu cuerpo.

Actina y miosina son dos proteínas del músculo que permiten el movimiento.

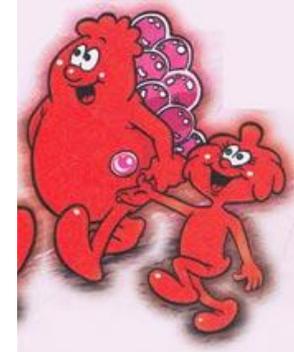
Los canales de iones controlan La señalización cerebral.

Los receptores son proteínas situadas en la superficie de las células y transmiten las señales a otras proteínas...

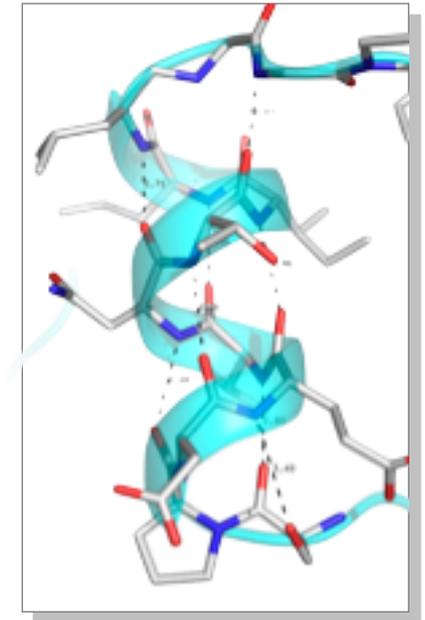
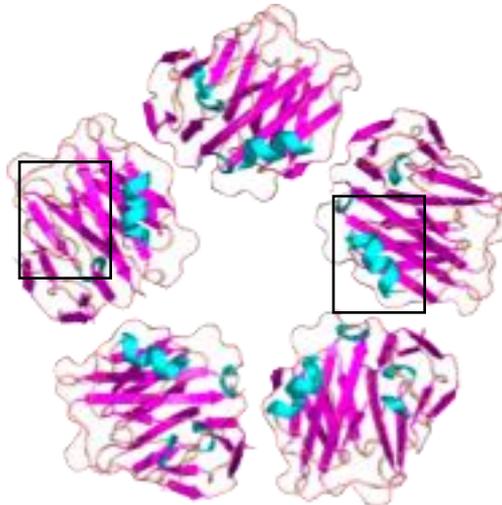
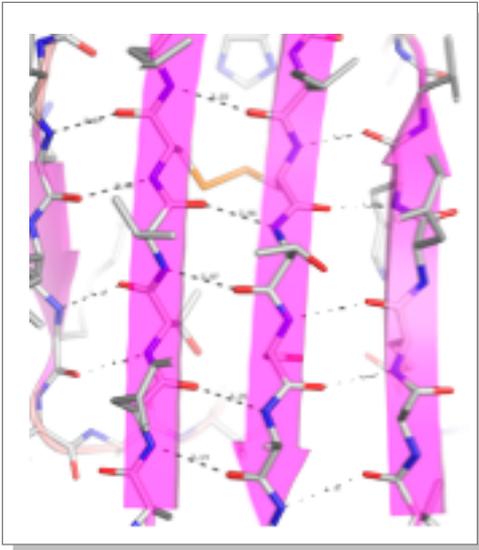
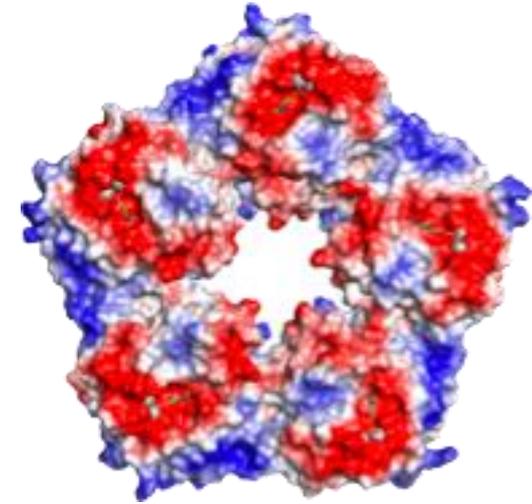
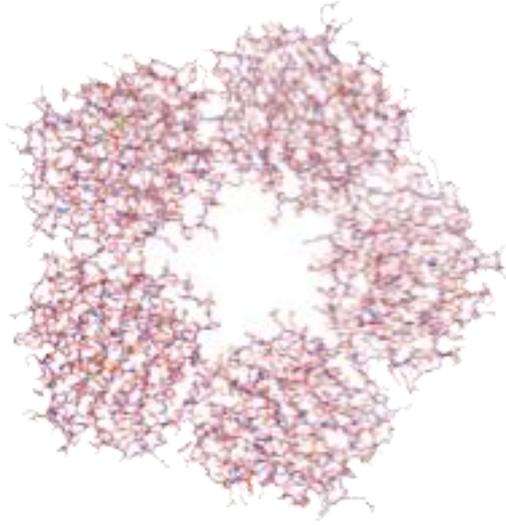
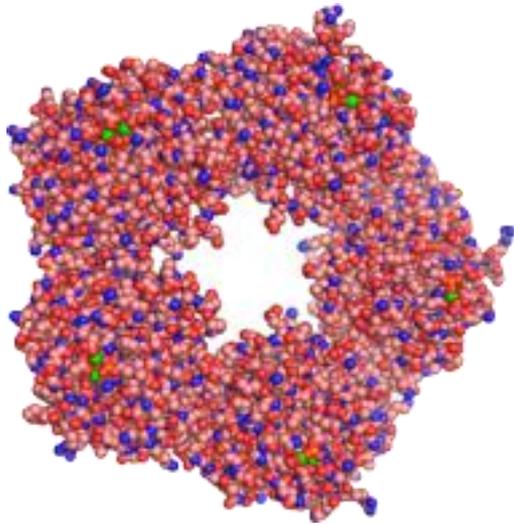
Las enzimas en saliva, estómago e intestino son proteínas que permiten la digestión de la comida.

Anticuerpos son proteínas que defienden el cuerpo frente a invasores (bacteria, virus...).

Gigantescos agregados de proteínas forman máquinas moleculares que hacen el trabajo duro de tus células: copiar genes, hacer nuevas proteínas....



Las proteínas tienen una estructura tridimensional compleja



La complejidad y su estructura 3D es la base de su función biológica

- 10 - red and white blood cells moving through a blood vessel
- 15 - zooming in on molecular interactions between cell surface proteins
- 20 - the “shimmering” background that the proteins are sliding along is the cells plasma membrane
- 24 - and proteins sliding around on lipid rafts
- 53 - self assembly of actin filaments
- 62 - enzymatic cleavage of an actin filament and depolymerization of the cut region
- 66 - self assembly of a microtubule
- 72 - catastrophic disassembly of the same
- 75 - a motor unit moving cellular cargo along a microtubule (dyneins and kinesins, one goes out, one in)
- 86 - a centriole, center of microtubule synthesis
- 94 - processed mRNA leaving the nucleus through nuclear pores
- 102 - ribosome subunits binding mRNA for protein synthesis
- 106 - ribosome walking along mRNA and spitting out a protein (yellow folding thing)
- 118 - proteins being synthesised directly into the rough endoplasmic reticulum
- 125 - vesicles full of folder proteins budding of the golgi apparatus for transport
- 138 - general view of the golgi apparatus receiving and sending vesicles
- 143 - a vesicle that merged with the plasma membrane releasing its protein cargo
- 169 - a white blood cell squeezing its way out of a capillary between the muscle cells

¿Qué es la biología estructural?

Función

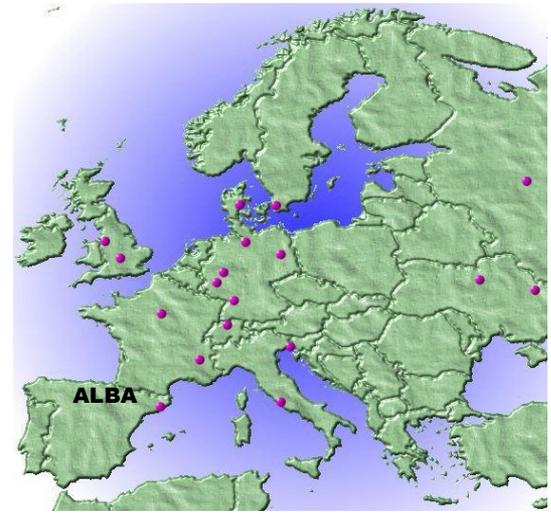
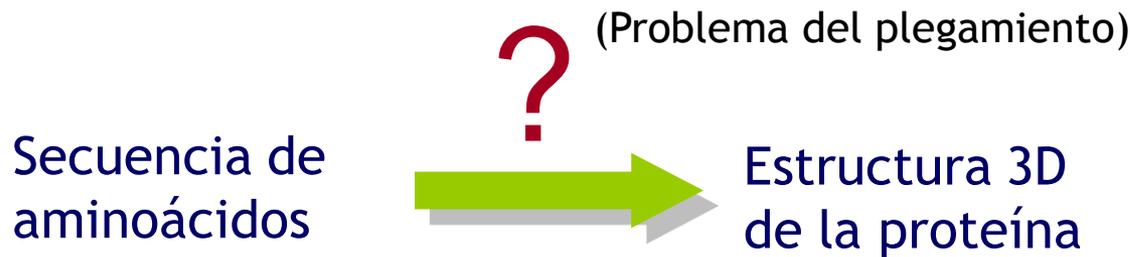


Estructura 3D de las Biomoléculas



Permite la descripción, a resolución atómica, de la arquitectura de los componentes moleculares de la vida.

¿Por qué la Cristalografía es tan importante?

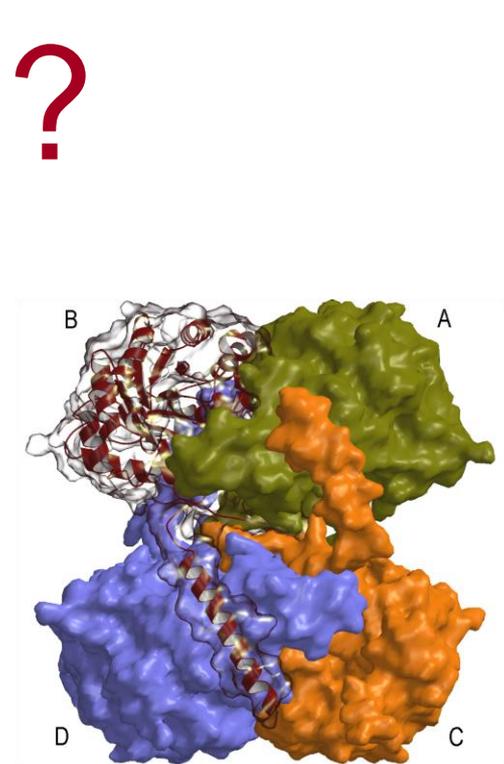
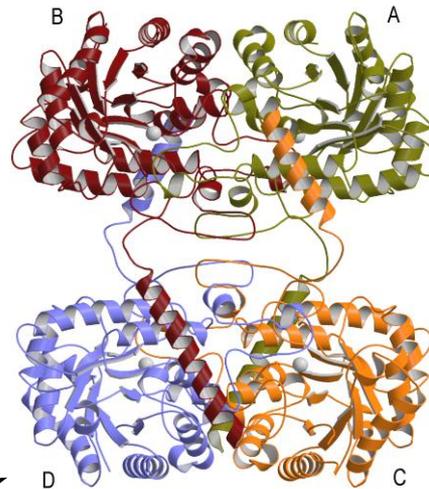
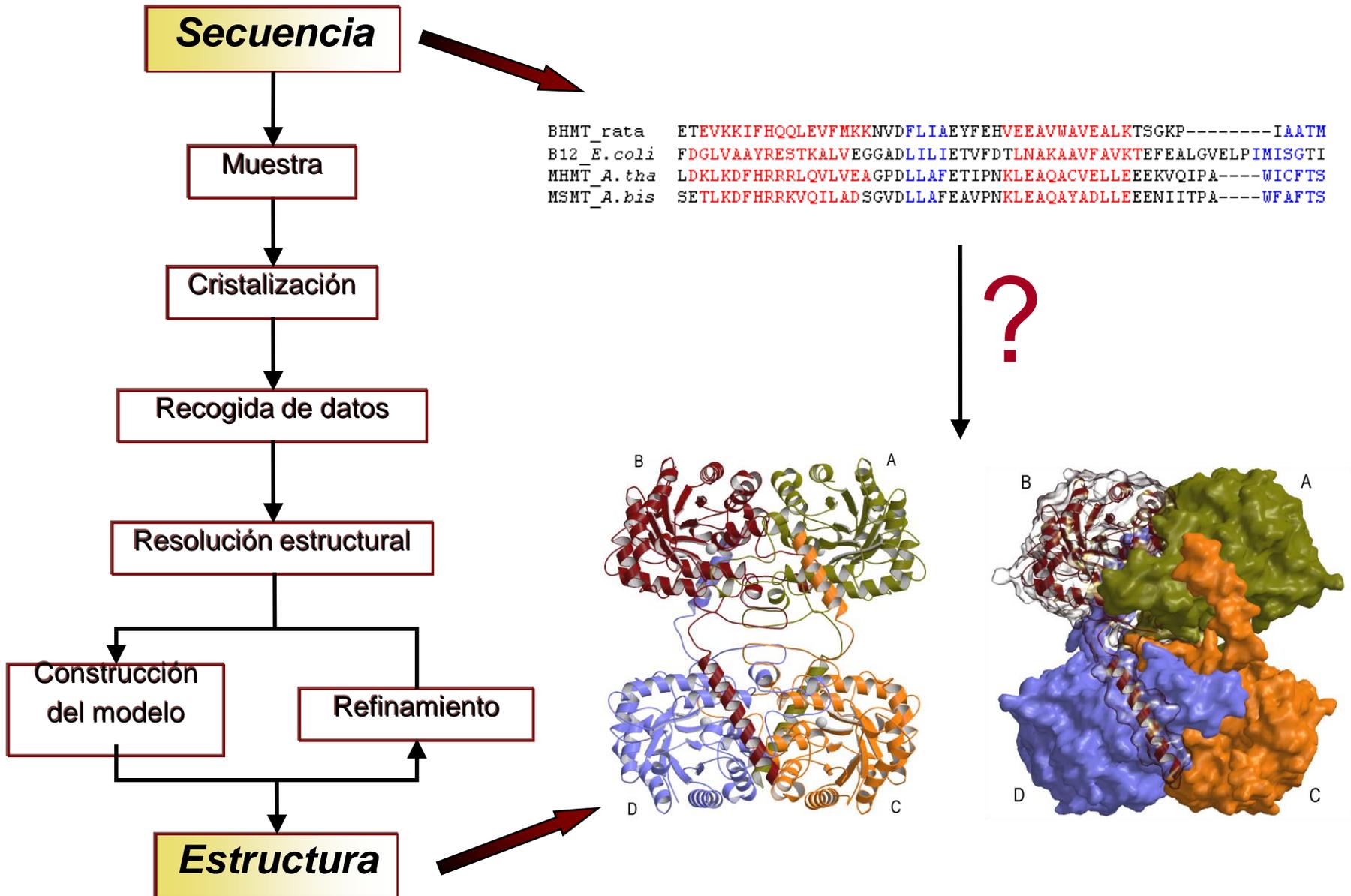


- Resolución Atómica.
- No hay límites en el tamaño molecular.
- Interacciones intermoleculares.

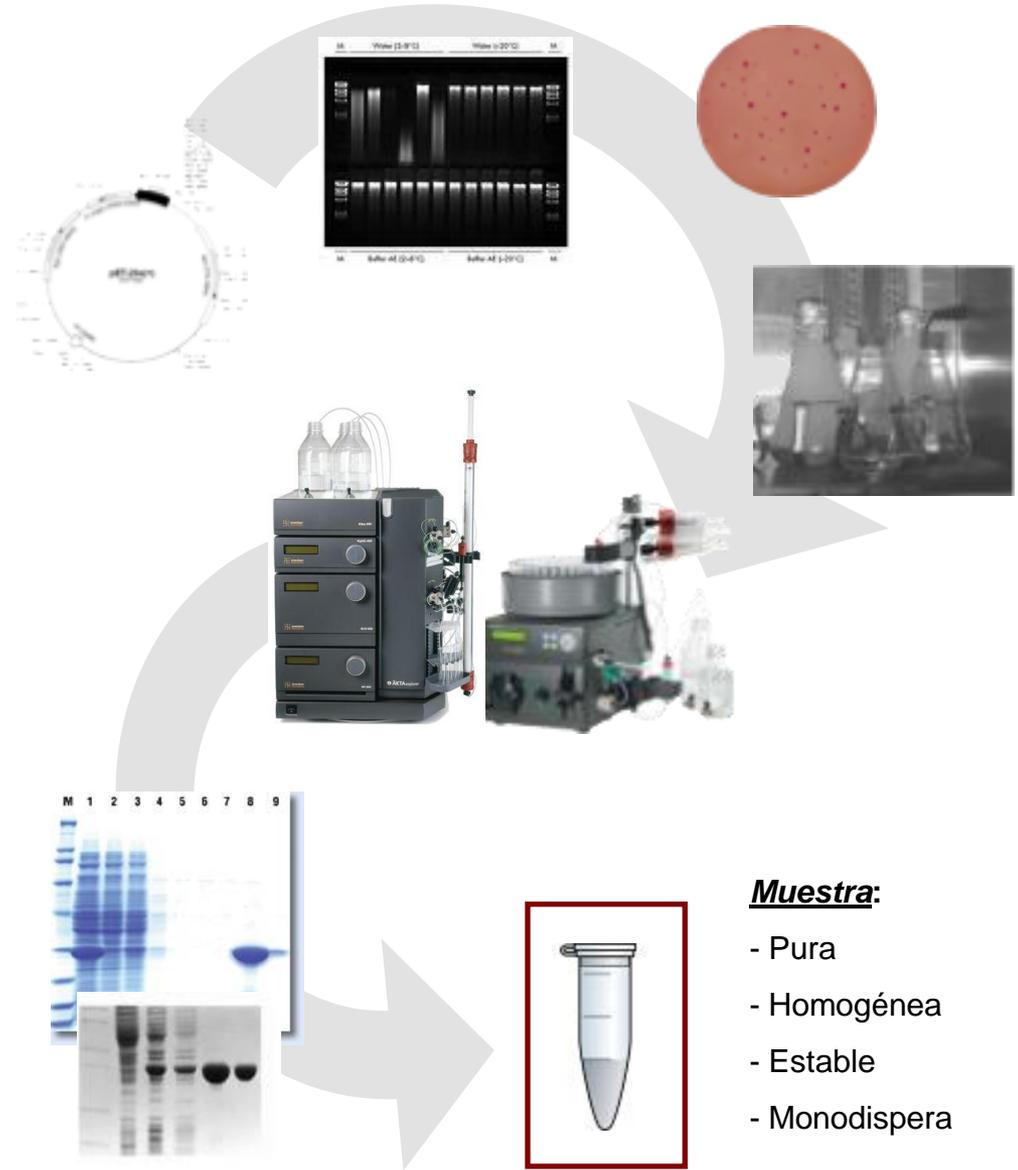
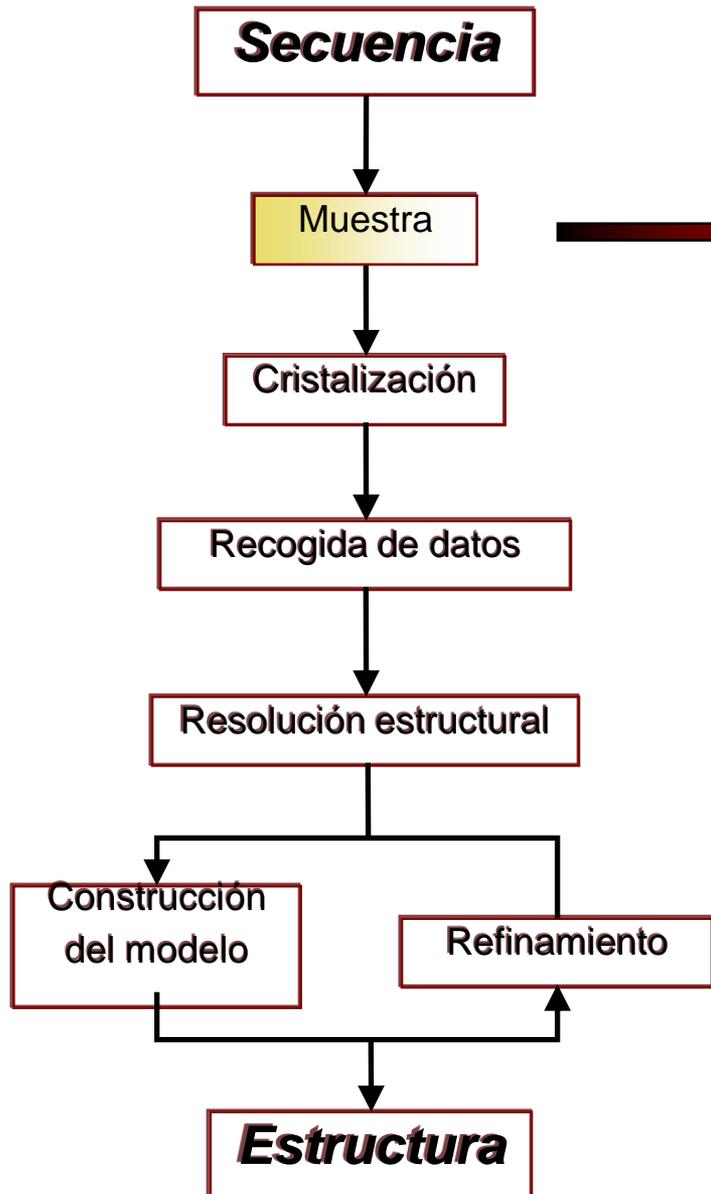
Cristalografía de Macromoléculas



Cristalografía de Proteínas



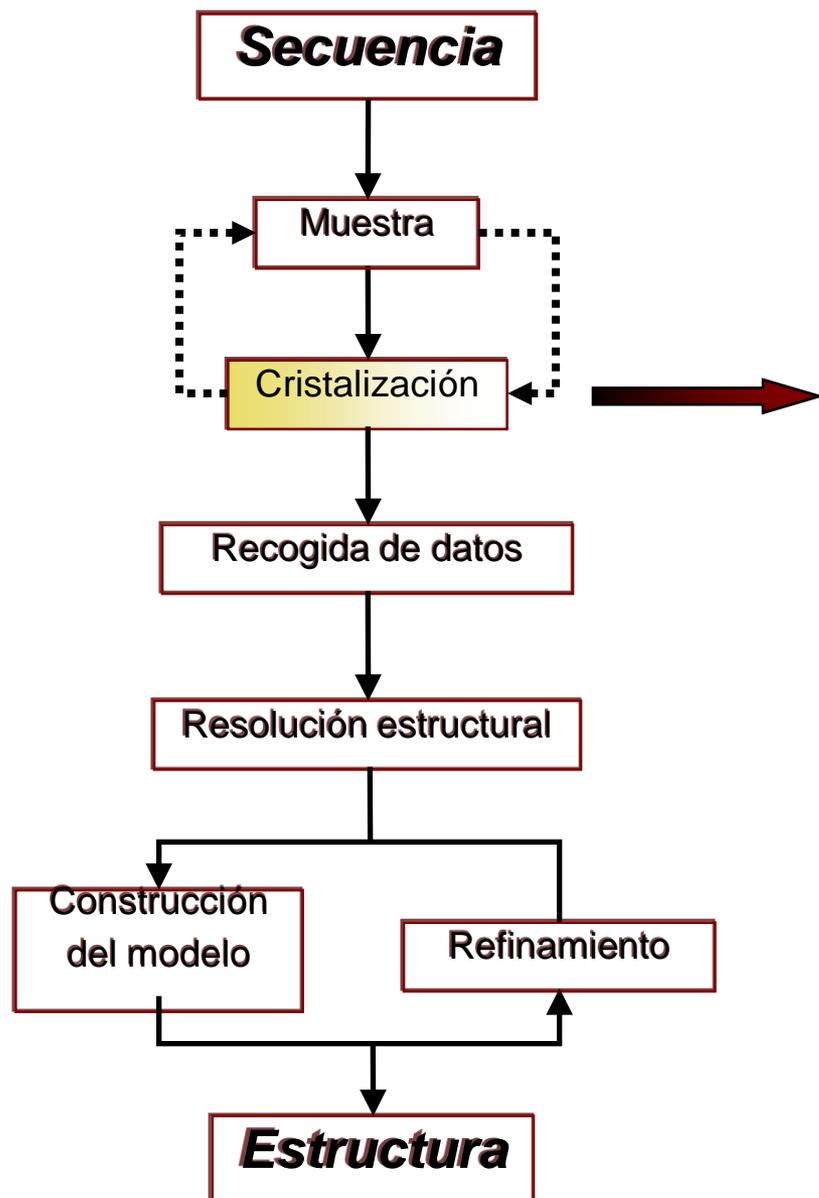
Cristalografía de Proteínas



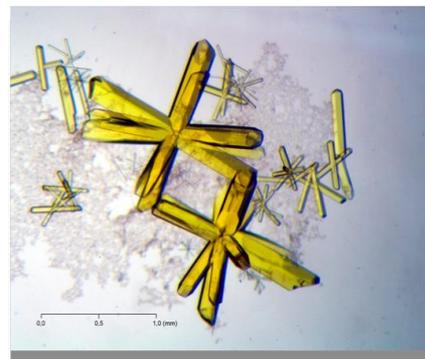
Muestra:

- Pura
- Homogénea
- Estable
- Monodispersa

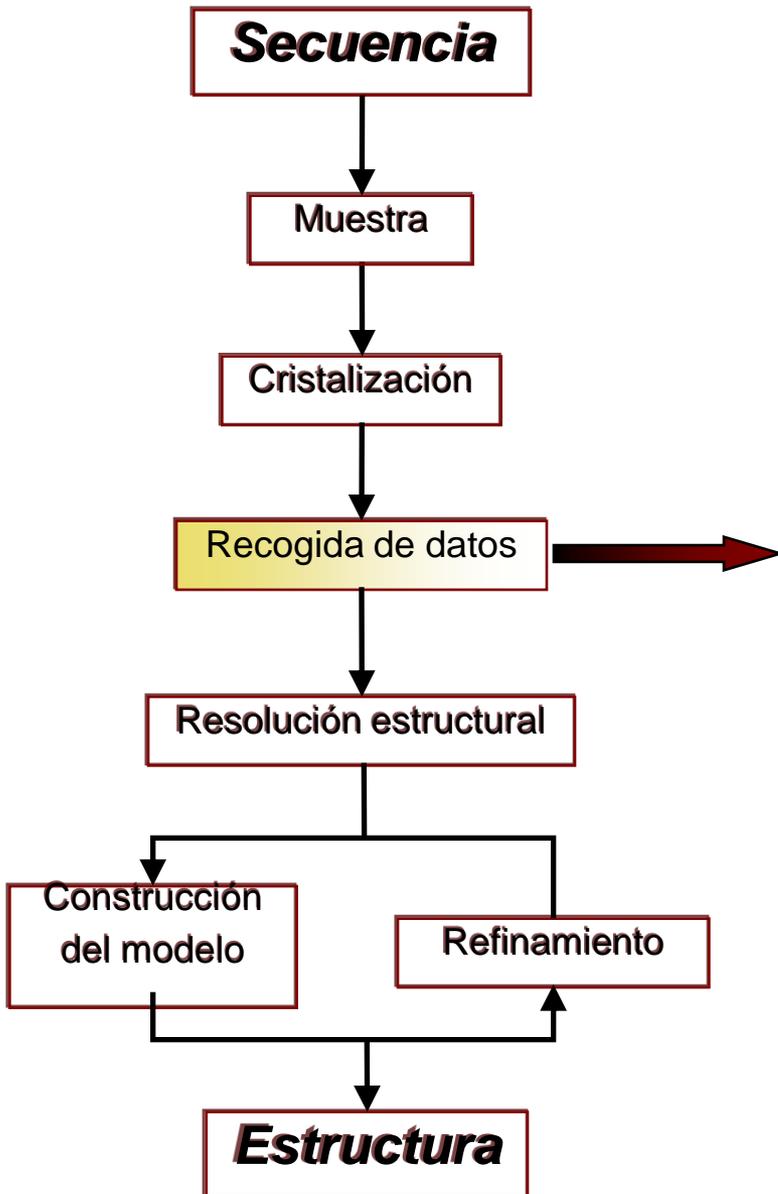
Cristalografía de Proteínas



➤ Equipos de alto rendimiento



Cristalografía de Proteínas



Equipos de ánodo rotatorio



- Gran intensidad
- Microfuentes

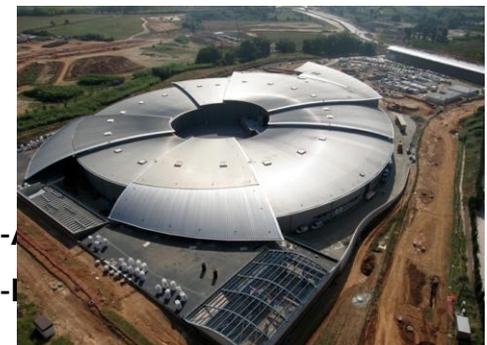


Sincrotron

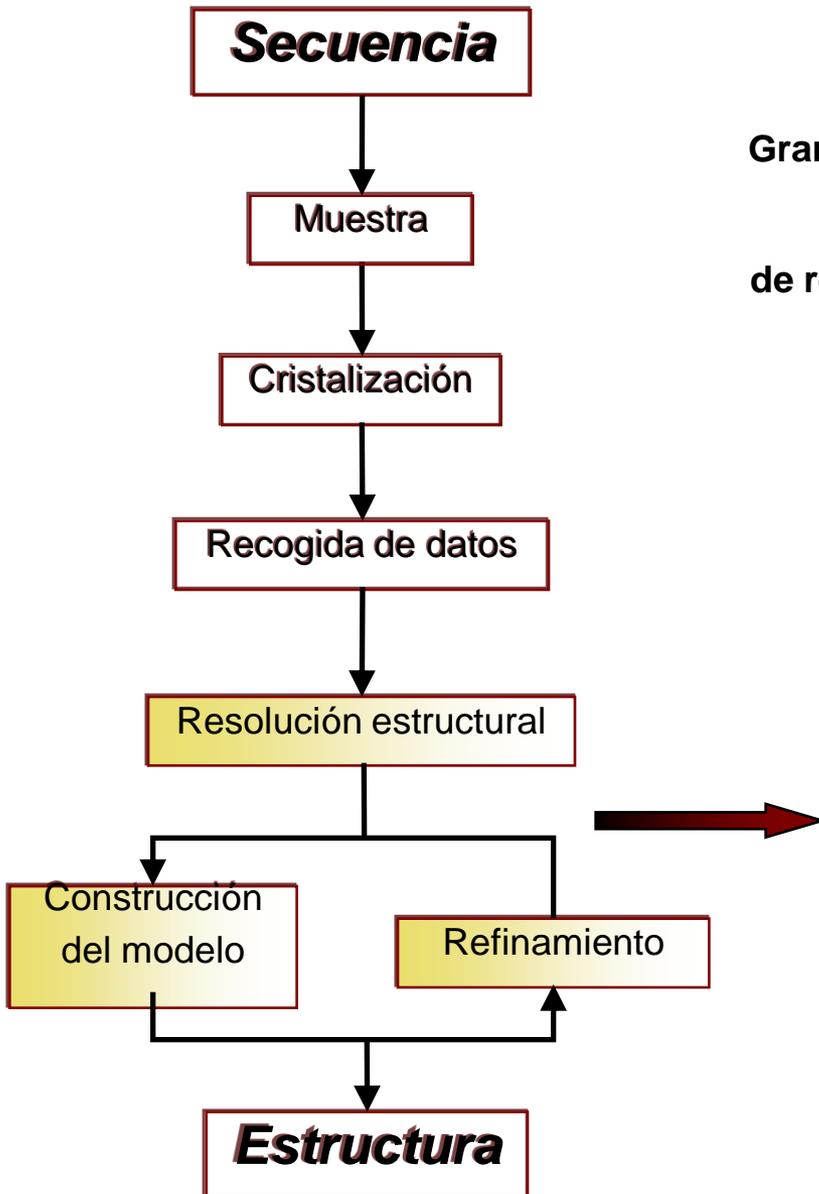
European Synchrotron
Radiation Facility (Grenoble)



CELLS-ALBA
(Barcelona)



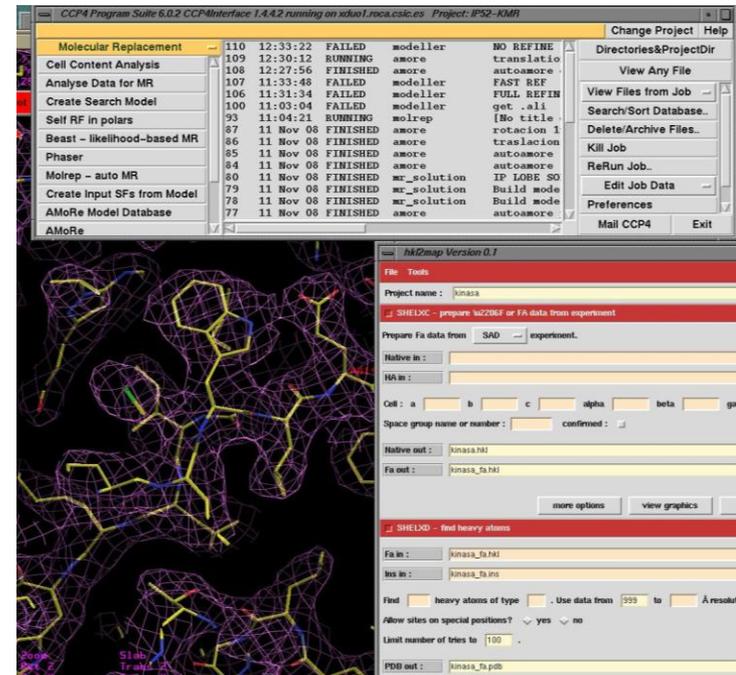
Cristalografía de Proteínas



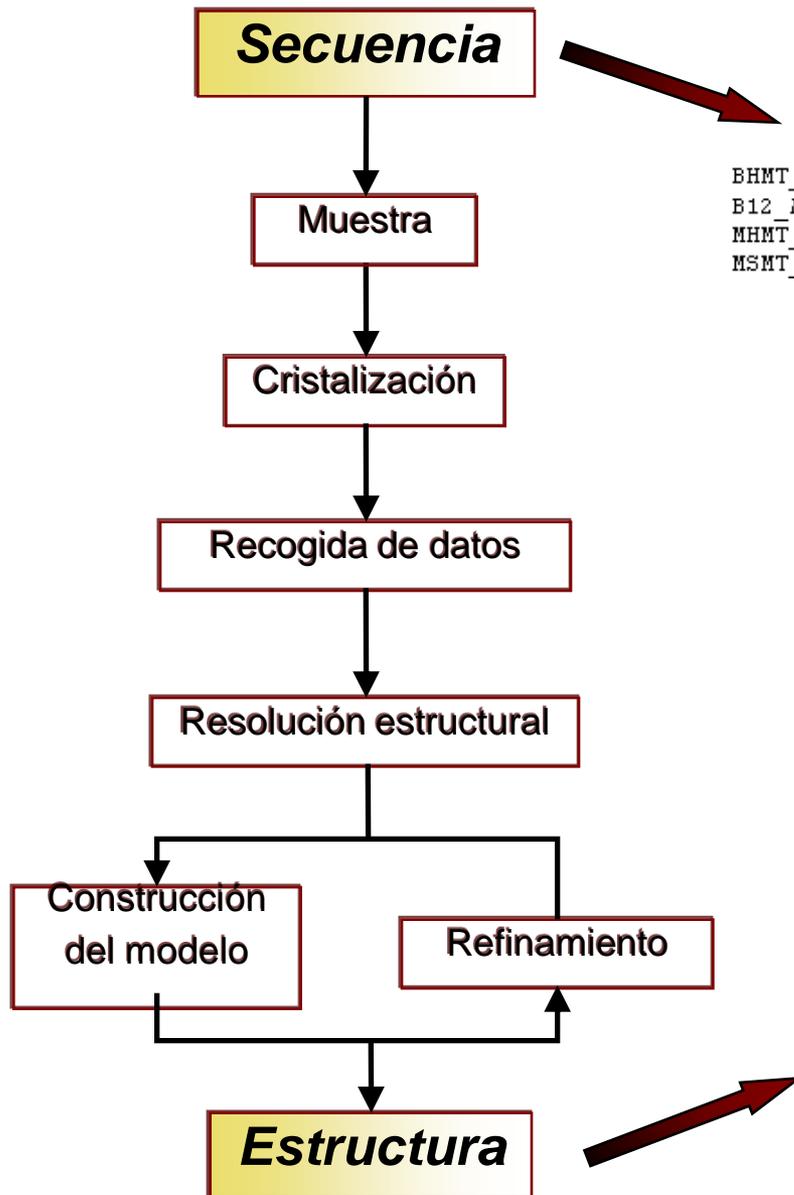
Grandes facilidades en el proceso de resolución estructural

Table 1. Software packages used for protein X-ray crystallography

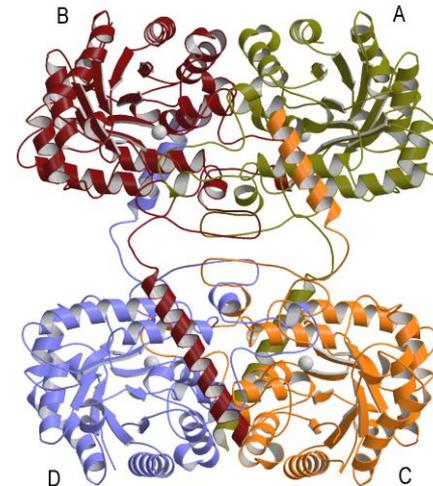
Program/package	Function
Data processing	
Crystalclear/Dtrek	Data reduction/scaling
Mosflm/scala	Data reduction/scaling
HKL2000	Data reduction/scaling
XDS	Data reduction/scaling
Structure determination and refinement	
Shake and bake	Heavy atom location
Shelx/shelx	Direct methods
Solve	Heavy Atom Location
Sharp	Phase refinement
CCP4	ML phase refinement
CNS/CNX	'Complete' structure solution suite
Phenix	'Complete' structure solution suite
Phaser	Molecular replacement
Molrep	Molecular replacement
Amore	Molecular replacement
Refmac	Structure refinement
CNS/CNX	Structure refinement
Buster	ML structure refinement
Arp/warp	Automatic model building
Resolve	Automatic model building
Textal	Automatic model building
AutoSolve(!!)	Automated ligand fitting
Graphical model building	
Quanta includes X-ligand	Graphical model building semi-automatic
Coot	Graphical model building
O	Graphical model building
AstexViewer™	Java based structure display



Cristalografía de Proteínas



```
BHMT_rata  ETEVKKIFHQQLEVFMKKNVDFLIAEYFEHVEEAVWAVEALKTSGKP-----IAATM
B12_E.coli FDGLVAAAYRESTKALVEGGADLIL IETVFDTLNAAAVFAVKTEFEALGVELPIMISGTI
MHMT_A.tha LDKLDKFHRRRLQVLVEAGPDLLAFETIPNKLEAQACVELLEEEKVQIPA----WICFTS
MSMT_A.bis SETLKDFHRRKVQILADSGVDLLAFEAVPNKLEAQAYADLLEENIITPA----WFAFTS
```



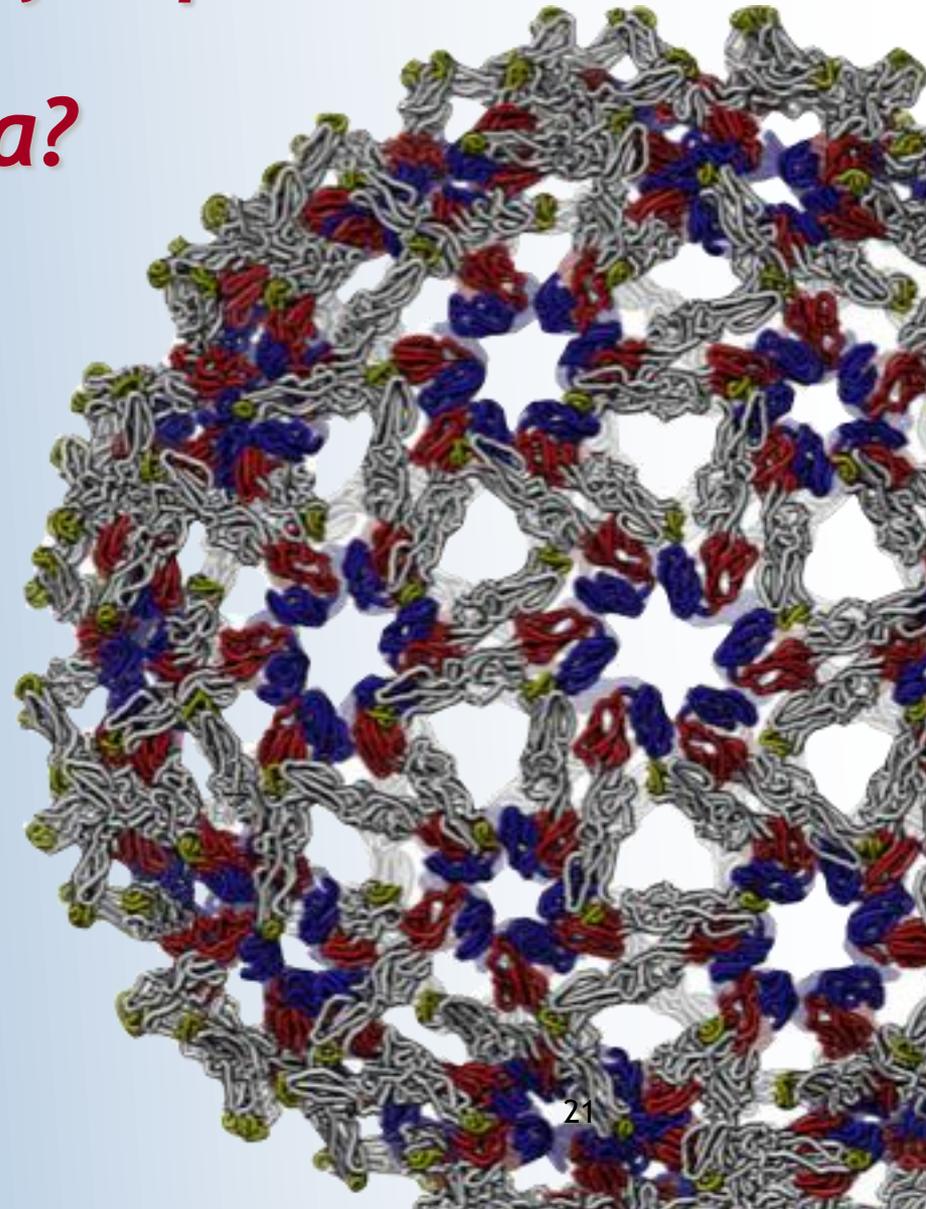
¿Puede la Cristalografía ayudar a la Medicina?

- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



¿Cómo la Cristalografía puede ayudar a la Medicina?

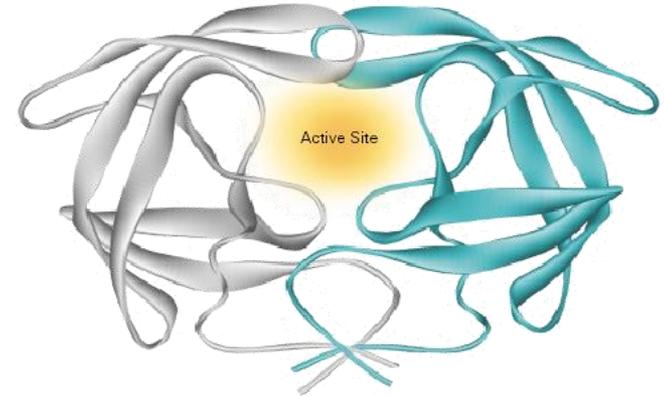
- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



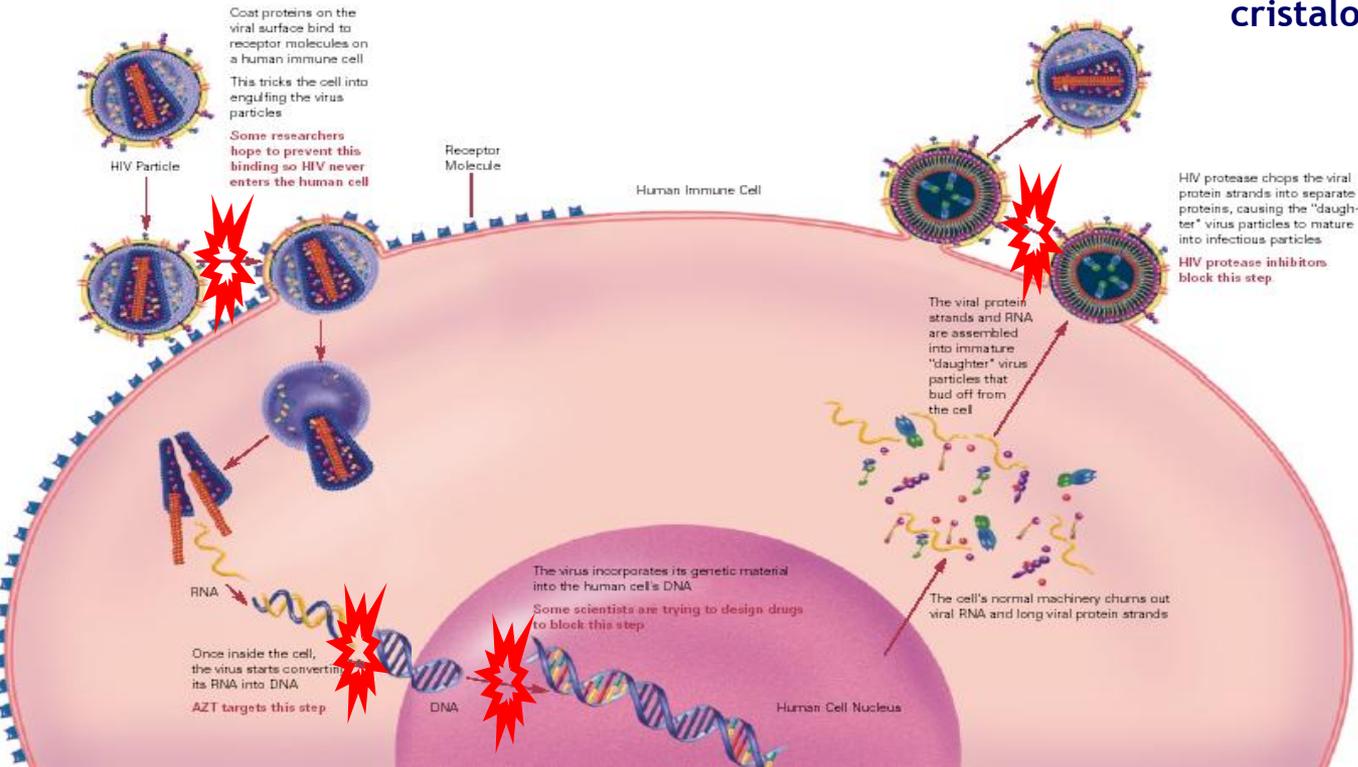
Diseño de fármacos basado en la estructura

Diseño de Antivirales contra el SIDA

Mecanismo de infección y replicación del VIH



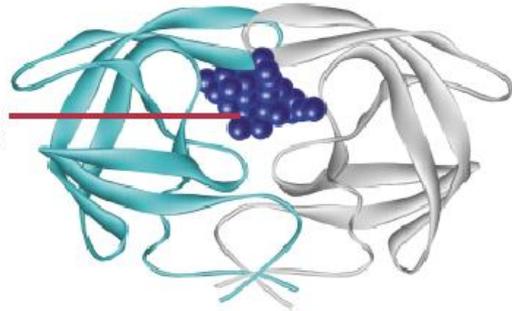
1989- determinación de la estructura cristalográfica de la proteasa del VIH



Diseño de fármacos basado en la estructura

Diseño de Antivirales contra el SIDA

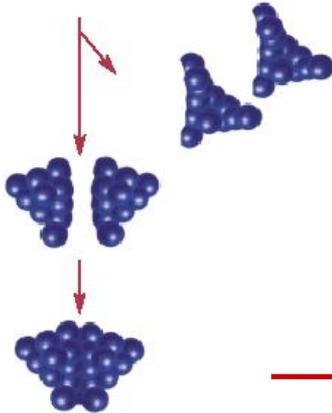
Sustrato natural



1



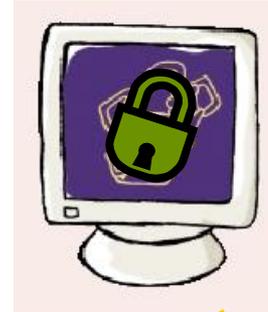
2



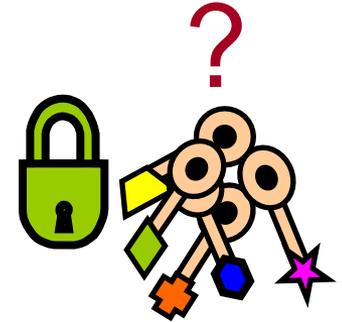
3

Compuesto lider inicial

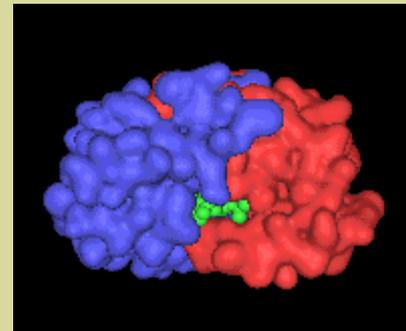
Basado en la estructura



Método tradicional



Compuesto lider inicial



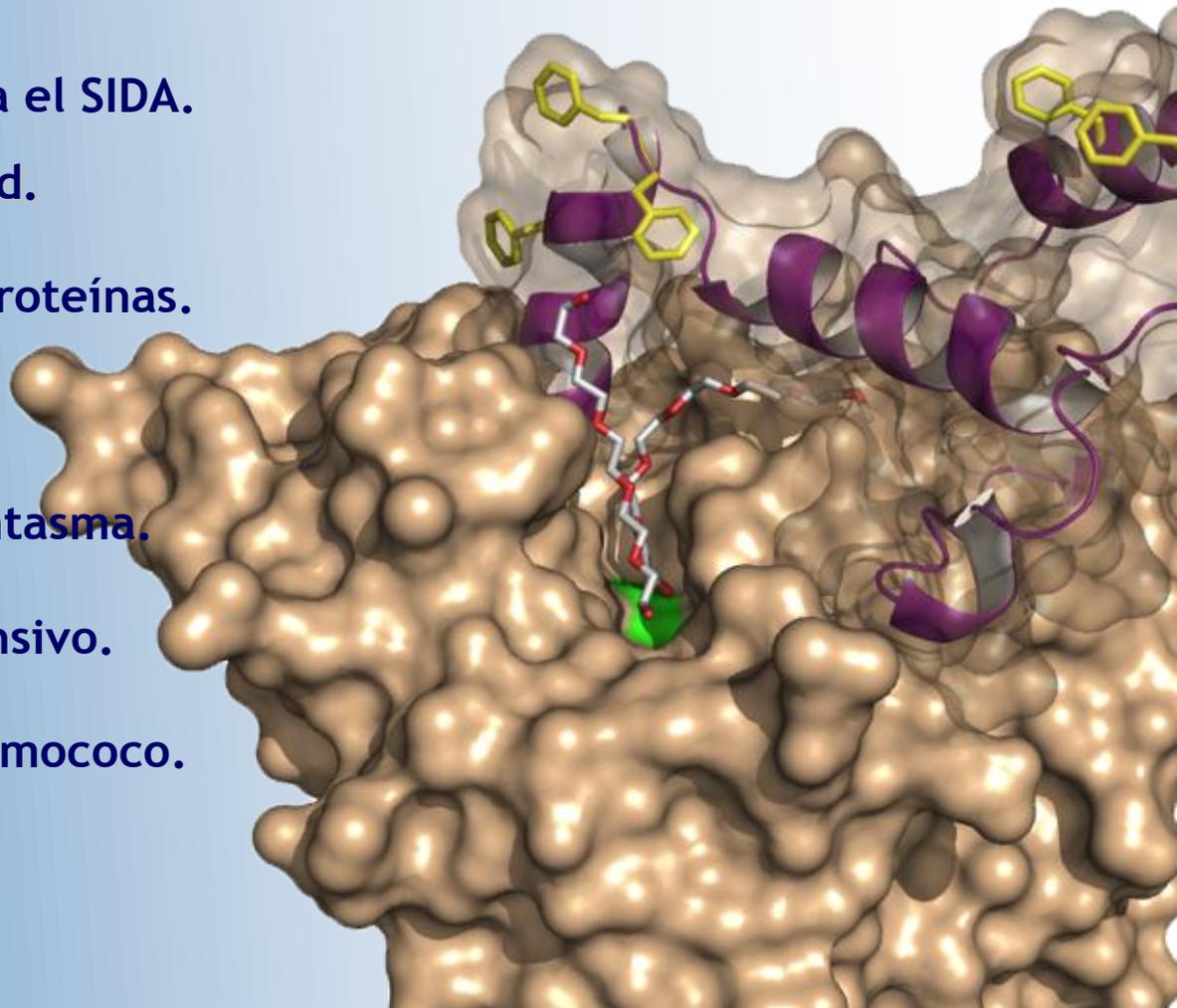
1989→1996 (8 años) se pusieron tres fármacos distintos en el mercado.

Con el método tradicional esto habría supuesto 500 millones de \$ y 15 años de desarrollos.

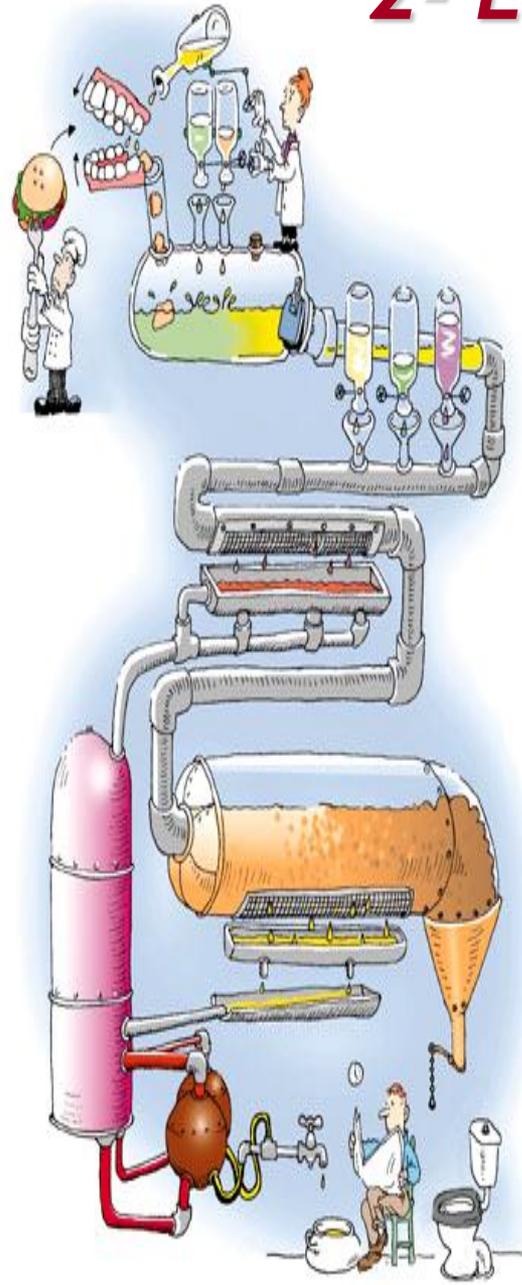


¿Cómo la Cristalografía puede ayudar a la Medicina?

- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



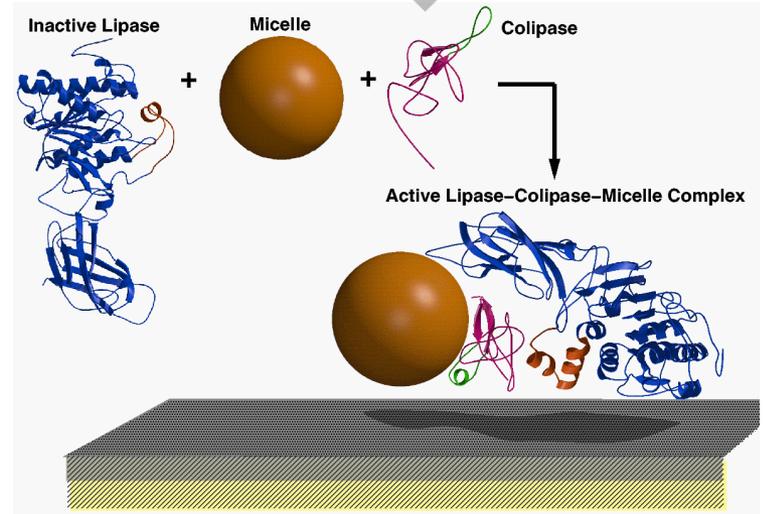
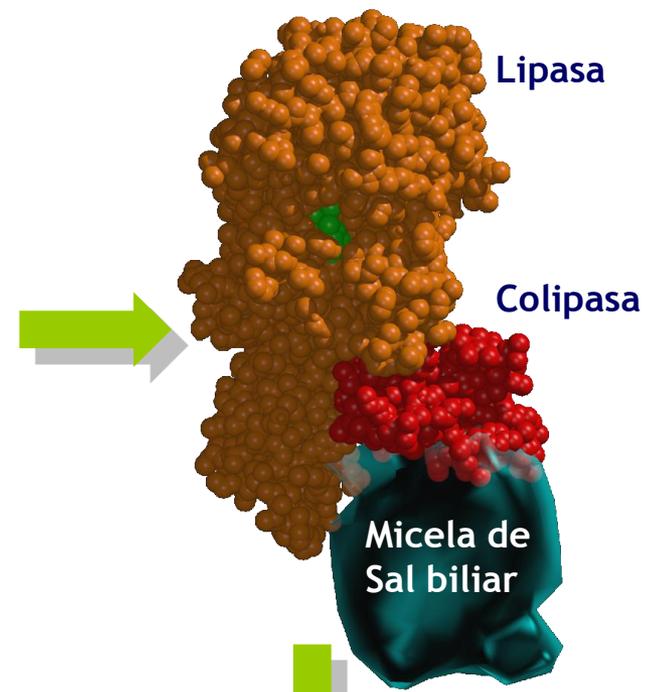
2- Luchando contra la obesidad



Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .

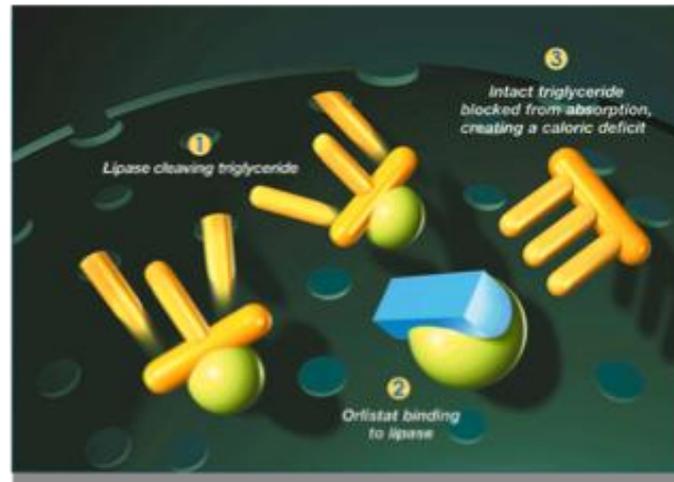
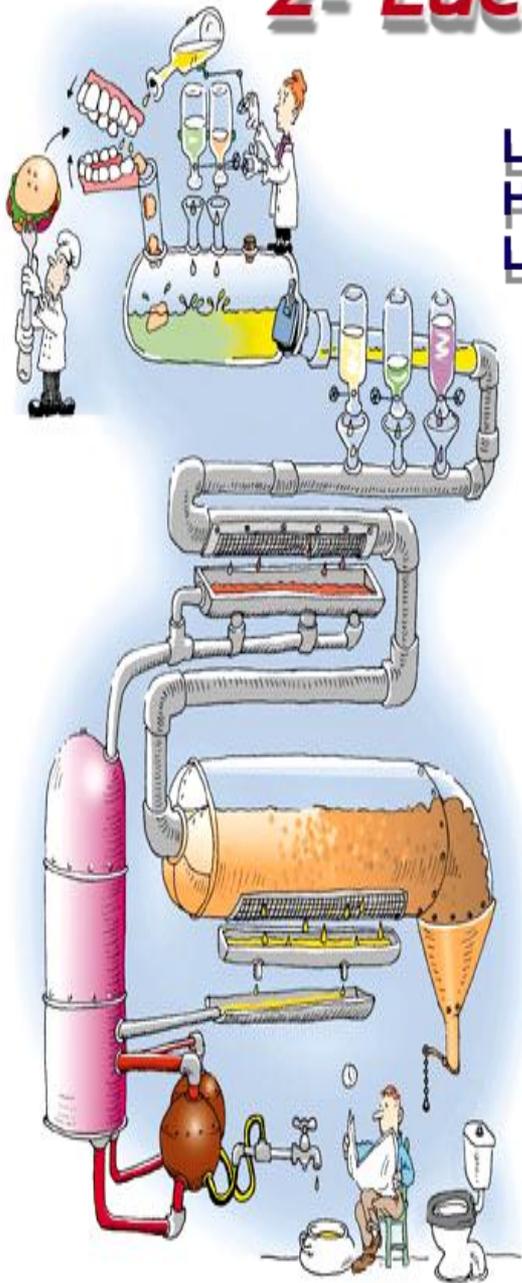
Hermoso et al. J. Biol. Chem (1996)
Hermoso et al. EMBO J. (1997)

La determinación estructural ha permitido postular un mecanismo de activación de la enzima.



2- Luchando contra la obesidad

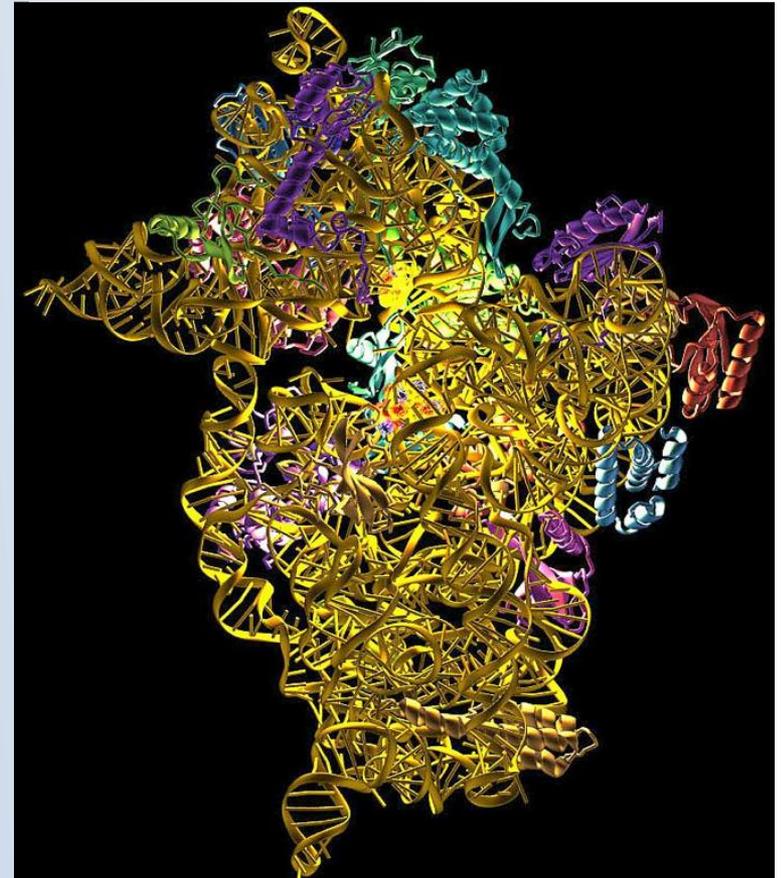
La comprensión del mecanismo de activación de la lipasa
Ha permitido el desarrollo de nuevos fármacos que bloquean
La enzima:



El 30% de las grasas ingeridas
No se absorben.

¿Cómo la Cristalografía puede ayudar a la Medicina?

- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



Bloqueando específicamente la factoria proteica

- Ribonucleoproteína de 2.6–2.8 MDa
- Diámetro de 200–250 Å.
- Más de 50 proteínas 3 especies de RNA

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor Animation.

El ribosoma es la diana de 7 clases diferentes de antibióticos usados ya clínicamente.

Class	Examples
Macrolides and ketolides	Erythromycin, azithromycin, clarythromycin, telithromycin
Lincosamides	Clindamycin
Streptogramins	Quinupristin and dalfopristin
Chloramphenicol	Chloramphenicol
Aminoglycosides	Gentamicin, amikacin
Tetracyclines	Tetracycline, minocycline, doxycycline
Oxazolidinones	Linezolid

El Sancta Sanctorum del Ribosoma...

Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor Motion JPEG A.

Bloqueando específicamente la factoria proteica

Las estructuras cristalográficas de los ribosomas bacterianos han identificado las interacciones involucradas en el reconocimiento antibiótico-ribosoma.

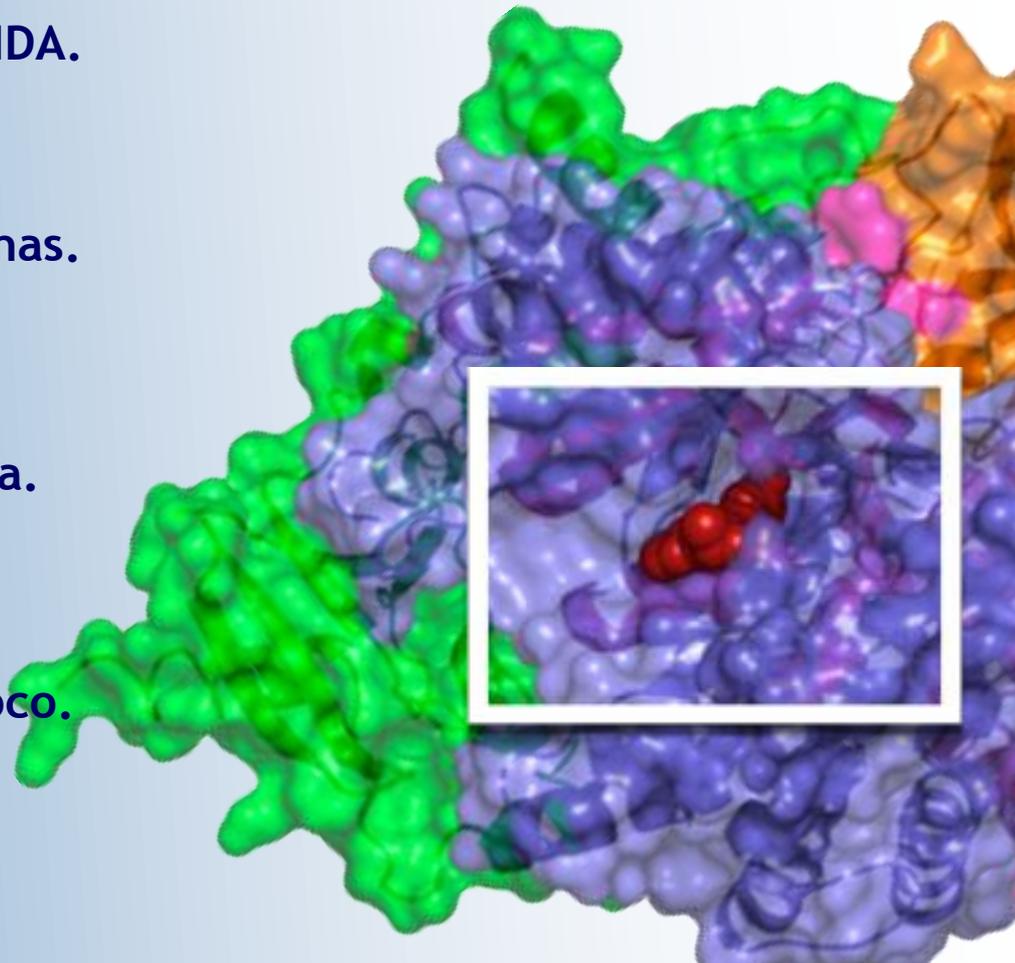


Base para el diseño racional de nuevos fármacos.

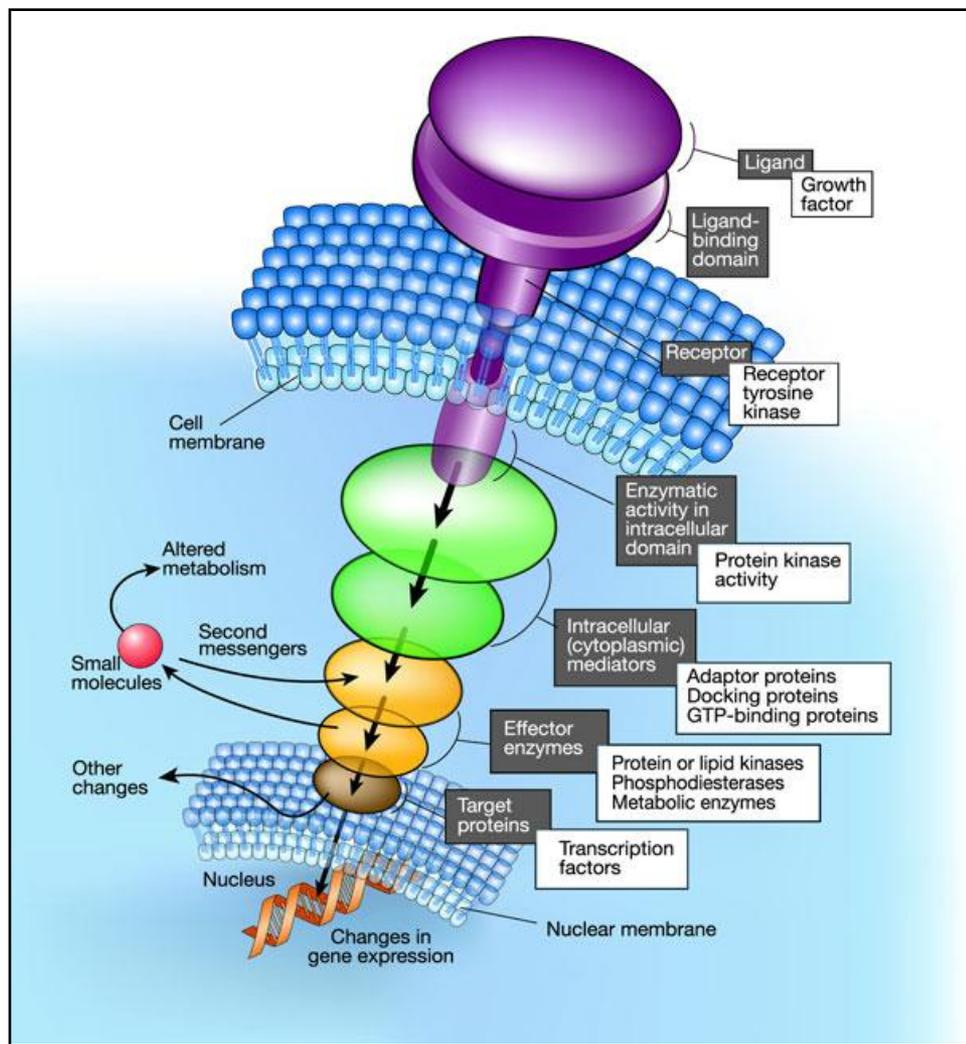
PDB code	Organism	Resolution	Antibiotics
30S subunit			
1J5E*	<i>T. t</i>	3.05	None
1FJG	<i>T. t</i>	3.00	Streptomycin, spectinomycin, paromomycin
1HNW	<i>T. t</i>	3.40	Tetracycline
1I97	<i>T. t</i>	4.50	Tetracycline
1HNX	<i>T.</i>	3.40	Pactamycin
1HNZ	<i>T. t</i>	3.30	Hygromycin
1I94	<i>T. t</i>	3.2	None
1I95	<i>T. t</i>	4.50	Edeine
1I96	<i>T. t</i>	4.20	None, but IF3
1HRO	<i>T. t</i>	3.20	None, but IF1
50S subunit			
1JJ2*	<i>H. m</i>	2.40	None
1FFZ	<i>H. m</i>	3.2	Puromycin
1FG0	<i>H. m</i>	3.00	Puromycin
1JZX	<i>D. r</i>	3.10	Clindamycin
1JZY	<i>D. r</i>	3.50	Erythromycin
1JZZ	<i>D. r</i>	3.80	Roxithromycin
1J5A	<i>D. r</i>	3.50	Clarithromycin
1K01	<i>D. r</i>	3.50	Chloramphenicol
70S subunit			
1GIX 1GIY	<i>T. t</i>	5.5	None, but tRNAs
Model systems			
1G1X	<i>T. t</i>	2.60	S15 binding domain
Not released	<i>E. c</i>	2.5	A-site with paromomycin
1MMS	<i>T. m</i>	2.57	L11 binding domain
1QA6	<i>B. s</i>	2.80	L11 binding domain

¿Cómo la Cristalografía puede ayudar a la Medicina?

- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



Señalización Celular



Downward J. *Nature* (2001) 411, 759

Error en el procesamiento de
señales celulares



Enfermedades



Terapias adecuadas



Bases moleculares
de la transducción de señales

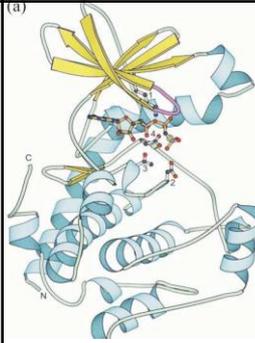


Cristalografía de
Proteínas

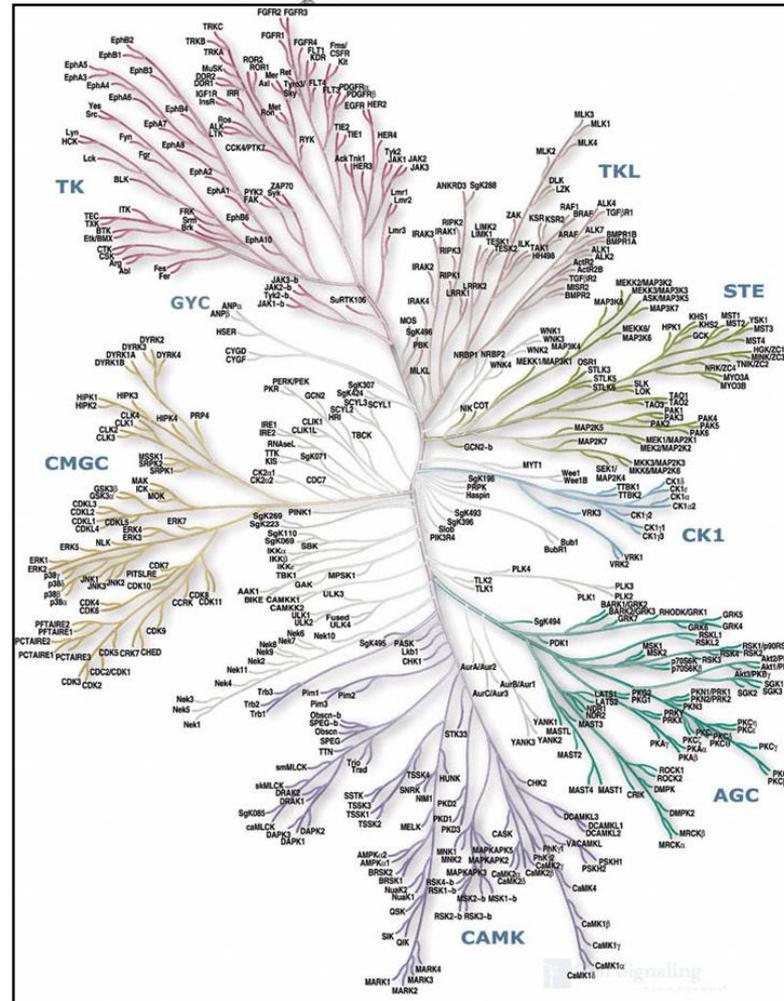
Clasificación de las quinasas

Grupo 1 Proteína quinasas

- 1.1 Prot.S/T-Y K (1cdk)
- 1.2. SAYCAR sintasa
- 1.3. ATP Grasp



El kinoma humano: 518 Proteína quinasas



518 miembros Kinoma humano

150 PKs asociadas con enfermedades

Diseño de fármacos

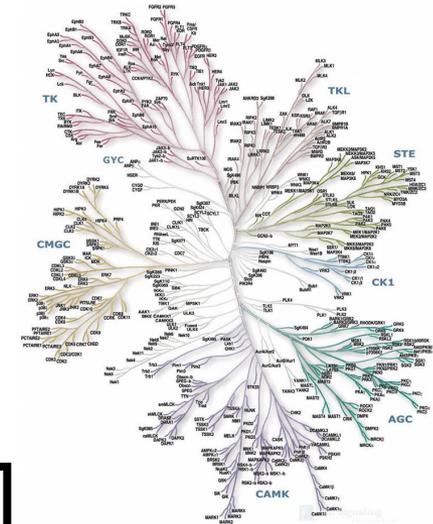
Estrategias

- Bloquear unión ATP
- Eliminación interacciones proteína-proteína
- Regular expresión

Problemas

- Toxicidad
- Resistencias

Importante encontrar una diana adecuada



PKs: inhibición

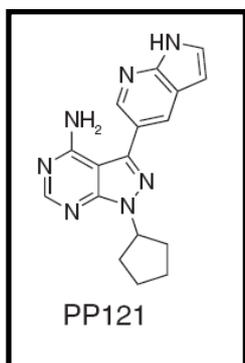
Compañía	Inhibidor	Mecanismo	Indicación
Receptores tirosina quinasas			
Genentech	Herceptina	Anticuerpo monoclonal que une dominio extracelular de ErbB2 induciendo su internalización	Cáncer de pecho
Astra-Zeneca	Iressa	Inhibidor competitivo de ATP en EGFR	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
OSI Pharmaceuticals	Tarceva	Inhibidor competitivo de ATP en EGFR	Cáncer de pulmón de células no pequeñas y de páncreas
Imclone, BMS	Cetuximab	Anticuerpo monoclonal EGFR	Cáncer colorrectal
Genentech	Bevacizumab	Anticuerpo monoclonal VEGFR	Cáncer colorrectal
Pfizer	Sunitinib	Inhibidor competitivo de ATP en varios receptores Tirosina quinasas	Cáncer renal y gastrointestinal
Novartis	Tasigna	Inhibidor competitivo de ATP en Bcr-Abl kin y PDGF	CML
Amgen	Panitumumab	Inhibidor competitivo de ATP en PI3Ks	Cáncer colorrectal
GlaxoSmithKlin	Lapatinib	Inhibidor del dominio quinasa intracelular de ErbB1 y ErbB2	Cáncer de pecho
No receptores tirosina quinasas			
Novartis	Gleevec	Pequeña molécula une forma inactiva de BCr-ABI	CML
Familia de las lípido quinasas			
Wyeth Pharms	Torisel	Inhibidor competitivo de ATP en mTOR: derivado de rapamicina	Cáncer renal
Serina-Treonina quinasas			
Axon Medchem	BIRB796	Pequeña molécula	Artritis reumatoide y enfermedad de Crohn
Vertex Pharmaceuticals	VX-702	Pequeña molécula	Inflamación e infarto
Bayer/Onyx	Sorafenib	Pequeña molécula	Cáncer de riñón

Plasticidad del centro activo: explotar para el diseño de fármacos

Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor YUV420 códec.

Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor YUV420 códec.

PP121 estabiliza la conformación activa de las tirosina quinasas



Inhibidor más potente específico de TyrKs y PI3Ks

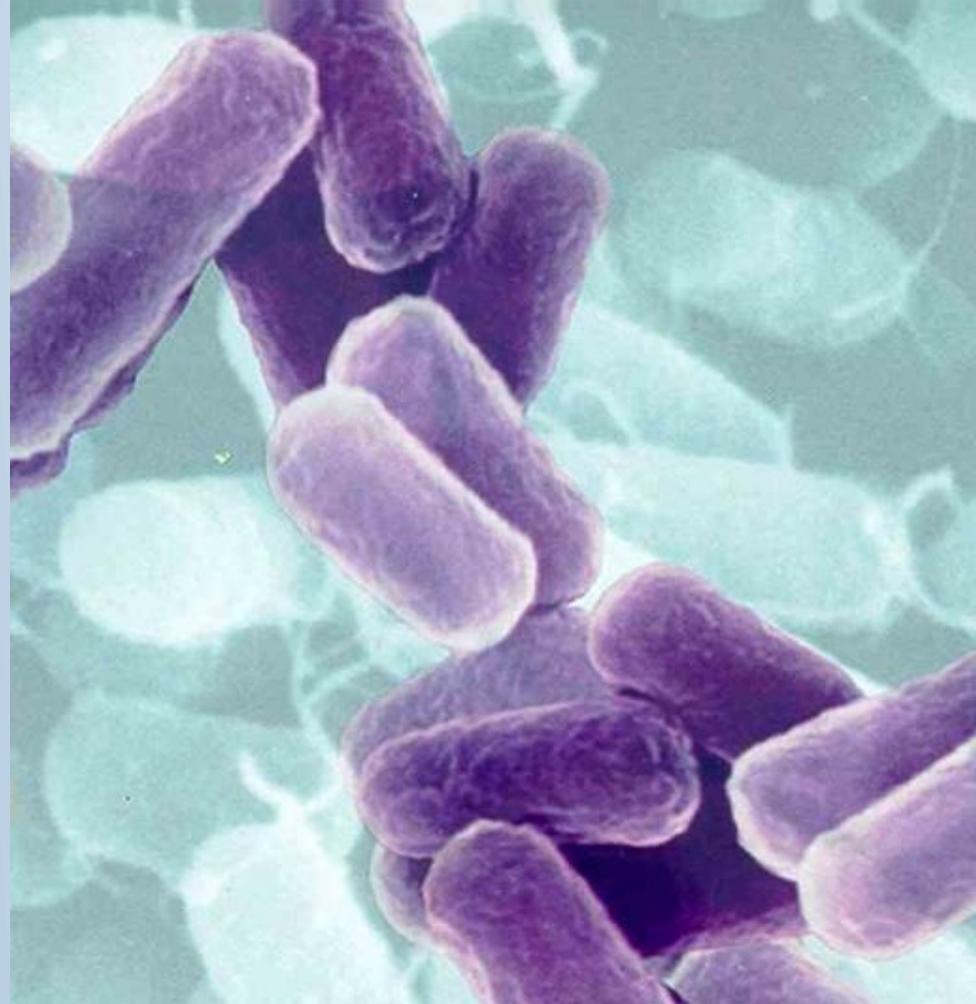
Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor H.264.

Bases estructurales de la selectividad dual en PI3Ks y TyrKs

ApseI B., Blair J.A., **Gonzalez B.**, Nazif T.M., Feldman M., Williams R.L., Shokat K.M., and Knigh Z.A.
Nature Chem. Biol. (2008) 4, 691

¿Cómo la Cristalografía puede ayudar a la Medicina?

- I - Diseño de Antivirales contra el SIDA.
- II - Luchando contra la obesidad.
- III - El ribosoma: la fábrica de proteínas.
- IV - Nuevos anticancerígenos.
- V - Patógenos: La Amenaza Fantasma.
 - a) Nuestro sistema defensivo.
 - b) El patógeno dorado.
 - c) Avances contra el neumococo.



El problema de la resistencia a los antibióticos

Antibiótico



Cualquier compuesto que mata o afecta gravemente al crecimiento bacteriano.



A. Fleming (1928)

G. Domagk (1930)



Penicilina

Sulfamida



Erradicación de las enfermedades mortales bacterianas



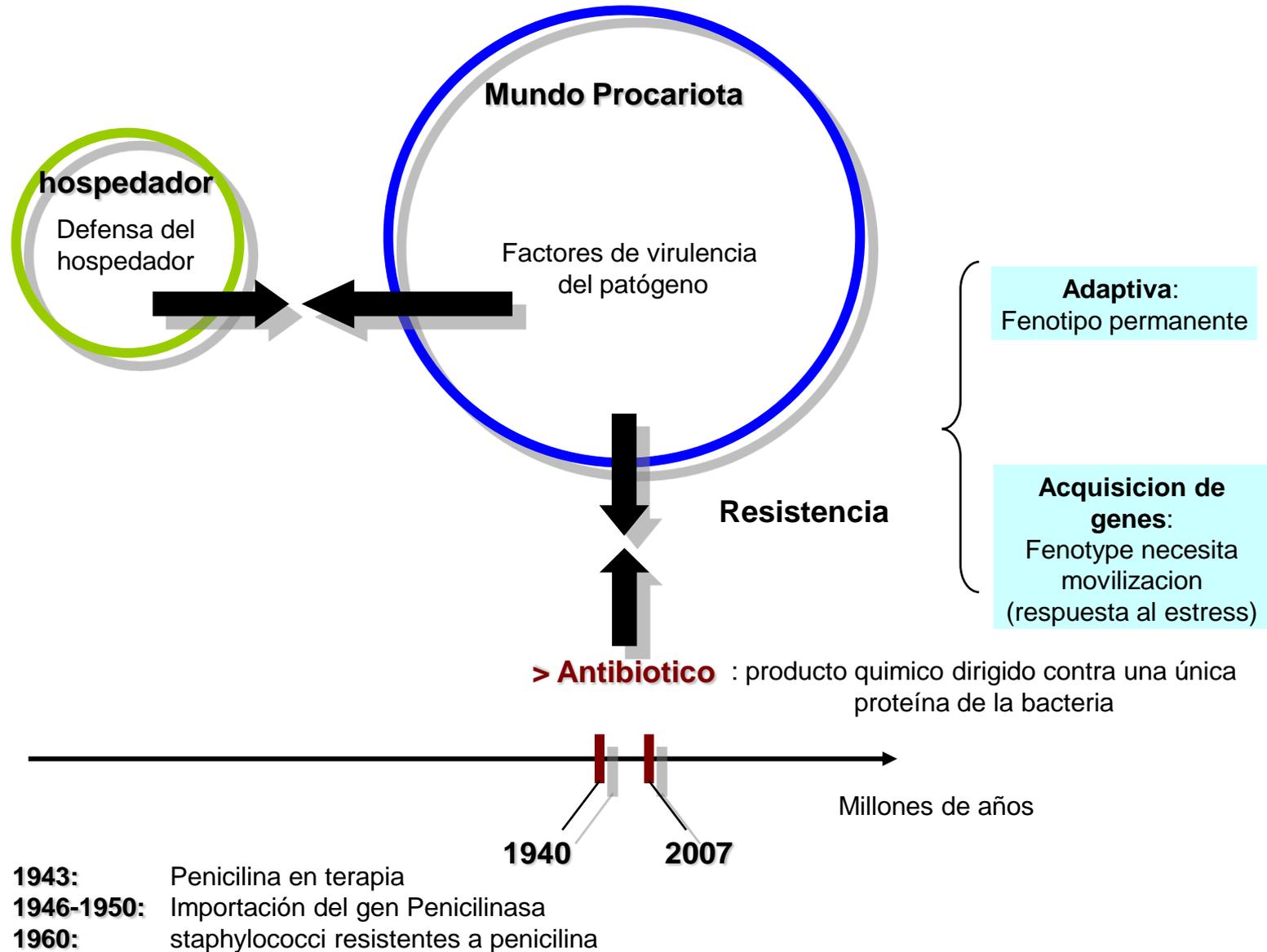
**DEPENDENCIA
ABSOLUTA
DE LOS ANTIBIÓTICOS.**

USA (1998)

80 millones de recetas anuales

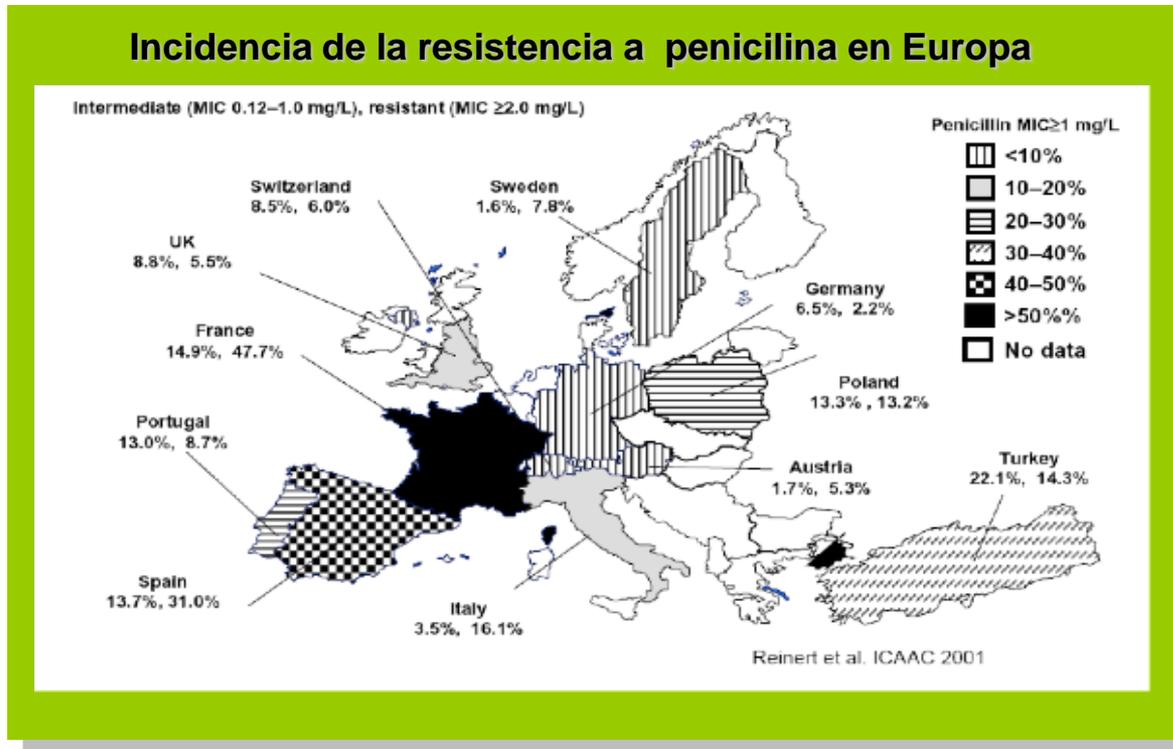
12.500 toneladas de antibióticos

Más de 200 genes de *Staphylococcus aureus* están implicados en patogénesis!!



Dispersión mundial de la multi-resistencia a antibióticos

La resistencia a antibióticos se ha dispersado rápidamente por todo el mundo



El aumento de la prevalencia de la multi-resistencia representa la mayor dificultad en una terapia exitosa frente a las enfermedades del neumococo

El Arte de la Guerra



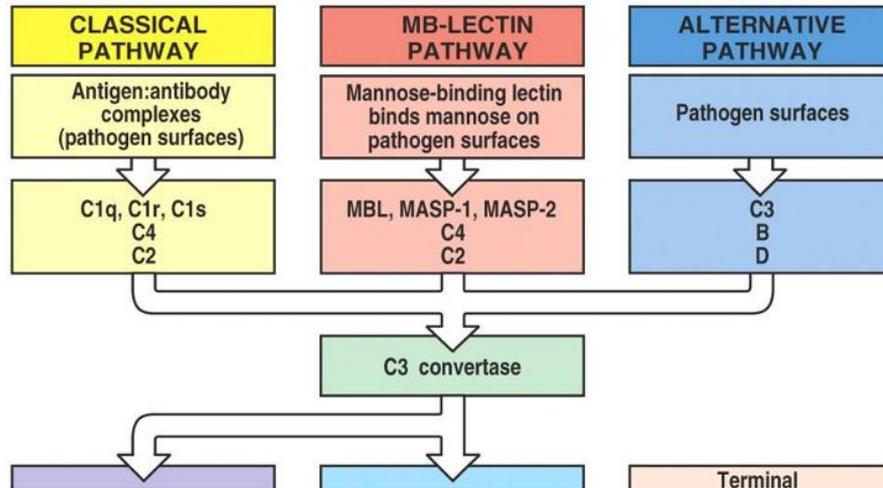
“Por tanto os digo: Conoce a tu enemigo y concóctete a ti mismo; en cien batallas, nunca saldrás derrotado. Si eres ignorante de tu enemigo pero te conoces a ti mismo, tus oportunidades de ganar o perder son las mismas. Si eres ignorante de tu enemigo y de ti mismo, puedes estar seguro de ser derrotado en cada batalla”.

孫子兵法

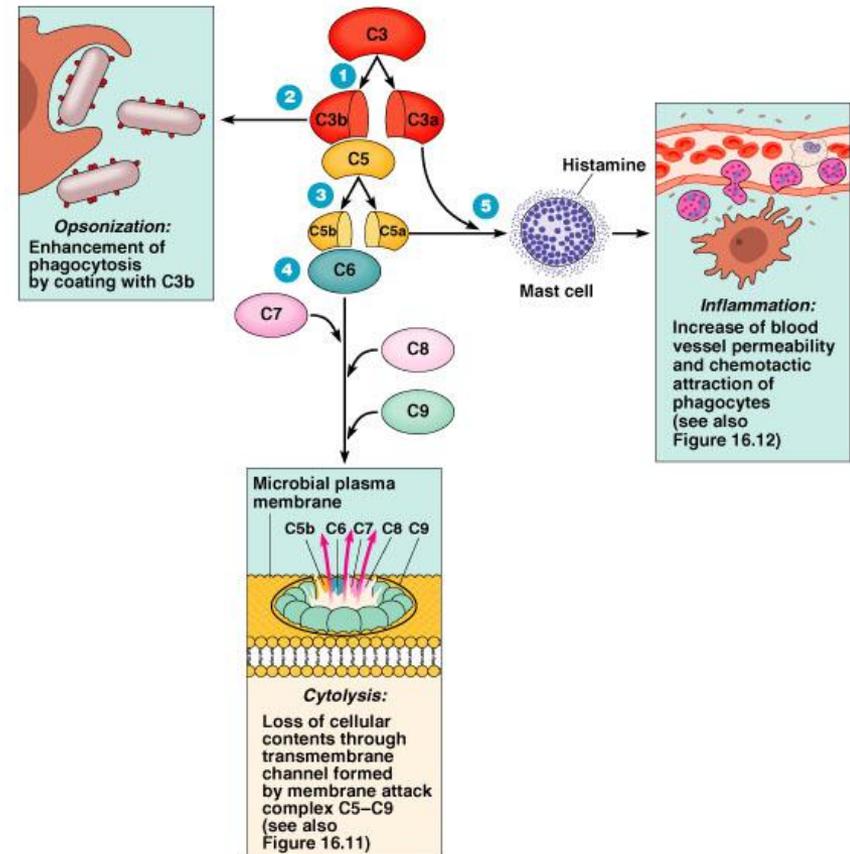
Sun Tzu (500 a.c.)

“...conócese a ti mismo”

El Sistema del Complemento humano

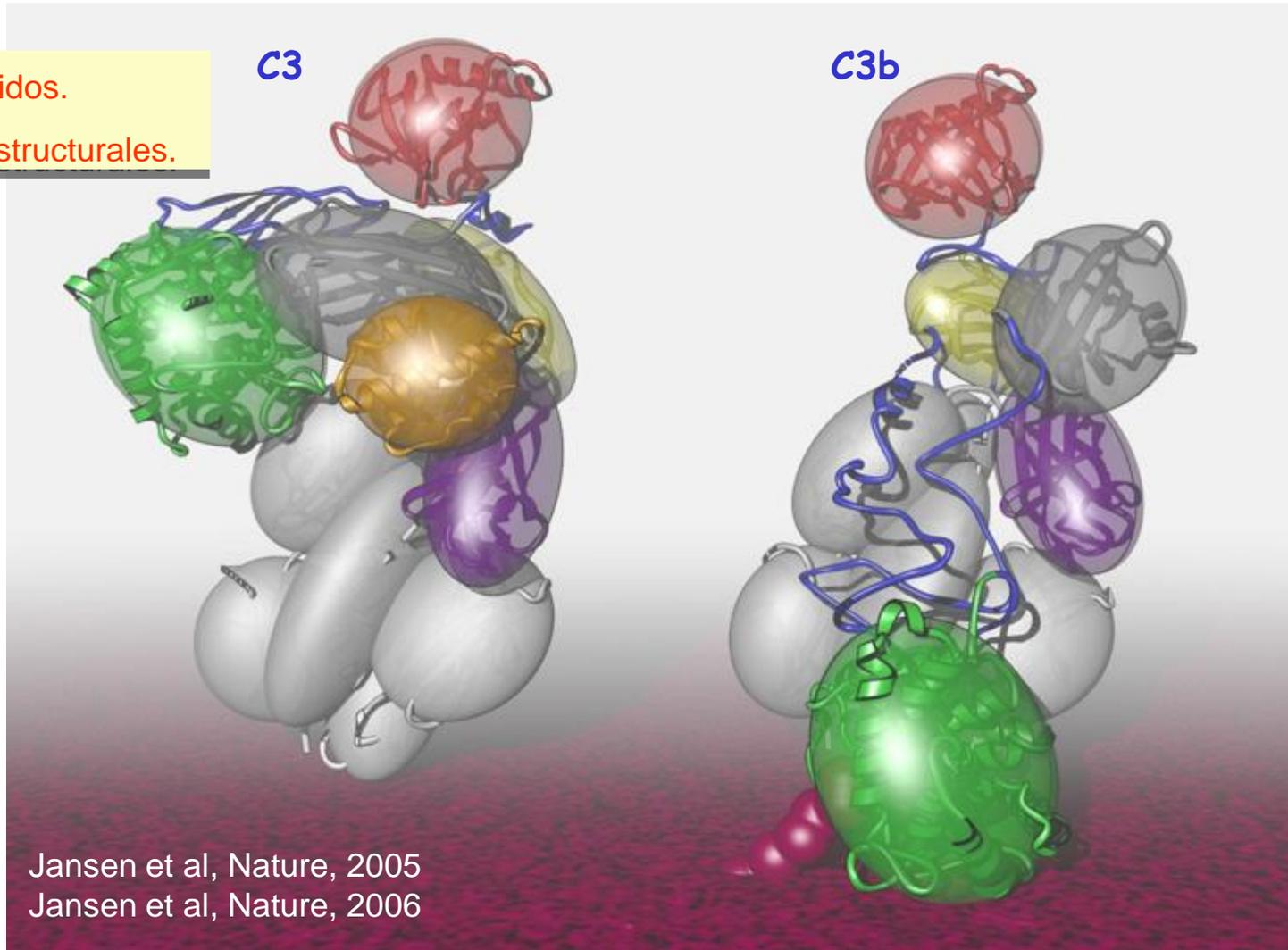


En Inmunología, el sistema del complemento, uno de los componentes fundamentales de la respuesta inmunitaria en la defensa, por ejemplo, ante un agente hostil. Consta de un conjunto de moléculas plasmáticas implicadas en distintas cascadas bioquímicas, cuyas funciones son potenciar la respuesta inflamatoria, facilitar la fagocitosis y dirigir la lisis de células incluyendo la apoptosis.[1] Constituyen un 15% de la fracción de inmunoglobulina del suero. No pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas



El Santo Grial en la Investigación del Complemento: La estructura cristalográfica de la convertasa C3

- 1560 aminoácidos.
- 12 dominios estructurales.



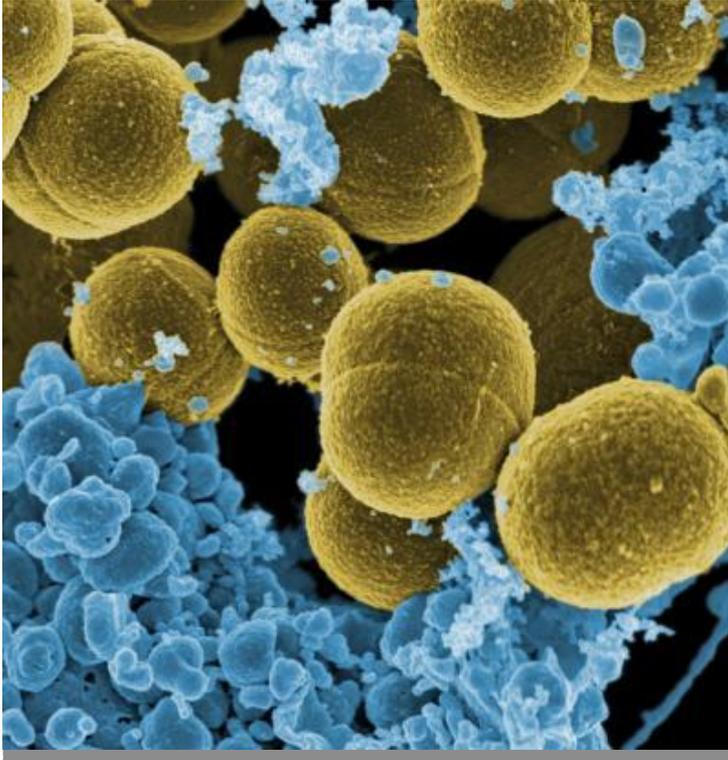
En l
com
defe
con
cas
resp
célu
frac
sup

La transformación de C3 en C3b vista a partir de las estructuras cristalográficas

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor h264.

“...conoce a tu enemigo”

Staphylococcus aureus



Bacteremia (infección en la sangre).# Enfermedades del corazón, cómo la endocarditis (inflamación de la cubierta interna del corazón).# Meningitis (inflamación de las coberturas de el cerebro y la espina).# Osteomielitis (infección ósea) o artritis (inflamación de las articulaciones).# Neumonía (infección e inflamación de los pumones).# Infecciones de la piel y tejidos blandos



Patogenicidad del S. aureus

moléculas de adhesión
MSCRAMMS

Microcapsula

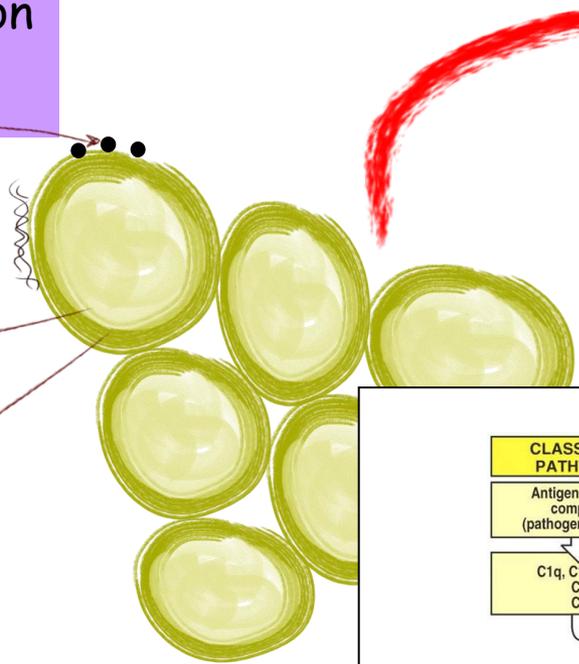
Invasinas

Toxinas

PVL

TSST-1

Alpha toxin



Moléculas de evasión
Immune

evasión Fagocitos
péptidos Antimicrobianos
evasión del Complemento

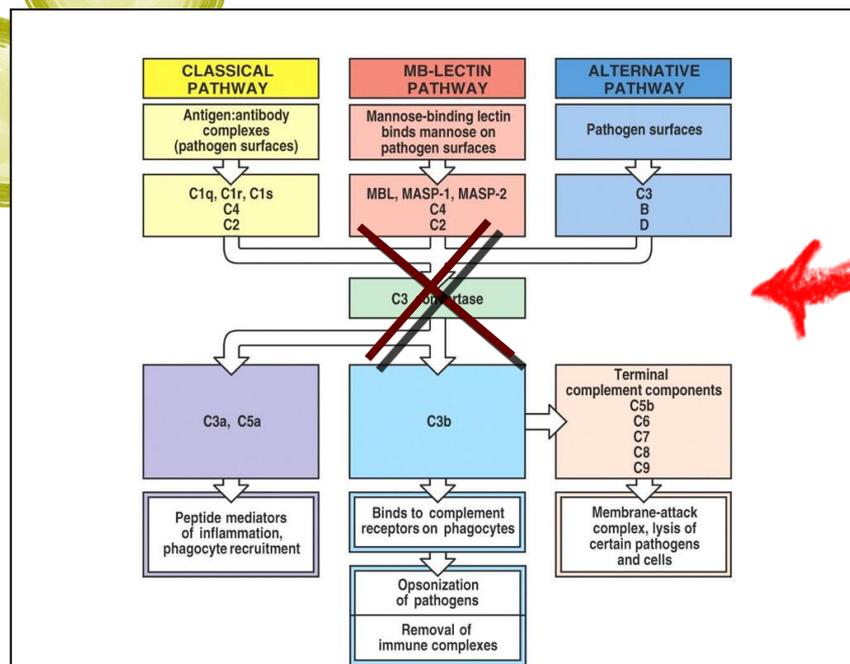


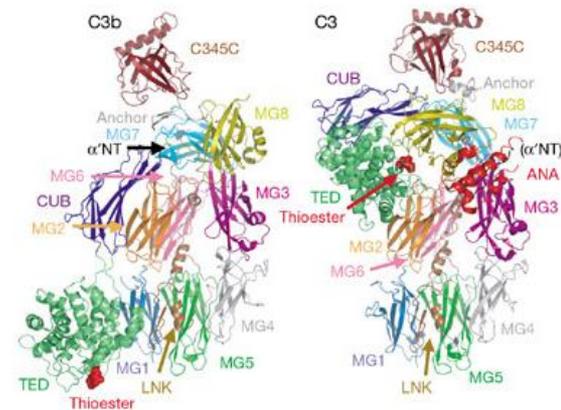
Figure 2-19 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005

SCIN

SCIN bloquea todas las vías del Complemento

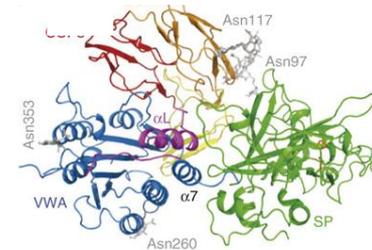
Buscando la estructura del bloqueo...

STEP 1 Jansen et al, Nature, 2005
Jansen et al, Nature, 2006



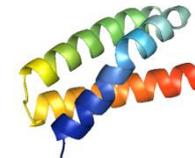
C3, C3b

STEP 2 Milder et al, Nature Struct Mol Biol, 2007



Factor B

STEP 3 Rooijackers et al. J.Immunol, 2007



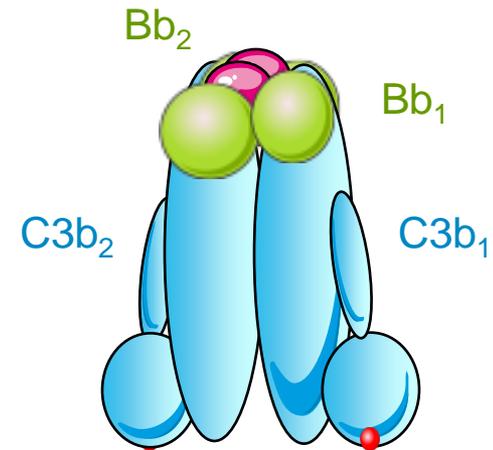
SCIN

STEP 4 C3b + fB + fD + SCIN = C3 Convertasa Estable => Cristal??

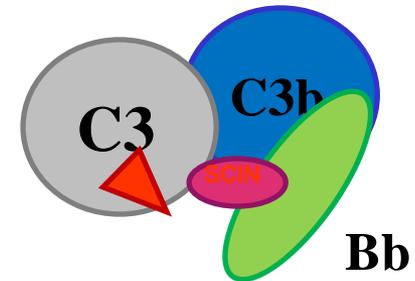
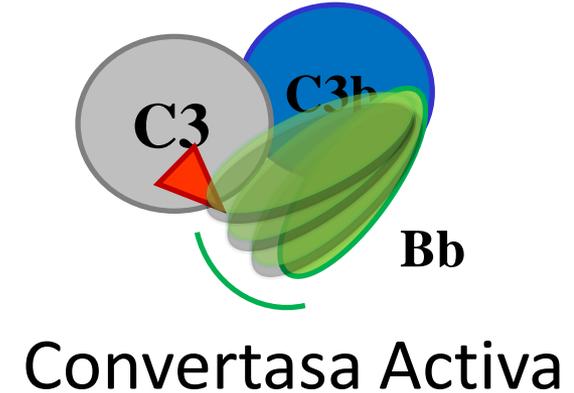
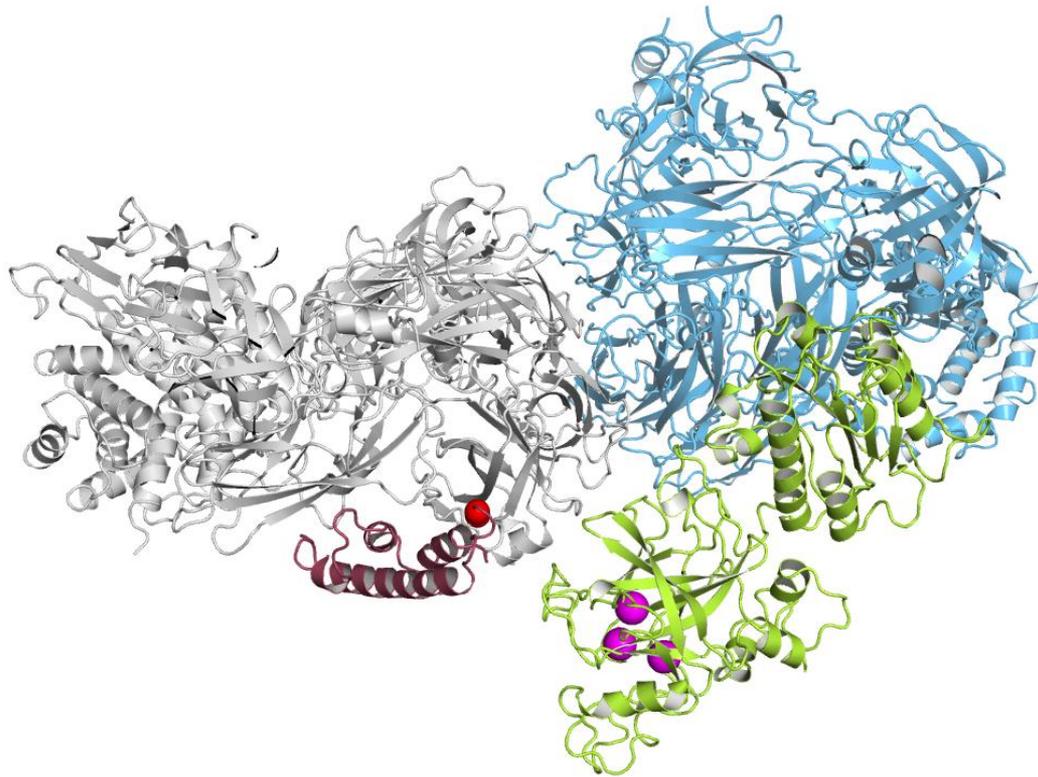
C3bBbSCIN?

Estructura 3D de la convertasa inhibida por SCIN

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor YUV420 codec.



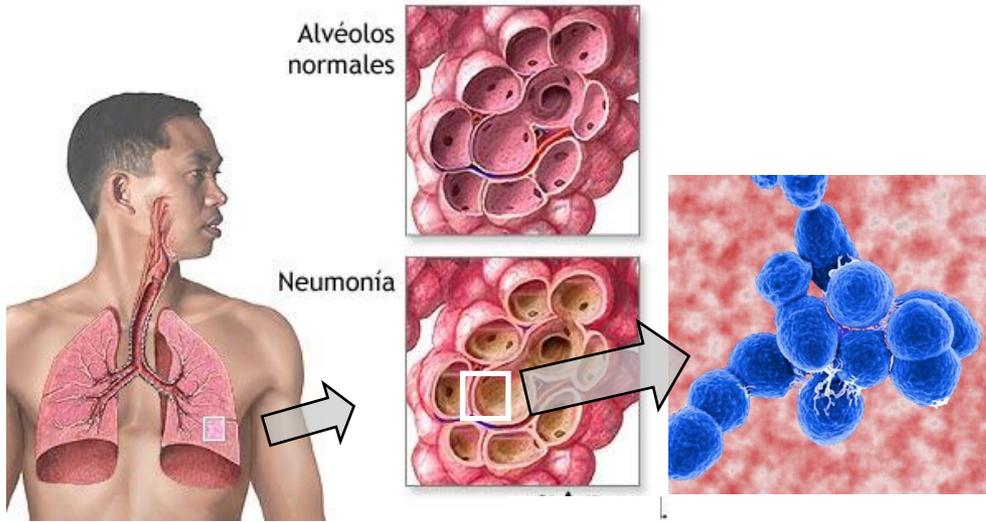
SCIN bloquea el movimiento de Bb



complejo inhibido por SCIN

- El rápido aumento de la comprensión estructural y funcional de la evasión del complemento podría servir como un importantísimo punto de partida para el desarrollo de antimicrobianos o terapias dirigidas al complemento.

El neumococo: un mal bicho



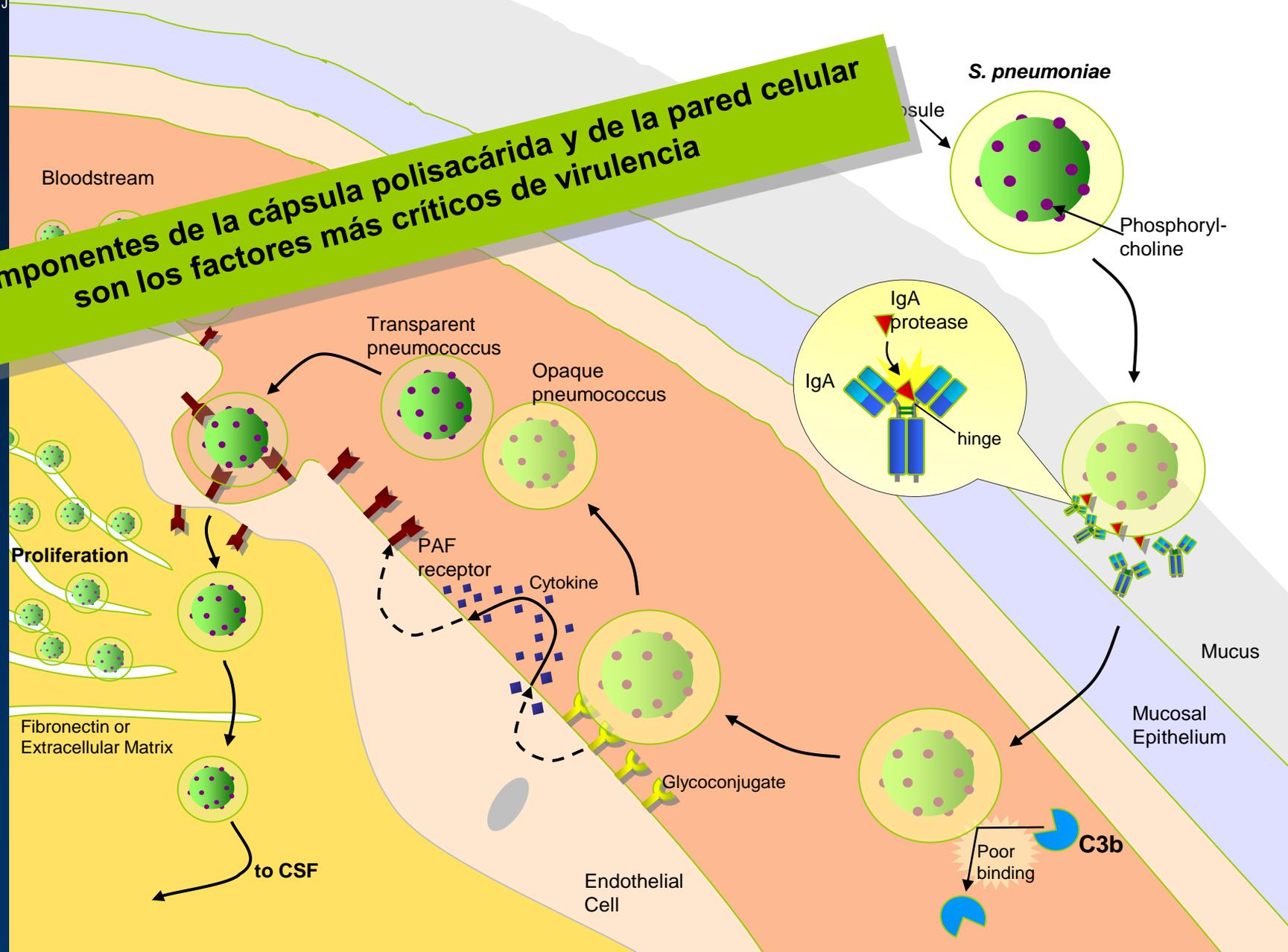
Es el causante de enfermedades como neumonía, Meningitis, otitis....
Y afecta especialmente a niños, personas mayores y personas con problemas de inmunodeficiencia.



**Dado el problema de multi-resistencia
Se necesita urgentemente desarrollar nuevas estrategias terapéuticas**

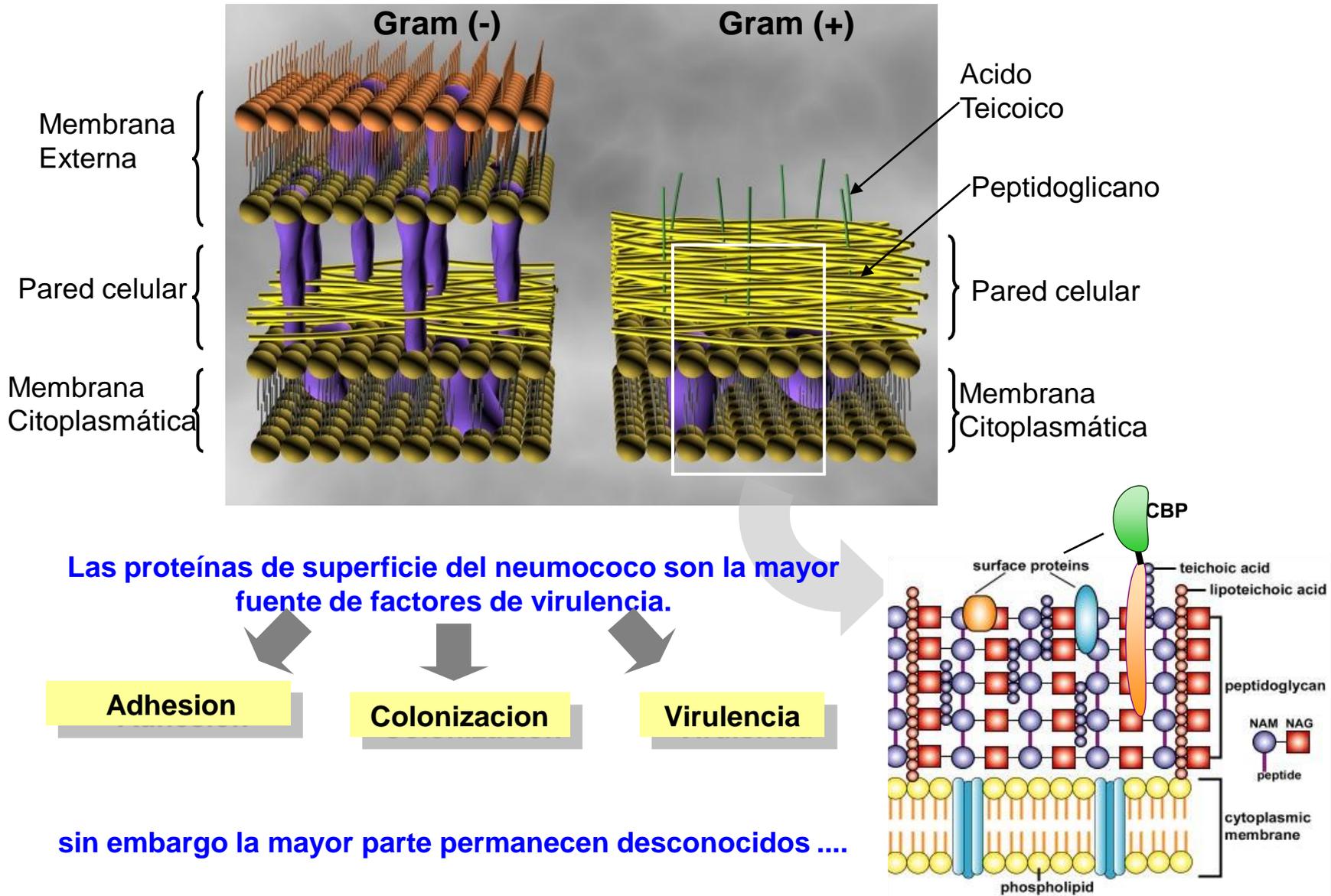
¿¿Cómo nos infecta el neumococo ??

Los componentes de la cápsula polisacárida y de la pared celular son los factores más críticos de virulencia

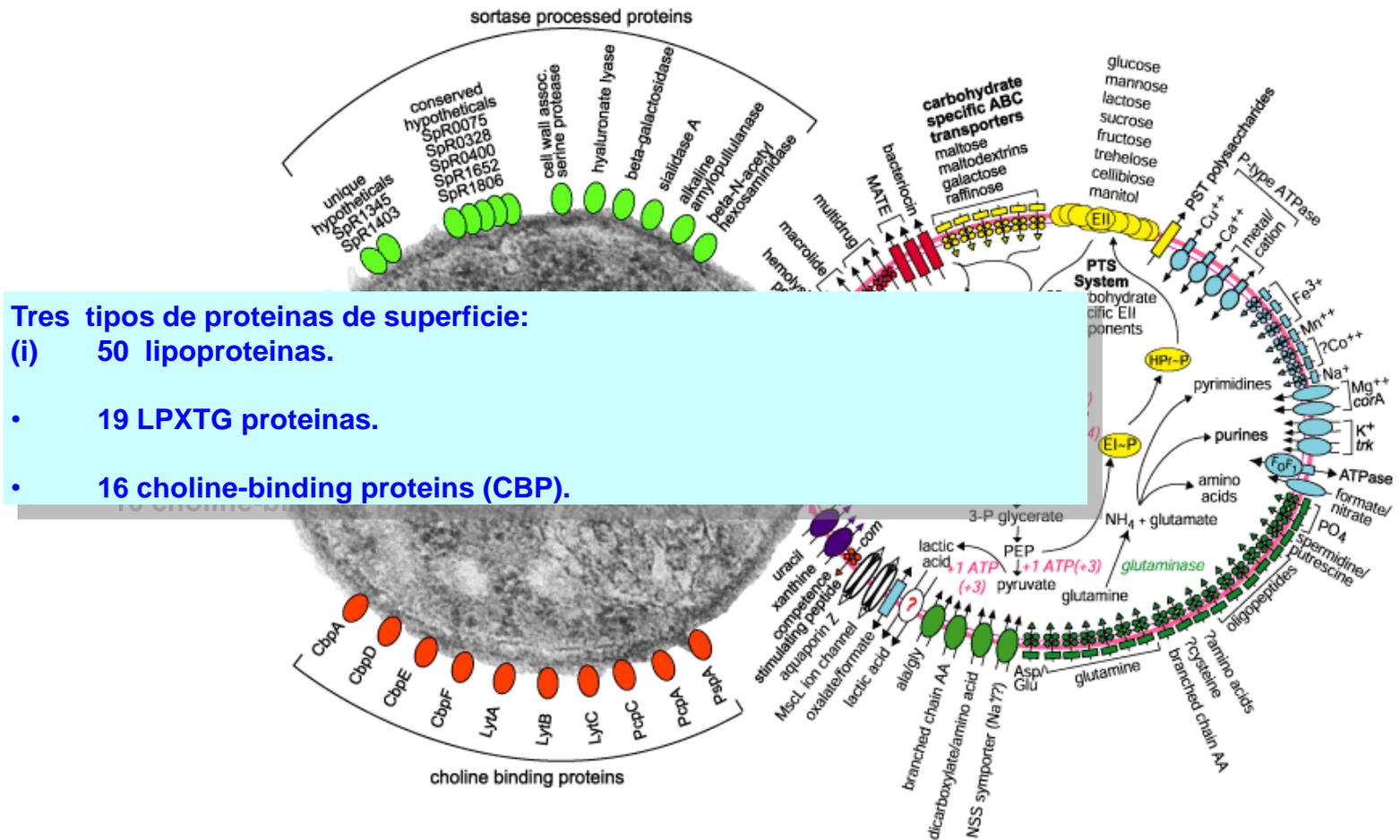


- INTRODUCTION
- S. PNEUMONIAE
- Infect mech.
- The cell wall
- Genome
- CBPs
- CPB
- E
- 3D
- The CBM
- Catal mech.
- Modular org.
- PG binding
- GP-61 LYSIN
- 3D structure
- SIGN-R1 LECTIN
- 3D structure
- CBPF
- 3D structure
- Choline binding
- CbpF function?
- Exp. essays.
- Fatricide and virulence.
- PCE
- 3D structure
- Catal mech.
- Choline binding
- Modular org
- Pce function

Streptococcus pneumoniae es una bacteria Gram (+)



El Genoma de *Streptococcus pneumoniae*



Biología Estructural de las Interacciones Hospedador-Patógeno

3 Aproximaciones

Humano

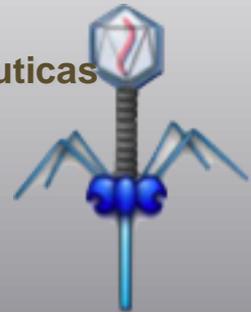
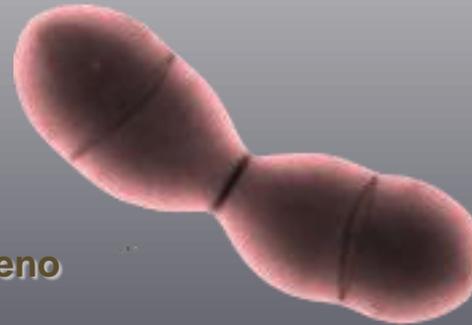
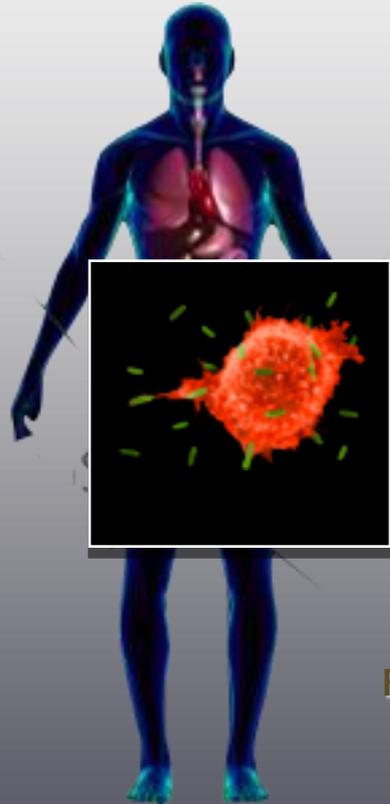
S. pneumoniae

Fago

Factores de Virulencia
&
Mecanismos de Patogénesis

Desarrollo de
nuevas herramientas terapéuticas
(Endolisinas)

Reconocimiento del patógeno
&
Mecanismos de defensa



Biología Estructural de las Interacciones Hospedador-Patógeno

3 Aproximaciones

Humano

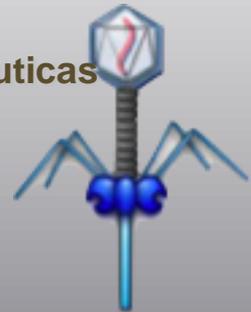
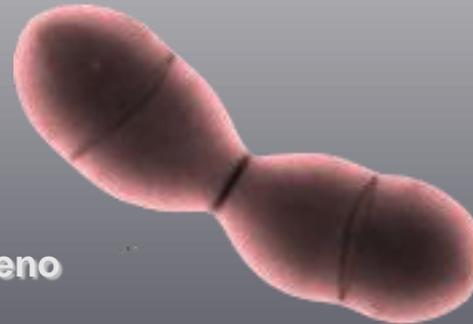
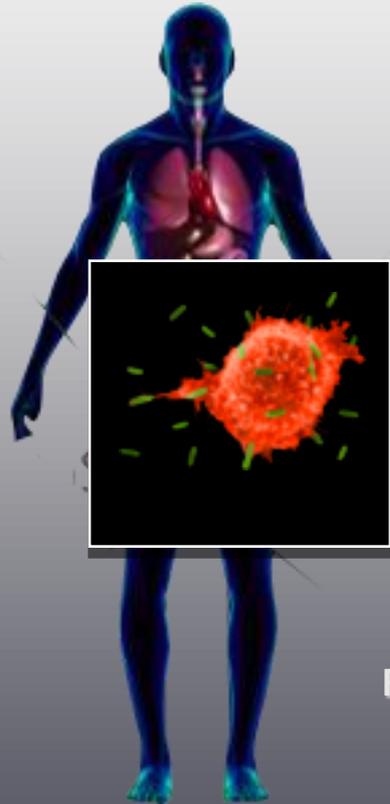
S. pneumoniae

Fago

Factores de Virulencia
&
Mecanismos de Patogénesis

Desarrollo de
nuevas herramientas terapéuticas
(Endolisinas)

Reconocimiento del patógeno
&
Mecanismos de defensa



Los enemigos de mis enemigos son mis amigos....



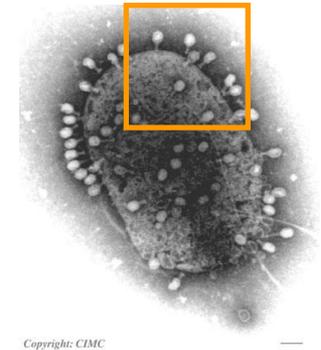
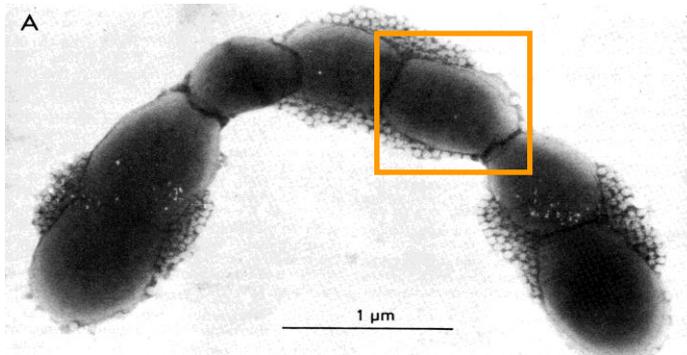
Bacterio-fago = El que se come a las bacterias

Los bacteriófagos eliminan el 80% de las bacterias del fondo marino y liberan al mar 630.000.000 toneladas de carbono cada año !!!!!

Nature, 28 Agosto 2008.

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .

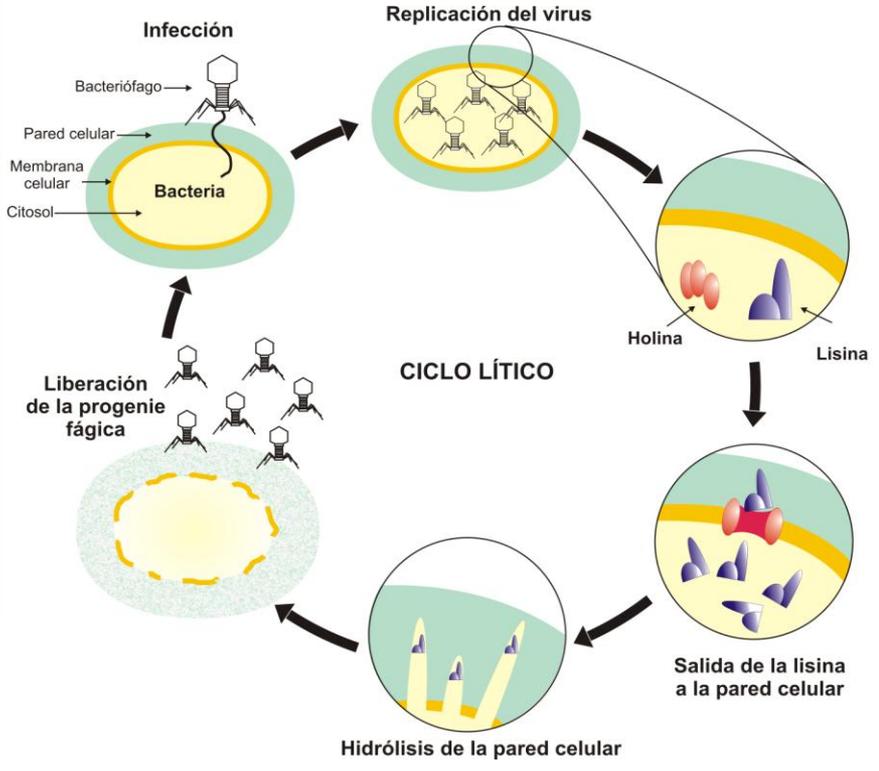
Cp-1: Un fago del neumococo



Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor .

Mecanismo de Infección del fago T4
(Michael G. Rossmann)

Alien vs Fago



Uso terapéutico de las endolisinas: Los Enzibioticos

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .

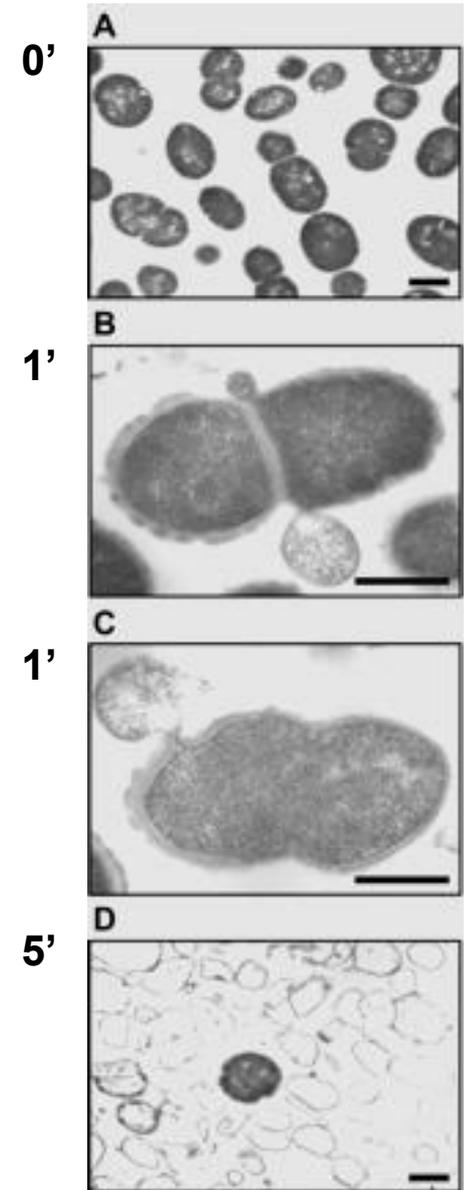


En pocos segundos la endolisina es capaz de eliminar 15 serotipos de neumococo, incluyendo cepas altamente resistentes a penicilina

Rapid Killing of *Streptococcus pneumoniae*

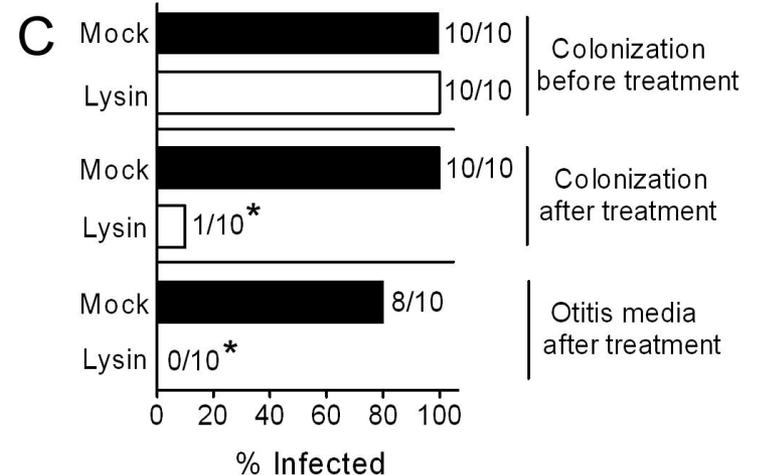
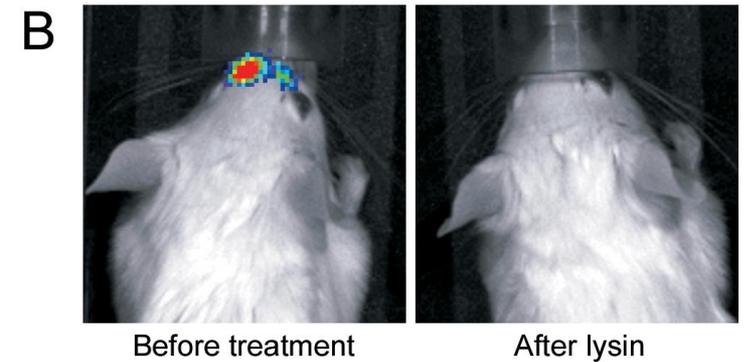
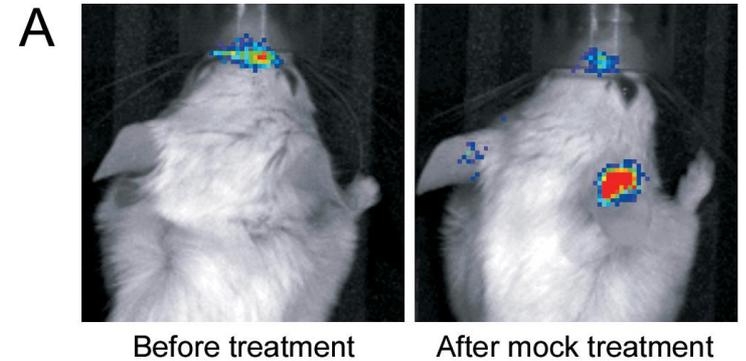
with a Bacteriophage Cell Wall Hydrolase

Loeffler, J.M., Nelson, D. & Fischetti, V.A. (2001) *Science*, 294, 2170-2171.



A los ratones (con enzibiótico) no les duelen los oídos...

Cpl-1 elimina la colonización con *S. pneumoniae* y previene el desarrollo de otitis media.



OPEN ACCESS Freely available online

PLoS PATHOGENS

Opinion

Novel Strategy to Prevent Otitis Media Caused by Colonizing *Streptococcus pneumoniae*

Jonathan A. McCullers*, Åsa Karlström, Amy R. Iverson, Jutta M. Loeffler, Vincent A. Fischetti

Los enzibióticos podrían ser eficaces en..



La lucha contra la resistencia a los antibióticos



O incluso contra el bioterrorismo.....



Sin tu ayuda, los antibióticos pueden dejar de curar. Dáseles a los niños sólo cuando y como se los recete su médico.

Usándoles bien hoy, mañana les protegerán.
www.msc.es

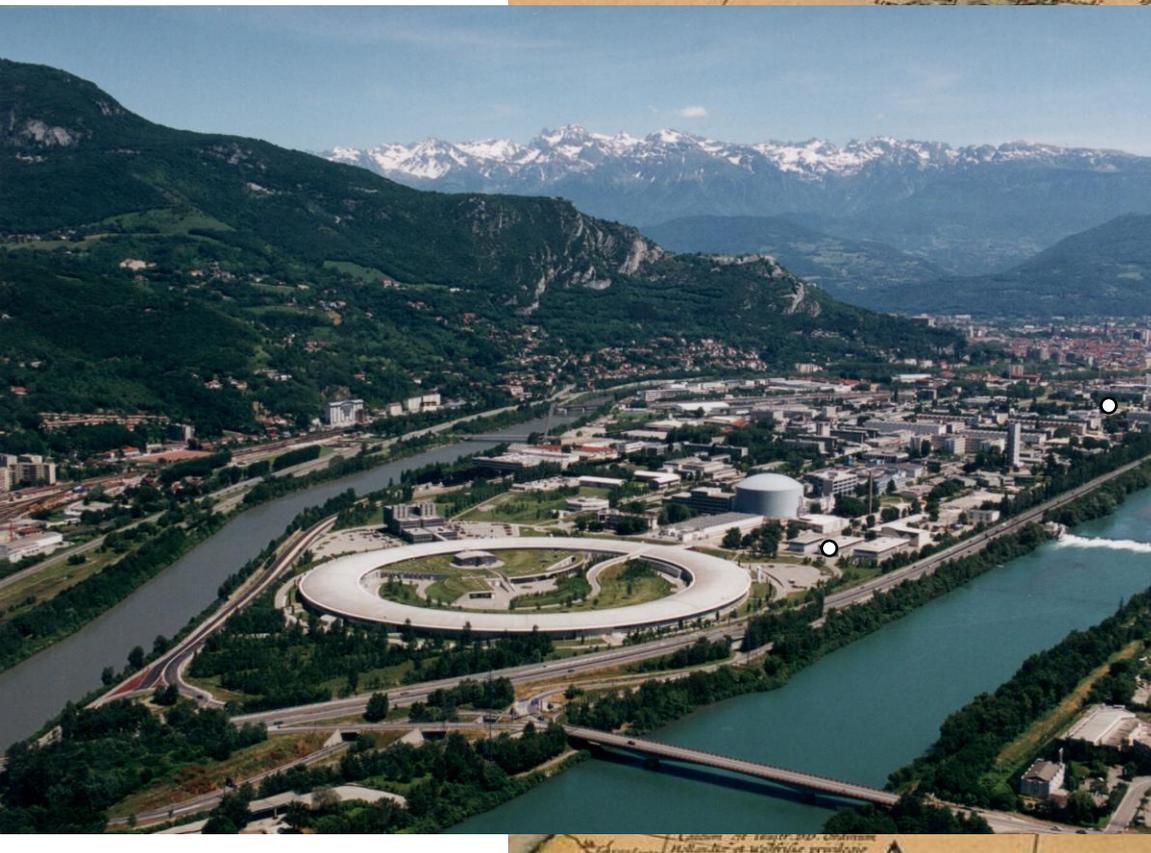


La Endolisina de Cristal



Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .

Para ver esta película, debe disponer de QuickTime™ y de un descompresor .



La primera estructura de un enzibiótico

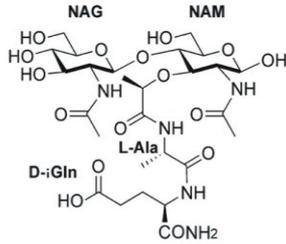
Hermoso et al. *Structure*, (2003). Vol. 11, 1239-1249.

Martínez-Buey et al. *J. Molecular Biology* (2007) 365 (2), 411

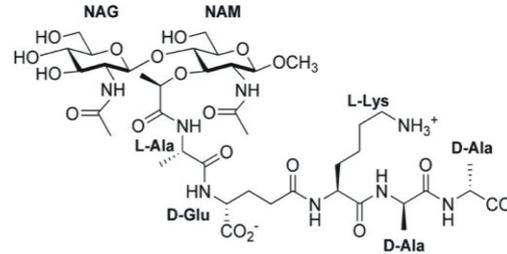
Vale..pero cómo funciona el enzibiótico???

Complejos de Cpl-1 con 3 análogos de la pared bacteriana

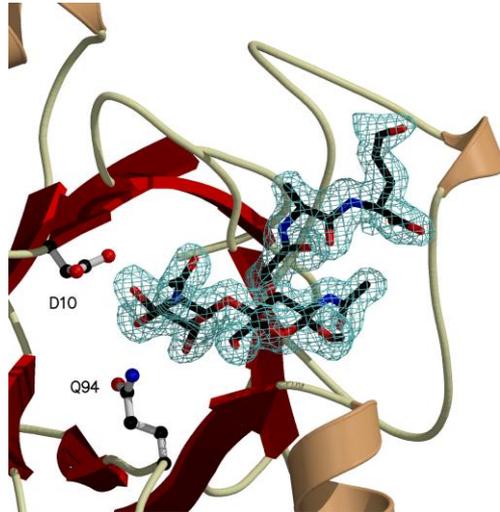
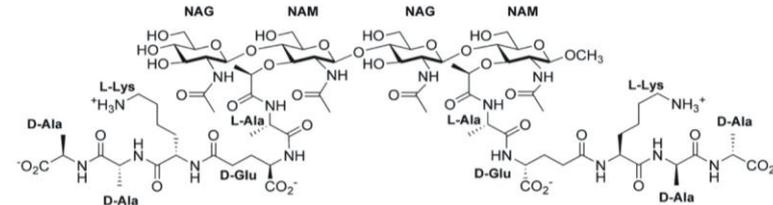
2S2P



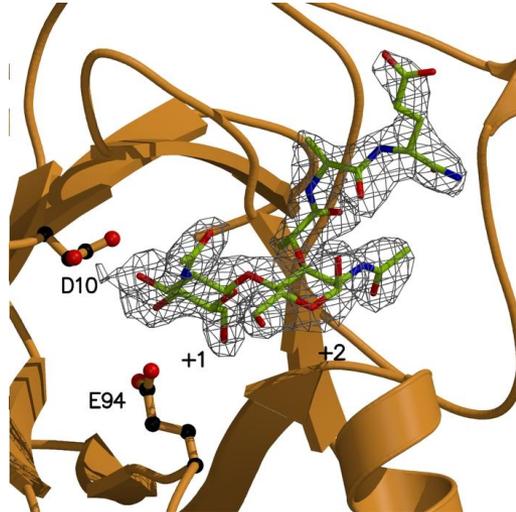
2S5P



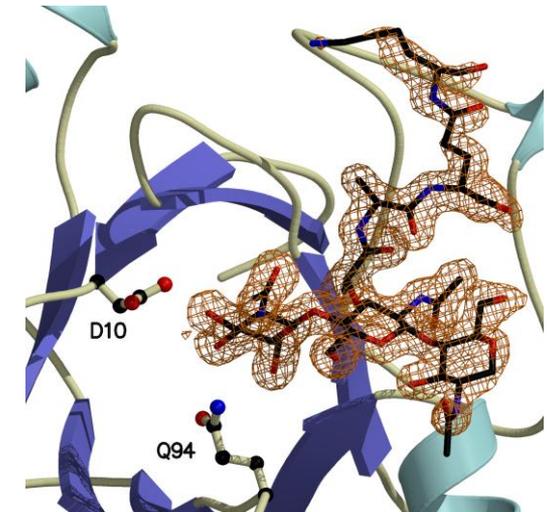
(2S5P)₂



Resolution Å 26.5-2.0
R / R_{free} 0.22/ 0.26
PDB code 2ixu

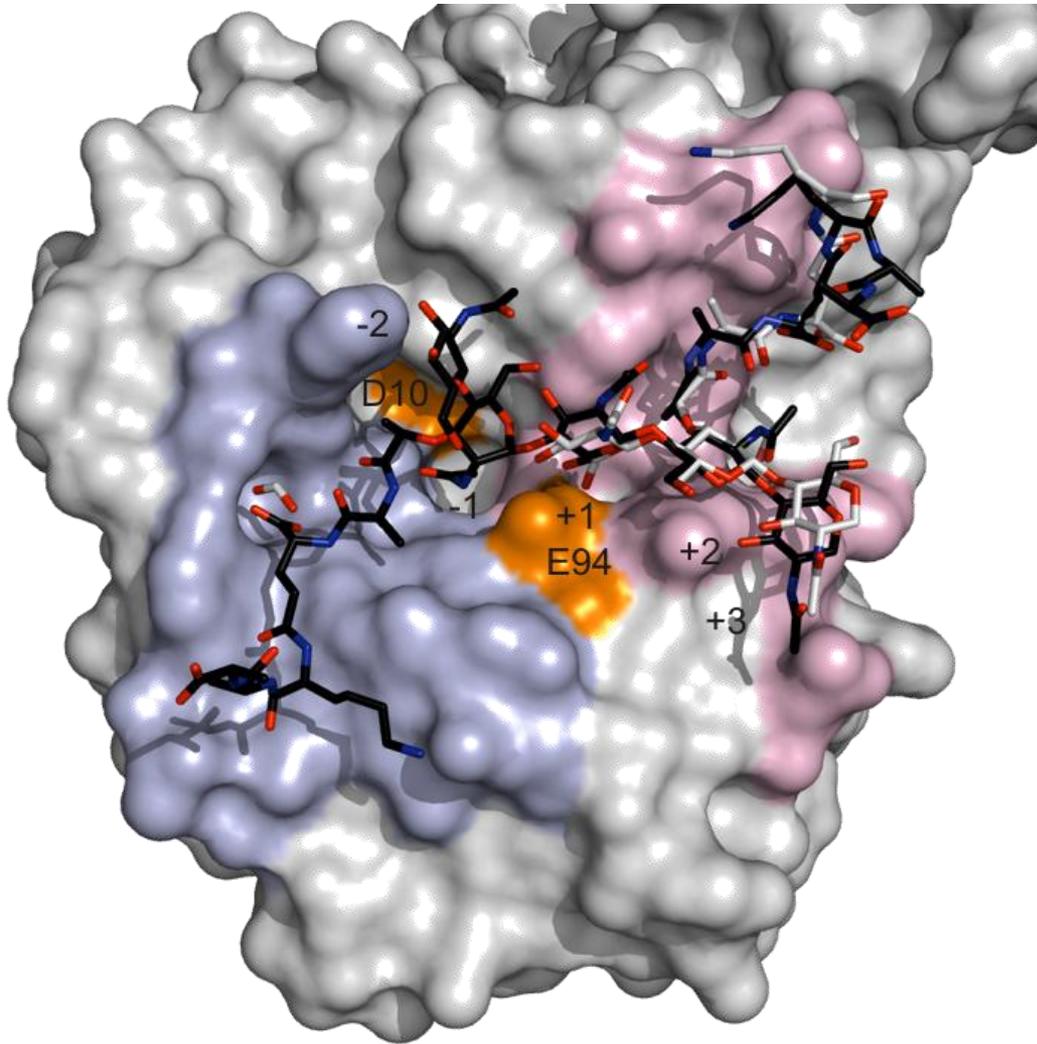


Resolution Å 64.64-1.84
R / R_{free} 0.18/ 0.22
PDB code 2ixv



Resolution Å 63.25-2.0
R / R_{free} 0.19/ 0.22
PDB code 2j8f

La cristalografía da información a nivel atómico



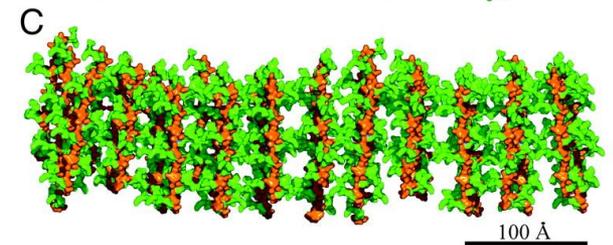
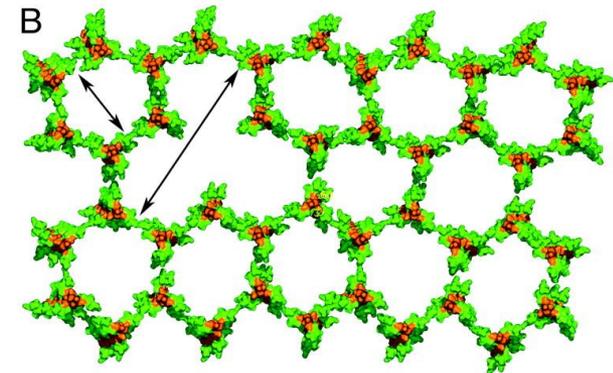
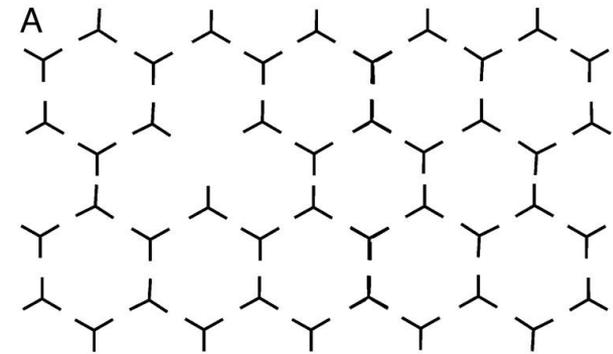
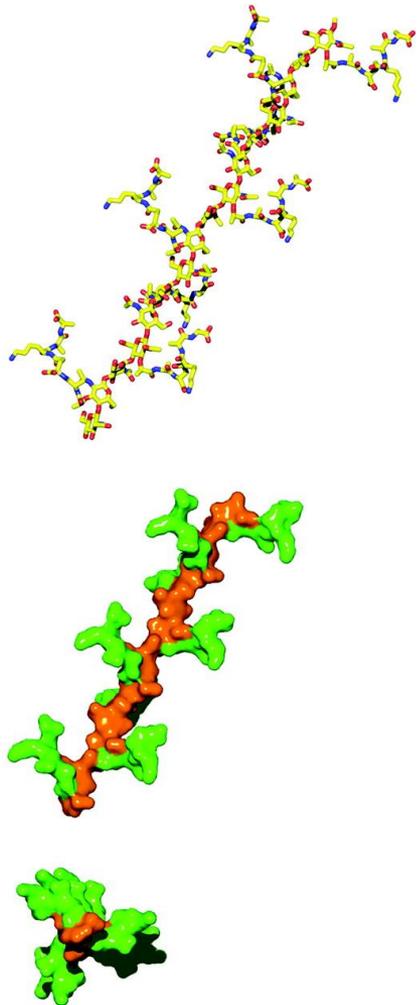
Asp10

Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor GIF.

Glu94

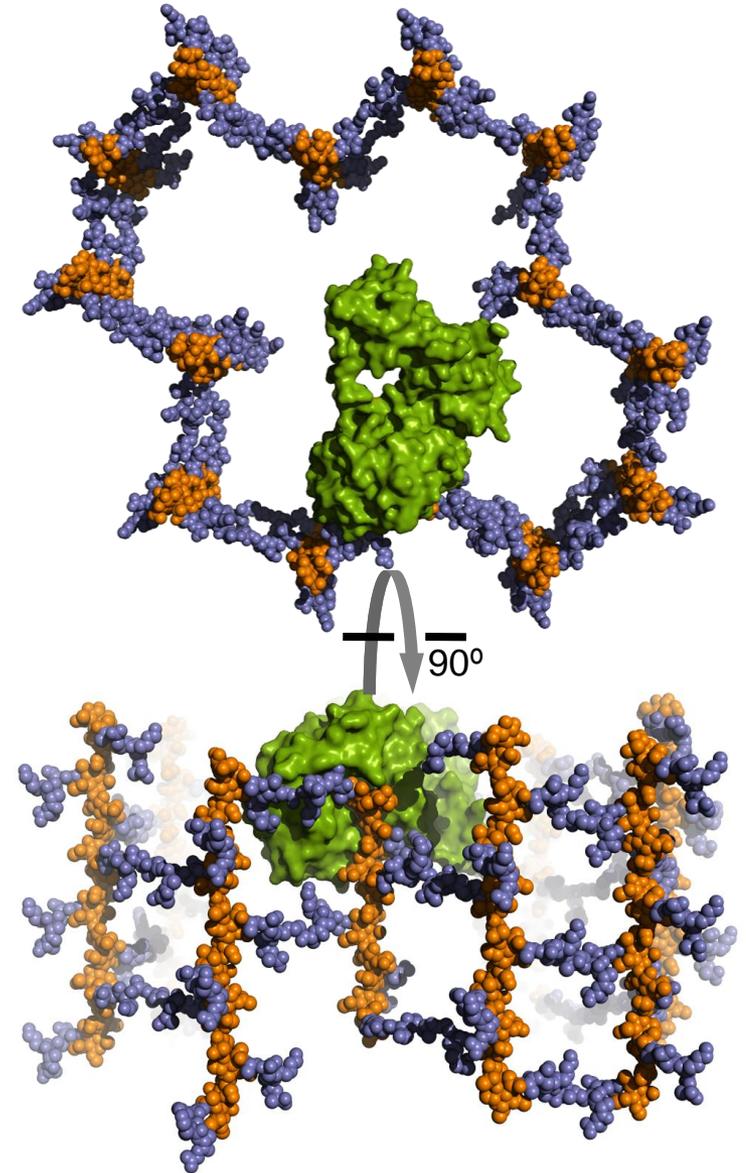
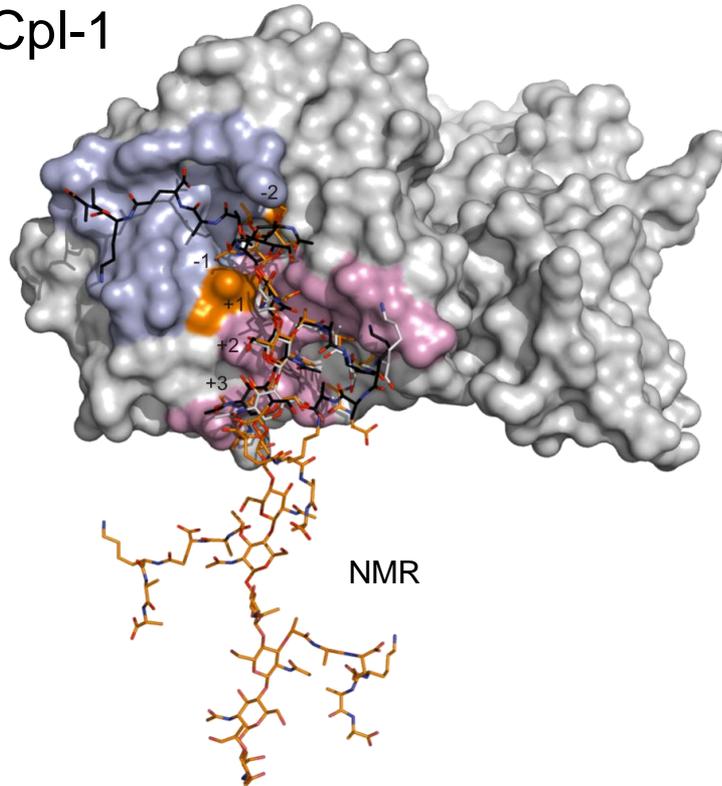
Identificado el mecanismo de corte de la pared y cómo se reconoce

La estructura de la pared bacteriana



Modelo de unión del Enzibiótico a la pared celular

Cpl-1



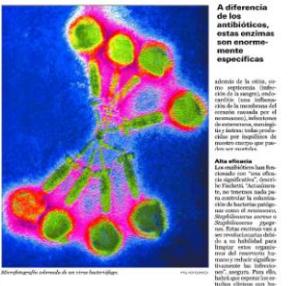
Primera imagen molecular de cómo el Enzibiótico reconoce específicamente la pared de la bacteria

Biomedicina Investigación

Los primeros ensayos con animales han mostrado que los enzibióticos son un arma mortífera contra las bacterias infecciosas. Aunque hoy se espera a que se desarrollen los primeros ensayos en humanos, los expertos aseguran que estos resultados abren un nuevo frente para combatir las infecciones y pueden representar una revolución comparada a los antibióticos. Tarea en constante en un mundo de bacterias superresistentes. España se encuentra a la vanguardia de esta investigación.

Enzibióticos, los últimos bactericidas

ENFERMEDADES
En un laboratorio de la Universidad de Rochester, en Nueva York, se ha desarrollado una nueva familia de antibióticos que se llama enzibióticos. Estos nuevos fármacos actúan sobre las bacterias al atacar su estructura celular y no a su metabolismo. Los enzibióticos son capaces de matar a las bacterias, pero no en un mecanismo tradicional. En su lugar, se dirigen a las membranas de la bacteria y se unen a ellas, lo que provoca que la bacteria se desmorone. Este mecanismo de acción es muy diferente al de los antibióticos tradicionales, que actúan sobre el metabolismo de la bacteria. Los enzibióticos son capaces de matar a las bacterias, pero no en un mecanismo tradicional. En su lugar, se dirigen a las membranas de la bacteria y se unen a ellas, lo que provoca que la bacteria se desmorone. Este mecanismo de acción es muy diferente al de los antibióticos tradicionales, que actúan sobre el metabolismo de la bacteria.



Staphylococcus aureus en una muestra bacteriana.

3291
11000

ABC

Antibióticos: el enemigo en casa

El uso frecuente y a veces injustificado de antibióticos está favoreciendo la aparición de bacterias resistentes a varios de estos fármacos. Combatirlas se hace cada vez más difícil y supone un grave riesgo, como en el caso de la *Staphylococcus aureus*

PLAN DEBIDA
MADRID. Cada vez que tomamos un antibiótico en la dosis adecuada estamos eliminando las bacterias que se encuentran en nuestro organismo. Pero también estamos matando a las bacterias buenas que viven en nuestro organismo y que nos ayudan a mantenernos saludables. Este es el problema de los antibióticos: que matan tanto a las bacterias malas como a las buenas. Por eso, es importante usarlos correctamente y solo cuando sea necesario.

Fecha: 10/11/2007
Sección: SALUD
Páginas: 6A,65

ABC
Los antibióticos son medicamentos que actúan sobre las bacterias, matándolas o impidiendo su crecimiento. Sin embargo, el uso excesivo de antibióticos ha llevado a la aparición de bacterias resistentes, lo que hace que los antibióticos sean menos efectivos. Esto es un problema grave porque algunas bacterias resistentes pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante usar los antibióticos correctamente y solo cuando sea necesario.

Alternativas a resistencia: enzibióticos

El problema de que no existen antibióticos más efectivos contra el *S. aureus* y a los supermicrobios nos lleva a buscar alternativas. Una de ellas son los enzibióticos, que actúan sobre la membrana de la bacteria y la destruyen. Este mecanismo de acción es muy diferente al de los antibióticos tradicionales, lo que hace que los enzibióticos sean una alternativa prometedora para combatir las bacterias resistentes.

INFECCIOSAS LA ENZOBILINA PUEDE USARSE A LOS FRAGMENTOS DEL NEUMOCOCO

Los enzibióticos podrían ser una alternativa al antibiótico

Los ensayos con animales han demostrado que los enzibióticos son un arma mortífera contra las bacterias infecciosas. Aunque hoy se espera a que se desarrollen los primeros ensayos en humanos, los expertos aseguran que estos resultados abren un nuevo frente para combatir las infecciones y pueden representar una revolución comparada a los antibióticos. Tarea en constante en un mundo de bacterias superresistentes. España se encuentra a la vanguardia de esta investigación.

ENCUESTA
Los ensayos con animales han demostrado que los enzibióticos son un arma mortífera contra las bacterias infecciosas. Aunque hoy se espera a que se desarrollen los primeros ensayos en humanos, los expertos aseguran que estos resultados abren un nuevo frente para combatir las infecciones y pueden representar una revolución comparada a los antibióticos. Tarea en constante en un mundo de bacterias superresistentes. España se encuentra a la vanguardia de esta investigación.

Cuando los antibióticos ya no curen habrá una alternativa: los enzibióticos

El CSIC avanza en su estudio de estas medicinas, que actúan sólo donde hace falta

Madrid/América/ San Marino
Los investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en Madrid, han desarrollado una familia de antibióticos que se llama enzibióticos. Estos nuevos fármacos actúan sobre las bacterias al atacar su estructura celular y no a su metabolismo. Los enzibióticos son capaces de matar a las bacterias, pero no en un mecanismo tradicional. En su lugar, se dirigen a las membranas de la bacteria y se unen a ellas, lo que provoca que la bacteria se desmorone. Este mecanismo de acción es muy diferente al de los antibióticos tradicionales, que actúan sobre el metabolismo de la bacteria.

Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax

Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

¿CÓMO EL ENZIBIÓTICO?

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

SIN RESISTENCIAS

Diversos grupos de investigadores internacionales han desarrollado alternativas a los antibióticos, dado que la resistencia de las bacterias a los antibióticos es un problema creciente. El problema de la resistencia afecta de forma particular a niños, ancianos y a personas con problemas de inmunodeficiencia, lo ha indicado Juan Antonio Hermoso del CSIC.

ENCUESTA
Los ensayos con animales han demostrado que los enzibióticos son un arma mortífera contra las bacterias infecciosas. Aunque hoy se espera a que se desarrollen los primeros ensayos en humanos, los expertos aseguran que estos resultados abren un nuevo frente para combatir las infecciones y pueden representar una revolución comparada a los antibióticos. Tarea en constante en un mundo de bacterias superresistentes. España se encuentra a la vanguardia de esta investigación.

Industria invertirá 4.700 millones en I+D+i en 2008, un 13% más

La industria española invertirá 4.700 millones en I+D+i en 2008, un 13% más que en 2007. Este aumento se debe a la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías y productos para competir en un mercado global cada vez más competitivo.

Apuntes que pasan el papel al ordenador

El uso de dispositivos electrónicos para tomar apuntes está ganando terreno. Los estudiantes prefieren usar tabletas digitales o aplicaciones de software que les permitan tomar apuntes de forma más eficiente y organizada.

El futuro prometedor

Los avances en biotecnología y medicina están abriendo nuevas posibilidades para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades. Los investigadores están trabajando en el desarrollo de nuevas terapias y fármacos que puedan mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Los Objetivos del Milenio

Los Objetivos del Milenio son una serie de metas que se establecieron en el año 2000 para mejorar la calidad de vida de las personas en todo el mundo. Estos objetivos incluyen la erradicación de la pobreza, la educación para todos, la salud y el bienestar, entre otros.

ENCUESTA
Los ensayos con animales han demostrado que los enzibióticos son un arma mortífera contra las bacterias infecciosas. Aunque hoy se espera a que se desarrollen los primeros ensayos en humanos, los expertos aseguran que estos resultados abren un nuevo frente para combatir las infecciones y pueden representar una revolución comparada a los antibióticos. Tarea en constante en un mundo de bacterias superresistentes. España se encuentra a la vanguardia de esta investigación.

O.J.D.: 82178
E.G.M.: 158000

Actinobacter
Causa infecciones en pacientes con el sistema inmunitario.

Streptococcus facialis
Causa sepsis e infección del tracto urinario y de heridas en pacientes con...

Pseudomonas aeruginosa
Causa sepsis y neumonía, sobre todo en pacientes de larga estancia de fibrosis quística o en el...

Fecha: 10/11/2007
Sección: SALUD
Páginas: 57

Mundo y salud

¿Conoces ya los nuevos enzibióticos?

Existe una alternativa a los antibióticos convencionales. Se llaman enzibióticos. Las investigaciones sobre sus propiedades recientemente empiezan a arrojar resultados satisfactorios. Según un equipo del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, son la gran esperanza en el tratamiento de enfermedades infecciosas, ya que evitan dos de los grandes problemas que provocan los antibióticos: el ataque indiscriminado a todo tipo de bacterias y la creciente resistencia que han desarrollado hacia sus dianas. Según los expertos, las investigaciones sobre sus propiedades recientemente empiezan a arrojar resultados satisfactorios. Según un equipo del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, son la gran esperanza en el tratamiento de enfermedades infecciosas, ya que evitan dos de los grandes problemas que provocan los antibióticos: el ataque indiscriminado a todo tipo de bacterias y la creciente resistencia que han desarrollado hacia sus dianas.

O.J.D.: 49211
E.G.M.: No hay datos

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

O.J.D.: 29480
E.G.M.: 237000

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

O.J.D.: 49211
E.G.M.: No hay datos

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

O.J.D.: 49211
E.G.M.: No hay datos

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

ENCIBIÓTICOS
Los estudios muestran que los enzibióticos podrían aplicarse en casos como la neumonía o incluso en la lucha contra el bioterrorismo ya que destruye el microbio que causa el antrax. Este tipo de bacterias son muy peligrosas y pueden causar enfermedades graves e incluso la muerte. Por eso, es importante encontrar alternativas para combatir estas bacterias resistentes.

Biología Estructural de las Interacciones Hospedador-Patógeno

3 Aproximaciones

Humano

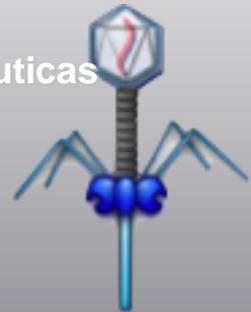
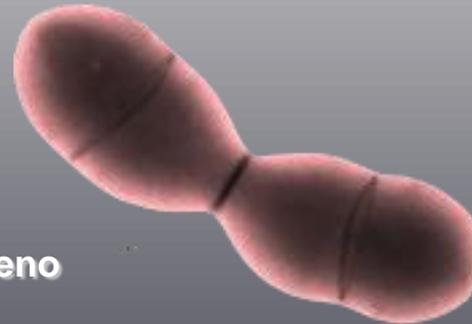
S. pneumoniae

Fago

Factores de Virulencia
&
Mecanismos de Patogénesis

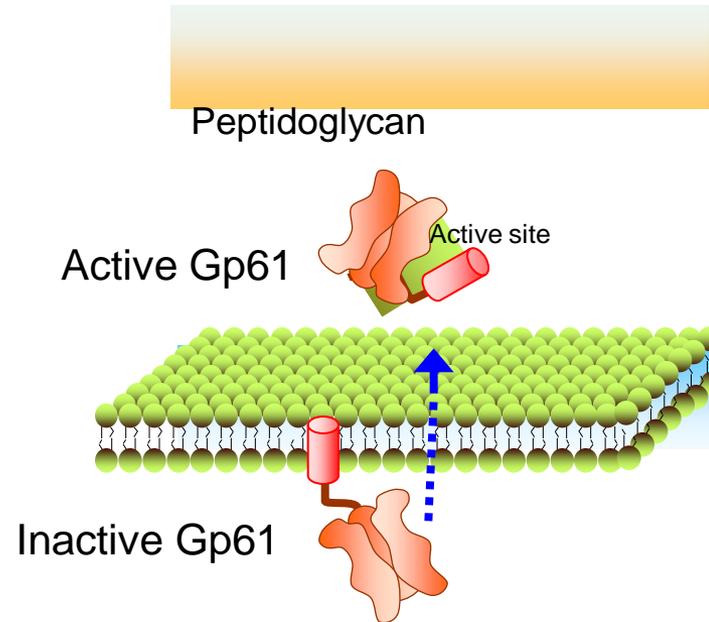
Desarrollo de
nuevas herramientas terapéuticas
(Endolisinas)

Reconocimiento del patógeno
&
Mecanismos de defensa



Perspectives

Enzybiotics: Structural Characterization of Novel Endolysins



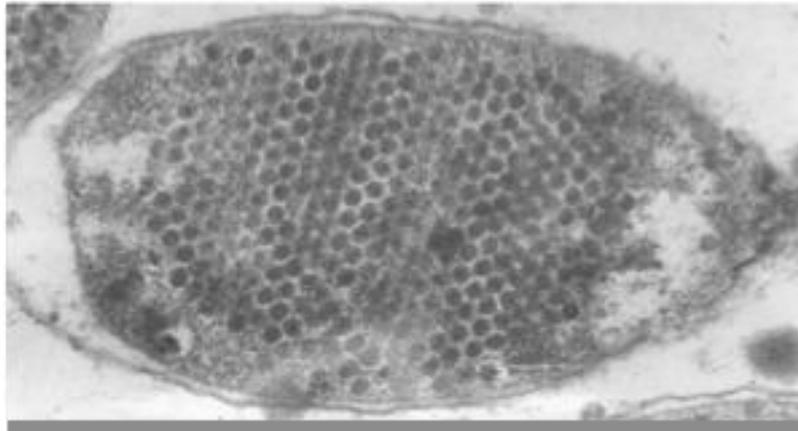
-
- Gp61 is a murein hydrolase encoded by coliphage N4 and defines a new family of muramidases.
- Gp61 presents a transmembrane domain (TMD) that allows translocation to the PG.
- TMD conforms the catalytic site upon PG binding and produces activation of the enzyme.
- No enzybiotics for Gram(-) bacteria have been described.

Perspectives

GP61 endolysin

~3,000 N4-phage particles accumulate per infected cell

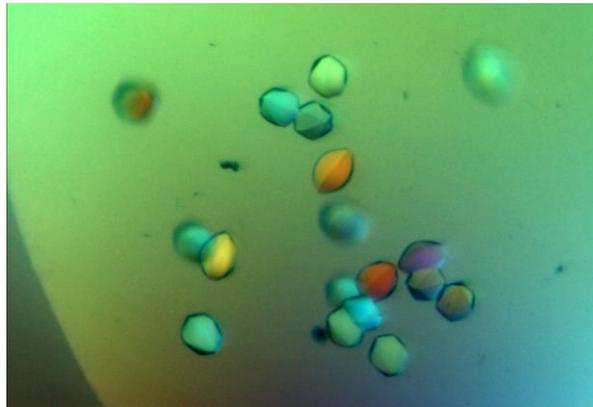
3 hrs post infection



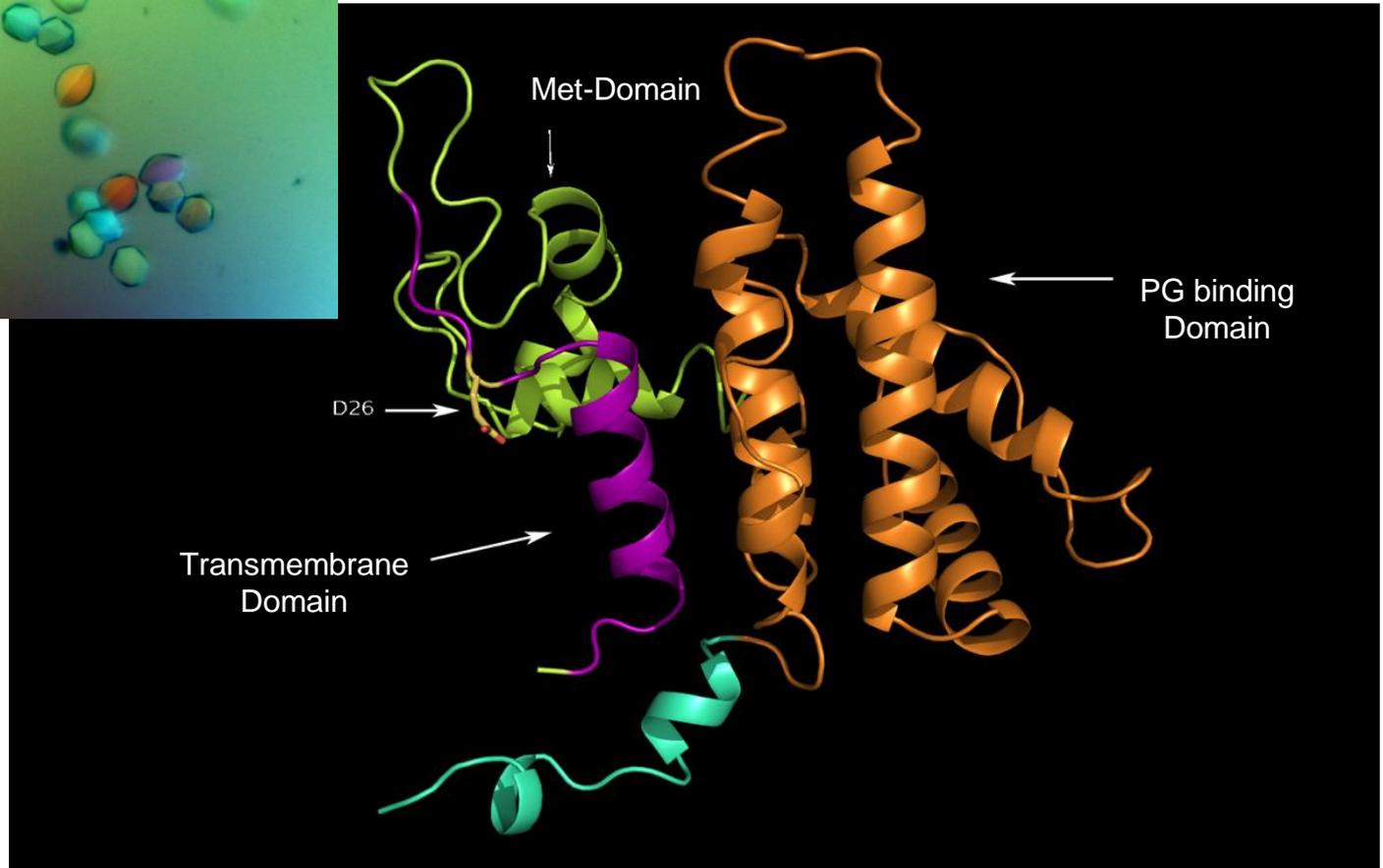
Schito, 1976

- INTRODUCTION
- S PNEUMONIAE
- Infect mech.
- The cell wall
- Genome
- CBPs
- CPL-1 LYSIN
- Cp-1 phage
- Enzybiotics
- 3D structure
- The CBM
- Catal mech.
- Modular org.
- PG binding
- GP-61 LYSIN
- 3D structure
- SIGN-R1 LECTIN
- 3D structure
- CBPF
- 3D structure
- Choline binding
- CbpF function?
- Exp. essays.
- Fratricide and virulence.
- PCE
- 3D structure
- Catal mech.
- Choline binding
- Modular org

3D Structure



Crystals of complete GP61

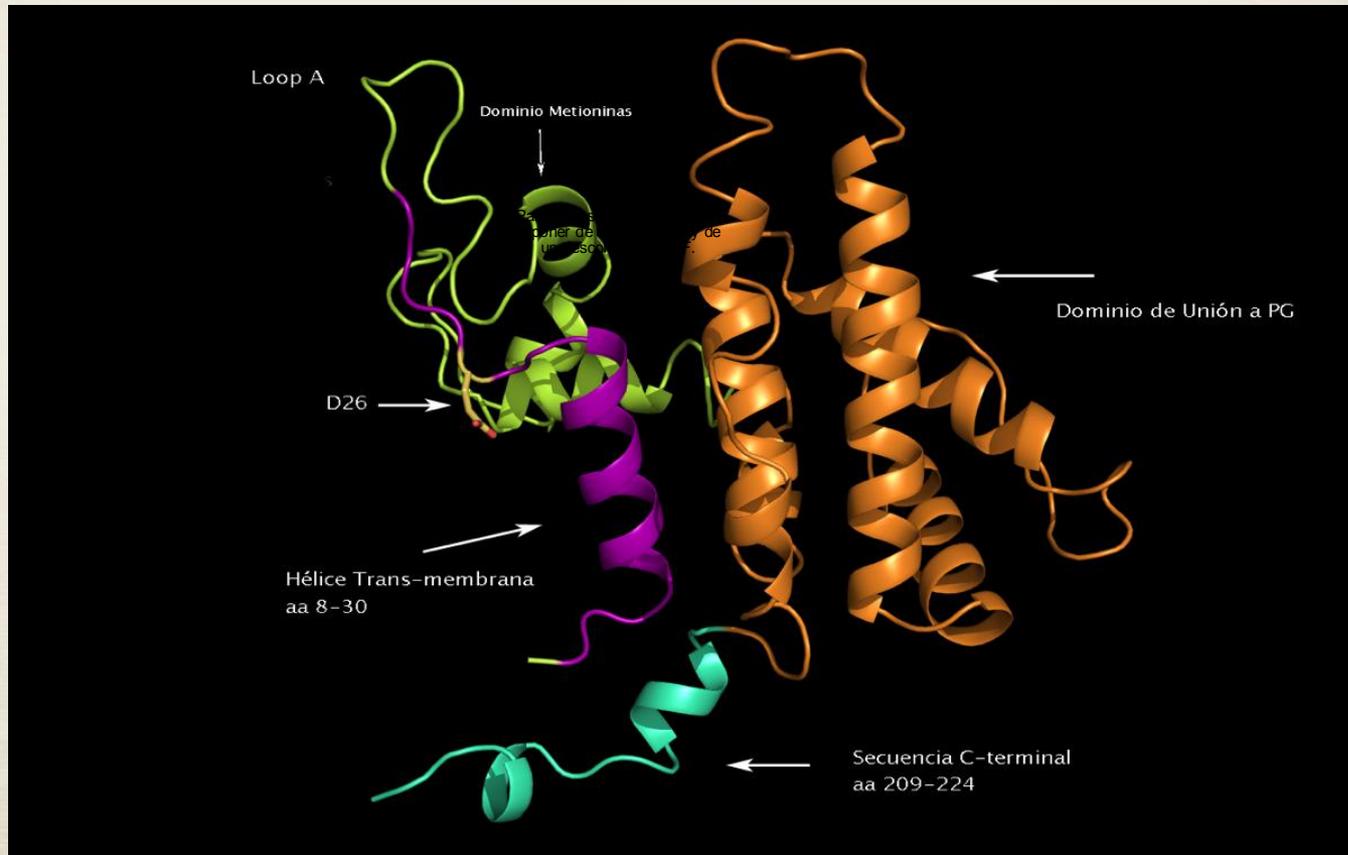


Carrasco et al. (2009) in preparation.

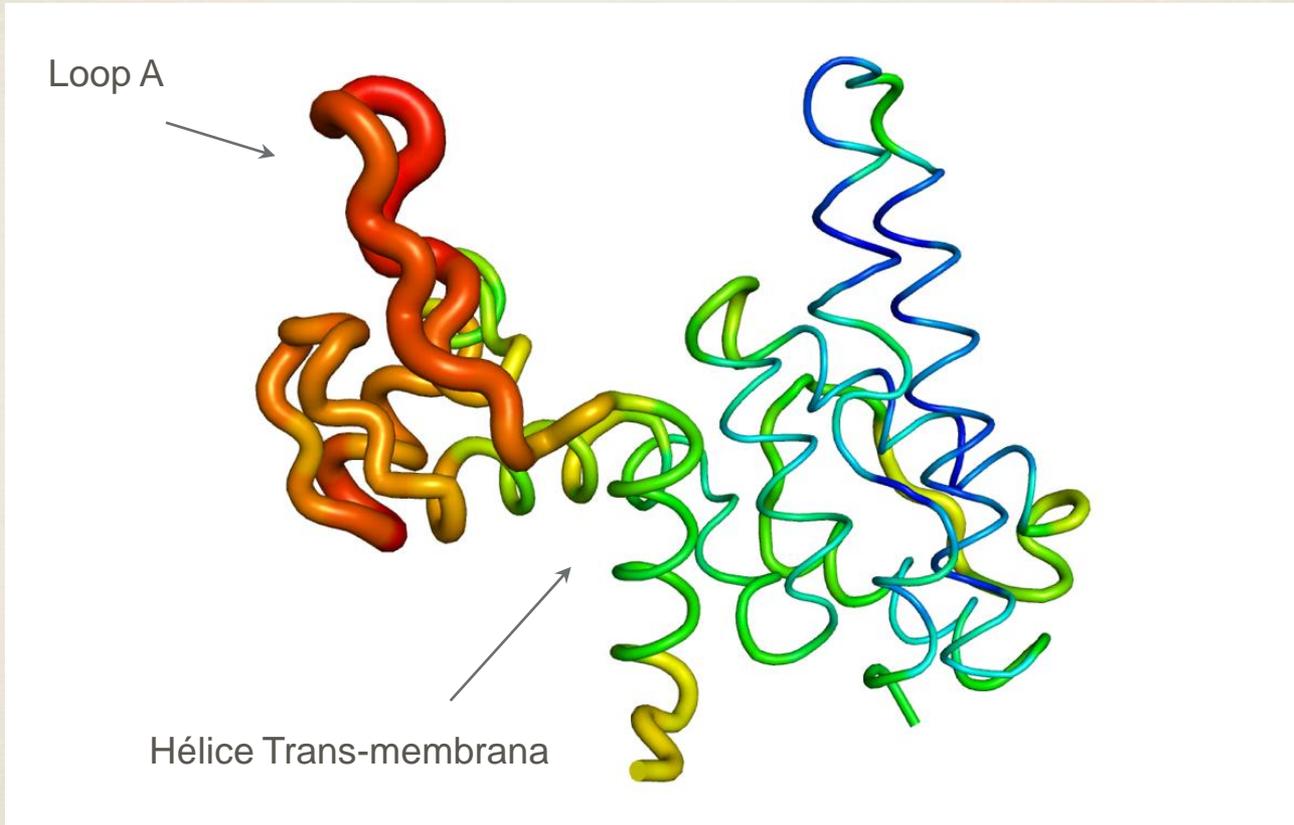
- INTRODUCTION
- S PNEUMONIAE
- Infect mech.
- The cell wall
- Genome
- CBPs
- CPL-1 LYSIN
- Cp-1 phage
- Enzybiotics
- 3D structure
- The CBM
- Catal mech.
- Modular org.
- PG binding
- GP-61 LYSIN
- 3D structure
- SIGN-R1 LECTIN
- 3D structure
- CBPF
- 3D structure
- Choline binding
- CbpF function?
- Exp. essays.
- Fratricide and virulence.
- PCE
- 3D structure
- Catal mech.
- Choline binding
- Modular org

Estructura

* General



Factores de Agitación



Posibles Sitios Activos

Sitio I



Structural Biology of Host-Pathogen Interactions

3 Main Approaches

Human

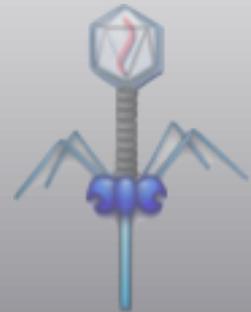
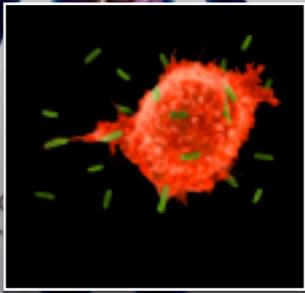
S. pneumoniae

Phage

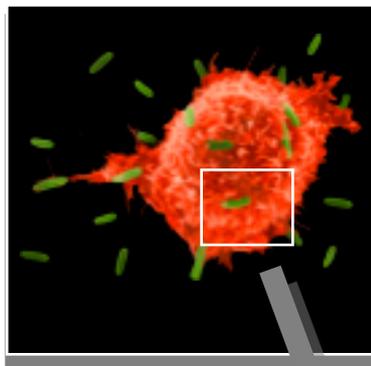
Virulence Factors
&
Pathogenesis Mechanisms

Development of
new therapeutic tools
(Endolysins)

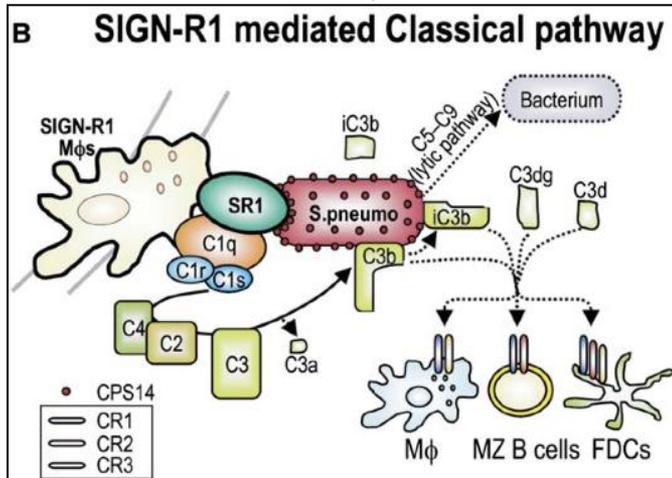
Pathogen Recognition
&
Defense Mechanism



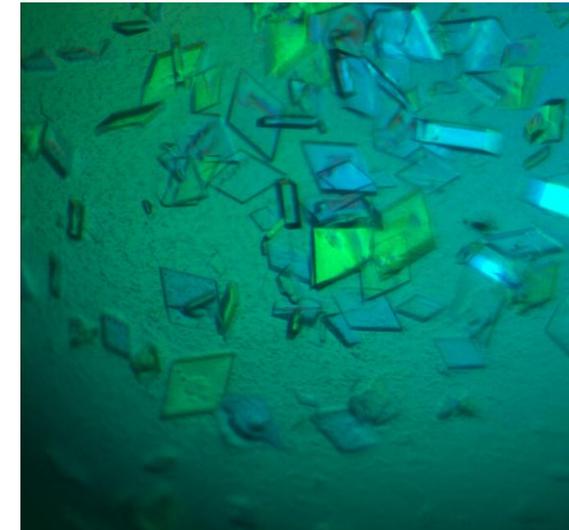
Perspectives



Pathogen recognition through specific components of pneumococcal cell wall by Immune System



CHO cell expression

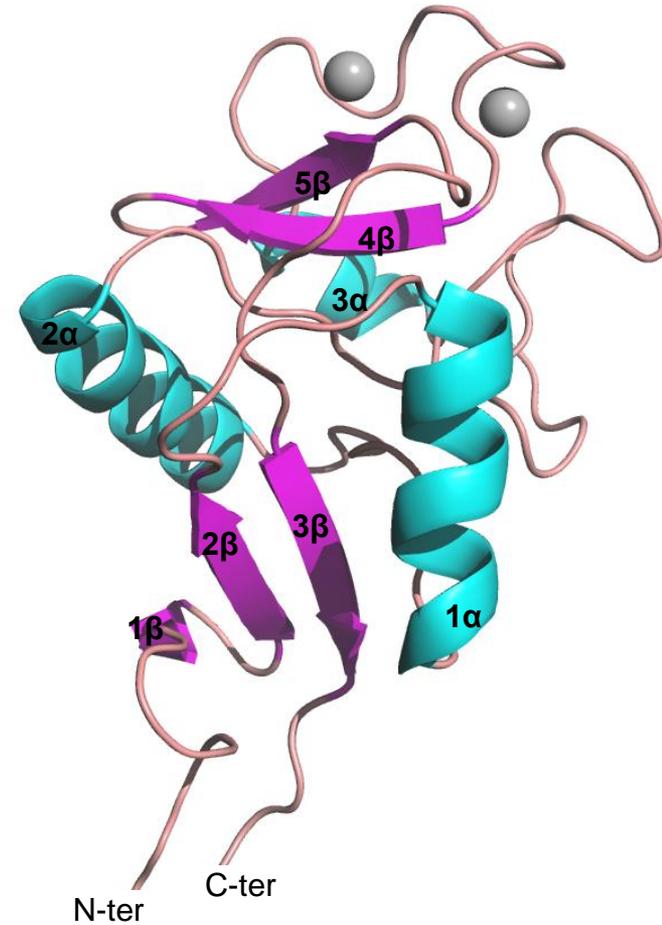
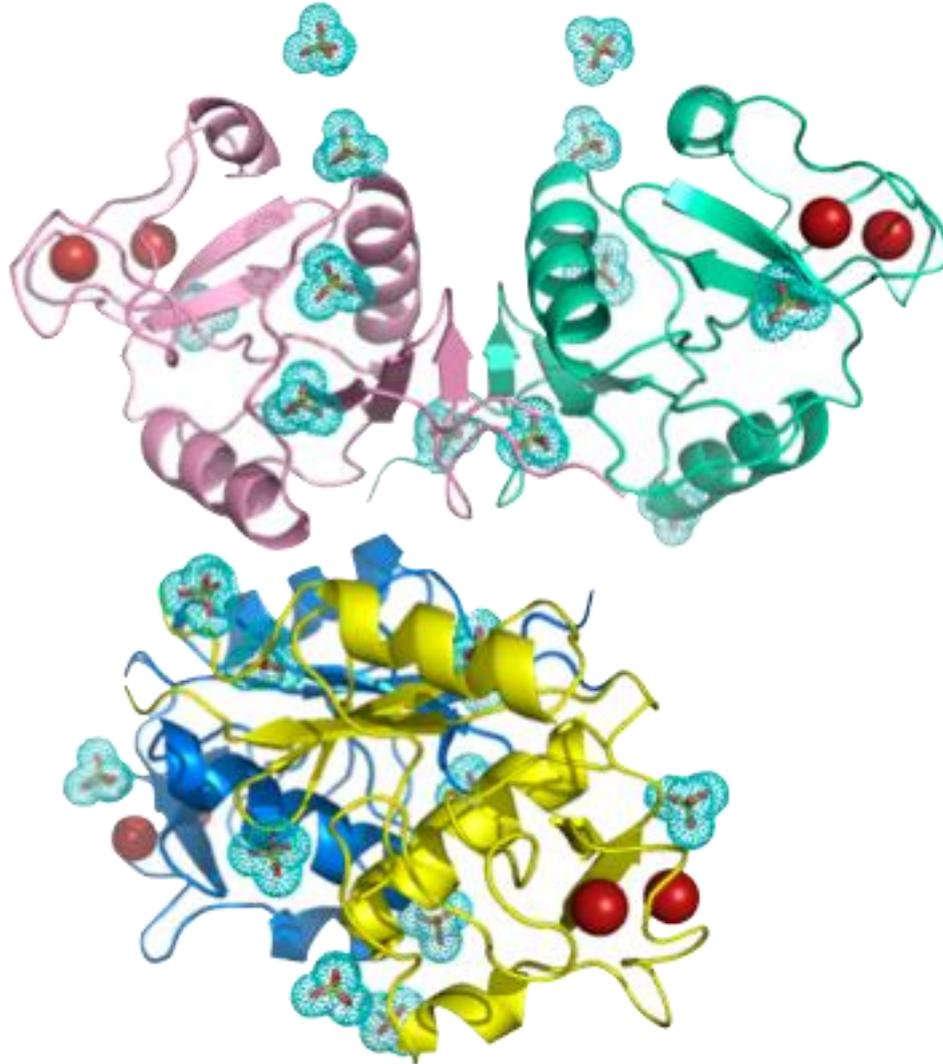


Crystals of CRD SIGN-R1

Kang, et al. (2006) *Cell* 125, 47-58.

- SIGN-R1 is a C-type lectin attached to the membrane of Macrophages and critical for innate immunity.
- SIGN-R1 is the principal receptor for bacterial dextrans as well as the capsular pneumococcal polysaccharide.
- SIGN-R1 activates the complement pathway by an unusual C3 activation pathway .
- Unravelling details of ligand recognition is crucial for understanding the molecular basis of cell-cell and cell – pathogen interactions

3D Structure CRD-SIGNR1

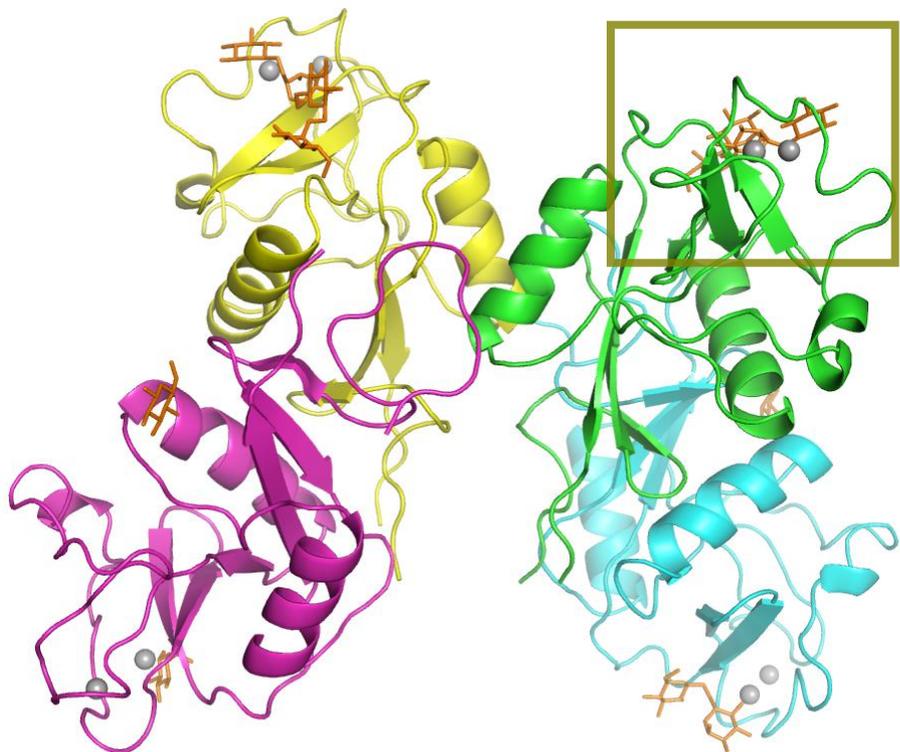
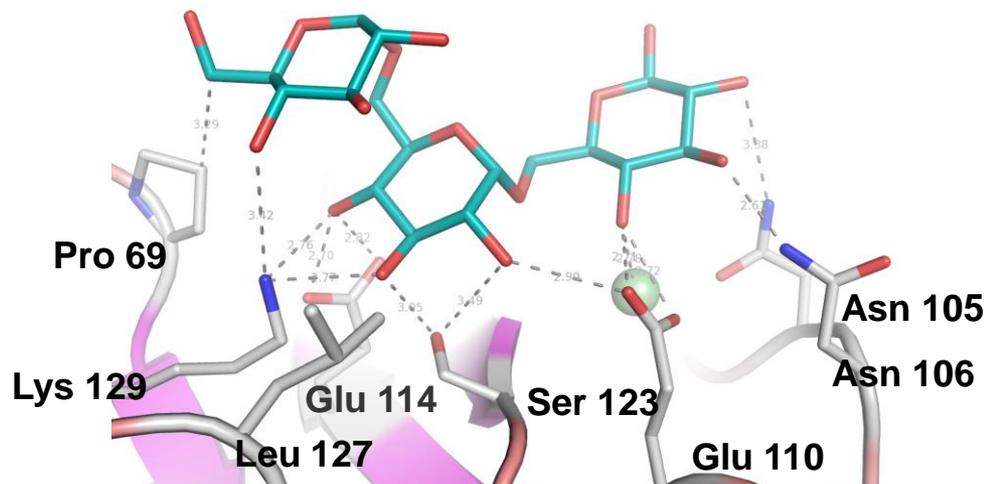


Silva et al. (2009) in preparation.

- INTRODUCTION
- S PNEUMONIAE
- Infect mech.
- The cell wall
- Genome
- CBPs
- CPL-1 LYSIN
- Cp-1 phage
- Enzybiotics
- 3D structure
- The CBM
- Catal mech.
- Modular org.
- PG binding
- GP-61 LYSIN
- 3D structure
- SIGN-R1 LECTIN
- 3D structure
- CBPF
- 3D structure
- Choline binding
- CbpF function?
- Exp. essays.
- Fratricide and virulence.
- PCE
- 3D structure
- Catal mech.
- Choline binding
- Modular org

Molecular Recognition of pneumococcal saccharides

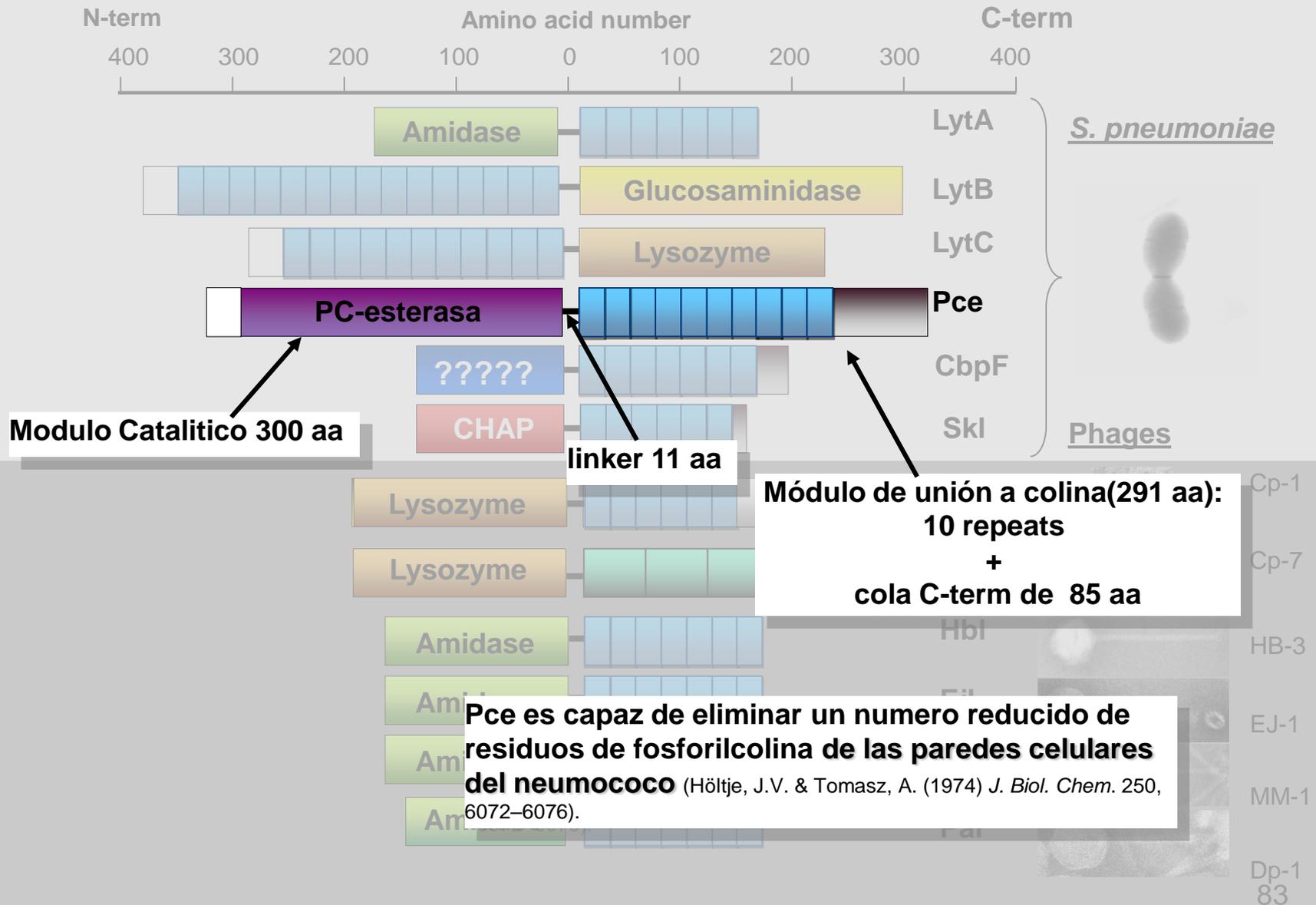
- INTRODUCTION
- S PNEUMONIAE
- Infect mech.
- The cell wall
- Genome
- CBPs
- CPL-1 LYSIN
- Cp-1 phage
- Enzybiotics
- 3D structure
- The CBM
- Catal mech.
- Modular org.
- PG binding
- GP-61 LYSIN
- 3D structure
- SIGN-R1 LECTIN
- 3D structure
- CBPF
- 3D structure
- Choline binding
- CbpF function?
- Exp. essays.
- Fratricide and virulence.
- PCE
- 3D structure
- Catal mech.
- Choline binding
- Modular org



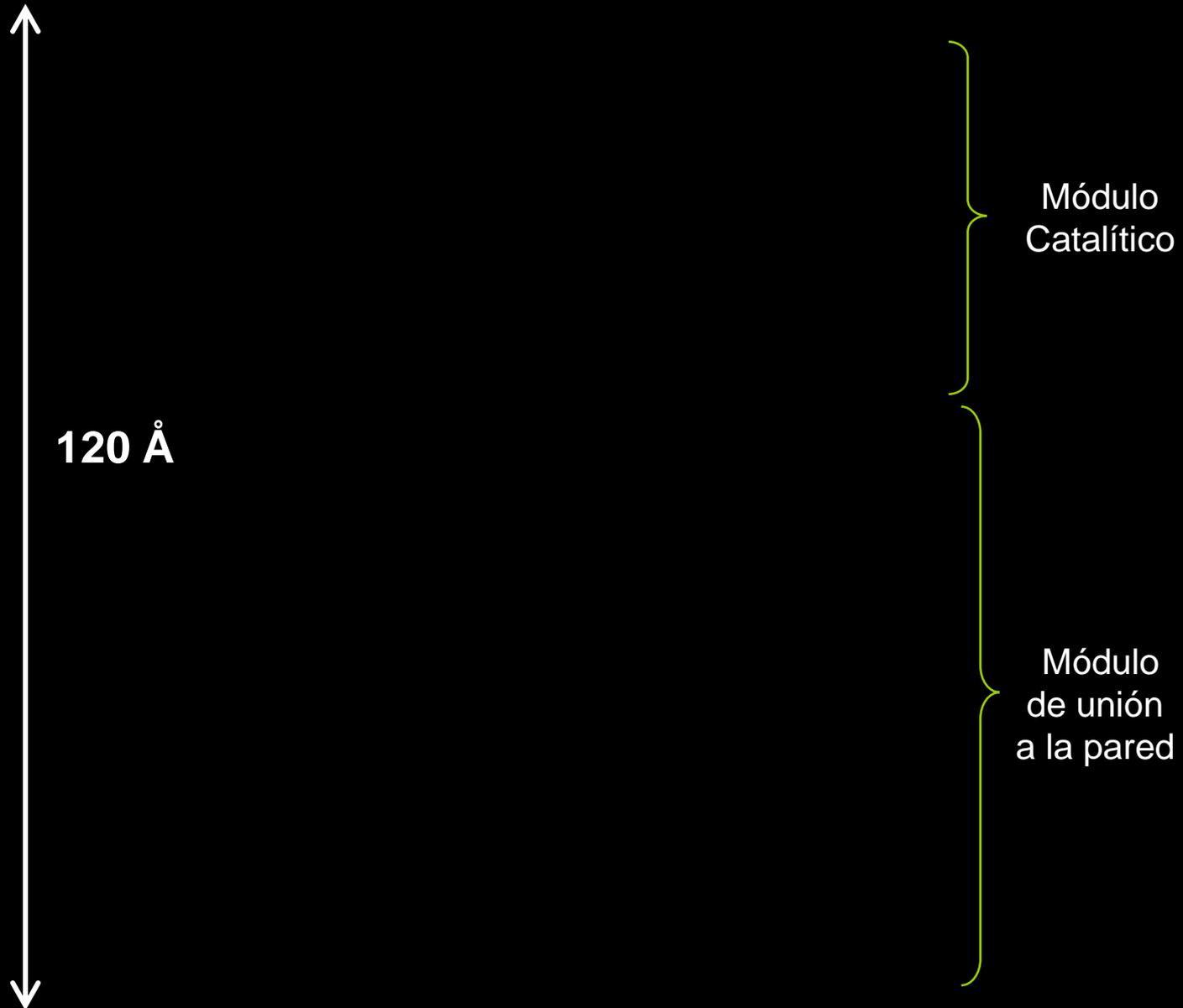
CRD-SIGN-R1: dextran Complex

Silva et al. (2009) in preparation.

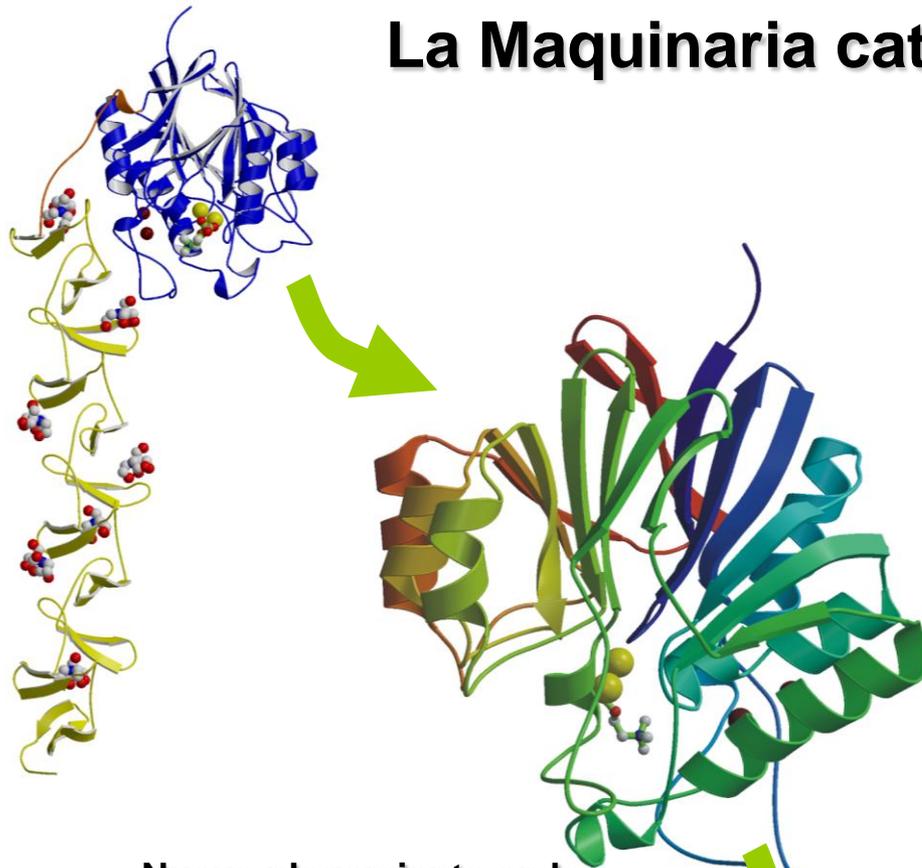
Las Proteínas de unión a colina: el arsenal del neumococo



Estructura Tridimensional de Pce

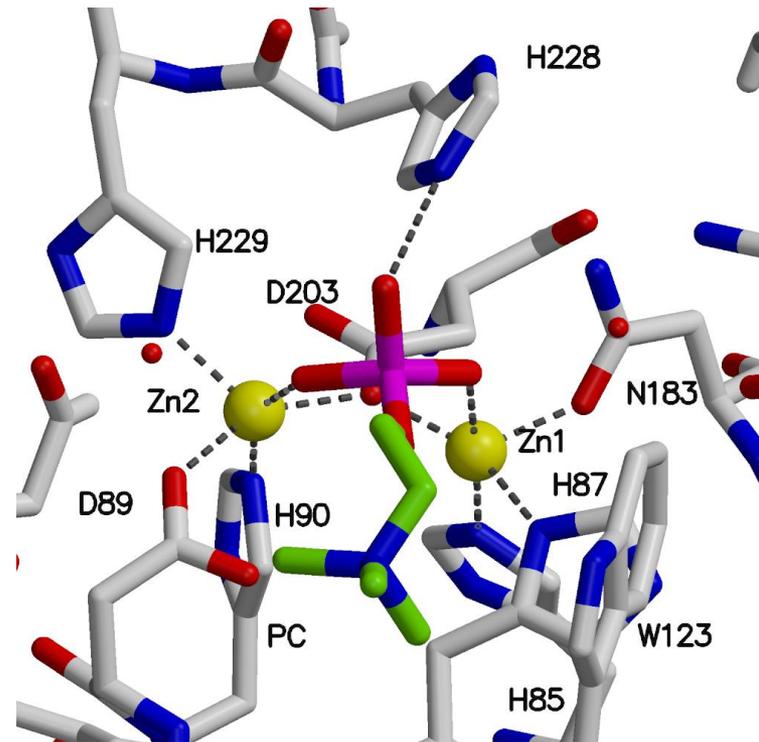


La Maquinaria catalítica de Pce

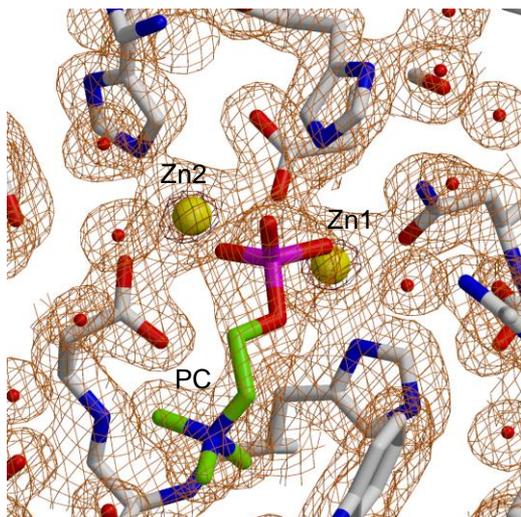


Nuevo plegamiento en las
enzimas que hidrolizan fosfoesteres
(plegamiento β -lactamasa)

**Centro Catalítico
binuclear de Zn²⁺**

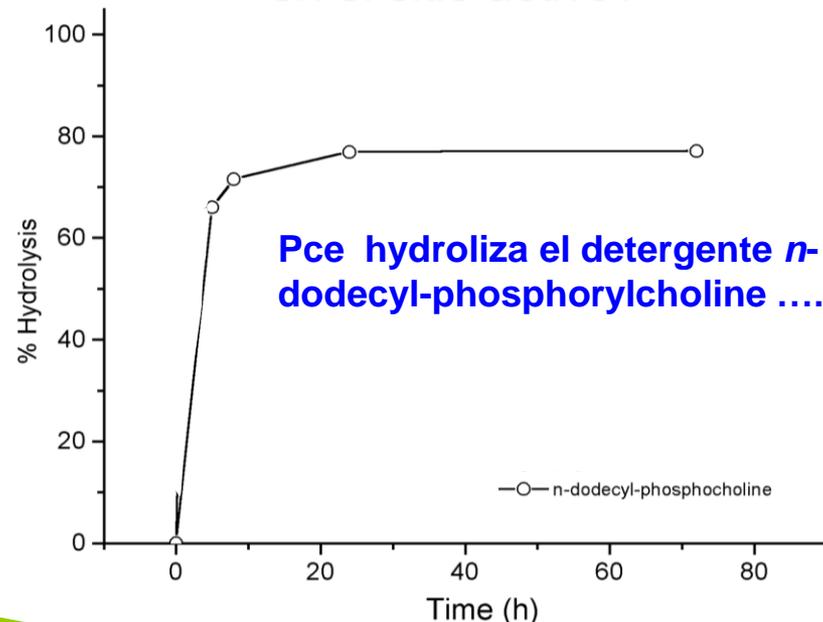


Pce: Pistas sobre su función...

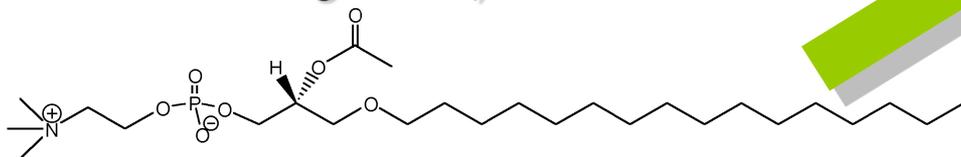


1

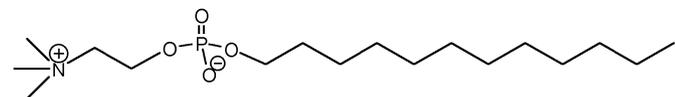
¿Por qué una molécula de PC en el sitio activo?



2 N-dodecyl-phosphorylcholine es un analogo de PAF (Platelet activating factor)



PAF-1-alkyl-2-acetyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine

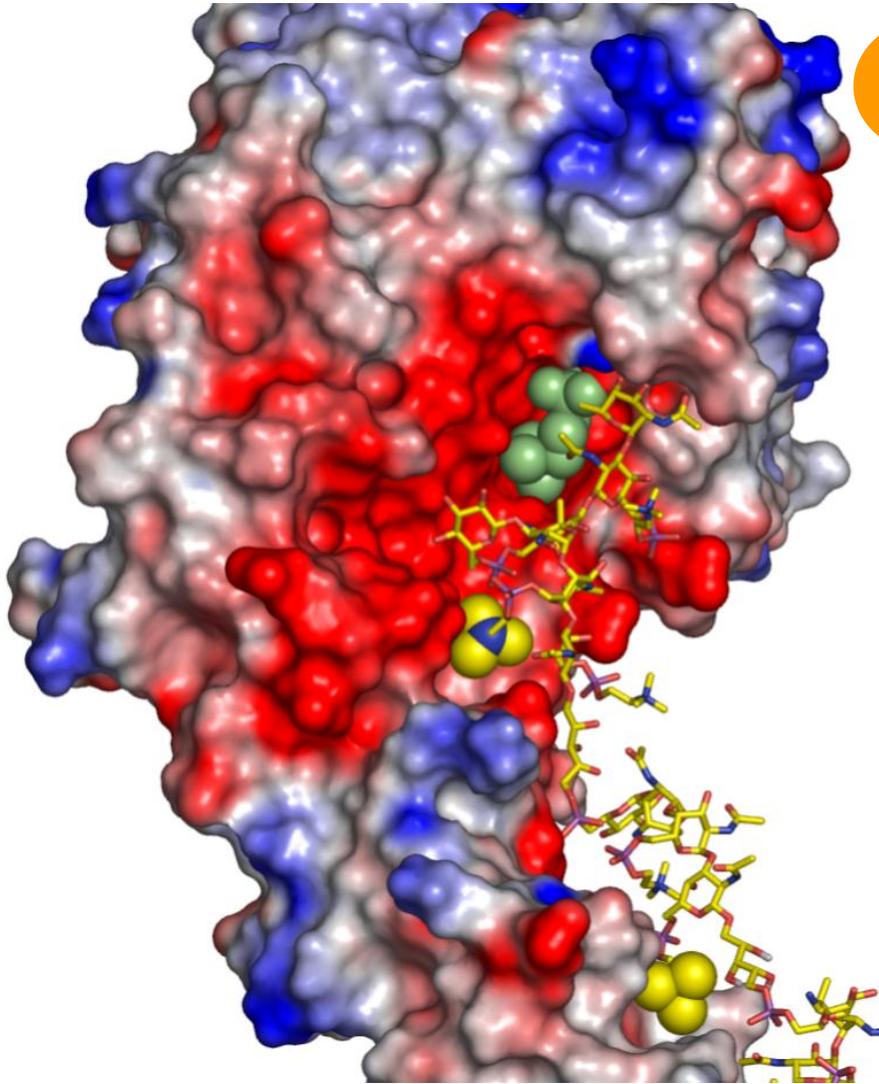


n-dodecylphosphocholine



!!! Pce hidroliza PAF!!!

Pce: Pistas sobre su función...



3

Modelo de interacción entre Pce y cadenas pentaméricas de ácidos teicóicos



Sólo residuos de PC situados al final de los ácidos teicóicos son accesibles al centro catalítico.



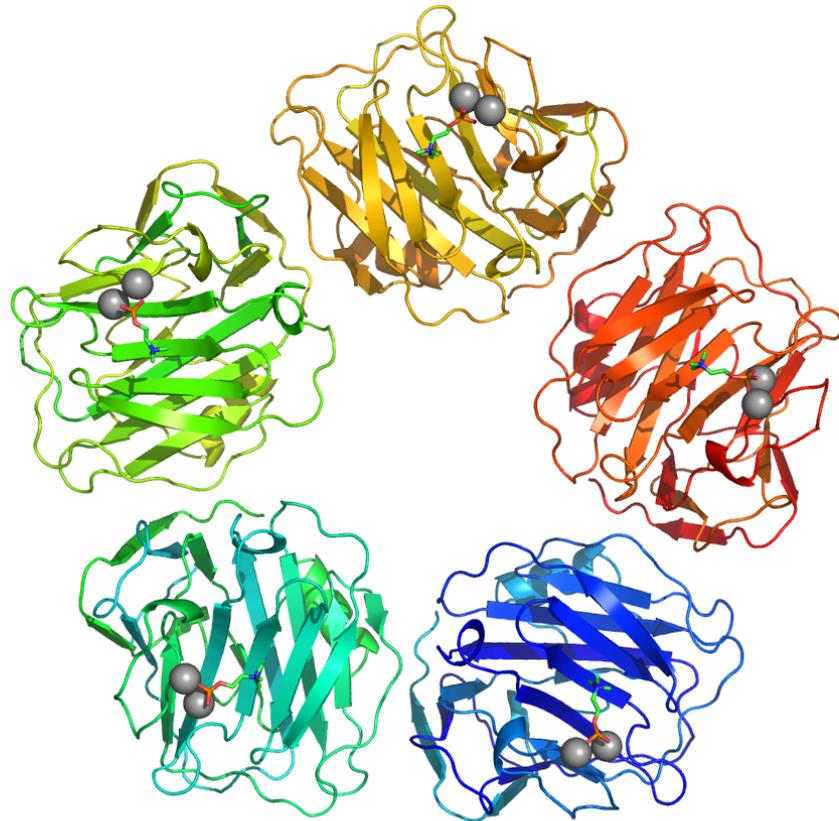
La estructura de Pce revela porqué sólo ~30% del total del contenido de PC es hidrolizado.

Pce libera específicamente aquellas PC terminales que son relevantes para las interacciones célula-célula, manteniendo las CBPs unidas a la pared celular.

Pce: Pistas sobre su función...

4

Apuntando a la respuesta inmune



CRP (Proteína C –Reactiva) una proteína humana involucrada en respuesta sistémica a la inflamación

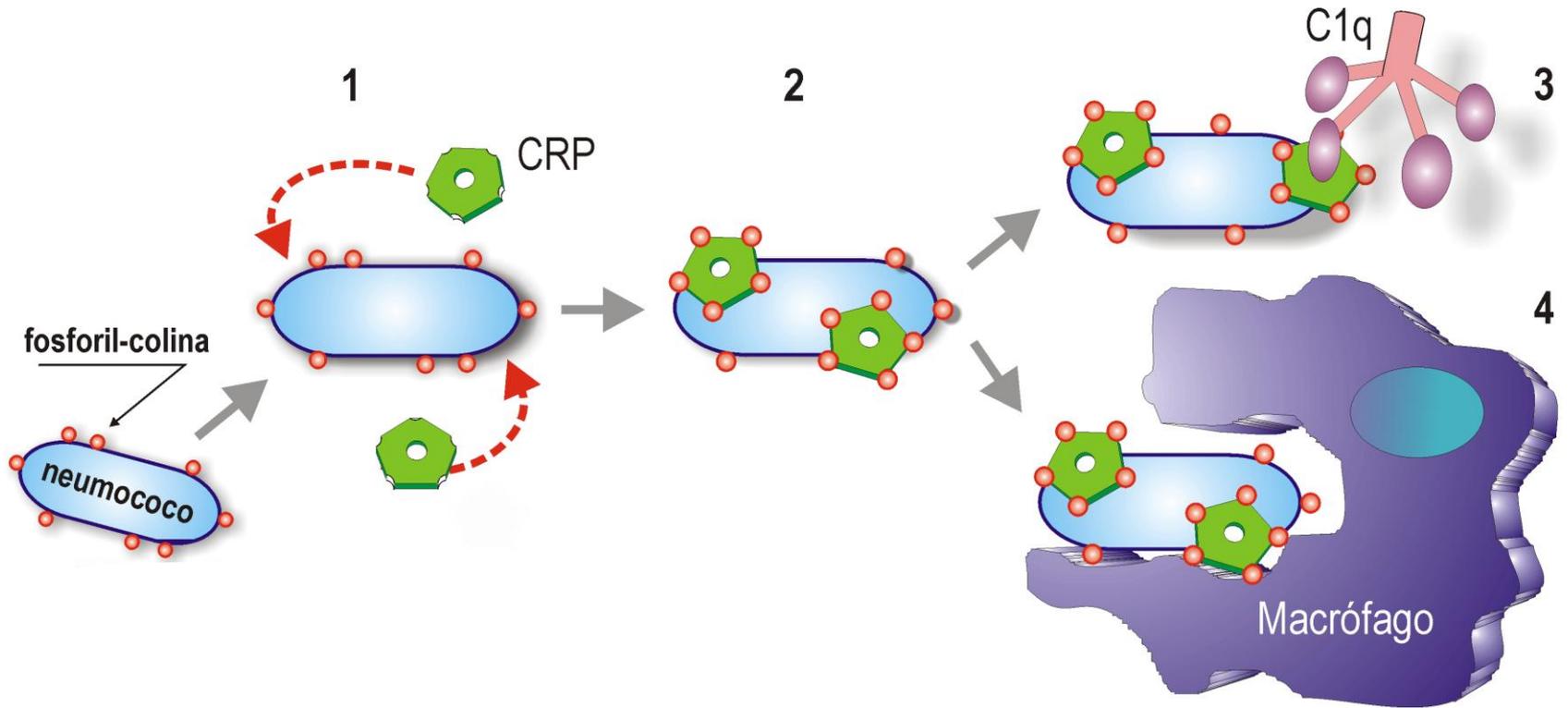
Activa la vía clásica del complemento

Estimula fagocitosis.

Se une a los receptores de Inmunoglobulinas (FcγR)

CRP se une específicamente a moléculas de PC de los ácidos teicoicos de la pared del neumococo.

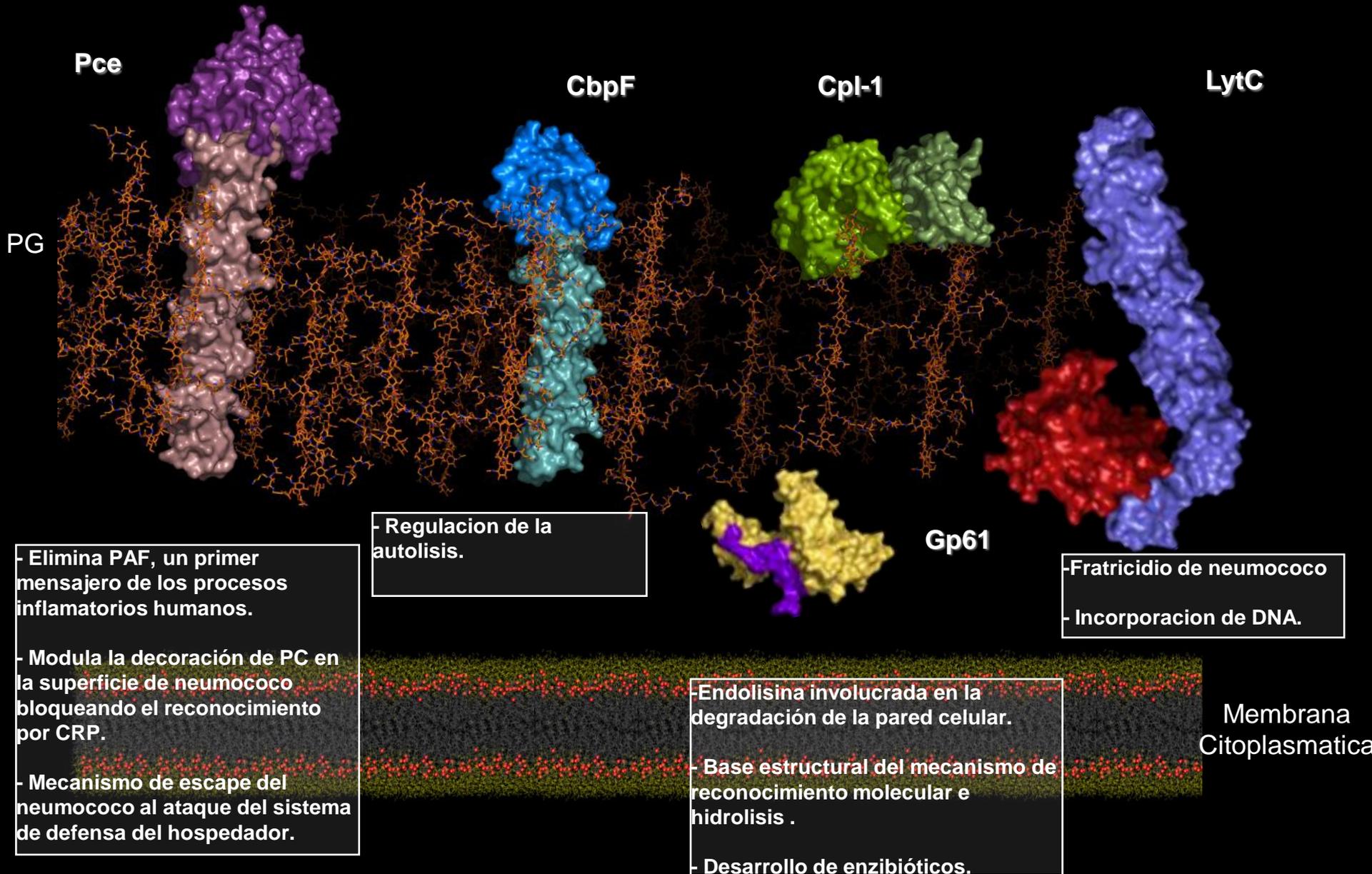
Pce: implicaciones en la patogénesis del neumococo



Pce: implicaciones en la patogénesis del neumococo

Para ver esta película, debe
disponer de QuickTime™ y de
un descompresor Sorenson Video 3.

El “paisaje estructural” de la pared *del neumococo*



¿Puede la Cristalografía

ayudar a la Medicina?

- * La Cristalografía es una herramienta indispensable para la caracterización de la estructura y la Función de las proteínas. Proporcionando avances profundos en la base molecular de la enfermedad y de los mecanismos de infección y resistencia.
- * El rápido aumento de la comprensión estructural y funcional de estos fenómenos es el punto de partida para el desarrollo de nuevas terapias y agentes antimicrobianos.



**Grupo de Cristalografía Macromolecular y Biología Estructural.
Inst. "Rocasolano", CSIC. Madrid.**



Begoña Monterroso

Graduate student

Cpl-1



Noella Silva

Graduate student

SIGN-R1



Martín Martínez-Ripoll

Research Professor



Rafael Molina

Graduate student

CbpF



Reyes Sanles

PhD student

LytC



Laura Lagartera

Graduate student

Pce



Inma Pérez-Dorado

Graduate student

Cpl-1 comp + LytC



Alzoray Rojas-Altuve

Research assistant



Celia Maya

Postdoctoral

SKL



César Carrasco

Graduate student

GP61



Dept. de Microbiología Molecular. CIB, CSIC. Madrid.



Ernesto García
José Luis García
Pedro García
Ana González
Miriam Moscoso

Dept. de Química-Física de Macromoléculas Biológicas. Inst. "Rocasolano", CSIC. Madrid.

Laura Lagartera
Begoña Monterroso
Margarita Menéndez

Instituto de Química Médica, CSIC. Madrid.

Nuria Campillo
Juan A. Páez



Institute for Cell and Molecular Biosciences Medical School. Newcastle University

Waldemar Vollmer



CONSOLIDER-INGENIO 2010



Department of Chemistry and Biochemistry. Indiana, USA.

Shahriar Mobashery



Department of Molecular Genetics and Cell Biology. University of Chicago. USA.

Lucia Rothman-Denes

THE ROCKEFELLER UNIVERSITY
Science for the benefit of humanity

**Laboratory of Bacterial Pathogenesis .
New York, USA.
Ralph Steinman
Chae Gyu Park**

