ULTRAESTRUCTURA: En Salmonella, los filamentos flagelares están formados por subunidades de flagelina asociadas entre sí formando 11 hileras - longitudinales ligeramente inclinadas llamadas **protofilamentos** -- que los recorren casi longitudinalmente. En un filamento recto to dos los protofilamentos poseen la misma longitud, pero en los helicoidales, uno o varios son más cortos debido a que sus flagelinas tienen otra estructura cuaternaria; esto ocasiona una torsión del filamento adoptando una disposición helicoidal.

En cuanto a las subunidades de flagelina, se piensa que estas deben ser elongadas. Esto explicaría la apariencia de los extremos del filamento, pues mientras uno de ellos (el proximal) es cónico en los fialemntos reensamblados in vitro, el otro (el distal) es cóncavo, tal como se muestra en la figura 8. Es probable que en - el interior del filamento exista un canal de unos 3 nm de diámetro, que permite la difusión de las subunidades durante el crecimiento del flagelo.

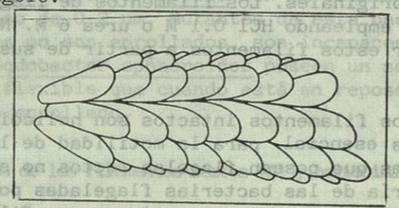


Fig.8. Modelo del filamento flagelar basado en la evidencia de Bode, Engel y Winklmair (1972) de que las subunidades son elongadas más bien que esféricas.

EL GANCHO

La sección del flagelo entre el filamento y la estructura basal se - conoce como **gancho**. Es corto, ligeramente curvado y tiene un diámetro algo - mayor que el filamento. Su longitud varía de 70 a 90 nm. Los valores altos ó bajos de pH, la urea y otros solventes de flagelinas conocidos, tienen muy - poco efecto sobre el gancho.

COMPOSICION QUIMICA: El gancho está formado por un solo tipo de proteína: **la proteína del gancho**. Su peso molecular varía desde 42 kilodaltones en E. coli a 72 kilodaltones en C.crescentus. Es antigénicamente diferente de la flagelina. Se ha reportado que los ganchos de diferentes cepas de Salmonella son antigénicamente más homogeneos (menos variables) que sus filamentos; tal vez porque las mutaciones en el filamento son selectivamente ventajosas, mientras que las mutaciones en el antígeno del gancho son neutras.

Además de la proteína principal, se han aislado otras conocidas - como **proteínas asociadas al gancho** en Salmonella typhimurium, la **HAP1** de 59 Kd, la **HAP2** de 53 Kd y la **HAP3** de 31 Kd. Se ha sugeri-

do que las proteínas HAP1 y HAP3 unen al gancho con el filamento, mientras que la HAP2 se localiza en el extremo distal del filamento. Aparentemente HAP2 es una proteína involucrada en el creci -- miento del filamento pues las mutantes que no la producen excre-- tan moléculas de flagelina al medio de cultivo. Su presencia, además, impide el ensamble de flagelina exógena sobre el extremo distal de un filamento en crecimiento.

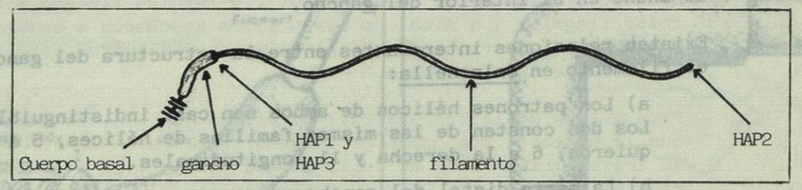


Fig.9. Localización de las proteínas asociadas al gancho sobre el flagelo de — Salmonella typhimurium.

ULTRAESTRUCTURA: Se han realizado reconstrucciones tridimensionales de los - ganchos de Salmonella y Caulobacter, encontrandose que son estructuralmente similares. La apariencia de los ganchos, al igual que los filamentos, tiene una apariencia polar, con uno de los extremos cónico y el otro obtuso. El lado cónico se une al cuerpo ba-- sal, mientras el otro extremo se une al filamento. Las subunidades están dispersas de tal manera que describen una red superfi-- cial caracterizada por familias de hélices que se entrecruzan (5 a la izquierda, 6 a la derecha y 11 longitudinales).

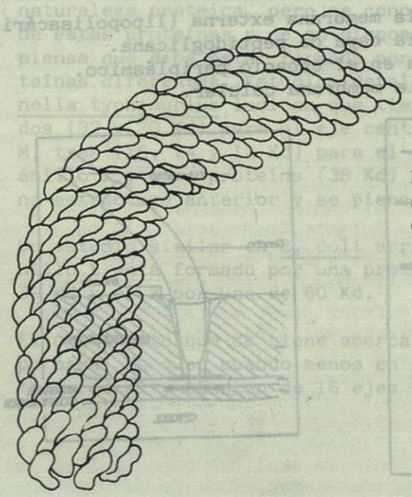


Fig.10. Ultraestructura del gancho. Las subunidades proteicas tienen forma de - dedo.

Se piensa que cada una de las subunidades debe ser elongada y curvada, con unas dimensiones de 10 x 2.5 x 2.5 nm. La característica más importante del modelo es la presencia de surcos continuos de 5 nm de profundidad a lo largo de las 6 hélices dextrógiras. Estas hendiduras podrían funcionar como los pliegues del fuelle de un acordeón, permitiendo el doblamiento de toda la estructura. Se conoce además la existencia de un canal de cuando menos 2.5 nm de ancho en el interior del gancho.

Existen relaciones interesantes entre la estructura del gancho y el filamento en Salmonella:

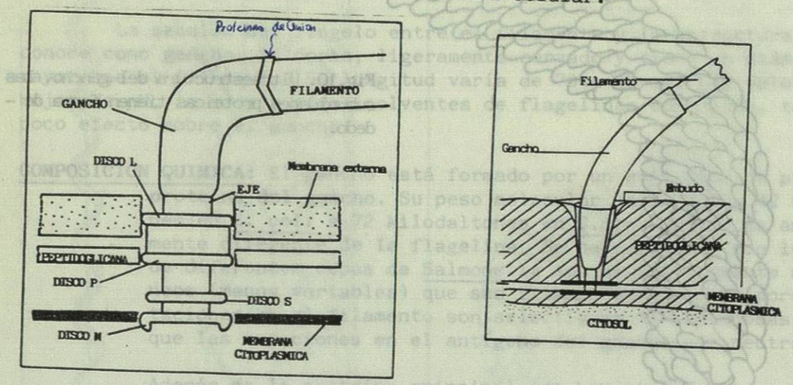
a) Los patrones hélicos de ambos son casi indistinguibles. Los dos constan de las mismas familias de hélices, 5 a la izquierda, 6 a la derecha y 11 longitudinales.

b) La parte distal del gancho posee una cavidad cónica, mientras que en la proximal el filamento adopta también una forma cónica. Esto hace geométricamente posible la unión de ambas estructuras.

EL CUERPO BASAL

Es la estructura de anclaje del flagelo a las envolturas celulares. Es la estructura más compleja y se le relaciona con la generación del movimiento. En las bacterias estudiadas siempre consta de un eje central y una serie de anillos cuyo número varía y que han recibido un nombre de acuerdo a la envoltura celular con la cual están asociados. En las bacterias gramnegativas existen 4 anillos:

ANILLO L: Asociado a la membrana externa (lipopolisacárido).
ANILLO P: Asociado a la capa de peptidoglicana.
ANILLO S: Se encuentra en el espacio periplásmico.
ANILLO M: Asociado a la membrana celular.



A B

Fig.11. Esquemas de los cuerpos basales de bacterias gramnegativas (A) y grampositivas (B).

En cambio, las bacterias grampositivas solamente presentan dos anillos que son el **P** y el **M**, como se muestra en la figura 11.

En otras bacterias, el número de anillos varía aún más; por ejemplo, en Caulobacter crescentus el cuerpo basal posee 5 anillos y en Bdellovibrio sólo tres, como se aprecia en las figuras 12 y 13.

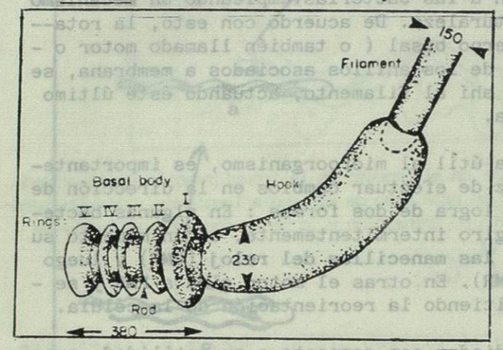
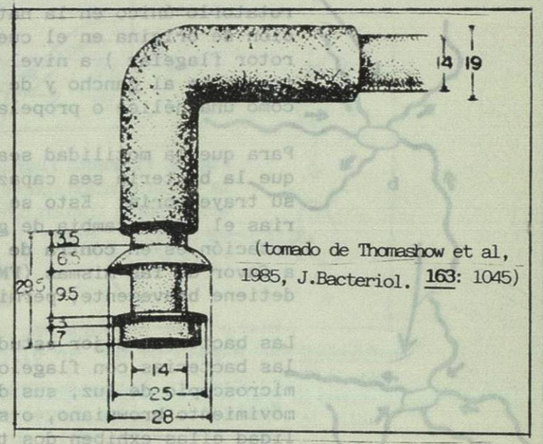


Fig.12 . Modelo del cuerpo basal de Caulobacter crescentus. Las dimensiones son en A.
(Tomado de Wagenknecht et al, 1981, J.Mol. Biol. 151: 440)



(tomado de Thomashow et al, 1985, J.Bacteriol. 163: 1045)

Fig.13 . Modelo del cuerpo basal de Bdellovibrio bacteriovorus. Las dimensiones son en nm.

COMPOSICION QUIMICA Y ULTRAESTRUCTURA: Se sabe que el cuerpo basal es de naturaleza proteica, pero se conoce poco acerca de la naturaleza de estas proteínas y de su disposición en tal estructura. Se piensa que deba estar formada por alrededor de una docena de proteínas diferentes. Estudios detallados del cuerpo basal de Salmonella typhimurium indican que tiene nueve proteínas componentes: dos (32 y 30 Kd) para el eje central, una (65 Kd) para el anillo M, tres (16, 14 y 12 Kd) para el anillo S, una (27 Kd) para el anillo L y otra proteína (38 Kd) que no ha sido asociada a ninguna estructura anterior y se piensa sea un componente de membrana.

Un estudio similar en E. coli arrojo los siguientes datos: el anillo L está formado por una proteína de 26 Kd, el P por una de 39 Kd y el M por una de 60 Kd.

El único dato que se tiene acerca de la ultraestructura del cuerpo basal es que, cuando menos en E.coli los anillos tienen simetría radial y constan de 16 ejes de simetría.

FUNCIONES DE LOS FLAGELOS

MOTILIDAD: Los flagelos son los responsables de la motilidad bacteriana. - Existe una gran cantidad de evidencia experimental sugiriendo -- que los flagelos impulsan a las bacterias empleando un **mecanismo rotatorio** único en la naturaleza. De acuerdo con esto, la rota-- ción se origina en el cuerpo basal (o también llamado motor o - rotor flagelar) a nivel de los anillos asociados a membrana, se transmite al gancho y de ahí al filamento, actuando éste último como una hélice o propela.

Para que la motilidad sea útil al microorganismo, es importante- que la bacteria sea capaz de efectuar cambios en la dirección de su trayectoria. Esto se logra de dos formas : En algunas bacte- rias el motor cambia de giro intermitentemente, en un momento su rotación es en **contra de las manecillas del reloj** (**CMR**) y luego a favor de las mismas (**FMR**). En otras el motor gira a **FMR** y se - detiene brevemente, permitiendo la reorientación de la célula.

Las bacterias mejor estudiadas con respecto a su motilidad, son- las bacterias con flagelos peritricos. Cuando las observamos al microscopio de luz, sus desplazamientos nos recuerdan al llamado movimiento browniano, o sea,su trayectoria es aleatoria. En rea- lidad ellas exhiben dos tipos de movimiento que en conjunto dan la imagen de lo que vemos al microscopio. Uno de ellos es el **NA- DO**, que tiene una duración de varios segundos y en el cual la -- bacteria recorre distancias largas siguiendo una trayectoria más o menos lineal. El otro es el **BAMBOLEO**, que dura sólo décimas de segundo y durante el cual la bacteria se detiene y experimenta - violentas sacudidas que le hacen cambiar de dirección.Existe una relación entre el nado, el bamboleo y la dirección de la rota-- ción. Durante el nado los flagelos rotan en CMR y se encuentran asociados formando un mechón levógiro (fig.14) localizado en uno de los polos de la célula. En el bamboleo la rotación es FMR, el sentido de su hélice es ahora dextrógiro y no se encuentran aso- ciados en un mechón. Esta serie de eventos se describen enseguida:

a) Los flagelos bacterianos son hélices levógiras en ausencia de una fuerza aplicada. Durante la rotación CMR esta configuración se estabiliza aún más y un mechón estable (también levógiro) se- forma, propagando ondas que empujan a la célula (Fig.14a).

b) Repentinamente la rotación cambia a FMR, lo cual genera una - torsión hacia la derecha en la base del flagelo. Esto hace que - el mechón se desenrede (fig.14b).

c) La torsión origina un cambio en el sentido de la hélice, tor- nándola dextrógira. La transición ocurre gradualmente y se pro- paga desde el punto de máxima torsión (base del flagelo) hasta - el extremo distal. Tanto la amplitud como la longitud de onda -- disminuyen y un ángulo característico de 64° aparece sobre el -- punto de transición de cAda flagelo (Fig.14c y 15)

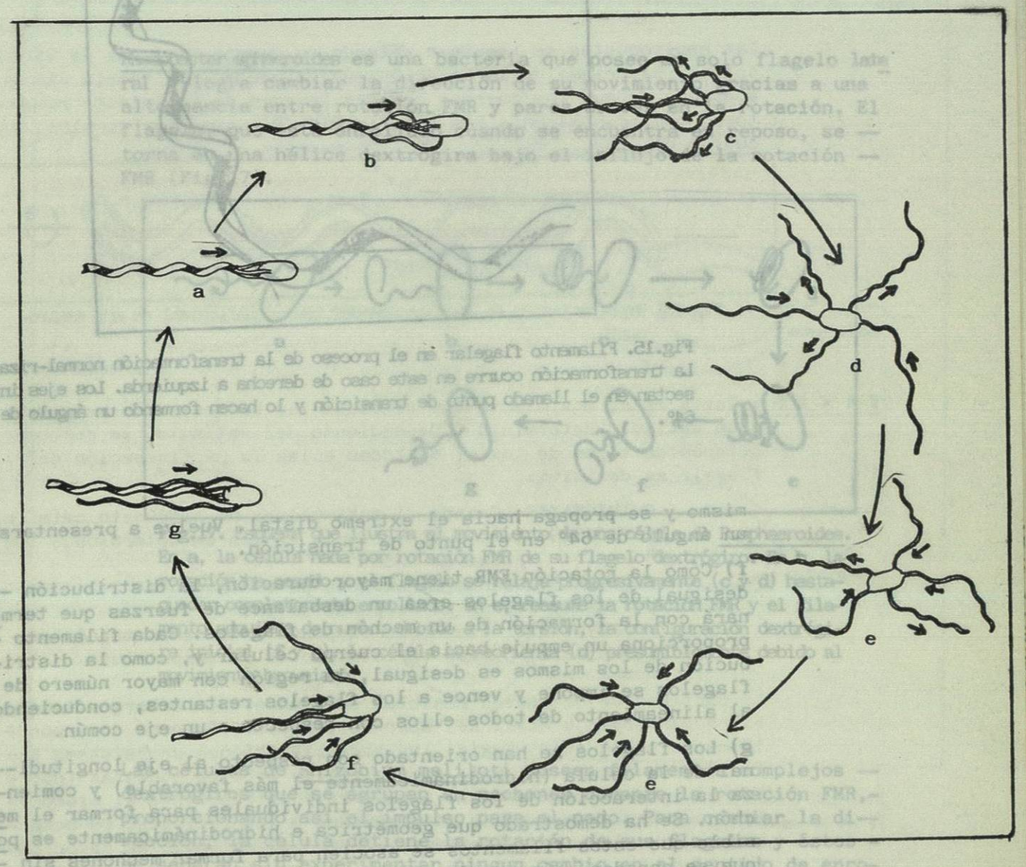


Fig.14. Esquema que representa las diferentes etapas que se presentan durante el movimiento de una célula flagelada perítricamente. Durante las fases **f, g, a** y **b**, la célula se encuentra "nadando". En las fases **c, d** y **e**, la célula se encuentra en "bamboleo". Una descripción más detallada se encuentra en el texto. Las — flechas pequeñas indican la dirección de las fuerzas ejercidas por los filamen— tos sobre el cuerpo celular. La propagación de las ondas ocurre en sentido con— trario.

d) Cada flagelo "transformado" propaga ondas que se dirigen ha-- cia el centro de la célula, mientras que los flagelos que aún si- guen en rotación CMR propagan ondas hacia el exterior de la cé-- lula. Estas fuerzas hacen que la célula se reoriente.

e) Repentinamente, la rotación cambia a CMR, y un muevo cambio - en el sentido de la hélice ocurre: de nuevo a la izquierda. Con el cambio de rotación, gradualmente se recupera la configuración normal del flagelo. La transformación comienza en la base del --

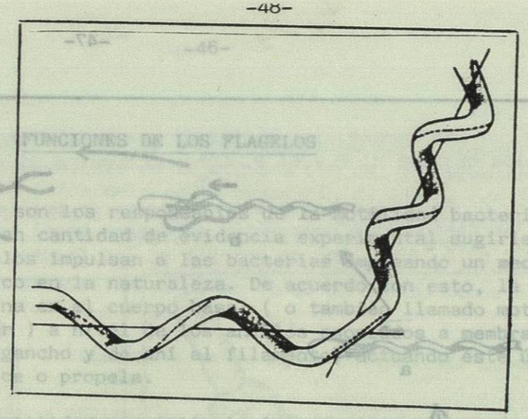


Fig.15. Filamento flagelar en el proceso de la transformación normal-rizado. La transformación ocurre en este caso de derecha a izquierda. Los ejes intersectan en el llamado punto de transición y lo hacen formando un ángulo de 64°.

mismo y se propaga hacia el extremo distal. Vuelve a presentarse un ángulo de 64° en el punto de transición.

f) Como la rotación FMR tiene mayor duración, la distribución desigual de los flagelos crea un desbalance de fuerzas que terminará con la formación de un mechón de flagelos. Cada filamento proporciona un empuje hacia el cuerpo celular y, como la distribución de los mismos es desigual, la región con mayor número de flagelos se impone y vence a los flagelos restantes, conduciendo al alineamiento de todos ellos con respecto a un eje común.

g) Los flagelos se han orientado con respecto al eje longitudinal de la célula (hidrodinámicamente el más favorable) y comienza la interacción de los flagelos individuales para formar el mechón. Se ha demostrado que geométrica e hidrodinámicamente es posible que estos filamentos se asocien para formar mechones sin que se enreden, aún cuando cada filamento rota individualmente.

En bacterias monótricas como Pseudomonas citronellolis, la rotación CMR produce un desplazamiento "hacia adelante" del cuerpo celular (con el flagelo atrás). En cambio, la rotación FMR origina un movimiento "hacia atrás" (con el flagelo adelante). Así, mediante un simple cambio de rotación la bacteria cambia el sentido de su movimiento. El desplazamiento no se realiza en línea recta gracias a la flexibilidad del gancho flagelar (Fig.16).

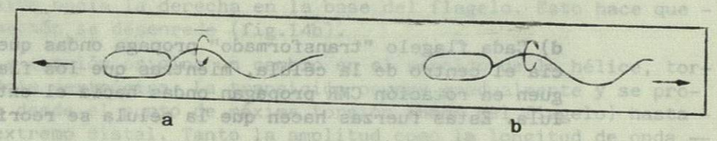


Fig.16. Desplazamiento de una célula monotrica. Movimiento de la bacteria durante la rotación CMR y FMR (a y b respectivamente).

Rhodobacter sphaeroides es una bacteria que posee un solo flagelo lateral y logra cambiar la dirección de su movimiento gracias a una alternancia entre rotación FMR y paros breves en la rotación. El flagelo, que está enrollado cuando se encuentra en reposo, se torna en una hélice dextrógira bajo el influjo de la rotación FMR (Fig.17).

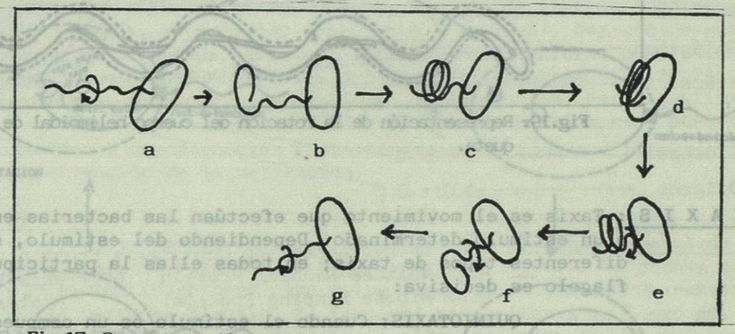


Fig.17. Esquema que ilustra el movimiento de una célula de R.sphaeroides. En **a**, la célula nada por rotación FMR de su flagelo dextrógiro. En **b**, la rotación ha cesado y el flagelo se relaja progresivamente (**c** y **d**) hasta quedar completamente enrollado. En **e**, reasume la rotación FMR y el filamento adquiere de nuevo, debido a la torsión, la configuración dextrógira inicial (**f** y **g**). La célula se reorienta (**d**) presumiblemente debido al movimiento browniano.

Las células de Rhizobium meliloti poseen filamentos complejos dextrógiros que se agrupan en mechones durante la rotación FMR, proporcionando así el impulso para el nado. Para cambiar la dirección, la célula detiene la rotación de sus flagelos y éstos se separan sin experimentar ningun cambio en el sentido de enrollamiento de su hélice.

Aún no se ha aclarado el mecanismo que opera en los espirilos, los cuales poseen mechones polares de flagelos no helicoidales. Aparentemente estas células tienen la capacidad de coordinar la rotación de sus mechones en direcciones contrarias al mismo tiempo, ya que mientras un mechón funciona como "cabeza", describiendo su cono de rotación sobre el cuerpo bacteriano, el otro mechón funciona como "cola" cuyo cono de rotación se encuentra fuera del cuerpo celular el cual, al rotar, proporciona el impulso necesario. Al invertir la rotación de cada mechón, se invierte el sentido del movimiento. (fig.18).

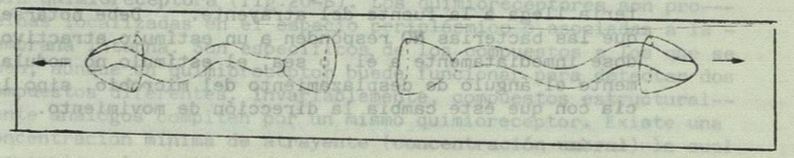


Fig.18. Desplazamiento típico de los espirilos