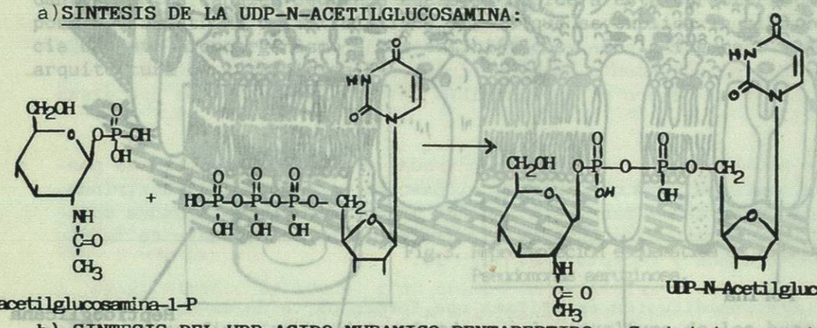
BIOSINTESIS DE PEPTIDOGLICANA

La peptidoglicana es un polímero encontrado en la pared celular de la mayoría de las bacterias. Su síntesis procede a través de cuatro estadios, - cada uno de ellos ocurre en una localización celular diferente. A continua-- ción detallamos las reacciones involucradas en la formación de este polímero.

FASE I: SINTESIS DE PRECURSORES

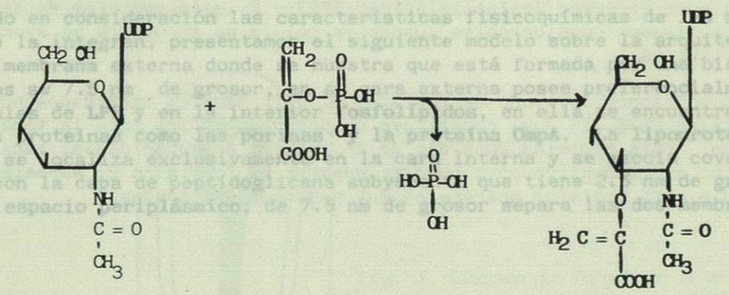
En el primer estadio, los nucleotidos precursores: **UDP-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc)** y el **UDP-N-acetilmuramil-L-Ala-D-Glu-meso-diaminopimelico--D-Ala-D-Ala (UDP-MurAc- Pentapeptido)**, son sintetizados por una serie de enzimas solubles en el citoplasma.

a) **SINTESIS DE LA UDP-N-ACETILGLUCOSAMINA:**

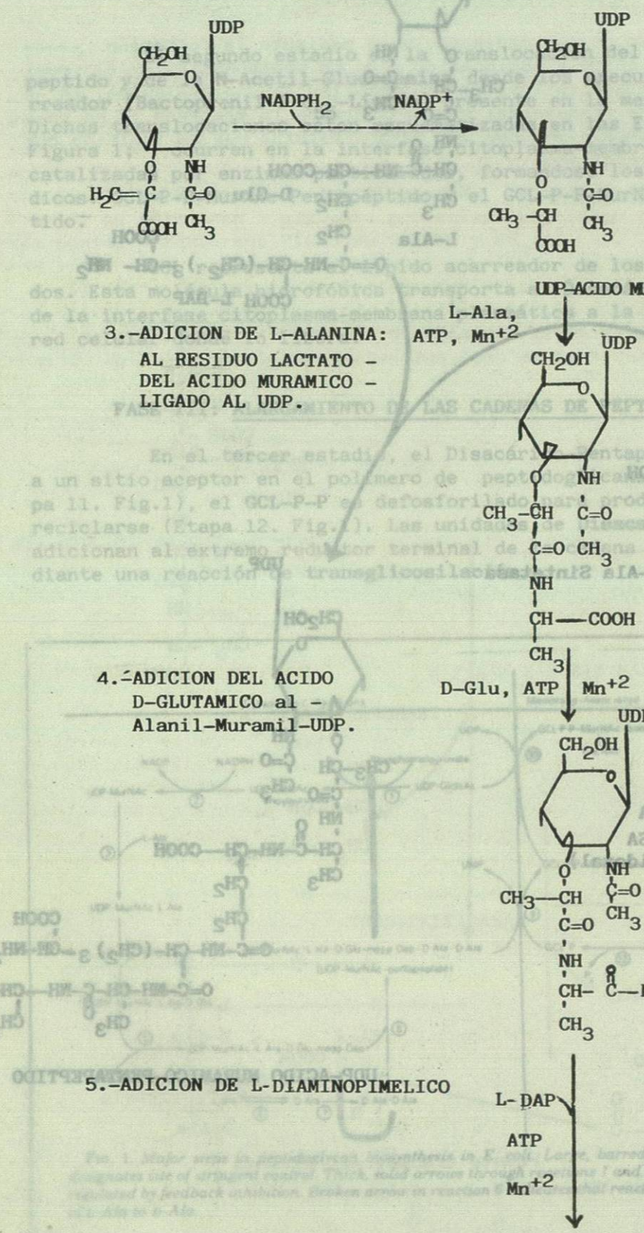


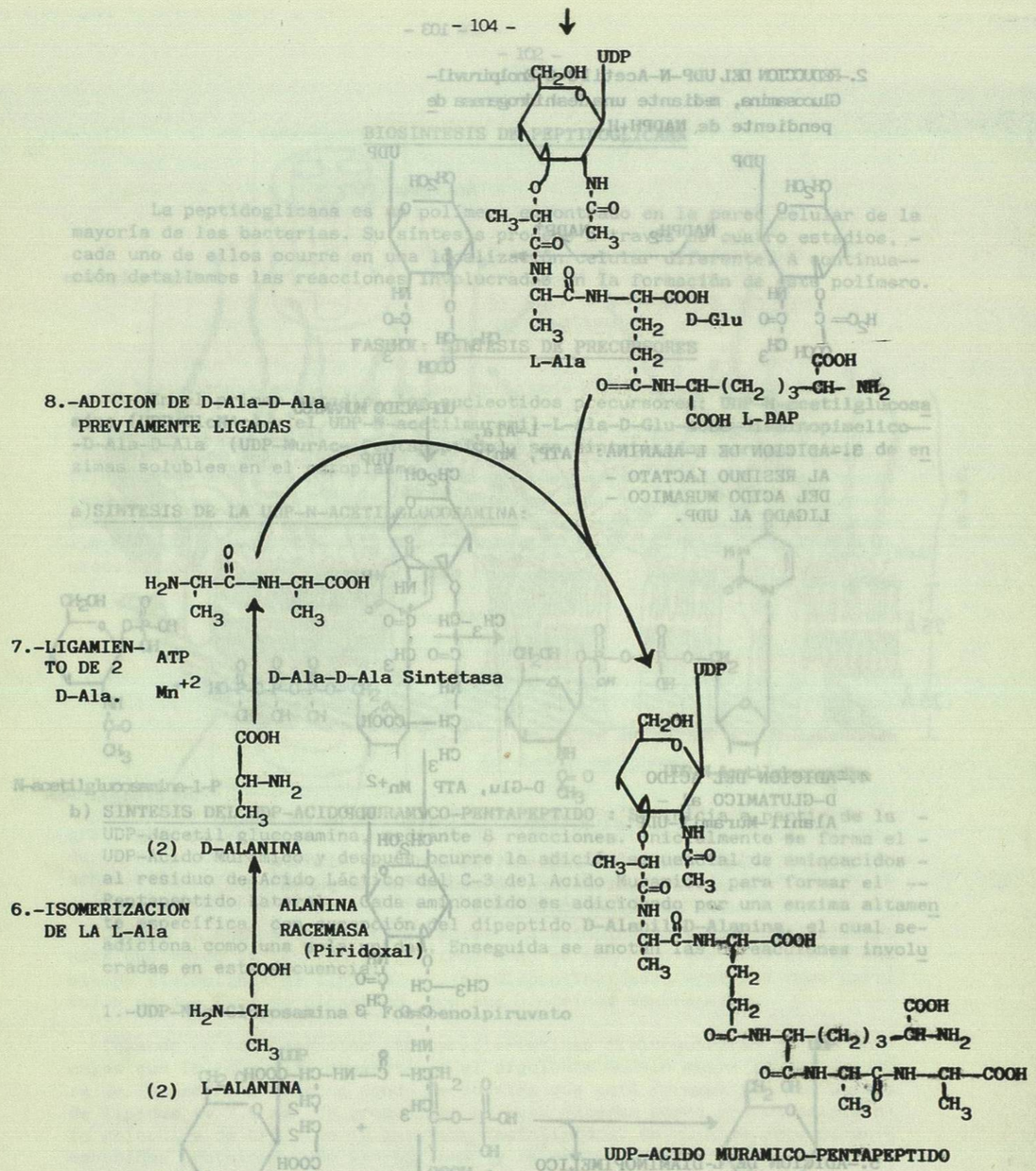
b) **SINTESIS DEL UDP-ACIDO MURAMICO-PENTAPEPTIDO** : Se inicia a partir de la - UDP-Nacetil glucosamina, mediante 8 reacciones. Inicialmente se forma el - UDP-Acido Muramico y después ocurre la adición secuencial de aminoacidos - al residuo de Acido Láctico del C-3 del Acido Muramico; para formar el -- Pentapeptido Lateral. Cada aminoacido es adicionado por una enzima altamente específica, con excepción del dipeptido **D-Alanil-D-Alanina**, el cual se- adiciona como una sola unidad. Enseguida se anotan las 8 reacciones involucradas en esta secuencia:

1.-**UDP-NAc-Glucosamina + Fosfoenolpiruvato**



2.-**REDUCCION DEL UDP-N-Acetil-3-O-Enolpiruvil-Glucosamina, mediante una deshidrogenasa dependiente de NADPH+H.**





FASE II: CICLO DEL BACTOPRENIL

El segundo estadio es la translocación del **Acido Murámico-Pentapeptido** y de la **N-Acetil-Glucosamina** desde los precursores, al **lipido acarreador (Bactoprenil ó C_{55}-Lípido)** presente en la membrana plasmática. Dichas translocaciones están esquematizadas en las Etapas 9 y 10 de la Figura 1; ocurren en la interfase citoplasma-membrana plasmática, y son catalizadas por enzimas particuladas, formandose los intermediarios lipídicos: GCL-P-P-MurNAc-Pentapéptido y el GCL-P-P-MurNAc(-GlcNAc)-Pentapeptido.

GCL representa al lípido acarreador de los glucosilos mencionados. Esta molécula hidrofóbica transporta al Disacárido-Pentapeptido desde la interfase citoplasma-membrana plasmática a la interfase membrana-pared celular donde lo libera.

FASE III: ALARGAMIENTO DE LAS CADENAS DE PEPTIDOGLICANA

En el tercer estadio, el Disacárido-Pentapeptido es transferido a un sitio aceptor en el polímero de peptidoglicana en crecimiento (Etapa 11. Fig.1), el **GCL-P-P** es defosforilado para producir **GCL-P** capaz de reciclarse (Etapa 12. Fig.1). Las unidades de **Disacarido-Pentapeptido** se adicionan al extremo reductor terminal de la cadena de peptidoglicana, mediante una reacción de **transglicosilación.**

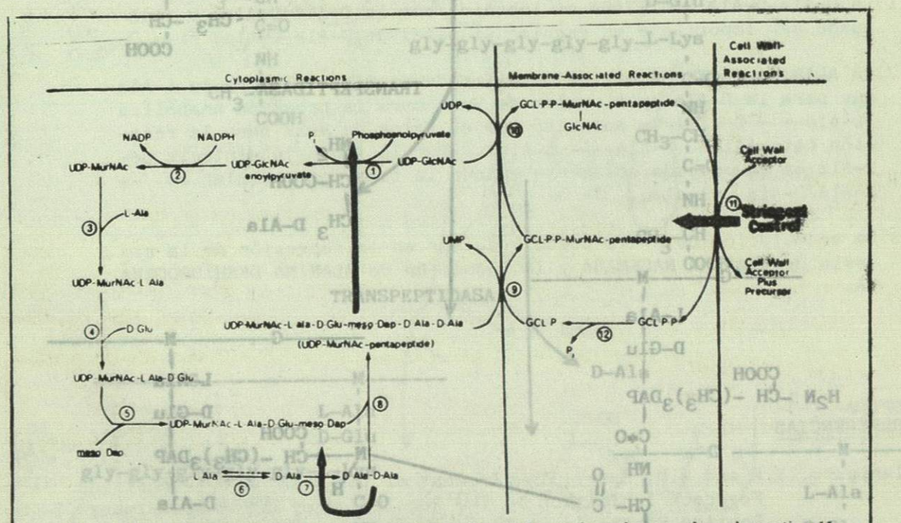
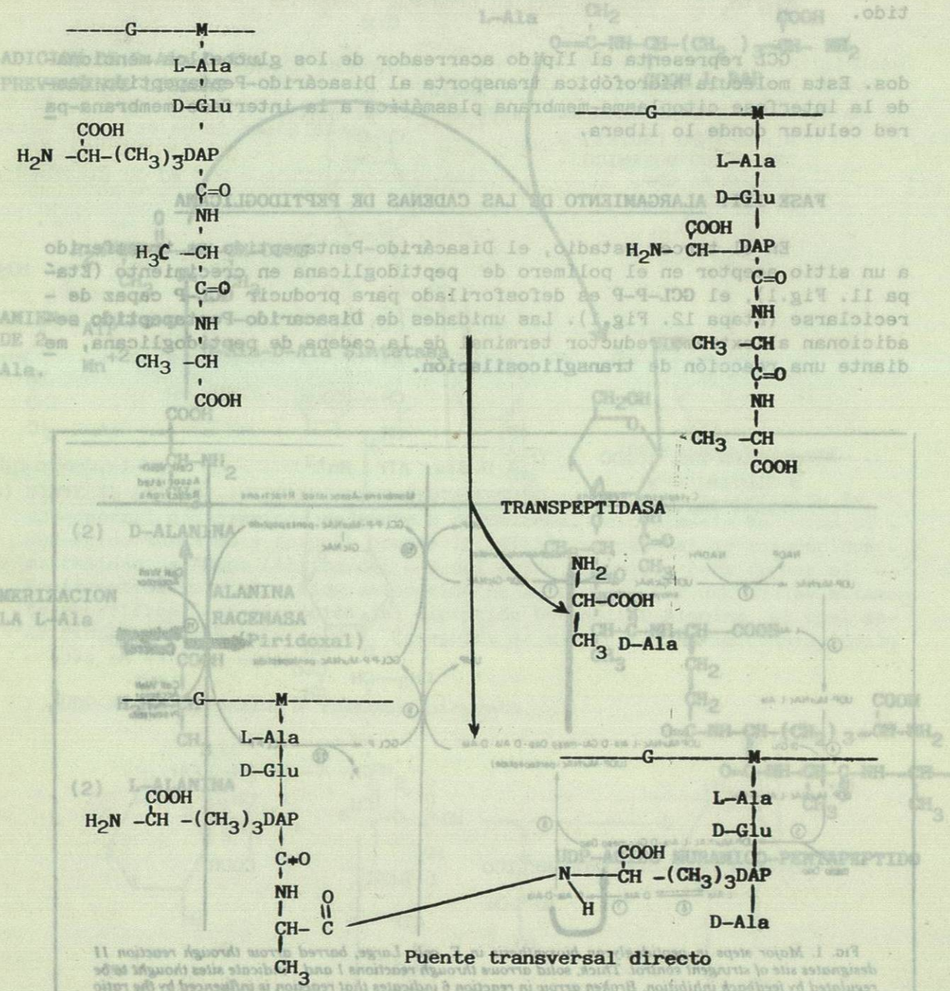


FIG. 1. Major steps in peptidoglycan biosynthesis in E. coli. Large, barred arrow through reaction 11 designates site of stringent control. Thick, solid arrows through reactions 1 and 7 indicate sites thought to be regulated by feedback inhibition. Broken arrow in reaction 6 indicates that reaction is influenced by the ratio of L-Ala to D-Ala.

FASE IV: ENTRECRUZAMIENTO DE LAS CADENAS DE PEPTIDOGLICANA

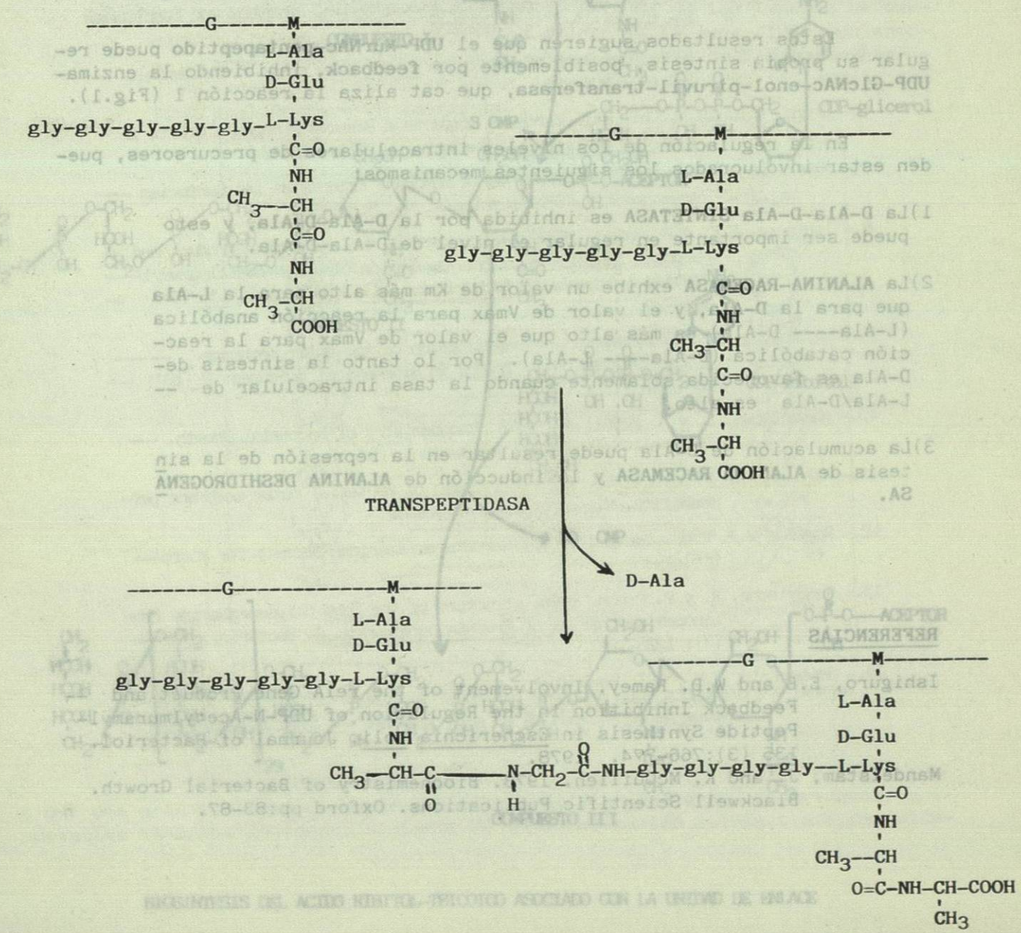
El entrecruzamiento de las cadenas ocurre mediante la formación de un enlace peptídico entre el aminoacido 4 de un pentapeptido, y el residuo No.3 de un pentapeptido vecino, con la remoción de una D-Alanina. La formación de este puente transversal sucede fuera de la membrana, y no requiere de ATP, siendo catalizada por una **TRANSPEPTIDASA** que es inhibida competitivamente por la **Penicilina.**



CONSIDERACIONES ADICIONALES

Durante la fase II (Ciclo del Bactoprenil), pueden acontecer eventos como son la amidación del grupo α-COOH del **acido glutamico** que ocurre en Micrococcus lysodeikticus; ó la insersión de los aminoacidos que forman el puente transversal que entrecruza las cadenas de peptidoglicana. Estos aminoacidos son proporcionados por los **aminoacil-tRNA** correspondientes, sin la participación de RNA mensajero o ribosomas. En Staphylococcus aureus durante la Fase II se adicionan 5 glicinas por enlace peptidico con el residuo No.3 (Lys) del pentapeptido, requiriendose de ATP y NH_3.

El entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicana en S. aureus se efectúa mediante la formación de un enlace peptídico entre el residuo No.4 (D-Ala) de un pentapeptido y la primera **Glicina** del gly-gly-gly-gly-gly- asociado al residuo No. 3 del pentapeptido vecino,como se muestra enseguida:



REGULACION DE LA BIOSINTESIS DE PEPTIDOGLICANA

En E.coli la velocidad de sintesis de nucleotidos precursores, parece estar acoplada con la velocidad a la cual son utilizados los precursores para la sintesis de peptidoglicana. Por ejemplo, el **UDP-MurNAc-Pentapeptido** no se acumula cuando se inhiben las reacciones de biosintesis asociadas con la membrana plasmática, al incubar mutantes temperatura-sensibles a temperaturas no-permisivas.

Además, los nucleotidos precursores no acumulan cuando se inhibe la sintesis de peptidoglicana por tratamiento con penicilina o vancomicina. - Sin embargo, el tratamiento de las celulas con **D-cicloserina (DCS)** resultó en la acumulación de UDP-MurNAc-L-Ala-D-Glu-meso DAP (UDP-MurNAc-tripeptido). Se ha demostrado que el DCS previene la sintesis de **D-Ala-D-Ala** (y presumiblemente, UDP-MurNAc-pentapeptido) inhibiendo a la enzima **ALANINA - RACEMASA** (Etapa 6, Fig.1) y la **D-Ala-D-Ala SINTETASA** (Etapa 7,Fig.1).

Estos resultados sugieren que el **UDP-MurNAc-pentapeptido** puede regular su propia sintesis, posiblemente por **feedback**, inhibiendo la enzima- **UDP-GlcNAc-enol-piruvil-transferasa**, que cat aliza la reacción 1 (Fig.1).

En la regulación de los niveles intracelulares de precursores, pueden estar involucrados los siguientes mecanismos:

1)La **D-Ala-D-Ala SINTETASA** es inhibida por la **D-Ala-D-Ala**, y esto puede ser importante en regular el nivel de D-Ala-D-Ala.

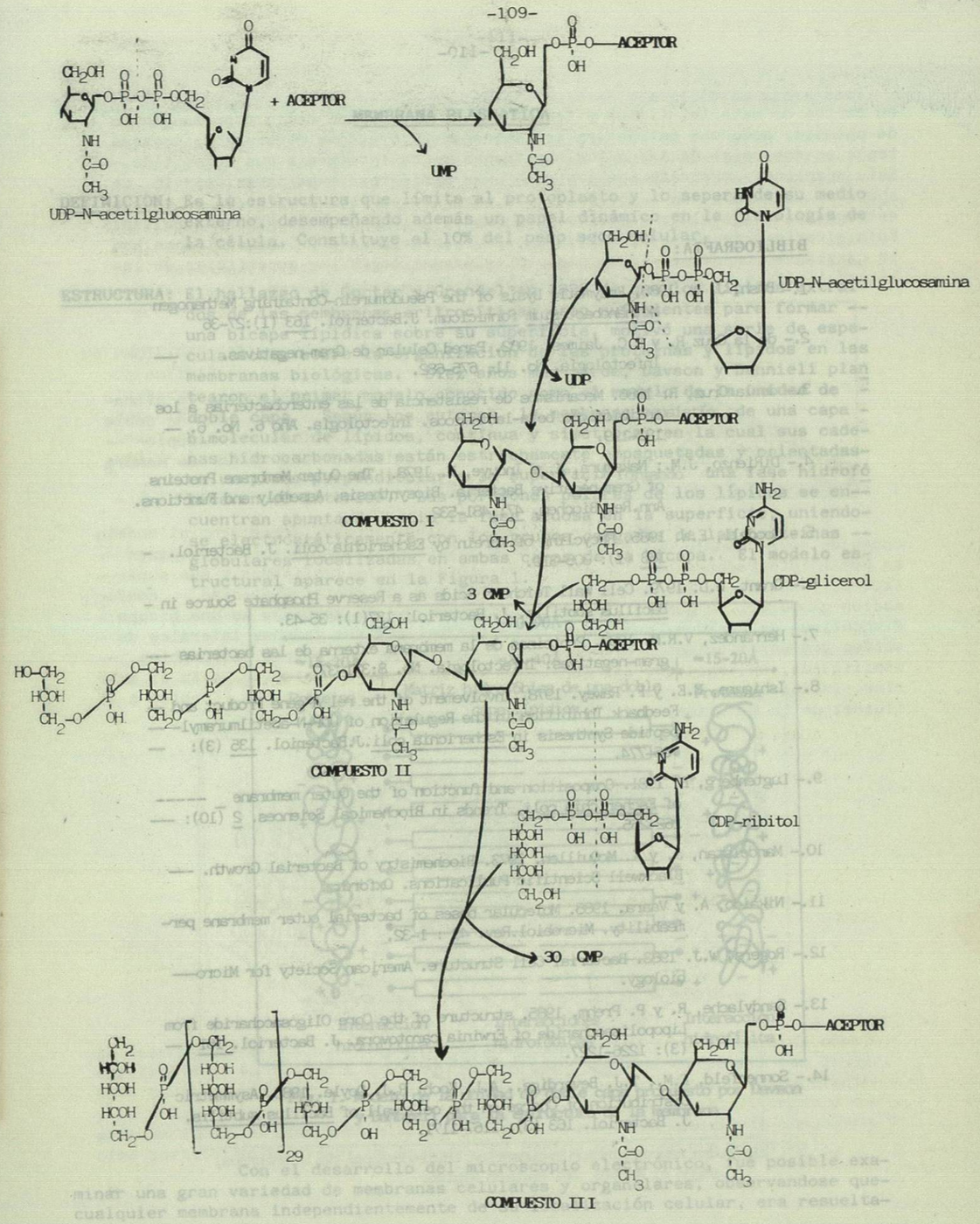
2)La **ALANINA-RACEMASA** exhibe un valor de Km más alto para la **L-Ala** que para la **D-Ala**, y el valor de Vmax para la reacción anabólica (L-Ala---- D-Ala) es más alto que el valor de Vmax para la reacción catabólica (D-Ala---- L-Ala). Por lo tanto la sintesis de D-Ala es favorecida solamente cuando la tasa intracelular de -- L-Ala/D-Ala es alto.

3)La acumulación de D-Ala puede resultar en la represión de la sintesis de **ALANINA RACEMASA** y la inducción de **ALANINA DESHIDROGENASA.**

REFERENCIAS

Ishiguro, E.E and W.D. Ramey. Involvement of the relA Gene Product and -- Feedback Inhibition in the Regulation of UDP-N-Acetylmuramyl-Peptide Synthesis in Escherichia coli. Journal of Bacteriol. 135 (3):766-774. 1978.

Mandelstam, J. and K. McQuillen. 1973. Biochemistry of Bacterial Growth. Blackwell Scientific Publications. Oxford pp:83-87.



BIOSINTESIS DEL ACIDO RIBITOL-TEICOICO ASOCIADO CON LA UNIDAD DE ENLACE

BIBLIOGRAFIA:

1.- Bush, J. W. 1985. Enzymatic Lysis of the Pseudomurein-Containing Methanogen Methanobacterium formicicum. J.Bacteriol. 163 (1):27-36

2.- de la Cruz R. y E.C. Jaimes. 1982. Pared Celular de Gram-negativas. Infectología. No. 11, 675-682.

3.- de la Cruz, R. 1986. Mecanismos de resistencia de las enterobacterias a los antibióticos beta-lactámicos. Infectología. Año 6. No. 6. 192-199.

4.- DiRienzo, J.M.; Nakamura, K. e Inouye, M. 1978. The Outer Membrane Proteins of Gram-negative Bacteria. Biosynthesis, Assembly and Functions. Ann.Rev.Biochem. 47: 481-532.

5.- Goodell, E.W. 1985. Recycling of Murein by Escherichia coli. J. Bacteriol. 163 (1): 305-310.

6.- Grant, W.D. 1979. Cell Wall Teichoic Acids as a Reserve Phosphate Source in Bacillus subtilis. J. Bacteriol. 137(1): 35-43.

7.- Hernández, V.R.M. 1983. Proteinas de la membrana externa de las bacterias gram-negativas. Infectologia. No. 8:371-377.

8.- Ishiguro, E.E. y F. Rawey. 1978. Involvement of the rel A gene Product and Feedback Inhibition in the Regulation of UDP-N-acetilmuramyl-peptide Synthesis in Escherichia coli.J.Bacteriol. 135 (3): 766-774.

9.- Lugtenberg, B. 1981. Composition and function of the Outer membrane of Escherichia coli. Trends in Biochemical Sciences. 2 (10): 262-265.

10.- Mandelstan, J. y K. McQuillen. 1973. Biochemistry of Bacterial Growth. Blackwell Scientific Publications. Oxford.

11.- Nikaido, A. y Vaara. 1985. Molecular bases of bacterial outer membrane permeability. Microbiol.Rev. 49 : 1-32.

12.- Rogers, W.J. 1983. Bacterial Cell Structure. American Society for Microbiology.

13.- Sandylache, R. y P. Prehm. 1985. structure of the Core Oligosaccharide from Lipopolisaccharide of Erwinia carotovora. J. Bacteriol. 161 (3): 1226-1227.

14.- Sonnenfeld, E.M., T.J. Beverdige., A.L. Koch. R.J. Doyle. 1985. Asymmetric Distribution of Charge on the cell wall of Bacillus subtilis. J. Bacteriol. 163 (3): 1167-1171.

MEMBRANA PLASMATICA

DEFINICION: Es la estructura que limita al protoplasto y lo separa de su medio externo, desempeñando además un papel dinámico en la fisiología de la célula. Constituye el 10% del peso seco celular.

ESTRUCTURA: El hallazgo de Gorter y Grendel en 1925 de que los lípidos extraídos de las membranas eritrocíticas eran suficientes para formar una bicapa lípidica sobre su superficie, motivó una serie de especulaciones sobre la organización de las proteínas y lípidos en las membranas biológicas. Diez años más tarde, Davson y Dannieli plantearon el primer modelo conocido como el **modelo de la unidad de doble capa.** Según los autores, la membrana consistía de una capa bimolecular de lípidos, continua y simétrica, en la cual sus cadenas hidrocarbonadas están estrechamente empaquetadas y orientadas en un plano perpendicular a la superficie formando una fase hidrofóbica en el interior. Las porciones polares de los lípidos se encuentran apuntando hacia la fase acuosa en la superficie, uniendose electrostáticamente con los grupos cargados de las proteínas globulares localizadas en ambas caras de la bicapa. El modelo estructural aparece en la Figura 1.

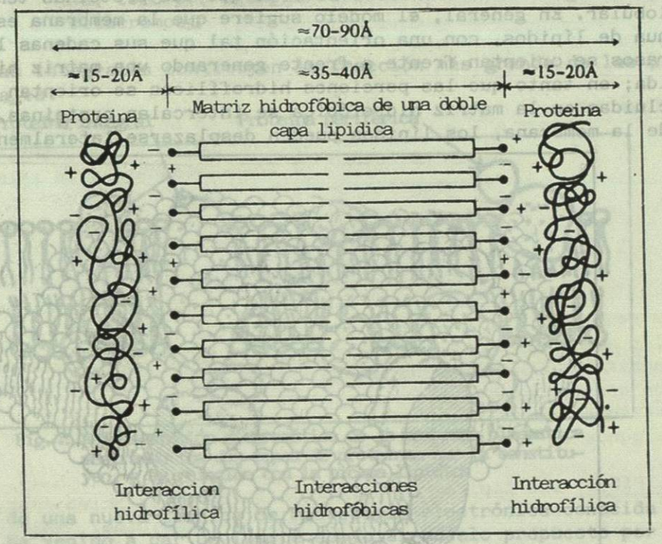


Fig. 1. Modelo de la unidad de doble capa propuesto por Davson y Dannieli para la estructura de la membrana

Con el desarrollo del microscopio electrónico, fué posible examinar una gran variedad de membranas celulares y organelares, observandose que cualquier membrana independientemente de su localización celular, era resuelta-