

Análisis genómico y aminoacídico del gen *ompA* del serotipo F de *Chlamydia trachomatis* aislado en México

Fernando M. Guerra-Infante,^{*,**} Marisol Basurto-Tranquilino,^{**} María J. de Haro-Cruz,^{**} Marcela López-Hurtado^{*}

^{*} Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Perinatología.

^{**} Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

INTRODUCCIÓN

Chlamydia trachomatis es considerada como el patógeno más frecuente en las infecciones de transmisión sexual. Diecinueve diferentes serotipos se han reconocido mediante microinmunofluorescencia (A-K y L1-L3).¹ El gen *ompA* de *C. trachomatis* codifica para la proteína principal de membrana externa (MOMP), que es la proteína de mayor proporción (60%) de todas las proteínas de superficie y la que define el serotipo. El análisis genómico del gen *ompA* ha establecido nuevas genovariantes. Por ejemplo, en Europa a finales de 2003 apareció una epidemia de proctitis (en hombres que tenían sexo con hombres), cuyo agente etiológico fue una genovariante de L2 a la cual se le identificó como L2b. Posteriormente, otras genovariantes de L2 y diferentes de L2b se describieron en mujeres y hombres heterosexuales sin mostrar signos ni síntomas de infección por LGV.¹ Debido a lo anterior, se ha intensificado el análisis nucleotídico del gen *ompA* de las cepas de *C. trachomatis* recién aisladas para dar a conocer la posible existencia de nuevas genovariantes.

OBJETIVO

Analizar la secuencia nucleotídica y aminoacídica del gen *ompA* de seis muestras positivas del serotipo F de *C. trachomatis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Seis muestras cervicovaginales positivas al genotipo F fueron secuenciadas con un analizador genético (ABI-PRISM 310 PE Biosystem). El análisis del gen *ompA* se realizó mediante alineación con secuencias nucleotídicas de 16 cepas prototipo F reportadas en el *Gene Bank* mediante el programa Clustal W y Bioedit (versión 7.0.9.0). La caracterización fisicoquímica de la proteína MOMP se realizó mediante el programa *Expasy's ProtParam Proteomics*.²

RESULTADOS

De las seis cepas sólo cuatro (cepas 24, 161, 203 y 287) mostraron cambios en su secuencia nucleotídica (SNPs). Las cepas 24 y 203 mostraron un SNPs en común (C222T, datos no mostrados) que no produjo alguna mutación. El análisis de la secuencia de aminoácidos mostró la presencia de mutaciones localizadas en las regiones transmembranales de la MOMP (Figura 1). La cepa 161 mostró el cambio de una serina por una tirosina (S235Y); en la cepa 203 el cambio fue de una treonina por una alanina (T320A) y en la cepa 287 de una treonina por isoleucina (T240I).

Los resultados sobre el análisis físicoquímico de la secuencia de aminoácidos de la MOMP se muestran en el cuadro 1. El punto isoelectrico para todas las

proteínas fue de 4.85. El coeficiente de extinción (que depende de la presencia de los residuos Cys, Trp y Tyr) mostró que la cepa 161 presenta menor coeficiente de extinción molar que el resto de las cepas. El índice de inestabilidad indicó que todas las cepas tuvieron un valor < 40, por lo que la MOMP es estable. Los resultados del índice alifático evidenciaron que las cepas 161 y 287 tuvieron una estructura más termoestable que la cepa 203; el índice GRAVY mostró que todas las proteínas son solubles en agua.

El análisis *in silico* para predecir la unión a moléculas de HLA B_2705 describió que el péptido TMQIVSLQL (320) de las cepas prototipo F y 287 se unen a esta molécula y ocupa el 17o. lugar en importancia de unión, mientras que en la cepa 203 y 161 ocupan los lugares 16o. y 13o., respectivamente (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

La distribución geográfica y la prevalencia de los diferentes genotipos de *C. trachomatis* tienen un significado importante desde la perspectiva de la epidemiología molecular, ya que describe la manera en que circulan algunos genotipos o genovariantes de *C. trachomatis* en una comunidad en particular. El genotipo F es uno de los comúnmente encontrados en infecciones endocervicales en México.¹ En esta investigación sólo tres cepas mostraron mutaciones en la secuencia de aminoácidos, todas estas mutaciones se presentaron en las regiones constantes de la MOMP.

La MOMP de *C. trachomatis* tiene las funciones de porina y adhesina. El cambio en la secuencia de aminoácidos puede aumentar o disminuir estas funciones. Actualmente, no existen datos sobre difracción de electrones o cristalografía de rayos X de la MOMP, por lo que se han propuesto modelos topológicos bidimensionales por medio de espectrometría de masas. Uno de estos modelos topológicos es el de Wang, *et al.*³

Al comparar la secuencia de aminoácidos obtenida en este estudio con el modelo de Wang se observó que las mutaciones de las cepas 287 y 203 se encuentran dentro de las regiones transmembranales de la lámina-β número 10 y 14, respectivamente. En el caso de la cepa 161 la mutación se localiza en la región periplásmica de la lámina-β número 15, estas mutaciones no se encuentran expuestas a la superficie, por lo que no influyen en la respuesta inmune humoral contra la infección por estas genovariantes, pero posiblemente alteran las funciones de porina y de respuesta inmune celular. Las mutaciones en el péptido TMQIVSLQL que mostraron las cepas 161 y 203 evidenciaron mayor avidez por la molécula HLA-B27, la cual está fuertemente asociada con una serie de enfermedades autoinmunes, entre ellas la artritis reactiva que también se asocia a la infección por *C. trachomatis*.⁴

En cuanto a los cambios fisicoquímicos se observó una disminución del coeficiente de extinción en la cepa 161, debido a un aumento de tirosinas (Tyr, W) y a una disminución en el índice alifático de la cepa 203 lo que da una menor resistencia a la temperatura (que

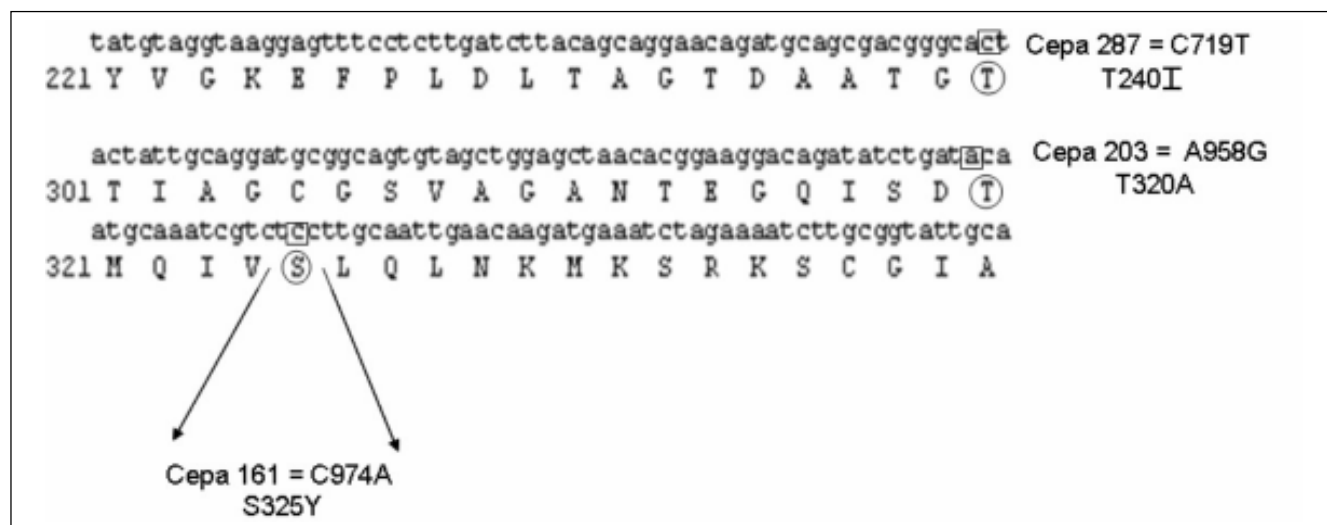


Figura 1. Análisis genómico y aminoacídico del gen *ompA* de *Chlamydia trachomatis*. Las cepas 161, 203 y 287 fueron aisladas de mujeres mexicanas infértiles. Las bases encerradas en cuadrados indican los SNPs y los aminoácidos encerrados en círculos, la mutación.

Cuadro 1. Caracterización fisicoquímica de la MOMP del serotipo F de *Chlamydia trachomatis* de diversas cepas aisladas en México mediante el programa Expasy's ProtParam Proteomics.

	Cepa prototipo F (número de acceso DQ064287.1)	Cepa 161	Cepa 203	Cepa 287
Longitud de la secuencia	373	373	373	373
Peso molecular (Da) [†]	40311.5	40387.6	40281.5	40323.6
Punto isoeléctrico teórico	4.85	4.85	4.85	4.85
-R*	41	41	41	41
+R*	30	30	30	30
Coefficiente de extinción molar (M-1 cm-1 a 280 nm)	55515-54890	57005-56380	55515-54890	55515-54890
Índice de inestabilidad	22.16	21.96	22.57	21.94
Índice alifático	77.9	77.99	78.26	79.03
Promedio de hidropaticidad	-0.077	-0.079	-0.071	-0.063

[†]Da: dalton. *-R: número total de residuos negativos, y +R: número total de residuos positivos.

podría ser de algunos grados), esto debido al aumento de aminoácidos alifáticos (Alanina, A) en la MOMP.

La MOMP de *C. trachomatis* ha sido el candidato más importante para el desarrollo de una vacuna. Las vacunas preparadas con la MOMP en su forma nativa han demostrado tener un efecto protector contra la infección.⁵ Mientras que las vacunas experimentales basadas en proteína desnaturalizada o con proteína recombinante sólo han dado una protección parcial, lo que indica que la estructura nativa de la MOMP es importante para desarrollar una vacuna y para entender las bases moleculares de la patogénesis de *Chlamydia*. Por lo anterior, es necesario conocer más acerca de la estructura nativa de la MOMP.

REFERENCIAS

1. De Haro-Cruz MJ, De León-Rodríguez I, Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Ortiz-Ibarra FJ, Guerra-Infante FM. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2011; 29: 102-8.

2. Available from: <http://expasy.ch/tools/#proteome>.
3. Wang Y, Skilton RJ, Cutcliffe LT, Andrews E, Clarke IN, Marsh P. Evaluation of a high resolution genotyping method for *Chlamydia trachomatis* using routine clinical samples. *PLoS One* 2011; 6: e16971 [Doi: 10.1371/Journal.pone.0016971].
4. Kwiatkowska B, Filipowicz-Sosnowska A. Reactive arthritis. *Pol Arch Med Wewn* 2009; 119: 60-6.
5. Pal S, Theodor I, Peterson EM, De La Maza LM. Immunization with an acellular vaccine consisting of the outer membrane complex of *Chlamydia trachomatis* induces protection against a genital challenge. *Infect Immun* 1997; 65: 3361-9.

Reimpresos:

Dr. Fernando M. Guerra-Infante

Laboratorio de Virología

Instituto Nacional de Perinatología

Montes Urales, Núm. 800

Col. Lomas Virreyes

11000, México, D.F.

Tel.: 5520-9900, Ext. 261

Fax: 5520-0034

Correo electrónico: fguerra_96@yahoo.com

Recibido el 20 de mayo, 2011.

Aceptado el 28 de julio, 2011.