



dominio SH2 con la fosfotirosina.

Desde su descubrimiento en 1992, las proteínas Crk se han implicado en la progresión de cáncer, pues contribuyen a los procesos de formación de metástasis. En concreto CrkL está implicada en la leucemia crónica mieloide, observándose un aumento de la fosforilación de CrkL en las células de pacientes con dicha leucemia. Además, los adaptadores Crk son una diana de patógenos como la bacteria *Helicobacter pylori*. Por lo tanto, el estudio de la función y regulación de estas proteínas es relevante para comprender importantes enfermedades humanas (3).

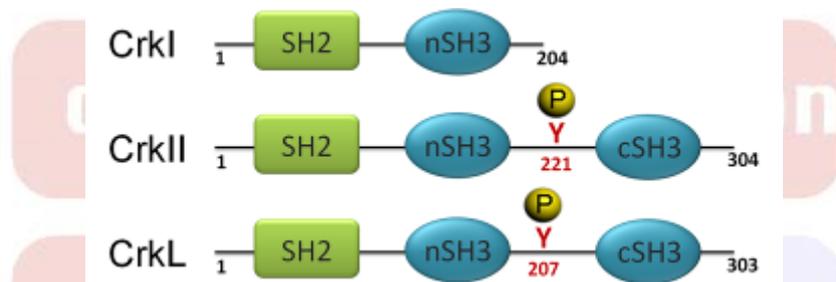


Figura 1. Estructura de las proteínas adaptadoras Crk.

Las isoformas CrkII y CrkL están compuestas por un dominio SH2 seguido de dos dominios SH3, sin embargo la isoforma CrkI carece de un dominio SH3. Se muestran los residuos de tirosina que son fosforilados.

A pesar de conocerse la formación de los pedestales en la infección por EPEC desde hace más de dos décadas, la función biológica de estas estructuras sigue sin estar clara. Algunas hipótesis afirman que el pedestal contribuye a la adhesión de la bacteria a la célula, o que constituye un mecanismo para evadir la respuesta inmune manteniéndose en la parte exterior de la célula hospedadora.

En las primeras fases de la adhesión de EPEC a la célula, la bacteria usa un sistema especializado que actúa como una jeringa para inyectar sus propias proteínas en el interior de la célula, denominadas *efectores*, que actuarán en conjunto con las propias proteínas celulares para promover la infección.

Uno de los efectores conocidos más importantes para la patogénesis de EPEC es Tir, que una vez en el interior celular se inserta en la membrana celular y actúa como receptor de una proteína de la superficie bacteriana denominada *intimina*. Esta interacción permite la adhesión fuerte de la bacteria a la célula y desencadena una cascada de señalización que permite el reclutamiento de la proteína adaptadora Nck, que activa N-WASP, el cual, junto al complejo Arp2/3, media la polimerización de actina, culminando en la formación del pedestal (4).

En esta investigación se ha descubierto que la eliminación de todas las isoformas de la proteína adaptadora Crk conlleva un aumento de pedestales formados en la célula. Encontrar este resultado supuso más de un año de trabajo experimental, pues, como ahora se sabe, las distintas isoformas actúan de manera compensatoria: es decir, al eliminar una, la otra sustituye su función en el proceso. Asimismo, eliminar todas las isoformas es técnicamente complicado, por lo que se tuvo que recurrir al uso de células procedentes de ratones en los que se había eliminado una de las isoforma (ratones *knock-down* de CrkI/II y de CrkL), e inhibir la restante.



OTRI

Universidad Complutense de Madrid

OFICINA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Unidad de Información Científica y
Divulgación de la Investigación

El siguiente reto fue establecer la razón de este sorprendente hallazgo inicial. ¿Por qué al eliminar los adaptadores Crk se encontró un aumento de bacterias adheridas con sus respectivos pedestales? En respuesta a esta pregunta se ha demostrado que Crk interacciona con el efector bacteriano Tir a través de la misma tirosina fosforilada que une la proteína Nck, compitiendo así con esta última e inhibiendo la polimerización de actina. De esta manera, se ha establecido un papel inhibitorio para las proteínas Crk en la formación del pedestal. Además, se ha demostrado que la infección de EPEC induce la fosforilación inhibitoria de Crk, evitando así la interacción entre Crk y Tir, y favoreciendo la formación de pedestales a través de Nck (véase la figura 2).

Este trabajo abre nuevas líneas de investigación en el análisis de la función de los adaptadores Crk en muchas otras rutas de polimerización de actina, así como en la infección de otros patógenos.

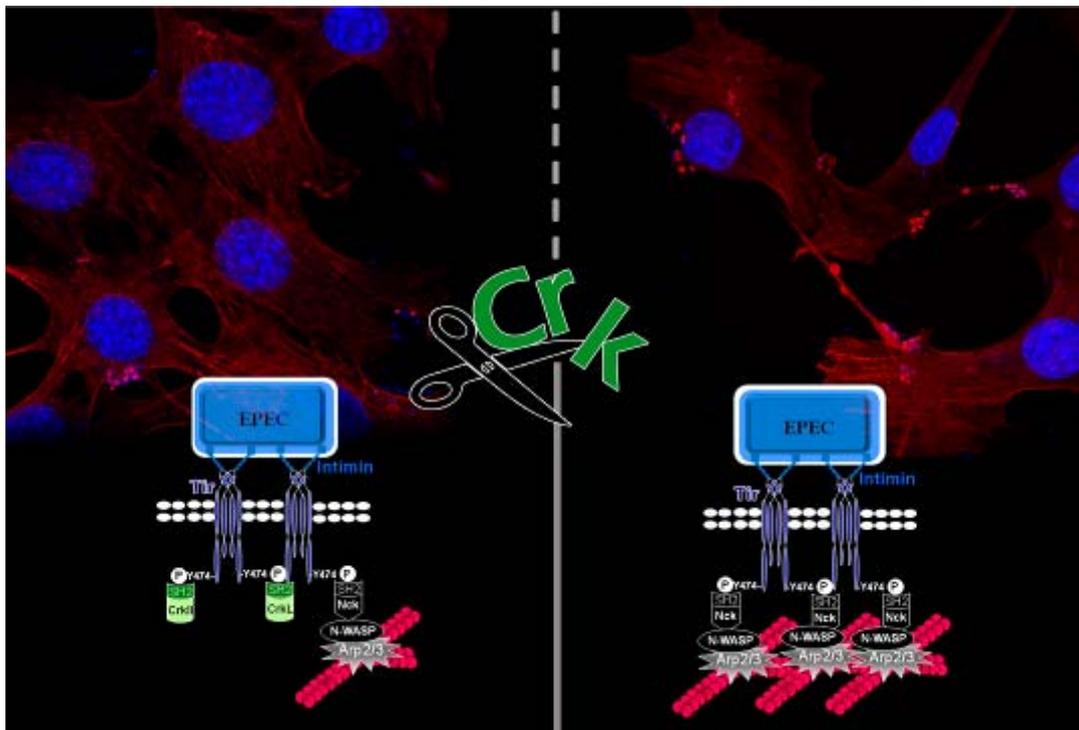


Figura 2. Modelo del mecanismo de acción de Crk en la formación de pedestales por EPEC.

Los adaptadores Crk inhiben la formación de pedestales compitiendo con la proteína Nck por la unión a la proteína bacteriana Tir. En la parte de la derecha la inhibición de las proteínas Crk por fosforilación o la eliminación de dichas proteínas, hace que Tir se encuentra más libre para interaccionar con Nck, lo cual promueve la formación de pedestales.

Este estudio se integra en la línea de investigación del grupo especializado en el estudio del [citoesqueleto celular y su transducción de señales](#), dirigido por Narcisa Martínez Quiles (Departamento de Microbiología, sección de Inmunología de la Facultad de Medicina), sus resultados forman parte de la tesis doctoral de Elvira Nieto Pelegrín, y se ha publicado recientemente en la [revista Plos Pathogens](#).

Este descubrimiento podría tener una aplicación práctica, demostrando el posible uso de las proteínas Crk como diana terapéutica en infecciones por la bacteria



OTRI

Universidad Complutense de Madrid

OFICINA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Unidad de Información Científica y
Divulgación de la Investigación

EPEC, lo que permitiría mejorar el tratamiento y reducir la mortalidad infantil debida a infecciones causadas por esta bacteria.

Autoras: Elvira Nieto Pelegrín y Narcisa Martínez Quiles.

Referencias:

- 1) Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. Walker CL, Rudan I, Liu L, Nair H, Theodoratou E, Bhutta ZA, O'Brien KL, Campbell H, Black RE. Lancet. 2013 Apr 20; 381(9875):1405-16.
- 2) Ending Preventable Child Deaths from Pneumonia and Diarrhoea by 2025. The integrated Global Action Plan for Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD). World Health Organization/The United Nations Children's Fund (UNICEF) 2013. ISBN 978 92 4 150523 9.
- 3) Roles for crk in cancer metastasis and invasion. Tsuda M, Tanaka S. Genes Cancer. 2012 May; 3(5-6):334-40. doi: 10.1177/1947601912458687.
- 4) Actin cytoskeleton manipulation by effector proteins secreted by diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. Navarro-Garcia F, Serapio-Palacios A, Ugalde-Silva P, Tapia-Pastrana G, Chavez-Dueñas L. Biomed Res Int. 2013;2013:374395.
- 5) **Crk adaptors negatively regulate actin polymerization in pedestals formed by enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) by binding to Tir effector.** Elvira Nieto-Pelegrin, Eugenia Meiler, José Manuel Martín-Villa, María Benito-León and Narcisa Martínez-Quiles. Plos Pathogens DOI: 10.1371/journal.ppat.1004022.