

Caracterització molecular d'un possible receptor proteic per la toxina botulínica present a l'òrgan elèctric del peix Torpedo marmorata.

J.M. Canals, L. Ruiz-Avila, M. Arribas, J. Herreros, J. Blasi i J. Marsal

Laboratori de Neurobiologia Cel·lular i Molecular, Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona

La neurotoxina botulínica de tipus A, sintetitzada pel bacteri anaeròbic Clostridium botulinum, és la toxina més potent que es coneix. La seva acció és la inhibició de l'alliberament d'acetilcolina a les sinapsis neuromusculars, bloquejant així, de forma dramàtica, la funció muscular esquelètica i provocant paràlisi flàccida i mort. Per tal d'estudiar els fenòmens de transmissió sinàptica als sistemes colinèrgics nosaltres hem triat com a model experimental l'òrgan elèctric del peix Torpedo marmorata. Aquest òrgan està relacionat ontogenèticament amb el sistema neuromuscular, i està format per cèl·lules planes (electròcits), les quals reben un gran nombre de terminacions nervioses colinèrgiques. En treballs previs realitzats en el nostre laboratori s'ha demostrat que els sinaptosomes aïllats d'aquest òrgan són sensibles a l'acció de la neurotoxina botulínica, resultant inhibit l'alliberament del neurotransmissor al voltant d'un 70 per cent.

S'ha suggerit que l'acció de la toxina segueix una via d'intoxicació que consisteix en la seva unió a la membrana, internalització de la toxina i l'efecte tòxic. Actualment es discuteix sobre la naturalesa molecular del receptor de membrana per a la toxina botulínica de tipus A. El nostre grup ha identificat un possible receptor proteic fent servir tècniques d'"overlay" amb neurotoxina botulínica-¹²⁵I (1, 2). Els anticossos obtinguts contra aquesta proteïna immunoprecipiten un producte de traducció "in vitro" d'mRNA de òrgan elèctric. Aquests anticossos són capaços de precipitar ¹²⁵I-BoNTx després d'un breu pols de "cross-linker" en presència d'una barreja de productes de traducció "in vitro" d'RNA missatger d'òrgan elèctric. El mateix resultat s'obté si s'utilitzen anticossos obtinguts contra una extracció de proteïnes de membrana presinàptica. Experiments paral·lels realitzats amb proteïnes natives de sinaptosomes confirmen els mateixos resultats. Totes aquestes evidències suggereixen que existeix almenys una proteïna que és capaç d'interactuar estretament amb la BoNTx, la qual podria intervenir en el mecanisme d'unió. Fent servir mètodes immunològics hem aïllat dos clons que codifiquen per a la mateixa proteïna. Els experiments en curs van dirigits a determinar la seva estructura primària així com a establir la seva possible implicació en el mecanisme d'intoxicació de la neurotoxina botulínica de tipus A. Aquest treball està finançat per un ajut de la DGICYT a J.M. i per una CIRIT de J.M.C.

REFERENCIES

- (1) Solsona C., Egea G., Blasi J., Casanova C. and Marsal J. The action of Botulinum Toxin on cholinergic nerve terminals isolated from the electric organ of Torpedo marmorata. Detection of a putative toxin receptor. *J. Physiol* 84, 174-179 (1990).
- (2) Blasi J., Egea G., Castiella M.J., Arribas M., Solsona C., Richardson P. and Marsal J. Binding of Botulinum Neurotoxin Type A to Torpedo electric organ subfractions. Evidence for putative receptor(s) and internalization process. Submitted