

LE LEUCOTOSSINE BICOMPONENTI DI *STAFILOCOCCO AUREO* CHE FORMANO CANALI: INTERAZIONE CON MEMBRANE LIPIDICHE MODELLO

G. Menestrina¹, M. Ferreras¹, F. Höper¹, M. Dalla Serra¹, D. Colin² e G. Prevost²

¹CNR-ITC Centro Fisica Stati Aggregati, Via Sommarive 18, 38050 Povo (Trento) Italy ²Laboratoire Toxinologie Bactérienne, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

Le gamma-emolisine (HlgA, HlgB e HlgC) e le leucocidine (LukS e LukF) di *Staphylococcus aureus* sono tossine bicomponenti che formano una famiglia di proteine con un certo grado di parentela anche con la α -tossina. Le tossine attive in questa famiglia sono le coppie formate prendendo una proteina da ognuna delle due sottofamiglie delle Componenti S (LukS, HlgA e HlgC) e delle Componenti F (LukF e HlgB). Le tossine HlgB + HlgC e HlgB + HlgA sono entrambe sia emolitiche che leucotossiche. Usando membrane lipidiche modello abbiamo dimostrato che inducono la permeabilizzazione della membrana formando dei pori mediante un meccanismo cooperativo. La presenza di un aggregato legato alla membrana, di peso molecolare e proprietà simili a quelle dell'ettamero della α -tossina, è stata evidenziata mediante SDS-PAGE. Mediante spettroscopia FTIR sono state poi determinate la struttura secondaria di entrambe le componenti e dell'aggregato, trovando che sono entrambi predominati dalla struttura beta con solamente piccole variazioni. Esperimenti di polarizzazione in configurazione ATR (riflettanza totale attenuata) indicano che la struttura del complesso di membrana è compatibile con la formazione di un barilotto beta orientato perpendicolarmente al piano della membrana, simile a quello formato dalle porine batteriche. La formazione di pori proteici è stata dimostrata direttamente in membrane lipidiche piane a doppio strato. Questi canali presentano numerose caratteristiche simili a quelli formati dalla α -tossina: una conduttanza di circa 100 pS in 100 mM NaCl, che è maggiore a voltaggi positivi rispetto a quelli negativi e un processo di gating che fa chiudere i canali quando vengono applicati potenziali abbastanza grandi sia positivi che negativi. Sono un po' più grandi di quelli di α -tossina, leggermente selettivi per i cationi invece che per gli anioni, e permeanti al Ca^{++} . La coppia LukS + LukF è leucotossica, ma non emolitica. Si lega anch'essa alle vescicole lipidiche e forma aggregati con struttura a beta-barrel, ma non ne aumenta la permeabilità alla calceina né è capace di formare canali ionici in membrane piane. Apparentemente l'effetto della formazione dei pori correla quindi con la attività emolitica, ma non con quella leucotossica di queste tossine, suggerendo che altri meccanismi, come la interazione con proteine endogene della cellula, possano anch'essi giocare un ruolo nella azione patogena che esercitano in vivo.