

© 2025 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 28: 1-14, 2025.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2025.742>

Sistemas de dos componentes y sus mecanismos de regulación

Fernanda Urias Contreras^a y Dimitris Georgellis^b

Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México. E-mails: ^afer.contreras.ur@gmail.com, ^bdimitris@ifc.unam.mx

RESUMEN

Los sistemas de dos componentes (SDC), son el principal sistema de transducción de señales empleado por las bacterias y otros microorganismos para detectar cambios en el medio ambiente y generar una respuesta adaptativa. El mecanismo básico de funcionamiento de estos sistemas radica en reacciones de fosforilación y de-fosforilación entre una proteína sensora con actividad cinasa (CS) y su regulador de respuesta (RR) específico. Sin embargo, la participación de proteínas accesorias y cofactores, que frecuentemente participan en la señalización o intervienen en la regulación cruzada de SDC diferentes, integra a estos sistemas en complejas redes de señalización que operan de manera conjunta para responder con eficacia a los requerimientos fisiológicos del organismo. En la presente revisión se exponen algunos de los mecanismos de regulación que pueden ser adoptados por los SDC, ejemplificados con el SDC BarA/UvrY de *Escherichia coli* y los sistemas ortólogos en otras bacterias, que, aunque comparten un alto grado de homología, exhiben una gran versatilidad y adaptación en sus mecanismos de regulación, producto de las condiciones particulares a las que se enfrentan los diferentes géneros bacterianos que los contienen.

Palabras clave: sistemas de dos componentes, histidina cinasa, regulador de respuesta, fosforilación, BarA/UvrY.

Two component systems and their regulatory mechanisms

ABSTRACT

Two-component systems (TCS) are the primary signal transduction system used by bacteria and microorganisms to detect changes in the environment and generate an adaptive response. The basic mechanism of operation of these systems lies in phosphorylation and dephosphorylation reactions between a sensor histidine kinase (SK) and its cognate response regulator (RR). However, the involvement of accessory proteins and cofactors in regulating the activity of TCS, as well as their role as intermediaries in cross-regulation between different TCS, allows us to visualize the functionality of these systems as complex signaling networks that operate together to effectively respond to the organism's physiological requirements. This review discusses some of the regulatory mechanisms that can be adopted by TCS; using the BarA/UvrY TCS and orthologs as a model; in which, although a high degree of homology is shared between organisms, a great versatility in their regulatory mechanisms is observed as a result of the particular conditions each organism encounters.

Keywords: two component systems, histidine kinase, response regulator, phosphorylation, BarA/UvrY.

INTRODUCCIÓN

Se estima que la presencia de los microorganismos en la tierra data de 4 mil millones de años, periodo en el que se han adaptado a los múltiples cambios físicos y químicos en el medio ambiente. Estos cambios son percibidos y procesados principalmente por sistemas que detectan, amplifican e integran estas señales en una respuesta específica.

En los procariontes, los sistemas de señalización están formados frecuentemente por dos componentes, una proteína sensora con actividad cinasa (CS) y un regulador de la respuesta (RR); de aquí el término sistemas de dos componentes (SDC) (Nixon, Ronson & Ausubel, 1986; Álvarez & Georgellis, 2016).

La actividad de los SDC inicia con la detección de una señal por la CS, generalmente anclada a la membrana interna, lo que promueve su autofosforilación (CS-P) y la posterior transfosforilación de su RR específico (RR-P), el cual regula la expresión de determinados genes involucrados en una respuesta fisiológica (StocK, Robinson & Goudreau, 2000; Kenney, 2010). Cuando la señal ha sido eliminada o no está presente en el medio, el sistema silencia su actividad mediante reacciones de desfosforilación y la CS-P y el RR-P pierden el grupo fosfato (Kenney, 2010).

La participación de los SDC en la regulación de múltiples procesos fisiológicos y metabólicos como la división celular, la esporulación, la quimiotaxis y la formación de biopelículas, entre otros, fundamenta la correlación observada entre la cantidad de SDC de un organismo, con su capacidad adaptativa a múltiples ambientes (Galperin, 2005). Por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* y *Myxococcus xanthus* tienen 130 y 255 genes que codifican para SDC, respectivamente. En contraste, *Mycoplasma*, que es una bacteria que parasita células eucariontes y, por lo tanto, tiene un nicho constante y no requiere de múltiples estrategias metabólicas para su sobrevivencia, no tiene ningún SDC (Alm, Huang & Arkin, 2006).

La amplia distribución de los SDCs en procariontes de interés médico (*Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Escherichia coli*; OMS, 2017), agrícola (*Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*) e industrial (*Clostridium thermocellus*, *Thermos acuaticus*); ha impulsado estudios sobre los mecanismos de señalización que controlan la actividad de estos sistemas. Un tema emergente es la participación de factores adicionales a la CS y el RR, que controlan la actividad del sistema, como son la participación de proteínas accesorias (Buelow & Raivio, 2010) y la interconexión entre diferentes SDCs formando complejas redes de señalización (Steiner *et al.*, 2018).

La presente revisión señala algunos de los principales procesos que regulan la actividad de los SDCs, empleando

como modelo, al SDC BarA/UvrY de *E. coli* y sus ortólogos, los cuales, aunque conservan muchas de sus características, difieren en los mecanismos de regulación que han adoptado estos sistemas para responder a las necesidades fisiológicas de los organismos y lograr su adaptación a diferentes nichos y condiciones ambientales.

ESTRUCTURA DE LOS SDC

Los SDCs, como se mencionó anteriormente, están integrados por una CS y su RR específico. La estructura típica de una CS se conforma por dos cruces transmembranales cercanos al extremo amino, que definen y exponen un dominio periplásmico con frecuencia asociado con la percepción del estímulo. En el extremo carboxilo, presenta un dominio denominado transmisor (DT); región catalítica de la proteína. El DT, además de albergar la caja de unión del ATP, presenta un residuo de histidina (H¹) conservado, en donde se lleva a cabo la autofosforilación (Figura 1A). También, incluye aminoácidos asociados con interacciones proteína-proteína, determinantes para la homodimerización de la CS (Kofoid & Parkinson, 1988; West & Stock, 2001).

El segundo componente, el RR, cuenta con un dominio receptor (DR) en el extremo amino, con un residuo de aspartato (Asp^{RR}) conservado, y un dominio efector en el extremo carboxilo (West & Stock, 2001). Generalmente, el dominio efector consta, usualmente, de un dominio de unión al DNA, que le permite ejercer su función como un regulador transcripcional (Galperin, 2006; Galperin, 2010), (Figura 1A). Sin embargo, algunos RRs, poseen dominios de unión al RNA, a proteínas o ligandos, y, por lo tanto, actúan a nivel postranscripcional o postraducciona (Galperin, 2010).

La sencillez estructural de un SDC típico adquiere complejidad al analizar la estructura de los SDCs híbridos (Figura 1B). En estos casos, las CS, además del DT con el residuo de histidina tienen un dominio receptor (DR), que contiene un residuo de aspartato (D¹) conservado, y un dominio de fosfotransferencia (Hpt), con una segunda histidina (His²), (Ishige, Nagasawa, Tokishita & Mizuno, 1994; Kato, Mizuno, Shimizu & Hakoshima, 1997; Mizuno, 1997). Los dominios DR y Hpt pueden estar en la misma proteína con el DT o ser proteínas independientes. Se postula que estos dominios adicionales pueden ser puntos de regulación y/o nodos de integración de señales con otros sistemas de señalización (Stock *et al.*, 2000).

RECONOCIMIENTO DE LA SEÑAL

La activación en los SDCs, inicia cuando la CS capta el estímulo, actividad generalmente asociada a la capacidad de los dominios ubicados en el periplasma para percibirlo, descrito, por ejemplo, en las CS PhoQ, DcuS, CitA, en respuesta a las bajas concentraciones de Mg²⁺ en el periplasma, fumarato y citrato, respectivamente (Zschiedrich, Keidel & Szurmant, 2016).

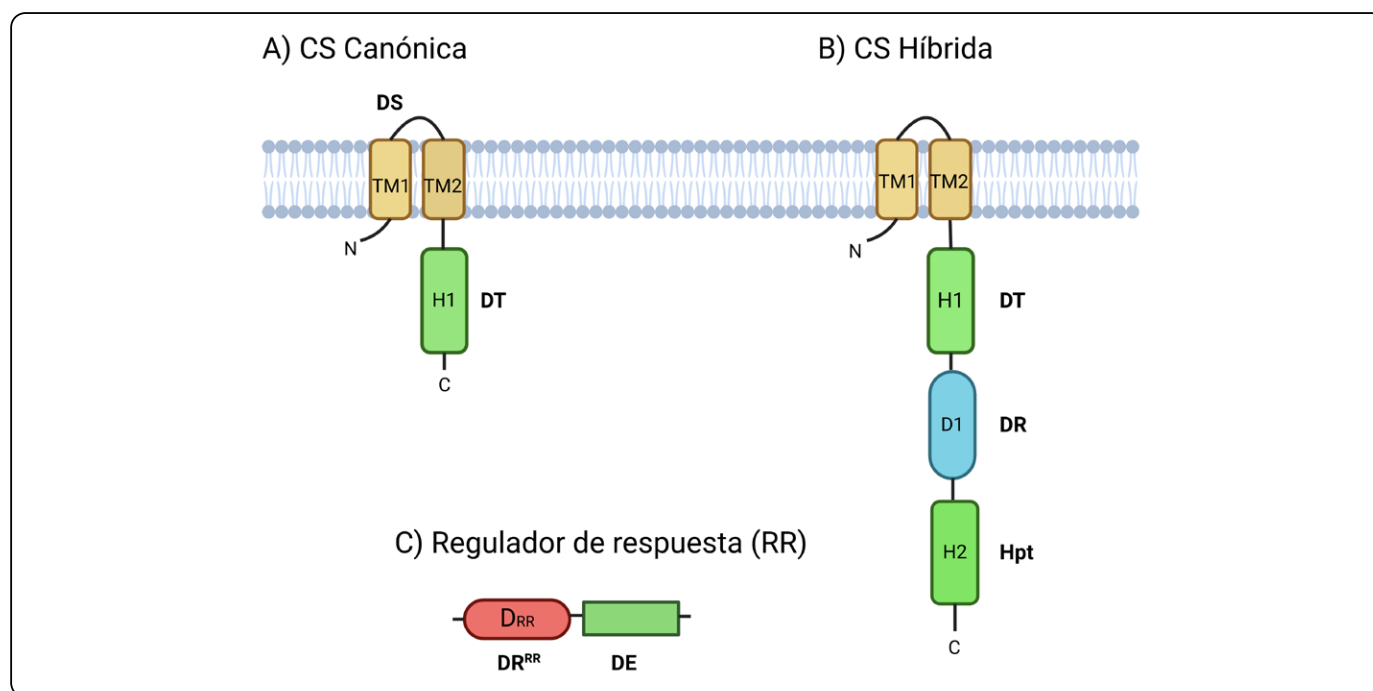


Figura 1. Estructura de SDC. A) La forma típica de una proteína sensora inicia por la presencia de dos cruces transmembranales en la región N- terminal, estos cruces exponen un fragmento hacia el espacio del periplasma, región comúnmente asociada con la percepción del estímulo, hacia el C-terminal se encuentra el dominio catalítico, con el dominio transmisor (DT) y un primer residuo His (H1). B) En adición al dominio transmisor (DT), las CS híbridas tienen un dominio receptor (DR) con un Asp conservado (D1) y un dominio de fosfotransferencia (Hpt), con una segunda His conservada (H2). C) En cuanto al segundo componente, el regulador de la respuesta (RR), inicia en el N-terminal con un dominio receptor (DR^{RR}), con un Asp (D^{RR}) conservado, y un dominio efector (DE) presente en el C-terminal, a través del cual ejerce su función. Figura de creatividad personal.

Otras estructuras, como los cruces transmembranales (TM) en la CS DesK que restaura la fluidez en la membrana frente a las bajas temperaturas (Saita, Albanesi & de Mendoza, 2016; Albanesi *et al.*, 2009) y regiones ubicadas en el citoplasma, como ocurre en la CS ArcB en *E. coli* (Georgellis, Kwon & Lin, 2001), pueden estar involucradas en la percepción del estímulo y activación de una CS. En *E. coli*, el SDC ArcB/ArcA (Figura 2) controla la respuesta a las condiciones redox del medio, a través de la oxidación y reducción de dos residuos de cisteína (Cys¹⁸⁰ y Cys²⁴¹) presentes en la región *linker*, ubicada entre la membrana y el dominio catalítico de la CS ArcB (Malpica, Franco, Rodríguez, Kwon & Georgellis, 2004).

Los estudios para identificar a las regiones involucradas en la detección del estímulo, señalan a los dominios PAS, GAF y Cache como los responsables en esas regiones (Zschiedrich *et al.*, 2016; Taylor & Zhulin, 1999). La presencia de más de uno de estos dominios en una CS sugiere su capacidad de responder a diferentes estímulos (Ishii & Eguchi, 2021).

PROCESAMIENTO DE LA SEÑAL

Una vez detectado el estímulo en el espacio periplásmico, la señal es transmitida hacia la región catalítica a través de los cruces transmembranales (TM).

Debido a que la estructura de las hélices de los TM está conservada se considera la posibilidad de que los mecanismos responsables en la propagación de la señal operan de manera universal. Los modelos de la transmisión de la señal propuestos implican movimientos de tipo pistón, de tijera y de rotación de las hélices que culminan en la activación de la CS (Figura 3). Aunque estos modelos propuestos concuerdan con el re-arreglo dinámico de las hélices TM y la transducción de la señal al citoplasma, aún no está claro si son específicos de cada CS, excluyentes uno del otro, o si pueden coexistir para lograr la activación adecuada del sensor (Ishii & Eguchi, 2021).

Además de estos movimientos, los dominios HAMP, generalmente ubicados en el citoplasma, desempeñan un papel clave al facilitar la transmisión de la señal desde las hélices TM hacia los dominios citoplasmáticos (Ferris *et al.*, 2011; Zschiedrich *et al.*, 2016).

ACTIVACIÓN Y SILENCIAMIENTO DE LOS SDCs

Una vez que la señal ha sido percibida por la CS, ya sea híbrida o canónica, su activación establece una cascada de fosforilaciones consecutivas. Esta serie de eventos implica la transferencia del grupo fosforilo entre los residuos His¹->Asp^{RR} o His¹->Asp¹->His²->Asp^{RR}, de los dominios que integran la

proteína sensora (DT o DT-DR-Hpt) y el regulador de respuesta (Figura 4A), mecanismo conocido como fosforelevo (Burbulys, Trach & Hoch, 1991; Georgellis, Lynch & Lin, 1997).

Cuando se elimina el estímulo o ya no es necesaria la actividad del SDC, el RR-P es desfosforilado (Figura 4B). Este proceso se manifiesta por: **(i)** la inestabilidad que la CS confiere al grupo fosforilo del RR-P, **(ii)** la participación de fosfatasa específicas o **(iii)** la hidrólisis del grupo fosforilo por la inestabilidad intrínseca del enlace con el residuo aspartato (Georgellis *et al.*, 1998; Uhl & Miller, 1996; Gao & Stock, 2009).

En el caso de los SDC híbridos, las CS presentan una característica bifuncional, ya que pueden actuar como cinasas y fosfatasas, fosforilando al RR, y removiendo activamente al grupo fosforilo del RR-P mediante un mecanismo de fosforelevo inverso (Figura 4B), por el que el grupo -P del RR, es transferido al residuo His del Hpt y posteriormente al Asp del DR de la CS híbrida, para ser liberado como fosfato inorgánico (Georgellis *et al.*, 1998; Peña-Sandoval, Kwon & Georgellis, 2005). Estudios recientes realizados en la CS ArcB

de *E. coli* sugieren que el fosforelevo y el fosforelevo inverso son mutuamente excluyentes, ya que involucran arreglos diferentes de los dominios catalíticos de ArcB (Terán-Melo, Rodríguez-Rangel, Georgellis & Alvares, 2019). En resumen, la detección del estímulo por parte de la proteína sensora, junto con las reacciones de fosforilación y desfosforilación del regulador de respuesta, determinan la actividad del sistema.

MECANISMOS DE REGULACIÓN

La actividad de los SDC puede estar regulada por diversos mecanismos. Un ejemplo que expresa la complejidad y diversidad de los mecanismos utilizados por las CS para percibir y responder a los cambios en su entorno es la señalización por el sistema BarA/UvrY de *E. coli* y sus ortólogos.

El SDC BarA-UvrY y sus ortólogos

El SDC BarA/UvrY de *E. coli* está integrado por la CS BarA (*Bacterial adaptive response gene A*) y por el RR UvrY (Mukhopadhyay, Audia, Roy & Schellhorn, 2000; Pernesting, Melefors & Georgellis, 2001). El gen *barA* se identificó por su capacidad para suprimir fenotípicamente a una mutante

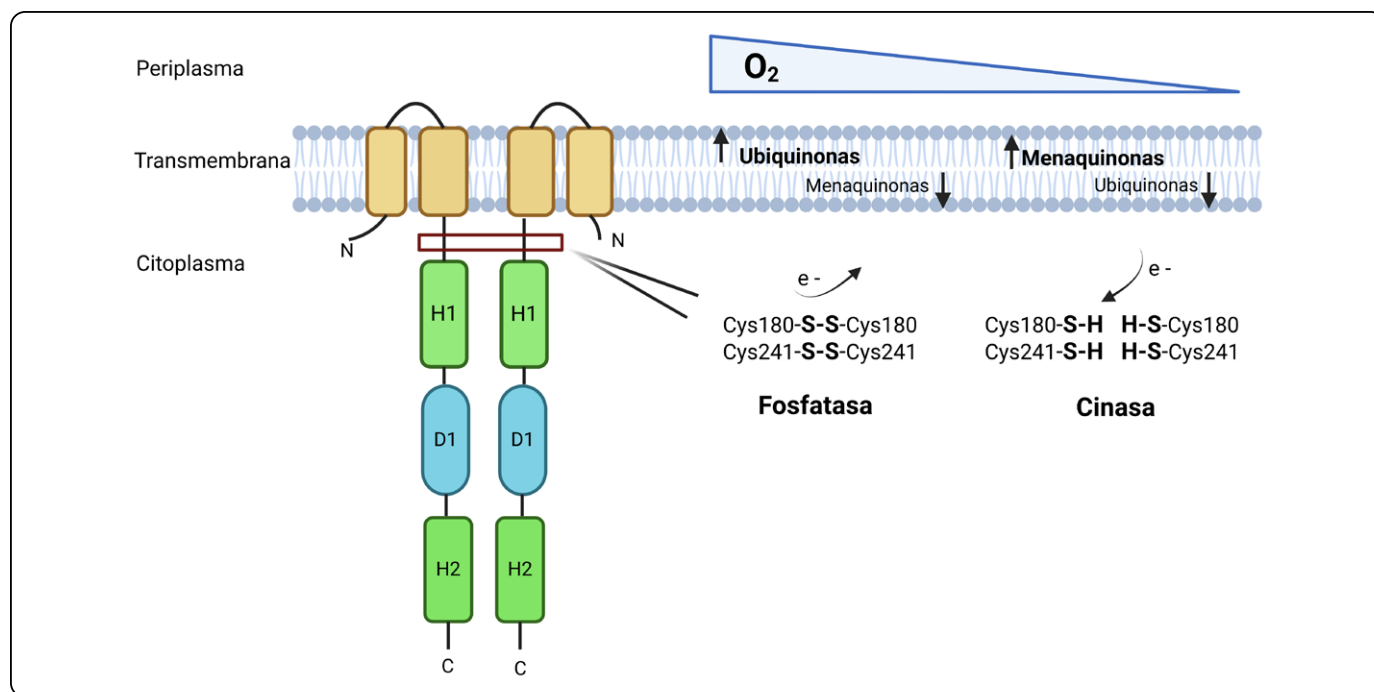


Figura 2. Activación de la CS ArcB. La detección de la señal por la CS, es generalmente asociada a la región del periplasma; sin embargo, también puede ocurrir a través de las regiones transmembranales o citoplasmáticas, como sucede en la activación de la CS ArcB. La CS ArcB está unida a la membrana interna a través de dos cruces transmembranales, que exponen un fragmento de 16 aminoácidos hacia el periplasma; posterior al segundo cruce TM, hay una región linker con los residuos Cys180 y 241, seguido de los dominios catalíticos hacia el C-terminal. La activación de este sistema está regulada por las moléculas de membrana ubiquinonas y menaquinonas, las cuales en función al estado redox del medio oxidan o reducen las Cys 180 y 241 de ArcB. Bajo condiciones de crecimiento aeróbico, las quinonas oxidan a los residuos Cys formando puentes di-sulfuro, lo que mantiene la actividad de ArcB como fosfatasa; el cambio a un ambiente anaerobio, el incremento de menaquinonas en la membrana reducen los puentes di-sulfuro; permitiendo la activación de ArcB como cinasa (Georgellis, 2001). Los hexágonos morados, representan la presencia de ubiquinonas, los de color naranja a las menaquinonas. Figura de creatividad personal.

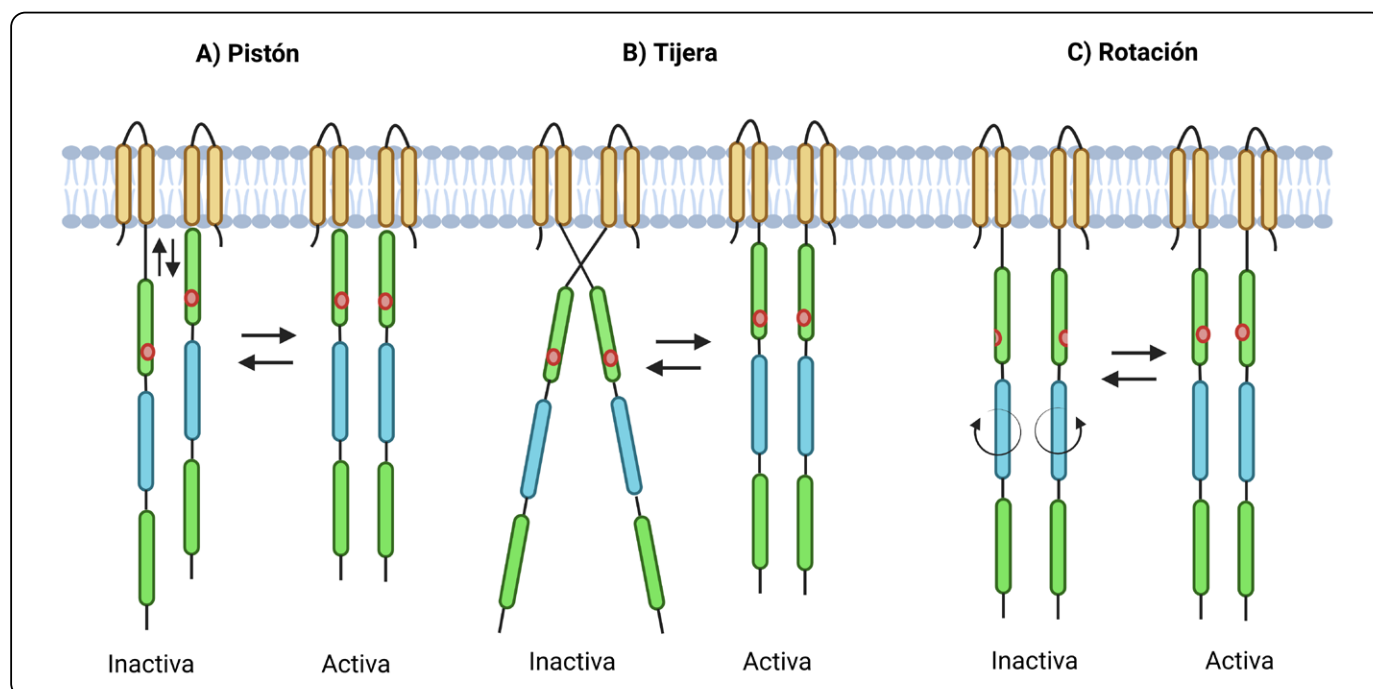


Figura 3. Procesamiento de la señal a través de los cruces transmembranales. A) La unión del ligando al dominio sensor produce un movimiento de tipo pistón, este movimiento genera que una hélice se mueva y desplace a la siguiente, el desplazamiento de las hélices y la actividad de la CS se correlacionan con su fosforilación cuando el TM2 es dirigido hacia el periplasma y con su de-fosforilación cuando el TM2 es dirigido hacia el citoplasma; descrito en las CS Tar, NarQ, TorS y NarX. B) Otros modelos descritos proponen que la unión del ligando a la región del periplasma induce el movimiento en las hélices TM de tipo tijera (B) o induce la rotación de la hélice (C). Figura de creatividad personal.

en el gen *envZ*, infiriendo una asociación de BarA-EnvZ en la regulación del RR OmpR (Matsubara & Mizuno, 1999; Nagasawa, Tokishita, Aiba & Mizuno, 1992). Sin embargo, como no fue posible demostrar *in vitro* la comunicación entre BarA y OmpR se sugirió que el fenómeno de supresión era el resultado de la comunicación entre BarA y un RR huérfano. Posteriormente, con el empleo de análisis genéticos y estudios de fosfotransferencia *in vitro* quedó establecido que la CS BarA forma un SDC con el RR UvrY (Pernesting *et al.*, 2001), un regulador de respuesta de la familia FixJ. El RR UvrY obtiene su nombre por estar codificado en un operón junto con el gen *uvrC* (Donnenberg & Kaper, 1991); sin embargo, aunque el gen *uvrC* codifica para una proteína involucrada en la reparación de daños en el DNA inducidos por luz ultravioleta, las mutaciones en *uvrY* no tienen fenotipos relacionados con la reparación del DNA (Moolenaar, van Sluis, Backendorf & van de Putte, 1987).

Aunque ha sido extensamente estudiado en *E. coli*, el SDC BarA/UvrY está conservado en *gamma-proteobacterias*, donde se encuentran los sistemas ortólogos BarA/SirA en *Salmonella*, *ExpS/A* en *Pectobacterium* y *Erwinia*, *VarS/A* en *Vibrio* y *LetS/A* en *Legionella pneumophila*; formando una familia de SDCs ortólogos (Pernesting *et al.*, 2001) que controlan diversos procesos fisiológicos, incluida la virulencia en huéspedes

humanos, animales y plantas (Camacho, Georgellis & Álvarez, 2016). Por ejemplo, los ortólogos de BarA incluyen GacS de *P. aeruginosa* PAO1, un patógeno oportunista en mamíferos (O'Toole & Kolter, 1998); GacS de *P. syringae*, un patógeno vegetal (O'Malley, Chien, Peck, Lin & Anderson, 2020); y GacS de *A. vinelandii*, una bacteria fijadora de nitrógeno de vida libre (Castañeda, Sanchez, Moreno, Nuñez & Espin, 2001). Por lo tanto, organismos con sistemas ortólogos a BarA/UvrY comparten la característica de habitar diferentes nichos, y su interacción con el huésped puede ser benéfica o patológica; lo cual se atribuye a una evolución diferencial y especialización de BarA y sus ortólogos para integrar de manera efectiva las señales específicas de su entorno. Como resultado, algunos SDC divergen en su regulación entre las diferentes especies bacterianas, aunque comparten un alto grado de homología en su secuencia y estructura.

Activación del SDC BarA/UvrY en *E. coli* y sus homólogos

Estudios iniciales para determinar los factores que intervienen en la activación del SDC BarA/UvrY, sugirieron que la interacción huésped-patógeno y la disponibilidad de hierro era importante para la activación del sistema (Zhang & Normak, 1996). Sin embargo, estudios posteriores en condiciones de laboratorio establecieron que éste se activa

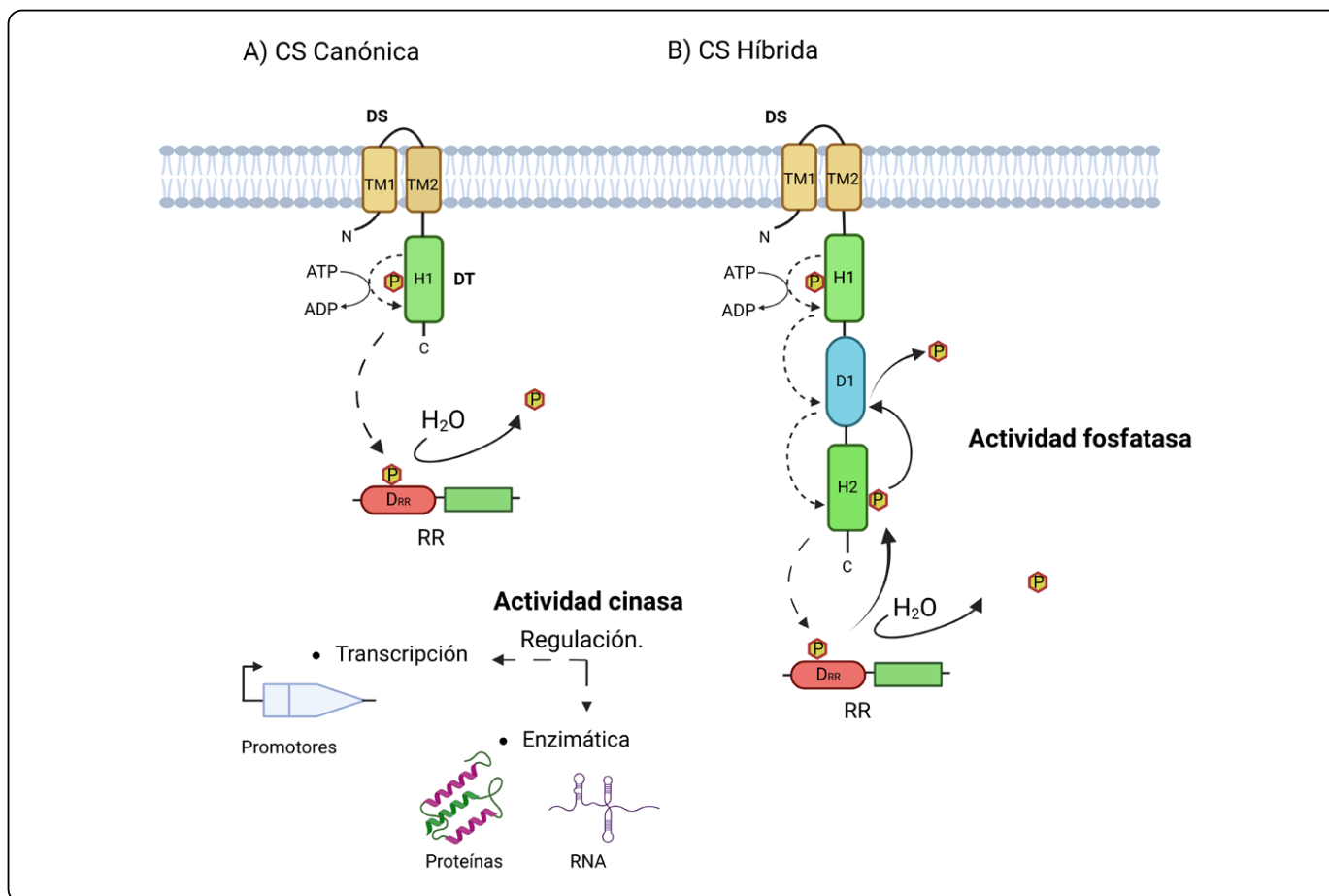


Figura 4. Activación y silenciamiento del SDC. A) En sistemas canónicos. La detección del estímulo propicia la autofosforilación del sensor en un residuo His (H), presente en el dominio transmisor, el grupo fosfato (P) es transferido a un residuo Asp (D) presente en el dominio receptor del regulador de respuesta (RR). **B) La activación de un SDC híbrido,** sigue una ruta de fosforilaciones consecutivas, transfiriendo el grupo fosfato entre los residuos His->Asp->His, presente en los dominios transmisor (DT), receptor (DR) y de fosfotransferencia (Hpt), hasta fosforilar al RR en un Asp (D) conservado, mecanismo conocido como fosforelevo. Cuando ya no se requiere de la actividad del sistema, el RR es desfosforilado, mediante mecanismos que involucran: i) la desestabilización del enlace por la CS, ii) la participación de fosfatasa específicas y iii) la actividad fosfatasa de las CS híbridas; que al hidrolizar el enlace con el grupo -P, propician el silenciamiento del sistema. **Figura de creatividad personal.**

en la transición de la fase exponencial a la estacionaria de crecimiento, responde específicamente al acetato, al fosfato y a otros ácidos carboxílicos de cadena corta (Chávez, Alvarez, Romeo & Georgellis, 2010).

Aunque en la mayoría de los ortólogos del sistema BarA/UvrY no se conoce el estímulo específico, la respuesta al acetato también se ha reportado en la activación de la CS BarA en *Salmonella*, aunque, en este caso, inducida por la fosforilación directa del dominio receptor (D¹) por acetil-P (Lawhon, Murer, Suyemoto & Altier, 2002). Otras moléculas, como los metabolitos del ciclo de Krebs, se han asociado con la activación de la CS GacS en *Pseudomonas* (Takeuchi *et al.*, 2009).

Una vez percibido el estímulo por la CS (Figura 5), una serie de cambios conformacionales propician la formación de homodímeros y su activación como cinasa, lo que resulta en la autofosforilación de BarA y en la transfosforilación del RR UvrY en *E. coli*, GacA, en *Pseudomonas* y SirA en *Salmonella*. La fosforilación del RR promueve la expresión de uno a ocho sRNAs (RNAs, pequeños no codificantes), según la especie: *csrB* y *csrC* en bacterias entéricas (Zere *et al.*, 2015), y *rsmX/Y/Z* en *Pseudomonas* y (Lapouge, Schubert, Allain & Haas, 2007). En estos sRNAs se encuentran múltiples motivos -ACA-GGA-G- que al ser sitios de unión a la proteína de regulación global CsrA, secuestran a CsrA, y limitan su actividad (Suzuki *et al.*, 2002).

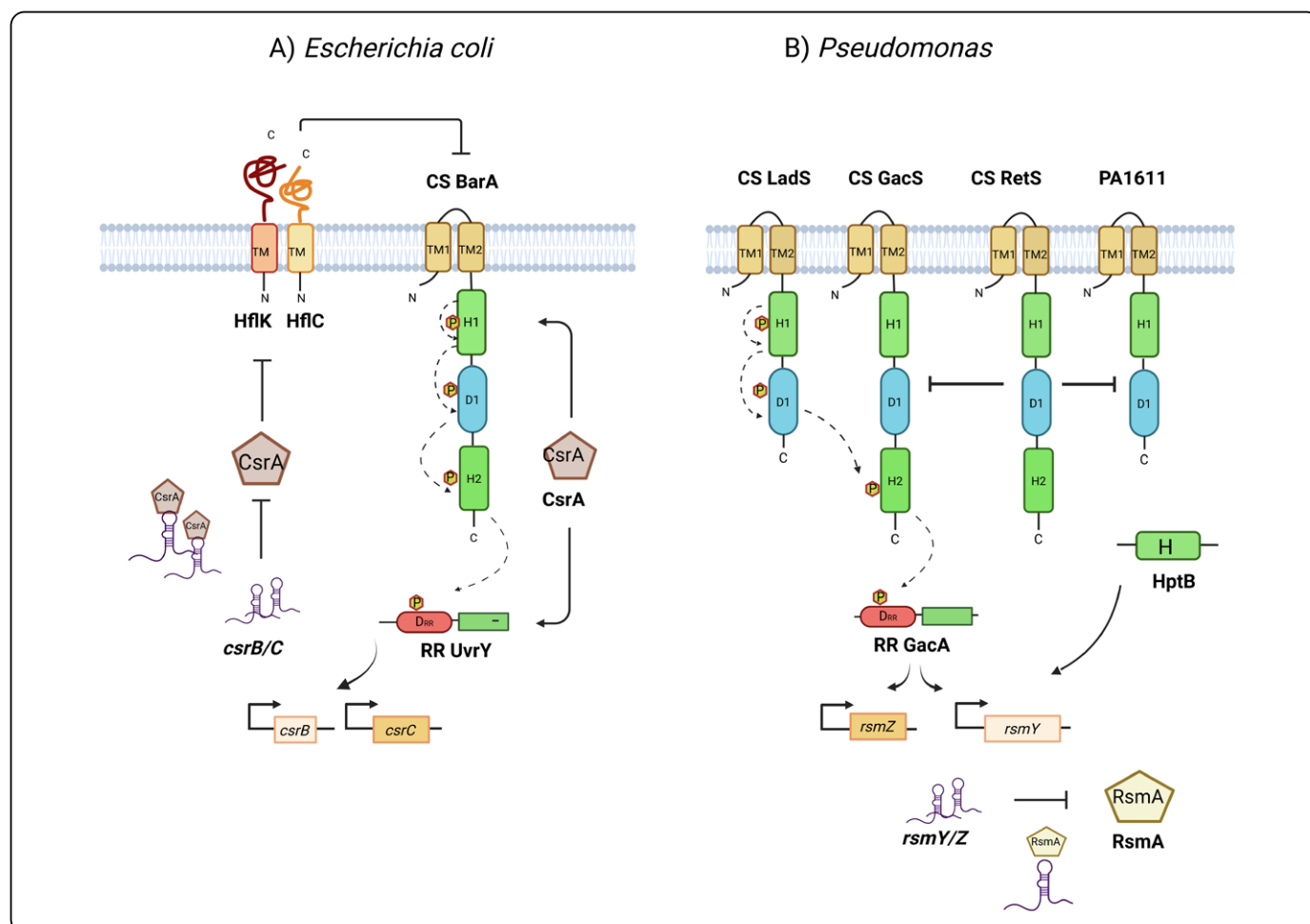


Figura 5. Proteínas auxiliares en la activación del SDC BarA/UvrY de *E. coli* y SDC GacS/GacA de *Pseudomonas*. A) Las proteínas HflKC regulan negativamente la actividad de la CS BarA. En la fase de crecimiento estacionaria, cuando el incremento en los niveles *csrB/C* inactivan a CsrA y se libera la traducción de hflKC. Las proteínas HflKC reclutan a BarA a los polos, silenciando la actividad del sistema. B) Las CS LadS y RetS regulan positiva y negativamente, de manera respectiva, la actividad de la CS GacS. La CS LadS emplea los dominios catalíticos de GacS y forma la siguiente ruta de fosforilación H1LadS→D1LadS→H2GacS→D2GacA. Antagónicamente la CS RetS forma heterodímeros a través del dominio H1 de GacS, bloqueando la autofosforilación y PA1611 interactúa con RetS, contrarrestando la interacción RetS-GacS, para que GacS se active. En adición a estos mecanismos de regulación, la vía de señalización HptB, induce la expresión de *rsmY*. Figura de creatividad personal.

La proteína CsrA (*Carbon storage regulator A*) está conservada en bacterias tanto dentro como fuera de la división de gamma-proteobacterias, y se describe como una proteína de regulación global que afecta numerosos procesos fisiológicos como el metabolismo del carbono, la formación de biopelículas, y la motilidad, entre otros (Wang, Dubey, Suzuki, Baker, Babitzke & Romeo, 2005). El mecanismo de regulación por CsrA es a través de la formación de homodímeros que se unen a las secuencias –ACA-GGA-G- situadas en estructuras tipo “asa y tallo” presentes en la región 5'-UTR de los transcritos. La unión de CsrA a los transcritos, generalmente, bloquea los sitios de unión al ribosoma, disminuyendo su traducción, o evita la degradación del transcrito, favoreciendo la síntesis del producto proteico (Porciau, Lai, Gorelik, Babitzke & Romeo, 2020).

Mecanismos de regulación atípicos en el SDC BarA/UvrY y sus ortólogos

La participación de un SDC que regula diversos procesos fisiológicos y una CS que responda a más de un estímulo, además de ser explicado por la naturaleza intrínseca del sistema, se atribuye a la incorporación de proteínas auxiliares o accesorias. Estas proteínas adicionales, al interactuar con los dominios extracelulares, transmembranales o citoplasmáticos de las CSs actúan como co-sensores en la presentación de la señal, coadyuvantes en la actividad catalítica de las CS e interconectores en la regulación cruzada entre dos o más SDCs.

HflK y HflC, proteínas accesorias en la regulación del SDC BarA/UvrY

Estudios recientes han descrito que las proteínas HflK y HflC actúan como proteínas auxiliares en la regulación de la CS BarA en *E. coli* (Fig. 5A), (Contreras *et al.*, 2023). Las proteínas HflK y HflC, poseen un dominio SPFH (*Stomatin, Prohibitin, Flotilin, HflK/C*), presente en múltiples proteínas asociadas a balsas lipídicas (Langhorst, Reuter & Stuermer, 2005). La investigación sobre estas regiones de la membrana se ha llevado a cabo principalmente en organismos eucariontes, en donde se atribuye su participación en la transducción de señales y en la regulación de algunos procesos fisiológicos como el mantenimiento de la membrana (Simons & Toomre, 2000). En eucariontes, la presencia de los esfingolípidos y colesterol son requeridos para la formación de balsas lipídicas; sin embargo, en bacterias, aunque carecen de estos lípidos, se han identificado micro-dominios membranales similares a balsas lipídicas. Estos microdominios se asociaron con la regulación de algunos procesos fisiológicos (Lopez & Koch, 2017) y de virulencia, al contribuir con la incorporación de lípidos presentes en la membrana de los hospederos como un mecanismo para evadir la respuesta inmune (Toledo *et al.*, 2014; Hutton *et al.*, 2017), así como con la tolerancia a amino-glicósidos y al estrés oxidativo (Wessel *et al.*, 2023).

El efecto de las proteínas HflK y HflC en la regulación del SDC BarA/UvrY forma parte de un sistema de regulación que responde a los requerimientos metabólicos a los que se enfrenta *E. coli* durante su crecimiento (Figura 5A). En la fase de crecimiento exponencial, la proteína CsrA regula negativamente la expresión del transcrito *hflKC*. La ausencia de HflKC permite que la CS BarA se active en presencia del estímulo, e incrementa los niveles de *csrB/C*, los cuales reclutan e inactivan a CsrA, permitiendo la traducción del mRNA que codifica para *hflKC*. El incremento en los niveles de HflKC propicia el reclutamiento de BarA hacia los polos, en donde su actividad cinasa es silenciada por mecanismos aún no descritos (Contreras *et al.*, 2023). Así es como, además del estímulo específico, factores espacio-temporales son determinantes para regular la actividad de la CS BarA de *E. coli*.

En el SDC GacS/GacA de *Pseudomonas*, ortólogo al SDC BarA/UvrY, también se ha descrito la participación de proteínas accesorias que regulan su actividad (Figura 5B). Las CS híbridas RetS (*Regulator of exopolysaccharide and type III secretion*) y LadS (*lost adherence*) se desenvuelven como proteínas accesorias que reducen y promueven, respectivamente, la actividad catalítica de la CS GacS (Goodman, Merighi, Hyodo, Veentre, Filloux & Lory, 2009; Chambonnier *et al.*, 2016).

En la dinámica de regulación del SDC GacS/GacA, la CS RetS forma heterodímeros con la CS GacS, para inhibirla alostéricamente como cinasa. Por otro lado, la CS LadS emplea los dominios DR y Hpt de GacS, y promueve la fosforilación

del RR GacA. Además de estas proteínas accesorias, en *P. aeruginosa* y *P. fluorescens* se ha descrito la intervención de la CS PA1611 y de la fosfotransferasa HptB, para interactuar con RetS, y contrarrestar el efecto inhibitorio de RetS sobre GacS (Kong *et al.*, 2013; Hsu, Chen, Peng & Chang, 2008; Bordi *et al.*, 2010).

La acción coordinada de las proteínas accesorias LadS, PA1611 y RetS en la regulación de la CS GacS es única en Pseudomonadales. Esto distingue la evolución diferencial y la especialización de los sistemas de señalización en organismos diferentes como *E. coli* y *Pseudomonas*, donde las CS BarA y GacS, presentes en distintos entornos ecológicos, no solo responden a diferentes ligandos, sino que también muestran diferencias significativas en sus mecanismos de transducción de señales.

LA REGULACIÓN CRUZADA ENTRE DIFERENTES SDCs

La respuesta adaptativa de un organismo frente a condiciones de estrés no se limita a la activación de un SDC, se atribuye a la respuesta coordinada entre diferentes SDC. Las redes de señalización formadas por la regulación cruzada entre SDC, se desarrolla mediante interacciones directas entre una CS sobre un RR no específico o mediante la participación de intermediarios proteicos, que permiten mantener la especificidad entre las CSs y los RRs cognados.

La regulación cruzada directa se ha descrito en *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (Salvail & Groisman, 2020), en donde el SDC BarA/SirA regula la expresión del RR RcsB (Figura 6A). RcsB forma parte del SDC RcsC/DB, que responde al daño en la membrana externa o perturbaciones en la pared celular (Wang, Zhao, McClelland & Harshey, 2007). La interconexión entre ambos SDCs, se ha reportado en condiciones de crecimiento controlado, indicando que la regulación cruzada propicia la expresión de genes con funciones fisiológicas, y en condiciones que no requieren de la activación del SDC RcsC/D/B (Wang *et al.*, 2007).

La regulación cruzada entre el SDC BarA/SirA y el RR RcsB ocurre a diferentes niveles; mediante el RR SirA, que promueve la transcripción del operón *rcsDB*; el incremento en los niveles de los RNAs *csrB/C* que promueven la transcripción del gen *rcsB* y a través de la fosforilación directa entre la CS BarA y el RR RcsB, independientemente de las proteínas RcsC, RcsD y SirA (Salvail & Groisman, 2020).

La participación de proteínas auxiliares que median la comunicación entre diferentes SDCs tiene un mayor número de incidencias (Buelow & Raivio, 2010). Generalmente, un SDC regula la expresión de una proteína auxiliar, y ésta tiene un efecto sobre la actividad de otro SDC. Como ejemplo de las amplias redes de señalización que se pueden formar a través de intermediarios proteicos, se ha descrito a la proteína MgrB

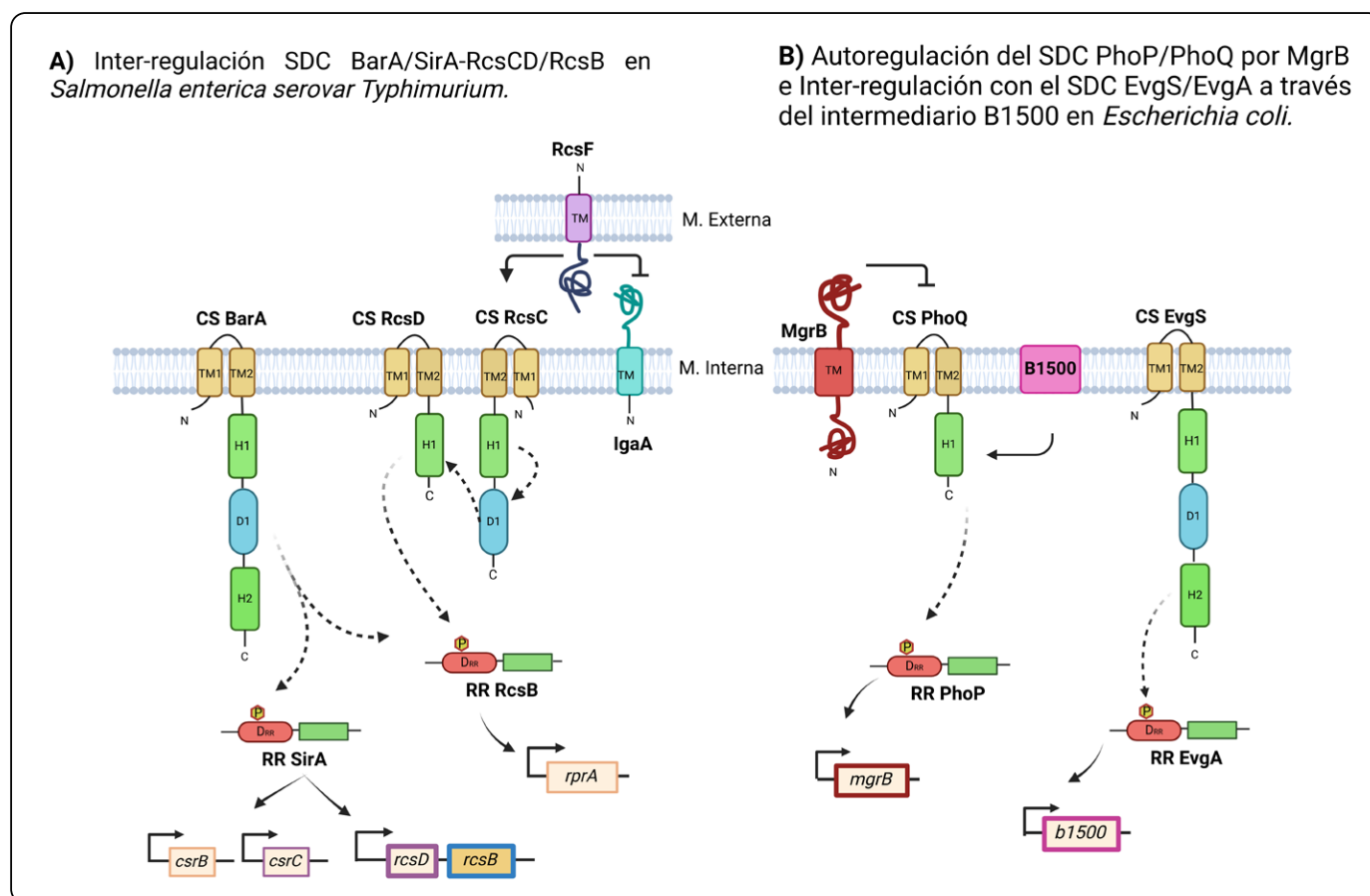


Figura 6. Mecanismos de cros-regulación entre SDCs. A) Regulación cruzada entre los sistemas RcsC/B - BarA/SirA; i) El RR SirA, promueve la transcripción del operón rcsDB, e incrementa la cantidad de las CS RcsD y del RR RcsB; ii) SirA aumenta la expresión de csrB/C lo cual al disminuir los niveles de RcsC, decrece la actividad fosfatasa de RcsC sobre RcsB iii) La CS BarA fosforila directamente al RR RcsB, independiente a RcsC/D y SirA; tomado y modificado de Salvail, 2020. El SDC RcsC/BD, regula la expresión de los genes involucrados en la respuesta adaptativa frente a condiciones de estrés en la membrana o daño a la pared celular. En la dinámica de activación del SDC RcsC/B, las proteínas auxiliares RcsF, YrfF y RcsA regulan la actividad de la CS RcsC. La lipoproteína de membrana externa RcsF regula positivamente la actividad de la CS RcsC, por interacción directa; contrario al efecto reportado para YrfF, que regula negativamente la actividad de RcsC. B) El SDC PhoP/PhoQ regula la expresión de la proteína MgrB, e inhibe la actividad de la CS PhoQ, al crear un circuito de autorregulación; en adición, la proteína B1500 regula positivamente la actividad de la CS PhoQ, la expresión de B1500 se encuentra bajo el control del SDC EvgS/EvgA y la participación de B1500 como intermediario en la regulación cruzada entre el SDC PhoP/Q y EvgS/A, permite que el organismo ejerza una respuesta coordinada por ambos sistemas. Figura de creatividad personal.

que regula negativamente la actividad de la CS PhoQ, y a su vez este sistema regula la expresión de *mgrB*. MgrB responde al estado redox en el periplasma (Lippa & Goulian, 2009) e interactúa directamente con PhoQ a través de regiones en el periplasma, TM, y citoplasmática, lo que aporta más nodos de regulación para modular la actividad de PhoQ (Figura 6B).

En adición a MgrB, en *E. coli*, el sistema PhoP/Q se encuentra interconectado con el Sistema EvgS/A, que regula, entre sus genes, la expresión de la proteína de membrana interna B1500, esta proteína interactúa con los dominios transmembrana de PhoQ y favorece su actividad cinasa. En este contexto, la red de señalización integrada por los SDC PhoQ/P y del SDC

EvgS/A, ayudan a la adaptación de *E. coli* frente a condiciones que requieren de la activación de ambos sistemas. El sistema EvgS/A, está involucrado en la resistencia frente a ambientes con bajo pH y, en conjunto con el SDC PhoQ/P, da lugar a la expresión de bombas de expulsión de antibióticos, de manera que, en presencia de sustancias tóxicas, *E. coli* las expulsa y modifique la membrana externa para hacerla más resistente (Eguchi *et al.*, 2007).

La regulación cruzada entre los SDC también se ha reportado entre los SDC EnvZ/OmpR y ArcB/ArcA de *E. coli*; el sistema EnvZ responde a niveles de osmolaridad, sin embargo, frente a condiciones anaerobias, la CS ArcB es capaz de fosforilar

tanto a su RR ArcA como al RR OmpR, permitiendo que OmpR regule a los genes en respuesta a condiciones de osmolaridad y disponibilidad de oxígeno (Matsubara & Mizuno, 1999).

CIRCUITO AUTORREGULATORIO BARA/UVR-Y-CSRA

En estudios recientes, se ha demostrado que CsrA, último efector de esta vía de señalización, es requerido para la activación del SDC BarA/UvrY (Camacho, Álvarez, Chavez, Romeo, Merino & Georgellis, 2015). Entre los mecanismos descritos se incluye el efecto de CsrA de *E. coli* y RsmA de *Pseudomonas* sobre la transcripción y traducción del RR UvrY y RsmY, respectivamente. Adicional a la regulación de CsrA sobre el RR, en *E. coli*, ésta proteína también regula la actividad cinasa-fosfatasa de BarA (Camacho *et al.*, 2015). Para entender el mecanismo por el cual CsrA regula la actividad de la CS BarA (Figura 5A), se han planteado diferentes hipótesis de cómo funciona el circuito auto-regulatorio entre el sistema BarA/UvrY-CsrA. En primera instancia se descartó la participación de CsrA sobre la producción del estímulo, (Camacho *et al.*, 2015).

Posteriormente, se consideró la función regulatoria de CsrA sobre los niveles de expresión de una proteína involucrada en la actividad de la CS BarA. En estudios recientes se ha descrito la regulación negativa de CsrA sobre la expresión de HflKC, y aunque se evidencia la participación del complejo proteico HflKC sobre la actividad cinasa de BarA; no se han identificado todos los componentes que intervienen en el circuito auto-regulatorio BarA/UvrY-CsrA (Contreras *et al.*, 2023).

DISCUSIÓN

Los sistemas de dos componentes (SDC), son el principal mecanismo por el cual, las bacterias asimilan los cambios en el medio ambiente y generan una respuesta adaptativa (Figura 1). Estos sistemas se han conservado en organismos que están en la tierra desde hace más de 4 mil millones de años, y su presencia se ha correlacionado con la capacidad del organismo para adaptarse a múltiples cambios ambientales. Entre las estrategias que brindan una explicación a la capacidad de los SDC para responder a múltiples señales, se ha descrito la generación de nuevas vías de señalización, mediante la transferencia lateral (mediante, fagos, plásmidos, por conjugación e internalización de DNA extracelular) y duplicación de genes. Sin embargo, frente a la creación de nuevas vías de señalización, la balanza evolutiva de estos sistemas se ha inclinado en emplear sus características intrínsecas para hacer más eficiente y versátil el reconocimiento, el procesamiento e integración de diversas señales, para evitar el gasto energético de producir nuevas proteínas.

Entre las características que contribuyen en su adaptable funcionamiento, se encuentra la naturaleza modular de estos sistemas (Figura 4). Estos módulos funcionales pueden interactuar de manera específica, ya sea formando parte de la misma proteína, así como presentarse en entidades proteicas independientes (Georgellis *et al.*, 1997). Adicional a su estructura

modular, estos sistemas han extendido su organización de dos componentes a complejas redes de señalización, formadas por la regulación cruzada entre diferentes SDC y la participación de proteínas auxiliares.

Como se describe, la regulación del SDC BarA/UvrY de *E. coli* y su homólogo GacS/A de *Pseudomonas* (Figura 5) involucra la participación de las proteínas auxiliares HflK y HflC, sobre la actividad de la CS BarA, y RetS y LadS, en la actividad de la CS GacS. Aunque no se han identificado homólogos a RetS y LadS en *E. coli*; sí para HflK y HflC en *Pseudomonas*; sin embargo, no se han relacionado con mecanismos de regulación sobre la CS GacS. Apesar de las particularidades en cada especie las CSs BarA y GacS guardan un 44 % de homología, referente a los dominios citoplasmáticos y un 19 % en el dominio periplásmico, lo que explica que los dominios no se complementan cuando son intercambiados en proteínas quiméricas (Álvarez, Rodríguez, Gonzalez Chavez & Georgellis, 2021).

La participación de las proteínas externas al SDC, además de actuar como auxiliares en la regulación catalítica de la CS, se les atribuye el papel de intermediarios en la regulación cruzada entre diferentes SDC, para la formación de redes de señalización (Figura 6), en las que es importante mantener la especificidad entre la CS y el RR cognados. Entre los factores que mantienen la especificidad se ha descrito la relación estequiométrica entre las CS y los RRs, relación asociada la presencia de ambos componentes en un mismo operón. De esta manera, el control en la co-expresión de estos factores reduce las posibilidades de interacción entre factores no específicos. Sin embargo, en algunos casos los genes que codifican para CS y RR del mismo sistema se encuentran en diferentes unidades transcripcionales, como es el caso de *barA* y *UvrY*. En este contexto, se ha observado que en organismos como *Acinetobacter baumannii* y *Allochroaium vinosum* que la presencia de BarA coincide con la ausencia de SirA ó RcsB (Zere *et al.*, 2015), lo que nos cuestiona si, en estos casos, el mecanismo de regulación dirigido por BarA, involucra a un regulador aún no identificado.

Además de la interconexión directa entre el SDC BarA/SirA y el SDC RcsC/DB, descrita en *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (Figura 6A), (Salvail & Groisman, 2020), la fosforilación de RRs por CSs no específicas se ha reportado en experimentos *in vitro* (Yamamoto, Hirao, Oshima, Aiba, Utsumi & Ishihama, 2005); sin llegar a concluir si estas regulaciones cruzadas pueden tener importancia fisiológica en condiciones naturales, o ser artefactos producto del uso de proteínas en un contexto no celular; sin embargo, no se descarta que, en determinadas condiciones, la afinidad entre las proteínas les permita interactuar fisiológicamente, favoreciendo la adaptación del organismo a las condiciones del medio (Skerker, Prasol, Perchuk, Biondi & Laub, 2005; Wei *et al.*, 2017).

La importancia del estudio sobre el circuito de señalización BarA/UvrY- CsrA (Figura 6A), radica en su participación sobre la regulación de procesos clave como la patogenia, la virulencia y el metabolismo. Como se detalla en esta revisión, el sistema exhibe una versatilidad notable en sus mecanismos de regulación, adaptables a las necesidades fisiológicas específicas de cada organismo y comprender tanto los mecanismos de regulación intrínsecos como los influenciados por factores externos al sistema, permite emplear al SDC BarA/UvrY, como un modelo para comprender la versatilidad en los procesos de señalización con la que pueden operar los sistemas de dos componentes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Claudia Rodríguez Rangel por su asistencia técnica. La investigación en nuestro laboratorio es financiada por el apoyo IN209924 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y el apoyo 514856del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

REFERENCIAS

- Albanesi, D., Martin, M., Trajtenberg, F., Mansilla, M. C., Haouz, A., Alzari, P. M., de Mendoza, D. & Buschiazio, A. (2009) Structural plasticity and catalysis regulation of a thermosensor histidine kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**(38), 16185–16190. DOI: 10.1073/pnas.0906699106
- Alm, E., Huang, K. & Arkin, A. (2006). The evolution of Two-Component Systems in Bacteria Reveals Different Strategies for Niche Adaptation. *PLoS Comput. Biol.*, **2**(11), e143. DOI: 10.1371/journal.pcbi.0020143
- Álvarez, A. & Georgellis, D. (2016). Características y funcionamiento de los Sistemas de Dos Componentes de organismos procariotas y eucariotas. *Química Viva*, **15**(3), 11-27. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v15n3/E0049.pdf>
- Álvarez, A., Rodríguez, C., Gonzalez Chavez, R. & Georgellis, D. (2021). The *Escherichia coli* two-component signal sensor BarA binds protonated acetate via a conserved hydrophobic-binding pocket. *J. Biol. Chem.*, **297**(6), 101383. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.101383
- Bordi, C., Lamy, M. C., Ventre, I., Termine, E., Hachani, A., Fillet, S., Roche, B., Blevers, S., Mejean, V., Lazdunski, A. & Filloux, A. (2010). Regulatory RNAs and the HptB/RetS signalling pathways fine-tune *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Mol. Microbiol.*, **76**(6), 1427–1443. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2010.07146.x
- Buelow, D. & Raivio, T. (2010). Three (and more) component regulatory systems - auxiliary regulators of bacterial histidine kinases. *Mol. Microbiol.*, **75**(3), 547-566. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06982.x
- Burbulys, D., Trach, K. A. & Hoch, J. A. (1991). Initiation of sporulation in *B. subtilis* is controlled by a multicomponent phosphorelay. *Cell*, **64**(3), 545–552. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90238-t
- Camacho, M. I., Georgellis, D. & Álvarez, A. (2016). El circuito regulatorio BarA/UvrY-CsrA en *Escherichia coli* y sus homólogos en las γ -proteobacterias. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, **19**(1), 15-23. DOI.org/10.1016/j.recqb.2016.02.002
- Camacho, M. I., Álvarez, A. F., Chavez, R. G., Romeo, T., Merino, E. & Georgellis, D. (2015). Effects of the global regulator CsrA on the BarA/UvrY two-component signaling system. *J. Bacteriol.*, **197**(5), 983-991. DOI: 10.1128/JB.02325-14
- Castañeda, M., Sanchez, J., Moreno, S., Nuñez, C. & Espin, G. (2001). The global regulators GacA and sigma (S) form part of a cascade that controls alginate production in *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.*, **183**(23), 6787-6793. DOI: 10.1128/JB.183.23.6787-6793.2001
- Chambonnier, G., Roux, L., Redelberger, D., Fadel, F., Filloux, A., Sivaneson, M., Bentzmann, S. & Bordi, C. (2016) The hybrid histidine kinase LadS forms a multicomponent signal transduction system with the GacS/GacA two-component system in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Genet.*, **12**(5), e1006032. DOI:10.1371/journal.pgen.1006032
- Chávez, R., Alvarez, F., Romeo, T. & Georgellis, D. (2010). The physiological stimulus for the BarA sensor kinase. *J. Bacteriol.*, **192**(7), 2009-2012. DOI: 10.1128/JB.01685-09
- Contreras, F. U., Camacho, M. I., Pannuri, A., Romeo, T., Alvarez, A. & Georgellis, D. (2023). Spatiotemporal regulation of the BarA/UvrY two-component signaling system. *J. Biol. Chem.*, **299**(6), 1-11. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.104835
- Donnenberg, M. & Kaper, J. (1991). Construction of a deletion mutant of enteropathogenic *Escherichia coli* by using a positive-selection suicide vector. *Infect. Immun.*, **59**(12), 4310-4317. DOI: 10.1128/iai.59.12.4310-4317.1991
- Eguchi, Y., Itou, J., Yamane, M., Demizu, R., Yamato, F., Okada, A., Mori, H., Kato, A. & Utsumi, R. (2007). B1500, a small membrane protein, connects the two-component systems EvgS/EvgA and PhoQ/PhoP in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**(47), 18712-7. DOI: 10.1073/pnas.0705768104
- Ferris, H. U., Dunin-Horkawicz, S., Mondéjar, L. G., Hulko, M., Hantke, K., Martin, J., Schultz, J. E., Zeth, K., Lupas, A. N. & Coles, M. (2011). The mechanisms of HAMP-mediated signaling in transmembrane receptors. *Structure*, **19**(3), 378-85. DOI: 10.1016/j.str.2011.01.006
- Galperin, M. Y. (2005). A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiol.*, **5**(35). DOI: 10.1186/1471-2180-5-35
- Galperin, M. Y. (2006). Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domain combinations. *J. Bacteriol.*, **188**(12), 4169-4182. DOI: 10.1128/JB.01887-05

- Galperin, M. Y. (2010). Diversity of structure and function of response regulator output domains. *Curr. Opin. Microbiol.*, **13**(2), 150-159. DOI: 10.1016/j.mib.2010.01.005
- Gao, R. & Stock, A. M. (2009). Biological insights from structures of two-component proteins. *Annual Review of Microbiology*, **63**, 133-154. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073214
- Georgellis, D., Kwon, O. & Lin, E. C. (2001). Quinones as the redox signal for the Arc two-Component system of bacteria. *Science*, **292**(5525), 2314-6. DOI:10.1126/science.1059361
- Georgellis, D., Lynch, A. S. & Lin, E. C. (1997). *In vitro* phosphorylation study of the Arc two-component signal transduction system of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **179**(17), 5429-5435. DOI:10.1128/jb.179.17.5429-5435.1997
- Georgellis, D., Kwon, O., De Wulf, P. & Lin, E. C. (1998). Signal decay through a reverse phosphorelay in the Arc two-component signal transduction system. *J. Biol. Chem.*, **273**(49), 32864-32869. DOI: 10.1126/science.1059361
- Goodman, A., Merighi, M., Hyodo, M., Veentre, I., Filloux, A. & Lory, S. (2009). Direct interaction between sensor kinase proteins mediates acute and chronic disease phenotypes in bacterial pathogens. *Genes Dev.*, **23**, 249-2559. DOI: 10.1101/gad.1739009
- Hsu, J. L., Chen, H. C., Peng, H. L. & Chang, H. Y. (2008) Characterization of the histidine-containing phosphotransfer protein B-mediated multistep phosphorelay system in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J. Biol. Chem.*, **283**(5), 9933-9944. DOI: 10.1074/jbc.M708836200
- Hutton, M. L., D'Costa, K., Rossiter, A. E., Wang, L., Turner, L., Steer, D. L., Masters, S. L., Croker, B. A., Kaparakis-Liaskos, M. & Ferrero, R. L. (2017). A *Helicobacter pylori* homolog of eukaryotic flotillin is involved in cholesterol accumulation, epithelial cell responses and host colonization. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, **7**(219). DOI: 10.3389/fcimb.2017.00219
- Ishige, K., Nagasawa, S., Tokishita, S. & Mizuno, T. (1994). A novel device of bacterial signal transducers. *EMBO J.*, **13**(21), 5195-5202. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1994.tb06850.x
- Ishii, E. & Eguchi, Y. (2021). Diversity in sensing and signaling of bacterial sensor histidine kinases. *Biomolecules*, **11**(1524). DOI: 10.3390/biom11101524
- Kato, M., Mizuno, T., Shimizu, T. & Hakoshima, T. (1997). Insights into multistep phosphorelay from the crystal structure of the C-terminal HPt domain of ArcB. *Cell*, **88**(5), 717-723. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81914-5
- Kenney, L. J. (2010) How important is the phosphatase activity of sensor kinases? *Curr. Opin. Microbiol.*, **13**(2), 168-176. DOI: 10.1016/j.mib.2010.01.013
- Kofoed, E. C. & Parkinson, J. S. (1988) Transmitter and receiver modules in bacterial signaling proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **85**(14), 4981-4985. DOI: 10.1073/pnas.85.14.4981
- Kong, W., Chen, L., Zhao, J., Shen, T., Surette, M. G., Shen, L. & Duan, K. (2013). Hybrid sensor kinase PA1611 in *Pseudomonas aeruginosa* regulates transitions between acute and chronic infection through direct interaction with RetS. *Mol. Microbiol.*, **88**(4), 784-97. DOI: 10.1111/mmi.12223
- Langhorst, M. F., Reuter, A. & Stuermer, C. A. (2005). Scaffolding microdomains and beyond: the function of reggie/flotillin proteins. *Cell. Mol. Life Sci.*, **62**(19-20), 2228-2240. DOI: 10.1007/s00018-005-5166-4
- Lapouge, K., Schubert, M., Allain, F. & Haas, D. (2007). Gac/Rsm signal transduction pathway of γ -proteobacteria: from RNA recognition to regulation of social behavior. *Mol. Microbiol.*, **67**(2), 241-253. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2007.06042.x
- Lawhon, S. D., Murer, R., Suyemoto, M. & Altier, C. (2002). Intestinal short-chain fatty acids alter *Salmonella typhimurium* invasion gene expression and virulence through BarA/SirA. *Mol. Microbiol.*, **46**(5), 1451-1464. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03268.x
- Lippa, A. M. & Goulian, M. (2009). Feedback inhibition in the PhoQ/PhoP signaling system by a membrane peptide. *PLoS Genet.*, **5**(12), e1000788. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000788
- Lopez, D. & Koch, G. (2017). Exploring functional membrane microdomains in bacteria: an overview. *Curr. Opin. Microbiol.*, **36**, 76-84. DOI: 10.1016/j.mib.2017.02.001
- Malpica, R., Franco, B., Rodríguez, C., Kwon, O. & Georgellis, D. (2004). Identification of a quinone-sensitive redox switch in the ArcB sensor kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **101**(36), 13318-13323. DOI: 10.1073/pnas.0403064101
- Matsubara, M. & Mizuno, T. (1999). EnvZ-independent phosphotransfer signaling pathway of the OmpR-mediated osmoregulatory expression of OmpC and OmpF in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**(2), 408-414. DOI: 10.1271/bbb.63.408
- Mizuno, T. (1997). Compilation of all genes encoding two-component phosphotransfer signal transducers in the genome of *Escherichia coli*. *DNA Res.*, **46**(2), 161-168. DOI: 10.1093/dnares/4.2.161
- Moolenaar, G. F., van Sluis, C. A., Backendorf, C. & van de Putte, P. (1987). Regulation of the *Escherichia coli* excision repair gene *uvrC*. Overlap between the *uvrC* structural gene and the region coding for a 24 kD protein. *Nucleic Acids Res.*, **15**(10), 4273-4289. DOI: 10.1093/nar/15.10.4273
- Mukhopadhyay, S., Audia, J. P., Roy, R. N. & Schellhorn, H. E. (2000). Transcriptional induction of the conserved alternative sigma factor RpoS in *Escherichia coli* is dependent on BarA, a probable two-component regulator. *Mol. Microbiol.*, **37**(2), 371-381. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01999.x
- Nagasawa, S., Tokishita, S., Aiba, H. & Mizuno, T. (1992). A novel sensor regulator protein that belongs to the homologous family of signal-transduction proteins involved

- in adaptive responses in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, **6(6)**, 799–807. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1992.tb01530.x
- Nixon, B. T., Ronson, C. W. & Ausubel, F. M. (1986). Two-component regulatory systems responsive to environmental stimuli share strongly conserved domains with the nitrogen assimilation regulatory genes *ntrB* and *ntrC*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83(20)**, 7850–7854. DOI: 10.1073/pnas.83.20.7850
- O'Malley, M. R., Chien, C. F., Peck, S. C., Lin, N. C. & Anderson, J. C. (2020). A revised model for the role of GacS/GacA in regulating type III secretion by *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. *Mol. Plant. Pathol.*, **21(1)**, 139–144. DOI: 10.1111/mpp.12876
- OMS. 2017. Lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed#:~:text=Entre%20tales%20bacterias%20se%20incluyen,la%20corriente%20sangu%C3%ADnea%20y%20neumon%C3%ADas>.
- O'Toole, G. & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.*, **30(2)**, 295–304. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.01062.x
- Peña-Sandoval, G. R., Kwon, O. & Georgellis, D. (2005). Requirement of the receiver and phosphotransfer domains of ArcB for efficient dephosphorylation of phosphorylated ArcA *in vivo*. *J. Bacteriol.*, **187(9)**, 3267–3272. DOI: 10.1128/JB.187.9.3267-3272.2005
- Pernestig, A. K., Melefors, O. & Georgellis, D. (2001). Identification of UvrY as the cognate response regulator for the BarA sensor kinase in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **276(1)**, 225–231. DOI: 10.1074/jbc.M001550200
- Pourciau, C., Lai, Y. J., Gorelik, M., Babitzke, P. & Romeo, T. (2020). Diverse mechanisms and circuitry for global regulation by the RNA-binding protein CsrA. *Front. Microbiol.*, **11**, 601352. DOI: 10.3389/fmicb.2020.601352
- Saita, E., Albanesi, D. & de Mendoza, D. (2016). Sensing membrane thickness: Lessons learned from cold stress. *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 837–846. DOI: 10.1016/j.bbailip.2016.01.003
- Salvail, H. & Groisman, E. A. (2020) The phosphorelay BarA/SirA activates the non-cognate regulator RcsB in *Salmonella enterica*. *PLoS Genet.*, **16(5)**, e1008722. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008722
- Simons, K. & Toomre, D. (2000). Lipid rafts and signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **1(1)**, 31–39. DOI: 10.1038/35036052
- Skerker, J. M., Prasol, M. S., Perchuk, B. S., Biondi, E. G. & Laub, M. T. (2005) Two-component signal transduction pathways regulating growth and cell cycle progression in a bacterium: A system-level analysis. *PLoS Biol.*, **3(10)**, e334. DOI: 10.1371/journal.pbio.0030334
- Steiner, B. D., Eberly, A. R., Hurst, M. N., Zhang, E. W., Green, H. D., Behr, S., Jung, K. & Hadjifrangiskou, M. (2018). Evidence of cross-regulation in two closely related pyruvate-sensing systems in uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Membr. Biol.*, **251(1)**, 65–74. DOI: 10.1007/s00232-018-0014-2
- Stock, A. M., Robinson, V. L. & Goudreau, P. N. (2000). Two-component signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.*, **69**, 183–215. DOI: 10.1146/annurev.biochem.69.1.183
- Suzuki, K., Wang, X., Weilbacher, T., Pernestig, A. K., Melefors, O., Georgellis, D., Babitzke, P. & Romeo, T. (2002). Regulatory circuitry of the CsrA/CsrB and BarA/UvrY systems of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **184(18)**, 5130–5140. DOI: 10.1128/JB.184.18.5130-5140.2002
- Takeuchi, K., Kiefer, P., Reimann, C., Keel, C., Dubuis, C., Rolli, J., Vorholt, J. A. & Haas, D. (2009). Small RNA-dependent expression of secondary metabolism is controlled by Krebs cycle function in *Pseudomonas fluorescens*. *J. Biol. Chem.*, **284(50)**, 34976–85. DOI: 10.1074/jbc.M109.052571
- Taylor, B. L. & Zhulin, I. B. (1999). PAS domains: internal sensors of oxygen, redox potential, and light. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **63(2)**, 479–506. DOI: 10.1128/MMBR.63.2.479-506.1999
- Terán-Melo, J., Rodríguez-Rangel, C., Georgellis, D. & Alvares, A. (2019). Mecanismo de autofosforilación y transfosforilación en sistemas de dos componentes bacterianos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, **22**, 1–11. DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2019.0.162
- Toledo, A., Crowley, J. T., Coleman, J. L., Larocca, T. J., Chiantia, S., London, E. & Benach, J. L. (2014). Selective association of outer surface lipoproteins with the lipid rafts of *Borrelia burgdorferi*. *mBio*, **5(2)**. DOI: 10.1128/mBio.00899-14
- Uhl, M. A. & Miller, J. F. (1996). Integration of multiple domains in a two-component sensor protein: the *Bordetella pertussis* BvgAS phosphorelay. *EMBO J.*, **15(5)**, 1028–1036. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1996.tb00440.x
- Wang, X., Dubey, A. K., Suzuki, K., Baker, C. S., Babitzke, P. & Romeo, T. (2005). CsrA post-transcriptionally Repress *pgaABCD*, responsible for synthesis of a biofilm polysaccharide adhesion of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, **56(6)**, 1648–1663. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04648.x
- Wang, Q., Zhao, Y., McClelland, M. & Harshey, R. M. (2007). The RcsCDB signaling system and swarming motility in *Salmonella enterica* serovar typhimurium: dual regulation of flagellar and SPI-2 virulence genes. *J. Bacteriol.*, **189(23)**, 8447–57. DOI: 10.1128/JB.01198-07
- Wei, C., Tsai, Y., Tsai, S., Lin, C., Chang, C., Lu, C., Huang, H. & Lai, H. (2017). Cross-talk between bacterial two-component systems drives stepwise regulation of flagellar biosynthesis in swarming development. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **489(1)**, 70–75. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.05.077

- Wessel, A. K., Yoshii, Y., Reder, A., Boudjemaa, R., Szczesna, M., Betton, J. M., Bernal-Bayard, J., Beloin, C., Lopez, D., Völker, U. & Ghigo, J. M. (2023). *Escherichia coli* SPFH membrane microdomain proteins HflKC contribute to aminoglycoside and oxidative stress tolerance. *Microbiol. Spectr.*, **11**(4), e0176723. DOI: 10.1128/spectrum.01767-23
- West, A. H. & Stock, A. M. (2001). Histidine kinases and response regulator proteins in two- component signaling systems. *Trends Biochem. Sci.*, **26**(6), 369-376. DOI: 10.1016/s0968-0004(01)01852-7
- Yamamoto, K., Hirao, K., Oshima, T., Aiba, H., Utsumi, R. & Ishihama, A. (2005). Functional characterization *in vitro* of all two-component signal transduction systems from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **280**(2), 1448-1456. DOI: 10.1074/jbc.M410104200
- Zere, T. R., Vakulskas, C. A., Leng, Y., Pannuri, A., Potts, A. H., Dias, R., Tang, D., Kolaczowski, B., Georgellis, D., Ahmer, B. M. & Romeo, T. (2015). Genomic Targets and Features of BarA-UvrY (-SirA) Signal Transduction Systems. *PLoS One*, **10**(12), e0145035. DOI: 10.1371/journal.pone.0145035
- Zhang, J. & Normarck, S. (1996). Induction of gene expression in *Escherichia coli* after pilus-mediated adherence. *Science*, **273**(5279), 1234-1236. DOI: 10.1126/science.273.5279.1234
- Zschiedrich, C., Keidel, V. & Szurmant, H. (2016). Molecular mechanisms of two-component signal transduction. *J. Mol. Biol.*, **428**(19), 3752–3775. DOI: 10.1016/j.jmb.2016.08.003