

# ¿Cómo las bacterias perciben señales del medio ambiente? How bacteria sense environmental signals?

López-Pliego Liliana\*<sup>1</sup>, Castañeda Miguel<sup>1</sup>

1. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Apdo, Postal 1622, C. P. 72000, Puebla, México. Teléfono:2222295500 Ext. 2577 / 2527. Correo-e: liliana.lopez@correo.buap.mx, miguel.castaneda@correo.buap.mx

## Resumen

Las bacterias son quizá los microorganismos más ubicuos en el planeta, los podemos encontrar prácticamente en todos lados, adaptándose exitosamente a ambientes tan distintos como el estómago del humano y el grifo del agua. Para poder adaptarse y sobrevivir requieren percibir las condiciones ambientales y responder a estas. A diferencia de los animales y las plantas que poseen órganos y sistemas especializados para poder detectar y responder al medio ambiente, las bacterias lo tienen que hacer con mecanismos aparentemente muy sencillos pero muy eficientes, convirtiendo estos en sus cinco sentidos. Estos mecanismos de detección bacterianos son conocidos como sistemas de transducción de señales de dos componentes, en este artículo revisamos los aspectos básicos del funcionamiento de estos sistemas, así como la importancia de entenderlos para poder usar este conocimiento, por ejemplo, en el tratamiento de infecciones bacterianas y en el uso de bacterias benéficas de interés biotecnológico.

Palabras clave: Sistemas de dos componentes, transducción de señales, sistemas multicomponente

## Abstract

Bacteria are perhaps the most ubiquitous microorganisms on the planet, we can find them practically everywhere, successfully adapting to environments as different as the human stomach and the water tap. In order to adapt and survive, they need to perceive and respond to environmental conditions. Unlike animals and plants that have specialized organs and systems to be able to detect and respond to the environment, bacteria are able to adapt with apparently very simple but very efficient mechanisms, turning these into their five senses. These bacterial detection mechanisms are known as two-component signal transduction systems. In this article, we review the basic aspects of how these systems work, as well as the importance of understanding them with the aim of using this knowledge, for example, in the treatment of infections. bacteria and in the use of beneficial bacteria of biotechnological interest.

Key words: Two component system, signal transduction, multicomponent systems

# INTRODUCCIÓN

Los microorganismos, también conocidos como microbios, incluyen una gran variedad de organismos unicelulares sin núcleo (procariotas) y con núcleo (eucariotas). Entre los microorganismos encontramos virus, bacterias y protozoarios. En particular, las bacterias son los organismos más abundantes en el planeta tierra y poseen una gran versatilidad en su metabolismo, lo que les ha permitido colonizar una gran diversidad de hábitats en el planeta; desde el suelo que pisamos; animales, el humano y hasta algunos materiales que parecerían inertes, como algunos plásticos.

En cada sitio las bacterias deben enfrentar diversos retos para adaptarse y sobrevivir, por consiguiente, tienen que “reconocer” de alguna manera cuáles son los desafíos a los que se están enfrentando; por ejemplo, la disponibilidad de nutrimentos, la presencia de sustancias tóxicas o bien benéficas e incluso la presencia de otros microorganismos con lo que tiene que convivir.

La manera en la que las bacterias pueden identificar y detectar estos desafíos requieren elementos que detecten estas condiciones o señales traduciéndolas a un nuevo lenguaje molecular que “entienda la célula” mediante el cual se modificará la expresión de sus genes, en el entendido que no todos los genes son expresados al mismo tiempo en cualquier célula, sea animal vegetal o microbiana. A este proceso de señalización se le conoce como transducción de señales o simplemente como señalización.

En las bacterias, los sistemas de señalización más importantes son los sistemas conocidos como de doble o dos componentes, a estos sistemas de señalización pertenecen una familia de proteínas que frecuentemente se encuentran ancladas en la membrana que cubre a la célula y cuya función principal es la detección de las condiciones o señales ambientales. En algunos casos, estas proteínas detectoras no están incrustadas en la membrana, sino que se encuentran libres en el interior de la célula (citoplasma) detectando condiciones intracelulares.

Entrando más en detalle, como su nombre indica los sistemas de dos componentes. Consta de dos proteínas; una cinasa de detección de señales llamada Cinas-Histidínica o Histidine-Kinase, en inglés, referida frecuentemente como HKs, por lo que de aquí en adelante en el texto nos referiremos así a estas proteínas. Esta proteína como cualquier cinasa es capaz de llevar a cabo procesos de fosforilación, lo cual hace, una vez que detecta una señal a la cuál responde el sistema iniciando el proceso de señalización. El segundo elemento del sistema es conocido como regulador de la respuesta (RR), y es una proteína encargada de dar respuesta a la señal detectada por la HK. En la mayoría de los casos cada HK interactúa específicamente con un RR en particular formado por parejas que presentan una relativa fidelidad.

## ¿Cómo funcionan los sistemas de dos componentes?

Para entender la manera en la que funcionan las HK recordaremos que las proteínas en general están constituidas por fragmentos que desempeñan funciones específicas llamados dominios. Las HK poseen varios dominios, entre ellos está un dominio llamado de entrada, como sería de esperarse este dominio es distinto en cada HK ya que cada HK detecta una señal o estímulo distinta. La naturaleza de la señal o ligando detectada es variable, y aunque los ligandos o señales de carácter químico son los más conocidos y estudiados, de manera interesante, las HK también pueden detectar otro tipo de señales que pueden ser físicas y/o ambientales; como la temperatura, osmolaridad, luz y pH entre otros. Una vez detectada la señal la HK se fosforila colocando un grupo fosfato, tomado de una molécula de Adenosín-trifostato (ATP), en un residuo del aminoácido Histidina ubicado en otro dominio de la proteína conocido como transmisor. A este dominio se le dio este nombre ya que tiene la capacidad de transmitir, de manera posterior a su fosforilación, el grupo fosfato a su regulador de la Respuesta específica (Fig. 1).

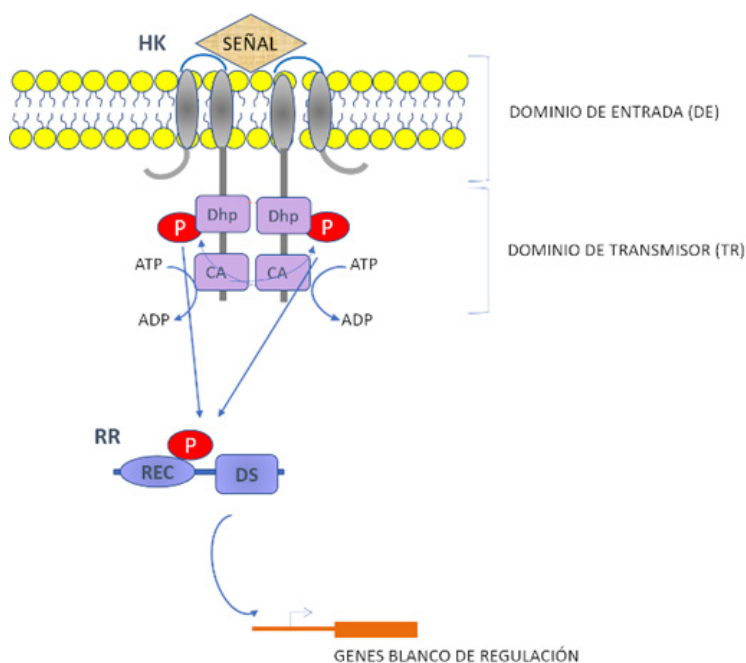


Fig.1. Mecanismo de señalización de los sistemas de dos componentes con Cinasas histidínicas sencillas. Los dominios de las proteínas están marcados en la figura por sus abreviaturas, Dominio de entrada (DE), Dominio transmisor (DT), Subdominio de dimerización que contiene la histidina que es fosforilada (Dhp), Subdominio catalítico (CA), Dominio Receptor (REC), Dominio de Salida (DS).

El proceso de fosforilación es un poco más complejo de lo descrito anteriormente. Una HK prototipo es una proteína integral de membrana homodimérica, es decir está formada por dos proteínas idénticas. El dominio de entrada o detección extracelular tiene cuando menos un asa entre dos segmentos que entran y salen de la membrana citoplasmática; por su parte, el dominio transmisor sigue el último segmento transmembranal y está localizado en el citoplasma. Aunque, como fue mencionado previamente, en algunas HK se desvían de este modelo y

sus dominios de entrada o detección pueden encontrarse dentro de la membrana o ser completamente citoplasmáticos. Por consecuencia, la localización del dominio de entrada estará relacionada con el origen de las señales que se detectan; así, si la señal es externa a la célula tendrá que ser detectada a través de una HK que contenga un dominio de entrada extracelular, mientras que, una señal intracelular tendrá que ser detectada a través de un dominio de entrada membranal o citoplasmático (Cheung; J & A. Hendrickson 2010). Algunos autores han dividido al dominio transmisor en dos subdominios; el subdominio DHp, donde la “D” refiere al sitio donde interactúan las subunidades proteicas para formar el dímero, en tanto la “H” indica que en este dominio contiene la Histidina que tiene que ser fosforilada para que se lleve a cabo la transducción de la señal del dominio de entrada hacia el RR. El otro subdominio, llamado CA, es la parte de la proteína que une al ATP y realiza la reacción química de transferencia del grupo fosfato del ATP a la histidina del dominio DHp, esta región constituye el centro catalítico de la cinasa, de ahí su nomenclatura (CA) (Fig. 1). Además de las HK más sencillas que acabamos de describir (llamadas HK clásicas) existen otras cinasas que poseen dominios adicionales que permiten que el flujo de la señal (reconocida por la célula

en forma de fosfato) en pasos y no de forma directa al RR del sistema. En estos sistemas los dominios adicionales, se pueden encontrar en la misma HK o en proteínas accesorias que interactúan con la HK. Estos funcionan como puntos de relevo del paso de la señal (fosfato) hasta llegar al regulador de respuesta. A su vez, a las HK con dominios adicionales se les ha clasificado en dos grupos: a) HK híbridas que son aquellas que contienen un dominio llamado REC que posee un aminoácido aspartato que puede capturar el grupo fosfato de la Histidina fosforilada del dominio DHp (Fig. 2 A); y b) HK no ortodoxas (Fig. 2 B), las que además de tener el dominio REC contienen un dominio adicional llamado Hpt o de fosfo-transferencia que posee una Histidina que se fosforila to-

mando el fosfato del dominio REC y posteriormente lo trasmite a su RR. Este control de la señal permite que los estímulos que encienden la señal no funcionan directamente como un apagador en un estado de encendido y apagado; sino que las señales de encendido de una cascada de regulación puedan estar sujetas a un control más fino y modulable con respecto a la activación de la respuesta (Appleby et. al. 1996; Wolanin, Thomason, & Stock, 2002). En promedio el 10 % de las HK de una bacteria pertenecen a estas proteínas con dominios adicionales y están relacionadas con la respuesta y control de procesos vitales para las bacterias.

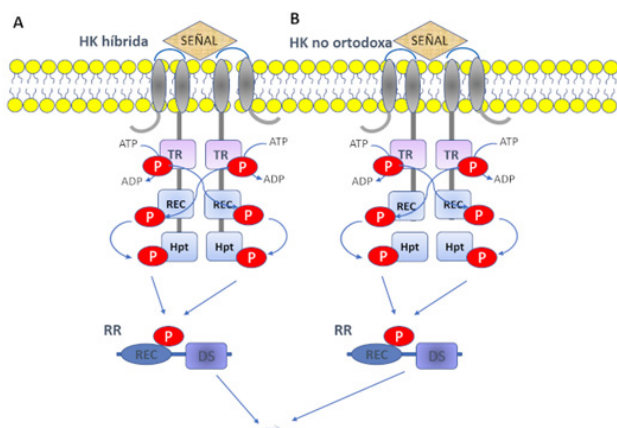


Fig.2. Mecanismo de señalización de los sistemas de dos componentes con A) Cinasas histidínicas híbridas y con B) Cinasas histidínicas no ortodoxas. Los dominios de las proteínas están marcados en la figura como sus abreviaturas, Dominio de entrada (en gris), Dominio transductor (TR), Dominio de fosfotransferencia (Hpt), Dominio Receptor (REC), Dominio de Salida (DS). Por razones de simplicidad no se marcan los dos subdominios (Dhp y CA) del dominio transductor, solo se indica el dominio transductor que los contiene.

Para que las HK se activen es necesario que estén en forma dimérica ya que a partir del dímero se establece el mecanismo de fosforilación a través de un proceso cruzado llevado a cabo por el dominio CA de cada uno de los monómeros en la Histidina del dominio DHp de su pareja, y viceversa, de esta forma, en resumen, un monómero fosforila a su molécula pareja de forma cruzada, razón por lo que a esto se le denomina fosforilación en trans (Fig. 1 y 2). Aunque en menos casos, también se ha descrito la autofosforilación o fosforilación en cis en ciertas HK, donde la cinasa se auto-fosforila, aunque hasta ahora no se sabe si existe una ventaja de utilizar alguno de los dos

mecanismos particulares (Casino et. al 2009). Con relación a la estructura y función del segundo elemento, los reguladores de la respuesta contienen un dominio receptor (REC) de la señal (ya convertida o transducida como un grupo fosfato) que es capaz de tomar el grupo fosfato de la Histidina que se encuentra en la HK activada. La fosforilación del regulador de respuesta produce un cambio en su estructura, lo que permite que el regulador de la respuesta active su dominio de salida. La gran mayoría de los reguladores de la respuesta actúan como reguladores genéticos, por lo tanto, la fosforilación permite que la proteína se una a regiones particulares del genoma de la bacteria mediante un dominio de salida que le permite unirse a sitios específicos de ADN modificando así la expresión de ciertos genes que darán respuesta al estímulo que comenzó la cascada de señalización. Aunque en menor número, algunos reguladores de la respuesta no actúan como reguladores genéticos; en algunos casos sus dominios de salida tienen la capacidad de unirse a moléculas de ARN o a otras proteínas modificando su función, incluso existen RR con dominios de salida capaces de realizar actividades enzimáticas como metilasas y diguanilato ciclasas, fosfodiesterasas entre otras, que son proteínas que pueden agregar grupos metilo, sintetizar o romper di-GMP-cíclico respectivamente, una molécula señal descubierta desde hace varios años, pero que ha tomado relevancia en la última década por su participación en el control de procesos esenciales para la sobrevivencia y adaptación al medio ambiente de las bacterias (Gao y Stock, 2009).

# ¿Cuántos sistemas de dos componentes poseen las bacterias?

Hoy en día es mucho más sencillo saber cuántos de estos sistemas existen en una bacteria gracias a que se conoce la secuencia de una gran cantidad de genomas bacterianos, por lo que es factible predecir el compendio completo de los genes relacionados con estos sistemas de señalización. La búsqueda de dominios característicos de las HK y de los RR ha permitido establecer que la cantidad de sistemas de dos componentes parece crecer al mismo tiempo que crece la cantidad de información contenida en las bases de datos genómicas, así mismo, se han podido generar bases de datos particulares que permiten tener de una forma más amigable la información de estos sistemas de señalización contenida en los genomas de organismos específicos e incluso en metagenomas (que es la información de secuencias de interés a partir de una muestra de interés sin necesidad de realizar un cultivo bacteriano previo).

Un ejemplo de ello es la base de datos P2CS (de sus siglas en inglés: “a database for prokaryotic two component systems”). Esta base de datos, actualizada hasta 2015, obtiene la información del contenido en proteínas de los microorganismos a partir de NCBI (National Center for Biotechnology Information), posteriormente realiza la búsqueda de las secuencias de sistemas de dos componentes. Más aún, la plataforma es capaz de buscar secuencias en la información genética que no ha sido correctamente anotada dándole identidad a algunos genes que puedan estar anotados como hipotéticos que pertenezcan a sistemas de dos componentes (Barakat et. al. 2011).

Por su parte, la base de datos MiST3 (<http://mistdb.com>) identifica y cataloga el repertorio de proteínas de transducción de señales en bacterias. En su versión actualizada 2019 ofrece la categorización de los sistemas de dos componentes a través de dos esquemas de clasificación: a través de tablas de proteínas de transducción de señales o en su caso gráficos de los dominios que participan en la transducción de señales, puesto que no existe un estándar de oro para clasificar a estas proteínas de forma bioinformática. Una de las nuevas características de la interfaz es el sistema de búsqueda que te permite realizar la búsqueda de organismos por genoma, género especie, familia, etc. Con una base de datos con más de 125,000 genomas obtenidos de NCBI (Gumerov et. al. 2020) podemos obtener de forma sencilla el contenido de sistemas de dos componentes del organismo deseado.

En general, ahora sabemos que el número de sistemas de dos componentes en las bacterias es proporcional al tamaño de su genoma, una bacteria con un genoma pequeño como *Haemophilus influenzae* tiene unos pocos sistemas, a diferencia de bacterias con genomas grandes y complejos como las pertenecientes al género *Azospirillum* poseen más de cien sistemas.



# Los Sistemas de Multicomponentes

Investigaciones recientes han reportado que algunos de estos sistemas de señalización no solo pueden controlar algún proceso regulando la actividad de su RR con el uso de una sola HK, sino que también pueden controlar al RR sumando la actividad de varias HKs. Los sistemas de señalización con múltiples HKs pueden actuar al menos dos maneras: a) varias HKs pueden participar en el encendido de la misma vía de señalización; y b) las HKs del sistema pueden interactuar entre sí estimulando o bloqueando la actividad de una HK principal que modula la respuesta de la vía de señalización. Algunos de los ejemplos más estudiados son donde la activación de las HKs confluye en la activación en la misma vía de señalización como en *Bacillus subtilis* durante la esporulación, en *Vibrio* spp. en la detección del número de los integrantes de la colonia, proceso llamado “quorum sensing”, en el control de genes relacionados con la virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*, entre otros.

El sistema de quorum sensing en *Vibrio harveyi* involucra la detección de tres moléculas señal llamadas autoinductores, porque son sintetizados a partir del mismo microorganismo hacia el medio externo con la finalidad de poder captarlos y dependiendo de la concentración, la población puede ser contada; por lo tanto “tomar decisiones” y expresar algunos genes responsables de la bioluminiscencia, la producción de biopelículas e incluso factores de virulencia y sideróforos (moléculas captadoras de hierro). Al menos tres autoinductores distintos son detectados por diferentes HKs y la señal de activación confluye en una proteína, LuxU, que posee un dominio de fosfotransferencia Hpt que posteriormente puede activar al regulador de respuesta, LuxO, que es el que activará los genes relacionados con la respuesta a la señal de activación de la cascada (Swartzman et. al. 1992; Henke et. al. 2004).

Por otra parte, *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria oportunista que puede causar infecciones en humanas agudas o crónicas en pacientes inmunocomprometidos. Se ha visto que durante las infecciones agudas, una característica de *P. aeruginosa* es la presencia de flagelo y la presencia de un sistema de secreción que es como una jeringa molecular que le permite inyectar proteínas que favorecen el proceso de infección llamados factores de virulencia; mientras que, en pacientes que presentan la infección crónica no hay presencia de flagelo, y por lo tanto comienzan a formar biopelículas y la expresión de otro tipo de moléculas que le sirven para defenderse del medio externo como son las pirocianinas y el ácido cianhídrico. En este caso la participación de la HK GacS es juega un papel importante en el cambio de la infección aguda hacia una infección crónica. Hasta ahora se han descrito al menos tres proteínas que inciden sobre GacS para modular el estado de fosforilación y la activación del regulador de respuesta GacA. RetS, LadS y PA1611 son las proteínas participando en la modulación del estado de fosforilación de GacS: RetS promueve el estado de infección aguda participando como una proteína que impide la fosforilación de GacS a través de tres mecanismos distintos; mientras que LadS tiene una función contraria a RetS, por lo que promueve la fosforilación de GacS y por tanto promueve el estadio crónico de la infección. PA1611 interactúa con RetS bloqueando su acción lo que resulta en la activación de GacS y promueve el estadio crónico de la infección (Goodman et. al. 2004; Bhagirath et. al. 2011; Kong et. al. 2013; Francis et. al. 2018).

En las últimas décadas los estudios de estos sistemas han hecho posible entender el mecanismo básico de la transducción de muchas señales, aunque todavía queda mucho por conocer. Al ampliar este conocimiento se tendrán más posibilidades de incidir en estas vías de señalización, por ejemplo, poder obtener o crear moléculas que en su caso bloqueen o disipen las señales que activan a estos sistemas de dos componentes modificando así el comportamiento de la bacteria. De manera interesante, se sabe que estos sistemas se encuentran mayoritariamente en bacterias; por lo que, al modificar con una sustancia la señalización de bacterias que causan enfermedades no se afectaría a la persona, animal o planta infectada que está siendo tratada con esta sustancia. De igual forma, el conocimiento de estos sistemas de señalización ha sido, y seguirá siendo parte importante para mejorar el uso de bacterias benéficas como lo son las bacterias productoras de metabolitos de interés biotecnológico o estimuladoras del crecimiento vegetal entre otras.

## REFERENCIAS

1. Appleby, J. L., Parkinson, J. S., & Bourret, R. B. (1996). Signal Transduction via the Multi-Step Phosphorelay: Not Necessarily a Road Less Traveled. *Cell*, 86(6), 845– 848. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80158-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80158-0)
2. Barakat, M., Ortet, P., & Whitworth, D. E. (2011). P2CS: a database of prokaryotic two-component systems. *Nucleic acids research*, 39(Database issue), D771–D776. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq1023>
3. Bhagirath AY, Pydi SP, Li Y, Lin C, Kong W, et al. (2017) Characterization of the direct interaction between hybrid sensor kinases PA1611 and RetS that controls biofilm formation and the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Infect. Dis.* 3:162–75. DOI: 10.1021/acsinfecdis.6b00153
4. Casino P, Rubio V, Marina A (2009) Structural insight into partner specificity and phosphoryl transfer in two-component signal transduction. *Cell* 139:325-336.
5. Cheung; J & A. Hendrickson; W. (2010). Sensor domains of two-component regulatory systems. *Current Opinion in microbiology*. 13:116–123. DOI: 10.1016/j.cell.2009.08.032.
6. Francis VI, Waters EM, Finton-James SE, Gori A, Kadioglu A, et al. (2018). Multiple communication mechanisms between sensor kinases are crucial for virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat. Commun.* 9:2219. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04640-8>
7. Gao R, Stock AM. (2009) Biological insights from structures of two-component proteins. *Annu Rev Microbiol.* 63:133-54. doi: 10.1146/annurev.micro.091208.073214.
8. Goodman AL, Kulasekara B, Rietsch A, Boyd D, Smith RS, Lory S. (2004). A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dev. Cell* 7:745–54. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.08.020
9. Gumerov VM, Ortega DR, Adebali O, Ulrich LE, and Zhulin IB (2020) MiST 3.0: an updated microbial signal transduction database with an emphasis on chemosensory systems. *Nucleic Acids Research*,48: D459–D464. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz988>.
10. Henke JM, Bassler BL. (2004). Quorum sensing regulates type III secretion in *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Bacteriol.* 186:3794–805. DOI: 10.1128/JB.186.12.3794-3805.2004.
11. Kong W, Chen L, Zhao J, Shen T, Surette MG, et al. (2013). Hybrid sensor kinase PA1611 in *Pseudomonas aeruginosa* regulates transitions between acute and chronic infection through direct interaction with RetS. *Mol. Microbiol.* 88:784–97. DOI: 10.1111/mmi.12223.
12. Swartzman E, Silverman M, Meighen EA. (1992). The luxR gene product of *Vibrio harveyi* is a transcriptional activator of the lux promoter. *J. Bacteriol.* 174:7490–93. DOI: 10.1128/jb.174.22.7490-7493.1992.
13. Ulrich LE, Zhulin IB.(2010). The MiST2 database: a comprehensive genomics resource on microbial signal transduction. *Nucleic Acids Res*; 38:D401–7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19900966/>

## REFERENCIAS

14. Wolanin, P. M., Thomason, P. A., & Stock, J. B. (2002). Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome Biology*, 3(10), reviews3013.1. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-10-reviews3013>