

Sinalização e expressão gênica:

Sistemas de dois componentes

QBQ 2503

IQ-USP

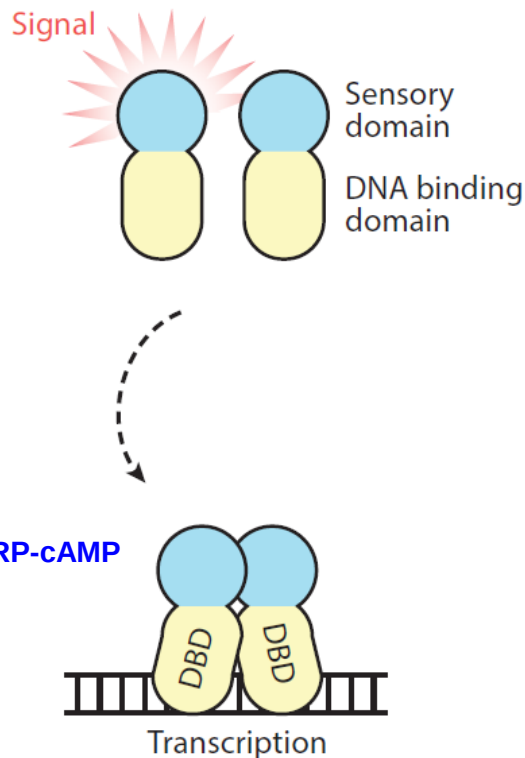
Bactérias respondem a sinais do meio ambiente

- Sinais
 - Físicos: temperatura, pressão osmótica, grau de umidade
 - Químicos
 - Nutrientes
 - Pequenas moléculas sinalizadoras
- Receptores dos Sinais
 - localizados na Membrana ou no Citoplasma
- Mensageiros Intracelulares
 - moléculas pequenas
- Efetores
 - Sistema de transporte, enzimas
 - Proteínas regulatórias: ativadores ou repressores

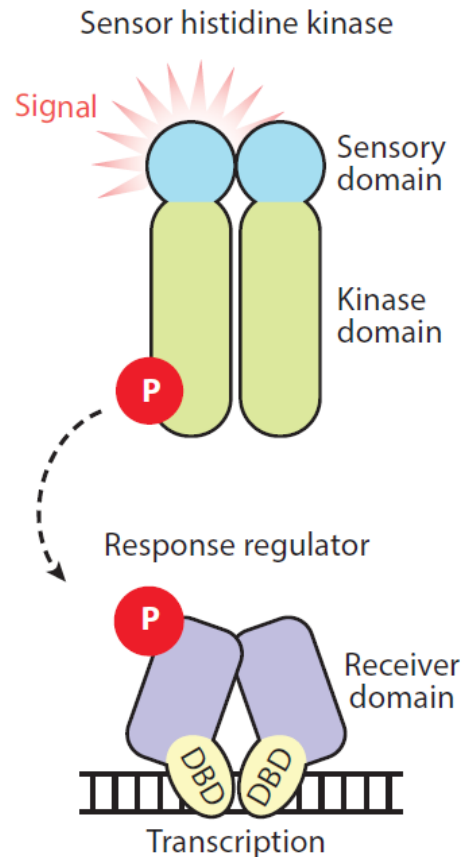
Regulação transcricional em resposta a mudanças no meio ambiente

a One-component signaling system

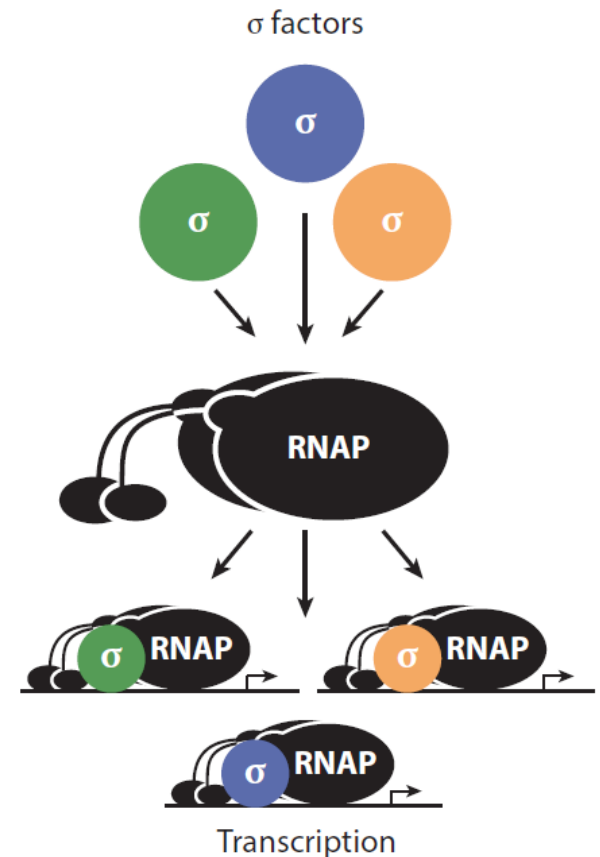
Ativadores e repressores



b Two-component signaling system



c Alternative σ factors

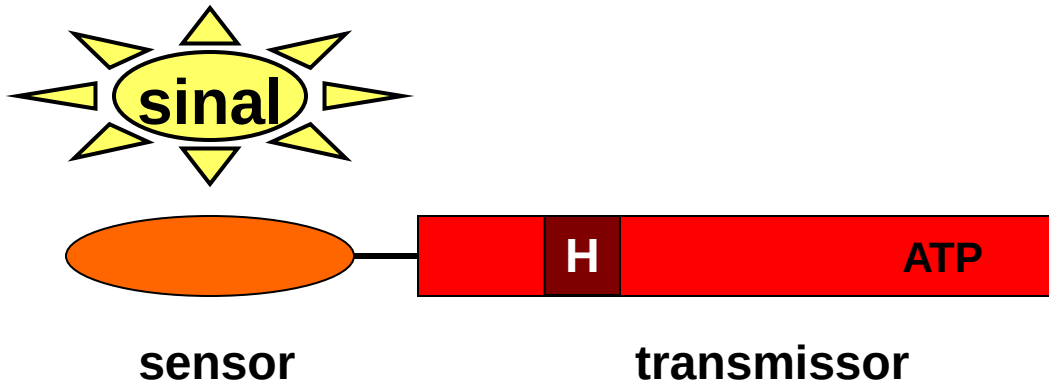


Sistemas de dois componentes

- 1) Proteína sensora: histidina quinase (HK)
 - geralmente na membrana plasmática
 - atua como um dímero
 - variedade de domínios sensores
 - autofosforilação (aa-histidina) em resposta ao sinal
- 2) Regulador de resposta (RR)
 - aspartato fosforilável (REC): recebe o fosfato da histidina
 - geralmente um dímero
 - possui diferentes domínios efetores

Sistemas de dois componentes

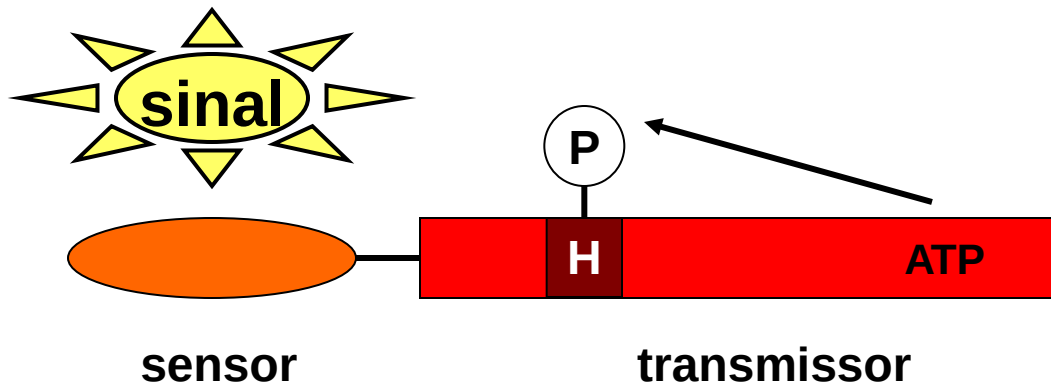
- Sinal é recebido pela célula



proteína sensora
histidina quinase

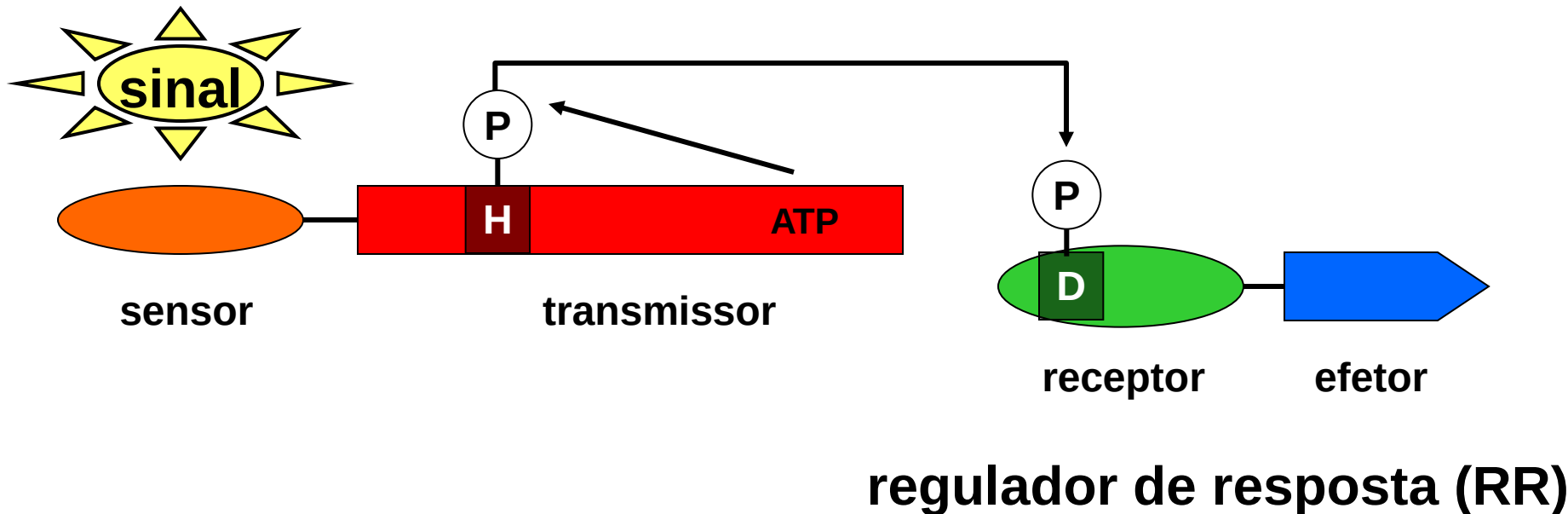
Sistemas de dois componentes

- Em resposta ao sinal a HK se autofosforila em um resíduo de histidina



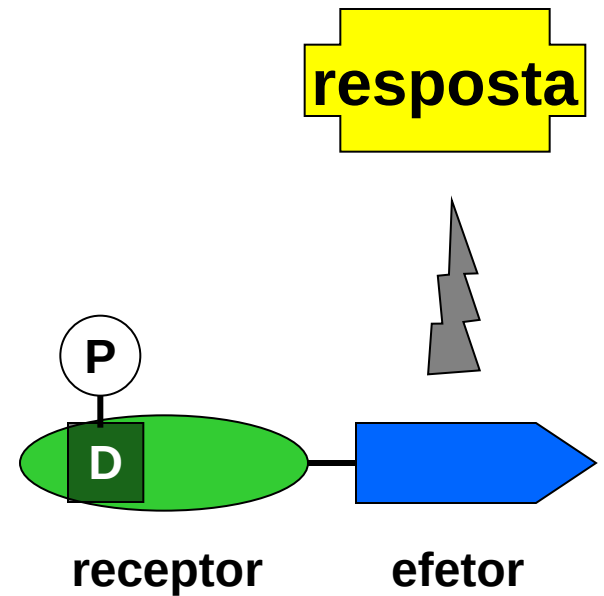
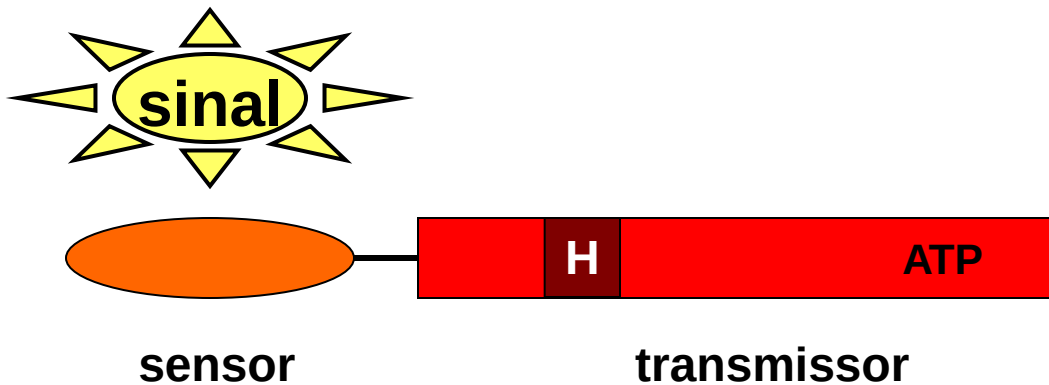
Sistemas de dois componentes

- Fosfato é então transferido ao aspartato do RR

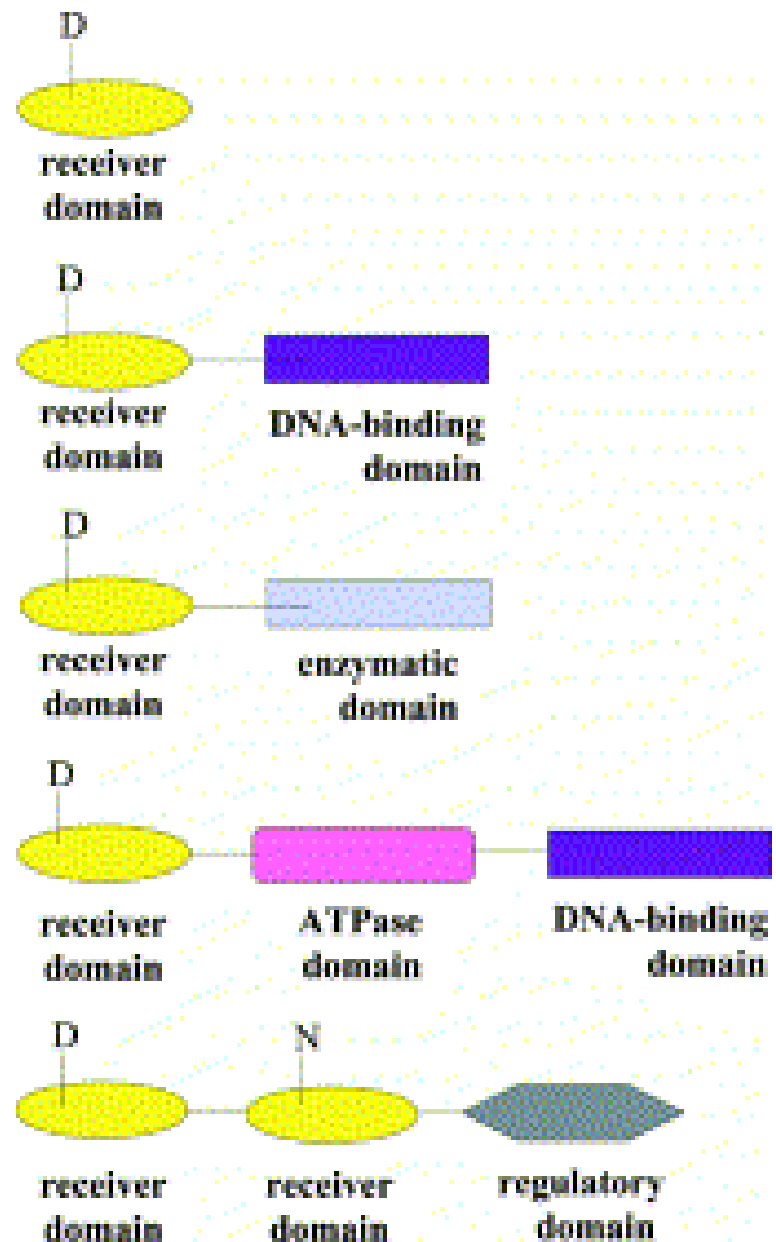


Sistemas de dois componentes

- Ocorre a resposta



Domínios Efetores dos Reguladores de Resposta (RR)



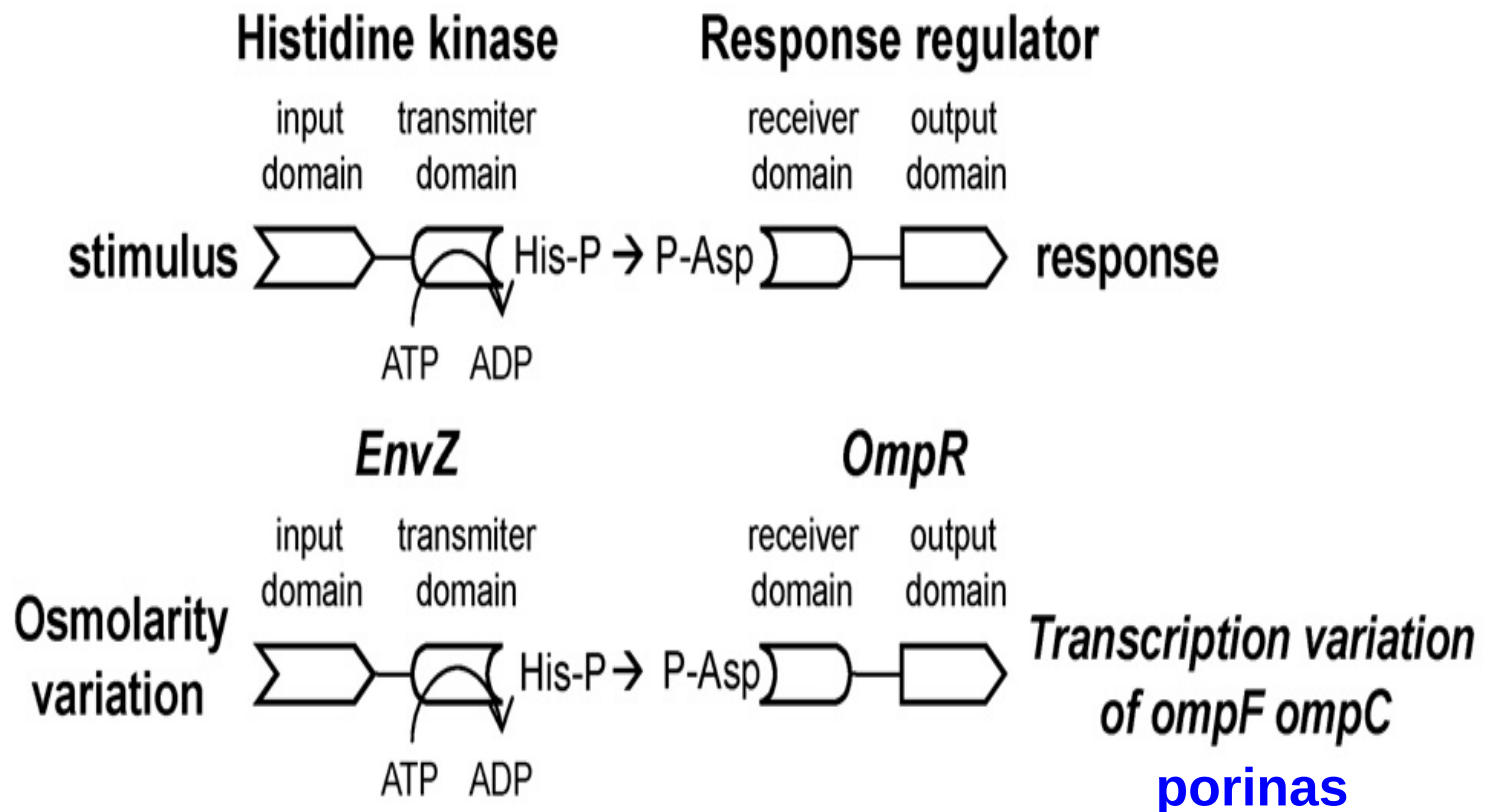
Alguns sistemas bacterianos de 2-componentes

Tabela 16.2. Alguns sistemas bacterianos de dois componentes.

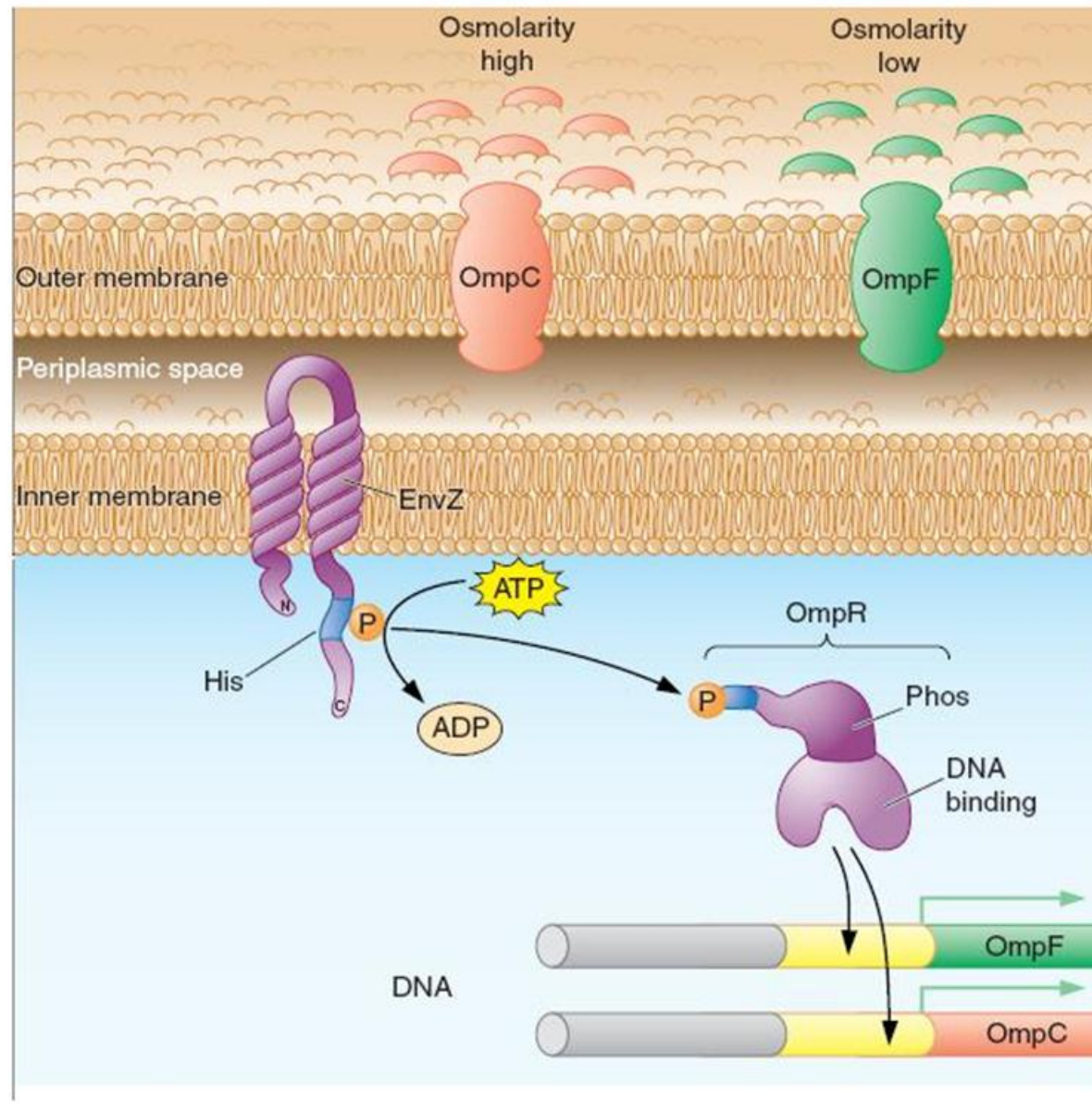
Histidina quinase	Regulador de resposta	Processo fisiológico regulado
ArcB	ArcA	Disponibilidade de oxigênio
CheA	CheY	Quimiotaxia
DivJ	DivK	Desenvolvimento
EnvZ	OmpR	Osmolaridade ● ←
KdpD	KdpE	Estresse osmótico
NtrB	NtrC	Disponibilidade de nitrogênio ● ←
PhoP	PhoQ	Virulência, disponibilidade de magnésio
PhoR	PhoB	Disponibilidade de fosfato inorgânico
RegB	RegA	Estado redox (ubiquinona)
VanS	VanR	Resistência à vancomicina

Existe uma infinidade de sistemas de 2-componentes

Sistema de 2-componentes envolvido com controle da osmolaridade



•EnvZ (HK)- OmpR (RR): controle de osmolaridade



•**OmpC**: porina de poros pequenos;

•**OmpF**: porina de poros grandes

•**Osmolaridade baixa**: poros grandes

•**Osmolaridade alta**: poros pequenos

Conformação dependente de osmolaridade de EnvZ

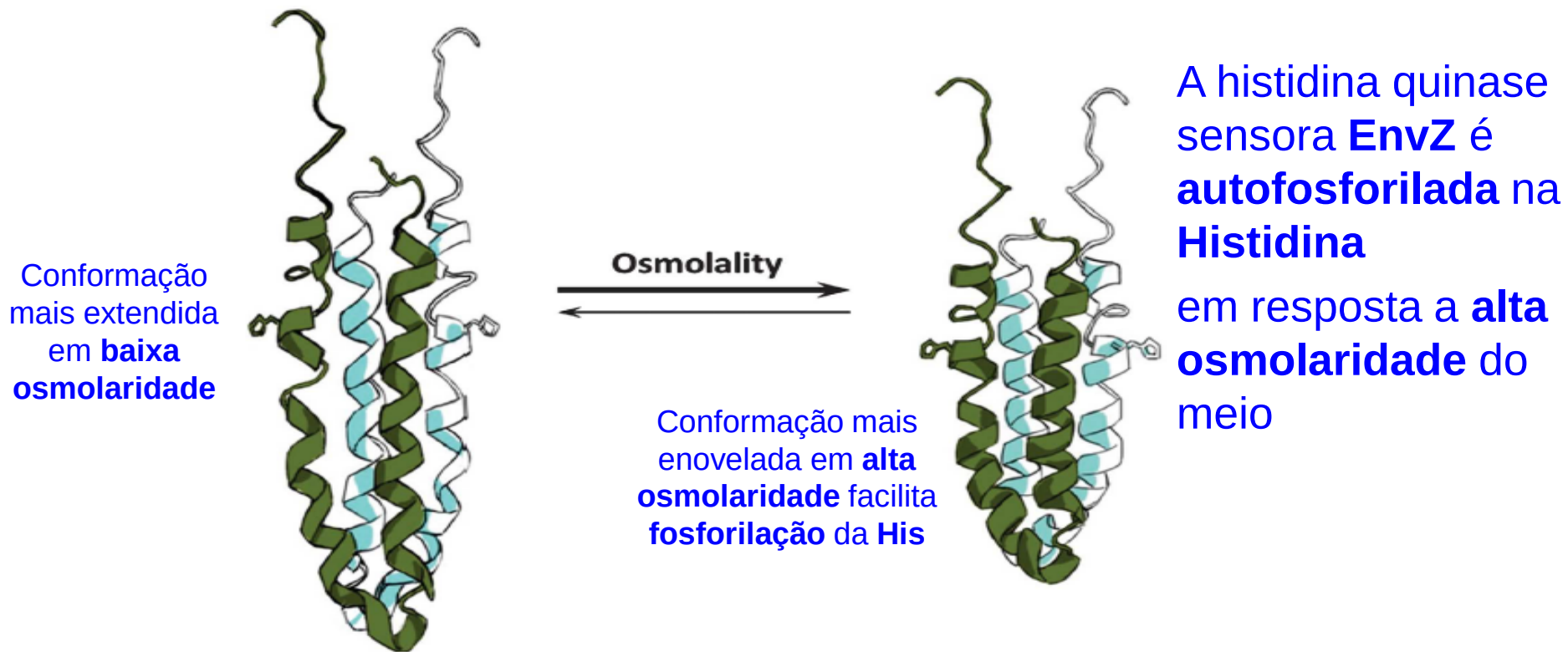
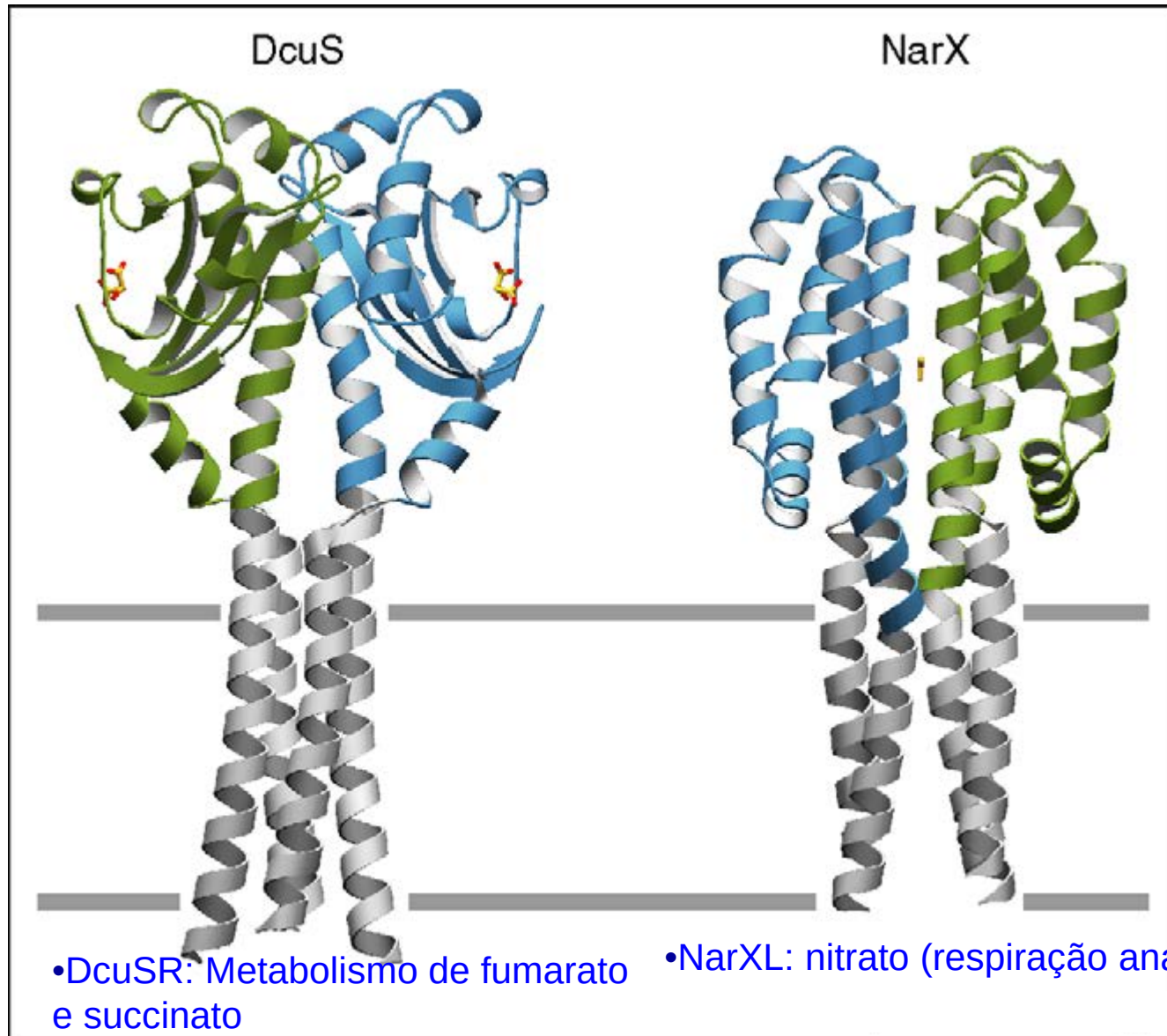


Figure 7 Stretch-relaxation model for EnvZ osmosensing and signal transduction. EnvZ exists as an ensemble of conformations that are highly dynamic. This switch is suggestive of interchanging intrahelical H-bond formation and breakage. At low osmolality, a stretched conformation with weaker intrahelical H-bonding predominates in solution (left panel). High osmolality favours a more folded conformation (right panel) through increased stabilization of intrahelical H-bonds. This conformation facilitates enhanced rates of His²⁴³ autophosphorylation and phosphotransfer to OmpR.

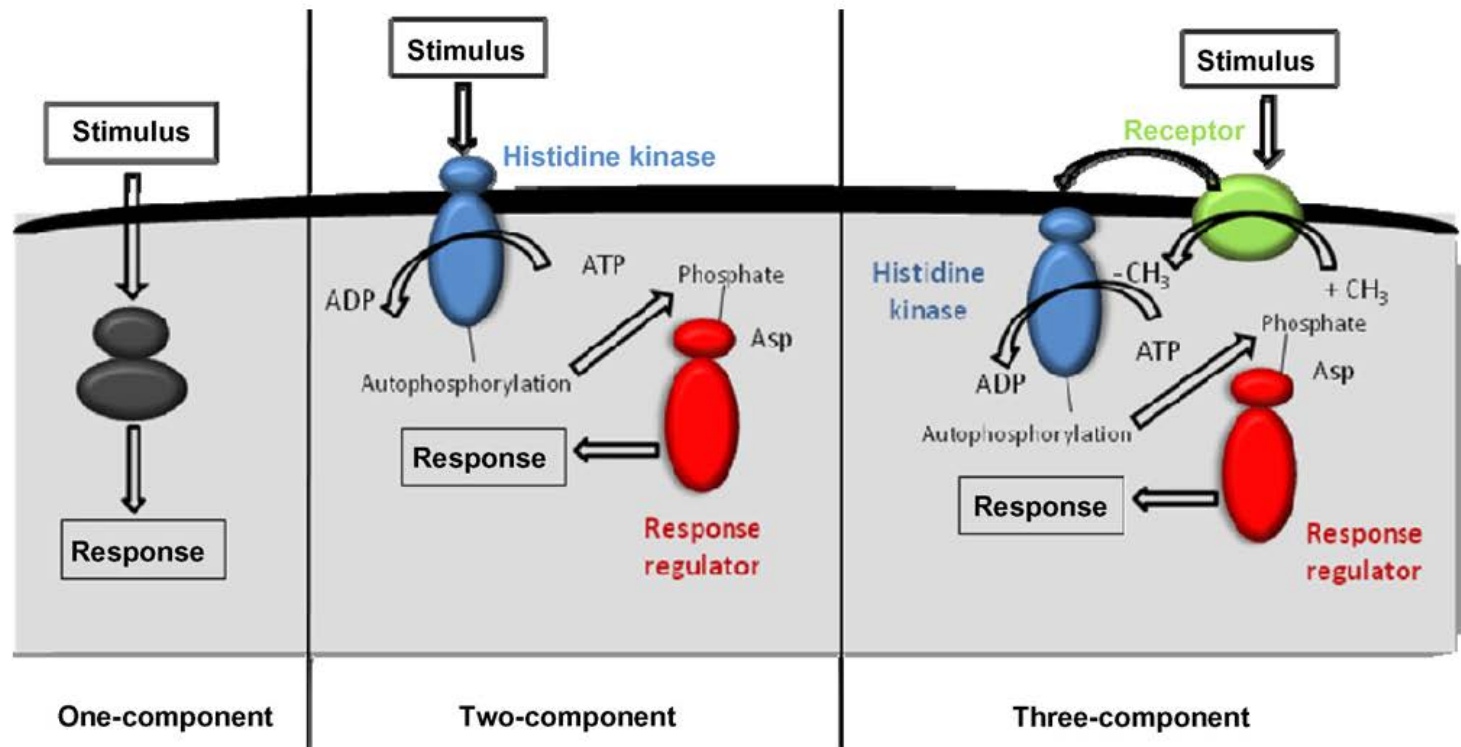
Como a **osmolaridade do meio** regula as porinas **OmpF** e **OmpC**?

- **OmpF** produz **poros grandes** e **OmpC** **poros pequenos**.
- **HK EnvZ** é ativada e se **autofosforila** em **alta osmolaridade**.
- **Grau de fosforilação** de **OmpR** por **EnvZ** determina a **ativação da transcrição** de **OmpF** ou **OmpC**.
- Em **baixa** osmolaridade **OmpR** ativa a transcrição de **OmpF (poros grandes)**.
- Em **alta** osmolaridade **OmpR** ativa a transcrição de **OmpC (poros pequenos)** e reprime a transcrição de **OmpF**.
- Assim em **baixa** osmolaridade, os níveis de **OmpR-P** são **baixos** e predomina **OmpF** na membrana externa. Em **alta** osmolaridade, os níveis de **OmpR-P** são **altos** e predomina **OmpC**.

Domínios sensores de HK



Vias de Sinalização em Bactérias



Resposta à Carência de Nitrogênio: Sistema de 3-componentes

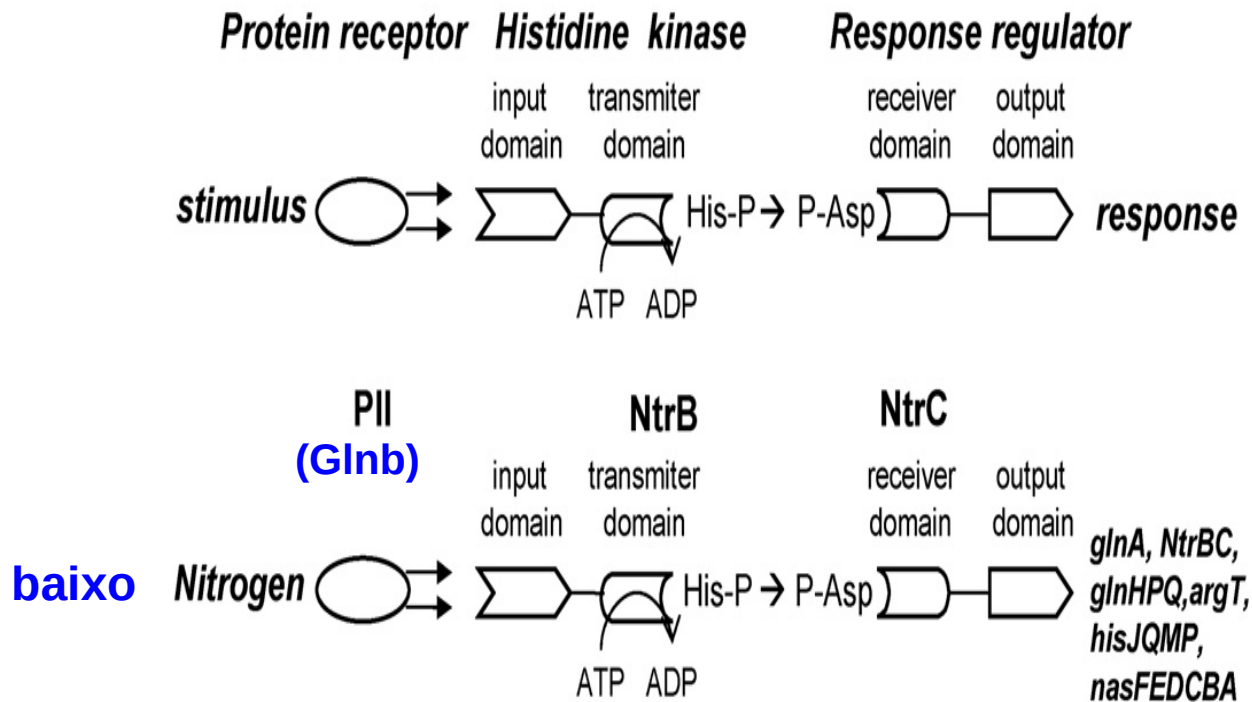
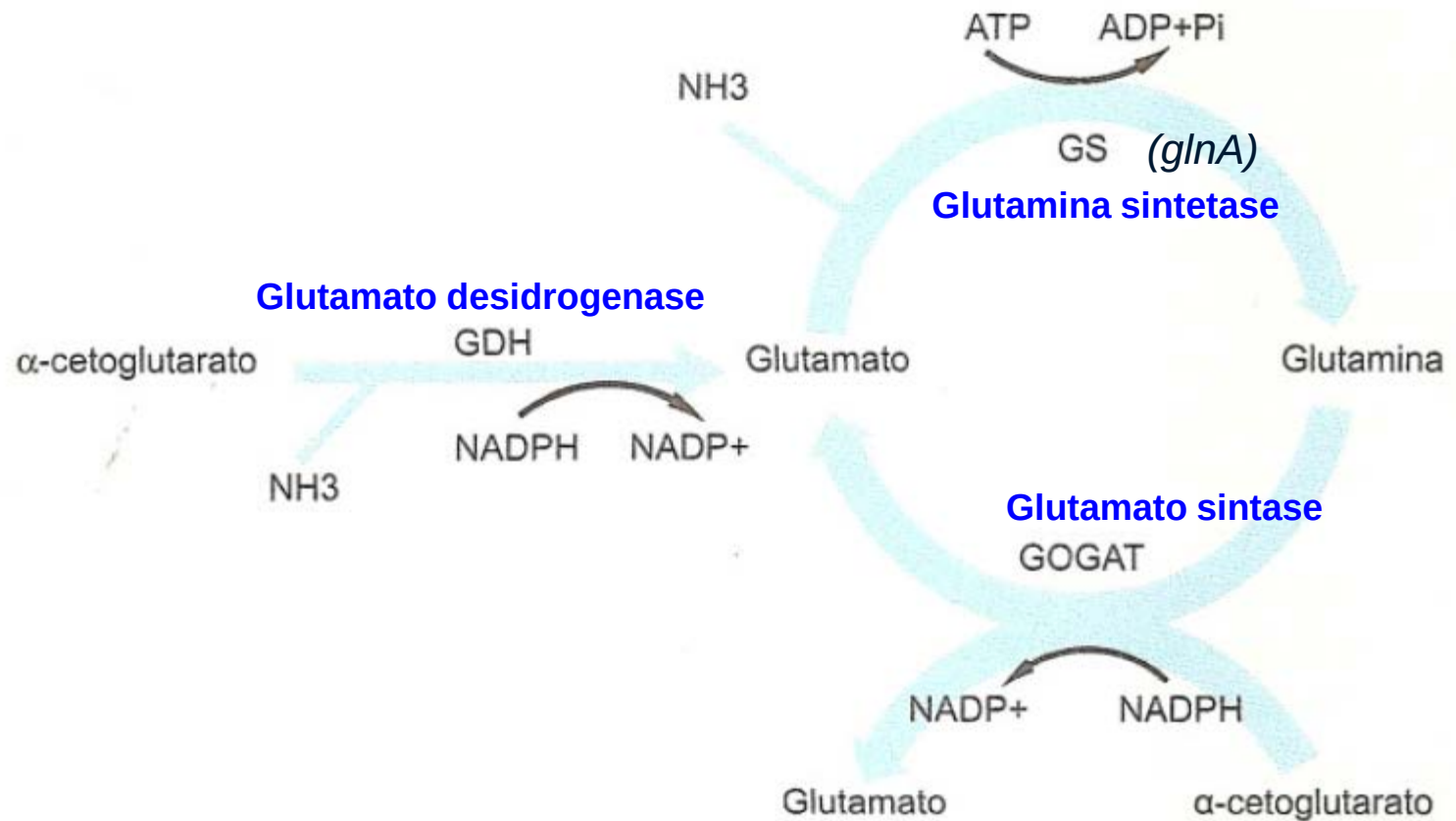
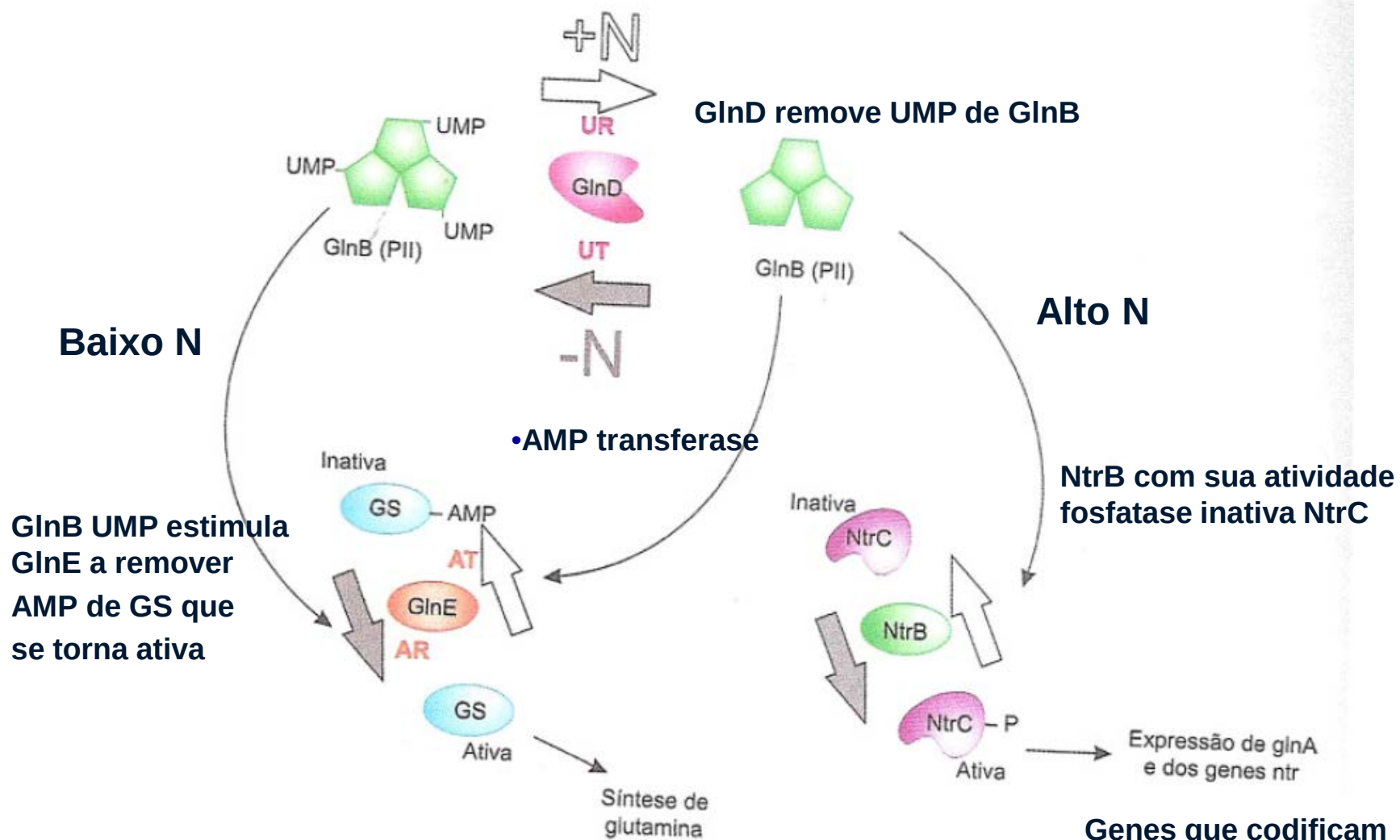


Fig. 6. The Three-component system scheme, where independent receptors are added to the previous TCS scheme. The example of this figure is the Nitrogen control in *Enterobacteriaceae*, the *ntr* system. It includes the PII receptor and a two-component regulatory system composed of the histidine protein-kinase NtrB and the respond regulator NtrC, after Merrick and Edwards (1995). The addition of the third protein supports improved capabilities of detection and of evolutionary variability (Li et al., 2007; Ortiz de Orué Lucana and Groves, 2009).

Vias de assimilação de amônia em bactérias



Regulação da atividade da GS-glutamina sintetase (*glnA*) e da expressão de *glnA* (GS) e genes *ntrB* e *ntrC*



Carência de N ativa a GS e ativa NtrC (NtrB HK)

Regulação de GS e NtrC por Nitrogênio

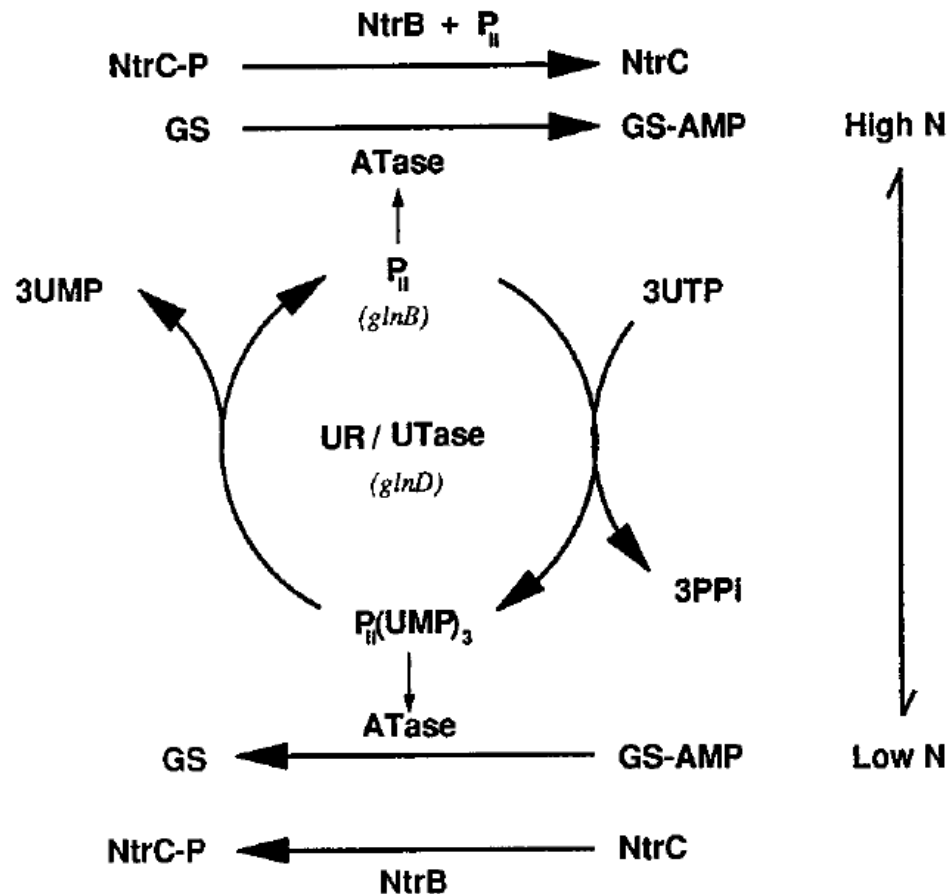
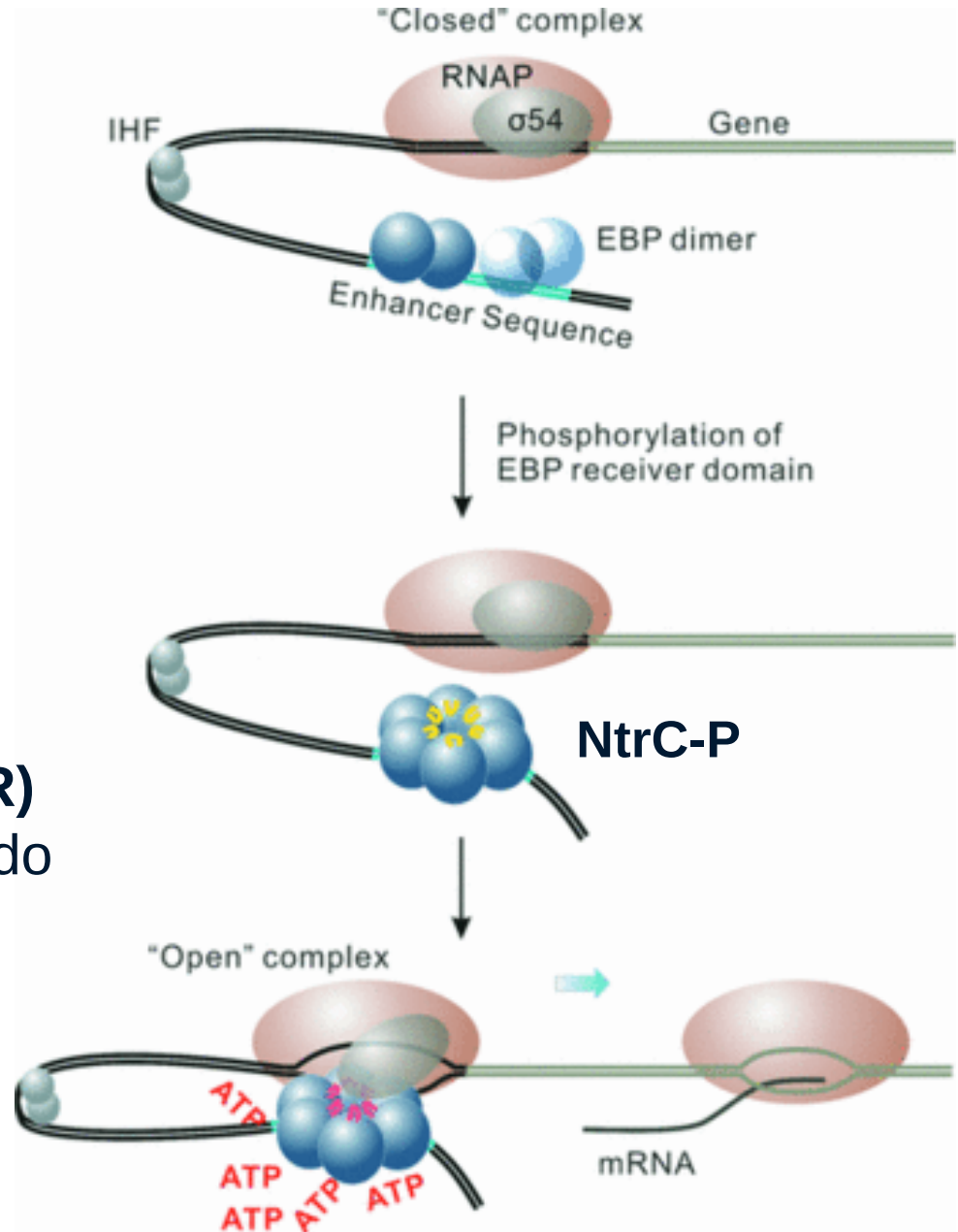


FIG. 1. Schematic model for the regulation of the activities of GS and NtrC protein in response to nitrogen status. UTase (*glnD* product) catalyzes the uridylylation and deuridylylation of P_{II} (*glnB* product). Adenylyltransferase catalyzes the adenylation and deadenylation of GS. NtrB protein catalyzes the phosphorylation and dephosphorylation of NtrC protein.

Ativadores de **Sigma 54**
são Reguladores de
Resposta (RR) da
Carência de Nitrogênio

NtrB (HK) fosforila **NtrC (RR)**
que ativa a **RNA pol** contendo
o **sigma 54** ou **sigma N**



Resposta geral a estresses em alfa-proteobactéria envolve o fator sigma EcfG regulado por um sistema de 2-componentes

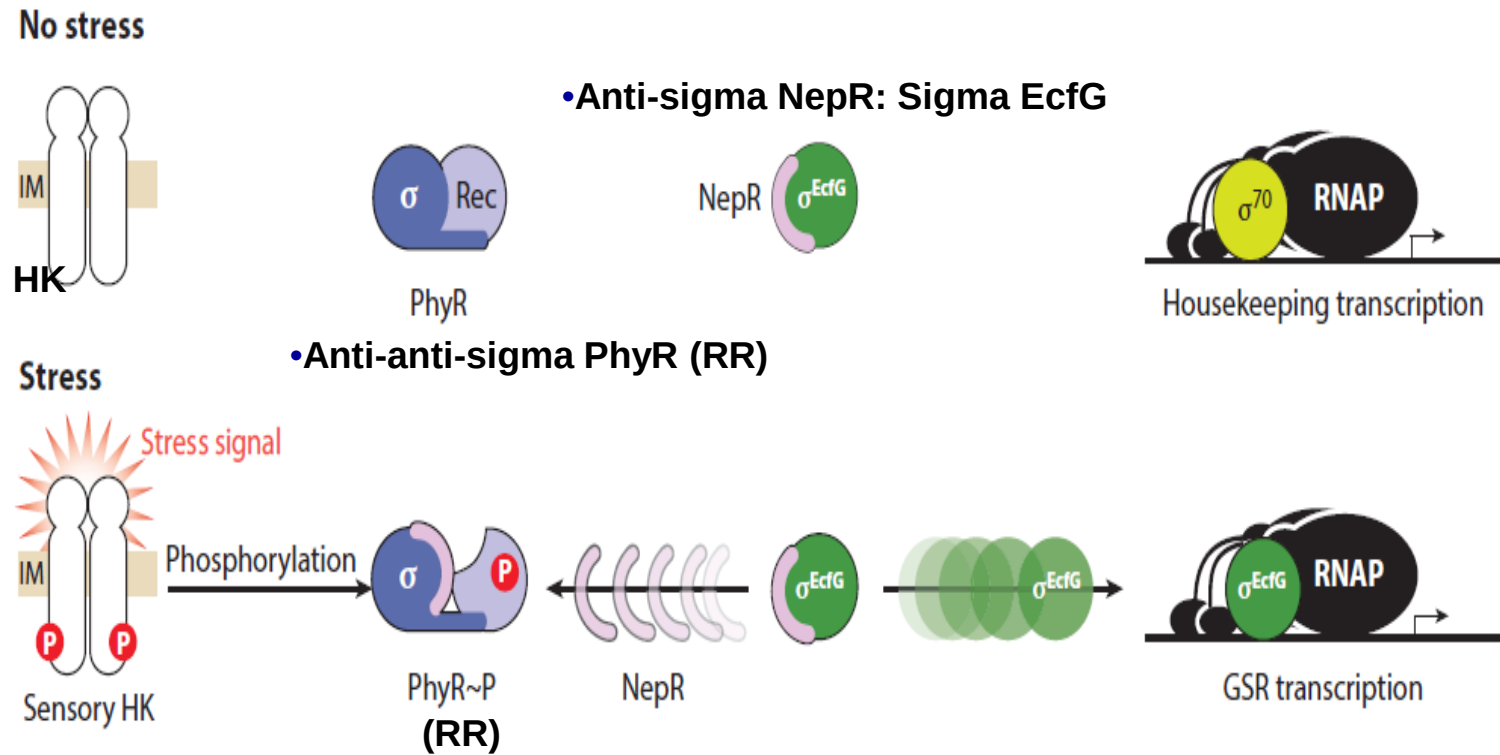


Figure 2

Alphaproteobacterial general stress response (GSR) partner switching. Under inactivating conditions, σ^{EcfG} is sequestered by the anti- σ factor NepR and cannot compete with the primary σ^{70} factor for binding to core RNA polymerase (RNAP). PhyR is unphosphorylated, is in a closed conformation, and has a low affinity for NepR. Under stress conditions, the receiver domain of PhyR can be phosphorylated by a sensor histidine kinase(s) often associated with the inner membrane (IM), destabilizing the interaction interface between the σ -like domain and the receiver domain. This open PhyR conformation reveals the NepR binding interface and thereby increases the affinity of PhyR for NepR. PhyR~P-NepR binding releases σ^{EcfG} to interact with RNAP and initiate transcription of the GSR regulon. Abbreviation: HK, histidine kinase.

Sistema de dois componentes (PhyK-PhyR) ativado por vários estresses regula o fator sigma T de *Caulobacter crescentus*

