

Nuevo sistema de señalización en bacterias mediado por el (3'5') guanosín-monofosfato-cíclico (di-GMPC)

Ma. Luisa **Xiqui**
Angélica **Romero**
E. Elisa **Terán**
Lucía **Soto**
Beatriz E. **Baca**

El ácido di-(3' 5') guanosín-monofosfato (di-GMPC) fue descrito por vez primera por el grupo de Moshe Benziman (36), quienes establecieron que la producción de la celulosa en *Gluconacetobacter xylinus* es regulada por el di-GMPC. Las enzimas que controlan el recambio del di-GMPC son la di-guanilato ciclase (DGC), que estimula la reacción 200 veces, y la fosfodiesterasa (PDEA), enzima que hidroliza de manera específica el di-GMPC.⁴¹ El complejo celulosa sintasa es activado de manera alostérica por el di-GMPC; una vez activado, el sistema sintetiza celulosa para los requerimientos bacterianos. La fosfodiesterasa subsecuentemente cataliza la hidrólisis del di-GMPC, transformándolo en 5'pG-p-G lineal, el cual no es activador de la celulosa sintasa. A su vez la fosfodiesterasa es regulada por el oxígeno, éste se une a la proteína a través de un grupo hemo ligado al dominio PAS (dominio de proteínas conservado, anotado así porque ocurre en las proteínas eucariotas: PER, ARNT y SIM). Los estudios cinéticos indicaron que la apo-fosfodiesterasa es sólo 2% activa en ausencia del grupo hemo ligado al dominio PAS de la enzima, y la regulación por el oxígeno se realiza cuando éste se une al hemo, siendo más activa la deoxi-fosfodiesterasa.⁵

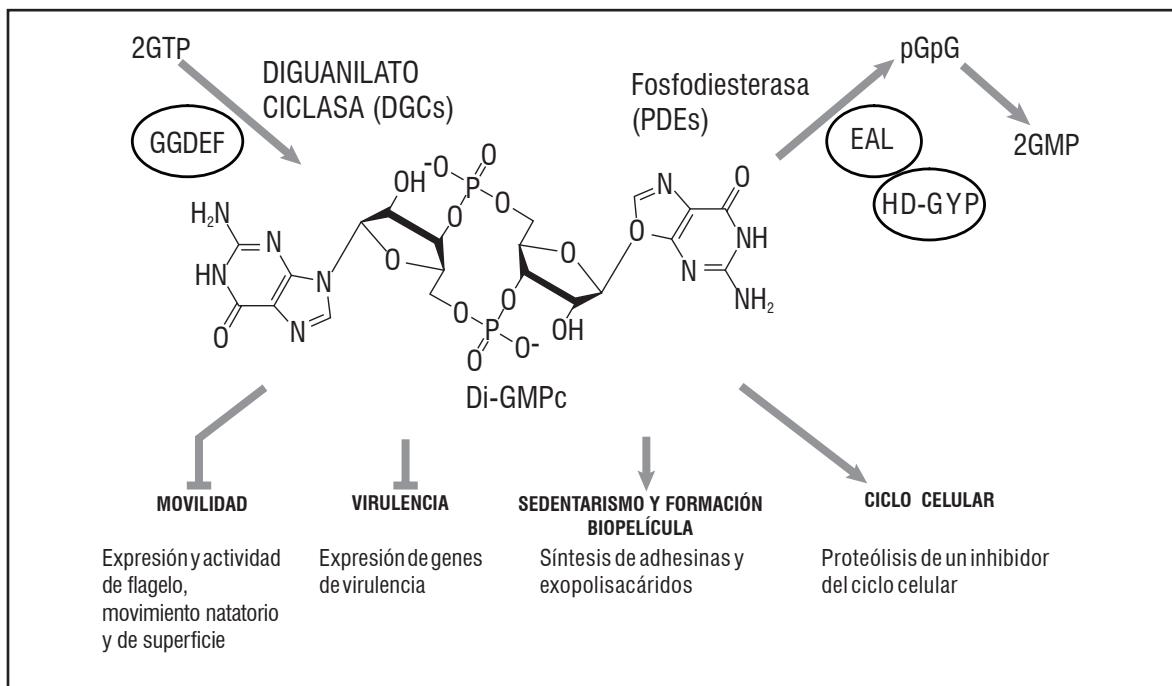


Figura 1. Funciones controladas por el Di-GMPc. A nivel celular, la poza del Di-GMPc es controlada por enzimas con actividad de di-guanilato ciclasa DGCS, las cuales poseen un dominio GGDEF y fosfodiesterasas específicas en las que ocurren dos dominios, EAL y HD-GYP. El Di-GMPc reduce la motilidad de la célula regulando la expresión de los genes (i.e. *Pseudomonas aeruginosa*) o el ensamblado de las proteínas que conforman la estructura del flagelo (i.e. *Caulobacter crescentus*), o bien interfiriendo con la función del motor (i.e. *Escherichia coli*, *C. crescentus*). Una concentración reducida de di-GMPc es requerida para la expresión de genes de virulencia (i.e. *Vibrio cholerae*). Mientras que una elevada poza de di-GMPc estimula la producción de funciones asociadas a la producción de la biopelícula, por ejemplo: la síntesis de exopolisacáridos, fimbrias y otras adhesinas. En *C. crescentus* la poza de di-GMPc localizada es clave para la progresión del ciclo celular. Modificado de Hengge (18).

En general, el di-GMPc estimula la biosíntesis de adhesinas y exopolisacáridos, estructuras que forman la matriz de las biopelículas, e inhibe varias formas de motilidad en las bacterias, controlando la transición de la célula motil a sedentaria. Además, regula funciones asociadas a virulencia en patógenos de animales, humanos y plantas, la progresión del ciclo celular, la producción de antibióticos y otras funciones celulares. Sin embargo, los mecanismos que subyacen a estos procesos moleculares y, en particular, los blancos directos que son afectados por los efectores que unen al di-GMPc están en proceso de ser definidos (Figura 1).

APORTACIÓN DE LA GENÓMICA EN LA DEFINICIÓN DE LA RELEVANCIA DEL DI-GMPc EN BACTERIAS

La genómica comparativa capacita a los investigadores para conocer los componentes de los sistemas de señalización del mundo microbiano y compara la manera como

los microorganismos organizan estos sistemas. Las bases de datos de proteínas son una fuente de información sobre la estructura de los dominios (conjunto de aminoácidos de una proteína que participan en una función determinada), distribución, arquitectura de las proteínas y las interacciones que ocurren entre los dominios.

Las bacterias han evolucionado sistemas de transducción de señales; éstos constan de proteínas que contienen dominios transmembranales (TM) denominados de entrada, los cuales son módulos sensoriales que responden a cambios del entorno y generan una respuesta intracelular. Estos sistemas de señalización incluyen proteínas cinasa histidínicas (HK) (Serina/Treonina), que en asociación con su regulador de respuesta específico (RR), constituyen sistemas que frecuentemente median la expresión genética diferencial, denominado sistemas de doble componente (SDC). Los sistemas de transducción de señales pueden ser visualizados como redes consistentes de múltiples dominios, sensores-transducción que se ensamblan en varias combinaciones con muy pocas restricciones. Los dominios sensores al monitorear

cambios ambientales o intracelulares, transfieren la señal detectada al dominio de salida, lo que genera una variedad de respuestas, incluyendo cambios en la expresión de los genes o niveles de segundos mensajeros y modificación de proteínas.¹²

El análisis de secuencias de reguladores de respuesta codificados por los genomas de bacterias y arqueas reveló una arquitectura compleja de los dominios de las proteínas codificadas, que incluían los dominios PAS, GAF (proteínas con dominio de unión a AMPc), HAMP (así anotado por las proteínas que lo contienen i.e. histidin-cinasa, adenilato ciclase y proteínas aceptoras de grupos metilo) GGDEF, EAL y HD-GYP. Los dominios GGDEF, EAL y HD-GYP están ampliamente representados en proteínas de algunas bacterias; mientras que están ausentes en otras. Por ejemplo, el genoma de: *P. aeruginosa* codifica para 17 proteínas GGDEF, 5 EAL, 3 HD-GYP y 16 GGDEF-EAL; el de *V. cholerae* para 31 proteínas GGDEF, 22 EAL, 9 HD-GYP y 10 GGDEF-EAL; *E. coli* posee 29 proteínas con dominios GGDEF o EAL, mientras que *Mycobacterium tuberculosis* 1, 2, y 0 respectivamente; en tanto que, en los genomas de *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no están presentes. Por otra parte, no se encontraron estos dominios en proteínas codificadas por genomas de arqueas.¹³ Otra peculiaridad interesante que derivó del estudio de las secuencias genómicas es que están abundantemente representados por bacterias de estilo de vida libre, pero son mucho menos frecuentes en patógenos obligados, aun considerando la longitud del genoma. Esta diferencia es particularmente sorprendente en los casos de *Aquifex aeolicus* y *H. pylori*, estas dos bacterias tienen casi el mismo número de genes, pero diferentes estilos de vida, la primera es bacteria de vida libre y la otra patógeno. Por tanto, parecería que estos dominios posibilitan a la bacteria para detectar una variedad de estímulos ambientales mayor en bacterias de vida libre.⁹ Por otra parte, el paradigma cambia en las bacterias Gram positivas, las cuales cuentan con un número menor de estos dominios, independientemente de su estilo de vida.⁹ Galperin¹⁰ ha acuñado el concepto “IQ bacteriano” (el número de proteínas implicadas en señalización, en relación al total de proteínas), el cual mediría la potencialidad de la bacteria para adaptarse a diversos hábitats; bacterias con un “IQ” alto son, por ejemplo, *Wolinella succinogenes* y *Vibrio vulnificus*.¹⁰

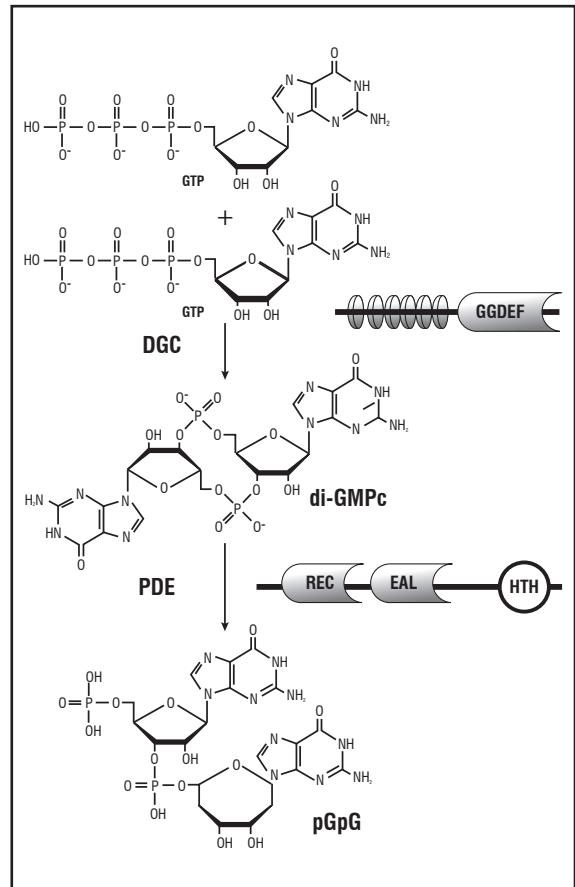


Figura 2. Estructura del diGMPc, actividades enzimáticas que lo sintetizan y degradan. Esquemas de las proteínas con actividad de diguanilato ciclase DGC, en la que ocurren los dominios: GGDEF y transmembranales TM (gris), y de fosfodiesterasa que incluyen los dominios EAL y REC receptor, el cual es fosforilado. Modificado de Karatan y Watnick (21).

Un aspecto que caracteriza a las proteínas DGCs y PDEs es su organización modular con la presencia de otros dominios de entrada generalmente localizados hacia el N-terminal (entre 50 hasta 150 aminoácidos de longitud), i. e. PAS, REC (dominio de respuesta que es fosforilado), entre otros, los cuales unen una variedad de ligandos y pueden detectar también señales citoplasmáticas; se propone que la unión al ligando crea un cambio conformacional que afecta la transmisión de la señal al dominio C-terminal. Esta diversidad de dominios de entrada probablemente refleja un rango amplio de señales del entorno que estimulan la respuesta en la bacteria.⁹ Así el flujo de información va del dominio sensor N-terminal, hacia el dominio transmisor o de salida en el C-terminal¹¹ (Figura 2).

Proteína	Bacteria	Organización de los Dominios	Fenotipo asociado	Referencia
HmsT	<i>Yersinia pestis</i>	GGDEF	Autoagregación, formación de biopelícula	23
HmsP		EAL		
PleD	<i>Caulobacter crescentus</i>	CheY (REC) GGDEF	Transición ciclo celular	2, 28
WspR	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	CheY (REC) GGDEF	Colonias rugosas, formación de biopelícula	40
WspR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CheY (REC) GGDEF	Colonias rugosas, formación de biopelícula	16
ActA	<i>Myxococcus xanthus</i>	CheY (REC) GGDEF	Formación del cuerpo reproductivo	15
AdrA	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	TM-GGDEF	Morfotipo Rdar, síntesis de celulosa, formación de biopelícula. Transición célula sedentaria-móvil.	20, 39
YhjA		EAL		
CdgR	<i>S. enterica</i> serovar Typhimurium	EAL	Virulencia, resistencia al H_2O_2 y muerte por macrófagos	19
ScrC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	GGDEF-EAL	Colonias rugosas, formación de biopelícula	8
DGC1, 2, 3	<i>Gluconobacter xylinus</i>	PAS-GGDEF-EAL	Producción de celulosa	41
PDEA1, 2, 3	<i>Gluconobacter xylinus</i>	PAS-GGDEF-EAL	Producción de celulosa	41
FimX	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CheY-PAS-GGDEF-EAL	Motilidad contráctil	17, 22
VieA	<i>Vibrio cholerae</i>	CheY-EAL-HTH	Regulación de la producción de la toxina colérica y formación de biopelícula	43, 45
BvgR	<i>Bordetella pertussis</i>	EAL	Represión de virulencia	26
RpfG	<i>Xanthomonas campestris</i> pv <i>campestris</i>	HD-GYP	Virulencia, formación de biopelícula, motilidad	7, 34

Tabla 1. Selección de algunas proteínas reguladoras con dominios GGDEF y EAL. Los dominios de las proteínas incluyen GGDEF y EAL; los dominios PAS; HTH (hélice vuelta-hélice); TM, (dominio transmembranal); CheY (REC) dominio receptor de fosforilación; HD-GYP (dominio de fosfo-diesterasa) (1, 7, 13).

EVIDENCIA DE LA PARTICIPACIÓN DE LAS PROTEÍNAS CON DOMINIOS GGDEF Y EAL EN DIVERSAS FUNCIONES DE BACTERIAS

Un ejemplo interesante y cuyo significado es relevante ya que puso de manifiesto la diversidad de funciones que regula el di-GMPC, corresponde a la proteína reguladora global PleD de *C. crescentus*, la cual controla la transición de la célula móvil a sedentaria y eficiente para replicación.² En la Tabla 1 se anotan algunos ejemplos de proteínas que catalizan la síntesis e hidrólisis del di-GMPC y su participación en la señalización dependiente del segundo mensajero di-GMPC.

ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS QUE SINTETIZAN E HIDROLIZAN EL DI-GMPC

En 2005 Ryjenkov y colaboradores³⁵ purificaron cinco proteínas GGDEF identificadas en genomas de bacterias diferentes. En cuatro proteínas obtuvieron producción del di-GMPC a partir de la condensación de dos moléculas de GTP (Figura 2), mientras que Rrp1 de *Borrelia burgdorferi* no presentó actividad DGC; Rrp1 contiene, además, un

dominio REC, el cual se conoce es un dominio de fosforilación. Actividad importante de DGC se detectó en presencia de aspartil-fosfato, sugiriendo que la actividad de DGC depende del estatus fosforilado del dominio REC, así como de la estructura dimérica de la proteína. La activación de DGC por fosforilación también se observó en WspR de *P. aeruginosa* y en PleD de *C. crescentus*, en donde DGC~P no sólo es activa, sino además se localiza en la membrana o forma grupos de oligómeros con el fin de sintetizar di-GMPC en un compartimento específico.^{16, 28, 29}

Varias de estas proteínas con actividad de DGC incluyen además del sitio activo A (localizado en el motivo GGDEF), un sitio I caracterizado por el motivo RXRD, el cual está separado del sitio A por cinco amino ácidos, e inhibible de manera alostérica a PleD~P; esta inhibición evita el consumo excesivo de GTP y contribuye a mantener la poza del di-GMPC en niveles fisiológicamente adecuados para la célula.⁵ WspR, de *P. aeruginosa*, transita de una estructura de tetrámeros o dímeros alargados inactivos que contienen di-GMPC ligado en el sitio I. El dímero puede ser reactivado por la actividad de PDE.²⁷

Los dominios activos de PDE son enzimas monoméricas que linearizan el di-GMPC a 5'-pGpG, el cual es entonces degradado por otras PDE no específicas (Figuras 1 y 2). El proceso catalítico requiere Mg^{+2} , o Mn^{+2} y es in-

hibido por Ca^{+2} y Zn^{+2} .^{6,31,37} El segundo tipo de fosfodiesterasas específicas del di-GMPC son las proteínas que contienen el dominio HD-GYP así anotado por el motivo de aminoácidos conservados; éstas no están relacionadas con las proteínas con dominios EAL. Hidrolizan el di-GMPC y producen el 5'-pGpG, el cual es transformado a GMP.³⁴

MÓDULO DE CONTROL DEL DI-GMPC

El módulo de control del segundo mensajero di-GMPC está constituido por cuatro elementos: las dos enzimas que lo sintetizan y lo degradan en respuesta a señales del entorno, las DGCs y las PDEs; la molécula efectora que unen de manera allostérica al di-GMPC, y el blanco, que en respuesta al contacto directo con el efector genera un resultado molecular (Figura 3).

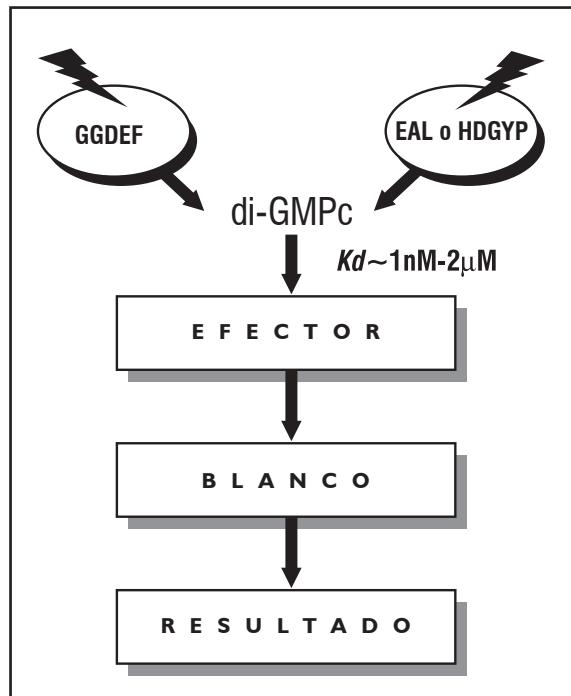


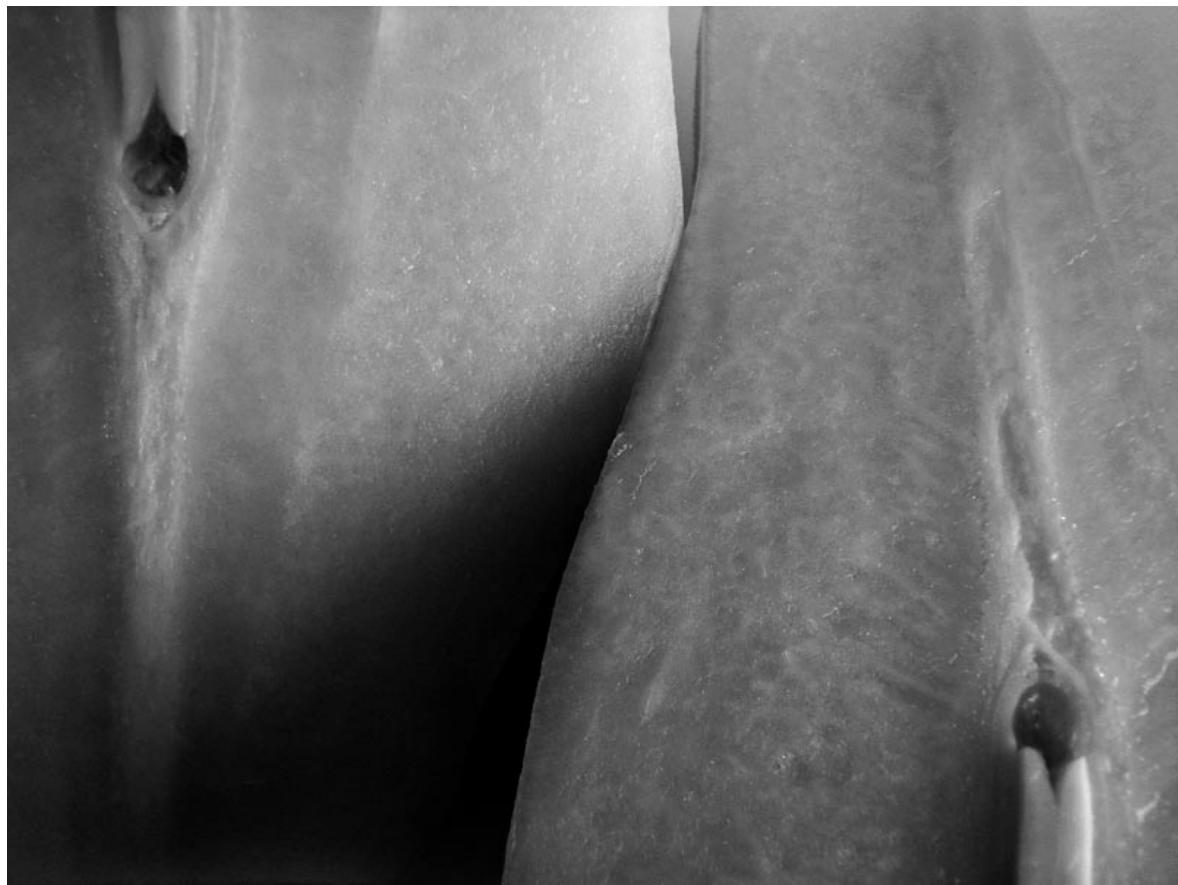
Figura 3. Módulo básico de señalización dependiente del di-GMPC. Consiste de DGC y PDE con dominio EAL o HD-GYP. Las enzimas DGC y PDE responden a diferentes señales detectadas por medio de su dominio de entrada amino-terminal, así como por medio de la actividad antagónica al balance de la poza de di-GMPC. La unión a un segundo sitio (sitio I) presente en la mayoría de las DGC regula por retroinhibición a estas enzimas y contribuye a controlar la poza celular del di-GMPC. Efectores específicos que son proteínas o RNAs específicos (riboswitches), unen di-GMPC y posteriormente afectan el resultado de la molécula blanco y/o estructura. Los blancos hasta el presente descritos incluyen un promotor (si el efecto es un factor de transcripción), enzimas o estructura celular compleja como: el cuerpo basal del flagelo o síntesis del exopolisacárido y el aparato de secreción de las bacterias.

Para ejercer su función, el di-GMPC debe unirse a los efectores de manera allostérica y alterar la estructura y función del componente efector (Figura 3). Debido a las diversas funciones que regula el di-GMPC se postula que los efectores son diversos; hasta el presente se reconocen al menos cinco. La familia de las proteínas que contienen el dominio llamado PliZ, las DGCs que contienen el sitio I, el regulador transcripcional FleQ de *P. aeruginosa* que regula la función del flagelo (citado en 18), los efectores de RNA (que son RNAs pequeños denominados “riboswitch”) que controlan la traducción de RNAs específicos y el regulador transcripcional Clp de la familia CRP (proteína receptora del AMPC).²⁴

PARTICIPACIÓN DEL DI-GMPC EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA Y VIRULENCIA

En su entorno natural los microorganismos se localizan predominantemente asociados a superficies y organizados en comunidades conocidas como biopelículas. Aunque algunas veces las comunidades están formadas por una única especie, las biopelículas microbianas típicamente incluyen varias especies diferentes. Las bacterias que crecen en biopelícula difieren morfofisiológicamente de su contraparte “plantónica” (aquellas que viven como células únicas). Un rasgo característico de la biopelícula bacteriana en contraste con la célula móvil, es la producción de polisacáridos extracelulares, los cuales junto con proteínas asociadas a la superficie de la bacteria, constituyen la matriz de la biopelícula. La síntesis de polisacáridos extracelulares y de proteínas de superficie es un ejemplo de la reprogramación de la expresión genética que se realiza en la biopelícula y contribuyen a su desarrollo posterior. Además la célula plantónica es motil y durante este proceso pasa a ser sedentaria. En los últimos años se ha implicado al di-GMPC en este proceso.²¹

En *Salmonella* entérica serovar Typhimurium la síntesis del polímero celulosa y de una fimbria denominada “curli” se relaciona con un tipo de colonia denominado rdar (por sus siglas en inglés de *dry and rough*) debido al hecho de que las colonias presentan una coloración rojiza y aspecto rugoso. La expresión de estos componentes y del morfotipo rdar es regulada por CsgD, una proteína



© Rosa Borrás, de la serie *Chayotitos*, 2010.

que funciona como regulador central y el di-GMPC. CsgD regula de manera positiva la transcripción AdrA, proteína en cuya secuencia ocurre un dominio GGDEF responsable de la expresión de los genes que sintetizan la celulosa y de manera parcial la fimbria “curl”.^{20,39} Cuando se sobreexpresa la proteína AdrA, la célula es inmóvil; mientras que la sobreexpresión de la proteína YhjA con dominio EAL promueve la transición de la célula sedentaria a motil.

En el genoma de *S. enterica* serovar Typhimurium se localizaron otros genes que presentaban dominios EAL, y que presumiblemente actúan como fosfodiesterasas; el análisis de mutantes obtenidas permitió constatar los morfotipos generados y la expresión del regulador maestro DgsD. Las mutantes STM1703 y STM4264 mostraron una sobreexpresión del morfotipo rdar, coincidente con una elevada poza celular de di-GMPC, así como la sobreexpresión del regulador maestro DsgD, de la proteína fimbrial y de la formación de película.³⁸ En tanto, las

mutantes STM 3611 y STM3375 (con dominios EAL) se afectaron en la movilidad natatoria y superficial; el efecto más pronunciado se encontró con la mutante STM3611. Se propuso un modelo en el cual la poza de di-GMPC se modifica de acuerdo a señales generadas por el exterior o el interior de la célula, para vehicular la señal a través del di-GMPC y la respuesta celular.

Los datos obtenidos apuntan a que existe una correlación positiva entre la concentración del di-GMPC y los morfotipos, formación de biopelícula, célula sedentaria y la expresión de componentes de la matriz extracelular; mientras que ocurre una correlación negativa entre la concentración del di-GMPC, motilidad y virulencia. En efecto, Hisert y colaboradores¹⁹ identificaron un gene codificante de una DGC en *S. enterica* serovar Typhimurium denominado *cdgR* que promueve la resistencia a la muerte de la bacteria por el macrófago y las defensas antioxidantes (resistencia al peróxido de hidrógeno). Lo interesante es que estos fenotipos (virulencia, movilidad) y la transición de célula sedentaria (formando

parte de biopelícula) y movilidad se observan en otros patógenos como *P. aeruginosa*²² y *E. coli*, incluyendo patógenos de plantas.³⁴

El estudio de las proteínas que regulan la poza del segundo mensajero di-GMPC es particularmente interesante en *Vibrio cholerae* no sólo por la importancia de este patógeno y su estilo de vida dual, sino también por la cantidad de genes presentes en su genoma 53, que codifican para proteínas que modifican la poza intracelular de di-GMPC, el cual regula inversamente la formación de biopelícula y virulencia. El hábitat de *V. cholerae* en vida libre es acuático. La persistencia de *V. cholerae* en el ambiente acuático se favorece por la formación de biopelícula.²⁵ Las colonias de *V. cholerae* ocurren en dos variantes morfológicas: rugosa y lisa. La variante rugosa se adapta mejor al nicho ecológico acuático por la formación de biopelícula, presenta un incremento en la producción de exopolisacáridos, mismos que proporcionan a la colonia la consistencia rugosa. Definiéndose, así, que el aumento de di-GMPC modula las propiedades de la superficie celular de la bacteria.^{20, 25, 39, 44}

En *V. cholerae* biotipo El Tor (*V. cholerae*_{El Tor}), causal de la actual pandemia del cólera; la formación de biopelícula es controlada por la proteína HarP, que inhibe la formación de la biopelícula regulando a varias proteínas que contienen dominios GGDEF/EAL. HarP reprime la expresión de la proteína VspT que actúan como regulador de los genes que participan en la biosíntesis de los exopolisacáridos.⁴⁶

Mientras que en el tipo clásico de *V. cholerae*, agente causal de la anterior pandemia del cólera, HarP está ausente. Contribuyen a la regulación tres componentes de un sistema de señalización denominado viesAB. VieS es una cinasa histidínica; VieB es un regulador de respuesta que presenta un dominio REC (fosfo-receptor), sin embargo carece del motivo HTH (hélice-vuelta-hélice) de unión al DNA; VieA consta del dominio receptor REC y de los dominios de salida: EAL y HTH. Tischler y Camilli⁴⁴ observaron que la expresión de los genes que codifican para la producción del exopolisacárido (operón *vpsA-Q*) y la poza intracelular del di-GMPC disminuyen drásticamente cuando VieA es sobreexpresado. El efecto no es directo y se realiza por medio de la regulación de la expresión de *vpsR* que codifica para el regulador positivo de los genes *vspA-Q*. Los datos son consistentes con la aseveración que VieA es un regulador negativo de la producción de los

exopolisacáridos y la biopelícula. La proteína VieA es una fosfodiesterasa específica del di-GMPC y regula de manera positiva a *toxT*, el cual es un regulador positivo de la toxina colérica CT y el factor de colonización TCP. La toxina colérica (CT) y el factor de colonización (TCP), que son determinantes de virulencia.^{26, 44}

La vía dependiente de VieA participa en forma menor en el biotipo El Tor. Cuando al biotipo clásico se introduce HarP, se restablece la regulación observada en el biotipo El Tor. Consecuentemente, cepas diferentes de la misma especie emplean distintas vías de señalización para coordinar la producción del di-GMPC y la formación de biopelícula. Es posible que el biotipo El Tor tenga una ventaja selectiva sobre el biotipo clásico en la presente pandemia del cólera.

La prevalencia de estos genes y la evidencia experimental de la participación del di-GMPC como un modulador esencial de la formación de biopelícula y virulencia, condujo a examinar el transcriptoma (repertorio del RNA expresado en una condición dada) de las dos va-



© Rosa Borrás, de la serie Chayotitos, 2010.

riantes, lisa y rugosa y bajo la sobreexpresión de una DGC (exceso de di-GMPC). La respuesta principal fue la sobreexpresión de los genes que codifican para el exopolisacáridos y su reguladores positivos (genes *vsp*, *vspT* y *vspR*), el sistema de secreción II (*eps*); genes requeridos para la biogénesis del pilus tipo IV (*msh*); así como la disminución de la expresión de genes de la biogénesis del flagelo,³ confirmando los hallazgos obtenidos anteriormente.

CONCLUSIONES

En este trabajo revisamos sólo algunas de las funciones de la célula bacteriana reguladas por el segundo mensajero di-GMPC. En concordancia con los aspectos analizados proponemos las siguientes conclusiones:

La disponibilidad de las secuencias de los genomas bacterianos permite a los investigadores evaluar por vez primera el número total y composición de las proteínas de señalización codificadas por un genoma particular y, finalmente, apreciar la complejidad del sistema.

Está plenamente establecido en los diferentes modelos bacterianos estudiados, que ocurre una correlación positiva entre la concentración del di-GMPC y los fenotipos de sedentarismo, formación de biopelícula y expresión de componentes de la matriz extracelular; mientras que existe una correlación negativa entre la concentración de di-GMPC en los fenotipos de movilidad y virulencia.

Debido a la multiplicidad de enzimas que sintetizan y degradan di-GMPC, las redes de regulación que modulan la poza intracelular del di-GMPC son sumamente complejas; esta regulación responde a diversas señales externas e internas.

Varios estudios aportan evidencia experimental de que el sistema de señalización dependiente del di-GMPC es fácilmente adaptable, modificándose aun entre cepas de una misma especie, contribuyendo a una mejor adaptación de la bacteria al entorno.

Se observa una separación espacial de las proteínas que afectan la poza de di-GMPC, o interacciones proteína-proteína, las cuales afectan la respuesta y la mantienen de manera localizada.

B I B L I O G R A F I A

- ¹ D'Argenio, DA y Miller SI. Cyclic di-GMP as a bacterial second messenger. *Microbiol.* 150 (2004) 2497-2502.
- ² Aldridge P, Paul R, Goymer P, Rainer P y Jenal U. Role of the GGDEF regulator PleD in polar development of *Caulobacter crescentus*. *Mol. Microbiol.* 47 (2003) 1695-1708.
- ³ Beyhan S, Tischler AD, Camilli A y Yildiz F H. Transcriptome and phenotypic response of *Vibrio cholera* to increase cyclic di-GMP level. *J Bacteriol.* 188 (2006) 3600-3613.
- ⁴ Chan C, Paul R, Samoray D, Amiot NC, Giese B, Jenal U y Schirmer T. Structural basis of activity and allosteric control of diguanylate cyclase. *PNAS-USA* 101 (2004) 17084-17089.
- ⁵ Chang AL, Tuckerman JR, Gonzalez G, Mayer R, Weinhouse H, Volman G, Amikan D, Benziman M y Gilles-Gonzalez MA. Phosphodiesterase A1, a regulator of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum*, is a heme-based sensor. *Biochem.* 40 (2001) 3420-3426.
- ⁶ Christen M, Christen B, Folcher M, Schauerte A y Jenal U. Identification and characterization of a cyclic di-GMP-specific phosphodiesterase and its allosteric control by GTP. *J Biol. Chem.* 280 (2005) 30829-37.
- ⁷ Dow MJ, Fouhy Y, Lucey JF y Ryan RP. The HD-GYP domain, cyclic di-GMP signaling, and bacterial virulence to plants. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 19 (2006) 1378-1384.
- ⁸ Ferreira RBR, Antunes LCM, Greenberg EP y McCarter LL. *Vibrio parahaemolyticus* SrcC modulates cyclic dimeric GMP regulation of gene expression relevant to growth on surface. *J Bacteriol.* 190 (2008) 851-860.
- ⁹ Galperin MY. Bacterial signal transduction network in a genomic perspective. *Environ. Microbiol.* 6 (2004) 552-567.
- ¹⁰ Galperin MY. A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: Bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiol.* 5 (2005) 35-56.
- ¹¹ Galperin MY. Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domains combinations. *J Bacteriol.* 188 (2006) 4169-4182.
- ¹² Galperin MY y Gomelsky M. Bacterial signal transduction modules: from genomics to biology. *ASM News.* 71 (2005) 326-333.
- ¹³ Galperin MY, Nikolskaya AN y Koonin EV. Novel domains of the prokaryotic two-component signal transduction systems. *FEMS Microbiol. Lett.* 203 (2001) 11-21.
- ¹⁴ Gomelski, M. Cyclic-di-GMP-binding CRP-like protein: a spectacular new role for a veteran signal transduction actor. *J Bacteriol.* 191 (2009) 6785-6787.
- ¹⁵ Gronewold TM y Kaiser D. The act operon controls the level and time of C-signal production for *Myxococcus xanthus* development. *Mol. Microbiol.* 40 (2001) 744-756.
- ¹⁶ GÜvenir ZT y Harwood CS. Subcellular localization characteristics of the *Pseudomonas aeruginosa* GGDEF protein, WspR, indicate that it produces cyclic-di-GMP in response to growth on surfaces. *J Bacteriol.* 66 (2007) 1459-1473.
- ¹⁷ Huang B, Whitchurch CB y Mattick JS. FimX, a multidomain protein connecting environmental signals to twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 185 (2003) 7068-7076.
- ¹⁸ Hengge R. Principle of c-di-GMP signaling in bacteria. *Nature Rev. Microbiol.* 7 (2009) 263-273.
- ¹⁹ Hisert KB, MacCoss M, Shiloh MU, Heran-Darwin K, Singh S, Jones RA, Ehrt S, Zhang Z, Gaffney BL, Gantotra S, Holden DW, Murray D y Nathan CA

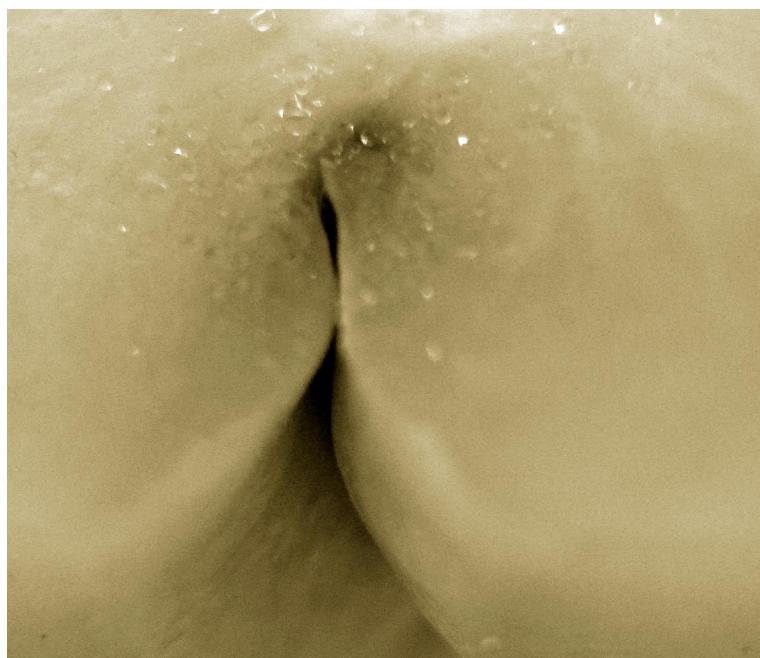
- glutamate-alanine-leucine (EAL) domain protein of *Salmonella* controls bacterial survival in mice, antioxidant defense and killing of macrophage: role of cyclic diGMP. *Mol. Microbiol.* 56 (2005) 1234-1245.
- ²⁰ Kader A, Simm R, Gerstel U, Morr M y Römling U. Hierarchical involvement of various GGDEF domain proteins in rdar morphotype development of *Salmonella* serovar Typhimurium. *Mol. Microbiol.* 60 (2006) 602-616.
- ²¹ Karatan E y Watnick P. Signals, regulatory networks, and material that build and break bacterial biofilms. *Microbiology Molecular and Biol. Rev.* 73 (2009) 310-347.
- ²² Kazmierczak B I, Lebron MB y Murray T. Analysis of FimX, a phosphodiesterase that governs twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology*. 60 (2006) 1026-1046.
- ²³ Kirillina O, Fetherston JD, Bobrov AG, Abney J y Perry RD. HmsP, a putative phosphodiesterase, and HmsT, a putative diguanylate cyclase, control Hms-dependent biofilm formation in *Yersinia pestis*. *Mol. Microbiol.* 54 (2004) 75-88.
- ²⁴ Leduc JL y Roberts GA. Cyclic-di-GMP allosteric inhibits the CRP-like protein (Clp) of *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri*. *J Bacteriol.* 191 (2009) 7121-7122.
- ²⁵ Lim B, Beyhan S, Meir J y Yildiz FH. Cyclic-diGMP signal transduction systems in *Vibrio cholera*: modulation of rugosity and biofilm formation. *Molecular Microbiology*. 60 (2006) 331-348.
- ²⁶ Merkel TJ, Barros C y Stibitz S. Characterization of the bvgR locus of the *Bordetella pertussis*. *J. Bacteriology* 180 (1998) 1682-1690.
- ²⁷ Nabanita M, Pirruccello PV, Krasteva N, Bae RW, Raghavan RV y Sondermann H. Phosphorylation-independent regulation of the diguanylate cyclase WspR. *PLoS Biology* 6 (2008) 601-617.
- ²⁸ Paul R, Weiser S, Amiot NC, Chan C, Schirmer T, Giese B y Jenal U. Cell cycle-dependent dynamic localization of a bacterial response regulator with a novel di-guanylate domain. *Genes Develop.* 18 (2004) 715-727.
- ²⁹ Paul R, Abel S, Wassmann P, Beck A, Heerklotz H y Jenal U. Activation of the diguanylate cyclase Pld by phosphorylation mediated dimerization. *J Biol. Chem.* 282 (2007) 29170-29177.
- ³⁰ Pratt JT, Tamayo R, Tischler AD y Camilli A. Plz domain proteins bind cyclic diguanylate and regulate diverse processes in *Vibrio cholera*. *J Biol. Chem.* 282 (2007) 12860-12870.
- ³¹ Rao F, Yang Y, Qi Y, Liang ZX. Catalytic mechanism of di-GMPc specific phosphodiesterase: a study of the EAL domain-containing RocR from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 190 (2008) 3622-3631.
- ³² Ross P, Mayer R, y Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol. Rev.* 55 (1991) 35-58.
- ³³ Ryan PR, Fouhy Y, Lucey JF, Crossman LC, Spiro S, He YM, Zhang LH, Heeb S, Cámara M, Williams P y Dow JM. Cell-cell signaling in *Xanthomonas campestris* involves an HD-GYP domain protein that functions in cyclic di-GMP turnover. *PNAS-USA*. 103 (2006) 6712-6717.
- ³⁴ Ryan PR, Fouhy Y, Lucey JF, Jiang BL, He YQ, J. Feng X, Tang JL y Maxwell-Dow J. Cyclic di-GMP signaling in the virulence and environmental adaptation of *Xanthomonas campestris*. *Mol. Microbiol.* 63 (2007) 429-442.
- ³⁵ Ryjenkov DA, Tarutina M, Moskvin OV y Gomelsky M. Cyclic diguanylate is a ubiquitous signaling molecule in bacteria: insights into biochemistry of the GGDEF protein domain. *J Bacteriol.* 187 (2005) 1792-1798.
- ³⁶ Ross P, Weinhouse H, Aloni Y, Michaeli D, Weinberger-Ohana P, Mayer R, Braun S, de Vroom E, van der Marel GA, Boom JH, y Benziman M. Regulation of cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum* by cyclic diguanylic acid. *Nature* 325 (1987) 279-281.
- ³⁷ Schmidt AJ, Ryjenkov DR y Gomelsky M. The ubiquitous protein domain EAL is a cyclic diguanylate-specific phosphodiesterase: enzymatically active and inactive EAL domains. *J Bacteriol.* 187 (2005) 4774-4781.
- ³⁸ Simm R, Lusch A, Kader A, Andersson M y Römling U. Role of EAL-containing proteins in multicellular behavior of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Bacteriol.* 189 (2007) 3613-3623.
- ³⁹ Simm R, Morr M, Kader A, Nimtz M y Römling U. GGDEF and EAL domains inversely regulate cyclic di-GMP levels and transition from sessility to motility. *Mol. Microbiol.* 53 (2004) 1123-1134.
- ⁴⁰ Spiers AJ, Bohannon J, Gehring SM y Rainey PB. Biofilm formation at the air-liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. *Mol. Microbiol.* 50 (2003) 15-27.
- ⁴¹ Tal R, Wong HC, Calhoun R, Gelfand D, Fear AL, Volman G, Mayer R, Ross P, Amikam D, Weinhouse H, Cohen A, Sapir S, Ohana P y Benziman M. Three *cdg* operons control cellular turnover of cyclic di-GMP in *Acetobacter xylinum*: genetics organization and occurrence of conserved domains in izoenzymes. *J Bacteriol.* 180 (1998) 4416-4425.
- ⁴² Tamayo R, Pratt JT y Camilla A. Roles of cyclic diguanylate in the regulation of bacterial pathogenesis. *Ann. Rev. Microbiol.* 61 (2007) 131-148.
- ⁴³ Tamayo R, Tischler AD y Camilli A. The EAL domain protein VieA is a cyclic diguanylate cyclase phosphodiesterase. *J Biol. Chem.* 280 (2005) 33324-33330.
- ⁴⁴ Tischler, AD y Camilli A. Cyclic diguanilate (c-di-GMP) regulates *Vibrio cholerae* biofilm formation. *Mol. Microbiol.* 53 (2004) 857-869.
- ⁴⁵ Tischler AD, Lee H y Camilli A. The *Vibrio cholerae* *vieSAB* locus encodes a pathway contributing to cholera toxin production. *J Bacteriol.* 184 (2002) 4104-4113.
- ⁴⁶ Waters CM, Lu W, Rabinowitz JD y Bassler BL. Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae* through modulation of cyclic-di-GMP levels and repression of *vpsT*. *J Bacteriol.* 190 (2008) 2527-2536.

Beatriz Eugenia Baca

Centro de Investigaciones Microbiológicas,

Instituto de Ciencias, BUAP.

bebaca_41@hotmail.com



© Rosa Borrás, de la serie *Chayotitos*, 2010.