

BASES ESTRUCTURALES DEL MECANISMO DE RECONOCIMIENTO Y FOSFOTRANSFERENCIA EN LOS SISTEMAS DE SEÑALIZACIÓN DE DOS COMPONENTES



P. Casino¹, A.J. Fernández¹, W. A. Hendrickson², A. Marina¹

¹Departamento de Genómica y Proteómica, Instituto de Biomedicina de Valencia (CSIC), Valencia, España (amarina@ibv.csic.es)

²Department of Biochemistry and Molecular Biophysics, Columbia University, New York, USA

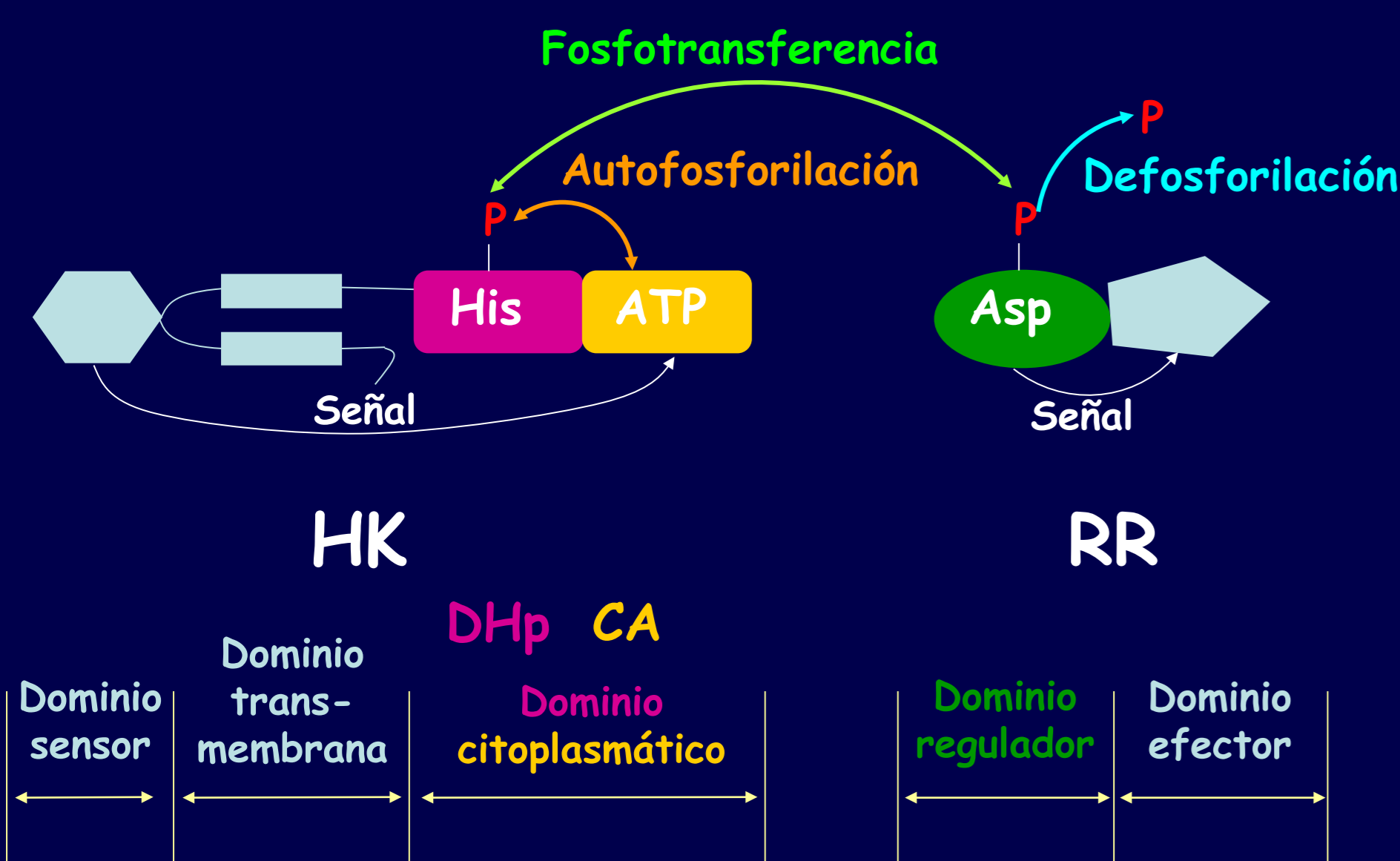


INTRODUCCIÓN

Los sistemas de dos componentes son el mecanismo principal de transducción de señal en microorganismos. Un sistema paradigmático se compone de dos proteínas: una histidina quinasa (HK) y un regulador de la respuesta (RR). El mecanismo de transducción de señal implica al menos tres reacciones (ver esquema):

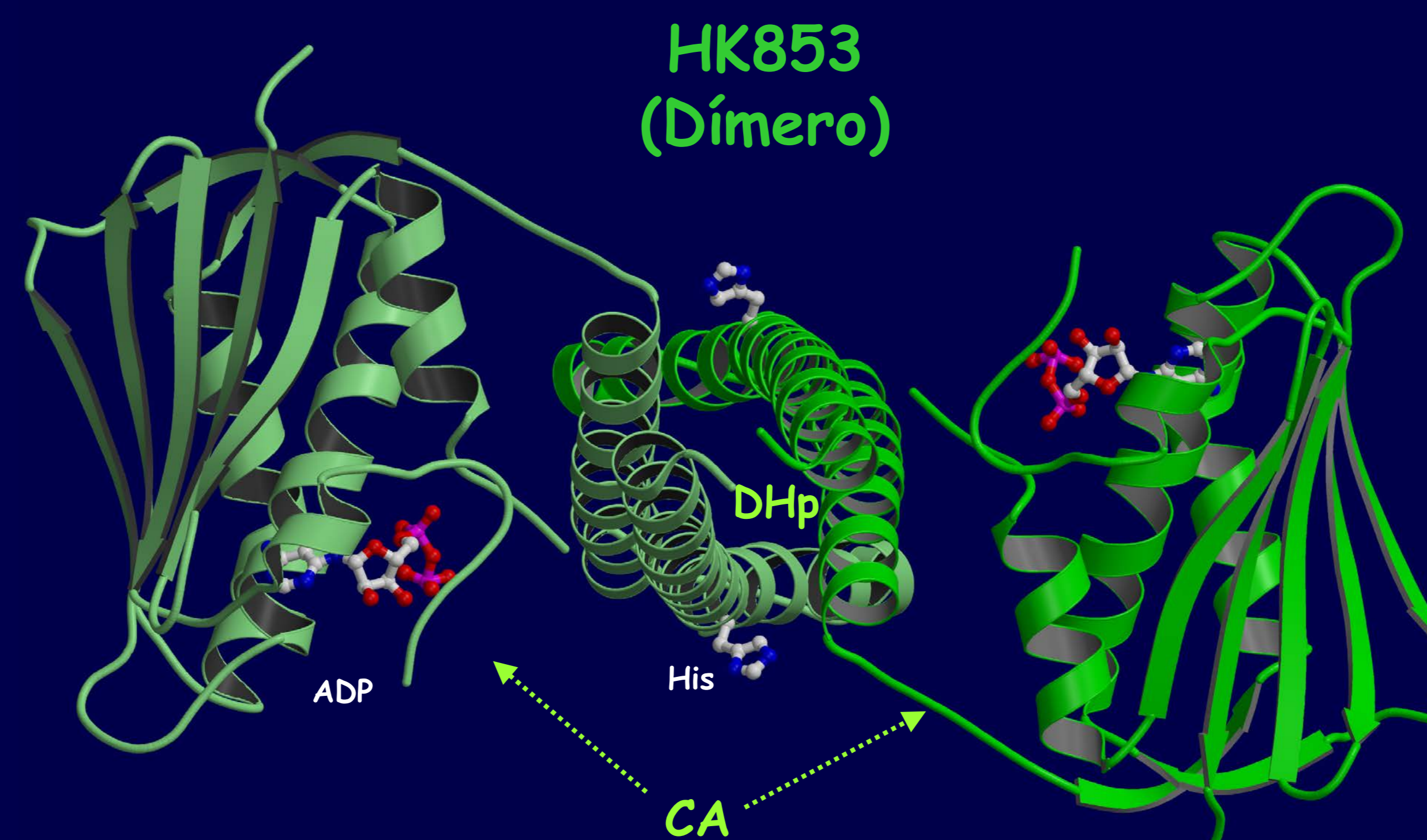
- 1) **Autofosforilación:** la llegada de un estímulo al dominio extracelular sensor de la HK, induce la fosforilación en un residuo de His conservado en el dominio de dimerización (DHp) por parte del dominio de unión de ATP (CA).
- 2) **Fosfotransferencia:** este grupo fosforilo es transferido desde la His a un residuo de Asp del dominio regulador del correspondiente RR.
- 3) **Defosforilación:** el RR pierde el grupo fosforilo espontáneamente o mediado por la HK.

El estado de fosforilación del dominio regulador en RR regula la actividad de su dominio efector, que es habitualmente un factor de transcripción.

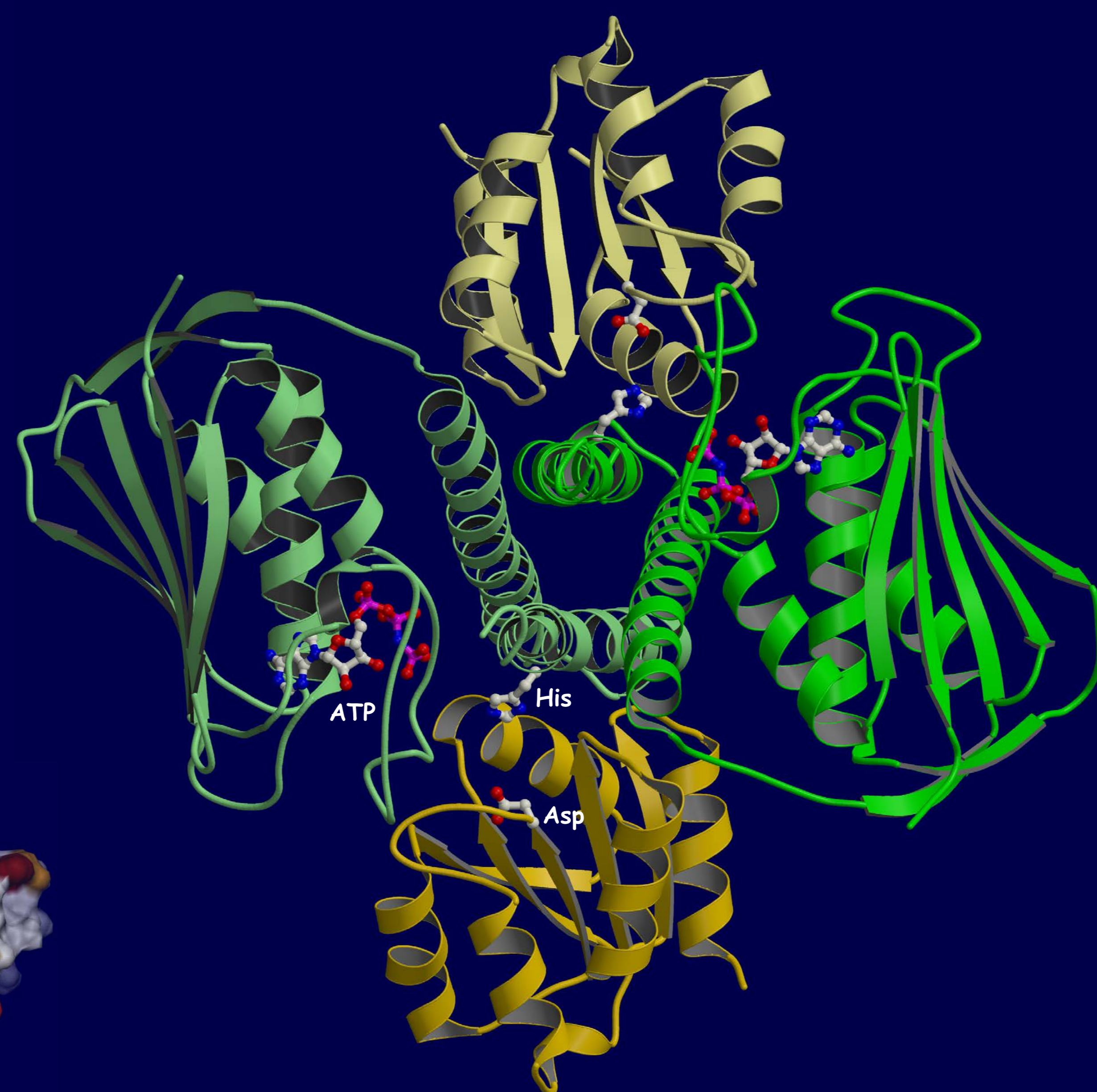


RESUMEN

Con el fin de conocer las bases estructurales de estos sistemas, hemos determinado la estructura tridimensional del complejo formado por el RR TMO468 (RR468) y el dominio citoplasmático completo de la HK TMO853 (HK853) de *Thermotoga maritima* a 2.85 Å utilizando la técnica MAD (figura central inferior). Esta estructura, junto a la de HK853 en solitario determinada anteriormente por nuestro grupo (figura central superior), muestran por primera vez el mecanismo de unión, la especificidad y los cambios conformacionales implicados en la unión HK-RR en un sistema ortodoxo de dos componentes. Además, estas estructuras permiten proponer el mecanismo catalítico de las reacciones de autofosforilación y fosfotransferencia, así como la transducción de la señal a través de la membrana.

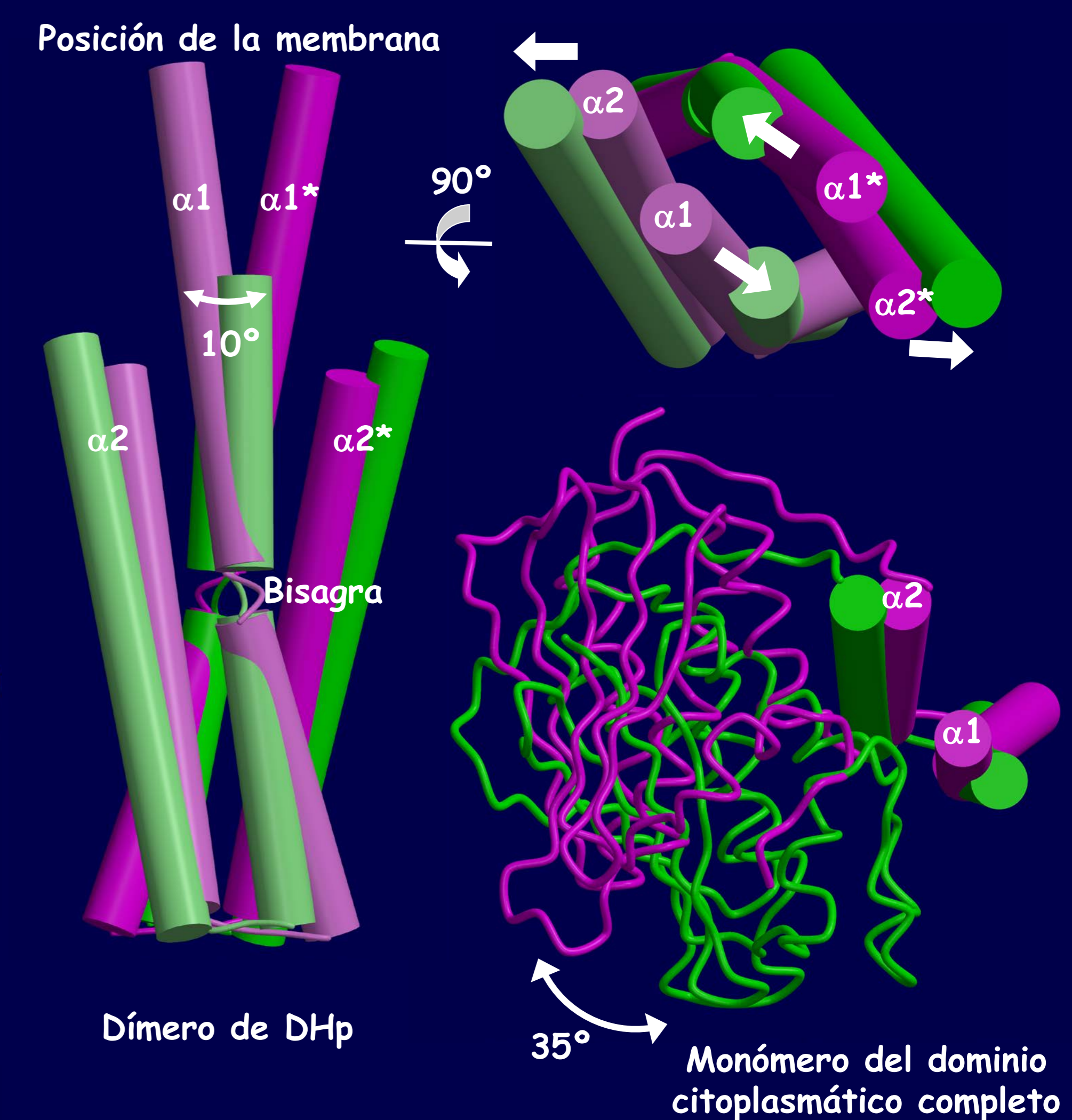


HK853-RR468



TRANSDUCCIÓN DE LA SEÑAL

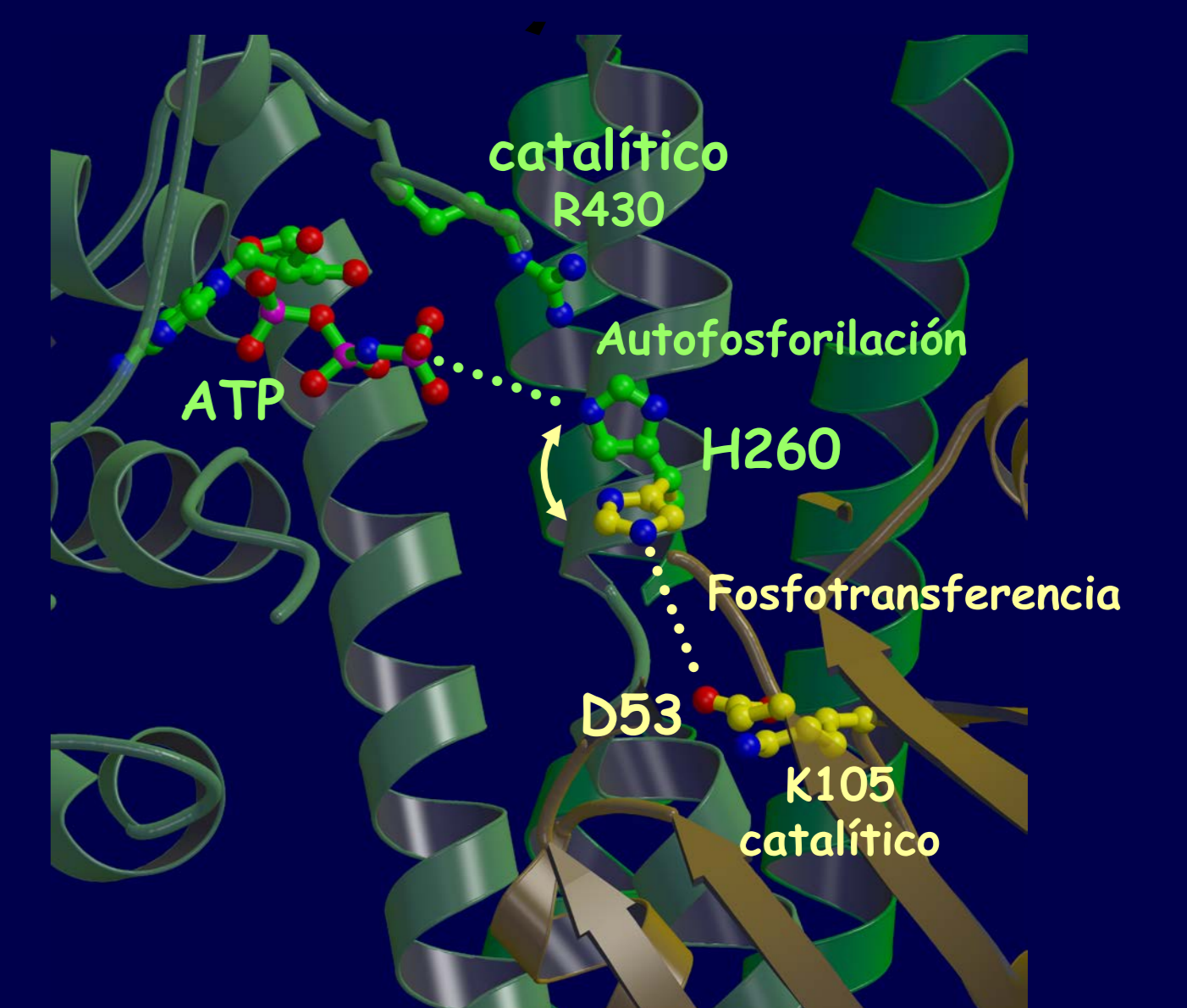
La unión del RR implica movimientos de DHp y CA en HK853. La hélice α_1 , que es la única conexión entre las porciones citoplasmática y extracelular, rota 10° apoyándose en la Pro265 que actúa como bisagra. El carácter dímérico de las HKs hace que el desplazamiento de α_1 empuje a la hélice α_2 del monómero contiguo (α_2^*). El dominio CA se asienta en α_1 y α_2 , por lo tanto estos desplazamientos cambian la superficie de interacción entre ellos, provocando una recolocación de CA. El movimiento consiste en un giro de 35° de este dominio.



Superposición de la estructura de HK853 en sus forma libre (magenta) con la acomplejada con RR468 (verde). Los dominios DHp se representan como cilindros, el dominio CA como lazos y los desplazamientos como flechas.

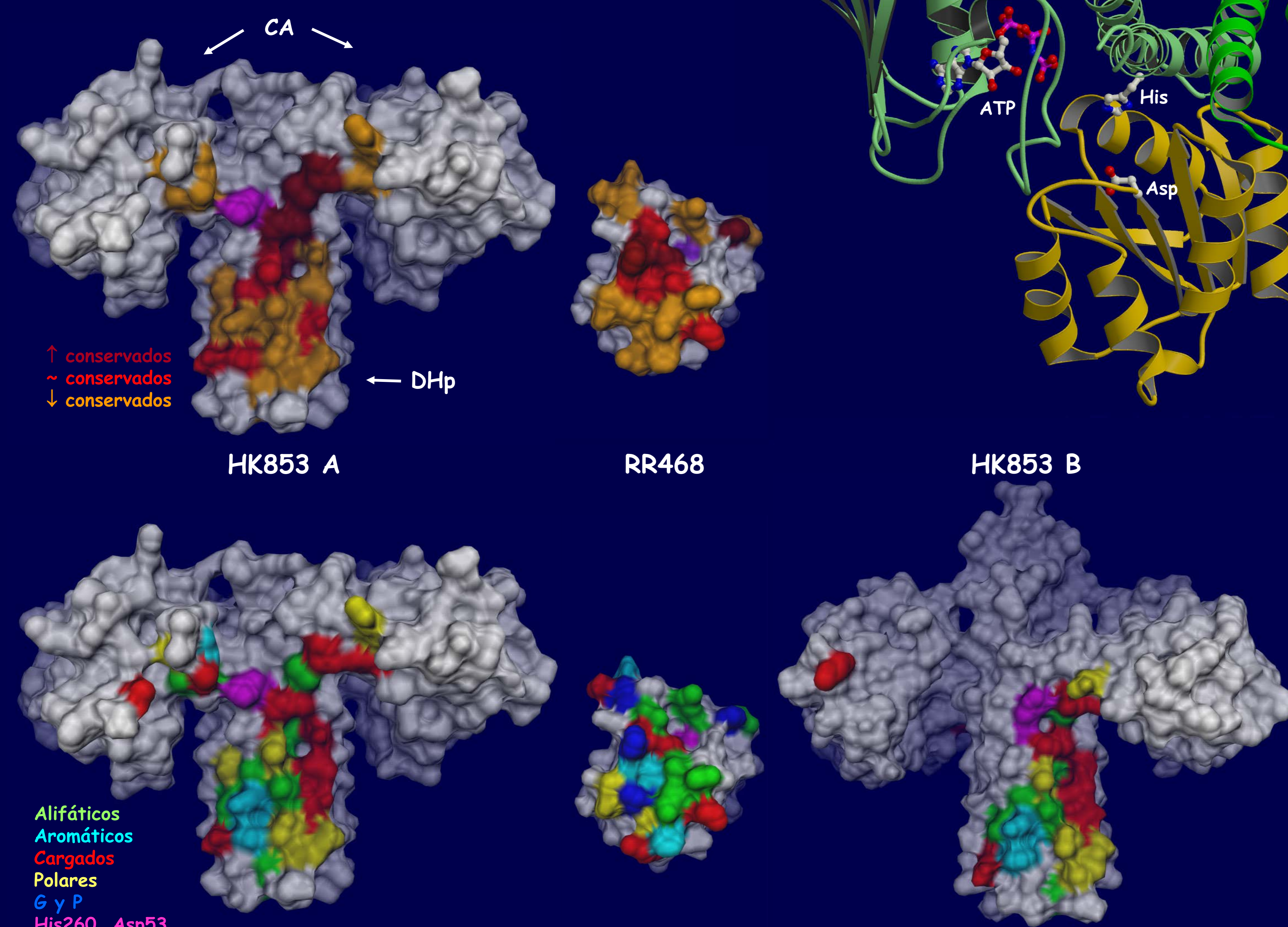
Mecanismo catalítico

En la presente estructura, la Histidina catalítica (H260) puede colocarse a una distancia conveniente para la reacción de autofosforilación y de fosfotransferencia con tan solo una rotación de su cadena lateral. Para ambas reacciones, los residuos catalíticos principales (R430 y K105) están bien posicionados. Sorprendentemente, la autofosforilación sería en CIS, en contra de la asunción general de ser ésta una reacción en TRANS.



RECONOCIMIENTO HK853-RR468

La superficie de interacción es de 2300 Å², de los cuales 1250 son aportados por HK853 y 1050 por RR468. La estructura indica que la especificidad entre una HK y su RR se basa en la interacción de residuos poco conservados. En HK853, éstos se encuentran en el ápice del dominio DHp y en el loop que cierra el nucleótido en el dominio CA (figura HK853 A). Por su parte, en RR468 se ubican en los loops que rodean al Asp fosforilable (figura RR468). Si comparamos HK853 antes (figura HK853 B) y después (figura HK853 A) de interactuar con RR468 se observa que, aunque DHp aporta el área principal de unión a RR468, es necesaria la aproximación del dominio CA para completarlo. Este dato explica las observaciones bioquímicas que demuestran la importancia del dominio CA para la reacción de fosfotransferencia.



Representación de las superficies de contacto entre el dímero HK853 (HK853 A) y un monómero RR468. RR468 se ha rotado 180° en el eje vertical y se ha desplazado para poder visualizarla. Los residuos que interactúan en el complejo están coloreados según su conservación (superior) o su naturaleza (inferior). HK853 B corresponde a la estructura de la proteína no acomplejada.

CONCLUSIÓN

El esquema presentado pretende ser un modelo de mecanismo de transducción de señal por los sistemas de dos componentes ortodoxos:

- A) La estimulación del dominio extracelular sensor se transduce intracelularmente mediante un movimiento de las hélices α_1 y α_1' .
- B) Este movimiento desplaza a las hélices α_2 y α_2' provocando un cambio en la superficie de interacción con el dominio CA.
- C) El dominio CA se recoloca, mediante una rotación de unos 35°, en la proximidad de la histidina catalítica. Esta nueva ubicación permitiría la reacción de autofosforilación en CIS.
- D) La nueva conformación genera una superficie reconocible por el RR, que una vez unido puede tomar el fosforilo de la histidina.