

© 2022 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, 25: 1-12, 2022.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.460>

Mecanismos de regulación que controlan la expresión de la flagelina en bacterias

Julia M. Benítez¹ y Laura Camarena^{1*}

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas, Depto. de Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510, Ciudad de México, México. E-mail: *rosal@servidor.unam.mx

RESUMEN

En años recientes se han realizado grandes avances en el estudio de la estructura y regulación del flagelo bacteriano. Aun con su amplia diversidad, todos los sistemas flagelares están compuestos por un cuerpo basal, un gancho y un filamento. El ensamblaje flagelar es escalonado y se encuentra altamente regulado. El último paso en la biogénesis flagelar es el ensamblaje del filamento, estructura compuesta por subunidades de flagelina, el componente flagelar más abundante. La síntesis del filamento representa un alto gasto metabólico, por lo tanto, se encuentra estrictamente regulado. En esta revisión se presentan los avances más relevantes sobre la regulación de la expresión de la flagelina en los niveles transcripcional, postranscripcional y postraduccional a través de los grupos bacterianos más representativos.

Palabras clave: flagelo, filamento, flagelina, biogénesis, regulación

Regulatory mechanisms controlling the expression of flagellin in bacteria

ABSTRACT

Over the last few years, great breakthroughs have been made in the study of the structure and regulation of the bacterial flagellum. Despite their diversity, all flagellar systems share a basal body, a hook, and a filament. The flagellar assembly is tiered and tightly regulated. The final step in the flagellar biogenesis is the filament assembly composed by flagellin subunits, the most abundant flagellar protein. The filament synthesis is metabolically expensive hence, is tightly regulated. In this review, we present the most relevant advances in the understanding of the regulatory mechanisms of flagellin expression at the transcriptional, posttranscriptional, and posttranslational level across the most representative bacterial groups.

Keywords: flagellum, filament, flagellin, biogenesis, regulation.

INTRODUCCIÓN

Una gran parte de las bacterias Gram positivas y negativas utilizan el flagelo para desplazarse, el cual, es una estructura de locomoción molecular altamente especializada (Chevance & Hughes, 2008). Los flagelos bacterianos están compuestos por un cuerpo basal, un gancho y un filamento, sin importar su número o localización.

El cuerpo basal consta de anillos membranales, un eje, un anillo periplásmico, un motor rotatorio y un aparato de exportación (Minamino & Macnab, 1999; Macnab, 2003). El gancho es una estructura cilíndrica que funciona como un eje de conexión entre el cuerpo basal y el filamento. El filamento es una estructura larga y superhelicoidal que adopta una forma de sacacorchos y actúa como propela (Macnab, 2003; Wang *et al.*, 2017).

La biogénesis del flagelo es un proceso escalonado y altamente regulado debido al costo energético que presenta. Por este motivo, la expresión de los genes flagelares y el ensamblaje flagelar están coordinados a nivel transcripcional, postranscripcional y postraduccional (Karlinsky, Tsui, Winkler & Hughes, 1998; Poggio, Osorio, Dreyfus & Camarena, 2005).

Este proceso jerárquico se describió por primera vez en la enterobacteria *Salmonella enterica* por Kutsukake y colaboradores, al demostrar que la cascada flagelar está dividida en 3 clases o pasos, aunque puede haber variaciones según la especie (Kutsukake, Ohya & Iino, 1990). Los primeros genes en ser transcritos son los que codifican para las proteínas regulatorias llamadas reguladores maestros (Clase I), los cuales reconocen y se unen a las regiones promotoras de los genes requeridos en las primeras etapas del ensamblaje flagelar (Smith & Hoover, 2009).

Después de que los reguladores de la Clase I de genes se expresan, se activa la expresión de los componentes estructurales del flagelo y dentro de ellos, los últimos genes en transcribirse son los que codifican para la flagelina, sus chaperonas y la proteína de coronamiento FliD, que ensamblarán el filamento, además de las proteínas involucradas en la quimiotaxis (Kutsukake *et al.*, 1990).

El objetivo de esta revisión es recapitular los mecanismos de regulación que controlan la expresión de la flagelina, los cuales se presentan de forma similar en los diferentes grupos bacterianos. La respuesta de los mecanismos regulatorios está condicionada a los cambios ambientales y para evadir la respuesta inmune de algunos organismos (Klose & Mekalanos, 1998; Soutorina & Bertin, 2003).

EL PARADIGMA EN LAS GAMMA PROTEOBACTERIAS

En las enterobacterias *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*, el regulón flagelar incluye más de 60 genes (Frye *et al.*, 2006). Como se mencionó anteriormente, esta cascada regulatoria

presenta 3 clases de genes. La Clase I está compuesta por los genes del operón *flhDC*, que codifican para las proteínas FlhD y FlhC, asociadas en un complejo estequiométrico FlhD₄C₂ que constituye el regulador maestro de la expresión flagelar, el complejo promueve la transcripción de los genes de la Clase II vía el factor σ^{70} (Claret & Hughes, 2002). Los genes de la Clase II codifican para las proteínas del aparato de exportación, el cuerpo basal, el gancho y las proteínas reguladoras requeridas para la transcripción de los genes de la Clase III (Chevance & Hughes, 2008).

Dentro de las proteínas reguladoras se encuentran FliA o el factor alternativo σ^{28} , y FlgM su factor anti-sigma. Descrito por primera vez en la bacteria Gram positiva *Bacillus subtilis* (Wiggs, Gilman & Chamberlin, 1981), FliA es un factor de transcripción específico de los genes flagelares y reconoce sitios en la región promotora de los genes de la Clase III en *E. coli* y *S. enterica* (Arnosti & Chamberlin, 1989; Ohnishi, Kutsukake, Suzuki & Iino, 1990; Chilcott & Hughes, 2000).

El factor σ^{28} reconoce las secuencias TAAAGTTTT y GCCGATAA ubicadas respectivamente en las regiones -10 y -35 (Smith & Hoover, 2009). Los genes controlados por FliA incluyen a los que codifican para las proteínas del gancho, la flagelina, las proteínas quimiotácticas, la proteína de coronamiento FliD y a los componentes del motor (Schaubach & Dombrosky, 1999; Chilcott & Hughes, 2000).

Respecto a la proteína FlgM identificada por primera vez en *S. enterica*, atrajo la atención cuando se observó que su inactivación promovía la expresión de la flagelina en un contexto genético donde se abatía la expresión de la mayor parte de los genes flagelares que codifican para los componentes estructurarles del cuerpo basal y del gancho, excepto en los genes que codifican para el regulador maestro FlhD₄C₂ (Gillen & Hughes, 1991). Posteriormente, se demostró que FlgM inhibía la transcripción del promotor de *fliC* (flagelina), dependiente de σ^{28} (Chadsey, Karlinsky & Hughes, 1998).

El mecanismo de inhibición del factor σ^{28} mediado por FlgM, finaliza cuando el gancho termina de ensamblarse. En lo que se ensambla, FlgM interacciona con los sitios de unión de σ^{28} en el citoplasma, inhibiendo la actividad de la RNA polimerasa. La unión impide la interacción del complejo holoenzimático σ^{28} y el promotor y por ende la transcripción del gen *fliC* (Chadsey *et al.*, 1998; Sorenson, Ray & Darst, 2004).

Cuando el gancho termina de ensamblarse, FlgM es reconocido como sustrato por el sistema de secreción tipo III del flagelo y este evento permite que FliA pueda asociarse con la RNA polimerasa y activar a los genes de la Clase III (Barembuch & Hengge, 2007). La secreción de la proteína FlgM es una señal celular que determina la etapa final de la biogénesis

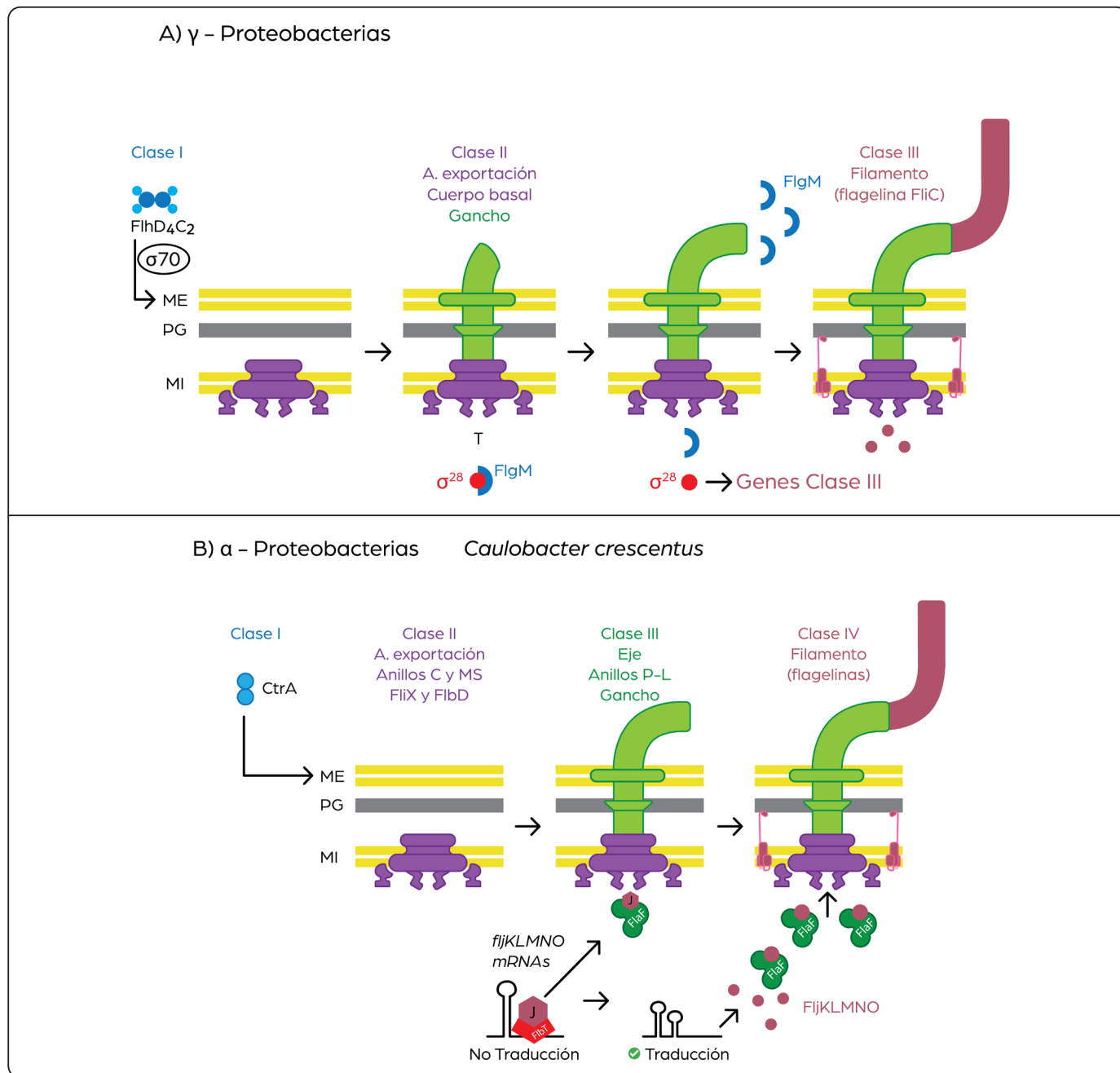


Figura 1. Jerarquía flagelar en γ y α -proteobacterias. A) En γ - Proteobacterias el regulador maestro FlhD₄C₂ (azul), promueve la expresión de la Clase II de genes mediante el factor σ^{70} . La Clase II de genes (morado y verde) codifican para componentes como el aparato de exportación, el cuerpo basal y el gancho, y proteínas regulatorias como FliA (rojo) y FlgM (azul). Mientras el gancho se está ensamblando, FlgM forma un complejo con FliA (σ^{28}). Una vez que el gancho termina su biogénesis, el complejo FliA-FlgM se disocia y FlgM es secretado. FliA promueve la transcripción de la Clase III de genes, que incluyen a FliC y otros componentes del filamento, así como proteínas quimiotácticas (violeta). B) En la α -Proteobacteria *C. crescentus*, el regulador maestro CtrA (azul) promueve la transcripción de los genes de Clase II (morado), que incluyen al aparato de exportación, los anillos C y MS, las β -flagelinas, así como proteínas reguladoras entre las que se encuentran FliX, FliD y el factor transcripcional σ^{54} , involucradas en la expresión de los genes de Clase III (verde) y IV (violeta). En la Clase III se encuentran los componentes del eje, los anillos L-P, así como el gancho. Dentro de la Clase IV están las flagelinas α . Antes de que el gancho se termine de ensamblar, la flagelina FljJ (hexágono violeta) interacciona con FliB (rojo) previniendo que las demás flagelinas se puedan traducir. Lo anterior, a través del 5'UTR de las flagelinas. Cuando el gancho se termina de ensamblar, la interacción FljJ-FliB se pierde, FljJ es exportada con la ayuda de FlaF (verde oscuro) y por consiguiente los mRNAs de las demás flagelinas son liberados de la represión, traducidos y exportados por FlaF. Figura 1A creatividad personal y Figura 1B modificada de Ardissonne *et al.*, 2020.

Tabla I. Regulación de las flagelinas en los diferentes grupos bacterianos.

| Grupo bacteriano | Regulación | | | Flagelinas |
|---|--|---|---|--|
| | Transcripcional | Postranscripcional | Postraducciona | |
| γ-Proteobacterias • <i>S. enterica</i> • <i>E. coli</i> | FliA-FlgM | <ul style="list-style-type: none"> No reportado OmrA y OmrB | <ul style="list-style-type: none"> Metilación (FliB) No presenta modificaciones | FliC |
| α-Proteobacterias <i>C. crescentus</i> | RpoN -FlbD-FliX (α-flagelinas) CtrA (β-flagelinas) | FlbT-FljJ-FlaF | O-glicosilación (enzimas Flm) | α-flagelinas (FljJ, FljK, FljL) β-flagelinas (FljM, FljN, FljO) |
| ε-Proteobacterias • <i>C. jejuni</i> • <i>H. pylori</i> | <ul style="list-style-type: none"> FliA-FlgM-Temperatura FliA-FlgM | <ul style="list-style-type: none"> FliW-CsrA HP0958 | <ul style="list-style-type: none"> O-glicosilación (locus de glicosilación de flagelina) O-glicosilación (cluster <i>neuA/flmD</i>) | <ul style="list-style-type: none"> FlaA, FlaB FlaA |
| Gram Positivas <i>B. subtilis</i> | SigD-FlgM | FliW-CsrA-FliS | No reportado | Hag |

del gancho (Figura 1A, Tabla I) (Hughes, Gillen, Semon & Karlinsey, 1993).

La regulación del complejo FliA-FlgM es muy intrincada, ya que estos componentes se expresan como de promotores de la Clase II, como de la Clase III. La expresión de la Clase II de *flgM* solo representa un 20% y funciona como el punto de control en la biogénesis flagelar. Adicionalmente, σ^{28} ejerce una segunda función como chaperona, ya que facilita la secreción de FlgM (Aldridge *et al.*, 2006; Chevance & Hughes, 2008). Por su parte, FliA es sustrato de la proteasa Lon, la interacción con FlgM la protege contra la degradación (Barembuch & Hengge, 2007).

Aunado a lo anterior, recién se observó que en *E. coli*, los RNAs pequeños OmrA y OmrB regulan negativamente la expresión de FlgM, al promover indirectamente la expresión de los genes de la Clase III (Romilly, Hoekzema, Holmqvist & Wagner, 2020).

Estructuralmente, la biogénesis flagelar culmina con la polimerización del filamento formado por múltiples subunidades de la proteína flagelina, que se ensambla mediante la proteína de andamiaje FliD. El filamento constituye la parte más visible del flagelo bacteriano ubicado en el espacio extracelular.

La mayoría de las gamma proteobacterias son patógenas, por lo que han desarrollado mecanismos para prevenir su reconocimiento por parte del hospedero. Las modificaciones

postraduccionales de la flagelina son una estrategia para evadir la respuesta inmune. Bacterias como, *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. presentan O-glicosilaciones de la flagelina (Power & Jennings, 2003; Horstmann *et al.*, 2020). En el caso de *S. enterica*, la flagelina presenta metilaciones en lisinas mediadas por la enzima FliB, que promueven la adhesión e invasión a la célula hospedera (Tabla I) (Frye *et al.*, 2006; Horstmann *et al.*, 2020).

ALPHA PROTEOBACTERIAS

Las α-proteobacterias representan una de las divisiones taxonómicas más diversas debido a su gran variedad en hábitat, estilo de vida y tamaño del genoma (Ettema & Andersson, 2009).

Caulobacter crescentus es un organismo modelo utilizado en el estudio de la biogénesis flagelar, debido a su peculiar ciclo celular y eventos de diferenciación (Gober & Marques, 1995), en esta bacteria cada división celular es asimétrica y da lugar a una célula nadadora o swarmer con un único flagelo y a una célula sésil prostecada (Xu, Dutton & Gober, 2011).

La expresión flagelar en *C. crescentus* es escalonada y está dividida en 4 pasos o Clases. El primer paso de la biogénesis flagelar comienza en la célula predivisional con la activación por fosforilación del factor transcripcional CtrA, que además de controlar el ciclo celular en la bacteria, es el regulador maestro flagelar (Quon, Marczynski & Shapiro, 1996; England & Gober, 2001; Smith & Hoover, 2009).

CtrA en su estado activo promueve la transcripción mediada por el factor σ^{70} de los genes de la Clase II. Estos genes codifican para las proteínas de los anillos de membrana, del aparato de exportación y de algunos elementos regulatorios como FlbD, FliX, RpoN (σ^{54}), FlaF y FlbT (Muir & Gober, 2004; Davis & Viollier, 2011). La proteína FliX se une a FlbD y bloquea su activación hasta que se termina de ensamblar el aparato de exportación y el anillo MS. El ensamblaje de estas estructuras es requerido para la activación de FlbD, que junto con el factor σ^{54} promueve la transcripción de los genes de la Clase III y IV (Ramakrishnan & Newton, 1990; Muir & Gober, 2004; Xu *et al.*, 2011).

En los genes de la Clase III se encuentran los componentes del eje, los anillos de membrana externa y el gancho. En la Clase IV están varios de los genes que forman el filamento (Figura 1B) (Anderson & Newton, 1997; Llewellyn, Dutton, Easter, O'Donnol & Gober, 2005).

C. crescentus cuenta con seis genes de flagelina divididos en dos loci. Los genes *fljJ*, *fljK* y *fljL* forman el locus α , y *fljM*, *fljN* y *fljO* el locus β (Ely B., Ely T., Crymes & Minnich, 2000). Los seis genes son utilizados por la bacteria y presentan un alto grado de redundancia, ya que FljK, FljL, FljM, FljN u FljO en solitario, son capaces de formar un filamento funcional, aunque más corto (Faulds-Pain *et al.*, 2011).

La expresión de la flagelina se encuentra regulada en diversos niveles. Transcripcionalmente, las β -flagelinas están bajo el control de CtrA (Laub, Chen, Shapiro & McAdams, 2002), mientras que las α -flagelinas por el factor transcripcional σ^{54} (Muir & Gober, 2001).

A nivel postranscripcional, las flagelinas están reguladas por las proteínas FlaF y FlbT (Anderson & Gober, 2000; Llewellyn *et al.*, 2005). Antes de que el gancho se termine de ensamblar, la flagelina FljJ interacciona con FlbT, por lo que el complejo inhibe la traducción de las demás flagelinas mediante su unión a los motivos GCAAAA y GNCAA(A/U)A localizados en la región 5'UTR del mensajero de las flagelinas. Una vez que el gancho se termina de ensamblar, FljJ se disocia de FlbT para ser secretada y formar el filamento con la ayuda de FlaF que funciona como una chaperona. En el momento de la disociación del complejo FlbT-FljJ, FlbT se inactiva y, por lo tanto, la traducción de las demás flagelinas se activa y son secretadas con ayuda de FlaF para ensamblar el filamento (Figura 1B, Tabla I) (Mangan *et al.*, 1999; Llewellyn *et al.*, 2005; Ardissonne, Kint, Petrinani, Panis & Viollier, 2020).

Aunque FlaF y FlbT se encuentran reguladas por CtrA, muestran variaciones en su expresión. Los niveles proteicos de FlbT se mantienen estables durante el ciclo celular. Por el contrario, los niveles de FlaF están elevados en células en la fase G1, pero desaparecen en la transición de la fase G1/S producto de la

proteólisis, momento en el que empieza la biogénesis flagelar. Durante el desarrollo de la biogénesis, FlaF se acumula hasta que es suficiente para probablemente ayudar al desensamble del complejo FljJ-FlbT (Llewellyn *et al.*, 2005; Ardissonne *et al.*, 2020).

Un evento adicional en la regulación de la flagelina son las modificaciones postraduccionales como la glicosilación. En *C. crescentus* se describió la O-glicosilación de sus seis flagelinas por la adición del ácido pseudoamínico (PseAc) y enzimas codificadas por los genes *flm* (Tabla I) (Power & Jennings, 2003; Ardissonne, Kint & Viollier, 2020).

Otras α -proteobacterias, como el patógeno *Brucella melitensis*, presenta un solo flagelo polar regulado por FtcR, que activa la expresión de todos los genes flagelares. Adicionalmente, presenta un punto de regulación orquestado por las proteínas FlaF y FlbT, necesario para evitar la traducción prematura de la flagelina (FliC). En una cepa carente del gen *flbT*, los niveles de ARNm de *fliC* disminuyen. Mientras que la expresión constitutiva de *flaF* en una cepa silvestre bloquea la síntesis de FliC, sugiriendo una actividad represiva por parte de FlaF (Ferooz, Lemaire & Letesson, 2011). Sin embargo, el mecanismo por el que FlaF y FlbT se activan no ha sido descifrado.

Aunque algunos patrones de regulación varían en las α -proteobacterias, la mayoría posee los genes *flaF/flbT*, ejemplo de ello son los miembros de la familia Rhodobacteraceae como lo son *Dinoroseobacter shibae* (Wang *et al.*, 2014), *Rhodobacter capsulatus* (Shelswell, Taylor & Beatty, 2005), *Rhodobacter sphaeroides* (Poggio *et al.*, 2007) y *Silicibacter* sp. (Belas, Horikawa, Aizawa & Suvanasuthi, 2009), sin embargo, se desconoce la forma de control de la expresión de la flagelina en estos organismos.

El caso de *R. sphaeroides* es particular, por tener dos sistemas flagelares. El flagelo 1 (Fla1) adquirido por transferencia horizontal de una γ -proteobacteria, por lo que cuenta con una jerarquía y componentes regulatorios flagelares típicos de este tipo de bacterias. Mientras que el flagelo 2 (Fla2), contiene los genes y componentes regulatorios flagelares nativos, que incluyen a *flaF* y *flbT* (Poggio *et al.*, 2005; Poggio *et al.*, 2007; Hernández-Valle, Sánchez-Flores, Poggio, Dreyfus & Camarena, 2020).

EPSILON PROTEOBACTERIAS

Estas bacterias habitan en una gran variedad de nichos ecológicos, desde el tracto gastrointestinal de animales, hasta ventilas hidrotermales (Campbell, Engel, Porter & Takai, 2006; Gupta, 2006). Al igual que en otros grupos bacterianos, su motilidad depende del flagelo que presenta una regulación única (Gao, Lara-Tejero, Lefebvre, Goodman & Galán, 2014; Beeby, 2015).

Dentro de las ϵ proteobacterias, las más estudiadas son los patógenos gastrointestinales *Campylobacter jejuni* y *Helicobacter pylori*, los cuales carecen de genes que codifiquen para un regulador maestro flagelar. Alternativamente, en estas bacterias los genes de la Clase I codifican para el aparato de exportación, el sistema de dos componentes FlgSR y la GTPasa FlhF, que en conjunto parecen tener una expresión constitutiva (Hendrixson & DiRita, 2003; Joslin & Hendrixson, 2009; Lertsethtakarn, Ottemann & Hendrixson, 2011; Ren *et al.*, 2018). Estas proteínas promueven la transcripción de los genes de la clase II a través del factor σ^{54} , y estos codifican para los componentes del cuerpo basal, el gancho, proteínas regulatorias como el factor σ^{28} y su factor anti- σ FlgM y adicionalmente a la flagelina menor FlaB (Figura 2A, Tabla I) (Hendrixson, Akerley & DiRita, 2001; Hendrixson & DiRita, 2003).

Al igual que en otras bacterias, los genes flagelares de la Clase III se encuentran regulados positivamente por σ^{28} y negativamente por FlgM (Colland *et al.*, 2001; Hendrixson & DiRita, 2003). Los genes de esta clase incluyen a la flagelina FlaA, así como otras proteínas menores que constituyen el filamento y genes de virulencia no relacionados con el flagelo (Figura 2A) (Wösten, Wagenaar & Van Putten, 2004; Goon *et al.*, 2006; Lertsethtakarn, Ottemann & Hendrixson, 2011). Adicionalmente, *C. jejuni* cuenta con una tercera flagelina (FlaC), regulada por el factor σ^{70} que no participa en la motilidad, pero sí, en la modulación de la respuesta inmune del hospedero (Wösten *et al.*, 2010).

En *C. jejuni*, el complejo FliA-FlgM depende de los cambios de temperatura, ya que FlgM se disocia de FliA cuando la temperatura se eleva de 37 °C a 42 °C, por consecuencia FlgM se secreta y FliA puede activar el promotor de la flagelina. No obstante, la principal función de FlgM es prevenir la elongación ilimitada del flagelo, ya que, en una mutante de este gen a 42 °C, el filamento es 45% más largo que en la cepa silvestre (Wösten *et al.*, 2010).

A nivel postranscripcional, los genes de la flagelina (*flaA* y *flaB*) también están regulados por el factor de ensamblaje flagelar FliW y el regulador global CsrA (*Carbon starvation regulator A*) (Golden & Acheson, 2002; Radomska, Ordoñez, Wösten, Wagenaar & Van Putten, 2016).

La proteína FliW contribuye a la biogénesis del filamento controlando el nivel de la flagelina mediante la interacción con esta proteína y con CsrA en una red regulatoria temporal. La traducción del transcrito de *flaA* es suprimida por la interacción con CsrA mediante dos motivos GGA que forman unas estructuras tallo-asa en la región 5'UTR de *flaA*. Al mismo tiempo, FliW se encuentra formando un complejo con la flagelina citosólica. Cuando los niveles de flagelina libre disminuyen, resultado de su secreción a través del aparato de

exportación, FliW captura a CsrA y se desinhibe la traducción de la flagelina (Figura 2A, Tabla I) (Dugar *et al.*, 2016; Radomska *et al.*, 2016).

Con respecto a *H. pylori*, la flagelina (*flaA*), también es regulada a nivel transcripcional por el complejo FliA-FlgM. No obstante, FlgM carece de una señal de secreción, por lo que se cree que en esta bacteria este paso no es crucial para su función regulatoria. En cambio, se ha visto que FlgM interacciona con FlhA, componente del aparato de exportación y la unión podría estar obstruyendo la puerta de exportación para evitar la secreción de la flagelina prematuramente (Rust *et al.*, 2009; Wösten *et al.*, 2010). A nivel postranscripcional, la proteína citosólica HP0958 es un regulador que modula el mRNA de *flaA*, ya que se une a este y la interacción disminuye la estabilidad del transcrito, sin embargo, promueve la traducción de la flagelina (Douillard *et al.*, 2008).

En cuanto a las modificaciones postraduccionales, tanto las flagelinas de *C. jejuni*, como las de *H. pylori* necesitan ser glicosiladas para poder ensamblar un filamento funcional, indispensable para la colonización del hospedero (Guerry *et al.*, 2006; Schirm *et al.*, 2003).

En el caso de *C. jejuni*, las flagelinas presentan O-glicosilaciones mediadas por múltiples glicosiltransferasas codificadas en el *locus* de la glicosilación de las flagelinas, adyacente a los genes flagelares estructurales. Estas enzimas usan principalmente ácido pseudamínico (PseAc) y el ácido legionamínico (LegAm) para la glicosilación de sus flagelinas (Linton *et al.*, 2000; McNally *et al.*, 2006; Ewing, Andreishcheva & Guerry, 2009). Mientras que *H. pylori*, solo presenta O-glicosilación con PseAc mediada por el cluster *neuA/flmD* (Tabla I) (Josenhans, Vossebein, Friedrich & Suerbaum, 2002; Schirm *et al.*, 2003).

BACTERIAS GRAM POSITIVAS

Uno de los primeros flagelos bacterianos caracterizados fue el de *Bacillus subtilis* (Dimmitt & Simon, 1971). El flagelo de *B. subtilis* se ha convertido en un modelo para estudiar esta estructura en las bacterias Gram positivas.

La biogénesis flagelar en *B. subtilis* está controlada por el regulador maestro SwrA, que promueve la expresión de los 32 genes tempranos del operón *fla/che* (Smith & Hoover, 2009). Este operón también se encuentra bajo el control del sistema de dos componentes DegS-DegU. La forma activa de DegU se une al promotor del factor σ^A del operón *fla/che* y potencia la transcripción dependiente de SwrA (Kobayashi, 2007; Smith & Hoover, 2009). Una vez que el gancho se termina de ensamblar, el factor alternativo σ^D (σ^{28} o SigD) activa a los genes tardíos que codifican para los componentes del filamento y la rotación flagelar (Figura 2B) (Helmann, Masiarz & Chamberlin, 1988; Mukherjee & Kearns, 2014).

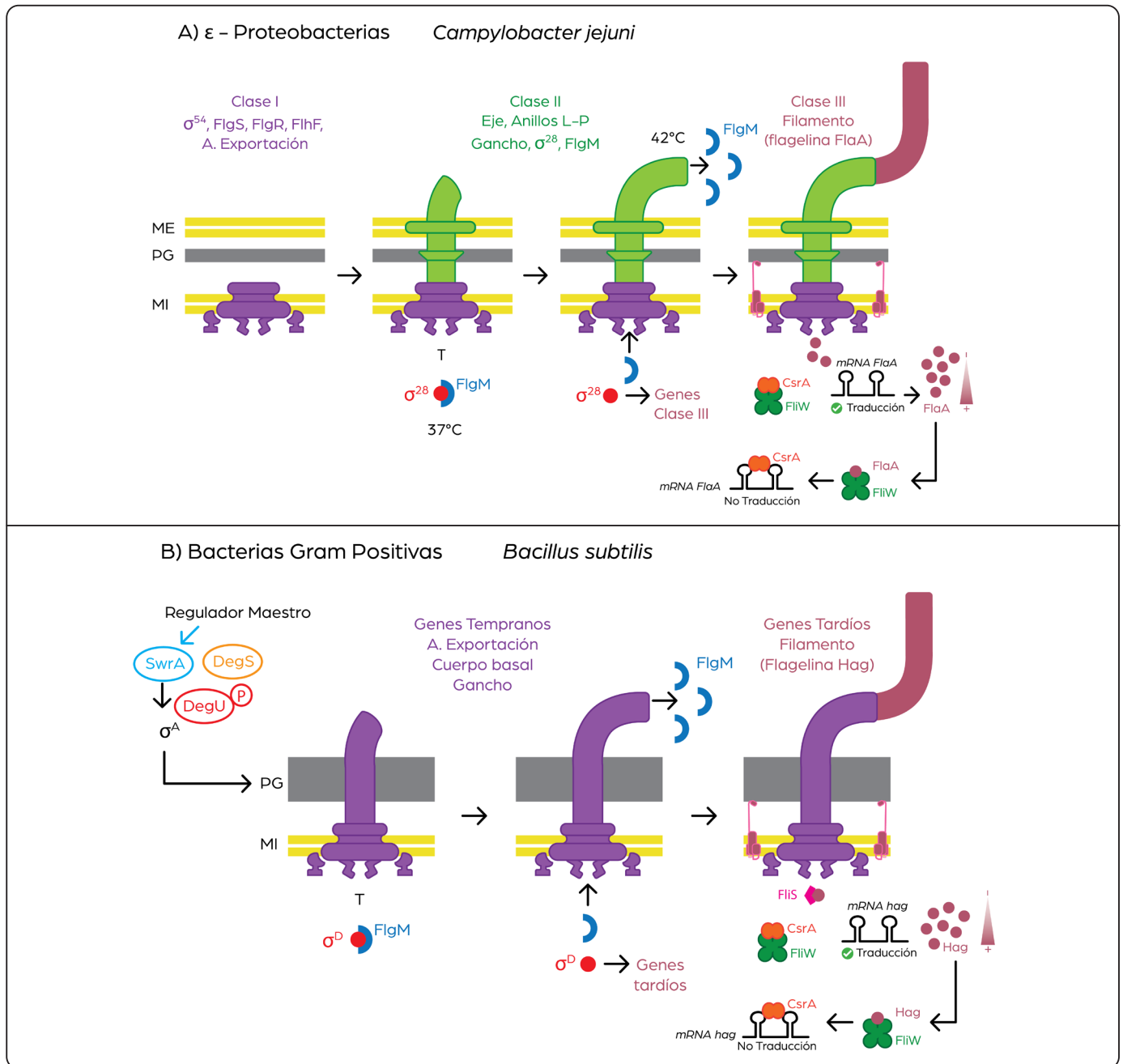


Figura 2. Jerarquía flagelar en ε-Proteobacterias y bacterias Gram Positivas. A) En la ε-proteobacteria *C. jejuni*, la Clase I (morado) está integrada por el aparato de exportación, el sistema de dos componentes FlgSR y FlhF, que en conjunto, vía el factor σ^{54} promueven la transcripción de los genes de Clase II, compuesta por el eje, anillos L-P, el gancho (verde) y los componentes regulatorios FliA (rojo) y FlgM (azul). A nivel transcripcional, la Clase III de genes (violeta) está controlada por el complejo FliA-FlgM que en *C. jejuni* es dependiente de los cambios de temperatura. La Clase III de los genes incluye a componentes como FlaA y proteínas relacionadas con virulencia. A nivel postranscripcional, *flaA* se encuentra regulada por FliW (verde) y CsrA (naranja). La proteína FliW secuestra al regulador CsrA, lo que permite que el transcrito de *flaA* se traduzca. Cuando los niveles de flagelina citosólica son muy altos, FliW forma un complejo con la flagelina y CsrA ejerce su función represora sobre *flaA* al interactuar con dos motivos GGA que forman estructuras tallo-asa en la región 5'UTR de *flaA*, lo que inhibe la traducción de dicho transcrito. B) En la bacteria Gram positiva *B. subtilis* el regulador maestro SwrA, junto con el sistema de dos componentes DegS-DegU a través del factor σ^A promueven la transcripción de los genes tempranos (morado), que incluyen al aparato de exportación, el cuerpo basal y el gancho. Mientras el gancho se ensambla, el factor σ^D (rojo), se encuentra interactuando con FlgM (azul), una vez que el gancho termina de ensamblarse, se disocia la interacción σ^D -FlgM y σ^D promueve la transcripción de los genes tardíos (violeta). A nivel postranscripcional el gen de la flagelina *hag* se encuentra regulado de forma similar a la ε-proteobacteria *C. jejuni*. Figura de creatividad personal.

SigD promueve la expresión de las proteínas asociadas al gancho, FliD, la flagelina (Hag) y FlgM (Serizawa *et al.*, 2004). El factor anti- σ FlgM forma un complejo con SigD e inhibe su actividad (Caramori, Barillà, Nessi, Sacchi & Galizzi, 1996; Bertero, Gonzales, Tarricone, Cecilian & Galizzi, 1999). Recientemente, se observó que al igual que en las enterobacterias, FlgM es secretada y degradada extracelularmente (Calvo & Kearns, 2015).

B. subtilis cuenta con dos genes de flagelina, el primero es *yzvB* que codifica para una proteína que tiene una identidad del 76% con el C-terminal de la flagelina Hag. Sin embargo, YzvB no es esencial para el nado (Patrick & Kearns, 2009). El segundo es la flagelina mayor Hag (de H-antigen, por sus siglas en inglés) que es esencial para la formación de un flagelo funcional (La Vallie & Stahl, 1989).

En *B. subtilis*, la flagelina se encuentra regulada a nivel postranscripcional mediante el complejo FliW-CsrA que fue descrito por primera vez en este microorganismo y ha sido ampliamente estudiado y caracterizado (Yakhnin *et al.*, 2007; Mukherjee *et al.*, 2011).

Cuando la concentración de Hag excede el umbral citosólico, se une a FliW y por ende FliW libera a CsrA. La forma libre de CsrA inhibe la traducción de *hag*, al interactuar con dos sitios en su región 5' UTR. Esta interacción ocluye el sitio de unión al ribosoma. Cuando los niveles de Hag disminuyen drásticamente, FliW intercambia pareja de interacción por CsrA, ergo, el mRNA de la flagelina es traducido y posteriormente la proteína es exportada con ayuda de la chaperona FliS (Mukherjee *et al.*, 2011). Una vez que Hag es secretada, la chaperona FliS ayuda al plegamiento de esta y la direcciona hacia el extremo distal del filamento (Figura 2B, Tabla I) (Mukherjee & Kearns, 2014).

Dentro del Phylum Firmicute, patógenos como *Clostridium difficile* (Tasteyre *et al.*, 2000), *Lysteria monocytogenes* (Michel, Mengaud, Galsworthy & Cossart, 1998) y *Kurthia* sp. (Blum, Filippidou, Fatton, Junier & Abrahams, 2019), presentan flagelo, sin embargo, el mecanismo de regulación de la biogénesis de la flagelina no ha sido dilucidado.

CONCLUSIONES

Desde la caracterización de la jerarquía de la biogénesis flagelar en *S. enterica* (Kutsukake *et al.*, 1990), se han descubierto múltiples reguladores compartidos en diversas bacterias. Como sucede con el complejo FliA-FlgM (Arnosti & Chamberlin, 1989; Ohnishi *et al.*, 1990; Chilcott & Hughes, 2000) o bien FliW-CsrA (Mukherjee *et al.*, 2011; Dugar *et al.*, 2016; Radomska *et al.*, 2016). Sin embargo, muchas otras especies bacterianas presentan mecanismos que difieren de

este paradigma, como se observa en el regulador HP0958 de *H. pylori* (Douillard *et al.*, 2008), o el sistema tripartita FliB-FliJ-FlaF en *C. crescentus* (Ardissone *et al.*, 2020).

Varios de estos nuevos componentes flagelares han podido ser descritos gracias al apoyo de técnicas como la transcriptómica, la mutagénesis y la microscopía de fluorescencia sin embargo, el conocimiento sobre las moléculas flagelares y caminos regulatorios está reducido a un pequeño número de especies, por lo que existe la posibilidad de completar el panorama con la descripción de nuevas rutas regulatorias en la biogénesis flagelar en las bacterias.

AGRADECIMIENTOS

Julia Mariana Benítez García es estudiante del Posgrado en Ciencias Bioquímicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y ha sido apoyada con una beca CONACYT (703518) para la realización de sus estudios doctorales. Se agradece a la Dra. Clelia Domenzain Reyna por el apoyo brindado y a Elizabeth Delaflor Wagner por la realización de las figuras.

REFERENCIAS

- Aldridge, P. D., Karlinsey, J. E., Aldridge, C., Birchall, C., Thompson, D., Yagasaki, J. & Hughes, K. T. (2006). The flagellar-specific transcription factor, σ_{28} , is the Type III secretion chaperone for the flagellar-specific anti- σ_{28} factor FlgM. *Genes and Development*, **20**(16), 2315–2326. <https://doi.org/10.1101/gad.380406>
- Anderson, D. & Newton, A. (1997). Posttranscriptional regulation of *Caulobacter* flagellin genes by a late flagellum assembly checkpoint. *Journal of Bacteriology*, **179**(7), 2281–2288. <https://doi.org/10.1128/jb.179.7.2281-2288.1997>
- Anderson, P. & Gober, J. (2000). FliB, the post-transcriptional regulator of flagellin synthesis in *Caulobacter crescentus*, interacts with the 5' untranslated region of flagellin mRNA. *Molecular Microbiology*, **38**(1), 41–52. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02108.x>
- Ardissone, S., Kint, N., Pettrignani, B., Panis, G. & Viollier, P. H. (2020). Secretion Relieves Translational Co-repression by a Specialized Flagellin Paralog. *Developmental Cell*, **55**(4), 500–513.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.10.005>
- Ardissone, S., Kint, N. & Viollier, P. H. (2020). Specificity in glycosylation of multiple flagellins by the modular and cell cycle regulated glycosyltransferase flmg. *ELife*, **9**, 1–28. <https://doi.org/10.7554/eLife.60488>
- Arnosti, D. N. & Chamberlin, M. J. (1989). Secondary σ factor controls transcription of flagellar and chemotaxis genes in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **86**(3), 830–834. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.3.830>

- Barembuch, C. & Hengge, R. (2007). *Escherichia coli* are controlled by FlgM-modulated proteolysis. *Molecular Microbiology*, **65**(1), 76–89. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05770.x>
- Beeby, M. (2015). Motility in the epsilon-proteobacteria. *Current Opinion in Microbiology*, **28**, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.09.005>
- Belas, R., Horikawa, E., Aizawa, S. I. & Suvanasuthi, R. (2009). Genetic determinants of *Silicibacter* sp. TM1040 motility. *Journal of Bacteriology*, **191**(14), 4502–4512. <https://doi.org/10.1128/JB.00429-09>
- Bertero, M. G., Gonzales, B., Tarricone, C., Cecilian, F. & Galizzi, A. (1999). Overproduction and characterization of the *Bacillus subtilis* anti-sigma factor FlgM. *Journal of Biological Chemistry*, **274**(17), 12103–12107. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.17.12103>
- Blum, T. B., Filippidou, S., Fatton, M., Junier, P. & Abrahams, J. P. (2019). The wild-type flagellar filament of the Firmicute *Kurthia* at 2.8 Å resolution *in vivo*. *Scientific Reports*, **9**(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51440-1>
- Calvo, R. & Kearns, D. (2015). FlgM is secreted by the flagellar export apparatus in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, **197**(1), 81–91. <https://doi.org/10.1128/JB.02324-14>
- Campbell, B., Engel, A. S., Porter, M. L. & Takai, K. (2006). The versatile ϵ -proteobacteria: Key players in sulphidic habitats. *Nature Reviews Microbiology*, **4**(6), 458–468. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1414>
- Caramori, T., Barillà, D., Nessi, C., Sacchi, L. & Galizzi, A. (1996). Role of FlgM in σ D-dependent gene expression in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, **178**(11), 3113–3118. <https://doi.org/10.1128/jb.178.11.3113-3118.1996>
- Chadsey, M., Karlinsey, J. & Hughes, K. (1998). The flagellar anti- σ factor FlgM actively dissociates *Salmonella typhimurium* σ 28 RNA polymerase holoenzyme. *Genes and Development*, **12**(19), 3123–3136. <https://doi.org/10.1101/gad.12.19.3123>
- Chevance, F. & Hughes, K. (2008). Coordinating assembly of a bacterial macromolecular machine. *Nature Reviews Microbiology*, **6**(6), 455–465. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1887>
- Chilcott, G. & Hughes, K. (2000). Coupling of Flagellar Gene Expression to Flagellar Assembly in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **64**(4), 694–708. <https://doi.org/10.1128/mmbr.64.4.694-708.2000>
- Claret, L. & Hughes, C. (2002). Interaction of the atypical prokaryotic transcription activator FlhD2C2 with early promoters of the flagellar gene hierarchy. *Journal of Molecular Biology*, **321**(2), 185–199. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)00600-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00600-9)
- Colland, F., Rain, J. C., Gounon, P., Labigne, A., Legrain, P. & De Reuse, H. (2001). Identification of the *Helicobacter pylori* anti- σ 28 factor. *Molecular Microbiology*, **41**(2), 477–487. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02537.x>
- Davis, N. J. & Viollier, P. H. (2011). Probing flagellar promoter occupancy in wild-type and mutant *Caulobacter crescentus* by chromatin immunoprecipitation. *FEMS Microbiology Letters*, **319**(2), 146–152. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02275.x>
- Dimmitt, K. & Simon, M. (1971). Purification and thermal stability of intact *Bacillus subtilis* flagella. *Journal of Bacteriology*, **105**(1), 369–375. <https://doi.org/10.1128/jb.105.1.369-375.1971>
- Douillard, F., Ryan, K., Caly, D., Hinds, J., Witney, A., Husain, S. & O'Toole, P. (2008). Posttranscriptional regulation of flagellin synthesis in *Helicobacter pylori* by the RpoN chaperone HP0958. *Journal of Bacteriology*, **190**(24), 7975–7984. <https://doi.org/10.1128/JB.00879-08>
- Dugar, G., Svensson, S. L., Bischler, T., Wäldchen, S., Reinhardt, R., Sauer, M. & Sharma, C. M. (2016). The CsrA-FlhW network controls polar localization of the dual-function flagellin mRNA in *Campylobacter jejuni*. *Nature Communications*, **7**(May), 1–18. <https://doi.org/10.1038/ncomms11667>
- Ely, B., Ely, T. W., Crymes, J. & Minnich, S. A. (2000). A family of six flagellin genes contributes to the *Caulobacter crescentus* flagellar filament. *Journal of Bacteriology*, **182**(17), 5001–5004. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.5001-5004.2000>
- England, J. C. & Gober, J. W. (2001). Cell cycle control of cell morphogenesis in *Caulobacter*. *Current Opinion in Microbiology*, **4**(6), 674–680. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(01\)00268-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(01)00268-5)
- Ettema, T. J. & Andersson, S. G. (2009). The α -proteobacteria: The Darwin finches of the bacterial world. *Biology Letters*, **5**(3), 429–432. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0793>
- Ewing, C. P., Andreishcheva, E. & Guerry, P. (2009). Functional characterization of flagellin glycosylation in *Campylobacter jejuni* 81-176. *Journal of Bacteriology*, **191**(22), 7086–7093. <https://doi.org/10.1128/JB.00378-09>
- Faulds-Pain, A., Birchall, C., Aldridge, C., Smith, W., Grimaldi, G., Nakamura, S., Miyata, T., Gray, J., Li, G., Tang, J. X., Namba, K., Minamino, T. & Aldridge, P. D. (2011). Flagellin redundancy in *Caulobacter crescentus* and its implications for flagellar filament assembly. *Journal of Bacteriology*, **193**(11), 2695–2707. <https://doi.org/10.1128/JB.01172-10>
- Ferooz J., Lemaire J. & Letesson, J. (2011). Role of FlhT in flagellin production in *Brucella melitensis*. *Microbiology*, **157**, 1253–1262. <https://doi.org/10.1099/mic.0.044867-0>
- Frye, J., Karlinsey, J., Felise, H., Marzolf, B., Dowidar, N., McClelland, M. & Hughes, K. (2006). Identification of New Flagellar Genes of *Salmonella enterica*. *Journal of Bacteriology*, **188**(6), 2233–2243. <https://doi.org/10.1128/JB.188.6.2233>
- Gao, B., Lara-Tejero, M., Lefebvre, M., Goodman, A. & Galán, J. (2014). Novel components of the flagellar system in epsilonproteobacteria. *MBio*, **5**(3), 1–13. <https://doi.org/10.1128/JB.188.6.2233>

- org/10.1128/mBio.01349-14
- Gillen, K. & Hughes, K. (1991). Molecular characterization of *flgM*, a gene encoding a negative regulator of flagellin synthesis in *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology*, **173**(20), 6453–6459. <https://doi.org/10.1128/jb.173.20.6453-6459.1991>
- Gober, J. W. & Marques, M. V. (1995). Regulation of cellular differentiation in *Caulobacter crescentus*. *Microbiological Reviews*, **59**(1), 31–47. <https://doi.org/10.1128/mbr.59.1.31-47.1995>
- Golden, N. & Acheson, D. (2002). Identification of motility and autoagglutination *Campylobacter jejuni* mutants by random transposon mutagenesis. *Infection and Immunity*, **70**(4), 1761–1771. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.4.1761-1771.2002>
- Goon, S., Ewing, C. P., Lorenzo, M., Pattarini, D., Majam, G. & Guerry, P. (2006). A ζ 28-regulated nonflagella gene contributes to virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. *Infection and Immunity*, **74**(1), 769–772. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.1.769-772.2006>
- Guerry, P., Ewing, C. P., Schirm, M., Lorenzo, M., Kelly, J., Pattarini, D., Majam, G., Thibault, P. & Logan, S. (2006). Changes in flagellin glycosylation affect *Campylobacter* autoagglutination and virulence. *Molecular Microbiology*, **60**(2), 299–311. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05100.x>
- Gupta, R. S. (2006). Molecular signatures (unique proteins and conserved indels) that are specific for the epsilon proteobacteria (Campylobacterales). *BMC Genomics*, **7**(August). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-167>
- Helmann, J., Masiarz, F. & Chamberlin, M. (1988). Isolation and characterization of the *Bacillus subtilis* sigma 28 factor. *Journal of Bacteriology*, **170**(4), 1560–1567. <https://doi.org/10.1128/jb.170.4.1560-1567.1988>
- Hendrixson, D., Akerley, B. & DiRita, V. (2001). Transposon mutagenesis of *Campylobacter jejuni* identifies a bipartite energy taxis system required for motility. *Molecular Microbiology*, **40**(1), 214–224. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02376.x>
- Hendrixson, D. & DiRita, V. (2003). Transcription of σ 54-dependent but not σ 28-dependent flagellar genes in *Campylobacter jejuni* is associated with formation of the flagellar secretory apparatus. *Molecular Microbiology*, **50**(2), 687–702. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03731.x>
- Hernández-Valle, J., Sanchez-Flores, A., Poggio, S., Dreyfus, G. & Camarena, L. (2020). The CtrA Regulon of *Rhodobacter sphaeroides* Favors Adaptation to a Particular Lifestyle. *Journal of Bacteriology*, **202**(7), 1–16. <https://doi.org/10.1128/JB.00678-19>
- Horstmann, J., Lunelli, M., Cazzola, H., Heidemann, J., Kühne, C., Steffen, P., Szeffs, S., Rossi, C., Lokareddy, R., Wang, C., Lemaire, L., Hughes, K., Uetrecht, C., Schlüter, H., Grassl, G., Stradal, T., Rossez, Y., Kolbe, M. & Erhardt, M. (2020). Methylation of *Salmonella Typhimurium* flagella promotes bacterial adhesion and host cell invasion. *Nature Communications*, **11**(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15738-3>
- Hughes, K., Gillen, K., Semon, M. & Karlinsey, J. (1993). Sensing structural intermediates in bacterial flagellar assembly by export of a negative regulator. *Science*, **262**(5137), 1277–1280. <https://doi.org/10.1126/science.8235660>
- Josenshans, C., Vossebein, L., Friedrich, S. & Suerbaum, S. (2002). The neuA/flmD gene cluster of *Helicobacter pylori* is involved in flagellar biosynthesis and flagellin glycosylation. *FEMS Microbiology Letters*, **210**(2), 165–172. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)00638-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)00638-9)
- Joslin, S. & Hendrixson, D. (2009). Activation of the *Campylobacter jejuni* FlgSR two-component system is linked to the flagellar export apparatus. *Journal of Bacteriology*, **191**(8), 2656–2667. <https://doi.org/10.1128/JB.01689-08>
- Karlinsey, J. E., Tsui, H., Winkler, M. & Hughes, K. (1998). Flk couples *flgM* translation to flagellar ring assembly in *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology*, **180**(20), 5384–5397. <https://doi.org/10.1128/jb.180.20.5384-5397.1998>
- Klose, K. & Mekalanos, J. (1998). Differential regulation of multiple flagellins in *Vibrio cholerae*. *Journal of Bacteriology*, **180**(2), 303–316. <https://doi.org/10.1128/jb.180.2.303-316.1998>
- Kobayashi, K. (2007). Gradual activation of the response regulator DegU controls serial expression of genes for flagellum formation and biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, **66**(2), 395–409. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05923.x>
- Kutsukake, K., Ohya, Y. & Iino, T. (1990). Transcriptional analysis of the flagellar regulon of *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology*, **172**(2), 741–747. <https://doi.org/10.1128/jb.172.2.741-747.1990>
- Laub, M., Chen, S., Shapiro, L. & McAdams, H. (2002). Genes directly controlled by CtrA, a master regulator of the *Caulobacter* cell cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**(7), 4632–4637. <https://doi.org/10.1073/pnas.062065699>
- LaVallie, E. & Stahl, M. (1989). Cloning of the flagellin gene from *Bacillus subtilis* and complementation studies of an *in vitro*-derived deletion mutation. *Journal of Bacteriology*, **171**(6), 3085–3094. <https://doi.org/10.1128/jb.171.6.3085-3094.1989>
- Lertsethtakarn, P., Ottemann, K. & Hendrixson, D. (2011). Motility and chemotaxis in *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Annual Review of Microbiology*, **65**, 389–410. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102908>
- Linton, D., Gilbert, M., Hitchen, P. G., Dell, A., Morris, H. R., Wakarchuk, W. W., Gregson, N. A. & Wren, B. W. (2000). Phase variation of a β -1,3 galactosyltransferase

- involved in generation of the ganglioside GM1-like lipooligosaccharide of *Campylobacter jejuni*. *Molecular Microbiology*, **37**(3), 501–514. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02020>.
- Llewellyn, M., Dutton, R., Easter, J., O'Donnol, D. & Gober, J. (2005). The conserved *flaF* gene has a critical role in coupling flagellin translation and assembly in *Caulobacter crescentus*. *Molecular Microbiology*, **57**(4), 1127–1142. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04745.x>
- Macnab, R. (2003). How Bacteria Assemble Flagella. *Annual Review of Microbiology*, **57**(1), 77–100. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090832>
- Mangan, E., Malakooti, J., Caballero, A., Ely, B., Gober, J. & Anderson, P. (1999). FlbT Couples Flagellum Assembly to Gene Expression in *Caulobacter crescentus*. *Journal of Bacteriology*, **181**(19), 6160–6170. <https://doi.org/10.1128/JB.181.19.6160-6170.1999>.
- McNally, D. J., Hui, J. P. M., Aubry, A. J., Mui, K. K. K., Guerry, P., Brisson, J. R., Logan, S. M. & Soo, E. C. (2006). Functional characterization of the flagellar glycosylation locus in *Campylobacter jejuni* 81-176 using a focused metabolomics approach. *Journal of Biological Chemistry*, **281**(27), 18489–1849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603777200>
- Michel, E., Mengaud, J., Galsworthy, S. & Cossart, P. (1998). Characterization of a large motility gene cluster containing the *cheR*, *motAB* genes of *Listeria monocytogenes* and evidence that PrfA downregulates motility genes. *FEMS Microbiology Letters*, **169**(2), 341–347. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00498-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00498-4)
- Minamino, T. & Macnab, R. (1999). Interactions among components of the *Salmonella* flagellar export apparatus and its substrates. *Molecular Microbiology*, **35**(5), 1052–1064. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01771.x>
- Muir, R. & Gober, J. (2001). Regulation of late flagellar gene transcription and cell division by flagellum assembly in *Caulobacter crescentus*. *Molecular Microbiology*, **41**(1), 117–130. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02506.x>
- Muir, R. & Gober, J. (2004). Regulation of FlbD activity by flagellum assembly is accomplished through direct interaction with the trans-acting factor, FlhX. *Molecular Microbiology*, **54**(3), 715–730. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04298.x>
- Mukherjee, S. & Kearns, D. (2014). The Structure and Regulation of Flagella in *Bacillus subtilis*. *Annual Review of Genetics*, **48**(1), 319–340. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120213-092406>
- Mukherjee, S., Yakhnin, H., Kysela, D., Sokoloski, J., Babitzke, P. & Kearns, D. (2011). CsrA-FlhW interaction governs flagellin homeostasis and a checkpoint on flagellar morphogenesis in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, **82**(2), 447–461. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07822.x>
- Ohnishi, K., Kutsukake, K., Suzuki, H. & Iino, T. (1990). Gene *fliA* encodes an alternative sigma factor specific for flagellar operons in *Salmonella typhimurium*. *MGG Molecular & General Genetics*, **221**(2), 139–147. <https://doi.org/10.1007/BF00261713>
- Patrick, J. & Kearns, D. (2009). Laboratory strains of *Bacillus subtilis* do not exhibit swarming motility. *Journal of Bacteriology*, **191**(22), 7129–7133. <https://doi.org/10.1128/JB.00905-09>
- Poggio, S., Abreu-Goodger, C., Fabela, S., Osorio, A., Dreyfus, G., Vinuesa, P. & Camarena, L. (2007). A complete set of flagellar genes acquired by horizontal transfer coexists with the endogenous flagellar system in *Rhodobacter sphaeroides*. *Journal of Bacteriology*, **189**(8), 3208–3216. <https://doi.org/10.1128/JB.01681-06>
- Poggio, S., Osorio, A., Dreyfus, G. & Camarena, L. (2005). The flagellar hierarchy of *Rhodobacter sphaeroides* is controlled by the concerted action of two enhancer-binding proteins. *Molecular Microbiology*, **58**(4), 969–983. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04900.x>
- Power, P. & Jennings, M. (2003). The genetics of glycosylation in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, **218**(2), 211–222. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)01143-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)01143-6)
- Quon, K., Marczynski, G. & Shapiro, L. (1996). Cell cycle control by an essential bacterial two-component signal transduction protein. *Cell*, **84**(1), 83–93. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80995-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80995-2)
- Radomska, K., Ordoñez, S., Wösten, M., Wagenaar, J. & Van Putten, J. (2016). Feedback control of *Campylobacter jejuni* flagellin levels through reciprocal binding of FlhW to flagellin and the global regulator CsrA. *Molecular Microbiology*, **102**(2), 207–220. <https://doi.org/10.1111/mmi.13455>
- Ramakrishnan, G. & Newton, A. (1990). FlbD of *Caulobacter crescentus* is a homologue of the NtrC (NRI) protein and activates σ 54-dependent flagellar gene promoters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **87**(6), 2369–2373. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.6.2369>
- Ren, F., Lei, T., Song, Z., Yu, T., Li, Q., Huang, J. & Jiao, X. (2018). Could FlhF be a key element that controls *Campylobacter jejuni* flagella biosynthesis in the initial assembly stage? *Microbiological Research*, **207**, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.006>
- Romilly, C., Hoekzema, M., Holmqvist, E. & Wagner, E. (2020). Small RNAs OmrA and OmrB promote class III flagellar gene expression by inhibiting the synthesis of anti-Sigma factor FlgM. *RNA Biology*, **17**(6), 872–880. <https://doi.org/10.1080/15476286.2020.1733801>
- Rust, M., Borchert, S., Niehus, E., Kuehne, S., Gripp, E., Bajceta, A., McMurry, J., Suerbaum, S., Hughes, K. & Josenhans, C. (2009). The *Helicobacter pylori* anti-sigma factor FlgM is predominantly cytoplasmic and

- cooperates with the flagellar basal body protein FlhA. *Journal of Bacteriology*, **191**(15), 4824–4834. <https://doi.org/10.1128/JB.00018-09>
- Schaubach, O. & Dombroski, A. (1999). Transcription initiation at the flagellin promoter by RNA polymerase carrying σ_{28} from *Salmonella typhimurium*. *Journal of Biological Chemistry*, **274**(13), 8757–8763. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.13.8757>
- Schirm, M., Soo, E., Aubry, A., Austin, J., Thibault, P. & Logan, S. (2003). Structural, genetic and functional characterization of the flagellin glycosylation process in *Helicobacter pylori*. *Molecular Microbiology*, **48**(6), 1579–1592. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03527.x>
- Serizawa, M., Yamamoto, H., Yamaguchi, H., Fujita, Y., Kobayashi, K., Ogasawara, N. & Sekiguchi, J. (2004). Systematic analysis of SigD-regulated genes in *Bacillus subtilis* by DNA microarray and Northern blotting analyses. *Gene*, **329**(1–2), 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2003.12.024>
- Shelswell, K. J., Taylor, T. & Beatty, J. T. (2005). Photoresponsive flagellum-independent motility of the purple phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus*. *Journal of Bacteriology*, **187**(14), 5040–5043. <https://doi.org/10.1128/JB.187.14.5040-5043.2005>
- Smith, T. & Hoover, T. R. (2009). Chapter 8 Deciphering Bacterial Flagellar Gene Regulatory Networks in the Genomic Era. En Laskin, A., Sariaslani, S. & Gadd G. (Ed). *Advances in Applied Microbiology* (1st ed., Vol. 67, Issue C). Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)01008-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)01008-3)
- Soutourina, O. & Bertin, P. (2003). Regulation cascade of flagellar expression in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, **27**(4), 505–523. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00064-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00064-0)
- Tasteyre, A., Barc, M. C., Karjalainen, T., Dodson, P., Hyde, S., Bourlioux, P. & Borriello, P. (2000). A *Clostridium difficile* gene encoding flagellin. *Microbiology*, **146**(4), 957–966. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-4-957>
- Wang, F., Burrage, A., Postel, S., Clark, R., Orlova, A., Sundberg, E., Kearns, D. & Egelman, E. (2017). A structural model of flagellar filament switching across multiple bacterial species. *Nature Communications*, **8**(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01075-5>
- Wang, H., Ziesche, L., Frank, O., Michael, V., Martin, M., Petersen, J., Schulz, S., Wagner-Döbler, I. & Tomasch, J. (2014). The CtrA phosphorelay integrates differentiation and communication in the marine alphaproteobacterium *Dinoroseobacter shibae*. *BMC Genomics*, **15**(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-130>
- Wösten, M., Van Dijk, L., Veenendaal, A., De Zoete, M., Bleumink-Pluijm, N. & Van Putten, J. (2010). Temperature-dependent FlgM/FliA complex formation regulates *Campylobacter jejuni* flagella length. *Molecular Microbiology*, **75**(6), 1577–1591. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07079.x>
- Wösten, M., Wagenaar, J. & Van Putten, J. (2004). The FlgS/FlgR Two-component Signal Transduction System Regulates the fla Regulon in *Campylobacter jejuni*. *Journal of Biological Chemistry*, **279**(16), 16214–16222. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400357200>
- Xu, Z., Dutton, R. J. & Gober, J. W. (2011). Direct interaction of FliX and FlbD is required for their regulatory activity in *Caulobacter crescentus*. *BMC Microbiology*, **11**. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-89>
- Yakhnin, H., Pandit, P., Petty, T. J., Baker, C. S., Romeo, T. & Babbitzke, P. (2007). CsrA of *Bacillus subtilis* regulates translation initiation of the gene encoding the flagellin protein (hag) by blocking ribosome binding. *Molecular Microbiology*, **64**(6), 1605–1620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05765.x>
- Wiggs, J. L., Gilman, M. Z. & Chamberlin, M. J. (1981). Heterogeneity of RNA polymerase in *Bacillus subtilis*: evidence for an additional sigma factor in vegetative cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **78**(5), 2762–2766. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.5.2762>