

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROBERTO FULTON RIVERA

**IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO
DE *Herbaspirillum rubrisubalbicans***

CURITIBA

2017

**IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO DE *Herbaspirillum rubrisubalbicans*
2017**

ROBERTO FULTON RIVERA

IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO DE
Herbaspirillum rubrisubalbicans

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Biomedicina da Universidade Federal do
Paraná como requisito à obtenção do grau de
Bacharel em Biomedicina

Orientadora: Prof.^a Dra Rose Adele Monteiro

CURITIBA

2017

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à Prof.^a Rose Adele Monteiro pela atenção e paciência durante a orientação deste trabalho. Agradeço também aos integrantes da banca avaliadora.

À Prof.^a Katya Naliwaiko e demais integrantes e funcionários da coordenação da Biomedicina pelo auxílio durante minha graduação. Aos demais professores que me orientaram ou auxiliaram em projetos passados.

Finalmente, à minha família e amigos pelo incentivo e carinho dispensados a mim durante todos esses anos.

RESUMO

A *Herbaspirillum rubrisubalbicans* é uma bactéria endofítica e diazotrófica pertencente à classe β das Proteobactérias. É um importante modelo para o estudo das interações planta-bactéria e pode se associar a diversas espécies de gramíneas de interesse econômico e pode ser usada como biofertilizante devido à sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico. As proteínas reguladoras de transcrição possuem um domínio de ligação ao DNA e, de acordo com os sinais recebidos, podem ativar ou reprimir a expressão gênica. O objetivo deste trabalho foi identificar e classificar as proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans* buscando um maior entendimento quanto aos processos celulares presentes nessa espécie. Para isso foi utilizada a anotação genômica de *H. rubrisubalbicans* e também ferramentas de bioinformática que permitiram identificação dos domínios estruturais presentes nas proteínas reguladoras e a classificação das mesmas em famílias. Foram identificadas 220 proteínas reguladoras de transcrição e a classificação das mesmas revelou que as famílias LysR, GntR e AraC englobavam uma grande quantidade de fatores de transcrição. Também foram analisadas proteínas reguladoras de *H. rubrisubalbicans* observadas sendo expressas em uma interação planta-bactéria com o sorgo, uma das espécies de interesse econômico cujo cultivo pode se beneficiar da utilização de *H. rubrisubalbicans* como biofertilizante.

Palavras-chave: *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, expressão gênica, proteínas reguladoras de transcrição, classificação estrutural de proteínas

ABSTRACT

Herbaspirillum rubrisubalbicans is an endophytic and diazotrophic bacteria that is part of Proteobacteria class β . It's an important model in the study of plant-bacteria interactions and can associate itself with several species of gramineae of economic interest and can be used as a biofertilizer due to its capacity of fixing atmospheric nitrogen. Transcription factors have a DNA-binding domain and can activate or repress gene expression, depending on the signals received. This work's objective is to identify and classify *H. rubrisubalbicans*' transcription factors for better understanding of the cellular processes present in this species. This was achieved using *H. rubrisubalbicans*' genome annotation, as well as bioinformatics tools that allowed the identification of structural domains found in the transcription factors and, consequently, their classification in protein families. There was a total of 220 identified transcription factors and their classification revealed a large amount of them were encompassed by the LysR, GntR and AraC families. *H. rubrisubalbicans*' transcription factors that were being expressed in a plant-bacteria interaction with sorghum were also analysed. Emphasizing that sorghum is one of the species of economic interest whose farming can benefit from *H. rubrisubalbicans*' utilization as a biofertilizer.

Keywords: *Herbaspirillum rubrisubalbicans*, gene expression, transcription factors, structural classification of proteins

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. <i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	7
1.2. Transcrição em procariotos	7
1.3. Proteínas reguladoras de transcrição	8
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo geral	10
2.2. Objetivos específicos	10
3. METODOLOGIA	11
3.1. Identificação das proteínas reguladoras de transcrição	11
3.2. Identificação dos domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição	11
4. RESULTADOS	12
4.1. Identificação das proteínas reguladoras de transcrição no genoma de <i>H. rubrisubalbicans</i>	12
4.2. Classificação dos domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição de <i>H. rubrisubalbicans</i>	12
4.3. Identificação e classificação das proteínas reguladoras de transcrição <i>H. rubrisubalbicans</i> expressas durante a interação com sorgo	13
4.4. Comparação das proteínas reguladoras de transcrição <i>H. rubrisubalbicans</i> com outras espécies do gênero <i>Herbaspirillum</i>	15
5. DISCUSSÃO	18
6. CONCLUSÃO	19
7. REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Herbaspirillum rubrisubalbicans*

Herbaspirillum rubrisubalbicans é uma bactéria diazotrófica e endofítica que pertence à classe β das Proteobactérias. Originalmente descrita como *Pseudomonas rubrisubalbicans*, foi incluída no gênero *Herbaspirillum* após estudos moleculares. É uma espécie fitopatogênica que pode ser encontrada e isolada em várias gramíneas como arroz, sorgo e cana-de-açúcar (Baldani *et al.*, 1996).

O nome da espécie tem origem nos sintomas da doença da estria mosqueada, causada por essa bactéria em certas variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) e sorgo (*Sorghum bicolor*). Essa doença possui pouca importância econômica pois, além de restrita a poucas variedades, ela não causa a morte da planta, apesar de causar danos às suas folhas (Olivares *et al.*, 1997). Além do comportamento fitopatogênico, a *H. rubrisubalbicans* também promove o crescimento vegetal. Isso a torna um bom modelo para o estudo da interação planta-bactéria (James *et al.*, 1997).

A importância do estudo da *H. rubrisubalbicans* advém de seu potencial como biofertilizante, já que é uma espécie diazotrófica, ou seja, capaz de colonizar tecidos vegetais e promover a fixação do nitrogênio atmosférico em amônia (Baldani *et al.*, 1996). Isso promove o crescimento vegetal, pois o nitrogênio é um dos fatores limitantes desse crescimento. A fixação biológica do nitrogênio realizada por bactérias diazotróficas é uma alternativa viável para suprir as plantas com esse nutriente, substituindo os fertilizantes químicos largamente utilizados atualmente (Alves *et al.*, 2003).

1.2 Transcrição em procariotos

A principal enzima responsável pela transcrição nos procariotos é a RNA-polimerase DNA-dependente, que é composta por pelo menos cinco subunidades. Dentre elas, a subunidade σ , ou fator sigma, pode reconhecer e se ligar aos promotores, que são sequências de DNA onde ocorre a iniciação da transcrição (Wösten, 1998). O núcleo da RNA-polimerase interage com o fator sigma e forma a holoenzima, passando a ser capaz de reconhecer e se ligar ao promotor e efetuar as alterações conformacionais no DNA que

permitem o início da transcrição, como a separação da dupla-fita (Ishihama, 1990).

Existem diversas famílias de fatores σ em bactérias, sendo que as mais relevantes para esse trabalho são: σ^{70} e σ^{54} . A principal diferença entre elas diz respeito à necessidade de proteínas ativadoras interagindo com a holoenzima para que se inicie a transcrição. Enquanto os fatores da família σ^{54} dependem da presença de proteínas ativadoras, os fatores da família σ^{70} formam uma holoenzima que pode iniciar o processo de transcrição de maneira independente (McClure, 1985).

A transcrição em procariotos pode ser dividida em quatro etapas: reconhecimento da região promotora, iniciação, alongamento e terminação (Kumar, 1981; von Hippel, 1984). Na primeira etapa, a holoenzima contendo o fator σ se liga à região promotora e promove a separação das fitas de DNA, formando o complexo binário aberto, o que permite o pareamento das bases da fita molde com os ribonucleotídeos. Na iniciação a RNA-polimerase permanece ligada ao promotor enquanto os primeiros nucleotídeos são incorporados na sequência de RNA sendo transcrita. Na etapa de alongamento a RNA-polimerase se move pela fita de DNA enquanto a cadeia de RNA vai sendo estendida. A terminação ocorre quando cessa a adição de novas bases à cadeia de RNA e o complexo de transcrição se desmonte, o que se dá após o reconhecimento de uma sequência terminadora no DNA (Platt & Richardson, 1992; Lewin, 2000).

1.3 Proteínas reguladoras de transcrição

A regulação da expressão gênica em procariotos costuma ser uma resposta adaptativa a alterações no ambiente. As bactérias possuem uma estrutura de sensoriamento e sinalização que permitem que a célula elabore uma resposta (Parkinson & Kofoed, 1992). A transcrição é o processo principal que precisa ser modificado de acordo com as necessidades. Deve-se a isso o importante papel das proteínas reguladoras de transcrição em possibilitar essa resposta, pois elas recebem os sinais e modificam o perfil de transcrição gênica, na maioria das vezes interagindo diretamente com o DNA (McClure, 1985).

As proteínas reguladoras de transcrição são capazes de ativar ou reprimir a expressão gênica, sendo que muitas delas podem exercer as duas atividades de acordo com o sinal recebido ou ao promotor em que estão ligadas. Em *E. coli* K-12 foram estimados

que 314 genes codificam fatores de transcrição, correspondendo a pouco menos de 10% dos genes codificados por aquele organismo (Perez-Rueda & Collado-Vides, 2000).

A maioria das proteínas reguladoras de transcrição se ligam ao DNA em regiões específicas, logo, influenciando promotores específicos. Há grande variação, no entanto, quanto ao número de genes controlados por cada fator de transcrição. A principal maneira de repressão da transcrição observada nessas proteínas é a inibição da ligação da RNA-polimerase com o promotor, que ocorre quando o fator de transcrição se liga a um sítio repressor dentro ou próximo do promotor. A ativação da transcrição envolve a interação das proteínas reguladoras de transcrição com o fator σ ou outras subunidades da RNA-polimerase, facilitando a interação com o promotor (Rojo, 2001; Browning & Busby, 2004).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Identificar as proteínas reguladoras de transcrição de *Herbaspirillum rubrisubalbicans* e classificá-las em suas famílias, visando um maior entendimento sobre os mecanismos de regulação gênica presentes nessa espécie de procarioto.

2.2. Objetivos específicos:

- Identificar as proteínas reguladoras de transcrição presentes no genoma de *H. rubrisubalbicans* através de análise *in silico*;
- Identificar os domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição encontradas por meio da análise de suas sequências;
- Classificar as proteínas encontradas nas famílias dos reguladores de transcrição de acordo com seus domínios estruturais;

3. METODOLOGIA

3.1. Identificação das proteínas reguladoras de transcrição

As sequências de aminoácidos das proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans*, assim como os genes que as codificam, foram localizadas através da anotação genômica da bactéria, disponível no banco de dados do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), com buscas por palavras-chave (transcription/transcriptional regulator; response regulator). Também foi separado um grupo de proteínas ativadoras que estavam presentes no transcriptoma da *H. rubrisubalbicans* durante a interação com a raiz de sorgo (Balsanelli, dados não publicados).

3.2. Identificação dos domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição

Os domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans* foram identificados com uso dos programas: BlastP (Altschul, 1990) com o banco de dados NCBI-nr; e SMART (Simple Modular Architecture Research Tool) (Schultz *et al.*, 1998 e Letunic *et al.*, 2002) com o banco de dados Pfam (<http://www.sanger.ac.uk>) (Bateman, 2004).

3.3. Comparação entre proteínas reguladoras do gênero *Herbaspirillum*

As proteínas ativadoras encontradas no transcriptoma de *H. rubrisubalbicans* durante a interação com a raiz de sorgo foram comparadas com proteínas de outras espécies de bactérias do gênero *Herbaspirillum* através do programa BlastP (Altschul, 1990). Através do alinhamento de sequências, esse programa apresenta proteínas semelhantes à analisada. A partir disso foram selecionadas as espécies do gênero *Herbaspirillum* que apresentam proteínas com maior grau de identificação com as presentes no transcriptoma analisado.

4. RESULTADOS

4.1. Identificação das proteínas reguladoras de transcrição no genoma de *H. rubrisubalbicans*

As proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans* foram localizadas na anotação genômica desta bactéria, disponível no banco de dados do NCBI, através de buscas por palavras-chave. Assim, foram identificados 220 genes que codificam para proteínas reguladoras de transcrição, valor correspondente a cerca de 4,5% do genoma.

4.2. Classificação dos domínios estruturais das proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans*

As famílias dos reguladores de transcrição geralmente possuem um domínio de ligação ao DNA característico, assim como um domínio receptor de sinal. A classificação das proteínas reguladoras de transcrição se dá de acordo com os domínios estruturais observados. Para a identificação dos domínios estruturais foram usados os programas BlastP e SMART. A Tabela 1 apresenta a distribuição, em famílias, dos reguladores de transcrição de *H. rubrisubalbicans*.

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO DE *H. rubrisubalbicans*

continua

Família	Número de reguladores identificados
LysR	68
GntR	31
AraC	25
TetR	17
MarR	12
IclR	11
OmpR	9
AsnC	6
MerR	6
XRE	6

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO DE *H. rubrisubalbicans*

conclusão

Família	Número de reguladores identificados
DeoR	4
Crp	3
Fis	5
LuxR	4
RpiR	3
ArsR	2
Lacl	2
HrcA	1
LytTR	1
NrdR	1
PadR	1
PaiB	1
TrmB	1
Total	220

Três famílias englobam a maioria das proteínas reguladoras de transcrição de *H. rubrisubalbicans* identificadas. São elas: LysR (31%), GntR (14%) e AraC (11%). Esses valores são próximos aos encontrados em *Herbaspirillum seropedicae* (Invitti, 2006) e também aos observados em *Escherichia coli* K-12 (Perez-Rueda & Collado-Vides, 2000).

A maioria das famílias dos reguladores de transcrição apresentam motivos estruturais do tipo HTH (Helix-turn-helix) em seu domínio de ligação ao DNA. As exceções são as famílias HrcA, LytTR, NrdR e PaiB, cada uma contendo uma proteína. Sendo assim, os motivos estruturais do tipo HTH estão presente em cerca de 98% das proteínas identificadas. Essa prevalência faz com que as variações nos domínios de ligação ao DNA contendo o motivo HTH sejam as principais formas de distinção entre as famílias de reguladores de transcrição.

4.3. Identificação e classificação das proteínas reguladoras de transcrição *H. rubrisubalbicans* expressas durante a interação com sorgo

A partir do transcriptoma de *H. rubrisubalbicans*, obtido durante a interação da bactéria com a raiz do sorgo (Balsanelli, dados não publicados), foram identificadas 20 proteínas reguladoras de transcrição expressas nessa condição. Com o programa BlastP, estas proteínas foram classificadas em famílias de acordo com seus domínios estruturais. A tabela 2 apresenta a distribuição destas proteínas em famílias.

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS REGULADORAS DE TRANSCRIÇÃO DE *H. rubrisubalbicans* EXPRESSAS DURANTE A INTERAÇÃO COM O SORGO

Família	Número de reguladores identificados
Lrp/AsnC	3
TetR/AcrR	3
Fis	2
MarR	2
OmpR	2
AraC	1
Crp/Fnr	1
Lacl	1
PadR	1
Outras	4
Total	20

Dentre as famílias encontradas, a maioria possui o domínio HTH, as exceções são Fis, e OmpR. AraC é a única família da lista a ter seu domínio HTH na extremidade c-terminal e é formada por proteínas ativadoras. A família Lrp/AsnC pode ativar ou reprimir a biossíntese de asparagina, além de atuar em operons de diversos processos celulares. TetR é uma família de repressores que atuam principalmente em operons que regulam o transporte transmembranas. MarR é parte de um sistema de resistência múltipla a antibióticos. Crp/Fnr é uma família bastante versátil, atuando como repressora ou ativadora em diversos sistemas celulares. Lacl e PadR são famílias de repressores, as proteínas da família Lacl estão geralmente envolvidas em mecanismos de obtenção de carbono, enquanto as da família PadR atuam no metabolismo do ácido fenólico (Perez-Rueda & Collado-Vides, 2000; Grkovic *et al.*, 2002).

A família Fis, não possuem o domínio HTH, mas interagem com o DNA alterando sua estrutura em pontos específicos, sendo assim, essas proteínas são chamadas de fatores de

estímulo de inversão. OmpR é uma família de ativadores que atuam nas respostas adaptativas da célula e se ligam ao DNA através de um domínio de hélice alada. Na categoria outras se encontram duas proteínas reguladoras que ainda não tiveram suas famílias identificadas, juntamente com uma proteína que regula o metabolismo do níquel e de outra que promove a biossíntese de núcleos de ferro-enxofre (Galperin, 2006).

4.4. Comparação das proteínas reguladoras de transcrição *H. rubrisubalbicans* com outras espécies do gênero *Herbaspirillum*

O grupo de proteínas reguladoras da transcrição expressas durante a interação com o sorgo foi comparado com proteínas de outras espécies de bactérias do gênero *Herbaspirillum* através do programa BlastP. Isso foi feito selecionando as espécies cujas proteínas tinham maior grau de identidade em relação a cada uma das 20 proteínas de *H. rubrisubalbicans* presentes no transcriptoma. A tabela 3 mostra quais proteínas reguladoras da transcrição de *H. rubrisubalbicans* possuem semelhantes em outras espécies do gênero *Herbaspirillum* e qual o grau de identificação entre essas proteínas. As proteínas estão identificadas pelo *locus* do gene que as codificam no genoma de *H. rubrisubalbicans*. Também foram discriminadas as famílias de cada proteína, com exceção das que não foram identificadas.

TABELA 3 – COMPARAÇÃO DE PROTEÍNAS ATIVADORAS DE *H. rubrisubalbicans* COM OUTRAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Herbaspirillum*

Espécie/proteína (família)	Hrubri_0242 (Lrp/AsnC)	Hrubri_0254 (TetR)	Hrubri_1456 (OmpR)	Hrubri_1556 (Lrp/AsnC)	Hrubri_1568 (Lrp/AsnC)
<i>H. aquaticum</i>	86	85			
<i>H. autotrophicum</i>				90	93
<i>H. chlorophenolicum</i>			70	95	98
<i>H. frisingense</i>	90	82	82		
<i>H. hiltneri</i>					93
<i>H. huttiense</i>	87	86	85		
<i>H. lusitanum</i>					93
<i>H. rhizosphaerae</i>				85	
<i>H. seropedicae</i>	84	84			
<i>Herbaspirillum sp. B65</i>	96	96	99		
<i>Herbaspirillum sp. GW103</i>				99	98

Espécie/proteína (família)	Hrubri_1780 (Fis)	Hrubri_2082 (OmpR)	Hrubri_2161 (TetR)	Hrubri_2329 (NikR)	Hrubri_2356 (IscA)
<i>H. aquaticum</i>	89		90		
<i>H. autotrophicum</i>				69	
<i>H. chlorophenolicum</i>	74	96			
<i>H. frisingense</i>	85	96	93	81	99
<i>H. hiltneri</i>		89			
<i>H. huttense</i>	89		90		
<i>H. lusitanum</i>		89			
<i>H. rhizosphaerae</i>		89		78	
<i>H. seropedicae</i>	86		91		
<i>Herbaspirillum</i> sp. B65				98	
<i>Herbaspirillum</i> sp. GW103		98	90		

Espécie/proteína (família)	Hrubri_2378 (sem id.)	Hrubri_2522 (LacI)	Hrubri_2787 (TetR)	Hrubri_3209 (Crp/Fnr)	Hrubri_3609 (PadR)
<i>H. aquaticum</i>		93	89	96	88
<i>H. autotrophicum</i>					
<i>H. chlorophenolicum</i>		79	90	90	73
<i>H. frisingense</i>	95	92	89	95	86
<i>H. hiltneri</i>					
<i>H. huttense</i>		93	90	96	89
<i>H. lusitanum</i>					
<i>H. rhizosphaerae</i>					
<i>H. seropedicae</i>		92	92	92	90
<i>Herbaspirillum</i> sp. B65					
<i>Herbaspirillum</i> sp. GW103		92		94	

Espécie/proteína (família)	Hrubri_4007 (sem id.)	Hrubri_4422 (MarR)	Hrubri_4444 (AraC)	Hrubri_4592 (MarR)	Hrubri_4707 (Fis)
<i>H. aquaticum</i>			97		91
<i>H. autotrophicum</i>	96				
<i>H. chlorophenolicum</i>	98		83		
<i>H. frisingense</i>			96		
<i>H. hiltneri</i>					
<i>H. huttense</i>			97		90
<i>H. lusitanum</i>	96				
<i>H. rhizosphaerae</i>					
<i>H. seropedicae</i>			96	97	
<i>Herbaspirillum</i> sp. B65					98
<i>Herbaspirillum</i> sp. GW103	100		98		

Pode-se observar que apenas a proteína codificada pelo gene no locus Hrubri_4422 do genoma da *H. rubrisubalbicans* não possui similaridade com nenhuma outra espécie presente na tabela. Essa proteína, no entanto, possui semelhantes em espécies de outros gêneros, além da espécie *Herbaspirillum sp. WT00C*.

5. DISCUSSÃO

A quantidade e variedade estrutural encontrada entre as proteínas reguladoras de transcrição em *H. rubrisubalbicans* foi coerente com o que estudos anteriores haviam encontrado em outras espécies de bactéria. Incluindo a predominância de proteínas contendo o motivo estrutural HTH em seu domínio de ligação ao DNA.

A distribuição das proteínas encontradas no transcriptoma durante a interação planta-bactéria, no entanto, foi mais equilibrada, com 16 das proteínas distribuídas entre 9 famílias. Nota-se também uma maior presença relativa de proteínas sem o domínio HTH em sua extremidade de ligação ao DNA.

Foi demonstrado, também, que as proteínas encontradas no transcriptoma possuem semelhantes em pelo menos uma outra espécie do gênero *Herbaspirillum*, o que pode indicar um grau de conservação dos mecanismos de regulação da expressão gênica nessas espécies.

6. CONCLUSÃO

A partir do genoma da bactéria *H. rubrisubalbicans* foram identificadas 220 proteínas reguladoras de transcrição, que foram classificadas em famílias de acordo com seus domínios estruturais. Também foi analisado um grupo de 20 proteínas reguladoras que se encontravam expressas durante uma interação planta-bactéria. Além da classificação estrutural, no entanto, existem vários outros métodos disponíveis que podem contribuir para um maior entendimento sobre os mecanismos de regulação gênica em *H. rubrisubalbicans*.

Desse modo, a perspectiva é que novos estudos esclareçam mais sobre essa espécie e sobre o funcionamento de sua interação planta-bactéria, tornando-a uma alternativa mais interessante para o uso como biofertilizante.

7. REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **J. Mol. Biol.** 215, p. 403-410, 1990.

ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant Soil.** 252, p. 1–9, 2003.

BALDANI, J.I.; POT, B.; KIRCHHOF, G.; FALSEN, E.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; HARTMANN, A.; GILLIS, M.; DOBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF Group 1) as *Herbaspirillum* Species 3. **Int. J. Syst. Bacteriol.** 46, p. 802–810, 1996.

BATEMAN, A.; COIN, L.; DURBIN, R.; FINN, R.D.; HOLLICH, V.; GRIFFITHS-JONES, S.; KHANNA, A.; MARSHALL, M.; MOXON, S.; SONNHAMMER, E.L.L.; STUDHOLME, D.J.; YEATS, C.; EDDY, S.R. The Pfam protein families database. **Nuc. Acid Res.** v.32, database issue, 2004.

BROWNING, D.F.; BUSBY, S.J.W. The regulation of bacterial transcription initiation. **Nature Rev. Microbiol.** v.2, p1-9, 2004.

GALPERIN, M Y. Structural Classification of Bacterial Response Regulators: Diversity of Output Domains and Domain Combinations. **Journal of Bacteriology.** p. 4169-4182, 2006.

GRKOVIC, S.; BROWN, M.H.; SKURRAY, R.A. Regulation of bacterial drug export systems. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** v. 66, p.671-701, 2002.

INVITTI, A. L. **Determinação de sequências de DNA reconhecidas por proteínas reguladoras de transcrição dependentes do fator sigma 54 da RNA-polimerase de *Herbaspirillum seropedicae*.** Dissertação de mestrado. UFPR, 2006.

ISHIHAMA, A. Molecular assembly and functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase. **Adv. Biophys.** v.26, p. 19-31, 1990.

JAMES, E.K.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. *Herbaspirillum*, an endophytic diazotroph colonizing vascular tissue in leaves of *Sorghum bicolor* L. Moench. **Journal of experimental botany.** v. 48, n. 308, p. 785-797, 1997.

KUMAR, S.A. The structure and mechanism of action of bacterial DNA-dependent RNA polymerase. **Prog. Biophys. Molec. Biol.** v. 38, p. 163-210, 1981.

LETUNIC, I.; GOODSTADT, L.; DICKENS, N.J.; DOERKS, T.; SCHULTZ, J.; MOTT, R.; CICCARELLI, F.; COPLEY, R.R.; PONTING, C.P.; BORK, P. Recent improvements to the SMART domain-based sequence annotation resource. **Nucleic Acid Res.** v.30, p. 242-244, 2002,

LEWIN, B. **Genes VII**, Cambridge, Oxford University Press, 2000.

MCCLURE, W.R. Mechanism and control of transcription initiation in prokaryotes. **Ann. Rev. Biochem.** v. 54, p. 171-204, 1985.

OLIVARES, F.L.; JAMES, E.K.; BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. Infection of mottled stripe disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. **New Phytol.** v.135, p. 723-737, 1997.

PARKINSON, J.S.; KOFOID, E.C. Communication modules in bacterial signaling proteins. **Annu. Rev. Genet.** v.26, p71-112, 1992.

PÉREZ-RUEDA, E.; COLLADO-VIDES, J. The repertoire of DNA-binding transcriptional regulators in *Escherichia coli* K-12. **Nucleic Acid Res.** v.28(8), p. 1838-1847, 2000.

PLATT, T.; RICHARDSON, J.P. *Escherichia coli* Rho factor: protein and enzyme of transcription termination. **Transcriptional Regulation.** v.1, p. 365-388, 1992.

ROJO, F. Mechanisms of transcriptional repression. **Curr. Op. Microbiol.** v.4, p. 145-151, 2001.

SCHMIDT, M.A. **Análise funcional e estrutural do sistema de secreção do tipo III em *Herbaspirillum rubrisubalbicans* M1.** Tese de doutorado. UFPR, 2013

SCHULTZ, J.; MILPETZ, F.; BORK, P.; PONTING, C.P. SMART, a simple modular architecture research tool: identification of signalling domains. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** v.95, p. 5857-5864, 1998.

VON HIPPEL, P.H.; BEAR, D.G.; MORGAN, W.D.; MCSWIGGEN, J.A. Protein-nucleic acid interactions in transcription: a molecular analysis. **Ann. Rev. Biochem.** v. 53, p. 389-446, 1984.

WÖSTEN, M.M.S.M. Eubacterial Sigma-factors. **FEMS Microbiol. Rev.** v.22, p. 127-150, 1998.