

© 2025 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, 28: 1-22, 2025.  
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2025.700>

## Las bacterias Firmicutes también respiran: La cadena respiratoria de *Bacillus subtilis*

**Emma Berta Gutiérrez Cirlos Madrid**

Laboratorio de Bioquímica y Bioenergética, Unidad de Investigación en Biomedicina,  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Avenida de los Barrios #1. Colonia Los Reyes  
Iztacala, 54090, Tlalnepantla Estado de México, México. E-mail: ember@unam.mx

### RESUMEN

*Bacillus subtilis* tiene forma de bastón y se encuentra en sitios como el suelo, el agua o en la comida. Como bacteria Gram positiva, cuenta con una sola membrana, por lo que no tiene un compartimento para el citocromo c, sin embargo, respira con la enzima citocromo c oxidasa. En general, no causa daño al hombre y algunas especies del género contribuyen a mejorar la microbiota intestinal. Esta bacteria es la que más se ha estudiado de las Gram positivas. En esta revisión se hizo una descripción de los diferentes complejos de proteína que integran la cadena transportadora de electrones de *B. subtilis*, y de las asociaciones que ocurren entre estos complejos. También se describen la regulación de la expresión de ellos y las posibles repercusiones de su funcionamiento y asociaciones con otras proteínas de la membrana celular. Con esta revisión se presenta un panorama general de la cadena respiratoria tan especial de esta bacteria y la importancia de su estudio.

**Palabras clave:** *Bacillus subtilis*, cadena respiratoria, supercomplejos, bioenergética.

### Bacteria from the Firmicutes kingdom breathe too: the respiratory chain of *Bacillus subtilis*

### ABSTRACT

*Bacillus subtilis* is a rod-shaped bacterium that is found in soil, water or in food. It is a Gram-positive bacterium with a single membrane and cytochrome c has no compartment, but it has a cytochrome oxidase. It doesn't cause harm to humans and some species are used to improve human microbiota. This species is the most studied Gram-positive bacteria. In this review the different protein complexes that form the electron transport chain of *B. subtilis* are reviewed focused on the different associations that can occur between them. Also, the review focuses on the regulation of their expression and possible repercussions to their function and association with other proteins from the membrane. With this review, the intention is to give a general view of this very special bacteria and the importance of studying its respiratory chain.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, respiratory chain, supercomplexes, Bioenergetics.

## INTRODUCCIÓN



### ¿QUÉ ES *BACILLUS SUBTILIS*?

*Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva con forma de bastón que forma endosporas (Kovács, 2019). Se encuentra en el suelo, en el agua e incluso en los alimentos. *B. subtilis* pertenece al reino Firmicutes y a la familia Bacillaceae. La mayoría de las especies en esta familia son aeróbicas y anaeróbicas facultativas o quimio-organotróficas. Se encuentran en ambientes diversos, en temperaturas entre los 30° y 65°C, en pH ácidos o básicos, con alto contenido de nitratos y salinidades altas (7% de NaCl), etc. (Slepecky & Hemphill, 2006). Tienen pared celular y forman endosporas que son su forma de resistencia cuando las condiciones son adversas (Khanna, Lopez-Garrido & Pogliano, 2020; Setlow, 2006; Schleifer, 2009). A *Bacillus* se le considera el género tipo para esta familia y a *B. subtilis* Cohn, 1874, la especie tipo. Es una bacteria con contenido de G+C bajo, menor a 50% (42.9 – 43.1%), (Schleifer, 2009).

### *B. subtilis* TIENE UNA PARED CELULAR PROTECTORA

La bacteria fue descrita con una pared celular formada por una capa de peptidoglicanos que son polisacáridos compuestos por dos derivados de azúcares: N-acetil glucosamina (GlcNAc, por sus siglas en inglés) y ácido N-acetilmurámico (MurNAc) que se unen por enlaces glicosídicos  $\beta$ 1,4 a las hebras de glicanos y se alternan dándole rigidez (Bhavsar & Brown, 2006; Madigan, Martinko, Bender, Buckley, Sattley & Stahl, 2017). Además de un tetrapéptido de L-lisina, L-alanina, D-alanina y D-ácido glutámico que se une al grupo carboxilo del MurNAc. Los tetrapéptidos se fusionan con el MurNAc por enlaces peptídicos; con ácido meso-diaminopimélico (*m*-DAP, por sus siglas en inglés) que es otro tipo de aminoácido. Con los enlaces peptídicos se forman entrecruzamientos en dirección X y Y que le da fortaleza y resistencia a la pared celular. La capa contiene los ácidos teicoico y teicurónico (Angeles & Scheffers, 2021). La pared también tiene polímeros aniónicos y ácidos: teicoico (WTA, por sus siglas en inglés) y lipoteicoico (LTA, por sus siglas en inglés), que unen a los peptidoglicanos. Estos polímeros son ricos en fosfatos que le dan una carga negativa a la pared, característica importante en la cadena respiratoria como lo muestran los trabajos de varios autores.

### LA COMPOSICIÓN DE LA MEMBRANA DE *B. subtilis* QUE ALOJA A LA CADENA TRANSPORTADORA DE ELECTRONES

*B. subtilis* tiene una membrana celular formada principalmente por fosfatidilglicerol (54%), fosfatidiletanolamina (26.8%) y contiene 0.2% de cardiolipina, además de otros fosfolípidos (Muchová, Wilkinson & Barák, 2011; García Montes de Oca *et al.*, 2016). En estudios recientes los especialistas encontraron la existencia de microdominios en la membrana de *B. subtilis*, que ayudan en la localización de ciertas proteínas ubicadas en la misma estructura (Barák & Muchová, 2013). La cardiolipina es un componente útil para los complejos respiratorios y para la formación de los supercomplejos. Los autores observaron

que en las mutantes carentes de las enzimas que sintetizan cardiolipina, el supercomplejo  $b_6c+caa_3$  se disocia con detergentes como el dodecil maltósido que es suave y que mantiene a los supercomplejos en las membranas de bacterias silvestres (Mileykovskaya & Dowhan, 2009; Arias-Cartin, Grimaldi, Arnoux, Guigliarelli & Magalon, 2012; García Montes de Oca *et al.*, 2016).

### LA CADENA TRANSPORTADORA DE ELECTRONES

La cadena respiratoria (cadena transportadora de electrones, CTE) de *B. subtilis* está formada por varios complejos de proteína embebidos en la membrana celular. Se sugirió la presencia de estos complejos desde que el genoma de la bacteria fue completamente secuenciado de acuerdo a lo manifestado por los autores (Kunst *et al.*, 1997; Moszer, 2002; Hederstedt, 2021). Gracias a ello, hicieron una lista de complejos respiratorios y con el producto génico se conoció su peso molecular, así como el descubrimiento de algunas de las asociaciones entre estos complejos en la membrana de la bacteria que captan electrones del metabolismo celular para llevarlos a la menaquinona, el acarreador móvil hidrofóbico, que a su vez transporta electrones a varios complejos aceptores terminales de electrones. En la Figura 1 se muestra lo hasta aquí expuesto en un esquema de la cadena respiratoria de *B. subtilis* con los complejos que reciben electrones para la cadena (NADH deshidrogenasa, succinato deshidrogenasa y glicerol 3-fosfato deshidrogenasa), el distribuidor hidrofóbico de electrones (la menaquinona 7, MK-7) y las dos ramas de complejos en los que se distribuyen los electrones son: la rama de citocromos (formada por los complejos  $b_6c$  y  $caa_3$  y los citocromos pequeños  $c_{550}$  y  $c_{551}$ ) y la rama de las quinol oxidasas formada por las oxidasas:  $aa_3$ , la  $bb'$  y la  $bd$ .

En la Tabla I está la lista de los complejos respiratorios de *B. subtilis*, incluye sus nombres, su función, los genes que codifican para cada uno, además de los grupos prostéticos y la masa molecular aproximada por subunidad y por monómero de complejo. La Tabla está organizada con los complejos donadores de electrones, la rama de citocromos, la rama de las quinol oxidasas y la enzima nitrato reductasa que, en condiciones anaeróbicas, es el aceptor terminal de los electrones en (Winstedt & von Wachenfeldt, 2000).

### LOS COMPLEJOS TRANSPORTADORES DE ELECTRONES: NADH DESHIDROGENASA (NDH-2)

La investigación de varios autores determinó que este complejo oxida al NADH y reduce a la menaquinona 7 (MK-7). Se encuentra unida a la cara interna de la membrana celular de la bacteria. Es una proteína soluble con dos dominios de unión a los nucleótidos, que tienen el plegamiento de Rossmann, y que consiste en un motivo estructural de hojas beta y hélices alfa en la secuencia: beta-alfa-beta-alfa-beta (Shin & Kihara, 2019; Nelson & Cox, 2021). Con tres sitios de unión para:

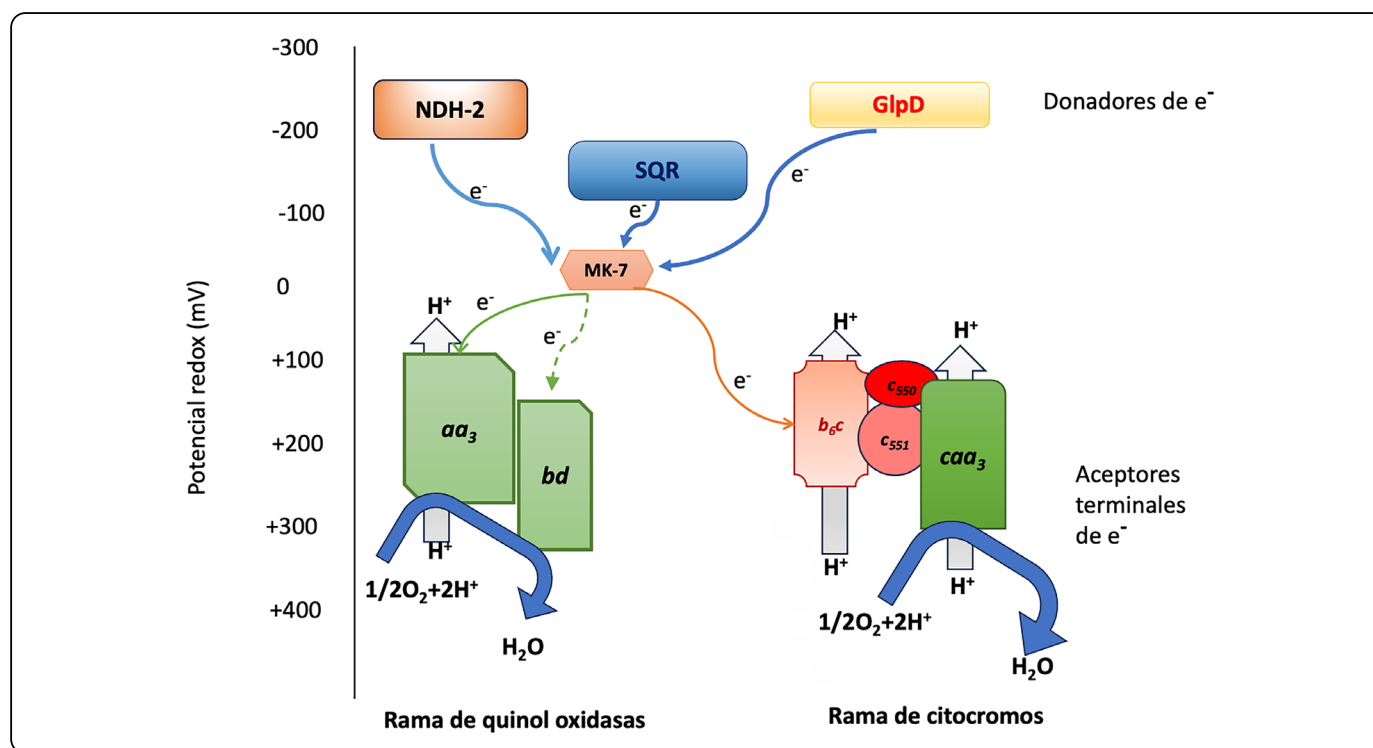


Figura 1. Esquema de la cadena respiratoria de *B. subtilis*. Se muestran los complejos que donan electrones a la cadena (NDH-2, SQR y GlpD), los acarreadores móviles (menaquinona, citocromos  $c_{550}$  y  $c_{551}$ ), los complejos que bombean protones (los complejos  $b_6c$ ,  $caa_3$  y  $aa_3$ ) así como los aceptores terminales de electrones (oxididasas  $caa_3$ ,  $aa_3$ ,  $bd$  y  $bb^*$ ). Se indican la rama de citocromos y la de quinol oxididasas,  $e^-$ : electrones,  $H^+$ : protones. Modificado de Picón Garrido *et al.*, 2022.

flavín adenín dinucleótido (o FAD), NADH, y la MK-7. Este complejo no bombea protones, por lo que pertenece a las NADH deshidrogenasas tipo 2 (NDH-2). En la secuenciación del genoma de *B. subtilis*, en el año 1997, propusieron seis diferentes genes que codifican para NADH deshidrogenasas: *yjID*, *ydgl*, *yutJ*, *yumB*, *ndhF* y *ahpF* por tener un dominio de unión a NADH (Kunst *et al.*, 1997). Demostraron que la eliminación de *yjID* produce una disminución del crecimiento de la bacteria, pero la eliminación de los genes *yumB* y *yutJ* no la afectan (Bergsma, Donen & Konings, 2005; Gyan, Shiohira, Sato, Takeuchi & Sato (2006). Bergsma y colaboradores aislaron a una NDH-2 de *B. subtilis* al utilizar el detergente tritón X-100 para extraerla; sin embargo, los autores no la asignaron a un gene y solo reportaron la composición de aminoácidos (Bergsma, Strijker, Alkema, Seijen & Konings, 1981; Bergsma *et al.*, 2005). Recientemente, se publicó el aislamiento del supercomplejo NADH-*bcc-aa<sub>3</sub>* de la bacteria *Corynebacterium glutamicum*, una bacteria Gram positiva con alto contenido de G+C. Este supercomplejo lo obtuvieron con el detergente MEGA (9+10), que los autores denominaron el “supercomplejo extendido” (Takazaki, Kusumoto, Ishibashi, Yasunaga & Sakamoto, 2022).

El análisis de las seis secuencias de los genes que propusieron como NDH-2 los llevó a eliminar tres de estas proteínas

como posibles NDH-2 y mantener a YjID, YutJ y YumB (Tabla I), (Ramírez Ávila, tesis de licenciatura, manuscrito en preparación). El mismo análisis les mostró que las tres proteínas tienen la región de unión a FAD y NADH, así como el sitio de unión de la MK-7. YjID y YumB tienen una hélice alfa hidrofóbica en el carboxilo terminal, para unión a la membrana, pero el carboxilo terminal de YutJ no tiene este dominio en (Heikal *et al.*, 2014; Nakatani *et al.*, 2017). YjID tiene una masa de 41.8 kDa como monómero. Se identificó a la proteína YjID por medio de geles nativos revelados por la actividad de NADH deshidrogenasa y proteómica en (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Picón Garrido *et al.*, 2022). Esta proteína la encontraron como una banda de 50 kDa sin asociaciones con otras proteínas de la membrana. En estos experimentos se utilizó digitonina que es un detergente débil y permite aislar a los supercomplejos de la membrana, por lo que es posible que la NDH-2 de *B. subtilis* no esté asociada a otros complejos. Hasta el momento, desconocen qué favorece la expresión de YumB y YutJ. La NDH-2 está propuesta como un monómero, tal vez un dímero que se une a la membrana del lado citoplásmico (Heikal *et al.*, 2014; Nakatani *et al.*, 2017). En la levadura, *Saccharomyces cerevisiae*, las tres NDH-2 se expresan y se asocian entre sí lo cual podría pasar también en *B. subtilis* (Fang & Beattie, 2003; Yagi *et al.*, 2006).

Tabla I. Los complejos respiratorios de *B. subtilis*. Los genes que codifican para cada subunidad están enlistados por complejo respiratorio, el número de identidad de Uniprot, así como la masa molecular de cada subunidad y la masa total por monómero de cada complejo. La Tabla está organizada por tres grupos de complejos: donadores de electrones, de la rama de citocromos, de la rama de las quinol oxidasas, otros aceptores de electrones y la ATP sintasa.

DONADORES DE ELECTRONES			
Complejo/gen	UniProt ID	masa (kDa)	Grupos prostéticos
<b>NDH-2</b>	<b>NADH: menaquinona oxidoreductasa (NADH deshidrogenasa)</b>		FAD, NADH, menaquinona
<i>yjID</i>	P80861 · YJLD_BACSU	41.8	
<i>yutJ</i>	O32117 · YUTJ_BACSU	36.8	
<i>yumB</i>	O05267 YUMB_BACSU	44.8	
<b>SQR</b>	<b>Succinato: quinona oxidoreductasa</b>		
<i>sdhA</i>	P08065 SDHA_BACSU	65.2	FAD
<i>sdhB</i>	P08066 SDHB_BACSU	28.3	2Fe-2S, 3Fe-4S, 4Fe-4S
<i>sdhC</i>	P08064 DHSC_BACSU	22.8	2 hemos <i>b</i>
	<b>Masa total del monómero</b>	116.2	
<b>G3Pdh</b>	<b>Glicerol 3-fosfato deshidrogenasa</b>		
<i>glpD</i>	P18158 GLPD_BACSU	62.36	NADH
<b>Rama de los citocromos</b>			
<i>b<sub>6c</sub></i>	<b>Menaquinol: citocromo c oxidoreductasa</b>		
<i>qcrA</i>	P46911 QCRA_BACSU	18.6	2Fe-2S
<i>qcrB</i>	P46912 QCRB_BACSU	25.3	2 hemos <i>b</i> y hemo <i>x</i>
<i>qcrC</i>	P46912 QCRB_BACSU	28.0	Hemo <i>c</i>
	<b>Masa total del monómero</b>	71.9	
<i>caa<sub>3</sub></i>	<b>Citocromo c oxidasa</b>		
<i>ctaC</i>	P24011 COX2_BACSU	39.9	Cu <sub>A</sub> , hemo <i>c</i>
<i>ctaD</i>	P24010 COX1_BACSU	68.9	Cu <sub>B</sub> , hemo <i>a</i> , <i>a<sub>3</sub></i>
<i>ctaE</i>	P24012 COX3_BACSU	23.1	
<i>ctaF</i>	P24012 COX3_BACSU	12.5	
	<b>Masa total del monómero</b>	144.5	
<b>Citocromos pequeños</b>			
<i>cccA</i>	P24469 · C550_BACSU	12.6	Hemo <i>c</i>
<i>cccB</i>	O34594 · CY551_BACSU	11.8	Hemo <i>c</i>
<b>Rama de las quinol oxidasas</b>			
<i>aa<sub>3</sub></i>	<b>Menaquinol oxidasa</b>		
<i>qoxA</i>	P34957 QUINOL OXIDASA2_BACSU	36.1	Hemo <i>a</i> , <i>a<sub>3</sub></i> Cu <sub>B</sub>
<i>qoxB</i>	P34956 QUINOL OXIDASA1_BACSU	73.7	

Tabla I. Los complejos respiratorios de *B. subtilis*. Los genes que codifican para cada subunidad están enlistados por complejo respiratorio, el número de identidad de Uniprot, así como la masa molecular de cada subunidad y la masa total por monómero de cada complejo. La Tabla está organizada por tres grupos de complejos: donadores de electrones, de la rama de citocromos, de la rama de las quinol oxidasas, otros aceptores de electrones y la ATP sintasa (*continuación*).

Complejo/gen	UniProt ID	masa (kDa)	Grupos prostéticos
<i>qoxC</i>	P34958 QUINOL OXIDASA3_BACSU	22.5	
<i>qoxD</i>	P34959 QUINOL OXIDASA4_BACSU	13.5	
	<b>Masa total del monómero</b>	145.8	
<i>bd</i>	<b>Menaquinol oxidasa</b>		
<i>cydA</i>	P94364 CYDA_BACSU	52.1	Hemo <i>b</i> y <i>d</i>
<i>cydB</i>	P94365 CYDB_BACSU	37.7	
	<b>Masa total del monómero</b>	89.8	
<i>bb'</i>	<b>Menaquinol oxidasa</b>		
<i>ythA</i>	C0SP90 YTHA_BACSU	48.5	Hemos <i>b</i>
<i>ythB</i>	O34505 YTHB_BACSU	38.7	
<i>ythC</i>	D4G0F5 D4G0F5_BACNB	6.1	
	<b>Masa total del monómero</b>	93.3	
<i>Nar</i>	<b>Nitrato reductasa</b>		
<i>narG</i>	P42175 NARG_BACSU	138.9	4Fe-4S, Mo-bis(dinucleótido de molibdopterina guanina)
<i>narH</i>	P42176 NARH_BACSU	55.3	3[4Fe-4S], 1[3Fe-4S]
<i>narI</i>	P42177 NARI_BACSU	25.1	2 hemos <i>b</i>
<i>narJ</i>	P42178 NARJ_BACSU	21.1	
	<b>Masa total del monómero</b>	240.4	
	<b>ATP sintasa</b>		
<i>atpA</i>	P37808 ATPA_BACSU	54.6	
<i>atpB</i>	P37813 ATP6_BACSU	27.1	
<i>atpC</i>	P37812 · ATPE_BACSU	14.2	
<i>atpD</i>	P37809 ATPB_BACSU	51.4	
<i>atpE</i>	P37815 ATPL_BACSU	7.1	
<i>atpF</i>	P37814 ATPF_BACSU	19.2	
<i>atpG</i>	P37810 ATPG_BACSU	31.7	
<i>atpH</i>	P37811 ATPD_BACSU	19.9	
<i>atpI</i>	P37816 ATPZ_BACSU	14.5	
	<b>Masa total del monómero</b>	534.8	

### SUCCINATO: MENAQUINONA REDUCTASA (SQR)

La enzima succinato deshidrogenasa (SDH o succinato: menaquinona reductasa, SQR) oxida al succinato y reduce a la menaquinona-7 (MK-7), (Hederstedt, Maguire, Waring & Ohnishi, 1985; Hederstedt, 1986). En estudios realizados se afirma que se puede crecer a la bacteria con succinato como fuente de carbono, sin embargo, termodinámicamente, esta es una reacción desfavorable por los potenciales redox que tienen (el par fumarato/succinato con un potencial redox de +30 mV y MK/ MKH<sub>2</sub> de -70 mV). Este complejo no contribuye a la translocación de protones, pero se ha demostrado que requiere consumir protones para reducir a la MK-7 (Schirawski & Uden, 1998; Schnorpfel, Jansusch, Biel, Kröger & Uden, 2001). También funciona como fumarato reductasa (QFR, por sus siglas en inglés) al contribuir con el gradiente de protones (Schnorpfel *et al.*, 2001). Se concluye de estos datos, que la SQR requiere de la fuerza protón motriz para reducir a la MK-7. En las mitocondrias al añadir succinato, se producen 2.5 H<sup>+</sup>, pero en *B. subtilis* sólo serían 1.5 H<sup>+</sup>, ya que se utiliza un H<sup>+</sup> por oxidación del succinato y reducción de la MK-7 en (Hinkle, 2005; Nicholls & Ferguson, 2013a; Picón Garrido *et al.*, 2022). Esto puede ser significativo cuando se analice la estequiometría ATP/H<sup>+</sup> de la fosforilación oxidativa de *B. subtilis*.

La SQR está formada por tres subunidades codificadas en el operón *SdhCAB* (Hederstedt, 2002). En la Tabla I se muestra la información de cada subunidad de este complejo, la subunidad SdhA contiene al FAD que se reduce con los electrones del succinato, la masa molecular del producto génico es de 65.1 kDa. Es una proteína soluble que se encuentra fuera de la membrana. La subunidad SdhB tiene tres centros hierro-azufre y una masa molecular de 26.8 kDa es una subunidad hidrofílica que tiene contacto con la subunidad SdhC, ésta tiene dos hemo tipo *b* y una masa molecular de 22.9 kDa es la subunidad hidrofóbica del complejo con cinco cruces transmembranales, lo anterior con base en (The UniProt Consortium, 2023). Los potenciales redox reportados para los diferentes grupos óxido reductores se muestran en la Tabla II. El potencial redox del FAD es más bajo que el del succinato, lo que hace difícil esta primera reacción. Es posible que los grupos hierro-azufre en la subunidad SdhB participen en esta oxidación. El sitio de reducción de la MK-7 lo localizaron cerca del hemo de bajo potencial redox en SdhC (Haegerhaell, Aasa, Von Wachenfeldt & Hederstedt, 1992; Matsson, Tolstoy, Aasa & Hederstedt, 2000). El camino de los electrones podría ser el succinato>FAD>2Fe-2S>3Fe-4S>4Fe-4S>hemo *b<sub>p</sub>*>hemo *b<sub>D</sub>*>MK-7 (Nicholls & Ferguson, 2013b). Sin embargo, aún no se ha hecho un modelo del mecanismo redox para incluir a los protones que se consumen para llevar a cabo esta reacción.

La SQR de *B. subtilis* es un monómero de masa molecular de 117 kDa. Este complejo no ha sido cristalizado y se desconoce su estructura cuaternaria. Si comparamos la secuencia de aminoácidos de la SQR de *B. subtilis* con otras SQR en las que

si se conoce ésta, se sabría de qué tipo es por una clasificación de las SQR, un número de subunidades membranales, un número de cruces transmembranales y un número de hemo *b*. Por ejemplo, se sabe que la SQR de mamífero y de *Escherichia coli* están en la clase C porque tienen una subunidad membranal con dos cruces transmembranales y un hemo tipo *b* (Yankovskaya *et al.*, 2003; Gong *et al.*, 2020). La clase A agrupa SQRs de tres subunidades membranales con tres cruces transmembranales dos de ellas y la tercera subunidad con un cruce transmembranal además de dos hemo *b*, ejemplo de esta clase es la SQR de *Mycobacterium smegmatis*. La clase B son enzimas con una subunidad membranal que tiene cinco cruces transmembranales, como ejemplo es la QFR de *Wolinella succinogenes* en (Iverson, Singh & Cecchini, 2023). Compararon las secuencias de aminoácidos de las subunidades de *B. subtilis* con las de *E. coli* y la identidad es del 24.89% para SdhA, 25% para SdhB y 14.16% para SdhC por lo que no puede ser de la misma clase que *E. coli*. Con el complejo de *M. smegmatis* tienen una similitud de (33% con SdhA, 27% con SdhB y 17% con SdhC de *B. subtilis*) que es un trímero con 2 hemo *b*. Por esta semejanza les pareció que la SQR de *B. subtilis* es también un trímero. Sin embargo, al mostrar una mayor similitud con la enzima quinol: fumarato reductasa (QFR) de *Wolinella succinogenes* (31.24% con SdhA, 28.81% con SdhB y 21.39% con SdhC de *B. subtilis*) que es un dímero en la estructura cristalográfica, sólo tiene una subunidad membranal con cinco cruces transmembranales y dos hemo *b*, similar a la SdhC de *B. subtilis*. Con esta información, coincidimos con el estudio que hicieron y la SQR de *B. subtilis* es un dímero en la membrana.

En general, las SQR no se encuentran asociadas a otros complejos respiratorios y se cree que puede deberse a que no contribuyen a la formación del gradiente de protones. Sin embargo, hay excepciones recientemente publicadas de (Iverson *et al.*, 2023). En geles claros nativos, obtuvieron una banda de actividad de succinato deshidrogenasa con una masa de 250 kDa, los autores (Picón Garrido *et al.*, 2022). En nuestro laboratorio estamos estudiando la formación de supercomplejos en *B. subtilis* y encontramos que la SQR puede asociarse al supercomplejo *b<sub>6c</sub>:caa<sub>3</sub>* cuando se elimina a la quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>*, esto parece provocar la asociación de los tres complejos: SQR, *b<sub>6c</sub>* y *caa<sub>3</sub>*. Una posible explicación está publicada, para esta formación y es que, en esta mutante, el *b<sub>6c</sub>* y la *caa<sub>3</sub>* son los únicos que forman el gradiente de protones, complejos necesarios para la actividad de la SQR (Picón Garrido *et al.*, 2022). Además, los autores de este artículo detectaron la formación del supercomplejo SQR:nitrato reductasa que se describirá más adelante.

### GLICEROL 3 FOSFATO DESHIDROGENASA

Es una proteína monomérica de 555 residuos de aminoácidos con una masa de 62.6 kDa, codificada por el gen *glpD*. También se llama glicerol 3 fosfato deshidrogenasa aerobia que reduce a la menaquinona y produce dihidroxiacetona fosfato. Participa

**Tabla II. Potenciales redox (Em) de los grupos prostéticos de cada complejo respiratorio. Se incluyen: el grupo prostético, su potencial redox y si el potencial redox se obtuvo en la membrana o en la proteína aislada o ambos. Para la quinol oxidasa *bd* se pusieron los valores de potencial redox de *E. coli* por comparación.**

Complejos	Grupos prostéticos	Em (mV)	Referencias
NDH-2	NAD/NADH	-320	(Thauer <i>et al.</i> , 1977)
	FAD/FADH <sub>2</sub>	-220	
Succinato deshidrogenasa	citocromo <i>b</i> (dos hemos tipo <i>b</i> ) hemo <i>b<sub>D</sub></i> y hemo <i>b<sub>P</sub></i>	-132, 16	(Haegerhaell <i>et al.</i> , 1992; Matsson <i>et al.</i> , 2000)
		-95, 65	(García <i>et al.</i> , 2008)
	FAD/FADH <sub>2</sub>	-220	(Thauer <i>et al.</i> , 1977)
	tres centros FeS	+80 (2Fe-2S), -25 (3Fe-4S), -240 (4Fe-4S)	(Hederstedt, 1986)
MK-7		-74	(Thauer <i>et al.</i> , 1977)
Complejo <i>b<sub>6c</sub></i>	<i>c<sub>554</sub></i>	+250	(de Vrij & Konings, 1987; Kutoh & Sone, 1988)
	<i>b's</i>	-190 y -130	
	FeS	165	(Liebl, Pezenec, Riedel, Kellner & Nitschke, 1992)
<i>c<sub>550</sub></i>		195	(Miki & Okunuki, 1969; de Vrij & Konings, 1987; von Wachenfeldt & Hederstedt, 1993; David, Morrison, Wong & Hill, 1999)
<i>c<sub>551</sub></i>		>100	(Miki & Okunuki, 1969; Bengtsson <i>et al.</i> , 1999)
Cta <i>caa<sub>3</sub></i>	Cu <sub>A</sub> -cit <i>c</i>	+192	(Andrews, Mattatall, Arnold & Hill, 2005)
	<i>caa<sub>3</sub></i>	+193	
Quinol oxidasa <i>aa<sub>3</sub></i>		+60	(Hill & Peterson, 1998)
		+250	
<i>bd</i>	<i>b558</i>	+165	(En <i>E. coli</i> , Jünemann, 1997)
	<i>b595</i>	+147	
	<i>d</i>	+260	
<i>bb</i>	560	No se conocen	
	618		

en la vía del metabolismo de polioles, la degradación del glicerol y de la glicerona fosfato desde sn-glicerol 3-fosfato (vía aeróbica, paso 1/1), (Holmberg, Beijer, Rutberg & Rutberg, 1990; The UniProt Consortium, 2023). En el análisis con geles claros nativos y proteómica observaron la presencia de la GPD (García Montes de Oca *et al.*, 2012).

### EL DISTRIBUIDOR HIDROFÓBICO DE ELECTRONES, LA MENAQUINONA 7

La molécula que distribuye a los electrones en la membrana de *B. subtilis* es la menaquinona-7 (Bergsma, Meihuizen, Van Oeveren & Konings, 1982; Yu & Le Brun, 1998; Schirawski & Uden, 1998). Esta es una molécula hidrofóbica formada por dos anillos de carbono y una cola larga de isoprenos. Su fórmula química es C<sub>46</sub>H<sub>64</sub>O<sub>2</sub> y su potencial redox reportado es de -74 mV (Thauer, Jungermann & Decker, 1977). Esta quinona es la única de *B. subtilis* (Kröger, 1978; Lemma, Uden & Kröger,

1990; Yi, Taguchi, Samoilova, O'Malley, Gennis & Dikanov, 2015). Por lo expuesto concluyeron que el potencial redox de la MK-7 favorece las reacciones de óxido reducción del complejo *b<sub>6c</sub>* y las de quinol oxidasas, además son exergónicas.

### La rama de los citocromos

A partir de la MK-7 reducida, los electrones siguen dos vías: la de los citocromos o vía “clásica” compuesta por dos complejos respiratorios con citocromos en su estructura. Ellos son los complejos *b<sub>6c</sub>* y *caa<sub>3</sub>*, que forman un supercomplejo y el gradiente de protones en (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Sousa, Videira, Santos, Hood, Conrads & Melo, 2013b). La segunda vía es la de las quinol oxidasas.

### EL COMPLEJO *b<sub>6c</sub>*

El complejo *b<sub>6c</sub>* está formado por tres subunidades codificadas en el operón *qcrABC* (Yu, Hederstedt & Piggot, 1995). Otros

autores aportan que la subunidad QcrA es una proteína hierro-azufre (tipo Rieske), tiene un cruce transmembranal y un dominio hidrofílico con un centro de dos fierros y dos azufres como grupo prostético. La subunidad QcrB tiene cuatro cruces transmembranales y dos hemo *b* llamados hemo *b<sub>L</sub>* y hemo *b<sub>H</sub>* (debido a que tienen uno, un potencial redox alto -high- y otro un potencial redox bajo -low-). Argumentan que esta proteína tiene además un hemo extra unido en covalencia con un residuo de cisteína en la posición 35. Este hemo adicional se encuentra en los complejos *b<sub>6</sub>c* de organismos fotosintéticos y fue descubierto al cristalizar a la proteína y obtener su estructura tridimensional en (Breyton, 2000; Stroebel, Choquet, Popot & Picot, 2003; Yamashita, Zhang & Cramer, 2007). Este es un hecho destacable, ya que *B. subtilis* es una bacteria no fotosintética. La subunidad QcrC tiene tres cruces transmembranales y un citocromo *c* en el carboxilo terminal de la proteína. Este complejo debe ser un dímero en la membrana, ya que los complejos *bc* que se conocen hasta ahora por su estructura tridimensional, son dímeros y sólo el dímero es activo datos reportados por (Soriano, Ponamarev, Carrell, Xia, Smith & Cramer, 1999; Kurisu, Zhang, Smith & Cramer, 2003). El complejo *b<sub>6</sub>c* como dímero tiene una masa molecular calculada de 144 kDa.

### LA ENZIMA CITOCROMO C OXIDASA (*caa<sub>3</sub>*)

Consta de cuatro subunidades, codificadas en el operón *ctaABCDEF*, los primeros dos genes codifican para otras proteínas que no forman parte de la enzima citocromo *c* oxidasa (Saraste, Metso, Nakari, Jalli, Lauraeus & Van der Oost, 1991). La proteína CtaA es una Hemo A sintasa, cataliza la conversión del hemo O a hemo A (Uniprot). CtaB es también parte de la hemo A sintasa (subunidad principal), (Svensson & Hederstedt, 1994). El complejo *caa<sub>3</sub>* está formado por las subunidades CtaC, D, E y F. El monómero tiene una masa de 144.5 kDa. CtaC es la subunidad 2 de esta oxidasa, su masa molecular es de 40 kDa, tiene 2 cruces transmembranales y un dominio de citocromo *c* hidrofílico orientado hacia la pared celular (residuos 258 a 356). Uniprot Kb propone a los residuos 176, 217, 221 y 225 como los que participan en la unión del Cu<sub>A</sub> diatómico. La subunidad 1 es la proteína CtaD tiene 616 residuos y una masa de 68.3 kDa, en esta subunidad se encuentran los hemo *a* y *a<sub>3</sub>* además del Cu<sub>B</sub>, con la probabilidad de tener 14 cruces transmembranales (Uniprot Kb). CtaE es la subunidad 3 de la oxidasa con 207 residuos y una masa molecular de 23.3 kDa. Tiene cinco cruces transmembranales y está involucrada en el bombeo de protones a través de la membrana. La cuarta subunidad es CtaF con 110 residuos de aminoácidos y una masa de 12.6 kDa y tres cruces transmembranales. Se conoce que esta oxidasa es importante para la esporulación de la bacteria, pero no es esencial, ya que, si se elimina, la bacteria continúa creciendo con otras oxidases terminales sobre todo la quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>* (Winstedt & von Wachenfeldt, 2000).

El complejo *b<sub>6</sub>c* y la *caa<sub>3</sub>* forman un supercomplejo de masa molecular alta (más de 1 MDa), (García Montes de Oca *et al.*, 2012). Esto es interesante, porque de acuerdo con lo reportado por los autores la enzima citocromo oxidasa pesa alrededor de 144 kDa. La masa del *b<sub>6</sub>c* y la de la enzima *caa<sub>3</sub>* es igual a 280 kDa, inferior a la masa encontrada en los geles nativos. Este resultado (más de 1 MDa) se interpreta como que los dos complejos se asocian para formar estructuras aún más complejas llamadas “cuerdas respiratorias” en la membrana de *B. subtilis* (Sousa, Videira, Santos, Hood, Conrads & Melo, 2013b). Este supercomplejo es sensible a la presencia de la cardiolipina, ya que en presencia del detergente dodecil maltósido vieron la pérdida de la masa molecular alta en mutantes que no sintetizan cardiolipina (García Montes de Oca *et al.*, 2016). También mencionan que ambos complejos bombean protones, por tanto, contribuyen a la formación del gradiente electroquímico. Este supercomplejo se distribuye como una cuerda molecular a lo largo de la membrana celular para generar el gradiente de protones necesario para el transporte, movimiento del flagelo y síntesis de ATP en (Sousa, Videira, Santos, Hood, Conrads & Melo, 2013b).

### LOS CITOCROMOS PEQUEÑOS, EL *c<sub>550</sub>* Y EL *c<sub>551</sub>*

Más evidencias de estudios son acerca del complejo *b<sub>6</sub>c* que reduce a dos citocromos *c*, el *c<sub>550</sub>* y el *c<sub>551</sub>*, que transportan el electrón a la enzima citocromo *c* oxidasa. Estos acarreadores de electrones en *B. subtilis* son proteínas que están ancladas a la membrana. El citocromo *c<sub>550</sub>* tiene una alfa hélice que lo ancla a la membrana y el segundo, el *c<sub>551</sub>*, está unido a un diacil glicerol (Bengtsson *et al.*, 1999). No se sabe cuál de los dos es el principal aceptor de electrones del complejo *b<sub>6</sub>c* debido a que los dos aparecen en las membranas de *B. subtilis* cuando las aislaron y las analizaron en electroforesis nativas (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Picón Garrido *et al.*, 2022). Como se muestra en la Tabla III, la secuencia de aminoácidos de estos dos citocromos se comparó con la de las subunidades QcrC del *b<sub>6</sub>c* y CtaC de la enzima citocromo oxidasa *caa<sub>3</sub>*, que también tienen un citocromo *c*. Se observa que el *c<sub>550</sub>* tiene mayor similitud con *c<sub>551</sub>* y ambos son más similares a QcrC que a CtaC. Aunque CtaC está más distante a los otros tres, la similitud entre QcrC, *c<sub>550</sub>* y *c<sub>551</sub>* no aclara cuál de los dos puede ser el receptor de electrones por lo que se concluye que ambos son funcionales en la membrana y alternan como aceptores de electrones.

### La rama de la quinol oxidasa

La otra rama que ha sido reportada es la del transporte de electrones a partir del menaquinol hacia la quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>* y que la quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>* es la más importante para el crecimiento exponencial de la bacteria en (Winstedt & von Wachenfeldt, 2000). La quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>* reduce al oxígeno. Este complejo también contribuye a la formación del gradiente de protones y se encuentra en la membrana en



**Tabla III. Matriz de identidad entre los cuatro citocromos *c* de *Bacillus subtilis*:**

	<b>COX2</b>	<b>QCRC</b>	<b>C550</b>	<b>C551</b>
sp P24011 COX2_BACSU	100.00	21.46	20.54	19.23
sp P46913 QCRC_BACSU	21.46	100.00	30.17	30.28
sp P24469 C550_BACSU	20.54	30.17	100.00	34.82
sp O34594 CY551_BACSU	19.23	30.28	34.82	100.00

cantidad alta (presenta un pico alfa a 600 nm del espectro de absorción visible). Está codificado por el operón *qoxABCD* en (Santana, Kunst, Hullo, Rapoport, Danchin & Glaser, 1992). La subunidad QoxA tiene 321 residuos de aminoácidos y una masa de 36.3 kDa, es la subunidad 2 de la oxidasa con dos cruces transmembranales. QoxB es la subunidad 1 que contiene a los grupos prostéticos Cu<sub>B</sub>, hemos *a* y *a*<sub>3</sub>, tiene 649 residuos de aminoácidos, 15 cruces transmembranales y una masa de 73.8 kDa. QoxC es la subunidad 3 con 204 residuos, cinco cruces transmembranales y una masa de 22.6 kDa. QoxD es la subunidad 4, con 124 residuos, tres cruces transmembranales y una masa de 13.7 kDa. La proteína en forma de monómero tiene una masa molecular de 145.8 kDa. Este complejo ya fue cristalizado y se conoce su estructura tridimensional (Xu *et al.*, 2020).

**LAS OTRAS QUINOL OXIDASAS**

Existen otras dos quinol oxidasas que también oxidan al menaquinol, pero no bombean protones y aparecen en condiciones de poco oxígeno en (Winstedt & von Wachenfeldt, 2000). La quinol oxidasa *bd* está codificada por los genes *cydAB*, la subunidad CydA corresponde a la subunidad 1 de la quinol oxidasa, tiene 468 residuos, ocho cruces transmembranales y una masa molecular de 52.3 kDa, es la subunidad que une al grupo hemo *b*. La segunda subunidad es CydB, tiene 338 residuos, ocho cruces transmembranales y una masa molecular de 37.8 kDa. Esta subunidad une al hemo *d*. El monómero de este complejo pesa alrededor de 89.8 kDa. No se sabe si forma dímeros. La última quinol oxidasa está codificada por el operón *ythABC*; sin embargo, no se ha comprobado que sea una menaquinol oxidasa en (Hederstedt, 2021). La proteína presenta tres subunidades: YthA con 443 residuos y 49.2 kDa de masa molecular une a un hemo *b*, YthB tiene 346 residuos y una masa de 38.8 kDa. YthC muestra 52 residuos y una masa molecular de 5.8 kDa. Se sabe poco de este complejo.

Los autores citados encontraron la presencia de la quinol oxidasa *aa*<sub>3</sub> en geles nativos y por espectrometría de masas, este complejo no aparece asociado a alguno de los complejos donadores de electrones, aunque podría tener masas moleculares mayores a 145.8 kDa que es la masa molecular del monómero (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Picón Garrido *et al.*, 2022). También vieron a un citocromo *d* por medio de espectros de absorción, indicativo de que la quinol oxidasa *bd* está presente

en las membranas de la bacteria crecida con succinato (García Montes de Oca *et al.*, 2012).

**OTROS ACEPTORES TERMINALES DE ELECTRONES: LA ENZIMA NITRATO REDUCTASA (Nar)**

Este complejo, de acuerdo al estudio de los autores, utiliza menaquinol y nitrato para producir nitrito. Funciona con bajo oxígeno, aunque también parece presentarse en cultivos tardíos de más de 12 hr de crecimiento (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Hederstedt, 2021). El complejo está codificado por el operón *narGHI* (Hoffmann, Troup, Szabo, Hungerer & Jahn, D, 1995). La subunidad alfa o NarG tiene 1,228 residuos y una masa de 139.1 kDa, es una proteína periférica de membrana con un sitio de unión de cuatro centros de 4Fe-4S y un centro de Mo y W (molibdeno, tungsteno) bis-MGD (*bis*-dinucleótido de molibdopterina y guanina) donde se reduce el nitrato (Richardson, 2000). NarH es la subunidad beta, también es una proteína periférica de membrana de 487 residuos y una masa de 55.4 kDa, tiene tres dominios para unirse a centros fierro azufre denominados dominios de ferredoxina 1 a 3. NarI la subunidad gamma, es un citocromo *b* (bihémico) que transfiere electrones del menaquinol a la subunidad beta (UniprotKb), con 223 residuos, una masa de 25.3 kDa y cinco cruces transmembranales. El complejo de forma monomérica tiene una masa de 240.4 kDa. Este complejo lo obtuvieron asociado a la SQR en bacterias crecidas con succinato durante 23 h, el cultivo puede encontrarse en bajas concentraciones de oxígeno, lo que favorece la presencia de la enzima nitrato reductasa (García Montes de Oca *et al.*, 2012).

**EL COMPLEJO V O ATP SINTASA**

Finalmente, la ATP sintasa de la bacteria está codificada por el operón *atpABCDEFGHI* (Santana *et al.*, 1994), tiene 9 genes que codifican para las diferentes subunidades del complejo. La ATP sintasa tiene dos sectores, uno hidrofílico llamado F<sub>1</sub> y otro hidrofóbico, el F<sub>0</sub> que se encuentra en la membrana, contiene a las proteínas *c*, *b* y *a* (estas proteínas corresponden a los genes *atpB*, *E* y *F*). La proteína *c* forma un canal que está compuesto por 10 subunidades y forma el elemento rotatorio por donde atraviesan los protones. La masa de F<sub>0</sub> es de 125 kDa. Las proteínas *a* y *b* son parte de este sector. En el sector F<sub>1</sub> (hidrofílico) están las subunidades AtpACDGH y es probable que AtpI ensamble a las proteínas membranales de la ATP sintasa en (Santana *et al.*, 1994). Hay tres subunidades alfa,

tres betas, una delta, una épsilon en el sector  $F_1$  cuya masa es de 384 kDa más la masa de  $F_0$  el total es de 509 kDa de toda la ATP sintasa. La actividad y funcionamiento de la ATP sintasa ha sido estudiada en bacterias termófilas como *Bacillus* PS3 y *Bacillus* sp. cepa TA2.A1 (Yoshida, Sone, Hirata & Kagawa, 1975; Meier *et al.*, 2007). Recién descubrieron la estructura tridimensional de la ATP sintasa de la bacteria termófila *Bacillus* PS3, por lo que en  $F_1$  se encuentran a3, b3, g, d, e; en  $F_0$  una a, un anillo de 10c y las hélices transmembranales de b2 (Guo, Suzuki & Rubinstein, 2019). Aún no se ha reportado la purificación del complejo en *B. subtilis*, pero lo observaron en geles claros nativos, revelados por actividad, con una masa molecular aparente de 635 kDa cercano a lo calculado (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013b).

### ¿CÓMO SE REGULA LA PRESENCIA DE LOS COMPLEJOS RESPIRATORIOS DE LA CADENA RESPIRATORIA DE *B. subtilis*?

#### LA REPRESIÓN CATABÓLICA POR CARBONO

En el estudio que realizó Sonenshein vio que *B. subtilis*, al igual que todas las bacterias, se adapta a la presencia de diferentes nutrientes y, por consiguiente, se beneficia de ellos para alimentar su metabolismo central (glucólisis, vía de las pentosas fosfato, ciclo del ácido cítrico y el ciclo del 2-oxoglutarato-glutamato-glutamina), (Sonenshein, 2007). En *B. subtilis*, existe la represión catabólica por carbohidratos (CCR, por sus siglas en inglés) la Figura 2A muestra cómo la glucosa es transportada al interior, por la fosfotransferasa, PTS (Phosphotransferase System, por sus siglas en inglés) del tipo IIC ( $IIC^{Glc}$ ). En el citoplasma, la enzima EI se fosforila tomando el grupo fosfato del fosfoenol piruvato, y fosforila a la fosfoproteína que contiene histidina (HPr, por sus siglas en inglés). HPr fosforila a la proteína EIIA<sup>Glc</sup> y el grupo fosfato se transfiere a la glucosa por medio de la enzima EIIB<sup>Glc</sup>. La glucosa se transforma en glucosa-6-fosfato y posteriormente a fructosa 6 fosfato. HPr es nuevamente fosforilada por una HPr cinasa/fosfatasa en la serina 46 y así fosforilada se une a la proteína CcpA (proteína A de control catabólico, por sus siglas en inglés). CcpA se une a las regiones *cre* (catabolite responsive elements) del DNA de los operones que tienen este elemento y se bloquea su transcripción en (Ludwig & Stülke, 2001; Deutscher, Galinier & Martin-Verstraete, 2014). En presencia de grandes cantidades de glucosa algunas proteínas de la cadena respiratoria de *B. subtilis* se reprimen catabólicamente debido a que tienen sitios de regulación *cre* (Stülke & Hillen, 2000; Fujita, 2009). La glucosa es asimilada rápidamente por la glucólisis anaerobia y se transforma a acetoína y es expulsada por la bacteria (Liu & Taber, 1998). Se sabe que los genes *ccaA*, *qcrA* y *ctaC* que codifican para subunidades que son citocromos tienen un sitio *cre* de regulación (ver Tabla IV), (Stülke & Hillen, 2000; Blencke, Homuth, Ludwig, Mäder, Hecker & Stülke, 2003). No se ha encontrado sitio *cre* para la rama de las quinol oxidasas por lo que no se reprimen ante la presencia de la glucosa. El complejo SQR aparece como

constitutivo, sin embargo, se ha reportado un sitio *cre* en el gen *sdhC* en -138 a -125 y se propone uno más en +300 a +313 (Blencke, Homuth, Ludwig, Mäder, Hecker & Stülke, 2003; Deutscher, Galinier & Martin-Verstraete, 2014), además, los genes de las enzimas piruvato deshidrogenasa y citrato sintasa sí tienen sitios *cre* por lo que hay una regulación indirecta. Se ha descrito ampliamente la represión catabólica por glucosa de la SQR (Melin, Magnusson & Rutberg, 1987; Melin, Rutberg & von Gabain, 1989; Moreno, Schneider, Maile, Weyler & Saier, 2001). Una vez que se termina la glucosa, entonces se expresa un transportador para captar a la acetoína y utilizar el metabolismo aeróbico del acetato. Para ello debe realizar la síntesis de proteínas de la fosforilación oxidativa y las enzimas del metabolismo aeróbico (Blencke *et al.*, 2003).

#### REGULACIÓN POR ANAEROBIOSIS

Además de CCR, la presencia o ausencia de oxígeno en el medio también determina la transcripción de los operones de proteínas de la cadena de transporte de electrones. La Figura 2B muestra la regulación de la cadena respiratoria en presencia de oxígeno. Las proteínas ResDE pertenecen al grupo de sistemas de transducción de dos componentes. ResD es una proteína que se une al DNA una vez fosforilada activa la transcripción de ciertos genes, por el contrario, ResE es una cinasa membranal que se autofosforila con el ATP en presencia de  $O_2$  y fosforila a ResD (ResD~P, ResD phosphorilated). Cuando hay oxígeno, ResE~P tiene actividad de fosfatasa y desfosforila a ResD~P, que activa a la transcripción de los genes de *qcrABC*, *ctaA* y *ctaBCDEF* además del operón *resABCDE* (Figura 2B), lo anterior en (Nakano & Zhu, 2001). Las tres primeras proteínas del operón *resABCDE* forman un complejo que está involucrado en la biogénesis del citocromo *c*, es interesante que este operón también es regulado por CCR, ya que tiene dos sitios *cre*, uno río arriba del promotor *resA* y el segundo dentro del gen *resB* (Choi & Saier, 2006). No se conoce si ResE detecta la concentración de oxígeno por sí solo o por medio de la proteína HemAT que es el sensor de oxígeno y que promueve la aerotaxis en la bacteria (Aono *et al.*, 2002). Otra opción reportada es que la enzima citocromo *c* oxidasa *caa3* o la quinol oxidasa *aa3* sean directamente sensores de oxígeno a semejanza de la contraparte mitocondrial que tiene una subunidad IV diferente (Bishop & Ratcliffe, 2020; Moreno-Domínguez *et al.*, 2020).

En ausencia de oxígeno (Figura 2C) el sistema de dos componentes ResDE, el regulador redox Fnr, y el represor detector de ROS, Rex, son los responsables de la regulación de los genes y, de la expresión de los complejos de la cadena de transporte de electrones, como se muestra en la Tabla IV y en la Figura 2C (Gyan *et al.*, 2006; Härtig & Jahn, 2012). En condiciones anaeróbicas ResE~P fosforila a ResD el cual activa la transcripción de *fnr*, *nasDE*, *hmp* e *IctEP* (Geng, Zuber & Nakano, 2007; Härtig & Jahn, 2012). *B. subtilis* utiliza el nitrato como aceptor final de electrones.

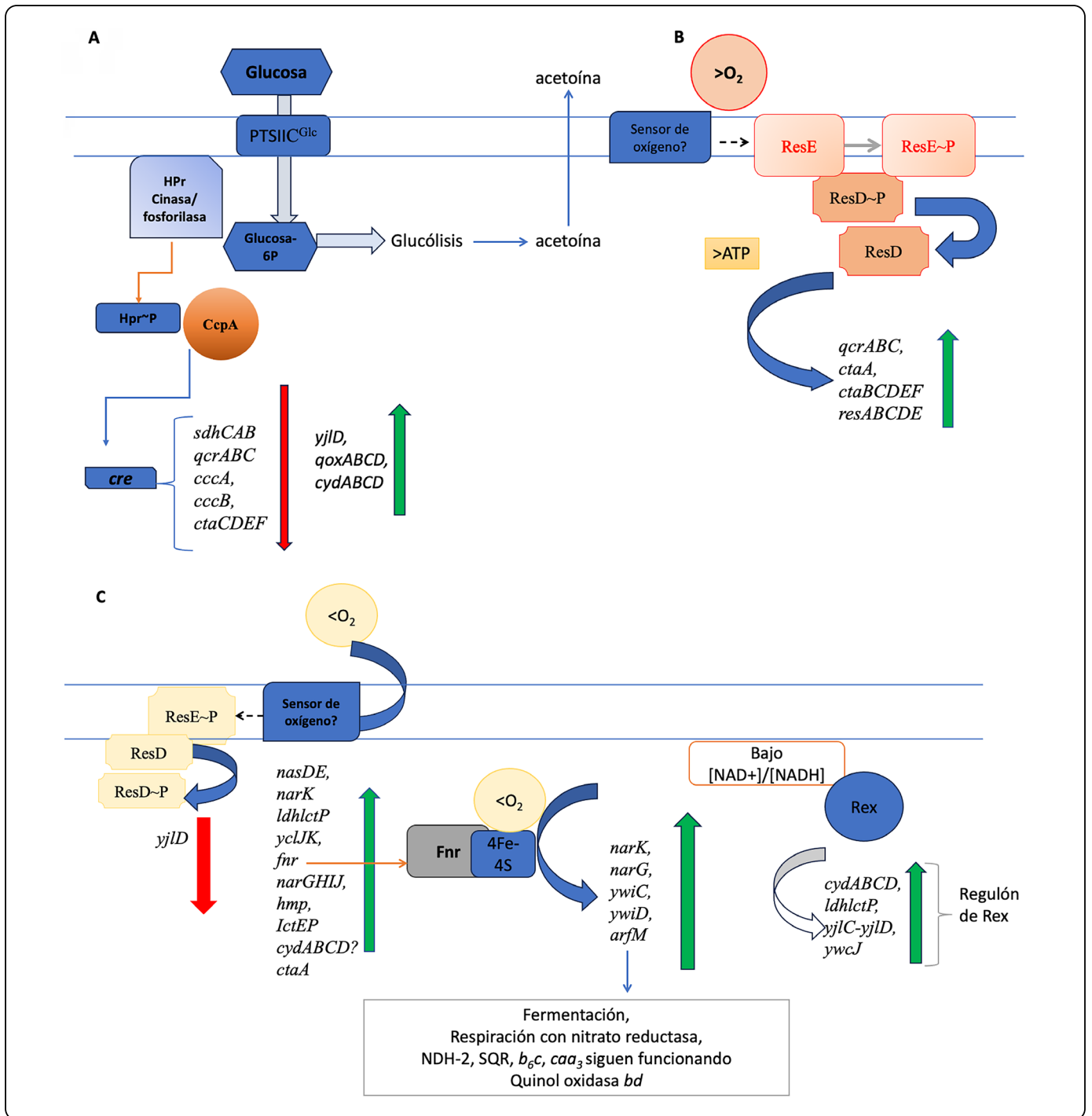


Figura 2. Regulación de la cadena respiratoria de *B. subtilis*: A: represión catabólica por carbohidratos (CCR, por sus siglas en inglés de Carbon Catabolite Repression). Se muestra cómo la glucosa es internalizada por un transportador PTSII<sup>Glc</sup> para ser fosforilada y continuar a glucólisis. Esto activa a una cinasa/fosforilasa de Hpr que al ser fosforilada activa a la proteína CcpA que se une a sitios *cre* (catabolite response elements) en el DNA de *B. subtilis* esto reprime a los genes que contienen citocromos, pero activa a la NDH-2 y a las quinol oxidasas *aa<sub>3</sub>* y *bd*. Figura modificada de: Deutscher *et al.*, 2014. B: Expresión de la rama de citocromos en condiciones normales de oxígeno. ResE se forforila por la presencia de oxígeno y ATP de la célula y fosforila a ResD que activa la transcripción de los operones de complejos respiratorios de la rama de citocromos. C: En condiciones de bajo oxígeno ResE-P también fosforila a ResD, la NDH-2 se inactiva y se activan los genes de la enzima nitrato reductasa, lactato deshidrogenasa, etc. Además, se activa Fnr, con un centro Fe-S sensible a la concentración de oxígeno. Rex también se activa debido al aumento de NAD<sup>+</sup> en el citoplasma. Las flechas rojas indican inactivación de genes y las flechas verdes, activación. Las Figuras B y C son diseño personal.

Tabla IV. Mecanismo de regulación de los genes que codifican para los diferentes complejos respiratorios. Se incluye el nombre del gen, el tipo de regulación, el mecanismo de regulación y el factor sigma en su caso, que regula a esta expresión (depende de si está reportado o no). Los datos fueron tomados del sitio Subtiwiki (Pedreira, Elfmann & Stülke, 2022).

Genes	Regulación	Mecanismos de regulación	Factores Sigma	Referencias
<i>yjID</i>	Se induce con niveles altos de NADH a través de Rex	Represión por ResD, en el regulón <i>rex</i> , Regulación negativa en la respuesta astringente	ninguno	(Gyan <i>et al.</i> , 2006; Chumsakul <i>et al.</i> , 2017)
<i>sdhA-sdhB-sdhC</i>	Represión por glucosa	sitio <i>cre</i> en <i>sdhC</i>	SigA regulón	(Melin <i>et al.</i> , 1987; Melin <i>et al.</i> , 1989)
<i>qcrA-qcrB-qcrC</i>	Inducida por oxígeno a través de ResD <sup>P</sup>	activación por el regulón <i>resD</i> , represión en el regulón <i>ccpA</i> , represión en el regulón <i>abrB</i>	SigA: en el regulón <i>sigA</i>	(Sun <i>et al.</i> , 1996; Blencke <i>et al.</i> , 2003; Chumsakul <i>et al.</i> , 2017)
<i>ctaB-ctaC-ctaD-ctaE-ctaF-ctaG</i>	Se expresa en condiciones anaeróbicas por medio de ResD	Activación, en el regulón <i>resD</i> , represión con <i>AbrB</i> en el regulón <i>Abh</i> , represión por el regulón <i>CcpA</i>	ninguno	(Sun <i>et al.</i> , 1996; Liu & Taber 1998; Blencke <i>et al.</i> , 2003; Henares, Kommineni, Chumsakul, Ogasawara, Ishikawa & Nakano, 2014; Chumsakul <i>et al.</i> , 2017)
<i>qoxA-qoxB-qoxC-qoxD</i>	regulación negativa por RelA (Clase I) por respuesta astringente	regulación negativa en la respuesta astringente, control de la traducción en el regulón <i>citB</i> (aconitasa). Regulación dependiente de hierro por <i>CitB</i> entre <i>feuA</i> y <i>feuB</i> (sideróforo de hierro)	ninguno	(Santana <i>et al.</i> , 1992; Winstedt & von Wachenfeldt, 2000)
<i>cydA-cydB-cydC-cydD</i>	Expresión heterogénea	Represión por el regulón <i>ccpA</i> , activación por el regulón <i>ResD</i>	SigF	(Schau, Chen & Hulett, 2004; Larsson, Rogstam & von Wachenfeldt, 2005; Wang, 2006; Puri-Taneja, Schau, Chen & Hulett, 2007)
<i>atpI-atpB-atpE-atpF-atpH-atpA-atpG-atpD-atpC</i>	regulación negativa por RelA (respuesta astringente). El RNAm se procesa entre <i>atpI</i> y <i>atpB</i> por RNAsa Y, que requiere del complejo RicA-RicF-RicT	regulación negativa, en la respuesta astringente	ninguno	(Eymann <i>et al.</i> , 2002; DeLoughery, Lalanne, Losick & Li, 2018)

Fnr es una proteína que regula la transcripción de los genes en anaerobiosis, tiene un motivo hélice-giro-hélice característico de estas proteínas y es indispensable para la respiración con nitrato. Pertenece a la familia de factores de transcripción Crp/ Fnr tiene tres aminoácidos cisteína localizados en el carboxilo terminal a los que se une un centro de  $[4Fe-4S]^{2+}$ , este centro detecta la concentración de oxígeno. Fnr se une a la región promotora de los genes *narKfnr* (proteína de extrusión de nitrito y Fnr), *narG* (subunidad alfa de la enzima nitrato reductasa),

*ywiC* (se desconoce su función) y *ywiD* (reguladores de genes anaeróbicos) además de *arfM* que es un modulador de la respiración anaeróbica y de la fermentación como se muestra en la Figura 2C (Nakano & Zuber, 1998; Larsson, Rogstam & von Wachenfeldt, 2005; Härtig & Jahn, 2012).

La proteína Rex es un represor de la transcripción y un regulador redox, tiene un sitio de unión al DNA y también un sitio de unión al  $NAD^+/NADH$ . Se sabe que la presencia de NADH inhibe la

unión al DNA de Rex. Por tanto, la relación de concentraciones de  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  controla la unión de Rex al DNA. El regulón de Rex comprende a los genes de los operones *cydABCD* (Quinol oxidasa *bd*), *Idh lctP* (lactato deshidrogenasa), *yjIC-ndh* y *ywcJ* (posible transportador formato-nitrato), Figura 2C (Wang, Ikonen, Knaapila, Svergun, Logan & von Wachenfeldt, 2011; Härtig & Jahn, 2012).

### LA RESPUESTA “ASTRINGENTE”

RelA es una proteína asociada al ribosoma que inicia la síntesis de guanosina pentafofato (p)ppGpp y modula la transcripción, es un elemento de la activación de un factor sigma B en respuesta al estrés nutricional, ya que detecta el grado de acilación de los tRNA y reduce la síntesis de proteínas en (Wendrich & Marahiel, 1997; Zhang & Haldenwang, 2003). Esta es la llamada “respuesta astringente” que se presenta para adaptarse a la falta de nutrientes como aminoácidos, lípidos, etc. *B. subtilis* sintetiza y degrada al (p)ppGpp que es la llamada “alarmona” que funciona como un segundo mensajero al unir señales intra y extracelulares con cambios en la transcripción, traducción y replicación del DNA (Ababneh & Herman, 2015). En su trabajo de investigación encontraron que los operones de *qoxABCD* y *atpABCDEFGHI* son regulados negativamente por RelA (Eymann, Homuth, Scharf & Hecker, 2002).

### LA REGULACIÓN POR FIERRO

El regulón *citB* comprende los genes *gerE* y *citZ-icd-mdh* (que dan estabilidad al RNA mensajero) y a los genes *qoxABCD*, *feuABC* y *ybbA* que controlan la traducción. CitB es una proteína con dos funciones, es la aconitasa del ciclo de Krebs cuando hay un exceso de hierro, pero también puede unirse al RNAm de *citZ* cuando lo hay de citrato y baja cantidad de hierro, lo anterior en (Pechter, Meyer, Serio, Stülke & Sonenshein, 2013).

### ¿LA CADENA RESPIRATORIA DE *B. subtilis* PRODUCE RADICALES LIBRES DE OXÍGENO?

Hasta el momento, no se tienen evidencias de si la cadena respiratoria de *B. subtilis* produce Especies Reactivas de Oxígeno (EROS). Sin embargo, hay razones que llevan a preguntárselo. Como se mencionó, la cadena respiratoria de *B. subtilis* tiene grupos redox como flavinas, quinonas y centros metálicos (hierro-azufre o cobre) que pueden transferir un electrón al oxígeno en (Messner & Imlay, 1999; Bleier & Dröse, 2013; Hey-Mogensen, Goncalves, Orr & Brand, 2014). La naftoquinona MK-7 (menaquinona 7) tiene un potencial redox de -70 mV (Thauer, Jungermann & Decker, 1977) más bajo que el de la ubiquinona mitocondrial (+80 mV) para facilitar su reacción con el oxígeno y dé superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). Es posible que la cadena respiratoria de *B. subtilis* regule la formación de EROS acelerando el paso de electrones en los supercomplejos. Dentro del genoma de la bacteria además de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, tiene otras enzimas antioxidantes. De acuerdo con la página de SubtiList (Moszer,

2002) también existen alquil-hidroperóxido reductasas, glutatión peroxidasa, tiol-peroxidasa y peroxidasa de cloruro (30 genes encontrados, que se muestran en la Tabla V). Tantos tipos de enzimas antioxidantes hacen pensar que *B. subtilis* está preparada para evitar el estrés oxidativo tanto en la célula vegetativa como en la espora (Johnson & Hug, 2019). Por otro lado, cuando la bacteria crece a 55 °C y un pH de 9.0 aumenta la actividad de la enzima superóxido dismutasa y también de EROS en las células (aunque no está descrito si estos EROS venían de la cadena respiratoria o del citoplasma) (Sarkar & Suraishkumar, 2011). Lo mismo ocurre cuando la bacteria crece en un fermentador con velocidad alta de las aspas (Sahoo, Rao & Suraishkumar, 2006). En el caso de *E. coli* sí se ha reportado que la cadena respiratoria produce EROS (Messner & Imlay, 1999; Imlay, 2019). Este puede ser también el caso de *B. subtilis*.

### ASOCIACIONES CON OTRAS PROTEÍNAS DE MEMBRANA

Los complejos de la cadena respiratoria pueden asociarse con otras proteínas como el supercomplejo CIII-CIV-SOD (complejo *bc*: citocromo oxidasa: superóxido dismutasa) aislado de *Mycobacterium smegmatis* (Gong *et al.*, 2018). Se ha encontrado al supercomplejo CIII-CIV (*bcc:aa<sub>3</sub>*) de *Corynebacterium glutamicum* unido a la NADH deshidrogenasa tipo 2 (Takazaki, Kusumoto, Ishibashi, Yasunaga & Sakamoto, 2022). En *E. coli* existen los siguientes supercomplejos: SDH:*bdII*, NDH-1 y NDH-2 con el complejo *bdI*, formato deshidrogenasa:*bb* y con las oxidasas *bd*, *bo<sub>3</sub>* y formato deshidrogenasa (Sousa *et al.*, 2012; Sousa, Videira & Melo, 2013a).

Wittig y colaboradores no descartan que las proteínas consideradas “contaminantes” no lo sean y que el uso de detergentes para aislar a las proteínas de membrana cause la separación de alguna de estas por tener una unión débil (o transitoria) al supercomplejo (Wittig, Karas & Schägger, 2007). Las proteínas ResB y C son parte del sistema de biogénesis de los citocromos, están integradas a la membrana y las mutantes de los genes carecen de citocromos tipo *c* (Le Brun *et al.*, 2000). La foldasa (gen *prsA*) es una lipoproteína chaperona de post translocación y ensamblaje de proteínas de membrana (Geissler *et al.*, 2022). OppA, es parte del sistema de transporte de los oligopéptidos Opp, es una proteína de membrana y receptora de péptidos que provienen del exterior de la célula (Hughes *et al.*, 2022). Bach y colaboradores exponen que la flotilina (YuaG) es una proteína muy abundante. Se ha visto que tiene interacción directa con la Quinol oxidasa *aa<sub>3</sub>*, la SdhA, ResC y las subunidades AtpA y AtpG; es necesaria su presencia en la organización de zonas de la membrana por lo que es posible considerar que la flotilina interviene en la organización de los supercomplejos (Bach & Bramkamp, 2013).

Los especialistas argumentan que *B. subtilis* está provista de una cadena respiratoria en ausencia o en bajas concentraciones de oxígeno por lo que tendrá diferentes supercomplejos

Tabla V. Los genes reportados como parte del sistema antioxidante de *B. subtilis* son los obtenidos en el sitio SubtiList (Moszer, 2002), cada uno tiene el código Uniprot que identifica a la proteína que codifican, la masa molecular predicha por la secuencia de aminoácidos y la función de cada uno.

Gen	Identificador Uniprot Kb	Masa (kDa)	Descripción de la función	Referencias
<i>sodA</i>	P54375 · SODM_BACSU	22.49	superóxido dismutasa Mn, citoplasma	(Inaoka, Matsumura & Tsuchido, 1999)
<i>sodF</i>	O35023 · SODF_BACSU	33.5	superóxido dismutasa Fe, citoplasma (probable)	(Bosak, Losick & Pearson, 2008)
<i>yojM</i>	O31851 · YOJM_BACSU	20.9	superóxido dismutasa de Zn	(Banci <i>et al.</i> , 2005)
<i>katA</i>	P26901 · CATA_BACSU	54.7	catalasa 1, vegetativa	(Engelmann & Hecker, 1996)
<i>katE</i>	P42234 · CATE_BACSU	77.5	catalasa 2, participa en la esporulación	
<i>katX</i>	P94377 · CATX_BACSU	62.3	Catalasa principal en esporas	(Petersohn, Engelmann, Setlow & Hecker, 1999b)
<i>perR</i>	P71086 · PERR_BACSU	16.4	Represor transcripcional del regulón de peróxido	(Faulkner, Ma, Fuangthong & Helmann, 2012)
<i>ydbD</i>	P96597 · YDBB_BACSU	12.9	Desconocida, similar a una catalasa de manganeso.	(Höper, Völker & Hecker, 2005)
<i>yjqC</i>	O34423 · YJQC_BACSU	31.3	Desconocida, similar a catalasa de Mn	(Galperin, Yutin, Wolf, Vera Alvarez & Koonin, 2022)
<i>tlp</i>	Q45060 · TLP_BACSU	9.7	Proteína ácida pequeña de la espora (tipo tioredoxina)	
<i>trxA</i>	P14949 · THIO_BACSU	11.4	tioredoxina	(Lu & Holmgren, 2014)
<i>trxB</i>	P80880 · TRXB_BACSU	34.5	Tioredoxina reductasa	
<i>ycgT</i>	O31475 · FENR1_BACSU	36.9	similar a tioredoxina reductasa	(Ollinger, Song, Antelmann, Hecker & Helmann, 2006)
<i>ydbP</i>	P96611 · YDBP_BACSU	12.4	similar a tioredoxina	(Petersohn <i>et al.</i> , 1999a)
<i>ydfQ</i>	P96695 · YDFQ_BACSU	336	similar a tioredoxina	(Nicolas <i>et al.</i> , 2012)
<i>ykvV</i>	D4FVW0 · D4FVW0_BACNB	495	similar a tioredoxina	(Bukowska-Faniband & Hederstedt, 2017)
<i>yosR</i>	O34342 · YOSR_BACSU	240	Proteína similar a tioredoxina derivada del profago SPbeta	(Parker, Zhu & Stubbe, 2014)
<i>ypdA</i>	P50736 · BDR_BACSU	36.4	Bacilliredoxina reductasa Bdr	(Gaballa, Su & Helmann, 2021)
<i>ytpP</i>	O34357 · YTPP_BACSU	12.7	similar a tioredoxina H1	(Tossounian <i>et al.</i> , 2023)
<i>yumC</i>	O05268 · FENR2_BACSU	36.8	Ferredoxina:NADP reductasa	(Komori, Seo, Sakurai & Higuchi, 2010)
<i>yusE</i>	O32171 · YUSE_BACSU	12.2	similar a tioredoxina	(Molle <i>et al.</i> , 2003)

Tabla V. Los genes reportados como parte del sistema antioxidante de *B. subtilis* son los obtenidos en el sitio SubtiList (Moszer, 2002), cada uno tiene el código Uniprot que identifica a la proteína que codifican, la masa molecular predicha por la secuencia de aminoácidos y la función de cada uno (*continuación*).

Gen	Identificador Uniprot Kb	Masa (kDa)	Descripción de la función	Referencias
<i>ahpC</i>	P80239 · AHPC_BACSU	20.6	alkyl hydroperoxide reductase (small subunit)	(Bsat, Chen & Helmann, 1996)
<i>ahpF</i>	P42974 · DHNA_BACSU	54.8	alquil hidroperóxido reductasa (subunidad grande) / NADH deshidrogenasa	
<i>perR</i>	P71086 · PERR_BACSU	16.4	Represor transcripcional del regulón de peróxido.	(Bsat <i>et al.</i> , 1996; Faulkner <i>et al.</i> , 2012)
<i>yzkA</i>	P80242 · OHRB_BACSU	14.6	similar a la proteína de resistencia al hidroperóxido orgánico	(Cooper, Surendranath, Devedjiev, Bielnicki & Derewenda, 2007)

según sea el caso y en la anaerobiosis, *B. subtilis* utiliza la fermentación, pero también mantiene asociaciones diferentes con la ATP sintasa, que falta investigar.

#### ENSAMBLE DE COMPLEJOS RESPIRATORIOS EN SUPERCOMPLEJOS

Sousa y colaboradores mencionan que los complejos *b<sub>6</sub>c+caa<sub>3</sub>* forman un supercomplejo que puede pesar más de 1000 kDa (1 MDa), resultado igual al de (García Montes de Oca *et al.*, 2012; Sousa *et al.*, 2013b). Además, observaron que la SQR forma un supercomplejo con la enzima nitrato reductasa (SQR:Nar). Posteriormente, fue descrito el supercomplejo SQR:*b<sub>6</sub>c+caa<sub>3</sub>* por (Picón Garrido *et al.*, 2022). Sus estudios muestran que la cadena respiratoria es dinámica y los complejos respiratorios bacterianos se asocian entre sí y quizá con otras proteínas no identificadas.

#### RELACIÓN CADENA RESPIRATORIA: CAPA DE PROTEOGLICANOS

En estudios realizados se ha visto que la disipación del gradiente de protones por algún método, (añadir azida de sodio o un agente desacoplante como el CCCP), provocan la autólisis de la bacteria. Este proceso inicia con el rompimiento de la pared celular y, el estallamiento de la célula (Jolliffe, Doyle & Streips, 1981). Los sustratos que alimentan a la cadena respiratoria (como la glucosa, el glicerol o el ascorbato/TMPD) evitan que ocurra la autólisis o al menos aumentar el tiempo en el que ocurre (generalmente menos de 2 o 3 min). Esto también se ha observado en *Staphylococcus aureus* (Biswas *et al.*, 2012). Se sabe que el ácido teicoico es capaz de unir a los protones provenientes de la cadena respiratoria, la autolisina mayoritaria de *S. aureus* AtlA, es inactivada a pH ácidos, pero su actividad aumenta cuando el pH cambia a 7.0

y la autólisis permanece baja cuando la cadena respiratoria es activa (acidificando en medio extracelular). Así la capa de proteoglicanos está relacionada con la presencia de protones de la actividad de la cadena respiratoria. Una baja de oxígeno produce la autólisis en un cultivo estático en (Jolliffe *et al.*, 1981). Algunos inhibidores de la cadena respiratoria (como la antimicina A) son inductores de la autólisis en *B. subtilis* (Falk, Noah & Weisblum, 2010). Cabe destacar que han encontrado al menos 35 genes que codifican para autolisinas agrupados en 11 diferentes familias de acuerdo con su secuencia de aminoácidos lo que hace pensar que este es un proceso complejo en *B. subtilis* (Smith, Blackman & Foster, 2000).

#### CONCLUSIONES

*B. subtilis* tiene una cadena respiratoria ramificada en la que, los complejos respiratorios se asocian en supercomplejos con diferentes donadores de electrones, y de aceptores terminales de electrones. La expresión de estos complejos está regulada por la presencia de glucosa, de oxígeno y la falta de nutrientes. Las interacciones entre estos complejos se relacionan con el crecimiento de la bacteria y, con la pared celular. Aún falta saber si la cadena transportadora de electrones forma radicales libres de oxígeno y cómo se controlan. El estudio de las asociaciones entre los complejos respiratorios permitirá conocer cómo la bacteria regula la transmisión de los electrones, la generación del gradiente de protones, la síntesis de ATP y su relación con otras proteínas para sobrevivir, así como la estabilidad de la membrana y de la célula misma.

#### AGRADECIMIENTOS

Donativos recibidos de: FICDTEM-2021-57 de COMECYT, PAPCA 50-2022 y DGAPA UNAM, IN 204222.

## REFERENCIAS

- Ababneh, Q. O. & Herman, J. K. (2015). RelA Inhibits *Bacillus subtilis* Motility and Chaining. *J. Bacteriol.*, **197**, 128–137. <https://doi.org/10.1128/JB.02063-14>
- Andrews, D., Mattatall, N. R., Arnold, D. & Hill, B. C. (2005). Expression, purification, and characterization of the CuA–cytochrome *c* domain from subunit II of the *Bacillus subtilis* cytochrome *caa*<sub>3</sub> complex in *Escherichia coli*. *Protein Expr. Purif.*, **42**, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2004.11.009>
- Angeles, D. M. & Scheffers, D. J. (2021). The Cell Wall of *Bacillus subtilis*. *Curr. Issues. Mol. Biol.*, **41**, 539–596. <https://doi.org/10.21775/CIMB.041.539>
- Aono, S., Kato, T., Matsuki, M., Nakajima, H., Ohta, T., Uchida, T. & Kitagawa, T. (2002). Resonance Raman and Ligand Binding Studies of the Oxygen-sensing Signal Transducer Protein HemAT from *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.*, **277**, 13528–13538. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112256200>
- Arias-Cartin, R., Grimaldi, S., Arnoux, P., Guigliarelli, B. & Magalon, A. (2012). Cardiolipin binding in bacterial respiratory complexes: Structural and functional implications. *Biochim. Biophys. Acta-Bioenergetics*, **1817**, 1937–1949. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.04.005>
- Bach, J. N. & Bramkamp, M. (2013). Flotillins functionally organize the bacterial membrane. *Mol. Microbiol.*, **88**, 1205–1217. <https://doi.org/10.1111/mmi.12252>
- Banci, L., Bertini, I., Calderone, V., Cramaro, F., Del Conte, R., Fantoni, A., Mangani, S., Quattrone, A. & Viezzoli, M. S. (2005). A prokaryotic superoxide dismutase paralog lacking two Cu ligands: From largely unstructured in solution to ordered in the crystal. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 7541–7546. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502450102>
- Barák, I. & Muchová, K. (2013) The Role of Lipid Domains in Bacterial Cell Processes. *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 4050–4065. <https://doi.org/10.3390/ijms14024050>
- Bengtsson, J., Rivolta, C., Hederstedt, L. & Karamata, D. (1999). *Bacillus subtilis* Contains Two Small *c*-Type Cytochromes with Homologous Heme Domains but Different Types of Membrane Anchors. *J. Biol. Chem.*, **274**, 26179–26184. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.26179>
- Bergsma, J., Strijker, R., Alkema, J. Y., Seijen, H. G. & Konings, W. N. (1981). NADH Dehydrogenase and NADH Oxidation in Membrane Vesicles from *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Biochem.*, **120**, 599–606. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1981.tb05742.x>
- Bergsma, J., Meihuizen, K. E., Van Oeveren, W. & Konings, W. N. (1982). Restoration of NADH Oxidation with Menaquinones and Menaquinone Analogues in Membrane Vesicles from the Menaquinone-Deficient *Bacillus subtilis aroD*. *Eur. J. Biochem.*, **125**, 651–657. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb06732.x>
- Bergsma, J., Donen, M. B. M. & Konings, W. N. (2005). Purification and Characterization of NADH Dehydrogenase from *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Biochem.*, **128**, 151–157. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1982.tb06945.x>
- Bhavsar, A. P. & Brown, E. D. (2006). Cell wall assembly in *Bacillus subtilis*: how spirals and spaces challenge paradigms. *Mol. Microbiol.*, **60**, 1077–90. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05169.x>
- Bishop, T. & Ratcliffe, P. J. (2020). Genetic basis of oxygen sensing in the carotid body: HIF2 $\alpha$  and an isoform switch in cytochrome *c* oxidase subunit 4. *Sci. Signal.*, **13**, <https://doi.org/10.1126/scisignal.aba1302>
- Biswas, R., Martinez, R. E., Göhring, N., Schlag, M., Josten, M., Xia, G., Hegler, F., Gekeler, C., Gleske, A. K., Götz, F., Sahl, H. G., Kappler, A. & Peschel, A. (2012). Proton-Binding Capacity of *Staphylococcus aureus* Wall Teichoic Acid and Its Role in Controlling Autolysin Activity. *PLoS. One.*, **7**, e41415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041415>
- Bleier, L. & Dröse, S. (2013). Superoxide generation by complex III: From mechanistic rationales to functional consequences. *Biochim. Biophys. Acta-Bioenergetics.*, **1827**, 1320–1331. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.12.002>
- Blencke, H-M, Homuth, G., Ludwig, H., Mäder, U., Hecker, M. & Stülke, J. (2003). Transcriptional profiling of gene expression in response to glucose in *Bacillus subtilis*: regulation of the central metabolic pathways. *Metab. Eng.*, **5**, 133–149. [https://doi.org/10.1016/S1096-7176\(03\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S1096-7176(03)00009-0)
- Bosak, T., Losick, R. M. & Pearson, A. (2008). A polycyclic terpenoid that alleviates oxidative stress. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **105**, 6725–6729. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800199105>
- Breyton, C. (2000). The cytochrome *b<sub>6</sub>f* complex: structural studies and comparison with the *bc<sub>1</sub>* complex. *Biochim. Biophys. Acta-Bioenergetics*, **1459**, 467–474. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(00\)00185-7](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(00)00185-7)
- Bsat, N., Chen, L. & Helmann, J. D. (1996). Mutation of the *Bacillus subtilis* alkyl hydroperoxide reductase (*ahpCF*) operon reveals compensatory interactions among hydrogen peroxide stress genes. *J. Bacteriol.*, **178**, 6579–6586. <https://doi.org/10.1128/jb.178.22.6579-6586.1996>
- Bukowska-Faniband, E. & Hederstedt, L. (2017). Transpeptidase activity of penicillin-binding protein SposVDsc in peptidoglycan synthesis conditionally depends on the disulfide reductase S to A. *Mol. Microbiol.*, **105**, 98–114. <https://doi.org/10.1111/mmi.13689>
- Choi, S-K. & Saier, M. H. (2006). Mechanism of CcpA-mediated glucose repression of the *resABCDE* operon of *Bacillus subtilis*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 104–110. <https://doi.org/10.1159/000092822>
- Chumsakul, O., Anantsri, D. P., Quirke, T., Oshima, T., Nakamura, K., Ishikawa, S. & Nakano, M. M. (2017). Genome-Wide Analysis of ResD, NsrR, and Fur Binding in *Bacillus subtilis* during Anaerobic Fermentative Growth by *In Vivo* Footprinting. *J. Bacteriol.*, **199**(13), e00086-17. <https://doi.org/10.1128/JB.00086-17>
- Cooper, D. R., Surendranath, Y., Devedjiev, Y., Bielnicki, J. &



- Derewenda, Z. S. (2007). Structure of the *Bacillus subtilis* OhrB hydroperoxide-resistance protein in a fully oxidized state. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, **63**, 1269–1273. <https://doi.org/10.1107/S0907444907050226>
- David, P. S., Morrison, M. R., Wong, S.L. & Hill, B. C. (1999). Expression, purification, and characterization of recombinant forms of membrane-bound cytochrome *c*-550nm from *Bacillus subtilis*. *Protein Expr. Purif.*, **15**, 69–76. <https://doi.org/10.1006/prep.1998.1001>
- de Vrij, W. & Konings, W. N. (1987). Kinetic characterization of cytochrome *c* oxidase from *Bacillus subtilis*. *Eur. J. Biochem.*, **166**, 581–7. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1987.tb13553.x>
- DeLoughery, A., Lalanne, J-B., Losick, R. & Li, G-W. (2018). Maturation of polycistronic mRNAs by the endoribonuclease RNase Y and its associated Y-complex in *Bacillus subtilis*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **115**, E5585–E5594. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803283115>
- Deutscher, J., Galinier, A. & Martin-Verstraete, I. (2014). Carbohydrate Uptake and Metabolism. In: *Bacillus subtilis* and Its Closest Relatives. ASM Press, Washington, DC, USA, pp 129–150
- Engelmann, S. & Hecker, M. (1996). Impaired oxidative stress resistance of *Bacillus subtilis* sigB mutants and the role of katA and katE. *FEMS Microbiol. Lett.*, **145**, 63–69. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08557.x>
- Eymann, C., Homuth, G., Scharf, C. & Hecker, M. (2002). *Bacillus subtilis* functional genomics: global characterization of the stringent response by proteome and transcriptome analysis. *J. Bacteriol.*, **184**, 2500–2520. <https://doi.org/10.1128/JB.184.9.2500-2520.2002>
- Falk, S. P., Noah, J. W. & Weisblum, B. (2010). Screen for inducers of autolysis in *Bacillus subtilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **54**, 3723–9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01597-09>
- Fang, J. & Beattie, D. S. (2003). External alternative NADH dehydrogenase of *Saccharomyces cerevisiae*: a potential source of superoxide. *Free Radic. Biol. Med.*, **34**, 478–488. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01328-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01328-X)
- Faulkner, M. J., Ma, Z., Fuangthong, M. & Helmann, J. D. (2012). Derepression of the *Bacillus subtilis* PerR Peroxide Stress Response Leads to Iron Deficiency. *J. Bacteriol.*, **194**, 1226–1235. <https://doi.org/10.1128/JB.06566-11>
- Fujita, Y. (2009). Carbon Catabolite Control of the Metabolic Network in *Bacillus subtilis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 245–259. <https://doi.org/10.1271/bbb.80479>
- Gaballa, A., Su, T. T. & Helmann, J. D. (2021). The *Bacillus subtilis* monothiol bacilliredoxin BrxC (YtxJ) and the Bdr (YpdA) disulfide reductase reduce S-bacillithiolated proteins. *Redox Biol.*, **42**, 101935. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101935>
- Galperin, M. Y., Yutin, N., Wolf, Y. I., Vera Alvarez, R. & Koonin, E. V. (2022). Conservation and Evolution of the Sporulation Gene Set in Diverse Members of the Firmicutes. *J. Bacteriol.*, **204**, e0007922. <https://doi.org/10.1128/jb.00079-22>
- García, L. M., Contreras-Zentella, M. L., Jaramillo R, Benito-Mercadé, M. C., Mendoza-Hernández, G., del Arenal, I. P., Membrillo-Hernández, J. & Escamilla, J. E. (2008). The succinate:menaquinone reductase of *Bacillus cereus*-Characterization of the membrane-bound and purified enzyme. *Can. J. Microbiol.*, **54**, 456–466. <https://doi.org/10.1139/W08-037>
- García Montes de Oca, L. Y. J., Cabellos Avelar, T., Picón Garrido, G. I., Chagoya-López, A., Delgado Buenrostro, N. L., Chirino-López, Y. I., Gómez-Lojero, C. & Gutiérrez-Cirlos, E. B. (2016). Cardiolipin deficiency causes a dissociation of the *b<sub>6c</sub>:caa<sub>3</sub>* megacomplex in *B. subtilis* membranes. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **48**, 451–467. <https://doi.org/10.1007/s10863-016-9671-y>
- García Montes de Oca, L. Y. J., Chagolla-López, A., González de la Vara, L., Cabellos-Avelar, T., Gómez-Lojero, C. & Gutiérrez-Cirlos, E. B. (2012). The composition of the *Bacillus subtilis* aerobic respiratory chain supercomplexes. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **44**, 473–486. <https://doi.org/10.1007/s10863-012-9454-z>
- Geissler, A. S., Poulsen, L. D., Doncheva, N. T., Anthon, C., Seemann, S. E., González-Tortuero, E., Breüner, A., Jensen, L. J., Hjort, C., Vinther, J. & Gorodkin, J. (2022). The impact of PrsA over-expression on the *Bacillus subtilis* transcriptome during fed-batch fermentation of alpha-amylase production. *Front. Microbiol.*, **13**, 909493. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.909493>
- Geng, H., Zuber, P. & Nakano, M. M. (2007). Regulation of Respiratory Genes by ResD–ResE Signal Transduction System in *Bacillus subtilis*. *Methods in Enzymology*, Academic Press Inc., pp 448–464
- Gong, H., Li, J., Xu, A., Tang, Y., Ji, W., Gao, R., Wang, S., Yu, L., Tian, C., Li, J., Yen, H. Y., Man Lam, S., Shui, G., Yang, X., Sun, Y., Li, X., Jia, M., Yang, C., Jiang, B., Lou, Z., Robinson, C.V., Wong, L. L., Guddat, L.W., Sun, F., Wang, Q. & Rao, Z. (2018). An electron transfer path connects subunits of a mycobacterial respiratory supercomplex. *Science*, **362(6418)**, eaat8923. <https://doi.org/10.1126/science.aat8923>
- Gong, H., Gao, Y., Zhou, X., Xiao, Y., Wang, W., Tang, Y., Zhou, S., Zhang, Y., Ji, W., Yu, L., Tian, C., Lam, S. M., Shui, G., Guddat, L.W., Wong, L. L., Wang, Q. & Rao, Z. (2020). Cryo-EM structure of trimeric *Mycobacterium smegmatis* succinate dehydrogenase with a membrane-anchor SdhF. *Nat. Commun.*, **11**, 4245. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18011-9>
- Guo, H., Suzuki, T. & Rubinstein, J. L., (2019). Structure of a bacterial ATP synthase. *Elife*, **8**, e43128 <https://doi.org/10.7554/eLife.43128>
- Gyan, S., Shiohira, Y., Sato, I., Takeuchi, M. & Sato, T. (2006). Regulatory loop between redox sensing of the NADH/NAD<sup>+</sup> ratio by Rex (YdiH) and oxidation of NADH by

- NADH dehydrogenase Ndh in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **188**, 7062–7071. <https://doi.org/10.1128/JB.00601-06>
- Haegerhaell, C., Aasa, R., Von Wachenfeldt, C. & Hederstedt, L. (1992). Two hemes in *Bacillus subtilis* succinate:menaquinone oxidoreductase (complex II). *Biochemistry*, **31**, 7411–7421. <https://doi.org/10.1021/bi00147a028>
- Härtig, E. & Jahn, D. (2012). Regulation of the Anaerobic Metabolism in *Bacillus subtilis*. *Adv. Microb. Physiol.*, pp 195–216. DOI: 10.1016/B978-0-12-394423-8.00005-6.
- Hederstedt, L., Maguire, J. J., Waring, A. J. & Ohnishi, T. (1985). Characterization by electron paramagnetic resonance and studies on subunit location and assembly of the iron-sulfur clusters of *Bacillus subtilis* succinate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **260**, 5554–5562. Me parece que esta Referencia va después de Hederstedt (2021)
- Hederstedt, L. (1986). [38] Molecular properties, genetics, and biosynthesis of *Bacillus subtilis* succinate dehydrogenase complex. *Methods in Enzymology*. pp 399–414. DOI: 10.1016/s0076-6879(86)26040-1.
- Hederstedt, L. (2002). Succinate : quinone oxidoreductase in the bacteria *Paracoccus denitrificans* and *Bacillus subtilis*. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1553**, 74–83. DOI: 10.1016/s0005-2728(01)00231-6.
- Hederstedt, L. (2021). Molecular Biology of *Bacillus subtilis* Cytochromes anno 2020. *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 8–21. <https://doi.org/10.1134/S0006297921010028>
- Heikal, A., Nakatani, Y., Dunn, E., Weimar, M. R., Day, Baker, E. N., Lott, J. S., Sazanov, L. A. & Cook, G. M. (2014). Structure of the bacterial type II NADH dehydrogenase: A monotopic membrane protein with an essential role in energy generation. *Mol. Microbiol.*, **91**, 950–964. <https://doi.org/10.1111/mmi.12507>
- Henares, B., Kommineni, S., Chumsakul, O., Ogasawara, N., Ishikawa, S. & Nakano, S. S. (2014). The ResD response regulator, through functional interaction with NsrR and fur, plays three distinct roles in *Bacillus subtilis* transcriptional control. *J. Bacteriol.*, **196**, 493–503. <https://doi.org/10.1128/JB.01166-13>
- Hey-Mogensen, M., Goncalves, R. L. S., Orr, A. L. & Brand, M. D. (2014). Production of superoxide/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by dihydroorotate dehydrogenase in rat skeletal muscle mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.*, **72**, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.007>
- Hill, B. C. & Peterson, J. (1998). Spectral and cyanide binding properties of the cytochrome aa<sub>3</sub> (600 nm) complex from *Bacillus subtilis*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **350**, 273–282. <https://doi.org/10.1006/abbi.1997.0528>
- Hinkle, P. C. (2005). P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta–Bioenergetics*, **1706**, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.004>
- Hoffmann, T., Troup, B., Szabo, A., Hungerer, C. & Jahn, D. (1995). The anaerobic life of *Bacillus subtilis*: Cloning of the genes encoding the respiratory nitrate reductase system. *FEMS Microbiol. Lett.*, **131**, 219–225. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07780.x>
- Holmberg, C., Beijer L., Rutberg, B. & Rutberg, L. (1990) Glycerol catabolism in *Bacillus subtilis*: nucleotide sequence of the genes encoding glycerol kinase (glpK) and glycerol-3-phosphate dehydrogenase (glpD). *J. Gen. Microbiol.*, **136**, 2367–2375. <https://doi.org/10.1099/00221287-136-12-2367>
- Höper, D., Völker, U. & Hecker, M. (2005). Comprehensive Characterization of the Contribution of Individual SigB-Dependent General Stress Genes to Stress Resistance of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **187**, 2810–2826. <https://doi.org/10.1128/JB.187.8.2810-2826.2005>
- Hughes, A. M., Darby, J. F., Dodson, E. J., Wilson, S. J., Turkenburg, J. P., Thomas, G.H. & Wilkinson, A. J. (2022). Peptide transport in *Bacillus subtilis* – structure and specificity in the extracellular solute binding proteins OppA and DppE. *Microbiology (Reading)*, **168**, <https://doi.org/10.1099/mic.0.001274>
- Imlay, J. A. (2019). Where in the world do bacteria experience oxidative stress? *Environ. Microbiol.*, **21**, 521–530 <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14445>
- Inaoka, T., Matsumura, Y. & Tsuchido, T. (1999). SodA and Manganese Are Essential for Resistance to Oxidative Stress in Growing and Sporulating Cells of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **181**, 1939–1943. <https://doi.org/10.1128/JB.181.6.1939-1943.1999>
- Iverson, T. M., Singh, P. K. & Cecchini, G. (2023). An evolving view of complex II—noncanonical complexes, megacomplexes, respiration, signaling, and beyond. *J. Biol. Chem.*, **299**, 104761. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.104761>
- Johnson, L. A. & Hug, L. A. (2019). Distribution of reactive oxygen species defense mechanisms across domain bacteria. *Free Radic. Biol. Med.*, **140**, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.032>
- Jolliffe, L. K., Doyle, R. J. & Streips, U. N. (1981). The energized membrane and cellular autolysis in *Bacillus subtilis*. *Cell.*, **25**, 753–763. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90183-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90183-5)
- Jünemann, S. (1997). Cytochrome *bd* terminal oxidase. *Biochim. Biophys. Acta Bioenergetics*, **1321**, 107–127. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(97\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(97)00046-7)
- Khanna, K., Lopez-Garrido, J. & Pogliano, K. (2020). Shaping an Endospore: Architectural Transformations During *Bacillus subtilis* Sporulation. *Annu. Rev. Microbiol.*, **8**, 361–386. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-022520-074650>
- Komori, H., Seo, D., Sakurai, T. & Higuchi, Y. (2010). Crystal structure analysis of *Bacillus subtilis* ferredoxin-NADP(+) oxidoreductase and the structural basis for its substrate selectivity. *Protein Sci.*, **19(12)**, 2279–90. DOI: 10.1002/pro.508.
- Kovács, Á.T. (2019). *Bacillus subtilis*. *Trends. Microbiol.*, **27**, 724–725. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.03.008>
- Kröger, A. (1978). [56] Determination of contents and redox

- states of ubiquinone and menaquinone. In: *Methods in Enzymology*. pp 579–591
- Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., Alloni, G., Azevedo, V., Bertero, M. G., Bessières, P., Bolotin, A., Borchert, S., Borriss, R., Boursier, L., Brans, A., Braun, M., Brignell, S. C., Bron, S., Brouillet, S., Bruschi, C.V., Caldwell, B., Capuano, V., Carter, N. M., Choi, S. K., Codani, J. J., Connerton, I. F., Cummings, N. J., Daniel, R. A., Denizot, F., Devine, K. M., Düsterhöft, A., Ehrlich, S. D., Emmerson, P.T., Entian, K. D., Errington, J., Fabret, C., Ferrari, E., Foulger, D., Fritz, C., Fujita, M., Fujita, Y., Fuma, S., Galizzi, A., Galleron, N., Ghim, S. Y., Glaser, P., Goffeau, A., Golightly, E. J., Grandi, G., Guiseppi, G., Guy, B. J., Haga, K., Haiech, J., Harwood, C. R., Hènaud, A., Hilbert, H., Holsappel, S., Hosono, S., Hullo, M. F., Itaya, M., Jones, L., Joris, B., Karamata, D., Kasahara, Y., Klaerr-Blanchard, M., Klein, C., Kobayashi, Y., Koetter, P., Koningstein, G., Krogh, S., Kumano, M., Kurita, K., Lapidus, A., Lardinois, S., Lauber, J., Lazarevic, V., Lee, S. M., Levine, A., Liu, H., Masuda, S., Mauël, C., Médigue, C., Medina, N., Mellado, R. P., Mizuno, M., Moestl, D., Nakai, S., Noback, M., Noone, D., O'Reilly, M., Ogawa, K., Ogiwara, A., Oudega, B., Park, S. H., Parro, V., Pohl, T. M., Portetelle, D., Porwollik, S., Prescott, A. M., Presecan, E., Pujic, P., Purnelle, B., Rapoport, G., Rey, M., Reynolds, S., Rieger, M., Rivolta, C., Rocha, E., Roche, B., Rose, M., Sadaie, Y., Sato, T., Scanlan, E., Schleich, S., Schroeter, R., Scoffone, F., Sekiguchi, J., Sekowska, A., Seror, S. J., Serror, P., Shin, B. S., Soldo, B., Sorokin, A., Tacconi, E., Takagi, T., Takahashi, H., Takemaru, K., Takeuchi, M., Tamakoshi, A., Tanaka, T., Terpstra, P., Tognoni, A., Tosato, V., Uchiyama, S., Vandenbol, M., Vannier, F., Vassarotti, A., Viari, A., Wambutt, R., Wedler, E., Wedler, H., Weitzenegger, T., Winters, P., Wipat, A., Yamamoto, H., Yamane, K., Yasumoto, K., Yata, K., Yoshida, K., Yoshikawa, H. F., Zumstein, E., Yoshikawa, H. & Danchin, A. (1997). The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, **390**, 249–256. <https://doi.org/10.1038/36786>
- Kurisu, G., Zhang, H., Smith, J. L. & Cramer, W.A. (2003). Structure of the Cytochrome *b<sub>f</sub>* Complex of Oxygenic Photosynthesis: Tuning the Cavity. *Science*, **302**, 1009–14. <https://doi.org/10.1126/science.1090165>
- Kutoh, E. & Sone, N. (1988). Quinol-cytochrome *c* oxidoreductase from the thermophilic bacterium PS3. Purification and properties of a cytochrome *bc<sub>1</sub>*(*b<sub>f</sub>*) complex. *J. Biol. Chem.*, **263**, 9020–9026.
- Larsson, J. T., Rogstam, A. & von Wachenfeldt, C. (2005). Coordinated patterns of cytochrome *bd* and lactate dehydrogenase expression in *Bacillus subtilis*. *Microbiology (NY)*, **151**, 3323–3335. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28124-0>
- Le Brun, N. E., Bengtsson, J. & Hederstedt, L. (2000). Genes required for cytochrome *c* synthesis in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.*, **36**, 638–650. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01883.x>
- Lemma, E., Unden, G. & Kröger, A. (1990). Menaquinone is an obligatory component of the chain catalyzing succinate respiration in *Bacillus subtilis*. *Arch. Microbiol.*, **155**, 62–67. <https://doi.org/10.1007/BF00291276>
- Liebl, U., Pezennec, S., Riedel, A., Kellner, E. & Nitschke, W. (1992). The Rieske FeS center from the gram-positive bacterium PS3 and its interaction with the menaquinone pool studied by EPR. *J. Biol. Chem.*, **267**, 14068–14072
- Liu, X. & Taber, H. W. (1998). Catabolite Regulation of the *Bacillus subtilis* *ctaBCDEF* Gene Cluster. *J. Bacteriol.*, **180**, 6154–6163. <https://doi.org/10.1128/JB.180.23.6154-6163.1998>.
- Lu, J. & Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic. Biol. Med.*, **66**, 75–87 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.
- Ludwig, H. & Stülke, J. (2001). The *Bacillus subtilis* catabolite control protein CcpA exerts all its regulatory functions by DNA-binding. *FEMS Microbiol. Lett.*, **203**, 125–129. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(01\)00357-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(01)00357-3)
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M. & Stahl, D. A. (2017). *Brock Biology of Microorganisms*, 14 th ed. Inc.2015 ISBN: 978-0-321-89739-8.
- Matsson, M., Tolstoy, D., Aasa, R. & Hederstedt, L. (2000). The distal heme center in *Bacillus subtilis* succinate:quinone reductase is crucial for electron transfer to menaquinone. *Biochemistry*, **39**, 8617–8624. <https://doi.org/10.1021/bi000271m>
- Meier, T., Morgner, N., Matthies, D., Pogoryelov, D., Keis, S., Cook, G. M., Dimroth, P. & Brutschy, B. (2007). A tridecameric c ring of the adenosine triphosphate (ATP) synthase from the thermoalkaliphilic *Bacillus* sp. strain TA2.A1 facilitates ATP synthesis at low electrochemical proton potential. *Mol. Microbiol.*, **65**, 1181–92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05857.x>
- Melin, L., Magnusson, K. & Rutberg, L. (1987). Identification of the promoter of the *Bacillus subtilis* *sdh* operon. *J. Bacteriol.*, **169**, 3232–3236. <https://doi.org/10.1128/jb.169.7.3232-3236.1987>
- Melin, L., Rutberg, L. & von Gabain, A. (1989). Transcriptional and posttranscriptional control of the *Bacillus subtilis* succinate dehydrogenase operon. *J. Bacteriol.*, **171**, 2110–2115. <https://doi.org/10.1128/jb.171.4.2110-2115.1989>
- Messner, K. R. & Imlay, J. A. (1999). The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **274**, 10119–10128. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.15.10119>
- Miki, K. & Okunuki, K. (1969). Cytochromes of *Bacillus subtilis* II. Purification and spectral properties of cytochromes *c*-550 and *c*-554. *J. Biochem.*, **66**, 831–843. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a129214>

- Mileykovskaya, E. & Dowhan, W. (2009). Cardiolipin membrane domains in prokaryotes and eukaryotes. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes*, **1788**, 2084–2091. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.04.003>
- Molle, V., Fujita, M., Jensen, S. T., Eichenberger, P., González-Pastor, J. E., Liu, J. S. & Losick, R. (2003). The Spo0A regulon of *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.*, **50**, 1683–1701. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03818.x>
- Moreno-Domínguez, A., Ortega-Sáenz, P., Gao, L., Colinas, O., García-Flores, P., Bonilla-Henao, V., Aragonés, J., Hüttemann, M., Grossman, L. I., Weissmann, N., Sommer, N., López-Barneo, J. (2020). Acute O<sub>2</sub> sensing through HIF2 $\alpha$ -dependent expression of atypical cytochrome oxidase subunits in arterial chemoreceptors. *Sci. Signal.*, **13**, 9452. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aay9452>
- Moreno, M. S., Schneider B. L., Maile, R. R., Weyler, W. & Saier Jr., M. H. (2001). Catabolite repression mediated by the CcpA protein in *Bacillus subtilis*: novel modes of regulation revealed by whole-genome analyses. *Mol. Microbiol.*, **39**, 1366–1381. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2001.02328.x>
- Moszer, I. (2002). SubtiList: the reference database for the *Bacillus subtilis* genome. *Nucleic Acids Res.*, **30**, 62–65. <https://doi.org/10.1093/nar/30.1.62>
- Muchová, K., Wilkinson, A. J. & Barák, I. (2011). Changes of lipid domains in *Bacillus subtilis* cells with disrupted cell wall peptidoglycan. *FEMS Microbiol. Lett.*, **325**, 92–8. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02417.x>
- Nakano, M. M. & Zhu, Y. (2001). Involvement of ResE Phosphatase Activity in Down-Regulation of ResD-Controlled Genes in *Bacillus subtilis* during Aerobic Growth. *J. Bacteriol.*, **183**, 1938–1944. <https://doi.org/10.1128/JB.183.6.1938-1944.2001>
- Nakano, M. M. & Zuber, P. (1998). Anaerobic growth of a “strictaerobe” (*Bacillus subtilis*). *Annu. Rev. Microbiol.*, **52**, 165–190. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.52.1.165>
- Nakatani, Y., Jiao, W., Aragão, D., Shimaki, Y., Petri, Y., Parker, E. J. & Cook, G. M. (2017). Crystal structure of type II NADH:quinone oxidoreductase from *Caldalkalibacillus thermarum* with an improved resolution of 2.15 Å. *Acta Crystallogr. F: Struct. Biol. Commun.*, **73**, 541–549. <https://doi.org/10.1107/S2053230X17013073>
- Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2021). Lehninger principles of biochemistry. Macmillan Learning. 8th edn. 1248 p.p.
- Nicholls, D. G. & Ferguson, S. J. (2013a). The Chemiosmotic Proton Circuit in Isolated Organelles. In: *Bioenergetics*. Elsevier, pp 53–87
- Nicholls, D. G. & Ferguson S. J. (2013b) Respiratory Chains. In: *Bioenergetics*. Elsevier, pp 91–157
- Nicolas, P., Mäder, U., Dervyn, E., Leduc, A., Pigeonneau, N., Bidnenko, E., Marchadier, E., Hoebeke, M., Aymerich, S., Becher, D., Bisicchia, P., Botella, E., Delumeau, O., Doherty, G., Denham, E. L., Fogg, M. J., Fromion, V., Goelzer, A., Hansen, A., Härtig, E., Harwood, C. R., Homuth, G., Jarmer, H., Jules, M., Klipp, E., Le Chat, L., Lecointe, F., Lewis, P., Liebermeister, W., March, A., Mars, R. A., Nannapaneni, P., Noone, D., Pohl, S., Rinn, B., Rügheimer, F., Sappa, P. K., Samson, F., Schaffer, M., Schwikowski, B., Steil, L., Stülke, J., Wiegert, T., Devine, K. M., Wilkinson, A. J., van Dijl, J. M., Hecker, M., Völker, U., Bessières, P. & Noirot, P. (2012). Condition-Dependent Transcriptome Reveals High-Level Regulatory Architecture in *Bacillus subtilis*. *Science*, **335**, 1103–1106. <https://doi.org/10.1126/science.1206848>
- Ollinger, J., Song, K-B., Antelmann, H., Hecker, M. & Helmann, J. D. (2006). Role of the Fur Regulon in Iron Transport in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **188**, 3664–3673. <https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3664-3673.2006>
- Parker, M. J., Zhu, X. & Stubbe, J. (2014). *Bacillus subtilis* Class Ib Ribonucleotide Reductase: High Activity and Dynamic Subunit Interactions. *Biochemistry*, **53**, 766–776. <https://doi.org/10.1021/bi401056e>
- Pechter, K. P., Meyer, F. M., Serio, A. W., Stülke, J. & Sonenshein, A. L. (2013). Two roles for aconitase in the regulation of tricarboxylic acid branch gene expression in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **195**(7), 1525-37. DOI: 10.1128/JB.01690-12.
- Pedreira, T., Elfmann, C. & Stülke, J. (2022). The current state of *Subti* Wiki, the database for the model organism *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Res.*, **50**, D875–D882. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab943>
- Petersohn, A., Bernhardt, J., Gerth, U., Höper, D., Koburger, T., Völker, U. & Hecker, M. (1999a). Identification of  $\zeta$  B -Dependent Genes in *Bacillus subtilis* Using a Promoter Consensus-Directed Search and Oligonucleotide Hybridization. *J. Bacteriol.*, **181**, 5718–5724. <https://doi.org/10.1128/JB.181.18.5718-5724.1999>
- Petersohn, A., Engelmann, S., Setlow, P. & Hecker, M. (1999b). The katX gene of *Bacillus subtilis* is under dual control of  $\sigma^B$  and  $\sigma^F$ . *Mol. Gen. Genet.*, **262**, 173–179. <https://doi.org/10.1007/s004380051072>
- Picón Garrido, G. I., García García, A. P., González de la Vara, L., Chagolla-López, A., Gómez-Lojero, C. & Gutiérrez-Cirlos, E. B. (2022). Separation and analysis of *Bacillus subtilis* respiratory chain complexes. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **54**, 251–271. <https://doi.org/10.1007/S10863-022-09951-6/>
- Puri-Taneja, A., Schau, M., Chen, Y. & Hulett, F. M. (2007). Regulators of the *Bacillus subtilis* *cydABCD* Operon: Identification of a Negative Regulator, CcpA, and a Positive Regulator, ResD. *J. Bacteriol.*, **189**, 3348–3358. <https://doi.org/10.1128/JB.00050-07>
- Richardson, D. J. (2000). Bacterial respiration: a flexible process for a changing environment 1999 Fleming Lecture (Delivered at the 144th meeting of the Society for General Microbiology, 8 September 1999). *Microbiology* (NY), **146**, 551–571. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-3-551>
- Rosignoli, S. & Paiardini, A. (2022). DockingPie: a consensus

- docking plugin for PyMOL. *Bioinformatics.*, **38**, 4233–4234. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac452>
- Sahoo, S., Rao, K. K. & Suraishkumar, G. K. (2006) Reactive oxygen species induced by shear stress mediate cell death in *Bacillus subtilis*. *Biotechnol. Bioeng.*, **94**, 118–127. <https://doi.org/10.1002/bit.20835>
- Santana, M., Kunst, F., Hullo, M. F., Rapoport, G., Danchin, A. & Glaser, P. (1992). Molecular cloning, sequencing, and physiological characterization of the *gox* operon from *Bacillus subtilis* encoding the *aa<sub>3</sub>*-600 quinol oxidase. *J. Biol. Chem.*, **267**, 10225–31. PMID: 1316894
- Santana, M., Ionescu, M. S., Vertes, A., Longin, R., Kunst, F., Danchin, A. & Glaser, P. (1994). *Bacillus subtilis* F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ATPase: DNA sequence of the *atp* operon and characterization of *atp* mutants. *J. Bacteriol.*, **176**, 6802–6811. <https://doi.org/10.1128/jb.176.22.6802-6811.1994>
- Saraste, M., Metso, T., Nakari, T., Jalli, T., Lauraeus, M. & Van der Oost, J. (1991). The *Bacillus subtilis* cytochrome-*c* oxidase. *Eur. J. Biochem.*, **195**, 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1991.tb15732.x>
- Sarkar, P. & Suraishkumar, G. K. (2011). pH and Temperature Stresses in Bioreactor Cultures: Intracellular Superoxide Levels. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **50**, 13129–13136. <https://doi.org/10.1021/ie200081k>
- Schau, M., Chen, Y. & Hulett, F. M. (2004). *Bacillus subtilis* YdiH Is a Direct Negative Regulator of the *cydABCD* Operon. *J. Bacteriol.*, **186**, 4585–4595. <https://doi.org/10.1128/JB.186.14.4585-4595.2004>
- Schirawski, J. & Uden, G. (1998). Menaquinone-dependent succinate dehydrogenase of bacteria catalyzes reversed electron transport driven by the proton potential. *Eur. J. Biochem.*, **257**, 210–215. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1998.2570210.x>
- Schleifer, K.-H. (2009). Phylum XIII. Firmicutes Gibbons and Murray 1978, 5 (Firmacutes [sic] Gibbons and Murray 1978, 5). In: *Systematic Bacteriology*. Springer New York, New York, NY, pp 19–1317
- Schnorpfeil, M., Jausch, I. G., Biel, S., Kröger, A. & Uden, G. (2001). Generation of a proton potential by succinate dehydrogenase of *Bacillus subtilis* functioning as a fumarate reductase. *Eur. J. Biochem.*, **268**, 3069–3074. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02202.x>
- Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *J. Appl. Microbiol.*, **101**, 514–25. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>
- Shin, W.-H. & Kihara, D. (2019). 55 Years of the Rossmann Fold. In: Kister AE (ed) *Protein Supersecondary Structures. Methods and Protocols*. pp 1–13.
- Slepecky, R. A. & Hemphill, H. E. (2006). The Genus *Bacillus*—Nonmedical. In: *The Prokaryotes*. Springer US, New York, NY, pp 530–562
- Smith, T. J., Blackman, S. A. & Foster, S. J. (2000). Autolysins of *Bacillus subtilis*: multiple enzymes with multiple functions. *Microbiology* (NY), **146**, 249–262. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-2-249>
- Sonenshein, A. L. (2007). Control of key metabolic intersections in *Bacillus subtilis*. *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**, 917–927. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1772>
- Soriano, G. M., Ponamarev, M. V., Carrell, C. J., Xia, D., Smith, J. L. & Cramer, W. A. (1999). Comparison of the cytochrome *bc<sub>1</sub>* complex with the anticipated structure of the cytochrome *b<sub>f</sub>* complex: De plus Ca change de plus c'est la meme chose. *J. Bioenerg. Biomembr.*, **31**, 201–214. <https://doi.org/10.1023/a:1005463527752>
- Sousa, P. M. F., Videira, M. A. M., Bohn, A., Hood, B. L., Conrads, T. P., Goulao, L. F. & Melo, A. M. P. (2012). The aerobic respiratory chain of *Escherichia coli*: from genes to supercomplexes. *Microbiology* (Reading), **158**, 2408–2418. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.056531-0>
- Sousa, P. M. F., Videira, M. A. & Melo A. M. (2013a). The formate: Oxygen oxidoreductase supercomplex of *Escherichia coli* aerobic respiratory chain. *FEBS Lett.*, **587**, 2559–2564. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.06.031>
- Sousa, P. M. F., Videira, M. A. M., Santos, F. A. S., Hood, B. L., Conrads, T. P. & Melo, A. M. P. (2013b). The *bc:caa<sub>3</sub>* supercomplexes from the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis* respiratory chain: A megacomplex organization? *Arch. Biochem. Biophys.*, **537**, 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.07.012>
- Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J. L. & Picot, D. (2003). An atypical haem in the cytochrome *b<sub>f</sub>* complex. *Nature*, **426**, 413–418. <https://doi.org/10.1038/nature02155>
- Stülke, J. & Hillen, W. (2000). Regulation of carbon catabolism in *Bacillus* species. *Annu. Rev. Microbiol.*, **54**, 849–80. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.849>
- Sun, G., Sharkova, E., Chesnut, R., Birkey, S., Duggan, M. F., Sorokin, A., Pujic, P., Ehrlich, S. D. & Hulett, F. M. (1996). Regulators of aerobic and anaerobic respiration in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **178**, 1374–1385. <https://doi.org/10.1128/jb.178.5.1374-1385.1996>
- Svensson, B. & Hederstedt, L. (1994). *Bacillus subtilis* CtaA is a heme-containing membrane protein involved in heme A biosynthesis. *J. Bacteriol.*, **176**, 6663–6671. <https://doi.org/10.1128/jb.176.21.6663-6671.1994>
- Takazaki, H., Kusumoto, T., Ishibashi, W., Yasunaga, T. & Sakamoto, J. (2022). Extended supercomplex contains type-II NADH dehydrogenase, cytochrome *bcc* complex, and *aa<sub>3</sub>* oxidase in the respiratory chain of *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biosci. Bioeng.*, **133**, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.10.004>
- Thauer, R. K., Jungermann, K. & Decker, K. (1977). Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **41**, 100–180. <https://doi.org/10.1128/MMBR.41.1.100-180.1977>
- The UniProt Consortium. (2023). UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res.*, **51**, D523–D531. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC1052>

- Tossounian, M. A., Baczynska, M., Dalton, W., Peak-Chew, S. Y., Undzenas, K., Korza, G., Filonenko, V., Skehel, M., Setlow, P. & Gout, I. (2023). *Bacillus subtilis* YtpP and Thioredoxin A Are New Players in the Coenzyme-A-Mediated Defense Mechanism against Cellular Stress. *Antioxidants*, **12**, 938. <https://doi.org/10.3390/antiox12040938>
- von Wachenfeldt, C. & Hederstedt, L. (1993). Physico-chemical characterisation of membrane-bound and water-soluble forms of *Bacillus subtilis* cytochrome *c*-550. *Eur. J. Biochem.*, **212**, 499–509. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb17687.x>
- Wang, E., Ikonen, T. P., Knaapila, M., Svergun, D., Logan, D. T. & von Wachenfeldt, C. (2011). Small-angle X-ray Scattering Study of a Rex Family Repressor: Conformational Response to NADH and NAD<sup>+</sup> Binding in Solution. *J. Mol. Biol.*, **408**, 670–683. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.02.050>
- Wang, S. T., Setlow, B., Conlon, E. M., Lyon, J. L., Imamura, D., Sato, T., Setlow, P., Losick, R. & Eichenberger, P. (2006). The Forespore Line of Gene Expression in *Bacillus subtilis*. *J. Mol. Biol.*, **358**, 16–37. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.059>
- Wendrich, T. M. & Marahiel, M. A. (1997). Cloning and characterization of a *relA* / *spoT* homologue from *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.*, **26**, 65–79. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5511919.x>
- Winstedt, L. & von Wachenfeldt, C. (2000). Terminal Oxidases of *Bacillus subtilis* Strain 168: One Quinol Oxidase, Cytochrome *aa*<sub>3</sub> or Cytochrome *bd*, Is Required for Aerobic Growth. *J. Bacteriol.*, **182**, 6557–6564. <https://doi.org/10.1128/JB.182.23.6557-6564.2000>
- Wittig, I., Karas, M. & Schägger, H. (2007). High Resolution Clear Native Electrophoresis for In-gel Functional Assays and Fluorescence Studies of Membrane Protein Complexes. *Mol. Cell. Proteomics*, **6**, 1215–1225. <https://doi.org/10.1074/mcp.M700076-MCP200>
- Xu, J., Ding, Z., Liu, B., Yi, S. M., Li, J., Zhang, Z., Liu, Y., Li, J., Liu, L., Zhou, A., Gennis, R. B. & Zhu, J. (2020). Structure of the cytochrome *aa*<sub>3</sub>-600 heme-copper menaquinol oxidase bound to inhibitor HQNO shows TM0 is part of the quinol binding site. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **117**, 872–876. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915013117>
- Yagi T., Seo B. B., Nakamaru-Ogiso E., Marella M., Barber-Singh, J., Yamashita T., Kao M. C. & Matsuno-Yagi, A. (2006). Can a Single Subunit Yeast NADH Dehydrogenase (Ndi1) Remedy Diseases Caused by Respiratory Complex I Defects? *Rejuvenation Res.*, **9**, 191–197. <https://doi.org/10.1089/rej.2006.9.191>
- Yamashita, E., Zhang, H. & Cramer, W. A. (2007). Structure of the Cytochrome *b<sub>6</sub>f* Complex: Quinone Analogue Inhibitors as Ligands of Heme *c<sub>n</sub>*. *J. Mol. Biol.*, **370**, 39–52. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.04.011>
- Yankovskaya, V., Horsefield, R., Törnroth, S., Luna-Chavez, C., Miyoshi, H., Léger, C., Byrne, B., Cecchini, G. & Iwata, S. (2003). Architecture of Succinate Dehydrogenase and Reactive Oxygen Species Generation. *Science*, **299**, 700–704. <https://doi.org/10.1126/science.1079605>
- Yi, S. M., Taguchi, A. T., Samoilova, R. I., O'Malley, P. J., Gennis, R. B. & Dikanov, S. A. (2015). Plasticity in the High Affinity Menaquinone Binding Site of the Cytochrome *aa*<sub>3</sub>-600 Menaquinol Oxidase from *Bacillus subtilis*. *Biochemistry*, **54**, 5030–5044. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00528>
- Yoshida, M., Sone, N., Hirata, H. & Kagawa, Y. (1975). A highly stable adenosine triphosphatase from a thermophilic bacterium. Purification, properties, and reconstitution. *J. Biol. Chem.*, **250**, 7910–6. PMID: 240842
- Yu, J., Hederstedt, L. & Piggot, P. J. (1995). The cytochrome *bc* complex (menaquinone:cytochrome *c* reductase) in *Bacillus subtilis* has a nontraditional subunit organization. *J. Bacteriol.*, **177**, 6751–6760. <https://doi.org/10.1128/jb.177.23.6751-6760.1995>
- Yu, J. & Le Brun, N. E. (1998). Studies of the Cytochrome Subunits of Menaquinone: Cytochrome *c* Reductase (*bc* Complex) of *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.*, **273**, 8860–8866. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.15.8860>
- Zhang, S. & Haldenwang, W. G. (2003). RelA is a component of the nutritional stress activation pathway of the *Bacillus subtilis* transcription factor  $\sigma^B$ . *J. Bacteriol.*, **185**, 5714–5721. <https://doi.org/10.1128/JB.185.19.5714-5721.2003>