N.º 79 JUNIO 2025

Señalización celular y metabolismo del hierro en *Saccharomyces cerevisiae*

Mª ANGELES DE LA TORRE RUIZ Y NURIA PUJOL CARRIÓN.
Dept. Ciencias Médicas Básicas-IRBLleida. Biomedicina I. Universidad de Lleida.
mariaangeles.delatorre@udl.cat

Miembros del grupo en la foto, *de izquierda a derecha: Bronagh Clooney, Mª Angeles de la Torre, Marta Carrillo, Nuria Pujol y David Argilés.*

Nuestro grupo tiene una larga trayectoria en el estudio de diversos mecanismos celulares relacionados con la señalización celular, concretamente en relación con la respuesta a estrés ambiental: oxidativo y nutricional, con el envejecimiento celular a través del estudio de la extensión cronológica de la vida y con el metabolismo del hierro en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

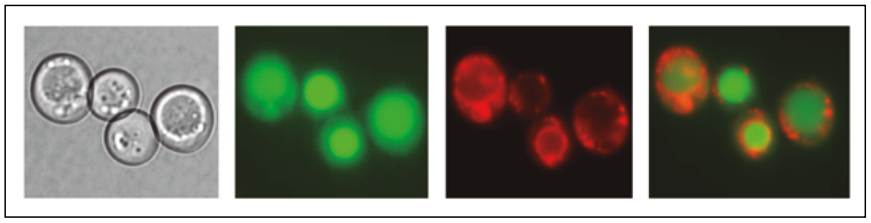
En los últimos años nos hemos interesado por:

- Los mecanismos de señalización que regulan la autofagia, dependientes del metabolismo del hierro y de la glucosa utilizando el modelo *Saccharomyces cerevisiae*.
- Caracterización de nuevas funciones en proteínas humanas y vegetales de interés que están relacionadas con el metabolismo del hierro, mediante la humanización o la expresión heteróloga en la levadura.
- Desarrollo de una línea de transferencia e innovación orientada a paliar el déficit de hierro en pacientes aquejados de anemia ferropénica de una manera segura, no inflamatoria y sostenible.

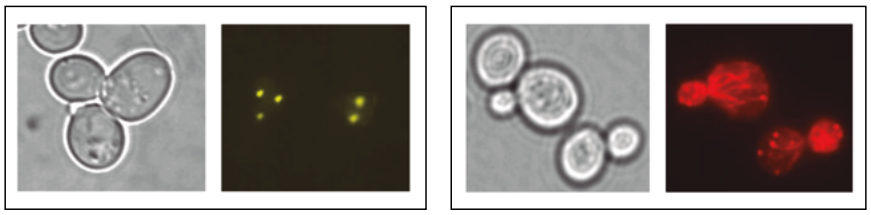
Señalización celular y metabolismo del hierro

El hierro es un metal esencial que interviene en diversos procesos biológicos comunes a todas las células eucariotas. La producción de ATP, la respiración mitocondrial, la síntesis y reparación del ADN y, en general, el crecimiento celular son funciones celulares que requieren hierro. En *Saccharomyces cerevisiae*, el hierro se almacena en vacuolas y mitocondrias; una parte del hierro libre en forma de Fe 3+ puede provocar estrés oxidativo, daño en el DNA y en diversas estructuras celulares. En *S. cerevisiae* todos los genes que participan en el metabolismo del hierro se denominan "regulón del hierro" que está bajo la estrecha supervisión de los factores de transcripción Aft1/Aft2. Aft1 se transloca en el núcleo cuando el hierro es limitante. La función transcripcional de Aft1 está regulada por las dos glutaredoxinas monotiólicas redundantes, Grx3 y Grx4, que participan en la exportación de Aft1 desde el núcleo al citoplasma (nuestras publicaciones anteriores).

Nuestros estudios recientes (Pujol-Carrión *et al.,* 2021) demostraron que la vía de integridad celular PKC1-MAPK interviene en la correcta actividad del regulón del hierro. Demostramos que la MAPK Slt2 (la MAPKKK de la vía Pkc1) se une directamente a Aft1 y regula negativamente su función mediante fosforilación durante todas las fases del crecimiento. La pérdida de la



Bulk autofagia: Localización vacuolar de Atg8GFP determinada mediante colocalización con el colorante lipofílico vacuolar FM4-64.



Rad52YFP foci en respuesta a estrés oxidativo (panel izquierdo). Cables de actina en células en crecimiento exponencial (panel derecho)

función de Slt2 tiene un impacto negativo en la esperanza de vida cronológica debido a la desregulación de Aft1 y la toxicidad por sobrecarga de hierro.

Además, hemos podido determinar (Montellà-Manuel *et al.,* 2023) que la ruta TORC2/Ypk1 es responsable de la localización nuclear de Aft1 en respuesta a la señal de escasez de hierro a través de la actividad de la vía de los esfingolípidos.

S cerevisiae como herramienta para la caracterización de nuevas funciones de proteínas eucariotas

S. cerevisiae es un modelo microbiano eucariota óptimo para estudiar los procesos biológicos en organismos superiores, a pesar de su divergencia evolutiva. La función molecular de las glutaredoxinas Grx3 y Grx4 de levadura es sumamente interesante, ya que ambas proteínas son necesarias para mantener una correcta homeostasis del hierro y una respuesta eficiente al estrés oxidativo. La proteína ortóloga humana Glrx3 (PICOT) está asociada a diversas enfermedades humanas relacionadas con desregulación del transporte y almacenamiento del hierro intracelular así como con procesos oncológicos y senescentes. La humanización de la levadura y el uso de librerías de ratón y humanas nos permitió caracterizar una asociación entre la GMP sintasa humana y la proteína Glrx3 dando lugar a un complejo cuyo papel esencial consiste en regular la actividad de la quinasa Gcn2, también conservada en *S. cerevisiae* y cuya función principal está involucrada en la respuesta a estrés. La importancia evolutiva de este mecanismo queda avalada por demostración de su conservación en levaduras, ratones y humanos (Mechoud *et al.,* 2020).

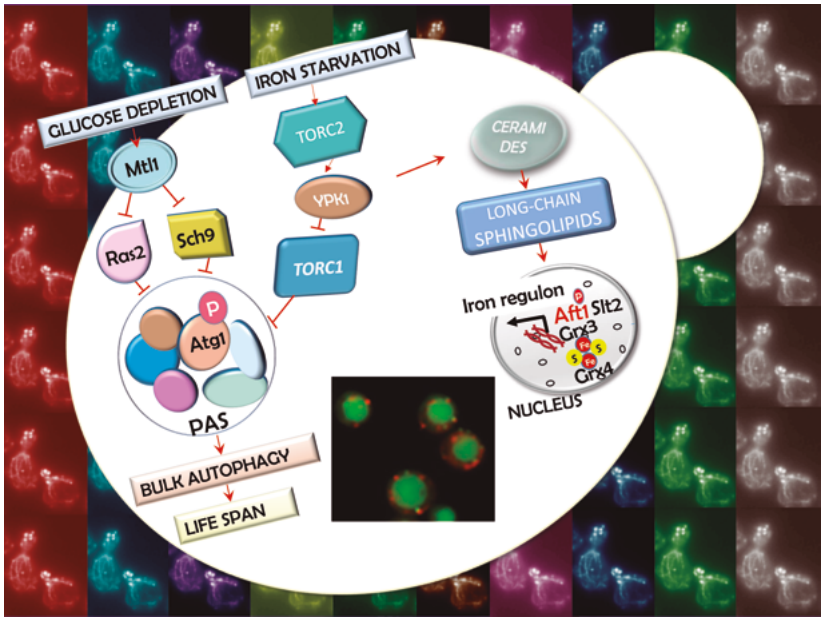
Desde principios de este siglo, *S. cerevisiae* se ha modificado ampliamente con genes humanos y vegetales para evaluar su función. Hemos utilizado la estrategia de expresión de proteínas heterólogas en levadura para ilustrar las características funcionales de las ferritinas humanas y de soja. Hemos podido identificar diferencias interesantes entre las ferritinas humanas y de soja en cuanto a localización celular y estabilidad proteica. Sin embargo, las cuatro ferritinas H, L, H1 y H2 presentan funciones noveles, conservadas y similares entre ellas como reductoras y neutralizadoras de los efectos negativos que las ROS, dependientes de la presencia de hierro en la célula, provocan en la viabilidad celular y en el daño al DNA, más específicamente en el proceso de DSB (Pujol-Carrión y de la Torre Ruiz, 2025).

Autofagia, señales, metabolismo y hierro

La macroautofagia (bulk autophagy) es un proceso en el que varios componentes celulares (dañados o superfluos), orgánulos, elementos citoplasmáticos, microorganismos, etc, son engullidos dentro de vesículas citosólicas de doble membrana llamadas autofagosomas (omegasomas en humanos). En eucariotas, la maquinaria central de la autofagia incluye los cuatro pasos siguientes: Inducción que se inicia mediante la activación del complejo Atg1. Nucleación de vesículas para reclutar proteínas Atg, vesículas COPII y lípidos al sitio de ensamblaje del fagóforo (PAS). Formación de autofagosomas y Expansión y finalización de vesículas. La membrana externa del fagosoma se fusiona a la membrana vacuolar (lisosomas en humanos) liberando un cuerpo esférico denominado cuerpo autofágico. Éste es digerido por hidrolasas, liberando al citosol los productos de descomposición resultantes de la digestión que ocurre en dichos orgánulos para ser reciclado por las células. Es una vía de reciclaje esencial para la supervivencia celular. *S. cerevisiae* ha sido un magnífico modelo de estudio de la autofagia general y de la especializada, consecuencia de su importancia lo ha sido la obtención del premio Nobel de Medicina en 2016 por Yoshinori Oshumi por sus estudios acerca de la autofagia en el modelo eucariota *S. cerevisiae*.

En nuestro grupo, hemos investigado los efectos que la limitación de hierro provoca en la autofagia en *S. cerevisiae*. Así, determinamos que la privación de hierro activa la macroautofagia (bulk autophagy) en condiciones de crecimiento donde el hierro es el único nutriente limitante. Tor2–Ypk1 es necesario para detectar y transmitir la señal de ausencia de hierro, lo que permite a Tor1 desfosforilar Atg13 e inducir el mecanismo de autofagia. Snf1/AMPK y Aft1 participan en la detección de la señal de reposición de hierro, lo que conduce a la inducción de Tor1 y la consiguiente represión de la autofagia. Así, la limitación de hierro provoca una entrada temprana en la quiescencia y la prolongación de la vida cronológica, condicionada a la activación simultánea de la maquinaria de autofagia (Montellà-Manuel *et al.,* 2021a).

N.º 79 JUNIO 2025



Esquema representativo de las interrelaciones existentes entre diversas vías de señalización celular, el metabolismo del hierro, la regulación de la autofagia y la extensión de la vida en Saccharomyces cerevisiae *(publicado por el grupo en la bibliografía adjunta).*

En otro trabajo, demostramos que la autofagia en masa se induce en gran medida durante la transición diaúxica, de forma totalmente dependiente de la disponibilidad de glucosa y aminoácidos. Comprobamos que Mtl1, uno de los receptores de la ruta de integridad celular PKC1-MAPK, tiene un papel fundamental en el mantenimiento de una correcta homeostasis celular en períodos de escasez de glucosa en *S. cerevisiae* ya que es determinante para la detección de la concentración de glucosa y para la transmisión de dicha señal a las proteínas Ras2 y Sch9, ello converge en la fosforilación de Atg1 y la activación de la maquinaria macroautofágica (Montellà-Manuel *et al.,* 2021b). Contrariamente a lo que se ha publicado con otras respuestas, la función del complejo TORC1 no participa en la inducción de la autofagia durante el shift diaúxico cuando la glucosa es limitante. Sin embargo, en este contexto, la quinasa Gcn2 sí es necesaria para regular la activación de la autofagia tras la carencia de aminoácidos que ocurre posteriormente a la de glucosa, independientemente del complejo TORC1. La función de Mtl1 también participa en la señalización de la degradación autofágica de las mitocondrias durante la fase estacionaria a través de Ras2 y Sch9, de forma dependiente de las proteínas Atg33 y Atg11 e independiente de la proteína Atg32, el receptor canónigo de la mitofagia.

La extraordinaria conservación que existe entre la maquinaria genética de *S. cerevisiae* y la célula humana en lo que respecta a la autofagia, hace que esta levadura siga siendo pionera en la identificación de genes que participan en procesos autofágicos aún no bien caracterizados. El final de la autofagia y la posibilidad de un reciclaje específico de sustratos es uno de ellos. Las proteasas vacuolares/ lisosomales, son especialmente relevantes en condiciones de carencia de nutrientes y e inducción de autofagia, ya que la vacuola es casi en su totalidad responsable de la degradación de proteínas celulares en estas condiciones. Además, muchas enfermedades humanas están asociadas a defectos en proteólisis y eflujo lisosomal

En este contexto, una de nuestras líneas presentes y futuras tiene como finalidad el avance en el conocimiento de las proteínas y procesos que intervienen en el final de la autofagia, en estrecha relación con el reciclado del hierro y las principales rutas de señalización, como es el caso de TORC2/vía de los esfingolípidos. A partir de una aproximación proteómica previa hemos identificado varias proteínas candidatas (dos de ellas relacionadas con enfermedades raras) que tenemos la intención de explorar. Nuestro objetivo además de contribuir al conocimiento de estos procesos es quizás abonar el camino para el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas.

Bibliografía del grupo en los últimos 5 años relacionada con los temas expuestos

Mechoud MA ,Pujol-Carrión N, Montellà-Manuel S y de la Torre-Ruiz MA. 2020. Interactions of GMP with human Glrx3 and with *Saccharomyces cerevisiae* Grx3 and Grx4 converge in the regulation of the Gcn2 pathway. Applied and Environmental Microbiology, 86: e00221-20.

Pujol-Carrión N, Pavón-Vergés M, Arroyo J y de la Torre-Ruiz MA. 2021. The MAPK Slt2/Mpk1 plays a role in iron homeostasis through direct regulation of the transcription factor Aft1. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 1868:118974.

Montellà-Manuel S, Pujol-Carrión N, Mechoud MA y de la Torre-Ruiz MA. 2021a. Bulk autophagy induction and life extension is achieved when iron is the only limited nutrient in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochem J. 478:811-837.

Pujol-Carrión N, Gonzalez-Alfonso A, Puig S y de la Torre-Ruiz MA. 2021. Both human and soya bean ferritins highly improve the accumulation of bioavailable iron and contribute to extend the chronological life in budding yeast. Microb Biotechnol. 15: 1525-1541.

Montellà-Manuel S, Pujol-Carrión N y de la Torre-Ruiz MA. 2021b The Cell Wall Integrity Receptor Mtl1 Contributes to Articulate Autophagic Responses When Glucose Availability Is Compromised. J. Fungi, 7: 903.

Montellà-Manuel S, Pujol-Carrión N y de la Torre-Ruiz MA. 2023. Aft1 Nuclear Localization and Transcriptional Response to Iron Starvation Rely upon TORC2/Ypk1 Signaling and Sphingolipid Biosynthesis. Int J Mol Sci. 26;24(3):2438.

Pujol Carrión N y de la Torre-Ruiz MA. 2025. Heterologous Expression of Either Human or Soya Bean Ferritins in Budding Yeast Reveals Common Functions Protecting Against Oxidative Agents and Counteracting Double-Strand Break Accumulation. Biomolecules. 15: 447.