

Transducción de señales en *Saccharomyces cerevisiae*

ALEJANDRO FERNÁNDEZ-VEGA GRANADO, BEATRIZ LAVILLA GARCÍA, SARA LÓPEZ MONTESINO, ÓSCAR BARBERO ÚRIZ, GRACIELA ALONSO CASTRO, TERESA FERNÁNDEZ-ACERO BASCONES, ISABEL RODRÍGUEZ ESCUDERO, VÍCTOR JIMÉNEZ CID, HUMBERTO MARTÍN BRIEVA, MARÍA MOLINA MARTÍN

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

✉ teresafe@ucm.es | humberto@ucm.es | vicjcid@ucm.es | molmifa@ucm.es



Integrantes del grupo de investigación durante el año 2024. Comenzando por abajo, de izquierda a derecha, Alejandro Fernández-Vega, Elba del Val, Sara López, Óscar Barbero, Isabel Rodríguez. Arriba, de izquierda a derecha: Humberto Martín, Beatriz Lavilla, Víctor Jiménez, María Molina, Teresa Fernández-Acero, Gema González. El grupo está dirigido por los catedráticos Humberto Martín, Víctor Jiménez y María Molina.

Los modelos biológicos en investigación son esenciales para la simplificación de los problemas complejos, el establecimiento de analogías y la experimentación en el laboratorio. Nuestro grupo de investigación lleva décadas empleando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo para el estudio de la señalización intracelular. Esto es posible fundamentalmente porque compartimos un 30% del genoma con este organismo, lo que determina que existan muchas analogías entre nuestras células y las de la levadura y sustenta su aplicabilidad como organismo modelo. La levadura ha sido esencial en el descubri-

miento de numerosos mecanismos que regulan el ciclo celular, el tráfico vesicular o la autofagia. Su genoma está totalmente secuenciado y anotado, es de fácil cultivo y rápido crecimiento, y existen innumerables herramientas para su manipulación genética, lo que facilita su uso en investigación.

Los orígenes de nuestro grupo se remontan a la década de los 90 en la cual el descubrimiento de un gen capaz de complementar la lisis celular que sufría el mutante lítico termosensible *lyt2-1*, llamado *SLT2* (por *Suppressor of the LyTic*

phenotype), fue el punto de partida para la elucidación de la ruta CWI (*Cell Wall Integrity*), una de las cinco rutas de MAPK que posee *S. cerevisiae*. Las rutas de MAPK son sistemas de señalización prototípicos de los organismos eucariotas, en los que un módulo de MAPK, constituido por tres quinasas, denominadas MAPKKK, MAPKK y MAPK resultan activadas consecutivamente por fosforilación. Estos sistemas permiten a la célula elaborar respuestas para adaptarse a una gran variedad de estímulos. Slt2 es la MAPK de la ruta CWI, la cual es esencial para la respuesta fúngica a daños en la pared celular. La eleva-

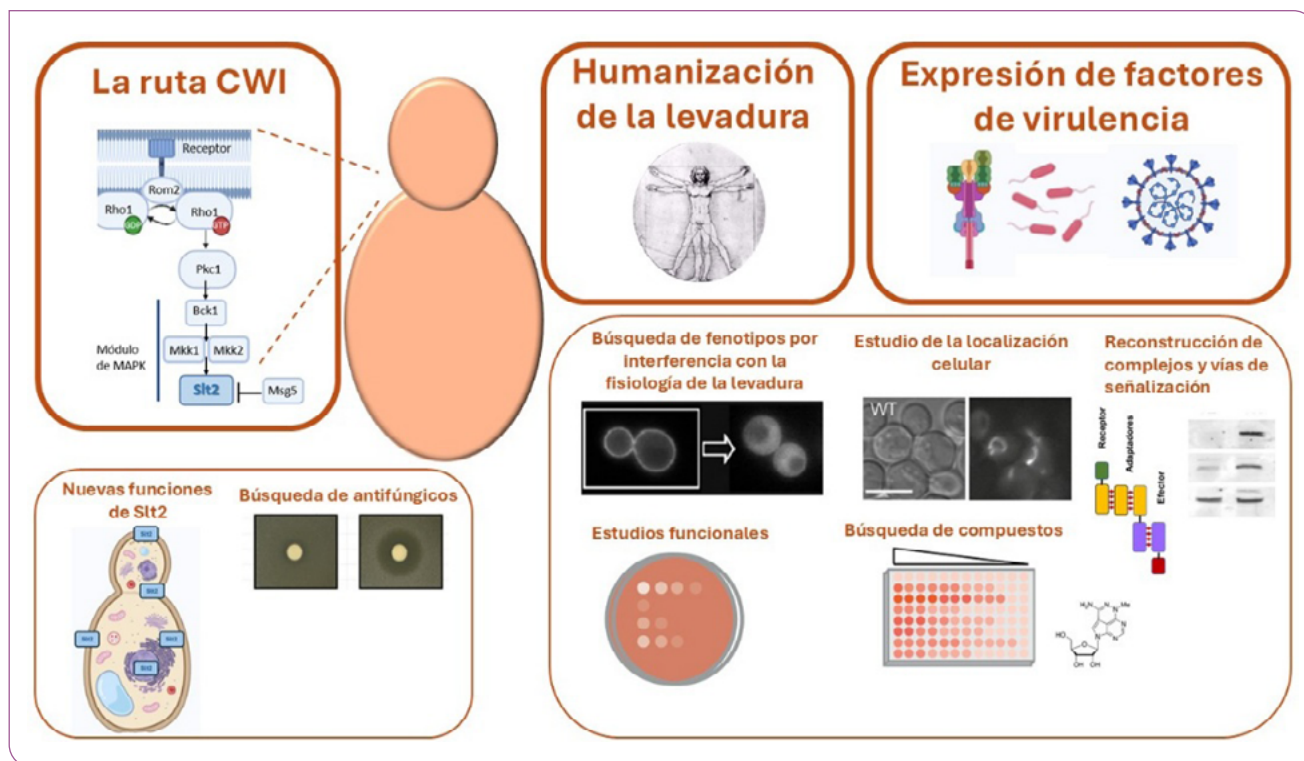


Figura 1. Esquema de las tres principales líneas de investigación desarrolladas en nuestro grupo (Transducción de Señales en Levadura), el estudio de la ruta CWI, la humanización de la levadura y la expresión de factores de virulencia bacterianos o víricos. En la parte inferior se encuentran reflejados los principales abordajes metodológicos que empleamos para el desarrollo de nuestros objetivos.

de conservación que presentan las rutas de MAPK en eucariotas, la posibilidad de extrapolar los hallazgos en levadura a otros organismos y su importancia como diana de antifúngicos ha motivado que nuestro laboratorio se dedique a desentrañar el funcionamiento de Slt2 y de la ruta CWI. Actualmente, una de nuestras prioridades es el descubrimiento de nuevas funciones de Slt2 más allá de la respuesta a daños en la pared celular. Para ello hemos generado herramientas genéticas que nos han permitido identificar nuevos sustratos de Slt2 (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2015; González-Rubio *et al.*, 2022) y trabajamos en la reconfiguración espacial de su actividad mediante su direccionamiento a distintos compartimentos celulares. El desarrollo de un circuito de biología sintética que conduce a la activación permanente de la ruta CWI, ha constituido una herramienta esencial para el logro de varios hitos en los últimos años. Uno de ellos ha sido el hallazgo de entrecruzamientos en la señalización entre las rutas CWI y HOG (*High Osmolarity Glycerol*), que ha cuestionado el paradigma de la linealidad en las rutas de señalización (Jiménez-Gutiérrez *et al.*, 2020). Este precedente nos ha permitido buscar comple-

jos de señalización implicados en dichos entrecruzamientos. Además, hemos aplicado el circuito de biología sintética para el rastreo de moléculas activadoras e inhibidoras de la ruta CWI que puedan tener un uso potencial como antifúngicos.

Otra de las líneas que desarrollamos en el laboratorio se basa en la humanización de la levadura, es decir, en la expresión de genes humanos relacionados con enfermedades en la levadura *S. cerevisiae* (Figura 1). Para ello es necesario que la expresión de estos genes origine una nueva actividad en la levadura que produzca un fenotipo medible o que dichos genes complementen la pérdida de función de un gen propio de la levadura. Hace ya casi veinte años, nuestro grupo expresó en levadura la proteína protoonco génica de mamíferos PI3K, la cual dotaba a este organismo de una nueva actividad conversora de lípidos de membrana. Esta actividad originaba un fuerte fenotipo de inhibición de crecimiento que además era reversible por la expresión de su antagonista en eucariotas superiores, la fosfatasa de lípidos PTEN, mutada en distintos tumores (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2005).

Este modelo inicial fue fundamental en el desarrollo de otros posteriores que hemos implementado durante los últimos años. Éstos pretenden reconstruir los complejos proteicos que señalizan durante la inmunidad innata en nuestras células pero que están ausentes de forma natural en la célula de levadura, tales como las distintas vías celulares que conducen a la muerte celular programada, la inflamación o la detección de patógenos. Gracias a ello podemos estudiar funcionalmente la formación de estos complejos, la participación individual de cada proteína en la señalización mediada por el complejo y su repercusión en la fisiología de la levadura (Coronas-Serna *et al.*, 2021; Barbero-Úriz *et al.*, 2025). Estos modelos nos permiten asimismo en última instancia analizar mutaciones de relevancia clínica mediante ensayos funcionales o buscar moléculas que interfieran con su ensamblaje, y por tanto con potencial terapéutico en el ámbito de las enfermedades inflamatorias, cada día más prevalentes en nuestra sociedad.

Otra de las utilidades de *S. cerevisiae* como análogo simplificado de una célula eucariota es el estudio de la función de fac-

tores de virulencia de origen bacteriano o vírico, ya que, debido a la conservación de las dianas de muchos de ellos en células de levadura y eucariotas superiores, es posible inferir su función en este modelo. Nuestro laboratorio dilucidó el mecanismo de acción en levadura de varios efectores bacterianos secretados por los sistemas de secreción especializados de *Salmonella* y *E. coli* EPEC en el citoplasma de células infectadas (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2005; Rodríguez-Escudero *et al.*, 2006). Una vez más estos precedentes fueron el cimiento de trabajos posteriores realizados con distintos efectores bacterianos, como por ejemplo ciertos efectores de *Brucella*, que poseen unos dominios característicos que impiden la activación del sistema inmune innato. Nuestro laboratorio demostró junto con el equipo de la Dra. Salcedo, especialista en la patogénesis de *Brucella*, una actividad NAD⁺ hidrolasa en estos efectores por la cual las bacterias modulan el metabolismo energético de las células infectadas (Coronas-Serna *et al.*, 2020). Recientemente, en el contexto de la terrible pandemia que vivimos en los últimos años, hemos desarrollado un modelo de levadura basado en la expresión de las proteasas del SARS-CoV-2, que hemos empleado para realizar un rastreo para la búsqueda de nuevos antivirales, en colaboración con la Fundación MEDINA, y para la búsqueda de mutaciones de resistencia a uno de los dos fármacos antivirales aprobados para el tratamiento del COVID, el nirmatrelvir.

A lo largo de los años hemos tenido el privilegio de contar con grandes estudiantes de máster, doctorandos e investigadores que han sido fundamentales para el desarrollo de las diferentes líneas de investigación. Hemos logrado financiar-

nos fundamentalmente gracias a proyectos otorgados por el MICINN, pero también gracias a otros proyectos autonómicos, nacionales e internacionales. Nuestra trayectoria como grupo ha demostrado que el modelo de levadura es lo suficientemente sencillo como para simplificar problemas biológicos complejos y lo suficientemente complejo para que nuestros hallazgos en el campo de la señalización puedan trasladarse a otros sistemas celulares superiores a nivel evolutivo, fomentando así el avance del conocimiento científico.

Referencias

- Alonso-Rodríguez E, Fernández-Piñar P, Sacristán-Reviriego A, Molina M y Martín H.** (2016). An Analog-sensitive Version of the Protein Kinase Slt2 Allows Identification of Novel Targets of the Yeast Cell Wall Integrity Pathway. *J Biol Chem*.291(11):5461-5472.
- Barbero-Úriz O, Valenti M, Molina M, Fernández-Acero T, Cid VJ.** (2025). Modeling Necroptotic and Pyroptotic Signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules* , 15(4), 530.
- Coronas-Serna JM, Louche A, Rodríguez-Escudero M, Roussin M, Imbert PRC, Rodríguez-Escudero I, Terradot L, Molina M, Gorvel JP, Cid VJ, Salcedo SP.** (2020). The TIR-domain containing effectors BtpA and BtpB from *Brucella abortus* impact NAD metabolism. *PLoS Pathog*.
- Coronas-Serna JM, Del Val E, Kagan JC, Molina M, Cid VJ.** (2021). Heterologous Expression and Assembly of Human TLR Signaling Components in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biomolecules*. 11(11):1737.
- González-Rubio G, Sastre-Vergara L, Molina M, Martín H, Fernández-Acero T.** (2022). Substrates of the MAPK Slt2: Shaping Yeast Cell Integrity. *J Fungi*. 8(4):368.
- Jiménez-Gutiérrez E, Alegría-Carrasco E, Alonso-Rodríguez E, Fernández-Acero T, Molina M y Martín H.** (2020). Rewiring the yeast cell wall integrity (CWI) pathway through a synthetic positive feedback circuit unveils a novel role for the MAPKKK Ssk2 in CWI pathway activation. *FEBS J*. 2020 Nov;287(22):4881-4901.
- Rodríguez-Escudero I, Roelants FM, Thorner J, Nombela C, Molina M y Cid VJ.** (2005). Reconstitution of the mammalian PI3K/PTEN/Akt pathway in yeast. *Biochem J*.390(Pt 2):613-23.
- Rodríguez-Escudero I, Hardwidge PR, Nombela C, Cid VJ, Finlay BB, Molina M.** (2005). Enteropathogenic *Escherichia coli* type III effectors alter cytoskeletal function and signalling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*. 151(Pt 9):2933-2945.
- Rodríguez-Escudero I, Rotger R, Cid VJ, Molina M.** (2006). Inhibition of Cdc42-dependent signalling in *Saccharomyces cerevisiae* by phosphatase-dead SigD/SopB from *Salmonella typhimurium*. *Microbiology*. 152(Pt 11):3437-3452.

.....