

Redes de Señalización en Estrés y División Celular

MARISA MADRID, TERESA SOTO, JERO VICENTE, ALEJANDRO FRANCO, ANDRÉS NÚÑEZ Y JOSÉ CANSADO

Departamento de Genética y Microbiología. Universidad de Murcia. 30071 Murcia, España.

✉ jcansado@um.es | marisa@um.es



Componentes del grupo de investigación en abril de 2025. De izquierda a derecha: Antonio Marín, Sergio León, Laura Cano, Alejandro Franco, Jerónima Vicente-Soler, Marisa Madrid, José Cansado, Teresa Soto, Andrés Núñez, Miriam Sánchez y Alejandra Martínez.

El grupo de investigación Fisiología Microbiana de la Universidad de Murcia (<https://www.um.es/en/web/fisiologia-microbiana/>), está constituido actualmente por seis profesores universitarios (M^ª Isabel Madrid (co-IP), José Cansado (co-IP), Jerónima Vicente, Teresa Soto, Alejandro Franco y Andrés Núñez), y cinco estudiantes de Máster/Doctorado (Sergio León, Laura Cano, Antonio Marín, Miriam Sánchez y Alejandra Martínez). Desde su fundación nuestro grupo se ha posicionado como un referente en el estudio de las rutas de señalización ambiental utilizando como modelos a levaduras de fisión del género *Schizosaccharomyces*, entre las que se encuentran *S. pombe*, la especie "clásica" del género, y la especie dimórfica *S. japonicus*. La notable conservación funcional de las rutas de transducción de señales de estos eucariotas simples en relación

a las presentes en metazoos, combinada con su facilidad de manipulación, los convierte en modelos ideales para el análisis de distintas rutas de señalización, como las mediadas por las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas), la ruta de AMP cíclico-proteína quinasa A (AMPc-PKA), la ruta TOR, o la ruta de la proteína quinasa C (PKC), y que juegan un papel esencial en la regulación de procesos biológicos fundamentales. Entre ellos destacan la adaptación celular frente a situaciones de estrés, el dimorfismo, la autofagia, y la integridad del citoesqueleto de actina y la citocinesis.

En relación con la **regulación de las respuestas celulares frente al estrés** nuestra actividad se ha centrado en dilucidar la organización y activación de las rutas de MAP quinasas de respuesta a estrés (SAPK

e integridad celular (CIP) en *S. pombe*. Identificamos los estímulos que activan a la ruta CIP (Madrid *et al.*, 2006) y a sus principales reguladores, las Rho GTPasas Rho1 y Rho2, y sus dos dianas clave, los ortólogos a PKC Pck1 y Pck2. Según el modelo actual, tanto Rho1 como Pck1 promueven la activación de la ruta CIP de forma alternativa a Rho2-Pck2 durante el crecimiento vegetativo y en situaciones de estrés (Viana *et al.*, 2013; Sánchez-Mir *et al.*, 2014). Además, el flujo de fosfoinosítidos, y la metilación y palmitoilación dinámica de Rho2 son factores esenciales que modulan su localización en la membrana plasmática y la correcta activación de Pmk1 (Sánchez-Mir *et al.*, 2014; Kabeche *et al.*, 2015; Franco *et al.*, 2017). A diferencia de organismos superiores, TORC2 no fosforila ni estabiliza a Pck2, sino que promueve su síntesis *de novo* en respuesta a estrés y la activación de la ruta

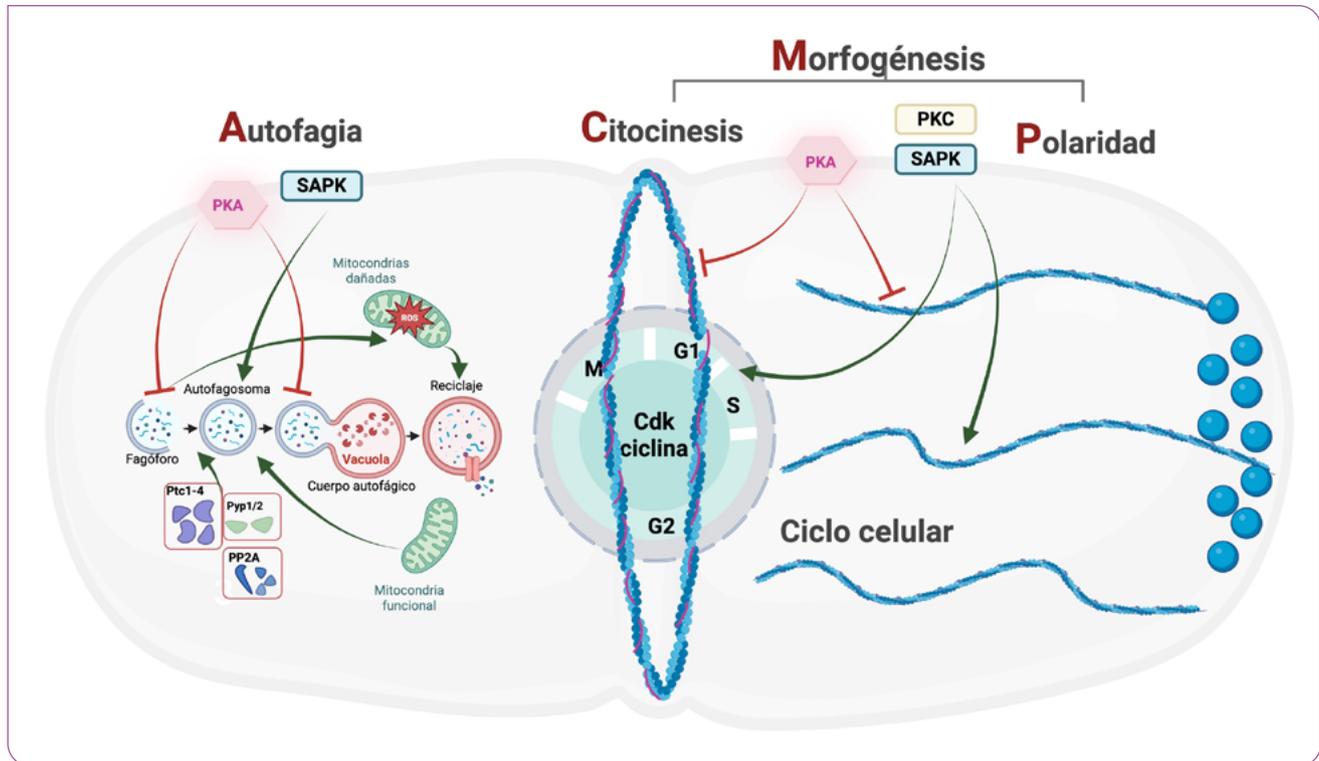


Figura 1. Líneas de investigación del grupo: regulación de la autofagia y la morfogénesis/ciclo celular por vías de señalización ambiental en *Schizosaccharomyces pombe*. El esquema representa una célula de levadura con tres procesos principales: Autofagia (izquierda, "A" en rojo), Citocinesis/Ciclo celular (centro, "C") y Morfogénesis-Polaridad (derecha, "M / P"). Cada uno de ellos es coordinado y modulado por distintas vías de señalización ambiental (PKA, SAPK, PKC).

CIP (Madrid *et al.*, 2015), mientras que la ruta CIP regula negativamente la actividad de TORC2 (Madrid *et al.*, 2016). Estos hallazgos ponen de manifiesto la existencia de una compleja interacción entre las rutas CIP y TOR que resulta esencial para la supervivencia celular frente a los cambios ambientales. Finalmente, nuestro trabajo ha revelado la existencia de una interconexión funcional entre las rutas SAPK y CIP a nivel post-transcripcional (proteína Rnc1) (Prieto-Ruiz *et al.*, 2020), traduccional (Cpc2) (Núñez *et al.*, 2009) y post-traduccional (fosfatasas de tirosina Pyp1 y Pyp2 y de serina/treonina Ptc1) (Madrid *et al.*, 2007), que regula la estabilidad y actividad de componentes críticos en ambas rutas.

La línea de trabajo dedicada al **estudio del dimorfismo** ha permitido demostrar por primera vez la existencia de un fenómeno de sensibilidad al quorum que reprime la diferenciación levadura-hifa en *S. japonicus* en respuesta a un incremento en la densidad de población, y que está mediado por los alcoholes aromáticos feniletanol y triptofol. La ruta SAPK reprime constitutivamente esta diferenciación tan-

to a nivel transcripcional como postraduccional, mientras que la ruta CIP regularía este proceso de manera positiva (Gómez-Gil *et al.*, 2019; Gómez Gil *et al.*, 2021).

En relación con el **control ambiental de la autofagia**, una de nuestras líneas de trabajo recientes, hemos identificado un intrincado mecanismo que promueve la activación de la autofagia en *S. pombe* en respuesta a la limitación de glucosa, y en el que las rutas AMPc-PKA y SAPK desempeñarían roles opuestos. PKA reprime la autofagia regulando negativamente al factor transcripcional Rst2, cuya función es esencial para la expresión de genes implicados en el crecimiento en fuentes de carbono alternativas, mientras que la ruta SAPK potencia la autofagia en ausencia de glucosa fosforilando a los factores Atf1 y Rst2 (Pérez-Díaz *et al.*, 2023).

Actualmente nuestra línea de trabajo fundamental está dedicada a profundizar en los **mecanismos que regulan la integridad del citoesqueleto de actina y la citocinesis en respuesta a cambios ambientales**. Con ello, aspiramos a com-

prender mejor la plasticidad adaptativa de la célula, esencial para su supervivencia en entornos hostiles. Recientemente, hemos demostrado la existencia de una novedosa estrategia de regulación de la citocinesis en el que la ruta SAPK controla negativamente la formación del anillo de actomiosina en *S. pombe* al disminuir los niveles de la formina For3 y los cables de actina en respuesta a perturbaciones del citoesqueleto y en condiciones de estrés (Gómez-Gil *et al.*, 2020). De hecho, el metabolismo de la glucosa influye profundamente sobre este proceso. Al contrario que la fermentación, el estrés oxidativo endógeno provocado durante el metabolismo respiratorio activa a Sty1, limitando la disponibilidad de For3 y su capacidad nucleadora de cables de actina. En estas condiciones, la fosforilación de la cadena ligera reguladora Rlc1 resulta crítica para regular la afinidad y fuerza de la miosina de tipo II (Myo2) sobre los cables de actina, permitiendo el correcto desarrollo de la citocinesis y la división celular (Prieto-Ruiz *et al.*, 2023a). Sorprendentemente, aunque el ortólogo a Rlc1 en la levadura dimórfica *S. japonicus* no se encuentra fosforilado *in vivo*, es capaz

de regular adecuadamente la citocinesis en *S. pombe* durante la respiración. Por lo tanto, la divergencia evolutiva temprana en las levaduras de fisión ha dado lugar a dos estrategias diferentes de regulación de Rlc1 (dependientes e independientes de fosforilación), que son igualmente eficaces para modular la actividad de la miosina II durante la citocinesis (Prieto-Ruiz *et al.*, 2023b). Partiendo de esta base, nuestras líneas de investigación futuras se centran en dilucidar cómo diversas vías de señalización, involucradas en el control del ciclo celular y la respuesta a estímulos ambientales, regulan las complejas interacciones que se establecen entre los filamentos de actina y las miosinas durante la citocinesis.

Agradecimientos

Proyectos financiados por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Agencia Española de Investigación), Fundación Séneca (Región de Murcia) y el programa ThinkInAzul (Universidad de Murcia).

Bibliografía relevante

- Madrid M, Soto T, Khong HK, Franco A, Vicente J, Pérez P, Gacto M, y Cansado J.** (2006). Stress-induced response, localization, and regulation of the Pmk1 cell integrity pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Biol. Chem.* 281(4):2033-43.
- Viana RA, Pinar M, Soto T, Coll PM, Cansado J, y Pérez P.** (2013). Negative functional interaction between cell integrity MAPK pathway and Rho1 GTPase in fission yeast. *Genetics.* 195(2):421-32.
- Sánchez-Mir L, Soto T, Franco A, Madrid M, Viana RA, Vicente J, Gacto M, Pérez P, y Cansado J.** (2014). Rho1 GTPase and PKC ortholog Pck1 are upstream activators of the cell integrity MAPK pathway in fission yeast. *PLoS One* 9(1): e88020.
- Sánchez-Mir L, Franco A, Martín-García R, Madrid M, Vicente-Soler J, Soto T, Gacto M, Pérez P, y Cansado J.** (2014). Rho2 palmitoylation is required for plasma membrane localization and proper signaling to the fission yeast cell integrity mitogen-activated protein kinase pathway. *Mol. Cell. Biol.* (14):2745-59.
- Kabeche R, Madrid M, Cansado J, y Moseley JB.** (2015). Eisosomes regulate phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P2) cortical clusters and Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase signaling upon osmotic stress. *J. Biol. Chem.* 290(43):25960-73.
- Franco A, Soto T, Martín-García R, Madrid M, Vázquez-Marín B, Vicente-Soler J, Coll PM, Gacto M, Pérez P, y Cansado J.** (2017). Distinct functional relevance of dynamic GTPase cysteine methylation in fission yeast. *Sci. Rep.* 7(1):6057.
- Madrid M, Jiménez R, Sánchez-Mir L, Soto T, Franco A, Vicente-Soler J, Gacto M, Pérez P, y Cansado J.** (2015). Multiple layers of regulation influence cell integrity control by the PKC ortholog Pck2 in fission yeast. *J. Cell Sci.* 128(2):266-80.
- Madrid M, Vázquez-Marín B, Franco A, Soto T, Vicente-Soler J, Gacto M, y Cansado J.** (2016). Multiple crosstalk between TOR and the cell integrity MAPK signalling pathway in fission yeast. *Sci. Rep.* 6:37515..
- Prieto-Ruiz F, Vicente-Soler J, Franco A, Gómez-Gil E, Sánchez-Mir L, Vázquez-Marín B, Aligué R, Madrid M, Moreno S, Soto T, y Cansado J.** (2020). RNA-binding protein Rnc1 regulates cell length at division and acute stress response in fission yeast through negative feedback modulation of the stress-activated Mitogen-Activated Protein Kinase pathway. *mBio* 11(1): e02815-19.
- Núñez A, Franco A, Madrid M, Soto T, Vicente J, Gacto M, y Cansado J.** (2009). Role for RACK1 orthologue Cpc2 in the modulation of stress response in fission yeast. *Mol. Biol. Cell.* 20(18):3996-4009.
- Madrid M, Núñez A, Soto T, Vicente-Soler J, Gacto M, y Cansado J.** (2007). Stress-activated protein kinase-mediated down-regulation of the cell integrity pathway mitogen-activated protein kinase Pmk1p by protein phosphatases. *Mol. Biol. Cell.* 18(11):4405-19.
- Gómez-Gil E, Franco A, Madrid M, Vázquez-Marín B, Gacto M, Fernández-Breis J, Vicente-Soler J, Soto T, y Cansado J.** (2019). Quorum sensing and stress-activated MAPK signaling repress yeast to hypha transition in the fission yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. *PLoS Genet.* 15(5):e1008192.
- Gómez-Gil E, Franco A, Vázquez-Marín B, Prieto-Ruiz F, Pérez-Díaz A, Vicente-Soler J, Madrid M, Soto T, y Cansado J.** (2021). Specific Functional Features of the Cell Integrity MAP Kinase Pathway in the Dimorphic Fission Yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. *J. Fungi* 7(6):482.
- Pérez-Díaz AJ, Vázquez-Marín B, Vicente-Soler J, Prieto-Ruiz F, Soto T, Franco A, Cansado J, y Madrid M.** (2023). cAMP-Protein Kinase A and Stress-Activated MAP Kinase signaling mediate transcriptional control of autophagy in fission yeast during glucose limitation or starvation. *Autophagy* 19(4):1311-1331.
- Gómez-Gil E, Martín-García R, Vicente-Soler J, Franco A, Vázquez-Marín B, Prieto-Ruiz F, Soto T, Pérez P, Madrid M, y Cansado J.** (2020). Stress-activated MAPK signaling controls fission yeast actomyosin ring integrity by modulating formin For3 levels. *eLife* 9: e57951.
- Prieto-Ruiz F, Gómez-Gil E, Martín-García R, Pérez-Díaz AJ, Vicente-Soler J, Franco A, Soto T, Pérez P, Madrid M, y Cansado J.** (2023a). Myosin II regulatory light chain phosphorylation and formin availability modulate cytokinesis upon changes in carbohydrate metabolism. *eLife* 12:e83285.
- Prieto-Ruiz F, Gómez-Gil E, Vicente-Soler J, Franco A, Soto T, Madrid M, y Cansado J.** (2023b). Divergence of cytokinesis and dimorphism control by myosin II regulatory light chain in fission yeasts. *iScience* 26(9):107611.