Homeostasis de cationes y tolerancia a estreses abióticos en levaduras

Rito Herrera[1], María C. Alvarez[1], Samuel Gelis[1], Fernando Calero[1], Ana Salazar[1], Laura Suárez[1], Noelia Morales[2], Carmen Michán[2] y José Ramos[1]

[1]Departamento de Microbiología y [2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba

mi1raryj@uco.es

Foto de grupo. De izquierda a derecha: José Ramos, Carmina Michán, Samuel Gelis, Tránsito García, Ulises Santana, María del Carmen Alvarez, Casimiro Barbado, Teresa Medina y Rito Herrera.

La regulación tanto de los contenidos como de los flujos de cationes es un proceso básico en la fisiología celular hasta el punto de que mutantes afectados en la homeostasis iónica presentan incapacidad de crecer o desarrollarse bajo múltiples condiciones ambientales. Nuestro grupo está interesado en el análisis de la homeostasis de potasio y sodio y de sus implicaciones en las respuestas a estreses abióticos como son el estrés salino y el oxidativo. Para ello utilizamos, además de la levadura modelo *Saccharomyces cerevisiae* (1), otras levaduras no-convencionales, que presentan múltiples peculiaridades y características específicas que las hacen de gran interés biotecnológico (2,3).

A continuación se resumen brevemente las diversas líneas de investigación que desarrolla el grupo:

- Procesos de señalización del transporte depotasio en *S. cerevisiae*. Función del transportador Trk1.Siguiendo aproximaciones bioquímica y proteómica hemos analizado la función del principal transportador de potasio de la membrana plasmática Trk1 en los procesos de adaptación a los niveles externos de potasio y hemos estudiado los cambios principales en el proteoma en las cepas silvestre y mutante carente de dicha proteína. Por una parte hemos demostrado que la regulación de Trk1 no es suficiente para conseguir la homeostasis y que Trk1 no es esencial para conseguir la adaptación a cambios en los niveles externos del catión (4,5). Por otro lado estamos llevando a cabo toda una serie de trabajos comparando las características del proteoma de mutantes *trk* y de la cepa silvestre cuando crecen en diversas condiciones ambientales (6,7)
- Distribución intracelular de potasio y sodio en *S. cerevisiae* y *Debaryomyces hansenii*. Una correcta distribución subcelular de cationes permite la adaptación y supervivencia frente a situaciones límite como la escasez de potasio o el exceso de sodio. Nuestro grupo ha puesto a punto recientemente un protocolo que permite la determinación del contenido de cationes en los principales compartimentos celulares de *S. cerevisiae*. De esta manera hemos publicado que las vacuolas son el principal reservorio de potasio y

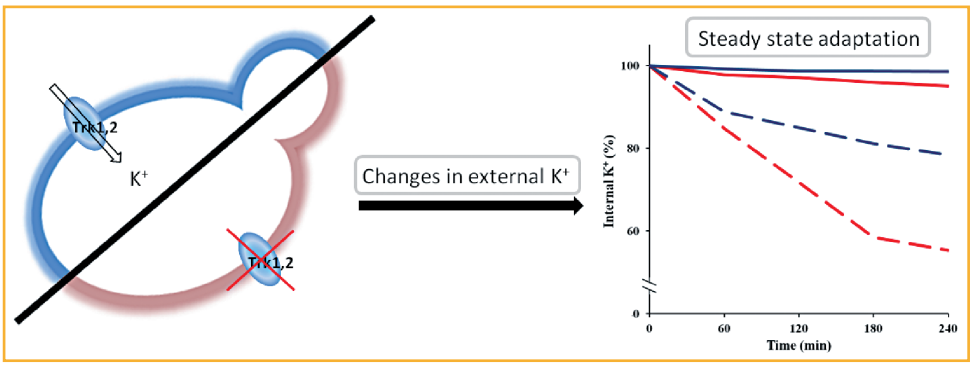

Figura 1. Homeostasis de potasio en una cepa silvestre y en un mutante de transporte *(trk1,2)* de *Saccharomyces cerevisiae.* Adaptación del contenido intracelular de potasio a cambios en el contenido externo.

sodio, que el citosol posee cantidades relativamente bajas de estos cationes (especialmente en el caso del sodio) y que el núcleo mantiene cantidades importantes y relativamente constantes tanto de potasio como de sodio en las diferentes condiciones estudiadas (8). Actualmente nos encontramos adaptando los protocolos utilizados al caso de la levadura de ambientes marinos e inclusora de sodio *D. hansenii*.

- Peculiaridades del transporte de potasio en levaduras no convencionales: *Zygosaccharomyces rouxii* y *Hansenula polymorpha*. Aunque la mayor parte de los estudios sobre transporte de potasio han sido realizados con la levadura modelo *Saccharomyces*, esta levadura puede no ser el mejor modelo biológico. Como ejemplo, cabe mencionar que mientras que *S. cerevisiae* posee dos transportadores tipo TRK (Trk1 que es el principal y Trk2 que parece ser residual), *Z. rouxii* es de las pocas levaduras que solo poseen un transportador (TRK1) y *H. polymorpha* posee dos pero solo uno de la familia TRK (TRK1) y además posee uno adicional evolutivamente muy diferente (HAK1). La caracterización del transporte está en curso aunque ya hemos publicado un primer trabajo sobre la función de HpHAK1, trabajo en el que demostramos que esta proteína es el transportador de alta afinidad de potasio de la levadura *H. polymorpha* y que es degradado en la vacuola en un proceso que depende de una ubiquitina ligasa (9).
- Determinantes específicos de halotolerancia en *D. hansenii*. Como hemos mencionado anteriormente, *D. hansenii* es un organismo de ambientes salinos. En una línea de trabajo que estamos comenzando a desarrollar ahora, hemos identificado nuevos y específicos determinantes de halotolerancia en esta levadura. Nos proponemos caracterizar la función específica de estos determinantes y cuantificar la aportación concreta de cada uno de ellos al proceso.
- Solapamiento entre las rutas de respuesta a estrés salino y oxidativo en levaduras no convencionales. La supervivencia de las células depende de su capacidad para detectar alteraciones en el medio ambiente, y responder adecuadamente a estos cambios. En *D. hansenii* existen indicios de que la exposición a estrés salino tiene un efecto protector sobre el estrés oxidativo (10). Estamos analizando la posible existencia de una ruta común a ambos tipos de estrés en *D. hansenii* y en la levadura no convencional y patógena *Candida albicans*. Hemos validado esta hipótesis mediante estudios de citotoxicidad y actualmente estamos caracterizando dicha ruta común tanto a nivel génico como enzimático. En un futuro nuestro objetivo es identificar los elementos reguladores comunes a ambas rutas mediante el uso de mutantes ya disponibles en *C. albicans* y la construcción de mutantes en sus posibles homólogos en *D. hansenii*.

REFERENCIAS

1. **Ariño J, Ramos J y Sychrova H.** (2010). Alkali-metal cation transport and homeostasis in yeasts Microbiol. Mol. Biol. Rev. 74: 95-120
2. **Ramos J, Ariño J y Sychrova H.** (2011). Alkali-metal-cation influx and efflux systems in nonconventional yeast species FEMS Microbiol Lett. 317:1-8
3. **Zajc J, Kogej T, Galinski E, Ramos J y Gunde-Cimerman N.** (2013). The osmoadaptation strategy of the most halophilic fungus *Wallemiaichthyophaga*, growing optimally at salinities above 15 % NaCl. Appl. Environ. Microbiology 80:247-256
4. **Kahm M, Navarrete C, Llopis-Torregrosa V, Herrera R, Barreto L,Ariño J, Ramos J y Kschischo M.** (2012). Potassium starvation in yeast: Mechanisms of homeostasis revealed by mathematical modeling. PLOS Computational Biology 8: e1002548
5. **Herrera R, Álvarez MC, Gelis S, Sychrová H, Kschischo M y Ramos J.** (2014). Role of *Saccharomyces cerevisiae* Trk1 in stabilization of intracellular potassium contentup on changes in external potassium levels. BBA-Biomembranes 1838: 127-133
6. **Curto M, Valledor L, Navarrete C, Gutierrez D, Ramos J y Jorrín, J.** (2010). 2-DE based proteomic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* wild and K+ transport-affected mutant (trk1,2) strains at the growth exponential and stationary phases. J. Proteomics 73: 2316-2335
7. **Gelis S, Curto M, Valledor L, González A, Ariño J, Jorrín J y Ramos J.** (2012). Adaptation to potassium starvation of wild type and K^+-transport mutant (trk1,2) of *Saccharomyces cerevisiae:* 2-DE based proteomic approach. Microbiology Open 1: 182-193
8. **Herrera R, Alvarez MC, Gelis S y Ramos J.** (2013). Subcellular potassium and sodium distribution in *Saccharomyces cerevisiae* wild type and vacuolar mutants. Biochemical Journal 454: 525–532
9. **Cabrera E, Álvarez MC, Martín Y, Siverio JM y Ramos J.** (2012). K^+ uptake systems in the yeast *Hansenula polymorpha*. Transcriptional and post-translational mechanisms involved in high-affinity K^+ transporter regulation. Fungal Genetics Biology 49: 755-763
10. **Michán C, Martínez JL, Alvarez MC, Turk M, Sychrova H y Ramos J.** (2013). Salt andoxidative stress tolerance in *Debaryomyces hansenii* and *Debaryomyces fabryi*. FEMS Yeast Research 13: 180-188