

La pared celular del *Schizosaccharomyces pombe* como modelo de estudio en la búsqueda de nuevas dianas antifúngicas

The cell wall of *Schizosaccharomyces pombe* as a model of study in the search for new antifungal targets

Autores:

Sandra Margarita Cruz Quintana

Universidad Nacional de Chimborazo, scruz@unach.edu.ec, 0999024968

José Miguel Álvarez Suárez

Universidad Nacional de Chimborazo

Pedro Díaz Sjostrom

Universidad Técnica de Ambato

RESUMEN

La pared celular fúngica es una estructura esencial para el mantenimiento de la morfología celular y protege a las células frente a las condiciones adversas del medio externo. El conocimiento en profundidad de esta estructura es importante para identificar nuevas dianas necesarias para el desarrollo de compuestos antifúngicos. La levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe* es utilizada para el estudio de multitud de procesos biológicos, ya que es fácil de manipular en el laboratorio y no es patógena, además de la secuenciación de su genoma, por lo que es un microorganismo ideal para la realización de estudios de morfogénesis y polaridad. La pared celular es una estructura muy dinámica y susceptible de sufrir numerosas modificaciones en la composición y/o estructura, tanto a lo largo de las distintas etapas del ciclo de vida de la levadura como en respuesta a estímulos y condiciones ambientales. En esta revisión nos proponemos profundizar en el estudio de la pared celular de la levadura *S. pombe* que pueda servir de base para la búsqueda de nuevas dianas antifúngicas.

Palabras claves: levadura de fisión, ciclo celular, pared celular, morfogénesis, diana antifúngica.

ABSTRACT

The fungal cell wall structure is essential for maintenance of cell morphology and protects cells from adverse external environment conditions. In-depth knowledge of this structure is important to identify new targets needed for the development of antifungal compounds. The fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* is used for the study of many biological processes because it is easy to handle in the laboratory and it is not pathogenic in addition to genomic sequencing, making it ideal for microorganism morphogenesis and polarity studies. The cell wall is a very dynamic structure capable of undergoing numerous changes in the composition and / or structure, such as along the different stages of the life cycle of yeast as in response to stimuli and environmental conditions. In this review we intend to deepen the study of the cell wall of the yeast *S. pombe* that can form the basis for the search for new antifungal targets.

Keywords: fission yeast, cell cycle, cell wall, morphogenesis, antifungal target.

INTRODUCCIÓN

La levadura *Schizosaccharomyces pombe* fue descrita por primera vez en 1883 por P. Lindner. El nombre genérico hace referencia a su semejanza con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, mientras que el epíteto específico designaba el nombre local de la cerveza elaborada con esta levadura. Años después A. Ostewalder aisló de un jugo de uva la estirpe homotética h⁹⁰, que lleva este nombre porque en medio pobre el 90% de las células son capaces de conjugarse y formar esporas.

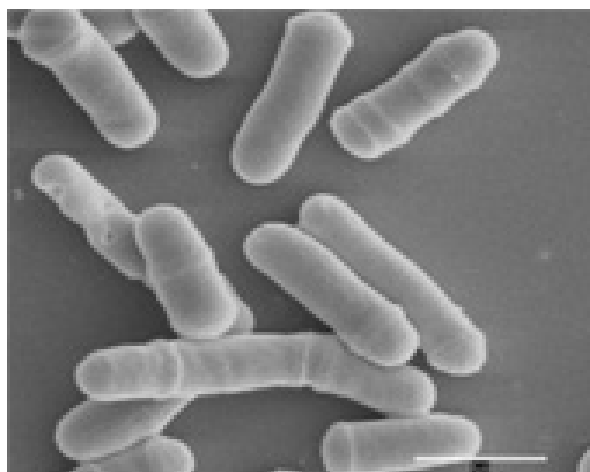


Figura #1: Fotografía al microscopio electrónico de barrido de células de la estirpe silvestre de *S. pombe*.

En los últimos 25 años *S. pombe* se ha convertido en un organismo atractivo para el estudio de multitud de procesos biológicos, sobre todo los que conciernen a la maquinaria de crecimiento y división celular.⁽¹⁾ *S. pombe* es fácil de manipular en el laboratorio, no es patógena, presenta un ciclo de vida y un ciclo sexual de corta duración y es susceptible de análisis genético clásico y molecular debido

a la secuenciación de su genoma.⁽²⁾ *S. pombe* pertenece a los ascomicetos al igual que *S. cerevisiae*, sin embargo, los estudios de comparación de las secuencias de proteínas ortólogas de diversos grupos de hongos sugieren que *S. pombe* divergió de la línea troncal de los ascomicetos hace 1.144 millones de años.⁽³⁾ Esta divergencia evolutiva entre *S. pombe* y *S. cerevisiae* se refleja en sus ciclos de vida y en la regulación de su ciclo celular. *S. pombe* es un microorganismo ideal para la realización de estudios de morfogénesis y polaridad, ya que su forma, tamaño y su ciclo de división celular son extremadamente reproducibles en el laboratorio, además se pueden obtener mutantes con morfologías aberrantes sin pérdida de la viabilidad.⁽⁴⁾ En esta revisión nos proponemos profundizar en el estudio de la pared celular de la levadura *S. pombe* que pueda servir de base para la búsqueda de nuevas dianas antifúngicas.

DESARROLLO

Ciclo de vida de *Schizosaccharomyces pombe*

Las células de *S. pombe* presentan una forma cilíndrica y al nacer tienen un tamaño aproximado de 3-4 mm de diámetro y 7-8 mm de longitud. Durante el crecimiento, las células mantienen un diámetro constante y aumentan en longitud hasta alcanzar 12-15 mm, que es el tamaño necesario para dividirse. La reproducción vegetativa se produce por fisión transversal, mediante la formación de un septo perpendicular al eje mayor de la célula que tras la citoquinesis se disuelve, dando lugar a dos células hijas de idéntico tamaño (figura 2, círculo verde). Las cepas de *S. pombe* utilizadas en el laboratorio se pueden mantener de

forma continua en estado haploide. En medio rico o medio mínimo el tiempo de generación varía entre 2 y 4 horas.

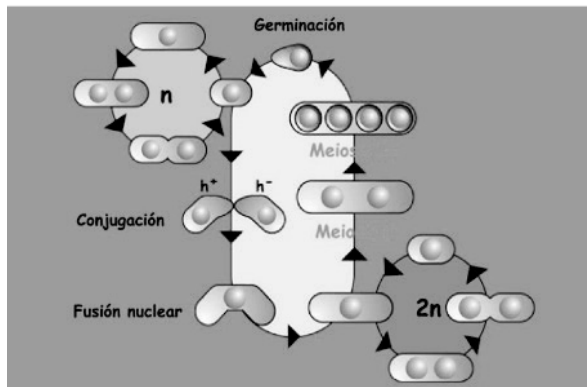


Figura #2: Ciclo de vida de *S. pombe*. Ciclo vegetativo haploide y diploide de *S. pombe*. Las células vegetativas se dividen por fisión transversal dando lugar a dos células hijas de igual tamaño. Cuando las condiciones del medio no son óptimas, *S. pombe* cambia a un ciclo sexual en el que se produce la formación de un cigoto diploide que posteriormente sufrirá meiosis y esporulación, dando lugar a 4 ascosporas haploides que quedan incluidas en el interior de un asca.

El ciclo sexual de *S. pombe* se representa en la figura 2. Las células haploides pertenecen a dos tipos sexuales diferentes h^+ y h^- .⁽⁵⁾ Si cultivamos células de diferente tipo sexual en un medio carente de nitrógeno o nutrientes se producen una serie de cambios morfológicos que conducen al proceso de conjugación. Este empieza con la formación de una proyección denominada “*shmoo*” en un extremo de cada célula, hasta que ambas se ponen en contacto y se fusionan formando un cigoto. Los cigotos son células diploides inestables y en medios pobres suelen sufrir inmediatamente un proceso de meiosis que conduce a la formación de cuatro núcleos haploides, cada uno

de los cuales quedará incluido en el interior de una espora haploide y estas a su vez en el interior de un asca zigótica. Cada tétrada contiene dos esporas de cada tipo sexual. La separación de estas 4 ascosporas mediante micromanipulación (método llamado “análisis de tétradas”) es la base del análisis genético de este organismo. En un momento determinado la pared del asca se rompe y libera las esporas haploides que permanecerán latentes hasta que encuentren condiciones favorables, entonces germinan reiniciando el ciclo (figura 2). En el laboratorio y bajo determinadas condiciones, pueden mantenerse células diploides en cultivo a partir de cigotos. Estos individuos diploides pueden entonces entrar en sucesivos ciclos mitóticos diploides (figura 2). Las células diploides de *S. pombe* (de 11-14 mm de longitud al formarse y 20-25 mm antes de la división) son muy inestables y tienden a esporular rápidamente si entran en fase estacionaria o si escasean los nutrientes en el medio, formándose un asca azigótica con cuatro ascosporas haploides (figura 2). En la naturaleza las células de *S. pombe* pueden crecer como pseudohifas, que son cadenas de células que aunque han completado la citocinesis permanecen unidas. Este podría ser un mecanismo para buscar nutrientes de un modo más eficaz.⁽⁶⁾

Ciclo celular de *Schizosaccharomyces pombe*

El ciclo celular de *S. pombe* se caracteriza por presentar una fase G2 muy amplia que abarca aproximadamente el 70% de este. Cuando la célula ha duplicado su material genético y ha alcanzado un tamaño mínimo determinado, sufre mitosis y sus núcleos se separan. En este momento comienza a formarse el septo

de división, mientras las células, aún unidas, entran en una fase G1 muy corta; posteriormente vuelven a duplicar su material genético (fase S) coincidiendo con la septación, de forma que las dos células hijas recién separadas emergen en la fase G2 de su ciclo celular.⁽⁷⁾

Las células de *S. pombe* sufren tres transiciones morfológicas importantes durante su ciclo de vida vegetativo (figura 3):

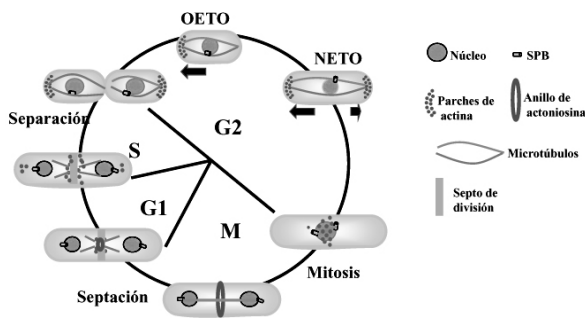


Figura #3: Ciclo morfo-genético y ciclo celular de *S. pombe*. Los parches de actina se localizan en los polos en crecimiento durante la interfase y en la región del septo durante la división celular, junto con el anillo de actomiosina. Los Microtúbulos forman haces que se distribuyen a lo largo de la célula en interfase. Durante la mitosis se forma el huso mitótico.

Crecimiento monopolar: tras la citoquinesis, en el momento denominado OETO (*Old End Take Off*), las dos células hijas idénticas en tamaño inician un crecimiento polarizado, alargándose solo por el polo que ya existía en la célula madre (“polo antiguo”). Este patrón de crecimiento se mantiene durante los primeros momentos de la fase G2.

Crecimiento bipolar: también llamado NETO (*New End Take Off*), en este momento se produce una transición desde el crecimiento monopolar a un crecimiento bipolar, y el polo

creado en la división anterior (“polo nuevo”) también comienza a alargarse.

Separación celular: finalmente, cuando la célula alcanza su tamaño máximo, cesa el alargamiento por los polos y se produce la formación de un septo de división central y la posterior separación de las células hijas.

Durante las transiciones morfológicas comentadas hasta ahora, es esencial el mantenimiento de la integridad celular. Esto requiere que la secreción y el crecimiento polarizados estén perfectamente coordinados con la biosíntesis de la pared celular y que exista una estricta regulación de las rutas de biosíntesis y degradación de los polímeros que la forman.^(8,9)

La pared celular fúngica es una estructura esencial para el mantenimiento de la morfología celular y protege a las células frente a las condiciones adversas del medio externo.⁽⁸⁾ Además del interés que presenta el estudio de la síntesis y regulación de la pared celular como modelo morfo-genético, no hay que olvidar que la pared celular es una estructura esencial para los hongos patógenos y que se encuentra ausente en las células de eucariotas superiores (mamíferos, etc.). El conocimiento en profundidad de esta estructura es importante para identificar nuevas dianas necesarias para el desarrollo de compuestos antifúngicos. De hecho, uno de los antifúngicos más prometedores es el acetato de Caspofungina (CANCIDASTM), un inhibidor de la biosíntesis de β glucano que actualmente se está utilizando para el tratamiento de aspergilosis invasivas y otras infecciones fúngicas.⁽¹⁰⁾ Las equinocandinas son eficaces para tratar las infecciones fúngicas y se usan ampliamente en

clínica pero las células con elevados niveles de quitina son menos susceptibles.

La Pared Celular de *Schizosaccharomyces pombe*

La pared celular fúngica es una matriz glicoproteica externa a la membrana plasmática que protege la célula y le permite interactuar con su entorno. En las levaduras y hongos, la necesidad de mantener íntegra la pared celular durante los cambios morfogénicos sufridos a lo largo de su ciclo vital hace que, necesariamente, la síntesis y degradación de dicha matriz esté regulada y coordinada con otros procesos celulares y con la maquinaria de control del ciclo celular. La pared celular es necesaria para mantener la morfología típica de las células de *S. pombe* y la viabilidad celular, ya que los protoplastos obtenidos mediante digestión enzimática de los polímeros de la pared celular, se redondean y pierden rápidamente la viabilidad celular si no se mantienen en un medio estabilizado osmóticamente.

La pared celular de los hongos está compuesta mayoritariamente por polisacáridos y glicoproteínas. Los principales polisacáridos que encontramos en las paredes fúngicas son α y β -glucanos. Estos polímeros suelen ordenarse en cadenas lineales que se unen entre sí por puentes de hidrógeno formando fibrillas. También encontramos otros polímeros menos abundantes como quitina, y manano, glucurmanano o galactomanano unido a proteínas. En *S. pombe* el polisacárido mayoritario en la pared celular es el β -glucano, que constituye aproximadamente de un 50 a un 55% de los azúcares de la pared. Encontramos además α -glucano (del 28 al 32%) y galactomano (del 9 al 14%) asociado a proteínas. En

S. pombe no hay quitina en la pared celular de las células vegetativas aunque sí aparece en la pared celular de las esporas.⁽⁸⁾

Al microscopio electrónico, la pared lateral de *S. pombe* presenta una estructura trilaminar, con dos capas externas densas a los electrones donde se localizan las glicoproteínas y una capa interna menos densa a los electrones compuesta principalmente por α y β -glucanos (figura 4). La ultraestructura del septo de división está también muy organizada y presenta una capa interna menos densa a los electrones, denominada septo primario y dos capas más densas a los electrones a ambos lados del septo primario de composición similar a la pared lateral, denominada septo secundario.⁽¹¹⁾

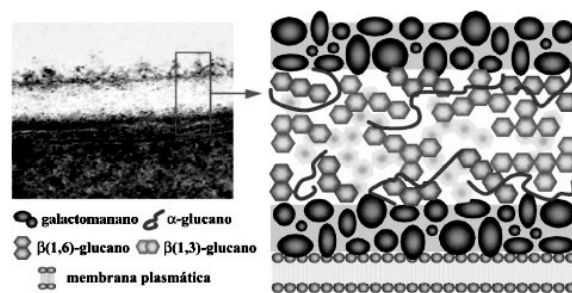


Figura #4: Estructura de la pared celular de *S. pombe*. La pared consta de tres capas. La capa intermedia, menos densa a los electrones, está formada por α y β glucanos. Las capas más externas están formadas por galactomanano.

β -glucano

El β -glucano está formado por monómeros de D-glucosa unidos por enlaces $\beta(1,3)$ o $\beta(1,6)$. Existen diferentes tipos de β -glucano: $\beta(1,3)$ -glucano lineal, $\beta(1,6)$ -glucano y $\beta(1,3)$ -glucano con ramificaciones de $\beta(1,6)$ -glucano que es el más abundante (figura 5).

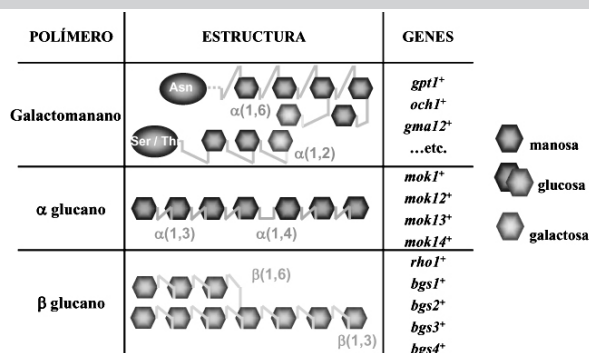


Figura #5: Esquema de la composición y estructura química de los principales polímeros de la pared celular *S. pombe*. Se indican algunos de los genes que codifican las actividades enzimáticas implicadas en la biosíntesis de estos polímeros.

b (1,3)-glucano lineal

Está compuesto por cadenas lineales de glucosa sin ramificaciones. Se localiza exclusivamente en el septo primario.

b(1,3)-glucano ramificado

Es el más abundante de todos los polisacáridos y está formado por cadenas de glucosa unidas por enlaces b(1,3) y ramificadas en b(1,6). Es el primer polisacárido en depositarse en la nueva pared en formación durante la regeneración de protoplastos y en torno a él se ensamblan el a-glucano y el galactomanano. Se localiza por toda la pared celular, en el septo primario y en el septo secundario.⁽¹²⁾ El b(1,3)-glucano se requiere en citocinesis para conectar la pared celular con la membrana plasmática y el funcionamiento del anillo contráctil.

b(1,6)-glucano

El b(1,6)-glucano está formado por cadenas de glucosa unidas por enlaces b(1,6) y se encuentra muy ramificado, hasta un 43% de enlaces

en b(1,3). Anticuerpos anti b(1,6)-glucano sitúan este polímero en el septo secundario y en el resto de la pared celular lateral cerca de la capa más externa de galactomanano, pero no aparece en el septo primario. También se ha detectado su presencia en el Aparato de Golgi y en vesículas pequeñas situadas bajo la membrana plasmática.⁽¹²⁾

a(1,3)-glucano

El alfa glucano está presente en la pared celular de *S. pombe* y otros hongos dimórficos y filamentosos *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Blastomyces dermatitidis*, aunque curiosamente se encuentra ausente en la pared celular de *S. cerevisiae*. Además, algunos organismos patógenos como *Cryptococcus neoformans* necesitan el a-glucano para que se ancle la cápsula, que es un determinante de la virulencia.⁽¹³⁾

En *S. pombe* las cadenas de a-glucano están formadas por D-glucosa unida por enlaces a(1,3) con un 7% de enlaces a(1,4) (figura 5) y se distribuyen por toda la pared celular y en la región del septo, sobre todo en las regiones adyacentes a la membrana plasmática. En esporas el a glucano es muy abundante y se han detectado dos tipos de polímeros, uno de ellos mayoritario con unidades de glucosa unidas por enlaces a(1,3) y un polímero que está formado por unidades de glucosa unidas por enlaces a(1,4) y que se tiñe en presencia de yodo.⁽¹⁴⁾ El a-glucano es esencial para mantener la morfología celular.

Galactomanano y las galactomanoproteínas

El galactomanano está formado por cadenas cortas de D-manosa lineal unidas por enlaces

a(1,6) al que se unen cadenas laterales de manosa con uniones a(1,2) (figura 5). En los extremos no reductores de estas cadenas a veces se encuentra un residuo de galactosa, aunque en ocasiones se ha encontrado galactosa en posición no terminal.⁽¹⁵⁾

El galactomanano se encuentra covalentemente unido a proteínas mediante enlaces O y N-glicosídicos. Estas proteínas se secretan al espacio periplásmico y se localizan en la superficie externa de la pared y en la región cercana a la membrana plasmática, las regiones más densas a los electrones observadas al microscopio electrónico (figura 4). La capa más externa de glicoproteínas es esencial, entre otras funciones, para el reconocimiento de determinados hongos patógenos por parte del sistema inmune y durante la respuesta sexual para el reconocimiento celular de tipos sexuales opuestos.⁽¹⁶⁾ En *S. pombe* el tratamiento con b(1,3)-glucanasas libera aproximadamente el 50% de las proteínas, lo que sugiere que el resto están ancladas a la pared a través del a(1,3)-glucano.⁽¹³⁾ Recientemente, se ha analizado el proteoma de la pared celular de esta levadura y se han añadido algunas proteínas nuevas a las descritas.⁽¹⁷⁾

Quitina

Está formada por cadenas lineales de N-acetil-D-glucosamina unida mediante enlaces b(1,4). A pesar de que algunos autores han identificado residuos de glucosamina en la pared celular de *S. pombe*, no se ha detectado la presencia de quitina mediante estudios de difracción de rayos-X, ni por tinción con la aglutinina de germen de trigo (WGA). Sin embargo, sí se ha detectado actividad quitín sintasa en las ascosporas de *S. pombe*, aunque el polímero

sintetizado podría corresponder a quitosán que es la quitina desacetilada.⁽¹⁸⁾

Ensamblaje de la pared celular de *Schizosaccharomyces pombe*

Mediante estudios de microscopía de barrido se ha observado que la regeneración de la pared celular de los protoplastos comienza de forma polarizada en un determinado lugar, mediante la formación de una red de fibrillas de b-glucano que se extiende por la superficie celular rodeando los protoplastos. En los mutantes con defectos en la síntesis de a-glucano, las fibrillas de b-glucano no se agrupan en haces, por lo que el a-glucano podría intervenir en la compactación del b-glucano de la pared celular. Los espacios entre las fibras de glucano se rellenan con galactomanano. El b-glucano no solo es el primer componente que se sintetiza en la pared, sino que es necesario para que se ensamblen el resto de los componentes, ya que cuando se inhibe la síntesis de b-glucano con Aculeacina A, no se forman los haces de microfibrillas y tampoco se deposita ninguno de los otros polímeros de la pared. En las esporas la síntesis de b-glucano también precede a la de a-glucano y a la de quitina.⁽¹⁴⁾

En cuanto al b-(1,6) glucano, podría conectar la capa de glicoproteínas más externa con la capa interna de polisacáridos de la pared celular, aunque las evidencias en este sentido no son tan claras como en *S. cerevisiae*.⁽¹²⁾ La cantidad y composición de los polímeros que forman la pared varía de unas especies a otras. En *S. cerevisiae*, por ejemplo, donde la composición y estructura de la pared han sido estudiadas con mayor detalle, no existe a-glucano ni b(1,3)-glucano lineal, por el contrario, *S. cerevisiae* presenta un 2% de quitina en su pared

celular y el manano asociado a las glicoproteínas no lleva galactosa.

La biosíntesis del β -glucano es catalizada por el complejo enzimático denominado $\beta(1,3)$ -glucán sintasa (bGS) (UDP-glucosa: (1-3)- β -D-glucano-3- β -D-glucosiltransferasa. Esta enzima se encuentra asociada a la cara interna de la membrana plasmática y emplea como sustrato UDP-glucosa, formando cadenas lineales de unos 60–700 residuos de glucosa. Se ha desarrollado un sistema *in vitro* para la síntesis de β glucano. Este sistema necesita ATP y es estimulado por GTP. Gracias en parte a este sistema hoy sabemos que la actividad β -GS está constituida por, al menos, dos componentes: una fracción catalítica y una reguladora.⁽¹⁹⁾ En *S. pombe* se han identificado cuatro genes que codifican posibles subunidades catalíticas del complejo β -glucán sintasa: *bgs1⁺*, *bgs2⁺*, *bgs3⁺* y *bgs4⁺* (*bgs* de β -glucan synthase). Todos estos genes son esenciales para la viabilidad de *S. pombe*. Las proteínas Bgs son proteínas transmembranales de elevado peso molecular (aproximadamente 200 kDa) y que presentan un elevado porcentaje de identidad entre sí y con Fks1p y Fks2p, las β -glucán sintasas descritas en *S. cerevisiae*. En *S. pombe* algunos de estos genes, como *bgs3⁺* y *bgs4⁺*, fueron identificados a partir de mutantes sensibles o resistentes a compuestos antifúngicos que inhiben la síntesis de la pared. Tanto Bgs1p como Bgs3p y Bgs4p necesitan del citoesqueleto de actina para localizarse en los sitios de crecimiento aunque no para mantenerse allí.⁽²⁰⁾

La subunidad reguladora de la actividad $\beta(1,3)$ -glucán sintasa es la GTPasa Rho1p que es prenilada mediante la adición de un resto

hidrofóbico de geranil-geranilo por el complejo Cwg2p-Cwp1p de la geranil-geranil transferasa I. Para que Rho1p realice su función como activador de la síntesis de β -glucano debe estar prenilada y encontrarse en su estado activo, es decir, unida a GTP. La adición de un grupo prenilo (hidrofóbico) permite a Rho1p unirse a la membrana plasmática en las inmediaciones de la subunidad catalítica correspondiente, activando así la síntesis de glucano. En la figura 6 se muestra un esquema de las proteínas de *S. pombe* implicadas en la biosíntesis de $\beta(1,3)$ -glucano. Rho1p maneja la activación de la quinasa Pmk1p de la ruta de integridad celular, exclusivamente a través de sus efectores Pck1p o Pck2p, en respuesta a los daños de la pared celular.

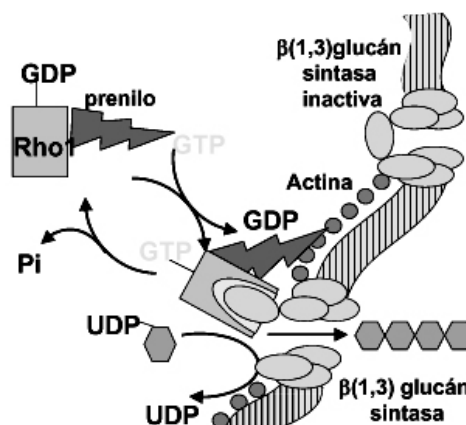


Figura #6. Modelo propuesto para la activación de la $\beta(1,3)$ glucán sintasa. El complejo enzimático, formado por al menos 2 subunidades, se localiza en la cara interna de la membrana. La GTPasa Rho1p, la subunidad reguladora, es la encargada de la activación del complejo catalítico (Bgs1p, Bgs2p, Bgs3p y Bgs4p). Rho1p debe ser prenilada previamente para poder anclarse a la membrana y realizar su función activadora (Adaptado de Drgonova et al., 1999).

En *S. pombe* se sabe muy poco de la síntesis de $\beta(1,6)$ -glucano, aunque existen genes que codifican proteínas con similitud a las proteínas Kre de *S. cerevisiae*, implicadas en la síntesis de $\beta(1,6)$ -glucano en esta levadura. Las proteínas Kre de *S. cerevisiae* están localizadas en diferentes puntos de la ruta de secreción. Los estudios de inmunolocalización de este polímero en *S. pombe* lo asocian a vesículas de la ruta secretora y a la cara interna de la membrana plasmática, lo que indica que al menos las etapas iniciales de la síntesis del $\beta(1,6)$ -glucano ocurren en el Retículo Endoplásmico (RE) o en el Aparato de Golgi. ⁽¹²⁾

Se han identificado varios genes en *S. pombe* que codifican posibles subunidades catalíticas de la α -GS, denominados genes *mok* (*morphological and kinase inhibitor supersensitive*): *mok1*⁺, *mok11*⁺, *mok12*⁺, *mok13*⁺ y *mok14*⁺. *mok1*⁺/*ags1*⁺ esencial para la viabilidad y que parece ser el responsable de la síntesis de α -glucano durante el crecimiento vegetativo. En los mutantes *mok1* el nivel de $\alpha(1,3)$ glucano se encuentra reducido, pese a ello la pared está engrosada y desorganizada, perdiendo la estructura trilaminar característica de la estirpe silvestre. Por otro lado, la sobreexpresión de *mok1*⁺ produce un incremento de más de tres veces en la cantidad de α -glucano en la pared celular. Mok1p se localiza en los lugares donde se produce crecimiento activo, el septo durante la división celular y en la región de los polos en interfase. En el genoma de *S. pombe* existen otros cuatro genes que codifican proteínas parálogas a Mok1p, denominadas Mok11p, Mok12p, Mok13p y Mok14p. Ninguno de estos genes es esencial para el crecimiento vegetativo, sin embargo, son importantes en el proceso de maduración de las

esporas. *mok12*⁺ y *mok13*⁺ son responsables de la biosíntesis del $\alpha(1,3)$ -glucano en esporulación. ⁽¹⁴⁾

En *S. pombe* muchas de las glicoproteínas secretadas a la pared celular (tanto N- como O-glicosiladas) están fuertemente galactosiladas. Las galactomanoproteínas representan del 9 al 14% de los azúcares de la pared celular. La glicosilación de las proteínas de la pared celular se produce en el RE y en el Aparato de Golgi. En el RE se añaden los polisacáridos de manosa, cadenas cortas unidas a residuos de serina/treonina mediante enlaces O-glicosídicos o cadenas más largas que se unen a residuos de asparagina mediante enlaces N-glicosídicos. La adición de galactosa y la modificación de las cadenas de manosa se produce posteriormente, en el Aparato de Golgi. ⁽¹⁶⁾

La pared celular es una estructura muy dinámica y susceptible de sufrir numerosas modificaciones en la composición y/o estructura, tanto a lo largo de las distintas etapas del ciclo de vida de la levadura como en respuesta a estímulos y condiciones ambientales. A pesar de su rigidez, es necesario que esta envoltura se adapte a los cambios morfológicos que ocurren durante el ciclo celular, como por ejemplo, el crecimiento por uno o ambos polos o la formación del septo que separa la célula madre de la célula hija durante el crecimiento vegetativo. Además, en respuesta a señales extracelulares como puede ser la presencia de feromonas de tipo sexual opuesto, las células responden formando la denominada “proyección sexual” en la dirección en la que se encuentra la otra célula, lo que precede a la disolución de la pared de ambas

células necesaria para la fusión citoplasmática y nuclear. ⁽²¹⁾

Lógicamente, todas estas alteraciones deben estar controladas por una estricta regulación de las rutas de biosíntesis y degradación de polímeros que constituyen la pared celular, de tal manera que las actividades enzimáticas estén presentes únicamente en el momento y el lugar necesarios para desempeñar su función. Finalmente la célula debe responder a cualquier daño en la envoltura que ponga en peligro su integridad, utilizando para ello una serie de mecanismos compensatorios o mecanismos de defensa que permitan cambiar la composición y/o la estructura en las condiciones en las que es imposible sintetizar una pared celular normal.^(22, 23) En los últimos años, la síntesis y composición de la pared celular se ha estudiado en la levadura de fisión, sin embargo, todavía se conoce poco sobre los pasos iniciales en los cambios de la pared, cómo la célula se da cuenta y cómo los sensores y reguladores de los principales polisacáridos cooperan en la reparación de la pared celular cuando está expuesta a ambientes hostiles. ⁽²⁴⁾

CONCLUSIONES

La pared celular fúngica constituye el lugar de interacción con el medio externo, localizándose en ella las adhesinas y un gran número de receptores que tras su activación, desencadenarán una compleja cascada de señales en el interior de la célula.

En los hongos, la pared celular es una importante defensa para resistir la adversidad medioambiental, debido a los daños causados por el estrés y las drogas antifúngicas y se repara a través de su biosíntesis.

La pared celular es una estructura característica de los hongos y al no estar presentes sus componentes en el ser humano constituye una diana excelente para la terapia antifúngica. Dado el papel vital que la pared celular juega en la fisiología de la célula fúngica, puede considerarse como una insuficiencia de los hongos.

Conflicto de intereses: no existen conflictos de intereses.

Declaración de contribuciones:

Sandra Margarita Cruz Quintana trabajó en la búsqueda bibliográfica y en la redacción final.

José Miguel Álvarez Suárez trabajó en la confección de figuras y en la búsqueda bibliográfica.

Pedro Díaz Sjostrom trabajó en la búsqueda bibliográfica y en la metodología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Armstrong, J., N. Bone, *et al.* (2007). "The role and aims of the FYSSION project." *Brief. Funct. Genomic Proteomic* 6: 3-7.
- 2- Wood, V., R. Gwilliam, *et al.* (2002). "The genome sequence of *Schizosaccharomyces pombe*." *Nature* 415(6874): 871-80.
- 3- Sipiczki, M. (1995). "Phylogenesis of fission yeasts. Contradictions surrounding the origin of a century old genus." *Antonie Van Leeuwenhoek* 68(2): 119-49.
- 4- Hayles, J. A. and P. Nurse (2001). "A journey into space." *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 647-656.

- 5- Leupold, U. (1950). "Die Vererbung von Homothallie und Heterothallie bei *Schizosaccharomyces pombe*." *C. R. Lab. Carlsberg, Sér. Physiol.* 24: 381-480.
- 6- Amoah-Buahin, E., N. Bone, *et al.* (2005). "Hyphal Growth in the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*." *Eukaryot Cell.* Jul;4(7): 1287-97.
- 7- Chang, F. and F. Verde (2004). Control of cell polarity and morphogenesis in fission yeast. *The molecular biology of Schizosaccharomyces pombe. Genetics, genomics and beyond.* R. Egel, Springer: 255-268.
- 8- Latgé, J. P. (2007). "The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell." *Mol Microbiol.* 66: 279-90.
- 9- Fischer, R., N. Zekert, *et al.* (2008). "Polarized growth in fungi--interplay between the cytoskeleton, positional markers and membrane domains." *Mol Microbiol.* 68: 813-26.
- 10- Sucher, A. J., E. B. Chahine, *et al.* (2009). "Echinocandins: the newest class of antifungals." *Ann Pharmacother.* 43: 1647-57.
- 11- Sipiczki, M. (2007). "Splitting of the fission yeast septum." *FEMS Yeast Res.* 7: 761-770.
- 12- Sugawara, T., S. Takahashi, *et al.* (2004). "Refinement of the structures of cell-wall glucans of *Schizosaccharomyces pombe* by chemical modification and NMR spectroscopy." *Carbohydrate Research* 339: 2255-2265.
- 13-Doering, T. L. (2009). "How sweet it is! Cell wall biogenesis and polysaccharide capsule formation in *Cryptococcus neoformans*." *Annu Rev Microbiol.* 63: 223-47.
- 14-Garcia, I., V. Martín, *et al.* (2006). "Synthesis of α -glucans in fission yeast spores is carried out by three alpha-glucan synthase paralogs, Mok12p, Mok13p and Mok14p." *Mol. Microbiol* 59: 836-853.
- 15-Ohashi, T. and K. Takegawa (2010). "N- and O-linked oligosaccharides completely lack galactose residues in the *gms1 och1* mutant of *Schizosaccharomyces pombe*." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: :263-72.
- 16-Gemmill, T. R. and R. B. Trimble (2004). Protein Glycosylation. *The molecular biology of Schizosaccharomyces pombe. Genetics, genomics and beyond.* R. Egel, Springer: 405-414.
- 17-de Groot, P. W., Q. Y. Yin, *et al.* (2007). "Mass spectrometric identification of covalently bound cell wall proteins from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*." *Yeast* 24: 267-278.
- 18-Arellano, M., H. Cartagena-Lirola, *et al.* (2000). "Proper ascospore maturation requires the *chs1*⁺ chitin synthase gene in *Schizosaccharomyces pombe*." *Mol. Microbiol* 35: 79-89.
- 19-Douglas, C. M. (2001). "Fungal b(1,3)-D-glucan synthesis." *Medical Micology* 39 (Supplement): 55-66.

- 20- Cortes, J. C., E. Carnero, *et al.* (2005). "The novel (1,3) β -D-glucan synthase catalytic subunit Bgs4p from fission yeast is essential during both cytokinesis and polarized growth." *J. Cell Sci.* 118: 157-174.
- 21- Levin, D. E. (2011). "Regulation of Cell Wall Biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*: The Cell Wall Integrity Signaling Pathway." *Genetics* 189(4): 1145-1175.
- 22- Pérez, P. and Rincón, S. A. (2010). "Rho GTPases: regulation of cell polarity and growth in yeasts." *Biochem. J.* 426: 243-53.
- 23- Roncero, C. and Sánchez, Y. (2010). "Cell separation and the maintenance of cell integrity during cytokinesis in yeast: the assembly of a septum." *Yeast* 27: 521-530.
- 24- S. M. Cruz, E. Manjón, P. García and Y. Sánchez (2013). "The fission yeast cell wall stress sensor-like proteins Mtl2 and Wsc1 act by turning on the GTPase Rho1p but act independently of the cell wall integrity pathway." *MicrobiologyOpen*(4): 1-17.

Recibido: 9 de abril de 2014

Aceptado: 5 de junio de 2014