



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Control ambiental de la división y
diferenciación celular en levaduras con fisión**

**Dña. Elisa Gómez Gil
2022**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero dar las gracias a mis directores: a la Dra. María Isabel Madrid Mateo, por haberme transmitido todos tus conocimientos a lo largo de los años, has sido un ejemplo claro de motivación y dedicación al trabajo, gracias por estar siempre; y al Dr. José Cansado Vizoso, gracias por haberme dado la oportunidad de iniciar mi carrera científica en este grupo de investigación, me has ayudado más que nadie a trabajar mi paciencia y saber llevar mis frustraciones (o al menos intentarlo). Os doy las gracias a los dos por haber confiado siempre en mí, incluso más que yo misma. Habéis sido mis mentores y guías durante todos estos años (ya van unos cuantos) y ha sido un verdadero placer poder trabajar con vosotros.

Gracias a la Dra. Teresa Soto Pino por haberme acompañado a lo largo de este proceso y por estar siempre dispuesta a enseñarme y ayudarme, ha sido genial descubrir el atractivo de *S. japonicus* contigo, al Dr. Alejandro Franco Sánchez, por tus consejos metodológicos y disponibilidad total, y a la Dra. Jerónima Vicente Soler, por tu experiencia y amabilidad. Sin vosotros estos proyectos no podrían haber salido adelante. Además, no puedo olvidarme de dar las gracias al Dr. Mariano Gacto Fernández, porque el interés por la microbiología comenzó en tus clases. Gracias también a Paco Garro, por tu ayuda en cuestiones técnicas y conversaciones. Gracias a todos los que durante más o menos tiempo habéis sido mis compañeros de laboratorio, porque al final hemos pasado más horas juntos que con nuestras propias familias. Gracias a Curro por la ayuda y la compañía durante estos años, a Armando, porque ya tengas un día bueno o malo la música nunca falla y eres la alegría del laboratorio, pero sobre todo a la Dra. Beatriz Vázquez Marín por haberme ayudado siempre, porque las decepciones eran menos decepciones cuando hablaba contigo, gracias por todos los buenos ratos que hemos pasado, por haberme animado más que nadie y por creer en mí, gracias por ser mi amiga.

Quiero hacer una mención especial a las personas que me han ayudado a completar mi formación científica durante los años de tesis. A la Dra. Pilar Pérez González, gracias por haberme permitido pasar unos meses en tu laboratorio en el IBFG, por las conversaciones y los consejos científicos que siempre son sabios y acertados, y por tu infinita amabilidad. Gracias a la Dra. Rebeca Martín García, por haberme guiado en mis primeros pasos en el mundo de la microscopía durante ese tiempo, porque eres una trabajadora incansable y de verdad que tienes toda mi admiración. Vuestra colaboración y experiencia ha sido esencial para poder avanzar en el transcurso de los experimentos. Gracias también al Oliferenko lab, porque una de las mejores experiencias de mi doctorado ha sido poder trabajar en el Crick con gente tan genial, siempre dispuestos a ayudar en lo que necesitara, pero, sobre todo, siempre dispuestos a salir a cenar.

Gracias también a Irene, Amelia y Carlos Hugo (Nube negra), porque me habéis demostrado lo que es la amistad real y madura. Gracias a mis chicos José Luis y Raúl, porque por muchos años que pasen y por muy lejos que estemos los tres, al final siempre estamos. Gracias, gracias y gracias infinitas a mi akelarre, mi grupo de mujeres fuertes y mi vía de escape de la vida en general. ¿Qué os voy a decir? Me habéis enseñado tanto durante todos estos años... A Ceci, que hemos crecido y evolucionado juntas; a Alba Ródenas (Rode), que llegaste de paso y te has quedado pero bien; a Laura (Sori) y Sandra (Coco), porque sois mi mejor equipo de brujas del mundo (gracias Javi porque sin ti esto no habría pasado). Sois todas insoportables, pero os quiero mucho y estoy orgullosa de vosotras. Alba Molina, mi "más mejor" compañera de piso y amiga, gracias porque lo nuestro fue amor a primera vista y porque estos años han sido un paseo de tu mano. Cigarral y tú siempre seréis hogar.

Mi mayor agradecimiento es para mi familia. Gracias Mamá y Papá, por haberme enseñado a ganar las cosas por mí misma y apoyarme incondicionalmente en todas mis decisiones, sin vuestra educación y compañía durante este camino no podría haber llegado donde estoy ahora. Gracias Luigui por tu forma de ser y por estar siempre que te necesito. Gracias a Virginia y Dani por haberme hecho el mejor regalo del mundo: Candela y Vera, mi amor incondicional y las únicas personas del mundo que son capaces de hacer que no piense en nada más cuando estoy con ellas. Y en particular, gracias, Virginia (la mayor bruja del akelarre), porque probablemente eres la persona con la que más me he peleado en mi vida, pero también de la que más he aprendido. Hablar contigo siempre me calma, eres la única de la que acepto todos los consejos, mi oráculo, y mi ejemplo a seguir por tu motivación y tu fuerza.

Finalmente gracias a ti, Adri, por tu cariño y tu paciencia infinita conmigo cuando quiero bajarme de la vida, por demostrarme sin palabras, y por estar dispuesto a acompañarme en el camino. Hacemos un equipo genial.



“

La vida no merece que uno se preocupe tanto

Marie Curie



CONTROL AMBIENTAL DE LA DIVISIÓN Y DIFERENCIACIÓN CELULAR EN LEVADURAS CON FISIÓN

**Trabajo realizado en el Departamento de Genética y
Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad
de Murcia bajo la dirección y supervisión de D. José
Cansado Vizoso y Dña. María Isabel Madrid Mateo,
para optar al grado de Doctor en Biología Molecular y
Biotecnología con Mención de Doctorado Internacional, por
la Graduada Elisa Gómez Gil.**

Murcia, 3 de diciembre de 2021

Esta memoria ha sido concebida como compendio de las siguientes publicaciones:

- Elisa Gómez-Gil, Alejandro Franco, Beatriz Vázquez-Marín, Francisco Prieto-Ruiz, Armando Pérez-Díaz, Jero Vicente-Soler, Marisa Madrid, Teresa Soto, José Cansado (2021). *Specific Functional features of the Cell Integrity MAP Kinase Pathway in the Dimorphic Fission Yeast Schizosaccharomyces japonicus*. *Journal of Fungi* 7:482.

- Elisa Gómez-Gil, Alejandro Franco, Marisa Madrid, Beatriz Vázquez-Marín, Mariano Gacto, Jesualdo Fernández-Breis, Jero Vicente-Soler, Teresa Soto, José Cansado (2019). *Quorum sensing and stress-activated MAPK signaling repress yeast to hypha transition in the fission yeast Schizosaccharomyces japonicus*. *PLoS Genetics* 15:e1008192.

- Elisa Gómez-Gil, Rebeca Martín-García, Jero Vicente-Soler, Alejandro Franco, Beatriz Vázquez-Marín, Francisco Prieto-Ruiz, Teresa Soto, Pilar Pérez, Marisa Madrid, José Cansado (2020). *Stress-activated MAPK signaling controls fission yeast actomyosin ring integrity by modulating formin For3 levels*. *eLife* 9:e57951.

El trabajo presentado en esta memoria ha sido financiado con las ayudas procedentes de:

- **Título del proyecto:** “Regulación por MAP quinasas del citoesqueleto de actina y la polaridad celular”

Referencia: BFU2017-82423-P

Entidad financiadora: Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España

Entidades participantes: Universidad de Murcia

- Título del proyecto: “Citocinesis e integridad celular en la célula fúngica y su interés en terapias antifúngicas.”

Referencia: PGC2018-098924-B-100

Entidad financiadora: Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España

Entidades participantes: Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC)

- Título del proyecto: “MAP quininas y sensibilidad al quórum como reguladores de respuestas adaptativas frente al estrés, la diferenciación y el dimorfismo en levaduras con fisión”

Referencia: 20856/PI/18

Entidad financiadora: Fundación Séneca (Región de Murcia)

Entidades participantes: Universidad de Murcia

- Título del proyecto: “Escalera de la excelencia”

Referencia: CLU-2017-03

Entidad financiadora: Junta de Castilla y León

Entidades participantes: Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC)

Elisa Gómez Gil ha realizado la tesis doctoral financiada por una ayuda para la Formación del Profesorado Universitario (FPU) por la Universidad de Murcia (R-793/2017), y opta a la mención de doctorado internacional gracias a las estancias realizadas en The Francis Crick Institute (Londres) en Reino Unido, financiada por sendas ayudas para estancias en el extranjero para beneficiarios del programa de contratos predoctorales (FPU) de la Universidad de Murcia (R-391/2016).

LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviaturas	Castellano	English
<i>Abbreviations</i>		
ABP's	Proteínas de unión a la actina	<i>Actin Binding Proteins</i>
ADN	Ácido Desoxirribonucleico	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
AHL	N-Acil homoserina lactona	<i>N-Acyl homoserine lactone</i>
AI-2	Autoinductor de tipo 2	<i>Auto Inducer 2</i>
AI-3	Autoinductor de tipo 3	<i>Auto Inducer 3</i>
AIP	Péptido autoinductor	<i>Auto Inducer Peptide</i>
AMPc	Adenosín-monofosfato-3',5'-cíclico	<i>3'5'-Cyclic adenosin mono-phosphate</i>
ARN	Ácido ribonucleico	<i>Ribonucleic acid</i>
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
CESR	Respuesta a estrés ambiental central	<i>Core Environmental Stress Response</i>
CGN	Red de geometría celular	<i>Cell Geometry Network</i>
CHO	Ovario de hámster chino	<i>Chinese hamster ovary</i>
CME	Endocitosis mediada por clatrina	<i>Clathrin-mediated endocytosis</i>
CPT	Camptotecina	<i>Camptothecin</i>
CoQ1	Coenzima Q10	<i>Coenzyme Q10</i>
DAD	Dominio de autorregulación de forminas de tipo diáfano	<i>Diaphanous-related Formin Autoregulatory Domain</i>
DID	Dominio de inhibición de forminas de tipo diáfano	<i>Diaphanous-related Formin Inhibitory Domain</i>
DSP	Fosfatasa de especificidad dual	<i>Dual Specificity Phosphatase</i>
DYRK	Quinasa de especificidad dual regulada por fosforilación en tirosina	<i>Dual-specificity Tyrosine Phosphorylation-regulated Kinase</i>
EPS	Polisacáridos extracelulares	<i>Extracellular Polysaccharides</i>
ESCRT	Complejos de clasificación endosómica necesarios para el transporte	<i>Endosomal sorting complexes required for transport</i>
GDP	Guanosina 5'-difosfato	<i>Guanosine 5'-diphosphate</i>

Abreviaturas		
<i>Abbreviations</i>	Castellano	<i>English</i>
GEF	Factor intercambiador de GTP	<i>GTP Exchange Factor</i>
GTP	Guanosina 5'-trifosfato	<i>Guanosine 5'-triphosphate</i>
HK	Histidín quinasa	<i>Histidine kinase</i>
LatA	Latrunculina A	<i>Latrunculin A</i>
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MAPKK (MEK)	MAP quinasa quinasa	<i>MAP kinase kinase</i>
MAPKKK (MAPKK quinasa o MEKK)	MAP quinasa quinasa quinasa	<i>MAP kinase kinase kinase</i>
MAPKP	Fosfatasa de MAPK	<i>MAPK phosphatase</i>
MEN	Ruta de salida de mitosis	<i>Mitotic Exit Network</i>
MTOC	Centro organizador de microtúbulos	<i>Microtubule Organizing Centre</i>
NES	Secuencia de exportación nuclear	<i>Nuclear Export Sequence</i>
NETO	Comienzo del crecimiento por el polo celular nuevo	<i>New End Take Off</i>
NLS	Secuencia de localización nuclear	<i>Nuclear Localization Signal</i>
NRE	Elemento de respuesta a Nrg1	<i>Nrg1 Response Element</i>
OETO	Comienzo del crecimiento por el polo celular antiguo	<i>Old End Take Off</i>
PCH	Familia de proteínas homóloga a Cdc15 de <i>S. pombe</i>	<i>Pombe Cdc15 Homology</i>
PDK	Quinasa dependiente de fosfoinosítidos	<i>Phosphoinositide-dependent protein kinase</i>
PKC	Proteína quinasa C	<i>Protein kinase C</i>
PP2C	Fosfatasa de serina y treonina	<i>Serine/Threonine Phosphatase</i>
PS	Septo primario	<i>Primary Septum</i>
PTM	Modificación postraduccional	<i>Post-translational Modification</i>

Abreviaturas

Abbreviations

Castellano

English

PTP	Fosfatasa de tirosina	<i>Tyrosine phosphatase</i>
QS	Quórum sensing	<i>Quorum sensing</i>
QSMs	Moléculas de quórum sensing	<i>Quorum sensing molecules</i>
RACK1	Receptor para proteína quina- sa C activa 1	<i>Receptor for Active C protein kinase</i>
RISC	Complejo de silenciamiento inducido por ARN	<i>RNA-inducen silencing com- plex</i>
ROS	Especies reactivas de oxígeno	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SCPR	Búsqueda, Captura, Empuje, Liberación	<i>Search, Capture, Pull, Release</i>
SIN	Complejo de inicio de la sep- tación	<i>Septation Initiation Network</i>
SS	Septo secundario	<i>Secondary Septum</i>
SPB	Cuerpo polar del huso	<i>Spindle Pole Body</i>
SPK	Spitzenkörper	<i>Spitzenkörper</i>

ABSTRACT

In eukaryotic cells the evolutionarily conserved mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways play an essential role during the adaptive response to environmental cues. The actin cytoskeleton is a complex network of polymers that play a fundamental role in the regulation of cellular processes such as cell division, endocytosis, and polarity. The correct assembly and organization of actin polymers depends to a large extent on the coordinated activation and/or inhibition of many conserved proteins through different signaling cascades, including MAPKs. The rod-shaped fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* is highly versatile for genomics, biochemical, and cellular analyses and has been established in recent decades as an excellent model organism to study novel mechanisms of general significance linked to MAPK-dependent signaling outputs due to the high degree of functional homology between their regulatory networks and those of higher organisms. In addition, the fission yeast species *Schizosaccharomyces japonicus* is becoming an attractive model to explore evolutionary physiological and developmental changes within the *Schizosaccharomyces* clade since, unlike the other species of this genus, it is a dimorphic organism. *Schizosaccharomyces japonicus* has other distinctive features including a defective respiration, a highly dynamic actin cytoskeleton, and semi-open mitosis. Thus, both fission yeasts have been positioned as simple but exceptional model for evolutionary cell biology studies.

Different studies have pointed out the role of MAPKs signaling pathways in the regulation of hyphal development in other filamentous fungi such as *Candida albicans* or *Saccharomyces cerevisiae*. Although *S. japonicus* carries gene orthologs encoding the main components of the three MAP kinase pathways present in *S. pombe*, their biological functions during growth, stress and mycelial differentiation are currently unknown. It has been reported that *S. japonicus* activates the dimorphic switch in response to environmental cues, so we wanted to functionally characterize the stress-activated (SAPK) and the cell integrity (CIP) MAPKs pathways, and their potential role during dimorphism in this organism. The results obtained showed that the cell integrity MAPK module architecture and its upstream activators, PKC orthologs Pck1 and Pck2, are evolutionarily conserved in *S. pombe* and *S. japonicus*. *S. japonicus* CIP pathway shows functional conservation during the cellular response to osmotic stress and cell wall damage. However, other features such as the control of cell separation or the response to glucose availability are regulated differently in this fission yeast. Moreover, Pck1 and Pck2 modulate Pmk1 MAPK activity in an opposite fashion during vegetative growth and, as it does in *S. pombe*, MAPK activation in response to cell wall damage is funneled to Pmk1 exclusively through Pck2. We next analyzed hyphal development in different mutants of the CIP pathway, which led us to the finding that Pmk1 plays a major positive role to control hyphal differentiation during all the stages of the process, whereas Pck2 exerts its positive modulation only

during the initial differentiation step. On the contrary, Pck1 negatively modulates this process by a mechanism that depends on the reduction of Pmk1 activity during the late stages of myceliation exclusively. We finally performed chimeric MAPK-swapping experiments, which showed that *S. japonicus* MAPK is fully functional in *S. pombe*, whereas *S. pombe* Pmk1 has a limited ability to execute CIP functions and to induce the dimorphic switch in *S. japonicus*. These specific features could be related to the unusual secondary structure within the N-lobe domain that presents the MAPK Pmk1 in this species, which might have evolved differentially to cope with the specific requirements of the environment.

Quorum sensing (QS) is a mechanism of microbial communication that depends on cell density, and is present in many bacteria and in some pathogenic and non-pathogenic fungi including yeasts. This phenomenon is mediated by the continuous release into the growth medium of quorum sensing molecules (QSMs), whose concentration increases proportionally to the population density. In this Thesis we have characterized for the first time a QS mechanism mediated by the aromatic alcohols phenylethanol and tryptophol that negatively modulates hyphal differentiation in *S. japonicus* when the population density increases. At the same time, we have discovered that this mechanism is reinforced by the stress-activated MAPK pathway, which is functionally conserved in this fission yeast. Our results showed that the SAPK pathway plays a critical role in the regulation of cell cycle progression, the sexual differentiation, the chronological lifespan, and the general cellular adaptive response to environmental insults in *S. japonicus*, probably in a transcriptional fashion dependent on Atf1 transcription factor. In addition, as mentioned above, the SAPK pathway constitutively represses the dimorphic switch both at transcriptional and post-translational levels in this organism. By performing RNAseq analysis we found that the expression of *nrg1⁺*, a putative ortholog of the of the Nrg1 transcription factor that represses yeast to hypha transition in *C. albicans*, is downregulated both by the QS mechanism and the SAPK pathway, and it may act as an inducer of hyphal growth rather than as a repressor.

Many researchers works have demonstrated that MAPKs signaling pathways participate in the dynamic remodeling of the actin cytoskeleton in eukaryotic organisms. In this Thesis we have employed a multidisciplinary approach combining genetic, biochemical, and molecular biology techniques to study the role of the stress-activated MAPK pathway during cytokinesis in fission yeast, which has been extensively used as a model organism to investigate this process. The results obtained showed that, as it had been previously reported, the MAPK Sty1 becomes activated in response to cytoskeletal damage induced with the actin polymerization inhibitor Latrunculin A (LatA). However, we found that Sty1 becomes activated even at very low concentrations of the drug, that specifically depolymerize actin cables and the contractile actomyosin ring (CAR) in wild-type cells. On the contrary, deletion mutants lacking Sty1 or upstream element of the SAPK pathway were more resistant

to CAR disassembly induced with LatA than the wild-type. These results indicate that the SAPK pathway negatively regulates CAR assembly during LatA treatment. We then discovered that SAPK negative control of CAR integrity in response to stress is mainly exerted through For3, the *S. pombe* formin that nucleates actin cables, by a mechanism that downregulates For3 protein levels probably by enhancing For3 *in vivo* ubiquitination and degradation in response to stress, which results in lower CAR stability. In contrast with the results obtained in *S. pombe*, our data suggest that the activation of the SAPK pathway positively regulates CAR assembly in *S. japonicus* during cytoskeletal damage induced with LatA. Altogether, these results illustrate how a strongly conserved signaling cascade may adopt different strategies to respond to the distinctive cell cycle and division features in evolutionarily related species.

ÍNDICE

1	Morfogénesis y polaridad celular	1
	1.1. La levadura de fisión como modelo para el estudio de la morfogénesis	1
	1.1.1. Características generales de <i>S. pombe</i>	3
	1.1.1.1. Ciclo de vida de <i>S. pombe</i>	3
	1.1.1.2. Ciclo celular y morfogenético de <i>S. pombe</i>	5
	1.1.2. Características generales de <i>S. japonicus</i>	6
	1.1.2.1. Ciclo de vida y morfogenético de <i>S. japonicus</i>	7
	1.2. El dimorfismo	9
	1.2.1. Regulación del crecimiento filamentoso	9
	1.2.2. El crecimiento dimórfico en hongos y su relación con la patogénesis	11
	1.2.3. Dimorfismo en <i>S. cerevisiae</i>	13
	1.2.4. Dimorfismo en <i>S. pombe</i>	13
	1.2.5. Dimorfismo en <i>S. japonicus</i>	14
	1.3. La percepción del quórum	17
	1.3.1. La percepción del quórum en procariontas	18
	1.3.2. La percepción del quórum como mecanismo de comunicación fúngica	19
	1.3.2.1. Moléculas de sensibilidad al quórum en hongos	19
	1.3.2.1.1. Terpenos: farnesol	21
	1.3.2.1.1.1. Efecto del farnesol sobre la transición dimórfica levadura-hifa	22
	1.3.2.1.1.2. Efecto del farnesol sobre la formación y desarrollo de biopelículas	23
	1.3.2.1.1.3. Efecto del farnesol sobre la apoptosis y estrés oxidativo	25
	1.3.2.1.2. Alcoholes: tirosol, triptofol y 2-feniletanol	25
	1.3.2.1.2.1. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre la transición dimórfica levadura-hifa	27
	1.3.2.1.2.2. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre la formación y desarrollo de biopelículas	27
	1.3.2.1.2.3. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre el estrés oxidativo	28
	1.4. El citoesqueleto	28
	1.4.1. El citoesqueleto de tubulina	29
	1.4.1.1. El citoesqueleto de tubulina en <i>S. pombe</i>	30
	1.4.2. El citoesqueleto de actina	32
	1.4.2.1. Conservación evolutiva del citoesqueleto de actina	33

1.4.3. El citoesqueleto de actina en <i>S. pombe</i>	34
1.4.3.1 Parches de actina	34
1.4.3.2. Anillo de actomiosina	36
1.4.3.3. Cables de actina	36
1.4.3.3.1. Las forminas como nucleadores de los cables de actina	36
1.4.3.3.2. Mecanismos de regulación de las forminas	38
1.4.3.3.3. La formina For3	39

1.5. La citocinesis en <i>Schizosaccharomyces</i>	41
1.5.1. Determinación del sitio de división celular y formación de nodos	43
1.5.2. Maduración de los precursores del CAR	45
1.5.2.1. Reclutamiento de la formina Cdc12 y nucleación de F-actina	47
1.5.3. Formación del anillo contráctil de actomiosina	49
1.5.3.1. Modelo SCPR (Búsqueda, Captura, Empuje y Liberación)	49
1.5.3.2. Modelo del cable líder	50
1.5.3.2.1. La ruta SIN (<i>Septation Initiation Network</i>)	52
1.5.3.3. Incorporación de cables no ecuatoriales	52
1.5.4. Maduración del anillo contráctil de actomiosina	52
1.5.5. Constricción del anillo, síntesis del septo y separación celular	52
1.5.5.1. Mecanismo de constricción del anillo de actomiosina	53
1.5.5.2. Síntesis del septo de división	53
1.5.5.3. Separación celular	55

2

Percepción y señalización frente a estímulos ambientales	56
2.1. Las rutas de MAPKs	56
2.1.1. Organización de las rutas de MAPKs	56
2.1.1.1. Sensores	56
2.1.1.2. Módulo de MAPKs	57
2.1.1.3. Efectores de MAPKs	57
2.1.1.4. Reguladores de MAPKs	58
2.1.2. Conservación evolutiva	59
2.1.3. La ruta de MAPKs de respuesta a estrés (SAPK) en <i>S. pombe</i>	61
2.1.3.1. Sensores	61
2.1.3.2. Regulador de respuesta Mcs4	61
2.1.3.3. Módulo de MAPKs	62
2.1.3.3.1. MAPKKKs Wak1 y Win1	62
2.1.3.3.2. MAPKK Wis1	62
2.1.3.3.3. MAPK Sty1	63
2.1.3.4. Efectores de la ruta SAPK	63

2.1.3.5. Reguladores negativos de la ruta SAPK	65
2.1.4. La ruta de MAPKs de integridad celular (CIP) en <i>S. pombe</i>	65
2.1.4.1. Sensores	66
2.1.4.2. Reguladores aguas arriba del módulo de MAPKs	66
2.1.4.2.1. Las GTPasas Rho1 y Rho2 y los ortólogos de PKC Pck1 y Pck2	66
2.1.4.3. Módulo de MAPKs	67
2.1.4.3.1. MAPKKK Mkh1	67
2.1.4.3.2. MAPKK Pek1	68
2.1.4.3.3. MAPK Pmk1	68
2.1.4.4. Efectores de la ruta CIP	70
2.1.4.5. Reguladores negativos de la ruta CIP	70
2.1.5. Interacción funcional entre las rutas de MAPKs de respuesta a estrés y de integridad celular	70
2.1.6. Control ambiental de la morfogénesis	71

BIBLIOGRAFÍA	76
OBJETIVOS	114
PUBLICACIONES	116
CONCLUSIONS	272
1. Specific conclusions	272
2. General conclusions	274

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

1 INTRODUCCIÓN

Tabla 1. QSMs descritas en <i>C. albicans</i> y <i>S. cerevisiae</i> y sus principales funciones	21
Figura 1. Árbol filogenético del género <i>Schizosaccharomyces</i>	2
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	4
Figura 3. Ciclo morfo genético y ciclo celular de <i>S. pombe</i>	6
Figura 4. Proceso de mitosis en <i>S. pombe</i> y <i>S. japonicus</i>	8
Figura 5. Patrón de crecimiento de una hifa	10
Figura 6. Etapas de la transición dimórfica de <i>S. japonicus</i>	15
Figura 7. Modelo básico del fenómeno de quórum sensing	17
Figura 8. Los microtúbulos sirven como vías para el transporte de los marcadores de polaridad hacia el polo celular	31
Figura 9. Organización del citoesqueleto de actina en <i>S. pombe</i>	34
Figura 10. Proceso de nucleación y elongación del filamento de actina por la formina	37
Figura 11. Mecanismo de regulación de las forminas	39
Figura 12. Modelo de la activación y localización de For3	41
Figura 13. La citocinesis en <i>S. pombe</i>	42
Figura 14. Dinámica de ensamblaje de los nodos de tipo 1 y 2 y posicionamiento del plano de división en <i>S. pombe</i>	44
Figura 15. Dinámica de maduración de los nodos precursores del CAR y reclutamiento de Cdc12 en <i>S. pombe</i>	47
Figura 16. Modelos de ensamblaje del anillo de actomiosina en <i>S. pombe</i>	51
Figura 17. Componentes del anillo en su estadio maduro y composición del septo de división en <i>S. pombe</i>	54
Figura 18. El módulo de MAPKs y la transmisión de señales	57
Figura 19. Conservación evolutiva de las rutas de MAPKs	60
Figura 20. La ruta de MAPKs de respuesta a estrés (SAPK) en <i>S. pombe</i>	64
Figura 21. La ruta de MAPKs de integridad celular (CIP) en <i>S. pombe</i>	69

1. Specific Functional Features of the Cell Integrity MAP Kinase Pathway in the Dimorphic Fission Yeast *Schizosaccharomyces japonicus*

Figure 1. Functional roles, localization, and activation pattern of the CIP MAPK Pmk1 in <i>S. japonicus</i>	122
Figure 2. Antagonistic control of Pmk1 activity by PKC orthologs Pck1 and Pck2 modulates <i>S. japonicus</i> hyphal differentiation	125
Figure 3. <i>S. japonicus</i> Pmk1 is fully functional in <i>S. pombe</i>	128
Figure 4. <i>S. pombe</i> Pmk1 shows little ability to execute CIP functions and to promote mycelial development in <i>S. japonicus</i>	129
Figure S1. Septation phenotypes of <i>S. japonicus pmk1Δ</i> cells	135
Figure S2. Conserved structural features of Pmk1 MAPKs in <i>S. pombe</i> and <i>S. japonicus</i>	136
Figure S3. Conserved sequences surrounding the N-lobe subdomains IV and V in several fungal CIP MAPKs	137
Figure S4. Conserved structural features of Pck1 orthologs in <i>S. pombe</i> and <i>S. japonicus</i>	138
Figure S5. Conserved structural features of Pck2 orthologs in <i>S. pombe</i> and <i>S. japonicus</i>	139
Table S1. <i>S. japonicus</i> and <i>S. pombe</i> strains used in this work	140
Table S2. Oligonucleotides used in this work	141

2. Quorum sensing and stress-activated MAPK signaling repress yeast to hypha transition in the fission yeast *Schizosaccharomyces japonicus*

Figure 1. Quorum sensing negatively regulates yeast to hypha transition in <i>S. japonicus</i>	146
Figure 2. The stress-regulatory functions of the SAPK pathway are conserved in <i>S. japonicus</i>	149
Figure 3. The SAPK pathway negatively regulates hyphal growth in <i>S. japonicus</i>	151
Figure 4. <i>S. japonicus</i> QS is partially suppressed in the absence of SAPK function	153
Figure 5. Nrg1 activates hyphal growth in <i>S. japonicus</i> and is repressed by QS and the SAPK pathway	155
Figure S1. Detection of phenylethanol and tryptophol in <i>S. japonicus</i> growth medium	169
Figure S2. Growth curves of <i>S. japonicus</i> wild type strain in YES medium (6% glucose) supplemented with the indicated amounts of phenylethanol, tryptophol and tyrosol	170
Figure S3. Conservation of Sty1 and Atf1 in <i>S. japonicus</i> and <i>S. pombe</i>	171

Figure S4. Sty1 regulates chronological lifespan in <i>S. japonicus</i>	172
Figure S5. Validation of mRNA levels of selected up- and down-regulated genes identified in RNAseq experiments	173
Figure S6. Frequency of GO terms for common up-regulated (A) and down-regulated (B) genes in <i>sty1Δ</i> and <i>atf1Δ</i> mutants	174
Figure S7. Conservation of Nrg1 in <i>S. japonicus</i> and <i>C. albicans</i>	175
Figure S8. Exogenously added farnesol is a QSM in <i>S. japonicus</i>	176
Table S1. List of up-regulated genes in exponentially growing <i>sty1Δ</i> cells	177
Table S2. List of down-regulated genes in exponentially growing <i>sty1Δ</i> cells	179
Table S3. List of up-regulated genes in exponentially growing <i>atf1Δ</i> cells	183
Table S4. List of down-regulated genes in exponentially growing <i>atf1Δ</i> cells	188
Table S5. List of down-regulated genes in exponentially growing <i>atf1Δ</i> cells	192
Table S6. List of down-regulated genes in exponentially growing <i>atf1Δ</i> cells	193
Table S7. Common up-regulated genes in <i>sty1Δ</i> cells and down-regulated in <i>atf1Δ</i> cells	195
Table S8. Common down-regulated genes in <i>sty1Δ</i> cells and up-regulated in <i>atf1Δ</i> cells	196
Table S9. Yeast strains used in this study	197
Table S10. Oligonucleotides used in this work	198

3. Stress-activated MAPK signaling controls fission yeast actomyosin ring integrity by modulating formin For3 levels

Figure 1. The SAPK pathway becomes activated and negatively controls <i>S. pombe</i> growth in the presence of low Latrunculin A concentrations	204
Figure 2. The SAPK pathway negatively regulates CAR assembly in response to cytoskeletal perturbations induced with LatA	206
Figure 3. SAPK-mediated negative control of CAR assembly in response to actin cytoskeleton damage relies on formin For3	209
Figure 4. A constitutively open version of For3 favors growth and CAR integrity in the presence of LatA	211
Figure 5. Sty1 MAPK prompts a decrease in total protein levels of For3 during actin cytoskeleton damage induced with LatA	212
Figure 6. Decreased For3 levels in profilin and tropomyosin conditional mutants are relieved in absence of SAPK function	214
Figure 7. For3 is as a dose-dependent regulator of CAR assembly and integrity in <i>S. pombe</i>	216
Figure 8. The SAPK pathway positively regulates CAR assembly in <i>S. japonicus</i> during actin stress induced with LatA	218

Figure 1 S1. Growth of SAPK null mutants in the presence of LatA	233
Figure 1 S2. Sty1 activation with LatA in wild type cells vs a LatA-insensitive mutant	234
Figure 1 S3. Growth of Sty1 phosphorylation mutants in the presence of LatA	235
Figure 1 S4. Effect of LatA on growth of a plasma membrane-bound Sty1 mutant	236
Figure 1 S5. Dispersal of active Cdc42 from the cell poles in the presence or absence of LatA	237
Figure 1 S6. Sty1 deletion alleviates LatA-sensitivity of mutants lacking Cdc42 GEF's	238
Figure 2 S1. <i>act1</i> ⁺ mRNA levels in SAPK mutants	241
Figure 2 S2. Act1 protein levels in SAPK mutants	242
Figure 2 S3. LatA-induced depolymerization of F-actin patches in wild-type versus <i>sty1Δ</i> cells	243
Figure 2 S4. <i>S. pombe</i> wild-type and <i>sty1Δ</i> strains expressing the F-actin marker LifeAct-GFP	244
Figure 2 S5. CAR dynamics during unperturbed growth in SAPK and For3 mutants	245
Figure 3 S1. Total levels and mobility of formin Cdc12 in response to a range of concentrations of LatA	247
Figure 3 S2. Total levels and mobility of formin Cdc12 in SAPK mutants treated with LatA	248
Figure 3 S3. Lack of SAPK activity alleviates LatA-sensitivity of Cdc12 phospho-mutants	249
Figure 3 S4. Lack of SAPK activity alleviates the CAR assembly defects of Cdc12 phosphomutants induced with LatA	250
Figure 5 S1. For3-3GFP levels and phosphorylation status do not change during the cell cycle	254
Figure 5 S2. <i>for3</i> ⁺ mRNA levels in SAPK mutants	255
Figure 5 S3. Sty1 activity elicits a decrease in For3 levels in response to environmental stimuli	256
Figure 5 S4. For3 is ubiquitinated <i>in vivo</i>	257
Figure 5 S5. Half-life of For3 in wild type versus <i>sty1Δ</i> cells	258
Figure 5 S6. Sty1 does not phosphorylate For3 <i>in vitro</i>	259
Supplementary file 1. <i>S. pombe</i> and <i>S. japonicus</i> strains used in this study	265
Supplementary file 2. Oligonucleotides employed in this study	270

INTRODUCCIÓN

1. Morfogénesis y polaridad celular

El concepto de “morfogénesis” hace referencia a la adquisición y el mantenimiento de las distintas formas que pueden adoptar los organismos vivos. Se trata de un proceso complejo que requiere la puesta en marcha y coordinación de numerosas rutas de señalización, y que incluye, entre otros, cambios en el crecimiento polarizado, la división, y/o la motilidad celular.

Las células crecen y adquieren su forma como resultado del balance entre las fuerzas generadas sobre la membrana plasmática por los componentes intracelulares, y las fuerzas ejercidas procedentes de su entorno extracelular (Davì & Minc, 2015; Paluch & Heisenberg, 2009). En el caso de las células animales, la adquisición de la forma está determinada por las fuerzas corticales, la adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular (Lecuit et al., 2011). Por su parte, las bacterias, hongos y plantas poseen una pared celular rígida que rodea a la membrana plasmática, lo que genera una elevada presión osmótica interna, conocida como turgencia. Asimismo, la localización de factores de polaridad en regiones corticales determina el crecimiento local mediante la expansión y remodelación de la pared celular, de manera que el balance entre la propia mecánica de la pared y la presión de turgencia es lo que determina la forma celular (F. Chang & Huang, 2014; Davì & Minc, 2015).

1.1. La levadura de fisión como modelo para el estudio de la morfogénesis

El género *Schizosaccharomyces* engloba cuatro especies: *S. pombe*, *S. octosporus*, *S. cryophilus* y *S. japonicus*, siendo esta última la primera en separarse evolutivamente del resto de especies. Taxonómicamente pertenecen al grupo de los ascomicetos, al igual que *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, el análisis comparativo de los genomas de *S. cerevisiae* y *S. pombe* (dos de las especies más comúnmente empleadas como modelo en biología molecular) muestra que ambas levaduras se separaron evolutivamente hace 1000-1200 millones de años, mientras que la separación entre *S. pombe* y las plantas o metazoos se produjo hace 1600 millones de años (Heckman et al., 2001; Sipiczki, 2000) (**Figura 1**).

Las levaduras del género *Schizosaccharomyces* crecen principalmente en forma haploide, se dividen por fisión transversal, y se desarrollan unicelularmente formando colonias de células libres inmóviles, aunque tanto *S. pombe* como *S. japonicus* pueden presentar, respectivamente, un desarrollo pseudohifal o hifal cuando crecen en condiciones específicas (Aoki, Furuya, & Niki, 2017; Rhind et al., 2011).

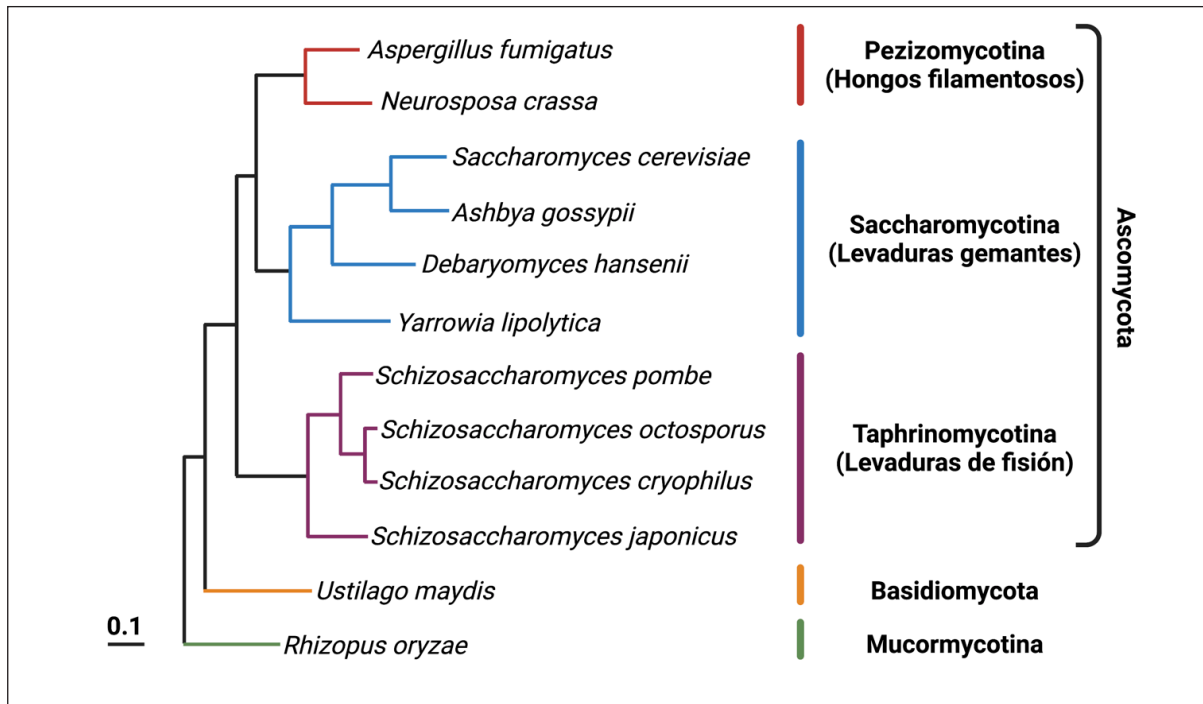


Figura 1. Árbol filogenético del género *Schizosaccharomyces*. Adaptado de Rhind *et al.*, (2011)

Pese a tratarse de eucariotas simples, las levaduras de fisión poseen un alto grado de similitud con las células de organismos superiores en cuanto a procesos biológicos tales como la organización del citoesqueleto, la citocinesis, o el procesamiento del ARN, entre otros. Además, su mecanismo de división por bipartición las hace idóneas para el estudio del ciclo celular, ya que resulta relativamente sencillo identificar la fase del ciclo en que se encuentran atendiendo a su morfología. Por otro lado, sus proteínas se encuentran fuertemente conservadas evolutivamente en relación con los metazoos, siendo organismos enormemente atractivos para el estudio de rutas de señalización y transducción de señales. Finalmente, al tratarse de hongos, poseen una pared celular rígida que los protege mecánicamente y mantiene la forma y la estabilidad osmótica. Esta propiedad permite su empleo como modelo para el estudio de los procesos implicados en la formación, biosíntesis y degradación de este componente celular, así como para la identificación y cribado de fármacos antifúngicos.

Dentro del género *Schizosaccharomyces*, tradicionalmente se ha empleado la especie *S. pombe* como organismo modelo en investigación. Ello es debido a que, como se ha comentado, se trata de un organismo eucariota unicelular no patógeno fácilmente manejable en condiciones de laboratorio, y que presenta ciclos vegetativo y sexual de corta duración (Yanagida, 2002). Sin embargo, durante los últimos años *S. japonicus* se ha posicionado también como un modelo alternativo de estudio verdaderamente interesante, ya que se encuentra evolutivamente más alejado de *S. pombe* y *S. cerevisiae* (Figura 1), y presenta características únicas que desarrollaremos a continuación, como son el crecimiento dimórfico, y un proceso de mitosis semi-abierta más parecido al de metazoos (Klar, 2013).

1.1.1. Características generales de *S. pombe*

La levadura *S. pombe* fue descrita por primera vez por P. Lindner en 1893, quien la aisló a partir de cerveza de mijo elaborada en determinadas regiones del este de África. Su nombre genérico hace referencia a su condición de levadura (-*Saccharomyces*), y a su mecanismo de división por fisión transversal (Schizo-), razón por la cual también se le denomina levadura de fisión. En cuanto a su epíteto específico, “pombe”, significa cerveza en Swahili, el idioma local del lugar donde se aisló. La mayoría de las cepas silvestres y mutantes empleadas hoy en día en el laboratorio proceden de una estirpe homotática h^{90} aislada a partir de mosto por A. Osterwalder en Francia en 1921. Durante los años 40, Urs Leopold obtuvo y caracterizó genéticamente cepas heterotáticas de los tipos sexuales opuestos h^+ y h^- . Entre 1950 y 1960 Murdoch Mitchinson, en Edimburgo, puso de manifiesto su potencial para los estudios de crecimiento celular, y posteriormente, a mediados de los años 70, Paul Nurse combinó las técnicas genéticas aprendidas en el grupo de Leopold con el estudio de la división celular desarrollado en el laboratorio de Mitchinson para estudiar en profundidad el ciclo celular en *S. pombe*. A partir de ese momento se produjo un incremento exponencial en el empleo de esta levadura de fisión como organismo modelo en investigación (Hoffman et al., 2015).

El genoma de *S. pombe* está completamente secuenciado (3 cromosomas, ~14 Mb) (Wood et al., 2002), y debido a que su ciclo biológico es rápido y principalmente haploide se trata de un modelo óptimo para estudios genéticos y de biología molecular.

1.1.1.1 Ciclo de vida de *S. pombe*

Durante el crecimiento vegetativo en medio rico *S. pombe* presenta un ciclo de vida haploide y se divide asexualmente por mitosis en un ciclo de aproximadamente 2.5 horas (**Figura 2**). En estas condiciones las células tienen morfología esencialmente cilíndrica, con una longitud de 12-15 μm y un diámetro de 3-4 μm . Sin embargo, cuando las condiciones externas son desfavorables y existe limitación de nutrientes (especialmente en ausencia de nitrógeno), las células pueden entrar en un estado de latencia (fase estacionaria), o bien iniciar el ciclo sexual entre células de tipos sexuales opuestos h^+ y h^- . Además, existen cepas homotáticas h^{90} capaces de conjugarse entre sí, ya que en condiciones adversas algunas células h^+ pueden cambiar el tipo sexual.

Las células de sexo opuesto se reconocen mediante la liberación de feromonas y la expresión de receptores específicos para su detección. Una vez que las feromonas se unen a sus receptores se desencadena el proceso de conjugación, que implica la formación de una proyección en el extremo de cada célula hacia la fuente emisora de feromonas del sexo opuesto (“*shmooing*”). Las dos células establecen contacto y se fusionan dando lugar a un cigoto diploide, que rápidamente inicia un proceso de meiosis y esporulación, generando un asca con cuatro esporas haploi-

des en su interior. Finalmente las paredes del asca se autolisan, liberando los cuatro productos meióticos que pueden sobrevivir durante largos periodos de tiempo en condiciones ambientales adversas (Kelly *et al.*, 1988; Leupold, 1949). Las esporas permanecen latentes hasta que las condiciones del medio son favorables, momento en el que germinan y entran de nuevo en el ciclo mitótico (Yamamoto *et al.*, 1997) (**Figura 2**).

Alternativamente, el cigoto puede mantenerse en un ciclo vegetativo diploide si las condiciones nutricionales mejoran desde el momento de su formación. Sin embargo, los cigotos diploides suelen ser muy inestables, e inician la meiosis rápidamente en condiciones de limitación de nutrientes, originando ascas azigóticas constituidas por cuatro esporas haploides (**Figura 2**).

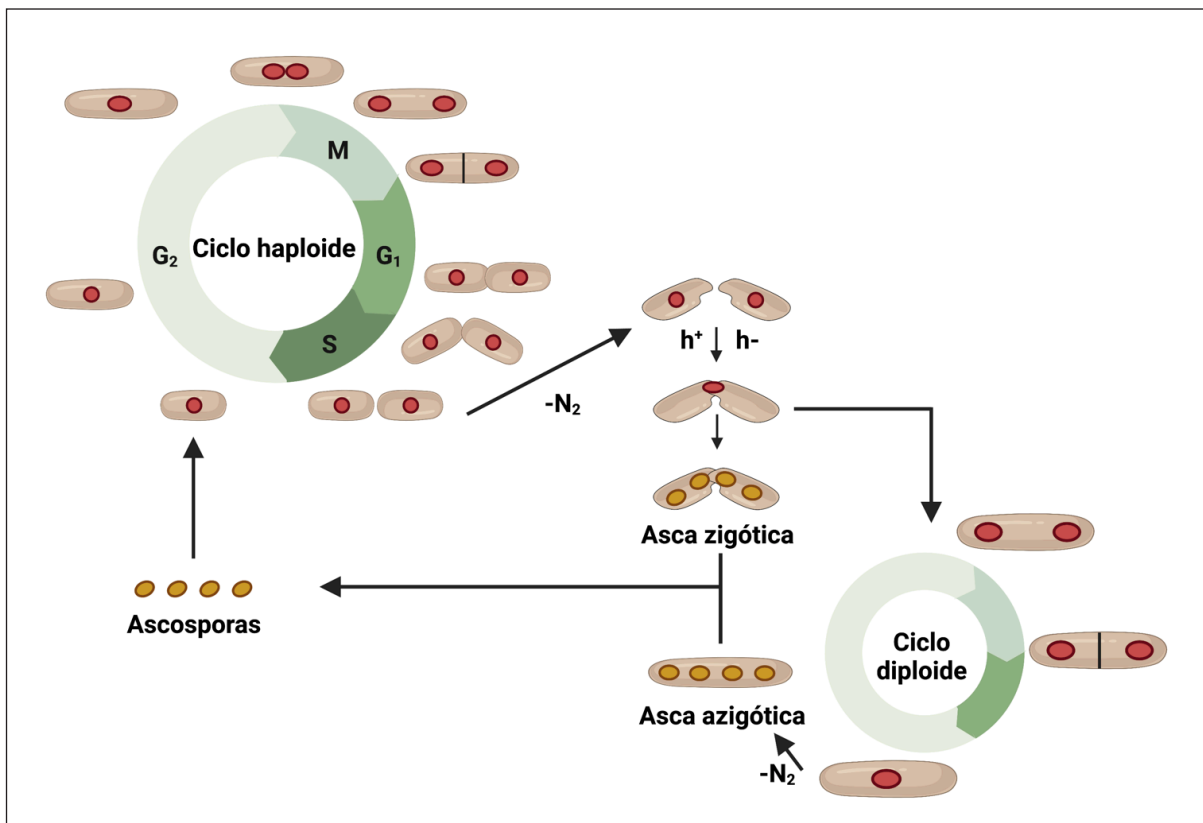


Figura 2. Ciclo de vida de *Schizosaccharomyces pombe*. Ciclo de vida haploide haploide (izquierda) y ciclo de vida diploide (derecha). Adaptado de MacNeill & Nurse, 1997.

1.1.1.2. Ciclo celular y morfogenético de *S. pombe*

La generación de polaridad durante el ciclo celular es esencial para el correcto funcionamiento de las células. *S. pombe* ha sido ampliamente utilizada en estudios de polaridad dependiente del ciclo celular debido a su morfología cilíndrica regular (Martin & Chang, 2005). Al tratarse de un organismo eucariota, el ciclo mitótico de *S. pombe* está dividido en cuatro fases: G1, S, G2 y M (J. M. Mitchison, 1971) (**Figura 3**). La fase G1 o “Gap 1” tiene lugar entre la mitosis y la replicación de los cromosomas, y en ella se produce la síntesis de ARN y de proteínas necesarias para la duplicación del ADN. Durante esta fase las células crecen por el polo antiguo, que es el polo heredado de la célula madre tras la división. En *S. pombe* la duración de la fase G1 es relativamente corta, ya que las células generadas tras la división tienen un tamaño suficiente para iniciar la duplicación del ADN (MacNeill & Fantes, 1997). El crecimiento monopolar continúa durante toda la fase S, en la que se produce la replicación del material genético, y se mantiene durante parte de la fase G2. La fase G2 es un periodo muy largo que llega a ocupar el 70% del ciclo celular, en el que se produce el incremento de la masa y/o volumen celular. Durante esta fase las células, tras alcanzar un tamaño determinado, activa el crecimiento en el otro polo resultante de la división celular y pasan a crecer bipolarmente, mediante un proceso conocido como NETO (“New End Take Off”) (Martin & Chang, 2005) (**Figura 3**). Cuando la célula alcanza un tamaño determinado, el crecimiento en los polos cesa y comienza la mitosis (fase M), produciéndose la condensación de los cromosomas, la formación del huso mitótico y la segregación de las cromátidas hermanas hacia ambos polos celulares (Hagan & Hyams, 1988). Al inicio de la fase M tiene lugar la citocinesis, proceso en el que se ensambla el anillo contráctil de actomiosina (CAR) en el centro de la célula. El anillo se cierra progresivamente al final de la fase M y principio de la nueva fase G1, a la vez que se forma el septo de división y finaliza con la división celular. Finalmente se produce la separación celular por medio de la degradación de la pared que limita el septo, liberándose las dos células hijas al comienzo de la fase S. Antes de que se produzca la separación celular, una vez iniciada la fase G1, la célula comienza a crecer por el polo viejo en un proceso denominado OETO (“Old End Take Off”) (MacNeill & Fantes, 1997) (**Figura 3**). La transición entre las distintas etapas del ciclo celular es un proceso exquisitamente regulado, y en el que muchas de las proteínas participantes se sintetizan y/o activan de forma periódica.

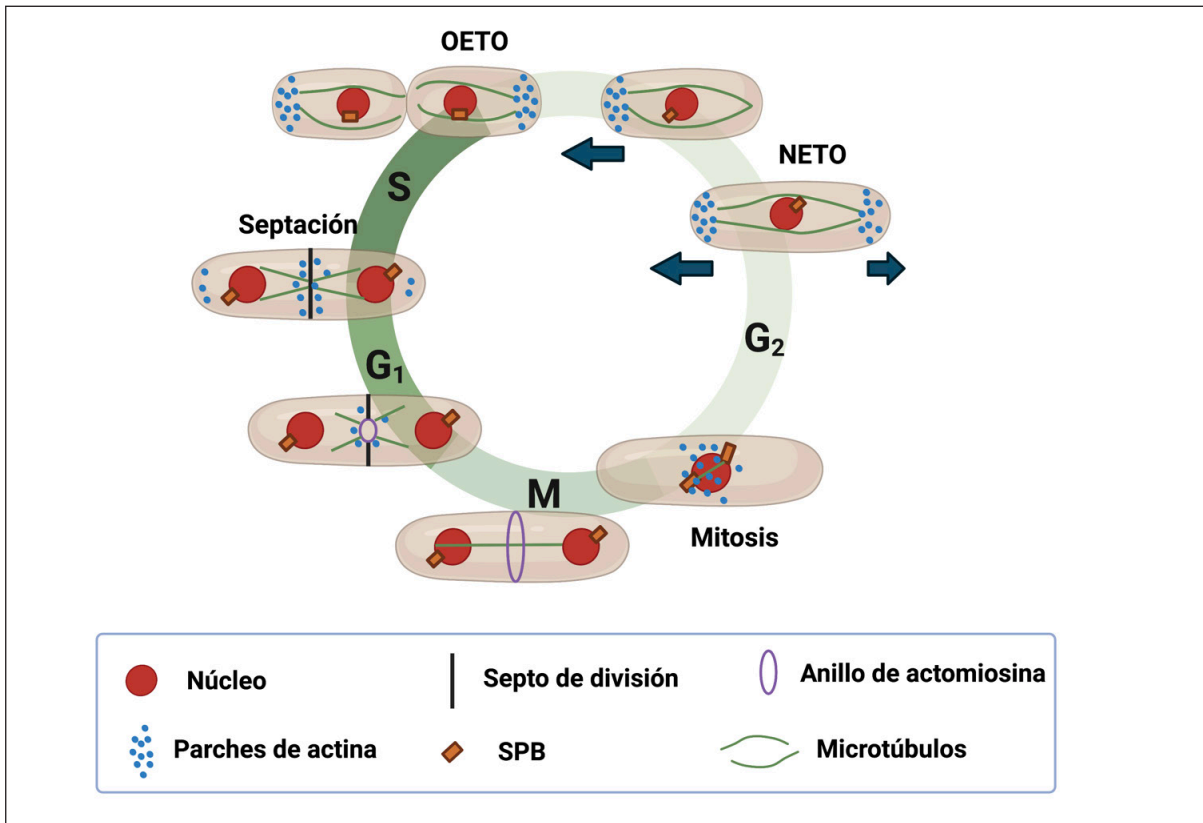


Figura 3. Ciclo morfológico y ciclo celular de *S. pombe*. La fase G₁ del ciclo celular es la más corta, y en ella se forma el septo de división. Durante la fase S las células replican el material genético y al final se produce la separación de las dos células hijas, momento en el que los parches de actina pasan a localizarse en el polo antiguo (OETO). La fase G₂ es la más larga, durante su transcurso los parches pasan también a localizarse en el polo procedente de la división anterior (NETO), y al final de esta fase se movilizan hacia la zona ecuatorial donde se producirá la división celular. Finalmente, durante la fase M se forma el anillo contráctil de actomiosina (CAR) y se produce la separación de los núcleos. Adaptado de Cruz Quintana et al., 2014.

1.1.2. Características generales de *S. japonicus*

S. japonicus fue aislada y descrita por primera vez por Yukawa y Maki en 1928 de un producto fermentado a partir de fresas cosechadas en la universidad de Kyushu, en Japón (Yukawa & Maki, 1931). En 1945 dos investigadores americanos aislaron una levadura de fisión a partir de un zumo de uva casero que había fermentado, y la describieron como una nueva especie: *Schizosaccharomyces versatilis* (Wickerham & Duprat, 1945). Posteriormente se descubrió que *S. versatilis* era en realidad una variedad de la especie *S. japonicus* descrita originalmente por Yukawa y Maki. Los primeros estudios realizados con *S. japonicus* ya mostraban que, aunque compartía las características típicas de las levaduras de fisión, poseía sin embargo rasgos únicos que la hacían realmente interesante, como la capacidad de filamentar (pese a ser un organismo no patógeno), o la particular dinámica de los cromosomas en el núcleo durante la división vegetativa.

A pesar de que esta levadura posee características diferentes al resto de especies del género *Schizosaccharomyces*, solamente unos pocos grupos de investigación del este de Europa y de Japón la emplearon para sus estudios durante los años 80 y 90, debido principalmente a la falta de herramientas genéticas apropiadas para su manipulación. En el año 2011 se completó la secuenciación de su genoma, revelando que *S. japonicus* fue la primera especie en separarse evolutivamente del resto de especies del género incluida *S. pombe*, concretamente hace 221 millones de años (Rhind *et al.*, 2011). Durante la última década se han desarrollado técnicas de biología molecular y herramientas genéticas adecuadas para el estudio de *S. japonicus*, lo que ha facilitado que adquiriera una nueva relevancia no solo para su empleo como organismo modelo en análisis evolutivos, sino también en estudios genéticos, fisiológicos y de ciclo celular.

Una de las principales características distintivas a nivel evolutivo de *S. japonicus* es que no respira, de manera que crece exclusivamente mediante fermentación en condiciones anaeróbicas. Por el contrario, *S. pombe* presenta un metabolismo respiro-fermentativo, y puede fluctuar hacia uno u otro en función de la disponibilidad de oxígeno del medio. De hecho, *S. japonicus* produce niveles muy bajos de coenzima Q₁₀ mitocondrial (CoQ₁₀), cuya falta se relaciona con pérdida de función de este orgánulo y un déficit en la respiración (Bulder, 1971; Kaino *et al.*, 2018).

1.1.2.1 Ciclo de vida y morfogenético de *S. japonicus*

Cuando las condiciones del medio son favorables, *S. japonicus* crece vegetativamente de forma principalmente haploide, con una duración del ciclo de aproximadamente 1.8 horas frente a las 2.5 horas de *S. pombe*. Las células de esta levadura también poseen morfología cilíndrica, aunque tienen un tamaño superior al del resto de especies del género, con 15-18 µm de longitud y 6-7 µm de diámetro. En estas condiciones *S. japonicus* se divide asexualmente por fisión.

Las células eucariotas superiores (animales y plantas) presentan una mitosis abierta. Este mecanismo implica que la envuelta nuclear se desintegra por completo al inicio de la mitosis, para posteriormente volver a formarse en torno al material genético tras la segregación cromosómica. Por el contrario, muchos hongos y levaduras, como *S. pombe*, ejecutan una mitosis cerrada en la que la segregación de los cromosomas tiene lugar en el interior de la envuelta nuclear, permaneciendo intacta durante todo el ciclo celular (Sazer, 2005) (**Figura 4**). Sin embargo, *S. japonicus* lleva a cabo un proceso de mitosis semi-abierta, en el que la división nuclear va acompañada de una rotura parcial de la envuelta nuclear cuando el núcleo se elonga al inicio de la anafase, y vuelve a formarse alrededor del material genético segregado una vez finalizada la mitosis (**Figura 4**). Esta rotura parcial facilita el flujo de moléculas entre el nucleoplasma y el citoplasma, mientras que el resto de la envuelta nuclear que permanece intacta restringiría el contacto entre los cromosomas mitóticos y el citoplasma (Aoki *et al.*, 2011; Yam *et al.*, 2011). La divergencia en la estrategia de mitosis de ambas especies se explicaría debido a la necesidad de mantener la escala. Así,

el núcleo mantiene un volumen constante, por lo que durante el modelo de mitosis cerrada las células necesitan expandir la envuelta nuclear para originar dos núcleos. Por el contrario, *S. japonicus* no expande la envuelta nuclear durante la mitosis, por lo que esta debe romperse para que se produzca la segregación cromosómica (Yam et al., 2011).

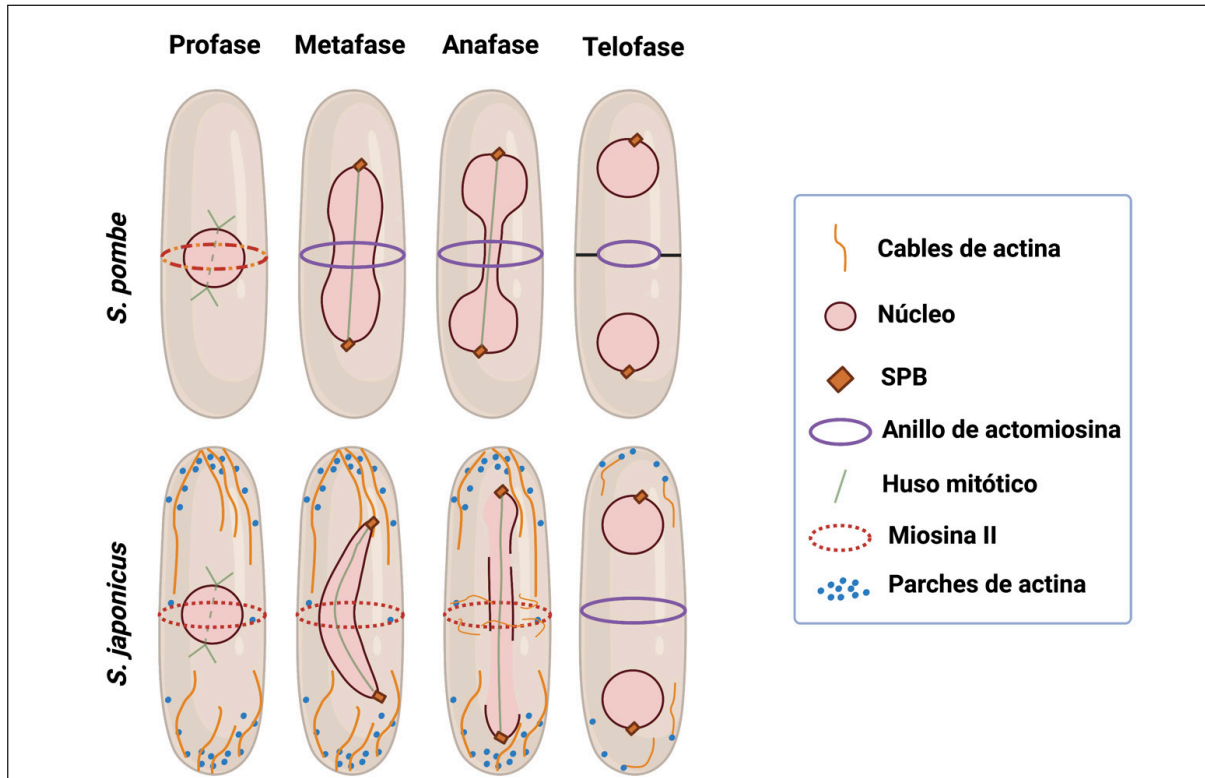


Figura 4. Proceso de mitosis en *S. pombe* y *S. japonicus*. *S. pombe* (arriba) presenta un modelo de mitosis cerrada en el que la envuelta nuclear no se rompe en ningún momento del proceso de segregación de los cromosomas. En cambio, *S. japonicus* (abajo) ejecuta una mitosis semi-abierta que implica la ruptura parcial de dicha envuelta al inicio de la anafase. Además, en *S. pombe* el CAR se forma prematuramente al inicio de la mitosis, mientras que en *S. japonicus* el ensamblaje de esta estructura se retrasa hasta que se ha producido la segregación cromosómica. Adaptado de Gu & Olfenkeno, 2015.

Cuando las condiciones nutricionales empeoran y existe limitación en la disponibilidad de nutrientes (fundamentalmente nitrógeno), *S. japonicus* inicia el ciclo sexual con una cinética más rápida que *S. pombe*. Así, dos células de sexo opuesto h^+ y h^- conjugan y sus núcleos se fusionan; como resultado de la meiosis se forma un asca con ocho ascosporas en su interior. Finalmente, la pared del asca se autolisa liberando las esporas, que pueden permanecer latentes o bien germinar si las condiciones externas son favorables.

En cuanto al ciclo morfogenético, en *S. pombe* el anillo de actomiosina se forma prematuramente al inicio de la fase M, y se mantiene hasta que comienza su constricción tras la anafase con el fin de evitar aneuploidías. Para ello, en este organismo se requiere una exquisita coordinación entre diferentes rutas de señalización que aseguran que la citocinesis únicamente se efectúa si la segregación cromosómica ha sido exitosa. Sin embargo, en la mayoría de células animales y en levaduras como *S. cerevisiae* y *S. japonicus*, el ensamblaje de la maquinaria de división se retrasa hasta que la segregación de los cromosomas se ha completado (Gu et al., 2015) (**Figura 4**). Además, las células de levadura de *S. japonicus* experimentan un cambio en su programa morfogenético y pasan a desarrollarse como hifas en respuesta a cambios ambientales.

1.2. El dimorfismo

La mayoría de los hongos crecen vegetativamente bien con morfología levaduriforme o filamentosa. Sin embargo, existe un relevante número de hongos dimórficos que presentan ambas formas de propagación. En estos organismos frecuentemente la transición entre una u otra morfología se desencadena por cambios en distintos factores ambientales, como son la temperatura, la disponibilidad de nutrientes, o la disponibilidad de oxígeno. Intuitivamente se podría pensar que las levaduras, dado su crecimiento relativamente más sencillo, habrían evolucionado hacia formas de crecimiento multicelular y más complejo como las hifas. Por el contrario, los estudios filogenéticos apuntan a que el crecimiento filamentoso es en realidad la forma morfológica de crecimiento ancestral, y que posteriormente se desarrollaron especies de hongos que habían perdido dicha capacidad, creciendo únicamente en forma levaduriforme. Las consecuencias biológicas de abandonar el desarrollo hifal en pos del crecimiento como levadura son significativas, ya que, por lo general, las levaduras poseen genomas más reducidos y un metabolismo secundario menos desarrollado, lo que facilita su crecimiento (Harris, 2011).

1.2.1. Regulación del crecimiento filamentoso

La unidad básica de crecimiento de los hongos filamentosos, ya sean dimórficos o no, es la hifa, una estructura de morfología cilíndrica que termina en un ápice ligeramente redondeado (**Figura 5**). En contraposición a la gemación, la fisión, o el crecimiento pseudohifal, que permiten la separación física de las células, las hifas consisten en largos filamentos tubulares de células con lados paralelos y carentes de constricciones en la unión de los septos (Arkowitz & Bassilana, 2011). Las hifas crecen mediante extensión apical, siendo este un tipo de crecimiento polarizado que no solo se presenta en los hongos filamentosos, si no también en los pelos radiculares y los tubos polínicos de células vegetales, e incluso en neuronas. La polaridad es esencial para el desarrollo morfogenético en todos los tipos celulares, y particularmente en el caso de los hongos filamentosos requiere la síntesis continuada de diversas

proteínas, lípidos, y componentes de la pared celular, que son transportados selectivamente hasta el ápice mediante vesículas de secreción para su posterior fusión con la membrana plasmática apical (Riquelme, 2013).

Por lo general las hifas se desarrollan a partir de la germinación de esporas, pero también pueden surgir a partir de estructuras reproductivas diferentes, de otras hifas, o como en el caso de los hongos dimórficos diferenciarse a partir de la forma de levadura. Existen dos eventos clave que caracterizan el desarrollo morfogenético de las hifas: la determinación inicial de un eje de polaridad (establecimiento de la polaridad) y la subsecuente estabilización de dicho eje (mantenimiento de la polaridad). El establecimiento del eje de polaridad implica la ruptura de la simetría celular, pasando del crecimiento isotrópico al crecimiento polarizado gracias a la reorganización asimétrica de la maquinaria morfogenética en torno al sitio de crecimiento (**Figura 5**). Por su parte, la estabilización del eje de polaridad es clave para la elongación de las hifas, y requiere el transporte de vesículas exocíticas hacia el sitio de crecimiento. Como resultado de ambos procesos se limita la expansión de la superficie celular y la deposición de pared hacia un sitio específico de la célula, que finalmente conduce a la formación de una nueva hifa (**Figura 5**). El citoesqueleto de actina es esencial para el correcto funcionamiento de ambos procesos, mientras que el citoesqueleto de microtúbulos juega un papel fundamental en el mantenimiento de la morfología hifal, así como en el control de la dirección y la velocidad de su desarrollo (Harris, 2006, 2011; Riquelme, 2013).

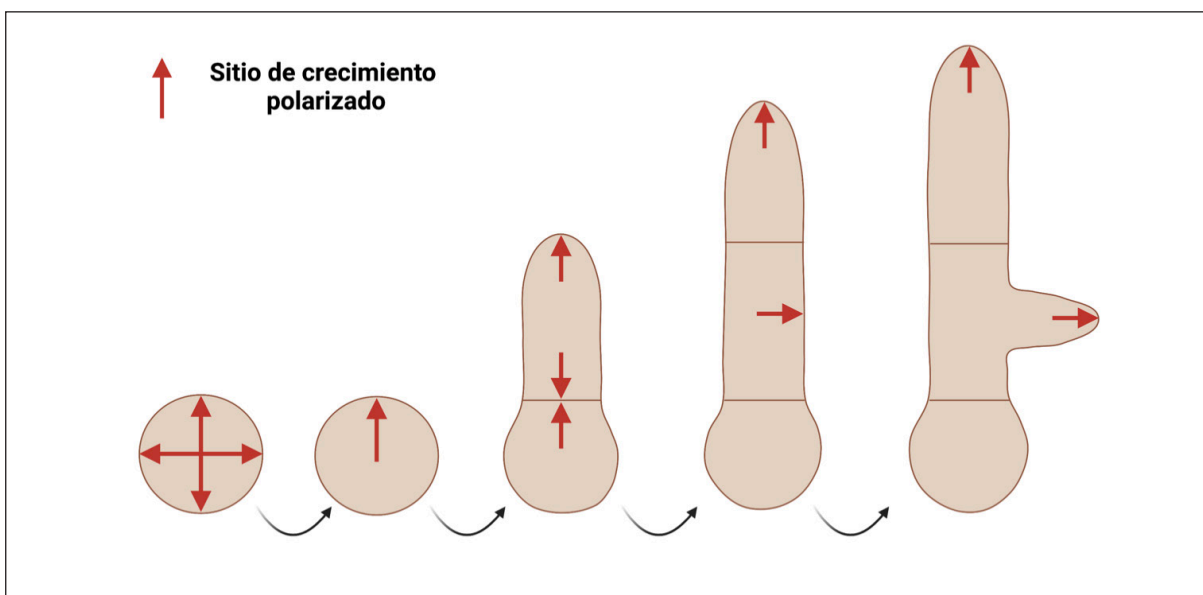


Figura 5. Patrón de crecimiento de una hifa. Inicialmente la espora crece isotrópicamente. A continuación, se determina el eje de polaridad y se forma una hifa que continúa creciendo polarizadamente por su extremo apical. Además, pueden establecerse nuevos ejes de polaridad que dan lugar a la formación de ramificaciones laterales. Adaptado de Steinberg et al., 2017.

El tráfico polarizado de vesículas permite la remodelación de la membrana y la pared celulares, y es necesario para el rápido crecimiento característico de las hifas. Dichas vesículas, que se fusionarán con la membrana plasmática del extremo apical, a menudo se acumulan en una organela esférica conocida como Spitzenkörper (SPK), compuesto principalmente por ribosomas, actina, microtúbulos, y material amorfo o granular de naturaleza no definida. La mayoría de los hongos filamentosos presentan un SPK, que tiene un papel clave en el crecimiento apical de las hifas, ya que controla su tasa de crecimiento y orientación. De hecho, a menudo su presencia se acepta como un indicador de la existencia de verdadero crecimiento filamentoso (Kinnaer *et al.*, 2019; Riquelme & Sánchez-León, 2014).

Adicionalmente, las hifas pueden diferenciarse y formar un micelio gracias a su capacidad para establecer simultáneamente múltiples ejes de polaridad (**Figura 5**). El establecimiento de estos nuevos ejes da lugar a la formación de ramificaciones, que pueden ser laterales si emergen de compartimentos subapicales, o apicales si se forman tras una escisión en el extremo de la hifa. De esta forma se genera una red interconectada de hifas a la que se le atribuyen dos funciones principales. En primer lugar, el incremento de la superficie de la colonia, lo que favorece una asimilación más eficiente de los nutrientes; en segundo lugar, estas ramificaciones favorecen los procesos de fusión hifal, que son fundamentales para el intercambio de nutrientes y la señalización entre distintas hifas de la misma colonia (Harris, 2008).

1.2.2. El crecimiento dimórfico en hongos y su relación con la patogénesis

En muchas especies de hongos el dimorfismo se asocia con patogénesis, ya que la alternancia entre crecimiento filamentoso y la forma de levadura es necesaria para que prospere la infección del hospedador. Por ejemplo, los ascomicetos *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum* o *Coccidioides immitis* forman parte del grupo de hongos dimórficos sistémicos que son patógenos primarios en humanos. Pueden presentarse en forma de moho no patógeno en los suelos, y convertirse en levaduras patógenas cuando sus esporas son inhaladas y germinan en los pulmones de humanos y otros mamíferos debido al cambio de temperatura (Klein & Tebbets, 2007). La conversión a la forma de levadura favorece la protección de estos microorganismos frente a los neutrófilos, monocitos y macrófagos del sistema inmune del hospedador. Se han identificado diversas rutas implicadas en el control de la transición dimórfica en estos organismos, entre las que destacan los sistemas de dos componentes, las rutas de señalización de Ras y del AMP cíclico (AMPc), y las rutas de transducción de señales mediadas por proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), que por lo general actúan aguas abajo de ambas rutas (Boyce & Andrianopoulos, 2015).

Ustilago maydis es un basidiomiceto patógeno de plantas que afecta al maíz causando una enfermedad conocida como el carbón de la espiga. Este hongo presenta una fase extracelular haploide unicelular y una fase filamentosa dicariótica parasitaria dentro de la planta. La transición dimórfica se produce únicamente tras la conjugación entre dos células haploides de tipos sexuales compatibles mediante un proceso regulado por la ruta de señalización mediada por feromonas que culmina con la expresión del factor de transcripción Prf1 (Nadal et al., 2008). Entre las rutas que controlan la morfogénesis y patogénesis en *U. maydis* se encuentran las de MAPKs y de señalización por AMPc-Proteína quinasa A (AMPc-PKA), que interactúan funcionalmente modulando el estado de fosforilación de Prf1 (Nadal et al., 2008).

Por su parte, *Candida albicans* es un hongo patógeno oportunista de humanos que puede crecer en el hospedador tanto en forma levaduriforme como filamentosa, habiéndose demostrado que la transición reversible hacia la forma filamentosa es crítica para su virulencia (Kumamoto & Vines, 2005). La transición levadura-hifa se desencadena en respuesta a multitud de estímulos ambientales como la presencia de suero, un pH igual o mayor que 7, la presencia de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) o la limitación en la disponibilidad de nitrógeno, y normalmente requiere una temperatura de 37°C. En *C. albicans* la expresión de genes que promueven el crecimiento filamentoso está regulada negativamente por el co-represor Tup1, que actúa en asociación con el represor Nrg1 (Braun et al., 2001; Murad et al., 2001). Nrg1 es un factor transcripcional con un dominio de dedo de zinc que reprime la transcripción de genes específicos de hifas mediante su unión a las secuencias NRE (*Nrg1 Response Element*) de los promotores de dichos genes. De hecho, los mutantes carentes de uno o ambos represores crecen de forma constitutiva como pseudohifas (Murad et al., 2001). Sin embargo, las señales morfogenéticas que inducen la filamentación provocan la reducción en los niveles de expresión de Nrg1 (Braun et al., 2001). En contraposición, la expresión de genes que favorecen el desarrollo hifal está modulada por varios factores de transcripción, regulados aguas arriba por las rutas del AMPc-PKA y de MAPKs de integridad celular mediada por Cek1, siendo estas a su vez activadas por la GTPasa Ras1 (Sudbery, 2011). Se ha descrito que Nrg1 también podría modular la filamentación de manera indirecta mediante la regulación negativa de la ruta de MAPKs mediada por Cek1 (Murad et al., 2001). Adicionalmente, la transición levadura-hifa en este organismo es regulada por la densidad celular del cultivo mediante un mecanismo de percepción del quórum, cuyas bases moleculares se explicarán detalladamente más adelante (**Apartado 1.3**). Mediante este mecanismo, las células de *C. albicans* pueden percibir la densidad de población que hay en el medio mediante la detección de moléculas señalizadoras secretadas al mismo, y que inhiben o promueven el desarrollo hifal modulando algunas de las rutas mencionadas anteriormente (Sudbery, 2011).

1.2.3. Dimorfismo en *S. cerevisiae*

Aunque *S. cerevisiae* se desarrolla fundamentalmente como levadura y se divide por gemación, se ha descrito que puede experimentar una transición dimórfica y formar pseudohifas capaces de invadir el medio sólido en respuesta a cambios nutricionales, concretamente durante la limitación de nitrógeno y en presencia de una abundante cantidad de fuente de carbono fermentable (Gimeno *et al.*, 1992). Las pseudohifas se definen como cadenas de células elongadas con longitud variable que crecen monopolarmente, presentan constricciones en torno a los septos, y carecen de la comunicación citoplásmica típica de las hifas (Chen *et al.*, 2020).

La formación de pseudohifas en *S. cerevisiae* requiere la coordinación de dos rutas de señalización diferentes. Por una parte se encuentra la ruta de MAPKs de respuesta a feromonas, que es activada por la proteína de unión a GTP Ras2, que a su vez activa a la GTPasa morfogenética Cdc42, y cuyo efector final es el factor de transcripción Ste12 (Mösch *et al.*, 1996). Otro factor de transcripción, Tec1, forma un heterodímero con Ste12 que regula tanto la expresión de Tec1 como de otros genes necesarios para la filamentación e invasión, como es el caso de la floculina Flo11. En función del estímulo ambiental, *S. cerevisiae* utiliza los componentes de esta ruta de transducción de señales y los acopla a dos respuestas diferentes: la conjugación en células haploides en respuesta a feromonas, o el crecimiento filamentoso en células diploides en respuesta a cambios nutricionales (Lengeler *et al.*, 2000). Por otra parte, el desarrollo pseudohifal en *S. cerevisiae* se encuentra también regulado por la ruta del AMPc-PKA, que detecta cambios nutricionales. En respuesta al estímulo, Ras2 puede interactuar con la adenilato ciclasa Cyr1, ocasionando un incremento de la concentración de AMPc intracelular que a su vez activa las subunidades catalíticas de las proteínas quinasas dependientes de AMPc (Tpk1, -2 y -3). Dichas quinasas actúan sobre diferentes dianas y estas finalmente regulan la expresión de genes como Flo11. La adición exógena de AMPc induce el desarrollo pseudohifal de *S. cerevisiae*, demostrando el papel clave de esta ruta de señalización durante la regulación del dimorfismo (Gancedo, 2001; Pan & Heitman, 1999). Como en *C. albicans*, *S. cerevisiae* también secreta moléculas de percepción del quórum al entorno extracelular en función de la densidad poblacional. Dichas moléculas promueven la transición dimórfica por medio de la inducción de la expresión de Flo11 a través de un mecanismo dependiente de la ruta AMPc-PKA (Chen & Fink, 2006).

1.2.4. Dimorfismo en *S. pombe*

Pese a ser un hongo no patógeno, *S. pombe* también puede diferenciarse hacia formas pseudohifales y mostrar un fenotipo invasivo en respuesta a determinadas condiciones ambientales. En este organismo la transición hacia el crecimiento filamentoso requiere altas densidades celulares, y se ha observado únicamente en cepas con fondos genéticos específicos cuando crecen en condiciones de limitación de nitrógeno y abundante fuente de carbono. La inducción del desarrollo pseudo-

hifal en respuesta a la limitación de nitrógeno es mediada en *S. pombe* por la ruta del AMPc-PKA, ya que los mutantes nulos en componentes esenciales de dicha ruta, como son el receptor Git3, la subunidad de la proteína G trimérica Git11, la adenilato ciclasa Cyr1, o la subunidad catalítica de la PKA Pka1, son incapaces de crecer formando pseudohifas (Amoah-Buahin et al., 2005). Curiosamente, ninguna de las tres rutas de MAPKs presentes en *S. pombe* son necesarias para la regulación de la transición dimórfica (Amoah-Buahin et al., 2005). Por el contrario, el correcto funcionamiento del citoesqueleto de actina es crítico para la ejecución de dicho proceso. Así, los mutantes de *S. pombe* carentes de For3, la formina encargada de ensamblar los cables de actina interfásicos, son incapaces de inducir la invasión del medio. Este mismo efecto ha sido descrito cuando cepas silvestres de *S. pombe* son tratadas con Latrunculina A (LatA), un inhibidor específico de la polimerización de actina (Dodgson et al., 2009, 2010).

1.2.5. Dimorfismo en *S. japonicus*

S. japonicus es la única especie verdaderamente dimórfica del género *Schizosaccharomyces*, ya que puede crecer tanto en forma de levadura como filamentosa, pudiendo desarrollarse en la superficie de medios sólidos formando un pseudomicelio, o penetrar en el agar para formar un verdadero micelio. La transición dimórfica se produce en respuesta a diversos estímulos y cambios ambientales y es un proceso reversible. Además, la ausencia de patogenicidad convierte a esta levadura en un modelo realmente interesante para su empleo en estudios sobre la regulación de polaridad y morfogénesis fúngica (Niki, 2017; Sipiczki, Takeo, & Grallert, 1998; Sipiczki, Takeo, Yamaguchi, et al., 1998).

Cuando las condiciones son favorables para la transición hacia la fase filamentosa, las células de levadura de *S. japonicus* progresan gradualmente hacia un crecimiento monopolar. Dicho cambio morfogenético viene asociado a un incremento en el tamaño de las vacuolas, que se acumulan en el extremo del polo que no crece, no produciéndose la separación celular tras el ciclo mitótico (Sipiczki, Takeo, & Grallert, 1998; Sipiczki, Takeo, Yamaguchi, et al., 1998). Durante la transición levadura-hifa en *S. japonicus* se pueden identificar tres etapas sucesivas. En una primera fase, las células desarrollan numerosas vacuolas que se distribuyen por todo el citoplasma, un estado morfológico que se conoce como *levadura vacuolada*. A continuación, las vacuolas se polarizan hacia uno de los extremos de la célula, definiendo la denominada *forma de transición*. Finalmente, las vacuolas se fusionan generando una o pocas vacuolas grandes durante la elongación, culminando en la obtención de la *forma hifal o hifa* (**Figura 6**). Las formas de levadura y levadura vacuolada se dividen simétricamente y muestran un patrón de crecimiento bipolar. Sin embargo, la transición dimórfica implica ruptura de la simetría de crecimiento, por lo que tanto las formas de transición como hifales crecen exclusivamente de manera monopolar. En las hifas, que suelen presentar una gran vacuola en el extremo posterior de no crecimiento y el resto del citoplasma en el extremo de crecimiento, la extensión celular se correlaciona con el crecimiento de la vacuola (Kinnaer et al., 2019; M Sipiczki, Takeo, & Grallert, 1998). A diferencia de otros hongos filamentosos, *S. japonicus* no

ensambla un SPK en el extremo de crecimiento de la hifa, y la localización de diversos factores de polaridad presenta el mismo patrón tanto en la forma levaduriforme como en la filamentosa. Ello sugiere que la transición dimórfica en este organismo se produce sin necesidad de reorganizar las maquinarias de polaridad y tráfico celular, y es independiente del citoesqueleto de microtúbulos (Kinnaer *et al.*, 2019). No obstante, el transporte de vesículas a través de los cables de actina es esencial para el crecimiento polarizado de *S. japonicus* durante el desarrollo de la forma filamentosa (Kinnaer *et al.*, 2019).

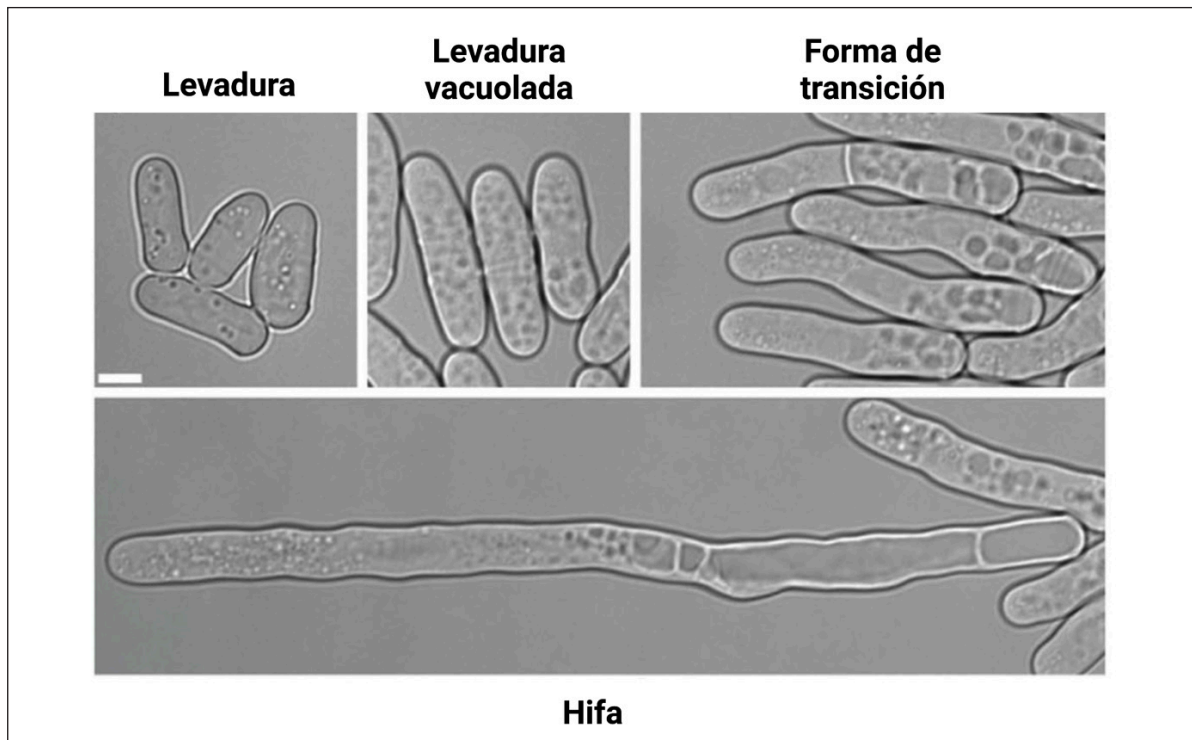


Figura 6. Etapas de la transición dimórfica de *S. japonicus*. Adaptado de Kinnaer *et al.*, 2019.

La transición dimórfica de *S. japonicus* hacia la forma filamentosa se puede inducir en respuesta a estrés nutricional, aunque para ello es necesario que las células crezcan sobre un sustrato sólido (Niki, 2017; Sipiczki, Takeo, Yamaguchi, *et al.*, 1998). En este caso, el desarrollo hifal es desencadenado por la existencia de un gradiente de nutrientes, concretamente por la limitación de la fuente de nitrógeno, ya que a diferencia del medio rico, el crecimiento en medios pobres en este nutriente permiten la observación de hifas y micelios tras largos tiempos de incubación (al menos 7 días) (Niki, 2017; Sipiczki, Takeo, Yamaguchi, *et al.*, 1998). El crecimiento hifal de *S. japonicus* también se induce fuertemente en medio rico sólido cuando este se suplementa con extracto de uva roja (RGE), y en menor medida en presencia de extractos de fresa y otras bayas. Aunque actualmente se desconoce el mecanismo molecular responsable, se trata de una respuesta independiente de estrés nutricional y no se produce en otras especies de levaduras de fisión ni en *S. cerevisiae* (Kinnaer *et al.*, 2019). Por el contrario, el incremento en los niveles de glucosa en el medio de cultivo,

o los cambios en la temperatura de crecimiento de 30°C a 18°C o 37°C, inhiben el crecimiento filamentosos e inducen la transición hacia la forma de levadura, siendo este un proceso reversible (Sipiczki, Takeo, & Grallert, 1998). La adición de cafeína o AMPc al medio también favorecen la reversión del desarrollo hifal al crecimiento levaduriforme (Sipiczki, Takeo, & Grallert, 1998).

Además de los cambios nutricionales en el medio, el tratamiento con camptotecina (CPT) promueve una rápida transición levadura-hifa en *S. japonicus* en medio líquido en presencia de nutrientes (Furuya & Niki, 2010; Niki, 2017). La CPT es un inhibidor específico de la topoisomerasa I que produce lesiones en el ADN que activan el punto de control (“checkpoint”) de daño en ADN, provocando la detención del ciclo celular en fase G2 (Hsiang et al., 1985; Wan et al., 1999). Sin embargo, la concentración de CPT que se requiere para inducir el dimorfismo en *S. japonicus* es significativamente más baja que la necesaria para producir el arresto celular, por lo que no afecta al crecimiento celular (Furuya & Niki, 2010). El desarrollo hifal inducido con CPT implica la acción de genes que median el “checkpoint” de daño en ADN como Chk1, la quinasa que participa en la detención del ciclo celular mediante la regulación de Wee1 y Cdc25, inhibidor y activador, respectivamente, de la quinasa dependiente de ciclina (CDK) Cdc2, y la ruta de señalización Rad3-Rad9, componentes de los complejos de quinasas que actúan aguas arriba de Chk1 (Furuya & Niki, 2012). Por el contrario, la actividad de Chk1 no es necesaria para la formación de hifas en respuesta al estrés nutricional, lo que sugiere que en este organismo existen al menos dos rutas de señalización responsables de la inducción del dimorfismo (Furuya & Niki, 2012). La diferenciación inducida con CPT es reversible, y tras la eliminación de la droga del medio de cultivo las hifas se diferencian rápidamente hacia la forma levaduriforme (Furuya & Niki, 2010; Niki, 2017).

Las rutas de señalización intracelular mediadas por MAPKs están implicadas en la regulación del desarrollo hifal y pseudohifal en levaduras como *C. albicans* o *S. cerevisiae* (Mösch et al., 1996; Sudbery, 2011). Investigaciones recientes realizadas en *S. japonicus* muestran que el crecimiento filamentosos en respuesta a la limitación de nutrientes se encuentra parcialmente inhibido en mutantes carentes de Spk1 o Pmk1, que son los elementos centrales de las rutas de MAPKs de respuesta a feromonas y de integridad celular respectivamente. Así, aunque dichas rutas de MAPKs no son indispensables para que se produzca la diferenciación hacia el crecimiento filamentosos, parecerían estar implicadas en la regulación del desarrollo de las hifas una vez que se ha producido su inducción (Nozaki et al., 2018). Por el contrario, los mutantes de *S. japonicus* defectivos en componentes de la ruta de MAPKs activada por estrés (SAPK) no muestran alteraciones en el desarrollo filamentosos (Nozaki et al., 2018). No obstante, los resultados muestran que el control de la polaridad celular mediado por la ruta Ras1-Cdc42 es clave para la formación de hifas en esta levadura de fisión (Nozaki et al., 2018). Ras1 y Cdc42 son GTPasas que, como todas las proteínas G, ciclan entre su estado activo unidas a GTP, en el que participan en la transmisión de señales en la célula, y su estado inactivo unidas a GDP. En *S. pombe* la ruta Ras1-Cdc42 regula la polaridad celular necesaria para la formación del “shmoo” durante el proceso de conjugación (Bendezú & Martin, 2013). Por su parte, Cdc42 juega un papel clave en la transición hacia el crecimiento filamentosos en *C. albicans* y en la formación de pseudohifas en *S. cerevisiae* (Mösch et al., 1996; VandenBerg et al., 2004).

1.3. La percepción del quórum

Todos los organismos vivos, incluidos los unicelulares, han desarrollado distintas estrategias para comunicarse con el medio que les rodea y con los miembros tanto de su propia especie como de otras. Al contrario de lo que se creía inicialmente, los microorganismos no se desarrollan solamente como entes aislados cuya única finalidad es crecer y dividirse, sino que muchos de ellos muestran comportamiento grupal, y son capaces de generar y ejecutar respuestas coordinadas y acciones conjuntas a nivel poblacional. Este mecanismo de comunicación celular entre microorganismos se conoce como quórum sensing (QS), percepción del quórum, o sensibilidad al quórum, y se encuentra presente en muchas bacterias, así como en algunos hongos filamentosos y levaduras. Mediante este mecanismo los microorganismos detectan la densidad celular existente en su entorno, y regulan la expresión de ciertos genes para ejecutar una respuesta coordinada. La regulación del QS se basa en la producción y liberación al medio extracelular de una serie de moléculas conocidas como moléculas de sensibilidad al quórum (QSMs), que actúan como autoinductores. Cada célula individual tiene la capacidad de detectar la concentración de las QSMs presentes en el medio, que se acumulan de forma proporcional al aumento de la densidad poblacional, y tras alcanzar una concentración umbral, inducen o reprimen la expresión de genes que permiten que la población colabore en la ejecución de diferentes respuestas frente al estímulo externo (Bandara et al., 2012; Franco et al., 2021; March Rosselló & Eiros Bouza, 2013) **(Figura 7)**.

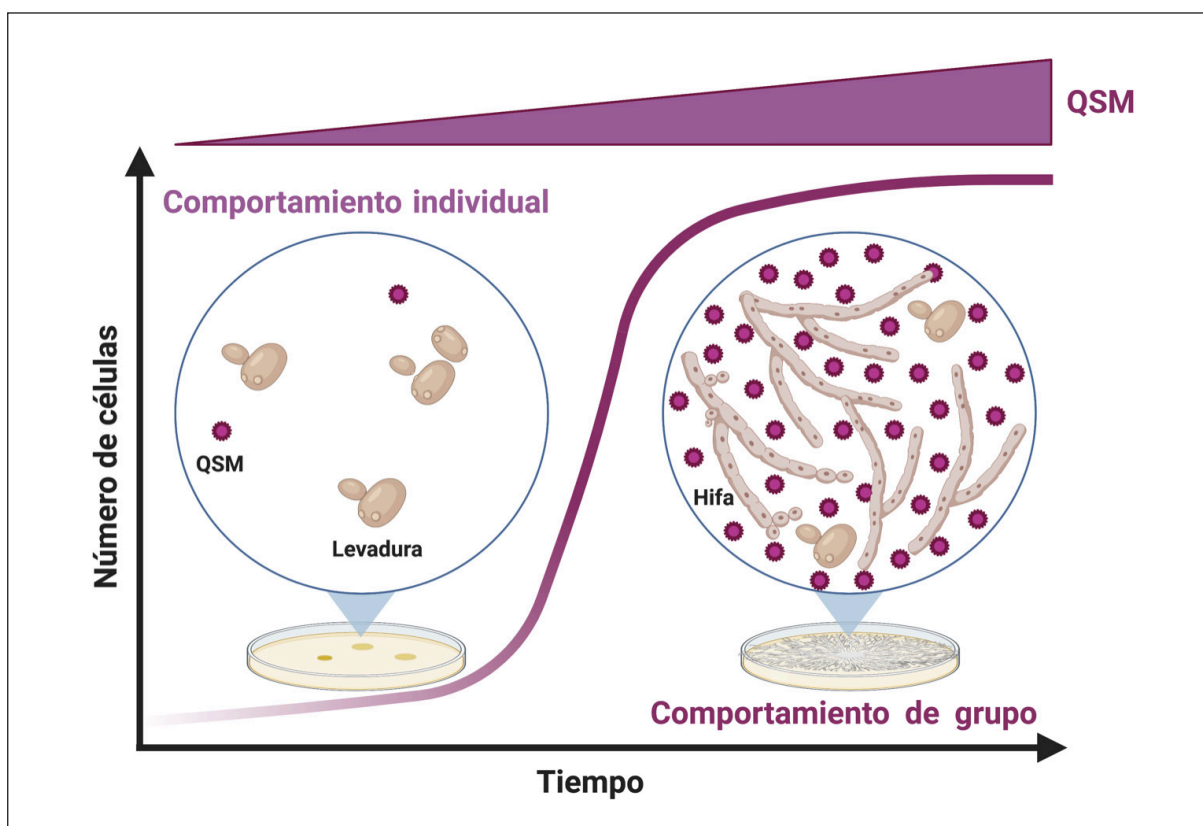


Figura 7. Modelo básico del fenómeno de quórum sensing. Adaptado de Yashiroda & Yoshida, 2019.

1.3.1. La percepción del quórum en procariontas

La comunicación mediante QS se describió por primera vez en 1965 cuando se purificaron e identificaron las primeras QSMs a partir del medio extracelular de *Streptococcus pneumoniae* (Tomasz, 1965). Posteriormente se describió en bacterias marinas bioluminiscentes del género *Vibrio*, al descubrirse que únicamente producían luminiscencia cuando crecían a una concentración celular elevada (Kempner & Hanson, 1968; Nealson et al., 1970). A continuación, se determinó que en dichas bacterias la producción de bioluminiscencia se encontraba regulada por un mecanismo de QS en el que participaban una sintetasa (LuxI) que produce N-acil homoserina lactonas (AHLs) como autoinductores, y un receptor (LuxR), cuya actividad depende de la presencia de dichos autoinductores (Engebrecht & Silverman, 1984). Numerosas especies de bacterias Gram-negativas emplean mecanismos de QS análogos al sistema LuxI/LuxR basados en la producción de AHLs, y que también son conocidos como autoinductores de tipo 3 (AI-3). Estas moléculas están implicadas principalmente en la señalización intra-específica en las bacterias Gram-negativas y, como consecuencia de dicha especificidad, únicamente los miembros de la misma especie son capaces de reconocer y responder a una determinada AHL. Se han identificado más de 70 especies de bacterias Gram-negativas que utilizan sistemas análogos a LuxI/LuxR de percepción del quórum, incluyendo especies pertenecientes a los géneros *Agrobacterium*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* o *Vibrio*, entre muchos otros (Bandara et al., 2012). Otras moléculas como las quinolonas, el factor difusible de señalización (DSF), y el autoinductor 1 del cólera, se han identificado como QSMs en bacterias Gram-negativas además de las AHLs (Barriuso et al., 2018).

En bacterias Gram-positivas la sensibilidad al quórum suele estar mediada por oligopéptidos denominados péptidos autoinductores (AIP), que son detectados por un sistema de dos componentes de tipo histidina-quinasa (HK). La transducción de la señal se produce a través de cascadas de fosforilación que finalmente inducen la expresión de factores de transcripción del ADN que regulan la expresión de genes de QS. Al igual que ocurre en el caso de las AHLs en bacterias Gram-negativas, estos sistemas suelen encontrarse fuertemente conservados en bacterias Gram-positivas, y median la comunicación intra-específica (March Rosselló & Eiros Bouza, 2013; Miller & Bassler, 2001). Además, se encuentran las QSMs denominadas autoinductoras de tipo 2 (AI-2), y son moléculas producidas por bacterias tanto Gram-positivas como Gram-negativas que permiten la comunicación entre bacterias pertenecientes a diferentes especies, estableciendo una interacción funcional inter-específica. A menudo, un mismo microorganismo puede presentar varios mecanismos de QS, lo que aumenta la plasticidad de las respuestas frente a cambios del medio extracelular (Barriuso et al., 2018; March Rosselló & Eiros Bouza, 2013).

En los microorganismos procariontas los fenómenos de QS regulan numerosos procesos, como la adquisición de nutrientes, la síntesis de factores de virulencia, la motilidad, o la formación de biopelículas. Dado que uno de los aspectos más importantes regulados por el QS es la infección al hospedador, los organismos eucariotas

susceptibles de ser infectados por dichas bacterias han desarrollado a su vez distintas estrategias de inhibición del QS bacteriano, conocidas genéricamente como “quórum quenching” (March Rosselló & Eiros Bouza, 2013).

1.3.2. La percepción del quórum como mecanismo de comunicación fúngica

A pesar de haber sido descrita originalmente en bacterias, la percepción del quórum no es exclusiva de procariontes, y diversos trabajos han descrito la existencia de mecanismos de QS en eucariotas simples como los hongos. El primer hongo en el que se describió la existencia de un fenómeno de quórum es *C. albicans* (Hornby et al., 2001). Posteriormente se ha identificado en numerosas especies de levaduras y en hongos dimórficos y filamentosos pertenecientes a los filos *Deuteromycota*, *Basidiomycota* y *Ascomycota*. La existencia de este mecanismo en múltiples especies fúngicas revela su importancia para su supervivencia y la colonización de diferentes ecosistemas. El QS regula diversos aspectos del ciclo vital fúngico entre los que se encuentran la morfogénesis, la germinación, o la patogénesis, y modula respuestas como el dimorfismo o la formación de biopelículas (Franco et al., 2021; Wongsuk et al., 2016).

Al ser el mayor patógeno humano de origen fúngico, el fenómeno de QS ha sido intensamente estudiado en *C. albicans*, aunque también se ha investigado con detalle en *S. cerevisiae* debido a su papel fundamental en el desarrollo de numerosos procesos biotecnológicos (Avbelj et al., 2016; Franco et al., 2021; Wongsuk et al., 2016). Sin embargo, hasta el momento el fenómeno de percepción del quórum no ha sido descrito en ninguna levadura perteneciente al género *Schizosaccharomyces*.

1.3.2.1. Moléculas de sensibilidad al quórum en hongos

Las QSMs, también conocidas como autoinductores, son los principales efectores del fenómeno de percepción del quórum, y controlan diferentes procesos como la diferenciación, los cambios morfogénicos, el establecimiento de biopelículas, la virulencia, o la apoptosis. Para que una molécula sea definida como QSM debe cumplir una serie de características que han sido establecidas previamente en varios trabajos (Albuquerque & Casadevall, 2012; Avbelj et al., 2016; Franco et al., 2021; Winters et al., 2019; Wongsuk et al., 2016):

1. Las moléculas de sensibilidad al quórum deben ser secretadas al medio extracelular durante el crecimiento del cultivo, y acumularse proporcionalmente a la densidad poblacional.

2. Las células deben poseer mecanismos específicos para detectar una QSM y responder frente a las QSMs.

3. Una QSM no debe ser tóxica para las células en el rango de concentración necesario para inducir una respuesta biológica.

4. Una QSM purificada debe reproducir la respuesta biológica definida a la concentración fisiológica establecida.

5. La QSM debe desencadenar una respuesta a nivel poblacional, y diferente a cómo se comportarían las células individualmente.

6. La respuesta biológica se produce una vez que se iguala o sobrepasa una concentración umbral de la QSM en el medio extracelular.

7. La respuesta desencadenada por la acción de la QSM debe poder distinguirse del metabolismo primario de la propia QSM. Es decir, la respuesta celular inducida por una QSM va más allá de los cambios fisiológicos necesarios para metabolizar y/o detoxificar dicha molécula.

8. Una QSM no es únicamente un subproducto del catabolismo fúngico.

En base a estos criterios se han descrito diferentes tipos de moléculas de sensibilidad al quórum en diversas especies de hongos, aunque se sospecha que quedan muchas más por identificar. Las QSMs fúngicas incluyen terpenos, alcoholes aromáticos, lactonas, lípidos (oxilipinas), péptidos, así como CO₂ y otros compuestos volátiles. Una misma QSM puede ser producida por diferentes especies de microorganismos, y aunque en los hongos normalmente se asocian a cambios morfológicos, existen moléculas con efecto morfogenético que no son consideradas QSMs. A continuación, se describen las QSMs fúngicas más estudiadas, y sus principales funciones biológicas en *C. albicans* y *S. cerevisiae* (**Tabla 1**).

Tabla 1. QSMs descritas en *C. albicans* y *S. cerevisiae* y sus principales funciones.

Familia de QSM	QSM	Organismo	Función de la QSM	Referencias
Terpenos	Farnesol	<i>C. albicans</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bloquea la transición levadura-hifa. - Impide el establecimiento de biopelículas. - Protege frente al estrés oxidativo. - Induce la apoptosis. 	(Deveau et al., 2010; Hornby et al., 2001; Ramage et al., 2002; Shirtliff et al., 2009; Westwater et al., 2005)
Alcoholes	Tirosol	<i>C. albicans</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Favorece la formación del tubo germinativo. - Acorta la fase lag. - Favorece la formación de biopelículas. 	(Alem et al., 2006; H. Chen et al., 2004)
		<i>S. cerevisiae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - No se ha asociado a ningún efecto morfogenético. 	(Avbelj et al., 2016; H. Chen & Fink, 2006)
	2-feniletanol y triptofol	<i>C. albicans</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Actúan como autoantibióticos inhibiendo la transición dimórfica. 	(Kruppa, 2009; Wongsuk et al., 2016)
		<i>S. cerevisiae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Inducen de la transición dimórfica. - Favorecen la formación de biopelículas. 	(Avbelj et al., 2016; H. Chen & Fink, 2006)

1.3.2.1.1. Terpenos: farnesol

El farnesol fue la primera QSM identificada en un organismo eucariota (Hornby et al., 2001). Se trata de un alcohol sesquiterpénico acíclico con 4 isómeros, aunque únicamente el E, E-farnesol (3,7,11-trimetil-2,6,10-dodecatrieno-1-ol) posee actividad como QSM, y es liberado al medio por *C. albicans* cuando se alcanza una densidad poblacional elevada. Se trata de una molécula estable frente a cambios de temperatura y pH, cuya síntesis no depende del tipo de fuente de carbono o de nitrógeno, ni de la naturaleza química del medio de cultivo (Hornby et al., 2001; Shchepin et al., 2003).

Este compuesto es generado como subproducto de la ruta de biosíntesis del ergosterol, el cual juega un papel clave en el mantenimiento de la integridad de membranas fúngicas. Se produce por la desfosforilación enzimática del farnesil pirofosfato (farnesil difosfato), y en su ruta de síntesis intervienen enzimas codificadas por los genes ERG (Dižová & Bujdánková, 2017; Han et al., 2011; Hornby et al., 2003). La producción de farnesol se ve favorecida en presencia de drogas que bloquean la síntesis de esteroides en hongos, como son el ácido zaragozico B, fluconazol o ketoconazol. Esta respuesta se produce como resultado de la inhibición de alguno de los pasos de la ruta de síntesis de ergosterol, de forma que el flujo de carbono es desviado hacia la producción de farnesol (Hornby et al., 2003; Hornby & Nickerson, 2004).

El fenómeno de percepción del quórum mediado por farnesol en *C. albicans* ha sido el más estudiado hasta la fecha. Esta QSM está implicada en la regulación de distintos procesos celulares, algunos de los cuales se describen a continuación.

1.3.2.1.1. Efecto del farnesol sobre la transición dimórfica levadura-hifa

C. albicans es un hongo patógeno oportunista en humanos perteneciente al filo *Deuteromycota*. Como se ha comentado anteriormente, se trata de un hongo dimórfico que puede crecer como levadura gemante o diferenciarse y formar hifas, siendo dicha transición morfológica esencial para su virulencia (Kumamoto & Vences, 2005; Sudbery, 2011). El dimorfismo en *C. albicans* es regulado por diferentes señales ambientales como la temperatura, el pH, los nutrientes o la presencia de suero (Sudbery, 2011). Además, la densidad de población también regula este proceso, de manera que *C. albicans* se encuentra en forma de levadura a densidades celulares iguales o mayores a 10^6 células/ml, favoreciéndose la formación de hifas a densidades celulares por debajo de este valor. El dimorfismo en esta levadura es regulado por un fenómeno de percepción del quórum que depende de la liberación al medio de QSMs, principalmente farnesol y tirosol (Albuquerque & Casadevall, 2012; Hornby et al., 2001). De hecho, el primer efecto fisiológico asociado al farnesol fue su capacidad para regular negativamente el crecimiento filamentoso en *C. albicans*, siendo el primer mecanismo de percepción del quórum descrito en eucariotas (Hornby et al., 2001). La presencia de esta QSM en el medio de cultivo, ya sea en forma sintética o procedente de medio condicionado, previene la transición levadura-hifa inducida por la presencia de L-prolina, GlcNAc, o suero. El farnesol favorece el crecimiento celular en forma de levadura gemante hasta concentraciones de 300 μ M sin afectar a la tasa de crecimiento del mismo (Hornby et al., 2001). Sin embargo, a pesar de que el farnesol regula negativamente la diferenciación hifal, no puede inhibir el desarrollo del micelio a partir de hifas preexistentes (Albuquerque & Casadevall, 2012; Hornby et al., 2001; Ramage et al., 2002). Posteriormente se describió que este compuesto es capaz de promover la reversión hifa-levadura, aunque con una cinética más lenta que la que muestra la inhibición del crecimiento filamentoso (Lindsay et al., 2012).

Se han propuesto diferentes mecanismos moleculares como responsables de la regulación negativa del crecimiento filamentoso inducido por farnesol en *C. albicans*. Uno de los más estudiados es la represión de la ruta de señalización de Ras1-AMPc/PKA, que se produce por la inhibición catalítica de la actividad de la enzima adenilato ciclasa Cyr1 por parte del farnesol, y la consecuente reducción de los niveles citoplásmicos de AMPc. Ello impide la activación de las subunidades catalíticas de la PKA Tpk1 y Tpk2, cuya función es necesaria para el crecimiento filamentoso (Davis-Hanna et al., 2008; R. A. Hall et al., 2011). La acción del farnesol también puede ocasionar la disociación de Ras1 de la membrana plasmática, dando lugar a una forma citosólica e inactiva de dicha GTPasa, disminuyendo la señalización por AMPc e impidiendo la activación de Efg1, otro factor de transcripción que regula la filamentación (Langford et al., 2013; Lindsay et al., 2012). A su vez, la inhibición de la ruta del AMPc/PKA provoca un incremento transitorio en los niveles de Nrg1, el principal represor transcripcional del desarrollo hifal en *C. albicans*. La inactivación de la PKA incrementa los niveles de Nrg1, que actúa junto con Tup1, reprimiendo de la expresión de genes específicos de hifas (Lindsay et al., 2012). Las proteínas Chk1 (histidina quinasa) y Czf1 (proteína de dedo de zinc 1), también desempeñan un papel clave en la respuesta celular de *C. albicans* frente al farnesol. Los mutantes carentes de Chk1 son resistentes a los efectos del farnesol (Kebaara et al., 2008), mientras que la actividad de Czf1 es necesaria para la represión de la filamentación mediante la regulación de Efg1 (Langford et al., 2013). Adicionalmente, los cambios morfológicos que se dan en respuesta al farnesol implican otros elementos y rutas de señalización. Por ejemplo, el farnesol inhibe la fosforilación y activación de la MAPK Cek1, que regula positivamente la filamentación en *C. albicans* (Román et al., 2009). Sin embargo, a pesar del intrincado sistema de regulación descrito para el farnesol, hasta la fecha no se ha identificado ningún receptor específico para este compuesto (Mehmood et al., 2019).

1.3.2.1.1.2. Efecto del farnesol sobre la formación y el desarrollo de biopelículas

Tradicionalmente el estudio de los microorganismos se ha realizado en cultivos de células libres o creciendo como colonias en la superficie de placas solidificadas con agar. Sin embargo, actualmente se acepta que las biopelículas o biofilms son el estado preferido, y probablemente natural, de crecimiento para la mayoría de los microorganismos. Una biopelícula es una comunidad de células microbianas que crecen adheridas a una superficie (o que se encuentran en una interfaz aire-líquido), están rodeadas por una matriz extracelular, y presentan propiedades diferenciales en comparación a sus homólogas que crecen de forma libre. Las biopelículas se desarrollan tanto en entornos bióticos, por ejemplo en los tejidos de plantas o mamíferos, como en entornos abióticos, como por ejemplo en implantes médicos incluyendo catéteres, marcapasos, prótesis dentales, etc. (Gulati & Nobile, 2016; Nobile & Johnson, 2015). Una de las principales características de estas comunidades es que presentan mayor resistencia a daños químicos y/o físicos que las células libres, lo que hace que sean muy difíciles de combatir en entornos clínicos. De hecho, una propor-

ción muy alta de las infecciones microbianas se debe a la formación de biopelículas, ya sea de forma directa o indirecta (Gulati & Nobile, 2016).

C. albicans forma biopelículas con estructuras tridimensionales complejas, compuestas por diferentes tipos celulares (levaduras gemantes, pseudohifas ovaladas, e hifas alargadas), que se embeben en una matriz extracelular de polisacáridos (EPS). Las biopelículas de *C. albicans* son resistentes a los tratamientos antifúngicos convencionales, al sistema inmunitario del huésped, y a otras perturbaciones ambientales, y su formación se organiza en distintas etapas. El primer paso consiste en la adhesión de las células a una superficie, y está determinado por interacciones moleculares mediadas por enlaces hidrofóbicos y electrostáticos, y por elementos estructurales específicos como adhesinas (Als1, Als3 y Hwp1), que permiten iniciar la fase preliminar de adhesión (Hawser & Douglas, 1994). La siguiente etapa es la iniciación, en la que comienza la transición levadura-hifa, y va acompañada por la formación de la EPS. Seguidamente, durante la etapa de maduración, se produce un incremento en la secreción de EPS, que actúa fijando los diferentes tipos celulares en la biopelícula. La última etapa es la de dispersión, en la que se produce la diseminación de las células en su estado de levadura con el fin de colonizar otras zonas del hospedador, y permite establecer nuevas biopelículas (Nobile & Johnson, 2015). Por tanto, para la formación y mantenimiento de estas estructuras es crucial tanto la capacidad de las células para formar hifas, como la habilidad de dichas hifas de adherirse entre sí y a otros tipos celulares (Chandra et al., 2001).

Adicionalmente, la señalización mediante QSMs regula la formación de biopelículas en esta levadura (Padder et al., 2018). El tratamiento de biopelículas de *C. albicans* con altas concentraciones de farnesol (300 μ M), produce una alteración en la densidad y morfología de estas estructuras y previene su formación, debido a la regulación negativa de la transición dimórfica. El tiempo de adherencia de las células previo a la adición de farnesol es crítico para definir su capacidad de inhibir la formación de biopelículas. Así, aquellas células que ya han comenzado a diferenciarse hacia el crecimiento filamentoso no son inhibidas por el farnesol y progresan hasta formar biopelículas, mientras que las células que forman parte de biopelículas ya establecidas sí son capaces de responder al efecto del isoprenoide, favoreciendo la dispersión del biofilm. Por todo ello, las propiedades del farnesol como inhibidor de la formación de biopelículas lo hacen adecuado en estrategias de prevención, más que para su empleo una vez se han establecido (Ramage et al., 2002). En cuanto al mecanismo molecular por el que se regula este proceso, el tratamiento de biofilms con farnesol provoca cambios globales y diferenciales en la expresión génica de *C. albicans*. Entre los genes que aumentan su expresión se encuentran aquellos relacionados con la resistencia a drogas, el transporte del hierro, el mantenimiento de la integridad de pared y el crecimiento filamentoso, como son TUP1, PDE2 o CRK1 (Cao et al., 2005).

1.3.2.1.1.3. Efecto del farnesol sobre la apoptosis y el estrés oxidativo

C. albicans forma parte de la flora habitual de la cavidad bucal y los tractos gastrointestinal y genitourinario de mamíferos. Sin embargo, los cambios en las condiciones fisiológicas o inmunológicas del hospedador pueden favorecer su crecimiento desmedido y causar infecciones oportunistas, propiciado en parte por la facilidad de adaptación de esta levadura frente a cambios en su ambiente extracelular. A menudo estas alteraciones conllevan la aparición de altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno o el anión superóxido, que dañan prácticamente todos los componentes celulares esenciales y provocan inactivación enzimática, daño en las membranas, mutaciones y, en última instancia, muerte celular programada o apoptosis. Una de las principales fuentes de estrés oxidativo para los hongos patógenos son las células fagocíticas del sistema inmune del hospedador. Como respuesta, *C. albicans* ha desarrollado un mecanismo de protección adaptativa a nivel poblacional en el que participa el farnesol. De esta manera, el farnesol está implicado en la protección frente al estrés oxidativo al regular la transcripción de genes específicos de la respuesta frente a dicho estrés como los de las superóxido dismutasas SOD1 y SOD2, o la catalasa CAT1. La regulación de esta respuesta es también ejercida mediante la inhibición de la ruta Ras1-AMPC/PKA (Deveau et al., 2010; Westwater et al., 2005).

Adicionalmente, y a pesar de la elevada tolerancia de *C. albicans* frente a altas concentraciones de farnesol, esta QSM provoca una reducción en la expresión de distintas proteínas implicadas en el metabolismo y la función mitocondrial. Paralelamente, además de inducir un aumento en la expresión de proteínas que protegen frente al estrés oxidativo, el tratamiento con farnesol favorece la expresión de proteínas implicadas en el proceso de apoptosis, como son las caspasas (Shirtliff et al., 2009). Además, el farnesol reduce los niveles de glutatión intracelular e induce apoptosis tras unirse a él y formar un conjugado que es exportado mediante un mecanismo dependiente de Cdr1, un miembro de la superfamilia de transportadores ABC que está implicado en la resistencia a drogas (Zhu et al., 2011). Todas estas evidencias revelan el importante papel fisiológico del farnesol en el ciclo de vida de *C. albicans* durante su adaptación y supervivencia frente a distintas condiciones ambientales.

1.3.2.1.2. Alcoholes: tirosol, triptofol y 2-feniletanol

El tirosol (2-(4-hidroxifenil)-etanol), el triptofol (2-(1H-indol-3il)-etanol) y el 2-feniletanol son compuestos fenólicos que pertenecen al grupo de los feniletanoides, y son alcoholes aromáticos derivados respectivamente de la tirosina, el triptófano y la fenilalanina. El tirosol fue la segunda QSM identificada en *C. albicans*, y es liberado al medio extracelular cuando el cultivo alcanza una densidad poblacional superior a 10^7 células/ml, regulando de forma positiva la transición dimórfica (Chen et al., 2004). Sin embargo, la relevancia biológica del tirosol como regulador del di-

morfismo es claramente menor a la del farnesol, considerándose una QSM minoritaria que regula dicho proceso cuando el farnesol se encuentra ausente o en concentraciones limitantes (Nickerson *et al.*, 2006). *S. cerevisiae* también secreta tirosol al medio externo de forma proporcional al incremento de la concentración celular, aunque no se ha asociado ningún efecto morfogenético (Avbelj *et al.*, 2015; Chen & Fink, 2006). Por su parte, *C. albicans* produce triptofol y 2-feniletanol, aunque su papel como QSMs no está del todo claro, ya que su efecto inhibitorio de la transición levadura-hifa no depende de la densidad celular (Chen & Fink, 2006; Lingappa *et al.*, 1969; Padder *et al.*, 2018). Por su parte, en *S. cerevisiae* la producción de triptofol y 2-feniletanol se da en respuesta a la limitación de nitrógeno, su presencia es proporcional a la concentración de celular en el cultivo, y favorece el crecimiento filamentosos (Chen & Fink, 2006).

Estos tres compuestos se sintetizan a partir de sus correspondientes aminoácidos aromáticos mediante un proceso secuencial de tres reducciones bioquímicas por medio de una ruta metabólica conocida como la vía de Ehrlich. En primer lugar, se produce una reacción de transaminación que genera un análogo α -cetoácido del aminoácido. El α -cetoácido se convierte en un aldehído mediante una posterior reacción irreversible de descarboxilación. Finalmente, el aldehído se convierte en el alcohol primario gracias a una reacción de reducción (Hazelwood *et al.*, 2008). En *S. cerevisiae* la reacción de transaminación está catalizada por las aminotransferasas aromáticas I y II, codificadas por los genes ARO8 y ARO9 respectivamente, mientras que el paso de descarboxilación está catalizado por la descarboxilasa aromática codificada por el gen ARO10 y por distintas piruvato descarboxilasas (Avbelj *et al.*, 2015).

La producción de tirosol, triptofol y 2-feniletanol está determinada por la fuente de nitrógeno. La presencia de altas concentraciones de amonio en el medio reprime la expresión de los genes implicados en la ruta de Ehrlich necesarios para su producción. Como ya se ha mencionado, la producción de triptofol y 2-feniletanol en *S. cerevisiae* está regulada también por la densidad celular. Una elevada concentración celular induce la expresión de ARO9 y ARO10, y por tanto se estimula la producción de estos alcoholes aromáticos (Chen & Fink, 2006). Ello ocurre gracias a la activación del factor de transcripción Aro80, que regula positivamente la expresión de ARO9 y ARO10 mediante un bucle de retroalimentación positiva. Así, las células producen una mayor cantidad de alcoholes aromáticos por célula a una elevada densidad poblacional que cuando esta es baja (Chen & Fink, 2006; Iraqui *et al.*, 1999; Wuster & Babu, 2010). Además, tanto en *C. albicans* como en *S. cerevisiae*, la producción de tirosol, triptofol y 2-feniletanol está determinada por distintos factores ambientales entre los que se encuentran los niveles de oxígeno, la disponibilidad de aminoácidos aromáticos, y el pH (Avbelj *et al.*, 2015)

1.3.2.1.2.1. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre la transición dimórfica levadura-hifa

C. albicans produce tirosol durante el crecimiento vegetativo cuando alcanza una densidad de población igual o superior a 10^7 células/ml, promoviendo la formación del tubo germinativo y por tanto la transición hacia el crecimiento filamentos. Asimismo, la adición exógena de tirosol en cultivos de esta levadura provoca un acortamiento de las fases lag y de latencia (Chen et al., 2004). Sin embargo, todavía se desconoce como dicha QSM modula el crecimiento filamentos en este organismo. Por su parte, *S. cerevisiae* también es capaz de liberar tirosol al medio de cultivo aunque, al contrario que en *C. albicans*, no parece presentar efectos morfogenéticos (Chen & Fink, 2006).

En cuanto al triptofol y el 2-feniletanol, ambas moléculas estimulan el desarrollo de pseudohifas en *S. cerevisiae* cuando las células crecen en condiciones favorables, particularmente en condiciones de limitación de nitrógeno. La señal de ausencia de nitrógeno es transmitida mediante la ruta de MAPKs de respuesta a feromonas que implica a Ste20, y por la ruta del AMPc/PKA. Como resultado se induce la expresión de Flo11, una glicoproteína de la superficie celular implicada en el crecimiento filamentos, cuya expresión depende a su vez de Tpk2 (subunidad catalítica de la PKA) y del factor de transcripción Flo8, que es su efector aguas abajo (Avbelj et al., 2016; Chen & Fink, 2006). Sin embargo, aun existen numerosas cuestiones por responder sobre el mecanismo exacto mediante el que los alcoholes aromáticos promueven el crecimiento filamentos en *S. cerevisiae*, tal y como se ha puesto de manifiesto en una revisión reciente sobre el tema (Winters et al., 2019). Finalmente, *C. albicans* también puede secretar al medio triptofol y 2-feniletanol, aunque a concentraciones muy bajas. La adición exógena de ambos alcoholes regula negativamente la formación del tubo germinativo, aunque para ello se requieren concentraciones muy altas de dichos compuestos, por lo que no se consideran verdaderas QSMs (H. Chen & Fink, 2006).

1.3.2.1.2.2. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre la formación y el desarrollo de biopelículas

Tal como se ha comentado anteriormente, en *C. albicans* la morfogénesis se encuentra estrechamente relacionada con el establecimiento de biopelículas, siendo también el tirosol un factor importante en la regulación positiva de dicho proceso. El tirosol acelera la formación de hifas en las etapas iniciales e intermedias del desarrollo de la biopelícula. Sin embargo, no parece ejercer ningún efecto significativo en las fases avanzadas del proceso, donde el farnesol adquiere un claro protagonismo, favoreciendo su dispersión y la colonización de nuevas áreas (Alem et al., 2006; Chen & Fink, 2006).

Al igual que *C. albicans*, *S. cerevisiae* puede formar biopelículas y organizarse como agregados multicelulares adheridos a una superficie sólida. La capacidad de las células de filamento y adherirse entre sí y a otras superficies está determinada en esta especie por los genes FLO (Lo & Dranginis, 1998). Como se ha descrito anteriormente, el triptofol y el 2-feniletanol inducen la expresión de la floculina Flo11, por lo que además de favorecer el crecimiento filamentosos también regulan la adhesión. Por tanto, ambas QSMs favorecen el establecimiento y desarrollo de biopelículas regulando positivamente la expresión de Flo11 (Avbelj et al., 2016; Reynolds & Fink, 2001).

1.3.2.1.2.3. Efecto de los alcoholes aromáticos sobre el estrés oxidativo

En *C. albicans* el tirosol protege frente al estallido respiratorio u oxidativo que provocan los neutrófilos del sistema inmune del hospedador tras la infección (Cremmer et al., 1999). Sin embargo, la adición exógena de tirosol al medio de cultivo no ejerce un efecto protector frente al estrés oxidativo inducido tras el tratamiento con peróxido de hidrógeno (Westwater et al., 2005).

1.4. El citoesqueleto

El citoesqueleto es una estructura tridimensional, altamente dinámica y compleja, compuesta por polímeros interconectados y proteínas reguladoras que se distribuye por el citoplasma de las células. Participa en la organización espacial del contenido celular, la conexión física y bioquímica de la célula con el ambiente que la rodea, la morfogénesis y la polaridad, además de regular procesos como la división celular, la endocitosis, el tráfico de vesículas y la migración, gracias a la formación de estructuras especializadas como lamelipodios, cilios o flagelos (Fletcher & Mullins, 2010).

Las células de todos los organismos pertenecientes a los tres dominios de la vida (bacterias, arqueas y eucariotas) poseen citoesqueleto. Sin embargo, únicamente los organismos eucariotas poseen la actina y tubulina clásicas altamente conservadas, mientras que los procariotas presentan proteínas análogas con composición y función considerablemente distintas (Wickstead & Gull, 2011). La existencia y el correcto funcionamiento del citoesqueleto es fundamental para garantizar la viabilidad en cualquier forma celular. Los tres tipos principales de polímeros que componen el citoesqueleto en eucariotas son los microtúbulos, los filamentos de actina, y los filamentos intermedios. Estos tres polímeros se organizan en redes con la capacidad de deformarse y reorganizarse en respuesta a fuerzas externas, y cuya arquitectura está sometida al control de diferentes clases de proteínas reguladoras, entre las que se encuentran factores promotores de la nucleación, proteínas capu-

cha, polimerasas, factores de corte, así como proteínas estabilizadoras y de entrecruzamiento (Fletcher & Mullins, 2010).

Los microtúbulos son las estructuras más rígidas de los tres polímeros y los que presentan una dinámica más compleja. Consisten en una asociación de protofilamentos lineales que se ensamblan a partir de heterodímeros de α y β -tubulina. Por su parte, los organismos procariotas poseen proteínas homólogas a la tubulina como el caso de FtsZ (la más frecuente), y que está implicada en la citocinesis (Fletcher & Mullins, 2010; Goodson & Jonasson, 2018). Los microfilamentos de actina son estructuras más flexibles que los microtúbulos, aunque existen numerosas proteínas que se unen a ellos, favoreciendo el ensamblaje de estructuras rígidas y altamente organizadas. Los filamentos de actina en eucariotas están formados por dos protofilamentos de actina polimerizada. En procariotas los homólogos más comunes son FtsA, MerB y ParM, cuya estructura y funciones son similares a las de la actina (Fletcher & Mullins, 2010; Wickstead & Gull, 2011). Finalmente, los filamentos intermedios son los polímeros más flexibles del citoesqueleto, y pueden encontrarse entrecruzados entre sí o con filamentos de actina y microtúbulos, a través de proteínas llamadas plectinas. Estas estructuras únicamente se han descrito en metazoos, y no se encuentran presentes en otros eucariotas como plantas u hongos, ni tampoco en procariotas (Fletcher & Mullins, 2010; T. D. Pollard & Goldman, 2018).

1.4.1. El citoesqueleto de tubulina

La tubulina es una proteína globular de 55 kDa con hasta 6 isoformas diferentes, y es el componente principal de los microtúbulos en todos los organismos eucariotas. Los microtúbulos son largos polímeros huecos con morfología cilíndrica formados por heterodímeros apilados de α y β -tubulina, que se ensamblan en cadenas denominadas protofilamentos. Normalmente los microtúbulos se componen de 13 protofilamentos asociados lateralmente, aunque este número puede variar, y algunas células, como las neuronas, poseen microtúbulos de 15 protofilamentos. A pesar de su alto grado de conservación evolutiva, los microtúbulos pueden mostrar diferentes propiedades o estructuras según las especies y los tipos celulares, debido a la incorporación de distintas isoformas de tubulina y/o la existencia de modificaciones postraduccionales (PTMs). Los microtúbulos son estructuras polares, presentando un extremo - de crecimiento lento con α -tubulina expuesta, y un extremo + de crecimiento rápido con β -tubulina expuesta. Ambas isoformas poseen sitios de unión a GTP, pero a diferencia de la α -tubulina, en la que el GTP no se hidroliza, en la β -tubulina el GTP puede ser hidrolizado a GDP (Desai & Mitchison, 1997; Goodson & Jonasson, 2018; Janke & Magiera, 2020).

El ensamblaje de los microtúbulos a partir de dímeros de α y β -tubulina tiene lugar en dos fases. La primera etapa, denominada fase de nucleación, se inicia en los centrosomas (corpúsculo polar del huso o SPB en levaduras), o centros organizadores de microtúbulos (MTOCs), excepto en plantas, donde esta función es ejercida por la envoltura nuclear. La nucleación comienza con la presencia de una isoforma

de tubulina inusual, la γ -tubulina, que se dispone en los MTOCs formando anillos abiertos que actúan como plataformas para la generación de nuevos microtúbulos. En levaduras la estructura análoga al centrosoma es el corpúsculo polar del huso (SPB). Durante la segunda etapa, conocida como fase de elongación, los microtúbulos crecen desde su extremo $-$, más cercano al centrosoma, hacia el extremo $+$ orientado hacia la periferia. Este proceso solamente tiene lugar si la β -tubulina se encuentra unida a GTP (Howard & Hyman, 2003; Tovey & Conduit, 2018).

En la mayoría de las células los microtúbulos pueden alternar entre dos estados, uno de crecimiento estable, y otro de acortamiento rápido. Este comportamiento, conocido como inestabilidad dinámica, permite una rápida y necesaria reorganización del citoesqueleto de microtúbulos, dada su implicación en numerosos procesos celulares esenciales (T. Mitchison & Kirschner, 1984).

1.4.1.1. El citoesqueleto de tubulina en *S. pombe*

En las células interfásicas de *S. pombe* los microtúbulos crecen desde el SPB (situado en la superficie citoplásmica de la envuelta nuclear) y otros MTOCs, y están formados por entre 3 y 5 haces de protofilamentos antiparalelos que se disponen en línea con el eje longitudinal de la célula, llegando a menudo a contactar con los extremos de esta (Drummond & Cross, 2000; Hagan, 1998) (**Figura 8**). Los haces de microtúbulos se estructuran con el extremo $+$ de crecimiento orientado hacia los polos celulares, alternando entre periodos de crecimiento y acortamiento. La inestabilidad dinámica de los microtúbulos en cada extremo de la célula genera fuerzas que son transmitidas hacia la envuelta nuclear, propiciando el movimiento del núcleo hacia el centro de la célula (Gallardo *et al.*, 2019; Tran *et al.*, 2001). A su vez, el posicionamiento del núcleo es esencial para el correcto establecimiento del sitio de división dependiente de la liberación del factor de citocinesis Mid1 (Daga & Chang, 2005), tal y como se describirá más adelante (**Apartado 1.5.1**). Durante la mitosis los microtúbulos interfásicos se reordenan y forman el huso mitótico, cuya función es la correcta segregación de los cromosomas entre las células hijas (Hagan, 1998).

En *S. pombe* los microtúbulos participan en el mantenimiento de la polaridad mediante el transporte de reguladores específicos de este proceso, como es el caso del complejo Tea1-Tea4, necesario para el crecimiento polarizado de la célula durante la fase NETO. Tea1 es una proteína con motivos Kelch que es depositada en los polos celulares por medio de los extremos $+$ de los microtúbulos interfásicos, donde se mantiene unida gracias a Tip1 (miembro de la familia de proteínas CLIP70), y es transportada por la kinesina Tea2 (**Figura 8**). Tea4, una proteína con dominio SH3, se une directamente a Tea1 formando un complejo que se mueve por el extremo $+$ de los microtúbulos hacia el polo de la célula (**Figura 8**). Una vez en el polo, el complejo Tea1-Tea4 es anclado a la membrana plasmática mediante la interacción de Tea1 con las proteínas Mod5 y Tea3 (Snaith *et al.*, 2005). En la zona cortical Tea4, mediante su dominio SH3, se une y recluta a For3, la formina encargada de la nucleación de cables de actina (Feierbach *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2005) (**Figura 8**). Adicionalmente

el complejo Tea1-Tea4 participa en la localización de la quinasa Pom1 en los polos. Pom1 comparte funciones con Tea1 relativas al mantenimiento de la polaridad, además de participar en la regulación espacial de la citocinesis y la progresión del ciclo celular (Chang & Martin, 2009).

En determinadas situaciones las células de *S. pombe* pueden establecer sitios de polarización no canónicos en zonas que no habían sido sitios de crecimiento o de división previas, y de forma independiente a la ruta Tea1-Tea4. Este proceso depende de la proteína Mal3, que está implicada en la regulación de la dinámica del extremo + de los microtúbulos, y de Moe1, una proteína de unión a Mal3 que media la activación de For3 (Minc *et al.*, 2009). Por otra parte, los microtúbulos participan en la citocinesis al regular el posicionamiento del núcleo en la zona ecuatorial de la célula (Tran *et al.*, 2001). Recientemente se ha descrito que Mto1 y Mto2, dos proteínas promotoras de la nucleación de microtúbulos, intervienen en el proceso de división celular al participar en la coordinación de la formación del surco citocinético (Dundon & Pollard, 2020).

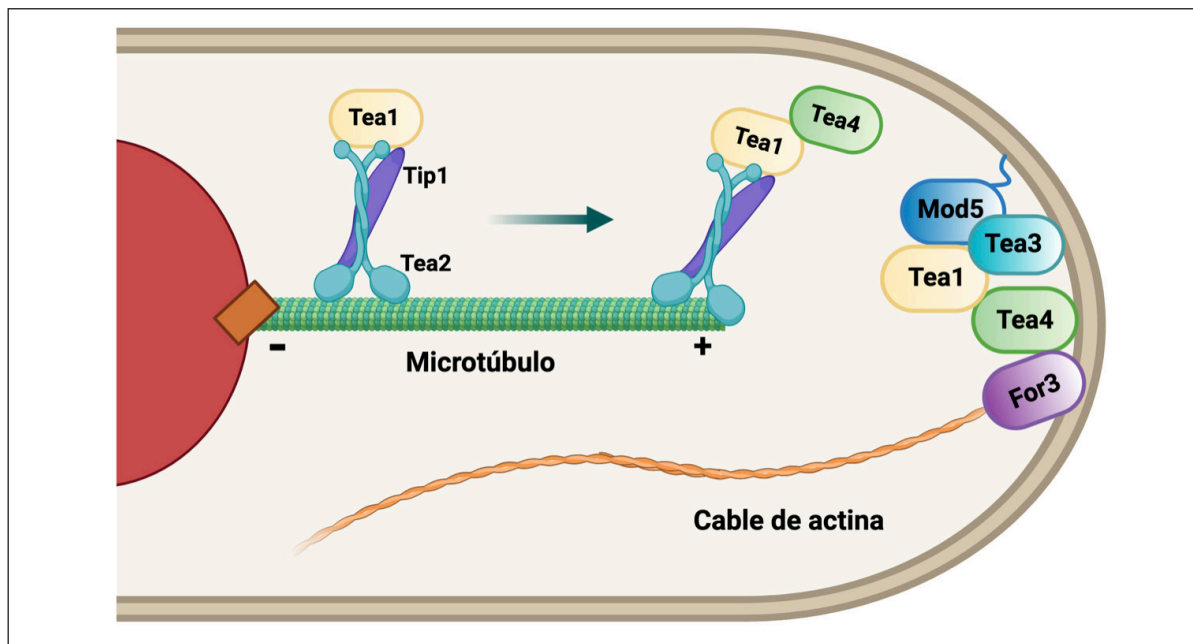


Figura 8. Los microtúbulos sirven como vías para el transporte de los marcadores de polaridad hacia el polo celular. La proteína Tea1 es transportada hacia los polos celulares a través de los microtúbulos gracias a su unión con Tip1 y la kinesina Tip2. Una vez en el polo, el complejo Tea1-Tea4 se ancla en la membrana plasmática por su interacción con Mod5 y Tea3. Además, Tea4 recluta a la formina For3 encargada de la nucleación de cables de actina interfásicos. Adaptado de Fischer *et al.*, 2008.

1.4.2. El citoesqueleto de actina

La actina (42 kDa) es una de las proteínas más abundantes de los seres vivos, y una de las más conservadas entre los organismos eucariotas; así, su secuencia varía únicamente en unos pocos aminoácidos entre organismos eucariotas tan distantes como los hongos y los animales. Dicha conservación se debe a su papel esencial para la supervivencia celular, al tener un papel clave en procesos como la citocinesis, la endocitosis o la señalización celular (Davidson & Wood, 2016; T. D. Pollard, 2016).

La actina se puede encontrar tanto en forma monomérica globular (G-actina) como en forma polimerizada (F-actina). La polimerización de la actina tiene lugar en dos pasos: nucleación y elongación. La nucleación es la etapa más crítica, pues se encuentra limitada por la disponibilidad de dímeros y trímeros de actina, unas estructuras intermedias que son inestables energéticamente y tienden a despolimerizarse, así como por el secuestro de los monómeros de G-actina por proteínas como la profilina. Una vez formados los trímeros y añadida la cuarta subunidad de actina, se forma un oligómero estable y se produce la rápida elongación del filamento, siempre que exista disponibilidad de monómeros de actina (Mishra *et al.*, 2014; T. D. Pollard, 2016). Tras la adición del monómero de actina al extremo del filamento se produce la hidrólisis del ATP unido al último monómero incorporado (Blanchoin *et al.*, 2014). Los filamentos de actina poseen una estructura helicoidal y están polarizados, presentando un extremo barbado (+) donde se adiciona el monómero unido a ATP, y uno puntiagudo (-) donde se localizan los monómeros unidos a ADP. El extremo barbado es el más dinámico, y se elonga hasta 10 veces más rápido que el extremo puntiagudo (Blanchoin *et al.*, 2014).

Los filamentos de actina interactúan a su vez con numerosas proteínas de unión a la actina (ABPs). Las células eucariotas cuentan con más de 100 ABPs fuertemente conservadas evolutivamente, y se encuentran sometidas a una regulación espaciotemporal muy precisa, lo que permite una rápida remodelación del citoesqueleto de actina en respuesta a cambios ambientales. Entre las principales ABPs destacan las proteínas secuestradoras de actina, las proteínas fragmentadoras del filamento, las proteínas de nucleación, las proteínas capucha del extremo barbado, las proteínas de entrecruzamiento, las proteínas de unión de filamentos, y las proteínas motoras denominadas miosinas (Mishra *et al.*, 2014; T. D. Pollard, 2016). Tanto los microtúbulos como los filamentos de actina son polares, lo que implica que son estructuralmente asimétricos a nivel molecular. Por ello, ambos polímeros sirven como vías para el transporte de proteínas motoras como la dineína o kinesina en el caso de los microtúbulos, o las miosinas en el caso de los microfilamentos de actina. Dichas proteínas motoras juegan un papel clave en la organización de las estructuras del citoesqueleto (Fletcher & Mullins, 2010).

1.4.2.1. Conservación evolutiva del citoesqueleto de actina

Todos los seres vivos, desde las bacterias a los seres humanos, portan genes que codifican moléculas de actina estrechamente relacionadas estructural y funcionalmente (Gunning *et al.*, 2015). Las bacterias presentan tres tipos de filamentos similares a actina: MreB, FtsA y ParM. MreB está implicada en el mantenimiento de la morfología celular y la síntesis de la pared celular; FtsA participa en la formación del anillo de división celular, mientras que ParM colabora durante la segregación de plásmidos. De hecho, en los plásmidos bacterianos y los genomas de distintas especies de bacteriófagos se han identificado genes que cifran hasta 30 proteínas homólogas a la actina (Gunning *et al.*, 2015; T. D. Pollard, 2016).

Por su parte, los eucariotas poseen uno o más genes codificantes de actina, que en organismos complejos como el ser humano se expresan diferencialmente en función del tejido. Así, en humanos existen tres genes de α -actina que se expresan en los músculos, un gen de β -actina que se expresa en células no musculares, y dos genes de γ -actina que se expresan en células musculares y no musculares. Las plantas expresan 10 o más genes de actina; algunos se expresan en tejidos reproductivos y otros en tejidos vegetativos, aunque la actina en vegetales no presenta el mismo nivel de conservación evolutiva entre isoformas que el de las células animales. Los eucariotas más sencillos, como las levaduras, poseen un único gen de actina que genera todas las estructuras del citoesqueleto (Gunning *et al.*, 2015; T. D. Pollard, 2016).

En los eucariotas la actina polimeriza formando microfilamentos helicoidales, aunque dichos filamentos pueden ensamblarse diferencialmente constituyendo una amplia variedad de estructuras de orden superior con funciones específicas. Los metazoos producen hasta 15 estructuras diferentes a partir de un grupo común de monómeros de actina, entre los que se encuentran los lamelipodios, filopodios, microvellosidades, y las fibras de estrés. En las levaduras la red de filamentos de actina es similar a la de las células de metazoos, aunque menos extensa, organizándose en parches, cables y el anillo de actomiosina (Chhabra & Higgs, 2007; Mishra *et al.*, 2014) (**Figura 9**).

A continuación se procederá a una descripción detallada del citoesqueleto de actina en *S. pombe*, al ser el principal modelo de estudio en la presente Tesis Doctoral.

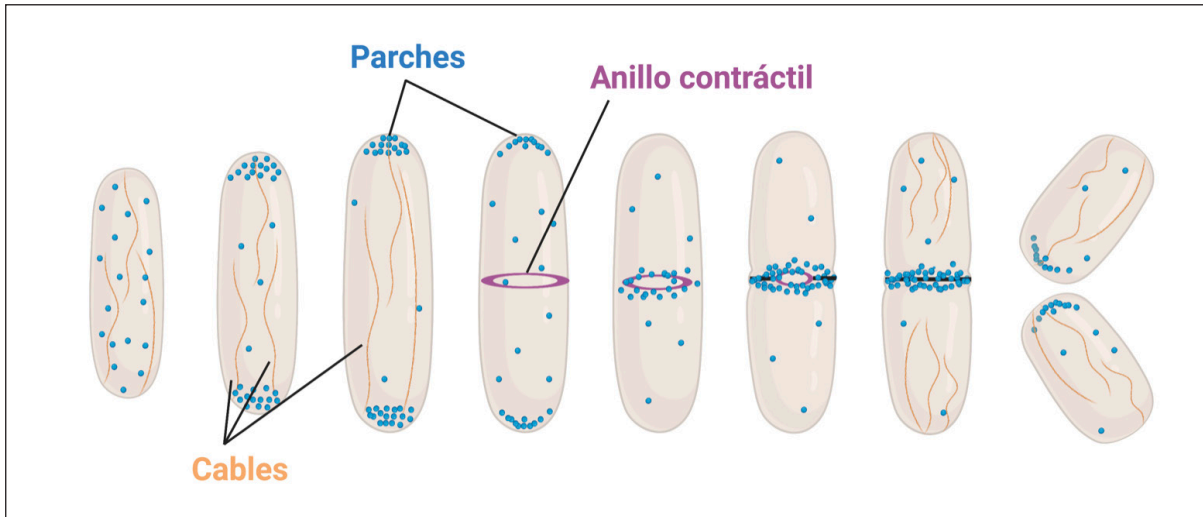


Figura 9. Organización del citoesqueleto de actina en *S. pombe*. Los parches se localizan en los polos de crecimiento durante la interfase, y en la zona ecuatorial de la célula durante la citocinesis. Los cables son nucleados desde los polos y se extienden hacia la zona central, mientras que el CAR se ensambla en la zona ecuatorial durante la división celular. Adaptado de Kovar et al. 2011.

1.4.3. El citoesqueleto de actina en *S. pombe*

S. pombe posee una única isoforma de actina codificada por el gen *act1⁺*. Como ya se ha mencionado, en esta y en otras levaduras como *S. japonicus* y *S. cerevisiae* la actina se organiza en forma de parches, cables y el anillo de actomiosina (**Figura 9**). La organización de estas estructuras es regulada por factores de nucleación específicos que a su vez aseguran el reclutamiento de ciertas ABPs, encontrándose su actividad y funciones biológicas altamente conservadas en la evolución (Kovar et al., 2011; Moseley & Goode, 2006).

1.4.3.1 Parches de actina

Los parches de actina son redes dendríticas densas de unos 150 filamentos cortos y ramificados de actina, con una longitud de entre 100 y 200 nm, que se localizan en las zonas de crecimiento polarizado durante la interfase y en la zona ecuatorial de la célula durante la citocinesis (**Figura 9**). Son estructuras móviles y altamente dinámicas, que están implicadas en el proceso de endocitosis mediada por clatrina (CME) (Berro et al., 2010; Mishra et al., 2014; Sirotkin et al., 2005, 2010).

El ensamblaje de los parches de actina es un proceso complejo en el que participan distintas proteínas con una cinética y un orden altamente precisos. La nucleación de los parches se produce alrededor de invaginaciones de vesículas endocíticas y es llevada a cabo por el complejo nucleador Arp2/3, formado por las proteínas Arp2 y Arp3 junto con otras cinco subunidades. La capacidad de Arp2/3 de nuclear parches de actina es regulada por la unión a ATP, la disponibilidad de monómeros de actina, y la activación del propio complejo (Espinoza-Sanchez et al., 2018). Así, su activación depende principalmente de los factores promotores de la nucleación Pan1 (proteína de unión a actina requerida para la correcta organización del citoesqueleto de actina), Wsp1 (proteína homóloga a WASp) y Myo1 (miosina de tipo I), que presentan funciones distintas, pero parcialmente solapantes. Pan1 actúa como una proteína adaptadora y se cree que podría iniciar la formación de los primeros filamentos de actina, ya que llega a la zona de nucleación mucho antes que el complejo Arp2/3 (Lee et al., 2000; Sirotkin et al., 2010). Wsp1 es el activador principal del complejo Arp2/3, y también recluta a Vrp1 (verprolina), a los parches de actina. La activación de Arp2/3 por parte de Myo1, un activador más débil del complejo en comparación con Wsp1, requiere la presencia de Vrp1 en la zona de nucleación (Kovar et al., 2011; Lee et al., 2000; Sirotkin et al., 2005, 2010). La llegada de los tres factores promotores de la nucleación activan el complejo al estimular un cambio conformacional que provoca la interacción *in vivo* de Arp2 y Arp3, favoreciendo su unión al filamento de actina y la reorganización del resto de subunidades del complejo, iniciándose entonces la nucleación (Espinoza-Sanchez et al., 2018). La llegada y activación del complejo Arp2/3 a la zona de nucleación provoca el reclutamiento local de numerosas ABPs entre las que se encuentra Fim1 (fimbriina), que participa en el entrecruzamiento de los filamentos de actina y contribuye a su reforzamiento alrededor de la invaginación endocítica. Además, Fim1 previene que los filamentos del parche se unan a Cdc8 (tropomiosina), favoreciendo la actuación del factor despolimerizante de actina Adf1 (cofilina) (Skau & Kovar, 2010). Adf1 “corta” los filamentos madre preexistentes de actina que actúan como base para la generación de nuevos parches de actina (Q. Chen & Pollard, 2013). Adf1, junto con las proteínas capucha Acp1 y Acp2, participa en la regulación de la dinámica de la actina y la generación de fuerzas necesarias para la internalización de los parches (Nakano & Mabuchi, 2006). Tras su internalización, los parches pueden moverse de forma dirigida al asociarse aleatoriamente con los cables de actina, o de forma no dirigida independientemente de los cables (R. J. J. Pelham & Chang, 2001). A continuación los parches se desensamblan rápidamente para permitir la fusión de la vesícula con los endosomas y el reciclaje de la actina. El desensamblaje de los parches es mediado por distintas ABPs entre las que destaca Gmf1, una proteína perteneciente a la superfamilia de la cofilina que se asocia con el complejo Arp2/3 y reduce su actividad. Además, la coronina Crn1, junto con Adf1 y Aip1 (proteína de unión a actina), también participan en el desensamblaje de los parches de actina (Kovar et al., 2011; Nakano et al., 2010).

Tal y como se ha mencionado, en *S. pombe* los parches de actina tienen un papel clave durante la endocitosis, mientras que en metazoos este proceso no depende estrictamente del citoesqueleto de actina. Ello es debido probablemente a la necesidad de las células de levadura de generar fuerzas para superar la presión

de turgencia existente (Aghamohammadzadeh & Ayscough, 2009; Gachet & Hyams, 2005). Además, los parches de actina también se localizan en la zona ecuatorial de la célula durante la citocinesis, contribuyendo al proceso de división celular (R. J. Pelham & Chang, 2002; R. J. J. Pelham & Chang, 2001). Recientemente se ha descrito que la localización en el sitio de división durante las etapas finales de la citocinesis de Cdc15 (proteína de tipo F-BAR), cuya función es necesaria para la formación del septo de división, es regulada por los parches de actina endocíticos ensamblados por el complejo Arp2/3 (Onwubiko *et al.*, 2019).

1.4.3.2. Anillo de actomiosina

El anillo contráctil de actomiosina (CAR), es una estructura compleja formada por filamentos de actina antiparalelos no ramificados, miosinas de tipo II y otras ABPs, que a su vez pueden asociarse con hasta 100 proteínas diferentes (Kovar *et al.*, 2011; Mishra *et al.*, 2014). En *S. pombe* los filamentos de actina que se incorporan al anillo son nucleados principalmente por la formina Cdc12 (Kovar *et al.*, 2003; R. J. Pelham & Chang, 2002). El CAR es una estructura esencial para la citocinesis cuya formación se produce al final de la mitosis y determina la posición donde se producirá la división celular (T. D. Pollard & Wu, 2010) (**Figura 9**). Su posicionamiento, dinámica de formación, y regulación están altamente coordinados, tal y como se explicará detalladamente en el **Apartado 1.5**.

1.4.3.3. Cables de actina

Los cables de actina se componen de haces de filamentos de actina cortos, no ramificados y empaquetados paralelamente, que se disponen a lo largo del eje longitudinal de la célula con el extremo barbado de crecimiento rápido orientado hacia el córtex celular (Kamasaki *et al.*, 2005) (**Figura 9**). En *S. pombe* la nucleación de los cables de actina interfásicos depende de la formina For3. Aunque los cables de actina no son esenciales para la viabilidad celular, contribuyen al crecimiento polarizado, están implicados en el transporte vesicular, y se asocian con los parches de actina que se mueven a través de ellos hacia el interior de la célula de manera dependiente de Arp2/3 (Feierbach & Chang, 2001; Nakano *et al.*, 2002; R. J. J. Pelham & Chang, 2001).

1.4.3.3.1. Las forminas como nucleadores de los cables de actina

Las forminas constituyen una familia de proteínas grandes multi-dominio muy conservadas evolutivamente entre los eucariotas, y regulan diversos procesos como la polaridad celular, la citocinesis y la organización del citoesqueleto. La mayoría de los organismos expresan múltiples isoformas de forminas, lo que sugiere la existencia de una regulación diferencial (Kovar, 2006). La principal característica que define a

las forminas es la presencia de sendos dominios FH1 (*Formin Homology 1*) y FH2 adyacentes cercanos al extremo carboxilo de la proteína. Adicionalmente, las forminas suelen contener otros dominios reguladores, entre los que se incluyen los dominios GBD (*GTPase-Binding Domain*) de unión a GTPasas, DID (*Diaphanous-related Formin Inhibitory Domain*), de dimerización (DD), y DAD (*Diaphanous-related Formin Autoregulatory Domain*). El dominio FH2 es un dominio de aproximadamente 400 aminoácidos cuya actividad es suficiente para la nucleación de nuevos filamentos de actina (Pruyne *et al.*, 2002; Sagot *et al.*, 2002). La mayoría de organismos eucariotas presentan múltiples secuencias correspondientes a dominios FH2 en su genoma, siendo los dominios FH2 de levaduras los más divergentes desde el punto de vista evolutivo (Higgs & Peterson, 2005). Este dominio forma homodímeros con el dominio FH2 de otra formina, quedando unidos mediante enlaces flexibles para generar una estructura de anillo cerrado en cuyo interior se ubica el filamento de actina (**Figura 10**). La flexibilidad de la estructura permite que cada uno de los dominios FH2 interactúe con las dos últimas subunidades del filamento, lo que permite a las forminas unir el monómero de actina recién incorporado a la vez que se mantienen unidas constantemente al extremo del filamento. Esta característica les confiere una gran procesividad durante la polimerización de actina, ya que no necesitan asociarse y disociarse del extremo barbado del filamento cada vez que se adiciona un nuevo monómero (Higgs, 2005; Kovar, 2006; Kovar & Pollard, 2004; Otomo *et al.*, 2005). Por su parte, el dominio FH1 es un dominio rico en prolinas con capacidad de unirse a la profilina, una proteína que secuestra G-actina y favorece su adición a los extremos del filamento, aumentando la velocidad de elongación del extremo barbado (F. Chang *et al.*, 1997; Romero *et al.*, 2004; Sagot *et al.*, 2002) (**Figura 10**). Los dominios FH1 y FH2 se encuentran flanqueados por dominios reguladores mucho menos conservados evolutivamente (Higgs & Peterson, 2005).

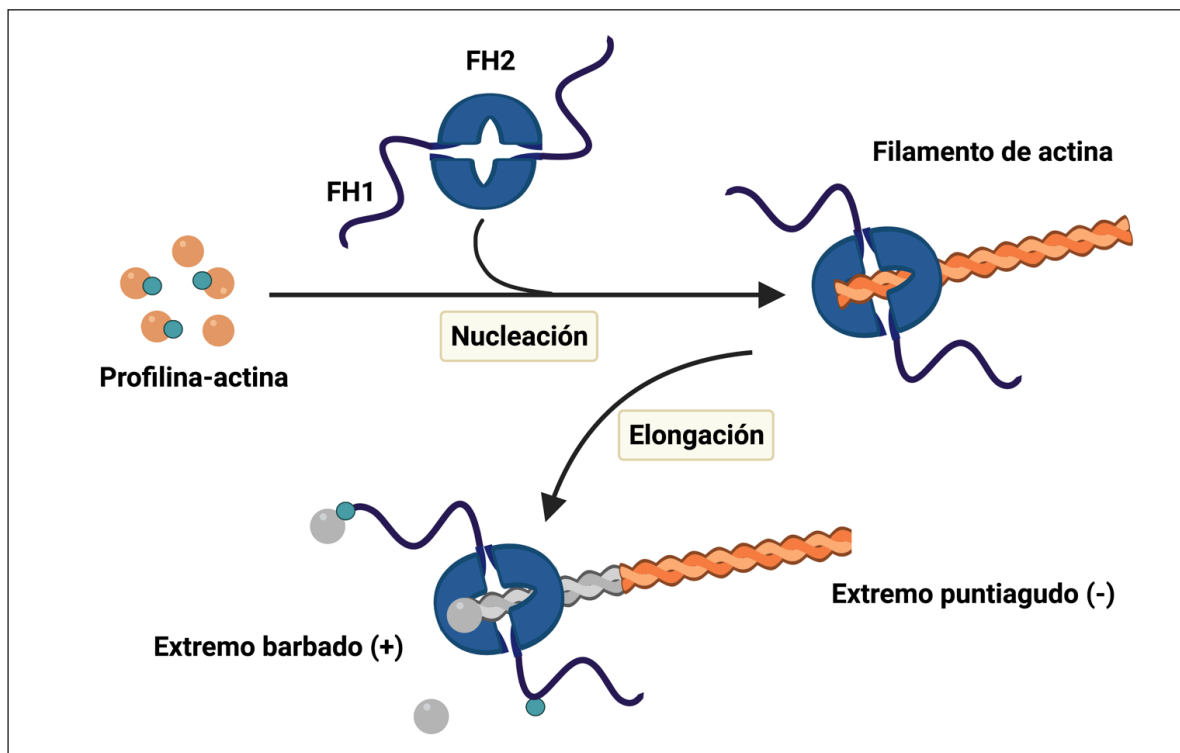


Figura 10. Proceso de nucleación y elongación del filamento de actina por la formina. Los dominios FH2 forman dímeros en cuyo interior se posiciona el filamento de actina. Los monómeros de actina unidos a ATP (representados en color gris) se añaden al extremo barbado del filamento en elongación o bien se unen a la profilina asociada al extremo FH1 adyacente, para ser adicionados posteriormente. Los monómeros de actina unidos a ADP (representados en color naranja) se localizan en el extremo puntiagudo del filamento. Adaptado de Kovar et al., 2006.

1.4.3.3.2. Mecanismos de regulación de las forminas

Debido al papel central que desempeñan en procesos esenciales para la supervivencia celular, las forminas son propensas a la regulación por diferentes mecanismos entre los que se encuentra la autoinhibición, las modificaciones postraduccionales (PTMs), o la interacción con otras proteínas.

La actividad de algunas forminas, como las pertenecientes a la subfamilia DRFs (*Diaphanous-related formins*), es regulada por la interacción intramolecular entre sus extremos carboxilo y amino. Es el caso de las forminas mDia1 y mDia2 de mamíferos, Bni1 de *S. cerevisiae* o For3 de *S. pombe*. En este grupo de forminas el dominio DAD situado en el extremo carboxilo terminal del dominio FH2 se une al dominio DID localizado en el extremo amino terminal. La interacción DAD-DID es suficiente para que se produzca la autoinhibición de la proteína (**Figura 11**). Las proteínas de la familia de las Rho GTPasas pueden unirse en su forma activa al dominio GBD de las forminas, liberando la interacción DAD-DID y eliminando dicha autoinhibición (Breitsprecher & Goode, 2013; Higgs, 2005) (**Figura 11**). No obstante, no todas las forminas presentan dominios de tipo DAD, por lo que es altamente probable que existan mecanismos de regulación adicionales entre las distintas forminas (Higgs & Peterson, 2005).

En cuanto a las PTMs, existen forminas cuya actividad es regulada por fosforilación. Así, la formina Bni1 de *S. cerevisiae* es fosforilada en sus extremos carboxilo y amino por Prk1, una quinasa reguladora del citoesqueleto de actina, favoreciendo la transición del estado autoinhibido al activo (J. Wang et al., 2009). En mamíferos, las forminas FHOD1 y mDia2 son también fosforiladas en su extremo carboxilo terminal por la proteína quinasa dependiente de Rho ROCK, un hecho que interrumpe la interacción intramolecular y favorece su activación (Staus et al., 2011; Takeya et al., 2008). Las forminas también pueden estar reguladas por ubiquitinación, como es el caso de Bn1 y Bnr1 en *S. cerevisiae*, cuya correcta localización y activación es modulada por las E3 ubiquitín ligasas Dma1 y Dma2 (Juanes & Piatti, 2016). Por el contrario, la ubiquitinación de la formina mDia2 promueve su degradación al final de la mitosis (DeWard & Alberts, 2009).

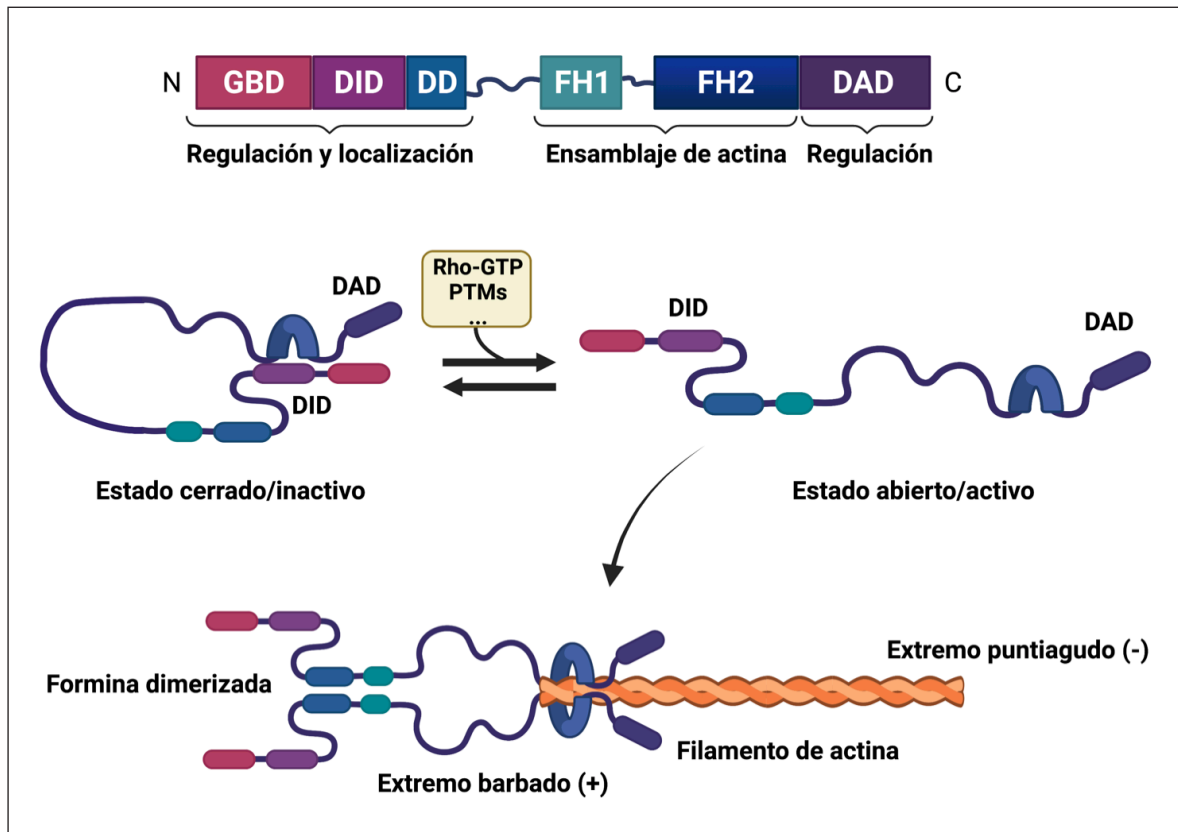


Figura 11. Mecanismo de regulación de las forminas. La asociación del dominio C terminal DAD con el dominio N terminal DID favorece la conformación cerrada e inactiva de la formina. La unión de Rho GTPasas al dominio GBD, o la presencia de PTMs inducen el paso a la forma abierta y activa. Adaptado de Kovar et al. 2006.

1.4.3.3.3. La formina For3

For3 es una formina no esencial perteneciente a la subfamilia DRF cuya regulación espaciotemporal es crítica para la correcta organización y función de los cables de actina durante el crecimiento polarizado en *S. pombe*. For3 se localiza inicialmente de manera transitoria en los polos celulares, donde se activa y polimeriza los cables de actina con gran procesividad. No obstante, el ciclo de nucleación de actina es de corta duración, y For3 vuelve a inactivarse a los pocos segundos, disociándose del córtex celular junto con el filamento de actina. A continuación se desplaza hacia el interior de la célula mediante flujo retrógrado junto con los cables de actina durante la elongación. Dicho movimiento es debido al continuo ensamblaje y crecimiento de los filamentos de actina desde el pelo celular mediado por otras moléculas de For3 activas (Martin & Chang, 2006; H. Wang & Vavylonis, 2008).

Tal y como se mencionó en el **Apartado 1.4.1.1**, la selección del sitio de ensamblaje de los cables de actina se establece inicialmente gracias a la acción de los microtúbulos. El complejo Tea1-Tea4 es transportado hacia el polo de la célula a través del extremo + de los microtúbulos. En dicha ubicación se ancla a la membrana por la interacción de Tea1 con Mod5 y Tea3, y recluta a los componentes del complejo del

polarisoma entre los que se encuentran For3 y sus activadores (Feierbach et al., 2004; Martin et al., 2005; Minc et al., 2009) (**Figura 8**). La transición de For3 desde su estado autoinhibido hacia una conformación activa es desencadenada por la acción de la Rho GTPasa esencial Cdc42 (Martin et al., 2007) (**Figura 12**). Cdc42 en su estado activo se une a For3 en su extremo amino terminal en las proximidades del dominio DID, eliminándose la interacción intramolecular entre los dominios DAD-DID, y favoreciendo la transición de la formina hacia una conformación abierta y activa. Este cambio conformacional es esencial para la estabilización de For3 y su adecuada localización subcelular (Martin et al., 2007) (**Figura 12**). Paralelamente, Cdc42 regula la integridad y la localización en los polos de Pob1, una proteína adaptadora esencial de la familia Boi implicada en el control de la polaridad celular y el tráfico de vesículas (Nakano et al., 2011; Rincó et al., 2009). Pob1 interacciona con For3 junto con Cdc42, y actúa como una proteína de anclaje que media la adecuada localización de For3 en los polos celulares, además de facilitar su activación (Rincó et al., 2009) (**Figura 12**). La consecución de una conformación abierta de For3 es también mediada por su interacción con Bud6, una ABP cuya localización depende de Tea1, y que actúa aguas abajo de esta durante el establecimiento del crecimiento polarizado (Glynn et al., 2001). Bud6 se une a For3 por su extremo carboxilo terminal cerca del dominio DAD, y aunque su función no está del todo clara, se cree que podría ayudar a mantener la formina en una conformación permisiva para el acceso de Cdc42, facilitando su activación. Además, Bud6 participa en el anclaje de For3 a los polos celulares (Martin et al., 2007) (**Figura 12**). A pesar de que For3 es una proteína que se fosforila considerablemente *in vivo* (Kettenbach et al., 2015; Swaffer et al., 2018), hasta el momento se desconocen los mecanismos responsables de dicha PTM, y tampoco existen evidencias de que For3 se encuentre regulada por ubiquitinación, tal como se ha demostrado para otras forminas (**ver Apartado 1.4.3.3.2**).

Los cables de actina nucleados por For3 sirven como vías de transporte de vesículas gracias a la acción de proteínas motoras como la miosina de tipo V Myo52. Por lo tanto, los cables tienen un papel clave en la regulación del crecimiento polarizado ya que las miosinas de tipo V transportan los componentes necesarios para la síntesis de la pared celular (Motegi et al., 2001; Presti et al., 2012). Entre las proteínas asociadas a los cables de actina nucleados por For3 se encuentran la tropomiosina Cdc8 y la coronina Crn1, que facilitan y estabilizan la interacción miosina-actina (Kovar et al., 2011; R. J. J. Pelham & Chang, 2001). A pesar de no ser esencial para el proceso de citocinesis (Martin & Chang, 2006), For3 también se localiza en el plano medio de la célula durante el ensamblaje del CAR, y desempeña un papel relevante durante la fase de constricción (Coffman et al., 2013; Martin et al., 2007). De hecho, Myo52 participa en el transporte de vesículas hacia la zona de división a través de los cables de actina nucleados por For3 (Presti et al., 2012; N. Wang et al., 2016). Además, la función de For3 se convierte en esencial durante el ensamblaje del CAR en mutantes hipomorfos de la formina Cdc12, lo que sugiere que For3 coopera con Cdc12 para la nucleación de los filamentos de actina que posteriormente se incorporarán al CAR durante la citocinesis (Coffman et al., 2013). For3 también se encarga de la nucleación de los cables de actina interfásicos en *S. japonicus* (Kinnaer et al., 2019). Estos cables tienen un papel fundamental en el crecimiento polarizado durante el

desarrollo filamentoso, ya que los mutantes carentes de For3 presentan una morfología redondeada y son incapaces de formar hifas (Kinnaer et al., 2019).

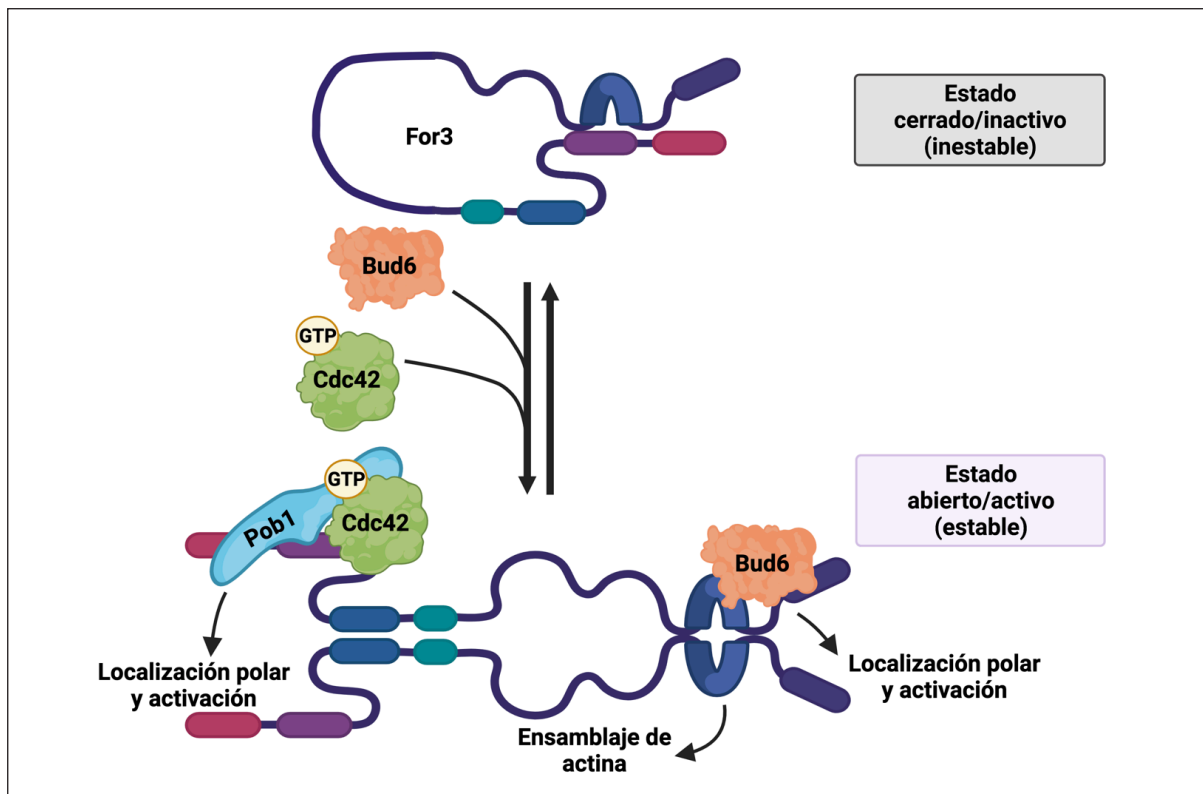


Figura 12. Modelo de la activación y localización de For3. Pob1 se localiza en los polos celulares gracias a su interacción con Cdc42 y ambas proteínas favorecen la localización de For3 en los extremos de la células, así como su paso a conformación activa. Bud6 se une al extremo C terminal de For3 actuando también como anclaje y activador de la formina. Adaptado de Rincón et al., 2009.

1.5. La citocinesis en *Schizosaccharomyces*

La citocinesis es la etapa final del ciclo celular en la que una célula madre se divide físicamente para dar lugar a dos células hijas independientes. Se trata de un proceso complejo y altamente regulado, que debe estar coordinado espacial y temporalmente con la mitosis para asegurar que el material genético se reparta de forma equitativa entre las dos células resultantes. Los fallos en la regulación de la citocinesis son deletéreos para los seres vivos, ya que conducen a la aparición de células aneuploides, que en muchos casos son el punto de partida del desarrollo tumoral en metazoos (Lens & Medema, 2019; Normand & King, 2010). Los mecanismos de control de la citocinesis han de ser robustos, pero a la vez lo suficientemente flexibles para responder de manera eficiente frente a los cambios ambientales, ya que estos cambios determinan en último término si se dan las condiciones adecuadas para la proliferación celular. Con este fin las células han desarrollado elaborados mecanismos regulatorios entre las diferentes rutas de señalización que participan en la citocinesis, y que incluyen múltiples mecanismos de interacción funcional y circuitos de retroalimentación (Srivastava et al., 2016).

En las células de metazoos y levaduras la citocinesis conlleva una profunda reorganización del citoesqueleto y se encuentra ligada a la formación del CAR, cuya contracción al final de la anafase B es determinante para que se produzca la separación celular. Este mecanismo de división surgió hace millones de años a partir de un ancestro común de metazoos, amebas y hongos. Por este motivo las proteínas que participan en el proceso de citocinesis, así como los mecanismos que regulan su dinámica de formación y desensamblaje, se encuentran fuertemente conservados evolutivamente, y en la levadura de fisión se conocen mejor que en cualquier otro eucariota incluyendo a las células animales (T. D. Pollard & Wu, 2010). A continuación, se describen las diferentes etapas del proceso de citocinesis en *S. pombe* (**Figura 13**) y *S. japonicus* ya que, aunque ambas levaduras se dividen por fisión medial, presentan diferencias notables en la organización temporal y la regulación de este proceso.

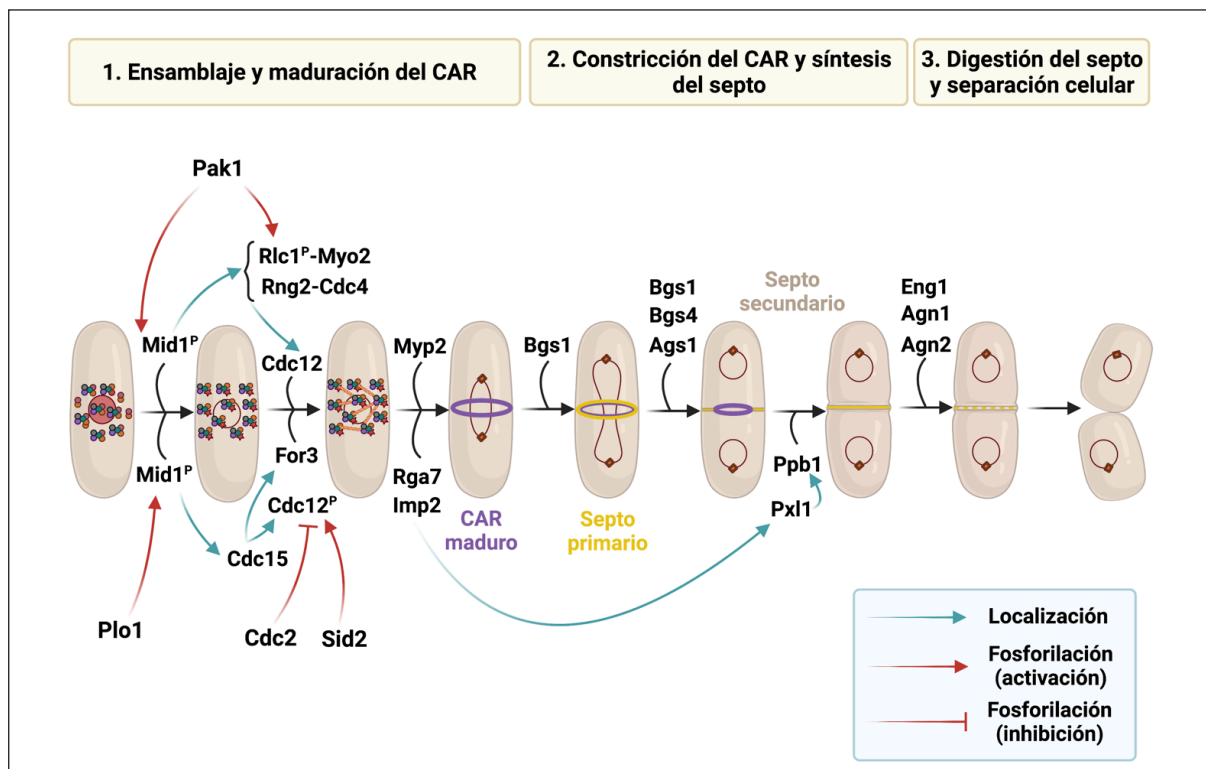


Figura 13. La citocinesis en *S. pombe*. La posición del núcleo en la zona media de la célula determina el sitio de división. La proteína similar a la anilina de mamíferos Mid1 se localiza en el interior del núcleo y su fosforilación por Plo1 al final de la fase G2 promueve su exportación masiva al citoplasma. Además, Mid1 es fosforilada por Pak1, lo que favorece su interacción con los nodos precursores del anillo que se localizan alrededor del núcleo. Durante la maduración de dichos nodos Mid1 recluta a Rng2 y a las cadenas ligera esencial (Cdc4), pesada (Myo2) y ligera reguladora (Rlc1) de la miosina II, además de a Cdc15. Antes de entrar en metafase tanto el módulo de Cdc15 como el formado por Rng2-miosina II reclutan a la formina esencial Cdc12, encargada de la nucleación de cables de actina que se incorporarán al CAR, y cuya activación e inhibición están reguladas por un mecanismo de fosforilación mediado por Sid2 y Cdc2, respectivamente. En este punto la formina nucleadora de cables interfásicos también se localiza en el CAR. Tras el ensamblaje del anillo se produce una fase de maduración del mismo en la que la miosina de tipo II Myp2 y las proteínas de tipo F-BAR Rga7 e Imp2 se acumulan en el CAR. Una vez que el CAR ha madurado comienza su constricción, y simultáneamente se produce la síntesis del septo de división gracias a las glucán sintetas Bgs1, Bgs4 y Ags1. Finalmente se produce la separación de las células hijas debido a la fuerza generada por las miosinas durante la constricción del CAR, así como a la acción de las glucanasas Eng1, Agn1 y Agn2, que digieren el septo primario.

1.5.1. Determinación del sitio de división celular y formación de nodos

A pesar de que la citocinesis es un proceso evolutivamente muy conservado, la selección del sitio de división varía entre las células eucariotas, y se establece en diferentes puntos del ciclo celular. En las células animales el determinante principal del posicionamiento del surco de división es el huso mitótico, y la selección tiene lugar durante la mitosis, concretamente durante la anafase tardía y/o la telofase (Glotzer, 2017). En *S. cerevisiae* las septinas determinan el plano de división durante la fase G1 de la interfase al reclutar a las proteínas marcadoras del sitio de gemación a la región adyacente al mismo (Oliferenko et al., 2009). En *S. pombe* la selección del sitio de división ocurre durante la fase G2 del ciclo celular, y depende de la señalización por Mid1, una proteína similar a la anilina de mamíferos (Sohrmann et al., 1996). Los precursores de la formación del anillo se ensamblan en nodos que se disponen alrededor del núcleo y pueden ser de dos tipos: los nodos de tipo 1 y los nodos de tipo 2 (Akamatsu et al., 2014; Wu et al., 2006) (**Figura 14**). Los nodos de tipo 1 son los únicos que se encuentran en la zona media de la célula durante la interfase y contienen a la proteína similar a la anilina Mid1, así como a las quinasas de ciclo celular Wee1, Cdr1 y Cdr2 (**Figura 14**). En los nodos de tipo 2 se encuentra Blt1, una proteína de anclaje con la capacidad de autoensamblarse y que interacciona con Nod1 (proteína de nodos mediales corticales), Gef2 (GEF de Rho GTPasa) y Klp8 (proteína similar a kinesina). Los nodos de tipo 2 se localizan en el polo celular procedente de la división anterior (Akamatsu et al., 2014) (**Figura 14**). La organización de los nodos de tipo 1 depende de la SAD-quinasa Cdr2, que tiene la capacidad de autoensamblarse y de interaccionar con otras proteínas para formar los nodos (Akamatsu et al., 2014). Así, Cdr2 interacciona con Mid1 y la recluta a la zona media de la célula, anclándose en el córtex celular por medio de su extremo carboxilo terminal (Morrell et al., 2004; Moseley et al., 2009), y promoviendo el reclutamiento de Wee1 y su inhibidor Cdr1/Nim1. Cdr1 y Cdr2 fosforilan e inhiben a Wee1, favoreciendo la desfosforilación de la quinasa dependiente de ciclina (CDK) Cdc2 y la entrada en mitosis. Por tanto, la presencia en los nodos de estas quinasas determina que estos se comporten como centros de señalización que regulan la progresión del ciclo celular (Rincón & Paoletti, 2016). La localización de los nodos de tipo 1 durante la interfase, restringida a la zona ecuatorial, depende de la quinasa DYRK (*Dual-specificity Tyrosine Phosphorylation-regulated Kinase*) Pom1 (Celton-Morizur et al., 2006; Padte et al., 2006) (**Figura 14**). Pom1 forma un gradiente cortical y se acumula en los polos celulares debido a un mecanismo de autofosforilación que favorece su disociación de la membrana, y que es limitado localmente en los polos gracias a la acción de la fosfatasa de tipo PP1 Dis2, cuya localización polar depende de la interacción con el complejo Tea1-Tea4 (Hachet et al., 2011). Pom1 fosforila en los polos celulares a Cdr2 en su extremo carboxilo terminal, impidiendo su unión a la membrana plasmática y evitando que se formen nodos de tipo 1 en esta localización (Martin & Berthelot-Grosjean, 2009; Moseley et al., 2009; Rincón et al., 2014). Este mecanismo de regulación es el elemento central de la red de geometría celular (CGN), que establece tanto la posición del plano de división como el momento de entrada en mitosis (Moseley et al., 2009). Conforme avanza la fase G2 los nodos de tipo 2, que están localizados en los polos, son reclutados por los nodos de tipo 1 hacia la zona de división, y forman los nodos interfásicos ecuatoriales precursores del anillo (**Figura 14**).

Además de formar parte de los nodos precursores del anillo, Mid1 también se acumula en el núcleo (**Figura 14**). Al final de la fase G2 la polo quinasa Plo1 fosforila a Mid1 en el núcleo y promueve su exporte y activación en el espacio extracelular. Estos cambios en el estatus de Mid1 son necesarios para la maduración de los nodos precursores del anillo y el reclutamiento de otras proteínas (Almonacid *et al.*, 2011; Bähler *et al.*, 1998) (**Figura 14**). Por lo tanto, la posición del núcleo en la célula es crítica para la selección del plano de división (Daga & Chang, 2005). A su vez, la posición del núcleo viene determinada por los microtúbulos interfásicos, que generan fuerzas de empuje derivadas de su propia dinámica de polimerización. Dichas fuerzas son transmitidas hacia la envuelta nuclear y mantienen el núcleo en el centro geométrico de la célula (Daga *et al.*, 2006; Tran *et al.*, 2001). Este mecanismo de señalización positiva ejercido por el núcleo prevalece sobre la señalización negativa procedente de los polos celulares (Almonacid *et al.*, 2009). De manera análoga, en *S. japonicus* la posición del núcleo es controlada por los microtúbulos tanto en su forma levaduriforme como en la filamentosa. No obstante, en las hifas el núcleo está parcialmente desplazado hacia la vacuola, lo que sugiere que las fuerzas ejercidas por los microtúbulos que crecen hacia la vacuola son más débiles que las de los que se desarrollan hacia el extremo de la hifa (Kinnaer *et al.*, 2019).

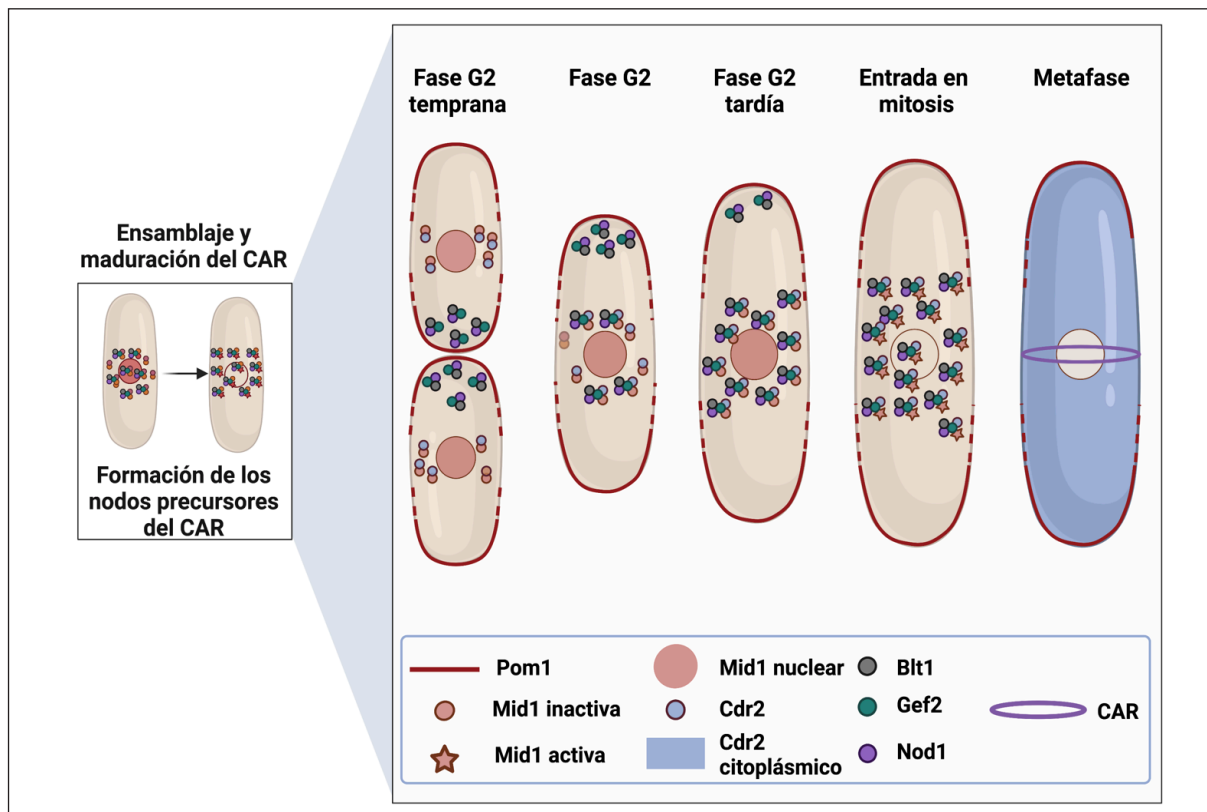


Figura 14. Dinámica de ensamblaje de los nodos de tipo 1 y 2 y posicionamiento del plano de división en *S. pombe*. Mid1 se localiza en los nodos mediales corticales ensamblados por Cdr2 durante la interfase. Una fracción adicional de Mid1 se localiza en el núcleo, y cuando las células entran en mitosis dicha fracción es activada y exportada al citoplasma. Una vez activa, Mid1 promueve la maduración de los nodos corticales que finaliza con el ensamblaje del CAR. A su vez, la quinasa Pom1 forma un gradiente cortical que restringe la localización de los nodos de Cdr2 a la zona ecuatorial. Adaptado de Rincón & Paoletti, 2016.

A diferencia de *S. pombe*, *S. japonicus* no ensambla el CAR hasta que la segregación cromosómica se ha completado (**Figura 4**), de manera que no existe relación entre la posición del núcleo y la selección del sitio de división (Gu et al., 2015; Kinnaer et al., 2019). En *S. japonicus* Mid1 (SjMid1) muestra una distribución cortical durante todo el ciclo celular y no se localiza en el núcleo, al presentar en su secuencia una inserción de 17 aminoácidos que elimina la señal de localización nuclear (NLS) existente en la proteína ortóloga de *S. pombe* (Gu et al., 2015). Pese a carecer de un mecanismo de señalización nuclear para el posicionamiento del plano de división, en *S. japonicus* SjMid1 y SjCdr2 regulan la formación de los nodos precursores del anillo que a su vez reclutan a la proteína de tipo F-BAR Cdc15 hacia la zona ecuatorial, sirviendo de anclaje principal para los componentes del CAR (Gu et al., 2015). No obstante, en *S. japonicus* Cdc15 también puede localizarse en la zona media de la célula en ausencia de Mid1. Ello es debido a la existencia de un mecanismo de señalización procedente de la inhibición de Cdc15 en los polos celulares mediado por Pom1, siendo este mecanismo el que regula la selección del plano de división (Gu et al., 2015; Gu & Oliferenko, 2015; Kinnaer et al., 2019). En *S. pombe* también existe un mecanismo de oclusión de los polos celulares que colabora en el establecimiento del plano de división mediante la fosforilación de Cdc15 por Pom1, inhibiendo así su interacción con la paxilina (Px1) y la proteína de unión a membrana Fic1. Este mecanismo favorece la formación de anillos en la zona ecuatorial y no en los polos celulares (Bhattacharjee et al., 2020; Rincón & Paoletti, 2016)

1.5.2. Maduración de los precursores del CAR

El proceso de ensamblaje del CAR comienza con la maduración de los nodos durante la entrada en mitosis, considerándose la separación de los SPBs como referencia del inicio de la mitosis en *S. pombe* (Wu et al., 2003). La salida de Mid1 del núcleo y su acumulación en la zona ecuatorial determina el inicio de este proceso. Para ello, la polo quinasa Plo1 fosforila a Mid1 en su secuencia de exporte nuclear (NES) situada en su extremo amino terminal, desencadenando su exportación masiva del núcleo (Almonacid et al., 2011). Una vez en el citoplasma, Mid1 se une a la membrana plasmática desde donde recluta y sirve como plataforma de anclaje de diversos componentes esenciales para la formación del CAR (Celton-Morizur et al., 2004) (**Figura 15**). Además, Mid1 también es fosforilada en su extremo amino por la PAK quinasa de polaridad Pak1, cuya activación depende de Cdc42. Dicha fosforilación promueve la asociación de Mid1 con los nodos precursores del anillo y favorece el correcto ensamblaje del CAR (Magliozzi et al., 2020). Durante esta etapa Cdr2 se disocia gradualmente de los nodos en maduración y pasa a tener una localización citoplasmática gracias a su interacción con Rad24 (proteína de tipo 14-3-3 con capacidad de secuestrar a otras proteínas), siendo este proceso resultado de su fosforilación previa por la quinasa Sid2 perteneciente a la ruta de inicio de la septación (SIN) (Rincón et al., 2017).

Mid1 recluta en primer lugar a Rng2 (**Figura 15**), una proteína esencial relacionada con la proteína IQGAP1 de mamíferos. Dicha interacción se establece entre el dominio amino terminal de Mid1, previamente fosforilado por Plo1 y Pak1, y el extremo carboxilo terminal de Rng2 (Eng et al., 1998; Padmanabhan et al., 2011). Simultáneamente se recluta a Cdc4, la cadena ligera esencial de la miosina II, que interacciona con los motivos IQ de Rng2, de manera que Cdc4 y Rng2 se pueden asociar y disociar conjuntamente de Mid1 (D'souza et al., 2001; Laporte et al., 2011; McCollum et al., 1995; Tebbs & Pollard, 2013) (**Figura 15**). La llegada de los complejos Rng2-Cdc4 a los nodos desencadena la activación de un bucle de retroalimentación positiva que favorece la acumulación de más moléculas de Mid1 en la zona ecuatorial durante la mitosis (Laporte et al., 2011). El ensamblaje del complejo Mid1-Rng2-Cdc4 promueve el reclutamiento de la cadena pesada de la miosina II Myo2 y de Rlc1, su cadena ligera reguladora (Kitayama et al., 1997; Laporte et al., 2011; Le Goff et al., 2000) (**Figura 15**). La asociación de Myo2 con Cdc4 a través del primer motivo IQ de Myo2 estabiliza a la miosina y favorece su acumulación en los nodos, mientras que Rlc1 se asocia al segundo motivo IQ y modula su actividad mediante fosforilación (Rincón & Paoletti, 2016). Rng2 y Myo2 constituyen el denominado módulo funcional I implicado en la maduración de los nodos. Aproximadamente 5 minutos antes de la separación de los SPBs, Mid1 recluta directamente a Cdc15 a los nodos, constituyéndose el módulo funcional II (Laporte et al., 2011) (**Figura 15**). Cdc15 es una proteína esencial fundadora de la familia PCH (*Pombe Cdc15 Homology*), que presenta en su extremo amino terminal un dominio F-BAR de unión a la membrana plasmática, y en su extremo carboxilo un dominio SH3 de unión a otras proteínas. Las proteínas de tipo PCH sirven como nexo de unión entre la membrana plasmática y el citoesqueleto, participando en distintos procesos celulares como la citocinesis (F. Chang et al., 1997; Fankhauser et al., 1995; Roberts-Galbraith & Gould, 2010). Es importante destacar que la localización y función de Cdc15 son reguladas por fosforilación dependiente del ciclo celular. Así, su hiperfosforilación durante la interfase induce una conformación proteica cerrada inactiva, mientras que la hipofosforilación durante la mitosis favorece la transición hacia una conformación abierta que favorece su oligomerización y asociación con la membrana a través del dominio F-BAR (Roberts-Galbraith et al., 2010). La fosforilación de Cdc15 es regulada espacialmente y depende de Pom1, inhibiendo su unión a la membrana plasmática en los polos celulares de manera similar a lo que ocurre en *S. japonicus* (Bhattacharjee et al., 2020; Gu et al., 2015). Por el contrario, Cdc15 es parcialmente desfosforilada por acción de la fosfatasa Clp1 (serín treonín fosfatasa perteneciente a la familia de Cdc14), que a su vez interacciona con Mid1 (Clifford et al., 2008).

En *S. japonicus*, la miosina II se recluta a la zona de división durante la fase G2 temprana, a diferencia de *S. pombe* que lo hace al inicio de la mitosis (**Figura 4**). La proteína Mid1 de los nodos ecuatoriales recluta a Rng2 y sirve de anclaje para la miosina II durante la interfase, y además recluta a Cdc15 al inicio de la mitosis. No obstante, y tal y como se ha comentado (**Apartado 1.5.1**), Cdc15 también se localiza en la zona media de la célula en ausencia de Mid1 debido a la señalización mediada por Pom1 procedente de los polos celulares, promoviendo el reclutamiento de la miosina durante la mitosis. Por tanto, aunque en *S. japonicus* Mid1 actúa como anclaje cortical para la miosina II durante la interfase, su presencia no es necesaria para el ensamblaje del CAR en la zona ecuatorial (Gu et al., 2015; Gu & Oliferenko, 2015).

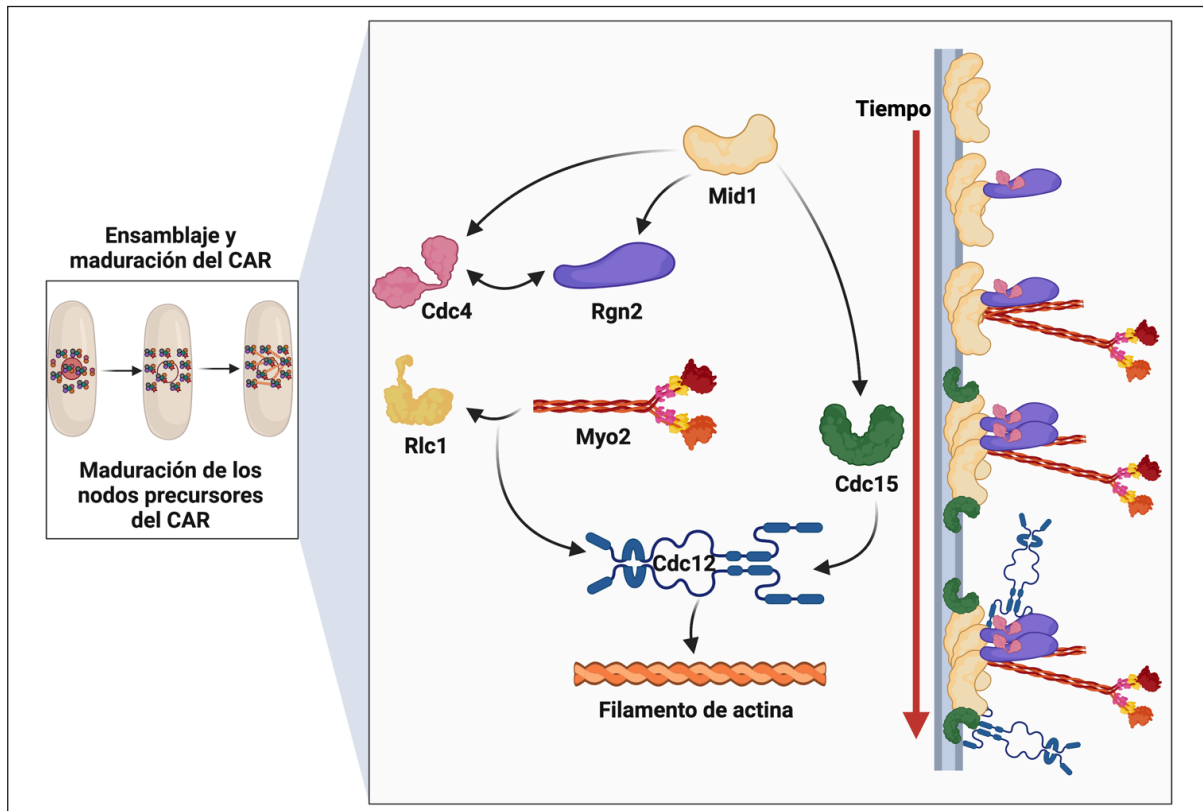


Figura 15. Dinámica de maduración de los nodos precursor del CAR y reclutamiento de Cdc12 en *S. pombe*. Tras la llegada de Mid1 a los nodos precursor del CAR estos maduran gradualmente hasta formar los nodos citocinéticos gracias a la llegada de diversas proteínas. En primer lugar, Mid1 recluta a Cdc4, la cadena ligera esencial de la miosina II, y a Rgn2, una proteína de tipo IQGAP que a su vez es la encargada de reclutar a Myo2 y Rlc1, las cadenas pesada y ligera reguladora de la miosina II respectivamente. A continuación, Mid1 recluta a la proteína de tipo F-BAR Cdc15. Finalmente, tanto el módulo de Cdc15 como el de Rng2-miosina II reclutan a la formina esencial Cdc12, encargada de la nucleación de los filamentos de actina que se incorporarán al CAR. Adaptado de Cheffings et al., 2016 y Laporte et al., 2011.

1.5.2.1. Reclutamiento de la formina Cdc12 y nucleación de F-actina

Instantes antes de entrar en metafase, tanto el módulo de Cdc15 como el formado por Rng2-miosina II (Myo2) reclutan a la formina esencial Cdc12 de forma independiente (Laporte et al., 2011; Willet, McDonald, Bohnert, et al., 2015) (**Figura 15**). Actualmente se desconoce el mecanismo preciso por el que el módulo I recluta a Cdc12 hacia los nodos. En cambio, se conoce que Cdc15 interacciona directamente con Cdc12 a través del dominio F-BAR, que media su anclaje a la membrana plasmática por medio de una secuencia de 20 aminoácidos situada en el extremo amino terminal de la formina. Dicha unión permite la localización muy próxima de Cdc12 a la membrana plasmática, formándose un espacio estrecho entre dicho orgánulo y el CAR durante la citocinesis (Willet, McDonald, Bohnert, et al., 2015).

El ensamblaje de los filamentos de actina que se incorporan al CAR comienza aproximadamente 2 minutos después de la separación de los SPBs, y depende de Cdc12 con la colaboración de la profilina Cdc3. Cdc3 interacciona con los monómeros de actina formando complejos que se unen a la secuencia rica en prolina del dominio FH1 de Cdc12, y transfiere los monómeros de actina hacia el extremo barbado del filamento. Cdc12 se encarga de la nucleación del filamento a partir de monómeros libres de actina, mientras que Cdc3 coopera con la formina durante la posterior elongación del mismo. Cdc12 media el anclaje de los filamentos de actina a los nodos citocinéticos (F. Chang *et al.*, 1997; Kovar *et al.*, 2003; Yonetani *et al.*, 2008). Adicionalmente, la tropomiosina Cdc8 en su forma acetilada se une a los cables de actina polimerizados por Cdc12 y Cdc3, favoreciendo su ensamblaje y elongación (Skau *et al.*, 2009; Skoumpla *et al.*, 2007). Paralelamente la formina For3 es reclutada a la zona de división mediante un mecanismo dependiente de Cdc15, y ensambla cables de actina unidos a la tropomiosina desacetilada. Estos cables sirven como refuerzo para el reclutamiento de Cdc12 a la zona de división cuando este falla por alguna razón (Coffman *et al.*, 2013; Willet, McDonald, & Gould, 2015). Sin embargo, la localización de Cdc12 no se restringe exclusivamente a la zona ecuatorial, ya que una fracción se extiende por todo el córtex celular (Coffman *et al.*, 2009). Durante la mitosis el “pool” de Cdc12 no ecuatorial también puede nuclear cables de actina que posteriormente son transportados hasta el CAR por medio de las miosinas Myo2 y Myo51. Sin embargo, estos cables no son tan eficientes para el ensamblaje del CAR como los que son nucleados por la formina en la zona media de la célula (Coffman *et al.*, 2013; J. Huang *et al.*, 2012).

A diferencia de la formina nucleadora de cables de actina For3 (**Apartado 1.4.3.3.3**), la localización y actividad de Cdc12 no se encuentran reguladas por un mecanismo de autoinhibición por interacción intramolecular, ni se ha descrito la existencia de Rho GTPasas activadoras (Yonetani *et al.*, 2008). En cambio, la actividad de Cdc12 está sometida a regulación por fosforilación dependiente del ciclo celular, hiperfosforilándose durante la mitosis (Bohnert *et al.*, 2013). Tal y como se describe a continuación (**Apartado 1.5.3.2.1**), la ruta SIN participa en la regulación del ensamblaje del CAR, así como en su mantenimiento y constricción. Durante la mitosis Sid2, la quinasa terminal de esta ruta, fosforila a Cdc12 en cuatro residuos de serina situados en el dominio de oligomerización de su extremo carboxilo, bloqueando la capacidad de la formina de agregarse. Dichas fosforilaciones favorecen la nucleación de actina y el ensamblaje del CAR (Bohnert *et al.*, 2013). Paralelamente, la CDK Cdc2 fosforila a Cdc12 en seis residuos de su extremo amino terminal, inhibiendo su interacción con el dominio F-BAR de Cdc15 y evitando de esta forma el ensamblaje prematuro del CAR (Willet *et al.*, 2018). En conjunto, estas observaciones ponen de manifiesto la existencia de múltiples mecanismos que regulan la actividad de las forminas durante el complejo proceso de la citocinesis.

En *S. pombe* el ensamblaje de cables de actina en la zona ecuatorial comienza inmediatamente después del reclutamiento de la miosina II hacia esa zona al inicio de la mitosis. En cambio, en *S. japonicus* los filamentos de actina no son nucleados hasta el final de la mitosis, tras la ruptura de la envuelta nuclear (Gu *et al.*, 2015). Actualmente se desconocen los mecanismos que median la nucleación de los cables de actina que se incorporarán al CAR en *S. japonicus*, por lo que sería interesante estudiar los mecanismos moleculares que regulan dicho proceso en este organismo. Aunque se sabe que el núcleo anafásico regula espacialmente la nucleación de actina, se desconoce si la señal que promueve su polimerización procede del compartimento nuclear o de una estructura asociada al núcleo como por ejemplo el SPB (Gu *et al.*, 2015).

1.5.3. Formación del anillo contráctil de actomiosina

Una vez generada la red de filamentos de F-actina se produce la coalescencia de los nodos, que se compactan rápidamente y maduran, formándose un anillo contráctil gracias a la acción de la miosina de tipo II Myo2. Existen dos modelos principales que explican el proceso de ensamblaje del CAR en *S. pombe* (**Figura 16**).

1.5.3.1. Modelo SCPR (Búsqueda, Captura, Empuje y Liberación)

Según la teoría de los “múltiples nodos” o SCPR (*Search, Capture, Pull, and Release*), la formina Cdc12 presente en los nodos maduros promueve la nucleación de filamentos de actina que se orientan aleatoriamente hacia el córtex celular. Dichos filamentos de actina pueden ser capturados por la miosina II de los nodos adyacentes. La miosina II de un nodo se desplaza a lo largo del filamento que ha capturado hasta su extremo barbado, el cual está anclado al primer nodo a través de Cdc12, y se generan fuerzas que permiten el acercamiento de ambos nodos. El resultado final es la compactación gradual de la red de nodos y filamentos de actina en una banda que constituye el CAR (Cheffings *et al.*, 2016; Vavylonis *et al.*, 2008) (**Figura 16**). La fuerza generada por Myo2 sobre los filamentos de actina unidos a Cdc12 provoca la inhibición mecánica reversible de la formina, necesaria para la adecuada condensación de los nodos precursores del CAR, permitiendo así una citocinesis eficaz (Zimmermann *et al.*, 2017). Las simulaciones realizadas sobre este modelo muestran que la interacción permanente entre los nodos conduciría a la formación de aglomerados en lugar de al ensamblaje de un anillo en la zona ecuatorial. Por lo tanto, es esencial que su interacción sea transitoria, consiguiéndose dicho estado mediante varios mecanismos. Entre ellos se encuentra la acción de la cofilina Adf1, que corta de forma aleatoria y libera los filamentos capturados o no capturados por la miosina II. También puede ser favorecido por la disociación de Myo2 del filamento de actina capturado, así como por la disociación de Cdc12 del extremo barbado del filamento (Q. Chen & Pollard, 2013; Vavylonis *et al.*, 2008). Rng2 también se incluye en este modelo, al con-

tribuir a la condensación de los nodos empaquetando filamentos de actina (Takaine *et al.*, 2009). A su vez, las proteínas Ain1 (α -actinina) y Fim1 (fimbrina) se localizan en la zona ecuatorial y son críticas para el ensamblaje del CAR, ya que cooperan con Myo2 al estabilizar los filamentos de actina (Laporte *et al.*, 2012).

La regulación de Myo2 constituye un punto de control esencial durante la etapa de compactación de nodos. La actividad motora de Myo2 es regulada positivamente por la chaperona Rng3 (Lord & Pollard, 2004), y también se encuentra sometida a regulación por fosforilación. La quinasa Pak1, cuya activación depende de Cdc42, fosforila a Rlc1, la cadena ligera reguladora de Myo2, aunque el efecto biológico de esta fosforilación no está claro. Así, varios estudios han mostrado que la fosforilación de Rlc1 disminuye la motilidad de Myo2 y evita que la citocinesis se produzca prematuramente (Loo & Balasubramanian, 2008; L. W. Pollard *et al.*, 2017). Por el contrario, otros trabajos sugieren que esta fosforilación incrementa la actividad motora de Myo2 (Sladewski *et al.*, 2009). Adicionalmente, la miosina de tipo V Myo51 contribuye a la fusión de los nodos aunque de manera más lenta que Myo2, y su actividad es esencial cuando Myo2 no se une correctamente a la actina (Laplante *et al.*, 2015).

1.5.3.2. Modelo del cable líder

Esta teoría propone que los filamentos de actina se ensamblan inicialmente a partir de un punto localizado en el centro de la célula en el que se acumula la forma Cdc12 junto con Cdc15. Desde este punto se extienden dos cables en direcciones opuestas alrededor de la circunferencia celular hasta que finalmente se unen formando el anillo (Arai & Mabuchi, 2002; F. Chang, 1999; Kamasaki *et al.*, 2005) (**Figura 16**). Cierta vez después de que se propusiera esta teoría se observó que Cdc12 no se localiza en un único punto denso, sino que se localiza en los nodos precursores del anillo (Coffman *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2006), y promueve el ensamblaje del CAR de acuerdo con el modelo SCPR (Vavylonis *et al.*, 2008). A pesar de que el modelo SCPR es el que mejor explica el ensamblaje del anillo en células silvestres, el mecanismo del cable líder podría participar en la formación del CAR en aquellas células que no forman nodos, como es el caso de los mutantes carentes de Mid1 (Hachet & Simanis, 2008), o en aquellas en las que la ruta SCPR no es adecuada, como por ejemplo en los protoplastos o en mutantes con morfología esférica (Cheffings *et al.*, 2016; Mishra *et al.*, 2013).

1.5.3.2.1. La ruta SIN (*Septation Initiation Network*)

Tal como se ha comentado, el ensamblaje del CAR no puede producirse mediante la ruta canónica a partir de los nodos precursores del anillo en aquellos mutantes carentes de Mid1 (*mid1* Δ). En estas células la formación del CAR sigue el modelo del cable líder, y es totalmente dependiente de la señalización por la ruta SIN y de la proteína F-BAR Cdc15 (Hachet & Simanis, 2008; Y. Huang *et al.*, 2008).

Cabe destacar que en esta situación la ruta de oclusión de los polos celulares es particularmente relevante (**Apartado 1.5.1**), al evitar que el ensamblaje del CAR se produzca en los extremos de la célula (Y. Huang *et al.*, 2008). La ruta SIN, ortóloga a la ruta MEN (*Mitotic Exit Network*) de *S. cerevisiae* y a la ruta *Hippo* de metazoos, es una cascada de proteínas quinasas que se encuentran asociadas al SPB en su cara citoplasmática. Estas proteínas transducen su señalización por fosforilaciones secuenciales, y su función principal consiste en la coordinación de la constricción del CAR con la septación, aunque también participa en el ensamblaje del CAR. Al inicio de la mitosis la ruta SIN se activa, y Sid2, la quinasa terminal de esta ruta de señalización, se localiza en la zona ecuatorial para fosforilar a distintos sustratos entre los que se encuentra la fosfatasa Clp1. A su vez, Clp1 desfosforila a Cdc15 y promueve su transición hacia una conformación abierta, favoreciendo su asociación con Cdc12 (Clifford *et al.*, 2008; Roberts- Galbraith *et al.*, 2010). Además, y como se ha descrito en el **Apartado 1.5.2.1**, la propia Cdc12 es fosforilada directamente por Sid2 en su dominio de oligomerización, evitando que la formina forme agregados, y promoviendo su actividad nucleadora de cables y el ensamblaje del CAR (Bohnert *et al.*, 2013).

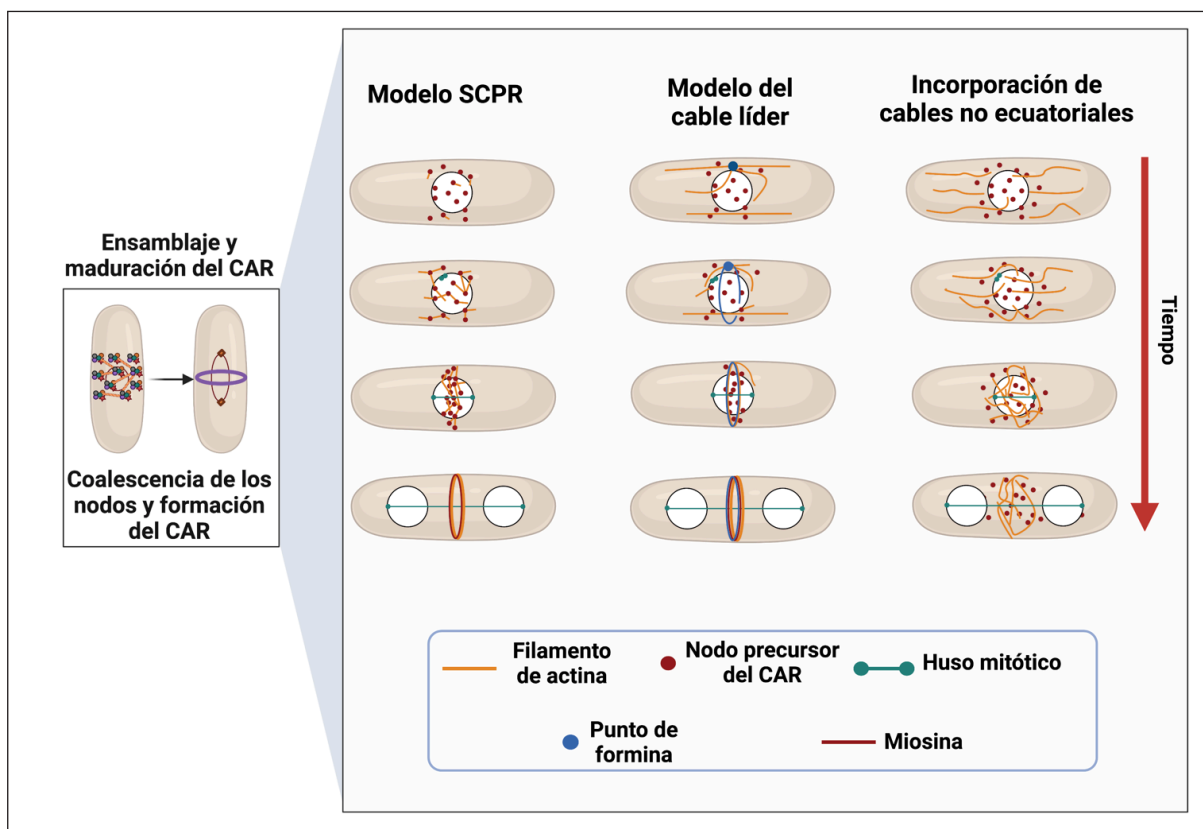


Figura 16. Modelos de ensamblaje del anillo de actomiosina en *S. pombe*. Según el modelo SCPR los nodos citocinéticos en los que se localiza la formina Cdc12 se encargan de nuclear los filamentos de actina que son capturados por las miosinas de otros nodos, generando una tensión que promueve la condensación progresiva de la red de nodos. En el modelo del cable líder la actina es nucleada desde un único punto donde se localiza la formina, y se va extendiendo progresivamente alrededor de la circunferencia celular hasta formar un anillo. El ensamblaje del anillo por incorporación de cables no ecuatoriales coopera con la vía SCPR pues no es lo suficientemente robusto como para ensamblar un anillo por sí solo. Adaptado de Cheffings *et al.*, 2016 y Bathe & Chang, 2009.

1.5.3.3. Incorporación de cables no ecuatoriales

Los cables de actina no ecuatoriales nucleados por Cdc12 y For3 (**Apartado 1.5.2.1**) pueden ser transportados al sitio de división e incorporarse directamente al CAR (Coffman *et al.*, 2009) (**Figura 16**). Este mecanismo coopera con la vía SCPR, ya que no es lo suficientemente robusto para ensamblar un anillo en su ausencia, aunque los cables no ecuatoriales que son transportados hasta la zona de división favorecen la compactación y el adecuado funcionamiento del CAR (Cheffings *et al.*, 2016; Coffman *et al.*, 2013; J. Huang *et al.*, 2012).

1.5.4. Maduración del anillo contráctil de actomiosina

Tras el ensamblaje del anillo se produce un periodo de maduración de entre 15 y 20 minutos durante el cual el CAR mantiene constante su diámetro, a la vez que se produce una profunda remodelación de sus componentes (R. J. Pelham & Chang, 2002). Durante esta etapa Mid1 deja de ser necesaria, y abandona el anillo tras ser fosforilada, ya que dicha fosforilación impide la unión de Mid1 a la membrana plasmática (Willet *et al.*, 2019). La proteína encargada del anclaje del anillo a la membrana tras la salida de Mid1 es Cdc15. Myp2, una segunda miosina de tipo II, se acumula en el anillo durante esta fase y actúa como uno de los principales motores de la constricción del anillo (Laplante *et al.*, 2015). Myp2 recluta hacia la zona de división a Mto1, una proteína que regula el ensamblaje del MTOC post-anafásico y que recientemente se ha demostrado que participa durante la citocinesis (Dundon & Pollard, 2020; Samejima *et al.*, 2010). Durante este periodo también localizan en el CAR dos proteínas de tipo F-BAR: Imp2 y Rga7, que regulan la estabilidad del anillo y se encargan de reclutar al sitio de división a la maquinaria implicada en la síntesis de la nueva pared celular del septo (**Figura 13**). De manera análoga a Cdc15, Imp2 recluta a través de su dominio SH3 a Fic1, una proteína que media la unión entre la membrana plasmática y el anillo; a Pxl1, que coopera con la β -glucán-sintasa Bgs1 en la formación del surco de división y en el anclaje del anillo contráctil en la membrana al inicio de la septación; y a Rgf3, un GEF de la Rho GTPasa Rho1 necesaria para la síntesis de glucano. Por su parte, Rga7 participa en la translocación de la glucán-sintasa Bgs4 desde el aparato de Golgi hasta la membrana plasmática de la zona ecuatorial (Rincon & Paoletti, 2016) (**Figura 13**).

1.5.5. Constricción del anillo, síntesis del septo y separación celular

La contracción del CAR y la síntesis del septo de división que finalmente conducen a la separación celular están coordinados a nivel espacio-temporal con la salida de mitosis, y en *S. pombe* es la ruta SIN la que regula ambos procesos (Johnson *et al.*, 2012). La mayor parte de las proteínas que conforman esta ruta son esenciales, y los mutantes que portan alelos hipomorfos de sus componentes suelen formar anillos que no están centrados, que acaban desensamblándose, y que no son capaces

de iniciar la síntesis del septo de división, dando lugar a células alargadas y multinucleadas. Este fenotipo se conoce genéricamente como fenotipo SIN (Simanis, 2015).

1.5.5.1. Mecanismo de constricción del anillo de actomiosina

Durante esta etapa disminuye la concentración de numerosas proteínas en el CAR como Ain1, Cdc15 o Rng2, de forma proporcional al diámetro celular (Wu & Pollard, 2005). La constricción del anillo depende principalmente de la actividad motora de la miosina de tipo II Myp2, aunque Myo2 puede suplir su función en su ausencia. Aunque la miosina de tipo V Myo51 no es suficiente para promover la constricción del CAR por sí misma, actúa como refuerzo de la actividad de Myo2 y Myp2 cuando su actividad se encuentra comprometida (Laplante *et al.*, 2015; Mishra *et al.*, 2013; Stachowiak *et al.*, 2014). Consecuentemente, los factores que facilitan la actividad motora de las miosinas, como Rng3 y Cdc8, son también importantes para que se produzca una correcta constricción (Mishra *et al.*, 2013). Además, las cofilinas participan cortando filamentos de actina del anillo de forma estocástica, de manera que el CAR se va desensamblando a la vez que se contrae (Michelot *et al.*, 2007; Rincón & Paoletti, 2016). Durante la fase de constricción Cdc12 y Rlc1 se localizan alrededor del anillo y monitorizan la tensión generada (Stachowiak *et al.*, 2014). Sin embargo, la fuerza producida por las miosinas durante la contracción del CAR no es suficiente para superar la presión de turgencia que existe en *S. pombe* para iniciar la formación del surco de división. Para ello es necesario que la formación del septo de división se produzca en paralelo a la contracción del CAR, cuyo inicio es determinado por la actividad de la ruta SIN (Proctor *et al.*, 2012; Thiyagarajan *et al.*, 2015).

1.5.5.2. Síntesis del septo de división

Durante las últimas etapas de la citocinesis, y de forma coordinada con la contracción del anillo, se produce la formación de un septo de división y la deposición de nueva membrana plasmática, constituyendo las barreras físicas que separarán a las dos células hijas. El septo de división es una estructura de tres capas que se ensambla en la zona ecuatorial de la célula, y está formado por un septo primario (PS), constituido principalmente por β -(1,3)-glucano lineal sintetizado por la β -glucán sintasa Bgs1/Cps1, flanqueado por dos capas de septo secundario (SS) compuesto de α -(1,3)-glucano lineal sintetizado por Ags1, además de glucomanano y β -(1,3)-glucano ramificado sintetizado por la β -glucán sintasa Bgs4 (García Cortés *et al.*, 2016) (**Figura 17**). El septo secundario constituirá la pared de los nuevos polos celulares formados tras la división de las células hijas. La síntesis del septo se produce en dos etapas que transcurren a diferente velocidad. La primera comienza durante la anafase B, tiene lugar lentamente y conduce a la síntesis del rudimento del septo formado únicamente por β -(1,3)-glucano lineal gracias a la acción de Bgs1, que es reclutada a la zona de división tras la activación de la ruta SIN. Durante esta fase es crítica la presencia de F-actina. Posteriormente, al inicio de la telofase, el septo se engrosa

progresivamente y a mayor velocidad hasta sintetizarse el septo completo (primario y secundario), siendo dicho proceso independiente de actina (G Cortés *et al.*, 2018; Ramos *et al.*, 2019). Por lo tanto, la mitosis y la formación del surco de división son eventos simultáneos y no sucesivos como se pensaba inicialmente (G Cortés *et al.*, 2018; Ramos *et al.*, 2019).

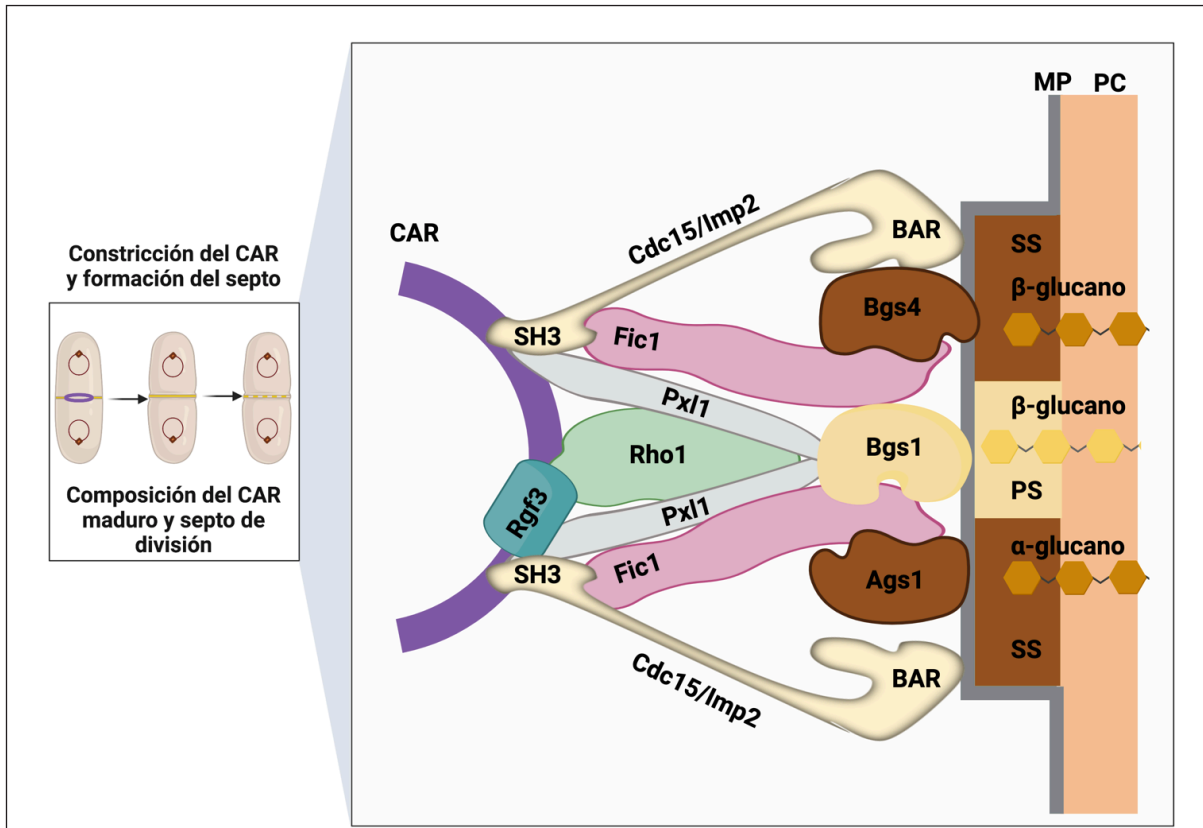


Figura 17. Componentes del anillo en su estadio maduro y composición del septo de división en *S. pombe*. La contracción del CAR está coordinada con la síntesis del septo de división. El septo de división está formado por un septo primario constituido por β -(1,3)-glucano lineal sintetizado por Bgs1 (representado en amarillo) y sendas capas de septo secundario compuesto principalmente por α -(1,3)-glucano lineal sintetizado por Ags1 y β -(1,3)-glucano ramificado sintetizado por Bgs4 (representados en marrón). En el CAR las proteínas de tipo F-BAR Cdc15 e Imp2 reclutan a Bgs1 y a su vez promueven la correcta localización de Pxl1, Fic1 y Rgf3. Rgf3 es un GEF que se encarga de la activación de la GTPasa Rho1. Rho1-GTP favorece la activación de las glucán sintetas y la síntesis de glucano. En conjunto, estas proteínas median el anclaje del CAR a la membrana plasmática. Adaptado de Pérez *et al.*, 2016.

Como se ha mencionado, la separación de las células hijas requiere una fuerza superior a la generada por las miosinas durante la contracción del anillo. Durante la maduración del anillo, Cdc15 participa en el transporte de Bgs1 desde el aparato de Golgi hasta la membrana plasmática de la zona ecuatorial (Arasada & Pollard, 2014). A su vez, Cdc15 favorece la correcta localización de Pxl1 en el CAR (Cortés *et al.*, 2015).

Pxl1 interacciona simultáneamente con Cdc15 y con Myo2 y colabora en el mantenimiento de la integridad del CAR (Pinar et al., 2008) (**Figura 17**). Recientemente se ha propuesto que Pxl1 también colabora en el anclaje del CAR a la membrana plasmática mediante su interacción simultánea con Cdc15 y con Bgs1 (**Figura 17**). Pxl1 actuaría como un mecano-sensor que transmite la tensión generada durante la contracción del CAR hacia Bgs1, activando la síntesis de glucano y contribuyendo a generar la fuerza suficiente para oponerse a la ejercida por el turgor celular y permitir finalmente la separación de las células hijas (García Cortés et al., 2016; Proctor et al., 2012). La activación de Bgs1 favorece la posterior concentración de Ags1 y Bgs4 en la membrana plasmática (Cortés et al., 2015). Adicionalmente Pxl1 recluta a la zona de división a la calcineurina A, cuya subunidad catalítica, Ppb1, colabora con Bgs1 en la formación del septo, y que promueve el reclutamiento de más unidades de Pxl1 por medio de un bucle de retroalimentación positiva que se activa cuando Ppb1 desfosforila a Cdc15 (Martín-García et al., 2018). Por tanto, la síntesis del septo es esencial para la deposición de la membrana plasmática y la invaginación del surco de división, mientras que el CAR es necesario para coordinar espacialmente la síntesis del septo, al ser esta estructura sensible a los estímulos mecánicos generados por el CAR durante la constricción (Thiyagarajan et al., 2015; Z. Zhou et al., 2015). Sin embargo, una vez que la síntesis del septo ha progresado suficientemente, la despolimerización del CAR no impide que éste se siga formando, aunque la velocidad del proceso se ralentiza notablemente (Proctor et al., 2012). A pesar de que se sabe que la contracción del CAR y la síntesis del septo son procesos interdependientes, todavía se desconocen los mecanismos moleculares precisos que regulan coordinadamente ambos procesos y la citocinesis en *S. pombe*.

1.5.5.3. Separación celular

La separación es la etapa más crítica del ciclo celular, ya que de ella depende el mantenimiento de la integridad de la célula. En células animales este proceso se denomina abscisión y requiere la participación de los microtúbulos y de un complejo multiproteico denominado ESCRT (*Endosomal Sorting complex Required for Transport*). En los hongos dimórficos y filamentosos que forman hifas no se produce separación celular, de forma que tras cada ciclo de división se sintetiza un septo que delimita los diferentes compartimentos celulares que componen la hifa (Pérez et al., 2016).

En la levadura de fisión la separación celular requiere la disolución controlada del septo primario para evitar la lisis celular (Sipiczki, 2007). La digestión del septo está mediada por las glucanasas Eng1, Agn1 y Agn2. La adecuada localización de estas enzimas requiere la actividad del exocisto, un complejo proteico que ancla las vesículas de secreción a la membrana plasmática, así como la formación en la membrana plasmática de un doble anillo de septinas que no se contrae. Las septinas a su vez reclutan a Gef3, una GEF que regula a las GTPasas Rho3 y Rho4, y cuya actividad es necesaria para la adecuada secreción localizada de las glucanasas, permitiendo una correcta separación y manteniendo la integridad celular (García Cortés et al., 2016; Pérez et al., 2016; Rincón & Paoletti, 2016).

2. Percepción y señalización frente a estímulos ambientales

El ambiente influye de manera crítica sobre el desarrollo de los procesos biológicos en los seres vivos. Por ello, la evolución ha dotado a las células con mecanismos capaces de detectar cambios en el ambiente extracelular y desencadenar la consiguiente respuesta adaptativa. Estas respuestas requieren una red compleja de detección y transducción de señales que conducen a la regulación del crecimiento y la proliferación celular, así como a distintos ajustes en los programas de expresión génica, siendo especialmente relevantes cuando los organismos se exponen a condiciones ambientales adversas, frente a las han de adaptarse para poder sobrevivir (Cargnello & Roux, 2011; Hohmann & Mager, 2007; Pérez & Cansado, 2010). Concretamente, las *rutas de transducción de señales* están implicadas específicamente en la respuesta frente a estímulos extracelulares e intracelulares, mediante el control de funciones esenciales como la progresión del ciclo celular, el crecimiento polarizado y la citocinesis, la traducción, y diversas actividades enzimáticas (Pérez & Cansado, 2010).

2.1. Las rutas de MAPKs

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la importancia de las rutas de señalización mediadas por proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs, *Mitogen Activated Protein Kinases*) en la respuesta frente al estrés. Estas rutas presentan un alto grado de conservación evolutiva en los organismos eucariotas, y juegan un papel fundamental en la transducción de las señales generadas en la superficie celular hasta el núcleo, produciendo cambios significativos en la expresión génica (Blüthgen & Legewie, 2008; Gacto et al., 2003).

2.1.1. Organización de las rutas de MAPKs

Los componentes implicados en la señalización por medio de las rutas de MAPKs se organizan en complejos modulares altamente conservados tal y como se describe a continuación:

2.1.1.1. Sensores

En función del estímulo recibido los receptores de la señal pueden ser proteínas transmembranales acopladas a proteínas G, sistemas de regulación de dos componentes, receptores de tipo tirosina quinasa, o proteínas integrales de membrana. En las levaduras se han identificado todos los sensores anteriormente citados con excepción de los receptores del tipo tirosina quinasa (Pérez & Cansado, 2010).

2.1.1.2. Módulo de MAPKs

Es el módulo encargado de la transmisión de la señal. Está compuesto por tres proteínas quinasas fuertemente conservadas, cuya estructura básica es muy similar, y se activan por fosforilaciones secuenciales: la MAPK quinasa quinasa (MAPKKK), la MAPK quinasa (MAPKK) y la MAP quinasa (MAPK), que es el elemento central de la ruta (**Figura 18**). En respuesta al estímulo, la MAPKKK es generalmente activada por fosforilación dependiente de otras proteínas como quinasas o GTPasas de las familias Ras y Rho, aunque también puede activarse por oligomerización o relocalización subcelular. Una vez activada, la MAPKKK fosforila a la MAPKK (MEK) en residuos conservados de Ser o Thr del bucle de activación. Seguidamente, la MAPKK fosforila a la MAPK en residuos de Thr y Tyr de un motivo conservado TXY del bucle de activación (siendo el aminoácido X Gly o Glu), provocando un cambio conformacional que promueve su activación. Finalmente, la MAPK activa fosforila distintos sustratos en residuos de Ser o Thr seguidos de Pro (secuencia consenso S/TP) (Cargnello & Roux, 2011) (**Figura 18**).

2.1.1.3. Efectores de MAPKs

Los efectores de las rutas de MAPKs son fundamentalmente factores de transcripción que ponen en marcha el programa de expresión génica requerido para responder frente al estímulo activador. No obstante, las MAPKs poseen muchos otros efectores, entre los que se encuentran proteínas reguladoras del ciclo celular, chaperonas, proteínas de unión al ARN, proteínas del citoesqueleto, y una gran variedad de sustratos citoplasmáticos (Pérez & Cansado, 2010) (**Figura 18**).

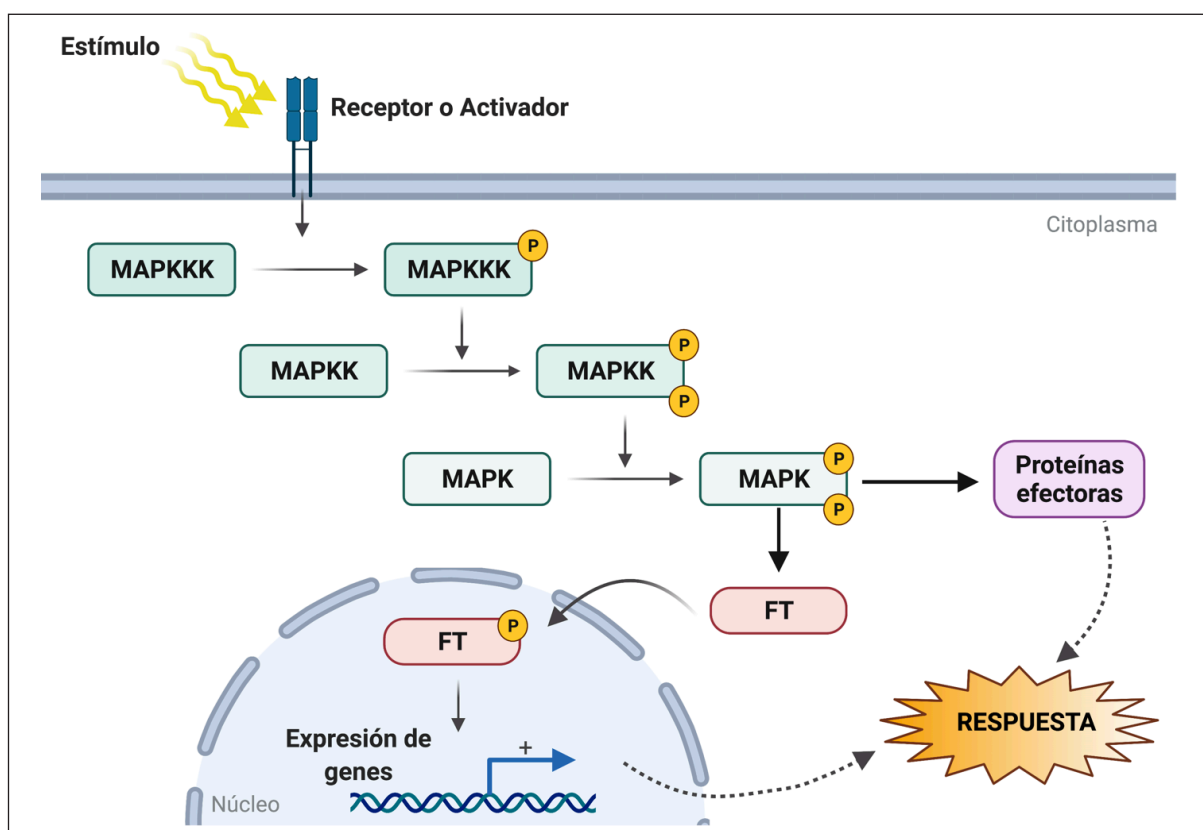


Figura 18. El módulo de MAPKs y la transmisión de señales. Las rutas de MAPKs constan de un mecanismo receptor de la señal y un módulo de transmisión de la misma compuesto por tres quinasas (MAPKKK, MAPKK, y MAPK) que se activan por fosforilaciones secuenciales. Una vez activa, la MAPK fosforila a sus sustratos que inducen un cambio en la expresión génica que permite que las células se adapten a las nuevas condiciones de crecimiento.

2.1.1.4. Reguladores de MAPKs

Una de las principales características de la respuesta mediada por las rutas de MAPKs frente al estrés es su elevado grado de plasticidad y especificidad, que está determinado por diferentes mecanismos. El más importante es la interacción física secuencial entre los diferentes componentes de la cascada, aunque también existen proteínas adaptadoras que agrupan los tres componentes de la cascada en un módulo específico. Además, la localización subcelular diferencial de los componentes de la ruta también modula su función, constituyendo otro mecanismo esencial de regulación de su actividad biológica (Bardwell, 2006; Pérez & Cansado, 2010). Paralelamente, una vez que las células se han adaptado a las nuevas condiciones ambientales, la cascada de MAPKs debe ser desactivada mediante la acción de reguladores negativos que modulan la intensidad y la duración de la señal. Los principales reguladores negativos son las fosfatasas de MAPKs (MAPKPs), que pueden presentar especificidad dual o defosforilar específicamente residuos de Tyr (fosfatasas de tirosina), o de Ser y Thr (fosfatasas de serina y treonina) (Martín *et al.*, 2005).

Un punto de regulación adicional de las MAPKs es la fosforilación dual en residuos de Thr y Tyr del bucle de activación, que es llevada a cabo por la MAPKK. Inicialmente se creía que la fosforilación en ambos residuos fosfoaceptores era un requisito indispensable para la activación catalítica de las MAPKs (Gartner *et al.*, 1992; Robbins *et al.*, 1993). No obstante, estudios posteriores han sugerido la posibilidad de que la fosforilación de los dos residuos del motivo TXY del bucle de activación no tenga la misma relevancia desde el punto de vista biológico. Así, estudios *in vitro* han mostrado que, aunque las formas monofosforilables de ERK2 humana son menos activas que la forma dualmente fosforilada, retienen sin embargo cierto grado de actividad (B. Zhou & Zhang, 2002). En *S. cerevisiae* se ha descrito que la forma monofosforilable en Thr de la MAPK Hog1 es biológicamente activa y es capaz de inducir la expresión génica en respuesta a estímulos ambientales (Bell & Engelberg, 2003). Por su parte, estudios recientes realizados en *S. pombe* han mostrado que la forma monofosforilable en Thr de la MAPK Pmk1 retiene una actividad biológica considerable, mientras que la versión monofosforilable en Thr de la MAPK Sty1 no es capaz de inducir la expresión de genes de respuesta a estrés y la consiguiente respuesta adaptativa (Vázquez *et al.*, 2015). En conjunto, estos resultados sugieren que la fosforilación de los dos fosfoaceptores de las MAPKs no tiene la misma relevancia, siendo la fosforilación del residuo de Thr la que parece conferir mayor actividad catalítica y biológica.

2.1.2. Conservación evolutiva

Las rutas de MAPKs están ampliamente conservadas entre los organismos eucariotas, desde levaduras hasta metazoos. En los mamíferos existen tres subfamilias principales de MAPKs, ERK, JNK y p38, que se encuentran diferencialmente reguladas (Krishna & Narang, 2008) (**Figura 19**). Cada uno de estos grupos es activado por MAPKKs específicas, mientras que cada MAPKK puede ser activada por más de una MAPKKK, lo que incrementa la complejidad y la diversidad de estas rutas de señalización (L. Chang & Karin, 2001). Las MAPKs de tipo ERK y p38 presentan homólogos en levaduras, mientras que las de tipo JNK han sido identificadas únicamente en mamíferos (Davis, 2000). Estas rutas regulan procesos como la diferenciación, la proliferación celular, o la apoptosis, y su desregulación causa enfermedades como la diabetes o el cáncer. Así, las rutas ERK1/2 se activan en respuesta a estímulos mitogénicos como factores de crecimiento y ésteres de forbol, y están implicadas en los procesos de diferenciación celular y proliferación (Krishna & Narang, 2008). Por su parte, las rutas JNK y p38, también conocidas como SAPKs (*Stress Activated Protein Kinases*), se activan en respuesta a diferentes tipos de estrés ambiental como la radiación UV, el daño en el ADN, el estrés oxidativo, el estrés osmótico o el choque térmico (Krishna & Narang, 2008).

En *S. cerevisiae* se han identificado cinco rutas de MAPKs (**Figura 19**). Las rutas Fus3, Kss1, Hog1 y Slt2/Mpk1 regulan, respectivamente, la respuesta a feromonas y conjugación, la filamentación e invasividad, el crecimiento en condiciones de hiperosmolaridad y la integridad celular. La quinta MAPK, Smk1, participa exclusivamente en la regulación de la síntesis de la pared de las ascosporas, por lo que únicamente se expresa durante la fase de esporulación. Curiosamente, hasta el momento no se han identificado otros elementos pertenecientes a este módulo de MAPKs (R. E. Chen & Thorner, 2007; Krisak *et al.*, 1994) (**Figura 19**). En *S. pombe* se han descrito tres rutas mediadas por MAPKs que se conocen como la ruta de respuesta a feromonas, cuyo elemento central es la MAPK Spk1; la ruta de respuesta a estrés o SAPK, cuya MAPK es Sty1; y la ruta de integridad celular o CIP, en la que la MAPK es Pmk1 (Pérez & Cansado, 2010) (**Figura 19**). Las rutas JNK y p38 de mamíferos son homólogas a las rutas SAPK de *S. pombe* y Hog1 de *S. cerevisiae*, mientras que la ruta CIP de *S. pombe* presenta un alto grado de conservación con las quinasas ERK1/2 de mamíferos y la ruta Slt2 de *S. cerevisiae* (Schaeffer & Weber, 1999). Por su parte, *S. japonicus* presenta ortólogos de todos los genes implicados en estas rutas, aunque hasta el momento las rutas de señalización mediadas por MAPKs no han sido estudiadas en profundidad en esta levadura de fisión. A continuación, se describirán en detalle las rutas SAPK y de integridad celular en *S. pombe*, al ser objeto de estudio de la presente Tesis Doctoral.

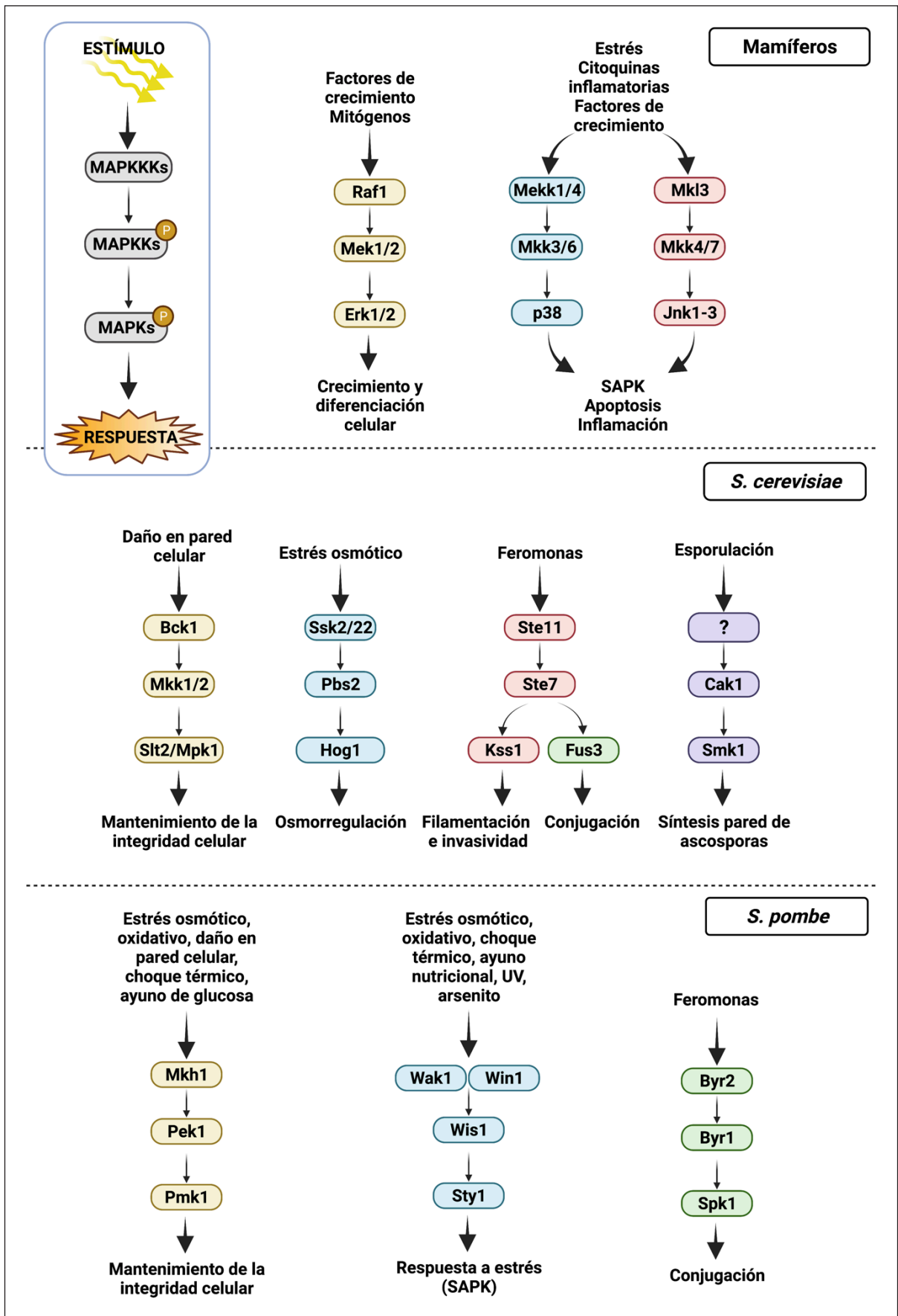


Figura 19. Conservación evolutiva de las rutas de MAPKs. Para más detalles consultar el texto principal.

2.1.3. La ruta de MAPKs de respuesta a estrés (SAPK) en *S. pombe*

La ruta de respuesta a estrés o SAPK desempeña un papel crucial durante el ciclo vital de *S. pombe*, ya que regula el ciclo celular y la respuesta general adaptativa frente al estrés (Shiozaki & Russell, 1995b; Wilkinson et al., 1996). El elemento central de esta ruta es la MAPK Sty1, ortóloga a p38 en células eucariotas superiores, y que se activa en respuesta a diversos estímulos como el estrés hiperosmótico, el choque térmico, el estrés oxidativo, o la privación de glucosa o nitrógeno (Degols et al., 1996; Degols & Russell, 1997; J. B. Millar et al., 1995; Shiozaki & Russell, 1995b, 1996; Soto et al., 2002) (**Figura 20**). Los principales componentes de esta ruta se describen a continuación:

2.1.3.1. Sensores

Actualmente se sabe muy poco sobre los mecanismos implicados en la detección y transducción de las señales de estrés a través de la ruta SAPK, excepto en el caso del estrés oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno. En este caso la señal se transmite a Sty1 a través de un sistema fosfotransferasa análogo a los sistemas de dos componentes bacterianos. Dicho sistema está formado por dos proteínas histidina quinasa homólogas, Mak2 y Mak3, una proteína fosfotransferasa con histidina, Mpr1/Spy1, y el regulador de la respuesta Mcs4 (Quinn et al., 2002; Shieh et al., 1997; Shiozaki et al., 1997) (**Figura 20**). Mak2 y Mak3 son proteínas citoplásmicas que no presentan en su estructura dominios transmembrana. En respuesta a peróxido de hidrógeno, Mak2 y Mak3 se autofosforilan en un residuo de His conservado, y a continuación Mpr1/Spy1 transfiere el grupo fosfato a un residuo de aspártico (Asp) conservado en Mcs4. De esta forma se activa la cascada de MAPKs, siendo Mcs4 el elemento común en la respuesta frente a todos los tipos de estrés (Aoyama et al., 2000; Nguyen et al., 2000) (**Figura 20**). Además de Mcs4, *S. pombe* posee un segundo regulador de respuesta denominado Prr1, que actúa como un factor de transcripción induciendo la expresión de genes en respuesta al estrés oxidativo de forma independiente a Sty1 (Ohmiya et al., 1999; Shieh et al., 1997). Por su parte, la activación de Sty1 en respuesta al estrés térmico no depende de la existencia de sensores específicos, si no que se produce como consecuencia de la inhibición transitoria de la unión a la MAPK de las fosfatasa desactivadoras Pyp1 y Pyp2 (Nguyen & Shiozaki, 1999).

2.1.3.2. Regulador de respuesta Mcs4

El regulador de respuesta Mcs4 es una proteína de 522 aminoácidos que contiene un dominio receptor caracterizado por la presencia de un residuo de Asp altamente conservado. Mcs4 está estructural y funcionalmente relacionada con el regulador de respuesta Ssk1 de *S. cerevisiae*, el cual forma parte de un sistema de dos componentes que detecta cambios en las condiciones osmóticas del medio (Buck

et al., 2001; Cottarel, 1997; Shieh et al., 1997). En *S. pombe*, Mcs4 está implicado en la detección del estrés oxidativo y su transmisión a través del sistema de dos componentes, aunque, como se ha mencionado anteriormente, su presencia también es necesaria para la activación de Sty1 en respuesta a todos los estreses que activan esta ruta de señalización (Buck et al., 2001; Soto et al., 2002) (**Figura 20**). Mcs4 está implicado en la regulación del ciclo celular, ya que los mutantes nulos en este gen presentan una morfología alargada típica de un retraso en la transición G2/M (Cottarel, 1997; Shieh et al., 1997; Shiozaki et al., 1997). Además, estos mutantes son estériles, lo que sugiere que Mcs4 regula además el desarrollo sexual de *S. pombe* (Nakamichi et al., 2002). Mcs4 interacciona físicamente con Mpr1, Tdh1 (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) y las MAPKKKs Wak1 y Win1. Mcs4 ejerce dos funciones durante la respuesta de la ruta SAPK frente al estrés. Por una parte, recibe la señalización en respuesta al estrés oxidativo a través del sistema de dos componentes y activa a las MAPKKKs Wak1 y Win1. Por otra, estabiliza el complejo que se forma entre ambas MAPKKKs y promueve su interacción con la MAPKK Wis1, permitiendo la activación de la MAPK Sty1. Se ha propuesto que el heterotrímero Mcs4-Wak1-Win1 actúa como una “plataforma estabilizadora” que regula la correcta señalización de la ruta SAPK en respuesta al estrés (Morigasaki et al., 2013).

2.1.3.3. Módulo de MAPKs

2.1.3.3.1. MAPKKKs Wak1 y Win1

Wak1 (también denominada Wis4 o Wik1) y Win1 son las dos MAPKKK que forman parte de la ruta SAPK de *S. pombe*. En respuesta a estrés, Mcs4 se une y activa a Wak1 y Win1, que a su vez fosforilan y activan a la MAPKK Wis1, y esta a Sty1 (Morigasaki et al., 2013; Samejima et al., 1997; Shieh et al., 1997) (**Figura 20**). Wak1 y Win1 pueden sustituirse mutuamente durante la activación de Sty1 en respuesta a concentraciones bajas de peróxido de hidrógeno, mientras que la actividad de ambas es necesaria para la respuesta frente a altas concentraciones de este compuesto (Quinn et al., 2002). No obstante, Wak1 es la principal MAPKKK responsable de la activación de Sty1 durante el estrés osmótico, el choque térmico, o las bajas temperaturas (Shiozaki et al., 1998; Soto et al., 2002).

2.1.3.3.2. MAPKK Wis1

Wis1, la MAPKK de la ruta SAPK, es esencial para la activación de Sty1 en respuesta a todos los estímulos ambientales que activan dicha ruta (Shiozaki et al., 1998), excepto en el caso del estrés térmico y el tratamiento con arsenito (Nguyen & Shiozaki, 1999; Rodríguez-Gabriel & Russell, 2005). Wis1 se une y fosforila a Sty1 en el citoplasma en respuesta a estrés, promoviendo su activación y la consecuente translocación al núcleo de la MAPK (Nguyen et al., 2002) (**Figura 20**).

2.1.3.3.3. MAPK Sty1

El elemento central de la ruta SAPK es la MAPK Sty1/Spc1/Phh1 (Kato *et al.*, 1996; J. B. Millar *et al.*, 1995; Shiozaki & Russell, 1995b). Wis1 en su estado activo se une a Sty1 y la fosforila en los residuos Thr171 y Tyr173 del motivo conservado -TGY- del bucle de activación en respuesta a múltiples estreses, como el estrés hiperosmótico salino/no salino, el tratamiento con arsenito, el estrés térmico por altas y bajas temperaturas, el estrés oxidativo, la radiación UV, las fuerzas de gravedad, la elevada presión hidrostática, la limitación de nutrientes o el daño en el citoesqueleto de actina (Degols *et al.*, 1996; George *et al.*, 2007; Kato *et al.*, 1996; J. B. Millar *et al.*, 1995; Mutavchiev *et al.*, 2016; Quinn *et al.*, 2002; Rodríguez-Gabriel & Russell, 2005; Shiozaki & Russell, 1995, 1996; Soto *et al.*, 2007, 2002). La activación de Sty1 en respuesta a la mayoría de estos estímulos es transitoria y la respuesta desencadenada depende de la naturaleza y la magnitud del propio estímulo. En condiciones de crecimiento vegetativo Sty1 se localiza en el citoplasma, pero una vez fosforilada se transloca al núcleo, donde ejerce su función sobre efectores específicos (Gaits *et al.*, 1998) (**Figura 20**).

2.1.3.4. Efectores de la ruta SAPK

Uno de los principales efectores de la ruta SAPK es Atf1, un factor de transcripción con un dominio de cremallera de leucina (bZIP) ortólogo a ATF-2 de células superiores (Shiozaki & Russell, 1996). De forma análoga a los mutantes que no expresan Sty1, las células carentes de Atf1 muestran una sensibilidad moderada frente al estrés osmótico y oxidativo, y presentan fuertes defectos durante la diferenciación sexual (Wilkinson *et al.*, 1996). No obstante, al contrario que los mutantes nulos de Sty1, la ausencia de Atf1 no provoca anomalías en el ciclo celular, lo que sugiere que participa exclusivamente en la respuesta celular frente al estrés (Shiozaki & Russell, 1996; Wilkinson *et al.*, 1996). Una vez fosforilada dualmente por Wis1, la forma activa de Sty1 se transloca al núcleo, donde se asocia y fosforila a Atf1. Una vez activado, Atf1 regula la expresión de un grupo numeroso de genes necesarios para que se produzca la respuesta adaptativa frente al estrés y la entrada en meiosis, y que constituyen los denominados genes “CESR” (*Core Environmental Stress Response*) (D. Chen *et al.*, 2003) (**Figura 20**). Además, la fosforilación de Atf1 por Sty1 aumenta la estabilidad del factor de transcripción y alarga su vida media (Lawrence *et al.*, 2007). Atf1 forma heterodímeros en el núcleo con otro factor de transcripción denominado Pcr1 (**Figura 20**), aunque su presencia no es necesaria para la expresión de la mayoría de genes de respuesta a estrés dependientes de Atf1 (Sansó *et al.*, 2008).

Otras dianas relevantes de Sty1 son las proteínas de unión a ARNm Csx1 y Cip1/2, que están implicadas en la estabilización del ARNm en respuesta a estrés, las proteínas quinasas activadas por MAPKs Cmk2 y Srk1, y la polo quinasa reguladora del ciclo celular Plo1 (Pérez & Cansado, 2010). Recientemente se ha descrito que Sty1 regula negativamente la localización de la Rho GTPasa esencial Cdc42 en los polos celulares, participando en el control del crecimiento polarizado en *S. pombe* (Mutavchiev *et al.*, 2016) (**Figura 20**).

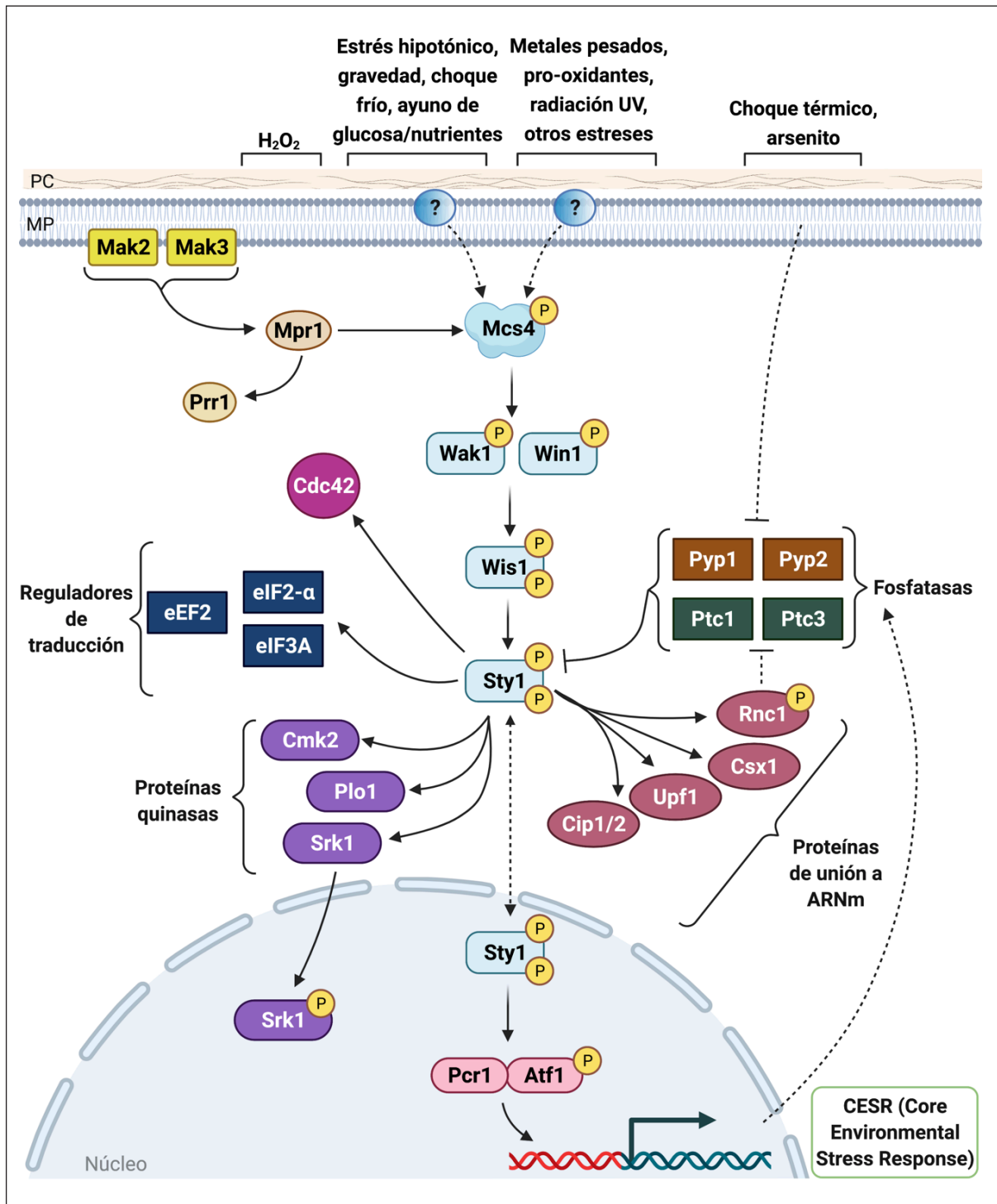


Figura 20. La ruta de MAPKs de respuesta a estrés (SAPK) en *S. pombe*. Para más detalles consultar el texto principal. Adaptado de Pérez & Cansado, 2010.

2.1.3.5. Reguladores negativos de la ruta SAPK

La duración y la magnitud de la activación de las rutas de MAPKs ha de ser regulada de manera precisa con el fin de que se produzca una respuesta adecuada frente al estímulo. Las fosfatasas de MAPKs son reguladores negativos esenciales que desfosforilan a las MAPKs activas en residuos de Thr, Tyr, o ambos. En eucariotas se han descrito tres tipos de fosfatasas de MAPKs: fosfatasas de tirosina (PTPs), fosfatasas de serina y treonina (PP2Cs) y fosfatasas de especificidad dual (DSPs) (Farooq & Zhou, 2004). La MAPK Sty1 se encuentra regulada negativamente por las fosfatasas específicas de residuos de tirosina Pyp1 y Pyp2, y por las serín/treonín fosfatasas Ptc1 y Ptc3 (**Figura 20**). Pyp1 y Pyp2 se localizan en el citoplasma, donde se unen a Sty1 y la desfosforilan en el residuo Tyr173 *in vivo* (Degols *et al.*, 1996; Gaits & Russell, 1999; J. B. A. Millar *et al.*, 1995). Pyp1 es la principal fosfatasa implicada en la regulación negativa de Sty1 en células vegetativas (Degols *et al.*, 1996; Samejima *et al.*, 1997), mientras que la desfosforilación de Sty1 en respuesta a estrés es llevada a cabo por ambas fosfatasas (J. B. Millar *et al.*, 1995; Shiozaki & Russell, 1995a). Por su parte, Ptc1 y Ptc3 desfosforilan a Sty1 en el residuo de Thr171 tras el estrés térmico. En estas condiciones la activación de Sty1 se produce por la inhibición de la unión de Pyp1 a Sty1, y la acción de Ptc1 y Ptc3 permite recuperar el nivel basal de fosforilación de la MAPK (Nguyen & Shiozaki, 1999). A su vez, la expresión de Pyp1, Pyp2 y Ptc1 está regulada por Sty1-Atf1 mediante un bucle de retroalimentación negativa (Degols *et al.*, 1996; Gaits & Russell, 1999; Shiozaki & Russell, 1996; Wilkinson *et al.*, 1996) (**Figura 20**). Nuestro grupo de investigación ha descrito recientemente que Sty1 fosforila a la proteína de unión al ARNm Rnc1 (**Figura 20**), promoviendo la desestabilización de los ARNm que cifran la síntesis de distintos componentes de la ruta SAPK, como Wak1, Wis1, Sty1, Atf1, Pyp1 y Pyp2. Este mecanismo permite regular negativamente la actividad de la ruta, garantizando un control adecuado de la progresión del ciclo celular y del crecimiento polarizado durante el crecimiento vegetativo y en respuesta a estrés (Prieto-Ruiz *et al.*, 2020).

2.1.4. La ruta de MAPKs de integridad celular (CIP) en *S. pombe*

La ruta CIP, homóloga a la ruta ERK de mamíferos, es esencial para el control de la integridad celular en *S. pombe*. Dicho control incluye procesos como la construcción de la pared celular y su mantenimiento en condiciones de estrés, la citocinesis y la homeostasis iónica. El elemento central de esta ruta es la MAPK Pmk1/Spm1, homólogo estructural de la MAPK Mpk1/Slit2 de *S. cerevisiae*. Los mutantes carentes de Pmk1 o de alguno de los componentes del módulo de MAPKs muestran hipersensibilidad frente al estrés osmótico y térmico, defectos morfológicos durante la citocinesis (multiseptación) y daños en la pared celular (Loewith *et al.*, 2000; Sengar *et al.*, 1997; Sugiura *et al.*, 1999; Toda *et al.*, 1996; Zaitsevskaya-Carter & Cooper, 1997). A continuación, se describen los principales componentes de esta ruta de señalización y su relevancia biológica.

2.1.4.1. Sensores

A pesar de que los componentes de la ruta CIP de *S. pombe* han sido ampliamente estudiados, hoy en día no se conoce el mecanismo molecular mediante el cual los estímulos son detectados en la superficie celular y transmitidos al interior de la célula para activar esta ruta de señalización. En *S. cerevisiae* se han identificado cinco sensores implicados en la detección y transmisión de los estímulos a la ruta CIP: Wsc1/2/3, Mid2 y Mtl1. Se trata de proteínas transmembranales localizadas en la membrana plasmática que detectan el estímulo y transmiten la señalización a Rho1 (Levin, 2005). En *S. pombe* existen dos sensores homólogos a los de *S. cerevisiae*, denominados Wsc1 y Mtl2. Ambas proteínas son capaces de activar a la GTPasa Rho1 y la sobreexpresión de Rho1 rescata el fenotipo sintético letal provocado por la doble delección de estas proteínas. Tanto Mtl2 como Wsc1 participan en la detección de estímulos ambientales, y la sobreexpresión de Wsc1 promueve la biosíntesis de la pared celular. Sin embargo, aunque Wsc1 y Mtl2 regulan la integridad de la pared celular a través de Rho1, lo hacen de manera independiente de la ruta CIP, pues su actividad no se ve afectada en mutantes carentes de alguna de las dos proteínas (Cruz et al., 2013) (**Figura 21**).

2.1.4.2. Reguladores aguas arriba del módulo de MAPKs

2.1.4.2.1. Las GTPasas Rho1 y Rho2 y los ortólogos de PKC Pck1 y Pck2

Las GTPasas de la familia Rho (*Ras Homology*) forman parte de la superfamilia Ras y desempeñan funciones clave en la regulación del crecimiento polarizado, integrando señales procedentes del ambiente extracelular con las del ciclo celular. Son moléculas pequeñas de 20 a 40 kDa con capacidad de ciclar entre su estado activo unidas a GTP y su estado inactivo unidas a GDP (A. Hall, 2012; Vicente-Soler et al., 2021). Las proteínas GAP (*GTPase activation protein*) estimulan la actividad GTPasa intrínseca de las Rho GTPasas, inactivándolas; por su parte, las proteínas GEF (*Guanine nucleotide exchange factor*) promueven el intercambio de GDP por GTP y las activan (Cherfils & Zeghouf, 2013).

En *S. pombe* las GTPasas Rho1 y Rho2 juegan un papel clave en la regulación del citoesqueleto de actina, el mantenimiento de la integridad de la pared celular, y la polaridad. Además, Rho1 participa en la síntesis de la pared celular y actúa como nexo funcional coordinando la síntesis de pared con el ciclo celular (**Figura 21**). De hecho, las células que portan una versión de Rho1 no funcional presentan un alto porcentaje de lisis principalmente durante la citocinesis, pero también durante otras etapas del ciclo celular (Arellano et al., 1997; Hirata et al., 1998; Vicente-Soler et al.,

2021). En la levadura de fisión Rho1 y Rho2 en su forma activa (unidas a GTP), interactúan y estabilizan a los dos ortólogos de PKC Pck1 y Pck2 (Arellano et al., 1999).

Las proteínas quinasas C (PKCs) constituyen una familia de enzimas con actividad fosfotransferasa que fosforilan específicamente residuos de Ser y Thr de sus proteínas sustrato regulando así su función. Están implicadas en numerosos procesos celulares como la apoptosis, la mitogénesis y la remodelación de la actina entre otros (Newton, 2018). Como ya se ha mencionado, *S. pombe* presenta dos isoformas de PKC denominadas Pck1 y Pck2, que comparten una alta homología de secuencia, tienen funciones solapantes en la regulación de la viabilidad celular y cuya delección simultánea produce un fenotipo sintético letal (Arellano et al., 1999; Calonge et al., 2000; Toda et al., 1993). Ambas PKCs portan en su secuencia un dominio regulatorio que incluye dos dominios polibásicos HR1 responsables de su interacción con las GTPasas Rho1 y Rho2 (Arellano et al., 1999). Además, Pck1 y Pck2 son proteínas inestables pues presentan en su extremo amino terminal secuencias PEST (ricas en prolina, ácido glutámico, serina y treonina) que las dirigen hacia el proteasoma. Así, su interacción con Rho1 y Rho2 favorece su estabilización, evita su proteólisis, y permite que sean fosforiladas por Ksg1 (proteína ortóloga a la quinasa dependiente de fosfoinosítidos (PDK)) en el bucle de activación (Arellano et al., 1999; Madrid et al., 2015, 2017; Villar-Tajadura et al., 2008). Pck1 y Pck2 se localizan en los polos celulares durante la interfase, y se trasladan a la zona de división antes de que comience la constricción del CAR (Magliozzi et al., 2020). Como se ha mencionado anteriormente, Rho1 regula la síntesis de la pared celular mediante la regulación directa de las β -glucán sintasas, pero también actúa indirectamente mediante la activación de Pck1 y Pck2 (Arellano et al., 1999). Rho2, a través de Pck2, regula a la β -glucán sintasa Mok1, esencial para la integridad celular (Calonge et al., 2000; Pérez et al., 2018). Además, Pck1 y Pck2 participan en la activación de la ruta CIP. Según el modelo actual, Rho2 una vez metilada, palmitoilada y correctamente anclada en la membrana, es el activador principal del módulo de MAPKs durante el crecimiento no perturbado y en respuesta a estrés a través de Pck2, mientras que la rama Rho1-Pck1 contribuye en menor medida a la activación de Pmk1 durante el crecimiento vegetativo y en respuesta al daño específico en la pared celular (Barba et al., 2008; Franco et al., 2017; Ma et al., 2006; Sánchez-Mir et al., 2012; Sánchez-Mir, Franco, et al., 2014; Sánchez-Mir, Soto, et al., 2014; Soto et al., 2010; Villar-Tajadura et al., 2008) (**Figura 21**).

2.1.4.3. Módulo de MAPKs

El módulo de MAPKs está compuesto por la MAPKKK Mkh1, la MAPKK Pek1 y la MAPK Pmk1, que interactúan físicamente formando un complejo ternario (Loewith et al., 2000).

2.1.4.3.1. MAPKKK Mkh1

Mkh1 (*MEK Kinase Homolog*) fue identificada como la MAPKKK de la ruta CIP gracias a su alto grado de homología con la MAPKKK Bck1 de *S. cerevisiae* y a que su

ausencia provoca los mismos fenotipos que la falta de Pek1 o Pmk1 (Madrid, Soto, Khong, et al., 2006; Sengar et al., 1997). Mientras que Pck2 es el activador principal de Mkh1, Pck1 se une y fosforila a Mkh1 en respuesta al daño en la pared celular. Una vez activa, Mkh1 transmite la señal de activación al resto de componentes del módulo mediante su interacción *in vivo* con Pek1 y Pmk1 (Loewith et al., 2000; Madrid, Soto, Hou, et al., 2006; Sánchez-Mir, Soto, et al., 2014) (**Figura 21**).

2.1.4.3.2. MAPKK Pek1

Mkh1 fosforila y activa a Pek1, la MAPKK de la ruta CIP, en respuesta a los estímulos que activan la ruta anteriormente citados (Sugiura et al., 1999) (**Figura 21**). En células no sometidas a estrés, Pek1 aparece en su forma no fosforilada, y actúa como un regulador negativo de la ruta de señalización mediada por Pmk1. Sin embargo, bajo una situación de estrés, Mkh1 puede convertir a Pek1 en un activador, de manera que Pek1 presenta una función dual y antagónica dependiente de su estado de fosforilación que contribuye a la modulación de la respuesta mediada por la ruta CIP (Sugiura et al., 1999).

2.1.4.3.3. MAPK Pmk1

La MAPK Pmk1/Spm1 es el elemento central de la ruta CIP, homólogo estructural de Mpk1/Slt2 de *S. cerevisiae* (Sengar et al., 1997; Toda et al., 1996). Pmk1 es fosforilada dualmente por Pek1 en los residuos Thr186 y Tyr188 del motivo consenso -TEY- del bucle de activación y su activación depende por completo de Mkh1 y Pek1, sugiriendo que se trata de una ruta de señalización no ramificada (Madrid, et al., 2006; Sengar et al., 1997; Sugiura et al., 1999). Pmk1 se activa en respuesta a diversos estímulos como el estrés hipo/hiperosmótico, la ausencia de glucosa en el medio, el daño en la pared celular y el estrés oxidativo, siendo este último independiente de la rama Rho2-Pck2 (Madrid, et al., 2006). Los mutantes de *S. pombe* carentes de Pmk1 son sensibles a la mayoría de los estreses que inducen su activación, por lo que su función es necesaria para la adaptación y supervivencia celulares frente a tales condiciones (Barba et al., 2008; Madrid, et al., 2006)

Mientras que Mkh1 y Pek1 se localizan en el citoplasma, Pmk1 muestra una localización nucleo-citoplasmática, además de encontrarse en el SPB y en el septo durante la citocinesis. La localización subcelular de Pmk1 no varía en respuesta a estrés, ni en ausencia de Mkh1 y Pek1, indicando que la activación tiene lugar en el citoplasma y/o la zona del septo de división y que tanto la forma activa como la inactiva pueden translocarse al núcleo (Madrid et al., 2007). Nuestro grupo de investigación ha analizado la relevancia biológica de la localización nuclear de Pmk1, y los resultados obtenidos indicaron que Pmk1 en el núcleo regula el mantenimiento de la integridad celular en *S. pombe*, fundamentalmente a nivel transcripcional. Además, la regulación negativa de Pmk1 a nivel nuclear está mediada por fosfatasaes específicas que se inducen por la ruta SAPK, lo que condiciona su actividad a nivel extranuclear (Sánchez-Mir et al., 2012). En conjunto, estos resultados sugieren que la regulación espacial de la actividad de Pmk1 influye sobre sus funciones biológicas.

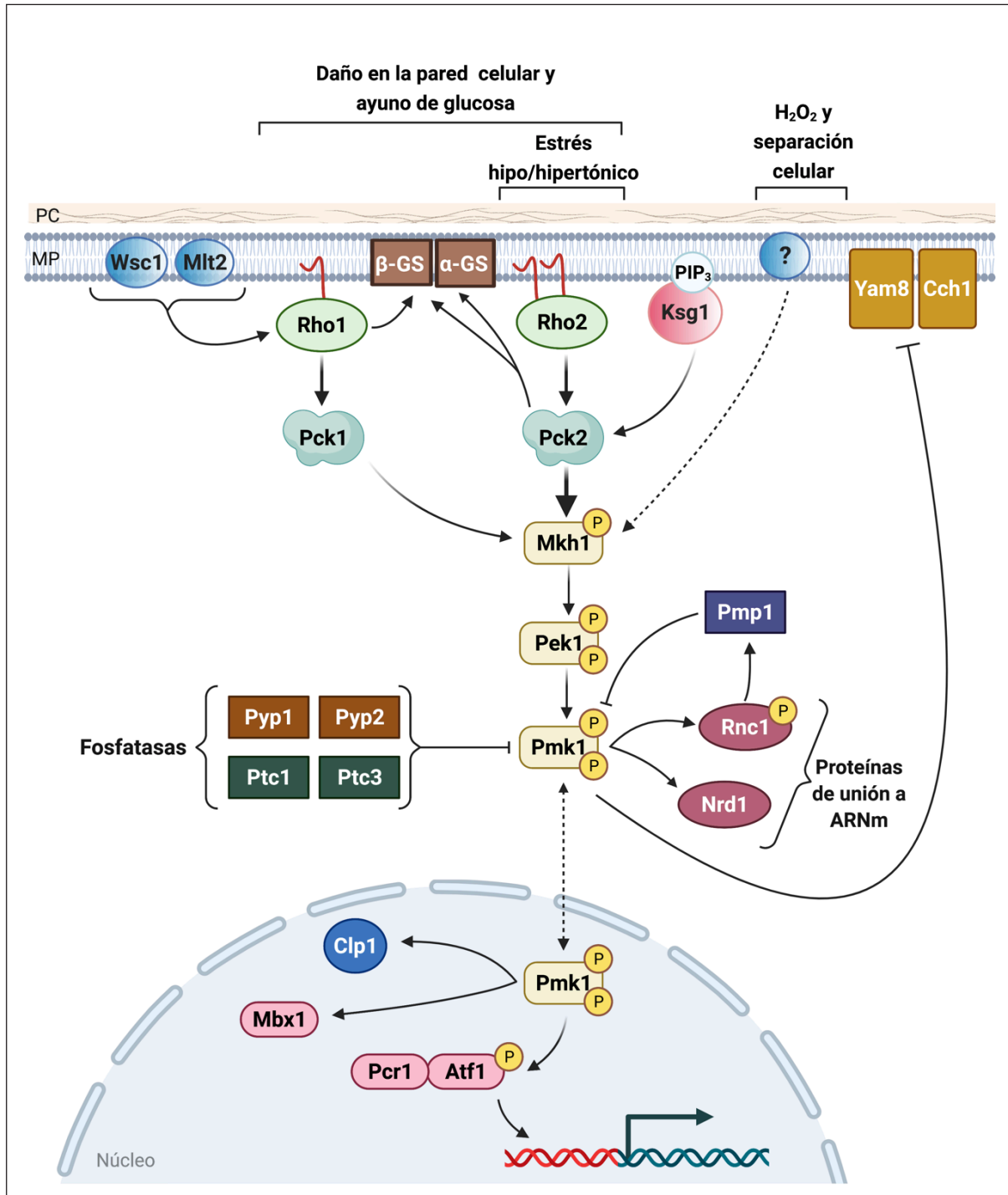


Figura 21. La ruta de MAPKs de integridad celular (CIP) en *S. pombe*. Para más detalles consultar el texto principal. Adaptado de Pérez & Cansado, 2010.

2.1.4.4. Efectores de la ruta CIP

En respuesta al daño en la pared celular, Pmk1 fosforila al factor de transcripción Atf1 (**Figura 21**), que también es diana de Sty1. De hecho, las rutas de estrés y de integridad celular confluyen en Atf1 con el fin de activar los genes necesarios para reparar los daños en la pared (Takada *et al.*, 2007; Wilkinson *et al.*, 1996). Además, Pmk1 fosforila directamente a las proteínas de unión a ARNm Rnc1 y Nrd1. Una vez fosforilada Rnc1 estabiliza a Pmp1, la fosfatasa dual específica de Pmk1, por lo que Rnc1 regula negativamente la actividad de Pmk1 a través de Pmp1 (Sugiura *et al.*, 1998, 2003). En el caso de Nrd1, la fosforilación se ha propuesto como un mecanismo que regula la estabilidad del ARNm de la miosina II y la citocinesis en *S. pombe* (Satoh *et al.* 2009). Otras dianas de Pmk1 son el canal de calcio dependiente de fosforilación Cch1-Yam8, o la proteína reguladora del ciclo celular Clp1 (Pérez & Cansado, 2010) (**Figura 21**).

2.1.4.5. Reguladores negativos de la ruta CIP

La desfosforilación de Pmk1 durante el ciclo celular no perturbado es ejercida fundamentalmente por medio de la fosfatasa de especificidad dual Pmp1 (Sugiura *et al.*, 1998) (**Figura 21**). Pmp1 se une a Pmk1 y elimina la fosforilación de los residuos Thr186 y Tyr188 y, como se ha comentado anteriormente, la estabilidad del ARNm de Pmp1 depende de su unión a Rnc1, que a su vez es fosforilada por Pmk1 (Sugiura *et al.*, 2003). Paralelamente, la serín/treonín fosfatasa Ptc1 y las tirosín fosfatasas Pyp1 y Pyp2, cuya expresión es dependiente de la MAPK de la ruta SAPK Sty1, también interaccionan y desfosforilan la forma activa de Pmk1 (Madrid *et al.*, 2007) (Figura 21). Así, Pyp1 y Ptc1 regulan el estado de fosforilación de Pmk1 tanto en condiciones de crecimiento vegetativo como en respuesta a estrés osmótico, mientras que Pmp1 y Pyp2 lo hacen únicamente durante el crecimiento no perturbado y el estrés osmótico, respectivamente (Madrid *et al.*, 2007).

2.1.5. Interacción funcional entre las rutas de MAPKs de respuesta a estrés y de integridad celular

La MAPK Sty1 se activa específicamente en respuesta a la privación de nitrógeno, la presencia de metales pesados, el choque térmico por bajas temperaturas, la radiación UV y la alta presión hidrostática. Por su parte, Pmk1 lo hace en respuesta al estrés hipoosmótico y al daño en la pared celular. No obstante, el estrés hiperosmótico, la hipergravedad, el estrés oxidativo, el aumento de temperatura, o la privación de glucosa desencadenan la activación de ambas MAPKs (Madrid *et al.*, 2007), lo que sugiere la existencia de algún tipo de interacción funcional entre las rutas SAPK y CIP.

La única fosfatasa conocida inicialmente que regulaba negativamente la actividad de Pmk1 era la fosfatasa de especificidad dual Pmp1 (Sugiura *et al.*, 1998). Sin embargo, posteriormente nuestro grupo de investigación demostró que las fosfatasas de tirosina Pyp1 y Pyp2, y la fosfatasa de serina y/o treonina Ptc1 también se asocian *in vivo* con la forma activa de Pmk1 y la desfosforilan. La regulación negativa de la actividad de Pmk1 por estas fosfatasas es dependiente del estado fisiológico celular. Pyp1 y Ptc1 regulan la fosforilación basal de Pmk1, así como su inactivación durante la respuesta adaptativa frente al estrés osmótico, mientras que Pyp2 únicamente actúa durante la respuesta frente a dicho estrés. Por tanto, la actividad de Pmk1 es regulada negativamente por dos mecanismos: uno mediado por Pmp1, y otro mediado por Pyp1, Pyp2 y Ptc1, cuya activación transcripcional depende de la ruta SAPK por medio de Sty1 y Atf1 (Madrid *et al.*, 2007). La implicación de la ruta SAPK en la regulación negativa de la actividad de Pmk1 se confirmó posteriormente tras la caracterización de la proteína ribosómica Cpc2, el ortólogo a RACK1 (*Receptor of Activated protein C Kinase*) en eucariotas superiores. Así, Cpc2 favorece la traducción de Pyp1 y Pyp2 durante el crecimiento vegetativo y en respuesta a estrés, contribuyendo a la regulación del estado de fosforilación tanto de Sty1 como de Pmk1 (Núñez *et al.*, 2009).

El factor de transcripción Atf1 constituye un segundo punto de interconexión funcional entre las rutas SAPK y CIP. En respuesta al daño en la pared celular, Atf1 es fosforilado tanto por Sty1 como por Pmk1 (Takada *et al.*, 2007). Además, tras el estrés por ayuno de glucosa Pmk1 contribuye al incremento de la actividad de la ruta SAPK al activar a Atf1 y favorecer la transmisión de la señal. De hecho, actualmente se considera que la ruta CIP actúa a modo de “refuerzo” de la ruta SAPK en la respuesta celular frente a determinados tipos de estrés (Madrid *et al.*, 2013). Finalmente, nuestro grupo de investigación ha demostrado recientemente que, además de Pmk1, la proteína de unión al ARNm Rnc1 es también fosforilada por Sty1 (Prieto-Ruiz *et al.*, 2020; Sugiura *et al.*, 2003). En respuesta al estrés agudo Sty1 fosforila a Rnc1, que se une y desestabiliza a los ARNm de varios componentes de la ruta SAPK entre los que se encuentran Wak1 (MAPKKK), Wis1 (MAPKK) y los de las fosfatasas Pyp1 y Pyp2, actuando por tanto como un regulador negativo de la ruta. La ruta SAPK estaría contribuyendo mediante este mecanismo a reducir la magnitud de la activación de la ruta CIP en respuesta a determinados tipos de estrés ambiental (Prieto-Ruiz *et al.*, 2020).

2.1.6. Control ambiental de la morfogénesis

La multiplicación celular requiere la polarización y, en última instancia, la división celular. Ambos procesos son críticos para la supervivencia celular, ya que los fallos en su regulación provocan aneuploidías, y pueden suponer el punto de partida del crecimiento tumoral en células superiores (Halaoui & McCaffrey, 2015; Lens & Medema, 2019). Por esta y otras razones, la morfogénesis es regulada mediante la

acción de numerosas vías de señalización que coordinan de forma precisa la progresión del ciclo celular con el ensamblaje de las diversas estructuras de actina que componen el citoesqueleto (Pullikuth & Catling, 2007). Tanto la polarización celular como la citocinesis requieren el correcto ensamblaje y organización de los polímeros de actina en estructuras de complejidad superior, lo que depende en gran medida de la activación y/o inhibición de un elevado número de proteínas conservadas evolutivamente implicadas en la nucleación, elongación, entrecruzamiento y corte de los filamentos de actina (Mishra et al., 2014). La organización y localización de dichas estructuras se encuentra a su vez regulada por proteínas de señalización implicadas en la polaridad, que se encargan de transmitir la información espacial hacia el citoesqueleto. Paralelamente, la morfogénesis debe estar coordinada con las señales procedentes del entorno extracelular para garantizar la adecuada adaptación y supervivencia celular en condiciones desfavorables. Es en este punto donde participan las rutas de transducción de señales extracelulares moduladas por MAPKs, que se encuentran implicadas en el desarrollo de respuestas adaptativas a nivel molecular frente a dichos estímulos (Glotzer, 2017).

En eucariotas superiores, las MAPKs convencionales p38 y ERK juegan un papel importante sobre la remodelación del citoesqueleto de actina durante la motilidad y la migración celulares, y a menudo actúan como reguladores positivos del citoesqueleto, reforzando las diferentes estructuras de actina, incluido el anillo contráctil de actomiosina (CAR) (Pullikuth & Catling, 2007). Por ejemplo, la activación de p38 y la subsecuente fosforilación de la proteína de choque térmico HSP27 promueven la reorganización del citoesqueleto de actina durante la migración celular (Cuenda & Rousseau, 2007). La actividad de p38 es también esencial para el mantenimiento de la integridad del citoesqueleto de actina durante el proceso de envejecimiento de los hepatocitos (Tormos et al., 2017). Recientemente se ha demostrado que la activación de p38 tras un estrés de tipo mecánico promueve la migración de células cancerosas de páncreas mediante la modulación de la actividad de las Rho GTPasas Cdc42 y Rac1, que actúan como reguladores esenciales de la nucleación y dinámica de la actina (Kalli et al., 2021). La señalización de la ruta de MAPKs ERK también es necesaria para la activación de la GTPasa Rho inducida por fibronectina, la actividad de la Rho quinasa, y la maduración de las adhesiones focales en células en crecimiento (Pullikuth & Catling, 2010). Además, ERK fosforila a WAVE2 y Abi1 en los extremos en crecimiento de los lamelipodios, favoreciendo su interacción con el complejo Arp2/3 y la polimerización de actina durante la migración celular (Mendoza et al., 2011). En eucariotas sencillos como las levaduras también se han descrito casos de interacción funcional entre las rutas de señalización ambiental y el citoesqueleto de actina. En *C. albicans*, la ruta de MAPKs mediada por Cek, ortóloga a ERK en eucariotas superiores, regula la expresión de genes que favorecen el desarrollo hifal (Sudbery, 2011). Se ha descrito que las proteínas transmembrana Opy2, Sho1 y Msb2, elementos aguas arriba de dicha ruta, forman un complejo con la Rho GTPasa Cdc42 que promueve la activación de la MAPK Cek1, reclutando a los elementos requeridos para la remodelación del citoesqueleto de actina y otras estructuras relacionadas. Todo ello permite

la adaptación de *C. albicans* frente a los cambios osmóticos que se producen en el entorno extracelular (Herrero-de-Dios et al., 2014). En *S. cerevisiae* Ssk2, uno de los componentes de la ruta de MAPKs mediada por Hog1 (ortóloga a las rutas JNK y p38 de eucariotas superiores), está implicado en la reconstrucción del citoesqueleto de actina tras el estrés osmótico (Bettinger et al., 2007). Ssk2 actúa aguas abajo de las proteínas del polarisoma Bud6 y Pea2, y aguas arriba de la tropomiosina, posiblemente regulando positivamente la actividad nucleadora de actina de las forminas (Bettinger et al., 2007). Además, Ste12, el efector final de la ruta de MAPKs de respuesta a feromonas en esta levadura, junto con el factor de transcripción Tec1, regulan la morfogénesis durante el desarrollo pseudohifal al modular la expresión de genes necesarios para la filamentación e invasión (Lengeler et al., 2000).

En *S. pombe* Sty1, el ortólogo de p38 en eucariotas superiores, interacciona funcionalmente con el citoesqueleto de actina y está implicado en la regulación de la polaridad celular. La actividad de Sty1 es necesaria para reiniciar el crecimiento polarizado y la dinámica de los microtúbulos tras el estrés hiperosmótico (Robertson & Hagan, 2008). Además, se ha descrito que Sty1 se activa cuando las células son tratadas con Latrunculina A (LatA) (Mutavchiev et al., 2016), un macrólido que secuestra monómeros de actina e inhibe el ensamblaje de las diferentes estructuras del citoesqueleto, además de acelerar la despolimerización de los filamentos de actina (Fujiwara et al., 2018; Morton et al., 2000). La activación de Sty1 en respuesta a LatA desencadena la dispersión de la forma activa de la Rho GTPasa Cdc42 de los polos celulares, inhibiendo el crecimiento polarizado (Mutavchiev et al., 2016). Recientemente se ha demostrado que el estrés oxidativo inducido con peróxido de hidrógeno (H_2O_2), también causa la dispersión de la forma activa de Cdc42 de los polos celulares de forma dependiente de la activación de Sty1, y sin promover la despolimerización de la actina (Salat-Canela et al., 2021). Así, la activación de Sty1 en respuesta a dicho estrés reduciría la disponibilidad de la forma activa de Cdc42 presente en los polos celulares, provocando la inhibición transitoria del crecimiento polarizado. Los autores proponen que Sty1 ejerce su función mediante la activación de Rga3 (GAP de Cdc42), y la inhibición de Gef1 (GEF de Cdc42), ya que ambos son fosforilados *in vivo* por la MAPK (Salat-Canela et al., 2021). Cabe destacar que la activación directa de Sty1 inducida genéticamente, e independiente de estrés, es suficiente para que se produzca la exclusión del módulo de polaridad de la zona cortical (Mutavchiev et al., 2016; Salat-Canela et al., 2021). Por su parte en *S. japonicus* se ha descrito que Spk1 y Pmk1, las respectivas MAPKs de las rutas de respuesta a feromonas y de integridad celular, podrían estar implicadas en la regulación del desarrollo hifal una vez se ha iniciado el crecimiento filamentoso, aunque su actividad no es esencial para que se produzca el cambio dimórfico (Nozaki et al., 2018). Por el contrario, la regulación de la polaridad celular mediante la ruta de Ras1-Cdc42 resulta crítica para el crecimiento hifal (Nozaki et al., 2018). De forma similar, en *S. pombe* la ruta de Ras1-Cdc42 regula el crecimiento polarizado que conduce a la formación del “shmoo” durante la conjugación (Bendezú & Martin, 2013). En *S. japonicus* la formación de hifas se produce en respuesta a diferentes estímulos ambientales como la limitación nutricional o en

presencia de compuestos presentes en el extracto de uva roja (Furuya & Niki, 2010, 2012; Kinnaer *et al.*, 2019), por lo que cabe pensar que las rutas mediadas por MAPKs regulan de alguna forma la transición dimórfica en este organismo, y al igual que en *C. albicans* o *S. cerevisiae*, tal y como se ha descrito anteriormente.

Además de su implicación en la regulación de la polaridad y el dimorfismo, las rutas de transducción de señales mediadas por MAPKs también están implicadas en la regulación de la citocinesis en eucariotas. Estos mecanismos se han estudiado con cierta profundidad en el caso de las células vegetales. Así, en la planta del tabaco y en *Arabidopsis* la formación del fragmoplasto, una estructura que se forma en la zona media de las células vegetales y cuya expansión es necesaria para la formación de la placa celular y el desarrollo de la citocinesis, es controlada por una ruta denominada NPK1-QCR. Esta ruta está constituida por un módulo de MAPKs, en la que la MAPKKK se activa tras su unión a unas proteínas similares a la kinesina (KLPs) y específicas de citocinesis, denominadas NACK. A su vez, la actividad del complejo NACK-MAPKKK es modulada negativamente por fosforilación dependiente de una quinasa de ciclina (CDK), formando parte por tanto de un sistema regulador de la progresión del ciclo celular (Sasabe & Machida, 2014). En *Arabidopsis* la MAPK de la ruta NPK1-QCR MPK4 es esencial para la citocinesis (Kosetsu *et al.*, 2010). MPK4 fosforila a PATL2 (Patelina2), una proteína que se acumula en la zona media de la célula durante la división, y cuya función se relaciona con la formación de la placa celular y la regeneración membranal (Suzuki *et al.*, 2016). Además, en esta planta se ha descrito la existencia de una interacción genética entre el factor de transcripción específico de fase G2/M MYRB3R4 y la MAPKKK ANP3 de la ruta NPK1-QCR, siendo esta necesaria para que la citocinesis progrese de forma adecuada (Saito *et al.*, 2015).

El conocimiento actual sobre las posibles relaciones funcionales entre rutas de MAPKs y la maquinaria citocinética en células animales es mucho más limitado. La tirosina quinasa Src favorece la activación de ERK y su localización en la zona de división durante la citocinesis tardía, siendo esta necesaria para que se produzca la abscisión de las dos células hijas (Kasahara *et al.*, 2007). Además, se ha demostrado que las integrinas regulan positivamente la progresión de la citocinesis en la línea celular CHO (*Chinese Hamster Ovary*), mediante la activación de la ruta ERK (Mathew-Steiner *et al.*, 2013). Recientemente se ha descrito que la proteína Argonauta 2 (AGO2), que forma parte del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) en eucariotas superiores, localiza en el anillo citocinético de manera dependiente de su fosforilación por p38, y que dicha localización es necesaria para que la citocinesis progrese de forma adecuada (Pantazopoulou *et al.*, 2021).

A pesar de que las proteínas implicadas en la citocinesis en *S. pombe* se conocen mejor que en cualquier otro eucariota, los posibles mecanismos responsables de la regulación espaciotemporal de este proceso por medio de MAPKs son desconocidos en su mayoría. Un trabajo reciente ha demostrado que la activación de la ruta CIP en respuesta a tratamientos que comprometen la integridad de la pared celular, induce un retraso en la constricción del CAR, estableciendo un punto de control o “*checkpoint*” que aseguraría que la citocinesis se completa únicamente si las células

se han adaptado a las nuevas condiciones de crecimiento (Edreira *et al.*, 2020). En cuanto a *S. japonicus*, se trata de un organismo modelo relativamente reciente, por lo que hay muchos aspectos de su biología que actualmente se desconocen. Se puede concluir que hasta la fecha no se ha realizado un estudio en profundidad sobre el impacto biológico de las rutas de señalización ambiental reguladas por MAPKs durante el crecimiento polarizado y la citocinesis en las levaduras de fisión.

BIBLIOGRAFÍA

- Aghamohammadzadeh, S., & Ayscough, K. R. (2009). Differential requirements for actin during yeast and mammalian endocytosis. *Nature Cell Biology*, 11(8), 1039–1042. <https://doi.org/10.1038/ncb1918>
- Akamatsu, M., Berro, J., Pu, K.-M., Tebbs, I. R., & Pollard, T. D. (2014). Cytokinetic nodes in fission yeast arise from two distinct types of nodes that merge during interphase. *The Journal of Cell Biology*, 204(6), 977–988. <https://doi.org/10.1083/jcb.201307174>
- Albuquerque, P., & Casadevall, A. (2012). Quorum sensing in fungi – a review. *Medical Mycology*, 50(4), 337–345. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.652201>
- Alem, M. A. S., Oteef, M. D. Y., Flowers, T. H., & Douglas, L. J. (2006). Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development. *Eukaryotic Cell*, 5(10), 1770–1779. <https://doi.org/10.1128/EC.00219-06>
- Almonacid, M., Celton-Morizur, S., Jakubowski, J. L., Dingli, F., Loew, D., Mayeux, A., Chen, J. S., Gould, K. L., Clifford, D. M., & Paoletti, A. (2011). Temporal control of contractile ring assembly by Plo1 regulation of myosin II recruitment by Mid1/anillin. *Current Biology : CB*, 21(6), 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.003>
- Almonacid, M., Moseley, J. B., Janvore, J., Mayeux, A., Fraiser, V., Nurse, P., & Paoletti, A. (2009). Spatial control of cytokinesis by Cdr2 kinase and Mid1/anillin nuclear export. *Current Biology : CB*, 19(11), 961–966. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.04.024>
- Amoah-Buahin, E., Bone, N., & Armstrong, J. (2005). Hyphal Growth in the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Eukaryotic Cell*, 4(7), 1287–1297. <https://doi.org/10.1128/EC.4.7.1287-1297.2005>
- Aoki, K., Furuya, K., & Niki, H. (2017). *Schizosaccharomyces japonicus*: A Distinct Dimorphic Yeast among the Fission Yeasts. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017(12), pdb.top082651. <https://doi.org/10.1101/pdb.top082651>
- Aoki, K., Hayashi, H., Furuya, K., Sato, M., Takagi, T., Osumi, M., Kimura, A., & Niki, H. (2011). Breakage of the nuclear envelope by an extending mitotic nucleus occurs during anaphase in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Genes to Cells : Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 16(9), 911–926. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2011.01540.x>
- Aoyama, K., Mitsubayashi, Y., Aiba, H., & Mizuno, T. (2000). Spy1, a histidinecontaining phosphotransfer signaling protein, regulates the fission yeast cell cycle through the Mcs4 response regulator. *Journal of Bacteriology*, 182(17), 4868–4874. <https://doi.org/10.1128/JB.182.17.4868-4874.2000>

- Arai, R., & Mabuchi, I. (2002). F-actin ring formation and the role of F-actin cables in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Cell Science*, 115(Pt 5), 887–898.
- Arasada, R., & Pollard, T. D. (2014). Contractile ring stability in *S. pombe* depends on F-BAR protein Cdc15p and Bgs1p transport from the Golgi complex. *Cell Reports*, 8(5), 1533–1544. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.048>
- Arellano, M., Duran, A., & Perez, P. (1997). Localization of the *Schizosaccharomyces pombe* rho1p GTPase and its involvement in the organisation of the actin cytoskeleton. *Journal of Cell Science*, 110 (Pt 2, 2547–2555.
- Arellano, M., Valdivieso, M. H., Calonge, T. M., Coll, P. M., Duran, A., & Perez, P. (1999). *Schizosaccharomyces pombe* protein kinase C homologues, pck1p and pck2p, are targets of rho1p and rho2p and differentially regulate cell integrity. *Journal of Cell Science*, 112 (Pt 2, 3569–3578.
- Arkowitz, R. A., & Bassilana, M. (2011). Polarized growth in fungi: symmetry breaking and hyphal formation. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 22(8), 806–815. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2011.08.010>
- Avbelj, M., Zupan, J., Kranjc, L., & Raspor, P. (2015). Quorum-Sensing Kinetics in *Saccharomyces cerevisiae*: A Symphony of ARO Genes and Aromatic Alcohols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(38), 8544–8550. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03400>
- Avbelj, M., Zupan, J., & Raspor, P. (2016). Quorum-sensing in yeast and its potential in wine making. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(18), 7841–7852. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7758-3>
- Bähler, J., Steever, A. B., Wheatley, S., Wang, Y. I., Pringle, J. R., Gould, K. L., & McCollum, D. (1998). Role of polo kinase and Mid1p in determining the site of cell division in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 143(6), 1603–1616. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.6.1603>
- Bandara, H. M. H. N., Lam, O. L. T., Jin, L. J., & Samaranyake, L. (2012). Microbial chemical signaling: a current perspective. *Critical Reviews in Microbiology*, 38(3), 217–249. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.652065>
- Barba, G., Soto, T., Madrid, M., Núñez, A., Vicente, J., Gacto, M., & Cansado, J. (2008). Activation of the cell integrity pathway is channelled through diverse signalling elements in fission yeast. *Cellular Signalling*, 20(4), 748–757. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.12.017>
- Bardwell, L. (2006). Mechanisms of MAPK signalling specificity. *Biochemical Society Transactions*, 34(Pt 5), 837–841. <https://doi.org/10.1042/BST0340837>

- Barriuso, J., Hogan, D. A., Keshavarz, T., & Martínez, M. J. (2018). Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(5), 627–638. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy022>
- Bell, M., & Engelberg, D. (2003). Phosphorylation of Tyr-176 of the yeast MAPK Hog1/p38 is not vital for Hog1 biological activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(17), 14603–14606. <https://doi.org/10.1074/jbc.C300006200>
- Bendezú, F. O., & Martin, S. G. (2013). Cdc42 explores the cell periphery for mate selection in fission yeast. *Current Biology: CB*, 23(1), 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.10.042>
- Berro, J., Sirotkin, V., & Pollard, T. D. (2010). Mathematical modeling of endocytic actin patch kinetics in fission yeast: disassembly requires release of actin filament fragments. *Molecular Biology of the Cell*, 21(16), 2905–2915. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-06-0494>
- Bettinger, B. T., Clark, M. G., & Amberg, D. C. (2007). Requirement for the polarisome and formin function in Ssk2p-mediated actin recovery from osmotic stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 175(4), 1637–1648. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.063370>
- Bhattacharjee, R., Mangione, M. C., Wos, M., Chen, J.-S., Snider, C. E., Roberts-Galbraith, R. H., McDonald, N. A., Presti, L. Lo, Martin, S. G., & Gould, K. L. (2020). DYRK kinase Pom1 drives F-BAR protein Cdc15 from the membrane to promote medial division. *Molecular Biology of the Cell*, 31(9), 917–929. <https://doi.org/10.1091/mbc.E20-01-0026>
- Blanchoin, L., Boujemaa-Paterski, R., Sykes, C., & Plastino, J. (2014). Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility. *Physiological Reviews*, 94(1), 235–263. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2013>
- Blüthgen, N., & Legewie, S. (2008). Systems analysis of MAPK signal transduction. *Essays in Biochemistry*, 45(1), 95. <https://doi.org/10.1042/BSE0450095>
- Bohnert, K. A., Grzegorzewska, A. P., Willet, A. H., Vander Kooi, C. W., Kovar, D. R., & Gould, K. L. (2013). SIN-dependent phosphoinhibition of formin multimerization controls fission yeast cytokinesis. *Genes & Development*, 27(19), 2164–2177. <https://doi.org/10.1101/gad.224154.113>
- Boyce, K. J., & Andrianopoulos, A. (2015). Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(6), 797–811. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv035>

- Braun, B. R., Kadosh, D., & Johnson, A. D. (2001). NRG1, a repressor of filamentous growth in *C. albicans*, is down-regulated during filament induction. *The EMBO Journal*, 20(17), 4753–4761. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.17.4753>
- Breitsprecher, D., & Goode, B. L. (2013). Formins at a glance. *Journal of Cell Science*, 126(Pt 1), 1–7. <https://doi.org/10.1242/jcs.107250>
- Buck, V., Quinn, J., Soto Pino, T., Martin, H., Saldanha, J., Makino, K., Morgan, B. A., & Millar, J. B. (2001). Peroxide sensors for the fission yeast stress-activated mitogen-activated protein kinase pathway. *Molecular Biology of the Cell*, 12(2), 407–419. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.2.407>
- Bulder, C. J. (1971). Anaerobic growth, ergosterol content and sensitivity to a polyene antibiotic, of the yeast *Schizosaccharomyces japonicus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 37(3), 353–358. <https://doi.org/10.1007/BF02218505>
- Calonge, T. M., Nakano, K., Arellano, M., Arai, R., Katayama, S., Toda, T., Mabuchi, I., & Perez, P. (2000). *Schizosaccharomyces pombe* rho2p GTPase regulates cell wall alpha-glucan biosynthesis through the protein kinase pck2p. *Molecular Biology of the Cell*, 11(12), 4393–4401. <https://doi.org/10.1091/mbc.11.12.4393>
- Cao, Y.-Y., Cao, Y.-B., Xu, Z., Ying, K., Li, Y., Xie, Y., Zhu, Z.-Y., Chen, W.-S., & Jiang, Y.-Y. (2005). cDNA microarray analysis of differential gene expression in *Candida albicans* biofilm exposed to farnesol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(2), 584–589. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.2.584-589.2005>
- Cargnello, M., & Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 75(1), 50–83. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-10>
- Celton-Morizur, S., Bordes, N., Fraissier, V., Tran, P. T., & Paoletti, A. (2004). C-terminal anchoring of mid1p to membranes stabilizes cytokinetic ring position in early mitosis in fission yeast. *Molecular and Cellular Biology*, 24(24), 10621–10635. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.24.10621-10635.2004>
- Celton-Morizur, S., Racine, V., Sibarita, J.-B., & Paoletti, A. (2006). Pom1 kinase links division plane position to cell polarity by regulating Mid1p cortical distribution. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 22), 4710–4718. <https://doi.org/10.1242/jcs.03261>

- Chandra, J., Kuhn, D. M., Mukherjee, P. K., Hoyer, L. L., McCormick, T., & Ghannoum, M. A. (2001). Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *Journal of Bacteriology*, 183(18), 5385–5394. <https://doi.org/10.1128/JB.183.18.5385-5394.2001>
- Chang, F. (1999). Movement of a cytokinesis factor *cdc12p* to the site of cell division. *Current Biology: CB*, 9(15), 849–852. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80372-8](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80372-8)
- Chang, F., Drubin, D., & Nurse, P. (1997). *cdc12p*, a protein required for cytokinesis in fission yeast, is a component of the cell division ring and interacts with profilin. *The Journal of Cell Biology*, 137(1), 169–182. <https://doi.org/10.1083/jcb.137.1.169>
- Chang, F., & Huang, K. C. (2014). How and why cells grow as rods. *BMC Biology*, 12, 54. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0054-8>
- Chang, F., & Martin, S. G. (2009). Shaping fission yeast with microtubules. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(1), a001347. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001347>
- Chang, L., & Karin, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*, 410(6824), 37–40. <https://doi.org/10.1038/35065000>
- Cheffings, T. H., Burroughs, N. J., & Balasubramanian, M. K. (2016). Actomyosin Ring Formation and Tension Generation in Eukaryotic Cytokinesis. *Current Biology: CB*, 26(15), R719–R737. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.071>
- Chen, D., Toone, W. M., Mata, J., Lyne, R., Burns, G., Kivinen, K., Brazma, A., Jones, N., & Bähler, J. (2003). Global transcriptional responses of fission yeast to environmental stress. *Molecular Biology of the Cell*, 14(1), 214–229. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-08-0499>
- Chen, H., & Fink, G. R. (2006). Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes & Development*, 20(9), 1150–1161. <https://doi.org/10.1101/gad.1411806>
- Chen, H., Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., & Fink, G. R. (2004). Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), 5048–5052. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401416101>

- Chen, H., Zhou, X., Ren, B., & Cheng, L. (2020). *The regulation of hyphae growth in Candida albicans. Virulence, 11(1), 337–348.* <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1748930>
- Chen, Q., & Pollard, T. D. (2013). Actin filament severing by cofilin dismantles actin patches and produces mother filaments for new patches. *Current Biology : CB, 23(13), 1154–1162.* <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.005>
- Chen, R. E., & Thorner, J. (2007). Function and regulation in MAPK signaling pathways: lessons learned from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et Biophysica Acta, 1773(8), 1311–1340.* <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.05.003>
- Cherfils, J., & Zeghouf, M. (2013). Regulation of small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiological Reviews, 93(1), 269–309.* <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2012>
- Chhabra, E. S., & Higgs, H. N. (2007). The many faces of actin: matching assembly factors with cellular structures. *Nature Cell Biology, 9(10), 1110–1121.* <https://doi.org/10.1038/ncb1007-1110>
- Clifford, D. M., Wolfe, B. A., Roberts-Galbraith, R. H., McDonald, W. H., Yates, J. R. 3rd, & Gould, K. L. (2008). The Clp1/Cdc14 phosphatase contributes to the robustness of cytokinesis by association with anillin-related Mid1. *The Journal of Cell Biology, 181(1), 79–88.* <https://doi.org/10.1083/jcb.200709060>
- Coffman, V. C., Nile, A. H., Lee, I.-J., Liu, H., & Wu, J.-Q. (2009). Roles of formin nodes and myosin motor activity in Mid1p-dependent contractile-ring assembly during fission yeast cytokinesis. *Molecular Biology of the Cell, 20(24), 5195–5210.* <https://doi.org/10.1091/mbc.e09-05-0428>
- Coffman, V. C., Sees, J. A., Kovar, D. R., & Wu, J.-Q. (2013). The formins Cdc12 and For3 cooperate during contractile ring assembly in cytokinesis. *The Journal of Cell Biology, 203(1), 101–114.* <https://doi.org/10.1083/jcb.201305022>
- Cortés, J. C. G., Pujol, N., Sato, M., Pinar, M., Ramos, M., Moreno, B., Osumi, M., Ribas, J. C., & Pérez, P. (2015). Cooperation between Paxillin-like Protein Pxl1 and Glucan Synthase Bgs1 Is Essential for Actomyosin Ring Stability and Septum Formation in Fission Yeast. *PLoS Genetics, 11(7), e1005358.* <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005358>

- Cottarel, G. (1997). Mcs4, a two-component system response regulator homologue, regulates the *Schizosaccharomyces pombe* cell cycle control. *Genetics*, 147(3), 1043–1051.
- Cremer, J., Vatou, V., & Braveny, I. (1999). 2,4-(hydroxyphenyl)-ethanol, an antioxidative agent produced by *Candida* spp., impairs neutrophilic yeast killing *in vitro*. *FEMS Microbiology Letters*, 170(2), 319–325. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13390.x>
- Cruz, S., Muñoz, S., Manjón, E., García, P., & Sanchez, Y. (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*, 2(5), 778–794. <https://doi.org/10.1002/mbo3.113>
- Cuenda, A., & Rousseau, S. (2007). p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1773(8), 1358–1375. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.03.010>
- D'souza, V. M., Naqvi, N. I., Wang, H., & Balasubramanian, M. K. (2001). Interactions of Cdc4p, a myosin light chain, with IQ-domain containing proteins in *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Structure and Function*, 26(6), 555–565. <https://doi.org/10.1247/csf.26.555>
- Daga, R. R., & Chang, F. (2005). Dynamic positioning of the fission yeast cell division plane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(23), 8228–8232. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409021102>
- Daga, R. R., Yonetani, A., & Chang, F. (2006). Asymmetric microtubule pushing forces in nuclear centering. *Current Biology: CB*, 16(15), 1544–1550. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.026>
- Davì, V., & Minc, N. (2015). Mechanics and morphogenesis of fission yeast cells. *Current Opinion in Microbiology*, 28, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.07.010>
- Davidson, A. J., & Wood, W. (2016). Unravelling the Actin Cytoskeleton: A New Competitive Edge? *Trends in Cell Biology*, 26(8), 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.04.001>
- Davis-Hanna, A., Piispanen, A. E., Stateva, L. I., & Hogan, D. A. (2008). Farnesol and dodecanol effects on the *Candida albicans* Ras1-cAMP signalling pathway and the regulation of morphogenesis. *Molecular Microbiology*, 67(1), 47–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.06013.x>

- Davis, R. J. (2000). Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell*, 103(2), 239–252. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00116-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00116-1)
- Degols, G., & Russell, P. (1997). Discrete roles of the Spc1 kinase and the Atf1 transcription factor in the UV response of *Schizosaccharomyces pombe*. *Molecular and Cellular Biology*, 17(6), 3356–3363. <https://doi.org/10.1128/MCB.17.6.3356>
- Degols, G., Shiozaki, K., & Russell, P. (1996). Activation and regulation of the Spc1 stress-activated protein kinase in *Schizosaccharomyces pombe*. *Molecular and Cellular Biology*, 16(6), 2870–2877. <https://doi.org/10.1128/MCB.16.6.2870>
- Desai, A., & Mitchison, T. J. (1997). Microtubule polymerization dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13, 83–117. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.83>
- Deveau, A., Piispanen, A. E., Jackson, A. A., & Hogan, D. A. (2010). Farnesol induces hydrogen peroxide resistance in *Candida albicans* yeast by inhibiting the Ras-cyclic AMP signaling pathway. *Eukaryotic Cell*, 9(4), 569–577. <https://doi.org/10.1128/EC.00321-09>
- DeWard, A. D., & Alberts, A. S. (2009). Ubiquitin-mediated degradation of the formin mDia2 upon completion of cell division. *Journal of Biological Chemistry*, 284(30), 20061–20069. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.000885>
- Dižová, S., & Bujdáková, H. (2017). Properties and role of the quorum sensing molecule farnesol in relation to the yeast *Candida albicans*. *Die Pharmazie*, 72(6), 307–312. <https://doi.org/10.1691/ph.2017.6174>
- Dodgson, J., Avula, H., Hoe, K.-L., Kim, D.-U., Park, H.-O., Hayles, J., & Armstrong, J. (2009). Functional Genomics of Adhesion, Invasion, and Mycelial Formation in *Schizosaccharomyces pombe*. *Eukaryotic Cell*, 8(8), 1298–1306. <https://doi.org/10.1128/EC.00078-09>
- Dodgson, J., Brown, W., Rosa, C. A., & Armstrong, J. (2010). Reorganization of the Growth Pattern of *Schizosaccharomyces pombe* in Invasive Filament Formation. *Eukaryotic Cell*, 9(11), 1788–1797. <https://doi.org/10.1128/EC.00084-10>
- Drummond, D. R., & Cross, R. A. (2000). Dynamics of interphase microtubules in *Schizosaccharomyces pombe*. *Current Biology: CB*, 10(13), 766–775. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00570-4](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00570-4)

- Dundon, S. E. R., & Pollard, T. D. (2020). Microtubule nucleation promoters Mto1 and Mto2 regulate cytokinesis in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 31(17), 1846–1856. <https://doi.org/10.1091/mbc.E19-12-0686>
- Edreira, T., Celador, R., Manjón, E., & Sánchez, Y. (2020). A novel checkpoint pathway controls actomyosin ring constriction trigger in fission yeast. *ELife*, 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.59333>
- Eng, K., Naqvi, N. I., Wong, K. C., & Balasubramanian, M. K. (1998). Rng2p, a protein required for cytokinesis in fission yeast, is a component of the actomyosin ring and the spindle pole body. *Current Biology : CB*, 8(11), 611–621. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(98\)70248-9](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(98)70248-9)
- Engbrecht, J., & Silverman, M. (1984). Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(13), 4154–4158. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.13.4154>
- Espinoza-Sanchez, S., Metskas, L. A., Chou, S. Z., Rhoades, E., & Pollard, T. D. (2018). Conformational changes in Arp2/3 complex induced by ATP, WASp-VCA, and actin filaments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(37), E8642–E8651. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717594115>
- Fankhauser, C., Reymond, A., Cerutti, L., Utzig, S., Hofmann, K., & Simanis, V. (1995). The *S. pombe* cdc15 gene is a key element in the reorganization of F-actin at mitosis. *Cell*, 82(3), 435–444. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90432-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90432-8)
- Farooq, A., & Zhou, M.-M. (2004). Structure and regulation of MAPK phosphatases. *Cellular Signalling*, 16(7), 769–779. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2003.12.008>
- Feierbach, B., & Chang, F. (2001). Roles of the fission yeast formin for3p in cell polarity, actin cable formation and symmetric cell division. *Current Biology*, 11(21), 1656–1665. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00525-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00525-5)
- Feierbach, B., Verde, F., & Chang, F. (2004). Regulation of a formin complex by the microtubule plus end protein tea1p. *The Journal of Cell Biology*, 165(5), 697–707. <https://doi.org/10.1083/jcb.200403090>
- Fletcher, D. A., & Mullins, R. D. (2010). Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 463(7280), 485–492. <https://doi.org/10.1038/nature08908>

- Franco, A., Gacto, M., Gómez-Gil, E., Madrid, M., Vicente-Soler, J., Vázquez-Marín, B., Cansado, J., & Soto, T. (2021). Quorum Sensing: A Major Regulator of Fungal Development. In T. G. Villa & T. de Miguel Bouzas (Eds.), *Developmental Biology in Prokaryotes and Lower Eukaryotes* (pp. 331–366). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-77595-7_14
- Franco, A., Soto, T., Martín-García, R., Madrid, M., Vázquez-Marín, B., Vicente-Soler, J., Coll, P. M., Gacto, M., Pérez, P., & Cansado, J. (2017). Distinct functional relevance of dynamic GTPase cysteine methylation in fission yeast. *Scientific Reports*, 7(1), 6057. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06053-x>
- Fujiwara, I., Zweifel, M. E., Courtemanche, N., & Pollard, T. D. (2018). Latrunculin A Accelerates Actin Filament Depolymerization in Addition to Sequestering Actin Monomers. *Current Biology : CB*, 28(19), 3183–3192.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.082>
- Furuya, K., & Niki, H. (2010). The DNA Damage Checkpoint Regulates a Transition between Yeast and Hyphal Growth in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Molecular and Cellular Biology*, 30(12), 2909–2917. <https://doi.org/10.1128/MCB.00049-10>
- Furuya, K., & Niki, H. (2012). Hyphal differentiation induced via a DNA damage checkpoint-dependent pathway engaged in crosstalk with nutrient stress signaling in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Current Genetics*, 58(5–6), 291–303. <https://doi.org/10.1007/s00294-012-0384-4>
- G Cortés, J. C., Ramos, M., Konomi, M., Barragán, I., Moreno, M. B., Alcaide-Gavilán, M., Moreno, S., Osumi, M., Pérez, P., & Ribas, J. C. (2018). Specific detection of fission yeast primary septum reveals septum and cleavage furrow ingression during early anaphase independent of mitosis completion. *PLoS Genetics*, 14(5), e1007388. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007388>
- Gachet, Y., & Hyams, J. S. (2005). Endocytosis in fission yeast is spatially associated with the actin cytoskeleton during polarised cell growth and cytokinesis. *Journal of Cell Science*, 118(Pt 18), 4231–4242. <https://doi.org/10.1242/jcs.02530>
- Gacto, M., Soto, T., Vicente-Soler, J., Villa, T. G., & Cansado, J. (2003). Learning from yeasts: Intracellular sensing of stress conditions. In *International Microbiology* (Vol. 6, Issue 3, pp. 211–219). Springer-Verlag GmbH Co. KG. <https://doi.org/10.1007/s10123-003-0136-x>

- Gaits, F., Degols, G., Shiozaki, K., & Russell, P. (1998). Phosphorylation and association with the transcription factor Atf1 regulate localization of Spc1/Sty1 stress-activated kinase in fission yeast. *Genes & Development*, 12(10), 1464–1473. <https://doi.org/10.1101/gad.12.10.1464>
- Gaits, F., & Russell, P. (1999). Active nucleocytoplasmic shuttling required for function and regulation of stress-activated kinase Spc1/Sty1 in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 10(5), 1395–1407. <https://doi.org/10.1091/mbc.10.5.1395>
- Gallardo, P., Barrales, R. R., Daga, R. R., & Salas-Pino, S. (2019). Nuclear Mechanics in the Fission Yeast. *Cells*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/cells8101285>
- Gancedo, J. M. (2001). Control of pseudohyphae formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 25(1), 107–123. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2001.tb00573.x>
- García Cortés, J. C., Ramos, M., Osumi, M., Pérez, P., & Ribas, J. C. (2016). The Cell Biology of Fission Yeast Septation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 779–791. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00013-16>
- Gartner, A., Nasmyth, K., & Ammerer, G. (1992). Signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae* requires tyrosine and threonine phosphorylation of FUS3 and KSS1. *Genes & Development*, 6(7), 1280–1292. <https://doi.org/10.1101/gad.6.7.1280>
- George, V. T., Brooks, G., & Humphrey, T. C. (2007). Regulation of cell cycle and stress responses to hydrostatic pressure in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 18(10), 4168–4179. <https://doi.org/10.1091/mbc.e06-12-1141>
- Gimeno, C. J., Ljungdahl, P. O., Styles, C. A., & Fink, G. R. (1992). Unipolar cell divisions in the yeast *S. cerevisiae* lead to filamentous growth: regulation by starvation and RAS. *Cell*, 68(6), 1077–1090. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90079-r](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90079-r)
- Glotzer, M. (2017). Cytokinesis in Metazoa and Fungi. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022343>
- Glynn, J. M., Lustig, R. J., Berlin, A., & Chang, F. (2001). Role of bud6p and tea1p in the interaction between actin and microtubules for the establishment of cell polarity in fission yeast. *Current Biology : CB*, 11(11), 836–845. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(01\)00235-4](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00235-4)
- Goodson, H. V., & Jonasson, E. M. (2018). Microtubules and Microtubule-Associated Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(6). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022608>

- Gu, Y., & Oliferenko, S. (2015). Comparative biology of cell division in the fission yeast clade. *Current Opinion in Microbiology*, 28, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.07.011>
- Gu, Y., Yam, C., & Oliferenko, S. (2015). Rewiring of Cellular Division Site Selection in Evolution of Fission Yeasts. *Current Biology*, 25(9), 1187–1194. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.02.056>
- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, 18(5), 310–321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>
- Gunning, P. W., Ghoshdastider, U., Whitaker, S., Popp, D., & Robinson, R. C. (2015). The evolution of compositionally and functionally distinct actin filaments. *Journal of Cell Science*, 128(11), 2009–2019. <https://doi.org/10.1242/jcs.165563>
- Hachet, O., Berthelot-Grosjean, M., Kokkoris, K., Vincenzetti, V., Moosbrugger, J., & Martin, S. G. (2011). A phosphorylation cycle shapes gradients of the DYRK family kinase Pom1 at the plasma membrane. *Cell*, 145(7), 1116–1128. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.05.014>
- Hachet, O., & Simanis, V. (2008). Mid1p/anillin and the septation initiation network orchestrate contractile ring assembly for cytokinesis. *Genes & Development*, 22(22), 3205–3216. <https://doi.org/10.1101/gad.1697208>
- Hagan, I. M. (1998). The fission yeast microtubule cytoskeleton. *Journal of Cell Science*, 111 (Pt 1), 1603–1612.
- Hagan, I. M., & Hyams, J. S. (1988). The use of cell division cycle mutants to investigate the control of microtubule distribution in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Cell Science*, 89 (Pt 3), 343–357.
- Halaoui, R., & McCaffrey, L. (2015). Rewiring cell polarity signaling in cancer. *Oncogene*, 34(8), 939–950. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.59>
- Hall, A. (2012). Rho family GTPases. *Biochemical Society Transactions*, 40(6), 1378–1382. <https://doi.org/10.1042/BST20120103>
- Hall, R. A., Turner, K. J., Chaloupka, J., Cottier, F., De Sordi, L., Sanglard, D., Levin, L. R., Buck, J., & Mühlischlegel, F. A. (2011). The quorum-sensing molecules farnesol/homoserine lactone and dodecanol operate via distinct modes of action in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*, 10(8), 1034–1042. <https://doi.org/10.1128/EC.05060-11>

- Han, T.-L., Cannon, R. D., & Villas-Bôas, S. G. (2011). The metabolic basis of *Candida albicans* morphogenesis and quorum sensing. *Fungal Genetics and Biology : FG & B*, 48(8), 747–763. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.04.002>
- Harris, S. D. (2006). Cell polarity in filamentous fungi: shaping the mold. *International Review of Cytology*, 251, 41–77. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(06\)51002-2](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(06)51002-2)
- Harris, S. D. (2008). Branching of fungal hyphae: regulation, mechanisms and comparison with other branching systems. *Mycologia*, 100(6), 823–832. <https://doi.org/10.3852/08-177>
- Harris, S. D. (2011). Hyphal morphogenesis: an evolutionary perspective. *Fungal Biology*, 115(6), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.02.002>
- Hawser, S. P., & Douglas, L. J. (1994). Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials *tt*. *Infection and Immunity*, 62(3), 915–921. <https://doi.org/10.1128/iai.62.3.915-921.1994>
- Hazelwood, L. A., Daran, J.-M., van Maris, A. J. A., Pronk, J. T., & Dickinson, J. R. (2008). The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8), 2259–2266. <https://doi.org/10.1128/AEM.02625-07>
- Heckman, D. S., Geiser, D. M., Eidell, B. R., Stauffer, R. L., Kardos, N. L., & Hedges, S. B. (2001). Molecular Evidence for the Early Colonization of Land by Fungi and Plants. *Science*, 293(5532), 1129–1133. <https://doi.org/10.1126/science.1061457>
- Herrero-de-Dios, C., Alonso-Monge, R., & Pla, J. (2014). The lack of upstream elements of the Cek1 and Hog1 mediated pathways leads to a synthetic lethal phenotype upon osmotic stress in *Candida albicans*. *Fungal Genetics and Biology : FG & B*, 69, 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.05.010>
- Higgs, H. N. (2005). Formin proteins: a domain-based approach. *Trends in Biochemical Sciences*, 30(6), 342–353. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.04.014>
- Higgs, H. N., & Peterson, K. J. (2005). Phylogenetic analysis of the formin homology 2 domain. *Molecular Biology of the Cell*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-07-0565>

- Hirata, D., Nakano, K., Fukui, M., Takenaka, H., Miyakawa, T., & Mabuchi, I. (1998). Genes that cause aberrant cell morphology by overexpression in fission yeast: a role of a small GTP-binding protein Rho2 in cell morphogenesis. *Journal of Cell Science*, 111 (Pt 2, 149–159.
- Hoffman, C. S., Wood, V., & Fantes, P. A. (2015). An Ancient Yeast for Young Geneticists: A Primer on the *Schizosaccharomyces pombe* Model System. *Genetics*, 201(2), 403–423. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.181503>
- Hohmann, S., & Mager, W. H. (2007). Introduction. *Yeast Stress Responses*, 1, 1–9. https://doi.org/10.1007/3-540-45611-2_1
- Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., & Nickerson, K. W. (2001). Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 2982–2992. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.2982-2992.2001>
- Hornby, J. M., Kebaara, B. W., & Nickerson, K. W. (2003). Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(7), 2366–2369. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.7.2366-2369.2003>
- Hornby, J. M., & Nickerson, K. W. (2004). Enhanced production of farnesol by *Candida albicans* treated with four azoles. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(6), 2305–2307. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.2305-2307.2004>
- Howard, J., & Hyman, A. A. (2003). Dynamics and mechanics of the microtubule plus end. *Nature*, 422(6933), 753–758. <https://doi.org/10.1038/nature01600>
- Hsiang, Y. H., Hertzberg, R., Hecht, S., & Liu, L. F. (1985). Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *The Journal of Biological Chemistry*, 260(27), 14873–14878.
- Huang, J., Huang, Y., Yu, H., Subramanian, D., Padmanabhan, A., Thadani, R., Tao, Y., Tang, X., Wedlich-Soldner, R., & Balasubramanian, M. K. (2012). Nonmedially assembled F-actin cables incorporate into the actomyosin ring in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 199(5), 831–847. <https://doi.org/10.1083/jcb.201209044>
- Huang, Y., Yan, H., & Balasubramanian, M. K. (2008). Assembly of normal actomyosin rings in the absence of Mid1p and cortical nodes in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 183(6), 979–988. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806151>

- Iraqui, I., Vissers, S., André, B., & Urrestarazu, A. (1999). Transcriptional induction by aromatic amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 19(5), 3360–3371. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.5.3360>
- Janke, C., & Magiera, M. M. (2020). The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(6), 307–326. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0214-3>
- Johnson, A. E., McCollum, D., & Gould, K. L. (2012). Polar opposites: Fine-tuning cytokinesis through SIN asymmetry. *Cytoskeleton (Hoboken, N.J.)*, 69(10), 686–699. <https://doi.org/10.1002/cm.21044>
- Juanes, M. A., & Piatti, S. (2016). Control of Formin Distribution and Actin Cable Assembly by the E3 Ubiquitin Ligases Dma1 and Dma2. *Genetics*, 204(1), 205–220. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.189258>
- Kaino, T., Tonoko, K., Mochizuki, S., Takashima, Y., & Kawamukai, M. (2018). *Schizosaccharomyces japonicus* has low levels of CoQ(10) synthesis, respiration deficiency, and efficient ethanol production. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(6), 1031–1042. <https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1401914>
- Kalli, M., Li, R., Mills, G. B., Stylianopoulos, T., & Zervantonakis, I. K. (2021). Mechanical stress signaling in pancreatic cancer cells triggers p38 MAPK- and JNK-dependent cytoskeleton remodeling and promotes cell migration via Rac1/Cdc42/Myosin II. *Molecular Cancer Research: MCR*. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-21-0266>
- Kamasaki, T., Arai, R., Osumi, M., & Mabuchi, I. (2005). Directionality of F-actin cables changes during the fission yeast cell cycle. *Nature Cell Biology*, 7(9), 916–917. <https://doi.org/10.1038/ncb1295>
- Kasahara, K., Nakayama, Y., Nakazato, Y., Ikeda, K., Kuga, T., & Yamaguchi, N. (2007). Src signaling regulates completion of abscission in cytokinesis through ERK/MAPK activation at the midbody. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5327–5339. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608396200>
- Kato, T. J., Okazaki, K., Murakami, H., Stettler, S., Fantes, P. A., & Okayama, H. (1996). Stress signal, mediated by a Hog1-like MAP kinase, controls sexual development in fission yeast. *FEBS Letters*, 378(3), 207–212. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01442-x](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01442-x)

- Kebaara, B. W., Langford, M. L., Navarathna, D. H. M. L. P., Dumitru, R., Nickerson, K. W., & Atkin, A. L. (2008). *Candida albicans* Tup1 is involved in farnesol-mediated inhibition of filamentous-growth induction. *Eukaryotic Cell*, 7(6), 980–987. <https://doi.org/10.1128/EC.00357-07>
- Kelly, M., Burke, J., Smith, M., Klar, A., & Beach, D. (1988). Four mating-type genes control sexual differentiation in the fission yeast. *The EMBO Journal*, 7(5), 1537–1547.
- Kempner, E. S., & Hanson, F. E. (1968). Aspects of light production by *Photobacterium fischeri*. *Journal of Bacteriology*, 95(3), 975–979. <https://doi.org/10.1128/jb.95.3.975-979.1968>
- Kettenbach, A. N., Deng, L., Wu, Y., Baldissard, S., Adamo, M. E., Gerber, S. A., & Moseley, J. B. (2015). Quantitative phosphoproteomics reveals pathways for coordination of cell growth and division by the conserved fission yeast kinase Pom1. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 14(5), 1275–1287. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.045245>
- Kinnaer, C., Dudin, O., & Martin, S. G. (2019). Yeast-to-hypha transition of *Schizosaccharomyces japonicus* in response to environmental stimuli. *Molecular Biology of the Cell*, 30(8), 975–991. <https://doi.org/10.1091/mbc.E18-12-0774>
- Kitayama, C., Sugimoto, A., & Yamamoto, M. (1997). Type II myosin heavy chain encoded by the *myo2* gene composes the contractile ring during cytokinesis in *Schizosaccharomyces pombe*. *The Journal of Cell Biology*, 137(6), 1309–1319. <https://doi.org/10.1083/jcb.137.6.1309>
- Klar, A. J. S. (2013). *Schizosaccharomyces japonicus* Yeast Poised to Become a Favorite Experimental Organism for Eukaryotic Research. *G3 & Genes/Genomes/Genetics*, 3(10), 1869–1873. <https://doi.org/10.1534/g3.113.007187>
- Klein, B. S., & Tebbets, B. (2007). Dimorphism and virulence in fungi. *Current Opinion in Microbiology*, 10(4), 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.04.002>
- Kosetsu, K., Matsunaga, S., Nakagami, H., Colcombet, J., Sasabe, M., Soyano, T., Takahashi, Y., Hirt, H., & Machida, Y. (2010). The MAP Kinase MPK4 Is Required for Cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 22(11), 3778–3790. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.077164>

- Kovar, D. R. (2006). Molecular details of formin-mediated actin assembly. *Current Opinion in Cell Biology*, 18(1), 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2005.12.011>
- Kovar, D. R., Kuhn, J. R., Tichy, A. L., & Pollard, T. D. (2003). The fission yeast cytokinesis formin Cdc12p is a barbed end actin filament capping protein gated by profilin. *The Journal of Cell Biology*, 161(5), 875–887. <https://doi.org/10.1083/jcb.200211078>
- Kovar, D. R., & Pollard, T. D. (2004). Insertional assembly of actin filament barbed ends in association with formins produces piconewton forces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(41), 14725–14730. <https://doi.org/10.1073/pnas.0405902101>
- Kovar, D. R., Sirotkin, V., & Lord, M. (2011). Three's company: the fission yeast actin cytoskeleton. *Trends in Cell Biology*, 21(3), 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.11.001>
- Krisak, L., Strich, R., Winters, R. S., Hall, J. P., Mallory, M. J., Kreitzer, D., Tuan, R. S., & Winter, E. (1994). SMK1, a developmentally regulated MAP kinase, is required for spore wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes and Development*. <https://doi.org/10.1101/gad.8.18.2151>
- Krishna, M., & Narang, H. (2008). The complexity of mitogen-activated protein kinases (MAPKs) made simple. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 65(22), 3525–3544. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8170-7>
- Kruppa, M. (2009). Quorum sensing and *Candida albicans*. *Mycoses*, 52(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2008.01626.x>
- Kumamoto, C. A., & Vinces, M. D. (2005). Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cellular Microbiology*, 7(11), 1546–1554. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00616.x>
- Langford, M. L., Hargarten, J. C., Patefield, K. D., Marta, E., Blankenship, J. R., Fanning, S., Nickerson, K. W., & Atkin, A. L. (2013). *Candida albicans* Czf1 and Efg1 coordinate the response to farnesol during quorum sensing, white-opaque thermal dimorphism, and cell death. *Eukaryotic Cell*, 12(9), 1281–1292. <https://doi.org/10.1128/EC.00311-12>
- Laplante, C., Berro, J., Karatekin, E., Hernandez-Leyva, A., Lee, R., & Pollard, T. D. (2015). Three myosins contribute uniquely to the assembly and constriction of the fission yeast cytokinetic contractile ring. *Current Biology : CB*, 25(15), 1955–1965. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.06.018>

- Laporte, D., Coffman, V. C., Lee, I.-J., & Wu, J.-Q. (2011). Assembly and architecture of precursor nodes during fission yeast cytokinesis. *The Journal of Cell Biology*, 192(6), 1005–1021. <https://doi.org/10.1083/jcb.201008171>
- Laporte, D., Ojkic, N., Vavylonis, D., & Wu, J.-Q. (2012). α -Actinin and fimbrin cooperate with myosin II to organize actomyosin bundles during contractile-ring assembly. *Molecular Biology of the Cell*, 23(16), 3094–3110. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-02-0123>
- Lawrence, C. L., Maekawa, H., Worthington, J. L., Reiter, W., Wilkinson, C. R. M., & Jones, N. (2007). Regulation of *Schizosaccharomyces pombe* Atf1 protein levels by Sty1-mediated phosphorylation and heterodimerization with Pcr1. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(8), 5160–5170. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608526200>
- Le Goff, X., Motegi, F., Salimova, E., Mabuchi, I., & Simanis, V. (2000). The *S. pombe* rlc1 gene encodes a putative myosin regulatory light chain that binds the type II myosins myo3p and myo2p. *Journal of Cell Science*, 113 Pt 23, 4157–4163.
- Lecuit, T., Lenne, P.-F., & Munro, E. (2011). Force generation, transmission, and integration during cell and tissue morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 157–184. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100109-104027>
- Lee, W. L., Bezanilla, M., & Pollard, T. D. (2000). Fission yeast myosin-I, Myo1p, stimulates actin assembly by Arp2/3 complex and shares functions with WASp. *The Journal of Cell Biology*, 151(4), 789–800. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.4.789>
- Lengeler, K. B., Davidson, R. C., D'souza, C., Harashima, T., Shen, W. C., Wang, P., Pan, X., Waugh, M., & Heitman, J. (2000). Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 64(4), 746–785. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.4.746-785.2000>
- Lens, S. M. A., & Medema, R. H. (2019). Cytokinesis defects and cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 19(1), 32–45. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0084-6>
- Leupold, U. (1949). *Die Vererbung von Homothallie und Heterothallie bei Schizosaccharomyces Pombe*. Luno.
- Levin, D. E. (2005). Cell wall integrity signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, 69(2), 262–291. <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.2.262-291.2005>

- Lindsay, A. K., Deveau, A., Piispanen, A. E., & Hogan, D. A. (2012). Farnesol and cyclic AMP signaling effects on the hypha-to-yeast transition in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*, 11(10), 1219–1225. <https://doi.org/10.1128/EC.00144-12>
- Lingappa, B. T., Prasad, M., Lingappa, Y., Hunt, D. F., & Biemann, K. (1969). Phenethyl alcohol and tryptophol: autoantibiotics produced by the fungus *Candida albicans*. *Science (New York, N.Y.)*, 163(3863), 192–194. <https://doi.org/10.1126/science.163.3863.192>
- Lo, W. S., & Dranginis, A. M. (1998). The cell surface flocculin Flo11 is required for pseudohyphae formation and invasion by *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Biology of the Cell*, 9(1), 161–171. <https://doi.org/10.1091/mbc.9.1.161>
- Loewith, R., Hubberstey, A., & Young, D. (2000). Skh1, the MEK component of the mkh1 signaling pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Cell Science*, 113 (Pt 1, 153–160.
- Loo, T. H., & Balasubramanian, M. (2008). *Schizosaccharomyces pombe* Pak-related protein, Pak1p/Orb2p, phosphorylates myosin regulatory light chain to inhibit cytokinesis. *Journal of Cell Biology*, 183(5), 785–793. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806127>
- Lord, M., & Pollard, T. D. (2004). UCS protein Rng3p activates actin filament gliding by fission yeast myosin-II. *The Journal of Cell Biology*, 167(2), 315–325. <https://doi.org/10.1083/jcb.200404045>
- Ma, Y., Kuno, T., Kita, A., Asayama, Y., & Sugiura, R. (2006). Rho2 is a target of the farnesyltransferase Cpp1 and acts upstream of Pmk1 mitogen-activated protein kinase signaling in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 17(12), 5028–5037. <https://doi.org/10.1091/mbc.e06-08-0688>
- MacNeill, S. A., & Fantes, P. A. (1997). Genetic and physiological analysis of DNA replication in fission yeast. *Methods in Enzymology*, 283, 440–459. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(97\)83036-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(97)83036-4)
- Madrid, M., Fernández-Zapata, J., Sánchez-Mir, L., Soto, T., Franco, A., Vicente-Soler, J., Gacto, M., & Cansado, J. (2013). Role of the fission yeast cell integrity MAPK pathway in response to glucose limitation. *BMC Microbiology*, 13, 34. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-34>
- Madrid, M., Jimenez, R., Sanchez-Mir, L., Soto, T., Franco, A., Vicente-Soler, J., Gacto, M., Perez, P., & Cansado, J. (2015). Multiple layers of regulation influence cell integrity control by the PKC ortholog Pck2 in fission yeast. *Journal of Cell Science*, 128(2), 266–280. <https://doi.org/10.1242/jcs.158295>

- Madrid, M., Núñez, A., Soto, T., Vicente-Soler, J., Gacto, M., & Cansado, J. (2007). Stress-activated Protein Kinase-mediated Down-Regulation of the Cell Integrity Pathway Mitogen-activated Protein Kinase Pmk1p by Protein Phosphatases. *Molecular Biology of the Cell*, 18, 4405–4419. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07>
- Madrid, M., Soto, T., Khong, H. K., Franco, A., Vicente, J., Perez, P., Gacto, M., & Cansado, J. (2006). Stress-induced Response, Localization, and Regulation of the Pmk1 Cell Integrity Pathway in *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Biological Chemistry*, 281(4), 2033–2043. <https://doi.org/10.1074/jbc.M506467200>
- Madrid, M., Vázquez-Marín, B., Soto, T., Franco, A., Gómez-Gil, E., Vicente-Soler, J., Gacto, M., Pérez, P., & Cansado, J. (2017). Differential functional regulation of protein kinase C (PKC) orthologs in fission yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(27), 11374–11387. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.786087>
- Magliozzi, J. O., Sears, J., Cressey, L., Brady, M., Opalko, H. E., Kettenbach, A. N., & Moseley, J. B. (2020). Fission yeast Pak1 phosphorylates anillin-like Mid1 for spatial control of cytokinesis. *The Journal of Cell Biology*, 219(8). <https://doi.org/10.1083/jcb.201908017>
- March Rosselló, G. A., & Eiros Bouza, J. M. (2013). Quorum sensing in bacteria and yeast. *Medicina clinica*, 141(8), 353–357. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.02.031>
- Martín-García, R., Arribas, V., Coll, P. M., Pinar, M., Viana, R. A., Rincón, S. A., Correa-Bordes, J., Ribas, J. C., & Pérez, P. (2018). Paxillin-Mediated Recruitment of Calcineurin to the Contractile Ring Is Required for the Correct Progression of Cytokinesis in Fission Yeast. *Cell Reports*, 25(3), 772–783.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.062>
- Martín, H., Flández, M., Nombela, C., & Molina, M. (2005). Protein phosphatases in MAPK signalling: we keep learning from yeast. *Molecular Microbiology*, 58(1), 6–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04822.x>
- Martin, S. G., & Berthelot-Grosjean, M. (2009). Polar gradients of the DYRK-family kinase Pom1 couple cell length with the cell cycle. *Nature*, 459(7248), 852–856. <https://doi.org/10.1038/nature08054>
- Martin, S. G., & Chang, F. (2005). New end take off: regulating cell polarity during the fission yeast cell cycle. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 4(8), 1046–1049.
- Martin, S. G., & Chang, F. (2006). Dynamics of the Formin For3p in Actin Cable Assembly. *Current Biology*, 16(12), 1161–1170. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.04.040>

- Martin, S. G., McDonald, W. H., Yates, J. R., & Chang, F. (2005). Tea4p links microtubule plus ends with the formin for3p in the establishment of cell polarity. *Developmental Cell*, 8(4), 479–491. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2005.02.008>
- Martin, S. G., Rincó, S. A., Basu, R., Pérez, P., & Chang, F. (2007). Regulation of the Formin for3p by cdc42p and bud6p. *Molecular Biology of the Cell*, 18, 4155–4167. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07>
- Mathew-Steiner, S., Nieves, B., Sequeira, S., Sambandamoorthy, S., Pumiglia, K., Larsen, M., & Laflamme, S. (2013). Integrins Promote Cytokinesis through the RSK Signaling Axis. *Journal of Cell Science*, 127. <https://doi.org/10.1242/jcs.133280>
- McCollum, D., Balasubramanian, M. K., Pelcher, L. E., Hemmingsen, S. M., & Gould, K. L. (1995). *Schizosaccharomyces pombe* cdc4+ gene encodes a novel EF-hand protein essential for cytokinesis. *The Journal of Cell Biology*, 130(3), 651–660. <https://doi.org/10.1083/jcb.130.3.651>
- Mehmood, A., Liu, G., Wang, X., Meng, G., Wang, C., & Liu, Y. (2019). Fungal Quorum-Sensing Molecules and Inhibitors with Potential Antifungal Activity: A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(10). <https://doi.org/10.3390/molecules24101950>
- Mendoza, M. C., Er, E. E., Zhang, W., Ballif, B. A., Elliott, H. L., Danuser, G., & Blenis, J. (2011). ERK-MAPK drives lamellipodia protrusion by activating the WAVE2 regulatory complex. *Molecular Cell*, 41(6), 661–671. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.02.031>
- Michelot, A., Berro, J., Guérin, C., Boujemaa-Paterski, R., Staiger, C. J., Martiel, J.-L., & Blanchoin, L. (2007). Actin-filament stochastic dynamics mediated by ADF/cofilin. *Current Biology : CB*, 17(10), 825–833. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.04.037>
- Millar, J. B. A., Buck, V., & Wilkinson, M. G. (1995). Pyp1 and Pyp2 PTPases dephosphorylate an osmosensing MAP kinase controlling cell size at division in fission yeast. *Genes and Development*. <https://doi.org/10.1101/gad.9.17.2117>
- Miller, M. B., & Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 165–199. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.165>
- Minc, N., Bratman, S. V., Basu, R., & Chang, F. (2009). Establishing new sites of polarization by microtubules. *Current Biology : CB*, 19(2), 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.008>

- Mishra, M., Huang, J., & Balasubramanian, M. K. (2014). The yeast actin cytoskeleton. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(2), 213–227. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12064>
- Mishra, M., Kashiwazaki, J., Takagi, T., Srinivasan, R., Huang, Y., Balasubramanian, M. K., & Mabuchi, I. (2013). *In vitro* contraction of cytokinetic ring depends on myosin II but not on actin dynamics. *Nature Cell Biology*, 15(7), 853–859. <https://doi.org/10.1038/ncb2781>
- Mitchison, J. M. (1971). *The biology of the cell cycle [by] J. M. Mitchison*. University Press.
- Mitchison, T., & Kirschner, M. (1984). Dynamic instability of microtubule growth. *Nature*, 312(5991), 237–242. <https://doi.org/10.1038/312237a0>
- Morigasaki, S., Ikner, A., Tatebe, H., & Shiozaki, K. (2013). Response regulator-mediated MAPKKK heteromer promotes stress signaling to the Spc1 MAPK in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 24(7), 1083–1092. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-10-0727>
- Morrell, J. L., Nichols, C. B., & Gould, K. L. (2004). The GIN4 family kinase, Cdr2p, acts independently of septins in fission yeast. *Journal of Cell Science*, 117(Pt 22), 5293–5302. <https://doi.org/10.1242/jcs.01409>
- Morton, W. M., Ayscough, K. R., & McLaughlin, P. J. (2000). Latrunculin alters the actin-monomer subunit interface to prevent polymerization. *Nature Cell Biology*, 2(6), 376–378. <https://doi.org/10.1038/35014075>
- Mösch, H. U., Roberts, R. L., & Fink, G. R. (1996). Ras2 signals via the Cdc42/Ste20/mitogen-activated protein kinase module to induce filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(11), 5352–5356. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.11.5352>
- Moseley, J. B., & Goode, B. L. (2006). The Yeast Actin Cytoskeleton: from Cellular Function to Biochemical Mechanism. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(3), 605–645. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00013-06>
- Moseley, J. B., Mayeux, A., Paoletti, A., & Nurse, P. (2009). A spatial gradient coordinates cell size and mitotic entry in fission yeast. *Nature*, 459(7248), 857–860. <https://doi.org/10.1038/nature08074>

- Motegi, F., Arai, R., & Mabuchi, I. (2001). Identification of two type V myosins in fission yeast, one of which functions in polarized cell growth and moves rapidly in the cell. *Molecular Biology of the Cell*, 12(5), 1367–1380. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.5.1367>
- Murad, A. M., Leng, P., Straffon, M., Wishart, J., Macaskill, S., MacCallum, D., Schnell, N., Talibi, D., Marechal, D., Tekaiia, F., d'Enfert, C., Gaillardin, C., Odds, F. C., & Brown, A. J. (2001). NRG1 represses yeast-hypha morphogenesis and hypha-specific gene expression in *Candida albicans*. *The EMBO Journal*, 20(17), 4742–4752. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.17.4742>
- Mutavchiev, D. R., Leda, M., & Sawin, K. E. (2016). Remodeling of the Fission Yeast Cdc42 Cell-Polarity Module via the Sty1 p38 Stress-Activated Protein Kinase Pathway. *Current Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.048>
- Nadal, M., García-Pedrajas, M. D., & Gold, S. E. (2008). Dimorphism in fungal plant pathogens. *FEMS Microbiology Letters*, 284(2), 127–134. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01173.x>
- Nakamichi, N., Yamada, H., Aoyama, K., Ohmiya, R., Aiba, H., & Mizuno, T. (2002). His-to-Asp phosphorelay circuitry for regulation of sexual development in *Schizosaccharomyces pombe*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(12), 2663–2672. <https://doi.org/10.1271/bbb.66.2663>
- Nakano, K., Imai, J., Arai, R., Toh-E, A., Matsui, Y., & Mabuchi, I. (2002). The small GTPase Rho3 and the diaphanous/formin For3 function in polarized cell growth in fission yeast. *Journal of Cell Science*, 115(Pt 23), 4629–4639. <https://doi.org/10.1242/jcs.00150>
- Nakano, K., Kuwayama, H., Kawasaki, M., Numata, O., & Takaine, M. (2010). GMF is an evolutionarily developed Adf/cofilin-super family protein involved in the Arp2/3 complex-mediated organization of the actin cytoskeleton. *Cytoskeleton (Hoboken, N.J.)*, 67(6), 373–382. <https://doi.org/10.1002/cm.20451>
- Nakano, K., & Mabuchi, I. (2006). Actin-capping protein is involved in controlling organization of actin cytoskeleton together with ADF/cofilin, profilin and F-actin crosslinking proteins in fission yeast. *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 11(8), 893–905. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2006.00987.x>
- Nakano, K., Toya, M., Yoneda, A., Asami, Y., Yamashita, A., Kamasawa, N., Osumi, M., & Yamamoto, M. (2011). Pob1 ensures cylindrical cell shape by coupling two distinct rho signaling events during secretory vesicle targeting. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 12(6), 726–739. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01190.x>

- Nealson, K. H., Platt, T., & Hastings, J. W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *Journal of Bacteriology*, 104(1), 313–322. <https://doi.org/10.1128/jb.104.1.313-322.1970>
- Newton, A. C. (2018). Protein kinase C: perfectly balanced. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 53(2), 208–230. <https://doi.org/10.1080/10409238.2018.1442408>
- Nguyen, A. N., Ikner, A. D., Shiozaki, M., Warren, S. M., & Shiozaki, K. (2002). Cytoplasmic localization of Wis1 MAPKK by nuclear export signal is important for nuclear targeting of Spc1/Sty1 MAPK in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 13(8), 2651–2663. <https://doi.org/10.1091/mbc.02-03-0043>
- Nguyen, A. N., Lee, A., Place, W., & Shiozaki, K. (2000). Multistep phosphorelay proteins transmit oxidative stress signals to the fission yeast stress-activated protein kinase. *Molecular Biology of the Cell*, 11(4), 1169–1181. <https://doi.org/10.1091/mbc.11.4.1169>
- Nguyen, A. N., & Shiozaki, K. (1999). Heat-shock-induced activation of stress MAP kinase is regulated by threonine- and tyrosine-specific phosphatases. *Genes & Development*, 13(13), 1653–1663. <https://doi.org/10.1101/gad.13.13.1653>
- Nickerson, K. W., Atkin, A. L., & Hornby, J. M. (2006). Quorum sensing in dimorphic fungi: farnesol and beyond. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 3805–3813. <https://doi.org/10.1128/AEM.02765-05>
- Niki, H. (2017). Induction of Hyphal Growth in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017(12), pdb.prot091868. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot091868>
- Nobile, C. J., & Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annual Review of Microbiology*, 69, 71–92. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>
- Normand, G., & King, R. W. (2010). Understanding cytokinesis failure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 676, 27–55. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6199-0_3
- Nozaki, S., Furuya, K., & Niki, H. (2018). The Ras1-Cdc42 pathway is involved in hyphal development of *Schizosaccharomyces japonicus*. *FEMS Yeast Research*, 18(4). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foy031>

- Núñez, A., Franco, A., Madrid, M., Soto, T., Vicente, J., Gacto, M., & Cansado, J. (2009). Role for RACK1 orthologue Cpc2 in the modulation of stress response in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 20(18), 3996–4009. <https://doi.org/10.1091/mbc.e09-05-0388>
- Ohmiya, R., Kato, C., Yamada, H., Aiba, H., & Mizuno, T. (1999). A fission yeast gene (*prr1(+)*) that encodes a response regulator implicated in oxidative stress response. *Journal of Biochemistry*, 125(6), 1061–1066. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022387>
- Oliferenko, S., Chew, T. G., & Balasubramanian, M. K. (2009). Positioning cytokinesis. *Genes & Development*, 23(6), 660–674. <https://doi.org/10.1101/gad.1772009>
- Onwubiko, U. N., Mlynarczyk, P. J., Wei, B., Habiyaremye, J., Clack, A., Abel, S. M., & Das, M. E. (2019). A Cdc42 GEF, Gef1, through endocytosis organizes F-BAR Cdc15 along the actomyosin ring and promotes concentric furrowing. *Journal of Cell Science*, 132(5). <https://doi.org/10.1242/jcs.223776>
- Otomo, T., Tomchick, D. R., Otomo, C., Panchal, S. C., Machius, M., & Rosen, M. K. (2005). Structural basis of actin filament nucleation and processive capping by a formin homology 2 domain. *Nature*, 433(7025), 488–494. <https://doi.org/10.1038/nature03251>
- Padder, S. A., Prasad, R., & Shah, A. H. (2018). Quorum sensing: A less known mode of communication among fungi. *Microbiological Research*, 210, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.007>
- Padmanabhan, A., Bakka, K., Sevugan, M., Naqvi, N. I., D'souza, V., Tang, X., Mishra, M., & Balasubramanian, M. K. (2011). IQGAP-related Rng2p organizes cortical nodes and ensures position of cell division in fission yeast. *Current Biology : CB*, 21(6), 467–472. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.01.059>
- Padte, N. N., Martin, S. G., Howard, M., & Chang, F. (2006). The cell-end factor pom1p inhibits mid1p in specification of the cell division plane in fission yeast. *Current Biology : CB*, 16(24), 2480–2487. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.11.024>
- Paluch, E., & Heisenberg, C.-P. (2009). Biology and physics of cell shape changes in development. *Current Biology : CB*, 19(17), R790–9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.07.029>

- Pan, X., & Heitman, J. (1999). Cyclic AMP-dependent protein kinase regulates pseudohyphal differentiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 19(7), 4874–4887. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.7.4874>
- Pantazopoulou, V. I., Delis, A. D., Georgiou, S., Pagakis, S. N., Filippa, V., Dragona, E., Kloukina, I., Chatzitheodoridis, E., Trebicka, J., Velentzas, A. D., Thiele, M., Gagos, S., Thanos, D., Tseleni-Balafouta, S., Stravopodis, D. J., & Anastasiadou, E. (2021). AGO2 localizes to cytokinetic protrusions in a p38-dependent manner and is needed for accurate cell division. *Communications Biology*, 4(1), 726. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02130-0>
- Pelham, R. J., & Chang, F. (2002). Actin dynamics in the contractile ring during cytokinesis in fission yeast. *Nature*, 419(6902), 82–86. <https://doi.org/10.1038/nature00999>
- Pelham, R. J. J., & Chang, F. (2001). Role of actin polymerization and actin cables in actin-patch movement in *Schizosaccharomyces pombe*. *Nature Cell Biology*, 3(3), 235–244. <https://doi.org/10.1038/35060020>
- Pérez, P., & Cansado, J. (2010). Cell Integrity Signaling and Response to Stress in Fission Yeast. *Current Protein and Peptide Science*, 11, 0–0.
- Pérez, P., Cortés, J. C. G., Cansado, J., & Ribas, J. C. (2018). Fission yeast cell wall biosynthesis and cell integrity signalling. *Cell Surface (Amsterdam, Netherlands)*, 4, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tcsw.2018.10.001>
- Pérez, P., Cortés, J. C. G., Martín-García, R., & Ribas, J. C. (2016). Overview of fission yeast septation. *Cellular Microbiology*, 18(9), 1201–1207. <https://doi.org/10.1111/cmi.12611>
- Pinar, M., Coll, P. M., Rincón, S. A., & Pérez, P. (2008). *Schizosaccharomyces pombe* Pxl1 is a paxillin homologue that modulates Rho1 activity and participates in cytokinesis. *Molecular Biology of the Cell*, 19(4), 1727–1738. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-07-0718>
- Pollard, L. W., Bookwalter, C. S., Tang, Q., Kremmentsova, E. B., Trybus, K. M., & Lowey, S. (2017). Fission yeast myosin Myo2 is down-regulated in actin affinity by light chain phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(35), E7236–E7244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703161114>

- Pollard, T. D. (2016). Actin and Actin-Binding Proteins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(8), a018226. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018226>
- Pollard, T. D., & Goldman, R. D. (2018). Overview of the Cytoskeleton from an Evolutionary Perspective. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(7). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030288>
- Pollard, T. D., & Wu, J.-Q. (2010). Understanding cytokinesis: lessons from fission yeast. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(2), 149–155. <https://doi.org/10.1038/nrm2834>
- Presti, L. Lo, Chang, F., & Martin, S. G. (2012). Myosin Vs organize actin cables in fission yeast. 23. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-07-0499>
- Prieto-Ruiz, F., Vicente-Soler, J., Franco, A., Gómez-Gil, E., Sánchez-Marinas, M., Vázquez-Marín, B., Aligué, R., Madrid, M., Moreno, S., Soto, T., & 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). <https://doi.org/10.1128/mBio.02815-19>
- Proctor, S. A., Minc, N., Boudaoud, A., & Chang, F. (2012). Contributions of turgor pressure, the contractile ring, and septum assembly to forces in cytokinesis in fission yeast. *Current Biology : CB*, 22(17), 1601–1608. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.06.042>
- Pruyne, D., Evangelista, M., Yang, C., Bi, E., Zigmond, S., Bretscher, A., & Boone, C. (2002). Role of formins in actin assembly: nucleation and barbed-end association. *Science (New York, N.Y.)*, 297(5581), 612–615. <https://doi.org/10.1126/science.1072309>
- Pullikuth, A. K., & Catling, A. D. (2007). Scaffold mediated regulation of MAPK signaling and cytoskeletal dynamics: a perspective. *Cellular Signalling*, 19(8), 1621–1632. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.012>
- Pullikuth, A. K., & Catling, A. D. (2010). Extracellular signal-regulated kinase promotes Rho-dependent focal adhesion formation by suppressing p190A RhoGAP. *Molecular and Cellular Biology*, 30(13), 3233–3248. <https://doi.org/10.1128/MCB.01178-09>
- Quinn, J., Findlay, V. J., Dawson, K., Millar, J. B. A., Jones, N., Morgan, B. A., & Toone, W. M. (2002). Distinct regulatory proteins control the graded transcriptional response to increasing H₂O₂ levels in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Molecular Biology of the Cell*, 13(3), 805–816. <https://doi.org/10.1091/mbc.01-06-0288>

- Ramage, G., Saville, S. P., Wickes, B. L., & López-Ribot, J. L. (2002). Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5459–5463. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5459-5463.2002>
- Ramos, M., Cortés, J. C. G., Sato, M., Rincón, S. A., Moreno, M. B., Clemente-Ramos, J. Á., Osumi, M., Pérez, P., & Ribas, J. C. (2019). Two *S. pombe* septation phases differ in ingression rate, septum structure, and response to F-actin loss. *The Journal of Cell Biology*, 218(12), 4171–4194. <https://doi.org/10.1083/jcb.201808163>
- Reynolds, T. B., & Fink, G. R. (2001). Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science (New York, N.Y.)*, 291(5505), 878–881. <https://doi.org/10.1126/science.291.5505.878>
- Rhind, N., Chen, Z., Yassour, M., Thompson, D. A., Haas, B. J., Habib, N., Wapinski, I., Roy, S., Lin, M. F., Heiman, D. I., Young, S. K., Furuya, K., Guo, Y., Pidoux, A., Chen, H. M., Robbertse, B., Goldberg, J. M., Aoki, K., Bayne, E. H., ... Nusbaum, C. (2011). *Comparative Functional Genomics of the Fission Yeasts*. *Science*, 332(6032), 930–936. <https://doi.org/10.1126/science.1203357>
- Rincón, S. A., Ye, Y., Antonia Villar-Tajadura, M., Santos, B., Martin, S. G., & Pérez, P. (2009). Pob1 Participates in the Cdc42 Regulation of Fission Yeast Actin Cytoskeleton. *Molecular Biology of the Cell*, 20, 4390–4399. <https://doi.org/10.1091/mbc.E09>
- Rincón, S. A., Bhatia, P., Bicho, C., Guzman-Vendrell, M., Fraiser, V., Borek, W. E., Alves, F. de L., Dingli, F., Loew, D., Rappsilber, J., Sawin, K. E., Martin, S. G., & Paoletti, A. (2014). Pom1 regulates the assembly of Cdr2-Mid1 cortical nodes for robust spatial control of cytokinesis. *The Journal of Cell Biology*, 206(1), 61–77. <https://doi.org/10.1083/jcb.201311097>
- Rincón, S. A., Estravis, M., Dingli, F., Loew, D., Tran, P. T., & Paoletti, A. (2017). SIN-Dependent Dissociation of the SAD Kinase Cdr2 from the Cell Cortex Resets the Division Plane. *Current Biology : CB*, 27(4), 534–542. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.12.050>
- Rincón, S. A., & Paoletti, A. (2016). Molecular control of fission yeast cytokinesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 53, 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.01.007>
- Riquelme, M. (2013). Tip growth in filamentous fungi: a road trip to the apex. *Annual Review of Microbiology*, 67, 587–609. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155652>

- Riquelme, M., & Sánchez-León, E. (2014). The Spitzenkörper: a choreographer of fungal growth and morphogenesis. *Current Opinion in Microbiology*, 20, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.04.003>
- Robbins, D. J., Zhen, E., Owaki, H., Vanderbilt, C. A., Ebert, D., Geppert, T. D., & Cobb, M. H. (1993). Regulation and properties of extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2 *in vitro*. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(7), 5097–5106.
- Roberts-Galbraith, R. H., & Gould, K. L. (2010). Setting the F-BAR: functions and regulation of the F-BAR protein family. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 9(20), 4091–4097. <https://doi.org/10.4161/cc.9.20.13587>
- Roberts-Galbraith, R. H., Ohi, M. D., Ballif, B. A., Chen, J.-S., McLeod, I., McDonald, W. H., Gygi, S. P., Yates, J. R. 3rd, & Gould, K. L. (2010). Dephosphorylation of F-BAR protein Cdc15 modulates its conformation and stimulates its scaffolding activity at the cell division site. *Molecular Cell*, 39(1), 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.06.012>
- Robertson, A. M., & Hagan, I. M. (2008). Stress-regulated kinase pathways in the recovery of tip growth and microtubule dynamics following osmotic stress in *S. pombe*. *Journal of Cell Science*, 121(Pt 24), 4055–4068. <https://doi.org/10.1242/jcs.034488>
- Rodríguez-Gabriel, M. A., & Russell, P. (2005). Distinct signaling pathways respond to arsenite and reactive oxygen species in *Schizosaccharomyces pombe*. *Eukaryotic Cell*, 4(8), 1396–1402. <https://doi.org/10.1128/EC.4.8.1396-1402.2005>
- Román, E., Alonso-Monge, R., Gong, Q., Li, D., Calderone, R., & Pla, J. (2009). The Cek1 MAPK is a short-lived protein regulated by quorum sensing in the fungal pathogen *Candida albicans*. *FEMS Yeast Research*, 9(6), 942–955. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00545.x>
- Romero, S., Le Clainche, C., Didry, D., Egile, C., Pantaloni, D., & Carlier, M.-F. (2004). Formin is a processive motor that requires profilin to accelerate actin assembly and associated ATP hydrolysis. *Cell*, 119(3), 419–429. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.039>
- Sagot, I., Rodal, A. A., Moseley, J., Goode, B. L., & Pellman, D. (2002). An actin nucleation mechanism mediated by Bni1 and profilin. *Nature Cell Biology*, 4(8), 626–631. <https://doi.org/10.1038/ncb834>

- Saito, T., Fujikawa, H., Haga, N., Suzuki, T., Machida, Y., & Ito, M. (2015). Genetic interaction between G2/M phase-specific transcription factor MYB3R4 and MAPKKK ANP3 for execution of cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior*, 10(3), e990817. <https://doi.org/10.4161/15592324.2014.990817>
- Salat-Canela, C., Carmona, M., Martín-García, R., Pérez, P., Ayté, J., & Hidalgo, E. (2021). Stress-dependent inhibition of polarized cell growth through unbalancing the GEF/GAP regulation of Cdc42. *Cell Reports*, 37(5), 109951. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109951>
- Samejima, I., Mackie, S., & Fantes, P. A. (1997). Multiple modes of activation of the stress-responsive MAP kinase pathway in fission yeast. *The EMBO Journal*, 16(20), 6162–6170. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.20.6162>
- Samejima, I., Miller, V. J., Rincón, S. A., & Sawin, K. E. (2010). Fission yeast Mto1 regulates diversity of cytoplasmic microtubule organizing centers. *Current Biology : CB*, 20(21), 1959–1965. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.10.006>
- Sánchez-Mir, L., Franco, A., Madrid, M., Vicente-Soler, J., Villar-Tajadura, M. A., Soto, T., Pérez, P., Gacto, M., & Cansado, J. (2012). Biological significance of nuclear localization of mitogen-activated protein kinase Pmk1 in fission yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(31), 26038–26051. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.345611>
- Sánchez-Mir, L., Franco, A., Martín-García, R., Madrid, M., Vicente-Soler, J., Soto, T., Gacto, M., Pérez, P., & 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. *Molecular and Cellular Biology*, 34(14), 2745–2759. <https://doi.org/10.1128/MCB.01515-13>
- Sánchez-Mir, L., Soto, T., Franco, A., Madrid, M., Viana, R. A., Vicente, J., Gacto, M., Pérez, P., & 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088020>
- Sansó, M., Gogol, M., Ayté, J., Seidel, C., & Hidalgo, E. (2008). Transcription factors Pcr1 and Atf1 have distinct roles in stress- and Sty1-dependent gene regulation. *Eukaryotic Cell*, 7(5), 826–835. <https://doi.org/10.1128/EC.00465-07>
- Sasabe, M., & Machida, Y. (2014). Signaling Pathway that Controls Plant Cytokinesis. *The Enzymes*, 35, 145–165. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801922-1.00006-3>

- Sazer, S. (2005). Nuclear envelope: nuclear pore complexity. *Current Biology : CB*, 15(1), R23–6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.12.015>
- Schaeffer, H. J., & Weber, M. J. (1999). *MINIREVIEW Mitogen-Activated Protein Kinases: Specific Messages from Ubiquitous Messengers*. 19(4), 2435–2444.
- Sengar, A. S., Markley, N. A., Marini, N. J., & Young, D. (1997). Mkh1, a MEK kinase required for cell wall integrity and proper response to osmotic and temperature stress in *Schizosaccharomyces pombe*. *Molecular and Cellular Biology*, 17(7), 3508–3519. <https://doi.org/10.1128/MCB.17.7.3508>
- Shchepin, R., Hornby, J. M., Burger, E., Niessen, T., Dussault, P., & Nickerson, K. W. (2003). Quorum sensing in *Candida albicans*: probing farnesol's mode of action with 40 natural and synthetic farnesol analogs. *Chemistry & Biology*, 10(8), 743–750. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(03\)00158-3](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(03)00158-3)
- Shieh, J. C., Wilkinson, M. G., Buck, V., Morgan, B. A., Makino, K., & Millar, J. B. (1997). The Mcs4 response regulator coordinately controls the stress-activated Wak1-Wis1-Sty1 MAP kinase pathway and fission yeast cell cycle. *Genes & Development*, 11(8), 1008–1022. <https://doi.org/10.1101/gad.11.8.1008>
- Shiozaki, K., & Russell, P. (1995a). Counteractive roles of protein phosphatase 2C (PP2C) and a MAP kinase kinase homolog in the osmoregulation of fission yeast. *The EMBO Journal*, 14(3), 492–502.
- Shiozaki, K., & Russell, P. (1995b). Cell-cycle control linked to extracellular environment by MAP kinase pathway in fission yeast. *Nature*, 378(6558), 739–743. <https://doi.org/10.1038/378739a0>
- Shiozaki, K., & Russell, P. (1996). Conjugation, meiosis, and the osmotic stress response are regulated by Spc1 kinase through Atf1 transcription factor in fission yeast. *Genes & Development*, 10(18), 2276–2288. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8824587>
- Shiozaki, K., Shiozaki, M., & Russell, P. (1997). Mcs4 mitotic catastrophe suppressor regulates the fission yeast cell cycle through the Wik1-Wis1-Spc1 kinase cascade. *Molecular Biology of the Cell*, 8(3), 409–419. <https://doi.org/10.1091/mbc.8.3.409>
- Shiozaki, K., Shiozaki, M., & Russell, P. (1998). Heat stress activates fission yeast Spc1/Styl MAPK by a MEKK-independent mechanism. *Molecular Biology of the Cell*, 9(6), 1339–1349. <https://doi.org/10.1091/mbc.9.6.1339>
- Shirtliff, M. E., Krom, B. P., Meijering, R. A. M., Peters, B. M., Zhu, J., Scheper, M. A., Harris, M. L., & Jabra-Rizk, M. A. (2009). Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(6), 2392–2401. <https://doi.org/10.1128/AAC.01551-08>

- Simanis, V. (2015). Pombe's thirteen - control of fission yeast cell division by the septation initiation network. *Journal of Cell Science*, 128(8), 1465–1474. <https://doi.org/10.1242/jcs.094821>
- Sipiczki, M. (2000). Where does fission yeast sit on the tree of life? *Genome Biology*, 1(2), reviews1011.1. <https://doi.org/10.1186/gb-2000-1-2-reviews1011>
- Sipiczki, M. (2007). Splitting of the fission yeast septum. *FEMS Yeast Research*, 7(6), 761–770. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2007.00266.x>
- Sipiczki, M., Takeo, K., & Grallert, A. (1998). Growth polarity transitions in a dimorphic fission yeast. *Microbiology (Reading, England)*, 144 (Pt 12)(12), 3475–3485. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-12-3475>
- Sipiczki, M., Takeo, K., Yamaguchi, M., Yoshida, S., & Miklos, I. (1998). Environmentally controlled dimorphic cycle in a fission yeast. *Microbiology (Reading, England)*, 144 (Pt 5), 1319–1330. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-5-1319>
- Sirotkin, V., Beltzner, C. C., Marchand, J.-B., & Pollard, T. D. (2005). Interactions of WASp, myosin-I, and verprolin with Arp2/3 complex during actin patch assembly in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 170(4), 637–648. <https://doi.org/10.1083/jcb.200502053>
- Sirotkin, V., Berro, J., Macmillan, K., Zhao, L., & Pollard, T. D. (2010). Quantitative analysis of the mechanism of endocytic actin patch assembly and disassembly in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 21(16), 2894–2904. <https://doi.org/10.1091/mbc.E10-02-0157>
- Skau, C. T., & Kovar, D. R. (2010). Fimbrin and tropomyosin competition regulates endocytosis and cytokinesis kinetics in fission yeast. *Current Biology : CB*, 20(16), 1415–1422. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.06.020>
- Skau, C. T., Neidt, E. M., & Kovar, D. R. (2009). Role of tropomyosin in formin-mediated contractile ring assembly in fission yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 20(8), 2160–2173. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-12-1201>
- Skoumpla, K., Coulton, A. T., Lehman, W., Geeves, M. A., & Mulvihill, D. P. (2007). Acetylation regulates tropomyosin function in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal of Cell Science*, 120(Pt 9), 1635–1645. <https://doi.org/10.1242/jcs.001115>
- Sladewski, T. E., Previs, M. J., & Lord, M. (2009). Regulation of fission yeast myosin-II function and contractile ring dynamics by regulatory light-chain and heavy-chain phosphorylation. *Molecular Biology of the Cell*, 20(17), 3941–3952. <https://doi.org/10.1091/mbc.e09-04-0346>

- Snaith, H. A., Samejima, I., & Sawin, K. E. (2005). Multistep and multimode cortical anchoring of tea1p at cell tips in fission yeast. *The EMBO Journal*, 24(21), 3690–3699. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600838>
- Sohrmann, M., Fankhauser, C., Brodbeck, C., & Simanis, V. (1996). The *dmf1/mid1* gene is essential for correct positioning of the division septum in fission yeast. *Genes & Development*, 10(21), 2707–2719. <https://doi.org/10.1101/gad.10.21.2707>
- Soto, T., Beltrán, F. F., Paredes, V., Madrid, M., Millar, J. B. A., Vicente-Soler, J., Cansado, J., & Gacto, M. (2002). Cold induces stress-activated protein kinase-mediated response in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *European Journal of Biochemistry*, 269(20), 5056–5065. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03214.x>
- Soto, T., Núñez, A., Madrid, M., Vicente, J., Gacto, M., & Cansado, J. (2007). Transduction of centrifugation-induced gravity forces through mitogen-activated protein kinase pathways in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Microbiology (Reading, England)*, 153(Pt 5), 1519–1529. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/004283-0>
- Soto, T., Villar-Tajadura, M. A., Madrid, M., Vicente, J., Gacto, M., Pérez, P., & Cansado, J. (2010). Rga4 modulates the activity of the fission yeast cell integrity MAPK pathway by acting as a Rho2 GTPase-activating protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(15), 11516–11525. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.071027>
- Srivastava, V., Iglesias, P. A., & Robinson, D. N. (2016). Cytokinesis: Robust cell shape regulation. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 53, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.10.023>
- Stachowiak, M. R., Laplante, C., Chin, H. F., Guirao, B., Karatekin, E., Pollard, T. D., & O’Shaughnessy, B. (2014). Mechanism of cytokinetic contractile ring constriction in fission yeast. *Developmental Cell*, 29(5), 547–561. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.04.021>
- Staus, D. P., Taylor, J. M., & Mack, C. P. (2011). Enhancement of mDia2 activity by Rho-kinase-dependent phosphorylation of the diaphanous autoregulatory domain. *The Biochemical Journal*, 439(1), 57–65. <https://doi.org/10.1042/BJ20101700>
- Sudbery, P. E. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews. Microbiology*, 9(10), 737–748. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2636>

- Sugiura, R., Kita, A., Shimizu, Y., Shuntoh, H., Sio, S. O., & Kuno, T. (2003). Feedback regulation of MAPK signalling by an RNA-binding protein. *Nature*, 424(6951), 961–965. <https://doi.org/10.1038/nature01907>
- Sugiura, R., Toda, T., Dhut, S., Shuntoh, H., Kuno, T., & Kuno, T. (1999). The MAPK kinase Pek1 acts as a phosphorylation-dependent molecular switch. *Nature*, 399(6735), 479–483. <https://doi.org/10.1038/20951>
- Sugiura, R., Toda, T., Shuntoh, H., Yanagida, M., & Kuno, T. (1998). pmp1+, a suppressor of calcineurin deficiency, encodes a novel MAP kinase phosphatase in fission yeast. *The EMBO Journal*, 17(1), 140–148. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.1.140>
- Suzuki, T., Matsushima, C., Nishimura, S., Higashiyama, T., Sasabe, M., & Machida, Y. (2016). Identification of Phosphoinositide-Binding Protein PATELLIN2 as a Substrate of *Arabidopsis* MPK4 MAP Kinase during Septum Formation in Cytokinesis. *Plant & Cell Physiology*, 57(8), 1744–1755. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw098>
- Swaffer, M. P., Jones, A. W., Flynn, H. R., Snijders, A. P., & Nurse, P. (2018). Quantitative Phosphoproteomics Reveals the Signaling Dynamics of Cell-Cycle Kinases in the Fission Yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Reports*, 24(2), 503–514. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.06.036>
- Takada, H., Nishimura, M., Asayama, Y., Mannse, Y., Ishiwata, S., Kita, A., Doi, A., Nishida, A., Kai, N., Moriuchi, S., Tohda, H., Giga-Hama, Y., Kuno, T., & Sugiura, R. (2007). Atf1 Is a Target of the Mitogen-activated Protein Kinase Pmk1 and Regulates Cell Integrity in Fission Yeast. *Molecular Biology of the Cell*, 18, 4794–4802. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07>
- Takaine, M., Numata, O., & Nakano, K. (2009). Fission yeast IQGAP arranges actin filaments into the cytokinetic contractile ring. *The EMBO Journal*, 28(20), 3117–3131. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.252>
- Takeya, R., Taniguchi, K., Narumiya, S., & Sumimoto, H. (2008). The mammalian formin FHOD1 is activated through phosphorylation by ROCK and mediates thrombin-induced stress fibre formation in endothelial cells. *The EMBO Journal*, 27(4), 618–628. <https://doi.org/10.1038/emboj.2008.7>
- Tebbs, I. R., & Pollard, T. D. (2013). Separate roles of IQGAP Rng2p in forming and constricting the *Schizosaccharomyces pombe* cytokinetic contractile ring. *Molecular Biology of the Cell*, 24(12), 1904–1917. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-10-0775>

- Thiyagarajan, S., Munteanu, E. L., Arasada, R., Pollard, T. D., & O'Shaughnessy, B. (2015). The fission yeast cytokinetic contractile ring regulates septum shape and closure. *Journal of Cell Science*, 128(19), 3672–3681. <https://doi.org/10.1242/jcs.166926>
- Toda, T., Dhut, S., Superti-Furga, G., Gotoh, Y., Nishida, E., Sugiura, R., & Kuno, T. (1996). The fission yeast pmk1+ gene encodes a novel mitogen-activated protein kinase homolog which regulates cell integrity and functions coordinately with the protein kinase C pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 16(12), 6752–6764. <https://doi.org/10.1128/MCB.16.12.6752>
- Toda, T., Shimanuki, M., & Yanagida, M. (1993). Two novel protein kinase C-related genes of fission yeast are essential for cell viability and implicated in cell shape control. *The EMBO Journal*, 12(5), 1987–1995.
- Tomasz, A. (1965). Control of the competent state in *Pneumococcus* by a hormone-like cell product: an example for a new type of regulatory mechanism in bacteria. *Nature*, 208(5006), 155–159. <https://doi.org/10.1038/208155a0>
- Tormos, A. M., Rius-Pérez, S., Jorques, M., Rada, P., Ramirez, L., Valverde, Á. M., Nebreda, Á. R., Sastre, J., & Taléns-Visconti, R. (2017). P38 α regulates actin cytoskeleton and cytokinesis in hepatocytes during development and aging. *PLoS ONE*, 12(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171738>
- Tovey, C. A., & Conduit, P. T. (2018). Microtubule nucleation by γ -tubulin complexes and beyond. *Essays in Biochemistry*, 62(6), 765–780. <https://doi.org/10.1042/EBC20180028>
- Tran, P. T., Marsh, L., Doye, V., Inoué, S., & Chang, F. (2001). A mechanism for nuclear positioning in fission yeast based on microtubule pushing. *The Journal of Cell Biology*, 153(2), 397–411. <https://doi.org/10.1083/jcb.153.2.397>
- VandenBerg, A. L., Ibrahim, A. S., Edwards, J. E. J., Toenjes, K. A., & Johnson, D. I. (2004). Cdc42p GTPase regulates the budded-to-hyphal-form transition and expression of hypha-specific transcripts in *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*, 3(3), 724–734. <https://doi.org/10.1128/EC.3.3.724-734.2004>
- Vavylonis, D., Wu, J.-Q., Hao, S., O'Shaughnessy, B., & Pollard, T. D. (2008). Assembly mechanism of the contractile ring for cytokinesis by fission yeast. *Science (New York, N.Y.)*, 319(5859), 97–100. <https://doi.org/10.1126/science.1151086>
- Vázquez, B., Soto, T., del Dedo, J. E., Franco, A., Vicente, J., Hidalgo, E., Gacto, M., Cansado, J., & Madrid, M. (2015). Distinct biological activity of threonine monophosphorylated MAPK isoforms during the stress response in fission yeast. *Cellular Signalling*, 27(12), 2534–2542. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2015.09.017>

- Vicente-Soler, J., Soto, T., Franco, A., Cansado, J., & Madrid, M. (2021). The Multiple Functions of Rho GTPases in Fission Yeasts. *Cells*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/cells10061422>
- Villar-Tajadura, M. A., Coll, P. M., Madrid, M., Cansado, J., Santos, B., & Pérez, P. (2008). Rga2 is a Rho2 GAP that regulates morphogenesis and cell integrity in *S. pombe*. *Molecular Microbiology*, 70(4), 867–881. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06447.x>
- Wan, S., Capasso, H., & Walworth, N. C. (1999). The topoisomerase I poison camptothecin generates a Chk1-dependent DNA damage checkpoint signal in fission yeast. *Yeast (Chichester, England)*, 15(10A), 821–828. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(199907\)15:10A<821::AID-YEA422>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199907)15:10A<821::AID-YEA422>3.0.CO;2-#)
- Wang, H., & Vavylonis, D. (2008). Model of For3p-mediated actin cable assembly in fission yeast. *PLoS One*, 3(12), e4078. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004078>
- Wang, J., Neo, S. P., & Cai, M. (2009). Regulation of the yeast formin Bni1p by the actin-regulating kinase Prk1p. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 10(5), 528–535. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00893.x>
- Wang, N., Lee, I.-J., Rask, G., & Wu, J.-Q. (2016). Roles of the TRAPP-II Complex and the Exocyst in Membrane Deposition during Fission Yeast Cytokinesis. *PLoS Biology*, 14(4), e1002437. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002437>
- Westwater, C., Balish, E., & Schofield, D. A. (2005). *Candida albicans*-conditioned medium protects yeast cells from oxidative stress: a possible link between quorum sensing and oxidative stress resistance. *Eukaryotic Cell*, 4(10), 1654–1661. <https://doi.org/10.1128/EC.4.10.1654-1661.2005>
- WICKERHAM, L. J., & DUPRAT, E. (1945). A remarkable fission yeast, *Schizosaccharomyces versatilis* nov. sp. *Journal of Bacteriology*, 50, 597–607. <https://doi.org/10.1128/JB.50.5.597-607.1945>
- Wickstead, B., & Gull, K. (2011). The evolution of the cytoskeleton. *The Journal of Cell Biology*, 194(4), 513–525. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102065>
- Wilkinson, M. G., Samuels, M., Takeda, T., Toone, W. M., Shieh, J. C., Toda, T., Millar, J. B., & Jones, N. (1996). The Atf1 transcription factor is a target for the Sty1 stress-activated MAP kinase pathway in fission yeast. *Genes & Development*, 10(18), 2289–2301. <https://doi.org/10.1101/gad.10.18.2289>
- Willet, A. H., Bohnert, K. A., & Gould, K. L. (2018). Cdk1-dependent phosphoinhibition of a formin-F-BAR interaction opposes cytokinetic contractile ring formation. *Molecular Biology of the Cell*, 29(6), 713–721. <https://doi.org/10.1091/mbc.E17-11-0646>

- Willet, A. H., DeWitt, A. K., Beckley, J. R., Clifford, D. M., & Gould, K. L. (2019). NDR Kinase Sid2 Drives Anillin-like Mid1 from the Membrane to Promote Cytokinesis and Medial Division Site Placement. *Current Biology : CB*, 29(6), 1055-1063.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.075>
- Willet, A. H., McDonald, N. A., Bohnert, K. A., Baird, M. A., Allen, J. R., Davidson, M. W., & Gould, K. L. (2015). The F-BAR Cdc15 promotes contractile ring formation through the direct recruitment of the formin Cdc12. *The Journal of Cell Biology*, 208(4), 391-399. <https://doi.org/10.1083/jcb.201411097>
- Willet, A. H., McDonald, N. A., & Gould, K. L. (2015). Regulation of contractile ring formation and septation in *Schizosaccharomyces pombe*. *Current Opinion in Microbiology*, 28, 46-52. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.08.001>
- Winters, M., Arneborg, N., Appels, R., & Howell, K. (2019). Can community-based signalling behaviour in *Saccharomyces cerevisiae* be called quorum sensing? A critical review of the literature. *FEMS Yeast Research*, 19(5). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz046>
- Wongsuk, T., Pumeesat, P., & Luplertlop, N. (2016). Fungal quorum sensing molecules: Role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of Basic Microbiology*, 56(5), 440-447. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500759>
- Wood, V., Gwilliam, R., Rajandream, M.-A., Lyne, M., Lyne, R., Stewart, A., Sgouros, J., Peat, N., Hayles, J., Baker, S., Basham, D., Bowman, S., Brooks, K., Brown, D., Brown, S., Chillingworth, T., Churcher, C., Collins, M., Connor, R., ... Wedler, H. (2002). The genome sequence of *Schizosaccharomyces pombe*. *NATURE Wwww.Nature.Com*, 415(21).
- Wu, J.-Q., Kuhn, J. R., Kovar, D. R., & Pollard, T. D. (2003). Spatial and temporal pathway for assembly and constriction of the contractile ring in fission yeast cytokinesis. *Developmental Cell*, 5(5), 723-734. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00324-1](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00324-1)
- Wu, J.-Q., & Pollard, T. D. (2005). Counting cytokinesis proteins globally and locally in fission yeast. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5746), 310-314. <https://doi.org/10.1126/science.1113230>
- Wu, J.-Q., Sirotkin, V., Kovar, D. R., Lord, M., Beltzner, C. C., Kuhn, J. R., & Pollard, T. D. (2006). Assembly of the cytokinetic contractile ring from a broad band of nodes in fission yeast. *The Journal of Cell Biology*, 174(3), 391-402. <https://doi.org/10.1083/jcb.200602032>
- Wuster, A., & Babu, M. M. (2010). Transcriptional control of the quorum sensing response in yeast. *Molecular BioSystems*, 6(1), 134-141. <https://doi.org/10.1039/b913579k>

- Yam, C., He, Y., Zhang, D., Chiam, K.-H., & Oliferenko, S. (2011). Divergent strategies for controlling the nuclear membrane satisfy geometric constraints during nuclear division. *Current Biology : CB*, 21(15), 1314–1319. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.06.052>
- Yamamoto, A., Imai, I., & Watanabe, Y. (1997). Mating and sporulation in *Schizosaccharomyces pombe*. *Cold Spring Harbour Laboratory Press*, 1035–1106.
- Yanagida, M. (2002). The model unicellular eukaryote, *Schizosaccharomyces pombe*. *Genome Biology*, 3(3), COMMENT2003. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-3-comment2003>
- Yonetani, A., Lustig, R. J., Moseley, J. B., Takeda, T., Goode, B. L., & Chang, F. (2008). Regulation and Targeting of the Fission Yeast Formin cdc12p in Cytokinesis. *Molecular Biology of the Cell*, 19(5), 2208–2219. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07-07-0731>
- Yukawa, M., & Maki, T. (1931). Regarding the new fission yeast *Schizosaccharomyces Japonicus*. *Kyushu Daigaku Kiyou*, 218–226.
- Zaitsevskaya-Carter, T., & Cooper, J. A. (1997). Spm1, a stress-activated MAP kinase that regulates morphogenesis in *S.pombe*. *The EMBO Journal*, 16(6), 1318–1331. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.6.1318>
- Zhou, B., & Zhang, Z.-Y. (2002). The activity of the extracellular signal-regulated kinase 2 is regulated by differential phosphorylation in the activation loop. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(16), 13889–13899. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200377200>
- Zhou, Z., Munteanu, E. L., He, J., Ursell, T., Bathe, M., Huang, K. C., & Chang, F. (2015). The contractile ring coordinates curvature-dependent septum assembly during fission yeast cytokinesis. *Molecular Biology of the Cell*, 26(1), 78–90. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-10-1441>
- Zhu, J., Krom, B. P., Sanglard, D., Intapa, C., Dawson, C. C., Peters, B. M., Shirtliff, M. E., & Jabra-Rizk, M. A. (2011). Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans* is mediated by Cdr1-p extrusion and depletion of intracellular glutathione. *PLoS One*, 6(12), e28830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028830>
- Zimmermann, D., Homa, K. E., Hocky, G. M., Pollard, L. W., De La Cruz, E. M., Voth, G. A., Trybus, K. M., & Kovar, D. R. (2017). Mechanoregulated inhibition of formin facilitates contractile actomyosin ring assembly. *Nature Communications*, 8(1), 703. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00445-3>

OBJETIVOS

Las rutas de señalización intracelular mediadas por las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), juegan un papel fundamental en las células eucariotas durante la respuesta adaptativa frente a cambios ambientales y condiciones adversas. La levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe* constituye un excelente modelo para el estudio de los mecanismos que activan dichas rutas, así como de los procesos que estas regulan, pues su genoma está evolutivamente muy conservado en relación con el de eucariotas superiores, y además presenta una gran versatilidad para la realización de estudios genómicos, bioquímicos, y celulares.

Sin embargo, aunque tradicionalmente se ha empleado a *S. pombe* como organismo modelo en investigación, en los últimos años también está adquiriendo gran relevancia *Schizosaccharomyces japonicus*, otra de las cuatro especies que componen este género. Desde el punto de vista filogenético, *S. japonicus* fue la primera especie en distanciarse evolutivamente de las demás especies del género, y, a pesar de no ser patógeno, es un organismo dimórfico que puede crecer como levadura o diferenciarse para formar hifas y un micelio verdadero en respuesta a distintas señales ambientales. *S. pombe* y *S. japonicus* también muestran diferencias notables en procesos biológicos tales como la remodelación de la envuelta nuclear durante la mitosis (*S. pombe* experimenta mitosis cerrada frente a la mitosis semi-abierta de *S. japonicus*), el posicionamiento del plano de división, o la regulación de la polaridad celular. En base a estas y otras diferencias, ambas especies de levadura constituyen modelos óptimos para el estudio de las rutas de señalización mediadas por MAPKs desde un punto de vista evolutivo, ya que apenas han sido estudiadas en *S. japonicus*. Además, y al igual que en otros hongos filamentosos, parecería lógico pensar que en *S. japonicus* estas rutas pudieran estar implicadas en la regulación de la transición levadura-hifa en respuesta a estímulos extracelulares. Por otra parte, numerosos estudios han demostrado la implicación del fenómeno de percepción del quórum (Quorum Sensing) en la regulación del dimorfismo en levaduras como *Candida albicans* o *Saccharomyces cerevisiae*. Aunque hasta el momento no se ha descrito la existencia de fenómenos de percepción del quórum en especies del género *Schizosaccharomyces*, *S. japonicus* es un firme candidato para presentar dicho mecanismo regulatorio de la transición dimórfica.

El citoesqueleto de actina constituye una compleja red de polímeros que desempeñan un papel esencial durante la ejecución de procesos fundamentales para la célula como son la motilidad, la endocitosis, el crecimiento polarizado y la citocinesis. Por ello, las células regulan de forma precisa la dinámica de las distintas estructuras que componen el citoesqueleto de actina mediante la activación coordinada de diversas rutas de transducción de señales que responden frente a cambios ambientales. La citocinesis es un mecanismo que permite la separación física de las células hijas una vez que el material genético y el contenido celular se han segregado correctamente después de la mitosis. La citocinesis es regulada de manera muy precisa en tiempo y espacio, ya que errores en su ejecución pueden provocar la aparición de células con alteraciones genéticas (como por ejemplo aneuploidías), y que en ciertos casos constituyen el punto de partida para el desarrollo del cáncer en eucariotas superiores. El componente estructural fundamental responsable de la

ejecución de la citocinesis en la mayoría de los eucariotas es el anillo contráctil de actina y miosina (CAR). Es importante destacar que los mecanismos que regulan el ensamblaje, la formación y el cierre del anillo contráctil de actomiosina se conocen en *S. pombe* mejor que en cualquier otro organismo eucariota, y se encuentran fuertemente conservados en las células animales. La citocinesis en *S. pombe* comienza con el establecimiento del plano de división y la subsecuente formación del anillo de actomiosina, cuya contracción junto con la síntesis del septo de división genera la fuerza necesaria para que se produzca la separación física de las células hijas. Por todo lo anterior, la citocinesis puede considerarse en cierto modo uno de los eventos más estresantes que ocurren durante la vida de una célula, ya que implica la interacción funcional entre la maquinaria que regula el citoesqueleto y el ciclo celular, así como distintas rutas de señalización que permiten la división celular únicamente si las condiciones son favorables. Aunque distintos estudios han demostrado la implicación de las rutas de MAPKs activadas por estrés durante el control del crecimiento polarizado y la división celular en células eucariotas, los mecanismos específicos de control de la citocinesis por dichas rutas son escasamente conocidos, ya que aun no se han analizado de forma exhaustiva.

En base a los antecedentes anteriores, la presente Tesis Doctoral se ha focalizado en la caracterización funcional de las rutas de respuesta a estrés (SAPK) y de integridad celular (CIP) en las levaduras de fisión desde un punto de vista evolutivo, y su posible papel como reguladores de la morfogénesis. Para ello he planteado el abordaje de dos objetivos fundamentales:

1. Conservación evolutiva de las rutas de MAP quinzas activadas por estrés y de integridad celular en el género *Schizosaccharomyces*, y su papel como reguladores del dimorfismo en *S. japonicus*.

Los resultados obtenidos tras el desarrollo de este objetivo han sido publicados en los artículos:

- *Quorum sensing and stress-activated MAPK signaling repress yeast to hypha transition in the fission yeast Schizosaccharomyces japonicus*. *PLoS Genetics* (2019) 15: e1008192.

- *Specific Functional Features of the Cell Integrity MAP Kinase Pathway in the Dimorphic Fission Yeast Schizosaccharomyces japonicus*. *Journal of Fungi* (2021) 7: 482.

2. El estudio de las MAPKs activadas por estrés como reguladoras de la integridad del citoesqueleto de actina y la citocinesis en levaduras del género *Schizosaccharomyces*.

Las evidencias obtenidas tras el desarrollo de este objetivo han sido publicadas en el artículo:

- *Stress-activated MAPK signaling controls fission yeast actomyosin ring integrity by modulating formin For3 levels*. *eLife* (2020) 9: e57951.

PUBLICACIONES

Publicación 1

**Specific Functional Features of the Cell Integrity
MAP Kinase Pathway in the Dimorphic Fission
Yeast *Schizosaccharomyces japonicus***

Elisa Gómez-Gil, Alejandro Franco, Beatriz Vázquez-Marín, Francisco Prieto-Ruiz, Armando Pérez-Díaz, Jero Vicente-Soler, Marisa Madrid, Teresa Soto, José Cansado.

Junio 2021

Journal of Fungi,
doi: 10.3390/jof7060482

Mitogen activated protein kinase (MAPK) signaling pathways execute essential functions in eukaryotic organisms by transducing extracellular stimuli into adaptive cellular responses. In the fission yeast model *Schizosaccharomyces pombe* the cell integrity pathway (CIP) and its core effector, MAPK Pmk1, play a key role during regulation of cell integrity, cytokinesis, and ionic homeostasis. *Schizosaccharomyces japonicus*, another fission yeast species, shows remarkable differences with respect to *S. pombe*, including a robust yeast to hyphae dimorphism in response to environmental changes. We show that the CIP MAPK module architecture and its upstream regulators, PKC orthologs Pck1 and Pck2, are conserved in both fission yeast species. However, some of *S. pombe*'s CIP-related functions, such as cytokinetic control and response to glucose availability, are regulated differently in *S. japonicus*. Moreover, Pck1 and Pck2 antagonistically regulate *S. japonicus* hyphal differentiation through fine-tuning of Pmk1 activity. Chimeric MAPK-swapping experiments revealed that *S. japonicus* Pmk1 is fully functional in *S. pombe*, whereas *S. pombe* Pmk1 shows a limited ability to execute CIP functions and promote *S. japonicus* mycelial development. Our findings also suggest that a modified N-lobe domain secondary structure within *S. japonicus* Pmk1 has a major influence on the CIP signaling features of this evolutionarily diverged fission yeast.

Publicación 2

Quorum sensing and stress-activated MAPK signaling repress yeast to hypha transition in the fission yeast *Schizosaccharomyces japonicus*

Elisa Gómez-Gil, Alejandro Franco, Marisa Madrid, Beatriz Vázquez-Marín, Mariano Gacto, Jesualdo Fernández-Breis, Jero Vicente-Soler, Teresa Soto, José Cansado.

Mayo 2019

PLoS Genetics,
doi: 10.1371/journal.pgen.100819

Quorum sensing (QS), a mechanism of microbial communication dependent on cell density, governs developmental decisions in many bacteria and in some pathogenic and non-pathogenic fungi including yeasts. In these simple eukaryotes this response is mediated by the release into the growth medium of quorum-sensing molecules (QSMs) whose concentration increases proportionally to the population density. To date the occurrence of QS is restricted to a few yeast species. We show that a QS mediated by the aromatic alcohols phenylethanol and tryptophol represses the dimorphic yeast to hypha differentiation in the fission yeast *S. japonicus* in response to an increased population density. In addition, the stress activated MAPK pathway (SAPK), which controls cell cycle progression and adaptation to environmental changes in this organism, constitutively represses yeast to hypha differentiation both at transcriptional and post-translational levels. Moreover, deletion of its main effectors Sty1 MAPK and Atf1 transcription factor partially suppressed the QS-dependent block of hyphal development under inducing conditions. RNAseq analysis showed that the expression of *nrg1*⁺, which encodes a putative ortholog of the transcription factor Nrg1 that represses yeast to hypha dimorphism in *C. albicans*, is downregulated both by QS and the SAPK pathway. Remarkably, Nrg1 may act in *S. japonicus* as an activator of hyphal differentiation instead of being a repressor. *S. japonicus* emerges as an attractive and amenable model organism to explore the QS mechanisms that regulate cellular differentiation in fungi.

Publicación 3

Stress-activated MAPK signaling controls fission yeast actomyosin ring integrity by modulating formin For3 levels

Elisa Gómez-Gil, Rebeca Martín-García, Jero Vicente-Soler, Alejandro Franco, Beatriz Vázquez-Marín, Francisco Prieto-Ruiz, Teresa Soto, Pilar Pérez, Marisa Madrid, José Cansado.

Septiembre 2020

eLife,
doi: 10.7554/eLife.57951

Cytokinesis, which enables the physical separation of daughter cells once mitosis has been completed, is executed in fungal and animal cells by a contractile actin- and myosin-based ring (CAR). In the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*, the formin For3 nucleates actin cables and also co-operates for CAR assembly during cytokinesis. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) regulate essential adaptive responses in eukaryotic organisms to environmental changes. We show that the stress-activated protein kinase pathway (SAPK) and its effector, MAPK Sty1, downregulates CAR assembly in *S. pombe* when its integrity becomes compromised during cytoskeletal damage and stress by reducing For3 levels. Accurate control of For3 levels by the SAPK pathway may thus represent a novel regulatory mechanism of cytokinesis outcome in response to environmental cues. Conversely, SAPK signaling favors CAR assembly and integrity in its close relative *Schizosaccharomyces japonicus*, revealing a remarkable evolutionary divergence of this response within the fission yeast clade.

CONCLUSIONS

1. Specific conclusions

The results obtained during this Thesis have led to the following conclusions, which are presented grouped according to the initially proposed objectives.

Aim 1. Evolutionary conservation of the stress-activated and cell integrity MAP kinase signaling pathways within the genus *Schizosaccharomyces* and their role during dimorphism in *S. japonicus*.

Aim 1 conclusions:

- The main biological functions of both the stress-activated and the cell integrity MAPKs signaling pathways are evolutionary conserved in *S. pombe* and *S. japonicus*.
- Similar to *S. pombe*, *S. japonicus* Pmk1 becomes activated in response to salt stress or cell wall damage and is negatively regulated by the SAPK pathway. Nevertheless, other functions such as regulation of cell separation or the response to glucose starvation are not conserved in *S. japonicus* Pmk1.
- As compared to *S. pombe*, the general architecture of the cell integrity MAPK module and its upstream regulators, PKC orthologs Pck1 and Pck2, is conserved in *S. japonicus*, although some functional differences are present.
- Pck2 is the main activator of the *S. japonicus* Pmk1 MAPK module during vegetative growth and in response to cell wall damage. On the contrary, Pck1 negatively modulates Pmk1 activation during unperturbed growth.
- Pmk1 exerts a major positive role by controlling both the early and late phases of hyphal development in *S. japonicus*.
- Pck1 and Pck2 antagonistically regulates *S. japonicus* hyphal development through the control of Pmk1 activity. While positive regulation by Pck2 signaling is restricted to the initial steps of the dimorphic switch, Pck1 negatively modulates the last stages of differentiation by reducing Pmk1 activity.
- Although Pmk1 MAPKs share a high amino-acid sequence identity in both fission yeasts species, *S. japonicus* Pmk1 lacks a N-lobe 24 amino-acid motif within the activation domain. The unusual secondary structure of *S. japonicus* Pmk1 might have evolved differentially to cope with the specific constraints for the cell integrity MAPK control and proper induction of hyphal differentiation in this organism.
- The core stress-responsive functions of the SAPK pathway are evolutionary conserved in *S. pombe* and *S. japonicus*. Similar to *S. pombe*, the *S. japonicus* SAPK pathway regulates the cell cycle progression, chronological lifespan, and the general cellular adaptive response to environmental stress.

- The SAPK pathway negatively regulates the initiation of the *S. japonicus* dimorphic switch in response to environmental stimuli through its main effectors Sty1 MAPK and Atf1 transcription factor, while Sty1 downregulates the later stages of this process in an Atf1-independent manner.
- *S. japonicus* responds to a quorum sensing (QS) mechanism mediated by the release to the growth medium of the aromatic alcohols phenylethanol and tryptophol that inhibits dimorphic yeast to hyphae differentiation as the population density increases.
- Lack of SAPK function partially attenuates the *S. japonicus* QS mechanism that inhibits yeast to hyphae transition at high population densities, suggesting that this signaling cascade acts as a constitutive repressor of dimorphism.
- The Nrg1 transcription factor ortholog, whose expression is downregulated by the SAPK pathway and QS, positively regulates hyphal development in *S. japonicus*.

Aim 2. Stress-activated MAPKs as modulators of the integrity of the actin cytoskeleton and cytokinesis within the genus *Schizosaccharomyces*.

Aim 2 conclusions:

- In *S. pombe* actin cytoskeleton damage induced with Latrunculin A (LatA) activates the stress-activated MAPK Sty1 via Mcs4 response regulator and independently of the two-component system.
- Sty1 activity negatively modulates *S. pombe* growth during actin cytoskeleton damage induced with LatA in a transcription-independent fashion.
- Inhibition of *S. pombe* growth by the SAPK pathway in response to low LatA concentrations mainly affects actin cables and the actomyosin contractile ring (CAR), and is not funneled through changes in Cdc42 Rho GTPase activity.
- The SAPK pathway negatively controls actin cable integrity and CAR assembly and maturation during cytoskeletal perturbations induced with LatA through a mechanism that involves formin For3 function.
- Activation of the SAPK pathway and its effector Sty1 prompts a decrease in the total protein levels of For3 formin, likely through a ubiquitination-dependent mechanism, to negatively influence *S. pombe* CAR integrity stability.
- Although *S. japonicus* Sty1 also becomes activated in response to LatA treatment, in this organism the SAPK pathway plays a positive role during CAR assembly and maintenance in response to cytoskeletal damage.

2. General conclusions

After the compilation of the above results and specific conclusions, the following general conclusions can be proposed:

- The cell integrity MAPK module architecture is strongly conserved in *S. pombe* and *S. japonicus*, while the upstream activators Pck1 and Pck2 antagonistically regulate *S. japonicus* dimorphic switch through the precise control of MAPK Pmk1 activity. Moreover, *S. japonicus* Pmk1 possesses a unique evolutionarily distinct secondary structure that allows CIP signaling to comply with the specific developmental requirements of this fission yeast species.
- *S. japonicus* features a cell density-dependent quorum sensing mechanism mediated by aromatic alcohols that, together with the stress-activated MAPK pathway, negatively modulates the yeast to hyphae transition dimorphic switch in response to environmental changes.
- The stress-activated MAPK pathway negatively regulates CAR assembly in *S. pombe* by decreasing formin For3 protein levels in response to cytoskeletal damage induced with LatA. On the contrary, it contributes positively to CAR assembly in *S. japonicus*, thus reflecting the evolutionary adaptation of this signaling cascade to the marked differences in the execution of cytokinesis in both fission yeast species.

