

Resum:

La proteïna quinasa GCN2 és una proteïna conservada en tots els organismes eucariotes implicada en el control de la traducció en condicions d'estrés. Està considerada un punt clau en el control de l'homeòstasi cel·lular i és un sensor de diferents i variades condicions d'estrés. L'estrés que va iniciar la seua caracterització en llevats i cèl·lules animals és el dejuni d'aminoàcids, però recentment s'ha observat l'activació d'aquest sistema davant de multitud d'estressos tant biòtics com abiòtics. El sistema GCN ha segut descrit ampliament en *Saccharomyces cerevisiae*: GCN2 s'uneix a les proteïnes GCN1 y GCN20, permetint l'activació de la quinasa en situacions de dejuni d'aminoàcids. GCN2 s'activa per tRNA no carregats, i posteriorment fosforila el factor de traducció eIF2 α , donant lloc a una reducció de la síntesi global de proteïnes, però també una major traducció de mRNA específics, com els que codifiquen a GCN4. Aquest factor de transcripció regularà l'expressió de nous gens, el que permet que la cèl·lula pugui iniciar una resposta d'adaptació a l'estrés.

En plantes es desconeix amb detall com el sistema GCN contribueix a mitigar l'estrés i controlar l'homeòstasi. Les tres proteïnes conegudes d'aquest sistema tenen homòlegs en *Arabidopsis*. Diversos estudis indiquen que el mecanisme d'actuació de GCN2 en plantes presenta moltes incògnites. Mentre que la quinasa GCN2 de plantes es activa en diferents situacions d'estrés, la participació dels homòlegs de GCN1 i GCN20 en aquests processos és controvertida, i recentment s'ha proposat un nou paper per a GCN1 en la traducció, independent de GCN2.

L'homòleg de GCN1 en plantes està implicat en la immunitat innata i adquirida i les seues línies mutants presenten fenotips molt diferents als de les línies mutants en GCN2. La relació funcional entre estos dos gens continua sent difícil de definir en plantes. En esta tesi, demostrarem que, encara que els gens GCN1 i GCN2 d'*Arabidopsis* són necessaris per a donar lloc a la fosforilació d'eIF2 α després de ser tractada amb glifosato, inhibidor de la biosíntesi d'aminoàcids aromàtics, els mutants de pèrdua de funció d'ambes línies desenvolupen distints fenotips d'arrel i cloroplast. Els experiments de microscòpia electrònica revelen que els mutants en GCN1, però no en GCN2, es veuen afectats en la biogènesi de cloroplastos, el que explica el fenotip macroscòpic observat prèviament per a estos mutants. Els mutants en GCN1 presenten una complexa reprogramació transcripcional que afecta, entre d'altres, a les respostes relacionades amb els mecanismes de defensa, fotosíntesi i al correcte plegament de les proteïnes. Els anàlisis

dels dobles mutants sugereixen que GCN1 en plantes té una altra funció, que és independent de la fosforilació de GCN2 i eIF2 α . Aquests resultats indiquen que estos dos gens tenen funcions comuns, pero també diferents, en *Arabidopsis*.

D'altra banda, demostrem que ningun dels cinc gens homòlegs a GCN20 en *Arabidopsis* és necessari per a la fosforilació d' eIF2 α . Ademés, els fenotips baix estrés abiòtic de plantes mutants en ells mateix, i el desenvolupament dels seus cloroplasts, sugereixen que GCN20 està funcionalment relacionat amb GCN1, però no amb GCN2, cosa que es confirma ja que els mutants *gcn1* i *gcn20* compartixen una reprogramació transcripcional similar, afectant a la fotosíntesi i les respostes davant l'estrés.

Identifiquem la proteïna quinasa GCN2 com un component cel.lular que fomenta l'acció del glifosato en *Arabidopsis*. Els estudis comparatius que utilitzen plàntules mutants de pèrdua de funció de GCN2 mostren que el programa mol.lecular que la planta desplega després del tractament amb herbicida no està ocorreguent. Ademés, les plantes adultes *gcn2* presenten una menor inhibició de la fotosíntesi, i acumulen menys àcid siquímic que les de tipus silvestre després de ser tractades amb glifosato. S'obté un resultat semblant després del tractament amb llum ultravioleta UV-B, on els mutants de pèrdua funció són més resistents. L'activació de GCN2 davant d'aquest estrés és independent del fotorreceptor UV-B (UVR8) i dels seus components de senyalització aigües avall i de la via de senyalització d'estrés de les Map quinases.