

RESUMEN

El control traduccional y la traducción selectiva de algunos mRNA representan un mecanismo regulador de las células para adaptarse a diversas condiciones fisiológicas y de estrés ambiental. En *Saccharomyces cerevisiae* la activación de la ruta de control traduccional GCN, cuyo transductor principal es la quinasa Gcn2p, favorece la adaptación a situaciones de estrés por falta de nutrientes. Gcn2p es activada por tRNA descargados durante condiciones de ayuno de aminoácidos. Gcn2p fosforila eIF2 α (Sui2p) en ser51 y esto inhibe la traducción general de los mRNA, al mismo tiempo que permite la traducción selectiva de determinados mRNA que son necesarios para la supervivencia celular. Uno de ellos es el mRNA de *GCN4*, un factor de transcripción que regula genes de biosíntesis de amino ácidos entre otros.

El pH intracelular modula la actividad de muchos sistemas celulares, pero los mecanismos de regulación y de percepción son en su mayoría desconocidos. Previamente en el grupo se ha identificado dos genes de *S. cerevisiae* importantes para la tolerancia a la acidificación intracelular causada por ácidos débiles permeables: *LEU2* y *GCN2*. En la presente tesis se ha comprobado que *LEU2*, funciona eliminando la dependencia de la absorción de leucina extracelular en cepas con auxotrofia para este aminoácido. Además, se ha profundizado en los mecanismos moleculares por los cuales Gcn2p responde a pH ácido intracelular. La acidificación intracelular activa Gcn2p probablemente por la inhibición de las aminoacil-tRNA sintetasas porque se observa la acumulación de tRNA^{leu} descargados en condiciones sin ayuno de leucina. Gcn2p es requerida para el transporte de leucina y un mutante nulo *gcn2 Δ* es sensible al estrés ácido sí es auxótrofo para leucina y Gcn4p no se requiere para la tolerancia a ácido. Además un mutante ser51>ala en eIF2 α es sensible a ácido, lo que sugiere que Gcn2p, mediante la fosforilación de eIF2 α , puede activar la traducción de un regulador desconocido de transportadores de aminoácidos distinto de Gcn4p.

En relación al estrés genotóxico, evidencias previas muestran que Gcn2p está implicado en el control del ciclo celular en respuesta a daño al DNA regulando la transición de fase G1-S. Pero, ¿cómo ocurre esta respuesta de Gcn2p y qué efectores están implicados? Hemos descubierto que distintos agentes lesionantes del DNA activan la quinasa Gcn2p, entre ellos el agente alquilante MMS. Todos ellos de algún modo generan estrés replicativo. La caracterización genética con los mutantes de la ruta GCN muestra que Gcn1p/Gcn20p están implicados en la fosforilación de eIF2 α por Gcn2p en respuesta a MMS. Además Gcn1p y Gcn2p puede tener un papel relacionado con la toxicidad por MMS independientemente del control traduccional. El rastreo de diversas proteínas de control de daño y/o de reparación del DNA muestra que las proteínas Xrs2p, Tel1p y Mag1p se requieren para la activación de Gcn2p provocada por MMS. Las dos primeras, actúan en una ruta de señalización y control de daño donde el complejo MRX es independiente del control traduccional. La activación de Gcn2p también es dependiente de la proteína de reparación codificada por *MAG1* (3-metiladenina DNA glicosilasa), la cuál es necesaria para la reparación del DNA debido a daño causado por agentes alquilantes como MMS. En la respuesta a MMS mediada por el control traduccional parece estar implicado el complejo epistático RAD52. Por lo tanto, Gcn2p está conectado funcionalmente con la maquinaria de reparación y/o control de daño en el DNA. La activación de Gcn2p por MMS está mediada por la inhibición de ciertas aminoacil-tRNA sintetasas. De ellas, parece tener un papel relevante Frs2p, la subunidad α de la fenilalanil-tRNA sintetasa citosólica.