

RESUM: “*Caenorhabditis elegans* com a organisme model per estudiar malalties mitocondrials associades a defectes en la modificació dels tRNAs”

La modificació post-transcripcional de la uridina situada en la posició de balanceig (U_{34}) de certs tRNAs és un procés conservat evolutivament realitzat per proteïnes homòlogues a les de les famílies MnmA/MTU1, MnmE/GTPBP3 i MnmG/MTO1. Aquest caràcter universal sustenta la importància de les dites modificacions per a la biologia de cèl·lules i organismes. De fet, mutacions en els gens humans *MTU1* i *GTPBP3* o *MTO1* causen fallada hepàtica infantil aguda i cardiomiopatia hipertròfica infantil amb acidosis làctica, respectivament, que habitualment produeixen letalitat durant els primers mesos de vida. S'assumeix que la causa primària d'aquestes malalties és l'absència de les modificacions introduïdes per la proteïna MTU1 a la posició 2 (un grup tiol) i per les proteïnes GTPBP3 i MTO1 (un grup taurinometil) a la posició 5 de la U_{34} en un grup de tRNAs mitocondrials (mt-tRNAs). No obstant això, els mecanismes subjacents en estes malalties (i en altres associades també a l'absència de tals modificacions) no estan clars, desconeixent-se les raons per les quals el dèficit de la fosforilació oxidativa resultant en tots els casos (atribuït a alteracions de la traducció mitocondrial de proteïnes) produeix fenotips tan diversos. La nostra hipòtesi és que la senyalització retrògrada mitocondria-nucli promoguda per la hipomodificació dels mt-tRNAs en posició 2 o 5 de la U_{34} és diferent i la resposta nuclear en cada cas es dependent del programa genètic i epigenètic de cèl·lules i organismes.

En aquest treball, hem utilitzat el nematode *Caenorhabditis elegans* com a organisme model per a estudiar els efectes produïts per la inactivació de les proteïnes homòlogues de MTU1, GTPBP3 i MTO1 a les que hem denominat MTTU-1, MTCU-1 i MTCU-2, respectivament. Hem comprovat que aquestes proteïnes, codificades pel nucli, són de localització mitocondrial i estan implicades en la modificació de la U_{34} dels mt-tRNAs. Els mutants simples *mtcu-1* i *mtcu-2* presenten una reducció en la seua fertilitat i, en el cas del mutant simple *mttu-1*, fenotipus associats a termosensibilitat (allargament del seu cicle reproductiu i reducció de la seua fertilitat). Els fenotipus exhibits pels mutants simples *mttu-1*, *mtcu-1* i *mtcu-2* sustenten la hipòtesi que la mutació *mttu-1*, d'una banda, i les mutacions *mtcu-1* i *mtcu-2*, d'una altra, promouen senyals retrògrads diferents que produeixen patrons d'expressió nuclears específics. Així, un tret fenotípic dependent de gens nuclears (com ho és la transcripció i/o l'estabilitat dels mt-tRNAs) i l'expressió de gens nuclears com *ucp-4*, *hsp-6*, *hsp-60* i altres implicats en el metabolisme mitocondrial mostren un patró diferent en els dos grups de mutants. Els gens *hsp-6* i *hsp-60*, usats com a

marcadors de la resposta a estrés mitocondrial (UPR^{mt} o "mitochondrial unfolded protein response"), estan regulats a la baixa en el mutant *mttu-1*, la qual cosa podria relacionar-se amb la termosensibilitat d'aquest mutant en relació a la seua fertilitat i cicle reproductiu. Els tres mutants simples exhibixen una reducció en l'expressió de gens de la glicòlisi i de la β -oxidació dels àcids grassos (més severa en el mutant *mttu-1*), una inducció en un marcador de glutaminolisi i una inducció en el gen *ucp-4* (més acusada en el mutant *mttu-1*) implicat en el transport de succinat (un intermediari del cicle de l'àcid tricarboxílic, TCA) a la mitocondria. Atés que els tres mutants simples presenten una disfunció OXPHOS relativament suau, proposem que els canvis d'expressió en gens que modulen el metabolisme mitocondrial revelen una reprogramació del cicle del TCA que compensa la disminució en l'aportació d'acetil-CoA procedent de la glicòlisi i de l'oxidació d'àcids grassos amb l'activació de rutes anapleròtiques del cicle del TCA basades en la importació de succinat a la mitocondria per UCP-4 i en l'aportació de α -cetoglutarat procedent de la glutaminolisi. Esta reprogramació podria associar-se amb l'entrada d'equivalents reduïts (en la forma de FADH₂) al sistema OXPHOS a través del complex II que compensaria en part la possible disfunció del complex I. En la Tesi també s'analitzen els efectes de l'anul·lació simultània de les modificacions en les posicions 2 i 5 de la U₃₄. El doble mutant *mttu-1;mtcu-2* presenta una disfunció OXPHOS severa, amb una ràtio AMP/ATP 5 vegades superior al control, que resulta en letalitat embrionària, detenció del desenvolupament en estadis larvaris primerencs, esterilitat completa en els adults i una longevitat unes 2 vegades superior al control. Aquest increment de la longevitat està modulada per rutes de senyalització que depenen d'AMPK, fonamentalment de la subunitat catalítica AAK-1, i d'hormones esteroidees, a través de les proteïnes DAF-9 i DAF-12.

En resum, aquest treball mostra per primera vegada a nivell d'un animal model la important reprogramació de gens relacionats amb el metabolisme mitocondrial en resposta a la hipomodificació de la U₃₄ dels mt-tRNAs i revela noves connexions entre rutes de senyalització que incrementen la longevitat.