

GRÁNULOS DE ESTRÉS: POSIBLES DIANAS BIOTECNOLÓGICAS CONTRA EL CAMBIO CLIMÁTICO

STRESS GRANULES: POTENTIAL BIOTECHNOLOGICAL TARGETS AGAINST CLIMATE CHANGE

por EMILIO GUTIÉRREZ-BELTRÁN

INSTITUTO DE BIOQUÍMICA VEGETAL Y FOTOSÍNTESIS (IBVF), UNIVERSIDAD DE SEVILLA-CSIC, SEVILLA, ESPAÑA.

Palabras clave: gránulos de estrés, condensados biomoleculares, separación de fase líquido-líquido, estrés, cambio climático, biotecnología.

Keywords: stress granules, biomolecular condensates, liquid-liquid phase separation, stress, climate change, biotechnology.

Resumen: Alimentar a 9 mil millones de personas para 2050 es uno de los principales retos que se enfrenta nuestra sociedad. Los cultivos representan la principal fuente de alimento, sin embargo, los eventos atmosféricos ligados al actual cambio climático están afectando de forma muy negativa a la producción agrícola. Si este fenómeno no cambia en los próximos años, la sociedad se enfrentará un grave problema de abastecimiento para una población mundial en crecimiento exponencial. El crecimiento de la temperatura global acompañado de sequías extremas y una alta salinidad de los suelos son las principales causas de perdida de rendimiento de los cultivos. Por lo tanto, desarrollar cultivos resilientes al estrés ambiental es una estrategia prioritaria para mantener un rendimiento óptimo, asegurando la seguridad alimentaria futura. Para ello, es de máxima importancia comprender cómo las plantas son capaces de enfrentarse a las condiciones de estrés extremas. Uno de los primeros eventos que ocurre tras la percepción de estrés a nivel celular es la formación en el citoplasma de unos gránulos conocidos como gránulos de estrés (SGs, *stress granules*). Los SGs son condensados biomoleculares constituidos principalmente por ARN y proteínas y que se ensamblan por un proceso de separación de fase líquido-líquido (*liquid-liquid phase separation*, LLPS). Aunque el conocimiento actual sobre su composición, ensamblaje y función proviene principalmente de organismos modelos como levaduras o animales, estudios recientes en plantas sugieren que los SGs podrían jugar un papel central en la resiliencia vegetal, sugiriendo que el desarrollo de métodos dirigidos sobre los SGs para creación de plantas más resistentes es una posibilidad.

Abstract: Feeding 9 billion people by 2050 is one of the greatest challenges facing our society. Crops are the main source of food; however, atmospheric events associated with ongoing climate change are severely affecting agricultural productivity. If this trend continues in the coming years, society will face a serious supply crisis for an exponentially growing global population. Rising global temperatures, extreme droughts, and increased soil salinity are the main causes of yield loss in crops. Therefore, developing crop varieties resilient to environmental stress is a top priority to maintain optimal productivity and ensure future food security. To achieve this, it is essential to understand how plants cope with extreme stress conditions. One of the earliest cellular responses to stress perception is the formation of cytoplasmic structures known as stress granules (SGs). SGs are biomolecular condensates composed mainly of RNA and proteins, assembled through a process called liquid-liquid phase separation (LLPS). Although most current knowledge about their composition, assembly, and function comes from model organisms such as yeast and animals, recent studies in plants suggest that SGs could play a central role in plant resilience. This opens the possibility of developing SG-targeted biotechnological strategies to create more stress-tolerant crops.

Introducción

La formación de los gránulos estrés es un proceso universal y conservado que se produce en respuesta a una gran variedad de agentes de estrés, entre los que se incluye alta salinidad, bajo oxígeno, altas temperaturas o presencia de patógenos (Solis-Miranda *et al.*, 2023). De hecho, el estrés térmico es el agente más reproducible y estudiado en la biogénesis de los SGs. Desde el punto de vista ambiental, los modelos de predicción han revelado que el aumento continuo

de la temperatura se traducirá en pérdidas significativas en el rendimiento de los cultivos en latitudes medias, lo que indica que la temperatura es uno de los parámetros ambientales clave a tener en cuenta en países como España (Liu, 2016). Si además el efecto en el incremento de la temperatura mundial se acompaña de una disminución de las precipitaciones, que conlleva un aumento de la salinidad de los suelos, y/o cambios en los patrones de interacciones patógeno-huésped, el impacto combinado sobre los cultivos es devastador. Por lo tanto, el estudio de los mecanismos moleculares subyacentes a la respuesta

celular ante diversas agresiones ambientales es fundamental para desarrollar metodologías que permitan generar nuevas variedades vegetales con mayor resiliencia al cambio climático. En los últimos años numerosos estudios han revelado un papel central de los gránulos de estrés en la respuesta celular a condiciones adversas en todos los organismos analizados. De hecho, en humanos, los SGs están siendo considerados como dianas biotecnológicas para tratamientos terapéuticos en varias enfermedades. Sin embargo, el escaso conocimiento sobre la biogénesis de los SGs en plantas limita su aplicabilidad. Pero, ¿que se conoce sobre realmente en plantas? A continuación, se resume los principales hallazgos respecto a su composición, ensamblaje y función.

¿Que son los gránulos de estrés?

Los gránulos de estrés son orgánulos sin membrana formados principalmente por proteínas y moléculas de ARN que aparecen en el citoplasma celular en condiciones de estrés (Figura 1). Hasta la fecha, el conocimiento sobre su estructura, composición, función y ensamblaje proviene principalmente de estudios realizados en otros organismos modelos, tales como humanos o levaduras. Algunos de estos trabajos han permitido conocer que los SGs están formados por dos capas, una más densa y compacta conocida como *core* y otras más fluida y periférica conocida como *shell*. Aunque se ha descrito que su composición es muy dinámica y cambia en función del tejido, tipo de estrés o tiempo de exposición a este, se ha descrito que el *core* de los SGs está formado principalmente por moléculas de ARN paradas en la traducción, subunidades pequeñas ribosomales, proteínas de unión a poli(A) (PAB), factores eucarióticos de iniciación de la traducción (*eukaryotic initiation factors*, eIFs), otras proteínas de unión a ARN y otras proteínas de tipología variada. Diferentes estudios realizados en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* han confirmado que el *core* de los SGs está constituido por componentes análogos a los descritos en otros organismos modelos (Solis-Miranda *et al.*, 2023). A pesar de su complejidad, actualmente existe un modelo que explica la composición proteica de los SGs. Según este modelo, los SGs estarían formados por dos grupos diferentes de proteínas, unas conocidas como *scaffold* o las otras como *clients*. Ambos tipos tendrían un papel diferencial en los condensados. Así, las proteínas *scaffolds* se encontrarían asociadas a los condensados de forma estable y serían responsables de su formación e integridad, así como del reclutamiento de las *clients*. Por su parte, estas últimas tendría un papel más secundario. En plantas, la proteína TSN

(*Tudor Staphylococcal Nuclease*) fue la primera que se describió como *scaffold* responsable del reclutamiento de multitud de componentes (Gutierrez-Beltran *et al.*, 2015; Gutierrez-Beltran *et al.*, 2021).

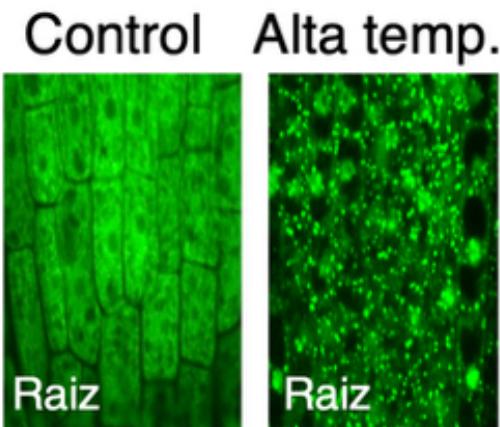


Figura 1. Formación de los gránulos de estrés en respuesta a altas temperaturas. En la imagen se observa una raíz de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* que expresa la proteína RBP47 unida a la proteína fluorescente verde (GFP) en condiciones control de alta temperatura (39°C 40 min).

¿Como se ensamblan?

Trabajos recientes realizados en mamíferos y levaduras han sugerido que la formación de los gránulos de estrés es un proceso ordenado que ocurre en dos fases. En una fase inicial se formaría el *core* mediante un proceso de separación de fase líquido-líquido, que va seguido del reclutamiento de diferentes proteínas a la capa periférica conocida como *shell*. Aunque los mecanismos moleculares subyacentes al ensamblaje de los SGs aún no están claros, todos los modelos propuestos convergen en la idea de que el ensamblaje de los SGs es impulsado por una combinación de interacciones homotípicas y heterotípicas que involucran regiones intrínsecamente desordenadas (*intrinsically disordered regions*, IDRs) o regiones de poca complejidad (*low-complexity regions*, LCRs). En plantas, varios estudios recientes han descrito que regiones IDRs de proteínas asociadas a los gránulos de estrés como RBGD2/4 (*RNA-binding glycine-rich D2 and D4*) o GRP7 (*Glycine-rich RNA-binding protein 7*) son responsables de la condensación de las mismas (Zhu *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2024), sugiriendo una conservación en el mecanismo.

¿Cuál es la función de los gránulos de estrés?

Se ha observado que la formación de los SGs va acompañada de una alteración global del metabolismo del ARN. Principalmente tiene lugar una parada generalizada de la traducción celular, promovida por

el hecho de que tanto moléculas de mRNAs (*messenger RNA*) como complejos iniciadores de la traducción son secuestrados en estos condensados (Figura 2). Este fenómeno se ha asociado con una reorganización celular global con el fin de promover la síntesis de proteínas que permita a la célula sobreponerse a la nueva situación de estrés, y así su supervivencia (Kedersha and Anderson, 2009). Aunque la relación traducción-SGs es clara, a día de hoy se sabe que estos condensados juegan otras funciones adicionales en la célula. Por ejemplo, se ha descrito en levaduras que el secuestro de proteínas metabólicas en los SGs puede acelerar o inhibir ciertas reacciones (Jin *et al.*, 2017). Además de esta, en los últimos años, se ha sugerido que los gránulos de estrés podrían actuar como núcleos señalizadores centrales durante

la respuesta celular al estrés (Mahboubi and Stochaj, 2017). De esta forma, el secuestro de proteínas señalizadoras en estos condensados sería crucial para el correcto desarrollo de la respuesta de la célula a condiciones adversas. En plantas, aunque la función de los SGs no se ha definido aún, su relación con la respuesta al estrés es clara. Así, proteínas como GRP7, RBG2/4, ALBA (*Acetylation lowers binding affinity*), RBP47 (*RNA-binding protein 47*) o TSN han sido caracterizados como componentes importantes en la modulación de la resiliencia vegetal al estrés (Gutierrez-Beltran *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2022; Xie *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2024), sugiriendo un papel central de los condensados en la respuesta celular a situaciones de estrés.

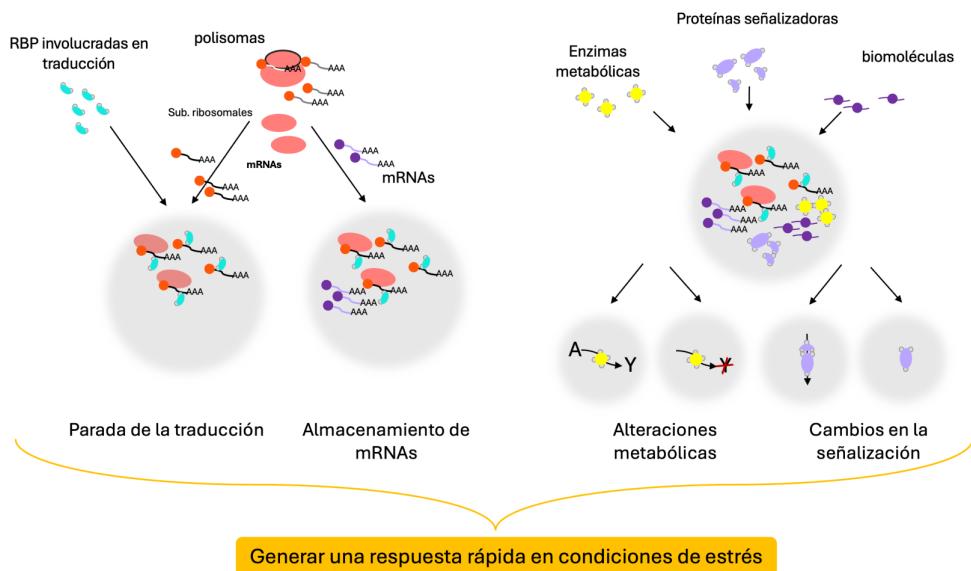


Figura 1. Función de los gránulos de estrés. Inicialmente se relacionó la formación de los SGs con la una parada de la traducción global y el secuestro de moléculas de mRNA. Recientemente, se ha descrito que los SGs tienen funciones adicionales, tales como alteraciones de rutas metabólicas o de cascadas de señalización.

¿Qué queda por saber?

En humanos, se ha relacionado la formación de los SGs con diferentes patologías de enfermedades humanas, incluyendo cáncer y neurodegeneración (Hofmann *et al.*, 2021). Además, se ha descrito que estrategias encaminadas a abolir la formación de los SGs inhiben la progresión de determinadas enfermedades como tumores, enfermedades neurodegenerativas u otras como la esclerosis lateral amiotrófica (Becker *et al.*, 2017; Markmiller *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2019). Todos estos hallazgos pueden correlacionarse con el hecho de que los SGs controlan el destino celular a

través de múltiples vías, incluida la regulación de la traducción y la prevención de la muerte celular. Estos hallazgos han promovido que los SGs estén siendo considerados como dianas biotecnológicas para tratamientos terapéutica en varias enfermedades humanas. A diferencia del modelo animal, en plantas, el uso biotecnológico de los SGs está aún por explorar. Sin embargo, el hecho que multitud de estudios relacionen componentes de los SGs con la resiliencia vegetal, hace pensar que el ensamblaje de estos condensados puede ser un mecanismo central en la respuesta celular a condiciones ambientales adversas. Por lo tanto, el uso biotecnológico de los SGs en plantas es una posibilidad por explorar.

Sobre al autor

Emilio Gutiérrez Beltrán es profesor de la Universidad de Sevilla que lidera el grupo de investigación denominado “*Gránulos de estrés y señalización*” en el Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF), centro mixto Universidad de Sevilla-CSIC. Previamente el autor realizó una estancia de más de 5 años en *Swedish University of Agricultural Sciences* (SLU), Uppsala, Suecia, donde inició su actual línea de investigación centrada en la caracterización funcional de los gránulos de estrés en plantas.

Bibliografía

Becker, L.A., Huang, B., Bieri, G., Ma, R., Knowles, D.A., Jafar-Nejad, P., Messing, J., Kim, H.J., Soriano, A., Auburger, G., Pulst, S.M., Taylor, J.P., Rigo, F., and Gitler, A.D. (2017). Therapeutic reduction of ataxin-2 extends lifespan and reduces pathology in TDP-43 mice. *Nature* 544, 367-371.

Gao, X., Jiang, L., Gong, Y., Chen, X., Ying, M., Zhu, H., He, Q., Yang, B., and Cao, J. (2019). Stress granule: A promising target for cancer treatment. *Br. J. Pharmacol.* 176, 4421-4433.

Gutierrez-Beltran, E., Moschou, P.N., Smertenko, A.P., and Bozhkov, P.V. (2015). Tudor Staphylococcal Nuclease Links Formation of Stress Granules and Processing Bodies with mRNA Catabolism in *Arabidopsis*. *Plant Cell*.

Gutierrez-Beltran, E., Elander, P.H., Dalman, K., Dayhoff, G.W., 2nd, Moschou, P.N., Uversky, V.N., Crespo, J.L., and Bozhkov, P.V. (2021). Tudor staphylococcal nuclease is a docking platform for stress granule components and is essential for SnRK1 activation in *Arabidopsis*. *EMBO J.* 40, e105043.

Jin, M., Fuller, G.G., Han, T., Yao, Y., Alessi, A.F., Freeberg, M.A., Roach, N.P., Moresco, J.J., Karnovsky, A., Baba, M., Yates, J.R., 3rd, Gitler, A.D., Inoki, K., Klionsky, D.J., and Kim, J.K. (2017). Glycolytic Enzymes Coalesce in G Bodies under Hypoxic Stress. *Cell Rep* 20, 895-908.

Kedersha, N., and Anderson, P. (2009). Regulation of translation by stress granules and processing bodies. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 90, 155-185.

Mahboubi, H., and Stochaj, U. (2017). Cytoplasmic stress granules: Dynamic modulators of cell signaling and disease. *Biochim Biophys Acta* 1863, 884-895.

Markmiller, S., Soltanieh, S., Server, K.L., Mak, R., Jin, W., Fang, M.Y., Luo, E.C., Krach, F., Yang, D., Sen, A., Fulzele, A., Wozniak, J.M., Gonzalez, D.J., Kankel, M.W., Gao, F.B., Bennett, E.J., Lecuyer, E., and Yeo, G.W. (2018). Context-Dependent and Disease-Specific Diversity in Protein Interactions within Stress Granules. *Cell* 172, 590-604 e513.

Solis-Miranda, J., Chodasiewicz, M., Skirycz, A., Fernie, A.R., Moschou, P.N., Bozhkov, P., and Gutierrez-Beltran, E. (2023). Stress-related biomolecular condensates in plants. *Plant Cell*.

Xie, Z., Zhao, S., Li, Y., Deng, Y., Shi, Y., Chen, X., Li, Y., Li, H., Chen, C., Wang, X., Liu, E., Tu, Y., Shi, P., Tong, J., Gutierrez-Beltran, E., Li, J., Bozhkov, P.V., Qian, W., Zhou, M., and Wang, W. (2023). Phenolic acid-induced phase separation and translation inhibition mediate plant interspecific competition. *Nat Plants* 9, 1481-1499.

Xu, F., Wang, L., Li, Y., Shi, J., Staiger, D., and Yu, F. (2024). Phase separation of GRP7 facilitated by FERONIA-mediated phosphorylation inhibits mRNA translation to modulate plant temperature resilience. *Mol Plant* 17, 460-477.

Zhu, S., Gu, J., Yao, J., Li, Y., Zhang, Z., Xia, W., Wang, Z., Gui, X., Li, L., Li, D., Zhang, H., and Liu, C. (2022). Liquid-liquid phase separation of RBD2/4 is required for heat stress resistance in *Arabidopsis*. *Dev. Cell* 57, 583-597 e586.