

RODOQUINONA: una molécula esencial para la respuesta a sulfuro, cianuro y patógenos en *Caenorhabditis elegans*

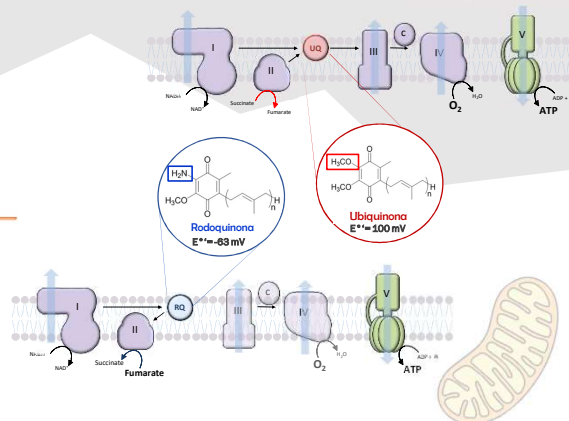
Romanelli Cedrez, Laura¹; Vairoletti, Franco²; Pastorino, Valeria¹; Salinas, Gustavo¹

1. Laboratorio de Biología de Gusanos, Unidad Mixta: Institut Pasteur de Montevideo - Facultad de Química, UdelaR.
2. Laboratorio de Química Farmacéutica, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR.

INTRODUCCIÓN



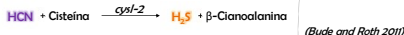
En algunos organismos que enfrentan condiciones de hipoxia o anoxia, existe una cadena de transporte de electrones mitocondrial alternativa en la cual:
La **rodoquinona (RQ)**: es el transportador de electrones (y no la ubiquinona (UQ))
El **fumarato**: es el aceptor final de electrones (y no el oxígeno).



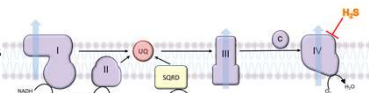
En la naturaleza *C. elegans* se enfrenta a:

HCN producido por bacterias patógenas (Gallagher L.A., et al., 2001),
H₂S en el suelo producto de la descomposición de azufre orgánico (Bude and Roth 2011).

En *C. elegans* se propone una forma de detoxificar **HCN** involucra la generación de **H₂S**.

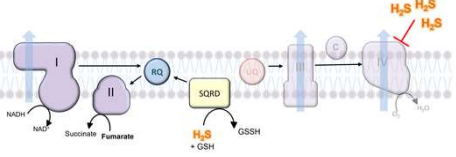


Mecanismo de detoxificación de **H₂S**: involucra a la cadena de transporte de electrones mitocondrial y a la enzima sulfuro quinona oxidoreductasa (SQR o SQRD-1) entre otras enzimas.



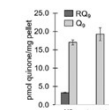
Mecanismo de detoxificación de **H₂S** cuando el complejo IV está inhibido.

Modelo propuesto

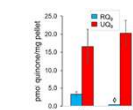


Antecedentes directos en *C. elegans*:

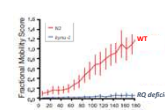
- Las enzimas **KYNU-1** y **COQ-2** isoforma E son esenciales para la síntesis de RQ.
- Mutantes de delección en ***kynu-1*** y ***coq-2Δ6e*** no sobreviven en HCN.



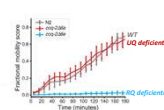
Roberts Buceta, P., et al., 2019



Modificado de Tan, J.H. et al., 2020



Del Borrello, S. et al., 2019

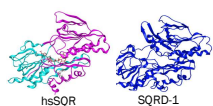


Tan, J.H. et al., 2020

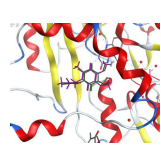
RESULTADOS

Estimación de la afinidad de la SQR de *C. elegans* (SQRD-1) por UQ y RQ.

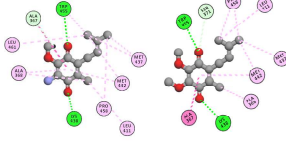
Modelado por homología de SQRD-1 a partir de hsSQR (PDB id: 6oib/6oic)



Docking



Estimación de afinidad (Score de docking)



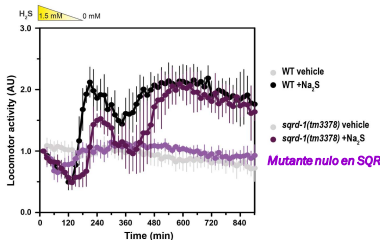
Software explorado: Modeller, Swissmodel, MOE, I-tasser, Phyre2, AlphaFold
Criterio de selección: RMSD, Qmean Score, Molprobability

Validación de protocolo en 6oib. RMSDpred/exp=0,14

Función de Score	UQ	RQ
GBVI	-7.6299	-6.9502
KDeep	-6.70±0.96	-6.76±0.87

Estirpes mutantes en SQR recuperan motilidad luego de una exposición al **H₂S**

> *C. elegans* en medio líquido: Análisis de motilidad de gusanos en solución de 1.5 mM H₂S.



Agradecimientos

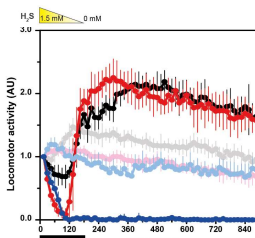


Institut Pasteur de Montevideo

ANEP

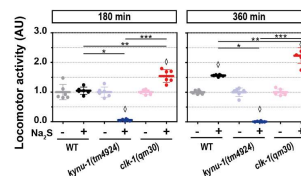
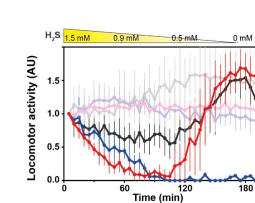
FCE_3_2020_1_162629

La RQ es esencial para supervivencia en H₂S en *C. elegans*

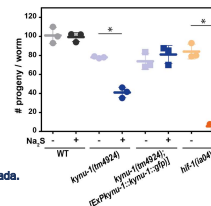


> *C. elegans* en medio líquido: Análisis de motilidad de gusanos en solución de 1.5 mM H₂S.

WT vehicle
WT + Na₂S
kynu-1(tm4924) vehicle
kynu-1(tm4924) + Na₂S
clk-1(qm30) vehicle
clk-1(qm30) + Na₂S



> Cuantificación de número de progenie y viabilidad de la misma en presencia de una atmósfera de 3 μM H₂S.



kynu-1(tm4924): deficiente en RQ.
kynu-1(tm4924); ExPkyu-1::kynu-1::GFP: Biosíntesis de RQ restaurada.
hif-1(la04): estirpe conocida sensible al H₂S (control).

Estirpes mutantes deficientes en RQ NO sobreviven en presencia de bacterias patógenas productoras de HCN.

> Análisis de motilidad de gusanos en suspensión de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

