

***Saccharomyces cerevisiae* es un buena amiga**

Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IQUIBICEN-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Contacto: Beatriz S. Méndez - bea@qb.fcen.uba.ar

Nos dio el pan y el vino y en ese carácter desde los tiempos bíblicos nos acompañó en liturgias religiosas, tabernas abarrotadas y palacios principescos. Hechos conocidos. Sin embargo sus andanzas por los laboratorios científicos no han tenido gran difusión.

S.cerevisiae es el organismo modelo eucariota y como tal existe un profundo conocimiento de su genética y fisiología. Su genoma fue el primero de un organismo eucariota en ser secuenciado (1) y en consecuencia, a posteriori, se dispuso de amplia información sobre transcriptomas, proteomas y datos de ingeniería metabólica en distintas condiciones fisiológicas. Además su uso en la industria panadera y vitivinícola, en la producción de bio-etanol y en la síntesis de intermediarios para productos de la industria química y farmacéutica condujo a una larga serie de publicaciones relativas a investigación aplicada (2). De ahí derivó su interés en determinar su genoma mínimo.

¿Qué se entiende por genoma mínimo? Se define como el menor conjunto posible de genes que sean suficientes para sostener el funcionamiento de una forma de vida celular en presencia de todos los nutrientes esenciales y en ausencia de estrés ambiental. Y ¿cuál es el interés en conocerlo? Como se deduce de lo dicho anteriormente los microorganismos sintetizan compuestos que tienen interés comercial. En función de lograr su máxima producción es necesario que el organismo en cuestión no se “distriga” en fabricar principalmente compuestos para su diversidad metabólica como lípidos, proteínas, material de reserva, etc. sino que dirija su metabolismo hacia la molécula de interés sin que por supuesto ello implique afectar su sobrevivencia lo que deriva en la necesidad de conocer los genes esenciales.

En procariotas, dado su genoma pequeño, se han determinado los genes no esenciales en varias especies. Básicamente la estrategia fue utilizar métodos de inactivación génica en bacterias como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Mycoplasma*. Sin embargo esos métodos no aseguran que todos los genes inactivados sean simultáneamente no esenciales para crecer en condiciones óptimas. Un enfoque adecuado para obtener esa respuesta es la síntesis de genomas artificiales en los cuales se puedan introducir todas las modificaciones necesarias para definir la mínima información genética que asegure crecimiento adecuado.

El primer genoma procariota artificial sintetizado, ensamblado y clonado fue el de *Mycoplasma genitalum* (3). Sus 580.076 pares de bases se obtuvieron mediante 101 casetes sintetizados artificialmente, recombinados “in vitro” y clonados en *E. coli* y *S.cerevisiae*. El procedimiento permitió recobrar de clones

de *S.cerevisiae* y verificar por secuenciación el genoma completo artificial de *M.genitalum*. Posteriormente un genoma artificial de *M.mycooides* se transplantó a *M.capicolum* permitiendo la obtención de células bacterianas controladas por un genoma artificial (4)

Las levaduras son distintas. Por empezar *S.cerevisiae* tiene 16 cromosomas y el tamaño total de su genoma es de aproximadamente 12Mb. En el mismo hay cerca de 5000 genes no esenciales (1) y surge la misma pregunta sobre la simultaneidad. Dado que las respuestas a esta pregunta no fueron concluyentes N. Annaluru (5) eligió la estrategia del genoma artificial. Su elección fue el cromosoma III cuyo tamaño es 316.617 pares de bases. La estrategia consistió en introducir “in silico” en el cromosoma modificaciones como, entre otras, la eliminación de DNA no codificante, incorporación de marcas de agua para distinguir las secuencias nativas de las artificiales, y sobre todo limitar los extremos de genes no esenciales con secuencias capaces de producir su eliminación frente a una señal adecuada. Esta última estrategia permite la eliminación ordenada de genes no esenciales para llevar a cabo una función determinada, el principal objetivo tras los genomas mínimos.

Luego Annaluru recurrió a estudiantes de primer año para continuar el trabajo. Tomando como modelo el cromosoma artificial, synIII, de 272.871 pares de bases se sintetizaron artificialmente 70 casetes que fueron unidos por los estudiantes por métodos estándar de biología molecular con el fin de dar complejos ensamblados de longitud aproximada a 3 kb. Utilizando una estrategia novedosa el cromosoma nativo se reemplazó “in vivo” mediante la introducción ordenada de los fragmentos sintéticos en vueltas sucesivas de transformación. SynIII es funcional en *S.cerevisiae*

Y así la legendaria levadura ha permitido la construcción del primer cromosoma sintético eucariota.

¿Podrá aplicarse esta estrategia a todo su genoma? Suponemos que llevará tiempo pero mientras tanto ya se posee información sobre la cual trabajar y además la participación de estudiantes en la tarea (ver un artículo similar en este número de Química Viva) ayudó a su formación y a despertar su interés por la ciencia.

Si, *Saccharomyces cerevisiae* es una buena amiga.

Referencias

1. Goffeau A, et al (1996) Life with 6000 genes *Science* 274: 546, 563-567
2. Nevoigt N (2008) Progress in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* *Microbiology and molecular biology reviews* 72: 379-412
3. Gibson DG, et al (2008) Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalum* genome *Science* 319: 1215-1219
4. Gibson DG, et al (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome *Science* 329: 52-56
5. Annaluru N, et al (2014) Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome *Science* 344: 55-58

La autora es Directora de Química Viva.

