

INSTITUTO DE ESPAÑA

REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

**EL VALOR DE LOS MODELOS MICROBIANOS
PARA EL CONOCIMIENTO BIOLÓGICO,
LA COMPRENSIÓN DE LAS PATOLOGÍAS
HUMANAS Y EL DESARROLLO DE TERAPIAS**

**DISCURSO DE LA
EXCMA. SRA. DÑA. MARÍA MOLINA MARTÍN**

**leído el día 21 de octubre de 2021
para su ingreso como académica de número**

**Y CONTESTACIÓN DEL
EXCMO. SR. D. CÉSAR NOMBELA CANO**



MADRID, 2021

INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

GN'XCNQT'F G'NQU'O QF GNQU'O ÆTQDKCP QU
RCTC'GN'EQP QEKO KGP VQ'DKQN' I ÆQ.
NC'EQO RTGP UK P 'F G'NCU'RCVQNQI ~CU
J WO CP CU ['GN'F GUCTTQNNQ'F G'VGTCRKC U

DISCURSO DE LA
EXCMA. SRA. DOÑA MARÍA MOLINA MARTÍN

leído el día 21 de octubre de 2021 para su ingreso
como Académica de Número

Y CONTESTACIÓN DEL
EXCMO. SR. D. CÉSAR NOMBELA CANO



MADRID 2021

ÍNDICE

I. PREÁMBULO.....	7
II. EL FASCINANTE MUNDO MICROBIANO.....	13
La exploración del mundo microbiano.....	13
Las revoluciones científicas del siglo XX: cambio de paradigmas.....	15
Los estudios microbianos en la vanguardia científica.....	17
La vida microbiana: ubicuidad, biodiversidad y adaptación sin límites.....	19
III. LOS MODELOS BIOLÓGICOS: REPRESENTACIÓN SIMPLIFICADA DE LA REALIDAD.....	21
La pluralidad de los modelos científicos.....	21
Organismos modelo: los facilitadores del avance de la Ciencia.....	22
IV. ESCHERICHIA COLI: EL MODELO BACTERIANO POR EXCELENCIA.....	27
Artífice del salto del laboratorio al Nobel.....	27
Una caja de herramientas versátil y poderosa al servicio del biólogo molecular y el biotecnólogo.....	30
Chasis bacterianos para generar organismos sintéticos a la carta.....	33
V. SACCHAROMYCES CEREVISIAE: UN EUKARIOTA SUFICIENTEMENTE SIMPLE Y SUFICIENTEMENTE COMPLEJO.....	35
Las levaduras, excelentes aliadas en el descubrimiento de la regulación del ciclo celular.....	36
Las levaduras también envejecen: una ayuda para comprender la senescencia.....	38
Explotando el potencial genético de <i>S. cerevisiae</i>	38

La limpieza celular, un proceso clave para alargar la vida y prevenir la neurodegeneración.....	40
Rutas de MAP quinasas: paradigma de conservación de la señalización eucariótica.....	41
El organismo experimental para la Biología del siglo XXI.....	43
<i>S. cerevisiae</i> 2.0 en la era de la Biología Sintética.....	45
VI. LEVADURAS HUMANIZADAS PARA MODELIZAR	
PATOLOGÍAS HUMANAS.....	47
Estrategias para la humanización de levaduras y sus aplicaciones.....	49
Bioensayos para el descubrimiento de fármacos.....	51
Modelización de enfermedades neurodegenerativas en levadura:	
en la agregación proteica está la clave.....	53
Modelos de levadura en la lucha contra el cáncer.....	56
VI. EPÍLOGO.....	61
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	62
CONTESTACIÓN DEL EXCELENTÍSIMO SEÑOR	
DON CÉSAR NOMBELA CANO.....	69
María Molina, una destacada trayectoria universitaria.....	73
Labor investigadora, encontrar un sistema experimental para hacerse preguntas.....	75
Discurso: un documentado recorrido por la fenomenología biológica.....	77
Del universo físico al universo biológico.....	78
Modelos experimentales. Lo análogo, lo homólogo y lo heterólogo.....	80
La levadura: un modelo simple, suficientemente complejo.....	81
Humanizar la levadura.....	83

I. PREÁMBULO

Excelentísimo Señor Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Excelentísimas Señoras Académicas y Excelentísimos Señores Académicos

Señoras y señores

Desearía que mis palabras en el día de hoy fuesen capaces de expresar de manera sencilla el gran honor y la emoción que siento al ser acogida por esta ilustre Institución como Académica de Número. Es mi deseo contribuir con todas mis fuerzas al trabajo que día a día realizan todos ustedes en torno al estudio profundo y difusión de las Ciencias y mi empeño será a partir de este momento estar a la altura de la confianza depositada en mi persona.

Es la Real Academia Nacional de Farmacia el lugar perfecto para debatir, reflexionar y compartir el pensamiento científico de nuestra época. Ser miembro activo de esta real corporación es un privilegio al que no puedo corresponder más que con una inmensa gratitud.

El hecho de que mi candidatura fuera avalada por los Profesores César Nombela, María Vallet y Mariano Esteban, me llena de un profundo orgullo. Su calidad personal y su trayectoria científica merece

toda mi admiración, por ser un claro ejemplo de investigación sólida, innovadora y con gran impacto en la sociedad. Su apoyo lleva implícita una confianza que espero no defraudar. Mi gratitud se extiende a la Junta de Gobierno, y a todos Académicos y Académicas que me han elegido para ocupar la Medalla número 24.

La ciencia y el arte analizan y explican el mundo a través de la comparación y la semejanza, usan en ocasiones la metáfora, los modelos y las escalas para la divulgación. El discurso que a continuación ofreceré versa sobre los modelos biológicos. El término modelo será también el que vertebré mis agradecimientos, en este caso en su acepción de “arquetipo o punto de referencia para imitar”. Comenzaré, como no puede ser de otra manera, con un recuerdo emocionado a mis padres, verdadero ejemplo de superación y tesón. Prácticamente sin estudios, fueron capaces de forjar una sólida labor profesional gracias tanto a su talento natural como a su capacidad de emprendimiento y entrega al trabajo. Mis dos hermanos, uno un excelente cirujano, otro un magnífico profesor, han sido para mí modelos por su gran profesionalidad y profundo interés en sus labores respectivas. Mención especial merece mi marido, Juan Ramón, mi modelo en todo, un ejemplo constante de amor a la vida, perseverancia y optimismo ante el desaliento. Su comprensión y apoyo a mi desarrollo profesional, incluso a costa del suyo en algunos momentos, han sido decisivos para mi carrera científica. Mi agradecimiento más profundo a mis hijas Natalia, Teresa y Verónica por iluminar mi vida con su alegría. Brillantes por su inteligencia y su sensibilidad, y ejemplares por su generosidad, solidaridad y amor por el trabajo bien hecho.

En el terreno científico, quiero comenzar mostrando mi eterna gratitud a mi maestro, el Profesor César Nombela, del que ha emanado la iniciativa de mi candidatura. Su integridad personal, su valía intelectual, su iniciativa sin límites y su disponibilidad ante cualquier solicitud de ayuda, son solo algunos de los rasgos que le han convertido en un modelo de referencia, no solo para mí, sino para todos los miembros del grupo que fundara a finales de los años 70 en la Cátedra de Microbiología de la Universidad Complutense de Madrid, la primera en esta disciplina que existió en la Universidad Española, dotada en el año 1900. Hoy tengo el inmenso privilegio de contar con su contestación a mi discurso de entrada en representación de esta Real Institución.

Recuerdo perfectamente cuando conocí al Dr. Nombela, aquel joven profesor que había estado en el Departamento de Bioquímica del New York University Medical Center bajo la dirección de Severo Ochoa. Yo acababa de terminar la carrera. Intuía entonces que mi destino profesional podría estar ligado a la investigación científica. Durante la cena de graduación en Farmacia antes del verano de 1979, mis amigas farmacéuticas propiciaron mi primer contacto con él, lo que me animó a acercarme a la Cátedra de Microbiología. Él dirigió mis primeros pasos y con él comencé mi incursión en el mundo de las levaduras, lo que desencadenó mi gran pasión por la investigación y mi encuentro con el profesor Miguel Sánchez, uno de los investigadores más carismáticos, estimulantes y generosos con los que he tenido la suerte de compartir la Ciencia. Con el consejo y la confianza del Dr. Nombela me trasladé a la Universidad de Nottingham para aprender las nuevas tecnologías de DNA recombinante, donde otro referente en mi desarrollo científico, Melanie Dobson, me enseñó a trabajar con rigor e independencia.

Mi vida profesional ha sido realmente afortunada. Agradezco profundamente a todos y cada uno de mis compañeros del Departamento de Microbiología (y ahora también de Parasitología) lo fácil que han hecho la convivencia de nuestra gran familia académica. En especial a Concha Gil, compañera y amiga desde el principio de nuestras vidas. Nuestras trayectorias académicas y personales han discurrido de manera paralela y ello me ha permitido seguir su ejemplo con mucha admiración y cariño. En cuanto a mi labor investigadora, nunca hubiera sido posible sin el excelente grupo que me ha acompañado y arropado todos estos años. Cuando se tiene la buena suerte de contar con dos científicos de la talla intelectual y humana de Humberto Martín y Víctor Jiménez Cid, el viento sopla a favor. En términos biológicos, definiría nuestro trabajo diario como una simbiosis científica perfecta.

Es mi deseo mostrar en este momento toda mi gratitud a cada una de las personas que han compartido una parte de su vida en nuestro laboratorio y que tanto me han enseñado con su juventud y entusiasmo, pues creo firmemente en el trabajo en equipo como motor de avance de la ciencia. Y, por supuesto, a tantos otros colegas que desde sus laboratorios nos han proporcionado esa sensación de estar aportando algo en común al progreso de la ciencia. Contar, además, con la amistad de todos ellos, es el más valioso

de los efectos secundarios del quehacer científico. Mención especial quisiera hacer en este momento a mi admirado Fernando Baquero por acercarse a la ciencia desde una condición puramente humanista, abierta, original y trascendente: un auténtico modelo a seguir.

Mi carrera científica se ha visto complementada y enriquecida en todo momento por la labor docente que he podido desarrollar en plenitud, dando sentido al espíritu universitario que se alimenta en la investigación y desemboca en la transmisión de conocimientos. Es por ello que sumo a esta larga lista de agradecimientos el que debo a todos los estudiantes que han pasado por mis aulas durante los últimos cuarenta años.

Jorge Luis Borges escribía hace unos años un elegantísimo poema titulado “Las causas” en el que enumeraba de manera épica las situaciones más diversas que hubieron de darse para que el presente sucediera de esta manera precisa. Tomo prestado el último verso con el que concluye el poema en el que dice: “... Se precisaron todas estas cosas para que nuestras manos se encontraran”. Hoy me encuentro con todos ustedes felizmente juntos en este foro de conocimiento compartido.

Antes de afrontar mi discurso, permítanme que dedique mis últimas palabras en recuerdo al Profesor Don Julio Rodríguez Villanueva. Le cito en este momento con emoción pues fue él quien ocupara la medalla 24 que me concede hoy esta Institución. Fue maestro de mi maestro y de muchos otros destacados discípulos que esparcieron su semilla científica a lo largo de la geografía española. Su legado constituye una verdadera escuela de Microbiología, a la que me honro en pertenecer. Previamente, esta misma medalla fue ocupada por el Profesor Don Eliseo Gastón de Iriarte, microbiólogo también. Los antecedentes que recaen sobre la medalla 24 imprimen sobre mi ánimo una enorme responsabilidad a la vez que una gran satisfacción.

Tratar de glosar la excelente y abrumadora biografía, así como el fecundo legado del Profesor Rodríguez Villanueva, es una tarea inabarcable. Su mente lúcida, su potente energía, su anticipación al futuro, su pasión científica, su espíritu crítico y su responsabilidad ante la sociedad, son algunos de los rasgos por los que la ciencia le reconoce como una auténtica auctoritas. Una autoridad fundamentada en el prestigio, el respeto y la confianza que genera un

líder. Así lo hemos percibido los que de una manera u otra hemos tenido el privilegio de conocerlo de cerca.

El Profesor Nombela ha sabido transmitir este sentimiento con cariño y veracidad en todas las ocasiones en las que ha tenido la oportunidad de referirse a la figura del Profesor Rodríguez Villanueva. En una de ellas, en nombre de la Sociedad Española de Microbiología a cuyo desarrollo tanto aportó, el Profesor Nombela afirmaba lo siguiente: “su trayectoria es un ejemplo de lo que define a un maestro universitario capaz de estimular a sus discípulos, de seleccionar a los más adecuados y respetar su personalidad e ideas, de animar a cada cual a alcanzar las metas más elevadas de las que sea capaz, de exigir dedicación y rendimiento, de comprender las dificultades, de facilitar soluciones, de provocar la autoestima al tiempo que la visión realista, de guiar, en fin, a cada cual, por el recorrido por el que mejor pueda transitar”.

Los testimonios de elogio que ofrecieron no solo sus discípulos, sino también sus alumnos universitarios, sus compañeros de estudios y colegas científicos durante el homenaje ofrecido en esta Real Academia, dan fe de su personalidad excepcional y del enorme vacío generado por su ausencia. El profesor Mayor Zaragoza, otro de nuestros eminentes académicos, glosaba su figura con las siguientes palabras: “Polifacético, protagonista, vigía y faro de la investigación”

Fue Doctor por la Universidad Complutense y por la Universidad de Cambridge, Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Catedrático de la Universidad de Salamanca. Entendió que la ciencia española tenía la necesidad de expandirse en el ámbito internacional y trabajó denodadamente en ello dando grandes pasos en este sentido. Entendió que se debía reforzar el binomio investigación-docencia para lograr una Universidad “dueña de dinamismo y competencia científica capaz de atraer el talento y la capacidad creativas de los profesores y los mejores alumnos”. Así reflexionaba el Profesor Villanueva en su discurso de ingreso en esta Real Academia en 1986 sobre las perspectivas de la investigación biomédica y farmacéutica en España.

Sus trabajos pioneros sobre la pared celular de hongos filamentosos y levaduras, con sus implicaciones en la patogenicidad y en el desarrollo de terapias antifúngicas, fueron el punto de partida de nuevas líneas

de investigación que marcaron el auge de la microbiología eucariótica, y del que muchos investigadores somos actualmente deudores.

Rector de la Universidad de Salamanca y primer presidente de la Conferencia de Rectores de Universidades del Estado (CRUE), Presidente del Comité Asesor del Centro Europeo de Educación Superior de la UNESCO, Presidente del Jurado del Premio Príncipe de Asturias, Presidente del Patronato de la Fundación Jiménez Díaz, Vicepresidente del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces, y Director y Presidente de Honor de esta Real Academia, son ejemplos de los numerosos cargos que aceptó en el entorno universitario, científico y social, con el objetivo firme de plasmar sus clarividentes ideas en acciones con un impacto real en el desarrollo y progreso de la ciencia, siempre con el fin último de mejorar la sociedad.

Quiero hacer una mención especial a su familia, a su esposa y compañera, científica como él, la Profesora Isabel García-Acha y a sus hijos, colaboradores necesarios para esta fructífera trayectoria vital. Desde este estrado quiero trasladarles mi aprecio y admiración por él, mi predecesor.

Me gustaría terminar de rendir esta glosa con unas pinceladas de la dimensión humana del que es y será para mí Don Julio. Gracias a su generosa invitación tuve el placer de formar parte del jurado de las becas de posgrado que cada año concede la Fundación Areces. Conocí entonces de primera mano su capacidad más amable y cordial. Asistí con él a las entrevistas para la selección de los más prometedores y entusiastas investigadores, experiencia que para mí fue enormemente enriquecedora e inolvidable.

El profesor Rodríguez Villanueva pronunció el 5 de junio de 1986 en esta misma sala las palabras que cito textualmente: “Nuestro discurso no pretende nada más que hacer ver a los no introducidos en el tema las grandes posibilidades que encierran los microorganismos y sus productos, algunos parcialmente conocidos y los más, absolutamente nuevos pero llenos de grandes y confiadas esperanzas”. Me doy cuenta al revisar su discurso que aquellas ideas que él barajaba entonces trazaban de alguna manera caminos que necesariamente debíamos recorrer. La elección del tema sobre el cual disertaré hoy precisamente gira en torno a los modelos microbianos y el valor que estos aportan al avance del conocimiento biológico, a la comprensión de las patologías humanas y al desarrollo de terapias para combatirlas.

II. EL FASCINANTE MUNDO MICROBIANO

El mundo microbiano es un mundo realmente fascinante y, en cierta manera, sobrecogedor. Su condición de invisible al ojo humano hizo que pasara desapercibido a los sabios de la Grecia clásica que, sin embargo, sí pudieron intuir otro mundo igual de fascinante y enigmático, en este caso por su inmensidad inabarcable, que es el del universo que nos rodea. Ambos mundos, bien por su minúsculo o bien por su desmesurado tamaño, requieren el uso de lentes que nos los acerquen para poder contemplarlos, dada la limitada capacidad visual de la naturaleza humana. Es indudable que el desarrollo tecnológico influye directamente en el ritmo de evolución de las ciencias experimentales y, en el caso de la Microbiología, esto es especialmente patente.

La exploración del mundo microbiano

La primera visión de los microorganismos se remonta a finales del siglo XVII. Antonie van Leeuwenhoek, un comerciante de telas y microscopista autodidacta, es a quien debemos las primeras observaciones de los inicialmente denominados “pequeños animalitos” o *kleijne dierkens* (versión original holandesa), gracias a la utilización de lentes pulidas por él mismo. Estos seres diminutos fueron designados posteriormente *animalculum/animalcula* (versión latina singular y plural) o animáculos, en castellano (Osorio Abarzúa, 2020). Y es a él al que, por tanto, tenemos que atribuir el mérito de situar la base de la Microbiología en la observación directa de su objeto de estudio: los seres microscópicos o microorganismos, también llamados microbios. Su fascinación por el mundo microbiano y su capacidad visionaria queda patente en su carta dirigida el 17 de septiembre de 1683 a la Royal Society of London y publicada en la afamada revista *Philosophical Transactions*, en la que, tras la observación microscópica de su propia placa dental, escribe:

«...Entonces vi una y otra vez con gran asombro que había muchos animáculos vivos muy pequeños en dicha materia, que se movían muy bellamente.... hay tantos que creo que debe haber mil en una cantidad de materia no superior a la centésima parte de un grano de arena».

Un claro anticipo de lo que actualmente denominamos microbiota oral.

Sin embargo, este descubrimiento no se acompañó de un progreso rápido en el conocimiento científico de estos seres microscópicos. Como dice Kuhn en su libro “La estructura de las revoluciones científicas” (Kuhn, 1986):

«...no se puede hablar de ciencia verdadera si no existe un conjunto de teorías y modelos, los cuales son constantemente contrastados con la realidad y modificados, sin alterarlos fundamentalmente en los periodos de ciencia normal, o alterados y remodelados profundamente en los periodos de revolución científica».

Este pensamiento muestra el progreso de la ciencia no como un puro crecimiento por acumulación de resultados sino como un proceso en zig-zag, articulado en revoluciones en las que se vuelve a comenzar de nuevo, reinterpretando a la nueva luz todo lo anterior. Y una de estas revoluciones es la que se inició en la segunda mitad del siglo XIX gracias a las aportaciones de Pasteur y Koch, entre otros grandes microbiólogos, que provocaron un cambio radical en muchas de las concepciones que tenía el hombre del medio que le rodeaba. Hasta entonces, se aceptaba la idea de la generación espontánea para las formas más simples de vida, se ignoraba la naturaleza de las enfermedades infecciosas y se desconocía la base microbiana de procesos biológicos como las fermentaciones de alimentos o la fijación de nitrógeno atmosférico.

Es en ese momento, gracias al desarrollo de metodologías innovadoras y al uso de la experimentación como medio para la adquisición de conocimientos, cuando la Microbiología se establece como una verdadera disciplina científica y los microorganismos se revelan realmente como otra forma posible de vida en la Tierra. De hecho, hoy en día sabemos que los microorganismos constituyen la forma de vida primigenia. Fueron los primeros seres vivos que aparecieron en nuestro planeta hace miles de millones de años y los únicos habitantes durante varios millones de años más. Nos precedieron y, sin duda, nos sobrevivirán, como el propio Pasteur vaticinaba con su frase:

«...Señores, son los microbios los que tendrán la última palabra».

A lo largo del siglo XX se han ido sucediendo nuevas mejoras en las posibilidades de exploración del mundo microbiano, siendo una

de las más trascendentes la aparición de la microscopía electrónica en los años 30. La propia definición de la Microbiología implica que su objeto material esté delimitado por el tamaño de los seres que estudia, lo que supone una gran heterogeneidad de tipos estructurales, funcionales y taxonómicos, y que abarque desde formas celulares muy diferentes hasta entidades biológicas acelulares, como los virus. Por eso, esta tecnología fue decisiva para estudiar la ultraestructura celular y establecer la distinción entre células procarióticas, como las bacterias y arqueas, y eucarióticas, como los hongos y algas microscópicos o los protozoos, así como para desvelar la naturaleza de los virus que los sitúa al borde de la fina línea de la definición de la vida.

Sin embargo, sus relaciones evolutivas y la posición que ocupan en el conjunto de los seres vivos no pudieron establecerse hasta la aparición de técnicas moleculares, que aportaron una nueva y revolucionaria perspectiva al concepto de diversidad microbiana y a las relaciones de parentesco entre microorganismos. Aunque no existen registros fósiles útiles, las propias células microbianas contienen moléculas que, como propusieron Zuckerkandl y Pauling (1965), sirven como “cronómetros moleculares” indicadores de su historia evolutiva. Estas huellas moleculares del paso del tiempo permitieron a Carl Woese una década después establecer la primera clasificación filogenética de los microorganismos y su relación con el resto de organismos en un árbol de la vida universal.

Las revoluciones científicas del siglo XX: cambio de paradigmas

Todo este avance fue posible gracias a la que podemos denominar “Revolución molecular de la Biología”, cuyo inicio tuvo lugar con el descubrimiento de la naturaleza química de los genes, el tan famoso ácido desoxirribonucleico o ADN, a mediados de los años 40. Los primeros experimentos que apoyaron la hipótesis de que la información genética residía en este material celular fueron realizados por Avery, McLeod y McCarthy en 1944, precisamente utilizando una bacteria patógena, el neumococo (Avery *et al.*, 1944). Sus investigaciones demostraron que el ADN procedente de esta bacteria era capaz de “transformar” en virulenta a otra bacteria que había perdido su capacidad patogénica. Esta capacidad transformante del ADN, además de revelar la existencia de

transferencia genética horizontal entre bacterias, con sus importantes implicaciones evolutivas, sentó las bases moleculares de la herencia, y permitió la posterior elucidación de la estructura en doble hélice del ADN, descrita por Watson y Crick en su seminal artículo publicado en Nature en 1953 (Watson y Crick, 1953).

Esto marcó la verdadera entrada en la “Era de la Biología Molecular” y supuso un cambio drástico en el rumbo de la ciencia y una transformación decisiva en el enfoque de la investigación experimental, que afectó no sólo a la Microbiología sino a todas las ciencias biológicas. La aportación de nuevos planteamientos y metodologías de otras disciplinas como la Genética, la Bioquímica y la propia Biología Molecular enriquecieron enormemente a la Microbiología e intensificaron su carácter multidisciplinar, contribuyendo a su cada vez más rápida evolución en la segunda mitad del siglo XX.

Es en ese momento cuando surge el concepto de “universalidad molecular” que, al igual que las leyes básicas de las ciencias físicas, suministra una base sólida para la predicción y simplificación en el ámbito biológico (Sapag-Hagar, 2002). El descubrimiento de la universalidad del código genético y de los mecanismos moleculares de la herencia, revelaba una sorprendente unidad detrás de una enorme biodiversidad, que ya había sido vislumbrada por Albert J. Kluyver en el ámbito metabólico en 1926. Su frase «desde el elefante hasta la bacteria del ácido butírico, ¡todo es lo mismo!» fue retomada y ampliada posteriormente por Jaques Monod, galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1965, en esta sentencia «lo que es válido para la bacteria *Escherichia coli*, es válido para el elefante», que refleja muy elocuentemente por qué muchos de los enigmas desvelados en los estudios microbianos han sido cruciales para comprender mejor el funcionamiento del resto de los seres vivos, incluidos los humanos.

Otra de las grandes revoluciones científicas, que ha marcado el final del siglo XX, ha sido la “Revolución Genómica”. La secuenciación de genomas y el desarrollo de otras tecnologías de gran escala (Transcriptómica, Proteómica, Fenómica, Metabolómica), junto al avance extraordinario de la Bioinformática y la Biología Computacional, están siendo clave para abarcar el conocimiento de los sistemas biológicos de una manera global e integrada. La máxima aristotélica «El todo es más que la suma de sus partes» ilustra a

la perfección el concepto básico de la denominada Biología de Sistemas. Este enfoque holístico (relativo al vocablo griego *holos* que significa “todo, entero”) que proporcionan las ciencias “ómicas” ha transformado el curso de la investigación científica y cambiado numerosos paradigmas. En su reflexión sobre el concepto de paradigma científico de Khun, Marín Gállego (2007) indica:

«un paradigma representa la teoría general o conjunto de ideas aprobadas y sostenidas por una generación o un grupo coherente de científicos contemporáneos».

y señala que en los periodos revolucionarios de la ciencia:

«surge una nueva teoría que rompe con una tradición y unas prácticas científicas e introduce nuevas prácticas con nuevas reglas, dentro de razonamientos también diferentes».

La revolución genómica ha propiciado nuevos planteamientos analíticos (“del gen a la función”), dando la vuelta a las aproximaciones genéticas clásicas (“de la función al gen”), ha impulsado nuevas maneras de entender la evolución y las interacciones entre el genoma y el medio ambiente, y ha promovido la transición desde una Biología descriptiva a una Biología cuantitativa. En el ámbito sanitario, ha transformado el modelo epistemológico de comprensión del proceso salud-enfermedad, potenciando el enfoque proactivo (prospección, predicción, prevención) en la atención de la salud y generando la posibilidad de una intervención terapéutica personalizada y de precisión, basada en la individualidad genómica. Esto constituye un claro cambio de paradigma de la medicina moderna (Collins y Varmus, 2015), que no se limita al pensamiento científico y al modo de entender y aplicar nuevos conceptos, sino que tiene también una enorme repercusión en otros aspectos, como la propiedad intelectual, la protección de la intimidad genética o la tensión entre los intereses individuales y públicos, lo que supone un gran reto bioético y jurídico (Gómez Córdoba, 2011).

Los estudios microbianos en la vanguardia científica

Una vez más, los estudios microbianos han sido también pioneros en esta última revolución científica. El primer genoma de una

célula que se obtuvo completo fue el de la bacteria *Haemophilus influenzae* en 1995, seguido solo un año más tarde por el de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Estos dos genomas, representativos de células procarióticas y eucarióticas respectivamente, fueron los que marcaron el inicio de la “Etapa Genómica de la Biología”, no sólo para el mundo microbiano sino para el de todos los seres vivos, incluido el ser humano, cuyo genoma se completó en 2003, tras la publicación de su primer borrador en el año 2001 (Venter *et al.*, 2001). Las palabras de Francis Collins, uno de los artífices de este éxito, reflejan su tremendo significado biológico y social:

«Creo que es imposible que un ser humano no sienta escalofríos al saber que, por primera vez en la historia de la ciencia, caminamos con nuestro libro de instrucciones en la mano. Y que esa secuencia genética esté en Internet, para que cualquiera pueda verla y estudiarla, es un hito histórico».

Así culminó el “Proyecto genoma humano” iniciado en 1990 y considerado uno de los mayores logros científicos de la Historia, comparable con la llegada del hombre a la Luna (Zwart, 2010). En esta línea, y en consonancia con la analogía entre el mundo microbiano y el cósmico con el que iniciaba mi disertación, algunos autores como Mark Pallen han comparado las misiones al espacio sideral con los viajes al espacio genómico; situando, eso sí, a estos últimos mucho más cerca hoy en día de la rutina diaria que los viajes espaciales (Pallen, 1999).

Entre las aportaciones más recientes del mundo microbiano al avance de la ciencia en el siglo XXI, no puedo dejar de mencionar el sistema CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) y sus proteínas asociadas Cas (*CRISPR-associated*), elementos de un sistema de defensa adaptativo frente a virus, conservado en los genomas de procariotas. Una especie de sistema inmunitario procariótico, con memoria para reconocer ácidos nucleicos de infecciones víricas previas y destruirlos tras un nuevo ataque del virus. Aunque se habían identificado en algunas bacterias previamente, fue el microbiólogo Francisco Martínez Mojica el que se percató de la relevancia de unas secuencias repetidas que descubrió en el genoma de arqueas de las salinas de Alicante en la década de los 90 del siglo pasado. Le dio nombre al sistema (CRISPR) y ha dedicado su actividad investigadora a desvelar los

mecanismos moleculares subyacentes y su significación biológica (Mojica *et al.*, 2000). Gracias a ello, se han podido desarrollar unas poderosas herramientas de edición genética que están revolucionando la Biología, la Biomedicina y la Biotecnología de este siglo. Esto ha sido recompensado con el Premio Nobel de Química en 2020 a las investigadoras Emmanuelle Charpentier y Jennifer Doudna por sus contribuciones a este innovador desarrollo. En palabras de Lluís Montoliu (Montoliu y Martínez Mojica, 2020), pionero y promotor de la implantación en España de las técnicas CRISPR de edición genética:

«Esta nueva tecnología es una bendición que nos ha cambiado literalmente la vida científica, un verdadero regalo de las bacterias».

La vida microbiana: ubicuidad, biodiversidad y adaptación sin límites

La entrada de la Microbiología en la “Etapa Genómica” ha permitido solventar las limitaciones del cultivo en el laboratorio y estudiar la comunidad de microorganismos que viven juntos en un hábitat particular a través de sus genomas; lo que denominamos microbioma. Así se ha verificado que los microorganismos son los seres más abundantes del planeta, que están en todas partes, que su biodiversidad es inagotable y que su capacidad de adaptación supera los límites imaginables de la vida. Precisamente por ello, las expediciones en busca de vida fuera de nuestro planeta se centran en encontrar rastros de vida microbiana (Des Marais *et al.*, 2008). Ahora sabemos también que nuestro cuerpo alberga un número de células microbianas similar al de células propias, llegándose a considerar al conjunto de microorganismos que configuran la microbiota humana como un “nuevo órgano”, cuyas funciones son claves para el mantenimiento de una buena salud (Baquero y Nombela, 2012).

Los microorganismos no son únicamente imprescindibles para la vida humana sino para el funcionamiento de toda la biosfera. A ellos les debemos la aparición del oxígeno en nuestro planeta y su intervención en los ciclos biogeoquímicos de otros elementos que, como el carbono, el nitrógeno, o el azufre, son esenciales para los seres vivos. Están involucrados, por tanto, en el mantenimiento

de todos los ecosistemas terrestres, brindando fertilidad al suelo, produciendo nutrientes y actuando como un sumidero del CO₂ que emitimos a la atmósfera con la quema de combustibles fósiles. Su papel para mitigar los efectos del cambio climático es crucial, por lo que el cuidado y preservación de su diversidad es clave para seguir obteniendo sus servicios ecológicos.

No podemos, por tanto, vivir sin microorganismos, pero tampoco podemos escapar fácilmente a su amenaza constante como productores de enfermedades. Las infecciones, epidemias y pandemias, como la pandemia vírica que está sufriendo actualmente la población mundial, son una de las principales causas de mortalidad, constituyendo un enorme problema de salud pública en la sociedad, agravado por la carencia de vacunas frente a algunas de ellas y a la creciente resistencia a los antibióticos. Tras el informe realizado por Jim O'Neill para el gobierno británico en 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que, si no se toman medidas adecuadas para frenar el avance de las resistencias, en 2050 podrían morir 10 millones de personas al año por esta causa (Shallcross *et al.*, 2015). Estas importantes amenazas son la razón por la que los microorganismos patógenos han constituido y constituirán uno de los principales objetivos del estudio microbiológico, aunque solo representen un pequeño porcentaje del mundo microbiano.

Afortunadamente, frente a la existencia de microorganismos patógenos, otra parte de la comunidad microbiana nos ofrece su variada capacidad de producir antibióticos. También llevamos siglos explotando la actividad de muchos microorganismos para la elaboración de alimentos, aunque otros provoquen su alteración y deterioro. Algunos pueden causar plagas sobre los cultivos vegetales, arruinando las cosechas, pero existen otros que ayudan a la agricultura promoviendo la fertilización del suelo. Aunque hay microorganismos que pueden contaminar recursos naturales o instalaciones industriales, no podemos olvidar la faceta medioambiental beneficiosa del mundo microbiano como aliado en la depuración de residuos ambientales e industriales. Esta dualidad “stevensoniana” es consustancial al mundo microbiano. La misión de los microbiólogos es potenciar a Jekyll y neutralizar a Hyde.

III. LOS MODELOS BIOLÓGICOS: REPRESENTACIÓN SIMPLIFICADA DE LA REALIDAD

Dentro de los innumerables aspectos beneficiosos que el mundo microbiano reporta a la humanidad, como los anteriormente mencionados, quiero enfatizar en este discurso el valioso papel que han jugado y siguen jugando algunos microorganismos, entre los que destacan la bacteria *Escherichia coli* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, como modelos para comprender y explicar mejor los fenómenos biológicos. Pequeños, simples, fáciles de manejar en el laboratorio, de crecimiento rápido, asequibles y conservados evolutivamente, son atributos característicos de estos dos arquetipos microscópicos que han permitido sentar algunos de los fundamentos de la Biología moderna, situándose en la vanguardia científica al dar lugar a hallazgos merecedores de máximos reconocimientos, como el Premio Nobel. Desde los años 80 del siglo XX, ambas especies microbianas también han alcanzado una posición preeminente en el sector industrial farmacéutico como principales productores de fármacos recombinantes. Sin embargo, su contribución instrumental a la terapia de enfermedades humanas no solo se limita a este uso como productivas factorías celulares, sino a la posibilidad de convertirse en bancos de pruebas para el rastreo de nuevos fármacos, mediante su “humanización” a través de la expresión en su interior de dianas farmacológicas humanas. Estos microorganismos “humanizados” con proteínas implicadas en diferentes patologías permiten además la realización de estudios genéticos y funcionales que ayudan a sentar las bases moleculares de su patogenicidad.

La pluralidad de los modelos científicos

Antonio Diéguez, Catedrático de Lógica y Filosofía de la Ciencia en la Universidad de Málaga, en su artículo sobre la función explicativa de los modelos en Biología (Diéguez, 2013), realiza la siguiente consideración:

«Los modelos científicos son recursos explicativos fundamentales en la ciencia, y particularmente en aquellas ciencias en las que es dudoso que podamos contar con leyes científicas genuinas, como es el caso de la biología».

Según este autor, el término “modelo” es polisémico, ya que se utiliza para designar diferentes conceptos:

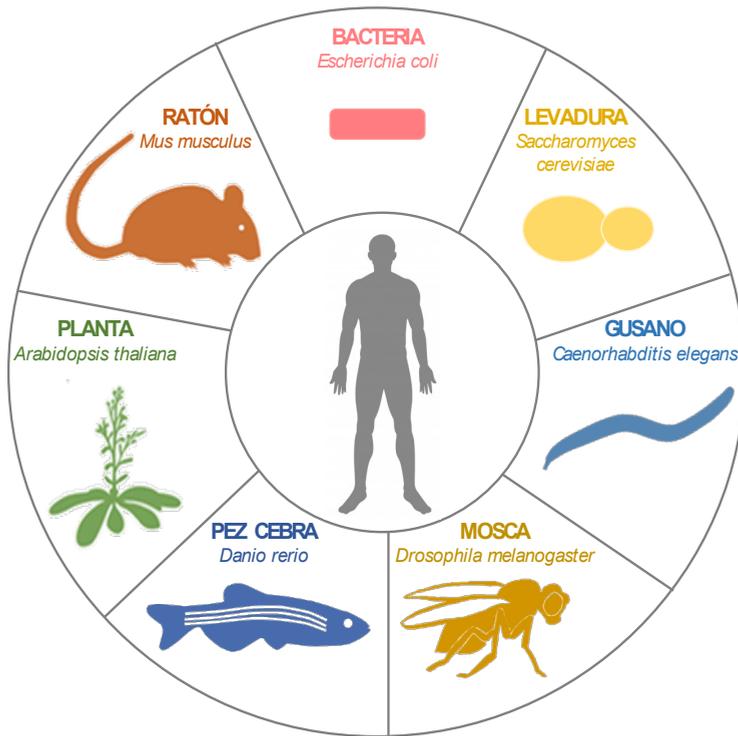
- i) Organismos concretos utilizados en investigación por ser representativos de otros organismos (como serían los modelos microbianos antes mencionados, *E. coli* y *S. cerevisiae*).
- ii) Objetos materiales que representan de forma simplificada a otras entidades (como los sólidos que representan una estructura molecular).
- iii) Soluciones paradigmáticas a problemas empíricos (como el modelo de operón de Jacob y Monod).
- iv) Interpretaciones teóricas e idealizadas de la estructura y mecanismos funcionales de procesos biológicos (como el modelo de mosaico fluido de membrana de Singer y Nicholson).
- v) Conjunto de ecuaciones que describen el comportamiento de sistemas biológicos complejos o de sus componentes (como el modelo de cinética enzimática de Michaelis y Menten).
- vi) Modelos de simulación en ordenador (como los modelos de vida artificial).

Aunque cada tipo de modelo proporciona explicaciones de una manera diferente, todos son capaces de aportar una mejor comprensión del fenómeno biológico que representan. Una de las formas de hacerlo, quizás la más frecuente cuando se utilizan organismos modelo, es describiendo de una forma simplificada, los mecanismos responsables del fenómeno y la relación entre sus componentes (Bechtel, 2011). Para que un modelo representacional proporcione una comprensión genuina del sistema al que representa, las semejanzas entre ambos tienen que ser científicamente sólidas y no debe excluir factores funcionales relevantes para el comportamiento del sistema modelado (Diéguez, 2013).

Organismos modelo: los facilitadores del avance de la Ciencia

Desde finales de siglo XIX, los investigadores han ido buscando y seleccionando aquellos organismos cuyas características permitirán dilucidar, de la forma más sencilla posible, los mecanismos de

la vida. La bacteria *E. coli*, la levadura *S. cerevisiae*, la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*, el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, la planta brasicéa *Arabidopsis thaliana*, el pez cebra *Danio rerio*, o el ratón común *Mus musculus*, han sido algunos de los elegidos entre las innumerables especies que conforman nuestro mundo biológico para ejercer este papel (Figura 1).



- ❖ Conservación evolutiva
- ❖ Simplicidad
- ❖ Facilidad de experimentación
- ❖ Ciclo biológico rápido
- ❖ Mantenimiento y cultivo económico
- ❖ Conocimiento de su biología
- ❖ Disponibilidad de herramientas genéticas y genómicas

Figura 1. Principales modelos biológicos y sus características.

Estos organismos se han convertido en objeto de estudio central de la investigación biológica con la intención de desvelar las características fundamentales que comparten los seres vivos. Si bien representan sólo una ínfima fracción de la biodiversidad existente en el planeta, al aceptarlos como modelos, asumimos que la información obtenida en su estudio puede ser extrapolada al resto de organismos, basándonos en el origen común de las especies y en la evolución como el gran principio unificador de la Biología. Como señala el genético Antonio Barbadilla (1999):

«Una de las ideas más románticas contenidas en la evolución de la vida es que dos organismos vivos cualesquiera, por diferentes que sean, comparten un antecesor común en algún momento del pasado».

Cuando se analizan similitudes, se pueden distinguir entre dos tipos de semejanzas, la analogía y la homología. Dos elementos se consideran análogos cuando el origen evolutivo no es el mismo, pero cumplen funciones similares, fruto de una convergencia evolutiva. Mientras que la homología implica un origen común, con independencia de la divergencia que pueda tener lugar posteriormente. Según la definición acuñada por Ray Lankester ya a finales del siglo XIX, serían homólogos aquellos caracteres que “tienen un sólo representante en un ancestro común” (Amundson, 2005).

Así, desde la perspectiva de la genética molecular en auge desde la segunda mitad del siglo XX, dos genes son homólogos si derivan de un mismo gen ancestral. Dentro de los genes homólogos también podemos distinguir dos conceptos: “ortólogo” y “parálogo”. Los ortólogos son genes que comparten el último ancestro común y cuya divergencia se debe a la especiación, es decir, son genes con el mismo origen en distintas especies. Mientras que se denominan parálogos a los originados por duplicaciones génicas de un único gen dentro de un genoma. Hay autores que denominan “inparálogos” (del inglés *inparalogous*) a los parálogos se encuentran en la misma especie, por producirse la duplicación después de la especiación, para distinguirlos de los “outparálogos” (del inglés *outparalogous*), que son los que se encuentran en especies distintas por haber ocurrido este fenómeno antes de la especiación (Sonnhammer y Koonin, 2002).

Obviamente, cuanto más próximas hayan caminado las especies durante el proceso evolutivo, mayor será el grado de semejanza genética, siendo este grado menor cuanto más lejano sea el antepasado común entre ellas. Sin embargo, a pesar de que las levaduras y los humanos divergieran de su ancestro común aproximadamente hace mil millones de años (Douzery *et al.*, 2004), prácticamente un tercio de los genes de la levadura *S. cerevisiae* y, por ende, de las proteínas que codifican, tienen ortólogos en el ser humano (Bostein *et al.*, 1997). Por ello, aunque una levadura carezca de la complejidad estructural de los organismos pluricelulares, organizados en tejidos, órganos, sistemas y aparatos, la existencia de esta homología génica permite entender por qué un organismo unicelular, que no tiene ni corazón, ni vasos sanguíneos, ni cerebro, puede servir de modelo para estudiar las bases moleculares y celulares de la angiogénesis (McGary *et al.*, 2010) o de las enfermedades neurodegenerativas (Khurana y Lindquist, 2010).

La utilización de los modelos biológicos viene dirigida por la idea de que el conocimiento adquirido en el modelo será beneficioso para el conocimiento de los demás sistemas. En función del fenómeno que se quiere investigar, se elige una especie de referencia que se considere representativa y de la que se posean herramientas que hacen que determinados aspectos sean más fáciles de analizar en ese modelo que en otros. Evidentemente, los organismos modelo no dejan de ser una muestra sesgada de los seres vivos, por lo que es lógico que exista controversia en cuanto a su representatividad y al grado de subjetividad o de idealización que aportan a la explicación de un fenómeno. Por ello, conocer las limitaciones de cada modelo y utilizar criterios objetivos para la interpretación de los datos es clave para lograr una comprensión genuina del hecho biológico.

El biólogo francés François Jacob planteaba el papel de la ciencia como instrumento para explicar los fenómenos del mundo en el que se encuentra el ser humano a través de un acercamiento a la verdad, pero no a una verdad absoluta sino a una verdad relativa, y siempre con una actitud abierta a la revisión de sus propios dogmas en virtud de un espíritu crítico inherente a la actividad científica. Cito textualmente unos fragmentos de su libro “El juego de lo posible” (Jacob, 1997) que ilustran esta idea:

«Al contrario de lo que suele creerse, en ciencia lo importante es tanto el espíritu como el producto, tanto la

apertura, la primacía de la crítica, la sumisión a lo imprevisto por muy chocante que sea, como el resultado, por muy nuevo que resulte. Hace ya bastante que los científicos han renunciado a la idea de una verdad última e intangible, imagen exacta de una “realidad” en espera de ser desvelada».

La diversidad de la vida en nuestro planeta es inconmensurable por lo que su conocimiento completo es claramente inabarcable. La utilización de sistemas modelo es una valiosa estrategia que el científico tiene a su alcance para tratar de ahondar en los misterios de la vida, si sabe cómo beneficiarse de sus ventajas y asumir sus inconvenientes. Para Sydney Brenner, pionero en la utilización del nematodo *C. elegans*, los organismos modelos son un “regalo de la naturaleza para la Ciencia”. Y así tituló su discurso de aceptación del Premio Nobel en 2002 (“*Nature’s Gift to Science*”) en el que afirmó:

«Elegir el organismo correcto para la investigación es tan importante como encontrar los problemas adecuados en los que trabajar».

Este premio, compartido con Robert Horvitz y John Sulston, merecía tener, para Brenner, un cuarto ganador: *Caenorhabditis elegans* (Brenner, 2003).

IV. ESCHERICHIA COLI: EL MODELO BACTERIANO POR EXCELENCIA

La investigación biológica de la segunda mitad del siglo XX ha estado íntimamente ligada a la bacteria *Escherichia coli*, uno de los primeros organismos modelo y, sin duda, el principal caballo de batalla de la Biología Molecular y del desarrollo de la Ingeniería Genética. *E. coli* es un bacilo gramnegativo que solo mide alrededor de una micra de longitud y es capaz de respirar o fermentar dependiendo de la presencia o ausencia de oxígeno. Aunque emparentada filogenéticamente con otras enterobacterias productoras de enfermedades, como *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* o *Yersinia pestis*, la mayoría de las cepas de *E. coli* son comensales de la microbiota intestinal de mamíferos, siendo patógenas solo aquellas que han adquirido determinados factores de virulencia en su evolución.

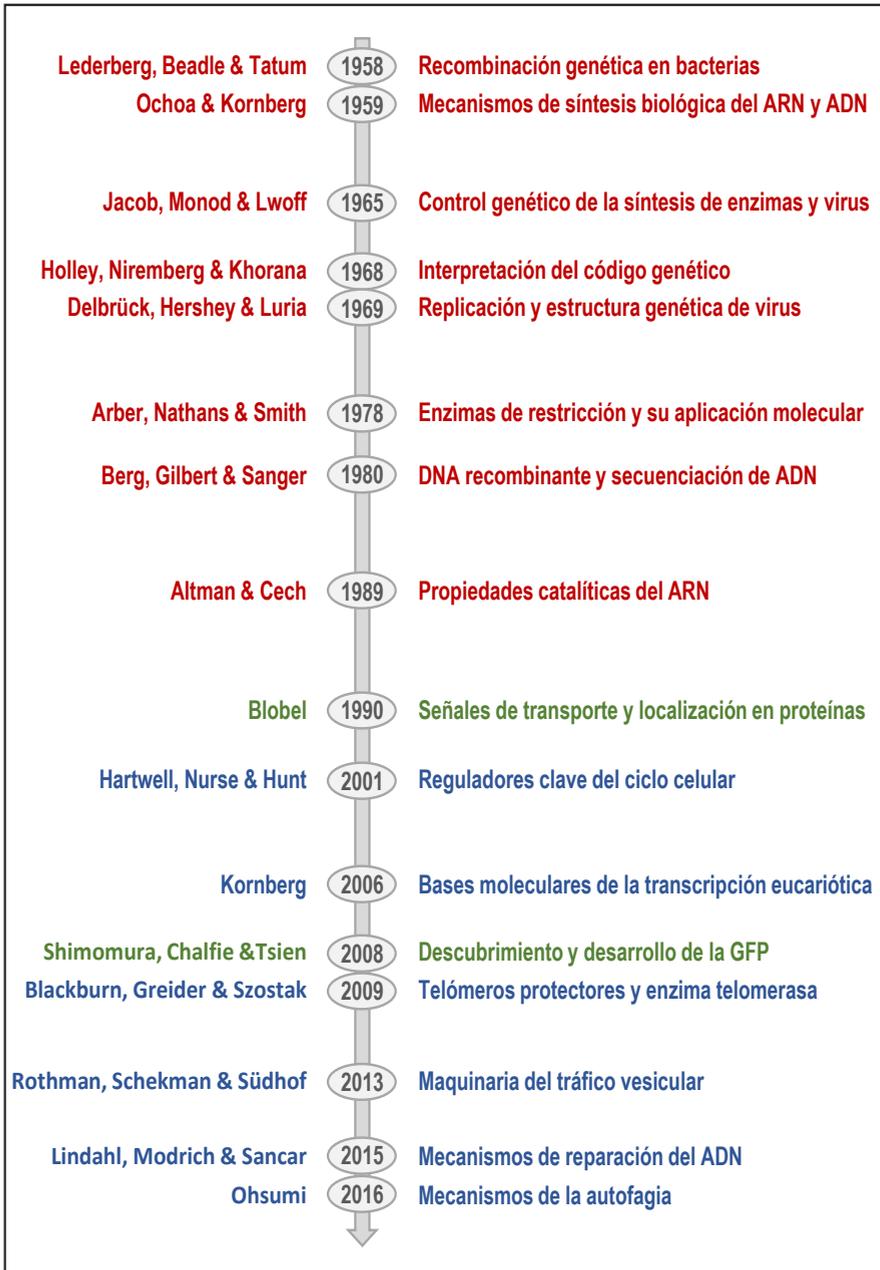
La simplicidad, rápido crecimiento (se divide en menos de media hora), cultivo fácil, económico y seguro en el laboratorio de las cepas no virulentas de *E. coli* han sido rasgos clave para su elección inicial como modelo. Los numerosos conocimientos y el verdadero arsenal de herramientas genéticas y genómicas que se han ido generando a lo largo de los años han retroalimentado este rol, convirtiendo a *E. coli* en uno de los organismos mejor conocidos y más extensamente utilizado en Biología (Idalia y Bernardo, 2017).

Artífice del salto del laboratorio al Nobel

Un importante número de los hitos y momentos estelares del progreso científico, muchos de ellos merecedores de Premio Nobel, se han logrado gracias a la participación de esta bacteria (Cuadro I).

La naturaleza de la replicación del ADN se desveló gracias a la purificación de una ADN polimerasa de *E. coli* por Arthur Kornberg (Lehman *et al.*, 1958), lo que le valió el Nobel en 1959. Este premio lo compartió con Severo Ochoa, por sus hallazgos sobre la síntesis enzimática del RNA, si bien en este caso la enzima procedía de otra bacteria, del género *Azotobacter* (Grunberg-Manago *et al.*, 1955). Ambos habían logrado la síntesis *in vitro* de los ácidos nucleicos, algo extraordinario ya que permitía producir en el laboratorio tanto el ADN como el ARN.

Cuadro I. Premios Nobel concedidos a descubrimientos realizados utilizando *E. coli* (rojo), *S. cerevisiae* (azul), o ambos (verde).



En esos mismos años, la demostración del mecanismo semiconservativo de la replicación del ADN por Matthew Meselson y Franklin Stahl en 1958 (Meselson y Stahl, 1958) se realizó mediante el uso de cultivos de *E. coli* en presencia de diferentes isótopos de nitrógeno, que permitían distinguir la cadena de nueva síntesis de la cadena molde original en la doble hebra de ADN.

Muchos años después, en 2015, los estudios sobre los mecanismos de reparación del ADN en *E. coli*, realizados por Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar a lo largo de varias décadas, fueron también premiados con el Nobel. La academia sueca destacaba la importancia de estos descubrimientos para “aumentar nuestra comprensión del funcionamiento de las células, las causas del cáncer y los procesos de envejecimiento”.

Los grandes avances en el conocimiento de la organización de genes y la regulación de la expresión génica fueron también posibles al estudiar el metabolismo de la lactosa de *E. coli*. Aunque el modelo del operón que establecieron François Jacob y Jacques Monod en 1959 no resultó aplicable a todos los seres vivos, esto no resta mérito a su gran contribución científica. Muchos de los conceptos regulatorios básicos que fueron descubiertos en sus investigaciones han sido fundamentales para entender la regulación génica en el resto de organismos (Jacob y Monod, 1961). Ambos científicos fueron laureados con el Nobel en 1965, compartido con André Lwoff por sus estudios sobre bacteriófagos y el fenómeno de la lisogenia en bacterias, para premiar “sus descubrimientos sobre el control genético de la síntesis de enzimas y virus”.

El desciframiento del código genético, logrado por Marshall Nirenberg y Har Khorana a principio de los años 60, con la gran aportación de Severo Ochoa en la síntesis de ARN mensajero *in vitro*, se realizó utilizando sistemas acelulares de traducción de proteínas procedentes de *E. coli*. La academia sueca premió este gran hallazgo en 1968, reconociendo también la contribución de Robert Holley por el aislamiento de los RNA de transferencia. Al año siguiente, fueron galardonados Max Delbrück, Alfred Hershey y Salvador Luria, por sus “descubrimientos sobre los mecanismos de replicación y la estructura genética de virus”. Los estudios de sensibilidad que llevaron a cabo con *E. coli* y su bacteriófago T1 les permitieron, además, ahondar en la naturaleza aleatoria de las mutaciones, tan reveladora para entender la evolución de las especies (Luria y Delbrück, 1943).

Estos son solo algunos ejemplos de esta etapa de esplendor en la investigación molecular, que culminó a principios de los años 70 con el desarrollo de la tecnología de ADN recombinante. Para ello fue crucial el descubrimiento de las enzimas de restricción por Werner Arber, Daniel Nathans y Hamilton Smith, premiados en 1978. Estas enzimas, que constituyen un sistema de defensa frente a la entrada de ADN extraño en *E. coli* y otras bacterias, sirven como “tijeras moleculares” para cortar *in vitro* ADN de cualquier origen. Estas herramientas permitieron a Paul Berg la construcción de la primera molécula recombinante *in vitro*, mediante la unión de un fragmento de ADN de *E. coli* al ADN del virus SV40 de mamíferos (Jackson *et al.*, 1972). Este experimento seminal fue también galardonado con el Nobel en 1980, que Paul Berg compartió con Walter Gilbert y Frederick Sanger por la secuenciación de ácidos nucleicos. La posterior construcción de plásmidos bacterianos recombinantes y su introducción en *E. coli*, por Stanley Cohen y Herbert Boyer (Cohen *et al.*, 1973), abrieron definitivamente la puerta al nacimiento de la Ingeniería Genética. Desde entonces, *E. coli* se ha utilizado como “tubo de ensayo vivo” en el que se obtienen todas las moléculas recombinantes que se producen en cualquier laboratorio, sea cual sea el organismo final al que van dirigidos. Su enorme capacidad para multiplicar plásmidos en su interior y la facilidad con que posteriormente se extraen y purifican, la han transformado en una verdadera fábrica molecular.

La existencia de otras “tijeras moleculares”, en este caso moléculas de ARN con capacidad catalítica para cortar ARN, denominadas ribozimas, fue otro de los descubrimientos con profundas implicaciones funcionales y evolutivas realizado en *E. coli* por Sidney Altman, y de forma independiente por Thomas Cech en el protozoo ciliado *Tetrahymena*. Ambos científicos, merecedores del Nobel en 1989, abrieron la puerta a la posibilidad de aprovechar el potencial terapéutico de estas enzimas no proteicas como fármacos dirigidos a ARNs específicos para destruirlos.

Una caja de herramientas versátil y poderosa al servicio del biólogo molecular y el biotecnólogo

El hecho de haberse convertido en la piedra angular de la tecnología de ADN recombinante ha propiciado que los biólogos

moleculares consideren a *E. coli* una “caja de herramientas” (*molecular biologist toolbox*) imprescindible para su trabajo. Esto ha modificado, en parte, la percepción de esta bacteria como modelo biológico hacia un rol más instrumental en las últimas décadas. Estas propiedades no solo han beneficiado a los laboratorios de investigación, sino que han resultado clave para el avance de la Biotecnología. La introducción de un gen humano bajo la regulación de un promotor fuerte en *E. coli*, permite obtener cantidades ingentes de la proteína codificada por dicho gen tras cultivar esta bacteria a escala industrial. El propio Herbert Boyer fue co-fundador en 1976 de la compañía biotecnológica Genentech, que produjo con éxito en 1997 la primera hormona recombinante humana, la somatostatina, y solo un año más tarde la insulina humana, el primer fármaco recombinante aprobado por la FDA para uso comercial en 1982. La fabricación en *E. coli* supuso una fuente ilimitada de esta hormona, asegurando el abastecimiento de insulina humana para el tratamiento de la diabetes y eliminando el uso de insulinas de origen animal, de menor disponibilidad y bioseguridad (Sims *et al.*, 2021). Un alto porcentaje de biofármacos (alrededor de un 25% del mercado) y muchas otras proteínas con diversos usos industriales son producidas por numerosas empresas actualmente en *E. coli*, que constituye sin duda el sistema de expresión microbiano más importante (Sanchez-Garcia *et al.*, 2016).

La gran capacidad biotecnológica de *E. coli* no se limita únicamente a la producción de proteínas heterólogas, sino que se puede extender a la producción de metabolitos de todo tipo, incluso inexistentes en el mundo natural. Esto ha sido posible gracias al desarrollo de la Ingeniería Metabólica, que permite el diseño y reprogramación de rutas metabólicas, y de la más innovadora y reciente Biología Sintética. En palabras de Víctor de Lorenzo, uno de sus principales impulsores de la Biología Sintética en España:

«La Biología Sintética pretende ir más allá de los límites de la naturaleza, busca emancipar a los sistemas biológicos de sus límites. El mirar a una bacteria con los ojos de un ingeniero nos permite identificar cuestiones que un biólogo no identificaría. Como resultado ve a los seres vivos como objetos complejos compuestos por partes, dispositivos y módulos e intenta usarlos como elementos de construcción para crear otras cosas con propiedades que

la naturaleza no ha inventado ni va a inventar. Es como si uno tiene un “Mecano”, separa las piezas y las reutiliza para una cosa distinta».

Su objetivo es la creación de nuevos organismos programables, es decir, la creación de microorganismos a la carta que se comporten como pequeños ordenadores vivos. En el Cuadro II se indican las principales características y tecnologías propias de la Biología Sintética.

Cuadro II. Biología sintética. Tomado del Informe de Vigilancia Tecnológica elaborado por Genoma España (Ruiz *et al.*, 2006).

Principales características de la Biología Sintética:

- Diseño racional y sistemático
- Persigue un objetivo claro.
- Desarrollo *in vivo*.
- Comportamiento predecible y programable.
- Sinergismo.

Tecnologías propias de la Biología Sintética:

- Expansión del código genético. Permite la fabricación de proteínas sintéticas con nuevos aminoácidos artificiales.
- Diseño de circuitos genéticos. Para diseñar microorganismos programables capaces de realizar operaciones lógicas a la carta.
- Diseño de microorganismos con Genoma Mínimo. Conlleva la creación de microorganismos artificiales como sistemas de producción simples, eficientes, programables y modificables.
- Evolución dirigida. Permite el diseño de circuitos complejos optimizados que posean múltiples interacciones entre sí.
- Ingeniería Genética *in silico*. Para el desarrollo de modelos teóricos que permiten predecir el comportamiento de un sistema complejo.

La bacteria *E. coli*, por su simplicidad, economía celular y facilidad de manipulación, es un sistema óptimo para crear este tipo de circuitos biológicos nuevos, mediante una combinación racional de diferentes módulos funcionales que permitan su reprogramación celular. De esta manera, puede convertirse en productora de compuestos de alto valor añadido que no sintetiza de un modo natural, como biocombustibles, aromas para perfumes o alimentos, plásticos biodegradables y otros biomateriales, fármacos antimaláricos, como la artemisinina, o bien alcaloides opiáceos o antibióticos polikétidos (Idalia y Bernardo, 2017).

Chasis bacterianos para generar organismos sintéticos a la carta

El primer genoma completo del único cromosoma circular que presenta esta bacteria se obtuvo en 1997, correspondiente a la cepa comúnmente utilizada para la investigación en el laboratorio y la industria biotecnológica, denominada *E. coli* K12 (9278503). Se comprobó que tenía un tamaño de 4,6 Megabases, que incluía unos 4.200 genes, lo que indicaba que era un genoma muy compacto, dedicado casi en un 90% a la codificación de proteínas. Al secuenciar la cepa patógena enterohemorrágica (EHEC) O157:H7, productora de brotes epidémicos, se pudo comprobar que había sufrido numerosos eventos de transferencia horizontal desde que se separó de la cepa K12 hace aproximadamente 4 millones de años. Su genoma presentaba más de mil genes nuevos, muchos de los cuales codificaban factores de virulencia, capacidades metabólicas alternativas, profagos y transposones (Perna *et al.*, 2001), lo que explicaría su evolución hacia la patogenicidad. De hecho, el análisis comparativo de genomas de casi 200 cepas de *E. coli* realizado unos diez años más tarde demostraba que solo 1700 genes estaban conservados en todas ellas y que toda la colección de genes encontrados, lo que se conoce como “pangenoma”, abarcaba unos 16.000 genes (Kaas *et al.*, 2012).

Sin embargo, esto es solo una aproximación que depende del número de genomas comparados. Teniendo en cuenta que actualmente hay más de 140.000 genomas de *E. coli* disponibles en bases de datos, su pangenoma comprende un número mucho más elevado de genes, siendo un ejemplo de lo que se ha denominado “pangenoma abierto”. Esto significa que la cantidad de genes agregados por

cada genoma secuenciado adicional es suficientemente numeroso que hace imposible predecir el tamaño del pangenoma completo.

Todo esto ilustra la gran variabilidad genética bacteriana y apoya una estructura en mosaico del genoma de *E. coli*, consistente en un genoma core compartido, relativamente reducido, intercalado con “islas” específicas de cada cepa obtenidas por transferencia horizontal, que representan casi el 70% del genoma (Yu *et al.*, 2021). La capacidad de las bacterias de intercambiar material genético fue descubierta en la década de los 50 del siglo pasado. Esto fue crucial para comprender que la enorme variabilidad genética bacteriana no solo se debe a fenómenos de mutación, sino que descansa también en procesos de recombinación genética, característicos de la reproducción sexual. Joshua Lederberg fue galardonado en 1958 por demostrar que una célula de *E. coli* era capaz de transferir parte de su ADN a otra célula, bien directamente a través de un puente conjugativo (conjugación) o bien mediante un bacteriófago (transducción) (Raju, 1999).

El conocimiento del genoma core, junto con los análisis fenotípicos de colecciones completas de mutantes en busca de los genes esenciales para la vida de *E. coli*, están permitiendo definir su genoma mínimo. La reducción del genoma es una de las estrategias de la Biología Sintética, previamente señaladas (Cuadro II), que ayudan a la generación de microorganismos sintéticos muy versátiles y de enorme interés biotecnológico. Mediante la eliminación de secuencias dispensables, pero siempre manteniendo un rendimiento óptimo, se pueden obtener “chasis” bacterianos, utilizando una metáfora que apela al mundo de la ingeniería, sobre los que incluir nuevas rutas metabólicas, por ejemplo. El término “chasis” evoca el armazón básico de un automóvil al que se le pueden añadir diferentes componentes para cumplir con las especificaciones de los diferentes modelos o con el deseo del comprador, como indica Víctor de Lorenzo en su esclarecedor e imperativo artículo titulado “*For the sake of the Bioeconomy: define what a Synthetic Biology Chassis is!*” (de Lorenzo *et al.*, 2021).

Además de una elevada distancia evolutiva con el ser humano, una de las principales limitaciones de *E. coli* como modelo biológico es su condición de procariota. Ya se ha comentado lo útil que fue para desentrañar algunos de los mecanismos moleculares básicos, sobre todo relativos a la perpetuación y el flujo de la información

genética o al metabolismo. Sin embargo, su estructura celular carente de núcleo definido y de sistemas membranosos complejos, y la ausencia de procesos de mitosis y meiosis, dificulta su representatividad en el nivel celular de organización biológica. Dentro del mundo microbiano, un escalón superior en la escala evolutiva lo constituyen las levaduras, que son hongos unicelulares y, por tanto, microorganismos eucarióticos. Sin dejar de tener un enorme valor también como modelos moleculares, esta es la razón de su predominancia sobre *E. coli* como modelos celulares.

V. SACCHAROMYCES CEREVISIAE: UN EUCARIOTA SUFICIENTEMENTE SIMPLE Y SUFICIENTEMENTE COMPLEJO

Las levaduras son lo suficientemente simples y lo suficientemente complejas para considerarlas en una situación intermedia muy equilibrada entre la extrema simplicidad que caracteriza a un modelo bacteriano y la alta complejidad que pueden presentar los modelos animales.

Son varias las especies de levadura que pueden aportar claves moleculares y celulares sobre el comportamiento de las células eucarióticas. *Schizosaccharomyces pombe*, por ejemplo, ha resultado extremadamente útil para desentrañar aspectos esenciales del ciclo celular eucariótico y otros importantes procesos celulares (Hoffman *et al.*, 2015). Pero, sin duda, el modelo de levadura más reconocido es el que representa la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Buscando en la base de datos PubMed, utilizando estas dos especies como palabra clave, nos encontramos 13.000 entradas de la primera frente a 130.000 de la segunda. Por supuesto, esta mayor “popularidad” de *S. cerevisiae* no se debe únicamente a su importante papel como modelo biológico, sino también al hecho de ser la levadura productora de algunos de los alimentos más estrechamente ligados a la historia de la humanidad: el pan y las bebidas fermentadas. De hecho, nos encontramos en muchas ocasiones con referencias a esta especie como “la levadura” de una forma genérica, indicativo de su notoriedad y representatividad.

Con alrededor de 6000 genes y unos 12 Mb de tamaño, el genoma de *S. cerevisiae* fue el primer genoma eucariótico completamente secuenciado en 1996. Aunque disponga de oxígeno, el metabolismo de esta levadura es primordialmente fermentativo y, de ahí, sus

aplicaciones industriales. Sus células ovaladas de 5-10 micras, se dividen en unos 90 minutos mediante un proceso de gemación, en el que una pequeña yema emerge de la célula “madre”, crece y se separa tras alcanzar el tamaño adecuado. Este proceso morfo-genético está acoplado a un ciclo celular mitótico similar al de otras células eucarióticas, como las humanas. La contribución del conocimiento generado en *S. cerevisiae* al esclarecimiento del control de este proceso conservado evolutivamente, ha sido uno de los principales logros de su uso como modelo.

Las levaduras, excelentes aliadas en el descubrimiento de la regulación del ciclo celular

Leland (Lee) Hartwell fue el pionero de estos estudios en los años 70, combinando estrategias genéticas clásicas con observaciones fenotípicas, indicativas de la parada del ciclo celular en distintas fases. Obtuvo casi 150 mutantes condicionales termosensibles de *S. cerevisiae* que clasificó en distintos grupos de complementación, cada uno de los cuales definía un gen único, y a los que denominó con el nombre *cdc* (*cell división cycle*) seguido de un número diferente. De esta manera fue capaz de establecer un orden de actuación de estos genes, incluso antes de que pudieran ser clonados y conocidas sus secuencias. También introdujo el concepto de “punto de control” (*checkpoint*), una muy valiosa ayuda para comprender la regulación del ciclo celular.

Todo ello refleja el gran papel de esta levadura como modelo genético. Su facilidad para la generación y selección de mutantes y su capacidad de desarrollar un ciclo sexual, permite realizar análisis genéticos y combinar mutaciones de manera muy sencilla, sobre todo en cepas “domesticadas” de laboratorio. El apareamiento entre células haploides de distinto tipo sexual (a y alfa) genera un cigoto diploide que, en condiciones de escasez de nutrientes, entra en un programa meiótico acoplado a un proceso de esporulación. Las cuatro esporas haploides resultantes (dos de cada tipo sexual) se denominan ascosporas, y están contenidas en un asca, como en otros hongos Ascomycetos.

Estos hallazgos le valieron a Lee Hartwell la concesión del Premio Nobel en 2001 (Cuadro I), compartido con Paul Nurse, por la identificación de la principal quinasa reguladora del ciclo celular

eucariótico (CDK, *cyclin dependent kinase*) utilizando *S. pombe*, y con Tim Hunt por la identificación de las ciclinas que regulan a esta quinasa, utilizando en este caso un modelo no microbiano, la rana africana *Xenopus laevis*. Este galardón premiaba el descubrimiento de los “elementos claves de la regulación del ciclo celular”, conservados desde levaduras a humanos, por su gran impacto en todos los aspectos del crecimiento de las células eucarióticas, destacando su relevancia para comprender mejor las alteraciones del genoma en las células cancerosas y abrir nuevas vías para el tratamiento del cáncer. De hecho, Hartwell tituló su discurso de aceptación “Levadura y Cáncer” (*Yeast and Cancer*) (Hartwell, 2002). Sus primeras palabras, que transcribo a continuación, reflejaban la total convicción del laureado de haber elegido la mejor manera de abordar el estudio del cáncer:

«Mi carrera investigadora ha estado motivada por el deseo de entender el cáncer. Cada vez que identificaba un aspecto interesante del problema del cáncer, me daba cuenta de que podía abordarse más eficazmente en una célula eucariótica más simple, *Saccharomyces cerevisiae*, que la célula humana. Cada vez, la levadura me revelaba alguno de sus secretos».

Y terminaba mostrando claramente su confianza en los modelos biológicos para la investigación biomédica:

«Tenemos todavía mucho que aprender de la levadura y otros modelos biológicos sobre la naturaleza de las enfermedades humanas».

Otro de los científicos premiados por la Academia sueca fue Roger Kornberg en 2006. Cuarenta y siete años después que su padre, recibía este máximo reconocimiento utilizando otro modelo, la levadura, y estudiando otro ácido nucleico, el ARN. Descifró la estructura tridimensional del complejo enzimático de la ARN polimerasa II de *S. cerevisiae*, contribuyendo a desentrañar las bases moleculares de la transcripción eucariótica (Kornberg, 2007), como Arthur Kornberg había hecho con el mecanismo de replicación del ADN utilizando *E. coli*.

Las levaduras también envejecen: una ayuda para comprender la senescencia

S. cerevisiae tiene 16 cromosomas lineales, con una organización molecular similar a la de los cromosomas humanos. Como en muchas otras facetas, la investigación en esta levadura modelo de aspectos relacionados con las funciones de esta estructura eucariótica (estabilidad, replicación, segregación, reparación, organización cromatínica, etc), ha sido un campo de estudio pionero. Y muy fructífero científicamente. Tomando nuevamente un ejemplo merecedor del Nobel, en 2009 se reconoció la relevancia de los trabajos realizados por Elizabeth Blackburn, Carol Greider y Jack Szostak, este último utilizando *S. cerevisiae*, para demostrar el papel protector de los telómeros en el mantenimiento de la integridad de los cromosomas. Entender este proceso conservado evolutivamente es crítico para comprender la senescencia celular, asociada al acortamiento de los telómeros (Whittemore *et al.*, 2019). Aunque no resulte tan evidente como en organismos superiores, las células individuales de levadura también envejecen, perdiendo progresivamente capacidades fisiológicas y reproductivas, y finalmente mueren, lo que la convierte en un buen sistema para estudiar los efectos de la edad (Denoth Lippuner *et al.*, 2014). El estudio del envejecimiento en levadura no solo se ha beneficiado de estos trabajos sobre los telómeros, sino también de muchos otros dirigidos a esclarecer su relación con el estrés oxidativo y la función mitocondrial, la apoptosis, el estrés replicativo o la dinámica del citoesqueleto (Duina *et al.*, 2014).

Explotando el potencial genético de *S. cerevisiae*

Como ya se ha mencionado, las levaduras comparten la organización celular característica de los eucariotas, que incluye orgánulos membranosos como el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, las mitocondrias y el núcleo, así como los correspondientes procesos asociados al tráfico de membranas como la endocitosis y la secreción. Esto, como ya he mencionado anteriormente, las sitúa en una excelente posición para servir como modelo celular. A finales de los años 70, Randy Schekman decidió utilizar *S. cerevisiae* para estudiar la secreción de proteínas. En su discurso del Nobel conseguido en 2013 indicaba que el motivo para su elección fue estar

impresionado por el éxito de Lee Hartwell al explotar el potencial genético de esta levadura para desentrañar las claves del ciclo celular (Schekman, 2015). Y añadía “Fue emocionante conocer a Lee Hartwell y compartir mis ideas sobre cómo las células de levadura pueden crecer gracias al tráfico de vesículas”.

La obtención en su laboratorio de Berkeley de más de 200 mutantes condicionales termosensibles con defectos en el proceso de secreción, generó una amplia colección de mutantes *sec* que le sirvió para situar su orden de actuación en las distintas etapas de este proceso, a principios de los años 80 (Novick *et al.*, 1981). A estos trabajos iniciales, siguió la clonación de los genes correspondientes y la reconstitución *in vitro* del transporte celular, con lo que logró recapitular un proceso que requiere la acción concertada de al menos 30 proteínas Sec. Estas contribuciones, junto a las del neurólogo Thomas Südhof y el biólogo molecular James Rothman que estudiaron este proceso en células humanas, condujeron a esclarecer el misterio de cómo la célula organiza su sistema de transporte molecular y a constatar que se trata de un proceso universal en eucariotas, conservado tras mil millones de años de evolución. Su importancia para entender cómo, dónde y cuándo son secretadas las hormonas, las citoquinas o los neurotransmisores, explican su impacto en áreas biomédicas como la endocrinología, la inmunología o la neurobiología.

Los estudios de Schekman estuvieron también ligados en parte a los de Günter Blobel, laureado en 1999 por desentrañar las señales intrínsecas que gobiernan el transporte y la localización celular de las proteínas, por su estrecha conexión con el proceso de secreción. Una parte del trabajo de Blobel se centró en caracterizar en levadura el canal de traslocación (translocón) de proteínas a través del retículo endoplásmico, formado por proteínas Sec previamente identificadas por Schekman. De nuevo, el Instituto Karolinska aludió en su mención a la conservación evolutiva: “Los principios descubiertos y descritos por Blobel resultaron ser universales, operando así de forma semejante tanto en levaduras como en células animales y vegetales”. Aunque de manera marginal, Blobel también utilizó células de *E. coli* desprovistas de pared celular para estudiar los canales de traslocación a través de la membrana celular procariótica, encontrando semejanzas con los del retículo endoplásmico eucariótico, que sugerían también una conservación e historia común de estos translocosnes (Blobel, 2000).

La limpieza celular, un proceso clave para alargar la vida y prevenir la neurodegeneración

Años más tarde, en 2016, Yoshinori Ohsumi era galardonado por el descubrimiento de los mecanismos de la autofagia: el sistema de degradación y reciclaje de componentes celulares de organismos eucarióticos. A comienzos de los 90, tras su análisis microscópico de la autofagia en *S. cerevisiae*, aisló numerosos mutantes deficientes en este proceso (mutantes *atg*), también inspirado en la exitosa estrategia genética de Hartwell y Schekman. Esto le permitió identificar los genes mutados y los mecanismos de acción de las correspondientes proteínas responsables de este fenómeno, y después comprobar que las células humanas empleaban una maquinaria similar. Uno de los miembros de su equipo, Noboru Mizushima, relata esta andadura científica sobre la autofagia en una revisión que titula muy acertadamente “De la humilde levadura al Premio Nobel” (Mizushima, 2017). Como señaló la Academia sueca, “los descubrimientos de Ohsumi condujeron a un nuevo paradigma en nuestra comprensión sobre cómo la célula recicla su contenido”. La autofagia es un proceso de limpieza celular mediante “autodigestión” de la “basura” acumulada en la célula, que además le proporciona energía y moléculas esenciales en situaciones de ayuno. Por ello, una autofagia disfuncional puede favorecer el daño neuronal en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer o la de Parkinson, o el desarrollo de enfermedades metabólicas, como la diabetes de tipo 2.

He resaltado estos descubrimientos, reconocidos con el galardón más prestigioso dentro del mundo científico (Hohmann, 2016), para poner en valor el alcance del impacto del modelo de levadura de una manera objetiva y comprensible. Pero estos trabajos no son más que la punta del iceberg de un tejido investigador muy extenso en este campo, que constituye una base muy sólida de lo que Kuhn llamaría la “ciencia normal”, pero absolutamente necesaria para que pueda surgir la “ciencia revolucionaria”. Dentro de esta ciencia de base, me voy a permitir introducir, como ejemplo, algunas aportaciones de nuestro grupo sobre las rutas de señalización que permiten a las células eucarióticas percibir las señales ambientales, activarse y, como consecuencia, generar respuestas adecuadas. Estas rutas, también muy conservadas de levaduras a humanos, son cruciales para la diferenciación, la proliferación y la

supervivencia celular en las más variadas situaciones de estrés. Por ello, las deficiencias en su funcionamiento son causa de numerosas patologías, desde cáncer a enfermedades endocrinas, cardiovasculares o autoinmunes.

Rutas de MAP quinasas: paradigma de conservación de la señalización eucariótica

Entre la pluralidad de rutas existente, nuestro interés se ha centrado en la señalización mediada por una familia de proteínas quinasas, denominadas MAPKs (de *Mitogen-Activated Protein Kinases*), por ser activables por mitógenos en células humanas. En una revisión publicada este año 2021, repasamos precisamente nuestra historia y la de otros laboratorios en esta línea de investigación, que comenzó hace 30 años con la identificación de un gen de *S. cerevisiae* que codificaba una proteína de esta familia: la MAPK Slt2 (González-Rubio *et al.*, 2021). Con la misma aproximación genética que Hartwell, Schekman, Ohsumi y la mayoría de los estudiosos de esta levadura, utilizamos mutantes carentes de una función concreta para clonar el gen afectado por complementación. En este caso, la función era la de mantener estable la pared celular en condiciones de estrés para esta estructura esencial y el gen clonado fue denominado *SLT2* por suprimir el fenotipo lítico de uno de estos mutantes. La caracterización de la MAPK Slt2 y del resto de componentes que conforman la “Ruta de integridad de la pared celular” (CWI: *Cell Wall Integrity Pathway*), abrió el camino para entender su relevancia fisiológica. Comprender el mecanismo compensatorio que esta ruta pone en marcha para salvar la integridad celular cuando la pared celular está dañada, es crucial para el diseño de terapias antifúngicas eficaces dirigidas a esta diana.

Paralelamente, se fueron descubriendo el resto de rutas de MAPKs no solo en esta levadura, sino en otros hongos, en otros modelos como *Drosophila* o ratón y, también, en las propias células humanas. De esta manera, se corroboró la existencia de una organización, una mecánica de activación/inactivación y una regulación común en todas ellas. Por ello, al igual que con otros fenómenos típicamente eucarióticos mencionados, las lecciones aprendidas en la levadura han servido también para conocer mejor los procesos de señalización en otros seres vivos. Así lo afirmaba uno de los

grandes investigadores pioneros en esta levadura, Jeremy Thorner, en una excelente revisión sobre la funcionalidad de las rutas de MAPKs, titulada “*Function and regulation in MAPK signaling pathways: lessons learned from the yeast *Saccharomyces cerevisiae**” (Chen y Thorner, 2007).

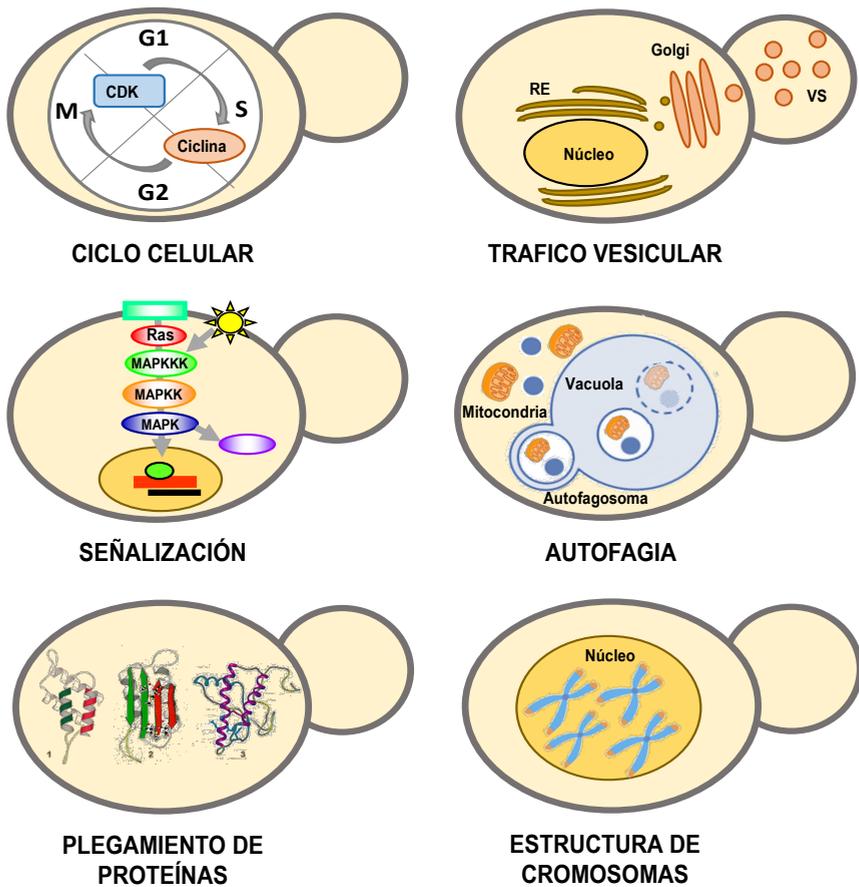


Figura 2. Principales procesos celulares conservados en la levadura *S. cerevisiae*.

Estos ejemplos y muchos otros que no han podido ser mencionados, ilustran perfectamente como la conservación de procesos celulares básicos tan relevantes fisiológicamente (Figura 2), ofrece un soporte científico sólido para la modelización de diversas enfermedades humanas en un microorganismo unicelular como *S. cerevisiae*. Además, el conocimiento biológico básico generado en esta levadura se puede extrapolar no solo a la célula humana, sino a otros hongos y, de manera general, a cualquier célula eucariótica, lo que dota de un gran valor añadido a este excelente modelo celular.

El organismo experimental para la Biología del siglo XXI

El ingente desarrollo de herramientas genómicas y bioinformáticas para esta levadura ha abierto posibilidades de análisis inimaginables hace solo unas décadas. Por ejemplo, las colecciones completas de mutantes, cuya utilización a gran escala permite realizar los enfoques holísticos de la Biología de Sistemas. El fundamento teórico es el mismo utilizado por la Genética directa clásica, pero utilizando los principios de la Genética inversa: buscar fenotipos y, por tanto, funciones, a todos los mutantes en los genes identificados al secuenciar un genoma. Las colecciones genómicas permiten también analizar interacciones genéticas entre mutantes o el efecto de la sobreexpresión de genes. De esta manera se ha generado, por ejemplo, el mapa de interacciones genéticas globales de la levadura, accesible en TheCellMap.org, que incluye 350.000 interacciones positivas y 550.000 negativas a partir del análisis de 23 millones de dobles mutantes (Costanzo *et al.*, 2019). Otros recursos disponibles están dirigidos al estudio de las proteínas para descubrir sus interacciones físicas y definir el interactoma, modelar su estructura tridimensional o determinar su localización en la célula mediante fusiones a diferentes proteínas fluorescentes. Precisamente, tanto *S. cerevisiae* como *E. coli* fueron dos de los organismos utilizados por Roger Tsien para “construir y explotar la paleta de proteínas fluorescentes” (Cuadro I), tal y como tituló su discurso de aceptación del Nobel en 2008 (Tsien, 2009). El premio fue compartido con Osamu Shimomura, que aisló la proteína fluorescente verde GFP (*green fluorescent protein*) de la medusa *Aequorea victoria*, y Martin Chalfie que probó su utilidad como marcador biológico principalmente en el gusano *C. elegans*.

Toda la información obtenida, tanto en ensayos individuales clásicos como con estas herramientas genómicas, está recogida en la *Saccharomyces Genome Database* (SGD) (Skrzypek *et al.*, 2018). Una valiosa fuente para obtener información específica sobre genes de esta levadura que tienen ortólogos humanos. Tras la secuenciación del genoma, se estimó que estos constituían un 31% de sus genes (Botstein *et al.*, 1997), si bien la base de datos de proteínas homólogas de eucariotas *InParanoid*, elaborada posteriormente, indica incluso valores superiores al 40% (O'Brien *et al.*, 2005). SGD recoge también todos los datos experimentales de complementación funcional de mutantes de levadura por genes humanos existentes en la literatura científica.

Aunque la homología estructural suele corresponderse con el desempeño de una misma función, sirviendo por ello para predecir funciones entre las especies, esto no es una regla absoluta. Dos genes con el mismo origen pueden haber divergido funcionalmente o, incluso manteniendo la misma función en dos organismos, es posible que uno no sea capaz de reemplazar al otro, sobre todo en organismos que se separaron evolutivamente hace mucho tiempo. Para dimensionar cuál es la equivalencia funcional entre ortólogos, en 2015 se realizó un análisis sistemático de expresión de 400 genes humanos, ortólogos de genes esenciales de *S. cerevisiae*, en las correspondientes cepas mutantes de levadura. La obtención de una tasa de complementación del 47%, proporciona una idea de la significativa capacidad de reemplazamiento funcional existente entre estas dos especies tan alejadas evolutivamente (Kachroo *et al.*, 2015).

Volviendo a finales de los años 70, Gerald Fink, tras conseguir introducir artificialmente ADN recombinante en levaduras por vez primera, auguraba un gran futuro a *S. cerevisiae* como “organismo experimental para la Biología Moderna”. Augurio que refrendaba 25 años más tarde al considerarle “el organismo experimental para la Biología del siglo XXI” (Botstein y Fink, 2011). Como había ocurrido unos años antes con *E. coli*, además de su valor como modelo de referencia, sus excelentes propiedades instrumentales la convirtieron en una excelente “herramienta”. En los años 80, se utilizó para producir la primera vacuna recombinante, formada por el principal antígeno de la superficie del virus de la Hepatitis B, y la primera proteína recombinante de uso

alimentario, la enzima quimosina coagulante de la leche para la fabricación de queso. Desde entonces ha continuado demostrando su gran capacidad como factoría celular de proteínas heterólogas, situándose como el segundo sistema de expresión microbiano más utilizado actualmente después de *E. coli* (Sánchez-García *et al.*, 2016). Además, a través de aproximaciones de la Ingeniería Metabólica clásica y de la Biología Sintética (Jouhten *et al.*, 2016), se ha logrado que produzca numerosos metabolitos que no son propios de la levadura, como la artemisinina o la vainillina, o la modificación de cepas industriales cerveceras y vínicas que aportan innovadores sabores y aromas (Pretorius, 2020).

***S. cerevisiae* 2.0 en la era de la Biología Sintética**

Además de su uso instrumental en Biotecnología, la levadura está resultando clave para el ensamblaje de genomas sintéticos. Los primeros pasos para construir células artificiales mediante Biología Sintética incluyen la síntesis *ad hoc* de cromosomas con la información deseada, para su montaje posterior en la célula. La capacidad de *S. cerevisiae* para ensamblar *in vivo* fragmentos de ADN solapantes, obtenidos previamente *in vitro* por síntesis química o PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), permite obtener moléculas de ADN de gran tamaño en el interior de las células de esta levadura. Estas moléculas pueden ser extraídas e introducidas en las células diana para sustituir su genoma natural por uno sintético. De esta manera Craig Venter, uno de los artífices de la secuenciación del genoma humano y gran impulsor de la biología sintética, pudo construir en 2010 el primer cromosoma sintético syn1.0 de una bacteria, *Mycoplasma mycoides*, formado por un millón de bases (1079 kb). Para luego implantárselo a una célula receptora de *M. capricolum* y convertirla en una célula nueva de *M. mycoides* controlada únicamente por este cromosoma sintético (Gibson *et al.*, 2010). Unos años más tarde, en 2016, obtenía una versión minimizada de este genoma (syn3.0) de 531 Kb, menor que el de cualquier ser vivo celular existente y que solo incluía los genes esenciales para mantener la vida (Hutchison *et al.*, 2016). Esta primera aproximación experimental al concepto de “genoma mínimo” fue un paso muy importante para abordar la obtención de chasis celulares muy simplificados con los que explorar el diseño de células sintéticas a la carta.

La obtención de una bacteria con un genoma sintético, compuesto por un único cromosoma, parece una tarea fácil si la comparamos con la obtención de una levadura con 16 cromosomas sintéticos. Esto no impidió a Jef Boeke, genetista de la Universidad de Nueva York, emprender el ambicioso *Synthetic Yeast Genome project* (conocido como proyecto *Yeast 2.0* o *Sc2.0*), un proyecto internacional colaborativo para generar una levadura con un genoma totalmente sintético (Pretorius y Boeke, 2018). En 2014 anunció la fabricación del primer cromosoma eucariótico, el cromosoma III de *S. cerevisiae*, mediante una estrategia similar a la utilizada por Venter, en la que la levadura se utilizaba como herramienta para ensamblar los fragmentos de ADN. En este caso la célula receptora del trasplante del cromosoma así generado era posteriormente la propia levadura (Annaluru *et al.*, 2014). Tras este primer éxito, el proyecto ha seguido avanzando con el resto de los 16 cromosomas, cuya síntesis y ensamblaje está completada casi al 99%, estando cada vez más cerca su finalización.

Ante la gran repercusión mediática de este tipo de logros, Jef Boeke aclaraba:

«No estamos creando vida artificial, solo hemos reescrito el genoma de la levadura pieza a pieza, hasta completarlo. Crear vida artificial requiere coger un puñado de productos químicos, mezclarlos y conseguir un organismo vivo».

El gran acierto de este proyecto *Yeast 2.0* ha sido incorporar el sistema SCRaMbLE (*Synthetic Chromosome Recombination and Modification by LoxP-mediated Evolution*) en el proceso de producción de los cromosomas sintéticos. La introducción de sitios de recombinación (LoxP) a lo largo del ADN permite que, al expresar la recombinasa Cre que reconoce estas secuencias, se generen inversiones, deleciones, duplicaciones o traslocaciones. Este sistema de evolución *in vitro* consigue, por tanto, la reorganización del ADN al azar en cada célula, creando infinitas permutaciones del genoma en un cultivo de *S. cerevisiae* 2.0. Se pueden seleccionar las levaduras que son viables tras este proceso y secuenciar su genoma para identificar las secuencias dispensables que han podido ser eliminadas. La aplicación de una presión selectiva serviría para conocer la mejor configuración genómica para adaptarse a esa situación. Esto podría realizarse para reprogramar rutas de producción de metabolitos de interés industrial y optimizar su producción (Walker y Pretorius, 2018).

Jef Boeke participó en 2020 en el Simposio internacional “Las levaduras: en la intersección entre la Biología de sistemas y la Biomedicina”, organizado por la Fundación Areces en memoria del Profesor Julio Rodríguez Villanueva, con una conferencia titulada “Escribiendo el genoma de la levadura” en la que señalaba:

«La resíntesis de todos los cromosomas de la levadura abre nuevas perspectivas en genética basadas en la modificación global de los genes y el número de copias de estos. La humanización de la levadura añade nuevas pautas metabólicas y regulatorias para el desarrollo de este microorganismo. Las levaduras son los aliados inesperados para entender diversas patologías».

Es justamente a este último aspecto al que dedicaré la parte final de esta disertación. Entre las posibilidades que ofrece *S. cerevisiae* para la modelización de patologías humanas no solo se encuentra el estudio de procesos esenciales altamente conservados en la propia levadura, como los anteriormente señalados, sino lo que se ha denominado “humanización” de la levadura (Laurent *et al.*, 2016). La revista de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular también dedicaba un número especial en septiembre de 2018 al “Legado de Julio R. Villanueva”. Precisamente mi contribución, junto a César Nombela y Javier Arroyo, versaba sobre cómo reprogramar y humanizar a la levadura, en homenaje a la investigación pionera del Profesor Rodríguez Villanueva con las levaduras como sistema experimental (Nombela *et al.*, 2018).

VI. LEVADURAS HUMANIZADAS PARA MODELIZAR PATOLOGÍAS HUMANAS

Básicamente, la humanización de levaduras consiste en expresar proteínas humanas implicadas en enfermedades y conseguir que estas se acoplen o interfieran con la maquinaria celular como lo hacen en sus células de origen, gracias a la conservación evolutiva en eucariotas. Para ello se suelen utilizar vectores con promotores regulables que dirijan la expresión del gen humano de manera condicional, de modo que se pueda controlar la producción de la proteína por el medio de cultivo empleado para su crecimiento. Uno de los promotores más utilizados es el del gen *GALI*, sometido a represión catabólica por glucosa e inducción por galactosa. Consecuentemente no

se produce la transcripción en medios con glucosa, pero si ocurre en presencia de galactosa. Esto permite que la levadura pueda contener el gen codificante de una proteína humana que sea tóxica, al conseguir que dicha toxicidad solo se manifieste en las condiciones de inducción.

Este sistema no tiene por qué limitarse a la expresión de una única proteína humana. También hay ejemplos de humanización de la levadura mediante la co-expresión de varias proteínas relacionadas funcionalmente, que forman parte de complejos proteicos o de rutas de señalización, para así reconstituir de forma parcial o total unidades funcionales más complejas (Laurent *et al.*, 2016).

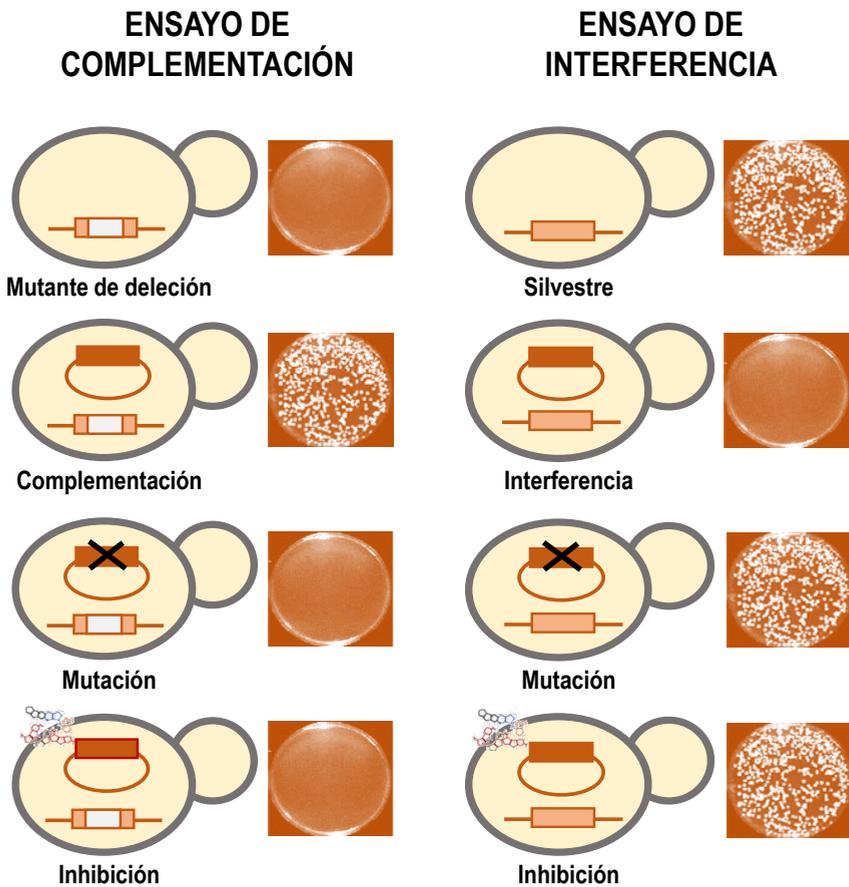


Figura 3. Estrategias de humanización de levaduras.

Estrategias para la humanización de levaduras y sus aplicaciones

Para analizar los efectos de la humanización de la levadura se pueden seguir dos estrategias: complementación o interferencia (Figura 3). Si el gen humano es un ortólogo funcional de un gen de levadura se pueden realizar ensayos de complementación sobre el correspondiente mutante, si este tiene un fenotipo observable en el laboratorio. Lo ideal es conseguir unas condiciones de cultivo en las que el mutante de levadura no sea capaz de crecer, de modo que la expresión del gen humano, al restaurar la función perdida, permita el crecimiento celular. La validación de este tipo de ensayos se realizaría comprobando que una mutación que inactive a la proteína humana elimina su capacidad de complementación.

La segunda estrategia, que no requiere la existencia de ortólogos, estaba basada en lograr un ensayo de interferencia con algún proceso celular. En este caso la sobreproducción de la proteína humana debería causar un fenotipo de toxicidad celular que impida el crecimiento. De nuevo, la validación del ensayo requeriría demostrar que la proteína humana inactiva no provoca este fenotipo para descartar que se trate de un efecto inespecífico.

Por tanto, mientras que en el ensayo de complementación la proteína humana es la responsable de la vida de la levadura, en el ensayo de interferencia es la causante de su muerte. En ambos casos se dispone de un fenotipo ligado al crecimiento celular muy fácilmente detectable en el laboratorio, que abre un amplio abanico de posibilidades de análisis (Coronas-Serna *et al.*, 2020):

- Estudios de relación estructura-función mediante análisis mutagénico de dichas proteínas. Se pueden realizar mutaciones dirigidas a: i) un único aminoácido concreto, para demostrar su funcionalidad; ii) cubrir un dominio proteico completo con mutaciones en cada uno de sus aminoácidos a alanina o cisteína (análisis conocidos como *Ala-scanning* o *Cys-scanning*); iii) definir la tolerancia a la mutación de un residuo específico sustituyéndolo por cada uno del resto de los aminoácidos que forman las proteínas; o iv) encontrar mutaciones al azar, a través de técnicas de PCR tendentes a error, que tengan un efecto sobre la actividad de la proteína. En todos estos casos, las mutaciones de pérdida de función impedirían el crecimiento celular en un ensayo de comple-

mentación, mientras que permitirían el crecimiento en el ensayo de interferencia.

- Identificación de las funciones y los sustratos o dianas moleculares de las proteínas humanas expresadas. Se pueden analizar sus efectos sobre procesos biológicos concretos (ciclo celular, rutas de señalización, citoesqueleto, tráfico vesicular, autofagia, etc) o bien mediante screening genético o genómico utilizando colecciones de mutantes o de plásmidos de sobreexpresión de genes de levadura. El ensayo de interferencia facilita este tipo de screening al permitir una selección directa por el crecimiento resultante de la supresión del fenotipo tóxico.

- Búsqueda de inhibidores específicos con fines terapéuticos mediante screening farmacológico, utilizando la levadura humanizada como plataforma de ensayo. Si la proteína humana es una diana de fármacos para el tratamiento de una enfermedad se pueden analizar colecciones de compuestos, naturales o sintéticos, y seleccionar aquellos que la activen o la inhiban. Si se buscan inhibidores, la plataforma de interferencia ofrece ventajas sobre la de complementación, ya que el compuesto permitiría el crecimiento de las levaduras. Esto indicaría que, además de contrarrestar el efecto de la proteína humana, es poco tóxico para las células eucarióticas.

- Determinación de su localización celular y sus interacciones con estructuras y orgánulos. La humanización con proteínas humanas fusionadas a proteínas fluorescentes, como GFP, permite su observación mediante microscopía de fluorescencia en células vivas de levadura. En este caso es mejor utilizar una expresión moderada de la proteína para evitar su toxicidad o su localización artefactual debidas a la sobreexpresión.

Utilizando uno u otro tipo de estrategia, se han conseguido levaduras humanizadas no solo con proteínas que tienen ortólogos en la levadura, como los receptores de tipo GPCR (*G protein-coupled receptors*) vinculados con numerosas enfermedades o enzimas de la ruta de síntesis de esteroides relacionados con patologías del colesterol, sino con otras que no los tienen. Este es el caso del péptido beta-amiloide, la alfa-sinucleína o la huntingtina, inexistentes en levadura, pero cuya expresión ha permitido la modelización de enfermedades neurodegenerativas en este sistema microbiano.

Y también el de algunas proteínas implicadas en cáncer, como las supresoras de tumores p53 y PTEN, miembros de la familia PARP (*poly ADP ribose polymerase*), receptores RTKs (*Receptor Tyrosine kinases*) o componentes de la ruta oncogénica PI3K-AKT (Coronas-Serna *et al.*, 2020).

Bioensayos para el descubrimiento de fármacos

Los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) constituyen una de las familias principales de proteínas transmembranales con aproximadamente 800 miembros en el genoma humano. Intervienen en la señalización celular regulando numerosos procesos en respuesta a muy diversos ligandos, como hormonas, factores de crecimiento, citoquinas o neurotransmisores. Su enorme importancia fisiológica es la razón de que alrededor de un 35% de los fármacos comerciales tengan GPCRs como diana, sirviendo como antitumorales, antiinflamatorios, antihistamínicos, antidiabéticos o antihipertensivos, entre otros usos (Yang *et al.*, 2021). Además, en el proyecto de la secuenciación del genoma humano se han identificados unos 100 GPCR huérfanos de los cuales no se conoce un ligando endógeno ni su mecanismo de acción. Por tanto, el estudio funcional de los GPCRs y la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos que bloqueen o mimeticen su señalización es un campo de estudio muy relevante y con un elevado potencial.

La estructura y actividad de los GPCRs están muy conservadas en eucariotas. Son proteínas insertadas en la membrana por medio de 7 tramos proteicos que dejan un extremo de la proteína en el exterior celular, que es la que detecta el estímulo, y otro extremo intracelular que transmite la señal a una proteína G trimérica, formada por las subunidades alfa, beta y gamma. Esta proteína se disocia y activa al siguiente componente de la ruta que, en muchos casos, es una proteína G pequeña de la superfamilia Ras, y finalmente a un módulo de MAPKs que regula la expresión génica.

S. cerevisiae tiene tres GPCRs. Dos de ellos son los receptores de las hormonas sexuales o feromonas en la ruta de apareamiento de esta levadura: Ste2, que se expresa en células a (se estimula por factor alfa), y Ste3 que lo hace en células alfa (se estimula por factor a). La semejanza estructural de este tipo de receptores ha permitido desarrollar ensayos de complementación en los que la

sustitución de uno de los receptores de feromonas por un GPCR humano conduce a un reemplazamiento efectivo con el consiguiente acoplamiento a la ruta de apareamiento. Esto se puede poner de manifiesto de una forma sencilla en el laboratorio utilizando un sistema reportero, formado por el promotor de un gen que se active como consecuencia de la estimulación de la ruta seguido de un gen codificante de una proteína que confiera una propiedad observable (fluorescencia, actividad enzimática) o que complemente una mutación permitiendo el crecimiento celular (mutante auxótrofo, incapaz de crecer en un medio selectivo sin el correspondiente aminoácido). En este caso, el ligando natural del GPCR humano o los compuestos que lo mimeticen (agonistas), activarán directamente la ruta permitiendo el crecimiento en el medio selectivo, mientras que los inhibidores del GPCR (antagonistas) impedirán el crecimiento cuando se añadan en presencia del ligando natural.

Utilizando distintas estrategias y modificaciones genéticas para optimizar este acoplamiento, se ha publicado la humanización de la levadura con más de 30 GPCRs humanos, siendo el receptor adrenérgico beta-2 el primero en 1990. Estos sistemas han permitido el análisis estructural y funcional de los GPCRs expresados, así como la identificación de agonistas y antagonistas con posible actividad farmacológica (Wang *et al.*, 2021).

La versatilidad de las levaduras humanizadas con GPCRs queda también reflejada en su posible uso como biosensores. Un ejemplo muy ilustrativo y oportuno lo constituye el reciente desarrollo de un sistema para diagnóstico de la COVID-19, basado en la expresión conjunta del receptor GPCR de angiotensina II y de la enzima convertidora de angiotensina II, ACE2, con la que interacciona el virus SARS-Cov2 para infectar a las células. Cuando la levadura humanizada se sitúa en un medio rico en angiotensina II, ACE2 la transforma en angiotensina y, al desaparecer el ligando, el receptor no se activa. Sin embargo, en presencia del virus, este se une e inactiva a ACE2, por lo que no se reduce la concentración de angiotensina II que puede así activar al receptor, produciéndose el acoplamiento con la ruta de feromonas que conduce a la expresión de una proteína fluorescente (Maneira *et al.*, 2021).

Modelización de enfermedades neurodegenerativas en levadura: en la agregación proteica está la clave.

Las proteínas relacionadas con enfermedades neurodegenerativas ofrecen un ejemplo claro de éxito en la humanización de la levadura sin que existan proteínas ortólogas. Esto es posible por la gran conservación de los procesos celulares relacionados con estas patologías (plegamiento y control de calidad de proteínas, tráfico vesicular, función mitocondrial, autofagia, etc). Además, en la levadura existen priones que, aunque diferentes en secuencia y función a las proteínas amiloidogénicas humanas, tienen también capacidad de agregarse y formar amiloides como los que se depositan en el cerebro de enfermos de Parkinson, Alzheimer o Huntington. Todo ello es clave para reproducir en la levadura la neurotoxicidad de los agregados proteicos que forman la alfa-sinucleína, el beta-amiloide o la huntingtina, que son proteínas amiloidogénicas con propiedades priónicas implicadas en esas enfermedades, pero sin ortólogos aparentes en levadura (Figura 4) (Fruhmann *et al.*, 2017).

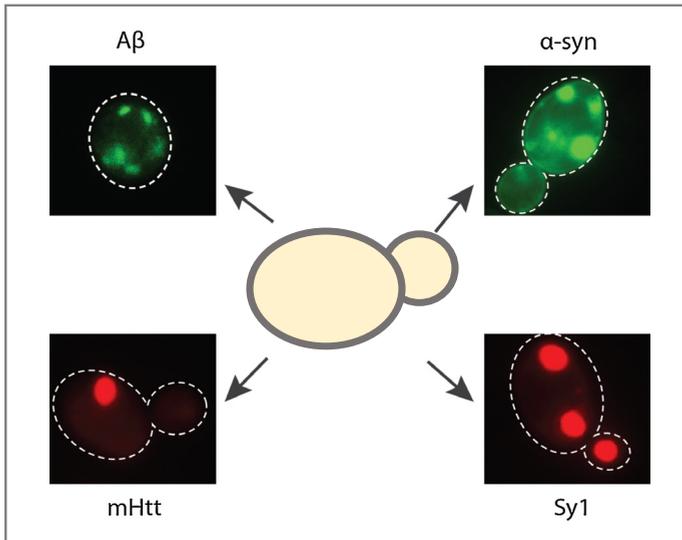


Figura 4. Agregación de proteínas implicadas en enfermedades neurodegenerativas en células de levadura. Microscopía de fluorescencia de beta-amiloide, alfa-sinucleína, huntingtina mutante (mHtt) y sinfilina 1 (Sy1). Tomado de Fruhmann *et al.* (2017).

A pesar de las limitaciones lógicas que ofrece un organismo unicelular para representar una patología cerebral humana, las investigaciones realizadas en levadura en este campo justifican plenamente su valor como modelo de exploración inicial de las bases moleculares y celulares de este tipo de enfermedades (Tabla I).

Tabla I. Trastornos neurológicos humanos modelizados en levadura. Adaptado de Outeiro (2003) y Winderickx *et al.* (2008).

Enfermedad	Proteína humana expresada	Ortólogo en levadura
Huntington y trastornos PoliQ*	Huntingtina	No
Parkinson y sinucleopatías*	α -Sinucleína y	No
	Sinfilina-1	No
Alzheimer y taupatías*	Tau y APP	No
Enfermedades priónicas*	PrP	No (tiene priones)
Esclerosis lateral amiotrófica*	SOD-1	Si
Ataxia de Friedreich	Frataxina	Si
Enfermedad de Batten	CLN1 y CLN3	Si
Enfermedad de Niemann-Pick	NPC1	Si
Paraplejía espástica hereditaria	Paraplejina	Si

APP: Proteína precursora de amiloide; SOD: superóxido dismutasa; CLN: Lipofuscinosis neuronal ceroida; NPC: Niemann-Pick tipo C. * Se producen agregados

Susan Lindquist, una de las pioneras en la modelización de neuropatías en levadura, tuvo la intuición del potencial de este sistema microbiano a finales de los años 90, y así lo reflejó en la Conferencia de líderes distinguidos de la Ciencia de Budapest en 1999:

«¿Qué tienen en común las “vacas locas”, las personas con enfermedades neurodegenerativas y un tipo inusual de herencia en la levadura? Todos están experimentando

las consecuencias de las proteínas mal plegadas... En los humanos, las consecuencias pueden ser mortales y provocar enfermedades tan devastadoras como la enfermedad de Alzheimer. En algún caso, la proteína mal plegada no solo es mortal para el desafortunado individuo en el que apareció, sino que aparentemente puede transmitirse de un individuo a otro en circunstancias especiales, produciendo enfermedades neurodegenerativas infecciosas como la enfermedad de las vacas locas en el ganado y la de Creutzfeldt–Jacob en humanos... En la levadura se ha demostrado que opera un proceso similar. Aquí, el mal plegamiento no causa enfermedad, pero cambia el metabolismo celular... A medida que hemos aprendido más del proceso de plegamiento incorrecto en levaduras, nos hemos dado cuenta de que proporciona un excelente modelo para entender este proceso en humanos».

Cuando esta investigadora falleció en 2017, sus colaboradores publicaron un artículo in memoriam, titulado “De la levadura a los pacientes: la audacia y visión de Susan Lindquist” que resume sus relevantes aportaciones a la comprensión de la enfermedad de Parkinson y a la identificación de posibles agentes terapéuticos con aplicación clínica (Khurana *et al.*, 2017). En él destacan la tenacidad y esfuerzo de Susan Lindquist en defensa de su trabajo con la “humilde” levadura frente al escepticismo inicial hacia su estrategia por parte de la comunidad científica. Tras sus primeros estudios sobre las proteínas de estrés térmico y los priones de *S. cerevisiae*, en 2003 publicó su primer artículo sobre la humanización de la levadura con la alfa-sinucleína en la prestigiosa revista *Science* (Willingham *et al.*, 2003). La sobreexpresión de esta proteína es tóxica en este sistema, proporcionando una plataforma de interferencia que le permitió realizar un screening sobre la colección genómica de mutantes de levadura y encontrar una conexión con el metabolismo de lípidos y el tráfico de proteínas. Sus trabajos posteriores demostraron que los mecanismos de toxicidad descubiertos en la levadura estaban conservados en neuronas de metazoos, desde el gusano, mosca y ratón al ser humano. Además, los compuestos que encontró que eran capaces de combatir los efectos tóxicos de la acumulación de alfa-sinucleína en la levadura humanizada, también revertían los signos patológicos en neuronas cultivadas procedentes de pacientes.

El laboratorio de Lindquist, aunque principalmente enfocado en Parkinson, fue también el primero en generar un modelo para la enfermedad de Huntington en levadura (Krobitsch y Lindquist, 2000). Esta patología se enmarca entre las denominadas enfermedades poliQ, que agrupan al menos nueve trastornos neurológicos hereditarios (Cohen-Carmon y Meshorer, 2012). La enfermedad de Huntington se produce por un defecto en el gen que codifica la huntingtina, una proteína que contiene en su extremo una región poli-glutámica (poliQ) y que, como el resto de las proteínas implicadas en dichos trastornos, es susceptible de expandirse por repetición del correspondiente triplete CAG. Cuando la región poliQ supera las 40 glutaminas, forma agregados y resulta tóxica para las neuronas, desarrollándose esta enfermedad neurodegenerativa. Cuanto mayor es la expansión poliQ, más rápidamente se produce la agregación y más temprano se manifiesta la patología. La expresión en levadura de versiones de huntingtina con diferentes regiones poliQ (de 25 a 103 glutaminas) recapituló fielmente los fenotipos de las proteínas normales y las proteínas patológicas, siendo el grado de agregación y toxicidad proporcional al número de repeticiones. Gracias a este efecto tóxico sobre la levadura, se han podido identificar algunos de los procesos y factores implicados, como la autofagia, la endocitosis, el citoesqueleto o el sistema de chaperonas (Fruhmann *et al.*, 2017), así como compuestos capaces de suprimir la agregación y reducir la toxicidad (Outeiro y Giorgini, 2006). Varios de los hallazgos en este modelo han podido ser también validados en modelos de mamífero e incluso en pacientes. Muchos laboratorios han utilizado la levadura para estudiar diferentes enfermedades neurodegenerativas (Tabla I), de los que los anteriormente descritos son solo algunos ejemplos que sirven para poner de manifiesto su destacable rendimiento en este ámbito.

Modelos de levadura en la lucha contra el cáncer

Son muchos los aspectos relacionados con la proliferación celular cuyos estudios en levadura han contribuido muy significativamente al avance en el conocimiento molecular del cáncer. Con este objetivo también se han desarrollado sistemas de levadura humanizada, algunos de los cuales se muestran en la Tabla II. Hay proteínas humanas que son clave para el control del ciclo celular, como la GTPasa Ras, que pueden reemplazar a las correspondientes proteí-

nas ortólogas en *S. cerevisiae*, lo que permite establecer fácilmente ensayos de complementación. Pero, de nuevo, incluso proteínas sin ortólogos, también pueden propiciar el desarrollo de ensayos de interferencia muy útiles para los estudios oncológicos.

Tabla II. Principales modelos de levadura humanizada en investigación en cáncer (Coronas-Serna *et al.*, 2020).

Proteína humana expresada	Función en relación con el cáncer	Ortólogo en levadura
Bax	Supresor de tumores pro-apoptótico	No
Bcl-2	Oncogen anti-apoptótico	No
BRCA2	Supresor de tumores implicado en reparación de ADN	No
H-Ras and K-Ras	Oncogenes responsables del control de la progresión de ciclo celular	Si
PKC α	Oncogén implicado en proliferación, apoptosis y diferenciación	Si
PI3K/PTEN/Akt	Oncogén/Oncogén/Supresor de tumores. Ruta implicada en el control de la proliferación y la apoptosis	No
p53	Supresor de tumores implicado en la regulación del ciclo celular	No
Mdm2	Oncogén responsable de la degradación de p53	No
PDGFR β	Receptor tirosín quinasa del factor de crecimiento derivado de plaquetas β relacionado con la leucemia mielomonocítica crónica	No
EGFR	Receptor tirosín quinasa del factor de crecimiento epidérmico implicado en proliferación celular y supervivencia.	No
Src kinases: SRC and CSK	Oncogenes implicados en proliferación celular, supervivencia y angiogénesis	No
Mlh1	Supresor de tumores implicado en el sistema de reparación de ADN post-replicativo	Si
APC	Supresor de tumores y componente de la ruta de señalización Wnt	No
Shc	Oncogén que acopla los receptores de factores de crecimiento activados con las rutas de señalización	No

Uno de los casos ilustrativos de este segundo tipo es la reconstitución de la ruta PI3K/PTEN/AKT, realizada por nuestro grupo de investigación hace más de una década (Coronas-Serna *et al.*, 2020). El modelo de levadura humanizada con esta ruta oncogénica nos ha servido para establecer colaboraciones científicas muy fructíferas con investigadores especialistas en cáncer, con los que explorar y explotar este modelo al máximo.

La levadura carece de fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) de clase I, enzima que en las células humanas convierte un lípido de la membrana plasmática, el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato o PIP2, en fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato o PIP3. El PIP3 es un segundo mensajero clave para la señalización celular, que interviene en numerosos procesos a través de la regulación de distintas proteínas, entre ellas la proteína quinasa Akt. El PIP3 propicia la unión de Akt a la membrana donde es activada mediante fosforilación por unas quinasas específicas. La función de Akt es activar la proliferación celular e inhibir la apoptosis, por lo que una hiperactivación desmedida de esta ruta es oncogénica. Para controlar este proceso, las células poseen una fosfatidilinositol fosfatasa, denominada PTEN, capaz de catalizar la reacción inversa a la que realiza la PI3K, al convertir el PIP3 en PIP2. Por ello PTEN se considera una proteína supresora de tumores. La acción balanceada de estas dos enzimas, PI3K y PTEN, es crucial para mantener una proliferación celular normal, por lo que tanto mutaciones de hiperactivación de PI3K o Akt como mutaciones de pérdida de función de PTEN están ampliamente asociadas a la producción de tumores muy diversos. En un análisis reciente del espectro mutacional en cánceres humanos utilizando la base de datos COSMIC, PI3K ocupó la cuarta y PTEN la decimocuarta posición entre los cincuenta genes más mutados (Tan *et al.*, 2015).

La humanización de la levadura con esta ruta se inició con la introducción de un plásmido portador del gen codificante de la subunidad catalítica p110 de la PI3K humana, controlado por un promotor fuerte, reprimible por glucosa e inducible por galactosa (*GALI*). La sobreproducción de esta proteína en medios con galactosa provocó un fenotipo de toxicidad, fácilmente observable por la inhibición del crecimiento celular (Figura 5). La causa es la eliminación del PIP2 de la membrana plasmática, que es un lípido esencial para la levadura, como lo es el PIP3 para las células humanas.

Por tanto, aunque la levadura no tiene PI3K propia ni tampoco PIP3 en su membrana, al tener PIP2, la proteína humana puede actuar sobre su sustrato y con ello interferir con la homeostasis lipídica de la membrana de la levadura. El ensayo se validó mediante la comprobación de la pérdida de toxicidad al mutar el residuo esencial del centro catalítico de la PI3K.

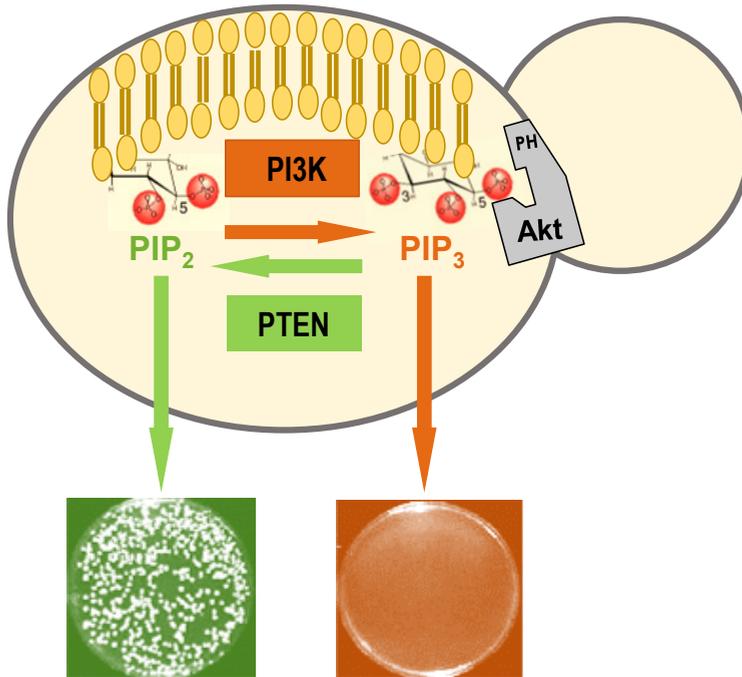


Figura 5. Modelo de levadura humanizada con la ruta PI3K/PTEN/Akt.

La toxicidad de PI3K también se eliminaba cuando se producía a la vez PTEN, pero no cuando se producía una versión inactiva de esta fosfatasa, lo que demostró que ambas proteínas humanas estaban llevando a cabo su actividad catalítica adecuadamente en la levadura, reproduciendo la función que tiene en la célula humana de mantener una concentración equilibrada de estos lípidos en la membrana (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2005).

Cuando se introdujo Akt a la vez que PI3K en el modelo, también se reprodujo el reclutamiento a la membrana plasmática de esta proteína quinasa por el PIP3 generado por la PI3K. En esta localización, Akt se fosforilaba y activaba por proteínas quinasas de levadura, en este caso ortólogas de las que lo hacen en las células humanas, PDK1 y mTORC2. Este proceso puede monitorizarse observando al microscopio la localización celular de Akt fusionada a GFP y, bioquímicamente, por inmunodetección de las formas fosforiladas de esta quinasa con anticuerpos específicos (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2009).

La reconstitución de la ruta PI3K/PTEN/Akt en este modelo microbiano ha permitido analizar su estructura y función, conocer el efecto de mutaciones conocidas en PI3K y PTEN asociadas a cáncer, así como a autismo y otros síndromes en el caso de PTEN. También ha sido posible anticipar nuevas mutaciones con potencial oncogénico a través de análisis mutagénicos dirigidos y al azar (Rodríguez-Escudero *et al.*, 2011). Además, el uso de esta levadura humanizada como plataforma de rastreo ha permitido identificar, de forma sencilla y muy económica, pero con alta especificidad y sensibilidad, compuestos inhibidores de PI3K con posible actividad antitumoral, en colaboración con la Fundación MEDINA (Centro de excelencia en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos) (Fernández-Acero *et al.*, 2012). Este modelo, que nuestro grupo ha seguido explotando y evolucionando para incrementar su versatilidad (Coronas-Serna *et al.*, 2018), ha sido también cedido a otros investigadores que lo han implementado en su laboratorio, lo que ha aumentado su alcance y posibilidades de aplicación.

Como reflexión final, no hay que olvidar que la producción en levadura de proteínas relacionadas con patologías humanas no solo resulta muy eficaz para analizar los mecanismos moleculares y celulares de dichas enfermedades, sino que ofrece una oportunidad muy interesante de profundizar en la propia biología de este microorganismo. Estas proteínas son herramientas con las que se pueden modificar los procesos celulares de la levadura y analizar las consecuencias fisiológicas, proporcionando respuestas a algunas preguntas que, posiblemente, no se conseguirían contestar de otra manera.

VI. EPÍLOGO

Durante este discurso he querido poner en valor la importancia de los microorganismos para el avance científico en muy diversos campos: desde la Biología fundamental a la Biomedicina o la Biotecnología, rindiendo de esta manera un merecido tributo al mundo microbiano. Este mundo que, como decía al principio de mi disertación, no solo es fascinante cuando se tienen los medios para visualizarlo, sino que es extremadamente revelador cuando se dispone de las herramientas para analizarlo en profundidad. La posibilidad de modelizar procesos humanos verdaderamente complejos en sistemas tan simples y fáciles de manejar como una bacteria o una levadura, es uno de los tantos beneficios que nos ofrece este mundo microscópico. Los ejemplos expuestos son un claro reflejo del éxito logrado. Sin embargo, no he querido eludir las limitaciones que presentan los modelos biológicos. Por el contrario, mi intención ha sido reflexionar sobre la importancia de asumirlas para comprender el alcance real de lo que representa cada modelo.

Como decía Sydney Brenner “El progreso en ciencia depende de nuevas técnicas, nuevos descubrimientos y nuevas ideas”. Espero haberles convencido de que los estudios microbianos y sus investigadores han proporcionado y siguen proporcionando unas buenas dosis de estos tres elementos esenciales.

He dicho.

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Amundson, R., 2005. The changing role of the embryo in evolutionary thought: roots of evo-devo, Cambridge studies in philosophy and biology. Cambridge University Press, Cambridge ; New York.
- Annaluru, N., Muller, H., Mitchell, L.A., et al, 2014. Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome. *Science* 344, 55–58.
- Avery, O.T., Macleod, C.M., McCarty, M., 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types : induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.* 79, 137–158.
- Baquero, F., Nombela, C., 2012. The microbiome as a human organ. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18 Suppl 4, 2–4.
- Barbadilla, A., 1999. La selección natural: “Me replicó, luego existo” a ‘Evolución y Filogenia de Arthropoda’. *Bol SEA* 26, 605–612.
- Bechtel, W., 2011. Mechanism and biological explanation. *Philos. Sci.* 78.
- Blobel, G., 2000. Protein targeting (Nobel lecture). *ChemBiochem Eur. J. Chem. Biol.* 1, 86–102.
- Botstein, D., Chervitz, S.A., Cherry, J.M., 1997. Yeast as a model organism. *Science* 277, 1259–1260.
- Botstein, D., Fink, G.R., 2011. Yeast: An Experimental Organism for 21st Century Biology. *Genetics* 189, 695–704.
- Brenner, S., 2003. Nobel lecture. Nature’s gift to science. *Biosci. Rep.* 23, 225–237.
- Chen, R.E., Thorner, J., 2007. Function and regulation in MAPK signaling pathways: lessons learned from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta* 1773, 1311–1340.
- Cohen, S.N., Chang, A.C.Y., Boyer, H.W., Helling, R.B., 1973. Construction of Biologically Functional Bacterial Plasmids *In Vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 70, 3240–3244.
- Cohen-Carmon, D., Meshorer, E., 2012. Polyglutamine (polyQ) disorders: the chromatin connection. *Nucl. Acids Res.* 40, 433–441.
- Collins, F.S., Varmus, H., 2015. A new initiative on precision medicine. *N. Engl. J. Med.* 372, 793–795.
- Coronas-Serna, J.M., Fernández-Acero, T., Molina, M., Cid, V.J., 2018. A humanized yeast-based toolkit for monitoring phosphatidylinositol 3-kinase activity at both single cell and population levels. *Microb. Cell Graz Austria* 5, 545–554.
- Coronas-Serna, J.M., Valenti, M., Del Val, E., Fernández-Acero, T., Rodrí-

guez-Escudero, I., Mingo, J., Luna, S., Torices, L., Pulido, R., Molina, M., Cid, V.J., 2020. Modeling human disease in yeast: recreating the PI3K-PTEN-Akt signaling pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Int. Microbiol.* 23, 75–87.

Costanzo, M., Kuzmin, E., van Leeuwen, J., Mair, B., Moffat, J., Boone, C., Andrews, B., 2019. Global Genetic Networks and the Genotype-to-Phenotype Relationship. *Cell* 177, 85–100.

de Lorenzo, V., Krasnogor, N., Schmidt, M., 2021. For the sake of the Bioeconomy: define what a Synthetic Biology Chassis is! *New Biotechnol.* 60, 44–51.

Denoth Lippuner, A., Julou, T., Barral, Y., 2014. Budding yeast as a model organism to study the effects of age. *FEMS Microbiol. Rev.* 38, 300–325.

Des Marais, D.J., Nuth, J.A., Allamandola, L.J., Boss, A.P., Farmer, J.D., Hoehler, T.M., Jakosky, B.M., Meadows, V.S., Pohorille, A., Runnegar, B., Spormann, A.M., 2008. The NASA Astrobiology Roadmap. *Astrobiology* 8, 715–730.

Diéguez, A., 2013. La función explicativa de los modelos en biología. *Contrastes Rev. Int. Filos. Supl.* 18, 41–54.

Douzery, E.J.P., Snell, E.A., Baptiste, E., Delsuc, F., Philippe, H., 2004. The timing of eukaryotic evolution: does a relaxed molecular clock reconcile proteins and fossils? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 15386–15391.

Duina, A.A., Miller, M.E., Keeney, J.B., 2014. Budding Yeast for Budding Geneticists: A Primer on the *Saccharomyces cerevisiae* Model System. *Genetics* 197, 33–48.

Fernández-Acero, T., Rodríguez-Escudero, I., Vicente, F., Monteiro, M.C., Torro, J.R., Cantizani, J., Molina, M., Cid, V.J., 2012. A yeast-based *in vivo* bioassay to screen for class I phosphatidylinositol 3-kinase specific inhibitors. *J. Biomol. Screen.* 17, 1018–1029.

Fruhmman, G., Seynnaeve, D., Zheng, J., Ven, K., Molenberghs, S., Wilms, T., Liu, B., Winderickx, J., Franssens, V., 2017. Yeast buddies helping to unravel the complexity of neurodegenerative disorders. *Mech. Ageing Dev.* 161, 288–305.

Gibson, D.G., Glass, J.I., Lartigue, C., Noskov, V.N., Chuang, R.-Y., Algire, M.A., Benders, G.A., Montague, M.G., Ma, L., Moodie, M.M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E.A., Young, L., Qi, Z.-Q., Segall-Shapiro, T.H., Calvey, C.H., Parmar, P.P., Hutchison, C.A., Smith, H.O., Venter, J.C., 2010. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329, 52–56.

Gómez Córdoba, A.I., 2011. La Medicina Genómica un cambio de paradigma de la Medicina Moderna. Retos para la Bioética y el Derecho. *Rev. Latinoam. Bioét.* 11, 72–85.

González-Rubio, G., Sellers-Moya, Á., Martín, H., Molina, M., 2021. A walk-through MAPK structure and functionality with the 30-year-old yeast MAPK Slt2. *Int. Microbiol.* Online ahead of print.

- Grunberg-Manago, M., Oritz, P.J., Ochoa, S., 1955. Enzymatic synthesis of nucleic acidlike polynucleotides. *Science* 122, 907–910.
- Hartwell, L.H., 2002. Nobel Lecture. Yeast and cancer. *Biosci. Rep.* 22, 373–394.
- Hoffman, C.S., Wood, V., Fantes, P.A., 2015. An Ancient Yeast for Young Geneticists: A Primer on the *Schizosaccharomyces pombe* Model System. *Genetics* 201, 403–423.
- Hohmann, S., 2016. Nobel Yeast Research. *FEMS Yeast Res.* 16, fow094.
- Hutchison, C.A., Chuang, R.-Y., Noskov, V.N., Assad-Garcia, N., Deerinck, T.J., Ellisman, M.H., Gill, J., Kannan, K., Karas, B.J., Ma, L., Pelletier, J.F., Qi, Z.-Q., Richter, R.A., Strychalski, E.A., Sun, L., Suzuki, Y., Tsvetanova, B., Wise, K.S., Smith, H.O., Glass, J.I., Merryman, C., Gibson, D.G., Venter, J.C., 2016. Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science* 351, aad6253.
- Idalia, V.-M.N., Bernardo, F., 2017. *Escherichia coli* as a Model Organism and Its Application in Biotechnology, in: Samie, A. (Ed.), *Escherichia coli* - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications. InTech.
- Jackson, D.A., Symons, R.H., Berg, P., 1972. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of Simian Virus 40: circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 69, 2904–2909.
- Jacob, F., 1997. El juego de lo posible. Grijalbo Mondadori, Barcelona.
- Jacob, F., Monod, J., 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* 3, 318–356.
- Jouhten, P., Boruta, T., Andrejev, S., Pereira, F., Rocha, I., Patil, K.R., 2016. Yeast metabolic chassis designs for diverse biotechnological products. *Sci. Rep.* 6, 29694.
- Kaas, R.S., Friis, C., Ussery, D.W., Aarestrup, F.M., 2012. Estimating variation within the genes and inferring the phylogeny of 186 sequenced diverse *Escherichia coli* genomes. *BMC Genomics* 13, 577.
- Kachroo, A.H., Laurent, J.M., Yellman, C.M., Meyer, A.G., Wilke, C.O., Marcotte, E.M., 2015. Evolution. Systematic humanization of yeast genes reveals conserved functions and genetic modularity. *Science* 348, 921–925.
- Khurana, V., Chung, C.Y., Tardiff, D.F., 2017. From Yeast to Patients: The Audacity and Vision of Susan Lindquist. *Cell Syst.* 4, 147–148.
- Khurana, V., Lindquist, S., 2010. Modelling neurodegeneration in *Saccharomyces cerevisiae*: why cook with baker's yeast? *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 436–449.
- Kornberg, R., 2007. The molecular basis of eukaryotic transcription (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 46, 6956–6965.

- Krobitch, S., Lindquist, S., 2000. Aggregation of huntingtin in yeast varies with the length of the polyglutamine expansion and the expression of chaperone proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 1589–1594.
- Kuhn, T.S., 1986. *La estructura de las revoluciones científicas*. Fondo de Cultura Económica, Madrid.
- Laurent, J.M., Young, J.H., Kachroo, A.H., Marcotte, E.M., 2016. Efforts to make and apply humanized yeast. *Brief. Funct. Genomics* 15, 155–163.
- Lehman, I.R., Bessman, M.J., Simms, E.S., Kornberg, A., 1958. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 233, 163–170.
- Luria, S.E., Delbrück, M., 1943. Mutations of Bacteria from Virus Sensitivity to Virus Resistance. *Genetics* 28, 491–511.
- Maneira, C., Bermejo, P.M., Pereira, G.A.G., de Mello, F. da S.B., 2021. Exploring G protein-coupled receptors and yeast surface display strategies for viral detection in baker's yeast: SARS-CoV-2 as a case study. *FEMS Yeast Res.* 21, foab004.
- Marín-Gallego, J.D., 2007. Del concepto de paradigma en Thomas S. Kuhn, a los paradigmas de las ciencias de la cultura. *Magistro* 1, 73–88.
- McGary, K.L., Park, T.J., Woods, J.O., Cha, H.J., Wallingford, J.B., Marcotte, E.M., 2010. Systematic discovery of nonobvious human disease models through orthologous phenotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 6544–6549.
- Meselson, M., Stahl, F.W., 1958. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 44, 671–682.
- Mizushima, N., 2017. The exponential growth of autophagy-related research: from the humble yeast to the Nobel Prize. *FEBS Lett.* 591, 681–689.
- Mojica, F.J., Díez-Villaseñor, C., Soria, E., Juez, G., 2000. Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. *Mol. Microbiol.* 36, 244–246.
- Montoliu, L., Martínez Mojica, F.J., 2020. *Editando genes: recorta, pega y colorea : las maravillosas herramientas CRISPR*. Next Door Publishers, Pamplona.
- Nombela, C., Arroyo, J., Molina, M., 2018. *Microbiología eucariótica: la levadura, un modelo experimental para señalización y reprogramación celular*. *SEBBM* 197, 23–28.
- Novick, P., Ferro, S., Schekman, R., 1981. Order of events in the yeast secretory pathway. *Cell* 25, 461–469.
- O'Brien, K.P., Remm, M., Sonnhammer, E.L.L., 2005. Inparanoid: a comprehensive database of eukaryotic orthologs. *Nucleic Acids Res.* 33, D476-480.

- Osorio Abarzúa, C.G., 2020. Leeuwenhoek and his little animals. *Rev. Chil. Infectología Organo Of. Soc. Chil. Infectología* 37, 762–766.
- Outeiro, T.F., 2003. Yeast Cells Provide Insight into Alpha-Synuclein Biology and Pathobiology. *Science* 302, 1772–1775.
- Outeiro, T.F., Giorgini, F., 2006. Yeast as a drug discovery platform in Huntington's and Parkinson's diseases. *Biotechnol. J.* 1, 258–269.
- Pallen, M.J., 1999. Microbial genomes. *Mol. Microbiol.* 32, 907–912.
- Perna, N.T., Plunkett, G., Burland, V., Mau, B., Glasner, J.D., Rose, D.J., Mayhew, G.F., Evans, P.S., Gregor, J., Kirkpatrick, H.A., Pósfai, G., Hackett, J., Klink, S., Boutin, A., Shao, Y., Miller, L., Grotbeck, E.J., Davis, N.W., Lim, A., Dimalanta, E.T., Potamouisis, K.D., Apodaca, J., Anantharaman, T.S., Lin, J., Yen, G., Schwartz, D.C., Welch, R.A., Blattner, F.R., 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 409, 529–533.
- Pretorius, I.S., 2020. Tasting the terroir of wine yeast innovation. *FEMS Yeast Res.* 20, foz084.
- Pretorius, I.S., Boeke, J.D., 2018. Yeast 2.0-connecting the dots in the construction of the world's first functional synthetic eukaryotic genome. *FEMS Yeast Res.* 18.
- Raju, T.N., 1999. The Nobel Chronicles. *The Lancet* 353, 2082.
- Rodríguez-Escudero, I., Andrés-Pons, A., Pulido, R., Molina, M., Cid, V.J., 2009. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation of mammalian protein kinase B/Akt in *Saccharomyces cerevisiae*, an *in vivo* model for the functional study of Akt mutations. *J. Biol. Chem.* 284, 13373–13383.
- Rodríguez-Escudero, I., Oliver, M.D., Andrés-Pons, A., Molina, M., Cid, V.J., Pulido, R., 2011. A comprehensive functional analysis of PTEN mutations: implications in tumor- and autism-related syndromes. *Hum. Mol. Genet.* 20, 4132–4142.
- Rodríguez-Escudero, I., Roelants, F.M., Thorner, J., Nombela, C., Molina, M., Cid, V.J., 2005. Reconstitution of the mammalian PI3K/PTEN/Akt pathway in yeast. *Biochem. J.* 390, 613–623.
- Ruiz, G., López, M., García, M.V., España, G., 2006. *Biología sintética: informe de vigilancia tecnológica, Biología sintética: informe de vigilancia tecnológica. Genoma España.*
- Sanchez-Garcia, L., Martín, L., Mangués, R., Ferrer-Miralles, N., Vázquez, E., Villaverde, A., 2016. Recombinant pharmaceuticals from microbial cells: a 2015 update. *Microb. Cell Factories* 15, 33.
- Sapag-Hagar, M., 2002. Los universales biomoleculares y la unidad bioquímica del hombre sus proyecciones biomédicas. *An. Real Acad. Dr.* 6, 143–174.

- Schekman, R., 2015. The genes and proteins which control the process of secretion. *Biol. Aujourd'hui* 209, 35–61.
- Shallcross, L.J., Howard, S.J., Fowler, T., Davies, S.C., 2015. Tackling the threat of antimicrobial resistance: from policy to sustainable action. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 370, 20140082.
- Sims, E.K., Carr, A.L.J., Oram, R.A., DiMeglio, L.A., Evans-Molina, C., 2021. 100 years of insulin: celebrating the past, present and future of diabetes therapy. *Nat. Med.* 27, 1154–1164.
- Skrzypek, M.S., Nash, R.S., Wong, E.D., MacPherson, K.A., Hellerstedt, S.T., Engel, S.R., Karra, K., Weng, S., Sheppard, T.K., Binkley, G., Simison, M., Miyasato, S.R., Cherry, J.M., 2018. *Saccharomyces* genome database informs human biology. *Nucleic Acids Res.* 46, D736–D742.
- Sonnhammer, E.L.L., Koonin, E.V., 2002. Orthology, paralogy and proposed classification for paralog subtypes. *Trends Genet.* 18, 619–620.
- Tan, H., Bao, J., Zhou, X., 2015. Genome-wide mutational spectra analysis reveals significant cancer-specific heterogeneity. *Sci. Rep.* 5, 12566.
- Tsien, R.Y., 2009. Constructing and exploiting the fluorescent protein paintbox (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 48, 5612–5626.
- Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., *et al.*, 2001. The Sequence of the Human Genome. *Science* 291, 1304–1351.
- Walker, R., Pretorius, I., 2018. Applications of Yeast Synthetic Biology Geared towards the Production of Biopharmaceuticals. *Genes* 9, 340.
- Wang, X., van Westen, G.J.P., Heitman, L.H., IJzerman, A.P., 2021. G protein-coupled receptors expressed and studied in yeast. The adenosine receptor as a prime example. *Biochem. Pharmacol.* 187, 114370.
- Watson, J.D., Crick, F.H., 1953. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171, 737–738.
- Whittemore, K., Vera, E., Martínez-Nevado, E., Sanpera, C., Blasco, M.A., 2019. Telomere shortening rate predicts species life span. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 15122–15127.
- Willingham, S., Outeiro, T.F., DeVit, M.J., Lindquist, S.L., Muchowski, P.J., 2003. Yeast genes that enhance the toxicity of a mutant huntingtin fragment or alpha-synuclein. *Science* 302, 1769–1772.
- Winderickx, J., Delay, C., De Vos, A., Klinger, H., Pellens, K., Vanhelmont, T., Van Leuven, F., Zabrocki, P., 2008. Protein folding diseases and neurodegeneration: Lessons learned from yeast. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 1783, 1381–1395.

Yang, D., Zhou, Q., Labroska, V., Qin, S., Darbalaei, S., Wu, Y., Yuliantie, E., Xie, L., Tao, H., Cheng, J., Liu, Q., Zhao, S., Shui, W., Jiang, Y., Wang, M.-W., 2021. G protein-coupled receptors: structure- and function-based drug discovery. *Signal Transduct. Target. Ther.* 6, 7.

Yu, D., Banting, G., Neumann, N.F., 2021. A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol.* 67, 553–571.

Zuckerlandl, E., Pauling, L., 1965. Molecules as documents of evolutionary history. *J. Theor. Biol.* 8, 357–366.

Zwart, H., 2010. The Nobel Prize as a Reward Mechanism in the Genomics Era: Anonymous Researchers, Visible Managers and the Ethics of Excellence. *J. Bioethical Inq.* 7, 299–312.

**CONTESTACIÓN DEL
EXCELENTÍSIMO SEÑOR DON CÉSAR NOMBELA CANO**

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Autoridades

Excelentísimos señoras y señores académicos. Señoras y señores

Quiero comenzar expresando la alegría y la satisfacción que siento por el encargo que me ha hecho la Real Academia Nacional de Farmacia -un encargo que cumpla con sumo gusto- el de dar la bienvenida a una nueva académica en nombre de esta Real Corporación, contestando al discurso de la Dra. María Molina Martín.

Muy grato es saludar a su familia presente entre nosotros, a su marido, el arquitecto y escultor Juan Ramón Martín, y a sus tres hijas Natalia, Teresa y Verónica. Gracias por vuestra compañía.

Actos como el que celebramos hoy tienen mucho de fiesta, de satisfacción, porque nuestra tarea se verá sin duda enriquecida al incorporar a otra persona más al grupo de nuestros pares. Por eso, en las reales academias, fieles a tradiciones que mantenemos sobre todo para mirar al futuro, sesiones como la de hoy implican vestir de etiqueta. Enraizados en el pasado ilustrado que alumbró las reales academias, aspiramos a proseguir esa tarea como los tiempos demandan.

Hay muchas formas de ver la vida de las reales academias del Instituto de España. Para mí, constituyen un ámbito para el disfrute intelectual que implica el conocer y debatir, con libertad y rigor, sobre tantas cuestiones que están en el ámbito del conocimiento más avanzado, en las fronteras del progreso de la investigación. Nada debe distraer al mundo académico de la ambición intelectual de entender la realidad, de interpretar el mundo, desde el campo que a cada corporación le es propio, y todo ello al servicio de la sociedad española y su progreso al que nos debemos.

Permítanme, además, expresar algún aspecto más de mi alegría al contestar al magnífico discurso que acabamos de escuchar. La Dra. Molina ocupa la medalla que dejó vacante quien fuera un académico distinguido, además de Director durante tres años de esta casa, el Dr. Julio Rodríguez-Villanueva. Fue el profesor Villanueva el impulsor de una escuela científica y académica, con impacto en la investigación y en la universidad, tanto en España como fuera, de la que tanto nuestra nueva académica como yo formamos parte.

Desde los cincuenta del pasado siglo, Villanueva fue un convencido de que en España teníamos que aspirar a las mejores cotas en el desarrollo de la producción científica. Siguiendo las propuestas y el liderazgo de esos dos grandes gigantes que fueron Santiago Ramón y Cajal y Severo Ochoa, se propuso impulsar una verdadera escuela académica y científica.

En la sesión necrológica del Profesor Villanueva, celebrada en esta Real Academia en abril de 2018, tuve ocasión de glosar su personalidad marcada especialmente por su dimensión de maestro inspirador de carreras científicas, que tanto impacto tendría en momentos singulares de nuestra historia reciente en España. Aspirar a moldear nuestro futuro como sociedad, para asentar mejor nuestras aportaciones al mundo del conocimiento, es lo que caracteriza a los verdaderos líderes.

La escuela científica de Salamanca, la de Villanueva, que por ambas denominaciones fue conocida, se proyectó de manera especial en la universidad. Se puede decir, que la Escuela de Villanueva es una verdadera historia de éxito materializado en el campo de la Microbiología.

Como discípulo directo del profesor Villanueva, también he tenido la fortuna de poder guiar los inicios y el desarrollo de trayectorias de personas que, motivadas por la investigación, asumieron con entusiasmo el reto de su formación científica y con el devenir de los años han podido transitar con entusiasmo por la ruta de la docencia universitaria fundamentada en la investigación, o, si se quiere, por la vía de la investigación científica que se proyecta en la docencia universitaria de farmacéuticos y otros graduados.

La pertenencia de cualquiera de nosotros a esta Real Academia se basa en el campo científico que cultivamos, pero sólo cobra sentido integrada en los objetivos de esta casa junto con el conjunto de los

académicos que la integran. Las Ciencias Farmacéuticas y todos los territorios afines, el objeto de esta corporación, representan hoy día un espacio en donde el avance del conocimiento y el desarrollo de tecnologías se prodigan continuamente y se proyectan en planteamientos sanitarios con repercusiones, muchas veces inmediatas, en la salud y bienestar.

Me alegra por tanto mucho que la disciplina que profesamos el Profesor Villanueva y quien les habla tendrá continuidad, con renovados impulsos, e integrada en la Real Academia Nacional de Farmacia en la persona de la Dra. María Molina Martín.

María Molina, una destacada trayectoria universitaria

La doctora Molina se licenció en Farmacia en 1979. Pertenece a una promoción muy numerosa, en la que destacan bastantes de sus integrantes por haber desarrollado brillantes trayectorias profesionales. Se trata de la primera promoción a la que tuve el honor de impartir enseñanzas de Microbiología General en tercer curso, además de alguna materia más, opcional, en años posteriores. Tengo un vivo recuerdo de esos años, mis primeros como profesor en la facultad en la que había cursado la licenciatura; conservo incluso alguna caricatura de mi persona, producto del ingenio que muchas veces ha existido entre nuestros estudiantes y que en esta promoción se daba con intensidad.

Es, por tanto, en los finales de la década de los 70, cuando María finalizaba sus estudios de licenciatura. Aprendí de mi aludido maestro Villanueva a tratar de descubrir entre los estudiantes a aquellos que pudieran estar motivados y capacitados para adentrarse en la investigación. Así lo he practicado durante décadas, procurando mostrar un horizonte científico-académico por el que les interesase transitar, incluso aunque fuera en otra disciplina distinta de la mía. Fue al finalizar el curso 1978-79 cuando María Molina aceptó unirse a nuestro grupo, que estaba aún en sus inicios en la Facultad de Farmacia y desde luego pendiente de desarrollar una infraestructura material y humana, pero ya con la ambición de producir investigación y docencia de calidad.

El resumen de la biografía de la nueva académica es elocuente: licenciada en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid

(UCM) en junio de 1979, con calificación media final por encima del Sobresaliente, obteniendo también el Premio Extraordinario Complutense de Licenciatura; Doctora en Farmacia en 1985 con la calificación de sobresaliente cum laude y Premio Extraordinario de Doctorado. Destacó por tanto María, desde el principio, por su inteligencia y capacidad de esfuerzo, así como por su cercanía a todos para integrarse en grupo docente e investigador.

Profesora Ayudante desde 1983, realizó una estancia postdoctoral en la Universidad de Nottingham en el laboratorio de la Dra. Dobson (1987-88). No fue un periodo muy extenso, pero sí decisivo, tanto para la Dra. Molina como para nuestro grupo, que se vio enriquecido en sus capacidades investigadoras con nuevos métodos, para la ingeniería genética de levaduras, así como materiales de trabajo para todo ello.

La Dra. Molina accedió –por oposición de verdad- a la condición de Profesora Titular en Microbiología en nuestro departamento de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense en 1989. Posteriormente, ya 2001, también alcanzó la condición de Catedrática, en un concurso oposición en el que puedo atestiguar que el tribunal lo tuvo muy difícil por la calidad de los candidatos.

La dedicación a la docencia de María Molina se puede calificar, primero de vocacional, y desde ahí como rigurosa, detallista, muy didáctica y empática con los estudiantes, que en general así lo aprecian. Ha impartido docencia en varias asignaturas en las Licenciaturas y Grados de Farmacia y de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, así como en cursos de Doctorado, Másteres y Títulos propios de Tercer Ciclo. También es actualmente Coordinadora del “Máster en Microbiología y Parasitología: Investigación y Desarrollo” desde 2010, un máster interfacultativo de la Universidad Complutense.

María también ha sido directora del Departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia, entre 2001 y 2010, y puedo constatar que, más que por afán de mando, por espíritu de servicio; son tiempos en que la prestación gestora de la dirección de departamento requiere compromiso y dedicación, que se ha de restar a la tarea propia de estudio e investigación. Ejerció la dirección del Departamento en momentos de transición, con acierto y energía cuando fue necesario, pidió ser relevada cuando otras personas podían asumir la tarea.

Labor investigadora, encontrar un sistema experimental para hacerse preguntas

La investigación de nuestra nueva académica ha cubierto una notable diversidad de aproximaciones experimentales para contestar a distintas preguntas sobre Biología, Patogenicidad y Biotecnología microbianas, utilizando como sistemas de trabajo diversos microorganismos. Entre esos sistemas de trabajo destaca desde luego la especie eucariótica *Saccharomyces cerevisiae*, que por diversas razones a lo largo de la historia atrajo la atención de muchos investigadores y ha servido, desde Pasteur, como modelo con el que asentar conceptos de carácter general que hoy están bien establecidos en la ciencia.

Hay una continuidad lógica en el trabajo investigador desarrollado por María Molina, basado en las metodologías disponibles en cada momento, para plantear hipótesis atractivas que pudieran dar lugar a avances en el conocimiento fundamental. Con sus aportaciones ha contribuido a trazar un paisaje muy actual, sobre fenómenos biológicos de cuyo conocimiento se derivan aplicaciones.

Sus primeros pasos, los de su tesis doctoral se basaron en la Bioquímica microbiana, analizando la producción y relevancia fisiológica de algunas enzimas que modifican la pared celular propia. Por cierto, una estructura que aporta muchas dianas de antibióticos, especialmente en bacterias, pero no tanto en los hongos, en donde estas dianas están aún por ampliar y desarrollar.

Un salto definitivo en su trabajo investigador surgió con el descubrimiento en nuestro laboratorio de un gen que ha mencionado en su discurso, el gen *SLT2* de *S. cerevisiae*, en cuya caracterización estuvo implicada desde los comienzos. De la vía de señalización de “integridad celular”, que tan certeramente ha descrito en su discurso, definida por proteína quinasa Slt2, existen rutas homólogas en toda la escala biológica eucariótica, desde los microbios hasta el hombre.

La Dra. Molina dirige en la actualidad un grupo de investigación consolidado de la UCM (Transducción de señales en *Saccharomyces cerevisiae*) que también pertenece al Instituto Ramón y Cajal de Investigaciones Sanitarias (IRYCIS) desde 2009. Utilizando este sistema ha podido desarrollar avances en el conocimiento de la funcionalidad de esta ruta biológica, de lo que la misma aporta

al crecimiento y desarrollo de la célula, pero, sobre todo, ha planteado y puesto a punto este sistema para la expresión de genes procedentes de otros organismos.

La plataforma de expresión de genes heterólogos, desarrollada por el grupo de María Molina, se ha mostrado útil para reconstituir, en esta célula microbiana, no sólo genes funcionales de origen animal, humano o bacterianos, sino incluso grupos de genes cuya funcionalidad conjunta se desarrolla en la propia levadura. La plataforma de expresión de genes heterólogos, implicados en patología humana, como el cáncer (sistema de levadura humanizada con la ruta PI3K/PTEN/Akt) o en enfermedades infecciosas (factores de virulencia bacterianos), para estudios funcionales y rastreo farmacológico, se revela como una aportación destacada de nuestra nueva académica.

Su actividad investigadora se resume en la participación en más de 30 proyectos de investigación, subvencionados tanto por entidades nacionales como europeas, como los proyectos de genómica funcional de *S. cerevisiae* y *Aspergillus fumigatus*, siendo investigadora principal en más de la mitad de ellos. También en la dirección de 21 tesis doctorales. Los resultados han dado lugar a 3 patentes y 90 publicaciones en revistas científicas internacionales, destacando *Microbiology*, *Molecular Microbiology*, *Nature*, *Molecular Systems Biology*, *Human Molecular Genetics*, *Molecular and Cellular Proteomics*, *Oncogene*, *Cancer Research*, *Science Signaling*, *Genetics*, *Cellular Microbiology*, *Journal of Biological Chemistry*, *Infection and Immunity* y otras.

En una etapa temprana de su carrera ya fue Editora Asociada de la revista científica “*Microbiology*” de la Society for General Microbiology (UK). También ha sido Presidenta del grupo de Microbiología Molecular de la Sociedad Española de Microbiología entre 2009 y 2013; Académica correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia (RANF) desde 2011; Vicepresidenta segunda del Consejo Rector del Instituto Ramón y Cajal de Investigaciones Sanitarias (IRYCIS) desde 2010 a 2017; Vocal de la Comisión de Posgrado de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP) entre 2013 y 2018; y Miembro del Comité Asesor 5: Ciencias de la Naturaleza de la Comisión Nacional Evaluadora de la Actividad Investigadora (CNEAI) en 2018 y 2019. Recientemente los responsables de investigación de la Junta de Andalucía la han

invitado a actuar como Presidenta del área de Biología y Biotecnología de la Dirección de Evaluación y Acreditación de la Agencia Andaluza del Conocimiento (DEVA-AAC), desde 2020.

Concluyo este resumen de la biografía universitaria y científica de María Molina, en el que cabe resaltar su compromiso insobornable con la Ciencia, su eficaz y competente dedicación a la Universidad, su arraigo en la Facultad de Farmacia en la que ha prestado y presta destacados servicios y su ya extensa vinculación con esta Real Academia. En el trasfondo de todo ello está su capacidad para el trabajo, su adherencia a la cultura del esfuerzo y su motivación para integrarse en colaboraciones con colegas, muchos de ellos de otras instituciones extranjeras, así como su empática actitud para con los estudiantes, que le permite guiar y apoyar a muchos sin renunciar a la exigencia que se requiere para el logro de los mejores objetivos.

Discurso: un documentado recorrido por la fenomenología biológica

En su discurso de ingreso María Molina se plantea una meta ambiciosa: la de reflexionar sobre la fenomenología biológica, tal como hoy la podemos entender, interpretando las evidencias, observacionales y experimentales, que se han ido desarrollando a lo largo de muchas décadas, para desembocar en la situación actual. Con ello demuestra una vocación de interpretar la ciencia que practica, de establecer sus alcances, de definir su proyección y en definitiva de plantear lo que pueden significar para la vida del hombre actual y para el mundo en el que habita.

Entiendo como muy importante que los investigadores experimentales en Ciencias de la Vida, que naturalmente han de acotar los fenómenos que estudian para profundizar en infinitos detalles que permite la metodología actual, aspiren a derivar una verdadera cosmovisión que tenga en cuenta sus observaciones y hallazgos. No dudaría en recomendar la lectura de este discurso a los alumnos de nuestras facultades, creo que tendrían una percepción clara de cómo late el avance científico actual en Biomedicina. Y todo ello presentado de una forma didáctica y clarificadora.

El discurso que comento, naturalmente parte de los primeros avances en el conocimiento de la “vida invisible”, la vida microbiana,

cuya realidad ponía de manifiesto por primera vez de manera científica el comerciante de tejidos Antonie van Leeuwenhoek, aficionado a tallar lentes de aumento. El hilo argumental del discurso nos avanza muy pronto una conclusión fundamental: gracias a los estudios con microorganismos se pudo comenzar a entender la vida a nivel molecular. La fenomenología biológica se expresa en niveles; cuando había avanzado el entendimiento de los niveles de células, órganos, organismos, ecosistemas, las interpretaciones de los seres vivos a nivel molecular se hicieron posibles gracias a lo que vengo llamando el triunfo de la Biología Experimental.

El gran científico Sydney Brenner, que transitó con notable éxito por los estudios biológicos desde los años 50 hasta casi su fallecimiento con 92 años en 2019, comentaba que, en la más modesta revista de Microbiología, en cualquier artículo, se podía encontrar la inspiración para analizar algún fenómeno biológico en profundidad. Brenner finalmente desarrolló trabajo pionero a partir de un modelo que puso a punto y que también ha sido objeto de comentario en la disertación que acabamos de oír: el del gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, avance por el que recibiría el Premio Nobel en 2002, que, a juicio de muchos, ya había merecido ampliamente mucho antes.

Del universo físico al universo biológico

Los modelos experimentales, los microbianos en especial, resultaron decisivos como indiqué para lo que vengo llamando el triunfo de la Biología Experimental, que supone avanzar en una visión científica de la realidad la del “universo físico”, con sus leyes y procesos de transformación en buena medida predecibles, al “universo biológico”, con otro nivel de complejidad, con leyes que hacen más complicadas las predicciones.

Es conocido que el físico Schrödinger fue el inspirador en buena medida esta transición fundamental para la ciencia. Su definición de la vida: “La vida parece ser el comportamiento ordenado y reglamentado de la materia, que no está asentado exclusivamente en su tendencia a pasar del orden al desorden, sino basado en parte en un orden preexistente que es mantenido” hizo que científicos del mundo de la física –como Max Delbrück– se incorporaran con entusiasmo a la experimentación biológica. Las estrategias basadas

en el análisis bioquímico se consolidaron y potenciaron, sobre todo con sistemas experimentales que pudieran servir de modelo. El pensamiento interpretativo de numerosas observaciones incorporó de forma decidida un razonamiento fisicoquímico, por ejemplo, para la elaboración del modelo que consolida la doble hélice del DNA como una interpretación válida de las características biológicas de esta molécula.

Como pone de manifiesto el discurso que he de seguir comentando, el desvelamiento del sustrato molecular de la vida y de toda la biodiversidad fue abriendo una doble perspectiva. Primero, la del entendimiento de los fenómenos biológicos en la que aún estamos asentados; segundo, la del florecimiento de nuevas tecnologías que posibilitaban el aislamiento de genes en el tubo de ensayo, su caracterización, su modificación dirigida y su reintroducción estable en las células y los organismos. Es decir, la Ingeniería Genética, que propicia una Biotecnología con impacto en tantos campos, especialmente el de la salud del que la farmacia es una parte esencial.

En su discurso, la nueva académica propone una interpretación de todas estas trayectorias en la clave que acuñara Thomas Khun en su influyente libro sobre la historia de las revoluciones científicas. Khun señala cómo hay periodos de “ciencia normal” en los que el conocimiento avanza en horizontal, seguidos de otros de verdadera “revolución científica”, que remueven paradigmas que estaban bien establecidos para sustituirlos por otros nuevos. La detallada descripción de algunos de estos periodos que contiene el discurso nos puede llevar a analizar hasta qué punto, desde que se planteó el conocimiento de toda la biodiversidad en clave molecular, no estamos en un periodo casi permanente de revolución científica.

Yo recuerdo una conferencia del científico pionero y Premio Nobel Salvador Luria, en Madrid en 1980, en la que se inclinaba por considerar que se ha podido tocar techo en el progreso de la Biología Molecular. Señalaba Luria que durante mucho tiempo no habría más saltos en vertical. Remarcaba que desde el punto de vista molecular ya solo cabría avanzar en horizontal, porque abarcar todo el panorama de la biodiversidad aspirando a caracterizar millones de genes llevaría largo tiempo. Ciertamente era una visión equivocada la de tan preclaro científico; la revolución genómica estaba a punto de emerger como un verdadero y real salto hacia adelante, porque supondría algo más que conocer la secuencia de miles de

genes, gracias a las metodologías y los procedimientos tecnológicos desarrollados. Supuso pronto poder entender cada especie leyendo la totalidad de sus genes como conjunto.

Y fueron de nuevo especies de microbios las que facilitaron el análisis genómico que, en solo los seis años que transcurren desde la publicación del genoma de *Haemophilus influenzae* y de *S. cerevisiae*, en 1995-96, se pudo avanzar hasta hacer pública, en 2001, la secuencia del genoma del *Homo sapiens*. Había estallado imparable la revolución genómica, a partir de la cual se puede volver a reinterpretar la fenomenología biológica con nuevos anteojos, con instrumentos conceptuales que permiten una nueva visión, por ejemplo, a través de la Biología de Sistemas o la Biología Sintética.

Modelos experimentales. Lo análogo, lo homólogo y lo heterólogo

El discurso que plantea la Dra. Molina tiene como idea fundamental el justificar el valor de los modelos experimentales para avanzar en Ciencias de la Vida. Añadamos que naturalmente han sido decisivos para desarrollar y perfeccionar las tecnologías, desde la ya clásica Ingeniería Genética hasta la edición genómica mediante CRISPR, para mencionar alguna que está en pleno desarrollo de aplicaciones nuevas.

Se encuentra en este texto una detallada descripción de los muchos modelos biológicos que han ido surgiendo y se siguen aplicando, desde la archiconocida bacteria *Escherichia coli*, hasta el ratón. Y señala, además, con mucho acierto cómo el desarrollo de investigaciones con todos estos organismos ha proporcionado datos -se ha impuesto la expresión inglesa *big data*- inabarcables si no es con el concurso de las máquinas que aprenden y la Inteligencia Artificial.

Pero también ha hecho imprescindibles las grandes colecciones de estirpes, sean de levadura, de ratón o de cualquier otro organismo modelo. Una especie sobre la que investigar se convierte en un repertorio de organismos, en los que todos y cada uno de sus genes, se encuentran delecionados o modificados de las más diversas maneras. El catálogo de biodiversidad microbiana, que se materializó en las colecciones de cultivos tipo, que tanto han servido para el progreso de nuestra disciplina, deviene en múltiples repositorios que permiten profundizar en la Biología de cada especie.

Las comparaciones entre genes, proteínas y funciones entre especies, a través de los modelos de experimentación biológica, se han convertido en un terreno fértil para avanzar en toda la Biomedicina, en especial porque, al poder referir al ser humano tantos hallazgos, se hace posible avanzar en diagnósticos, tratamientos y prevenciones. Desde entender las analogías entre procesos biológicos y sus alteraciones, hasta emplear fármacos recombinantes, como anticuerpos monoclonales, animales, humanizados y humanos, valga el ejemplo, todo está penetrado por esas relaciones funcionales entre organismos que se han podido establecer gracias a los modelos experimentales.

La levadura: un modelo simple, suficientemente complejo

Particularmente relevante es el recorrido que la Dra. Molina presenta por lo que significa la levadura por excelencia, *S. cerevisiae*, el organismo con el que más ha trabajado, como modelo para avanzar en la investigación biológica.

La levadura es una criatura biológica, concretamente un hongo unicelular, que ha acompañado a la historia del hombre durante miles de años. Comparando estirpes silvestres que se encuentran en la naturaleza asociadas a árboles como el roble, con las que durante siglos se han venido utilizando para la fermentación que da lugar al vino, se ha podido establecer cuál fue el origen y algunos avatares de su evolución. Las conclusiones apuntan a que la levadura llegó a las zonas mediterráneas hace más de 8.000 años, y que su evolución, desde entonces, le llevó a adquirir los genes que le confieren la capacidad de transformar el mosto de la uva en esa sinfonía de aromas y sabores que llamamos vino y que forma parte de nuestra cultura.

Es curioso, el conocimiento tan exhaustivo de este modelo biológico también permite trazar su origen y evolución, entender cómo se adaptó en manos de nuestros antepasados, que desde luego no conocían los microbios, a producir algo que mucho les interesaba.

La historia científica de la levadura se puede decir que comienza con Pasteur en el siglo XIX, cuando este padre de la Microbiología, en 1857, observó que la vida en ausencia de oxígeno, situación en la que el microorganismo no pasa de originar alcohol en su

metabolismo de la glucosa, provoca un crecimiento mucho más lento e ineficiente que cuando dispone de oxígeno y metaboliza dicho azúcar hasta CO₂ creciendo con mucho mayor rendimiento. Este fenómeno -la vida en aerobiosis se desarrolla con mayor eficiencia- lleva el nombre de Efecto Pasteur. Como otros muchos hallazgos del gran científico francés, incluido el desarrollo de vacunas antivíricas, nos recuerdan siempre a quién fue capaz, ante la Academia de Ciencias de Paris, de zanjar una polémica que algunos se empeñaban en prolongar: “señores, son los microbios quienes tendrán la última palabra”, no hay generación espontánea de seres vivos.

Tiene, esta parte del discurso que comento, mucho de relato de una experiencia personal directa. Durante bastantes años de su trabajo obligado fue para María familiarizarse con las metodologías que permiten plantearse preguntas de significación científica, que pudieran responderse experimentando con esta levadura o con otras levaduras. Son ya momentos en que las estirpes de laboratorio, bien adaptadas al cultivo para propósitos bioquímicos y genéticos, permiten estudiar fenómenos biológicos en toda su profundidad. Se trata de estirpes haploides o diploides bien definidas distantes de las poliploides y aneuploides que pululan por la naturaleza.

Los resultados a que dieron lugar son verdaderamente espléndidos desde la década de los setenta, bien es verdad que *S. cerevisiae* ha estado acompañada en este apasionante recorrido por otras especies, muy en especial la llamada levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe*. Y en el discurso encontramos un relato de cómo estos organismos modelos biológicos, sirvieron para esclarecer el control de la multiplicación y división celular, en manos de Leland Hartwell y Paul Nurse; cómo es el recorrido celular de las proteínas que se exportan al medio exterior, a cargo de Randy Schekman; en qué consiste la transcripción en células eucarióticas, descrita con precisión por Roger Kornberg; qué es el sistema de degradación y reciclaje de componentes celulares descubierto por Yoshinori Ohsumi; o cómo Jack Szostak demuestra el papel protector de los telómeros en el mantenimiento de la integridad de los cromosomas. Los nombres mencionados, están en la historia de la ciencia con el subrayado del Premio Nobel, pero hay otros muchos también en el relato de este discurso que, trabajando con el modelo que comento bien podían haberlo merecido.

María Molina ofrece esta descripción como alguien que, desde sus años de formación científica, hasta los de su madurez actual ha podido percibir esos avances, escuchar diversas conferencias a los propios protagonistas, leer con avidez sus publicaciones muchas veces recién salidas de la imprenta, incluso solicitar, obtener e intercambiar materiales biológicos fundamentales para estas investigaciones.

Añado que, si a los científicos nos puede entusiasmar el poder contribuir a aportar algo nuevo, se debe en buena medida al liderazgo que ha supuesto apreciar los avances logrados por estos gigantes de la experimentación, que supieron hacerse preguntas y poner los medios adecuados para responderlas racionalmente.

Humanizar la levadura

Voy finalizando esta valoración del discurso que acabamos de oír, para lo cual he de referirme al núcleo central del trabajo original de María Molina y su grupo, dentro de esa gran familia que constituimos el Departamento de Microbiología, hoy en buena armonía y colaboración con nuestros colegas parasitólogos.

La idea que inspira su trabajo se basa en la existencia esa red de señales, que hacen que una sola célula de un modesto microbio constituya en sí un verdadero cosmos. En todo ello se entrelazan reacciones bioquímicas que dan lugar a respuestas como la activación o represión de genes, cuya trascendencia para la célula puede ser total, incluso para sobrevivir o sucumbir a alteraciones que vengan del medio exterior.

Desde el descubrimiento en nuestro laboratorio de uno de los nodos fundamentales de esa red de señales, el gen de la MAP quinasa Slt2 al que ya me he referido, la atención de nuestra nueva académica se ha concentrado no sólo en la funcionalidad de esa vía de señalización, sino en adaptarla y modificarla para diversos propósitos experimentales. Hay una belleza intrínseca en descubrir la correlación que existe entre los avances científicos y las ideas que impulsaron su desarrollo.

Como hemos señalado el impulso para entender la vida se centró en comprender el comportamiento ordenado de la materia y el mantenimiento dinámico de equilibrios. Las vías de señalización son una

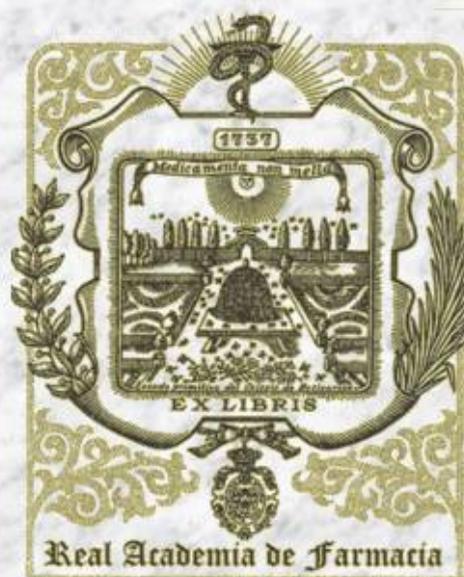
herramienta fundamental para las células, a la hora de mantener de forma dinámica la homeostasis, el equilibrio que les permite mantenerse vivas, como ámbito celular protegido frente a un medio cambiante. La maravilla de todo este trabajo es poder descifrar cómo las señales se transmiten a través del citoplasma de cada célula y cómo las respuestas se articulan a nivel genético.

La levadura -pensemos de nuevo en su carácter de modelo útil para la experimentación- no sólo ha servido para desvelar muchos de los trayectos señalizadores, sino para demostrar que hay una globalización básica de los procesos de señales y respuestas. Hay mecanismos muy compartidos en toda la escala biológica, y en especial dentro de la organización celular eucariótica.

El trabajo de María Molina, como pone de manifiesto en la última parte de su discurso, se fundamenta mucho en buena parte de las ideas que ha desarrollado anteriormente. Los fenómenos de homología biológica le han llevado a plantear destacados modelos de “levadura humanizada”. Gracias a la modificación genética ha resultado posible disponer de estirpes que sirven de auténticas plataformas para desmenuzar lo relativo al funcionamiento de genes y grupos de genes humanos, en la levadura, al tiempo que desarrollar plataformas de impacto farmacéutico para el cribado de moléculas con potencial de convertirse en verdaderos medicamentos.

Obligado es ya que finalice mi comentario al discurso de ingreso de la Dra. María Molina en esta Real Academia Nacional de Farmacia. Lo haré con dos apostillas: primero, que se trata de una pieza de notable valor académico, que desarrolla ideas actuales sobre temas de frontera con notable repercusión académica para esta real corporación; segundo, recomendar vivamente una vez más su lectura.

He dicho.



MINISTERIO
DE EDUCACIÓN
Y CIENCIA

www.ranf.com