XVIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería
León, Guanajuato 23 al 28 de junio 2019
Resumen de Trabajos Libres

POSIBLE EFECTO DE RNA NO CODIFICANTE SOBRE LA EXPRESIÓN GENÉTICA DE LA LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae*.

Ramiro Elizondo-González[1], Alan E. Osorio-Leal[1], Esmeralda Pérez-Ortega[2], Luis C. Damas-Buenrostro[2] y Benito Pereyra-Alférez[1]. Instituto de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza, N. L. CP 66455, México. [2]Cervecería Cuauhtémoc-Moctezuma. Ave. Alfonso Reyes 2202 Nte. Col. Bella Vista. Monterrey, NL. 64442. México. Correspondencia: bpereyra@gmail.com; benito.pereyraal@uanl.edu.mx

Palabras clave: ncRNA, Dicer, Saccharomyces

Introducción. *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura ampliamente utilizada en diversos procesos biotecnológicos, tales como la elaboración de pan, cerveza, vino y diversos alimentos y bebidas fermentadas. La fuente de carbono necesaria para la fermentación suele ser de origen vegetal: cebada para la cerveza, y uvas para el vino. Se ha demostrado que el contenido y tipo de azúcares, taninos, etc. tiene un impacto importante en la expresión genética de la levadura (1); sin embargo, queda por explorar el posible papel del RNA vegetal en la regulación genética de la misma. Se sabe que *Saccharomyces cerevisiae* carece de la maquinaria enzimática para el silenciamiento de RNA's por medio de miRNA's. En distintas levaduras, tales como *Saccharomyces castelii* y *Schizosaccharomyces pombe* se ha identificado la maquinaria necesaria para el silenciamiento de genes por medio de ncRNA: dicer, argonauta y RNA polimerasa depediente de RNA (2,3).
El objetivo de este trabajo es inspeccionar el posible papel de ncRNA's vegetales en la regulación de la expresión genética en *Saccharomyces cerevisiae*.

Metodología. Se preparó mosto y se depositaron 200 mL en 4 probetas de 500 mL. Dos probetas fueron tratadas con 50 U de RNAsas por mL. Las cuatro probetas fueron agitadas durante 2h, seguido de la inoculación de la levadura *S. cerevisiae*. Se realizó una fermentación a 17°C durante 5 días, tomando muestras de levadura al 5° día. Se recuperó la pastilla de células por centrifugación y esta fue resuspendida en buffer PBS, para luego congelarla en $N_{2(L)}$. Se realizó la extracción de RNA total por medio de TRIzol (Thermo Fisher Scientific) y se secuenció el transcriptoma por medio de la plataforma Illumina (San Diego, CA, EEUU). Los resultados fueron analizados por medio de la herramienta bioinformática Trinity-v2.8.4, encontrando así los genes diferencialmente expresados.

Resultados. Se pudo medir una expresión diferencial en 39 transcritos (Fold-change=4X, p=0.05), de las cuales 11 fueron sobre expresadas (SPC98, PSD1, OLE1, TOR1, PMP3, APC1, DON1, ECM29, AFI1, PSD1 y FMP41) y 28 sub expresados (NUP188, SDA1, TRP3, CCZ1, BNR1, MMR1, TIR1, STE6, ENV9, STB4, DAL2, PAN5, LEU3, UBA1, HCM1, PIG1, SIC1, BUB1, YDR131C, CFT1, ABF1, snR64, SRB7, RSC3, TOF1, PDH1, SWC3, YCR022C). Entre las funciones de los transcritos diferencialmente expresados se encuentran rutas metabólicas, transporte, estructura celular, replicación, entre otros.
La **Tabla 1** muestra algunos de los genes diferencialmente expresados con el tratamiento de RNAsas y sus funciones.

Así mismo, encontramos un transcrito con un fragmento que presenta alta homología con la proteína DCR1, la cual se encuentra presente en algunas especies del género *Saccharomyces* (4), siendo un posible factor importante en el procesamiento de transcritos durante la fermentación.

Tabla 1. Sobre expresión de genes en levadura fermentando mosto tratado con RNAsas.

Gen	Función
SPC98	Componente del complejo Tub4p importante proteína de los micro túbulos
OLE1	Desnaturalizador de los delta ácidos grasos, requerida para la síntesis y la normal distribución de la mitocondria
TOR1	Complejo que controla el crecimiento en respuesta a nutrientes, responsable de funciones como traslado, transcripción, síntesis de ribosomas, transporte de nutrientes y autofagia
PMP3	Subunidad más larga del complexo promotor de la anafase
APC1	Subunidad más larga del complexo promotor de la anafase
DON1	Componente especifico de la meiosis

Conclusiones. Los resultados muestran el posible efecto de algunos tipos de ncRNA, proveniente de la malta de cebada, sobre la expresión genética de la levadura durante la fermentación. Dicho hallazgo es importante ya que, hasta la fecha, no se ha descrito un mecanismo de regulación genética mediada por RNA en *Saccharomyces cerevisiae*.

Agradecimientos. A Cervecería Cuauhtémoc Moctezuma por su apoyo en la realización de estos estudios.

Bibliografía.

1. Díaz-Hellín, *et al.* (2016). Saccharomyces cerevisiae and metabolic activators: HXT3 gene expression and fructose/glucose discrepancy in sluggish fermentation conditions. *World J Microbiol Biotechnol*, 32(12), 196.
2. Sigova, A., *et al.* (2004). A single Argonaute protein mediates both transcriptional and posttranscriptional silencing in Schizosaccharomyces pombe. *Genes Dev*, 18(19), 2359-2367.
3. Williams, T. C., *et al.* (2015). Dynamic regulation of gene expression using sucrose responsive promoters and RNA interference in Saccharomyces cerevisiae. *Microb Cell Fact*, 14(1), 43.
4. Peris, D., *et al.* (2014). Population structure and reticulate evolution of *Saccharomyces eubayanus* and its lager-brewing hybrids. *Mol. Ecol.*, 23(8), 2031-2045.