

Bitácora@ Perspectivas

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*: De la Cerveza a la Biología de Sistemas

Autores: Consuelo Coronel y Javier Valdez Taubas*

Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba, CIQUIBIC, CONICET y Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria, X5000HUA Córdoba, Argentina.

*Autor correspondiente. Email: jvaldezt@dqf.fcq.unc.edu.ar

Resumen

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, comúnmente conocida como levadura de cerveza, posee una serie de características que la transformaron en el organismo eucariota modelo más poderoso que existe para realizar investigación básica. Estas ventajas, sumadas a su carácter inocuo para la salud y el medio ambiente, también la han convertido en una alternativa interesante para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas, como la producción de proteínas recombinantes. Por otra parte, las levaduras poseen numerosas aplicaciones en la industria de la alimentación, principalmente en productos de panificación, como aditivo en alimentos elaborados y como suplemento nutricional para ganado. Finalmente, este organismo es insuperable a la hora de producir etanol. Además del uso recreativo de este compuesto, la producción de etanol ha adquirido gran relevancia por su uso como combustible ya que resulta neutro en cuanto a las emisiones de CO₂. En este artículo presentamos un repaso por el pasado, presente y futuro de este microorganismo que sin duda, es el mejor amigo del hombre.

Summary

The yeast *Saccharomyces cerevisiae*, commonly known as brewer's or baker's yeast, has a series of features that allowed it to become the most powerful eukaryotic organism to carry out basic research. These advantages, added to its innocuous nature, both for health and the environment, have also made it an interesting alternative for the development of biotechnological applications, such as the production of recombinant proteins. On the other hand, yeasts have numerous applications in the food industry, mainly in bakery products, as an additive in processed foods and as a nutritional supplement. Finally, this organism is unsurpassed when it comes to producing ethanol. In addition to the recreational use of this compound, the production of ethanol has gained great relevance due to its use as a fuel since it is neutral in terms of CO₂ emissions. In this article, we review past, present and future of this microorganism that without a doubt, is man's best friend.

Introducción e historia

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de cerveza, es un eucariota unicelular perteneciente al reino de los hongos. Se cree que fue uno de los primeros organismos en ser domesticado. Las primeras evidencias de su uso en la producción de bebidas alcohólicas provienen de China, alrededor de 7000 años A.C (1). Se encontró evidencia del uso de levaduras en la producción de bebidas y en el leudado del pan en Egipto 5000 años antes A.C.

El comerciante holandés Antoni van Leeuwenhoek desarrolló lentes de alta calidad creando los primeros microscopios y pudo observar la levadura por primera vez. En el año 1857, Luis Pasteur publicó el artículo "Memorias sobre la fermentación alcohólica", en donde se estableció por primera vez que la fermentación alcohólica es llevada a cabo por organismos vivos. Pasteur describió también que es un proceso que se lleva a cabo sólo en ausencia de oxígeno y en el cual se consume azúcar para generar el alcohol. Esto fue un avance importantísimo, dado que hasta ese momento existía la controversia acerca de la fermentación como proceso biológico o como proceso químico catalítico. Los experimentos llevados a cabo por Pasteur pusieron punto final a la discusión y convencieron al mundo científico del rol de la levadura en la fermentación (2).

En la naturaleza, las levaduras se encuentran principalmente en las cáscaras de las frutas, muy notoriamente en el hollejo de las uvas (3). Además se la puede encontrar en madera de roble, suelos, e incluso en el tracto digestivo de insectos. En contraste con lo bien estudiado que está este organismo en condiciones de laboratorio, no es tan claro como crece o sobrevive en la naturaleza ya que muchos de sus hábitats naturales no son ricos en nutrientes. Existe un creciente interés en comprender la diversidad de las levaduras y sus formas de vida en la naturaleza (4). Además de su interés científico básico, estos datos pueden ayudar a encontrar cepas útiles desde el punto de vista aplicado, y también a entender algunos aspectos de la biología de estos organismos que son necesarios para la supervivencia en la naturaleza, pero que se han perdido de las cepas de laboratorio o industriales.

Sacharomyces cerevisiae como modelo experimental de investigación

La levadura posee una serie de características que la tornan ideal para el trabajo de laboratorio. Para empezar es inocua, de crecimiento rápido y fácil de mantener y conservar en el laboratorio.

S. cerevisiae se reproduce por un tipo de división asimétrica denominada gemación o "budding" lo que permite distinguir una célula madre de una célula hija (Fig. 1A). Puede mantenerse establemente como haploide (una copia de la información genética n) o

diploide (información genética duplicada $2n$). Posee además un ciclo sexual (Fig. 1B), que permite la utilización de las herramientas de la genética clásica.

Como producto de su estilo de vida, posee un genoma pequeño (12 millones de pares de bases), casi sin duplicaciones ni secuencias repetitivas, con regiones intergénicas muy pequeñas, y la mayoría de sus genes no tienen intrones. Esto permitió que la levadura fuera el primer organismo eucariota en haber sido secuenciado en su totalidad (5). En la actualidad cuenta con el genoma mejor caracterizado y estudiado y con el mayor porcentaje de genes de función conocida. De los 5800 genes, al menos 1000 poseen ortólogos (genes con una función similar) en humanos y un gran número de estos ortólogos son capaces de cumplir la función del gen similar en levaduras. Esto se refleja en que un gran número de procesos biológicos básicos se encuentran altamente conservados en este organismo. Por ejemplo, los mecanismos de autofagia o el transporte vesicular se elucidaron principalmente en levaduras y luego fueron verificados en eucariotas superiores. Los avances realizados en levadura en esos temas les valieron premios Nobel a los investigadores Dr. Yoshinori Ohsumi y Dr. Randy W. Schekman en 2016 y 2013, respectivamente.

La conservación de los procesos biológicos básicos en levaduras ha permitido crear modelos experimentales para estudiar las bases moleculares de patologías humanas como la neurodegeneración (6) entre muchas otras (7).

Estos premios, así como muchos avances científicos producidos en este organismo, se basaron en lo que es posiblemente la mayor ventaja de este organismo: la posibilidad de realizar rastreos genéticos para obtener mutantes claves en distintos procesos biológicos y así poder estudiarlos.

A principios del siglo XX, otros organismos como la *Neurospora crassa* y el *Aspergillus nidulans*, que eran considerados más convenientes para realizar genética clásica, habían tomado la delantera como modelos de investigación. Con el advenimiento de las técnicas de Biología Molecular e Ingeniería Genética, la levadura tomó un impulso insuperable. Esto se debe, principalmente, a la facilidad con que la levadura puede ser transformada con ADN foráneo, tanto o más fácilmente que una bacteria. Además, una característica que resultó sumamente importante fue la alta eficiencia de recombinación homóloga de ADN, que permite eliminar genes completos o modificarlos en el genoma con relativa facilidad. Para analizar los distintos genes, sus funciones y fenotipos, los investigadores realizaban en sus laboratorios mutantes que tuvieran mutado o eliminado completamente el gen de interés. En el año 2000 el consorcio "Saccharomyces Genome Deletion Project" puso a disposición una colección de cepas que tenían cada una un gen distinto eliminado, cubriendo así todos los genes de la levadura (8). Esta herramienta permitió simplificar el trabajo con levaduras y hoy está disponible en la mayoría de los laboratorios que utilizan este organismo modelo.

A lo largo de los años, la colección completa de mutantes viables ha sido estudiada en relación a su comportamiento frente a numerosos fármacos, a la utilización de diversas fuentes de carbono y nitrógeno, sensibilidad a la temperatura, etc. Esto permitió a su vez realizar mapas de correlación, es decir, qué genes producen algún efecto ante distintos estímulos, lo cual permitió inferir funciones para varios de ellos (9).

Existen otras colecciones que son de gran utilidad al trabajar con levaduras. Una de estas colecciones posee todos los marcos de lectura abiertos (ORFs), es decir las secuencias que codifican para proteínas, fusionados al gen de la proteína fluorescente verde (GFP). Esto permitió estudiar la expresión y establecer la localización subcelular de un gran número de proteínas (10). Otra colección fue generada rotulando todos los ORFs con secuencias que permitan su purificación por la técnica de TAP (tándem affinity purification), para luego identificar proteínas interactuantes por espectrometría de masas (11). Toda esta información se encuentra compilada de manera muy conveniente en una base de datos denominada "SGD" (Saccharomyces Genome Database) (<https://www.yeastgenome.org/>).

El estudio de la colección completa de mutantes, así como los estudios de expresión génica mediante "microarrays", empezaron a cambiar el paradigma de los estudios biológicos, que ya dejaron de enfocarse en un gen o una sola proteína, para empezar a estudiar cómo reacciona un grupo grande de genes o un organismo completo a un determinado estímulo. Esto, sumado a ejercicios de modelado matemático de los procesos biológicos, dio origen a lo que hoy conocemos como biología de sistemas (12).

Uno de los más grandes avances en la biología de sistemas fue el desarrollo de la técnica denominada "Synthetic Genetic Array". Esta consiste en combinar una cepa que tiene delecionado (eliminado) un gen, con cepas del tipo sexual opuesto que poseen delecionado cada uno de los otros genes, (13), valiéndose del ciclo sexual. Luego de una selección adecuada se pueden generar colecciones de cepas mutantes que tengan cada una, dos genes delecionados simultáneamente. El número de cepas doble mutantes es de aproximadamente 25 millones. Para identificar si hay interacción entre los genes, se analiza el crecimiento de las colonias que forman los mutantes. Si los genes interactúan genéticamente, se observaría un crecimiento diferente al que se esperaría de la suma de los fenotipos de los mutantes individuales. Cuando la interacción es negativa, o incluso letal, se esperaría un crecimiento menor, o directamente la muerte de la levadura. Cuando la interacción es positiva, la cepa crecería mejor que lo esperado (13). Esta técnica se realiza utilizando robots especialmente diseñados para el manejo de una gran cantidad de cepas mutantes, y el posterior crecimiento y análisis de las muestras. Mediante su uso se han podido identificar una serie de interacciones que se pueden ver resumidas en la base de datos llamada "The Cell Map", creada por las universidades de Toronto y Minesota (<http://thecellmap.org/>).

La interacción de cada uno de los genes de levadura con todos los demás ya ha sido medida y esto permitió la generación de perfiles de interacciones. Genes que comparten perfiles de interacciones similares, posiblemente posean funciones similares, lo cual ha permitido la asignación de funciones a genes previamente no caracterizados y la identificación de nuevos complejos multiproteicos (14,15).

En nuestro país, existen varios grupos dedicados a la Investigación de levaduras vínicas y otros dedicados a estudios básicos. En Córdoba en particular, estudiamos aspectos relacionados al tráfico de proteínas y su relación con algunas modificaciones postraduccionales (16-18).

Fermentación alcohólica

El uso de la levadura en la fermentación alcohólica de bebidas para la ingesta humana se realiza desde hace ya muchísimos siglos. En la actualidad continua siendo utilizada como principal fuente de producción de cervezas y vinos. Se han desarrollado y seleccionado gran variedad de cepas específicas para estas bebidas.

En la cáscara de la uva, naturalmente se pueden encontrar distintas cepas de levaduras salvajes que tienen la capacidad de realizar la fermentación del vino, pero en la industria, si bien la fermentación se realiza en presencia de estas levaduras salvajes, se adiciona alguna cepa especializada, normalmente de *S. cerevisiae*, cuyo crecimiento domina por sobre las demás. Este proceso de dominación es importante por que hace que el vino sea más homogéneo y que su producción sea más controlada y reproducible, pero no siempre se logra con facilidad, puesto que las levaduras salvajes compiten fuertemente con *S. cerevisiae* sobre todo en los primeros momentos (19). Es por ello que en la industria vitivinícola existe un gran interés de encontrar cepas o métodos que puedan garantizar la dominancia de la cepa inoculada por sobre las salvajes.

Por otro lado, las levaduras juegan un rol fundamental en la producción de cervezas (20,21). Debido al proceso de producción de esta bebida, que consiste en utilizar las levaduras de una fermentación, en la siguiente, las levaduras se han aislado evolutivamente de las salvajes y son ideales para estudiar los procesos de domesticación. La composición genética de estas levaduras es objeto de estudio actualmente (21). Recientemente, se descubrió que la levadura más comúnmente utilizada en la producción de cerveza, es un híbrido entre *S. cerevisiae* y una levadura salvaje proveniente de la Patagonia (22).

Otro uso de gran importancia industrial que tienen las levaduras es en la producción de bioetanol. El bioetanol es uno de los biocombustibles alternativos más utilizados. En Argentina, toda la nafta que se utiliza posee más de 10% de etanol. La levadura es central en el proceso de fermentación que se requiere para producirlo. A la hora de producir bioetanol el organismo de preferencia es *S. cerevisiae* ya que ningún otro organismo es tan productivo ni tan tolerante a altas concentraciones de alcohol. Varios factores se combinan para poder obtener grandes cantidades de etanol. Los más importantes son la cepa de levadura a utilizar, la temperatura de fermentación, el pH del medio, la fuente de azúcares, el método de fermentación, entre otros (23). Se ha debatido si el uso de glucosa proveniente de almidón de cultivos que pueden ser utilizados como alimentos, en particular el maíz, es una estrategia válida desde el punto de vista ambiental para generar combustibles (24). La mayor deforestación, sumada a los requerimientos de agroquímicos y uso de agua para generarlos, puede ser más perjudicial para el ambiente que la emisión de CO₂ que se evita por su uso. Menos problemático es el uso de la sacarosa proveniente de la caña de azúcar, que es energéticamente mucho más conveniente que el maíz. De cualquier forma, la fuente más abundante de azúcar en el planeta es la celulosa. Los esfuerzos actuales están dirigidos a producir etanol de segunda generación a partir de celulosa proveniente de residuos agroindustriales y para ello se busca generar microorganismos capaces de liberar los azúcares de la celulosa para luego convertirlos en etanol.

Expresión de proteínas recombinantes

Existen sistemas de producción y purificación de proteínas recombinantes de interés industrial o farmacológico, a partir de distintos tipos de organismos desde bacterias hasta células de mamíferos. La levadura combina las ventajas de una bacteria en cuanto a la facilidad para su crecimiento y manipulación, con la de un organismo eucariota. En eucariotas, las proteínas sufren modificaciones químicas que ocurren luego de su síntesis (postraduccionales) como glicosilación, palmitoilación, farnesilación, fosforilación, ubiquitinación, entre otras. Estas modificaciones postraduccionales pueden ser cruciales para el funcionamiento o correcto plegamiento de una proteína. Una modificación postraducciona particularmente importante es la glicosilación, es decir la adición covalente de azúcares sobre aminoácidos específicos de la proteína. Si bien la levadura introduce en general cadenas de azúcares (glicanos) simples, muy ricos en manosa, se han generado levaduras que son capaces de glicosilar con un patrón similar a células eucariotas superiores (25). Existe además una batería de vectores o plásmidos que se utilizan para introducir ADN foráneo en *S. cerevisiae* y que han facilitado el uso de este organismo para la expresión de proteínas. Actualmente se pueden encontrar plásmidos de bajo o alto número de copia (por célula, que permiten controlar las cantidades de proteína producida. Además de *S. cerevisiae* existen otras levaduras que son útiles a la hora de purificar proteínas como pueden ser *Pichia pastoris* o *Hansenula polymorpha*.

Un gran número de proteínas recombinantes de interés industrial o farmacéutico han sido producidas en levaduras, entre las que se destacan la insulina, el glucagón, la transferrina humana, la albúmina humana y varios antígenos virales para la producción de vacuna, entre otros (26,27).

Perspectivas

A medida que avanza la tecnología, en particular la que permite la edición de genomas en células de eucariotas superiores, es válido preguntarse si la levadura como organismo modelo en investigación sigue siendo una elección inteligente. Por ejemplo, muy recientemente se logró realizar el primer mapa de interacciones génicas mediante la estrategia de CRISPi en células de mamífero (28,29). Sin embargo, en forma permanente aparecen trabajos de investigación que aún se valen de la levadura para resolver problemas biológicos fundamentales. Por ejemplo, recientemente se realizaron cromosomas completos artificiales en levadura para intentar entender el funcionamiento y la organización del genoma eucariota (30).

En donde se avizora una mayor contribución de este organismo, es sin duda en la Biología de sistemas, que busca determinar cómo grupos de genes y proteína coordinan el metabolismo y crecimiento frente una gran variedad de condiciones (31).

Por otra parte, los bajos requerimientos para su crecimiento y el hecho de ser inocua, hacen de la levadura el microorganismo de elección a nivel de las industrias biotecnológicas

La producción de etanol en sus diversas formas seguirá indefectiblemente ligada a *S. cerevisiae*. Mientras los humanos se reúnan alrededor de pizzas y cervezas, la levadura seguirá siendo parte importante de nuestras vidas.

Referencias bibliográficas

1. McGovern, P. E., Zhang, J., Tang, J., Zhang, Z., Hall, G. R., Moreau, R. A., Nunez, A., Butrym, E. D., Richards, M. P., Wang, C. S., Cheng, G., Zhao, Z., and Wang, C. (2004) Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 17593-17598
2. Barnett, J. A. (2000) A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850-1880. *Yeast* 16, 755-771
3. Dashko, S., Zhou, N., Compagno, C., and Piskur, J. (2014) Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation? *FEMS yeast research* 14, 826-832
4. Liti, G. (2015) The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. *eLife* 4
5. Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J. D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E. J., Mewes, H. W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., and Oliver, S. G. (1996) Life with 6000 genes. *Science* 274, 546, 563-547
6. Seynnaeve, D., Vecchio, M. D., Fruhmann, G., Verelst, J., Cools, M., Beckers, J., Mulvihill, D. P., Winderickx, J., and Franssens, V. (2018) Recent Insights on Alzheimer's Disease Originating from Yeast Models. *International journal of molecular sciences* 19
7. Bolotin-Fukuhara, M., Dumas, B., and Gaillardin, C. (2010) Yeasts as a model for human diseases. *FEMS yeast research* 10, 959-960
8. Giaever, G., Chu, A. M., Ni, L., Connelly, C., Riles, L., Veronneau, S., Dow, S., Lucau-Danila, A., Anderson, K., Andre, B., Arkin, A. P., Astromoff, A., El-Bakkoury, M., Bangham, R., Benito, R., Brachat, S., Campanaro, S., Curtiss, M., Davis, K., Deutschbauer, A., Entian, K. D., Flaherty, P., Foury, F., Garfinkel, D. J., Gerstein, M., Gotte, D., Guldener, U., Hegemann, J. H., Hempel, S., Herman, Z., Jaramillo, D. F., Kelly, D. E., Kelly, S. L., Kotter, P., LaBonte, D., Lamb, D. C., Lan, N., Liang, H., Liao, H., Liu, L., Luo, C., Lussier, M., Mao, R., Menard, P., Ooi, S. L., Revuelta, J. L., Roberts, C. J., Rose, M., Ross-Macdonald, P., Scherens, B., Schimmack, G., Shafer, B., Shoemaker, D. D., Sookhai-Mahadeo, S., Storms, R. K., Strathern, J. N., Valle, G., Voet, M., Volckaert, G., Wang, C. Y., Ward, T. R., Wilhelmy, J., Winzeler, E. A., Yang, Y., Yen, G., Youngman, E., Yu, K., Bussey, H., Boeke, J. D., Snyder, M., Philippsen, P., Davis, R. W., and Johnston, M. (2002) Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *Nature* 418, 387-391
9. Hillenmeyer, M. E., Fung, E., Wildenhain, J., Pierce, S. E., Hoon, S., Lee, W., Proctor, M., St Onge, R. P., Tyers, M., Koller, D., Altman, R. B., Davis, R. W., Nislow, C., and Giaever, G. (2008) The chemical genomic portrait of yeast: uncovering a phenotype for all genes. *Science* 320, 362-365

10. Huh, W. K., Falvo, J. V., Gerke, L. C., Carroll, A. S., Howson, R. W., Weissman, J. S., and O'Shea, E. K. (2003) Global analysis of protein localization in budding yeast. *Nature* 425, 686-691
11. Krogan, N. J., Cagney, G., Yu, H., Zhong, G., Guo, X., Ignatchenko, A., Li, J., Pu, S., Datta, N., Tikuisis, A. P., Punna, T., Peregrin-Alvarez, J. M., Shales, M., Zhang, X., Davey, M., Robinson, M. D., Paccanaro, A., Bray, J. E., Sheung, A., Beattie, B., Richards, D. P., Canadien, V., Lalev, A., Mena, F., Wong, P., Starostine, A., Canete, M. M., Vlasblom, J., Wu, S., Orsi, C., Collins, S. R., Chandran, S., Haw, R., Rilstone, J. J., Gandi, K., Thompson, N. J., Musso, G., St Onge, P., Ghanny, S., Lam, M. H., Butland, G., Altaf-Ul, A. M., Kanaya, S., Shilatifard, A., O'Shea, E., Weissman, J. S., Ingles, C. J., Hughes, T. R., Parkinson, J., Gerstein, M., Wodak, S. J., Emili, A., and Greenblatt, J. F. (2006) Global landscape of protein complexes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 440, 637-643
12. Boone, C. (2014) Yeast systems biology: our best shot at modeling a cell. *Genetics* 198, 435-437
13. Tong, A. H., Evangelista, M., Parsons, A. B., Xu, H., Bader, G. D., Page, N., Robinson, M., Raghibizadeh, S., Hogue, C. W., Bussey, H., Andrews, B., Tyers, M., and Boone, C. (2001) Systematic genetic analysis with ordered arrays of yeast deletion mutants. *Science* 294, 2364-2368
14. Collins, S. R., Roguev, A., and Krogan, N. J. (2010) Quantitative genetic interaction mapping using the E-MAP approach. *Methods Enzymol* 470, 205-231
15. Schuldiner, M., Collins, S. R., Thompson, N. J., Denic, V., Bhamidipati, A., Punna, T., Ihmels, J., Andrews, B., Boone, C., Greenblatt, J. F., Weissman, J. S., and Krogan, N. J. (2005) Exploration of the function and organization of the yeast early secretory pathway through an epistatic miniarray profile. *Cell* 123, 507-519
16. Chumpen Ramirez, S., Ruggiero, F. M., Daniotti, J. L., and Valdez Taubas, J. (2017) Ganglioside glycosyltransferases are S-acylated at conserved cysteine residues involved in homodimerisation. *Biochem J* 474, 2803-2816
17. Gonzalez Montoro, A., Bigliani, G., and Valdez Taubas, J. (2017) The shape of the transmembrane domain is a novel endocytosis signal for single-spanning membrane proteins. *J Cell Sci* 130, 3829-3838
18. Gonzalez Montoro, A., Chumpen Ramirez, S., and Valdez Taubas, J. (2015) The canonical DHC motif is not absolutely required for the activity of the yeast S-acyltransferases Swf1 and Pfa4. *J Biol Chem* 290, 22448-22459
19. Ciani, M., Capece, A., Comitini, F., Canonico, L., Siesto, G., and Romano, P. (2016) Yeast Interactions in Inoculated Wine Fermentation. *Frontiers in microbiology* 7, 555
20. Lodolo, E. J., Kock, J. L., Axcell, B. C., and Brooks, M. (2008) The yeast *Saccharomyces cerevisiae*- the main character in beer brewing. *FEMS yeast research* 8, 1018-1036

21. Gallone, B., Mertens, S., Gordon, J. L., Maere, S., Verstrepen, K. J., and Steensels, J. (2018) Origins, evolution, domestication and diversity of *Saccharomyces* beer yeasts. *Current opinion in biotechnology* 49, 148-155
22. Libkind, D., Hittinger, C. T., Valerio, E., Goncalves, C., Dover, J., Johnston, M., Goncalves, P., and Sampaio, J. P. (2011) Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 14539-14544
23. Mohd Azhar, S. H., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Gansau, J. A., Mohd Faik, A. A., and Rodrigues, K. F. (2017) Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and biophysics reports* 10, 52-61
24. Ramos, J. L., Valdivia, M., Garcia-Lorente, F., and Segura, A. (2016) Benefits and perspectives on the use of biofuels. *Microbial biotechnology* 9, 436-440
25. Eiselt, J., Racek, J., Trefil, L., and Opatrny, K., Jr. (2001) Effects of a vitamin E-modified dialysis membrane and vitamin C infusion on oxidative stress in hemodialysis patients. *Artif Organs* 25, 430-436
26. Nielsen, J. (2013) Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering. *Bioengineered* 4, 207-211
27. Vieira Gomes, A. M., Souza Carmo, T., Silva Carvalho, L., Mendonca Bahia, F., and Parachin, N. S. (2018) Comparison of Yeasts as Hosts for Recombinant Protein Production. *Microorganisms* 6
28. Horlbeck, M. A., Xu, A., Wang, M., Bennett, N. K., Park, C. Y., Bogdanoff, D., Adamson, B., Chow, E. D., Kampmann, M., Peterson, T. R., Nakamura, K., Fischbach, M. A., Weissman, J. S., and Gilbert, L. A. (2018) Mapping the Genetic Landscape of Human Cells. *Cell* 174, 953-967 e922
29. Kampmann, M. (2018) CRISPRi and CRISPRa Screens in Mammalian Cells for Precision Biology and Medicine. *ACS Chem Biol* 13, 406-416
30. Shao, Y., Lu, N., Wu, Z., Cai, C., Wang, S., Zhang, L. L., Zhou, F., Xiao, S., Liu, L., Zeng, X., Zheng, H., Yang, C., Zhao, Z., Zhao, G., Zhou, J. Q., Xue, X., and Qin, Z. (2018) Creating a functional single-chromosome yeast. *Nature* 560, 331-335
31. Botstein, D., and Fink, G. R. (2011) Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. *Genetics* 189, 695-704

Agradecimientos

Agradecemos a los Dres. José Luis Daniotti y Soledad Celej por la lectura crítica de este manuscrito.

CC posee una beca doctoral de CONICET, JVT es investigador Independiente de CONICET y Profesor Asociado de la Fac. de Ciencias Químicas, Univ. Nac. De Córdoba.