



Entrevista a Simonetta Gribaldo

Microbióloga evolutiva del Instituto Pasteur de París

«LOS PRÓXIMOS AÑOS SERÁN LA EDAD DORADA DE LA MICROBIOLOGÍA»

Susanna Ligeró

A aquellos que acostumbren a leer las páginas de *MÈTODE* (y a pesar de que las clases de biología queden algo lejos), las arqueas les resultarán familiares. Estos microorganismos unicelulares han sido el punto clave de uno de los hitos científicos recientes de más impacto: el desarrollo de las técnicas de edición genómica CRISPR. A principios de los años noventa del siglo XX, el microbiólogo Francis Mojica detectaba en unas arqueas habitantes de las salinas de Santa Pola un mecanismo de defensa inmunológico que les permitía modificar con precisión su propio genoma para protegerse de los virus. Unos treinta años después, las aplicaciones de CRISPR en diversos ámbitos de interés (desde la terapia génica hasta la creación de cultivos más resistentes a las inclemencias del tiempo) no dejan de sorprendernos. A pesar de este salto al estrellato, las arqueas continúan siendo unas grandes desconocidas y no solo fuera de la esfera científica. Su diversidad aún esconde muchísimos secretos, tal como nos asegura Simonetta Gribaldo (Roma, 1969), quizás una de las personas en el mundo que mejor las conoce.

El entusiasmo de Simonetta Gribaldo hacia estos organismos microscópicos es evidente. No en vano les ha dedicado prácticamente toda su trayectoria científica, cosa que no fue fácil. Dentro del mundo de la microbiología, el estudio de las arqueas ha tenido baja prioridad hasta hace poco, y la doctora Gribaldo tuvo que luchar de lo lindo para que otros se percataran del potencial de esta área: «Tuve que construir mi propio nicho», nos explica. A su doctorado en Filogenética por la Universidad de la Sapienza, en Roma, se le suman tres estancias postdoctorales en París: en la Universidad Pierre y Marie Curie, en la Universidad de Orsay y en el Instituto Pasteur. Vinculada desde 2005 a esta última institución, dedicada a la investigación para la salud pública, actualmente es jefa de la Unidad de Biología Evolutiva de la Célula Microbiana.

El pasado febrero, Simonetta Gribaldo visitó la Universitat de València para realizar la conferencia de celebración del Día de Darwin, invitada por el Espai Ciència del Centro Octubre de Cultura Contemporánea y el IEC. Pocos días antes, un grupo japonés había dado un paso importante en el estudio de las conocidas como arqueas de Asgard. En 2015, un equipo de la Universidad de Uppsala conseguía la primera secuencia genómica de este tipo de arqueas, a partir de una muestra obtenida cerca del conocido como castillo de Loki, un emplazamiento submarino de aguas hidrotermales entre Noruega y Groenlandia. Por supuesto, pasaron a denominarlas «arqueas de Loki». A estas, se unieron durante los años siguientes las arqueas de Thor, Odin, y Heimdall, de características similares, y también bautizadas en honor a la mitología nórdica, a pesar de encontrarse lejos de las

costas bendecidas por las deidades de Asgard. Hasta el momento, la secuenciación de estas arqueas provenía exclusivamente de analizar muestras de su entorno. Pero en enero de 2020, el grupo de Hiroyuki Imachi, del Instituto de Ciencia y Tecnología del Mar de Japón, publicaba en *Nature* los resultados de lo que hasta entonces había sido imposible: hacer cultivos de estas arqueas en el laboratorio. Aprovechando su paso por Valencia, hablamos con ella de estas cuestiones.

¿Cómo se interesó por el estudio de las arqueas?

Es una historia curiosa. Estudié en una universidad pequeña de Sicilia y me gradué en 1992. Después fui a Inglaterra a hacer un máster. Allí hacía un trabajo muy aburrido: me dedicaba a clasificar bacterias de infecciones que provenían de hospitales: esto es estreptococo, eso es estafilococo... Era interesante, pero poco apasionante. Un día todos fuimos a una conferencia sobre microbiología a Londres, y hubo una sesión sobre el árbol de la vida. Recuerdo que la sala estaba llenísima y había mucha gente sentada en el suelo. Y de repente, alguien sacó un árbol de la vida y fue como una revelación. Era 1995 y yo no había oído hablar nunca de las arqueas. No las había estudiado y nadie me había hablado de ellas. Y dije: «¿Quién diantre son estas? ¿Y cómo se hace un árbol de la vida?». Y así fue. Lo dejé todo y empecé de nuevo. Fui a Roma e inicié un doctorado en el árbol de la vida y la filogenia antigua. Así es como conocí a las arqueas.

«Las arqueas están consideradas como una curiosidad, irrelevantes en general para la microbiología, algo que es falso»

¿Por qué piensa que las arqueas son tan desconocidas?

En primer lugar, se descubrieron mucho más tarde que las bacterias. Se sabía que existían, pero no se las conoció como tales hasta 1977. En segundo lugar, a menudo se las conoce por ser extremófilas, es decir, organismos que viven en condiciones muy duras. Así que están consideradas como una curiosidad, irrelevantes en general para la microbiología, lo que es falso. Por último, no se conocen patógenos entre las arqueas, y por eso despiertan mucho menos interés. Pero estas cosas están cambiando; por ejemplo, se ha descubierto que también hay arqueas en nuestro intestino. Esto es un tema completamente nuevo, territorio virgen: habría que estudiar cómo las arqueas participan en algunas enfermedades, pero también en la salud, por ejemplo, a la hora de mantener una buena microbiota.

¿Confunde mucha gente las arqueas con las bacterias?

Sí, sobre todo cuando las llaman «arqueobacterias» [riendo]. Ya no nos gusta llamarlas así. Al principio lo hacíamos, pero ya no tiene sentido porque son muy diferentes de las bacterias. Evolutivamente hablando, son algo completamente distinto. En términos moleculares, se parecen mucho más a nosotros que a las bacterias.

Hablemos de las famosas arqueas de Asgard. ¿Qué ha supuesto la secuenciación de estas arqueas, no solo para estudiarlas, sino para el conocimiento del origen de la célula eucariota?

Hasta hace poco, solo conocíamos las arqueas de Asgard a partir de pequeñas secuencias genómicas provenientes de su entorno. Pero con nuevas técnicas hemos conseguido secuenciar su genoma entero, y así las podemos si-



Daniel García-Sala

LA TERCERA RAMILLA DE LA VIDA

De *El origen de las especies* de Darwin pueden sacarse muchas enseñanzas. Una de ellas es la diversidad de anticipaciones sembradas en todo aquel «resumen odioso» de su teoría, muchas de las cuales tardarían décadas en germinar. En el capítulo IV describe la que sería su metáfora más exitosa: el árbol de la vida. Y suelta una de esas frases que, como quien no quiere la cosa, adelanta un hito de la biología del futuro: «De las muchas ramillas que florecieron cuando el árbol no era más que un arbusto, solo dos o tres han crecido hasta convertirse en ramas gruesas, que sobreviven y aguantan todas las otras ramas.» Dos o tres ramillas aguantan la frondosidad de la biodiversidad. ¿Dos o tres? Sin saberlo, Darwin apuntaba a una larga controversia, en pleno siglo XX, sobre taxonomía microbiana y las indagaciones moleculares de la filogenia.

Cien años después encontramos otro brillante científico británico también muy dotado para soltar ideas inadvertidas que, en retrospectiva, son minas antisistema. Francis Crick preveía, en una especulación de 1958 sobre la síntesis de las proteínas, que pronto los biólogos empezarían a hacer una «taxonomía de proteínas» porque «dentro de ellas puede haber una inmensa cantidad de información evolutiva». Cinco años después, Linus Pauling y Emile Zuckerkandl hablaban abiertamente de las macromoléculas (ácidos nucleicos y proteínas) como «documentos de la historia evolutiva». El salto extraordinario fue el descenso de la anatomía comparada al mundo molecular y, por primera vez, la inclusión de los microbios en el árbol darwinista. Entonces nadie sospechaba que unas criaturas invisibles se convertirían en las ramas más altas del árbol de la vida.

A mediados del siglo XX se aceptaba una división de la vida en dos grupos, procariontes y eucariontes, basada en la estructura celular, simple en el caso de los procariontes –como sinónimo de *bacteria*–, enrevesada en el caso de los eucariontes. A finales de los sesenta, el microbiólogo Carl Woese se disponía

a describir, a través de las moléculas, las relaciones evolutivas entre procariontes y eucariontes. Asesorado por Crick, dirigió su lupa hacia el ribosoma, la factoría molecular de las proteínas. Con una tecnología que ahora consideraríamos rudimentaria y que no aprobaría ningún comité de prevención de riesgos laborales, Woese y sus colegas empezaron la clasificación molecular de las bacterias. Todo iba bien hasta que se enfrentaron a unos enigmáticos microorganismos productores de metano. La identidad molecular de los metanógenos los alejaba tanto de las bacterias como de los eucariontes. En 1977 una serie memorable

«En 1977, una serie memorable de artículos pasó de anunciar “una divergencia antigua de las bacterias” a introducir la idea de un tercer dominio de la vida»

de artículos pasó de anunciar «una divergencia antigua de las bacterias» a introducir la idea de un tercer dominio de la vida, primero denominado *arqueobacteria* y, a partir de 1990, *arquea*. El triunfo de la filogenia molecular sobre la taxonomía bacteriológica clásica –basada en estructuras microscópicas elusivas y análisis bioquímicos penosos– no fue reconocido

enseguida. Pasaron años antes de la aceptación de aquella «tercera forma de vida».

En 1967 una bióloga norteamericana había argumentado sobre la naturaleza quimérica de las células eucarióticas: la complejidad celular se inició con la simbiosis entre procariontes. Aquella joven audaz era Lynn Margulis. Unidos por el desprecio de sus colegas hacia sus respectivas propuestas, Margulis y Woese sostuvieron una larga y agria disputa sobre la clasificación profunda del mundo procariótico. Irónicamente, los dos han quedado asociados dentro de la idea actual sobre la generación de las células complejas: el momento crucial fue la unión metabólica y genética de una arquea (antepasado de los Asgard) y una bacteria (una antigua alfa-proteobacteria). Y así es como las dos ramillas más antiguas del árbol de la vida originaron, por anastomosis, la tercera rama. Dos y, después, tres.

JULI PERETÓ. Instituto de Biología Integrativa y de Sistemas P SysBio (UV-CSIC).

tuar mejor en el árbol de la vida. Eso nos ha demostrado que son los parientes más cercanos a los eucariontes, y esta posición radica en el hecho de que parecen tener genes que se consideraban específicos de las eucariotas, pero que ahora hemos hallado también en las arqueas de Asgard. Esto significa que estos genes que constituyeron la célula eucariota son más antiguos de lo que pensábamos. Así que tenemos una nueva ventana a la emergencia de la primera célula eucariota, que es una de las preguntas más importantes en biología evolutiva: cómo cerrar este hueco entre las arqueas y los eucariontes mediante estas formas intermedias.

Hay quién teoriza que, quizás, el origen de la célula eucarionte proviene de una arquea que se «tragó» una bacteria...

Sí, existe esta teoría, pero todavía hay muchas cosas que no sabemos. Y no me gusta demasiado considerar estas arqueas [de Asgard] como «nuestros ancestros» o los «eslabones perdidos», cuando se trata de arqueas modernas. Hemos de imaginar que han surgido de un ancestro común que tienen con los eucariontes, pero también serán muy diferentes de este. A su vez, nos pueden decir muchas cosas para reconstruir este antepasado común.

Una de las dificultades para el estudio de las arqueas es que no es tan fácil cultivarlas en el laboratorio, ¿verdad?

No es así en todos los casos; tenemos cultivos de algunas arqueas en el laboratorio, que se usan como herramientas genéticas, por ejemplo, aunque van muy lentas. Pero esto ocurre con la mayoría de bacterias. Si pensamos en las que se estudian en el laboratorio... Solo son un puñado. No se pueden hacer cultivos de la gran mayoría. Crecen muy lentamente y lo mismo ocurre con las arqueas.

Como bien sabrá, el equipo de Hiroyuki Imachi ha conseguido hacer cultivos de un tipo de arqueas de Asgard provenientes de la fosa de Nankai, al sur de la isla de Honshu en Japón, que han bautizado como «arqueas de Prometeo». Una de las curiosidades de este estudio ha sido que, según parece, el cultivo se ha beneficiado de un ingrediente inusual: la leche para bebés en polvo.

Sí, se comen los aminoácidos [riendo]. Doce años de enriquecimiento. Es una cosa increíble. A estas arqueas de Prometeo les cuesta doce días llevar a cabo una división. A la bacteria *Escherichia coli* le cuesta media hora. Esto nos da una idea de la dificultad de la que hablábamos. Estas arqueas viven en ambientes anóxicos, como por ejemplo sedimentos en los fondos marinos, y tienen una vida que necesita muy poca energía, que va muy lenta. Por eso es tan difícil cultivarlas.



Daniel García-Sala

«Muchos descubrimientos provendrán de ambientes que todavía no se han analizado, tal como sedimentos muy profundos o entornos hipertermófilos»

¿Por qué piensa que es importante reconstruir este camino hacia LUCA [acrónimo de *last universal common ancestor*, “último antepasado común universal”]?

Bueno, ¡es una cuestión fundamental! Siempre se han investigado las migraciones de las poblaciones humanas para entender el origen de los humanos, y esto es exactamente lo mismo. La gente que trabajamos en evolución queremos retroceder en el tiempo. Hacerlo nos puede dar ideas sobre cómo esta irá en el futuro y así hacer predicciones y evitar estupideces, como perder biodiversidad y cosas por el estilo. Esta reconstrucción nos da una instantánea de cómo funciona la evolución, cómo lo ha hecho en el pasado y cómo podría hacerlo en el futuro.

¿Y cuáles son las principales dificultades que se encuentran durante este proceso de reconstrucción?

Por un lado, estamos hablando de acontecimientos que sucedieron hace casi 3.500 millones de años, así que somos como arqueólogos que se encuentran tres piedras y tienen que reconstruir con ellas cómo era la pirámide. Tenemos trocitos y piezas de información y tratamos de encajarlos. Pero además nos encontramos cosas como que la pirámide fue destruida y las piezas, reutilizadas para hacer una catedral o algo así. Esto nos pasa con las secuencias con las que trabajamos. Porque ya no hay fósiles de estos sucesos tan antiguos. En particular, de los microorganismos que no dejan fósiles, lo único que tenemos son sus secuencias de ADN. Así, si queremos ir hacia atrás, necesitamos reconstruir con modelos matemáticos estas mutaciones a lo largo del tiempo. Todo esto va cambiando según nuestro progreso con los modelos matemáticos, que cada vez son más potentes y realistas. Por otro lado, toda la información que vamos descubriendo se va acumulando. Es decir, más piedras. Cuanta más información tenemos, más sabemos sobre lo que ocurrió en el pasado.

De hecho, según tengo entendido, en unos cinco años han pasado de tener alrededor de cien secuencias genómicas de arqueas a más de 3.000.

Sí, ya hemos llegado a las 3.500 y la cosa no para.

¿Cómo han llegado hasta aquí? ¿Qué herramientas les están ayudando?

Todo es gracias a la metagenómica, es decir, la genómica de comunidades. Básicamente, accedemos a un ambiente y secuenciamos todo el ADN que encontramos, que pertenece a microorganismos muy diferentes. Entonces, es como si tuvieses diez rompecabezas mezclados. Y lo que queremos es poner las piezas de uno a un lado, las de otro en otro lado, y así... Y resulta que cada especie tiene su propio patrón dentro de la secuencia, lo cual es muy,

muy útil. Esto nos sirve para decir qué piezas de la secuencia pertenecen a un organismo, cuáles a otro... Con este método podemos reconstruir los genomas de los organismos sin cultivarlos. Esto se denomina MAG, del inglés *metagenome-assembled genomes*; es decir, genomas provenientes de metagenomas. Este es el gran cambio que hemos vivido. En las arqueas, creo que la mayor parte de los genomas que tenemos provienen de esta técnica. Todavía están por cultivar, solo las conocemos de secuenciar [muestras de] el ambiente donde las encontramos. Pero a partir del contenido de sus genes podemos inferir cómo funcionan, sus metabolismos... Pero todavía no tenemos pruebas. Por otra parte, esta información nos puede ayudar a cultivarlas, porque así sabemos qué les gusta, qué comen... Pienso que funciona de las dos maneras: secuencias a partir de cultivos y cultivos a partir de secuencias. Eso es lo que este equipo japonés ha conseguido con las arqueas de Prometeo.



Daniel García-Sala

«Darle un cariz evolutivo a tu investigación te puede proporcionar mucha información»

Antes ha dicho que las arqueas se ven como una curiosidad porque muchas son extremófilas. Pero hay excepciones, ¿verdad?

Sí, las arqueas no solo son extremófilas. Además son muy importantes en operaciones metabólicas como la nitrificación, algo que no sabíamos. Pensábamos que solo las bacterias lo hacían. También estamos obteniendo información sin precedentes sobre metabolismos antiguos que llevan a cabo las arqueas, como por ejemplo la metanogénesis. Y hace poco hemos encontrado una nueva forma de vida a escala nanométrica, arqueas en miniatura, algo muy interesante y que nos plantea otra pregunta: cómo llegaron a ser así y qué es lo que hacen. Estas arqueas se asocian sobre todo entre sí, pero también las hemos encontrado cercanas a bacterias.

¿Y qué sabemos de las arqueas que viven en nuestros intestinos, que ha mencionado antes?

Bien, en ciencia veterinaria hace tiempo que se conocen las arqueas, porque son muy abundantes en rumiantes. Pero recientemente hemos descubierto nuevos linajes de arqueas en el microbioma humano. De momento, solo podemos establecer algunas asociaciones: encontramos cambios en la abundancia de estas arqueas según diferentes enfermedades, que pueden ir desde la obesidad hasta algunas cardiovasculares. Ahora mismo no sabemos si hay una correlación real. Pero algunas de estas arqueas podrían estar implicadas mediante lo que se conoce como disbiosis [desequilibrio en la microbiota], y así pueden estar contribuyendo a algunas dolencias causadas por bacterias; por ejemplo, incrementando el crecimiento de aquellas perjudiciales. Por otro lado, quizás también son beneficiosas, porque, por ejemplo, algunas de estas arqueas comen trimetilamina, que es un compuesto que puede resultar perjudicial para el corazón en grandes cantidades. Esto ha provocado que se desarrolle el concepto de *arqueobióticos*. Pero todavía estamos en los albores de todo esto. No sabemos cómo se han adaptado al cuerpo humano, cuánto tiempo llevan allí, si todo el mundo las tiene o no y cuál es su implicación en la salud. Estamos empezando a verlo justo ahora.

¿Cuáles son los retos a corto plazo para este campo?

El reto diario es que tenemos demasiadas secuencias para reconstruir nuestros árboles. Al trabajar al nivel del árbol de la vida, y no al de una rama pequeña, necesitamos incorporar toda esta diversidad para ver qué está pasando realmente y la relación entre los tres dominios de la vida. Así, resulta que tenemos demasiadas secuencias y se está volviendo muy difícil gestionarlas y elaborar árboles con sentido. Los ordenadores todavía no llegan a calcular tantas cosas. El reto ahora es reducir toda esta gran diversidad para el análisis y a la vez mantener una buena representatividad, y desarrollar nuevos métodos que tengan en cuenta esta cantidad creciente de datos. Todo dentro de un tiempo razonable y garantizando la fiabilidad de los resultados.

¿Y qué piensa que aprenderemos del estudio de las arqueas a largo plazo?

«Retroceder en el tiempo nos puede dar ideas sobre cómo irá en el futuro la evolución»

Por supuesto, está la cuestión del origen de las células eucariotas. Por otro lado, los eucariotas y las bacterias parecen bastante homogéneos, por ejemplo, en sus mecanismos moleculares. Pero las arqueas tienen todo el abanico de posibilidades. Parece que son mucho más diversas y de muchas maneras diferentes: en la forma de dividirse, en sus envoltorios celulares... Creo que aprenderemos por qué son tan distintas de las bacterias. Si lo pensamos bien, viven más o menos el mismo tipo de vida: son pequeñas, unicelulares... Las arqueas conviven con las bacterias en muchos ambientes, pero por algún motivo son muy diferentes entre sí. Pero también queremos conocer cómo se originaron, y por qué hubo esta ruptura entre bacterias y arqueas en el pasado, y qué comportó esta divergencia.

A este árbol de la vida no dejan de salirle nuevas ramas. ¿Se quedará la metáfora corta en algún momento?

Eso es muy difícil de predecir. De momento, todavía estamos descubriendo mucha diversidad. Todo dependerá de si conseguimos muestras de todo el mundo o no. Creo que muchos descubrimientos llegarán de entornos que todavía no se han analizado, por ejemplo, sedimentos muy profundos, incluso en ambientes hipertermófilos. Después están todos los virus, pero eso es otra historia.



Daniel García-Sabá



Daniel García-Sala

Creo que todavía descubriremos muchas cosas. No sé si hallaremos un cuarto dominio de la vida, pero, de momento, todo lo que encontramos o es una bacteria, o una arquea o un eucarionte. Parece que las divisiones primarias se mantienen.

No hace mucho, celebrábamos el día de la niña y la mujer en la ciencia, y querría que me diera su perspectiva sobre su campo, si es que se trata de uno particularmente masculinizado...

Lo está. Quiero decir, ¡sí y no! ¡Pensemos en Lynn Margulis! Está claro que ha habido grandes mujeres en el mundo de la evolución en el pasado. Pero todavía son una minoría, aunque la cosa esté cambiando rápidamente. Durante toda mi trayectoria no he encontrado muchas mujeres en este campo. Sí que había muchos hombres peleándose con mucha testosterona porque cada uno tenía su teoría predilecta... Me asustaba bastante presenciar estos debates tan agitados cuando era una joven estudiante. Pero ahora, poco a poco, hay una nueva generación de mujeres, investigadoras muy jóvenes, que van abriéndose camino en los campos de evolución antigua o microbiología medioambiental. Pienso que esto es muy bueno. Y no digo que las mujeres tengan miedo de pe-

«Hay una nueva generación de mujeres que está abriéndose camino en las áreas de evolución antigua o microbiología medioambiental»

learse si hace falta... Pero sí que parece que aportan una forma diferente de hablar las cosas.

Su trayectoria en el Instituto Pasteur ha sido brillante. Llegó allí en 2003 para hacer un postdoctorado y ahora es jefa de su propia unidad. ¿Cómo ha sido este viaje?

¿Cómo de difícil, dices? [riendo] ¡Muy difícil! Tuve que convencer al Instituto Pasteur de que valía la pena trabajar en las arqueas, aunque no fueran patógenos, porque nos estábamos perdiendo toda una rama de diversidad microbiana, que incluso encontramos en nuestro intestino. Poco a poco, conseguí convencer a mis colegas de que las arqueas son realmente importantes, y ahora ellos empiezan a pensar en términos evolutivos. Porque mucha gente que trabaja con bacterias, sobre todo en temas relacionados con la salud, no se interesa demasiado por la evolución. Pero creo que ahora empiezan a entender que darle un cariz evolutivo a tu investigación te puede proporcionar mucha información. Por ejemplo, sobre la evolución de los patógenos o de mecanismos específicos que podrían ser objetivos interesantes para tratamientos. Así que ahora colaboramos mucho: ellos aportan su conocimiento en bacterias y nosotros lo aplicamos a las arqueas. Y se llevan muchas sorpresas cuando trabaja-

jamos juntos porque las arqueas son tan diferentes... Esta idea de que solo son bacterias curiosas pierde fuerza cada día. Son algo completamente diferente.

En unas pocas horas estará hablando delante de grupo nutrido de estudiantes. ¿Le gusta hablar con las nuevas generaciones de biólogos?

Sí, por supuesto. Y les diré que es muy importante fijarse en la perspectiva general. Hacerlo te aporta otra idea sobre lo que estás haciendo en biología. Y también les diré que, si quieren dedicarse a la microbiología, ahora es el momento. Los próximos años serán la edad dorada de la microbiología.

No solo en el estudio de las arqueas, sino de los eucariontes unicelulares, de bacterias desconocidas... Les animaré a tomar este camino y, sobre todo, a que trabajaren en un nuevo organismo modelo, porque si todo el mundo continúa trabajando con *E. coli* nunca descubriremos nada más [riendo]. *Escherichia coli* es muy interesante, pero no tenemos ni idea de la gran mayoría de la vida microbiana, ni herramientas genéticas para estudiarla, ni nada. Nuestro conocimiento de la diversidad microbiana es todavía muy parcial. ☺

SUSANNA LIGERO. Periodista y traductora (revista MÈTODE).