

Póster

Regulación de la expresión de Flo11 de *Saccharomyces cerevisiae* mediante pH

Javier Alonso del Real¹ y José I. Ibeas^{2,*}^{1,2}Departamento de Genética, Centro Andaluz de Biología del Desarrollo. Universidad Pablo de Olavide/CSIC, Carretera de Utrera km1, 41031 Sevilla, España.**Palabras clave:** levadura de flor; adhesinas; álcalis

RESUMEN

La levadura encargada de la fermentación de los vinos de los tipos Xerez y amontillados es conocida como levadura de flor. Esta denominación se debe a que forma agregados que floculan como resultado de la interacción entre células mediada por la adhesina FLO11. Lo que se observa es una capa de biofilm (flor) en la superficie del mosto durante la fermentación, factor fundamental para las características organolépticas especiales de estos vinos.

El alelo FLO11F de la levadura de flor es el más activo de todos los descritos en *S. cerevisiae* (Fidalgo et al., 2006). En un screening de mutantes afectados en la expresión del gen, se identificaron varios genes implicados en la respuesta a variaciones de pH ambiental (Barrales et al., 2007). Estos resultados junto con los obtenidos por Bayly (2005) en los que se mostraba que la floculación dependiente de FLO11 sólo se daba a pH alcalino, motivaron este proyecto, donde se quiere describir la expresión de FLO11 en función del pH ambiental.

En la cepa de laboratorio haploide L133d generada a partir de una cepa vínica silvestre en un trabajo anterior, se han llevado a cabo ensayos de expresión de FLO11 así como de fenotipos asociados a esta expresión. Como control negativo siempre usamos un mutante FLO11D.

En concreto, se clonó el gen lacZ bajo la regulación del promotor de de FLO11 y se llevó a cabo un ensayo β -galactosidasa. Al añadir ONPG a las células e incubarlas a 28 °C se observaba la formación de un compuesto amarillo cuya absorbancia correlaciona con la actividad del gen. En este caso, vimos que la actividad galactosidasa era aproximadamente el doble en las células cultivadas a pH 7 que a pH 3.

La capacidad de crecer penetrando en agar de estas cepas vínicas ha sido descrita anteriormente. Hemos preparado placas de SLAD a pHs 3 y 7 para testar esta capacidad en nuestra levadura. Después de una semana de crecimiento a 30 °C, lavamos las placas para retirar la biomasa de la superficie, y observamos que la levadura era capaz de invadir el agar a pH 7 y no a pH 3.

En ninguno de los experimentos se observaban diferencias de expresión o fenotípicas en el caso del mutante carente de FLO11 a los diferentes pHs ensayados.

Estos resultados junto a otros no mostrados, demuestran que efectivamente la expresión de FLO11 está fuertemente regulada por pH, siendo mucho mayor a pH 7 que a pH 3. Además, sabiendo que estas levaduras crecen mejor a pH ácido, volvemos a ver a FLO11 como respuesta al estrés ambiental.

BIBLIOGRAFIA

- Fidalgo, M., Barrales, R.R., Ibeas, J.I., Jiménez, J. (2006) Adaptive evolution by mutations in the FLO11 gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11228–11233.
- Bayly, J.C., et al. (2005) Characteristics of Flo11-dependent flocculation in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.*, **5**, 1151–1156.
- Barrales, R.R., Jiménez, J., Ibeas, J.I. (2008) Identification of Novel Activation Mechanisms for FLO11 Regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. **178**, 145–156