



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Facultad de Ciencias

**GRADO EN
BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO FIN DE GRADO
MECANISMOS DE
CONTROL DE LA
EXPRESIÓN GÉNICA:
DESCIFRANDO UN
NUEVO CÓDIGO
GENÉTICO**

Presentado por:
D. Juan Manuel Ruiz Robles

Tutor:
Prof. Dr. Francisco David Carmona López

Curso académico 2020/2021

Índice

1. Abstract	1
2. Introducción	2
3. Objetivo	4
4. Planificación	5
5. Metodología	6
6. Resultados y discusión	8
6.1. LUCA. El origen de la vida en la Tierra	8
6.2. Contenido en GC	13
6.2.1. Ley de Chargaff	13
6.2.2. Isocoros: formación y significado	13
6.2.3. Características funcionales de los isocoros	18
6.2.4. Islas CpG y nucleosomas	20
6.2.5. Tripletes, GC y GC3	21
6.3. Sesgo de codones	22
6.3.1. Codones óptimos y no óptimos	22
6.3.2. Mutaciones susurrantes	23
6.3.3. Estabilidad del ARN	23
6.3.4. El segundo código genético: aminoacil tRNA sintetasas	27
6.3.5. Plegado de proteínas	28
6.3.6. Otros ejemplos del sesgo de codones	30
6.4. Aplicaciones	32
6.4.1. Investigación	32
6.4.2. Industria biotecnológica	32
6.4.3. Biomedicina	33
7. Conclusions	34
8. Aprendizaje y adquisición de competencias	35
9. Bibliografía	36
10. A quienes han hecho esto posible	49

Índice de figuras

1.	Número de artículos publicados por año para “codon usage”	6
2.	Conjunto de eventos necesarios para el origen de la vida en la Tierra	9
3.	Árbol de la vida de Charles Darwin frente al que incluye la teoría endosimbiótica .	10
4.	Reconstrucción completa del árbol de la vida	11
5.	Isocoros para el MHC	13
6.	Distribución de isocoros L1 y H3 en el cariotipo humano	15
7.	Distribución de intrones y secuencias codificantes en los isocoros	16
8.	Proporciones relativas de los distintos clústeres de isocoros	19
9.	Tiempos vida de transcritos en función de su proporción de codones óptimos . . .	24
10.	Efectos del contenido en GC en las paradas durante la transcripción	25
11.	Modelo de estabilidad y distribución de los transcritos	26
12.	Distribución temporal del RNA durante el desarrollo del cigoto	26
13.	Comparación estructural de la lisil tRNA sintetasa I y II	27
14.	Efectos de los codones óptimos y no óptimos en el plegamiento de proteínas	30

Índice de cuadros

1.	Tabla resumen de la distribución de tareas	5
2.	Resumen de búsquedas bibliográficas	7
3.	Tabla resumen de las definiciones de “codones óptimos”	29

Abreviaturas

aaRS *Aminoacyl-tRNA Synthetase* [aminoacil tRNA sintetasa]

ARNi ARN de interferencia

AT *Adenine-thymine content* [contenido en adenina-timina]

BRCA1 *Breast cancer 1* [gen relacionado con el cáncer de mama]

CGis *CpG islands* [islas CpG]

CpG *Cytosine-phosphate-guanine* [citosina-fosfo-guanina]

GC *Guanine-cytosine content* [contenido en guanina-citosina]

LUCA *Last universal common ancestor* [último ancestro común universal]

LUCAS *LUCA state* [estado LUCA]

ORF *Open Reading Frame* [marco de lectura abierto]

PCR *Polymerase Chain Reaction* [reacción en cadena de la polimerasa]

RAS *Rat sarcoma* [familia de oncogenes relacionados con sarcoma]

SRY *Sex-determining region Y* [región determinante del sexo del cromosoma Y]

TAD *Topologically associating domain* [dominio de asociación topológica]

TFG Trabajo Fin de Grado

5mC *5-methylcytosine* [5-metil citosina]

1. Abstract

Despite the discovery of “The Human Genome” in 2001, a lot of questions about the complexity of the human being —and life, in general— remain unclear and waiting to be resolved. This is likely due to the lack of knowledge about an appropriate code, beyond the canonical genetic code, that would allow us to understand how the structure and sequence of the DNA affect the different mechanisms underlying the development and maintenance of each single organism’s life. In an attempt to decipher the unrevealed information hidden in the DNA, we summarize in this Final Degree Project the main evidences for the existence of a new genetic code, which seems to be prior to the established one. Furthermore, we discuss the available knowledge in this field with the main goal of understanding the evolutionary meaning, the potencial new applications and the characteristics of this new code. A code that is also universal and tripled-encoded, but absolutely non-degenerate.

2. Introducción

En palabras de Carl Sagan, “*we are a way for the cosmos to know itself*”. En este sentido, en el año 1859 de nuestra era, el ser humano, el animal que mira a las estrellas, descubrió la esencia de la vida. Darwin comenzó un viaje que se convertiría en la semilla de uno de los más sencillos y bellos descubrimientos científicos: la evolución de las especies. Según publicó en su libro titulado “*On the Origin of Species by Means of Natural Selection*”:

“There is grandeur in this view of life, with its several powers, having been originally breathed into a few forms or into one; and that, whilst this planet has gone cycling on according to the fixed law of gravity, from so simple a beginning endless forms most beautiful and most wonderful have been, and are being, evolved.”

Tras esto, los grandes nombres de la genética del siglo XX fueron dando respuesta a las enigmáticas cuestiones que se planteaban: Avery, McLeod y McCarty determinaron que el ADN era “la molécula de la vida”; Rosalind Franklin nos proporcionó, con la imagen 51, la última pieza del puzzle con la que Watson y Crick publicarían la estructura “aurea” de la doble hélice de ADN; George Gamow argumentó que la información genética debía estar codificada en tripletes para la síntesis de proteínas (lo que fue demostrado, posteriormente, por Crick); y el código genético fue establecido con la inestimable colaboración de Severo Ochoa.

En 1978, se publica “*The selfish gene*”, un libro que aporta una nueva visión de la Genética, en el que Richard Dawkins expone la teoría de síntesis neodarwinista, unión de las tesis de Darwin y Mendel (gracias a la labor de Ronald Fisher), y el papel capital de los genes, elementos básicos de la transmisión de la información genética y en los cuales se ejerce, realmente, la presión selectiva. Como se expresa en este libro, es necesario conocer la naturaleza de la secuencia, todo lo que esta entraña, para “rebelarse contra la tiranía de los replicadores egoístas”.

Finalmente, el gran avance tecnológico que experimentó la informática permitió que, en el año 2000, a través de un consorcio internacional público, se publicara el primer borrador del genoma humano. *The Human Genome Project* suponía el punto de partida de las diversas ciencias ómicas.

Veinte años después, nos encontramos, posiblemente, ante el florecimiento de una de las más importantes revoluciones científicas que ha experimentado el ser humano. Los costes de secuenciación disminuyen más rápido incluso de lo esperado según la ley de Moore, y la información que se obtiene diariamente, por su relevancia en diversos aspectos como la Biomedicina, será utilizada

durante siglos. Mientras, como diría Darwin, “el planeta sigue girando de acuerdo a la establecida Ley de la Gravedad e interminables formas de vida continúan evolucionando”.

Con este punto de partida, y ante el interés que suscitan las innumerables preguntas que siguen sin tener respuesta, en este Trabajo Fin de Grado (TFG) trataremos de comprender los mensajes ocultos que se encuentran encriptados en la secuencia de ADN, con el ánimo de desvelar los procesos de control de la expresión génica contenidos en la misma y de entender su significado evolutivo.

3. Objetivo

El objetivo de este TFG es realizar una búsqueda bibliográfica avanzada con el fin de recopilar, comprender, sintetizar y exponer el conocimiento actual existente sobre los mecanismos de control de la expresión génica contenidos en el ADN. Aspectos como el sentido evolutivo y la función de estos mecanismos, junto con los efectos de las mutaciones, serán elementos centrales para entender las características de este nuevo “código genético”, así como exponer sus posibles aplicaciones.

4. Planificación

1. Realización de todos los trámites necesarios para la solicitud del TFG.
2. Realización de cursos sobre LaTeX, bases de datos y gestores bibliográficos
3. Reunión con el tutor para recibir las recomendaciones pertinentes sobre cómo organizar el trabajo, el tema a tratar, realizar un índice de contenidos y aprender a utilizar diversas herramientas.
4. Búsqueda bibliográfica avanzada
5. Organización de la información para relacionar conceptos y crear esquemas y lluvias de ideas
6. Redacción progresiva del trabajo. Revisión y corrección en varias ocasiones
7. Creación de figuras con Canvas y Matplotlib
8. Reuniones finales con el tutor para las últimas correcciones
9. Desarrollo de la presentación y preparación para la defensa frente al tribunal

Desde el primer cuatrimestre me entrevisté en varias ocasiones con el tutor, exponiéndole mis intereses y siguiendo sus indicaciones sobre cómo debía ir planteando la realización del trabajo. Asimismo, los cursos sobre LaTeX y gestores bibliográficos también se realizaron previamente al período fijado para la elaboración del TFG, de manera que, durante el segundo cuatrimestre, me pude centrar casi exclusivamente en realizar una adecuada búsqueda bibliográfica (**Cuadro 1**).

Cuadro 1: Tabla resumen de la distribución temporal de tareas y carga de trabajo. Un asterisco(*) indica carga baja de trabajo, dos (**) indican carga moderada y tres (***) indican una carga elevada.

	Tareas					
	Reuniones	Planificación	Búsqueda	Lectura	Escritura	Acabado/Defensa
Marzo	**	**	*			
Abril		**	***	***	*	
Mayo	*	*		***	***	*
Junio	**	*			*	***

5. Metodología

Para la realización de la búsqueda bibliográfica, en primer lugar, se realizó una búsqueda general, abarcando bases de datos y repositorios como Scopus, Google Scholar o Pubmed, con especial énfasis en *reviews* para obtener una idea general acerca de cómo queríamos plantear el trabajo y así poder establecer un índice de contenidos. Un ejemplo de ello se muestra en la **Figura 1**.

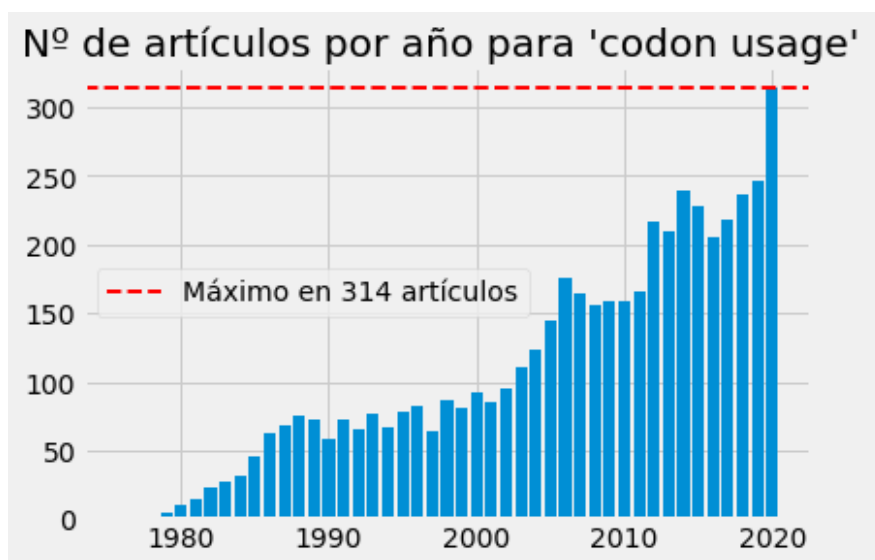


Figura 1: Número de artículos publicados por año para *codon usage*. Se puede observar el interés en alza en esta área de investigación. Elaboración propia, realizada con Matplotlib (Python) a partir de los datos en formato csv que se pueden obtener de PubMed

Tras esto, las búsquedas se tornaron más especializadas, tal como se indica en el **Cuadro 2**:

Cuadro 2: Resumen simplificado de la búsqueda bibliográfica realizada. La sección se refiere al apartado del trabajo, tal y como aparece indicado en el índice de contenidos, en el que han sido preferencialmente utilizados los datos recopilados

Búsquedas bibliográficas realizadas				
Fecha	Base de datos	Item de búsqueda	Operadores y filtros	Sección
09/04/2021	Scopus	TITLE(LUCA)	SUBJAREA = "BIOC"	6.1
09/04/2021	Pubmed	"LUCA"	Filters: Abstract	6.1
12/04/2021	Scopus	TITLE(chargaff)	SUBJAREA = "BIOC"	6.2.1
12/04/2021	Scopus	TITLE(isochores)	SUBJAREA = "BIOC"	6.2
12/04/2021	Pubmed	isochores[Title]	—	6.2
15/04/2021	Pubmed	codon bias[Title]	Publication: 5 years	6.3
15/04/2021	Scopus	TITLE(codon bias)	SUBJAREA = "BIOC"	6.3
15/04/2021	Pubmed	tRNA synthetase[Title]	Publication: 5 years	6.3
15/04/2021	Scopus	TITLE(tRNA synthetase)	SUBJAREA = "BIOC"	6.3
15/04/2021	Pubmed	codon usage[Title]	Publication: 5 years	6.3
15/04/2021	Scopus	TITLE(codon usage)	SUBJAREA = "BIOC"	6.3
15/04/2021	Pubmed	codon optimization[Title]	Publication: 5 years	6.4
15/04/2021	Scopus	TITLE(codon optimization)	SUBJAREA = "BIOC"	6.4

Adicionalmente, se revisaron las referencias que se consideraron interesantes en los artículos encontrados y, por su relevancia, se añadieron aquellas referencias a artículos que supusieron un avance importante para el conocimiento en su área.

Para la gestión bibliográfica, se utilizó JabRef, que requiere del formato BibTex para la citación. Desde Scopus se puede obtener directamente dicha citación, no así desde PubMed. No obstante, fácilmente encontré un programa de uso libre que modifiqué adecuadamente para la tarea, permitiéndome, así, obtener las referencias pertinentes a través del código PMID de los artículos, si bien también existe la posibilidad de buscar estos artículos individualmente en Scopus.

En Scopus se organizaron las búsquedas, guardando los artículos en listas. Por su parte, en PubMed guardaba los artículos con enlace directo a mi correo electrónico. Se agruparon los códigos para las citas bibliográficas en un único archivo, del que LaTeX tomaba la información necesaria para la citación en el formato indicado.

6. Resultados y discusión

6.1. LUCA. El origen de la vida en la Tierra

Al igual que *Lucy* se considera el último antepasado común de toda la humanidad, LUCA (*Last Universal Common Ancestor*) se podría definir como el último eslabón que une a todos los seres vivos de nuestro planeta, nuestra *Eva* universal.

La vida emergió en un punto azul pálido hace unos 4 mil millones de años. Hasta hace poco se pensaba que procedía de otros cuerpos celestes (teoría de la panspermia). No obstante, esta opción implica que esas primeras moléculas autorreplicadoras deberían haber soportado altas temperaturas y presiones durante su entrada a la atmósfera terrestre y el consiguiente impacto, lo cual reduciría en gran medida sus posibilidades de "supervivencia" [1].

Por su parte, a favor de la teoría del origen de la vida en la Tierra se ha obtenido evidencia de que numerosas moléculas orgánicas podrían haber surgido a partir de los componentes presentes en el caldo primigenio y la atmósfera primitiva. Destaca el experimento de Miller-Urey, en donde, a partir de CH_4 , NH_3 , H_2O , y O_2 y descargas eléctricas, se obtuvieron aminoácidos de gran importancia, tales como la glicina, la alanina y el ácido aspártico [2].

Probablemente, esas primeras moléculas prosperaron en los ambientes cercanos a las fuentes hidrotermales, donde se alcanzarían temperaturas templadas, pudiendo mantenerse los compuestos orgánicos con la estabilidad suficiente para dar lugar a mayores niveles de complejidad [3]. Además, existiría un aporte continuo de *S*, mineral esencial para la formación de acetil-CoA [4], molécula considerada responsable de la obtención de energía en los primeros estadios de vida. [5].

No obstante, todavía persisten dudas acerca de si estas condiciones fueron suficientes para dar lugar a LUCA. En general, se acepta que serían necesarios compuestos generados a partir de reacciones de alta energía, probablemente obtenidos a partir de erupciones volcánicas, descargas eléctricas de alta densidad, o, incluso, de los ya mencionados impactos de asteroides. Recientemente se ha planteado la hipótesis de que la vida podría haber surgido gracias a la acción de un ciclo continuo de hidratación-deshidratación, la denominada teoría “*hot spring*”, basada en la evidencia experimental de que se pueden formar polímeros lipídicos capsulares en estas condiciones [6]. Probablemente lo más interesante sería integrar todos estos eventos, lo que en determinados artículos denominan “estado LUCA” o “LUCAS”, en el que serían un conjunto de moléculas interrelacionadas, y no una sola, nuestro último ancestro común universal (ver **Figura 2**). Las dudas de Darwin sobre si la vida cobró una única forma o varias en el momento de su nacimiento, por tanto, siguen aún latentes.

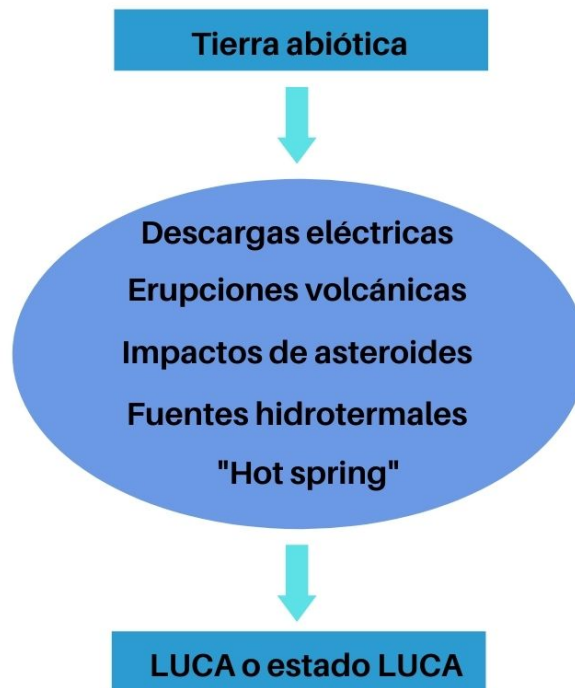


Figura 2: Conjunto de eventos necesarios para el origen de la vida en la Tierra. Elaboración propia, realizada con Canvas

Con respecto a la molécula que fue capaz de almacenar información por primera vez se han propuesto ácidos nucleicos capaces de aminoacilarse a sí mismos o, incluso, híbridos ADN-ARN [7]. No obstante, se asume que existió una fase temprana de ARN conocida como "mundo de ARN"[8], donde el ARN actuando como una ribozima sería capaz de obtener estructuras complejas, dar lugar a pequeños péptidos y autoperpetuarse [9]. Se ha demostrado que el ARN podría tener esta acción autocatalítica, lo que con el suficiente tiempo y las condiciones adecuadas terminaría sucediendo con casi total seguridad [10].

En el mundo de ARN, el contenido en GC se presupone bastante alto, pues el ARN es una estructura muy inestable, y la única forma de aumentar su tiempo de vida medio sería a través del incremento del número de puentes de hidrógeno (3 por par G-C frente a los 2 del par A-U). Este aumento también repercute en una unión más favorable a péptidos por la conformación espacial que se forma.

En este sentido, algunos autores han acuñado el término "mundo ARN-péptido". De forma aleatoria y en base a la abundancia de cada aminoácido se empezarían a formar pequeños péptidos con capacidad de unirse al ARN, llamados puentes peptídicos, creando estructuras más estables para

el ARN [11]. Por efecto de la evolución darwiniana cada vez se unirían péptidos con la secuencia y estructura más adecuada, siendo éste el único modelo capaz de explicar el origen de las aminoacil tRNA-sintetasas [12]. Probablemente el paso a ADN fue posterior y progresivo, con ribozimas capaces de ir incorporando sucesivamente más desoxirribonucleótidos para aumentar su estabilidad [13]

Finalmente, uno de los aspectos más importantes sobre LUCA(S) es conocer si éste se trataba de una célula propiamente dicha o de una estructura autorreplicadora sin membrana. En la mayoría de trabajos se asume que debió ser una entidad celular o protocelular [14, 15]. No obstante, hay determinados autores que se oponen frontalmente a esta idea y han conseguido relativa repercusión [16], e incluso hay artículos en los que no se deja claro qué acepción del concepto “progenote” están utilizando.

Si consideramos que LUCA(S) no era una célula, debemos asumir que la evolución dio lugar en dos momentos distintos a linajes celulares (arqueas y bacterias). Esto nos sugiere que la creación de organismos celulares no sería consecuencia del mero azar y que podrían haberse formado otros tipos de organismos complejos que no llegaron a prosperar, tanto celulares como acelulares. Por otro lado, si consideramos a LUCA(S) como un ser celular, no podríamos negar la clara ventaja evolutiva que le otorgó esta condición pues sus “genes egoístas” han persistido hasta nuestros días (**Figuras 3 y 4**).

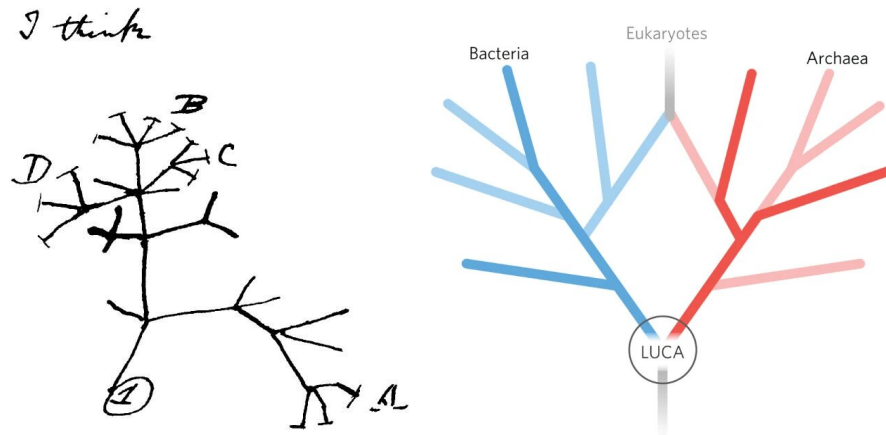


Figura 3: Árbol de la vida de Charles Darwin frente al que incluye la teoría endosimbiótica. Modificada de Weiss y cols., 2016 [14]

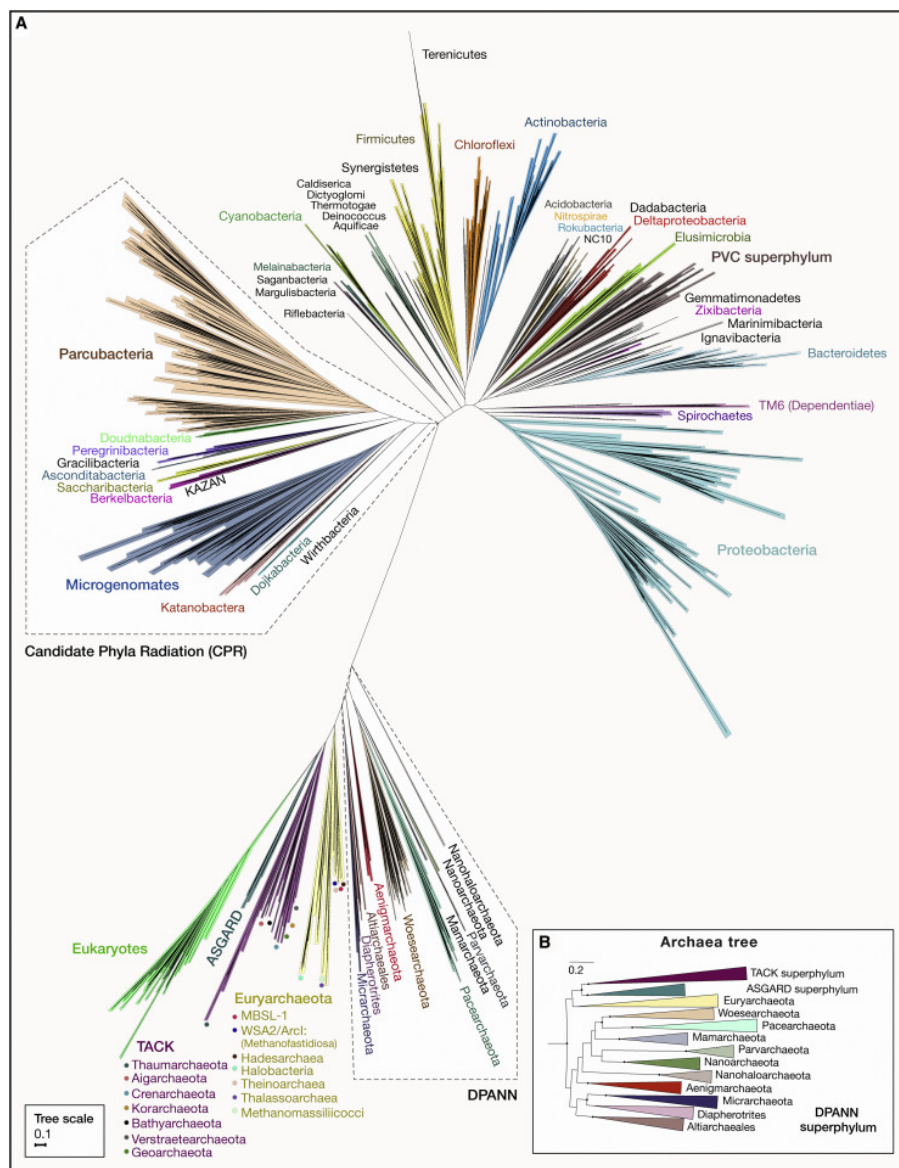


Figura 4: Una de las últimas propuestas para el árbol de la vida. La estructura de éste varía en función de los genes que se tengan en cuenta en el análisis. En este caso se ha realizado con genes codificantes de ribosomas, por lo que los eucariotas se consideran como una de las múltiples ramas de las arqueas. Castelle y Banfield, 2018 [17]

Entender el origen de la vida nos permite comprender cómo ha surgido toda la diversidad de formas de vida actuales y los procesos que la conforman. Por ejemplo, nos ha permitido redescubrir el árbol de la vida, para lo que la biotecnología ha sido esencial. La secuenciación de los genomas de cada vez más especies y el avance de las técnicas de cultivo nos permiten entender su filogenia, llegando a descubrir incluso nuevos grupos microbianos muy antiguos [17].

Así como el *Homo sapiens sapiens* surgió por la introgresión de —al menos— genes de neandertales y denisovanos en los genomas de sus coetáneos sapiens, y los eucariotas surgieron por la unión de arqueas y bacterias [18], aparentemente, lo que conocemos como vida surgió por la unión de varios tipos distintos de moléculas.

Indudablemente, esto nos hace reflexionar sobre cómo la aparición de nuevas combinaciones posibilita la creación de mayores niveles de complejidad. La comprensión de los procesos por los que se forman, se seleccionan y actúan estas variaciones es clave para entender el funcionamiento de todos los seres vivos desde el punto de vista molecular. Y lo que es más interesante, estas variaciones no aparecieron en base a una función proteica, sino que tenían que ver con procesos aún más elementales y que actualmente siguen formando parte de los seres vivos.

6.2. Contenido en GC

6.2.1. Ley de Chargaff

En 1968, Chargaff descubrió una sencilla regla estudiando el ADN de *Bacillus subtilis*. La cantidad de adeninas contenidas en la muestra era —con cierto margen de error experimental— la misma que se observaba en las timinas, hecho que se repetía estudiando las guaninas y citosinas [19].

$$A = T \quad C = G \quad (1)$$

Además, las cantidades de A, T, C y G no eran iguales, y variaban entre especies. La información genética, por tanto, no solo variaba en su orden de bases, también lo hacía en su composición. La prácticamente universalidad de la regla de Chargaff [20] denotaba que la estructura del ADN debía, de alguna forma, facilitar este resultado. Esto permitió que, posteriormente, se estableciera el apareamiento de bases de Watson y Crick y el descubrimiento de la estructura del ADN [21]. No obstante, como veremos a continuación, la importancia de los estudios de Chargaff no acaba aquí.

6.2.2. Isocoros: formación y significado

El contenido en GC no varía únicamente entre especies, también lo hace dentro del mismo genoma, al menos en los organismos con reproducción sexual [22], incluso en el plastoma [23] y en algunas bacterias [24, 25]. Esto es lo que se conoce como “isocoros”, grandes regiones cromosómicas—mayores de 300kb—que se pueden agrupar por mantener un contenido de guanina-citosina relativamente similar, y el cual se encuentra relacionado con las secuencias codificantes que albergan [26]. Podemos ver un ejemplo en la **Figura 5**.

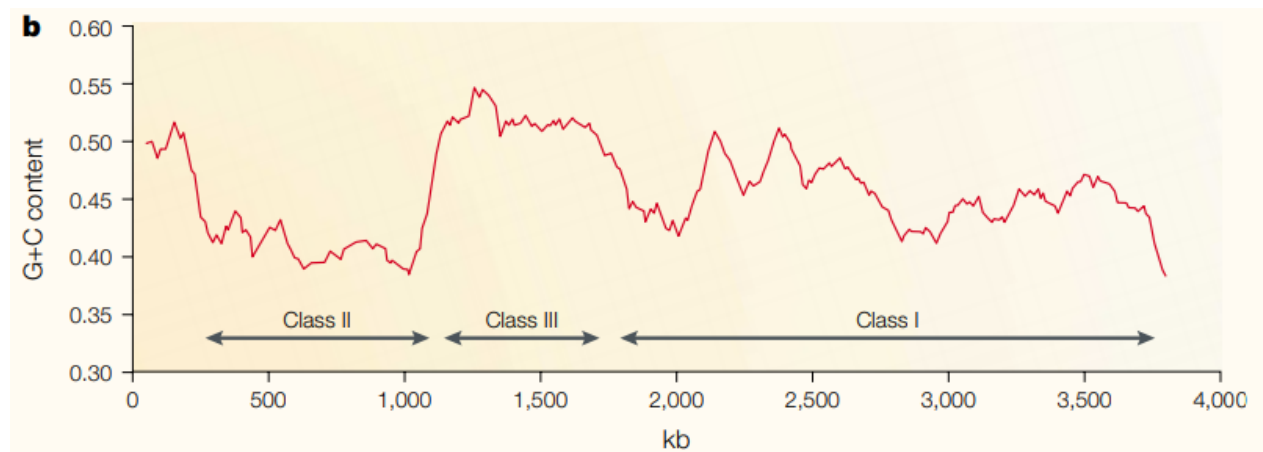


Figura 5: Isocoros para cada una de las clases del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Eyre-Walker y Hurst, 2001 [52]

Pero, ¿por qué y cómo surgen estos isocoros? Sabemos que están altamente relacionados con la recombinación, pues son más notables en organismos que presentan reproducción sexual [27]. Además, se baraja la posibilidad de que hayan surgido como adaptación a la temperatura corporal del organismo [28], pues aves [29] y mamíferos [30] presentan los isocoros más marcados y con mayor contenido en GC.

No obstante, con respecto al argumento de la temperatura, si bien un mayor contenido en GC puede ayudar a estabilizar el ADN, otras soluciones como las modificaciones epigenéticas y la unión a histonas parecen más eficientes. Además, encontramos parásitos como *Plasmodium falciparum* con contenidos muy bajos en GC (un 20 %) y animales de sangre fría con isocoros ricos en GC [31].

En su lugar, la teoría más aceptada al respecto es la del sesgo en la conversión genética o “*biased gene conversion*”. Esta hipótesis plantea que el origen de los isocoros se debe a que la maquinaria de corrección de la célula tiende a enmendar los errores que se producen durante la recombinación añadiendo, proporcionalmente, una mayor cantidad de GC [32, 33]. A nivel experimental se ha observado este proceso introduciendo trasgenes en regiones de alta recombinación, observando un aumento acelerado del porcentaje en guanina-citosina. Adicionalmente, se ha observado en ratones que el gen *Fxy*, por una traslocación, se encuentra justo entre una región de herencia ligada al cromosoma X y otra pseudoautosómica, observándose claras diferencias entre ambas regiones del gen [34], debido a que, únicamente, presenta recombinación esta última.

Aparentemente, la recombinación actúa como un motor creando un desequilibrio en la proporción de bases en el ADN. Este desequilibrio en función de su *fitness* será seleccionado y, finalmente, fijado [35, 36], lo que se refleja en los distintos grupos de isocoros. En mamíferos tenemos los L1, L2, H1, H2 y H3 –ordenados de menor a mayor porcentaje en GC, *L* hace referencia a “low” y *H* a “high”, respectivamente–[37] (**Figura 6**).

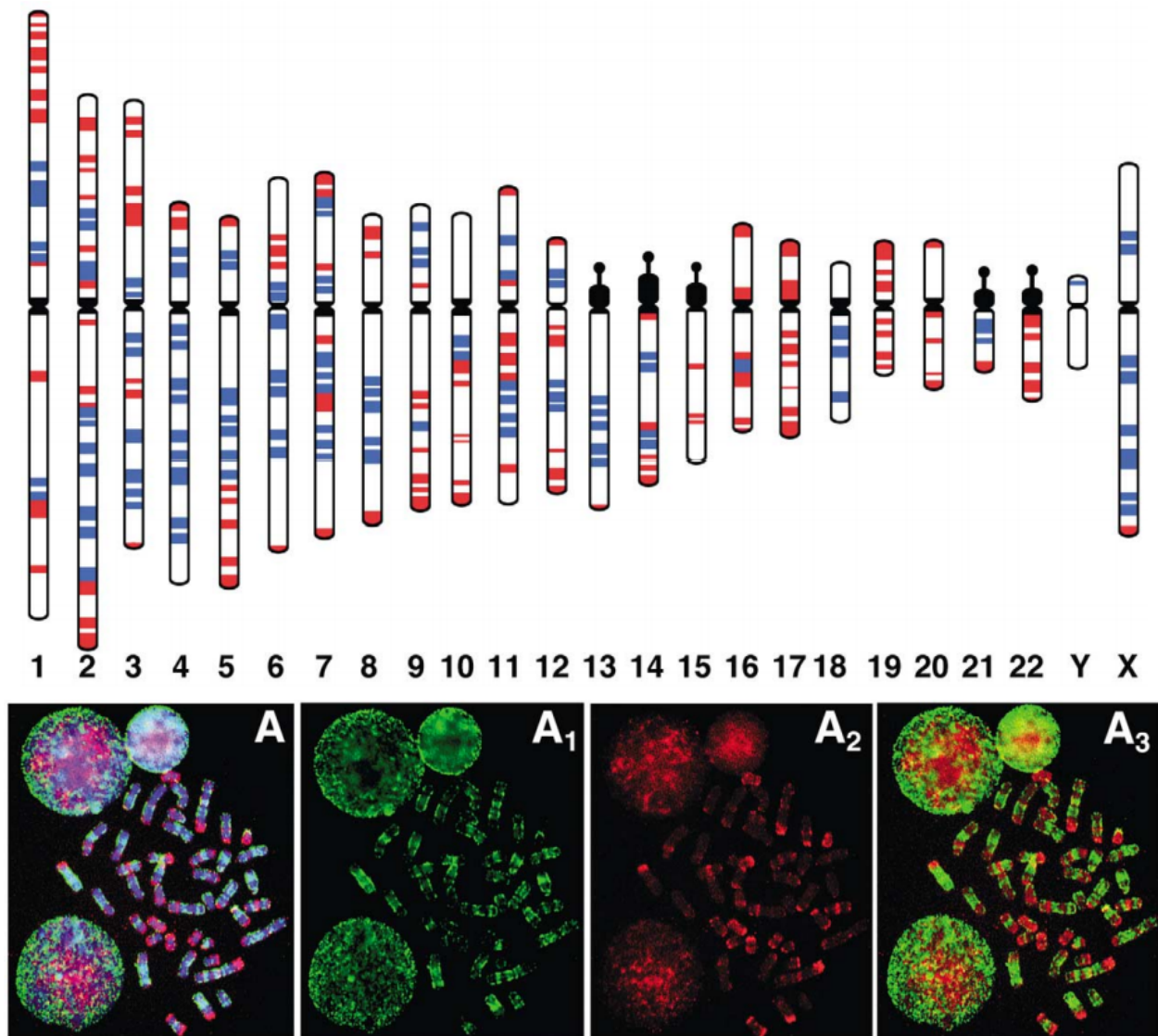


Figura 6: Parte superior: distribución de los isocoros H3 (rojo) y L1 (azul) en el cariotipo humano. Parte inferior: teñido de cromosomas, H3 (rojo), L1 (verde). DAPI (azul) aporta contraste, el amarillo indica zonas de solapamiento. Saccone, Federico, y Bernardi, 2002 [44]

No obstante, la controversia respecto a por qué existen estos isocoros permanece abierta, pues el aumento en GC no solo atañe a las secuencias codificantes [38] y, de hecho, se han observado determinadas características directamente correlacionadas con un mayor contenido en GC en los isocoros:

1. Mayores tasas de recombinación
2. Intrones más cortos
3. Mayor densidad génica [39]

4. Mayor cantidad de secuencias repetidas en tándem [40]
5. Mayores deleciones e inversiones [41]

Por otra parte, se ha observado que las regiones pobres en GC suelen corresponder con las bandas G del cromosoma interfásico, las intermedias con las R y las altas con las bandas T [42], indicándonos que los isocoros deben jugar un papel en la arquitectura del estado de la cromatina. En la misma línea, recientemente se ha observado que los isocoros pueden relacionarse con los dominios de asociación topológica (TADs) [43].

De hecho, existe la hipótesis de que el aumento de GC debido a la recombinación modificaría la estructura de la cromatina [44], lo que debería resolverse a nivel evolutivo a través de grandes deleciones en intrones y regiones intergénicas, que resulta en intrones más cortos y genes más agrupados, respectivamente (**Figura 7**). Adicionalmente, debido a la alta tasa de recombinación, la inestabilidad cromosómica daría lugar a un aumento de las secuencias repetidas en tándem.

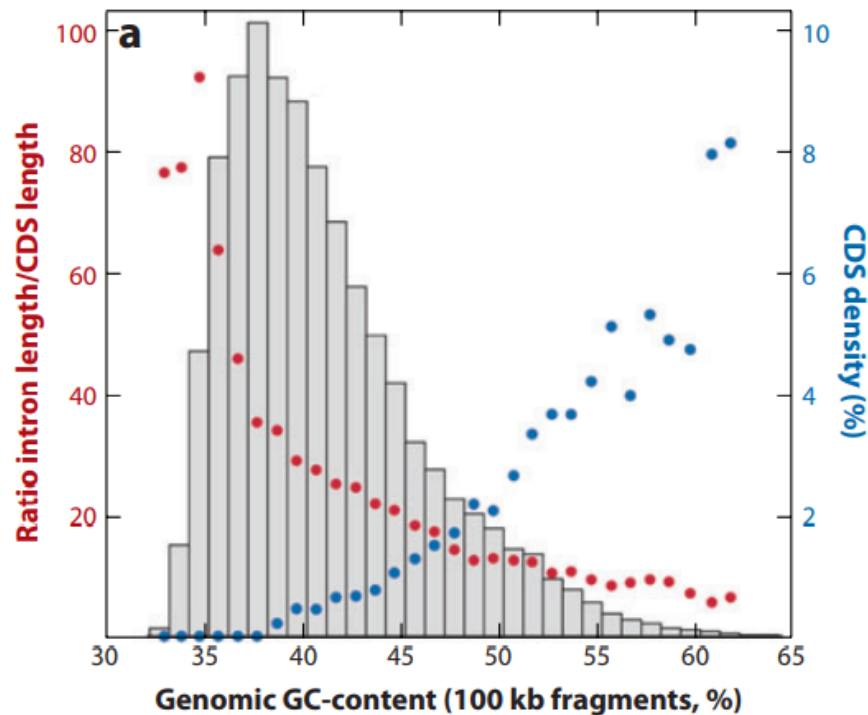


Figura 7: Según aumenta el contenido en GC disminuye la longitud de intrones (rojo) y aumenta el número de secuencias codificantes (azul). Duret y Galtier, 2009 [48]

Si bien aún conocemos poco sobre los TADs, cada vez son mayores los indicios de su importancia para la estructura global de la cromatina [45], por lo que establecer una relación clara entre

los isocoros y los TADs tendría un gran impacto sobre las investigaciones en este campo. Una posible relación es la que involucra a los isocoros en la formación de “marcas” que determinarían la unión de las proteínas CTCF [46], responsables de la formación de los TADs. Esto cobra vital importancia debido a que algunos estudios apuntan a que la propia cromatina, sin intervención de procesos de transcripción, sería suficiente para obtener una estructura adecuada tras los procesos de reestructuración de la mitosis y meiosis [47].

Un aspecto interesante sobre este tema sería determinar porqué existe ese sesgo en la recombinación al aumentar el contenido en GC. ¿Existe realmente algún incentivo para qué todos los organismos con reproducción sexual tiendan a solventar preferentemente los errores con guaninas y citosinas o nos encontramos ante un vestigio molecular? ¿Por qué no se prefieren las AT? La idea de maquinarias de corrección de errores en pro de la estabilidad genética podría tener sentido en su momento si lo miramos con perspectiva. De otra forma deberíamos asumir que existe alguna razón que se ha mantenido durante los últimos millones de años que provoca que sea más efectivo conservar el contenido en GC con el riesgo de aumentarlo que arriesgarse al efecto contrario. Me atrevería a decir, además, que se debería tratar de una razón de peso pues, a raíz de los ya mencionados efectos que provocan estos isocoros, las consecuencias, y no solo a nivel de reestructuración de la cromatina [48, 49], son de una gran magnitud. Esto suena altamente improbable y, de hecho, conocemos que el %GC del genoma ha experimentado procesos cortos pero de rápido crecimiento. Es más, actualmente se está produciendo un “borrado” progresivo de los isocoros H [50].

Desde mi punto de vista, si bien los isocoros pueden no ser producto único de la presión evolutiva y, de hecho, su origen y expansión está altamente determinado por los efectos de la recombinación [51], deben tener algún significado evolutivo que aún no logramos comprender [52], y no únicamente de origen [53]. Si no fuera así, para la célula podría ser tan sencillo como seleccionar más AT. Si bien no tengo suficientes indicios para afirmarlo rotundamente, considero que los isocoros, si bien en algún momento pudieron ser neutros a nivel de *fitness*, a lo largo de su formación pueden dar lugar a fenómenos interesantes para la célula y el organismo [54]. Por ejemplo, aumentar la densidad génica podría permitir la corregulación de genes, y la creación de diferentes TADs permitiría un mayor control sobre la expresión génica.

Esta idea estaría apoyada por investigaciones evolutivas como las de Lenski, que mantuvo—y mantiene—cepas de *E.coli* evolucionando de forma independiente. Debido a la forma de selección (completamente al azar), todas las cepas convergieron evolutivamente. De hecho, se observaron mutaciones muy repetidas en todas ellas. El *quid* de la cuestión está en que una de las cepas consiguió desarrollar un nuevo sistema enzimático para degradar otro de los componentes del medio

de siembra gracias a dos mutaciones que por separado eran absolutamente neutras [55]. La “neutralidad” no sufre selección positiva, pero sí puede permitir el desarrollo de nuevas características y sistemas. ¿No es acaso esta la razón de que los mecanismos de reparación del ADN no sean infalibles? Ya conocíamos que la reproducción sexual es una de las soluciones más eficientes a nivel evolutivo, pues permite crear una gran cantidad de combinaciones a partir de dos genomas iniciales. No obstante, esta podría ser una ventaja complementaria: un motor que permite crear nueva complejidad en cada ronda evolutiva [56]. Podemos concluir que la reproducción sexual a través de la recombinación, no solo “busca” combinaciones eficientes, sino que se asegura de dar lugar a una situación propicia para el origen de nuevas características, lo que le aporta un nuevo significado evolutivo.

6.2.3. Características funcionales de los isocoros

Recientemente, se han observado nuevas características en los isocoros. Al analizar el genoma de *Bos taurus* se ha encontrado relación entre la función de los genes y el tipo de isocoro en el que aparecen con mayor frecuencia. El caso más claro es de los genes “housekeeping”, que suelen aparecer en los isocoros H3, los de mayor contenido en GC [57]. Estos genes se expresan en todas las células y deben hacerlo de forma prácticamente constante debido a que realizan funciones básicas en el metabolismo celular. Son genes que presentan un alto contenido en GC y que no deben estar sometidos a grandes cambios sobre su expresión, estar en un isocoro H3 les supone un aumento de su contenido en GC y, por ende, el ARNm correspondiente también sufre este proceso.

Los isocoros H3 no son muy abundantes (ver **Figura 8**), por lo que no debe haber un gran número de situaciones en la que estos sean convenientes. Ya que un mayor contenido en GC no tiene porqué optimizar simultáneamente diversas proteínas para que lleven a cabo sus correspondientes tareas en la célula la única hipótesis factible que responda a porqué se suelen encontrar en este tipo de isocoros es porque estos les aportan las condiciones idóneas: libres de control de expresión y especialmente, con alta estabilidad de su ARNm [58], asegurándose una expresión uniforme.

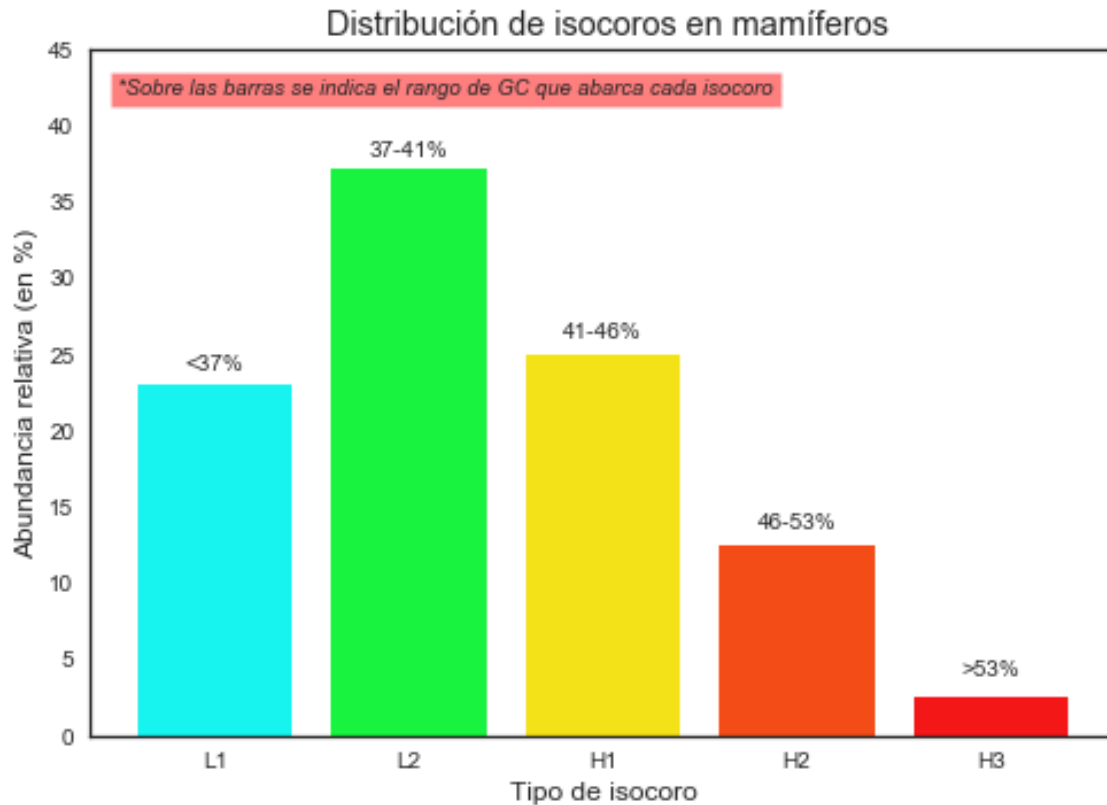


Figura 8: Proporciones relativas de los distintos clústeres de isocoros. Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de diversos artículos, realizada con Matplotlib (Python)

Por su parte, genes no codificantes suelen aparecer en isocoros H1-H2, lo que da lugar a condiciones óptimas para el control de la expresión y diversas rutas de señalización [59]. Serían non-coding RNAs relativamente inestables, lo que permite un férreo control sobre su actividad. Por tanto, los isocoros podrían colaborar en el correcto control de la expresión génica en los organismos con reproducción sexual.

Por ejemplo, los isocoros H3 parecen no estar implicados en el progreso del cáncer. Un proceso basado en la formación de células “inmortales” no altera los genes necesarios para la vida y mantenimiento de la célula, sino que afecta al control de la expresión de otros genes que sí sufren una regulación espacio-temporal de su expresión [60].

6.2.4. Islas CpG y nucleosomas

Las islas CpG (CGis) son regiones de alto contenido en GC (mayor al 60 %) que suelen estar presentes en promotores y potenciadores de la mayoría de eucariotas. Estas islas CpG dan lugar a estructuras de lazo abierto, lo que provoca que permanezcan siempre en forma de eucromatina. No obstante, estas CGis pueden ser metiladas en la posición 5 de las citosinas, dando lugar a 5-metil citosina (5mC), que provoca el silenciamiento génico [61].

En torno a un 60 % de los genes están regulados por CGis, mientras que el resto se encuentran regulados por el estado de la cromatina, siendo este un sistema dual observado también en eucariotas que no presentan CGis [62], actuando en su lugar el complejo Polycomp. Se ha observado que los genes regulados por el estado de la cromatina se corresponden con aquellos de expresión específica de determinados tejidos [63], mientras que los regulados mediante CGis permitirían una regulación más gradual.

Conocemos que existe una relación lineal entre el %GC de un isocoro y la densidad de CGis que presenta [64], aumentando progresivamente hasta llegar al nivel de los isocoros H2, donde se alcanza un *plateau*. No ocurre lo mismo con la ratio 5mC/CGis respecto al %GC, siendo esta relación inversamente proporcional en todo su recorrido [65]. Esto nos indica que los genes regulados por CGis en isocoros H2 y H3 se encuentran, prácticamente, siempre activados, y en el caso de los H2 puede existir control post-transcripcional. Según descende el contenido en GC aumentaría el silenciamiento génico.

Por su parte, la estructura en lazo abierto de las islas CpG demetiladas junto con la activación de la transcripción y la relación de los isocoros con los TADs, nos lleva a pensar que las remodelaciones estructurales que sufren los isocoros durante su progreso deben responder a un correcto control de la expresión [66], justificándose así la formación de diferentes grupos de isocoros en función de su contenido en GC.

Asimismo, se ha reportado que el contenido en GC de las CGis puede colaborar en el desplazamiento de los nucleosomas [67, 63], lo cual evita una gran compactación de la cromatina y favorece el estado de eucromatina para los genes regulados por CGis (frente a los ya mencionados genes específicos de tejido), lo cual no está aún demostrado para el isocoro en su conjunto [68, 69]. Sin embargo, el análisis global nos indica que un alto contenido en GC está relacionado con una expresión mayor y estable, mientras que niveles menores se asocian a un control espacio-temporal de la expresión y a la regulación de diversos procesos.

6.2.5. Tripletes, GC y GC3

El código genético se encuentra codificado en tripletes para dar lugar a la síntesis de proteínas sin que sepamos exactamente porqué, pero lo que sí conocemos es que el contenido en GC de los genomas difiere del contenido en GC3, es decir, si miramos únicamente la tercera posición de los codones.

De hecho, podemos observar cómo, en los isocoros, el contenido en GC3 es aún mayor que el GC global [70]. Esto se justifica debido a que la tercera posición del codón puede variar sin que esto afecte al aminoácido codificado, lo que se conoce como “mutación sinónima” y se debe a que el código genético es degenerado [71]. Esta posición permite un mayor cambio que en las posiciones 1 y 2 pues la secuencia de la proteína no se vería alterada y, por tanto, en principio, no se comprometería su función.

No obstante, no estamos hablando únicamente de una mutación en una posición, sino de una por cada tres posiciones. Asumir que todas ellas serían sinónimas y no tendrían efectos sería una licencia demasiado grande [72]. Más aun teniendo en cuenta que, por alguna razón, para un aminoácido determinado, sus codones codificantes no se distribuyen en proporciones equilibradas, e incluso varían entre especies. Esto es lo que se conoce como “sesgo de codones”.

6.3. Sesgo de codones

Los libros antiguos pueden ser un soplo de aire fresco. Permiten entender el pensamiento de esa época y relativizar lo que asumimos como cierto. Esto me pasó a mí cuando encontré un libro de 1962 en una pequeña librería de segunda mano: “El orden biológico”, del premio Nobel André Michel Lwoff. Además de determinadas expresiones que podríamos calificar de “dudosa” ética para el estándar actual, el libro tenía pinceladas muy interesantes sobre el estado del arte de la Biología Molecular en ese momento, pues se publicó cuando aún no se conocía el código genético.

Existían 64 combinaciones de codones posibles para los 20 aminoácidos, por lo que parecía lógico pensar que debía haber 20 combinaciones correctas y 44 incorrectas. La sorpresa llegó cuando se fue descubriendo que (casi) todas las combinaciones podían codificar aminoácidos, desechando la idea de codones “buenos” y “malos”. Pero, ¿realmente estaban tan equivocados?

Lo bonito de la ciencia está en que ésta nace para dar respuesta a las preguntas correctas. Surgen diversas teorías y, con el tiempo, se va actualizando nuestro conocimiento, seleccionándose las ideas que mejor resuelven el problema planteado. Algunas alcanzan el grado de “ley”, y otras siguen arrastrando su prefijo de “teoría” (como la mal-llamada teoría de la evolución, a pesar de ser el mayor principio por el que se rigen los “seres vivos”). Sin embargo, no es conveniente descartar completamente ninguna teoría—parece que, con el tiempo, los que creían que el Sol giraba alrededor de la Tierra no estaban tan equivocados, si consideramos que el movimiento, efectivamente, es relativo al punto de referencia del observador, claro— pues no sería la primera vez que se alcanza un consenso que depende, a su vez, de la fusión de diversas hipótesis. Entonces, ¿podrían existir codones “buenos” y codones “malos”?

6.3.1. Codones óptimos y no óptimos

Si analizamos la proporción de codones que utilizan las diferentes especies para la síntesis de proteínas, se puede observar fácilmente que ésta no se debe al mero azar. Por ejemplo, para la arginina tenemos 4 codones que la codifican: CGT, CGA, CGC y CGG. Estos codones no reparten sus apariciones de manera proporcionada, sino que existe un “sesgo de codones”, y las diferencias observadas no se pueden justificar únicamente por similitud de estos codones a otros muy desfavorables como pueden ser los de parada (por ejemplo, la diferencia en una única base, y más concretamente en una transición, respecto al codón de parada UGA sí que podría tener un efecto, lo que ocurre en la cisteína, codificada por UGT y UGC) [73].

Por ende, deben existir otras fuerzas que están actuando sobre la selección de codones. En un primer momento, se denominó a los codones más comunes para cada aminoácido “codones óptimos”, y a los menos comunes “codones no óptimos”. No obstante, los hallazgos en este campo hicieron que evolucionara la definición de estos conceptos.

6.3.2. Mutaciones susurrantes

De esta manera, las mutaciones que provocan un cambio entre codones que codifican el mismo aminoácido se denominan mutaciones “sinónimas” o “silenciosas” y, tradicionalmente, se ha considerado que no tenían efecto sobre el fenotipo. No obstante, el sesgo de codones ha dado lugar al planteamiento de un nuevo tipo de mutaciones, conocidas como mutaciones “susurrantes” [74], donde también se produciría un cambio entre codones sinónimos, pero sí habría un efecto final en el fenotipo, el cual puede deberse a diversos mecanismos.

Uno de ellos es el ya mencionado sobre la reestructuración de la cromatina, si bien este efecto, en teoría, no podría deberse a una mutación individual, siendo necesaria la sinergia entre muchas de ellas —como ocurre en los isocoros— para dar lugar a efectos de una magnitud observable. No obstante, existen muchos otros [45].

6.3.3. Estabilidad del ARN

Cuando se comenzó a estudiar el uso de codones en levaduras se observó que los más comunes —óptimos— determinaban una mayor estabilidad del ARNm (**Figura 9**) y de la expresión [75]. No obstante, según aumentaba la complejidad del organismo en el que se estudiaba el sesgo, se observaba mayor disparidad entre los codones comunes y los que aumentaban la estabilidad [76]. Esto hizo que se modificara la definición de codones óptimos, pasando a ser los que determinaban una mayor expresión génica, y no necesariamente los más comunes. De hecho, en humanos se ha observado una clara relación de codones óptimos en los genes de alta expresión, si bien éstos no son los más abundantes si tenemos en cuenta el genoma completo. Por tanto, a nivel global, un aumento de la estabilidad del ARNm está relacionada con una mayor cantidad de proteína [77].

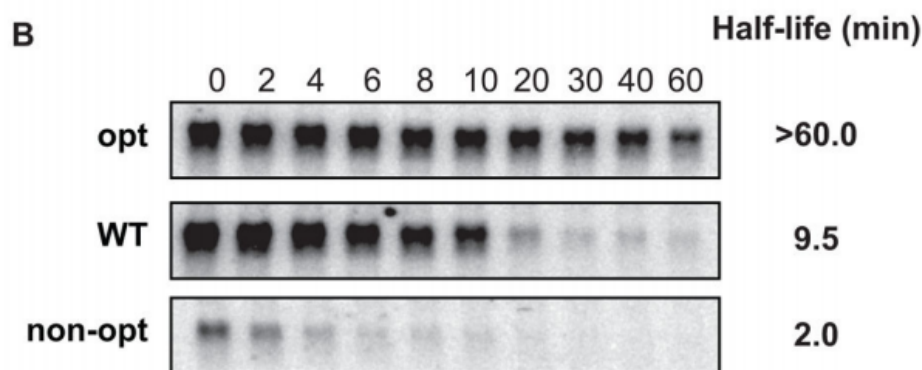


Figura 9: Northern blot con imágenes a distintos tiempos para ARN de una proteína con codones optimizados, en estado silvestre y desoptimizados. Presnyak y cols., 2015 [77]

Se ha demostrado que el aumento de la estabilidad está relacionado con un aumento de codones terminados en G/C y la formación de estructuras secundarias adecuadas [78], por lo que existe una relación entre el contenido en GC y el uso de codones óptimos [79]. De hecho, se han desarrollado incluso herramientas predictivas para la estabilidad de un transcrito en función de su secuencia de codones [80], si bien hay que tener en cuenta otros muchos factores como la longitud de la cola poliadenilada [81] o los mecanismos de degradación asociados (los genes de histonas presentan codones óptimos pero sus transcritos muestran gran inestabilidad).

No obstante, parece que el hecho de contener codones preferentemente terminados en G/C también permite una mayor tasa de transcripción. La polimerasa II sufre de paradas durante su uso, pudiendo los transcritos nacientes reducir la ocurrencia y duración de estas paradas, siendo mayor el efecto de los transcritos con alto contenido en GC, posiblemente debido a que elevan la barrera energética necesaria para la parada [82] (**Figura 10**). Esto cobra una gran importancia, pues se crea un ciclo de retroalimentación positiva, y más teniendo en cuenta que la transcripción suele ser el paso limitante para la expresión génica. La sinergia entre mutaciones, como las que ocurren en los isocoros, podrían suponer un importante cambio en los niveles de expresión.

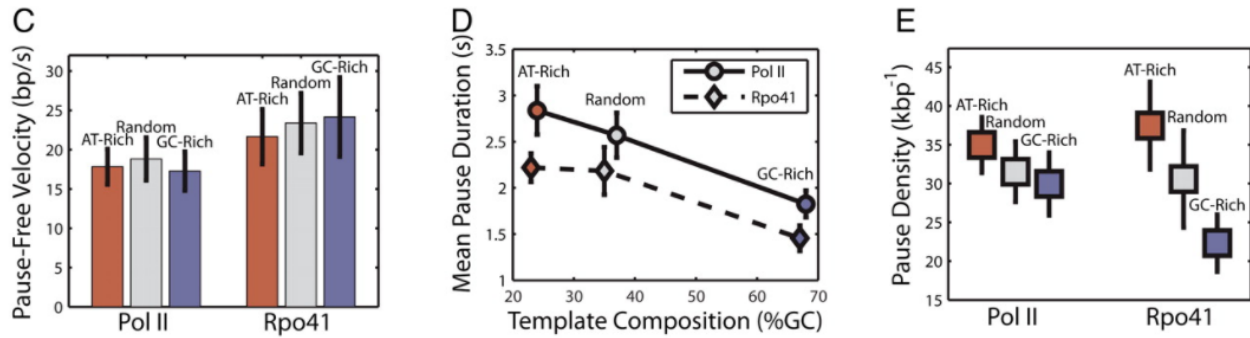


Figura 10: El tiempo libre de paradas, la duración media de estas paradas y el número de veces que ocurren disminuye con el aumento del contenido en GC del transcrito, tanto para la polimerasa II como para su homónima mitocondrial. Zamft, Bintu, Ishibashi y Bustamante, 2012 [82]

Adicionalmente, también se han observado ratios distintas de degradación para codones ricos en GC y en AU [83]. La base de esta disparidad reside en una división de los mecanismos de degradación [84, 85]. Habitualmente, los ARNi tienen como objetivo transcritos con extremos 5' ricos en AU, y estos han sido localizados preferencialmente en los cuerpos P de degradación [86]. Por ejemplo, se ha observado que transgenes con mayor contenido en GC, daban mayores perfiles de expresión [87], y que la inclusión de codones no óptimos tenía un efecto significativamente contrario.

En esa misma línea, se ha observado una distribución espacial diferencial entre transcritos con alto GC (más comunes en el citoplasma) y AU (más comunes en el núcleo) [88]. En este aspecto la longitud del transcrito también posee vital importancia, pues la presencia de intrones no afecta a la localización de los ricos en GC, pero sí a los ricos en AU, permitiendo su exportación desde el núcleo [89] (**Figura 11**). Todos los indicadores apuntan a que existe, por tanto, una regulación diferencial de los transcritos en función de su contenido en GC [88]. Determinados estudios apuntan a que el contenido en GC de los transcritos en organismos complejos (y, por tanto, el uso de codones óptimos), sería responsable del nivel basal o promedio de expresión del mismo, pudiendo variar a partir de este nivel debido a los diferentes mecanismos de regulación [83].

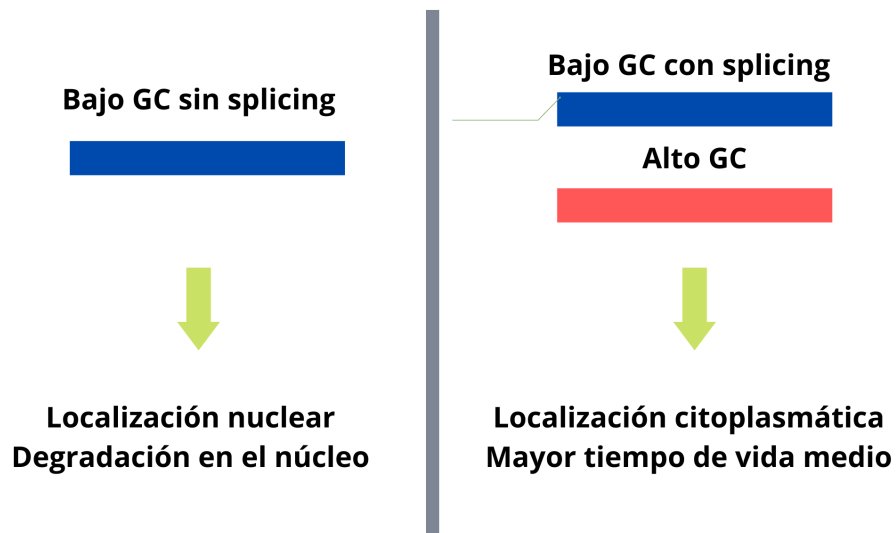


Figura 11: Modelo de estabilidad y distribución de los transcritos. Elaboración propia, realizada con Canvas

En conjunto, se observa que genes de alta expresión presentan un mayor sesgo de codones y una alta presencia de codones óptimos. Por el contrario, genes que requieren de cambios en su expresión presentan un menor sesgo (o sesgo hacia codones no óptimos), observándose cambios incluso por mutaciones individuales. Uno de los ejemplos más paradigmáticos de estos últimos es el uso de codones no óptimos en el ARNm materno en las primeras fases de desarrollo del cigoto, pues estos transcritos tienen baja estabilidad y sufren altas tasas de degradación específicas, permitiendo cambios progresivos controlados espacio-temporalmente, como se observa en la **Figura 12**, hasta que el cigoto tenga toda la maquinaria de transcripción en un estado óptimo [90].

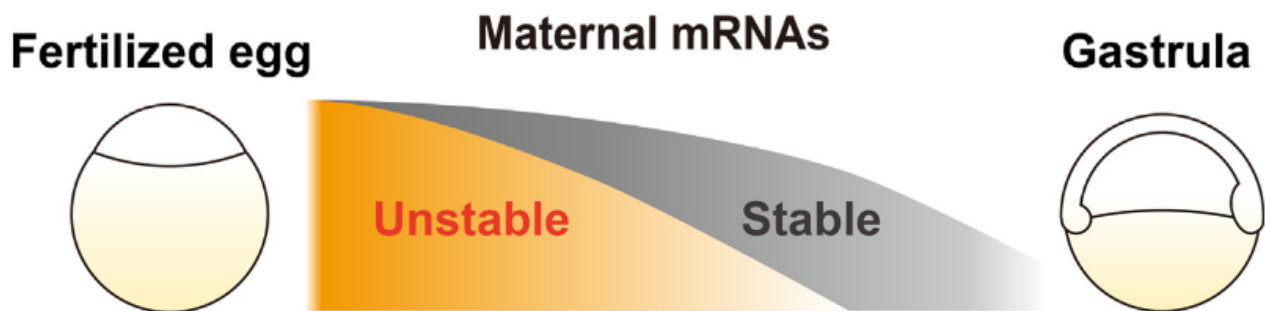


Figura 12: Distribución temporal del RNA durante el desarrollo del cigoto. Mishima y Tomari, 2016 [90]

6.3.4. El segundo código genético: aminoacil tRNA sintetasas

Las aminoacil tRNA sintetasas (aaRSs) son las enzimas encargadas de cargar al tRNA con su aminoácido correspondiente. Debido a que la unión del aminoácido al tRNA no ocurre únicamente por el reconocimiento del anticodón, se le ha dado a estas enzimas el valor de responsables del “segundo código genético” [91], pues de sufrir un cambio se modificaría el aminoácido que es codificado por cada triplete.

Existen dos clases de aaRSs, siendo las de clase II las más antiguas. Entre las tipo I y II existe gran similitud en la secuencia de aminoácidos, no así en el uso de codones y en la estructura de las mismas [92] (**Figura 13**). A cada aminoácido le corresponde una aaRS, que pertenecerá a una de estas dos clases. No obstante, existen excepciones en las que un aminoácido puede estar determinado por aaRSs de las dos clases, lo que nos da una idea del orden de aparición de los aminoácidos. [93, 94].

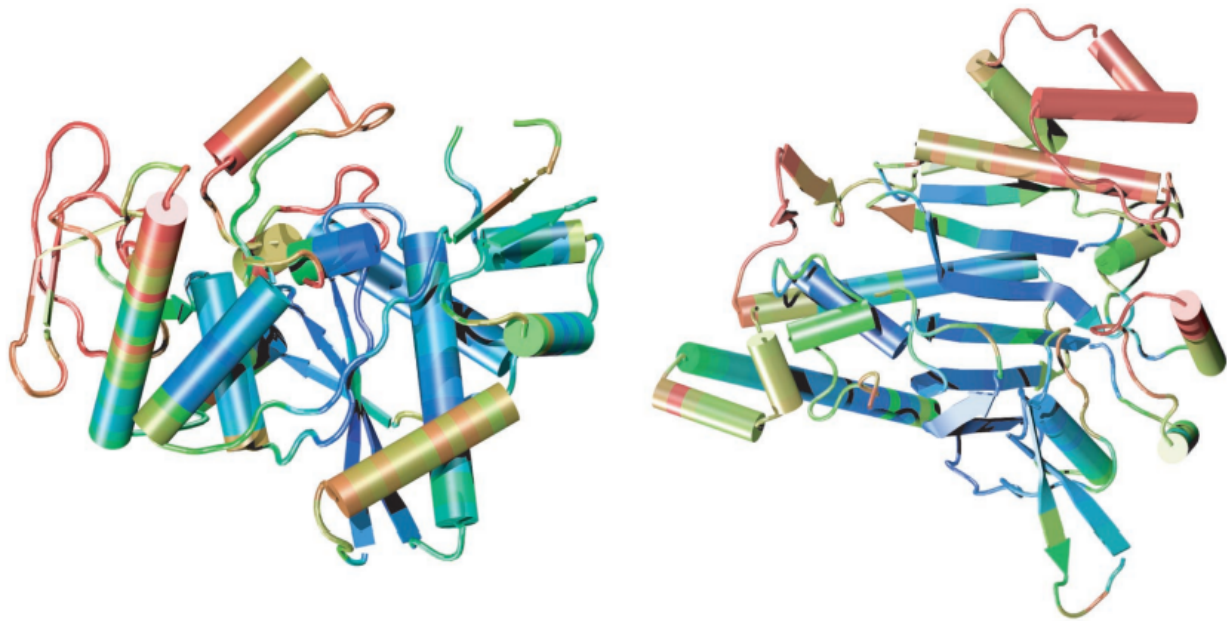


Figura 13: Comparación estructural de la lisina tRNA sintetasa I y II, respectivamente. O'Donoghue y Luthey-Schulten, 2003 [98]

Éstas enzimas son vitales para la vida, siendo sus genes descritos como unos de los que más han sufrido transferencia horizontal, como ha sido observado en simbioses [95]. No obstante, su importancia reside en que son el eje central que permite el paso de la transcripción a la traducción, en ellas se descifra el código genético y son éstas las que permiten la síntesis de otras proteínas.

Se cree que éstas pudieron ser las primeras proteínas propiamente dichas que surgieron en la Tierra [96] —posiblemente precedidas por ribozimas— [97] y que sus estructuras modernas fueron codificadas por los primeros genes capaces de superar el umbral darwiniano [98], que es el que marca el origen del árbol filogenético universal (junto a otros ya mencionados como el del acetyl CoA sintetasa). Estas proteínas serían necesarias para que se estableciera una relación vertical de herencia genética. Hasta ese punto, cualquier modificación o mutación beneficiosa se hubiera expandido rápidamente en el caldo primitivo [99]. El surgimiento de “genes egoístas” permitió que, dentro de una estructura protocelular, existiera una transmisión preferencial en orden vertical frente al horizontal que se había dado hasta ese momento [100]. De hecho, se ha hipotetizado sobre que la primera aaRS fuera la que se corresponde con la glicina, permitiendo la formación de polímeros de poliglicina (codificada por codones estables como GGG) que ayudaran a reforzar la protomembrana [11].

Esto nos indica que la vida surgió por una transición en la que sería imposible trazar una línea de separación. Un proceso por el que genes entraban en “la vida” paulatinamente, así como el ser humano entró de forma desigual en la historia con el descubrimiento de la escritura. Se formaron células que eran “islas genéticas”, pues dificultaban la transferencia horizontal de genes. Esta teoría respalda la idea de LUCAS o LUCA “*state*” [101], pues sería imposible encontrar un único antepasado común. ¿Serían entonces los virus los vestigios de aquellos genes que no pasaron ese filtro y siguen tratando de encontrar esas células en las que conseguir una transmisión preferencialmente vertical de su información?

Como colofón, cabe destacar que, muy probablemente, el código creado por estas enzimas es anterior al propio código genético [102, 103], y que, en base a sus características, es universal y codificado en tripletes, pero no es degenerado [98]. Esta última característica se debe a los tRNA, y nos deja claro que “la vida” no deja nada al azar.

6.3.5. Plegado de proteínas

Estudiando de nuevo las levaduras, los investigadores descubrieron que los codones comunes se correspondían en abundancia con aquellos tRNA que tenían el anticodón complementario. Es decir, existía una regulación y selección entre codón y anticodón [104]. Gracias al estudio de más especies, se llegó a la conclusión de que, realmente, los tRNA más abundantes se correspondían con los codones óptimos según su definición moderna, de aumento de expresión (las diferentes definiciones se muestran en el **Cuadro 3**). Esto explicaría las diferencias en la relación de los niveles de ARNm-proteína, lineal en levaduras pero distorsionada en humanos.

Al igual que existía una mayor estabilidad de ARNm gracias a estos codones óptimos, también ocurría una mayor velocidad de síntesis de la proteína correspondiente, ya que a mayor cantidad de tRNA menor tiempo de elongación en el ribosoma. En conjunto, codones óptimos permitirían una alta estabilidad del ARNm y una eficiente producción de proteínas [105].

Cuadro 3: Tabla resumen con la evolución de las definiciones de “codones óptimos”. A partir de este punto usaremos únicamente la última definición

Orden	Definición de codones óptimos
1 ^a	Aquellos más comunes en el genoma de cada organismo
2 ^a	Aquellos que aumentan la estabilidad del ARNm, sin importar su abundancia en el genoma
3 ^a	Aquellos que se corresponden con los tRNA más abundantes en la célula u organismo, y suelen corresponderse con un alto GC que aumenta la estabilidad del ARNm

La mayoría de genes en organismos complejos no usan ampliamente los codones óptimos. Esto, en parte, se debe a la regulación de la expresión, dando ARNm menos estables y con vías específicas de degradación, así como a una traducción más lenta en promedio. Sin embargo, aquí también actúa otro proceso: el plegado de proteínas. Durante su proceso de síntesis en el ribosoma, las proteínas se pliegan co-traduccionalmente [106]. Tiempo atrás, la comunidad científica creía que una secuencia de aminoácidos únicamente daba lugar a una estructura tridimensional posible para una proteína. Ahora sabemos que el número de conformaciones posibles es de una magnitud astronómica.

Se ha descubierto que el uso de codones no óptimos o lentos está implicado en un correcto plegamiento co-traducciona l de las proteínas [107], especialmente para la producción de estructuras en lámina β y giros poco habituales. Estos codones no óptimos “tardan” en encontrar su tRNA porque son menos abundantes, lo que le aporta el tiempo suficiente al péptido que se está sintetizando a encontrar la conformación adecuada [108] (**Figura 14**). De esta manera, los tRNA y las aaRSs codificarían información para el correcto plegamiento de proteínas [109], por lo que hablamos de un código no degenerado, donde mutaciones sinónimas pueden tener efectos serios en la producción y en la función de la proteína [110, 111, 112].

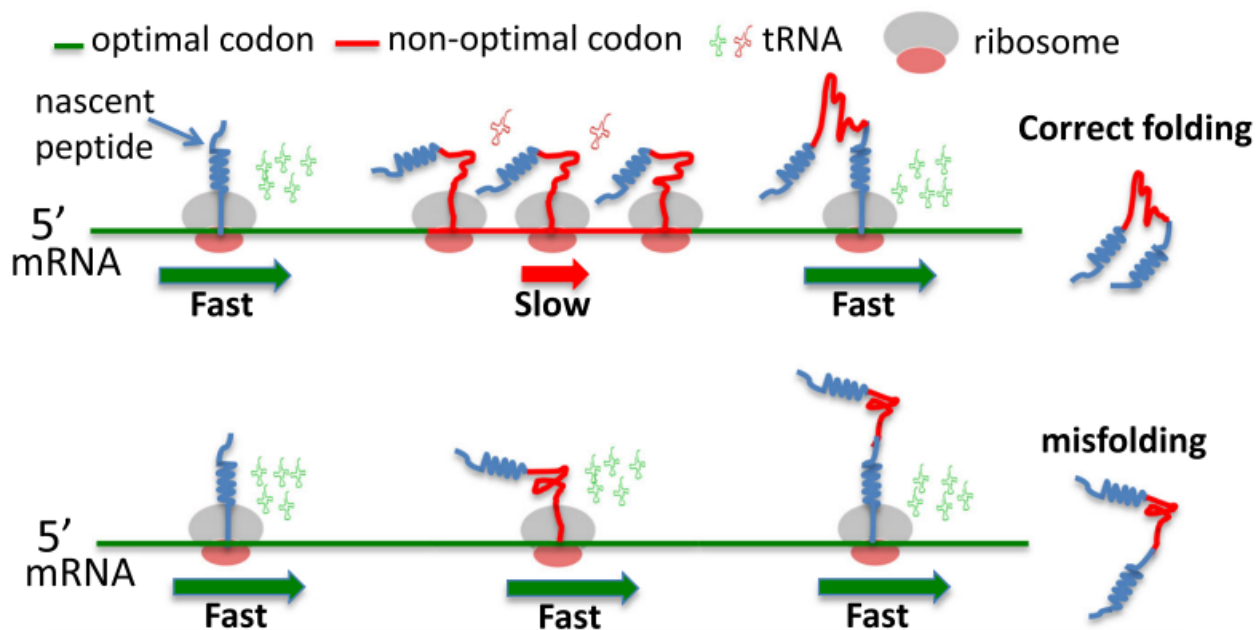


Figura 14: Efectos de los codones óptimos y no óptimos en el plegamiento de proteínas. Y.Liu, 2020 [105]

Asimismo, hay combinaciones de codones muy penalizadas en el genoma (que no son justificables a partir de sus proporciones individuales por aleatoriedad), hecho que parece estar relacionado con un impedimento estérico durante la traducción [113], lo que impide una correcta síntesis de proteína.

6.3.6. Otros ejemplos del sesgo de codones

Cabe mencionar también determinados aspectos influenciados por el sesgo de codones.

Uno de ellos es el sesgo en genes parálogos y ortólogos [114]. Por ejemplo, se ha observado que en los TLR cada subtipo podría tener un tipo diferente de regulación [115], teniendo menores codones óptimos y menos GC los que tienen actividades muy concretas. Por su parte, también se observan diferencias en los genes *RAS*, que podrían responder a una regulación diferente por su localización [116]. Asimismo, se observan diferencias en genes homólogos entre especies, lo que podría responder a diferencias en su *pool* de cada tRNA o a procesos de regulación como ocurre con *SRY* [117, 118] y genes de alta expresión en el sistema nervioso [119, 120].

Por otro lado, existe un sesgo en la región cercana a las secuencias Shine-Dalgarno (de inicio de traducción en procariotas) y Kozak (en eucariotas), destinado a facilitar el adecuado reconocimiento

de estas secuencias [121].

También cabe mencionar que las mutaciones sinónimas en posiciones cercanas a los intrones pueden dar como resultado errores en el *splicing* [122], siendo uno de los ejemplos más claros de los efectos de las mutaciones susurrantes.

6.4. Aplicaciones

6.4.1. Investigación

Una de las consecuencias más importantes del establecimiento de las mutaciones susurrantes es que afectan directamente a la teoría de selección neutral, que establece a las mutaciones sinónimas como control para medir la evolución y selección en los genomas. Esto se mide a través de la relación entre mutaciones no sinónimas y sinónimas (o sin efecto) “dN/dS”. Valorando las mutaciones susurrantes, el denominador de la ecuación se ve modificado [123], por lo que sería necesario evaluar cada mutación y sus efectos sinérgicos para asegurar un correcto control en los estudios de selección genética.

Por otra parte, el sesgo ocurrido durante la recombinación provoca un aumento del contenido en GC que es dependiente del tamaño poblacional. Especialmente, para pequeños tamaños poblacionales se observan diferencias muy claras (exponencial hasta un umbral máximo), por lo que el cambio del contenido en GC en regiones de alta recombinación podría ser utilizado para monitorizar el estado de especies en peligro de extinción.

6.4.2. Industria biotecnológica

Habitualmente, en la industria se utilizan transgenes insertados en organismos modelo para la producción de enzimas y bioproductos a gran escala. Una de las posibles aplicaciones derivadas de este trabajo sería la utilización de los tRNA de los organismos modelo para diseñar genes con uso de codones ajustados a esos tRNA para aumentar la producción [124]. En este sentido ya hay fuentes y herramientas disponibles en la comunidad científica [125, 126, 127].

La estrategia general consiste en utilizar codones óptimos para aumentar la estabilidad del ARNm y que se correspondan con los tRNA adecuados [128], a excepción de las zonas de estructura de la proteína que requieran codones no óptimos o lentos [129], obviando, por supuesto, fenómenos de silenciamiento por iRNA. Este proceso es conocido como “optimización de codones” [130]. Adicionalmente, también se han propuesto estrategias de transgénesis y aumento de la expresión de los tRNA para el aumento de la producción [131], si bien esto puede comprometer la estructura de las proteínas.

Asimismo, hay investigaciones en desarrollo destinadas a modificar la especificidad de las aaRSs para permitir la formación de polímeros que incorporen nuevos aminoácidos, de forma que se puedan diversificar sus características y descubrir nuevas aplicaciones [132, 133].

6.4.3. Biomedicina

Un punto de especial relevancia es el estudio de los virus. Existen indicios de que muchos virus poseen un perfil de uso de codones que se ajusta a los tRNA más comunes de sus huéspedes para competir por la maquinaria de traducción [134], como es el caso del coronavirus y el perfil de tRNA del epitelio pulmonar [135]. Esto nos serviría para realizar un seguimiento de posibles nuevas zoonosis.

Respecto a los casos en los que no se cumple esta correspondencia, podría deberse a que esos virus llevan más tiempo coevolucionando con el huésped, pues, bajo infecciones víricas, las células tienen mecanismos para cambiar sus proporciones de tRNA [136], a lo que se podrían haber adaptado. De hecho, se ha observado una optimización progresiva de codones en el virus responsable de la gripe aviar de 2009 [137].

Respecto a otras enfermedades como el cáncer [138, 139] y el alzheimer [140], existen indicios de que pueden estar ampliamente influidas por los efectos de las mutaciones sinónimas/susurrantes. Destacan estos efectos en genes como *BRCA1* [141] y reguladores del ciclo celular [142].

Por último, se han detectado mutaciones susurrantes con gran repercusión, algunas de las cuales tienen importancia en Biomedicina por sus efectos sobre el *splicing*, o incluso porque nos pueden ayudar a determinar subgrupos de pacientes, como es el caso de la fibrosis quística severa, debida a una mutación sinónima que desencadena un fenotipo más grave de la enfermedad [143].

7. Conclusions

Taking into consideration all the topics discussed in this TFG, the existence of an non-canonical code necessary for an appropriate gene expression may not be discarded, beyond the already established genetic code. This new code needs to be evaluated at each level of information described by the molecular biology paradigm. This set of rules owes its importance in terms of the structure rather than the sequence, and it has important effects on organisms of greater complexity, although its origin lies on the origin of life on Earth.

This code defines itself as universal, triplet-encoded and non-degenerate, and it may preceded the established genetic code. Knowledge of the rules by which it operates might be of vital importance for the development of potential new applications.

As further conclusions:

- In each meiosis, a preferential selection of GCs occurs during recombination. This event might be of importance in the read of this code and this bias can be exploited for co-regulation of genes through isochore formation.
- At genome level, changes could result in chromatin restructuring and modification of promoter sequences.
- At transcriptome level, the synthesis, stability, localisation and turn-over pathway of mRNA could be altered.
- At proteome level, the conformation, function and total amount of protein might be altered.
- There are other structural factors that need to be evaluated, such as splicing and the recognition of specific sequences.
- Understanding and modifying this code should have important implications for a wide variety of scientific disciplines.

8. Aprendizaje y adquisición de competencias

Considero que este trabajo ha supuesto un gran reto y, a la vez, una gran fuente de aprendizaje. Este TFG, a pesar de partir de conceptos clásicos, tiene un enfoque muy actual y con grandes posibles aplicaciones en nuestra rama de trabajo: la Biotecnología. No me he formado únicamente en competencias específicas sobre Biología Molecular, Genética, Evolución o Estructura de Macromoléculas, sino que he conseguido familiarizarme con diversas herramientas que son necesarias para el trabajo de un científico, como es el manejo de bases de datos, gestores bibliográficos y LaTeX.

Adicionalmente, también me ha ayudado a desarrollar competencias transversales. Razonar, sintetizar, esquematizar y simplificar la información son algunos de los ejemplos. En mi caso, siempre he sido una persona bastante desorganizada, por lo que este proyecto me ha ayudado a mejorar mis habilidades de organización, como es el caso de la clasificación de los artículos leídos, establecimiento de códigos por colores para la información que contienen y puesta en conjunto de las ideas generales derivadas de la lectura de los mismos. Por supuesto, otro de los grandes retos ha sido plasmar toda la información que quería transmitir de manera comprensible para el lector, pero sin faltar a la veracidad de la misma.

En general, se ha trabajado el conjunto de competencias generales y específicas que están designadas para el Grado y para este TFG, por lo que considero que el valor del mismo para mi formación ha sido de gran importancia, lo que me ayudará en el desarrollo de mi carrera profesional en el futuro.

9. Bibliografía

Referencias

- [1] J.L. Bada. How life began on earth: A status report. *Earth and Planetary Science Letters*, 226(1-2):1–15, 2004.
- [2] S.L. Miller. A production of amino acids under possible primitive Earth conditions. *Science*, 117(3046):528–529, 1953.
- [3] N. Lane, J.F. Allen, and W. Martin. How did LUCA make a living? Chemiosmosis in the origin of life. *BioEssays*, 32(4):271–280, 2010.
- [4] M.J. Russell and W. Martin. The rocky roots of the acetyl-CoA pathway. *Trends in Biochemical Sciences*, 29(7):358–363, 2004.
- [5] L.E. Orgel. The implausibility of metabolic cycles on the prebiotic Earth. *PLoS Biology*, 6(1):0005–0013, 2008.
- [6] B. Damer and D. Deamer. The hot spring hypothesis for an origin of life. *Astrobiology*, 20(4):429–452, 2020.
- [7] J. Xu, V. Chmela, N.J. Green, D.A. Russell, M.J. Janicki, R.W. Gora, R. Szabla, A.D. Bond, and J.D. Sutherland. Selective prebiotic formation of RNA pyrimidine and DNA purine nucleosides. *Nature*, 582(7810):60–66, 2020.
- [8] W. Gilbert. Origin of life: The RNA world. *Nature*, 319(6055):618, 1986.
- [9] C. G. Oliver, V. Reinharz, and J. Waldispühl. On the emergence of structural complexity in RNA replicators. *RNA*, 25(12):1579–1591, 12 2019.
- [10] K.F. Tjhung, M.N. Shokhirev, D.P. Horning, and G.F. Joyce. An RNA polymerase ribozyme that synthesizes its own ancestor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(6):2906–2913, 2020.
- [11] A. Gospodinov and D. Kunnev. Universal codons with enrichment from GC to AU nucleotide composition reveal a chronological assignment from early to late along with LUCA formation. *Life*, 10(6):1–22, 2020.
- [12] M. Di Giulio. The non-monophyletic origin of the tRNA molecule and the origin of genes only after the evolutionary stage of the last universal common ancestor (LUCA). *Journal of Theoretical Biology*, 240(3):343–352, 2006.

- [13] B. Samanta and G.F. Joyce. A reverse transcriptase ribozyme. *eLife*, 6, 2017.
- [14] M.C. Weiss, F.L. Sousa, N. Mrnjavac, S. Neukirchen, M. Roettger, S. Nelson-Sathi, and W.F. Martin. The physiology and habitat of the Last Universal Common Ancestor. *Nature Microbiology*, 1(9), 2016.
- [15] J.A.G. Ranea, A. Sillero, J.M. Thornton, and C.A. Orengo. Protein superfamily evolution and the Last Universal Common Ancestor (LUCA). *Journal of Molecular Evolution*, 63(4):513–525, 2006.
- [16] M. Di Giulio. The last universal common ancestor (LUCA) and the ancestors of Archaea and Bacteria were progenotes. *Journal of Molecular Evolution*, 72(1):119–126, 2011.
- [17] Cindy J. Castelle and Jillian F. Banfield. Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the tree of life. *Cell*, 172(6):1181 – 1197, 2018.
- [18] Lynn Margulis. On the origin of mitosing cells. *Journal of Theoretical Biology*, 14(3):225–230, IN1–IN4, 231–248, IN5–IN6, 249–274, 1967.
- [19] R. Rudner, J.D. Karkas, and E. Chargaff. Separation of *B. subtilis* DNA into complementary strands. 3. direct analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 60(3):921–922, 1968.
- [20] D. Mitchell and R. Bridge. A test of Chargaff’s second rule. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340(1):90–94, 2006.
- [21] J.D. Watson and F.H.C. Crick. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356):737–738, 1953.
- [22] Y. Lesecque, D. Mouchiroud, and L. Duret. GC-biased gene conversion in yeast is specifically associated with crossovers: Molecular mechanisms and evolutionary significance. *Molecular Biology and Evolution*, 30(6):1409–1419, 2013.
- [23] C.-S. Wu and S.-M. Chaw. Evolutionary stasis in cycad plastomes and the first case of plastome GC-biased gene conversion. *Genome Biology and Evolution*, 7(7):2000–2009, 2015.
- [24] C.W. Birky Jr. and J.B. Walsh. Biased gene conversion, copy number, and apparent mutation rate differences within chloroplast and bacterial genomes. *Genetics*, 130(3):677–683, 1992.
- [25] F. Lassalle, S. Périan, T. Bataillon, X. Nesme, L. Duret, and V. Daubin. GC-content evolution in bacterial genomes: The biased gene conversion hypothesis expands. *PLoS Genetics*, 11(2):1–20, 2015.

- [26] G. Bernardi. Isochores and the evolutionary genomics of vertebrates. *Gene*, 241(1):3–17, 2000.
- [27] E. Pessia, A. Popa, S. Mousset, C. Rezvoy, L. Duret, and G.A.B. Marais. Evidence for widespread GC-biased gene conversion in eukaryotes. *Genome Biology and Evolution*, 4(7):675–682, 2012.
- [28] N. Galtier and L. Duret. Adaptation or biased gene conversion? Extending the null hypothesis of molecular evolution. *Trends in Genetics*, 23(6):273–277, 2007.
- [29] P. Bolívar, C.F. Mugal, A. Nater, and H. Ellegren. Recombination rate variation modulates gene sequence evolution mainly via GC-biased gene conversion, not Hill-Robertson interference, in an avian system. *Molecular Biology and Evolution*, 33(1):216–227, 2016.
- [30] L. Duret and N. Galtier. Biased gene conversion and the evolution of mammalian genomic landscapes. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10:285–311, 2009.
- [31] J.L. Chojnowski, J. Franklin, Y. Katsu, T. Iguchi, L.J. Guillette Jr., R.T. Kimball, and E.L. Braun. Patterns of vertebrate isochore evolution revealed by comparison of expressed mammalian, avian, and crocodilian genes. *Journal of Molecular Evolution*, 65(3):259–266, 2007.
- [32] B. Arbeithuber, A.J. Betancourt, T. Ebner, and I. Tiemann-Boege. Crossovers are associated with mutation and biased gene conversion at recombination hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(7):2109–2114, 2015.
- [33] L. Duret and P.F. Arndt. The impact of recombination on nucleotide substitutions in the human genome. *PLoS Genetics*, 4(5), 2008.
- [34] J.I. Montoya-Burgos, P. Boursot, and N. Galtier. Recombination explains isochores in mammalian genomes. *Trends in Genetics*, 19(3):128–130, 2003.
- [35] M.J. Lercher, N.G.C. Smith, A. Eyre-Walker, and L.D. Hurst. The evolution of isochores: Evidence from SNP frequency distributions. *Genetics*, 162(4):1805–1810, 2002.
- [36] C.F. Mugal, P.F. Arndt, and H. Ellegren. Twisted signatures of GC-biased gene conversion embedded in an evolutionary stable karyotype. *Molecular Biology and Evolution*, 30(7):1700–1712, 2013.
- [37] N. Cohen, T. Dagan, L. Stone, and D. Graur. GC composition of the human genome: In search of isochores. *Molecular Biology and Evolution*, 22(5):1260–1272, 2005.

- [38] A. Eyre-Walker. Evidence of selection on silent site base composition in mammals: Potential implications for the evolution of isochores and junk DNA. *Genetics*, 152(2):675–683, 1999.
- [39] L. Duret, D. Mouchiroud, and C. Gautier. Statistical analysis of vertebrate sequences reveals that long genes are scarce in GC-rich isochores. *Journal of Molecular Evolution*, 40(3):308–317, 1995.
- [40] M. Costantini and H. Musto. The Isochores as a Fundamental Level of Genome Structure and Organization: A General Overview. *J Mol Evol*, 84(2-3):93–103, 03 2017.
- [41] P. Hallast, P. Balaesque, G.R. Bowden, S. Ballereau, and M.A. Jobling. Recombination dynamics of a human Y-chromosomal palindrome: Rapid GC-biased gene conversion, multi-kilobase conversion tracts, and rare inversions. *PLoS Genetics*, 9(7), 2013.
- [42] G. Bernardi. The vertebrate genome: Isochores and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 10(1):186–204, 1993.
- [43] A.A. Labena, H.-X. Guo, C. Dong, L. Li, and F.-B. Guo. The topologically associated domains (TADs) of a chromatin correlated with isochores organization of a genome. *Current Bioinformatics*, 13(4):420–425, 2018.
- [44] S. Saccone, C. Federico, and G. Bernardi. Localization of the gene-richest and the gene-poorest isochores in the interphase nuclei of mammals and birds. *Gene*, 300(1-2):169–178, 2002.
- [45] V.N. Babenko, I.V. Chadaeva, and Y.L. Orlov. Genomic landscape of CpG rich elements in human. *BMC Evolutionary Biology*, 17:1–11, 2017.
- [46] G. Bernardi. Chromosome architecture and genome organization. *PLoS ONE*, 10(11), 2015.
- [47] Z. Du, H. Zheng, B. Huang, R. Ma, J. Wu, X. Zhang, J. He, Y. Xiang, Q. Wang, Y. Li, J. Ma, X. Zhang, K. Zhang, Y. Wang, M.Q. Zhang, J. Gao, J.R. Dixon, X. Wang, J. Zeng, and W. Xie. Allelic reprogramming of 3D chromatin architecture during early mammalian development. *Nature*, 547(7662):232–235, 2017.
- [48] N. Galtier, L. Duret, S. Glémin, and V. Ranwez. GC-biased gene conversion promotes the fixation of deleterious amino acid changes in primates. *Trends in Genetics*, 25(1):1–5, 2009.
- [49] J. Lachance and S.A. Tishkoff. Biased gene conversion skews allele frequencies in human populations, increasing the disease burden of recessive alleles. *American Journal of Human Genetics*, 95(4):408–420, 2014.

- [50] M.T. Webster, N.G.C. Smith, L. Hultin-Rosenberg, P.F. Arndt, and H. Ellegren. Male-driven biased gene conversion governs the evolution of base composition in human Alu repeats. *Molecular Biology and Evolution*, 22(6):1468–1474, 2005.
- [51] L. Duret, M. Semon, G. Piganeau, D. Mouchiroud, and N. Galtier. Vanishing GC-rich isochores in mammalian genomes. *Genetics*, 162(4):1837–1847, 2002.
- [52] A. Eyre-Walker and L.D. Hurst. The evolution of isochores. *Nature Reviews Genetics*, 2(7):549–555, 2001.
- [53] T.C.A. Smith, P.F. Arndt, and A. Eyre-Walker. Large scale variation in the rate of germ-line de novo mutation, base composition, divergence and diversity in humans. *PLoS Genetics*, 14(3), 2018.
- [54] S. Glémin. Surprising fitness consequences of GC-biased gene conversion: I. mutation load and inbreeding depression. *Genetics*, 185(3):939–959, 2010.
- [55] J.E. Barrick, D.S. Yu, S.H. Yoon, H. Jeong, T.K. Oh, D. Schneider, R.E. Lenski, and J.F. Kim. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli*. *Nature*, 461(7268):1243–1247, 2009.
- [56] G. Marais. Biased gene conversion: Implications for genome and sex evolution. *Trends in Genetics*, 19(6):330–338, 2003.
- [57] S. Arhondakis, M. Milanesi, T. Castrignanò, S. Gioiosa, A. Valentini, and G. Chillemi. Evidence of distinct gene functional patterns in GC-poor and GC-rich isochores in *Bos taurus*. *Animal Genetics*, 51(3):358–368, 2020.
- [58] J.V. Chamary, J.L. Parmley, and L.D. Hurst. Hearing silence: Non-neutral evolution at synonymous sites in mammals. *Nature Reviews Genetics*, 7(2):98–108, 2006.
- [59] S. Arhondakis, F. Auletta, and G. Bernardi. Isochores and the regulation of gene expression in the human genome. *Genome Biology and Evolution*, 3(1):1080–1089, 2011.
- [60] X. Wu, H. Kabalane, M. Kahli, N. Petryk, B. Laperrousaz, Y. Jaszczyszyn, G. Drillon, F.-E. Nicolini, G. Perot, A. Robert, C. Fund, F. Chibon, R. Xia, J. Wiels, F. Argoul, V. Maguer-Satta, A. Arneodo, B. Audit, and O. Hyrien. Developmental and cancer-associated plasticity of DNA replication preferentially targets GC-poor, lowly expressed and late-replicating regions. *Nucleic Acids Research*, 46(19):10157–10172, 2018.
- [61] F. Antequera. Structure, function and evolution of CpG island promoters. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 60(8):1647–1658, 2003.

- [62] J.-Y. Lee, J. Song, L. LeBlanc, I. Davis, J. Kim, and S. Beck. Conserved dual-mode gene regulation programs in higher eukaryotes. *Nucleic acids research*, 49(5):2583–2597, 2021.
- [63] A.E. Vinogradov. Isochores and tissue-specificity. *Nucleic Acids Research*, 31(17):5212–5220, 2003.
- [64] B. Assani and G. Bernardi. CpG islands, genes and isochores in the genomes of vertebrates. *Gene*, 106(2):185–195, 1991.
- [65] A. Varriale and G. Bernardi. Distribution of DNA methylation, CpGs, and CpG islands in human isochores. *Genomics*, 95(1):25–28, 2010.
- [66] C.F. Mugal, P.F. Arndt, L. Holm, and H. Ellegren. Evolutionary consequences of DNA methylation on the GC content in vertebrate genomes. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 5(3):441–447, 2015.
- [67] R. Fenouil, P. Cauchy, F. Koch, N. Descostes, J.Z. Cabeza, C. Innocenti, P. Ferrier, S. Spicuglia, M. Gut, I. Gut, and J.-C. Andrau. CpG islands and GC content dictate nucleosome depletion in a transcription-independent manner at mammalian promoters. *Genome Research*, 22(12):2399–2408, 2012.
- [68] G. Bernardi. The genomic code: A pervasive encoding/molding of chromatin structures and a solution of the non-coding DNA mystery. *BioEssays*, 41(12), 2019.
- [69] G. Drillon, B. Audit, F. Argoul, and A. Arneodo. Evidence of selection for an accessible nucleosomal array in human. *BMC Genomics*, 17(1), 2016.
- [70] N. Galtier, G. Piganeau, D. Mouchiroud, and L. Duret. GC-content evolution in mammalian genomes: The biased gene conversion hypothesis. *Genetics*, 159(2):907–911, 2001.
- [71] F.H.C. Crick, L. Barnett, S. Brenner, and R.J. Watts-Tobin. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*, 192(4809):1227–1232, 1961.
- [72] A. Ratnakumar, S. Mousset, S. Glémin, J. Berglund, N. Galtier, L. Duret, and M.T. Webster. Detecting positive selection within genomes: The problem of biased gene conversion. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1552):2571–2580, 2010.
- [73] S. Mahajan and D. Agashe. Translational selection for speed is not sufficient to explain variation in bacterial codon usage bias. *Genome Biology and Evolution*, 10(2):562–576, 2018.

- [74] R. Fåhræus, M. Marin, and V. Olivares-Illana. Whisper mutations: Cryptic messages within the genetic code. *Oncogene*, 35(29):3753–3759, 2016.
- [75] Y. Harigaya and R. Parker. Analysis of the association between codon optimality and mRNA stability in *Schizosaccharomyces pombe*. *BMC Genomics*, 17(1), 2016.
- [76] X.-Y. Liu, Y. Li, K.-K. Ji, J. Zhu, P. Ling, T. Zhou, L.-Y. Fan, and S.-Q. Xie. Genome-wide codon usage pattern analysis reveals the correlation between codon usage bias and gene expression in *Cuscuta australis*. *Genomics*, 112(4):2695–2702, 2020.
- [77] V. Presnyak, N. Alhusaini, Y.-H. Chen, S. Martin, N. Morris, N. Kline, S. Olson, D. Weinberg, K.E. Baker, B.R. Graveley, and J. Collier. Codon optimality is a major determinant of mRNA stability. *Cell*, 160(6):1111–1124, 2015.
- [78] E.D. Kelsic, H. Chung, N. Cohen, J. Park, H.H. Wang, and R. Kishony. RNA structural determinants of optimal codons revealed by MAGE-Seq. *Cell Systems*, 3(6):563–571.e6, 2016.
- [79] Y. Harigaya and R. Parker. Codon optimality and mRNA decay. *Cell Research*, 26(12):1269–1270, 2016.
- [80] S. Sahoo, S.S. Das, and R. Rakshit. Codon usage pattern and predicted gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Gene: X*, 2, 2019.
- [81] Z. Zhou, Y. Dang, M. Zhou, H. Yuan, and Y. Liu. Codon usage biases co-evolve with transcription termination machinery to suppress premature cleavage and polyadenylation. *eLife*, 7, 2018. cited By 20.
- [82] B. Zamft, L. Bintu, T. Ishibashi, and C. Bustamante. Nascent RNA structure modulates the transcriptional dynamics of RNA polymerases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(23):8948–8953, 2012.
- [83] S.G. Medina-Muñoz, G. Kushawah, L.A. Castellano, M. Diez, M.L. DeVore, M.J.B. Salazar, and A.A. Bazzini. Crosstalk between codon optimality and cis-regulatory elements dictates mRNA stability. *Genome Biology*, 22(1), 2021.
- [84] D.A. Burow, S. Martin, J.F. Quail, N. Alhusaini, J. Collier, and M.D. Cleary. Attenuated codon optimality contributes to neural-specific mRNA decay in *Drosophila*. *Cell Reports*, 24(7):1704–1712, 2018.

- [85] A. Radhakrishnan, Y.-H. Chen, S. Martin, N. Alhusaini, R. Green, and J. Collier. The DEAD-Box protein dhh1p couples mRNA decay and translation by monitoring codon optimality. *Cell*, 167(1):122–132.e9, 2016.
- [86] M. Courel, Y. Clément, C. Bossevain, D. Foretek, O.V. Cruchez, Z. Yi, M. Bénard, M.-N. Benassy, M. Kress, C. Vindry, M. Ernoult-Lange, C. Antoniewski, A. Morillon, P. Brest, A. Hubstenberger, H.R. Crollius, N. Standart, and D. Weil. GC content shapes mRNA storage and decay in human cells. *eLife*, 8, 2019.
- [87] X. Zhang. Tough GC beats transgene silencing. *Nature Plants*, 3(11):850–851, 2017.
- [88] A. Yannai, S. Katz, and R. Hershberg. The codon usage of lowly expressed genes is subject to natural selection. *Genome Biology and Evolution*, 10(5):1237–1246, 2018.
- [89] C. Mordstein, R. Savisaar, R.S. Young, J. Bazile, L. Talmane, J. Luft, M. Liss, M.S. Taylor, L.D. Hurst, and G. Kudla. Codon usage and splicing jointly influence mRNA localization. *Cell Systems*, 10(4):351–362.e8, 2020.
- [90] Y. Mishima and Y. Tomari. Codon usage and 3' UTR length determine maternal mRNA stability in Zebrafish. *Molecular Cell*, 61(6):874–885, 2016.
- [91] C. De Duve. The second genetic code. *Nature*, 333(6169):117–118, 1988.
- [92] L. Aravind, V. Anantharaman, and E.V. Koonin. Monophyly of Class I aminoacyl tRNA synthetase, USPA, ETFP, photolyase, and PP-ATPase nucleotide-binding domains: Implications for protein evolution in the RNA world. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 48(1):1–14, 2002.
- [93] R. Giegé. Toward a more complete view of tRNA biology. *Nature Structural and Molecular Biology*, 15(10):1007–1014, 2008.
- [94] G.P. Fournier and E.J. Alm. Ancestral reconstruction of a pre-LUCA Aminoacyl-tRNA synthetase ancestor supports the late addition of Trp to the genetic code. *Journal of Molecular Evolution*, 80(3-4):171–185, 2015.
- [95] A.-M. Duchêne, C. Pujol, and L. Maréchal-Drouard. Import of tRNAs and aminoacyl-tRNA synthetases into mitochondria. *Current Genetics*, 55(1):1–18, 2009.
- [96] G.P. Fournier, C.P. Andam, E.J. Alm, and J.P. Gogarten. Molecular evolution of aminoacyl tRNA synthetase proteins in the early history of life. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 41(6):621–632, 2011.

- [97] M. Guo, X.-L. Yang, and P. Schimmel. New functions of aminoacyl-tRNA synthetases beyond translation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(9):668–674, 2010.
- [98] P. O’Donoghue and Z. Luthey-Schulten. Evolution of structure in aminoacyl-tRNA synthetases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4):550–573, 2003.
- [99] C.R. Woese, G.J. Olsen, M. Ibba, and D. Söll. Aminoacyl-tRNA synthetases, the genetic code, and the evolutionary process. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(1):202–236, 2000.
- [100] M. Palacios-Pérez and M.V. José. The evolution of proteome: From the primeval to the very dawn of LUCA. *BioSystems*, 181:1–10, 2019.
- [101] G.P. Fournier, C.P. Andam, and J.P. Gogarten. Ancient horizontal gene transfer and the last common ancestors phylogenetics and phylogeography. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1), 2015.
- [102] Y. Kim, K. Opron, and Z.F. Burton. A tRNA- and anticodon-centric view of the evolution of aminoacyl-tRNA synthetases, tRNAomes, and the genetic code. *Life*, 9(2), 2019.
- [103] L. Ribas de Pouplana and P. Schimmel. Aminoacyl-tRNA synthetases: Potential markers of genetic code development. *Trends in Biochemical Sciences*, 26(10):591–596, 2001.
- [104] A.A. Komar. The Yin and Yang of codon usage. *Human Molecular Genetics*, 25(R2):R77–R85, 2016.
- [105] Y. Liu. A code within the genetic code: Codon usage regulates co-translational protein folding. *Cell Communication and Signaling*, 18(1), 2020.
- [106] S.J. Kim, J.S. Yoon, H. Shishido, Z. Yang, L.A. Rooney, J.M. Barral, and W.R. Skach. Translational tuning optimizes nascent protein folding in cells. *Science*, 348(6233):444–448, 2015.
- [107] F. Zhao, C.-H. Yu, and Y. Liu. Codon usage regulates protein structure and function by affecting translation elongation speed in *Drosophila* cells. *Nucleic Acids Research*, 45(14):8484–8492, 2017.
- [108] A. Rodriguez, G. Wright, S. Emrich, and P.L. Clark. MinMax: A versatile tool for calculating and comparing synonymous codon usage and its impact on protein folding. *Protein Science*, 27(1):356–362, 2018.

- [109] T. Fernández-Calero, F. Cabrera-Cabrera, R. Ehrlich, and M. Marín. Silent polymorphisms: Can the tRNA population explain changes in protein properties? *Life*, 6(1), 2016.
- [110] K. Karakostis, S.V. Gnanasundram, I. López, A. Thermou, L. Wang, K. Nylander, V. Olivares-Illana, and R. Fåhræus. A single synonymous mutation determines the phosphorylation and stability of the nascent protein. *Journal of Molecular Cell Biology*, 11(3):187–199, 2019.
- [111] G. Hanson and J. Collier. Translation and protein quality control: Codon optimality, bias and usage in translation and mRNA decay. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(1):20–30, 2018.
- [112] R. Bartoszewski, J. Kraliczewski, A. Piotrowski, A.J. Jasiecka, S. Bartoszewska, B. Vecchio-Pagan, L. Fu, A. Sobolewska, S. Matalon, G.R. Cutting, S.M. Rowe, and J.F. Collawn. Codon bias and the folding dynamics of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 21(1), 2016.
- [113] P. Tesina, L.N. Lessen, R. Buschauer, J. Cheng, C.C.-C. Wu, O. Berninghausen, A.R. Buskirk, T. Becker, R. Beckmann, and R. Green. Molecular mechanism of translational stalling by inhibitory codon combinations and poly(A) tracts. *EMBO Journal*, 39(3), 2020.
- [114] F. Hia, S.F. Yang, Y. Shichino, M. Yoshinaga, Y. Murakawa, A. Vandenbon, A. Fukao, T. Fujiwara, M. Landthaler, T. Natsume, S. Adachi, S. Iwasaki, and O. Takeuchi. Codon bias confers stability to human mRNAs. *EMBO Reports*, 20(11), 2019.
- [115] Z.R. Newman, J.M. Young, N.T. Ingolia, and G.M. Barton. Differences in codon bias and GC content contribute to the balanced expression of TLR7 and TLR9. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(10):E1362–E1371, 2016.
- [116] J. Fu, Y. Dang, C. Counter, and Y. Liu. Codon usage regulates human KRAS expression at both transcriptional and translational levels. *Journal of Biological Chemistry*, 293(46):17929–17940, 2018.
- [117] S. Chakraborty, A. Uddin, and M.N. Choudhury. Factors affecting the codon usage bias of SRY gene across mammals. *Gene*, 630:13–20, 2017.
- [118] M.N. Choudhury, A. Uddin, and S. Chakraborty. Nucleotide composition and codon usage bias of SRY gene. *Andrologia*, 50(1), 2018.
- [119] D.K. Nguyen and C.M. Disteche. High expression of the mammalian X chromosome in brain. *Brain Research*, 1126(1):46–49, 2006.

- [120] A. Uddin and S. Chakraborty. Codon usage pattern of genes involved in Central Nervous System. *Molecular Neurobiology*, 56(3):1737–1748, 2019.
- [121] S. Bhattacharyya, W.M. Jacobs, B.V. Adkar, J. Yan, W. Zhang, and E.I. Shakhnovich. Accessibility of the Shine-Dalgarno sequence dictates N-terminal codon bias in *E. coli*. *Molecular Cell*, 70(5):894–905.e5, 2018.
- [122] T.V.O. Hansen, A.Y. Steffensen, L. Jønson, M.K. Andersen, B. Ejlersen, and F.C. Nielsen. The silent mutation nucleotide 744 G →A, Lys172Lys, in exon 6 of BRCA2 results in exon skipping. *Breast Cancer Research and Treatment*, 119(3):547–550, 2010.
- [123] T. Matsumoto, A. John, P. Baeza-Centurion, B. Li, and H. Akashi. Codon usage selection can bias estimation of the fraction of adaptive amino acid fixations. *Molecular Biology and Evolution*, 33(6):1580–1589, 2016.
- [124] S. Liu, M. Wang, G. Du, and J. Chen. Improving the active expression of transglutaminase in *Streptomyces lividans* by promoter engineering and codon optimization. *BMC Biotechnology*, 16(1), 2016.
- [125] P. Rehbein, J. Berz, P. Kreisel, and H. Schwalbe. “CodonWizard”: An intuitive software tool with graphical user interface for customizable codon optimization in protein expression efforts. *Protein Expression and Purification*, 160:84–93, 2019.
- [126] A. Alexaki, J. Kames, D.D. Holcomb, J. Athey, L.V. Santana-Quintero, P.V.N. Lam, N. Hamasaki-Katagiri, E. Osipova, V. Simonyan, H. Bar, A.A. Komar, and C. Kimchi-Sarfaty. Codon and codon-pair usage tables (CoCoPUTs): Facilitating genetic variation analyses and recombinant gene design. *Journal of Molecular Biology*, 431(13):2434–2441, 2019.
- [127] J. Athey, A. Alexaki, E. Osipova, A. Rostovtsev, L.V. Santana-Quintero, U. Katneni, V. Simonyan, and C. Kimchi-Sarfaty. A new and updated resource for codon usage tables. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 2017.
- [128] Y.S. Jeong, H.-K. Ku, J.K. Kim, M.K. You, S.-H. Lim, J.-K. Kim, and S.-H. Ha. Effect of codon optimization on the enhancement of the beta-carotene contents in rice endosperm. *Plant Biotechnology Reports*, 11(3):171–179, 2017.
- [129] H. Seligmann and G. Warthi. Genetic code optimization for cotranslational protein folding: Codon directional asymmetry correlates with antiparallel betasheets, tRNA synthetase classes. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 15:412–424, 2017.

- [130] P. Błażej, M. Wnętrzak, D. Mackiewicz, and P. Mackiewicz. Optimization of the standard genetic code according to three codon positions using an evolutionary algorithm. *PLoS ONE*, 13(8), 2018.
- [131] Z. Lipinszki, V. Vernyik, N. Farago, T. Sari, L.G. Puskas, F.R. Blattner, G. Posfai, and Z. Györfy. Enhancing the translational capacity of *E. coli* by resolving the codon bias. *ACS Synthetic Biology*, 7(11):2656–2664, 2018.
- [132] S.W. Santoro, L. Wang, B. Herberich, D.S. King, and P.G. Schultz. An efficient system for the evolution of aminoacyl-tRNA synthetase specificity. *Nature Biotechnology*, 20(10):1044–1048, 2002.
- [133] R. Thyer and A.D. Ellington. The role of tRNA in establishing new genetic codes. *Biochemistry*, 58(11):1460–1463, 2019.
- [134] N. Kumar, B.C. Bera, B.D. Greenbaum, S. Bhatia, R. Sood, P. Selvaraj, T. Anand, B.N. Tripathi, and N. Virmani. Revelation of influencing factors in overall codon usage bias of equine influenza viruses. *PLoS ONE*, 11(4), 2016.
- [135] F.L. Tort, M. Castells, and J. Cristina. A comprehensive analysis of genome composition and codon usage patterns of emerging coronaviruses. *Virus Research*, 283, 2020.
- [136] C. Chan, P. Pham, P.C. Dedon, and T.J. Begley. Lifestyle modifications: Coordinating the tRNA epitranscriptome with codon bias to adapt translation during stress responses. *Genome Biology*, 19(1), 2018.
- [137] F. Guo, J. Yang, J. Pan, X. Liang, X. Shen, D.M. Irwin, R.-A. Chen, and Y. Shen. Origin and evolution of H1N1/pdm2009: A codon usage perspective. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2020.
- [138] H. Son, H. Kang, H.S. Kim, and S. Kim. Somatic mutation driven codon transition bias in human cancer. *Scientific Reports*, 7(1), 2017.
- [139] A. Uddin, N. Paul, and S. Chakraborty. The codon usage pattern of genes involved in ovarian cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1440(1):67–78, 2019.
- [140] J.E. Miller, M.K. Shivakumar, S.L. Risacher, A.J. Saykin, S. Lee, K. Nho, D. Kim, and Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). Codon bias among synonymous rare variants is associated with alzheimer’s disease imaging biomarker. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 0(212669):365–376, 2018.

- [141] S. Diederichs, L. Bartsch, J.C. Berkmann, K. FrÃ¶se, J. Heitmann, C. Hoppe, D. Iggena, D. Jazmati, P. Karschnia, M. Linsenmeier, T. Maulhardt, L. Möhrmann, J. Morstein, S.V. Paffenholz, P. Röpenack, T. Rückert, L. Sandig, M. Schell, A. Steinmann, G. Voss, J. Wasmuth, M.E. Weinberger, and R. Wullenkord. The dark matter of the cancer genome: Aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations. *EMBO Molecular Medicine*, 8(5):442–457, 2016.
- [142] R.S. Dhindsa, B.R. Copeland, A.M. Mustoe, and D.B. Goldstein. Natural selection shapes codon usage in the human genome. *American Journal of Human Genetics*, 107(1):83–95, 2020.
- [143] A. Lazrak, L. Fu, V. Bali, R. Bartoszewski, A. Rab, V. Havasi, S. Keiles, J. Kappes, R. Kumar, E. Lefkowitz, E.J. Sorscher, S. Matalon, J.F. Collawn, and Z. Bebok. The silent codon change I507ATC ->ATT contributes to the severity of the AF508 CFTR channel dysfunction. *FASEB Journal*, 27(11):4630–4645, 2013.

10. A quienes han hecho esto posible

Posiblemente este apartado será el que más gente vaya a leer de mi TFG, puede que incluso el único a excepción de al menos —espero— el tribunal y mi tutor. Es por ello que siento una gran responsabilidad escribiendo estas líneas. Un Trabajo Fin de Grado al final es una puesta en valor de todo lo que has vivido durante la carrera, y es imposible hacerlo sin recordar a ciertas personas que han marcado estos años de mi vida. Me tendréis que perdonar el tono poético y empalagoso, pero esta es una de las pocas veces en las que se puede hablar desde el corazón sin miedo a qué pueda pasar. Más aun teniendo en cuenta que aquí ya no tengo límite de palabras. El único límite aquí es lo que sea capaz de mostrar de todo lo que siento en estos, mis últimos, días en esta ciudad que tanto me ha dado.

Hace 4 años terminé el instituto, una etapa que superé con sus más y sus menos, pero yo sabía que necesitaba un cambio. Tenía cosas por vivir, cosas que no puedo evitar mirar con perspectiva durante estos días.

Mi oasis en el desierto fue un sitio normal de Andalucía rodeado de personas maravillosas. Sé que esta etapa y esta ciudad se acaban para mí y me hiere como una espina que no sale, pues es perder una parte de lo que soy. Sin embargo, más allá de un lugar, un gran sabio dijo en una tierra de oro y plata que la patria son tus amigos. Y la patria no se pierde, la patria se echa de menos.

El sentirse parte de un todo es tal vez uno de los mayores anhelos del ser humano, y en este todo que habéis constituido para mí he podido florecer con vosotros.

Florece como lo hace la vida incluso en las condiciones más inhóspitas. Tomando lo poco que tiene y haciendo de ello, a pesar de todo, la mejor labor posible para continuar con su tarea. Nos adaptamos y evolucionamos, respondiendo a una ley física y biológica que rige a todo elemento presente en nuestro universo.

Cuando pienso en muchos de nosotros me quedo impresionado en cómo hemos luchado, y cómo nos hemos opuesto a lo que nos tocaba. Casi como si este no fuera nuestro sitio. Esto me recuerda a una pequeña piedra que siempre me ha llamado la atención. Mi padre siempre me mostró su amor por la geología, y de todas las rocas y minerales que tenía en casa había una muy especial. No era brillante como las demás, ni si quiera tenía un color llamativo, pero era una piedra muy peculiar. Era una “rosa del desierto”.



Esta piedra, de la misma composición molecular que el yeso, tiene unas características muy especiales, únicamente se forma bajo condiciones de alta temperatura y presión, con alternancia de períodos de hidratación y deshidratación. Supongo que ya entendéis a lo que me refiero.

Veo en vosotros a personas que se oponen a ser piezas meramente estructurales, personas que han pasado por momentos complicados y que han salido adelante, y que por el camino han crecido y se han convertido en mucho más de lo que el sistema esperaba de ellas. Lo fácil hubiera sido dejarse llevar y pasar sin pena ni gloria, pero vosotros no sois así, cogéis lo que tenéis dentro y le dais forma creando algo bonito. Por eso quería “dedicaros” esta metáfora, porque sé que hemos pasado momentos jodidos y que vendrán más, pero lo importante es como los hemos afrontado hasta ahora y cómo sigamos haciéndolo. Nunca lo olvidéis, os veo como flores en el desierto, haciendo posible lo que parecía imposible. Especialmente a los que como yo, pertenecemos a una supuesta generación perdida condenada a ser la primera que verá un mundo peor que el de sus padres. A todos vosotros, va dedicado este humilde trabajo.

«We are like butterflies who flutter for a day and think it is forever.»

Carl Sagan

A mi abuela, la niña que se colaba en las bibliotecas durante el franquismo para leer y que hablaba a sus nietos sobre Bécquer y Séneca. Cuando estaba en Salamanca a veces me imaginaba que en un mundo más justo tu hubieras ido a esa universidad. Algo hiciste bien, tu hija y tus dos nietos han pasado por la universidad por su propio mérito, los hijos de aquellos fascistas a los que servías ahora se pagan con billetes lo que no pueden alcanzar de otra manera porque no tienen nada dentro. He aquí nuestra victoria. Tal vez eres el mayor ejemplo de la huella que podemos dejar en este mundo, pues pasan los años y no olvido tus charlas. Por tus insultos a los asesinos de las Azores y tus “Viva la República”. Tu efímero paso por este mundo ya ha terminado pero la Genética me ha dado una de las mayores alegrías que me podría imaginar. Toda la energía que recorre mi cuerpo procede de las máquinas que heredé de tu parte. Todos y cada uno de los impulsos nerviosos de mi vida son y serán gracias a ti. Al menos mientras yo siga vivo tú nunca te habrás ido del todo.

A mis padres, porque sé que siempre fue difícil entenderme. No soy una persona muy estándar, yo era el niño que siempre preguntaba «¿por qué?» y que os echaba la bronca porque no le dejabais escuchar el telediario al volver del colegio. Espero que el esfuerzo haya valido la pena. Puede que no os lo diga por cómo soy, pero os quiero mucho, y he tardado muchos años en ser consciente realmente de todo lo que os ha pasado en la vida y en cómo habéis llegado hasta aquí. Sois unos buscavidas y esa es la mejor enseñanza que se le puede dar a un hijo. Los cambios de casa y las condiciones más duras que tuvimos que vivir durante la crisis no son una vergüenza, sino un orgullo. Me hacen recordar de dónde venimos y me han hecho más duro. Ahora que las cosas están mejor sé que vamos a poder con todo.

“Papá, cuéntame otra vez esa historia tan bonita...”. Tengo la sensación de que cada año que pasa me parezco más a ti y de que nos llevamos mejor. Creo que voy a echar de menos a Granada tanto como tú y aquel sultán que rompió en lágrimas la última vez que vio esta ciudad. Ahora entiendo ese brillo que te nace en los ojos cuando hablas de tu Granada. Hablando de llorar, una de las veces que más he llorado yo es una vez que vi que te dejaste el ordenador encendido y tenías facebook abierto en una publicación en la que pusiste que estabas muy orgulloso de mí por haberme graduado del bachillerato. A veces las cosas más importantes son las que no se dicen.

“Tó ba a çalîh bien mamá”. Siempre has tirado para adelante con todos, y aún así te quedan fuerzas para querer vivir en otras ciudades, viajar y descubrir países. Ojalá yo pueda mantener esas ganas. Te has puesto a estudiar otra vez tras tantos años, y hay que tener mucho valor para eso. Espero que algún día te decidas a acabar la carrera y me tengas que poner tú a mí en los agradecimientos de tu TFG por obligarte a terminarla.

A mi hermana, con quién nunca he terminado de conectar y puede que sea por mi culpa. Tan diferentes para ser hermanos... En ocasiones me he sentido culpable de que me vieras a mi como un referente y vivieras, por momentos, a mi sombra. Me alegra que estés encontrando tu propio camino, pero recuerda que si el 50 % de mí va a acabar siendo economista al menos que sea de izquierdas.

A mi prima "la Ratxel", porque empezamos esta aventura juntos y porque es increíble mirar atrás y darme cuenta de cuánto hemos cambiado. Si no es por tu ayuda en inglés creo que no hubiera entrado a Biotecnología, y aunque no sea estrictamente mi lucha me siento orgulloso cuando veo que con el feminismo has encontrado algo por lo que luchar después de las interminables turras que te daba sobre política en bachiller. Qué felicidad ha sido verte estos últimos días, saber que vas a terminar la carrera y que tienes nuevas ilusiones. A pesar de lo quejica que eres —con cariño— te irá bien.

A Vicente "Vicenciunas", porque no sabía que encontraría un hermano en un contrincante en una cancha de basket. Desde que me metiste en tu casa supe que eras una muy buena persona. Has dado algún tumbó pero siempre currando a muerte, espero que por fin hayas encontrado la vía que estabas buscando. Esas pachangas y esos temazos de rock que nos poníamos no se me van a olvidar jamás.

A Joselu "Jorseluis", de Baena para el mundo. No sé qué tienen los cordobeses que los murcianos pegamos tanto con vosotros. Has sido de mis mayores descubrimientos en Granada, y que tiemble Italia porque se llevan a un fiero. En septiembre me tienes allí y nos echamos una cerveza de las nuestras. Me alegro muchísimo de ver cómo estas sacando adelante contra viento y marea esas asignaturas que tanto se te atragantaron. Otro de los míos que lucha hasta el final.

A Rosa, que llegaste tarde pero justo a tiempo. Espero que lo que yo uní no lo separe nadie, que tú y Joselu ya sois como mis padres. Dejando al "electricista" de lado, me alegro un montón de que consiguieras el traslado desde Madrid. Eres de esas personas con las que puedo no hablar en meses, pero nos volvemos a ver y es cómo si no hubiera pasado el tiempo. Tu lema del «un 5 son 6 créditos» es un himno vital.

Llega el momento de mi crew. Mi grupo burbuja, mi Alerta Roja. Sin vosotros estos últimos meses habrían sido una tortura.

A Rafa, mi eterno compañero de piso, por lo que hemos vivido juntos en Granada y Salamanca. Eres, sin lugar a dudas, de las personas más inteligentes que conozco, solo te falta terminar de poder centrarte en lo que te gusta de verdad. El día que lo consigas haces gg well play en el chat. Menos mal que no te cambiaste a Arquitectura porque me habría perdido la mitad de mis recuerdos durante la carrera. El que nunca me decía que no a salir y tomar algo, y que me sabía liar como nadie. Mil gracias a ti y a tu familia porque siempre os habéis portado genial conmigo.

A Javi “Lavadoras” aka “el pachangas”, por no poner nunca una mala cara ni soltar una mala palabra. Puede que seas la mejor persona que conozco, has cohesionado el grupo como nadie podía haberlo hecho. Hace falta más gente como tú en este mundo. Estás en el camino correcto, a los que no descansan les acaban llegando las oportunidades. Ser tu compañero de laboratorio ha sido una experiencia increíble.

A Ana Robles “la sirenita” de Baza. Es curioso porque eres con quien más discuto pero a la vez con quién más creo que conecto. Cuando hablamos de ciencia me doy cuenta de que eres la persona a la que más me parezco en mi forma de pensar. Ya sea en Baza, Polonia o Granada me hace muy feliz saber que existe alguien así en este mundo. Y además eres otra working class hero.

A mi Chiquita Liada. Mi gente de Biotec. Los incautos que entraron un día en la C11 sin saber lo que les esperaba. Qué poco he tardado en darme cuenta de la clase tan buena que me tocó...

A Pablo Vargas “el otaku”. Ese tío capaz de sacarse un 9 sin ir a clase. Por esos apuntes que nos han salvado la vida a todos más de una vez y más de dos. Jamás te perdonaremos lo de la pizza con piña pero lo pasamos por alto porque eres un tío de 10. Algún día volveremos a echarnos un tenis y verás como he mejorado mi saque.

A Kamar “Karma” o “Kurma” o el primer nombre que se le ocurra a cada profesor nuevo que nos toque. No sabría por dónde empezar contigo. Más europea que nadie aunque no lo seas. Tu vuelta ha sido una bocanada de aire fresco. Siempre durmiendo pero siempre presente. Cuántos días habremos comido juntos en comedores... Solo espero que el mundo no se te quede pequeño.

A Mario “el guanche”. Una persona increíble que dejó la carrera para hacer lo que le gustaba de verdad, y encima en uno de los lugares más bonitos del mundo. A pesar de que no hablemos mucho y no te haya visto desde hace 3 años es imposible pensar en la carrera y no acordarme de esos ratos juntos en primero. Cuando me pase por Canarias iré a verte, tenlo por seguro.

A Laura, que es una choni pero es mi choni favorita. Por las risotas que me has dado estos años y porque sigamos siendo el hazmerreír de Biotec. Nos encanta chincharte pero porque lo encajas mejor que nadie. No se cuántas veces he tenido que salvarte de que te caigas pero estoy seguro de que habrá alguna más y, como siempre, estaré encantado de ello. Sé que eres de esas personas que, aunque lo oculten, tienen cosas muy bonitas dentro.

*A Layla *no sé como describir el extraño sonido que haces pegándote en la cabeza*. Contigo me tuve que tragar mis prejuicios. Recuerdo las últimas semanas de segundo cuando realmente nos conocimos, no me esperaba encontrarme a una persona tan agradable y con la que me podía llevar tan bien. Aquí tendrás a un amigo siempre.*

A Marian, por ser la eterna delegada de Biotec. Las fiestas en tu casa fueron las mejores de la carrera, y sin ellas no existiría este grupo tal y como es. No sé como has sacado la carrera y todo lo demás a la vez para adelante, pero es de admirar.

A Marta, por ser de alguna extraña forma la persona con la que probablemente más significado comparto en mis tatuajes. Nunca hemos llegado a tener una relación muy estrecha, pero al igual que con Javi tengo la sensación de que eres una persona maravillosa. Y por favor, controla a Laura y llévatela para la casa.

A Ata, Pablo Nevado, Alberto, Fran, Ossama... Por los “este viernes se sale”, ya sea en el piso de Nevado, en Forum o en Pedro Antonio. Parte esencial de este grupo, gente que siempre ha traído buen rollo. Por todo lo que hemos vivido juntos y porque os vaya bien.

A mi gente de Salamanca, porque la SICUE se nos terminó antes de tiempo pero habéis marcado unos meses muy felices de mi vida. Personas como Ana, Elena, Antía, Pablo, Carla o María habéis conformado un grupo increíble para mi. Mis agradecimientos especiales a Itxaso, alguien que ha trascendido en mi vida más allá de un lugar y que no voy a ser capaz de olvidar. De alguna forma la vida nos juntó un día y es con lo que me quedo, “txoria nuen maite”.

Por último, a las personas que han superado el ámbito estrictamente académico.

En primer lugar a Andrea, que la he conocido muy poco pero se le nota que es una persona que ha trabajado muchísimo. Espero la noticia de que te han dado la FPU en el laboratorio de David, y estoy seguro de que así será.

A Miriam, porque sin lugar a dudas hubieras sido parte de nuestro grupo de la clase. No te imaginas la alegría que nos dabas a Javi y a mí cada vez que recibíamos un mensaje tuyo para ir al laboratorio. Gracias por enseñarnos tu amor por ayudar a la gente, la experiencia de ir ese día al hospital jamás la voy a poder olvidar. Para nosotros eres un ejemplo, gracias por las horas que has echado con nosotros y por el “hace más falta gente como vosotros en los laboratorios” que tengo grabado a fuego desde que lo escuché. Humildemente, creo que lo que hace falta es más gente como tú en esta universidad.

David. Este podría ser el agradecimiento más fácil de todos pero a la vez no se por dónde empezar. La clase en general, y yo en particular, necesitábamos un punto de inflexión en la carrera y fuiste tú quién dio el golpe de efecto. Es increíble lo que has conseguido marcar a mi generación con apenas unas cuantas horas de clase. Cuando hablamos entre Ana, Javi y yo sobre ejemplos de gente que se ha esforzado de verdad para triunfar en la vida pensamos en ti, por fin, Profesor Titular. Gracias porque eres el ejemplo de superación y buen hacer que se debería de enseñar en los institutos. Hay esperanza en la UGR con profesores como tú.

Finalmente, una mención especial merecen aquellas personas que me ayudaron mucho antes de que yo llegara a esta ciudad. Por mucho que en este mundo nos intenten convencer del individualismo vigente, soy plenamente consciente de que sin esos profesores de instituto que me mostraron su pasión por la ciencia y por ayudar a los estudiantes yo no estaría aquí. Especialmente al departamento de Biología y Geología, a personas como Nacho, Manolo y Ramón Ruiz. Sentí cierta frustración al entrar en la carrera cuando me di cuenta de que la mayoría de plazas estaban ocupadas por estudiantes de centros privados y concertados. Por suerte, en el IES Rambla de Nogalte de que han conseguido una victoria más para la pública.

Gracias a todos, a los que he nombrado y a los que habré olvidado porque mi memoria y estas últimas semanas también han provocado un “sesgo”. Mi etapa universitaria está escrita con vuestros nombres.

Brindo por la rebeldía que nos hizo florecer juntos. La misma con la que yo me levanto cada mañana pensando que si merece la pena esforzarse para intentar cambiar el mundo es por gente con vosotros. El mismo mundo que espero que sea justo y nos permita encontrar nuestro sitio. Tal vez, el mismo sitio que nos ha unido.

Gracias a mis compañeros de vida. Nos volveremos a ver.

Atentamente, desde un punto azul pálido, un animal más que mira a las estrellas y, veces, pega voces.