



Entrevista a Simonetta Gribaldo

Microbiòloga evolutiva de l'Institut Pasteur de París

«ELS PROPERS ANYS SERAN L'EDAT DAURADA DE LA MICROBIOLOGIA»

Susanna Ligeró

Aquells que acostumen a llegir les pàgines de MÈTODE (i malgrat que les lliçons de biologia queden una mica lluny), els arqueus els deuen resultar familiars. Aquests microorganismes unicel·lulars han estat al cor d'una de les fites científiques recents de més impacte: el desenvolupament de les eines d'edició genòmica CRISPR. A començament dels anys noranta del segle XX, el microbiòleg Francis Mojica detectava en uns arqueus habitants de les salines de Santa Pola un mecanisme de defensa immunològic que els permetia modificar amb precisió el seu propi genoma per tal de protegir-se dels virus. Vora trenta anys després, les aplicacions de CRISPR en diversos àmbits d'interès (des de la teràpia genètica fins a la creació de cultius més resistents a les inclemències de l'oratge) no deixen de sobtar-nos. Malgrat aquest salt a la fama tan tremend, els arqueus continuen sent uns grans desconeguts i no només fora de l'esfera científica. La seua gran diversitat encara amaga moltíssims secrets, tal com ens assegura Simonetta Gribaldo (Roma, 1969), potser una de les persones al món que més bé els coneix.

L'entusiasme de Simonetta Gribaldo cap a aquests organismes microscòpics és evident. No en va els ha dedicat gairebé tota la seua trajectòria científica, cosa que no va ser fàcil. Dins del món de la microbiologia, l'estudi dels arqueus ha estat de baixa prioritat fins fa ben poc i la doctora Gribaldo va haver de lluitar de valent perquè altres s'adonaren del potencial d'aquesta àrea: «Vaig haver de construir el meu propi nínxol», ens explica. Al seu doctorat en Filogenètica per la Universitat de la Sapienza, a Roma, se li sumen tres estades postdoctorals a París: en la Universitat Pierre i Marie Curie, en la Universitat d'Orsay i en l'Institut Pasteur. Vinculada des de 2005 a aquesta darrera institució, dedicada a la recerca per la salut pública, actualment és cap de la Unitat de Biologia Evolutiva de la Cèl·lula Microbiana.

El passat febrer, Simonetta Gribaldo visità la Universitat de València per a realitzar la conferència de celebració del Dia de Darwin, convidada per l'Espai Ciència del Centre Octubre de Cultura Contemporània i l'IEC. Pocs dies abans, un grup japonès havia fet una passa important en l'estudi dels coneguts com a arqueus d'Asgard. El 2015 un equip de la Universitat d'Uppsala aconseguia la primera seqüència genòmica d'aquest tipus d'arqueus, a partir d'una mostra obtinguda prop del conegut com a castell de Loki, un indret submarí d'aigües hidrotermals entre Noruega i Groenlàndia. Per descomptat, van passar a anomenar-los «arqueus de Loki». A aquests, s'hi van unir durant els anys següents els arqueus de Thor, Odin i Heimdall, de característiques semblants i també batejats en honor a la mitologia nòrdica, tot i trobar-se

lluny de les costes beneïdes per les deïtats d'Asgard. Fins al moment, la seqüenciació d'aquests arqueus provenia exclusivament d'analitzar mostres des seu entorn. Però al gener de 2020, el grup de Hiroyuki Imachi, de l'Institut de Ciència i Tecnologia del Mar de Japó, publicava en *Nature* els resultats del que fins aleshores havia estat impossible: fer cultius d'aquests arqueus al laboratori. Aprofitant la seua estada, parlem amb Simonetta Gribaldo d'aquestes qüestions.

Com es va interessar en l'estudi dels arqueus?

És una història curiosa. Vaig estudiar en una universitat menuda de Sicília i em vaig graduar l'any 1992. Després vaig anar a Anglaterra a fer un màster. Allà feia una faena molt avorrida: em dedicava a classificar bacteris d'infeccions que provenien d'hospitals: açò és estreptococ, allò és estafilococ... Era interessant, però poc apassionant. Un dia tots anàrem a una conferència sobre microbiologia a Londres, i hi va haver una sessió sobre l'arbre de la vida. Recorde que la sala estava pleníssima i hi havia molta gent asseguda al terra. I, de sobte, algú va traure un arbre de la vida i va ser com una revelació. Era l'any 1995 i jo no havia sentit parlar mai dels arqueus. No els havia estudiat i ningú no me n'havia parlat. I vaig dir: «Qui punyetes són aquests? I com es fa un arbre de la vida?». I així va ser. Ho vaig deixar tot i vaig començar de nou. Vaig anar a Roma i vaig iniciar un doctorat en l'arbre de la vida i la filogènia antiga. Així és com vaig conèixer els arqueus.

Per què pensa que els arqueus són tan desconeguts?

En primer lloc, es van descobrir molt més tard que els bacteris. Se sabia que existien, però no se'ls va conèixer com a arqueus fins l'any 1977. En segon lloc, sovint se'ls coneix per ser extremòfils, és a dir, organismes que viuen en condicions molt dures. Així que són considerats una mena de curiositat, irrellevants en general per a la microbiologia, cosa que és falsa. Per últim, no es coneixen patògens entre els arqueus, i per això desperten molt menys interès. Però aquestes coses estan canviant; per exemple, s'ha descobert que també hi ha arqueus vivint al nostre intestí. Això és un tema completament nou, un territori verge: cal estudiar com els arqueus participen en algunes malalties, però també en la salut, per exemple, a l'hora de mantenir una bona microbiota.

Troba que molta gent els confon, arqueus i bacteris?

Sí, sobretot quan els anomenen «arqueobacteris» [rient]. Ja no ens agrada anomenar-los així. A l'inici ho fèiem, però ja no té sentit, perquè són molt diferents dels bacteris. Evolutivament parlant, són completament distints. En termes de mecanismes moleculars, s'assemblen molt més a nosaltres que als bacteris.



Daniel García-Sala

«Els arqueus són considerats una mena de curiositat irrellevant en general per a la microbiologia, cosa que és falsa»

EL TERCER BRANQUILLÓ DE LA VIDA

De *L'origen de les espècies* de Darwin se'n poden treure moltes ensenyances. Una és la diversitat d'anticipacions sembrades per tot aquell «resum odiós» de la seua teoria, moltes de les quals tardarien dècades a germinar. En el capítol IV descriu el que seria la seua metàfora més reeixida: l'arbre de la vida. I deixa anar una d'aquelles frases que, com qui no vol la cosa, avança una fita de la biologia del futur: «Dels molts branquillons que floriren quan l'arbre no era més que un arbrissó, només dos o tres han crescut fins a fer-se branques grosses, que sobreviuen i suporten totes les altres branques.»

Dos o tres branquillons suporten la frondositat de la biodiversitat. Dos o tres? Sense saber-ho, Darwin apuntava una llarga controvèrsia, en ple segle XX, sobre taxonomia microbiana i les indagacions moleculars de la filogènia.

Cent anys després trobem un altre brillant científic britànic també molt dotat per a deixar anar idees inadvertides que, en retrospectiva, són mines antisistema. Francis Crick preveia, en una especulació de 1958 sobre la síntesi de proteïnes, que aviat els biòlegs es posarien a fer «taxonomia de proteïnes» perquè «dins d'elles hi pot haver una immensa quantitat d'informació evolutiva». Cinc anys després, Linus Pauling i Emile Zuckerkandl parlaven obertament de les macromolècules (àcids nucleics i proteïnes) com a «documents de la història evolutiva». El salt extraordinari fou el descens de l'anatomia comparada al món molecular i, per primera vegada, la inclusió dels microbis en l'arbre darwinista. Llavors ningú sospitava que unes criatures invisibles esdevindrien els cimals més alts de l'arbre de la vida.

A mitjan segle XX s'acceptava una divisió de la vida en dos grups, procariotes i eucariotes, basada en l'estructura cel·lular, simple en el cas dels procariotes –com a sinònim de *bacteri*–, enrevessada en el cas dels eucariotes.

A finals dels seixanta, el microbiòleg Carl Woese es disposava a descriptar, a través

de les molècules, les relacions evolutives entre procariotes i eucariotes. Assessorat per Crick, dirigí la seua lupa al ribosoma, la factoria molecular de les proteïnes. Amb una tecnologia que ara considerariem rudimentària i que no aprovaria cap comitè de prevenció de riscos laborals, Woese i els seus col·legues començaren la classificació molecular dels bacteris. Tot anava bé fins que s'enfrontaren a uns enigmàtics microorganismes productors de metà. La identitat molecular dels metanògens els allunyava tant dels bacteris com dels eucariotes. En 1977 una sèrie memorable

«En 1977, una sèrie memorable d'articles passà d'anunciar “una divergència antiga dels bacteris” a introduir la idea d'un tercer domini de la vida»

d'articles passà d'anunciar «una divergència antiga dels bacteris» a introduir la idea d'un tercer domini de la vida, primer anomenat *arqueobacteri* i, a partir de 1990, *arqueu*. El triomf de la filogènia molecular sobre la taxonomia bacteriològica clàssica –basada en estructures microscòpiques elusives i anàlisis bioquímiques

penoses– no fou reconegut de seguida. Passaren anys abans de l'acceptació d'aquella «tercera forma de vida».

En 1967 una biòloga nord-americana havia argumentat sobre la naturalesa quimèrica de les cèl·lules eucariòtiques: la complexitat cel·lular es va iniciar amb la simbiosi entre procariotes. Aquella jove audaç era Lynn Margulis. Units pel menyspreu dels col·legues cap a les seues respectives propostes, Margulis i Woese sostingueren una llarga i agra disputa sobre la classificació profunda del món procariòtic. Irònicament, els dos han quedat associats dins la idea actual sobre la generació de les cèl·lules complexes: el moment crucial fou la unió metabòlica i genètica d'un arqueu (avantpassat dels Asgard) i un bacteri (un antic alfa-proteobacteri). I així és com els dos branquillons més antics de l'arbre de la vida van originar, per anastomosi, el tercer cimal. Dos i, després, tres.

JULI PERETÓ. Institut de Biologia Integrativa i de Sistemes I²SysBio (UV-CSIC).

Parlem dels cèlebres arqueus d'Asgard. Què ha suposat la seqüenciació d'aquests arqueus, no només per a estudiar-los, sinó per al coneixement de l'origen de la cèl·lula eucariota?

Fins fa poc de temps, només coneixíem els arqueus d'Asgard a partir de petites seqüències genòmiques provinents del seu entorn. Però amb noves tècniques hem aconseguit seqüenciar-ne el genoma sencer, així els podem situar millor en l'arbre de la vida. Això ens ha demostrat que són els parents més propers als eucariotes, i aquesta posició s'explica perquè semblen tenir gens que es consideraven específics dels eucariotes, però que ara hem trobat també als arqueus d'Asgard. Això significa que aquests gens que van constituir la cèl·lula eucariota són més antics del que pensàvem. Així que tenim una nova finestra a l'emergència de la primera cèl·lula eucariota, cosa que és una de les preguntes més importants en biologia evolutiva: com tancar aquest buit entre els arqueus i els eucariotes mitjançant totes aquestes formes intermèdies.

Hi ha qui teoritza que, potser, l'origen de la cèl·lula eucariota prové d'un arqueu que va «engolir» un bacteri...

Sí, aquesta teoria hi és, però hi ha moltes coses que encara no sabem. I no m'agrada massa considerar aquests arqueus [d'Asgard] «els nostres ancestres» o les «baules perdudes», quan es tracta d'arqueus moderns. Hem d'imaginar que han sorgit d'un ancestre comú que tenen amb els eucariotes, però també són molt diferents d'aquest. Alhora, ens poden dir moltes coses per a reconstruir aquest avantpassat comú.

Una de les dificultats per a l'estudi dels arqueus és que no és tan fàcil fer-ne cultius al laboratori, veritat?

No és així en tots els casos; tenim cultius d'alguns arqueus que es fan servir com a eines genètiques, per exemple, encara que van molt lents. Però ocorre el mateix amb la majoria de bacteris. Si pensem en els que s'estudien al laboratori... Només en són un grapat. De la gran majoria, no se'n poden fer cultius. Creixen molt lentament i el mateix ocorre amb els arqueus.

Com bé deu saber, l'equip de Hiroyuki Imachi ha aconseguit fer cultius d'un tipus d'arqueus d'Asgard provinents de la fosa de Nankai, al sud de l'illa de Honshu al Japó, que han batejat com a «arqueus de Prometeu». Una de les curiositats d'aquest estudi ha estat que, segons sembla, el cultiu s'ha beneficiat d'un ingredient inusual: la llet per a nadons en pols.

Sí, es mengen els aminoàcids [rient]. Dotze anys d'enriquiment. És una cosa increïble. A aquests arqueus de Prometeu els costa dotze dies dur a terme una divisió. Al bacteri *Escherichia coli* li costa mitja hora. Això ens dona una idea de la dificultat de què parlàvem. Aquests arqueus viuen en ambients anòxics, com per exemple



Daniel García-Sala

«Molts descobriments provindran d'ambients que encara no s'han analitzat, tal com sediments molt profunds o entorns hipertermòfils»

sediments en els fons marins, i tenen una vida que necessita molt poca energia, que va molt lenta. Per això és tan difícil fer-ne cultius.

Per què pensa que és important reconstruir aquest camí cap a LUCA [acrònim de *last universal common ancestor*, “últim avantpassat comú universal”]?

Bé, és una qüestió fonamental! Sempre s’han investigat les migracions de les poblacions humanes per a entendre l’origen dels humans, i això és exactament el mateix. La gent que treballem en evolució volem retrocedir en el temps. Fer-ho ens pot donar idees sobre com aquesta anirà en el futur i així fer prediccions i evitar estupideses, com perdre biodiversitat i coses per l’estil. Aquesta reconstrucció ens dona una instantània de la manera com funciona l’evolució, com ho ha fet en el passat i com podria fer-ho en el futur.

I quines són les principals dificultats que trobeu durant aquest procés de reconstrucció?

D’una banda, estem parlant d’esdeveniments que van passar fa gairebé 3.500 milions d’anys, així que som com arqueòlegs que es troben tres pedres i han de reconstruir-hi com era la piràmide. Tenim trossets i peces d’informació i tractem d’encaixar-los. Però a més ens trobem coses com que la piràmide va ser destruïda i les peces, reutilitzades per a fer una catedral o alguna cosa així. Això ens passa amb les seqüències amb què treballem. Perquè ja no hi ha fòssils d’aquests successos tan antics. En particular, dels microorganismes que no deixen fòssils, l’única cosa que en roman són les seqüències d’ADN. Així, si volem anar cap enrere, necessitem reconstruir amb models matemàtics aquestes mutacions al llarg del temps. Tot això va canviant segons el nostre progrés amb els models matemàtics, que cada vegada són més potents i realistes. D’altra banda, tota la informació que anem descobrint es va acumulant. És a dir, més pedres. Com més informació tenim, més aconseguim esbrinar el que va ocórrer en el passat.

De fet, segons tinc entès, en uns cinc anys han passat de tenir al voltant de cent seqüències genòmiques d’arqueus a més de 3.000.

Sí, ja hem arribat a les 3.500 i la cosa no para.

Com han arribat fins aquí? Quines eines els estan ajudant?

Tot és gràcies a la metagenòmica, és a dir, la genòmica de comunitats. Bàsicament, accedim a un ambient i seqüenciem tot l’ADN que hi trobem, que pertany a microorganismes molt diferents. Aleshores, és com si tingueres deu trencaclosques barrejats. I el que volem és posar les peces d’un en una banda, les peces d’un altre en una altra, i així... I resulta que cada espècie té el seu propi patró dins la seqüència, la qual cosa és molt, molt útil. Això ens serveix per a dir quines peces de la seqüència pertanyen a un organisme, quines a un altre... Amb aquest mètode podem reconstruir els genomes dels organismes sense cultivar-los. Això s’anomena MAG, de l’anglès *metagenome-assembled genomes*; és a dir, genomes provinents de metagenomes. Aquest és el gran canvi que hem viscut. En els arqueus, crec que la major part dels genomes que tenim provenen d’aquesta tècnica. Encara estan per cultivar, només els coneixem de seqüenciar [mostres de] l’ambient on els vam trobar. Però a partir del contingut dels seus gens podem inferir com funcionen, els seus metabolismes... Però encara no en tenim proves. D’altra banda, aquesta informació ens pot ajudar a cultivar-los, perquè així sabem què els agrada, què mengen... Pense que funciona de les dues maneres: seqüències a partir de cultius i cultius a partir de seqüències.

Això és el que aquest equip japonès ha aconseguit amb els arqueus de Prometeu.

Abans ha dit que els arqueus es veuen com una curiositat perquè molts són extremòfils. Però hi ha excepcions, veritat?

Sí, els arqueus no només són extremòfils. A més, són molt importants en operacions metabòliques com la nitrificació, cosa que no sabíem. Ens pensàvem que només els bacteris ho feien. També estem obtenint informació sense precedents sobre metabolismes antics que duen a terme els arqueus, com per exemple la metanogènesi. I fa poc hem trobat una nova forma de vida a escala nanomètrica, arqueus en miniatura, cosa molt interessant i que ens planteja una altra pregunta: com arribaren a ser així i què és el que fan.



Daniel Garcia-Sala

«Donar un caire evolutiu a la teua recerca et pot proporcionar molta informació»

Aquests arqueus nanomètrics s'associen sobretot entre si, però també n'hem trobat propers a bacteris.

I què sabem dels arqueus que viuen als nostres intestins, que ha esmentat abans?

Bé, en ciència veterinària fa temps que es coneixen els arqueus, perquè són molt abundants en remugants. Però recentment hem descobert nous llinatges d'arqueus en el microbioma humà. De moment, només podem establir algunes associacions: trobem canvis en l'abundància d'aquests arqueus segons diferents malalties, que poden anar des de l'obesitat fins a algunes de cardiovasculars. Ara mateix no sabem si hi ha una correlació real. Però alguns d'aquests arqueus poden estar-hi implicats mitjançant el que s'anomena disbiosi [desequilibri en la microbiota], i així poden estar contribuint a algunes malalties causades per bacteris, per exemple, incrementant el creixement d'aquells que són perjudicials. D'altra banda, potser també són beneficiosos, perquè, per exemple, alguns d'aquests arqueus mengen trimetilamina, que és un compost que pot resultar dolent per al cor si en tenim massa. Això ha provocat que es desenvolupi el concepte d'*arqueobiòtics*. Però encara estem a les beceroles d'això. No sabem com s'han adaptat al cos humà, quan de temps porten allà, si tothom en té o no i quina és la seua implicació en la salut. Estem començant a veure-ho just ara.

Quins són els reptes a curt termini per a aquest camp?

El repte diari és que tenim massa seqüències per a reconstruir els nostres arbres. Com que treballlem al nivell de l'arbre de la vida, i no al d'una branca menuda, necessitem incorporar tota aquesta diversitat per a veure què està ocorrent realment i la relació entre els tres dominis de la vida. Així doncs, tenim massa seqüències i s'està tornant molt difícil gestionar-les i elaborar arbres amb sentit. Els ordinadors encara no arriben a calcular tantes coses. Llavors el repte ara és reduir tota aquesta gran diversitat per a l'anàlisi i alhora mantenir-ne una bona representativitat, i desenvolupar nous mètodes que tinguin en compte aquesta quantitat creixent de dades. Tot dins d'un temps raonable i garantint la fiabilitat dels resultats.

I què pensa que aprendrem de l'estudi dels arqueus a llarg termini?



Daniel García-Sala

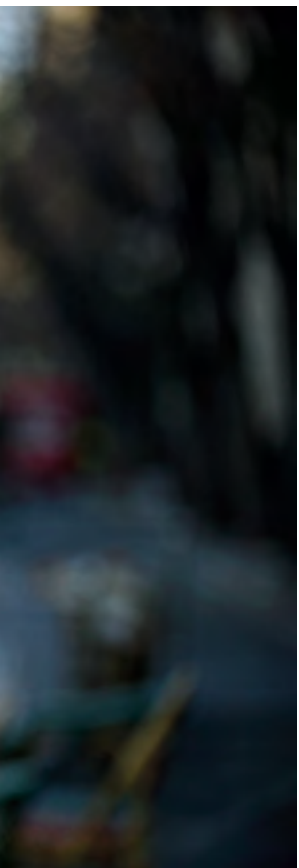
«Retrocedir en el temps ens pot donar idees sobre com anirà en el futur l'evolució»

Per descomptat, hi ha la qüestió de l'origen de les cèl·lules eucariotes. D'altra banda, els eucariotes i els bacteris semblen ser prou homogenis, per exemple, en els seus mecanismes moleculars. Però els arqueus tenen tot el ventall de possibilitats. Sembla que són molt més diversos i de moltes maneres diferents: en la forma de dividir-se, en els seus embolcalls cel·lulars... Crec que aprendrem per què són tan diferents dels bacteris. Si hi pensem, viuen més o menys el mateix tipus de vida: són menuts, unicel·lulars... Els arqueus conviuen

amb els bacteris en molts ambients, però per algun motiu són molt diferents entre si. Però també volem conèixer com es van originar i per què va ocórrer aquesta ruptura entre bacteris i arqueus en el passat, i què va comportar aquesta divergència.

A aquest arbre de la vida, doncs, no deixen de sortir-li noves branques. Es quedarà curta la metàfora, en algun moment?

Això és molt difícil de predir. De moment, encara estem descobrint molta diversitat. Tot dependrà de si aconseguim mostres d'arreu del món o no. Crec que molts descobriments provindran d'entorns que encara no s'han analitzat, per exemple, sediments molt profunds, fins



Daniell García-Sala

i tot en entorns hipertermòfils. Després tenim tots els virus, però això és una altra història. Crec que encara descobrirem moltes coses. No sé si descobrirem un quart domini de la vida, però de moment, tot el que trobem o bé és un bacteri, un arqueu o un eucariota. Sembla que les divisions primàries es mantenen.

No fa molt, celebràvem el dia de la xiqueta i la dona en la ciència i volia que em donara la seua perspectiva sobre el seu camp, si és que n'és un de particularment masculinitzat...

Ho és. Vull dir, sí i no! Pensem en Lynn Margulis! Per descomptat, hi ha hagut grans dones en el món de l'evolució en el passat. Però encara són una minoria, tot i que això està canviant molt ràpidament... Durant tota la meua trajectòria no he trobat moltes dones en aquest camp. Sí que hi havia molts homes barallant-se amb molta testosterona perquè cadascun tenia la seua teoria predilecta... Em va espantar prou presenciar aquests debats tan agitats quan era una jove estudiant. Però ara, a poc a poc, hi ha una nova generació de dones, investigadores molt joves, que estan obrint-se camí en les àrees d'evolució antiga o microbiologia mediambiental. Això és molt bo, pense. I no dic que

«Hi ha una nova generació de dones que estan obrint-se camí en les àrees d'evolució antiga o microbiologia mediambiental»

les dones tinguen por de barallar-se si cal... Però sí que sembla que aporten una forma diferent de parlar les coses.

La seua trajectòria en l'Institut Pasteur ha estat brillant. Va arribar allà el 2003 per a fer un post-doctorat i ara és cap de la seua pròpia unitat. Com ha estat aquest viatge?

Com de difícil, dius? [rient] Molt difícil! Vaig haver de convèncer l'Institut Pasteur que pagava la pena treballar en els arqueus, encara que no foren patògens, perquè ens estàvem perdent tota una branca de diversitat microbiana, que fins i tot trobem al nostre intestí. A poc a poc, vaig aconseguir convèncer els meus col·legues que els arqueus són realment importants, i ara ells comencen a pensar en termes evolutius. Perquè molta gent que treballa amb bacteris, sobretot en temes relacionats amb la salut, no s'interessa massa per l'evolució. Però crec que ara comencen a entendre que donar un caire evolutiu a la teua recerca et pot proporcionar molta informació. Per exemple, sobre l'evolució dels patògens o de mecanismes específics que podrien ser objectius interessants per a tractaments. Així que ara col·laborem molt: ells aporten el seu coneixement en bacteris i nosaltres l'apliquem als arqueus.

I s'enduen moltes sorpreses quan treballem junts perquè els arqueus són tan diferents... Aquesta idea que només són bacteris curiosos perd força cada dia. Són una cosa completament diferent.

En unes poques hores estarà parlant davant un bon nombre d'estudiants. Li agrada parlar amb les futures generacions de biòlegs?

Sí, per descomptat. I els diré que és important fixar-se en la perspectiva general. Fer-ho t'aporta una altra idea del que fas en biologia. I també els diré que, si volen dedicar-se a la microbiologia, ara és el moment.

Els propers anys seran l'edat daurada de la microbiologia. No només en l'estudi dels arqueus, sinó dels eucariotes unicel·lulars, de bacteris desconeguts... Els animaré a prendre aquest camí i, sobretot, a treballar en un nou organisme model, perquè si tothom continua treballant amb *E. coli*, mai no descobrirem res més [rient]. *Escherichia coli* és molt interessant, però no tenim ni idea de la gran majoria de la vida microbiana, ni eines genètiques per a estudiar-la, ni res. El nostre coneixement de la diversitat microbiana és encara molt parcial. ☺

SUSANNA LIGERO. Periodista i traductora (revista MÈTODE).