



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

CARACTERIZACIÓN DE LAS REGIONES REGULATORIAS 5' Y 3'  
DE LAS ENZIMAS SUPERÓXIDO DISMUTASAS MANGANESO Y  
COBRE-ZINC EN LEVADURAS.

T E S I S

Que para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación en Biotecnología)

P r e s e n t a

**Brianna Marielle Hamburgo Fragoso**

La Paz, Baja California Sur, julio de 2022.

## ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13 horas del día 6 del Mes de junio del 2022, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**"Caracterización de las regiones regulatorias 5' y 3' de las enzimas superóxido dismutasas manganeso y cobre-zinc en levaduras"**

Presentada por el alumno:

**Brianna Marielle Hamburgo Fragoso**

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biotecnología**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Norma Y. Hernández Saavedra  
Co-Directora de Tesis



Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
Co-Directora de Tesis



Dr. Salvador Hernández Martínez  
Co-Tutor de Tesis



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,  
Directora de Estudios de Posgrado y  
Formación de Recursos Humanos.

La Paz, Baja California Sur, a 21 de junio de 2022.

Los miembros del comité de tesis del (1a) estudiante Brianna Marielle Hamburgo Fragoso del Programa de Maestría en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio:  
iThenticate
- Filtros utilizados:  
Excluir citas y bibliografía
- Porcentajes de similitud:  
7% índice de similitud  
Se muestra captura de pantalla

Caracterización de las regiones regulatorias 5' y 3' de las enzimas superóxido dismutasas manganeso y cobre-zinc en levaduras

INFORME DE ORIGINALIDAD

**7%**

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>Julie Besco. BMC Genomics, 2004</b> <small>Crossref</small>	92 palabras — < 1%
<b>2</b>	<b>P Ripa. "Least squares data fitting", Ciencias Marinas, 2002</b> <small>Crossref</small>	56 palabras — < 1%
<b>3</b>	<b>hdl.handle.net</b> <small>Internet</small>	50 palabras — < 1%
<b>4</b>	<b>Daniel Y. C. Fung, Chao Liang, Nelson A. Cox. "Critical review of isolation, detection, and identification of yeasts from meat products", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1990</b> <small>Crossref</small>	49 palabras — < 1%
<b>5</b>	<b>Francesc Palau Martínez, Carmen Espinós Armero. "Consejo genético en las enfermedades neurológicas", FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria, 2009</b> <small>Crossref</small>	49 palabras — < 1%
<b>6</b>	<b>Patterson, Joseph Robert. "A role for DeltaFosB in the regulation of parkin in brain regions containing differentially susceptible dopaminergic neurons.", Michigan State University, 2016</b>	44 palabras — < 1%


### Firmas del comité



Dra. Norma Y.  
Hernández Saavedra



Dra. Crisalejandra  
Rivera Pérez



Dr. Salvador Hernández  
Martínez

## **Conformación de Comités**

### **Comité Tutorial**

Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-Directora de Tesis

Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
CONACyT-Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-Directora de Tesis

Dr. Salvador Hernández Martínez  
Instituto Nacional de Salud Pública-CISEI  
Co-Tutor de Tesis

### **Comité Revisor de Tesis**

Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra  
Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
Dr. Salvador Hernández Martínez

### **Jurado de Examen**

Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra  
Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
Dr. Salvador Hernández Martínez

### **Suplente**

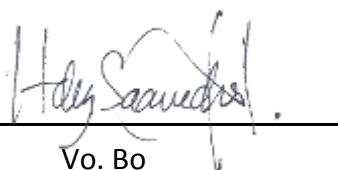
Dr. Felipe de Jesús Ascencio Valle

## Resumen

Las células que viven en ambientes aeróbicos han adoptado estrategias para eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), para evitar y protegerse del daño oxidativo. Una de las enzimas más importantes en el sistema protector contra la oxidación, es la enzima superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1) que cataliza la dismutación del anión superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ) en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y  $O_2$ . En eucariotas, se han descrito al menos tres isoformas de la SOD (SOD1-3). Las SOD1 y SOD3 contienen Cu y Zn en sus centros activos, y difieren entre sí en cuanto a su ubicación: intracelular (en el citosol, SOD1, SODC ó Cu/Zn-SOD) o extracelular (SOD3 o EC-SOD). La SOD2 (Mn-SOD), presenta Mn como cofactor y su ubicación está aparentemente restringida a las mitocondrias. En algunas especies de eucariotas, se ha logrado caracterizar la estructura génica de los genes *sod1* y *sod2*, encontrándose altos porcentajes de homología entre ellos. En los genes presentes en levaduras, las regiones no traducidas (UTR, por sus siglas en inglés) en los extremos 5' y 3' parecen tener un papel importante en la regulación genética, por lo que conocer la estructura de éstas regiones de los genes *sod*, y los elementos involucrados, podría contribuir a la comprensión de los posibles mecanismos involucrados en la regulación de la expresión de las diferentes isoformas de la SOD. Por lo tanto, en este trabajo se generó una base de datos de las secuencias 5' y 3'UTR de los genes *sod1* y *sod2* de distintas levaduras. Posteriormente, se llevó a cabo la caracterización de estas secuencias en levaduras de la misma especie (diferentes cepas) y en levaduras del mismo género (diferentes especies) para finalmente identificar y comparar los genes que codifican la SOD1 y SOD2 de algunas levaduras, así como determinar si presentan homología con secuencias reguladoras de organismos eucariotas superiores, no reportadas previamente en SODs de levaduras. Los resultados de este estudio arrojaron un gran número de secuencias en los extremos 5' y 3' UTR, que reconocen factores de transcripción (TF) asociados al estrés oxidativo (en su mayoría activadores de la transcripción -constitutiva e inducible- de los genes *sod1* y *sod2*), además de otros involucrados en la proliferación, diferenciación, apoptosis, y algunas otras etapas críticas del desarrollo celular, así como en la patogénesis de varias enfermedades. La similitud observada entre algunas especies podría deberse a factores evolutivos y ambientales asociados con el hábitat en el que se desarrollan, por lo que esta información contribuye al conocimiento de la estructura génica básica de las SOD1 y SOD2 en levaduras, particularmente, en el conocimiento de sus elementos 5' UTR.

**Palabras clave:** Levaduras, SOD, UTR, estructura génica, regulación.

ORCID: 0000-0001-7566-1733



Vo. Bo

Dra. Norma Y. Hernández Saavedra  
Co-Directora de Tesis



Vo. Bo

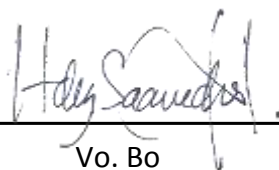
Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
Co-Directora de Tesis

## Summary

Cells living in aerobic environments have adopted strategies to remove reactive oxygen species (ROS) to avoid and protect themselves from oxidative damage. One of the most important enzymes in the protective system against oxidation is superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) which catalyzes the dismutation of the superoxide anion ( $O_2^{\bullet -}$ ) into hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and  $O_2$ . In eukaryotes, at least three isoforms of SOD (SOD1-3) have been described. SOD1 and SOD3 contain Cu and Zn in their active centers and differ from each other in their location: intracellular (in the cytosol, SOD1, SODC or Cu / Zn-SOD) or extracellular (SOD3 or EC-SOD). SOD2 (Mn-SOD), presents Mn as a cofactor and its location is apparently restricted to the mitochondria. In some eukaryotic species, it has been possible to characterize the genetic structure of the *sod1* and *sod2* genes, finding high percentages of homology between them. In genes present in yeast, the untranslated regions (UTR) at the 5' and 3' ends appear to play an important role in gene regulation, therefore that knowing the structure of the regulatory regions of the *sod* genes and the elements involved could contribute to the understanding of the possible mechanisms involved in regulating the expression of the different isoforms of SOD. Therefore, in this work a database of the 5' and 3'UTR sequences of the *sod1* and *sod2* genes of different yeasts was generated. Subsequently, the characterization of these sequences was carried out in yeasts of the same species (different strains) and in yeasts of the same genus (different species) to finally identify and compare the genes that encode SOD1 and SOD2 of some yeasts, as well as to determine if they present homology with regulatory sequences of higher eukaryotic organisms, not previously reported for SOD. The results of this study yielded many sequences that recognize transcription factors (TF) associated with oxidative stress (mostly constitutive and inducible transcription activators of the *sod1* and *sod2* genes), in addition to others involved in proliferation, differentiation, apoptosis and some critical stages of cell development, as well as in the pathogenesis of various diseases. The similarity observed between some species could be due to evolutionary and environmental factors associated with the habitat in which they develop, so this information contributes to the knowledge of the basic gene structure of SOD1 and SOD2 in yeasts, particularly in the knowledge of its 5' and 3' UTR elements.

**Key words:** Yeasts, SOD, UTR, genic structure, regulation.

ORCID: 0000-0001-7566-1733



---

Vo. Bo  
Dra. Norma Y. Hernández Saavedra  
Co-Directora de Tesis



---

Vo. Bo  
Dra. Crisalejandra Rivera Pérez  
Co-Directora de Tesis

**Dedicatoria**

A Gael, mi hijo. Mi principal y más grande motivación para llevar a cabo este trabajo de tesis y por impulsarme a enfrentar todos los obstáculos que la vida me ha puesto en el camino. Eres mi razón de ser y el motivo por el cual despertar cada día con más ganas. Por ti siempre intentaré ser la mejor.

A mis Padres, por el apoyo incondicional que toda mi vida me han brindado y su infinito amor. Los amo.

## **Agradecimientos**

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. por la oportunidad de formar parte de su comunidad, como estudiante de Posgrado en el programa de Maestría en la Institución.

A CONACyT por la beca No. 1008250 otorgada a lo largo de mi periodo como estudiante.

A quienes integran mi Comité Tutorial por todas las atenciones, a pesar de las circunstancias en las que nos encontramos, el conocimiento compartido y el aprendizaje obtenido través de todas sus palabras, consejos y correcciones que en conjunto me encaminaron en el desarrollo de esta tesis. A la Dra. Crisalejandra Rivera Pérez por todos sus conocimientos y sus enseñanzas a lo largo de tanto tiempo, como maestra, tutora y amiga; su paciencia y entusiasmo hacia los estudiantes y su amor por la ciencia que la caracteriza. A la Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra, por su sabiduría, su dedicación hacia sus estudiantes y su empeño en transmitir conocimiento a la comunidad estudiantil y científica. Al Dr. Salvador Hernández Martínez, por su atención en todo momento en el desarrollo de mi tesis, su tiempo e interés y sus valiosas correcciones. A todos ustedes, les agradezco enormemente.

A Daniela e Ivis, mis compañeras y hermanas de Maestría. Quiero agradecerles por su tiempo para escucharme o leerme y brindarme constantemente ánimos, motivación y apoyo emocional a lo largo de este viaje. Por demostrarme el verdadero significado de la amistad y hermandad a través de sus palabras y acciones hacía mí y hacía nosotras tres. Por caminar juntas en este recorrido y sentir las parte de mi equipo. Sin ustedes nada de esto hubiera sido igual, las quiero por siempre.

A mis amigo(a)s más cercano(a)s por siempre estar al pendiente del estatus de mi Maestría. A mis colegas Ingenieros Bioquímicos y futuros Maestros en Ciencias Michelle Delgado y Kevyn Guerra, por apoyarme emocional y académicamente en el desarrollo de mi tesis. Gracias por ser de mis mejores personas y amigos desde hace más de 8 años. Los quiero mucho.



A mi familia. Mis papás por su amor, cariño y afecto hacia mí. Por siempre apoyarme en mis decisiones, por impulsarme a ser mejor, a crecer constantemente y superarme a mí misma académica y personalmente. Por enseñarme a insistir, persistir, resistir y nunca desistir. A mis hermanos por sus ánimos y su apoyo.

A Emmanuel, mi novio, por siempre creer en mí y en todo lo que hago. Por apoyarme en cada momento y repetirme que soy la mejor en todo y que todo lo puedo lograr. Gracias por contribuir en ser quien soy hoy día y darle sentido a mis días.

<b>Contenido</b>	
<b>Resumen</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Agradecimientos</b> .....	iv
<b>Contenido</b> .....	vi
<b>Lista de figuras</b> .....	ix
<b>Lista de tablas</b> .....	xi
<b>Abreviaturas</b> .....	xii
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Levaduras .....	1
1.1.1 Ascomycota y Basidiomycota.....	1
1.1.1.1 Filo Ascomycota .....	2
1.1.1.2 Filo Basidiomycota .....	2
1.2 Distribución de las levaduras .....	2
1.3 Especies reactivas de oxígeno y las SOD .....	3
1.4 Superóxido dismutasa (SOD).....	4
1.4.1 Cu/Zn-SOD citosólica .....	6
1.4.2 Mn-SOD .....	7
1.5 Regulación de la expresión génica.....	8
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	11
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	16
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	18
5.1 Objetivo general .....	18
5.2 Objetivos particulares .....	18
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	19
6.1 Obtención de genomas .....	19
6.2 Identificación de sod1 y sod2 en genomas de levaduras y generación de base de datos ..	19
6.3 Análisis bioinformático de la región 5' y 3' UTR de los genes sod1 y sod2 .....	20
6.4 Caracterización y análisis comparativo de las regiones 5' y 3' UTR de los genes sod1 y sod2 .....	20
6.5 Análisis comparativo de la región 5'UTR de los genes sod1 y sod2 de levaduras con respecto a organismos eucariotas superiores. ....	20
<b>7. RESULTADOS</b> .....	22
7.1 Generación de una base de datos de las secuencias 5' y 3' UTR de los genes sod1 y sod2 de levaduras. ....	22
7.2 Caracterización de secuencias 5' y 3' UTR de genes sod1 y sod2 en levaduras de la misma especie (diferente cepa).....	25
7.2.1 Generalidades .....	25
7.2.2 SOD1-Filo-Especie-Cepa .....	26
7.2.2.1 Ascomicetes .....	26
7.2.2.2 Basidiomicetes .....	31
7.2.3 SOD2-Filo-Género-Especie-Cepa.....	32
7.2.3.1 Ascomicetes .....	33
7.2.3.2 Basidiomicetes .....	35

7.3 Caracterización de secuencias 5' y 3' UTR de genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> en levaduras de diferentes especies (mismo género). .....	37
7.3.1 Generalidades .....	37
7.3.2 SOD1-Filo-Género-Especie .....	37
7.3.2.1 Ascomicetes .....	37
7.3.2.2 Basidiomicetes .....	43
7.3.3 SOD2-Filo-Género-Especie .....	44
7.4 Caracterización de secuencias 5'UTR de genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> en levaduras de diferentes filos (diferentes géneros). .....	53
7.5 Secuencias reguladoras homólogas a las de organismos eucariotas superiores no reportadas previamente para SODs de levaduras. ....	63
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	68
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	82
<b>10. LITERATURA CITADA</b> .....	85
<b>11. ANEXOS</b> .....	92
<b>Anexo A.</b> -Tabla A1. Levaduras del filo Ascomicetes consideradas para la generación de base de datos <sup>1</sup> . .....	92
<b>Anexo B.</b> -Tabla A2. Levaduras del filo Basidiomicetes consideradas para generación de base de datos <sup>2</sup> . .....	94
<b>Anexo C.</b> -Tabla A3. Levaduras del filo Ascomicetes contenidas en base de datos. ....	96
<b>Anexo D.</b> -Tabla A4. Número de especies al filo Ascomicetes sin resultados de similitud al gen <i>sod1</i> y/o <i>sod2</i> . <sup>3</sup> .....	103
<b>Anexo E.</b> -Tabla A5. Levaduras del filo Basidiomicetes contenidas en base de datos. ....	104
<b>Anexo F.</b> -Tabla A6. Número de especies del filo Basidiomicetes sin resultados de similitud al gen <i>sod1</i> y/o <i>sod2</i> . ....	105
<b>Anexo G.</b> -Tabla A7. Levaduras Ascomicetes empleadas para caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> . ....	106
<b>Anexo H.</b> -Tabla A8. Levaduras pertenecientes al filo Ascomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> . ....	108
<b>Anexo I.</b> -Tabla A9. Levaduras Basidiomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> . ....	109
<b>Anexo J.</b> -Tabla A10. Levaduras pertenecientes al filo Basidiomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo del gen <i>sod2</i> . ....	109
<b>Anexo K.</b> -Tabla A11. Factores de transcripción encontrados en genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> de Ascomicetes y Basidiomicetes analizados, de acuerdo con la matriz de predicción "Fungi" de la base de datos Match 1.0. ....	110
<b>Anexo L.</b> -Tabla A12. 5'UTR con base en el filo y a la actividad de la enzima SOD. ....	110
<b>Anexo M.</b> -Tabla A13. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen.....	111
<b>Anexo N.</b> -Tabla A14. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen.....	112
<b>Anexo O.</b> -Tabla A15. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen.....	113
<b>Anexo P.</b> -Tabla A16. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen.....	114

<b>Anexo Q.</b> -Tabla A17. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen.....	115
<b>Anexo R.</b> -Tabla A18. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen.....	116
<b>Anexo S.</b> -Tabla A19. Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen.....	118

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Estructura génica de la <i>sod1</i> de tres especies de levaduras.....	13
<b>Figura 2.</b> Estructura génica de la <i>sod2</i> de la levadura <i>S. cerevisiae</i> .....	14
<b>Figura 3.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> en diferentes cepas de <i>D. hansenii</i> .....	27
<b>Figura 4.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>D. hansenii</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	27
<b>Figura 5.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> en diferentes cepas de <i>K. marxianus</i> .....	28
<b>Figura 6.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>K. marxianus</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	29
<b>Figura 7.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> en diferentes cepas de <i>B. bruxellensis</i> .....	30
<b>Figura 8.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>B. bruxellensis</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	30
<b>Figura 9.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> en diferentes cepas de <i>Cr. gattii</i> .....	31
<b>Figura 10.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>Cr. gattii</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	32
<b>Figura 11.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> en diferentes cepas de <i>D. hansenii</i> .....	33
<b>Figura 12.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>D. hansenii</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	34
<b>Figura 13.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> en diferentes cepas de <i>S. cerevisiae</i> .....	34
<b>Figura 14.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>S. cerevisiae</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	35
<b>Figura 15.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> en diferentes cepas de <i>Cr. gattii</i> .....	36
<b>Figura 16.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de <i>Cr. gattii</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	36
<b>Figura 17.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en la 5'UTR del gen <i>sod1</i> de especies del género <i>Debaryomyces</i> .....	38
<b>Figura 18.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Debaryomyces</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	39
<b>Figura 19.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> de especies del género <i>Kluyveromyces</i> .....	40
<b>Figura 20.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Kluyveromyces</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	41
<b>Figura 21.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> en especies del género <i>Brettanomyces</i> .....	42
<b>Figura 22.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Brettanomyces</i> y la presencia de TF en región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	42
<b>Figura 23.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod1</i> de especies del género <i>Cryptococcus</i> .....	43

<b>Figura 24.</b> Diagrama de cuerdas la relación entre especies de <i>Cryptococcus</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	44
<b>Figura 25.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> de especies del género <i>Debaryomyces</i> .....	45
<b>Figura 26.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Debaryomyces</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	46
<b>Figura 27.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> de especies del género <i>Kluyveromyces</i> . ....	47
<b>Figura 28.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Kluyveromyces</i> y presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	48
<b>Figura 29.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> de especies del género <i>Saccharomyces</i> .....	49
<b>Figura 30.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Saccharomyces</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	50
<b>Figura 31.</b> Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen <i>sod2</i> de especies del género <i>Cryptococcus</i> . ....	51
<b>Figura 32.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de <i>Cryptococcus</i> y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	52
<b>Figura 33.</b> Diagrama de cuerdas la relación entre géneros del filo Ascomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	54
<b>Figura 34.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre géneros del filo Ascomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> . ....	55
<b>Figura 35.</b> Diagrama de cuerdas de la relación entre géneros del filo Basidiomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> . ....	56
<b>Figura 36.</b> Relación entre géneros de los filios Ascomycetes y Basidiomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod1</i> .....	58
<b>Figura 37.</b> Relación entre géneros de los filios Ascomycetes y Basidiomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen <i>sod2</i> .....	59
<b>Figura 38.</b> Relación entre los genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> de Ascomycetes y su contenido de TF putativos en la región 5'UTR de ambos genes. ....	61
<b>Figura 39.</b> Relación entre los genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> de Basidiomycetes y su contenido de TF putativos en la región 5'UTR de ambos genes.....	62
<b>Figura 40.</b> Organización y estructura genómica del gen <i>sod1</i> . ....	66
<b>Figura 41.</b> Organización y estructura genómica del gen <i>sod2</i> . ....	67

**Lista de tablas**

<b>Tabla 1.</b> Número de genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> de levaduras del filo Ascomycetes. ....	23
<b>Tabla 2.</b> Número de genes <i>sod1</i> y <i>sod2</i> de levaduras del filo Basidiomycetes. ....	24
<b>Tabla 3.</b> Resumen de TF encontrados en humanos y en las diferentes familias de levaduras.....	65

**Abreviaturas**

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico

**ARN:** Ácido ribonucleico

**CAT:** Catalasa

**Cu:** Cobre

**Fe:** Hierro

**GPx:** Glutación Peroxidasa

**GSH:** Glutación Transferasa

**GST:** Glutación

**Mn:** Manganeseo

**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

**NCBI:** National Center for Biotechnology Information

**Ni:** Níquel

**ORF:** Open Reading Frame

**Prx:** Peroxirredoxinas

**ROS:** Reactive Oxygen Species

**SOD:** Superoxido dismutasa

**TBP:** TATA- binding protein

**TF:** Transcription Factor

**Trx:** Tiorredoxinas

**UAS:** Upstream Activation Sequences

**URS:** Upstream Repression Sequences

**UTR:** Untranslated Region

**Zn:** Zinc



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Levaduras**

Las levaduras pueden definirse como hongos unicelulares no filamentosos cuya forma típica es esférica u oval y su crecimiento asexual resulta predominantemente de la gemación o fisión (Kurtzman et al., 2011). Las levaduras en gemación se dividen de manera irregular, mientras que las levaduras en fisión se dividen de manera uniforme. En la gemación, la célula parental forma un “una yema o brote” en su superficie externa y cuando éste se alarga, el núcleo de la célula parental se divide y un núcleo se desplaza al interior del nuevo brote. El material de la pared celular se coloca entre la célula parental y el brote para finalmente separarse. En la fisión, la célula parental se alarga, el núcleo se divide y se producen dos células hijas. Las levaduras son organismos anaerobios facultativos por lo que pueden utilizar al oxígeno como aceptor final de electrones o a un compuesto orgánico (Tortora *et al.*, 2007). Frecuentemente, se consideran como hongos ascomicetos fermentativos a aquellas levaduras similares a *Saccharomyces cerevisiae*, sin embargo, el hallazgo de que algunos taxones del tipo basidiomiceto han ampliado la percepción de las levaduras en la naturaleza (Kurtzman et al., 2011).

#### **1.1.1 Ascomycota y Basidiomycota**

Las levaduras son un grupo polifilético de hongos ascomicetos y basidiomicetos que se caracterizan por presentar una fase de crecimiento unicelular y fases sexuales que no se encuentran dentro o sobre un cuerpo fructífero. Hasta 1998, se habían descrito aproximadamente 100 géneros que comprendían más de 700 especies (Blackwell y Spatafora, 2004).

Los filos Ascomycota y Basidiomycota representan los dos filos más grandes del reino Fungi y en conjunto comprenden más del 95% de todos los taxones conocidos de hongos (Blackwell y Spatafora, 2004).

### **1.1.1.1 Filo Ascomycota**

El filo Ascomycota corresponde al filo más grande del reino Fungi (Blackwell y Spatafora, 2004). Comprende hongos filamentosos con hifas tabicadas y algunas levaduras. Sus esporas asexuales son conidios producidos en largas cadenas. Se caracterizan por la producción de meiosporas(ascosporas) por la fusión del núcleo de dos células en una estructura semejante a un saco, denominada asca; por lo que los miembros de este filo son comúnmente denominados como hongos en saco (Tortora *et al.*, 2007). Este filo incluye muchos de los hongos comúnmente encontrados, entre los que se incluyen algunas de las especies que han tenido un gran impacto en la civilización humana: en alimentos (*Saccharomyces cerevisiae*, levadura), medicina (*Penicillium chrysogenum*, fuente de penicilina) y como patógenos (*Candida albicans*, el agente de la candidiasis y *Pneumocystis jiroveci*, un agente de neumonía) (Blackwell y Spatafora, 2004).

### **1.1.1.2 Filo Basidiomycota**

El filo Basidiomycota es el segundo más grande del reino Fungi e incluye muchas de las especies comunes de hongos macroscópicos encontrados en los bosques. Los miembros de este filo también poseen hifas tabicadas, además de comprender hongos que producen setas. Este grupo se caracteriza por la formación de basidiosporas, que se forman al exterior de una base o pedestal denominado basidio (Tortora *et al.*, 2007). Muchos basidiomicetos son dimórficos, es decir, presentan un estado de levadura haploide en gemación, que se alterna con un estado de hifas dicarióticas (Boekhout *et al.*, 2011).

## **1.2 Distribución de las levaduras**

Las levaduras se encuentran ampliamente distribuidas en diversos tipos de hábitat. Han sido encontradas en la atmósfera, en las profundidades de los océanos, en acuíferos bajo el mar, en el hielo de glaciares ancestrales, entre otros. En general, los hábitats de las levaduras pueden clasificarse en atmosféricos, acuáticos y terrestres (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979). Muchas levaduras son aisladas del suelo; algunas especies de entre las que se incluyen *Debaryomyces occidentalis*, especies de *Lipomyces*, *Schizoblastosporion starkeyi-henricii* y algunas especies de

*Cryptococcus* se han aislado exclusivamente del suelo. El número de levaduras en cuerpos de agua dulce suele ser más alto que en aguas marinas, y estas disminuyen conforme se incrementa la distancia de la línea de costa (tierra). No obstante, la mayoría de las especies de levaduras provienen de materiales de plantas caídas y otra materia orgánica asociada al hábitat adyacente (Blackwell y Spatafora, 2004).

Un gran número de características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas intrínsecas de las levaduras han sido identificadas. Estos caracteres intrínsecos de los miembros de un hábitat se han visto están relacionados con las condiciones ambientales que predominan en ese hábitat, lo que permite la descripción de su nicho fundamental y, en algunos casos, la fijación de marcadores a través de la selección natural permitiendo a los organismos con mayor capacidad de resiliencia a condiciones ambientales límite, permanecer y funcionar en los ecosistemas (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

### **1.3 Especies reactivas de oxígeno y las SOD**

El estrés oxidativo es una condición fisiológica ocasionada principalmente por presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas como resultado de la contaminación o bien, como subproducto de los procesos metabólicos del oxígeno, como la respiración aeróbica en mitocondria o la oxidación catalizada por oxidorreductasas (Chung, 2017). Entre las principales especies reactivas de oxígeno generadas durante estos procesos, se encuentran el radical superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). El  $O_2^{\bullet}$  es altamente reactivo, pero con un tiempo de vida media muy corto (Tsang *et al.*, 2014). Este ion, no es reactivo con los aminoácidos que componen la estructura de las proteínas, a excepción de aquellos que contienen azufre (aminoácidos azufrados), cisteína y/o metionina, sin embargo, es muy reactivo con algunos complejos de metales de transición y los correspondientes iones acuosos, en particular con el cobre, hierro y manganeso (Abreu y Cabelli, 2010). Por otra parte, el  $H_2O_2$  tiene una reactividad menor y un tiempo de vida media más grande, lo que permite que la molécula pueda penetrar al interior del núcleo de la célula, convirtiéndolo en el radical libre más dañino para el ADN. El desequilibrio entre la producción de ROS y la habilidad de las células para neutralizarlas por medio de sistemas biológicos antioxidantes provoca la acumulación de las

ROS en la célula, generando los diferentes daños al ADN entre los que se incluyen modificaciones de bases, rupturas en cadena sencilla de ADN y enlaces cruzados intra/intercadenas. Las lesiones provocadas en el ADN pueden bloquear el proceso normal de replicación, causando rupturas en la doble cadena del ADN (Tsang *et al.*, 2014; Chung, 2017). Sin embargo, las ROS también reaccionan con muchas otras macromoléculas (lípidos, proteínas, ARN) provocando su oxidación y la alteración o pérdida de sus funciones normales (Scandalios, 2005).

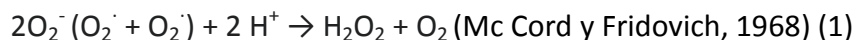
Las ROS juegan un papel importante como segundos mensajeros, al estar involucradas en diversos procesos celulares como la proliferación, diferenciación celular y la apoptosis (Solari *et al.*, 2015, 2018). El daño oxidativo y la inestabilidad genómica consecuente representan uno de los principales factores de la carcinogénesis, así como un factor importante en el proceso de envejecimiento, enfermedades neurológicas y cardiovasculares, así como posibles complicaciones relacionadas a la diabetes (Tsang *et al.*, 2014; Chung, 2017).

Una manera de evitar estos daños potenciales es la presencia de sistemas (enzimáticos y no enzimáticos) que protegen a la célula de procesos oxidativos mediante la prevención, eliminación o inactivación de las ROS al mantener el estado de oxidación de los metales de transición más inactivo (Berg *et al.*, 2008). Entre los sistemas antioxidantes no enzimáticos se incluyen las vitaminas C y E, carotenoides y flavonoides; mientras que los sistemas antioxidantes enzimáticos incluyen superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión S-transferasa (GST) y peroxirredoxinas (Prx). Además, cofactores o péptidos de bajo peso molecular como glutatión (GSH), tioredoxinas (Trx) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) también presentan un papel importante como defensa antioxidante en la célula. Las SOD son reconocidas cada vez más por sus funciones fundamentales en varios procesos metabólicos celulares, así como por la respuesta al daño oxidativo como primera línea de defensa contra las ROS (Ye *et al.*, 2015).

#### **1.4 Superóxido dismutasa (SOD)**

Una de las enzimas más importantes que actúa como protectora durante el proceso de oxidación, es la superóxido dismutasa o SOD (Berg *et al.*, 2008). La SOD (EC. 1.15.1.1) es una

metaloenzima que neutraliza los radicales superóxido al actuar como inhibidor preventivo de la oxidación lipídica ya que cataliza la dismutación del anión superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ) en  $H_2O_2$  y  $O_2$  (Iglesias, 2009), a través de la reacción:



Esta clase de enzimas son altamente conservadas y se han identificado cuatro isoformas, todas presentan diferentes metales como cofactor, estructura proteica y localización celular. Todas las isoformas presentan funciones catalíticas similares, incluyendo la eliminación de radicales superóxido como primera línea de defensa contra la toxicidad provocada por el oxígeno molecular (Chung, 2017). Las familias de SOD se definen por los metales utilizados para conferirles estabilidad y poder de catálisis, así como por la estructura general de las enzimas: hierro (Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn) o níquel (Ni).

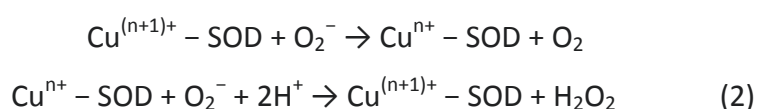
En organismos eucariontes se han descrito al menos tres isoformas de la enzima superóxido dismutasa, conocidas como SOD1, SOD2 y SOD3 (Devlin, 2015). Las isoformas SOD1 y SOD3 poseen átomos de Cu y Zn en sus centros catalíticos, y difieren entre sí en cuanto a su ubicación: intracelular (en el citosol, SOD1 ó Cu/Zn-SOD) o extracelular (SOD3 ó EC-SOD). En la familia de las SOD existen otros dos tipos de enzimas que se han encontrado básicamente en bacterias y arqueas: la Fe-SOD y la Ni-SOD (Fridovich, 2013). Ambas isoformas están más relacionadas a la Mn-SOD (SOD2) que está presente en bacterias, plantas y mitocondrias. Se presentan generalmente como homodímeros, pero se ha encontrado a la Fe-SOD como homotetrámero en *Rhodococcus bronquiales* y *Mycobacterium tuberculosis* (Fridovich, 2013). Ambas isoformas (Fe-SOD y Ni-SOD) han sido relacionadas con el potencial patogénico de algunas bacterias para el ser humano, por lo que su estudio es de gran interés (Fridovich, 2013; Castillo Casaña *et al.*, 2014).

En levaduras las SOD se han encontrado las formas SOD1 (codificada por el gen *sod1*), que se encuentra principalmente en el citoplasma, así como el núcleo y el espacio intermembrana de la

mitocondria de algunas especies de levaduras, y SOD2 (codificada por el gen *sod2*) que se localiza exclusivamente en la matriz mitocondrial (Chung, 2017).

#### 1.4.1 Cu/Zn-SOD citosólica

La SOD1 es un homodímero de 32 kDa; posee un átomo de  $\text{Cu}^{+2}$  (que cumple la función catalítica [ecuación 2]) y uno de Zn (que le confiere estabilidad a la estructura proteica) por cada subunidad de 153 aminoácidos. La SOD1 se localiza en el citoplasma, núcleo, membrana mitocondrial externa y peroxisomas (Castillo Casaña et al., 2014; Milani et al., 2011);).



La función catalítica de SOD1, como captador del radical superóxido, fue descubierta por McCord y Fridovich en 1969; aunque inicialmente se creía que era una proteína cuya única función era almacenar cobre (McCord y Fridovich, 1969; Milani et al., 2011). Esta enzima de la familia de las SODs es considerada como la más moderna de los diferentes linajes de las SOD. La SOD1 no se encuentra en el genoma de arqueas ni protistas, lo que sugiere que esta isoforma se desarrolló en algún punto de la evolución mucho más tardío que la Fe-SOD o la Mn-SOD. Algunos estudios sugieren que la SOD1 probablemente evolucionó durante o después del GOE (Great Oxidation Event, por sus siglas en inglés), ya que la biodisponibilidad del Cu y Zn se incrementó significativamente con mejores niveles de oxígeno atmosférico y oceánico (Case, 2017). La SOD1 comparte un porcentaje mínimo de homología (en cuanto a la estructura) con la familia de la Fe-SOD y la Mn-SOD, sugiriendo que estas enzimas se derivaron de forma independiente y experimentaron una evolución convergente para realizar mecanismos idénticos para la eliminación del radical superóxido de los sistemas biológicos (Case, 2017).

En estudios realizados en *S. cerevisiae* se ha demostrado que una vía para la inserción del Cu en la proteína Cu/Zn-SOD, ocurre a través de una chaperona de cobre (Copper Chaperone for Superoxide dismutase, por sus siglas en inglés) para las SOD (Culotta et al., 1997). Esta chaperona contiene tres dominios proteicos distintos conocidos como Dominio I, II y III, siendo el III el que más se asemeja a la unidad monomérica de la Cu/Zn-SOD. Algunos estudios han

revelado que el dominio I tiene la función de adquirir el Cu del medio y transferirlo al dominio III, que inserta el Cu en el sitio activo de la SOD1 (Abreu y Cabelli, 2010).

En los humanos, el gen que codifica la SOD1 (Cu/Zn-SOD) se encuentra ubicado en el *locus* 21q22.1, en una región que presenta un tamaño genómico de 9307 pb, que consiste en 4 intrones y 5 exones (con cajas TATA, CCAAT y regiones ricas en GC). El gen *hsod1* se considera como un gen constitutivo dado su alto nivel de expresión. Se han identificados varios polimorfismos, principalmente distribuidos en las regiones reguladoras, incluyendo el promotor 5'UTR y los intrones (Castillo Casaña *et al.*, 2014).

#### **1.4.2 Mn-SOD**

La SOD2, descubierta por Fridovich (Keele *et al.*, 1970) posee un átomo de Mn como cofactor y, en eucariotas, su ubicación se restringe a la matriz mitocondrial, mientras que en bacterias se localiza en el citosol. La enzima se presenta generalmente como un homotetrámero, con un peso molecular de 22 kDa por subunidad, y el catión  $Mn^{3+}$  se encuentra una vez por monómero (Chung, 2017). Las formas diméricas de la Mn-SOD se encuentran típicamente en bacterias. La SOD2 se encuentra bien conservadas a lo largo de la evolución en todos los reinos (Abreu y Cabelli, 2010). Comparten cerca del 50% de homología de secuencia (con sitios activos virtualmente idénticos) y estructura (específicamente el plegamiento de la proteína) con la proteína Fe-SOD, lo que sugiere una estrecha relación entre ambas enzimas y su posible evolución a partir de un ancestro en común cercano. No obstante, ambas isoformas poseen diferencias significativas en sus potenciales de óxido-reducción. Esta relación de homología entre ambas isoformas se ha visto reforzada ya que se ha observado que la Mn-SOD es capaz de incorporar Fe en lugar de Mn en su sitio activo, dependiendo de la disponibilidad del metal. Tanto la Mn-SOD como la Fe-SOD parecen haberse originado tempranamente en formas de vida primitivas, y los metales utilizados en ambas enzimas era altamente biodisponible, además de que los centros catalíticos resultaron muy eficientes para la dismutación de  $O_2^{\bullet}$ . Con el tiempo, esta particularidad pudo haber proporcionado ventajas significativas a los organismos en nichos con metales pesados y concentraciones de oxígeno variables, lo que podría explicar la persistencia de ambas isoformas actualmente en varias especies (Case, 2017).

En los humanos, el gen *hsod2* está ubicado el *locus* 6q25.3, en una región compuesta por 5 exones y 4 intrones. A diferencia del gen *hsod1*, carece de las cajas TATA o CAAT, pero posee regiones ricas en GC, así como otras secuencias reguladoras (Castillo Casaña *et al.*, 2014).

### 1.5 Regulación de la expresión génica en levaduras

La regulación de la expresión génica puede ocurrir a diferentes niveles en la célula. En levaduras, la regulación de la expresión génica se presenta a tres niveles: transcripcional, traduccional y postraduccional (Struhl, 1995). Los estudios en levaduras se han centrado en enfoques genéticos que no se encuentran disponibles en otros organismos eucariotas, siendo *S. cerevisiae* el organismo modelo para el análisis de mecanismos reguladores de la transcripción *in vivo*, en condiciones fisiológicas (Struhl, 1993). Se sabe que aproximadamente el 31% de los marcos abiertos de lectura potenciales u Open Reading Frames (ORFs, por sus siglas en inglés) del ADN de levaduras tienen homólogos entre las secuencias de proteínas de mamíferos (Winge *et al.*, 1998). Si bien existe información disponible sobre los distintos elementos del sistema regulador, como las secuencias consenso del promotor y factores de transcripción específicos, aún hay mucho que aprender sobre los mecanismos complejos que conllevan a la regulación en la célula y cómo éstos operan; ya que en organismos eucariotas la regulación de las rutas metabólicas o de desarrollo, requieren de la coordinación de todo un grupo de genes que se encuentran por todo el genoma. Además, existe incertidumbre de cómo ciertos factores de transcripción cumplen múltiples funciones en diferentes procesos reguladores que dependen del entorno celular y de su interacción con otras proteínas reguladoras (Lang-Hinrichs, 1995). No obstante, el análisis genético en levaduras ha generado información complementaria a la obtenida de estudios bioquímicos sobre la transcripción *in vitro*, proporcionando información única sobre los mecanismos de regulación transcripcional en organismos eucariotas (Winge *et al.*, 1998).

Las secuencias reguladoras de ADN de un gen situadas “río arriba” o *upstream* de un gen, son denominadas promotores. En las levaduras, los promotores se componen de tres elementos esenciales necesarios para la regulación del inicio de la transcripción del ARNm que será sintetizado y para la precisión del sitio de inicio. Estos elementos son: 1) la caja TATA, 2) la



secuencia de inicio (Inr) y 3) las secuencias de activación *upstream* (*upstream activation sequences* o UAS, por sus siglas en inglés). La caja TATA se encuentra en una región rica en AT a una distancia de 40-120 pb río arriba del sitio de inicio, cuyos elementos son reconocidos por proteínas que son necesarias para iniciar el proceso de la transcripción, denominadas factores de transcripción o TF (por sus siglas en inglés) (Struhl, 1995). La TBP (TATA-binding protein, por sus siglas en inglés) que es un componente básico (factor de transcripción o TF) de la maquinaria requerida para la transcripción por parte de la polimerasa. En caso de promotores deficientes de elementos TATA, se presume que la TBP se une de manera no específica a una secuencia estabilizada por interacciones proteína-proteína con otros TF. La secuencia Inr determina el punto de inicio de la transcripción del ARNm, pero a diferencia de los elementos *upstream* y la caja TATA, no se trata de una secuencia consenso definida (Struhl, 1995).

Las secuencias de activación *upstream*, se encuentran a distancias variables del sitio de inicio (*cis* y/o *trans*) y son reconocidas por proteínas de unión a ADN que determinan las propiedades de regulación específicas para cada promotor. Algunos promotores en levaduras contienen elementos reguladores negativos, denominados operadores, que reprimen la transcripción. Estos elementos se asemejan a los elementos *upstream* al ser sitios de unión a proteínas que funcionan bidireccionalmente a distancias variables “río arriba” de los elementos TATA.

La regulación a nivel transcripcional comienza con el reconocimiento de secuencias específicas de elementos de ADN únicos por los TF. Estos factores pueden ser: activadores transcripcionales que se unen a UASs para inducir la transcripción, o represores, que se unen a secuencias de represión *upstream* (Upstream Repression Sequences o URS, por sus siglas en inglés) para reprimir la transcripción (Hahn y Young, 2011). El modelo de distribución de los genes en todo el genoma resulta de gran importancia dado que cada gen debe expresarse en circunstancias y a niveles muy específicos. La unión de TF en sitios como el promotor, permite una expresión génica adecuada (Tuller *et al.*, 2009). Actualmente, se conoce que la regulación a nivel transcripcional esta mediada por TF, la RNA polimerasa, la estructura de la cromatina y elementos reguladores en *cis* (Lin y Li, 2012).

Las regiones no traducidas (Untranslated Regions o UTR, por sus siglas en inglés) en los extremos 5' (5'UTR) y 3' (3'UTR) de los genes, han sido reconocidas por su importante papel en la regulación genética (Wilkie *et al.*, 2003; Tuller *et al.*, 2009). Estos UTRs desempeñan un papel clave en la regulación de la expresión génica a nivel postranscripcional, incluyendo la modulación del transporte de ARNm fuera del núcleo, la eficiencia en la traducción, la localización subcelular y la estabilidad (Mignone *et al.*, 2002). La región 5'UTR se ha relacionado principalmente en el control de la traducción, afectando todas las etapas postranscripcionales como la estabilidad del ARNm, el plegamiento y las interacciones con la maquinaria ribosómica. Por otra parte, los 3'UTR tienen papeles importantes en la estabilidad y localización del ARNm (Tuller *et al.*, 2009). La importancia de las regiones UTR dentro de la regulación de la expresión génica se ha vuelto cada vez más evidente, debido a que se ha encontrado que las mutaciones que alteran estas regiones pueden conducir a patologías graves (Mignone *et al.*, 2002). Mediante el estudio de la distribución de genes en el genoma de *S. cerevisiae* se ha demostrado que existe una relación significativa entre la organización genómica de las regiones UTR (promotores, regiones 5' y 3' UTR y terminadores) y las características de las proteínas correspondientes (niveles de expresión, funcionalidad, tasa evolutiva, entre otras), además de que una distancia mínima entre genes garantiza una transcripción exitosa (Tuller *et al.*, 2009).

En los organismos eucariotas los mecanismos reguladores de la transcripción son similares. Los componentes de la ARN polimerasa II están ampliamente conservados y, en algunos casos, son intercambiables funcionalmente. Los factores de transcripción con estructuras similares y sitios de unión a ADN específicos, así como los promotores complejos con múltiples sitios de unión a proteínas, son típicos y se encuentran en todos los organismos eucariotas (Winge *et al.*, 1998).

Por lo tanto, conocer la estructura de las regiones reguladoras de los genes de *sod* en levaduras y los elementos involucrados, podría contribuir a la comprensión de los posibles mecanismos implicados en la regulación de la expresión de las diferentes isoformas de las SOD.

## 2. ANTECEDENTES

La estructura y organización genómica de los genes SOD (*sod1*, *sod2* y *sod3*), su evolución y su regulación a nivel transcripcional bajo diferentes estímulos (intra y extracelulares) han sido tema de estudio de diversos autores desde hace algunos años (Zelko et al., 2002; Miao y St. Clair, 2009; Milani et al., 2011; de Nijs et al., 2020). Acerca de la organización genómica del gen *sod1* se sabe que presenta una sorprendente similitud entre sí con especies de rata, ratón, oveja y humano; encontrándose elementos como las cajas TATA y CCAAT, así como varias regiones ricas en GC altamente conservadas en las tres especies. Se ha identificado un alto nivel de homología en la secuencia 5'UTR sugiriendo que fuertes factores evolutivos han promovido la conservación de regiones reguladoras clave para este gen. Respecto a la región promotora, en el gen *sod1* de humano, se han encontrado varios sitios de unión para los TF: NF1, Sp1, AP1, AP2, GRE, HSF y NF- $\kappa$ B. Además, la expresión del gen *sod1* se eleva en respuesta a una variedad de estímulos como el choque térmico, el esfuerzo cortante, metales pesados, la irradiación UVB y X, el peróxido de hidrógeno, ozono, óxido nítrico, ácido araquidónico y xenoquímicos; mientras que las condiciones de hipoxia funcionan como represor de la expresión. En el caso de la estructura genómica del gen *sod2* esta ha sido determinada completamente para humano, rata y ratón y, parcialmente en ovejas, encontrándose una alta conservación tanto en la de secuencia como la estructura entre ellas. La región promotora carece de elementos *upstream* como la caja TATA o CCAAT, no obstante, en todas las especies mencionadas se han identificado regiones ricas en GC. Los genes *sod2* de humano y ratón contienen sitios de unión para el factor NF- $\kappa$ B; en el caso de humano se encuentra en la región 3'UTR, mientras que en ratón existen dos regiones potenciales de unión para este mismo factor en la región 5'UTR. Las cuatro especies mencionadas anteriormente, cuentan con múltiples sitios de unión a Sp1 y AP2 en la región promotora. Además, menciona que una gran variedad de compuestos induce la transcripción del gen *sod2*, como citoquinas, TNF- $\alpha$ , lipopolisacáridos y IFN- $\gamma$ . Mientras que su expresión se ve disminuida ante las metilaciones de secuencias específicas en la región intrónica, así como niveles elevados del factor AP-2 que actúa en la región 5'UTR del gen *sod2* (Zelko et al., 2002). Adicionalmente, otro elemento regulador comúnmente encontrado en la región proximal al promotor de estos genes es el TF C/EBP, que presenta un papel importante en la regulación de la expresión constitutiva o inducible de los tres genes SOD (Miao y St. Clair,

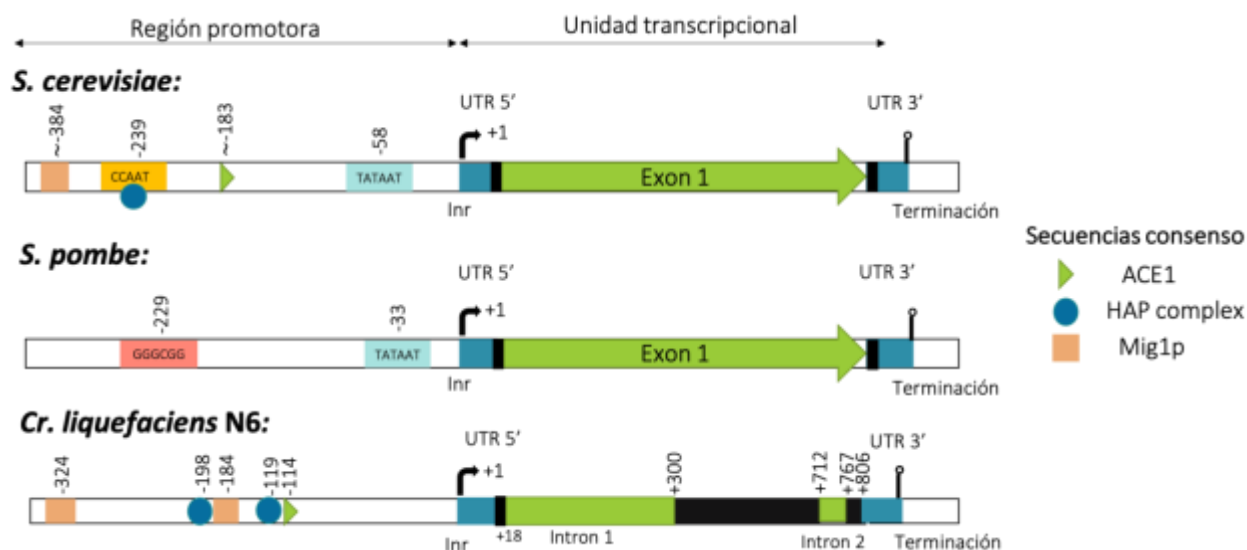
2009). Los TF AP-1 y C/EBP son factores con funcionalidad dual, al relacionarse con las ROS y el estrés oxidativo, así como con la regulación del metabolismo secundario de hongos filamentosos (Linz *et al.*, 2013). Aunque se han identificado muchos elementos *cis*, así como los TF que intervienen en la regulación de la expresión de los genes *sod*, la interacción de estos y su modulación aún están por determinarse completamente, principalmente en relación con los estados patológicos (Milani *et al.*, 2011). De acuerdo con estudios realizados sobre los elementos reguladores específicamente en la región 5'UTR en genes de *S. cerevisiae*, se ha demostrado que estas regiones tienen una influencia significativa en la síntesis de proteínas al regular su expresión a nivel post-transcripcional. Además, la información con la que se cuenta hasta el momento ha permitido la construcción de varios modelos predictivos que explican aproximadamente el 70% de la variación en la expresión de genes de levaduras, causada por la modificación de elementos reguladores de la traducción. Aunque queda por identificar elementos reguladores en la región 5'UTR, los modelos actualmente disponibles muestran el potencial de las regiones no traducidas como un nuevo elemento regulador (De Nijs *et al.*, 2020).

Por otra parte, la comparación entre las secuencias de aminoácidos de la proteína SOD1 mediante alineamientos múltiples con diferentes especies eucariotas, específicamente hongos filamentosos y levaduras (incluyendo humano, bovino y ratón), han demostrado altos porcentajes de identidad, así como secuencias y residuos de aminoácidos involucrados en el mantenimiento de la geometría del sitio activo de la proteína, puentes disulfuro, sitios de incorporación de metales, formación de dímeros (Kanamasa *et al.*, 2007).

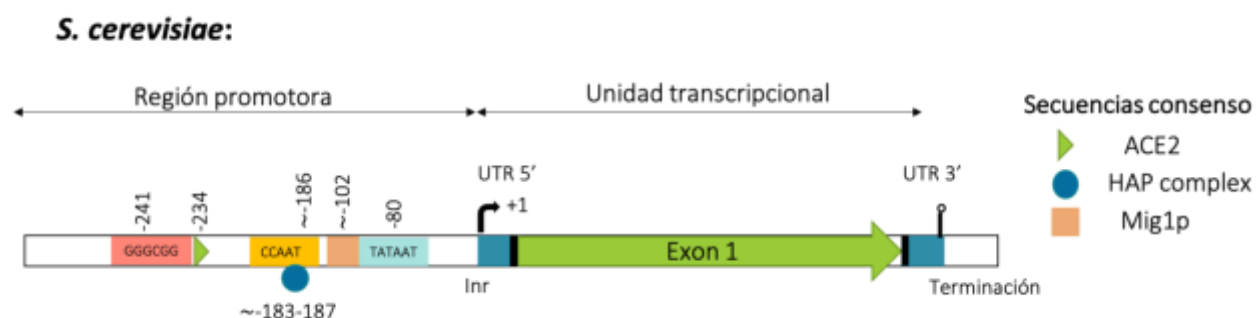
Actualmente, la estructura de los genes *sod1* y *sod2* no se encuentra caracterizada para todas las especies de hongos y levaduras, sin embargo, a partir de información incluida en los bancos de datos como Eukaryotic Promoter Database y la publicada por distintos autores, se han podido identificar los elementos genéticos de algunas especies. Desde el año 2019, la base de datos Yeastract+ (<http://www.yeastract.com/>) cuenta con 289,706 asociaciones reguladoras entre TF y genes diana documentadas, así como 420 sitios de unión al ADN a los que se unen 247 TF de 10 especies de levaduras (Monteiro *et al.*, 2020), convirtiendo a los TF en una de las

clases de proteínas más abundantes y predominantes en el genoma de levaduras (Hahn y Young, 2011).

En las figuras 1 y 2 se presentan las estructuras génicas de los genes *sod1* y *sod2* en algunas especies de levaduras: *S. cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* y *Cryptococcus liquefaciens*, siendo el gen *sod1* de *Cr. liquefaciens* el único anteriormente reportado de este ejemplo (Kanamasa *et al.*, 2007). Algunos elementos de la región promotora, tales como los TF: ACE1, HAP y Mig1p, que han sido identificados anteriormente, coinciden entre algunas de ellas, además de otros elementos como las cajas TATA, CCAAT y/o regiones GC ([https://epd.epfl.ch/cgi-bin/get\\_doc?db=scEpdNew&format=genome&entry=SOD1\\_1](https://epd.epfl.ch/cgi-bin/get_doc?db=scEpdNew&format=genome&entry=SOD1_1) *S. cerevisiae* y *S. pombe*) (Eukaryotic Promoter Database, consultado el 13/07/2021). Los elementos regulatorios de *sod1* que se han identificado en hongos y levaduras, son proteínas reguladoras o factores de transcripción (p.e. Mac1, ACE1, Mig1p y el complejo HAP), así como secuencias relacionadas con el promotor (caja TATA, iniciador y la caja CCAAT) y cuentan con funciones específicas como activadores o represores de otros genes o como sitios de unión de otras proteínas (Olof Nehlin y Ronne, 1990; Carri *et al.*, 1991; Kanamasa *et al.*, 2007; Mao y Chen, 2019).



**Figura 1.** Estructura génica de la *sod1* de tres especies de levaduras. Las regiones 5' y 3' UTR, se señalan en los diagramas. En el caso particular del gen CI-SOD1 (*Cr. liquefaciens*), la región ORF se indica en sus posiciones exactas (Modificado de Kanamasa *et al.*, 2007).



**Figura 2.** Estructura génica de la *sod2* de la levadura *S. cerevisiae*. Elaborado a partir de datos de la Eukaryotic Promoter Database.

Estudios en el genoma de *S. cerevisiae*, sobre la distribución de longitudes de las regiones regulatorias (promotores, regiones 5'UTR y 3'UTR y terminadores), han demostrado una correlación significativa entre la longitud de cada marco de lectura abierto y la de sus regiones regulatorias y no traducidas, asociadas. Además, se observaron correlaciones significativas con otras características relacionadas a la expresión de genes y su evolución (número de TF, abundancia de ARNm y proteínas, tasa de evolución, entre otros). Se encontró que los genes que se encuentran relacionados con el metabolismo del ARN tienden a presentar regiones no traducidas más cortas y, por tanto, suelen encontrarse más cerca de sus genes adyacentes. Estos resultados sugieren que la organización del genoma en *S. cerevisiae* juega un papel clave en la regulación de la expresión génica, así como en las características y funcionalidad de las proteínas sintetizadas (Tuller *et al.*, 2009).

El número de secuencias de nucleótidos de otras especies de hongos y levaduras reportadas a la fecha ha crecido enormemente, con más de 2,500 registros en NCBI para *sod1* y más de 1,600 para *sod2* a diferencia de las pocas disponibles hace 20 años (Hernández-Saavedra, 1997). Debido a que el estudio de la región codificante del gen de las SOD ha sido objeto de estudio desde hace algunos años, a la fecha se cuenta con alrededor de 330 secuencias de RNAm de SOD1 y 876 registradas de SOD2 en el banco de datos de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide> Cu Zn y Mn superoxide dismutase, fungi; consultado el 12/07/2021).

Debido a que las regiones no traducidas en los extremos 5' (5'UTR) y 3' (3'UTR) de los genes de levaduras tienen un papel importante en la regulación genética, conocer su estructura en los genes de SOD y otros elementos involucrados, podría contribuir a la comprensión mecanismos involucrados en la regulación de la expresión de los diferentes tipos de las SOD (Winge *et al.*, 1998).

### 3. JUSTIFICACIÓN

La regulación de la expresión génica es considerada vital para todos los organismos, pues se ha demostrado que, en general, se presentan cambios en la expresión de genes como mecanismo de adaptación y/o mitigación de daños cuando las condiciones ambientales externas cambian. Las regiones 5'UTR y 3'UTR de los genes parecen tener un papel importante en la regulación genética. Aunque existe información disponible sobre los distintos elementos del sistema regulador como secuencias consenso del promotor y TF específicos involucrados en la estructura genética de muchos eucariotas, esta información no se encuentra disponible para genes específicos de muchas especies de levaduras, como en el caso de los genes *sod1* y *sod2*. Debido a que las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas intrínsecas que han sido identificadas en las levaduras se han visto están relacionadas con las condiciones ambientales que predominan en el hábitat en el que se encuentran distribuidas, las características de las regiones reguladoras que presenten los genes de *sod1* y *sod2* podrían estar relacionadas con la ecología de las levaduras.

La investigación realizada en este proyecto contribuye, entre otras cosas, en la profundización del conocimiento básico de la estructura génica de los genes *sod1* y *sod2* en levaduras, particularmente el conocimiento de los elementos UTR 5' y 3', que podría aportar información útil sobre los mecanismos de regulación para otros eucariotas como animales o humanos. Con este conocimiento, se podría replantear el uso y manipulación de la expresión de la enzima para retomarla como nueva fuente (*in situ*) de la enzima, contribuir en el conocimiento ecológico sobre las levaduras y además de la disponibilidad de nueva información genética como material para la ingeniería genética (por ejemplo, el descubrimiento de un nuevo promotor).



#### 4. HIPÓTESIS

Si las regiones 5'UTR y 3'UTR tienen un papel importante en la regulación genética de los genes *sod1* y *sod2* que codifican dos tipos de superóxido dismutasa en levaduras, forman parte de las características intrínsecas de estos organismos y se sabe que el conocimiento de estas características describen la capacidad de un organismo para existir y persistir en un hábitat, entonces, al caracterizar estas regiones en una gran diversidad de levaduras, se identificarán diferencias en la estructura de las regiones reguladoras relacionadas a su ecología, así como se conocerán los elementos genéticos comunes y específicos asociados a la regulación de la expresión de las SOD en este tipo de organismos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Identificar los elementos genéticos involucrados en la regulación de la expresión de los dos tipos de SOD en levaduras.

### 5.2 Objetivos particulares

1. Generar una base de datos de las secuencias 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2* a partir de secuencias de los genes reportadas o de los genomas completos anotados.
2. Caracterizar las secuencias 5' y 3' UTR de *sod1* y *sod2* en levaduras de la misma especie (diferentes cepas).
3. Caracterizar las secuencias 5' y 3' UTR de *sod1* y *sod2* en levaduras de diferentes especies (mismo género).
4. Identificar, comparar y determinar si en los genes *sod1* y *sod2* de algunas levaduras presentan secuencias reguladoras homólogas a las de organismos eucariotas superiores no reportadas previamente para SOD.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Obtención de genomas

Se realizó una búsqueda de genomas completos disponibles en la base de datos de National Center of Biotechnology (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), con la herramienta “Genome”. Para una búsqueda especializada, se utilizó la herramienta “Genome Information by Organism”, especificando la búsqueda para levaduras (grupo Fungi, subgrupos ascomicetes y basidiomicetes) y ensamblados nivel genoma completo y cromosoma. Adicionalmente, se emplearon las especies de levaduras de los filos ascomicetes y basidiomicetes mencionadas por Kurtzman (2011) y Boekhout *et al.* (2011) para la búsqueda de sus respectivos genomas.

### 6.2 Identificación de *sod1* y *sod2* en genomas de levaduras y generación de base de datos

Para la identificación de los genes *sod1* y *sod2* en diferentes especies de levaduras, se realizó un alineamiento local en BLAST empleando las secuencias de nucleótidos obtenidas anteriormente, utilizando la herramienta de Blastn. Las secuencias fueron alineadas y comparadas con los genomas de levaduras previamente identificados en la base de datos NCBI, para las diferentes especies pertenecientes a diferentes géneros y cepas. Para el alineamiento se empleó la secuencia de nucleótidos codificante (CDS) del gen *sod1* de *S. cerevisiae* (No. Acceso J03279.1) y del gen *sod2* de *Saccharomyces pastorianus* (No. de Acceso CP048989.1) para Ascomicetes. Para Basidiomicetes se empleó la secuencia CDS del gen *sod1* de *Filobasidiella neoformans var. neoformans H99* (No. Acceso AF248045.1) y la secuencia CDS del gen *sod2* de *Cryptococcus bacillisporus* (No. Acceso AY423629.1). De los resultados obtenidos del alineamiento, se seleccionaron aquellas secuencias que presentaron 70% de identidad como mínimo, al menos 80% de cobertura y un E-value cercano a 0. Las secuencias que cumplieron con los parámetros establecidos fueron descargadas en formato FASTA. Para obtener las secuencias 5' y 3' UTR de las SOD identificadas por Blastn, se seleccionaron 1000 pb de los extremos 5' y 3' de cada gen codificante.

### 6.3 Análisis bioinformático de la región 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2*

La predicción de sitios de unión a TF en las regiones 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de Ascomycetes y Basidiomycetes incluidos en la base de datos, se obtuvo utilizando el software Match 1.0 public versión (<http://gene-regulation.com/cgi-bin/pub/programs/match/bin/match.cgi>), empleando como matriz (perfil de selección) los grupos: “vertebrados”, “Fungi”, “plantas”, “insectos” y “nemátodos” como base para la predicción.

### 6.4 Caracterización y análisis comparativo de las regiones 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2*

La caracterización y el análisis del contenido de las regiones 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de Ascomycetes y Basidiomycetes se realizó mediante la elaboración de gráficas de barras empleando el programa Microsoft Excel, de acuerdo con los resultados del análisis bioinformático en el que se representaron los TF presentes en cada región reguladora de las diferentes cepas, especies y géneros evaluados. Posteriormente, el análisis comparativo de la región 5' UTR de los genes *sod1* y *sod2*, se llevó a cabo mediante la elaboración de diagramas de cuerdas con el programa RStudio 2022.02.0 usando el paquete “circlize” que permitieron contrastar los TF encontrados en común (o específicos) en cepas de una misma especie, especies de un mismo género, géneros de un mismo filo, géneros de ambos filios (Ascomycetes y Basidiomycetes) y finalmente entre ambos genes. Para el desarrollo de esta tesis, se eligieron los resultados obtenidos únicamente en la región 5' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de las levaduras estudiadas, por lo que solo estos fueron discutidos. El análisis comparativo se llevó a cabo con base en la información anteriormente publicada por diversos autores.

### 6.5 Análisis comparativo de la región 5' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de levaduras con respecto a organismos eucariotas superiores

Para determinar si en los genes *sod1* y *sod2* de algunas levaduras, presentan secuencias reguladoras homólogas a las de organismos superiores no reportadas previamente para SODs, se llevó a cabo un análisis comparativo de la estructura de la región 5' UTR de las levaduras con respecto a la de humano. Las regiones homólogas fueron identificadas y posicionadas de

acuerdo con el análisis bioinformático previamente realizado. Para fines prácticos, las levaduras analizadas fueron agrupadas por familia y el conjunto de TF encontrado en cada familia se representó en el esquema del gen *sod* correspondiente.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Generación de una base de datos de las secuencias 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de levaduras

Para la generación de la base de datos de los genes *sod1* y *sod2*, se consideró la clasificación de levaduras pertenecientes al filo de Ascomycetes mencionados por Kurtzman (2011) y de Basidiomycetes que contienen géneros de levaduras señalados por Boekhout *et al.* (2011) (ver Anexo A). En la Tabla A1 (ver Anexo A) se muestran los 90 géneros correspondientes a 19 familias de levaduras de Ascomycetos, así como la cantidad de especies y cepas correspondientes (por género) empleadas para la búsqueda preliminar de los genes *sod1* y *sod2*. Asimismo, la Tabla A2 (ver Anexo A) muestra 68 géneros que presentan al menos un estadio de levadura conocido, pertenecientes a 18 órdenes del grupo de Basidiomycetes.

La base de datos se generó a partir del alineamiento de las secuencias CDS del gen *sod1* de *S. cerevisiae* y CDS del gen *sod2* de *S. pastorianus* para el filo Ascomycetes, mientras que para Basidiomycetes se consideraron las secuencias CDS de los genes *sod1* y *sod2* de *F. neoformans var. neoformans* y *Cr. bacillisporus*, respectivamente. Estas se alinearon con las secuencias de nucleótidos de las diferentes especies y cepas pertenecientes a los géneros mostrados en las Tablas A1 y A2 (Anexo A). Las especies y cepas que integran la base de datos corresponden a aquellas con un mínimo del 70% de identidad, 80% de cobertura y un E-value cercano a 0. Las secuencias UTR 5' y 3' que conforman la base de datos, comprenden 1000 pb de los extremos 5' y 3' de cada secuencia codificante de las SOD identificadas.

Para el filo Ascomycetes, la base de datos para el gen *sod1* consta de un total de 52 géneros correspondientes a 11 de las familias de levaduras, así como 257 especies y 320 cepas. En cuanto al gen *sod2*, la base de datos se encuentra integrada por 25 géneros correspondientes a 5 familias, 111 especies y 124 cepas (ver Anexo A, Tabla A3). En la Tabla 1 se muestra el contenido general de las bases de datos elaboradas, donde se muestra el número de especies y cepas por género en cada familia para ambos genes. Las diferentes especies de levaduras que conforman la base de datos corresponden a aquellas con un porcentaje de cobertura igual o mayor al 80%, un porcentaje de identidad igual o mayor a 70% y un valor de error cercano a 0.

Las secuencias de nucleótidos de SODs obtenidas para Ascomycetes, presentaron una cobertura de 82-100%, porcentaje de identidad de 69.60-100%, y E-value iguales o muy cercanos a 0. De acuerdo con la Tabla A1, las familias de levaduras Neoelectaceae, Pneumocystidaceae, Schizosacharomycetaceae, Protomycetaceae y Taphrinaceae, no están representadas en la base de datos debido a que los resultados en BLAST se encuentran por debajo de los parámetros establecidos para la selección de especies, por lo que no fueron consideradas en el estudio. Los géneros *Protomycoopsis*, *Taphridium*, *Volkartia*, *Lalaria*, *Schwanniomyces*, *Endomyces*, *Helicogonium*, *Phialoascus*, *Dipodascopsis*, *Cyniclomyces*, *Coccidiascus* y *Schizoblastosporion*, fueron eliminados para la conformación de la base de datos debido a la ausencia en la disponibilidad de genomas en bases de datos públicas. En cuanto a las especies en las que no se encontró similitud (<70%) a los genes *sod1* y/o *sod2*, se encontraron 56 secuencias del gen *sod1* (40) y el gen *sod2* (16); la Tabla A4 muestra el número de especies por género sin considerar el porcentaje de similitud. En 9 familias, no se obtuvieron resultados para ambos genes (ver Anexo A).

**Tabla 1.** Número de genes *sod1* y *sod2* de levaduras del filo Ascomycetes.

Familia	Géneros		Especies		Cepas	
	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>
Ascoideaceae	1	0	1	0	1	0
Cephaloascaceae	1	0	1	0	1	0
Debaryomycetaceae	8	4	25	12	36	17
Metschnikowiaceae	4	2	16	5	22	10
Phaffomycetaceae	2	0	8	0	11	0
Pichiaceae	3	2	16	2	23	2
Saccharomycetaceae	11	10	85	73	96	76
Saccharomycodaceae	2	0	6	0	6	0
Saccharomycopsidaceae	1	7	8	19	8	19
Trichomonoascaceae	3	0	5	0	5	0
Wickerhamomycetaceae	16	0	86	0	111	0

Para el filo Basidiomycetes, la base de datos para el gen *sod1* consta de un género de levaduras correspondiente a la familia Cryptococcaceae, así como 2 especies y 6 cepas pertenecientes a este género. En cuanto al gen *sod2*, la base de datos se encuentra integrada por 6 géneros correspondientes a 5 familias, 17 especies y 22 cepas (Tabla A5, Anexo A.). La Tabla 2 muestra el contenido general de la base de datos obtenida, donde se muestra la cantidad de especies y

cepas por género en cada familia para ambos genes. Las diferentes especies de levaduras que conforman la base de datos corresponden a aquellas en las que se obtuvieron los mejores resultados de ambos alineamientos en BLAST, considerando los parámetros anteriormente mencionados.

Las secuencias de nucleótidos de SODs para Basidiomicetes, presentaron un 79-98% de cobertura, 69.60-80.45% de identidad, y E-value iguales o muy cercanos a 0. El único género que conforma la base de datos para el gen *sod1* para este filo, corresponde al género *Cryptococcus*; en el caso del gen *sod2*, se incluyeron los géneros *Cryptococcus*, *Kwoniella*, *Trichosporon*, *Acaromyces*, *Malassezia* y *Pseudozyma*. Los órdenes de levaduras Agaricostibales, Cystobasidiales, Erythrobasidiales, Naohideales, Leucosporidiales, Mucrobotryales, Sporidiobolales y Mixiales que aparecen al principio de la Tabla A2 (ver Anexo A), no se encuentran dentro del contenido de la base de datos debido a que los resultados en BLAST se encuentran por debajo de los valores de los parámetros considerados para la selección de especies o no se presentó similitud con los genes, por lo que no fueron consideradas. Los géneros de levaduras *Stilbum*, *Spiculogloea*, *Mycogloea*, *Aurantisporium*, *Bauerago*, *Fulvisporium*, *Liroa*, *Sphacelotheca*, *Zundeliomyces*, *Kriegeria*, *Itersonilia*, *Auriculibuller*, *Bulleribasidium*, *Trimorphomyces* y *Cryptotrichisporon*, pertenecientes a este filo, no pudieron ser incluidos en la base de datos debido a ausencia en la disponibilidad de genomas en NCBI. En cuanto a las especies con baja similitud al gen *sod1* y/o *sod2*, se encontraron 147 secuencias, gen *sod1* (98) y el gen *sod2* (49); en la Tabla A6 (Anexo A) muestra el número de especies por género sin similitud. En 13 órdenes, no se identificó similitud en alguno de los dos genes.

**Tabla 2.** Número de genes *sod1* y *sod2* de levaduras del filo Basidiomicetes.

Familia	Géneros		Especies		Cepas	
	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>
Cryptococcaceae	1	2	2	7	6	12
Trichosporonaceae	0	1	0	3	0	3
Cryptobasidiaceae	0	1	0	1	0	1
Malasseziaceae	0	1	0	3	0	3
Ustilaginaceae	0	1	0	3	0	3



## 7.2 Caracterización de secuencias 5' y 3' UTR de genes *sod1* y *sod2* en levaduras de la misma especie (diferente cepa)

### 7.2.1 Generalidades

Como resultado del análisis bioinformático de las secuencias de la base de datos, con el uso del software Match 1.0, se obtuvieron los TF putativos en las regiones 5' y 3'UTR de los genes *sod1* y *sod2* de las levaduras en cuestión, en relación a los grupos empleados como matriz para la predicción. Sin embargo, los resultados mostrados a partir de esta sección corresponden únicamente a los obtenidos en la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* en las diferentes levaduras analizadas.

Las gráficas de barras que se muestran en esta sección, indican los nombres de los TF, cuyos sitios de unión están representados en la matriz empleada para la predicción, así como el número de cepas (especies o géneros, sección 7.3) en el que se identificó cada TF en la región 5'UTR de cada gen. En los diagramas de cuerdas se muestra la relación entre los TF encontrados en la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* y las diferentes cepas de una misma especie (especie de un mismo género y géneros de cada filo, sección 7.3) mediante líneas en forma de arcos que conectan dato con dato. Los datos se presentan radialmente, en la parte superior e inferior de cada diagrama, representados en diferentes colores. Estos diagramas permiten observar todos los TF contenidos en la región 5'UTR de las diferentes levaduras, así como visualizar todas las levaduras en las que cada TF fue encontrado.

La caracterización de las secuencias 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* en levaduras de la misma especie, pero diferente cepa, se llevó a cabo empleando levaduras pertenecientes a los filos Ascomycetes y Basidiomycetes incluidas en la base de datos (Tablas A7-A10, Anexo A). Para el gen *sod1*, las especies (con sus respectivas cepas) del filo Ascomycetes que fueron consideradas para llevar a cabo el análisis de la caracterización correspondiente, fueron *D. hansenii*, *Kluyveromyces marxianus*, *S. cerevisiae*, *Brettanomyces bruxellensis* y *Yarrowia lipolytica*. Las anteriores pertenecen a las familias Debaryomycetaceae, Saccharomycetaceae, Pichiaceae y Wickerhamomycetaceae, respectivamente (Tabla A7, Anexo A). Para el gen *sod2*, se consideraron las especies *D. hansenii* y *S. cerevisiae* (Tabla A8, Anexo A). En cuanto al filo

Basidiomicetes, para el gen *sod1* y *sod2* se consideraron las cepas de las especies *Cryptococcus gattii*, correspondientes a la familia Cryptococcaceae (Tabla A9 y A10, Anexo A).

No obstante, para el desarrollo del objetivo específico 2, se seleccionaron los resultados correspondientes a las cepas de las especies *D. hansenii*, *K. marxianus*, *B. bruxellensis* y *Cr. gattii* respecto al gen *sod1* y las cepas de las especies *D. hansenii*, *S. cerevisiae* y *Cr. gattii* respecto al gen *sod2*.

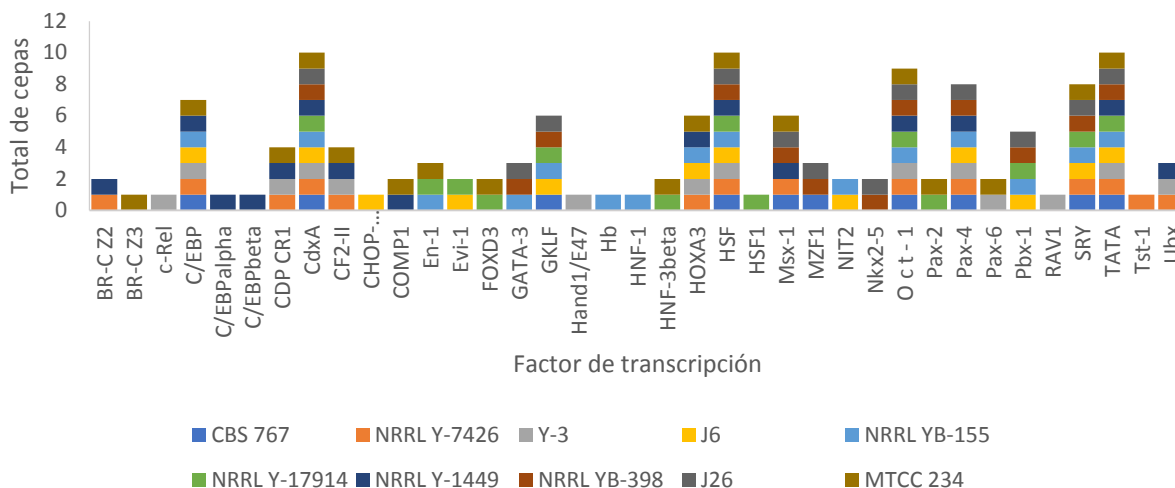
### **7.2.2 SOD1-Filo-Especie-Cepa**

Los resultados de la caracterización del gen *sod1* de las levaduras del filo Ascomycetes en este objetivo, se muestran en las figuras 3, 5 y 7; mientras que, para las especies de Basidiomicetes, los resultados se muestran en la figura 9. El análisis comparativo entre cepas, con respecto al contenido de TF en la región 5'UTR de *sod1*, se muestran en las figuras 4, 6 y 8 para el filo Ascomycetes y en la figura 10 para el filo Basidiomicetes.

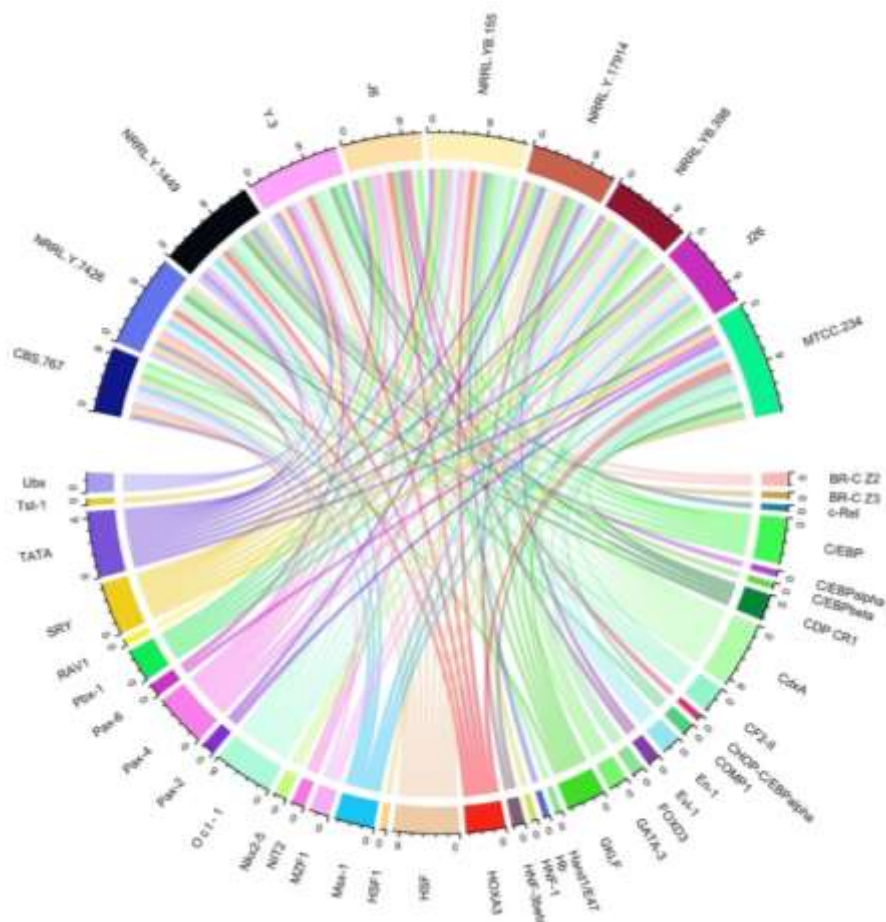
#### **7.2.2.1 Ascomycetes**

En cuanto a las levaduras *D. hansenii*, *K. marxianus*, *B. bruxellensis* del filo Ascomycetes (Figs. 3, 5 y 7), derivado del análisis de la región 5'UTR de las cepas de los tres géneros, se obtuvieron en total 36 TF. De acuerdo con los resultados que se muestran en estas Figuras, los TF C/EBP, CdxA, HSF (pertenecientes a las familias C/EBP, homeo domain y HSF, respectivamente) y la caja TATA son los elementos más comúnmente encontrados.

Respecto a las cepas de *D. hansenii*, NRRL Y-7426/NRRL Y-1449 y NRRL YB-398/J26 presentaron una secuencia muy similar o igual en la región 5'UTR. En la figura 4, se observa que la mayoría de las cepas presenta al menos un factor en común, sin embargo, se encontraron en esta región 11 TF cepa-específicos, por lo que se muestran por líneas unidireccionales en el diagrama de cuerdas. Estas líneas corresponden a los factores: BR-CZ3, c-Rel, C/EBPalpha y C/EBPbeta, CHOP-C/EBPalpha, Hand1/E47, Hb, HNF-1, HSF1, RAV1 y Tst-1 (pertenecientes a las familias de factores BR-C, Rel/anquirina, C/EBP, bHLH, AP2/B3 y POU).

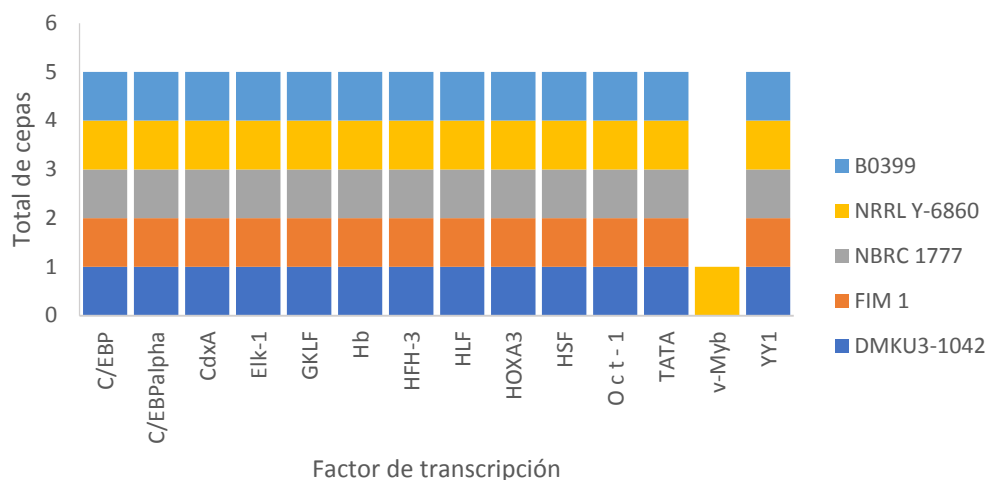


**Figura 3.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* en diferentes cepas de *D. hanseni*. Eje X, TF. Eje Y, cepas en las que se presenta cada TF (ver código de color).

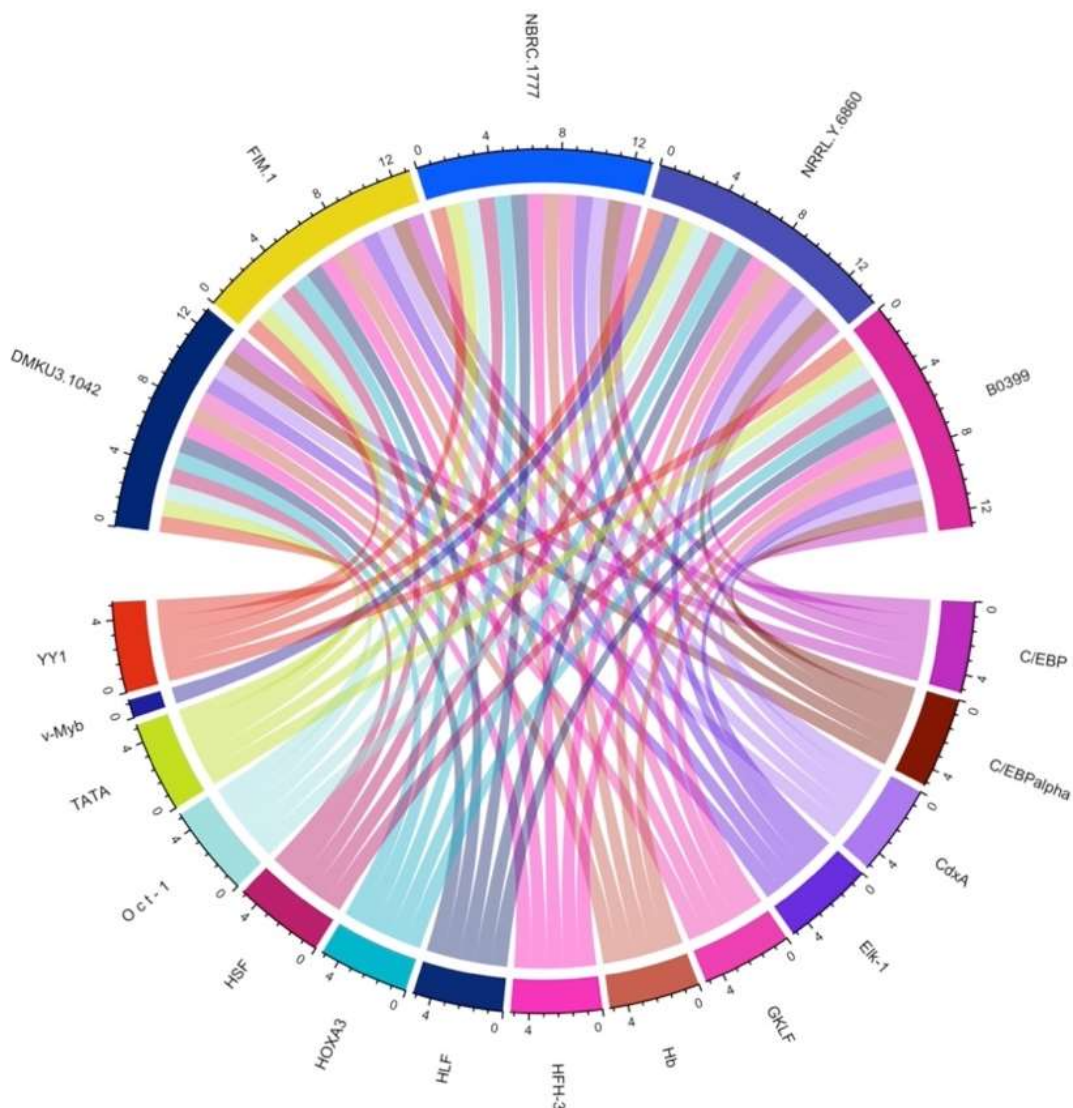


**Figura 4.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *D. hanseni* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se muestran los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta cada cepa con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

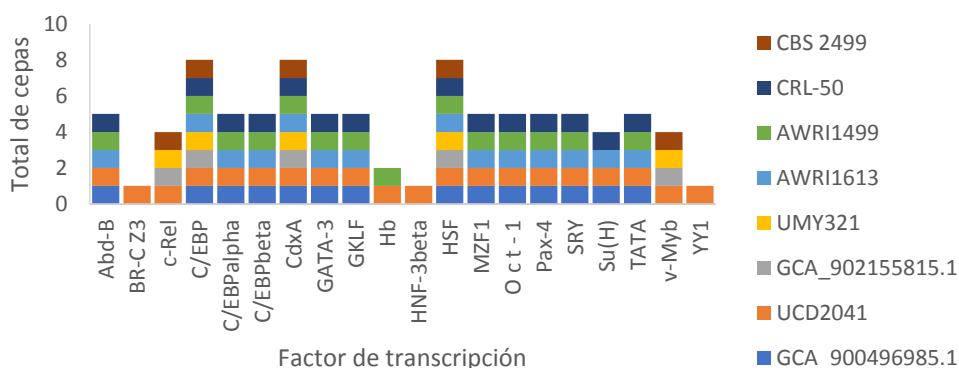
En las figuras 5 y 6, se muestra que todas las cepas de *K. marxianus* analizadas presentaron los mismos TF en la región 5'UTR. La cepa NRRL Y-6860 presentó solo un TF putativo de la familia Myb (v-Myb), por lo que en el diagrama la línea en color azul une a este factor específicamente con ella. En las figuras 7 y 8 se muestran a las cepas AWRI1499/CRL-50/GCA\_900496985.1 (que presentan la misma secuencia en la región 5'UTR) y UCD2041/UMY321, como aquellas con mayor relación entre sí al compartir en común gran parte del total de los TF encontrados en *B. bruxellensis*. Como se observa en la figura 8, la cepa UCD2041 fue la única en presentar TF cepa-específicos (YY1 perteneciente a la familia de factores ubicuos). Los TF más comunes en la mayoría de las cepas de *K. marxianus* pertenecen a las familias GATA, KLF, SCAN-ZFP, POU, Paired plus homeo domain (por su nombre en inglés) y SOX.



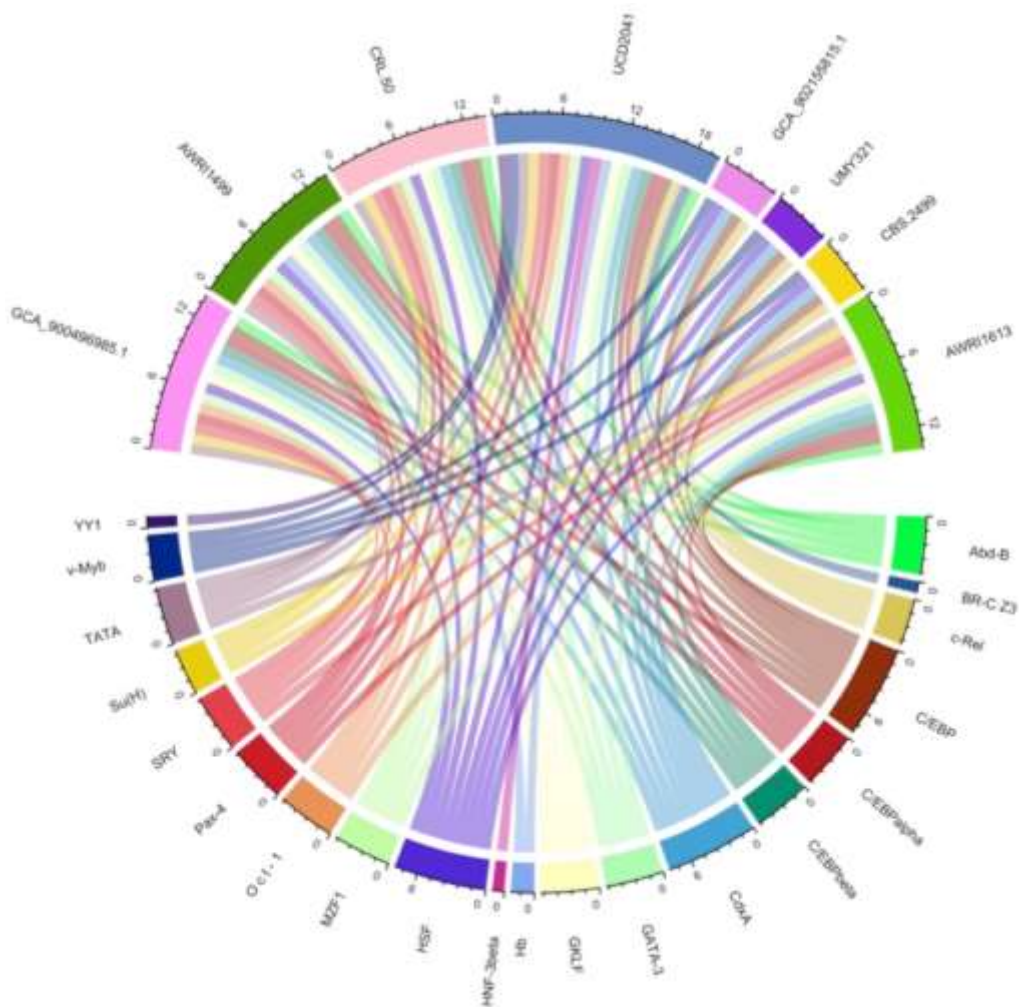
**Figura 5.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* en diferentes cepas de *K. marxianus*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



**Figura 6.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *K. marxianus* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se muestran los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta cada cepa con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.



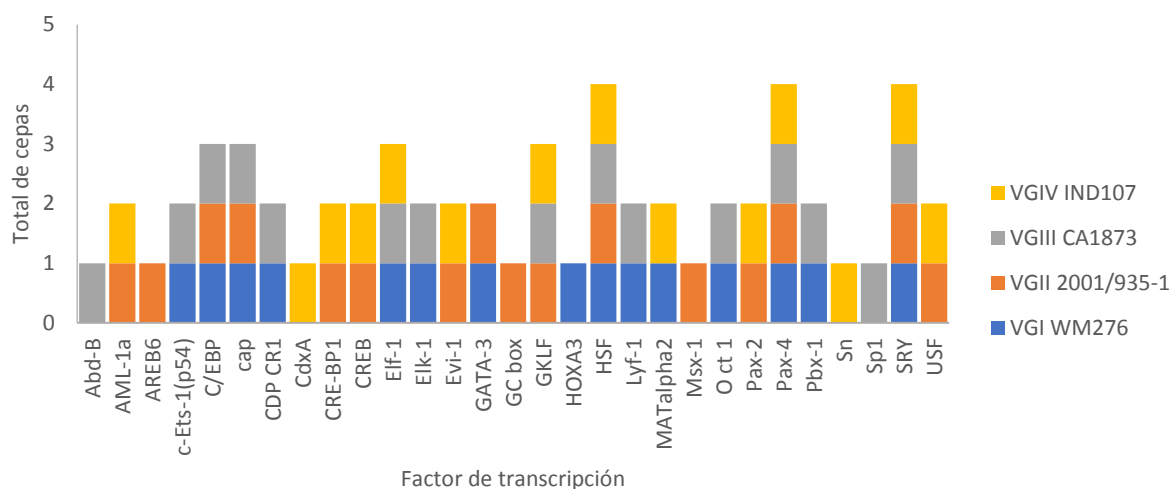
**Figura 7.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* en diferentes cepas de *B. bruxellensis*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



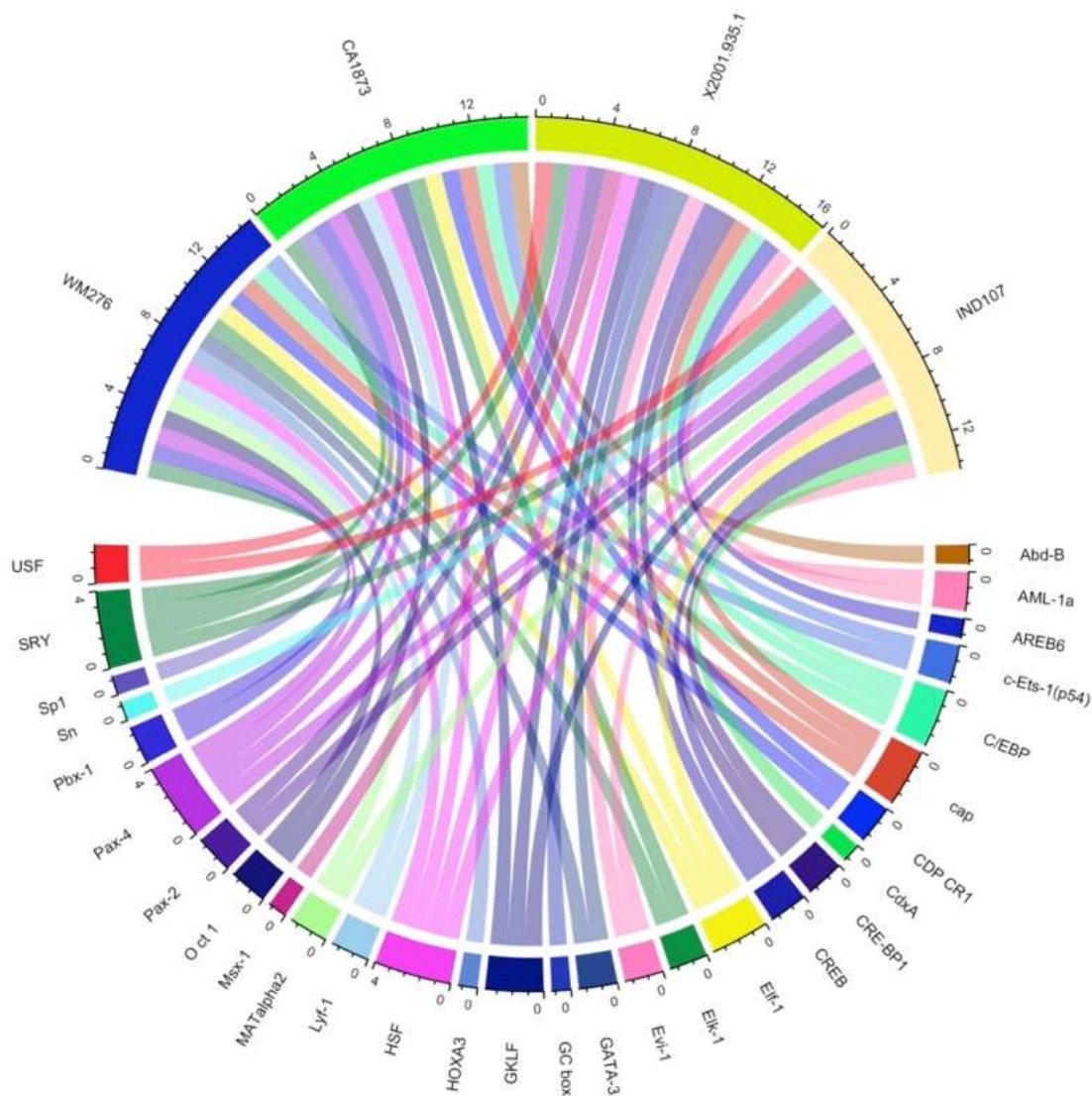
**Figura 8.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *B. bruxellensis* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se muestran los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta cada cepa con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

### 7.2.2.2 Basidiomicetes

Respecto al filo Basidiomicetes, en las 4 cepas de *Cr. gattii* analizadas, se identificaron 29 TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. De acuerdo con los resultados de la caracterización, los factores HSF, Pax-4 (pertenecientes a la familia Paired plus homeo domain, por su nombre en inglés) y SRY (perteneciente a la familia SOX) son comunes (Fig. 9). En la figura 10 se observa que una gran parte del total de los TF se comparten entre las cepas WM276 y CA1873, mientras que la otra parte se comparte entre las cepas 2001/935-1 y IND107.



**Figura 9.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* en diferentes cepas de *Cr. gattii*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



**Figura 10.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *Cr. gattii* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta cada cepa con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

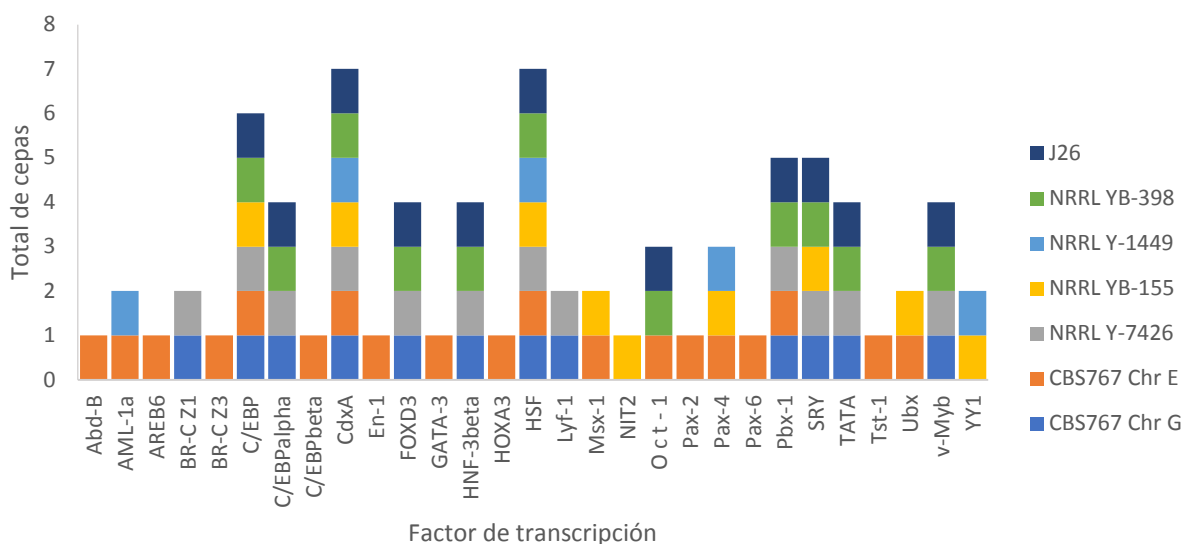
### 7.2.3 SOD2-Filo-Género-Especie-Cepa

Los resultados de la caracterización de las secuencias 5' UTR del gen *sod2* en las cepas de las especies *D. hansenii* y *S. cerevisiae* del filo Ascomycetes, revelaron un total de 35 TF putativos dentro esta región (Figs. 11-14), mientras que para las cepas de la especie *Cr. gattii* del filo Basidiomycetes, se identificaron 22 TF como resultado del análisis (Figs. 15-16).

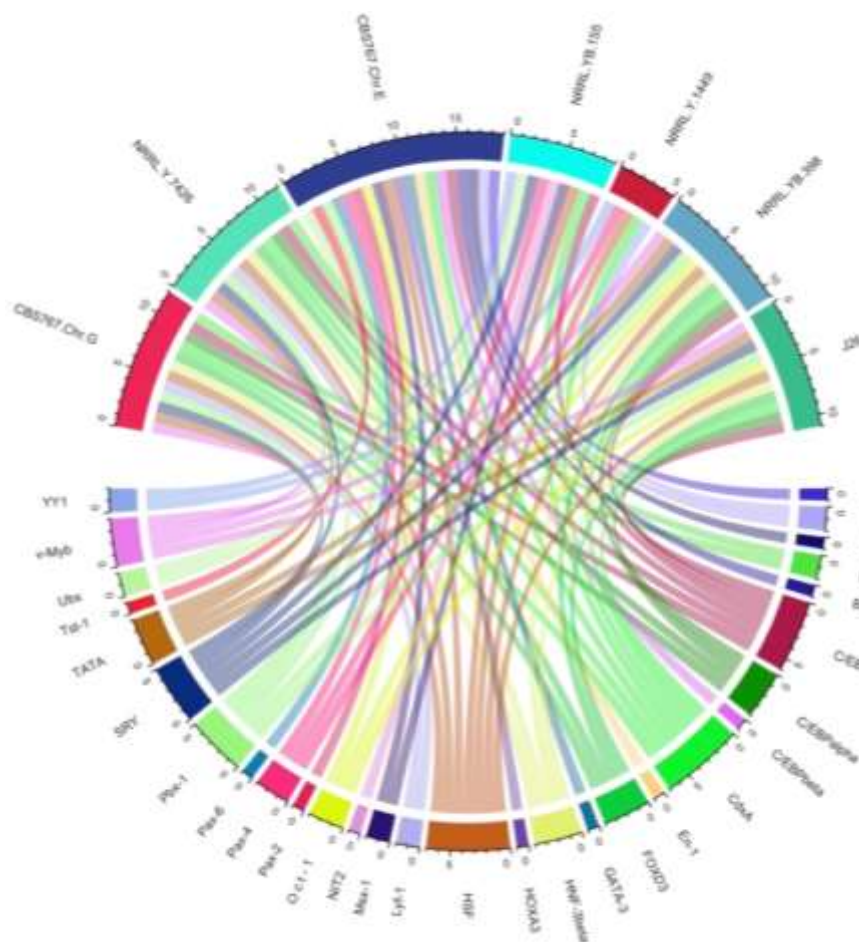


### 7.2.3.1 Ascomycetes

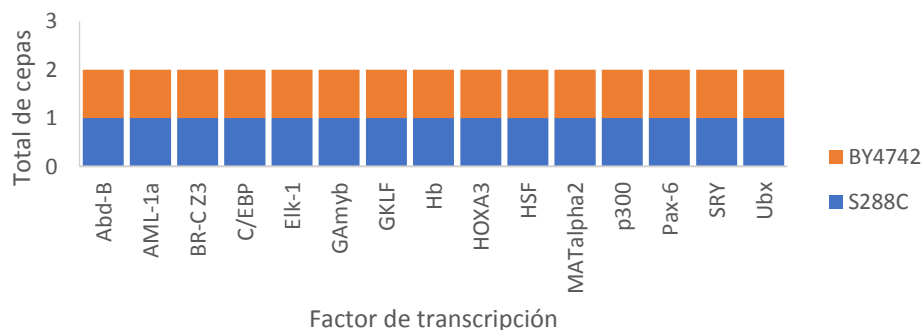
Como se observa en las figuras 11 y 12, los factores CdxA y HSF son los más comunes en la región 5'UTR del gen *sod2* entre las cepas analizadas de *D. hansenii*. Cabe mencionar que en la cepa CBS 767, el gen *sod2*, se encontró en dos cromosomas (Chr G y Chr E), con diferentes TF en la región 5'UTR correspondiente. En la figura 12 se muestra que las cepas CBS767 Chr G y NRRL Y-7426 presentan el mismo patrón de TF, así como las cepas NRRL YB-398 y J26; en total las 4 cepas comparten 9 TF. No obstante, varios TF (Abd-B, AREB6, BR-CZ3, C/EBPalpha, En-1, GATA-3, HOXA3, Pax-2, Pax-6 y Tst-1) se encontraron únicamente en la cepa CBS 767 (Chr E). En cuanto a *S. cerevisiae*, las dos cepas analizadas mostraron los mismos TF, incluidos en las familias homeo domain y HSF (Figs. 13 y 14).



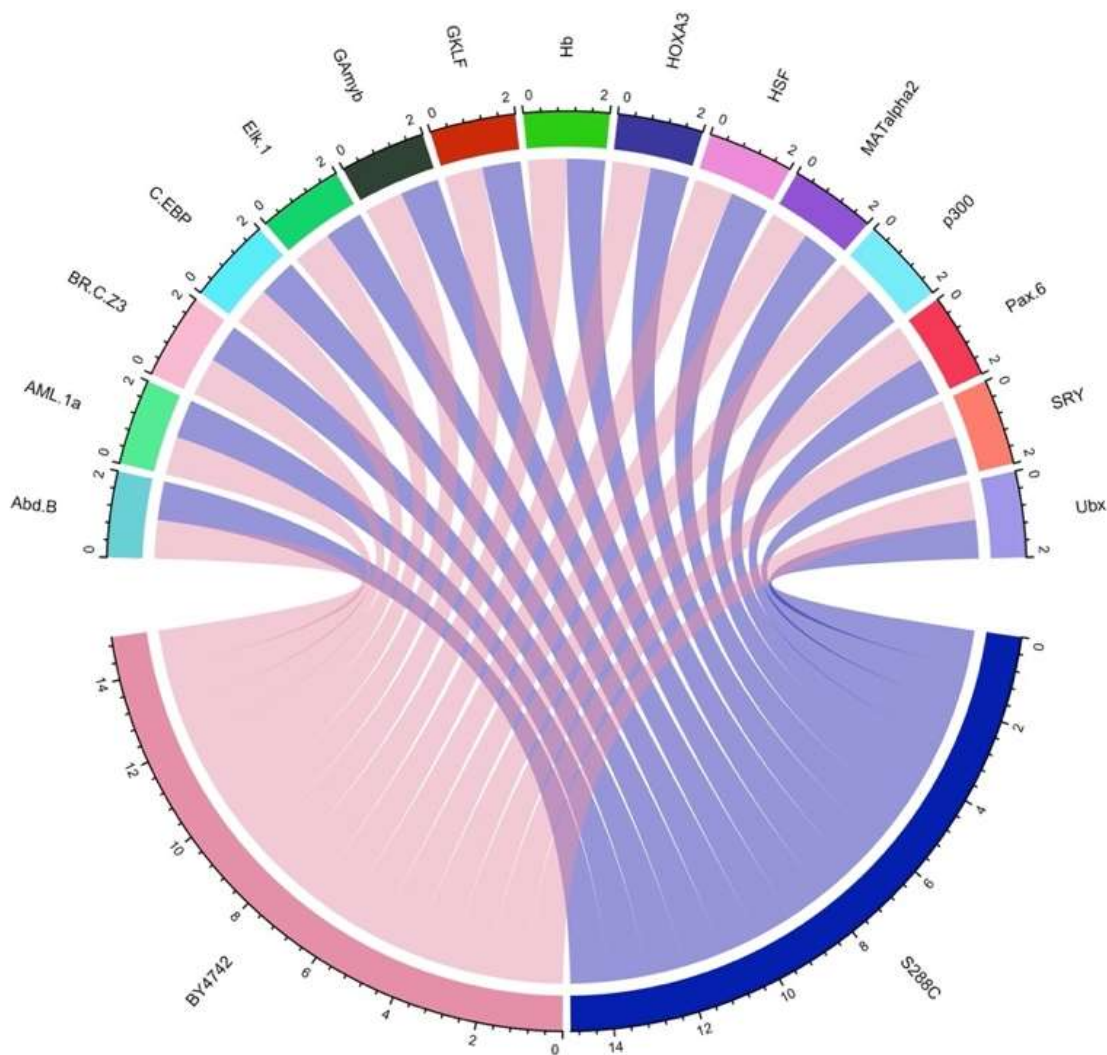
**Figura 11.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* en diferentes cepas de *D. hansenii*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



**Figura 12.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *D. hansenii* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes cepas con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.



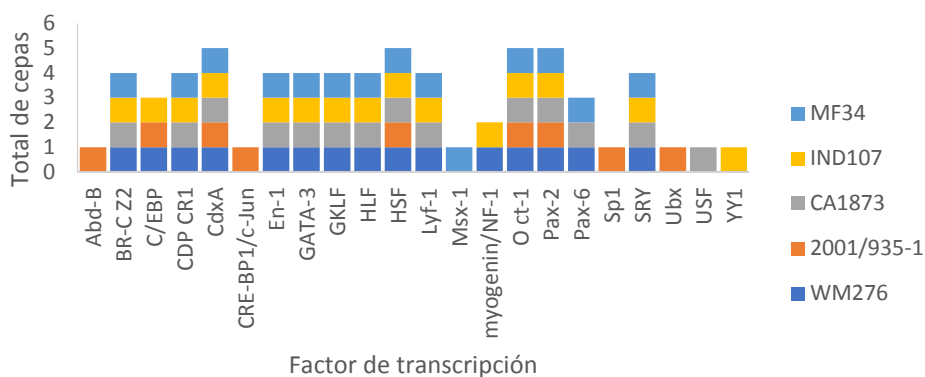
**Figura 13.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* en diferentes cepas de *S. cerevisiae*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



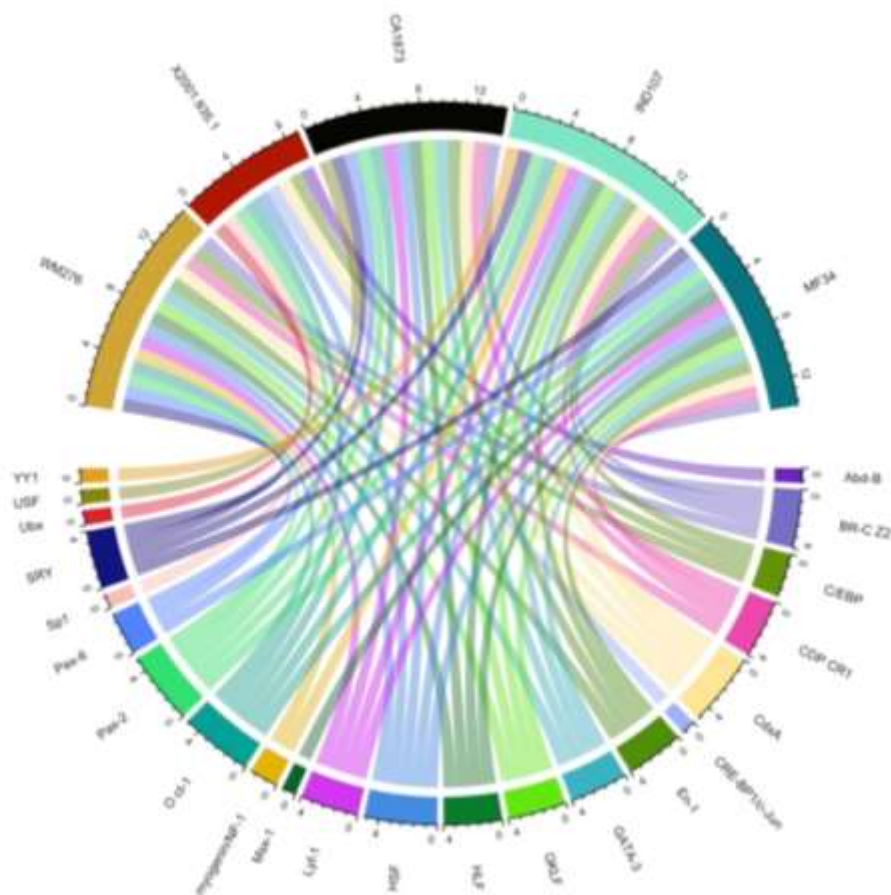
**Figura 14.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *S. cerevisiae* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte superior del diagrama se presentan los TF de las cepas mostradas en la parte inferior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes cepas con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

### 7.2.3.2 Basidiomicetes

En las figuras 15 y 16, se muestran los resultados de la caracterización de la región 5'UTR del gen *sod2* en las cepas de *Cr. gattii* del filo Basidiomicetes. De acuerdo con el análisis, los factores CdxA, HSF, Oct-1 y Pax-2, son TF comunes en la región 5'UTR de todas las cepas. De acuerdo con la figura 16, es posible apreciar que existe una mayor relación entre las cepas WM276, CA1873, IND107 y MF34, pues el patrón de TF de su región 5'UTR es más similar entre ellas.



**Figura 15.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* en diferentes cepas de *Cr. gattii*. Eje X, TF. Eje Y, cepas (ver código de color) en las que se presenta cada TF.



**Figura 16.** Diagrama de cuerdas de la relación entre cepas de *Cr. gattii* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de las cepas mostradas en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes cepas con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

### **7.3 Caracterización de secuencias 5' y 3' UTR de genes *sod1* y *sod2* en levaduras de diferentes especies (mismo género)**

#### **7.3.1 Generalidades**

Las especies pertenecientes a un mismo género consideradas para este objetivo se incluyen en las Tablas A7-A10 (Anexo A). Para el desarrollo de este objetivo se emplearon los resultados del objetivo anterior, al utilizar el contenido total de TF obtenido de la región 5'UTR de todas las cepas de una misma especie, como el contenido general de cada especie en cuestión.

Los resultados de la caracterización y comparación de la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* entre las diferentes especies de levaduras del filo Ascomycetes, se muestra en las figuras 17-22 para el gen *sod1*, correspondientes a los géneros *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* y *Brettanomyces*; mientras que para el gen *sod2* se muestra en las figuras 25-30, correspondientes a los géneros *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* y *Saccharomyces*. Para el filo Basidiomycetes, las figuras 23 y 24 muestran los resultados de la caracterización y comparación de la región 5'UTR del gen *sod1* y las figuras 31 y 32 los resultados para el gen *sod2*, de las diferentes especies de *Cryptococcus*.

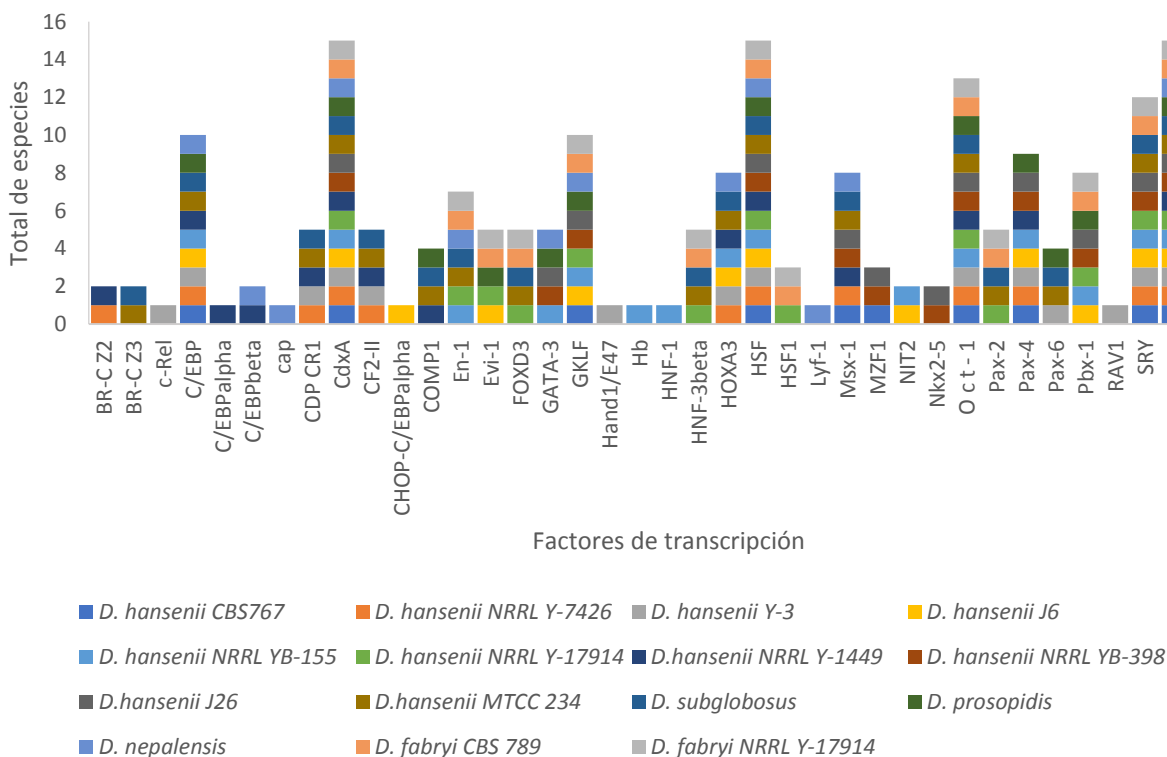
Entre las diferentes especies pertenecientes a los géneros de filo Ascomycetes mencionados anteriormente, se encontraron 51 y 61 TF en la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2*, respectivamente. En cuanto a las diferentes especies del filo Basidiomycetes, se encontraron 36 y 44 TF en las regiones 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2*, respectivamente.

#### **7.3.2 SOD1-Filo-Género-Especie**

##### **7.3.2.1 Ascomycetes**

Los resultados de la caracterización de las secuencias 5'UTR del gen *sod1* en las especies del filo Ascomycetes (géneros *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* y *Brettanomyces*), muestran los TF pertenecientes a las familias homeodominio y HSF, así como la caja TATA, reguladores del ciclo celular y C/EBP, respectivamente. Del género *Debaryomyces* (Figs. 17 y 18), *D. hansenii* presentó mayor número de TF específicos, algunos pertenecientes a familias mencionadas anteriormente

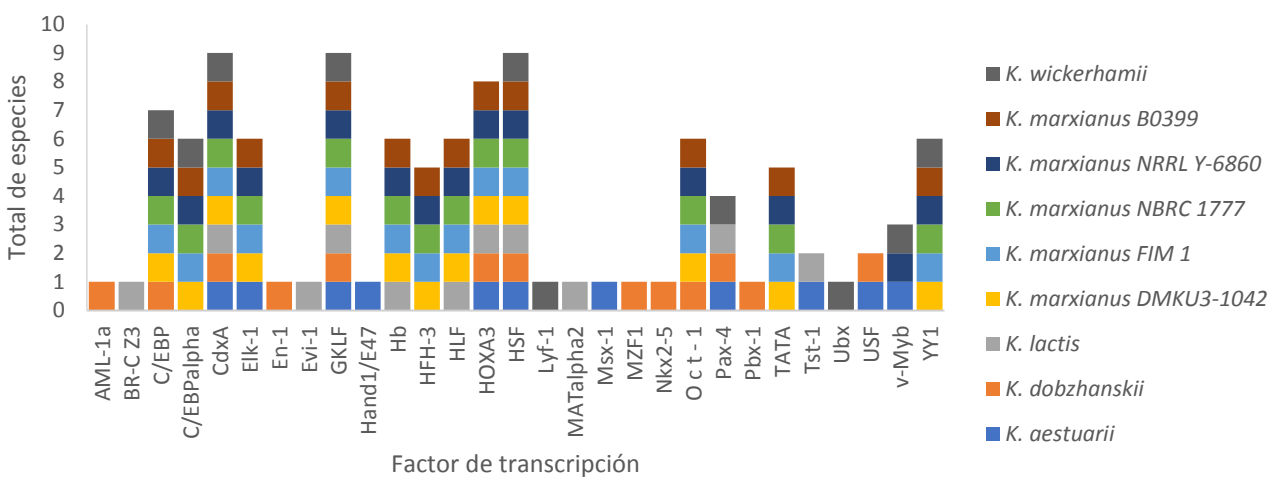
y, otros, a familias de reguladores del ciclo celular y del desarrollo, reguladores metabólicos de hongos (BR-CZ2, c-Rel, C/EBPalpha, cap, CHOP-C/EBPalpha, Hand1-E47, Hb, HNF-1, Lyf-1, MZF1, NIT2, Nkx2-5, RAV1, Tst-1 y Ubx).



**Figura 17.** Factores de transcripción (TF) localizados en la 5'UTR del gen *sod1* de especies del género *Debaryomyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presentan cada TF.

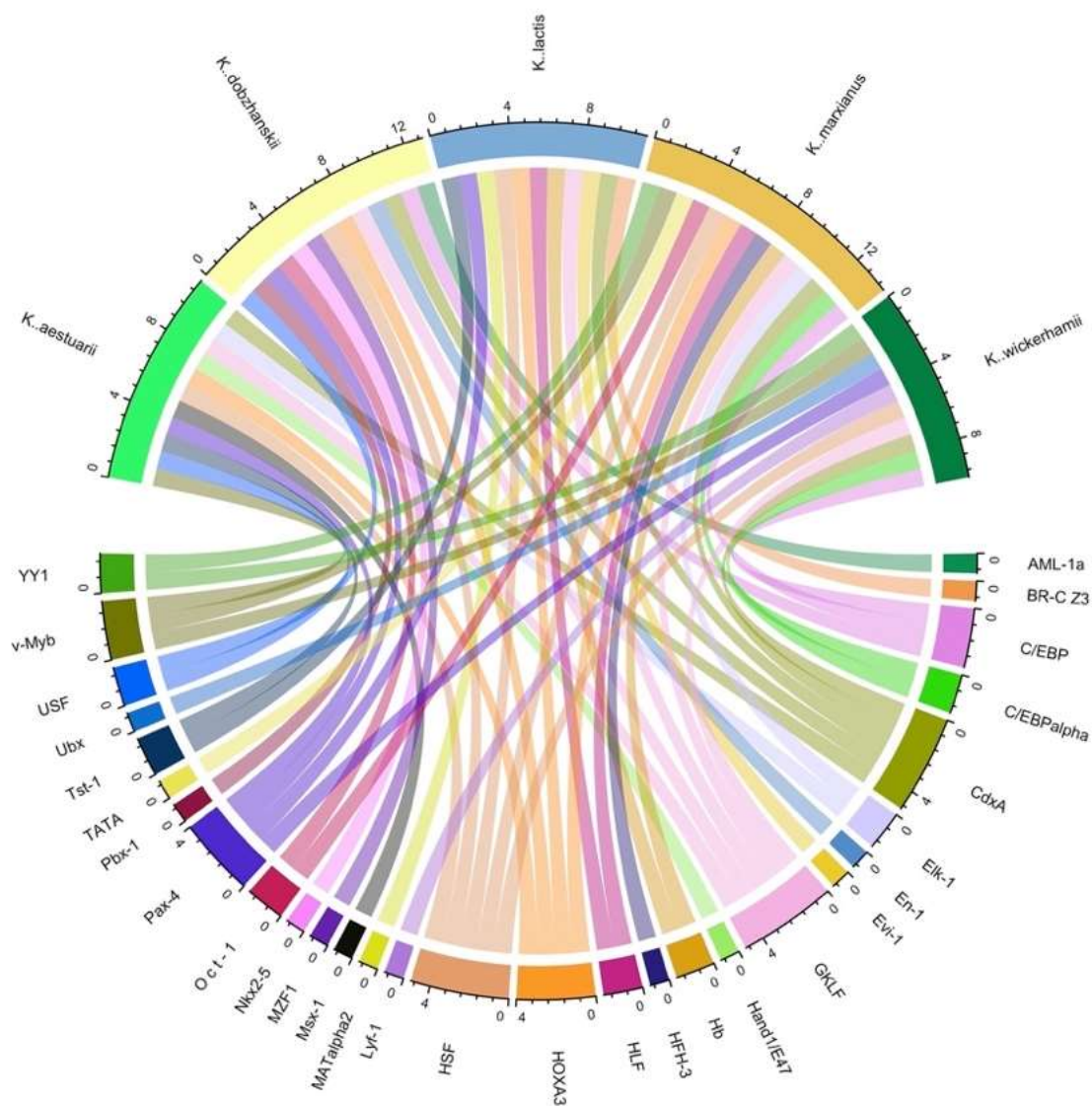


de TF en la región 5'UTR (20), en comparación con las otras especies, de las cuales *B. custersianus* y *B. nanus* son las especies más similares a ésta.

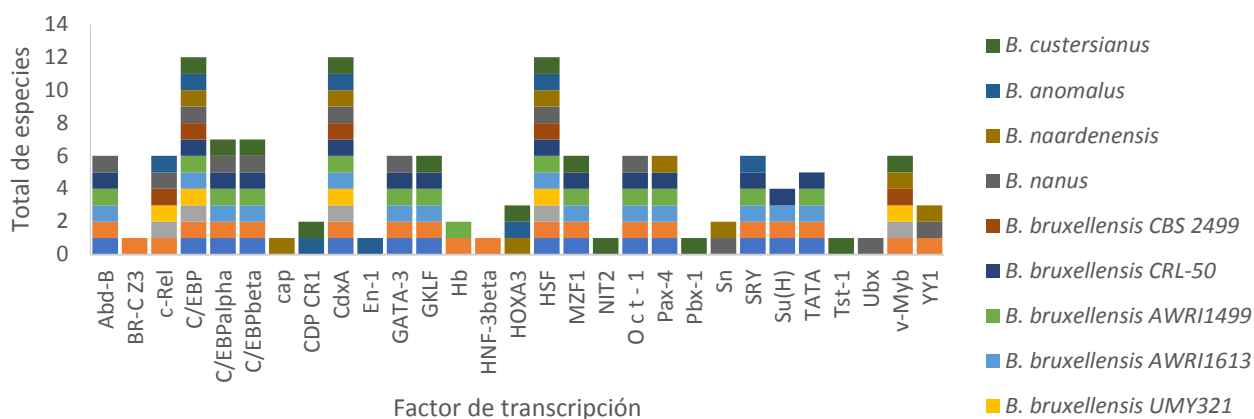


**Figura 19.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* de especies del género *Kluyveromyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presentan cada TF.

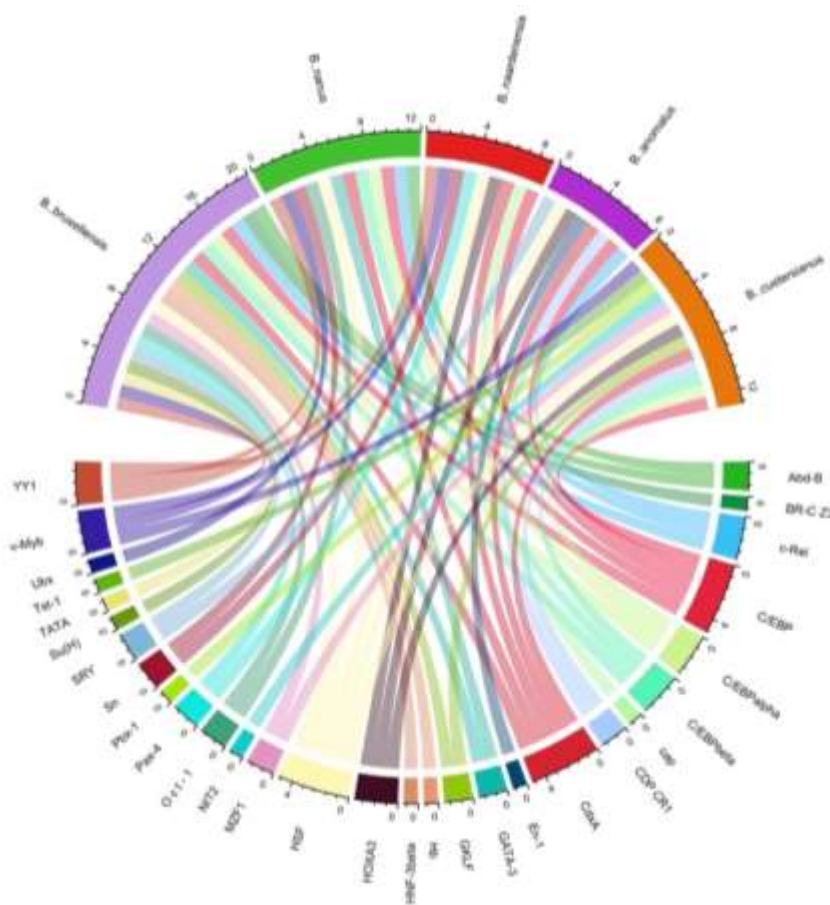




**Figura 20.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Kluyveromyces* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.



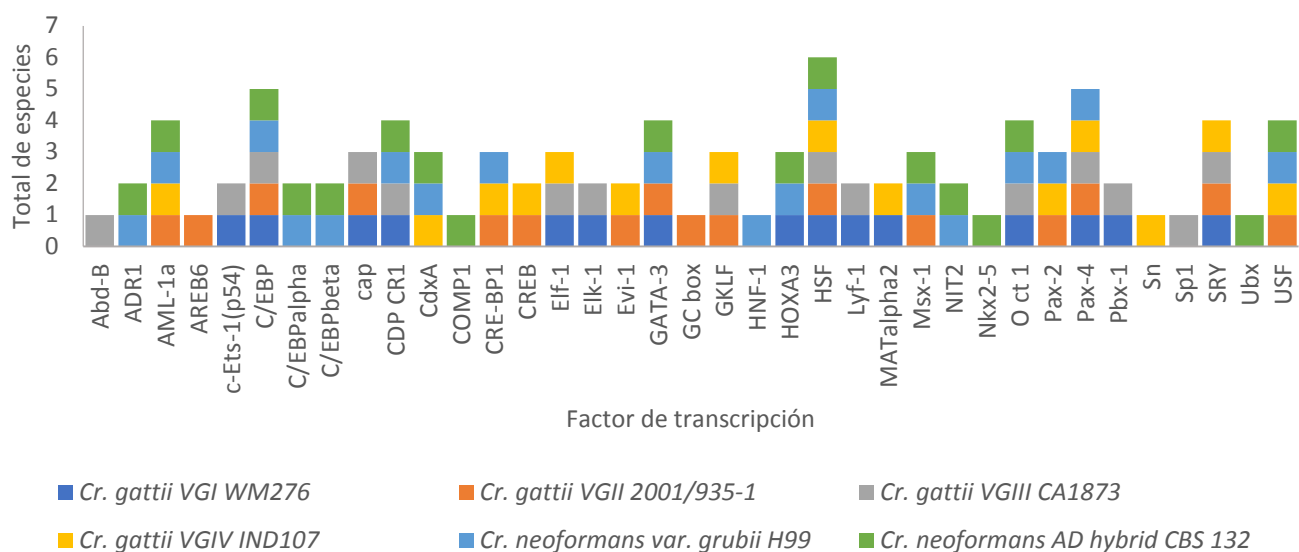
**Figura 21.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* en especies del género *Brettanomyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas (ver código de color) que presentan cada TF.



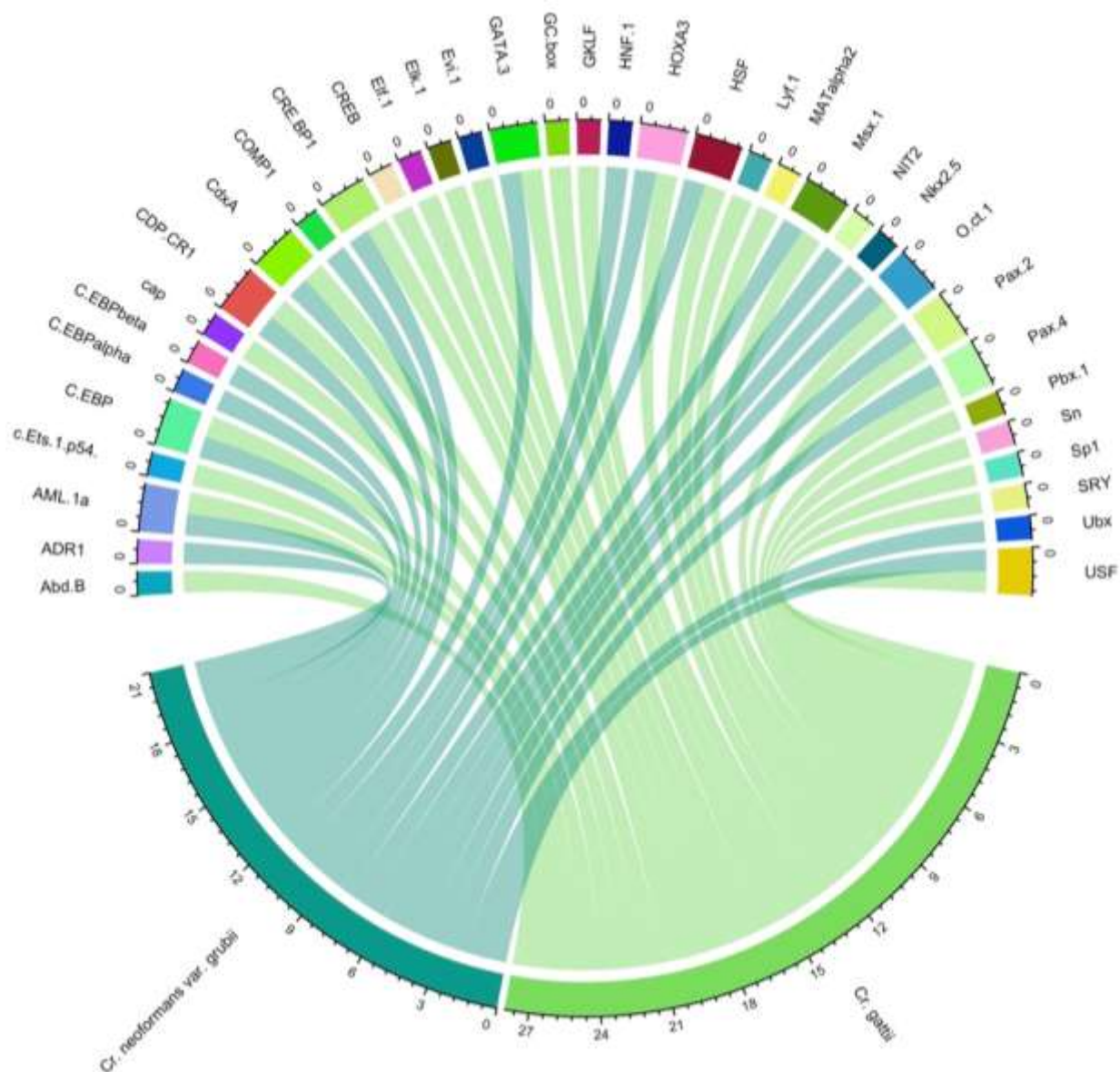
**Figura 22.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Brettanomyces* y la presencia de TF en región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

### 7.3.2.2 Basidiomicetes

En las figuras 23 y 24 se muestran los resultados correspondientes al análisis de dos especies del género *Cryptococcus*, en las que se identificaron 13 TF comunes entre *Cr. gattii* y *Cr. neoformans*. En la figura 24, se muestra que en *Cr. gattii* se identificaron una mayor cantidad y variedad de TF (28 TF) que en *Cr. neoformans* (21 TF). Del contenido total de TF de la región 5'UTR del gen *sod1* de *Cr. gattii*, 15 TF son especie-específicos mientras que en *Cr. neoformans* únicamente 6 TF.



**Figura 23.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod1* de especies del género *Cryptococcus*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presentan cada TF.

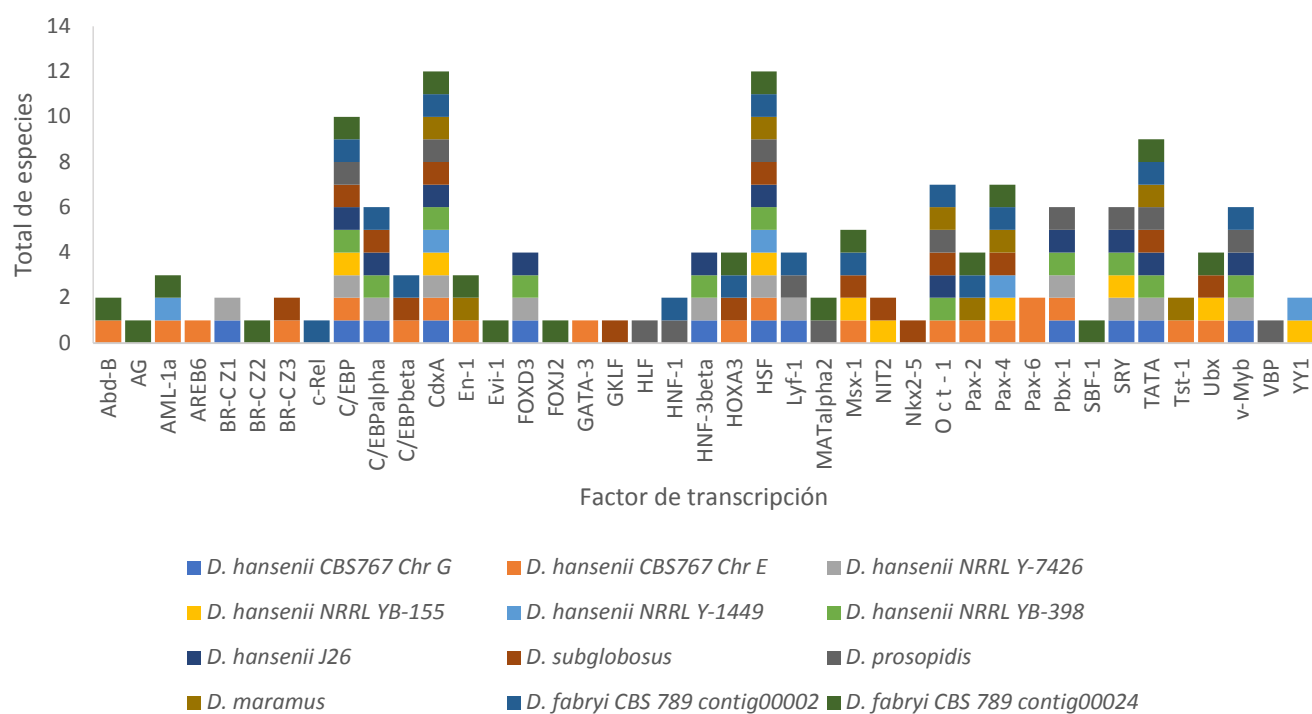


**Figura 24.** Diagrama de cuerdas la relación entre especies de *Cryptococcus* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte superior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte inferior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

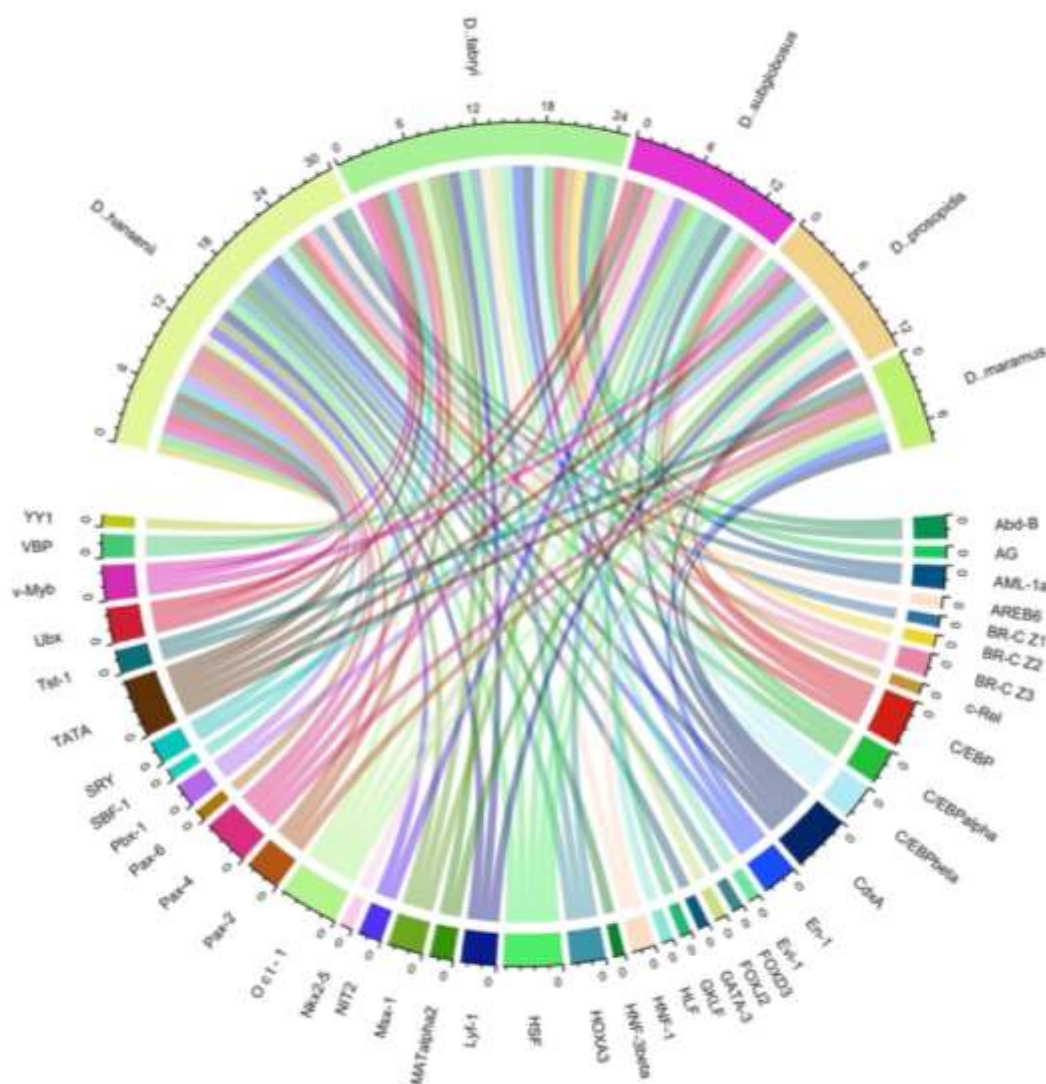
### 7.3.3 SOD2-Filo-Género-Especie

En las figuras 25-30, se muestran los resultados del análisis de la región 5'UTR del gen *sod2*. En estas figuras se puede observar que los TF hipotetizados corresponden a las familias homeo domain y HSF, y son comunes en todas las especies de los tres géneros analizados: *Debaryomyces*, *Kluyveromyces* y *Saccharomyces*. De las especies del género *Debaryomyces*

(Figs. 25 y 26) también resultaron frecuentes los TF pertenecientes a las familias C/EBP, POU, Paired plus, así como la caja TATA. En la figura 26 se muestra que *D. hansenii*, *D. fabryi* y *D. subglobosus* presentan mayor relación entre si respecto al contenido de la región 5'UTR, siendo *D. maramus* y *D. prosopidis* las especies menos relacionadas. Del género *Debaryomyces*, se observa que *D. fabryi* contiene el mayor número de TF específicos (6 TF), al no compartirlos con ninguna otra especie.



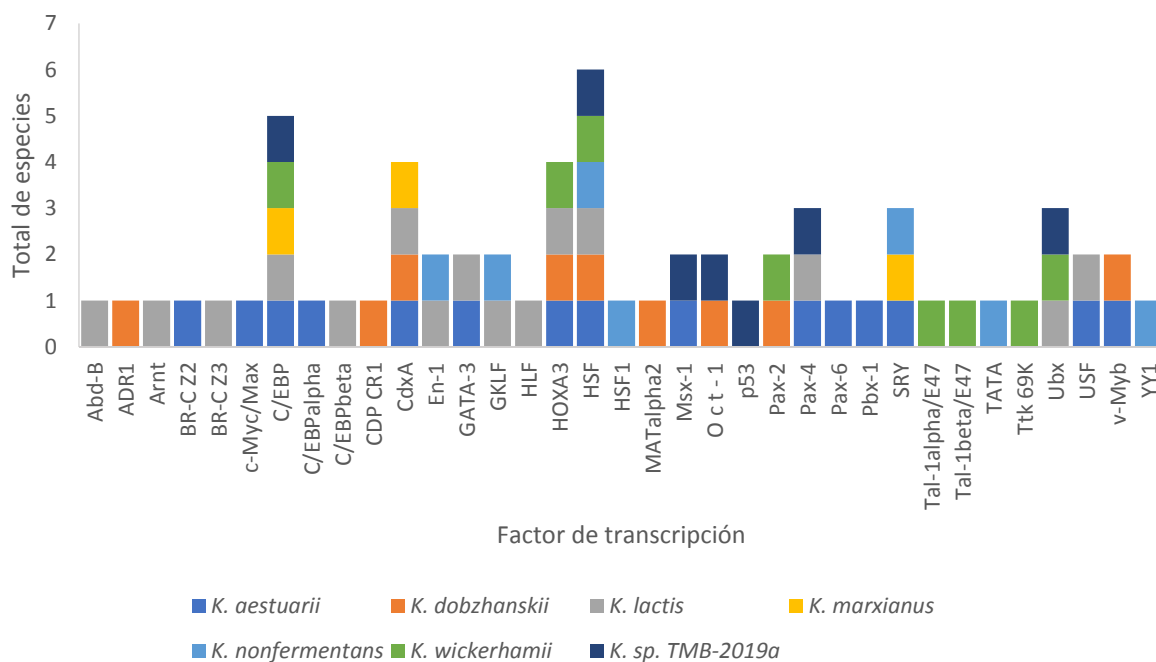
**Figura 25.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* de especies del género *Debaryomyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presenta cada TF.



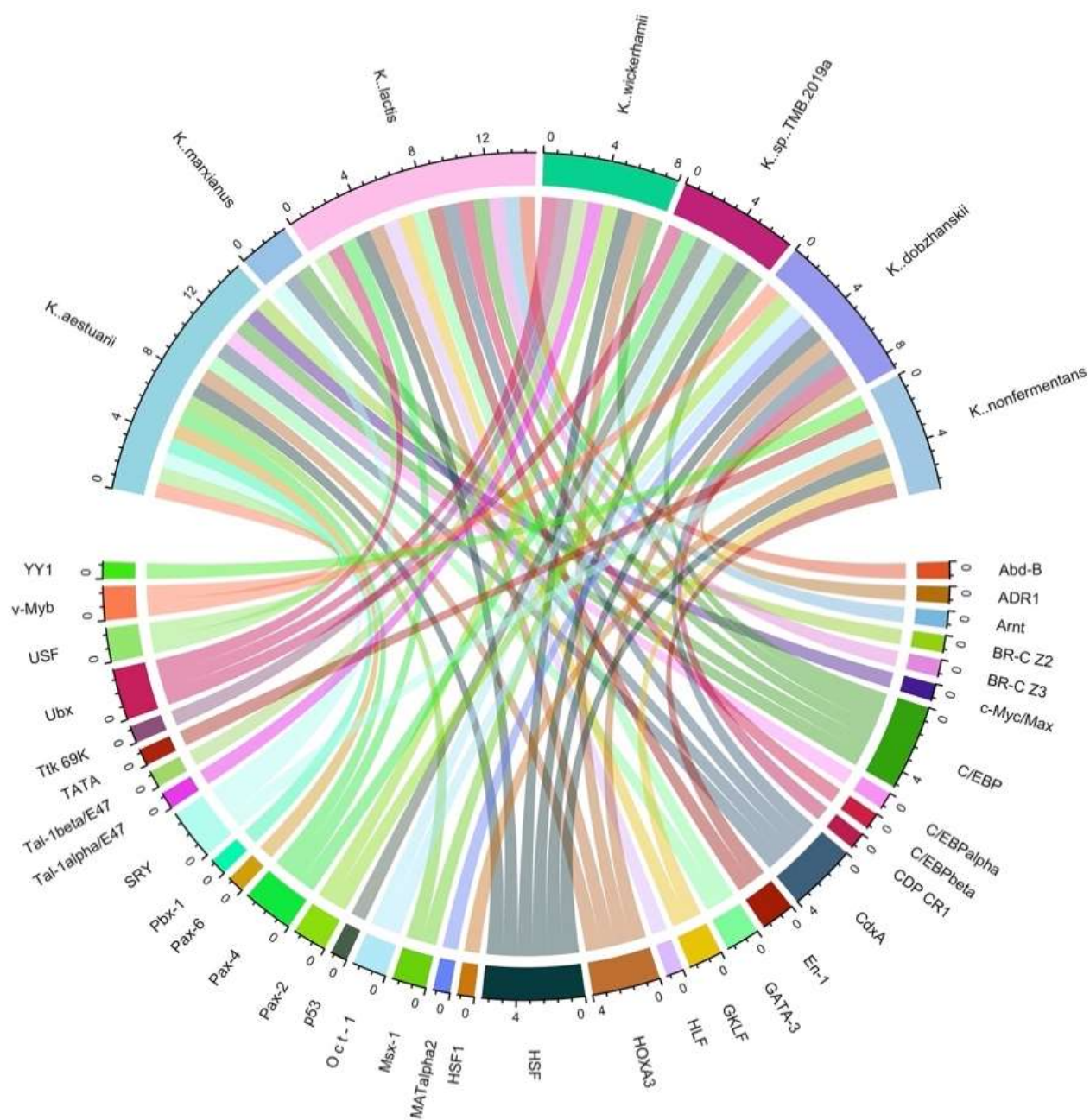
**Figura 26.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Debaryomyces* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada cepa/especie enumerada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

Respecto al género *Kluyveromyces* los TF de la familia C/EBP y HSF resultaron comunes en la mayoría de las especies (Figs. 27 y 28). En la figura 28 se muestra como 20 TF son especie-específicos. De las especies de *Saccharomyces*, los TF presentes en la región 5'UTR del gen *sod2* también corresponden a familias anteriormente mencionadas como C/EBP, Homeo domain only (por su nombre en inglés), BR-C, Paired plus homeo domain y reguladores del ciclo celular y del desarrollo (Figs. 29 y 30). *S. cerevisiae* y *S. paradoxus*, presentaron la misma secuencia en la región 5'UTR, así como *S. pastorianus* y *S. eubayanus*, *S. boulardii* y *Saccharomyces* sp., y *S. jurei*

y *S. uvarum*, respectivamente. En la figura 30 se muestra como la mayoría de las especies de este género se relacionan entre sí al compartir varios TF, no obstante, *S. cerevisiae/S. paradoxus* y *S. jurei/S. uvarum* presentaron menos relación entre sí, en comparación con el resto de las especies.

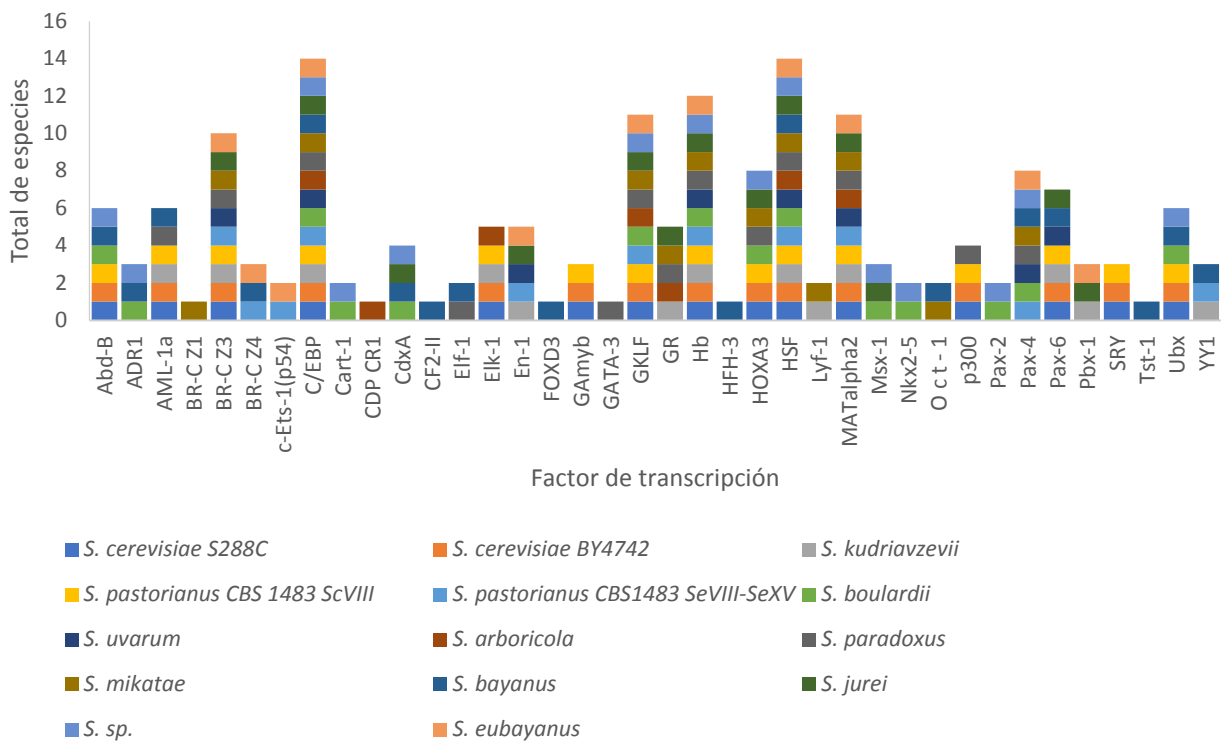


**Figura 27.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* de especies del género *Kluyveromyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presenta cada TF.

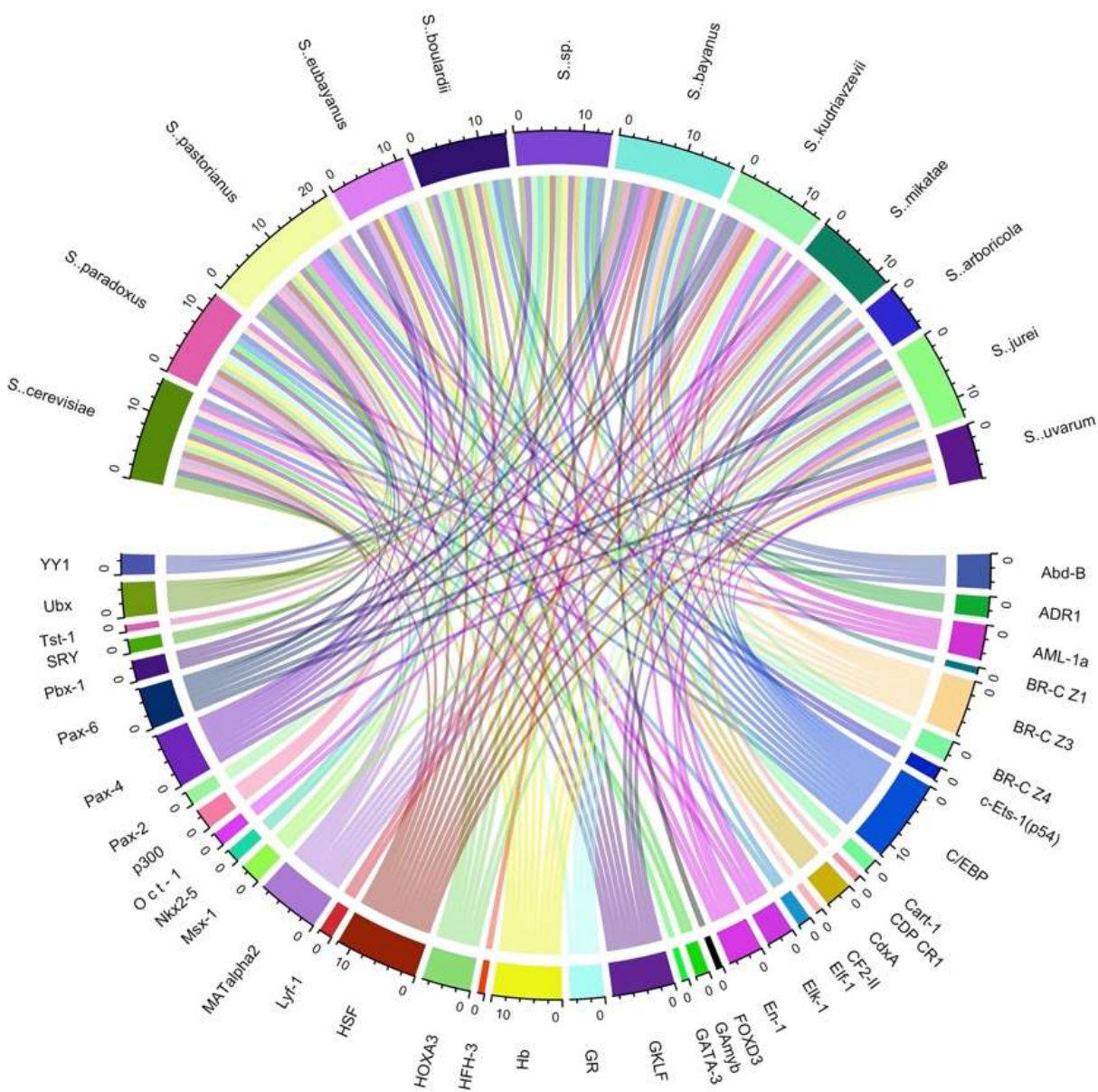


**Figura 28.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Kluveromyces* y presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contienen su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.



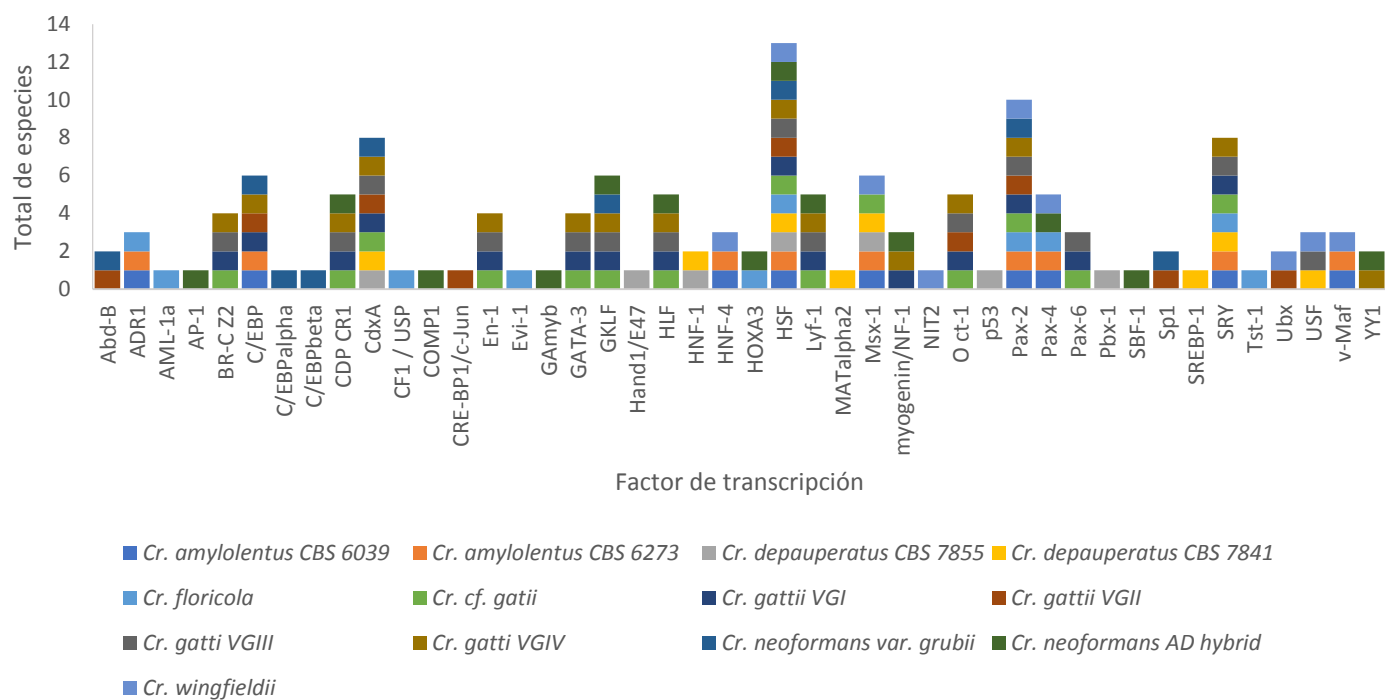


**Figura 29.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* de especies del género *Saccharomyces*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presenta cada TF.

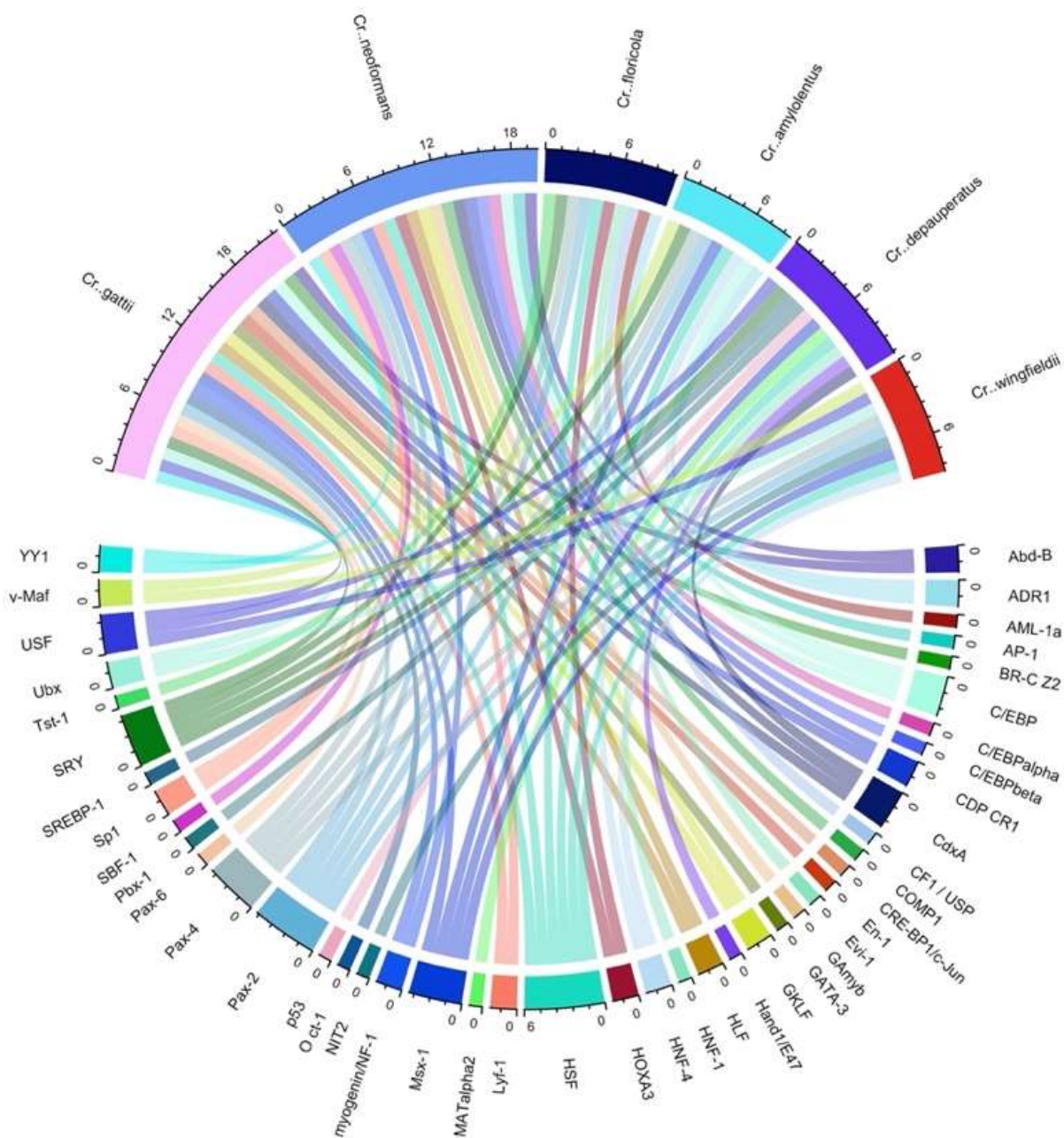


**Figura 30.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Saccharomyces* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

Los resultados de las especies del género *Cryptococcus* (Figs. 31 y 32) mostraron a HSF como el único TF presente en todas las especies, siendo *Cr. gattii* y *Cr. neoformans* las especies más relacionadas entre sí (11 TF en común), mientras que *Cr. depauperatus* resultó ser la especie más aislada del género presentando 6 TF especie-específicos.



**Figura 31.** Factores de transcripción (TF) localizados en 5'UTR del gen *sod2* de especies del género *Cryptococcus*. Eje X, TF. Eje Y, número de cepas/especies (ver código de color) que presenta cada TF.

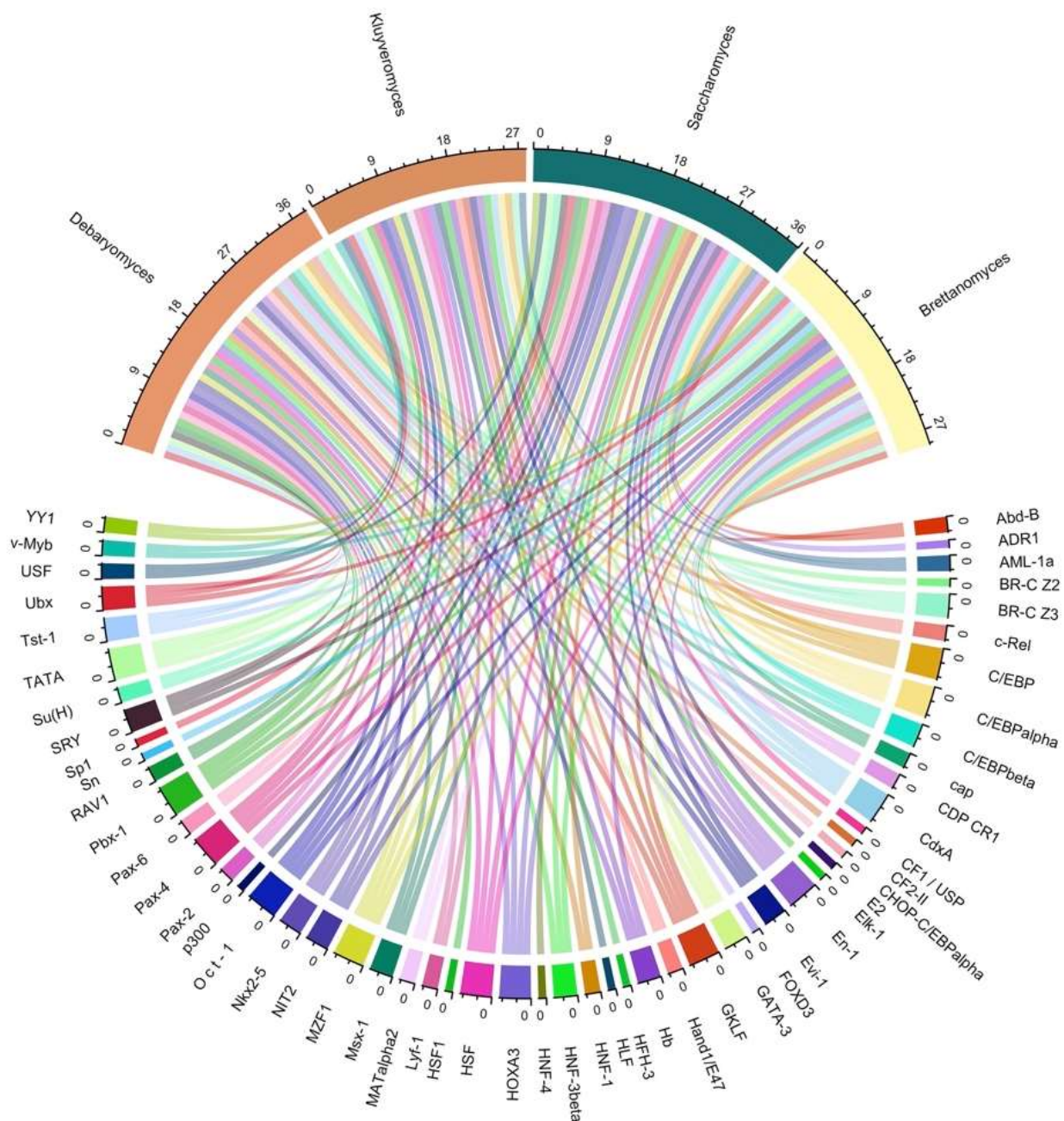


**Figura 32.** Diagrama de cuerdas de la relación entre especies de *Cryptococcus* y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada especie mostrada en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a las diferentes especies con todos los TF que comprenden la región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

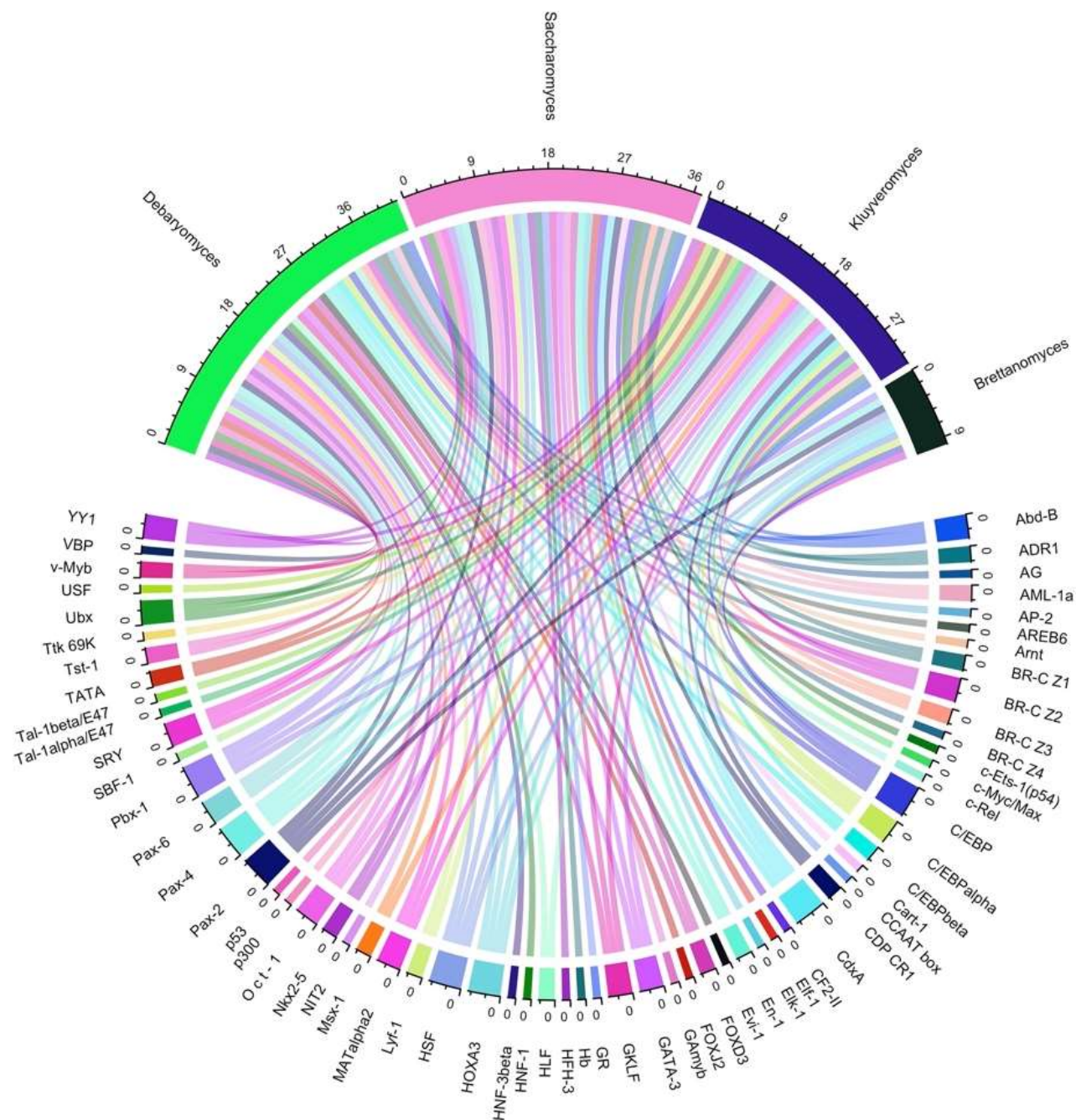
#### 7.4 Caracterización de secuencias 5'UTR de genes *sod1* y *sod2* en levaduras de diferentes filos (diferentes géneros)

Los resultados de la caracterización de la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* en levaduras fueron analizados también entre géneros del mismo filo y entre géneros de distintos filos (Ascomycetes y Basidiomycetes); estos resultados se muestran en las figuras 33-35. La comparación entre géneros del filo Ascomycetes mostró un total de 14 TF comunes en el gen *sod1* y 6 TF en el gen *sod2*, entre los cuatro géneros analizados en ambos casos: *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* y *Brettanomyces* (Figs. 33 y 34). En el gen *sod1*, 17 TF encontrados en la región 5'UTR se comparten entre los géneros *Debaryomyces*, *Brettanomyces* y *Saccharomyces* (Fig. 33), siendo los géneros más relacionados entre sí. Respecto al gen *sod2*, se encontró que el género *Debaryomyces* está más relacionado con *Kluyveromyces* y *Saccharomyces*, al compartir en común 24 y 23 TF, respectivamente. El género *Debaryomyces* muestra 11 TF género-específicos (Fig. 34).

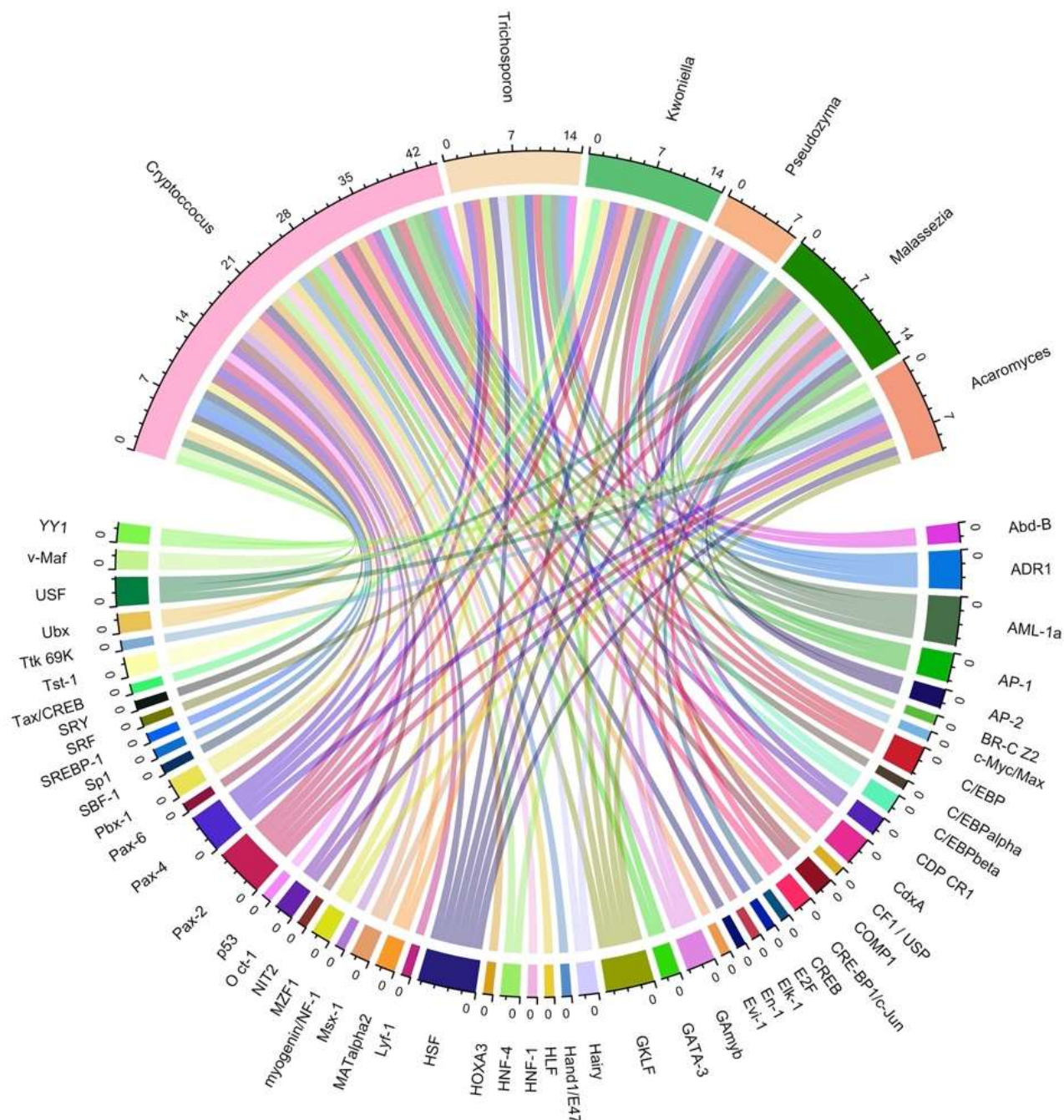
Debido a que en las levaduras del filo Basidiomycetes el gen *sod1* solo se encontró en un género (*Cryptococcus*), no se generó diagrama de comparación para el gen *sod1*. Los resultados de la comparación de la región 5'UTR del gen *sod2* entre géneros del filo Basidiomycetes, se muestran en la figura 35, donde se observa que los TF de las familias HSF y Paired plus homeo domain, son los más comunes entre todos los géneros analizados. Sin embargo, 21 TF resultaron género-específicos. Los géneros *Cryptococcus* y *Kwoniella* mostraron 13 TF en común (Fig. 35), siendo los géneros más relacionados del filo.



**Figura 33.** Diagrama de cuerdas la relación entre géneros del filo Ascomicetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada género mostrado en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a los diferentes géneros con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.



**Figura 34.** Diagrama de cuerdas de la relación entre géneros del filo Ascomicetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada género mostrado en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a los diferentes géneros con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.



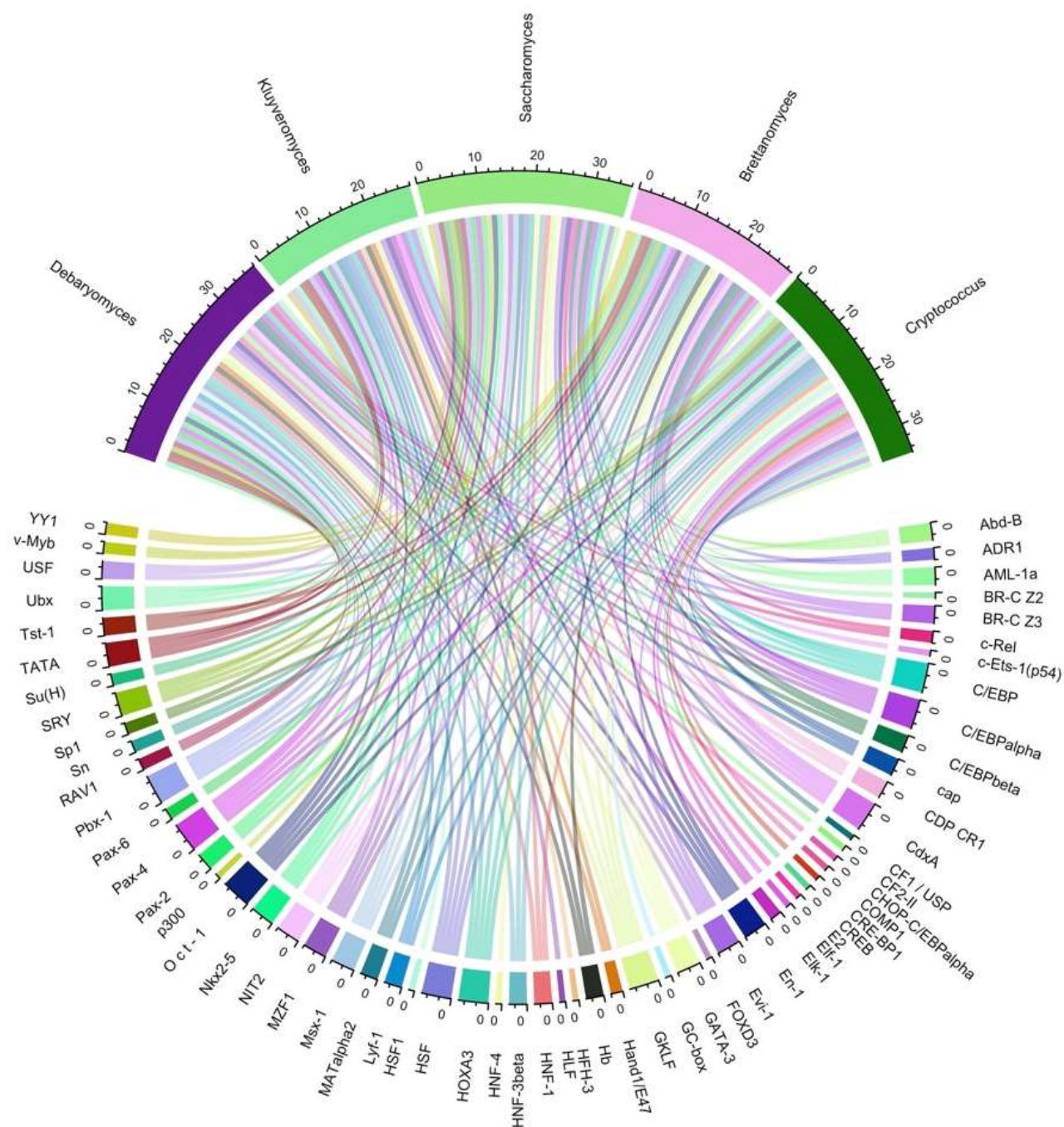
**Figura 35.** Diagrama de cuerdas de la relación entre géneros del filo Basidiomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod2*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada género mostrado en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a los diferentes géneros con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod2* y viceversa.

La comparación del contenido de TF en la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* entre géneros de distintos filos (Ascomycetes y Basidiomycetes), se muestra en las figuras 36 y 37. Respecto al gen *sod1*, 12 TF se comparten en común entre los cinco géneros analizados y 24 TF son género-



específicos. Aunque todos los géneros comparados comparten al menos un TF en común, *Debaryomyces*, *Saccharomyces* y *Cryptococcus* comparten 17 TF presentando mayor relación entre sí (Fig. 36). En cuanto al gen *sod2*, los TF pertenecientes a las familias HSF y Paired plus homeo domain, son compartidos en común por los diez géneros analizados de los filos Ascomycetes y Basidiomycetes. De acuerdo con los resultados de la figura 37, aunque todos los géneros se relacionan al compartir en común uno o más TF, los géneros *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* y *Cryptococcus* se encuentran más relacionados entre sí al compartir 17 TF en común. Los géneros *Pseudozyma*, *Malassezia*, *Brettanomyces* y *Acaromyces* se relacionan con los géneros anteriores con al menos 3 TF en común (en promedio).

El factor de transcripción HSF, fue el único TF constante en la región 5'UTR de ambos genes en todos los niveles taxonómicos analizados.

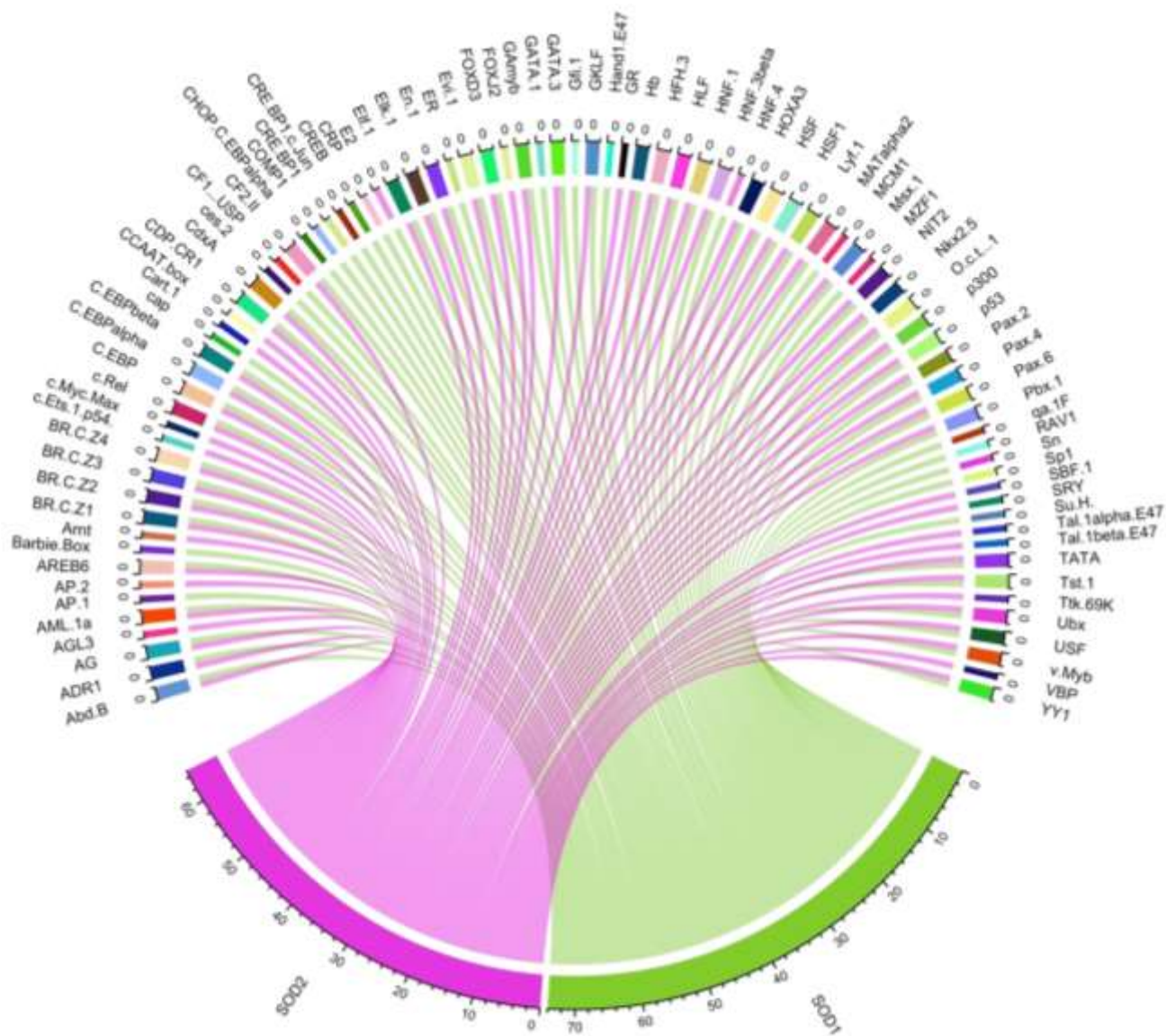


**Figura 36.** Relación entre géneros de los filos Ascomycetes y Basidiomycetes y la presencia de TF en la región 5'UTR del gen *sod1*. En la parte inferior del diagrama se presentan los TF de cada género-filo mostrado en la parte superior de la figura. Cada línea conecta a los diferentes géneros con todos los TF que contiene su región 5'UTR del gen *sod1* y viceversa.

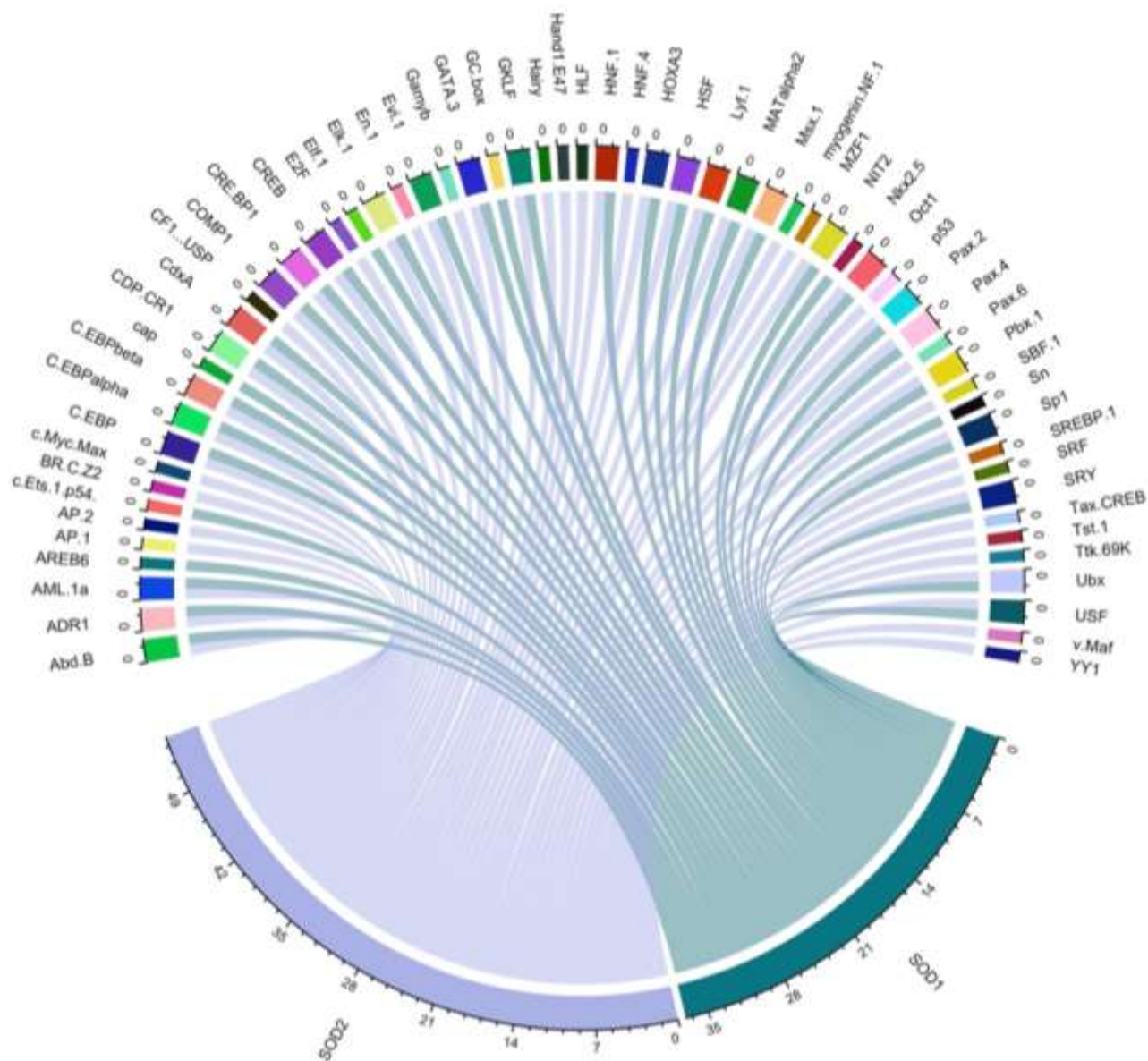


El contenido total de TF obtenidos en la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* fue comparada entre sí dentro de cada filo (Ascomycetes y Basidiomycetes, Figs. 38 y 39, respectivamente). Como se muestra en la figura 38, el contenido de TF general de la región 5'UTR del gen *sod1* en levaduras del filo Ascomycetes, es más variado que el del presente en el gen *sod2*, al encontrarse una mayor cantidad de TF en *sod1* (76) que en *sod2* (64). Al contrario que en Ascomycetes, la región 5'UTR del gen *sod1* en levaduras del filo Basidiomycetes es menos variada (37 TF, Fig. 39) pero entre los dos genes en Basidiomycetes la región 5'UTR *sod2* resultó ser más diversa (54 TF).

Desde una perspectiva general, la caracterización de las levaduras del filo Ascomycetes presentó una mayor diversidad de TF dentro de la región 5'UTR en ambos genes, que en el filo Basidiomycetes.



**Figura 38.** Relación entre los genes *sod1* y *sod2* de Ascomycetes y su contenido de TF putativos en la región 5'UTR de ambos genes. En la parte superior del diagrama se presentan los TF de cada gen mostrado en la parte inferior de la figura. Cada línea conecta a cada gen (*sod1* y *sod2*) con todos los TF que contiene su región 5'UTR y viceversa.



**Figura 39.** Relación entre los genes *sod1* y *sod2* de Basidiomicetes y su contenido de TF putativos en la región 5'UTR de ambos genes. En la parte superior del diagrama se presentan los TF de cada gen mostrado en la parte inferior de la figura. Cada línea conecta a cada gen (*sod1* y *sod2*) con todos los TF que contiene su región 5'UTR y viceversa.

## 7.5 Secuencias reguladoras homólogas a las de organismos eucariotas superiores no reportadas previamente para SODs de levaduras

La estructura genética y organización de los genes *sod1* y *sod2* de humano fueron obtenidas mediante análisis bioinformáticos por autores como Miao y St. Clair (2009), y se muestran en las figuras 40a y 41a (familia Hominidae). Estos genes presentan similitud con los genes *sod1* y *sod2* de ratón, rata y bovino (Miao y St. Clair, 2009; Zelko *et al.*, 2002). Los elementos regulatorios encontrados en la región 5'UTR de estos genes se encuentran representados en cada esquema (Figs. 40 y 41), en donde se compara la composición de esta región en los genes *sod1* y *sod2* de humano (reportados anteriormente), con los elementos regulatorios para la misma región en las diferentes especies de levaduras empleadas para el análisis. Para efectos prácticos y con el fin de cubrir los resultados obtenidos de todos los grupos de levaduras analizados, los resultados se agruparon taxonómicamente a nivel familia, por lo que cada color en simbología de las figuras 40 y 41 corresponde a cada familia (Tablas A7-A10, Anexo A). La figura 40a, que corresponde al gen *sod1* de humano, muestra a los elementos: TATA, CAT, CCAAT, AP-1, C/EBP, AP-1, Sp1, WT-1, Egr-1, AP-2, HSE, HRE, XRE, ARE, NF- $\kappa$ B, NRE, PRE y PPAR como parte de la región 5'UTR del gen, mientras que en la estructura del gen *sod2* de humano (Fig. 41a) se muestran los elementos: GC, AP-2, Sp1, AP-1, FOXO3a y NF- $\kappa$ B, como parte de la estructura de la región 5'UTR del gen. De los factores antes mencionados, los TF que juegan papeles importantes en la regulación genética de las SOD corresponden a AP-1, AP-2, Sp-1, NF- $\kappa$ B y C/EBP; su presencia y posiciones aproximadas en los genes *sod1* y *sod2* se muestran en las figuras 40a y 41a (respectivamente).

En las figuras 40b y 41b se muestra la estructura génica de la región 5'UTR del gen *sod1* y *sod2*, de las familias de levaduras empleadas en este estudio. En ambas figuras se indican únicamente los TF homólogos a los encontrados en los genes *sod* de humanos (AP-1, AP-2, Sp-1, NF- $\kappa$ B y C/EBP; Figs. 40a y 41a). Para efectos de comparación, cada TF se muestra con una figura representativa que se mantiene en las figuras 40 y 41, donde las posiciones en las que se indica cada factor son el resultado del análisis bioinformático realizado para cumplir el objetivo 2 (su ubicación en los esquemas es aproximada). Con la finalidad de incluir los resultados de las

diferentes especies de levaduras que fueron analizadas, éstas se agruparon taxonómicamente a nivel familia, identificada por código de color.

En la figura 40b, en las especies pertenecientes a la familia **Debaryomycetaceae**, de los TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod1* de humanos mencionados anteriormente, se encontraron los siguientes factores: C/EBP (en las posiciones ~-19 a -66 pb, ~-155 a -186 pb; ~-253 a -256 pb; ~-460 a -509 pb; ~-610 a -708 pb y ~-859 a -917pb ), TATA box (en las posiciones ~-206 a -271 pb, ~-326 a -530 pb, ~-687 a -690 pb y ~-894pb) y HSF (en las posiciones ~-5 a -99 pb, ~-118 a -196 pb, ~-215 a -283 pb, ~-380 a -595 pb, ~-622 a -806 pb y ~-930 a -989 pb).

En cuanto a las especies pertenecientes a la familia **Saccharomycetaceae**, los TF encontrados son: C/EBP (en las posiciones ~-16 a -30 pb, ~-102 a -150 pb y ~-730 a -957 pb), TATA box (en la posición ~-910 pb), Sp1 (en la posición ~-625 pb) y HSF (en las posiciones ~-2 a -106 pb, ~-138 a -200 pb, ~-209 a 268 pb, ~-318 a -591 pb, a ~-623 a -801 pb y ~-859 a -995 pb).

En las especies de la familia **Pichiaceae** los TF que fueron encontrados son: C/EBP (en las posiciones ~-154 pb, ~-316 a -535 pb, ~-701 a 787 pb y ~-965 pb), TATA box (en la posición ~-855 a -976 pb), NF-kB (en la posición ~-309 pb) y HSF (en las posiciones ~-73 a -83 pb, ~-405 a -589 pb, ~-613 a -784 pb y ~-898 a -998 pb).

Con respecto a las especies de la familia **Wickerhamomycetaceae**, los TF que se encontraron son: C/EBP (~-4 pb, ~-110 a -171 pb, ~-217 a -237 pb, ~-414 a -554 pb, ~-634 a 757 pb y ~-884 a 919 pb), TATA box (en las posiciones ~-207 a -305 pb, ~-424 a 428 pb y ~-974 pb), AP-1 (en la posición ~-864 a -867 pb), AREB-6 (en la posición ~-285 y ~-1053 pb), NF-kB (en la posición ~-419 a -421 pb y NF-kB (en la posición ~-419 a 421 pb y ~607 a ~-609 pb) y HSF (en las posiciones ~80 a -102 pb, ~109 a -206 pb, ~264, ~-378 pb a -610, ~-619 pb a -819 y ~-838 pb).

Finalmente, los TF encontrados en la familia **Cryptococcaceae**, corresponden a C/EBP (en las posiciones ~-253 a -373 pb y ~735 a -1099 pb), Sp1 (~-160 pb) y HSF (~-9 pb, ~-260 a -264 pb y



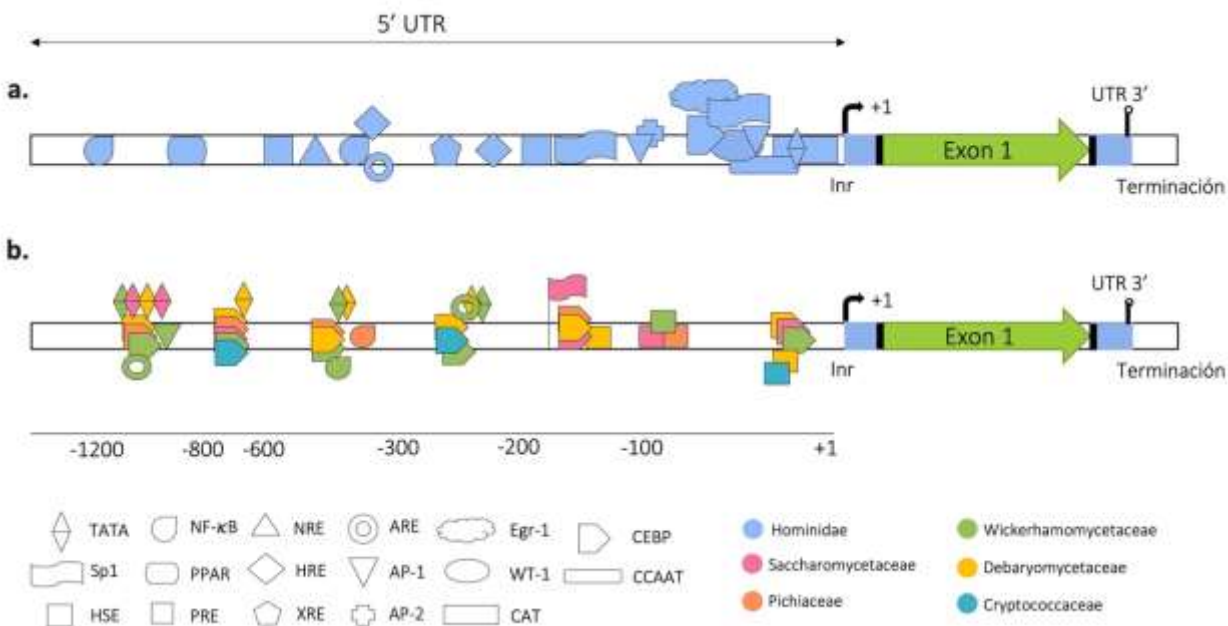
~-491 a -611 pb). El resumen de los TF encontrados en humanos y en las diferentes familias de levaduras, se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Resumen de TF encontrados en humanos y en las diferentes familias de levaduras.

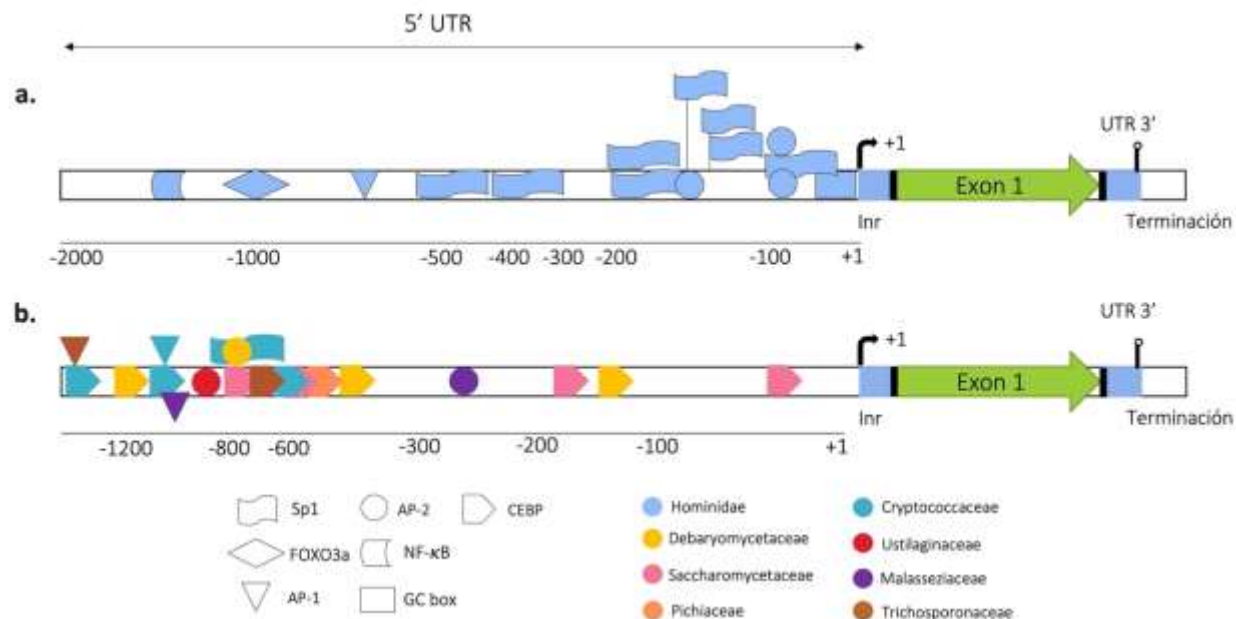
TF	Ascom.					Basidio.				
	<i>H. sap.</i>	<i>Deb.</i>	<i>Sacch.</i>	<i>Pich.</i>	<i>Cr.</i>	<i>H. sap.</i>	<i>Deb.</i>	<i>Sacch.</i>	<i>Pich.</i>	<i>Cr.</i>
	<i>sod1</i>					<i>sod2</i>				
AP-1	si	no	no	no	no	si	no	no	no	si
AP-2	si	no	no	no	no	si	si	no	no	no
ARE	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
C/EBP	si	si	si	si	si	no	si	si	si	si
CAT	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
CCAAT	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Egr-1	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
FOXO3a	no	no	no	no	no	si	no	no	no	no
GC	no	no	no	no	no	no	no	no	no	no
HRE	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
HSF	si	si	si	si	si	no	no	no	no	no
NF- $\kappa$ B	si	no	no	si	no	si	no	no	no	no
NRE	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
PPAR	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
PRE	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
Sp1	si	no	si	no	si	si	no	no	no	no
TATA	si	si	si	si	no	no	no	no	no	no
WT-1	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no
XRE	si	no	no	no	no	no	no	no	no	no

Con respecto al gen *sod2*, en la figura 41b se muestran los TF homólogos a los del gen *sod2* de humano que se muestran en la figura 41a. De acuerdo con la figura 41b, los TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod2* de las especies pertenecientes a la familia **Debaryomycetaceae** son: C/EBP (en las posiciones ~-135 a 137 pb, ~-397 a 596 pb y ~-1087 pb) y AP-2 (en la posición ~-757 pb). En cuanto a las familias **Pichiaceae** y **Saccharomycetaceae** el único TF encontrado es C/EBP (en la posición ~-586 pb y ~-34 a -104 pb, ~-174 a 196 pb, ~-215 a -290 pb, ~-574 a -589 pb, ~-648, ~-901 pb a ~-981 y ~-1015 pb, respectivamente). En las especies de la familia **Cryptococcaceae** se encontraron los TF C/EBP (en la posición ~-600 pb, ~-872 y ~-1263 pb), AP-1 (en la posición ~-1104 pb). En las especies de la familia **Ustilaginaceae**, el TF encontrado fue AP-2 (en la posición ~-865 pb). Los TF encontrados en las especies de la familia **Malasseziaceae** son: AP-1 (en la posición ~-909 pb) y AP-2 (en la posición ~-260 pb).

Finalmente, en la familia **Trichosporonaceae**, los TF que pudieron encontrarse son: C/EBP (en la posición  $\sim$ -742 pb) y AP-1 (en la posición  $\sim$ -1291 pb).



**Figura 40.** Organización y estructura genómica del gen *sod1*. Los elementos regulatorios identificados en la región 5'UTR se representan por las diferentes figuras y los números positivos y negativos debajo del gen indican la posición de estos elementos de acuerdo con el sitio de inicio (+1). Los colores de cada figura corresponden a las diferentes familias (humano y de levaduras) en las que se ha encontrado respectivo factor de transcripción. **a.** gen *sod1* de humano reportado por Miao y St. Clair (2009), y **b.** estructura representativa del gen *sod1* en levaduras (este trabajo).



**Figura 41.** Organización y estructura genómica del gen *sod2*. Los elementos regulatorios identificados en la región 5'UTR se representan por las diferentes figuras y los números positivos y negativos debajo de cada gen indican la posición de estos elementos de acuerdo con el sitio de inicio (+1). Los colores de cada figura corresponden a las diferentes familias (humano y de levaduras) en las que se ha encontrado respectivo factor de transcripción. **a.** gen *sod2* de humano reportado por Miao y St. Clair (2009), y **b.** estructura representativa del gen *sod2* en levaduras (este trabajo).

## 8. DISCUSIÓN

El presente estudio generó la primera base de datos de las secuencias UTR 5' y 3' UTR de los genes *sod1* y *sod2*, a partir de secuencias de genes reportadas (o de los genomas completos anotados) de diversas especies de levaduras. La razón por la que se consideraron especies pertenecientes a los filos de Ascomycetes y Basidiomycetes se debe a que, aunque genéricamente las levaduras son consideradas “hongos ascomycetes” fermentativos, algunos taxones de levaduras pertenecen al filo basidiomycetes al presentar una fase de crecimiento unicelular (Blackwell y Spatafora, 2004). Por tanto, las levaduras pertenecientes al filo Ascomycetes mencionadas en Kurtzman (2011) y al filo Basidiomycetes señaladas en Boekhout *et al.* (2011) presentadas en las Tablas A1 y A2 (Anexo A), respectivamente, fueron empleadas para la búsqueda de sus respectivos genomas (Boekhout *et al.*, 2011b; Kurtzman, 2011). Las especies de levaduras mostradas en las Tablas A4 y A6 no se encuentran dentro del contenido de la base de datos, al no presentar similitud a los genes *sod1* y *sod2*, respectivamente. Lo anterior posiblemente se deba a la ausencia de este gen en las secuencias analizadas o a la obtención de bajos porcentajes de similitud en la comparación de las secuencias.

Aunque se sabe que las regiones no traducidas en los extremos 5' y 3' (es decir, 5' y 3' UTR) de los genes tienen un papel importante en la regulación genética al contener secuencias que funcionan como sitios de unión para proteínas reguladoras (factores de transcripción o TF) (Tuller *et al.*, 2009; Lin y Li, 2012), los mecanismos de regulación asociados a la región 3'UTR han resultado más difíciles además de que muy pocos elementos regulatorios han sido descritos en esta región (Wilkie *et al.*, 2003). Por lo anterior, para este estudio fueron seleccionados los resultados referentes a la caracterización de las regiones 5'UTR para su análisis a fondo.

La caracterización de la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* expuso la composición de estas regiones en las diferentes levaduras del filo Ascomycetes y Basidiomycetes, en las que se obtuvieron TF comunes y específicos entre algunas de ellas, en los diferentes niveles taxonómicos evaluados (cepas, especies, géneros y/o filos). Los TF que presentaron en común todas las levaduras en cada nivel evaluado (cepas de una misma especie, especies de un mismo género, géneros de un mismo filo y géneros de filos diferentes) en la región 5'UTR del gen *sod1*

y *sod2* fueron los pertenecientes a las siguientes familias de TF: C/EBP, Cdx, HSF, KLF, HOX, HSF, Pax, SOX y TATA. La incidencia de estos TF en la región 5'UTR de todas las levaduras analizadas, podría sugerir un papel importante en la estructura y regulación de la expresión de los genes *sod1* y *sod2*. Algunos de los TF obtenidos corresponden a elementos básicos del promotor como la caja TATA, CCAAT o la región rica en GC (Struhl, 1995). En cuanto a los otros elementos encontrados, algunos de ellos han sido previamente identificados como TF que regulan la expresión de los genes *sod1* y *sod2* de forma constitutiva e inducible bajo condiciones extra e intracelulares específicas (Milani *et al.*, 2011), especialmente en especies como humano y rata como el factor C/EBP (Miao y St. Clair, 2009), y los TFs NF- $\kappa$ B, AP-1, AP-2, HSF y Sp1, los cuales también aparecen (aunque en mínima frecuencia) como parte de la región 5'UTR de algunas levaduras (Miao y St. Clair, 2009).

Los resultados de la caracterización de la región 5'UTR en las levaduras del filo Ascomycetes mostraron que al evaluar los genes *sod1* y *sod2* las cepas de *D. hansenii* (Figs. 3, 4, 11 y 12) así como las diferentes especies del género *Debaryomyces* (Figs. 17, 18, 25 y 26) en ambos genes y ambos niveles taxonómicos aparecen los TF de las familias C/EBP, Cdx, HSF y TATA. La caja TATA, corresponde a uno de los tres elementos esenciales que componen la región promotora en las levaduras, necesarios para la regulación de la transcripción (Struhl, 1995). En el caso del gen *sod2*, aunque aparece en algunas cepas de *D. hansenii* de acuerdo con estudios realizados en genomas humanos sobre la estructura y organización molecular del gen que codifica la MnSOD carece de cajas TATA y CCAAT. Sin embargo, usualmente contienen varios motivos ricos en residuos GC en la región del promotor proximal (Miao y St. Clair, 2009); y solo una cepa de la especie *Cr. gattii* (basidiomicete) mostró una región rica en GC la región 5'UTR del gen *sod1*. Específicamente en el gen *sod1* se ha reportado, que este elemento es característico de la región promotora proximal, así como la caja CCAAT (reconocida por las proteínas C/EBPs) y regiones ricas en residuos GC (reconocida por Sp1) (Miao y St. Clair, 2009; Milani *et al.*, 2011). Las regiones CCAAT son altamente conservadas entre los organismos eucariotas, por lo que frecuentemente se unen diferentes elementos que reconocen secuencias homólogas a la región CCAAT en las regiones promotoras de estos organismos (Mao y Chen, 2019). Uno de estos elementos reguladores es C/EBP (CCAAT/enhancer-binding proteins, por sus siglas en inglés),

que consiste en 6 miembros (C/EBP $\alpha$  a C/EBP $\zeta$ ) que interactúan selectivamente con la región CCAAT en el promotor de los genes y cuyo papel dentro de la expresión constitutiva e inducible del gen *sod1* ha sido comprobado anteriormente (Miao y St. Clair, 2009). Estudios anteriores en el gen *sod1* de humano han podido demostrar que el TF C/EBP se superpone parcialmente a la secuencia Sp1/Egr-1 en el promotor proximal, actuando como activadores de la transcripción, sugiriendo que además de ser necesarios para una transcripción eficiente, están asociados a la regulación de la expresión basal e inducible del gen *sod1* (Diamanti *et al.*, 2016). En humanos, se ha demostrado que los miembros C/EBP $\alpha$  y C/EBP $\beta$  desempeñan papeles similares en la estimulación del gen *sod1*, mientras que el gen *sod1* de ratas, C/EBP $\alpha$  es quien actúa como principal activador de la transcripción del gen *sod1* (Seo *et al.*, 1997). Por otro lado, aunque el TF C/EBP aparece en la región 5'UTR del gen *sod2*, de acuerdo con estudios sobre la caracterización del gen *sod2* en humanos, este elemento suele ubicarse en la región potenciadora intrónica; el cual induce la expresión de la MnSOD en respuesta a estímulos por citoquinas (Miao y St. Clair, 2009). Debido a ello, la obtención de sitios de unión a C/EBP en el promotor proximal del gen *sod2* de estas cepas, puede atribuirse a la presencia de regiones similares a las reconocidas por el factor C/EBP o bien, por algún error en la longitud de la secuencia analizada. La aparición del TF HSF (Heat Shock Factor, HSF1 en mamíferos), tanto de la región 5'UTR del gen *sod1* y *sod2* es típicamente encontrado en los genomas de hongos, y se descubrió inicialmente en levaduras como un TF secuencia-específica que se une a los promotores de los genes HSP (Heat Shock Protein) (Gomez-Pastor *et al.*, 2018). La transcripción de estos genes se activa cuando las células se someten a choques térmicos o a otros tipos de estrés (Zhang *et al.*, 2011). La frecuencia con la que se obtuvieron diversos sitios de unión al factor HSF a lo largo de las regiones regulatorias tanto del gen *sod1* como del gen *sod2*, en las secuencias de genes de las diferentes levaduras, posiblemente se deba a dos razones: 1) a las múltiples copias de esta región específica que son características en la secuencia de ADN en el promotor de estos genes en las células eucariotas (Sorger y Pelham, 1987), sobre todo porque se trata de una de las proteínas de unión a ADN ampliamente conservadas desde los hongos hasta los humanos (Gomez-Pastor *et al.*, 2018), y 2) como evidencia de su papel en la transcripción de los genes *sod*, pues se conoce que su expresión está estrictamente regulada en respuesta a diversos estímulos estresantes: como el choque térmico, el esfuerzo cortante, la

presencia de metales pesados, la irradiación UVB y X, y altos contenidos de peróxido de hidrógeno, ozono, óxido nítrico, ácido araquidónico y xenoquímicos (Chang et al., 1999; Yoo et al., 1999; Zelko et al., 2002; Miao y St. Clair, 2009; Milani et al., 2011).

En cuanto a los TF pertenecientes a las familias Cdx, Pax, SOX y KLF, aunque no han sido anteriormente reportados en el genoma de levaduras, ni como parte de la estructura génica de los genes *sod*, su presencia podría estar asociada a la regulación de la expresión de los genes *sod*, debido a su relación con procesos celulares como desarrollo, diferenciación, proliferación, entre otros. Estos factores corresponden cada uno a familias altamente conservadas que regulan la expresión de genes en algunas especies de eucariotas y participan como activadores de la transcripción desempeñando papeles importantes en la regulación de la expresión de sus genes blanco en las especies correspondientes. Además, en su mayoría son TF sensibles a estímulos externos como estrés e hipoxia (Nomura et al., 1993; Maytin y Habener, 1998; Ferreira et al., 2005; Arratia y Aguirre, 2013; Yang et al., 2017). Pax corresponde a una familia de factores que se han encontrado en muchas especies como *Drosophila*, nemátodos, erizos de mar, peces cebrá, pollos, ranas, ratones y humanos, pero hasta 2010, no se había identificado en levaduras, plantas, hongos o protozoos. Sus funciones van desde proliferación, diferenciación y migración celular, hasta la inhibición de la apoptosis. Aunque su frecuencia en la región 5'UTR de los genes *sod* de varias levaduras podría estar asociada a la regulación, es posible que su aparición se deba a su capacidad de reconocer más de una secuencia de ADN, por lo que presentan diversos sitios de unión (Wang et al., 2010). En cuanto a la familia de factores Cdx, corresponde a un grupo de proteínas de unión al ADN que regulan la expresión de los genes HOX que codifican las proteínas del mismo nombre, las cuales en hongos juegan un papel importante en procesos de reproducción, diferenciación, metabolismo secundario y virulencia (Son et al., 2020). Esto, a su vez, justifica la incidencia de TF de la familia HOX en la región 5'UTR de los genes *sod* en muchas levaduras, pues se conoce que la mayoría de los hongos de filos Ascomycetes y Basidiomycetes contienen aproximadamente 12 genes que codifican proteínas de tipo HOX, con diversos papeles en la biología fúngica (Son et al., 2020). Por otra parte, la familia SOX corresponde a TFs que actúan como reguladores en el desarrollo celular, y su desregulación se ha implicado en enfermedades como el cáncer (Sarkar y Hochedlinger, 2013).

Finalmente, la familia KLF también agrupa TF reguladores de diversos procesos biológicos que incluyen proliferación, diferenciación, crecimiento, desarrollo, supervivencia y respuestas ante condiciones de estrés (McConnell y Yang, 2010). Por tanto, estos TFs podrían actuar como activadores o represores transcripcionales en relación a los procesos celulares como proliferación, diferenciación, apoptosis (así como algunas etapas críticas del desarrollo) en la célula ante condiciones de estrés oxidativo (provocado por niveles elevados de ROS), pues se sabe estas pueden inducir el proceso de diferenciación celular además de un incremento en la expresión de enzimas antioxidantes (entre ellas SOD), que a su vez pueden actuar como inhibidores del desarrollo (Aguirre *et al.*, 2005; Hansberg *et al.*, 2008; Ye *et al.*, 2015a). Por otra parte, ya que las mitocondrias son el principal organelo productor de la mayoría de las ROS (principalmente el superóxido) y a la MnSOD como la principal enzima desintoxicante de las células debido a su localización, se le ha relacionado a éstas con procesos de apoptosis (Holley *et al.*, 2011); y a la enzima MnSOD con papel en la supresión del cáncer (St. Clair, 2004). Por tanto, ya que estos TF se encuentran relacionados con el desarrollo y la diferenciación celular, podría esperarse que participen como reguladores de la expresión constitutiva e inducible del gen *sod2*, influyendo en el papel de la mitocondria (Aguirre *et al.*, 2005). No obstante, como se ha mencionado, no se han reportado anteriormente como parte de la estructura de los genes *sod1* y *sod2*.

Dadas las propiedades fisiológicas y bioquímicas que presentan las especies del género *Debaryomyces* y particularmente la especie *D. hansenii* se podría sugerir una relación entre sus distintos hábitats de origen y las condiciones ambientales predominantes (Michán *et al.*, 2013). Ya que *Debaryomyces* es una de las levaduras que puede encontrarse en diferentes ambientes naturales como suelo, agua de mar, comida, muestras clínicas y glaciares (Kumar *et al.*, 2012; Wrent *et al.*, 2014); siendo la especie *D. hansenii* la levadura más frecuente en agua de mar cuya principal característica es su halotolerancia/halofilia cuyas características de crecimiento consisten en rangos de pH de 2.5-9.0 y temperaturas óptimas de mayor crecimiento entre 1-5°C, poca tolerancia al calor y concentraciones de NaCl entre 0.5-2.5M. Por lo que es posible que, ante cualquier variación de alguna de las propiedades anteriormente mencionadas, la célula sea sometida a algún tipo de estrés adicional en el que los TF que aparecen en esta región



interpreten un importante papel en la regulación de los genes *sod1* y *sod2*. Aunque la mayoría de las cepas de *D. hansenii* tanto en el gen *sod1* como en el gen *sod2* varios TF en común, aquellos TF específicos de cada cepa posiblemente se encuentren asociados al hábitat de proveniencia de cada una. Estudios de caracterización basados en la respuesta ante estímulos en cepas de *D. hansenii* aisladas de diferentes orígenes, demostraron una alta variabilidad de respuestas entre cepas sugiriendo que la diversidad en fenotipos podría depender de las cepas y la adaptación a sus distintos orígenes ambientales (Michán *et al.*, 2013). La alta biodiversidad que presenta *D. hansenii* (Michán *et al.*, 2013) puede ser la razón por la que haya sido la única especie de este género, en compartir al menos un TF con el resto de las especies del género *Debaryomyces* (Fig. 18) respecto a la región 5'UTR del gen *sod1* y *sod2*. Es posible que los TF que comparte *D. hansenii* con el resto de las especies analizadas (*D. subglobosus*, *D. prosopidis*, *D. nepalensis*, *D. fabryi* y *D. maramus*, Figs. 18 y 26) correspondan a aquellos necesarios para una adecuada regulación de los genes *sod1* y *sod2* y ya que estas especies presentan características bioquímicas y fisiológicas no tan extremas (como temperaturas de crecimiento entre 30-37 °C) derivadas de su hábitat de origen es probable razón que dentro de su contenido, no se obtuvieran muchos TF específicos en esas especies. Se conoce que las especies *D. fabryi*, *D. subglobosus* y *D. hansenii* presentan características fisiológicas similares o cercanas, lo que podría explicar su relación en la composición de la región 5'UTR del gen *sod2*; no obstante, se sabe que son genéticamente distintas (Wrent *et al.*, 2014). La diferencia en el contenido de la región 5'UTR entre los genes *sod1* y *sod2* en el género *Debaryomyces* (con sus respectivas especies y cepas) podría estar relacionada a que es una levadura cuya bioenergética depende en gran medida de la respiración y ya que la mitocondria (donde se localiza SOD2) es el principal orgánulo que metaboliza el oxígeno es también el mayor generador de ROS (Holley *et al.*, 2011), por lo que es posible que para su regulación intervengan TF adicionales.

En cuanto a los resultados de la caracterización de la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* de las cepas pertenecientes a *K. marxianus* (Figs. 5 y 6) así como las diferentes especies del género *Kluyveromyces* (Figs. 19-20 y 27-28), los TF presentados en común por todas las cepas (de entre los que se incluyen los anteriormente mencionados) en el gen *sod1* podrían también estar asociados a las condiciones ambientales de su hábitat y la similitud entre las diferentes cepas

analizadas podría sugerir características similares en el hábitat de origen. El género *Kluyveromyces* está compuesto por levaduras aisladas de una variedad de nichos ecológicos como plantas, moscas de la fruta, agua de mar y productos lácteos (Mounier y Coton, 2022). Lo anterior se considera ya que un estudio realizado en diferentes cepas de *K. marxianus* mostró que algunas de ellas presentan múltiples vías de resistencia y adaptación a diferentes tipos de estrés ambiental (como temperatura, concentraciones de osmolitos, y estrés de la pared celular) (Lane *et al.*, 2011). No obstante, se conoce poco acerca de la fisiología de esta especie por lo que es difícil determinar el nivel de diversidad fenotípica entre las cepas y especies del género *Kluyveromyces* (Lane *et al.*, 2011). Esta misma razón podría explicar la diferencia entre las diferentes especies del género *Kluyveromyces* que se presentan al comparar el contenido de la región 5'UTR en el gen *sod1*, donde todas muestran los TF específicos de cada especie. Dado que el factor HSF se encuentra en todas las cepas y especies de este género en ambos niveles taxonómicos, es posible inferir su presencia en ambientes de diferentes tipos de estrés (Zhang *et al.*, 2011). Además, es posible que el contenido de esta región en ambos genes esté relacionado a la incapacidad que presentan algunas especies de este género de mantener el equilibrio redox en condiciones de bajo oxígeno (Lane *et al.*, 2011). Debido a que agentes como el alcohol inducen la expresión del gen *sod2*, es posible que la producción de etanol por parte de *K. marxianus* participe como un inductor en la expresión de este gen (St. Clair, 2004). El TF de la familia Myb encontrado en la cepa NRRL Y-6860 de *K. marxianus* se ha implicado en la regulación del metabolismo y de procesos fundamentales como la proliferación y la diferenciación celular, así como en la señalización celular en respuesta a estímulos externos (Arratia y Aguirre, 2013), así como algunos de los TF anteriormente descritos.

La presencia del TF NF- $\kappa$ B encontrado específicamente en el gen *sod1* de la cepa Y-3 de *D. hansenii* y de la especie *K. aestuarii* así como en el gen *sod2* de *D. fabryi* puede también asociarse a las condiciones ambientales en las se han encontrado estas levaduras, ya que se trata de un TF inducible en respuesta a estímulos como citoquinas, radiación y estrés oxidativo (Milani *et al.*, 2011). En el gen *sod1* la presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> desencadena la vía de señalización PI3K-AKT (relacionada con procesos de proliferación, apoptosis, etc.) lo que activa al factor NF-

kB e induce la transcripción del gen (Diamanti *et al.*, 2016), mientras que en el gen *sod2* es considerado un TF crucial en la inducción de su expresión (Miao y St. Clair, 2009).

Estudios de caracterización en cepas de la especie *B. bruxellensis* han podido determinar que esta especie presenta una tolerancia a condiciones ambientales adversas tales como baja disponibilidad de nutrientes, bajos niveles de pH y altos niveles de etanol y SO<sub>2</sub>, lo que podría justificar la presencia de TF que se activan como respuesta a estímulos, en la región 5'UTR del gen *sod1* en las cepas y especies de *Brettanomyces* (Figs. 7 y 8), como: HSF, Cdx, KLF, Pax, anteriormente mencionados. Además, se ha observado que la configuración genómica de ciertas cepas está relacionada con los mecanismos de supervivencia en ciertos nichos como la cerveza, el vino y los barriles de madera (lugares comunes de aislamiento), lo que sugiere que la configuración de la región 5'UTR de cada cepa podría depender del hábitat de origen. Al comparar el contenido de la región 5'UTR en las diferentes especies del género *Brettanomyces*, es evidente la diversidad en cada una de ellas en cuanto a los TF obtenidos y de acuerdo con los resultados de un estudio de genotipo/fenotipo realizado en diferentes cepas y especies de *Brettanomyces* (Colomer *et al.*, 2020) donde se observó una gran diversidad, se ha sugerido la presión por adaptación natural como principal causa de la diversidad genómica entre estas especies (Colomer *et al.*, 2020).

Se sabe que las secuencias genómicas y la arquitectura genética dentro de la especie *S. cerevisiae* puede variar y con la información mencionada anteriormente podría sugerirse que la posible razón de que las cepas de *S. cerevisiae* hayan presentado los mismos TF dentro de la región 5'UTR del gen *sod2* se debe a características ambientales similares en el hábitat de origen. Sin embargo, las cepas de laboratorio, como es el caso de las cepas S288C y BY4742 (Figs. 13 y 14) se han observado difieren de las cepas industriales en distintas respuestas fenotípicas a cambios ambientales, limitación de nutrientes, estrés por bajas temperaturas, entre otras. Además, a pesar de la importancia de *S. cerevisiae* como organismo modelo, no existe mucha información sobre el verdadero nicho de origen, abundancia y estilo de vida natural de esta y las diferentes especies del género *Saccharomyces* (Johnson y Echavarri-Erasun, 2011). No obstante, la información disponible acerca de las diferentes especies del género

*Saccharomyces* incluye una alta diversidad fenotípica y genotípica entre especies, que le permiten la adaptación a diferentes nichos, lo cual podría justificar la evidente diferencia en la composición de la región 5'UTR del gen *sod2* obtenida en las diferentes especies del género (Alsammar y Delneri, 2020).

Los resultados de la caracterización de la región 5'UTR en las levaduras del filo Basidiomycetes mostraron que la región 5'UTR del gen *sod1* de las cepas de *Cr. gattii* son muy similares entre sí, (Fig. 9) a pesar de estar reportadas genotípicamente como muy distintas unas de otras, además de encontrarse variadamente distribuidas por el mundo (Gupta *et al.*, 2020); mientras que en el gen *sod2* solo tres cepas están estrechamente relacionadas (Fig. 15). En ambos genes las cepas presentan en común TF de las familias Cdx, HSF, PAX y SOX, anteriormente descritos. En cuanto a elementos reguladores específicos de ciertas cepas, de todas las levaduras analizadas en este estudio, solo una cepa de la especie *Cr. gattii* presentó una región rica en GC o caja GC en la región 5'UTR del gen *sod1* (Fig. 10), que corresponde a una región altamente conservada que ha sido identificada anteriormente como parte de la región promotora del gen *sod1* de humano, rata, ratón y bovinos (Zelko *et al.*, 2002). A estas regiones se une el TF Sp1, obtenido en la región 5'UTR de este gen en la cepa CA1873 de *Cr. gattii* así como en la cepa 2001/935-1 del gen *sod2*, donde actúa como potenciador en el gen *sod1*. Se ha demostrado que la sobreexpresión de este TF potencia la actividad del promotor basal del gen *sod1* (Milani *et al.*, 2011). Debido a que la región promotora de los tres tipos de SOD (SOD1, SOD2 Y SOD3) contiene regiones ricas en GC, se sugiere que el TF Sp1 desempeña un papel regulador común en la expresión de la SOD (Miao y St. Clair, 2009). El papel de Sp1 puede suprimirse por el factor AP-2, que interactúa en la región 5'UTR del gen *sod2* (encontrado en las especies de *Pseudozyma* y *Malassezia*) el cual, ante elevadas cantidades de este TF, actúa como represor de la expresión constitutiva del gen *sod2* (Zelko *et al.*, 2002; Miao y St. Clair, 2009).

Algunos de los TF cepa-específicos que se encontraron en la región 5'UTR, su participación ha sido descrita en el gen *sod2* de algunas especies, mientras que aquellos que no se han reportado, su función ha podido relacionarse. Uno de ellos es ZEB o AREB6 (también encontrado en el gen *sod2* de *D. hansenii*) y SNAIL1 que aparecen específicamente en las cepas 2001/935 y

IND107, respectivamente, han sido descritos en humano y en la especie *Drosophila melanogaster* y se unen a la misma secuencia consenso, la E-box (CACCTGT ó CAGGTG), donde actúan como represores de ciertos genes (Ikeda et al., 1998; Wu y Zhou, 2010). El papel de ZEB en la regulación de la expresión del gen *sod2* podría estar relacionado a que ZEB funciona como represor de la transcripción del gen IL-2 (Interleucina-2) (Wu y Zhou, 2010) y como se ha mencionado anteriormente, el gen *sod2* es altamente inducible por citoquinas (St. Clair, 2004). ATF/CREB que específicamente presentó la cepa WM276 en su región 5'UTR (además del elemento HOX anteriormente descrito) en el gen *sod2* de humano se ha descrito se activa mediante el agente estimulante de la proteína quinasa C, TPA (acetato de tetradecanoilforbol) e induce la expresión del gen (Zelko et al., 2002). El TF de la familia GLI-Kruppel encontrado en la cepa IND107 corresponde a YY1 (también obtenido en el gen *sod2* de *D. hansenii*), ha sido encontrado y descrito en genes *sod1* de rata y su papel consiste en unirse a elementos negativos en la región *upstream* del gen *sod1* de ratas, regulando negativamente la expresión del gen. Sin embargo, este TF no fue encontrado en el gen *sod1* (Miao y St. Clair, 2009). La variedad en la composición de la región 5'UTR del gen *sod1* y *sod2* (Figs. 24 y 31, respectivamente) en especies del género *Cryptococcus* podrían a su vez estar relacionadas principalmente a la fuente de aislamiento y las condiciones ambientales de las especies dada la diversidad que presenta el género, el cual según fuentes se encuentra principalmente en el suelo, excremento de aves y en los huecos de los árboles (Gupta et al., 2020). Un estudio de comparación de la SOD1 entre las especies *Cr. neoformans* var. *neoformans* y *Cr. neoformans* var. *gattii*, concluyó que ambas especies presentan diferencias bioquímicas y genéticas significativamente diferentes que pudieran estar involucradas en el papel de la SOD1 ante la protección del radical superóxido (Hamilton y Holdom, 1997). Si se compara lo anterior con los resultados obtenidos en la región 5'UTR del gen *sod1* de las especies *Cr. gattii* y *Cr. neoformans* (Figs. 23 y 24), es evidente que, aunque comparten en común gran parte de los TF encontrados en toda la región, siguen presentando gran diferencia en su composición. Dado que *Cryptococcus* es un hongo que puede alojarse en huéspedes como humanos y animales se caracteriza por presentar varios rasgos de adaptación y supervivencia, como diferentes temperaturas y pH, es probable que la composición en la región 5'UTR en cada especie resulte tan variable (Bahn et al., 2020; Gupta et al., 2020). Condiciones de estrés oxidativo como las

recién mencionadas pueden provocar alteraciones en la expresión de los genes *sod* y la actividad de ciertos TF como AP-1, obtenido específicamente en la especie *Cr. neoformans*, puede encontrarse modulada por ellas (Miao y St. Clair, 2009).

La comparación entre géneros de levaduras pertenecientes al mismo filo de Ascomycetes (Figs. 33 y 34) de Basidiomycetes (Fig. 35), así como entre ambos filos (Figs. 36 y 37) con respecto al contenido de la región 5'UTR evidenció no solo la frecuencia de los TF anteriormente descritos (Cdx, HSF, C/EBP, KLF, Pax, HOX y TATA) si no también la de otros TF en común tanto en el gen *sod1* como en el *sod2* tales como Pbx, POU y SCAN-ZFP. El papel de estos TF en los genes de *sod* se podría relacionar con las características fisiológicas en las que viven este tipo de levaduras y con el papel de las SOD en la célula pues se trata de factores que intervienen en la regulación de la transcripción de genes diana asociados con procesos de supervivencia, proliferación y diferenciación, así como con genes asociados con la resistencia al estrés oxidativo y citotóxico (Sander et al., 2003; Vázquez-Arreguín y Tantin, 2016). Esta comparación entre la región 5'UTR de los géneros de Ascomycetes muestra una mayor relación entre los géneros, *Debaryomyces*, *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* tanto en el contenido del gen *sod1* como en el gen *sod2*, aunque evidentemente en el caso del gen *sod1*, los TF encontrados en todo el filo se encuentran más ampliamente distribuidos entre los cuatro géneros. De esta comparación resaltan otros TF frecuentes entre estos tres géneros: NIT2 y MATalpha2 (MAT $\alpha$ 2) pertenecientes a las familias GATA y TALE/M-ATYP, respectivamente. NIT2 es un TF global que regula positivamente la expresión de más de 100 genes relacionados con el metabolismo del nitrógeno (Tao y Marzluf, 1999). Dado que las especies reactivas en la célula provienen no solo de la conversión química y biológica del oxígeno (ROS), sino también del nitrógeno, lo que produce especies reactivas de nitrógeno (RNS, por sus siglas en inglés), la posible relación existente entre el TF NIT y los genes *sod* pudiera estar asociada al papel de las RONS en el daño de las biomoléculas provocado por estrés oxidativo y en su participación dentro de las cascadas de señalización intracelular (Weidinger y Kozlov, 2015; Ye et al., 2015b). Por otra parte, MATalpha2, ha sido identificado en *S. cerevisiae* como un represor transcripcional, necesario para la expresión de genes específicos; el cual es degradado rápidamente por el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS, por sus siglas en

inglés) (Laney *et al.*, 2006) y de acuerdo con su función, este TF podría ser uno de los principales en el control de la expresión de los genes *sod*.

De acuerdo con toda la evidencia mencionada anteriormente respecto a la posible relación entre las condiciones ambientales de la diversidad de hábitats en los que han podido encontrarse las diferentes levaduras incluidas en este estudio, es posible pensar que la razón por la que existen similitudes en el contenido de la región 5'UTR de los genes *sod1* y *sod2* entre levaduras de distintos filos, es la probable similitud en las condiciones de estrés o la exposición a estímulos externos a las que están expuestas las levaduras en sus diferentes entornos.

La idea de que la frecuencia de ciertos TF en los diferentes niveles taxonómicos evaluados esté relacionada con una función conservada y esencial de las enzimas SOD como parte del principal sistema de defensa antioxidante de muchos organismos filogenéticamente diversos (Giles *et al.*, 2005), puede reforzarse al observar los resultados de la comparación entre el gen *sod1* y *sod2* de ambos filos con respecto al contenido general de sus regiones 5'UTR (Figs. 38 y 39). Debido a que estudios sobre la evolución de las diferentes formas de SOD han sugerido que la aparición de estas y otras enzimas antioxidantes probablemente se originaron de una misma proteína cuya función era proteger a los organismos primitivos del oxígeno, es posible pensar que los TF en común entre ambos genes estén asociados con la potencial función de activación de la transcripción de la enzima, en relación con su función catalítica (dismutar iones superóxido); como es el caso de los elementos HSF, MATalpha2, NIT2 y ADR1 (Tablas A11 y A12, Anexo A), que están presentes en ambos filos en la región 5'UTR tanto del gen *sod1* como del gen *sod2* (que codifican la SOD1 y la SOD2, respectivamente) (Zelko *et al.*, 2002).

No obstante, las diferencias entre ambos genes podrían estar relacionadas en primera instancia a la divergencia evolutiva de las diferentes formas de SOD (Zelko *et al.*, 2002). Estudios filogenéticos estiman que la SOD2 es una de las formas de SOD más primitivas, junto con Fe-SOD, encontrándose en todas las especies desde Arqueas hasta Eucariotas, donde ambos metales eran altamente disponibles (debido a los bajos niveles de oxígeno atmosférico y oceánico) y centros catalíticos eficientes para la dismutación del superóxido. Mientras que SOD1

es considerada una de las formas de SOD más modernas, al encontrarse muy limitadamente en ciertos organismos y al desarrollarse una vez que los niveles de oxígeno atmosférico y oceánico se vieron incrementados en la tierra y los metales Cu y Zn estuvieron disponibles, lo cual sucedió en un punto de la evolución más lejano que SOD2 (Case, 2017). Aunado a lo anterior, las diferencias en la estructura proteica entre SOD1 y SOD2 sugiere que ambas enzimas derivaron independientemente una de otra desarrollando una evolución convergente para llevar a cabo reacciones idénticas en un sistema biológico (Case, 2017). Hallazgos en diferentes especies entre las que se incluyen mamíferos, insectos y levaduras, de distintas enfermedades y consecuencias graves en los organismos, se han relacionado a polimorfismos genéticos en el gen *sod1* y/o *sod2* o la ausencia de alguna de estas dos enzimas, por lo que los TF encontrados en cada uno de los genes también podrían sugerir una asociación entre la función y la ubicación celular en la que se encuentra cada gen, así como a las necesidades y condiciones de cada organismo (Chung, 2017).

El análisis de la comparación entre la estructura génica de las regiones 5' UTR de los genes *sod1* y *sod2* de organismos eucariotas superiores con las levaduras analizadas en el presente estudio (Figs. 40 y 41), mostró que los elementos C/EBP, ARE, AP-1, AP-2 TATA, NF-kB, Sp-1 y HSE son homólogos a los previamente identificados en otras especies como humano (Tabla 3) (Miao y St. Clair, 2009). En el caso del gen *sod1* (Fig. 40) las características en la organización genómica han sido identificadas en otras especies como roedores y bovinos; cuyas secuencias (región 5'UTR, exones y regiones codificantes), se muestran significativamente similares entre estas especies (Miao y St. Clair, 2009). En cuanto al gen *sod2* (Fig. 41), la secuencia genómica completa ha sido caracterizada en humanos y otras especies como ratones, ratas y bovinos; en donde su estructura y secuencia primaria ha mostrado estar notablemente conservada entre estas especies, principalmente la región codificante, que comparte más del 90% de homología (Zelko *et al.*, 2002). No obstante, hasta donde esta investigación ha llegado, únicamente HSF que se une a las regiones HSE (Heat Shock Element, por sus siglas en inglés) ha sido relacionado directamente con levaduras, hongos y con las SOD; mientras que el resto de los TF no han sido descritos en estos organismos, como parte de la estructura del gen *sod1* y *sod2* de levaduras. Sin embargo, las Tablas A13-A19 (Anexo A), muestran el taxón de origen de algunos de los TF



obtenidos en las levaduras estudiadas en la presente investigación, logrando observar aquellos caracterizados dentro del taxón Fungi o bien, de otros eucariotas.

Por tanto, aunque no toda la información sobre los genes *sod1* y *sod2* en especies de levaduras se encuentra disponible en bases de datos o en bibliografía, los estudios de caracterización de estos genes en otras especies pudieran servir como información preliminar a estudios posteriores, que podría determinar la organización y estructura genómica de los genes *sod1* y *sod2* en estas especies y ampliar el conocimiento sobre los elementos involucrados en la regulación de la expresión de estos genes en las levaduras.

## 9. CONCLUSIONES

El conjunto de TF obtenidos en cada una de las regiones reguladoras 5'UTR de los genes *sod* en las diferentes levaduras empleadas en este estudio, como resultado de la comparación de las secuencias de los genes *sod1* y *sod2* con los genomas de otros organismos eucariotas, sugiere que la regulación transcripcional del gen *sod1* y *sod2* está altamente controlada por condiciones extra e intracelulares (Miao y St. Clair, 2009). La principal razón de ello se debe al comportamiento dual que presentan las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RNOS); ya que no solo actúan como subproductos metabólicos dañinos para las biomoléculas como el ADN, proteínas y lípidos y otros componentes celulares (Aguirre *et al.*, 2005), sino que las RNOS participan como importantes mensajeros en los mecanismos de señalización celular como la proliferación, diferenciación, apoptosis y algunas etapas críticas del desarrollo, por lo que son necesarias para que se produzcan estos procesos (Ye *et al.*, 2015b). Esto podría explicar el por qué la mayoría de los TF que se obtuvieron tanto en el gen *sod1* como en el gen *sod2* son activadores de la expresión constitutiva e inducible de estos genes, pues las ROS (particularmente  $O_2\bullet$  y  $H_2O_2$ ) desempeñan papeles diferentes, o incluso opuestos, durante los diferentes procesos celulares; como  $H_2O_2$  que en condiciones fisiológicas participa en la activación de factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, mientras que en condiciones de estrés, puede inducir la apoptosis o necrosis (Scandalios, 2005). El estado redox de la célula está involucrado en la regulación de varios TF (activadores), por lo que se ve afectada la expresión de genes diana y la modulación de las vías de señalización celular (Miao y St. Clair, 2009). No obstante, el estrés oxidativo generado en las células no solo proviene de las condiciones fisiológicas que abruman los sistemas biológicos, sino también de las condiciones ambientales en las que se desenvuelven, pues existe evidencia sustancial acerca de una variedad de factores bióticos y abióticos que inducen la producción de ERO, que sirven como un factor común en la regulación de varias vías de señalización (Scandalios, 2005). Dado que las levaduras se encuentran ampliamente distribuidas en diversos tipos de hábitat (desde atmosféricos, acuáticos y terrestres) (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Blackwell y Spatafora, 2004) es posible pensar que, a lo largo de su historia evolutiva, han desarrollado mecanismos de adaptación a los cambios ambientales continuos y a las condiciones metabólicas disponibles en donde existen; que provocan una serie de estreses o “shocks” en las células (Scandalios, 2005; Case, 2017). Por

mencionar, hábitats marinos y estuarinos del que ha sido aisladas levaduras del género *Debaryomyces* o *Cryptococcus*; hábitats hipersalinos de donde se han aislado levaduras del género *Debaryomyces* o *Yarrowia*; alejado de la costa y en mares profundos y del suelo como el género *Cryptococcus* ó de plantas marinas como *Debaryomyces* y *Kluyveromyces*, entre otros (Kandasamy *et al.*, 2012). Aunado a esto, ya que se ha visto que las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas intrínsecas de los miembros de un hábitat se encuentran relacionadas con las condiciones ambientales que predominan en el hábitat, es posible asumir que las similitudes presentadas entre algunas cepas, especies o géneros (e incluso entre familias) de las levaduras en cuanto a la caracterización de las regiones 5'UTR y 3'UTR de los genes *sod1* y *sod2*, pueda estar asociada a un mismo tipo de hábitat o a condiciones muy similares en el que puedan encontrarse (Kandasamy *et al.*, 2012). Aunque las condiciones ambientales de la tierra primitiva proporcionaron los elementos clave para crear las primeras enzimas SOD1 y SOD2 (Case, 2017), la evolución tanto del gen *sod1* como del gen *sod2* muy posiblemente está asociada a la localización de cada uno en la célula, especialmente el gen *sod2* presente en mitocondria, al ser un órgano generador y eliminador de especies reactivas de oxígeno (St. Clair, 2004).

La importancia en el conocimiento de los mecanismos de regulación de los genes *sod* se pone en relevancia debido a su relación en la patogénesis de muchas enfermedades, sobre todo aquellas relacionadas con la diferenciación celular; como el cáncer debido a la pérdida del proceso de diferenciación, por ejemplo. En cuanto al gen *sod1*, la regulación de su expresión se ha asociado con el envejecimiento, enfermedades neurológicas y cardiovasculares, así como posibles complicaciones relacionadas a la diabetes (Tsang *et al.*, 2014). O la más conocida de ellas, la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), que se caracteriza por la degeneración de las neuronas motoras y su muerte como resultado de insuficiencia respiratoria (O'Brien *et al.*, 2004; Milani *et al.*, 2011). En cuanto al gen *sod2*, los factores que afectan la expresión y/o la actividad de esta enzima, dan como resultado una capacidad antioxidante disminuida en la célula, provocando una alteración en la función metabólica mitocondrial y consecuencias en la salud general de la célula, lo que lleva al desarrollo y progresión de varias enfermedades (Case, 2017).

Aunque los elementos que intervienen en la regulación de la expresión de los genes *sod1* y *sod2*, se ha detallado en una gran variedad de especies, más no profundamente en especies de levaduras, así como el papel crucial que desempeñan las regiones 5'UTR y 3'UTR en la regulación de todos los genes (Mignone et al., 2002; De Nijs et al., 2020), los resultados obtenidos en este estudio representan un antecedente para posteriores análisis; bajo la premisa de que los mecanismos reguladores de la transcripción son fundamentalmente similares en los organismos eucariotas (Struhl, 1995; Winge et al., 1998).

Estudios adicionales sobre la caracterización de los genes *sod1* y *sod2* son requeridos para profundizar el conocimiento acerca de su composición genética, sobre todo en especies de levaduras dada su importancia como modelo biológico en el esclarecimiento de procesos básicos de fisiología celular.

## 10. LITERATURA CITADA

Abreu, IA. y Cabelli, DE. (2010). Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1804(2): 263–274. doi: 10.1016/j.bbapap.2009.11.005

Aguirre, J., Ríos-Momberg, M., Hewitt, D. y Hansberg, W. (2005). Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes. *Trends in Microbiology*, 13(3): 111–118. doi: 10.1016/j.tim.2005.01.007

Alsammar, H. y Delneri, D. (2020). An update on the diversity, ecology and biogeography of the *Saccharomyces* genus. *FEMS Yeast Research*, 20(3). doi: 10.1093/femsyr/foaa013

Arratia, J. y Aguirre, J. (2013). Los factores de transcripción tipo Myb, una familia de reguladores de la diferenciación celular conservada en los organismos eucariontes. *TIP*, 16(2): 98–108. doi: 10.1016/s1405-888x(13)72081-3

Bahn, YS., Sun, S., Heitman, J. y Lin, X. (2020). Microbe profile: *Cryptococcus neoformans* species complex. *Microbiology (United Kingdom)*, 166(9): 797–799. doi: 10.1099/mic.0.000973

Berg, JM., Tymoczko, JL. y Stryer, L. (2008). Fosforilación oxidativa. In: Bioquímica, 6a ed. Reverté, Barcelona, pp 518–519

Blackwell, M. y Spatafora, JW. (2004). Fungi and Their Allies. In: Mueller G, Foster M, Bills G (eds) Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods, 1a ed. ed. Elsevier, Inc., pp 7–16

Boekhout, T., Fonseca, Á., Sampaio, JP., Bandoni, RJ., Fell, JW. y Kwon-Chung, KJ. (2011). Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Basidiomycetous Yeasts. In: The Yeasts Elsevier, pp 1339–1372

Carri, MT., Galiazzo, F., Ciriolo, MR. y Rotilio, G. (1991). Evidence for co-regulation of Cu,Zn superoxide dismutase and metallothionein gene expression in yeast through transcriptional control by copper via the ACE 1 factor. *FEBS Letters*, 278(2): 263–266. doi: 10.1016/0014-5793(91)80131-L

Case, AJ. (2017). On the origin of superoxide dismutase: An evolutionary perspective of superoxide-mediated redox signaling. *Antioxidants*, 6(4): 1–21. doi: 10.3390/antiox6040082

Castillo Casaña, Y., Riverón, G. y Li, F. (2014). Superóxido dismutasa citosólica y enfermedades genéticas. Cytosolic superoxide dismutase and genetic diseases. *Rev Cubana Genet Comunit* 8:5–11

Chung, WH. (2017). Unraveling new functions of superoxide dismutase using yeast model system: Beyond its conventional role in superoxide radical scavenging. *Journal of Microbiology*, 55(6): 409–416. doi: 10.1007/s12275-017-6647-5

Colomer, MS., Chailyan, A., Fennessy, RT., Olsson, KF., Johnsen, L., Solodovnikova, N. y Forster, J. (2020). Assessing Population Diversity of *Brettanomyces* Yeast Species and Identification of Strains for Brewing Applications. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi: 10.3389/fmicb.2020.00637

Culotta, VC., Klomp, LWJ., Strain, J., Casareno, RLB., Krems, B. y Gitlin, JD. (1997). The copper chaperone for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 272(38): 23469–23472. doi: 10.1074/jbc.272.38.23469

De Nijs, Y., de Maeseneire, SL. y Soetaert, WK. (2020). 5' untranslated regions: the next regulatory sequence in yeast synthetic biology. *Biological Reviews*, 95(2): 517–529. doi: 10.1111/brv.12575

Devlin, TM. (2015). Bioenergética y metabolismo oxidativo. In: Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas, 4a ed. Ed. Reverté, S.A., p 592

Diamanti, L., Zucchi, E., Pansarasa, O., Ceroni, M. y Cereda, C. (2016). SOD1, from Bench to Bed: New Role for the Oldest Protein Implicated in ALS. In: Update on Amyotrophic Lateral Sclerosis In Tech

Ferreira, R., Ohneda, K., Yamamoto, M. y Philipsen, S. (2005). GATA1 Function, a Paradigm for Transcription Factors in Hematopoiesis. *Molecular and Cellular Biology*, 25(4): 1215–1227. doi: 10.1128/mcb.25.4.1215-1227.2005

Fridovich, I. (2013). Superoxide Dismutase. In: Encyclopedia of Biological Chemistry, 2a ed. Elsevier Inc., pp 352–354

Giles, SS., Batinić-Haberle, I., Perfect, JR. y Cox, GM. (2005). *Cryptococcus neoformans* mitochondrial superoxide dismutase: An essential link between antioxidant function and high-temperature growth. *Eukaryotic Cell*, 4(1): 46–54. doi: 10.1128/EC.4.1.46-54.2005

Gomez-Pastor, R., Burchfiel, ET. y Thiele, DJ. (2018). Regulation of heat shock transcription factors and their roles in physiology and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(1): 4–19. doi: 10.1038/nrm.2017.73

Gupta, S., Paul, K. y Kaur, S. (2020). Diverse species in the genus *Cryptococcus*: Pathogens and their non-pathogenic ancestors. *IUBMB Life*, 72(11): 2303–2312. doi: 10.1002/iub.2377

Hahn, S. y Young, ET. (2011). Transcriptional regulation in *Saccharomyces cerevisiae*: Transcription factor regulation and function, mechanisms of initiation, and roles of activators and coactivators. *Genetics*, 189(3): 705–736. doi: 10.1534/genetics.111.127019

Hamilton, AJ. y Holdom, MD. (1997). Biochemical Comparison of the Cu,Zn Superoxide Dismutases of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *Infection and Immunity*, 65(2): 488–494. Disponible en: <https://journals.asm.org/journal/iai>

Hansberg, W., Aguirre, J., Ríos-Momberg, M., Rangel, P., Peraza, L., Montes De Oca, Y. y Cano-Domínguez, N. (2008). Cell Differentiation as a Response to Oxidative Stress. In: *Stress in Yeast and Filamentous Fungi*. pp 235–257

Hernández-Saavedra, NY. (1997). Caracterización de la enzima superóxido dismutasa tipo cobre-zinc de la levadura marina *Debaryomyces hansenii*, y clonación de la secuencia que la codifica a partir de ADNc. Tesis doctoral, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Holley, AK., Bakthavatchalu, V., Velez-Roman, JM. y St. Clair, DK. (2011). Manganese superoxide dismutase: Guardian of the powerhouse. *International Journal of Molecular Sciences* 12:7114–7162

Iglesias Neira, Jacobo. (2009). Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. Universidade de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico. ISBN: 9788498872545

Ikeda, K., Jo, J., Halle, J-P., Stelzer, G., Meisterernst, M. y Kawakami, K. (1998). Involvement of Negative Cofactor NC2 in Active Repression by Zinc Finger-Homeodomain Transcription Factor AREB6

Johnson, EA. y Echavarri-Erasun, C. (2011). Yeast biotechnology. In: *The Yeasts Elsevier*, pp 21–44

Kanamasa, S., Sumi, K., Yamuki, N., Kumasaka, T., Miura, T., Abe, F. y Kajiwara, S. (2007). Cloning and functional characterization of the copper/zinc superoxide dismutase gene from the heavy-metal-tolerant yeast *Cryptococcus liquefaciens* strain N6. *Molecular Genetics and Genomics*, 277(4): 403–412. doi: 10.1007/s00438-006-0197-6

Kandasamy, K., Alikunhi, NM. y Subramanian, M. (2012). Yeasts in marine and estuarine environments. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 3(6): 74–82. doi: 10.5897/JYFR12.003

Keele, BB., McCord, JM. y Fridovich, I. (1970). Superoxide Dismutase from *Escherichia coli* B. *Journal of Biological Chemistry*, 245(22): 6176–6181. doi: 10.1016/s0021-9258(18)62675-4

Kohlmeyer, J. y Kohlmeyer, E. (1979). Yeasts. In: *Marine Mycology*. Elsevier, pp 556–606

Kumar, S., Randhawa, A., Ganesan, K., Raghava, GPS. and Mondal, AK. (2012). Draft genome sequence of salt-tolerant yeast *Debaryomyces hansenii* var. *hansenii* MTCC 234. *Eukaryotic Cell*, 11(7): 961–962. doi: 10.1128/EC.00137-12

Kurtzman, CP. (2011). Discussion of teleomorphic and anamorphic ascomycetous yeasts and yeast-like taxa. In: *The Yeasts Elsevier*, pp 293–307

Kurtzman, CP., Fell, JW. y Boekhout, T. (2011a). Definition, classification and nomenclature of the yeasts. In: *The Yeasts Elsevier*, pp 3–5

Lane, MM., Burke, N., Karreman, R., Wolfe, KH., O'Byrne, CP. y Morrissey, JP. (2011). Physiological and metabolic diversity in the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 100(4): 507–519. doi: 10.1007/s10482-011-9606-x

Laney, JD., Mobley, EF. y Hochstrasser, M. (2006). The Short-Lived Mata2 Transcriptional Repressor Is Protected from Degradation In Vivo by Interactions with Its Corepressors Tup1 and Ssn6. *Molecular and Cellular Biology*, 26(1): 371–380. doi: 10.1128/mcb.26.1.371-380.2006

Lang-Hinrichs, C. (1995). Gene Regulation in Yeast. In: Esser K., Lemke PA (eds) *The Mycota. A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research* Springer-Verlag, pp 141–146

Lin, Z. y Li, WH. (2012). Evolution of 5' untranslated region length and gene expression reprogramming in yeasts. *Molecular Biology and Evolution*, 29(1): 81–89. doi: 10.1093/molbev/msr143

Linz, JE., Hong, SY. Y Roze, LV. (2013). Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism. *Toxins (Basel)* 5:683–702

Mao, Y. y Chen, C. (2019). The Hap Complex in Yeasts: Structure, Assembly Mode, and Gene Regulation. *Frontiers in Microbiology*, 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.01645

Maytin, E v. y Habener, JF. (1998). Transcription Factors C/EBP $\alpha$ , C/EBP $\beta$ , and CHOP (Gadd153) Expressed During the Differentiation Program of Keratinocytes *In Vitro* and *In Vivo*

McConnell, BB. y Yang, VW. (2010). Mammalian Krüppel-Like factors in health and diseases. *Physiological Reviews* 90:1337–1381

McCord, JM. y Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 244(22): 6049–6055. doi: 10.1016/S0021-9258(18)63504-5

Miao, L. y St. Clair, DK. (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine* 47:344–356

Michán, C., Martínez, JL., Alvarez, MC., Turk, M., Sychrova, H. y Ramos, J. (2013). Salt and oxidative stress tolerance in *Debaryomyces hansenii* and *Debaryomyces fabryi*. *FEMS Yeast Research*, 13(2): 180–188. doi: 10.1111/1567-1364.12020

Mignone, F., Gissi, C., Liuni, S. y Pesole, G. (2002). Untranslated regions of mRNAs. Disponible en: <http://genomebiology.com/2002/3/3/reviews/0004.1><http://genomebiology.com/2002/3/3/reviews/0004>



Milani, P., Gagliardi, S., Cova, E. y Cereda, C. (2011). SOD1 transcriptional and posttranscriptional regulation and its potential implications in ALS. *Neurology Research International*

Monteiro, PT., Oliveira, J., Pais, P., Antunes, M., Palma, M., Cavalheiro, M., Galocha, M., Godinho, CP., Martins, LC., Bourbon, N., Mota, MN., Ribeiro, RA., Viana, R., Sá-Correia, I. y Teixeira, MC. (2020). YEASTRACT+: A portal for cross-species comparative genomics of transcription regulation in yeasts. *Nucleic Acids Research*, 48(D1): D642–D649. doi: 10.1093/nar/gkz859

Mounier, J. y Coton, M. (2022). *Kluyveromyces* spp. In: Encyclopedia of Dairy Sciences Elsevier, pp 569–574

Nomura, N., Zu, YL., Maekawa, T., Tabata, S., Akiyama, T. y Ishii, S. (1993). Isolation and characterization of a novel member of the gene family encoding the cAMP response element-binding protein CRE-BP1. *Journal of Biological Chemistry*, 268(6): 4259–4266. doi: 10.1016/s0021-9258(18)53604-8

O'Brien, EM., Dirmeier, R., Engle, M. y Poyton, RO. (2004). Mitochondrial protein oxidation in yeast mutants lacking manganese- (MnSOD) or copper- and zinc-containing superoxide dismutase (CuZnSOD): Evidence that mnsod and cuznsod have both unique and overlapping functions in protecting mitochondrial proteins from oxidative damage. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50): 51817–51827. doi: 10.1074/jbc.M405958200

Olof Nehlin, J. y Ronne, H. (1990). Yeast MIG 1 repressor is related to the mammalian early growth response and Wilms' tumour finger proteins

Sander, TL., Stringer, KF., Maki, JL., Szauter, P., Stone, JR. y Collins, T. (2003). The SCAN domain defines a large family of zinc finger transcription factors. *Gene*, 310(1–2): 29–38. doi: 10.1016/S0378-1119(03)00509-2

Sarkar, A. y Hochedlinger, K. (2013). The Sox family of transcription factors: Versatile regulators of stem and progenitor cell fate. *Cell Stem Cell* 12:15–30

Scandalios, JG. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res*, 38(7): 995–1014

Seo, SJ., Kang, SS., Cho, G., Rho, HM. y Jung, G. (1997). C/EBP $\alpha$  and C/EBP $\beta$  play similar roles in the transcription of the human Cu/Zn SOD gene. *Gene*, 203(1): 11–15. doi: 10.1016/S0378-1119(97)00484-8

Seog CHANG, M., Yong YOO, H. y Mo RHO, H. (1999). Positive and negative regulatory elements in the upstream region of the rat Cu/Zn-superoxide dismutase gene

Solari, C., Echegaray, CV., Cosentino, MS., Petrone, MV., Waisman, A., Luzzani, C., Francia, M., Villodre, E., Lenz, G., Miriuka, S., Barañao, L. y Guberman, A. (2015). Manganese superoxide

dismutase gene expression is induced by Nanog and Oct4, essential pluripotent stem cells' transcription factors. *PLoS ONE*, 10(12). doi: 10.1371/journal.pone.0144336

Solari, C., Petrone, MV., Vazquez Echegaray, C., Cosentino, MS., Waisman, A., Francia, M., Baraño, L., Miriuka, S. y Guberman, A. (2018). Superoxide dismutase 1 expression is modulated by the core pluripotency transcription factors Oct4, Sox2 and Nanog in embryonic stem cells. *Mechanisms of Development*, 154: 116–121. doi: 10.1016/j.mod.2018.06.004

Son, SH., Son, YE., Cho, HJ., Chen, W., Lee, MK., Kim, LH., Han, DM. y Park, HS. (2020). Homeobox proteins are essential for fungal differentiation and secondary metabolism in *Aspergillus nidulans*. *Scientific Reports*, 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-63300-4

Sorger, PK. y Pelham, HRB. (1987). Purification and characterization of a heat-shock element binding protein from yeast

St Clair, D. (2004). Free Radicals: The Pros and Cons of Antioxidants Manganese Superoxide Dismutase: Genetic Variation and Regulation ISBN: 00223166/04

Struhl, K. (1995). YEAST TRANSCRIPTIONAL REGULATORY MECHANISMS. Disponible en: [www.annualreviews.org/aronline](http://www.annualreviews.org/aronline)

Struhl, K. (1993). Yeast transcription factors. *Current Opinion in Cell Biology*, 5(3): 513–520. doi: 10.1016/0955-0674(93)90018-L

Tao, Y. y Marzluf, GA. (1999). The NIT2 nitrogen regulatory protein of *Neurospora*: expression and stability of nit-2 mRNA and protein. *Current Genetics*, 36(3): 153–158. doi: 10.1007/s002940050485

Tortora, GJ., Funke, BR. and Case, CL. (2007). Eucariontes: hongos, algas, protozoos y helmintos. In: Introducción a la microbiología, 9a ed. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, pp 346–350  
Tsang, CK wan., Liu, Y., Thomas, J., Zhang, Y. y Zheng, XFS. (2014). Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance. *Nature communications*, 5: 3446. doi: 10.1038/ncomms4446

Tuller, T., Ruppin, E. y Kupiec, M. (2009). Properties of untranslated regions of the *S. cerevisiae* genome. *BMC Genomics*, 10. doi: 10.1186/1471-2164-10-391

Vázquez-Arreguín, K. y Tantin, D. (2016). The Oct1 transcription factor and epithelial malignancies: Old protein learns new tricks. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1859(6): 792–804. doi: 10.1016/j.bbagr.2016.02.007

Wang, YT., Pan, YJ., Cho, CC., Lin, BC., Su, LH., Huang, YC. y Sun, CH. (2010). A novel pax-like protein involved in transcriptional activation of cyst wall protein genes in *Giardia lamblia*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(42): 32213–32226. doi: 10.1074/jbc.M110.156620

Weidinger, A. y Kozlov, A v. (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: Oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules* 5:472–484

Wilkie, GS., Dickson, KS. y Gray, NK. (2003). Regulation of mRNA translation by 5'- and 3'-UTR-binding factors. *Trends in Biochemical Sciences* 28:182–188

Winge, DR., Jensen, LT. y Srinivasan, C. (1998). Metal-ion regulation of gene expression in yeast. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2(2): 216–221. doi: 10.1016/S1367-5931(98)80063-X

Wrent, P., Rivas, EM., Gil de Prado, E., Peinado, JM. y de Silóniz, MI. (2014). *Debaryomyces*. In: Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition Elsevier Inc., pp 563–570

Wu, Y. y Zhou, BP. (2010). Snail: More than EMT. *Cell Adhesion and Migration* 4:199–203

Yang, Y., Liu, L., Naik, I., Braunstein, Z., Zhong, J. y Ren, B. (2017). Transcription factor C/EBP homologous protein in health and diseases. *Frontiers in Immunology* 8

Ye, ZW., Zhang, J., Townsend, DM. y Tew, KD. (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1850(8): 1607–1621. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.11.010

Yong Yoo, H., Seog Chang, M. y Mo Rho, H. (1999). The Activation of the Rat Copper/Zinc Superoxide Dismutase Gene by Hydrogen Peroxide through the Hydrogen Peroxide-responsive Element and by Paraquat and Heat Shock through the Same Heat Shock Element. ISBN: 2388723892

Zelko, IN., Mariani, TJ. y Folz, RJ. (2002). SUPEROXIDE DISMUTASE MULTIGENE FAMILY: A COMPARISON OF THE CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), AND EC-SOD (SOD3) GENE STRUCTURES, EVOLUTION, AND EXPRESSION. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(3): 337-349. doi: 10.1016/s0891-5849(02)00905-x

Zhang, Y., Chou, SD., Murshid, A., Prince, TL., Schreiner, S., Stevenson, MA. y Calderwood, SK. (2011). The role of heat shock factors in stress-induced transcription. *Methods in Molecular Biology*, 787: 21–32. doi: 10.1007/978-1-61779-295-3\_2

## 11. ANEXOS

**Anexo A.-Tabla A1.** Levaduras del filo Ascomycetes consideradas para la generación de base de datos<sup>1</sup>.

Familia	Género	Especies	Cepas
Neoelectaceae	<i>Neoelecta</i>	1	1
Pneumocystidaceae	<i>Pneumocystis</i>	3	5
Schizosaccharomycetaceae	<i>Schizosaccharomyces</i>	4	22
Protomycetaceae	<i>Protomyces</i>	7	8
	<i>Saitoella</i>	1	1
Taphrinaceae	<i>Taphrina</i>	9	13
Ascoideaceae	<i>Ascoidea</i>	2	2
Cephaloascaceae	<i>Cephaloascus</i>	2	2
Debaryomycetaceae	<i>Debaryomyces</i>	7	17
	<i>Kurtzmaniella</i>	3	3
	<i>Lodderomyces</i>	1	2
	<i>Meyerozyma</i>	5	11
	<i>Millerozyma</i>	2	3
	<i>Priceomyces</i>	4	4
	<i>Scheffersonmyces</i>	4	6
	<i>Spathaspora</i>	9	10
	<i>Wickerhamia</i>	1	1
	<i>Yamadazyma</i>	9	9
Dipodascaceae	<i>Dipodascus</i>	2	2
	<i>Galactomyces</i>	1	1
	<i>Geotrichum</i>	2	10
Lipomycetaceae	<i>Lipomyces</i>	9	9
	<i>Myxozyma</i>	1	1
Metschnikowiaceae	<i>Aciculoconidium</i>	1	1
	<i>Clavispora</i>	11	110
	<i>Hyphopichia</i>	6	7
	<i>Kodamea</i>	5	7
	<i>Metschnikowia</i>	2	4
Phaffomycetaceae	<i>Komagatella</i>	4	7
	<i>Phaffomyces</i>	4	4
Pichiaceae	<i>Brettanomyces/Dekkera</i>	5	24
	<i>Kregervanrija</i>	2	2
	<i>Pichia</i>	13	25
	<i>Saturnispora</i>	7	8
Saccharomycetaceae	<i>Eremothecium</i>	4	5
	<i>Kazachstania</i>	20	23
	<i>Kluyveromyces</i>	7	22
	<i>Lachancea</i>	11	11
	<i>Nakaseomyces</i>	6	23
	<i>Naumovozyma</i>	2	8
	<i>Saccharomyces</i>	20	24
	<i>Tetrapisispora</i>	5	5
	<i>Torulasporea</i>	8	33

Familia	Género	Especies	Cepas
	<i>Vanderwaltozyma</i>	1	1
	<i>Zygossacharomyces</i>	9	16
	<i>Zygorulasporea</i>	2	3
Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora/Kloeckera</i>	18	31
	<i>Saccharomyces</i>	1	1
Saccharomycopsidaceae	<i>Saccharomycopsis</i>	9	13
Trichomonascaceae	<i>Blastobotrys</i>	8	8
	<i>Sugiyamaella</i>	2	2
	<i>Trichomonascus</i>	1	1
	<i>Wickerhamiella</i>	9	14
	<i>Zygoascus</i>	2	2
Wickerhamomycetaceae	<i>Barnettozyma</i>	6	8
	<i>Lindnera</i>	12	18
	<i>Starmera</i>	3	3
	<i>Wickerhamomyces</i>	10	12
	<i>Ambrosiozyma</i>	8	9
	<i>Ascobotryozyma/Botryozyma</i>	1	1
	<i>Babjeviella</i>	1	1
	<i>Candida</i>	17	94
	<i>Citeromyces</i>	3	4
	<i>Kuraishia</i>	3	3
	<i>Macrorhabdus</i>	1	1
	<i>Magnusiomyces</i>	5	5
	<i>Nadsonia</i>	2	3
	<i>Nakazawaea</i>	3	3
	<i>Ogataea</i>	24	25
	<i>Pachysolen</i>	1	2
	<i>Peterozyma</i>	2	3
	<i>Saprochaete</i>	3	3
	<i>Sporopachudermia</i>	2	2
	<i>Starmerella</i>	13	21
<i>Trigonopsis</i>	2	2	
<i>Wickerhamia</i>	1	1	
<i>Yarrowia</i>	15	44	

Nota: <sup>1</sup> Modificado de Kurtzman, 2011.

**Anexo B.-Tabla A2.** Levaduras del filo Basidiomicetes consideradas para generación de base de datos<sup>2</sup>.

Orden	Género	Especies	Cepas
Agaricostibales	<i>Agaricostilbum</i>	2	2
	<i>Chionosphaera</i>	2	2
	<i>Kondoa</i>	3	4
	<i>Mycogloea</i>	1	1
	<i>Bensingtonia</i>	1	1
	<i>Kurtzmanomyces</i>	1	1
	<i>Sporobolomyces</i>	3	3
Cystobasidiales	<i>Cystobasidium</i>	5	5
	<i>Occultifur</i>	1	1
	<i>Rhodotorula</i>	12	12
Erythrobasidiales	<i>Bannoa</i>	1	1
	<i>Erythrobasidium</i>	2	2
Naohideales	<i>Naohidea</i>	1	1
Incertae sedis	<i>Sakaguchia</i>	2	2
	<i>Cyrenella</i>	1	1
Leucosporidiales	<i>Leucosporidium</i>	2	3
Mucrobotryales	<i>Mucrobotryum</i>	7	7
	<i>Ustilentyloma</i>	1	1
Sporidiobolales	<i>Sporidiobolus</i>	2	2
Incertae sedis	<i>Colacogloea</i>	1	1
	<i>Curvibasidium</i>	1	1
	<i>Leucosporidium</i>	1	1
Mixiales	<i>Mixia</i>	1	1
Cystofilobasidiales	<i>Cystofilobasidium</i>	4	7
	<i>Mrakia</i>	3	4
	<i>Phaffia</i>	3	6
	<i>Cryptococcus</i>	12	14
	<i>Guehomyces</i>	2	2
	<i>Udeniomyces</i>	2	2
Filobasidiales	<i>Filobasidium</i>	1	1
	<i>Bullera</i>	1	1
Tremellales	<i>Cuniculitrema</i>	1	1
	<i>Fibulobasidium</i>	1	1
	<i>Kwoniella</i>	2	2
	<i>Papiliotrema</i>	2	2
	<i>Sirobasidium</i>	1	1
	<i>Tremella</i>	2	2
	<i>Dioszegia</i>	2	2
	<i>Fellomyces</i>	1	1
	<i>Kockovaella</i>	1	1
	<i>Trichosporon</i>	5	5
Incertae sedis	<i>Holtermannia</i>	1	1
Entylomatales	<i>Tilletiopsis</i>	1	1
Exobasidiales	<i>Acaromyces</i>	1	1
	<i>Meira</i>	2	2

Orden	Género	Especies	Cepas
Malasseziales	<i>Malassezia</i>	16	16
Georgfischeriales	<i>Tilletiaria</i>	1	1
Microstromatales	<i>Sympodiomyopsis</i>	1	1
	<i>Quambalaria</i>	1	1
Incertae sedis	<i>Tilletiopsis albescens</i>	1	1
Ustilaginales	<i>Farysizyma</i>	1	1
	<i>Pseudozyma</i>	3	3

Nota: <sup>2</sup> Modificado de Boekhout *et al.* (2011)

**Anexo C.-Tabla A3.** Levaduras del filo Ascomicetes contenidas en base de datos.

Familia	Género	Especie	Cepa	
Ascoideaceae	<i>Ascoidea</i>	<i>A. rubescens</i>	DSM 1968	
		<i>A. asiatica</i>	JCM 7603	
Cephaloascaceae	<i>Cephaloascus</i>	<i>Cephaloascus albidus</i>	NRRL Y-7343	
Debaryomycetaceae	<i>Debaryomyces</i>	<i>D. hansenii</i>	CBS767	
			NRRL Y-7426	
			Y-3	
			J6	
			NRRL YB-155	
			NRRL Y-17914	
			NRRL Y-1449	
			NRRL YB-398	
			J26	
			MTCC 234	
			<i>D. subglobosus</i>	NRRL Y-6666
			<i>D. prosopidis</i>	NRRL Y-27369
			<i>D. nepalensis</i>	NRRL Y-7108
	<i>D. fabryi</i>	CBS 789		
		NRRL Y-17914		
	<i>Kurtzmaniella</i>	<i>K. cleridarum</i>	NRRL Y-48386	
		<i>[Candida] schatavii</i>	NRRL Y-17078	
		<i>[Candida] fragi</i>	NRRL Y-17910	
	<i>Lodderomyces</i>	<i>L. elongisporus</i>	NRRL YB-4239	
			NRRL YB-4239	
	<i>Millerozyma</i>	<i>M. farinosa</i>	KCTC 27753	
			CBS 7064	
		<i>M. acaciae</i>	JCM 10732	
	<i>Priceomyces</i>	<i>P. carsonii</i>	NRRL YB-4275	
			<i>P. castillae</i>	NRRL Y-7501
			<i>P. medius</i>	NRRL Y-7122
			<i>P. haplophilus</i>	JCM 1635
	<i>Scheffersonmyces</i>	<i>S. stambukii</i>	UFMG-CM-Y427	
			<i>S. lignosus</i>	JCM 9837
			<i>S. shehatae</i>	ATY839
	<i>Spathaspora</i>	<i>S. passalidarum</i>	NRRL Y-27907	
			<i>Spathaspora sp. JA1</i>	JA1
			<i>S. xylofermentans</i>	UFMG-HMD23.3
<i>S. girioi</i>			UFMG-CM-Y302	
<i>Yamadazyma</i>	<i>Y. scolyti</i>	NRRL Y-5512		
		<i>[Candida] aaseri</i>	SH-14	
Metschnikowiaceae	<i>Aciculoconidium</i>	<i>A. aculeatum</i>	NRRL YB-4298	
	<i>Clavispora</i>	<i>C. lusitaniae</i>	ATCC 42720	
			P1	
			P4	
			P2	
			P5	
			P3	
			CBS 6936	
<i>[Candida] haemuloni</i>	B11899			
<i>[Candida] haemuloni var. vulnera</i>	K1			



		<i>[Candida] heveicola</i>	NRRL Y-48716	
		<i>[Candida] fructus</i>	NRRL Y-17072	
		<i>[Candida] oregonensis</i>	NRRL Y-5850	
		<i>[Candida] blattae</i>	NRRL Y-27698	
		<i>[Candida] pseudohaemulonis</i>	B12108	
		<i>[Candida] duobushaemulonis</i>	B09383	
		<i>[Candida] intermedia</i>	CBS 141442	
		<i>[Candida] auris</i>	B11221	
	<i>Hyphopichia</i>	<i>[Candida] gotoi</i>	NRRL Y-27225	
		<i>Hyphopichia homilentoma</i>	JCM 1507	
<i>Kodamaea</i>	<i>[Candida] mesenterica</i>	UWOPS91-121.2		
	<i>[Candida] restingae</i>	NRRL Y-27358		
Phaffomycetaceae	<i>Komagataella</i>	<i>K. phaffii</i>	CBS 7435	
			CBS 7435	
			GS115	
			GS115	
		<i>K. pastoris</i>	ATCC 28485	
		<i>K. populi</i>	NRRL YB-455	
	<i>Phaffomyces</i>	<i>K. pseudopastoris</i>	NRRL Y-27603	
		<i>[Candida] orba</i>	NRRL Y-27336	
		<i>P. antillensis</i>	NRRL Y-12881	
		<i>P. thermotolerans</i>	NRRL Y-11709	
<i>P. opuntiae</i>	NRRL Y-11707			
Pichiaceae	<i>Brettanomyces/ Dekkera</i>	<i>B. bruxellensis</i>	UCD 2041	
			AWRI1613	
			AWRI1613	
			AWRI1499	
			CRL-50	
			CBS 2499	
			CBS 2796	
			LAMAP2480	
			<i>B. nanus</i>	CBS 1945
			<i>B. naardenensis</i>	CRL-65
	<i>B. anomalus</i>	CBS 7654		
	<i>B. custersianus</i>	CRL-53		
	<i>Pichia</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>	CBS573	
		<i>P. manshurica</i>	YM63	
		<i>P. nakasei</i>	NRRL Y-7686	
		<i>P. norvegensis</i>	NRRL Y-7687	
		<i>P. occidentalis</i>	NRRL Y-7552	
		<i>[Candida] inconspicua</i>	CBS 180	
	<i>Saturnispora</i>	<i>S. dispora</i>	NRRL Y-1447	
<i>S. hagleri</i>		NRRL Y-27828		
<i>S. mendoncae</i>		NRRL Y-11515		
<i>S. silvae</i>		NRRL Y-6725		
<i>S. zaruensis</i>		NRRL Y-7008		
Saccharomycetaceae	<i>Kazachstania</i>	<i>K. aerobia</i>	NRRL Y-27976	
		<i>K. africana</i>	CBS 2517	
		<i>K. bromeliacearum</i>	NRRL Y-48836	
		<i>K. intestinalis</i>	NRRL Y-48847	
		<i>K. kunashirensis</i>	NRRL Y-27209	
		<i>K. martiniae</i>	NRRL Y-409	

		<i>K. naganishii</i>	CBS 8797
		<i>K. rosinii</i>	NRRL Y-17919
		<i>K. saulgeensis</i>	
		<i>K. servazzii</i>	SRM102023
		<i>K. siamensis</i>	NRRL Y-48842
		<i>K. solicola</i>	NRRL Y-27207
		<i>K. spencerorum</i>	NRRL Y-17920
		<i>K. taianensis</i>	NRRL Y-48846
		<i>K. telluris</i>	UCD400
		<i>K. transvaalensis</i>	NRRL Y-17245
		<i>K. turicensis</i>	NRRL Y-48834
		<i>K. unispora</i>	NRRL Y-1556
		<i>K. viticola</i>	NRRL Y-27206
		<i>K. yakushimaensis</i>	NRRL Y-48837
	<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. aestuarii</i>	NRRL YB-4510
		<i>K. dobzhanskii</i>	NRRL Y-1974
		<i>K. lactis</i>	NRRL Y-1140
		<i>K. marxianus</i>	DMKU3-1042
			FIM 1
			NBRC 1777
			NRRL Y-6860
		B0399	
	<i>K. wickerhamii</i>	UCD 54-210	
	<i>Lachancea</i>	<i>L. dasiensis</i>	CBS10888
		<i>L. fermentati</i>	
		<i>L. kluyveri</i>	NRRL Y-12651
		<i>L. meyersii</i>	CBS 8951
		<i>L. nothofagi</i>	CBS 11611
		<i>L. quebecensis</i>	
		<i>L. thermotolerans</i>	CBS 6340
		<i>L. waltii</i>	NCYC 2644
		<i>Lachancea sp. PJ-2012a</i>	CBS 6924
	<i>Nakaseomyces</i>	<i>N. bacillisporus</i>	CBS 7720
		<i>N. delphensis</i>	CBS 2170
		<i>[Candida] glabrata</i>	CBS 138
			BG2
			ATCC 2001
			DSY562
			DSY565
		<i>[Candida] nivariensis</i>	CBS 9983
		<i>[Candida] bracarensis</i>	CBS 10154
	<i>[Candida] castellii</i>	CBS 4332	
	<i>Naumovozyma</i>	<i>N. castellii</i>	CBS 4309
		<i>N. dairenensis</i>	CBS 421
	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	S288C
			BY4742
			ySR128
			ySR127
		<i>S. kudriavzevii</i>	CR85
		<i>S. pastorianus</i>	CBS 1483
		<i>S. boulardii (nom. Inval.)</i>	unique28
		<i>Saccharomyces uvarum</i>	U3

		<i>S. arboricola</i>	H-6
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. kudriavzevii</i>	VIN7
		<i>S. paradoxus</i>	CBS 432
		<i>S. mikatae</i>	IFO 1815
		<i>S. bayanus</i>	NBRC1948
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. kudriavzevii</i> x <i>S. uvarum</i>	CBS 2834
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. kudriavzevii</i> x <i>S. eubayanus</i>	yHQL560
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. eubayanus</i> x <i>S. kudriavzevii</i> x <i>S. uvarum</i>	yHQL563
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. eubayanus</i> x <i>S. uvarum</i>	yHAB34
		<i>S. eubayanus</i> x <i>S. uvarum</i>	yHQL555
		<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. eubayanus</i>	yHAB38
		<i>S. jurei</i>	
		<i>Saccharomyces</i> sp. M14	M14
		<i>S. eubayanus</i>	FM1318
	<i>Tetrapisispora</i>	<i>S. cerevisiae</i> x <i>S. uvarum</i>	Muri
		<i>T. blattae</i>	CBS 6284
		<i>T. fleetii</i>	NRRL Y-27350
		<i>T. iriomotensis</i>	NRRL Y-27309
		<i>T. namnaoensis</i>	NRRL Y-27982
	<i>Torulaspora</i>	<i>T. phaffii</i>	CBS 4417
		<i>T. delbrueckii</i>	type strain: CBS 1146
		<i>T. franciscae</i>	NRRL Y-17532
		<i>T. globosa</i>	CBS764
		<i>T. maleeae</i>	CBS 10694
		<i>T. microellipsoides</i>	
		<i>T. pretoriensis</i>	CBS 2187
	<i>Vanderwaltozyma</i>	<i>V. polyspora</i>	DSM 70294
	<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Z. bailii</i>	CLIB 213 = CBS 680
		<i>Z. bisporus</i>	NRRL Y-12626
		<i>Z. kombuchaensis</i>	NRRL YB-4811
		<i>Z. mellis</i>	67431
		<i>Z. parabailii</i>	ATCC 60483
		<i>Z. pseudobailii</i>	
<i>Z. rouxii</i>		CBS 732	
<i>Z. sapae</i>			
<i>Zygotorulaspora</i>	<i>Z. florentina</i>	NRRL Y-1560	
	<i>Z. mrakii</i>	NRRL Y-6702	
Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora/</i> <i>Kloeckera</i>	<i>H. occidentalis</i>	CBS 6783
		<i>H. thailandica</i>	ZIM 2325
		<i>H. valbyensis</i>	NRRL Y-1626
		<i>Hanseniaspora</i> sp. 'singularis'	ZIM2326 Neza Cadez; ST-244
	<i>Hanseniaspora</i> sp. CRUB 1602	CRUB 1602	
<i>Saccharomycodes</i>	<i>S. ludwigii</i>	UTAD17	
Saccharomycopsidaceae	<i>Saccharomycopsis</i>	<i>S. capsularis</i>	NRRL Y-17639
		<i>S. crataegensis</i>	CBS 6447
		<i>S. fermentans</i>	CBS 7830

		<i>S. fibuligera</i>	ATCC 36309
		<i>S. fibuligera</i> x <i>S. cf. fibuligera</i>	KJJ81
		<i>S. malanga</i>	KCN26
		<i>S. schoenii</i>	CBS 7425
		<i>Saccharomycopsis</i> <i>sp.UWO(PS) 91-127.1</i>	UWO(PS) 91-127.1
Trichomonascaceae	<i>Blastobotrys</i>	<i>B. americana</i>	NRRL Y-6844
		<i>B. mokoensis</i>	NRRL Y-27120
		<i>B. serpentis</i>	NRRL Y-48249
	<i>Trichomonascus</i>	<i>T. ciferrii</i>	CBS 4856
	<i>Wickerhamiella</i>	<i>W. versatilis</i>	t-1
<i>C. versatilis</i>		t-1	
Wickerhamomycetaceae	<i>Zygoascus</i>	<i>Z. ofunaensis</i>	NRRL Y-10998
		<i>Z. meyeriae</i>	NRRL Y-17319
	<i>Barnettozyma</i>	<i>B. californica</i>	NRRL Y-17395
		<i>B. hawaiiensis</i>	NRRL Y-27270
		<i>B. populi</i>	NRRL Y-12728
		<i>B. pratensis</i>	NRRL Y-12696
		<i>B. salicaria</i>	NRRL Y-6780
		<i>[Candida] montana</i>	NRRL Y-17326
	<i>Lindnera</i>	<i>C. americana</i>	NRRL Y-2156
		<i>C. fabianii</i>	JCM 3601
			NRRL Y-1542
			NBRC0988
			CBS1600
		<i>C. macluriae</i>	NRRL Y-5377
		<i>C. misumaiensis</i>	NRRL Y-17389
		<i>C. mrakii</i>	NRRL Y-1364
		<i>C. petersonii</i>	NRRL YB-3808
		<i>C. saturnus</i>	NRRL Y-17396
		<i>C. suaveolens</i>	NRRL Y-17391
		<i>C. xylosilytica</i>	NRRL YB-2097
		<i>[Candida] mycetangii</i>	NRRL Y-6843
	<i>[Candida] vartiovaarae</i>		
	<i>Starmera</i>	<i>S. amethionina</i>	NRRL Y-10978
		<i>S. quercuum</i>	NRRL YB-4281
		<i>[Candida] stellimalicola</i>	NRRL Y-17912
	<i>Wickerhamomyces</i>	<i>W.alni</i>	NRRL Y-11625
		<i>W. anomalus</i>	NRRL Y-366-8
		<i>W. bovis</i>	NRRL YB-4184
		<i>W. canadensis</i>	NRRL Y-1888
		<i>W. ciferrii</i>	NRRL Y-1031 F-60-10
		<i>W. hampshirensis</i>	NRRL YB-4128
		<i>[Candida] ponderosae</i>	NRRL YB-2307
		<i>Wickerhamomyces sp. NRRL</i> <i>YB-2243</i>	NRRL YB-2243
<i>Ambrosiozyma</i>	<i>A. ambrosiae</i>	NRRL Y-7524	
	<i>A. kashinagicola</i>	JCM 15019	
	<i>A. monospora</i>	JCM 7599	
	<i>A. oregonensis</i>	NRRL Y-6106	
	<i>A. pseudovanderikiftii</i>	NRRL Y-63632	
	<i>Ambrosiozyma sp. 'maleeae'</i>	NRRL Y-63635	

		<i>A. vanderikliftii</i>	NRRL Y-63633	
	<i>Babjeviella</i>	<i>B. inositovora</i>	NRRL Y-12698	
	<i>Candida</i>	<i>C. albicans</i>	SC5314	
		<i>C. dubliniensis</i>	CD36	
		<i>C. maltosa</i>	Xu316	
		<i>Candida sp. JCM 15000</i>	JCM 15000	
		<i>Candida sp. LDI48194</i>	LDI48194	
		<i>C. theae</i>		
		<i>C. tropicalis</i>	MYA-3404	
		<i>[Candida] freyschussii</i>	NRRL Y-7957A	
		<i>[Candida] hispaniensis</i>		
		<i>Citeromyces</i>	<i>C. siamensis</i>	NRRL Y-27975
		<i>Kuraishia</i>	<i>K. molischiana</i>	NRRL Y-27899
	<i>K. ogatae</i>		NRRL Y-48474	
	<i>Nadsonia</i>	<i>N. fulvescens</i>	DSM 6958	
	<i>Nakazawaea</i>	<i>N. holstii</i>	NRRL Y-2155	
		<i>N. wickerhamii</i>	NRRL Y-2563	
		<i>N. peltata</i>	JCM 9829	
	<i>Ogataea</i>	<i>O. henricii</i>	NRRL YB-2194	
		<i>O. kodamae</i>	NRRL Y-17234	
		<i>O. methanolica</i>	JCM 10240	
		<i>O. minuta</i>	NRRL Y-411	
		<i>O. nitrataversa</i>	NRRL Y-48449	
		<i>O. nonfermentans</i>	NRRL YB-2203	
		<i>O. parapolyomorpha</i>	DL-1	
		<i>O. philodendri</i>	NRRL Y-7210	
		<i>O. polymorpha</i>	NCYC 495 leu1.1 BY4329	
		<i>O. populi-albae</i>	NRRL Y-48632	
		<i>O. trehaloabstinens</i>	NRRL Y-27595	
		<i>O. trehalophila</i>	NRRL Y-6781	
	<i>Peterozyma</i>	<i>P. toletana</i>	NRRL YB-4247	
		<i>P. xylosa</i>	NRRL Y-12939 NRRL Y-12939	
	<i>Saprochaete</i>	<i>Saprochaete fungicola</i>		
	<i>Yarrowia</i>	<i>Y. alimentaria</i>		
		<i>Y. bubula</i>	NRRL Y-63668	
		<i>Y. deformans</i>		
		<i>Y. divulgata</i>		
		<i>Y. galli</i>		
		<i>Y. hollandica</i>		
		<i>Y. keelungensis</i>	JCM 14894	
		<i>Y. lipolytica</i>	CLIB122	
			DSM 3286	
			CLIB89(W29)	
			WSH-Z06	
			IBT 446	
			H222 (CLIB 80)	
			W29 (CLIB89)	
	PO1f			
	W29			
	CBA6003			

			FKP 355.00
			YICW001
			PO1f
			NCIM 3589
			W29
			YB567
			YB566
			YB392
			YB419
			YB420
			NCIM 3590
		<i>Y. osloensis</i>	
		<i>Y. phangngaensis</i>	
		<i>Y. porcina</i>	
		<i>Y. yakushimensis</i>	
		<i>Yarrowia sp. JCM 30694</i>	JCM 30694
		<i>Yarrowia sp. JCM 30695</i>	JCM 30695
		<i>Yarrowia sp. JCM 30696</i>	JCM 30696

**Anexo D.-Tabla A4.** Número de especies al filo Ascomycetes sin resultados de similitud al gen *sod1* y/o *sod2*.<sup>3</sup>

Género	Especies	
	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>
<i>Neolecta</i>	1	1
<i>Pneumocystis</i>	2	3
<i>Saitoella</i>	-	1
<i>Protomyces</i>	7	1
<i>Taphrina</i>	3	2
<i>Meyerozyma</i>	4	-
<i>Lipomyces</i>	5	1
<i>Komagataella</i>	-	1
<i>Myxozyma</i>	1	-
<i>Pichia</i>	1	-
<i>Eremothecium</i>	1	-
<i>Torulaspota</i>	1	-
<i>Hanseniaspora</i>	1	-
<i>Wickerhamiella</i>	1	-
<i>Wickerhamomyces</i>	2	2
<i>Candida</i>	2	-
<i>Macrohabdus</i>	1	1
<i>Magnusiomyces</i>	1	-
<i>Nadsonia</i>	1	-
<i>Ogatea</i>	2	2
<i>Starmella</i>	3	1

Nota: <sup>3</sup> El signo (-) corresponde a secuencias no disponibles en bases de datos.

**Anexo E.-Tabla A5.** Levaduras del filo Basidiomycetes contenidas en base de datos.

Orden	Género	Especie	Cepa
Cystofilobasidiales	<i>Cryptococcus</i>	<i>Cr. amyloletus</i>	CBS 6039
			CBS 6273
		<i>Cr. depauperatus</i>	CBS 7855
			CBS 7841
		<i>Cr. florícola</i>	DSM 27421
		<i>Cr. cf. gattii</i>	MF34
		<i>Cr. gattii</i> VGI	WM276
		<i>Cr. gattii</i> VGII	2001/935-1
		<i>Cr. gattii</i> VGIII	CA1873
		<i>Cr. gatii</i> VGIV	IND107
		<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	H99
	<i>Cr. neoformans</i> AD hybrid	CBS 132	
		<i>Cr. wingfieldii</i>	CBS 7118
	<i>Udeniomyces</i>	<i>U. megalosporus</i>	JCM 5269
		<i>U. pyricola</i>	JCM 2958
Tremellales	<i>Kwoniella</i>	<i>K. bestiolae</i>	CBS 10118
		<i>K. dejecticola</i>	CBS 10117
	<i>Trichosporon</i>	<i>T. asahii</i> var <i>asahii</i>	CBS 2479
		<i>T. coremiiforme</i>	JCM 2938
		<i>T. faecale</i>	JCM 2941
Exobasidiales	<i>Acaromyces</i>	<i>A. ingoldii</i>	MCA 4198
Malasseziales	<i>Malassezia</i>	<i>M. dermatis</i>	JCM 11348
		<i>M. japónica</i>	JCM 11963
		<i>M. slooffiae</i>	CBS 7956
Ustilaginales	<i>Pseudozyma</i>	<i>P. hubeiensis</i>	SY62
		<i>Pseudozyma</i> sp. F8B2	F8B2
		<i>P. tsukubaensis</i>	NBRC 1940



**Anexo F.-Tabla A6.** Número de especies del filo Basidiomycetes sin resultados de similitud al gen *sod1* y/o *sod2*.

Género	Especies	
	<i>sod1</i>	<i>sod2</i>
<i>Agaricostilbum</i>	2	2
<i>Chionosphaera</i>	2	2
<i>Kondoa</i>	3	3
<i>Mycogloea</i>	1	1
<i>Bensingtonia</i>	1	1
<i>Kurtzmanomyces</i>	1	1
<i>Sporobolomyces</i>	3	3
<i>Cystobasidium</i>	4	4
<i>Occultifur</i>	1	1
<i>Rhodotorula</i>	12	7
<i>Bannoa</i>	1	1
<i>Naohidea</i>	1	1
<i>Sakaguchia</i>	2	2
<i>Cyrenella</i>	1	1
<i>Leucosporidium</i>	2	0
<i>Mycrobotryum</i>	7	1
<i>Ustilentyloma</i>	1	1
<i>Sporidiobolus</i>	2	0
<i>Colacogloea</i>	1	1
<i>Curvibasidium</i>	1	1
<i>Leucosporidium</i>	1	1
<i>Mixia</i>	1	0
<i>Cystofilobasidium</i>	4	3
<i>Mrakia</i>	3	0
<i>Phaffia</i>	3	0
<i>Guehomyces</i>	2	2
<i>Udeniomyces</i>	2	2
<i>Cuniculitrema</i>	1	1
<i>Fibulobasidium</i>	1	1
<i>Papiliotrema</i>	1	0
<i>Sirobasidium</i>	1	1
<i>Fellomyces</i>	1	1
<i>Tilletiopsis</i>	1	0
<i>Acaromyces</i>	1	0
<i>Meira</i>	2	0
<i>Malassezia</i>	16	0
<i>Tilletiaria</i>	1	0
<i>Sympodiomyces</i>	1	1
<i>Quambalaria</i>	1	0
<i>Tilletiopsis albescens</i>	1	1
<i>Farysizyma</i>	1	1
<i>Pseudozyma</i>	3	0

**Anexo G.-Tabla A7.** Levaduras Ascomicetes empleadas para caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen *sod1*.

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa	
Fungi	Ascomicetes	Debaryomycetaceae	<i>Debaryomyces</i>	<i>D. hansenii</i>	CBS767	
					NRRL Y-7426	
					Y-3	
					J6	
					NRRL YB-155	
					NRRL Y-17914	
					NRRL Y-1449	
					NRRL YB-398	
					J26	
					MTCC 234	
					<i>D. subglobosus</i>	NRRL Y-6666
					<i>D. prosopidis</i>	NRRL Y-27369
		<i>D. nepalensis</i>	NRRL Y-7108			
		<i>D. fabryi</i>	CBS 789			
			NRRL Y-17914			
		Kluyveromyces	<i>K. aestuarii</i>	NRRL YB-4510		
			<i>K. dobzhanskii</i>	NRRL Y-1974		
			<i>K. lactis</i>	NRRL Y-1140		
			<i>K. marxianus</i>	DMKU3-1042		
				FIM 1		
				NBRC 1777		
				NRRL Y-6860		
				B0399		
			<i>K. wickerhamii</i>	UCD 54-210		
			Saccharomycetaceae	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	S288C
						BY4742
						ySR128
		ySR127				
		<i>S. kudriavzevii</i>			CR85	
		<i>S. pastorianus</i>			CBS 1483	
		<i>S. boulardii (nom. Inval.)</i>			unique28	
		<i>S. uvarum</i>			U3	
		<i>S. arboricola</i>			H-6	
<i>S. paradoxus</i>	CBS 432					
<i>S. mikatae</i>	IFO 1815					
<i>S. bayanus</i>	NBRC1948					
<i>S. jurei</i>	GCA_900290405.1					
<i>Saccharomyces sp. M14</i>	M14					
<i>S. eubayanus</i>	FM1318					
Pichiaceae	<i>Brettanomyces</i>	<i>B. bruxellensis</i>	GCA_900496985.1			
			UCD 2041			
			GCA_902155815.1			
			UMY321			

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa	
					AWRI1613	
					AWRI1499	
					CRL-50	
					CBS 2499	
				<i>B. nanus</i>	CBS 1945	
				<i>B. naardenensis</i>	CRL-65	
				<i>B. anomalus</i>	CBS 7654	
				<i>B. custersianus</i>	CRL-53	
		Wickerhamomyce- taceae	<i>Yarrowia</i>	<i>Y. alimentaria</i>	GCA_900518985. 1	
				<i>Y. bubula</i>	GCA_900519075. 1	
					NRRL Y-63668	
					<i>Y. deformans</i>	YADE0S04
					<i>Y. divulgata</i>	GCA_900519045. 1
					<i>Y. galli</i>	GCA_900519055. 1
					<i>Y. hollandica</i>	YAH00S03
					<i>Y. keelungensis</i>	JCM 14894
					<i>Y. lipolytica</i>	CLIB122
						DSM 3286
						CLIB89(W29)
						WSH-Z06
						IBT 446
						H222 (CLIB 80)
						W29 (CLIB89)
						PO1f
						W29
						CBA6003
						FKP 355.00
						YICW001
						PO1f
						YALIH222
						NCIM 3589
						W29
						YB567
					YB566	
					YB392	
					YB419	
					YB420	
			YALIA101S05			
			NCIM 3590			
			<i>Y. osloensis</i>	GCA_900519015. 1		
			<i>Y. phangngaensis</i>	GCA_900519005. 1		
			<i>Y. porcina</i>	GCA_900519025. 1		
			<i>Y. yakushimensis</i>	GCA_900518995.		

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa
					1
				<i>Yarrowia sp.</i>	JCM 30694
					JCM 30695
					JCM 30696

**Anexo H.-Tabla A8.** Levaduras pertenecientes al filo Ascomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen *sod2*.

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa	
Fungi	Ascomicetes	Debaryomycetaceae	<i>Debaryomyces</i>	<i>D. hansenii</i>	CBS767	
					NRRL Y-7426	
					NRRL YB-155	
					NRRL Y-1449	
					NRRL YB-398	
					J26	
				<i>D. subglobosus</i>	NRRL Y-6666	
				<i>D. prosopidis</i>	NRRL Y-27369	
				<i>D. maramus</i>	NRRL Y-2171	
				<i>D. fabryi</i>	CBS 789	
		<i>[Candida] psychrophila</i>	<u>GCA_900186205.1</u>			
		Pichiaceae	<i>Brettanomyces</i>	<i>B. nanus</i>	CBS 1945	
		Saccharomycetaceae	<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. aestuarii</i>	NRRL YB-4510	
				<i>K. dobzhanskii</i>	NRRL Y-1974	
				<i>K. lactis</i>	NRRL Y-1140	
				<i>K. marxianus</i>	DMKU3-1042	
				<i>K. nonfermentans</i>	NRRL Y-27343	
				<i>K. wickerhamii</i>	UCD 54-210	
				<i>K. sp.</i>	UFMG-CM-Y3682	
				<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	S288C
						BY4742
					<i>S. kudriavzevii</i>	CR85
					<i>S. pastorianus</i>	CBS 1483
<i>S. boulardii</i>	unique28					
<i>S. uvarum</i>	U3					
<i>S. arboricola</i>	H-6					
<i>S. paradoxus</i>	CBS 432					
<i>S. mikatae</i>	IFO 1815					
<i>S. bayanus</i>	NBRC1948					
<i>S. jurei</i>						
<i>Saccharomyces sp.</i>	M14					
<i>S. eubayanus</i>	FM1318					

**Anexo I.-Tabla A9.** Levaduras Basidiomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo de la región 5'UTR del gen *sod1*.

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa
Fungi	Basidiomicetes	Cryptococcaceae	<i>Cryptococcus</i>	<i>Cr. gattii</i> VGI	WM276
				<i>Cr. gattii</i> VGII	2001/935-1
				<i>Cr. gattii</i> VGIII	CA1873
				<i>Cr. gattii</i> VGIV	IND107
				<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	H99
				<i>Cr. neoformans</i>	CBS 132

**Anexo J.-Tabla A10.** Levaduras pertenecientes al filo Basidiomicetes empleadas para la caracterización y análisis comparativo del gen *sod2*.

Reino	Filo	Familia	Género	Especie	Cepa
Fungi	Basidiomicetes	Cryptococcaceae	<i>Cryptococcus</i>	<i>Cr. amyloletus</i>	CBS 6039
					CBS 6273
				<i>Cr. depauperatus</i>	CBS 7855
					CBS 7841
				<i>Cr. floricola</i>	DSM 27421
				<i>Cr. cf. gattii</i>	MF34
				<i>Cr. gattii</i> VGI	WM276
				<i>Cr. gattii</i> VGII	2001/935-1
				<i>Cr. gattii</i> VGIII	CA1873
				<i>Cr. gattii</i> VGIV	IND107
				<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	H99
				<i>Cr. neoformans</i>	CBS 132
				<i>Cr. wingfieldii</i>	CBS 7118
		<i>Kwoniella</i>	<i>K. bestiolae</i>	CBS 10118	
			<i>K. dejecticola</i>	CBS 10117	
		Trichosporonaceae	<i>Trichosporon</i>	<i>T. asahii</i> var. <i>asahii</i>	CBS 2479
				<i>T. coremiiforme</i>	JCM 2938
				<i>T. faecale</i>	JCM 2941
		Cryptobasidiaceae	<i>Acaromyces</i>	<i>A. ingoldii</i>	MCA 4198
		Malasseziaceae	<i>Malassezia</i>	<i>M. dermatis</i>	JCM 11348
				<i>M. japonica</i>	JCM 11963
<i>M. slooffiae</i>	CBS 7956				
Ustilaginaceae	<i>Pseudozyma</i>	<i>P. hubeiensis</i>	SY62		
		<i>Pseudozyma</i> sp.	F8B2		
		<i>P. tsukubaensis</i>	NBRC 1940		

**Anexo K.-Tabla A11.** Factores de transcripción encontrados en genes *sod1* y *sod2* de Ascomycetes y Basidiomycetes analizados, de acuerdo con la matriz de predicción “Fungi” de la base de datos Match 1.0.

Factor de transcripción	Ascomycetes				Basidiomycetes			
	gen <i>sod1</i>		gen <i>sod2</i>		gen <i>sod1</i>		gen <i>sod2</i>	
	5'UTR	3'UTR	5'UTR	3'UTR	5'UTR	3'UTR	5'UTR	3'UTR
ADR1	x	x	x	x	x	x	x	x
GCR1								x
HSF	x	x	x	x	x	x	x	x
Mat1-Mc		x						
MATalpha2	x	x	x	x	x		x	x
MCM1	x	x	x					
MIG1	x	x						
NIT2	x	x	x	x	x	x	x	x
PacC				x				
Repressor of CAR1 expression								x

**Anexo L.-Tabla A12.** 5'UTR con base en el filo y a la actividad de la enzima SOD.

Factor de transcripción	<i>sod1</i>		<i>sod2</i>	
	Ascomycetes	Basidiomycetes	Ascomycetes	Basidiomycetes
ADR1	x	x	x	x
GCR1				
HSF	x	x	x	x
Mat1-Mc				
MATalpha2	x	x	x	x
MCM1	x		x	
MIG1	x			
NIT2	x	x	x	x
PacC				
Repressor of CAR1 expression				

Nota: Los factores de transcripción resaltados en amarillo corresponden a aquellos relacionados con la potencial función de activación de la transcripción de la enzima SOD. El factor de transcripción resaltado en verde corresponde a aquel encontrado únicamente en el filo Ascomycetes (además de los otros factores).

**Anexo M.-Tabla A13.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod1* entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros							
		<i>Debaryomyces</i>							<i>Saccharomyces</i>
		<i>D. fabryi</i> CBS 789	<i>D. hanseii</i> CBS 767	<i>D. hanseii</i> NRRL Y-1449	<i>D. hanseii</i> MTCC 234	<i>D. subglobosus</i> NRRL Y-6666	<i>D. prosopidis</i> NRRL Y-27369	<i>D. nepalensis</i> NRRL Y-7108	<i>S. cerevisiae</i>
0	BR-C Z2			X					
0	BR-C Z3				X	X			
0	c-Rel								
0	C/EBP		X	X	X	X	X	X	X
0	C/EBPalpha			X					X
0	C/EBPbeta			X				X	X
0	cap							X	
0	CDP CR1			X	X	X			
0	CdxA	X	X	X	X	X	X	X	X
0	CF2-II			X	X	X			
0	CHOP-C/EBPalpha								
0	COMP1			X	X	X	X		
0	En-X	X			X	X		X	
0	Evi-1	X					X		
0	FOXD3	X			X	X			
0	GATA-3						X	X	
0	GKLF	X	X				X	X	X
0	Hand1/E47								
0	Hb								
0	HNF-1								
0	HNF-3beta	X			X	X			
0	HOXA3			X	X	X		X	
1	HSF	X	X	X	X	X	X	X	X
0	HSF1	X							
0	Lyf-1							X	
0	Msx-1		X	X	X	X		X	
0	MZF1		X	X					
1	NIT2								
0	Nkx2-5			X					
0	Oct-1	X	X	X	X	X	X		X
0	Pax-2	X			X	X			X
0	Pax-4		X	X			X		
0	Pax-6				X	X	X		
0	Pbx-1	X		X			X		
0	RAV1								X
0	SRY	X	X	X	X	X			
0	TATA	X	X	X	X	X	X	X	
0	Tst-1		X						
0	Ubx		X						

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas

**Anexo N.-Tabla A14.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod1* entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros						
		<i>Brettanomyces</i>						<i>Saccharomyces</i>
		<i>B. anomalus</i> CBS 7654 (kéfir de leche)	<i>B. bruxillensis</i> AWRI 1499 (wine)	<i>B. bruxillensis</i> AWRI 1613 (wine)	<i>B. bruxillensis</i> CLR50 (beer)	<i>B. naardensis</i> CLR65 (lemonade)	<i>B. nanus</i> AWRI953(wine)	<i>S. cerevisiae</i>
0	Abd-B		X	X	X		X	
0	BR-C Z3							
0	c-Rel	X					X	
0	C/EBP	X	X	X	X	X	X	X
0	C/EBPalpha		X	X	X		X	X
0	C/EBPbeta		X	X	X		X	X
0	cap					X		
0	CDP CR1	X						
0	CdxA	X	X	X	X	X	X	
0	En-1	X						
0	GATA-3		X	X	X		X	
0	GKLF		X	X	X			X
0	Hb		X					
0	HNF-3beta							
0	HOXA3	X				X		
1	HSF	X	X	X	X	X	X	X
0	MZF1		X	X	X			
1	NIT2							
0	Oct-1		X	X	X		X	X
0	Pax-4		X	X	X	X		
0	Pbx-1							
0	Sn					X	X	
0	SRY	X	X	X	X			
0	Su(H)			X	X			
0	TATA		X	X	X			
0	Tst-1							
0	Ubx						X	
0	v-Myb					X		
0	YY1					X	X	X

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas



**Anexo O.-Tabla A15.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod2* entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros							
		<i>Debaryomyces</i>							<i>Saccharomyces</i>
		<i>D. fabryi</i> CBS 789	<i>D. hansenii</i> CBS 767 Chr G	<i>D. hansenii</i> CBS 767 Chr E	<i>D. hansenii</i> NRRL Y- X449	<i>D. subglobosus</i> NRRL Y-6666	<i>D. prosopidis</i> NRRL Y- 27369	<i>D. maramus</i> NRRL Y- 2X7X	<i>S. cerevisiae</i>
0	Abd-B			X					X
0	AG								
0	AML-1a			X	X				X
0	AREB6			X					
0	BR-C Z1		X						
0	BR-C Z2								
0	BR-C Z3			X		X			X
0	c-Rel	X							
0	C/EBP	X	X	X		X	X		X
0	C/EBPalpha	X	X			X			
0	C/EBPbeta	X		X		X			
0	CdxA	X	X	X	X	X	X	X	
0	En-1			X				X	
0	Evi-1								
0	FOXD3		X						
0	FOXJ2								
0	GATA-3			X					
0	GKLF					X			X
0	HLF						X		
0	HNF-1	X					X		
0	HNF-3beta		X						
0	HOXA3	X		X		X			X
1	HSF	X	X	X	X	X	X	X	X
0	Lyf-1	X	X				X		
1	MATalpha2						X		X
0	Msx-1	X		X		X			
1	NIT2					X			
0	Nkx2-5					X			
0	Oct-1	X		X		X	X	X	
0	Pax-2	X		X				X	
0	Pax-4	X		X	X	X		X	
0	Pax-6			X					X
0	Pbx-1		X	X			X		
0	SBF-1								
0	SRY		X				X		X
0	TATA	X	X			X	X	X	
0	Tst-1			X				X	
0	Ubx			X		X			X
0	v-Myb	X	X				X		
0	VBP						X		
0	YY1				X				

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas

**Anexo P-Tabla A16.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod2* entre géneros de Ascomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros						
		<i>Kluyveromyces</i>						<i>Saccharomyces</i>
		<i>K. aestuarii</i> YB-45X0	<i>K. dobzhanskii</i> NRRL Y-X974	<i>K. lactis</i> NRRL Y-XX40	<i>K. marxianus</i> DMKU3-X042	<i>K. nonfermentans</i> NRRL Y-27343	<i>K. wickerhamii</i> UCD 54-2X0	<i>S. cerevisiae</i>
0	Abd-B			X				X
1	ADR1		X					
0	Arnt			X				
0	BR-C Z2	X						
0	BR-C Z3			X				X
0	c-Myc/Max	X						
0	C/EBP	X		X	X		X	X
0	C/EBPalpha	X						
0	C/EBPbeta			X				
0	CDP CR1		X					
0	CdxA	X	X	X	X			
0	En-1			X		X		
0	GATA-3	X		X				
0	GKLF			X		X		X
0	HLF			X				
0	HOXA3	X	X	X			X	X
1	HSF	X	X	X		X	X	X
0	HSF1					X		
1	MATalpha2		X					X
0	Msx-1	X						
0	Oct-1		X					
0	p53							
0	Pax-2		X				X	
0	Pax-4	X		X				
0	Pax-6	X						X
0	Pbx-1	X						
0	SRY	X			X	X		X
0	Tal-1alpha/E47						X	
0	Tal-1beta/E47						X	
0	TATA					X		
0	Ttk 69K						X	
0	Ubx			X			X	X
0	USF	X		X				
0	v-Myb	X	X					
0	YY1					X		

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas

**Anexo Q.-Tabla A17.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod1* entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros						
		<i>Cryptococcus</i>						<i>Saccharomyces</i>
		<i>Cr. gattii</i> WM276	<i>Cr. gattii</i> 2001/935-1	<i>Cr. gattii</i> CA1873	<i>Cr. gattii</i> IND107	<i>Cr. neoformans</i> var. <i>grubii</i> H99	<i>Cr. neoformans</i> CBS 132	<i>S. cerevisiae</i>
0	Abd-B			X				
1	ADR1					X	X	
0	AML-1a		X		X	X	X	
0	AREB6		X					
0	c-Ets-1(p54)	X		X				
0	C/EBP	X	X	X		X	X	X
0	C/EBPalpha					X	X	X
0	C/EBPbeta					X	X	X
0	cap	X	X	X				
0	CDP CR1	X		X		X	X	
0	CdxA				X	X	X	X
0	COMP1						X	
0	CRE-BP1		X		X	X		
0	CREB		X		X			
0	Elf-1	X		X	X			
0	Elk-1	X		X				
0	Evi-1		X		X			
0	GATA-3	X	X			X	X	
0	GC box		X					
0	GKLF		X	X	X			X
0	HNF-1					X		
0	HOXA3	X				X	X	
1	HSF	X	X	X	X	X	X	X
0	Lyf-1	X		X				
1	MATalpha2	X			X			
0	Msx-1		X			X	X	
1	NIT2					X	X	
0	Nkx2-5						X	
0	Oct-1	X		X		X	X	X
0	Pax-2		X		X	X		X
0	Pax-4	X	X	X	X	X		
0	Pbx-1	X		X				
0	Sn				X			
0	Sp1			X				
0	SRY	X	X	X	X			
0	Ubx						X	
0	USF		X		X	X	X	

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas

**Anexo R-Tabla A18.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod2* entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen

Taxon	Elementos regulatorios	Géneros						
		<i>Cryptococcus</i>						<i>Saccharomyces</i>
		<i>Cr. gattii</i> WM276/ IND107/ CA1873	<i>Cr.</i> <i>neoformans</i> CBS 132	<i>Cr. amyloletus</i> CBS6039/CBS6273	<i>Cr.</i> <i>depauperatus</i> CBS 7841	<i>Cr.</i> <i>floricola</i> DSM 27421	<i>Cr.</i> <i>wingfieldii</i> CBS 7118	<i>S. cerevisiae</i>
0	Abd-B							X
1	ADR1			X		X		
0	AML-1a					X		X
0	AP-1		X					
0	BR-C Z2	X						
0	C/EBP	X		X				X
0	C/EBPalpha							
0	C/EBPbeta							
0	CDP CR1	X	X					
0	CdxA	X			X			
0	CF1 / USP					X		
0	COMP1		X					
0	CRE-BP1/c-Jun							
0	En-1	X						
0	Evi-1	X				X		
0	GAmyb	X	X					X
0	GATA-3	X						
0	GKLF	X	X					X
0	Hand1/E47							
0	HLF	X	X					
0	HNF-1				X			
0	HNF-4			X			X	
0	HOXA3		X			X		X
1	HSF	X	X	X	X	X	X	X
0	Lyf-1	X	X					
1	MATalpha2				X			X
0	Msx-1			X	X		X	
0	myogenin/NF-1	X	X					
1	NIT2						X	
0	Oct-1	X						
0	p53							
0	Pax-2	X		X		X	X	
0	Pax-4		X	X		X	X	
0	Pax-6	X						X
0	Pbx-1							
0	SBF-1		X					
0	Sp1							
0	SREBP-1				X			
0	SRY	X		X	X	X		X
0	Tst-1					X		

0	Ubx						X	X
0	USF	X			X		X	
0	v-Maf			X			X	
0	YY1	X	X					

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas

**Anexo S.-Tabla A19.** Comparación de TF encontrados en la región 5'UTR del gen *sod2* entre géneros de Basidiomicetes con respecto al taxón de origen

Taxón	Elementos regulatorios	Géneros			
		<i>Malassezia</i>			<i>Saccharomyces</i>
		<i>M. dermatis</i> JCM XX348	<i>M. japonica</i> JCM XX963	<i>M. slooffiae</i> CBS 7956	<i>S. cerevisiae</i>
0	AML-1a	X			X
0	AP-1		X		
0	AP-2			X	
0	c-Myc/Max			X	
0	CRE-BP1/c-Jun		X	X	
0	CREB		X	X	
0	Elk-1		X		X
0	GAmyb	X			X
0	GKLF	X			X
0	Hairy			X	
0	HNF-4	X			
1	HSF	X	X	X	X
0	Pax-2		X		
0	SRF	X			
0	USF			X	

Notas: Taxón 1, Fungy; 0, Otros eucariotas