

Aplicación de la Biotecnología en Malas hierbas: Proteómica

Dra: Esther Giraldo Ramos. INTAEX



BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

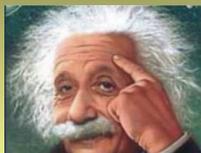
GENÓMICA

SE HA SECUENCIADO EL GENOMA HUMANO!!!

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

GENÓMICA

Evolución conjunta del genoma Animal y Vegetal



30.000 Genes



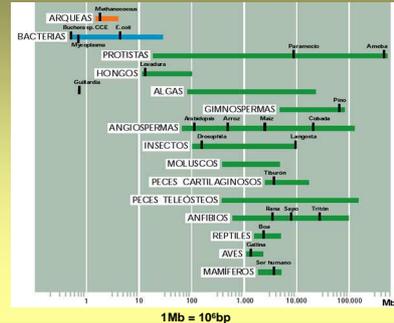
27.000 Genes + pequeño

Las primeras leyes de la genética se descubrieron en plantas (Mendel con el guisante)

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

GENÓMICA

Secuenciación de Genomas



Genoma Trigo 5 veces > Genoma ser humano

Genoma Humano 10 veces + pequeños Genoma de la Salamandra

200 veces + pequeño Genoma Ameba

Diferencia entre ADN de 2 personas 0.2%

BIOTECNOLOGÍA DORADA

BIOINFORMÁTICA

Analizar y Procesar ingente cantidad de datos generados en los proyectos genómicos

Herramienta para **almacenar** de secuencias de nucleótidos, **búsquedas** de genes disponibles en las bases de datos, **comparación** de distintas secuencias genómicas, **similitud** entre el DNA de dos organismos...

Integrar y las diferentes base de datos que contienen información biológica

Esencial para poder navegar por el mar de información



BIOTECNOLOGÍA DORADA

BIOINFORMÁTICA

Utilización de la información



Datos Genómicos



Bioinformática



Aplicación de tecnología de computadores para la gestión y análisis de datos biológicos generados

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA

Nace una nueva era. La era Post-genómica.

Enorme cantidad de Información generada Proyecto de Geonómica

Desarrollo Bioinformática

Nace una nueva era, la Proteómica

Nueva etapa de la investigación biológica que emana de la Geonómica

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

Dogma de la Biología

ADN $\xrightarrow{\text{Transcripción}}$ ARNm $\xrightarrow{\text{Traducción}}$ PROTEÍNA

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÍNAS

Obreros de las células
Cruciales para la vida

FUNCIONES

- Defensiva, Ej. Anticuerpos como la inmunoglobulinas
- Reguladoras Ej. hormonas, enzimas y vitaminas
- Enzimática Actúan como biocatalizadores acelerando las reacciones químicas del metabolismo.
- Homeostática como amortiguadores
- Contráctil Ej. actina, miosina
- Estructural Ej. colágeno, queratina
- Reserva Ej. lactoalbúmina reserva de aminoácidos
- Transportadoras Ej. hemoglobina y la mioglobina, transportadoras del oxígeno

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA

Proteómica: Ciencia que estudia los proteomas

Proteoma: conjunto de todas las proteínas que componen una célula en una condiciones determinadas

Constelación de proteínas que otorgan a las células su estructura y función.

La proteomica: herramienta fundamental para el progreso de la Ciencia

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

GENÓMICA Y PROTEÓMICA

Genomas \rightarrow Contiene la información para crear los organismos
La tipología del organismo

Traducen \downarrow

Proteínas \rightarrow Como funciona el organismo

Al entender las proteínas se podrá resolver mecanismos metabólicos básicos fundamentales de las enfermedades y salud seres vivos

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA

HUPO un consorcio internacional, (Human Proteome Organization),
Fostering international proteomic initiatives to better understand human disease

NEWS
BIOLOGIST INITIATE PLAN TO MAP HUMAN PROTEOME

Human proteome project: 10 years, \$1 billion?
Proyecto Proteoma del Cancer

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN PLANTAS

B) Proteómica de expresión diferencial (Comparativa):

- Utilizada para validar la variabilidad génica, dentro y entre especies
- Información sobre aspectos de la biología de las plantas: germinación, desarrollo, organogénesis, respuesta a estrese tanto abióticos (sequía, salinidad, T³, metales, xenobioticos, herbicidas) como bióticos (patógenos y plantas parasitas)
- Productos alimentarios.
Ej: Comparación 2 líneas de tomates, uno modificadas mediante ingeniería genética y otro no. Ambos difieren en su resistencia a virus. No presentaron diferencias significativas en el resto de las proteínas

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN PLANTAS

C) Estudio de modificaciones postraduccionales

Determinan:

- * Función de la proteína
- * Localización
- * Estabilidad
- * Interacciones con otras proteínas o biomoléculas

Se han descrito has 300 MPTs

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN PLANTAS

Proyecto en el que estamos trabajando en el INTAEX

Fruta de hueso

- Influencia de la T³ en el almacenamiento postcosecha de la Nectarina
- Momento optimo de recolección del Albaricoque
- Influencia del riego en la calidad postcosecha de la Cereza

Uva

- Influencia del riego en el desarrollo de la baya

Malas hierbas

- Conocimiento de los mecanismos implicados en la resistencia de las malas hierbas del arroz

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

OBJETIVO:

Identificar las proteínas de la mala hierba del arroz "Echinochloa phyllopogon" implicadas en el proceso de resistencia por metabolismo del fenoxaprop

METODOLOGÍA:

Detección las proteínas diferenciales entre Echinochloa Resistente y Sensible antes y después de ser tratadas.

Para la obtención de proteomas:

- Extracción Proteica
- Separación Proteica (Electroforesi bidimensional)
- Identificación proteínas diferenciales (Espectrometría de masas)

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

Protein Name	Accession	Score	Expectation	Length	Identified	Score	Expectation
...

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

La extracción de proteínas en tejidos vegetales es más complicada que otras fuentes biológicas.

Tienen menor contenido de proteínas, contienen más proteasas y otros compuestos que interfieren en la estabilidad de las proteínas: polisacáridos, lípidos, compuestos fenólicos y metabolitos secundarios que pueden interferir en el proceso de extracción, fraccionamiento y análisis

1) Se plantea la optimización del protocolos de extracción en Echinochloa

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

1) Se optimizaron 3 protocolos de extracción en Echinochloa

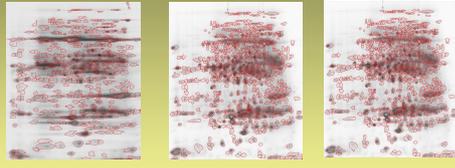
Basados en Phenol, TCA y KCL

RECEPCIÓN DE MACETAS PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA EXTRACCIÓN PROTEICA

A)  B)  C)  D) 

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS



PHENOL TCA KCL

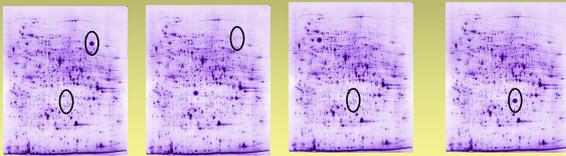
Los protocolos de extracción presentaron diferente capacidad de extracción Tanto en el numero de proteínas como en el tipo de proteínas extraídas

El resto del estudio fue realizado mediante el protocolo basado en

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

Identificación de las proteínas implicadas en los mecanismos de resistencia a herbicidas en Echinochloa



Echinochloa Resistente Echinochloa Sensible Echinochloa Sensible Echinochloa Resistente

Antes de ser tratada con herbicida Después de ser tratada con herbicida

BIOTECNOLOGÍA: Técnicas moleculares

PROTEÓMICA EN MALAS HIERBAS

Concluimos

La identificación de los spot diferenciales podrían indicarnos que proteínas podrían estar relacionadas con los mecanismos de resistencia a herbicidas premitiéndonos el desarrollo herbicidas eficaces

LABORATORIO DE PROTEÓMICA DEL INTAEX

Se creó en el año 2009

- Amelia Díaz Méndez
- Joaquín Frutos Blancos
- Esther Giraldo Ramos



Ha participado en números congresos nacionales, internacionales, ha participado como refer y ha publicado trabajos en revistas especializadas con un alto IP.

¿¿Esta Extremadura preparada para utilizar estas nuevas tecnologías???

¡¡GRACIAS!!

Dra. Esther Giraldo Ramos. INTAEX