

## Sesión de proteómica vegetal y animal

<sup>1</sup>Luis Valledor y <sup>2</sup>Federico Valverde

<sup>1</sup> EPIPHYSAGE. Área de Fisiología Vegetal. Universidad de Oviedo. Dirección actual: Molecular Systems Biology, Universidad de Viena, Viena, Austria

<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis. Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Universidad de Sevilla. Sevilla, España

### Resumen

El pasado mes de febrero se realizó en Córdoba la *II Reunión Bianual de Jóvenes Investigadores en Proteómica* a nivel nacional. La organización, encabezada por Ana M. Maldonado, acompañada de Sira Echevarría y Raquel González, nos encomendó la complicada tarea de recoger las propuestas de proteómica vegetal y animal y seleccionar las que mejor se adaptaran a una presentación oral. La tarea no fue fácil porque el nivel científico, como viene siendo común en las dos reuniones celebradas hasta ahora (la primera en Sitges, Barcelona), ha sido muy alto. Este artículo de introducción sirve por un lado como resumen explicativo de aquella sesión, que fue del todo satisfactoria en cuanto a las presentaciones y la discusión, y también como muestra de lo que se está investigando genéricamente en proteómica vegetal y animal en España en la actualidad.

### 1. ¿Cómo planteamos la sesión?

Cuando se analiza el título de la sesión, Proteómica Vegetal y Animal, puede llegarse a pensar que se trata de un cajón de sastre. Nada más lejano de la realidad, como podrá observarse a lo largo de este resumen. En esta sesión se recogieron las comunicaciones de los trabajos de Proteómica Vegetal y Proteómica Animal, incluyendo un gran número de especies no modelo. Desde finales de diciembre los coordinadores de la sesión empezaron a recibir progresivamente los resúmenes correspondientes a la sesión. La primera duda que se planteó fue la organización de la sesión, dado lo heterogéneo de las propuestas. Tras mucho meditar y teniendo en cuenta el gran

número de comunicaciones presentadas se decidió plantear un formato consistente en 5 exposiciones orales de 15 minutos, dejando suficiente tiempo al final de cada presentación para permitir una discusión fluida.

La selección de trabajos para su exposición oral pretendió abarcar las distintas especies animales y vegetales, recogiendo distintas aproximaciones experimentales y técnicas empleadas para dar una visión de conjunto de lo que es hoy por hoy la Proteómica Animal y Vegetal en nuestro país. Se seleccionaron tres trabajos de Proteómica Vegetal y dos de Proteómica Animal para su presentación como comunicaciones orales, siendo estos números en cierto modo proporcionales a las comunicaciones recibidas. En la tabla 1 puede verse un resumen de las comunicaciones presentadas en esta sesión. La gran mayoría de las mismas tienen un nexo común agronómico, tanto en su vertiente agraria como pecuaria. ¿Podríamos rebautizar esta sesión como Proteómica de nuestros recursos de campo?

Para respetar el espíritu de la Reunión, tras las presentaciones, al final de la sesión, se planificó un tiempo abierto al intercambio de ideas, planteamiento de dudas, etc., en la parte final de la misma. Desde aquí queremos agradecer a todos la participación en la misma, puesto que se consiguió crear un ambiente ameno a la discusión, pese al cansancio acumulado tras un intenso congreso.

## 2. Desarrollo de la Sesión

### Comunicaciones orales

La sesión se desarrolló de forma distendida, aunque siempre atendiendo a la rigurosidad de la reunión, gracias al buen hacer de todos los oradores, que no sólo brindaron unas magníficas presentaciones, sino que además se ciñeron estrictamente al tiempo establecido. ¡Gracias y enhorabuena a todos por el gran trabajo realizado!

Marina Trigueros, del CNB-CSIC, inauguró la sesión mostrando la importancia que tienen ciertas ubiquitin ligasas en la homeostasis del fosfato mediada por la ruta de ubiquitinación y degradación del proteosoma [1]. La ubiquitinación no solo es una señal de marcaje para la degradación de proteínas vía proteosoma sino que también está relacionada con la regulación de la actividad enzimática. Marina mostró los últimos resultados del grupo al analizar el efecto que tiene el ayuno de fosfato empleando una estrategia dirigida (análisis de ubiquitin ligasas nucleares) como genérica (identificando proteínas reguladoras dependientes de la concentración de fosfato en el medio).

Daniel Pérez-Hernández, CBMSO y del CNIC, nos presentó la investigación de su grupo acerca de las proteínas asociadas a tetraspanina en los linfocitos T, empleando técnicas proteómicas de segunda generación [2]. Una de las ventajas de estas técnicas es la cantidad de datos que se generan, pero a menudo resultan difíciles de explicar sin ser arduos en la presentación. Daniel realizó una presentación clara, en la cual fue desgranando los distintos pasos del desarrollo experimental así como del procesamiento de los datos basándose en una aproximación de biología de sistemas, para mostrarnos las proteínas asociadas a tetraspanina en los linfocitos T y las rutas en las que se encuentran implicadas.

Luis Valledor, de la Universidad de Oviedo, mostró un trabajo sobre la expresión diferencial de genes y proteínas durante la maduración de las acículas del *Pinus radiata* [3]. El análisis cuantitativo realizado ha permitido definir cambios en los patrones de

expresión de genes y proteínas relacionadas con distintas rutas metabólicas y procesos (i.e. resistencia a estrés) que varían durante el desarrollo de las acículas. Además estos datos se complementaron con un primer estudio sobre la regulación epigenética de los genes que codifican para algunas de las proteínas diferencialmente acumuladas en acículas en distintos estados de desarrollo.

Volviendo a la Proteómica Animal, Elizabeth Escudero, del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (CSIC), presentó cómo el potencial antihipertensivo de la carne de cerdo puede usarse como fuente de péptidos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina I [4]. Tras la simulación *in vitro* de la digestión de carne proveniente del músculo del cerdo los péptidos generados se estudiaron mediante LC-ESI-MS/MS, seleccionando los más adecuados para su síntesis y posterior estudio de su capacidad inhibidora de la ECAI. Los resultados mostrados acerca de la inhibición *in vitro* son prometedores, a falta de trabajos *in vivo* que los confirmen.

La última presentación de la sesión corrió a cargo de María José Martínez-Esteso, de la Universidad de Alicante, y su trabajo describiendo el efecto del tratamiento foliar con Terra-Sorb® (un bio-estimulador comercial del crecimiento) sobre las hojas en estado de desarrollo de bandera en trigo [5]. Tras realizar un estudio de expresión diferencial de proteínas mediante metodología DIGE, María José destacó que los efectos fisiológicos descritos para este tratamiento se explicaban por cambios específicos en el proteoma, sobre acumulándose proteínas relacionadas con un aumento en la fijación de CO<sub>2</sub>, biosíntesis de proteínas y disminuyendo las rutas de estrés oxidativo.

Pese a ser la última sesión del congreso cabe destacar el interés despertado por todas las comunicaciones de la sesión, hecho que se vio reflejado en la activa participación de la audiencia en los turnos de preguntas tras las distintas comunicaciones.

## Discusión general

En los últimos minutos de la sesión, tras la presentación de las comunicaciones en forma de panel (Tabla 1) y la resolución de las preguntas que habían surgido tras las distintas presentaciones, que fueron numerosas, se plantearon algunos de los principales problemas con los que se encuentra todo investigador que empiece a trabajar en especies no modelo. La poca representación en las bases de datos, la dificultad en la puesta a punto de protocolos, en muchos casos imposibilidad de obtener anticuerpos específicos, arrays, chips, etc. comerciales... La dificultad de dar el salto al “high throughput” debido a la falta de herramientas comerciales y poca profundidad de las bases de datos fueron los temas “estrella”. Pocas soluciones se pudieron aportar al respecto, si bien se presentaron algunas alternativas menos potentes pero accesibles a la mayoría de los investigadores (i.e. arrays de baja densidad) y alguna otra basada en los nuevos desarrollos de las ómicas (i.e. realización de pirosecuenciaciones de ADN de la especie problema y anotación por homología como base para la posterior identificación de proteínas). Esto resulta probablemente inaccesible, tanto en términos técnicos y humanos como económicos, para la mayoría de los investigadores de la sesión.

La presentación de estos problemas comunes animó a la sesión y sirvió para plantear problemas e inquietudes particulares. Las personas más experimentadas aportaron su granito de arena, contando experiencias personales, tanto de éxitos como de fracasos, propiciando que numerosos jóvenes investigadores pudieran volver a la poyata de trabajo con nuevas ideas y puntos de vista. ¡Es una experiencia enriquecedora ver a todo un auditorio aportando experiencia e ideas para ayudar a un colega!

## Los paneles

No debe olvidarse que además de las comunicaciones orales la sesión contó con un tiempo para la visita de los paneles. Durante este tiempo la comunicación entre los distintos

congresistas fue muy fluida y agradable, planteándose (y resolviéndose) muchas dudas e inquietudes. Como ya se comentó la calidad de los trabajos recibidos fue muy alta y resultaría injusto no mostrar en este resumen algunos de ellos:

Cabe destacar el trabajo presentado por Marina Ribeiro-Pedro, del Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-Univ. Sevilla), en el cual combinando transcriptómica y Proteómica nuclear de factores de transcripción inducidos por la presencia de azúcares se describió la relación existente entre el metabolismo y el desarrollo floral en *Arabidopsis* [6]. Estos estudios han desvelado cómo proteínas que tienen que ver con procesos de desarrollo como la floración, están reguladas también mediante una señal dependiente de la presencia de sacarosa. Como gran parte de esta regulación ocurre a nivel postranscripcional [7] este tipo de aproximaciones proteómicas tienen un gran potencial para aportar datos inéditos a la floración. Virginia Menéndez (Universidad de Oviedo), presentó un estudio del desarrollo sexual mediado por anteridiógeno en el gametófito de *Blechnum spicant* [8], siendo esta línea de trabajo pionera dentro del estudio de los helechos.

En el campo de la proteómica aplicada Miguel Ángel Sentandreu (IATA-CSIC) nos presentó la aplicación de las técnicas proteómicas para determinar los distintos orígenes animales de los productos cárnicos [9]. Por su parte, María Ángeles Castillejo (IAS-CSIC) presentó un trabajo sobre la expresión diferencial de proteínas en hojas de alfalfa como respuesta al fitopatógeno *Uromyces striatus* [10], mientras que José Valero (Universidad de Córdoba) presentó un estudio de respuesta al estrés hídrico comparando distintas poblaciones de encinas [11]. Ambos trabajos muestran un gran potencial en ayudar a mejorar la gestión agronómica de nuestro campo.

### 3. Conclusiones

El gran número y la calidad de los trabajos de Proteómica Vegetal y Animal en especies “no modelo” presentados en este congreso (recogidos no sólo en esta sesión), pone de manifiesto el gran potencial que tiene este área en nuestro país. Existe un gran número de investigadores trabajando en proteómica tanto desde una perspectiva básica como aplicada. Los habituales de los Congresos de las distintas Sociedades Científicas Españolas relacionadas con esta sesión (de Fisiología Vegetal, de Medicina Interna Veterinaria,...) sabrán que el número de trabajos científicos desarrollados en España por jóvenes, y no tan jóvenes, investigadores en los que la proteómica es una pieza clave es cada vez mayor. Desde aquí estamos convencidos que a medida que la SEPROT vaya creciendo, y las bondades de estas Jornadas de Jóvenes Investigadores se difundan entre las distintas Sociedades Científicas (cosa que desde aquí animamos!), el número de comunicaciones recibidas para esta sesión aumentará significativamente. Este hecho, junto con el progresivo aumento del nivel científico de nuestros jóvenes, garantizarán sin duda la continuidad de esta sesión de Proteómica Vegetal y Animal.

### 4. Referencias

- [1] Trigueros M, et al. Ubiquitinación de proteínas nucleares en la señalización del ayuno de fosfato en plantas. *Proteómica* 2010; 5: 149.
- [2] Pérez-Hernández D, et al. High-throughput biological and functional analysis of interactions among tetraspanin associated proteins in T Lymphocytes using second generation proteomics techniques. *Proteómica* 2010, 5: 167.
- [3] Valledor L, et al. Proteome regulation and epigenetic code during *Pinus radiata* needle maturation. *Proteómica* 2010, 5: 153.
- [4] Escudero E, et al. Péptidos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina I generados en la digestión in vitro de la carne de cerdo. *Proteómica* 2010, 5:172.
- [5] Martínez-Estes M-J, et al. A DIGE proteomic analysis of wheat flag leaf treated with TERRA-SORB® foliar, a free amino acid-based biostimulator. *Proteómica* 2010, 5: 164.
- [6] Ribeiro-Pedro M., et al. El estudio comparativo, proteómico y transcriptómico, de la respuesta a azúcares en *Arabidopsis thaliana* muestra una relación entre el metabolismo y el desarrollo floral. *Proteómica* 2010 5:162.
- [7] Valverde F et al. Photoreceptor regulation of CONSTANS protein in photoperiodic flowering. *Science* 2004, 303: 1003-1006.
- [8] Menendez V, et al. Análisis proteómico del desarrollo sexual mediado por anteridiógeno en el gametofito del helecho *Blechnum spicant*. *Proteómica* 2010, 152.
- [9] Sentandreu, MA, et al. La Proteómica como vía para determinar el origen animal de los productos cárnicos, *Proteómica* 2010, 170.
- [10] Castillejo MA, et al. Proteome profile analysis of *Medicago truncatula* leaves in response to *Uromyces striatus*-*Proteómica* 2010, 150.
- [11] Valero-Galván, J, et al. Estudio de la respuesta al estrés hídrico en dos poblaciones de encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) mediante una aproximación de proteómica comparativa basada en electroforesis bidimensional. *Proteómica* 2010, 156.

**Tabla 1:** Resumen de las comunicaciones presentadas a la sesión Proteómica Vegetal y Animal

<b>Título</b>	<b>Autores</b>	<b>Afiliación</b>
<b>Ubiquitinación de proteínas nucleares en la señalización del ayuno de fosfato en plantas</b>	Marina Trigueros, M. Rojas-Triana, M L Irigoyen, J Paz-Ares y V Rubio	Departamento de Genética Molecular de Plantas. Centro Nacional de Biotecnología-CSIC.
<b>High-throughput biological and functional analysis of interactions among tetraspanin associated proteins in T Lymphocytes using second generation proteomics techniques</b>	Daniel Pérez-Hernández <sup>1,2</sup> , E Bonzón-Kulichenko <sup>1</sup> , P Martínez-Acedo <sup>1</sup> , P J. Navarro <sup>1</sup> , E Núñez <sup>1</sup> , M Trevisan-Herraz <sup>1</sup> , et al.	<sup>1</sup> Laboratorio de Química de Proteínas y Proteómica, CBMSO <sup>2</sup> Hospital Univ. La Princesa y Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares CNIC
<b>Proteome profile analysis of <i>Medicago truncatula</i> leaves in response to <i>Uromyces striatus</i></b>	M <sup>a</sup> Ángeles Castillejo <sup>1</sup> , J V Jorrín <sup>2</sup> & D Rubiales <sup>1</sup>	<sup>1</sup> Departamento de Agronomía y Mejora, IAS (CSIC), Córdoba <sup>2</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, ETSIAM, Universidad de Córdoba
<b>Análisis proteómico del desarrollo sexual mediado por anteridiógeno en el gametofito del helecho <i>Blechnum spicant</i></b>	Virginia Menéndez <sup>1</sup> , L Valledor <sup>1</sup> , A Revilla <sup>1</sup> , H Fernández <sup>1</sup>	<sup>1</sup> Area de Fisiología Vegetal, Departamento B.O.S. Facultad de Biología. Universidad de Oviedo
<b>Proteome regulation and epigenetic code during <i>Pinus radiata</i> needle maturation</b>	Luis Valledor <sup>1</sup> , M J Cañal <sup>1</sup> , C Lenz <sup>3</sup> , R Rodríguez <sup>1</sup> , J Jorrín <sup>3</sup>	<sup>1</sup> Plant Physiology. University of Oviedo. <sup>2</sup> Applied Biosystems Deutschland. <sup>3</sup> Biochemistry and Molecular Biology. University of Córdoba.
<b>La Proteómica como vía para determinar el origen animal de los productos cárnicos</b>	Miguel Ángel Sentandreu <sup>1</sup> , P D. Fraser <sup>2</sup> , E Sentandreu <sup>1</sup> , L Mora <sup>1</sup> y P M. Bramley <sup>2</sup>	<sup>1</sup> Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC). <sup>2</sup> Center for Systems and Synthetic Biology, School of Biological Sciences, University of London.
<b>Estudio de la respuesta al estrés hídrico en dos poblaciones de encina (<i>Quercus ilex</i> subsp. <i>ballota</i> (Desf.) Samp.) mediante una aproximación de proteómica comparativa basada en electroforesis bidimensional</b>	José Valero Galván <sup>1</sup> , R M Navarro Cerrillo <sup>2</sup> , M C Romero Rodríguez <sup>1</sup> , D Ariza <sup>2</sup> , J Jorrín Novo <sup>1</sup>	<sup>1</sup> Grupo de Bioquímica, Proteómica Vegetal y Agrícola. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. <sup>2</sup> Departamento de Ingeniería Forestal. ETSIAM, Universidad de Córdoba.
<b>Use of ProteoMiner in Veterinary Research</b>	Anna Marco, G Rovira, A Bassols	Dpto. de Bioquímica i Biologia Molecular. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona.

<b>Desarrollo y optimización del proceso de extracción de proteínas y electroforesis bidimensional en fruta de hueso</b>	Esther Giraldo Ramos <sup>1</sup> , A Díaz Méndez, A García Sánchez <sup>2</sup>	<sup>1</sup> Departamento de Vegetales II. Instituto Tecnológico Agroalimentario (INTAEX). <sup>2</sup> Centro de Investigación “Finca La Orden-Valdesequera”
<b>Péptidos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina I generados en la digestión in vitro de la carne de cerdo</b>	Elizabeth Escudero <sup>1</sup> , M A Sentandreu <sup>1</sup> , K Arihara <sup>2</sup> , F Toldrá <sup>1</sup>	<sup>1</sup> Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC). <sup>2</sup> Faculty of Animal Sciences, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Univ. of Kitasato
<b>Péptidos derivados de la troponina T generados en jamón curado</b>	Leticia Mora, M A Sentandreu y F Toldrá	Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC).
<b>El estudio comparativo, proteómico y transcriptómico, de la respuesta a azúcares en <i>Arabidopsis thaliana</i> muestra una relación entre el metabolismo y el desarrollo floral</b>	Marina Ribeiro-Pedro, F Ezzahra Said, M T Ruiz, J M Romero y F Valverde	Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis. CSIC-Universidad de Sevilla.
<b>A DIGE proteomic analysis of wheat flag leaf treated with TERRA-SORB® foliar, a free amino acid-based biostimulator</b>	María José Martínez-Esteso <sup>1</sup> , M Vilella-Antón <sup>1</sup> , S Sellés-Marchart <sup>2</sup> , A Botta-Català <sup>3</sup> , R Piñol-Dastis <sup>3</sup> , R Bru-Martínez <sup>1</sup>	<sup>1</sup> Grupo de Proteómica y Genómica Funcional de Plantas. Dpto. Agroquímica y Bioquímica and IMEM Ramón Margalef, Univ. de Alicante. <sup>2</sup> Unidad de Genómica y Proteómica <sup>1</sup> Grupo de Proteómica y Genómica Funcional de Plantas. Dpto. Agroquímica y Bioquímica and IMEM Ramón Margalef, Univ. de Alicante. <sup>2</sup> Unidad de Genómica y Proteómica, SSTTI, Univ. de Alicante. <sup>3</sup> Dpto. I+D Fisiología Vegetal, BIOIBERICA, S.A.