

## Bioquímica Vegetal y Agrícola-Proteómica Vegetal. Universidad de Córdoba

Jesús V. Jorrín Novo, Ana M. Maldonado Alconada

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba

### Componentes del grupo

Jesús V. Jorrín Novo, Profesor Titular de Universidad; Ana M. Maldonado Alconada, Contratada del Programa de Retorno Junta Andalucía; Esther Pérez Pérez, Contratada postdoctoral; Miguel Curto Ruiz, Estudiante de Doctorado; Sira Echevarría Zomeño, Estudiante de Doctorado; José Valero Galván, Estudiante de Doctorado; Anabel Pozo, Técnico de Laboratorio; Sylvia Jean Baptiste, Estudiante de último curso de Ingeniero Agrónomo.

### Historia del Grupo

En el año 2003, y dentro del Grupo de Investigación Bioquímica Vegetal y Agrícola (Universidad de Córdoba, PAI: AGR-164), el Dr. Jorrín inició una línea de investigación sobre proteómica vegetal, estando ésta vinculada a un proyecto recién iniciado. No fue un salto en el vacío, ya que entroncaba con su perfil, experiencia y actividad investigadora en el campo del estudio y purificación de proteínas vegetales, objetivo central de su Tesis Doctoral. Durante su estancia postdoctoral en la “Samuel Roberts Noble Foundation” (Ardmore, Oklahoma, USA) puso a punto y aplicó la técnica de electroforesis bidimensional en el estudio y caracterización de la síntesis *de novo* de proteínas, y más concretamente de isoformas de la fenilalanina amoniaco-liasa (PAL), utilizando como sistema experimental modelo suspensiones celulares de alfalfa. La historia entre los años 1990 y 2003, cuando iniciamos nuestros primeros experimentos en proteómica, es bien conocida y común, con unas pocas excepciones, para todos los que hoy en día utilizamos esta herramienta: la secuenciación de genomas, el desarrollo de técnicas de espectrometría para el análisis de péptidos y de la bioinformática.

Nuestro grupo de proteómica vegetal está, hoy en día, consolidado, siendo uno de los referentes

en este campo tanto a nivel nacional como internacional. A ello ha contribuido, en cierta medida, nuestra labor en pos de la proteómica española, con la organización del congreso “Seminars in Proteomics UCO-2003” (el primero celebrado en España), la puesta en marcha de la Sociedad Española de Proteómica (SEProt) y la organización de su primer congreso (“I Congreso de la Sociedad española de Proteómica, Universidad de Córdoba, febrero 2005). Los logros del grupo tienen tras de sí el esfuerzo y trabajo de, fundamentalmente, las Dras. Ana M. Maldonado y M<sup>a</sup> A. Castillejo (actualmente contratada en la Unidad de Proteómica de la Universidad de Córdoba). La Dra. Maldonado se incorporó al grupo en el año 2004 tras realizar una estancia postdoctoral en el laboratorio del Prof. Chris Lamb en centros de reconocido prestigio tales como el Salk Institute (La Jolla, USA) y John Innes Centre (Norwich, UK). Posee una amplia experiencia en el campo de la biología molecular vegetal, y más concretamente en el de la interacción planta-patógeno. Otras personas, como es el caso de la Dra. Inmaculada Jorge (actualmente en el grupo de Jesús Vázquez, CNB-UAM, Madrid), también han contribuido de forma significativa.

En el ámbito de la Universidad, y como no podía ser de otra forma, el grupo tiene un doble objetivo: académico y científico. En cuanto al primero, participamos en la docencia de asignaturas en las que la proteómica, en mayor o menor medida, ha sido incluida en su programa teórico y práctico. Estas son asignaturas de grado (Biotecnología y Metabolismo Celular, 4º curso de la Titulación de Agrónomos y de Montes) o de doctorado (Bioquímica de Proteínas y Proteómica, como parte del antiguo Programa de Doctorado “Experimentación en Biociencias”, en la actualidad transformado en el Máster “Biotecnología Celular Molecular y Genética”). Nos hemos responsabilizado y/o participado activamente en la organización de diferentes cursos, tales como “Primer Curso Práctico de Proteómica UCO-2004”, “Segundo Curso Práctico de Proteómica UCO-2004”, Biotecnología (Cursos de Verano, Córdoba 2005,

2006 y 2007), amén de otros en colaboración con compañías privadas (Applied Biosystems, Bio-Rad, Termo, Integromics). La labor docente se completa con la dirección de Tesis Doctorales (una ya presentada, la de la Dra. Castillejo, una, que se defenderá en el 2007, la tesis de M. Curto, y tres más en fase de realización-S. Echevarría, D. Ariza y J. Valero). Durante estos cuatro años han visitado y realizado estancias en nuestro laboratorio diferentes investigadores y estudiantes de doctorado tanto nacionales como de otros países: Francisco J. Fernández Acero (Universidad de Cádiz), Luis Valledor (Universidad de Oviedo), Martha Hernández y Aurora Pérez (Centro de Bioplantas, Ciego de Ávila, Cuba), Laura de la Canal y Marcela Pinedo (Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB), Universidad Nacional de Mar del Plata,), Besma Sghaier (Universidad de Sfax, Túnez).

Nuestros proyectos de investigación van dirigidos al estudio, a nivel molecular, de los mecanismos de respuesta y resistencia/tolerancia de las plantas a estreses bióticos (bacterias, hongos y plantas parásitas) y abióticos (sequía). Aunque basándonos en una aproximación de proteómica, también utilizamos otras de bioquímica clásica, histología y transcrición. Como sistemas experimentales utilizamos plantas modelo tales como *Arabidopsis thaliana* y *Medicago truncatula*, plantas de cultivo, fundamentalmente leguminosas y, en menor medida girasol, y especies forestales (encina, alcornoque y pino). En general, y por lo que respecta a la proteómica, utilizamos una estrategia de proteómica de expresión diferencial, basada en la plataforma clásica de gels bidimensionales y MS, habiendo recientemente hecho alguna incursión en las denominadas técnicas de proteómica de segunda generación (DIGE e iTRAQ). En este año 2007 hemos empezado una nueva línea, la de las modificaciones postraduccionales, con el estudio del proteoma redox (“disulfide proteome”, nitrosilación y glutationilación) en *Arabidopsis*, en el contexto de las respuesta de defensa frente a patógenos. Como no solo de pan vive el hombre, nuestro grupo se ha embarcado en un proyecto nuevo y muy ilusionante, encuadrado dentro del programa europeo SysMo (modelización de sistemas), en el que se utiliza levaduras como sistema modelo; es un proyecto en colaboración con el Prof. J. Ramos (Microbiología, Universidad de Córdoba) y pretende ahondar en el conocimiento de la homeostasis catiónica.

Como he dicho anteriormente, hemos de reconocer que nuestro grupo, *sensus stricto*, no es un grupo de proteómica, y en lo que hace referencia a la espectrometría de masas e bioinformática, somos más usuarios que investigadores. Es por ello que desde estas líneas queremos agradecer la ayuda recibida por diferentes Servicios de Proteómica (el de la Universidad de Córdoba, el del CNIC, el de la Universidad Complutense) y colaboradores, aunque habría que denominarlos amigos, con una trayectoria contrastada en el campo de la espectrometría de masas de péptidos: Christof Lenz (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania), Juanjo Calvete (CIB-CSIC, Valencia), Jesús Vázquez (CBM-UAM, Madrid), y Juan A. López (CNIC, Madrid). A todos ellos, muchas gracias. Algunos de los proyectos citados anteriormente, se llevan o han llevado a cabo, amén de los investigadores mencionados, en colaboración con los Dres. R. Navarro (Ingeniería Forstal, Universidad de Córdoba), José Ramos (Microbiología, Universidad de Córdoba), E. Dumas-Gaudot (INRA, Dijon, Francia), y J. Durner (Institute for Biochemical Plant Pathology, GSF, Munich-Alemania).

### Proyectos financiados con fondos públicos

- Mecanismos de resistencia a especies de plantas parásitas del género *Orobancha* y desarrollo de estrategias de manejo integrado
- Proteoma redox: nitrosilación y glutationilación de proteínas como mecanismos de regulación de la respuesta de defensa de las plantas a patógenos
- Plant proteomics in Europe
- Gene interaction networks and models of cation homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*
- New Strategies to Improve Grain Legumes for Food and Feed
- Aproximación de genómica funcional (proteómica y transcriptómica) para la investigación de la diversidad de planta en respuesta a estreses bióticos y abióticos, en *Quercus ilex*, *Quercus suber* y *Pinus piaster*
- El proteoma redox comparado

## Publicaciones

- Jorrín, J.V., Maldonado, A., Castillejo, M.A. 2007. Plant proteome analysis: a 2007 update. *Proteomics* 7 (en prensa).
- Fernández-Acero.F.J, Jorge.I, Calvo.E, Vallejo.I, Carbú.M, Camafeita.E, Garrido.C, López.J.A, Jorrin.J and Cantoral.J.M. 2007. Proteomic analysis of phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* as a potential tool for identifying pathogenicity factors, therapeutic targets and for basic research. *Archives of Microbiology* 187: 207-215.
- Castillejo MA, Maldonado AM, Dumas-Gaudot E, Fernández-Aparicio M, Susín R, Rubiales D, Jorrín J. 2007. Differential expression proteomics to investigate responses and resistance to *Orobanche crenata* in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* (en prensa)
- Castillejo, M.A., Maldonado, A.M., Jorrín, J.V. 2007. Proteomic analysis of responses to drought stress in sunflower (*Helianthus annuus*) by two-dimensional gel electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. (sometido).
- Rispaill N., Dita M-A., González-Verdejo C., Pérez-De-Luque A., Castillejo M-A., Prats E., Román B., Jorrín J. And Rubiales D. 2007. Plant Resistance to Parasitic Plants: Current Approaches for an Old Foe. *New Phytologist* 173: 703-12.
- Rossignol.M, Peltier.JB, Mock.H.P, Matros.A, Maldonado.A, Jorrín.J. 2006. Plant proteome analysis: a 2004-2006 update. *Proteomics* 6:5529-5548.
- Curto, M., Camafeita, E., Lopez, J.A., Maldonado, A.M., Rubiales, D., Jorrín, J.V. 2006. A proteomic approach to study pea (*Pisum sativum*) responses to powdery mildew (*Erysiphe pisi*). *Proteomics* S1'06: 163-174.
- Jorge I, Navarro, RM, Lenz C, Ariza D, Jorrín J. 2006. Variation in the holm oak leaf proteome at different plant developmental stages, between provenances and in response to drought stress. *Proteomics* S1'06: 207-214.
- Jorrín, J.V., Rubiales, D., Dumas-Gaudot, E., Recorbet, G., Maldonado, A., Castillejo, M.A., Curto, M. 2006. Proteomics: a promising approach to study biotic stresses in legumes. A review. *Euphytica* 147: 37-47.
- Fernández-Acero FJ, Jorge I, Calvo E, Vallejo I, Camafeita LE, López JA, Cantoral JM, Jorrin J. 2006. Two-dimensional electrophoresis protein profile of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Proteomics* S1'06: 88-96.
- Echevarría-Zomeño, S., Pérez-De-Luque, A., Jorrín, J., Maldonado, A.M. Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57:4189-4200
- Maldonado, A.M., Doerner, P., Dixon, R.A., Lamb, C.J. & Cameron, R.K. A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, 2002 419: 399-403
- Jorge, I., Navarro, M., Lenz, C., Ariza, D., Porras, C., Jorrín, J. 2005. . The Holm Oak leaf proteome. Analytical and biological variability in the protein expression level assessed by 2-DE and protein identification by MS/MS de novo sequencing and sequence similarity searching. *Proteomics* 5: 222-234.
- Jorrín, J., Bárcena, J.A., Calvete, J.J. 2005. Report on the First Congress of the Spanish Proteomics Society. *Proteomics*, 5, 2712-2715.
- Cánovas.M, Dumas-Gaudot, E., Recorbet, G., Jorrín, J., Mock, H.P., Rossignol, M. 2004. Plant proteome analysis. *Proteomics* 4: 285-298.
- Castillejo, M.A., Amiour, N., Dumas-Gaudot, E., Rubiales, D., Jorrín, J.V. 2004. A proteomic approach to studying plant response to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in pea (*Pisum sativum*). *Phytochemistry* 65: 1817-1828.