

PARTICIPACIÓN DE LAS CIENCIAS ANALÍTICAS MODERNAS (GENÓMICA, PROTEÓMICA, METABOLÓMICA) EN EL ESTUDIO DE LAS PLANTAS

PARTICIPATION OF MODERN ANALYTICAL SCIENCES (GENOMICS, PROTEOMICS, METABOLOMICS)
IN THE PLANT STUDIES

*L. García Mier, J. Alonso Herrada, I. Torres Pacheco, R.G. Guevara González, A. Cruz Hernández *C.A. Ingeniería de Biosistemas, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Universitario, Cerro de Las Campanas s/n Col. Las Campanas, C.P. 76010, Querétaro, México*

J. Campos Guillén, X. Gutiérrez Ramos, M.J. Vázquez Moreno, Licenciatura de Microbiología, campus Aeropuerto, Universidad Autónoma de Querétaro.

M. Hernández Salazar, PROPAC, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

A.A. Feregrino Pérez, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Querétaro.

Autor para correspondencia:

*** andrex1998@hotmail.com**

*** andres.cruz@uaq.mx**

Fecha de recepción: 21/05/2012

Fecha de aceptación: 31/06/2012

Resumen

Actualmente se cuenta con la genómica, la proteómica y la metabolómica como herramientas claves y complementarias para el estudio de los organismos. La genómica se encarga del estudio de los genes, la proteómica y la metabolómica la complementan enfocándose en los productos génicos, es decir en el estudio de las proteínas y los metabolitos, respectivamente.

Este tipo de herramientas proveen la plataforma para los estudios funcionales, que pueden ser extendidos para la evaluación de los cambios globales en la expresión génica, el establecimiento de sistemas para el análisis multiparalelo del nivel de transcritos, la complejidad de las proteínas y los perfiles metabólicos resultantes. La integración de los datos de los sistemas biológicos, permitirá establecer un modelo fundamental para la comprensión de la evolución, el desarrollo y la adaptabilidad de las plantas.

El objetivo de esta revisión es conocer los fundamentos de la genómica, proteómica y metabolómica y su utilidad en el estudio de los procesos vegetales.

Palabras clave: Cromatografía, Electroforesis 2D, MALDI-TOF, Microarreglos, Secuenciación.

Abstract

In order to understand the biological function from all the organisms, new tools have been developed. These include genomics, proteomics and metabolomics studies as complementary key tools. The Genomics study the genome content, proteomics and metabolomics are focusing in the gene products, that include proteins and metabolites.

These tools are the platform for the new functional studies, and they could include the analysis of global changes in gene expression and the establishment of systems for the multiparallel analysis of transcripts, proteins and metabolites.

The integration of biological data, will allow the establishment of a fundamental model for the comprehension of the evolution, development and plant adaptability. The objective of this review is to understand the main concepts of genomics, proteomics and metabolomics, and their use in the studies of plant processes.

Keywords: Chromatography, MALDI-TOF, Microarrays, Sequencing, 2D Electrophoresis.

ANÁLISIS DE GENOMAS (GENÓMICA)

El desarrollo de técnicas nuevas para el análisis del genoma (secuenciación masiva, microarreglos de DNA), permite el análisis simultáneo de miles de genes en una especie en un momento determinado. El análisis ha ayudado a genes que no podrían identificarse en un análisis tradicional (Jackson y col. 2006). La secuencia de un genoma, consiste en la totalidad de la información genética que posee un organismo, y es una fuente importante de investigación básica en aspectos de evolución y desarrollo de plantas y es muy útil para el desarrollo de nuevos genotipos.

Las diferentes especies vegetales tienen diferentes contenidos de DNA (Aramuganathan y Earle, 1991), el contenido de DNA de muchas plantas incluye entre 100 millones a 100 mil millones de letras, organizadas en unos 20000 a 50000 genes (Ekblom y Galindo, 2011).

Actualmente se ha publicado las secuencias genómicas de doce especies vegetales, de diferentes familias, características y usos (Tabla 1).

Estos genomas proveen de herramientas e información genética que ayuda a la elucidación del

genoma de otras especies vegetales. Con el desarrollo de nuevas estrategias y tecnologías para la secuenciación de genomas, será posible desarrollar programas para la secuenciación de nuevos organismos vegetales. Hoy es posible obtener una secuencia parcial o una secuencia genómica completa (Ekblom y Galindo, 2011). Los costos para estos proyectos ahora son muy accesibles, la secuenciación del primer genoma vegetal resultó en un esfuerzo de muchos años con un costo de millones de dólares. Los costos para la secuenciación de un genoma están en el orden de miles de dólares, y existen nuevas herramientas bioinformáticas para facilitar su ensamblaje e interpretación de las secuencias (Ekblom y Galindo, 2011).

Lo que ayudara a entender varios procesos y las relaciones filogenéticas entre las plantas. La información que se genere, ayudará a entender los mecanismos de adaptación de las plantas a diferentes ambientes, a diferentes estímulos y los efectos durante diferentes procesos de desarrollo vegetal (Jackson y col. 2006).

Tabla 1. Genomas vegetales secuenciados

Nombre común	Nombre científico	Familia	Número de cromosomas	Contenido (MB)
Arabidopsis (2002)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Brassicaceae	5	125
Arroz (2005)	<i>Oriza sativa</i>	Poaceae	12	389
Álamo (2006)	<i>Populus trichocarpa</i>	Salicaceae	19	485
Uva (2007)	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	19	487
Papaya (2008)	<i>Carica papaya</i>	Caricaceae	9	372
Maíz (2008)	<i>Zea maiz</i>	Poaceae	10	2.300
Pepino (2009)	<i>Cucumis sativus</i>	Cucurbitaceae	7	243
Sorgo (2009)	<i>Sorghum bicolor</i>	Poaceae	10	730
Soya (2010)	<i>Glicine max</i>	Leguminosae	20	950
Fresa (2011)	<i>Fragaria vesca</i>	Rosaceae	7	240
Cacao (2011)	<i>Teobroma cacao</i>	Sterculiaceae	10	430

Las técnicas basadas en perfiles transcriptómicos (microarreglos) permiten el análisis simultáneo de miles de genes que son regulados transcripcionalmente, y que son usados para estudiar cambios en la expresión genética (Tan y col. 2009). Los microarreglos de DNA son las herramientas genómicas basadas en arreglos más utilizadas (Lodha y Basak, 2012). Estos arreglos usan cientos o millones de sondas altamente organizadas sobre una superficie sólida delimitada, que sirven para preguntar simultáneamente a diferentes moléculas de DNA o RNA, definidas como blancos (targets) acerca de su similitud o su expresión dentro de muestras individuales (Clarke y Zhu, 2006). Existen muchos protocolos, sin embargo la técnica básica involucra la extracción de ARNm (ARN mensajero) de dos muestras biológicas, una muestra control y otra experimental.

Los RNA aislados son convertidos a cDNA (DNA complementario al RNA mensajero) por RT-PCR

(transcripción reversa acoplada a reacción en cadena de la polimerasa) (Lodha y Basak, 2012) Cada una de las muestras se marca con diferentes fluorocromos (Figura 1), se mezclan y se hibridan por un periodo de tiempo contra un gran número de secuencias genéticas que fueron colocadas como sondas individuales en un chip de microarreglos (Tan y col. 2009; Lodha y Basak, 2012). Después de la hibridación, el exceso de cDNA se lava y los resultados de la hibridación son analizados determinando la intensidad relativa de la fluorescencia de cada gene. En general la fortaleza de la señal representa: A) la abundancia de la secuencia blanco (nivel de transcrito, si las muestras son de RNA) o B) similitud de las secuencias entre las sondas y los blancos (Clarke y Zhu, 2006).

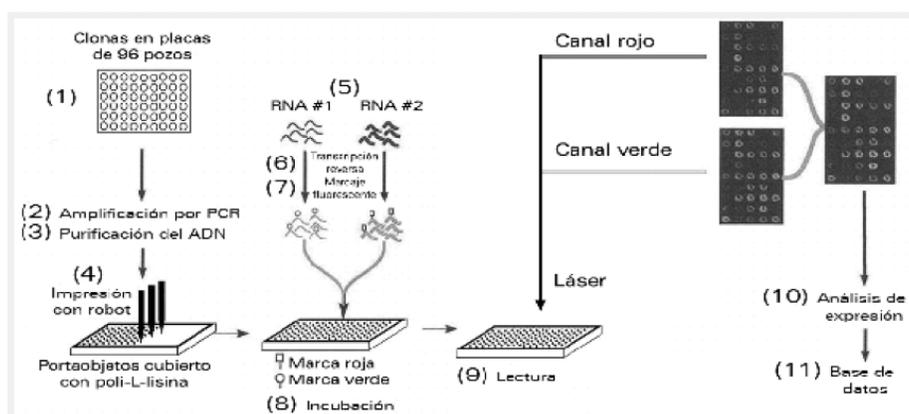


Figura 1. Esquema del proceso de hibridación de microarreglos de DNA (Hernández-Romano, 2006)

Existen dos tipos básicos de microarreglos; arreglos de cDNA y microarreglos de oligonucleótidos. En los microarreglos de cDNA, los arreglos (spotted arrays) son creados por la depositación de una solución concentrada de DNA de cadena doble sobre un soporte sólido, usando un robot (Lodha y Basak, 2012). En los microarreglos de oligonucleótidos (secuencias cortas de DNA, usualmente

de 16-20 pares de bases), los oligonucleótidos específicos se sintetizan en una orientación espacial predeterminada sobre una superficie sólida, utilizando una técnica llamada fotolitografía.

Affimetrix, la compañía pionera de esta tecnología, dispone de presentaciones comerciales de arreglos de diferentes organismos (Lodha y Basak, 2012).

Algunas veces, los oligonucleótidos son depositados en soportes de vidrio utilizando mecanismos semejantes a impresoras de inyección de tinta. La densidad de los oligonucleótidos en los vidrios puede ser muy alta, algunos arreglos recientes muestran un ordenamiento de 192,000 a 240,000 oligonucleótidos por chip (Lodha y Basak, 2012).

Desde su aparición hace dos décadas, los microarreglos de DNA han revolucionado la biología molecular (Clarke y Zhu, 2006). Dirigida a la secuencia del genoma mismo, los microarreglos se han utilizado para identificar genes nuevos, sitios de unión a factores de transcripción, cambios en el número de copias de DNA y variaciones de una secuencia, tal como una cepa emergente de patógenos o mutaciones complejas en genes humanos responsables de enfermedades. En el caso de plantas, los microarreglos de DNA facilitan el reconocimiento de patrones de expresión genética global, comparando los patrones de expresión entre diferentes muestras (en diferentes condiciones o estadios de desarrollo), las diferentes asociaciones entre un carácter específico y los cambios en la expresión, incluso se pueden hacer sugerencias sobre la función genética, para mejoramiento vegetal (Clarke y Zhu, 2006).

ANÁLISIS DE PROTEÍNAS (PROTEÓMICA)

El desarrollo tecnológico ha comenzado a aplicarse en la era post-genómica, donde el foco de la investigación gradualmente se ha mudado de genes y genomas a proteínas y proteomas para el análisis de sus funciones (Vihinen, 2001). Las proteínas son moléculas orgánicas complejas, formadas por aminoácidos ordenados en cadenas polipeptídicas mantenidas por enlaces químicos entre el grupo amino (NH_2) de un aminoácido y el grupo carboxilo (COOH) del siguiente aminoácido.

Se conoce que en la naturaleza existen 20 aminoácidos, las posibilidades de ordenamiento de estos aminoácidos en las proteínas es 20^{20} , es decir que la maquinaria celular puede producir millones de

péptidos diferentes con solo 20 aminoácidos. Las proteínas se encuentran en todos los organismos, son las moléculas biológicas más abundantes y son de suma importancia para la función y organización celular vegetal (Bertone y Snyder, 2005). En la actualidad se dispone de avances biológicos cuantitativos a gran escala para estudiar los comportamientos de moléculas relevantes biológicamente, entre estas técnicas las más ampliamente utilizadas en la biología de plantas esta la proteómica, que permite la cuantificación y posterior identificación de cientos o miles de proteínas de un organismo (Bertone y Snyder, 2005).

El estudio de las proteínas expresadas diferencialmente en el perfil proteómico puede ayudar al entendimiento, posible control y manipulación de las características de calidad y nutricionales de las plantas. Similar al perfil de la expresión génica, la proteómica ofrece la oportunidad de examinar y clasificar los patrones temporales de la acumulación de proteínas que ocurren en diferentes procesos vegetales. Las estrategias proteómicas desarrolladas permiten caracterizar las modificaciones de las proteínas que no pueden ser predichas de una secuencia genómica, complementando las funciones de esta (Mann y Jensen, 2003).

El desarrollo de técnicas y métodos para la separación y purificación las proteínas ha sido un importante prerrequisito para muchos de los avances realizados en las biociencias y la biotecnología durante los últimos cinco décadas. Las mejoras en materiales, la utilización de instrumentos computarizados, y un incremento en el uso del etiquetado *in vivo* ha hecho que la separación de las proteínas sea más predecibles y controladas.

La meta de la proteómica es una descripción completa y cuantitativa de la expresión de las proteínas. Esta puede dividirse en *proteómica de expresión*, que tiene como objetivo la descripción del proteoma total de un tejido, tipo celular u organelo y las mediciones cuantitativas de los niveles de expresión proteómica, y *proteómica*

funcional, que se encarga del estudio de la función de proteínas dentro de sistemas biológicos (relaciona cambios de expresión con una función determinada) y la regulación de su expresión, incluyendo las interacciones proteína-proteína, proteínas-DNA, proteínas-RNA y las modificaciones postraduccionales (Bertone y Snyder, 2005).

Diversas técnicas contribuyen en el área de la proteómica. Estas incluyen a las imágenes de células por microscopia de luz o electrónica, experimentos de matriz y chip, y experimentos de lectura genética. Otros avances técnicos, tales como el desarrollo de estrategias para lidiar con pequeños volúmenes de los químicos agresivos, la introducción de la cromatografía de líquidos a alta presión (HPLC), y el nuevo soporte de inmovilización de la muestra, combinados en los secuenciadores de fase gaseosa, aumentando considerablemente la sensibilidad y permitiendo la recolección automatizada de los datos y el análisis (Aebersold y Mann, 2003).

La idea de analizar el contenido completo de las proteínas que se producen por una célula surgió hace 20 años con el desarrollo de electroforesis en gel en dos dimensiones (2D). La técnica se basa

en la separación de las proteínas en una primera dimensión, de acuerdo a sus puntos isoeléctricos (pI), entonces las proteínas son transferidas a la segunda dimensión en geles de acrilamida desnaturizante (SDS-PAGE) donde además son separadas de acuerdo a su masa (Figura 2). La aplicación de la técnica de electroforesis en dos dimensiones es la separación de las muestras de tejido, cultivo, para futuros análisis como tinción, identificación, western-blot, entre otros (Berthone y Snyder 2005). Los estudios de proteómica suelen plantear retos debido al alto grado de complejidad de los proteomas celulares y la baja abundancia de muchas de las proteínas, lo cual requiere de técnicas analíticas de alta sensibilidad.

La espectrometría de masas (MS en inglés) se ha convertido en el método de elección por sus análisis complejos de las muestras de proteínas. La MS aplicada a la proteómica es una disciplina que ha hecho posible la complementación de bases de datos de genes y genomas, los avances técnicos y conceptuales en diversas áreas, y sobre todo el descubrimiento y desarrollo de los métodos de ionización de las proteínas, como fue reconocido por el premio Nobel de Química en 2002.

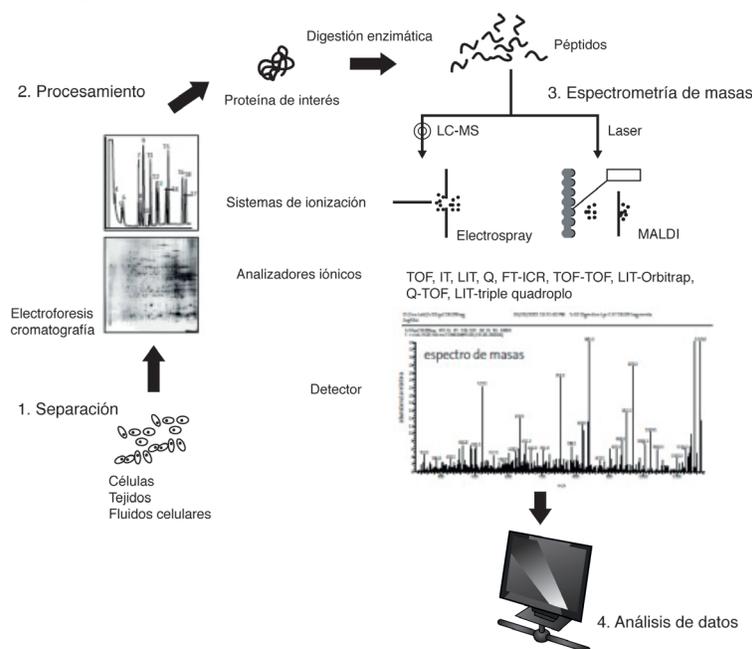


Figura 2.
Diagrama del análisis
proteómico

Las mediciones por espectrometría de masas son llevadas a cabo en la fase gaseosa en analitos ionizados. Por definición un espectrofotómetro de masas consta de una fuente de iones (Figura 3), un analizador de masas que mide la relación de masa a carga (m/z) de los analitos ionizados, y un detector que registra el número de iones en cada valor de m/z . La ionización por electrospray (ESI en inglés) y la ionización por láser desorción/ionización asistida por matriz (MALDI en inglés), son las dos técnicas más comúnmente utilizadas para volatilizar e ionizar las proteínas o péptidos para el análisis de espectrometría de masas (Aebersold y Mann, 2003).

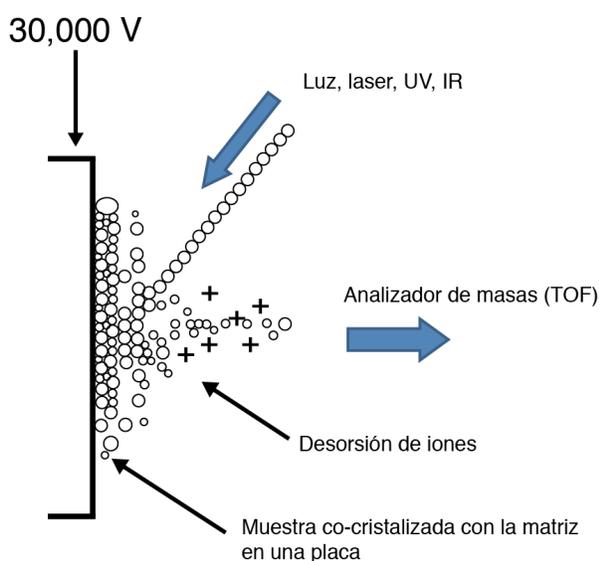


Figura 3. Fundamentos del sistema MALDI

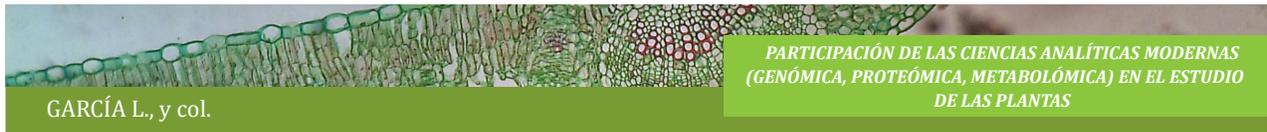
La información proteómica puede ser usada y aplicada en muchas investigaciones por ejemplo, en la identificación de proteínas, la tasa de síntesis, el nivel de expresión, la determinación de la localización y la función de una proteína, los efectos de modificaciones postraduccionales, la regulación, la caracterización, los marcadores moleculares de enfermedades, el seguimiento de la progresión de enfermedades, el análisis proteómico diferencial, los estudios en patogénesis microbiana, la respuesta a tratamientos y agentes; así como, para el estudio de blancos de drogas,

los análisis riesgosos y la expresión de los componentes de rutas metabólicas. Las áreas de interés específico han incluido el estudio de la variación de proteínas en diferentes órganos de plantas y la variación en respuesta a eventos fisiológicos.

Actualmente se han publicado estudios proteómicos para una amplia variedad de plantas superiores. Los cuales proveen una revisión de las proteínas presentes en un tejido, organelo, o estado del desarrollo. Algunos estudios son específicos para el análisis del proteoma en cuestiones biológicas específicas; como el papel del jasmonato en la señalización de defensa o para identificar proteínas fosforiladas en respuesta a evocadores de hongos o bacterias. La comparación del proteoma en geles 2D es ahora ampliamente usada en plantas para la caracterización de la diversidad genética, el análisis de procesos de desarrollo o el estudio de interacciones en ambientes bióticos o abióticos, el desarrollo de plantas, resistencia a enfermedades, fotosíntesis y otros aspectos de la función de plantas como es el caso del desarrollo y la maduración de los frutos. Están disponibles los proteomas de algunos cereales de importancia agronómica como cebada, maíz, arroz; así como para el de *Arabidopsis thaliana*, la planta modelo por excelencia.

ANÁLISIS DE METABOLITOS (METOBOLÓMICA)

Desde principios de la década de los noventa, ha ido emergiendo con fuerza la metabolómica, la última de las ciencias ómicas, este término comparado con el de genómica y proteómica surgió posteriormente. La metabolómica cataloga y cuantifica a las moléculas pequeñas, productos del metabolismo primario o secundario, que se encuentran en los sistemas biológicos, estudia cómo cambian los perfiles metabólicos dentro de un organismo como respuesta a alguna situación, tal como enfermedades, o estrés (Dunn y col. 2005).



La metabolómica se refiere al estudio, la identificación y cuantificación sistemática de compuestos de bajo peso molecular en ciertas células, tejidos o fluidos biológicos que son producto de las reacciones metabólicas en los seres vivos. En analogía con el genoma, que denota la totalidad de toda la información genética, el metaboloma representa la totalidad de los metabolitos dentro de un sistema biológico (McNiven y col. 2011).

Los campos de aplicación de la metabolómica son diversos, van desde la agricultura hasta la industria farmacéutica pasando por aplicaciones medioambientales y de la industria de alimentos. En los años recientes, la metabolómica emergió como una útil herramienta en las ciencias biológicas debido a que uno de sus principales objetivos, es identificar cambios sutiles en los perfiles metabólicos entre sistemas biológicos en diferentes estados fisiológicos o patológicos (McNiven y col. 2011). El metaboloma puede entenderse como el producto final de la expresión genética con un posible impacto en el fenotipo de una célula, tejido u organismo, de ahí, que la cuantificación de los metabolitos proporciona un amplio panorama del estatus bioquímico, que puede ser utilizado para vigilar y establecer la función de un gen (Fiehn 2002).

El número de metabolitos depende del sistema biológico estudiado. Existen diferencias entre los organismos eucariotas y procariotas. Oldiges y col. (2007) estimaron que el metaboloma de *E. coli* y *S. cerevisiae* es de 1170 y 600 compuestos, respectivamente. Para el reino vegetal se considera que éste puede estar conformado por alrededor de 200,000 metabolitos. Dependiendo del campo de estudio, la metabolómica hace uso de diferentes estrategias: (1) Target analysis (análisis del blanco), el objetivo es el análisis cuantitativo de los metabolitos del sustrato y/o producto de una proteína blanco, (2) Metabolic profiling (perfiles metabólicos), se centra en el análisis cuantitativo de un conjunto de metabolitos predefinidos, que pertenecen a una clase de

compuestos de una determinada ruta biosintética o de un grupo relacionado de metabolitos; (3) footprinting (huella externa), análisis de (exo) metabolitos secretados/excretados por un organismo); si el organismo está creciendo en cultivo se puede incluir el análisis de condiciones ambientales y de sustancias de crecimiento y 4) fingerprinting (huella dactilar) análisis de metabolitos intracelulares con importancia bioquímica; es un análisis global para clasificar la muestra de acuerdo a su origen o estatus (caso/control, saludable/enfermo) (Fiehn, 2002). Las estrategias presentadas se aplican generalmente a distinguir las diferencias en las concentraciones de metabolitos después de las modificaciones genéticas o de cambios en el entorno de la célula, que tienen una influencia directa sobre estos niveles.

La investigación de los metabolomas se ha complicado por su enorme complejidad y dinamismo. Una técnica analítica ideal debería realizarse directamente sobre las muestras, sin la necesidad de pretratamiento, además, debería ser reproducible, robusta, sensible y precisa (Lu y col. 2008); no obstante, no hay una técnica que proporcione todas estas características. Las principales técnicas analíticas que se emplean en metabolómica están basadas en resonancia magnética nuclear (NMR) y espectrometría de masas (MS). Está última, se ha establecido en los últimos años como una herramienta esencial en el análisis de metabolitos, requiere de la pre-preparación de los componentes metabólicos, ya sea mediante cromatografía de gases (GC) o cromatografía de líquidos (LC, HPLC). La electroforesis capilar (CE) acoplada a masas (MS) se presenta como una alternativa prometedora, al igual que la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). También se han utilizado ensayos enzimáticos en la determinación de metabolitos (Zhang y col. 2012).

Como se mencionó anteriormente, la espectroscopia de masas permite la separación, identificación y cuantificación de moléculas, basada en su relación masa/carga (m/z), en diferentes

matrices (líquidas, sólidas), después de su ionización. Un equipo de espectrometría de masas consta de cinco partes fundamentales: 1) sistema de introducción de muestra, 2) fuente de ionización, 3) analizador de masas, 4) detector y 5) procesador de datos. La función de la fuente de ionización en un equipo de MS es aplicar energía para generar iones, ya que el equipo sólo puede medir las moléculas eléctricamente cargadas.

El tipo de fuente de ionización utilizado depende de las propiedades de la molécula a analizar, tales como peso molecular, polaridad, volatilidad. En la Tabla 2 se resumen las fuentes de ionización. Entre los analizadores de masas se

encuentran el Cuádruplo (Q), Tiempo de Vuelo (TOF), Orbitrap y Transformada de Fourier (FTMS), los cuales varían en precisión y exactitud. En ocasiones, para aumentar la sensibilidad de los análisis se utilizan detectores tandem MS, lo cual permite en ocasiones detectar hasta el doble de compuestos que con una sola MS.

De acuerdo al análisis metabolómico que se requiere efectuar se determinan combinaciones de las fuentes de ionización y analizadores de masa (Q-TOF, MALDI-TOF MS, etc.) (Dunn y col. 2005; Zhang y col. 2012).

Tabla 2. Tipos de fuentes de ionización para análisis metabolómico

Fuente de ionización	Siglas	Modo de ionización
Ionización química (Chemical ionization)	CI	Colisión con un gas (metano-amonio) y aplicación de energía eléctrica de manera simultánea.
Ionización por impacto electrónico (Electron Impact)	EI	Aplicación de energía eléctrica (70eV)
Ionización por electrospray (Electro Spray Ionization)	ESI	Aplicación de energía eléctrica
Ionización por bombardeo rápido de átomos (Fast Atom Bombardment)	FAB	Bombardeo con un gas inerte.
Ionización-desorción asistida por láser (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation)	MALDI	Aplicación de energía mediante rayo láser.

La aplicación de cromatografía de líquidos de alta resolución -High Performance Liquid Chromatography- HPLC-MS para estudios de metabolómica es relativamente nueva; sin embargo, la amplia disponibilidad de LC-MS se ha traducido en un aumento rápido y continuo en el número de los estudios que utilizan la técnica para metabolómica. Ésta se basa en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla líquida, permitiendo identificar y determinar las cantidades de éstos. En general, en metabolómica se lleva a cabo la técnica utilizando gradientes de solvente y fase reversa (Lu y col. 2008). La GC vinculada a la espectrometría de masas es un medio eficaz para el análisis químico, la cual consiste en que los componentes de la muestra se separan debido a la partición diferencial entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria sólida. Regularmente los metabolitos de los extractos de plantas son compuestos no volátiles que no pueden ser directamente analizados por GC (Bhalla y col. 2005).

La NMR es uno de los métodos más potentes pero subutilizado para la identificación de metabolitos en plantas. Esta técnica es no destructiva, por lo que se pueden hacer determina-

ciones *in vivo*, además puede detectar una gran diversidad de metabolitos independientemente de su tamaño, carga, volatilidad o estabilidad; no obstante, es una técnica costosa lo cual representa una desventaja en comparación con otras técnicas de identificación de metabolitos. La NMR utiliza las propiedades magnéticas de los átomos para dilucidar la estructura química de los compuestos. (Zhang y col. 2011).

Un paso esencial es el análisis de la gran cantidad de datos que se obtienen después del análisis instrumental y, aunque se dispone de software especializado para el análisis de éstos, usualmente se requiere también de trabajo manual para mantener una buena calidad de los datos, en aras de obtener informes correctos, sobre todo cuando se realiza el análisis cuantitativo de metabolitos. Usualmente, para el análisis de datos se emplean métodos estadísticos multivariantes para comprimirlos en formas más fácilmente manejables (Hendrix y col. 2011). Este proceso puede ayudar en la visualización de patrones y el agrupamiento entre muestras, dos de los temas centrales en el análisis metabolómico, la Figura 4 muestra el diagrama de flujo del análisis metabolómico.

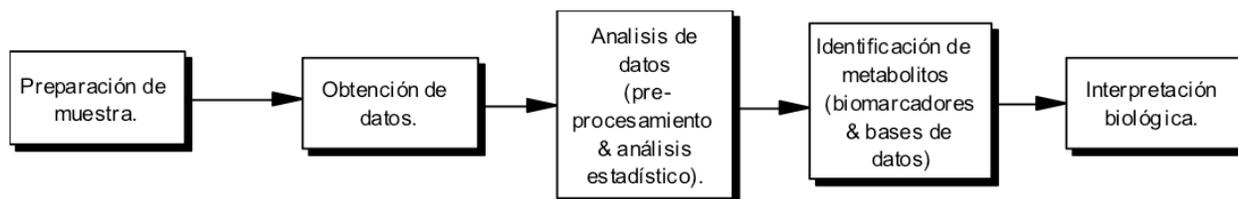


Figura 4. Diagrama de flujo para análisis metabolómico (adaptado de Lu y col. 2008).

En cuanto a la metabolómica de las plantas, la gran variedad de muestras disponibles (hojas, raíces, savia, frutos, tallos, tubérculos, flores y materiales derivados) se refleja en el amplio número de estudios en este sentido, cuya relevancia no es menor debido a la importancia de las plantas en la vida diaria (comida, materia prima para procesos industriales, elaboración de com-

bustibles, etc.). Las plantas sintetizan compuestos en las raíces que se transportan a través de la savia del xilema. Algunos de estos compuestos son vitales para señalización y adaptación al estrés ambiental, como sequía. El análisis de savia ha demostrado ser crucial para entender cómo las alteraciones en la composición pueden dar lugar a cambios en el desarrollo y la señalización

durante la adaptación a la sequía. Los análisis de metabolómica pueden ser una herramienta útil en el descubrimiento de sustancias bioactivas que se produzcan en la planta como resultado de la interacción con herbívoros u otra condición de estrés (Jansen y col. 2009). Combinada con los resultados de los análisis de microarreglos de DNA, la metabolómica, ha ayudado a revelar nuevas vías de producción de metabolismo secundario, además de proporcionar nueva información sobre vía la regulación de factores de transcripción y control de almacenamiento vacuolar de los metabolitos secundarios (Jansen y col. 2009).

Las investigaciones actuales de la metabolómica en plantas pueden ayudar al mejoramiento de los cultivos para que los alimentos tengan mayor biodisponibilidad y proporción de compuestos benéficos para la salud. El análisis metabolómico del exudado de raíces de *Arabidopsis* identificó 125 metabolitos secundarios, los cuales difirieron entre las especies silvestres y domesticadas (Bhalla y col. 2005). La identificación del metaboloma de las plantas es un gran reto debido a las repercusiones del ambiente en el metabolismo, incluso en cultivos en invernadero donde las condiciones medioambientales son controladas (Dunn y col. 2005).

CONCLUSIÓN

Se han desarrollado nuevas estrategias de análisis masivo, que permiten la identificación de genes, proteínas y metabolitos en un momento o condición determinada. A la fecha se conocen la secuencias genómicas de más de 300 seres vivos, desde bacterias a mamíferos incluyendo hongos plantas; XX proteomas y un gran número de estudios de metabolitos secundarios. La interpretación integral de los datos generados nos permitirá identificar las moléculas responsables de los diferentes procesos y eventualmente conocer el comportamiento molecular de los organismos bajo una condición definida. La correlación de estos resultados traerá por consecuencia la selección de condiciones para una

mejor adaptación de los organismos (en este caso las plantas), para su sobrevivencia y utilidad. En el futuro, no será extraño encontrar las secuencias de genomas o proteomas ligados al mejoramiento de la calidad de los vegetales.

Referencias bibliográficas.

- Aebbersold, R., Mann, M., 2003. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, pp 198-207.
- Aramuganathan, K., Earle, E.D., 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*. 9, pp. 208-218.
- Bhalla, R., Narasimhan, K., Swarup, S., 2005. Metabolomics and its role in understanding cellular responses in plants. *Plant Cell Reports*. 24, pp. 562-571.
- Bertone, P., Snyder, M., 2005. Prospects and challenges in proteomics. *Plant Physiology*. 138, pp. 560-562.
- Clarke, J. D., Zhu, T., 2006. Microarray analysis of the transcriptome as a stepping stone towards understanding biological systems: practical considerations and perspectives. *The plant journal*. 45, pp. 630-650.
- Dunn, W.B., Bailey, N., Johnson, H.E., 2005. Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*. 130, pp. 606-625.
- Eklblom, R., Galindo, J., 2011. Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Hereditas*. 107, pp. 1-15.
- Fiehn, O., 2002. Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology*. 48, pp. 155-171.
- Hernández Romano Jesús. 2006. Microarreglos y su impacto en la salud pública. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 26 (1), enero-marzo, pp 1-5.
- Jackson, S., Rounsley, S., Purugganan, M., 2006. Comparative sequencing of plant genomes: choices to make. *The Plant Cell*. 18, pp. 1100-1104.
- Jansen, J. J., Allwood, J.W., Marsden-Edward, E., Van de Putten, W. H., Goodacre, R., Van Dam, N. M., 2009. Metabolomic analysis of the interaction between plants and herbivores. *Metabolomics*. 5, pp. 150:161.
- Lodha, T. D., Basak, J., 2012. Plant-pathogen interactions: what microarrays tells about it?. *Mol Biotechnol*. 50, pp. 87-97.
- Lu, X., Zhao, X., Bai, C., Zhao, C., Lu, G., Xu, G., 2008. LC-MS-based metabolomics analysis. *Journal of Chromatography*. 866, pp. 64-76.
- Mann, M., Jensen O.N., 2003. Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nature Biotechnology*. 21, pp. 255-261.



GARCÍA L., y col.

PARTICIPACIÓN DE LAS CIENCIAS ANALÍTICAS MODERNAS
(GENÓMICA, PROTEÓMICA, METABOLÓMICA) EN EL ESTUDIO
DE LAS PLANTAS

McNiven, E. M.S., Geramn, J. B., Slupsky, C. M., 2011. Analytical metabolomics: nutritional opportunities for personalized health. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 22, pp. 995–1002.

Tan, K. C., Ipcho, S. V. S., Trengove, R. D., Oliver, R. P., Solomon, P. S., 2009. Assessing the impact of transcriptomics, proteomics and metabolomics on fungal phytopathology. *Molecular Plant Pathology*. 10, pp. 703–715.

Vihinen, M. 2001. Bioinformatics in proteomics. *Biomolecules Engineering*. 18, pp. 241-248.

Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., Wang, X., 2012. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*. 137, pp. 293–300.