

INTRODUCCIÓN A LA GENOMICA EN VID

Alejandro Riquelme y Manuel Pinto

¹ Grupo de Investigación Enológica (GIE). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Casilla 1004, Santiago, Chile, manpinto@uchile.cl, www.gie.uchile.cl.

GENERALIDADES

Se define como Genómica a la disciplina que estudia el genoma de los seres vivos. Tiene como objetivo catalogar todos los genes que tiene un organismo, estudiar la organización y estructura de cada uno de ellos pero también descubrir la función, los mecanismos implicados en la regulación de la expresión y el modo en que unos genes interactúan con otros. Desde un punto de vista conceptual, pero también metodológico, los cambios que se están produciendo en esta disciplina son muy importantes. Hasta ahora, con las tecnologías disponibles de Biología Molecular se estudiaban la estructura y función de genes individuales. Las aproximaciones de la genómica en cambio permiten el estudio conjunto de los miles de genes, proteínas y metabolitos que constituyen un organismo así como las complicadas redes de interacciones que entre ellos se establecen en el interior de las células durante su ciclo vital.

Como consecuencia de lo anterior, la cantidad de información que se está generando es enorme y por tanto, ha sido necesario el desarrollo en paralelo de potentes herramientas bioinformáticas que permitan almacenar y analizar de forma conveniente los datos obtenidos. Este caudal de conocimientos está permitiendo, cada vez más, interpretar en términos moleculares no sólo la biología del propio ser humano sino también la de aquellas especies animales y vegetales de interés para el hombre.

A continuación se presentará de una forma muy general algunos conceptos básicos de genómica, de como se han articulado los estudios en eucariotas y como nuevas tecnologías están emergiendo al amparo de esta actividad.

1. ADN Y GENES

1.1.- DEFINICIÓN DE GEN

El concepto de gen ha ido variando a lo largo del tiempo. La idea original del gen proviene de los experimentos de Gregor Mendel, aunque él no los denominó genes, sino “**factores**”, y que vendrían a ser los responsables de la transmisión de los caracteres de padres a hijos.

Fue hacia 1950 es que se aportaron pruebas definitivas sobre la naturaleza molecular del gen. Por un lado se descubrió que los genes están constituidos por ADN (ácido desoxirribonucleico). Por otro lado, se descubrió que ese ADN contenía la información

necesaria para la síntesis de una cadena determinada de proteína. Así pues, la definición de gen pasó a ser **“la cadena de ADN capaz de dirigir la síntesis de una proteína”**.

Posteriormente este concepto ha sido matizado. En primer lugar, se sabe que muchas proteínas están constituidas por más de una cadena polipeptídica y que cada una de ellas está codificada por un gen diferente. Por ello la definición pasó a ser: **“la cadena de ADN capaz de dirigir la síntesis de un polipéptido”**.

Sin embargo, hoy se sabe que no es del todo correcta ya que determinados genes son capaces de codificar más de un polipéptido, y por otra parte, un mismo polipéptido puede ser codificado por diferentes genes. Además, existen algunos genes que no codifican proteínas sino ARNs (ácidos ribonucleicos). Por último, dentro de lo que se entiende por gen no únicamente se incluyen las regiones que codifican para un polipéptido sino también aquellas que determinan tanto en que tejidos, como en que momentos, o en que cantidades se ha de producir el mismo.

A pesar de ello nos quedaremos con la siguiente definición: **“Fragmento de ADN que contiene toda la información necesaria para la síntesis de un polipéptido”**.

1.2.- ESTRUCTURA BÁSICA DEL ADN

Como se ha comentado el ADN es la molécula que contiene la información genética y la sustancia de la cual están hechos los genes. Por eso, para comprender el funcionamiento de los genes se ha de conocer al menos su estructura básica.

El ADN es un polinucleótido, es decir, está formado por la unión de nucleótidos. Existen 4 nucleótidos diferentes: Adenina (A), Timina (T), Guanina (G) y Citosina (C). Cada nucleótido, a su vez, está formado por una base nitrogenada, una pentosa (azúcar) y un grupo ortofosfórico, a través de este último componente se realizan las uniones entre nucleótidos. La unión del grupo fosfato tiene lugar en las posiciones 5' o 3' de la pentosa, lo cual hace que las cadenas estén orientadas (es decir posee dirección 5' → 3').

El orden en que se sitúan los nucleótidos se denomina secuencia del ADN. El método más usado para la secuenciación es el conocido como técnica de terminación de cadena de Sanger, la cual se ha perfeccionado conociéndose actualmente como la técnica del dideoxigeno.

Esta sería la estructura básica del ADN, sin embargo, la mayor parte de las veces el ADN se encuentra formando una estructura más compleja que consiste en dos cadenas como la anterior que se enlazan una con otra de manera complementaria y siempre se mantiene la siguiente regla las bases A se une con T, y C con G. Estas dos cadenas, se enrollan una sobre otra, formando la famosa doble hélice (Figura 1).

<p><i>Medidas del tamaño de los fragmentos de ADN: número de pares de bases.</i> <i>pares de bases = pb ; mil pares de bases = Kb</i></p>

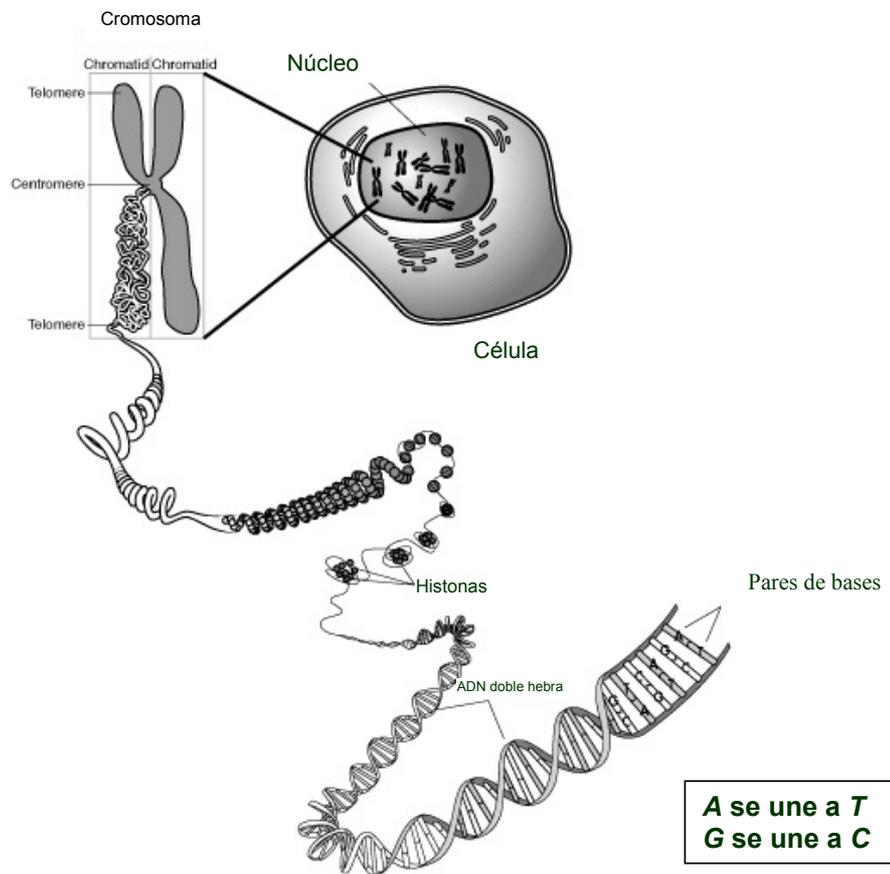


Figura 1. Los cromosomas se encuentran en el núcleo y están formados por hebras de ADN superenrolladas que a su vez están formadas por dos hebras unidas por las bases nitrogenadas.

1.3.- PARTES DE UN GEN

Como se ha comentado antes los genes son segmentos de ADN capaces de dirigir la síntesis de proteínas determinadas (Figura 2), y ello lo hacen a través de un ARN intermediario. El siguiente diagrama muestra la forma en que la información genética se transmite desde el ADN hasta la proteína.



Por lo tanto, estos segmentos de moléculas de ADN que son los genes han de contener las señales o información necesaria para realizar estos procesos. Estos segmentos se pueden dividir en diferentes partes según un criterio de funcionalidad.

Básicamente, un gen estaría constituido por 3 partes:

1. **Promotor:** que establece cuándo y en qué cantidad se transcribirá el gen.
2. **Región codificante:** el fragmento de ADN que determina la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada.
3. **Terminador:** que contiene las señales que determinan el término del proceso de transcripción, evitando que continúe hacia otros genes que se encuentran más adelante.

Todas estas señales son "leídas" y decodificadas por interacciones establecidas con proteínas específicas. Además, algunos genes contienen intrones. Los intrones son secuencias dentro de un gen que son eliminadas en el procesamiento del mensajero mediante un proceso denominado de "splicing" y que, por tanto, no están presentes en el mRNA maduro. El número, tamaño y posición de los intrones varía de un gen a otro (Figura 3).

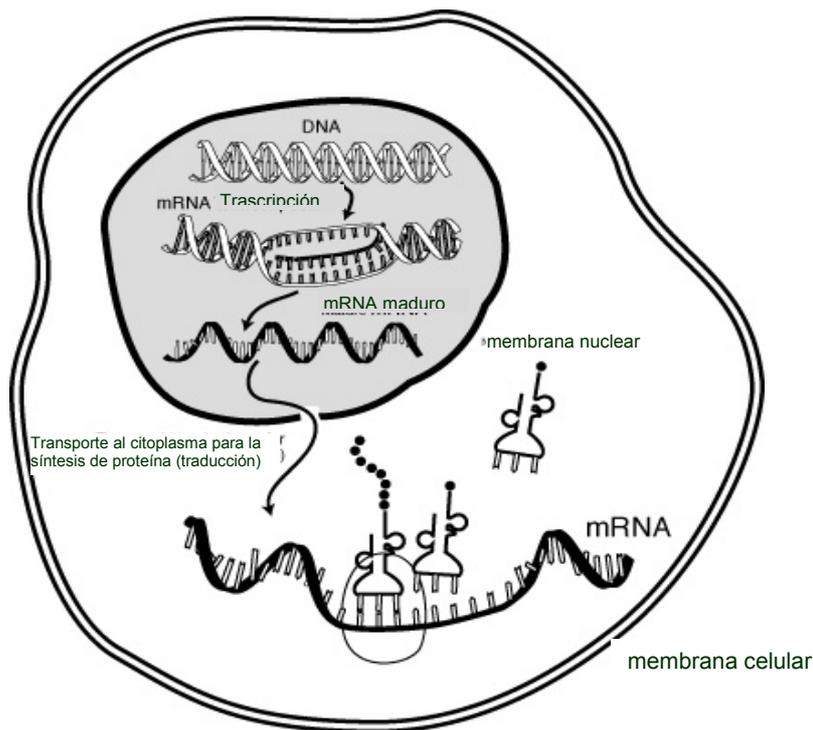


Figura 2. Un gen es aquella zona del ADN que codifica para una proteína o polipéptido. En el proceso de transcripción se forma el mARN a partir del ADN y luego este mARN sale del núcleo para entrar en el proceso de traducción, obteniéndose finalmente el polipéptido.

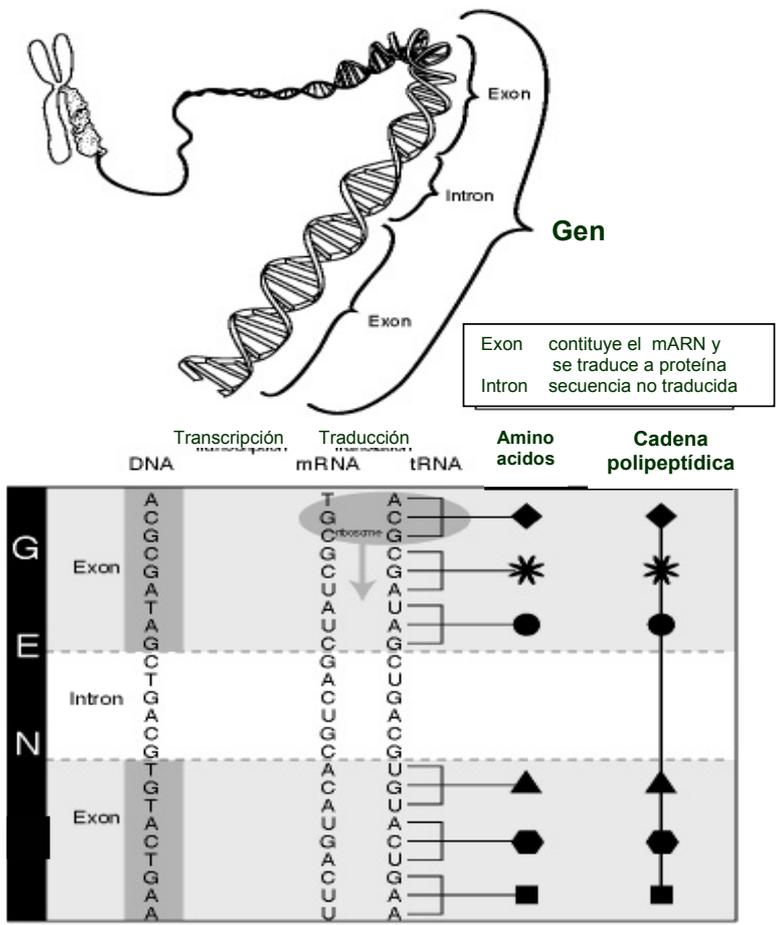


Figura 3. El gen posee zonas que no son traducidas en proteínas llamadas intrones y que deben ser sacados del mRNA para obtener un mRNA maduro.

2. LIBRERÍAS DE ADN o GENOTECAS

2.1.- CONCEPTO DE LIBRERÍA

Una librería de DNA es una colección de clones de vectores que contienen fragmentos de DNA diseñada de tal manera que, mediante un determinado sistema de selección, se pueden llegar a separar los clones de interés.

Commentaire : (un DNA de pequeño tamaño capaz de autoreplicarse conteniendo un DNA foráneo y de perpetuarse en células huésped)

Así pues, una librería de ADN podría ser una colección de fagos que contienen una muestra representativa de fragmentos de un genoma (librería genómica) o una colección de bacterias que contienen plásmidos en los que se ha clonado una muestra significativa de los genes que se transcriben en un determinado tejido.

Por tanto, para tener una librería deberemos tener:

- Un sistema eficiente de clonaje de ADN, puesto que deberemos manejar un número considerable de clones (Figura 4).
- Un sistema de selección de los clones que nos interesan de entre toda la colección.
- Un sistema para la obtención de una muestra representativa del ADN a estudiar.

Según cual sea el propósito de nuestro estudio existen diversos tipos de librerías:

- **Librerías genómicas:** se elaboran a partir de ADN genómico de una especie que se digiere hasta un tamaño suficientemente pequeño para ser clonado en el vector de una manera mas o menos al azar. La detección se realiza mediante hibridación de sondas.
- **Librerías de cromosomas específicos:** como las anteriores pero a partir de ADN de determinados cromosomas purificados. La detección se realiza mediante hibridación de sondas.
- **Librerías de cDNA:** se realizan a partir de mRNAs de un tejido particular. La detección se realiza mediante hibridación de sondas.
- **Librerías de expresión:** como el anterior pero el clonaje se realiza de tal manera que la bacteria es capaz de transcribir y traducir la proteína codificada por el fragmento de ADN. La selección se realiza detectando la proteína en si mediante anticuerpos, o bien alguna manifestación de su actividad.

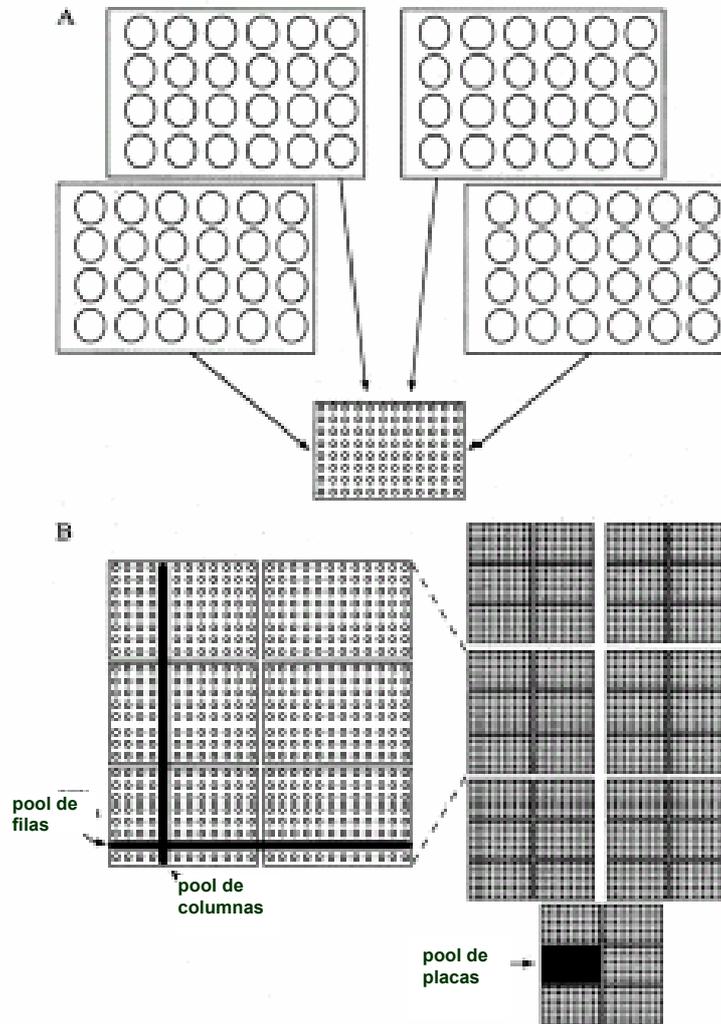


Figura 4. Representación esquemática de una configuración y concentración de una librería de cDNA. (A) Los clones fueron primero propagados en placas individuales sobre medio sólido en discos de cultivo de 24 posillos. Seguido de lisis, las suspensiones de los fagos fueron preparadas de cada posillo por elusión con buffer SM y transferidos a placas con 96 microposillos. (B) Las placas de 96 microposillos fueron arregladas en ocho bloques de seis placas cada uno

3.- PROYECTOS GENOMA

La secuenciación de un genoma completo obviamente permite descubrir la secuencia de todos los genes. Sin embargo, el trabajo no es tan sencillo. Por un lado, a partir de la secuencia total hay que identificar los genes, cosa que no siempre es obvia. En segundo lugar, una vez identificados los genes hay que conocer como se regulan y para que sirven. Por tanto, si bien la obtención del genoma completo es de grandísima ayuda, no lo es todo.

3.2.- PROYECTOS DE SECUENCIACIÓN DE ESTs

Un EST (Expressed Sequence Tag) no es más que una secuencia parcial de un cDNA clonado. Por lo tanto, un proyecto de secuenciación de ESTs consistirá en la obtención de un número elevado de secuencias parciales a partir de una colección de cDNAs clonados, o sea, a partir de una librería de cDNAs. Como a librería de cDNAs, los ESTs serán una representación de los genes que se están transcribiendo en un tejido, en un momento determinado en una especie concreta. Particularidades:

- Normalmente se secuencian una sola vez, por lo que no son secuencias 100 % libres de errores.
- Son redundantes, es decir, aquellos genes que más se transcriben son los que más secuencias presentan (existen métodos para reducir la redundancia).

¿Para que sirven?

- Saber que genes se transcriben en un determinado momento
- Saber si nuestro gen se transcribe en un tejido.
- Descubrir genes o confirmar posibles genes descubiertos en un proyecto genoma.
- Confirmar los límites de un gen y sus intrones.
- Secuenciar genes (en especies donde no se tiene el genoma completo)

Particularidad: Hemos visto que las librerías de cDNA se realizan a partir de cDNA sintetizado usando poliT como iniciador de la transcriptasa reversa. Esto no siempre tiene que ser así. Por ejemplo, si nos interesa un gen en concreto podemos usar un iniciador específico de ese gen. También podemos usar iniciadores (ó partidores) al azar, o más o menos al azar. Esto quiere decir que no siempre los ESTs han de representar las secuencias de los extremos del ARN. Además, la transcriptasa reversa puede no copiar completamente el mRNA con lo que las secuencias 5' no siempre corresponden al extremo del mensajero. Esto, que en otras circunstancias puede ser malo, en el caso de los ESTs no necesariamente ya que nos permite tener secuencias parciales a lo largo de todo el gen, con lo que se pueden solapar y obtener una secuencia mucho más completa del mismo.

3.3.- GENERACIÓN DE BANCOS DE ESTS.

La complejidad de los genomas eucariotas hace aconsejable, como primera aproximación, no abordar el estudio del genoma completo. Es preferible estudiar sólo una fracción del mismo, es decir aquellos genes que se están expresando en un momento determinado de la biología del organismo. Para ello se obtienen poblaciones de cDNAs que se secuencian de forma masiva para generar miles de secuencias parciales o ESTs (Expressed Sequence Tags). Estas secuencias cortas (300-500 pb) suelen ser suficientes para la identificación de los genes mediante comparación con las secuencias existentes en las bases de datos públicas (ej. Genbank, EMBL) utilizando para ello poderosos programas de análisis informático. Si la información contenida en la secuencia parcial no es suficiente habría que determinar la estructura de cDNAs completos para estudiar su función por otros métodos. La realización de bancos de ESTs de diferentes tejidos en diferentes situaciones fisiológicas conduciría al descubrimiento sucesivo de nuevos genes hasta elaborar un catálogo de la mayoría de los que se expresan en un ser vivo.

3.4.- SECUENCIACIÓN GENÓMICA

La aproximación anterior, sin embargo no permitía identificar genes que se expresan a bajo nivel o en situaciones fisiológicas no consideradas. La única forma de tener un catálogo completo de los genes de un individuo es secuenciar su genoma. Para ello el DNA genómico total se digiere con enzimas de restricción apropiadas para generar fragmentos de gran tamaño (100-300 kb) que se clonan en vectores apropiados (p.ej BACs, cromosomas artificiales bacterianos) para construir genotecas que contienen, al menos, una representación completa del genoma distribuida en decenas de miles de volúmenes diferentes que se pueden estudiar con detalle y secuenciar uno a uno. Un gran problema en el estudio de las secuencias genómicas es distinguir las zonas codificantes para genes (que en muchos organismos representa un porcentaje bastante pequeño del genoma), de las no codificantes. Ello se consigue mediante comparación con las secuencias de ESTs y cDNAs previamente estudiadas.

3.5.- MICROCHIPS DE DNA

La técnica de “microchips” (o “microarrays”) de ADN es un método que lo que pretende es identificar genes que se transcriben más o menos en una determinada circunstancia respecto a otra. Por ejemplo, todos los genes de hoja de arroz que se inducen por calor. Por lo tanto, en sus objetivos no es diferente a, por ejemplo, un “northern”, un “differential display” o una librería de sustracción. La diferencia radica en que en el caso de microchips el número de genes que se estudia en un solo experimento es muchísimo mayor (potencialmente, se pueden estudiar todos los genes).

La técnica de los microchips está basada en la existencia de bancos de ESTs. Si uno secuenciar el número suficiente de cADNs en un número suficiente de tejidos podría, en teoría, aislar ADN de cada uno de los genes de un organismo, ADNs que podrían usarse como sondas. Si uno pudiera inmovilizar estas miles de sondas sobre un filtro podría marcar mRNA mediante transcriptasa reversa y nucleótidos marcados, e hibridar esas sondas, apareciendo cuales y cuanto se transcriben en ese tejido concreto.

Esta es la base del microchip solo que:

- Las sondas no se fijan sobre una membrana sino sobre un vidrio (ó placas plásticas)
- Las cantidades de sonda utilizadas son mínimas para reducir el espacio
- Los mARNs se marcan con fluorescencia
- Se realizan dos hibridaciones simultáneas con ARNs marcados con distinta fluorescencia, esto permite comparar la expresión de los genes en dos condiciones diferentes.

Los microordenamientos (microarrays) son soportes sólidos sobre los que se han fijado pequeñas cantidades de ADN cuya secuencia es específica para un gen distinto de modo que cada punto en el microordenamiento corresponde a un gen determinado. La información genética es copiada en el núcleo celular en forma de ARN mensajero (ARNm) y transferida luego a los ribosomas, partículas citoplásmicas en las que tiene lugar la síntesis de proteínas. Para establecer qué genes se “encienden” (es decir inician o aceleran la síntesis de la proteína que codifican) ante cierta respuesta biológica o situación metabólica, los microordenamientos de ADN se híbridan (esto es, se aparean a través de bases complementarias) en forma simultánea con dos colecciones de ARNm obtenidas del mismo organismo, una en ausencia y otra en presencia del estímulo. Estas dos poblaciones de ARNm están unidas a dos sustancias fluorescentes distintas (fluoróforos). El ARNm hibridado (cuya secuencia es complementaria a la secuencia de los genes) se visualiza bajo un microscopio por su emisión fluorescente. De acuerdo con las relaciones entre los dos tipos de emisión fluorescente, puede determinarse si un determinado ARNm se ha transcrito más o menos o si el nivel de su transcripción no se ha modificado. Ello permite establecer qué genes están involucrados en cada situación experimental.

Existen variaciones de este método. Por ejemplo, en lugar de usar soportes de vidrio se pueden usar soportes de nylon e hibridarlos con sondas marcadas radioactivamente. La ventaja es el precio, pero la desventaja es que no permiten dobles marcajes y que los puntos no pueden ser tan pequeños, por lo que se precisa mayor espacio para estudiar el mismo número de genes.

Otra variación del método consiste en que en lugar de fijar ADN en el vidrio, se utilizan oligos, es decir, pequeñas cadenas de ADN, que se sintetizan en el mismo porta y cuya secuencia puede ser diseñada a gusto del consumidor.

3.6.- GENÓMICA FUNCIONAL

¿Cuál es la función de cada uno de estos genes y como interaccionan para definir un fenotipo determinado? La genómica funcional intenta responder a estas preguntas.

Transcriptoma

El término transcriptoma se refiere al estudio de los perfiles de expresión de todos los genes presentes en el genoma. Los estudios de expresión sugieren pistas sobre la función de los genes. Aunque son muchos los métodos para estudiar el transcriptoma el más utilizado es el microarray de DNA, que permite el análisis simultáneo de la expresión de miles de genes. Por ejemplo 6400 genes (ESTs, cDNAs, oligonucleótidos) de levadura se pueden disponer utilizando un sistema robotizado sobre un portaobjetos (18x18 mm) de microscopio [DeRisi JL et al., *Science*, **278**, 680-686 (1997)]. Sobre este chip de DNA se realizan experimentos de hibridación con muestras marcadas radiactivamente o con fluoróforos apropiados, y los resultados se cuantifican mediante análisis con 'phosphorimager' o microscopía confocal. De esta manera se pueden identificar, de forma simultánea, patrones de expresión de miles de genes en un momento del desarrollo o en respuesta a diferentes estímulos ambientales. El análisis bioinformático de estos datos permite asociar grupos de genes que se expresan de forma coordinada y proporciona información importante sobre la función de los mismos.

4.- LA ERA GENÓMICA

En el comienzo del tercer milenio estamos asistiendo a una revolución en el conocimiento y la comprensión de los procesos biológicos debido a la convergencia de dos áreas de la ciencia que han tenido un desarrollo tecnológico enorme a finales del siglo XX: la Biología Molecular y la Informática. Un nuevo campo de investigación y desarrollo emerge a gran velocidad y sus aplicaciones empiezan a vislumbrarse en todos los ámbitos de la actividad humana relacionados con la Biología, como la Medicina, Farmacología, Ganadería, Agricultura y Silvicultura, Medio Ambiente, entre otros. **¡La era de la genómica ha comenzado!**

En el mes de Febrero de 2001, la revista *Nature* [The Genome International Sequencing Consortium, *Nature*, **409**, 860-921 (2001)] publica el primer borrador del genoma humano cuyo desciframiento completo se prevé para este año (2003), coincidiendo con el cincuenta aniversario de la publicación del modelo estructural del DNA por Watson y Crick [Watson JD y Crick F., *Nature*, **171**, 737 (1953)]. A este logro hay que añadir el desciframiento en los últimos años de los genomas completos de procariotas (más de 30 bacterias) y varios eucariotas: un hongo, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* [The Yeast Genome Directory, *Nature*, **387**, supplement 1-105 (1997)], dos animales, el nematodo *Caenorhabditis elegans* [The *Caenorhabditis elegans* Sequencing Consortium. *Science*, **282**, 2012-2018 (1998)], la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster* [Varios autores, *Science*, **287**, 2185-2195 (2000)] y una planta *Arabidopsis thaliana* [The Arabidopsis Genome Initiative, *Nature*, **408**, 796-815 (2000)]. Actualmente están en marcha proyectos de secuenciación de los genomas de diferentes modelos animales (rata, ratón, perro, gato, cerdo, entre otros) y

vegetales (arroz, maíz, poroto, soya, vid, entre otros) de gran importancia económica para el hombre.

4.1.- GENÓMICA DE LA VID

No cabe duda que la identificación de los genes responsables de caracteres de interés agronómico y de calidad en vid (como los genes de resistencia a plagas y patógenos o los determinantes de caracteres de calidad de fruto y vino) y el estudio de su participación en el fenotipo permitirá diseñar nuevas estrategias de mejora de las variedades de vinificación. Esta información es relevante no sólo para el desarrollo de nuevas variedades sino también para la mejora genética de las variedades clásicas mediante selección clonal o ingeniería genética. Además, esta información tiene múltiples aplicaciones en el seguimiento de la fisiología de la planta bajo distintas condiciones de cultivo. De hecho, todas estas posibilidades han despertado el interés de varias iniciativas públicas y privadas, en distintos países, para acceder al conocimiento del genoma de la vid.

El 31 de mayo de 2001 se celebró una reunión internacional en la Universidad de California en Davis (California, EUA), que contó con investigadores de casi todos los países productores de vid (Alemania, Australia, Chile, España, Estados Unidos, Francia, Hungría, Italia y Sudáfrica), con el fin de intercambiar información y coordinar las iniciativas respecto del genoma de la vid. La reunión sirvió para conocer las iniciativas en curso en distintos países.

Dada la envergadura de la inversión económica requerida para el análisis del genoma de la vid, ningún gobierno o empresa privada puede abordarlo de manera independiente y se requiere la cooperación y coordinación internacional. Para ello se propuso la creación de una Comisión Organizadora Internacional en la que participan investigadores de todos los países presentes en la reunión. Esta Comisión tiene como objetivos la coordinación de las actividades en curso y la elaboración de un Documento Blanco sobre el interés del análisis del genoma de la vid. Se pretende que este documento sirva como bases para la coordinación internacional de la investigación genómica de la vid y para promover la financiación pública y privada de esta iniciativa a través de programas de investigación genómica nacionales o supranacionales (UE, cooperación internacional, etc.).

En la siguiente tabla se muestra los principales grupos de investigación y los resultados hasta ahora obtenidos:

**RESUMEN DE LAS ACTIVIDADES EN PROGRESO DE LOS PROYECTOS
VITIS (10-01-2003)**

INVESTIGADORES	GENOTIPO	SECUENCIAS DE EST	MICROARRAY
Sector público:		(Unigenes)	
Grupo de Romieur (Francia)	Shiraz/Cab	30.000 (~3.200)	Si
Cramer/Cushman (Nevada, USA)	Chard/Cab	80.000 (~4.600)	Si
Cook (CA, USA)	Cab	40.000 (~7.000)	Si
Cook (CA, USA)	Vitis x Musc	30.000	Si
Thomas/Davis (AUS)	Cab	8.000	Si
Velasco (Italia)	Pinot noir	20.000	Planificado
Adams (CA, USA)	Sultana	2.000	Planificado
Topfer/Zyprian (FRG)	Regent	50.000	Planificado
Delrot (Francia)	Chard/Pinot	10.000	Planificado
Sector comercial:			
Southern Cross (AUS)	Chard	5.000	-
Dupont (DE)	Varios	45.000	-
VitisGen	Gewur	30.000 (9.432)	Arrays de oligos
Total		3.800.000	

4.2.- LA GENÓMICA DE LA VID EN CHILE

Dada la importancia del cultivo de la vid en nuestro país, en 2002 se formó un consorcio de universidades e institutos de investigación nacionales con el fin de aunar esfuerzos y capacidades e iniciar el proyecto **Plataforma Científico Tecnológica para el Desarrollo de la Genómica Funcional en Chile** cuya primera etapa es el desarrollo del proyecto **Desarrollo de la Genómica Funcional en Vid. (DEGECHIVID)**

Los motivos técnicos y económicos que originaron la necesidad y conveniencia de implementar el proyecto fueron las siguientes:

El desarrollo de la ciencia genómica durante los últimos años ha concentrado sus mayores esfuerzos en obtener la secuencia de genomas de organismos con el objetivo de generar nuevos conocimientos que contribuyan al desarrollo científico-tecnológico de las más diversas disciplinas científicas. En la actualidad existen, en el mundo entero, iniciativas genómicas relacionadas a organismos animales, vegetales y microorganismos generando una cantidad de información tal que para su manejo involucra el desarrollo paralelo de una nueva disciplina como lo es la bioinformática.

Iniciativas destinadas a financiar este tipo de estudios en el país están siendo apoyadas a través de dineros provenientes del crédito obtenido por nuestro país con el Banco Internacional de desarrollo (BID). Así, en Octubre del año 2002 la *"Convocatoria del programa de recursos naturales renovables. Iniciativa genoma Chile. Programa de desarrollo e innovación tecnológica gobierno de Chile"* ha financiado la realización de nuestro proyecto "Plataforma científico-tecnológica para el desarrollo de la genómica de vegetales en Chile. Etapa I: Genómica funcional en vid". Estudios de genómica vegetal se están realizando en numerosos países y estos contemplan las más diversas especies. Sin embargo, problemas específicos relacionados a la calidad de los frutos en períodos determinados (pre- o postcosecha) debido a condiciones climáticas y geográficas son en muchos casos propios o exclusivos de nuestro país. Proyectos de genómica funcional enfocados en tales problemáticas podrían aportar muy significativamente para mejorar y desarrollar nuevas tecnologías para el manejo de productos de exportación. Estudios de genómica funcional requieren una infraestructura capaz de realizar tareas como secuenciamiento en gran escala, análisis bioinformático de las secuencias obtenidas y análisis simultáneo de miles de genes a través de microarreglos o chips de ADN. Este tipo de infraestructura no existe en la actualidad en el país, por lo que la realización de un proyecto nacional utilizando tecnologías genómicas implica la implementación de una infraestructura básica que permita alcanzar los objetivos planteados como también la formación de nuevos profesionales en áreas muy poco desarrolladas o en algunos casos inexistentes en el país.

La realización de este proyecto, por lo tanto, contempla establecer una infraestructura mínima para realizar proyectos de genómica nacional lo que permitirá al país contar con las bases científico-tecnológicas para el desarrollo de nuevas estrategias para el manejo de la vid así como explorar nuevas iniciativas relacionadas con el genoma de otras especies de interés comercial en un futuro inmediato.

Objetivos Estratégicos del Proyecto

- Desarrollar la investigación genómica vegetal en Chile
- Obtener información sobre la estructura y función del genoma de especies vegetales de importancia económica
- Proteger derechos de propiedad intelectual
- Transferencia tecnológica (instituciones investigación a Industria)
- Creación de una red científica en el área de investigación genómica vegetal
- Colaboración con otras iniciativas genómicas internacionales

Objetivos Científicos del Proyecto

El objetivo de este proyecto será implementar:

- Secuenciamiento de 100.000 ESTs e implementación de la infraestructura mínima requerida para análisis de secuencias de genes en gran escala, almacenamiento de datos y confección de microarreglos (chips de ADN).
- Caracterizar la función biológica de los genes de vid de una variedad no semillada (Sultanina) y una semillada (Carmenère) a través de la secuenciación de segmentos de genes (Expresión Sequenced Tags, EST) y perfiles transcripcionales mediante el uso de microarreglos
- Utilizar la información adquirida sobre los genes de la vid para investigación aplicada en aspectos como:
 - Formación de semillas y desarrollo del fruto
 - Resistencia a enfermedades (interacción con Botrytis cinerea)

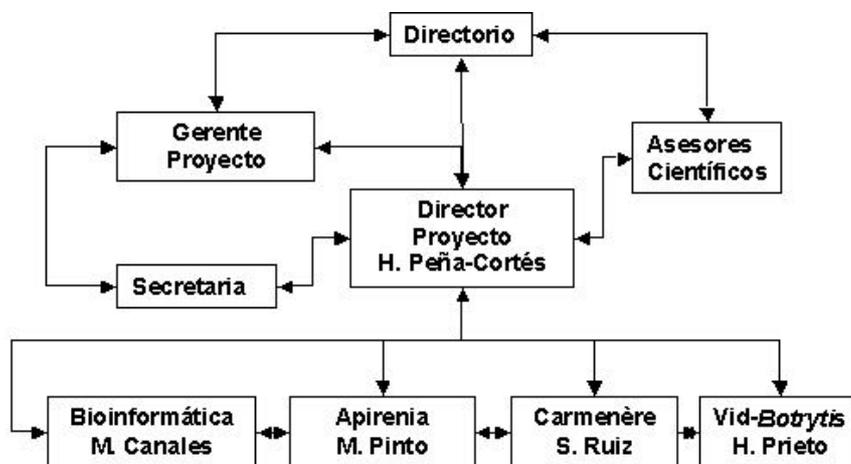
Estructura del Proyecto DEGECHIVID

El proyecto que tendrá una duración de TRES AÑOS (2002-2005) será dirigido por un Directorio que estará constituido por el representante legal, o su representante, de cada entidad participante en el proyecto.

Las entidades participantes son:

- Universidad de Chile (UCh)
- Universidad de Santiago de Chile (USACH)
- Universidad de Talca (UT)
- Universidad Técnica Federico Santa María (UTFSM)
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)
- Fundación Chile
- Asociación de Exportadores de Chile
- Fundación para el desarrollo frutícola (FDF)

El proyecto será Administrado y dirigido por un director científico (Dr. H. Peña-Cortés, UTFSM) y un Gerente (P. Pastenes, UTFSM).



Resultados Esperados del Proyecto DEGECHIVID

Resultados esperados al término del Proyecto (3er año)

1. Obtención de Genotecas de genes expresados durante distintos estados de desarrollo del racimo y bayas de la vid
2. Base de datos de genes involucrados en el proceso de formación de la semilla y desarrollo del racimo de variedades semilladas y no semilladas de vid.
3. Identificación de genes:
 - Relacionados con la formación de semillas.
 - Activados o reprimidos por tratamientos actuales con giberelinas.
 - activados o reprimidos por la presencia de semillas.
 - Presuntamente relacionados con el crecimiento y desarrollo de la baya (pedicelo, exocarpo, pericarpo, mesocarpo, epidermis)

Resultados y Productos de importancia comercial a mediano plazo

1. Catálogo de clones de ESTs
2. Genes o fragmentos de éstos relacionados con:
 - El proceso de la apirenia u aborto de las semillas relacionados con la obtención de bayas no semilladas en variedades de mesa y/o con la generación de bayas semilladas lo cual puede ser importante para la corrección de corrimiento y el aumento de la relación semilla/pulpa en variedades vineras que lo presenten.
 - El crecimiento del mesocarpo (pulpa) relacionados con el aumento de calibre de las bayas en variedades de mesa para exportación
 - El metabolismo y la acumulación de azúcares relacionados con el control de la madurez de las bayas
 - El proceso de abscisión de flores y bayas importantes para regular el raleo y el desgrane de postcosecha
 - La respuesta de la planta a la infección con hongos patógenos.

Proyecciones a largo plazo:

Disponer de la información señalada permitirá desarrollar a más largo plazo:

1. Nuevas estrategias para el mejoramiento asistido de la vid con el fin de diseñar y obtener nuevas variedades de vid no semilladas de acuerdo con la demanda del mercado internacional
2. Uso directo de genes (transgenia) para inducir partenocarpia o estenoespermocarpia en cultivares con potencial comercial en los mercados externos por su tamaño, color, sabor, aroma etc.
3. Detección o capturas de promotores génicos potencialmente importantes para la inducción de genes relacionados con el crecimiento de la baya (hormonas) en tejidos específicos de esta.
4. Mejoramiento de la calidad (tamaño) sin tratamiento hormonal exógeno y por lo tanto, disminución de los costos de producción y más estabilidad en los mercados externos cada vez más exigente en productos limpios.
5. Desarrollo de programas de mejoramiento de uva para vino. Inducción de semillas en variedades que se corren o con tendencia al millerandage como la Carmenère
6. Utilización de esta información en otras especies frutales y hortícolas con el fin de inducir o eliminar las semillas en sus frutos.

Impacto Científico-Tecnológico del Proyecto

- Desarrollo y fortalecimiento de la investigación genómica en Chile.
- Obtención de información sobre estructura y función de genes expresados de especies vegetales de importancia económica. Proporcionará una plataforma científico-tecnológica para preparar científicos jóvenes con experiencia multidisciplinaria en genómica funcional de especies vegetales de importancia agronómica contribuyendo al desarrollo de la industria agrícola del país.
- Preparación de profesionales en el área de la genómica funcional a través del fortalecimiento de programas de doctorado existentes en las instituciones participantes.
- Protección de derechos de propiedad intelectual.
- Transferencia tecnológica (instituciones de investigación e industria).
- Creación de una red científica en el área de investigación genómica en vegetales.

- Participación de Chile a un consorcio internacional participando activamente en un proyecto mundial sobre el genoma de la vid (IGGP, <http://www.vitaceae.org>). Potenciar las actividades económicas relacionadas a la vid nacional e internacionalmente a través de la investigación y tecnología de genómica funcional.

4.3.- MAYOR INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

Director : Dr. Hugo Peña C. (Univ. Téc. Federico Sta.María) hugo.pena@biotec.utfsm.cl

Director Alterno : Dr. Manuel Pinto C (Universidad de Chile)
manpinto@uchile.cl

Pagina web del Proyecto: <http://www.genoma-frutos.cl>