

DISTRIBUCIÓN *IN SITU* DE FACTORES DE MADURACIÓN DEL RNA Y LA RELACION CON SU ACTIVIDAD TRANSCRIPCIONAL, EN CEMENTOBLASTOS HUMANOS.

Ivet Gil-Chavarría (1), Ma. De Lourdes Segura-Valdéz (2), Higinio Arzate (1), José Reyes-Gasga (3) y Luis Felipe Jiménez-García (2).

(1) Div. de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, Biología Bucal UNAM

(2) Facultad de Ciencias, Laboratorio de Nanobiología Celular, UNAM.

(3) Instituto de Física, UNAM Apartado Postal 20-364, 01000 México D.F., México.

Email: ivetgil@gmail.com

Introducción: Los cementoblastos son las células encargadas de la formación del cemento radicular, el cual es uno de los cuatro tejidos (ligamento periodontal, encía, hueso alveolar y cemento radicular) que conforman el “periodonto”, y que en conjunto crean el sistema de soporte del diente. El cemento radicular es un tejido mineralizado con base inorgánica de hidroxiapatita al igual que el hueso; sin embargo el cemento es un tejido sin irrigación ni inervación (1). Los cementoblastos, para la formación del cemento expresan diversas proteínas, mismas que expresan los osteoblastos para la formación del hueso. Por lo anterior se ha reportado que comparten los mismos marcadores biológicos cementoblastos y osteoblastos, aunque en los últimos años se han descrito dos proteínas como cemento-específicas, la CAP y la CEMP1 (2). El estudio biológico a nivel celular y molecular, es uno de los intereses más perseguidos en la actualidad; esto implica profundizar en la dinámica nuclear y nucleolar determinando aspectos específicos, tales como: la regulación genética (3). La actividad a nivel de transcripción puede ser interpretada mediante la caracterización de patrones nucleares moteados ó “Nuclear Speckle” (4). Estos patrones nucleares moteados representan la distribución de diferentes familias de proteínas relacionadas con la transcripción del mRNA. Para que un transcrito pueda ser traducido, es necesario cortar las secuencias que no codifican, conocidos como intrones y unir los exones que son los que sí van a codificar para la proteína. Este proceso se le conoce como *splicing* y se lleva a cabo por ésta familia de proteínas reportadas como “SR”, por ser ricas en serina y arginina; mismas que pueden ser observadas y que son las que van a conformar el Patrón Nuclear Moteado. Por lo tanto, las motas vistas en núcleos interfásicos, determinarán la actividad de la célula debido a que son estructuras dinámicas, ya que modifican su forma dependiendo del estado transcripcional. También el patrón nucleolar habla de la actividad del rRNA (5).

Objetivo: El objetivo de este estudio es conocer los eventos moleculares en los cementoblastos, vistos mediante microscopía a nivel celular, los cuales van a estar determinados fenotípicamente por la distribución de los factores de *splicing* para la maduración del RNA en general.

Metodología: El desarrollo experimental fue a partir de cultivos celulares de cementoblastos obtenidos de un cementoblastoma humano, se sembraron las células en cubreobjetos y se fijaron con dos diferentes técnicas; la primera con metanol y acetona al 100% y la otra con Paraformaldehído al 2%. Posteriormente se llevó a cabo la tinción con Azul de Toluidinina para RNA y obtener el patrón nucleolar; así como DAPI para ver DNA y morfología nuclear. Las inmunofluorescencias se realizaron con el Ac 3C5, que revela el patrón nuclear moteado. Esto se debe a que localiza una familia de proteínas SR (ricas en serina y arginina en el extremos carboxilo), las cuales participan en el *splicing*, y son dinámicamente activas durante el procesamiento y maduración del RNA mensajero. También se observaron las células en mitosis.

Resultados: Los resultados con la tinción de Azul de Toluidina para RNA mostraron los nucleolos, mostrando que en los cementoblastos se puede encontrar desde un solo nucleólo hasta células que presentan tres. Con DAPI se obtuvo la morfología nuclear, la cual se caracterizó por presentar núcleos grandes, entre 17 y 20 μ m. Las Inmunofluorescencias con Anti-3C5 nos permitió conocer el “Patrón Moteado o Nuclear Speckle” observando que ésta línea celular derivadas del periodonto humano, se comportan como otras líneas celulares reportadas anteriormente. Se identificaron diferentes formas de las motas, algunas alargadas y de forma muy irregular, lo que conforma ópticamente un patrón difuso visible; aunque algunas otras presentaban motas redondeadas y definidas. Las motas que se encuentran en el nucleoplasma son sitios de almacenamiento de los factores de splicing, los cuales se disgregan durante la división celular o mitosis, y esto lo observamos, corroborando que en la telofase se empiezan a formar nuevamente las motas o speckles, por la transcripción y *splicing* que esta reiniciando.

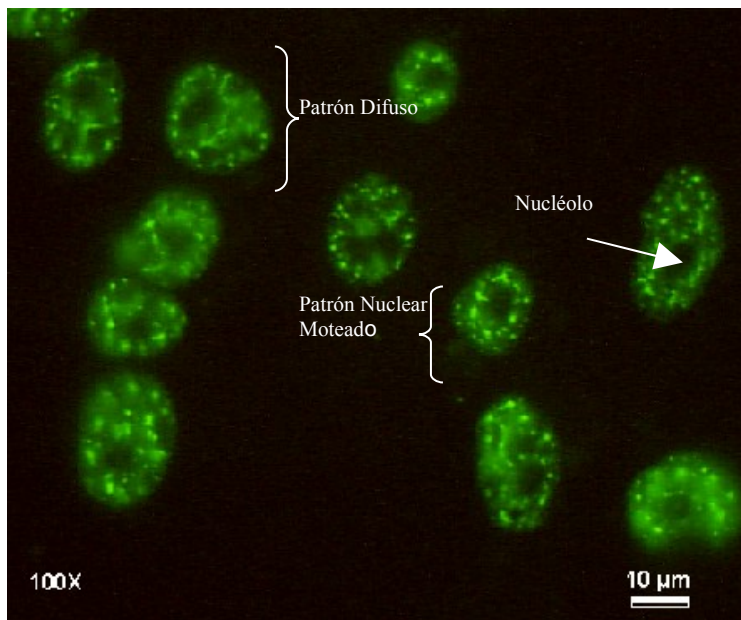


IMAGEN 1. En ésta imagen se observan los núcleos de los cementoblastos humanos, la inmunofluorescencia con el anticuerpo 3C5 revela en verde el “Nuclear Speckle” o Patrón Nuclear Moteado y los nucleolos se observan negros. Hay células con speckles o motas muy redondeadas y también algunas tienen un patrón difuso, resultado de que las motas están de forma irregular y esto a su vez se asocia con que están activas en la maduración del mRNA.

Referencias.

- [1]. Cho and Philips R. Garant. Periodontology 2000 Vol. 24 (2000) 9-27
- [2]. Arzate H, Olson S., Page R., Gown A. and Narayan S. FASEB Journal 6 (1992) 2990-2995
- [3]. Spector. Annual Reviews Biochem. 72 (2003) 573-608
- [4]. Jiménez-García LF., ML Segura-Valdez et al. Molecular Biology of the Cell Vol. 5 (9) (1994) 995-966
- [5]. Lamond Angus and David L. Spector. Nature Reviews/Molecular Cell Biology Vol. 4 (2003) 605-612. 2003