

VISUALIZACIÓN DE ESTRUCTURAS NUCLEARES MEDIANTE EL USO DE PERFILES TOPOGRÁFICOS EN CÉLULAS DE MAMÍFEROS CON MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA

Biol. Zamora-Cura A.L., Dr. Jiménez-García L.F.

Laboratorio de Nanobiología Celular, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, México D.F., México. Tel. 5622 5396
izumi.aoi@gmail.com

El núcleo posee una estructura interna altamente compartimentalizada, donde múltiples clases de cuerpos nucleares (NBs) actúan como compartimientos para factores nucleares específicos, distribuidos a través del nucleoplasma. La mayor parte de él, está ocupado por la cromatina, incluyendo las regiones descondensadas y regiones condensadas transcripcionalmente inactivas, separadas por espacios intercromatinianos [1].

La estructura más conspicua es el nucleolo, la cual representa la región de transcripción y procesamiento del rRNA, así como la biogénesis de los ribosomas. Incluso esta estructura en sí, es muy compartimentalizada, ya que se pueden observar tres zonas: los centros fibrilares, componentes fibrilares densos y componentes granulares, en los cuales llevan a cabo distintos mecanismos del procesamiento del RNA [4].

Dentro de estos espacios intercromatinianos, encontramos otras estructuras de naturaleza ribonucleoprotéica como son los gránulos pericromatinianos, fibras pericromatinianas, cuerpos espiralados y gránulos intercromatinianos, estos últimos también son conocidos como speckles, los cuales se encuentran íntimamente relacionados con la actividad de ciertos genes, RNA nacientes y la estructura nuclear [2].

El conocimiento que se tiene hasta ahora de la estructura, organización y función del núcleo de mamíferos, se ha obtenido gracias a su caracterización por medio de métodos de citoquímica ultraestructural, así como técnicas de inmunohistoquímica, fluorescencia con diferentes tipos de microscopias.

Recientemente, se ha comenzado a estudiar la estructura nuclear con el microscopio de fuerza atómica, como una opción para conocer con más detalle su organización y funcionamiento en el metabolismo del RNA intranuclear. Desde hace algunos años, el microscopio de fuerza atómica (AFM) en el campo de la biología celular, ha ido venciendo los obstáculos metodológicos que implica trabajar un microscopio que en sus inicios no fue pensado para trabajar con materiales blandos y no conductores como lo son los materiales biológicos [3].

Este trabajo tiene como objetivo principal el observar la estructura del núcleo celular de mamíferos mediante el uso del microscopio de fuerza atómica, reconociendo la morfología nanométrica de zonas intranucleares como son la cromatina, zonas intercromatinianas y nucleolo.

Se trabajó con células HepG2, fijadas con glutaraldehído al 2.5% y post-fijadas con tetraóxido de osmio. Se deshidrataron en una serie de etanol e incluyeron en una resina epóxica. Posteriormente, se hicieron cortes semifinos y fueron observados en un microscopio de fuerza atómica de la marca Digital Instruments modelo Bioscope, donde se trabajó en distintas velocidades de escaneo y número de líneas en la imagen.

Hasta ahora, se ha observado un núcleo delimitado por la envoltura nuclear, donde se ancla la cromatina, los espacios intercromatinianos, donde se encuentran una zona fibro-granular, lugar donde se encuentran, entre otras estructuras, los gránulos intercromatinianos. El nucleolo es visualizado como una estructura que sobresale del resto por su tamaño, forma y textura.

El recorrido de la punta sobre la muestra, varía dependiendo de la estructura a la que se va enfrentando, esto se ve reflejado en lo que se ha llamado *perfil topográfico*. Este nos brinda información importante como el relieve,

la textura y la continuidad o irregularidad en el recorrido de la punta, es decir, reflejan la resolución vertical de la muestra.

De esta manera, podemos tres zonas de características distintas, tanto por ubicación como por relieve y textura (Fig. 1). Al entrar al núcleo, una elevación en el perfil que coincide con la *cromatina compacta* adosada a la envoltura nuclear, la cual se ve más lisa y en cúmulos pequeños. Posteriormente, se encuentra un valle, en el cual la regularidad del recorrido es más variable que en la cromatina y en ella se encuentran estructuras de menor elevación y con mayor regularidad, que en la zona de cromatina. La textura es fibro-granular que es como se la *zona intercromatiniana*, lugar donde se encuentran las estructuras ribonucleoproteicas que son nuestro objeto de estudio. Cuando la punta se encuentra con el *nucleolo*, el perfil vuelve a variar, volviéndose el recorrido más abrupto que en el la zona intercromatiniana y en la cromatina, mostrando así una mayor textura (Fig. 2). Dentro de los espacios intercromatinianos, se puede observar una gran variedad estructuras, las cuales pueden más regulares (triángulos blancos) que otras (triángulos verdes).

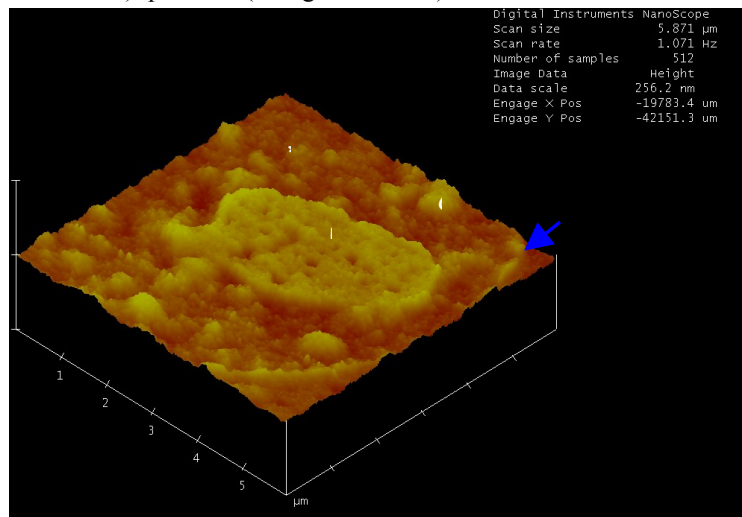


Fig. 1. Imagen topográfica de un acercamiento del núcleo de célula HepG2. El núcleo se delimita por la envoltura nuclear (flecha azul) y dentro se pueden apreciar con claridad tres zonas: la cromatina (C), nucleolo (n) y el espacio intercromatiniano (*). Modo contacto. Barrido: 5.871 μm .; Frec. Escaneo: 1.071 Hz; Número de líneas: 512; Inclianción: 41°

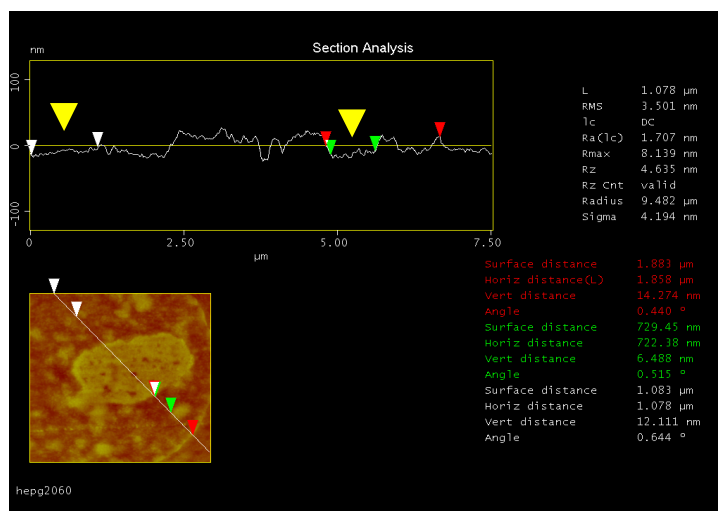


Fig. 2. Perfil topográfico de acercamiento del núcleo de célula HepG2. Las zonas mencionadas en la imagen anterior pueden ser visualizadas como cambios en el perfil, el cual tiene una relación directa con el tipo de estructura que enfrenta la punta. Flechas amarillas reflejan la variabilidad de las estructuras dentro de los perfiles, aun dentro de la misma zona intercromatiniana. Modo contacto. Barrido: 5.871 μm .; Frec. Escaneo: 1.071 Hz; número de líneas: 512

A partir de los perfiles topográficos obtenidos de un escaneo de una muestra biológica, podemos obtener información importante de la textura y continuidad de las estructuras nucleares. Por lo tanto, esto quiere decir que conforme avances la resolución del perfil, también podremos delimitar con mas claridad y certeza estructuras de dimensiones nanométricas, como son los gránulos intercromatinianos, gránulos pericromatinianos, etc. Así como lo podemos hacer ahora con estructuras más evidentes, como con la cromatina y el nucleolo.

REFERENCIAS

- [1] Jeanteur P., Springer-Verlag, 2004.
- [2] Kumaran Ileng, Cell, 132 (2008) 929-934.
- [3] Lehenkari P.P., Ultramicroscopy, 82, 289-295.
- [4] Yun Wah Lam, J Cell Sci 118 (2000) 1335-1337.

DATOS ADICIONALES

a) Tema en el cual presentar el trabajo: Biología celular

b)

- Biol. Alma Leticia Zamora Cura, Estudiante de posgrado, en el doctorado de Ciencias Biomédicas. Laboratorio de Nanobiología Celular, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, México D.F., México. Tel. 5622 5396 correo electrónico: izumi.aoi@gmail.com
- Dr. Luis Felipe Jiménez García, Investigador, Laboratorio de Nanobiología Celular, Departamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, México D.F., México. Tel. 5622 5396 correo electrónico: lfjg@hp,fciencias.unam.mx

c) Preferencia de presentación: Cartel