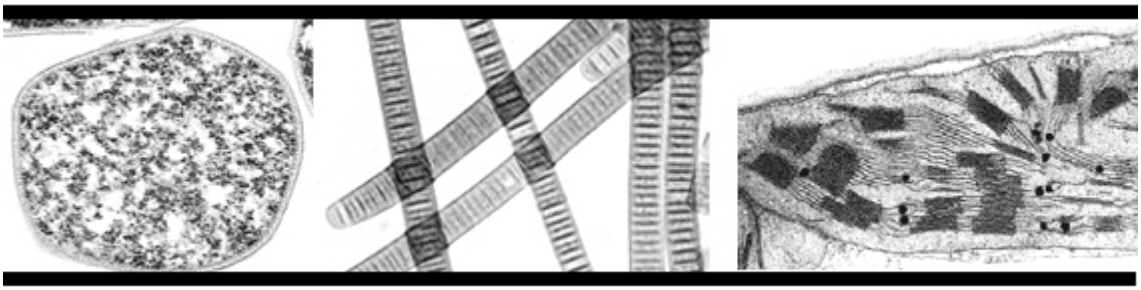
UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela de Verano 2005

Biología Celular



Guía de Trabajos Prácticos

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela de Verano 2005

ACTIVIDAD PRÁCTICA Nº 1

DIVERSIDAD CELULAR

Profesor responsable: Enrique Castellón

INTRODUCCIÓN

Los sistemas vivos están constituidos por los mismos elementos que se encuentran en el resto del universo. Sin embargo, poseen características que le son propias, como por ejemplo, generar y mantener su propia organización. Esta propiedad se conoce con el nombre de *autopoiesis*. Para que un sistema así se haya generado, tuvieron que darse ciertos elementos y condiciones en forma sincronizada. La autorreplicación, la catálisis y la compartimentalización fueron (y son) requisitos fundamentales mínimos para que un sistema autopoiético pudiera darse en algún momento de nuestra historia. Obviamente, estos requisitos descansan en moléculas con propiedades particulares. La primera célula, como unidad autopoiética, fue capaz de comunicarse con su entorno, probablemente en forma muy limitada, sin embargo, como consecuencia de esta comunicación, surgieron propiedades nuevas en estos sistemas, lo que resultó en un aumento de la complejidad y, con ella, nuevas posibilidades de comunicación. Esta relación comunicación – complejidad generó una gran diversidad de células, dando lugar a mecanismos más sofisticados que pueden explicar la generación de organismos pluricelulares que se comunican entre sí y con su entorno. Esta diversidad celular es la que revisaremos en esta actividad práctica.

OBJETIVOS

1. Conocer las características de las células en relación a su complejidad.
2. Comprender los principales mecanismos generales a través de los cuales puede generarse esta diversidad.
3. Comprender la diversidad celular como resultado de un proceso de comunicación de las células y su entorno.

BIBLIOGRAFÍA

-Alberts, B., Johnson A., Lewis, J., Raff, M., Keiths, R. y Walter P. 4ta. Edición. 2002. Molecular Biology of the Cell. Garland Science, Taylor and Francis Group, New York. USA.
-Lodish, H., Berk, A., Zipursky, SL., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. 4ta Edición. 2002. Biología Celular y Molecular. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires. Argentina.

ACTIVIDADES

1. Proponga los requerimientos moleculares mínimos para la generación de una célula a partir un ambiente abiótico. Discuta sobre la factibilidad que su proposición pueda haber sido efectiva en el comienzo de la vida.

2. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de una Arqueobacteria. Este tipo de procarionte tiene la propiedad de vivir en ambientes muy extremos y se piensa que los primeros sistemas vivos pueden haber sido similares a ellos. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de adaptación.

Figura 1: Deinococcus radiodurans. *Arqueobacteria resistente a la radiación*

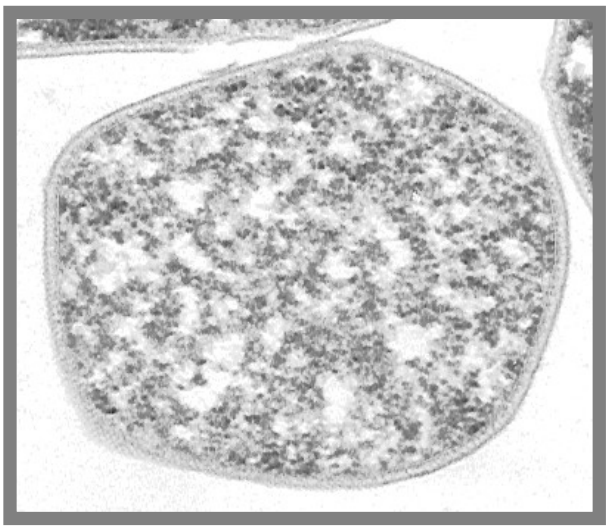


Figura 2: Sulfolobus solfataricus. *Arqueobacteria que vive en ambientes sulfurosos*

3. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de bacterias anaeróbicas. Procariontes que no usan el oxígeno para su manejo energético**.** Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de adaptación.

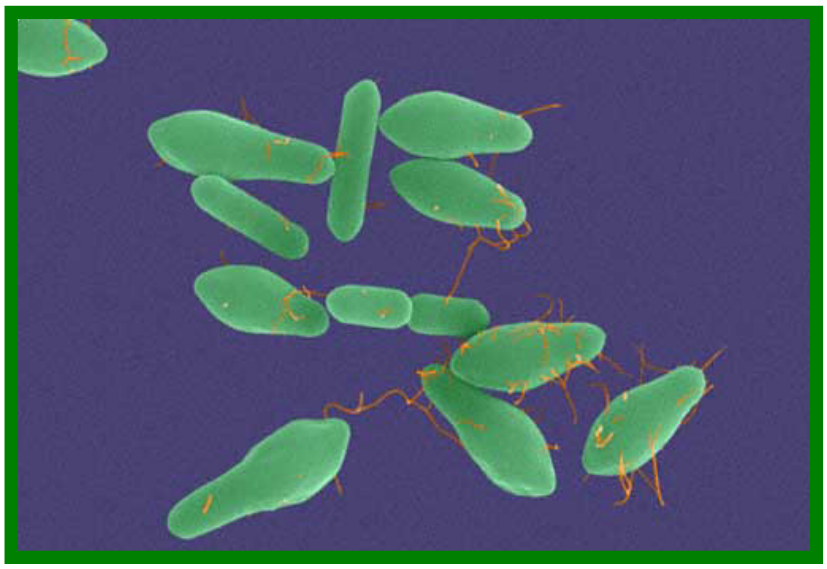


Figura 3. Clostridium botulinum. *Procarionte que puede vivir en ausencia de oxígeno*

4. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de bacterias fotosintetizadoras. Infórmese sobre sus características estructurales y sus propiedades fotosintetizadoras**.** Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de adaptación.

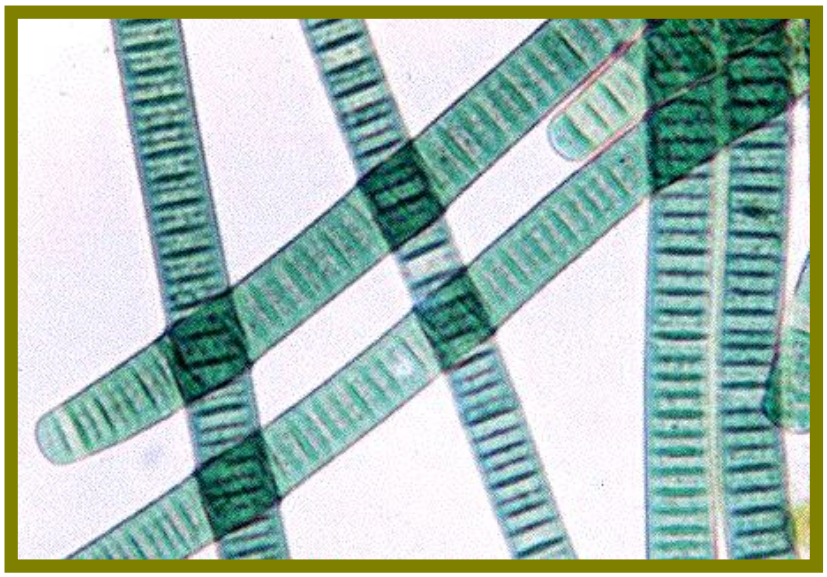
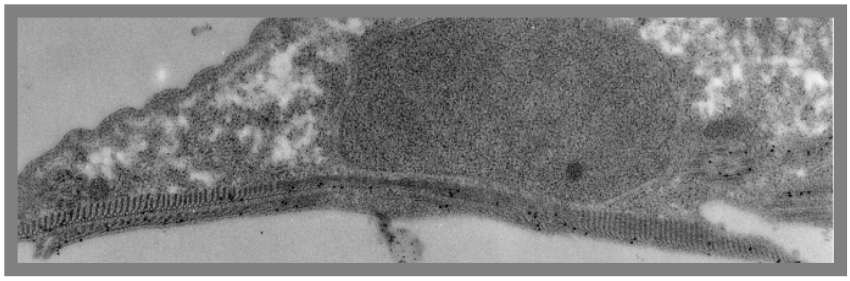


Figura 4: Cianobacteria. *Procarionte fotosintetizador*

5. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de bacterias aeróbicas. Procariontes que utilizan el oxígeno como aceptor de electrones. Pueden hacer respiración celular. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de adaptación.

Figura 5: Staphylococcus epidermidis. Procarionte que puede hacer respiración celular**.**

6. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de un eucarionte unicelular que sólo posee núcleo como organelo intracelular. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de generación.



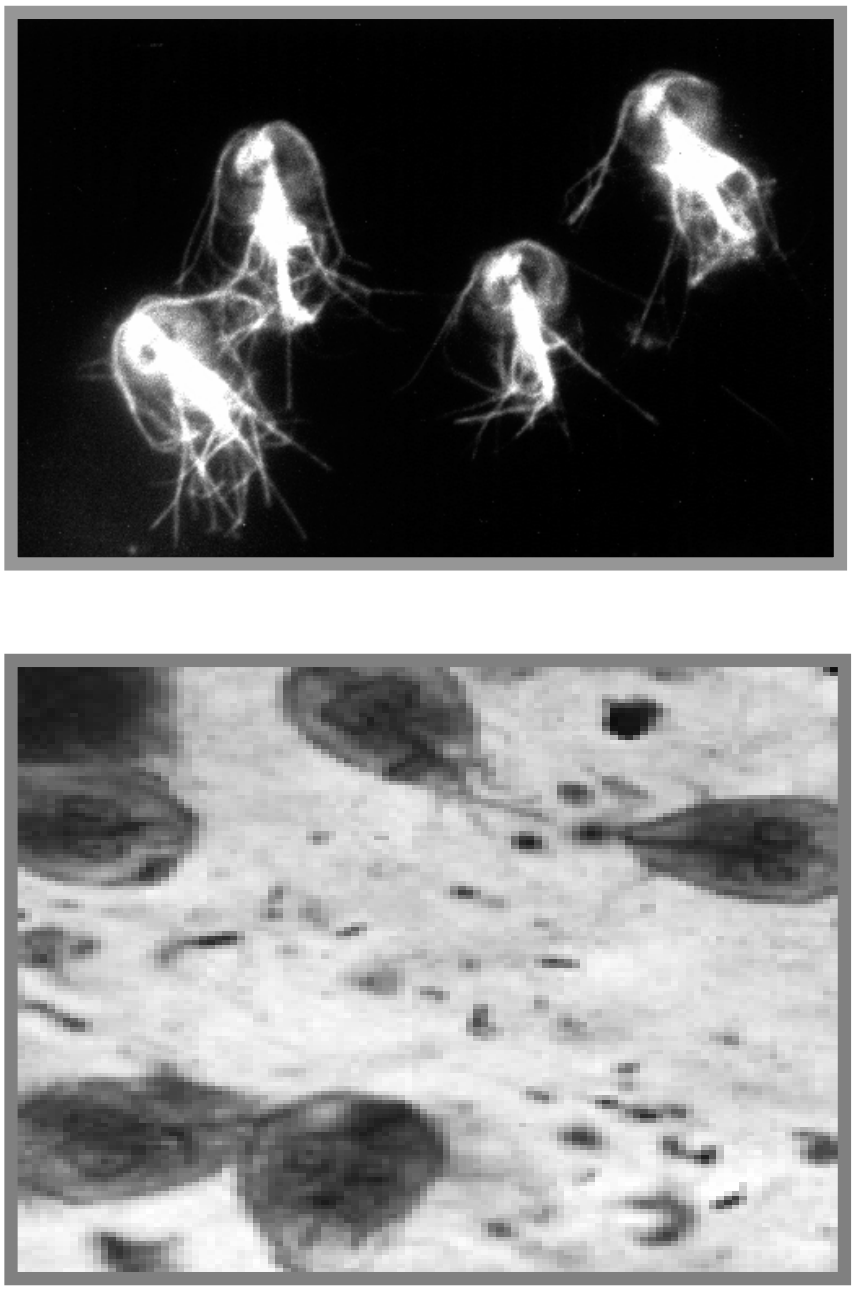


Figura 6: Giardia lamlia. *Eucarionte anaeróbico, con sólo núcleo como organelo*

7. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de un eucarionte unicelular aeróbico. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de generación. Comente en estos organismos la aparición de la reproducción sexuada.

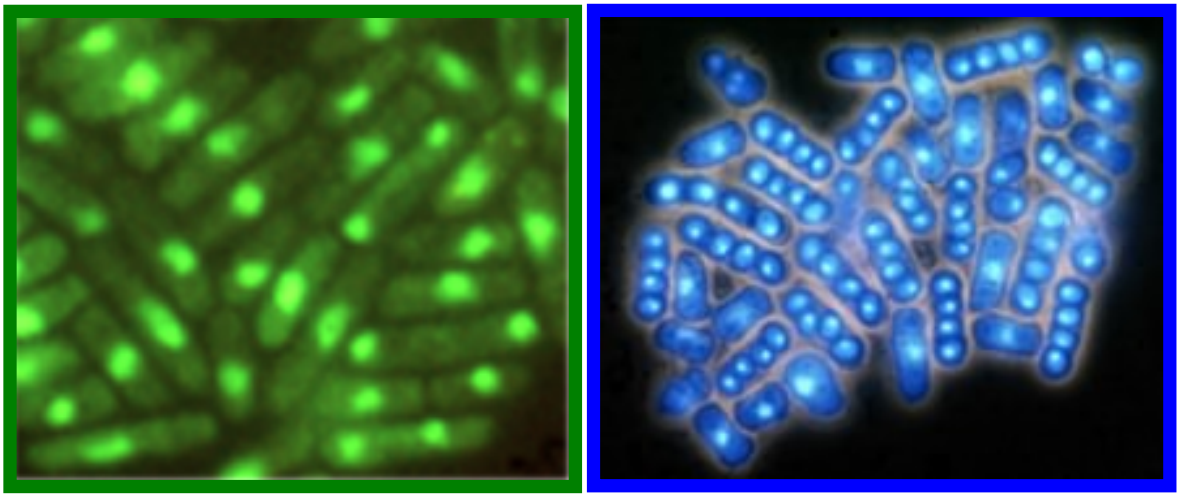


Figura 7: Levaduras. Células eucariontes que pueden dividirse por mitosis (izquierda) y meiosis (derecha)

8. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de un eucarionte fotosintetizador. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de generación.

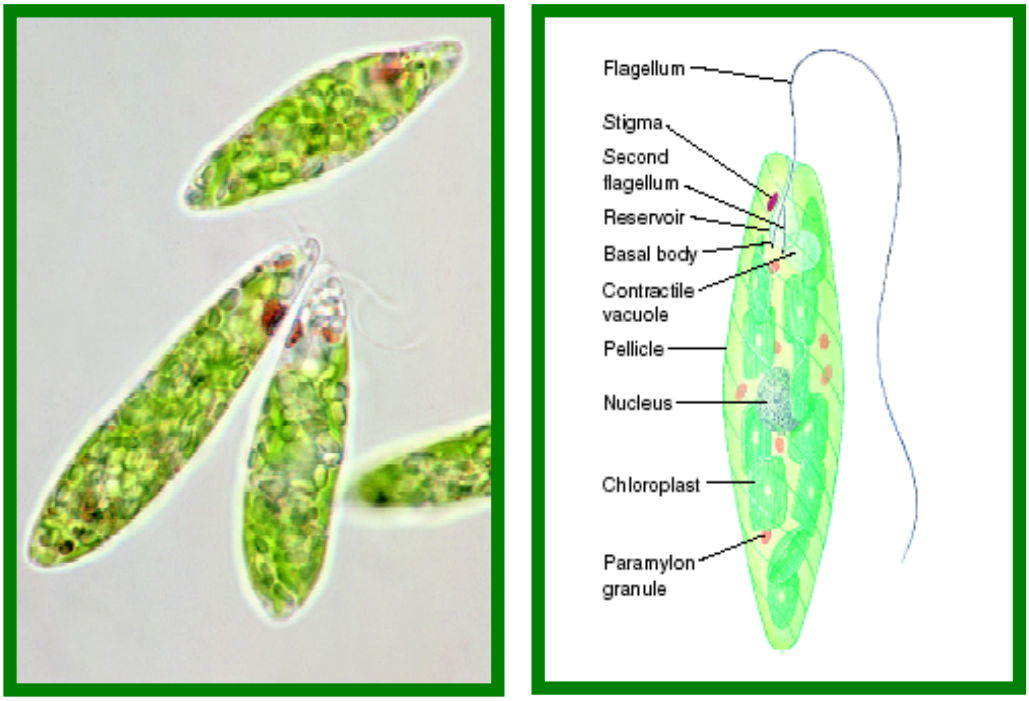
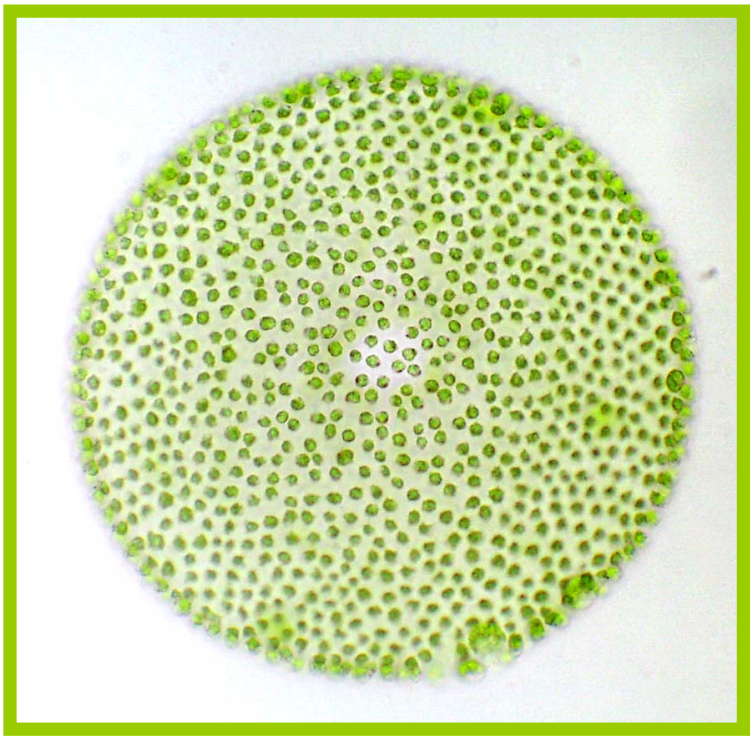


Figura 8: Euglenophyta. Alga eucarionte unicelular fotosintetizadora

9. Observe imágenes (preparaciones y/o microfotografías) de eucariontes unicelulares que pueden formar colonias complejas. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de organización y pseudoespecialización. Comente porqué estas colonias no pueden considerarse un organismo pluricelular.



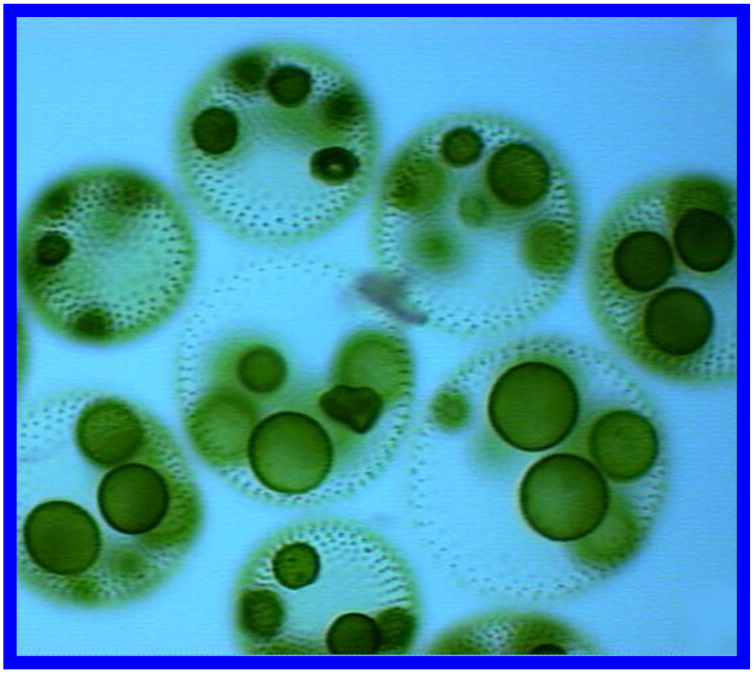


Figura 9: Volvox. *Colonia de células eucariontes.*

10. Observe imágenes (preparaciones al fresco y/o microfotografías) de organismos pluricelulares sencillos. Infórmese sobre sus características biológicas y discuta sobre los posibles mecanismos de generación. Comente las diferencias entre este tipo de organismo y las colonias de la actividad anterior.

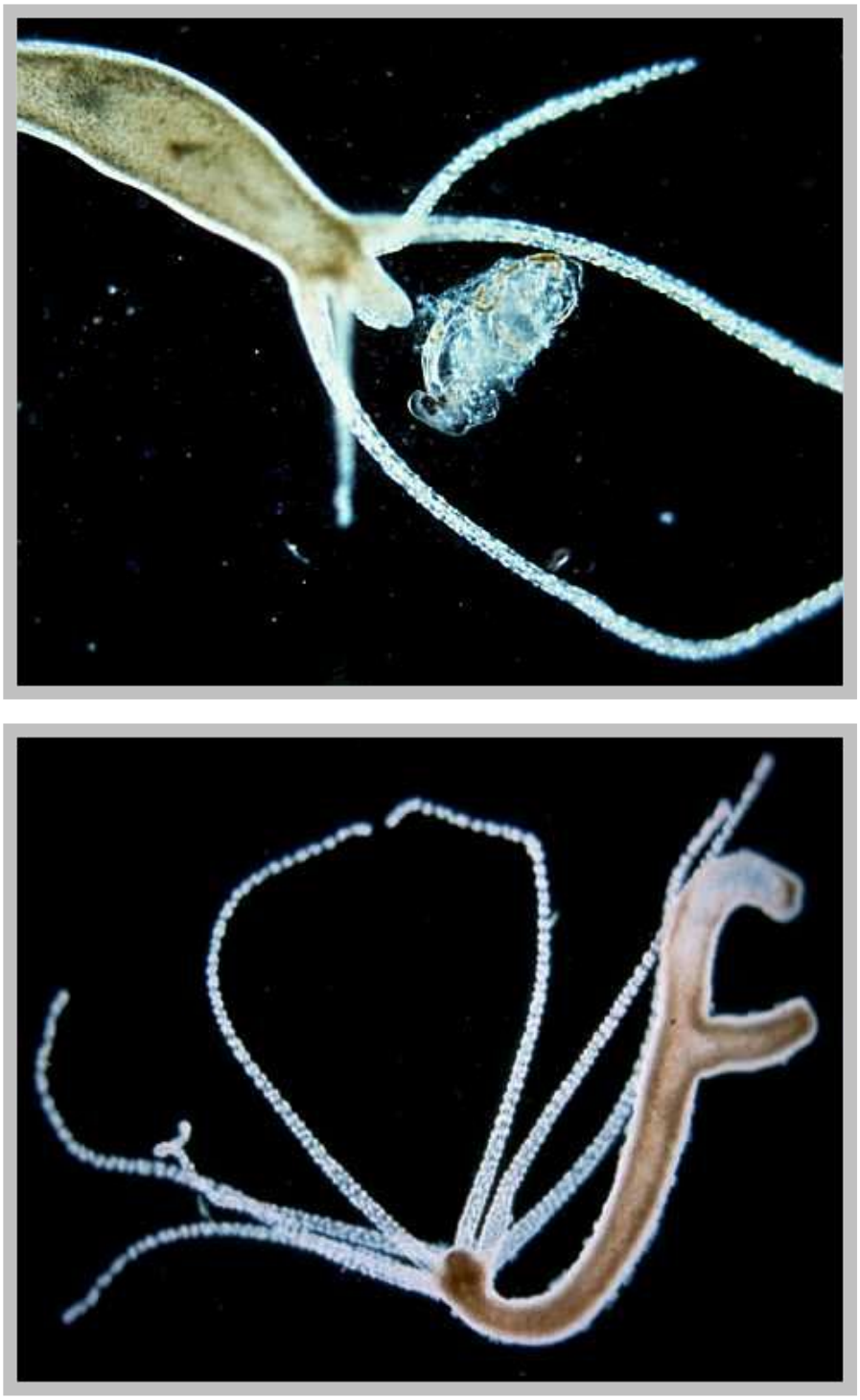


Figura 10: Hydra. Organismo pluricelular

11. Organismos pluricelulares complejos. Diversidad celular dentro del organismo. Observe preparaciones histológicas de células de distintos tejidos de un organismo pluricelular animal. Discuta la relación entre la estructura y las actividades de estos distintos tipos celulares

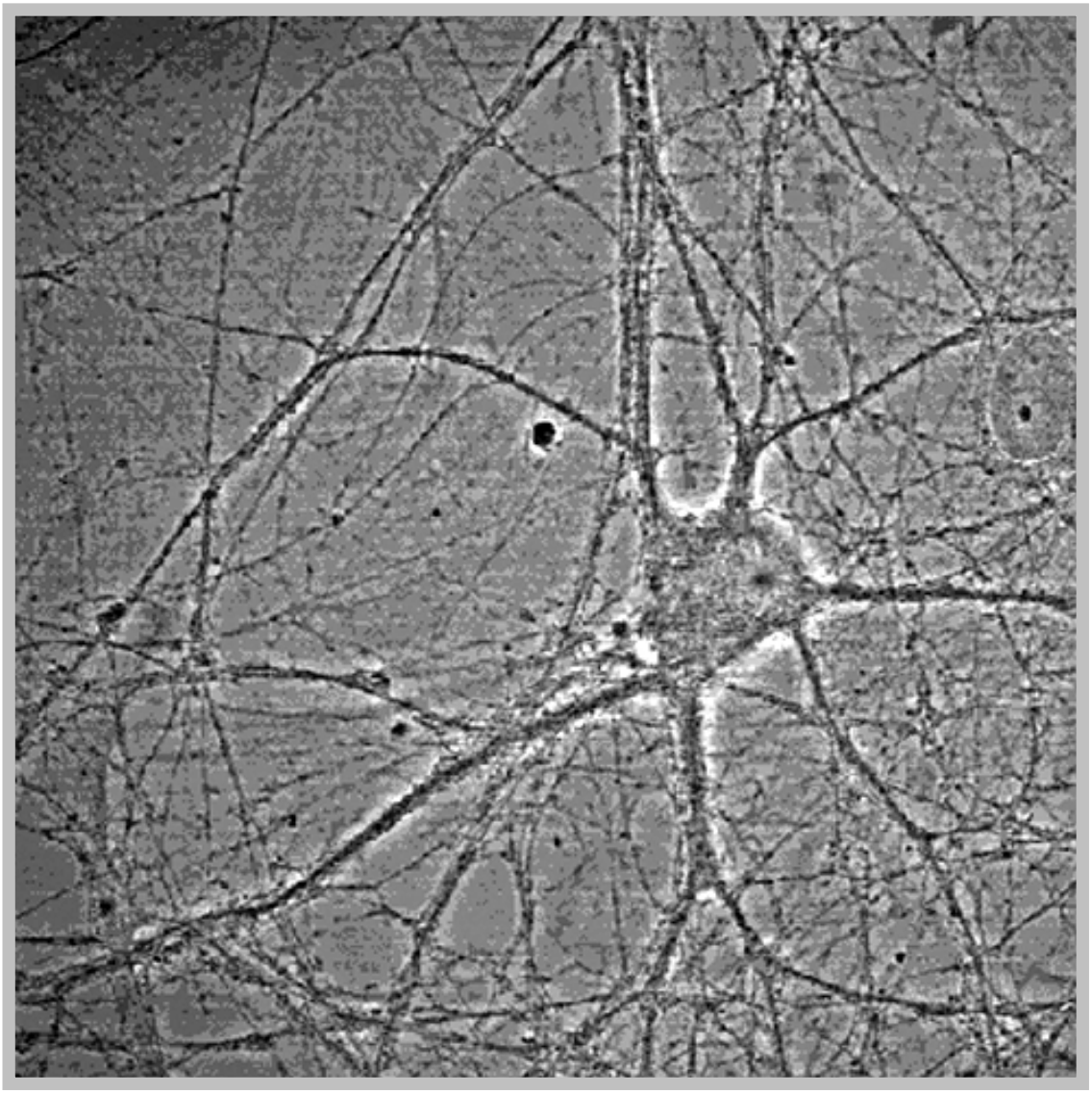


Figura 11: Neuronas

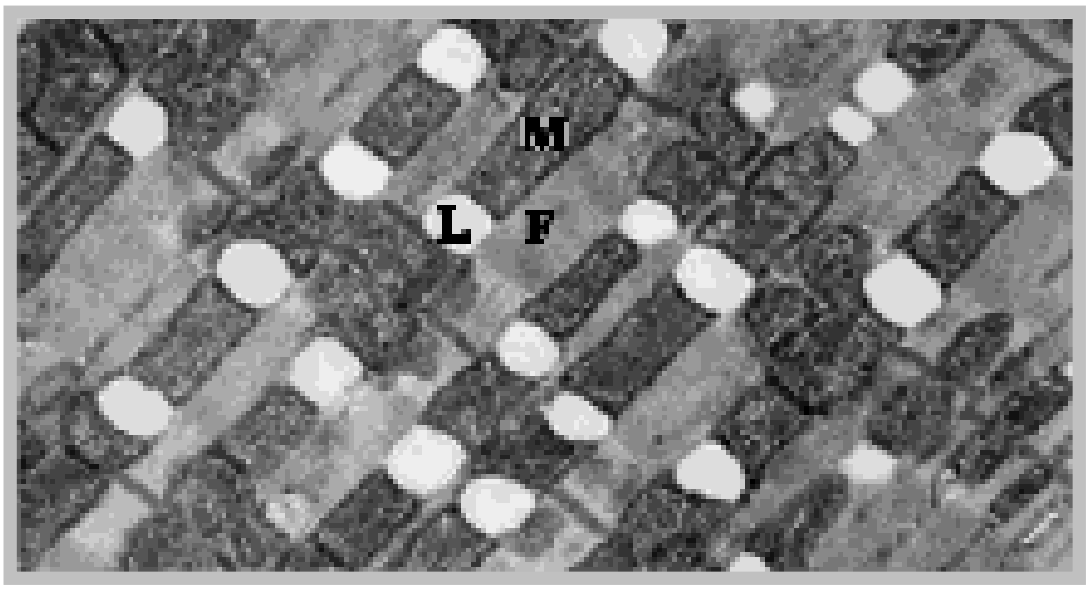


Figura 12: Células musculares esqueléticas

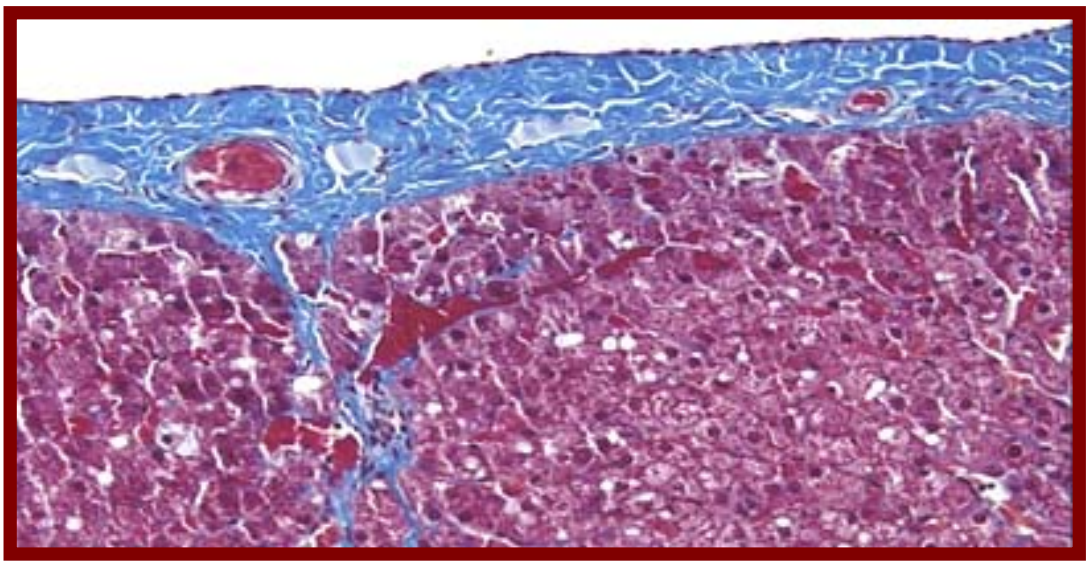


Figura 13: Tejido hepático

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela de Verano 2005

ACTIVIDAD PRÁCTICA Nº 2

BIOENERGÉTICA

Profesor responsable: Enrique Castellón

INTRODUCCIÓN

Los organismos vivos somos sistemas de intercambio de materia y energía con nuestro entorno. Desde el punto de vista energético somos endergónicos y nos mantenemos en desequilibrio. Precisamente para mantenernos alejados del equilibrio termodinámico es que necesitamos tomar energía del entorno y transformarla en trabajo. El tipo de energía que utilizamos para estos fines es la energía electrónica, es decir energía transportada por electrones y que, a través de un sistema transportador de éstos, es transformada en energía electroquímica (Potencial Electroquímico). El soporte físico para este proceso es una membrana biológica (plasmática en procariontes o de organelos específicos en eucariontes). El potencial electroquímico así obtenido, se utiliza principalmente para sintetizar ATP, que es un nucleótido involucrado en múltiples reacciones bioquímicas y cuyo papel fundamental es acoplar procesos exergónicos y endergónicos a través de fosforilaciones. De esta manera, la energía de un conjunto de reacciones oxidativas (catabolismo) es utilizada principalmente en sintetizar ATP, el cual es necesario para el conjunto de reacciones de síntesis de macromoléculas estructurales y funcionales (anabolismo), que le permiten a los sistemas vivos generar y mantener su organización. Existen variantes en este mecanismo universal de transformación energética, en base a las cuales los organismos se han clasificado en autótrofos y heterótrofos.

Los organismos autótrofos fotosintetizadores utilizan básicamente sus propios electrones, los cuales energizan utilizando la energía radiante del sol. Estos electrones energizados, son transportados por una membrana y su energía transformada en el potencial electroquímico necesario. Los hetrótrofos aeróbicos deben incorporar electrones desde su entorno (alimento), los cuales luego de utilizarlos para la generación del potencial electroquímico, son entregados a un aceptor definitivo (oxígeno).

OBJETIVOS

1. Analizar el efecto de la luz sobre pigmentos fotosintetizadores (clorofila)
2. Analizar el transporte de electrones dependiente de la luz
3. Analizar el funcionamiento del ciclo de Calvin (captación de CO_2)
4. Analizar el funcionamiento del ciclo de Krebs
5. Analizar la ultraestructura de mitocondrias y cloroplastos en base a macrofotografías electrónicas.

BIBLIOGRAFÍA

-Alberts, B., Johnson A., Lewis, J., Raff, M., Keiths, R. y Walter P. 4ta. Edición. 2002. Molecular Biology of the Cell. Garland Science, Taylor and Francis Group, New York. USA.
-Lodish, H., Berk, A., Zipursky, SL., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. 4ta Edición. 2002. Biología Celular y Molecular. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires. Argentina.

ACTIVIDADES

1.- Efecto de la luz sobre pigmentos fotosintetizadores (clorofila)

a. Corte en trozos pequeños una hoja de un vegetal verde (acelga o similar), homogenice los trozos en un mortero con 25 mL de acetona. Filtre usando papel filtro y reciba el filtrado en un tubo de ensayo marcado como A.
b. Repita el procedimiento anterior reemplazando la acetona por una solución de sacarosa 0.25 M y el papel filtro por una doble capa de gasa. Reciba el filtrado en un tubo marcado como B.
c. Coloque ambos tubos frente a una fuente luminosa y obsérvelos desde distintas posiciones.
d. Describa e interprete sus observaciones.

2.- Análisis del transporte de electrones dependiente de la luz

a. Marque 4 tubos de ensayo con números correlativos y en cada uno realice las siguientes mezclas:

Tubo	homogenizado vegetal* (mL)	solución de clorofila** (mL)	sacarosa 0.25 (mL)	DCFIF*** (mL)
1	0.5	0	6	0.25
2	0.5	0	6	0.25
3	0	0.5	6	0.25
4	0	0.5	6	0.25

*: Como homogenizado vegetal use el tubo B de la actividad anterior
**:Como solución de clorofila use el tubo A de la actividad anterior
***: 2,6-diclorofenol Indofenol, colorante que oxidado es azul y reducido es incoloro.

b. Cubra totalmente los tubos 3 y 4 con papel de aluminio e ilumine todos los tubos durante 30 minutos.
c. Describa e interprete sus observaciones
d. Escriba las reacciones químicas que ocurren en su experimento y compárelas con las que ocurren en la fase dependiente de la luz de la fotosíntesis.

3.- Análisis del proceso de captación de CO_2 (ciclo de Calvin)

a. Marque 4 tubos de ensayo con números correlativos y en cada uno realice las siguientes mezclas:

Tubo	Vegetal (ramita)	Agua (mL)	Azul de bromotimol (mL)	CO_2*
1	1	10	0.25	Sí
2	1	10	0.25	Sí
3	1	10	0.25	No
4	--	10	0.25	Sí

* El CO_2 se agrega soplando en cada tubo con una pipeta.

b. Cubra totalmente el tubo 1 con papel de aluminio e ilumine todos los tubos durante 30 minutos.
c. Describa e interprete sus observaciones.

4.- Análisis de una reacción del ciclo de Krebs

a. Marque 5 tubos de ensayo con números correlativos y en cada uno realice las siguientes mezclas:

Tubo	Tris/HCl pH 7 (mL)	Succinato (mL)	Malonato (mL)	Homogenizado (mL)	Azul de Metileno (mL)
1	2	0	0	1	0.25
2	1	1	0	1	0.25
3	1	0	1	1	0.25
4	0	1	1	1	0.25
5	1	1	1	0	0.25

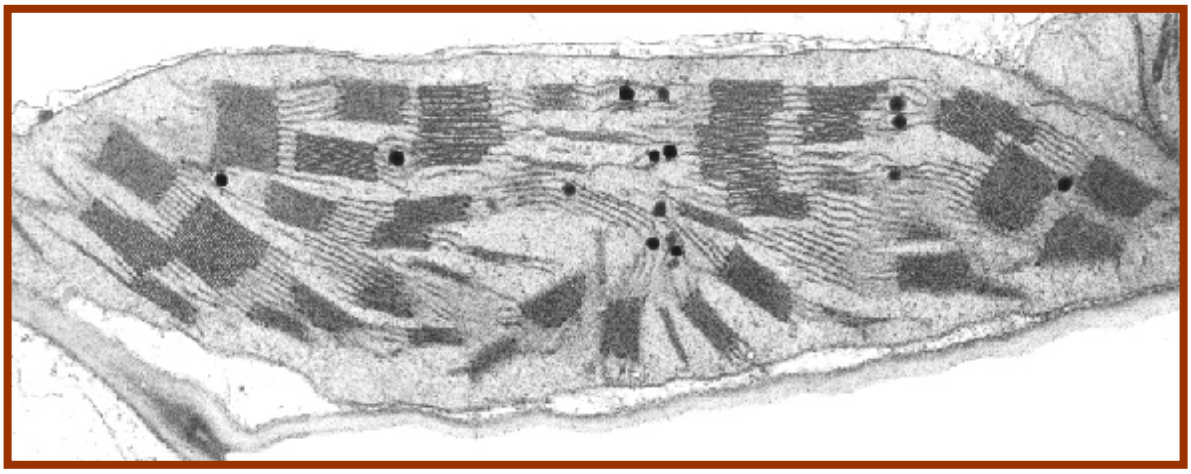
Soluciones y homogenizado:
Succinato de sodio 0.1 M en tampón Tris/HCl pH 7.0
Malonato de sodio 0.1 M en tampón Tris/HCl pH 7.0
Azul de metileno 0.1% (colorante que al estado oxidado es azul y al estado reducido es incoloro).
Homogenizado tisular preparado en Tris/HCl pH 7.0, a partir de tejidos de ratón.

b. Una vez realizadas las mezclas, agregue lentamente unas gotas de aceite mineral de manera de formar una delgada capa sobre el contenido de cada tubo. Luego incube los tubos en un baño de agua a 37ºC durante 20 minutos y observe cambios eventuales de color.
c. Describa e interprete sus observaciones.

5.- Observación de cloroplastos y mitocondrias:

a. Observe una microfotografía electrónica de un cloroplasto (figura 1 A) e identifique: membrana externa e interna, membrana tilacoidal, espacio tilacoidal y granas. Ubique los territorios en que ocurren los procesos estudiados en la actividad práctica.
b. Observe una microfotografía electrónica de una mitocondria (figura 1 B) e identifique: membrana externa y externa, espacio intermembrana y crestas mitocondriales. Ubique los territorios en que ocurren los procesos estudiados en la actividad práctica.

A



B

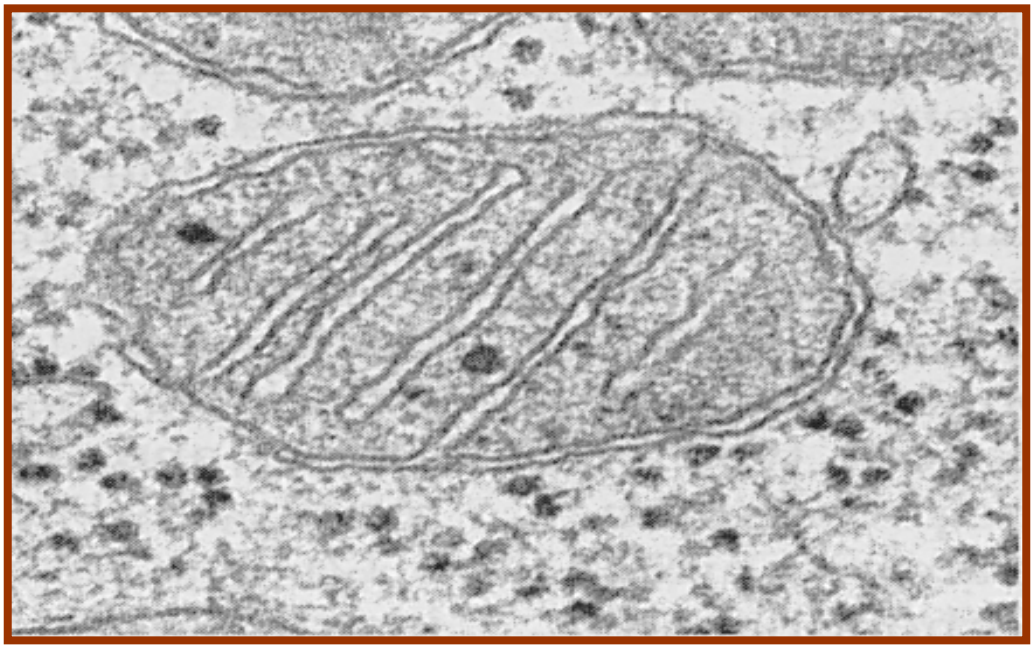


***Figura 1*: Microfotografías electrónicas de: A) un cloroplasto. B) una mitocondria.**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela de Verano 2005

ACTIVIDAD PRÁCTICA Nº 3

CICLO CELULAR

Profesor responsable: Enrique Castellón

INTRODUCCIÓN

El ciclo celular comprende todas las etapas que experimentan las células durante su proceso vital, es decir, proliferación, (eventualmente reposo proliferativo), diferenciación, envejecimiento y muerte celular. Todas estas etapas están finamente reguladas. Durante el ciclo proliferativo (en ocasiones se usa como sinónimo de ciclo celular) la célula replica su DNA y se divide, con lapsos de tiempo entre estas dos etapas, de tal manera que este proceso se puede dividir en 4 fases: Fase S (síntesis de DNA), G1 (lapso entre la división celular y la fase S), G2 (lapso entre la fase S y la división siguiente) y M (mitosis y citocinesis) (figura 1).

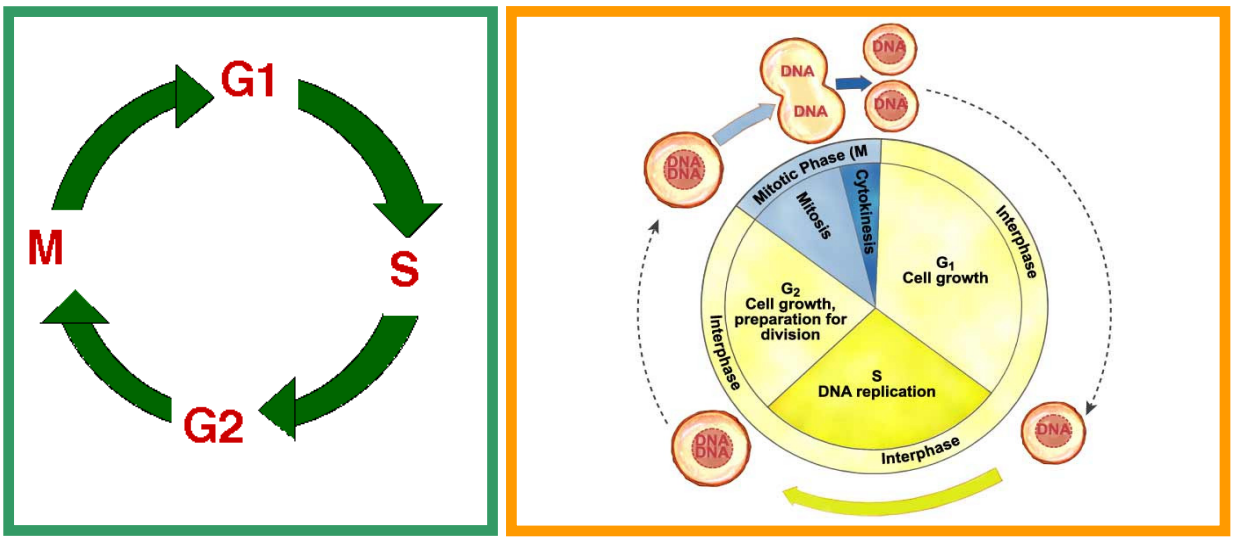


Figura 1: Esquemas del ciclo proliferativo

En ocasiones y dependiendo del tipo celular y las condiciones del entorno, una célula puede salir del ciclo proliferativo, sin necesariamente seguir el camino de la diferenciación. Este período de tiempo se denomina G0 y se dice que la célula está en reposo proliferativo. La salida del ciclo proliferativo ocurre normalmente en G1. En el control del ciclo proliferativo participan un conjunto de proteínas kinasas que son reguladas a su vez por otras proteínas denominadas ciclinas. Luego que el DNA se replica, se activan mecanismos de revisión del material genético que detectan y reparan posibles fallas en el DNA, para proceder a la división celular. Otros puntos de control importantes (*check points*) están en G1 y la mitosis. La entrada

en mitosis está finamente controlada por un complejo proteico denominado MPF (factor promotor de la mitosis). Este complejo consiste en una proteína denominada ciclina B y una enzima kinasa denominada cdk2 y está regulado por fosforilaciones y desfosforilaciones de manera tal que se activa dando inicio la mitosis y se inactiva (por degradación de la ciclina) al término de ésta. Un complejo similar regula la entrada en fase S y el proceso en su conjunto está controlado por señales extracelulares denominadas, en general, factores de crecimiento.

OBJETIVOS

1. Analizar las etapas del ciclo celular y sus relaciones
2. Analizar la fase S del ciclo proliferativo en un tejido en renovación
3. Analizar las diferentes etapas de la fase M del ciclo proliferativo

BIBLIOGRAFÍA

-Alberts, B., Johnson A., Lewis, J., Raff, M., Keiths, R. y Walter P. 4ta. Edición. 2002. Molecular Biology of the Cell. Garland Science, Taylor and Francis Group, New York. USA.
-Lodish, H., Berk, A., Zipursky, SL., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. 4ta Edición. 2002. Biología Celular y Molecular. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires. Argentina.

ACTIVIDADES

1. *Etapas del ciclo celular.*
Realice un esquema del ciclo celular con todas sus etapas indicando la relación que existe entre ellas. Explique los factores que determinan el paso de una etapa a otra.

2. *Fase S del ciclo proliferativo: Replicación del DNA.*

a. Observe una preparación histológica de un corte de piel. Describa la organización del tejido indicando las diferentes capas.

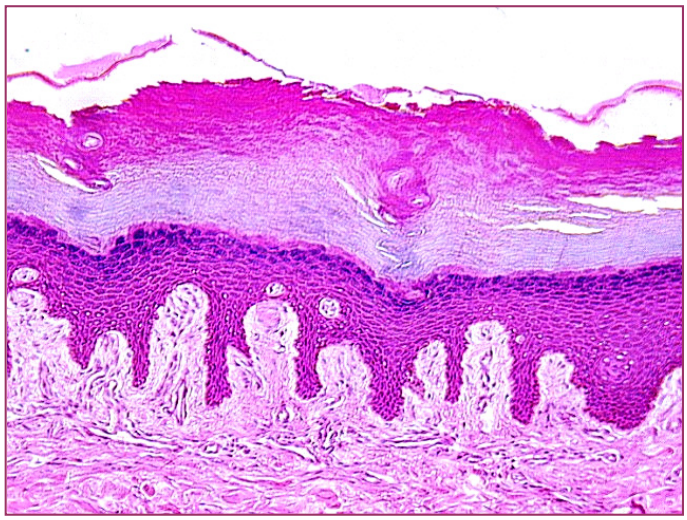


Figura 2: Corte histológico de piel

b. Observe una imagen de una preparación similar a la anterior en la que el animal ha sido previamente inyectado con timidina tritiada (nucleótido de DNA radiactivo).

-¿Qué significa la presencia de marca en los núcleos de algunas células?
-¿Cuál es la interpretación del hecho que no todas las células estén marcadas con el precursor radiactivo?
-¿Qué significa que se encuentre distinta cantidad de marca en las células que la presentan?

c. Realice un gráfico que exprese la variación del contenido de DNA nuclear y las etapas del ciclo proliferativo.

3. Fase M del ciclo proliferativo: Mitosis y citodiéresis

a. Observe una preparación correspondiente a un aplastado de la región meristemática de raicillas de cebolla, teñidas con orceína acética. Identifique células en mitosis e interfase. Reconozca y dibuje las etapas de la mitosis. ¿Cómo podría calcular el índice mitótico en esta preparación?

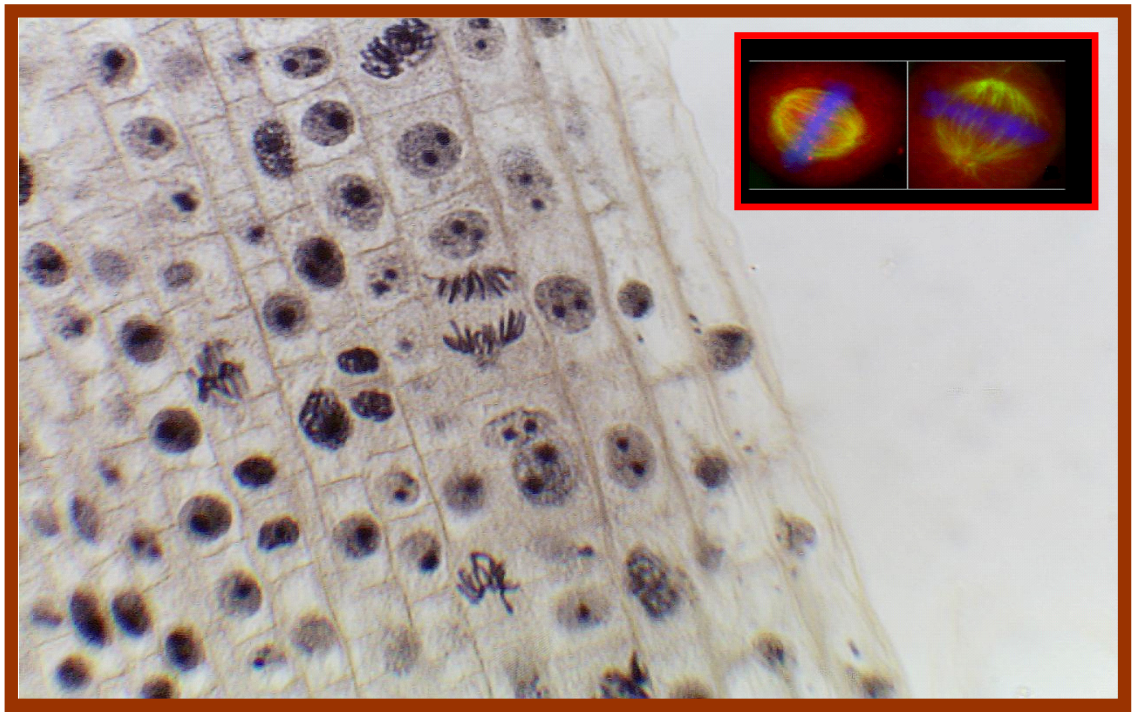
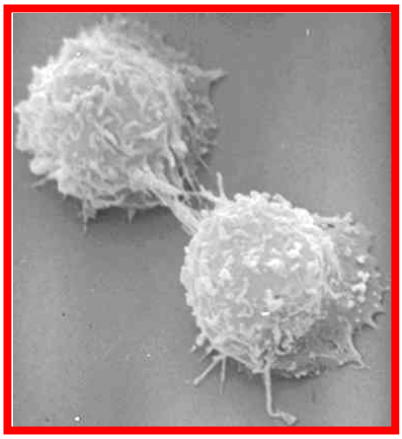
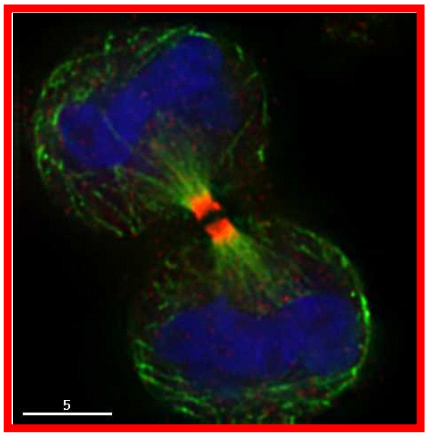


Figura 3: Microfotografía de células vegetales en que se distinguen distintas etapas de la mitosis (inserto: detalle de la metafase)

b. Observe imágenes del proceso de citodiéresis en células animales y vegetales y señale las principales diferencias de estos procesos.





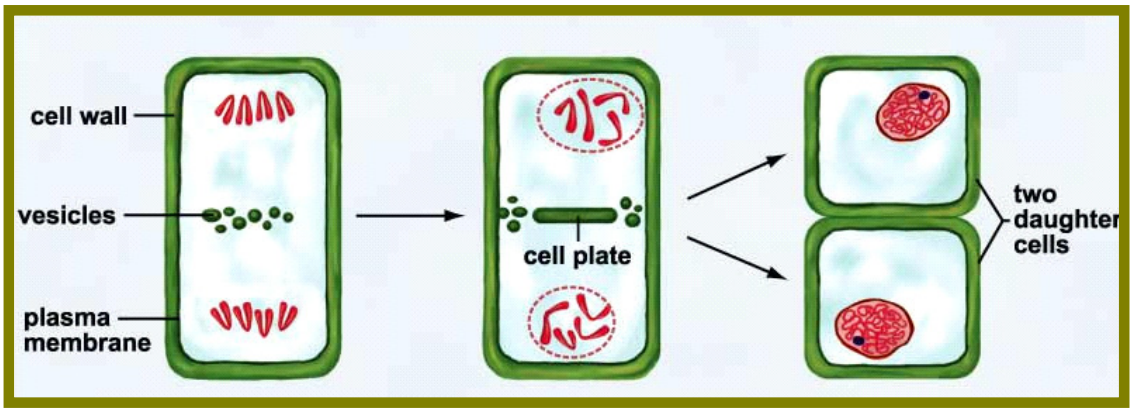


Figura 4: Citodiéresis en célula animal (arriba) y vegetal (abajo)