

## Cómo se estudia la célula

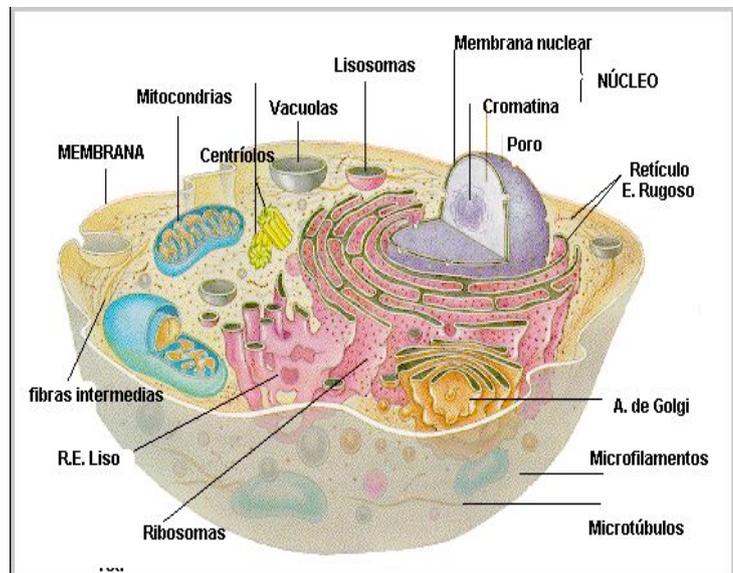
Hoy en día existe mucha información disponible acerca de qué es una célula, si es procarionta o eucariota, cuáles son sus componentes, su forma, su función, etc. De hecho, estos contenidos son habituales y básicos en la enseñanza escolar. Pero, estudiar la estructura y el funcionamiento celular no es una tarea sencilla. Para lograrlo, hay que entrar en un mundo microscópico a través de numerosas herramientas, desde las más sencillas como el microscopio óptico, hasta técnicas más sofisticadas que permiten discernir la estructura de las macromoléculas, sus movimientos y funciones. Los conocimientos actuales acerca de las células son el resultado de observaciones, teorías y modelos que se fueron construyendo y modificando a lo largo de años de investigación, un proceso que aún continúa.

### Los modelos científicos

La ilustración es un **modelo** que representa la estructura de una célula eucariota animal. Los modelos científicos se caracterizan porque son construcciones de la mente humana, y representan ideas o conceptos que se tienen sobre algún aspecto de la realidad (ver Cuaderno N° 50). Los modelos científicos cumplen un papel importante en la construcción del conocimiento y la comprensión de los fenómenos naturales.

Ayudan a predecir, describir y explicar fenómenos naturales, objetos y estructuras;

y simplifican las observaciones haciendo más fácil trabajar con ellos, especialmente cuando se trata de objetos que no se perciben a simple vista, como una estructura microscópica. ¿Cómo se llega a determinar un modelo de la célula que no solo representa su estructura sino también su función? Sin duda, el desarrollo de instrumentos ópticos cada vez más precisos y de técnicas moleculares de visualización, han desempeñado un papel preponderante en estos logros científicos ya que permitieron conocer lo inalcanzable para el ojo humano.



**Estructura de una célula eucariota animal.**

### Un poco de historia...

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Ya en la antigüedad se sabía que el tamaño de los objetos podía aumentarse empleando espejos curvos y esferas de cristal llenas de agua. A principios del siglo XVII se inició una

serie de experiencias utilizando lentes con el objetivo de lograr el mayor aumento posible. Estas experiencias se inspiraron en el uso del telescopio que había sido empleado por primera vez en 1609 por Galileo con fines astronómicos.

Con el desarrollo de los microscopios, la biología experimentó una revolución, ya que hasta entonces los organismos más pequeños descritos eran los insectos diminutos. A partir de entonces, el desarrollo y complejización de los microscopios (palabra que en griego significa “para ver lo pequeño”) fue constante.

En 1665, el científico Robert Hooke publicó un libro llamado *Micrographia*; en el que pueden encontrarse algunos de los mejores dibujos que se hallan hecho de observaciones microscópicas. Una de sus observaciones simples pero más importantes fue la de un delgado trozo de corcho, un material muy liviano y firme que flotaba en agua, por razones desconocidas hasta entonces. A través de su microscopio Hooke observó que estaba constituido por una fina trama de pequeñas celdas a las que él llamó “células”, un término habitual para designar pequeñas habitaciones en los monasterios.



Microscopio usado por Hooke y el dibujo de las “células” del tejido de corcho

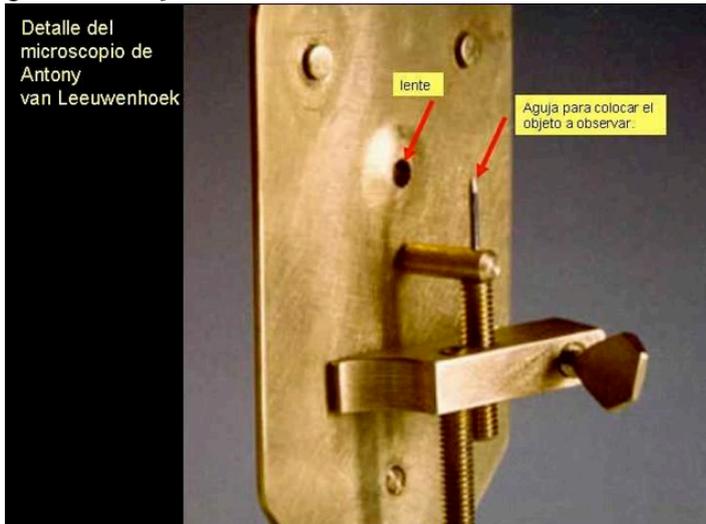
Más tarde, el aficionado holandés Anton van Leeuwenhoek logró, mediante las lentes pequeñas que él mismo fabricaba, aumentos de hasta 270 veces. Así pudo, entre otras

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



cosas, descubrir y estudiar por primera vez a pequeños organismos invisibles a simple vista, presentes en aguas estancadas, a los que nombró “animálculos”. Hoy se sabe que observó

desde células bacterianas hasta protozoos en aguas estancadas, espermatozoides y glóbulos rojos.



Microscopio usado por Van Leeuwenhoek

## ¿Qué es un microscopio?

El microscopio es una de las herramientas básicas en el estudio de la biología. Mediante un conjunto de lentes, el microscopio aumenta el tamaño de objetos que son demasiado pequeños para ser visualizados a simple vista. Dos principios están involucrados en el uso del microscopio: la **magnificación** (capacidad de aumentar el tamaño de una imagen) y la **resolución** (capacidad de producir una imagen nítida, o la capacidad del instrumento para dar imágenes bien definidas de puntos situados muy cerca uno del otro). Existen distintos tipos de microscopios, cada uno con un propósito particular, ya que cada técnica de microscopía permite observar estructuras dentro de cierto rango de tamaño, dependiendo del **límite de resolución** del microscopio empleado, es decir, la separación mínima que permite que dos objetos puedan ser distinguidos como diferentes.

## Los microscopios actuales

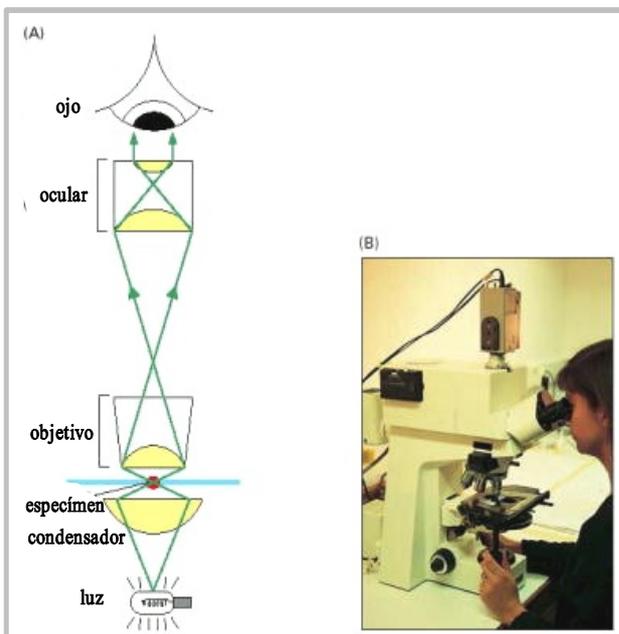
Desde su invención, la microscopía ha experimentado increíbles adelantos, aumentando no solo su capacidad de resolución sino también el poder de amplificación. Se los puede clasificar en dos grandes grupos: **microscopios ópticos** y **microscopios electrónicos**.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.

La gran diferencia entre ambos tipos es la “radiación” que emplean para iluminar el objeto de interés y el límite de resolución, que depende de las características físicas de la radiación empleada (luz visible o electrones). En el caso de los microscopios ópticos, la radiación utilizada es la luz visible. En los microscopios electrónicos, la radiación es un haz de electrones, posibilitando un poder de resolución de 0,1 nm.

## Los microscopios ópticos

Es el tipo de microscopio más utilizado, y emplea la luz visible para crear una imagen aumentada del objeto.



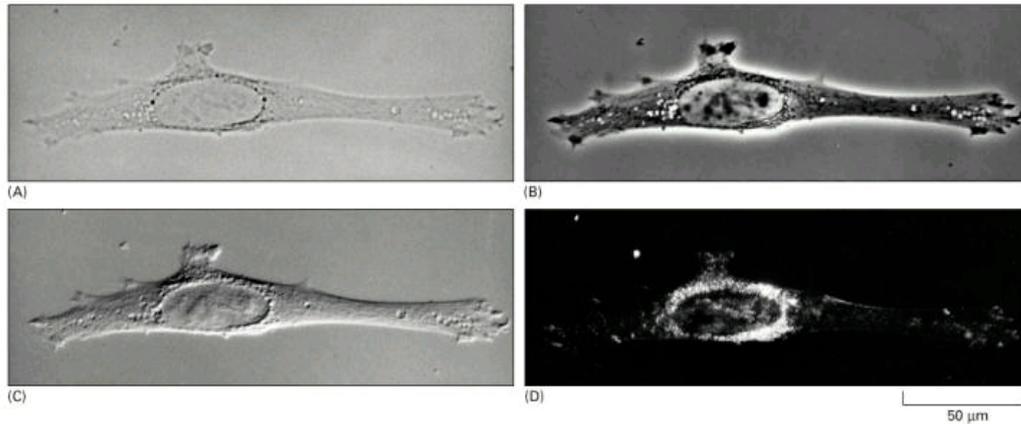
**Estructura del microscopio óptico (A: esquema; B: foto).** (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004).

Consta de una o más lentes, y su factor limitante son las características físicas de la luz visible (su longitud de onda). De todas formas, pueden aumentar el tamaño de un objeto por encima de las 2.000 veces. Algunas partes del microscopio óptico son: **OCULAR:** Lente situada cerca del ojo del observador, que amplía la imagen del objetivo; **OBJETIVO:** Lente situada cerca de la preparación, que amplía la imagen de ésta; **CONDENSADOR:** Lente que concentra los rayos luminosos sobre la preparación (o espécimen a estudiar).

## Variantes en la microscopía óptica

En la microscopía óptica se pueden distinguir variantes que ofrecen diferentes imágenes de un mismo objeto de estudio. Según cuál es el material de estudio, sus características y el objetivo de quien lo examina, se elegirá una u otra técnica. A continuación se muestran cuatro imágenes de la misma célula (un fibroblasto en cultivo) generada mediante diferentes técnicas de microscopía óptica, que se explican a continuación:

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



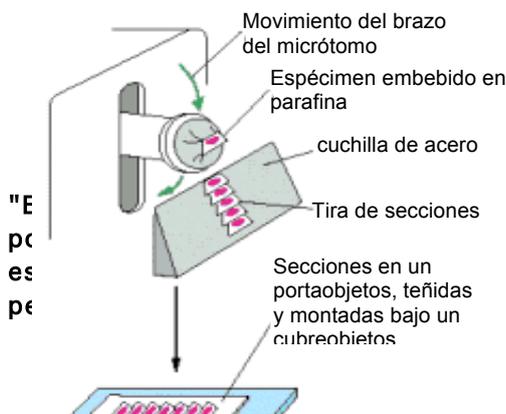
A) Microscopía de campo brillante (B) Microscopía de contraste de fase (C) Microscopía diferencial de contraste de interferencia (DIC) – Nomarski. (D) Microscopía de campo oscuro (tomada de Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004)

**A) Microscopía de campo brillante:** el material se observa sin coloración. La luz pasa directamente y se aprecian detalles que están naturalmente coloreados, o simplemente contornos.

**B) Microscopía en contraste de fase:** se usa principalmente para aumentar el contraste entre las partes claras y oscuras de las células sin colorear. Es ideal para especímenes delgados, o células aisladas. El tipo de iluminación que emplea provoca variaciones en cómo refractan la luz algunos especímenes “invisibles”, haciéndolos visibles. Este tipo de microscopio es muy útil a la hora de examinar tejidos vivos, por lo que se utiliza con frecuencia en biología y medicina.

**C) Microscopía diferencial de contraste de interferencia (DIC) – Nomarski:** Utiliza dos rayos de luz polarizada y las imágenes combinadas aparecen como si la célula estuviera proyectando sombras hacia un lado. Se usa cuando la muestra es muy gruesa para usar contraste de fases. Fue diseñado para observar relieves de especímenes difíciles de manejar. Es muy utilizado en los tratamientos de fertilización in-vitro actuales.

**D) Microscopía en campo oscuro:** el microscopio utiliza una luz muy intensa en forma de un cono hueco concentrado sobre el espécimen. Las porciones claras del ejemplar aparecen como un fondo oscuro y los objetos minúsculos que se están analizando aparecen como una luz brillante sobre el fondo. Esta forma de iluminación se utiliza para analizar elementos biológicos transparentes y sin manchas, invisibles con iluminación normal.



### Fijación, corte y tinción de muestras

Para que una muestra de tejido permanezca intacta en el tiempo, y permita así su

“E” es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el Laboratorio de Biología Celular y Molecular del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO) de Toluca, México. Su reproducción debe ser autorizada por el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO) y se aclare la autoría y propiedad de este recurso educativo Por Qué Biotecnología.

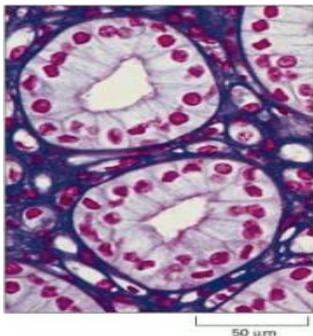


observación al microscopio todas las veces que se desee, hay que “fijarla”. Esto significa, tratar a las células con un fijador que las inmovilice y las preserve. Luego, dado que la mayoría de los tejidos son muy gruesos como para poder observar sus células individualmente a alta resolución, se los debe cortar en pequeñas láminas o secciones con un instrumento denominado “micrótomo” (figura). Debido a que los tejidos son generalmente blandos y frágiles (aún fijados), necesitan ser embebidos en un medio que actúe de soporte para poder seccionarlo. Generalmente se emplea parafina (también algunas resinas), que en su estado líquido penetra el tejido fijado, para luego solidificarse y así formar un bloque sólido junto a la muestra.

**Esquema de un micrótomo.** Una porción de tejido embebido en parafina es seccionada con una cuchilla de acero para luego teñir y observar al microscopio óptico. (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004)

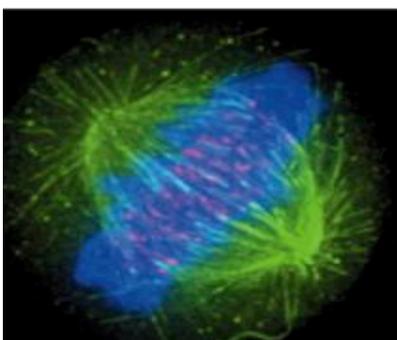
Una vez obtenidas las secciones, usualmente el siguiente paso es teñirlas con colorantes específicos que poseen afinidad por distintos componentes celulares, permitiendo su identificación al microscopio. Algunos ejemplos de colorantes muy empleados son la *hematoxilina* y la *eosina*. El primero tiene afinidad por las moléculas cargadas negativamente, por lo que se emplea para teñir los núcleos celulares (por su contenido de ADN) que adquieren un color violáceo. El segundo tiene afinidad por las sustancias básicas, otorgando un color rosado al citoplasma celular cuya carga neta es positiva.

E) Microscopía de campo brillante con tinción: Los colorantes específicos aumentan el contraste y revelan detalles que no se aprecian de otra manera.



**Sección de tejido teñida observada con un microscopio óptico de campo brillante.** La sección observada corresponde a las células de los conductos colectores de orina del riñón, y fue teñida con una combinación de hematoxilina y eosina. (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004).

F) Microscopía de fluorescencia: se emplean sustancias naturales de la célula o colorantes que tienen la capacidad de absorber determinadas longitudes de onda, y emitir luz fluorescente. Se utiliza para detectar proteínas u otras moléculas específicas en una célula. Para lograrlo se puede acoplar la molécula fluorescente a otra molécula capaz de reconocer al componente que interesa visualizar, o emplear moléculas fluorescentes que directamente tengan afinidad con determinados componentes



tecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción y distribución debe hacerse citando la autoría y propiedad de este recurso. (Fuente: Programa Educativo Por Qué Biotecnología).



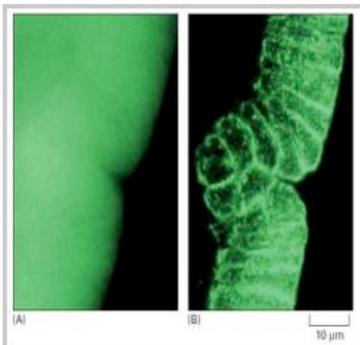
celulares. Se pueden combinar distintos compuestos fluorescentes para detectar distintas moléculas en la misma muestra.

**Microscopía de fluorescencia.** Se observa una micrografía de una célula en mitosis. Para obtener esta imagen, se emplearon tres moléculas fluorescentes distintas con el fin de teñir tres componentes celulares diferentes. Se usó un anticuerpo acoplado a una proteína fluorescente verde para detectar a los microtúbulos, otro anticuerpo acoplado a una proteína fluorescente roja para detectar a los centrómeros, y un colorante fluorescente azul para teñir el ADN, que se encuentra condensado formando los cromosomas.

**G) Microscopía confocal:** permite obtener imágenes tridimensionales, a diferencia de la microscopía óptica. El microscopio óptico convencional enfoca un determinado “plano focal”

(Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004).

dentro de una estructura tridimensional; por encima y por debajo de dicho plano la muestra está iluminada pero no en foco, y esto genera una imagen borrosa. El microscopio confocal combina dos enfoques: óptico y computacional. Esto elimina las imágenes provenientes de otros planos que no sean los que se desea enfocar en cada momento. Las imágenes se integran mediante computadoras para obtener una imagen tridimensional.



**Comparación de la microscopía fluorescente convencional y confocal.** Las dos imágenes se obtuvieron del mismo estadio de desarrollo de un embrión de la mosca *Drosophila*, donde se tiñeron los filamentos de actina de las células con un colorante fluorescente. (A) En la microscopía convencional, la imagen es borrosa debido a la presencia de estructuras fluorescentes por encima y por debajo del plano de foco. (B) en la imagen confocal, la información “fuera de foco” es removida, resultando en una observación nítida de la sección de células del embrión (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004)

## Los microscopios electrónicos

Desarrollados a partir de 1930, permiten una ampliación del objeto mucho mayor que el microscopio óptico, con muy alta capacidad de resolución. Permiten observar virus y organelas subcelulares, entre otras estructuras. Básicamente, dos tipos de microscopios electrónicos fueron desarrollados para diferentes usos:

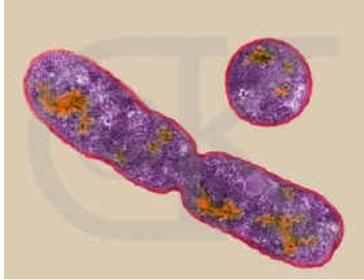
**A) Microscopio electrónico de transmisión (MET):** proyecta electrones (partículas subatómicas con carga negativa) a través de una fina capa de tejido o material a observar. Al hacerlo, produce una imagen en dos dimensiones sobre una pantalla fosforescente, donde el brillo en un área particular de la imagen es proporcional al número de electrones que son transmitidos a través del material.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



**B) Microscopio electrónico de barrido (MEB):** da como resultado una imagen que parece tridimensional. Emplea dos o tres puntos de la muestra donde llegan los electrones que escanean la superficie del espécimen a observar y salen del mismo siendo detectados por un sensor.

1



2



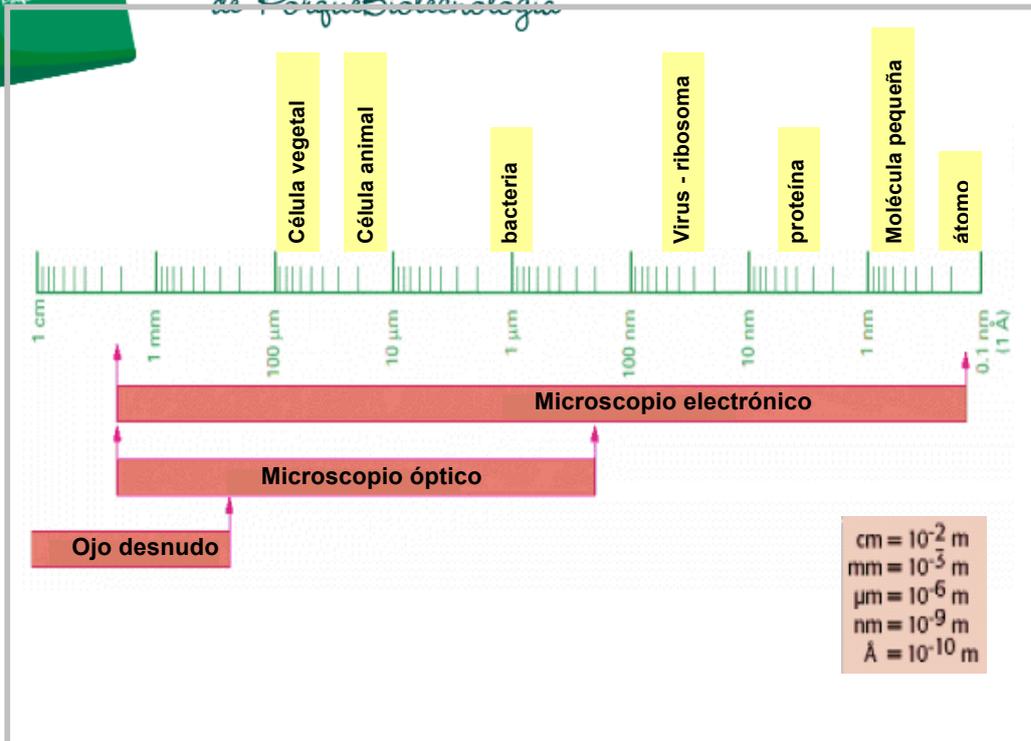
1. Imagen de la bacteria *Escherichia coli* a través de microscopio electrónico de transmisión (aumento 92.750x) <http://www.pbrc.hawaii.edu/~kunkel/gallery>. Se nota dentro de la célula, coloreado en rojo, el área donde se sitúa el ADN. En esta imagen la bacteria se halla en proceso de división.

2. Imagen de bacterias *E. Coli* a través de microscopio electrónico de barrido. Se genera una imagen tridimensional (aumentos 22.810x) <http://www.pbrc.hawaii.edu/~kunkel/gallery>.

Los colores de las imágenes no son reales, ni producto de colorantes, sino que se generan artificialmente mediante programas de diseño para destacar el objeto de interés.

De lo expuesto se concluye que se optará por uno de los tipos de microscopía descritos según el objetivo de estudio, el tamaño de las estructuras que permiten visualizar, el detalle que aportan, las moléculas que permite distinguir, entre otros criterios. El siguiente esquema muestra las posibilidades que ofrecen los diferentes aparatos ópticos en relación con la resolución del ojo humano.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



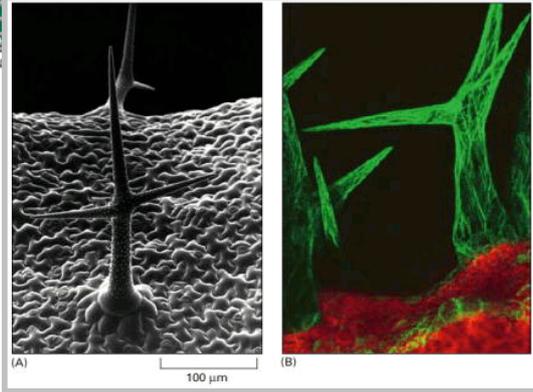
Se compara el poder de resolución de los diferentes microscopios y del ojo humano. La escala graficada es logarítmica (Adaptado de Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004)

## Cómo se estudian las moléculas que integran la célula

Muchos procesos celulares pueden estudiarse combinando las técnicas microscópicas con otras herramientas. Actualmente se dispone de técnicas que permitan detectar, medir y realizar seguimientos de casi todas las moléculas presentes en una célula viva. Entre ellas:

- Proteínas fluorescentes: El descubrimiento de proteínas fluorescentes presentes en distintos organismos, como la Proteína Verde Fluorescente (GFP en inglés) extraída de *Aequoria victoria*, abrió paso a innumerables aplicaciones en el campo de la biología celular. La caracterización del gen que la codifica permitió, por ingeniería genética, emplearla como “etiqueta” para señalar otra proteína de interés a la cual se fusiona. Un ejemplo se puede observar en la microfotografía de plantas transgénicas de la especie modelo *Arabidopsis thaliana* que lleva una nueva proteína resultante de la unión de la proteína GFP con otra proteína de estudio denominada “talina”. De esta forma, se puede estudiar en un organismo completo la ubicación y el comportamiento de una proteína particular.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



### Estudio de proteínas por fusión a la proteína GFP

A) la superficie de las hojas de *Arabidopsis* cubiertas de estructuras glandulares llamadas tricomas. (B) la microscopia confocal MEB permite observar la proteína “talina” debido a su unión con la proteína fluorescente verde GFP. En rojo se observa la autofluorescencia de la clorofila. (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004).

- Uso de radioisótopos para seguir el destino de moléculas en la célula : Las moléculas pueden ser marcadas o etiquetadas con isótopos radioactivos. Los isótopos constituyen variantes de los diferentes elementos químicos que cambian en la masa de su núcleo, aunque poseen el mismo número de protones y de electrones, y las mismas propiedades químicas. Los isótopos radioactivos, o **radioisótopos**, tienen un núcleo inestable que se desintegra para producir un tipo de átomo diferente. En el transcurso de la desintegración se pueden liberar distintos tipos de radiaciones (por ejemplo, rayos gama) que son detectadas por dispositivos especiales. Dado que existen radioisótopos de muchos de los elementos que componen a la mayoría de las moléculas presentes en la célula, se han desarrollado técnicas para el seguimiento y localización de moléculas específicas, tanto bioquímicamente como microscópicamente. Una de las primeras aplicaciones de la radioactividad en biología fue el seguimiento de la ruta del elemento carbono durante la fotosíntesis en la síntesis de carbohidratos. Luego se comenzó a emplear para seguir cualquier proceso en las células.

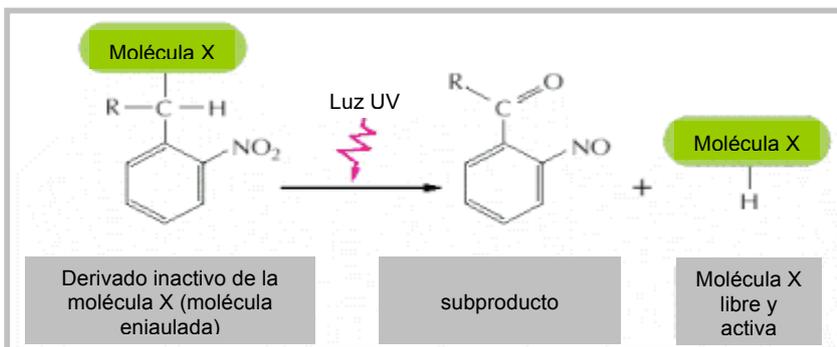
En un experimento típico, las células son suplementadas con una molécula precursora en su forma radioactiva que se mezcla con las moléculas no marcadas preexistentes. Así, todas siguen el mismo camino ya que son “vistas” por la maquinaria celular como la misma molécula. Otro de los usos importantes de la radiactividad en la biología celular es la localización de un compuesto radiactivo en la célula o en un tejido por autoradiografía. Brevemente, las células se incuban en presencia de la molécula radioactiva durante un lapso breve de tiempo, y luego se las fija para su observación microscópica. Se las cubre posteriormente con una capa delgada de emulsión fotográfica, y luego de varios días en oscuridad se puede revelar y se observará la localización de la radiactividad en cada célula.

- Indicadores para la medición de cambios intracelulares en la concentración de ciertos iones: las cantidades de iones inorgánicos (ion sodio: Na<sup>+</sup>, ion potasio: K<sup>+</sup>, ion calcio: Ca<sup>++</sup>, ion cloruro: Cl<sup>-</sup>, etc.) dentro de la célula son muy variables, y esto determina distintas funciones celulares (por ejemplo, la transmisión del impulso nervioso y la contracción de las células musculares). Por esto que se han desarrollado métodos para "El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



medir en distintos momentos y en respuesta a varios estímulos, la concentración y distribución de esos iones en el interior celular. Los **indicadores sensibles a iones** son moléculas que pueden emitir distinta intensidad de luz (fluorescencia o luminiscencia) en respuesta a la presencia y cantidad de determinados iones. Un ejemplo es la Aequorina, una molécula luminiscente aislada de una medusa, que emite luz en presencia de concentraciones muy bajas de  $Ca^{++}$ .

- **Moléculas “enjauladas” fotosensibles:** La complejidad y la rapidez de muchos procesos intracelulares dificultan su seguimiento a nivel de una célula aislada. Por ejemplo, el movimiento de proteínas del citoesqueleto. Para lograrlo se ha desarrollado una estrategia que permite sintetizar una versión inactiva y fotosensible de la molécula que se desea estudiar (“molécula enjaulada”), para luego introducirla en una célula y activarla en un sitio y momento especiales con un fuerte pulso de luz.



**Moléculas enjauladas.** Un derivado fotosensible e inactivo de una molécula (X) puede convertirse, mediante un pulso de luz UV, en su forma libre y activa. Por ejemplo, una molécula pequeña como el ATP. (Fuente: Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004).

## CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

El objetivo de este Cuaderno es profundizar en la información que habitualmente se encuentra en los libros de texto acerca del conocimiento de la célula. Esto implica conocer algunas de las técnicas que permiten ver o medir los componentes celulares, los procesos celulares, y comprender cómo se interpreta esa información.

El hecho de que un contenido como “la célula” ocupe espacio y tiempo en la currícula no se debe sólo a su importancia como contenido de la biología, sino también a la dimensión que alcanza la célula en el nuevo contexto de desarrollo tecnológico y social. Por ejemplo, para comprender los procesos que emplea la biotecnología moderna y sus aplicaciones actuales y futuras, es preciso comprender la estructura y el funcionamiento celular.

Comprender un objeto invisible a simple vista como la célula requiere de la construcción de una imagen (funcional y estructural) o representación abstracta con relaciones y procesos complejos.

En este aspecto es importante tener en cuenta el concepto de **modelo** (ver Cuaderno N° 50). Todo modelo es una representación abstracta del conjunto de interacciones que

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



conceptual y metodológicamente se delimitan como objeto de conocimiento. Cada modelo permite que algunos de sus aspectos (por ejemplo, estructuras, procesos o ideas) estén en una escala diferente de la que son normalmente percibidos, o bien que entidades abstractas puedan hacerse visibles. Es decir, aquello que se representa como una célula es un **modelo** consensuado en la comunidad científica (modelo científico). Los **modelos científicos** son conjuntos de ideas que describen un proceso natural. Los modelos científicos pueden ser caracterizados en base a las siguientes aseveraciones:

- a- son construcciones de la mente humana, por lo tanto de naturaleza temporaria;
- b- son representaciones de ideas o conceptos que se tienen sobre algún aspecto de la realidad;
- c- son uno de los principales productos de la ciencia;
- d- cumplen un importante papel en la construcción del conocimiento y la comprensión de los fenómenos naturales;
- e- proveen representaciones de ideas y conceptos presentados dentro de una teoría;
- f- ayudan a los científicos a predecir, describir y explicar fenómenos naturales, objetos y estructuras;
- g- simplifican fenómenos o los hacen más fáciles para trabajar con ellos;
- h- coexisten distintos modelos que se pueden utilizar para describir un mismo aspecto de la realidad.

Estos modelos pueden resultar una herramienta muy útil en el momento de proponer a los alumnos algunas temáticas complejas, y pueden resultar de gran utilidad en el momento de transponer en el aula estas representaciones de los científicos.

Generalmente, la comprensión de los conceptos más abstractos requiere complementar con representaciones gráficas, analogías (adecuadamente seleccionadas) o revisiones acerca de cómo se fueron desarrollando los conceptos históricamente. Para comenzar a enseñar la célula se sugiere emplear dibujos y esquemas e integrar imágenes reales (fotografías de microscopía electrónica y de microscopía óptica) y esquemáticas de la célula, de forma que el alumno pueda establecer relaciones entre unas y otras, y diferenciar lo real de sus representaciones. Una estrategia útil es comenzar seleccionando imágenes microscópicas reales, hacer observaciones de preparados al microscopio óptico y, a partir de ellas, elaborar esquemas. Es importante trabajar a partir de estos dibujos que realizan los alumnos, para interpretar qué es lo que ven al microscopio, cómo se relaciona con las microfotografías, y relacionarlo con los modelos científicos.

Otro aspecto que se recomienda tener en cuenta para favorecer la comprensión de la naturaleza molecular de la célula, es la integración adecuada del nivel molecular en el nivel celular. Suele ocurrir que la delimitación entre distintos niveles de organización microscópicos es confusa para algunos alumnos. Palabras tales como átomo, molécula, partícula o sustancia se emplean casi indistintamente, y no es extraño que las enzimas sean

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



# El Cuaderno de Por Qué Biotecnología

EDICIÓN N° 80

Catalogadas como células, o los glóbulos rojos o las mitocondrias como moléculas. En muchas ocasiones, el problema se ve agravado por la falta de referencias a la escala en los dibujos, fotografías o esquemas que se presentan a los alumnos. Esto requiere trabajar los contenidos de niveles de organización, y volver a ellos en cada oportunidad que se trabaje en clase la estructura celular.

Suele suceder que los alumnos preguntan “cómo saben los científicos acerca de determinados procesos o componentes si no los pueden ver”. Estas preguntas son muy pertinentes y comprensibles al trabajar con entidades que resultan abstractas e “invisibles”. En este sentido, es interesante que los alumnos puedan interpretar, al menos básicamente, las técnicas que se emplean para “ver” las moléculas, sus movimientos y los procesos en los que intervienen, a través de reactivos que permiten detectar su presencia mediante reacciones de color o radioactividad. Para tal fin, se sugieren actividades que pueden contribuir a la comprensión de estos conceptos que no siempre aparecen en los libros de texto.

## Conceptos relacionados

El tema de este Cuaderno se puede aplicar en diferentes instancias del aprendizaje, ya que se relaciona con diferentes conceptos y temas. Entre ellos: seres vivos, microorganismos, niveles de organización de la materia, células (estructura y función), tipos y clasificación de células, transformaciones químicas, metabolismo (anabolismo y catabolismo), manejo y usos del microscopio, modelos científicos.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



## ACTIVIDADES

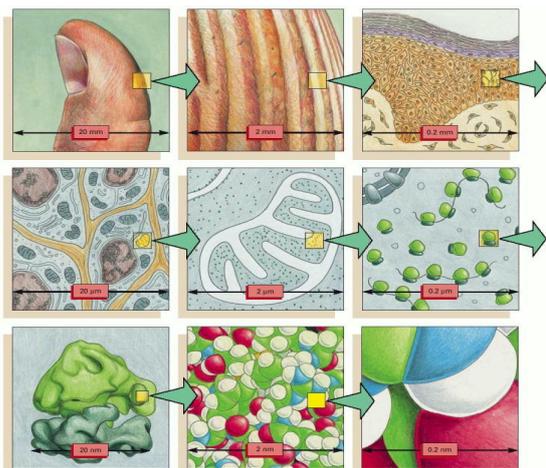
### Actividad 1. Repaso de conceptos

**Objetivo:** repasar conceptos abordados en el texto y trabajar conceptos vinculados con escalas microscópicas y macroscópicas.

**Nota:** A muchos alumnos les resulta difícil valorar escalas microscópicas, por debajo de las que usualmente se emplean. Un modo de evitar estos problemas en el aprendizaje es entrenar a los alumnos en el manejo de escalas microscópicas en comparación con otras usuales. Por ejemplo, plantear problemas en los que se vean obligados a calcular relaciones entre dimensiones celulares y dimensiones de objetos cotidianos pueden ser muy eficaces para este propósito.

Desde un tejido hasta los átomos que lo componen, la escala de tamaño varía considerablemente. De ello se desprende que, para estudiar cada uno de dichos niveles estructurales, se requieren diversos tipos de herramientas. Respecto a la escala, 1 micrómetro ( $\mu\text{m}$ ) son  $10^{-3}$  mm, mientras que 1 nanómetro (nm) son  $10^{-6}$  mm. A partir del esquema determinar:

- qué representan las ilustraciones. En la figura se observan diferentes estructuras celulares y subcelulares, junto con los rangos de tamaño que pueden ser resueltos por diferentes tipos de instrumentos ópticos (desde el ojo humano hasta el microscopio electrónico). Cada diagrama muestra una imagen magnificada por un factor de 10 en una progresión. Las ilustraciones representan: 1) un dedo pulgar, 2) la piel como órgano, 3) el tejido formado por células de la piel, 4) varias células, 5) una mitocondria, 6) ribosomas, 7) un ribosoma, 8) un conjunto de moléculas, y 9) los átomos que forman parte de las moléculas.
- qué instrumento se emplearía para observar las diferentes estructuras representadas en el esquema. La estructura del dedo se ve a simple vista, las células y organelas requieren de microscopio óptico, y los detalles de la estructura molecular que se esquematiza en los dos últimos diagramas, están más allá del poder de resolución del microscopio óptico, y requieren microscopio electrónico.



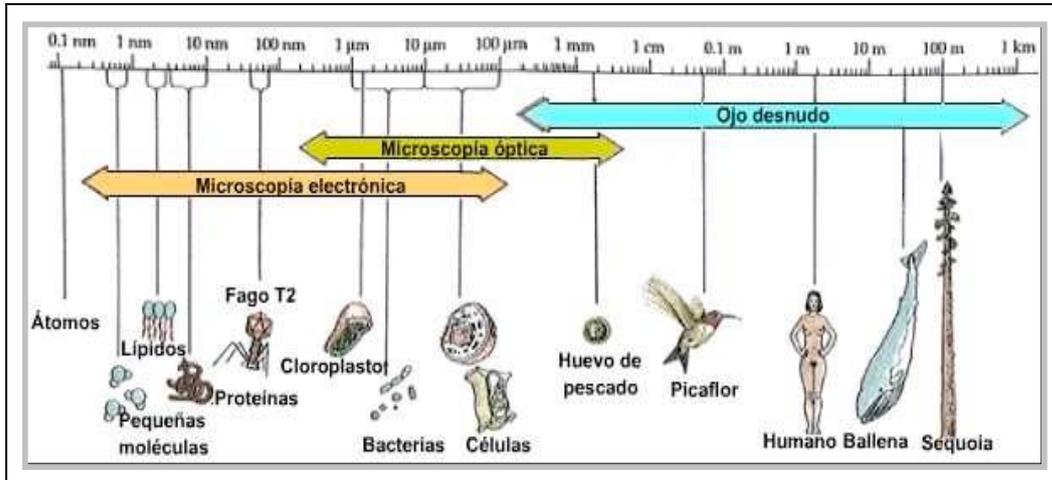
Fuente: *Alberts y col., Molecular Biology of the Cell, 2004.*

- Dada la siguiente lista de ejemplares, determinar qué tipo de microscopía (óptica o electrónica) sería la más adecuada para analizarlos: 1) célula animal - 2) virus - 3)

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



bacteria - 4) proteínas - 5) mitocondrias - 6) óvulo - 7) neuronas - 8) piojo - 9) sacarosa (azúcar de mesa) - 10) ADN



Rta: 1) microscopio óptico y electrónico, 2) microscopio electrónico, 3) microscopio óptico y electrónico, 4) microscopio electrónico, 5) microscopio óptico y electrónico, 6) microscopio óptico y electrónico, 7) microscopio óptico y electrónico, 8) ojo desnudo, 9) microscopio electrónico, 10) microscopio electrónico.

d) Unir con flechas los elementos de la columna A con los de la columna B:

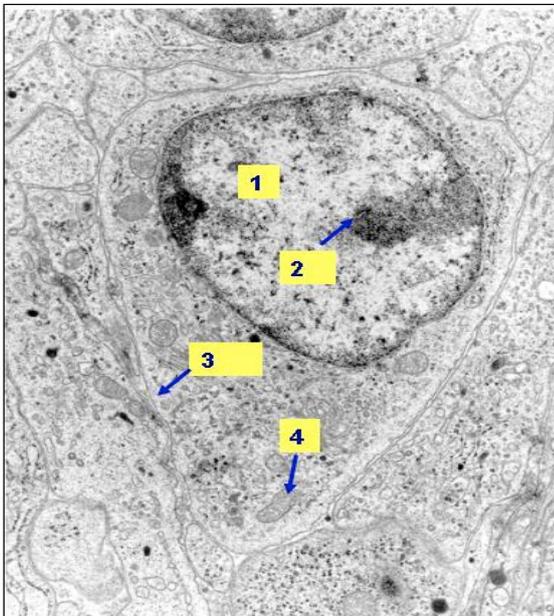
| A  | B   |
|--|---|
| Microscopio óptico                       | Se integran distintos planos de la imagen para formar una nueva imagen tridimensional |
| Microscopio confocal                     | Se utiliza para observar partículas virales   |
| Microscopio electrónico de barrido       | Se colorean las muestras con hematoxilina y eosina                                    |
| Microscopio electrónico de transferencia | Emplea un haz de electrones para estudiar la muestra                                  |
| Microscopio de fluorescencia             | Emplea colorantes fluorescentes   |

Rta:

| A  | B   |
|--|---|
| Microscopio óptico                       | Se integran distintos planos de la imagen para formar una nueva imagen tridimensional |
| Microscopio confocal                     | Se utiliza para observar partículas virales   |
| Microscopio electrónico de barrido       | Se colorean las muestras con hematoxilina y eosina                                    |
| Microscopio electrónico de transferencia | Emplea un haz de electrones para estudiar la muestra                                  |
| Microscopio de fluorescencia             | Emplea colorantes fluorescentes   |

e) En la foto se muestra una célula vista al microscopio electrónico de transmisión (MET)

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



- I) Indicar si la célula de la foto es eucariota o procariota. Justificar la respuesta. **Rta. La célula es eucariota ya que hay un núcleo.**
- II) Indicar si la célula de la foto es animal o vegetal Justificar. **Rta. Es célula animal ya que no se observa pared celular.**
- III) Indicar el nombre de las estructuras señaladas. **Rta. 1) núcleo, 2) nucleolo, 3) membrana plasmática, 4) mitocondria.**
- IV) Realizar un dibujo en el que se represente lo que se observa en la fotografía, y comparar con el modelo que representa la célula eucariota animal.

Fuente: <http://web.educastur.princast.es/>

f) ¿Qué tipo de microscopio permitiría estudiar la secuencia ordenada de eventos que conducen a la separación de los cromosomas durante la mitosis? **Rta: el microscopio óptico permite estudiar células en mitosis, observar los cromosomas y su distribución, y realizar caracterizaciones preliminares de los mismos. Previamente es necesario teñir la muestra (por ejemplo láminas de epidermis de cebolla) con un colorante que tenga afinidad por el ADN, como la hematoxilina.**

### **Actividad 2. Una cuestión de tamaños**

**Objetivo:** trabajar las dimensiones relativas de componentes microscópicos.

- a) ¿Cuántos átomos entrarían en la cabeza de un alfiler? **Rta. Teniendo en cuenta el tamaño medio de los átomos y el diámetro de la cabeza de un alfiler (1–3 mm) , en la cabeza de un alfiler cabrían 60 mil millones de átomos.**
- b) ¿Cuántos glóbulos rojos hay en una gotita de sangre (1 mm<sup>3</sup>)? **Rta. Para responder esta pregunta se puede analizar los resultados de un examen sanguíneo, y tener en cuenta que los glóbulos rojos representan el 99% de la porción celular de la sangre. Según los parámetros normales habría alrededor de 5 millones de células por milímetro cúbico.**

### **Actividad 3. El seguimiento de una proteína celular**

**Objetivo:** Repasar a través de un ejemplo concreto los conceptos desarrollados acerca del estudio de las moléculas en las células.

En un laboratorio de biotecnología, se desarrollaron plantas transgénicas que expresan una proteína de fusión entre la proteína verde fluorescente (GFP en inglés) y una proteína que se encuentra en los cloroplastos relacionada a la fotosíntesis (proteína D1). Además, confirmaron

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



que dicha proteína de fusión no modifica la actividad normal de D1, y que es fluorescente cuando se la ilumina con luz UV.

a) ¿Cómo se podría determinar que las plantas realmente expresan esa proteína de fusión?

Rta.: observándolas al microscopio de fluorescencia, deberían aparecer puntos verdes en las células de las plantas transformadas, y no así en las plantas no transgénicas.

b) ¿Cómo podría confirmar que las proteínas de fusión se ubican en los cloroplastos?

Rta.: se observa el preparado en el mismo microscopio con distintos filtros: uno para ver fluorescencia verde, que corresponde a la proteína de fusión, y otro para ver fluorescencia roja, que corresponde naturalmente a la clorofila. Si la localización de ambas fluorescencias coincide, entonces la proteína de fusión se localizó correctamente en el cloroplasto. Lo mismo puede hacerse si se desea corroborar localización nuclear, pero en este caso se debe teñir la célula con un colorante fluorescente que tenga afinidad por el ADN, como el DAPI.

c) ¿Cómo se podría estudiar si la proteína D1 varía en función de la intensidad de luz (en relación a los picos de intensidad de luz durante el día) en el sistema mencionado?

Rta.: se podrían obtener muestras de plantas iluminadas con distintas intensidades de luz y realizar la misma evaluación que en el ítem b). Además, para poder obtener conclusiones reales, se debería elegir otra proteína de la célula vegetal que se sepa que no cambia con la intensidad de luz (por ejemplo actina, una proteína del citoesqueleto). Para detectar actina, se podría usar un anticuerpo específico contra esa proteína que tenga acoplada una molécula fluorescente azul, por ejemplo. Entonces, en cada preparado se observan las distintas fluorescencias con el microscopio adecuado: la verde corresponde a la proteína D1::GFP, la roja a la clorofila y la azul a la actina. Así, si la cantidad de azul no cambia entre las muestras y la de fluorescencia verde sí lo hace, se podría afirmar que la intensidad de luz realmente afecta a la proteína D1.

## **Actividad 4. Trabajo Práctico: observación de células al microscopio**

Si la escuela cuenta con microscopios se sugiere realizar esta experiencia de observación de células humanas y comparar con células de tipo vegetal y de hongos.

### Objetivos:

- Realizar observaciones de distintos tipos celulares mediante microscopía óptica.
- Ejercitar la preparación de muestras para la observación.
- Adquirir práctica en el empleo del microscopio óptico, y en el cálculo de los aumentos de observación.
- Registrar las observaciones mediante esquemas y comparar con microfotografías.

Para cumplir con el último objetivo y trabajar a partir de los registros, conviene dar a los alumnos algunas instrucciones:

- dibujar con lápiz afilado con trazos definidos.
- el dibujo debe ser grande para ver detalles.
- darle un título al dibujo.
- señalar mediante flechas los nombres de las partes que se identifican.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



5. Señalar el aumento con el cual se observa el preparado a través del microscopio. **Nota:** el aumento se calcula multiplicando el aumento de la lente ocular por el aumento de la lente del objetivo. Por ejemplo, si en la lente ocular dice X15 y en el objetivo X20, el aumento final con el cual se observa será de 300 veces.

## a) Preparación y observación al microscopio de una muestra de células humanas

### Materiales:

- Microscopio óptico
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Colorante azul de metileno

### Procedimiento:

- 1 - Limpiar con alcohol el portaobjetos y raspar suavemente el interior de la mejilla en la boca con un hisopo o una cuchara limpia.
- 2 - Extender el material recogido sobre el portaobjetos.
- 3 - Colocar una gota de agua y una de azul de metileno.
- 4 - Aplicar el cubreobjetos.
- 5 - Observar al microscopio y dibujar las estructuras que observa. Observar los preparados incrementando progresivamente el aumento.

**POR RAZONES DE SEGURIDAD ES IMPORTANTE NO COMPARTIR MATERIAL Y PONER A LAVAR O DESECHAR EL MATERIAL EMPLEADO PARA EXTRAER LA MUESTRA.**

- 6 - conseguir preparados de células sanguíneas, nerviosas, musculares, etc., observarlos al microscopio, y analizar las diferencias entre las células observadas.

## b) Observación microscópica de tejido epidérmico de cebolla

Adaptado de <http://www.joseacortes.com/practicasycebolla.htm>

### Materiales:

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta
- Agujas
- Pinzas
- Escalpelo
- Verde de metilo acético o azul de metileno
- Cuentagotas
- Cebolla

1. Separar una de las hojas interna de la cebolla y desprender la membrana fina que está adherida por su cara inferior.
2. Depositar el fragmento de membrana en un portaobjetos con unas gotas de agua, y colocarlo sobre la cubeta de tinción.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



3. Escurrir el agua, añadir una gota de verde de metilo acético (o azul de metileno) sobre la membrana y dejar actuar durante 5 minutos aproximadamente. No debe secarse la epidermis por falta de colorante o por evaporación del mismo.
  4. Con el cuentagotas bañar la epidermis con agua abundante hasta que no suelte colorante.
  5. Colocar sobre la preparación un cubreobjetos evitando que se formen burbujas y llevarla al microscopio.
- 
6. Observar la preparación a distintos aumentos, empezando por el más bajo. Identificar las distintas células del tejido epidérmico y las de las hojas del bulbo de cebolla.

### c) Observación microscópica de hongos

Es una observación cotidiana el hecho que si se deja un trozo de pan en un lugar húmedo, con el paso del tiempo es probable que crezca sobre él una pelusa blanca que luego se oscurece, correspondiente al hongo *Rhizopus stolonifer* (o "moho negro del pan"). Esa pelusa es el micelio del hongo, y su oscurecimiento se debe a la formación de esporangios, estructuras que dan lugar a millones de esporas (una forma de reproducción de éstos organismos)

Los principales métodos aplicados para la observación microscópica de los cultivos son: la observación en fresco con una solución adecuada, y las preparaciones en cinta adhesiva.

#### Materiales:

- Pan o manzana en el cual haya crecido moho
- Lupa
- aguja de disección
- portaobjetos y cubreobjetos
- azul de metileno
- Cinta adhesiva transparente
- Microscopio

#### Preparación en fresco de mohos

1. Con la ayuda de la lupa tomar, con una aguja de disección, una porción muy pequeña de muestra
2. Extender el material recogido en el portaobjetos.
3. Colocar una gota de agua y una de azul de metileno.
4. Aplicar el cubreobjetos.
5. Observar al microscopio óptico las estructuras del hongo y sus esporas, y dibujarlas.

#### Preparación en cinta adhesiva

1. Colocar sobre un portaobjetos una gota de solución de azul de metileno.
2. Cortar un trozo de cinta adhesiva transparente de aproximadamente 2cm.
3. Tocar con el lado adhesivo de la cinta la superficie de la fruta o el pan enmohecidos o el borde de una colonia de hongo de un cultivo. En la zona central de una colonia puede haber una excesiva concentración de esporas.
4. Pegar la cinta adhesiva sobre la gota del portaobjetos.
5. Eliminar el colorante sobrante con un papel de filtro.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



Guía para el análisis de resultados de las experiencias:

1. Enumerar la variedad de estructuras que presentan las células humanas.
2. Prestar atención a la nitidez con que se ven las células vegetales debido a la presencia de la pared celular.
3. Analizar las diferencias fundamentales entre las células vegetales, animales y hongos, y también entre las células procariontas y eucariotas.
  
4. Comparar los dibujos realizados por los alumnos con imágenes de los libros (modelos científicos y microfotografías) y reconocer las estructuras observadas.
5. Analizar el detalle con que pueden observarse las estructuras celulares y proponer técnicas para observar más detalles de las diferentes estructuras celulares.

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.



## Material de consulta

- *La modelización en la enseñanza de la biología del desarrollo*. Antonio E. Felipe, Silvia C. Gallarreta y Graciela Merino. Departamento Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Prov. de Buenos Aires, Tandil, R. Argentina. Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias Vol. 4 N° 3 (2005).
- Guía de trabajos prácticos de la asignatura “Biología” de la Carrera Ingeniería en Alimentos - Universidad Nacional de Luján <http://www.unlu.edu.ar/~biologia10903/>
- Capítulo 29 “Los hongos”  
<http://www.educa.aragob.es/iescarin/depart/biogeo/varios/BiologiaCurtis/Seccion%205/5%20-%20Capitulo%2029.htm>
- *La célula aprendida*. Manuel José Andreu Guerrero. España.  
<http://www.encuentros.uma.es/encuentros70/aprendida.htm>
- “Historia de la microscopía”. Mariana Lanfranconi. FCEyN, Universidad Nacional de Mar del Plata
- “Molecular Biology of the Cell”. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 4ta. Edición, Editorial Garland (2002). Capítulos e imágenes disponibles (idioma inglés):  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?call=bv.View..ShowTOC&rid=mboc4.TOC&depth=2>
- Hipertextos del área de la biología, sitio de la Universidad Nacional del nordeste. “Célula Eucariota I: generalidades” disponible en  
[http://fai.unne.edu.ar/biologia/cel\\_euca/celula1.htm](http://fai.unne.edu.ar/biologia/cel_euca/celula1.htm)
- Aldea Educativa. <http://www.aldeaeducativa.com/aldea/Fotos.ASP?which=/IMAGES/celula.gif>
- *El microscopio óptico compuesto*. Una guía simple y accesible acerca de las partes, el uso, el manejo y el mantenimiento del microscopio óptico  
<http://www.joseacortes.com/practicas/microscopio.htm>

"El Cuaderno de Por Qué Biotecnología" es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico del Programa Educativo Por Qué Biotecnología. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología.