



UNIDAD 6

- 1 La célula como unidad funcional. La teoría celular
- 2 Tipos de células
- 3 Características de las células procariotas
- 4 Características de las células eucariotas
- 5 Métodos de investigación en biología celular

ACTIVIDADES DE CONSOLIDACIÓN Y SÍNTESIS

CIENCIA, TECNOLOGÍA Y SOSTENIBILIDAD SA

Un atlas de células humanas

TÉCNICAS DE TRABAJO Y EXPERIMENTACIÓN

Observación de distintos tipos celulares

CONOCIMIENTOS BÁSICOS. EVALUACIÓN

La teoría celular. Técnicas de estudio citológicas



Enfoques

Una superherramienta para la ciencia: la microscopía de fluorescencia de superresolución

En los últimos tiempos el poder de resolución de los microscopios se ha incrementado hasta conseguir unos límites de resolución muy superiores a los convencionales. Eric Betzig, William E. Moerner y Stefan Hell consiguieron el Premio Nobel de Química en 2014 por el desarrollo de la microscopía de fluorescencia de superresolución, que permite obtener imágenes de células o sistemas vivos con una resolución de unos pocos nanómetros (10 nm), frente al límite de resolución de 200 nm de las técnicas clásicas. Hell desarrolló una técnica de microscopía confocal en la que se utilizan dos láseres: uno «enciende» las moléculas seleccionadas y el otro «apaga» otras moléculas que se encuentran alrededor. Moerner y Betzig lograron localizar moléculas individuales activadas selectivamente con pulsos de luz.

Estas técnicas han permitido no solo conocer nuevas características de las células y sus propiedades, sino también las funciones *in vivo* de proteínas, su interacción o el movimiento de moléculas en su interior.

Un ejemplo es la observación de procesos dinámicos en la membrana celular, como la interacción entre la membrana celular y proteínas citoesqueléticas en procesos de endocitosis, la división mitocondrial o el tránsito de vesículas en el complejo de Golgi.

DONG LI et al.

Extended-resolution structured illumination imaging of endocytic and cytoskeletal dynamics, Science DOI: 10.1126/science.aab3500 (2015)



- 1 ¿Qué es la fluorescencia? Reflexionad sobre su aplicación en la microscopía.
- 2 Explicad qué creéis que es un fluoróforo.
- 3 ¿Qué quiere decir que pueden observarse las células *in vivo*?
- 4 La microscopía de fluorescencia de superresolución se ha podido aplicar a estudios sobre la enfermedad de Alzheimer. Con ella, se ha observado la formación de estructuras características de esta enfermedad, como son los ovillos neurofibrilares y las placas amiloides. También se ha aplicado a la investigación sobre la malaria. ¿Qué sabéis sobre estas enfermedades? ¿Qué creéis que aporta el desarrollo de nuevas herramientas y técnicas experimentales a la investigación?
- 5 Organizad un debate sobre la relación entre los avances en el desarrollo de herramientas microscópicas y los avances en biología celular, considerando la física como herramienta de la biología.

1 La célula como unidad funcional. La teoría celular

En la actualidad, existe una gran controversia sobre lo que se debe considerar un ser vivo.

Recuerda lo aprendido en años anteriores y relaciona los conceptos de ser vivo y de célula. ¿Crees que los virus podrían considerarse seres vivos? ¿Crees que únicamente hay que considerar su capacidad para realizar las funciones vitales para considerarlos seres vivos? Razónalo.

Hasta el siglo xv se consideraba, tomando como base las ideas de Hipócrates (600 a. C.), que los seres vivos estaban compuestos por una sustancia o «crasis», formada por diferentes tipos de jugos o «humores».

Posteriormente, algunos filósofos, como **Aristóteles** (384-322 a. C.) o **Paracelso**, propusieron que todos los organismos estaban constituidos por pequeñas unidades elementales, comunes a todos ellos.

Robert Hooke en 1665 propuso el término *cellula* o célula después de observar «celdillas» en el corcho y otros tejidos vegetales.

Más tarde, en 1674, **Anton van Leeuwenhoek**, un comerciante holandés, consiguió desarrollar lentes más precisas que permitían aumentar el tamaño de los objetos y con ellas observó una gran variedad de células vivas. Van Leeuwenhoek explicó que la sangre estaba compuesta por diminutos glóbulos que fluían a lo largo de delgados capilares y realizó numerosas observaciones de diversos «animálculos» u organismos microscópicos, por lo que se le considera el «padre» de la microbiología.

Durante el siglo xix la biología celular evolucionó paralelamente al desarrollo de la microscopía. En 1838 el botánico **Matthias Schleiden** y el zoólogo **Theodor Schwann** enunciaron el postulado básico de la teoría celular, según el cual todos los tejidos vegetales y animales están compuestos por una o más células, unidades básicas de todos los organismos.

Rudolf Virchow estableció, en 1855, que todas las células proceden de otras células preexistentes (*omnis cellula e cellula*).

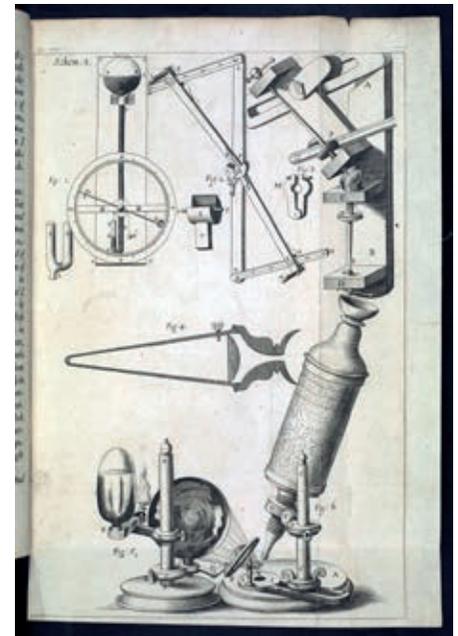


Figura 6.1. Esquema de la construcción del microscopio de Robert Hooke en su *Micrographia* (1665), la primera obra en la que se mostraron observaciones realizadas mediante un microscopio óptico.



Santiago Ramón y Cajal

A principios del siglo xx, las investigaciones sobre la estructura del sistema nervioso realizadas por el histólogo español Santiago Ramón y Cajal, Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1906, demostraron la individualidad de las neuronas y la universalidad de la teoría celular, que se aplicó también al tejido nervioso.

La teoría celular en la actualidad

Actualmente, la teoría celular se resume en los siguientes puntos:

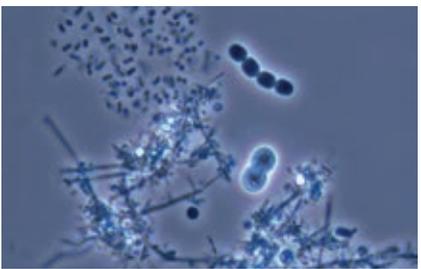
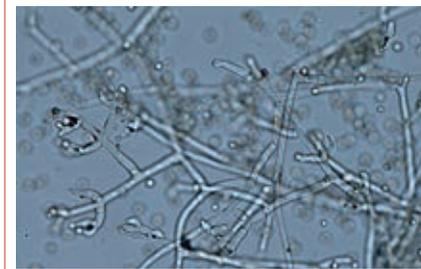
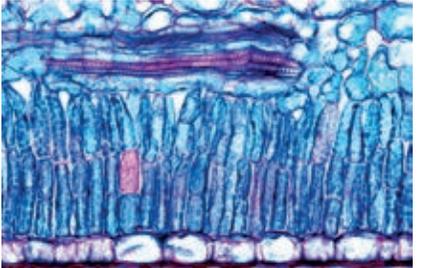
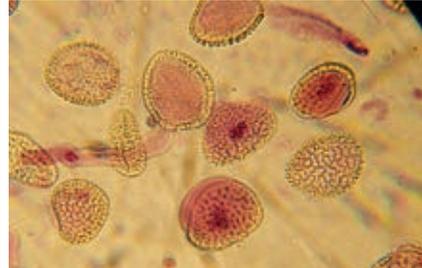
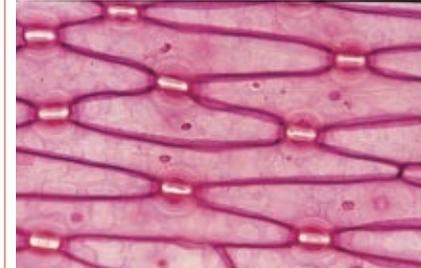
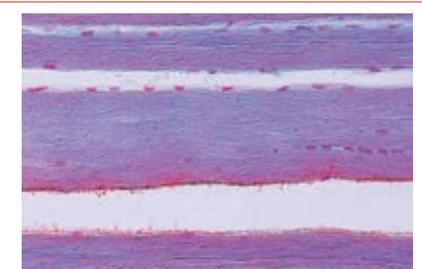
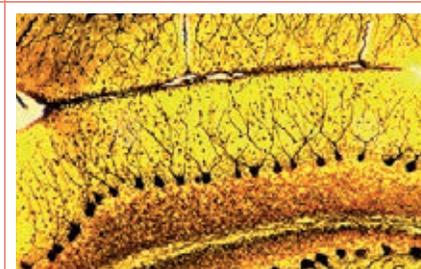
- Todos los organismos vivos están compuestos por células.
- La célula es la unidad estructural y fisiológica de los seres vivos.
- Las células constituyen las unidades básicas de la reproducción: cada célula procede de la división de otras células preexistentes y es idéntica a estas, genética, estructural y funcionalmente.
- La célula es la unidad de vida independiente más elemental.

2 Tipos de células

Las células son muy diversas tanto en su morfología como en las funciones que desempeñan. No solo hay diferentes tipos celulares en los distintos grupos de organismos, tanto entre los organismos unicelulares como en los tejidos de los organismos pluricelulares, sino también en los propios organismos.

El **tamaño** celular también es muy variable, generalmente microscópico. Por ejemplo, la bacteria *Escherichia coli* mide 2 μm de longitud, el parásito *Trypanosoma cruzi* tiene una longitud media de 4-20 μm , mientras que algunos óvulos fecundados en animales pueden tener un diámetro desde micras a milímetros.

En cuanto a la **morfología**, esta es enormemente variable en microorganismos como las bacterias, arqueas, chromistas, protozoos y los hongos, pero también en los tejidos de células animales y vegetales.

Microorganismos			
	Diferentes tipos de bacterias.	<i>Haematococcus</i> y dos tipos de ciliados.	Hongo filamentosos.
Células vegetales			
	Parénquima clorofílico.	Polen.	Epidermis.
Células animales			
	Óvulo fecundado.	Células musculares.	Neuronas.

Además, las células difieren en su **función**. Existen organismos constituidos por una única célula que presenta todas las funciones celulares, hasta las células especializadas de los tejidos en los organismos superiores, con funciones específicas.

Hay dos tipos de células, cuya estructura y forma de realizar las funciones vitales son muy diferentes: la **célula procariota**, propia de bacterias y arqueas, y la **célula eucariota**, que es característica de chromistas protozoos, hongos, animales y vegetales.

Actividades

1 ¿Qué consecuencias tuvo la aceptación de la teoría celular para la medicina? Razona tu respuesta.

2 ¿Puede constituir la célula procariota por sí misma un organismo?

3 Características de las células procariotas

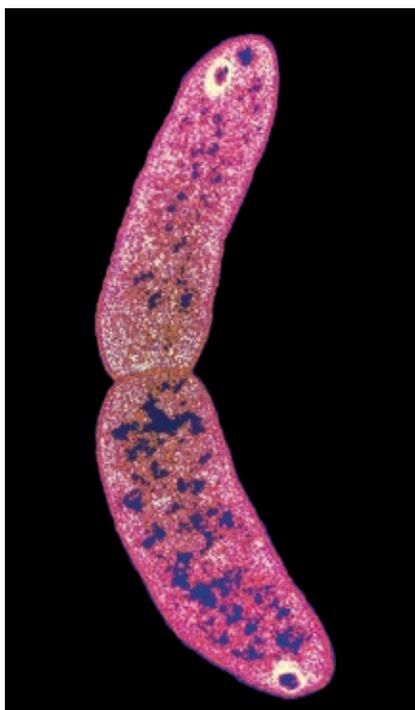


Figura 6.2. Especímenes de *Archaea desulfotomaculum* observados al MET (falso color).

Las células procariotas son estructuralmente más simples que las células eucariotas. La estructura procariota es característica y exclusiva de los reinos Bacterias y Arqueas.

La mayoría de las células procariotas son de pequeño tamaño (este oscila por lo general entre 0,1 y 50 μm , si bien las nanobacterias o ultramicrobacterias presentan un diámetro inferior a 0,1 μm , mientras que otras bacterias, como *Oscillatoria*, alcanzan un diámetro de 7 μm). Se presentan como células aisladas o formando agrupaciones o filamentos. Básicamente, una célula procariota presenta la siguiente estructura (figura 6.3):

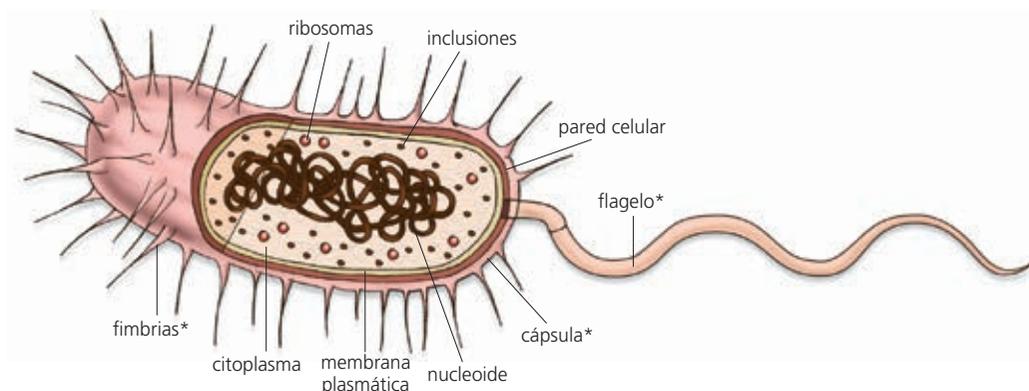


Figura 6.3. Estructura de una célula procariota. Se señalan con un asterisco (*) los elementos que no son comunes a todas las bacterias.

- Una **membrana plasmática**, que delimita el citoplasma celular.
- Una **pared celular rígida**, que rodea la membrana y mantiene la forma de la célula. La composición y estructura de la pared varía entre los principales grupos de procariotas, aunque está presente en todos ellos, excepto en los micoplasmas y en algunas arqueas.
- El **citoplasma**, de aspecto granuloso, con ribosomas 70S y diversas inclusiones, que pueden estar rodeadas, aunque no siempre, de una membrana.
- El **nucleóide**, una zona situada en el centro de la célula, donde se encuentra el material genético. En este tipo de células este material genético no está rodeado por ningún tipo de membrana.
- Algunas células procariotas también pueden presentar flagelos y otros apéndices externos (pelos y fimbrias), cápsulas y capas mucosas, y algunos sistemas internos de membrana.

Recuerda

Los procariotas son los primeros organismos vivos que aparecieron en la Tierra en el curso de la evolución.

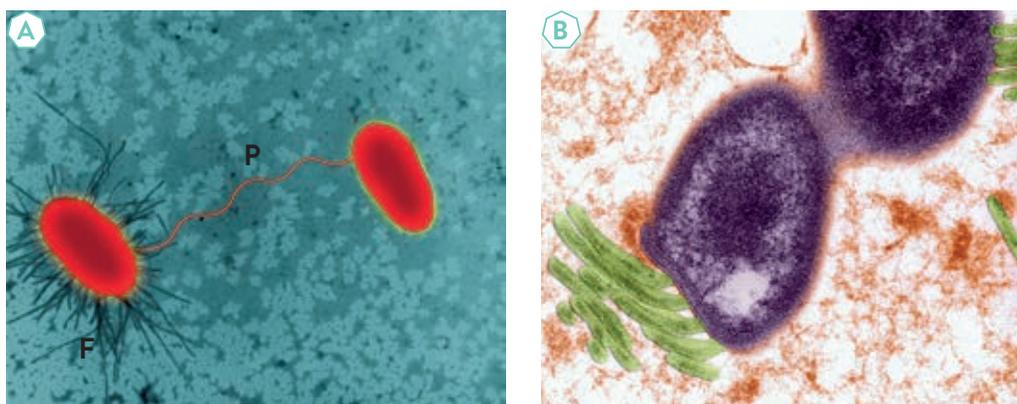


Figura 6.4. A: Bacterias *Escherichia coli* intercambiando material genético a través de sus pili; B: Flagelos de *Helicobacter pylori*. Imágenes obtenidas mediante MET (falso color).

4 Características de las células eucariotas

La célula eucariota es estructuralmente más compleja que la procariota. Las células eucariotas son características de chromistas, protozoos, hongos, animales y vegetales, si bien presentan distintas propiedades en los distintos grupos.

Este tipo de célula presenta diversos «compartimentos» u orgánulos, en general delimitados por membranas, en los que se llevan a cabo distintas funciones celulares.

La estructura de una célula eucariota típica consta de los siguientes elementos:

- La **membrana plasmática**, rodeada en ocasiones de una pared celular rígida (fundamentalmente de celulosa en las células vegetales y de quitina en el caso de algunos hongos) o de un **glicocálix** (en las células animales y que contribuye a la cohesión de los tejidos).
- El **citoplasma celular**, que contiene los diversos **orgánulos celulares** y **ribosomas 80 S**.
- **Orgánulos celulares** con diferentes estructuras y funciones:
 - El **retículo endoplásmico** y el **complejo de Golgi**, relacionados con la biosíntesis de moléculas y su distribución dentro de la célula, así como con la secreción de sustancias al exterior.
 - **Mitocondrias** y **cloroplastos**, relacionados con la obtención de energía.
 - **Vacuolas**, **lisosomas** y diversas **inclusiones de reserva**.
 - Un **citoesqueleto**, constituido por un entramado de filamentos proteicos, implicado en la formación de cilios y flagelos, los movimientos intracelulares y la división celular, entre otras funciones.
 - Un **núcleo**, delimitado por una doble membrana, que contiene la cromatina, constituida por ADN asociado a histonas, cuya unidad estructural es el nucleosoma.

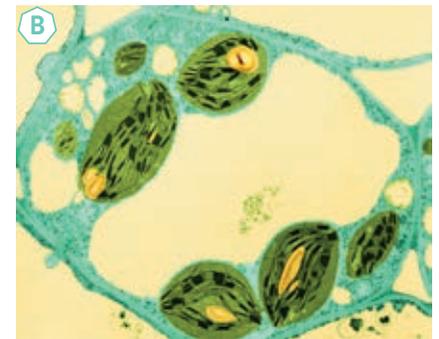
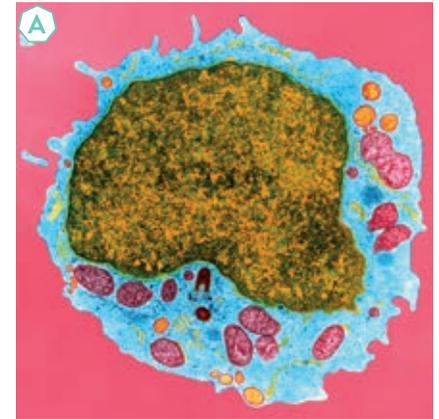


Figura 6.5. Células eucariotas: linfocito B humano (A); célula del parénquima clorofílico (B). Imágenes obtenidas mediante MET (falso color).

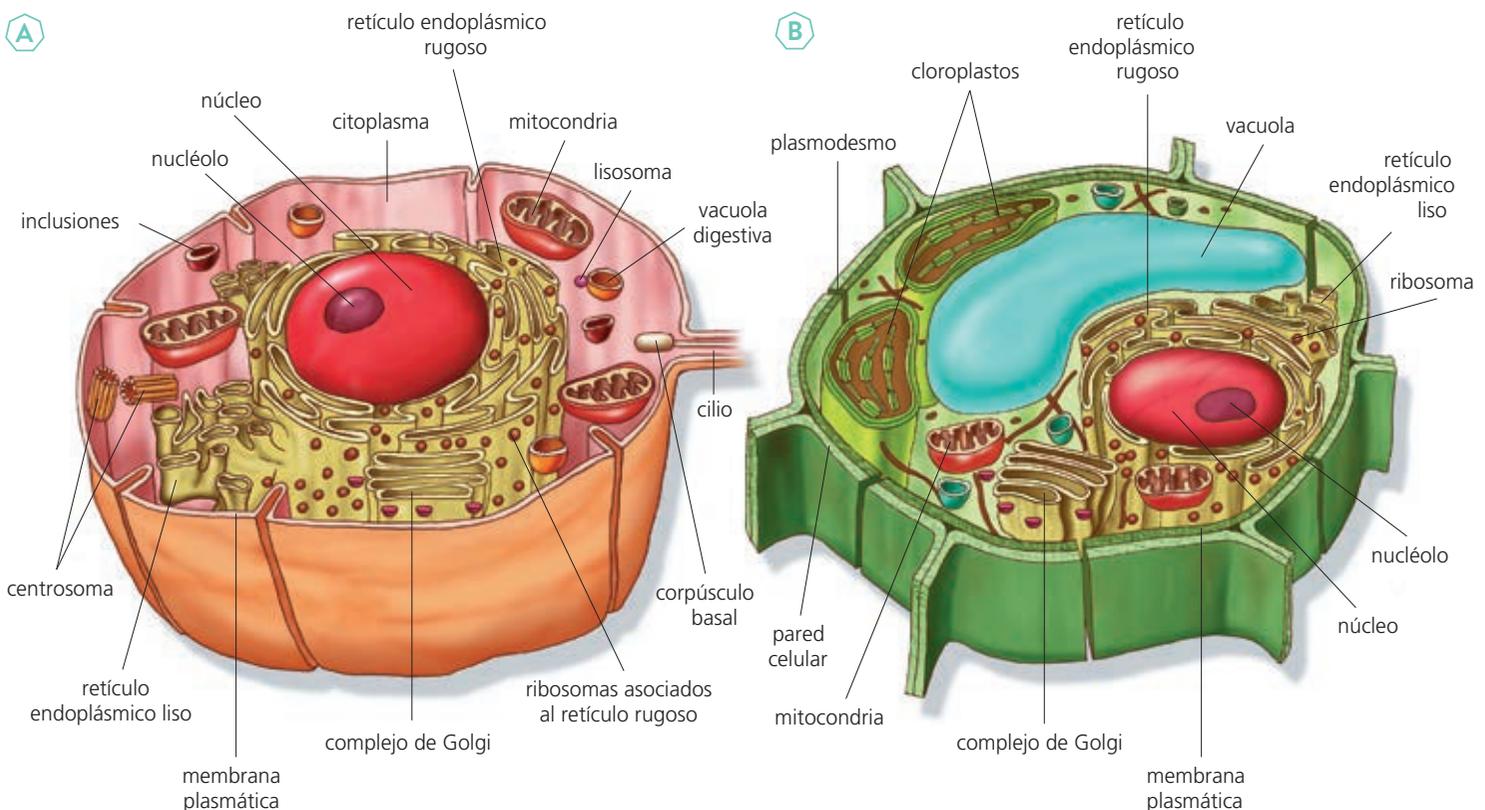


Figura 6.6. Esquema de una célula eucariota animal (A) y vegetal (B).

5 Métodos de investigación en biología celular

¿Por qué son esenciales los microscopios para la observación y estudio de las células? ¿Qué tipos de microscopios conoces? ¿Crees que las diferencias entre ellos tienen que ver únicamente con su capacidad para aumentar la imagen de la muestra?

Recuerda

En microscopía, las **conversiones** más utilizadas del sistema métrico decimal son las siguientes:

$$1 \text{ m} = 10^2 \text{ cm}$$

$$1 \text{ m} = 10^3 \text{ mm}$$

$$1 \text{ m} = 10^6 \text{ } \mu\text{m}$$

$$1 \text{ m} = 10^9 \text{ nm}$$

$$1 \text{ m} = 10^{10} \text{ } \text{Å}$$



Figura 6.8. Algas vistas al microscopio óptico de campo claro.



Figura 6.9. Ciliados observados *in vivo* con microscopía de interferencia diferencial.

El avance en el conocimiento del papel que desempeñan las células y los componentes celulares ha estado estrechamente ligado al desarrollo de técnicas microscópicas cada vez más complejas, que no solo permiten visualizar detalles de la morfología celular sino también, estudiar la estructura, función y dinámica de sus componentes.

5.1. Microscopía óptica

Los **microscopios ópticos** actuales constan, básicamente, de una o dos lentes **oculares**, una serie de **lentes objetivo de distintos aumentos** y una **lente condensadora** que dirige la luz sobre la muestra. Los componentes básicos de un microscopio óptico se muestran en la figura 6.7.

Las dos características más importantes en un microscopio son la **amplificación** (cuánto se aumenta el tamaño original de la muestra) y el poder de **resolución** (capacidad para observar separados dos puntos muy cercanos de la muestra).

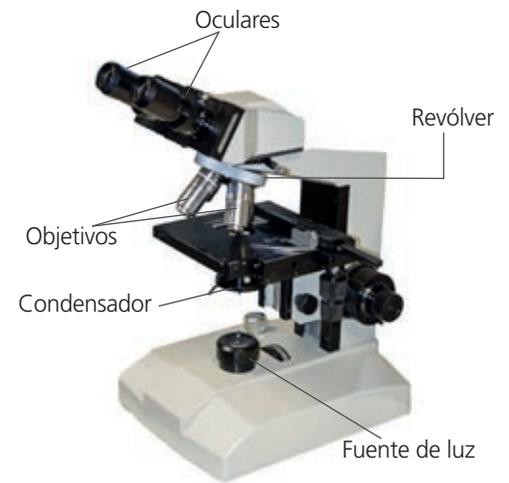


Figura 6.7. Microscopio óptico.

El **poder de resolución** de los microscopios no solo depende del tamaño y la calidad de las lentes, sino también de la **longitud de onda** de la luz incidente y del **índice de refracción del medio** (normalmente, el aire) que se encuentra entre el objetivo y la preparación.

Cuanto mayor es el índice de refracción, más disminuye la velocidad de la luz y, en consecuencia, más aumenta la resolución; por este motivo, los objetivos de inmersión tienen un poder de resolución mayor, ya que el aire (índice de refracción 1,0) es sustituido por una sustancia viscosa, como el aceite (índice de refracción 1,5). La resolución que ofrecen los objetivos normales alcanza un límite máximo de 300 nm y llega hasta 200 nm en los de inmersión.

Tipos de microscopios ópticos

- **Microscopio de campo claro.** En este tipo de microscopio las muestras se observan directamente iluminando la muestra con una fuente de luz. Como las células vivas suelen ser bastante transparentes, se utilizan con frecuencia tinciones con uno o varios colorantes para aumentar el contraste con el medio para obtener una imagen más definida de algunos componentes celulares (figura 6.8).
- **Microscopio de interferencia diferencial de Nomarsky.** Utiliza un prisma que divide la luz en dos rayos polarizados que interfieren entre sí y proporcionan una imagen de la célula que parece tridimensional (figura 6.9).

- **Microscopio de campo oscuro.** Un disco opaco bloquea el haz de luz, de forma que solo la luz refractada por la muestra alcanza el objetivo y esta aparece contrastada sobre un fondo más oscuro.
- **Microscopio de fluorescencia.** En este caso se emplea una lámpara especial y filtros que permiten emitir una luz a diferentes longitudes de onda. Se aplica la longitud de onda capaz de excitar las moléculas fluorescentes (**fluoróforos o fluorocromos**) empleadas en cada caso.

Algunos pigmentos, como las clorofilas, presentan autofluorescencia, es decir, pueden visualizarse directamente las células al ser iluminadas con la longitud de onda adecuada.

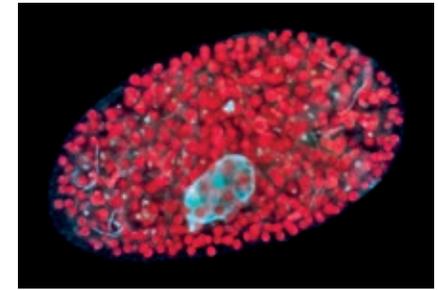


Figura 6.10. *Paramecium bursaria* (protozoo ciliado) visto al microscopio de fluorescencia. En azul se observa el núcleo marcado con DAPI, una sustancia que se une a los ácidos nucleicos. En rojo, la clorofila presente en el organismo simbiótico del género *Chlorella*.

Microscopía de fluorescencia e inmunodetección

Las técnicas de inmunodetección se utilizan para localizar determinadas proteínas en ciertos componentes de la célula utilizando la microscopía óptica de fluorescencia. Para ello se emplean anticuerpos dirigidos contra la proteína en cuestión, marcados directamente con un fluorocromo (técnica de inmunofluorescencia directa) o conjugados con un segundo anticuerpo fluorescente (en cuyo caso la técnica se denomina de inmunofluorescencia indirecta (figura 6.11)). Esta técnica también se emplea combinada tanto con la microscopía óptica como con la electrónica, que se describirá a continuación.

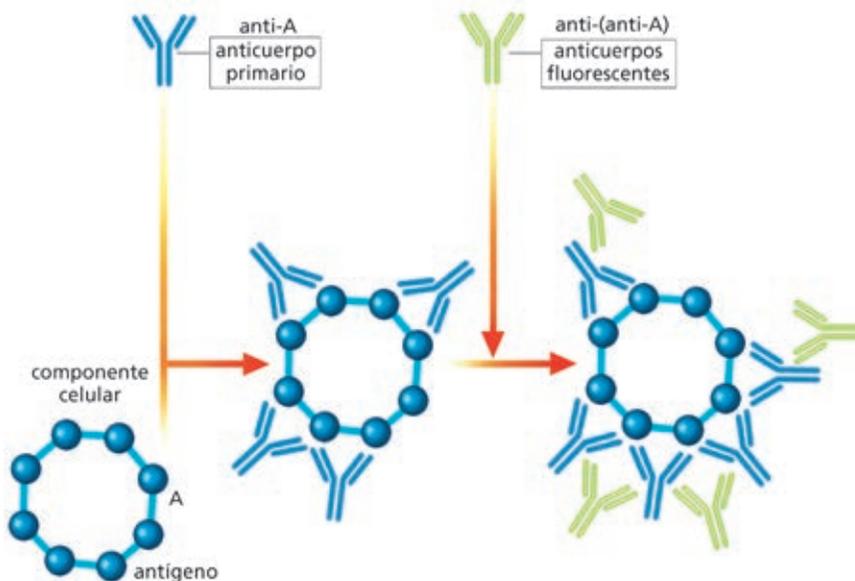


Figura 6.11. Técnica de inmunofluorescencia indirecta.

Otras técnicas

La **microscopía correlativa** es una técnica mixta de microscopía de fluorescencia confocal y MET que permite captar imágenes de células vivas. Para ello, se emplean anticuerpos específicos conjugados con fluorocromos o con oro.

La **estereomicroscopía electrónica** es una técnica que fotografía la muestra al MET desde distintos ángulos y permite obtener imágenes tridimensionales.

Actividades

- ▣ Para calcular los aumentos en una observación microscópica, hay que tener en cuenta los aumentos de las lentes oculares y los aumentos de las lentes objetivo. Calcula los aumentos que se obtienen con un ocular 15X y un objetivo 40X.
- ▣ Si el límite de resolución del ojo humano es de unos 0,23 mm, ¿cuántas veces permite ampliar el microscopio nuestra capacidad de observación?
- ▣ ¿A qué correspondían las «celdillas» que Robert Hooke observó en el corcho y otros tejidos vegetales?
- ▣ ¿Qué es un anticuerpo y cuál es su función en el organismo?
- ▣ ¿Qué técnica utilizarías para observar la ultraestructura del núcleo celular? ¿Y de una proteína asociada a la cromatina?
- ▣ ¿Sería posible en un microscopio óptico, con unos objetivos oculares con un aumento 10X, y utilizando un objetivo de inmersión, la visualización de dos puntos que estuvieran a 2 nm de distancia? ¿Y a 2 μm? ¿Y a 400 nm?

Últimos avances: alta resolución

La **microscopía electrónica de transmisión de alta resolución** (high-resolution transmission electron microscopy o **HRTEM**) permite alcanzar resoluciones de 0,05-0,08 nm. También se han desarrollado **microscopios de barrido de alta resolución** que alcanzan 2-5 nm.

Colorear microfotografías

A veces, a las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica se les añaden después colores (falso color) para facilitar su visualización y comprensión.

5.2. Microscopía electrónica

A principios del siglo xx, el desarrollo de la microscopía electrónica supuso un avance extraordinario en las técnicas de observación microscópica, ya que permitió aumentar el límite de resolución hasta 0,3 nm y la amplificación, desde los 1 000 aumentos del microscopio óptico hasta unos 250 000 aumentos. Con las técnicas de alta resolución actuales, incluso se pueden incrementar dichos aumentos.

El MET está basado en la utilización de un haz de electrones de longitud de onda corta que atraviesa una serie de lentes electromagnéticas (en lugar de luz y lentes de cristal, como en el microscopio óptico) en un sistema de vacío. Existen dos tipos de microscopio electrónico: el de **transmisión** (MET) y el de **barrido** (MEB).

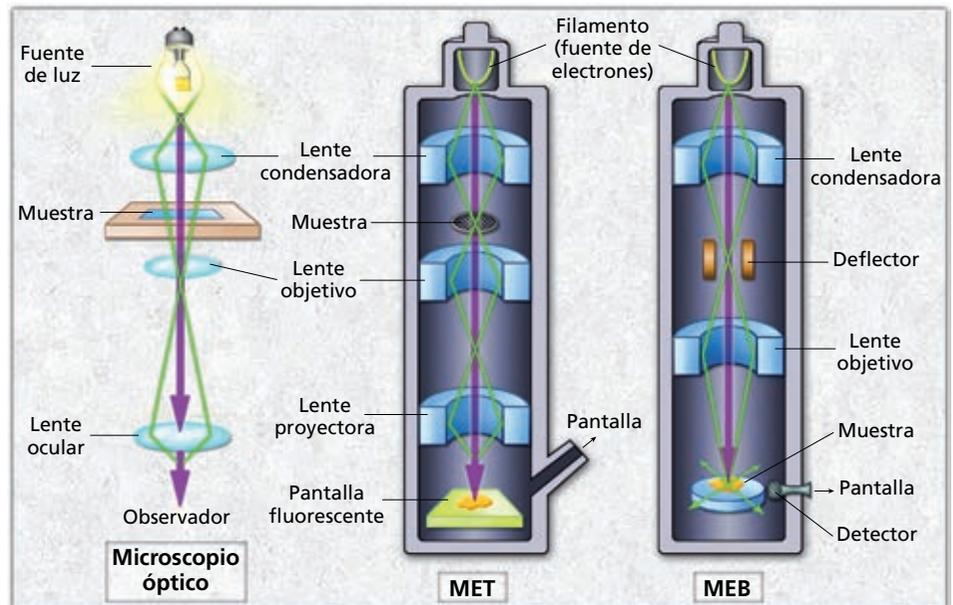


Figura 6.12. Esquema comparativo de los tipos de microscopios ópticos MET y MEB.

Microscopio electrónico de transmisión (MET)

Las muestras, en cortes ultrafinos, se montan sobre rejillas de cobre que permiten el paso de los electrones. Se aumenta el contraste mediante la utilización de metales pesados, como el plomo, en lugar de colorantes.



Figura 6.13. Escisión bacteriana. Imagen MET (falso color).

Microscopio electrónico de barrido (MEB)

El paso de los electrones por un deflector permite el barrido de la muestra, generándose electrones secundarios en función del relieve y una imagen tridimensional. La muestra se cubre previamente con una capa de oro.

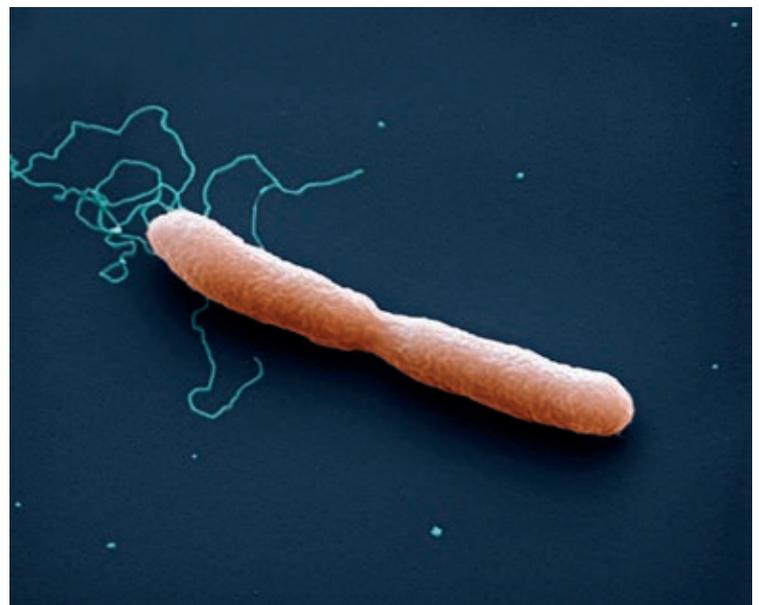


Figura 6.14. Escisión bacteriana. Imagen MEB (falso color).

Interpretación de resultados de microscopía electrónica

La microscopía electrónica de transmisión aporta información sobre la ultraestructura celular y pone de manifiesto la morfología y disposición de los componentes internos de la célula en cortes ultrafinos.

Observación de células procariotas

Si observamos una sección de una célula procariota podremos distinguir (figura 6.15):

- **La pared celular** gruesa y la membrana plasmática de estructura trilaminar (dos bandas densas separadas por una banda clara).
- Una zona de aspecto fibrilar, más clara, en el centro de la célula, que corresponde al **nucleoide**, material genético que no presenta ninguna membrana de separación con respecto al resto de la célula.
- **Inclusiones de reserva** de carbono o lipídicas e invaginaciones de la membrana, presentes en ciertas bacterias.
- En algunas bacterias se observan apéndices móviles, como los flagelos, o inmóviles, rígidos y más cortos, como las fimbrias o los pelos.

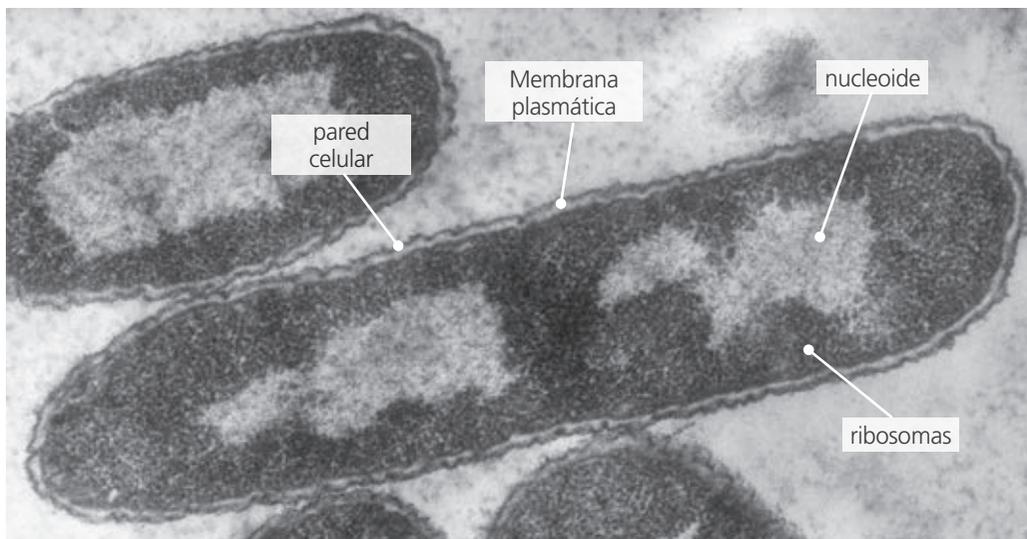


Figura 6.15. Corte ultrafino (MET) de una bacteria.

Observación de virus

Para poder observar partículas muy pequeñas, como los virus, se utiliza la **tinción negativa**, un método de microscopía electrónica que permite aumentar el contraste tiñendo el medio circundante con un colorante como el acetato de uranilo, denso a los electrones.

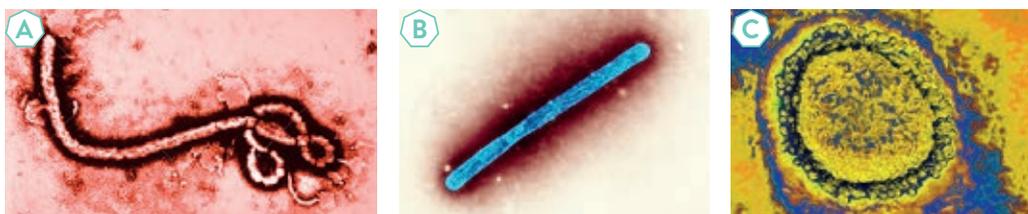


Figura 6.16. A: Virus Ébola; B: Virus H5N1; C: Coronavirus. (MET).

Imágenes obtenidas mediante el MET

En la microscopía electrónica de transmisión pueden utilizarse sustancias que, debido a su densidad, oponen más resistencia a los electrones, aumentando el contraste. Utilizando oro coloidal unido a anticuerpos específicos pueden identificarse determinadas estructuras celulares.

Recuerda

La microscopía electrónica de barrido nos permite obtener información tridimensional de la superficie celular o de estructuras celulares.

Actividades

- 9 ■ Explica las diferencias básicas entre las técnicas de microscopía electrónica y de microscopía óptica.
- 10 ■ ¿Cómo se observaría una bacteria en un corte transversal al MET?

- 11 ■ ¿Qué método de microscopía utilizarías para visualizar la estructura mitocondrial en una célula eucariota? ¿Y si se pretende observar la distribución de cilios en un protozoo ciliado?

Observación de células eucariotas animales y vegetales

En las células eucariotas se puede determinar la estructura y localización de los orgánulos celulares y su mayor o menor desarrollo en función de la posible especialización de la célula. En las siguientes microfotografías (figuras 6.17 y 6.18) se muestran dos células eucariotas en las que se pueden reconocer diversos orgánulos:

- Estructuras externas a la membrana: matriz extracelular en células animales y pared celular en células vegetales.
- Membrana plasmática (estructura trilaminar).
- Núcleo celular, rodeado por una doble membrana con un interior fibrogranular, con zonas más densas a los electrones (cromatina) y nucléolo.
- Mitocondrias, con una membrana externa y una membrana interna, con crestas o invaginaciones mitocondriales.
- Cloroplastos (en las células vegetales) rodeados de una doble membrana y con sistemas de sáculos membranosos aplanados en su interior.
- Sistema interno de membranas constituido principalmente por el retículo endoplásmico (rugoso, si está asociado a ribosomas, y liso, si no lo está) y el complejo de Golgi, un conjunto de cisternas membranosas apiladas.
- Elementos citoesqueléticos: filamentos de diversa naturaleza.
- Vacuolas y otras inclusiones de reserva o con funciones específicas.

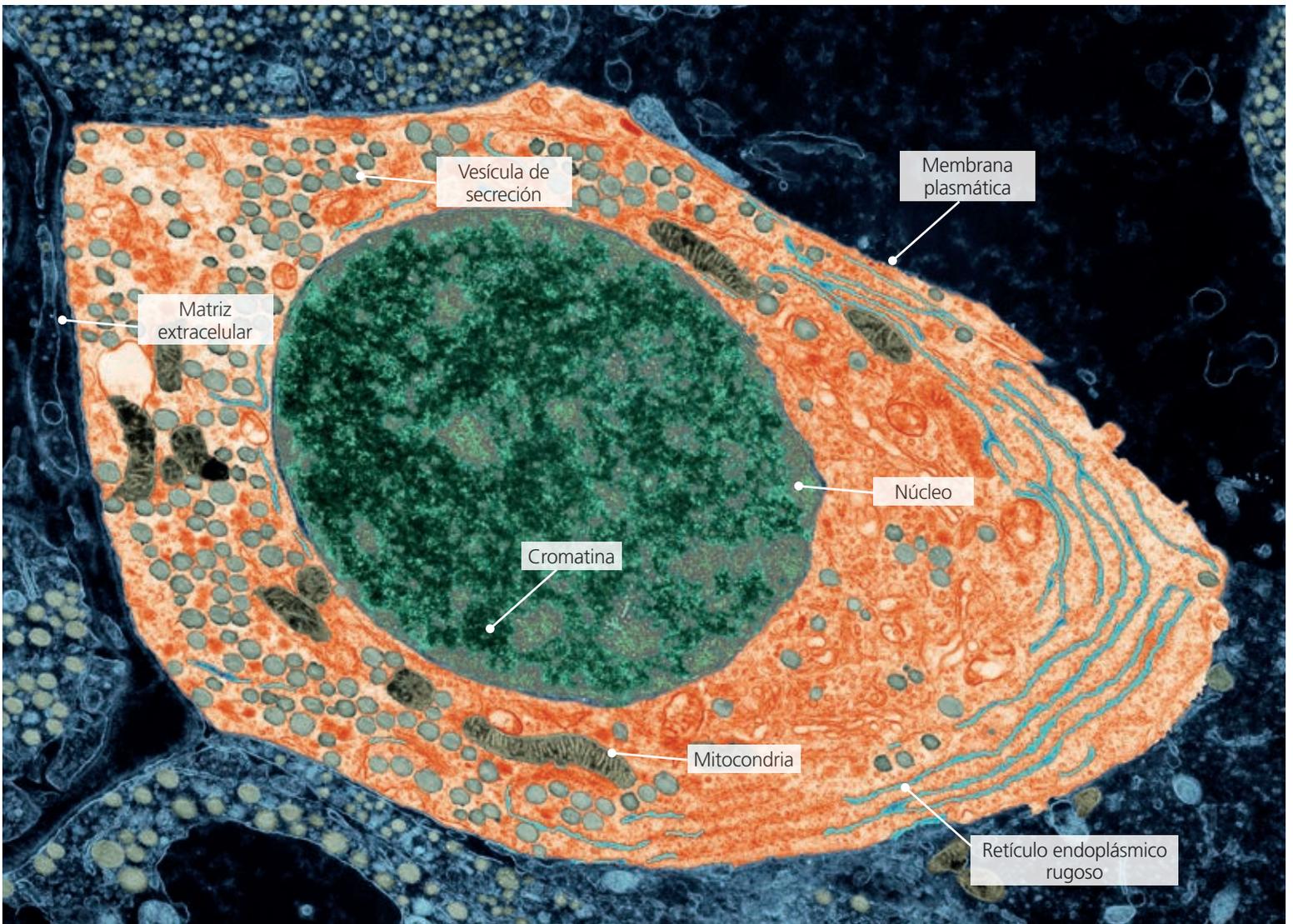


Figura 6.17. Corte ultrafino (MET) de una célula animal.

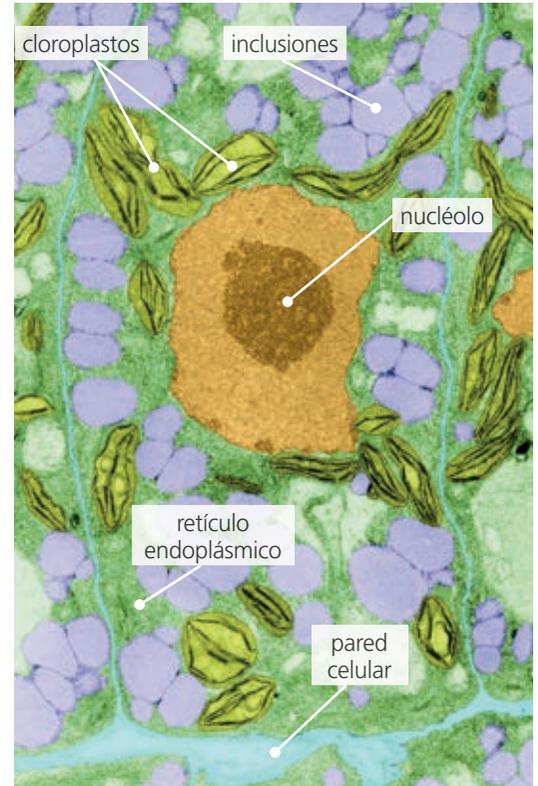
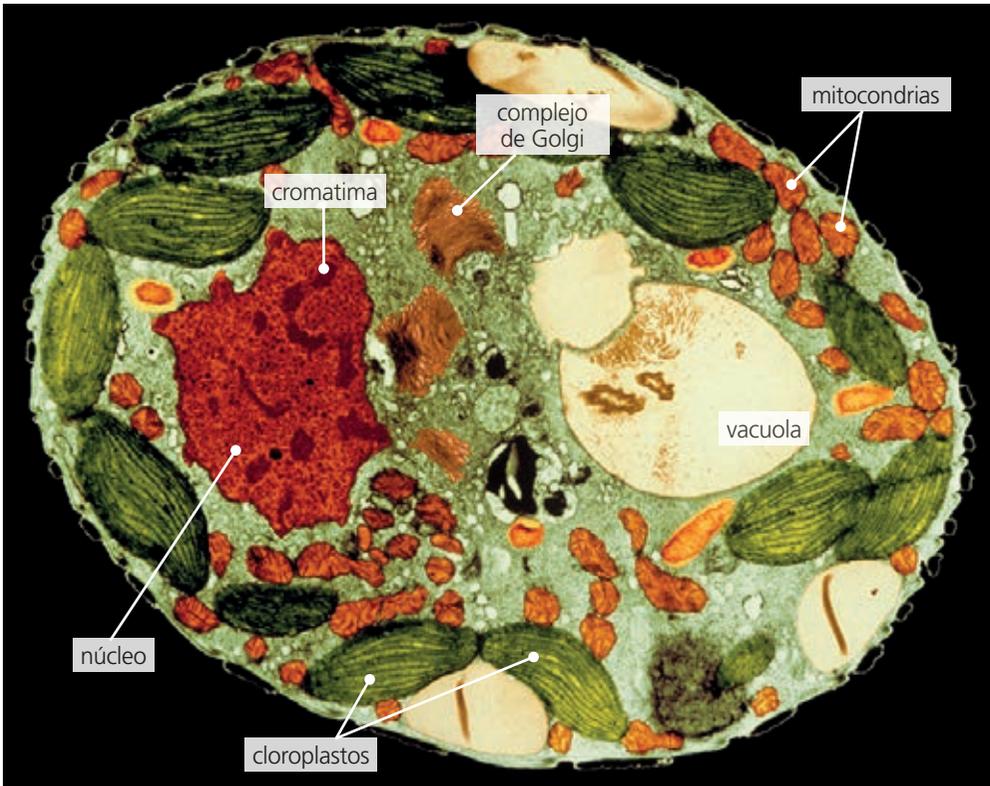


Figura 6.18. Cortes ultrafinos (MET) de células vegetales.

La criofactura

La criofactura es una técnica de microscopía electrónica especialmente utilizada para estudiar los componentes de la membrana.

Consiste en la congelación de la muestra, que posteriormente se fractura con una cuchilla en las superficies que ofrecen menor resistencia. A continuación, se sombrea con un metal y se cubre con una fina capa de carbono para obtener una réplica, que es la que se observa al microscopio, ya que la muestra original se elimina durante el desarrollo de la técnica. Con esta metodología se pueden poner de manifiesto detalles en relieve de distintas superficies.

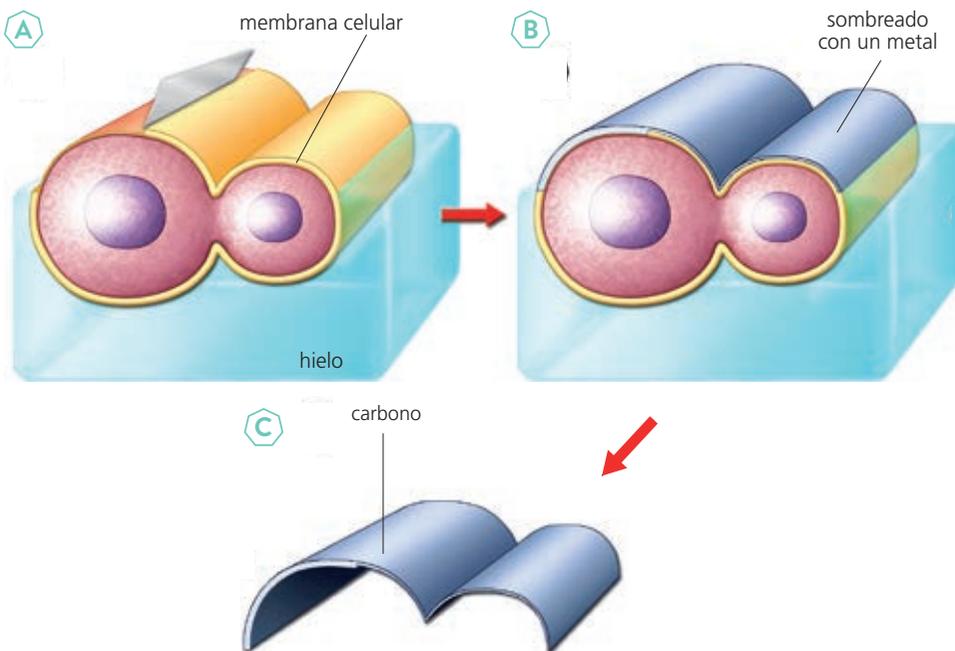


Figura 6.19. Técnica de criofactura. Criofactura (A). Sombreado con un metal (B). Obtención de la réplica de carbono y vaciado (C).

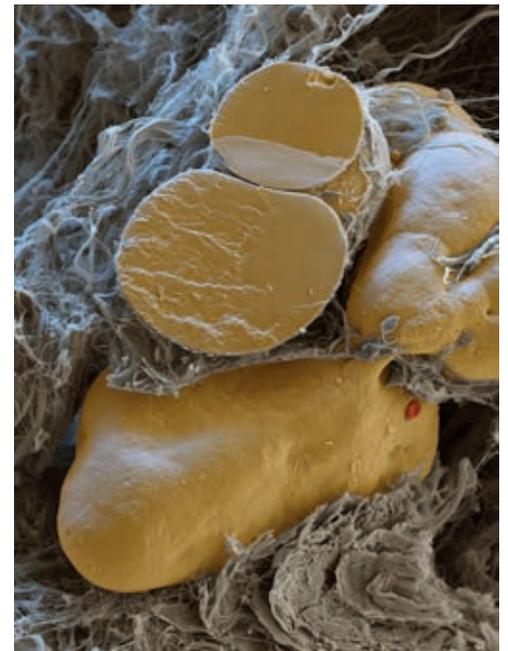


Figura 6.20. Adipocitos observados utilizando la técnica de la criofactura.

5.3. Fraccionamiento celular

En un cultivo de células aisladas y fijadas, estas pueden separarse del medio mediante centrifugación ¿Qué es una centrifuga? ¿Cuál es el fundamento de su funcionamiento?

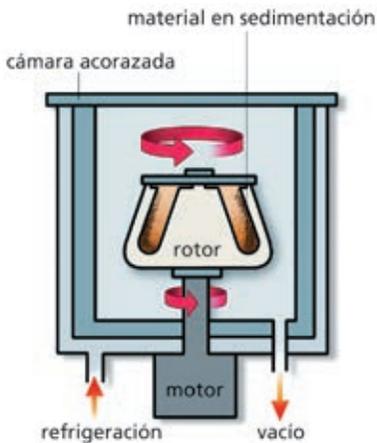


Figura 6.21. Ultracentrífuga.

Recuerda

Los ribosomas tienen diferentes coeficientes de sedimentación: 70S los de las células procariotas y 80S los de las eucariotas. Las unidades Svedberg (S) reflejan la tasa de sedimentación de una partícula en una ultracentrifugación y esta depende del tamaño de la partícula y de su densidad.

Esta técnica consiste en la ruptura controlada de tejidos y células para separar diversos orgánulos o componentes intracelulares en distintas «fracciones». Para ello, se homogeneiza el tejido, ya sea por plasmólisis, aplastado, triturado o mediante ultrasonidos, con el fin de romper las células y, posteriormente, el extracto celular se somete a una **centrifugación diferencial** (centrifugaciones sucesivas a distintas velocidades) que permite la separación de los distintos componentes celulares.

Las partículas de la muestra, de diferentes densidades, sedimentan a distintas velocidades que se miden en **unidades Svedberg (S)**. La centrifugación se lleva a cabo en una centrifuga o en una ultracentrífuga. Esta última permite llevar a cabo la centrifugación a velocidades muy elevadas (figura 6.22).

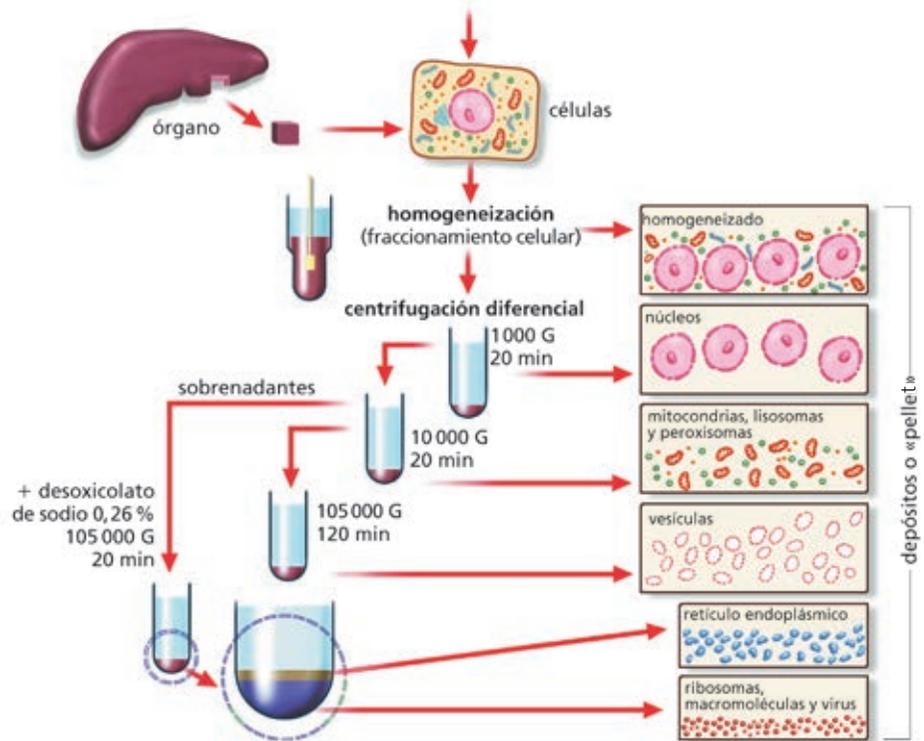


Figura 6.22. Procedimiento de fraccionamiento celular. G corresponde a la fuerza de la gravedad.

5.4. Otras técnicas

Difracción de rayos X

La difracción de rayos X es una técnica que se utiliza para estudiar detalles de la estructura molecular de los componentes celulares.

Mediante un haz de rayos X se puede determinar la disposición de los átomos en una molécula en estado cristalino. Los rayos X son dispersados por los electrones de la muestra, de modo que los átomos grandes con muchos electrones, como el C, el N, el O y el P, se detectan mejor que los átomos pequeños, como el H. El patrón de difracción se recoge en una placa fotográfica. Una vez reunida esta información, y tras un estudio detallado de los resultados, se pueden obtener modelos tridimensionales.

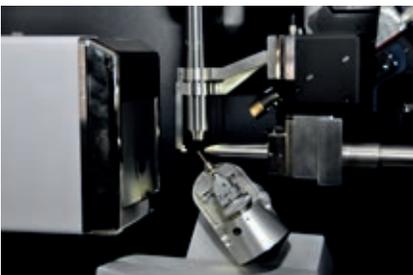


Figura 6.23. Equipo de difracción de rayos X utilizado para determinar la estructura de una proteína u otros componentes celulares.

Autorradiografía

Los elementos que constituyen las moléculas orgánicas de las células no presentan isótopos radiactivos. La técnica de la autorradiografía consiste en incubar las células en presencia de determinados isótopos radiactivos que podrán ser incorporados a determinadas moléculas. Estos radioisótopos son inestables y emiten radiaciones ionizantes que se pueden registrar con aparatos específicos, como el contador Geiger, un aparato que mide las radiaciones emitidas por un isótopo mediante la ionización que estas producen en un gas, o bien mediante su impresión sobre una emulsión fotográfica.

Mediante las técnicas de autorradiografía es posible seguir el «recorrido» de los radioisótopos por la célula o a través de los tejidos. Una de las primeras aplicaciones prácticas de este procedimiento fue el marcaje con ^{14}C del CO_2 , y el estudio de su incorporación a las moléculas orgánicas en el proceso de fijación del CO_2 de los organismos autótrofos fotosintéticos.

La siguiente tabla muestra la vida media, es decir, el tiempo transcurrido hasta que una determinada cantidad de isótopos radiactivos se reduce a la mitad, para varios radioisótopos.

Radioisótopo	Vida media
^{40}K	1300 Ma
^{235}U	704 Ma
^{14}C	5730 años
^{67}Ga	78 horas

Dos pioneras en el uso de la radiación: Marie Curie y Rosalyn Sussman

El desarrollo de nuevas técnicas experimentales es esencial tanto para el avance en el conocimiento científico como para desarrollar futuras aplicaciones tecnológicas. En este sentido, Marie Curie y Rosalyn Sussman fueron dos científicas pioneras en el desarrollo de nuevas técnicas:

- **Marie Curie** (1867-1934) fue la primera mujer que recibió un Premio Nobel y la primera mujer docente en la Universidad de la Sorbona. En 1903 recibió el Nobel de Física por el descubrimiento, junto a su marido, de la radiactividad, y en 1911 el de Química, por sus trabajos acerca del radio.

Sus investigaciones fueron clave para el desarrollo posterior de tecnologías aplicadas, como la autorradiografía.

- **Rosalyn Sussman Yalow** (1921-2011), física estadounidense, fue galardonada con el Nobel en Medicina en 1977, junto a **Andrew V. Schally** y **Roger Guillemin**, por el desarrollo del radioinmunoensayo (RIA) para cuantificar los niveles de hormonas peptídicas, como la insulina.

Esta técnica tiene actualmente muchas más aplicaciones. Se emplea de manera habitual para cuantificar la concentración de hormonas, virus, enzimas, drogas y otras sustancias de forma precisa.



Figura 6.24. Rosalyn Sussman Yalow.

Actividades

- 12 Si se somete un tejido vegetal (por ejemplo, parénquima clorofílico) a una centrifugación diferencial, ¿en qué fracción podrían separarse los cloroplastos?
- 13 ¿Qué significa que la vida media del fósforo-32 es de 14 días?
- 14 Explica cómo se pueden obtener las distintas fracciones celulares mediante ultracentrifugación diferencial.
- 15 ¿Qué técnica utilizarías para probar las diferencias entre el lado externo y el lado interno de la membrana? Justifica tu respuesta.
- 16 Investiga cómo se dedujo la estructura de la doble hélice de ADN y muéstralo en una línea del tiempo.
- 17 Investiga en qué consiste una gammagrafía tiroidea y explica de manera sencilla su fundamento.

Actividades de consolidación y síntesis

La teoría celular

- Indica los principios básicos de la teoría celular.
- Explica por qué, según la teoría celular, la célula es la unidad de vida más elemental.

Los tipos de células

- Algunas células pueden medir desde algunos centímetros a 1 milímetro. Busca ejemplos y represéntalos sobre una línea de tamaños crecientes.
- La forma de las células está, en muchos casos, relacionada con la función que desempeñan. Pon tres ejemplos que ilustren esta relación.

Características de las células procariotas

- ¿A qué reino pertenecen las bacterias?
- Investiga si es correcta la siguiente afirmación: «Todos los organismos procariotas son microscópicos».
- Dibuja un esquema de una célula procariota elemental.
- La bacteria *Streptococcus pneumoniae* es una de las principales causas de enfermedades graves, como la neumonía o la meningitis, entre otras. Actualmente se han desarrollado vacunas polivalentes (son eficaces frente a las variantes más agresivas), que contienen una mezcla de polisacáridos capsulares del neumococo. El diagnóstico clínico incluye la observación microscópica de muestras de pacientes afectados, inmunodetección e identificación molecular de la bacteria. Investiga y prepara una breve presentación sobre las características estructurales de las cepas patógenas y las técnicas de diagnóstico clínico.
- La malaria es producida por diferentes especies de *Plasmodium*, un protozoo que se transmite a través de los mosquitos. Una de las estrategias para combatir esta enfermedad en los países en los que es endémica, es eliminar a los mosquitos vectores mediante insecticidas como el DDT. Este es un insecticida muy tóxico cuyo uso está prohibido desde el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes, excepto para la prevención de la malaria. ¿Qué opinas sobre esta decisión? ¿Piensas que el calentamiento global podría tener relación con la malaria?

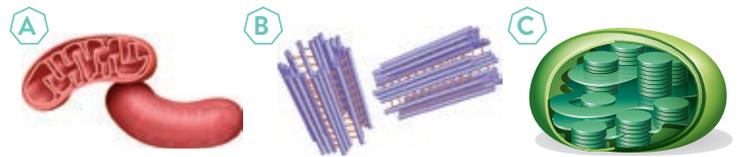
Características de las células eucariotas

- Investiga cómo son las células en los eucariotas unicelulares. Explícalo a partir de la estructura celular de *Chlamydomonas* y de un protozoo incoloro como *Paramecium*.

- Con referencia a los componentes y estructuras celulares, señala (Sí o No) si se encuentra en el tipo celular indicado:

Componente/estructura	Bacteria	Célula animal	Célula vegetal
Envoltura nuclear	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mitocondria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Complejo de Golgi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Membrana plasmática	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Centriolos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sistema de endomembranas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pared celular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ribosoma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

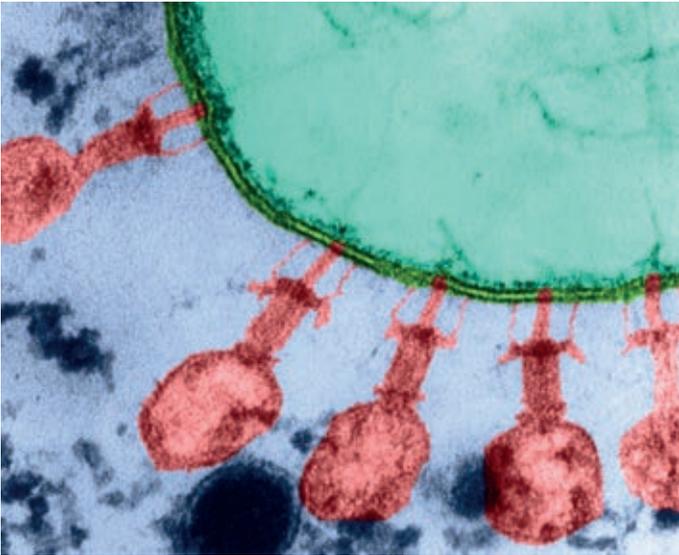
- Nombra cinco orgánulos comunes a las células animales y a las células vegetales.
- ¿Qué importancia funcional tiene la compartimentación de la célula eucariota?
- Los hongos son organismos eucariotas, pero sus células presentan ciertas particularidades que las diferencian de las células animales y de las vegetales. Investiga e indica cuáles son las similitudes y diferencias con los otros tipos de células eucariotas.
- De los siguientes orgánulos, indica a qué tipo de células pertenecen (animal o vegetal).



Métodos de investigación en biología celular

- Indica qué tipo de técnica microscópica utilizarías en los siguientes casos.
 - Visualización del complejo de Golgi en una célula secretora.
 - Caracterización de los caparzones de los foraminíferos.
 - Visualización de los poros nucleares en la superficie del núcleo.
 - Localización de una proteína mayoritaria en el núcleo de una célula eucariota.

17 ■ Observa la siguiente fotografía y responde:

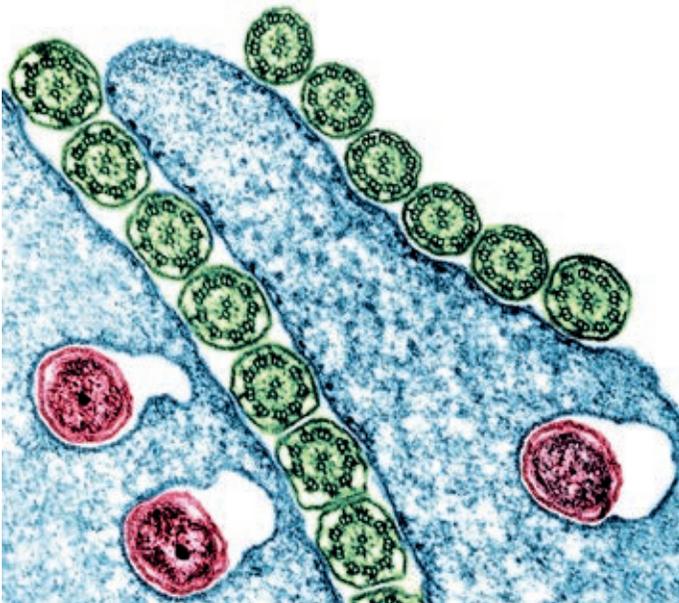


- a) ¿De qué tipo de microscopía se trata?
- b) ¿Qué se observa en ella?

18 ■ ¿Para qué se utiliza la técnica de fraccionamiento celular?

19 ■ Observa la siguiente fotografía. ¿De qué tipo de microscopía se trata?

- a) ¿Qué tipo de microscopía se ha empleado?
- b) Se observan bacterias. ¿Sabrías decir cuáles son?
- c) También se observan cilios en sección transversal. ¿Sabrías decir cuáles son?

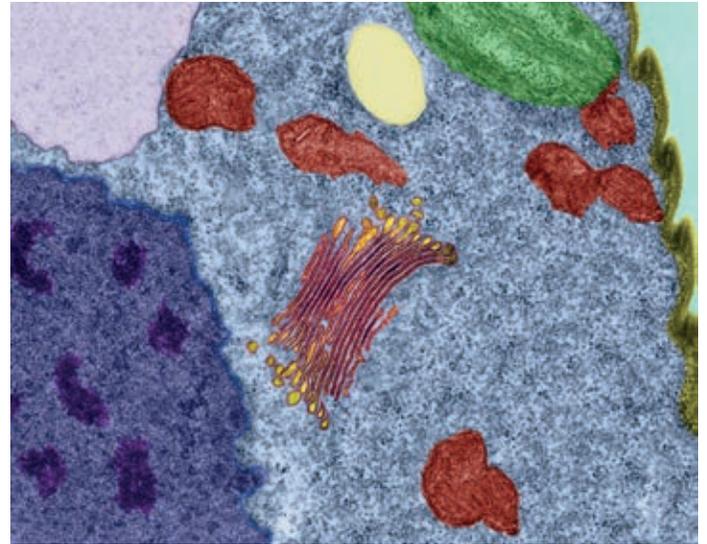


20 ■ ¿Cómo podrías aislar ribosomas para su estudio a partir de un cultivo celular?

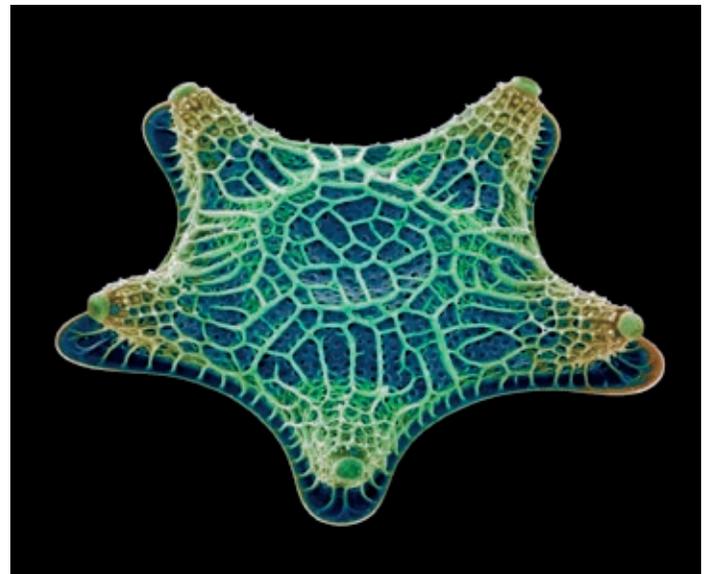
21 ■ ¿Cómo podrías detectar la presencia de actina en una célula?

22 ■ Observa la siguiente fotografía.

- a) ¿Con qué tipo de microscopía se ha tomado la imagen?
- b) ¿Qué orgánulos reconoces en ella?
- c) Cita una función de cada uno de ellos.



23 ■ La observación de los caparzones de diatomeas que se muestran en la fotografía se ha realizado utilizando técnicas de microscopía electrónica. ¿Qué tipo de microscopía se ha empleado para visualizarlos? ¿Cuál es su fundamento básico?



24 ■ ¿Con qué tipo de microscopía se puede observar una muestra con una ampliación de 250 000 aumentos? ¿Qué resolución puede alcanzarse con este tipo de microscopía?

25 ■ ¿Cómo se podría detectar mediante microscopía la presencia de bacterias patógenas intracelulares?

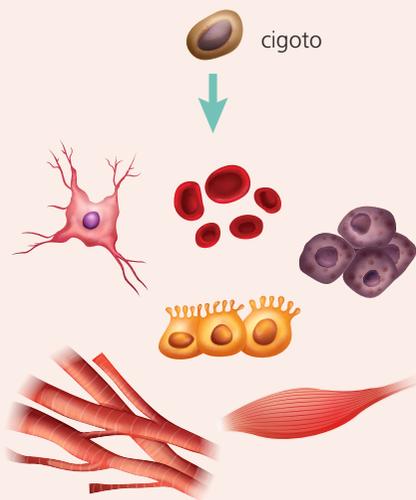
Un atlas de células humanas

Uno de los retos de la biología celular que podría suponer una enorme importancia aplicada en medicina es el de poder conocer la diversidad de células que componen el cuerpo humano. Uno de los grandes avances en este campo es la publicación del *Atlas de las células humanas*, realizado por varios equipos de investigadores de distintos países, en el que se recoge información de 500 tipos celulares diferentes, pertenecientes a diversos tejidos.

[...] Aunque el número total de células del cuerpo humano se desconoce, se estima que cada persona adulta tiene alrededor de 37 billones de células (sin contar las células de los millones de microorganismos que componen el microbioma). Todas las células de una persona derivan de una misma célula, el cigoto, y en esencia, comparten el contenido de su genoma. Sin embargo, no todas lo expresan igual.

[...] Cuatro trabajos publicados en *Science* recogen los últimos resultados del consorcio Atlas de las Células Humanas, que van más allá del universo conocido de la expresión en tejidos u órganos, y ofrecen los mapas celulares del cuerpo humano más detallados hasta la fecha, con información recogida célula a célula. Los investigadores han analizado más de un millón de células individuales y han generado un atlas de expresión de 500 tipos celulares, localizados en más de treinta tejidos diferentes.

[...] «El *Atlas de las Células Humanas* está transformando nuestra comprensión de la biología y la enfermedad», ha señalado Sten Linnarsson, investigador del Instituto Karolinska de Suecia, y miembro del Comité Organizador del consorcio. «Estos estudios a través de tejidos representan un hito para el *Atlas de las Células Humanas* y la biología de células individuales, ya que permiten la comparación sistemática y profunda de los mismos tipos de células a través del desarrollo y la edad adulta. Son un paso enorme hacia la generación de un *Atlas de Células Humanas* de todos los tipos celulares del cuerpo humano, fundando así una nueva era de diagnóstico, sanidad y medicina de precisión».



A partir del cigoto se obtienen todas las células del organismo mediante los procesos de diferenciación.

AMPARO TOLOSA
genotipia.com, 18 de mayo, 2022

Desarrollo de competencias

Tras leer el texto, contestad a las siguientes cuestiones y realizad un debate en grupo.

El **objetivo** de esta tarea es valorar la importancia de la investigación básica y comprender que la caracterización de la diversidad celular tiene muchas aplicaciones en el ámbito de la salud.

- 1 ¿Qué se recoge en el *Atlas de las Células Humanas*?
- 2 Para esta investigación se ha necesitado aplicar distintos tipos de tecnologías (moleculares, microscópicas, informáticas...). ¿Qué relación hay entre el desarrollo tecnológico y el avance del conocimiento científico?
- 3 ¿Qué puede suponer el conocimiento de las alteraciones celulares que tienen lugar durante una enfermedad para la Salud Pública?
- 4 Debatid en grupos sobre la importancia de la investigación básica frente a la investigación aplicada. Responded a las siguientes preguntas: ¿Qué se entiende por investigación básica? ¿Debería financiarla el Estado? ¿A qué nos referimos cuando hablamos de investigación aplicada? ¿Hay alguna conexión entre ellas?
- 5 Buscad en las noticias o en revistas de divulgación biomédica algunas enfermedades relacionadas con alteraciones celulares. Explicad mediante charlas breves su etiología y las consecuencias de las alteraciones celulares.



Observación de distintos tipos celulares

Mediante la siguiente práctica observaréis, al microscopio óptico, diferentes tipos celulares en muestras diversas.

Materiales

- Microscopio óptico de campo claro.
- Muestra de estanque o charca, hoja vegetal fresca, muestra de mucosa oral.
- Portaobjetos y cubreobjetos limpios.
- Pinzas, pipetas, escalpelo, rasqueta o varilla y aguja enmangada, asa de siembra y mechero.
- Azul de metileno.

Procedimiento

- 1. Muestra de agua de estanque o charca.** Toma una gota pequeña de la muestra, colócala sobre un portaobjetos y pon encima el cubreobjetos; observa con los objetivos de 10X y 40X. Posteriormente pon otra gota sobre un portaobjetos y deja secar al aire, pasa el porta dos o tres veces por la llama del mechero, echa después unas gotas de azul de metileno y lava a continuación con agua destilada; observa con el objetivo de 100X.
- 2. Epidermis de la hoja.** Pon una gota de agua del grifo sobre un portaobjetos; con un escalpelo, haz una incisión en forma de V en la cara interior de una hoja y separa la epidermis con las pinzas, colocándola sobre el portaobjetos. Coloca un cubreobjetos sobre la preparación y observa al microscopio a 10X y 40X.
- 3. Muestra de mucosa oral.** Con cuidado, pasa una rasqueta o varilla limpias por la cara interna del carrillo. Pon la muestra en un portaobjetos y extiéndela con otro portaobjetos para hacer un frotis. Una vez seco, pásalo por el mechero para fijar la muestra y tiñe con azul de metileno como en el caso 1.

Objetivos

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



Paramecio visto al microscopio óptico.

Observaciones esperadas

- 1. Muestra de agua de estanque o charca.** Se observarán distintos tipos de microorganismos procariotas y eucariotas. En las observaciones en vivo a 10X y 40X se podrán observar algunas especies, principalmente de chromistas y protozoos, como flagelados, ciliados o amebas. A 100X se observan bacterias de forma bacilar, cocoide o filamentosa, aisladas o en grupos y teñidas de color azul.
- 2. Epidermis de la hoja.** Se observarán células con paredes gruesas, los núcleos, y también se pueden observar estomas; en algunos casos, en los bordes, pueden verse células del parénquima de color verdoso por la presencia de cloroplastos.
- 3. Mucosa oral.** Se observarán células de contornos irregulares con un núcleo claramente visible.

Análisis de los resultados

- 1** Compara la morfología y el tamaño de los diferentes tipos celulares observados.
- 2** En esta práctica has observado distintos tipos de células pertenecientes a distintos grupos de organismos. ¿Son todas las células de un organismo pluricelular de la misma forma y tamaño?
- 3** ¿Por qué se han utilizado diferentes aumentos para la observación?
- 4** ¿Por qué no está tan marcado el contorno de las células de la mucosa oral como en las de la epidermis vegetal?



La célula como unidad funcional. Teoría celular

- Desde que **Robert Hooke** introdujera el término en 1665, la **célula** se ha considerado como la unidad más elemental de todos los seres vivos.
- La **teoría celular** recoge la unidad estructural, fisiológica y de reproducción de la célula.

Los tipos de células

Las células son muy diversas, tanto en tamaño como en morfología y función. Estructuralmente hay dos tipos de célula: procarionota y eucariota.

Características de las células procariotas

- Las células procariotas **son las más simples estructuralmente**. En ellas el material genético no está rodeado de ninguna membrana, es decir, no presentan un «núcleo verdadero».
- Las células procariotas presentan una **pared celular**, externa a la membrana plasmática, un **nucleoide** de aspecto fibrilar y diversas **inclusiones citoplasmáticas**.
- La presencia de **flagelos**, **inclusiones citoplasmáticas** y **cápsulas** o capas mucosas es variable entre las células procariotas.

Características de las células eucariotas

- Las células eucariotas presentan un «núcleo verdadero» en el que el material genético está separado del resto de los componentes celulares por una doble membrana.
- Presentan diversos orgánulos membranosos encargados de realizar diferentes funciones, como **mitocondrias**, **cloroplastos**, **retículo endoplásmico** y **complejo de Golgi**, entre otros. También presentan **citoesqueleto**, un entramado de elementos fibrilares, esencial para diversas funciones celulares.
- Los distintos tipos celulares presentan particularidades; por ejemplo, las células animales y vegetales no son estructuralmente iguales y presentan algunos orgánulos y estructuras exclusivos.

Métodos de investigación en biología celular

- La **microscopía óptica** se basa en la incidencia de un haz de luz sobre las diferentes lentes, hasta iluminar la muestra. Existen diferentes microscopios ópticos: de **campo claro**, de **contraste de fases** e **interferencia diferencial** y el **microscopio de fluorescencia**.
- La **microscopía electrónica** hace pasar un haz de electrones por la muestra, lo que permite incrementar los aumentos. Existen dos tipos fundamentales, la **microscopía electrónica de transmisión (MET)** y la **microscopía electrónica de barrido (MEB)**.
- Además, se han desarrollado **técnicas de inmunodetección** mediante las que se pueden detectar determinadas proteínas mediante la unión a anticuerpos por microscopía de fluorescencia óptica, así como electrónica.
- El **fraccionamiento** celular permite separar los componentes celulares en fracciones mediante centrifugación diferencial.
- La **difracción de rayos X** y la **autorradiografía** son técnicas que permiten un estudio detallado de la estructura o el movimiento de determinados componentes celulares, utilizando los rayos X o isótopos radiactivos.

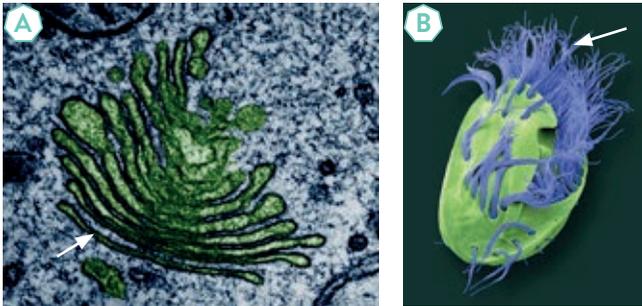
GLOSARIO

Elabora un glosario de términos científicos asociados a esta unidad: *célula, teoría celular, diversidad celular, célula procariota, célula eucariota, pared celular, nucleoide, núcleo, inclusiones, orgánulos celulares, flagelos, microscopía óptica, microscopio de campo claro, microscopio de contraste de fases e interferencia diferencial, microscopía de fluorescencia, inmunodetección, microscopía electrónica, microscopio electrónico de transmisión, microscopio electrónico de barrido, ultraestructura celular, criofractura, fraccionamiento celular, centrifugación diferencial, difracción de rayos X, autorradiografía.*

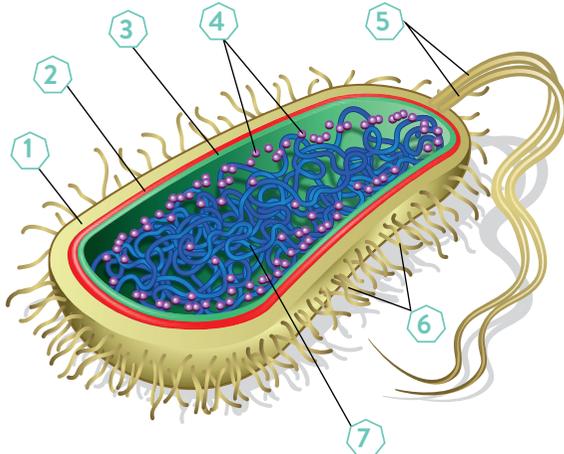
Completa tu glosario con otros términos que consideres oportunos.



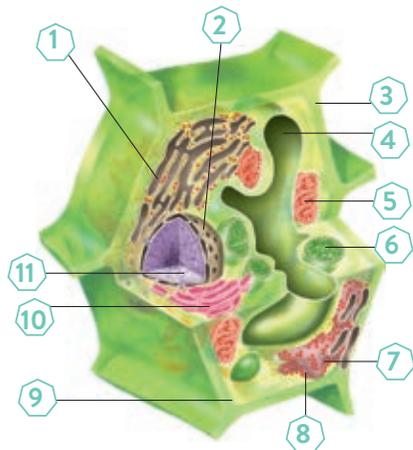
- 1 Explica brevemente qué es una célula y en qué consiste la teoría celular ¿Quiénes la propusieron?
- 2 ¿Todas las células en un mismo organismo son iguales? ¿Presentan diferencias en su morfología y tamaño?
- 3 Indica cuatro diferencias entre las células procariotas y las eucariotas.
- 4 Observa las microfotografías. ¿Qué tipo de orgánulos o estructuras celulares están señalados con una flecha? Indica el tipo de microscopía empleado en cada caso.



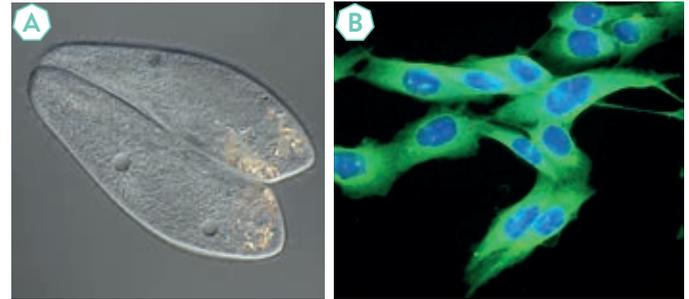
- 5 ¿Qué tipo celular está representado en el esquema? Nombra los componentes numerados del 1 al 7.



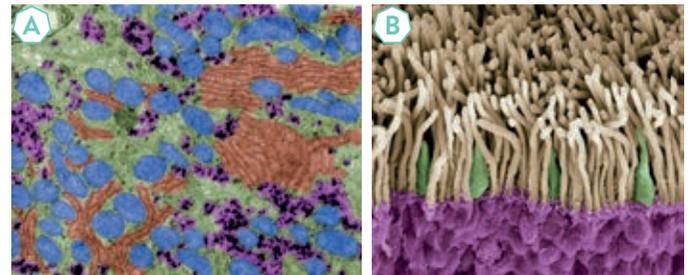
- 6 Observa la ilustración. ¿Qué tipo de célula representa? Indica los orgánulos celulares o las estructuras señaladas.



- 7 En relación con los microscopios ópticos:
 - a) ¿Qué tipos de lentes presentan los microscopios ópticos?
 - b) Nombra tres tipos de microscopios ópticos. Explica cuáles son las ventajas de cada tipo y propón una observación que harías con cada uno de ellos.
- 8 ¿Qué tipo de microscopía se ha utilizado para obtener las siguientes imágenes?



- 9 En las siguientes microfotografías se muestran imágenes obtenidas utilizando dos tipos diferentes de microscopía electrónica, especifica cuáles son.



- 10 Explica en qué consiste la criofractura y cuál es su utilidad.
- 11 Si quisieras separar las mitocondrias de una célula para llevar a cabo determinados estudios sobre las mismas, ¿qué técnica utilizarías?
- 12 Observa la siguiente ilustración: ¿se trata de una célula animal o vegetal? Razona la respuesta.

