



## GUÍA DE CONTENIDOS N° 2: “EJEMPLO DE DIFERENCIACIÓN CELULAR”

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma del Apoderado

### Objetivos de Aprendizaje:

OA 1: Comprender que durante el desarrollo se establece primero un esquema que define las principales regiones del cuerpo (cabeza, tronco, cola) y luego se produce una diferenciación en las células del embrión, generándose una gran variedad de fenotipos celulares con formas y estructuras especializadas en distintas funciones. La definición del plan corporal y la diferenciación celular ocurre por la expresión de distintos genes como resultado de un complejo programa de desarrollo.

**Habilidades:** Comprender- Analizar- Aplicar

**Actitudes:** Trabajar con responsabilidad y liderazgo en la realización de las tareas

En mamíferos, la miogénesis esquelética procede a través de tres estados, representados en la figura 1. En el primer estadio, surgen los mioblastos a partir de bloques de células mesodérmicas llamadas somitos, que se encuentran a ambos lados del tubo neural en el embrión. Los somitos también dan origen al esqueleto y al tejido conectivo de la piel. Señales específicas provenientes del tubo neural y del ectoderma lateral juegan un papel importante en determinar la formación de los mioblastos en los somitos.

Los mioblastos ya están determinados a formar músculo pero aún no se han diferenciado. Si se cultivan fuera del embrión se las puede hacer diferenciarse en músculo esquelético. En el embrión, un subconjunto de los mioblastos reciben señales transitorias que los hacen migrar hacia otras regiones donde terminan formando los músculos de las extremidades. Otros mioblastos no migran y se quedan en la región dorsal del embrión donde forman los músculos del tronco.

En la región donde se formarán las extremidades se alinean los mioblastos que migraron, dejan de proliferar y se fusionan entre ellos para formar un sincicio que finalmente se diferencia en músculo. Esta célula de músculo esquelético multinucleada se llama miotubo. Concomitantemente con la fusión celular se produce un dramático incremento en la expresión de los genes necesarios para la formación y función del músculo.

El ejemplo muestra que una subclase de células de los somitos deben haber recibido señales que las indujo a migrar y luego a expresar genes importantes para dirigir la diferenciación hacia células musculares. El hecho que la diferenciación ocurre en un sitio específico del embrión aún cuando las células ya están determinadas a la diferenciación indica que existen factores que impiden que el proceso ocurra en un lugar inadecuado.

Entre los genes que se han descubierto como importantes para dirigir el proceso de diferenciación están los llamados mioD y miogenina que codifican proteínas capaces de regular la expresión de genes de actina, miosina, y otros genes importantes en el fenotipo muscular esquelético.

En la figura 2, se ilustra el tipo de experimento que llevó a descubrir los genes involucrados en la diferenciación. La línea celular fibroblástica llamada C3H 10T1/2 puede convertirse en célula muscular cuando se incuba con un inhibidor de la metilación del DNA, la 5-azacitidina. En este proceso, las células cambian de forma y se hacen contráctiles. Esto se puede observar en el microscopio de luz. Es necesario explicar que ciertas enzimas llamadas metilasas son capaces de introducir un grupo metilo en la citosina del DNA y que esta modificación es un mecanismo general para impedir la expresión de genes. Las regiones del DNA donde la transcripción es escasa tienen mayor contenido de citosina metilada.

En el experimento, la 5-azacitidina inhibe la metilación del DNA y por lo tanto los genes que antes se encontraban apagados por la metilación ahora se activan. En estas condiciones los fibroblastos se convierten en células musculares. Estos hechos proveen un modelo para buscar los genes que se activaron.

En la figura 2, se ilustran las etapas de un procedimiento para detectar los genes involucrados en la diferenciación. Primero, se observó que el DNA de la célula tratada con 5-azacitidina (que se llamó azamioblasto) era capaz de inducir la diferenciación cuando se introducía en fibroblastos no tratados con el inhibidor de la metilación del DNA. Luego, se realizó un experimento para detectar los RNAm expresados adicionalmente en los fibroblastos tratados con 5-azacitidina. El procedimiento consiste en generar cDNA a partir de los RNAm mediante transcripción reversa. Estos cDNA se hibridizan con los RNAm de las células no tratadas de manera que sólo los cDNAs correspondientes a los genes que se expresan después del tratamiento quedan sin hibridizar y se pueden utilizar para rastrear una librería de cDNAs de

mioblastos. Una vez aislados los cDNAs de los mioblastos se procedió a probarlos en ensayos de diferenciación, transfectándolos en los fibroblastos.

FIGURA 1.- Etapas básicas en el desarrollo del músculo esquelético.

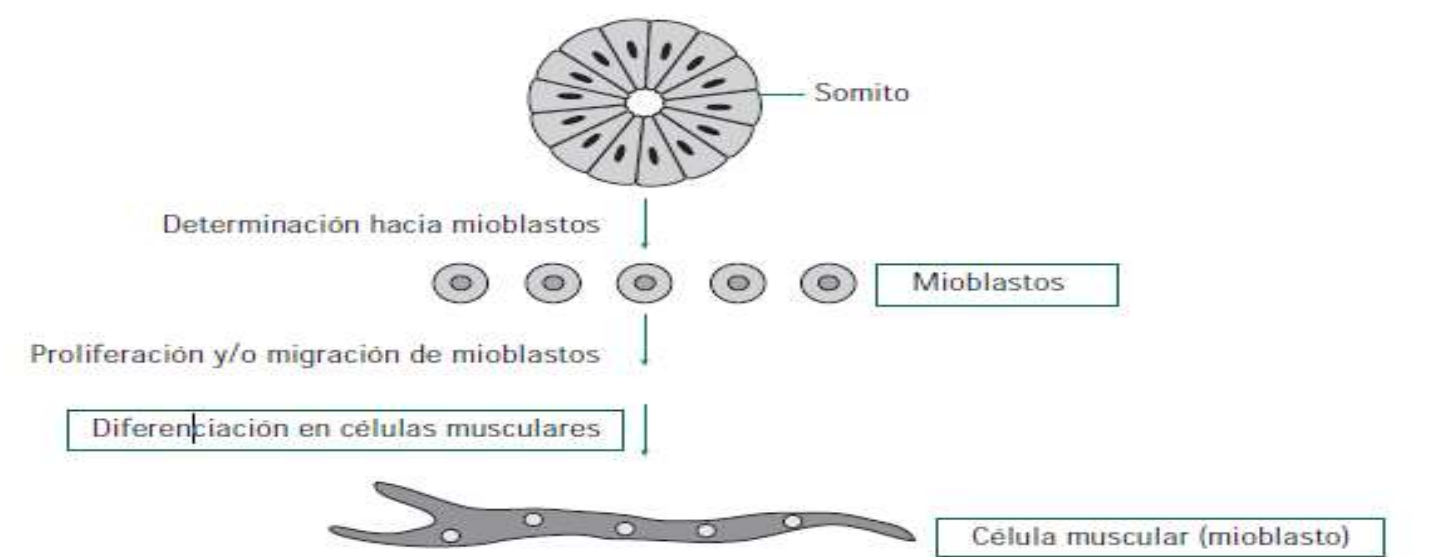
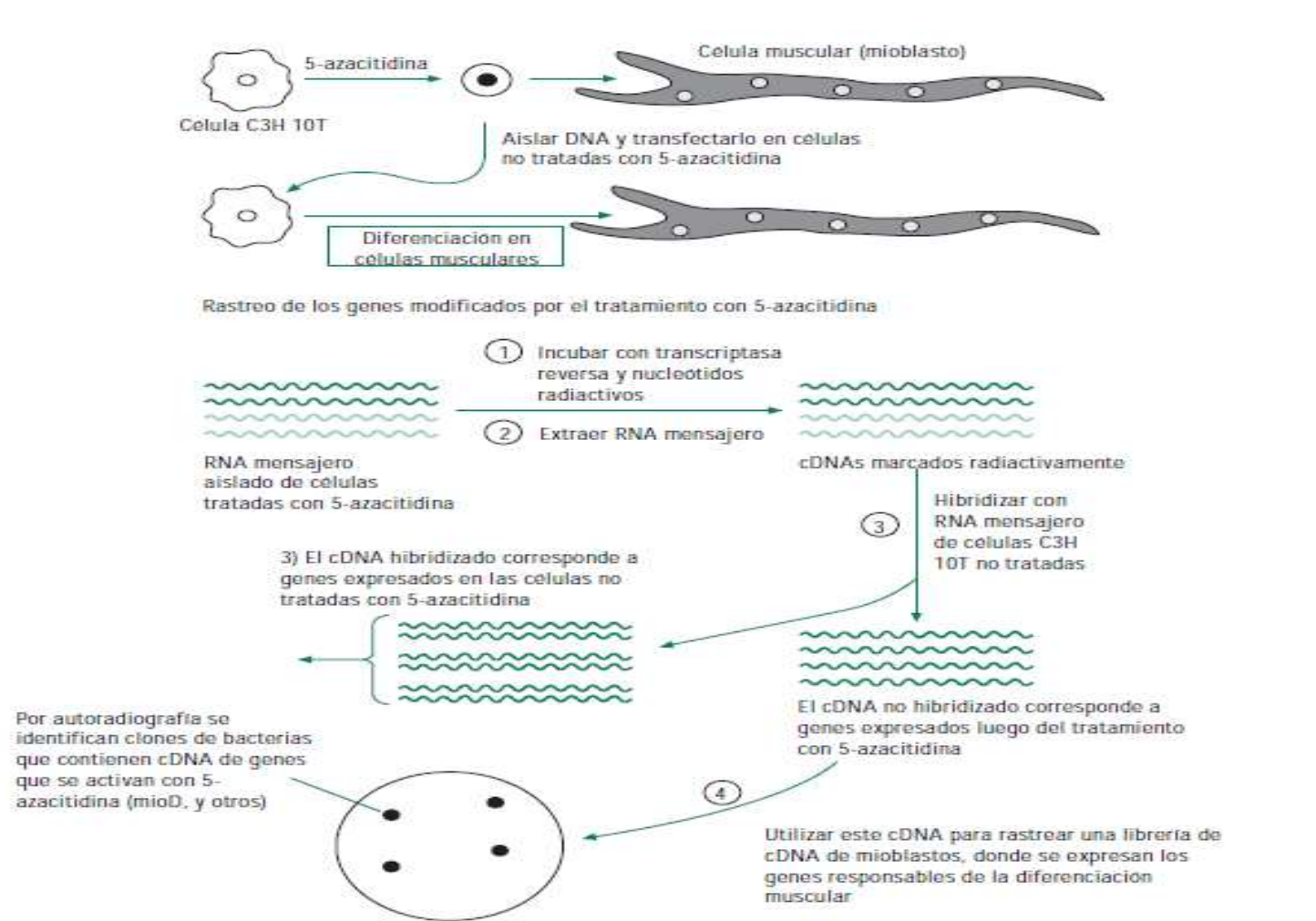


FIGURA 2.- Descubriendo los genes que dirigen la diferenciación del músculo esquelético.



ACTIVIDADES

- 1.- ¿Por qué se puede afirmar que el tejido conectivo de la piel y el esqueleto tienen el mismo origen?
- 2.- ¿Qué es un sincicio?
- 3.- Explica la relación entre la metilación del ADN y la diferenciación celular
- 4.- En condiciones normales, ¿un fibroblasto forma células musculares? ¿qué genes no tendrá activos?