Estudio de la forma y moviemiento de micrtotúbulos en células vivas utilizando una nueva rutina de seguimiento de filamentos individuales.

Carla Pallavicini
Grupo de Dinámica Intracelular
Facultad de Cs Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
krlitax@gmail.com

Las células eucariotas cuentan con un citoesqueleto compuesto por microtúbulos, filamentos de actina, y filamentos intermedios. Estos biopolímeros aportan estructura a la célula y están involucrados en diversos procesos tales como la migración, división y contracción celular, y el transporte activo de organelas. En particular los microtúbulos son estructuras tubulares de radio externo de 25nm, longitudes de hasta 50µm y pueden soportar fuerzas de compresión de algunas decenas de pN. Estos filamentos han sido estudiados extensivamente en condiciones in vitro con el fin de determinar sus propiedades mecánicas. Sin embargo, es de gran relevancia estudiar el movimiento, la forma y la dinámica de de dichos filamentos en su entorno natural en pos de obtener una mayor comprensión de la organización celular. Para ello, el uso de marcadores fluorescentes combinado con microscopía confocal proveen una excelente herramienta de estudio no invasivo. Recientemente, hemos desarrollado un nuevo algoritmo de tracking (AFTER) que permite localizar microtúbulos fluorescentes en células vivas con 5-10 nm de precisión a partir de imágenes adquiridas con un microscopio confocal (1). Con esta nueva herramienta, superior a los algoritmos descriptos previamente en la literatura, exploramos la distribución de curvaturas de microtúbulos en distintos tipos celulares con el fin de comprender el origen y la direccionalidad de las fuerzas subyacentes a esta distribución. Estudiando las curvaturas pudimos determinar propiedades mecánicas de los filamentos in vivo que difieren ampliamente con los resutados obtenidos in vitro.

El algoritmo diseñado nos permitió además explorar la dinámica del citoesqueleto en distinas regiones celulares y correlacionar cuantitativamente la dinámica de los microtúbulos con la de endosomas flourescentes. Nuestros resultados preliminares muestran que endosomas transportados activamente serían capaces de curvar a los microtúbulos sobre los que se desplazan, indicando que los motores moleculares generan fuerzas de compresión mayores a la fuerza crítica o de Euler. Esta caracterización inicial es un punto de partida para explorar la influencia de fuerzas intracelulares (i.e. motores moleculares) y de la reología del medio en la organización del citoesqueleto.

(1) Pallavicini et al, Biophysical Journal Vol 106. 2625-2635. 2014. http://dx.doi.org/10.1016/

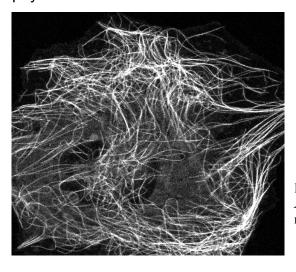


Imagen confocal de célula melanófora de *Xenopus laevis* con los microtúbulos marcados con GFP.