

Noves tècniques per estudiar la cromatina

03/2007 - Biologia. En el nucli de les cèl·lules el DNA no està lliure, es troba associat amb unes proteïnes bàsiques molt abundoses que s'anomenen histones. El complex resultant és la cromatina. Mitjançant una tècnica microscòpica que permet visualitzar les mostres en el seu entorn aquós natural, investigadors de la UAB han trobat que la cromatina en les condicions iòniques corresponents a la interfase del cicle cel·lular és molt més compacta del que es considera actualment en molts altres laboratoris.

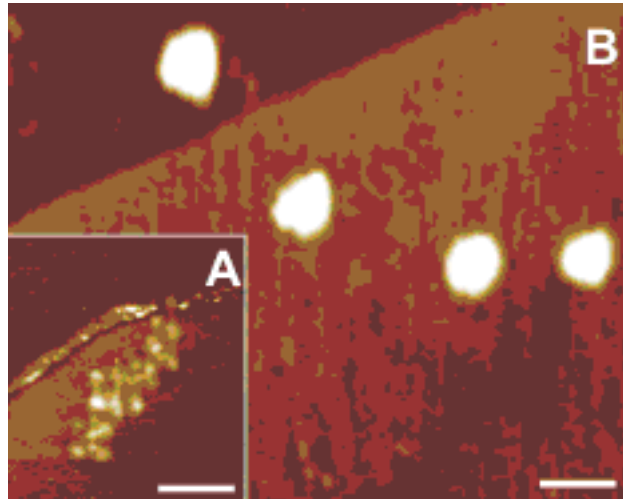


Figura: Imatges AFM en medi aquós de fragments de cromatina (aprox. 13-18 nucleosomes). (A) en absència de cations; (B) en presència de concentracions de Na, K i Mg properes a les que es troben a la interfase cel·lular. Les barres representen 100 nm.

Les imatges obtingudes mitjançant tècniques convencionals de microscòpia electrònica de transmissió (TEM) corresponen a mostres que han estat deshidratades durant el procés de preparació. Com que la deshidratació pot alterar l'estructura de la mostra, hi ha laboratoris que fan servir criotècniques i observen les mostres en el seu medi aquós vitrificat per congelació ràpida (Cryo-EM). Actualment, però, existeix la possibilitat d'estudiar l'estructura de mostres en medi aquós no congelat. En aquest treball s'han posat a punt mètodes que han permès l'aplicació de la microscòpia de força atòmica (AFM) per a l'estudi de l'estructura de mostres de cromatina en presència de solucions aquoses de diversa composició a temperatura ambient.

En concret, s'ha investigat l'estructura de petits fragments de cromatina, purificats en gradients de sacarosa, en funció de la composició iònica del medi aquós en el qual es troben. Els resultats obtinguts indiquen que les fibres de cromatina esteses, en les que els nucleosomes poden veure's com unitats diferenciades (figura A), existeixen en dissolució tan sols quan la concentració de cations és molt petita. Els fragments de cromatina estudiats es troben densament empaquetats en presència de concentracions fisiològiques d'ions Na i K i/o de petites concentracions d'ions Mg (figura B). Les dimensions de les partícules densament empaquetades són similars a les que s'han observat en aquest treball amb mostres equivalents estudiades mitjançant microscòpia TEM convencional i en altres estudis previs del grup de recerca.

A més, els resultats d'aquest treball obtinguts mitjançant tècniques de sedimentació i de digestió amb tripsina de fragments de cromatina d'eritròcit de pollastre en diversos medis de composició iònica diferent, són coherents amb les observacions fetes mitjançant microscòpia AFM, i amb els resultats obtinguts amb aquestes mostres, i amb cromatina de cèl·lules HeLa, estudiades mitjançant microscòpia TEM. També estan plenament d'acord amb els resultats publicats simultàniament pel grup de Daniela Rhodes (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006, 103: 6506-6511), que han estat obtinguts mitjançant tècniques de microscòpia TEM i Cryo-EM amb petits fragments de cromatina que contenen longituds de DNA perfectament definides.

En conjunt, els resultats obtinguts indiquen que la cromatina en condicions iòniques corresponents a la interfase cel·lular està molt més densament plegada del que sol considerar-se a la literatura científica actual. Aquesta observació és consistent amb la necessitat de tenir cromatina molt compacta com element de partida per a poder formar les cromàtides dels cromosomes metafàsics (Daban, Biochemistry, 2000, 39: 3861-3866). Alhora, però, la gran compactació observada posa problemes estructurals importants que caldrà tenir en compte per poder entendre el mecanisme de la transcripció del DNA durant la interfase.

Les imatges de microscòpia AFM han estat obtingudes als Serveis Científico-Tècnics de la UB i les de microscòpia TEM al Servei de Microscòpia de la UAB.

Altres articles relacionats:

- [Empaquetament del DNA als cromosomes](#) (UAB Divulga, març 2004)

- [Noves possibilitats estructurals per a la condensació dels cromosomes](#) (UABDivulga, febrer 2006).

Silvia Caño, Juan Manuel Caravaca, Marc Martín i Joan-Ramon Daban

Departament de Bioquímica i de Biologia Molecular

Universitat Autònoma de Barcelona

"Highly compact folding of chromatin induced by cellular cation concentrations. Evidence from atomic force microscopy studies in aqueous solution". Caño, S; Caravaca, JM; Martin, M; Daban, JR. EUROPEAN BIOPHYSICS JOURNAL 2006, 35 (6): 495-501.