



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO**



**PROTEINAS FLUORESCENTES OBTENIDAS DE ORGANISMOS MARINOS
BIOLUMINISCENTES Y SU APLICACIÓN EN LA HISTOTECNOLOGIA**

AUTORES:

Sequera, Larisel
Triviño, Rebeca

TUTOR ESPECIALISTA:

Prof. (a) Alcira Argüello

BARBULA, OCTUBRE 2015



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO**



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Trabajo Monográfico titulado:

**PROTEINAS FLUORESCENTES OBTENIDAS DE ORGANISMOS MARINOS
BIOLUMINISCENTES Y SU APLICACIÓN EN LA HISTOTECNOLOGIA**

Presentado por los bachilleres:

**LARISEL SEQUERA C.I 25.430.433
REBECA TRIVIÑO C.I 24.457.060**

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: _____

Profesor

Profesor

Profesor



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO



CONSTANCIA DE ENTREGA

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico titulado:

**PROTEINAS FLUORESCENTES OBTENIDAS DE ORGANISMOS MARINOS
BIOLUMINISCENTES Y SU APLICACIÓN EN LA HISTOTECNOLOGIA**

Presentado por los bachilleres:

LARISEL SEQUERA C.I 25.430.433
REBECA TRIVIÑO C.I 24.457.060

Fue leído y se considera apto para su presentación desde el punto de vista metodológico, por lo que tienen el derecho de hacer la presentación final de su **TRABAJO MONOGRÁFICO**. Sin más a que hacer referencia, se firma a petición de la parte interesada a los 13 días del mes de octubre del año 2015.

Alcira Argüello

C.I. 4.463.121

Firma



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO´



PROTEINAS FLUORESCENTES OBTENIDAS DE ORGANISMOS MARINOS
BIOLUMINISCENTES Y SU APLICACIÓN EN LA HISTOTECNOLOGIA

AUTORES:

Sequera, Larisel

Triviño, Rebeca

TUTOR ESPECIALISTA:

Prof. Alcira Argüello

Año: 2015.

RESUMEN

Muchos organismos marinos como peces, protistas unicelulares, bacterias, algas, crustáceos, medusa, entre otros sufren un fenómeno biológico en el interior de sus células llamado bioluminiscencia, que se conoce como la luz que producen y emiten estas especies marinas. Nunca se pensó que esta bioluminiscencia sería de gran importancia para las ciencias biomédicas y es allí donde científicos como Osamu Shimomura, Chalfie, Tsien, se sumergen en la tarea de explorar y explotar el gran potencial de este fenómeno donde surgen nuevas proteínas y enzimas, aplicadas en nuevos avances que permiten el desarrollo de nuevas técnicas y aplicaciones para el progreso tanto de la medicina como el de otras ciencias, como marcadores tumorales, la virulencia del sida, se puede observar las actividades de las células dentro de un organismo, la conectividad de las neuronas en el cerebro, entre otras aplicaciones. Esta investigación tiene como objetivo general el conocimiento sobre las proteínas fluorescentes, su aplicación en las técnicas y su importancia en la histotecnología, además de conocer lo amplio y versátil que puede llegar a ser el campo de trabajo del histotecnólogo, y como objetivos específicos identificar las proteínas fluorescentes obtenidas de distintos organismos marinos bioluminiscentes, conocer sus aplicaciones en la histotecnología y revelar su importancia en esta área. Metodología: en el presente trabajo monográfico se enmarca en el paradigma cualitativo y corresponde al tipo de investigación documental. Conclusión: estas proteínas abren un nuevo mundo para la ciencia, por eso es importante que los estudiantes de esta carrera estén más informados sobre las nuevas técnicas y manejo de estas para su aplicación en un futuro.

Palabras Clave: Bioluminiscencia, proteínas, técnicas, aplicaciones, histotecnologo.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
T.S.U EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRAFICO



FLUORESCENT PROTEINS DERIVED FROM BIOLUMINESCENT MARINE ORGANISMS AND ITS APPLICATION IN THE HISTOTECHNOLOGY

AUTHORS:

Sequera, Larisel

Triviño, Rebeca

SPECIALIST TUTOR:

Prof. Alcira Argüello

YEAR: 2015.

ABSTRAC

Many marine organisms such as fish, unicellular protists, bacteria, algae, crustaceans, jellyfish, among others suffer a biological phenomenon inside their cells called bioluminescence, which is known as the light they produce and emit these marine species. He never thought that this bioluminescence would be of great importance for the biomedical sciences and is where scientists Osamu Shimomura, Chalfie, Tsien, are immersed in the task of exploring and exploiting the huge potential of this phenomenon where new proteins and enzymes arise, applied new advances that allow the development of new techniques and applications for the progress of both medicine and the other sciences, such as tumor markers, virulence of AIDS, one can observe the activities of cells within an organism, connectivity neurons in the brain, among other applications. This research has the general objective knowledge about fluorescent proteins, application techniques and their importance in the histotechnology, besides knowing how spacious and versatile that it can become the field histotechnologist work and identify specific objectives fluorescent proteins obtained from various bioluminescent marine organisms, understand their applications in histotechnology and reveal their importance in this area. Methodology: in this monograph is part of the qualitative paradigm and the type of documentary research. Conclusion: these proteins open a new world for science, so it is important that students of this race become more informed on new techniques and management of these for use in the future.

Keywords: Bioluminescence, proteins, techniques, applications, histotechnologist.

INDICE

RESUMEN.....	IV
ABSTRAC.....	V
INTRODUCCIÓN.....	1
DESARROLLO.....	3
MARCO TEORICO.....	4
CONCLUSIONES.....	12
RECOMENDACIONES.....	12
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	13

INTRODUCCION

La bioluminiscencia es aquella luz que producen y emiten seres vivos en los lugares más oscuros del mar, aunque algunos insectos como las luciérnagas también la producen. Esto se debe a dos sustancias llamadas luciferina (productora de luz) y la luciferasa (cataliza la reacción química). (1, 2).

Gracias a las investigaciones realizadas por Osamu Shimomura descubrió la proteína aequorina que producía un color azul y en su proceso de purificación descubrió la proteína verde fluorescente (GFP), que emitía un color verde fluorescente, pero años más tarde se dio cuenta que la aequorina al entrar en contacto con el calcio produce el color azul y la GFP la capta y es por esta razón que emite el color verde fluorescente. Este descubrimiento dio inicio a grandes investigaciones para lograr identificar su diversa aplicación (1, 3).

Los científicos Prasher y Chalfie quisieron hacer una mutación de la GFP para utilizarla como marcador tumoral, sin darse cuenta que esta proteína no necesitaba mutación que por sí solo podía colorear las células, permitiendo, además, ver las muestras en su estado in vivo y así de esta manera poder ver el proceso fisiológico de una célula (3).

Es por esto que los estudiantes de una carrera universitaria enfocada en una rama de las ciencias biomédicas y tecnológicas como lo es la histotecnología, deben tener conocimiento del amplio y versátil campo de trabajo que puede tener la carrera ya sea como en biología, medicina, botánica, física, química, entre otras, y muchas veces estas ciencias pueden unirse con el fin de optimizar el avance científico y tecnológico de estos campos (1, 2).

El hallazgo de las proteínas fluorescentes fue el inicio de un instrumento trascendental para la investigación de células y diferentes tipos de tejidos vivos gracias a esto es posible ver como se propaga el cáncer, como se deterioran las células en el caso de Alzheimer, como trabajan las proteínas dentro de una célula o cómo están organizadas las neuronas dentro del cerebro (1, 4, 5).

Para el estudiante de esta carrera es significativo conocer el origen de los instrumentos, sustancia y biomoléculas con las que se trabaja en un laboratorio de histotecnología, por tal razón en esta monografía se conocerá y se indagará sobre las proteínas fluorescentes obtenidas de diversas especies marinas que se emplean en las técnicas de inmunofluorescencia (2, 6).

Es importante reconocer que las proteínas fluorescentes empleadas en la técnica histotecnológica, específicamente en la técnica de inmunofluorescencia, son extraídas de organismos marinos como: algas, peces, crustáceos, hongos, bacterias, medusas, calamares, insectos, protistas unicelulares, entre otros (2, 7).

Se tiene la necesidad de realizar esta investigación para incrementar el conocimiento sobre las proteínas fluorescentes empleadas en las técnicas histotecnológicas y su importancia en las ciencias biomédicas y tecnológicas. Y de esta manera dar a conocer lo amplio y versátil que puede llegar a ser la histotecnología como rama de la biotecnología al unir diferentes tipos de ciencias como lo es la medicina y la biología marina (5).

De acuerdo con lo anteriormente planteado surgen un serie de interrogantes como: ¿de dónde provienen estas proteína y cómo funcionan?, ¿Qué aportes proporcionan en investigaciones biomédicas y tecnológicas?, ¿Qué importancia tienen en la biotecnología?, ¿se debe tener noción sobre estas proteínas como histotecnólogos?

Es por ello que se tiene como objetivo general conocer las proteínas fluorescentes obtenidas de distintos organismos marinos bioluminiscentes, su aplicación e importancia en la Histotecnología, y como objetivos específicos identificar las proteínas fluorescentes obtenidas de organismos marinos, conocer las aplicaciones de las proteínas fluorescentes en la histotecnología y así revelar y reconocer la importancia de estas proteínas en la histotecnología.

DESARROLLO

ANTECEDENTES

Tras el descubrimiento de las proteínas fluorescentes muchos científicos se embarcaron en la búsqueda de nuevas aplicaciones para estas proteínas, revelando su gran potencial para el avance de la biotecnología. En la búsqueda de dicha información se encontraron referencias bibliográficas que reflejan y describen las aplicaciones de las proteínas fluorescentes y su aporte en el campo de la biotecnología, así se tienen:

Por su parte Jeffrey Lichtman (2007) Brainbow, el arcoíris cerebral. “Lichtman y su equipo desarrollaron una técnica llamada Brainbow para etiquetar neuronas en los cerebros de ratones usando una paleta de 100 colores diferentes, colocó entre 8 y 16 copias de estos genes Brainbow en ratones obteniéndose 90 distintos colores por recombinación, y con ello se logró visualizar todo el tejido nervioso del hipocampo de los cerebros de los ratones, lográndose distinguir conexiones entre las neuronas, sus recorridos, así como el progreso y detección de enfermedades neuronales” (11, 12, 13, 14, 15).

Asimismo Franco, M. Longart (2009). Aplicaciones de la proteína verde fluorescente (GFP) en la biología celular y en la visualización del sistema nervioso. La proteína GFP ha sido modificada con la finalidad de producir diferentes colores, lo que ha permitido observar alrededor de 90 colores en el sistema nervioso en su estado vivo, es por eso que tuvo como objetivo describir el descubrimiento de esta proteína y sus aplicaciones enfocadas en la visualización del sistema nervioso central. (16)

Del mismo modo Ana I. Olives, Benito Del Castillo, M. Antonia Martin, Laboratorio de Técnicas Instrumentales, S. D. Química Analítica. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid (España). Técnicas analíticas luminiscentes y de separación aplicadas a la diferenciación y cuantificación de biomarcadores. Siempre ha existido la búsqueda de nuevos biomarcadores, para ver el proceso biológico normal o patológico que realizan células o tejidos, tuvieron como objetivo general

determinar los biomarcadores utilizados para detectar enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y tumorales. (17)

De la misma manera Kira welter, Alemania (2008). La proteína verde fluorescente una herramienta valiosa en la biomedicina. “El Premio Nobel de Química del 2008 ha sido otorgado a Osamu Shimomura, Martin Chalfie y Roger Y. Tsien por el descubrimiento y el desarrollo de la proteína verde fluorescente (o GFP, por sus siglas en inglés, "green fluorescent protein"). El uso de proteínas fluorescentes para estudiar procesos químicos en células vivas es hoy en día un método de gran importancia en la biomedicina. Además, el descubrimiento de la GFP ha permitido el desarrollo de biosensores altamente potentes y el mejoramiento de técnicas modernas de microscopía.”(18)

Es necesario recordar y conocer algunas definiciones básicas para la comprensión y entendimiento de dichas interrogantes y problemáticas planteadas en la presente monografía.

Marco Teórico

Proteínas

Según Marín y Proverbio “Las proteínas son un grupo de biomoléculas de gran tamaño formadas por distintos tipos de unidades básicas llamadas aminoácidos que se mantienen unidas por medio de enlaces químicos” (19)

Bioluminiscencia

La palabra híbrida “bioluminiscencia” proviene del griego βίος(bíos) que significa "vida" y del latín lumen que significa "luz", por ende la bioluminiscencia es la producción de luz por ciertos organismos vivos. Esto se debe a la transformación de energía química a energía lumínica, como en el caso del crustáceo *Cypridina hilgendorffii* su bioluminiscencia se produce gracias a una reacción química en la que una sustancia bioquímica como la luciferina se oxida y es catalizada por la enzima luciferasa. Este hecho se presenta en

muchos niveles biológicos, pero es más frecuente en organismos marinos como: algas, peces, crustáceos, hongos, bacterias, medusas, calamares, insectos, protistas unicelulares, entre otros. (20)

Existen tres tipos de bioluminiscencia:

Simbiosis con bacterias luminiscentes: el calamar sepiólido *Euprymna scolopes* posee un sistema simbiótico entre la bacteria *Vibrio fischeri*, el calamar *Euprymna scolopes* en sus primeras etapas de vida posee en su órgano luminoso una sucesión de apéndices cubiertos de mucosa que recoge bacterias *Vibrio fischeri* del entorno marino una vez que obtiene la cantidad necesaria, el órgano luminoso madura y los apéndices mueren. Según Seliger “Este fenómeno se conoce sólo en animales marinos tales como los celentéreos, gusanos, moluscos, equinodermos y peces. Parece ser el fenómeno de luminiscencia de origen biológico más extendido en el reino animal. En diversos lugares del cuerpo los animales disponen de pequeñas vejigas, comúnmente llamadas fotóforos, donde guardan bacterias luminiscentes. Algunas especies producen luz continua cuya intensidad puede ser neutralizada o modulada mediante diversas estructuras especializadas. Normalmente los órganos luminosos están conectados al sistema nervioso, lo que permite al animal controlar la emisión lumínica a voluntad.” (21, 22, 23)

Bioluminiscencia intracelular: este tipo de bioluminiscencia es exclusiva de algunas especies de dinoflagelados como el *Protophydinium* y algunos calamares. Se genera gracias a células especializadas dentro del cuerpo de especies unicelulares y pluricelulares, la luz generada por los mismos se proyecta a través de la piel y se puede incrementar con el uso de materiales reflectantes o lentes, como las placas de guanina de algunos peces. (22, 24)

Bioluminiscencia extracelular: este tipo de bioluminiscencia es propia en varias especies de cefalópodos abisales y muchas especies de crustáceos como el *Cypridina hilgendorffii*. Se produce debido a la reacción fuera del organismo entre la luciferina y la luciferasa produciendo nubes luminosas, estos elementos se acumulan en diferentes glándulas sobre la piel. (22, 24)

La fluorescencia: es un tipo de luminiscencia, son sustancias que tienen la capacidad de absorber energía en formas de radiaciones electromagnéticas y expresar esa energía en forma de longitud de onda. (5, 22)

Proteínas fluorescentes

Durante la segunda Guerra Mundial los militares japoneses usaban “diminutos animalillos mojados en saliva y molidos para leer mapas sin usar la luz de las linternas, estos animalillos eran crustáceos *Cypridina hilgendorffii*. Pero la bioluminiscencia es un fenómeno que sugiere a las personas desde hace muchos siglos, no se obtuvo teoría exacta hasta que Raphael Dubois en 1887 manifestó que “la luz de origen animal” se produce debido a dos sustancias, la luciferina y la luciferasa nombrándolas de esta manera en reticencia a lucifer que significa portador de luz. Dubois aisló estas dos sustancias donde la luciferina era el “combustible” y la luciferasa el “catalizador” (la sustancia que precipita la reacción química). (1, 23, 25)

Luego de esto surgieron interrogantes, cuando en 1956 Osamu Shimomura recolectó más de cien kilos de *Cypridina* y se enfrentó a la tarea de descubrir porque se producía la bioluminiscencia de estos moluscos dando fin a estas interrogantes. Esta era una tarea ardua porque tenía que aislar la luciferina de cientos de moléculas que componen al crustáceo, la luciferina es una sustancia muy inconsistente y se degrada rápidamente en presencia de oxígeno, debido a esto Shimomura realizó todos sus experimentos dentro de una cámara de hidrogeno. Luego de fracasar en una gran cantidad de experimentos, dejó accidentalmente abierto un recipiente con solución de luciferina expuesta a un medio ácido, donde se había extraído la luciferina pura en forma de cristales rojos en la superficie de la solución, la luminosidad de estos cristales rojos fue 37.000 veces más que el del polvo del crustáceo disecado. Con este descubrimiento Shimomura obtuvo la información necesaria para dar con el origen de la bioluminiscencia de la *Cypridina*. (1, 25, 27)

Esto le dio la oportunidad de ir a EE.UU donde trabajo con Frank Johnson en la Universidad de Princeton. Johnson le mostro polvo de medusa *Aequorea victoria* o medusa de cristal bioluminiscente en donde su efecto solo duraba unos minutos y no se podía reactivar, en la universidad de Princeton se habían estudiado todo tipo de animales bioluminiscentes el cual la medusa de cristal era la única que había fallado todos los experimentos, Shimomura se enfrentaba de nuevo a una ardua tarea. Su estudio radicaba en establecer la reacción química que producía la luz y separar estos dos componentes para determinar si eran otros además de la luciferina y luciferasa. La medusa de cristal tiene forma de sombrilla transparente de cinco centímetros, posee largos tentáculos y en el borde de la cúpula tienen más de 100 puntos bioluminiscentes en forma de cabeza de alfiler. (1, 26, 27)

Shimomura pasó las vacaciones de verano junto a su familia en el lago Friday Harbor recolectando más de 9000 medusas, experimentaron con toda clase de sustancias como proteínas, detergente, enzimas, sales, entre otras sustancias y nada funcionaba, una tarde Shimomura vertió accidentalmente jugo de medusa al que le había neutralizado el pH donde había limpiado las peceras que contenían agua de mar, cuando estas entraron en contacto liberaron un destello brillante de luz azul, comprendiendo que el activador eran partículas de calcio que contenía el agua de mar. Shimomura afirmo “si el calcio es capaz de encender la reacción, entonces extraerlo la inhibirá.” Luego de un año de extraer partículas de calcio y estudiar el sistema que enciende la bioluminiscencia de la medusa finalmente lograron descubrir que la bioluminiscencia de la medusa era gracias a una molécula que denomino como *aequorina* que no es más que una fotoproteína de peso molecular 20.000 que emite luz azul al unirse con iones de calcio. Shimomura explica “la medusa usa una concentración de calcio del interior de sus células para controlar la producción de luz. Cuando la molestan, los niveles de calcio suben y se enciende la alarma, que parece un anuncio de neón intermitente. La proteína es como un revolver cargado; el calcio jala el gatillo”. (1, 2, 26, 27)

Durante la purificación de la *aequorina* descubrieron que otra proteína que emitía una luz verde que hoy en día se conoce como proteína verde fluorescente (GFP), corroborando que “hace que las soluciones tomen un color verdoso a la luz del solar, amarillento con luz de bombilla y una muy brillante fluorescencia verde al ser iluminada con luz ultravioleta”. No fue hasta los años 70 que Shimomura desarrollo una hipótesis en la que describe que en el sistema de la medusa despliega una transmisión genética intermolecular entre la *aequorina* y la GFP, donde la *aequorina* en contacto con el calcio emite luz azul que es atraída por la GFP produciéndose la fluorescencia verde, en 1979 Shimomura acertó con el responsable de la fluorescencia de la GFP identifico el cromóforo de la GFP, cuando el cromóforo absorbe luz ultravioleta o luz azul atrae la energía y expresa igual en forma de luz pero con otra longitud de onda (en el espectro verde). Shimomura nunca pensó que el descubrimiento de esta proteína llegaría a ser de gran importancia para la biomedicina, abriendo nuevas puertas y oportunidades en diversos campos de la investigación y su gran potencial, en la que el gran potencial de la GFP radica como marcador biológico. (1, 2, 8, 27)

A finales de los años 80 Chalfie Martin y Prasher Douglas, implantaron por primera vez el gen de la GFP en otros organismos como la bacteria *Escherichia coli* y a una lombriz muy utilizada en las investigaciones biológicas la *Caenorhabditis elegans*. Chalfie aplico técnicas genéticas para enlazar el gen que le dice a la célula como producir la fluorescencia, produciendo de esta manera que los desentiendes de estas especies sean fluorescentes. Después de este descubrimiento se corrobora que la proteína GFP estaba hecha a la perfección para el desarrollo de futuros avances biotecnológicos, como otro nuevo potencial de esta proteína consiste en implantar el gen y visualizar los procesos celulares de diferentes especies. (1, 8, 10, 24, 26)

Tsien Roger apporto el conocimiento y mejora de la GFP, cuando estudio el mecanismo molecular de la GFP modificando y desarrollando la estructura de los 238 aminoácidos para crear nuevos colores a partir de la GFP como cian, azul y amarillo, con la finalidad de observar a las moléculas de distintas proteínas y su función dentro de la célula, para esto debía crear nuevos marcadores biológicos de diferentes colores que lo ayudaran con esta tarea. (1, 2, 6, 8, 26)

En el 2008 se le otorga el Premio Nobel de Química a estos grandes emprendedores de la ciencia. Gracias a ellos se puede definir que es una proteína fluorescente y su gran aporte a la biomedicina a pesar de obtenerse de otro organismo vivo aparte del ser humano. (6, 7, 8, 10, 26)

Tipos de proteínas

Existen diversos tipos de proteínas fluorescentes, entre las más utilizadas se encuentran las siguientes

GFP de sus siglas en ingles Green fluorescent protein, es una proteína verde fluorescente constituida por 283 aminoácidos y en su estructura terciaria formada por once cadenas β anti paralelas donde se encuentra una hélice α y en el centro ubicado un cromóforo responsable de la emisión de luz verde. Esta proteína es la más utilizada por ser una de las primeras proteínas estudiadas para utilizarla en la detección de cáncer en los seres humanos y su forma de trabajar en las neuronas. (7, 22, 27)

La GFP sufre mutaciones la cual da lugar a dos nuevas proteínas, como son YFP y CFP estas emiten un color amarillo y un color azul, poseen la misma estructura pero un cromóforo diferente que es el que hace que varié el color. (27)

La CFP (Cian Fluorescents Proteins)

Esta proteína es muy comúnmente utilizada en las investigaciones microscópicas para visualizar tejidos y procesos celulares como propagación de células cancerosas en el cuerpo entre otras. Pero no del todo era eficiente esta proteína para las investigaciones, ya que era

débil la emisión de conversión de luz azul en la luz cian (solo 36%). Pero hubo mejoras para este problema a través de investigadores; los mismos han producido cristales microscópicos de CFP mejorados sometidos a rayos X del sincroton ESRF capaces de inspeccionar el corazón del CFP en el origen de la emisión de luz. (7, 27)

Luego de más investigaciones y aportes para esta proteína, surgió para la detección de moléculas CFP modificadas para identificar polipéptidos; y como resultado es una nueva CFP de nombre mTurquoise2; la cual tiene un nivel de fluorescencia del 93% lo cual esta molécula permitirá estudios de interacciones entre proteínas dentro de células vivas con un nivel sin precedentes de sensibilidad. (27)

m-Cherry es una proteína fluorescente que emite una luz rojo cerezo, se obtiene del pólipo marino y es utilizada como marcador en anticuerpos, su luz posee suficiente energía como para traspasar tejidos. (7, 10, 26)

Aplicación de estas proteínas en la Histotecnología

Las proteínas fluorescentes se pueden usar como colorantes o se pueden unir a un anticuerpo para utilizarlas como marcadores, tienen un papel muy importante ya que no detienen el proceso fisiológico de las células si no que permite observar estos procesos. (20, 27)

En la Histotecnología estas proteínas pueden tener múltiples aplicaciones, como para observar el avance de un cáncer y los lugares donde puede hacer metástasis. (27)

Uno de los estudios más recientes realizados en la universidad de Harvard, demostraron que las células del sistema nervioso se pueden observar y diferenciar con la aplicación de la proteína GFP, creando una diversidad de colores que facilitan el estudio de este sistema y así poder observar, tratar o prevenir algún tipo de problema ya que se puede evidenciar hasta las conexiones entre las neuronas, este estudio fue llamado “el arcoíris cerebral”. (7, 27)

Este experimento aplicado en la Histotecnología traería muchos avances para poder estudiar mejor las biopsias de tejido nervioso, porque sería más fácil detectar cualquier problema.

Mientras tanto en la histología vegetal la aplicación de estas proteínas fluorescentes permiten un estudio más claro de estos tejidos ya que pueden hacer visible sus estructuras sin detener el proceso biológico de las células. (27)

Importancia de estas proteínas en las ciencias biomédicas y tecnológicas

Este avance en la ciencia es muy importante para los estudiantes de las carreras de histotecnología porque nos permite conocer estudios más eficientes, ya que estas proteínas permiten hacer estudios de células y tejidos sin necesidad de que estos mueran y así se puede observar el proceso biológico de cada una ellas y con claridad por el color que les confieren estas proteínas, de este modo los estudios pueden ser más claros y precisos. (18, 27)

CONCLUSION

Las proteínas fluorescentes obtenidas de animales marinos bioluminiscentes abren un nuevo mundo para la ciencia, con su utilización se han logrado cosas que nunca en la historia se había pensado lograr ver, como es ver el funcionalismo interno de las células y tejidos tanto animal como vegetal en su estado vivo y así se pueden observar el avance de muchas enfermedades y hasta se le podría encontrar cura.

Estos avances tienen gran influencia en la Histotecnología porque aplicando estas proteínas para hacer las coloraciones sería más fácil determinar enfermedades y hasta en qué punto exacto se encuentra, por eso es importante que los estudiantes de esta carrera estén más informados sobre las nuevas técnicas y manejos de estas para poder en algún momento si es necesario aplicarlas.

Por esta razón se recomienda:

1. Ampliar el conocimiento sobre estas técnicas para una mejor formación del histotecnólogo en la Universidad de Carabobo.
2. Actualizar el pensum de la carrera donde incluyan nuevas materias donde se conozcan estas nuevas técnicas y procesos que permitan explorar el amplio campo de la carrera además de un nuevo aporte en la medicina de Venezuela.
3. Incentivar a los bachilleres la importancia de investigar constantemente las nuevas técnicas que se pueden aplicar en la Histotecnología.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Posada-Swafford A. (2014) “Osamu Shimomura y la medusa de cristal” Revista ¿Cómo Ves? de divulgación científica de la Universidad Nacional Autónoma de México Nro. 187. [en línea] [Citado 20 Mayo 2015]. Disponible en: <http://www.comoves.unam.mx/numeros/articulo/187/osamu-shimomura-y-la-medusa-de-cristal>
2. Sáenz C, Nevarez G (2010) Acta Química Mexicana. Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila Volumen 2 Nro. 3. “La bioluminiscencia de organismo marinos y su potencial biotecnológico” [Citado 21 Mayo 2015] Disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%203/AQM3BIOLUMINISCENCIA.html>
3. Lucas J, 2009. Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa” (CBM “SO”, CSIC/UAM) y Centro de Investigación Biomedica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CiberNed, Instituto de Salud Carlos III) “El descubrimiento de las proteínas fluorescentes y su utilidad en las investigaciones biomédica (Premio Nobel de Química de 2008). Pp: 99-112. [Citado 25 Junio 2015] Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/925/908>
4. Daugherty S, (2015), revista National Geographic en español [en línea] “Ver como pez” [Citado 21 Mayo 2015] Disponible en: <http://www.ngenespanol.com/fotografia/lo-mas/14/10/20/ver-pez>
5. Pérez M, Becu-Villalobos D. Instituto de biología y medicina experimental. IBYME CONICET, Buenos Aires. “La proteína fluorescente ilumina la biociencia” [Citado 22 Mayo 2015] Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802009000400015
6. Jaramilo J. 2014, revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo Leon. Vol. 17 Nro.65 “El brillo que ilumina a la ciencia” [Citado 22 Mayo 2015] Disponible en: <http://cienciauanl.uanl.mx/?p=832>

7. Gómez S, Gómez D, Gómez A, Gómez S, Gómez R, Vilches M. “Impacto de las proteínas fluorescentes en la biología molecular.” [en línea] [Citado 24 de Mayo 201] Disponible en: <https://quimica-biologia-12-13.wikispaces.com/Impacto+de+las+prote%C3%ADnas+fluorescentes+en+labiolog%C3%ADa+molecular>
8. Figueras A. 2008. MIOD, ciencia marina y otros asuntos, Vigo España. “Premio Nobel para las medusas” [en línea] [Citado 25 Mayo 2015] Disponible en: http://www.madrimasd.org/blogs/ciencia_marina/2008/10/28/105107
9. Revista Muy Interesante “Gatos transgénicos y fluorescentes ayudarán a combatir el sida” [en línea] [Citado 25 Mayo 2015] Disponible en: <http://www.muyinteresante.es/ciencia/articulo/gatos-transgenicos-y-fluorescentes-ayudaran-a-combatir-el-sida>
10. Nobel-Fundation 2008. “The Nobel Prize in Chemistry 2008”. The royal Swedish Academy of Sciences. [Citado 25 Mayo 2015] Disponible en: http://www.nobelpize.org/nobel_prizes/nobelguide_che.pdf
11. Program in neuroscience Harvard “Lichtman J, MD, PhD” [Citado 20 Junio 2015] Disponible en: <http://www.hms.harvard.edu/dms/neuroscience/fac/lichtman.php>
12. López C, 2009. “Erase una vez un ratoncito llamado BRAINBOW...” [Citado 21 Junio 2015] Disponible en: http://www.experienciadocet.com/2009_06_01_archive.html
13. Conte Center Harvard, Developmental Origins Of Mental Illness “Lichtman J, and Brainbow” [Citado 21 Junio 2015] Disponible en: <http://www.conte.harvard.edu/investigators/jeff-lichtman-md-phd/>
14. López, A. “El arco iris del cerebro”. El mundo. [Citado 21 Junio 2015] Disponible en: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2007/11/02/neurociencia/1193990922.html>
15. Romá, C. “Pintando el cerebro (2/2): más allá del arco iris. Hablando de ciencia”. [Citado 21 Junio 2015] Disponible en: <http://www.hablandodeciencia.com/articulos/2012/02/20/pintando-el-cerebro-22-mas-alla-del-arco-iris/>

16. Franco A, Longart M “Aplicaciones de la proteína verde fluorescente (GFP) en la biología celular y en la visualización del sistema nervioso”. RET revista de estudios transdisciplinarios 2009, Vol. 1 Nro.2, pp 84-96. Fundación Instituto de estudios avanzados Caracas, Venezuela. [Citado 22 Junio 2015] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1792/179214945007.pdf>
17. Olives A, Del Castillo B, Martin A, Laboratorio de Técnicas Instrumentales, S. D. Química Analítica. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid (España). “Técnicas analíticas luminiscentes y de separación aplicadas a la diferenciación y cuantificación de biomarcadores.” [Citado 23 Junio 2015] Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1067/1064>
18. Welter K, Alemania (2008), avances en química, “La proteína verde fluorescente: una herramienta valiosa en la biomedicina” [Citado 23 Junio 2015] Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/26590/1/articulo4.pdf>
19. Proverbio F, Marín R; Las Proteínas, bioelementos y biomoléculas. A. Lahman, E. Tineo, editoras; Biología 9^{no} Año. Editorial: Santillana. 2da ed. Quebecor World Perú S.A. Lima- Perú; p.27.
20. EcuRed. “bioluminiscencia” [en línea] [Citado 24 Junio 2015] Disponible en: <http://www.ecured.cu/index.php/Bioluminiscencia>
21. Howard H. Seliger, William D. McElroy. Light: Physical and Biological Action. Academic Press, New York, 1965. 417 pp.
22. González F, 2014. Blog de divulgación científica, Ciencias biosanitarias para todos. “La bioluminiscencia y otras luces” [Citado 24 Junio 2015] Disponible en: <http://gonzalez-camacho.blogspot.com/2014/09/la-bioluminiscencia-y-otras-luces.html>
23. EcuRed. “ Osamu Shimomura” [en línea] [Citado 25 Junio 2015] Disponible en: http://www.ecured.cu/index.php/Osamu_Shimomura

24. Pereira Vega, Zacarías. “Martin Chalfie y la proteína verde fluorescente” RepositorioTec, TEC Tecnológico De La Costa [en línea] [Citado 25 Junio 2015] Disponible en: <http://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/4530>
25. Revista Muy Interesante “Osamu Shimomura: Entender por qué algunos animales emiten luz es clave para la ciencia” [en línea] [Citado 25 Junio 2015] Disponible en: <http://www.muyinteresante.es/ciencia/articulo/osamu-shimomura-entender-por-que-algunos-animales-emiten-luz-es-clave-para-la-ciencia>
26. Gómez S, Gómez D, Gómez A. Impacto de las proteínas fluorescentes en la biología molecular [en línea] [Citado 29 Junio 2015] Disponible en: <https://quimica-biologia-12-13.wikispaces.com/Impacto+de+las+prote%C3%ADnas+fluorescentes+en+labiolog%C3%ADa+molecular>
27. Una nueva proteína fluorescente tres veces más brillante que las otras [en línea] [Citado 29 Junio 2015] Disponible en: <http://kerchak.com/una-nueva-proteina-fluorescente-tres-veces-mas-brillante-que-las-otras/>