

**MOLÉCULAS MOTORAS Y TRÁFICO DE MEMBRANA:
ELABORACIÓN DE UNA ANIMACIÓN 3D Y SU
INCORPORACIÓN A LA METODOLOGÍA DOCENTE**

**MOLECULAR MOTORS AND MEMBRANE TRAFFICKING:
DEVELOPMENT OF A 3D ANIMATION AND ITS USE IN
TEACHING METHODOLOGY**

Agustín Valenzuela Fernández (**Autor principal**)

avalenzu@ull.edu.es

David Reyes Zamudo

ollirama3d@gmail.com

Daniel Blanco Ruiz

danielblanco3d@gmail.com

Esteban Manuel Amador García

e_amador@hotmail.com

Valentín Tinguaro Díaz Alemán

vtdac@hotmail.com

Manuel Drago Díaz Alemán

dragodiaz@gmail.com

Universidad de La Laguna, Laboratorio Diseño y
Fabricación Digital (SciArt3D-FabLabULL), España

RESUMEN

En el área de conocimiento Biomedicina, respecto de la dinámica de tráfico o transporte vesicular mediado por moléculas motoras, el alumno necesita comprender los objetivos mediante la adquisición de conocimiento por visualización espacio-temporal en 3D, de dicho proceso biológico complejo. En este sentido, la creación de material gráfico de animación 3D para ilustrar de forma pedagógica, y con el mayor rigor científico, las funciones y procesos que ocurren en el interior de las células del sistema inmune, relacionados con moléculas motoras en el transporte y movimiento de vesículas intracelulares, es de importancia para la comprensión de estos procesos y funciones biológicas. Este movimiento motor, por ejemplo, localizado en la membrana plasmática celular, representa la mayor ruta de entrada e infección de muchos patógenos asociados con las Enfermedades Infecciosas (de virus y bacterias) consideradas un problema mayor de salud pública (VIH-1, Zika, Dengue, malaria, etc.). En este capítulo se presenta el proyecto desarrollado a tal efecto, mediante la incorporación de tecnologías gráficas avanzadas al servicio de la animación 3D. Este nuevo material didáctico ha sido realizado por el equipo de científicos, modeladores y expertos en tecnologías gráficas 3D del Laboratorio de Diseño y Fabricación Digital de la ULL (**SciArt3D-FabLabULL**), que cuenta entre sus miembros con científicos y con expertos en tecnologías gráficas 3D del Laboratorio de Diseño y Fabricación Digital de la ULL.

PALABRAS CLAVE: Tráfico vesicular; Transporte biológico intracelular; Herramientas 3D; Animación 3D; Innovación educativa en Biomedicina.

ABSTRACT

In Biomedicine, regarding the traffic dynamics or vesicular transport mediated by molecular motors, the student needs to understand this complex biological processes through the acquisition of knowledge by spatiotemporal visualization in 3D. In this sense, the creation of graphic material of 3D animation to illustrate in a pedagogical way, and with the highest scientific rigor, the functions and processes that occur inside the cells of the immune system, related to molecular motors in transport and movement of intracellular vesicles, is of importance for the understanding of these biological processes and functions. This motor movement, for example, occurred at cell-plasma membrane, represents a major route of entry and infection of many pathogens associated with Infectious Diseases (i.e., viruses and bacteria), which are considered a major public health problem (HIV-1, Zika, Dengue, malaria, etc.). In this chapter, the project developed for this purpose is presented, through the incorporation of advanced graphic technologies in a new 3D animation. This new didactic material has been made by the team of scientists, modelers and experts in 3D graphic technologies of the ULL Digital Design and Manufacturing Laboratory (**SciArt3D-FabLabULL**), a team of scientists and experts in 3D graphic technologies from the ULL Digital Design and Manufacturing Laboratory.

KEYWORDS: Vesicular traffic. Intracellular biological transport. 3D tools. 3D Animation. Educational innovation in Biomedicine.

INTRODUCCIÓN

En el área de conocimiento, y unidades didácticas relacionadas con la formación de tercer ciclo, posgrado (máster y doctorado), en Enfermedades Infecciosas, Inmunología, Biología Celular y Molecular, el alumno necesita de una comprensión correcta y no ambigua de los objetivos a alcanzar. En cuanto a procesos biológicos complejos y que ocurren, además, de forma espacio-temporal. Nuestro grupo multidisciplinar **SciArt3D-FabLabULL** propone nuevas e innovadoras herramientas educativas para tal objeto, desarrolladas mediante la incorporación de tecnologías gráficas avanzadas y el uso de la animación 3D (<https://vimeo.com/sciart3dfablull>).

En este caso, el fin es permitir la adquisición del conocimiento, por visualización dinámica en 3D de los procesos biológicos que ocurren en el contexto del transporte de membranas (vesículas) por moléculas motoras unidas al citoesqueleto celular de tubulina; proceso clave en la invasión e infección por microorganismos como ocurre en el caso de los virus y bacterias.

En este ámbito formativo, las herramientas de representación gráfica que hacen uso de la animación 3D son escasas o inexistentes. Así, por vez primera, desarrollamos material de animación 3D para ilustrar de forma pedagógica y con el mayor rigor científico la función de transporte vesicular realizada por las moléculas motoras y de forma dependiente de citoesqueleto, procesos claves durante la infección por muchos patógenos.

En las asignaturas relacionadas con el aprendizaje y enseñanza de las funciones intracelulares, tanto en la homeostasis como en la patología, son muy escasos los recursos y herramientas pedagógicas que expliquen la bioquímica estructural y la dinámica de las proteínas motoras transportando vesículas a lo largo de los microtúbulos celulares; y los que se encuentran, generalmente, están diseñados para otros fines distintos a los objetivos concretos de este tipo de asignaturas. Así, por vez primera, el equipo **SciArt3D-FabLabULL** ha desarrollado material de animación 3D para ilustrar, de forma pedagógica y con el mayor rigor científico, la función de transporte vesicular realizada por las moléculas motoras y de forma dependiente de citoesqueleto: eventos claves durante el proceso de infección que realizan muchos patógenos. Además, esta herramienta ha permitido el refuerzo del aprendizaje razonado, por parte del alumno, de las diferentes estrategias terapéuticas que inhiben el proceso de infección por microorganismos, fundamentadas en la inhibición de estas moléculas motoras y del transporte celular (Cohn et al. 2017), o su aplicación en otras terapias, como el empleo de estos inhibidores en cáncer renal avanzado (Lee et al. 2008).

IMPORTANCIA DEL CITOESQUELETO DE TUBULINA EN LA ORGANIZACIÓN CELULAR

El citoesqueleto es una estructura que ayuda a las células a mantener su forma y organización interna, y también proporciona soporte mecánico que permite a las células realizar funciones esenciales como división y movimiento (Granger et al. 2014). No hay un único componente del citoesqueleto. Por el contrario, varios componentes diferentes trabajan juntos para formar el citoesqueleto, como son: el citoesqueleto de tubulina (microtúbulos), el de actina (filamentos de actina) y el intermedio (ejs.: vimentina, keratina) (Granger et al. 2014). En su conjunto, el citoesqueleto de células eucariotas (con núcleo) está constituido por proteínas filamentosas. Así, los microtúbulos constituyen el tipo más grande de filamento, con un diámetro de aproximadamente 25 nanómetros (nm), y están compuestos por una proteína llamada tubulina (en sus tres tipos principales: alpha, beta y gamma) (Findeisen et al. 2014). Los filamentos de actina son del tipo más pequeño, con un diámetro de solo alrededor de 6 nm, y están hechos de una proteína llamada actina (en sus tres tipos principales: alpha, beta y gamma) (Vandekerckhove & Weber. 1978). Los filamentos intermedios, como su nombre indica, son medianos, con un diámetro de aproximadamente 10 nm. A diferencia de los filamentos de actina y los microtúbulos, los filamentos intermedios se construyen a partir de varias proteínas de subunidades diferentes (Herrmann et al. 2007).

El citoesqueleto de tubulina, ordenándose desde el centro organizador de microtúbulos (MTOC o centrosoma), adyacente al núcleo, proporciona soporte mecánico a la célula, organizando espacial y funcionalmente a sus constituyentes citoplásmicos, como mitocondrias, vesículas de importe y exporte, aparato de Golgi y núcleo, entre otros componentes u organelas (Figura 1) (Brinkley. 1985; Thomas. 1990; Susan & Davis. 1999).

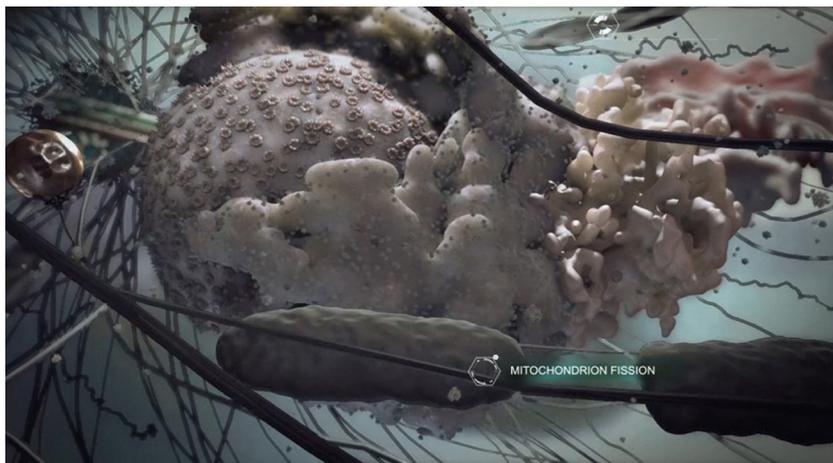


Figura 1. Los microtúbulos organizan el interior celular, desde el núcleo a la membrana plasmática.

MOLÉCULAS MOTORAS: MOVIMIENTO INTRACELULAR

Los microtúbulos promueven el transporte intracelular de forma dependiente de su polaridad de crecimiento intrínseca. Así, los microtúbulos poseen: un extremo dinámico que crece a mayor velocidad (extremo +), y que, en la mayoría de las células, crece hacia la periferia (membrana plasmática); y un extremo negativo (extremo -) que está anclado en el MTOC, normalmente ubicado cerca del núcleo en las células que no se dividen (Granger et al. 2014). Los microtúbulos constituyen, de hecho, las «vías» por las que los cargos se desplazan intracelularmente, gracias a que se asocian a moléculas motoras que están unidas a los microtúbulos y se mueven sobre ellos, en sentido (+) o (-). Existen dos tipos de motores: las kinesinas (Figura 2) que, con algunas excepciones, se mueven hacia los extremos (+) (Kull & Endow 2013), y las dineínas (Figura 3) que se mueven hacia los extremos (-) (Allan 2011).



Figura 2. Molécula motora kinesina transportando una vesícula en el sentido de crecimiento de los microtúbulos; es decir, hacia el extremo (+) orientado hacia la membrana plasmática celular.

El citoesqueleto y los motores son esenciales para mantener la distribución espacial de los compartimentos endocíticos dentro de las células, y actúan en puntos cruciales para facilitar los pasos de transporte tales como la remodelación de la membrana, la formación del portador y la clasificación de la carga (Granger et al. 2014). Paradójicamente, las condiciones experimentales que alteran profundamente el posicionamiento y la motilidad de las membranas a menudo tienen solo una consecuencia menor para la eficacia global de las funciones endocíticas, como el reciclado de receptores o la administración lisosómica, al menos en modelos de células en cultivo (They et al. 2009).

Esto sugiere que otros pasos de transporte limitan la velocidad en estas células, donde las distancias entre compartimentos son generalmente cortas, y de hecho a menudo se reducen mediante intervenciones tales como la interrupción del motor de los microtúbulos.



Figura 3. Molécula motora dineína transportando una vesícula sobre los microtúbulos hacia el extremo (-) de crecimiento, orientado hacia el MTOC, localizado de forma perinuclear.

En los sistemas fisiológicos, sin embargo, es probable que el movimiento y la distribución espacial de los endosomas, gracias a la acción de transporte de las moléculas motoras, estén finamente sintonizados y sean críticos para la función celular. Este es claramente el caso en células altamente polarizadas como las neuronas, donde el transporte motor de los endosomas y/o lisosomas es esencial para procesos como la ramificación dendrítica (Sato et al. 2008), el transporte de factores de supervivencia o la protección contra la toxicidad vinculada a la neurodegeneración (revisado en Granger et al. 2014).

El control del posicionamiento de las vesículas endocíticas, gracias también a la unión de estos cargos a las moléculas motoras, también es crucial para procesos espacialmente complejos como la división celular asimétrica durante la embriogénesis y el desarrollo de tejidos, y el reciclado dirigido de los componentes de la membrana plasmática durante la migración celular (revisado en Granger et al. 2014).

ANIMACIÓN 3D DE MOLÉCULAS MOTORAS: VISUALIZANDO LA FUNCIÓN EN MOVIMIENTO

En este artículo, se muestran parte de las imágenes que ilustran los conceptos relacionados con el tema «Moléculas motoras y tráfico de membrana: elaboración de una animación 3D y su incorpo-

ración a la metodología docente», y que se encuentran recogidos en la Animación 3D creada a tal efecto como herramienta de innovación educativa (<https://vimeo.com/sciart3dfablabbull/motormolecules>).

El proyecto se ha desarrollado mediante la incorporación de tecnologías gráficas avanzadas en el uso de la animación 3D. Este nuevo material didáctico se ha realizado en coordinación con el equipo **SciArt3D-FabLabULL** del que forman parte modeladores y animadores 3D, expertos en tecnologías gráficas avanzadas del Laboratorio de Diseño y Fabricación Digital y científicos de la ULL.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En el estudio de los mecanismos de invasión por patógenos (virus, bacterias, parásitos), esta Animación 3D ha permitido la visualización a nivel molecular y dinámica las funciones celulares reguladas por el citoesqueleto de tubulina, así como la función del citoesqueleto celular en la infección por patógenos, como uno de los eventos biológicos clave en la infección por microorganismos y en el contexto de las Enfermedades Tropicales. Ayudando además al alumnado en la comprensión de las potenciales estrategias farmacológicas a desarrollar en la lucha contra estas infecciones.

En definitiva, esta animación 3D realizada ha permitido una mejor comprensión conceptual del proceso biológico, complejo, de transporte y movimiento de vesículas intracelulares mediado por moléculas motoras, a nivel dinámico y espacio-temporal en el interior celular. Mejorando la formación global de los estudiantes en el tema y la adquisición de competencias teóricas en esta área avanzada de conocimiento, y en la Asignatura «Mecanismos de invasión por patógenos (virus, bacterias, parásitos)» del Master Universitario MI-DETROP. Además, se ha favorecido la planificación, organización y desarrollo de los objetivos de esta temática y de la práctica docente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allan, V. (2011) Cytoplasmic dynein. *Biochemical Society Transactions*, 39, 1169
- Brinkley, B.R. (1985) Microtubule Organizing Centers. *Annual Review of Cell Biology*, 1, 145-172. doi:10.1146/annurev.cb.01.110185.001045.
- Cohn, D.E., Sill, M.W., Walker, J.L., O'Malley, D., Nagel, C.I., Rutledge, T.L., Bradley, W., Richardson, D.L., Moxley, K.M., & Aghajanian, C. (2017) Randomized phase IIB evaluation of weekly paclitaxel versus weekly paclitaxel with oncolytic reovirus (Reolysin®) in recurrent ovarian, tubal, or peritoneal cancer: An NRG Oncology/

Gynecologic Oncology Group study. *Gynecologic Oncology*, 146(3), 477-483. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.07.135.

Findeisen, P., Mühlhausen, S., Dempewolf, S., Hertzog, J., Zietlow, A., Carlomagno, T., & Kollmar, M. (2014) Six subgroups and extensive recent duplications characterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family. *Genome Biology and Evolution*, 6, 2274-2288.

GRANGER, E., MCNEE, G., ALLAN, V., & WOODMAN, P. (2014) The role of the cytoskeleton and molecular motors in endosomal dynamics. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 31(100), 20-29. doi: 10.1016/j.semcd.2014.04.011

HERRMANN, H., BÄR, H., KREPLAK, L., STRELKOV, S.V., & Aebi, U. (2007) Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(7), 562-73. doi:10.1038/nrm2197.

KULL, F.J., & ENDOW, S.A. (2013) Force generation by kinesin and myosin cytoskeletal motor proteins. *Journal of Cell Science*, 126, 9-19.

LEE, R. T., BEEKMAN, K. E., HUSSAIN, M., DAVIS, N. B., CLARK, J. I., THOMAS, S. P., NICHOLS, K. F., & STADLER, W.M. (2008) A University of Chicago consortium phase II trial of SB-715992 in advanced renal cell cancer. *Clinical Genitourinary Cancer*, 6(1), 21-4. doi:10.3816/CGC.2008.n.003.

SATO, D., SATO, D., TSUYAMA, T., SAITO, M., OHKURA, H., & ROLLS M. M. (2008) Spatial control of branching within dendritic arbors by dynein-dependent transport of Rab5-endosomes. *Nature Cell Biology*, 10, 1164-1171.

SUSAN, F., DAVIS, T. (1999) The spindle pole body of *Saccharomyces cerevisiae*: Architecture and assembly of the core components. *Current Topics in Developmental Biology*, 49, 105-132. doi:10.1016/s0070-2153(99)49006-4.

THERY, C., OSTROWSKY, M., & SEGURA, E. (2009) Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 9(8), 581-593. doi:10.1038/nri2567.

THOMAS, K. (1990) Role of Microtubules in the Organisation of the Golgi Apparatus. *Cell Motility and Cytoskeleton*, 15, 67-70. doi:10.1002/cm.970150202.

VANDEKERCKHOVE, J., & WEBER, K. (1978) At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide. *Journal of Molecular Biology*, 126(4), 783-802. doi:10.1016/0022-2836(78)90020-7.