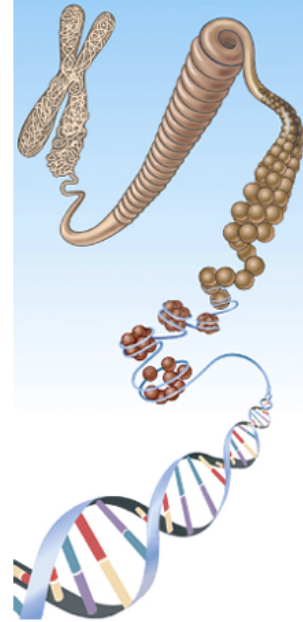


Clase 7: Núcleo

- Estructura General del Núcleo:
 - Membrana Nuclear
 - ADN, Cromatina y cromosomas
 - Nucleolo
- Replicación y transcripción del ADN



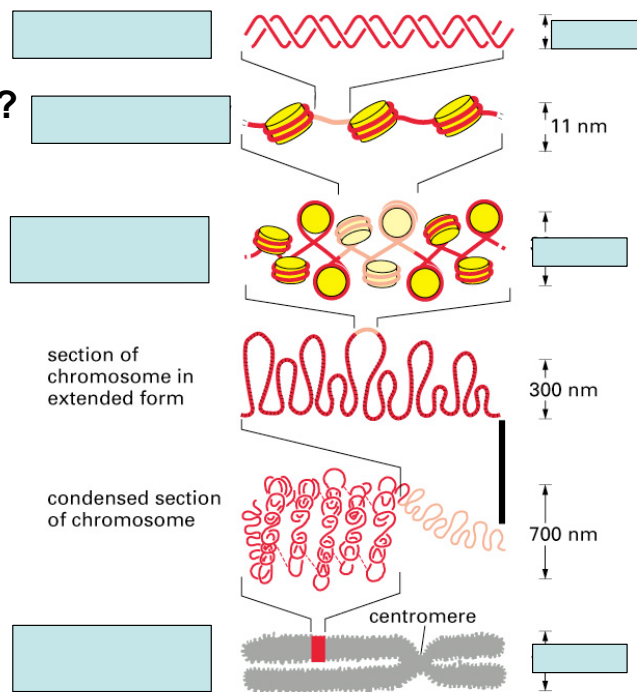
Diagnóstico

¿cómo se llama?

¿qué función cumple?

¿dónde esta?

¿qué lo compone?



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Diagnóstico:

¿cómo se llama?
¿qué función cumple?
¿dónde esta?
¿qué lo compone?

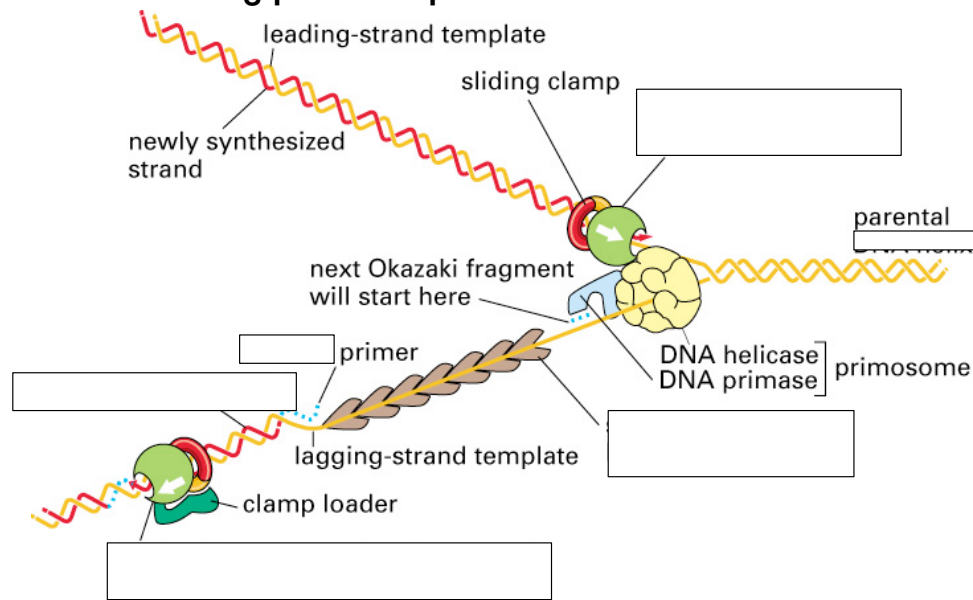


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

¿Cuál es la ventaja de subdividir la célula en diferentes compartimentos?

1. Tamaño de la célula vs. superficie de membrana disponible (tamaño de 10 a 30 veces mayor implica diferencia de volumen de 1000 a 10.000)

2. Mantener diferentes características en cada compartimento.

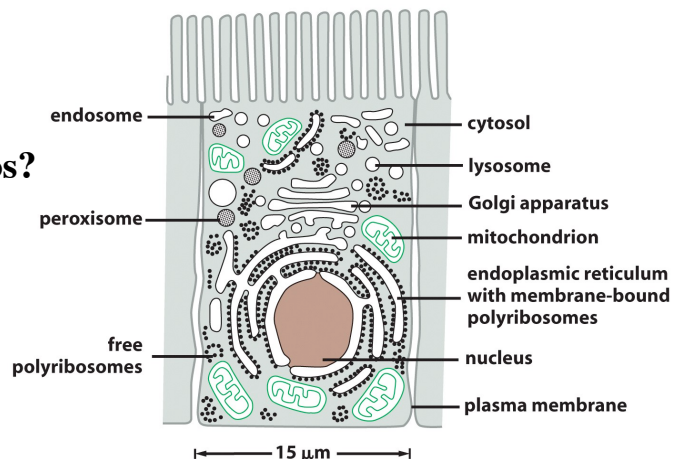


Table 12-1 Relative Volumes Occupied by the Major Intracellular Compartments in a Liver Cell (Hepatocyte)

INTRACELLULAR COMPARTMENT	PERCENTAGE OF TOTAL CELL VOLUME
Cytosol	54
Mitochondria	22
Rough ER cisternae	9
Smooth ER cisternae plus Golgi cisternae	6
Nucleus	6
Peroxisomes	1
Lysosomes	1
Endosomes	1

Figure 12-1 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

Membranas y compartimentos intracelulares:

La existencia de diferentes compartimentos implica que existen mecanismo de transporte entre ellos

1. Transporte a través de compuertas (ej. citoplasma a núcleo).
2. Transporte a través de membranas (ej. translocación de proteínas al interior del RE)
3. Transporte vesicular

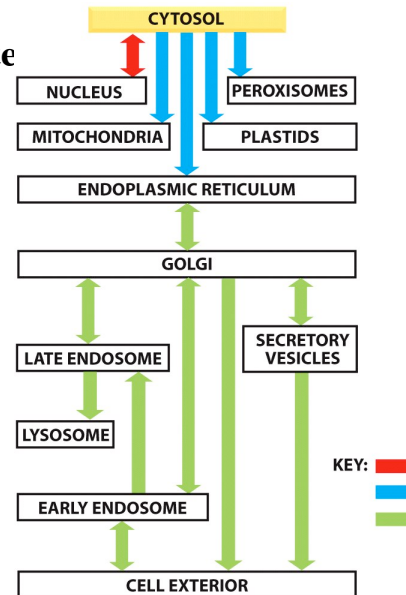
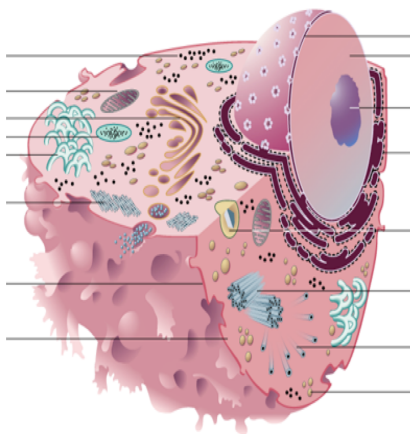


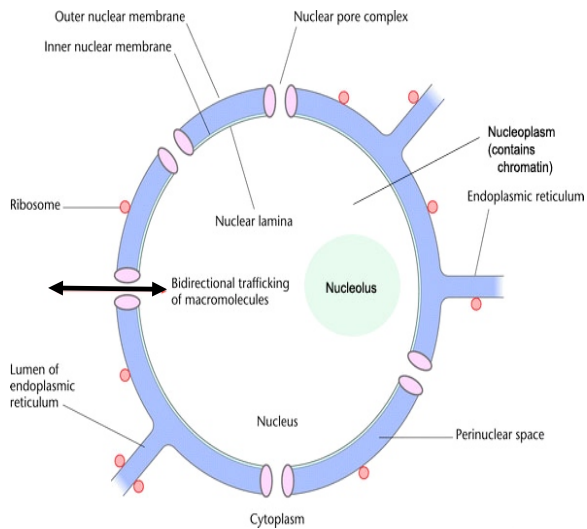
Figure 12-1 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Estructura Nuclear (obvio: células eucariontes)



- Primer organelo descrito
- La **mayoría** de las células tiene UN núcleo.
 - Enucleadas eritrocitos maduros (mamíferos)
 - Multinucleadas: 2 - 50 (músculo esquelético)
- 10% del volumen celular
- Protege el material genético, su origen es controversial.
- Envoltura nuclear:
 - membrana que rodea el núcleo, es continua con el RE.
- Poros Nucleares:
 - Regulan la entrada y salida de componentes desde el núcleo.
- Nucleoplasma - material dentro del núcleo.

Nucleo: componentes II



- **Retículo endoplásmico (ER):** comparte la membrana nuclear (espacio perinuclear); sitio de síntesis de membranas y de “inyección” de proteínas a membranas y a compartimentos para su exportación hacia fuera de las células.

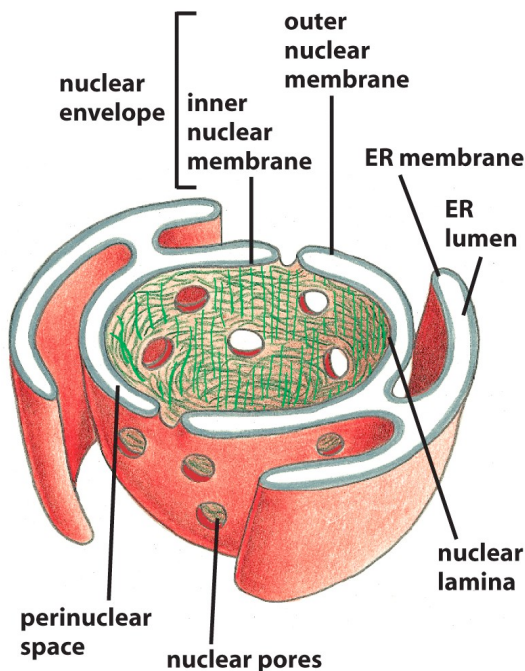
- **Poros Nucleares (complejo)** compuerta protéica que regula la entrada y salida de proteínas y mRNA.

- **Lámina Nuclear:** proteínas asociadas a la membrana nuclear que le otorgan rigidez estructural y sitios de anclaje de cromatina. (filamentos intermedios)

- **Matriz Nuclear:** andamio protéico difuso (e.g. actina)

- **Nucleoplasma:** región que contiene la cromatina/cromosomas.

nucleolo: subcompartimiento de transducción y ensamblaje de ribosomas.



- **Retículo endoplásmico (ER):** comparte la membrana nuclear (espacio perinuclear); sitio de síntesis de membranas y de “inyección” de proteínas a membranas y a compartimentos para su exportación hacia fuera de las células.

- **Poros Nucleares (complejo)** compuerta protéica que regula la entrada y salida de proteínas y mRNA.

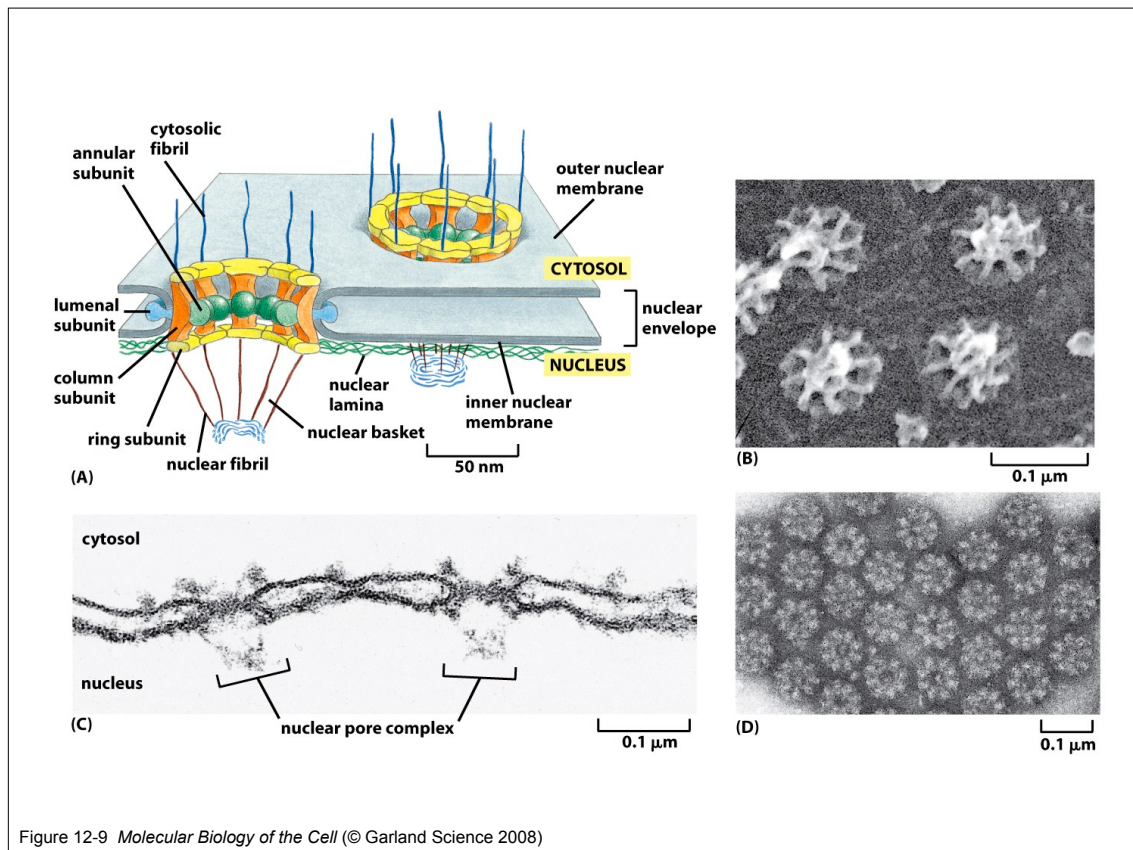
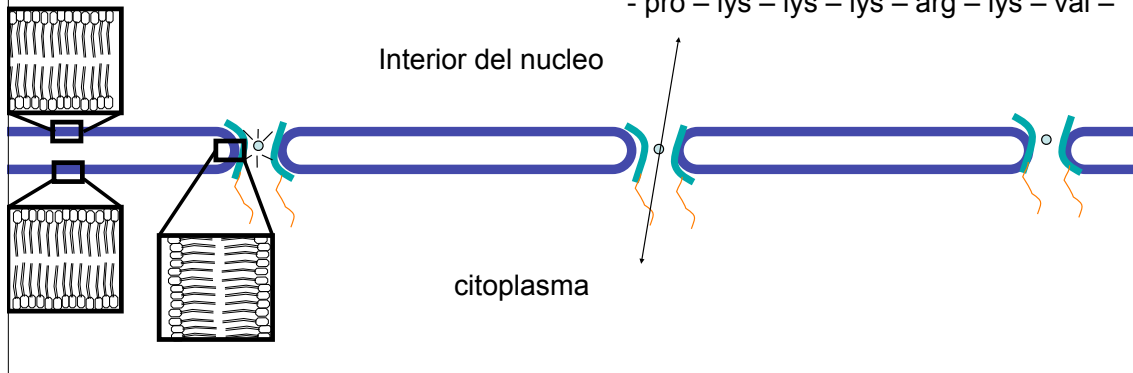
- **Lámina Nuclear:** proteínas asociadas a la membrana nuclear que le otorgan rigidez estructural y sitios de anclaje de cromatina. (**Lamininas Nucleares:** filamentos intermedios de)

- **Matriz Nuclear:** andamio protéico difuso (e.g. actina)

Poros Nucleares

¿cómo se las ingenia la célula para mover moléculas desde y hacia el núcleo?

- En el poro, las membranas externa e interna se JUNTAN, formando una apertura.
- Dicha apertura está delimitada por proteínas:
 - Al menos 100 **nucleoporinas**
 - Hay filamentos citoplasmáticos que se extienden al citoplasma.
- Moléculas transportadas:
 - ARNs (mensajeros, ribosomales y tARN) cuando están listos.
- **Proteínas: aquellas que poseen una secuencia de localización nuclear. (Nuclear Location Signal (NLS))**
 Secuencia específica de aminoácidos con cargas positivas.
 - pro – lys – lys – lys – arg – lys – val –



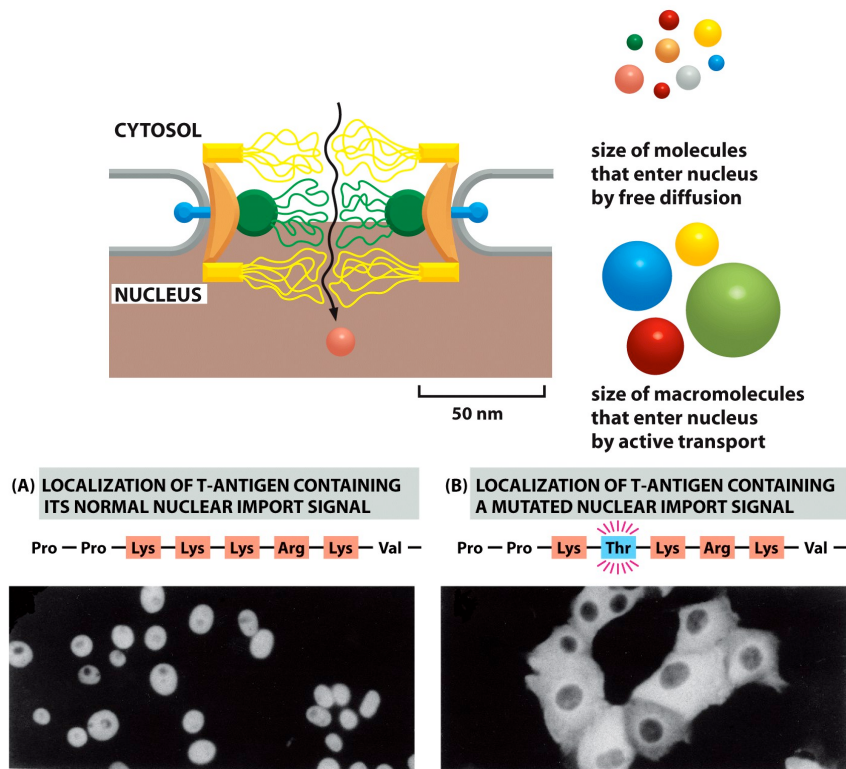


Figure 12-11 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

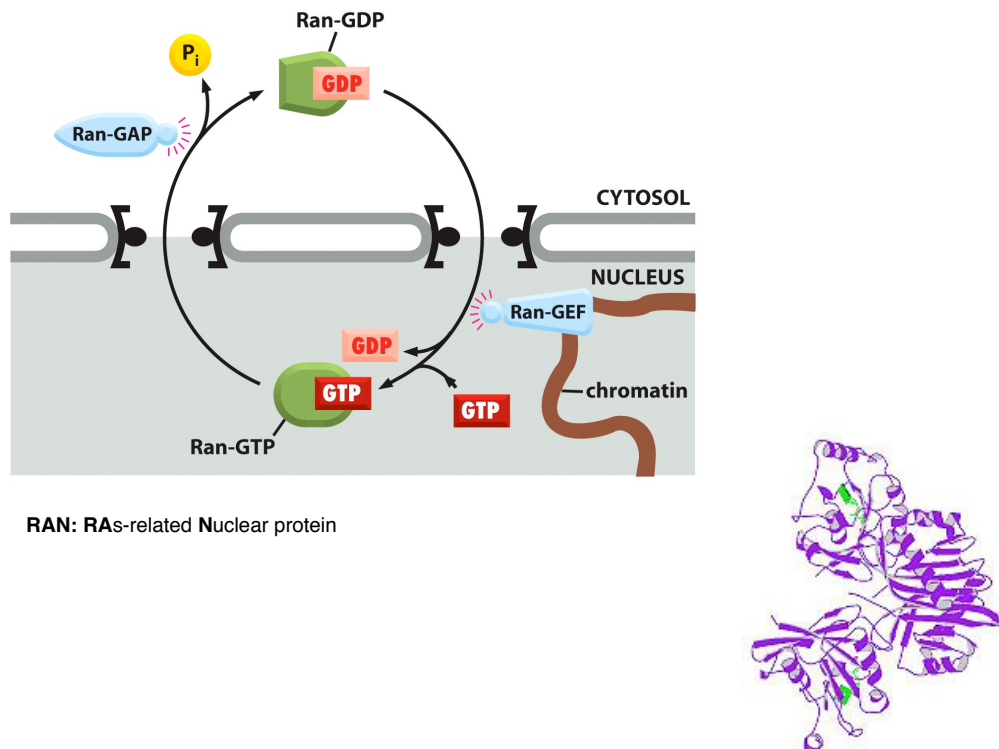


Figure 12-14 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

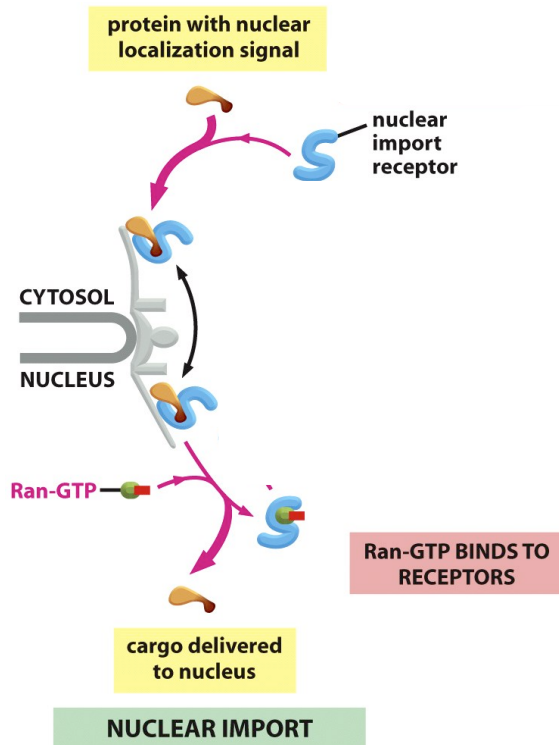


Figure 12-15 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

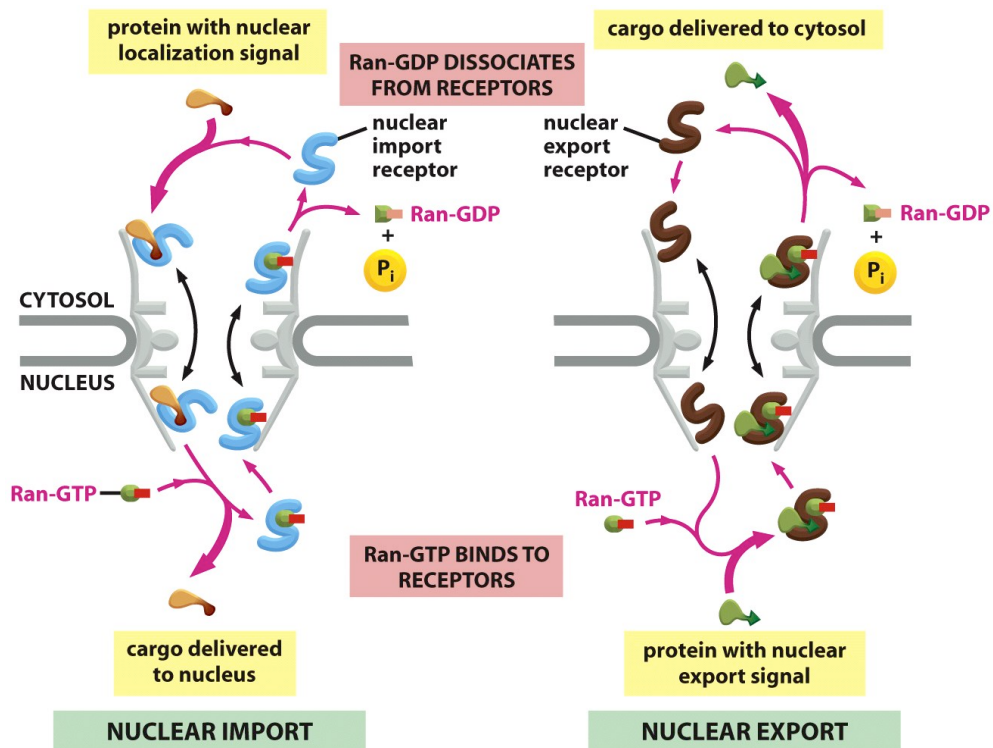
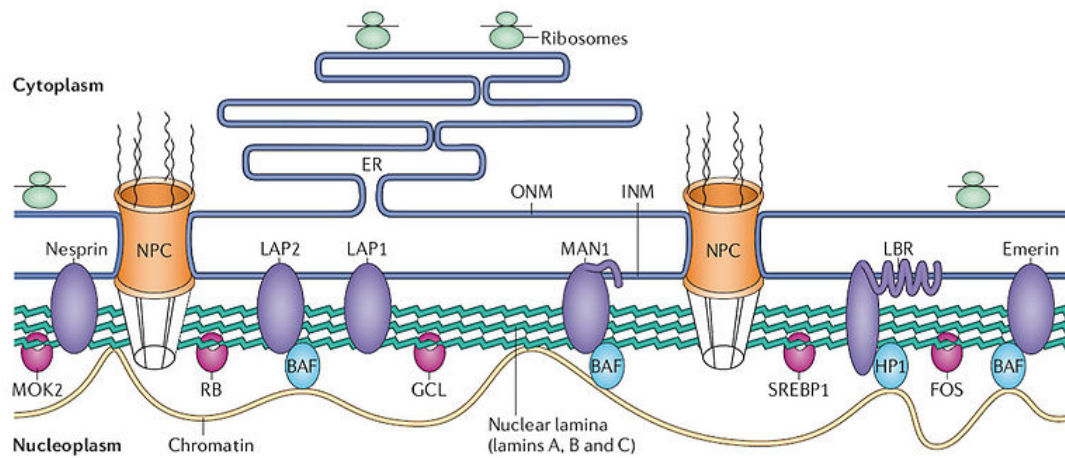


Figure 12-15 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

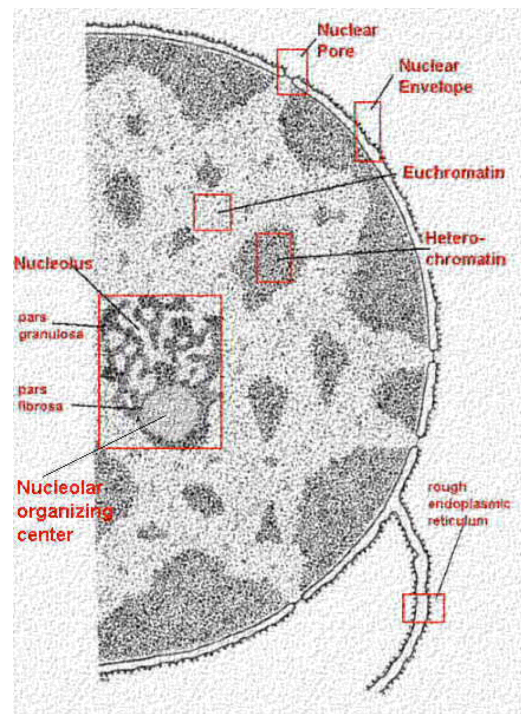


The nuclear lamina lies on the inner surface of the inner nuclear membrane (INM), where it serves to maintain nuclear stability, organize chromatin and bind nuclear pore complexes (NPCs) and a steadily growing list of nuclear envelope proteins (purple) and transcription factors (pink). Nuclear envelope proteins that are bound to the lamina include nesprin, emerlin, lamina-associated proteins 1 and 2 (LAP1 and LAP2), the lamin B receptor (LBR) and MAN1. Transcription factors that bind to the lamina include the retinoblastoma transcriptional regulator (RB), germ cell-less (GCL), sterol response element binding protein (SREBP1), FOS and MOK2. Barrier to autointegration factor (BAF) is a chromatin-associated protein that also binds to the nuclear lamina and several of the aforementioned nuclear envelope proteins. Heterochromatin protein 1 (HP1) binds both chromatin and the LBR. ONM, outer nuclear membrane

15

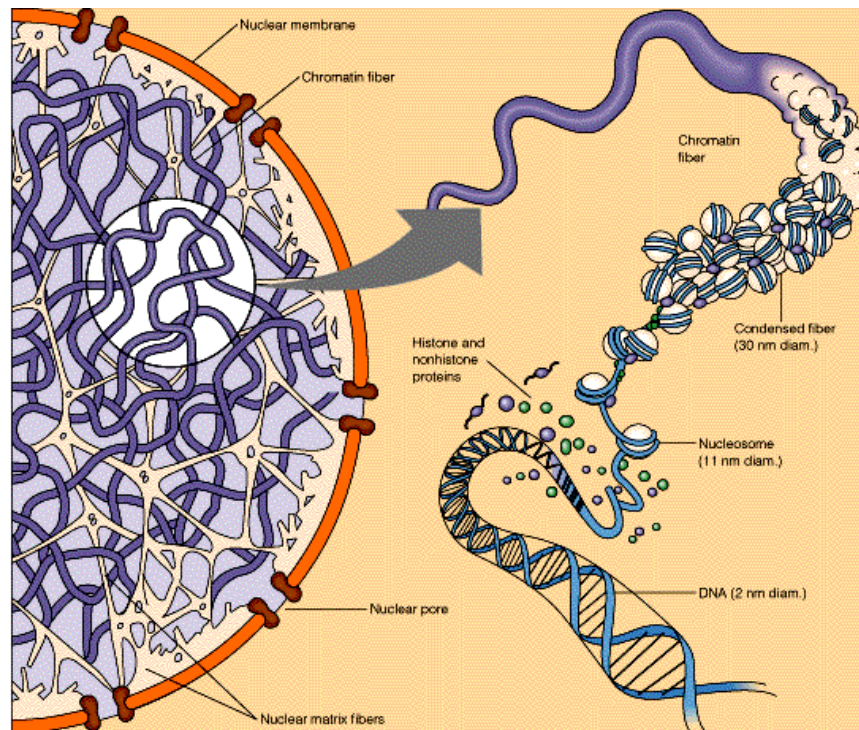
Coutinho et al. *Immunity & Ageing* 2009, **6**:4

- **Cromatina**
 - Cromatina Activa (**euromatina**) se ve clara, menos densa,
 - Cromatina Inactiva (**heterocromatina**) es más oscura (densa) localizada en la periferia del núcleo
- **Nucleolo**
 - Se observa granular
 - Transcripción de genes ribosomales y ensamblaje



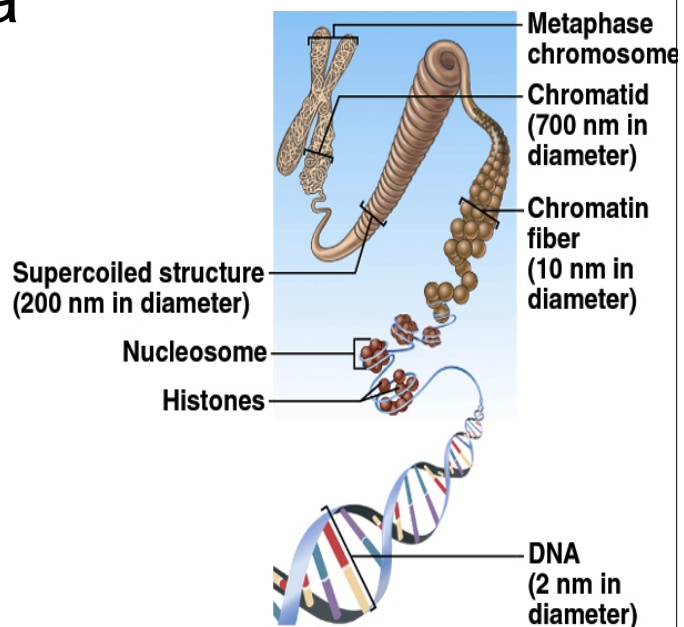
Interphase nucleus

¿Cromatina?



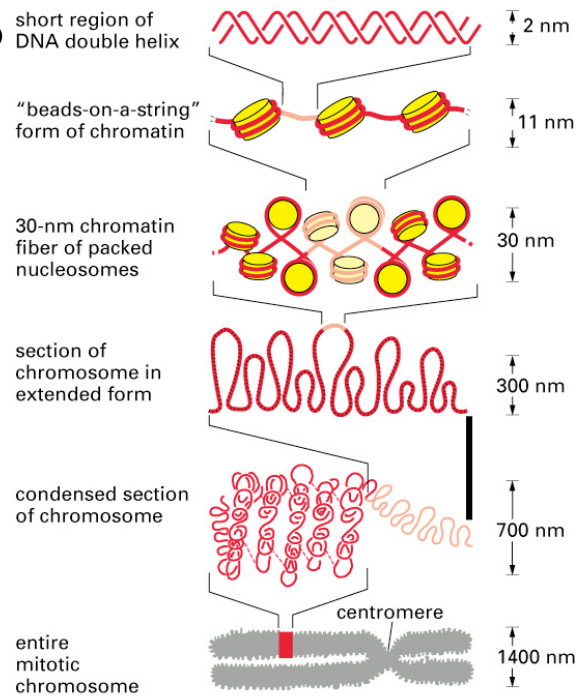
Cromatina

- ADN + proteínas asociadas (50%).
- Parece un "hilo" granular.
- Nucleosomas - grupo de 8 proteínas: histonas, donde se enrolla, protege y organiza el ADN.
- Sobre- enrollamientos permiten prepararse para la división celular.



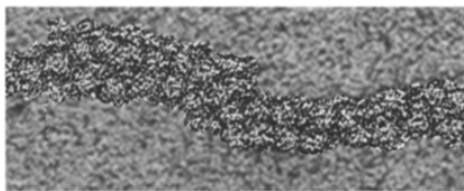
¿Para qué?

- Cada cromosoma eucariótico contienen una hebra continua de ADN (en cada célula) que puede medir 10 cm. (humano, $\sim 3.5 \times 10^8$ bp).
- Es necesario organizar y empaquetar de manera de poder manejar esta estructura.
- Esto se logra mediante diferentes niveles de sobre enrollamiento

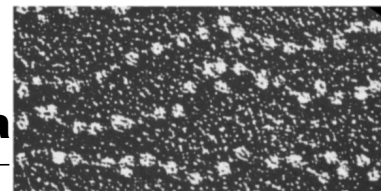


NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

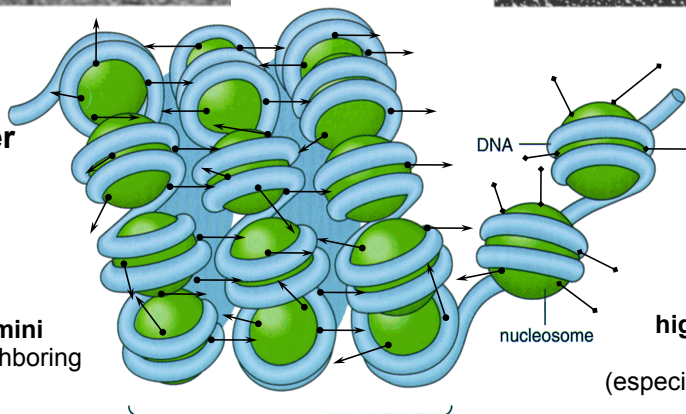


Fibras de cromatina



30 nm chromatin fiber

⊕ charged N termini
(bind DNA on neighboring nucleosomes)



11 nm (beads)

highly acetylated core histones
(especially H3 and H4)

Solenoid:

- Altos niveles de asociación mediados por histona H1 que "tiran" de los nucleosomas a un solenoide.
- NO hay transcripción génica en el solenoide

Existen zonas distendidas:

- Bajos niveles de histona H1
- Permiten transcripción génica

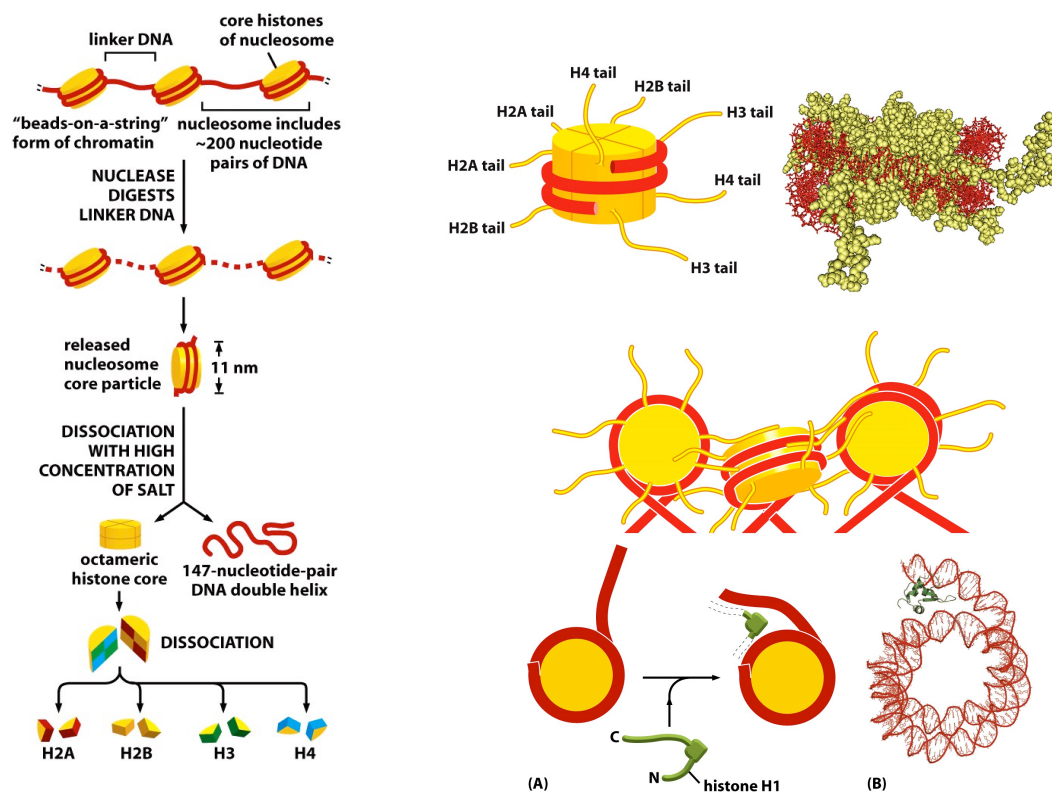
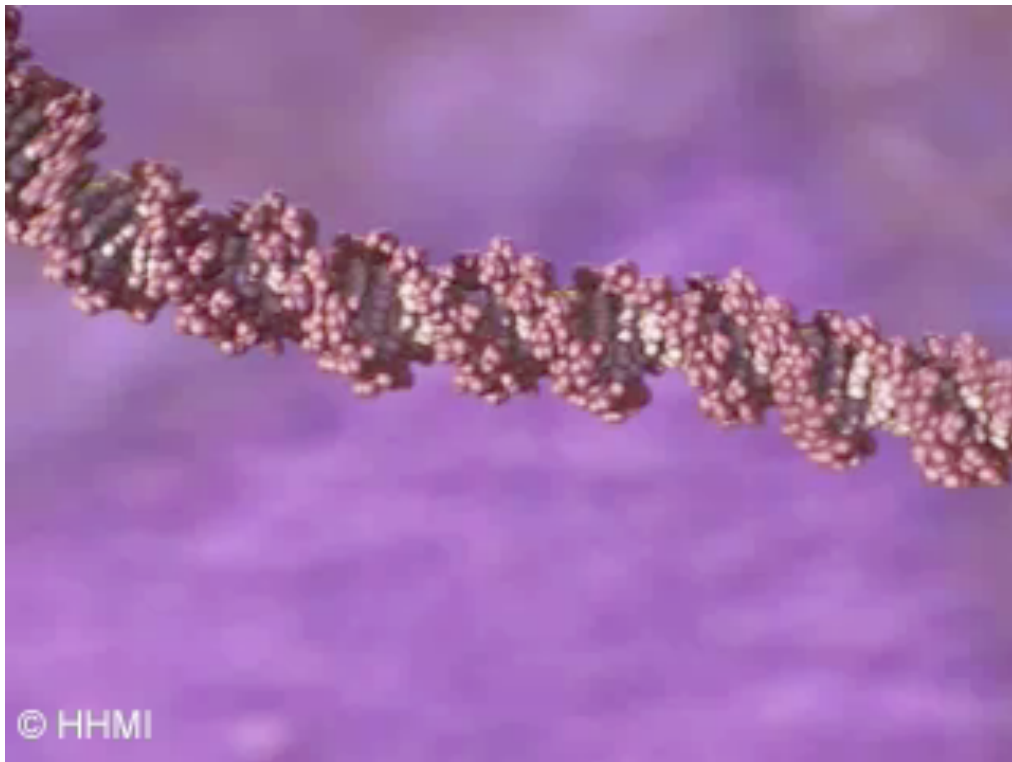
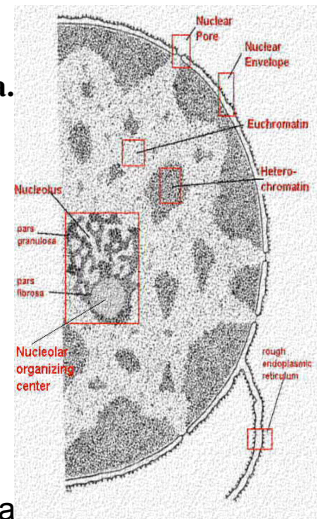


Figure 4-23 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

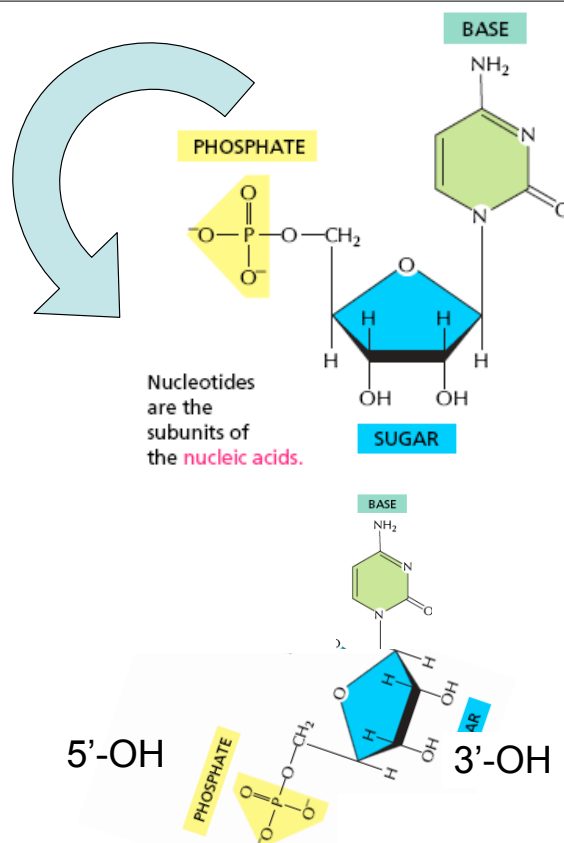
Cromosomas Interfásicos (no en división celular): Mosaicos de zonas en forma de solenoides, solenoides compactos y cintas extendidas de cromatina.

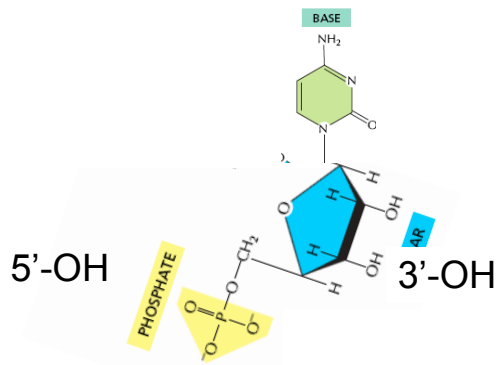
- Eucromatina
 - Cromatina Activa (**eucromatina**) se ve clara, menos densa
 - Corresponde a los “brazos” cromosomales.
 - Posee una alta densidad de genes activos.
- Heterocromatina
 - Dominios de cromatina altamente condensados a lo largo del ciclo celular.
 - Asociada o cercana de telómeros y centrómeros
 - Contiene una baja densidad de genes activos y puede silenciar genes que sean relocalizados a ella.



NUCLEOTIDOS

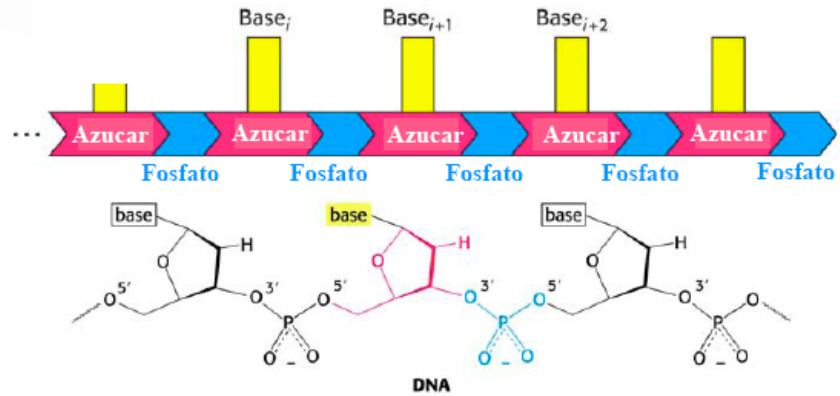
Los nucleótidos están formados por una base orgánica unida a una azúcar la que tiene 1 a 3 grupos fosfatos. Las bases pueden ser Púricas: adenina y guanina; Pirimidicas: citocina, uracilo y timina. El azúcar puede ser ribosa (ARN) o deoxiribosa (ADN)





La ADN polimerasa SOLO puede agregar nucleótidos en al lado 3'.

¿por qué?



MOLECULAR BIOLOGY – DNA replication, transcription

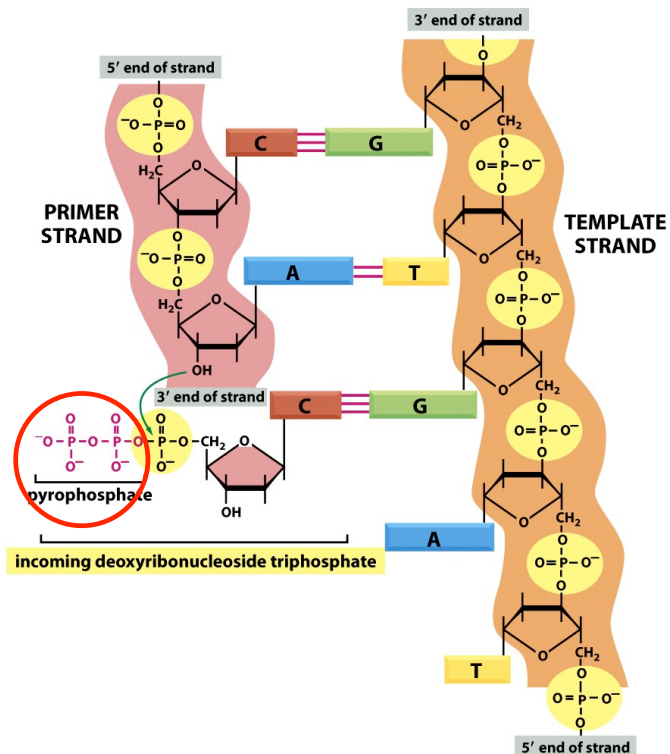
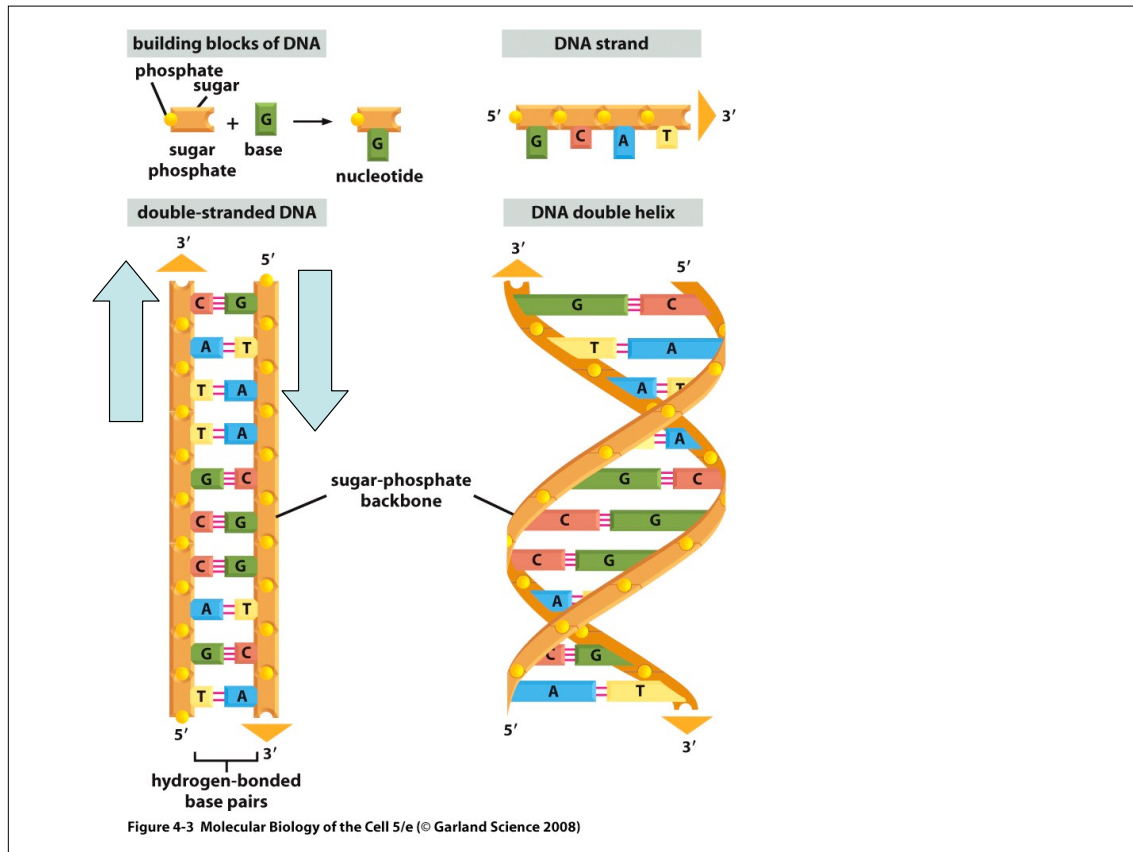
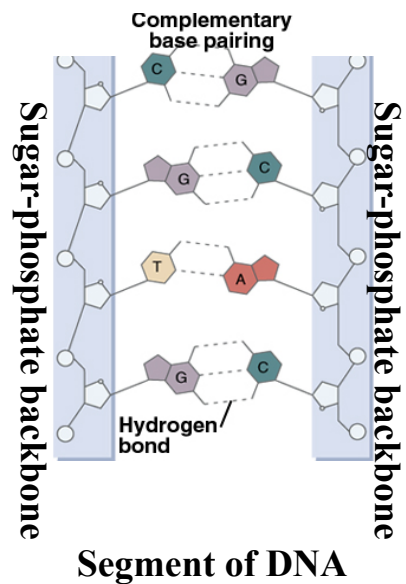


Figure 5-3 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

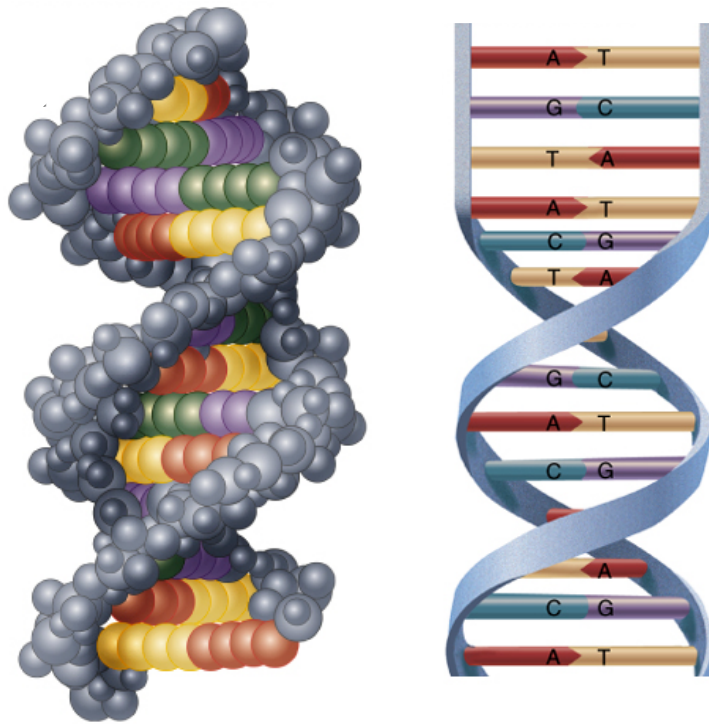


Bases complementarias y síntesis de ADN

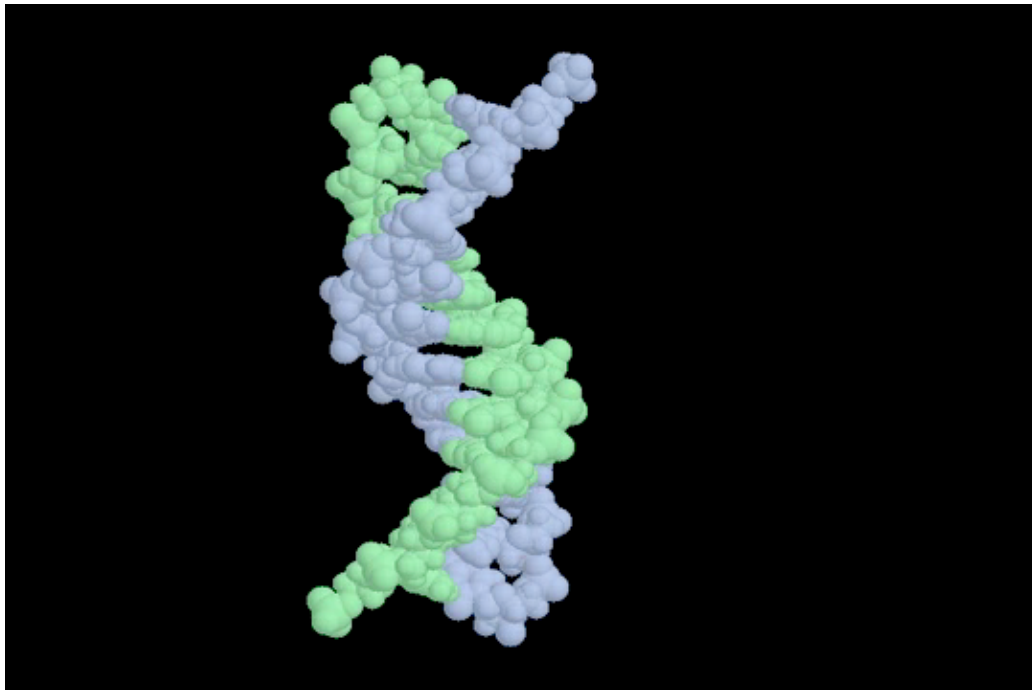
- La estructura de doble hélice es estabilizada por los puentes de hidrógenos entre las bases nitrogenadas.
- Ley de bases complementarias
 - Una hebra determina la secuencia de la otra.
 - Una nueva cadena de ADN se genera copiando la información en una hebra existente (**Molde o templado**).
 - La nueva hebra es complementaria a la antigua.
- Las subunidades se agregan una a una.
 - El nucleótido que se agrega SIEMPRE es un **tri-fosfato** que es hidrolizado a **monofosfato**.
- La nueva hebra de ADN es sintetizada en dirección del 5' al 3'.
 - el 3'-OH del último nucleótido recibirá al 5'-OH del siguiente monómero.
- En la naturaleza, la replicación del ADN depende de la ADN polimerasa.



Estructura de ADN: Una escalera retorcida



Video 2
4.1 DNA structure



Video 2₃₀
4.1 DNA structure

DNA REPLICATION

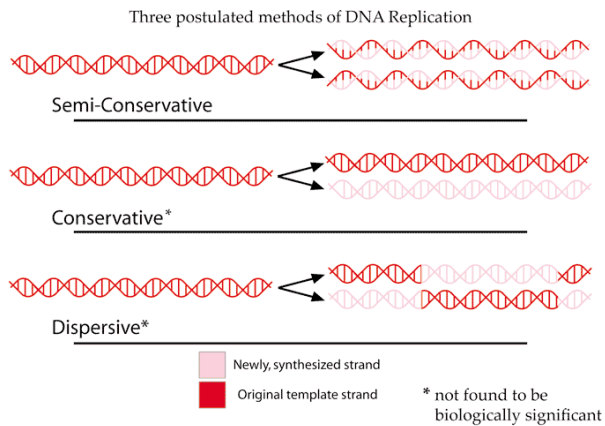
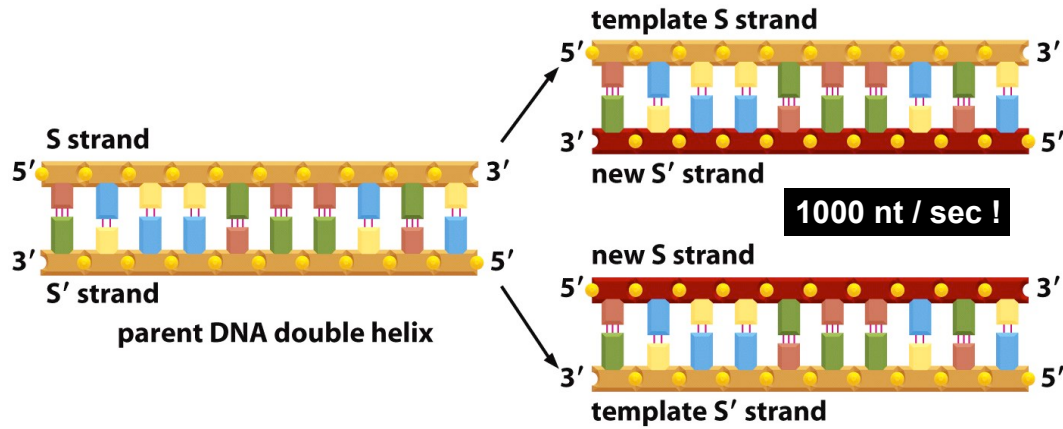


Figure 5-2 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Horquilla de REPLICACION



Primero:
Desenrollar y separar las
hebras complementarias:

Helicasa de ADN

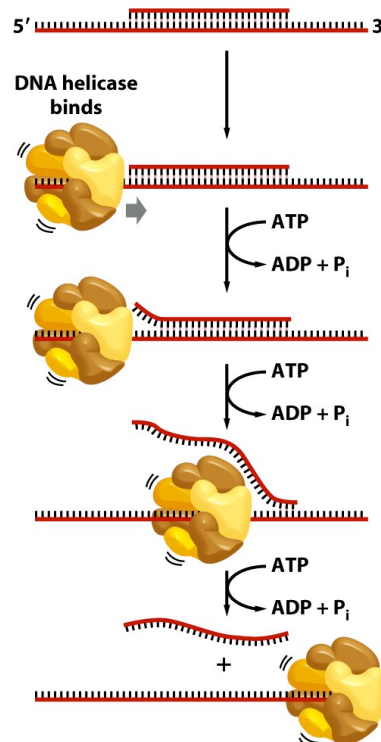


Figure 5-14 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Segundo:
Mantener la estructura lineal (proteínas de unión a hebra simple)

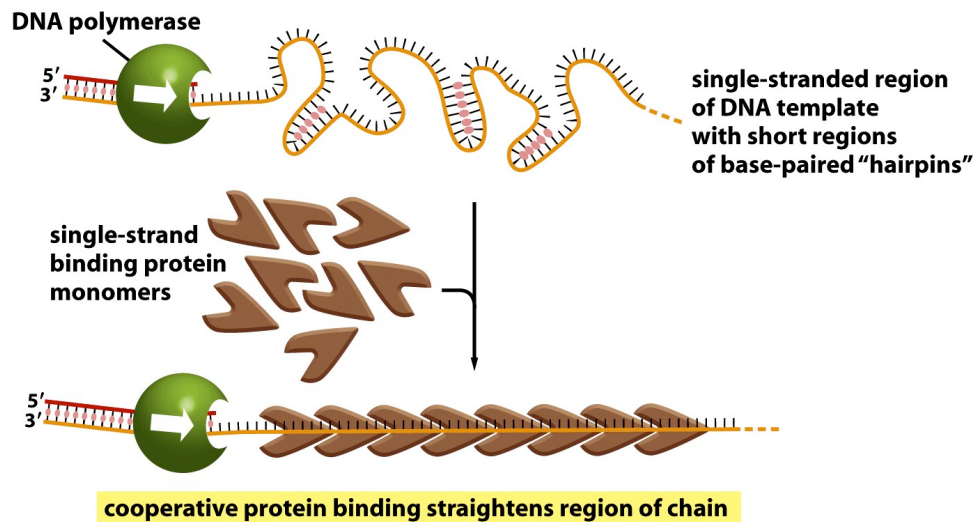
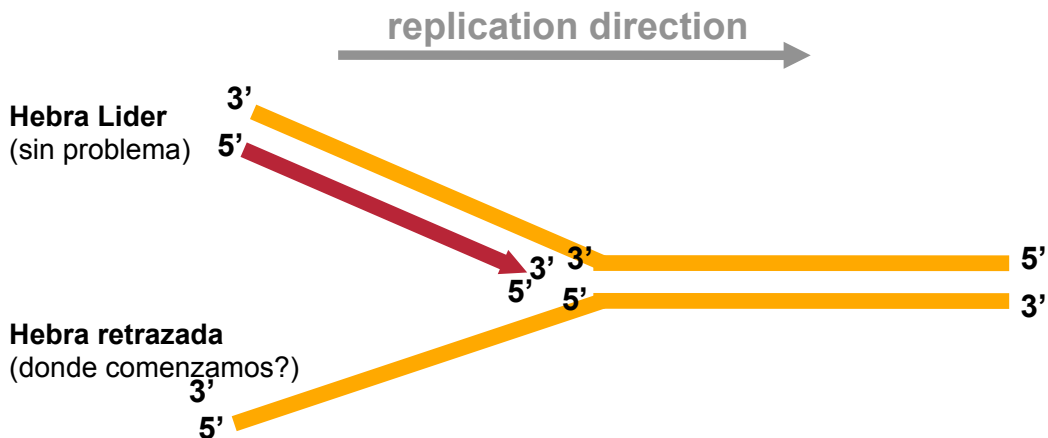


Figure 5-16 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Tercero:
¡Resolver que hacemos con la síntesis UNIDIRECCIONAL!

La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'



ADEMAS!!

¡La ADN polimerasa no puede iniciar una nueva hebra!

Solo puede continuar una que ya esté empezada

(Pero, las polimerasas de ARN si pueden comenzar hebras partiendo solo desde la hebra molde, por lo que pueden sintetizar partidores para la ADN-Pol)

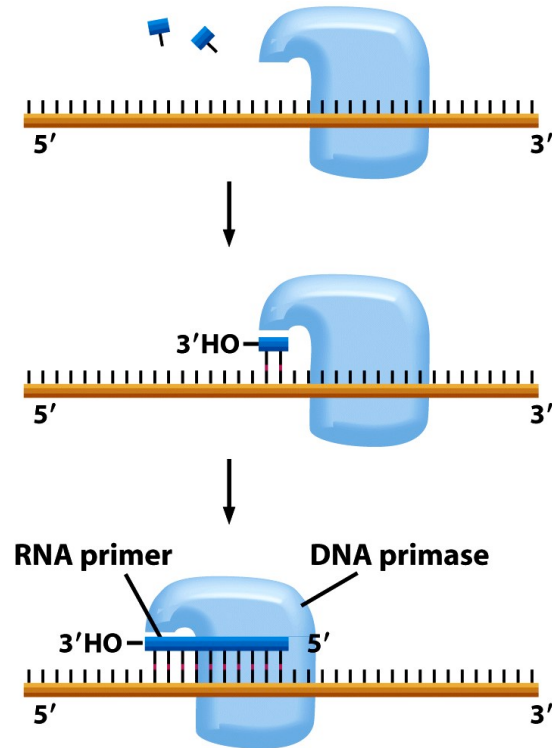
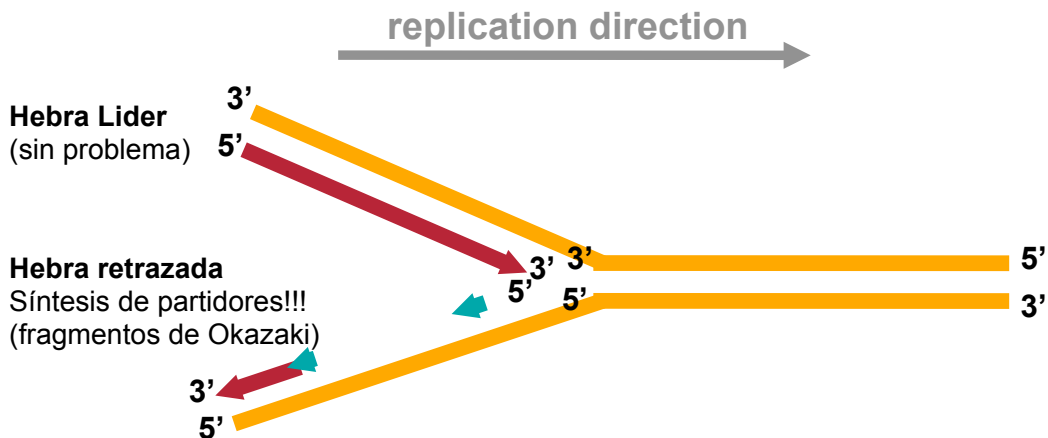


Figure 5-11 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Tercero:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

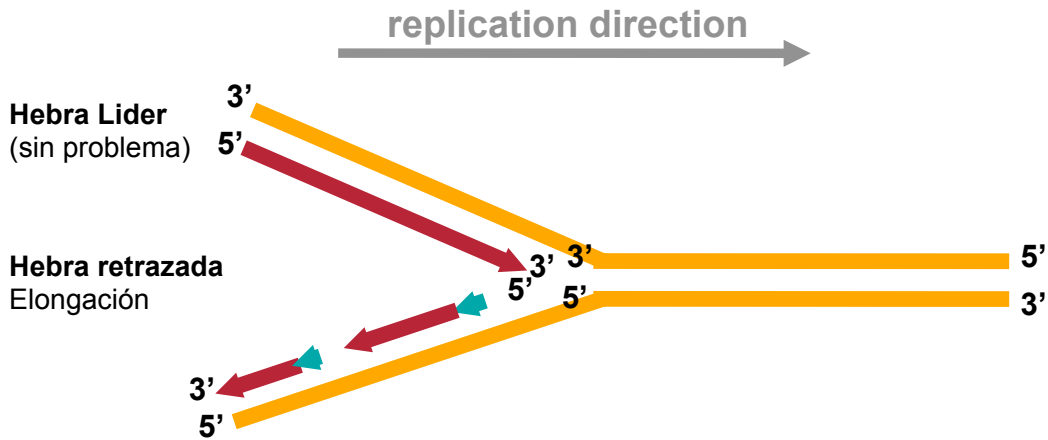
La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'



Tercero:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

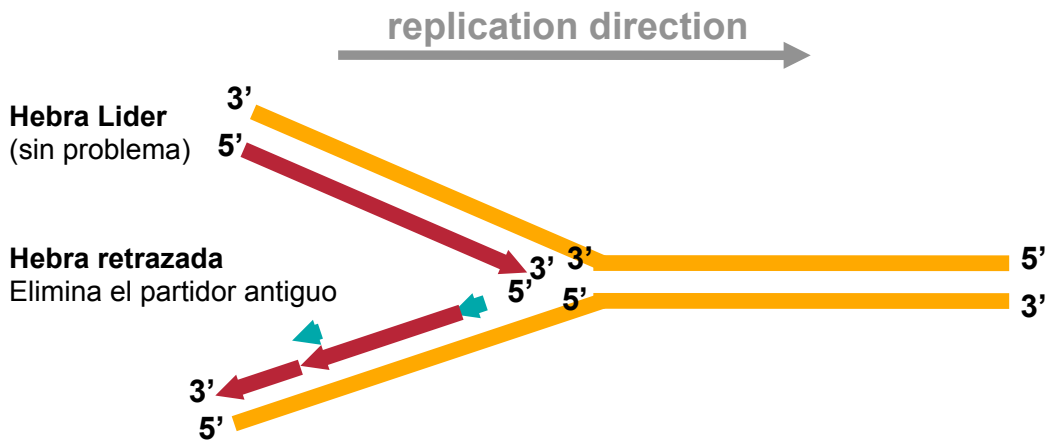
La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'



Tercero:

Se sintetizan partidores que le permitan a la ADN-Pol acoplarse a la hebra retrazada.

La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'



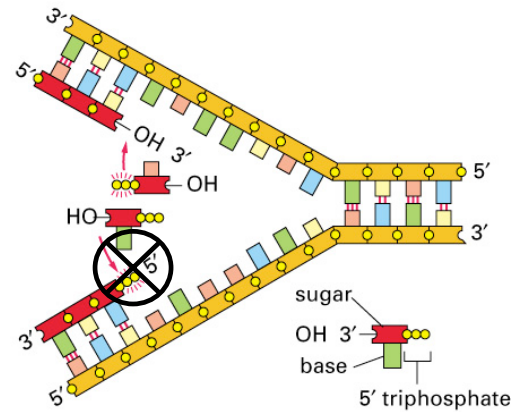
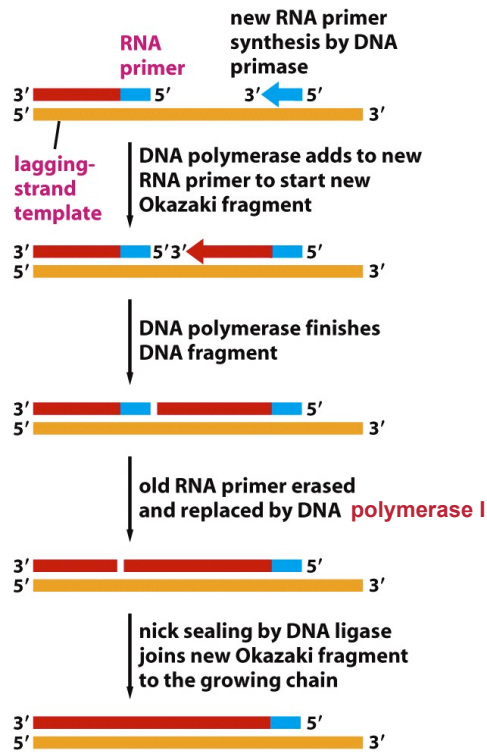


Figure 5-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 5-12. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

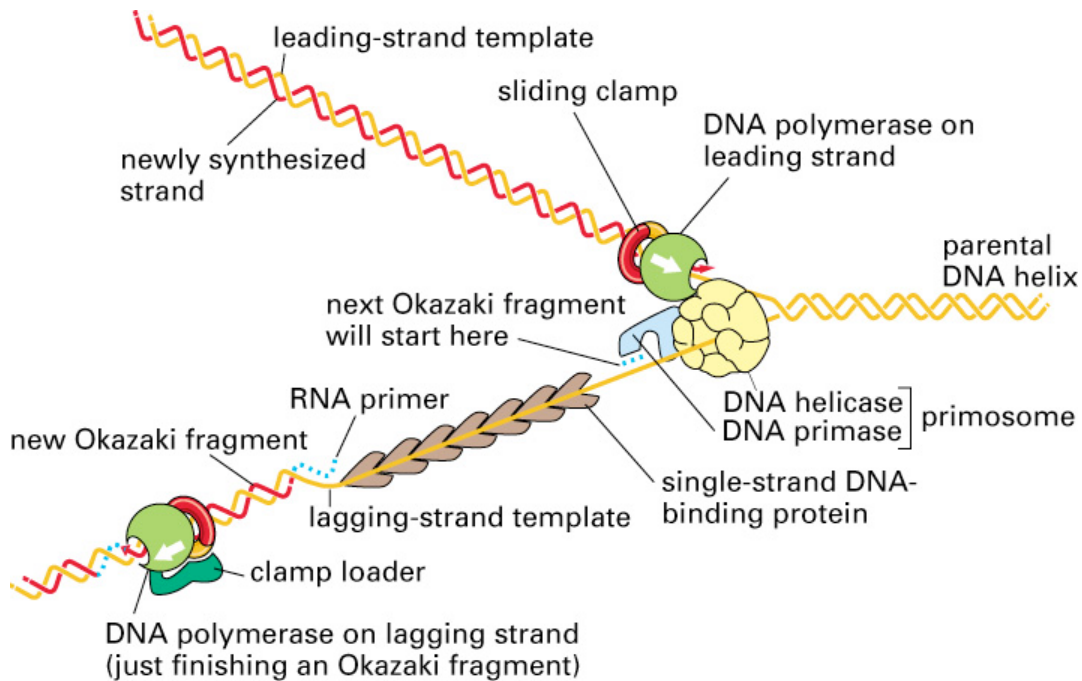
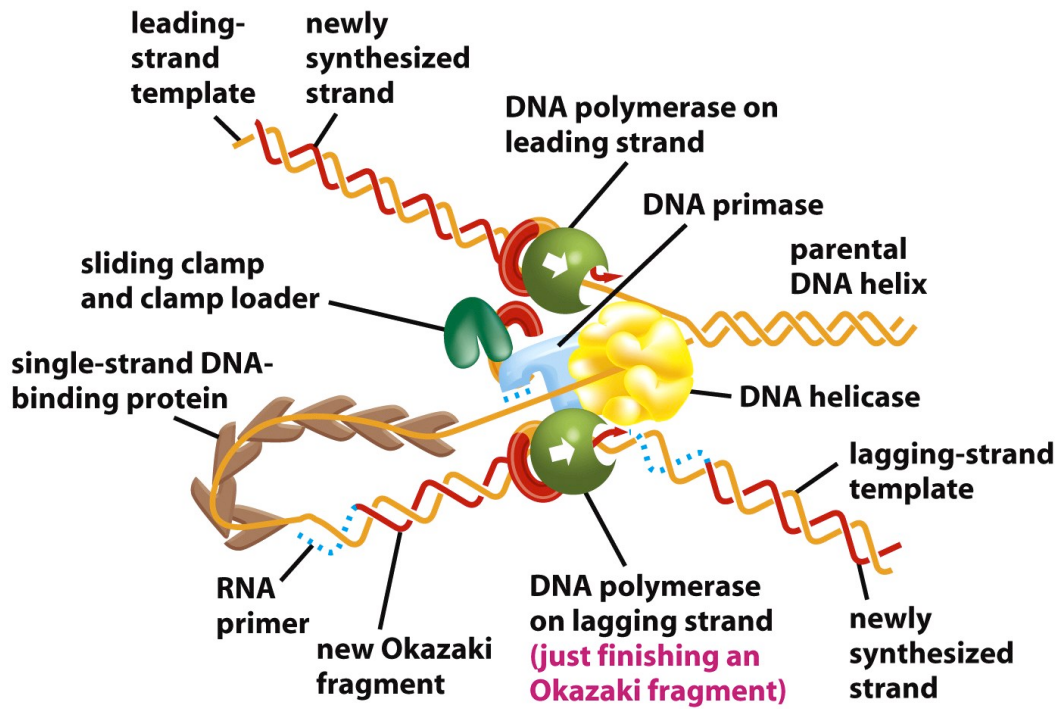
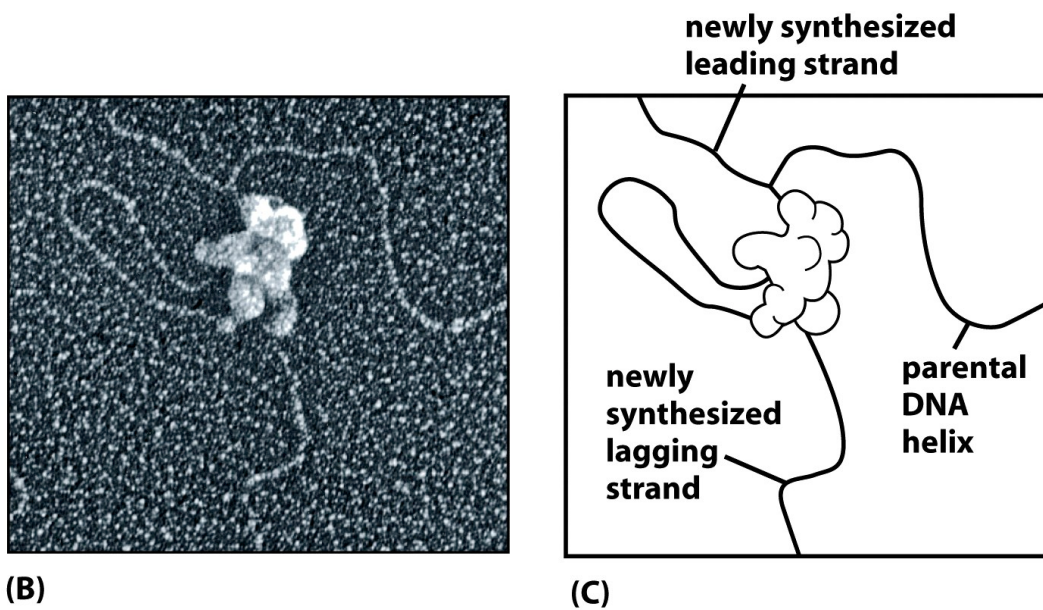


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 5-19a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)Figure 5-19b,c *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Replicación de ADN de una bacteria: 1 sitio de origen

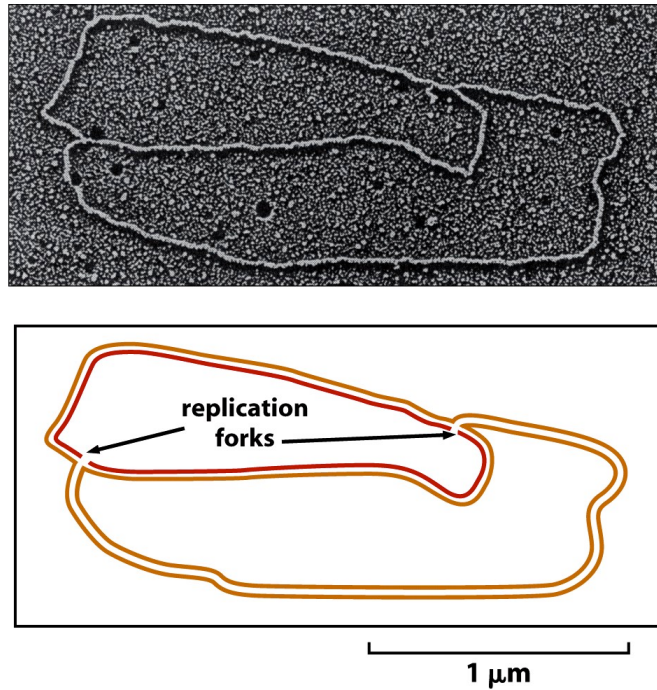
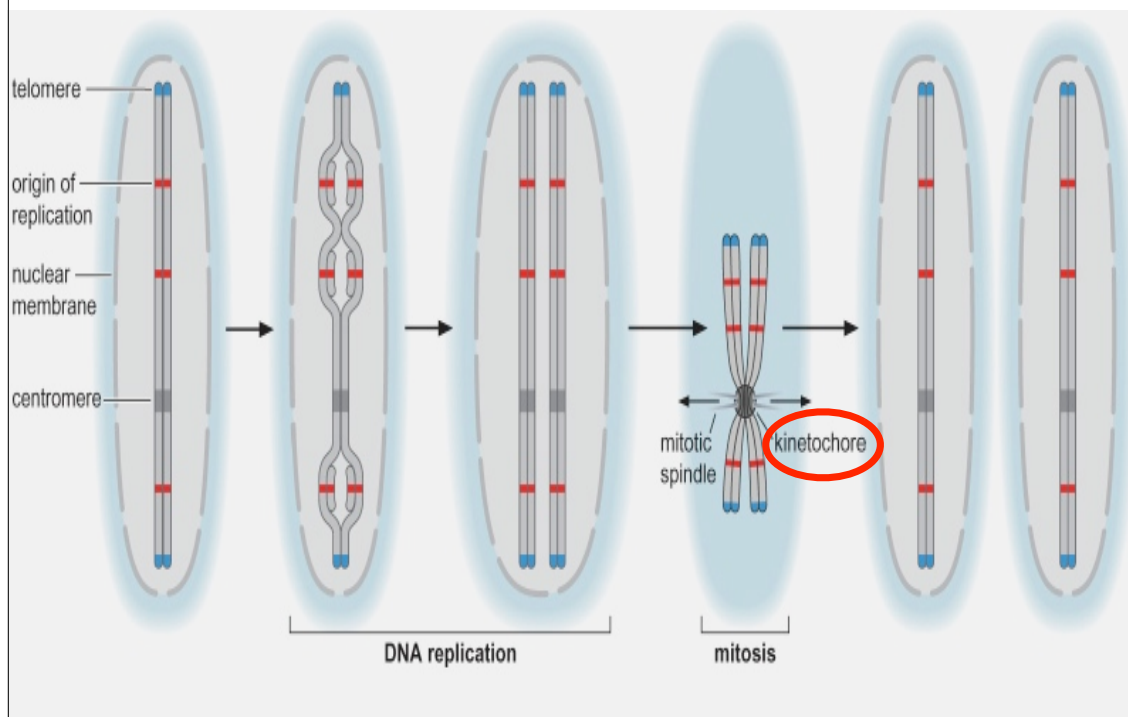
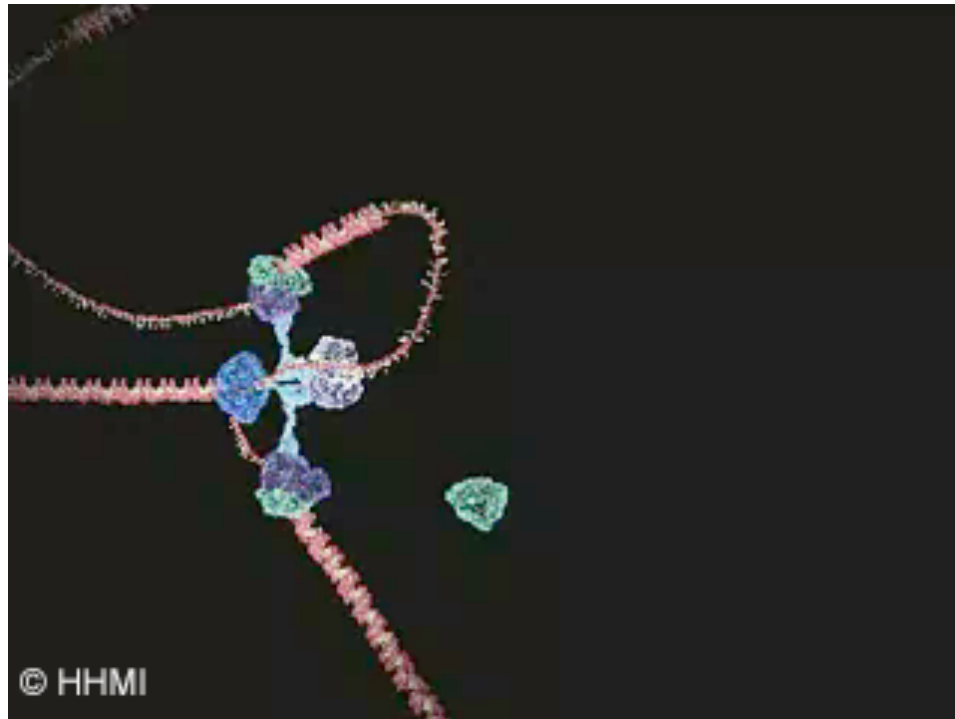


Figure 5-6 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Replicación de ADN en Eucariontes: muchos sitios de origen





47

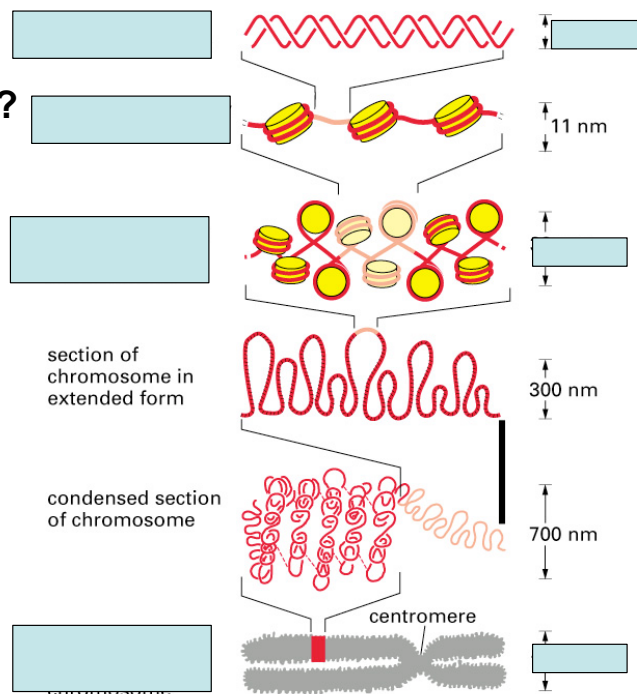
Diagnóstico

¿cómo se llama?

¿qué función cumple?

¿dónde esta?

¿qué lo compone?



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Diagnóstico:

¿cómo se llama?
¿qué función cumple?
¿dónde esta?
¿qué lo compone?

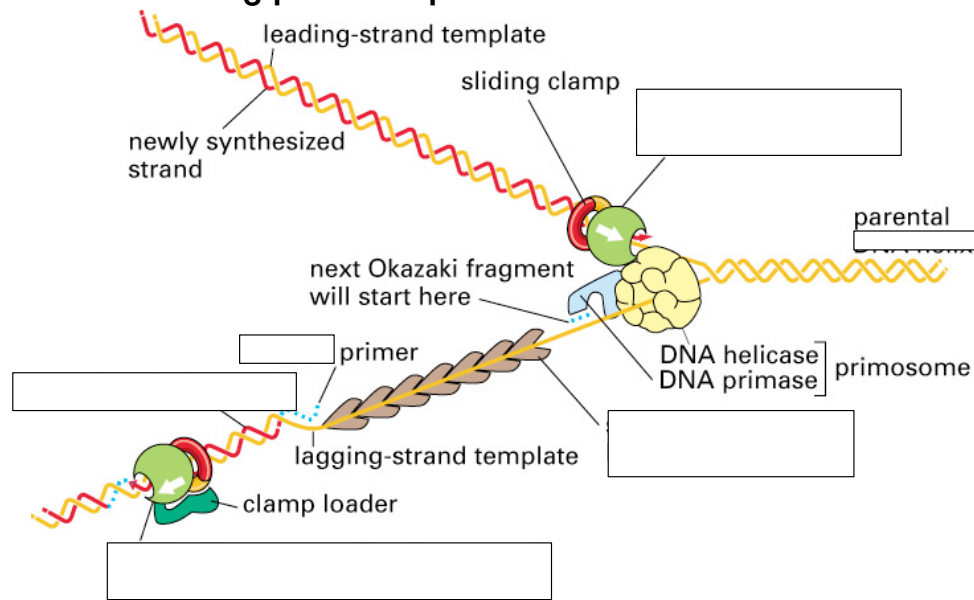


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.