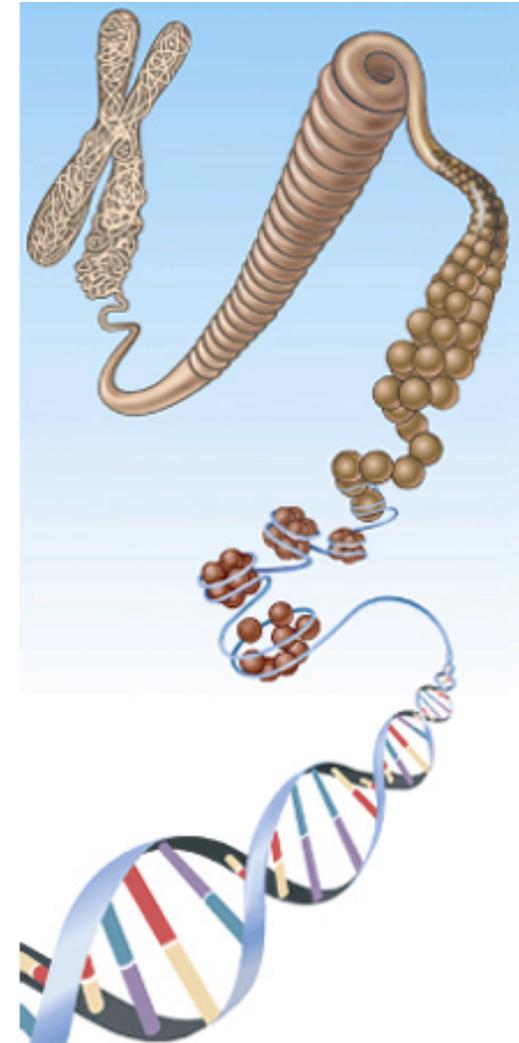


# Clase 7: Núcleo

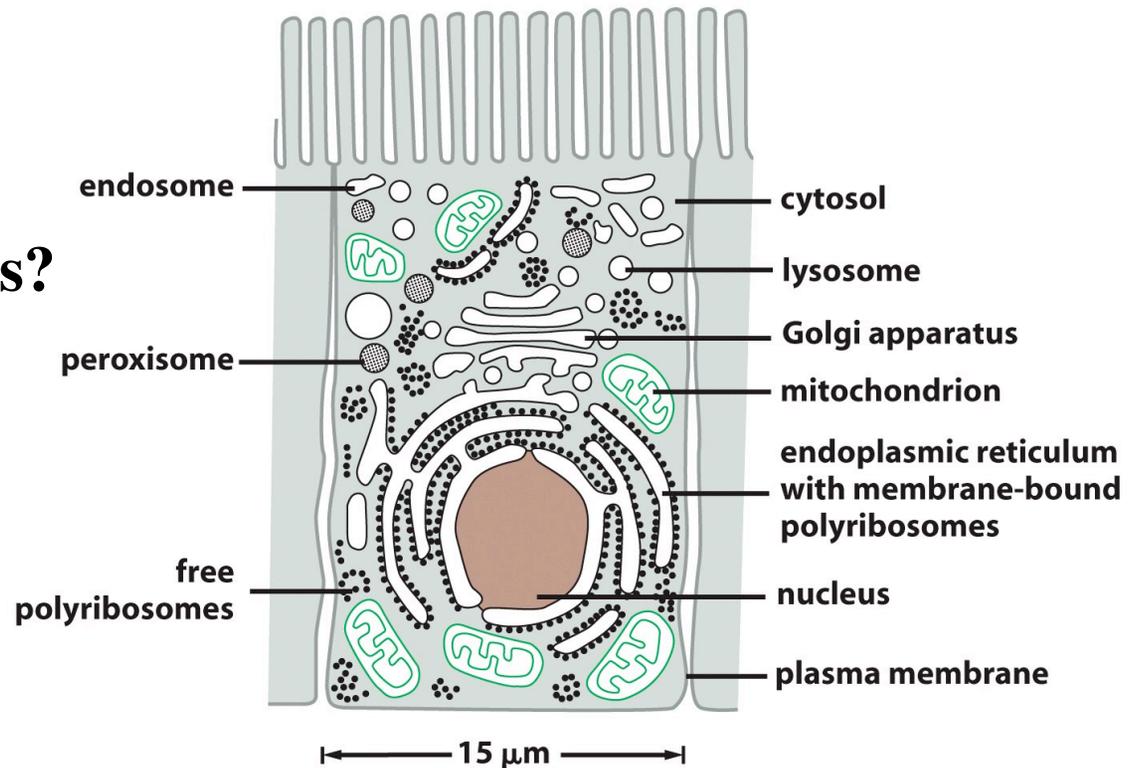
- Estructura General del Núcleo:
  - Membrana Nuclear
  - ADN, Cromatina y cromosomas
  - Nucleolo
- Replicación y transcripción del ADN



## ¿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.



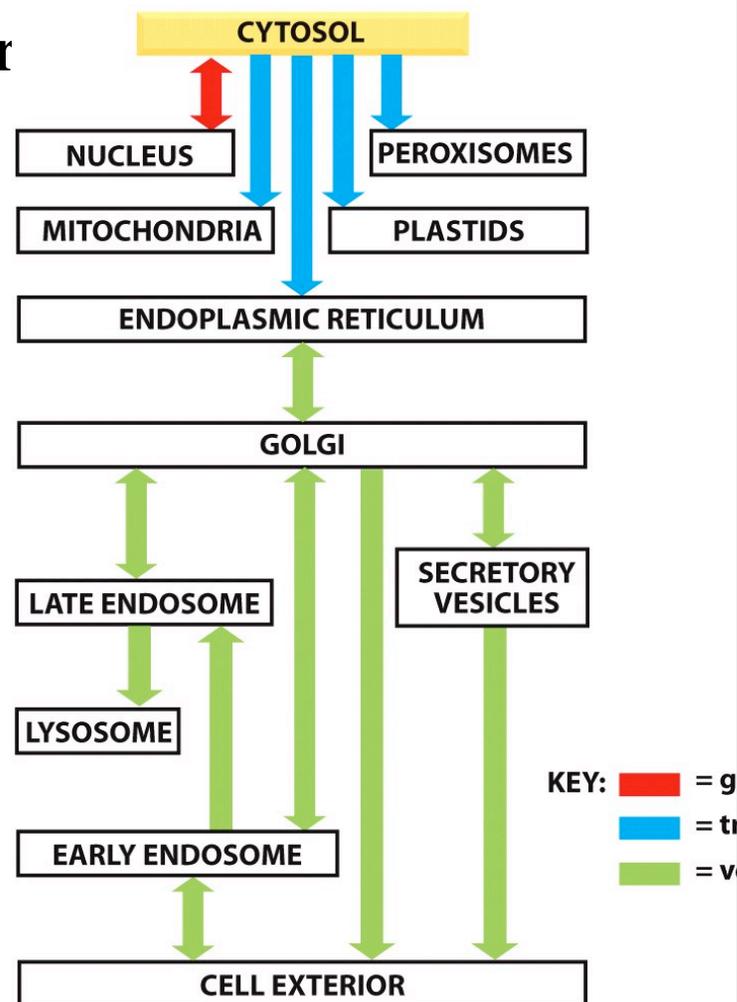
**Table 12-1 Relative Volumes Occupied by the Major Intracellular Compartments in a Liver Cell (Hepatocyte)**

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

# Membranas y compartimentos intracelulares:

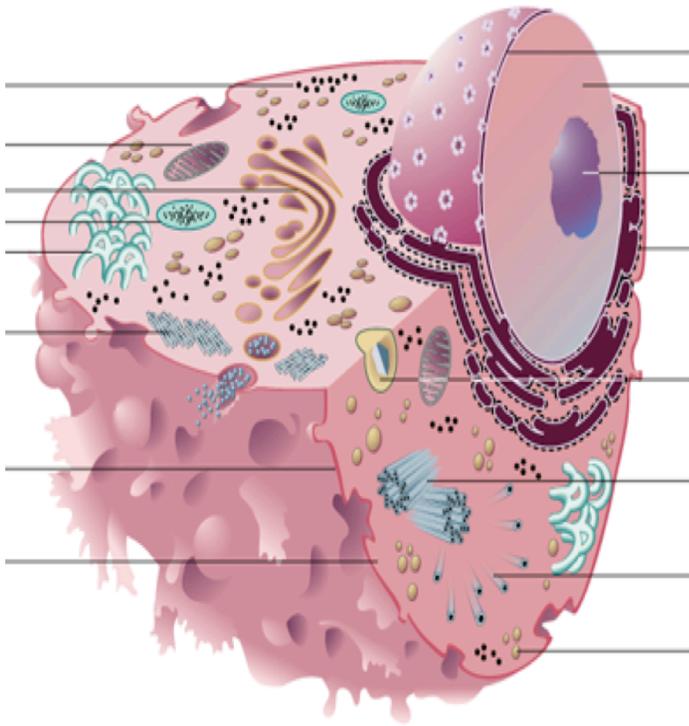
La existencia de diferentes compartimentos implica que existen mecanismo de transporte entre ellos

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



# 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.

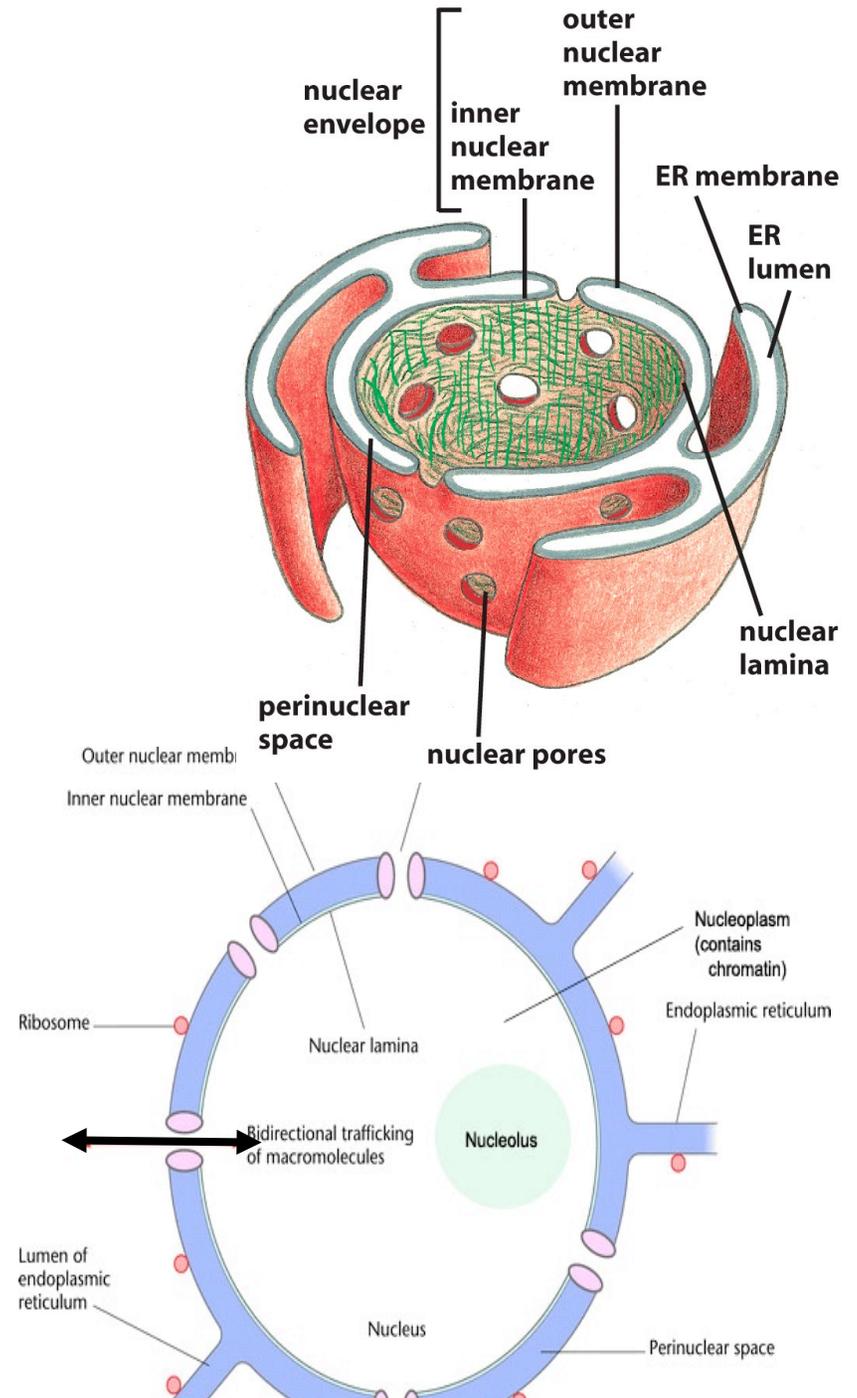
- **Poros Nucleares (complejo)** compuerta protéica que regula la entrada y salida de proteínas y mRNA.

- **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.

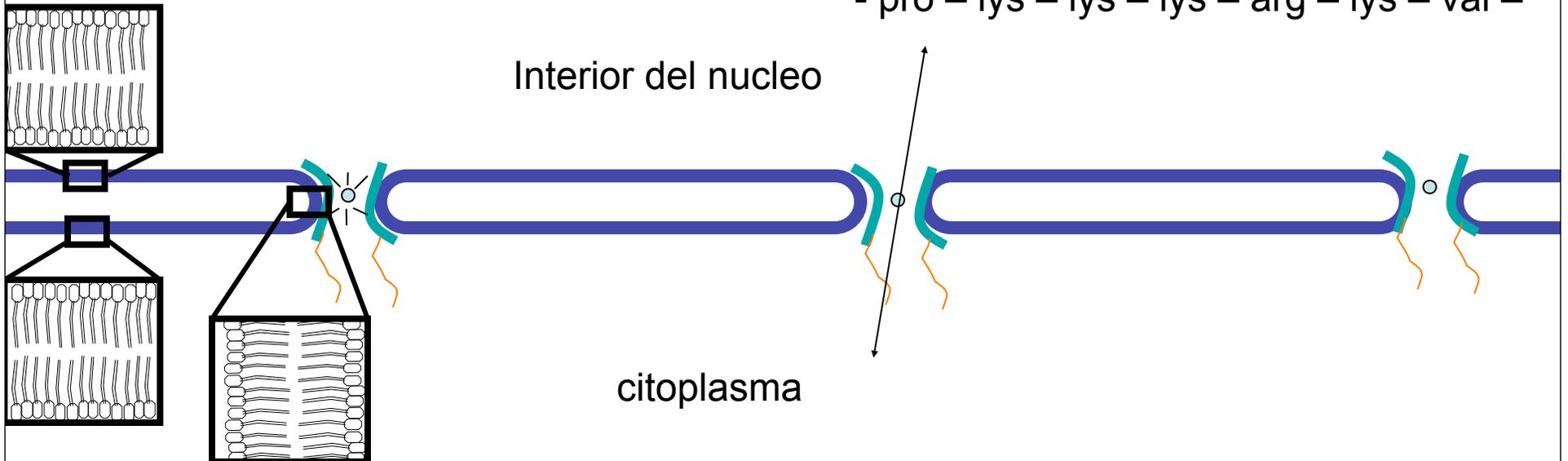
**nucleolo:** subcompartimento de transducción y ensamblaje de ribosomas.



# 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 ese 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 –



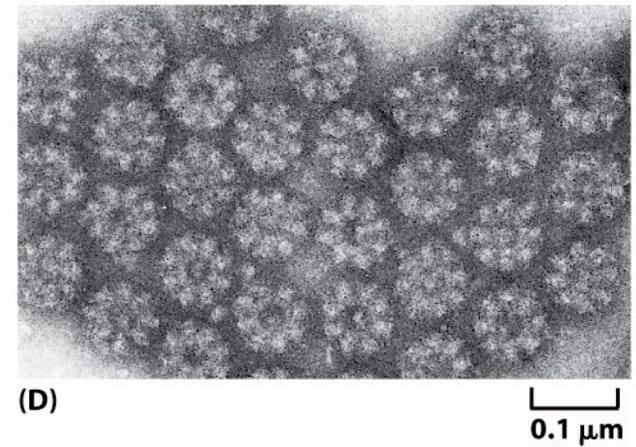
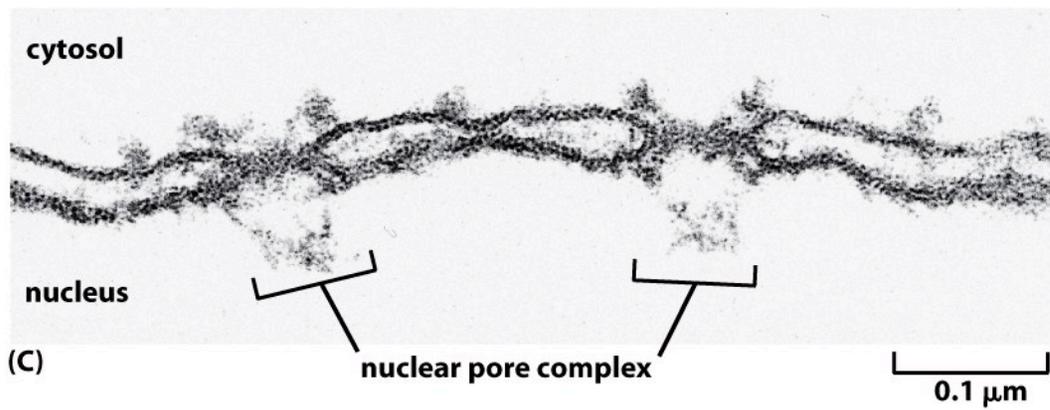
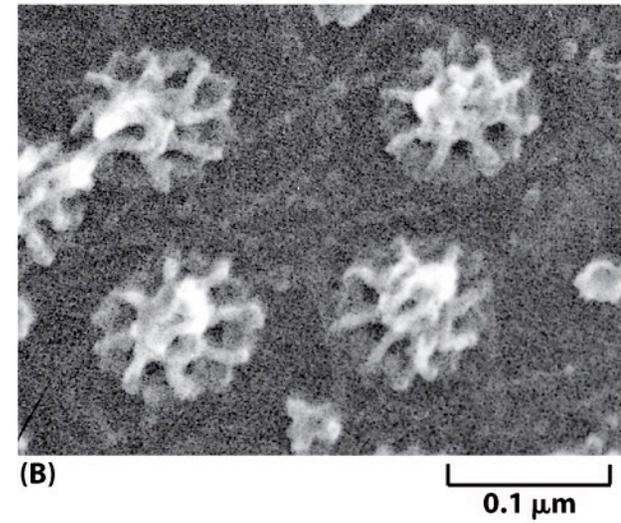
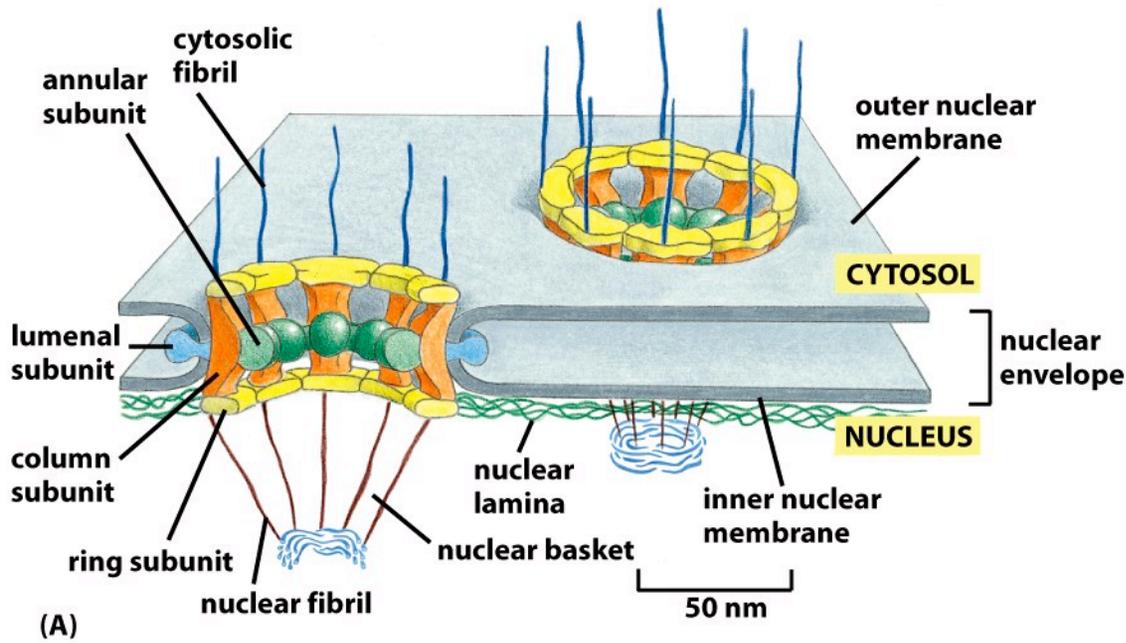
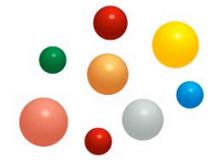
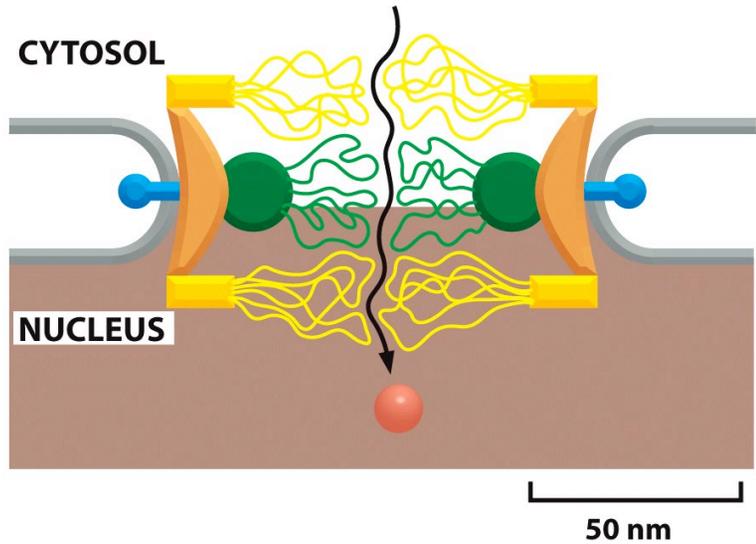
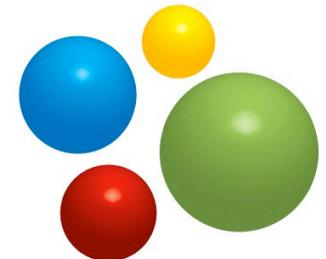


Figure 12-9 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

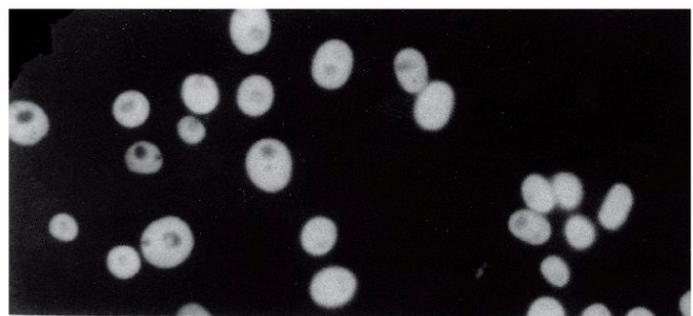
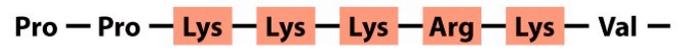


size of molecules that enter nucleus by free diffusion



size of macromolecules that enter nucleus by active transport

(A) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING ITS NORMAL NUCLEAR IMPORT SIGNAL



(B) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING A MUTATED NUCLEAR IMPORT SIGNAL

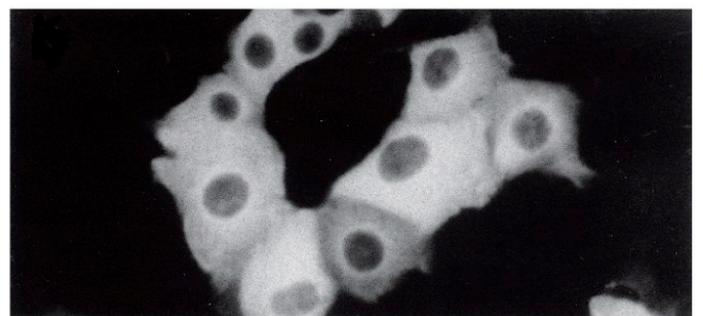
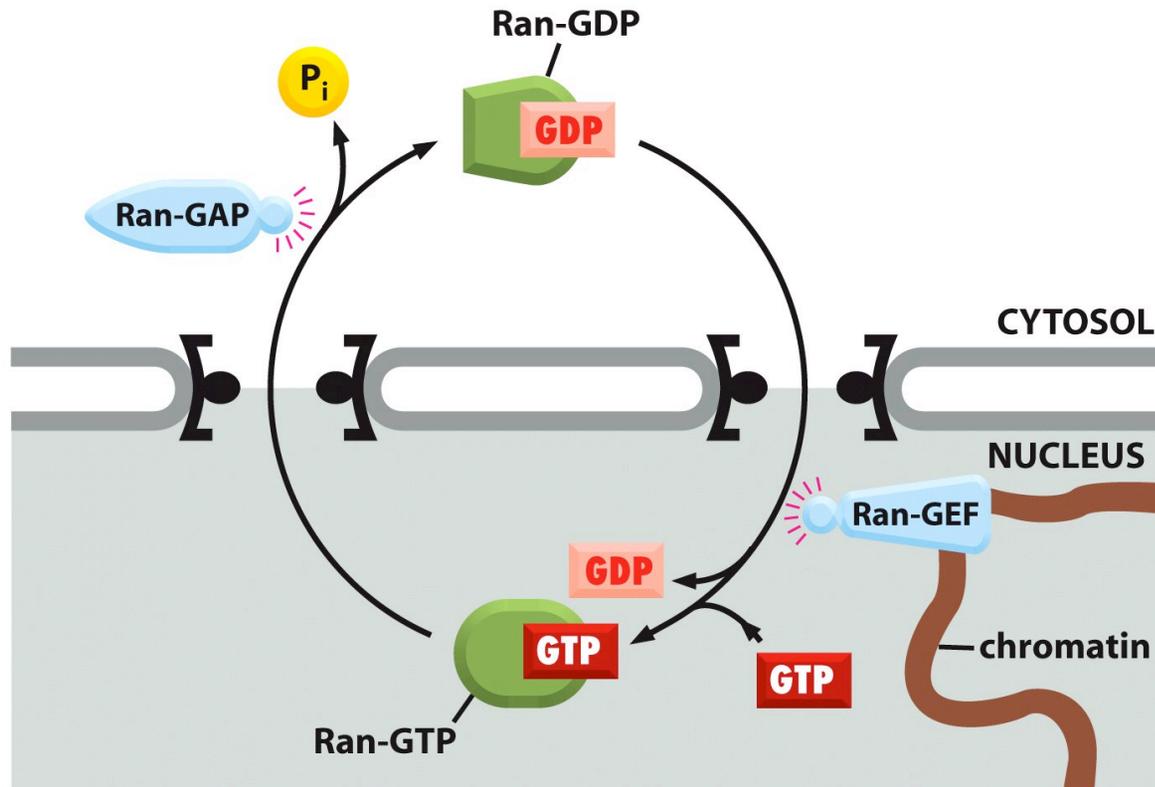


Figure 12-11 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



**RAN:** RAs-related Nuclear protein

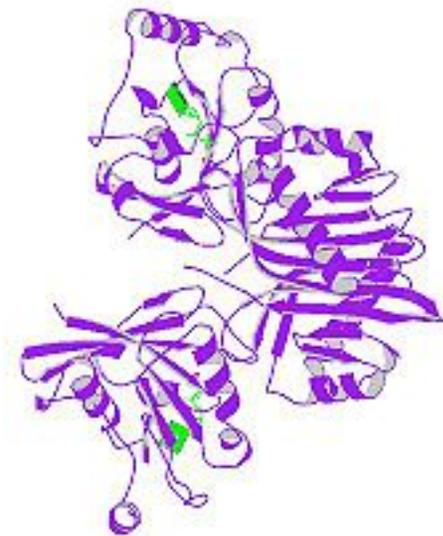


Figure 12-14 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

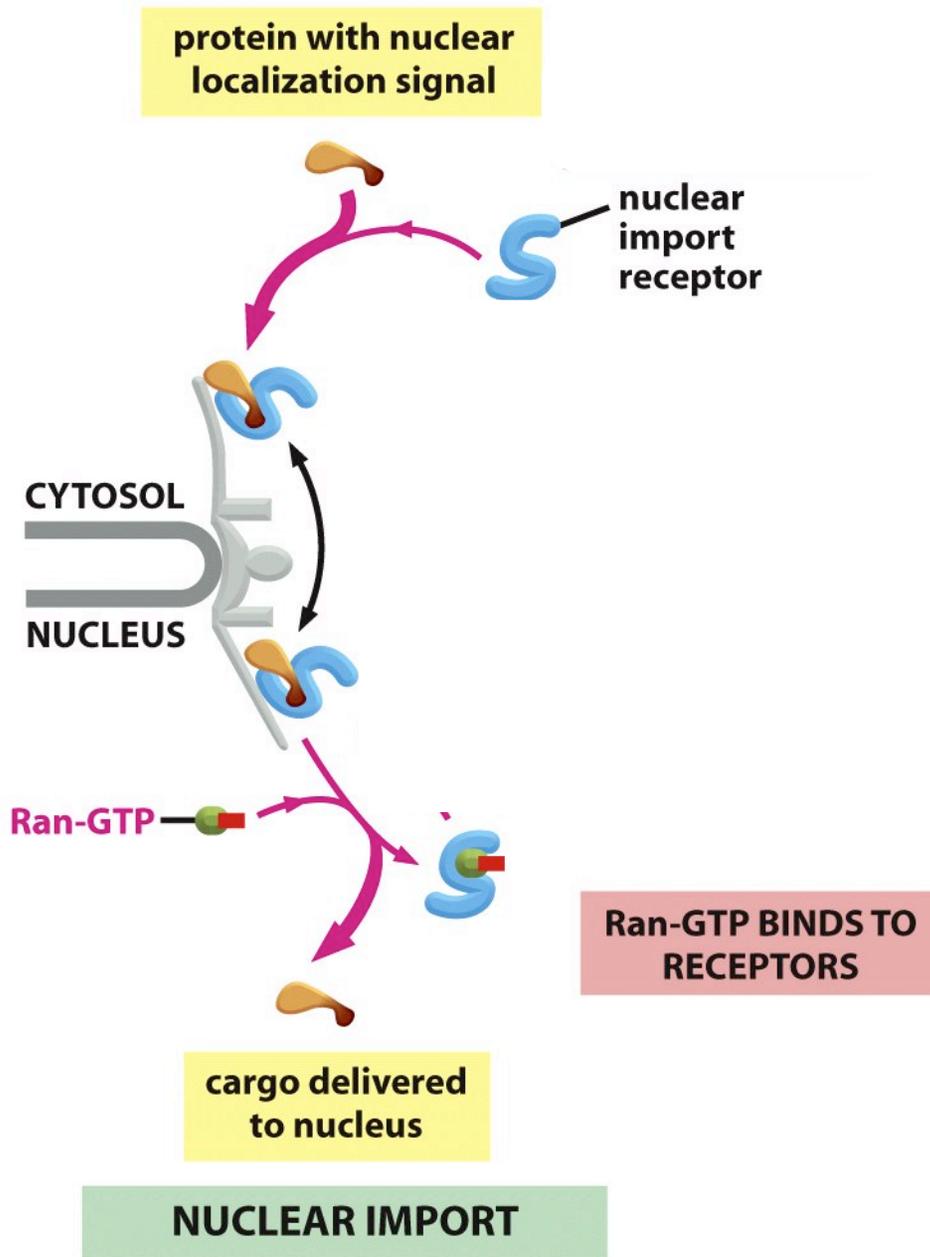


Figure 12-15 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

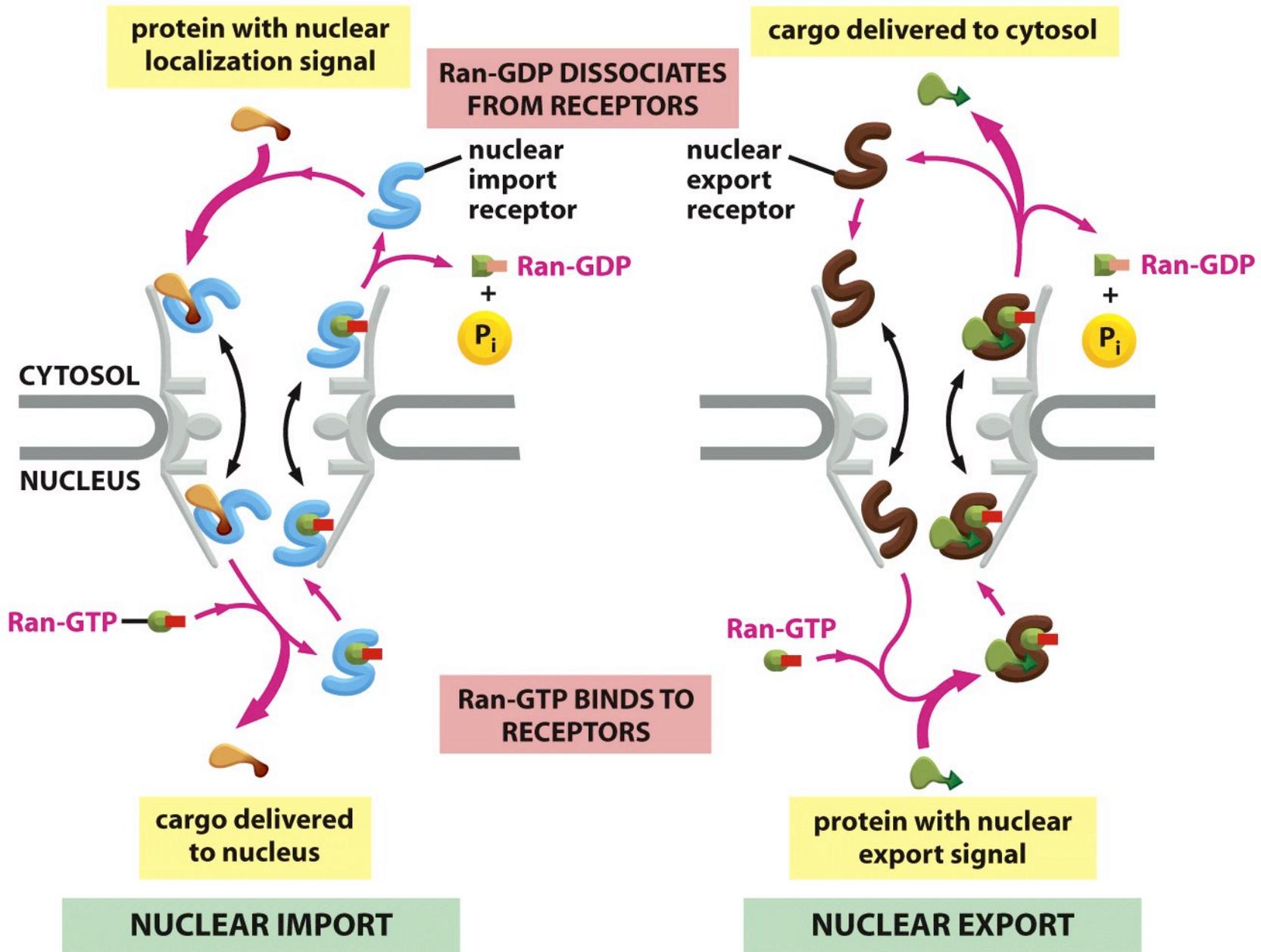
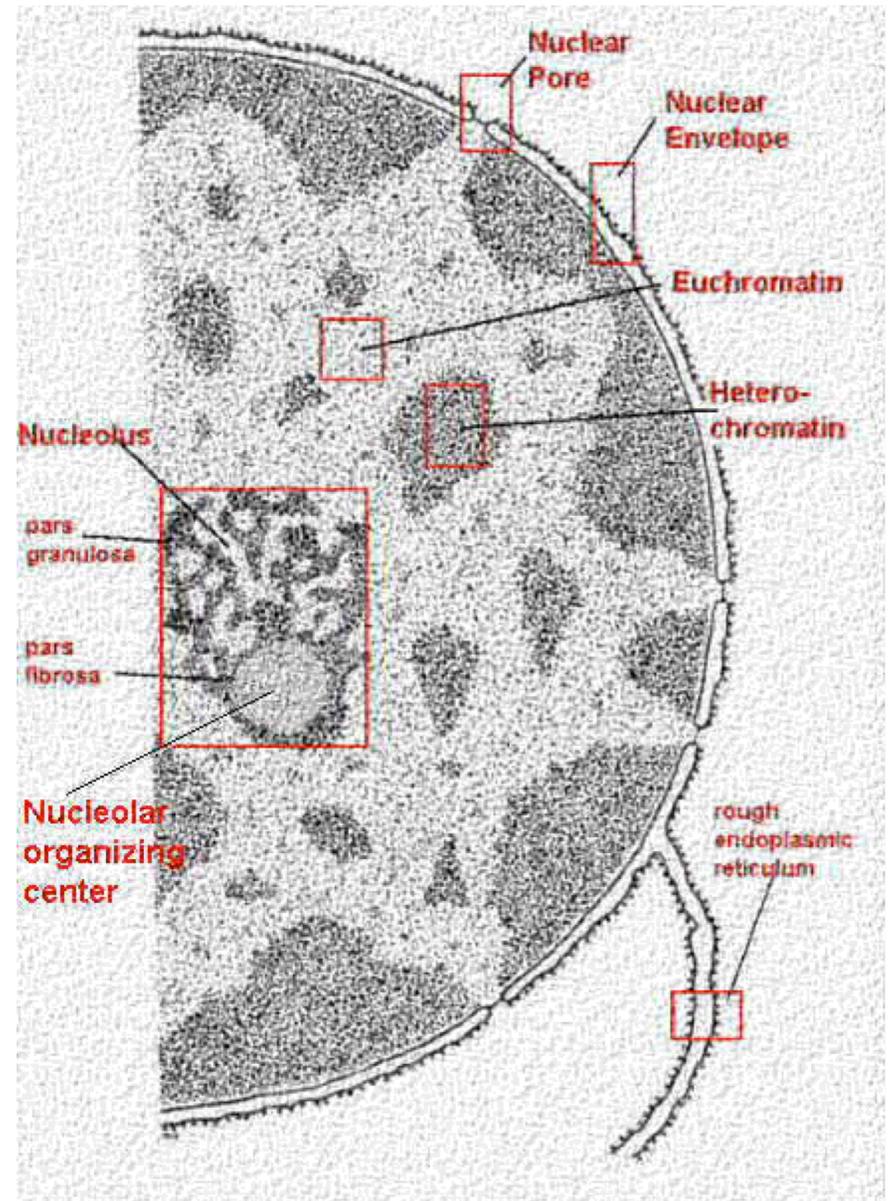


Figure 12-15 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

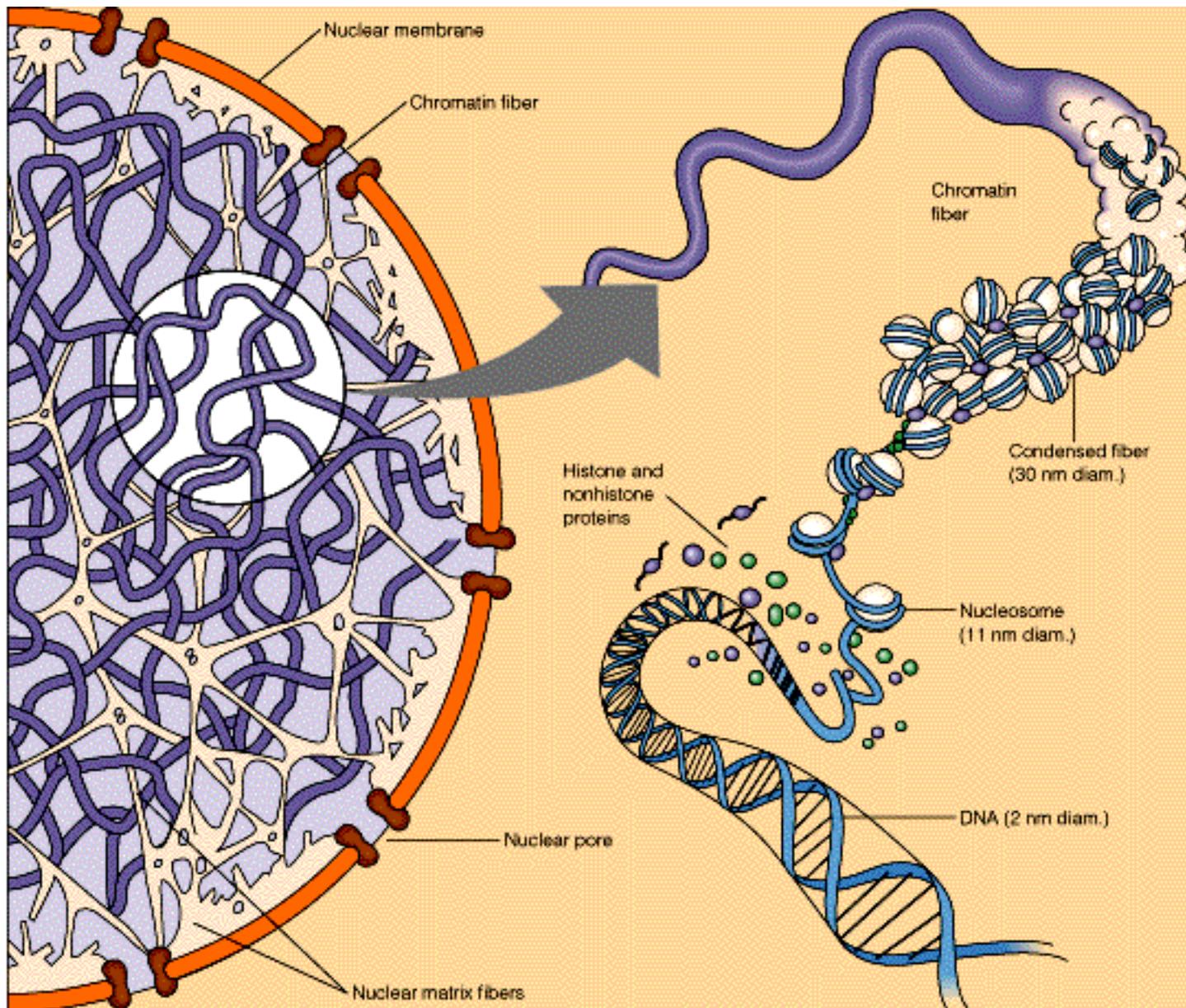
- **Cromatina**

- Cromatina Activa (**eucromatina**) 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

¿Cromatina?

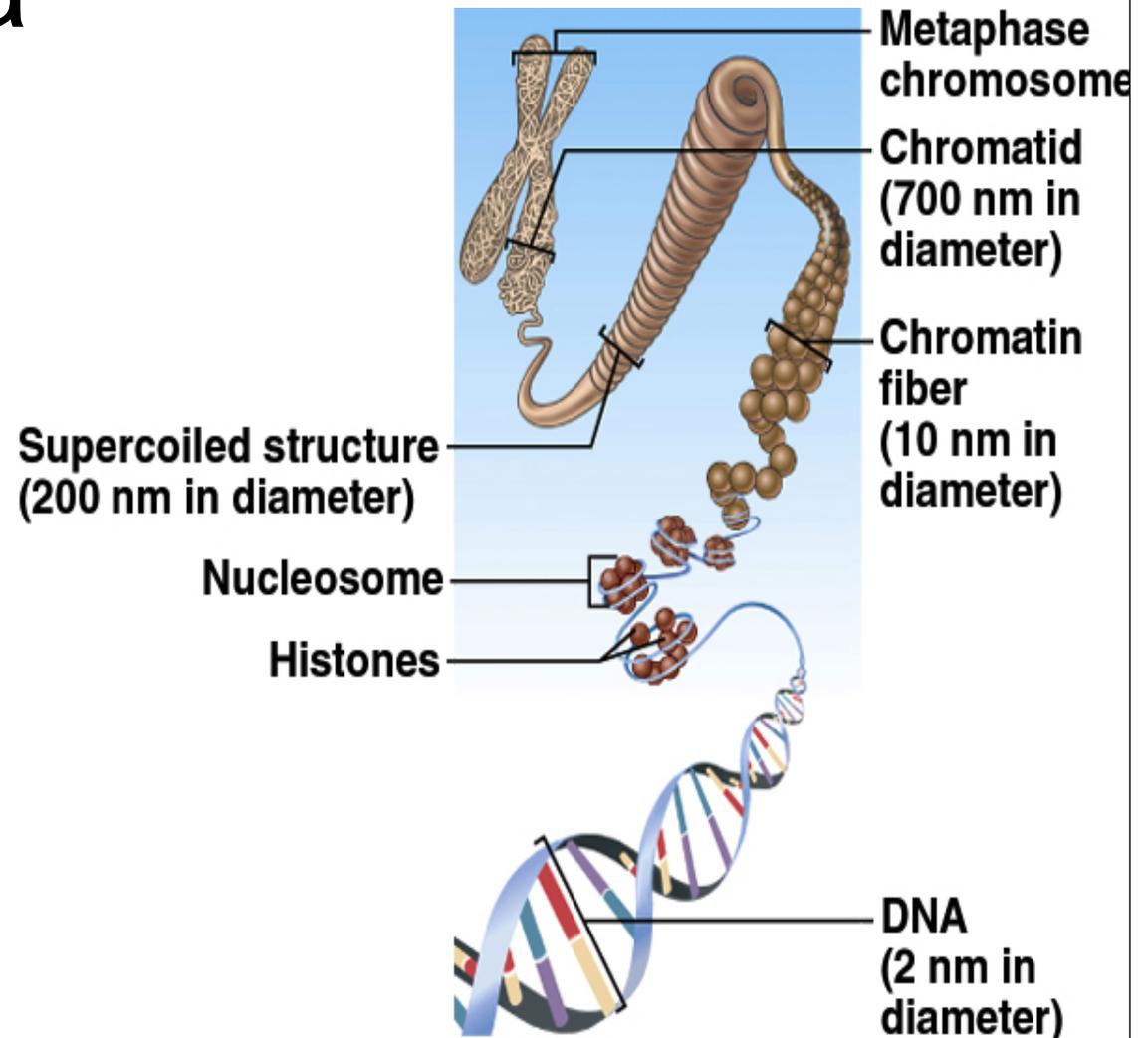


Interphase nucleus



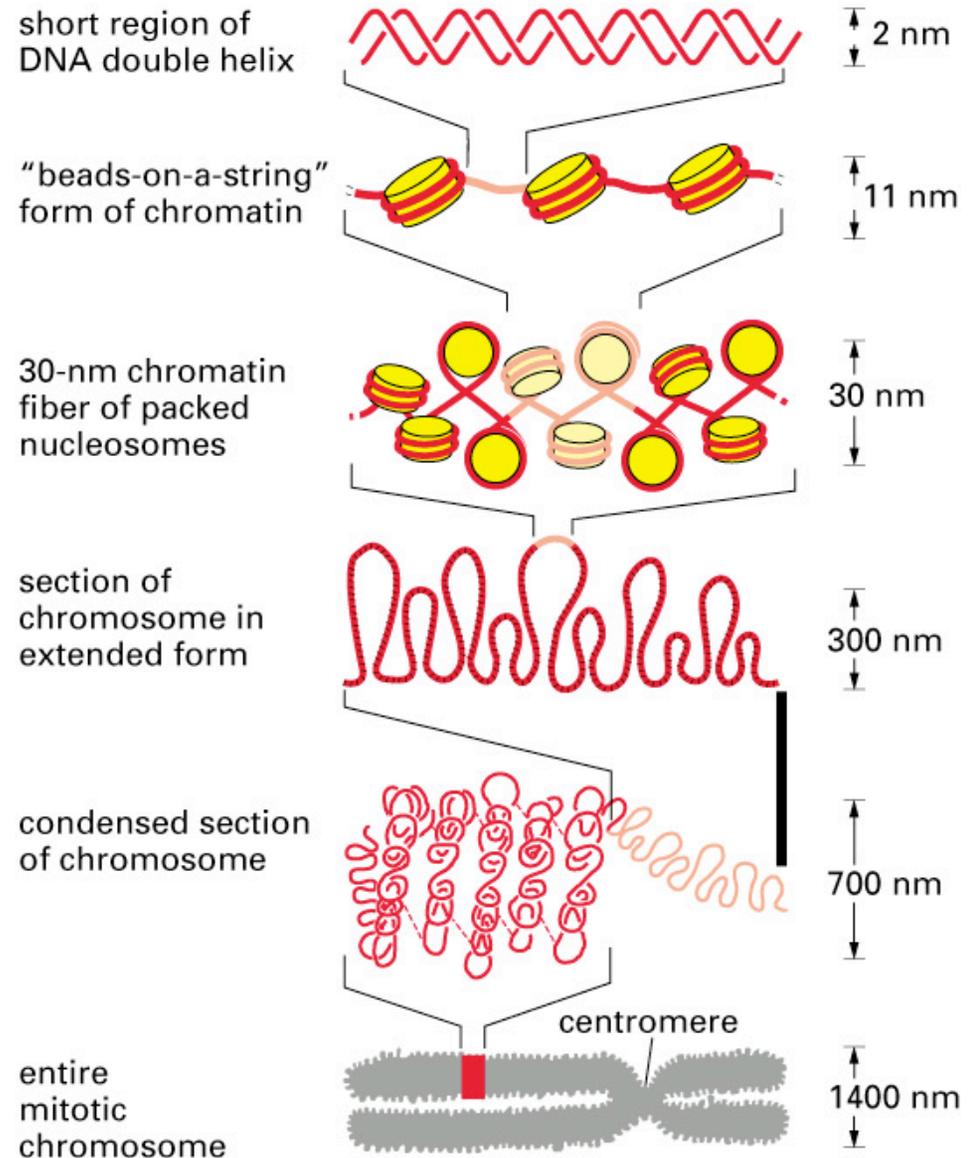
# Cromatina

- 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.



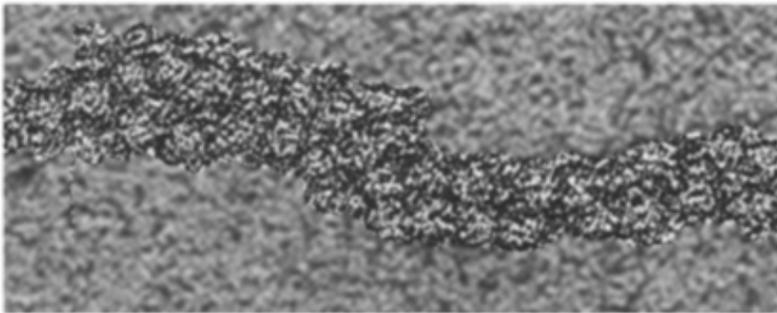
# ¿Para qué?

- 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

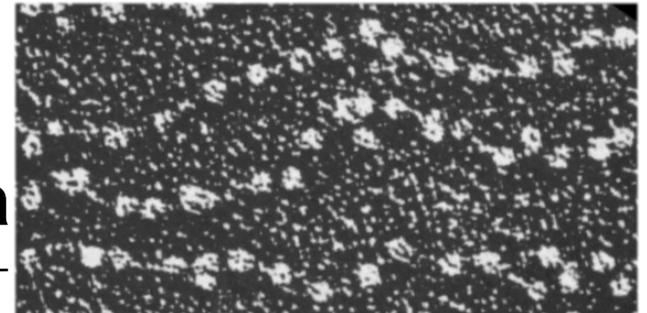


NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

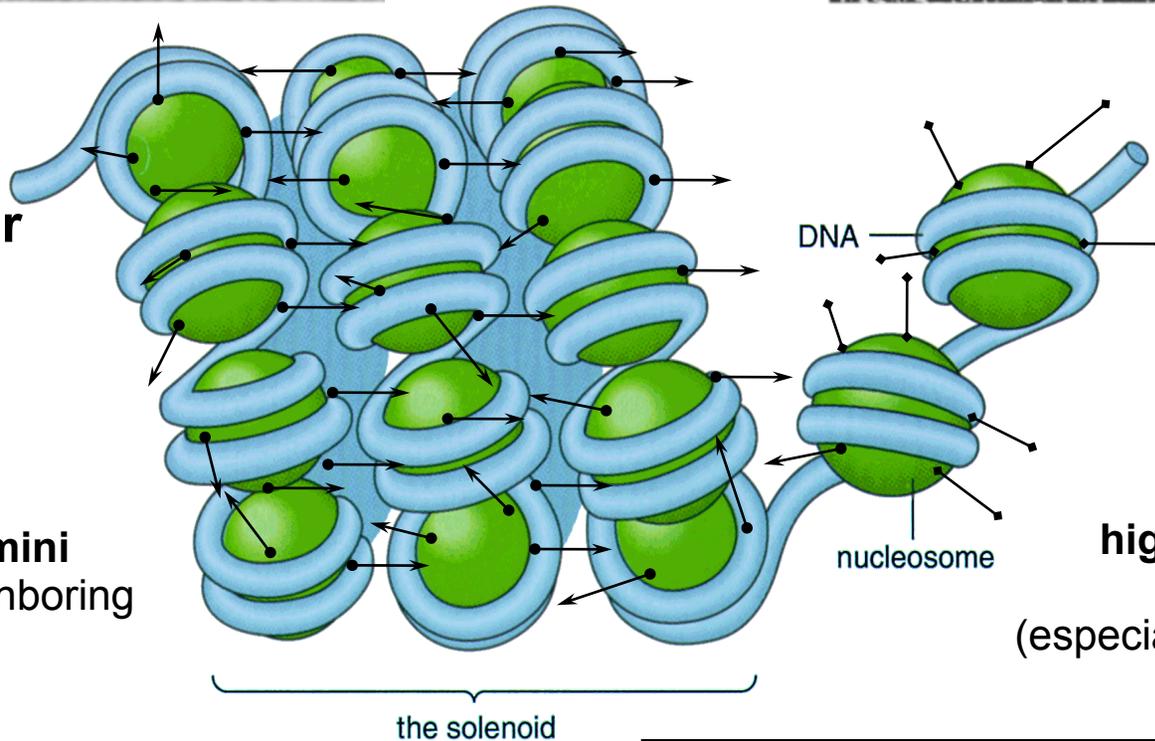
Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



## Fibras de cromatina



30 nm  
chromatin fiber



11 nm  
(beads)

→  
⊕ **charged N termini**  
(bind DNA on neighboring nucleosomes)

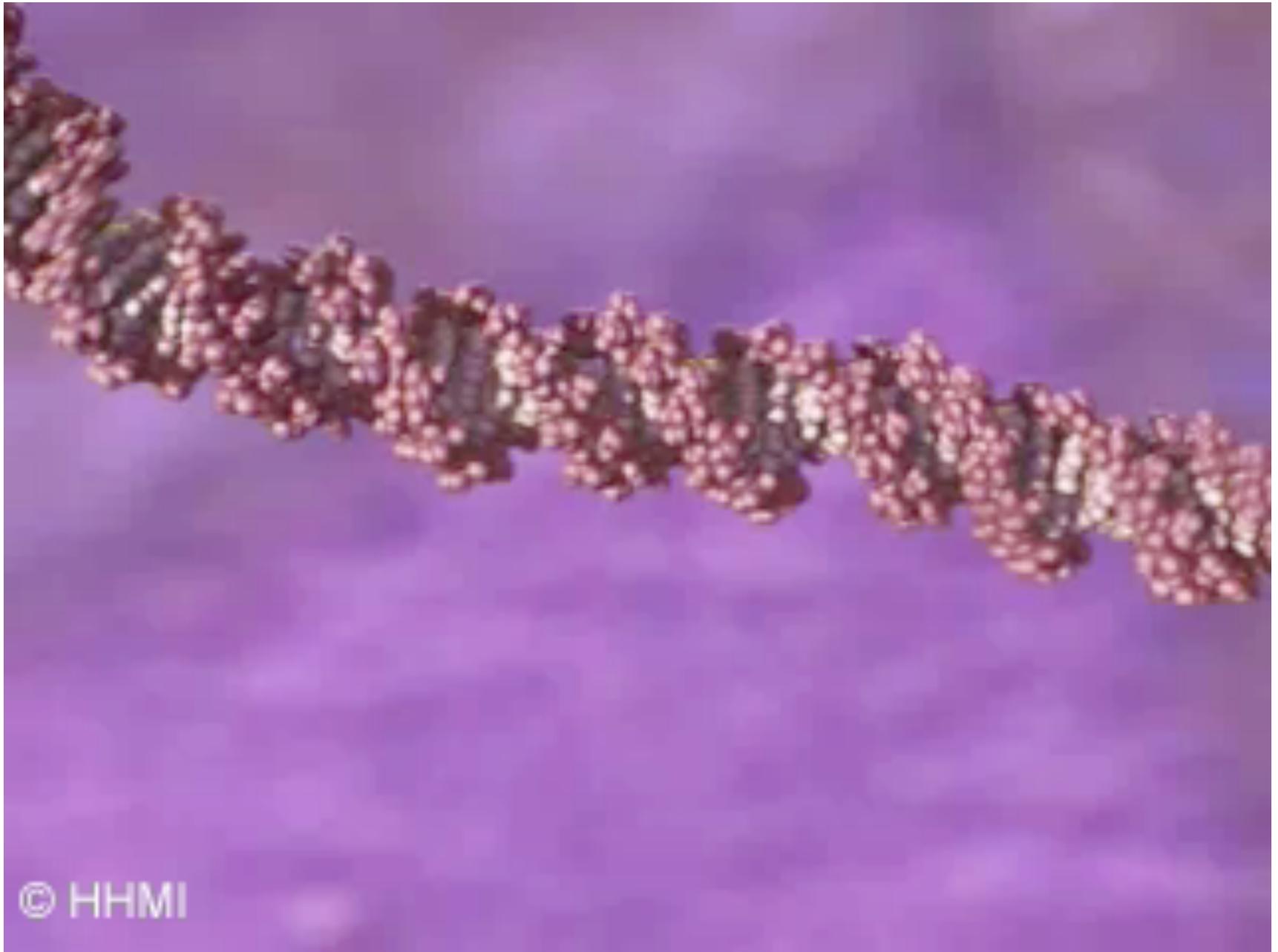
↔  
**highly acetylated core histones**  
(especially H3 and H4)

### 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



© HHMI

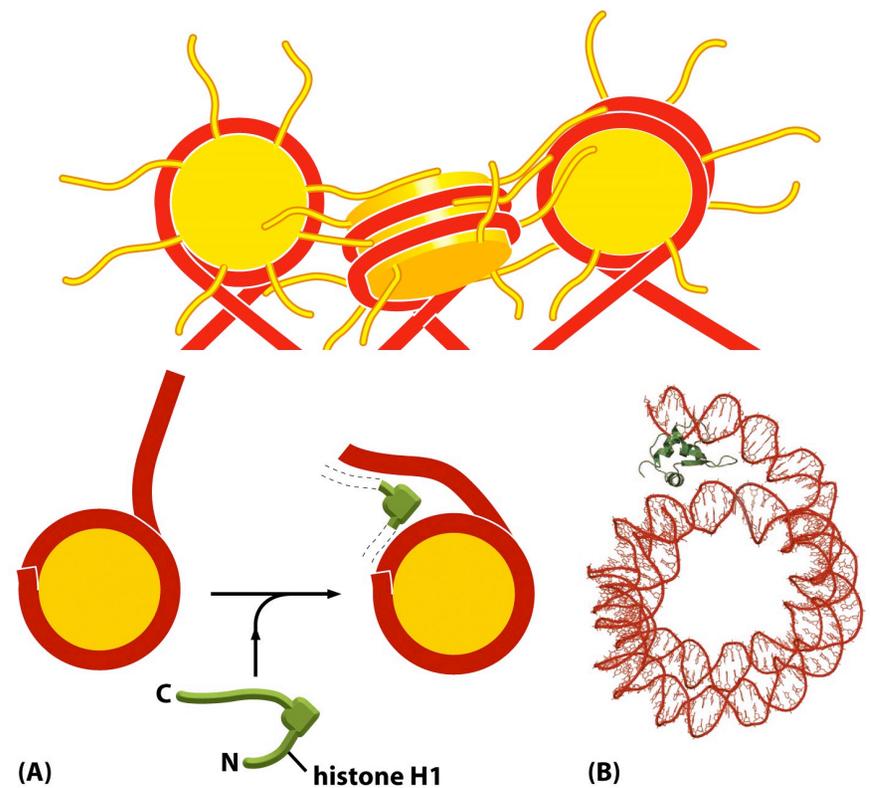
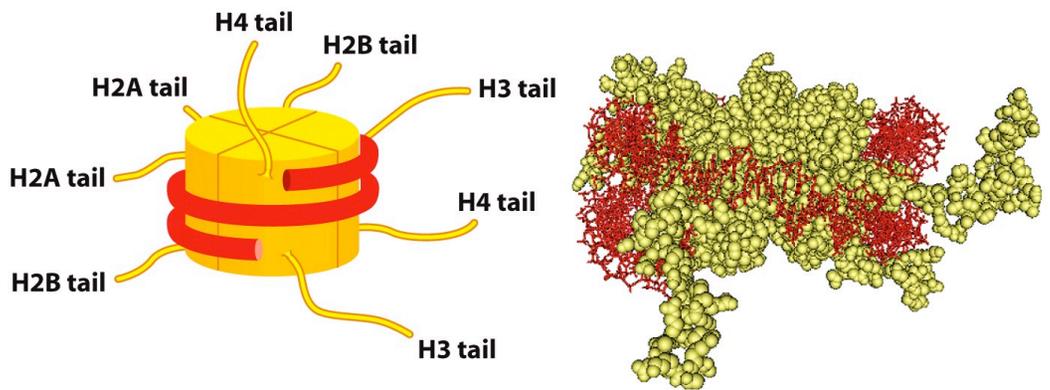
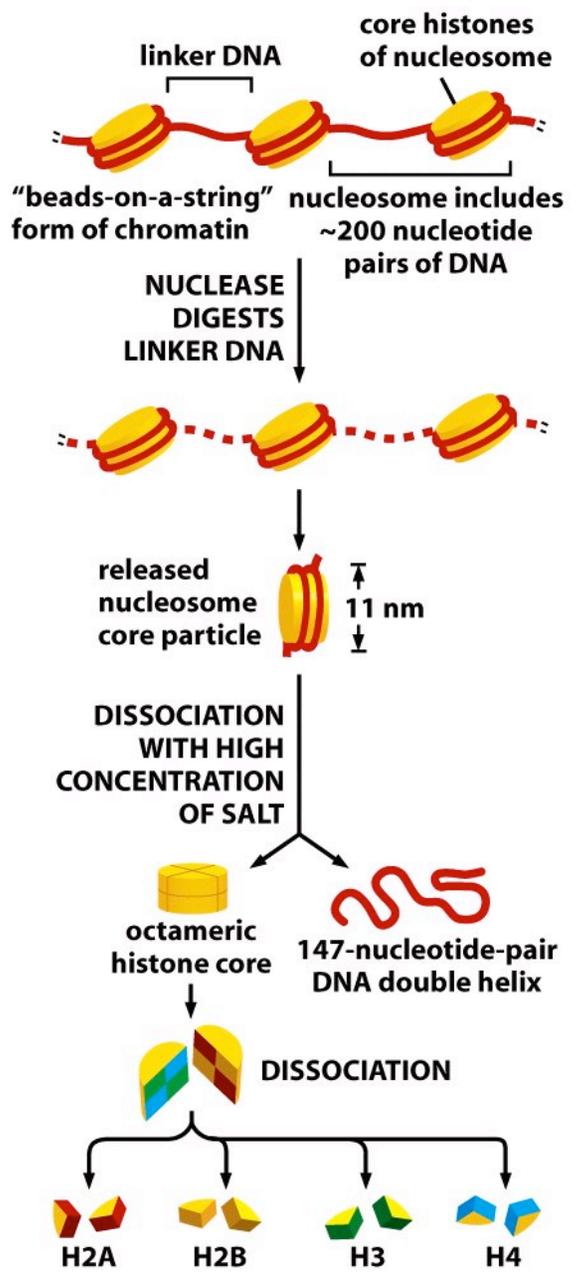
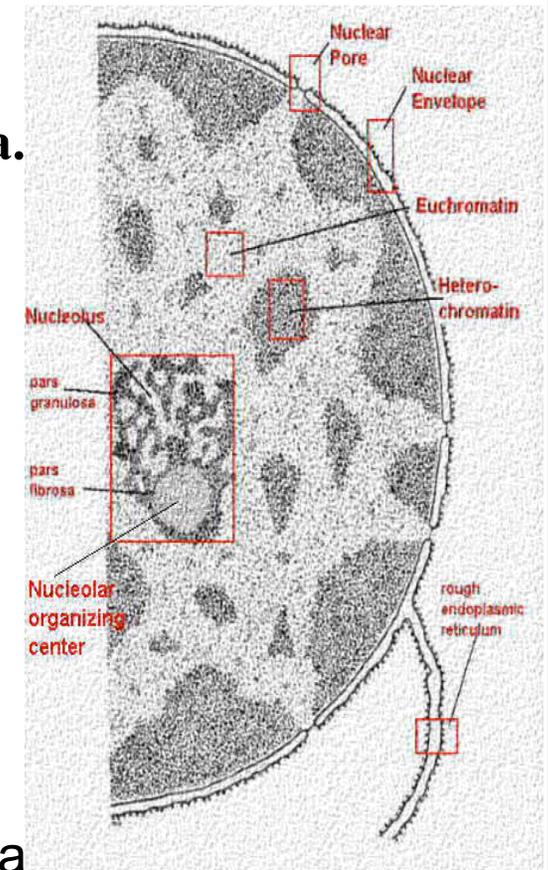


Figure 4-23 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

## 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.

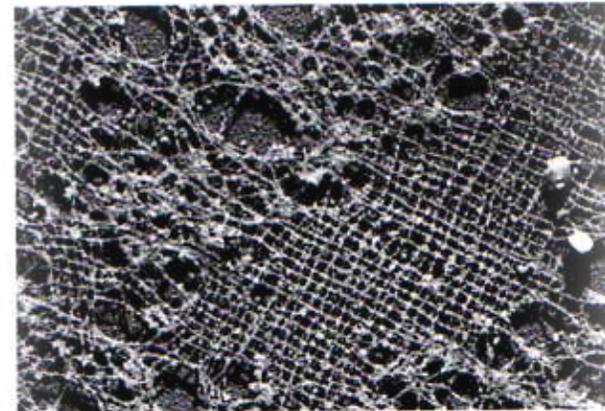


Video into the nucleus

<http://video.google.com/videoplay?docid=6374761646657730470#>

# ¿Qué es el carioesqueleto?

- Es una red de proteínas (laminas) que otorgan estabilidad al interior del núcleo.
- Estas proteínas son del tipo filamentos intermedios
- Participa en el anclaje de los poros nucleares.
- Proporciona el sustrato para la organización de la cromatina en el período de interfase (anclaje de los cromosomas).

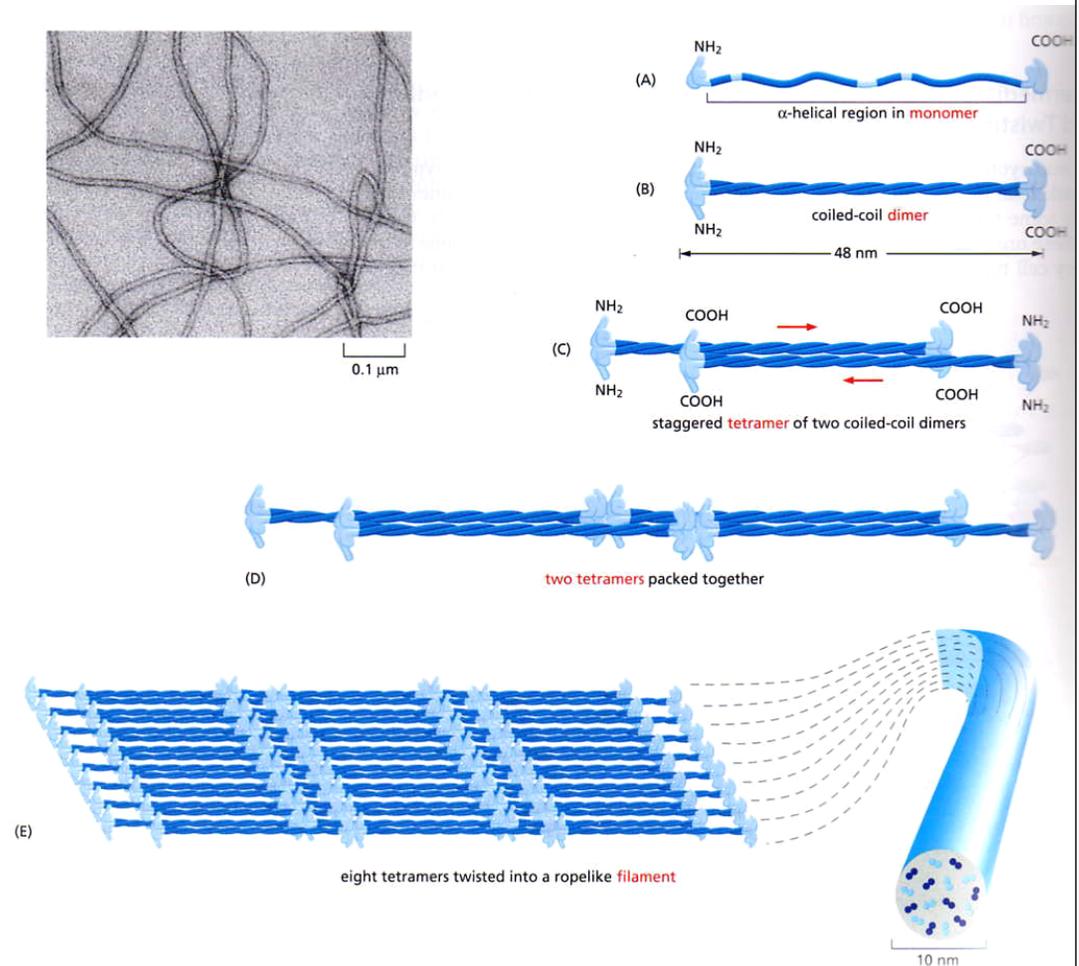


1  $\mu$ m

**Figure 12–19** The nuclear lamina. An electron micrograph of a portion of the nuclear lamina in a *Xenopus* oocyte prepared by freeze-drying and metal shadowing. The lamina is formed by a regular lattice of specialized intermediate filaments. (Courtesy of Ueli Aebi.)

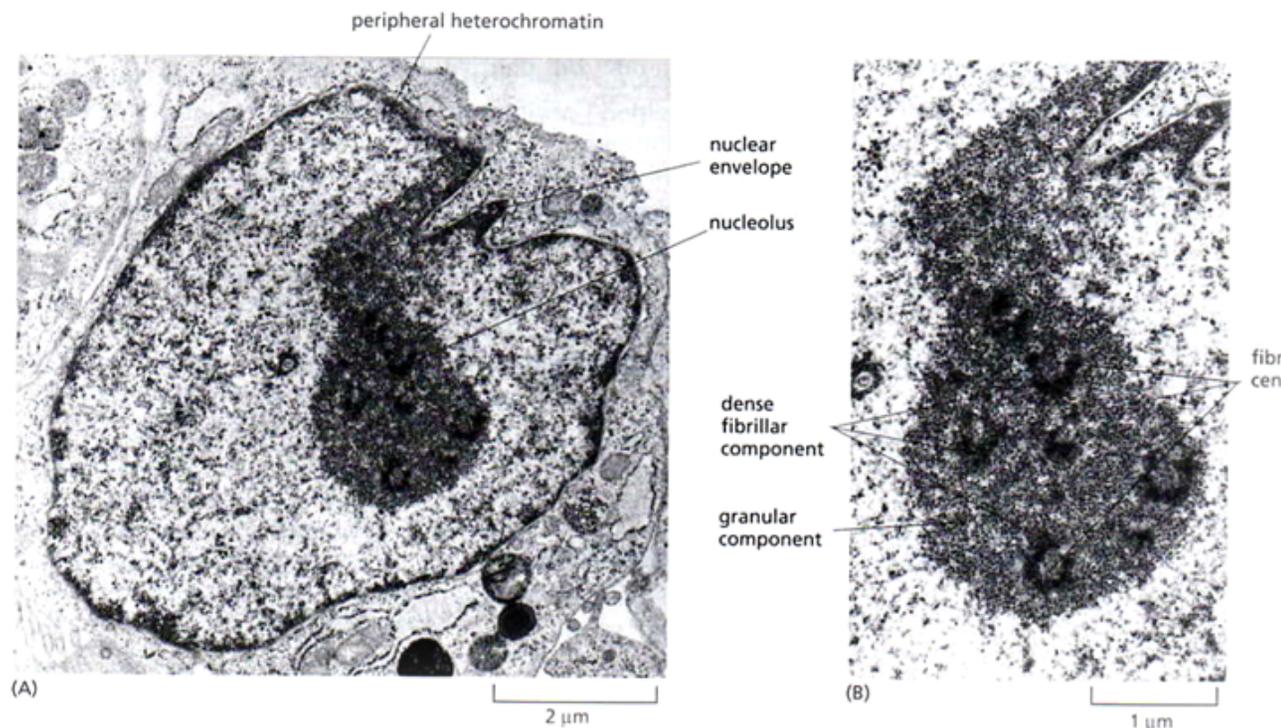
# ¿Cómo están estructurados los filamentos intermedios?

- Son moléculas polipeptídicas alargadas con un dominio  $\alpha$ -hélice central
- Forman espirales paralelas con otros monómeros
- Dímeros formados, se ubican en forma antiparalela y forman un tetrámero.
- Sucesivas asociaciones (8 tetrámeros) forman el filamento intermedio similar a una sogá.



# Nucleolo

- Gran agregado de macromoléculas (genes rRNA, rRNA (i-m), ezs. de procesamiento de rRNA, prots ribosomales y ribosomas parcialmente ensamblados)
- Es el lugar de procesamiento de los rRNAs y ensamblaje en

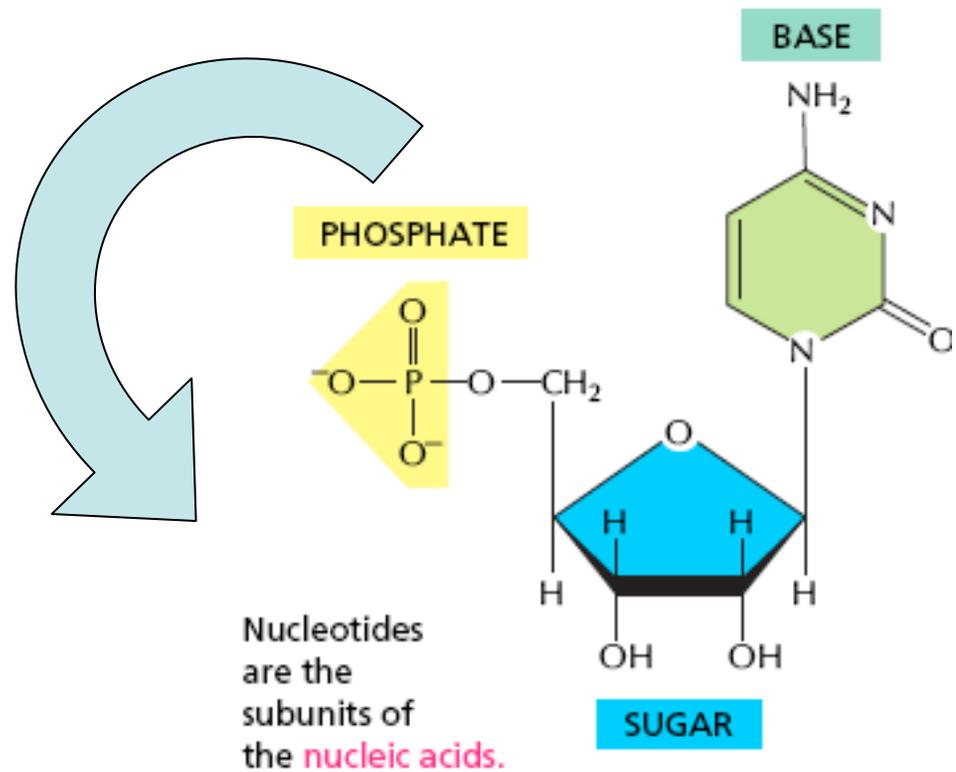


Su tamaño varía de una célula a otra, dependiendo del n° de ribosomas que la célula produzca

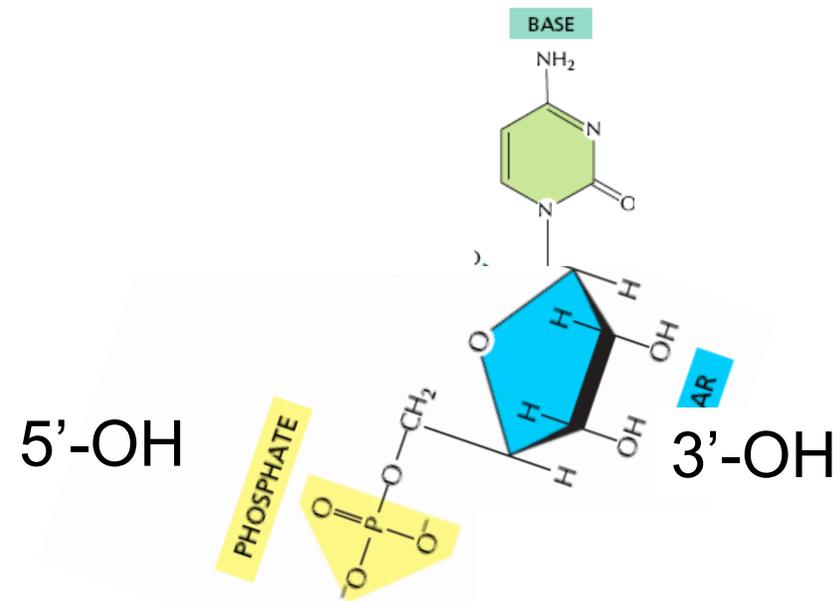
Video

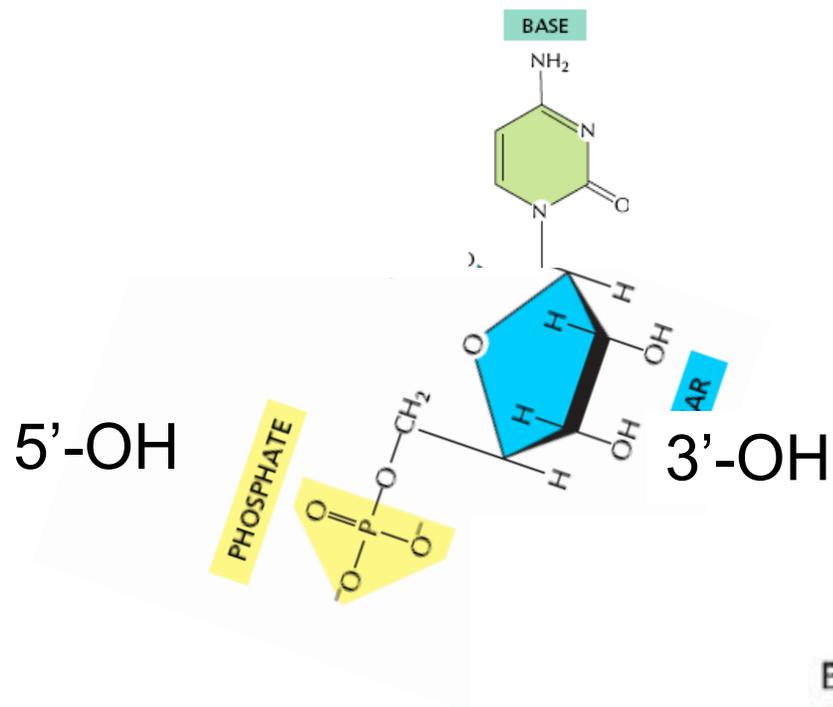
<http://www.youtube.com/watch?v=q2JvLai3lfE&feature=related>

# NUCLEOTIDOS



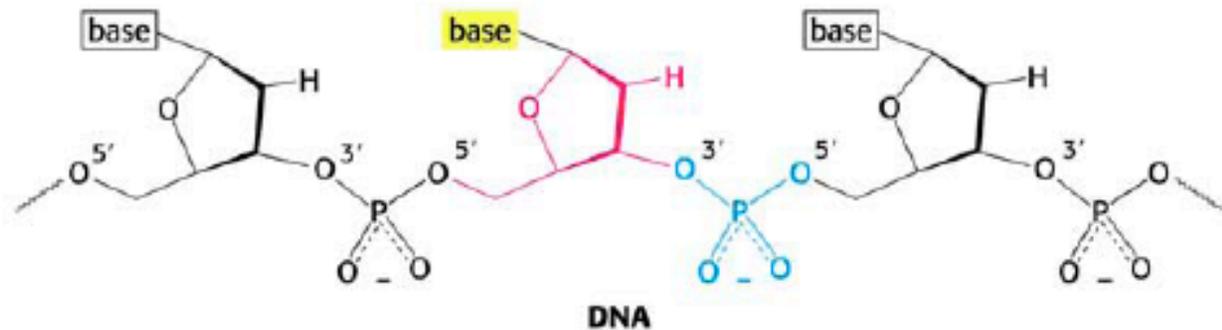
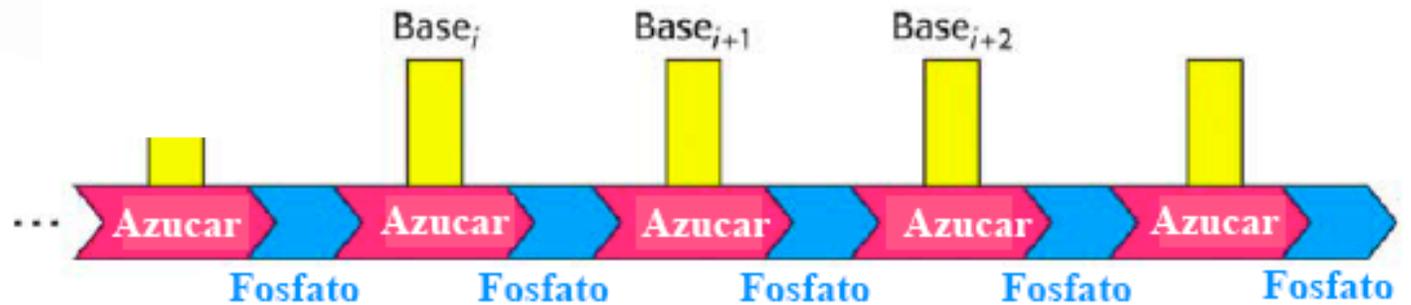
Los nucleótidos están formados por una base orgánica unida a una azúcar la que tiene 1 a 3 grupos fosfatos. Las bases pueden ser Púricas: adenina y guanina; Pirimídicas: citocina, uracilo y timina. El azúcar puede ser ribosa (ARN) o deoxiribosa (ADN)





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

¿por qué?



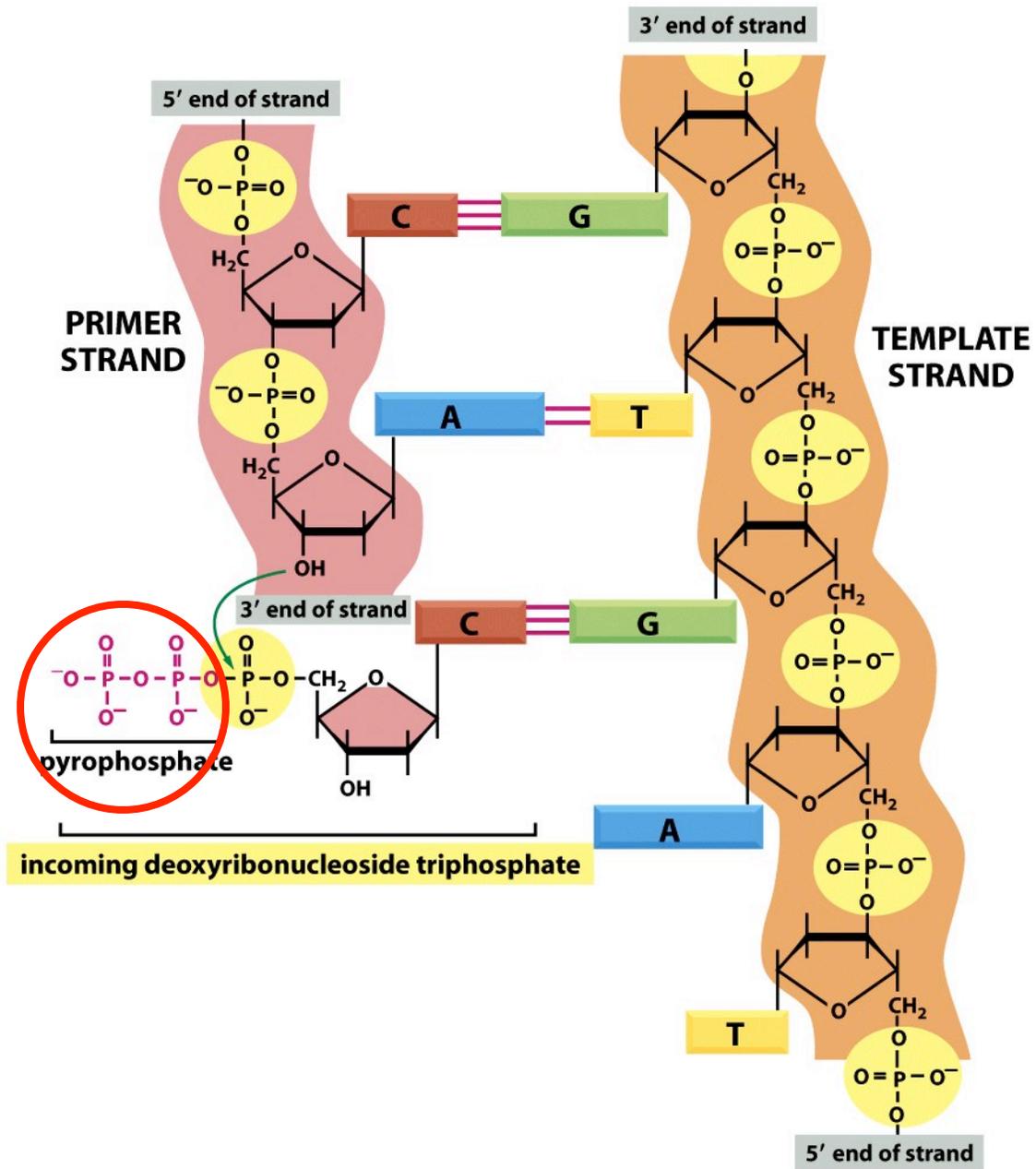


Figure 5-3 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

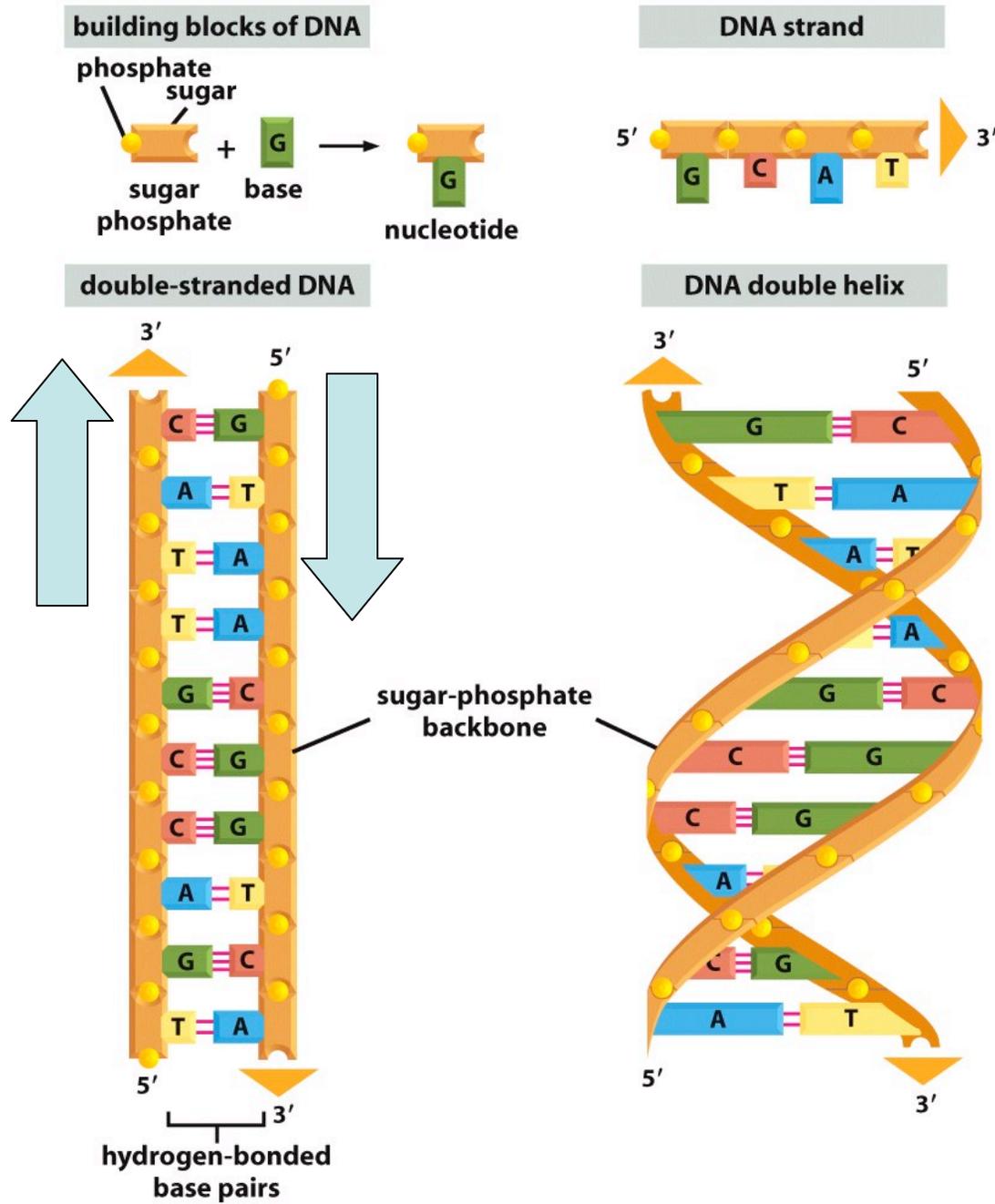
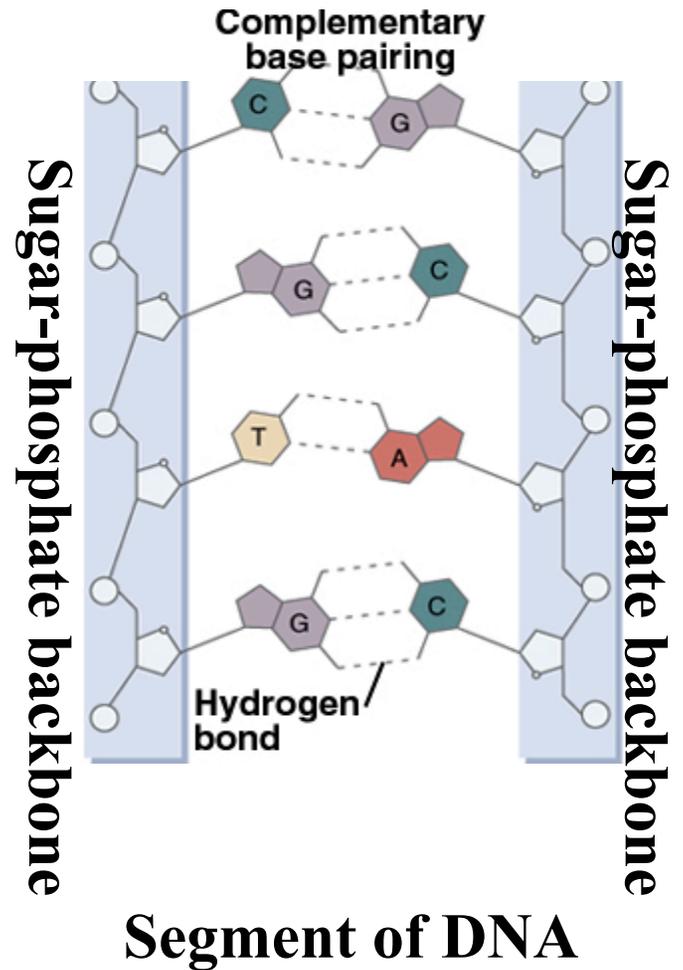


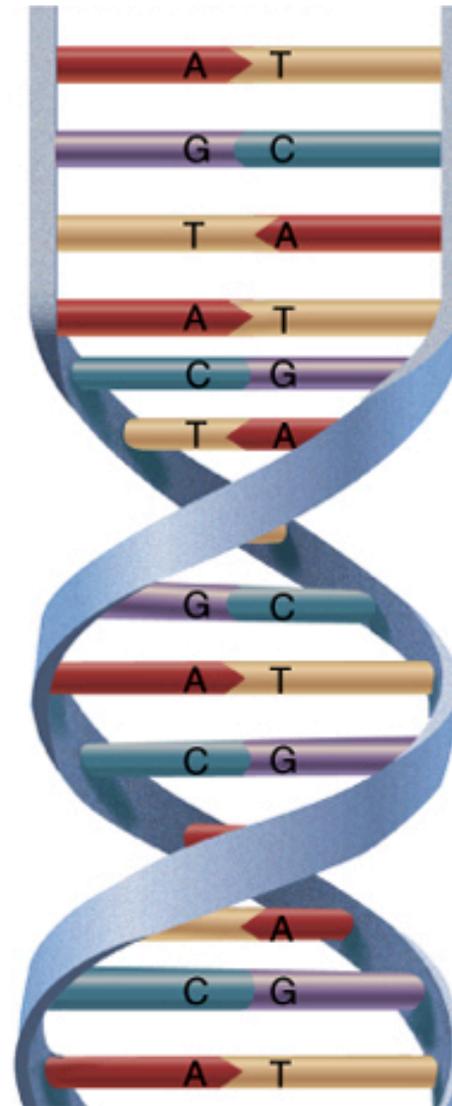
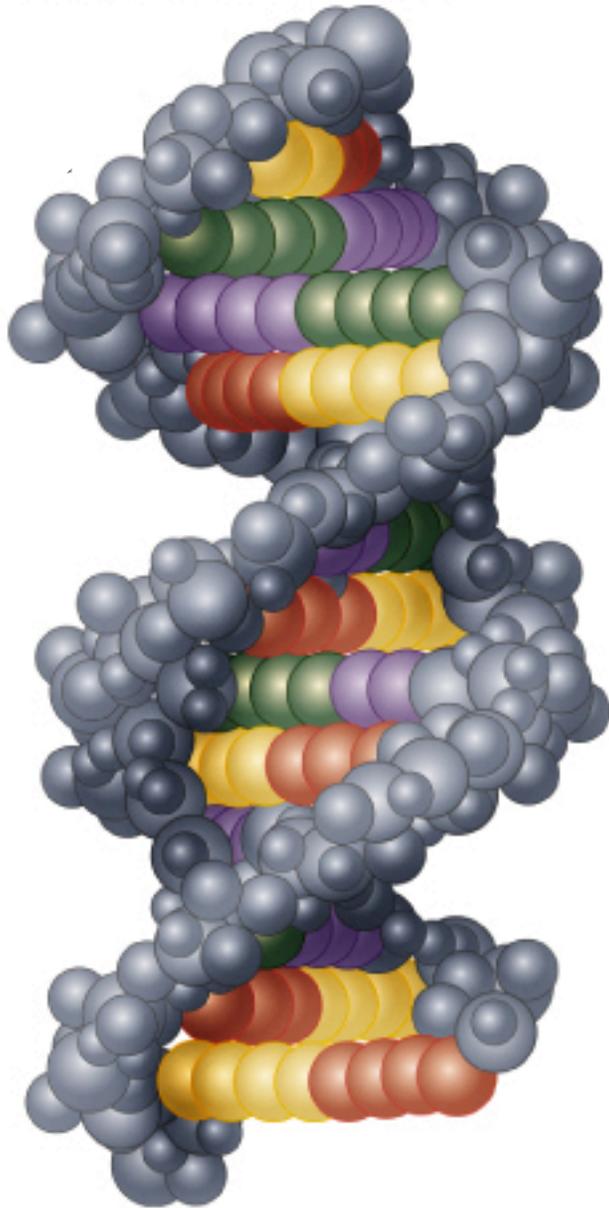
Figure 4-3 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# 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 2<sub>31</sub>  
4.1 DNA structure

# Replicación del ADN

Three postulated methods of DNA Replication



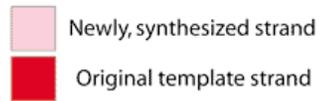
Semi-Conservative



Conservative\*



Dispersive\*



\* not found to be biologically significant

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

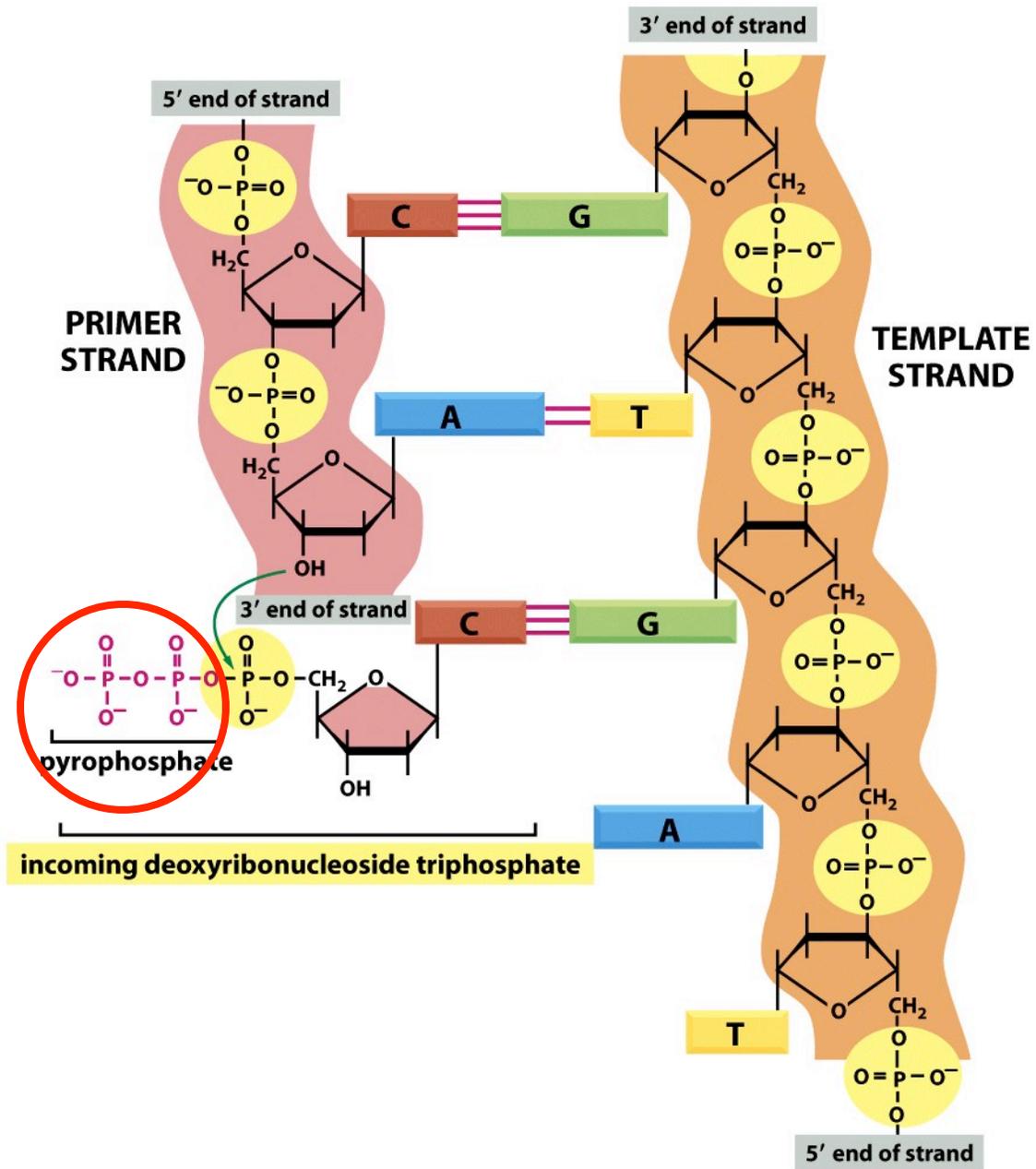
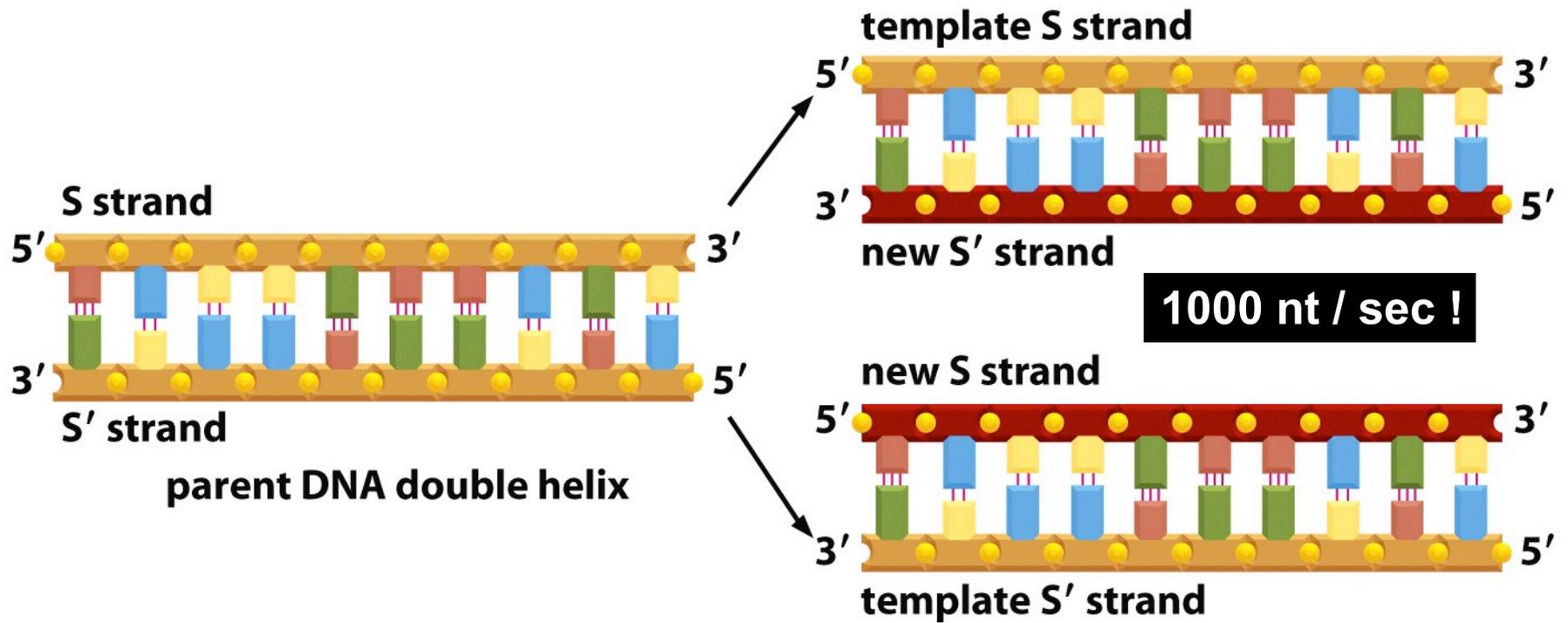


Figure 5-3 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

# Horquilla de REPLICACION



Primero:  
Desenrollar y separar las  
hebras complementarias:

## Helicasa de ADN

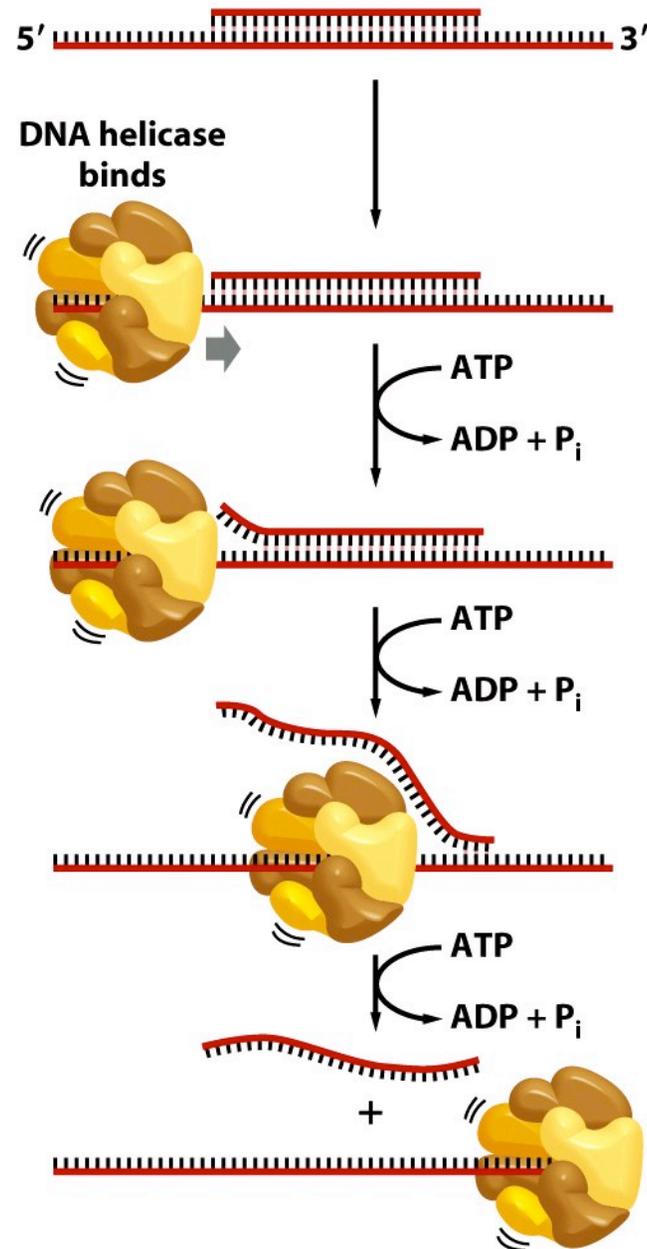


Figure 5-14 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

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

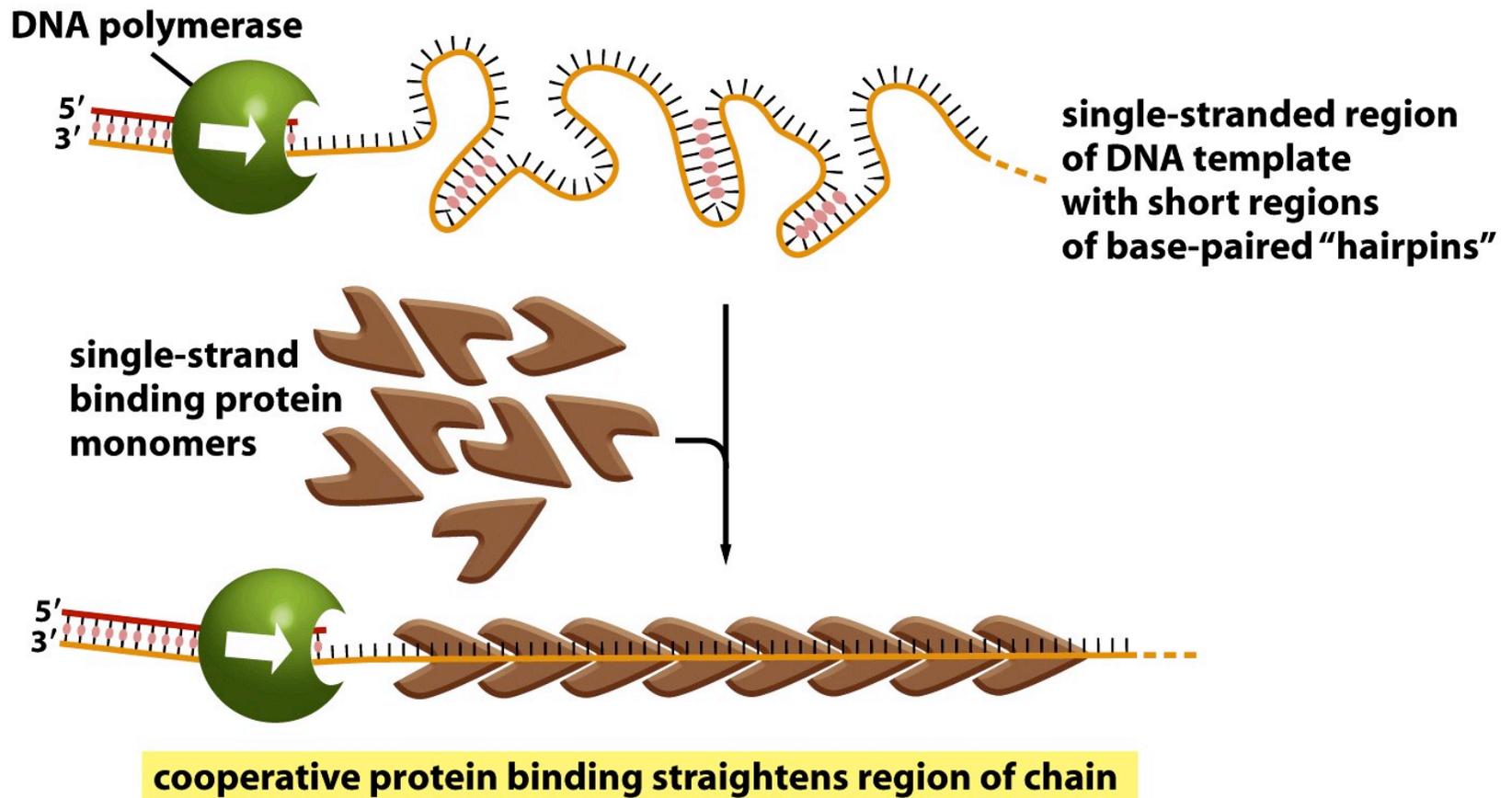
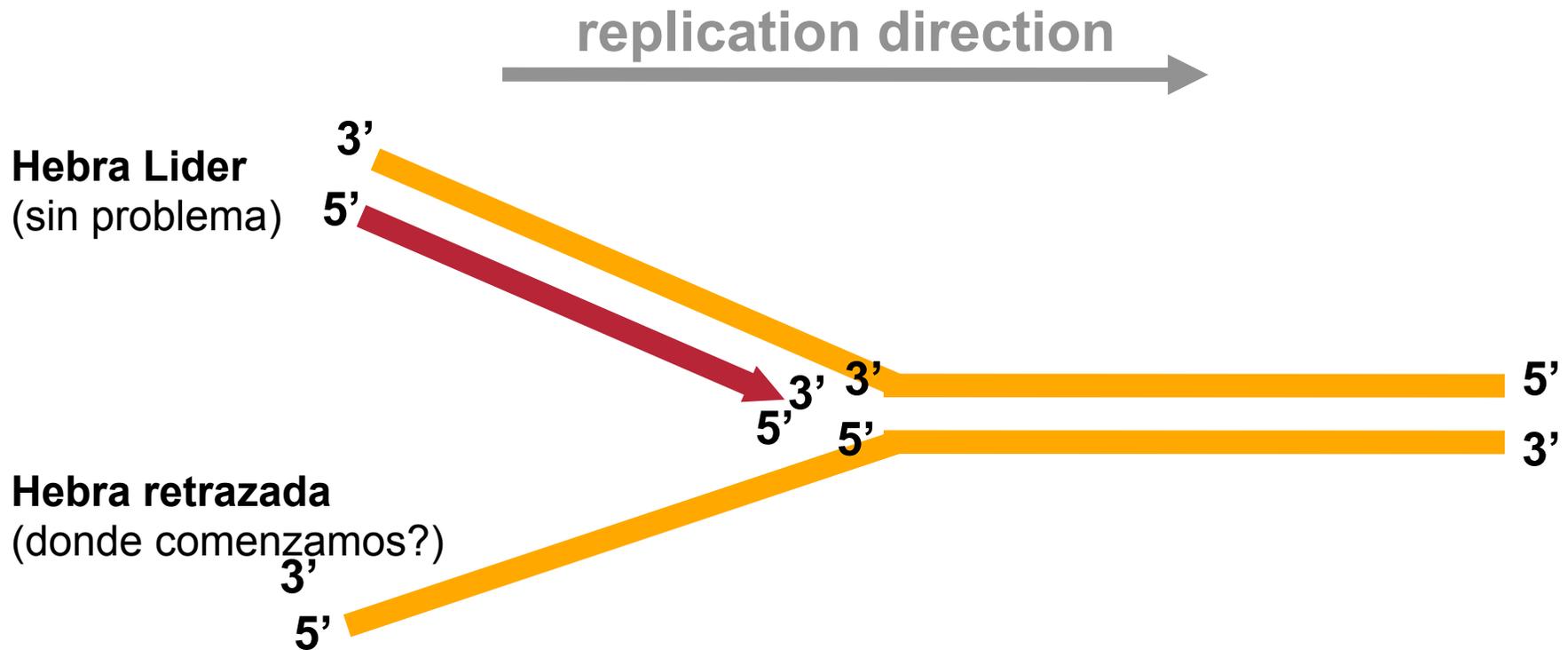


Figure 5-16 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Tercero:  
¡Resolver que hacemos con la síntesis  
UNIDIRECCIONAL!

**La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'**

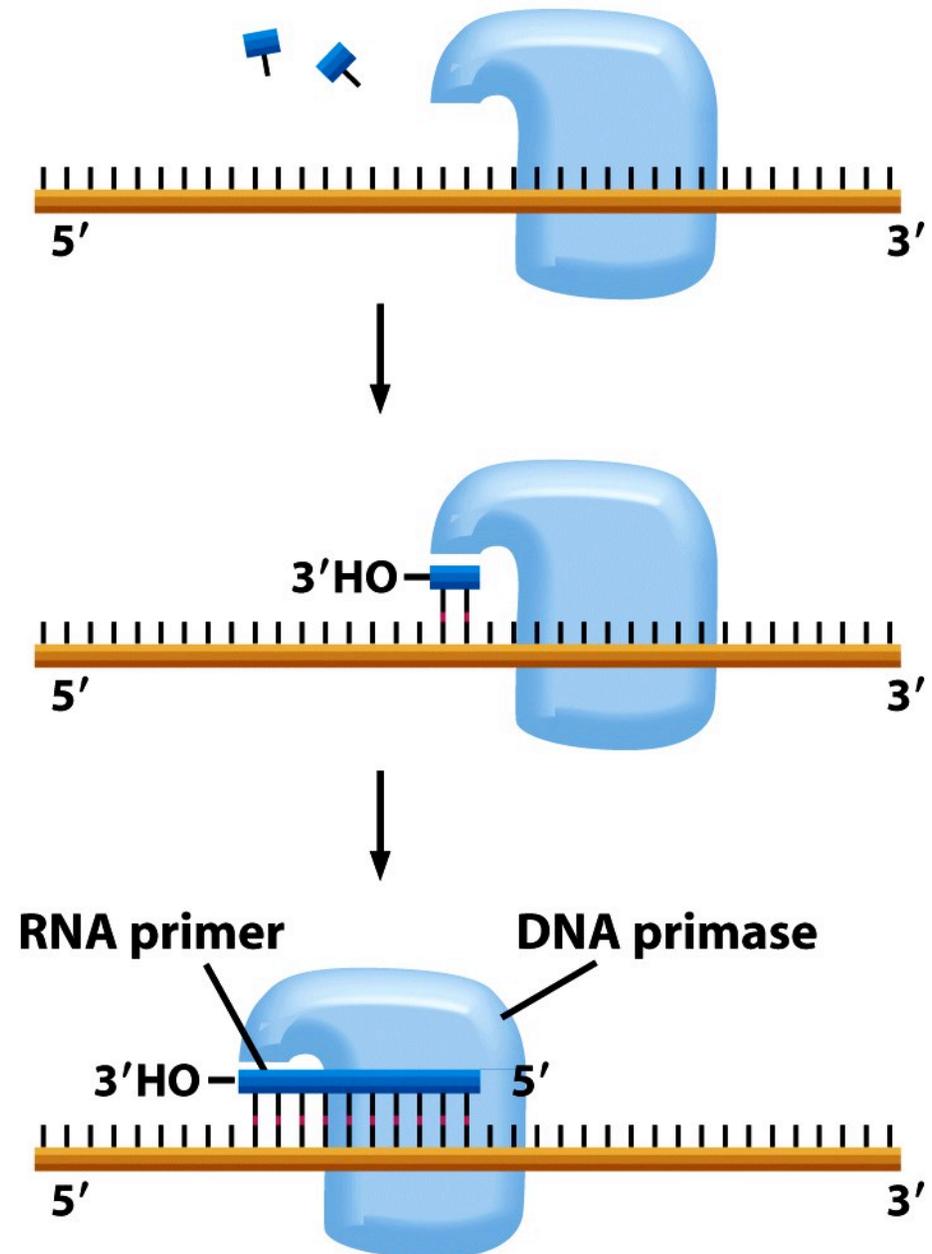


ADEMÁS!!

¡La ADN polimerasa no puede iniciar una nueva hebra!

Solo puede continuar una que ya esté empezada

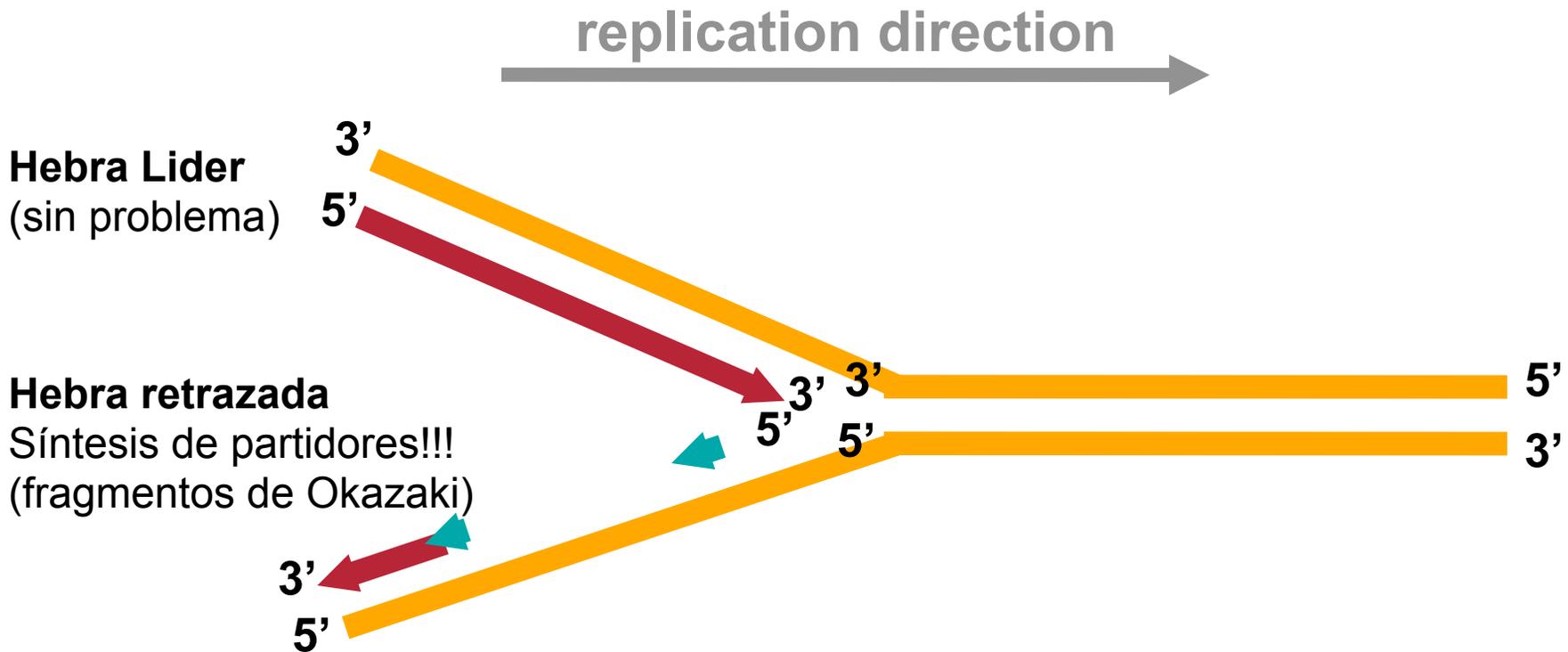
(Pero, las polimerasas de ARN si pueden comenzar hebras partiendo solo desde la hebra molde, por lo que pueden sintetizar partidores para la ADN-Pol)



Tercero:

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

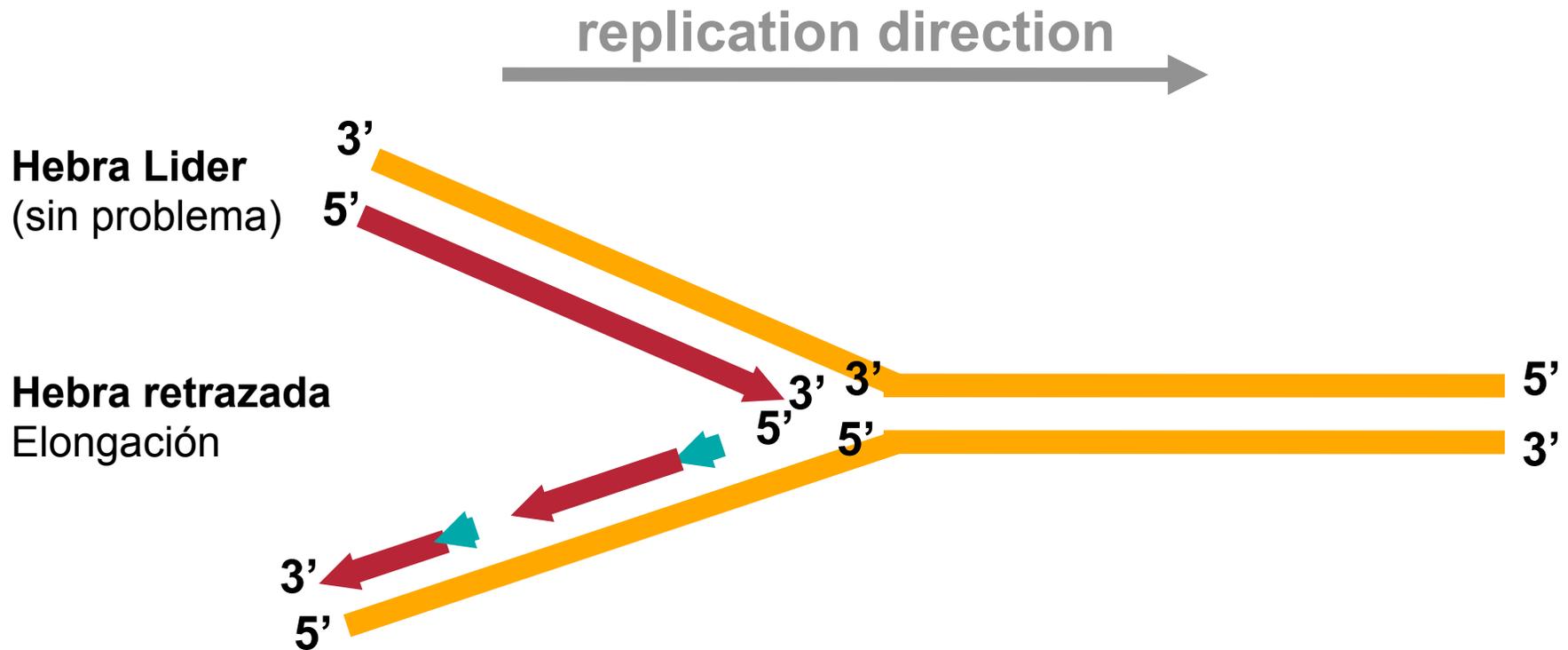
**La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'**



Tercero:

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

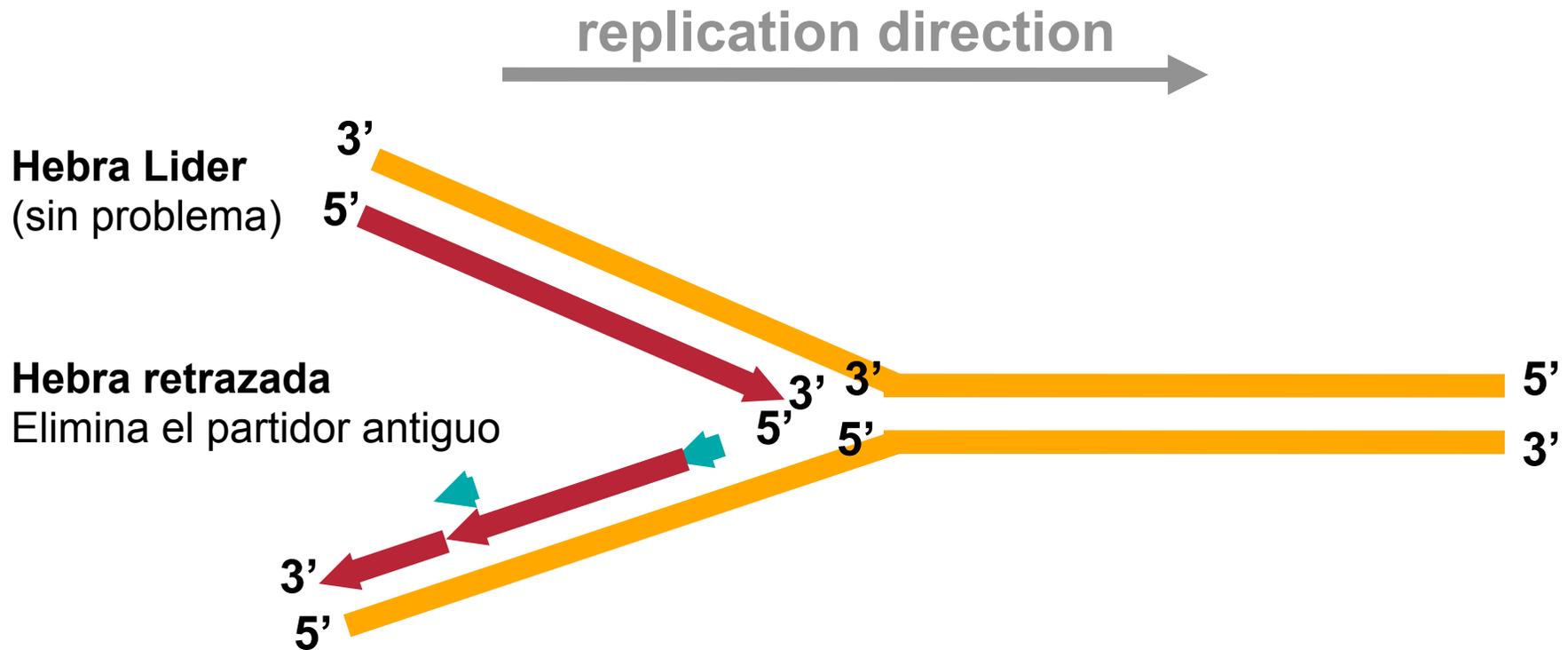
**La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'**



Tercero:

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

**La ADN polimerasa sintetiza en dirección 5' → 3'**



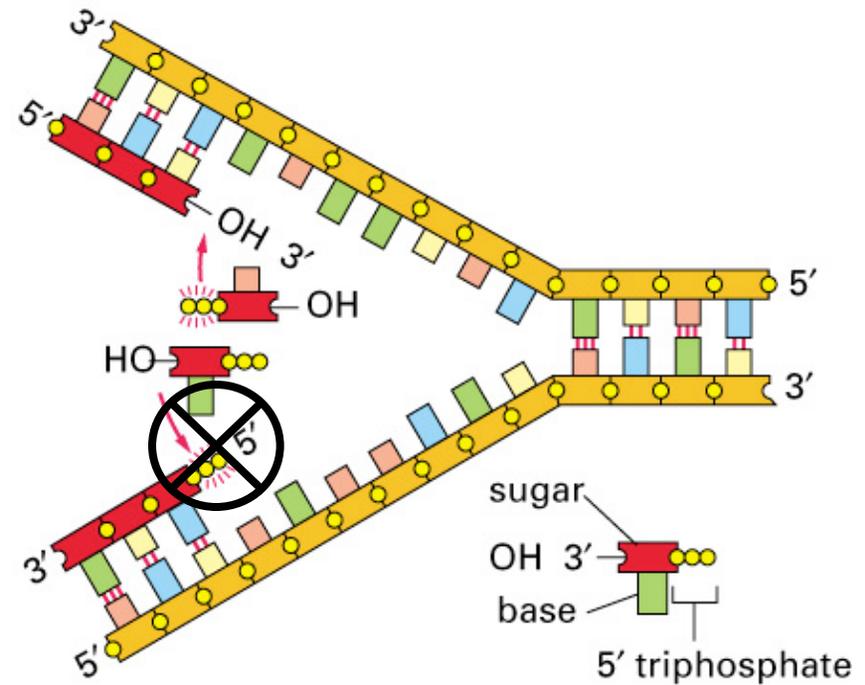
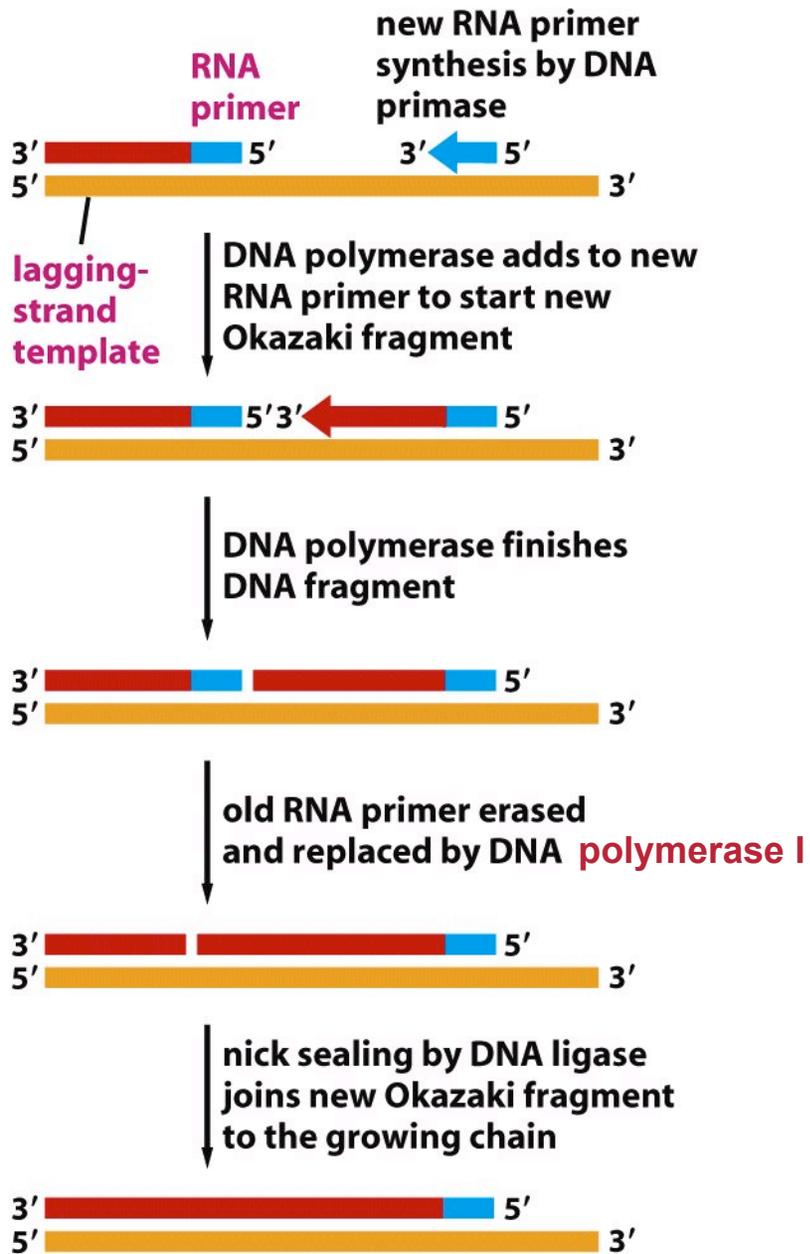


Figure 5-7. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

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

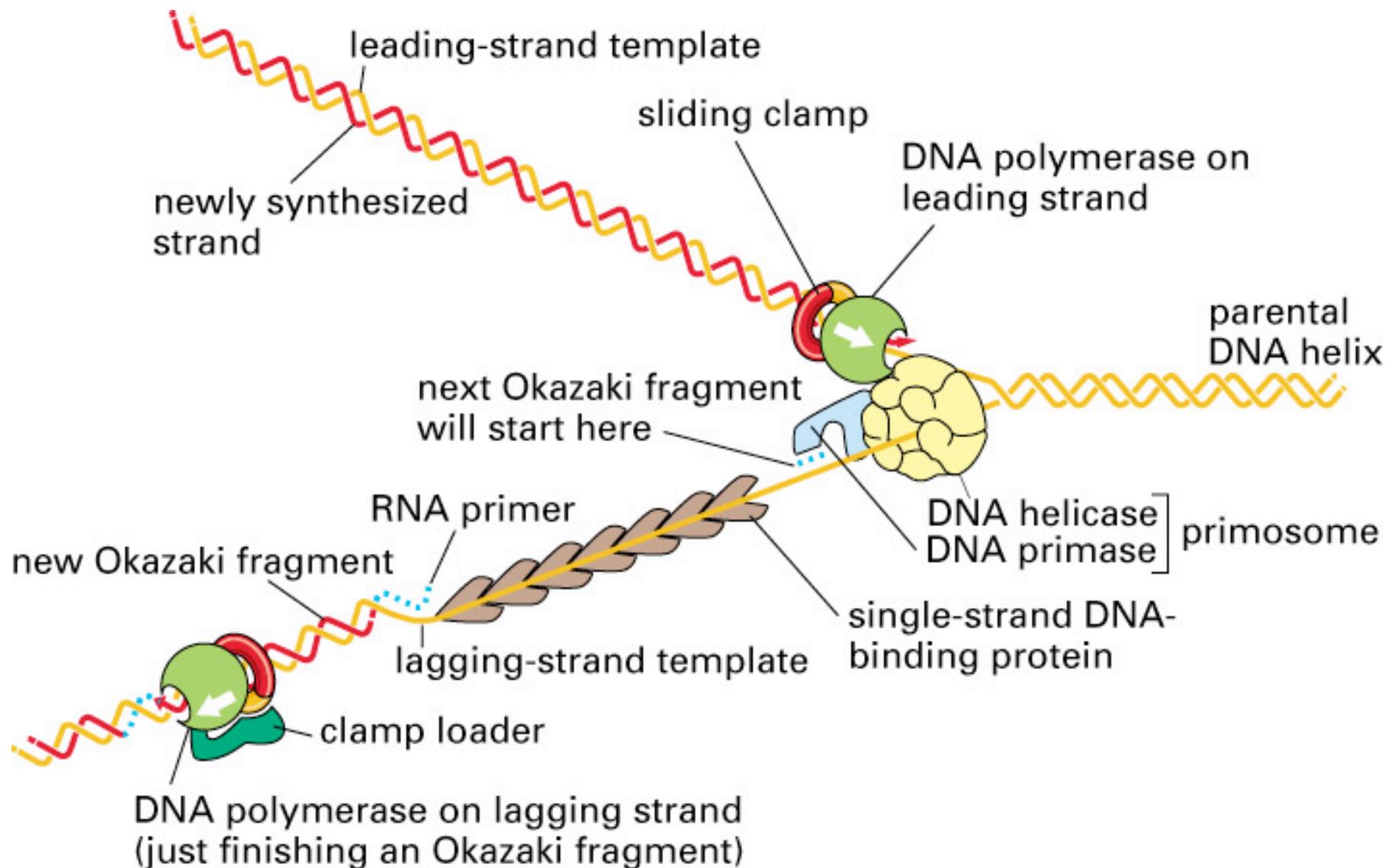


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

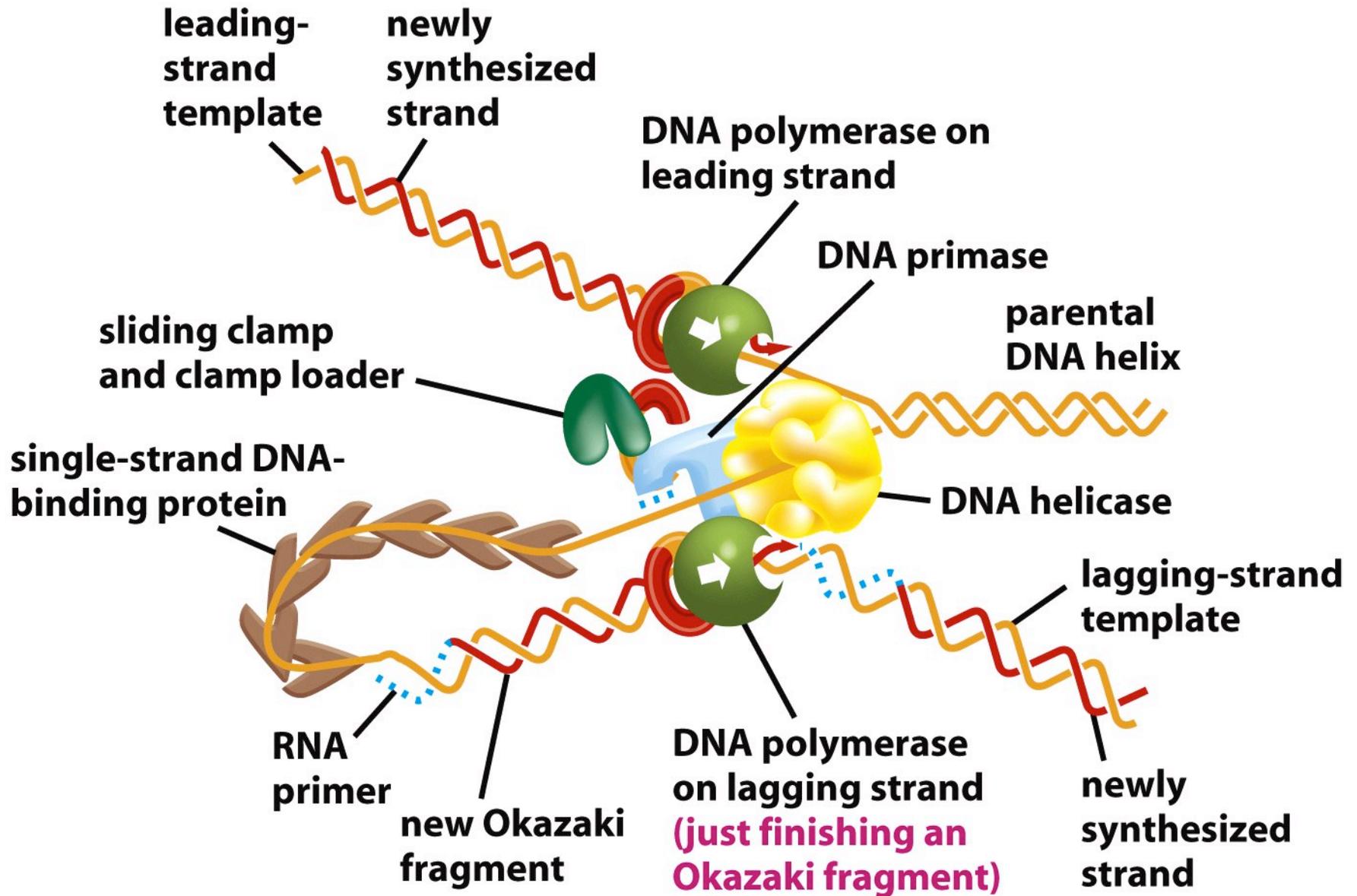
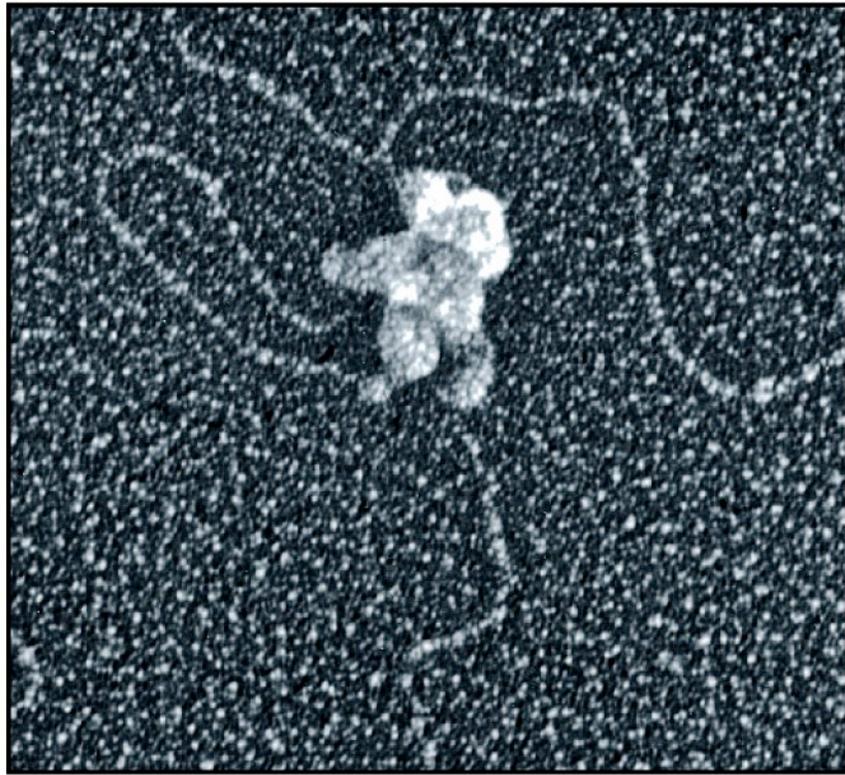
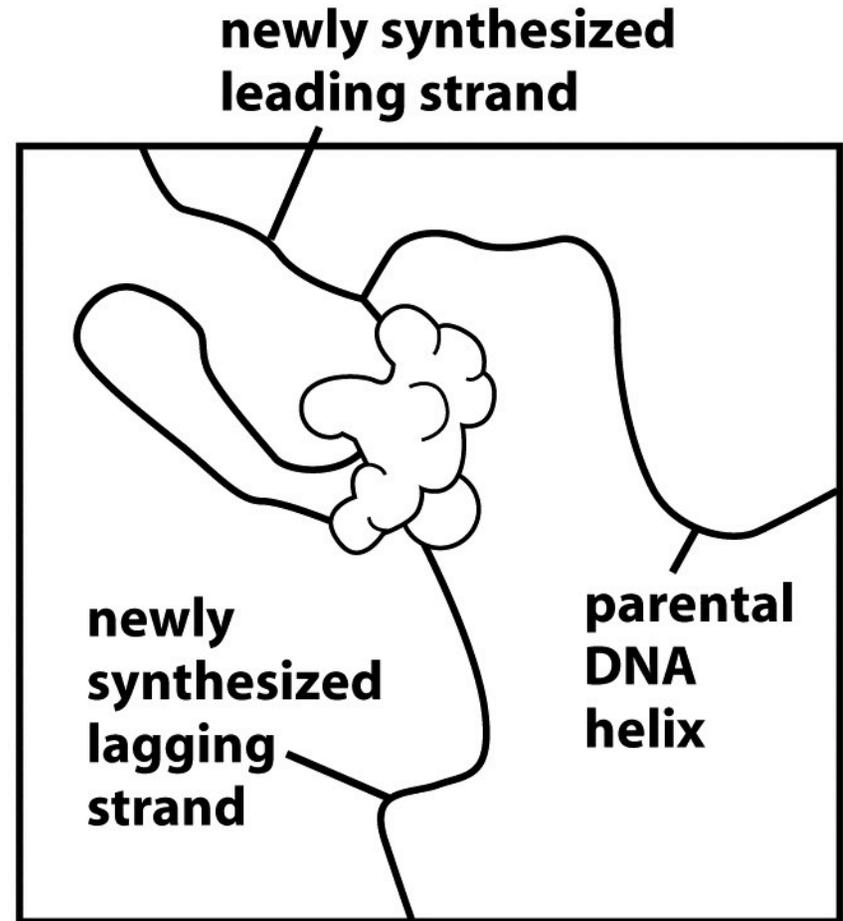


Figure 5-19a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

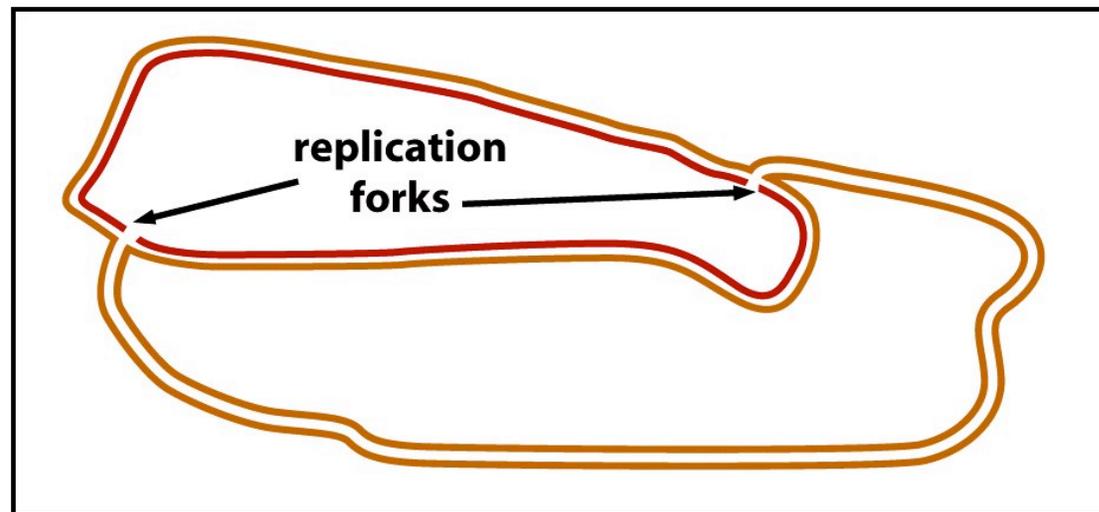
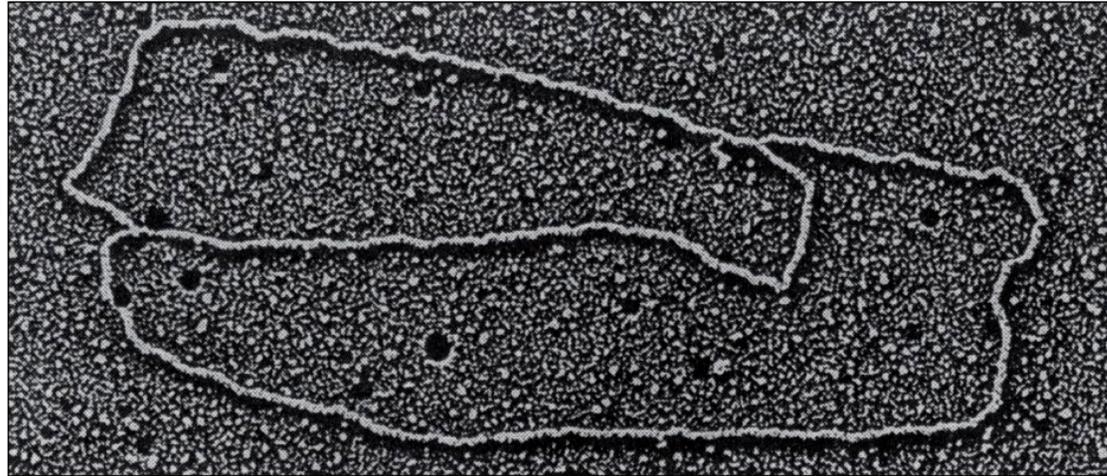


**(B)**



**(C)**

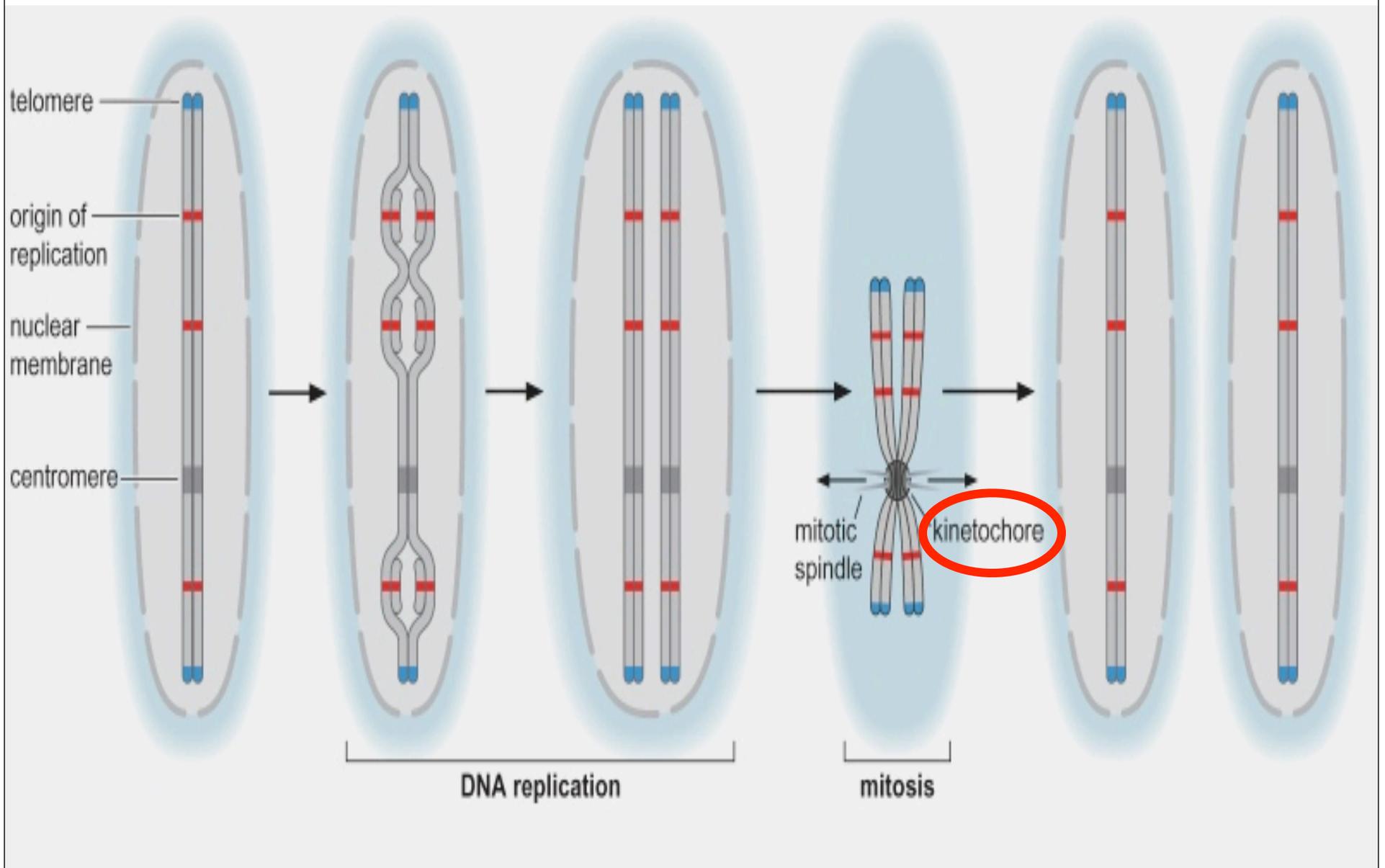
## Replicación de ADN de una bacteria: 1 sitio de origen

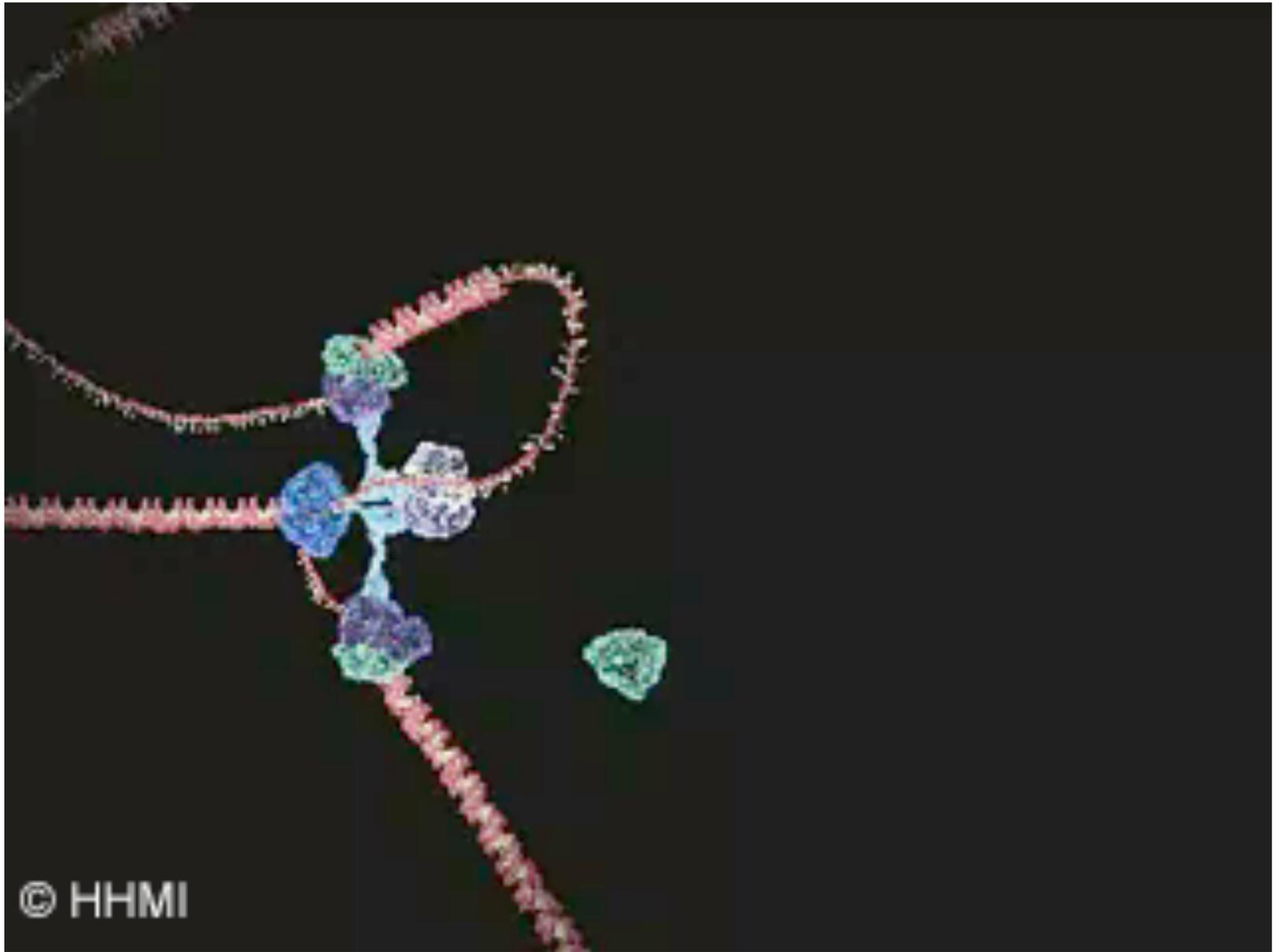


1  $\mu\text{m}$

1  $\mu\text{m}$

# Replicación de ADN en Eucariontes: muchos sitios de origen





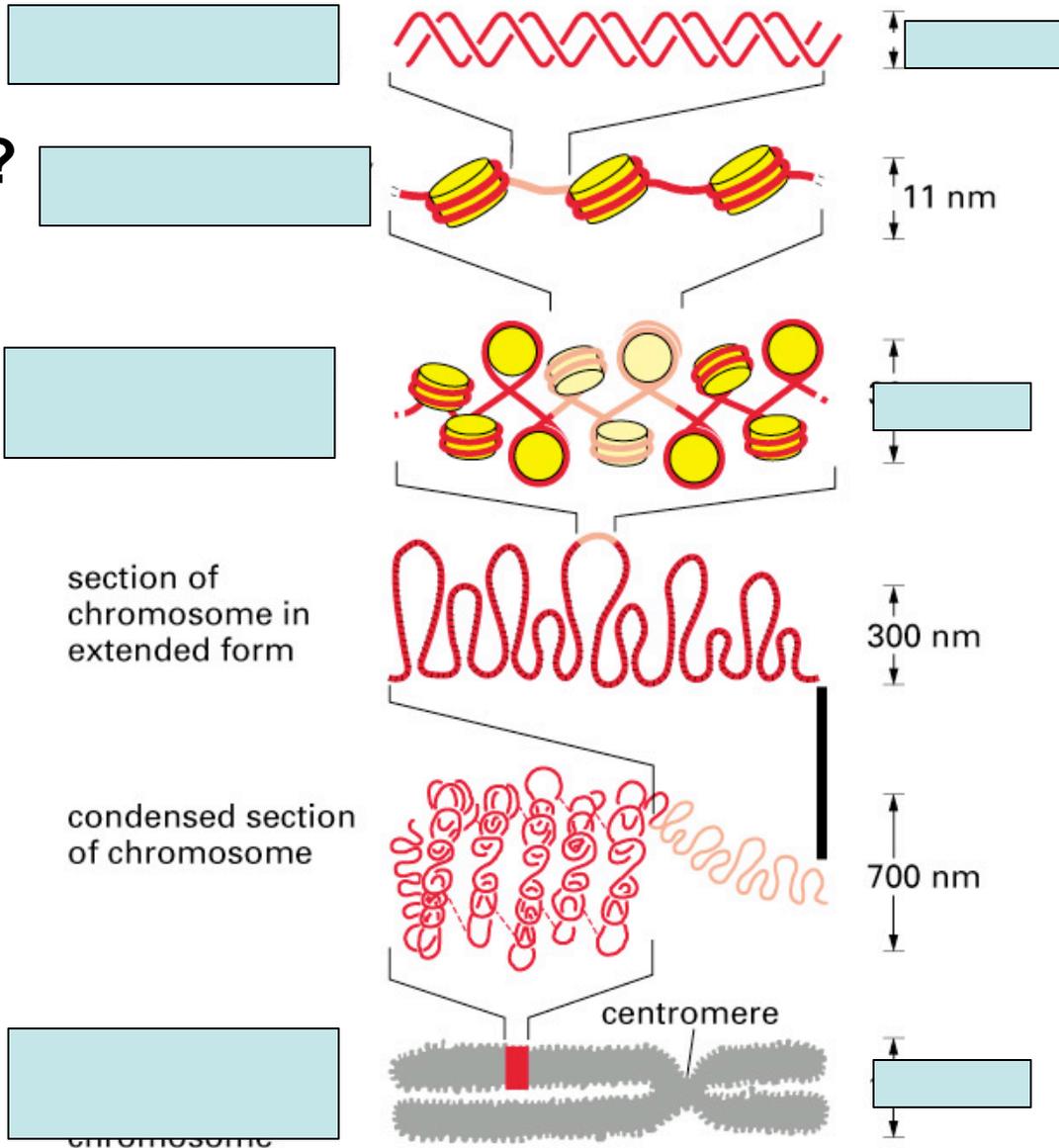
# Diagnóstico

¿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?

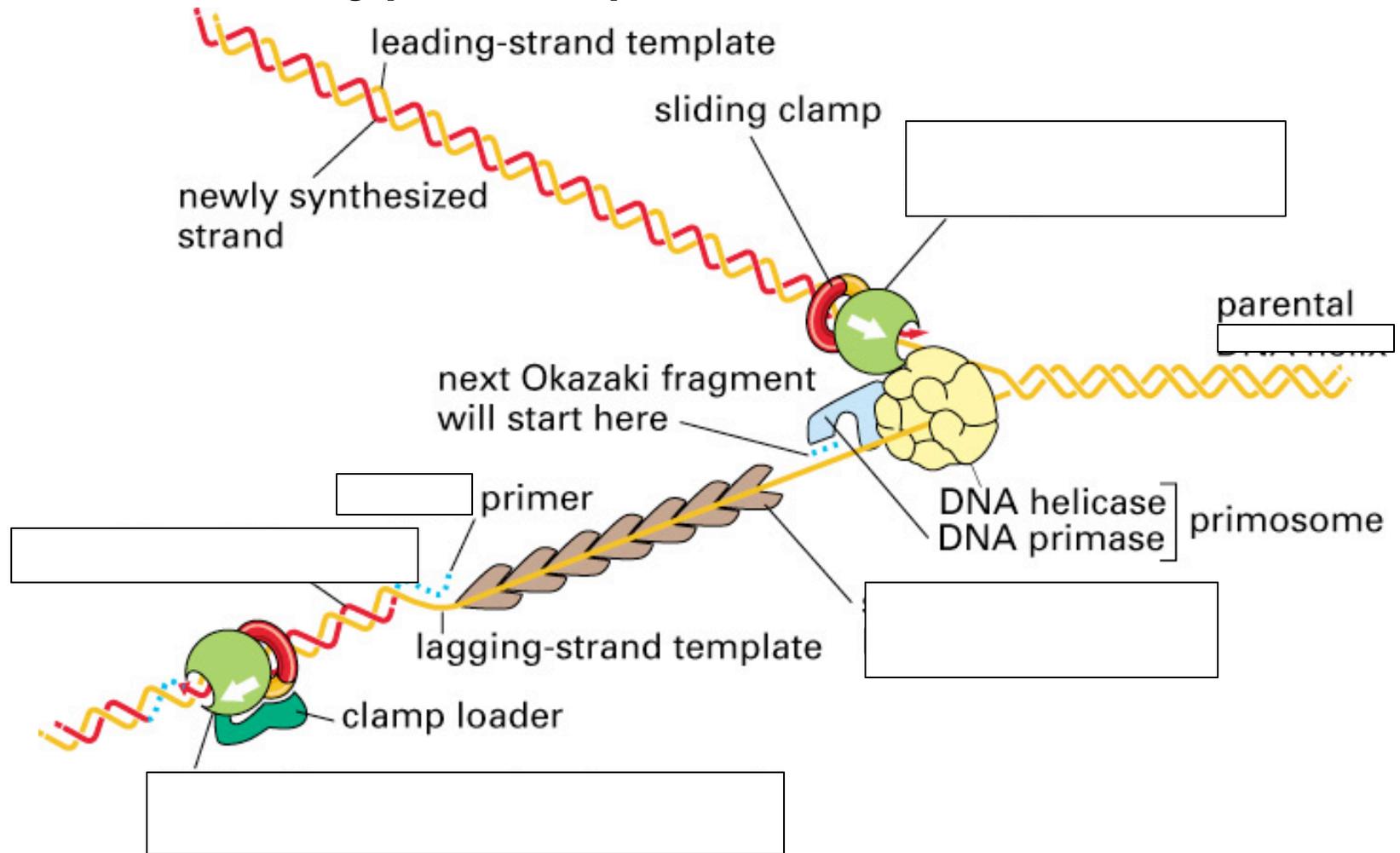


Figure 5-21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.