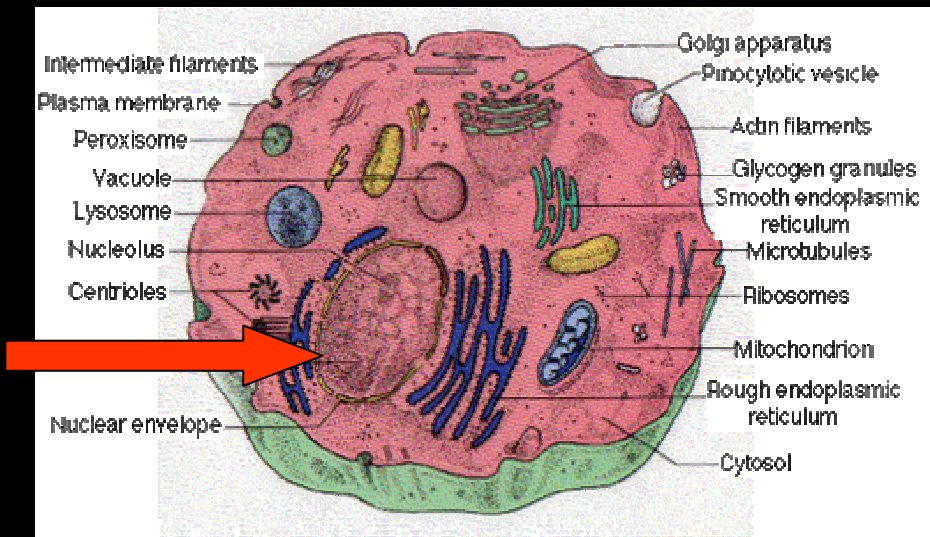
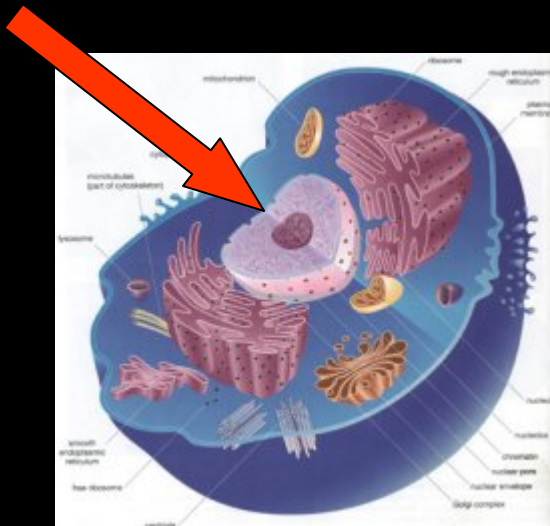


Núcleo celular

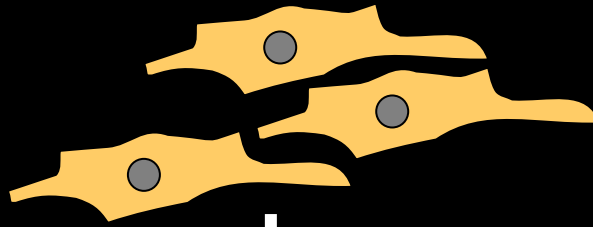


<http://gened.emc.maricopa.edu/bio/bio181/BIOBK/BioBookCELL2.html>

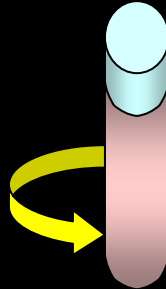


Nucleus by James Niemasik

Separación del núcleo



homogeneización



centrifugación a velocidad creciente



600 g

15.000 g

100.000 g

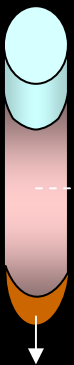
300.000 g

10 min

5 min

60 min

120 min



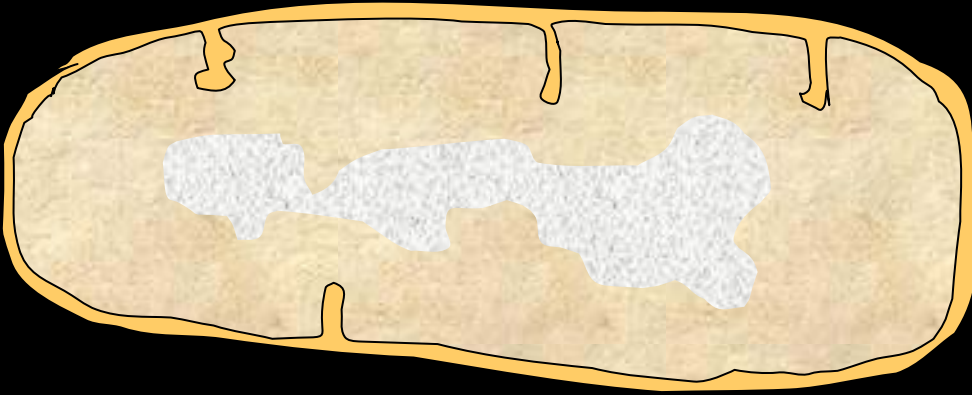
núcleos

mitocondrias
lisosomas
peroxisomas

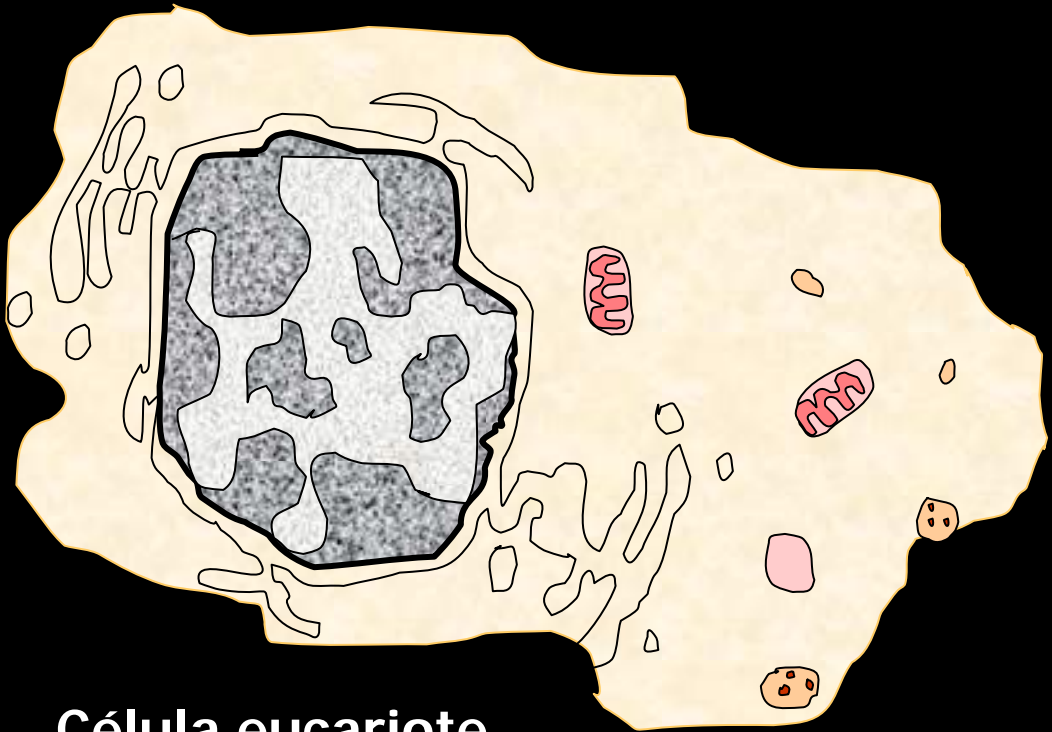
membranas
microsomas

subunidades
ribosomales
polisomas

citosol



Célula procariote



Célula eucariote

Organelo propio de los eucariotes

¿Por qué o para qué existe el núcleo?

TEMARIO

Características generales

Procesos biológicos que ocurren en el núcleo

Estructura del núcleo

Tráfico de moléculas desde/hacia en núcleo

¿Qué hay en el núcleo?

Agua

Iones

Moléculas pequeñas

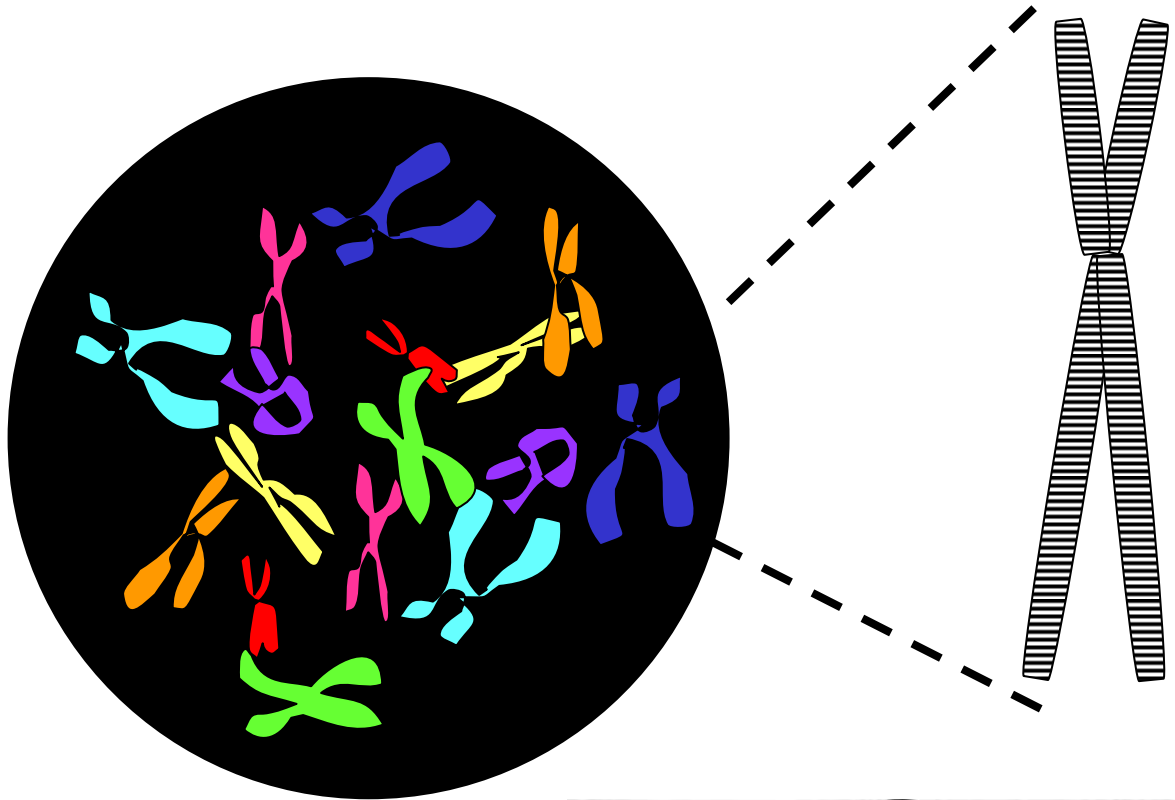
Macromoléculas:

- Proteínas

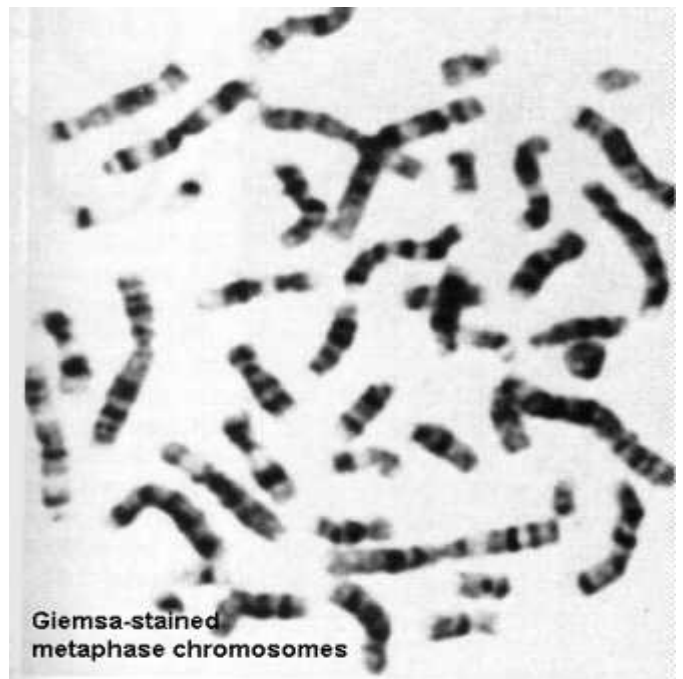
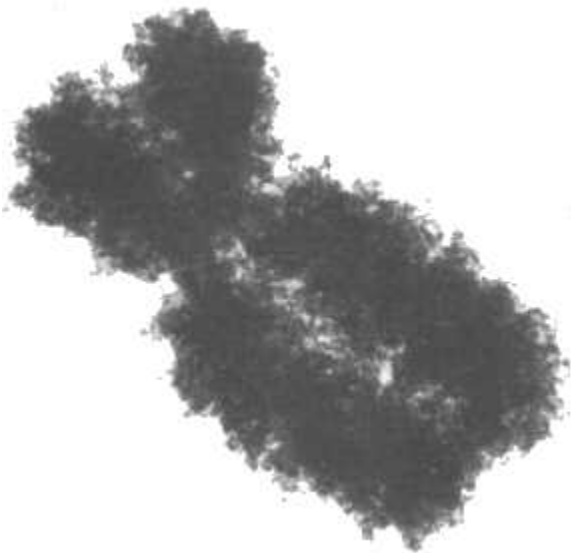
- Ácidos nucleicos DNA
 RNA

Residencia del material genético

DNA estructurado en cromosomas



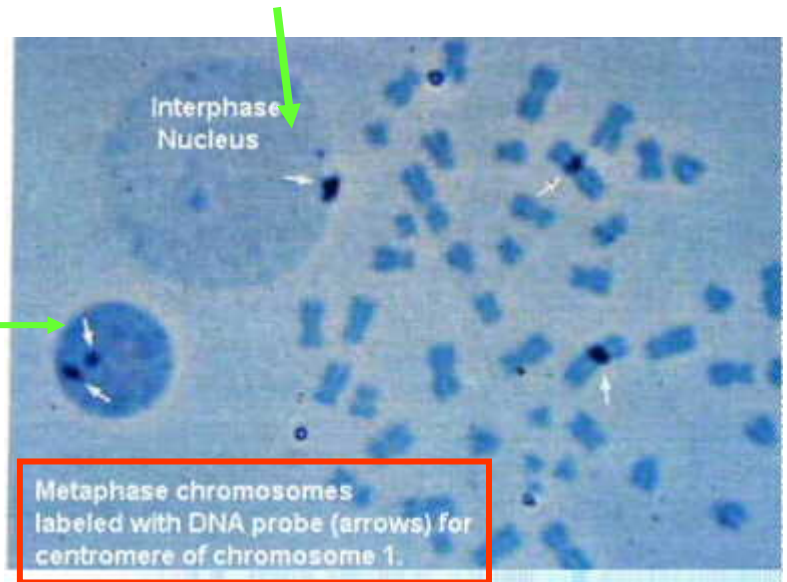
cromosomas



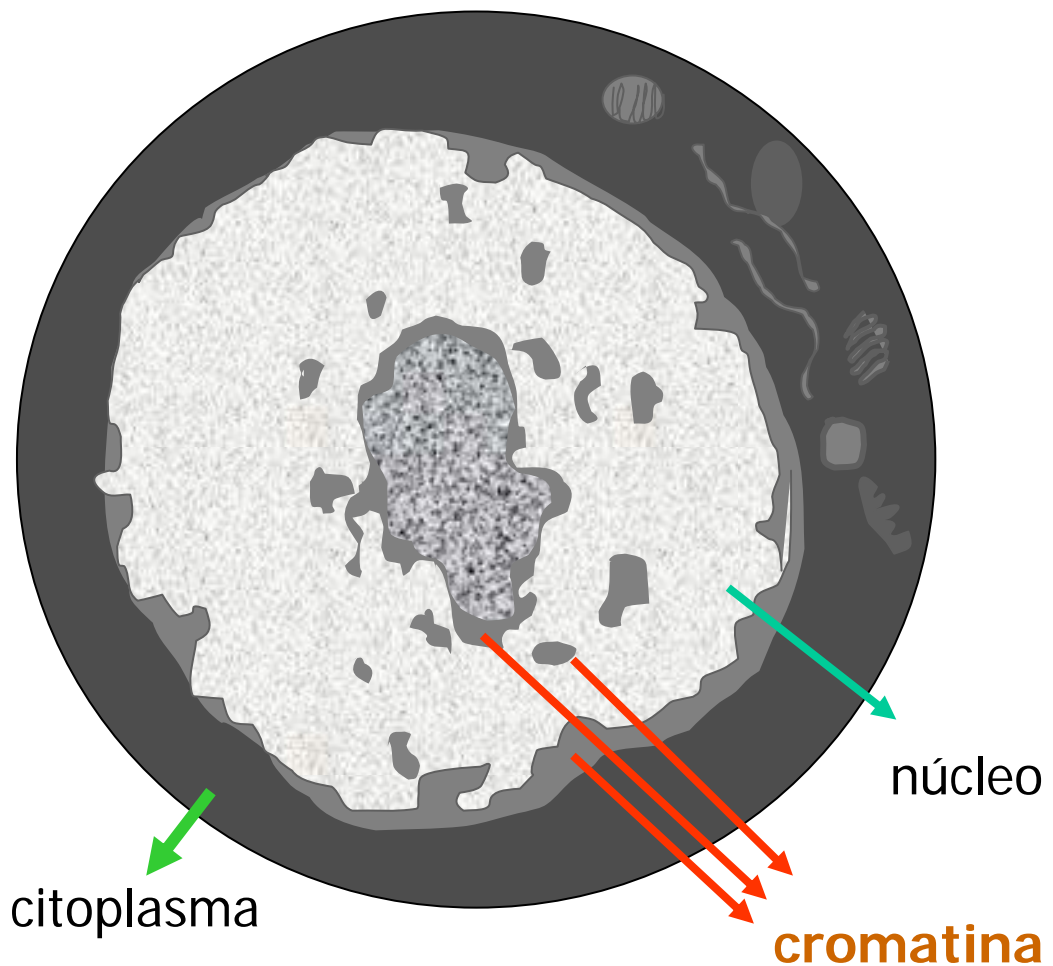
Alberts et al, Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, 1994, pages 352 and 353

Núcleo interfásico

Núcleo metafásico



Boehringer Mannheim Biochemicals "Non Radioactive In Situ Hybridization Application Manual", Figure 14.



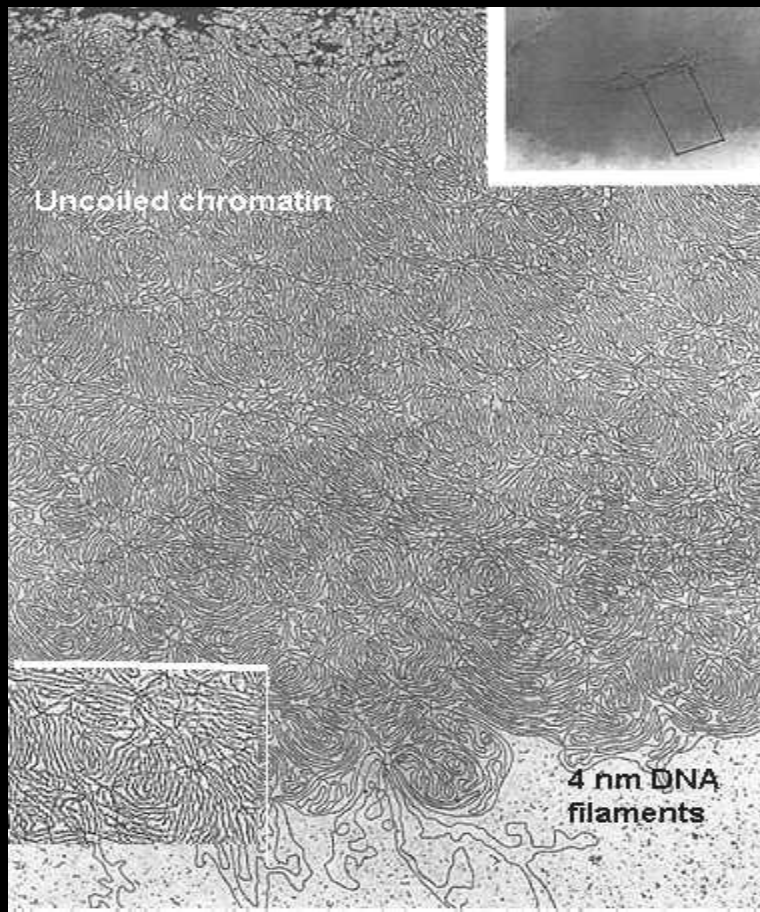


Figure 1-15

*Modificado de Bloom and Fawcett, A Textbook of Histology,
Chapman and Hall, 12th edition,*

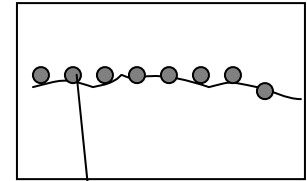
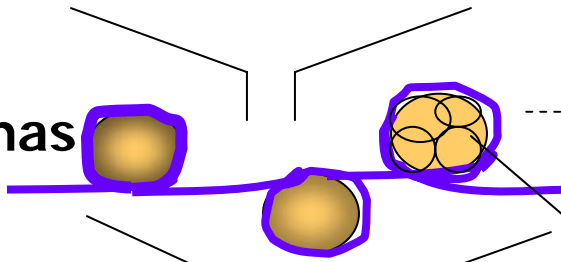
DNA

2 nm ϕ



Nucleosomas

11 nm ϕ

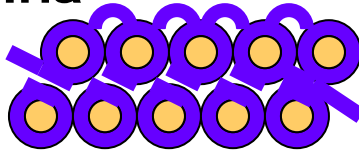


Nucleosoma:

octámero de
histonas H2A,
H2B, H3 y H4

Fibra de cromatina

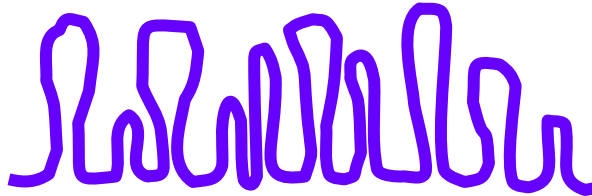
30 nm ϕ



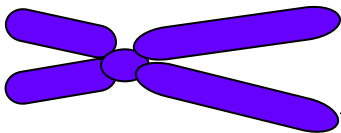
**Cromosomas
interfásicos**

- Eucromatina
(laxa)

- Heterocromatina
(compacta)



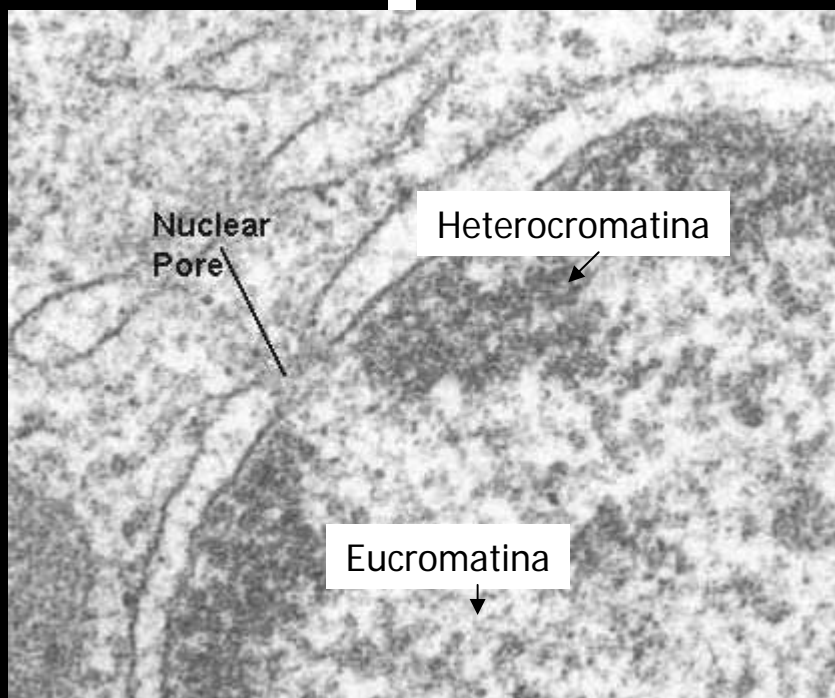
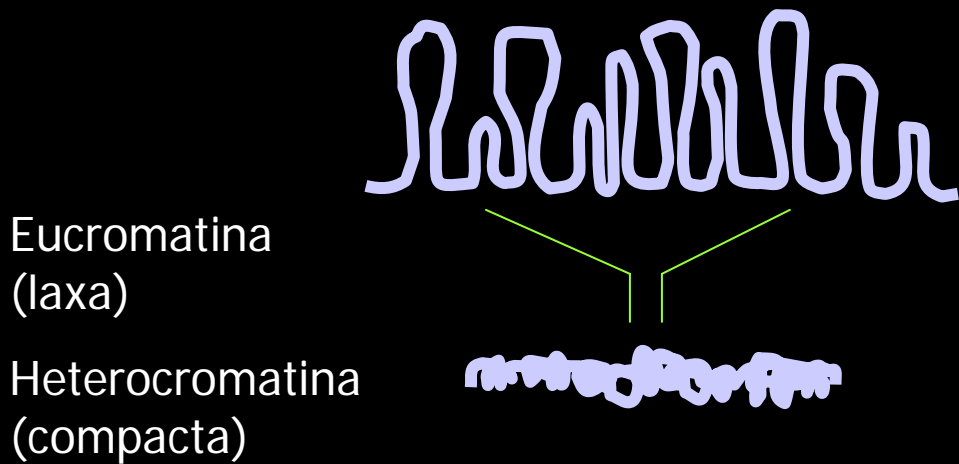
cromosoma en fase G1



cromátidas

**cromosoma
metafásico**

Cromosomas interfásicos



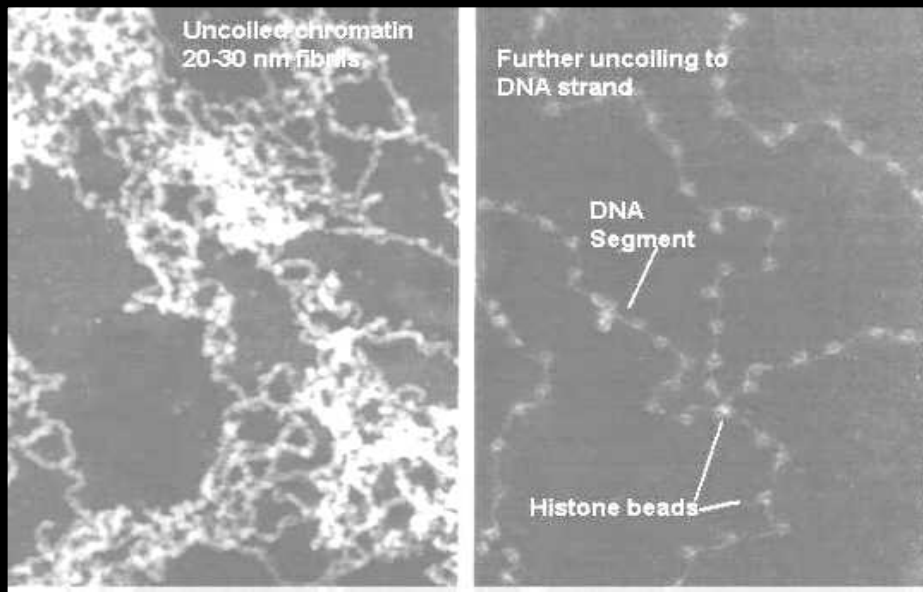
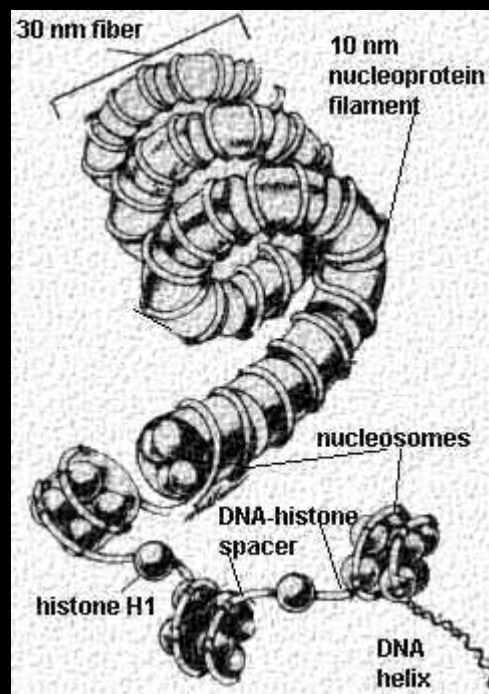
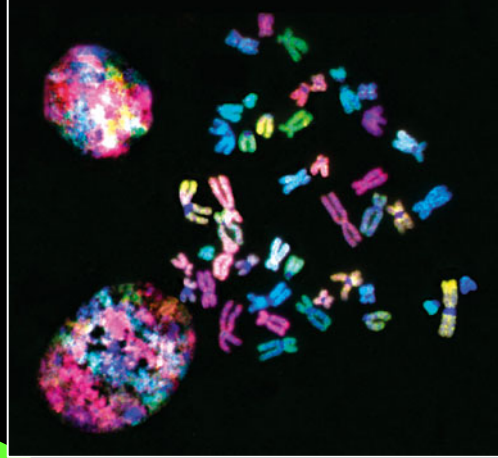
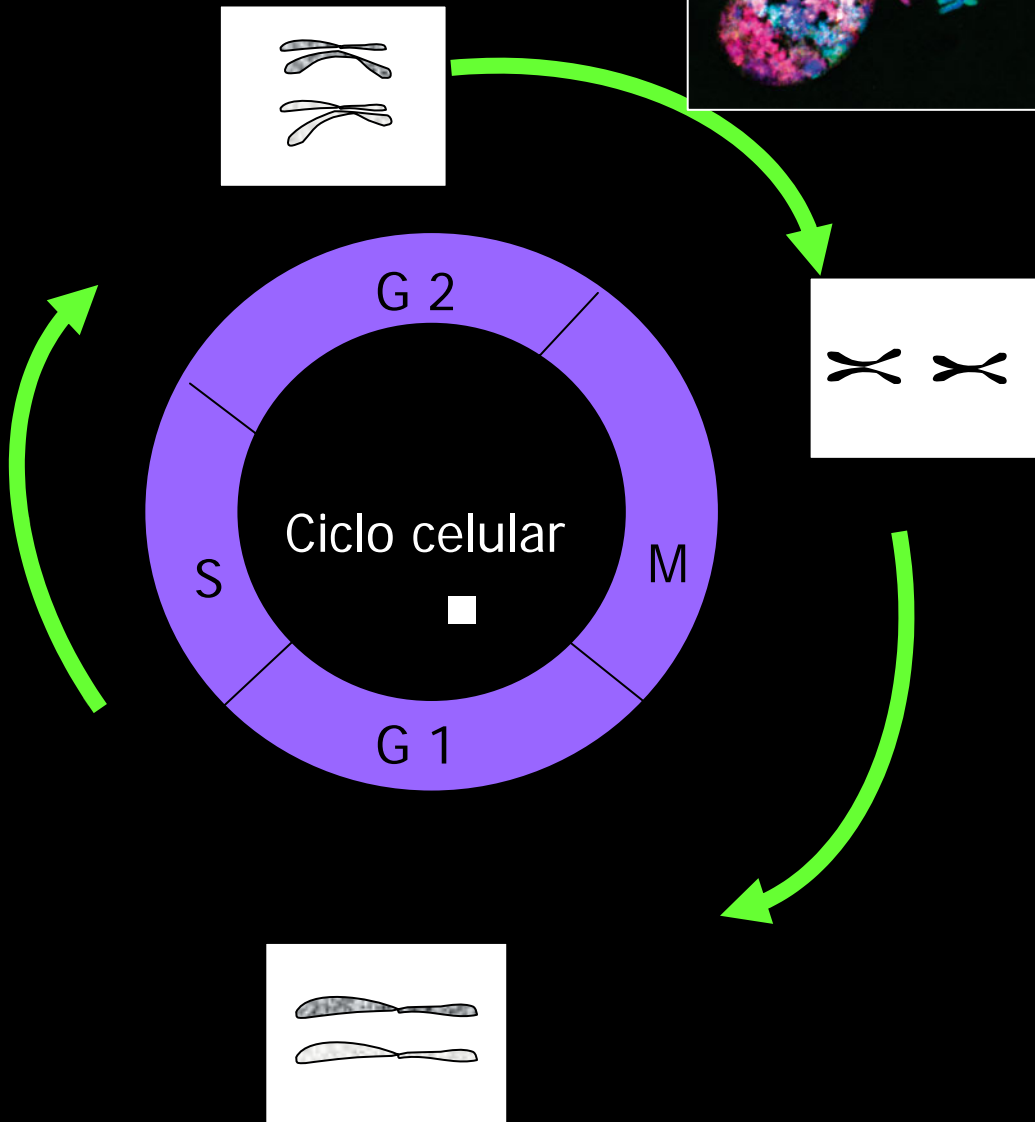


Figure 1-12



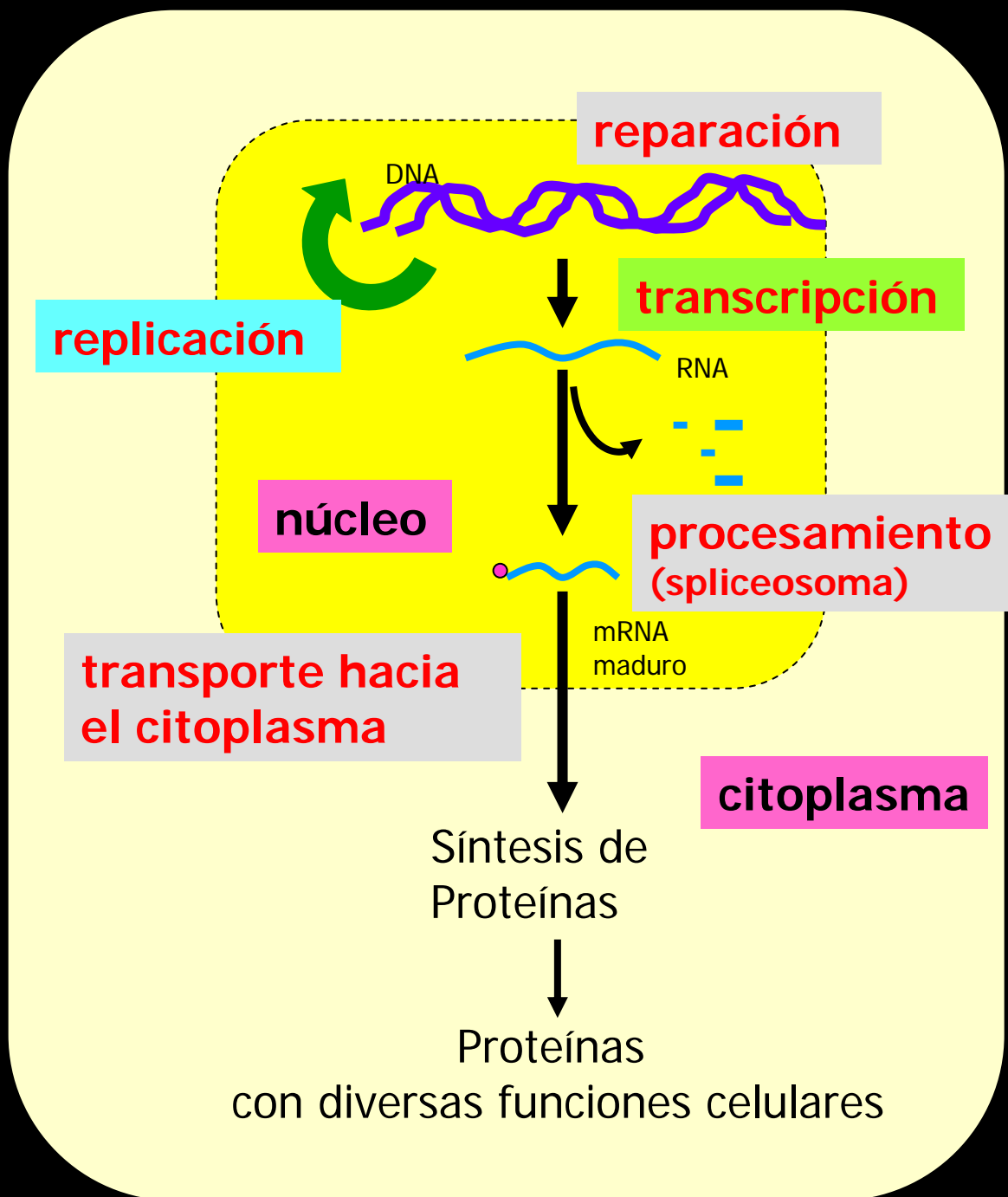


¿Qué procesos ocurren en el núcleo?

Procesos biológicos relativos al material genético

- **Replicación del DNA** (preservación de la información genética)
- **Reparación del DNA** (daño/errores)
- **Expresión de los genes y su regulación**
 - **Proceso de transcripción de genes**
(síntesis de mRNA)
 - **Procesamiento de transcritos primarios**
 - **Transporte de transcritos maduros hacia el citoplasma**
- **Síntesis de RNA** (ribosomal y de transferencia)

Ensamblaje de la maquinaria para la síntesis de proteínas (subunidades ribosomales y rRNA)



**Comando central
de las funciones
celulares**

ESTRUCTURAS NUCLEARES

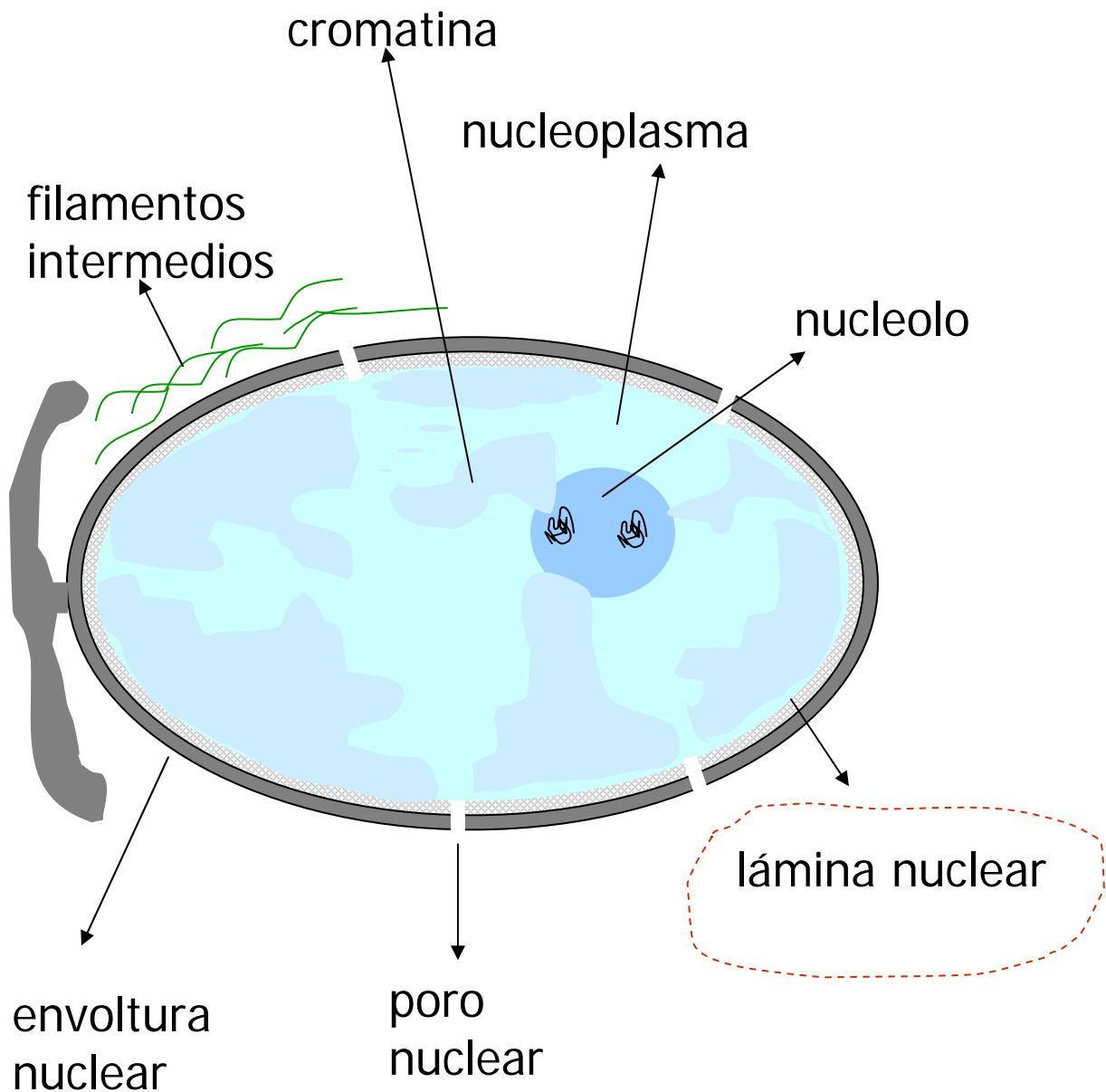


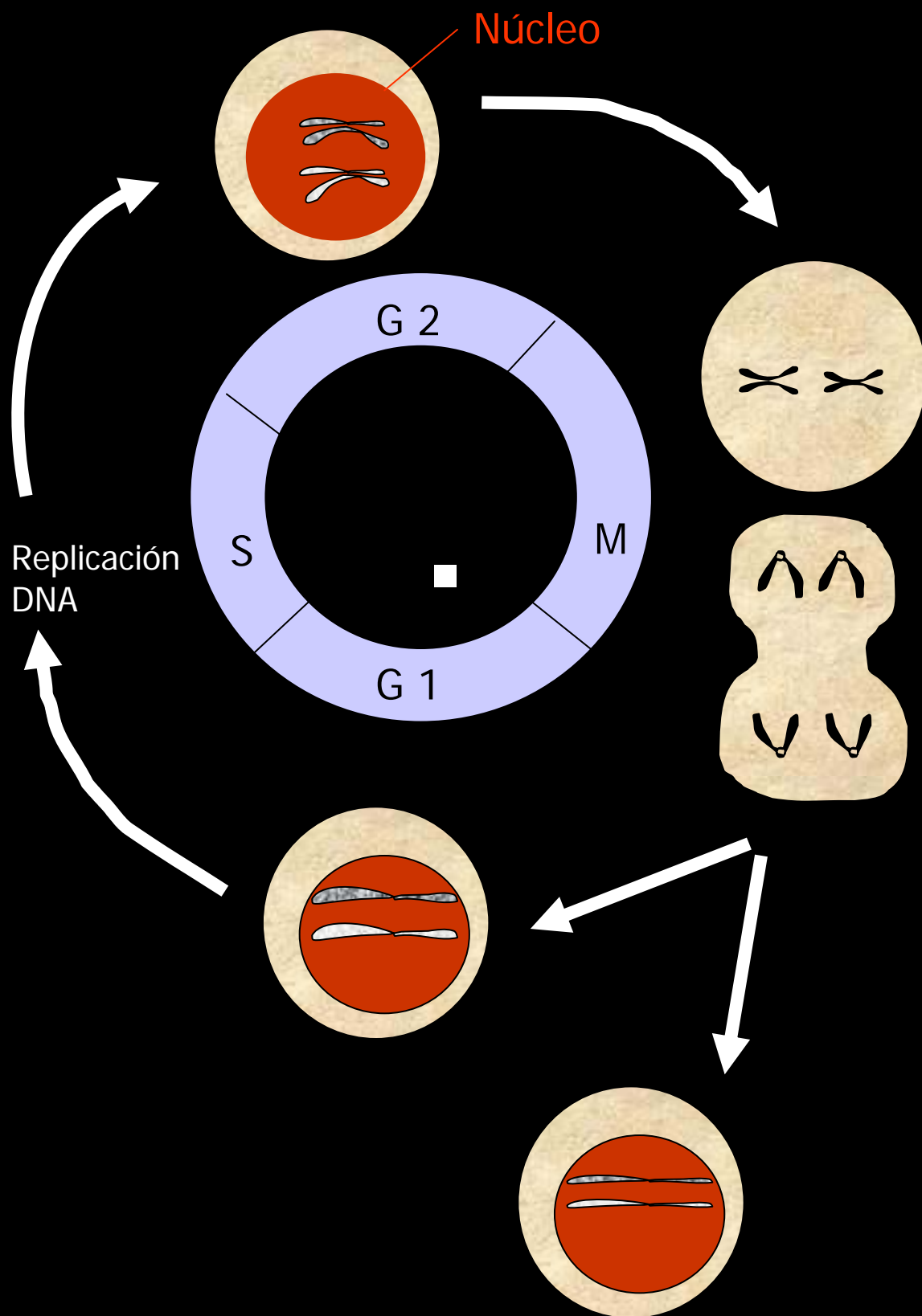
Lámina nuclear

Conformada por filamentos intermedios de 30-100 nm de grosor, que son polímeros lamininas

- Las lamininas de tipo A se localizan próximas al nucleoplasma
- Las lamininas de tipo B están próximas a la envoltura nuclear

Participan en el ensamblaje y desensamblaje de la envoltura nuclear durante la mitosis:

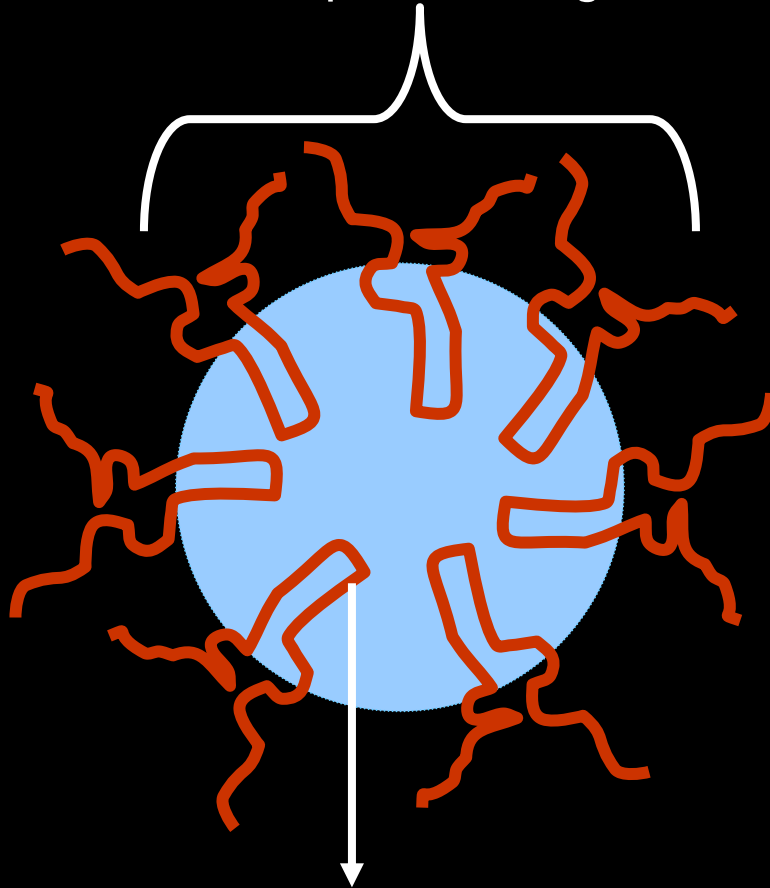
- La **fosforilación** de las lamininas gatilla el desensamblaje de la lámina y la fragmentación de la envoltura nuclear en vesículas
- La **desfosforilación** de las lamininas revierte el proceso, permitiendo la reorganización del núcleo
- Anticuerpos contra las lamininas evitan el ensamblaje del núcleo después de la mitosis



NUCLEOLO

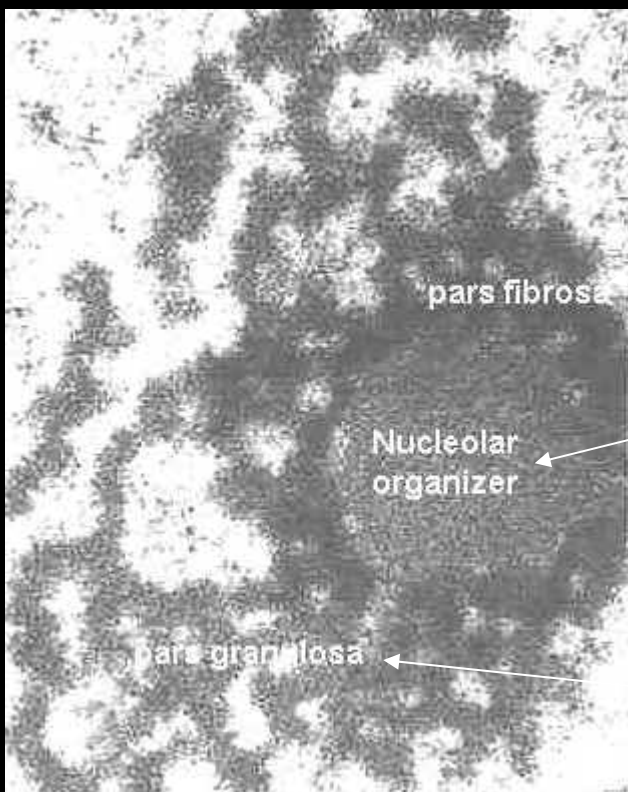
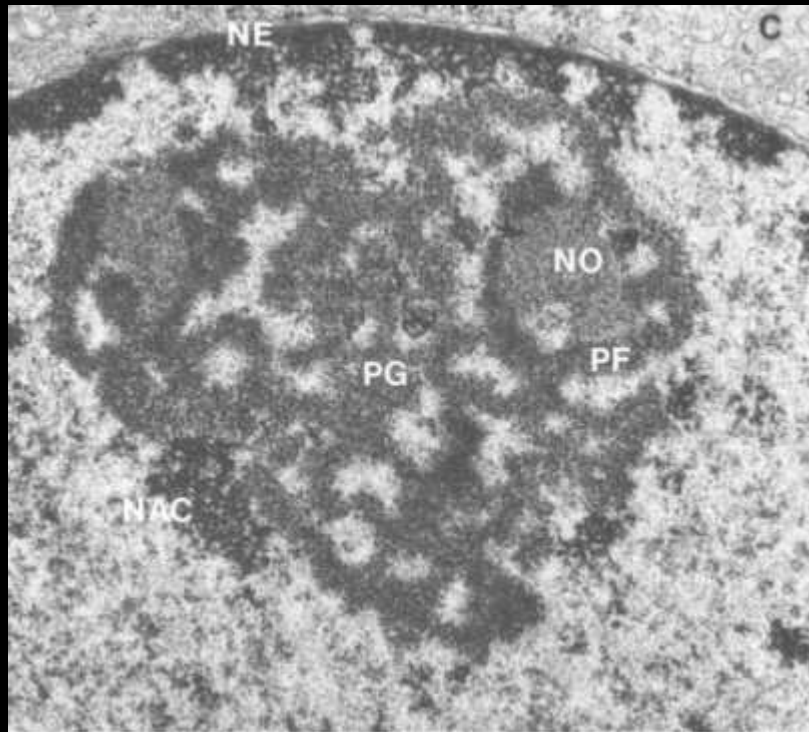
Síntesis de RNA y ensamblaje de subunidades ribosomales

Cromosomas que tienen genes rRNA



Asa de un cromosoma que tiene una agrupación de genes para rRNA
(organizador nucleolar)

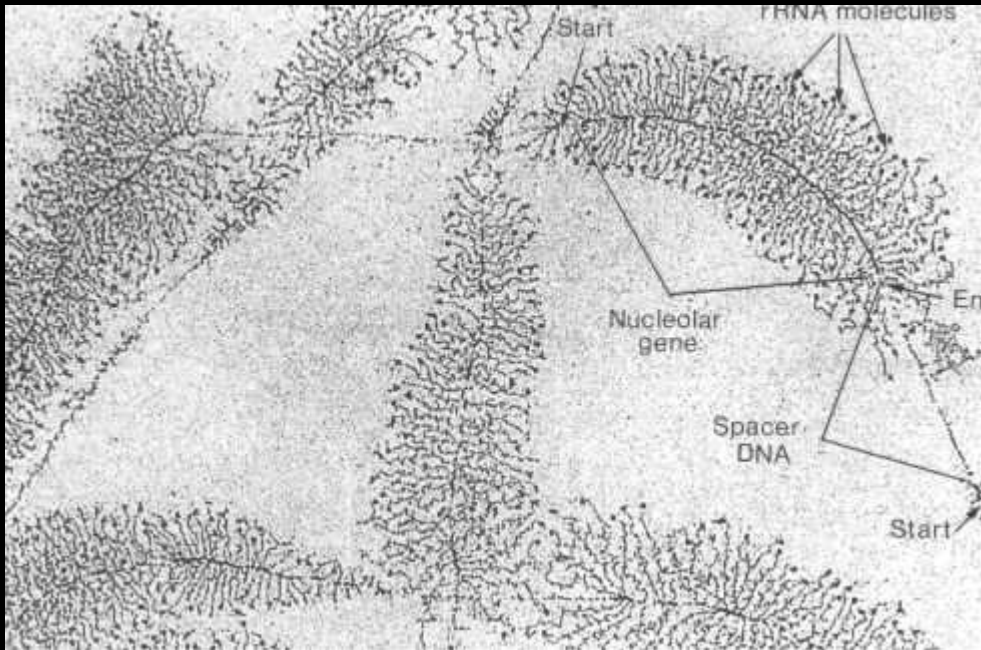
Nucléolo



rRNA recién sintetizado

Convergencia del
organizador nucleolar de
distintos cromosomas

Ribonucleoproteínas



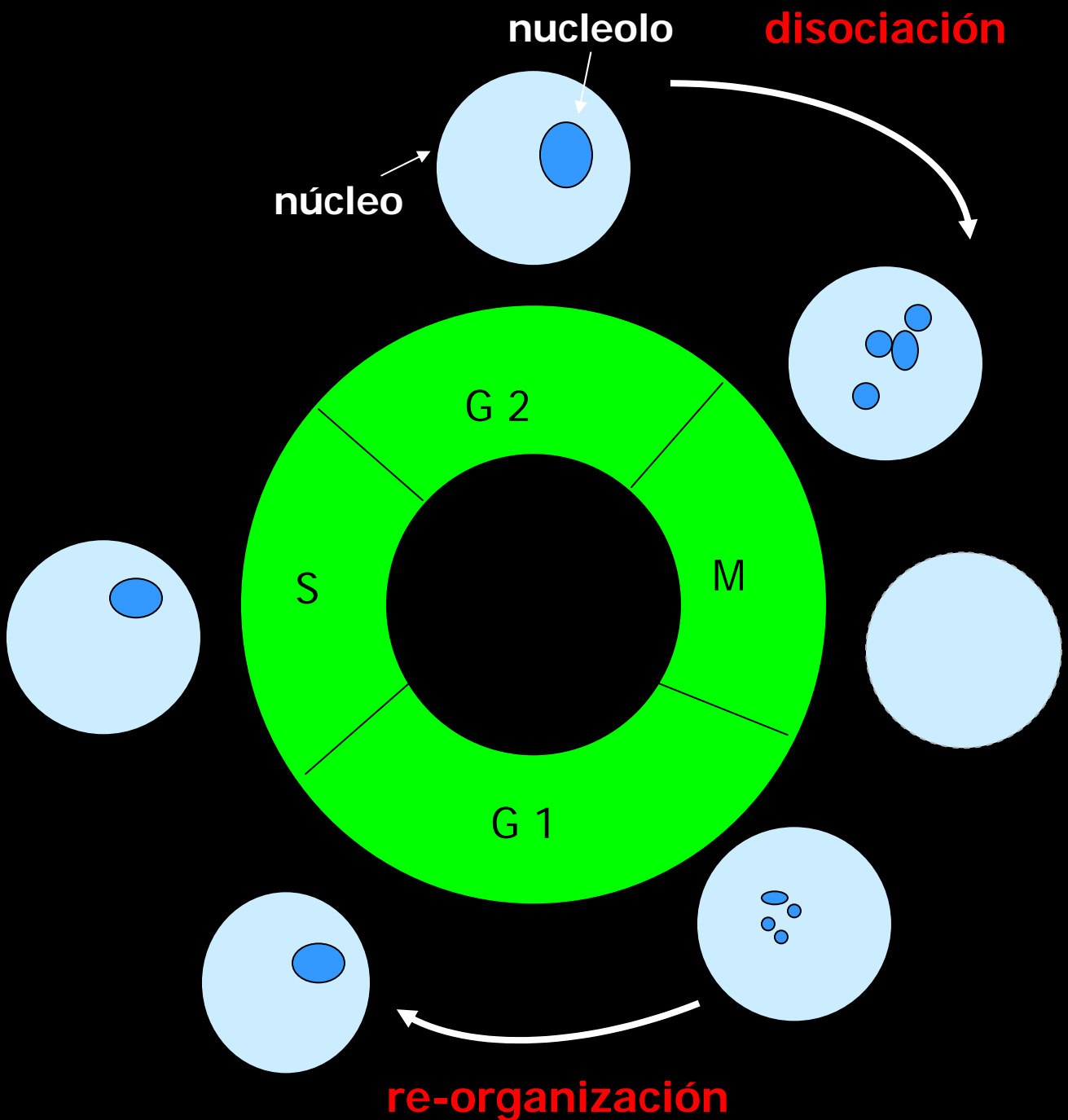
Síntesis de rRNA

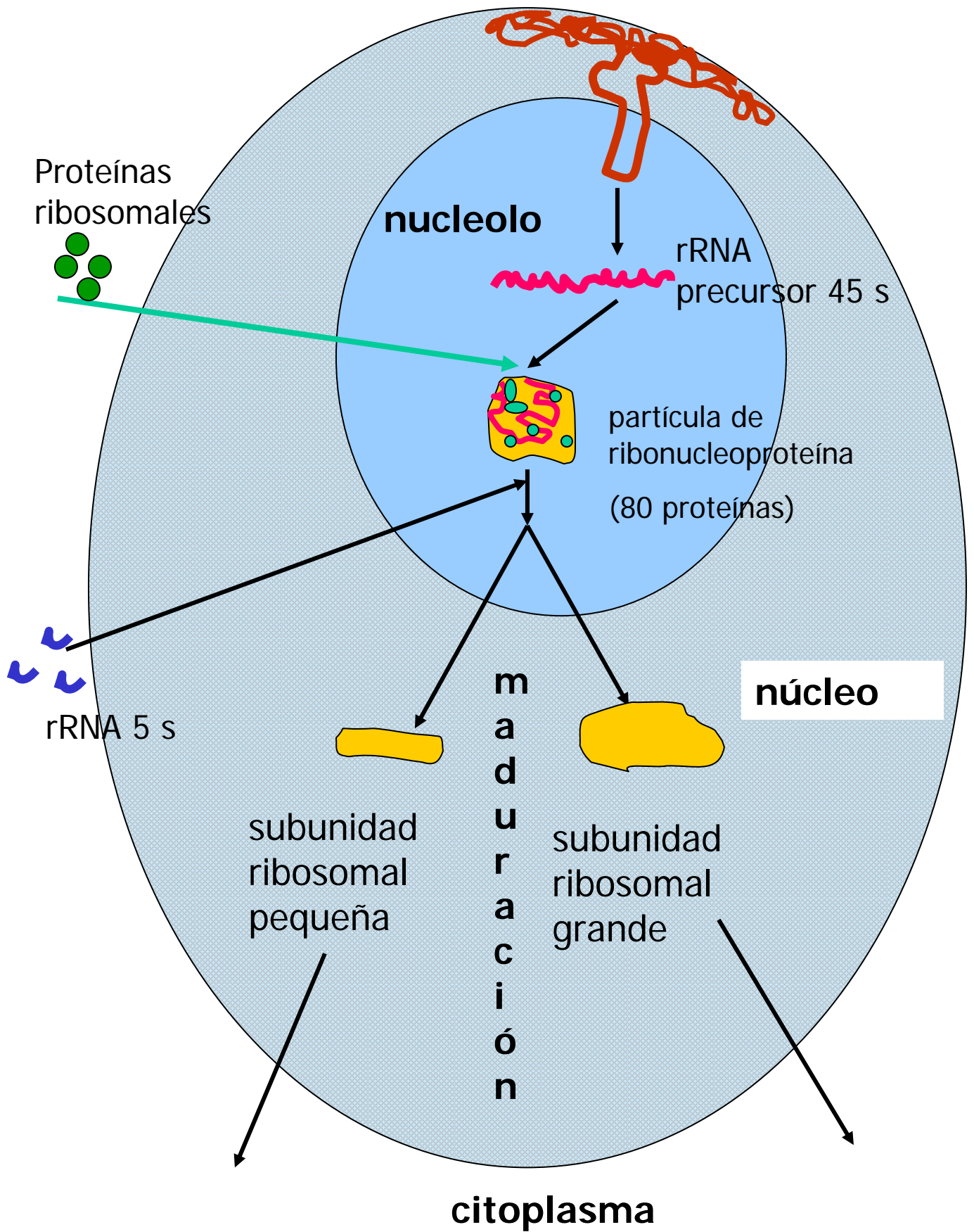


Los nucléolos aumentan en tamaño y número cuando la célula es estimulada a sintetizar proteínas

Los nucléolos se desorganizan durante la mitosis y se vuelven a ensamblar luego de la división celular

Organización y desorganización del nucleolo durante el ciclo celular





Estructuras nucleares

Nucleoplasma	(lumen nuclear) Cromatina (condensada o laxa) "Maquinaria" replicación del DNA Sistemas de reparación del DNA "Maquinaria" de transcripción génica "Maquinaria" de procesamiento de RNA
Lámina nuclear	(esqueleto nuclear)
Nucleolo	"Maquinaria" de síntesis de rRNA y ensamblaje de ribosomas
Envoltura nuclear	Membrana interna Membrana externa (continuidad RE) Espacio prinuclear (cont. lumen RE)
Poros nucleares	Complejo multiproteico (100 proteínas) Masa molecular 125.000.000

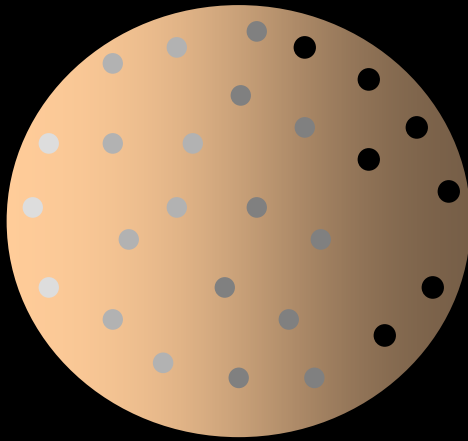
Estructuras nucleares

Ensamblaje



Desorganización

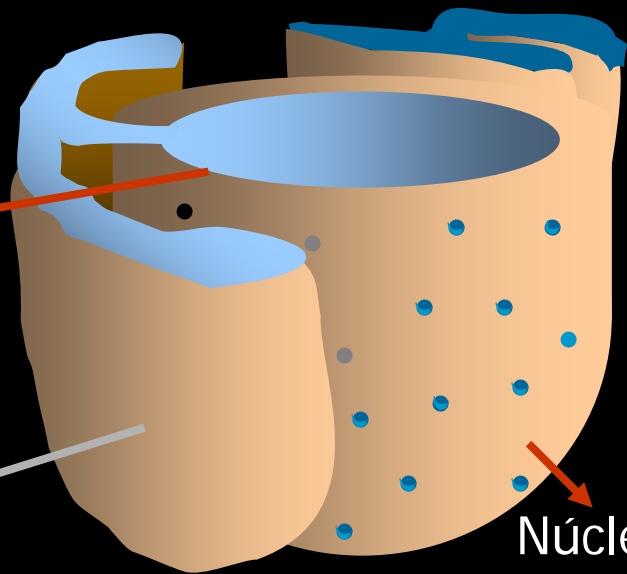
ESTRUCTURAS NUCLEARES



3000-4000 poros

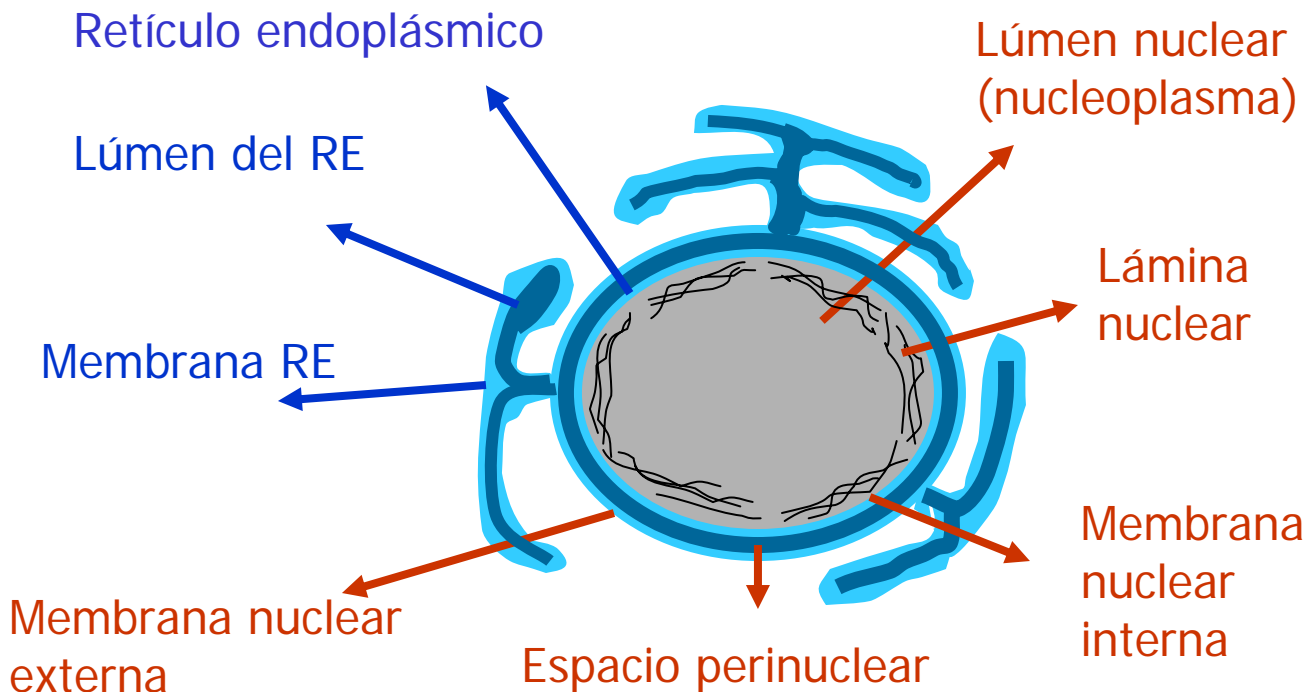
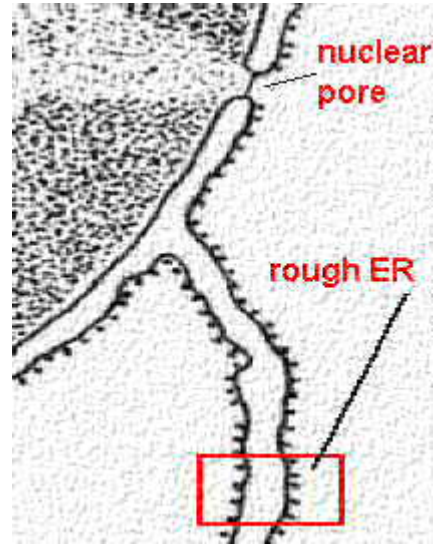
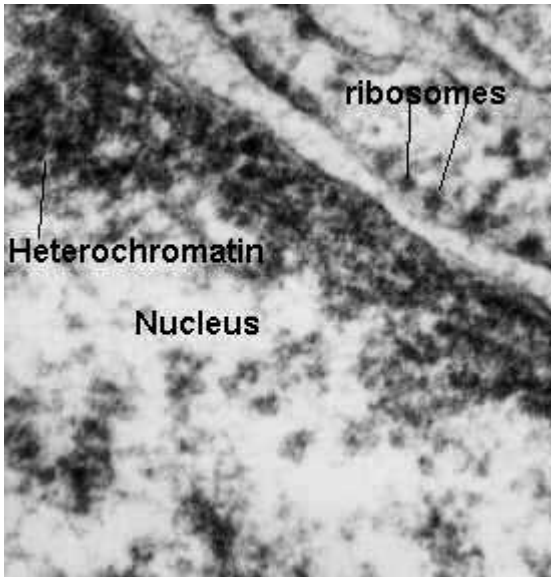
Envoltura nuclear

Retículo endoplásmico

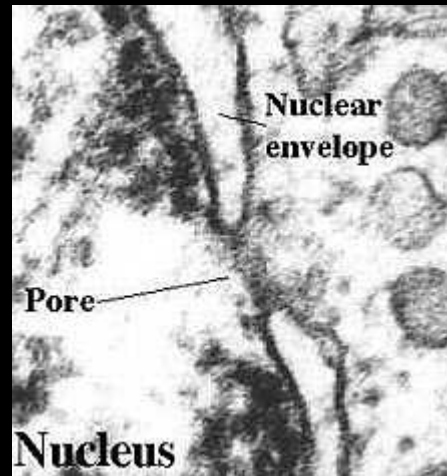
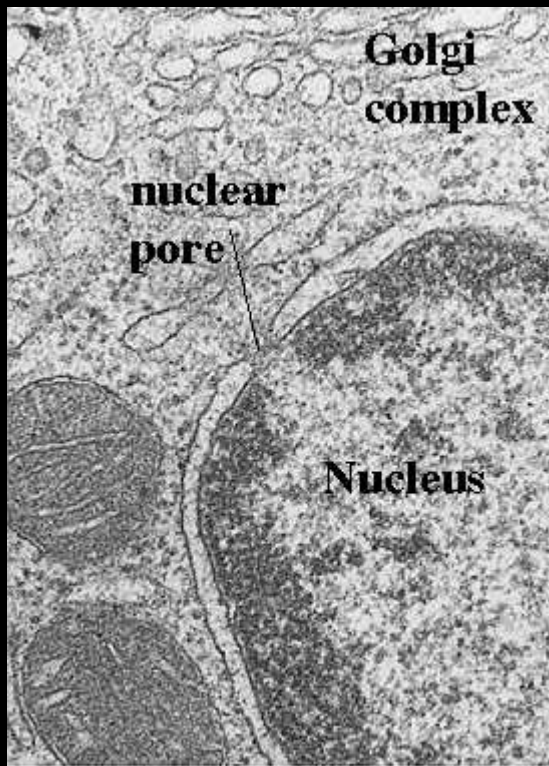


Núcleo

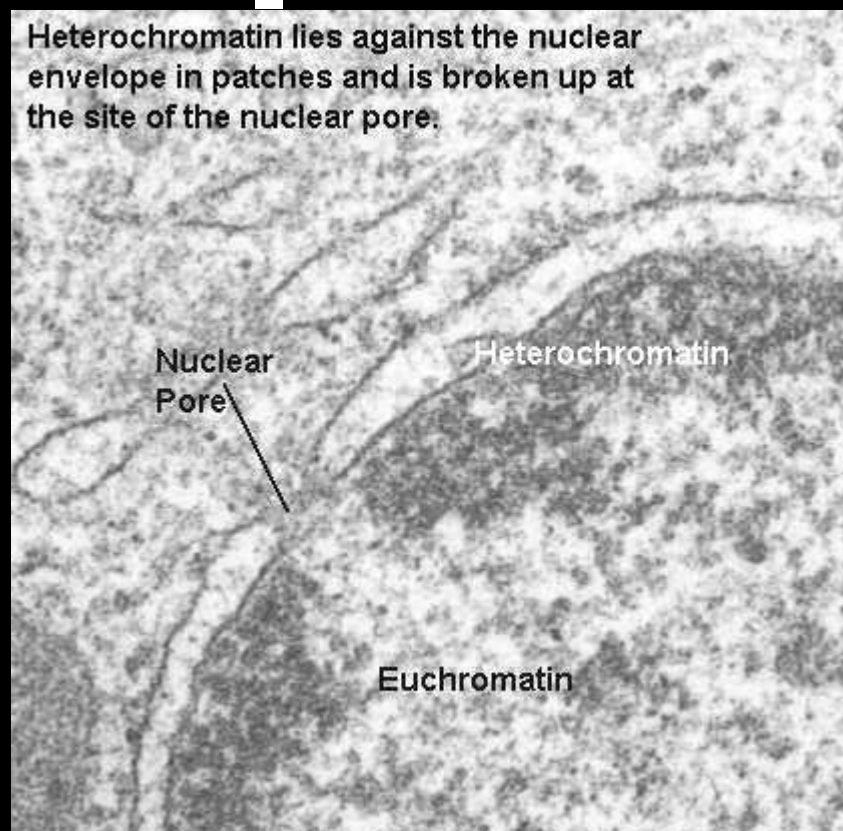
Envoltura nuclear



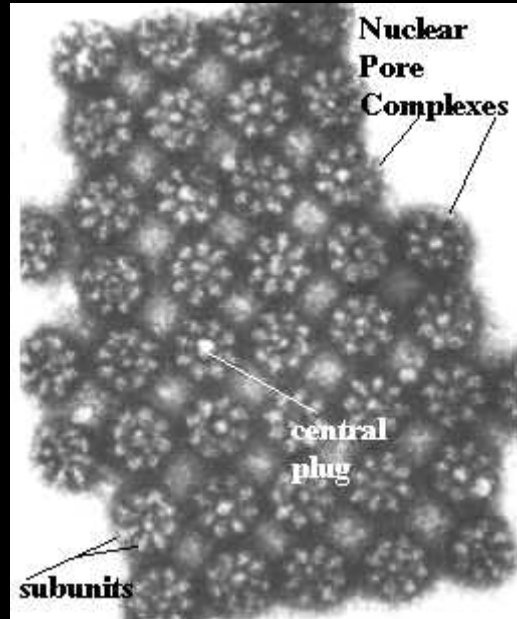
Poro nuclear



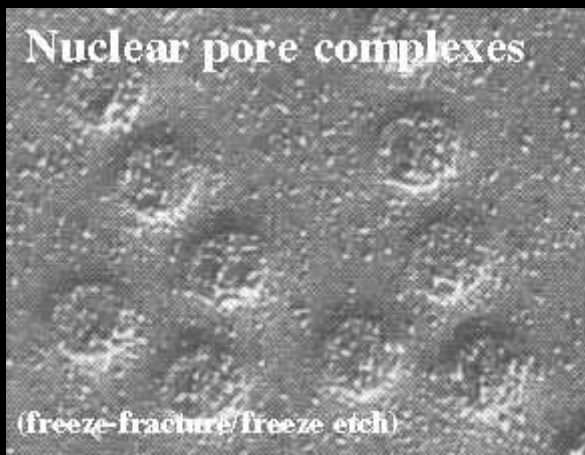
Heterochromatin lies against the nuclear envelope in patches and is broken up at the site of the nuclear pore.



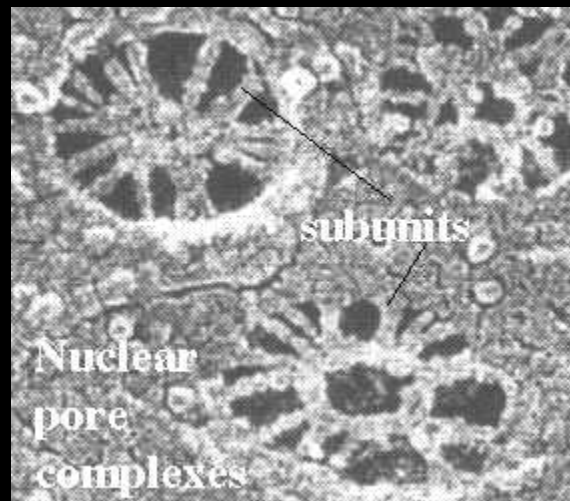
Tinción negativa

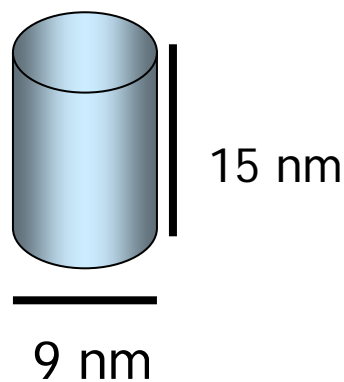
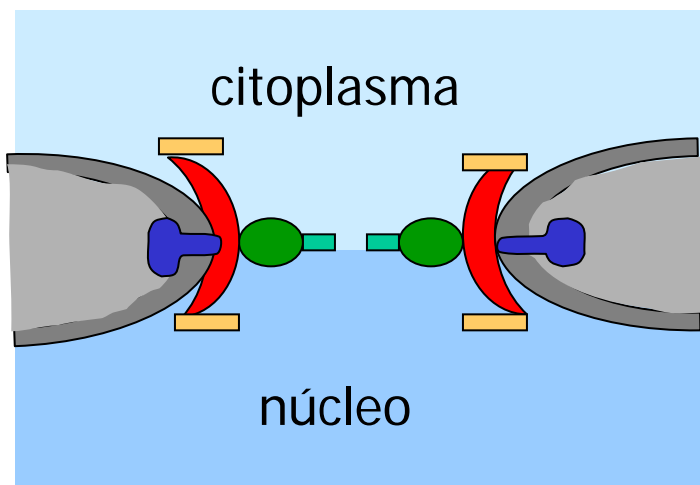
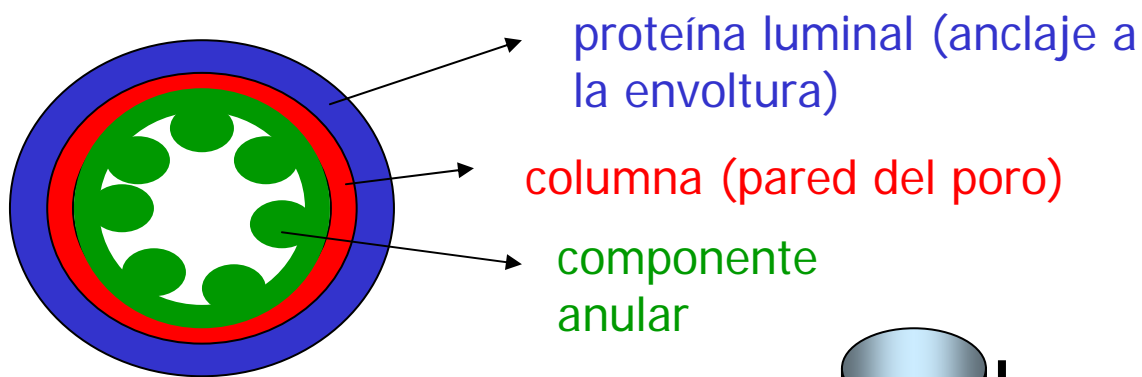
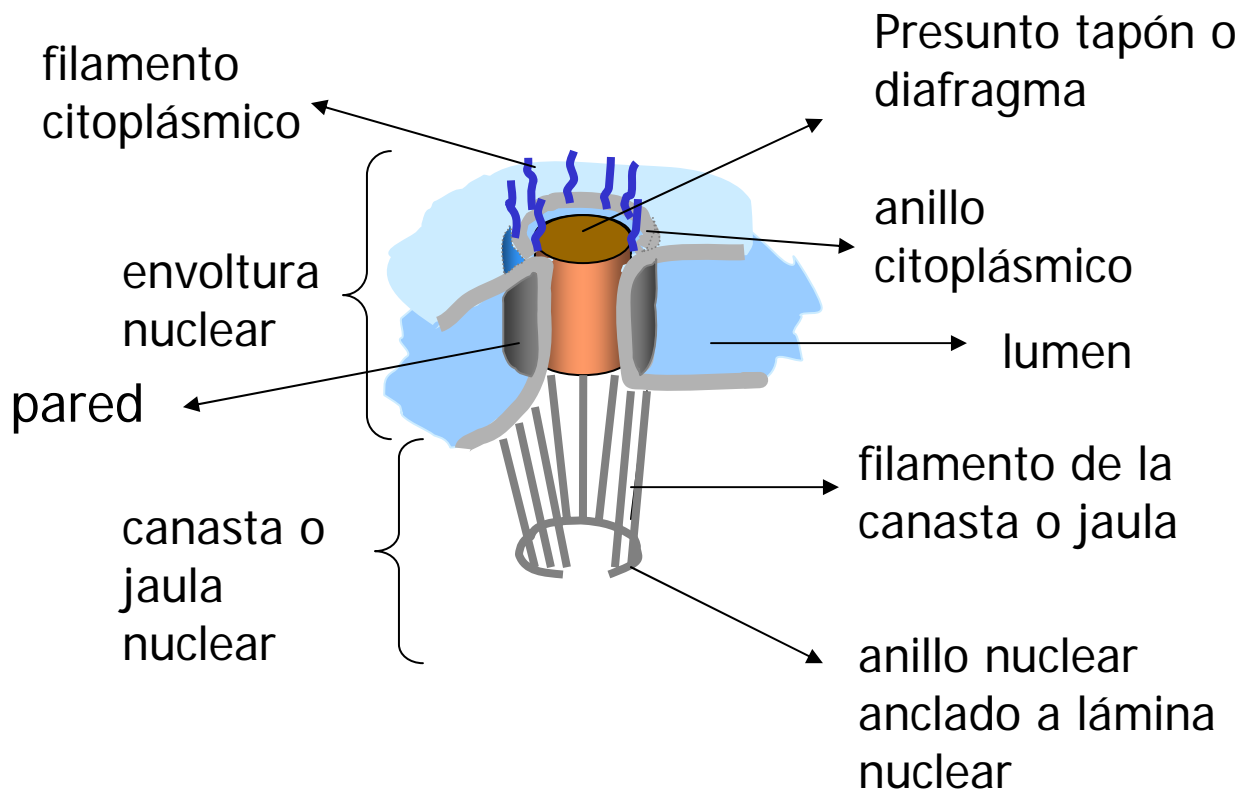


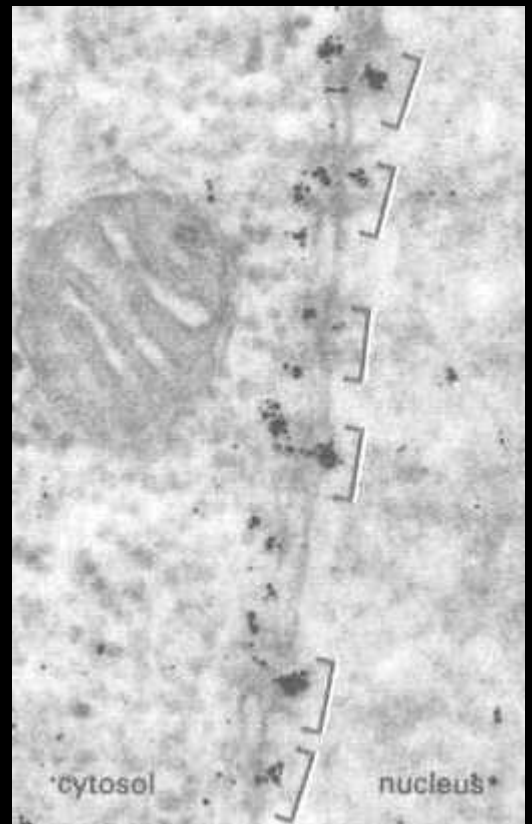
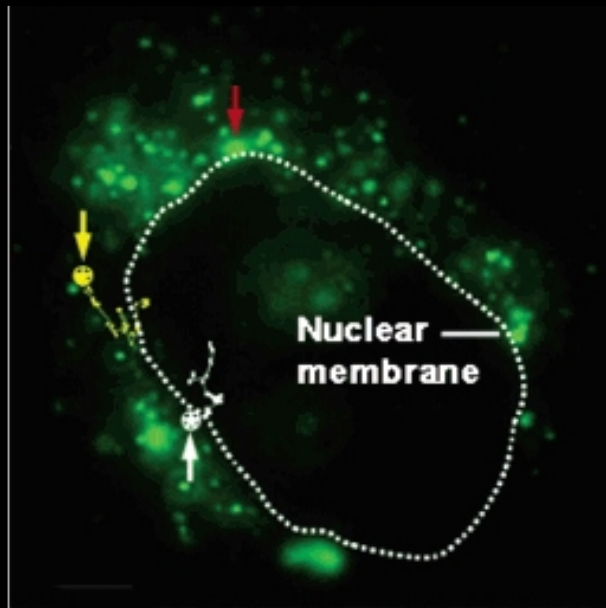
Criofractura



Barrido



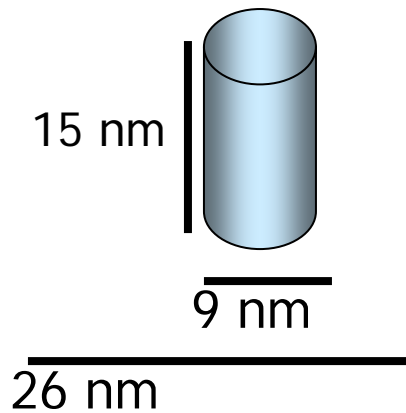




Alberts et al., Molecular Biology of the Cell, Garland Pub., N.Y. 1994, Fig 12-15.

Poros Nuclear

Poros acuosos



Difusión libre de solutos

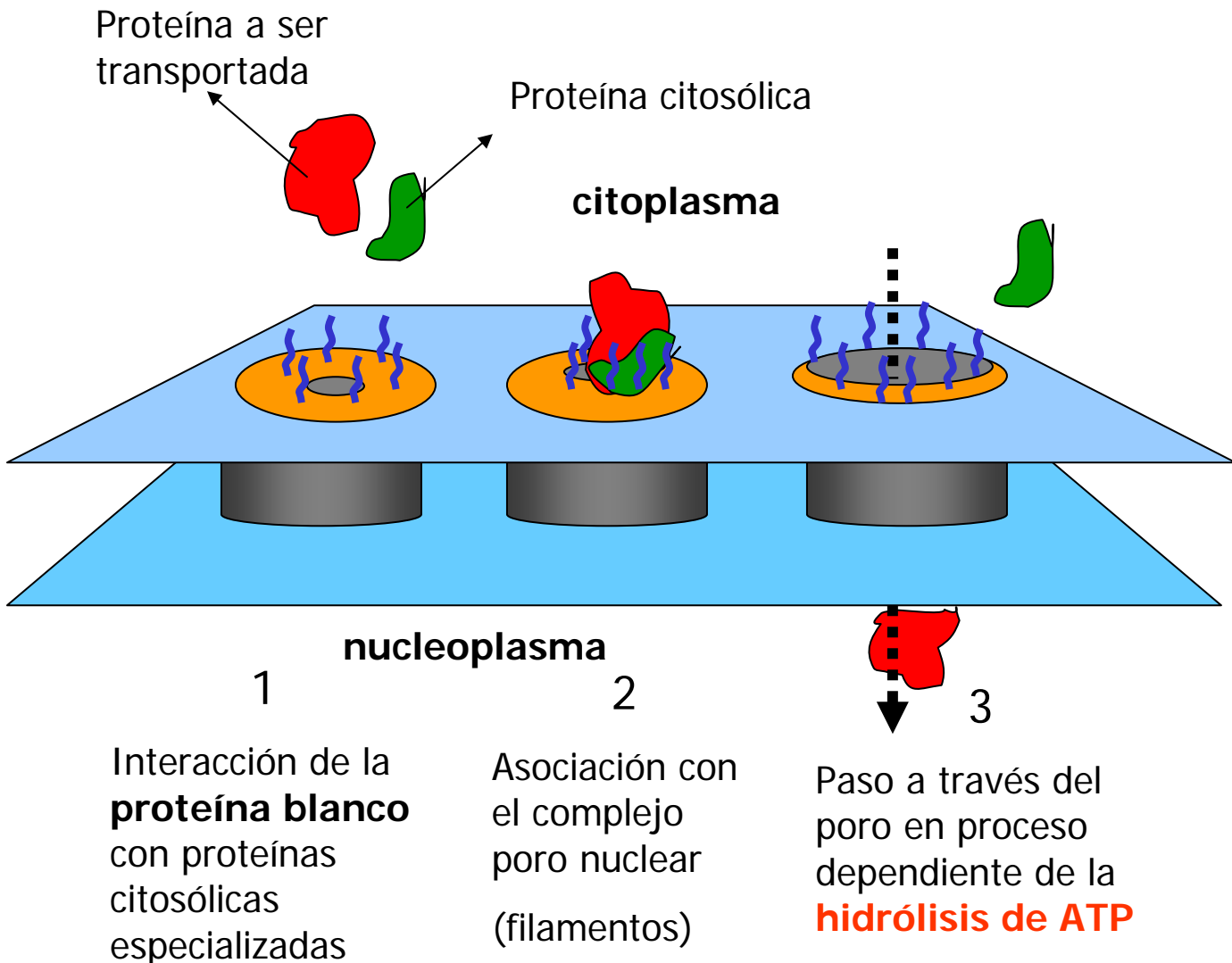
pequeños < 5.000 daltons

proteínas < 60.000 daltons

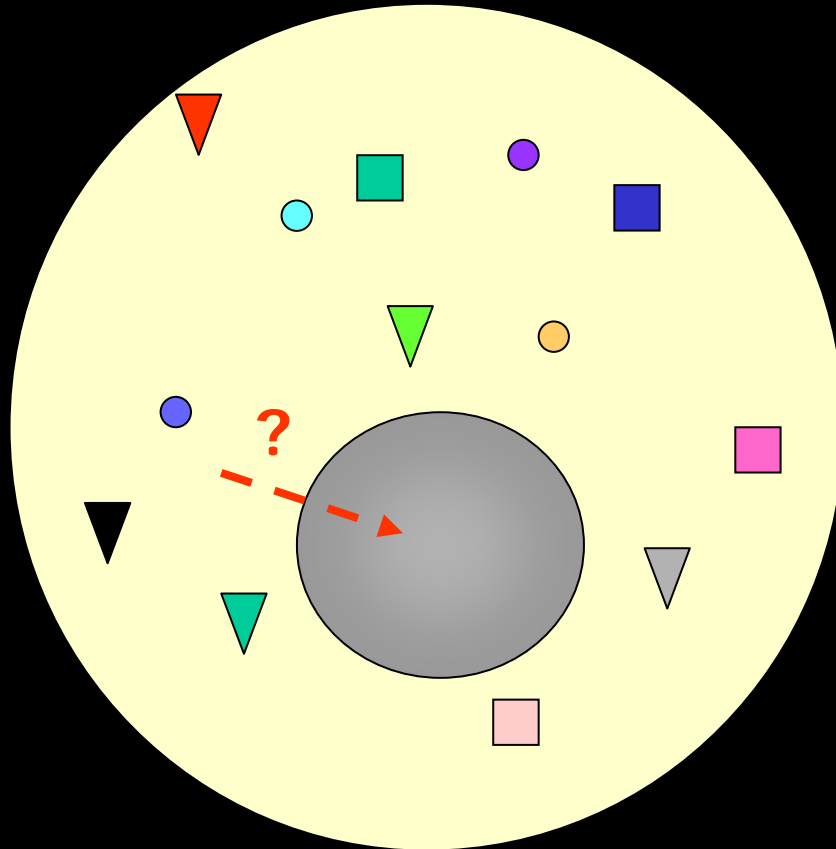
Transporte de macromoléculas

- Proteínas 100.000 a 200.000 Da
- mRNA
- tRNA
- Subunidades ribosomales ($\phi = 30$ nm)

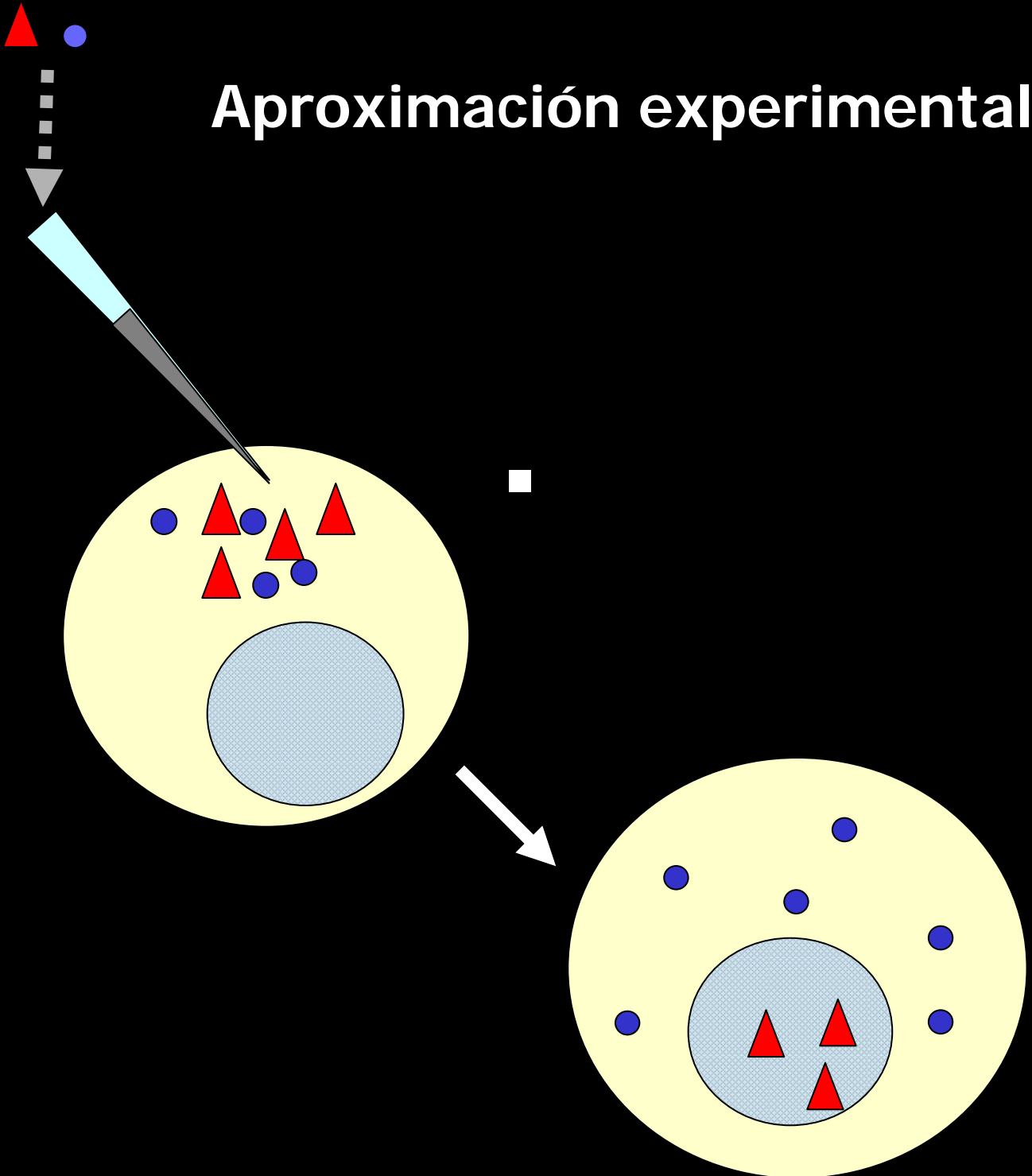
Las macromoléculas son “escoltadas” a través del poro nuclear



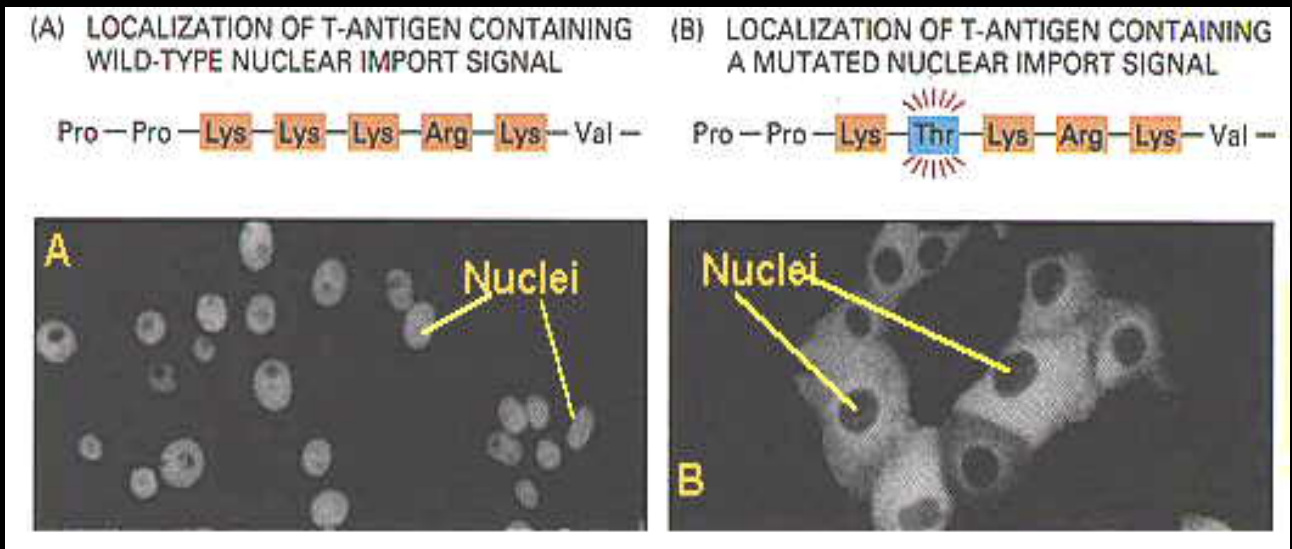
**¿Qué proteínas son transportadas
al núcleo?**



Aproximación experimental



Señal para transporte hacia el núcleo



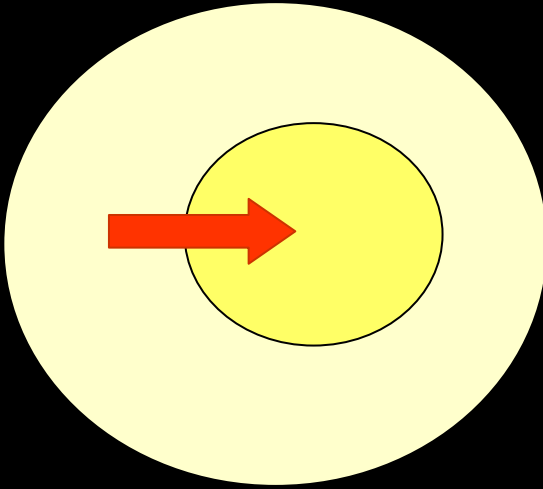
señales de localización nuclear **NLS**

4 a 8 Lys o Arg + Pro dispuestos en uno o dos bloques

Ej. Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys

**Proteínas destinadas
al núcleo:**

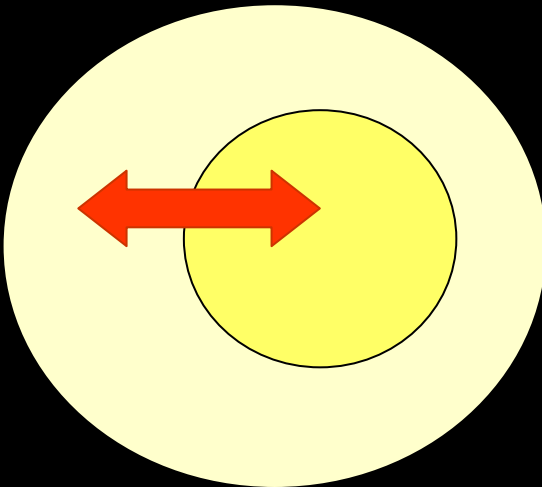
**señal de localización
nuclear **NLS****



**Proteínas que transitan
entre núcleo y citoplasma:**

**señal de localización
nuclear **NLS** y**

**señal de exportación
nuclear **NES****

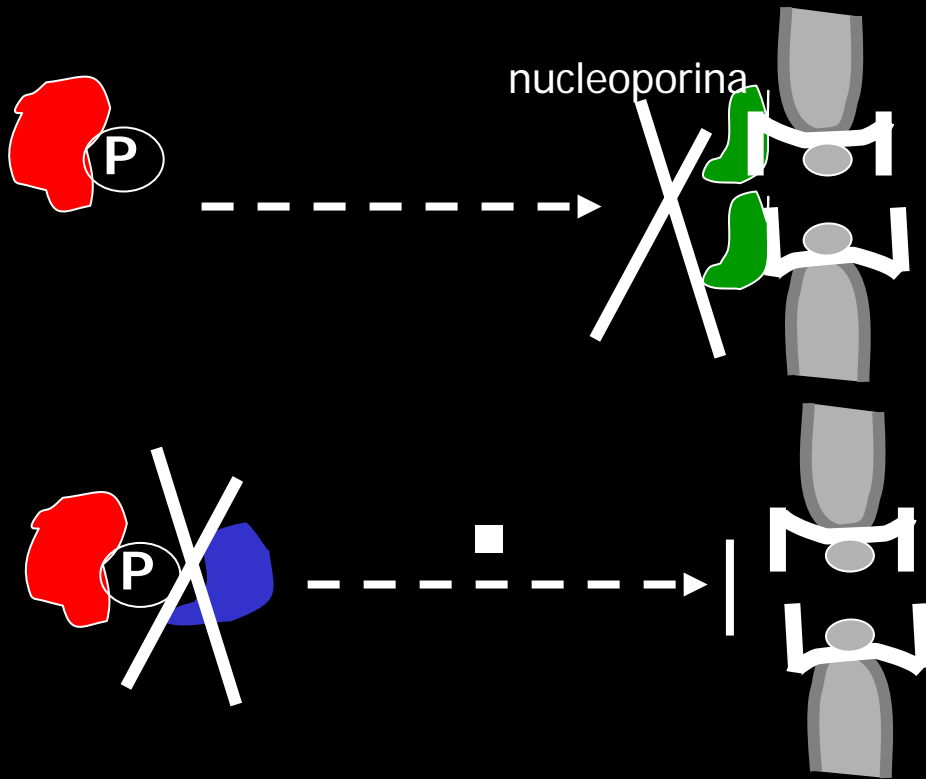


NLS Proteínas de localización nuclear permanente

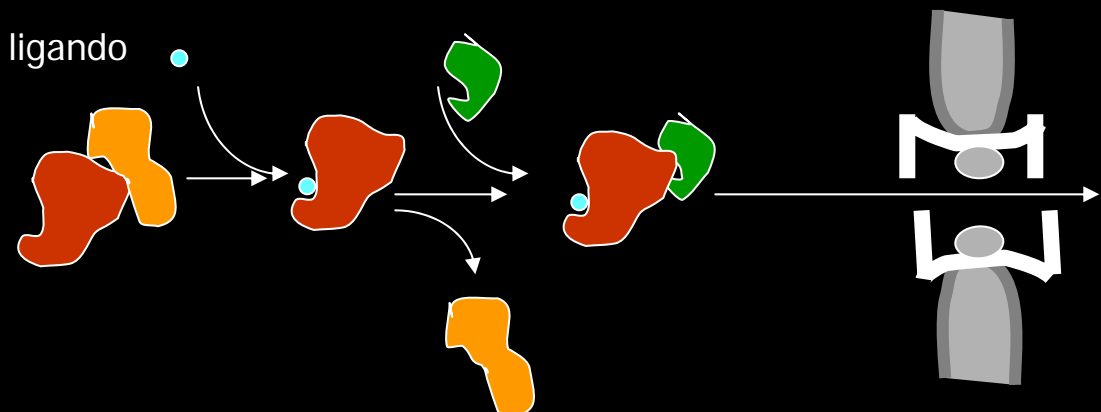
NLS + NES Proteínas que transitan entre el núcleo y el citoplasma

¿Cómo se controla la importación de proteínas al núcleo?

A.- Fosforilación de NLS impide transporte hacia el núcleo

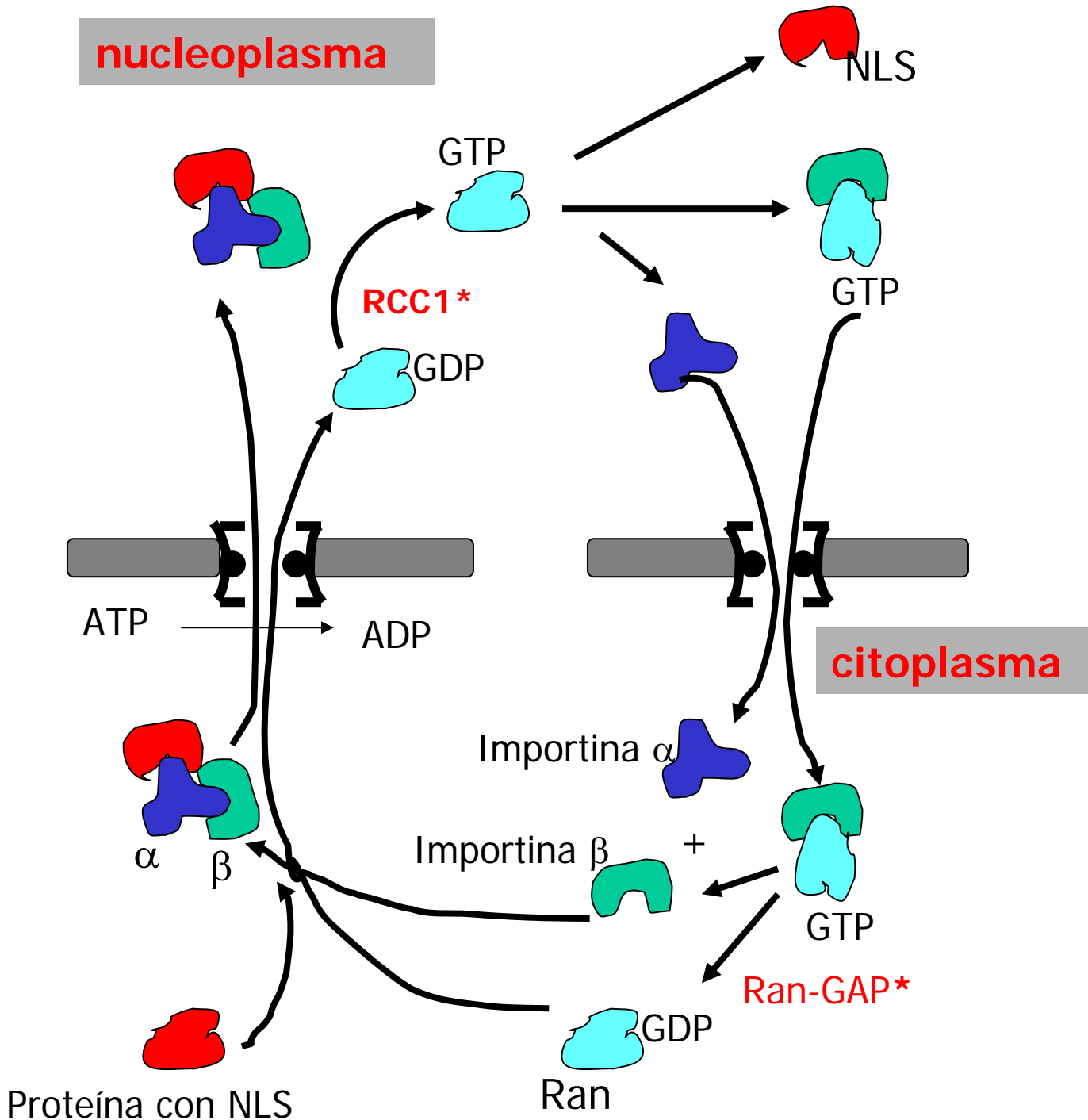


B.- Interacción con proteínas citosólicas inhibitorias



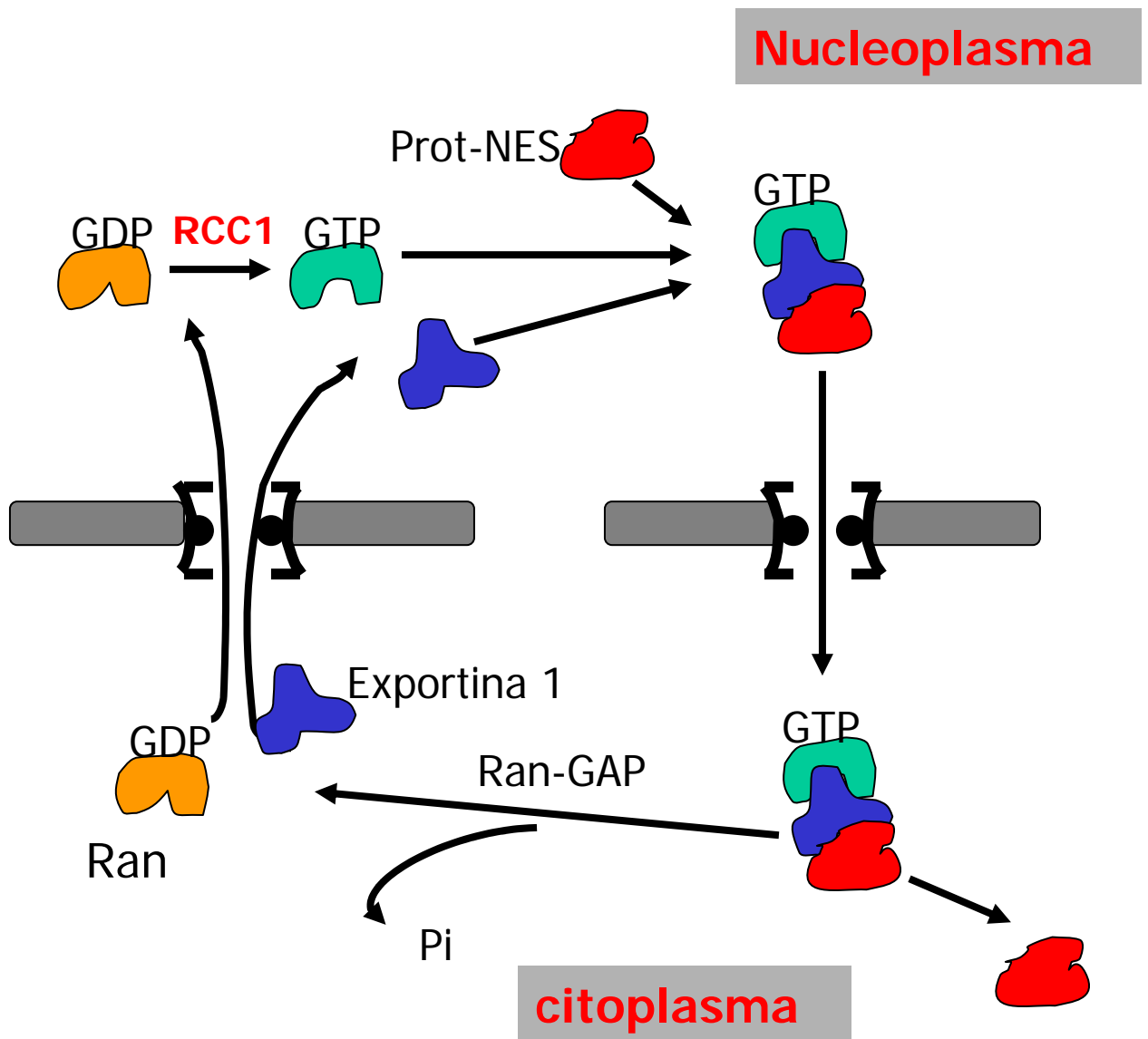
Importación de proteínas al núcleo

proteínas con NLS



*RCC1: Ran nucleotide exchange factor

*Ran-GAP: Ran GTPase activating protein



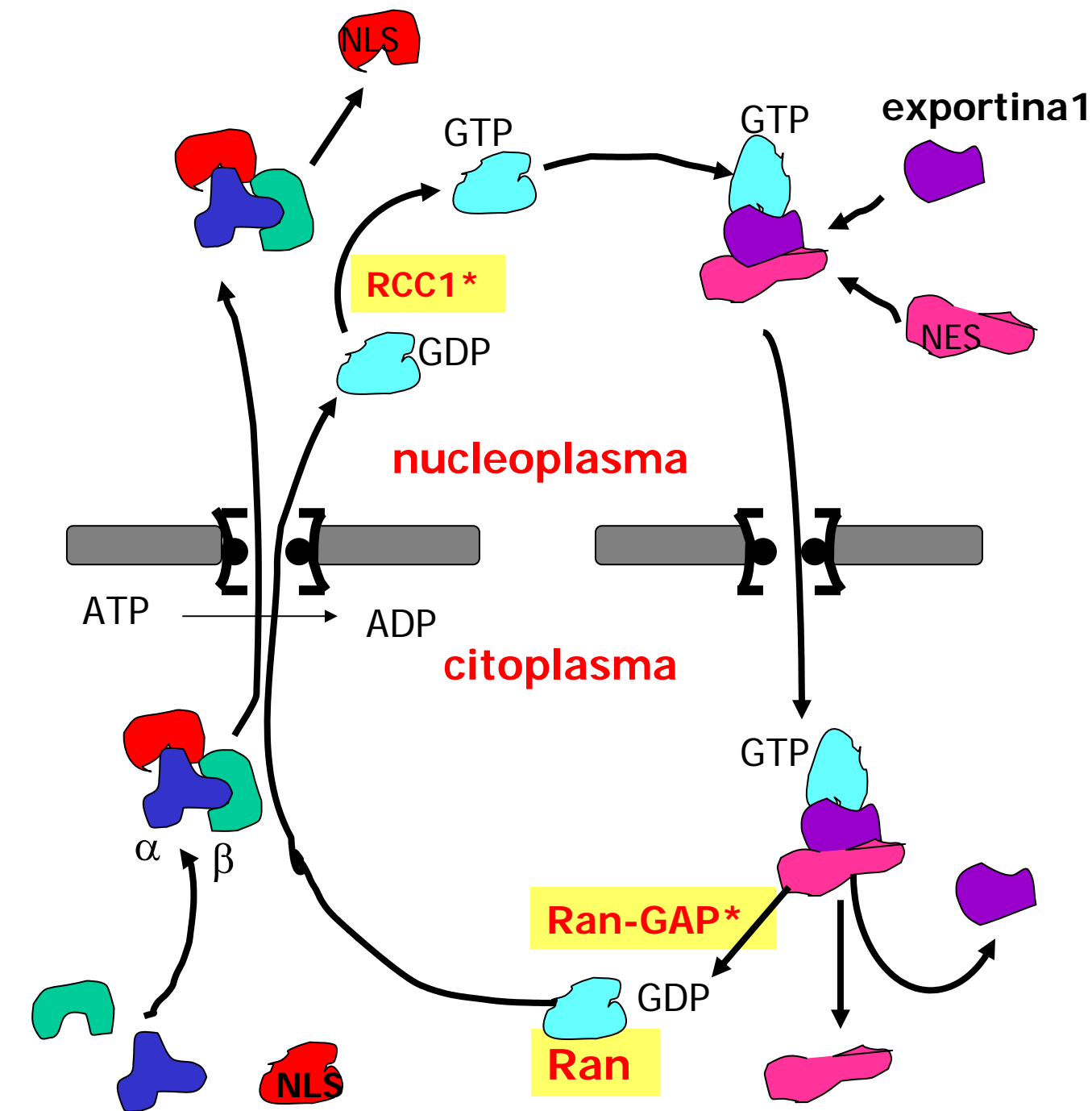
Exportación de proteínas que tienen secuencias de exportación nuclear (**NES**)

RCC1: Ran nucleotide exchange factor

Ran-GAP: Ran GTPase activating protein

IMPORTACION

EXPORTACION



Importinas
 α γ β

*RCC1: Ran nucleotide exchange factor

*Ran-GAP: Ran GTPase activating protein

Experimento de importación de una proteína (SRP19)

- Se marca la proteína con un fluoróforo
- Se aíslan núcleos celulares
- Se incuban los núcleos con la proteína
- Se analizan los resultados mediante fotografías

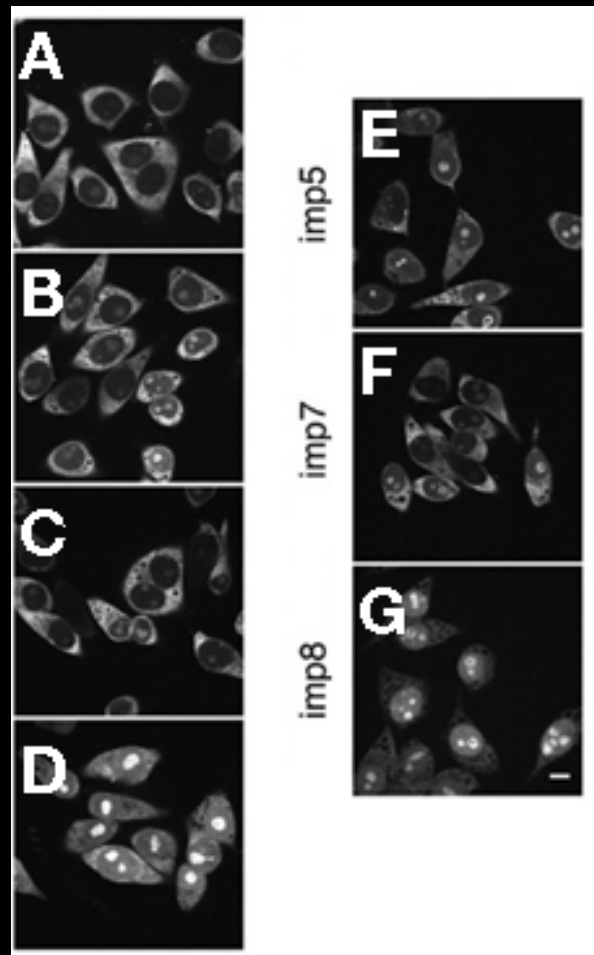
Adición

Nada

Importina α
+
importina β

Importina β
sola

Transportina



Adición

Importina 5

Importina 7

Importina 8

Dean, K. et al., J. Cell Sci. 114: 3479, 2001. ©
The Company of Biologists, Ltd.

Transporte de mRNA desde el núcleo al citoplasma

