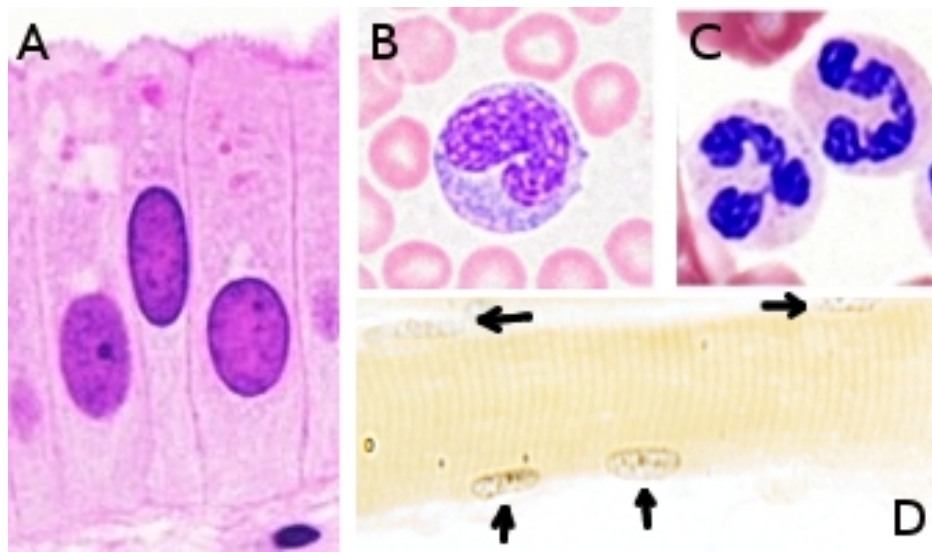


ATLAS de HISTOLOGÍA VEGETAL y ANIMAL

La célula



4. EL NÚCLEO

Manuel Megías, Pilar Molist, Manuel A. Pombal
Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud.
Facultad de Biología. Universidad de Vigo.
(Versión: Diciembre 2014)

Este documento es una edición en pdf del sitio
<http://webs.uvigo.es/mmegias/inicio.html>

y

ha sido creado con el programa Scribus

(<http://www.scribus.net/canvas/Scribus>)

Todo el contenido de este documento se distribuye bajo la licencia Creative Commons del tipo BY-NC-SA (Esta licencia permite modificar, ampliar, distribuir y usar sin restricción siempre que no se use para fines comerciales, que el resultado tenga la misma licencia y que se nombre a los autores).

ÍNDICE

1. El núcleo	4
2. Envuelta nuclear	5
3. Poros nucleares	7
4. Cromatina	9
5. Nucléolo	11

1. EL NÚCLEO

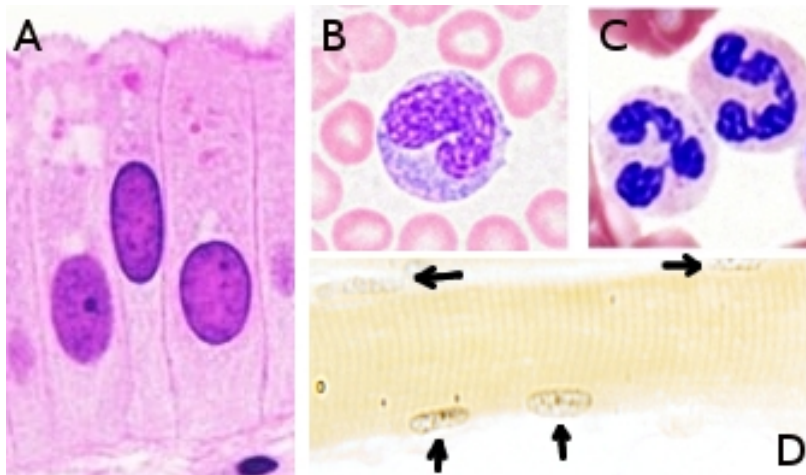
El núcleo es la estructura que caracteriza a las células eucariotas. Es el compartimento donde se encuentra el ADN y toda la maquinaria necesaria para transcribir su información a ARN. Normalmente aparece un solo núcleo por célula, aunque en algunos casos hay más de uno, como ocurre en los osteoclastos, en las fibras musculares esqueléticas o en los epitelios de algunos invertebrados. La forma nuclear es variable y se suele adaptar a la forma celular, aunque no siempre es así. Por ejemplo, los neutrófilos de la sangre poseen núcleos multilobulados. La localización habitual del núcleo es en el centro de la célula, pero también puede situarse en otras posiciones más periféricas. Así, en las células secretoras se puede localizar en la parte basal de la célula y en las musculares esqueléticas se dispone en las proximidades de la membrana plasmática.

Aunque la cantidad de ADN es prácticamente idéntica en todas las células de un organismo, el tamaño del núcleo puede ser diferente. Además, células de igual tamaño pero con distintas cantidades de ADN tienen núcleos con dimensiones similares. Estos datos indican que el

tamaño del núcleo se adapta al tamaño celular, pero no depende de la cantidad de ADN.

El núcleo consta de dos componentes que se pueden distinguir morfológicamente: la envuelta nuclear y el nucleoplasma. La envuelta nuclear separa el nucleoplasma del citoplasma. En ella se encuentran los poros nucleares que comunican estos dos espacios, permitiendo el trasiego de moléculas en los dos sentidos pero de una manera específica y regulada. En el nucleoplasma se encuentra el ADN y sus proteínas asociadas formando la cromatina, que si está muy compactada se le denomina heterocromatina y si aparece más laxa se le denomina eucromatina. También en el nucleoplasma se encuentra su compartimento más conspicuo, el nucléolo.

En este apartado del atlas podríamos tratar todos los procesos relacionados con la transcripción y la regulación génica. Quizá en el futuro se abra dicho capítulo pero por ahora trataremos someramente la morfología nuclear y aconsejamos buscar información sobre el ADN en textos o sitios web relacionados con la genética.



Distintos tipos de núcleos. A. Células epiteliales de la vesícula biliar de humanos con los núcleos redondeados. B Monocito de la sangre con el núcleo arriñonado. C. Neutrófilos de la sangre con los núcleos multilobulados. D. Vista parcial de una célula muscular multinucleada, con los núcleos situados en zona periférica (flechas).

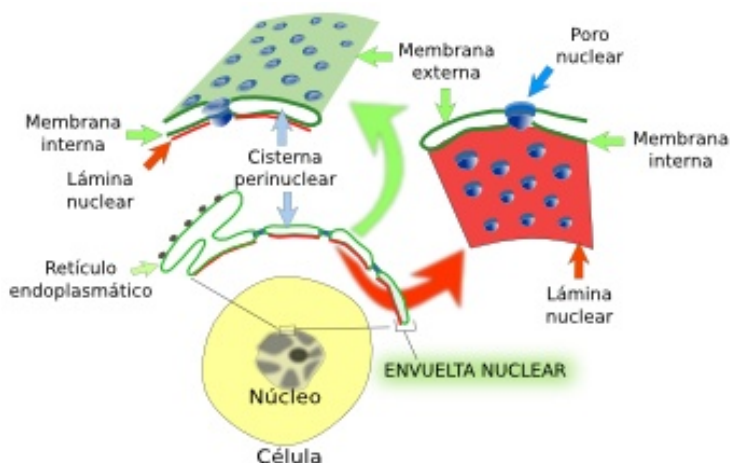
Bibliografía

Edens LJ, White KH, Jevtic P, Li X, Levy DL. . Nuclear size regulation: from single cells to development and disease. 2013. Trends in cell biology 23:151-159.

2. ENVUELTA NUCLEAR

La envuelta nuclear separa físicamente al nucleoplasma (cromatina y demás componentes del interior nuclear) del citoplasma y regula el movimiento de macromoléculas entre ellos, establece la forma nuclear y contribuye a la organización interna del núcleo ya que aporta lugares de anclaje para la cromatina.

La envuelta nuclear está formada por una membrana doble, externa e interna, quedando entre ambas un espacio intermembranoso de aproximadamente 25-40 nm, formando todos estos elementos las denominas cisternas perinucleares. La membrana externa se continúa



Esquema de la estructura de la envuelta nuclear. Está formada por una membrana externa, por el espacio intermembrana, por la membrana interna y por la lámina nuclear. La membrana externa se continúa con el retículo endoplasmático. Los poros nucleares se encuentran insertos en interrupciones puntuales de la envuelta nuclear.

con la del retículo endoplasmático y posee ribosomas adheridos. La membrana interna contiene una composición molecular diferente y posee proteínas transmembrana que interactúan con la cromatina y con la lámina nuclear, el otro componente de la envuelta nuclear. Existe una comunicación entre la membrana nuclear interna y externa en la periferia de los poros nucleares. ¿Qué mantiene las diferencias en la composición de ambas membranas? Parece existir un mecanismo de retención selectiva. Las proteínas se sintetizan en el retículo endoplasmático que llegan a la membrana interna por difusión, pero sólo

aquellas que interactúan con las proteínas de la lámina nuclear o de la cromatina se mantienen aquí.

La lámina nuclear es un entramado proteico que separa la membrana interna de la envuelta nuclear de la cromatina. En mamíferos tiene un espesor de 20 a 25 nm. Las principales proteínas que la componen se denominan láminas, que se encuentran en dos isoformas: tipo A (láminas A y C) y tipo B (láminas B1 y B2/3). Pertenecen a la familia de los filamentos intermedios. Estas proteínas se disponen en forma de malla cubriendo toda la cara interna de la envuelta nuclear a la cual

están unidas por un lado y por el otro a la cromatina. La asociación íntima entre la membrana interna de la envuelta nuclear y la lámina nuclear se produce gracias a la existencia de al menos 20 proteínas localizadas en la membrana interna. Una de sus principales funciones de la lámina nuclear es la de mantener la estructura de la envuelta nuclear. Las deficiencias en estas proteínas producen las enfermedades denominadas laminopatías, las cuales presentan núcleos desorganizados y pueden llevar a la muerte celular o a la fragilidad de la envuelta nuclear. La desorganización y organización de la envuelta nuclear durante la división celular se debe a acciones enzimáticas sobre las láminas. La forma nuclear cambia cuando cambia la expresión de las proteínas que forman la lámina nuclear, lo cual es observable

durante el desarrollo embrionario, la diferenciación celular o ciertas patologías celulares. Otra de las funciones de la lámina nuclear es servir de soporte para diversas reacciones relacionadas con la cromatina. Pero además sirve de punto de anclaje del núcleo al citoesqueleto de la célula, lo que permite al núcleo situarse en una posición determinada dentro de la célula o moverse por su interior.

En la envuelta nuclear se encuentran los poros nucleares, que son los responsables de controlar el trasiego de moléculas entre el interior del núcleo y

el citoplasma, y que veremos en el siguiente apartado.

¿Por qué una célula necesita separar el ADN del citoplasma, cuando esto le supone un considerable consumo de recursos? Entre la razones más evidentes están:

a) Estabilidad génica: la confinación del genoma en un compartimento contribuye a preservar la estabilidad del ADN, que es mayor que en procariontes, teniendo en cuenta que estamos hablando de una enorme cantidad de ADN.

b) Permite la regulación de la expresión génica a un nivel impensable para los procariontes. Por ejemplo, el acceso o no a los factores de transcripción. Los factores de transcripción son moléculas que regulan la expresión génica y son sintetizados en el citoplasma. Para su acción deben ser transportados al interior celular. Las cascadas de señalización empiezan en receptores de

membrana o internos, pero cualquiera que sea su inicio, si desencadenan expresión génica, alguna molécula de la cascada de señalización debe atravesar la envuelta nuclear. Si se bloquea este paso no se producirá ningún efecto sobre la expresión génica.

c) La presencia de intrones y exones en los genes eucariotas obliga a una maduración del transcrito primario. Es muy peligroso que un ARNm sin madurar acceda a los ribosomas puesto que produciría proteínas no funcionales o incluso potencialmente peligrosas.

d) Separar la transcripción de la traducción aporta a la célula una herramienta más para regular la información que va desde el ADN hasta la proteína. Así, la transcripción de un gen a ARNm no significa que se produzca una proteína de forma inmediata. Impidiendo la salida del ARNm del núcleo se evita la producción de dicha proteína.

Bibliografía

Rowat AC, Lammerding J, Herrmann H, Aebi U . Towards and integrated understanding of the structure and mechanics of the cell nucleus. 2008. *BioEssays* 30: 226-236.

3. POROS NUCLEARES

Las cisternas de la envuelta nuclear (dos membranas más el espacio entre ambas), dejan unos huecos entre ellas donde se encuentran los poros nucleares. Éstos son grandes complejos moleculares visibles con el microscopio electrónico y denominados en su conjunto complejo del poro. Son la puerta de comunicación entre núcleo y citoplasma y todo el transporte nucleocitoplasmático se da a través de ellos. Hay que tener en cuenta que no son estructuras transmembrana como ocurriría con las proteínas integrales, sino que se podrían considerar como complejos proteicos asociados a las membranas de la envuelta nuclear. Los poros nucleares son muy numerosos en las células que requieren un alto tránsito de sustancias entre el núcleo y el citoplasma como por ejemplo en las células que se están diferenciando. Se considera que puede haber unos 11 poros por μm^2 , lo que equivale a unos 3000 a 4000 poros por núcleo. El diámetro de un poro nuclear es de unos 80 nm pero el espacio útil para el trasiego de las moléculas que se transportan es de unos 50 nm.

Las proteínas que forman parte del complejo del poro se denominan nucleoporinas. En las levaduras hay unas 30 proteínas distintas en cada poro nuclear, mientras que en los metazoos pueden ser 40 o más. Se cree que un poro de una célula de mamíferos contiene unas 400

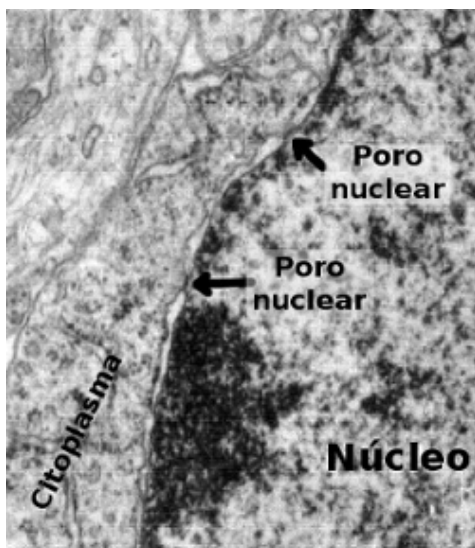
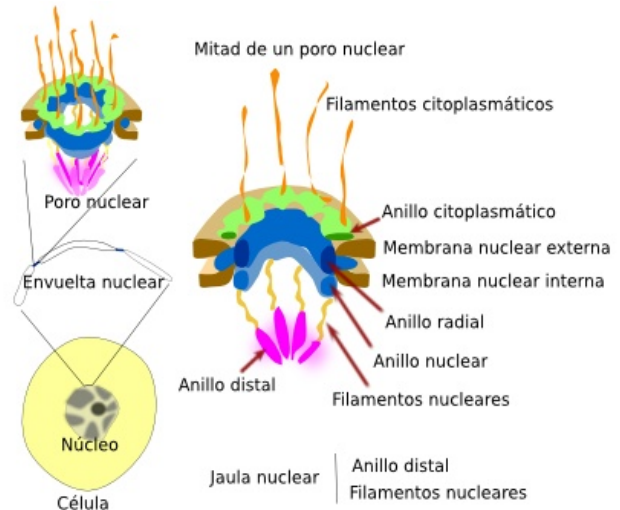


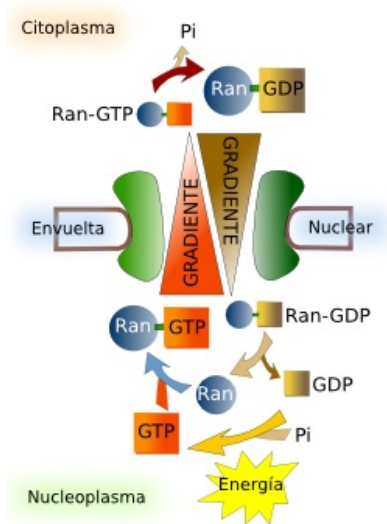
Imagen tomada con un microscopio electrónico de la envuelta nuclear con dos constricciones que se corresponden con dos poros nucleares.



Esquema de la estructura proteica de los poros nucleares. (Modificado de Beck et al., 2007)

nucleoporinas, ya que muchas de ellas se encuentran repetidas. Las proteínas que forman los poros nucleares se asocian para formar 8 bloques que configuran un octágono regular y se organizan formando anillos: el anillo citoplasmático orientado hacia el citoplasma, el anillo radial situado en el hueco que deja la envuelta nuclear y es responsable de anclar el complejo del poro a las membranas de la envuelta nuclear y el anillo nuclear que se encuentra en el nucleoplasma. Además, desde cada bloque se proyectan fibrillas proteicas que van hacia el citoplasma denominadas fibras citoplasmáticas, y otras al interior del núcleo que reciben el nombre de fibras nucleares. Éstas últimas se conectan a otro conjunto de proteínas que forman una estructura cerrada llamada jaula nuclear o anillo distal.

Los poros nucleares contienen un canal acuoso de unos 90 nm de longitud y entre 45 y 50 nm de diámetro cuando está en reposo, pero que se puede expandir cuando realiza transporte activo. El canal puede permitir el paso libre de pequeñas moléculas (menores de 60 kDa) pero restringir el movimiento de otras de mayor tamaño con potencial papel fisiológico. Aunque incluso algunas moléculas menores de 20-30 kDa tales como las histonas, los ARNt o algunos ARNm. Éstas moléculas y otras más grandes cruzan por transporte pasivo facilitado. Pero aunque sea



Gradientes creados por las moléculas Ran entre el citoplasma y el nucleoplasma. La energía se consume en el nucleoplasma para crear Ran-GTP a partir de Ran y fósforo inorgánico, manteniendo la concentración de Ran-GTP elevada. En el citoplasma las Ran-GTP son rápidamente convertidas en Ran-GDP, manteniendo la concentración de estas últimas elevada. Mientras, la hidrólisis del Ran-GDP a Ran, mantiene la concentración de Ran-GDP baja en el nucleoplasma. El tamaño de los iconos son indicativos de la concentración.

pasivo facilitado pueden viajar en contra de su gradiente, por tanto necesitan energía que es aportada por el gradiente de otras moléculas denominadas Ran-GTPasas. Veamos como ocurre.

El transporte mediado por los poros nucleares está orquestado por las proteínas Ran-GTPasas y por unas familias de proteínas denominadas importinas y exportinas. Las moléculas Ran-GTPasas son trascendentales tanto para la importación como para la exportación de moléculas. Son las responsables de crear un gradiente que dirige el transporte y crear este gradiente es la única parte del transporte por parte

Bibliografía

Beck M, Lucic V, Forster F, Baumeister W, Medalia O . Snapshots of nuclear pore complexes in action captured by cryo-electron tomography. 2007. Nature 449:611-615.

Carmody SR, Wentz SR . mRNA nuclear export at a glance. 2009. Journal of cell science 122:1933-1937.

de los poros nucleares que gasta energía. Las moléculas Ran pueden estar en tres estados: Ran-GTP, Ran-GDP y Ran. El paso de un estado a otro está mediado por otras enzimas. En el nucleoplasma hay una mayor concentración de Ran-GTP, mientras que en el citoplasma abunda la Ran-GTP.

Las proteínas que tienen que ser importadas al nucleoplasma necesitan poseer una secuencia de aminoácidos o péptido señal de entrada y las que tienen que ser exportadas un péptido señal de salida. Estas secuencias de aminoácidos serán reconocidas por las importinas o por las exportinas, respectivamente. Las proteínas de los poros nucleares no interactúan directamente con las proteínas transportadas sino son las importinas y las exportinas. Estos complejos importina-proteína o exportina-proteína utilizan los gradientes de las moléculas Ran-GTP o Ran-GDP para cruzar los poros nucleares y llevar sus cargas al otro lado. Además de proteínas, las moléculas de ARN deben también atravesar los poros nucleares. El mecanismo que usan los distintos tipos de ARN para ser transportados difieren entre sí, pero todos están mediados por un mecanismo de asociación con proteínas. El exporte de ARNt sigue un mecanismo en el que es reconocido por una exportina denominada exportina-t, que también se une a una Ran-GTP. El mecanismo de exportación de los ARNr no se conoce muy bien. Los ARNm no utilizan, en su mayoría el sistema de transporte mediado por Ran-GTP sino el mediado está mediado por dos proteínas que forman el complejo Tap/Nxt, el cual interactúa con las nucleoporinas y posibilita el transporte con gasto de ATP. Una pequeña cantidad de ARNm parece usar la proteínas Crm1, siendo en este caso un transporte dependiente del gradiente creado por las proteínas Ran.

4. CROMATINA

El nucleoplasma, rodeado por la envuelta nuclear, contiene la cromatina, la cual se puede considerar como el ADN (ácido desoxirribonucleico) más todas las moléculas relacionadas con su organización, fundamentalmente histonas. El ADN está formado por 4 desoxirribonucleótidos (abreviado como nucleótidos). Cada nucleótido contiene una sucesión de tres componentes: base, pentosa y

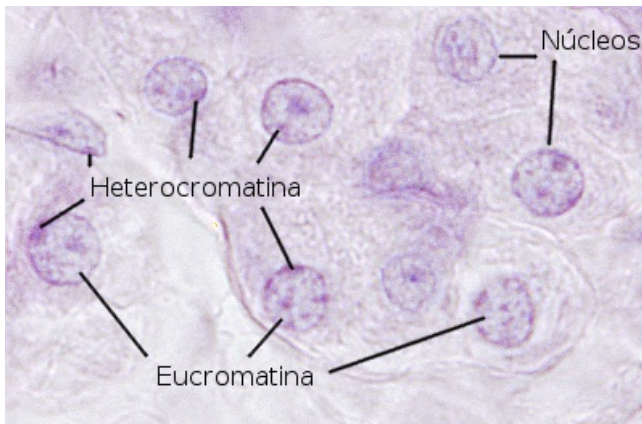


Imagen tomada con un microscopio óptico de las vellosidades intestinales de un mamífero teñidas con hematoxilina. Los núcleos redondeados presentan zonas púrpuras más densas y zonas más claras. Las zonas densas corresponden a la heterocromatina, donde más colorante se ha unido, mientras que las zonas claras corresponden con cromatina menos empaquetada, se une menos colorante.

grupo fosfato. Las bases son cuatro, dos púricas: adenina (A) y guanina (G), y dos pirimidínicas: timina (T) y citosina (C). La pentosa es la desoxiribosa. Cada base se une a una pentosa formando un desoxinucleósido. Cada desoxirribonucleósido se une un grupo fosfato por un carbono de la pentosa formándose un desoxirribonucleótido. Así, una cadena de ADN está formado por una sucesión de nucleótidos unidos entre sí por los grupos fosfato. Esto es una cadena simple pero el ADN está formado por dos cadenas simples gracias a la complementariedad que existe entre las bases A y T y entre G y C, las cuales establecen uniones del tipo puentes de hidrógeno. Las dos hebras son antiparalelas, es decir, que en los extremos tenemos el carbono 3' de una cadena y el 5' de la otra. Ambas se

disponen en forma de doble hélice de unos 2.5 nm de anchura.

Los nucleótidos no sólo están en el ADN. Pueden estar formando parte de otras moléculas con funciones totalmente diferentes. Por ejemplo el ATP (adenosín trifosfato) es la molécula de transferencia energética, o el AMPc (adenosín monofosfato cíclico) que es un segundo mensajero celular muy importante.

El ADN no se encuentra libre en el núcleo sino asociado a proteínas como las histonas y a otras proteínas implicadas en su procesamiento, formando en conjunto la cromatina. Las histonas son proteínas asociadas al ADN que determinan su organización. Hay dos tipos: las nucleosómicas que son cuatro (H2A, H2B, H3 y H4) y la histona H1. Las cuatro histonas nucleosómicas son las responsables de formar junto con el ADN los denominados nucleosomas, que son la unidad estructural básica de la cromatina. En menor proporción hay otras proteínas que pueden estar asociadas al ADN. Entre ellas se encuentran todas las proteínas responsables de la expresión (transcripción), síntesis (replicación) y empaquetamiento del ADN.

Cuando se observa al microscopio electrónico un núcleo de una célula en interfase aparecen zonas claras y oscuras. Las oscuras se corresponden mayoritariamente con cromatina compactada, denominada heterocromatina. La heterocromatina se suele situar en las proximidades de la envuelta nuclear o en los alrededores del nucléolo. En las zonas claras la cromatina se dispone de forma más laxa y se denomina eucromatina. A veces se observa una estructura más o menos redondeada más oscura que es el nucléolo, una porción de la cromatina relacionada con la producción de ARN ribosómico y el ensamblaje de ribosomas, como veremos en el apartado siguiente.

La eucromatina se suele corresponder con regiones del ADN que está transcribiéndose, mientras que la heterocromatina es en su mayoría transcripcionalmente inactiva. La heterocromatina a su vez se divide en heterocromatina facultativa,

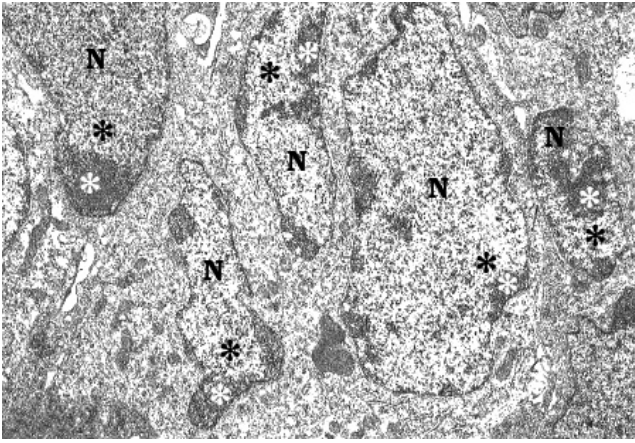


Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión. Se observan núcleos (indicados con una N) de células ependimarias de la médula espinal de un pez. Los asteriscos negros indican eucromatina, menos compactada y por tanto más clara. Los asteriscos blancos señalan heterocromatina, más densa y por tanto más compactada.

es decir, que puede pasar de heterocromatina a eucromatina y viceversa, y en heterocromatina constitutiva que está siempre condensada y

corresponde al 10-20 % de la heterocromatina. Aunque existan porciones de ADN en la heterocromatina constitutiva que se transcriben, aquí se localizan genes que normalmente no se expresan. Existe un grado de compactación mayor al de la heterocromatina cuando la célula forma los cromosomas durante los procesos de división, bien en mitosis o en meiosis. En los cromosomas se empaquetan tanto la heterocromatina como la eucromatina. Es interesante señalar que cuando se ha producido la división celular y se vuelven a desempaquetar a los cromosomas, la cromatina de cada uno de ellos suele ocupar un territorio concreto dentro del interior nuclear. Es decir, en el interior del núcleo no existe una madeja enredada de cromatina correspondiente a cromosomas diferentes sino un espacio compartimentado donde cada cromosoma suele ocupar una región del nucleoplasma más o menos delimitada donde cada cromosoma descondensa su cromatina.

4. NUCLÉOLO

El nucléolo es un compartimento nuclear formado por cromatina y visible al microscopio óptico. Las células de mamíferos contienen desde 1 a 5 nucléolos. Sus dimensiones varían dependiendo de la actividad de la célula y puede llegar a ser muy grande, del orden de micrómetros de diámetro. Normalmente las células que están realizando una gran síntesis proteica poseen nucléolos grandes. Durante la mitosis desaparece,

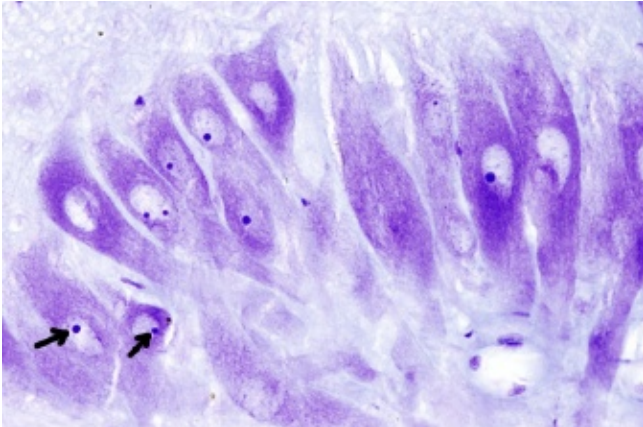


Imagen de las neuronas motoras del rombencéfalo de la lamprea. EL nucléolo aparece como un punto oscuro en el interior del núcleo (flechas).

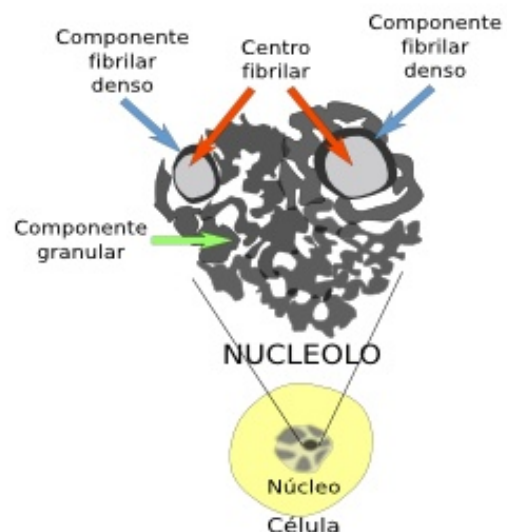
permitiendo a la la cromatina que lo forma reorganizarse para constituir los cromosomas.

En el nucléolo se dan procesos relacionados con la generación de los ribosomas: síntesis y maduración del ARN ribosómico (ARNr) y ensamblaje de las subunidades ribosómicas. El ensamblaje de las subunidades ribosómicas es un proceso curioso de trasiego de moléculas entre el citoplasma y el nucleoplasma. Primero se transcriben los genes de dichas proteínas, que se localizan fuera de la cromatina nucleolar. Éste ARNm debe salir al citosol donde es traducido a proteínas por los ribosomas libres. Estas proteínas entrarán en el núcleo y llegan hasta el nucléolo. Aquí se asocian con los ARNr para formar las subunidades ribosómicas que deberán ser exportadas de nuevo al citosol atravesando otra vez los poros nucleares. Así, la visibilidad del nucléolo se debe a que muchos genes que producen ARNr se están transcribiendo, a que hay muchas proteínas implicadas en el procesamiento de ese primer transcrito, a las proteínas de las

subunidades ribosómicas y a aquellas proteínas relacionadas con el ensamblaje de éstos. Se estima que hay unas 690 proteínas diferentes asociadas de forma estable con el nucléolo.

Morfológicamente el nucléolo contiene distintas regiones: el centro fibrilar, donde se encuentran los genes para el ARNr, el componente fibrilar denso que rodea al centro fibrilar, donde se produce la transcripción activa de los genes ARNr, y el componente granular donde se ensamblan las subunidades ribosómicas.

La mayoría de las proteínas presentes en la célula están representadas sólo por una copia del gen que la codifica. Éste es el caso de la hemoglobina de la sangre o mioglobina de los músculos. Las proteínas son abundantes porque a partir de una sola copia del gen se traducen numerosas proteínas. Se pueden producir más de 10000 proteínas por cada molécula de ARNm. Es decir, hay dos procesos de amplificación: a partir de un gen se pueden producir muchas moléculas de ARNm y a partir de una molécula de ARNm se pueden producir muchas proteínas. Cuando el destino de un gen es el propio ARN, como el ARNr, falta la amplificación aportada por la



Distintas partes del nucléolo. El centro fibrilar es la zona donde se encuentran las copias de los genes que codifican para el ARNr, el componente fibrilar denso es donde se produce el transcrito primario del ARNr y el componente granular es donde se ensamblan las proteínas y los diferentes ARNt para formar las subunidades ribosómicas.

traducción. Una célula eucariota puede tener multitud de ribosomas y todos ellos contienen moléculas de ARNr. Para una sola copia de un gen sería muy difícil dar lugar a toda esta cantidad de ARNr que la célula necesita. La estrategia de las células es tener muchas copias de esos genes. Las células humanas contienen unas 200 copias de sus genes para el precursor de los ARNr. Estas copias se encuentran repartidas en 5 cromosomas diferentes. Además, las ARN polimerasas I presentan una gran afinidad por los promotores de estos genes. Todas estas copias se agrupan formando el nucléolo. Hay un tipo de ARNr cuyo gen no se encuentra formando parte del nucléolo. Es el caso del ARNr 5S, uno de los ARNr que forman el ribosoma, del cual existen unas 20000

copias del gen y es transcrito por la polimerasa tipo III.

Los transcritos primarios de ARNr tienen que cortarse y procesarse para formar los distintos tipos de ARNr que formarán el ribosoma: ARNr 18S, ARNr 28S y ARNr 5.8S. El ARNr 5S, como hemos dicho, proviene de otra región nuclear. El proceso de maduración de este ARNr preribosómico se lleva a cabo por otras moléculas de ARN denominadas ARN nucleares pequeños. En el nucléolo se están produciendo constantemente estos transcritos primarios a la vez que se procesan. Las dos subunidades ribosómicas tendrán ARNr diferentes: la mayor 5.8S, 28S y 5S, y la menor 18S.