A microscopic image of a tissue section, likely stained with hematoxylin and eosin (H&E). The image shows numerous cells with prominent, dark blue nuclei. The cells are arranged in a somewhat organized pattern, possibly representing a glandular or epithelial tissue. The background is a light, pinkish-white color, indicating the presence of cytoplasm and extracellular matrix.

Atlas de Histología Vegetal y Animal

LA CÉLULA

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 2021)

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

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)

La edición de este documento se ha realizado con el software \LaTeX
(<http://www.latex-project.org/>), usando Texstudio
(www.texstudio.org/) como editor.

Contenidos

1	Introducción	1
2	Envuelta nuclear	3
3	Poros nucleares	7
4	Cromatina	11
5	Nucléolo	14
6	Bibliografía	17

1 Introducción

El núcleo es una de las estructuras 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 suele ser redondeada y adaptada a la forma celular, aunque no siempre es así y puede ser muy variable (Figura 1). 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.

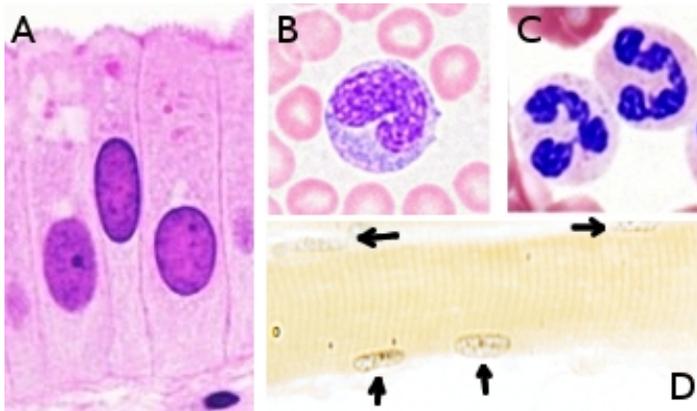


Figura 1: Distintos tipos de núcleos. A. Células epiteliales de la vesícula biliar de humanos con los núcleos redondeados. B. Monocito de la sangre con el núcleo arriñonado. C. Neutrófilos de la sangre con los núcleos multilobulados. D. Vista parcial de una célula muscular multinucleada, con los núcleos situados en la zona periférica (flechas).

Aunque la cantidad de ADN es prácticamente idéntica en todas las células de un organismo, el tamaño del núcleo puede ser diferente (Figura 2). Además, células de igual tamaño de diferentes especies y con distintas cantidades de ADN pueden tener núcleos con dimensiones similares. Estos datos indican que el tamaño del núcleo se adapta al tamaño

o a la fisiología celular, pero no depende estrictamente de la cantidad de ADN.

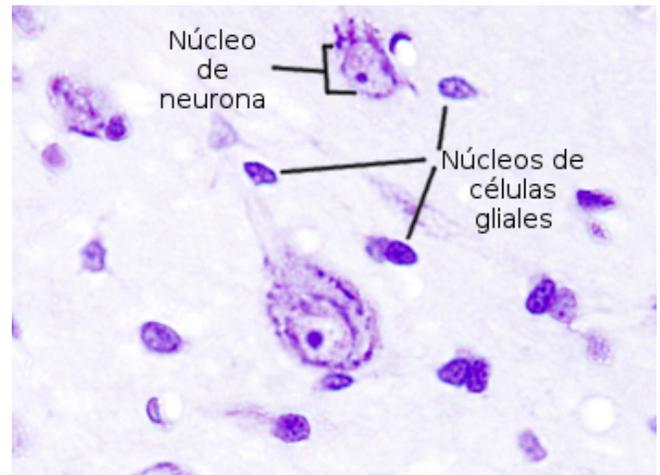


Figura 2: El tamaño de los núcleos es diferente dependiendo del tipo celular, aunque tengan la misma cantidad de ADN. En esta imagen se muestran neuronas y glía, las primeras con la cromatina más laxa, mientras que la glía tiene el ADN más compactado y su núcleo es mucho más pequeño

El núcleo consta de dos componentes que se pueden distinguir morfológicamente: la envuelta nuclear y el nucleoplasma (Figura 3). La envuelta nuclear separa el nucleoplasma del citoplasma. Está formada por una membrana externa y una interna, entre las que se encuentra un espacio denominado perinuclear. Se forman así las cisternas perinucleares. En la envuelta nuclear se encuentran los poros nucleares, los cuales permiten el trasiego de moléculas entre el citoplasma y el nucleoplasma, en los dos sentidos, pero de una manera específica y regulada. Recubriendo internamente a la membrana interna hay una capa de proteínas que forman un entramado denominado lámina nuclear, que da consistencia mecánica al núcleo.

En el nucleoplasma se encuentra el ADN y sus proteínas asociadas formando la cromatina, que si está muy compactada se denomina heterocromatina y si aparece más laxa se denomina eucromatina. La cromatina es el resultado de la descondensación de los cromosomas y cada cromosoma distribuye su cromatina en regiones o territorios concretos en el interior del núcleo. Además, en el nucleoplasma se encuentra su compartimento más conspicuo, el nucléolo, que es visible con el microscopio óptico. También en

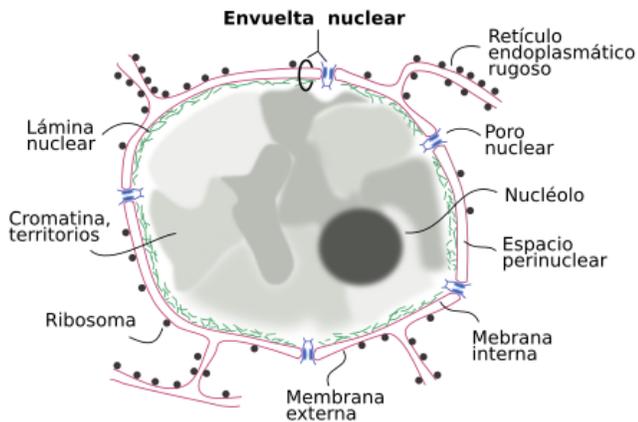


Figura 3: Principales partes del núcleo.

el nucleoplasma se pueden observar otras estructuras densas denominadas cuerpos nucleares, que son agrupaciones de moléculas, cromatina y proteínas, que realizan una función común.

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.

2 Envuelta nuclear

A finales del siglo XIX se propuso la existencia de una barrera que delimitaba al núcleo, lo que quedó posteriormente demostrado con el microscopio electrónico (Figura 4). La envuelta nuclear está formada por una doble membrana con diversas funciones: a) separa físicamente al nucleoplasma (cromatina y demás componentes del interior nuclear) del citoplasma; b) regula la comunicación entre ellos, es decir, el movimiento de macromoléculas entre nucleoplasma y citoplasma; c) establece la forma nuclear; d) contribuye a la organización interna del núcleo, ya que aporta lugares de anclaje para la cromatina. La envuelta nuclear interacciona con elementos del citoesqueleto, microtúbulos y filamentos intermedios, los cuales determinan la posición del núcleo en la célula.

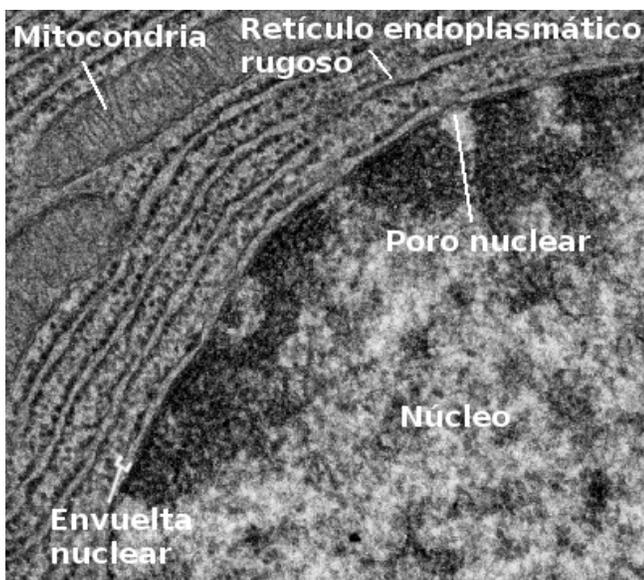


Figura 4: Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión donde se observa la envuelta nuclear.

1. Componentes

La envuelta nuclear está formada por dos membranas, externa e interna, respectivamente, quedando entre ambas un espacio intermembranoso de aproximadamente 25-40 nm, formando todos estos elementos juntos las denominadas cisternas perinucleares (Figura 5). La membrana externa se continúa con la del retículo endoplasmático y posee ribosomas adheri-

dos. Esta continuidad permite que el espacio intermembranoso y el interior del retículo endoplasmático se comuniquen directamente y que la envuelta nuclear funcione también como almacén de calcio. La membrana interna contiene una composición molecular diferente y posee proteínas transmembrana que interactúan con la cromatina y con la lámina nuclear, otro componente de la envuelta nuclear (ver más adelante). Las membranas nucleares interna y externa son continuas 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 y llegan a la membrana interna por difusión lateral (difusión por la membrana), pero sólo aquellas que interaccionan con las proteínas de la lámina nuclear o de la cromatina se mantienen como componentes propios de la membrana interna.

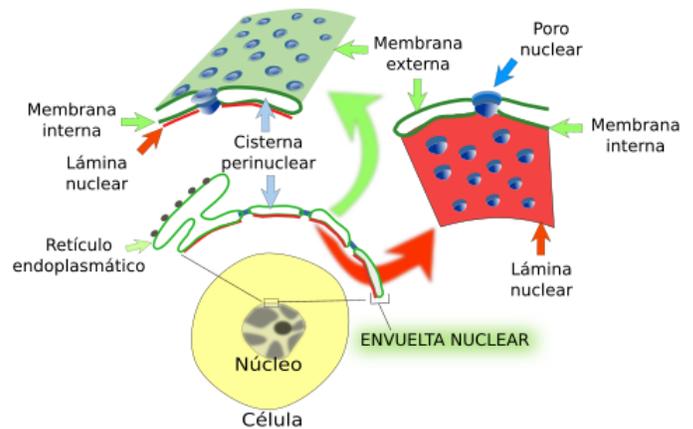


Figura 5: Esquema de la estructura de la envuelta nuclear. Está formada por una membrana externa, por el espacio intermembranoso, por la membrana interna y por la lámina nuclear. La membrana externa se continúa con el retículo endoplasmático. Los poros nucleares se encuentran insertos en interrupciones puntuales de la envuelta nuclear.

La lámina nuclear, en las células animales, es un entramado proteico que separa la membrana interna 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, que son la maduración alternativa del mismo gen) y tipo B (láminas B1 y B2/3). Pertenecen a la familia de los filamentos intermedios. Estas proteínas se disponen en forma de

mallas cubriendo toda la cara interna de la envuelta nuclear, a la cual están unidas por un lado, mientras que por el otro anclan 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.

La lámina nuclear tiene múltiples funciones. Una de las principales es la de mantener la estructura de la envuelta nuclear, y por tanto la de dar forma y tamaño, al núcleo. 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. Sirve de punto de anclaje del núcleo al citoesqueleto de la célula, a través de proteínas intermediarias localizadas en las membranas de la envuelta nuclear que conectan con otros elementos del citoesqueleto en el citosol, lo que permite al núcleo situarse en una posición determinada dentro de la célula o moverse por su interior. También condiciona la distribución de los poros nucleares. Otra de las funciones de la lámina nuclear es servir de soporte para diversas reacciones relacionadas con la cromatina. Por ejemplo, la cromatina que está asociada a la lámina nuclear no se suele transcribir, aunque hay genes particulares que sí lo hacen. Además, las regiones de cromatina asociadas a la lámina cambian según el tipo celular y el estado de desarrollo de la célula, luego debe ser un elemento regulador de la expresión génica. Por último, su papel es importante durante la mitosis puesto que las láminas han de fosforilarse para que la envuelta nuclear se desorganice y los microtúbulos tengan acceso a los cromosomas. Las deficiencias en las proteínas que forman la lámina nuclear producen las enfermedades denominadas laminopatías, en las cuales los núcleos están desorganizados y pueden llevar a la muerte celular o a la fragilidad de la envuelta nuclear.

En la envuelta nuclear se encuentran los poros nucleares, responsables de controlar el trasiego de moléculas entre el interior del núcleo y el citoplasma, y que veremos en la siguiente página.

2. Función

¿Por qué una célula necesita separar el ADN del

citoplasma, cuando esto le supone un considerable consumo de recursos? Entre las 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 procariotas, 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 procariotas. 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 nuclear. 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 ARN mensajero 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 ARN mensajero no significa que se produzca una proteína de forma inmediata. Impidiendo la salida del ARN mensajero del núcleo se evita la producción de dicha proteína.

3. En la mitosis

La envuelta nuclear se desorganiza durante la profase de la mitosis en la mayoría de los eucariotas. Es la denominada mitosis abierta. Ello permite que los microtúbulos tengan acceso a los cromosomas. Una vez producida la segregación y reparto de los cromosomas, la envuelta nuclear se ensambla de nuevo a partir de las membranas del retículo endoplasmático durante la telofase para formar los núcleos de las células hijas (Figura 6). En las levaduras, sin embargo, no hay desorganización de la envuelta durante la mitosis sino su

estrangulación, como ocurre con el citoplasma, puesto que estas células son capaces de formar usos mitóticos intranucleares. Son mitosis cerradas.

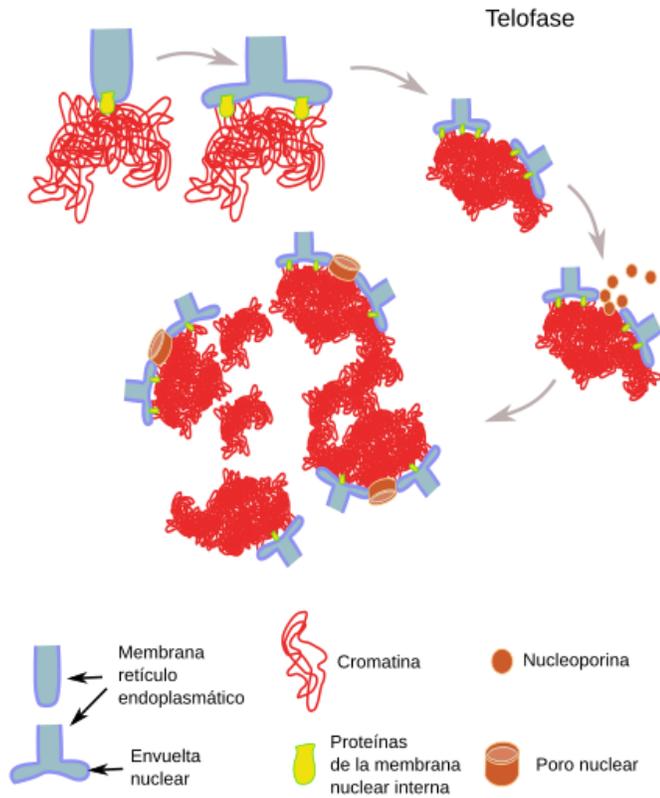


Figura 6: Reorganización de la envuelta nuclear y formación del núcleo durante la telofase. La envuelta nuclear se origina a partir de membranas del retículo endoplasmático. Proteínas localizadas en la membrana interna de la envuelta nuclear enlazan la cromatina a la envuelta (modificado de Wanke y Kutay, 2013).

4. Posición nuclear

El núcleo ocupa diferentes posiciones en el interior de la célula, lo que depende del tipo celular, actividad o estado de diferenciación de la célula. En algunas ocasiones el núcleo es desplazado por otros componentes del citoplasma, como ocurre con la gran gota de grasa de los adipocitos o el citoesqueleto de las células musculares estriadas, las cuales tienen núcleos cerca de la membrana plasmática. Pero en la mayoría de los casos la célula sitúa activamente su núcleo en una región particular del citoplasma. Esta posición activa del núcleo depende de la interacción del citoesqueleto, sobre todo microtúbulos y filamen-

tos de actina, pero también filamentos intermedios, con la envuelta nuclear. En algunos casos, en las células animales, la envuelta nuclear está conectada al centrosoma, y es éste el que tira del núcleo cuando es movido por los microtúbulos. Otras veces son los microtúbulos los que contactan directamente con la envuelta nuclear. El movimiento se produce por acción de proteínas motoras, aunque en movimientos cortos el núcleo es empujado por procesos de polimerización y despolimerización. Las proteínas que se encuentran en la envuelta nuclear sirven de intermediarias entre el citoesqueleto y la lámina nuclear. Se han medido velocidades del núcleo de entre 0.1 y 1 $\mu\text{m}/\text{min}$, pero hasta 10 $\mu\text{m}/\text{min}$ en los pronúcleos del ovocito tras la fecundación.

En la envuelta hay unos complejos proteicos que conectan la lámina nuclear con el citoesqueleto. Estos complejos están formados por unas proteínas localizadas en la membrana externa de la envuelta nuclear denominadas KASH (nesprinas en mamíferos) y otras en la membrana interna denominadas SUN. Podría haber además otras proteínas implicadas en estos puentes citoesqueleto-lámina nuclear (Figura 7).

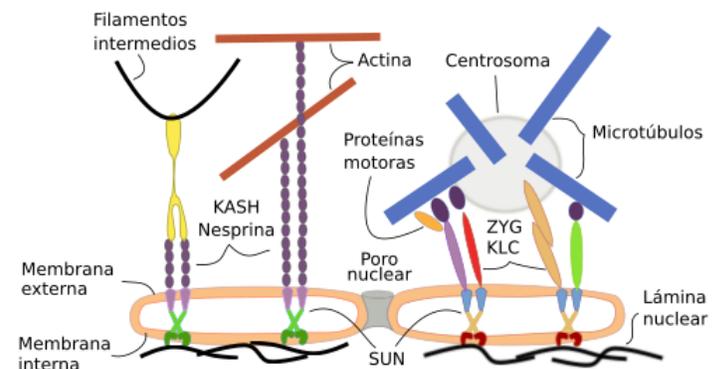


Figura 7: Interacciones entre la envuelta nuclear y el citoesqueleto que ayudan a situar y mover el núcleo en la célula, además de afectar a su tamaño y forma (modificado de Starr y Fridolfsson, 2010 y Wilhelmssen et al., 2006).

En mamíferos se han encontrado 5 genes que codifican para proteínas KASH, algunos con maduración alternativa del ARNm, que pueden generar isoformas enormes de más de 800 kDa. Tienen unos largos dominios moleculares que se expanden por el citosol e interactúan con el citoesqueleto. Las moléculas SUN se unen a las proteínas KASH en el espacio perinu-

clear, y a las moléculas de las láminas por su dominio nucleoplasmático.

3 Poros nucleares

La envuelta nuclear está compuesta por una membrana interna, una externa y un espacio entre ambas, y por la lámina nuclear. En algunos sitios la membrana externa e interna se fusionan dejando unas aberturas que comunican directamente el citosol y el nucleoplasma. En estas aberturas es donde se encuentran los poros nucleares, también denominados complejos del poro. Son grandes agregados moleculares visibles incluso con el microscopio electrónico (Figura 8). Los poros nucleares son la puerta de comunicación entre el nucleoplasma y el citoplasma, y todo el transporte entre ambos compartimentos se da a través de ellos. Por tanto, son un elemento clave en la función, en la respuesta a señales externas y en la diferenciación de las células. Y esto es así porque condicionan, por ejemplo, la salida del ARN mensajero al citoplasma, o la entrada al núcleo de los factores de transcripción que determinan la expresión génica.

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 estima que en una célula promedio puede haber unos 11 poros por μm^2 de envuelta nuclear, lo que equivale a unos 3000 a 4000 poros por núcleo. Durante el ciclo celular, la creación de nuevos poros se produce durante la interfase, en preparación para la mitosis, pero también se crean nuevos poros tras la mitosis. Es claro que durante las mitosis abiertas, en las que la envuelta nuclear se desorganiza, los poros nucleares también se deshacen en sus proteínas, proceso mediado por fosforilación, y se vuelven a ensamblar durante la formación de la nueva envuelta nuclear tras la mitosis.

1. Componentes

Las proteínas que forman parte del complejo del poro se denominan nucleoporinas. En las levaduras hay unas 30 nucleoporinas distintas en cada poro nuclear, mientras que en los metazoos pueden ser 40 o más. Pero en un mismo poro puede haber proteínas repetidas y esto hace que un poro de una célula de mamífero esté formado por unas 500 a 1000 nucleoporinas totales. El complejo del poro mide unos 100

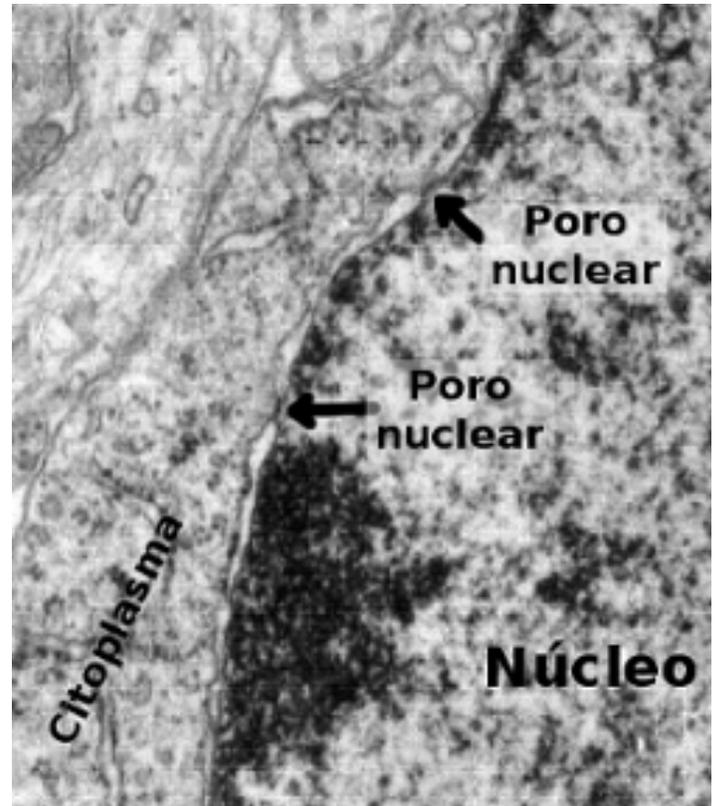


Figura 8: Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión. Se observa la envuelta nuclear con dos constricciones que se corresponden con dos poros nucleares.

a 150 nm de diámetro, con unos 40 nm de diámetro interno útil, y 50-70 nm de altura. Es uno de los complejos proteicos más grandes de la célula, con unos 125000 kDa de peso molecular. Es curioso que mientras que la mayoría de las proteínas de una célula de mamífero tienen una vida media de unos pocos días, las que forman el poro tienen una vida media muy larga, en algunas ocasiones un poro puede ser estable a lo largo de toda la vida de la célula. Lo que indica que son estructuras muy estables.

Las proteínas que forman los poros nucleares se asocian para formar 8 bloques que configuran un octágono regular y se distribuyen formando anillos (Figura 9): el anillo citoplasmático orientado hacia el citoplasma, el anillo radial situado en la abertura que deja la envuelta nuclear, responsable de anclar el complejo del poro a las membranas de la envuelta nuclear, y el anillo nuclear que se encuentra hacia el nucleoplasma. Además, desde cada uno de los ocho bloques

del anillo citoplasmático se proyecta un filamento proteico hacia el citoplasma denominados conjuntamente filamentos citoplasmáticos, y otro desde cada bloque del anillo nuclear hacia el interior del núcleo denominados filamentos nucleares. Estos últimos se conectan a otro conjunto de proteínas que forman una estructura cerrada llamada anillo distal. Ambos, filamentos nucleares y anillo distal forman la jaula nuclear.

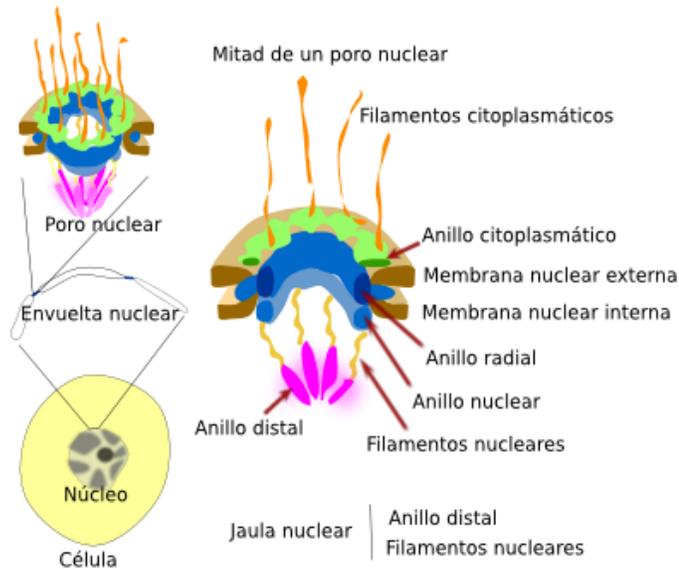


Figura 9: Esquema de la estructura proteica de los poros nucleares. (Modificado de Beck et al., 2007)

Las nucleoporinas, además de estructuralmente, se clasifican también según su función. Así, hay proteínas que se anclan a la membrana, aquellas que forman el andamiaje, las que forman el canal, y las que forman parte de los filamentos y de la cesta nuclear. Las proteínas que anclan son proteínas transmembrana que sujetan todo el complejo a la membrana de la envuelta. Las nucleoporinas de andamiaje las que forman los anillos. Las proteínas del canal o de barrera son las que forman la parte interna del poro nuclear, y son las que realmente regulan el paso de moléculas a través del poro. Los filamentos son los que primero reconocen a las moléculas a transportar a través del poro. Hay que tener en cuenta que las moléculas que cruzan un poro nuclear no cruzan ninguna membrana, sino que pasan entre las membranas de las cisternas de la envuelta.

2. Transporte núcleo-citoplasma

Los poros nucleares contienen un pasaje acuoso interno de unos 80 a 90 nm de diámetro, pero el espacio útil para el trasiego de las moléculas que se transportan es de unos 45 a 50 nm de diámetro cuando está en reposo, y se puede expandir cuando realizan transporte activo. Normalmente, este canal permite el paso libre de pequeñas moléculas (menores de 60 kDa) como sales, nucleótidos, pequeñas moléculas y pequeños polipéptidos. Pero restringe el movimiento de proteínas de mayor tamaño. Incluso algunas moléculas menores de 20-30 kDa tales como las histonas, los ARNt o algunos ARNm son transportadas de forma selectiva, es decir, tienen que ser reconocidas y transportadas por las proteínas del poro. Este transporte selectivo es pasivo facilitado, es decir, no necesita energía. El poro por sí mismo no determina la direccionalidad del movimiento, sino que el transporte hacia afuera o hacia adentro del núcleo está determinado por un gradiente de unas moléculas denominadas Ran (Figura 10), y para crear este gradiente sí se necesita energía.

El trasiego a través del poro es elevado, con más de 1000 translocaciones por segundo. Este transporte está orquestado por las proteínas Ran. Las moléculas Ran 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 a través 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-GDP (Figura 3).

Hay una familia de proteínas denominada conjuntamente como carioferinas que pueden ser importinas o exportinas y que son responsables de seleccionar qué moléculas han de cruzar a través del poro nuclear. Las proteínas que tienen que ser importadas al nucleoplasma poseen una secuencia de aminoácidos denominada secuencia de localización nuclear y las que tienen que ser exportadas una secuencia de exportación nuclear. Estas secuencias de aminoácidos

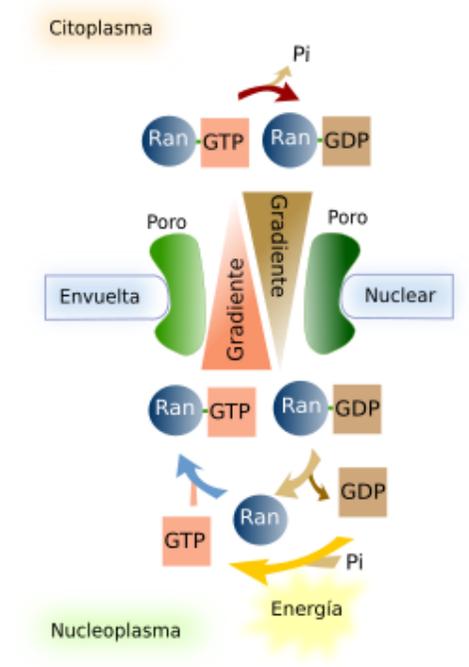


Figura 10: Gradientes creados por las moléculas Ran entre el citoplasma y el nucleoplasma. La energía para crear esta distribución desigual se consume en el nucleoplasma para crear GTP y unirlo moléculas Ran para crear Ran-GTP, manteniendo la concentración de Ran-GTP elevada. En el citoplasma las Ran-GTP son rápidamente convertidas en Ran-GDP, manteniendo la concentración de estas últimas elevada. Mientras, la hidrólisis del Ran-GDP a Ran más GDP mantiene la concentración de Ran-GDP baja en el nucleoplasma.

no son idénticas para todas las proteínas que viajan a través de los poros nucleares, pero serán reconocidas o bien por las importinas (reconocen secuencias de entrada) o bien por las exportinas (reconocen secuencias de salida). Hay distintos tipos de importinas y exportinas que tienen más o menos afinidad por las diferentes secuencias. Las proteínas de los poros nucleares, las nucleoporinas, generalmente no interactúan directamente con las proteínas transportadas, las cargas, sino con las importinas y las exportinas (Figura 11).

Los complejos importina-carga o exportina-carga utilizan el gradiente Ran-GTP para crear direccionalidad en el transporte. Así, los complejos importina-carga se forman espontáneamente en el citoplasma pero son disgregados (importina + carga) por las

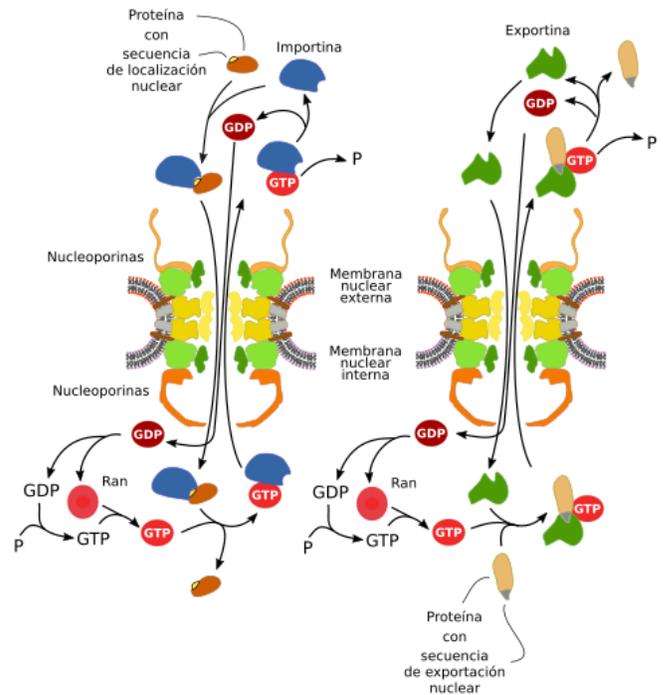


Figura 11: Mecanismos moleculares propuestos para el transporte de proteínas mediado por las carioferinas: importinas y exportinas.

Ran-GTP que abunda en el nucleoplasma. Por otro lado, el complejo exportina-carga necesita a la Ran-GTP para formarse, pero una vez en el citoplasma, al hidrolizarse la Ran-GTP a Ran-GDP, exportina, carga y Ran-GDP quedan libres en el citosol.

El que una molécula sea transportada o no, no sólo depende de que tenga las secuencias correspondientes sino de que puedan ser accesibles para el reconocimiento por las importinas o por las exportinas. Estas secuencias se pueden ocultar por cambios en la estructura de la proteína o por modificaciones químicas, de modo que la célula tiene un nivel más de regulación sobre el tráfico entre el núcleo y el citoplasma.

Además de proteínas, las moléculas de ARN deben también atravesar los poros nucleares. Los mecanismos que usan los distintos tipos de ARN para ser transportados difieren entre sí, pero todos están mediados por un mecanismo de asociación con proteínas. Los ARNm no se exportan desnudos sino que una vez transcritos se unen a numerosas proteínas en el nu-

cleoplasma formando un complejo ribonucleoproteico de tamaño enorme. Antes de su transporte al citoplasma tiene que haber un control de calidad previo en el que se comprueba que el ARN se ha procesado correctamente. Si hay defectos el ARNm se degrada. Si es correcto se trasfiere a la cesta del poro y se une al complejo proteico Nxf1-Nxt1, que permite su transporte a través del poro. El transporte de ribonucleoproteínas no usa el sistema Ran-GTP, sino otro que necesita la hidrólisis de ATP en vez de GTP. El ATP se gasta cuando todo el complejo ribonucleoproteico-Nxf1-Nxt1 está en la cara citoplasmática del poro, donde se elimina Nxf1-Nxt1 y entonces el complejo ribonucleoproteico ya no puede ser transportado de vuelta al nucleoplasma. Sin embargo, hay una pequeña cantidad de moléculas de ARNm que parece usar la proteína CRM1, siendo en este caso un transporte dependiente del gradiente creado por las proteínas Ran.

El exorte de ARNt sigue un mecanismo en el que es reconocido por una exportina específica denominada exportina-t, que también se une a una Ran-GTP. Los ARN pequeños nucleares, otro tipo de ARN, emplean la molécula CRM1 y el gradiente Ran-GTP. El mecanismo de exportación de las subunidades ribosómicas, ensambladas en el nucléolo, supone un desafío para los poros nucleares puesto que son complejos moleculares enormes, y tienen que translocarlos al citoplasma por un mecanismo del que

hoy en día se desconocen sus detalles. Por último, se han encontrado algunas proteínas que pueden cruzar los poros uniéndose directamente a las proteínas del complejo del poro.

3. Interacción con la cromatina

Los poros nucleares participan en funciones adicionales importantes además de regular la comunicación núcleo-citoplasma. Así, se les ha relacionado con la reparación del DNA, el ciclo celular, la organización de la cromatina, regulación de la transcripción y maduración y control de calidad del RNA. Con el microscopio electrónico de transmisión se observa que la distribución de la heterocromatina periférica se interrumpe en las proximidades de los poros nucleares (Figura 1). Así, se considera a los poros nucleares como lugar de permisividad para la expresión de muchos genes inducibles. Cosa lógica puesto que son la puerta de salida de los ARN mensajeros. Este efecto parece deberse a una interacción directa de las nucleoporinas con la cromatina.

Evolutivamente, las proteínas del poro comparten ancestro con las proteínas que forman las cubiertas COPI y COPII. Esto tiene sentido si pensamos que las membranas de la envuelta nuclear, donde se encuentran los poros nucleares, son continuas con las del retículo endoplasmático, donde actúan las proteínas COPI.

4 Cromatina

1. ADN e histonas

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 grupo fosfato. Las bases son cuatro, dos púricas: adenina (A) y guanina (G), y dos pirimidínicas: timina (T) y citosina (C) (Figura 12). La pentosa es la desoxirribosa. Cada base se une a una pentosa formando un desoxirribonucleósido. Cada desoxirribonucleósido se une a un grupo fosfato por un carbono de la pentosa formándose un desoxirribonucleótido. Así, una cadena de ADN está formada 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. Se disponen como las vías de un tren, donde las cadenas fosfato-ribosa son las vías y las bases-puentes de hidrógeno son los travesaños. Pero 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, además, se arrollan 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 por excelencia en las células, 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

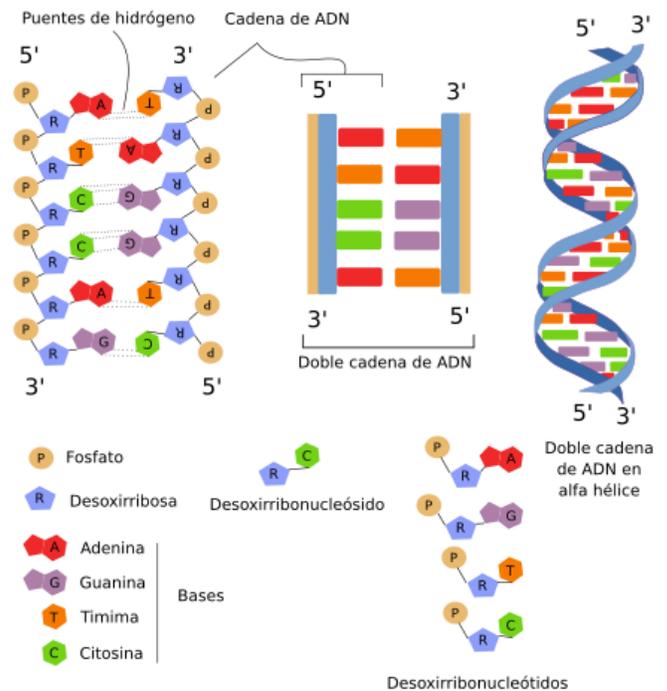


Figura 12: Esquema de la organización molecular del ADN.

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 empaquetado del ADN.

2. Heterocromatina y eucromatina

Cuando se observa al microscopio electrónico un núcleo de una célula en interfase aparecen zonas claras y oscuras (Figura 13). 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. El nucléolo es una estructura más o menos redondeada y más oscura en la que se encuentra una porción de la cromatina relacionada con la producción de ARN ribosómico y donde se produce el ensamblaje de ribosomas, como veremos en el apartado siguiente. En las zonas claras la cromatina se dispone de forma más laxa y se denomina eucromatina. Esta organización también se aprecia cuando se observan los núcleos celulares con

el microscopio óptico (Figura 14).

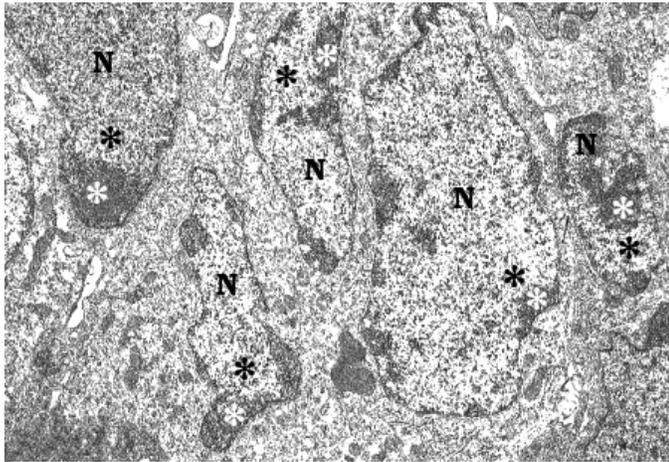


Figura 13: Imagen tomada con un microscopio electrónico de transmisión. Se observan núcleos (indicados con una N) de células endimarias de la médula espinal de un pez. Los asteriscos negros indican eucromatina, menos compactada y por tanto más clara. Los asteriscos blancos señalan heterocromatina, más densa y por tanto más compactada.

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, 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 total del núcleo. 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.

3. Organización

Si pensamos en el núcleo interfásico como un amasijo de cromatina, consecuencia de la descondensación de los cromosomas, es difícil imaginar cómo la célula es capaz de manejar esta cromatina, condensarla, descondensarla, regularla y expresarla, sin formar un enorme enredo. Lejos de ser un amasijo, hoy en día hay muchas evidencias de que la cromatina no

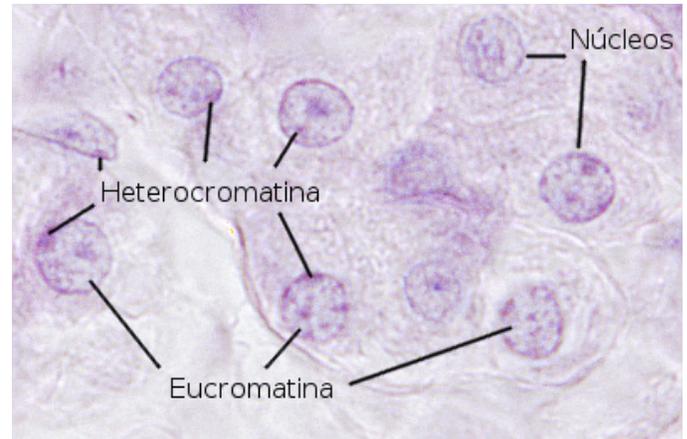


Figura 14: Imagen tomada con un microscopio óptico de las vellosidades intestinales de un mamífero teñidas con hematoxilina. Los núcleos redondeados presentan zonas púrpuras más densas y zonas más claras. Las zonas densas corresponden a la heterocromatina, donde más colorante se ha unido, mientras que las zonas claras corresponden con cromatina menos empaquetada, se une menos colorante.

está dispuesta al azar en el núcleo y que tampoco está plegada o compactada al azar. En 1980 se observó que los cromosomas de mamíferos ocupaban territorios espaciales definidos en el núcleo. Es decir, a gran escala, los cromosomas ocupan territorios determinados en el nucleoplasma. Dentro de cada territorio cromosómico hay dos compartimentos, A y B, cada uno de ellos con muchas regiones no continuas de decenas de miles de nucleótidos de tamaño. Y a una escala menor hay dominios cromosómicos asociados topológicamente, y finalmente hay bucles de cientos de nucleótidos que se conservan estructuralmente, al menos en células de mamíferos. Las interacciones con la lámina nuclear y con las membranas de la envuelta nuclear ayudan en esta segregación por territorios.

Territorios cromosómicos. En interfase cada cromosoma ocupa un espacio en el núcleo que se llama territorio cromosómico. Estos territorios son casi esféricos, de unos 2 a 4 μm de diámetro, y los territorios de diferentes cromosomas sólo se mezclan o solapan un poco en sus márgenes (en levaduras, sin embargo, los límites entre territorios no están tan bien definidos) (Figura 15). Muchas evidencias soportan una organización no aleatoria de los territorios en el nucleoplasma. Aunque la disposición puede diferir entre tipos celulares, estados de diferenciación y a lo largo

del ciclo celular, parece que la ordenación territorial es bastante estable en el tiempo para una misma célula. Por tanto, los territorios que ocupan los cromosomas dentro del núcleo no son al azar. Los cromosomas más activos suelen localizarse en el centro del núcleo, mientras que los menos activos lo hacen cerca de la envuelta nuclear. En general los cromosomas pequeños ricos en genes se disponen hacia el centro del núcleo, mientras que los grandes y pobres en genes suelen estar en la periferia. La distribución se suele correlacionar con el tipo celular y con otras particularidades. Por ejemplo, los segmentos que se replican antes suelen estar en el interior y los tardíos hacia la periferia. Además, los genes reprimidos tienen una preferencia por la periferia. Es interesante reseñar que los cromosomas homólogos se despliegan en regiones diferentes del núcleo.

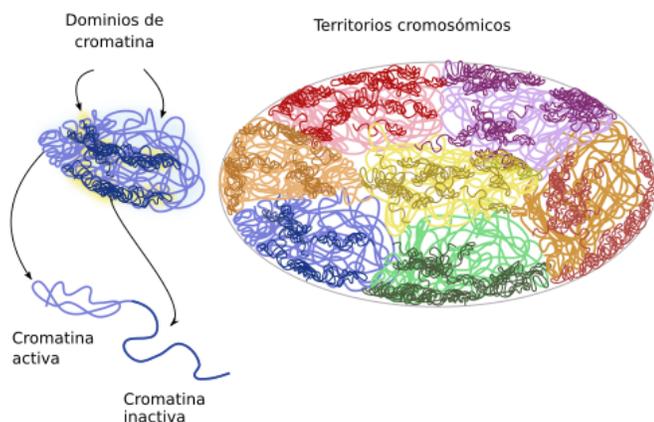


Figura 15: Esquema de la organización de la cromatina en el núcleo en interfase (modificado de Cavalli y Misteli, 2013).

Compartimentos A y B. Los territorios cromosómicos se pueden dividir en dos compartimentos, el A y el B. El compartimento A tiene genes que se replican más temprano durante la fase S, tienen una alta densidad de genes y una alta tasa de transcripción. El compartimento B tiene genes que se replican tarde, se expresan poco y están próximos a la lámina nuclear. Determinadas regiones de la cromatina pueden pasar del compartimento A al B y viceversa. Con técnicas de mayor resolución se ha subdividido el compartimento A en dos subcompartimentos y el B en 3, cada uno de ellos asociado con un tipo de modificación especial de las histonas.

Dominios cromosómicos. Son porciones pequeñas de cromatina que tienden a interactuar preferentemente entre sí. Por ejemplo, en células madre de ratón se han encontrado hasta 2200 dominios cromosómicos. Curiosamente no se han encontrado en plantas. Estos dominios son relativamente estables entre líneas celulares y durante la diferenciación celular, incluso entre especies, por lo que se consideran como las unidades fundamentales del genoma o de la cromatina. Hay dominios de cromatina reprimida: cromatina policómbica, heterocromatina y otra menos caracterizada, dominios de cromatina activa o abierta: puede contener secuencias reguladoras, promotores, secuencias transcritas y regiones unidas a proteínas cromatínicas aislantes. A pesar de ello, los dominios no determinan por completo cómo se va a comportar un gen. La cromatina reprimida no parece interactuar con otros territorios, mientras que la cromatina abierta puede hacerlo, incluso con dominios de otros territorios cromosómicos. Los mecanismos para la formación de los dominios cromosómicos son las interacciones locales entre bucles de cromatina. Por ejemplo, la cromatina abierta tiene más propensión a interactuar con otras zonas cercanas de cromatina abierta que con cromatina cerrada.

Los dominios cromosómicos aún se pueden dividir en regiones más pequeñas. Además hay bucles de cromatina que interactúan espacialmente más frecuentemente entre sí de lo que les correspondería por la distancia a la que se encuentran. Eso quiere decir que se mantienen espacialmente próximos en la cromatina.

Durante el ciclo celular, en la fase M, todas estas regionalizaciones se pierden al formarse los cromosomas. Sería interesante saber cómo al descondensar los cromosomas se vuelven a generar los territorios en la cromatina. Durante la diferenciación de las células madre los dominios cromosómicos se mantienen identificables pero cambian los procesos de interacción intra dominio e inter dominio.

5 Nucléolo

El nucléolo es la estructura del interior del núcleo (nucleoplasma) más claramente visible en tinciones generales (Figura 16). Es consecuencia de una concentración de cromatina y proteínas. Es el lugar donde se sintetiza la mayor parte del ARN ribosómico y donde se ensamblan las subunidades ribosómicas. El nucléolo fue descrito en 1781 por Fontana. Una célula no suele tener un sólo nucléolo sino varios, y el número varía entre células, o según el estado de diferenciación o fisiológico. 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. En la interfase muchos nucléolos se pueden asociar para formar otros más grandes. Normalmente las células que están realizando una gran síntesis proteica poseen nucléolos grandes. También tiende a ser más grande en células grandes y en aquellas que están creciendo. En algunas células, como los espermatozoides, no son visibles. Aunque el nucléolo no es visible en algunas fases del ciclo celular o en periodos concretos de la diferenciación celular, se acepta que una célula que no tiene nucléolo está muerta o está muriendo.

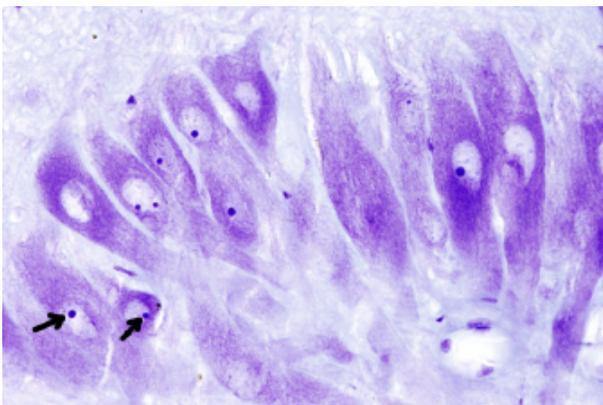


Figura 16: Imagen de neuronas motoras del rombencéfalo de la lamprea. El nucléolo aparece como un punto oscuro en el interior del núcleo (flechas).

El nucléolo desaparece durante la profase mitótica, permitiendo a la cromatina que lo forma reorganizarse para constituir los cromosomas. Su cromatina se condensa en los cromosomas y las proteínas que forman

parte del nucléolo se asocian a los cromosomas. Durante la telofase, la cromatina que formará parte del nucléolo se descondensa y se reúne con las proteínas nucleolares para formar nuevos nucléolos. Para que se forme un nuevo nucléolo es necesario, no sólo que se agrupen estas proteínas y regiones del ADN, sino que se produzca actividad de transcripción, es decir, que los genes se transcriban en pre-ARNr-45S.

1. Regiones

Con el microscopio electrónico de transmisión se observan tres regiones en el nucléolo: el centro fibrilar, el componente fibrilar denso, que rodea al centro fibrilar, y el componente granular (Figura 17). El centro fibrilar no aparece en todos los eucariotas y por ello no se entiende muy bien su función. Esta región contiene el ADN con las numerosas copias del gen para el pre-ARNr-45S (este es el transcrito primario a partir del cual se obtendrán 3 de los 4 ARNr que forman los ribosomas), pero también hay factores asociados entre los que se encuentran numerosas proteínas. Se supone que la transcripción de estos genes ocurre en la interfaz entre el centro fibrilar y el componente denso fibrilar. En esta última región es donde se produce el procesamiento inicial del transcrito primario pre-ARNr-45S (el corte del transcrito primario en trozos más pequeños). Por último, en el centro granular ocurre el procesamiento tardío del ARNr y ensamblaje de las subunidades ribosómicas.

2. ARN ribosómico

Los genes que codifican para los pre-ARNr-45S se encuentran muy repetidos en regiones de diferentes cromosomas. A estas regiones se les llama NOR ("nucleolar organizer region"), las cuales están asociadas a regiones heterocromáticas (cromatina condensada) (Figura 18). A partir de estas regiones NOR se forman los nucléolos. El número de repeticiones de los genes para pre-ARNr-45S varía. Así, en levaduras es de 100 a 300 repeticiones, mientras que en anfibios y plantas pueden tener miles de copias por genoma haploide. Los humanos y ratones tienen 200 copias por genoma haploide. Pero en condiciones normales sólo una porción de esos genes se transcribe a pre-ARNr-45S (aproximadamente el 50 % en humanos). Probablemente se usen todas las copias en ocasiones con gran demanda de proteínas.

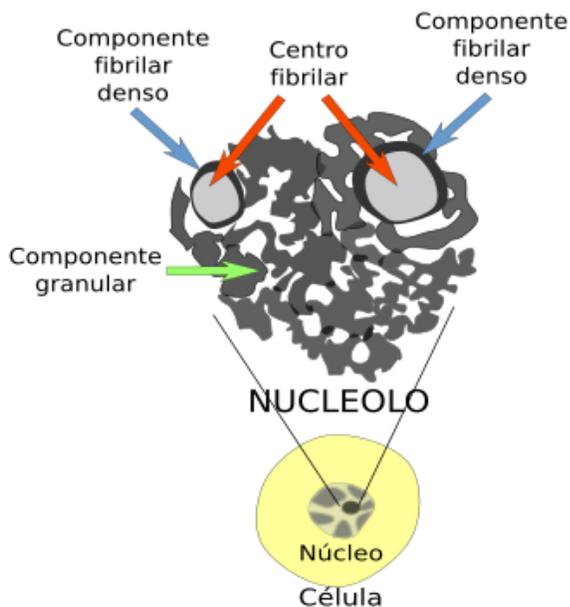


Figura 17: Distintas partes del nucléolo. El centro fibrilar es la zona donde se encuentran las copias de los genes que codifican para el pre-ARNr-45S, el componente fibrilar denso es donde se produce el transcrito primario del pre-ARNr-45S y el componente granular es donde se ensamblan las proteínas y los diferentes ARNr para formar las subunidades ribosómicas.

Interacciones moleculares internas

¿Por qué son necesarias tantas copias para codificar pre-ARNr-45S? La mayoría de las proteínas presentes en la célula están representadas sólo por una copia del gen que las codifica. Éste es el caso de la hemoglobina de la sangre o de la 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. 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 en los ribosomas (traducción). Cuando el destino de un gen es producir ARN, como el pre-ARNr-45S, falta la amplificación aportada por la traducción. Una célula eucariota tiene una enorme cantidad de ribosomas y todos contienen moléculas de ARNr (ARNr-5S y derivadas del procesamiento del pre-ARNr-45S). Si hubiera una sola copia del gen para

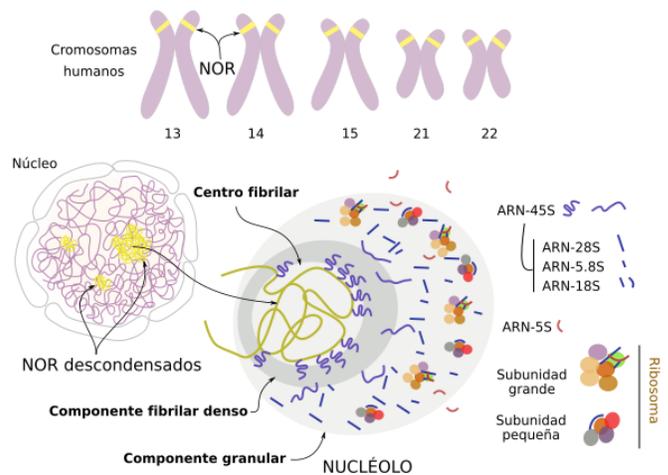


Figura 18: Esquema de las diferentes áreas de un nucléolo. Arriba se esquematizan las regiones NOR en los 5 cromosomas humanos. Los ARNr 28S, 18S y 5.8S resultan de la maduración del ARN 45S. El ARNr 5S proviene de otra región del núcleo.

el pre-ARNr-45S sería muy difícil dar lugar a toda la enorme cantidad de moléculas que la célula necesita para formar todos sus ribosomas. La estrategia de las células es tener muchas copias de los genes que codifican simultáneamente para los ARNr necesarios.

Hay dos tipos de genes que codifican para moléculas de ARNr, uno que produce el pre-ARNr-45S, que luego tienen que cortarse en otros más pequeños (Figura 19), y otro gen que produce el fragmento denominado ARNr 5S. Así, las células humanas contienen unas 200 copias de los genes para el fragmento pre-ARNr-45S grande. Estas copias se encuentran repartidas en 5 cromosomas diferentes. Además, las ARN polimerasas I, enzimas encargadas de transcribir estos genes, presentan una gran afinidad por los promotores de dichos genes, lo cual ayuda a producir más copias. Las repeticiones de este gen son las que se agrupan formando parte del nucléolo. El ARNr 5S es un tipo de ARN que también forma parte del ribosoma, de cuyo gen existen unas 20000 copias y es transcrito por la polimerasa tipo III, pero no forma parte del nucléolo.

Los transcritos primarios de pre-ARNr-45S tienen que cortarse y procesarse para formar los distintos tipos de ARN que formarán el ribosoma: ARNr 18S,

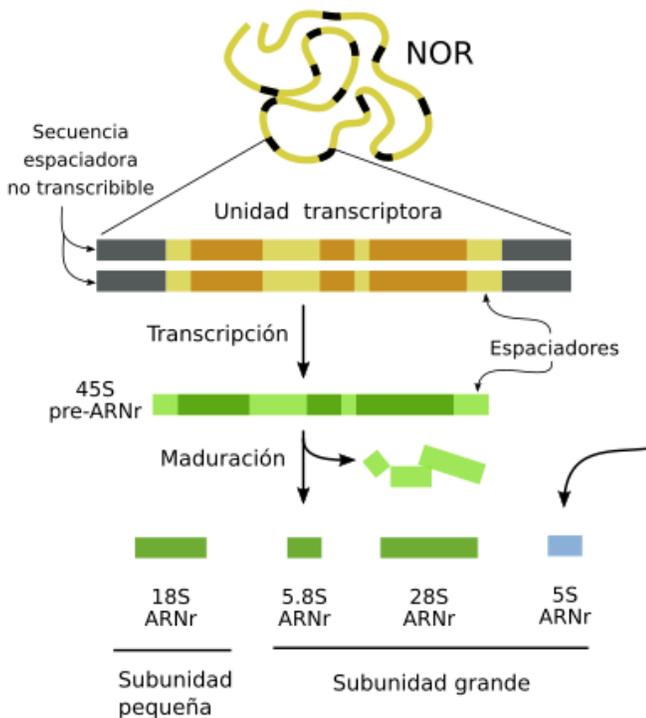


Figura 19: Maduración del pre-ARNr a partir de la transcripción de regiones NOR. Este proceso ocurre en el nucléolo.

ARNr 28S y ARNr 5.8S (Figura 20). El ARNr 5S, como hemos dicho, proviene de otra región nuclear. En el nucléolo se están produciendo constantemente estos transcritos primarios grandes a la vez que se procesan. Las dos subunidades ribosómicas tendrán ARNr diferentes: la mayor 5.8S, 28S y 5S, y la menor 18S. 3. Ensamblaje de subunidades ribosómicas

El ensamblaje de las subunidades ribosómicas es un proceso curioso de trasiego de moléculas entre el citoplasma y el nucleoplasma (Figura 5). Primero se transcriben los genes de dichas proteínas, que se localizan fuera de la cromatina nucleolar. Este 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 atrave-

sando otra vez los poros nucleares. Así, la visibilidad del nucléolo se debe a que muchos genes que producen pre-ARNr-45S 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.

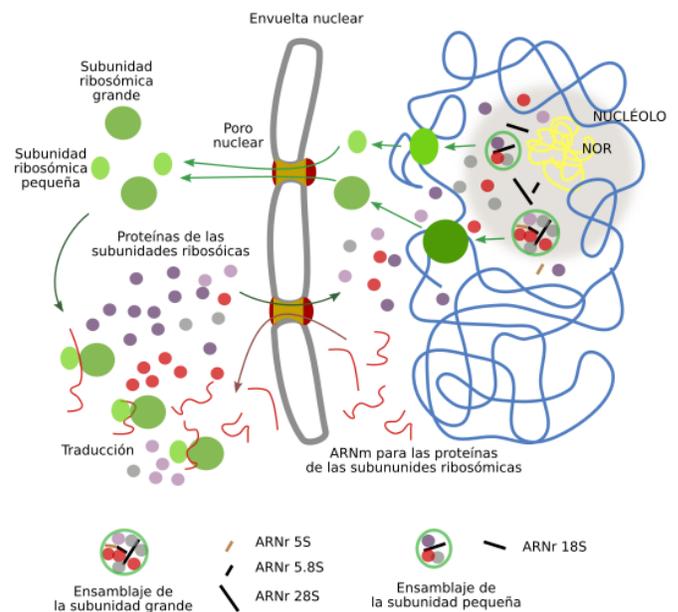


Figura 20: Esquema en el que se muestra la complejidad de la síntesis de ribosomas y el trasiego de moléculas entre el citoplasma y el núcleo.

En el nucléolo hay multitud de proteínas que no están confinadas en esta región, sino que pueden difundir por el resto del nucleoplasma, sólo que en el nucléolo están más tiempo. De estas proteínas, no todas están relacionadas con la síntesis de ribosomas. Por ello se cree que el nucléolo desarrolla funciones adicionales. Por ejemplo, hay proteínas implicadas en el procesamiento de otros ARN no ribosómicos como los pequeños ARN nucleares y otras participan en parte del procesamiento del ARNt. También hay quinasas, reparadoras del ADN.

6 Bibliografía

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

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

Cautain B, Hill R, de Pedro N, Link W. 2015. Components and regulation of nuclear transport processes. *FEBS journal*. 282: 445–462.

Cavalli G, Misteli T. 2012. Functional implications of genome topology. *Nature structural and molecular biology*. 20: 290-299.

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

Gundersen GG, Worman HJ. 2013. Nuclear positioning. *Cell*. 152: 1376-1389.

Guo T, Fang Y. 2014. Functional organization and dynamics of the cell nucleus. *Frontiers in plant biology*. vol 5. Artículo 378. doi: 10.3389/fpls.2014.00378

Kabachinski G, Schwartz TS. 2015. The nuclear pore complex – structure and function at a glance. *Journal of cell sciences*. 128, 423–429.

Kressler D, Hurt E, Baßler J. 2017. Review A puzzle of life: crafting ribosomal subunits. *Trends in biochemical sciences*. 42: 640-654.

Mangan H, Gail MO, McStay B. 2017. Integrating the genomic architecture of human nucleolar organizer regions with the biophysical properties of nucleoli. *The FEBS journal*. 284: 3977-3985.

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

Starr DA, Fridolfsson HN. 2010. Interactions between nuclei and the cytoskeleton are mediated by SUN-KASH nuclear-envelope bridges. *Annual review of cell developmental biology*. 26: 421-444.

Tsekrekou M, Stratigi K, Chatzinikolaou G. 2017. The nucleolus: in genome maintenance and repair. *International journal of molecular sciences*. 118: 1411.

Wanke C, Kutay U. 2013. Enclosing chromatin: reassembly of the nucleus after open mitosis. *Cell* 152: 1222-1225.

Wilhelmsen K, Ketema M, Truong H, Sonnenberg A. 2006. KASH-domain proteins in nuclear migration, anchorage and other processes. *Journal of cell science* 119: 5021-5029.

Yu M, Ren B. 2017. The three-dimensional organization of mammalian genomes. *Annual review of cell and developmental biology*. 33: 265–89.