

6

NUCLEUL

Nucleul este o structură intracitoplasmatică prezentă în toate celulele eucariote cu excepția hematiilor adulte (fig. 6.1).

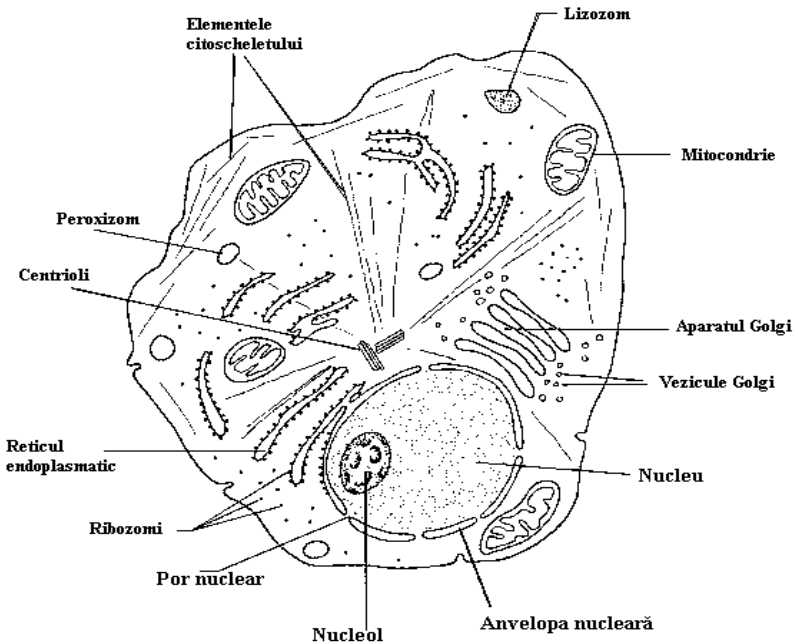


Fig. 6.1. Poziția și conexiunile nucleului în celulă

Nucleul îndeplinește două funcții importante:

Capitolul 6

- depozitează majoritatea informației genetice din celulă (conține circa 98% din ADN-ul celular);
- controlează și reglează activitatea celulei.

Nucleul este alcătuit din **matrice** sau suc nuclear, **cromatină** sau cromozomi, **nucleoli** și **anvelopă nucleară** (fig. 6.2.). În compoziția nucleului intră ADN, ARN, două tipuri de proteine (histone și non-histone), diferiți compuși organici și anorganici. Lipidele și glucidele există în cantități foarte mici, prezente doar în anumiți componenți nucleari.

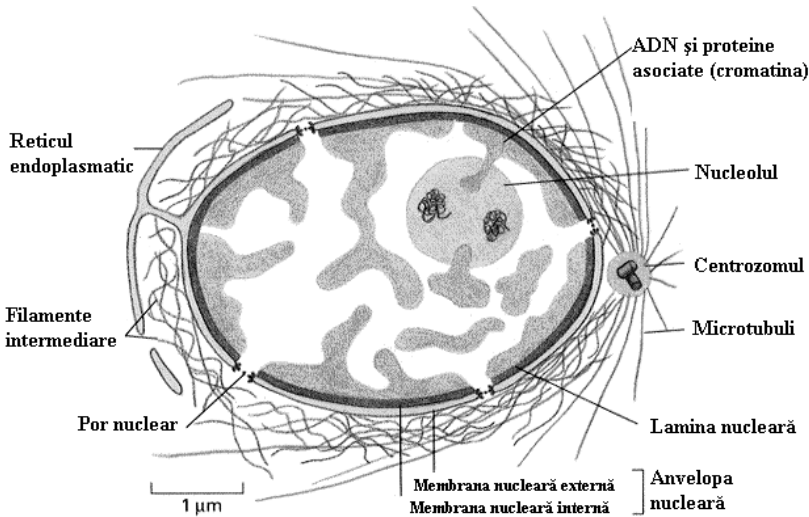


Fig. 6.2. Structura nucleului

Nucleul este centrul coordonator al celulei eucariote, funcționând ca un computer chimic prevăzut cu un program (ADN) și memorie (ARN). Ca centru informațional, nucleul coordonează toate reacțiile chimice de desfășurare a proceselor vitale prin controlul sintezei proteinelor – enzime celulare, iar organizarea celulei – prin sinteza proteinelor de structură. În fluxul informațional există trei puncte cheie: replicarea ADN, transcripția ARN și traducerea mesajului genetic. Autoreplicarea

și transcripția se efectuează în nucleu, iar traducerea mesajului – în citoplasmă.

Anvelopa nucleară

Anvelopa nucleară este o membrană dublă prevăzută cu pori. *Membrana externă* a învelișului nuclear continuă cu RE rugos, *membrana internă* e lipsită de ribozomi. În locurile unde foița internă continuă cu cea externă se formează porii nucleari, iar spațiul dintre membrane este numit perinuclear (20-40nm) și comunică cu RE. Porii reprezintă circa 10% din toată suprafața învelișului nuclear (la mamifere).

Complexul porului nuclear

Complexul porului este compus din porul propriu-zis de formă octogonală cu un diametru de 60 nm, trei inele (annulus) cu diametrul de 120 nm. Inelul e format din opt granule proteice globulare cu diametrul de 15 nm care dau formă o octogonală. În centru e prezentă granula centrală cu rol de diafragmă fină, care, conform unor ipoteze, de fapt reprezintă molecule sau particule în tranziție. Canalul porului are lungimea de 15 nm și diametrul de 9 nm. Porul nuclear interacționează cu matricea nucleară prin intermediul unor filamente cu diametrul de 4-8 nm, care se termină cu o extremitate pe inelul intern. (fig. 6.3).

Funcția porilor: prin intermediul lor se realizează în special transportul macromoleculelor din nucleu în citoplasmă și invers:

- (i) din citoplasmă sunt importate în nucleu proteine ale matricei nucleare, enzime de sinteză a acizilor nucleici, proteine ce fac parte din componența cromatinei, proteine ribozomale;
- (ii) din nucleu în citoplasmă se exportă precursorii ribozomilor, particule formate din complexe de ARNm cu proteine speciale, ARNt.

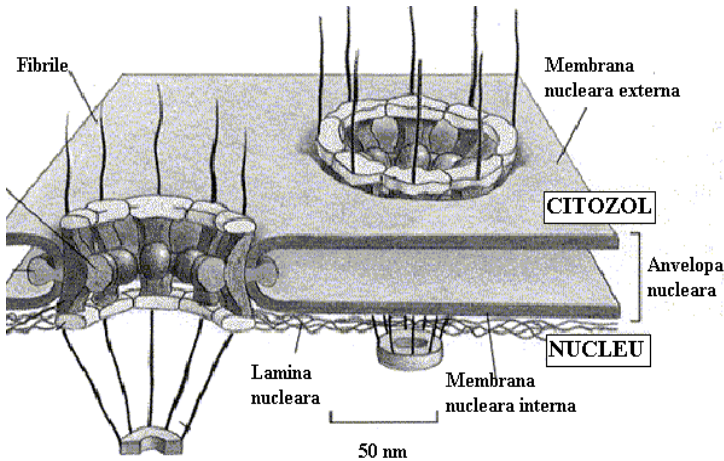


Fig. 6.3. Structura porului nuclear

Matricea nucleară

Matricea nucleară este denumirea atribuită scheletului de natură proteică care înglobează cromatina și nucleolii și care se sprijină pe membrana nucleară. Ea are un rol esențial în organizarea nucleului și sinteza ADN sau ARN, în medierea semnalelor hormonale, diviziune și alte funcții nucleare.

Matricea nucleară este compusă din două părți:

- 3 **matricea nucleară propriu-zisă** reprezentată de scheletul sau rețeaua proteică și alcătuită din proteine stabile cu masă moleculară mare;
- 3 **fracțiunea labilă** a matricei care este legată lax de rețeaua proteică și conține proteine solubile cu masă moleculară mică, molecule organice mici, substanțe anorganice și apă.

Cea mai mare parte din proteinele ce intră în alcătuirea matricei nucleare (atât în matricea propriu – zisă, cât și în fracțiua labilă) este reprezentată de așa-numitele proteine nehistonice, la care se adaugă și enzimele nucleare. Proteinele nehistonice sunt o familie de proteine foarte heterogene atât ca masă moleculară, cât și ca particularități chimice. Spre deosebire de histone, o

mare parte din acest grup de proteine sunt bogate în triptofan; ele au un turnover foarte rapid, fluctuând în limite foarte largi de la o stare funcțională la alta. Enzimele nucleare catalizează în mod special sinteza ADN, ARN și processingul.

Matricea nucleară propriu zisă

Matricea nucleară propriu zisă sau scheletul nuclear este formată din trei componente:

- 3 matricea sau *rețeaua fibrilară* intranucleară, intercromatică și pericromatică;
- 3 componentele nemembranoase ale învelișului nuclear, formate din *lamina densa (lamina fibroasa)* internă și complexe por;
- 3 *componenta nucleolară* sau rețeaua fibrilară din *pars fibrosa* și *pars granuloasă* a nucleolului.

Lamina densa internă se află pe fața nucleară a membranei interne din învelișul nuclear. Se prezintă sub forma unei rețele fibrilare conexate la rețeaua matricei nucleare, precum și la componentele fibrilare ale complexului por.

Lamina densa internă a nucleolei împreună cu complexul por formează partea scheletului nuclear denumită **complex lamina-por**. Complexul este alcătuit din fibrile ce realizează trei rețele:

- (i) fibrile ale laminei densa interconexate cu fibrile ale porului, formează o rețea în planul membranei interne nucleare sau imediat adiacent acesteia;
- (ii) fibrile intranucleare atașate complexului por orientate perpendicular pe învelișul nuclear;
- (iii) fibrile intranucleare care structurează regiunea ocupată de heterocromatina periferică din nucleul intact. Această rețea diferă de la o celulă la alta după cantitatea de heterocromatină în nucleul respectiv.

Nucleoscheletul complexului lamina-por conține 2-3% din totalul proteinelor din nucleu. Este alcătuit în principal din

Capitolul 6

proteine nehistone (95%), între care predomină cele acide. Pe fața internă a complexului lamină-por se realizează activitatea nucleozid-trifosfatazei, considerată a fi implicată în transportul ARN către citoplasmă.

Rolul matricei nucleare

Matricea nucleară menține forma nucleului și stabilitatea sa în interfază. Modificările matricei nucleare sunt strâns cuplate cu funcțiile nucleului: organizarea cromatinei, replicarea ADN, transcripția și transportul intranuclear al ARN.

Matricea nucleară poate modula fluiditatea membranei nucleare, fluiditate necesară la rândul ei funcției matricei nucleare, în special în cea de transport al subunităților ribozomale prin porii nucleari.

Matricea nucleară poate modifica structura cromatinei, fenomen important pentru realizarea replicării ADN, transcripției ARN (activarea sau inactivarea genelor).

În timpul mitozei 95% din proteinele matricei nucleare sunt distribuite în citoplasmă. În refacerea nucleului după diviziune un rol important îl joacă glicozilarea acestor proteine la nivelul AG.

În nucleol scheletul ar avea rol de suport pentru depozitarea subunităților ribozomale.

Nucleolul

Nucleolul e prezent la toate celulele eucariote cu excepția celulelor blastomerilor, în care nu are loc biosinteza proteinelor proprii (fig. 6.4). El conține trei componenți principali: ADN - 3%; ARN - 7%; proteine - 90%.

Nucleolul nu este separat prin membrană de restul nucleului. Numărul și volumul nucleolilor depinde de etapa funcțională a nucleului (în celulele omului teoretic pot fi maximal 10 nucleoli mici la începutul interfazei și un nucleol mare la sfârșitul interfazei). Nucleolii ocupă circa 30% din volumul nucleului. Există un raport determinat între volumul

nucleului și cel al nucleolului numit *volum nucleolo-nuclear*. Cu cât mai activă este celula în ce privește sinteza proteinelor cu atât acest raport este mai mare.

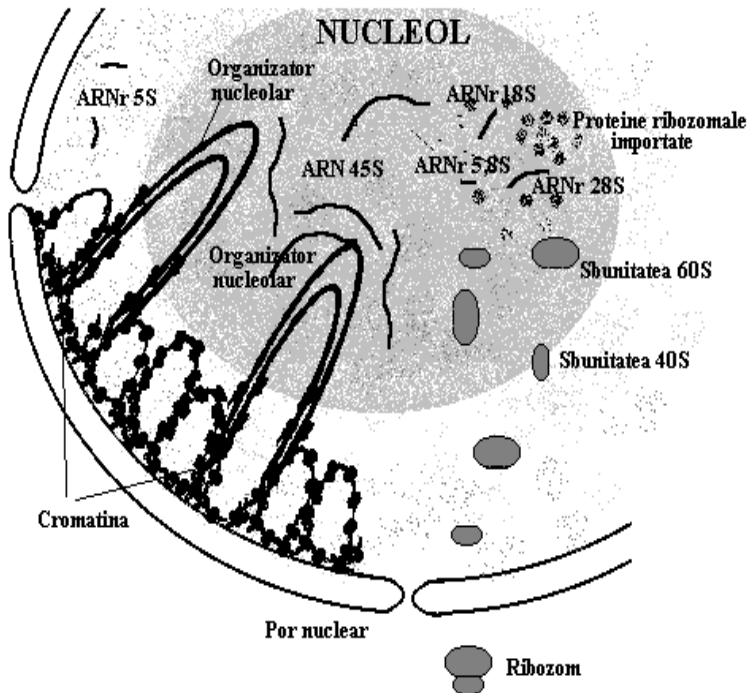


Fig. 6.4. Structura nucleolului. Biogeneza ribozomilor

La microscopul electronic se disting 3 zone componente ale nucleolului:

- *componentul granular* - particule cu diametrul 15-20 nm, ce reprezintă precursorii ribozomali;
- *componentul fibrilar* - din fibre de ADN de 5 nm (pe care se sintetizează ARNr) și fibre de transcripți;
- *componenta amorfă* a spațiilor dintre fibre și granule, se găsește la periferia nucleolului.

Capitolul 6

Rolul nucleolului este sinteza ARNr și asamblarea precursorilor ribozomali. Segmentul de ADN (cromozom) în care se conțin gene ce codifică pentru ARNr poartă denumirea de *organizator nucleolar*. La om există 5 perechi de cromozomi cu organizatori nucleolari care controlează formarea nucleolilor la sfârșitul mitozei (perechile: 13, 14, 15, 21, 22).

Biogeneza ribozomilor: În nucleol are loc sinteza a trei fracții de ARNr (5,8S; 18S; 28S) și stocarea precursorilor ribozomali. De pe ADN se transcrie un precursor - ARNr 45S, care este procesat în trei fracții mai mici (28S; 18S; 5,8S). ARNr 5S este sintetizat în afara nucleolilor. Moleculele de ARNr se asociază cu proteine ribozomale sintetizate în citoplasmă și importate în nucleu. Particulele ribonucleoproteice (RNP) sunt transportate în citoplasmă sub formă de subunități ale ribozomilor (40S și 60S).

Cromatina = cromozomii interfazici

Cromatina este compusă din ADN, proteine histone, proteine nehistone și ARN. Astfel, cromatina poate fi considerată o nucleoproteidă în care proteinele histone și nehistone interacționează atât între ele, cât și cu ADN-ul.

Cromatina se caracterizează prin forma extinsă și despiralizată a cromozomilor în interfază.

La microscopul optic se pot fi observate granule, rețele de filamente și corpusculi numiți cariozomi, care se colorează cu coloranți bazici. Din punct de vedere al interacțiunii cu coloranții bazici, cromatina se clasifică în două categorii:

- eucromatina care se colorează slab cu coloranți bazici;
- heterocromatina care se colorează foarte intens cu coloranți bazici.

Eucromatina reprezintă regiunea cromatinei care conține gene structurale și este porțiunea funcțional activă a ADN-ului,

de pe care are loc transcripția. Aceasta este slab condensată și, deci, se replică timpuriu, la începutul perioadei S a interfazei.

Heterocromatina reprezintă segmente de cromatină inactivă genetic, care nu se supune transcripției. Este mai puternic condensată și se replică tardiv în faza S. Se disting două tipuri de heterocromatină: constitutivă și facultativă. **Heterocromatina facultativă** reprezintă secvențe care în anumite condiții se pot despiraliza și transforma în eucromatină. **Heterocromatina constitutivă** conține ADN repetitiv sau satelit. Acest tip nu se transformă niciodată în eucromatină. Localizarea segmentelor heterocromatice în cromozomii omologi este identică.

Organizarea moleculară a cromatinei:

ADN (30%-40%) – în cei 46 de cromozomi din setul diploid al celulei somatice umane se conțin 46 de molecule liniare de ADN cu o lungime de 7×10^9 p.b.

Proteine histonice (40%) - polipeptide bazice, ce conțin peste 22% aminoacizi bazici, în special arginină și lizină. Există cinci fracții de histone: H1, H2A, H2B, H3, H4 (tab. 6.1). Proteinele histonice nu au specificitate de țesut.

Tabelul 6.1. Caracteristica proteinelor histone

Tipul de histonă	Aminoacizii predominanți	Număr aminoacizi	Masa moleculară
H1	Lizina	215	21500
H2A	Leucina, lizina	129	14000
H2B	Serina, prolina, lizina	125	13775
H3	Arginina, conține cisteină	135	15320
H4	Arginina, lizina	102	11280

Funcțiile histonelor

Proteinele histone stabilizează dublul helix de ADN, inducând o structură terțiară – nivel elementar de organizare a ADN la eucariote. Din punct de vedere funcțional ele reprezintă

Capitolul 6

nonspecific transcripția, împiedicând unirea ARN-polimerazei la ADN.

Proteinele nonhistone - proteine acide (20%) cu un conținut mărit de aminoacizi acizi (acid glutamic și acid aspartic). Sunt heterogene, au o mobilitate mare, îndeplinesc funcții catalitice în metabolismul ADN-ului și expresia informației genetice (polimeraze, ligaze, topoizomeraze, SAR, factori de transcripție). O cantitate mare a proteinelor nonhistonice este prezentă în țesuturile active, pe când histonele sunt prezente în cantități egale în țesuturile active și inactive.

ARN – este prezent în cromatină fiind produsul de sinteză de pe ADN, în special transcripți primari și ARNsn (de ex., ARN din compoziția primazei, telomerazei, etc.).

Nivelurile de organizare a cromozomilor

Împachetarea ADN-ului într-un cromozom presupune existența câtorva nivele de organizare sau condensare, fiecare fiind responsabil de un anumit grad de micșorare a lungimii ADN-ului.

Primul nivel – nucleozomic – este determinat de asamblarea ADN-ului cu histonele, ce formează filamentul de cromatină (DNP) cu diametrul 11 nm (fig. 6.5). În cadrul acestui nivel molecula de ADN se scurtează de ~6 ori. Fiecare **nucleozom** constă dintr-un **miez histonic (core)** format din: 8 proteine: 2H2A, 2H2B, 2H3, 2H4 și o secvență de ADN cu o lungime de 146 pb.

ADN-ul înfășoară de ~2 ori octamerul histonic, formînd un complex stabil – nucleozomul. Între nucleozomi secvența de ADN- linker are o lungime variabilă, de la 8 până la 114 pb. Astfel filamentul polinucleozomic de cromatină are aspectul unui “șirag de măgele”.

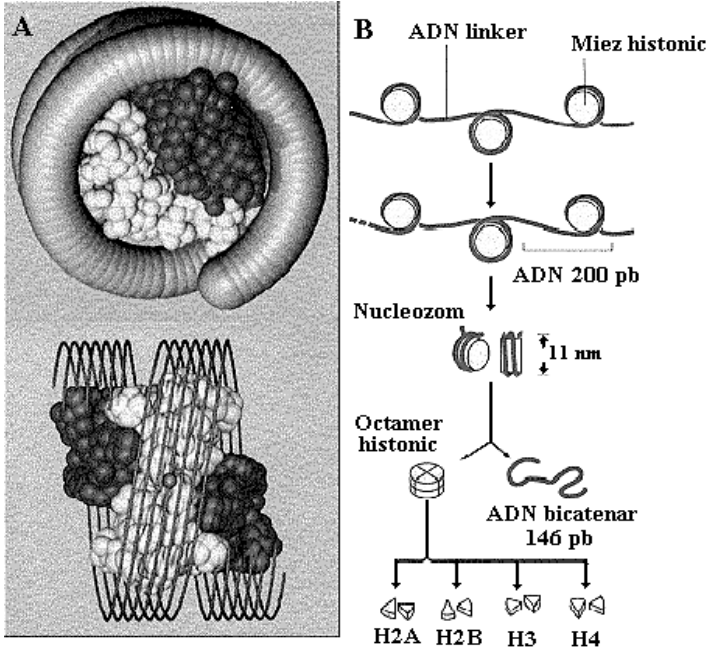


Fig. 6.5. Structura nucleozomului

Al doilea nivel – *solenoidul* – este reprezentat de fibra de cromatină de 30 nm ce rezultă din superspiralizarea filamentului de cromatină (fig. 6.6). Acest nivel de compactizare scurtează molecula de ADN de 40-60 ori.

Solenoidul reprezintă o superspirală de dreapta cu șase nucleozomi per tur (fig. 6.6., B,C). Trecerea cromatinei de la nivelul I la II și invers este determinată de modificările chimice ale histonei H1. Fosforilarea H1 se asociază cu superspiralizarea DNP, iar defosforilarea H1 – cu despiralizarea solenoidului (fig. 6.6., A). Acest lucru este important în reglarea activității genelor. Histona H1 este asociată atât cu miezul nucleozomic, cât și cu segmentul ADN linker și are rol în stabilitatea nucleozomului.

Capitolul 6

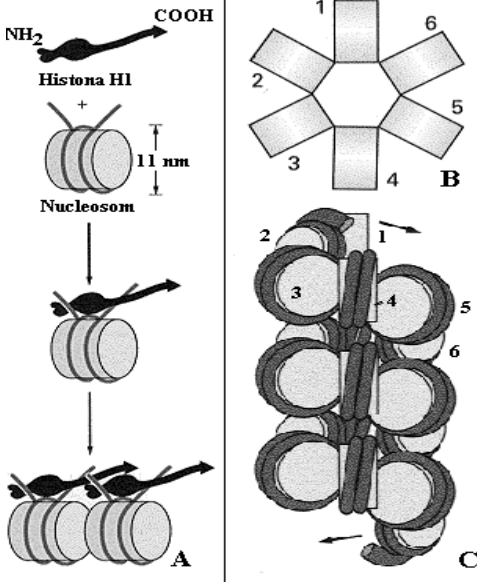


Fig. 6.6. Formarea solenoidului - al II-lea nivel de compactizare a ADN

(fig. 6.7).

Al treilea nivel

de compactizare este reprezentat de împachetări suplimentare, formând structuri mai complexe denumite **bucle** (300 nm, 700 nm).

Acest tip structural de cromatină este bine legat într-un suport structural în nucleu denumit **matrix nuclear** sau **axă cromozomială (scaffold)** prin intermediul unor proteine acide **SAR** (Scaffold Associated Regions)

Al patrulea nivel reprezintă condensarea și plicaturarea

buclelor ce duc la formarea cromatidelor **cromozomului metafazic**. Fiecare cromatidă are grosimea de la 700 la 1200 nm, iar ADN în cromosom

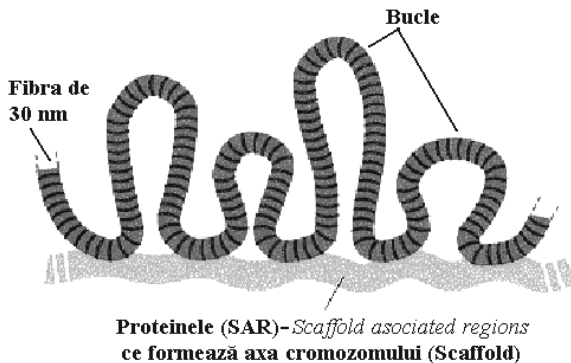


Fig. 6.7. Asocierea buclelor la proteinele axei cromozomiale (Scaffold)

se scurtează de ~ 10000 ori.

Datorită proprietății cromatinei de a se compactiza în nucleul celulei umane cu diametrul de ~4μm încap 46 molecule de ADN cu lungimea totală de circa 2 m.

Cromozomul metafazic este format din 2 cromatide surori identice unite prin centromer la nivelul constricției primare (fig. 6.8). Constricția primară cât și perechea de *kinetocori* (disc trilamelar din fibre de cromatină superior organizate) – reprezintă situsurile de ancoraj ale microtubulilor fusului de diviziune.

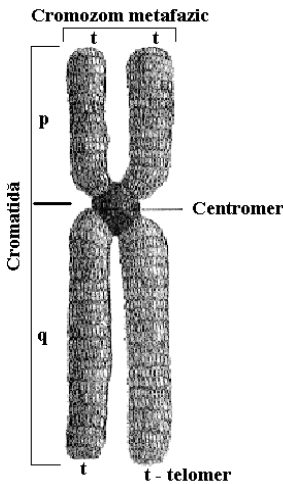


Fig. 6.8. Aspectul unui cromozom metafazic

Centromerul reprezintă punctul de unire a cromatidelor și de asamblare a kinetocorilor.

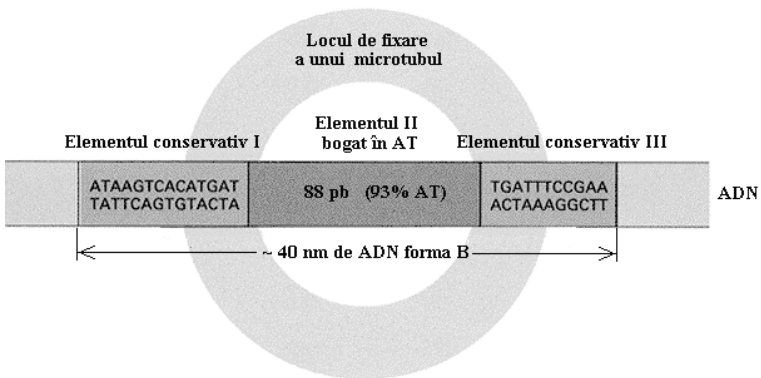


Fig. 6.9. Structura centromerului la drojdii

Centromerul împarte cromozomul în două brațe: brațul **p** - proximal, mai scurt; brațul **q** - distal, mai lung. Regiunea centromerică a cromozomului este formată din ADN și proteine

Capitolul 6

speciale. ADN centromeric conține secvențe repetitive în tandem și secvențe repetitive dispersate cu localizare pericentromerică, ce intervin în recunoașterea cromozomilor omologi la conjugare, menținerea celor două cromatide surori până la sfârșit de metafază și separarea lor în anafază. La drojzii centromerul are dimensiuni de ~120 pb (fig. 6.9). La eucariotele superioare regiunea centromerică are dimensiuni mult mai mari, de ordinul sutelor de mii de nucleotide.

Telomerii reprezintă complexe din ADN și proteine specializate care formează capetele cromozomilor eucariotelor.

La procariote toate moleculele de ADN sunt circulare ceea ce previne degradarea lor enzimatică. La eucariote ADN are structură liniară, de aceea pentru a asigura protecția de exonucleaze și individualitatea cromozomilor (împiedică reanajamentele cromozomice) apare o structură specifică din secvențe scurte repetate de ADN (tab. 6.2).

Tabelul 6.2 Varietatea secvențelor telomerice

Specia	Secvența repetată
Macronucleul ciliatelor (<i>Tetrahymena</i>)	CCCCAA
Minicromozomul la <i>Trypanosoma</i>	CCCTA
Cromozomii drojdiei <i>Saccharomyces</i>	$C_{2-3}A(CA)_{1-3}$
Cromozomii plantelor (<i>Arabidopsis</i>)	C_3TA_3
Cromozomii umani	C_3TA_2

Capătul 3' al moleculei de ADN este mai lung, format dintr-o secvență conservată $(GGGGTT)_n$ și formează o buclă prin legături de hidrogen nespecifice G•G (necomplimentare) (fig. 6.10).

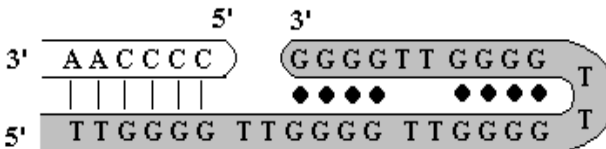


Fig. 6.10. Structura telomerului

Verificarea cunoștințelor:

1. Definiți noțiunile: por nuclear, organizator nucleolar, eucromatină, heterocromatină, nucleozom, solenoid, histonă, centromer, telomer, cromatidă.
2. Care sunt componentii structurali ai nucleului interfazic?
3. Care sunt particularitățile organizării anvelopei nucleare?
4. Ce rol îndeplinește complexul porului nuclear?
5. Care sunt etapele biogenezei ribozomilor?
6. Care sunt nivelurile de compactizare a cromatinei?
7. Care sunt componentii nucleozomului?