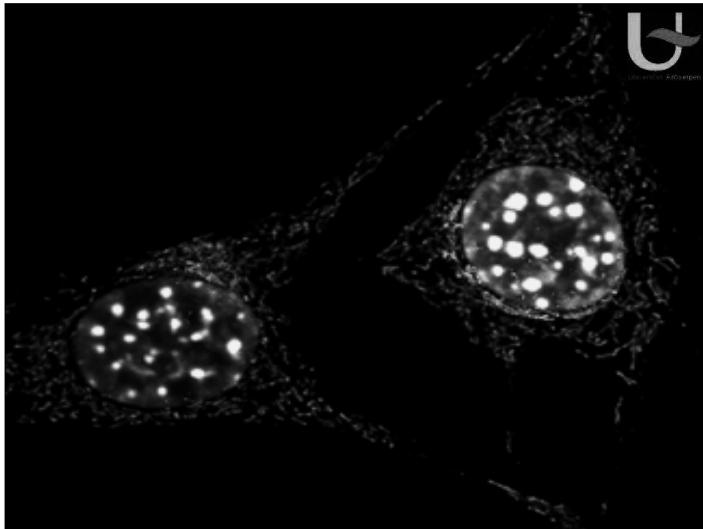


- **Samenstellende delen van de cel**

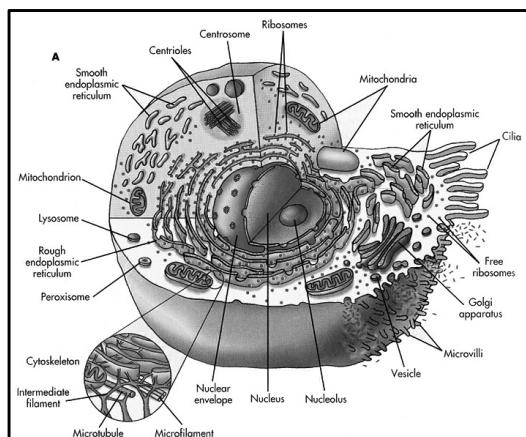
## **De celkern of nucleus**



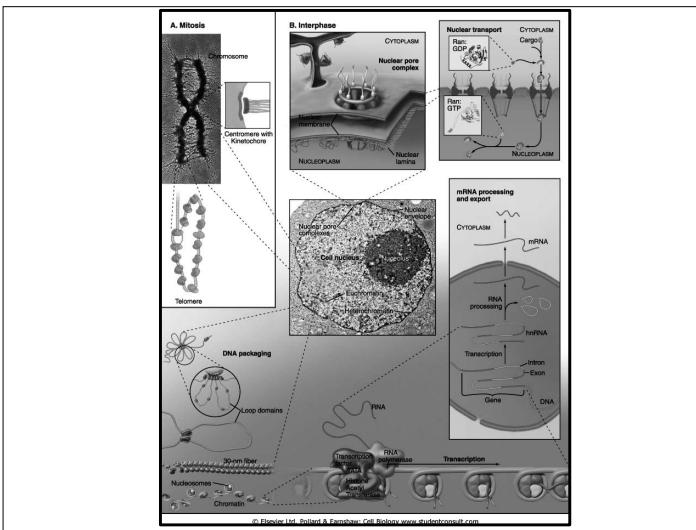
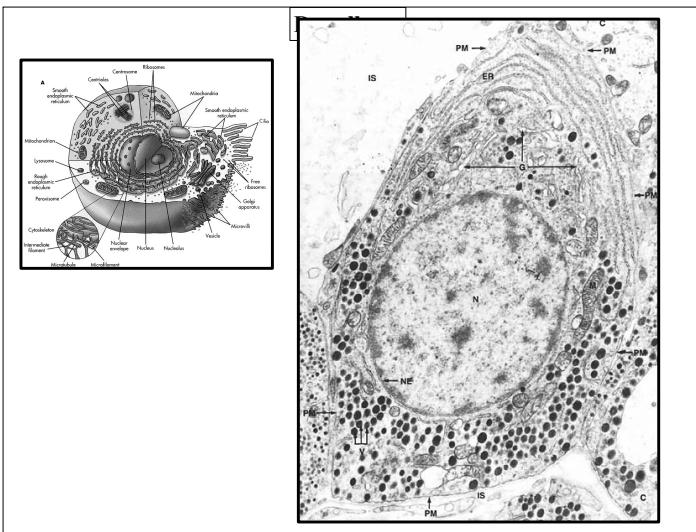
## De celkern of nucleus

- Bacteriën hebben geen kern, doch wel organelen die homologen zijn: nucleoïd of genofoor
- Erythrocyt bij mammalia ook kernloos; beperkte levensduur (120d); enige functie = drager van Hb
- Soms 2 kernen: hepatocyt, eicel, chondrocyt, sympathische zenuwcel
- Polykaryocyten: osteoclast, chondroblast, dwgstr spier
- Kerngrootte (5-25 $\mu$ m) afh van ouderdom van cel, celgrootte en fysiol toestand van cel (cfr K/C)

**De celkern**



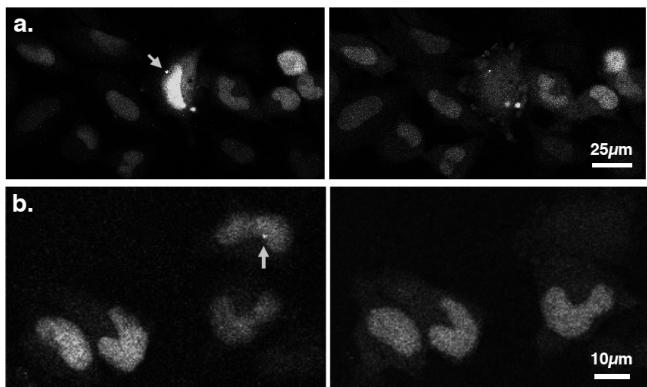
## Cytologie-nucleus



## NUCLEAIRE FOTOPORATIE

BEFORE LASER PULSE

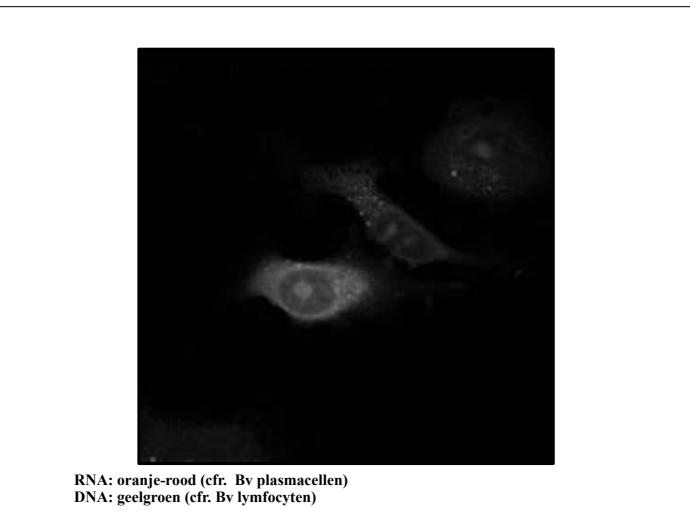
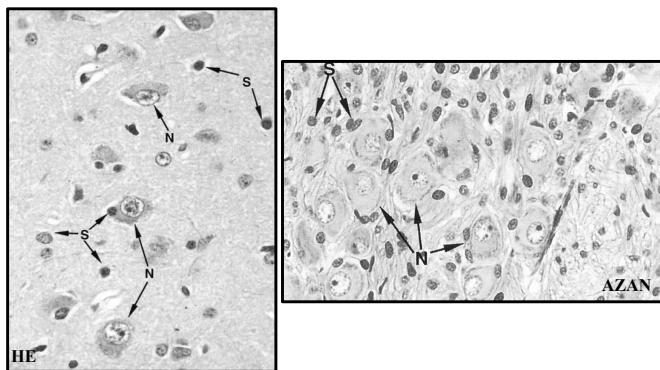
5 MIN AFTER LASER PULSE

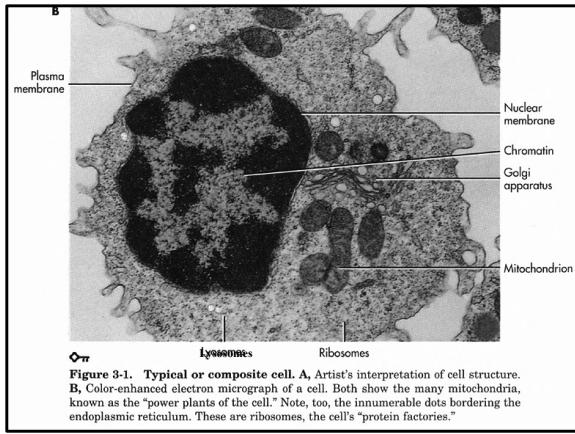


## Algemeen

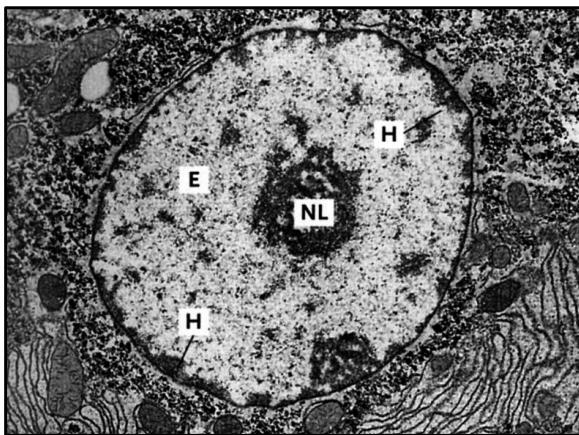
- Kern = controlecentrum van alle cellulaire activiteit
- Meeste cellen hebben 1 kern, behalve skeletspiercellen (meerdere kernen mogelijk) en erythrocyten (in adulte vorm geen kern bij mammalia, wel bij andere vertebraten)
- Kern bevat :
  - Chromosomale DNA
  - Systeem voor RNA-synthese
- Variabele morfologie

Variabele morfologie





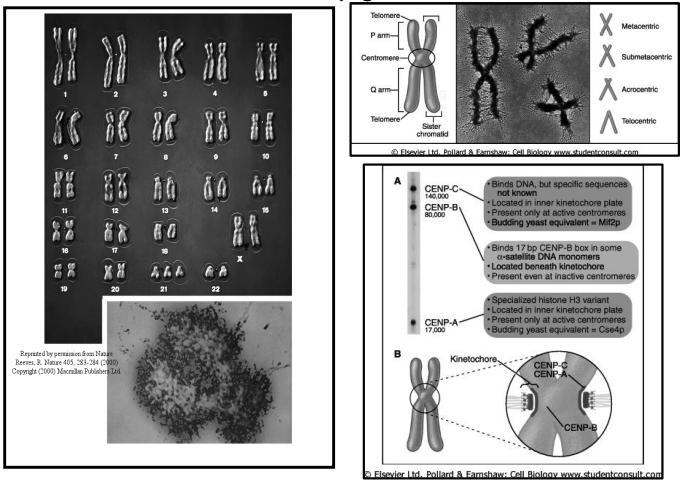
- Opslag van DNA in nucleus is dynamisch:
  - Euchromatine :
    - meer toegankelijke, actieve delen van chromosoomfibrillen
    - bestaat uit genen die tot expressie komen in de cel
    - Weinig elektronendens
  - Heterochromatine :
    - Dichter opeengepakt chromatine
    - Vaak in grotere massa's geaggregeerd

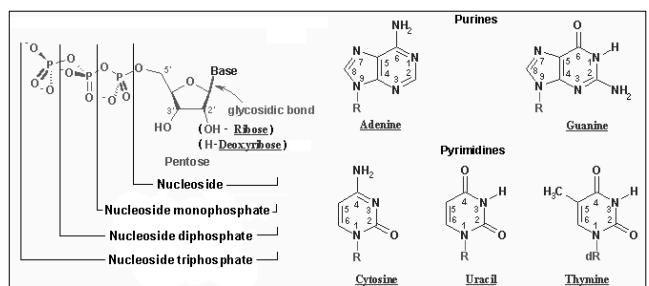


Aanwezigheid van genetisch materiaal in de kern

**Algemeen**

- Het genetische materiaal zit verpakt onder de vorm van chromosomen
- Chromatine = geheel van de chromosomen in de interfase-toestand (zie les celdeling/celcyclus)
- Zoogdier cel : 46 aparte, maar door elkaar gelegen chromosoomfibrillen
  - Ongeveer 30 nm dik
  - Zeer lang (langer dan kerndiameter)

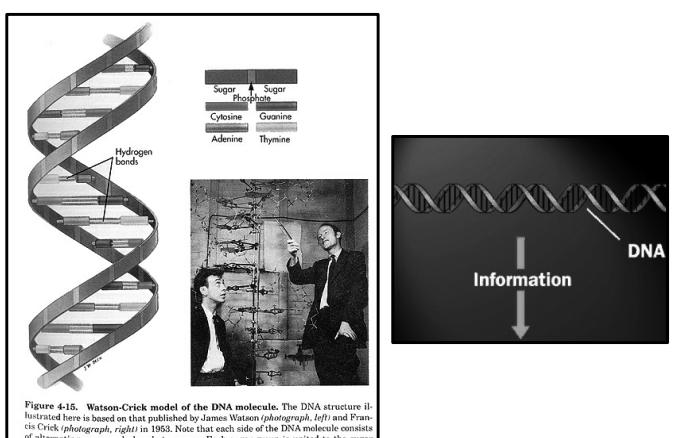
**Het karyogram**



Nucleotide = fosforzuur + pentose + organische base

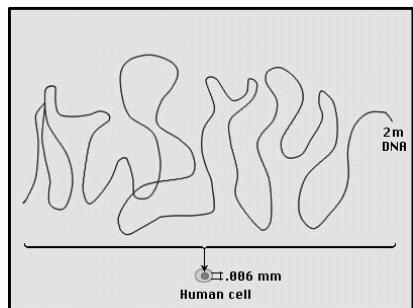
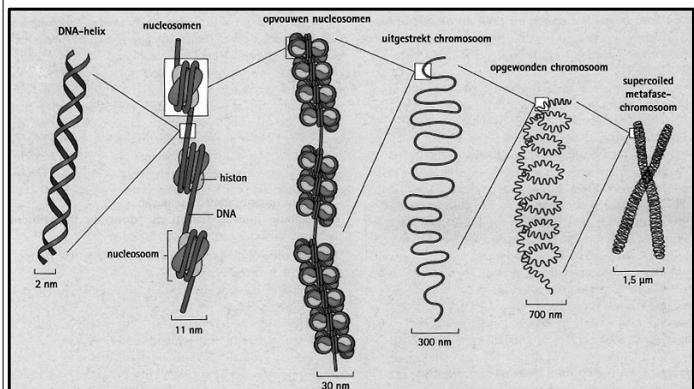
DNA: 2 purinebasen (adenine + guanine) en 2 pyrimidinebasen (thymine + cytosine) en deoxyribose

RNA: 2 purinebasen (adenine + guanine) en 2 pyrimidinebasen (uracil + cytosine) en ribose

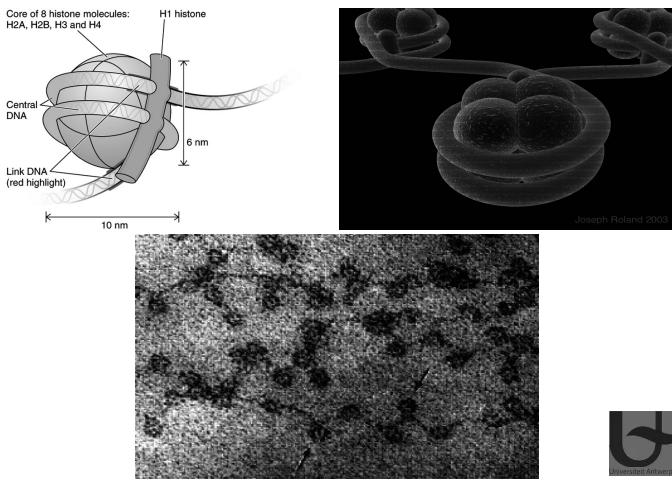


**Figure 4-15.** Watson-Crick model of the DNA molecule. The DNA structure illustrated is based on the model proposed by James Watson and Francis Crick. *Photograph, right:* In 1953, Watson (left) and Crick (right) stand beside the DNA molecule model they had constructed. The DNA molecule consists of alternating sugar and phosphate groups. Each sugar group is united to the sugar group opposite it by a pair of nitrogenous bases (adenine-thymine or cytosine-guanine). The sequence of these pairs constitutes a genetic code that determines the structure and function of a cell.

Structuur van een chromosoom

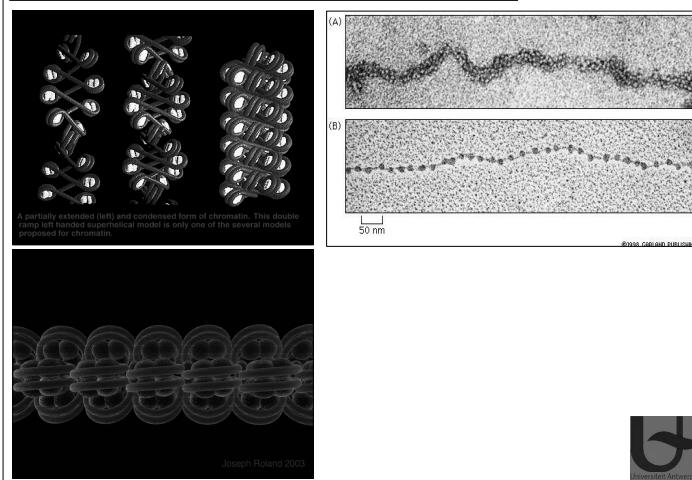


## Structurele organisatie van DNA: nucleosomen

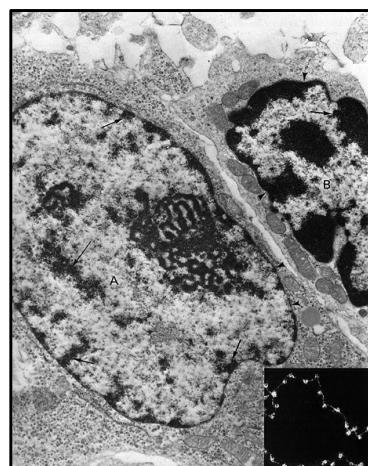


Cytologie-nucleus

## Structurele organisatie van chromatine



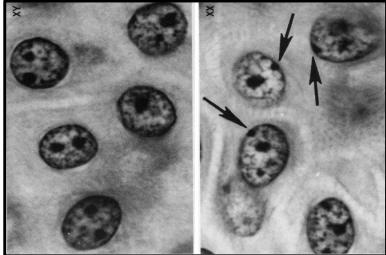
- **Hydropische kern** : kern met hoge transcriptie-activiteit
  - veel euchromatine
  - kernen meestal ook groter met een groter watergehalte
  - Cfr. Maligniteit!
- **Pycnotische kern** : kern met geringe proteïnesynthese (of helemaal afwezig)
  - Chromatine tot één dichte massa samengepakt
  - Soms eerste teken van celdood



lymfoblast®  
(actieve synthese  
van proteïnen  
nodig voor deling;  
veel euchromatine)

lymfocty  
veel heterochromatine

- Constitutief heterochromatine : delen van bepaalde chromosomen die in alle cellen heterochromatisch zijn
  - Bv lichaampje van Barr (1 X-chromosoom in vrouwelijke cellen, andere is euchromatisch en niet zichtbaar)
- Facultatief heterochromatine : gebieden van chromosomen die in de ene cel wel, en in de andere cel niet heterochromatisch zijn

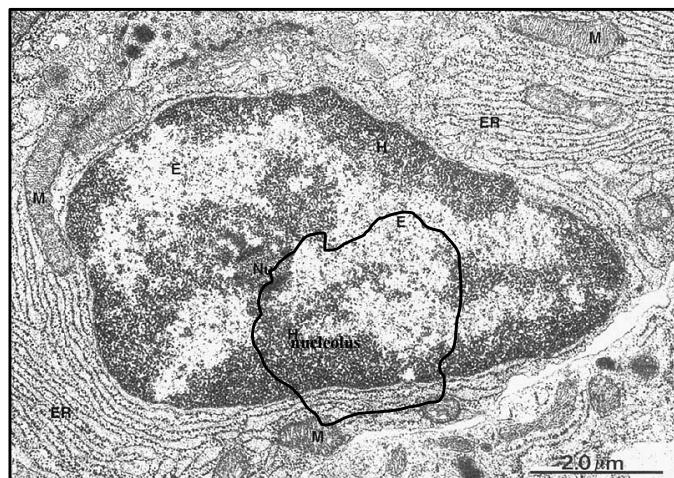


• Samenstellende delen van de cel

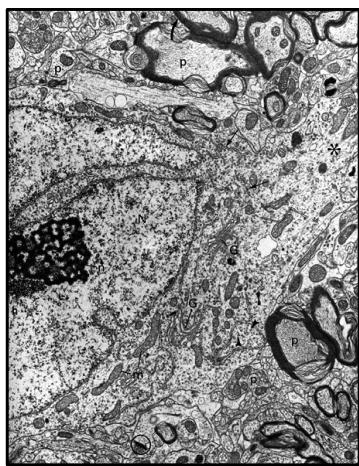
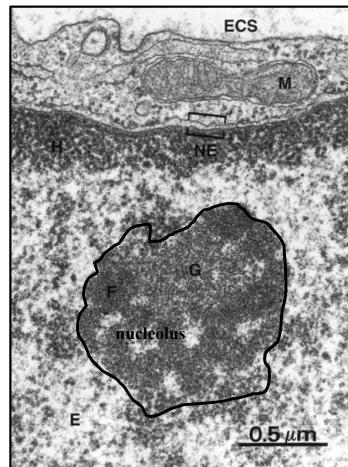
De nucleolus

### Nucleolus - Algemeen

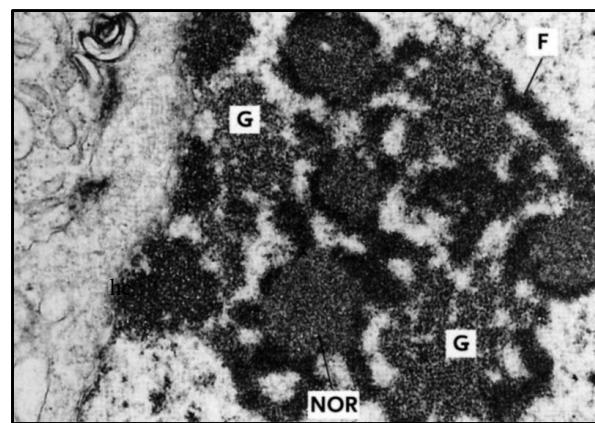
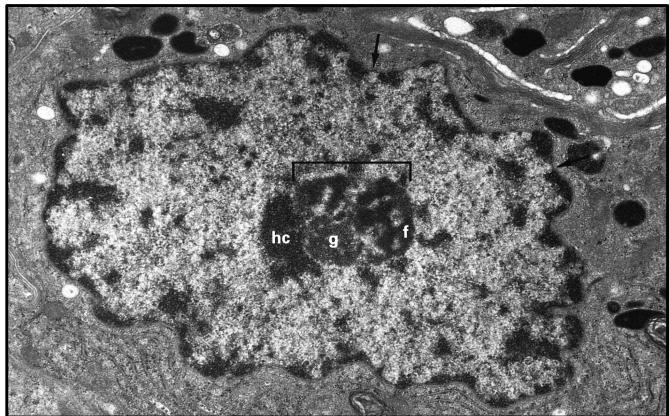
- Morfologisch duidelijk te onderscheiden deel van de kern, niet omgeven door een membraan
- Biochemisch en structureel duidelijk af te bakenen van de rest van de nucleus
- Nucleolus = produktie-eenheid van pre-ribosomale subeenheden (dus aanwezigheid van een grote hoeveelheid RNA en ribonucleoproteïnen)
- Grootte, vorm en aantal varieert naargelang organisme, celtype en fysiologische activiteit van de cel



## Cytologie-nucleus

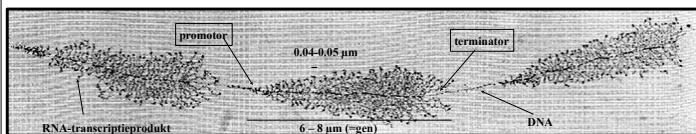


Nucleolus: plaats van ribosoom-produktie



In 'nucleolaire organizer regio' gebeurt de synthese van rRNA; de processing van dit RNA en de associatie met proteïnen gebeurt initieel in de NOR, dan in de 'Fibrillaire regio' en tenslotte in de 'Granulaire regio'. Het heterochromatine ligt vaak nauw tegen de nucleolus aan maar neemt niet deel aan de vorming van de nucleolus

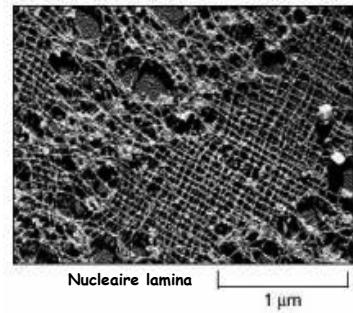
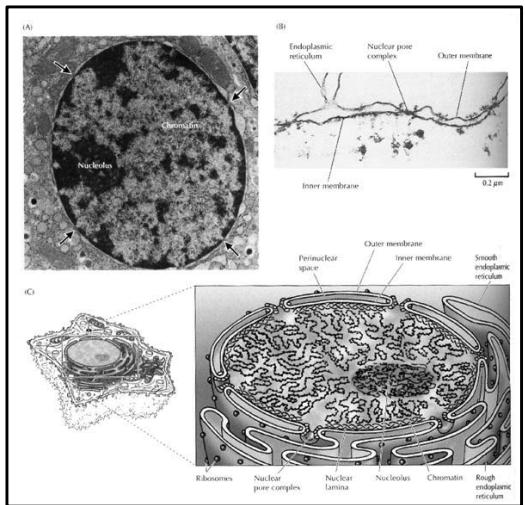
### Transcriptie rRNA in nucleolus

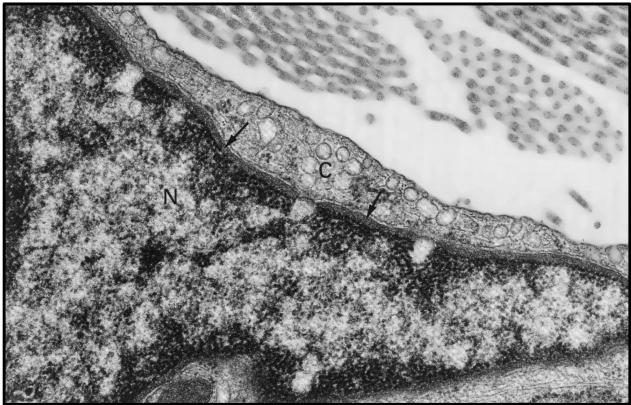


De knobbeltjes (=RNA-polymerase) op DNA-helix verplaatsen zich aan 1 μm/minuut

### Kernmembraan

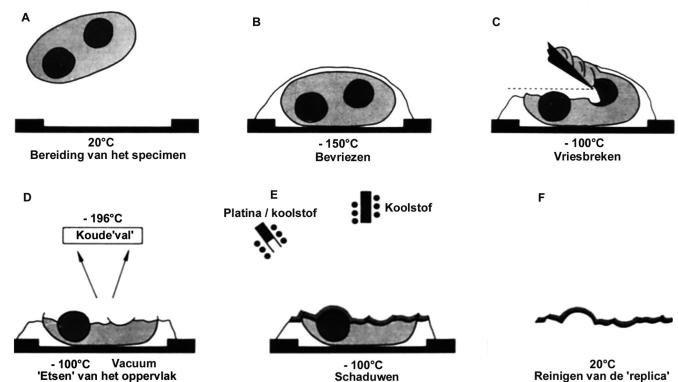
- Barrière tussen kern en cytosol
- Twee parallelle membranen waartussen een perinucleaire ruimte zit
- Buitenste membraan is continu met ER
- Tegen binnenmembraan zit de lamina densa; een netwerk van fibreuze proteïnen (laminen), deze lamina is elektronendens
- Openingen in de kernmembraan = kernporiën





Structuur en functie van binnenvaste en buitenste membraan van nucleaire enveloppe zijn verschillend; in veel celtypen is binnenvaste membraan verdikt tot fibreuze laag, de lamina, die 3 verschillende eiwitten bevat: lamine A, lamine B en lamine C

### Membraaneiwitten: EM vriesbreektechniek

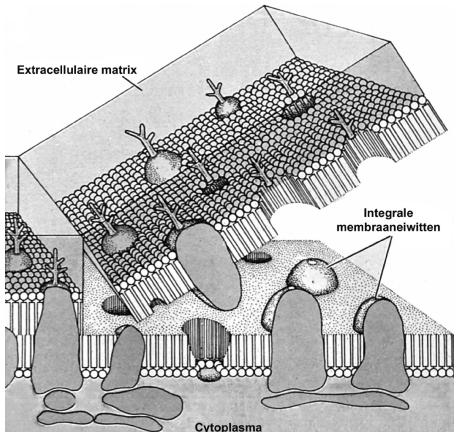


Figuur 2.7A-F. Vriesbreektechniek.

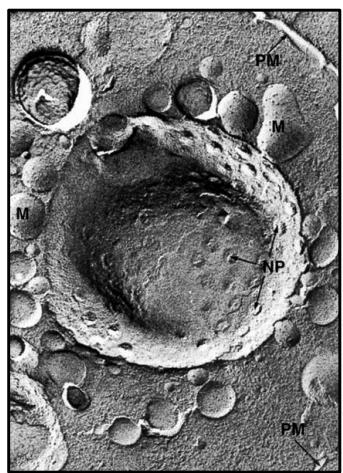
## Membraaneiwitten: EM vriesbreektechniek



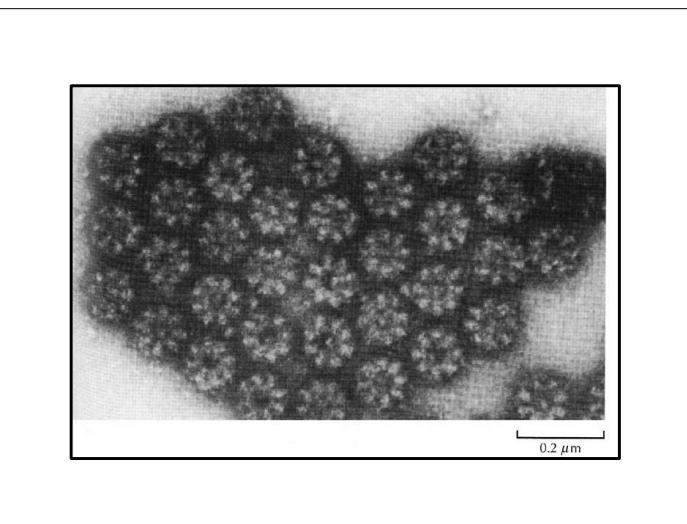
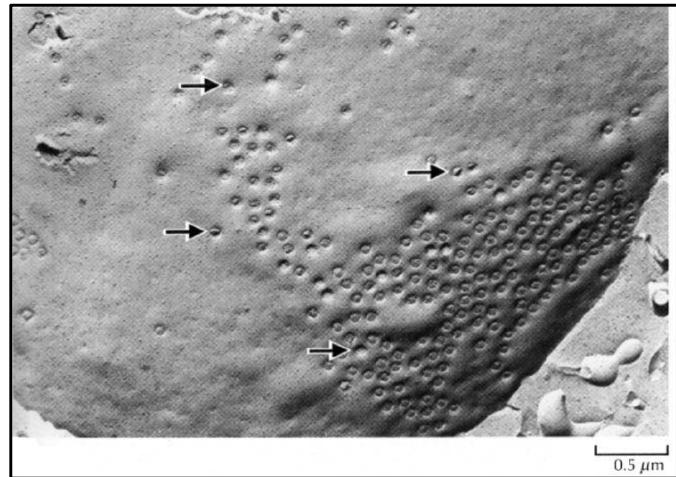
## Cytologie-nucleus



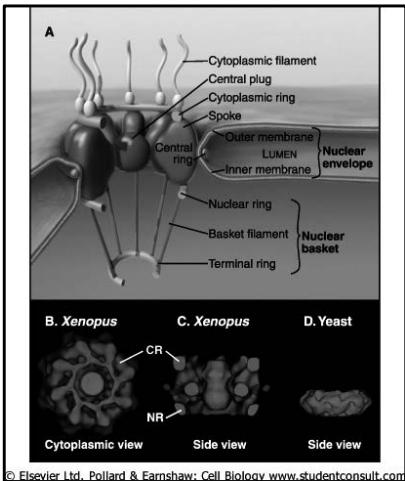
Figuur 2.8. Speling van een plasmamemraan door de vriesbreektechniek.



Cytologie-nucleus

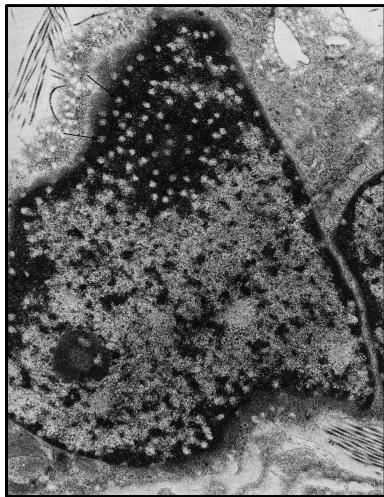


- Uitsparingen in envelop
- Maken uitwisseling van materiaal tussen cytoplasma en kern mogelijk
- Diameter ca. 70-130 nm
- Afgesloten door poriecomplex, opgebouwd uit specifieke eiwitten, dat controle uitoefent over het transport
- Transportkanalen hebben functionele diameter van 9 nm

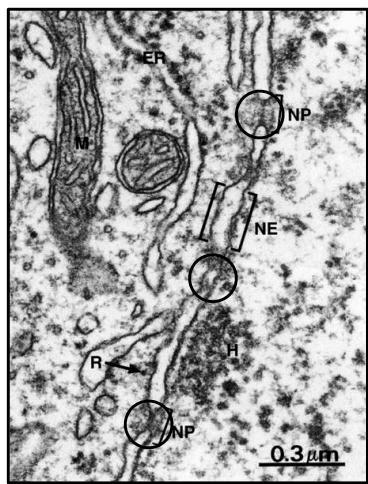
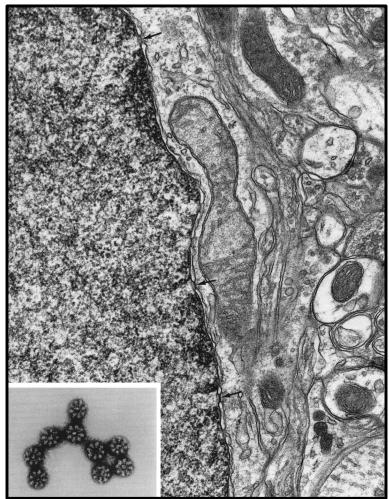


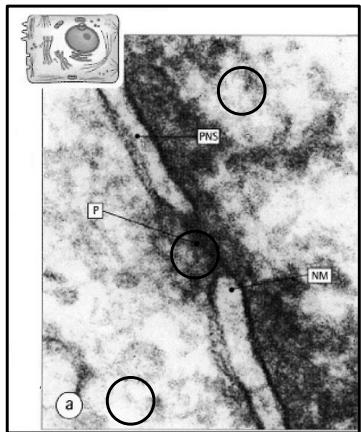
Fibroblast: ±4000 poriën/nucleus

Aantal poriën evenredig met metabolisme en tevens sterk beïnvloed door hormonale cyclus en veroudering

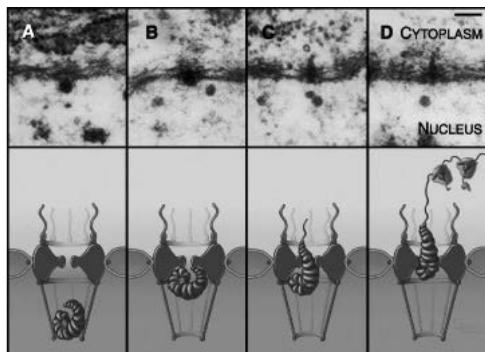


Cytologie-nucleus

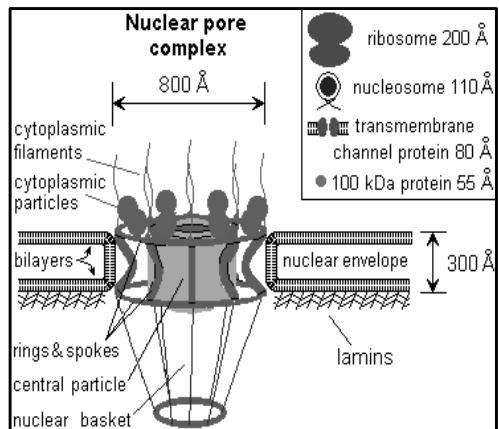
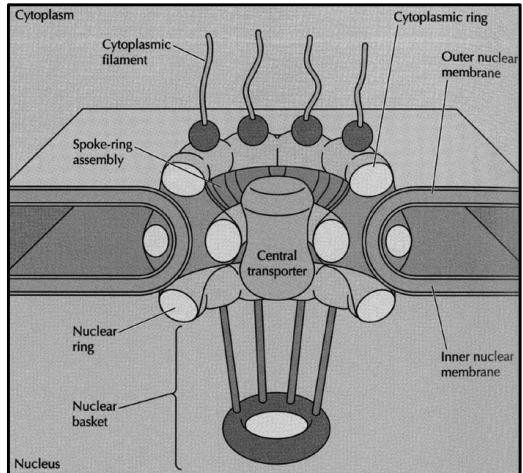




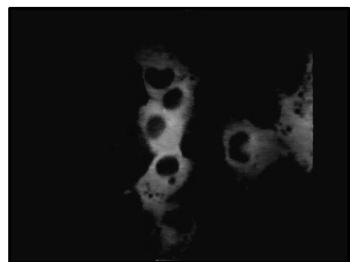
Transport van een groot ribonucleoprotein partikel (RNP) doorheen nucleaire enveloppe



© Elsevier Ltd. Pollard & Earnshaw: Cell Biology www.studentconsult.com



## Cytologie-nucleus

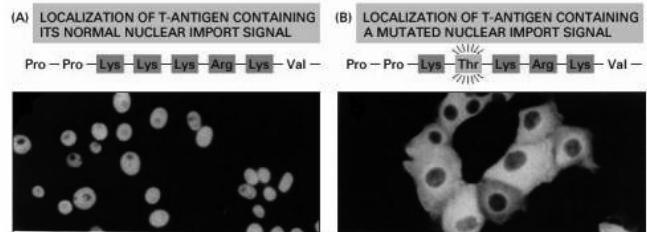


- Transport van kerneiwitten (die in cytoplasma worden aangemaakt) gebeurt via nucleair lokalisatiesignaal (oligopeptide van 8-10 basische aminozuren)
  - Transport = ATP-afhankelijk (actief transport)
  - Aantal poriën hangt samen met niveau van eiwitsynthetische activiteit van de cel

## Transport van cytosol naar nucleus

### Algemeen

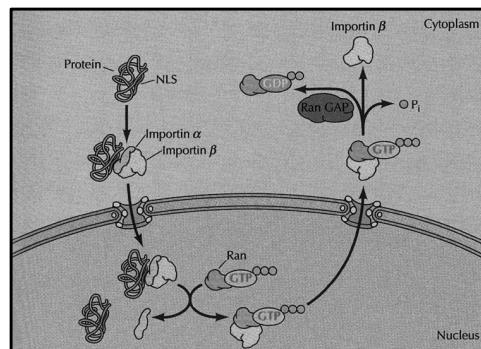
- Transport van cytosol naar nucleus gebeurt via een nucleair import proces, aan de hand van een nucleair lokalisatiesignaal (=NLS)
- Signaal enkel op nucleaire proteïnen
  - Ofwel een signalsequentie
  - Ofwel een signaalpatch
- NLS wordt herkend door nucleaire import receptoren (=oplosbare cytosolische proteïnen)
  - Binden op proteïne via NLS
  - Binden aan nucleoporines (= meest voorkomende klasse van kernporieproteïnen)



Functie van nucleair lokalisatiesignaal (NLS)

- Importine- $\alpha$  en - $\beta$  binden coöperatief met te transporteren molecule via NLS (en cargo-molecule)
- Transport naar nucleoplasma (ATP-hydrolyse)
- Interactie Ran-GTP met importine- $\beta$
- Dissociatie van complex
- Transport naar cytoplasma
- Dissociatie Ran-GTP en importine- $\beta$

### Selectief eiwittransport van en naar de kern

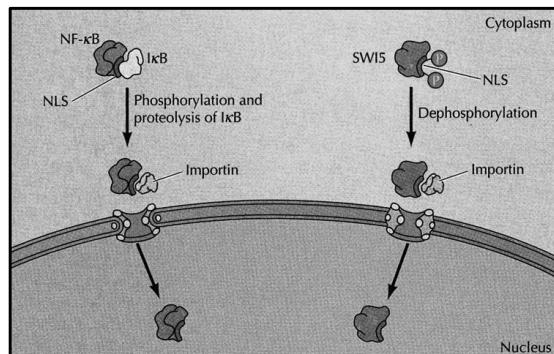


#### Import in kern

Transport doorheen het kernporiecomplex is afhankelijk van een gradiënt van Ran/GTP, met een hoge concentratie van Ran/GTP in het cytoplasma en een lage concentratie van Ran/GTP in de celkern. Er vormen zich complexe verbindingen tussen targeteiwitten die de nucleaire lokalisatiesignalen (NLS) importine-**α** en importine-**β** bevatten in het cytoplasma, waar Ran aanwezig is in de GDP-gebonden vorm. Na transport doorheen het kernporiecomplex bindt Ran/GTP aan importine-**β**, waardoor er importine-**α** en het targeteiwit vrijgezet wordt in de nucleus. Het Ran/GTP-importine-**β**-complex wordt dan opnieuw naar het cytoplasma vervoerd waar het Ran-GTPase-activierende eiwit (Ran GAP) de hydrolyse van het gebonden GTP stimuleert, waardoor er Ran/GDP gevormd wordt. Deze omschakeling van Ran/GTP naar Ran/GDP gaat gepaard met de vrijzetting van importine-**β**.

### Selectief eiwittransport van en naar de kern

#### Regulatie van import van transcriptiefaktoren in kern



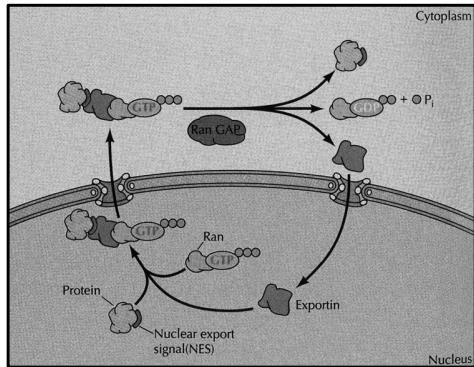
De transcriptiefactor NF-κB wordt in het cytoplasma in stand gehouden als een inactieve complex verbinding met IκB, dat zijn nucleaire lokalisatiesignaal (NLS) maskert. Als reactie op de juiste extracellulaire signalen wordt IκB gefosforyleerd en afgelopen door proteolyse, waardoor import van NF-κB in de nucleus mogelijk wordt. De gistranscriptiefactor SW15 wordt in het cytoplasma in stand gehouden door fosforlyering in de nabijheid van zijn nucleaire lokalisatiesequentie. Door gereguleerde defosforlyatie komt de NLS bloot te liggen en kan SW15 tijdens de gepaste fase van de celcyclus getransporteerd worden naar de nucleus.

## Transport van nucleus naar cytosol

### Algemeen

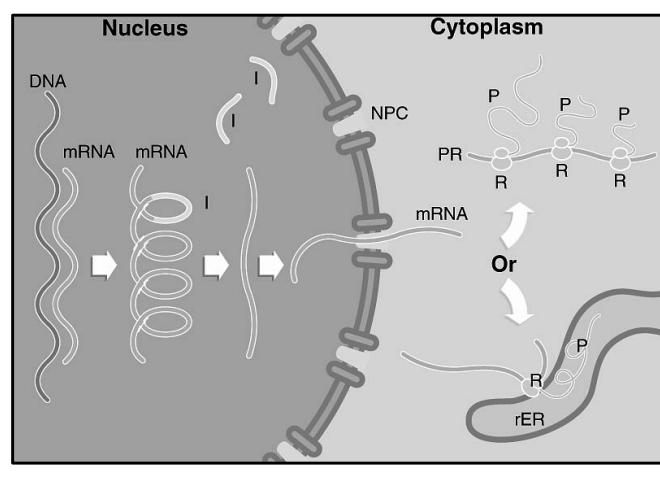
- Transport van nucleus naar cytosol gebeurt aan de hand van een leucine-rijk nucleair export signaal (NES)
  - Bindt met exportine-1 (nucleaire export receptor)
  - Bindt met cargo-proteïne
- 3<sup>de</sup> proteïne vereist : Ran (klein GTPase)

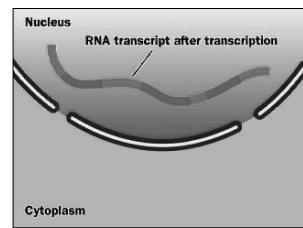
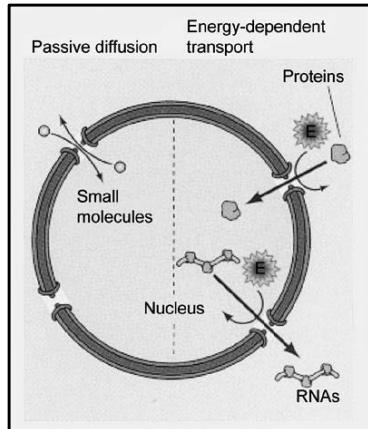
## Selectief eiwittransport van en naar de kern



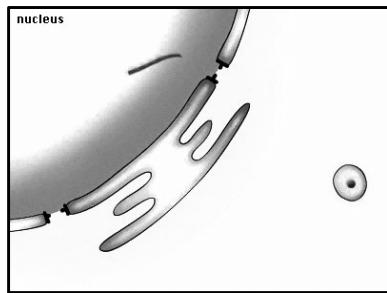
**Export uit kern**

## Cytologie-nucleus



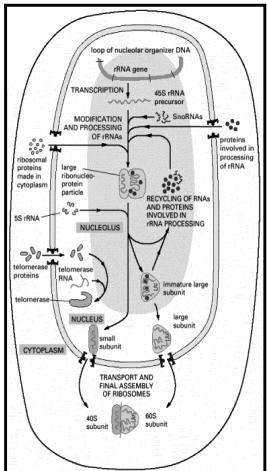


Targetting van proteïnen: mRNA van uit kern naar cytoplasma; translatie met specifieke kodering voor elk organel



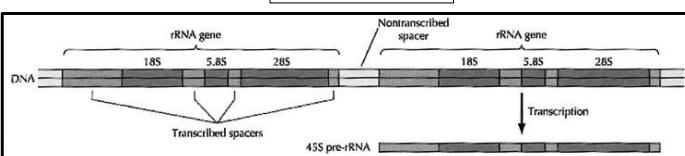
- Samenstellende delen van de cel

De ribosomen



Functie van nucleolus in ribosoom- en ribonucleoproteïnesynthese

### Ribosomaal RNA

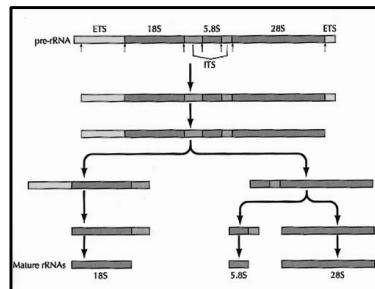
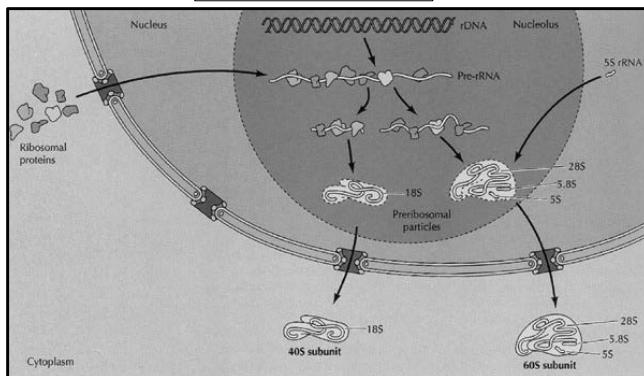


#### Ribosomaal RNA-genen

Elk rRNA-gen is een enkele transcriptie-unit die de 18S-, 5.8S- en 28S-rRNAs alsook de overgeschreven spacersequenties bevat. De rRNA-genen zijn geordend in rijen van twee die van elkaar gescheiden zijn door niet-overgeschreven spacer-DNA

**Ribosomaal RNA****Verwerking van pre-rRNA**

Het 45S-pre-rRNA-transcript bevat externe getranscribeerde spacers (ETS) aan beide uiteinden en interne getranscribeerde spacers (ITS) tussen de sequenties van de 18S-, 5,8S- en 28S-rRNAs. Het pre-rRNA wordt verwerkt via een aantal afsplitsingen (zoals hier geïllustreerd voor humaan pre-rRNA) tot het uiteindelijke rRNA.

**Assemblage ribosomen**

Ribosomale eiwitten worden vanuit het cytoplasma naar de nucleolus gebracht en beginnen zich daarna te hechten aan het pre-rRNA nog voor het zich splitst. Tijdens de verdere verwerking van het pre-rRNA worden er nog een aantal ribosomale eiwitten en het 5S-rRNA (dat elders in de nucleolus gesynthetiseerd wordt) toegevoegd, waardoor er preribosomale partikeltjes ontstaan. Tijdens de laatste stadia van het rijpingsproces migreren de preribosomale partikeltjes zich uit de nucleolus naar het cytoplasma en ontstaan zo de 40S en 60S ribosomale subeenheden.

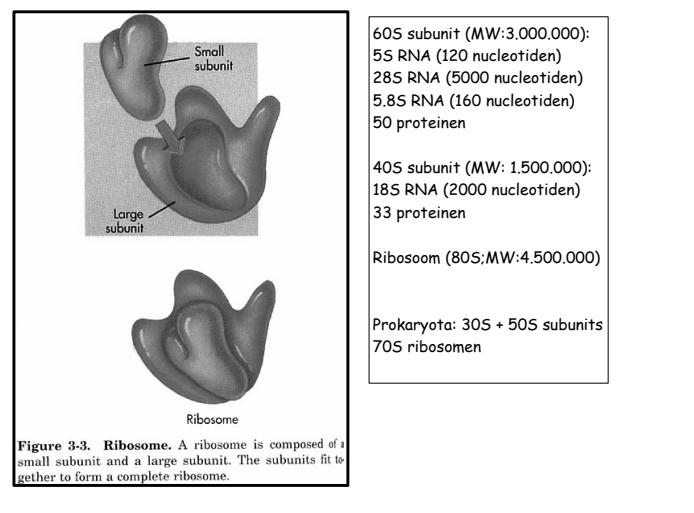
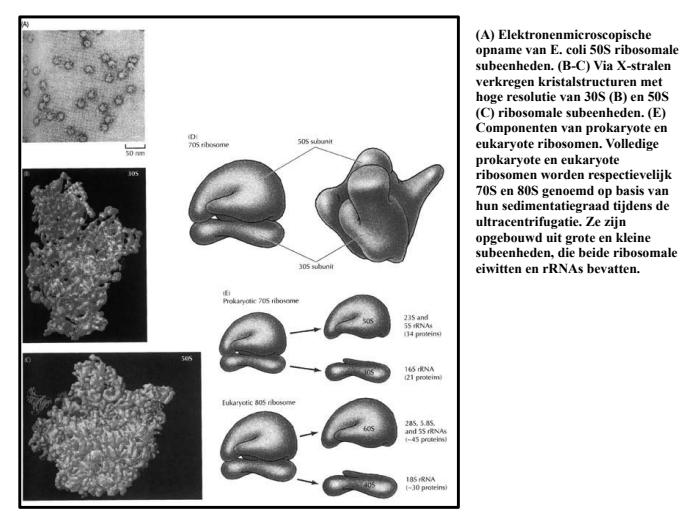
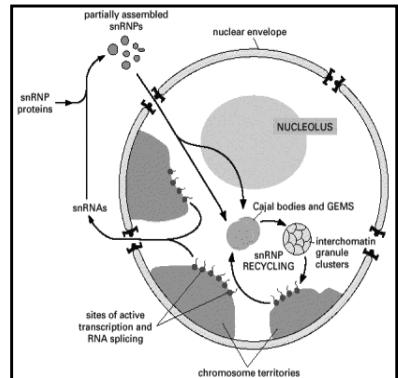


Figure 3-3. Ribosome. A ribosome is composed of a small subunit and a large subunit. The subunits fit together to form a complete ribosome.





Schematisch overzicht van subnucleaire structuren

## Vragen?

