

# Compartimentalização Intracelular (pt 1): Núcleo $\leftrightarrow$ Citosol

*Rafael H.F. Valverde*

[valverde@nano.ufrj.br](mailto:valverde@nano.ufrj.br)

Laboratório de Biomembranas G-37

Biologia Celular para Nanotecnologia  
IBCCF<sup>o</sup> UFRJ



Maio – 2022

# Principais Compartimentos de uma Célula Animal

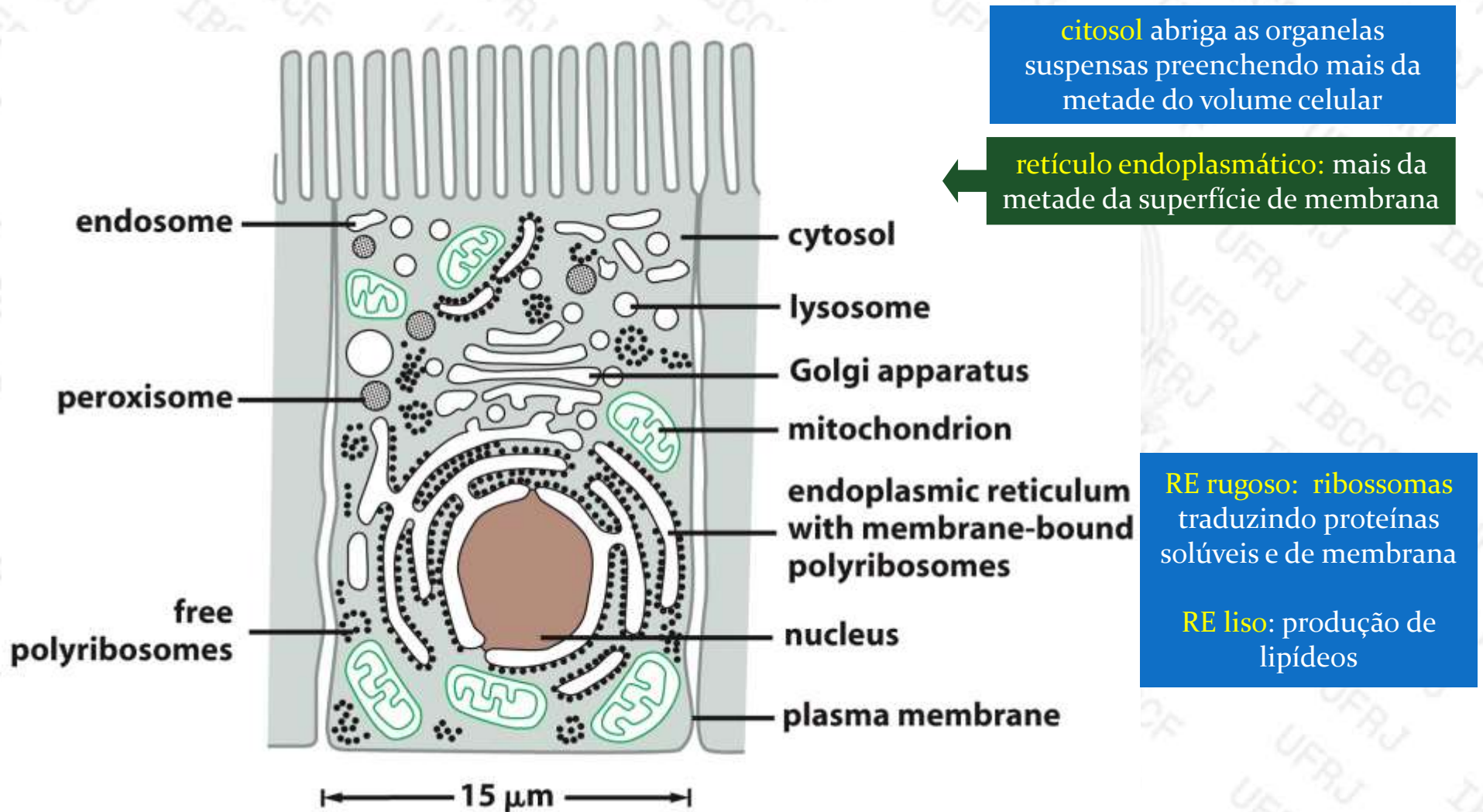


Figure 12-1 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

**Table 12–1 Relative Volumes Occupied by the Major Intracellular Compartments in a Liver Cell (Hepatocyte)**

INTRACELLULAR COMPARTMENT	PERCENTAGE OF TOTAL CELL VOLUME
<b>Cytosol</b>	<b>54</b>
<b>Mitochondria</b>	<b>22</b>
<b>Rough ER cisternae</b>	<b>9</b>
<b>Smooth ER cisternae plus Golgi cisternae</b>	<b>6</b>
<b>Nucleus</b>	<b>6</b>
<b>Peroxisomes</b>	<b>1</b>
<b>Lysosomes</b>	<b>1</b>
<b>Endosomes</b>	<b>1</b>

de maneira geral cada **organela** tem mais ou menos as mesmas funções em cada um dos tipos celulares

ocupam metade do volume celular

variam em abundância e podem adquirir propriedades extras particulares a cada tipo celular

exs: **mitocôndria** em espermatozóides, **retículo sarcoplasmático** em células musculares



**Table 12–2 Relative Amounts of Membrane Types in Two Kinds of Eucaryotic Cells**

MEMBRANE TYPE	PERCENTAGE OF TOTAL CELL MEMBRANE	
	LIVER HEPATOCYTE*	PANCREATIC EXOCRINE CELL*
Plasma membrane	2	5
Rough ER membrane	35	60
Smooth ER membrane	16	<1
Golgi apparatus membrane	7	10
Mitochondria		
Outer membrane	7	4
Inner membrane	32	17
Nucleus		
Inner membrane	0.2	0.7
Secretory vesicle membrane	not determined	3
Lysosome membrane	0.4	not determined
Peroxisome membrane	0.4	not determined
Endosome membrane	0.4	not determined

\*These two cells are of very different sizes: the average hepatocyte has a volume of about  $5000 \mu\text{m}^3$  compared with  $1000 \mu\text{m}^3$  for the pancreatic exocrine cell. Total cell membrane areas are estimated at about  $110,000 \mu\text{m}^2$  and  $13,000 \mu\text{m}^2$ , respectively.

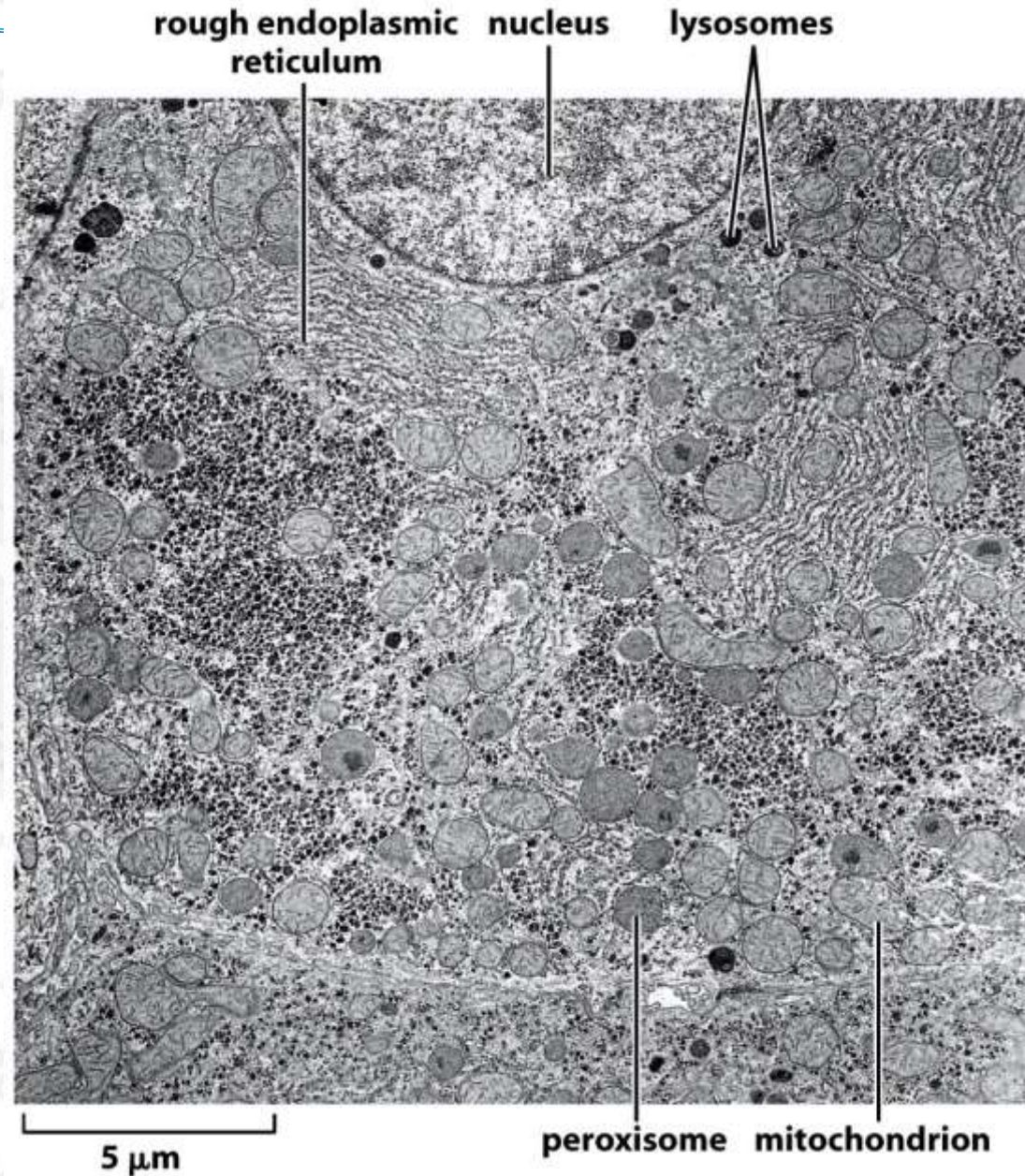
hepatócitos possuem um  
RE liso proeminente  
(metabolização de  
lipídeos, síntese de  
hormônios)

# Microscopia Eletrônica de uma secção de hepatócito

**organelas** tem posições  
características no **citossol**

**citoesqueleto** garante a  
citoarquitetura

**golgi** é localizado próximo do  
**núcleo**, **RE** ocupa boa parte do  
**citossol**

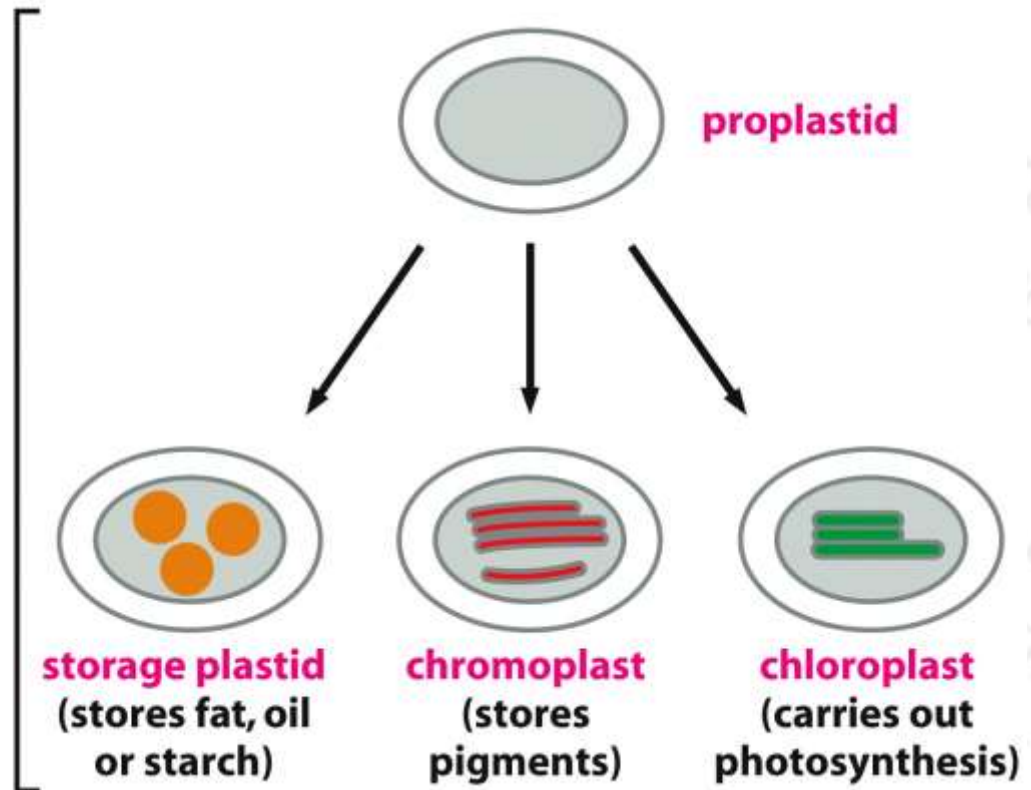




# Origens Evolutivas Explicam as Relações Topológicas das Organelas

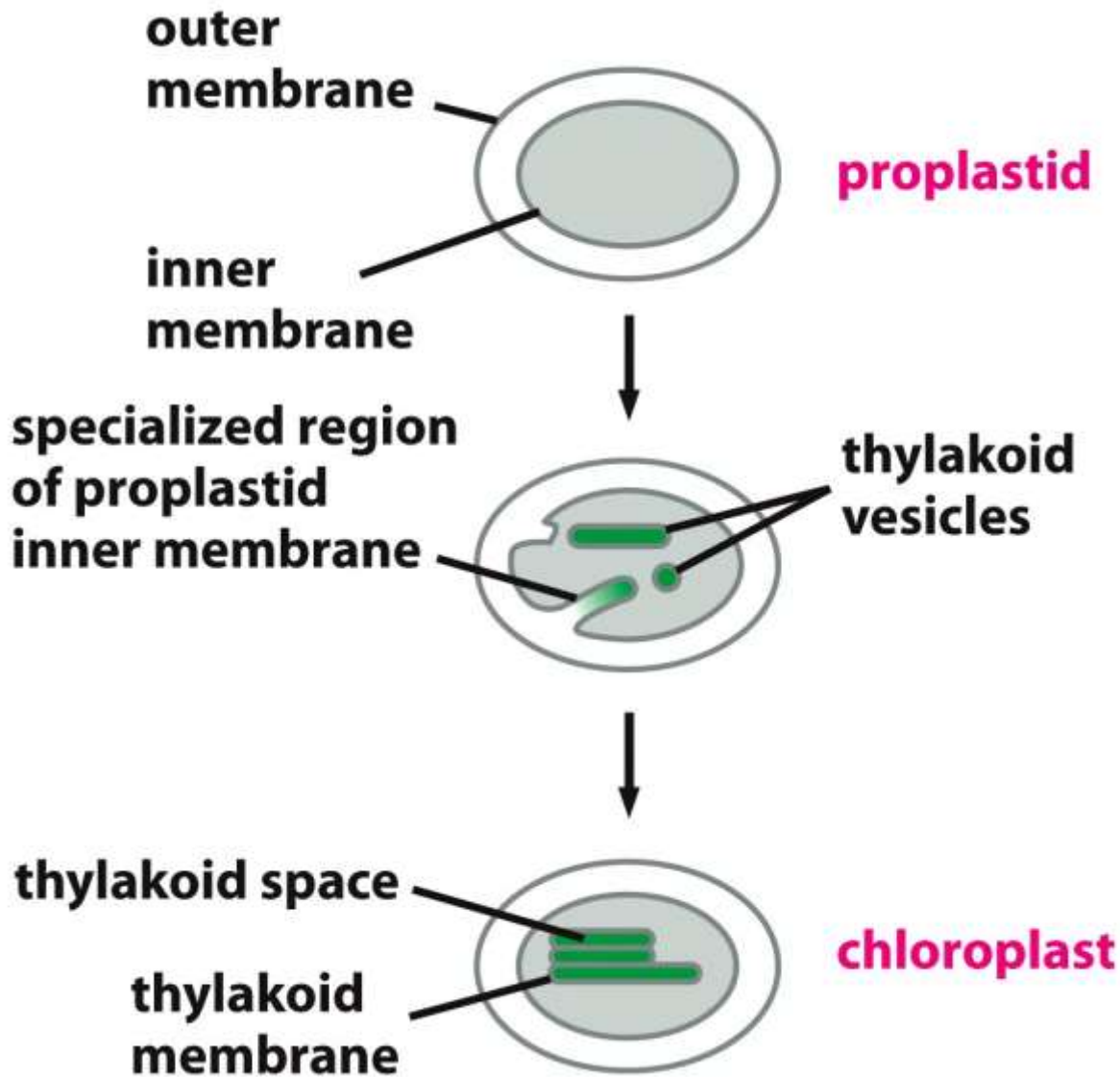
evolução das membranas internas  
acompanhou especialização da função destas

plastid  
family



**proplastídeos**: organelas precursoras  
presentes em células vegetais imaturas

se desenvolvem de acordo com a  
necessidade da célula diferenciada:  
**cloroplastos**, **cromoplastos**, **vesículas de  
estoque**



quando convertidas em **cloroplastos** trechos de membrana se invaginam a partir da membrana interna do **proplastídeo**

vesículas que se formam abrigam toda a maquinaria fotossintética (**tilacóide**)

# Evolução das Organelas (esquema hipotético)

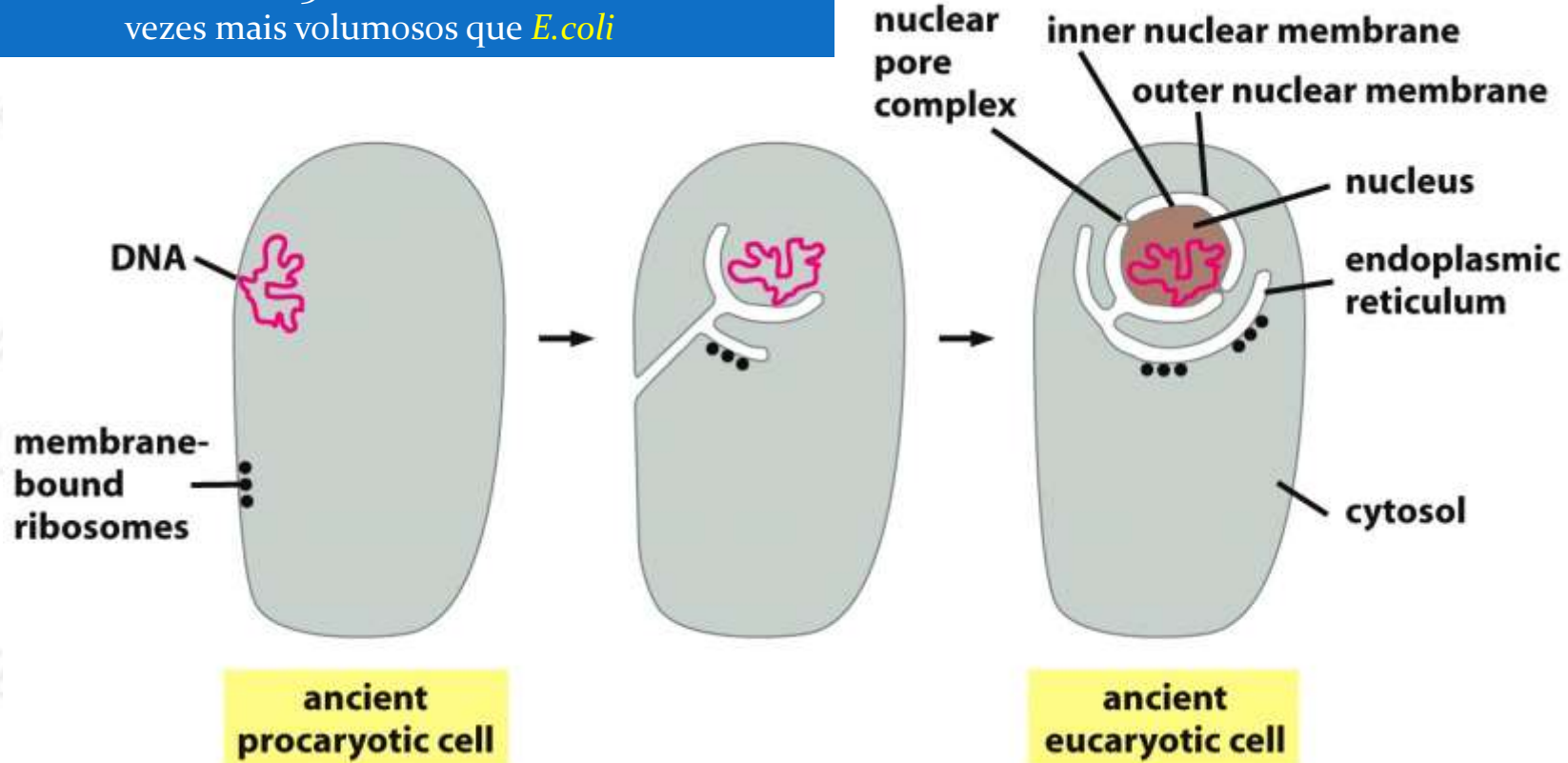
compartimentos surgiram de forma semelhante

precursores de eucariotos não possuíam **membranas** internas (todas as funções na **membrana plasmática**)

eucariotos atuais: 10 a 30 vezes maiores e 1000 a 10000 vezes mais volumosos que *E.coli*

membranas internas: adaptação ao aumento do tamanho!

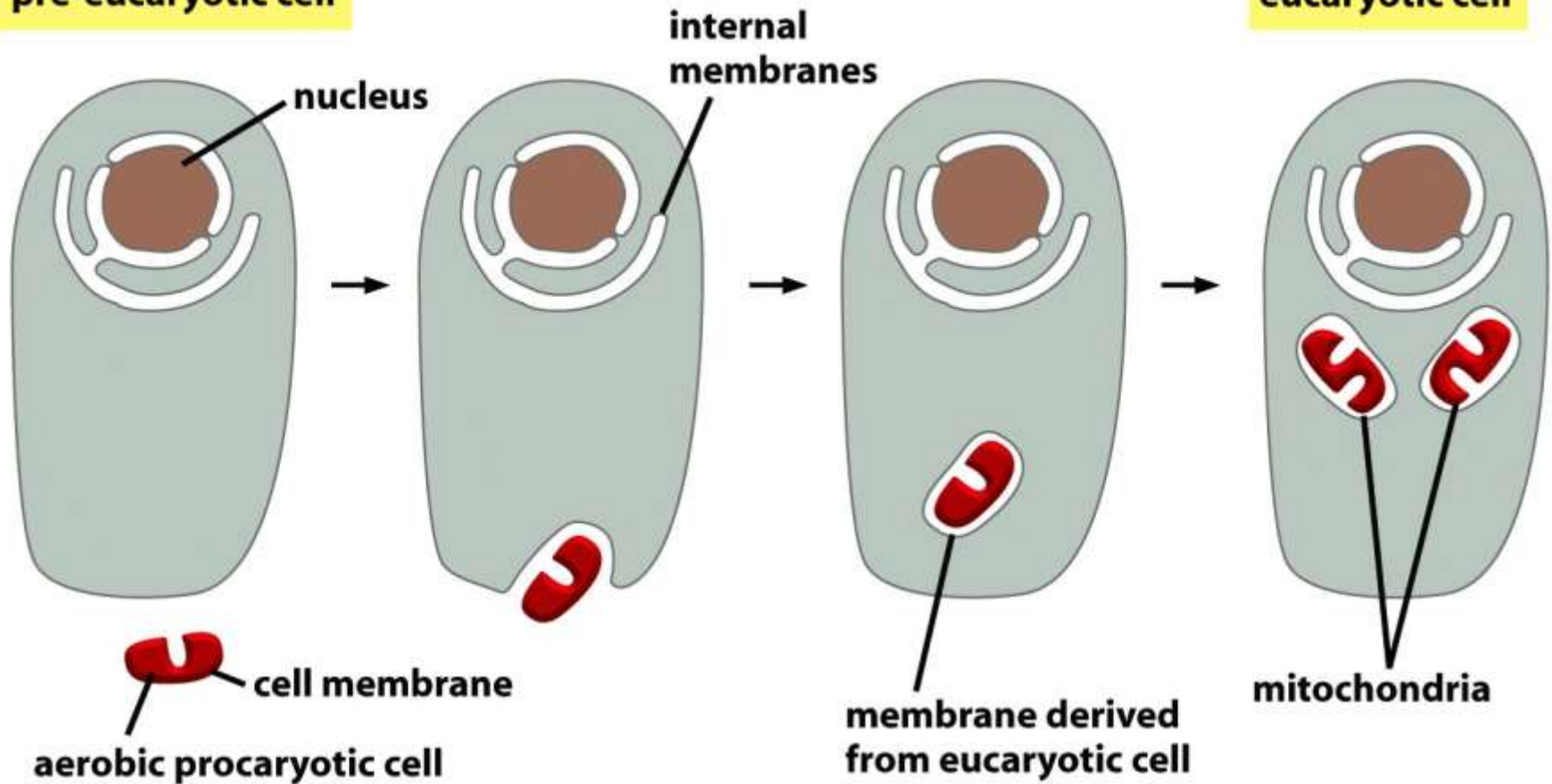
**membrana plasmática** sozinha não é capaz de suportar todas as funções vitais





**anaerobic  
pre-eucaryotic cell**

**early aerobic  
eucaryotic cell**



**mitocôndrias** diferem das demais organelas: possuem **genomas** próprios

semelhança estrutural e proteica com bactérias: relação simbiótica ancestral

membrana de **mitocôndrias** corresponde a **membrana plasmática** das bactérias

**citossol** bacteriano seria equivalente ao **lúmen** destas organelas

# Relação Topológica entre Compartimentos de uma Célula Eucariótica

compartimentos intracelulares subdivididos em grupos de acordo com a comunicação entre eles:

- 01. núcleo e o citosol
- 02. RE, Golgi, endossomas, lisossomas
- 03. mitocôndrias
- 04. plastídeos (em plantas apenas)

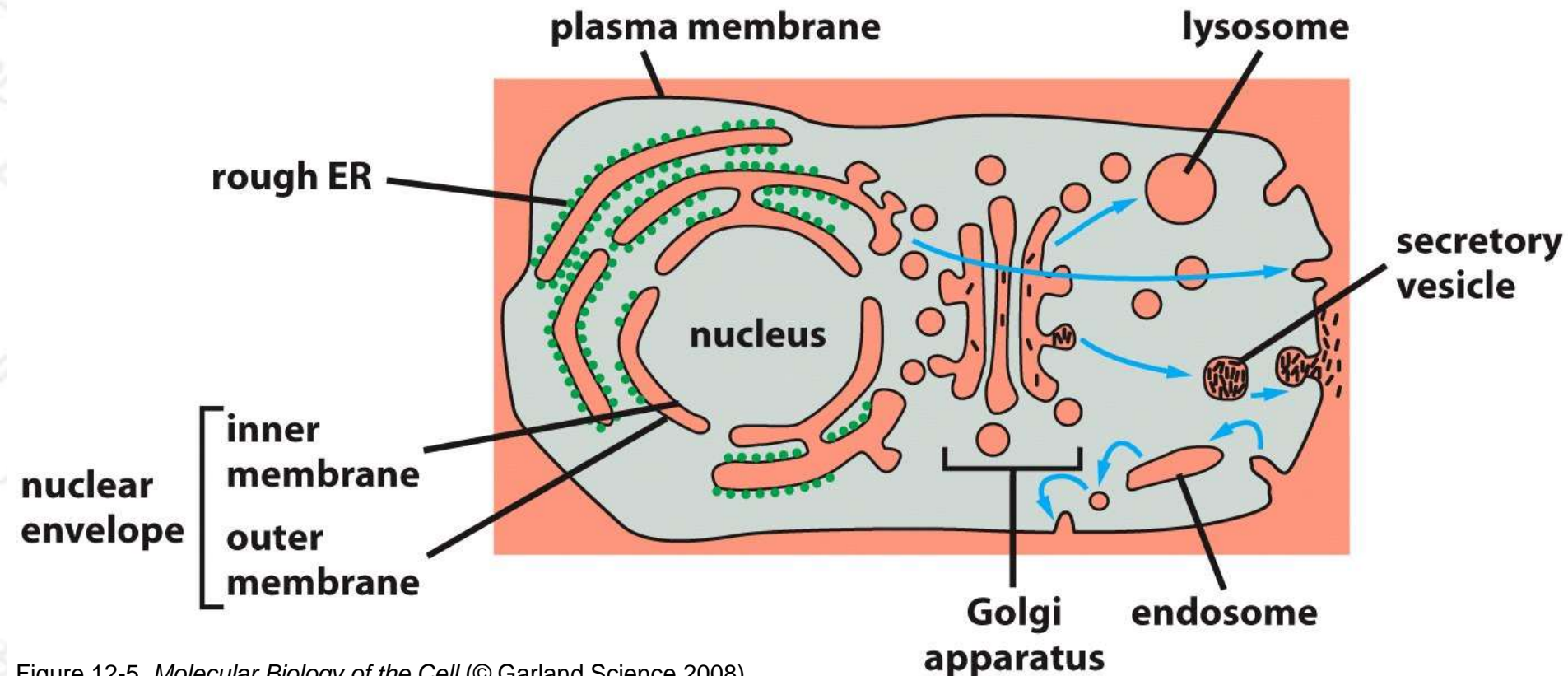
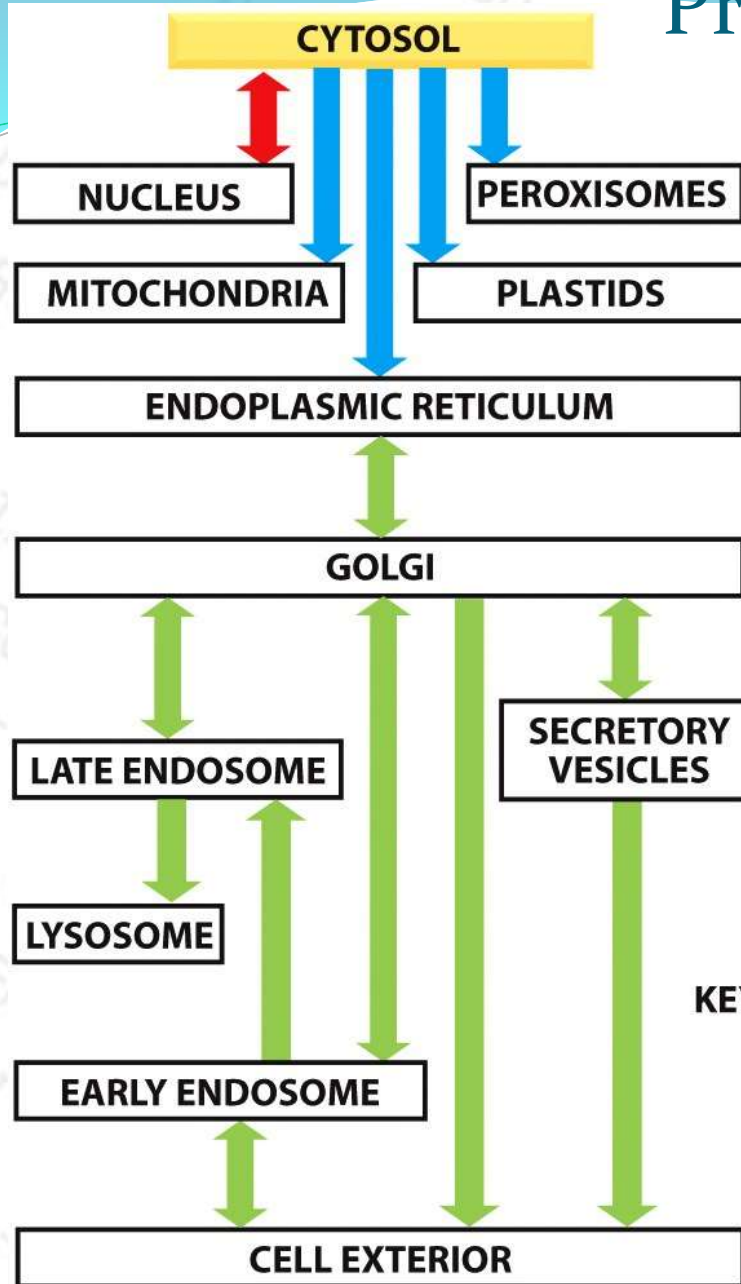


Figure 12-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

# Proteínas Podem se Mover Entre Compartimentos de Formas Diferentes



maioria das proteínas é sintetizada no **citossol**

**endereço** depende de **seqüências sinais** em cada proteína (ou da ausência destas)

3 formas de **tráfego** entre compartimentos:

1. **gated transport** (complexo do poro nuclear)
2. **transporte transmembrana** (proteínas **translocadoras**)
3. **transporte vesicular** (através de **vesículas** da maquinaria secretória)

**KEY:** █ = gated transport  
█ = transmembrane transport  
█ = vesicular transport

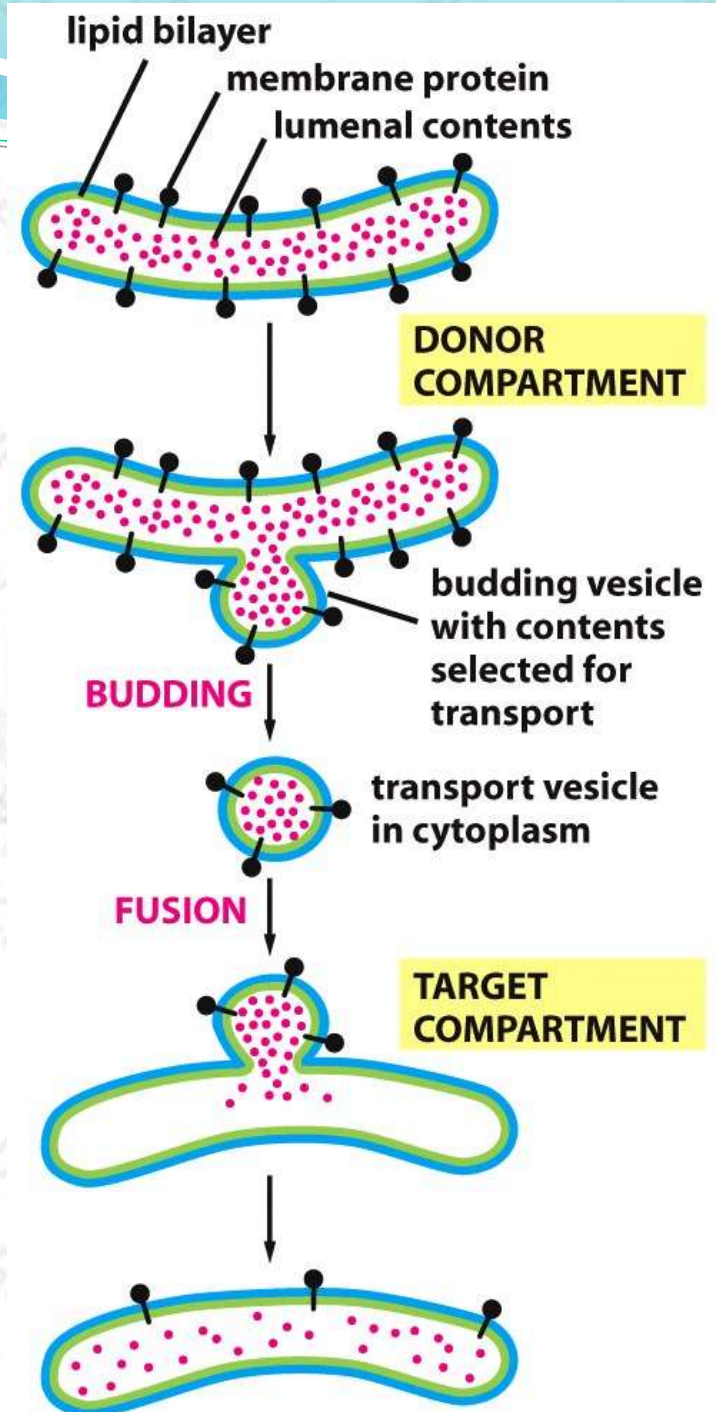


# Brotamento e Fusão de Vesículas Durante o Transporte Vesicular

**vesículas** esféricas ou irregulares com destinos específicos (marcadores!)

componentes solúveis são transferidos de **lúmem** para **lúmem** entre compartimentos

orientação lipídica e proteica das vesículas é preservada



# Sequências Peptídicas de Endereçamento Intracelular

sequencia para o RE: 5-10 aa hidrofóbicos  
sequencia para o núcleo: 5-10 aa básicos

**Table 12-3 Some Typical Signal Sequences**

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	<sup>+</sup> H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	<sup>+</sup> H <sub>3</sub> N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into ER	<sup>+</sup> H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>

Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in *red* and negatively charged amino acids are shown in *green*. Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in *white* and hydroxylated amino acids are shown in *blue*. <sup>+</sup>H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus.

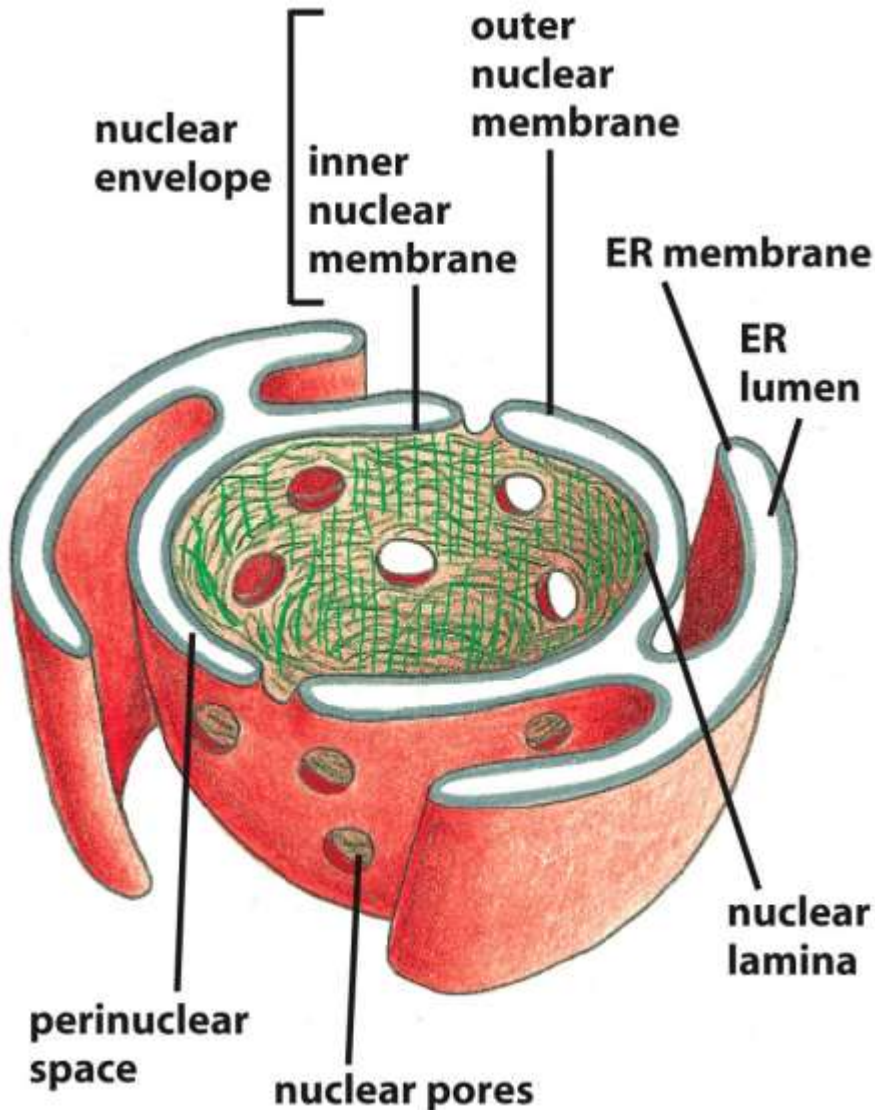
maioria das seqüências de localização tem entre 15 e 60 aa

frequentemente no N-terminal protéico

eventualmente peptidases específicas clivam a sequência sinal uma vez concluído o tráfego

estrutura 3D da proteína tb forma domínios sinais de endereçamento

# Transporte de Moléculas entre o Núcleo e o Citosol



**envelope nuclear** confina o DNA (duas membranas concêntricas com composição proteica diferenciada)

**membrana interna: lamina nuclear** (suporte mecânico) e proteínas que ancoram o **DNA**

**membrana externa:** contígua a membrana do **RE** (**ribossomos**)

tráfego bidirecional entre **citosol** e **núcleo** (exs: **histonas**, **polimerases**, **proteínas regulatórias** são importadas do **citosol** e **tRNAs** e **mRNAs** são exportados )

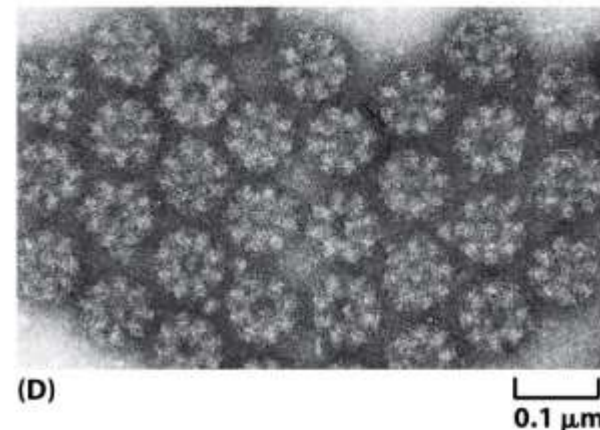
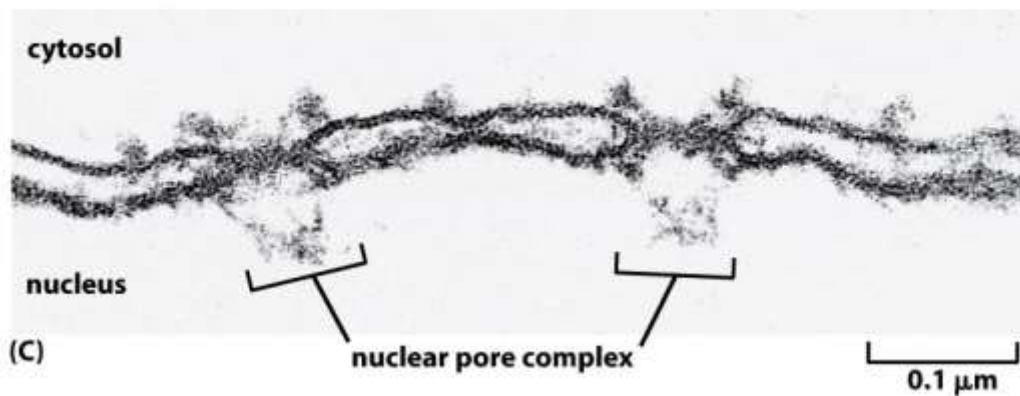
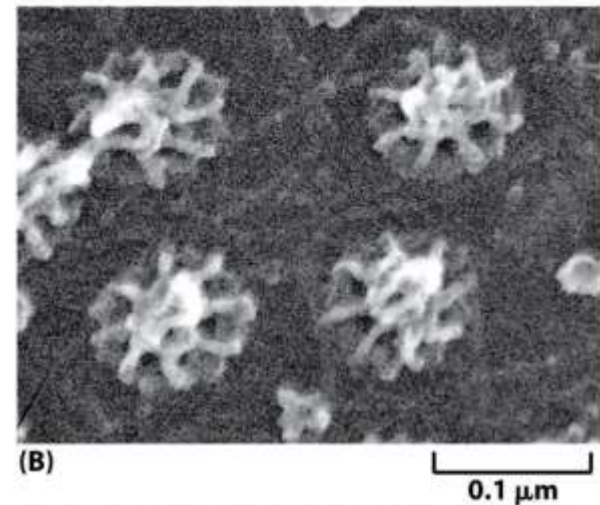
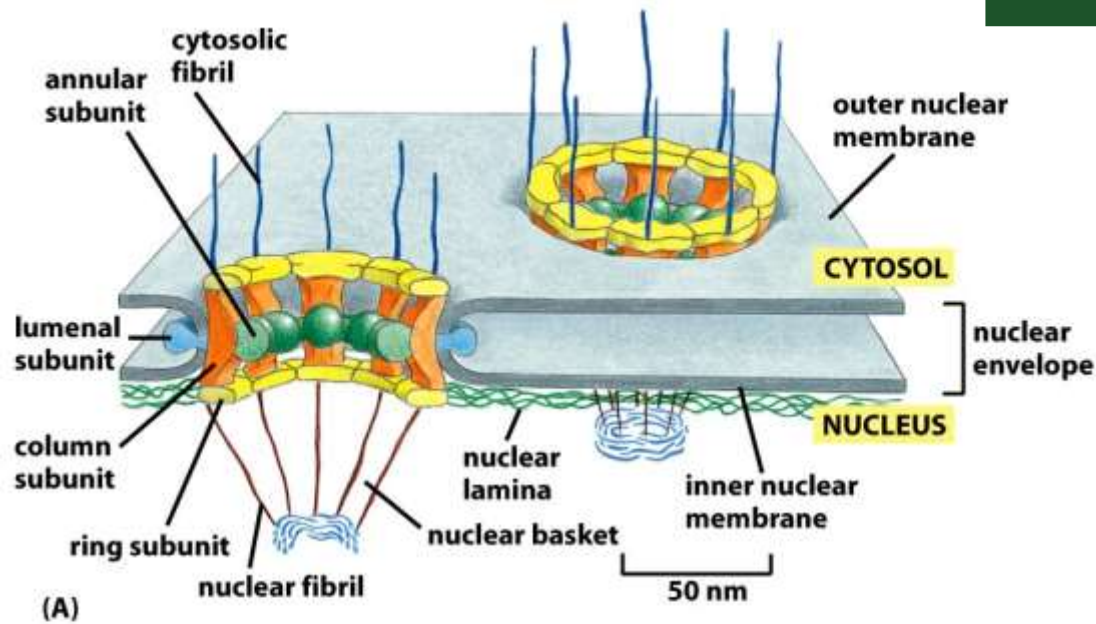


complexos do poro nucleares (NPCs) perfuram o envelope nuclear de todos os eucariotos (30 proteínas diferentes) (nucleoporinas)

tráfego de até 500 macromoléculas/seg

# Complexos do Poro Nuclear

célula típica contem 3000 a 4000 mil NPCs



# Barreira de Difusão do CPN

cada **complexo do poro** possui uma ou mais passagens hidrofílicas permitindo passagem **passiva** de moléculas solúveis

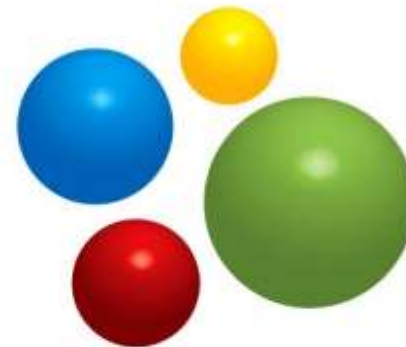
proteínas com domínios pouco estruturados no interior do **poro** dificultam passagem de macromoléculas grandes

pequenas moléculas ( $< 5$  kDa) se difundem livremente através do **poro**

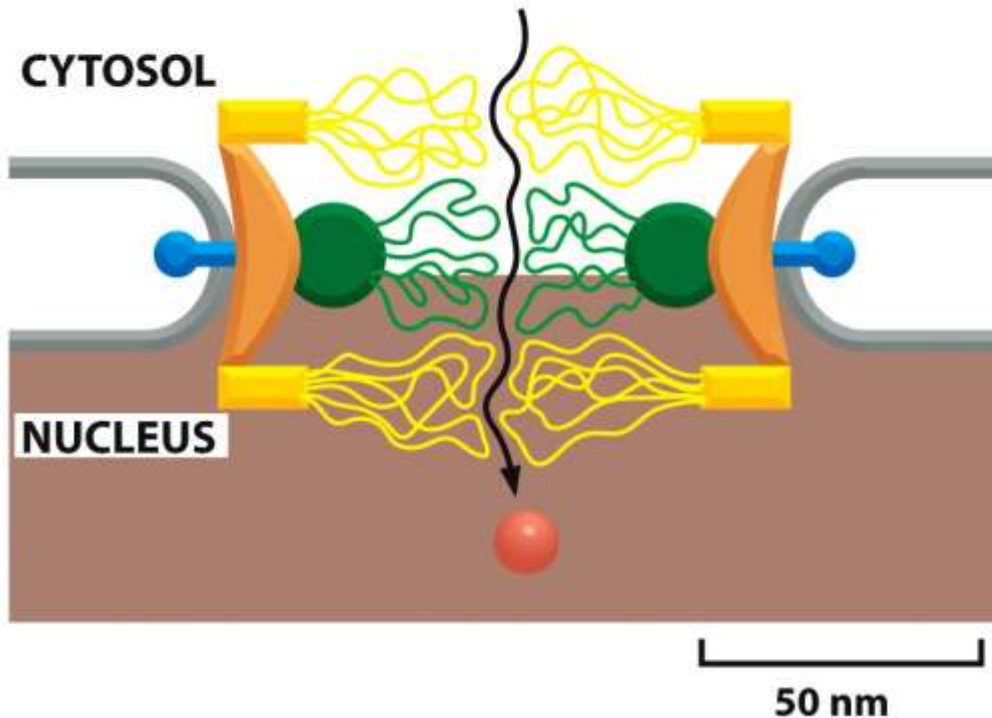
**proteínas** de grande tamanho atravessam lentamente



**size of molecules that enter nucleus by free diffusion**



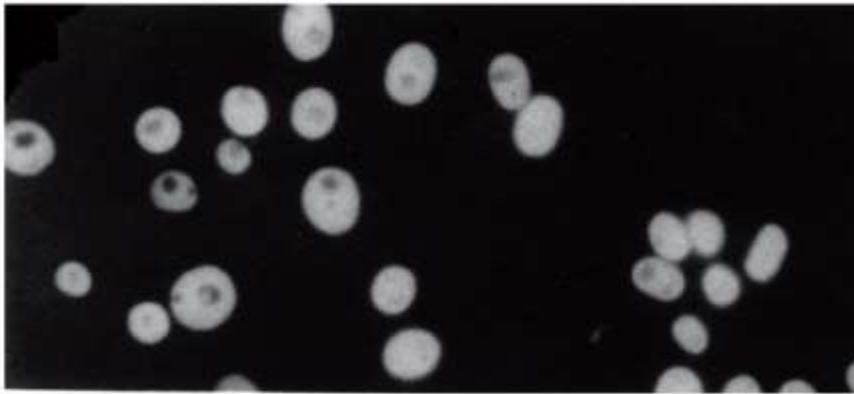
**size of macromolecules that enter nucleus by active transport**



# Sinais de Localização Nuclear Direcionam Proteínas para o Núcleo

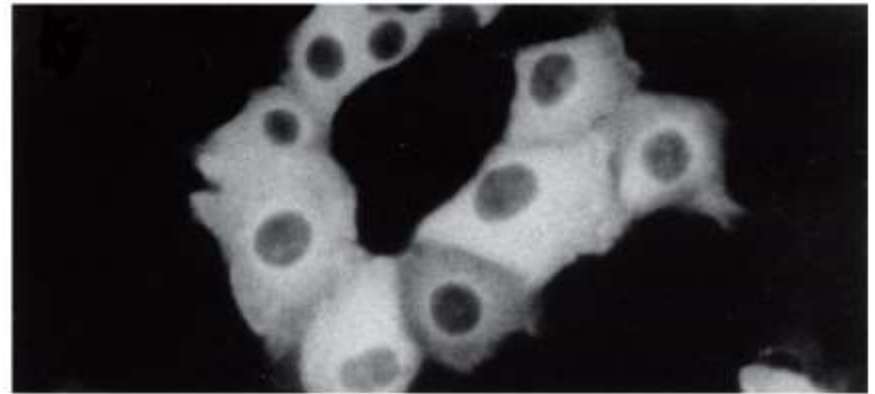
(A) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING ITS NORMAL NUCLEAR IMPORT SIGNAL

Pro — Pro — Lys — Lys — Lys — Arg — Lys — Val —



(B) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING A MUTATED NUCLEAR IMPORT SIGNAL

Pro — Pro — Lys — Thr — Lys — Arg — Lys — Val —



proteínas extraídas do **núcleo**, quando colocadas no **citosol**, regressam

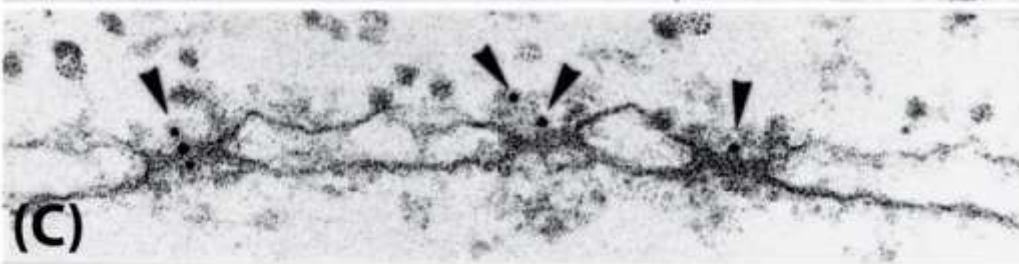
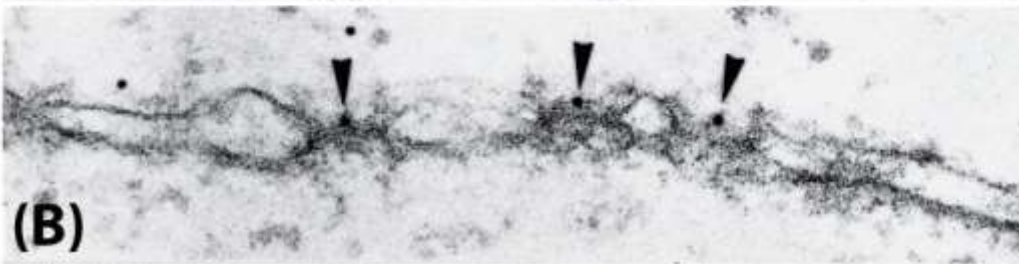
**sequências de localização nuclear (NLS)** (clusters de aa positivamente carregados)

**NLSs** podem ser formados por **loops** e **epítomos** da superfície proteica

basta que uma subunidade de um complexo protéico contenha uma **NLS** para ocorrer importação



nuclear envelope



nucleus cytosol

100 nm

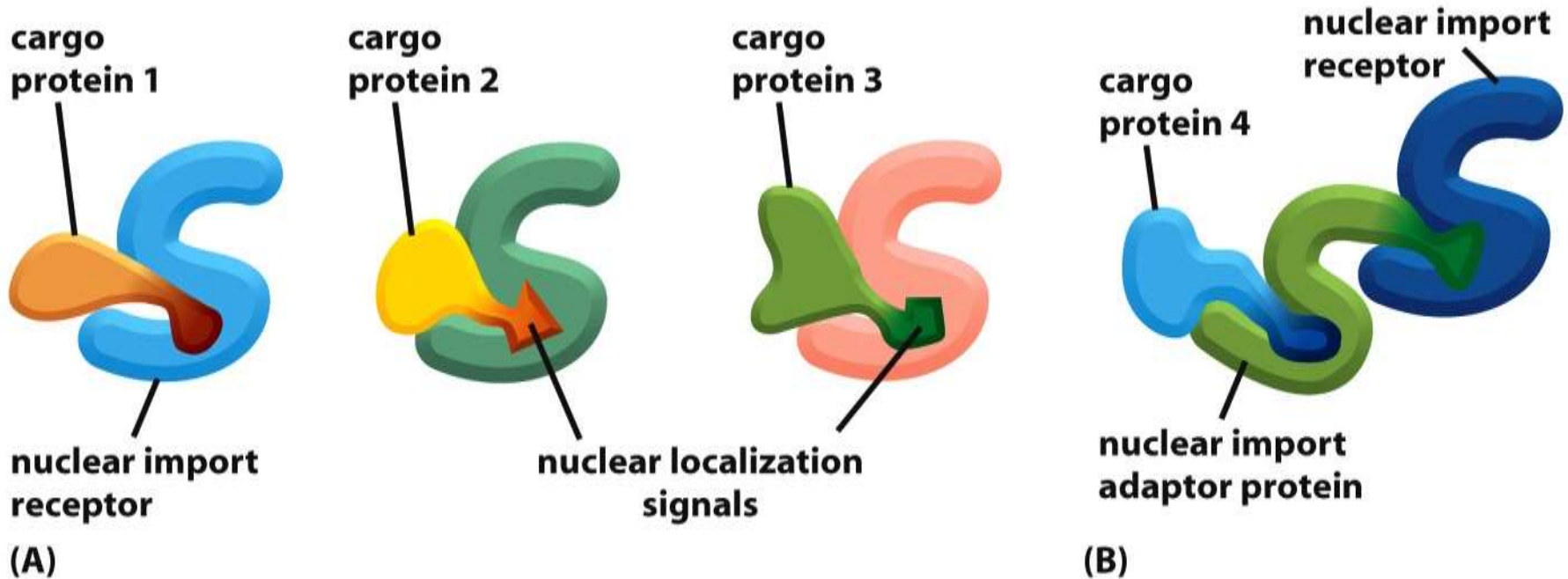
microscopia eletrônica pode seguir partículas contendo **NLS** revestidas de ouro

transporte de moléculas através do **complexo do poro** ≠ transporte através da membrana de outras organelas

através de grande poro aquoso e não através de uma **proteína translocadora**

proteínas completamente **noveladas** e prontas adentram o **núcleo** pelo **poro** (≠ de outras organelas)

# Receptores de Importação Nuclear se Ligam a NLS e Nucleoporinas



importação ao núcleo depende do reconhecimento das **NLS** por **receptores de importação nucleares** específicos para cada **sequência** diferente

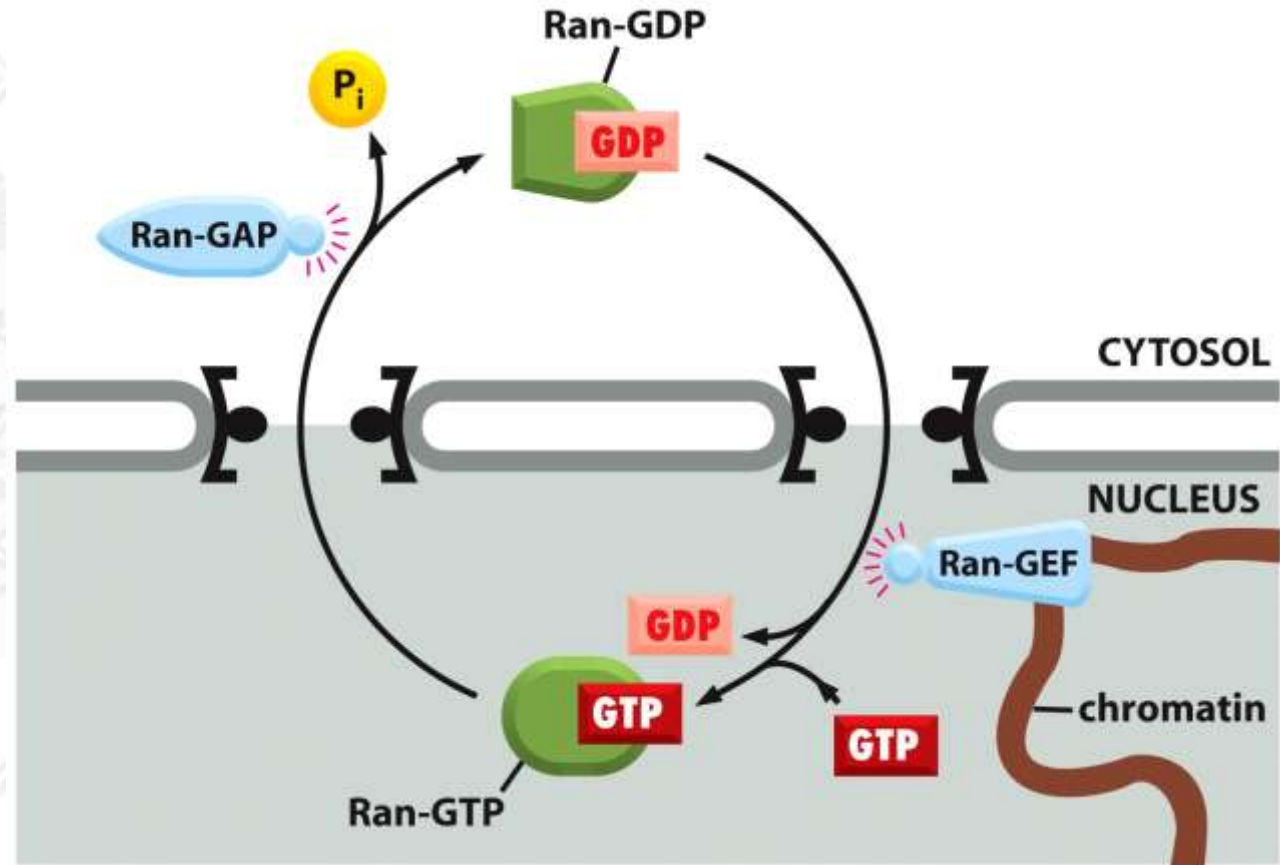
reconhecem **NLS** de proteínas no citosol e **sequências** ricas em FG de **nucleoporinas** fibrilares

**receptor** ligado a sua "carga" atravessa o **complexo do poro** passando de **fibrila** em **fibrila** (ligação – dissociação – ligação)

exportação ocorre de forma semelhante mas no sentido inverso (**receptores de exportação**)

# A GTPase Ran Impõe Direcionamento no Transporte

importação de proteínas no núcleo requer energia (hidrólise de **GTP** pela **GTPase Ran**)



**Ran** é encontrada em duas conformações: **GDP-ligada** ou **GTP-ligada**

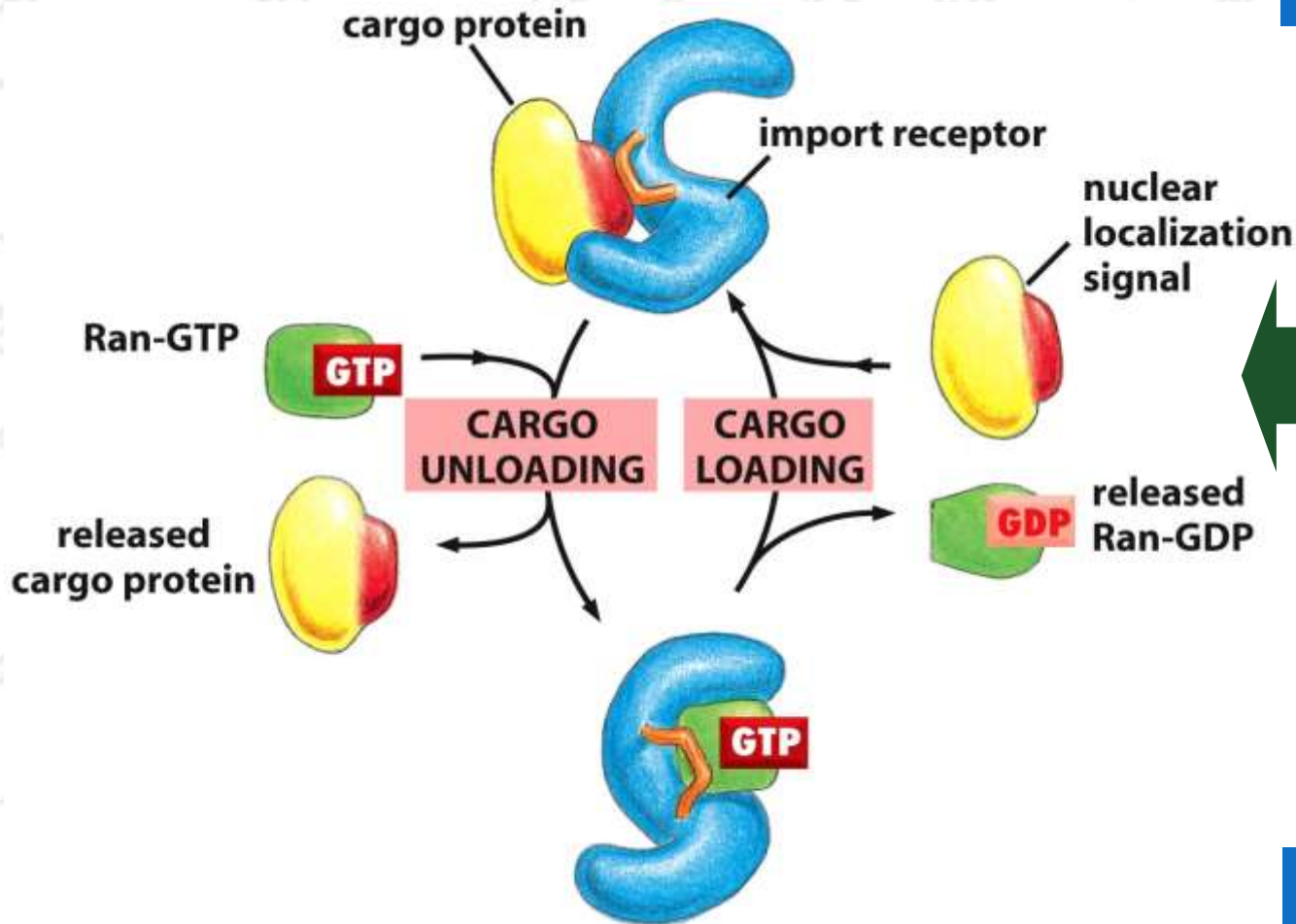
**GTPase activating protein (GAP)** e **guanine exchanging factor (GEF)** promovem a alternância entre um estado e outro (quebra de **GTP** e troca de **GDP** por **GTP**)

devido a localização de **GAP** no citosol e de **GEF** no núcleo teremos sempre **Ran-GTP** no núcleo e **Ran-GDP** no citosol!!



# Ligação de Ran-GTP Leva a Liberação da Carga

ligação dos **receptores de importação a nucleoporinas** (com as sequencias ricas em **FG**) ocorre mesmo sem proteína a ser transportada



ligação de **Ran-GTP** faz a proteína **receptora de importação** liberar sua carga

hidrólise do GTP no citosol  
(**Ran-GDP** se dissocia  
permitindo carregamento do  
**receptor** com carga)

para receptores de exportação a ligação de Ran-GTP no interior do núcleo é que permite a ligação de proteínas

alternância entre as duas conformações de **Ran**  
permite transporte na direção apropriada

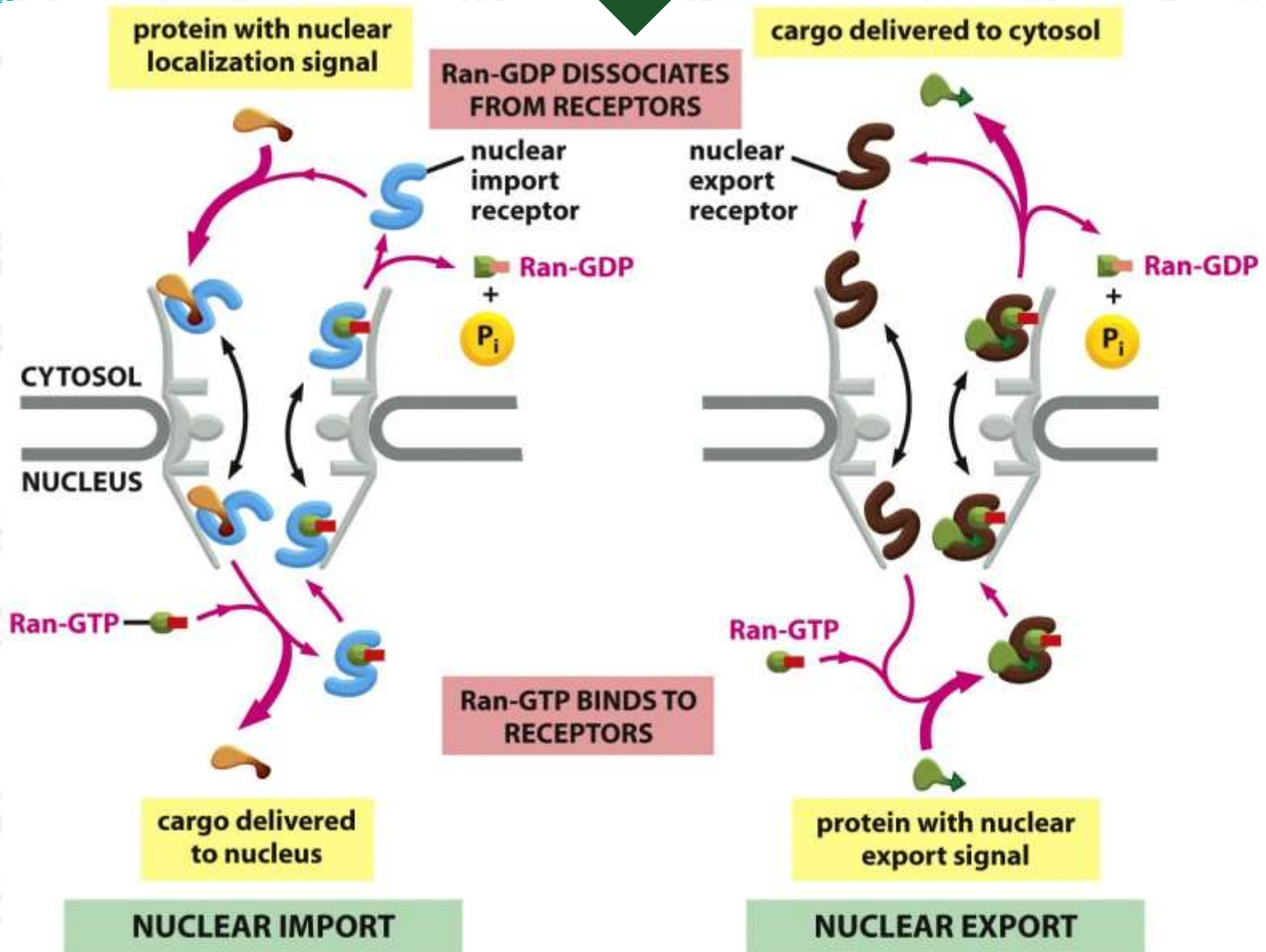
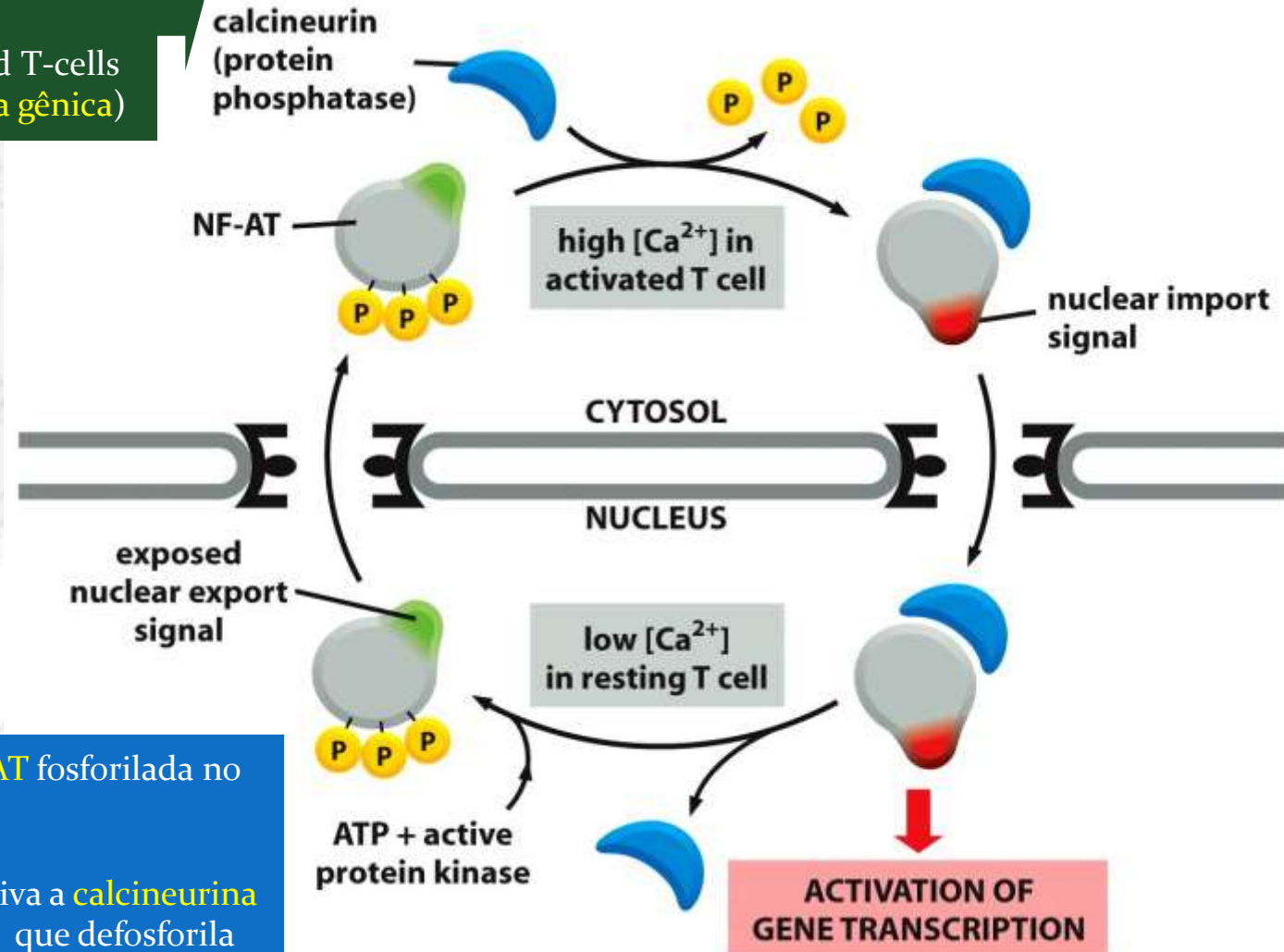


Figure 12-15 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

# O Controle da Importação Nuclear

células podem controlar este transporte através de **fosforilação** das proteínas envolvidas

ex: nuclear factor of activated T-cells (NF-AT) (**proteína regulatória gênica**)

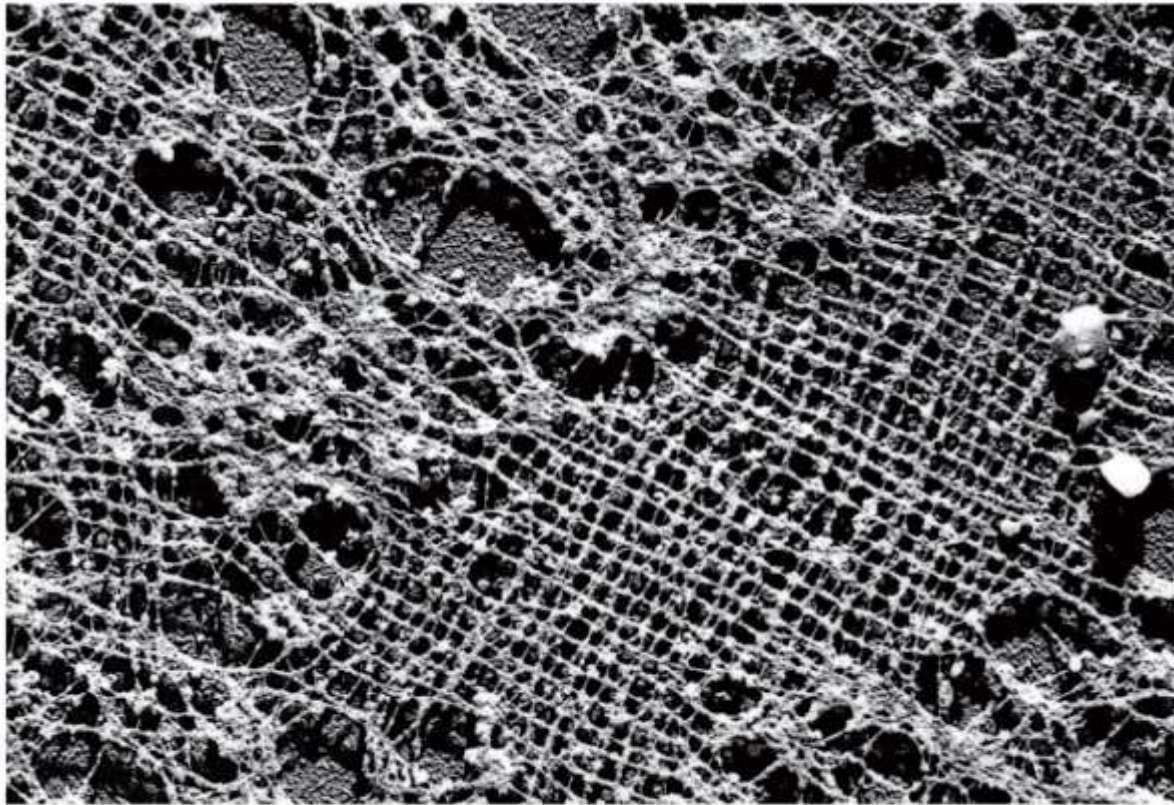


linfócito T em repouso: **NF-AT** fosforilada no citosol

ativação do linfócito:  $\uparrow Ca^{2+}$  ativa a **calcineurina** (fosfatase  $Ca^{2+}$ -dependente) que defosforila NF-AT expondo seq. sinal!



# A Lamina Nuclear



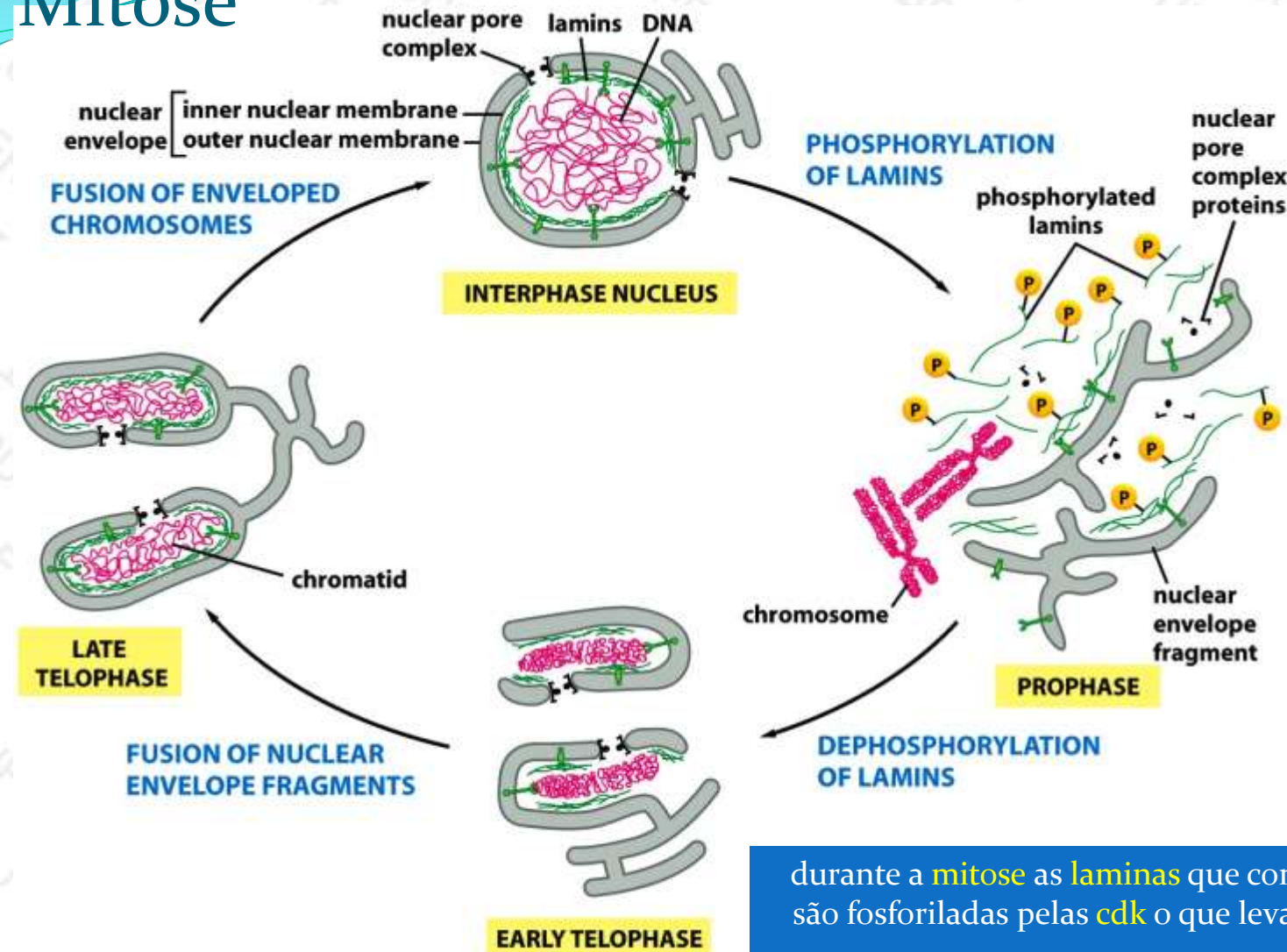
**lamina nuclear** forma uma malha no lado nuclear da membrana interna do núcleo

**laminas** fazem parte dos filamentos intermediários (**citoesqueleto**)

dão forma e estabilidade ao núcleo se ancorando aos **complexos do poro** e a proteínas de membrana do **envelope nuclear**

1 μm

# Quebra e reconstrução do Envelope Nuclear na Mitose



durante a **mitose** as **laminas** que compõem a **lamina nuclear** são fosforiladas pelas **cdk** o que leva a sua despolimerização

defosforilação permite reassociação das **laminas** e interação com proteínas integrais do **envelope** durante a reconstrução deste