

DNA e Cromossomos

A vida depende da capacidade das células em armazenar, recuperar e traduzir as instruções genéticas necessárias para produzir e manter o organismo vivo. Essa informação hereditária é passada de uma célula para a célula-filha durante a divisão celular e de geração em geração dos organismos por meio de suas células reprodutivas. Essas instruções são armazenadas dentro de cada célula viva em seus *genes* – os elementos que contêm as informações que determinam as características de uma espécie como um todo e de cada indivíduo.

No início do século XX, quando a genética surgiu como uma ciência, os cientistas ficaram intrigados com a natureza química dos genes. A informação nos genes é copiada e transmitida de uma célula para a célula-filha milhões de vezes durante a vida de um organismo multicelular e sobrevive a esse processo sem alteração. Que tipo de molécula poderia ser capaz de tal replicação tão acurada ilimitada, bem como ser capaz de dirigir o desenvolvimento do organismo e a vida diária de uma célula? Que tipos de instruções estão contidos na informação genética? Como essas instruções estão fisicamente organizadas de modo que a grande quantidade de informação necessária para o desenvolvimento e a manutenção, mesmo do mais simples organismo, possa estar contida em um espaço tão pequeno de uma célula?

As respostas para algumas dessas questões surgiram na década de 1940 quando foi descoberto, a partir de estudos com fungos simples, que a informação genética consistia, principalmente, em instruções para a produção de proteínas. As proteínas são macromoléculas que realizam a maioria das funções celulares, atuam como blocos na formação das estruturas celulares, formam as enzimas que catalisam todas as reações químicas celulares, regulam a expressão gênica e permitem que as células se movam e se comuniquem umas com as outras. É difícil imaginar que outro tipo de instruções a informação genética poderia conter.

O outro avanço crucial que ocorreu na década de 1940 foi o reconhecimento de que o ácido desoxirribonucleico (DNA) era, provavelmente, o por-

A ESTRUTURA E A FUNÇÃO DO DNA

A ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS EUCARIÓTICOS

A REGULAÇÃO DA ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS

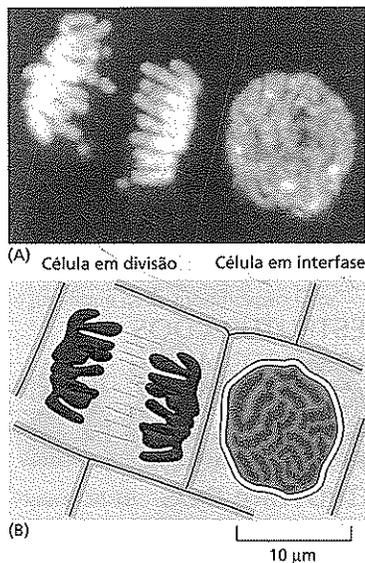


Figura 5-1 Os cromossomos se tornam visíveis quando a célula se prepara para dividir-se. (A) Duas células vegetais adjacentes fotografadas com microscópio de luz direta. O DNA foi corado com um corante fluorescente que se liga a ele (DAPI). O DNA está presente nos cromossomos, os quais se tornam visíveis como estruturas distintas ao microscópio de luz direta somente quando formam estruturas compactas na preparação para a divisão celular, como mostra a fotografia da esquerda. A célula à direita, a qual não está em divisão, contém os mesmos cromossomos. Eles não podem ser distinguidos em cromossomos individuais ao microscópio de luz direta nessa fase do ciclo celular porque seu DNA está em uma conformação muito mais relaxada. (B) Diagrama esquemático das duas células com seus cromossomos. (A, cortesia de Peter Shaw).

tador dessa informação genética. O mecanismo pelo qual a informação hereditária era copiada para ser transmitida de célula para célula e como as proteínas eram especificadas pelas instruções do DNA permaneceu um mistério até 1953, quando foi determinada a estrutura do DNA por James Watson e Francis Crick. A estrutura revelou imediatamente como o DNA pode ser copiado ou replicado e forneceu os primeiros indícios a respeito de como a molécula de DNA pode codificar as instruções para a produção de proteínas. Hoje, o fato de que o DNA é o material genético é tão fundamental para o pensamento biológico que é difícil perceber o enorme espaço intelectual que foi preenchido por essa descoberta.

Neste capítulo, iniciaremos descrevendo a estrutura do DNA. Veremos como, apesar de sua simplicidade química, a estrutura e as propriedades químicas do DNA o tornam apropriado como material básico dos genes. Os genes de cada célula na Terra são feitos de DNA, e o discernimento a respeito do relacionamento entre o DNA e os genes vieram de experimentos com uma variedade de organismos. Consideraremos como os genes e outros importantes segmentos do DNA estão organizados nas longas moléculas de DNA presente nos cromossomos. Finalmente, discutiremos como as células eucarióticas dobram essas longas moléculas de DNA em cromossomos compactos. Esse empacotamento deve ser realizado de forma ordenada de modo que os cromossomos possam ser replicados e divididos corretamente entre as duas células-filhas em cada divisão celular. A estrutura deve permitir o acesso, ao DNA cromossomal, de enzimas de reparo, para que possam realizar sua função quando o mesmo se encontra danificado, e de proteínas especializadas que controlam a expressão de seus muitos genes.

Este é o primeiro de cinco capítulos que tratarão dos mecanismos genéticos básicos, o modo pelo qual as células replicam, reparam, expressam e ocasionalmente melhoram a informação genética contida em seu DNA. A totalidade dessa informação em cada célula é denominada *genoma*. No Capítulo 6, discutiremos os mecanismos pelos quais as células replicam e reparam precisamente seu DNA e também descreveremos como as sequências de DNA podem ser reorganizadas por meio do processo de recombinação gênica. A expressão gênica, o processo pelo qual a informação codificada no DNA é interpretada pela célula para coordenar a síntese proteica, é principal assunto do Capítulo 7. No Capítulo 8, descreveremos como a expressão gênica é controlada pela célula para assegurar que cada uma das milhares de proteínas codificadas no DNA seja produzida no tempo e no local apropriados durante a vida da célula. Passaremos a discutir no Capítulo 9 como os genes atuais e o genoma evoluíram e seus ancestrais. Uma série de técnicas experimentais usadas para estudar o DNA e o seu papel nesses processos celulares fundamentais será apresentada no Capítulo 10.

A ESTRUTURA E A FUNÇÃO DO DNA

Muito antes de que os biólogos entendessem a estrutura do DNA, eles haviam reconhecido que as características hereditárias e os genes que as determinam estavam associados aos cromossomos. Os cromossomos (assim denominados do grego *chroma*, "cor", por suas propriedades de coloração), foram descobertos no século XIX como estruturas em forma de cordão do núcleo das células eucarióticas que se tornavam visíveis quando as células começavam a dividir-se (Figura 5-1). Quando foi possível realizar uma análise bioquímica, os pesquisadores descobriram que os cromossomos continham o DNA e proteínas. No entanto, ainda não estava claro qual desses componentes codificava a informação genética dos organismos.

Agora sabemos que o DNA contém a informação hereditária das células e que as proteínas que compõem os cromossomos atuam principalmente para compactar e controlar essas enormes moléculas de DNA. No entanto, os biólogos na década de 1940 tinham dificuldade em aceitar que o DNA conti-

nha o material genético em virtude da sua aparente simplicidade química (ver *Como Sabemos*, p. 174-176). Acreditava-se que o DNA era apenas um longo polímero composto de somente quatro tipos de subunidades quimicamente muito similares.

Então, no início da década de 1950, o DNA foi examinado pela análise de difração de raios X, uma técnica para determinar a estrutura atômica tridimensional de uma molécula (discutido no Capítulo 4, p. 158-160). Os primeiros resultados da difração de raios X indicaram que o DNA era composto de duas fitas torcidas em uma hélice. A observação de que o DNA era composto por uma fita dupla foi de crucial significância. Ela forneceu uma das principais dicas que levaram, em 1953, ao modelo correto da estrutura do DNA.

Logo após o modelo de Watson-Crick da estrutura do DNA ter sido proposto, o potencial para replicação e codificação da informação se tornou aparente. Nesta seção, discutiremos a estrutura da molécula de DNA e explicaremos em termos gerais como ela é capaz de armazenar a informação hereditária.

A molécula de DNA consiste em duas cadeias nucleotídicas complementares

A molécula de **ácido desoxirribonucleico (DNA)** consiste em duas longas cadeias polinucleotídicas. Cada uma dessas *cadeias de DNA* ou *fitas de DNA* é composta de quatro tipos de subunidades de nucleotídeos, e as duas cadeias são unidas por pontes de hidrogênio entre as bases dos nucleotídeos (Figura 5-2; ver Paine 2-7, p. 76-77, para uma descrição das pontes de hidrogênio). Como vimos no Capítulo 2 (Paine 2-6, p. 74-75), os nucleotídeos são compostos por um açúcar de cinco carbonos aos quais estão ligados um ou

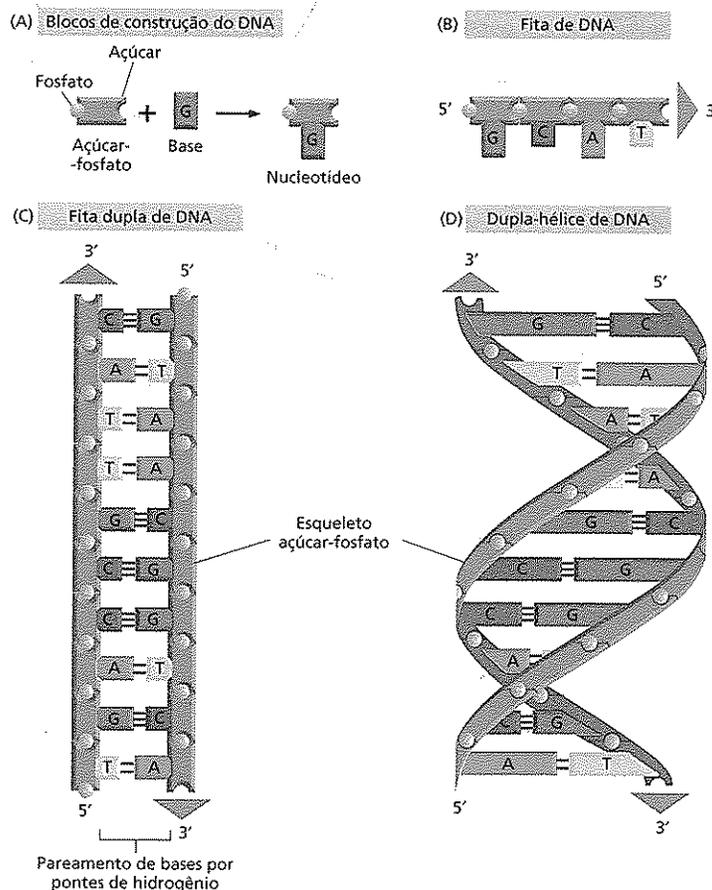


Figura 5-2 O DNA é formado por blocos de construção de quatro nucleotídeos. (A) Cada nucleotídeo é composto de um açúcar-fosfato covalentemente ligado a uma base. (B) Os nucleotídeos são covalentemente ligados em cadeias polinucleotídicas com um esqueleto de açúcar-fosfato de onde as bases (A, C, G e T) se estendem. A molécula de DNA é composta de duas cadeias polinucleotídicas (fitas de DNA) unidas por pontes de hidrogênio entre os pares de bases. As setas na fita de DNA indicam a polaridade das duas fitas, as quais são antiparalelas na molécula de DNA. Embora o DNA esteja representado na forma achatada (C), na realidade, ele se torce em uma dupla-hélice (D).

COMO SABEMOS: OS GENES SÃO FEITOS DE DNA

Em 1920, os cientistas acreditavam que os genes estavam localizados nos cromossomos e sabiam que os cromossomos eram compostos por DNA e proteínas. Em virtude do fato de o DNA ser quimicamente simples, os pesquisadores assumiram naturalmente que os genes tinham de ser feitos de proteínas, as quais eram quimicamente mais diversas. Mesmo quando as evidências dos experimentos sugeriram o contrário, foi difícil de aceitar.

Mensagens dos mortos

O caso do DNA começou a tomar forma no final da década de 1920, quando um médico britânico chamado de Fred Griffith fez uma descoberta fantástica. Ele estava estudando a bactéria *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo), que causa a pneumonia. Como os antibióticos ainda não tinham sido descobertos, a infecção por esse microrganis-

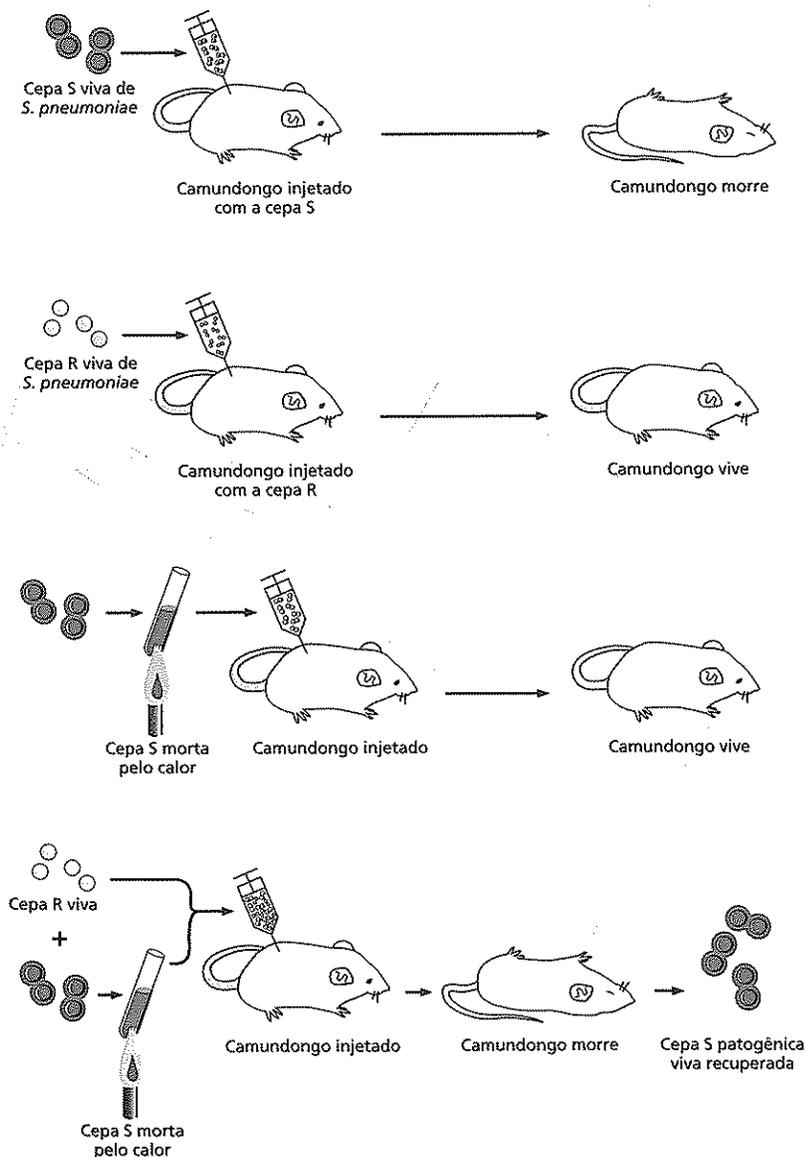


Figura 5-3 Griffith demonstrou que as bactérias mortas pelo calor poderiam transformar células vivas. A bactéria *Streptococcus pneumoniae* apresenta duas formas que diferem por sua aparência ao microscópio e por sua capacidade de causar doença. Células da cepa patogênica, que são letais quando injetadas em camundongos, são encerradas por uma cápsula de polissacarídeo lisa e brilhante. Quando cultivadas em placas, essas bactérias causadoras de doença formam colônias lisas em forma de cúpula, denominadas S (de *smooth* = lisa). A cepa inofensiva de pneumococo, por outro lado, não possui essa cobertura protetora e forma colônias achatadas e rugosas; por isso, a denominação de R (de *rough* = rugosa). Griffith observou que a substância presente na cepa S patogênica poderia mudar permanentemente, ou transformar a cepa R não letal em uma cepa S letal.

mo é
tório
nica,
anim
pelo

prep
trou
mori
surp
lulas
fensi
uma
pneu
de b
moc
verti
Griff
podí
man
mist
téria
prog

Faz

As c
expe
de q
ta a
Griff
deri
tura
patc
cola
cass
extr
era i
mar
que
gen

do c
teria
do j
quis
prin
desc
para
bolt
gué
O m
Eles
toda

mo era normalmente fatal. Quando cultivadas em laboratório, a bactéria tomava duas formas, uma forma *patogênica*, que causava uma infecção letal quando injetada em animais, e uma inofensiva, que era facilmente eliminada pelo sistema imune do animal, sem produzir infecção.

Durante a sua investigação, Griffith injetou várias preparações dessa bactéria em camundongos. Ele mostrou que os pneumococos patogênicos que tinham sido mortos pelo calor não eram capazes de causar infecção. A surpresa veio quando Griffith injetou os dois tipos de células, a patogênica, morta pelo calor, e a bactéria viva inofensiva no mesmo camundongo. Essa mistura mostrou ser uma combinação letal: o animal não somente morreu de pneumonia, mas Griffith viu que seu sangue estava repleto de bactéria viva da forma patogênica (Figura 5-3). O pneumococo morto pelo calor tinha, de alguma forma, convertido a bactéria inócua em uma forma letal. Além disso, Griffith observou que as mudanças eram permanentes: ele podia cultivar essas bactérias "transformadas" e elas permaneciam patogênicas. Entretanto, qual era esse material misterioso que tornava a bactéria inofensiva em uma bactéria letal? E como essas mudanças eram passadas para a progênie?

Fazendo bolhas

As descobertas marcantes de Griffith deram início aos experimentos que iriam fornecer as primeiras evidências de que os genes eram feitos de DNA. Um bacteriologista americano, Oswald Avery, seguindo os trabalhos de Griffith, descobriu que os pneumococos inofensivos poderiam ser transformados em cepas patogênicas em cultura, pela exposição a um extrato preparado com a cepa patogênica. Levou mais 15 anos para que Avery e seus colaboradores, Colin MacLeod e Maclyn McCarty, purificassem com sucesso o "princípio transformante" desse extrato solúvel e para demonstrar que o ingrediente ativo era o DNA. Em virtude do fato de que o princípio transformante causava uma mudança hereditária para a bactéria que o recebia, o DNA deveria ser o material do qual os genes eram feitos.

Os 15 anos de atraso foram, em parte, decorrentes do clima acadêmico e a suposição difundida de que o material genético era constituído por proteínas. Em virtude do potencial das ramificações de seu trabalho, os pesquisadores queriam estar absolutamente certos de que o princípio transformante era o DNA antes de anunciar suas descobertas. Como Avery chamou a atenção em uma carta para seu irmão, também bacteriologista: "É divertido fazer bolhas, mas é mais interessante estourá-las antes que alguém tente fazê-lo". Assim, os pesquisadores submeteram o material a uma bateria de testes químicos (Figura 5-4). Eles encontraram que o princípio transformante exibia todas as propriedades químicas características do DNA.

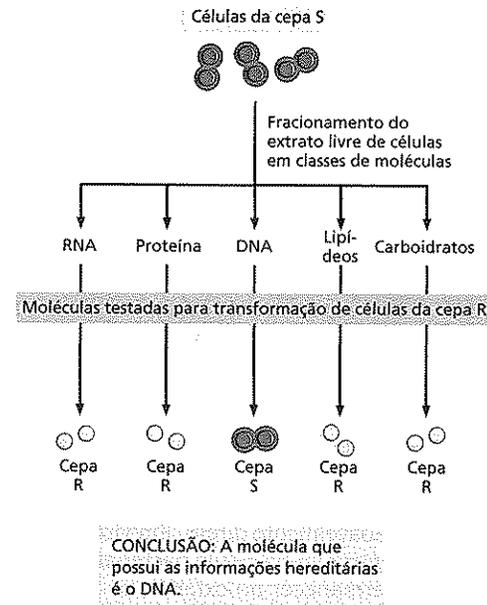


Figura 5-4 Avery, MacLeod e McCarty demonstraram que o DNA é o material genético. Esses pesquisadores prepararam um extrato da cepa S causadora de doença e mostraram que o "princípio transformante" que iria mudar permanentemente a cepa de pneumococo R inofensiva na cepa S patogênica era o DNA. Essa foi a primeira evidência de que o DNA poderia servir como material genético.

Além disso, eles mostraram que as enzimas que destroem proteínas e RNA não afetavam a capacidade de transformar bactérias, e as enzimas que degradavam o DNA inativavam esse material. Os investigadores encontraram que sua preparação purificada alterava permanentemente a bactéria, da mesma forma que Griffith já havia descrito. O DNA das cepas patogênicas era adquirido pelas cepas inofensivas, e essas mudanças eram passadas para as gerações bacterianas subsequentes.

Esse estudo marcante apresentou provas rigorosas de que o DNA purificado poderia atuar como o material genético. No entanto, o trabalho resultante na publicação de 1944 não chamou muito a atenção. Apesar do cuidado metucioso com que esses experimentos foram conduzidos, os geneticistas não foram imediatamente convencidos de que o DNA era o material hereditário. Muitos argumentavam que a transformação poderia ter sido causada por algum traço de proteína contaminante nas preparações, ou que o extrato poderia conter um mutagênico que alterava o material genético da bactéria inofensiva, convertendo-a na forma patogênica, em vez de conter o material genético.

Coquetel de vírus

O debate não foi definitivamente concluído até 1952, quando Alfred Hershey e Martha Chase iniciaram experimentos em seu laboratório e demonstraram de uma vez por todas que os genes eram feitos de DNA. Os pesquisadores estudavam o T2, um vírus que infecta e, finalmente, destrói a bactéria *E. coli*. Esses vírus que matam bactérias se comportam como pequenas seringas moleculares. Eles injetam seu material genético na célula hospedeira enquanto a cabeça do vírus vazio permanece fora da bactéria infectada (Figura 5-5A). Uma vez dentro da célula, os genes virais dirigem a formação de novas partículas virais. Em menos de uma hora, a célula infectada explodia, liberando milhares de novos vírus no meio. Esses, então, infectam as bactérias vizinhas, e o processo se repete.

A beleza do sistema T2 é que esses vírus contêm somente dois tipos de moléculas: DNA e proteínas. Assim, o material genético tem de ser um dos dois, mas qual? O experimento foi razoavelmente direto. Em virtude do fato de os genes virais entrarem na célula bacteriana e o resto da partícula viral permanecer no exterior, os pesquisadores decidiram marcar a proteína radioativamente em um lote do vírus e o DNA em outro. Tudo que eles tinham de fazer

era detectar a radioatividade para verificar se o DNA ou a proteína se encontravam dentro da bactéria. Para isso, Hershey e Chase incubaram seus vírus radiomarcados com *E. coli*; após esperar alguns minutos, para permitir a infecção, eles colocaram a mistura em um liquidificador. O liquidificador retirou as cabeças vazias dos vírus da superfície das células bacterianas. Os pesquisadores centrifugaram a amostra para separar as mais pesadas, bactérias infectadas que formaram um precipitado no fundo do tubo das partículas virais vazias, as quais permaneceram em suspensão (Figura 5-5B).

Como você já deve ter adivinhado, Hershey e Chase concluíram que o material radioativo era o DNA que entrava nas células bacterianas, enquanto as proteínas radioativas permaneciam nas cabeças dos vírus vazias. Eles também observaram que esse DNA marcado radioativamente também era incorporado à próxima geração de partículas virais.

Esse experimento demonstrou conclusivamente que o DNA viral entrava na célula hospedeira bacteriana, e as proteínas virais, não. Assim, o material genético desses vírus tinha de ser feito de DNA. Junto com os estudos realizados por Avery, MacLeod e McCarty, essas evidências concluíram o caso de que o DNA era o agente hereditário.

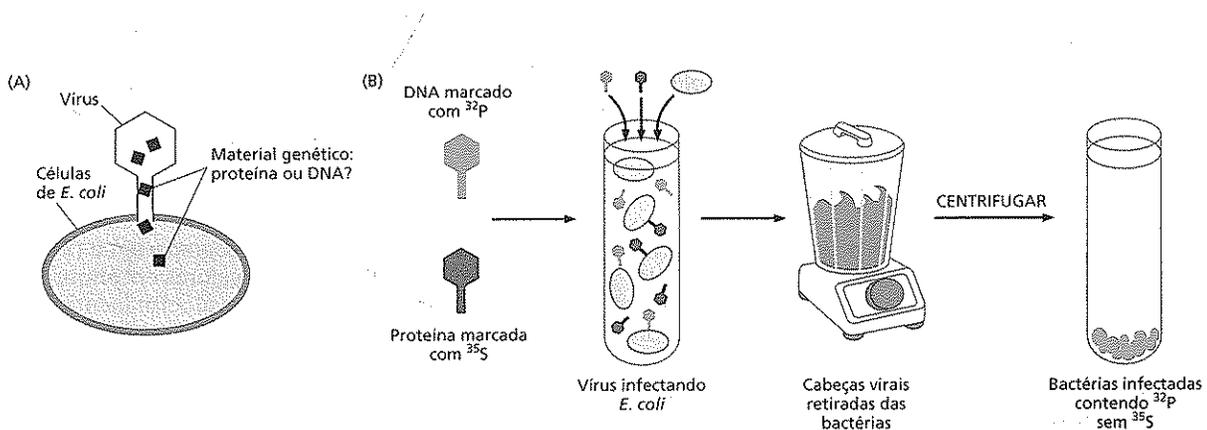
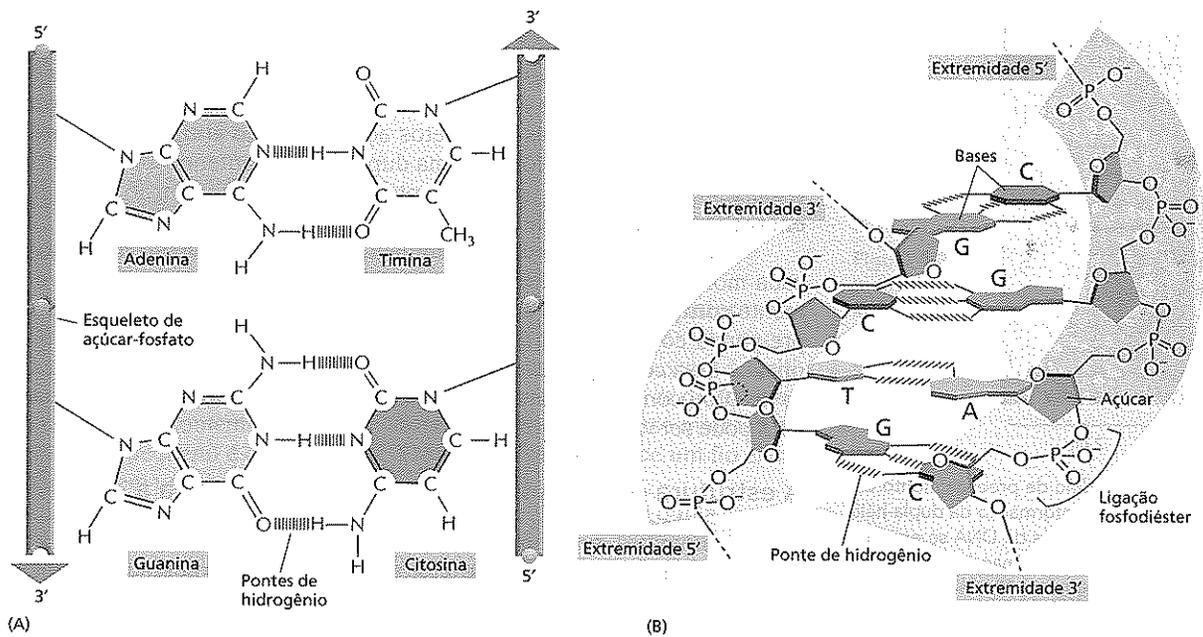


Figura 5-5 Hershey e Chase demonstraram definitivamente que os genes são feitos de DNA. (A) Os pesquisadores trabalharam com o vírus T2, o qual é constituído por proteína e DNA. Cada vírus atua como uma seringa molecular, injetando seu material genético na bactéria. A cápsula viral vazia permanece ligada ao exterior da célula bacteriana. (B) Para determinar se o material genético do vírus era proteína ou DNA, os pesquisadores marcaram radioativamente o DNA de um lote de vírus com ^{32}P e as proteínas de um segundo lote de vírus com ^{35}S . Como o DNA não possui enxofre e as proteínas não possuem fósforo, esses isótopos radioativos proporcionaram uma maneira fácil para que os pesquisadores distinguíssem esses dois tipos de moléculas. Esses vírus marcados foram usados para infectar *E. coli*, e a mistura foi rompida brevemente em um liquidificador para separar a bactéria infectada das cápsulas virais vazias. Quando os pesquisadores mediram a radioatividade, eles encontraram que a maioria do DNA marcado com ^{32}P havia entrado nas células bacterianas, ao passo que a maioria das proteínas marcadas com ^{35}S permanecia em solução com o restante das partículas virais.

mais
tídeos
(por i
citosi
mentu
"esqu
polim
tipos
base c
(A, C,
com s

fita de
possu
cadeia
todas
duas
depre
de da
conve
nucle

por p
estão,
para c
pareia
forma
base
denor
de ba
rável



mais grupos fosfato e uma base contendo nitrogênio. Nos casos dos nucleotídeos no DNA, o açúcar é uma desoxirribose ligada a um único grupo fosfato (por isso, o nome ácido desoxirribonucleico), e a base pode ser *adenina* (A), *citocina* (C), *guanina* (G) ou *timina* (T). Os nucleotídeos são unidos covalentemente em uma cadeia por meio dos açúcares e fosfatos, os quais formam um "esqueleto" com açúcares e fosfatos alternados (ver Figura 5-2B). Cada cadeia polinucleotídica do DNA pode ser comparada com um colar contendo quatro tipos de contas diferentes (as quatro bases A, C, G e T), porque é somente a base que difere nas quatro subunidades nucleotídicas. Esses mesmos símbolos (A, C, G e T) são também usados para identificar os quatro nucleotídeos, isto é, com seu açúcar e seu fosfato.

A forma pela qual as subunidades nucleotídicas são unidas fornece à fita de DNA uma polaridade química. Se imaginarmos que cada nucleotídeo possui uma protuberância (o fosfato) e uma depressão (ver Figura 5-2A), cada cadeia completa formada pelo encaixe de protuberâncias e depressões terá todas as suas subunidades alinhadas e na mesma orientação. Além disso, as duas extremidades da cadeia são facilmente distinguíveis, pois uma possui a depressão (hidroxila 3'), e a outra, a protuberância (fosfato 5'). Essa polaridade da cadeia de DNA é indicada como extremidade 3' e extremidade 5'. Essa convenção se baseia nos detalhes da ligação química entre as subunidades nucleotídicas.

As duas cadeias polinucleotídicas da **dupla-hélice** de DNA são unidas por pontes de hidrogênio entre as bases das diferentes fitas. Todas as bases estão, portanto, no interior da hélice com os açúcares de fosfatos voltados para o exterior (ver Figura 5-2D). As bases não pareiam ao acaso: A sempre pareia com T, e C sempre pareia com G (Figura 5-6). Em cada caso, uma base formada por dois anéis (uma purina, ver Painel 2-6, p. 74-75) pareia com uma base de um único anel (uma pirimidina). Esses pares purina-pirimidina são denominados **pares de bases**, e esta *complementaridade de pareamento de bases* permite que eles sejam compactados em um arranjo mais favorável energeticamente no interior da fita dupla. Nesse arranjo, cada par de

Figura 5-6 As duas fitas da dupla-hélice de DNA são unidas por pontes de hidrogênio entre os pares de bases complementares. (A) A forma e a estrutura química das bases permitem que a formação de pontes de hidrogênio seja eficiente somente entre A e T e entre C e G, onde os átomos que são capazes de formar pontes de hidrogênio (ver Painel 2-2, p. 66-67) podem aproximar-se sem perturbar a dupla-hélice. Duas pontes de hidrogênio se formam entre A e T e três entre C e G. As bases podem parar dessa forma apenas se as duas cadeias polinucleotídicas estiverem na posição antiparalela, isto é, orientadas em polaridades opostas. (B) Uma pequena seção da dupla-hélice vista lateralmente. São apresentados quatro pares de bases. Os nucleotídeos são ligados covalentemente por ligações fosfodiéster pelo grupo 3'-hidroxila (-OH) de um açúcar e o 5'-fosfato (-PO₄) do próximo. Essa ligação confere a polaridade química de cada fita polinucleotídica, isto é, as duas extremidades são quimicamente diferentes. A extremidade 3' possui um grupo -OH livre ligado à posição 3' do anel do açúcar. A extremidade 5' possui um grupo fosfato livre ligado à posição 5' do anel do açúcar.

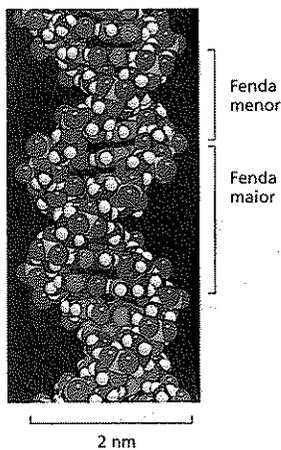


Figura 5-7 O modelo de preenchimento espacial apresenta a conformação da dupla-hélice de DNA. As duas fitas de DNA se enrolam uma ao redor da outra formando uma hélice que gira para a direita com 10 bases por volta. Na figura, está apresentada uma volta e meia de uma dupla-hélice de DNA. O enrolamento das duas fitas uma ao redor da outra cria duas fendas na dupla-hélice. A fenda mais larga é chamada de fenda maior, e a menor, de fenda menor. As cores dos átomos são: N = azul; O = vermelho; P = amarelo e H = branco.

bases tem largura similar, mantendo o esqueleto de fosfatos e açúcares em distâncias iguais ao longo da molécula de DNA. Os membros de cada par de bases podem encaixar perfeitamente na dupla-hélice porque as duas hélices são antiparalelas, isto é, elas são orientadas com as polaridades opostas (ver Figura 5-2C e D). Os dois esqueletos açúcar-fosfato antiparalelos torcem ao redor um do outro para formar uma dupla-hélice contendo 10 bases por volta (Figura 5-7). Essa torção também contribui para a conformação mais favorável energeticamente da dupla-hélice de DNA.

Uma consequência desses requisitos para o pareamento das bases é que cada molécula de DNA contenha uma sequência de nucleotídeos que é exatamente **complementar** à sequência nucleotídica da fita antiparalela. Um A sempre pareia com um T na fita oposta, e um C sempre pareia com um G na fita oposta. Essa complementaridade é de crucial importância para a cópia e o reparo do DNA, como será visto no Capítulo 6. Uma versão animada da estrutura do DNA pode ser vista na Animação 5.1.

A estrutura do DNA fornece um mecanismo para a hereditariedade

Os genes contêm a informação biológica que deve ser copiada e transmitida com precisão quando as células se dividem para formar duas células-filhas. Essa situação impõe dois problemas biológicos: como a informação genética para especificar um organismo pode estar contida em uma forma química e como ela pode ser copiada com precisão? A descoberta da estrutura da dupla-hélice de DNA foi um marco na biologia do século XX porque permitiu respostas imediatas a essas duas questões e, portanto, resolveu, em nível molecular, os problemas de hereditariedade. Neste capítulo, salientaremos a resposta à primeira questão, e no próximo capítulo veremos em detalhes a resposta da segunda questão.

O DNA codifica a informação na ordem ou sequência de nucleotídeos ao longo de cada fita. Cada base – A, C, T ou G – pode ser considerada como uma letra em um alfabeto de quatro letras que é usado para escrever as mensagens biológicas na estrutura química do DNA (Figura 5-8). Os organismos diferem uns dos outros porque as suas respectivas moléculas de DNA possuem diferentes *seqüências nucleotídicas* e, conseqüentemente, diferentes mensagens biológicas. Como o alfabeto de nucleotídeos é usado para construir as mensagens e como ela é escrita?

Já foi estabelecido, mesmo antes da determinação da estrutura do DNA, que os genes contêm as instruções para a produção de proteínas. As mensagens no DNA, portanto, devem de alguma forma, codificar proteínas. Considerando o caráter químico das proteínas, o problema fica mais fácil de ser definido. Como discutido no Capítulo 4, a função de uma proteína é determinada por sua estrutura tridimensional, e sua estrutura, por sua vez, é determinada pela sequência de aminoácidos de sua cadeia polipeptídica. A sequência linear de nucleotídeos em um gene deve, portanto, de alguma forma, ditar a sequência de aminoácidos da proteína.

A correspondência exata entre o alfabeto de quatro letras de nucleotídeos do DNA e das 20 letras do alfabeto de aminoácidos das proteínas – o *código genético* – não é óbvia a partir da estrutura da molécula de DNA, e levou mais de uma década após a descoberta da fita dupla para que o mesmo fosse estabelecido. No Capítulo 7, descrevemos esse código em detalhes no processo conhecido como *expressão gênica*, pelo qual uma célula *transcreve* a sequência de nucleotídeos de um gene em uma molécula de RNA e então *traduz* essa informação na sequência de aminoácidos de uma proteína (Figura 5-9).

A série completa de informações no DNA de um organismo é denominada **genoma** (o termo é também usado para se referir ao DNA que carrega essa informação). A quantidade total dessa informação é surpreendente: a sequência de nucleotídeos de um gene humano pequeno, escrita com o alfabeto de nucleotídeos de quatro letras, ocupa um quarto de uma página de texto, enquanto

QUESTÃO 5-1

Qual das seguintes afirmativas está correta? Explique sua resposta.

- A. Uma fita de DNA possui polaridade porque uma das extremidades da fita é mais carregada do que a outra.
- B. Os pares de bases G-C são mais estáveis do que os pares de bases A-T.

a sequ
taman
cromo
habilita
respos

A ES
EUC

Grand
neces
sário j
celula
núcle
um es
mame

pacot
cleo,
a cada
do DN
produ
ciona
o DN,
todas
seus

DNA
mas
quen
não a
e pot
estru
crom

O D
crom

Nos
difer
dame
somo
teína
com
prote
dos
no re

célu
cada
mãe
são
hom
herd

dem
mos
DNA

a sequência completa do genoma humano preenche mais de 1.000 livros do tamanho deste. Aqui reside um problema que afeta a arquitetura de todos os cromossomos eucarióticos: como toda essa informação pode ser compactada habilmente em cada núcleo celular? No restante deste capítulo, discutiremos as respostas a essas questões.

A ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS EUCARIÓTICOS

Grandes quantidades de DNA são necessárias para codificar toda a informação necessária para fazer uma bactéria de célula única, e muito mais DNA é necessário para codificar as instruções para o desenvolvimento de organismos multicelulares como o nosso. Cada célula humana contém cerca de 2 m de DNA, e o núcleo celular tem somente 5-8 μm de diâmetro. Dobrar todo esse material em um espaço tão pequeno é o equivalente a tentar dobrar 40 km de um fio extremamente fino em uma bola de tênis.

Nas células eucarióticas, enormes moléculas de DNA de fita dupla são empacotadas em **cromossomos**, que não apenas se encaixam facilmente no núcleo, mas podem também ser facilmente divididos entre as duas células-filhas a cada divisão celular. Como veremos nesta seção, o complexo empacotamento do DNA é realizado por proteínas especializadas que se ligam e dobram o DNA, produzindo uma série de cordões e alças que permitem altos níveis organizacionais e que impedem que o DNA se torne emaranhado. Surpreendentemente, o DNA é compactado de uma forma ordenada e que pode tornar-se acessível a todas as enzimas e outras proteínas para sua replicação, reparo e expressão de seus genes.

As bactérias tipicamente possuem seus genes em uma única molécula de DNA circular. Esse DNA é também associado a proteínas que condensam o DNA, mas difere das proteínas que empacotam o DNA eucariótico. Embora seja frequentemente denominado "cromossomo" bacteriano, esse DNA procariótico não apresenta a mesma estrutura do que o DNA dos cromossomos eucarióticos, e pouco se sabe a respeito de sua compactação. Nossa discussão a respeito da estrutura dos cromossomos neste capítulo será exclusivamente em relação ao cromossomo eucariótico.

O DNA de eucarioto é empacotado em múltiplos cromossomos

Nos eucariotos, como nós, o DNA do núcleo está distribuído em um grupo de diferentes cromossomos. O genoma humano, por exemplo, contém aproximadamente $3,2 \times 10^9$ nucleotídeos distribuídos em 24 cromossomos. Cada cromossomo consiste em uma única e enorme molécula de DNA linear associada a proteínas que compactam e dobram o fino cordão de DNA em uma estrutura mais compacta. O complexo de DNA e proteínas é denominado *cromatina*. Além das proteínas envolvidas na compactação do DNA, os cromossomos estão associados a outras proteínas envolvidas na expressão gênica, na replicação do DNA e no reparo do DNA.

Com exceção das células germinativas (espermatozoides e óvulos) e das células altamente especializadas que não possuem DNA (como os eritrócitos), cada célula humana contém duas cópias de cada cromossomo, uma herdada da mãe e a outra herdada do pai. Os cromossomos maternos e paternos de um par são denominados *cromossomos homólogos*. O único par de cromossomos não homólogos são os cromossomos sexuais nos machos, onde o *cromossomo Y* é herdado do pai e um *cromossomo X* é herdado da mãe.

Além de serem de diferentes tamanhos, os cromossomos humanos podem ser distinguidos uns dos outros por meio de várias técnicas. Cada cromossomo pode ser "pintado" com cores diferentes usando-se moléculas de DNA ligadas a corantes fluorescentes distintos (Figura 5-10) por meio da téc-

- (A) Biologia molecular é...
- (B)
- (C) - . - . - . - . - . - .
- (D) 细胞生物学乐趣无穷
- (E) TTCGAGCGACCTAACCTATAG

Figura 5-8 Mensagens lineares são apresentadas de diferentes formas. As linguagens aqui apresentadas são: (A) português, (B) escala musical (C) código Morse, (D) chinês e (E) DNA.

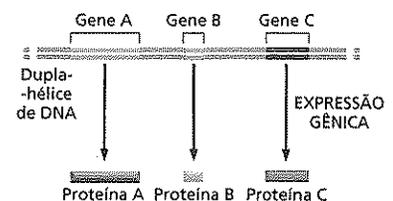
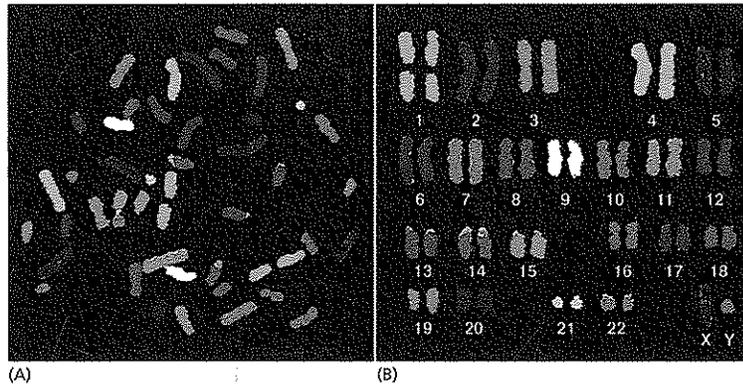


Figura 5-9 Os genes contêm a informação para a produção de proteínas. Como veremos no Capítulo 7, cada gene que codifica uma proteína é usado para produzir moléculas de RNA que então coordenam a produção de moléculas proteicas específicas. O RNA intermediário não está representado nesse diagrama.

Figura 5-10 Cada cromossomo humano pode ser "pintado" com uma cor diferente para permitir a identificação precisa sob microscópio de luz direta. Os cromossomos de um indivíduo do sexo masculino foram isolados de uma célula em divisão (mitose) e, portanto, em um estado altamente compactado. A coloração dos cromossomos é realizada pela exposição a uma série de moléculas de DNA humano que foram ligadas a uma combinação de corantes fluorescentes. Por exemplo, moléculas de DNA do cromossomo 1 são marcadas com uma combinação específica de corantes, aquelas do cromossomo 2 com outra combinação, e assim por diante. Como o DNA marcado pode formar pares de bases, ou hibridizar, somente com seu cromossomo de origem (discutido no Capítulo 10), cada cromossomo é diferentemente marcado. Para tais experimentos, os cromossomos estão sujeitos a tratamentos que separam a dupla-hélice de DNA em fitas individuais para permitir o pareamento de bases com o DNA de fita simples marcado, mantendo a estrutura do cromossomo relativamente intacta. (A) Cromossomos visualizados como estão nas células lisadas. (B) Os mesmos cromossomos artificialmente alinhados em ordem. Neste *cariótipo*, os cromossomos homólogos são numerados e organizados em pares. A presença do cromossomo Y indica que o DNA foi isolado de um indivíduo do sexo masculino. (De E. Schröck et al., *Science* 273:494-497, 1996. Com permissão da AAAS.)



nica de *hibridização de DNA* que será descrita em detalhes no Capítulo 10. A maneira mais tradicional de distinguir um cromossomo do outro é corar os cromossomos com corantes que se ligam a certos tipos de sequências de DNA. Esses corantes distinguem principalmente DNA rico em pares de nucleotídeos A-T e DNA rico em G-C, produzindo um padrão confiável de bandas ao longo de cada cromossomo (Figura 5-11). O padrão de bandas de cada tipo de cromossomo é único, permitindo que cada cromossomo seja identificado e numerado.

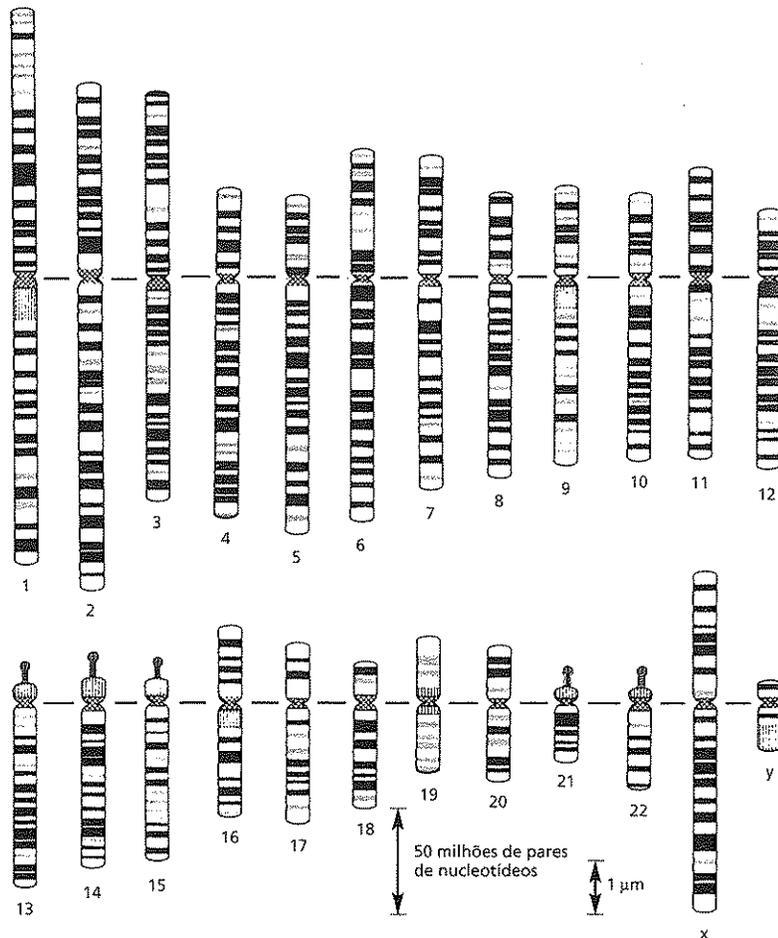


Figura 5-11 Padrão de bandeamento característico permite a identificação de cada cromossomo humano. Os cromossomos de 1 a 22 são numerados aproximadamente em ordem de tamanho. Uma típica célula somática humana (isto é, célula não germinativa) contém dois de cada um desses cromossomos mais dois cromossomos sexuais, dois cromossomos X no caso das fêmeas e um cromossomo X e um Y no caso dos machos. Os cromossomos usados para fazer esse mapeamento foram corados no início da mitose, quando o DNA está compactado, mas não tão compactado como estaria mais adiante nesse processo. A linha vermelha horizontal representa a posição do centrômero, o qual aparece como uma constricção nos cromossomos mitóticos. Os apêndices (vermelho) nos cromossomos 13, 14, 15, 21 e 22 indicam a posição dos genes que codificam para os grandes RNAs ribossomais (discutido no Capítulo 7). Esses padrões são obtidos pela coloração dos cromossomos com Giemsa, um corante que produz bandas escuras nas regiões ricas em pares de nucleotídeos A-T. (Adaptada de U. Franke, *Cytogenet. Cell Genet.* 31:24-32, 1981. Com permissão de S. Karger AG.)

Figuro. teriz norm senti do c os cr tado al. Si

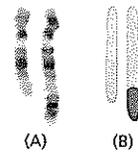
é de troc dan no p está nad

Os A fu func do c dete das) conl proc série últr

gani de g no h peci mos mos conl não cons ram não ser c qua de n te c func deta

mas exen men

Figura 5-12 Cromossomos anormais estão associados a algum defeito genético hereditário. (A) Um par de cromossomos 12 de um paciente com ataxia hereditária, uma doença caracterizada pela deterioração progressiva do sistema motor. O paciente tem um cromossomo 12 normal (esquerda) e um cromossomo 12 anormal, muito mais longo. O material adicional presente no cromossomo 12 alterado foi determinado, de seu padrão de bandas, como um pedaço do cromossomo 4 que se ligou de forma inapropriada ao cromossomo 12. (B) Neste diagrama, os cromossomos de (A) possuem o segmento correspondente ao DNA do cromossomo 4 "pintado" de vermelho, e o segmento correspondente ao cromossomo 12 em azul. (De E. Schröck et al. *Science* 273:494-497, 1996. Com permissão de AAAS.)



A apresentação de uma série completa dos 46 cromossomos humanos é denominada **cariótipo** humano. Se parte de um cromossomo é perdida ou trocada entre cromossomos, essas mudanças podem ser detectadas por mudanças nos padrões de bandeamento. Os citogeneticistas usam as alterações no padrão de bandeamento para detectar anormalidades cromossômicas que estão associadas com alguns defeitos hereditários (**Figura 5-12**) e com determinados tipos de câncer.

Os cromossomos contêm longas cadeias de genes

A função mais importante dos cromossomos é a de portar os genes, a unidade funcional da hereditariedade (**Figura 5-13**). Um **gene** é, normalmente, definido como um segmento de DNA que contém as instruções para produzir uma determinada proteína (ou, em alguns casos, uma série de proteínas relacionadas). Embora essa definição seja adequada à maioria dos genes, alguns genes controlam a produção de moléculas de RNA, em vez de proteínas como seu produto final. Como as proteínas, as moléculas de RNA desempenham uma série distinta de funções catalíticas e estruturais na célula, como veremos nos últimos capítulos.

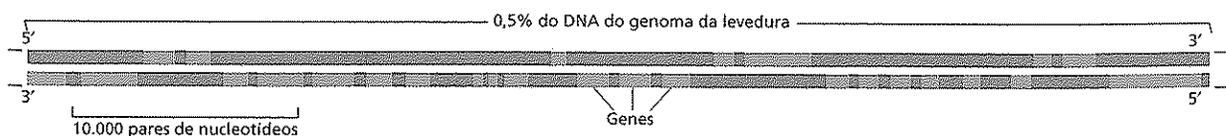
Como esperado, existe uma correlação entre a complexidade de um organismo e o número de genes em seu genoma. Por exemplo, o número total de genes varia entre menos de 500 em uma simples bactéria a cerca de 25.000 no homem. Bactérias e alguns eucariotos unicelulares possuem genoma especialmente compacto. As moléculas de DNA que compõem seus cromossomos são um pouco mais de um cordão de genes compactados muito próximos. Entretanto, os cromossomos de muitos eucariotos (incluindo humanos) contêm, além dos genes, um grande excesso de DNA intercalado que parece não portar nenhuma informação fundamental. Esse DNA é, algumas vezes, considerado "lixo de DNA", pois sua utilidade para a célula ainda não foi claramente demonstrada. Embora a sequência de nucleotídeo desse DNA possa não ser importante, o próprio DNA atuando como material espaçador pode ser crucial para a evolução a longo prazo de espécies e para a atividade adequada dos genes. Além disso, comparações entre as sequências genômicas de muitas espécies diferentes mostrou que parte desse DNA extra é altamente conservado entre espécies relacionadas, indicando que ele desempenha funções importantes, embora ainda não saibamos quais. Discutiremos isso detalhadamente no Capítulo 9.

Em geral, quanto mais complexo é um organismo, maior é seu genoma, mas esse relacionamento nem sempre é verdadeiro. O genoma humano, por exemplo, é 200 vezes maior do que o da levedura *S. cerevisiae*, mas 30 vezes menor do que algumas plantas e pelo menos 60 vezes menor do que algumas

QUESTÃO 5-2

Na dupla-hélice de DNA, os nucleotídeos adjacentes estão 0,34 nm de distância. Use a **Figura 5-11** para estimar a extensão do DNA do cromossomo 1 humano se ele estivesse esticado. Se o tamanho do cromossomo 1 na mitose é de 10 μm , qual é o grau de compactação do DNA nesse estágio?

Figura 5-13 Os genes estão organizados ao longo dos cromossomos. Esta figura mostra um pequeno segmento de um cromossomo da levedura *S. cerevisiae*. O genoma de *S. cerevisiae* contém cerca de 6.300 genes, mais de 12 milhões de pares de nucleotídeos dispersos em 16 cromossomos. Observe que, em cada gene, somente uma das duas fitas de DNA realmente codifica a informação para a produção de uma molécula de RNA ou proteína, e isso pode ocorrer em qualquer uma das fitas, como indicado pelas barras em vermelho-claro. Entretanto, os genes são geralmente representados nas duas fitas como complementares, como na **Figura 5-9**. A alta densidade de genes é característica dessas espécies.



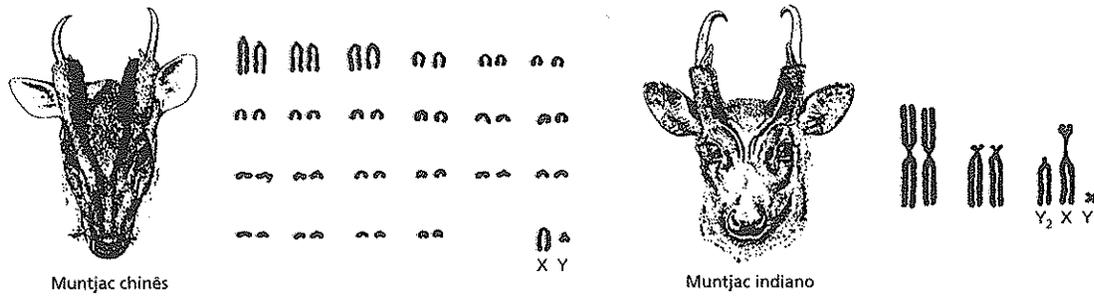


Figura 5-14 Espécies relacionadas podem apresentar números cromossômico bem diferentes. Durante a evolução do cervo indiano muntjac, os cromossomos que eram separados inicialmente se fundiram sem causar efeitos graves nos animais. Essas duas espécies possuem aproximadamente o mesmo número de genes. (De B.K. Hall e B.Hallgrímsson, Strickberger's Evolution, 4. ed. Sudbury, MA, 2008. Com permissão de Jones & Bartlett Publishers.)

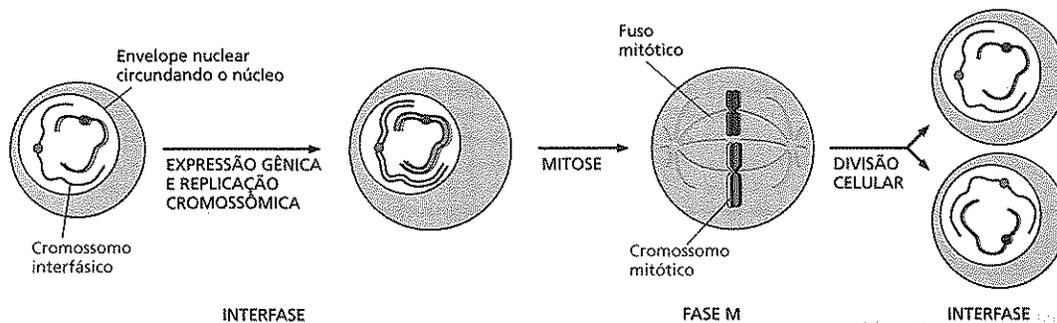
espécies de ameba. Além disso, como o DNA é dividido entre os cromossomos, também varia de uma espécie para outra. O homem possui 46 cromossomos, mas uma espécie de veado pequeno possui somente 6, ao passo que certas espécies de carpa possuem mais de 100. Espécies muito relacionadas com genomas de tamanho similar podem apresentar cromossomos que diferem em número e tamanho (Figura 5-14). Assim, embora o número de genes esteja grosseiramente relacionado com a complexidade da espécie, não há um relacionamento simples entre o número de genes, o número de cromossomos e o tamanho total do genoma. O genoma e os cromossomos das espécies modernas foram moldados por uma história exclusiva de eventos genéticos aparentemente aleatórios onde atuou a pressão seletiva.

Os cromossomos existem em diferentes formas durante a vida da célula

Figura 5-15 A replicação e a segregação dos cromossomos ocorrem de maneira ordenada durante o ciclo celular das células em proliferação. Durante a interfase, a célula está expressando seus genes ativamente. Durante a interfase, o DNA é replicado, e os cromossomos são duplicados. Uma vez terminada a replicação do DNA, a célula pode entrar na fase M, quando ocorre a mitose. A mitose é a divisão do núcleo. Durante esse estágio, os cromossomos condensam, a expressão gênica cessa, o envelope nuclear é degradado, e o fuso mitótico é formado pelos microtúbulos e por outras proteínas. Os cromossomos condensados são capturados pelo fuso mitótico, e uma série completa de cromossomos é puxada para os polos opostos da célula. O envelope nuclear se forma ao redor de cada grupo de cromossomos, e, no passo final da fase M, a célula se divide para formar duas células-filhas. Para simplificar, mostramos aqui apenas dois cromossomos.

Para formar um cromossomo funcional, uma molécula de DNA deve fazer mais do que simplesmente portar os genes; ela deve ser capaz de replicar, e as cópias replicadas devem ser separadas e divididas igualmente entre as células-filhas a cada divisão celular. Esses processos ocorrem por meio de uma série ordenada de eventos, conhecida como **ciclo celular**. Esse ciclo do crescimento e da divisão celular está resumido na Figura 5-15 e será discutido em detalhes no Capítulo 18. Somente dois desses estágios serão abordados neste capítulo: a *interfase*, quando os cromossomos são duplicados, e a *mitose*, quando eles são distribuídos para as duas células-filhas.

Durante a interfase, os cromossomos estão distendidos como longas e finas fitas emaranhadas de DNA no núcleo e não podem ser facilmente visualizados ao microscópio. Referimos-nos aos cromossomos nessa forma relaxada como *cromossomos interfásicos*. Sequências de DNA especializadas, encontradas em todas as células de eucariotos, asseguram que os cromossomos interfásicos repliquem eficientemente (Figura 5-16). Um tipo de sequência nucleotídica



atua
iníc
tas o
repl
trado
sequ
moss
prote
dos p

trutu
o *cro*
somo
os *cr*
se di
prese
perm
célul
são c

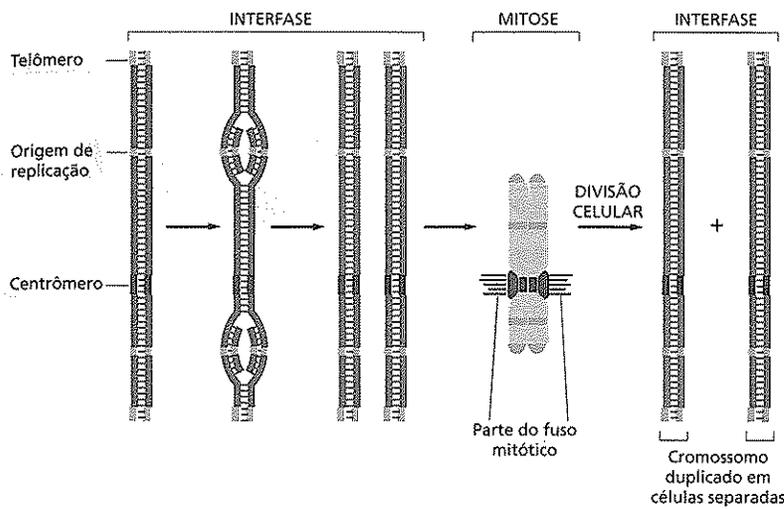


Figura 5-16 Três elementos das sequências de DNA são necessários para produzir um cromossomo eucariótico que pode ser replicado e então segregado durante a mitose. Cada cromossomo possui múltiplas origens de replicação, um centrômero e dois telômeros. No desenho esquemático, estão descritas as sequências de eventos que um cromossomo típico sofre durante o ciclo celular. O DNA replica na interfase, iniciando na origem de replicação e seguindo bidirecionalmente da origem por todo o cromossomo. Na fase M, o centrômero dos cromossomos duplicados é ligado ao fuso mitótico de modo que uma cópia de cada cromossomo é distribuída para cada célula-filha após a divisão celular. O centrômero também auxilia a manter os cromossomos duplicados juntos até que estejam prontos para serem separados. Os telômeros formam proteções especiais nas extremidades de cada cromossomo.

atua como **origem de replicação**, local em que a duplicação do DNA tem início, como discutido no Capítulo 6. Os cromossomos eucariotos contêm muitas origens de replicação para assegurar que o cromossomo inteiro possa ser replicado rapidamente. Outra sequência de DNA forma os **telômeros**, encontrados em cada uma das extremidades dos cromossomos. Os telômeros contêm sequências nucleotídicas repetidas que permite que as extremidades dos cromossomos sejam replicadas, como será discutido no Capítulo 6. Eles também protegem as extremidades dos cromossomos, impedindo que sejam confundidos pelas células como moléculas de DNA quebradas necessitando de reparo.

Quando o ciclo celular atinge a fase M, o DNA se torce, adquirindo uma estrutura mais compacta, até que sua estrutura mais altamente condensada, que é o **cromossomo mitótico**, tenha sido formada. Essa é a forma na qual os cromossomos são mais facilmente visualizados. Nesse estado altamente condensado, os cromossomos duplicados podem ser facilmente separados quando a célula se divide (ver Figura 5-16). Uma vez que o cromossomo está condensado, é a presença de uma terceira sequência de DNA especializada, o **centrômero**, que permite que uma cópia de cada cromossomo duplicado seja dividida para cada célula-filha (Figura 5-17). Descreveremos o papel central dos telômeros na divisão celular no Capítulo 18.

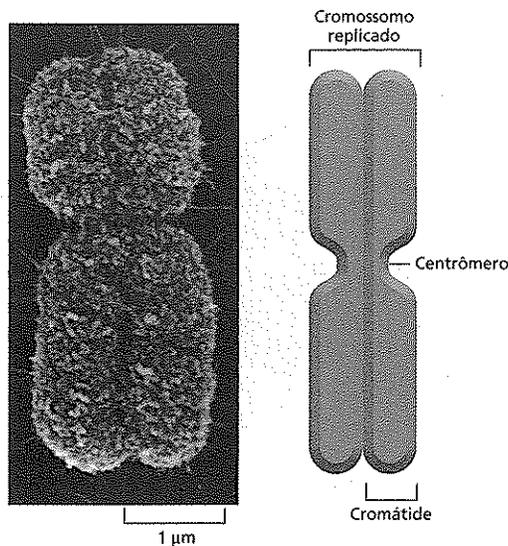
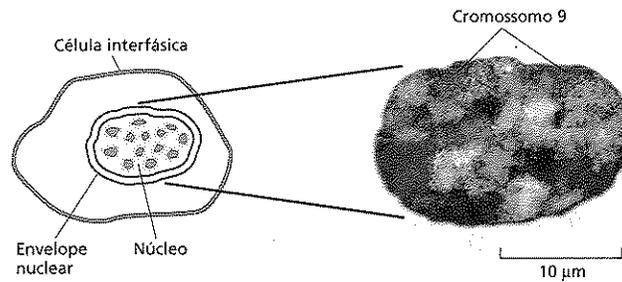


Figura 5-17 Típico cromossomo mitótico altamente compactado. Cada cromossomo mitótico contém duas moléculas de DNA idênticas porque são replicados durante a interfase (ver Figura 5-16). Cada uma dessas longas moléculas de DNA, juntamente com suas proteínas associadas, são denominadas **cromátide**. (A) Micrografia eletrônica de varredura de um cromossomo mitótico. As duas cromátides estão fortemente unidas. A região de constrição indica a posição do centrômero. (B) Desenho esquemático do cromossomo mitótico. (A, cortesia de Terry D. Allen.)

Figura 5-18 Os cromossomos interfásicos ocupam diferentes regiões no núcleo. Sondas de DNA ligadas a diferentes marcadores fluorescentes são usadas para pintar cromossomos interfásicos específicos em uma célula humana. Quando observado sob microscópio de fluorescência, cada cromossomo interfásico se localiza em territórios distintos dentro do núcleo, em vez de estarem misturados com outros cromossomos como um espaguete em uma tigela. Observe que os pares de cromossomos homólogos presentes em uma célula diploide (p. ex., as duas cópias do cromossomo 9 indicadas) geralmente não estão na mesma posição (De M.R. Speicher e N.P. Carter, *Nat. Rev. Genet.* 6:782-792, 2005. Com permissão de Macmillan Publishers Ltd.)



Os cromossomos interfásicos estão organizados no interior do núcleo

O núcleo é circundado por um *envelope nuclear* formado por duas membranas concêntricas. O envelope nuclear é perfurado em intervalos por poros nucleares, os quais transportam ativamente moléculas do citosol para o núcleo e do núcleo para o citosol (descrito em detalhes no Capítulo 15) e sustentado pela *lâmina nuclear*, uma rede de filamentos de proteínas que forma uma fina camada forrando a membrana nuclear interna (discutido no Capítulo 17)

No interior do núcleo, os cromossomos interfásicos, embora mais longos e finos que os cromossomos mitóticos, estão organizados de várias formas. Cada cromossomo interfásico tende a ocupar uma determinada região no núcleo de maneira que os diferentes cromossomos não enrosquem uns com os outros (Figura 5-18). Além disso, regiões cromossômicas específicas se ligam a regiões do envelope nuclear ou da lâmina nuclear.

O exemplo mais óbvio de organização cromossômica no núcleo interfásico é o **nucléolo** (Figura 5-19). O nucléolo é uma região onde partes de diferentes cromossomos portando genes para o RNA ribossomal se agrupam (pontos vermelhos na Figuras 5-11). Aqui, os RNAs ribossomais são sintetizados e combinados com proteínas para formar os ribossomos, a maquinaria de síntese proteica das células (discutida no Capítulo 7).

O DNA nos cromossomos é muito condensado

Como vimos, todas as células eucarióticas, seja em interfase, seja em mitose, compactam seu DNA em cromossomos. O cromossomo humano 22, por exemplo, contém cerca de 48 milhões de pares de nucleotídeos, e, se estendidos de ponta à ponta, seu DNA deve ter cerca de 1,5 cm. Mesmo assim, durante a

Figura 5-19 O nucléolo é a estrutura mais evidente no núcleo interfásico. Micrografia eletrônica de uma fina secção através do núcleo de um fibroblasto humano. O núcleo é circundado por uma membrana dupla denominada envelope nuclear. Dentro do núcleo, a cromatina aparece como uma mancha difusa, com regiões cromossômicas especialmente densas, denominada heterocromatina (regiões escuras). A heterocromatina é pobre em genes e está localizada, principalmente, na periferia, imediatamente abaixo do envelope nuclear. As grandes regiões escuras são os nucléolos que contêm os genes para os RNAs ribossômicos, os quais estão localizados em vários cromossomos que se agrupam no nucléolo. (Cortesia de E.G. Jordan e J. McGovern.)

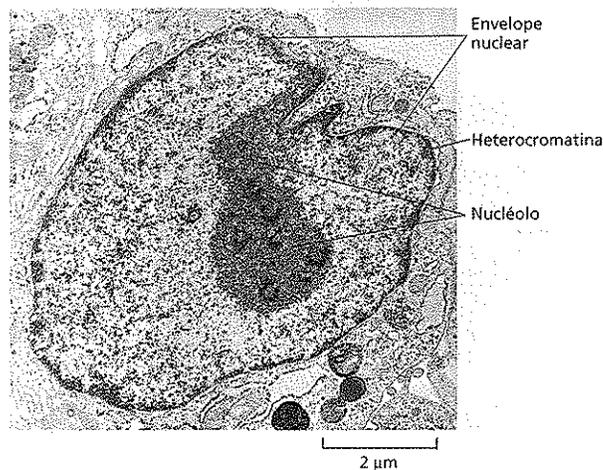


Figura 5-20 O DNA dos cromossomos interfásicos são menos compactos que os cromossomos mitóticos. Micrografia eletrônica mostrando um grande emaranhado de DNA cromossômico (que está associado a proteínas) saindo do núcleo interfásico lisado. Um desenho esquemático de um cromossomo mitótico humano condensado é apresentado na mesma escala para comparação. (Cortesia de Victoria Foe.)

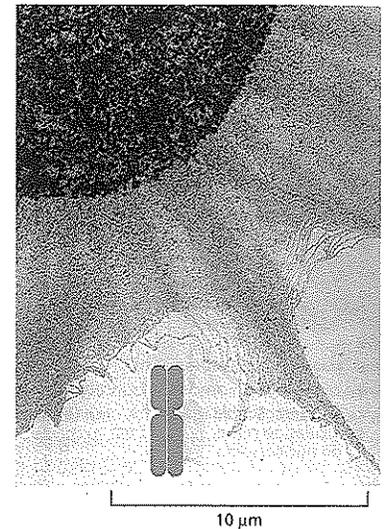
mitose, o cromossomo 22 mede somente cerca de 2 μm em extensão, o que é aproximadamente 10.000 vezes mais compacto do que em sua forma estendida. Essa característica marcante de compressão é realizada por proteínas que torcem e dobram o DNA em níveis cada vez mais altos de organização. O DNA dos cromossomos interfásicos, embora menos condensado do que o cromossomo mitótico (Figura 5-20), é ainda grandemente compactado com uma taxa de compressão de cerca de 500 vezes.

Nas próximas seções, apresentaremos as proteínas especializadas que tornam possível essa compressão. Deve-se ter em mente que os cromossomos são uma estrutura dinâmica. Não apenas os cromossomos condensam e relaxam, de acordo com o ciclo celular, mas diferentes regiões do cromossomo interfásico devem relaxar para permitir o acesso a diferentes sequências do DNA para a replicação, o reparo ou a expressão gênica. A compactação dos cromossomos deve, portanto, ser flexível o suficiente para permitir o acesso rápido e localizado ao DNA, quando necessário.

Os nucleossomos são as unidades básicas da estrutura do cromossomo eucariótico

As proteínas que se ligam ao DNA para formar os cromossomos eucarióticos são tradicionalmente divididas em duas classes gerais: as **histonas** e as proteínas cromossômicas não histonas. As histonas estão presentes em enormes quantidades (mais de 60 milhões de moléculas de diferentes tipos em cada célula), e sua massa total nos cromossomos é quase igual à do próprio DNA. O complexo das duas classes de proteínas com o DNA nuclear é denominado **cromatina**.

As histonas são responsáveis pelo primeiro nível fundamental de compactação à cromatina, o **nucleossomo**, o qual foi descoberto em 1974. Quando o núcleo em interfase é quebrado com cuidado e seu conteúdo examinado sob microscópio eletrônico, a maioria da cromatina está na forma de fibra com um diâmetro de cerca de 30 nm (Figura 5-21A). Se essa cromatina é sujeita a tratamentos que a descompacte parcialmente, ela então pode ser vista ao microscópio eletrônico como um "colar de contas" (Figura 5-21B). O cordão é o DNA, e as pérolas são as *partículas do cerne do nucleossomo* que consiste no DNA enrolado em um núcleo de proteínas formado pelas histonas.



QUESTÃO 5-3

Assumindo que um octâmero de histonas forme um cilindro de 9 nm de diâmetro e 5 nm de comprimento e que o genoma humano forma 32 milhões de nucleossomos, que volume nuclear (6 μm de diâmetro) seria ocupado pelos octâmeros de histonas? (O volume de um cilindro é $\pi r^2 h$; o volume de uma esfera é $4/3 \pi r^3$). Que fração do volume nuclear total é ocupada pelos octâmeros de histonas? Como isso se compara ao volume do núcleo ocupado pelo DNA humano?

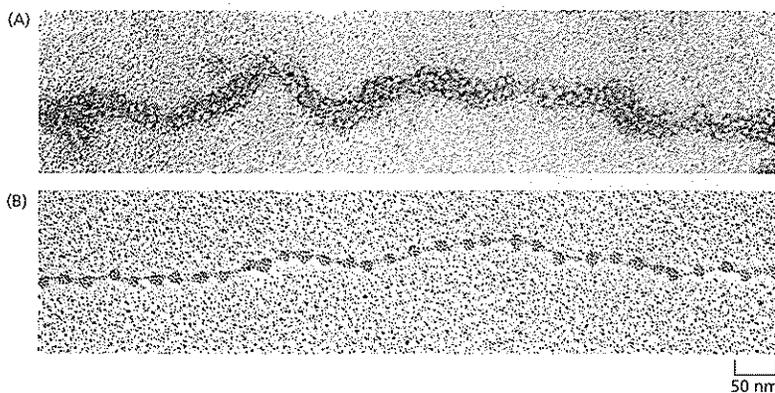


Figura 5-21 Os nucleossomos podem ser visualizados por microscopia eletrônica. (A) A cromatina isolada diretamente de um núcleo interfásico aparece ao microscópio eletrônico como um cordão de 30 nm de espessura, e aqui é mostrado parte dessa fibra. (B) Essa micrografia eletrônica mostra a cromatina que foi descompactada experimentalmente, ou descondensada, após o isolamento, para mostrar os nucleossomos. (A, cortesia de Barbara Hamkalo; B, cortesia de Victoria Foe.)

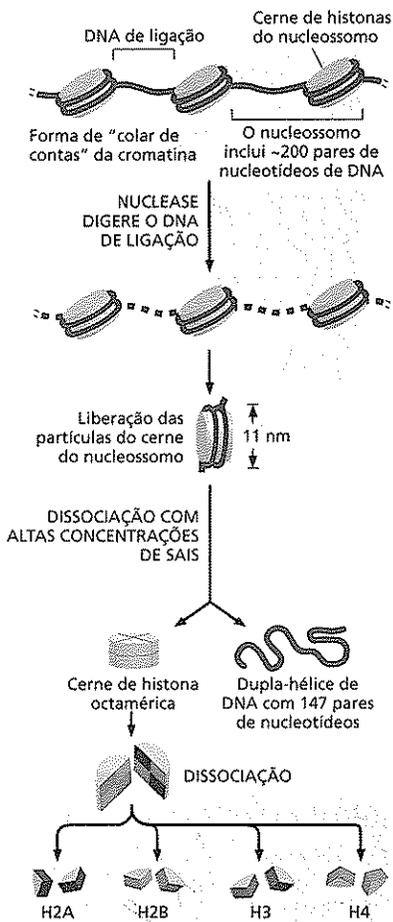


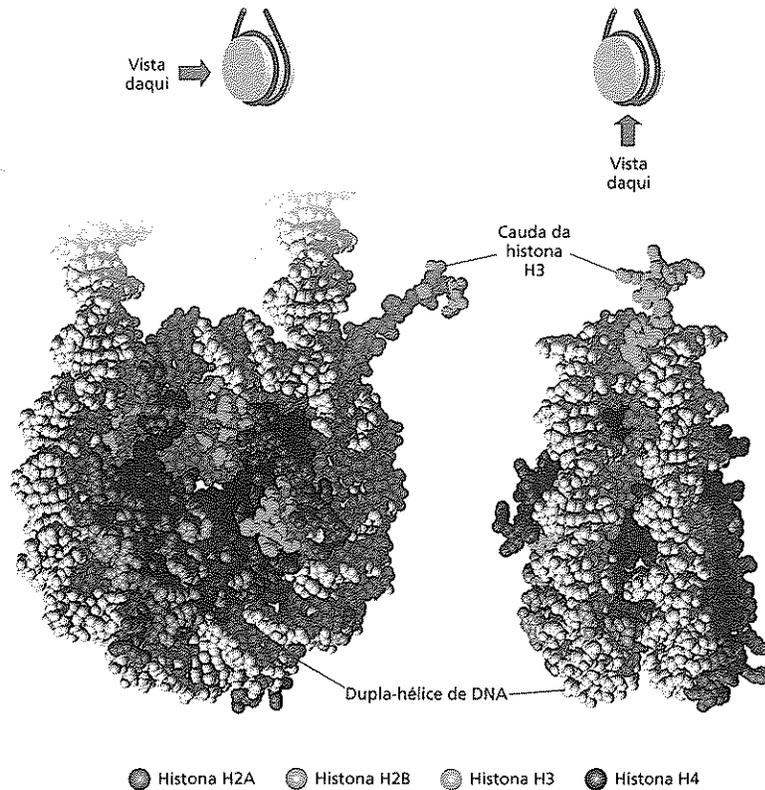
Figura 5-22 Os nucleossomos contêm o DNA enrolado ao redor de um cerne de proteínas contendo oito moléculas de histonas. Em um tubo de ensaio, a partícula do cerne do nucleossomo pode ser liberada da cromatina pela digestão do DNA de ligação com uma nuclease, uma enzima que quebra o DNA. (A nuclease pode degradar o DNA exposto, mas não pode danificar o DNA que está fortemente enrolado ao redor do cerne do nucleossomo.) Após a dissociação dos nucleossomos isolados em seu cerne de proteínas e DNA, pode-se determinar o tamanho do DNA que estava ao redor do cerne. Sua extensão de 147 pares de nucleotídeos é suficiente para enrolar o cerne de histonas por duas vezes.

Figura 5-23 A estrutura da partícula do cerne do nucleossomo, como determinado pela análise de difração de raios X, revela como o DNA está fortemente enrolado ao redor de um cerne de histonas em forma de disco. Aqui estão apresentadas duas posições da estrutura do nucleossomo. A hélice de DNA é cinza. A porção da cauda da histona H3 (verde) pode ser vista como uma extensão do nucleossomo, mas as caudas das outras histonas estão encurtadas. (Reimpresso com permissão de K. Luger et al., Nature 389:251-260, 1997. Com permissão de Macmillan Publishers Ltd.)

A estrutura da partícula central do nucleossomo foi determinada após o primeiro isolamento do nucleossomo da cromatina descompactada pela digestão com determinadas enzimas (denominadas nucleases) que quebram o DNA cortando-o entre os nucleotídeos. Após a digestão por um curto período de tempo, o DNA exposto entre as partículas do cerne do nucleossomo, o DNA de ligação, é degradado. Uma partícula do cerne do nucleossomo consiste em um complexo de oito proteínas histonas – duas moléculas de cada histona H2A, H2B, H3 e H4 – e uma fita dupla de DNA com cerca de 147 pares de nucleotídeos que circundam esse octâmero de histonas (Figura 5-22). A estrutura de alta resolução da partícula do cerne do nucleossomo foi determinada em 1997, revelando os detalhes atômicos do complexo de histonas em forma de disco ao redor do qual o DNA está firmemente preso fazendo 1,7 volta para a esquerda (Figura 5-23).

O DNA de ligação entre cada partícula do cerne do nucleossomo pode variar em comprimento de poucos pares de nucleotídeos até cerca de 80. (O termo nucleossomo se refere tecnicamente a uma partícula do cerne mais o DNA de ligação adjacente (ver Figura 5-22), mas é frequentemente utilizado para significar apenas a partícula do cerne do nucleossomo.) A formação dos nucleossomos converte uma molécula de DNA em uma fita de cromatina de aproximadamente um terço de sua extensão inicial e confere o primeiro nível de compactação do DNA.

Todas as quatro histonas que formam o cerne do nucleossomo são proteínas relativamente pequenas com uma alta proporção de aminoácidos positivamente carregados (lisina e arginina). As cargas positivas auxiliam as histonas a ligarem-se fortemente ao esqueleto de fosfato e açúcares negativamente carregados do DNA. Essas numerosas interações explicam em parte por que o DNA de praticamente qualquer sequência pode ligar-se ao cerne de histonas. Cada cerne de histonas possui uma longa "cauda" N-terminal, a qual se estende para fora da partícula do cerne do nucleossomo (ver Figura 5-23). Essas caudas de histonas estão sujeitas a vários tipos de modificações químicas covalentes que controlam muitos aspectos da estrutura da cromatina.



● Histona H2A ● Histona H2B ● Histona H3 ● Histona H4

As histonas que formam o cerne do nucleossomo estão entre as mais conservadas de todas as proteínas de eucariotos conhecidas. Há somente duas diferenças entre as sequências de aminoácidos na histona H4 da ervilha e de bovinos, por exemplo. Essa extrema conservação evolutiva reflete o papel estrutural vital das histonas no controle da estrutura do cromossomo eucariótico. Recentemente, as histonas também foram encontradas em Archaea – procariotos que formam um reino filogenético distinto dos Eukarya e Bacteria (discutidos no Capítulo 1).

O empacotamento dos cromossomos ocorre em múltiplos níveis

Embora sejam formadas longas fitas de nucleossomos na maioria do DNA cromossomal, a cromatina nas células vivas raramente adota a forma estendida de colar de contas, como mostra a Figura 5-21B. Em vez disso, os nucleossomos são compactados ainda mais para gerar uma estrutura mais compacta de *fibras de 30 nm* (ver Figura 5-21A). O empacotamento dos nucleossomos em fibras de 30 nm depende de uma quinta histona denominada histona H1, a qual mantém os nucleossomos unidos em um arranjo repetido regular. Essa histona “ligadora” altera a direção do DNA quando sai do cerne do nucleossomo, permitindo que se forme uma estrutura mais compacta (Figura 5-24). A fibra de 30 nm resultante está ilustrada na Animação 5.2 e na Figura 5-25, como parte de um desenho esquemático dos vários níveis de compactação dos cromossomos.

Sabemos que a fibra de cromatina de 30 nm pode ser compactada ainda mais. Vimos, neste capítulo, que durante a mitose a cromatina se torna tão altamente condensada que os cromossomos podem ser vistos sob microscópio de luz direta. Como a fibra de 30 nm é dobrada para produzir os cromossomos mitóticos? A resposta a essa questão ainda não é conhecida em detalhes, mas

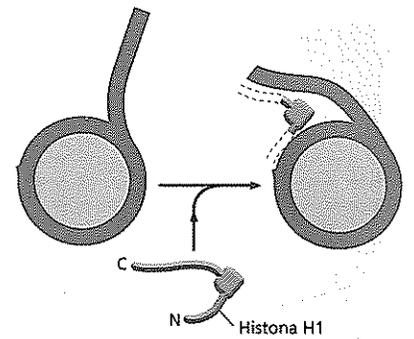
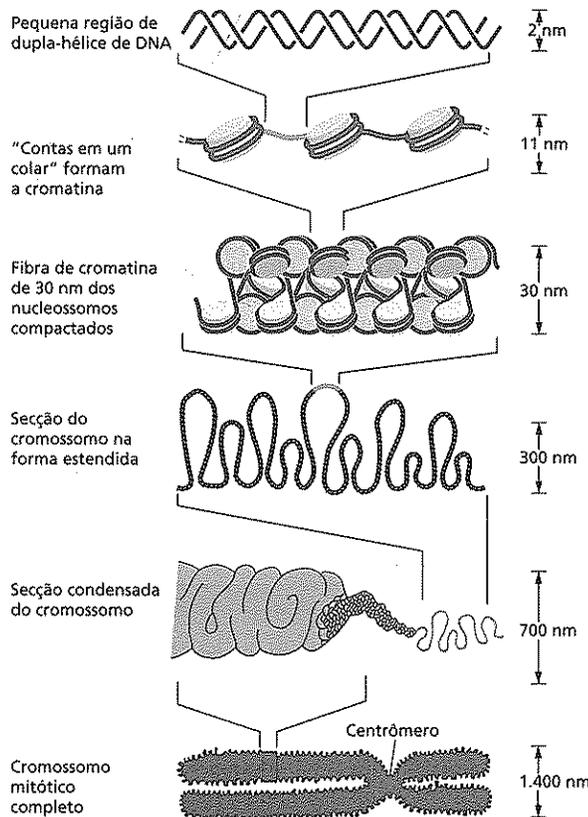


Figura 5-24 Uma histona de ligação auxiliar mantém os nucleossomos unidos em uma fibra de 30 nm. A histona H1 é formada por uma região globular e um par de longas caudas na sua porção C e N-terminal. A região globular contém 20 pares de bases adicionais de DNA no local que sai do cerne do nucleossomo, uma atividade que se acredita ser importante para a formação da fibra de 30 nm. A longa cauda C terminal é necessária para que a H1 se ligue à cromatina, mas sua posição e a posição da cauda N terminal são desconhecidas.



RESULTADO FINAL: CADA MOLÉCULA DE DNA É COMPACTADA EM UM CROMOSSOMO MITÓTICO QUE É 10.000 VEZES MAIS CURTO DO QUE EM SUA FORMA ESTENDIDA.

Figura 5-25 O empacotamento do DNA ocorre em vários níveis nos cromossomos. Esse desenho esquemático mostra alguns dos níveis de compactação que, se acredita, ocorrem para formar o cromossomo mitótico altamente condensado.

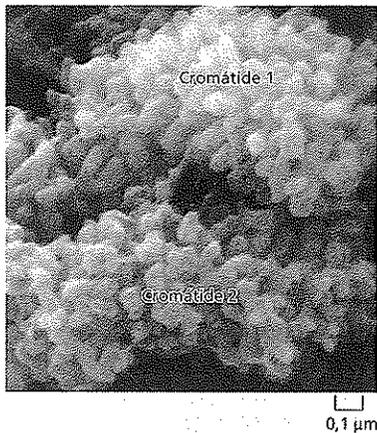


Figura 5-26 Os cromossomos mitóticos são formados de cromatina altamente compactada. Essa micrografia eletrônica de varredura mostra a região próxima a uma das extremidades de um típico cromossomo mitótico. Cada projeção em forma nodular representa a ponta de uma alça de cromatina. O cromossomo dessa figura foi duplicado, e os dois novos cromossomos (também denominados cromátides) ainda são mantidos unidos (ver Figura 5-17). As extremidades dos dois cromossomos estão facilmente visíveis à direita dessa micrografia. (De M.P. Marsden e U.K. Laemmli, *Cell* 17: 849-858, 1989. Com permissão de Elsevier.)

sabe-se que a fibra de 30 nm é ainda organizada em alças e que essas são ainda mais condensadas para formar o cromossomo interfásico. Finalmente, acredita-se que esse cordão compacto de alças sofre pelo menos mais um nível de empacotamento para formar o cromossomo mitótico (Figura 5-26; ver Figura 5-25).

A REGULAÇÃO DA ESTRUTURA DOS CROMOSSOMOS

Até o momento, discutimos como o DNA é cuidadosa e firmemente compactado em cromatina. Agora veremos como essa compactação pode ser dinâmica, permitindo o rápido acesso ao DNA. O DNA celular possui uma enorme quantidade de informações codificadas, e as células devem ser capazes de adquiri-las sempre que necessário.

Nesta seção, discutiremos como uma célula pode alterar a estrutura de sua cromatina para expor determinadas regiões do DNA e permitir o acesso a proteínas específicas, principalmente àquelas envolvidas na expressão gênica e no reparo e na replicação do DNA. Então discutiremos como a estrutura da cromatina é estabelecida e mantida e como uma célula passa adiante algumas formas dessa estrutura para suas descendentes. A regulação e a herança da estrutura da cromatina são importantes no desenvolvimento e no crescimento dos organismos eucarióticos.

As mudanças na estrutura dos nucleossomos permite o acesso ao DNA

As células eucarióticas apresentam várias maneiras de ajustar rapidamente a estrutura local de sua cromatina. Uma estratégia apresenta a vantagem dos **complexos de remodelamento da cromatina**, uma maquinaria de proteínas que usa a energia da hidrólise do ATP para mudar a posição do DNA ao redor dos nucleossomos. Ao empurrar o DNA firmemente condensado à medida que eles se movem, esses complexos podem afrouxar (descondensar) o DNA subjacente, tornando-o mais acessível a outras proteínas (Figura 5-27). Durante a mitose, pelo menos alguns dos complexos de remodelamento da cromatina são inativados, o que pode auxiliar a manter a estrutura altamente compactada dos cromossomos mitóticos.

Outra estratégia para a mudança na estrutura da cromatina reside na modificação química reversível das histonas. As caudas de cada uma das quatro proteínas histonas do cerne são particularmente sujeitas a essas modificações covalentes. Por exemplo, grupos acetila, fosfato ou metila podem ser adicionados ou removidos após o nucleossomo ter sido reunido por enzimas localizadas no núcleo. Essas modificações das caudas das histonas apresentam pouco efeito direto na estabilidade de um determinado nucleossomo. No entanto, algumas parecem afetar diretamente a estabilidade da fibra de cromatina de 30 nm e de algumas estruturas de ordem superior discutidas anteriormente.

Entretanto, essas modificações afetam a capacidade das caudas das histonas modificadas de ligar e atrair proteínas específicas para determinados segmentos de cromatina. Diferentes padrões de modificações das caudas das histonas atraem diferentes proteínas. Algumas dessas proteínas causam compactação ainda maior na cromatina, ao passo que outras facilitam o acesso ao DNA pela descompactação da cromatina. Combinações específicas de modificações nas caudas e das proteínas que nelas se ligam podem sinalizar diferentes ações para

QUESTÃO 5-4

As proteínas histonas estão entre as proteínas mais conservadas dos eucariotos. As proteínas histonas H4 de uma ervilha e de uma vaca, por exemplo, diferem em apenas 2 dos 102 aminoácidos. Uma comparação entre as seqüências gênicas apresenta mais diferenças, mas somente duas delas mudam o aminoácido codificado. Essas observações indicam que as mutações que envolvem troca de aminoácidos não são selecionadas. Por que você acha que as mutações que alteram os aminoácidos dos genes das histonas são deletérios?

(A)
Compl
da cro
de ATP

(B)

a cél
de cr
naqu

enzir
Elas :
cipal
espec

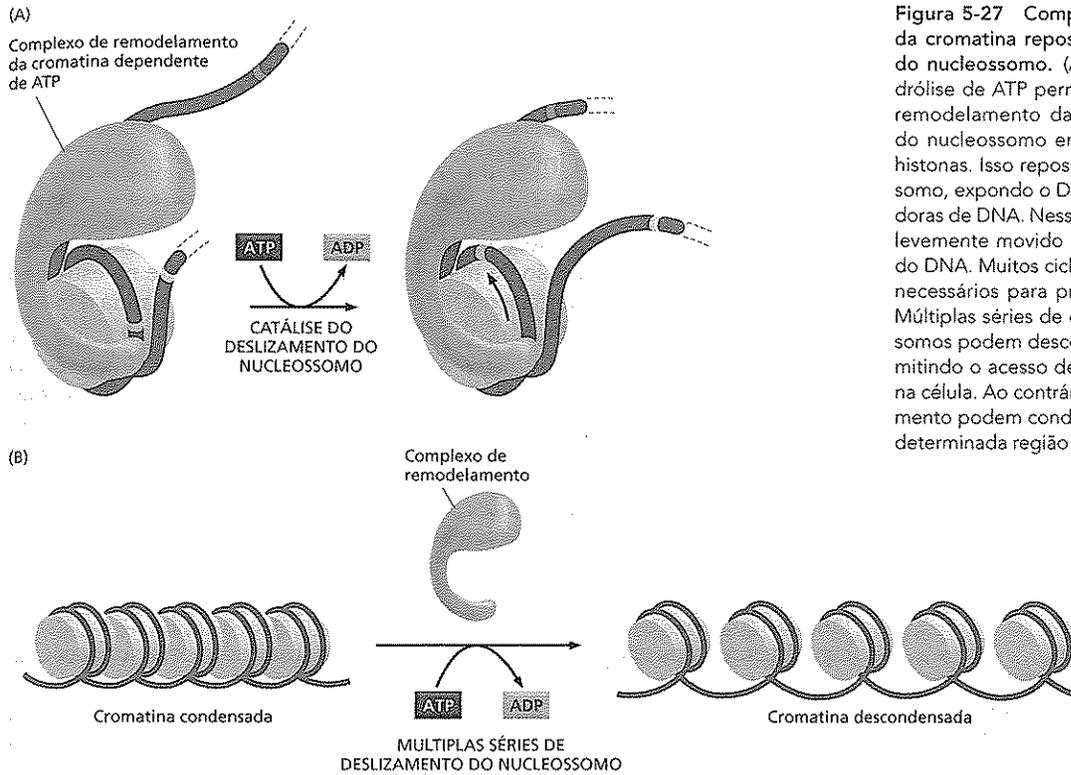


Figura 5-27 Complexos de remodelamento da cromatina reposicionam o DNA ao redor do nucleossomo. (A) Repetidos ciclos de hidrólise de ATP permitem que o complexo de remodelamento da cromatina libere o DNA do nucleossomo empurrando-o no cerne de histonas. Isso reposiciona (desloca) o nucleossomo, expondo o DNA a outras proteínas ligadoras de DNA. Nessa figura, o nucleossomo foi levemente movido para a esquerda ao longo do DNA. Muitos ciclos de hidrólise de ATP são necessários para produzir tais mudanças. (B) Múltiplas séries de deslizamento dos nucleossomos podem descondensar a cromatina, permitindo o acesso de outras proteínas ao DNA na célula. Ao contrário, outros tipos de deslizamento podem condensar a cromatina em uma determinada região cromossômica.

a célula. Por exemplo, um padrão pode indicar que um determinado segmento de cromatina acabou de ser replicado, e outro padrão pode indicar que os genes naquele segmento de cromatina devem ser expressos (Figura 5-28).

Assim como ocorre nos complexos de remodelamento da cromatina, as enzimas que modificam as caudas das histonas são cuidadosamente reguladas. Elas são levadas a uma determinada região da cromatina por outros sinais, principalmente por suas interações com proteínas que se ligam a sequências de DNA específicas (discutiremos a respeito dessas proteínas no Capítulo 8). As enzimas

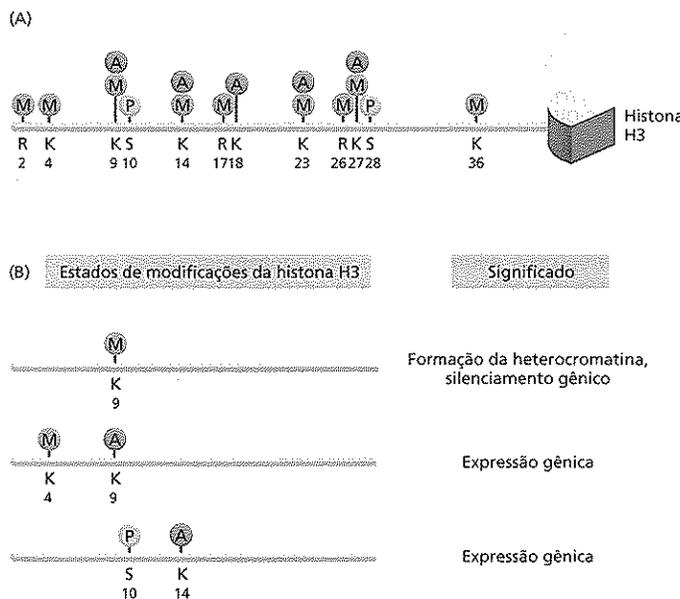


Figura 5-28 O padrão de modificação das caudas das histonas pode definir como um determinado segmento de cromatina é tratado pela célula. (A) Cada histona pode ser modificada pela ligação covalente de vários grupos químicos diferentes. A histona H3, por exemplo, pode receber um grupo acetila (A), um grupo metila (M) ou um fosfato (P). Os números indicam as posições dos aminoácidos modificados na cadeia proteica. Observe que algumas posições (p. ex., lisinas 9, 14, 23 e 27) podem ser modificadas por mais de uma maneira. Além disso, as lisinas podem ser modificadas por um, dois ou três grupos metila (não apresentado). Observe que a histona H3 contém 135 aminoácidos, a maioria dos quais se encontram em sua região globular (curva) e que a maioria das modificações estão em sua cauda N-terminal. (B) Diferentes combinações de modificações nas caudas das histonas podem conferir um significado específico nos segmentos de cromatina onde os mesmos ocorrem, como indicado. Somente alguns significados dessas modificações são conhecidos.

que modificam as histonas atuam em conjunto com os complexos de remodelamento da cromatina para compactar e relaxar segmentos de cromatina, permitindo que a estrutura da cromatina local mude rapidamente de acordo com as necessidades da célula.

Os cromossomos em interfase contêm a cromatina tanto na forma condensada como na forma mais estendida

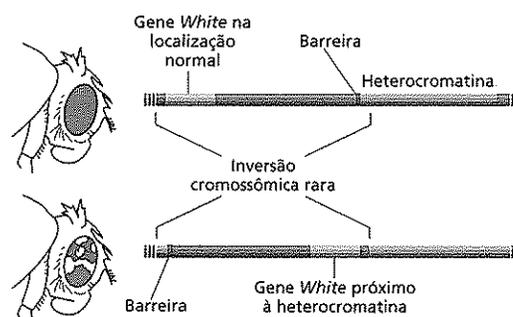
A alteração da compactação localizada da cromatina por meio de complexos de remodelamento e modificação de histonas tem efeito importante na estrutura geral dos cromossomos interfásicos. Nesses cromossomos, a cromatina não está uniformemente compactada. No entanto, as regiões que contêm os genes que são expressos estão, em geral, na forma mais estendida ou relaxada, e outras que contêm genes quiescentes estão mais compactadas. Assim, a estrutura detalhada de um cromossomo interfásico pode diferir de um tipo celular para outro, dependendo de quais genes estão sendo expressos.

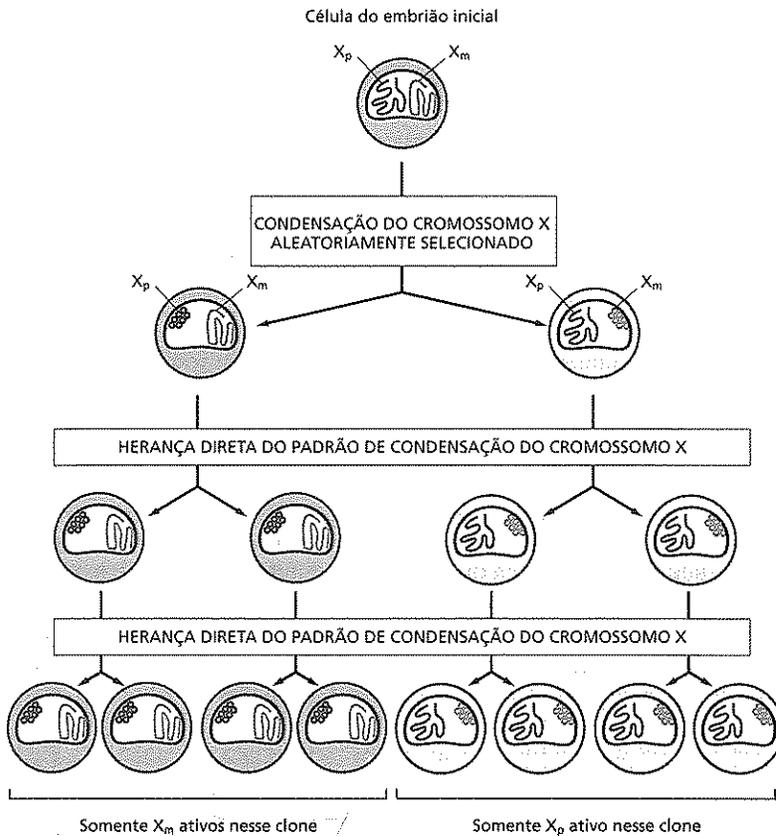
A forma mais altamente condensada da cromatina interfásica é denominada **heterocromatina** (do grego *heteros*, que significa "diferente" mais cromatina). Na década de 1930, a heterocromatina foi observada pela primeira vez, sob microscópio de luz direta, como uma região discreta e fortemente corada na massa de cromatina. A heterocromatina normalmente compõe cerca de 10% do cromossomo interfásico e, nos cromossomos de mamíferos, concentra-se ao redor da região dos centrômeros e dos telômeros nas extremidades dos cromossomos. A formação da forma mais comum de heterocromatina é induzida por um determinado grupo de modificações nas caudas das histonas, incluindo a metilação do resíduo da lisina 9 na histona 3 (ver Figura 5-28). Essas modificações atraem um grupo de proteínas específicas de heterocromatina que induzem as mesmas modificações nas caudas das histonas nos nucleossomos adjacentes. Por sua vez, as novas modificações nas caudas recrutam o mesmo grupo de proteínas específicas de heterocromatina, causando uma onda de propagação da cromatina condensada por todo o cromossomo. Desse modo, estabelece-se um grande segmento de heterocromatina no DNA.

A maior parte do DNA que está permanentemente compactada em heterocromatina em uma célula não contém genes. Em virtude do alto grau de compactação da heterocromatina, os genes que acidentalmente se tornam compactados em heterocromatina em geral não podem ser expressos (Figura 5-29). Essa compactação inadequada dos genes em heterocromatina pode causar doenças. No homem, o gene que codifica a β -globina, que forma parte da molécula de hemoglobina que transporta o oxigênio, está localizado próximo a uma região de cromatina condensada. Se, em virtude de uma deleção hereditária do DNA, essa região da heterocromatina se espalha, o gene da β -globina se torna pouco expresso, e o indivíduo desenvolve uma forma grave de anemia.

Talvez o exemplo mais marcante do uso da heterocromatina para manter os genes inibidos ou *silenciados* é encontrado no cromossomo X interfásico das fêmeas de mamíferos. As células das fêmeas contêm dois cromossomos X, e as células dos machos contêm um cromossomo X e um Y. Em virtude da letalidade da dose dupla de produtos do cromossomo X, as fêmeas de mamíferos evoluíram

Figura 5-29 A expressão de um gene pode ser alterada movendo-o para outro local do genoma. Esta figura mostra dois exemplos de efeito de posição, no qual a atividade de um gene depende de sua posição ao longo do cromossomo. O gene *White* na mosca-das-frutas *Drosophila* controla a produção de pigmento do olho e possui esse nome em virtude da mutação que levou à primeira identificação. Moscas tipo selvagens com o gene *White* normal (*White*⁺) produzem pigmentação normal, conferindo-lhes olhos vermelhos, mas se o gene *White* está mutado e inativado, as moscas mutantes (*White*⁻) não produzem pigmento e possuem olhos brancos. Nas moscas selvagens, o gene *White* (apresentado em amarelo) está localizado a uma determinada distância próxima à heterocromatina (verde). Uma sequência especial de barreira (vermelho) impede que a heterocromatina se espalhe pelas áreas vizinhas do cromossomo. Em moscas nas quais uma inversão de uma região do cromossomo transfere o gene *White*⁺ normal para uma região próxima de heterocromatina que desloca a sequência de barreira, os olhos são manchados com regiões vermelhas e brancas. As regiões brancas representam aquelas células cujo gene *White*⁺ foi silenciado pelos efeitos da heterocromatina, as manchas vermelhas representam as células que expressam o gene *White*⁺, porque a heterocromatina não se dispersou ao mesmo tempo, neste gene, no início do desenvolvimento quando foram formadas as células fundadoras dessas manchas. A presença de grandes manchas de células vermelhas e brancas indica que o estado do gene (se ativo ou silenciado) foi estabelecido no início do desenvolvimento e herdado pela progênie celular a partir de então.





um mecanismo para inativar permanentemente um dos dois cromossomos X em cada célula. Ao acaso, um ou outro cromossomo X em cada célula se torna altamente condensado em heterocromatina no início do desenvolvimento embrionário. Desde então, em todas as células da progênie, o estado inativado e condensado daquele cromossomo X é herdado (Figura 5-30).

O restante da cromatina interfásica é denominado **euromatina** (do grego *eu* significando "verdadeiro" ou "normal", mais cromatina). Embora se use o termo euromatina para nos referirmos à cromatina que se encontra em um estado mais relaxado do que a heterocromatina, sabe-se agora que tanto a cromatina quanto a heterocromatina são compostas de uma mistura de diferentes estruturas de cromatina, cada uma delas estabelecida e mantida por um grupo distinto de modificações nas caudas das histonas que atraem diferentes grupos de proteínas não histonas (Figura 5-31).

As mudanças na estrutura da cromatina podem ser herdadas

Como vimos, determinados tipos de estrutura da cromatina podem ser passados de uma célula para sua descendente. Por exemplo, a progênie de uma célula na qual uma cópia do cromossomo X materno está condensado e inativado, também irá condensar e inativar seu cromossomo X materno. Como é possível tal herança da estrutura da cromatina? Quando uma célula replica seu genoma, cada hélice de DNA filha recebe metade das suas proteínas histonas parentais.

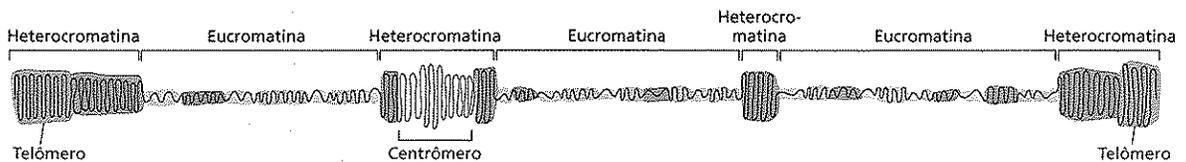


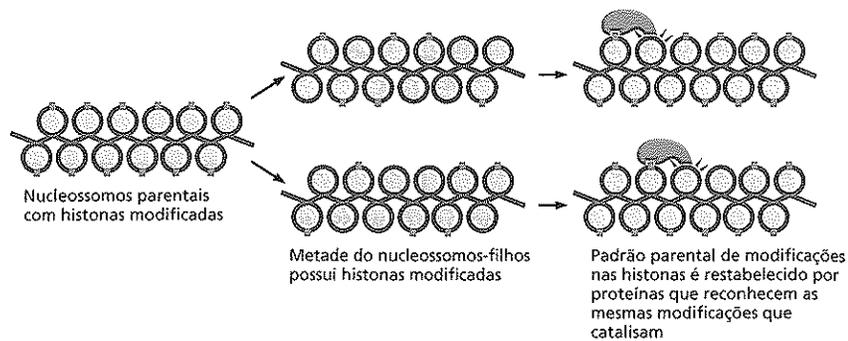
Figura 5-30 Um cromossomo X pode ser completamente inativado pela formação da heterocromatina. As células do embrião inicial das fêmeas dos mamíferos contêm dois cromossomos X, um recebido da mãe (X_m) e o outro recebido do pai (X_p). Nos primeiros estágios do desenvolvimento, um desses dois cromossomos, em cada célula, torna-se aleatoriamente condensado em heterocromatina. Em cada divisão celular, após esse estágio, o mesmo cromossomo se torna condensado em todas as células descendentes da célula original. No camundongo, a inativação do cromossomo X ocorre entre o terceiro e o sexto dia de desenvolvimento embrionário. No homem, a inativação do X também ocorre no início do desenvolvimento, antes que as células tenham se comprometido com uma via de desenvolvimento específica. Assim, as fêmeas apresentam um mosaico de células, portanto, um cromossomo X materno ou paterno, inativado. Na maioria dos tecidos e órgãos, cerca de metade das células será de um tipo e a outra metade será de outro.

QUESTÃO 5-5

As mutações em um determinado gene do cromossomo X resultam em cegueira para cor. Todos os homens portadores de um gene mutante são cegos para cor. A maioria das mulheres portadoras do gene mutante possui visão normal, mas veem as imagens coloridas com resolução reduzida, porque suas células cone funcionais (as células que contêm os fotorreceptores de cor) estão mais espaçadas do que na retina normal. Você pode dar uma explicação plausível para essa observação? Se uma mulher é cega para cores, o que você poderia dizer a respeito de seu pai? E a respeito de sua mãe? Explique suas respostas.

Figura 5-31 A estrutura da cromatina varia ao longo de um único cromossomo interfásico. Como indicado de maneira esquemática com diferentes cores, a heterocromatina e a euromatina representam uma série de estruturas distintas de cromatina com diferentes graus de extensão e condensação. Geralmente, a heterocromatina está mais condensada do que a euromatina.

Figura 5-32 As modificações nas histonas podem ser herdadas pelos cromossomos-filhos. Quando um cromossomo é replicado, as suas histonas são distribuídas mais ou menos aleatoriamente nas duas hélices de DNA filhas. Assim, cada cromossomo-filho irá herdar cerca de metade da coleção parental de histonas modificadas. Os outros segmentos de DNA receberão histonas ainda não modificadas recém-sintetizadas. Nesse momento, as proteínas que reconhecem uma determinada modificação podem ligar-se à cromatina e catalisar a formação da mesma modificação na nova histona. Isso pode restaurar o padrão de modificação parental e, em última instância, permitir a herança da estrutura da cromatina parental. Esse mecanismo parece ser aplicável a alguns tipos de modificações nas histonas, mas não em todos.



As modificações covalentes associadas ao tipo de estrutura da cromatina que estava presente em cada região específica do cromossomo parental também são herdadas com essas proteínas histonas. Assim, cada cromossomo-filho inicialmente irá conter um grupo misto de dois tipos de nucleossomos: aqueles que contêm as histonas modificadas que foram herdadas desse cromossomo parental e aquelas que contêm histonas recém-sintetizadas, as quais ainda não foram modificadas. Nesse momento, as proteínas que reconhecem as histonas modificadas podem ligar-se às histonas parentais e depositar o mesmo tipo de modificação nas histonas vizinhas virgens, restabelecendo o padrão da estrutura da cromatina encontrada no cromossomo parental (Figura 5-32).

A capacidade de herdar a estrutura localizada na cromatina auxilia as células eucarióticas a "lembrar" se o gene estava ativo na célula parental, um processo que parece ser crucial para o estabelecimento e a manutenção de diferentes tipos celulares, tecidos e órgãos durante o desenvolvimento e o crescimento de um organismo multicelular complexo. Esse tipo de herança não envolve a passagem de sequências de DNA específicas de uma geração celular para outra, mas depende da passagem de proteínas histonas especificamente modificadas. Esse é um exemplo de **herança epigenética** (do grego *epi* = sobre), porque está sobreposta na herança genética com base no DNA. Outras formas de herança epigenética serão discutidas no Capítulo 8.

CONCEITOS ESSENCIAIS

- A vida depende do armazenamento estável e compacto da informação genética.
- A informação genética está localizada em moléculas de DNA muito longas e codificada em uma sequência linear de nucleotídeos A, T, C e G.
- Cada molécula de DNA é uma dupla-hélice composta de um par de fitas complementares de nucleotídeos mantidas juntas por pontes de hidrogênio entre os pares de bases G-C e A-T.
- A fita de DNA possui uma polaridade química devida à ligação dos açúcares alternados com os fosfatos no seu esqueleto. As duas fitas de DNA da dupla-hélice são antiparalelas, isto é, estão em orientações opostas.
- O material genético de uma célula eucariótica está contido em um ou mais cromossomos, cada um formado por uma longa molécula de DNA única que contém muitos genes.
- Quando um gene que codifica uma proteína é expresso, parte de sua sequência nucleotídica é copiada em RNA, que então coordena a síntese de uma proteína específica.
- O DNA que forma cada cromossomo eucariótico contém, além dos genes, muitas origens de replicação, um centrômero e dois telômeros. Essas sequências asseguram que o cromossomo possa ser replicado eficientemente e passado para as células-filhas.

Os
lig
bra
na
As
cor
na
Os
pal
e t
A e
sui
ma
po
ca
DN
Al
dif
tre
pro
A e
de:
a c

TIER

par
ciclo
cent
crom
com
de
eror
com
acib
dup
hers

TES

QUES

A. A
pla

Qual

B. Ne
sã

C. Qu
seq
for

D. Su
se
de
faz

- Os cromossomos das células eucarióticas consistem em DNA fortemente ligado a uma massa de proteínas especializadas. Essas proteínas do-
bram o DNA em uma forma mais compacta. O complexo de DNA e proteí-
nas nos cromossomos é denominado cromatina.
- As proteínas cromossomais mais abundantes são as histonas, as quais
compactam o DNA em arranjos repetidos de partículas de DNA e proteí-
nas denominados nucleossomos.
- Os nucleossomos se agrupam, com o auxílio de moléculas de histona H1,
para formar uma fibra de 30 nm. Essa fibra é, geralmente, mais dobrada
e torcida, produzindo estruturas de cromatina ainda mais compactas.
- A estrutura da cromatina é dinâmica. Descompactando temporariamente
sua estrutura, por meio do uso de complexos de remodelamento da cro-
matina e enzimas que modificam covalentemente as histonas, a célula
pode garantir que as proteínas envolvidas na expressão gênica, na repli-
cação e no reparo tenham acesso rápido e localizado às sequências de
DNA necessárias.
- Algumas formas da cromatina possuem um padrão de histonas com mo-
dificações em suas caudas que fazem com que o DNA se torne tão ex-
tremamente compactado que os genes não podem ser expressos para
produzir RNA e proteínas.
- A estrutura da cromatina pode ser transmitida de uma célula para sua
descendente, produzindo uma forma de herança epigenética que auxilia
a célula a lembrar o estado de expressão gênica de sua célula parental.

TERMOS-CHAVE

pares de bases	eucromatina
ciclo celular	gene
centrômero	genoma
cromatina	heterocromatina
complexo de remodelamento da cromatina	histona
cromossomo	cariótipo
complementaridade	núcleolo
ácido desoxirribonucleico (DNA)	nucleossomo
dupla-hélice	origem de replicação
herança epigenética	telômero

TESTE SEU CONHECIMENTO**QUESTÃO 5-6**

- A. A sequência de nucleotídeos de uma das fitas de uma du-
pla-hélice de DNA é

5'-GGATTTTGTCCACAATCA-3'.

Qual é a sequência da fita complementar?

- B. No DNA de certas células bacterianas, 13% dos nucleotídeos
são adenina. Qual é a porcentagem dos outros nucleotídeos?
- C. Quantas sequências de nucleotídeos são possíveis para um
segmento de DNA de N nucleotídeos de comprimento se ele
for (a) fita simples e (b) fita dupla?
- D. Suponha que você tenha um método para cortar o DNA em
sequências específicas de nucleotídeos. Quantos nucleotí-
deos de comprimento (em média) essa sequência teria para
fazer apenas um corte no genoma bacteriano de 3×10^6 pa-

res de nucleotídeos? A resposta seria diferente para o ge-
noma de uma célula animal que contém 3×10^9 pares de
nucleotídeos?

QUESTÃO 5-7

Um par de bases A-T é estabilizado por somente duas pontes
de hidrogênio. Um esquema de pontes de hidrogênio de forças
similares pode ocorrer entre outras combinações de bases, como
os pares A-C e A-G, como mostra a **Figura Q5-7**. O que aconte-
ceria se esses pares se formassem durante a replicação do DNA
e se bases erradas fossem incorporadas? Discuta por que isso
não acontece frequentemente. (Dica: ver **Figura 5-6**.)

QUESTÃO 5-8

- A. Uma macromolécula é isolada de uma fonte extraterrestre
que superficialmente se assemelha ao DNA, mas, após um
exame mais cuidadoso, observa-se que a estrutura das bases
é muito diferente (**Figura Q5-8**). Bases V, W, X e Y substituem

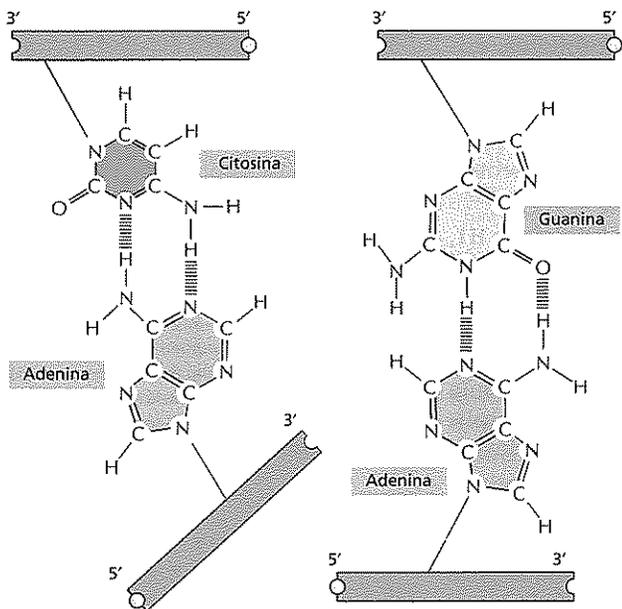


Figura Q5-7

as bases A, T, G e C. Olhe essas estruturas mais atentamente. Essas moléculas semelhantes ao DNA podem ter sido derivadas de um organismo vivo que usa o princípio de herança genética similar àquele usado pelas células da Terra? Caso afirmativo, o que você pode dizer sobre suas propriedades?

- B. Julgando simplesmente pelo potencial das pontes de hidrogênio, poderiam essas bases extraterrestres substituir as bases terrestres A, T, G e C? Explique sua resposta.

QUESTÃO 5-9

As duas fitas do DNA de dupla-hélice podem ser separadas pelo aquecimento. Se você aumentar a temperatura de uma solução contendo uma das seguintes moléculas de DNA, em que ordem você espera que elas se separem? Explique sua resposta.

- A. 5'-GCGGGCCAGCCCGAGTGGGTAGCCCAGG-3'
3'-CGCCCGGTCGGGGCTACCCATCGGGTCC-5'
- B. 5'-ATTATAAAATATTTAGATACTATATTTACAA-3'
3'-TAATATTTTATAATCTATGATATAAATGTT-5'
- C. 5'-AGAGCTAGATCGAT-3'
3'-TCTCGATCTAGCTA-5'

QUESTÃO 5-10

O tamanho total do DNA do genoma humano é cerca de 1 m, e o diâmetro da dupla-hélice é cerca de 2 nm. Os nucleotídeos da dupla-hélice de DNA estão posicionados a intervalos de 0,34 nm. Se o DNA for aumentado de modo que seu diâmetro seja equivalente ao de uma extensão de fio elétrico (5 mm), qual será o comprimento da extensão de ponta à ponta (assumindo que ele esteja completamente esticado)? Quão próximas estarão as bases? Qual seria o comprimento de um gene de 1.000 pares de nucleotídeos?

QUESTÃO 5-11

Um CD (disco compacto) armazena cerca de $4,8 \times 10^9$ bites de informação em 96 cm^2 de área. Essa informação é armazenada com um código binário, isto é, cada bite é 0 ou 1.

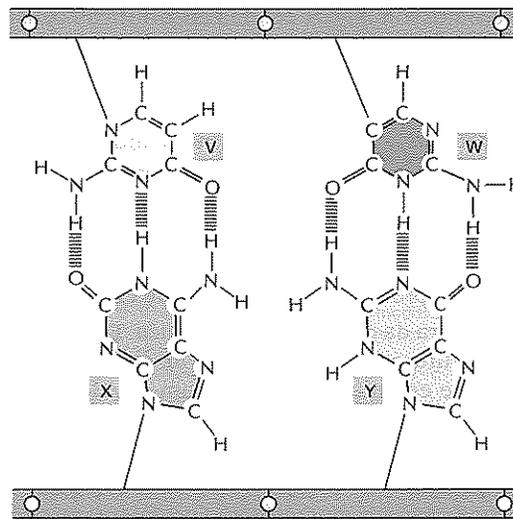


Figura Q5-8

- A. Quantos bites seriam necessários para especificar cada par de nucleotídeos em uma sequência de DNA?
- B. Quantos CDs seriam necessários para armazenar a informação contida no genoma humano?

QUESTÃO 5-12

Qual das seguintes afirmativas está correta? Explique sua resposta.

- A. Cada cromossomo eucarioto deve conter os seguintes elementos na sequência de DNA: múltiplas origens de replicação, dois telômeros e um centrômero.
- B. As partículas do cerne do nucleossomo possuem 30 nm de diâmetro e, quando alinhadas, formam os filamentos de 30 nm.

QUESTÃO 5-13

Defina os seguintes termos e sua relação uns com os outros:

- A. Cromossomo interfásico
- B. Cromossomo mitótico
- C. Cromatina
- D. Heterocromatina
- E. Histonas
- F. Nucleossomo

QUESTÃO 5-14

Considere cuidadosamente o resultado mostrado na Figura Q5-14. Cada uma das duas colônias são agrupamentos de aproximadamente 100.000 células de levedura que cresceram a partir de uma única célula que agora se encontra em algum local no centro da colônia. Em levedura, o *Ade2* codifica uma das enzimas da biossíntese de adenina, e a sua ausência de seu produto gênico leva ao acúmulo de pigmento vermelho. Na sua localização cromossômica normal, o *Ade2* é expresso em todas as células. Quando posicionado próximo ao telômero, que é extremamente condensado, o *Ade2* não é mais expresso. Explique por que os setores brancos se formaram próximos às bordas da colônia. Considerando esses setores, o que você pode concluir a respeito da propagação do estado transcripcional do gene *Ade2* da célula-mãe para as células-filhas?

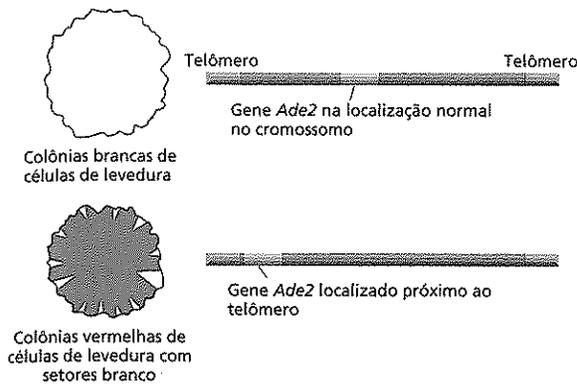


Figura Q5-14

QUESTÃO 5-15

As duas micrografias eletrônicas na Figura Q5-15 mostram o núcleo de dois tipos celulares diferentes. Você pode dizer, observando essas figuras, quais das duas células está transcrevendo mais os seus genes? Explique como você chegou a essa resposta. (Micrografias cortesia de Don W. Fawcett.)

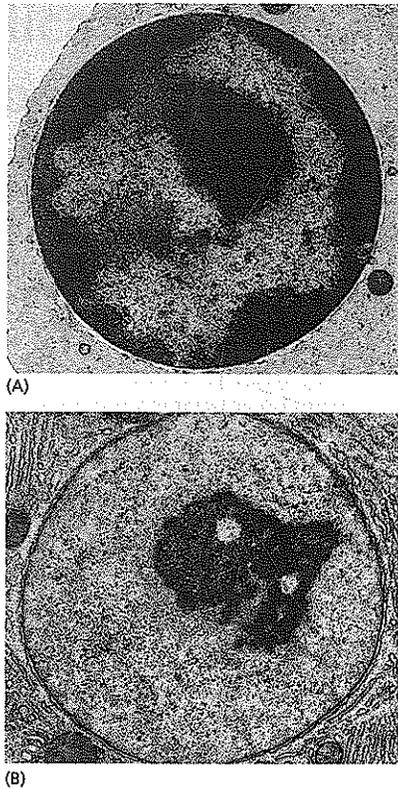


Figura Q5-15

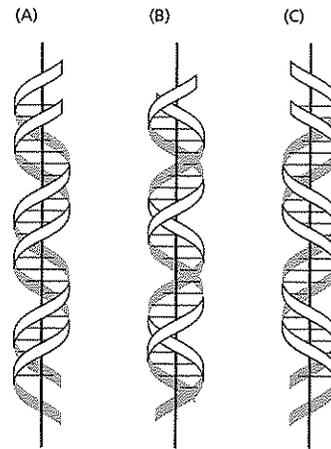


Figura Q5-16

QUESTÃO 5-16

O DNA forma uma hélice voltada para a direita. Mostre qual das hélices apresentadas na Figura Q5-16 possui uma hélice voltada para a direita.

QUESTÃO 5-17

Um único nucleossomo tem 11 nm de extensão e contém 147 pb de DNA (o DNA da dupla-hélice mede 0,34 nm/pb). Qual é a taxa de compactação (comprimento do DNA em relação ao diâmetro do nucleossomo) que o DNA atinge ao enrolar-se ao redor do octâmero de histonas? Assumindo que há 53 pb adicionais que compõem o DNA de ligação entre os nucleossomos, qual é o grau de condensação do "colar de contas" de DNA em relação ao comprimento total do DNA? Que fração da condensação de 10.000 vezes que ocorre na mitose é representada por esse primeiro grau de compactação?

QUESTÃO 5-18

Acredita-se que a herança epigenética da estrutura da cromatina desempenha um importante papel na especificação de diferentes tipos celulares nos organismos vertebrados. Por que esse mecanismo de herança célula à célula seria preferível ao mecanismo hipotético que altera a sequência de DNA em locais específicos no DNA em determinadas células durante o desenvolvimento embrionário?