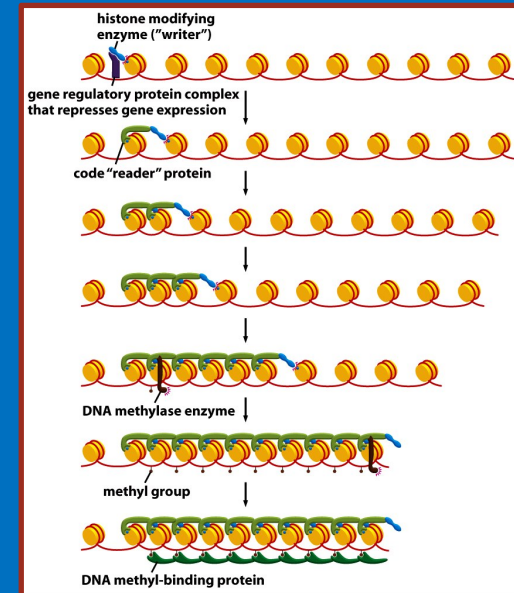


EPIGENÉTICA

22-JUNHO-2023

Curso de bioquímica (QBQ-313)

Nutrição Noturno da USP



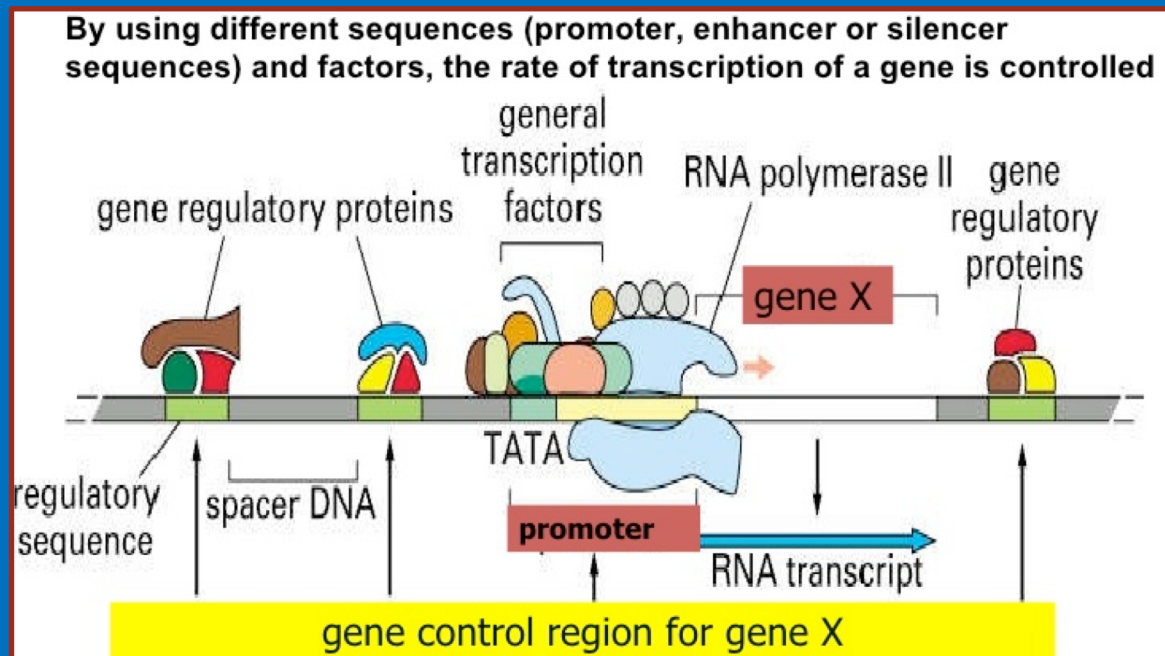
Epigenética

- A epigenética é o estudo de mudanças hereditárias da atividade gênica que não são causadas por alteração na sequência do DNA.
- Exemplos de alterações epigenéticas são modificações no DNA e nas histonas.
- Alterações epigenéticas são, muitas vezes, diferentes do controle gênico.
- Grandes regiões do DNA podem ser “ligadas” ou “desligadas” simultaneamente.
- É o chamado silenciamento gênico.



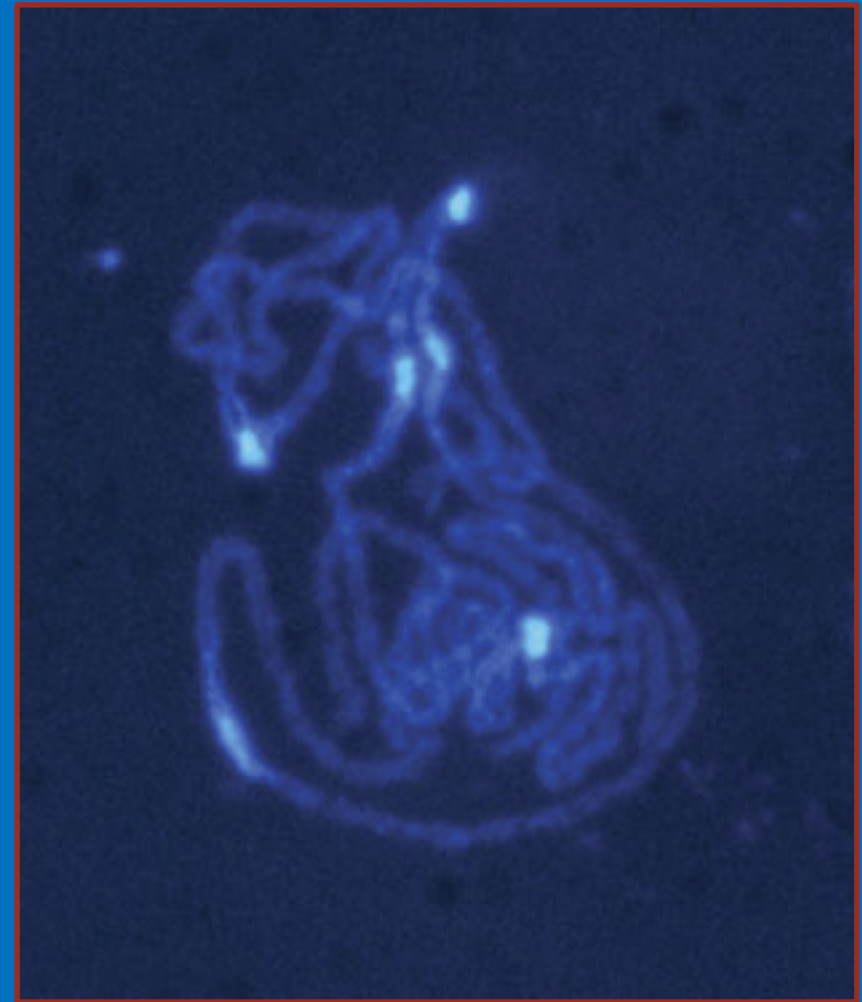
Epigenética é diferente de controle da expressão gênica

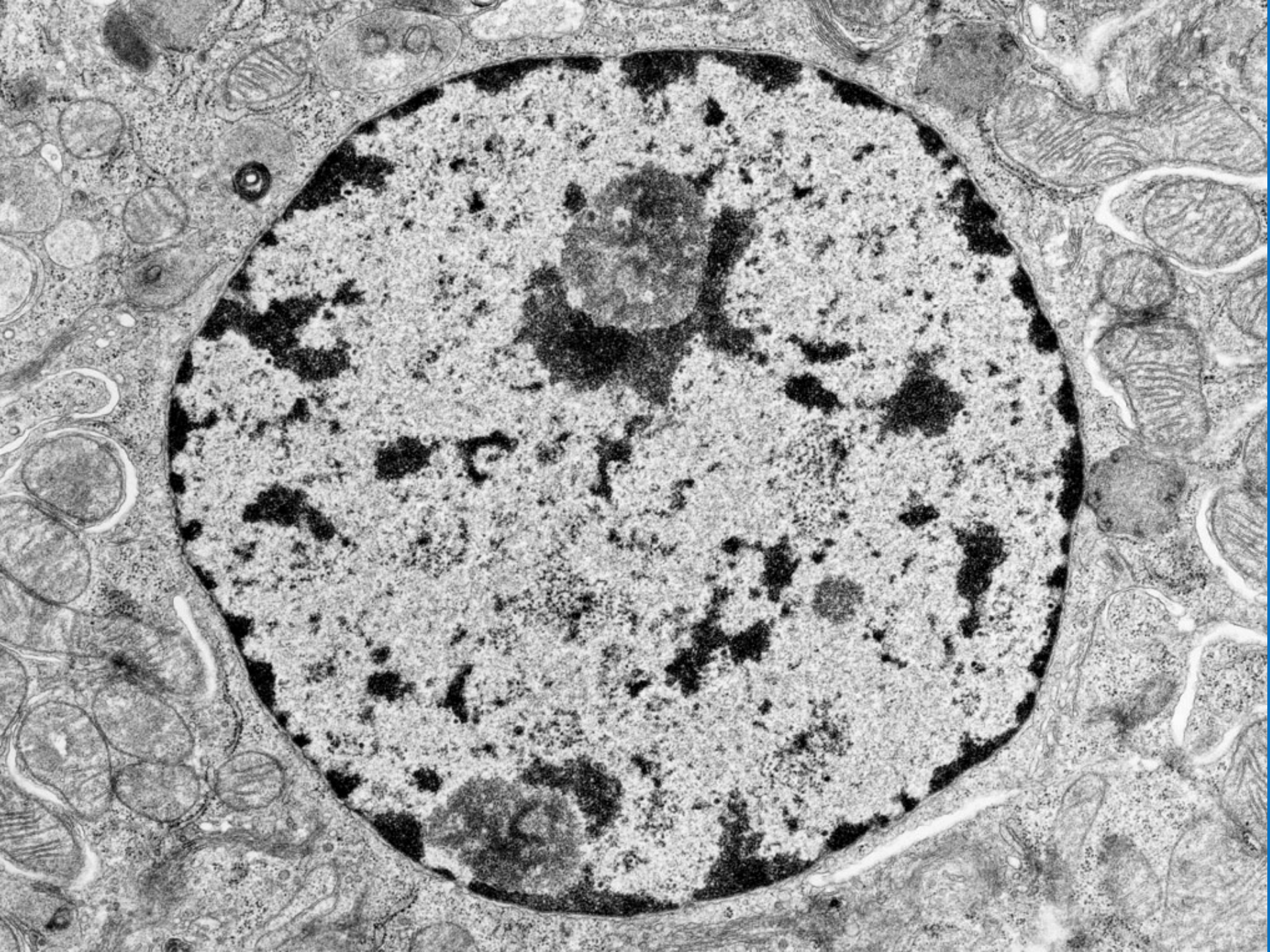
- A expressão de genes em eucariotos é muito bem controlada
- Fatores de transcrição, ativadores, repressores, etc, permitem que um determinado gene seja 'ligado' em tipo celular e 'desligado' em outros

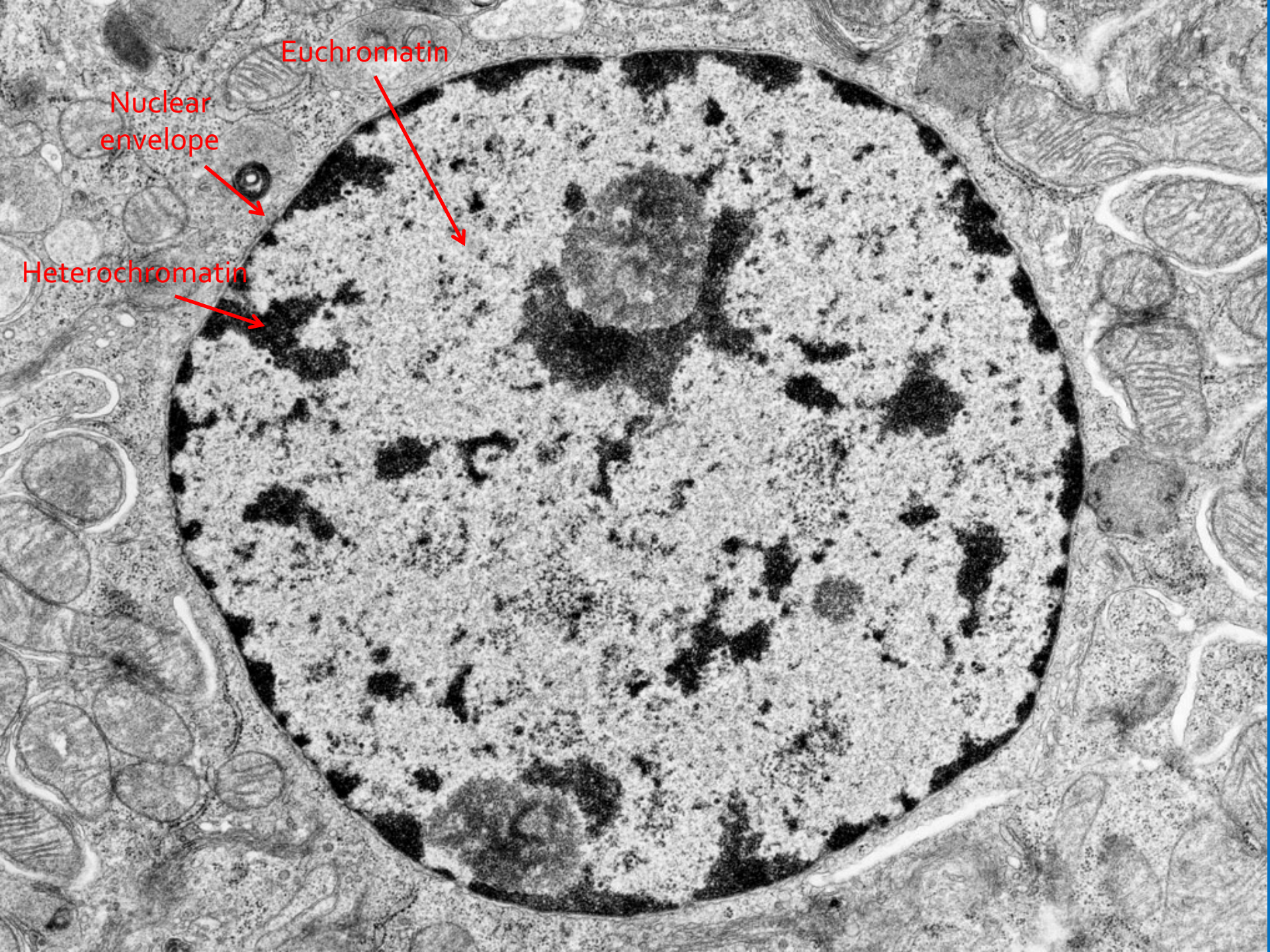


Heterocromatina e eucromatina

- Observando-se a cromatina, notam-se duas regiões distintas.
- Heterocromatina são regiões de alta densidade na cromatina.
- Estas regiões apresentam baixa atividade transcricional.
- São regiões silenciadas do genoma.
- Eucromatina são as regiões menos densas do genoma, com transcrição gênica ativa.





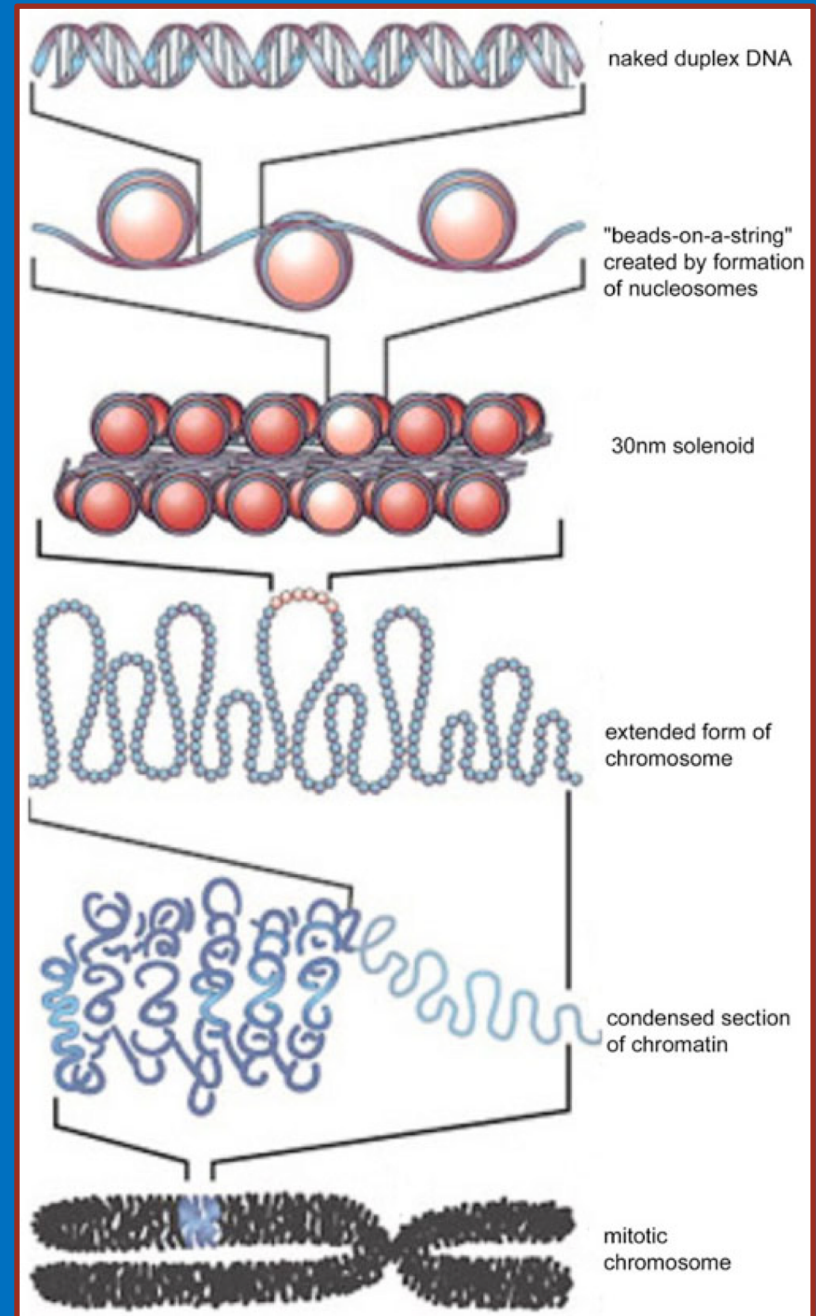


Euchromatin

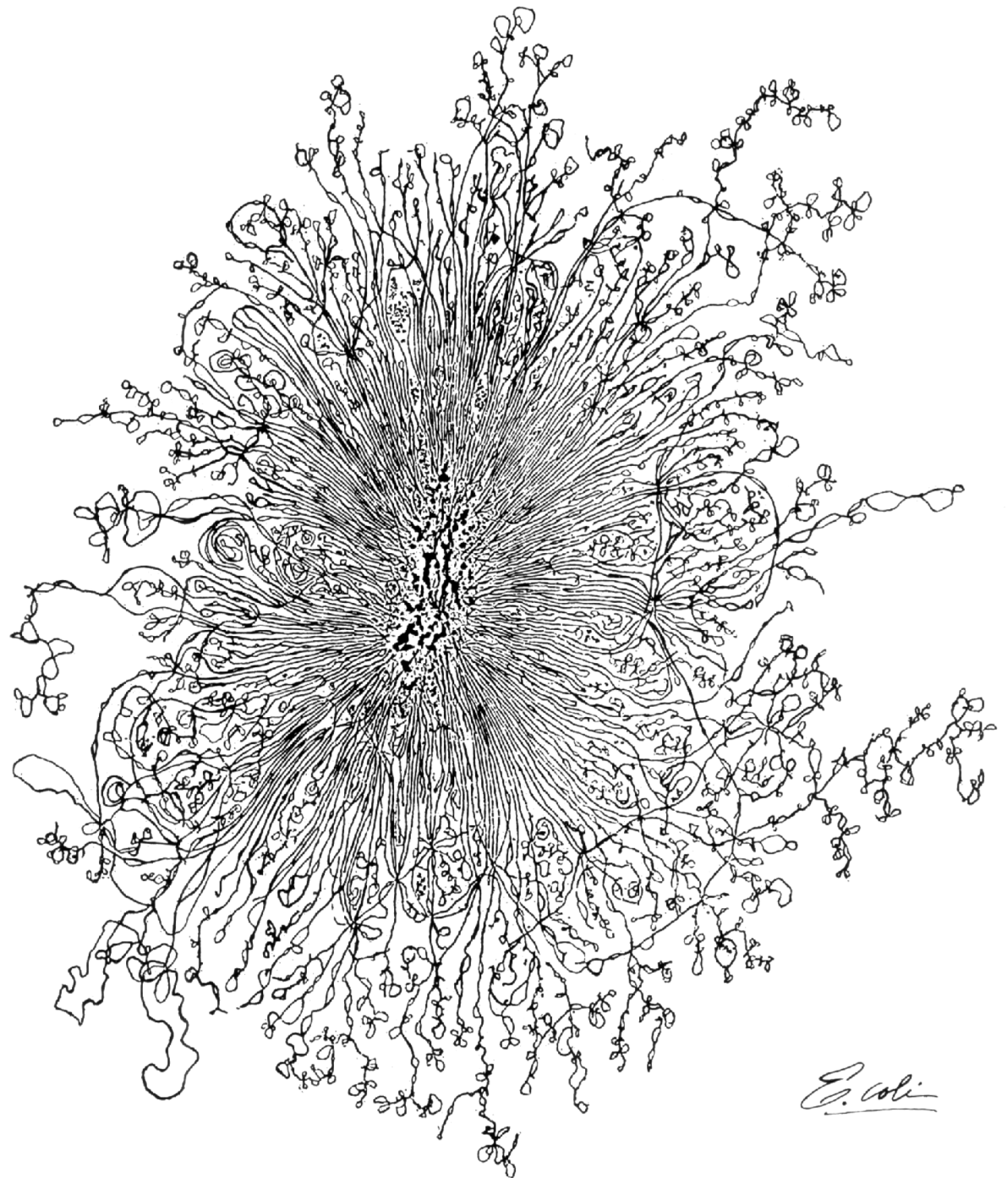
Nuclear envelope

Heterochromatin

Estrutura da cromatina: nucleossomos

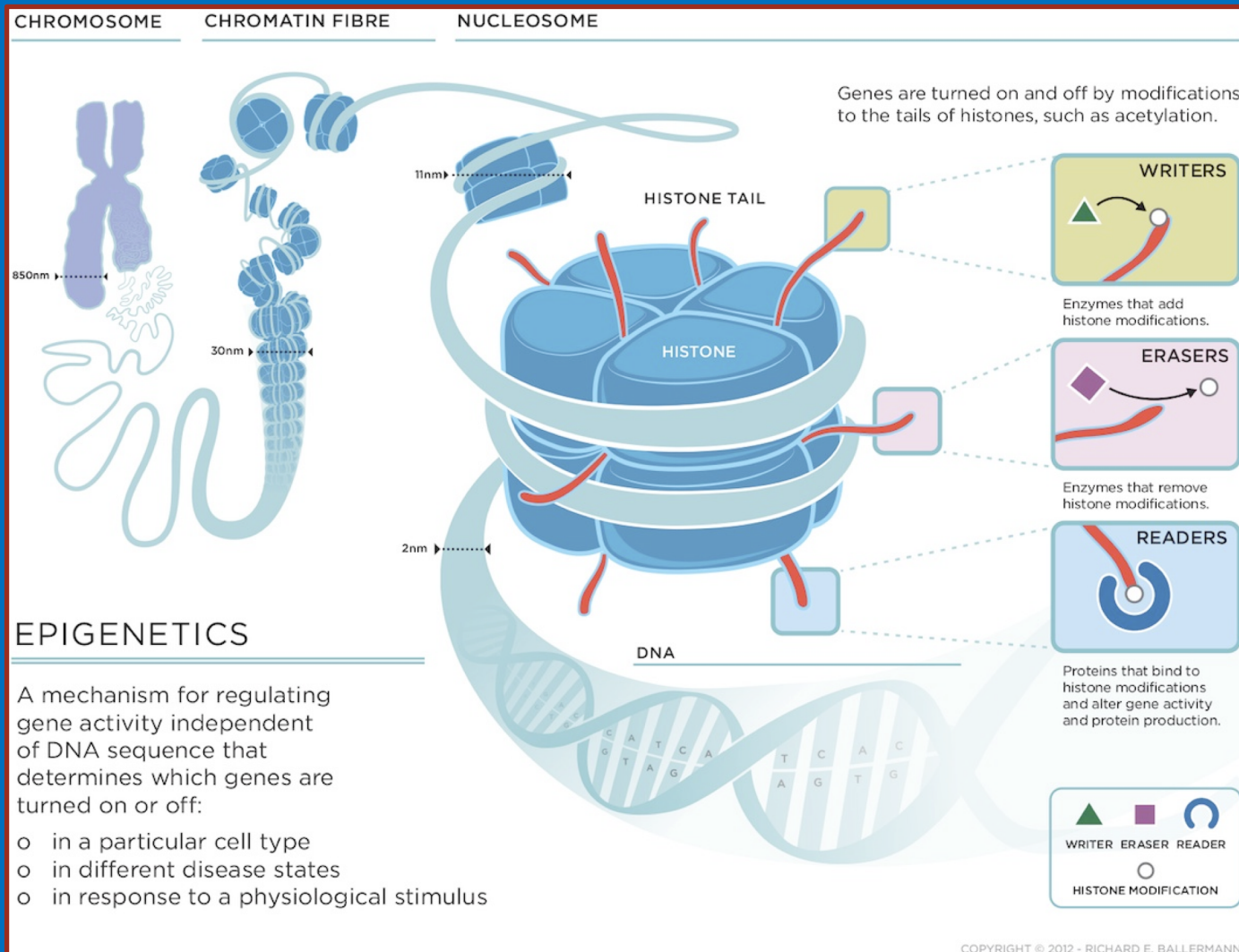


Os
nucleossomos
mantem o
DNA
compactado



E. coli

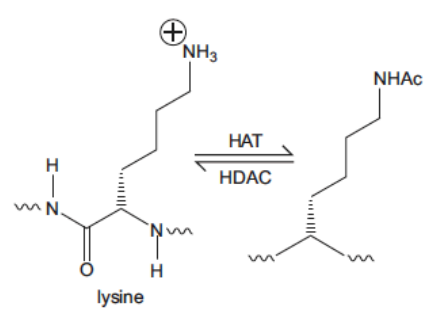
Mas os nucleossomos fazem mais do que isto: eles também regulam a transcrição gênica



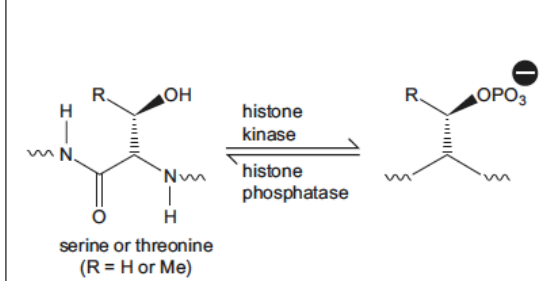
Modificações de histonas

- Histonas podem ser modificadas de várias formas
- Resíduos de lisina podem ser acetilados.
- Resíduos de lisina e arginina podem ser metilados.
- Serinas e treoninas podem ser fosforiladas.

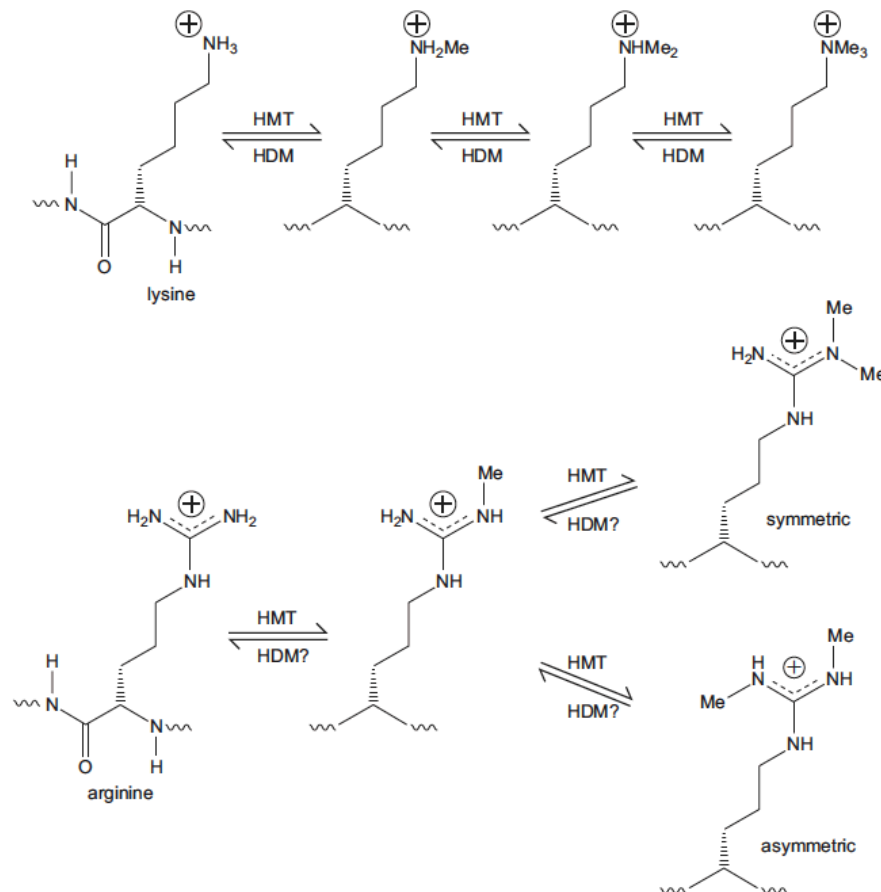
acetylation



phosphorylation



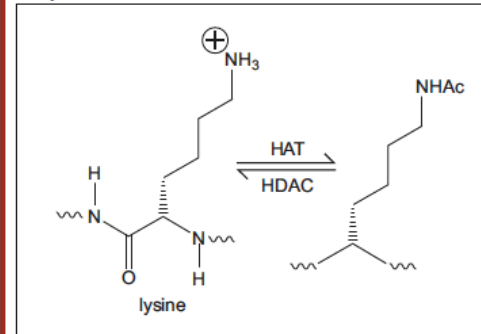
methylation



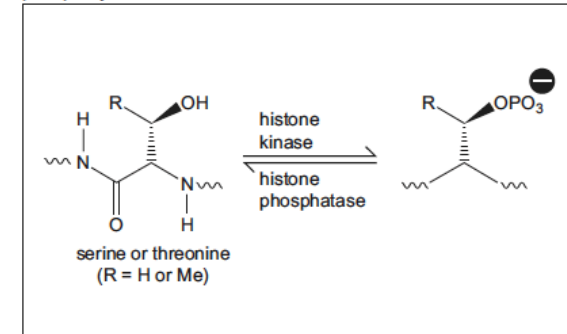
Modificações de histonas

- Os resíduos são modificados por enzimas.
- As histonas quinases e histonas fosfatases adicionam e removem fosfatos.
- Histonas acetil transferases (HAT) e histonas deacetilases (HDAC).
- As histonas metil transferases (HMT) e as histonas demetilases (HDM), adicionam e removem grupos metil.

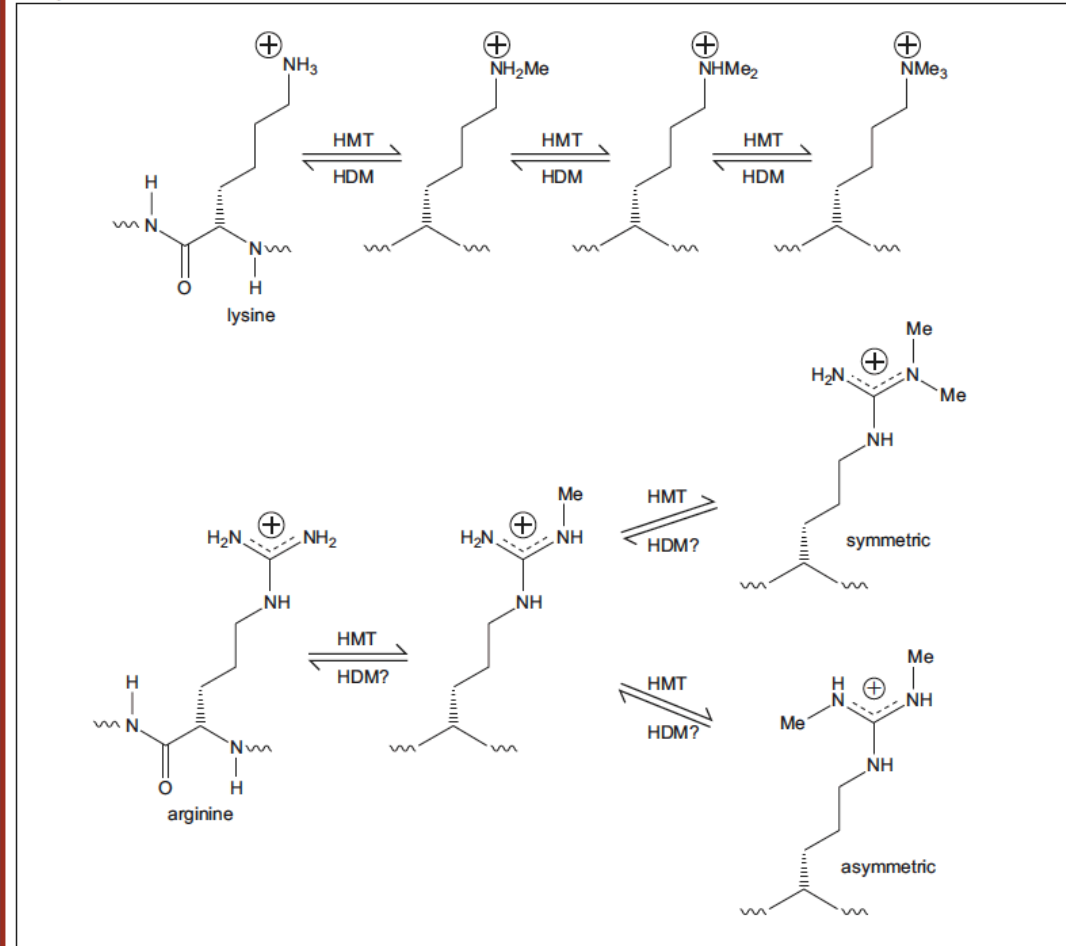
acetylation



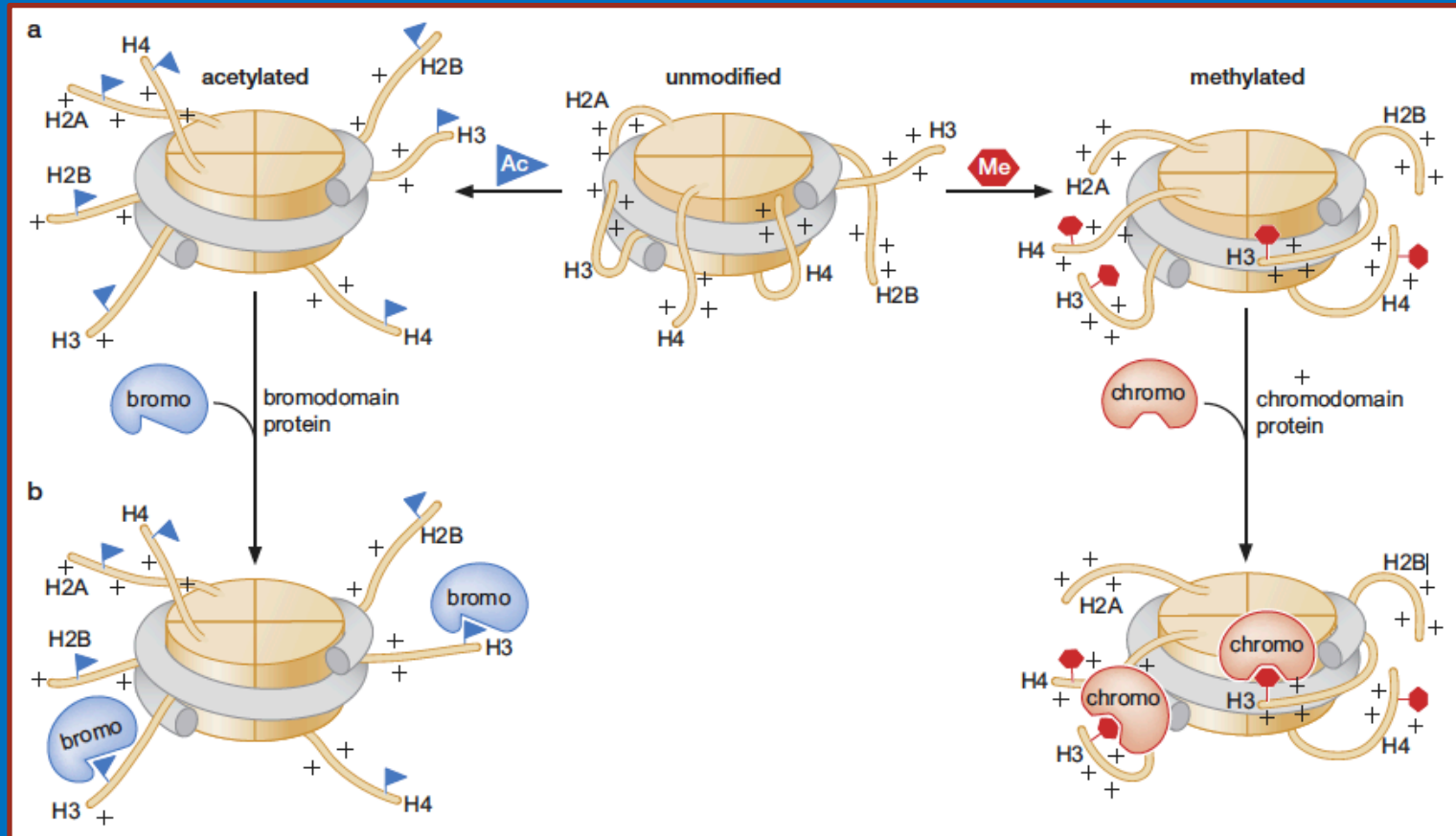
phosphorylation



methylation

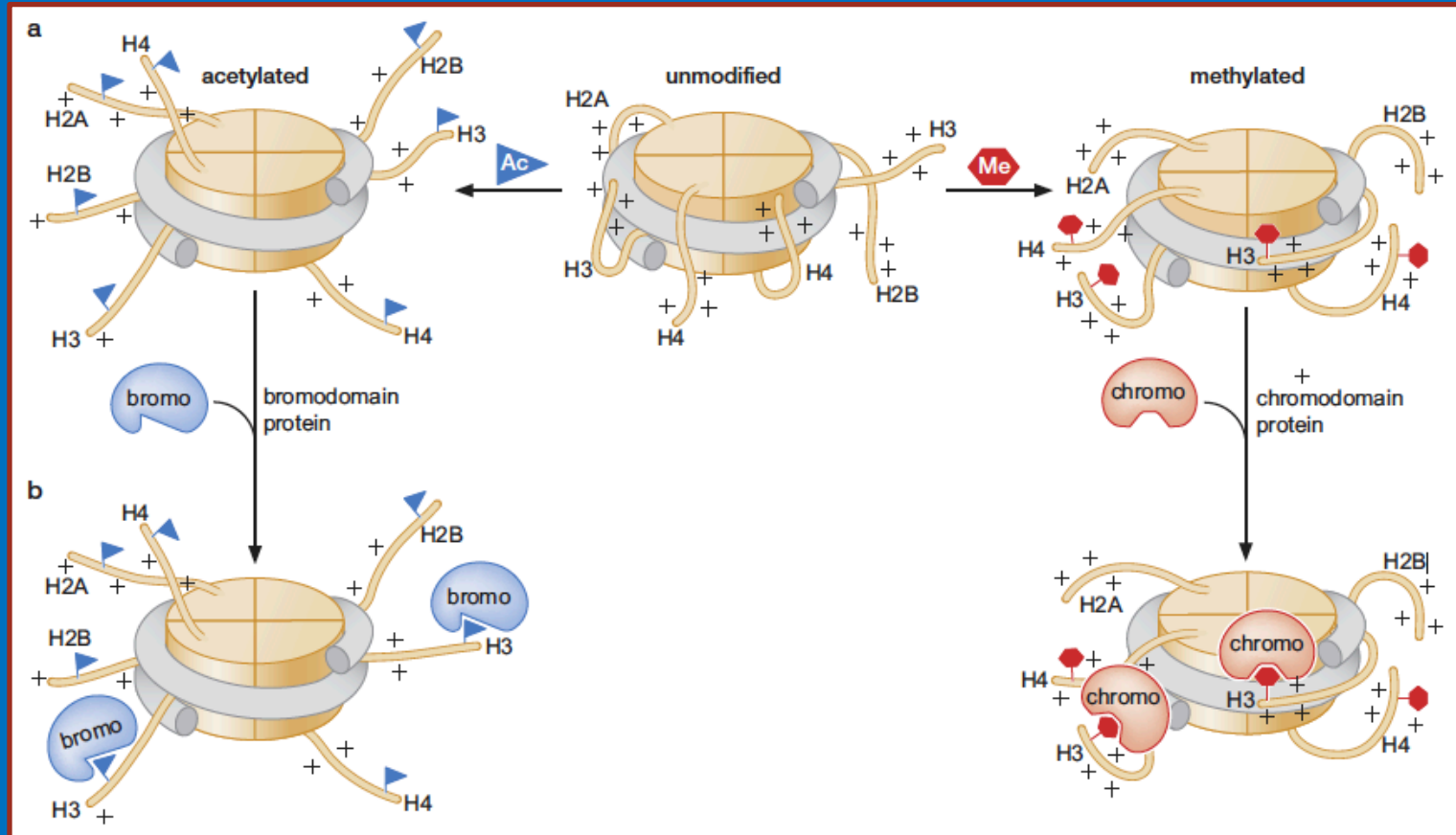


Nucleossomo e as modificações na histonas



- Modificações na histonas alteram a carga da proteína e sua afinidade pela cromatina.
- Isto permite que diferentes proteínas interajam com os nucleossomos

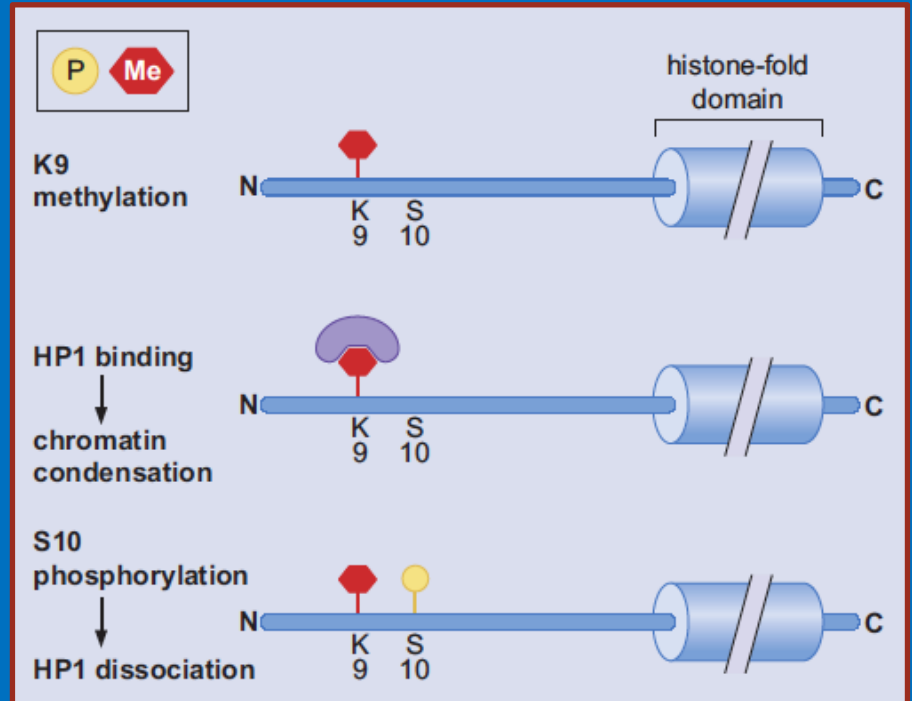
Nucleossomo e as modificações na histonas



- Proteínas que ligam acetil-histona contém domínios do tipo bromodomain.
- Proteínas que ligam metil-histona contém domínios do tipo chromodomain.

Existe um código de histonas?

- Alguns pesquisadores acreditam que as modificações nas histonas possam ser “lidas” e traduzidas em diferentes formas.
- Por exemplo, modificações do tipo H3K27 Me3 são comumente associadas com silenciamento gênico enquanto que modificações do tipo H3K4 Me3 estão associadas com transcrição gênica.
- Porém, a interpretação de outras combinações com as diferentes modificações possíveis, já é mais complicada.
- A metilação e fosforilação da histona H3 pode modular diferentemente a interação da *Heterochromatin protein-1* (HP1).



Existe um código de histonas?

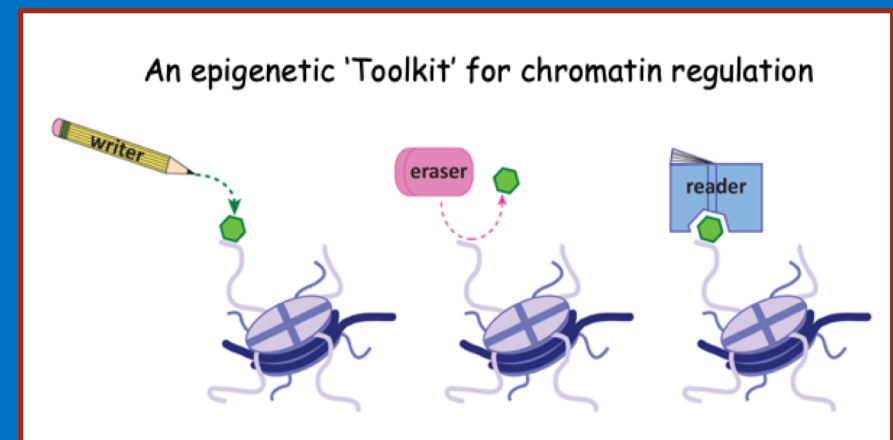
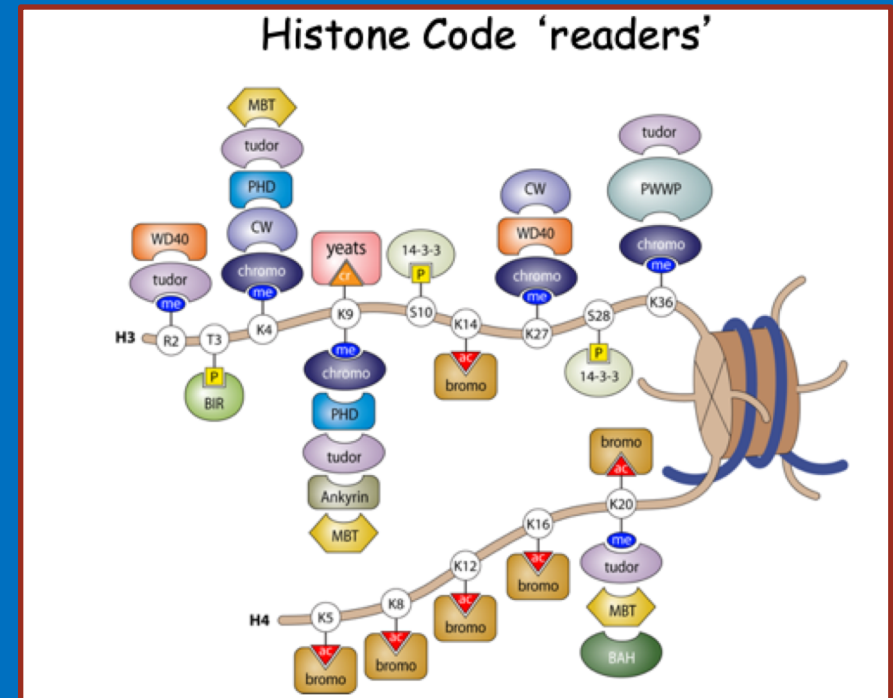
- No código genético, para cada códon, existe um aminoácido correspondente
- E para as modificações de histona?
- Existe um código? Sim e não. Algumas modificações são relativamente padrão
- Mas de forma geral, uma mesma modificação pode ter efeitos diversos, dependendo da região (gene) do DNA onde ela ocorre

Histone modification affects the structure and function of chromatin			
Histone	Site	Modification	Function
H3	Lys-4	Methylation	Activation
H3	Lys-9	Methylation	Chromatin condensation
	Lys-9	Methylation	Required for DNA methylation
	Lys-9	Acetylation	Activation
H3	Ser-10	Phosphorylation	Activation
H3	Lys-14	Acetylation	Prevents methylation at Lys-9
H3	Lys-79	Methylation	Telomeric silencing
H4	Arg-3	Methylation	
H4	Lys-5	Acetylation	Assembly
H4	Lys-12	Acetylation	Assembly
H4	Lys-16	Acetylation	Nucleosome assembly
	Lys-16	Acetylation	Fly X activation

FIGURE 30.11 Most modified sites in histones have a single, specific type of modification, but some sites can have more than one type of modification. Individual functions can be associated with some of the modifications.

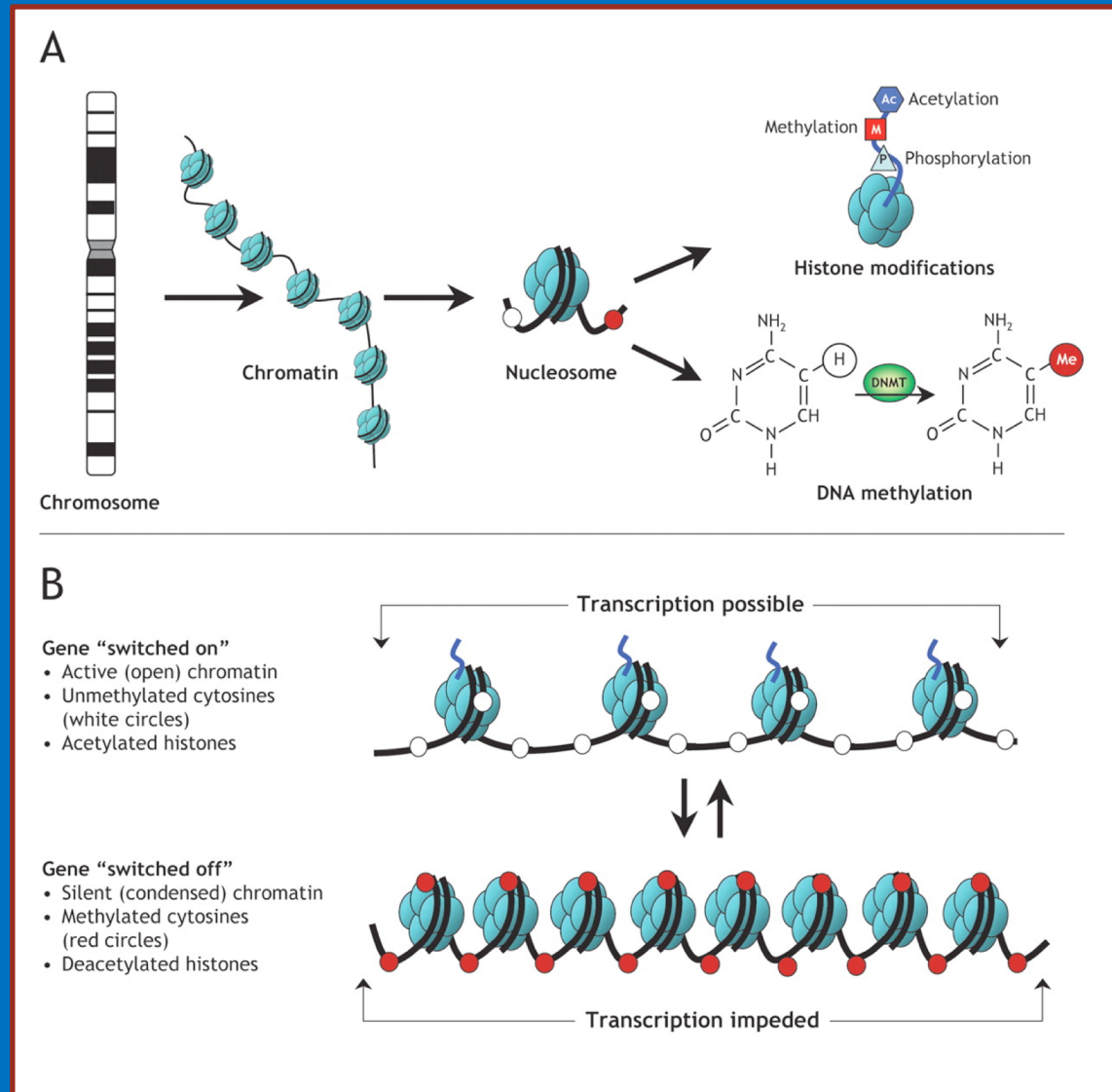
A complexidade das modificações epigenéticas

- Diferentes proteínas podem conter bromodomínios ou cromodomínios
- Cada uma reconhece uma determinada modificação na histona
- Desta forma, diferentes tipos celulares, podem responder de forma distinta às diferentes modificações de histonas
- Tudo isto, dá uma grande complexidade às modificações epigenéticas



Mas não são apenas modificações nas histonas: há ainda a metilação do DNA

- Genes também são silenciados pela metilação do DNA, não apenas de histonas.
- Na verdade, em regiões de heterocromatina, é comum o DNA estar metilado.
- A metilação é promovida pela enzima DNA metil-transferase (DNMT).

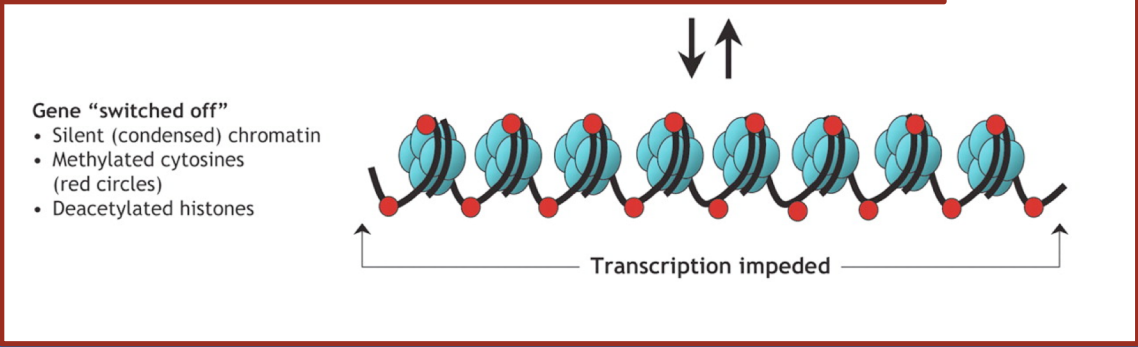
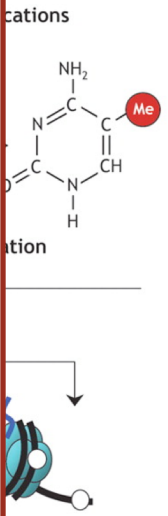
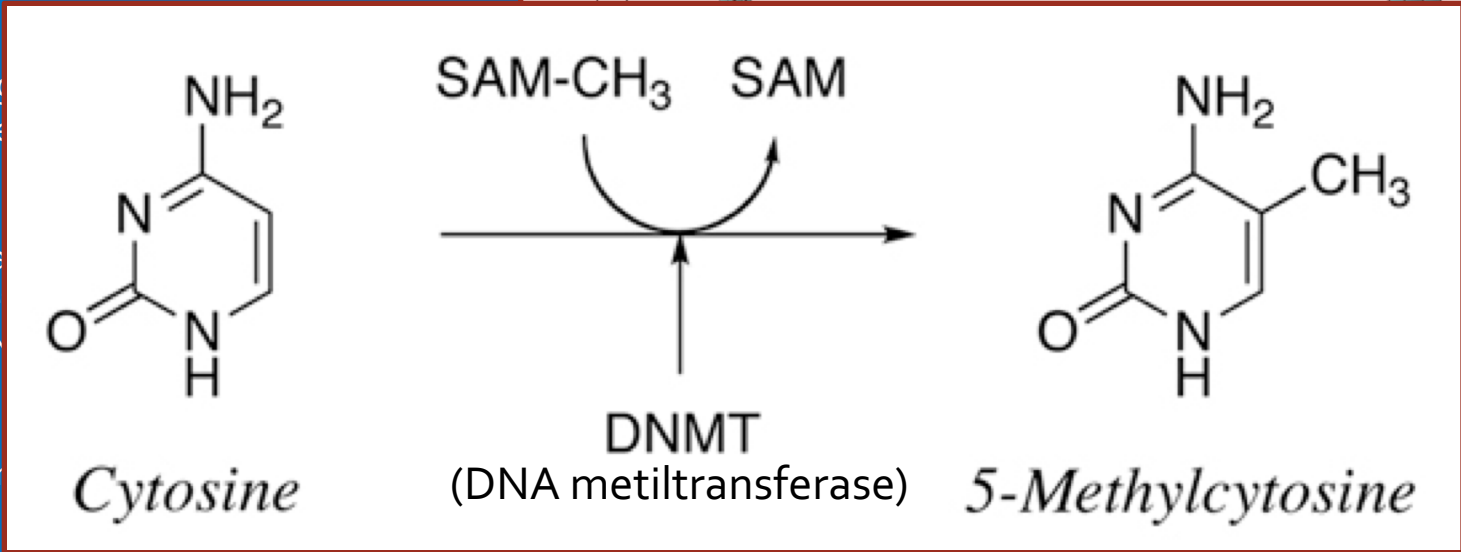


Metilação do DNA

S-Adenosyl methionine (SAM)

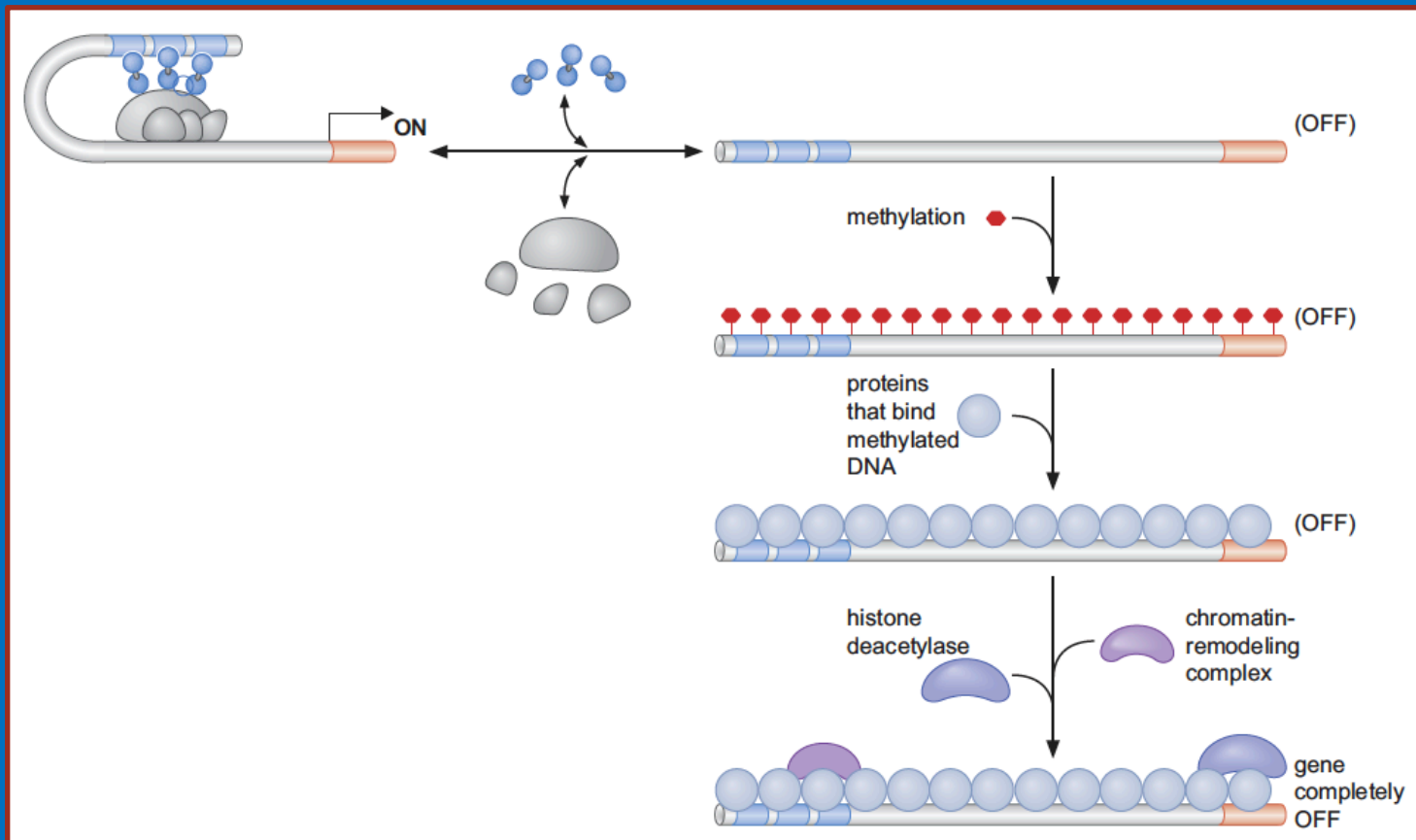


- Almeida
- Nathaniel
- DNMT
- Armen
- (DNMT).



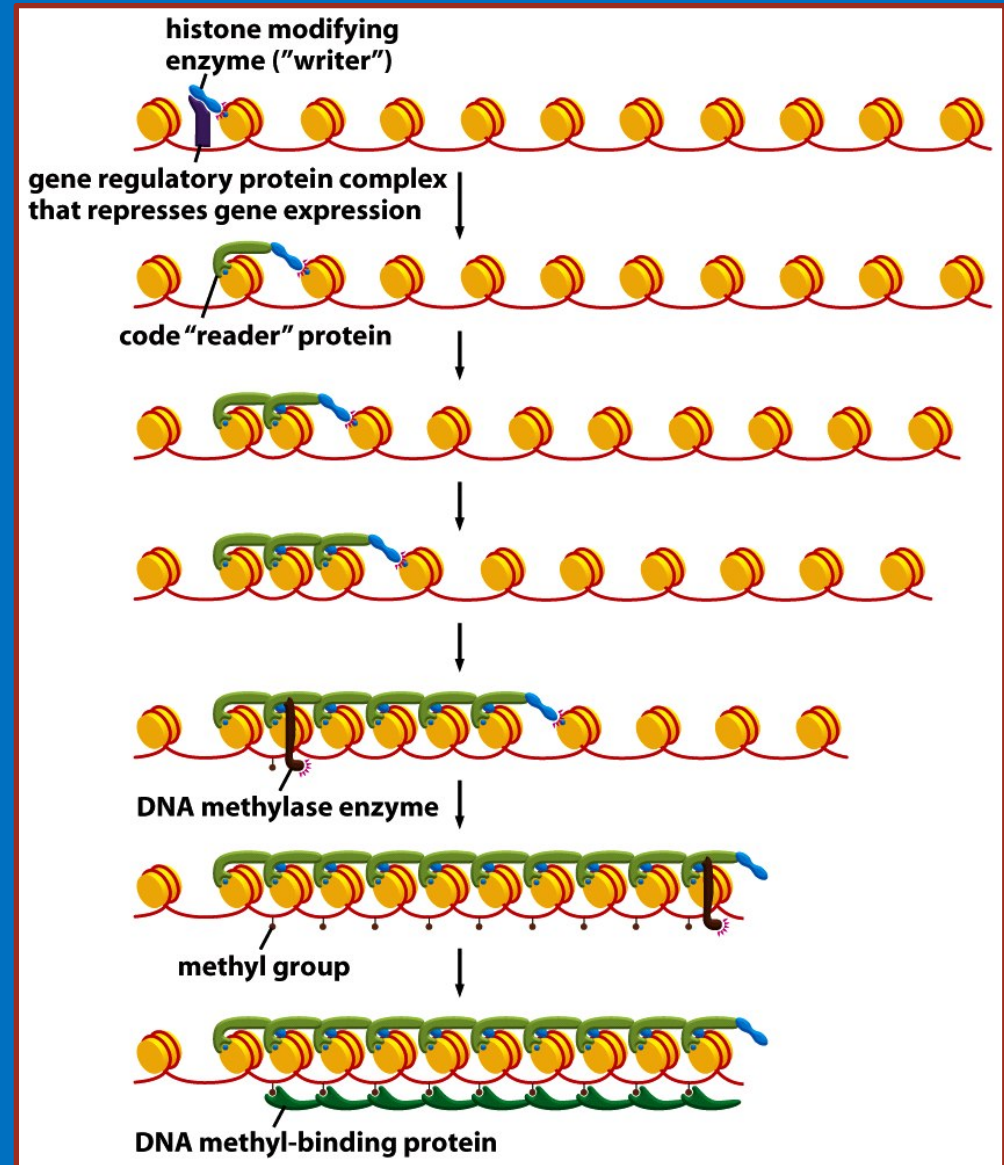
Metilação do DNA e o silenciamento da cromatina

- A metilação do DNA é muito poderosa e pode silenciar grandes regiões de um cromossomo
- Uma vez metilado, todos os genes naquela região do DNA ficam completamente **desligados (silenciados)**



Metilação do DNA e o silenciamento da cromatina

- Uma combinação de códigos de histona, com metilação do DNA pode levar ao silenciamento de toda uma região cromossômica
- Por exemplo, a marcação de histonas numa região do DNA inicia o processo
- A partir daquele ponto, as histonas vizinhas são modificadas
- Isto atrai a enzima DNMT (DNA metilase) que metila o DNA
- Finalmente, proteínas que se ligam a DNA metilado, se ligam ao DNA, silenciando toda esta região do cromossomo





Mutações do DNA podem afetar a epigenética?

- Mutações no DNA podem ter efeitos permanentes
- Principalmente, mutações que alteram padrões de metilação do DNA
- Vejam alguns exemplos.... daqui a pouco

CpG islands

- Regiões ricas no dinucleotídeo CG são comuns no genoma de mamíferos.
- Em mamíferos, a grande maioria dos pares CG são metilados na citosína.
- Ilhas CpG são comuns no genoma.
- Estas sequências estão distribuídas desigualmente pelo genoma, concentradas em algumas regiões ("ilhas").
- São comuns em regiões promotoras ou importante na regulação gênica
- CpG islands, com 1.000-2.000 bp, apresentam de 10-20 vezes a densidade esperada de CG.

```

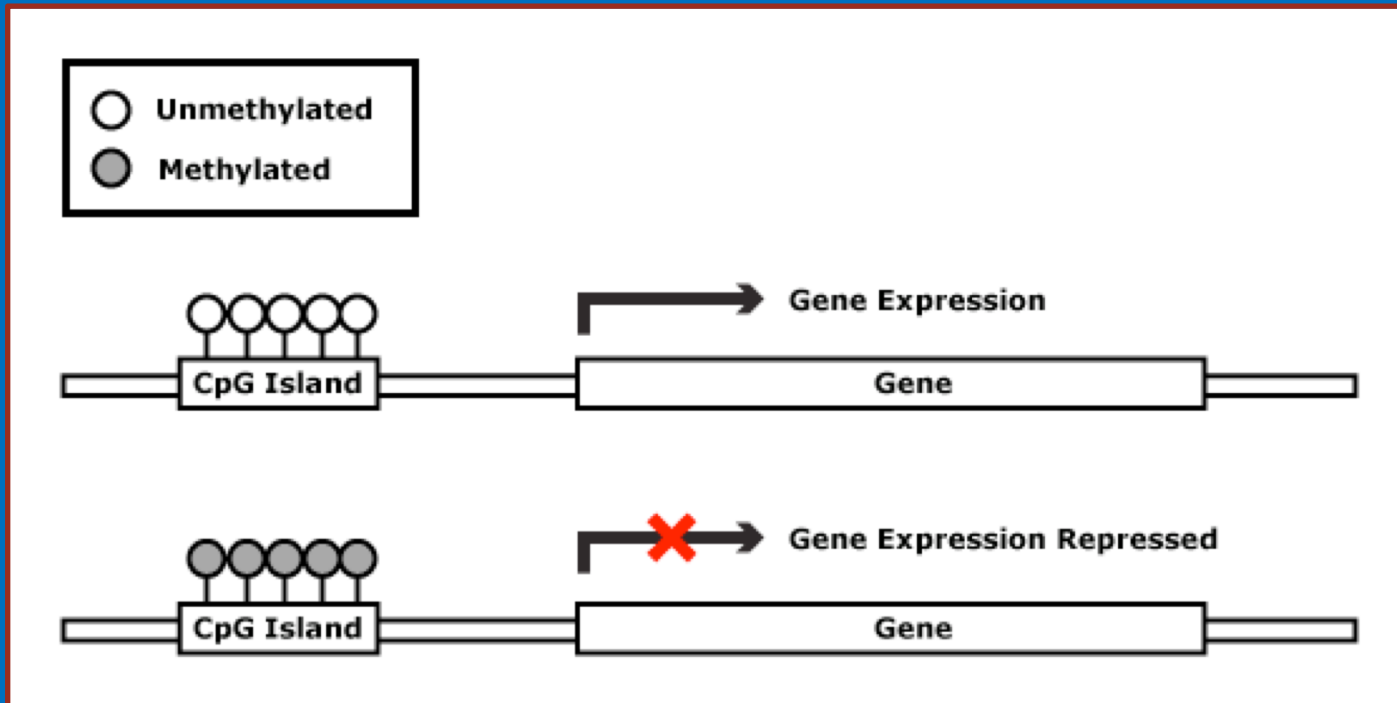
CATTCCGCTTCTCTCCGAGGTGGCGCGTGGGA
GGTGTTTTGCTCGGGTTCTGTAAGAATAGGCCAGG
CAGCTTCCCGCGGGATGCGCTCATCCCTCTCGG
GGTTCCTCCACCGCGCCCGTTCCGCCTGTT
CGCCTGCGAGATGTTTTCCGACCGACAATGATTC
CACTCTCGCGCCCTCCCATGTTGATCCAGCTCCT
CTGCGGGCTCAGGACCCTGGGCCCGCCCG
CTCCACTCAGTCAATCTTTTGTCCCGTATAAGGCG
GATTATCGGGGTGGCTGGGGCGGCTGATTCGCA
CGAATGCCCTTGGGGGTACC CGGGAGGGAAGTCC
CGGGCTCCGCTTTGGCCAGCCCGCACCCCTGGT
TGAGCCGCGAGGGCCACCAGGGGGCGCTCG
ATGTTCTGCAGCCCCCGCAGCAGCCCCACTCC
CGGCTCACCCCTAGATTGGCTGGCCCGCCCGAG
CTCTGTGCTGTGATTGGTCACAGCCCGTGTCCGT
CGCGGGCGCGGGCGGATACCGAGGTGACCGCGCA
GAGGCCAGCTCGGGCGGTGTCCCGCGCCCGCG
GACTGCGCGGAGTTCGCGAGGGCCGAAAGCG
GGGCAGTGTGACCGCAGCGTCTGGGAGGCGC
CGCGCGCGCGTGGAGCAGCTCCCGTCCCTCGCA
GCCTCACCGCGCGCTCGCGCCCGCCCTGGCC
TCCCGACTCGCGCACTCCTGTCCCGCCACCG
CGCCACCTCCACCTCGATGCGGTGC CGGGCTGC
TGCGTGATGGGGCTGCGGAGCGCGCCCTGCGG
CTCGCGCGCGCGCTGCTCGCGCTGAGGTGCGT
CGGTGCCCGCCCCCGCGCCCCCGCGCGCGCGCG
CGCTCCTGTTGACC CGGTCCCGT CGGTCTGC
AGCGCGGCTGAGGTAAGGCGCGCGGGCTGGCCCG
CGGTTGGCGCGCGGTGCGCGGGGTTGGGGAGGG
GGCGGCTTCGCGCGGGAGGAGCGCGCGCCGG
GGTCCGCGCGGGTCTGAGGGGA
CTCTTAGTTTTGGGTGCATTTGTCTGGTCTTCCAAA
CTAGATTGAAAAGCTCTGAAAAAAAACATCTTGT
GTTTTCTATCTGTTGAGCTCATAGTAGGATCCAGGA
AGTAGTAGGGTTGACTGCATTGATTTGGGACTACAC
TGGGAGTTTTCTTCCCATCTCCCTTTAGTTTTCT
TTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTTTTCTTTTTTTT
TTGAGATGTCTTGTCTCAGTCCCCCAGGCTGGA
GTGCAGTGGTGCGATCTTGGCTCACTGTAGCCTCC
ACCTCCCAGGTTCAAGCAATCTACTGCCTTAGCCT
CCCGAGTAGCTGGGATTACAAGCACC CGCCACCAT
TCCTGGCTAATTTTTTTTTTTGATTTTTAGTTGAGA
CAGGGTTTTACCATGTTGGTGATGCTGGTCTCAGA
CTCTGGGGCTAGCGATCCCCCTGCCTCAGCCT
CCAGAGTGTTAGGATTACAGGCATGAGCCACTGT
ACC CGGCTCTCTCCAGTTCCAGTTGGAATCCAA
GGGAAGTAAGTTAAGATAAAGTTA CGATTTTGAAT
CTTTGGATTGAGAAGAATTTGTCACTTTAACACCT
AGAGTTGAA CGTTCATACCTGGAGAGCCTTAACATT
AAGCCCTAGCCAGCCTCCAGCAAGTGGACATTGGT
CAGGTTTGGCAGGATTCTCCCTGAAAGTGGACT
GAGAGCCACACCCTGGCCTGTACCATACCCATCC
CCTATCCTTAGTGAAGCAAACTCCTTTGTTCCCTT
CTCCTTCTCCTAGTGACAGGAAATATTGTATCCTA
AAGAATGAAAATAGCTTGTACCTCGTGGCCTCAG
GCCTCTTACTCAGGCGGTTCTGTTAATCAAGT
GACATCTTCCCGAGGCTCCCTGAATGTGGCAGATG
AAAGAGACTAGTTCAACCTGACCTGAGGGGAAAG
CTTTGTGAAGGGTCAGGAG
    
```

Left: CpG sites at 1/10 nucleotides, constituting a CpG island. The sample is of a gene-promoter, the highlighted ATG constitutes the start codon.

Right: CpG sites present at every 1/100 nucleotides, constituting a more normal example of the genome, or a region of the genome that is commonly methylated.

CpG islands e o silenciamento gênico

- A metilação destas ilhas de CpG leva ao silenciamento de um gene.

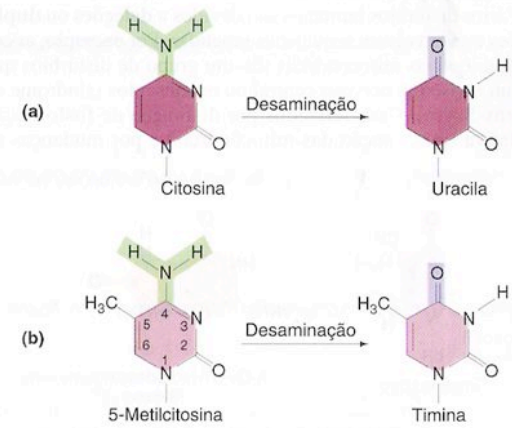


Deaminação da 5-metil citosina

- A deaminação acidental de uma citosina (C) resulta num uracil (U) que é prontamente reconhecida pelos mecanismos de reparo de DNA.
- Porém, a deaminação de uma 5-metil-citosina resulta na formação de uma timina (T), que não é facilmente corrigida.
- Por isso, ao longo da evolução, vertebrados perderam 3 de cada 4 CGs presentes no genoma.

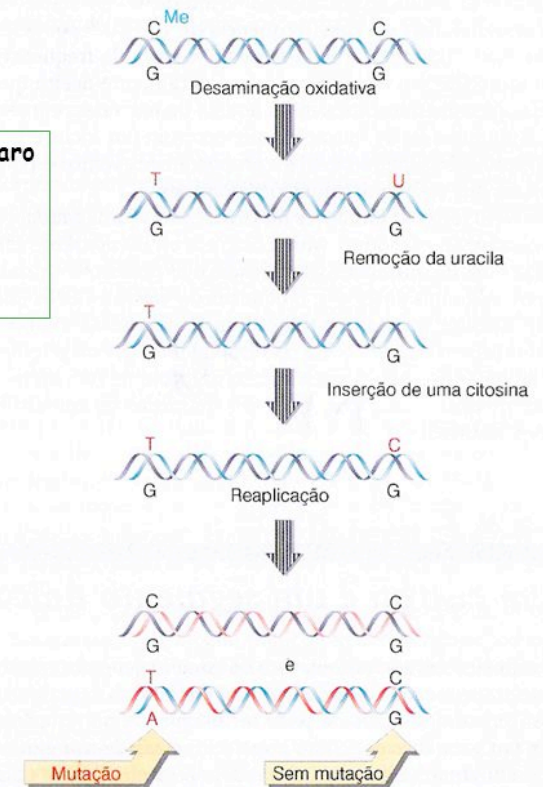
> Lesões Espontâneas

❖ Desaminação



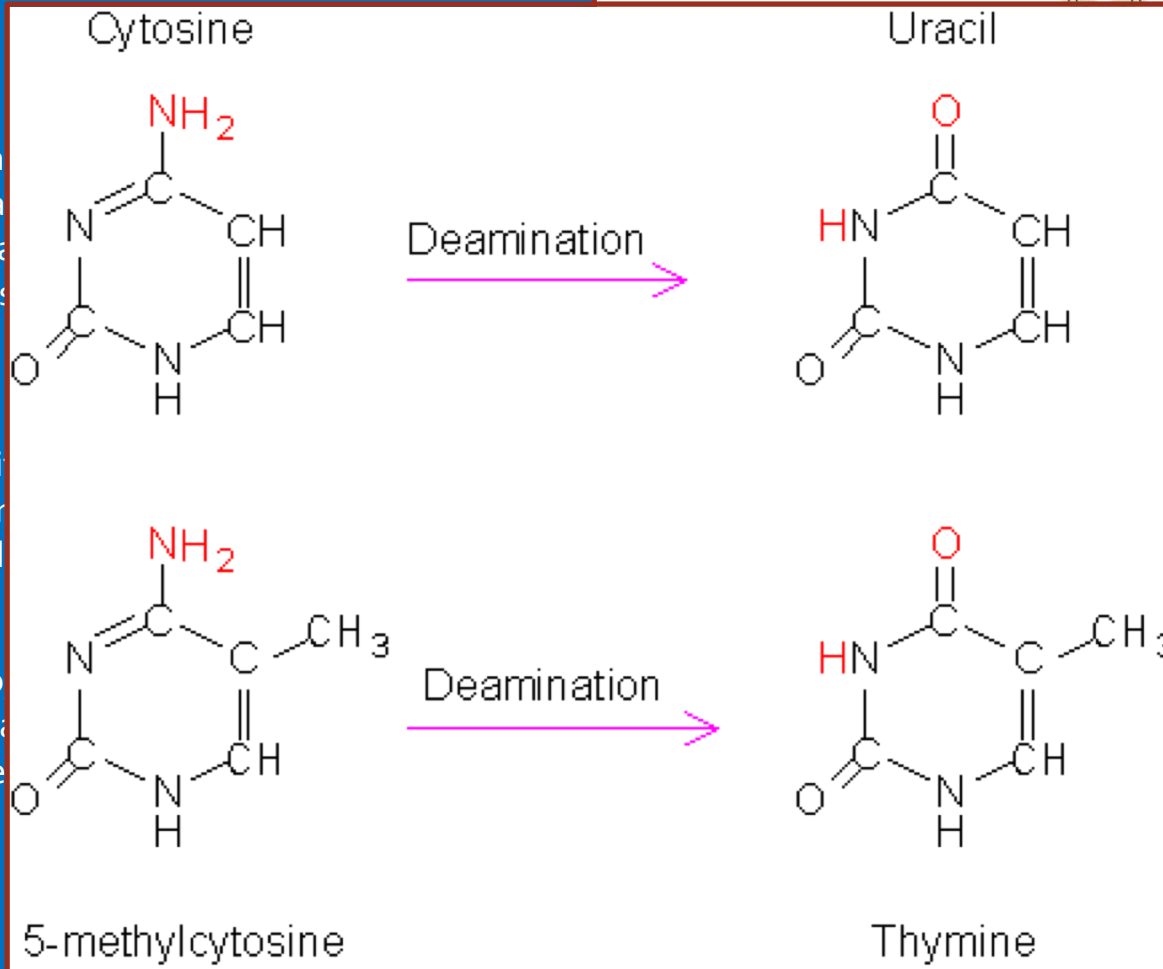
$C^{Me} \rightarrow T$: sistema de reparo não reconhece

$C \rightarrow U$: normalmente é reparada (uracil-DNA-glicosidase)



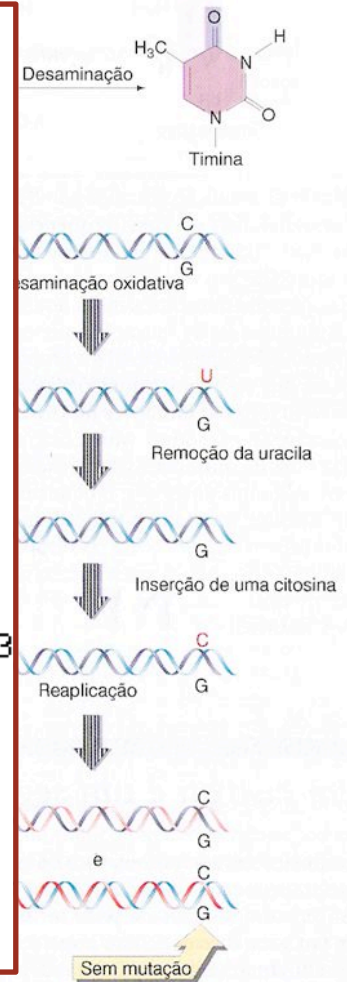
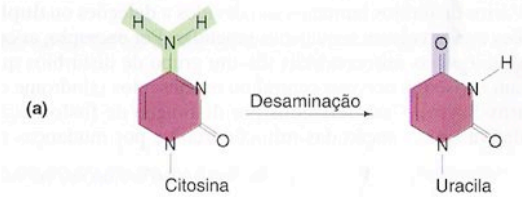
Deaminação da 5-metil citosina

- A deaminação da citosina é pronta mecanismo.
- Porém, a metil-citosina é uma timina corrigida.
- Por isso, as vertebras CGs pre...



> Lesões Espontâneas

❖ Desaminação



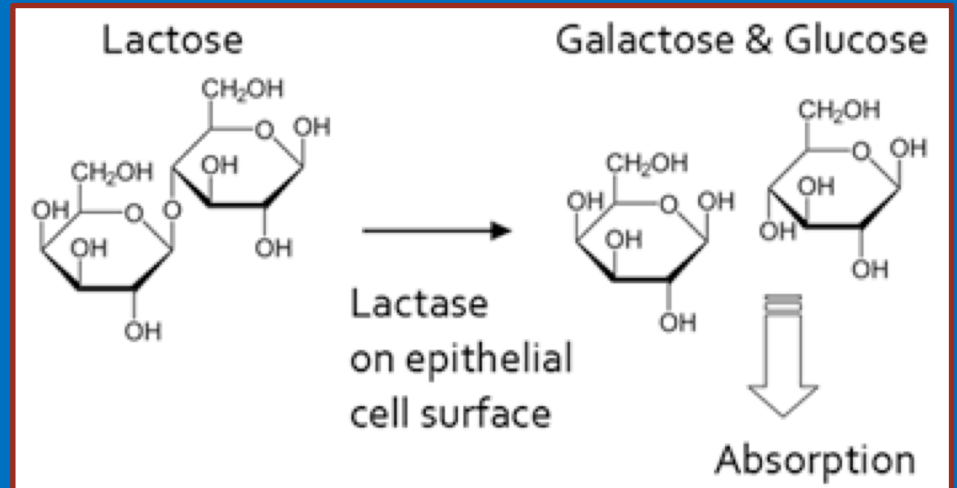
Exemplos de epigenética na nutrição

- No reino animal como um todo, o leite é um alimento restrito ao período da infância (juventude)
- Quando o filhote deixa de amamentar, é um indicativo que ele agora é um adulto pronto para seguir sua vida na natureza
- Nós somos uma exceção e continuamos (muitos de nós) a ingerir leite e seus derivados na vida adulta
- Mas o que isto tem a ver com epigenética? Tudo!



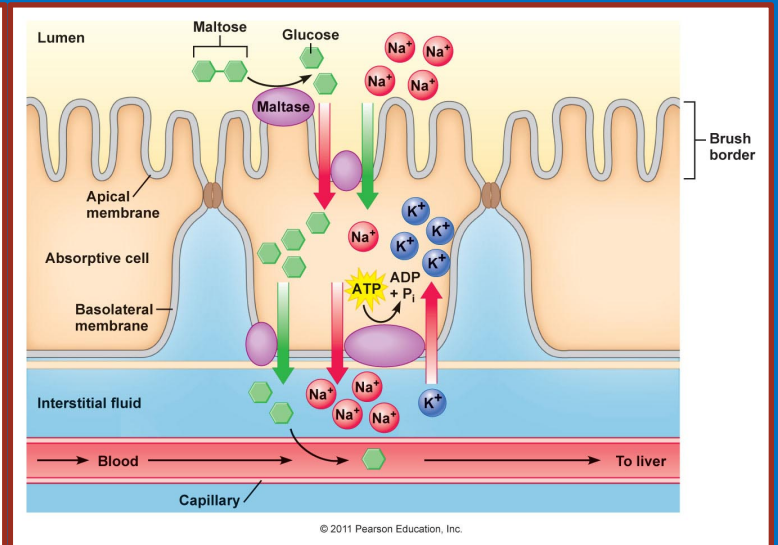
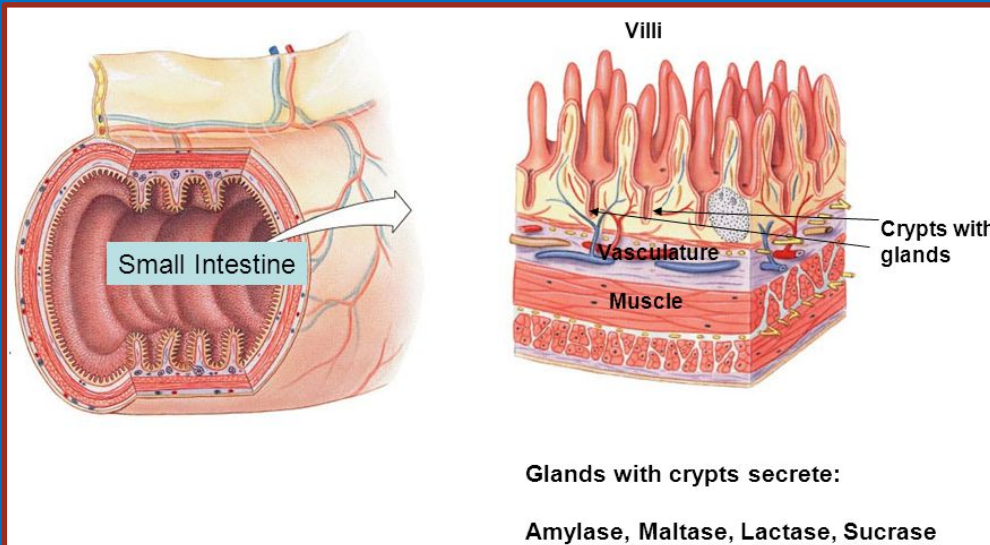
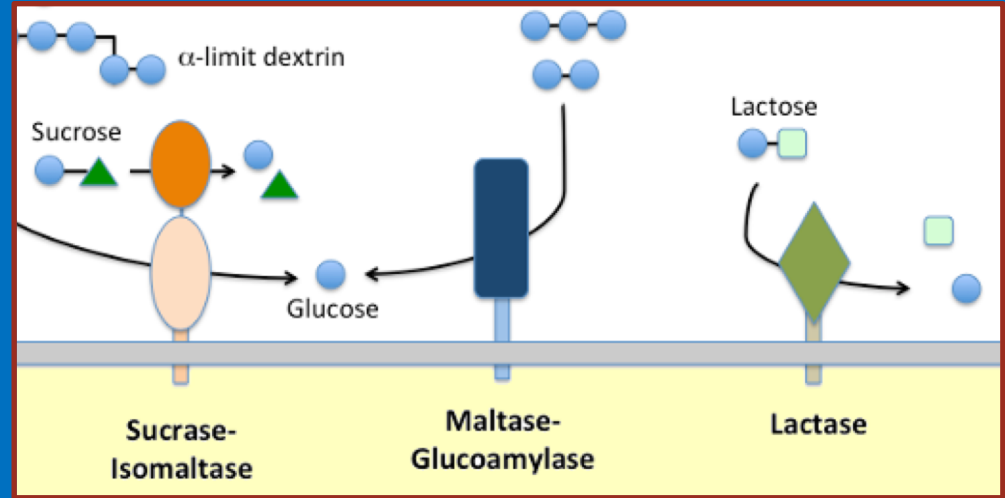
Epigenética e o leite

- Crianças produzem a enzima lactase
- Como você viram na aula de carboidratos, a lactose é um dissacarídeo
- Composto pela união da galactose e glicose, ela precisa ser digerida nas suas unidades para ser absorvida no intestino
- Porém, quando crianças atingem os 7 anos, apenas ~35% delas continuam produzindo esta enzima
- Por quê?



Enzimas que digerem carboidratos

- A saliva contém amilase ou $\alpha(1-4)$ -glicosidase, é capaz de romper ligação glicose- $\alpha(1-4)$ -glicose
- O pâncreas também produz amilase e maltase
- Ainda na parede do intestino encontra-se a sucrase e a lactase



Curiosidades...

- A maioria destas pessoas, estão ligadas geneticamente a população Europeia.
- Uma mutação, 7,000 anos atrás, numa única base do DNA, próxima ao gene da lactase, fez com que a enzima continuasse a ser produzida na fase adulta.
- Isto conferiu uma “vantagem” evolutiva para estas populações
- Elas puderam se beneficiar do poder nutricional do leite, na forma de queijos, iogurte etc.

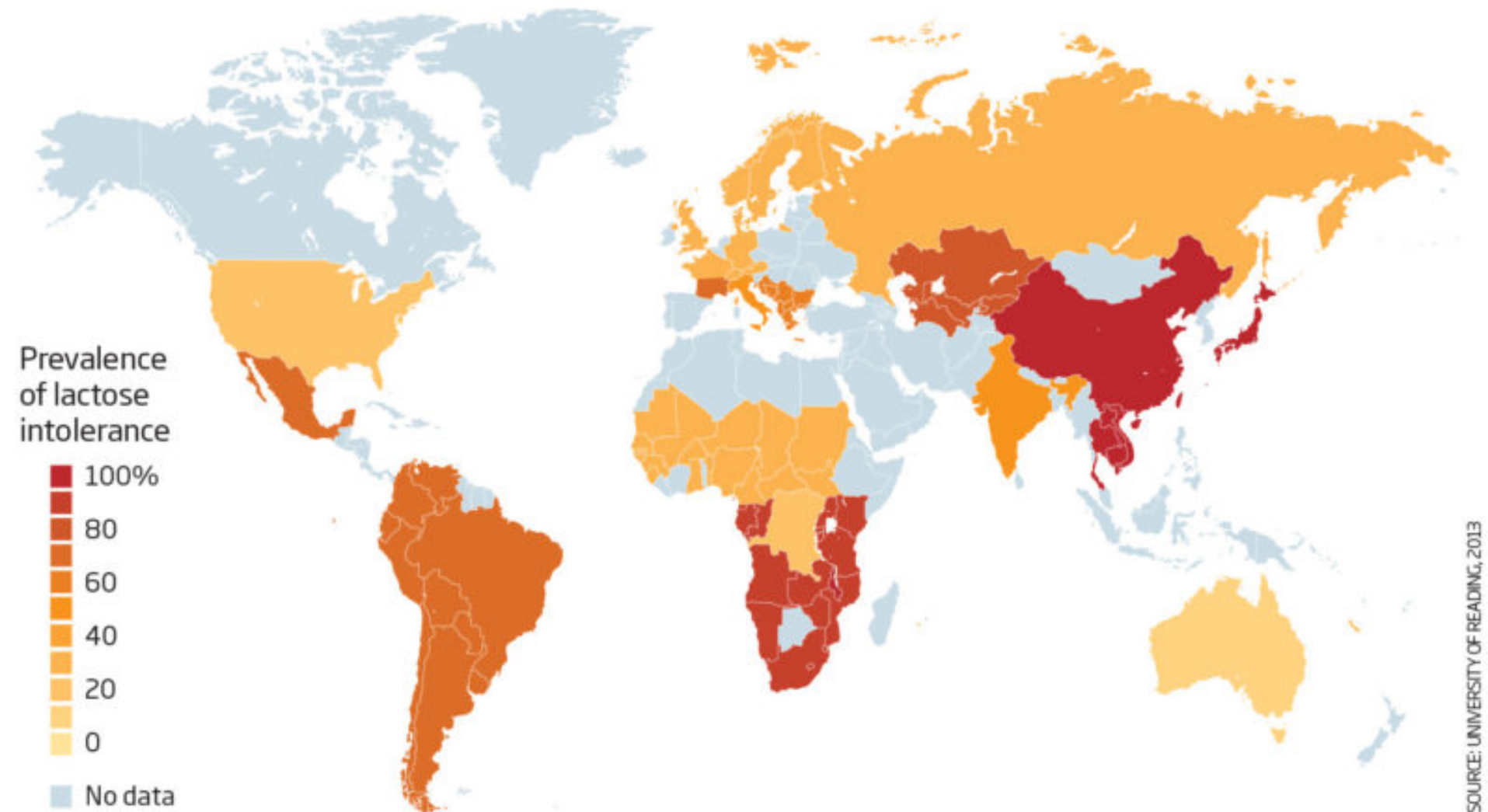
DAIRY DIASPORA

Dairying practices spread from the Middle East to Europe as part of the Neolithic transition from hunting and gathering to agriculture.



Lactose breakdown

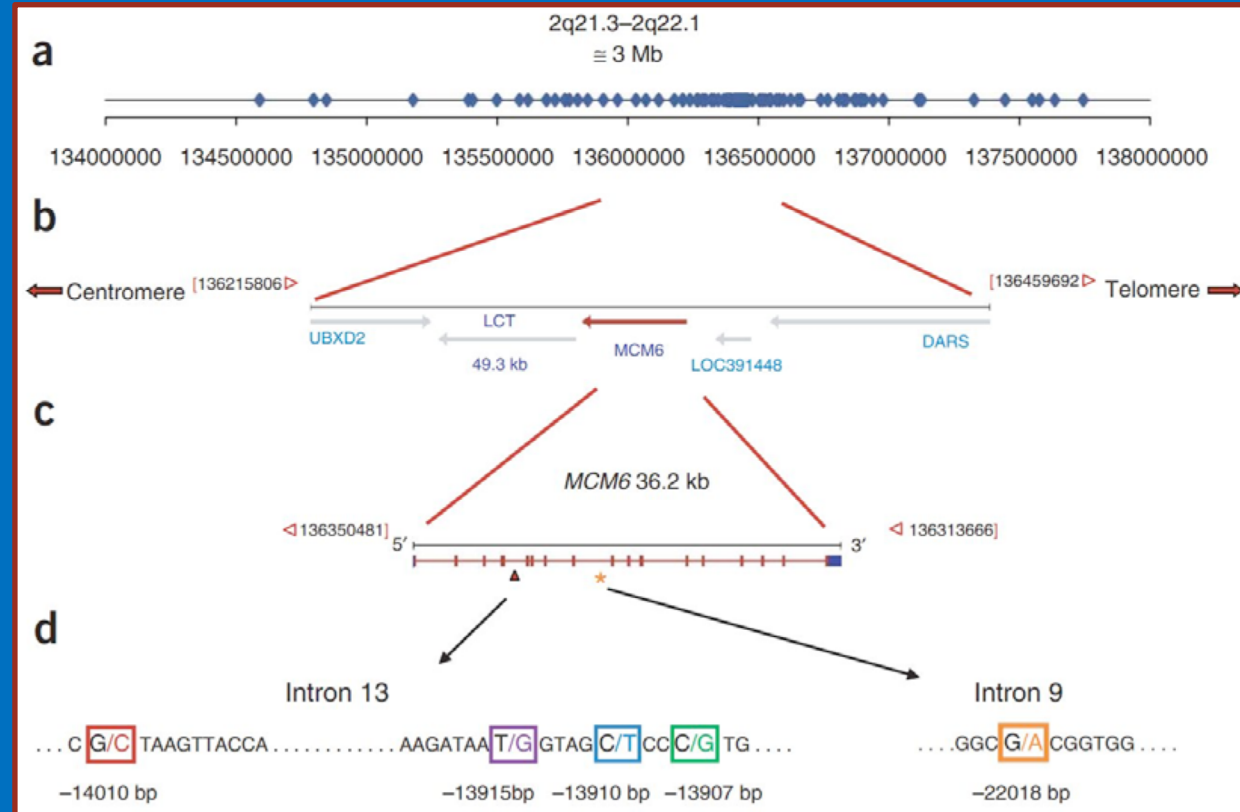
Only one-third of adults can digest milk. The rest stop making the enzyme needed to process milk sugar



Mesmo hoje, apenas **35% da população mundial** consegue digerir o leite na fase adulta da vida.

O gene da lactose (LCT) e o seu gene vizinho

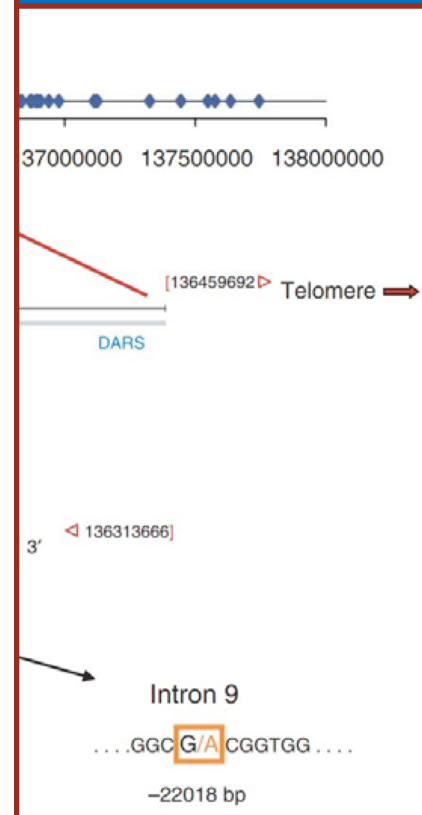
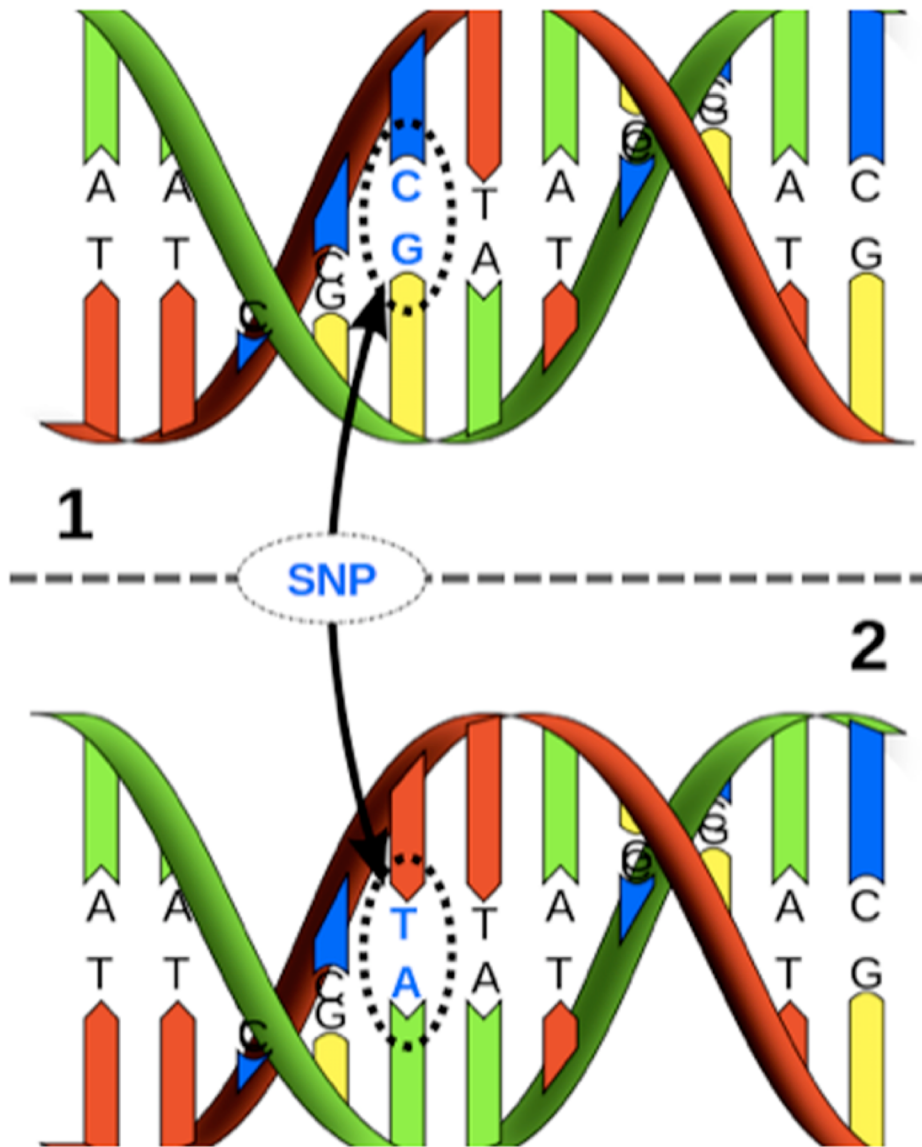
- O gene da lactase humana (LCT) encontra-se no cromossomo 2
- Vizinho ao gene LCT encontra-se o gene MCM6 (mini-chromosome maintenance proteins 6)
- Dentro deste gene, encontra-se um "enhancer" do gene LCT
- Ou seja, uma região que aumenta a expressão do gene LCT



- Curiosamente, não foram encontradas mutações no gene LCT associadas à produção da enzima lactase na vida adulta
- Porém, várias mutações foram encontradas no gene vizinho (MCM6), justamente na região do "enhancer"

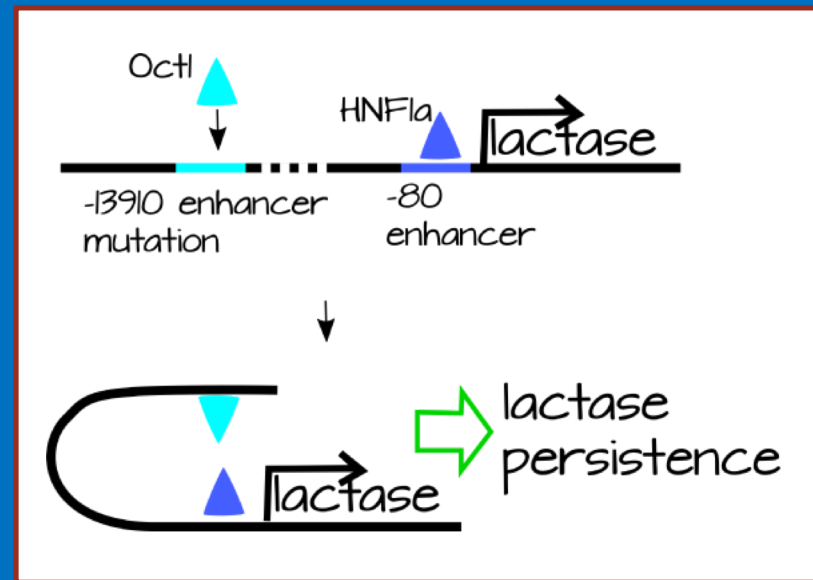
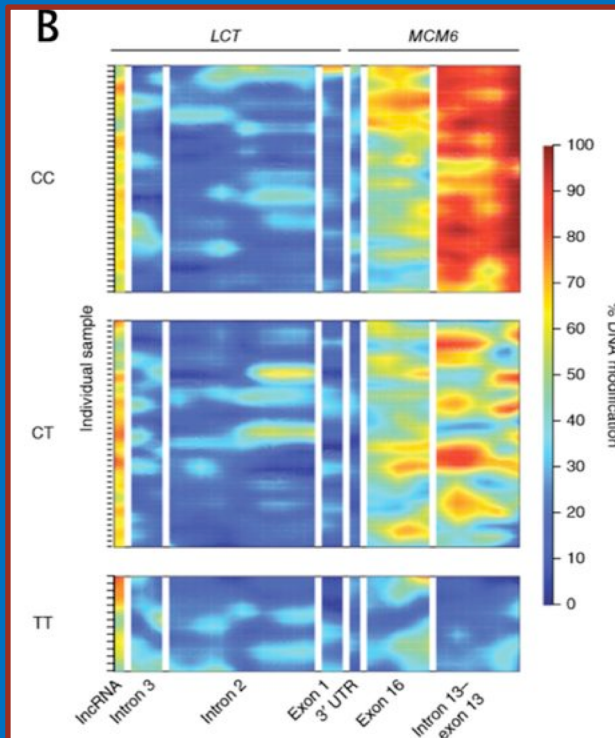
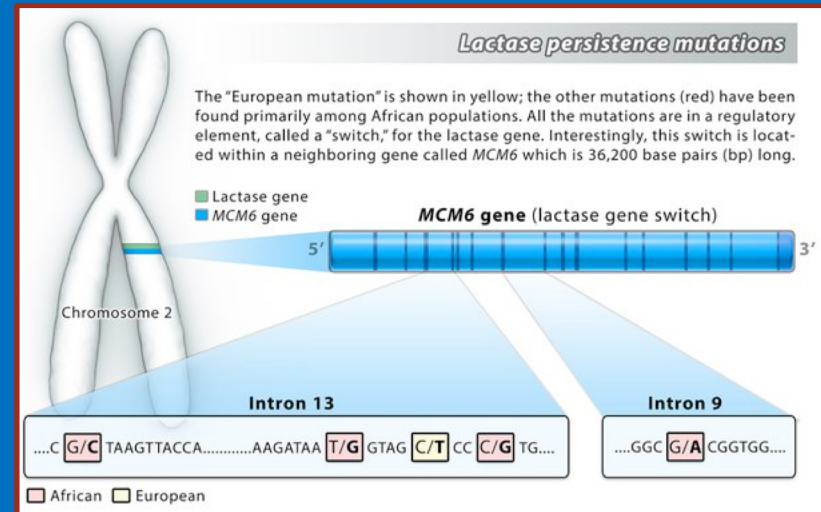
O gene da

- O gene da lactase (LCT) encontra-se no cromossomo 2
- Vizinho ao gene LCT encontra-se o gene (mini-cromossomo) maintenance prot
- Dentro deste gene encontra-se um "e" do gene LCT
- Ou seja, uma região aumenta a expressão do gene LCT

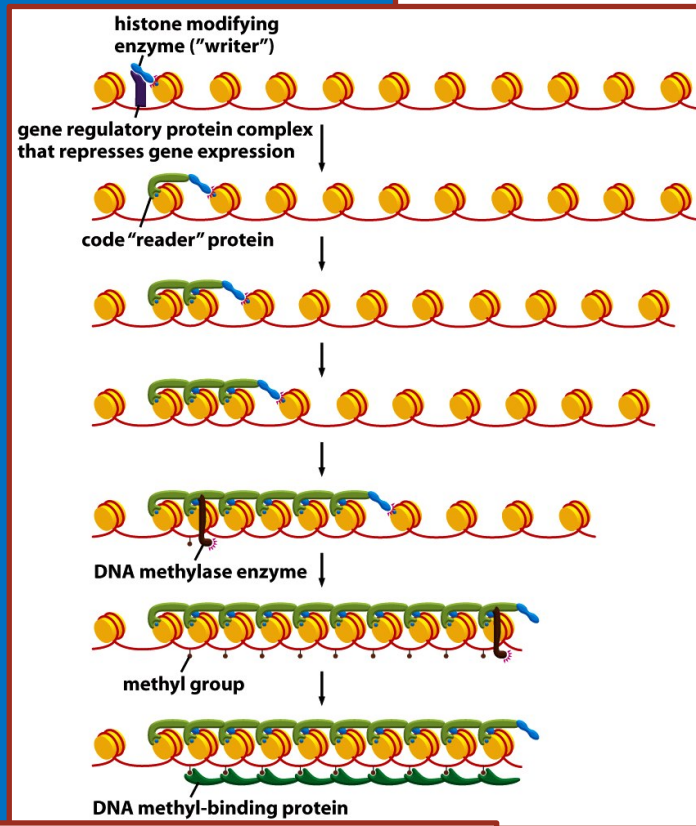
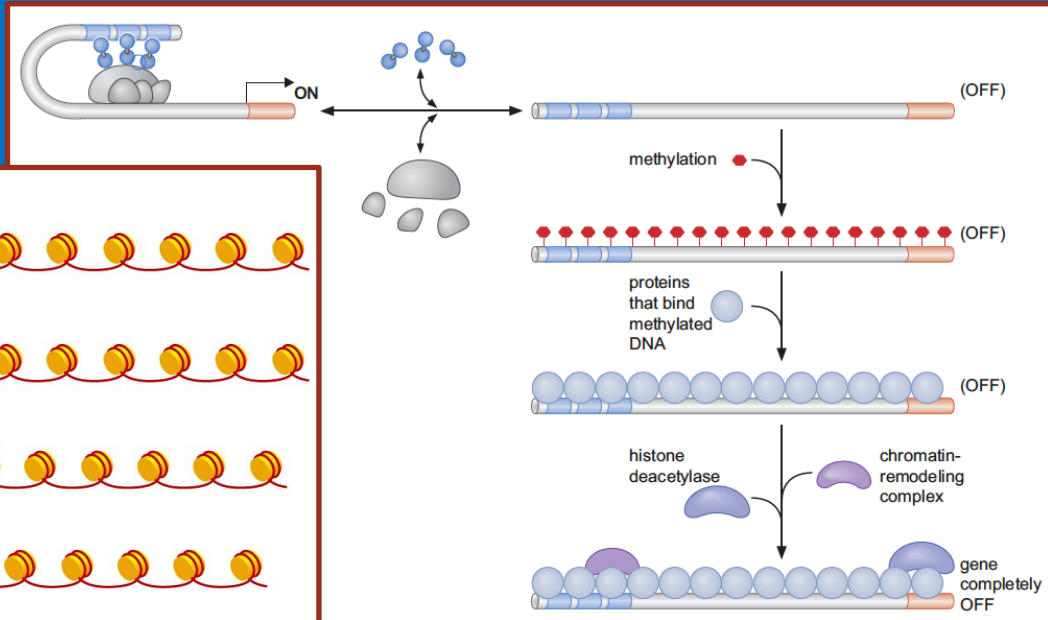


Epigenética controla do gene LCT

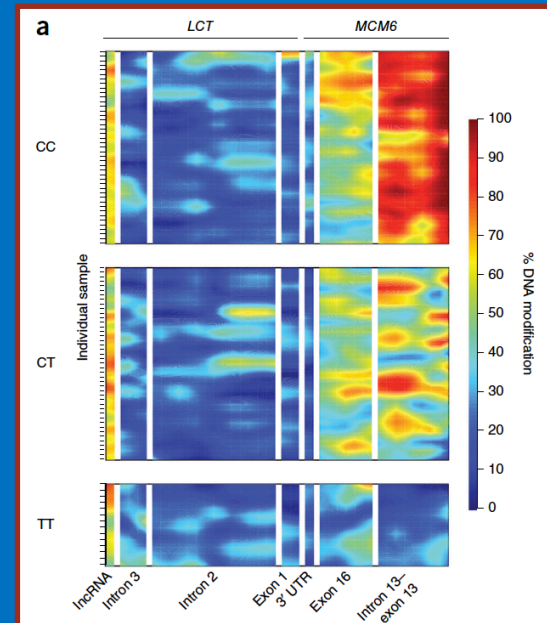
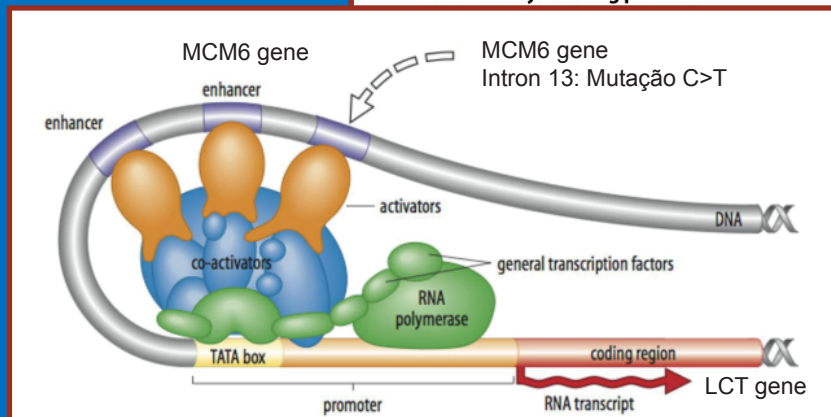
- Esta região é um “enhancer” do gene da lactase (LCT) controlado por epigenética (metilação)
- Quando o DNA é metilado, o “enhancer” não funciona mais, e o gene LCT é desligado
- Já nas pessoas com a mutação CT ou TT, o “enhancer” não é metilado, e o gene continua ativo



O gene LCT e MCM6

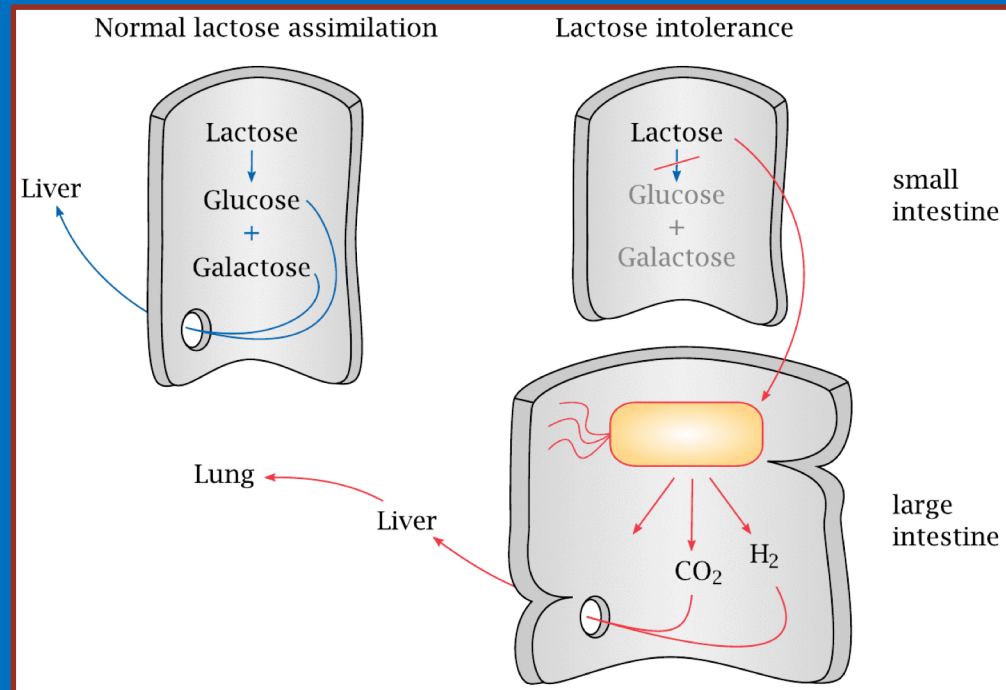
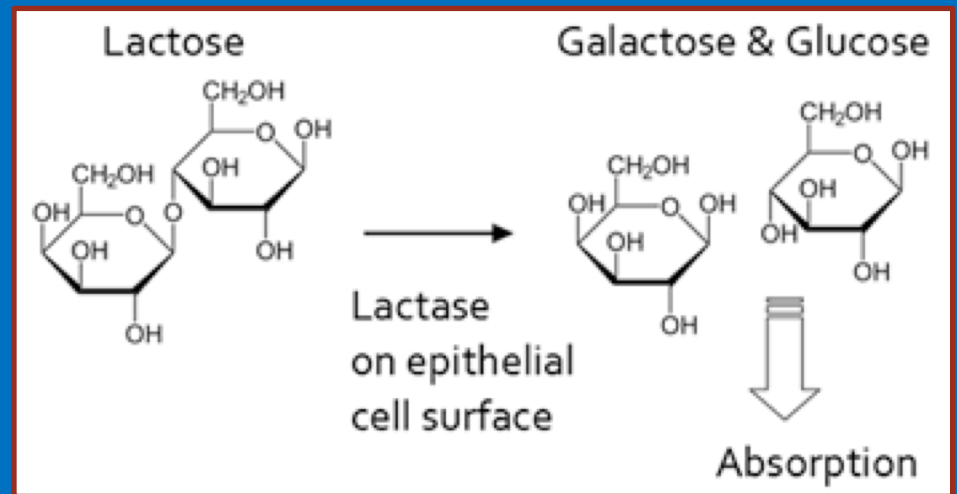


Alelo:
 -3910 C/C
 -13910 C/T
 -13910 T/T



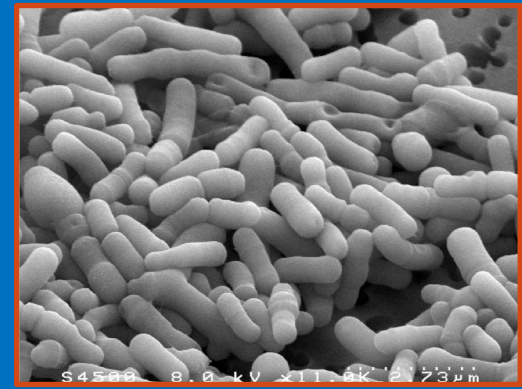
Intolerância a lactose

- Pessoas intolerantes a lactose não produzem a enzima lactase.
- A lactose acumula no intestino e serve de alimento para nossas bactérias
- O crescimento excessivo das bactérias que metabolizam a lactose não digerida, leva a produção de gases e acidificação do intestino
- O ácido irrita a mucosa intestinal e produz diarreia violentas, os sintomas mais inconvenientes para quem tem a deficiência

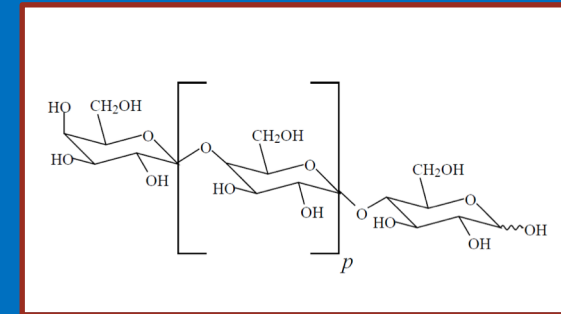


Intolerância a lactose e o microbioma

- O microbioma também parece ter um efeito importante na intolerância a lactose
- Pessoas que não apresentam as mutações associadas a expressão do gene LCT, podem ser tolerantes até um certo ponto, a produtos lácteos
- Parece que bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem consumir lactose, produzindo ácido láctico, que é bem melhor tolerado
- A ingestão de Probióticos e Prebióticos pode ajudar na intolerância a lactose
- Um exemplo de prebiótico são os galactooligossacarídeos, encontrados no leite
- Os galactooligossacarídeos (GOS), também conhecidos como oligogalactosilactose, oligogalactose, oligolactose ou transgalactooligossacarídeos (TOS), pertencem ao grupo dos prebióticos.
- Os prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas no cólon.
- GOS ocorre em produtos comercialmente disponíveis, como alimentos para bebês e adultos



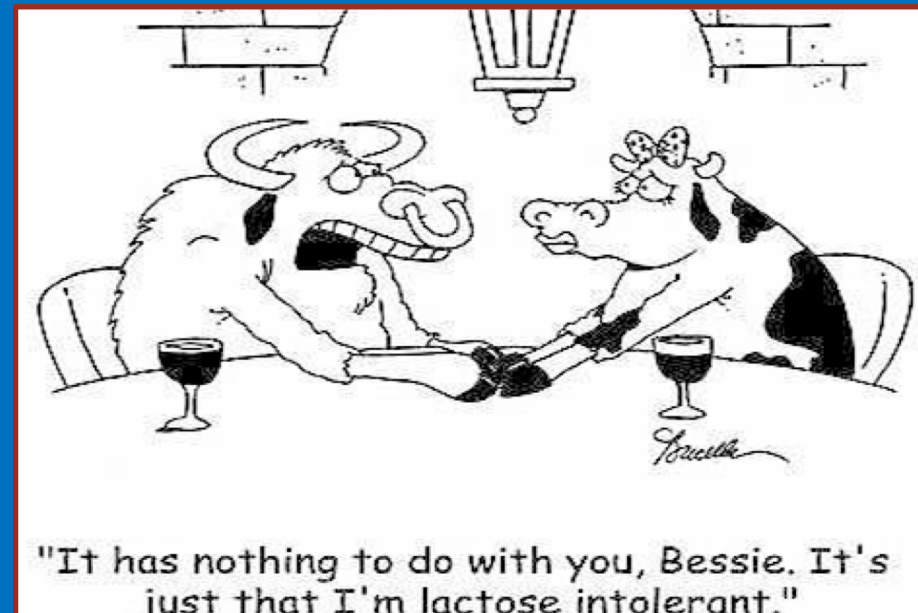
Bifidobacterium lactis (*B. animalis*)



Galactooligossacarídeos

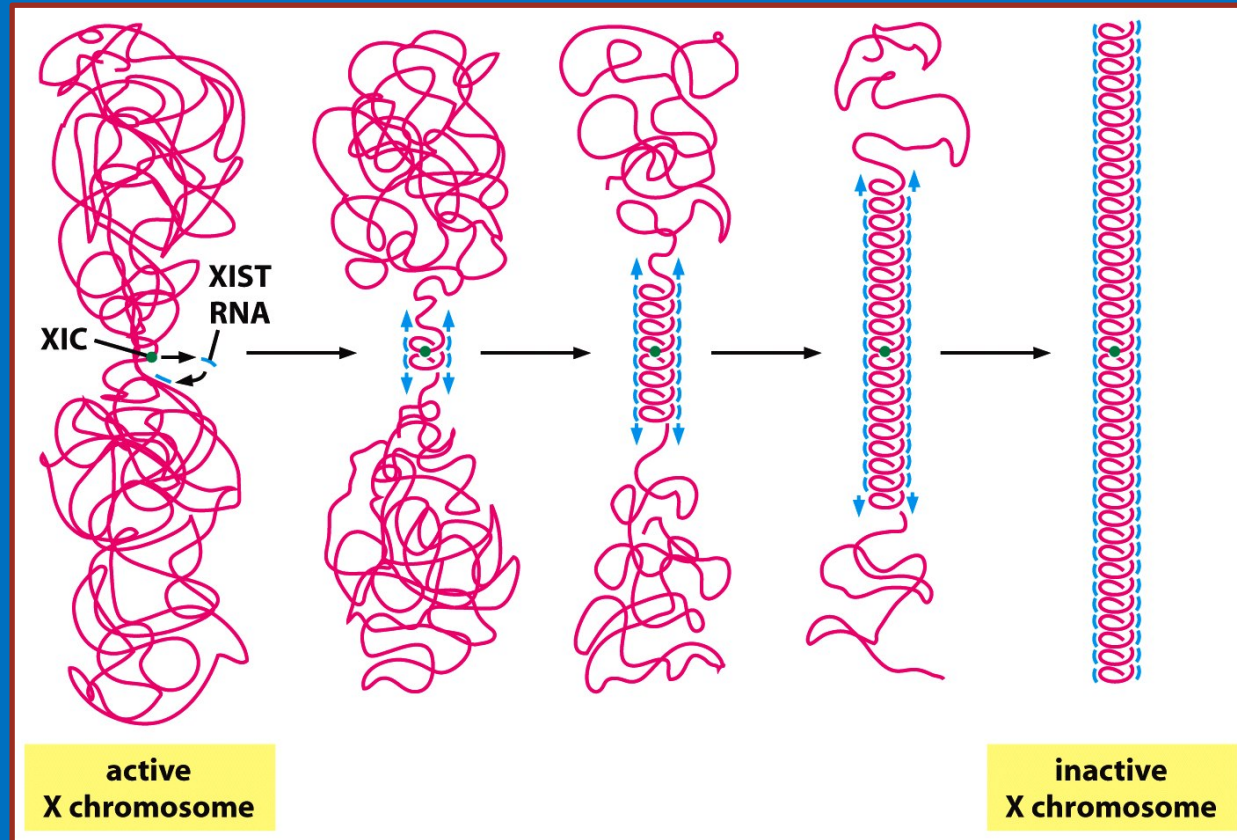
Não confundir intolerância com alergia!!

- Por isso, o mercado para produtos com baixa lactose
- Produtos com baixa ou nenhuma lactose podem ser obtidos tratando-se leite com a enzima lactase
- Não existe alergia a lactose!
- Alergia é uma resposta imunológica que pode, em casos mais graves, levar a morte
- Já a intolerância induz apenas sintomas passageiros e de desconforto
- Porém, algumas pessoas podem ser alérgicas ao leite e seus derivados
- Alergia geralmente é causada por proteínas do leite



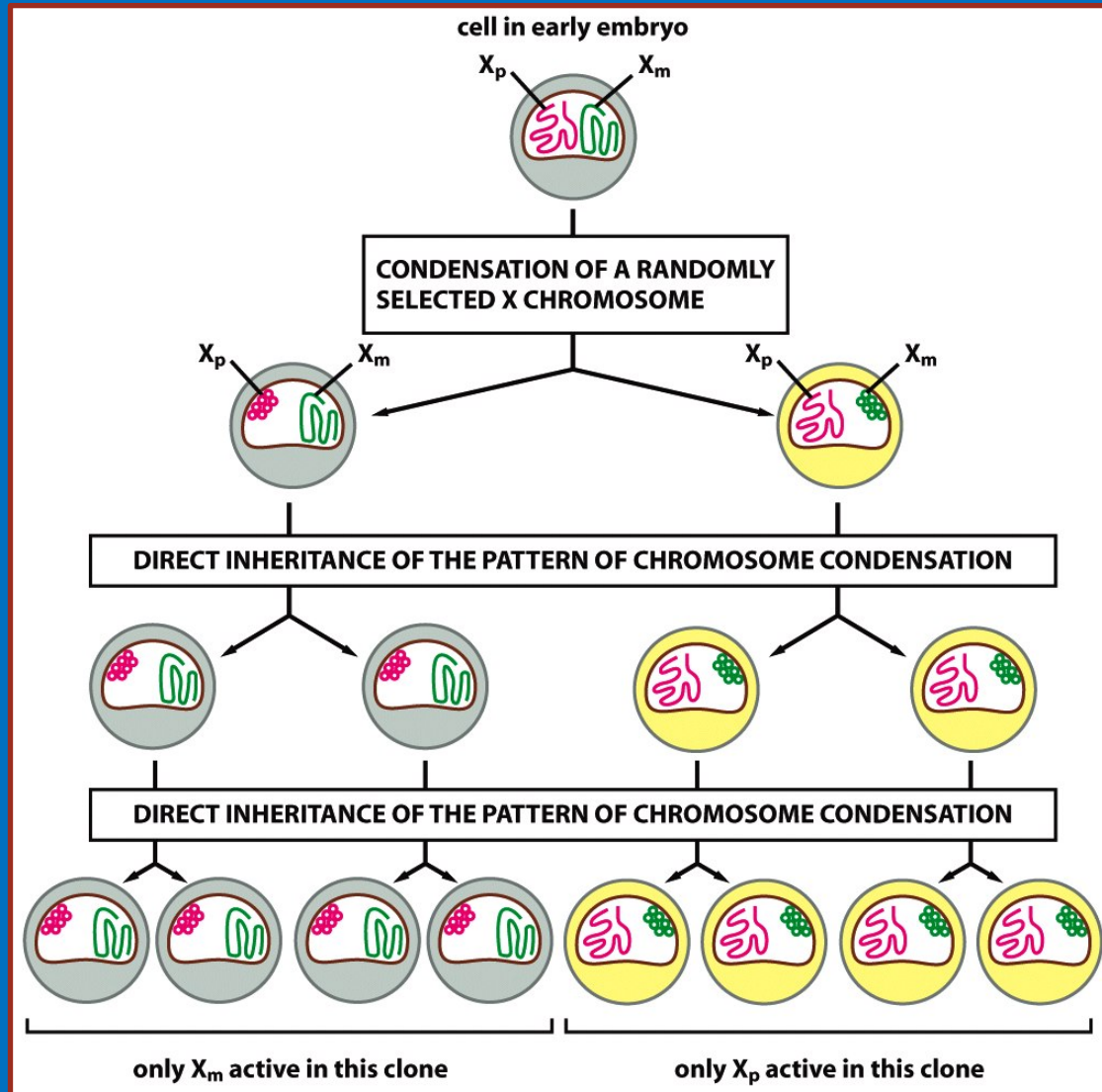
O caso do cromossomo X

- Nossas células, e de outros mamíferos, diferem nos cromossomos determinantes do sexo (X e Y).
- Enquanto o cromossomo X contém mais de 1.000 genes, o cromossomo Y apresenta menos de 100 genes.
- Para compensar esta diferença, as células das fêmeas (XX) silenciam uma das cópias do cromossomo X.
- O silenciamento ocorre durante o período embrionário e é mediado por um RNA não codificador (XIST).



O caso do cromossomo X

- O silenciamento é aleatório, isto é, pode ocorrer tanto na cópia materna do cromossomo (X_m) como paterna (X_p)
- Curiosamente, o silenciamento ocorre no desenvolvimento embrionário quando mais de 1.000 células já foram formadas.
- Como estas células tendem a permanecer próximas umas das outras, há a formação de um mosaico de células X_p e X_m .
- Em gatos, o gene *red*, responsável pela cor do pelo, é ligado ao cromossomo X.



O caso do cromossomo X

- O sil...
isto é...
cópia...
(Xm)
- Curic...
ocor...
emb...
1000
- Com...
perm...
outra...
mos...
- Em g...
resp...
ligad...



ATION



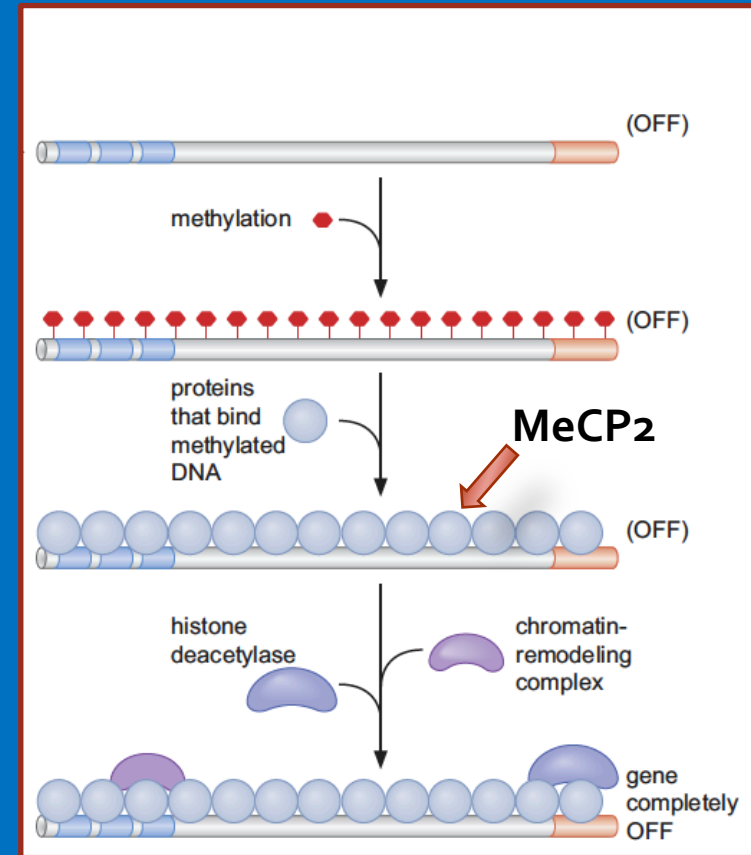
ATION



one

Rett syndrome (RTT)

- Também chamada de *cerebroatrophic hyperammonemia*, afeta quase exclusivamente meninas.
- É causada por mutações no gene MeCP2 (methyl-CpG-binding protein 2).
- Os sintomas são a perda da capacidade motora e intelectual (linguagem); microencefalia, movimentos da mão (autismo).
- Como o gene MeCP2 encontra-se no cromossomo X, esta mutação é geralmente letal para meninos.
- Porém, as meninas com uma cópia defeituosa de MeCP2 são mosaico.
- Isto é, nas células onde o cromossomo X carregando a cópia mutante (alelo) é silenciado, a proteína MeCP2 produzida é funcional. Porém, nas células onde o cromossomo X silenciado contém o alelo funcional, não há produção de MeCP2.



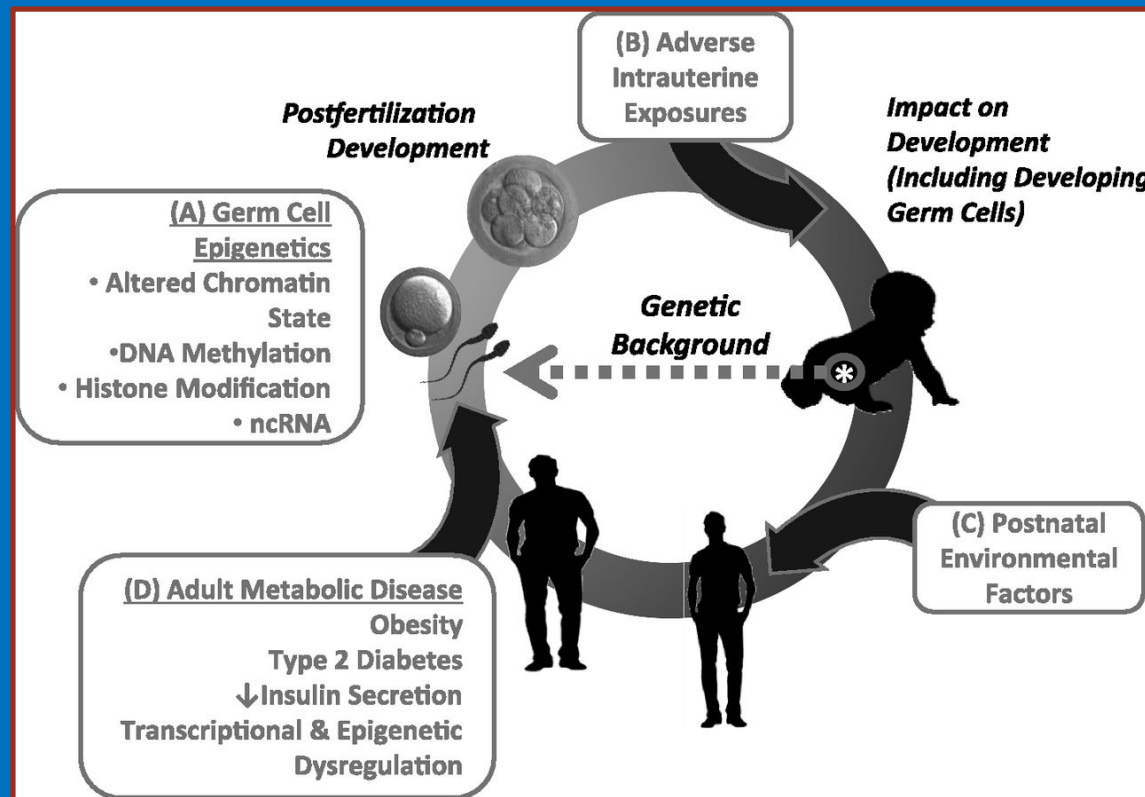
Epigenética e nutrição

- Claro que a epigenética é um fator importante na nutrição
- Hábitos alimentares alteram padrões de modificações de histonas e metilação do DNA
- Por exemplo, alguns estudos tem demonstrado que fitoquímicos (produtos naturais) encontrados em suco de uva (como o resveratrol) inibem a enzima DNMT (DNA metil transferase)
- Esta inibição, tem efeitos benéficos em camundongos num modelo de depressão
- Enfim, esta ainda é uma área nova, com pesquisas em andamento pelo mundo
- Como os conhecimentos adquiridos neste curso, você poderão estudar e compreender estes trabalhos



Epigenética e nutrição

- Ao longo da nossa vida, diversas modificações epigenéticas são feitas nos nossos genes
- Como vimos nesta aula, estas modificações podem ser, inclusive, transmitidas para nossos filhos
- Diversos estudos tem demonstrado que modificações epigenéticas, induzidas pela alimentação (*imprinting*), podem ter efeitos importantes em doenças (p.ex., diabetes tipo 2)



Literatura

- Alberts e col., Biologia molecular da célula, 5th ed., Ch7 – Controles da expressão gênica
- Thompson & Thompson, Genética Médica – Capítulo 4 (Diversidade genética humana: mutações e polimorfismos).
- Zaha, Biologia Molecular Básica – Capítulo 14 (Controle da expressão gênica).