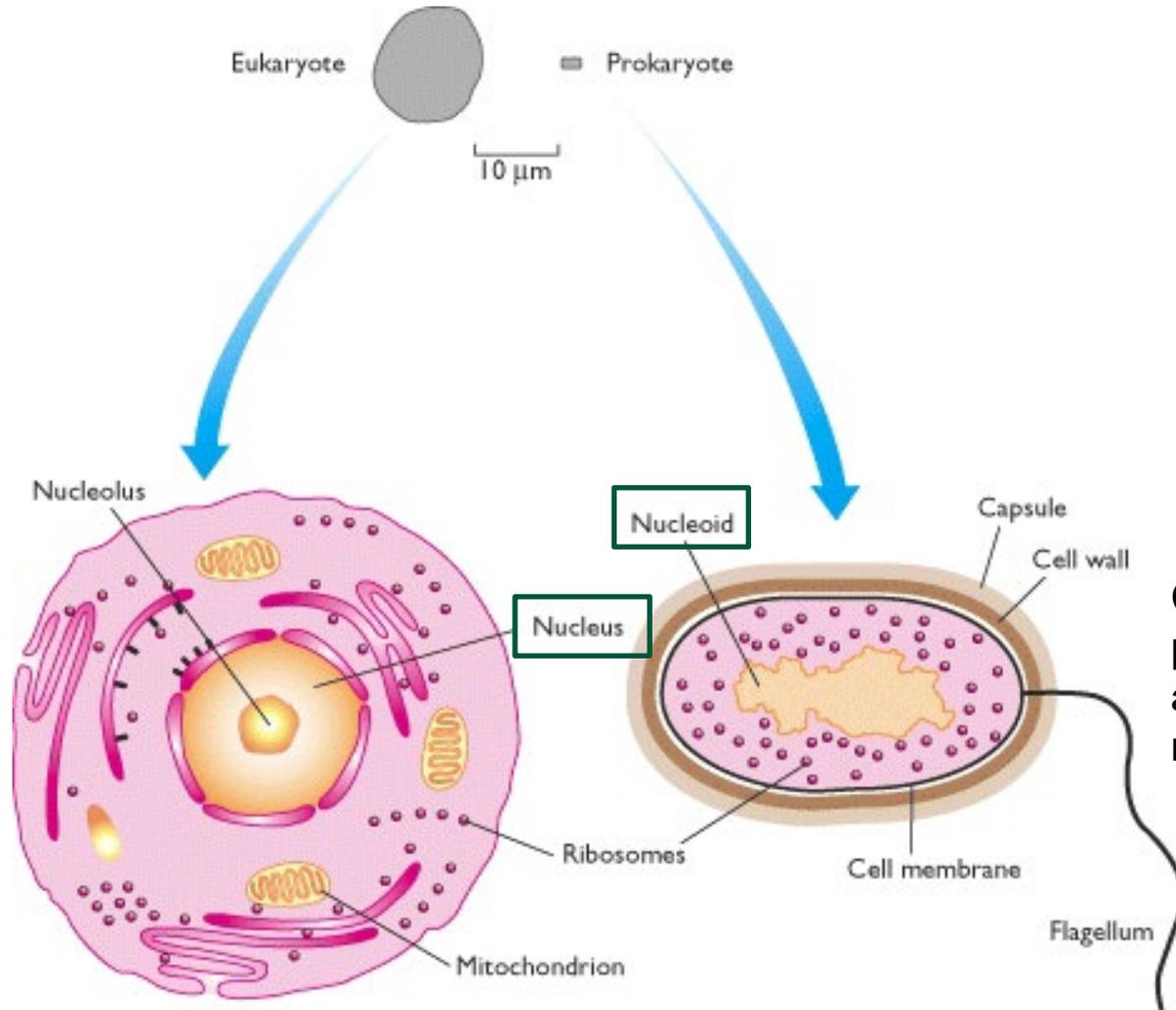


CCM 121 Biologia Molecular

COMPACTAÇÃO DO
MATERIAL GENÉTICO:
CROMATINA E
CROMOSSOMOS

Diferenças entre células eucarióticas e procarióticas



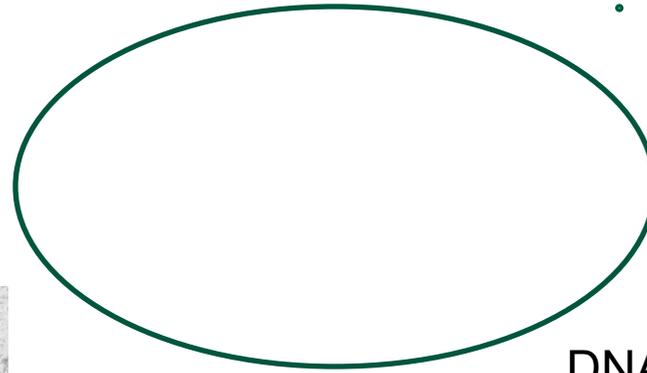
Células eucarióticas apresentam núcleo

Células procarióticas não apresentam núcleo

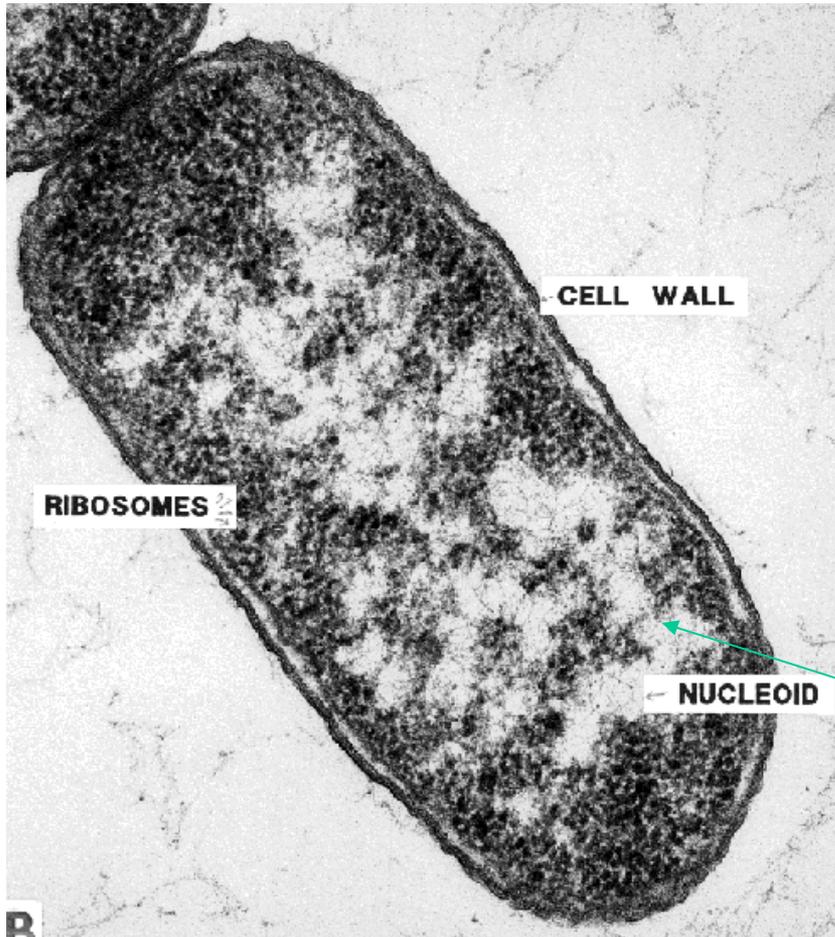
COMPACTAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO EM PROCARIOTOS

O material genético tem que estar compactado para “caber” na célula

E.coli
2 μm

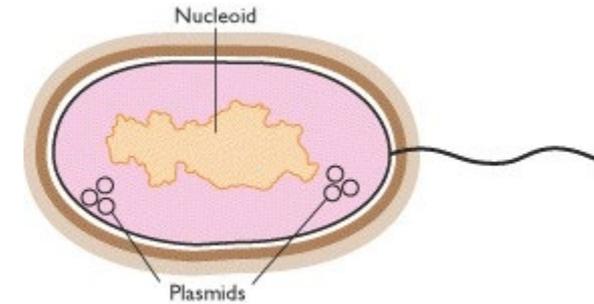
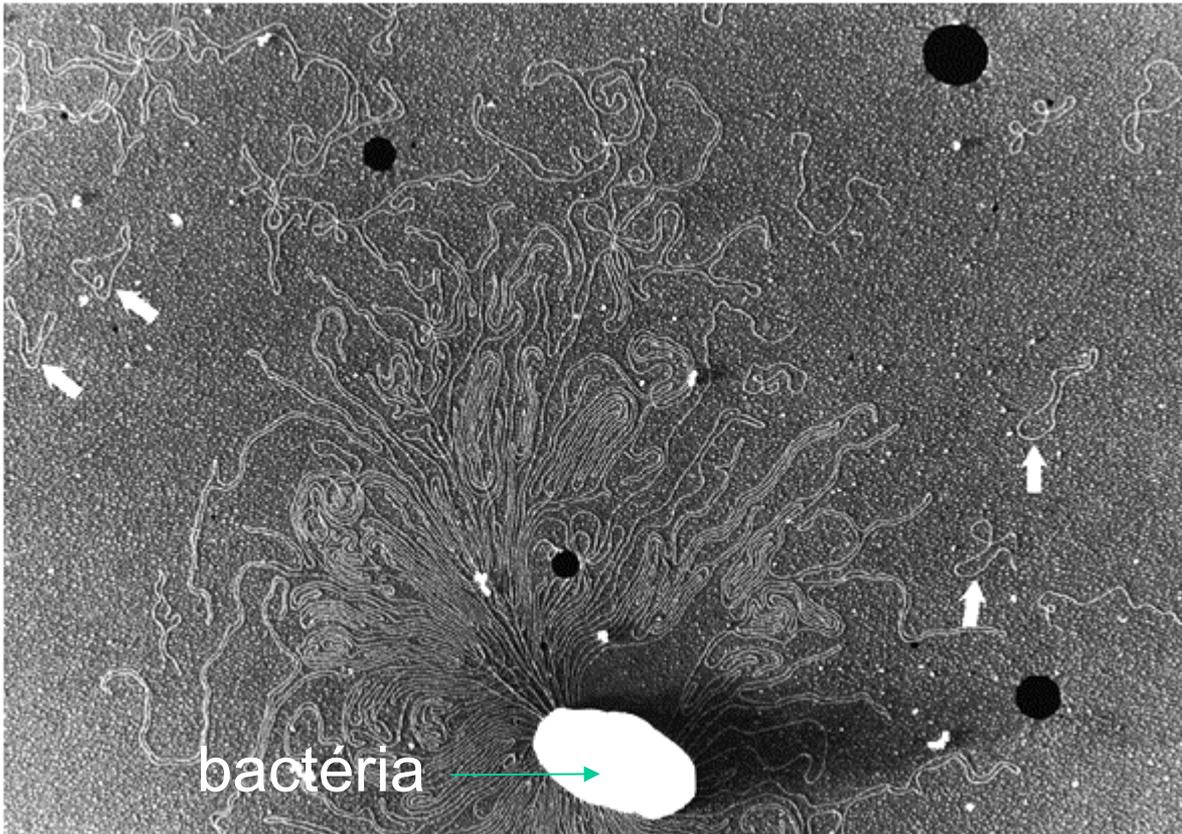


DNA crom. da *E.coli*
~4-5 Mpb
1,3 mm



Nucleóide bacteriano:
DNA compactado + proteínas

Bactérias apresentam seu genoma estruturado em **nucleóides**



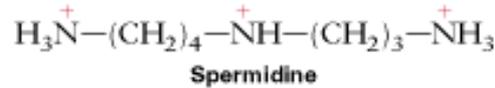
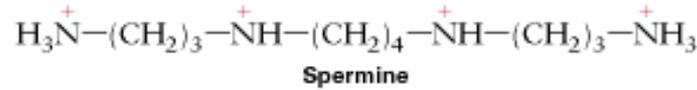
Além do cromossomo, bactérias podem ter plasmídeos *

Nucleóide expelido de um célula bacteriana lisada

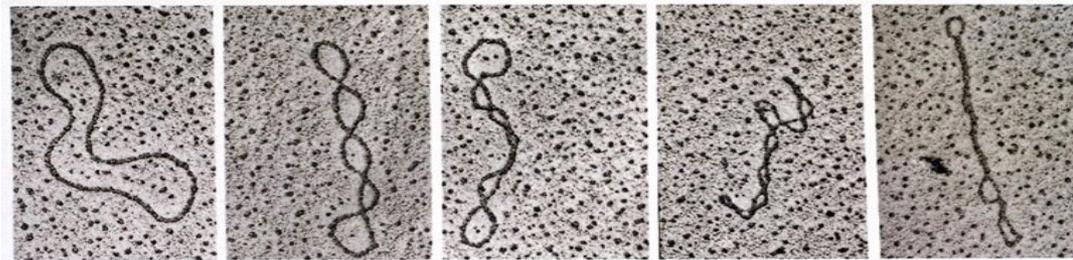
*Plasmídeos: DNA circular extracromossômico

A estrutura do nucléoide depende da compactação do DNA através de:

1- Interações com moléculas de carga positiva (poliaminas)



2- Enovelamento/superenrolamento do DNA



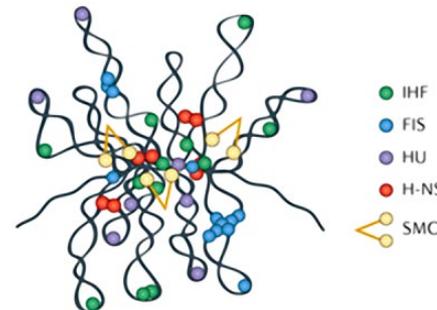
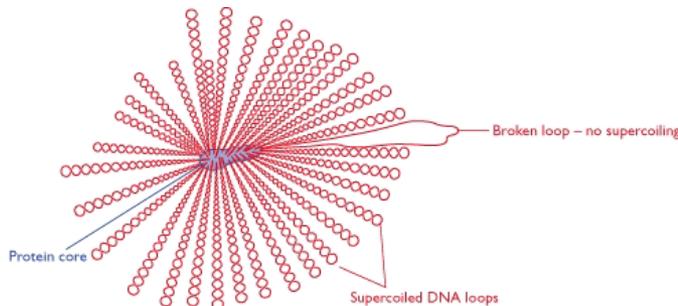
Relaxado

Supercoil (superenovelado)

Molécula de DNA dupla-fita circular

3- Associação com proteínas associadas a nucléóides (NAPs)

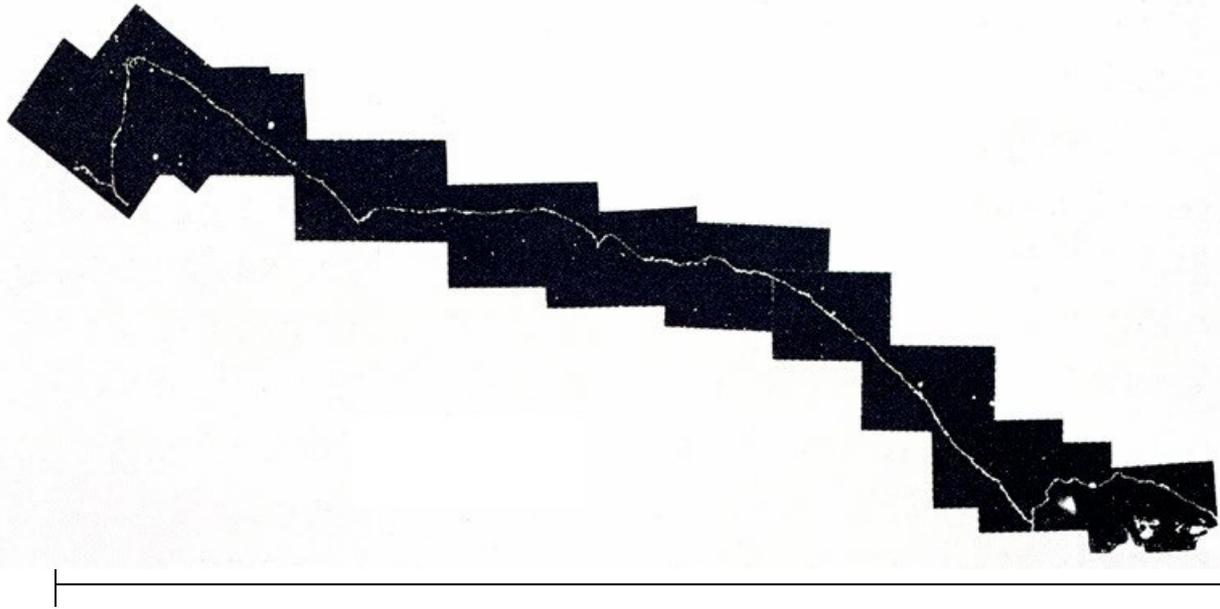
Um modelo para estrutura de nucléoide de *E. coli*



NAPs introduzem dobras no DNA e também funcionam como "ponte" entre diferentes regiões cromossômicas.

COMPACTAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO EM EUCARIOTOS

Os genomas de células eucarióticas contêm muito mais DNA que o dos procariotos, e portanto, apresentam mecanismos específicos para a compactação e organização deste DNA.



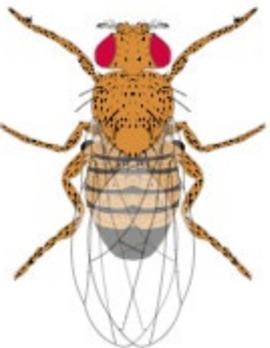
1,2 cm



Purificação de DNA genômico

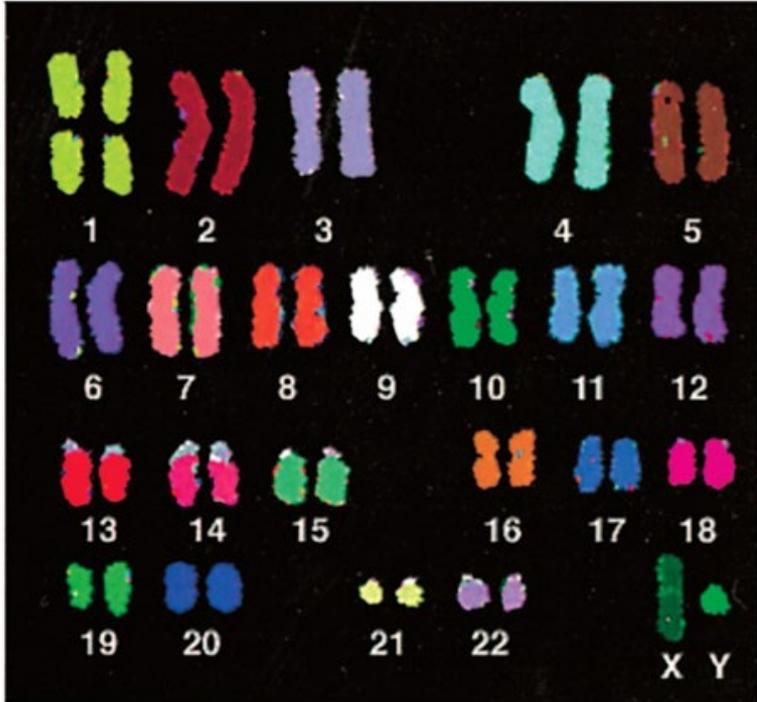
DNA de um cromossomo de *Drosophila melanogaster*

DNA tem formato assimétrico e rígido



DNA content of human chromosomes

Chromosome	(Mpb)	Chromosome	(Mpb)
1	263	13	114
2	255	14	109
3	214	15	106
4	203	16	98
5	194	17	92
6	183	18	85
7	171	19	67
8	155	20	72
9	145	21	50
10	144	22	56
11	144	X	164
12	143	Y	59



Human Molecular Genetics. 2nd edition.
 Strachan T, Read AP.
 New York: Wiley-Liss; 1999.

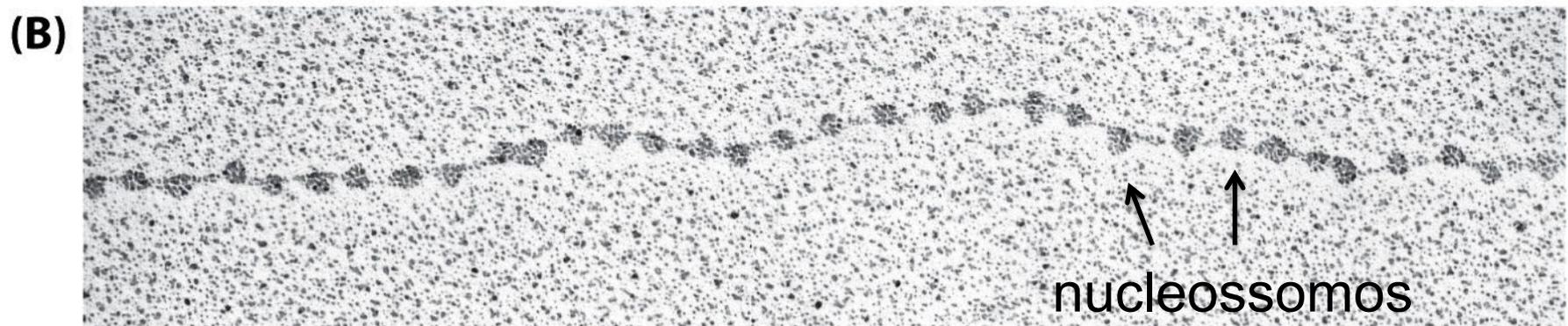
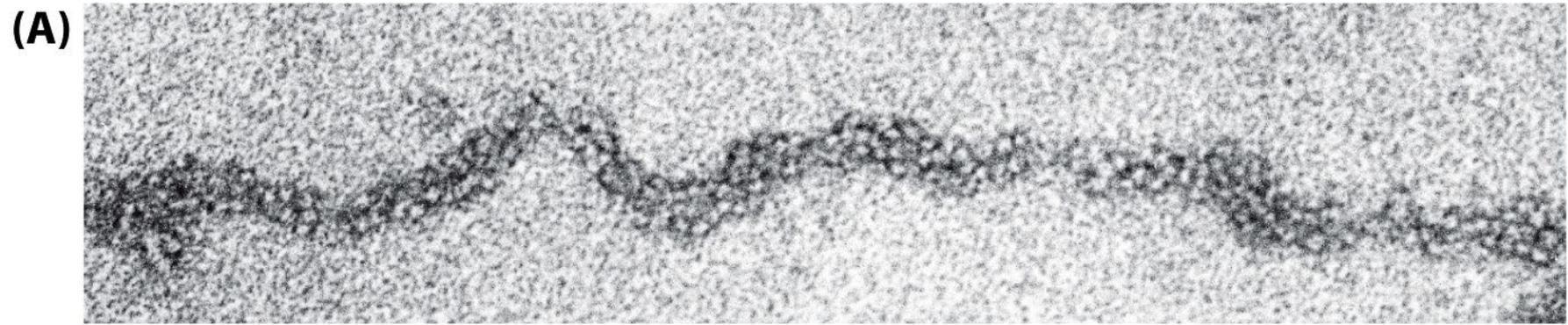
- $\sim 6,4 \times 10^9$ pb (célula diplóide)
- 2,2 m comprimento
- $\sim 6 \mu\text{m}$ (núcleo)

Cromatina

Complexo de DNA e proteínas que se encontra no núcleo das células eucarióticas.

Formas da cromatina

Forma condensada 30 nm (isolado em força iônica fisiológica)



‘Colar de contas’

Forma estendida 10 nm (isolado em baixa força iônica)

Histonas

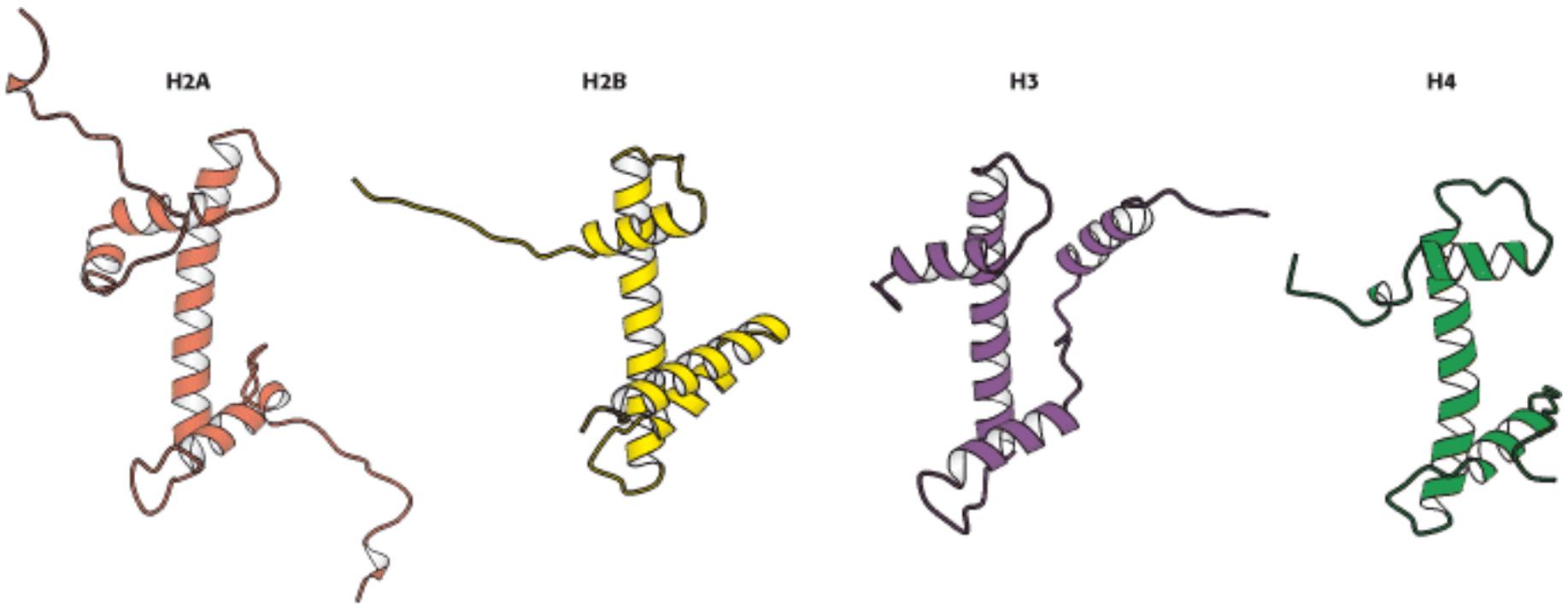
- Proteínas mais abundantes na cromatina
- Histonas centrais: H2A, H2B, H3, H4
Histonas de ligação: H1
- Proteínas pequenas, com carga positiva
- Histonas são proteínas conservadas

Tipos e propriedades das histonas			
<u>Histona</u>	<u>PM</u>	<u>Nº de amino-ácidos</u>	<u>% Lys + Arg</u>
H1*	22,500	244	30.8
H2A	13,960	129	20.2
H2B	13,774	125	22.4
H3	15,273	135	22.9
H4	11,236	102	24.5

*O tamanho destas histonas varia um pouco de espécie para espécie.

— Ser — Gly — Arg — Gly — Lys — Gly — Gly — Lys — Gly — Leu —	10
Gly — Lys — Gly — Gly — Ala — Lys — Arg — His — Arg — Lys —	20
Val — Leu — Arg — Asp — Asn — Ile — Gln — Gly — Ile — Thr —	30
Lys — Pro — Ala — Ile — Arg — Arg — Leu — Ala — Arg — Arg —	40
Gly — Gly — Val — Lys — Arg — Ile — Ser — Gly — Leu — Ile —	50
Tyr — Glu — Glu — Thr — Arg — Gly — Val — Leu — Lys — Val —	60
Phe — Leu — Glu — Asn — Val — Ile — Arg — Asp — Ala — Val —	70
Thr — Tyr — Thr — Glu — His — Ala — Lys — Arg — Lys — Thr —	80
Val — Thr — Ala — Met — Asp — Val — Val — Tyr — Ala — Leu —	90
Lys — Arg — Gln — Gly — Arg — Thr — Leu — Tyr — Gly — Phe —	100
Gly — Gly	102

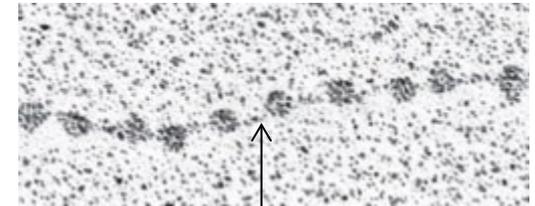
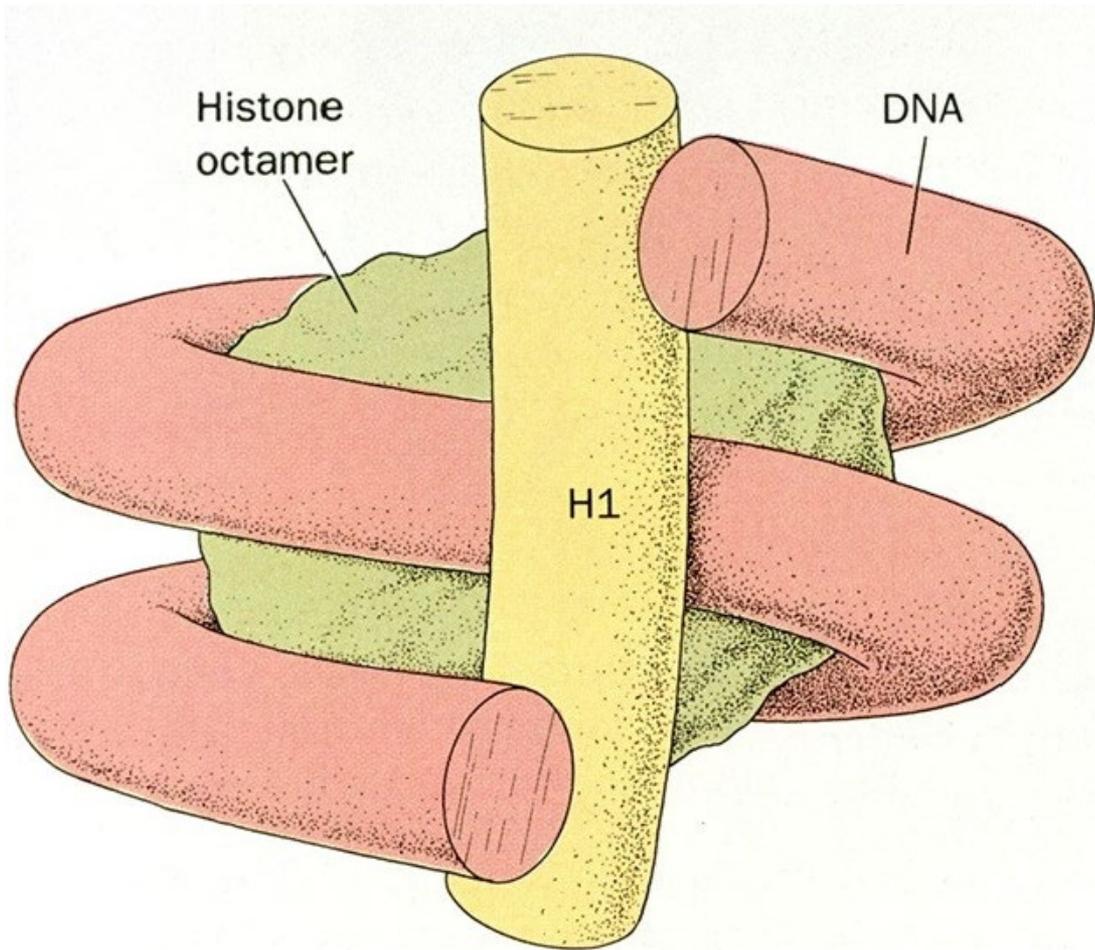
Ex: Sequência de aminoácidos da H4



Histone fold (enovelamento das histonas centrais)

Nucleossomos

(unidade estrutural básica da cromatina)



DNA de ligação
(*linker DNA*)

H1, H2A, H2B, H3, H4

1 : 2 : 2 : 2 : 2

Tamanho do DNA que dá 2 voltas no cerne de histonas ~ 146 pb

Estrutura tridimensional do nucleossomo

(a)

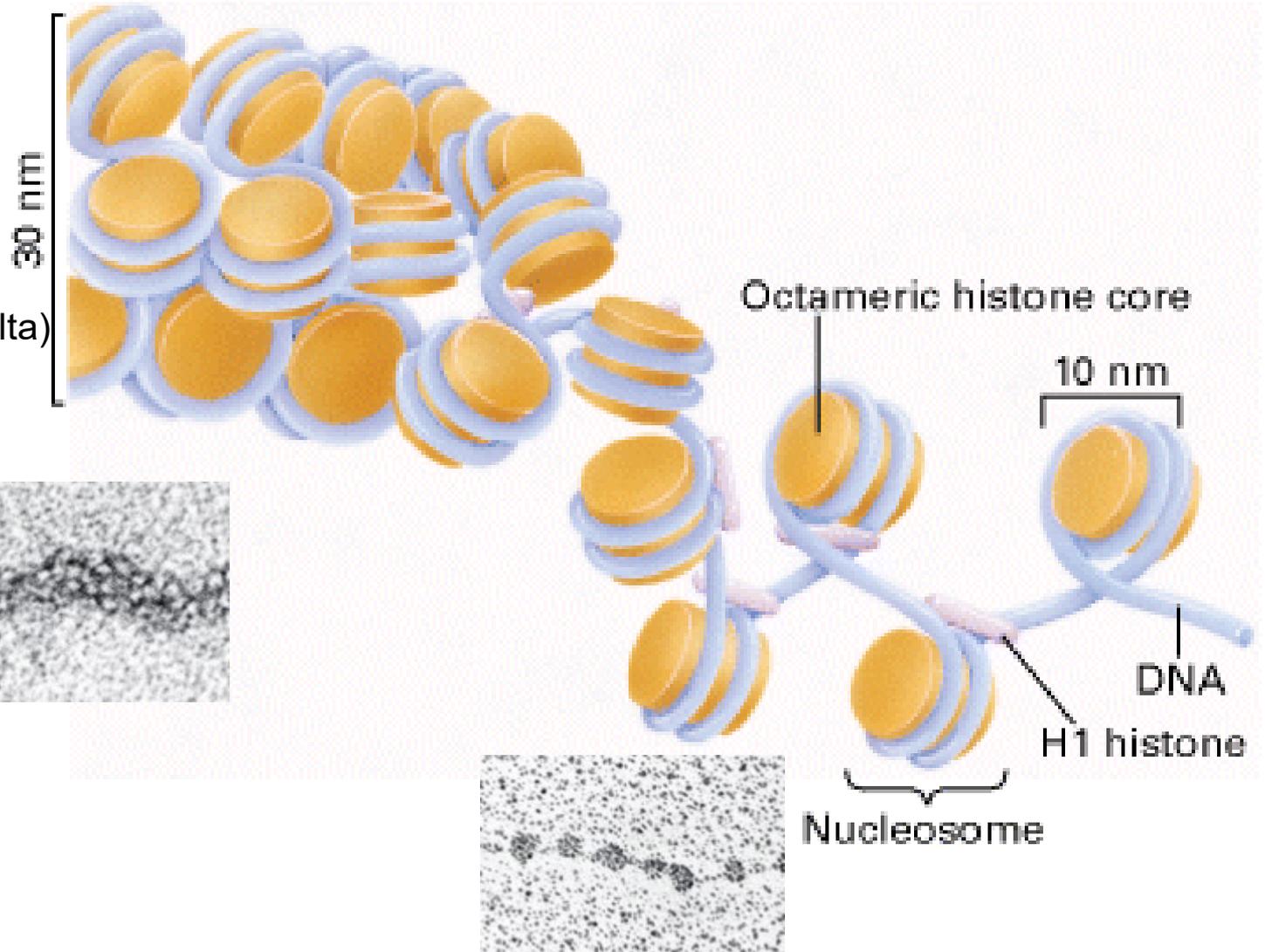
H3
H4
H2A
H2B



A cromatina tem diferentes níveis de empacotamento

Modelo de solenóide

(6 nucleossomos/volta)



Histona H1: Histona de ligação

- Conecta os nucleossomos
- Aumenta o grau de compactação

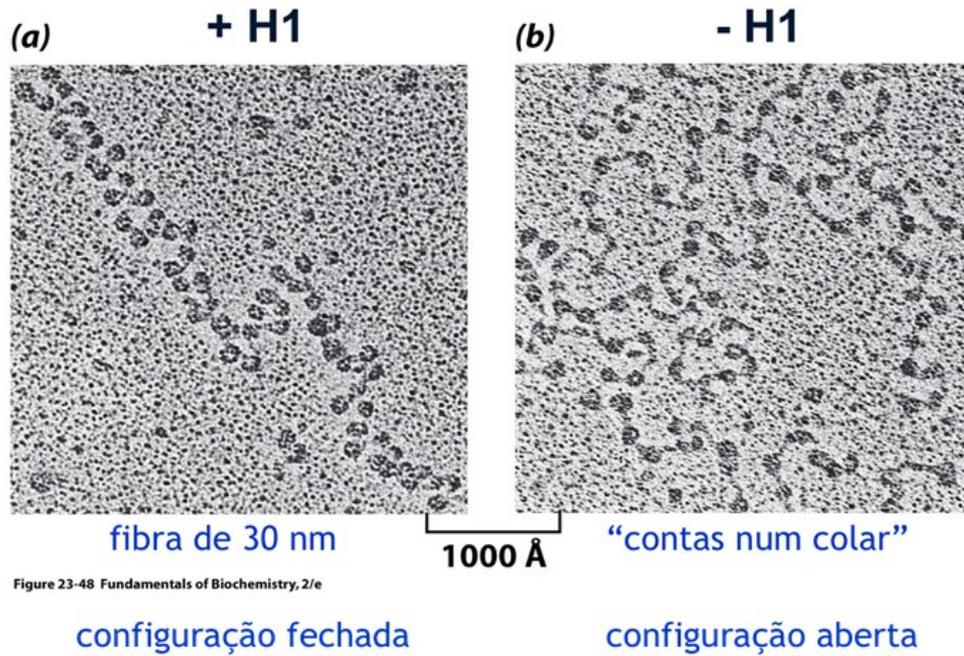
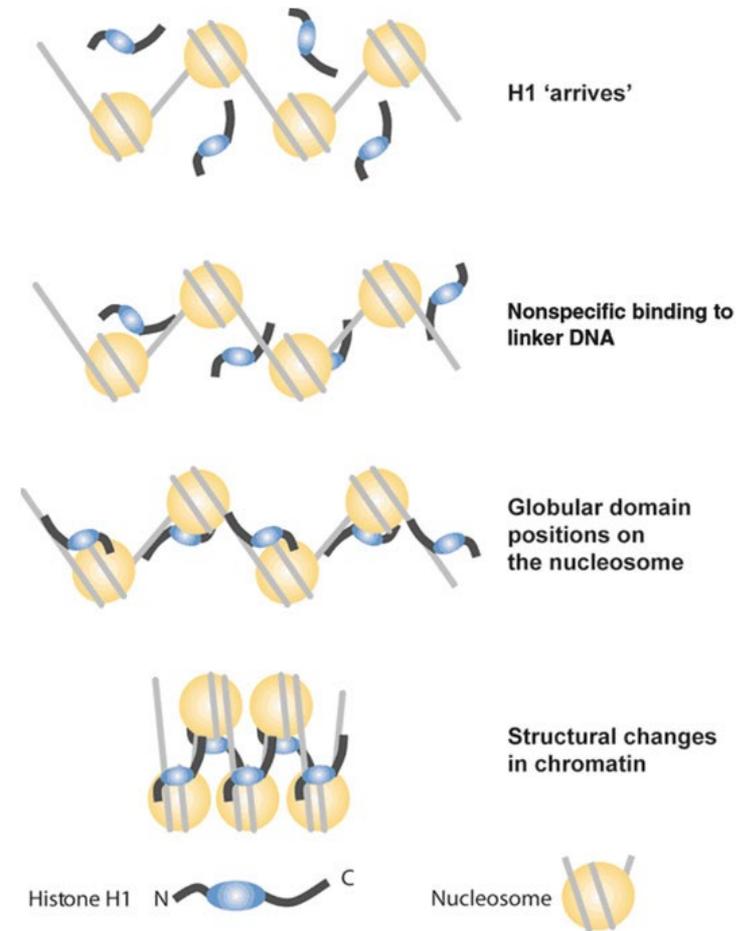


Figure 23-48 Fundamentals of Biochemistry, 2/e



Endonucleases tem acesso ao DNA apenas na região localizada entre os nucleossomos (DNA de ligação)

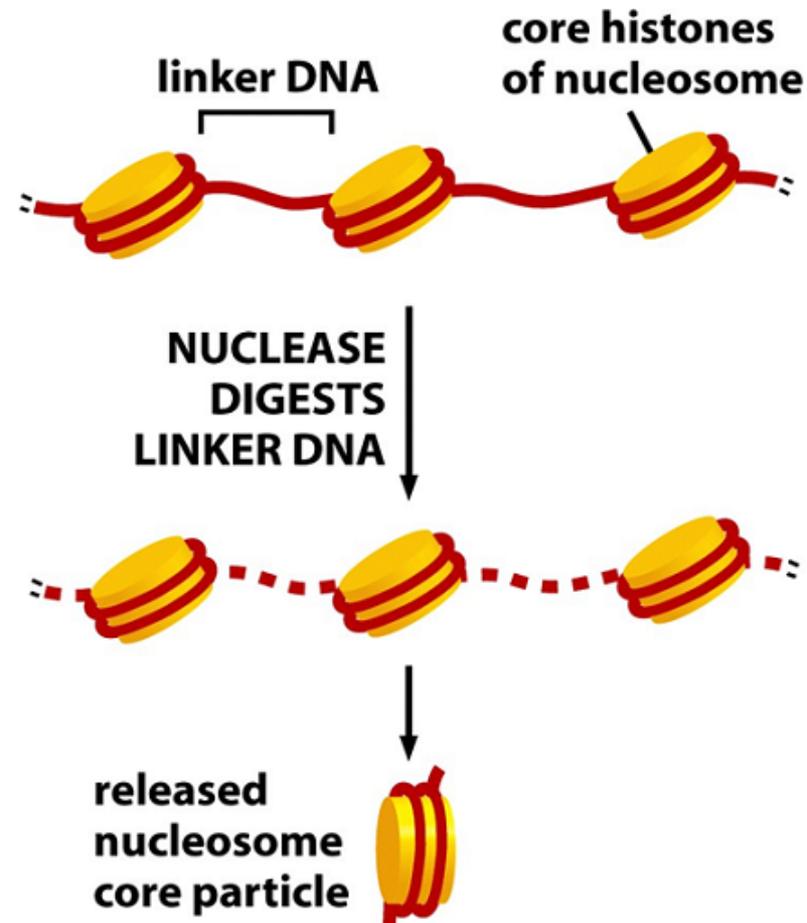
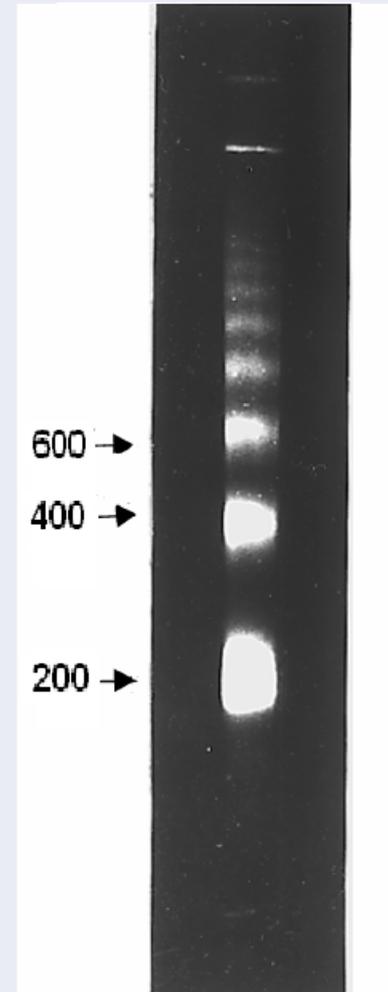
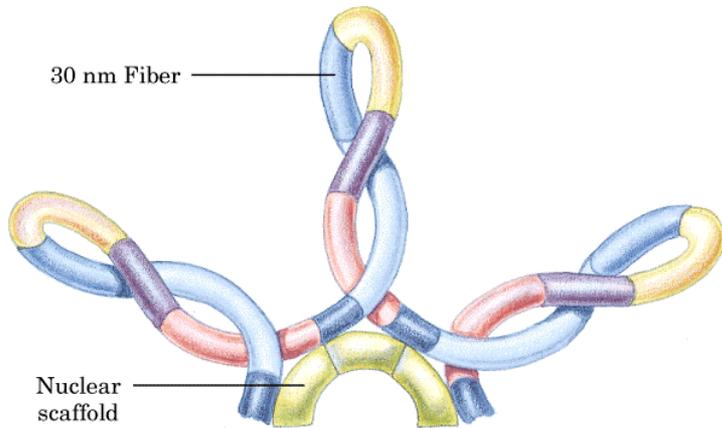


Figure 19.7 Micrococcal nuclease digests chromatin in nuclei into a multimeric series of DNA bands that can be separated by gel electrophoresis. Photograph kindly provided by Markus Noll.



Digestão parcial da cromatina gera uma 'escada' de ~200 pb.

A fibra de 30 nm forma alças ligadas a proteínas da matriz nuclear (plataforma)



Plataforma nuclear
formada por proteínas

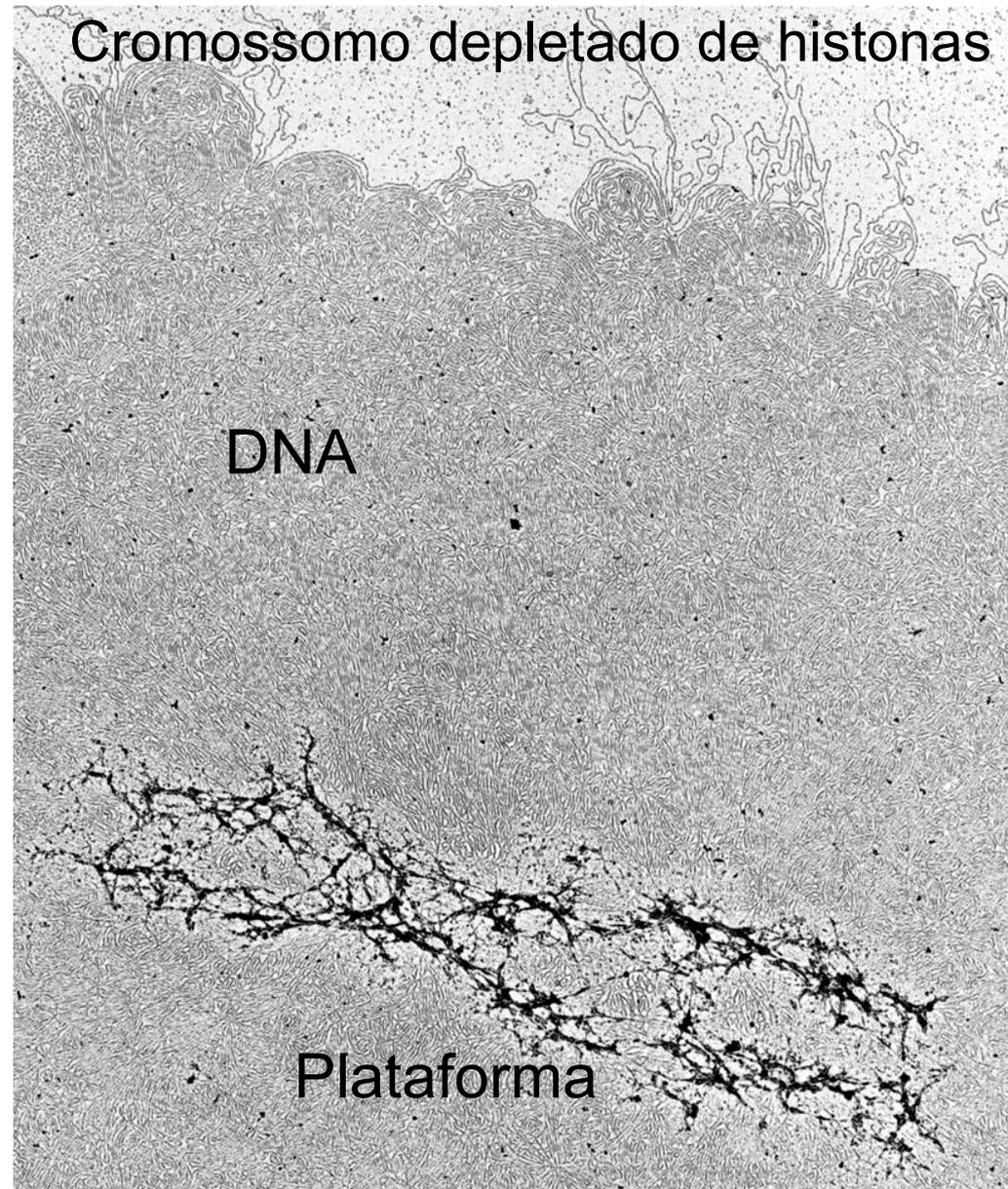


Figure 23-51a Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Exemplo de proteína não histônica da cromatina: SMC (*structural maintenance of chromosomes*)

Condensinas (SMC2-SMC4)

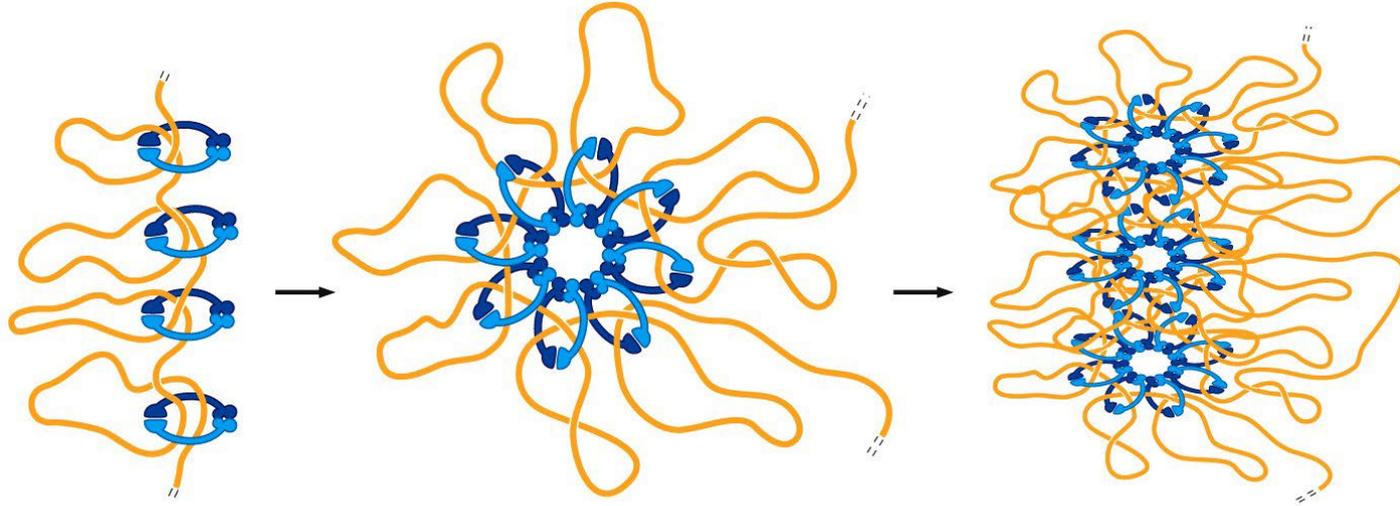
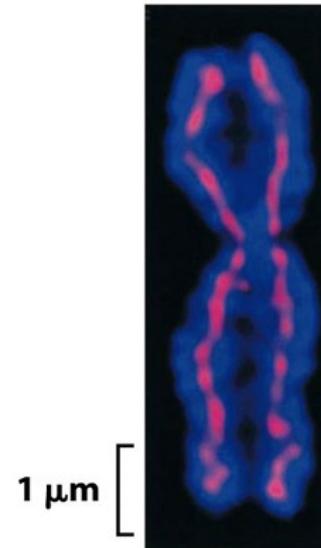
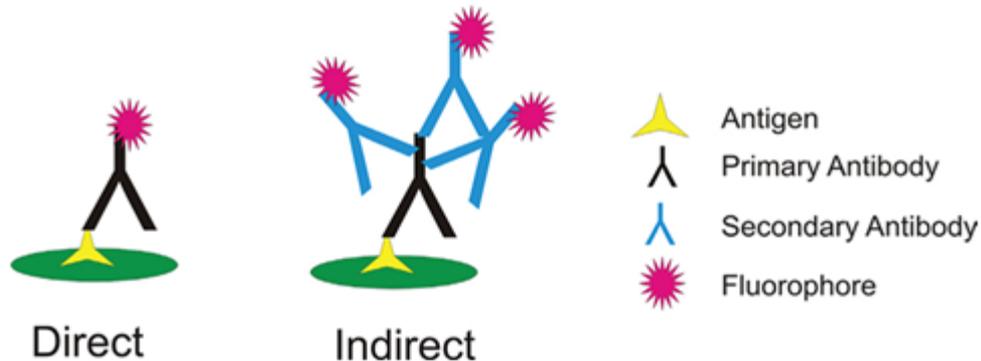
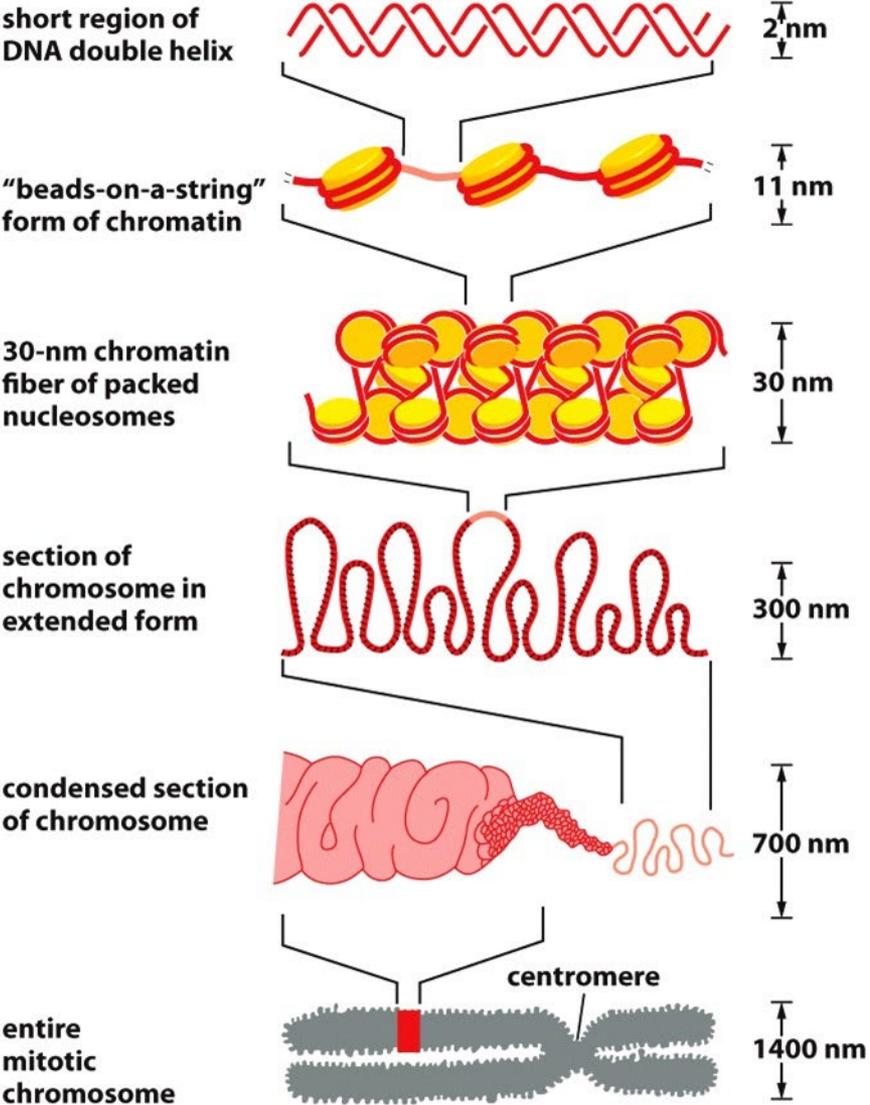


Figure 4-73c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Níveis de organização superior da cromatina

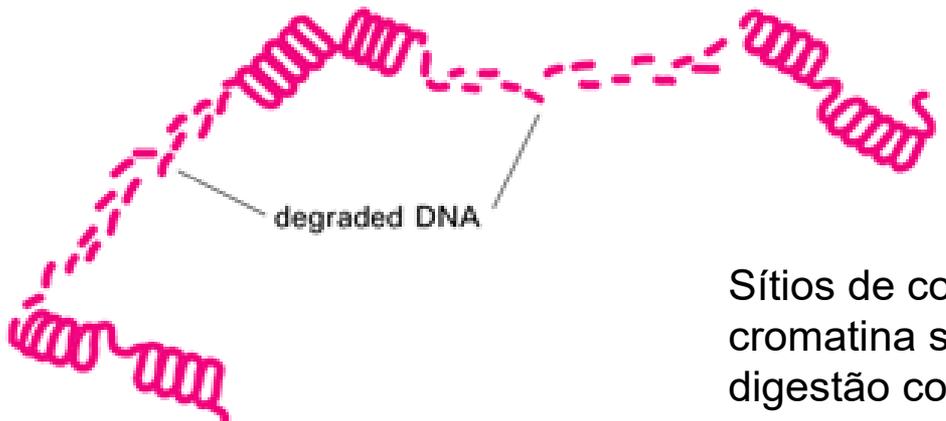
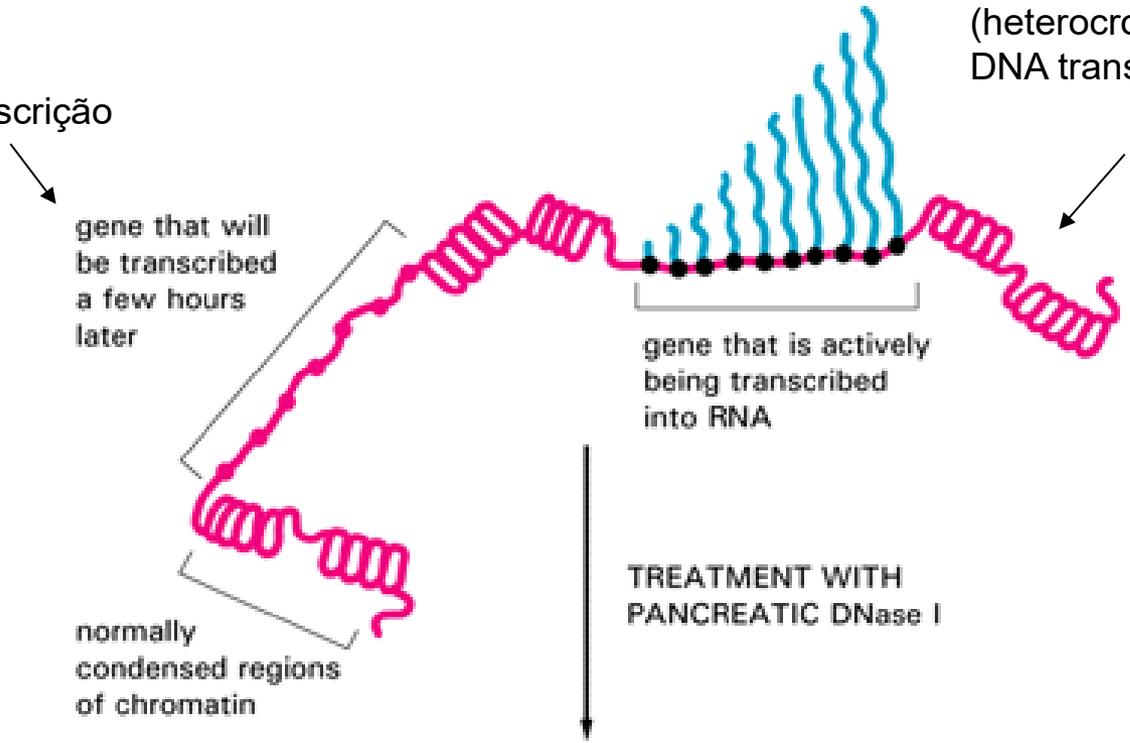
Níveis de compactação: do DNA dupla fita até o cromossomo mitótico



Compactação da cromatina influencia a atividade do DNA na transcrição

configuração aberta
(eucromatina)
DNA acessível a
maquinaria de transcrição

configuração fechada
(heterocromatina)
DNA transcricionalmente silenciado



Sítios de configuração aberta na cromatina são hiper-sensíveis à digestão com endonucleases

Repressão e ativação da expressão gênica é regulada por enzimas que modificam histonas (como veremos adiante)

