

Disciplina: Aspectos Contemporâneos da Parasitologia

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

**MARCELO S. DA SILVA**

Depto de Ciências Químicas e Biológicas

UNESP, campus Botucatu



*dril upholds the principles of equity, diversity and inclusion!*

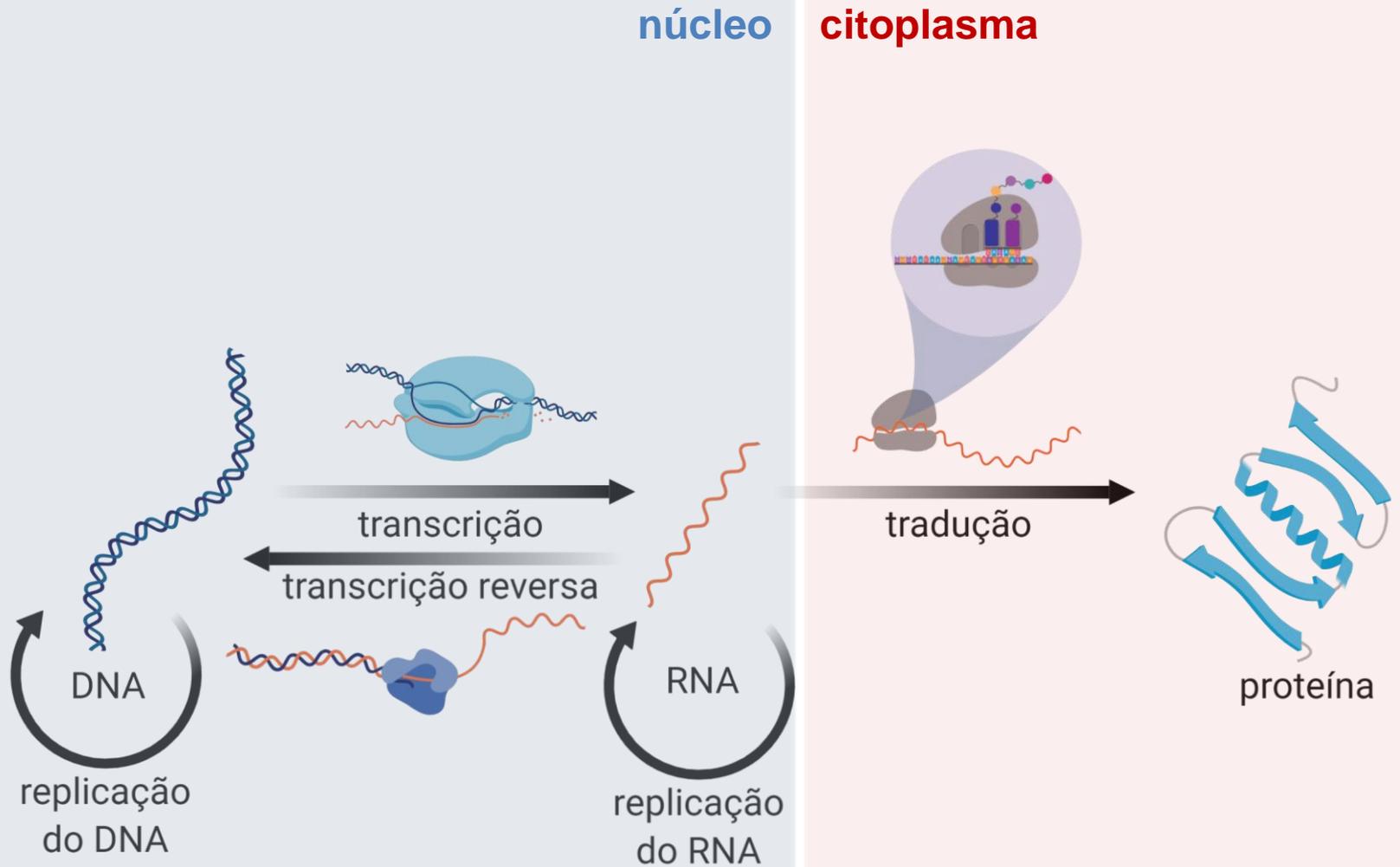
# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- **Revisão de conceitos;**
- **Ciclo Celular;**
- **Replicação do DNA;**
- **Transcrição;**
- **Bibliografia.**

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- **Revisão de conceitos;**
- Ciclo Celular;
- Replicação do DNA;
- Transcrição;
- Bibliografia.

# Revisão de conceitos: Dogma Central da Biologia Molecular



# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- **Revisão de conceitos;**
- **Ciclo Celular;**
- **Replicação do DNA;**
- **Transcrição;**
- **Bibliografia.**

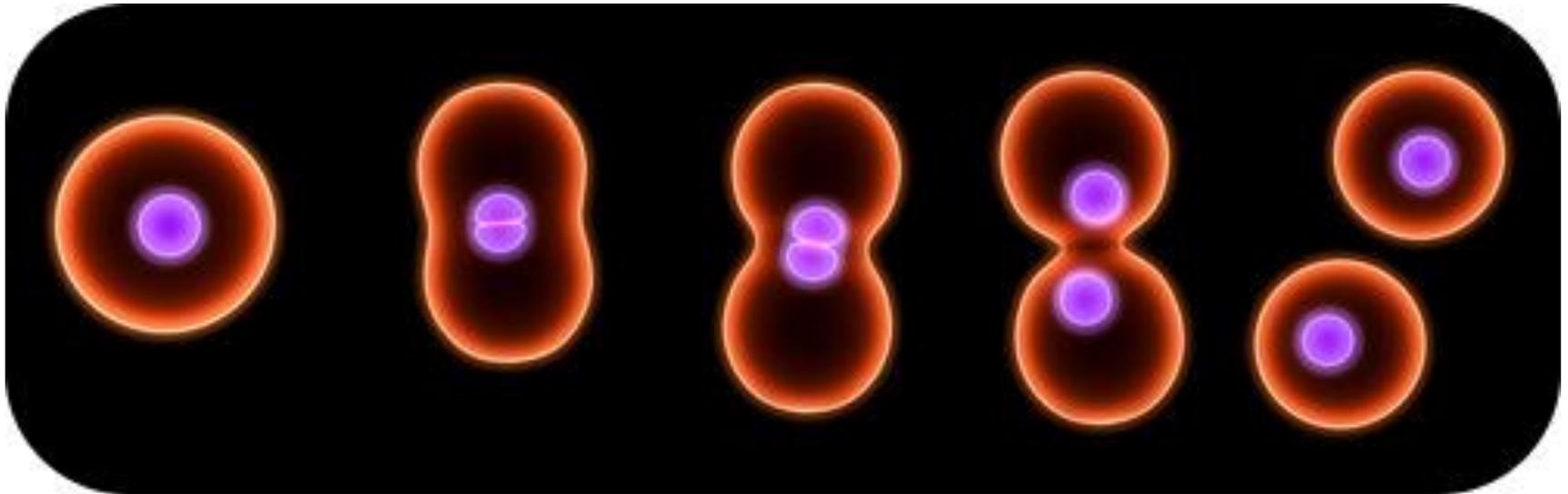
# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- Revisão de conceitos;
- **Ciclo Celular;**
- Replicação do DNA;
- Transcrição;
- Bibliografia.

# O ciclo celular refere-se a uma série de eventos que ocorrem em uma célula enquanto ela se divide

A multiplicação celular, em geral, compreende o crescimento celular (em massa e volume), replicação do genoma com ênfase na duplicação fidedigna do DNA e a segregação equitativa dos cromossomos entre as células-filhas.

Todo este processo é chamado ciclo celular.



# Curiosidade

Um **ser humano** adulto com massa corporal constante **replica suas células** cerca de  **$10^{17}$  vezes** durante sua vida. Todos os tecidos e órgãos possuem grande potencial proliferativo para reparar lesões por trauma ou agressão, e esse alto nível de proliferação implica em maiores chances de erros na replicação do DNA e segregação cromossômica que, apesar dos conhecidos mecanismos de reparo, podem levar ao acúmulo de mutações com consequências prejudiciais.

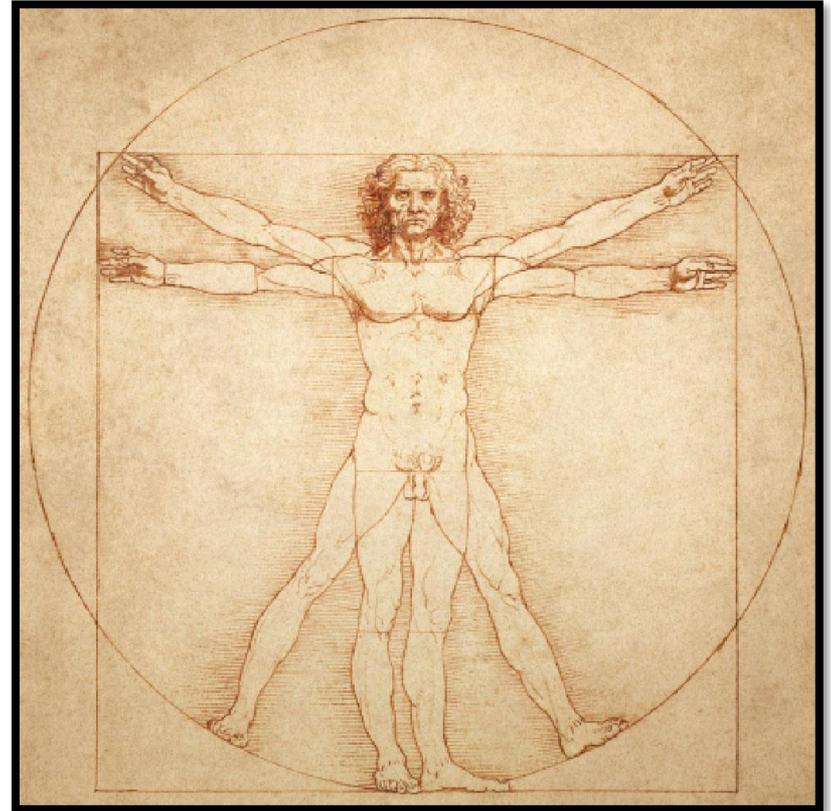
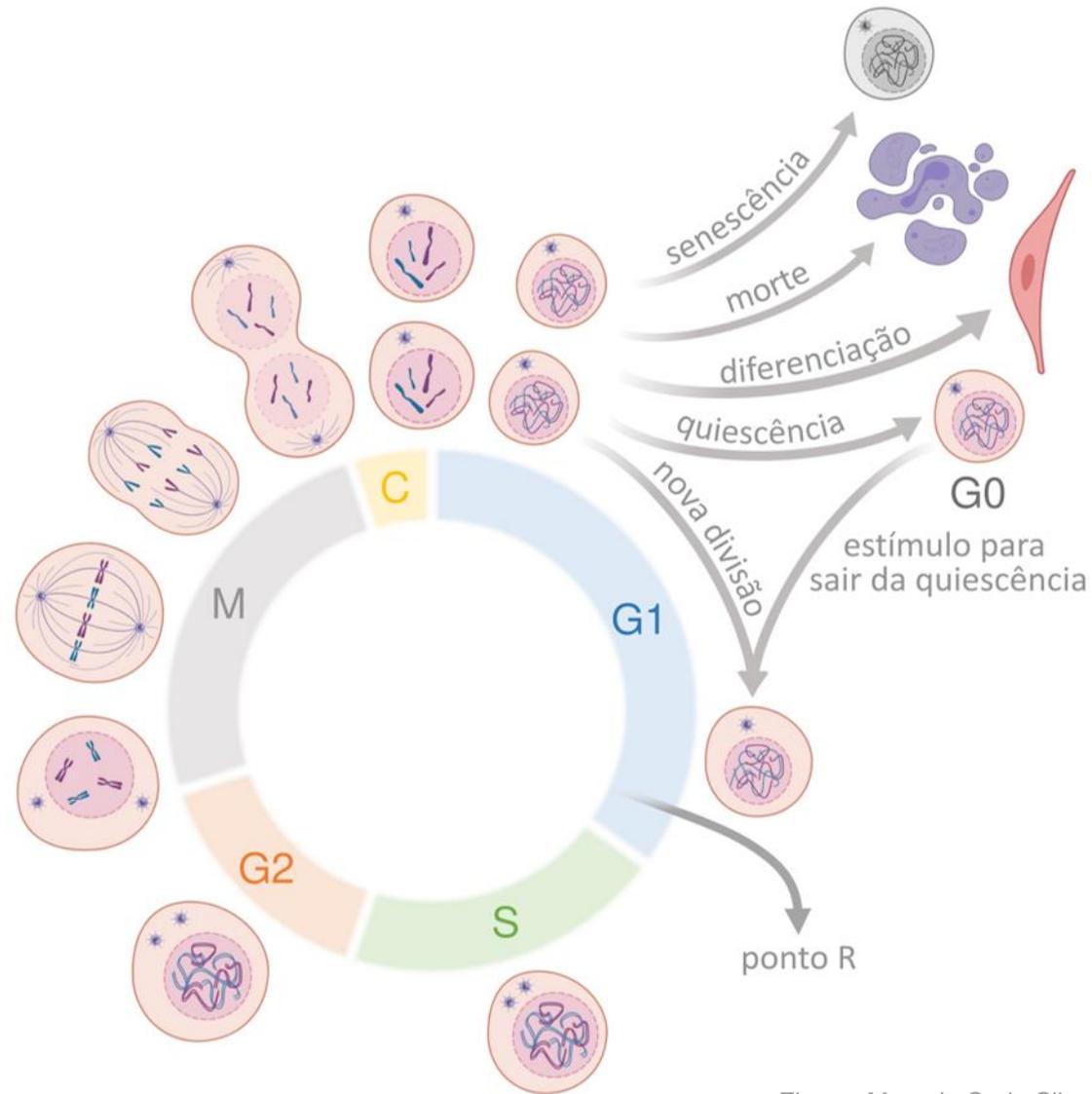


Figure: Leonardo da Vinci's vitruvian man, 1490

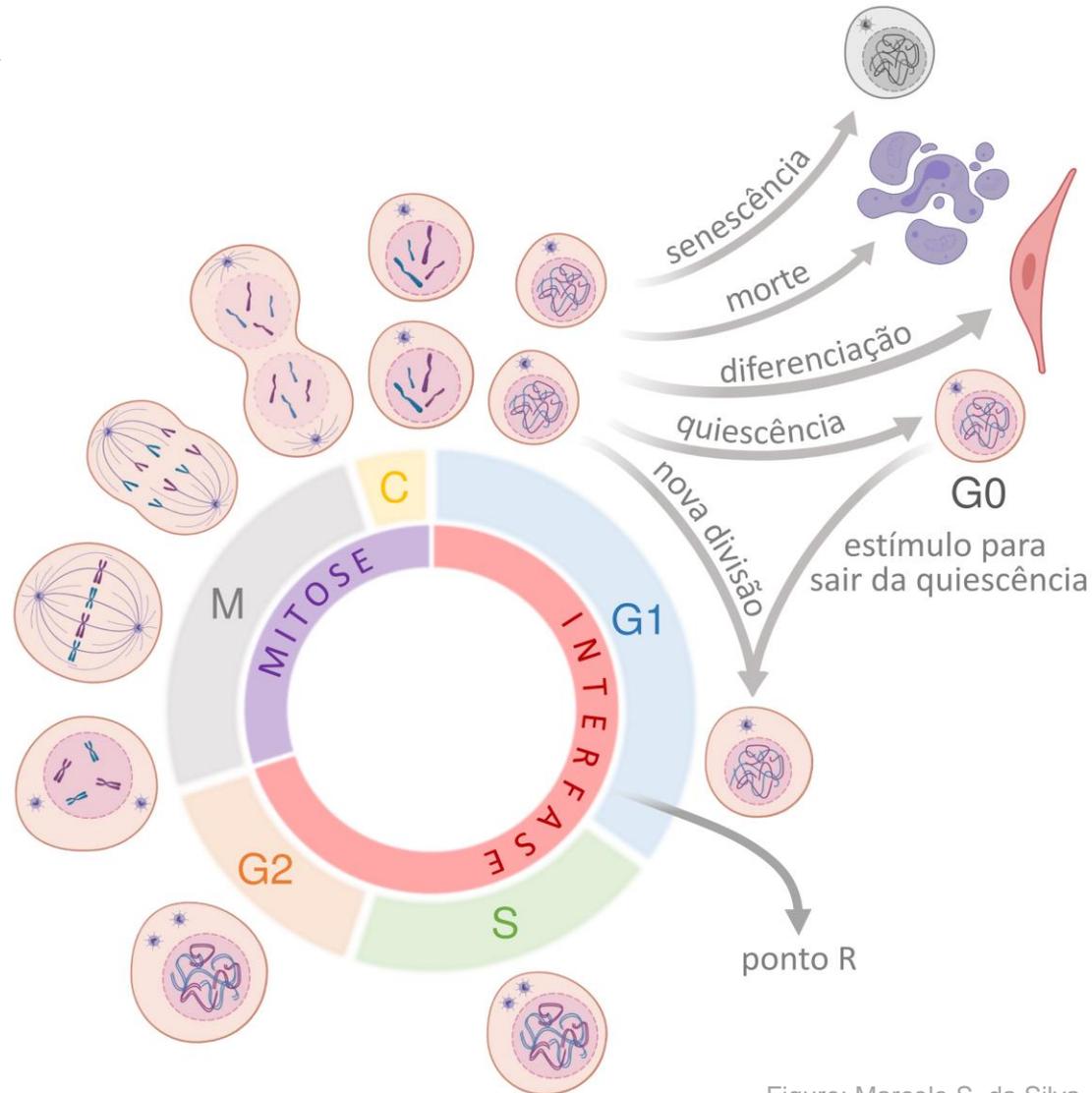
# Padrão de organização do ciclo celular: G1, S, G2, M, and C

Em mamíferos, o ciclo celular segue um padrão único de organização que consiste nas seguintes fases: **G1** (fase de crescimento pré-replicação do DNA), **S** (fase de replicação do DNA), **G2** (fase de crescimento pós-replicação do DNA), **Mitose** (divisão dos cromossomos replicados) e **citocinese** (divisão citoplasmática que efetua a separação das células).



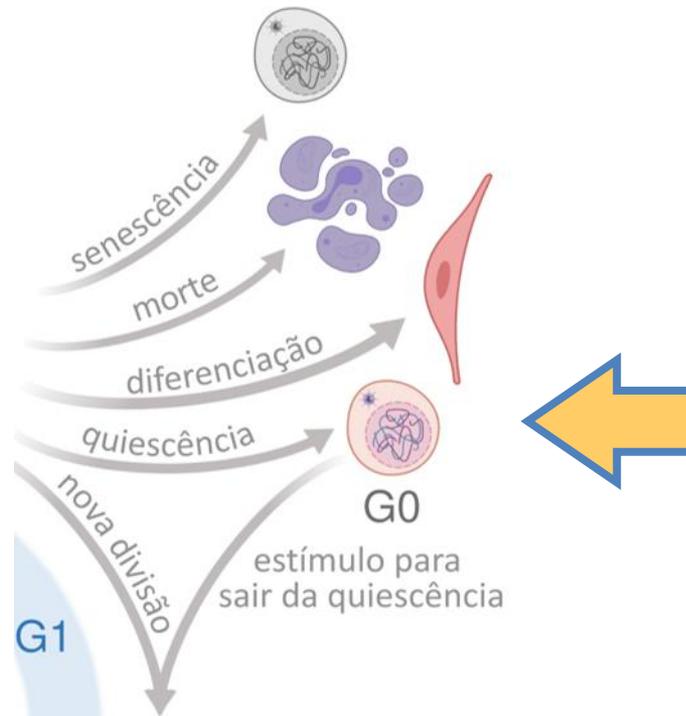
# Interfase (G1, S, e G2), Mitose (M e C)

Uma célula passa a maior parte de seu tempo no que é chamado de **interfase** e, durante esse tempo, ela cresce, replica seus cromossomos e se prepara para a divisão celular. A célula então sai da interfase, sofre **mitose** e completa sua divisão. Cada uma das células resultantes (células filhas) entra em sua própria interfase e começa uma nova rodada do ciclo celular.



# Fase G0 (quiescência)

A fase G0 (quiescência) às vezes é incluída como parte do ciclo celular. No entanto, vale ressaltar que as células quiescentes não são estimuladas a entrar em divisão e, como resultado, ainda não estão comprometidas com a replicação do genoma e divisão celular.



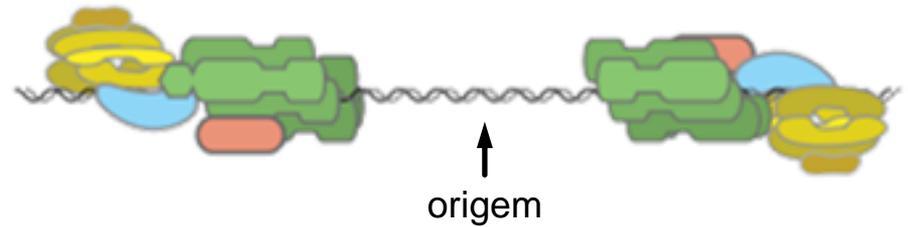
# Fase G1 (Gap 1)

Nessa fase, podemos destacar eventos como intensa síntese protéica e alta taxa de transcrição, ou seja, alta taxa metabólica. Vale ressaltar que durante o G1 ocorre a formação de complexos de proteínas essenciais que serão utilizados durante a fase S, por exemplo, complexos de pré-replicação em regiões específicas denominadas origens de replicação.

↑ Síntese de  
proteínas

↑ Taxa de  
transcrição

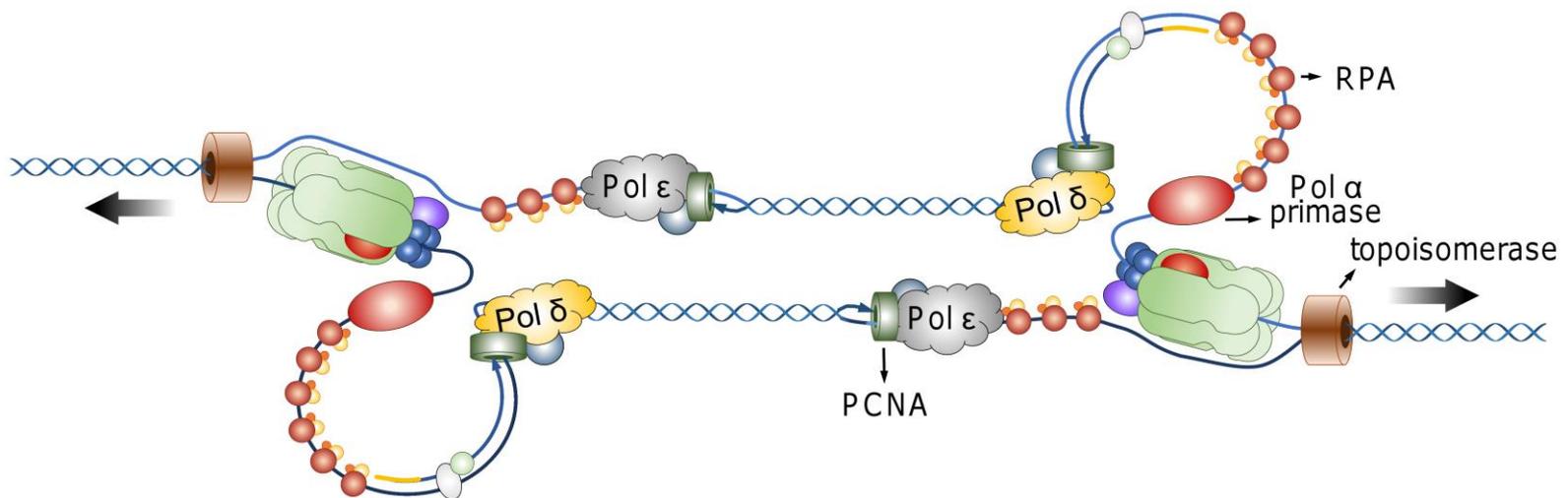
Complexo de pré-replicação



G1

# Fase S (Síntese de DNA)

Em eucariotos, os complexos de pré-replicação (formados anteriormente na fase G1) recrutam outras proteínas e, após a liberação de energia pela quebra de ATP, esses complexos são ativados em um processo denominado disparo das origens de replicação.



Mais detalhes serão apresentados a seguir...

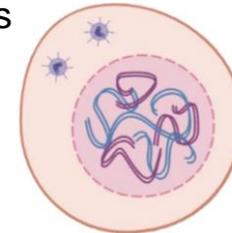
## Fase G2 (Gap 2)

A fase G2 é caracterizada pela duplicação de centríolos e outras organelas citoplasmáticas. Além disso, é retomada a intensa transcrição e síntese de moléculas necessárias para a segregação dos cromossomos e a própria divisão celular. Todo esse processo resulta em um aumento no volume e tamanho da célula.

↑ Síntese  
proteínas

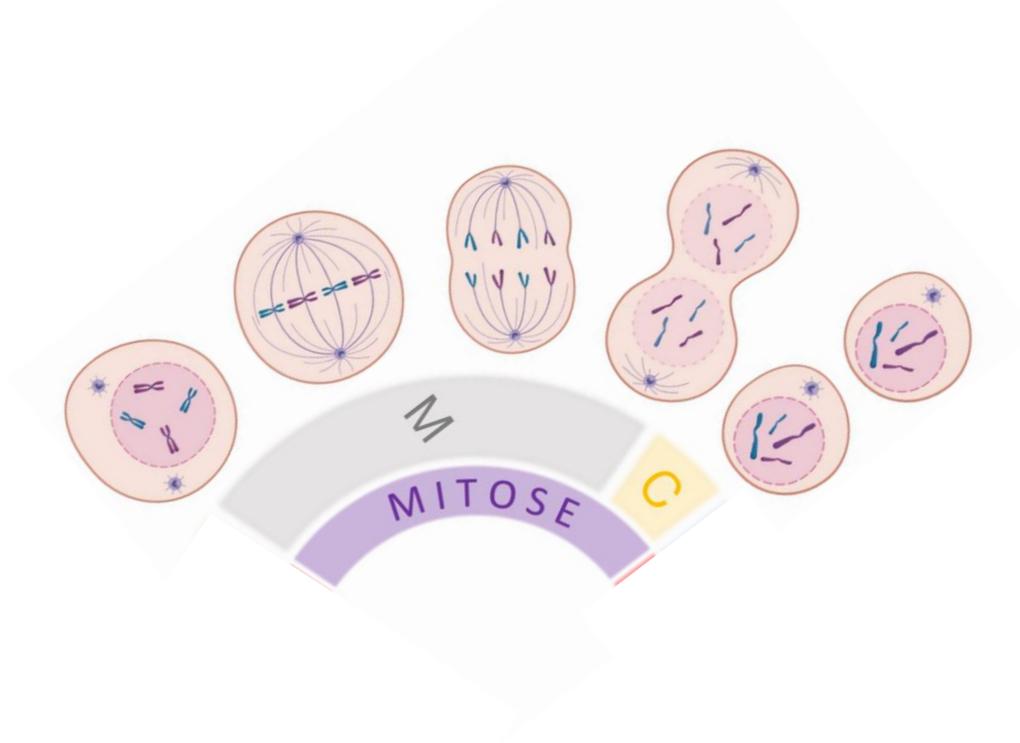
↑ Taxa  
transcrição

Duplicação centríolos



# Fase M (Mitose)

Mitose é o processo pelo qual as células eucarióticas dividem os cromossomos entre as células filhas. No modelo de eucariotos, a mitose é subdividida em 4 subfases: **prófase**, **metáfase**, **anáfase** e **telófase**



# Fase C (Citocinese)

Divisão do citoplasma para formar duas novas células. Para separar as duas células, um anel de filamento (miosina II e anel de actina) comprime o citoplasma ao longo de uma prega conhecida como sulco de clivagem. Isso divide o citoplasma igualmente entre as duas células.

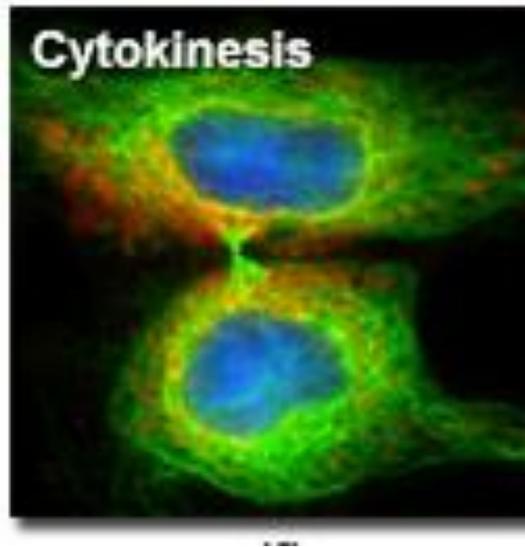
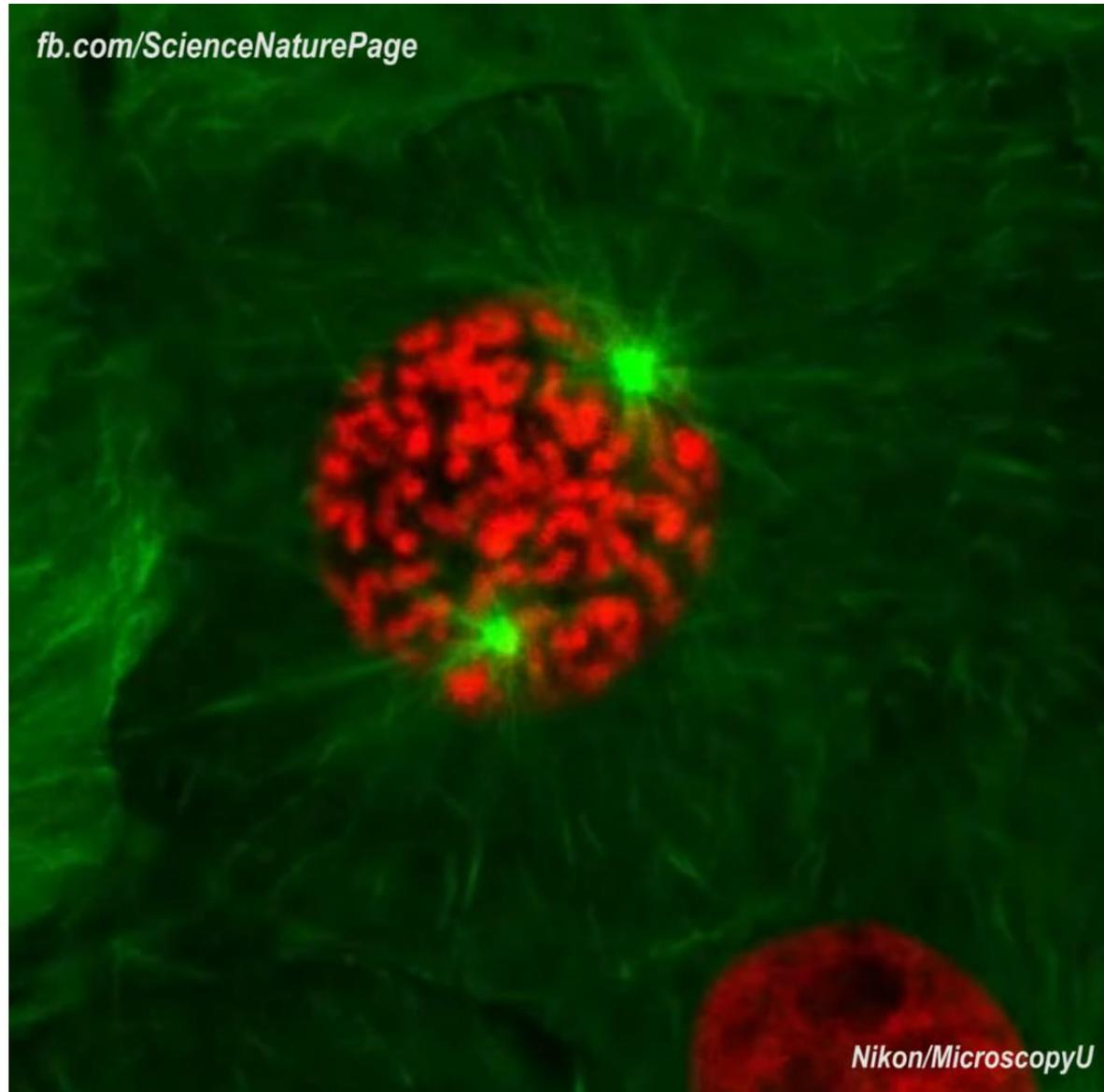


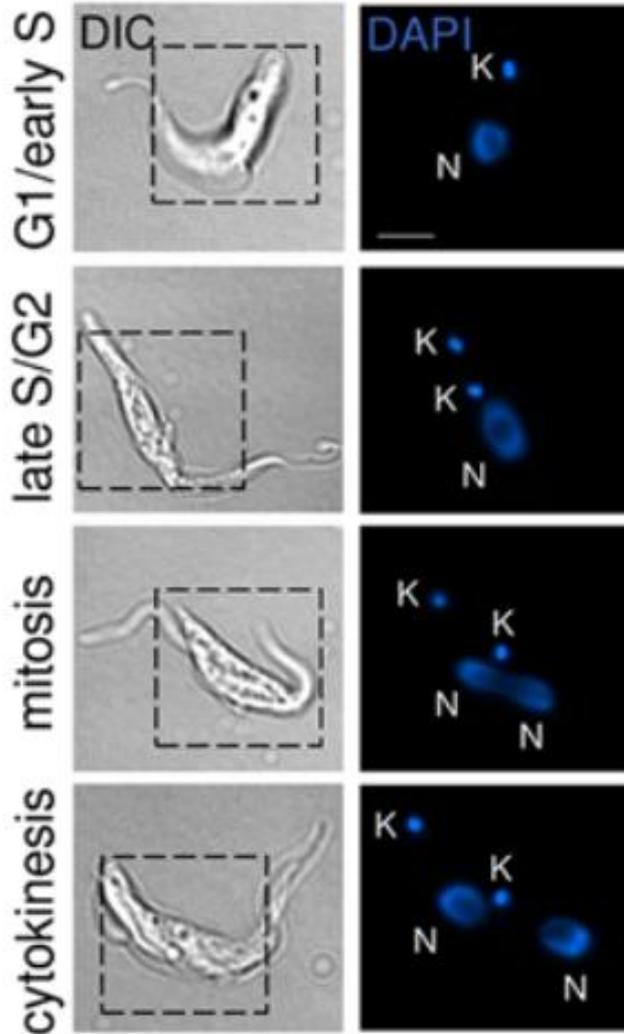
Photo: John D. Griffin, Nathan S. Claxton, and Michael W. Davidson - National High Magnetic Field Laboratory, 1800 East Paul Dirac Dr., The Florida State University, Tallahassee, Florida, 32310.

**Obs:** Para a maioria dos organismos, a citocinese não é uma fase da mitose, mas sim uma outra fase do ciclo necessária para completar a divisão celular.

# Ciclo Celular



# Ciclo celular em tripanosomatídeos



Principal diferença em relação aos eucariotos modelos:

Os cromossomos de tripanosomatídeos não se condensam em cromossomos visíveis durante a mitose



# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

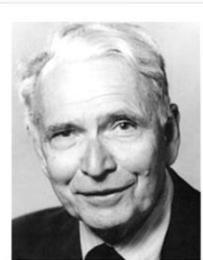
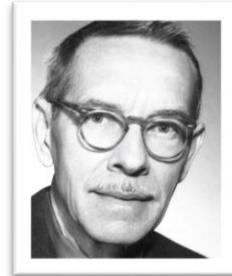
- **Revisão de conceitos;**
- **Ciclo Celular;**
- **Replicação do DNA;**
- **Transcrição;**
- **Bibliografia.**

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- Revisão de conceitos;
- Ciclo Celular;
- **Replicação do DNA;**
- Transcrição;
- Bibliografia.

# Ácido desoxirribonucleico (DNA) – Histórico

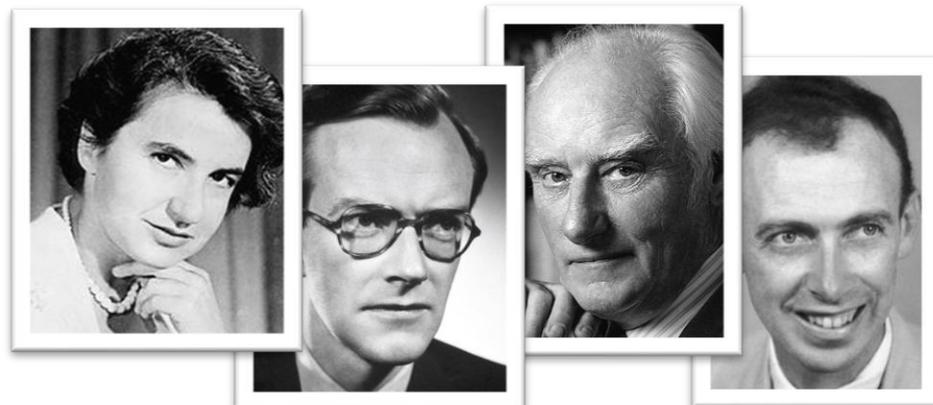
- **1869 – Johann F. Miescher** – Descoberta do DNA (nucleína);
- **1928 – Frederick Griffith** (Princípio da transformação)
- Existe um componente celular capaz de transformar uma linhagem de bactéria não-virulenta em virulenta.
- **1952 – A. Hershey e M. Chase** (DNA agente transformante)
- Este componente celular é o DNA.
- **1952 – Erwin Chargaff** (Gramática da Biologia)
- A proporção das bases nitrogenadas do DNA são constantes dentro de uma mesma espécie. De modo geral:  $T=A$ , e  $C=G$ .



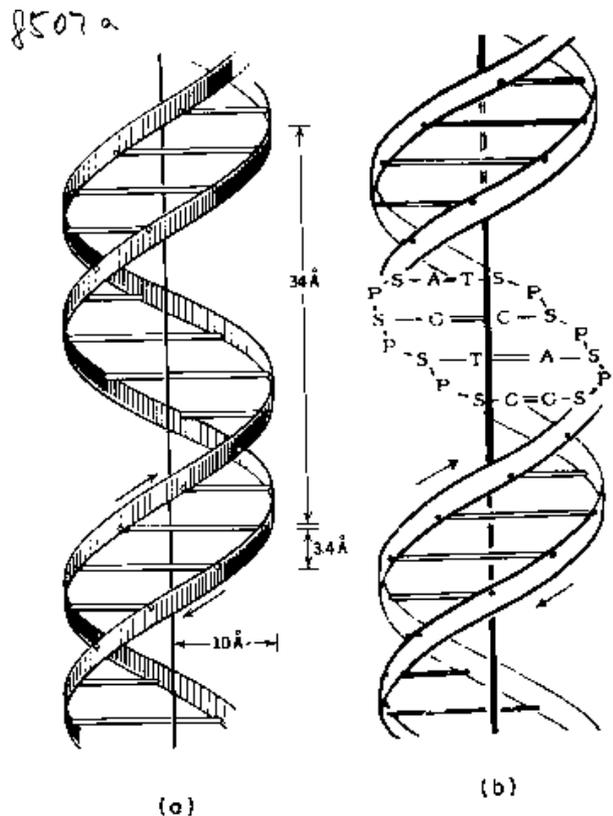
# Ácido desoxirribonucleico (DNA) – Histórico

O DNA é uma hélice dupla que armazena informação genética

- **1952:** Rosalind Franklin; Maurice Wilkins
- **1953:** Francis Crick, James Watson



Fotos extraídas de wikipedia.com



Watson and Crick, Nature, 171(4356):737-8 1953.

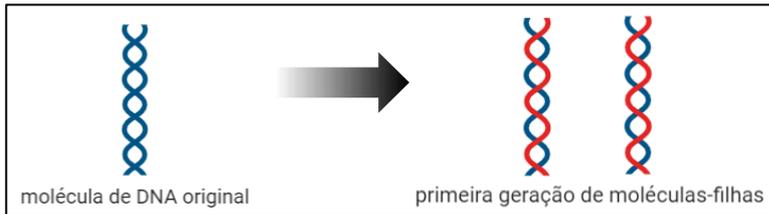


Foto 51 - Raymond Goslin e Rosalind Franklin (King's college).

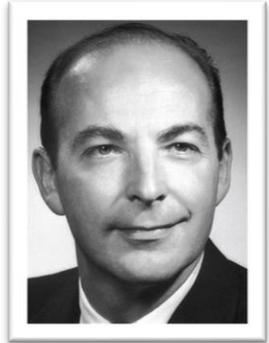
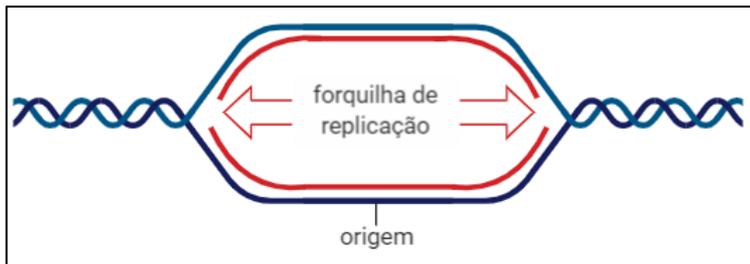
Extraído de stackexchange.com

# Replicação do DNA – Histórico

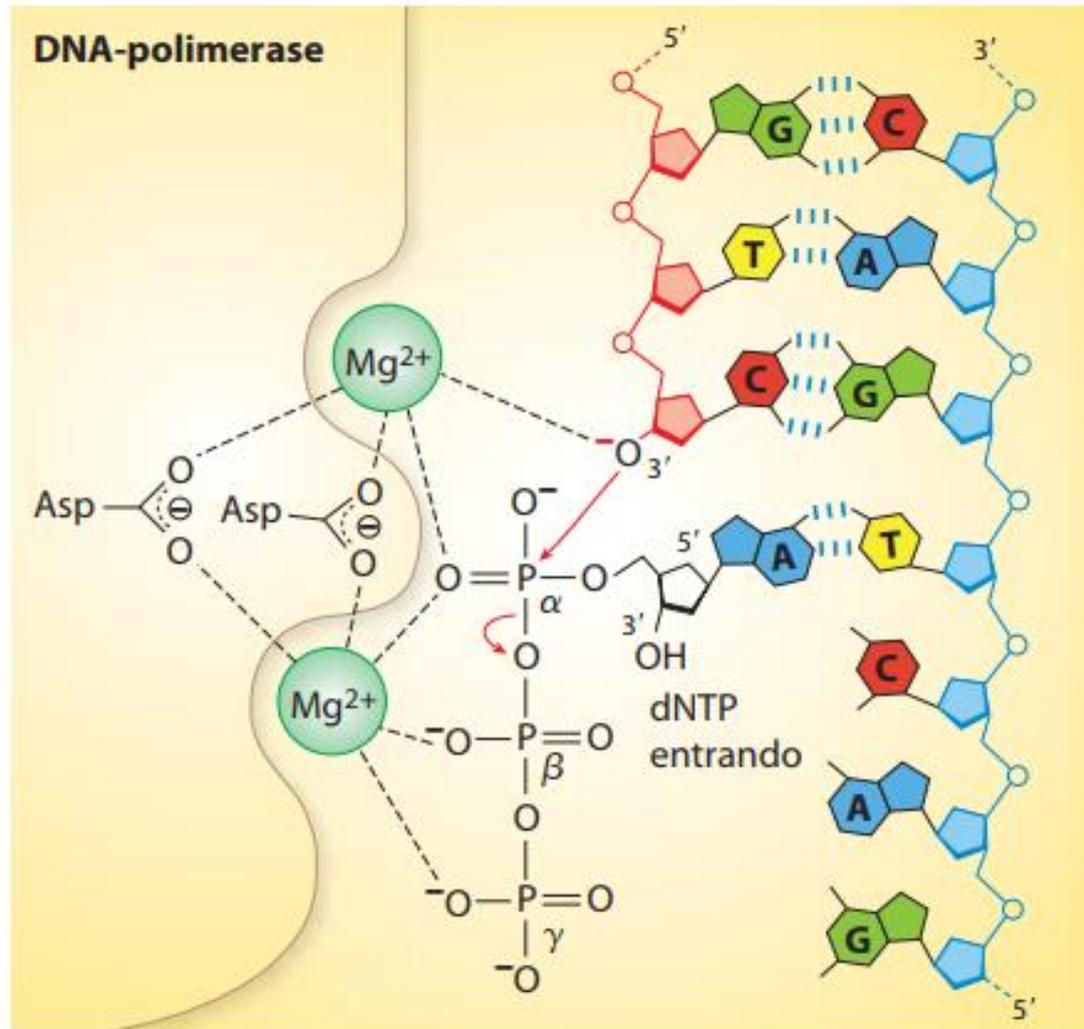
- **1955:** Arthur Kornberg
- O DNA é sintetizado por DNA polimerases.
- **1957:** M. Meselson e F. Stahl
- A replicação do DNA é semiconservativa.



- **1963:** John Cairns
- A replicação do DNA é bidirecional.



# Ligações fosfodiéster interligam nucleotídeos consecutivos no DNA



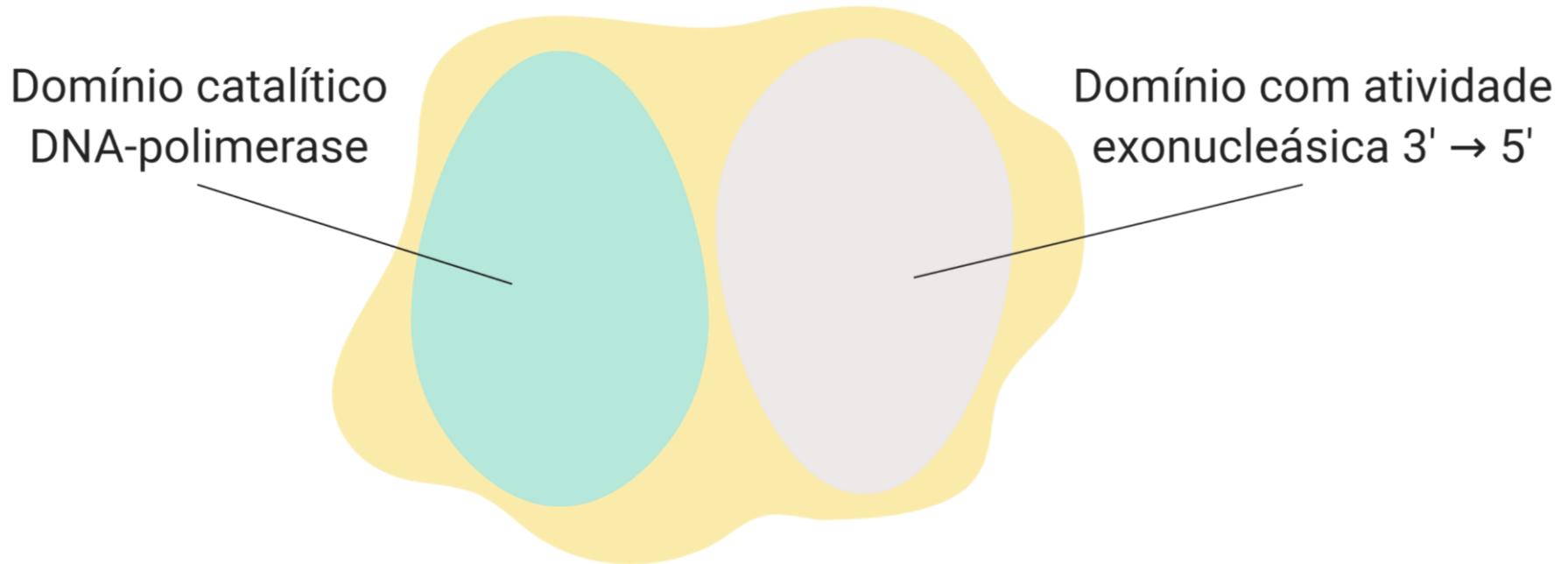
Extraído de Griffiths,  
Introdução à Genética,  
11ª edição

A replicação do DNA é semi-conservativa, bidirecional e catalizada por DNA polimerases.

# DNA polimerases possuem habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

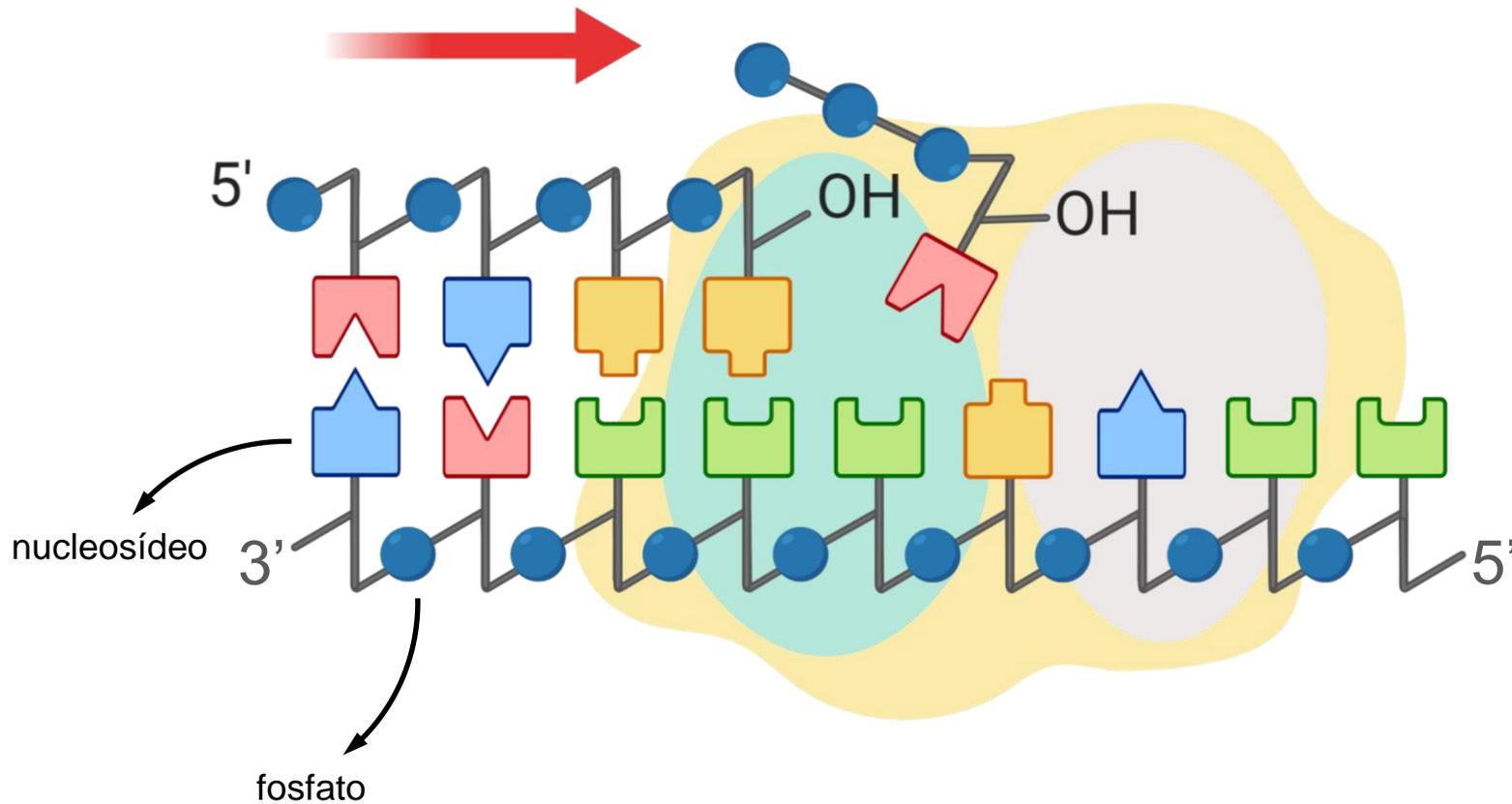
elaborado por Marcelo S. da Silva

## DNA-polimerase



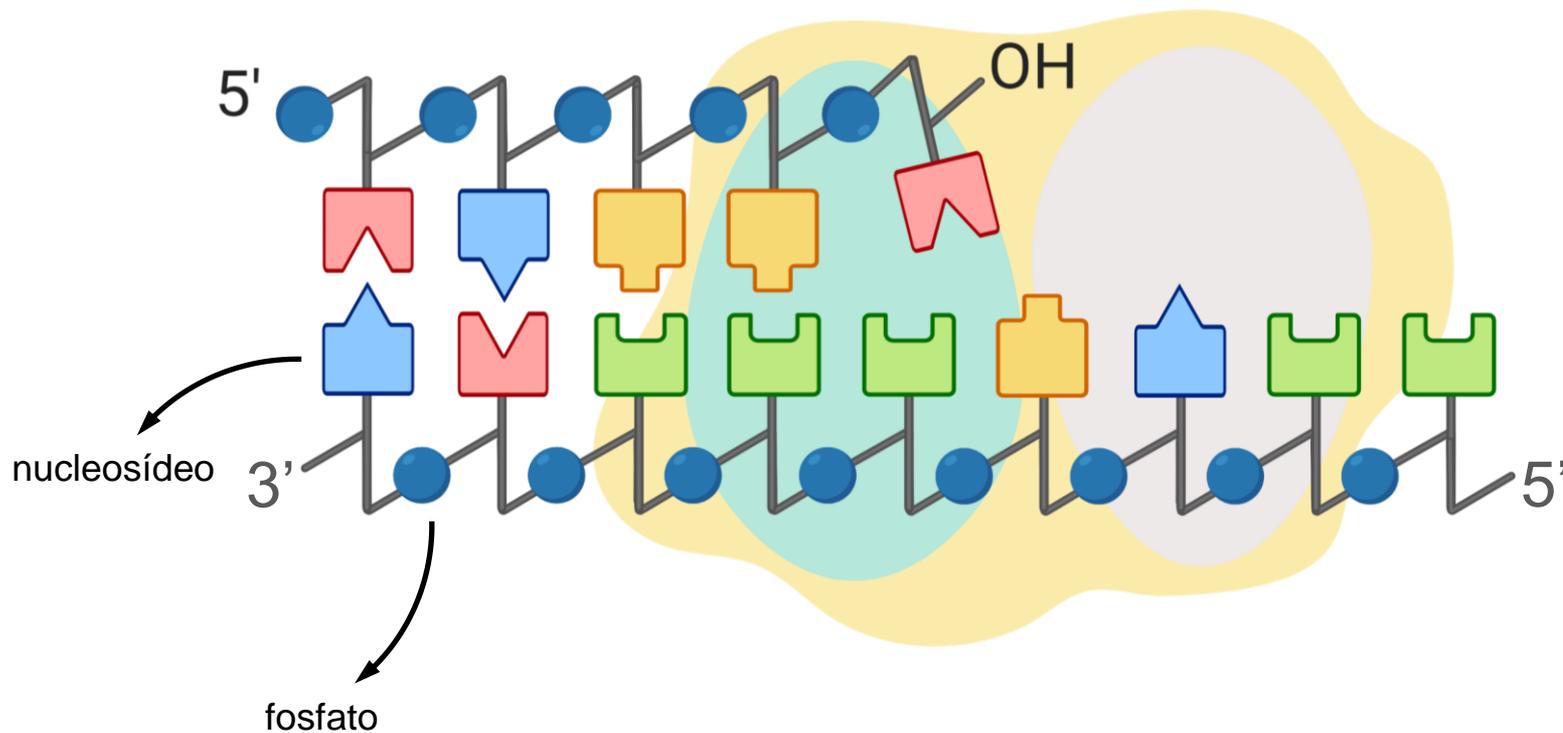
# DNA polimerases possuem habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

elaborado por Marcelo S. da Silva



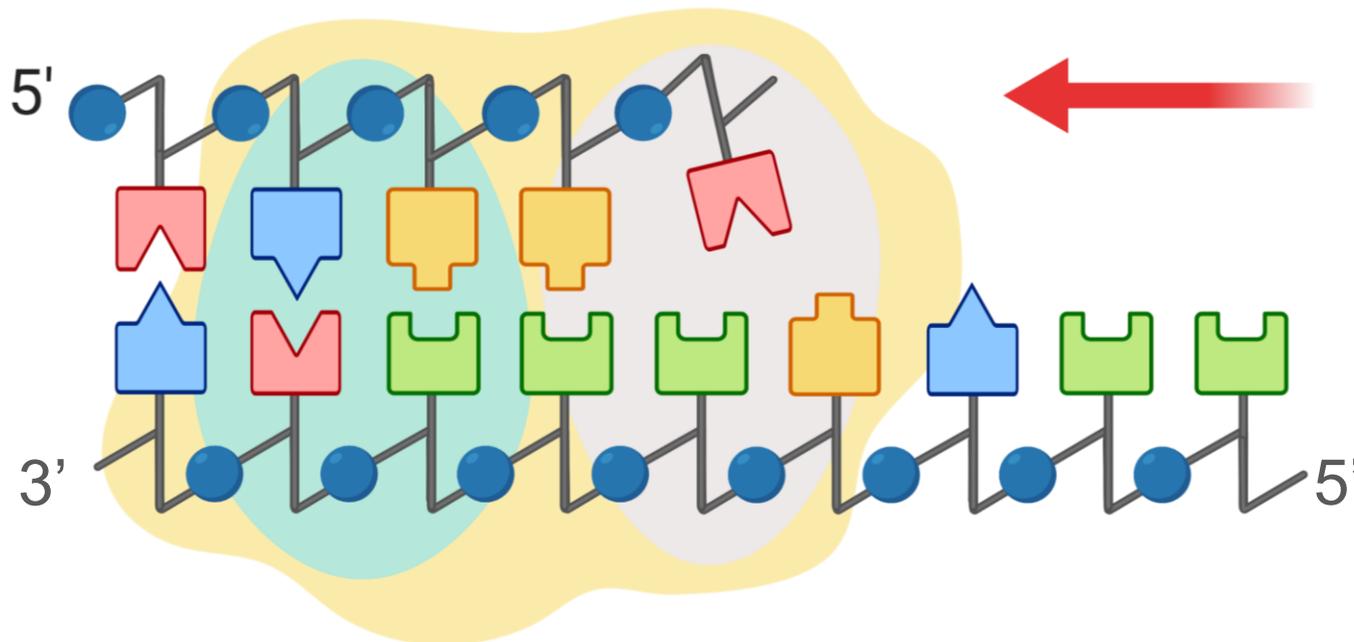
# DNA polimerase possui habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

elaborado por Marcelo S. da Silva



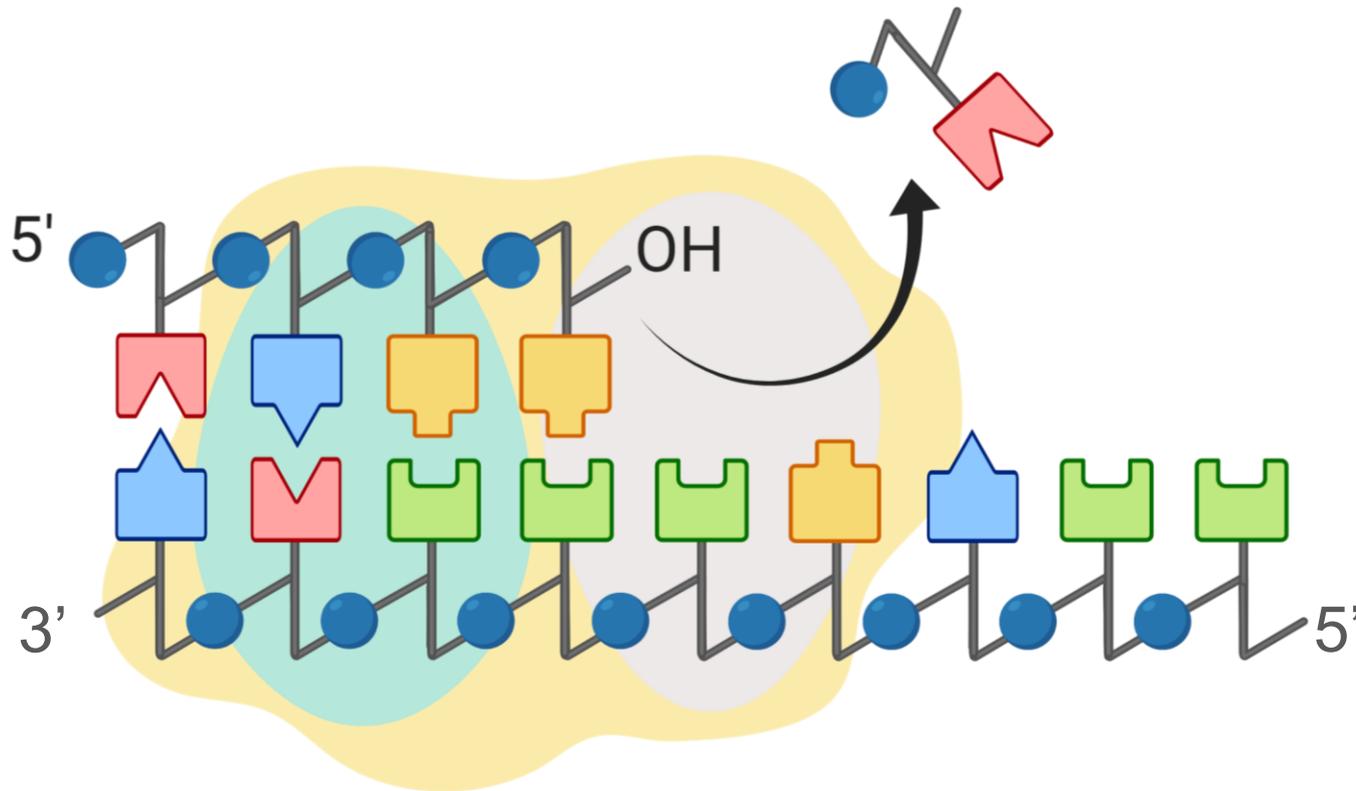
# DNA polimerase possui habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

elaborado por Marcelo S. da Silva



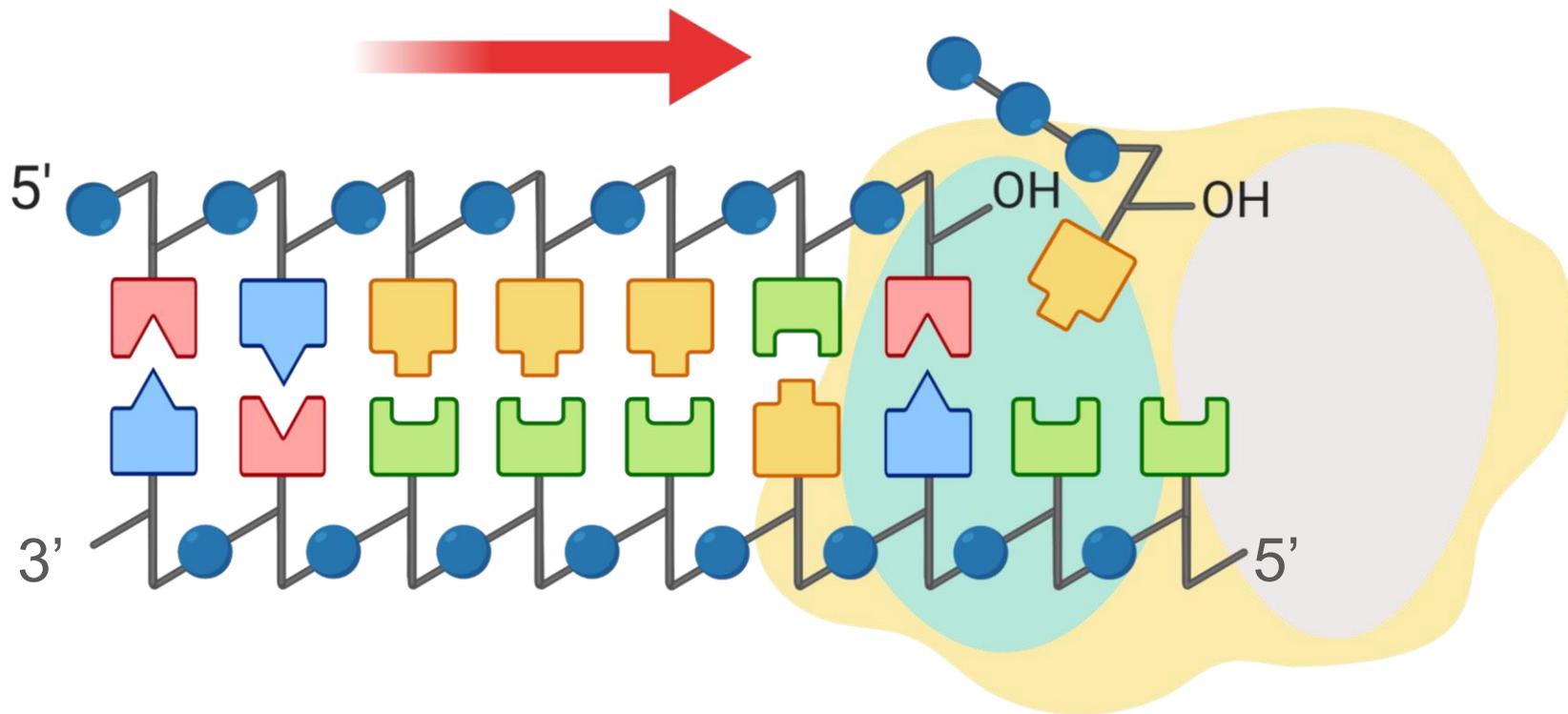
# DNA polimerase possui habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

elaborado por Marcelo S. da Silva



# DNA polimerase possui habilidade de correção - atividade exonuclease 3' → 5'

elaborado por Marcelo S. da Silva



# Replicação do DNA

- Didaticamente, podemos dividir o processo de replicação do DNA em 3 etapas:

**Início**

**Elongação**

**Término**

Baseado em artigos recentes, a sequência de slides a seguir sugere, de um modo geral, como ocorre o processo de replicação em eucariotos

# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva

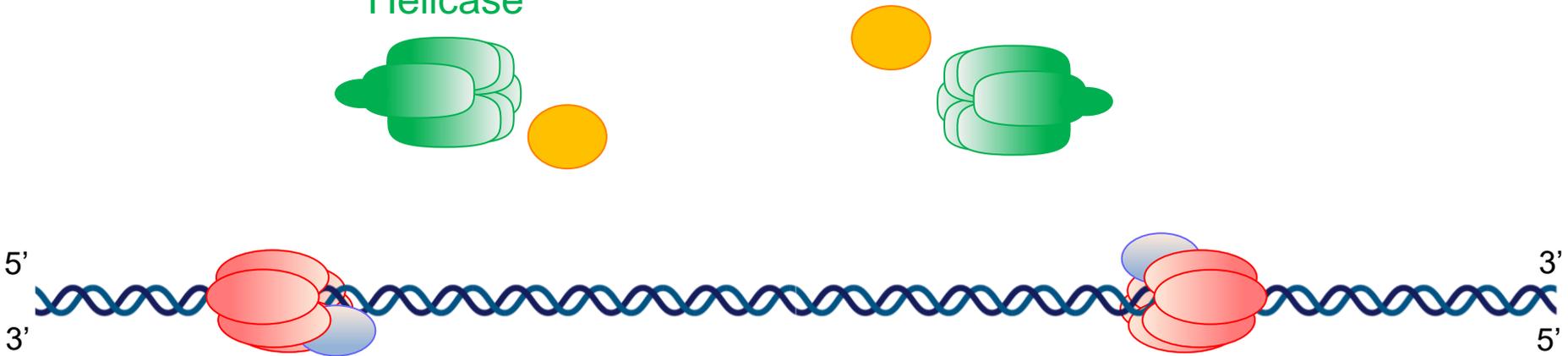
Complexo de  
reconhecimento  
da origem (ORC)



# Replicação do DNA – Início

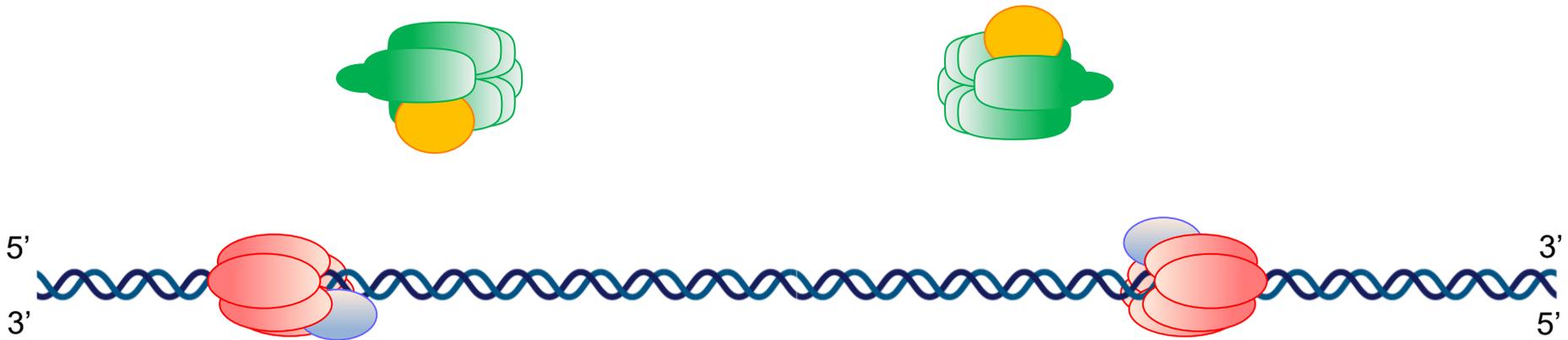
elaborado por Marcelo S. da Silva

Helicase



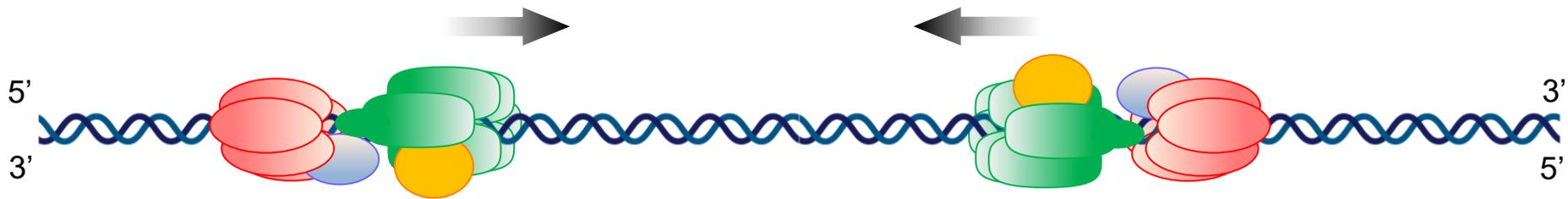
# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva



# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva



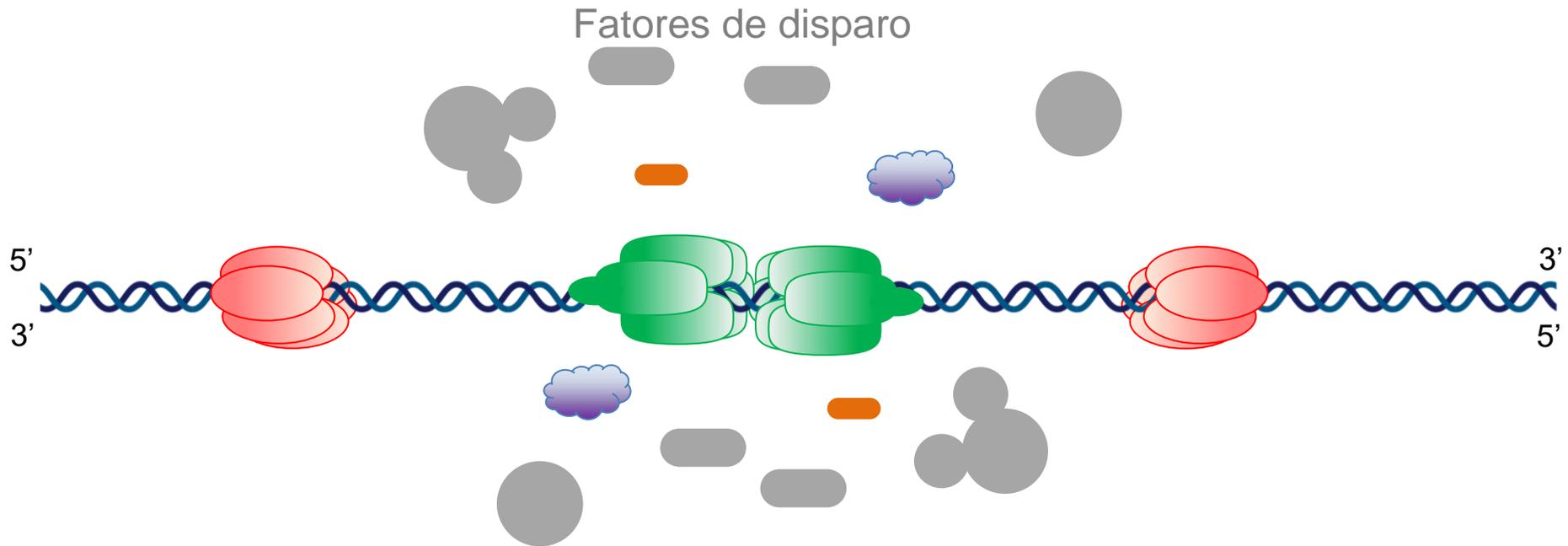
# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva



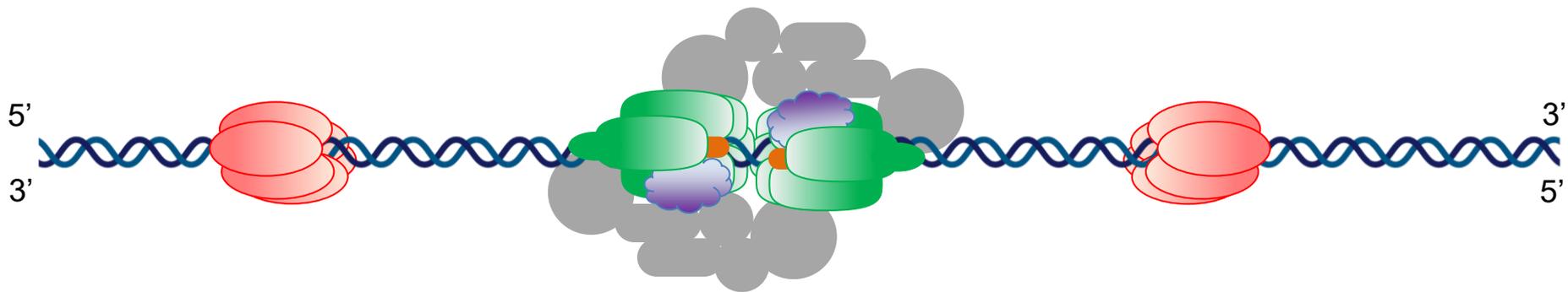
# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva



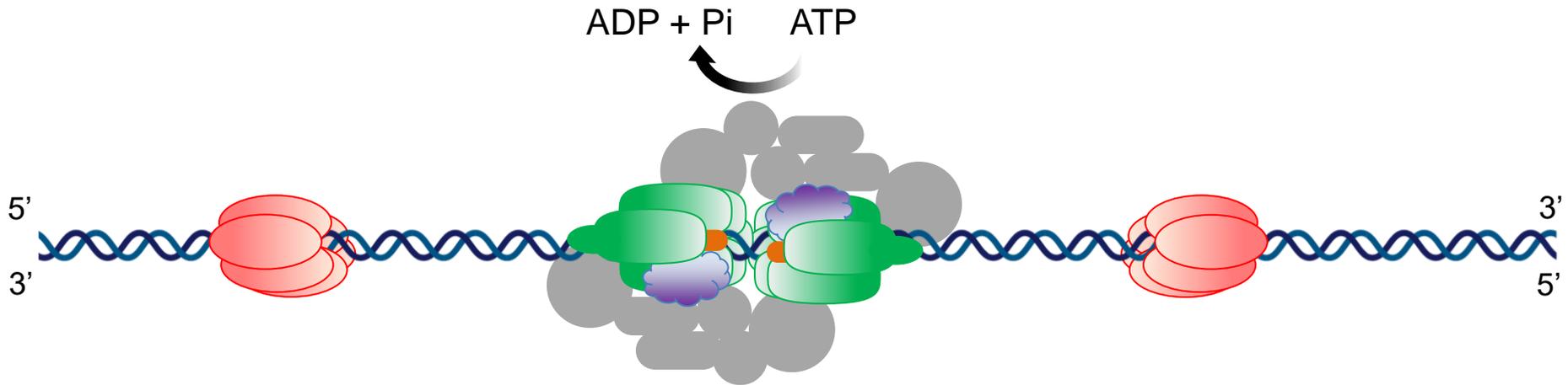
# Replicação do DNA – Início

elaborado por Marcelo S. da Silva



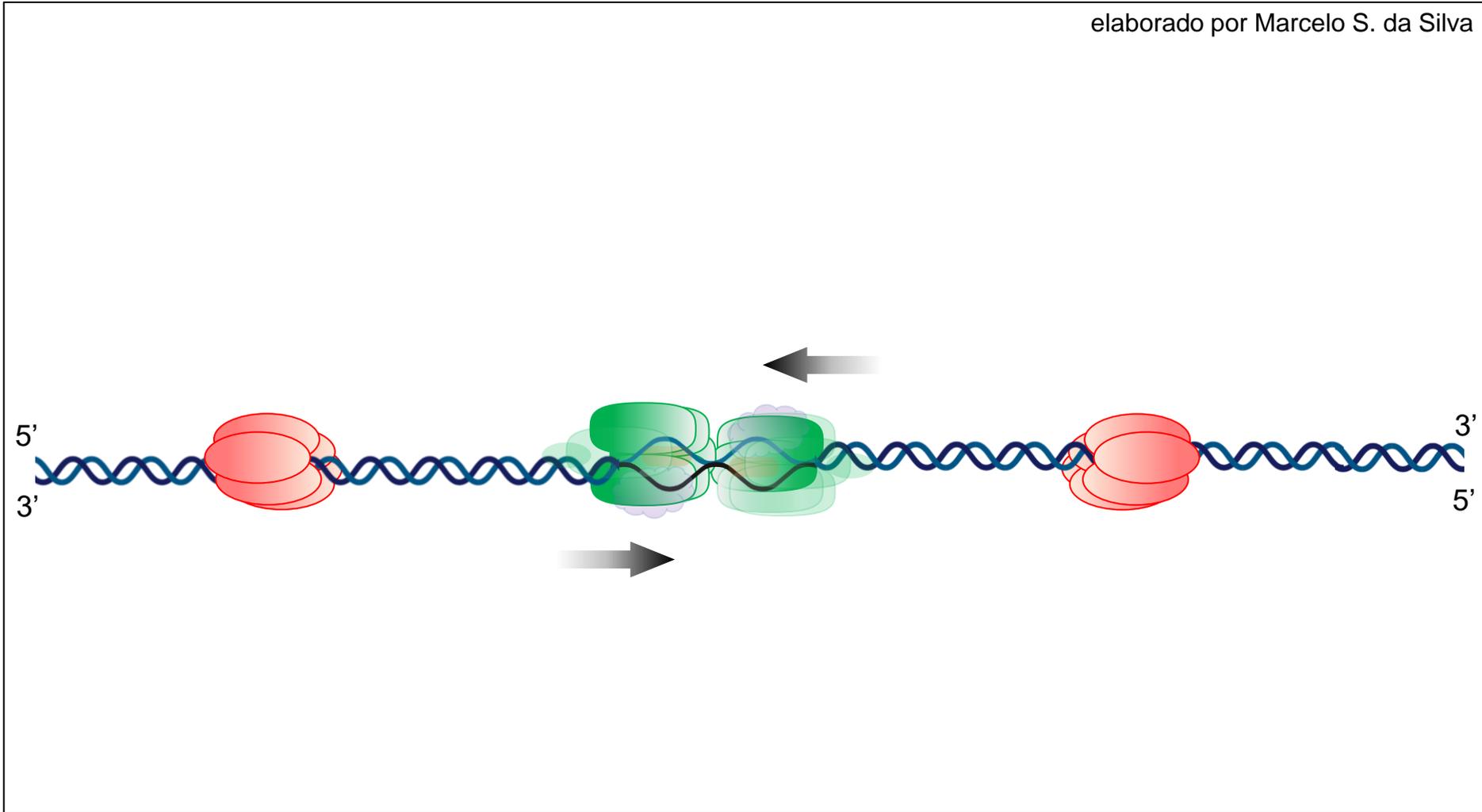
# Replicação do DNA – início

elaborado por Marcelo S. da Silva



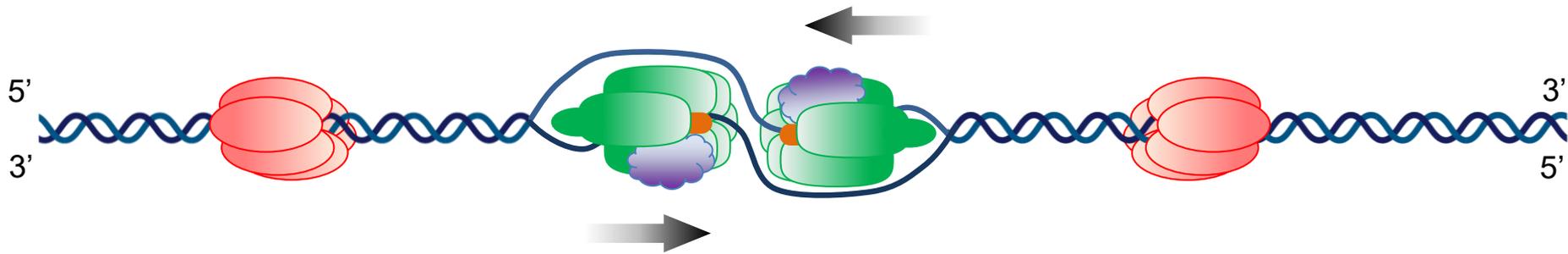
# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva



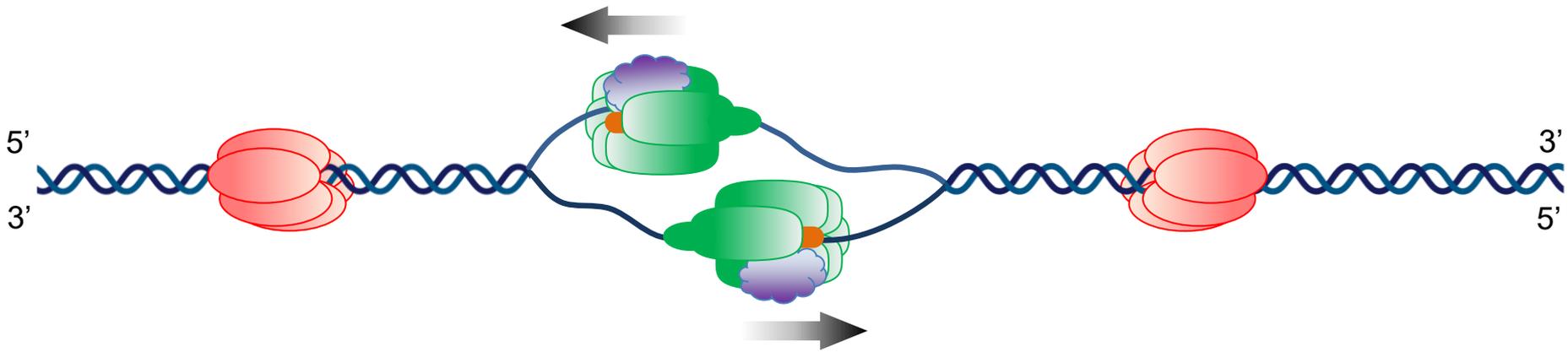
# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva



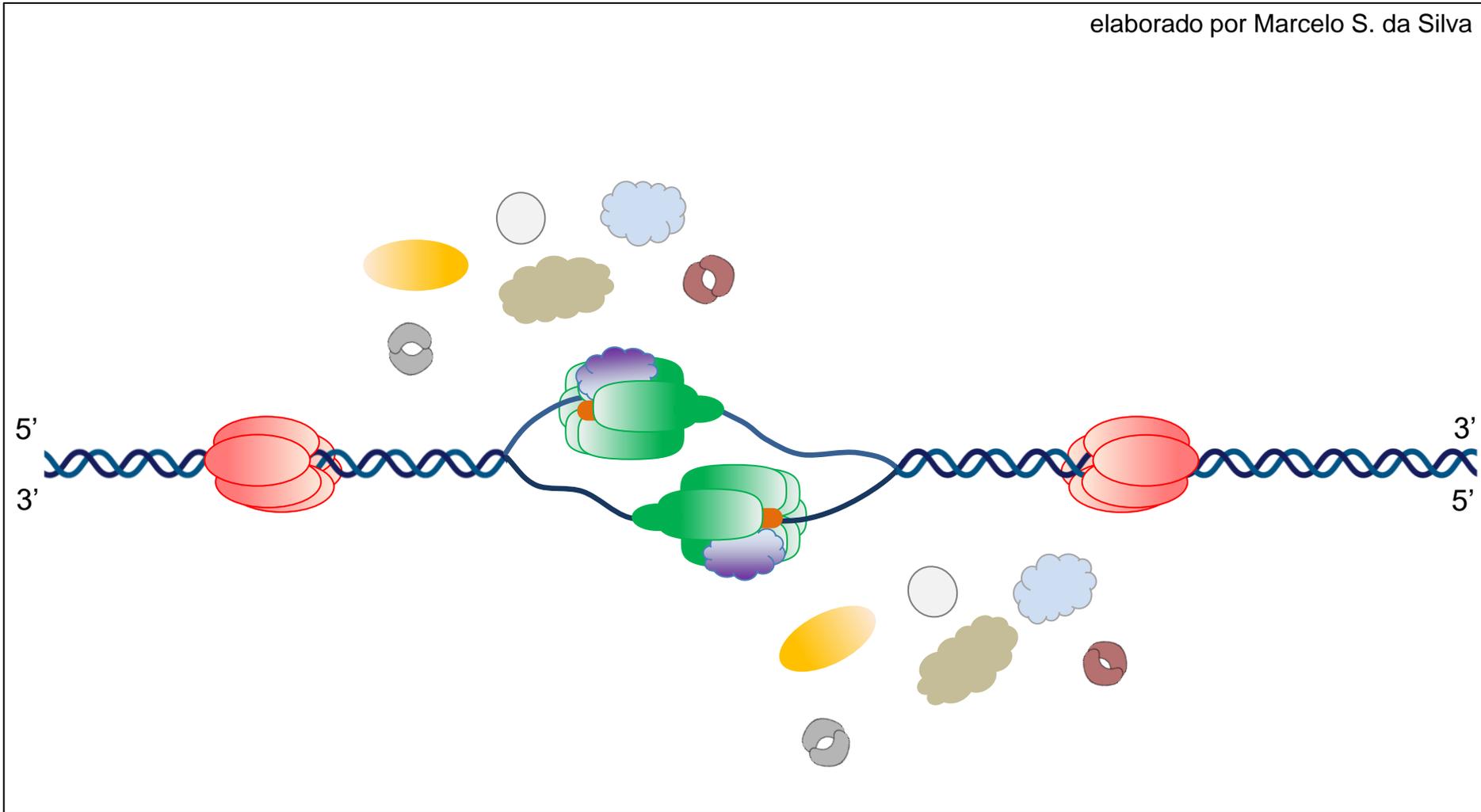
# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva



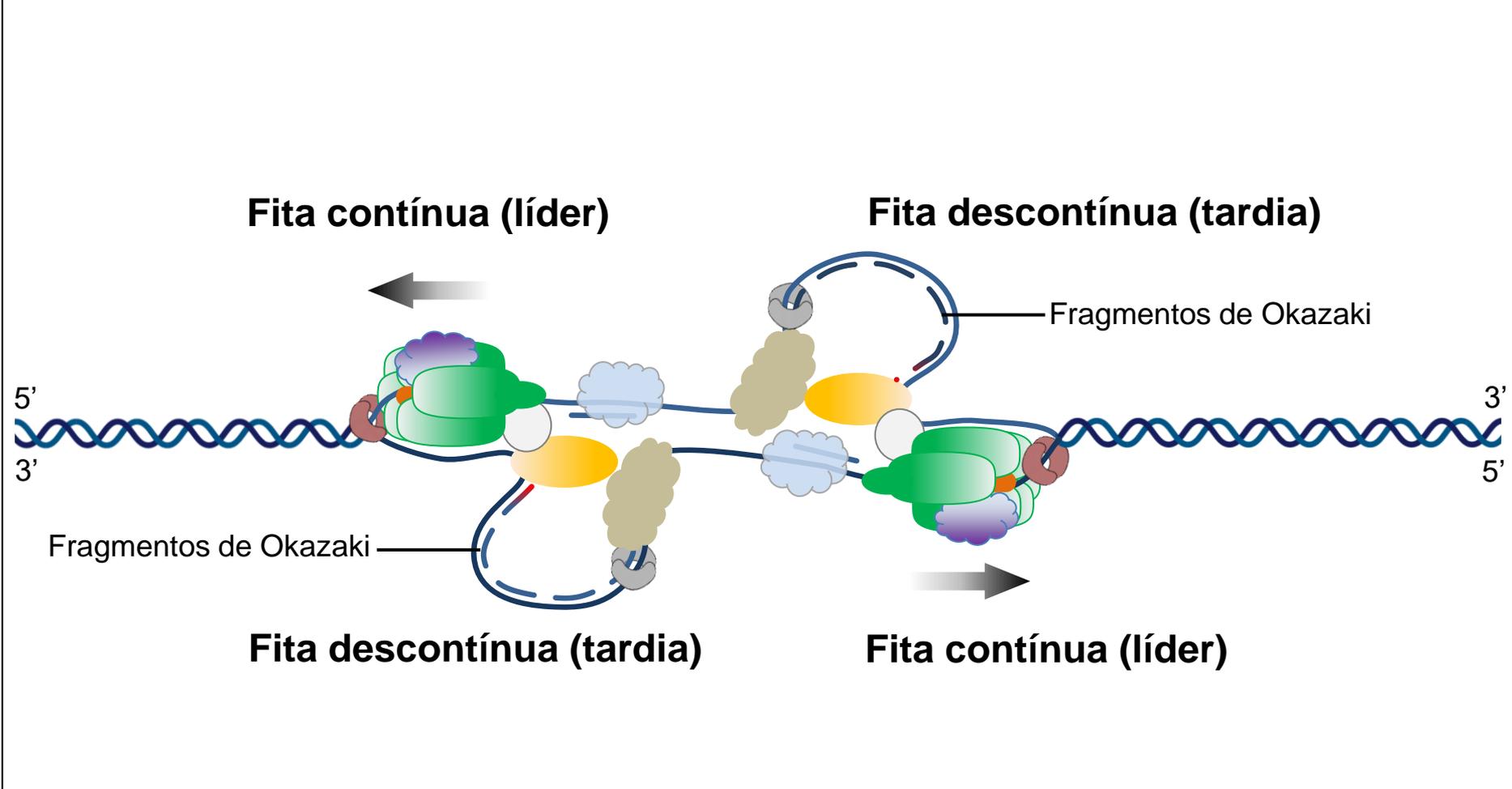
# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva



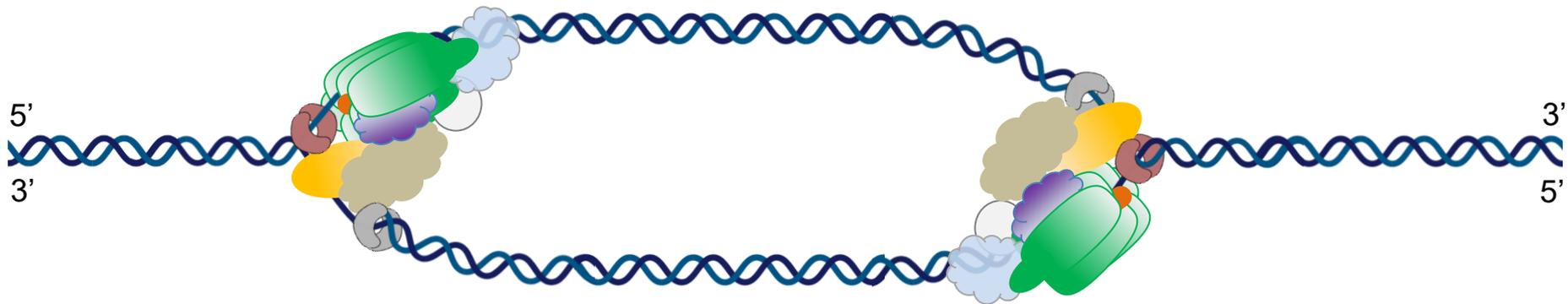
# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva

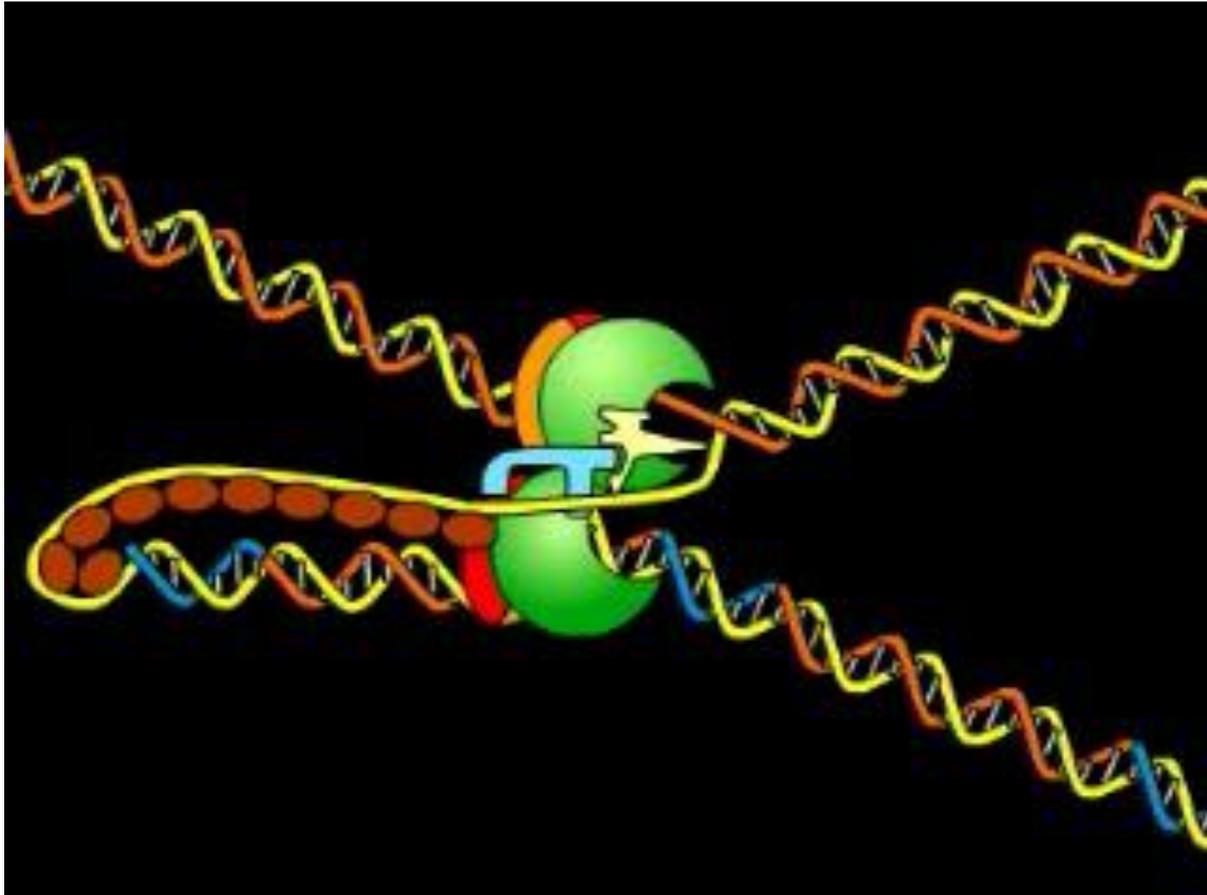


# Replicação do DNA – Elongação

elaborado por Marcelo S. da Silva

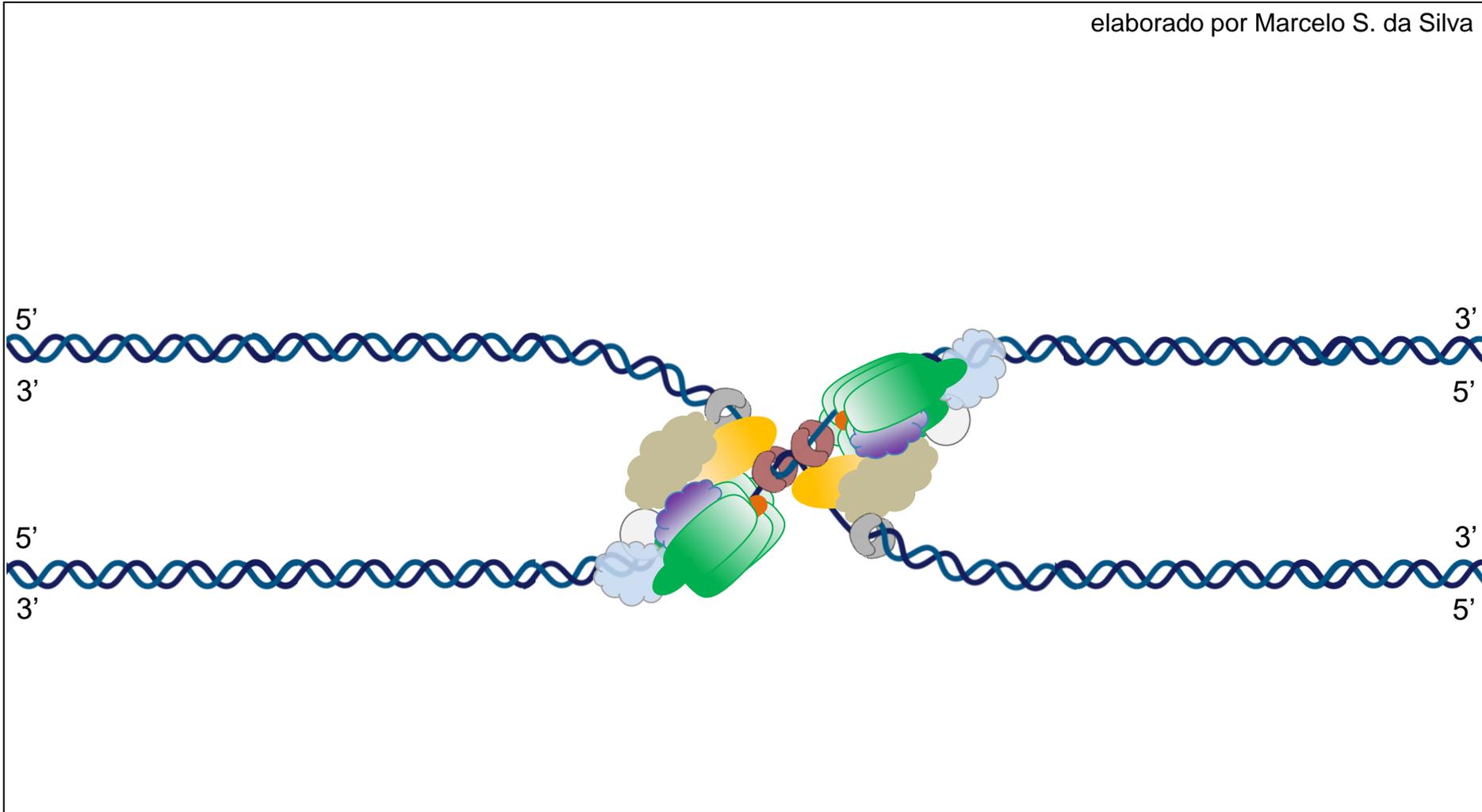


# Replicação do DNA – Elongação (resumo)



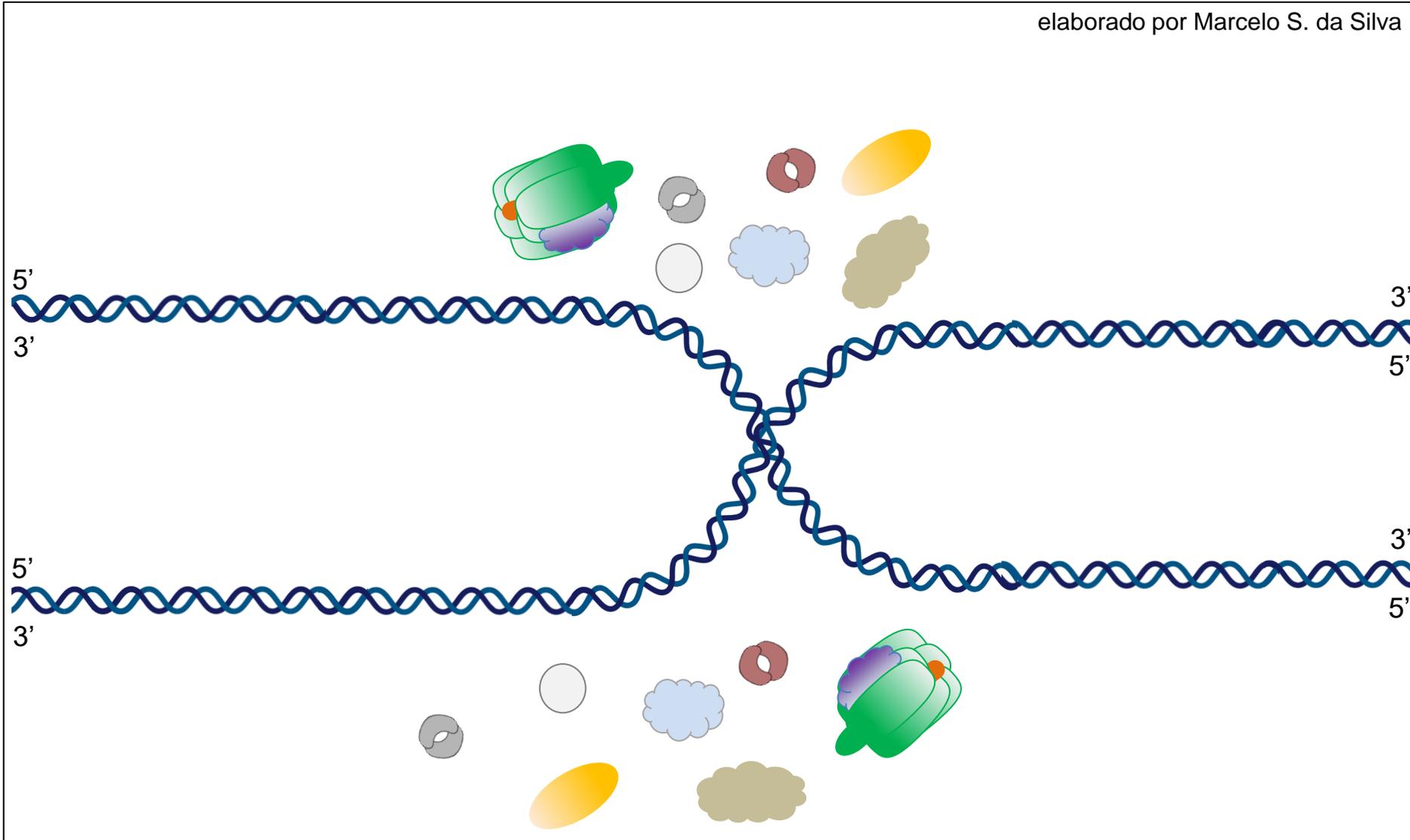
# Replicação do DNA – Término (eucariotos e procariotos)

elaborado por Marcelo S. da Silva



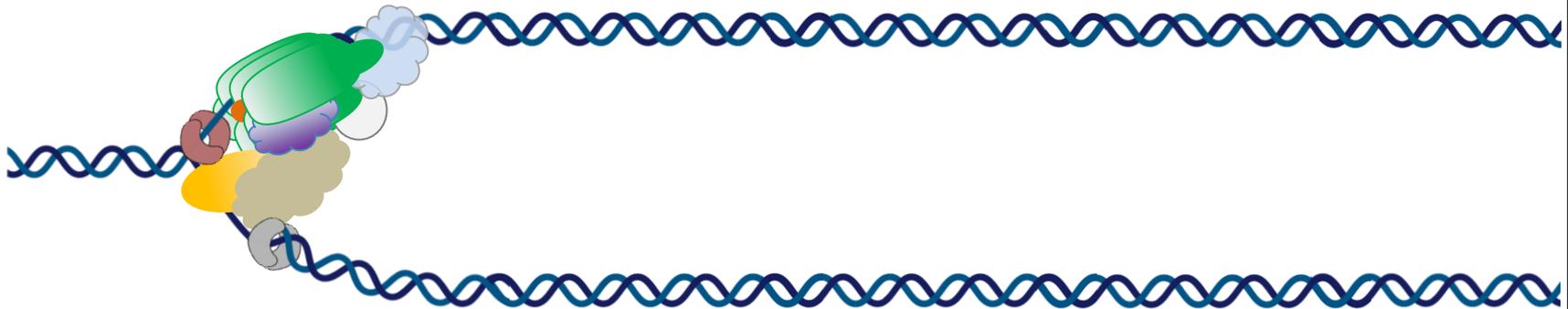
# Replicação do DNA – Término (eucariotos e procariotos)

elaborado por Marcelo S. da Silva



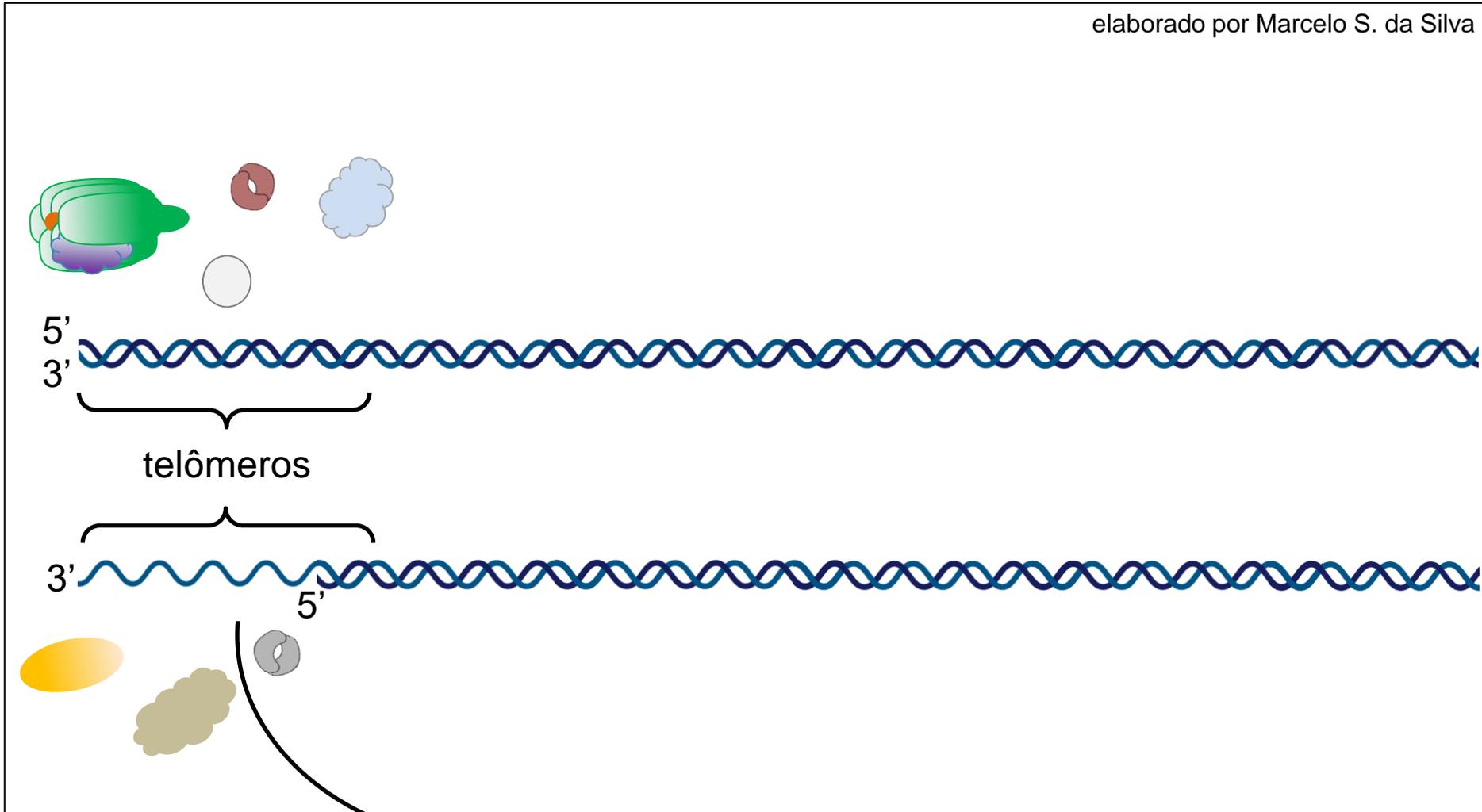
# Replicação do DNA – Término (exclusivo para eucariotos)

elaborado por Marcelo S. da Silva



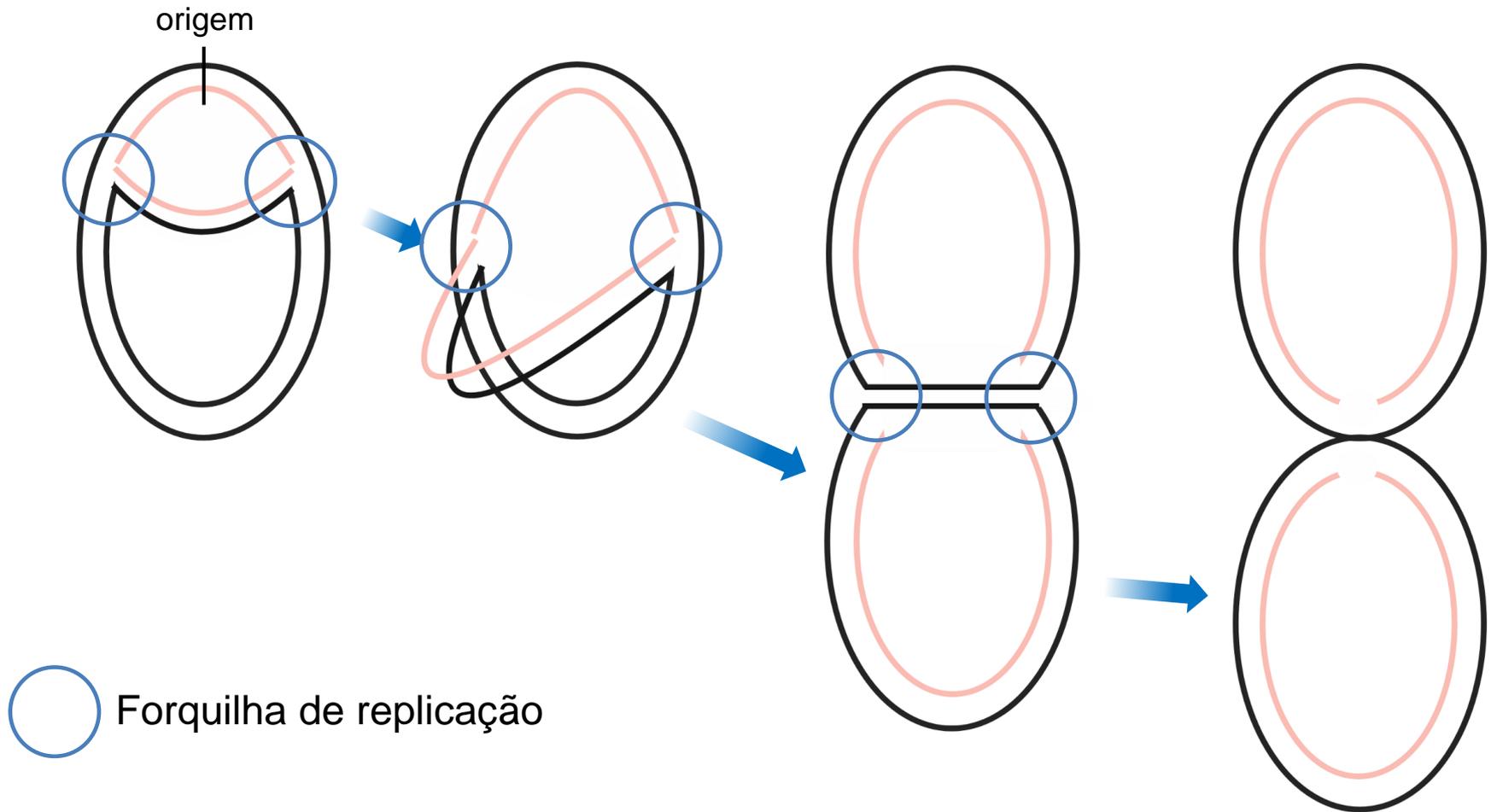
# Replicação do DNA – Término (exclusivo para eucariotos)

elaborado por Marcelo S. da Silva



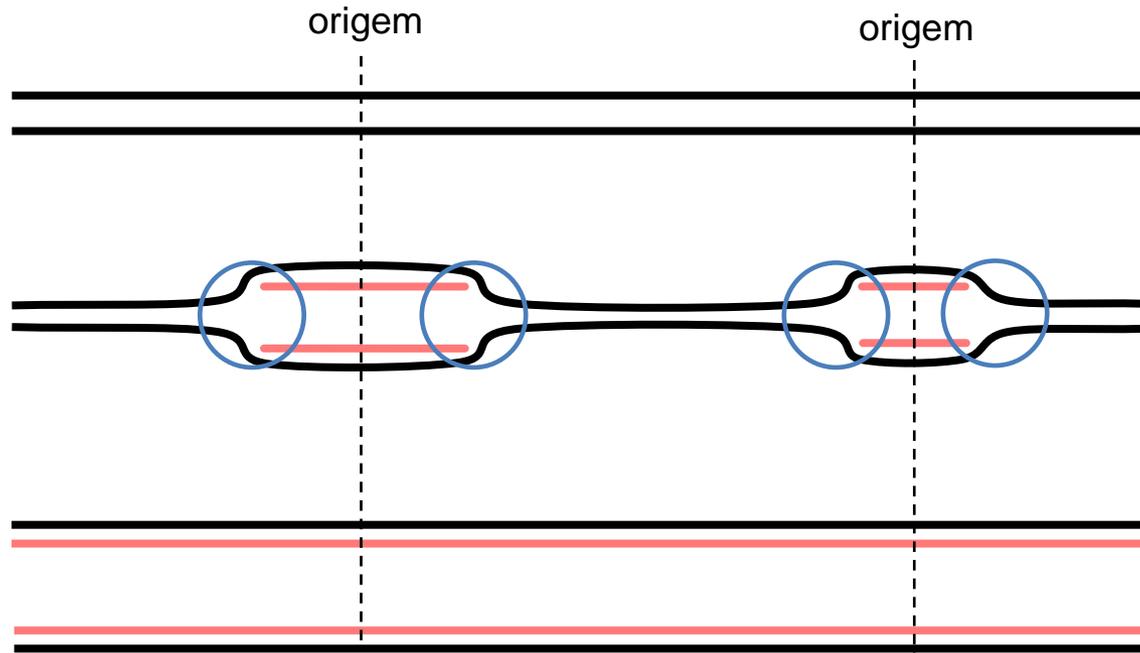
Cromossomo encurta a cada ciclo.  
Como a célula resolve este 'problema'?

# Observação: Replicação do DNA – Procariotos



Procariotos (domínio Bacteria) apresentam cromossomo circular e apenas uma origem por cromossomo.

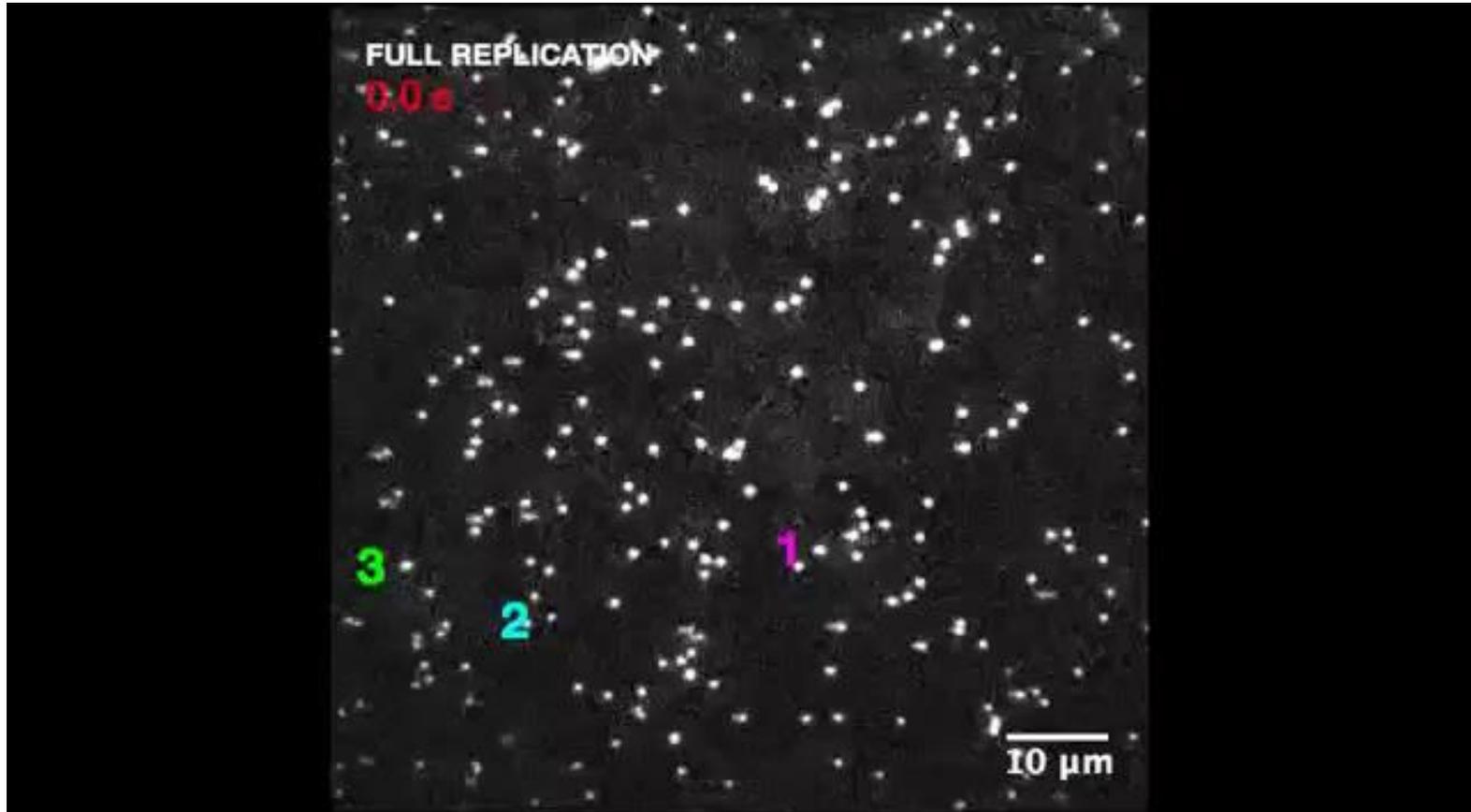
# Replicação do DNA – Eucariotos



○ Forquilha de replicação

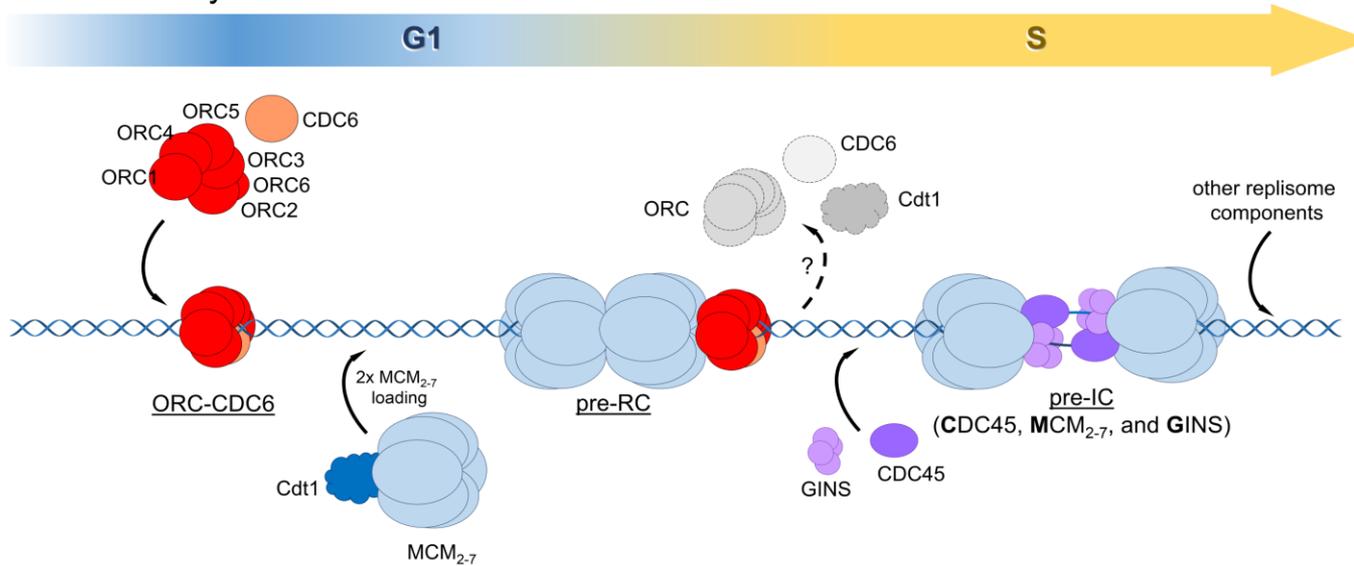
Eucariotos apresentam cromossomos lineares e normalmente várias origens por cromossomo.

# Replicação do DNA em tempo real

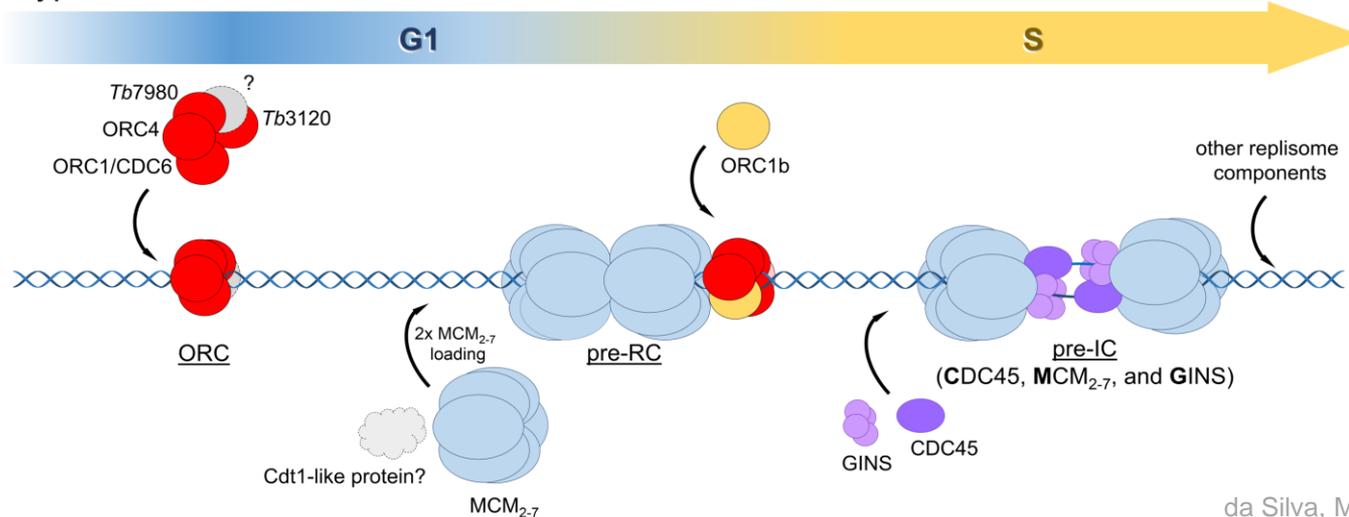


# Replicação do DNA em tripanosomatídeos

model eukaryotes



trypanosomatids



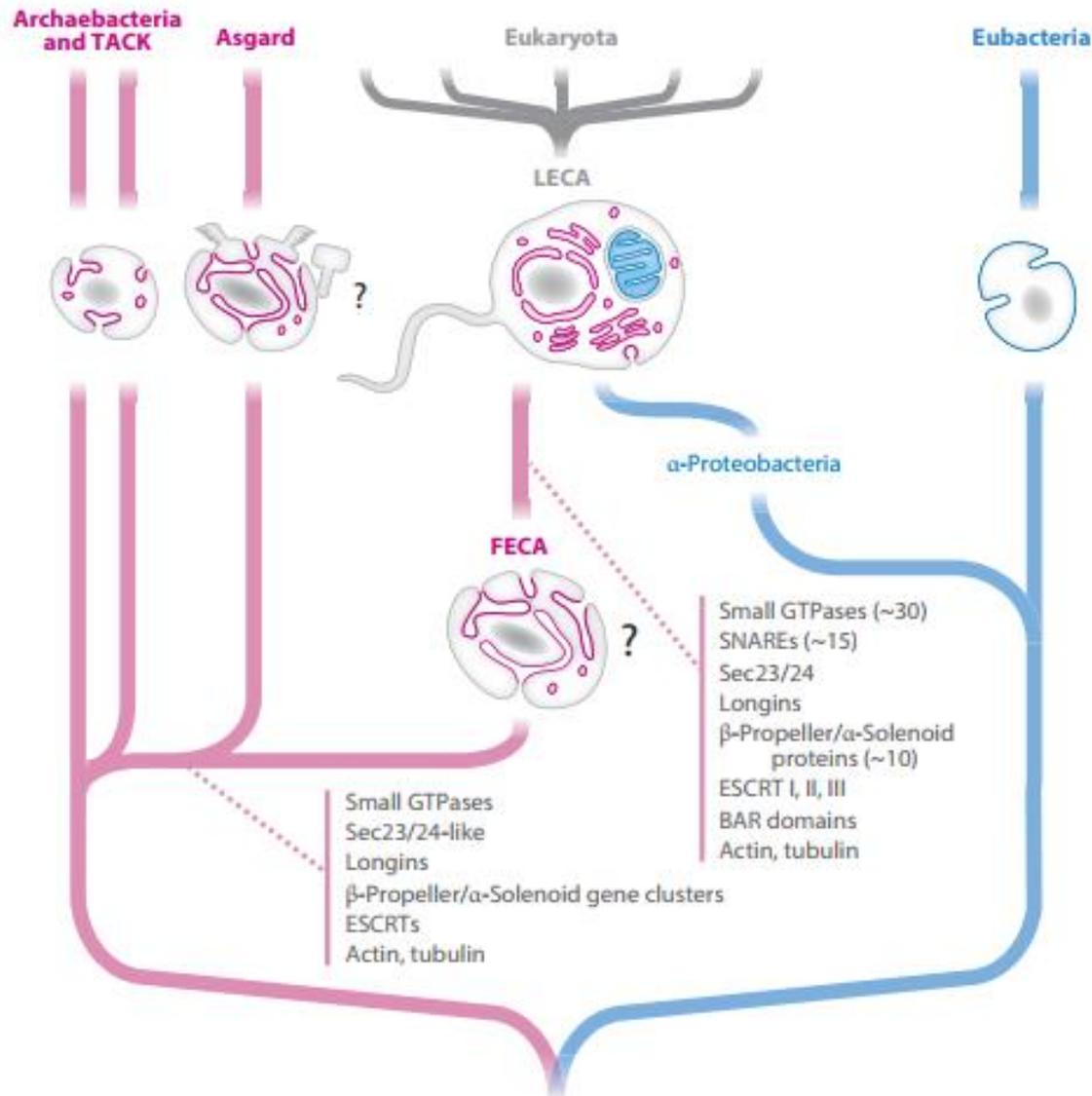
# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- **Revisão de conceitos;**
- **Ciclo Celular;**
- **Replicação do DNA;**
- **Transcrição;**
- **Bibliografia.**

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

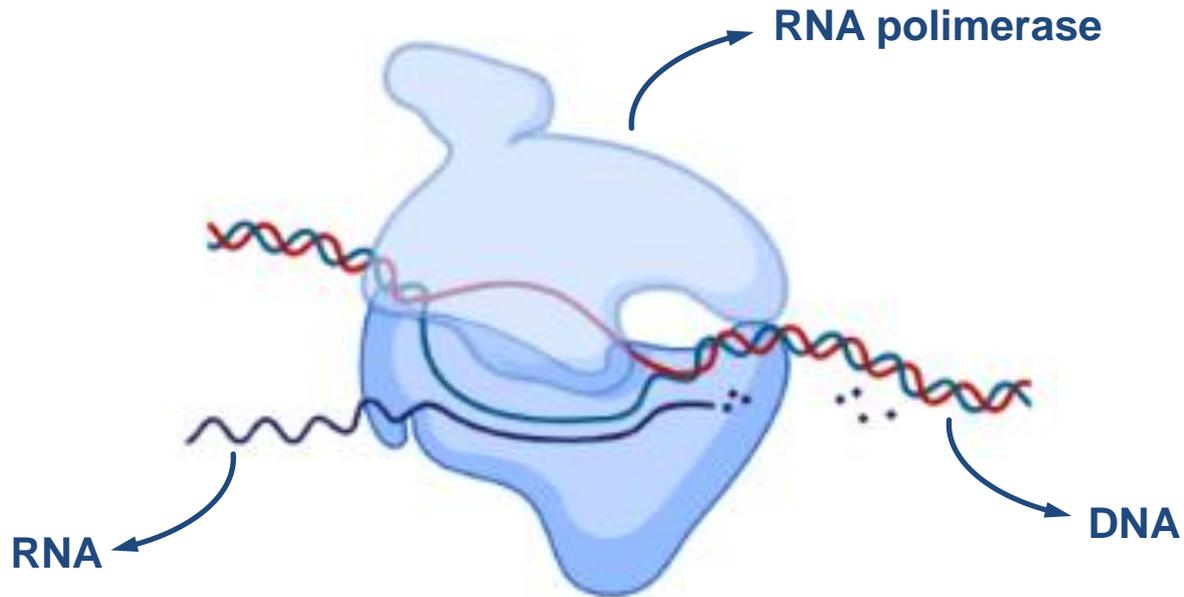
- Revisão de conceitos;
- Ciclo Celular;
- Replicação do DNA;
- **Transcrição;**
- Bibliografia.

# Revisão de conceitos: Qual a principal diferença em procariotos e eucariotos?



# Transcrição

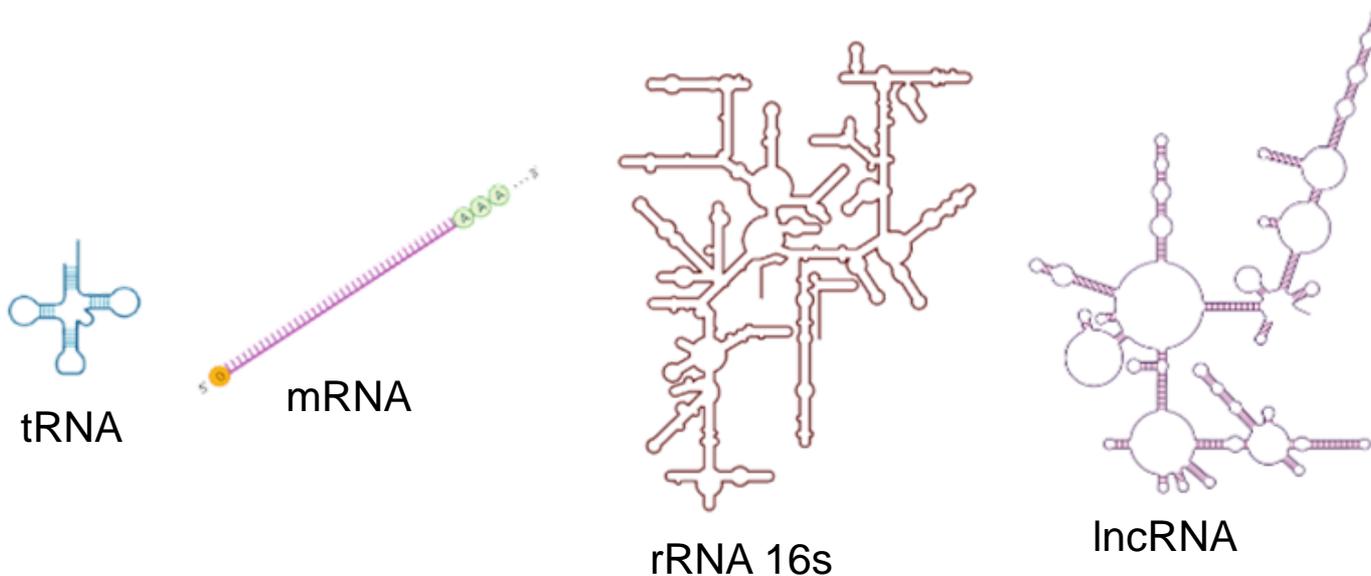
- A transcrição é a primeira de várias etapas da expressão gênica.
- Ocorre praticamente em todas as fases do ciclo celular.
- Durante a transcrição, uma sequência de DNA é lida por uma RNA polimerase, que produz uma cadeia de RNA antiparalela complementar.



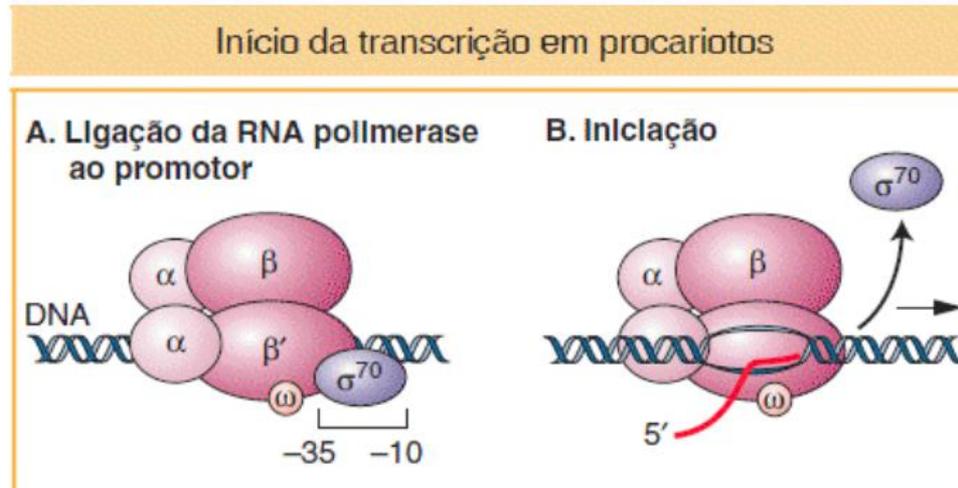
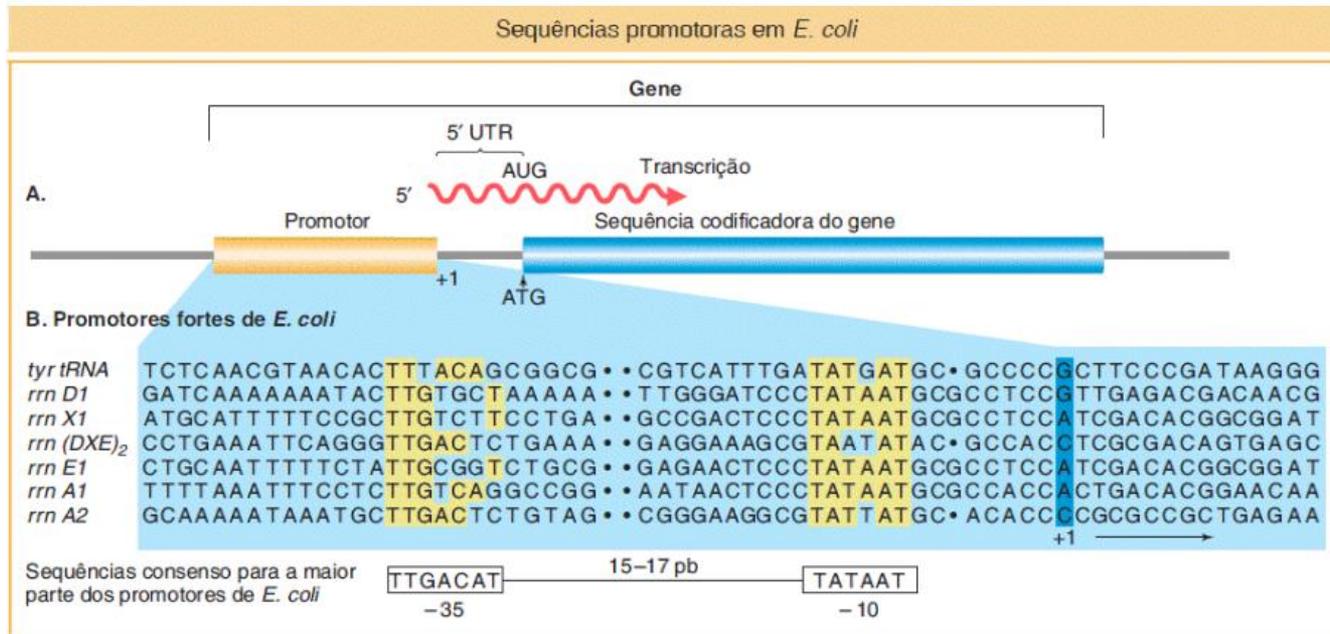
# De um modo geral, os RNAs podem ser classificados em 2 grandes grupos:

- **RNAs mensageiros (mRNA):** Codificam a informação para construir proteínas.
- **RNAs funcionais:** São aqueles que não codificam proteínas. O RNA é produto final.

Dentro dessa classe temos o RNA transportador (tRNA), RNA ribossômico (rRNA), RNA telomérico, pequenos RNA nucleares (snRNA), longos RNAs não codificadores (lncRNAs), entre outros.

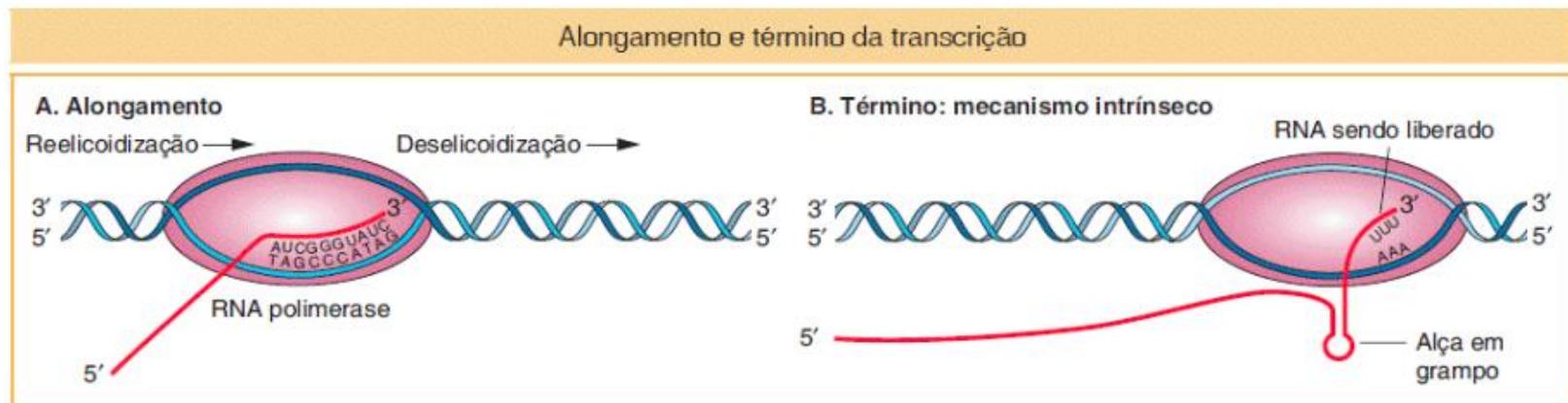


# Início da transcrição em procariotos



# Término da transcrição em procariotos

- O término da transcrição em procariotos requer a síntese de determinadas sequências de RNA (sequências ricas em G-C seguidas por um trecho de aproximadamente oito U).



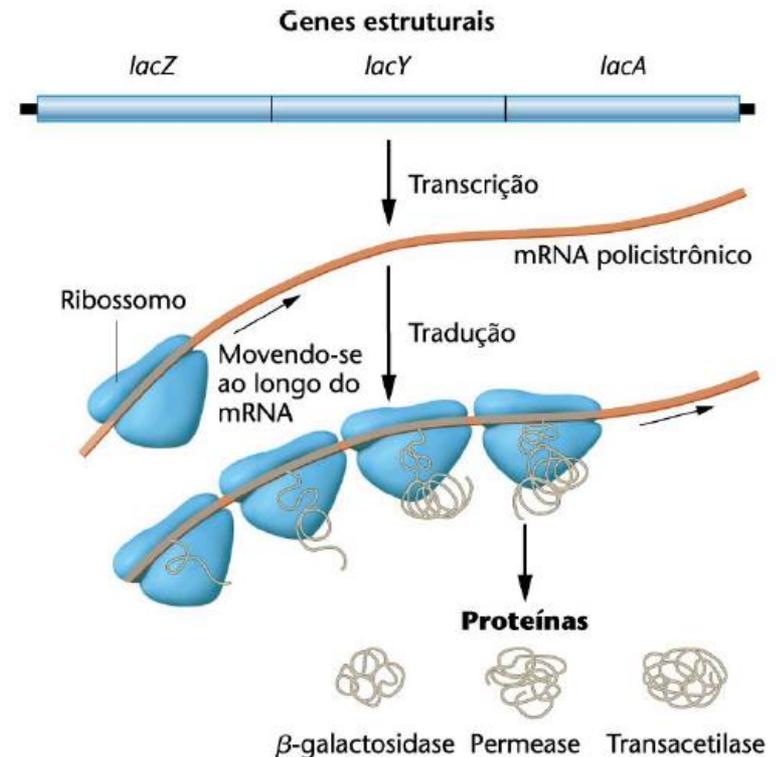
- Alternativamente há o término da transcrição dependente do complexo rho.

# Procaríotos X Eucariotos

- De um modo geral, a densidade de genes (número médio de genes por comprimento de DNA) em procaríotos é muito maior comparado à eucariotos.
- Ex: *E. coli* = 1 gene por 1.400 pb; *H. sapiens* = 1 gene por 100.000 pb.
- Essa baixa densidade de genes torna a etapa de iniciação da transcrição um processo muito mais complicado.

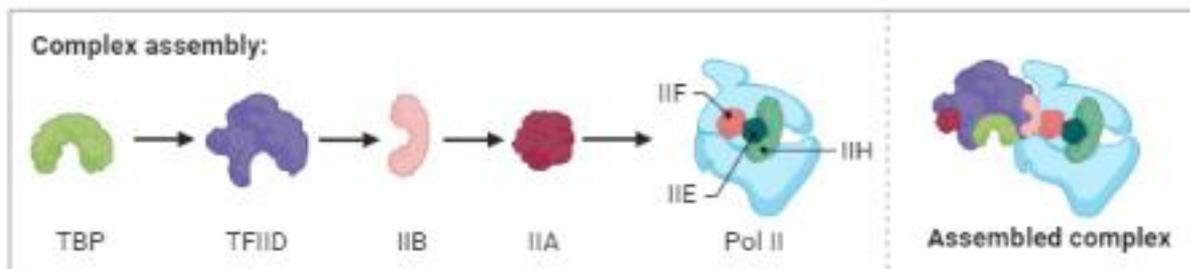
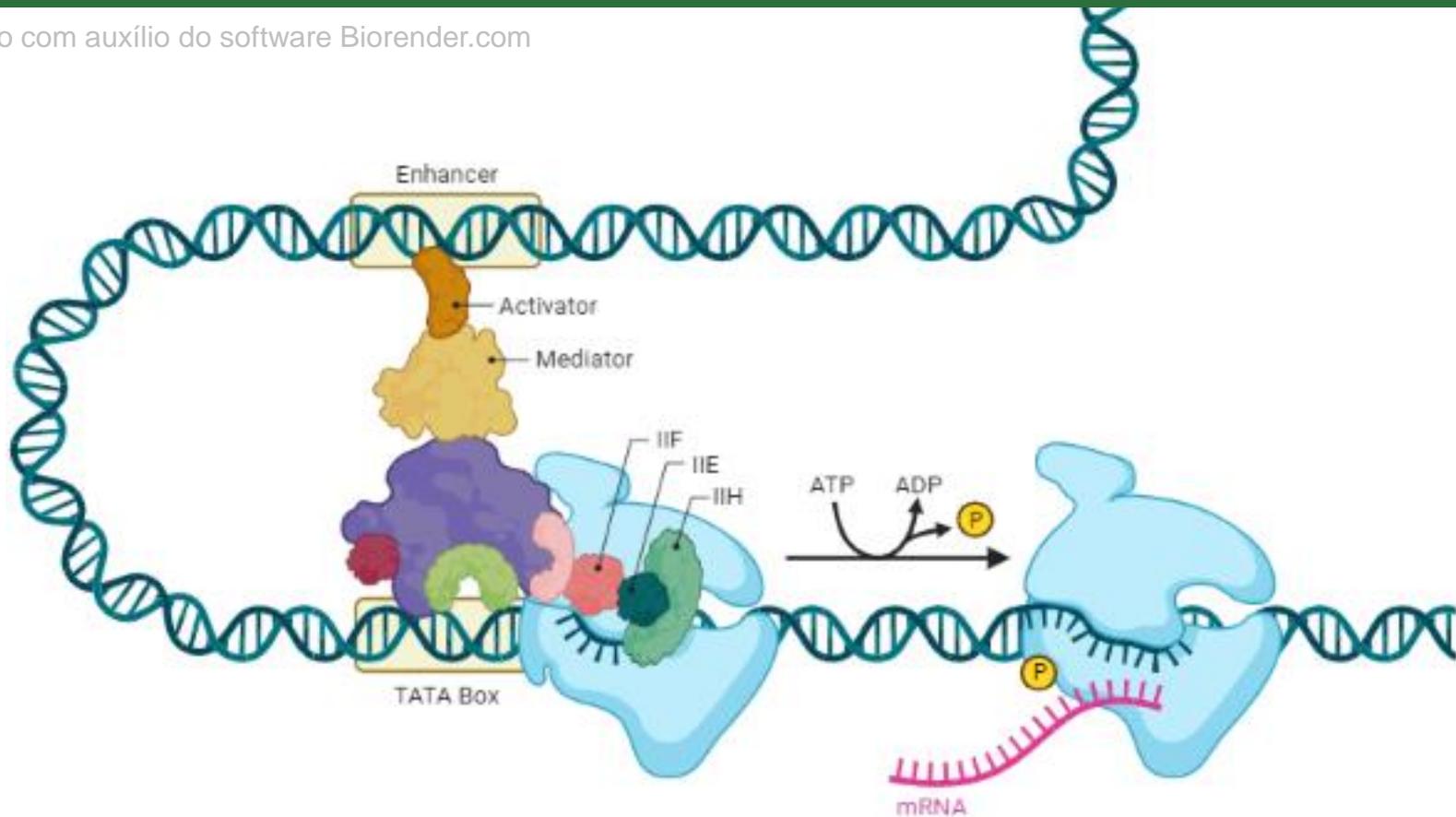
- **Procaríotos: Transcrição policistrônica** (diversos genes sob a regulação de um único promotor).

- **Eucariotos (maioria): Transcrição monocistrônica** (Maioria dos genes possuem promotores individuais).

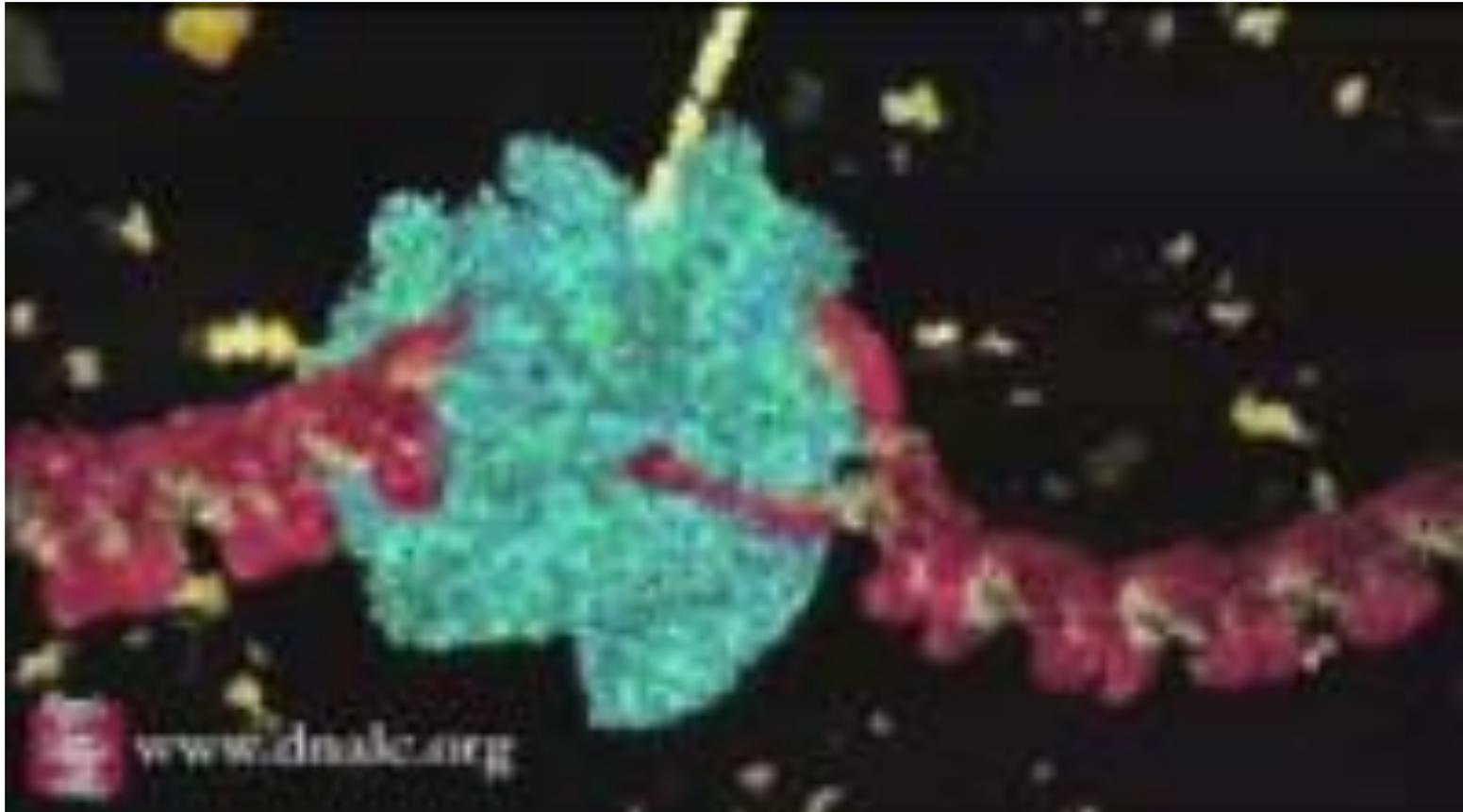


# Início da transcrição em eucariotos

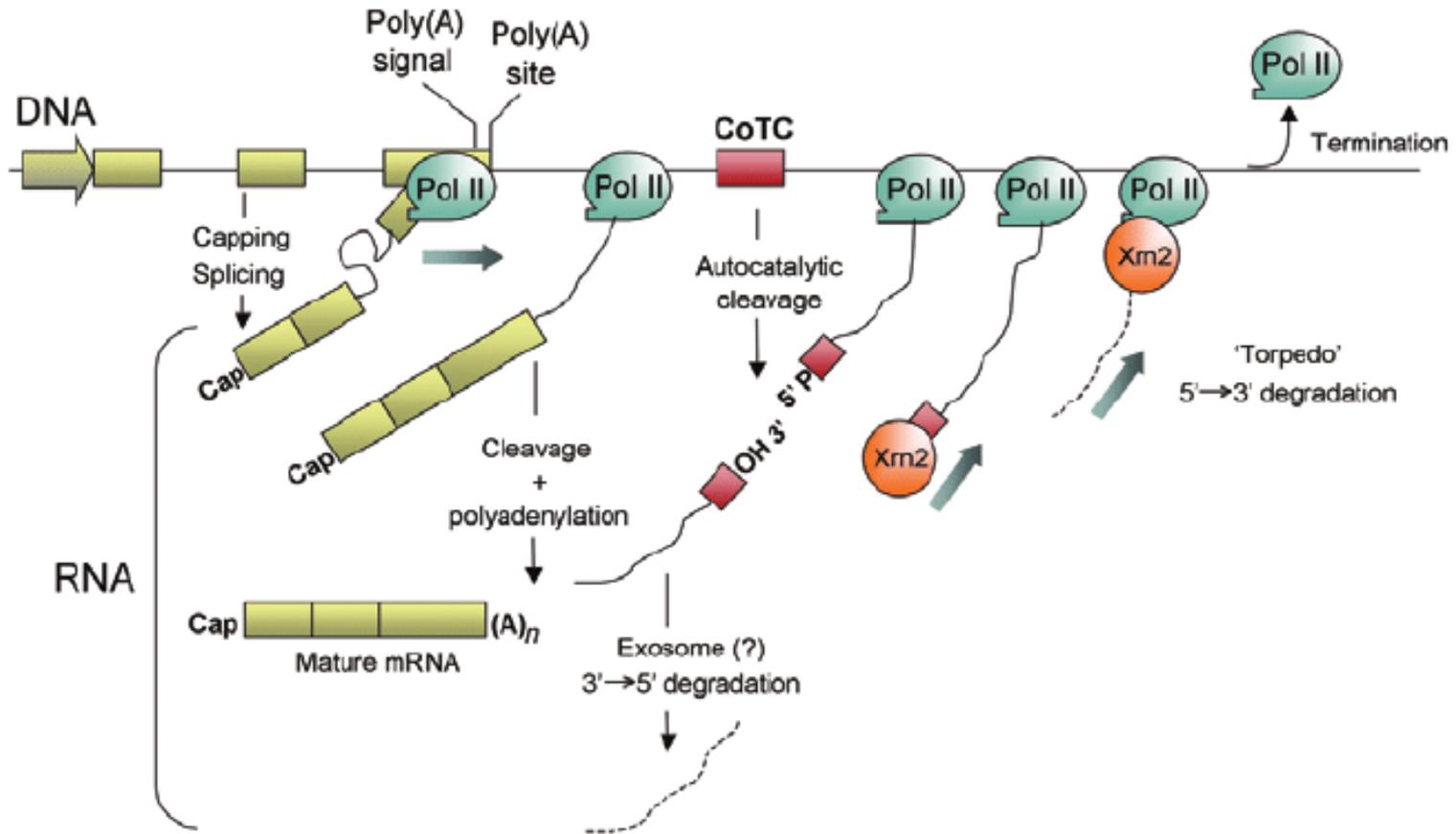
elaborado com auxílio do software Biorender.com



# Início da transcrição em eucariotos

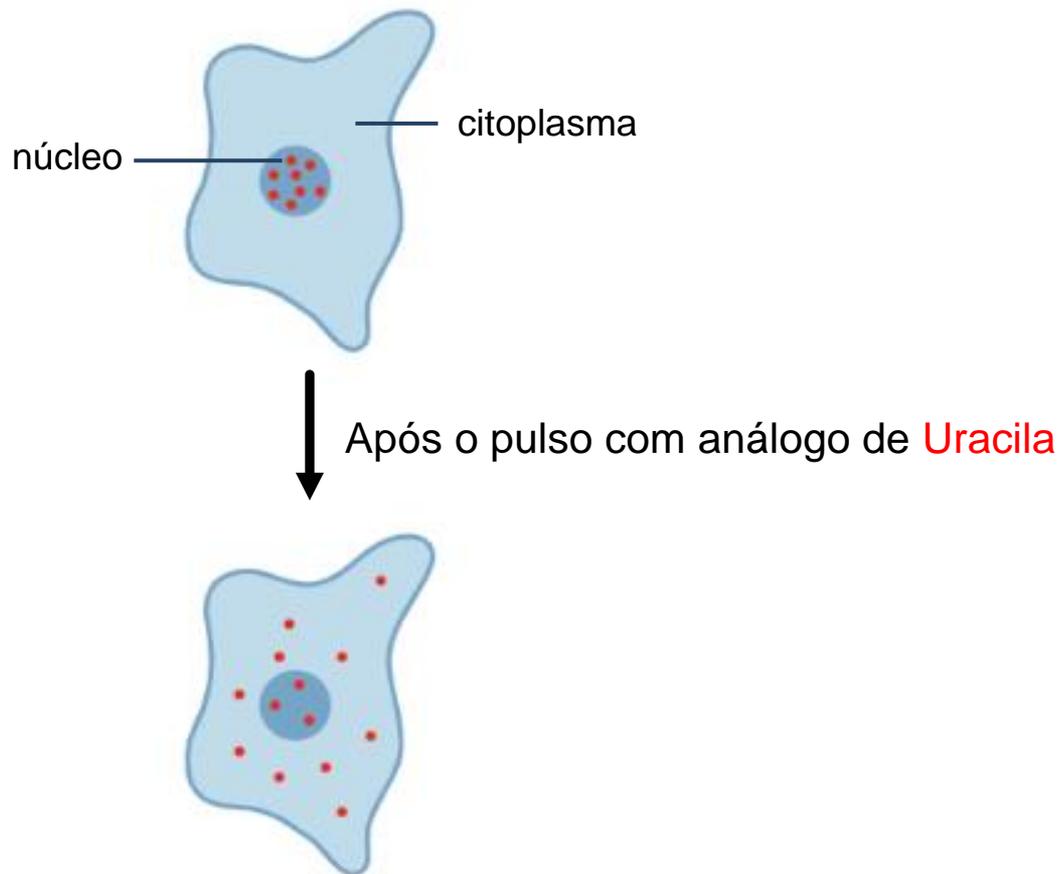


# Término da transcrição em eucariotos



# Em eucariotos, os RNAs mensageiros se movimentam do núcleo para o citoplasma

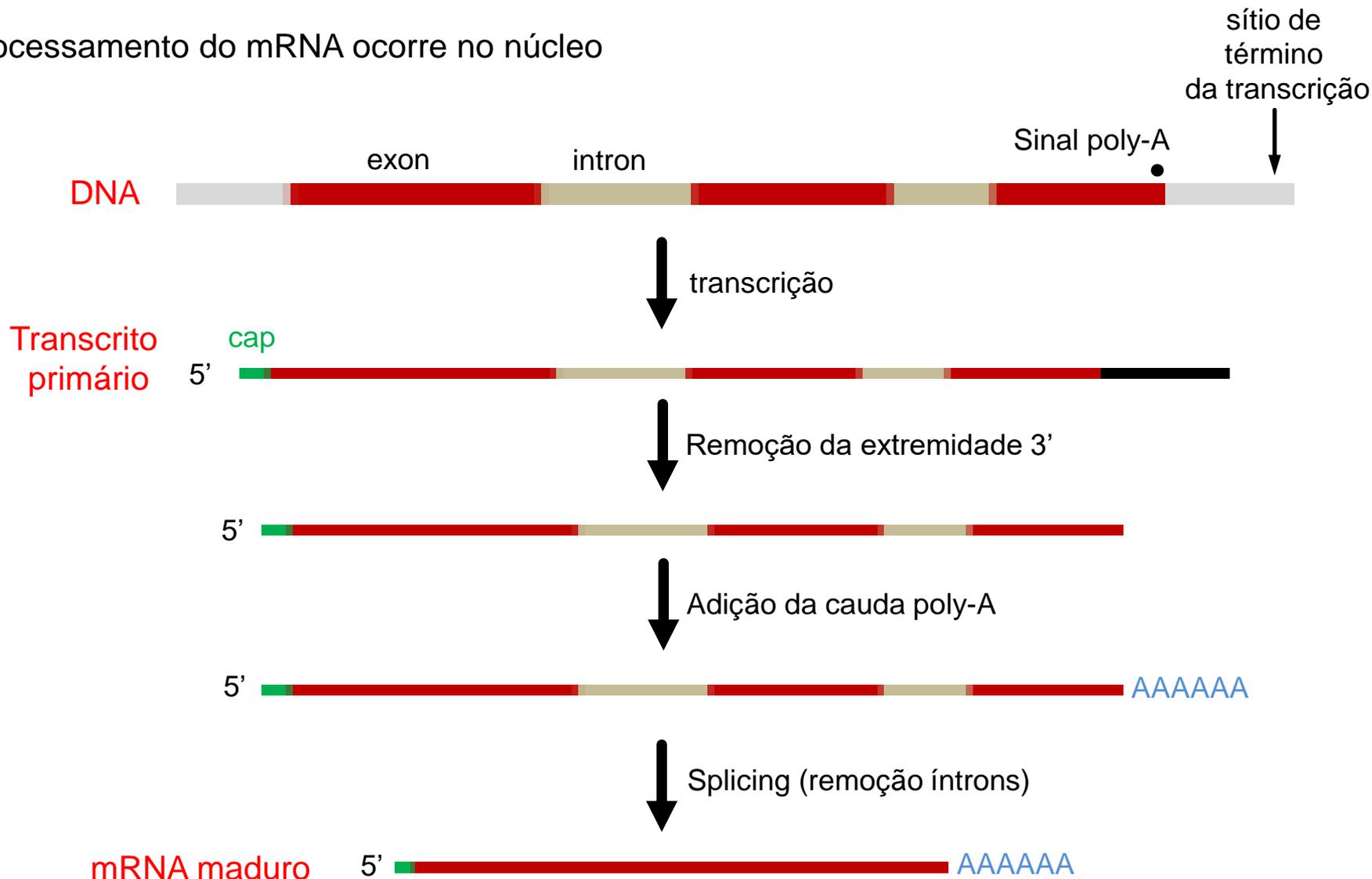
- A transcrição ocorre no núcleo, porém o RNA transcrito pode permanecer no núcleo ou migrar para o citoplasma, dependendo da sua função.



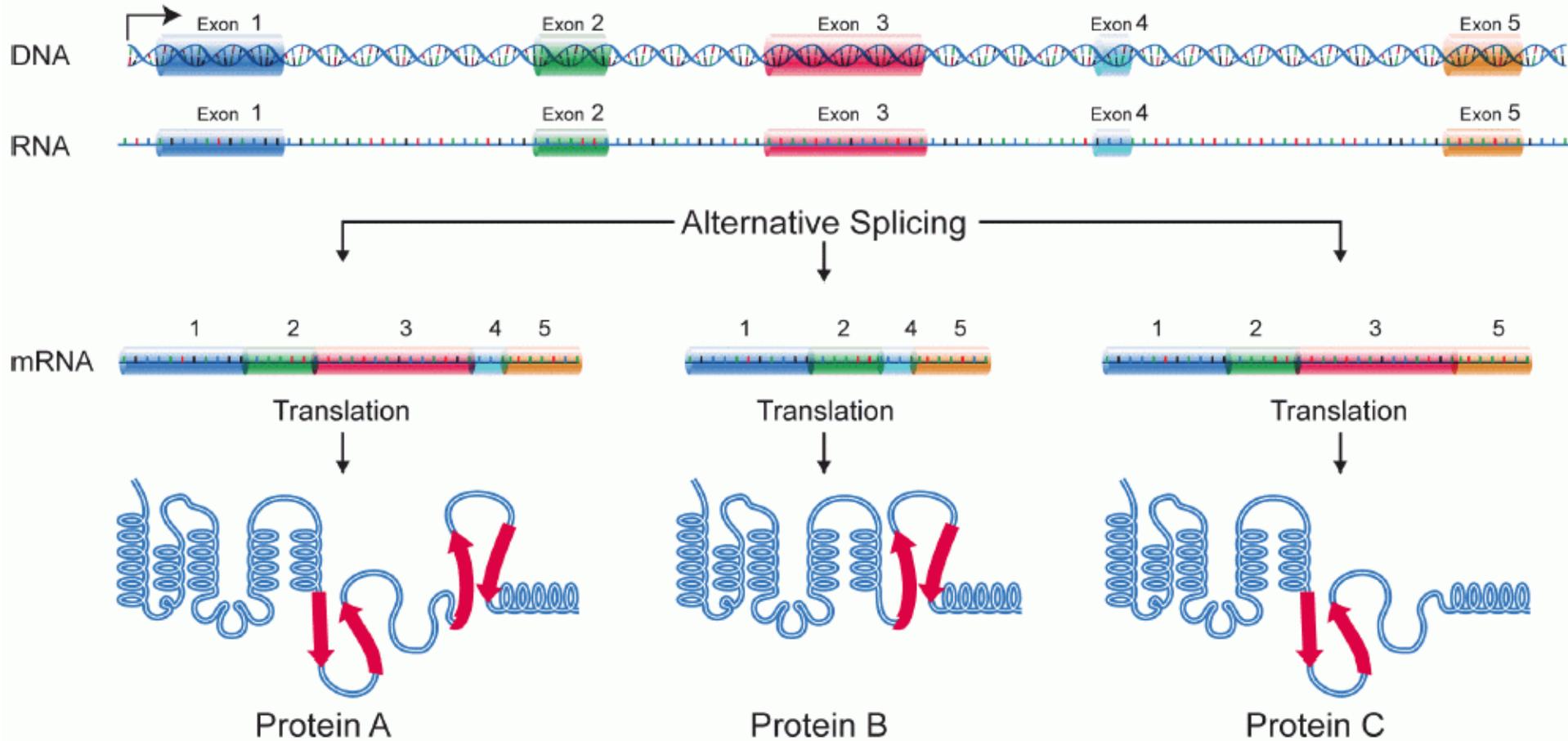
O mRNA eucariótico se movimenta do núcleo para o citoplasma. Porém, antes de migrar para o citoplasma, ele precisa ser **processado**.

# O RNA mensageiro é processado para se tornar um RNA mensageiro maduro

Processamento do mRNA ocorre no núcleo

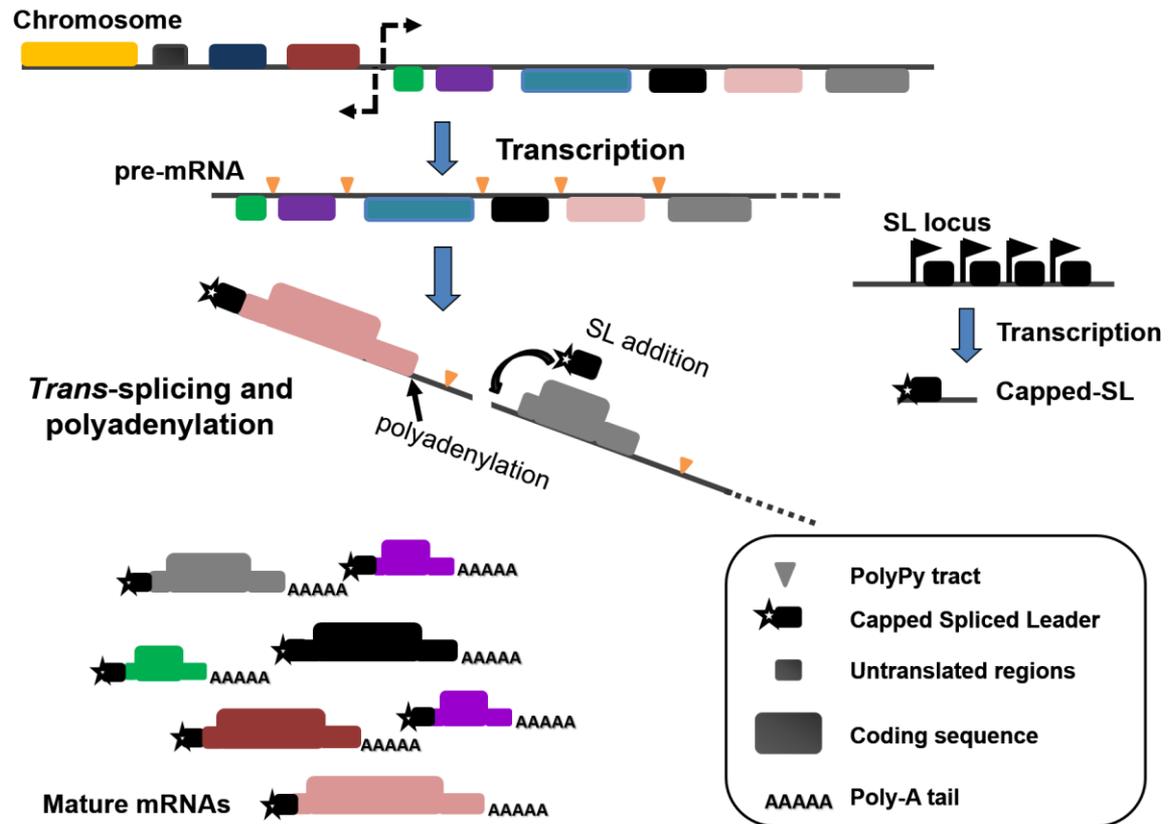


# Splicing alternativo pode gerar diferentes proteínas (isoformas) a partir de um único gene



# Transcrição em parasitos tripanosomatídeos

De um modo geral, tripanosomatídeos (eucariotos unicelulares) realizam transcrição policistrônica (não há íntrons) para longos *clusters* gênicos. Porém, utilizam um mecanismo especial chamado **trans-splicing**, para maturação dos RNAs mensageiros.



Teixeira S. M. R. e Valente, B. M. (2017) Control of Gene Expression in Trypanosomatids. In: Molecular and Cellular Biology of Pathogenic Trypanosomatids

A maturação dos mRNAs ocorrem pela ação combinada do *trans-splicing* e poliadenilação. No *trans-splicing*, um spliced líder (SL) comum é doado a todos os mRNAs a partir de uma pequena molécula de RNA, o SL RNA.

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- **Revisão de conceitos;**
- **Ciclo Celular;**
- **Replicação do DNA;**
- **Transcrição;**
- **Bibliografia.**

# Estudo no núcleo: ciclo celular, replicação do DNA e transcrição

- Revisão de conceitos;
- Ciclo Celular;
- Replicação do DNA;
- Transcrição;
- **Bibliografia.**

# Bibliografia

## Referências básicas

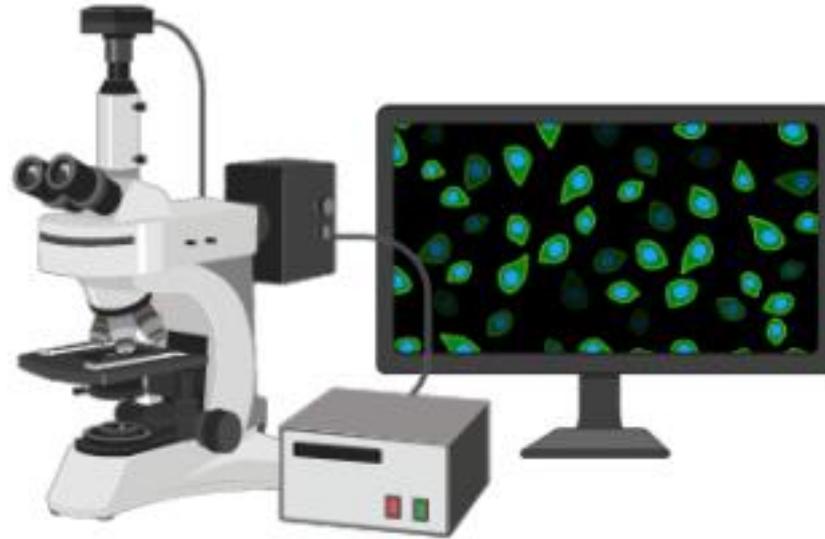
- NELSON, David. L. e COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2018.
- GRIFFITHS, Anthony J. F., WESSLER, Susan R., LEWONTIN, Richard C. e CARROLL, Sean B. **Introdução à Genética**. 11° edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- da Silva, M.S. e Cano, M.I.N. **Molecular and Cellular Biology of Pathogenic Trypanosomatids**. 1° edição. Bentham Science Publishers, 2017.

## Artigos importantes

- Coster, G. e Diffley, J.F.X. **Bidirectional eukaryotic DNA replication is established by quasi-symmetrical helicase loading**. *Science*. 357(6348):314-318. 2017.
- Douglas, M.E., Ali, F. A., Costa, A., e Diffley, J. F. X. **The mechanism of eukaryotic CMG helicase activation**. *Nature*. 555(7695):265-268. 2018.
- da Silva, M.S., Pavani, R.S., et al., **Nuclear DNA replication in trypanosomatids: there are no easy methods for solving difficult problems**. *Trends in parasitology*, 33(11), 858-874. 2017.
- Tiengwe, C., Marcello, L., et al., **Genome-wide analysis reveals extensive functional interaction between DNA replication initiation and transcription in the genome of *Trypanosoma brucei***. *Cell reports*, 2(1), 185-197. 2012.
- Stanojcic, S., Sollelis, L., et al., **Single-molecule analysis of DNA replication reveals novel features in the divergent eukaryotes *Leishmania* and *Trypanosoma brucei* versus mammalian cells**. *Scientific reports*, 6, 23142. 2016.
- Sirbu, B.M., McDonald, W.H., et al. **Identification of proteins at active, stalled, and collapsed replication forks using isolation of proteins on nascent DNA (iPOND) coupled with mass spectrometry**. *Journal of Biological Chemistry*, 288(44), 31458-31467. 2013

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 1- Monitoração da replicação do DNA por microscopia de fluorescência



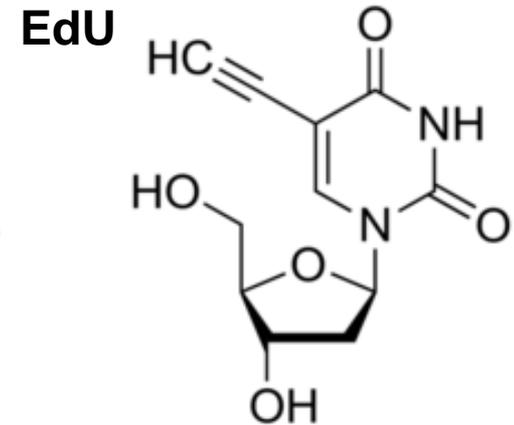
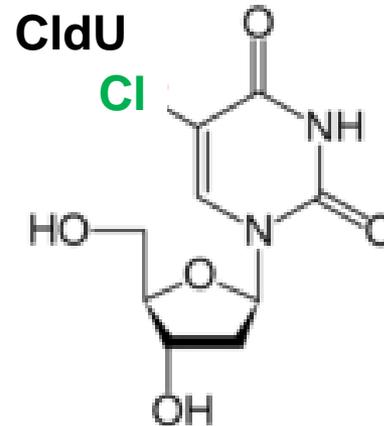
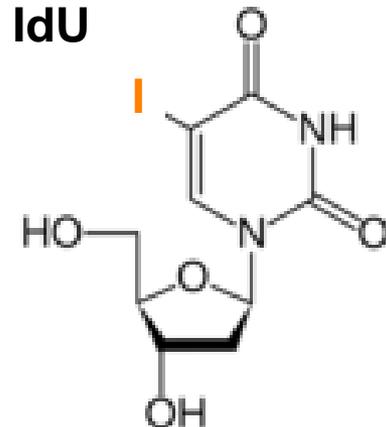
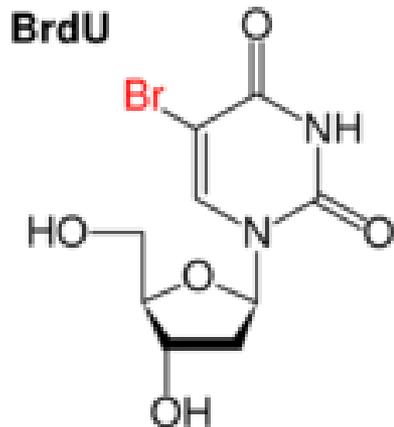
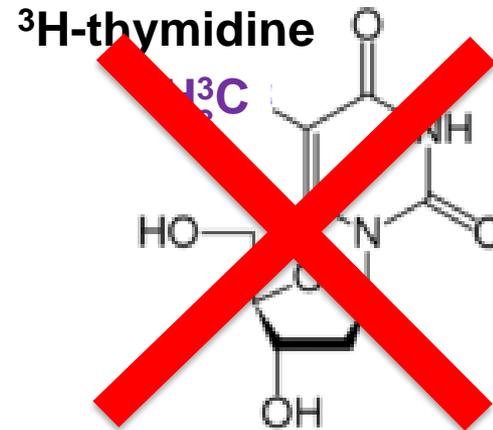
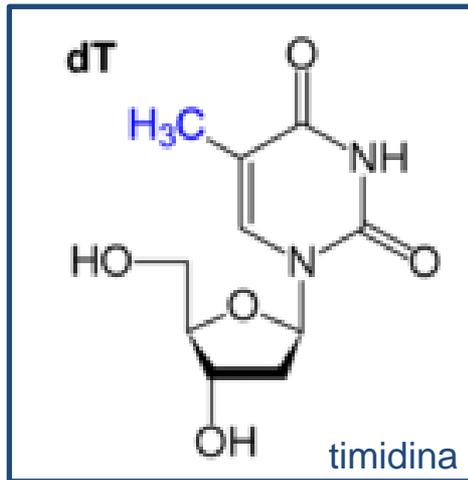
O monitoramento da replicação do DNA pode ser utilizado em diversas abordagens:

- Quantificação do número de células capazes de replicar o DNA;
- Estimativa do tempo de duração da fase S e demais fases do ciclo;
- Troca genética (DNA exchange).

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 1- Monitoração da replicação do DNA por microscopia de fluorescência

Normalmente análogos de timidina são utilizados:



# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 1- Monitoração da replicação do DNA por microscopia de fluorescência

- BrdU, IdU e CldU (análogos de timidina halogenados):

- Requerem anticorpos para detecção (fluorescência)
- Obs importante!: Quando estes análogos estão incorporados no DNA, é necessário sua desnaturação para detecção.

		2 He hélio 4.0026
8 O oxigênio 15.999	9 F flúor 18.998	10 Ne neônio 20.180
16 S enxofre 32.06	17 Cl cloro 35.45	18 Ar argônio 39.948
34 Se selênio 78.971(8)	35 Br bromo 79.904	36 Kr criptônio 83.798(2)
52 Te telúrio 127.603	53 I iodo 126.90	54 Xe xenônio 131.29
84 Po polônio (209)	85 At astato (210)	86 Rn radônio (222)
116 Lv vermório (293)	117 Uus ununséptio (294)	118 Uuo ununóctio (294)

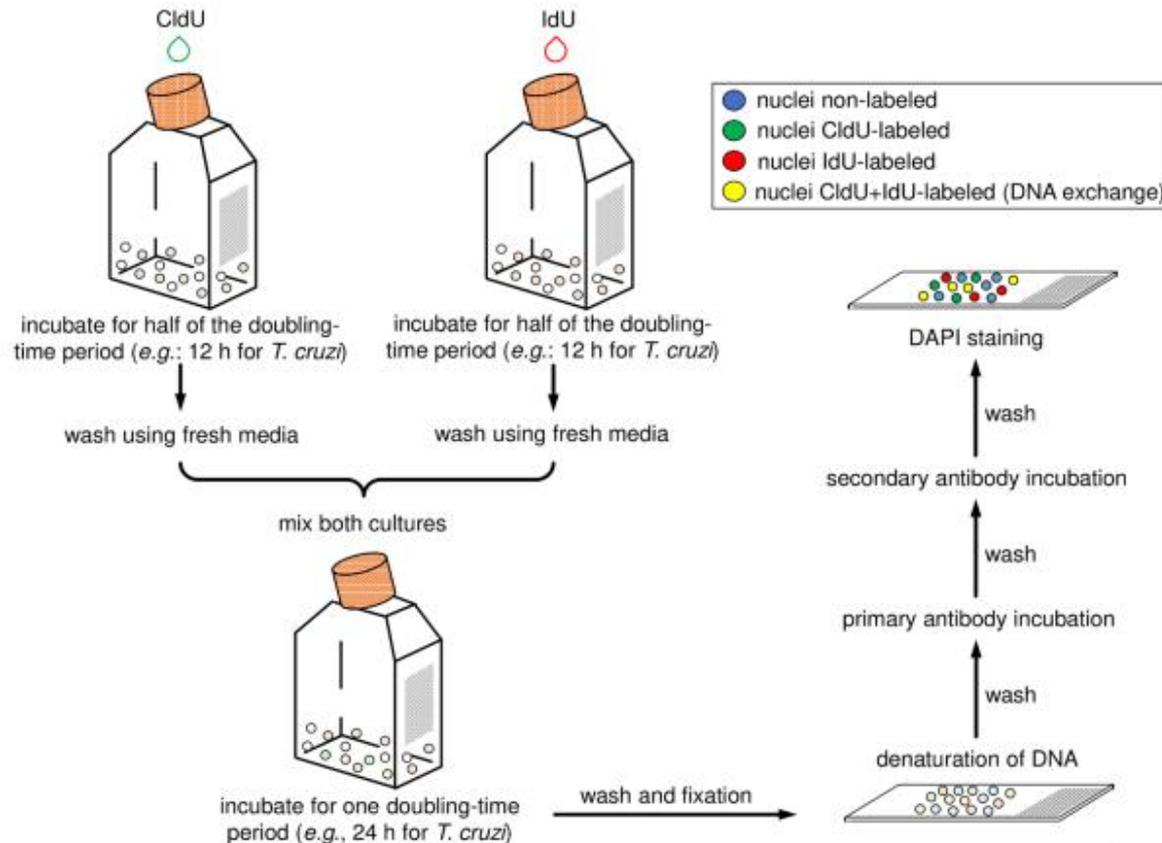
- EdU:

- Não requer anticorpo para detecção (fluorescência);
- Detecção realizada por “click chemistry” em um processo chamado cicloadição ( $\text{Cu}^{2+}$  + Ascorbic acid + fluorescente azide).

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

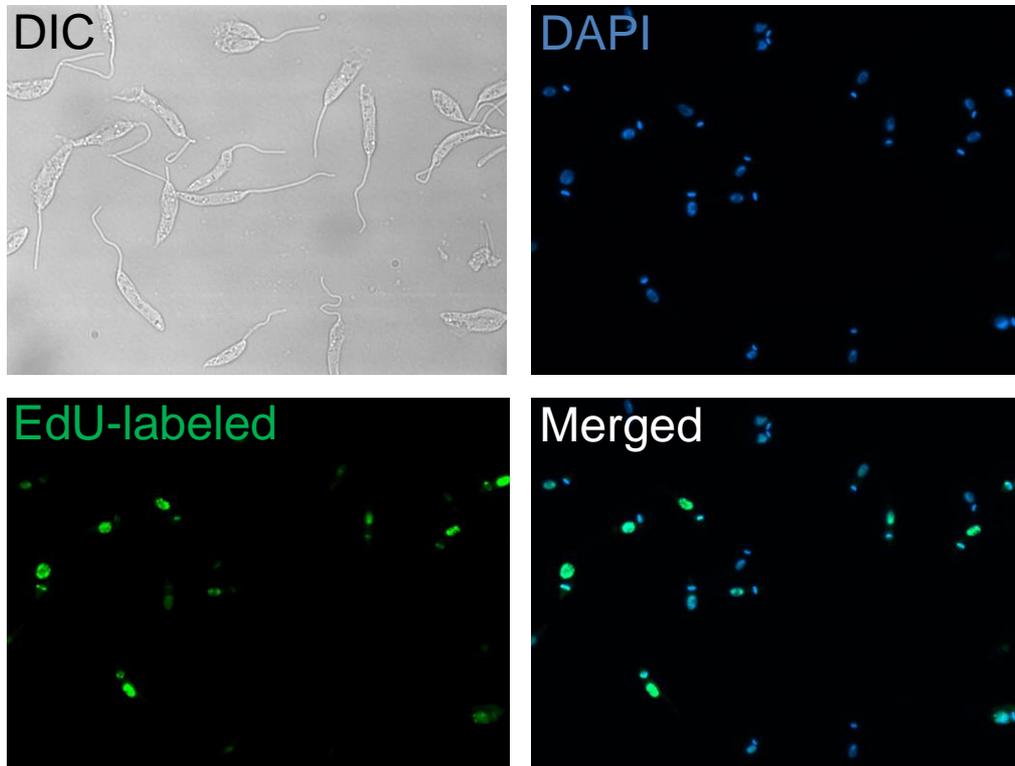
## 1- Monitoração da replicação do DNA por microscopia de fluorescência

- BrdU, IdU, CldU e EdU, normalmente, são facilmente incorporados em culturas de parasitos:



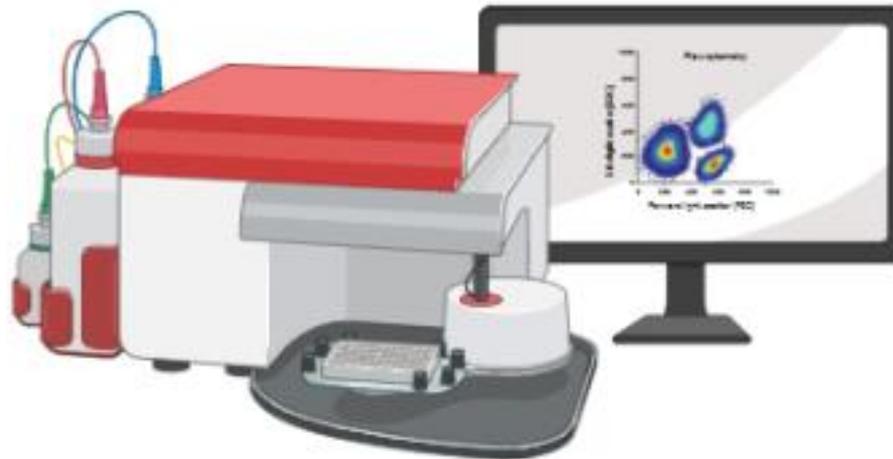
# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 1- Monitoração da replicação do DNA por microscopia de fluorescência



# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 2- Análise utilizando citometria de fluxo



A citometria de fluxo permite a realização de análises para diversos fins:

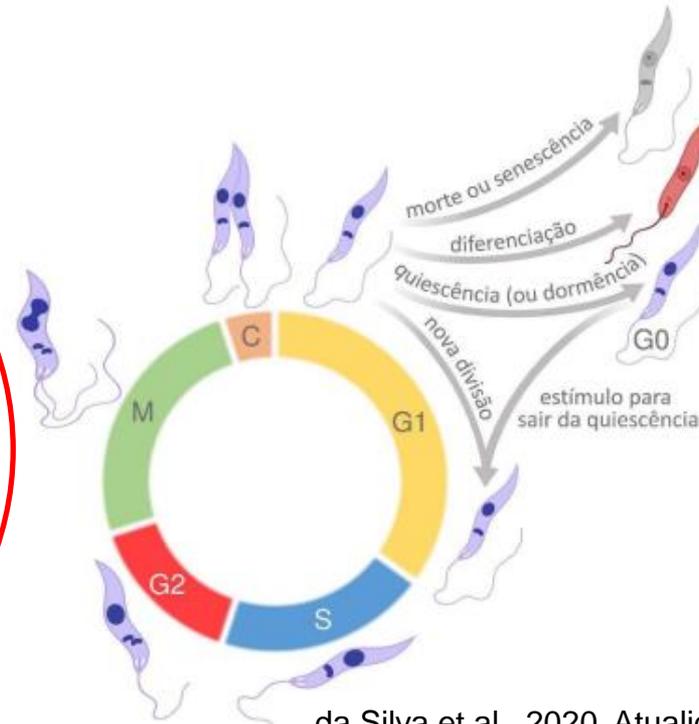
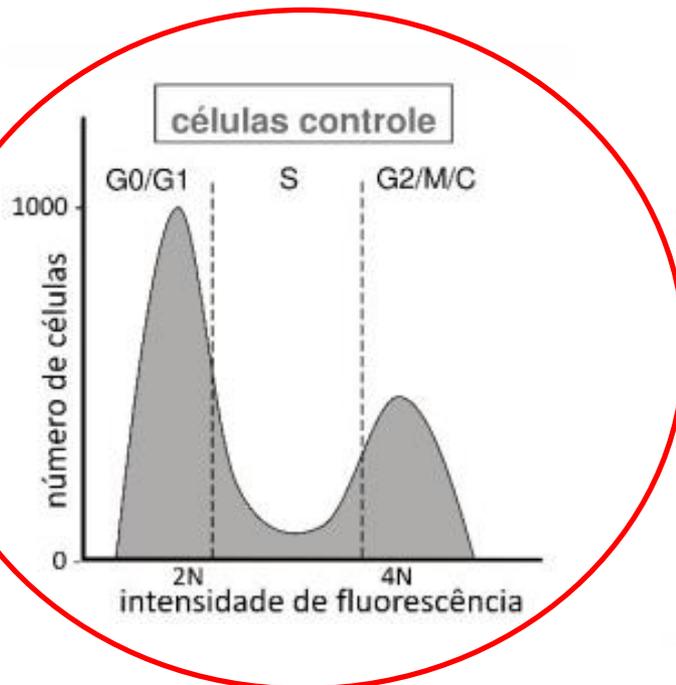
- Análise do conteúdo de DNA utilizando um intercalante (possível inferir fases do ciclo celular);
- Análise da fase S (monitoramento da replicação) utilizando marcação dupla.

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 2- Análise utilizando citometria de fluxo

- Análise do conteúdo de DNA
- Normalmente utiliza-se iodeto de propídio (PI) ou DAPI como intercalantes de DNA.

histograma



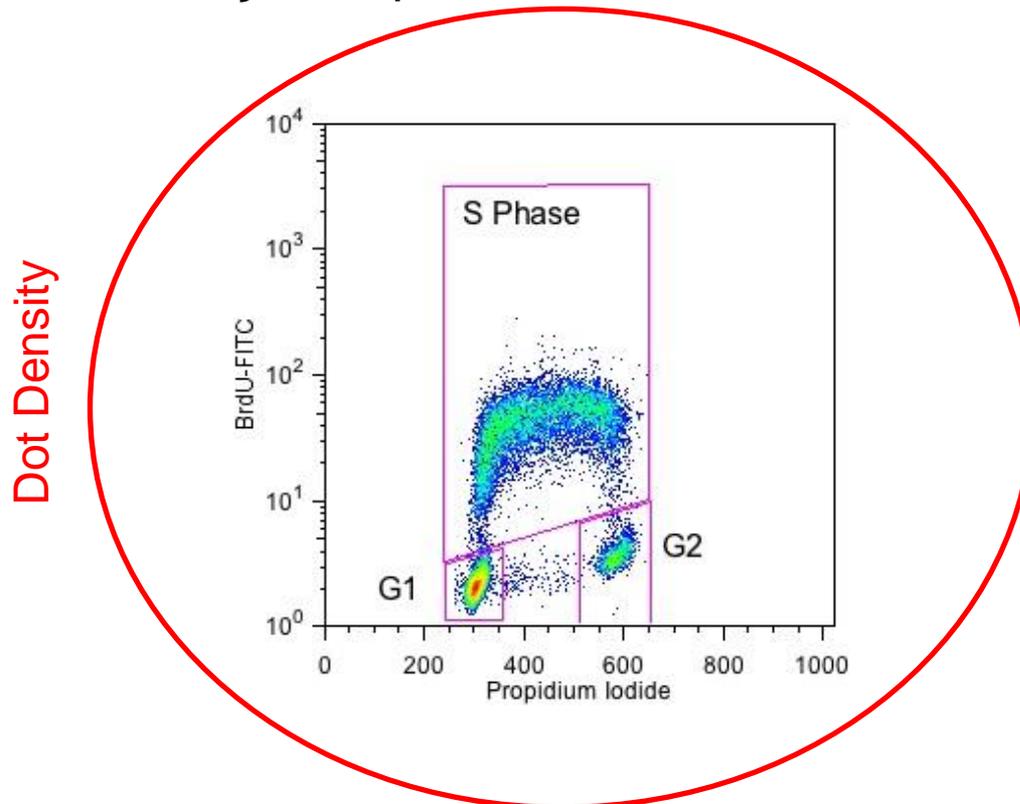
da Silva et al., 2020. Atualidades em medicina tropical no Brasil: Protozoários.

Possível inferir fases do ciclo celular baseando-se no conteúdo de DNA;

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 2- Análise utilizando citometria de fluxo

- Análise da fase S (monitoramento da replicação)
- Necessário marcação dupla: intercalante de DNA + análogo de timidina.



Extraído de BitesizeBio.com

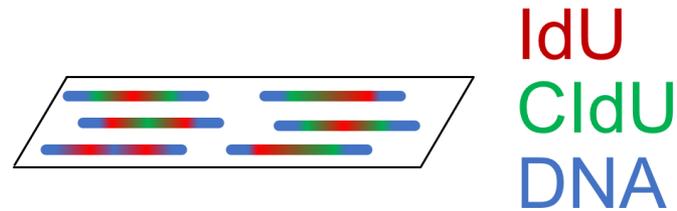
Fases do ciclo celular podem ser melhor delineadas, sobretudo a fase S;

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 3- DNA combing



Extraído de genomicvision.com



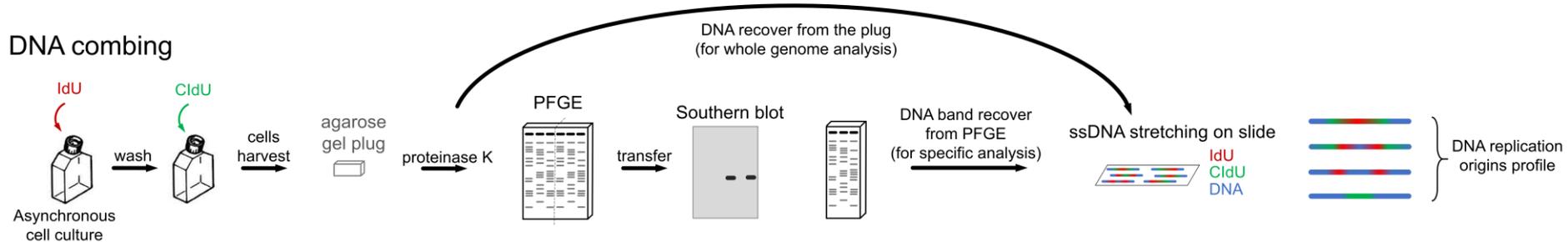
da Silva et al., 2017, Trends in Parasitology

Técnica utilizada para produzir um conjunto de moléculas de DNA esticadas uniformemente, permitindo assim a investigação de vários aspectos relacionados à replicação do DNA em moléculas individuais.

- Permite a identificação de origens/forquinhos de replicação, distância inter-origens e cálculo da velocidade da forquilha de replicação.

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 3- DNA combing



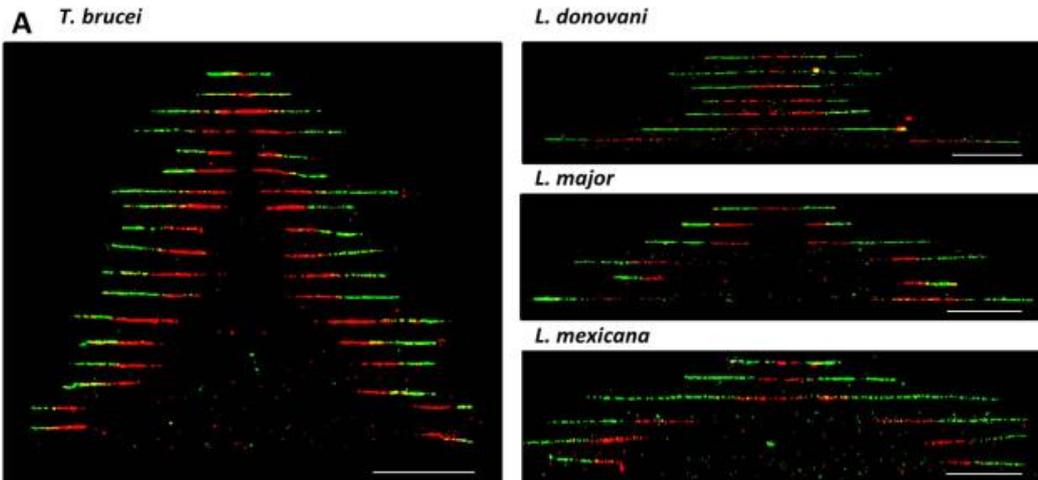
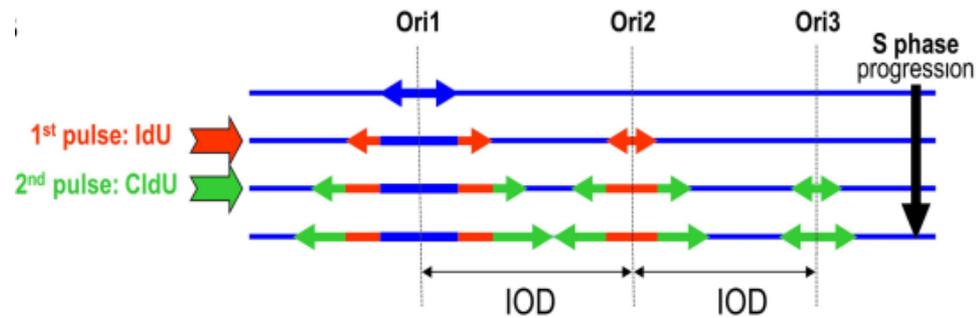
da Silva et al., 2017, Trends in Parasitology

- Necessário 2 pulsos consecutivos de análogos de timidina (normalmente **IdU** e **CldU**), um aparato específico para esticar as moléculas de DNA a uma velocidade constante e anticorpo **anti-ssDNA**.
- Após o processo de “esticamento” do DNA em lamínulas específicas, reações utilizando anticorpos primário e secundário são realizadas (iguais às utilizadas em fluorescência).

# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 3- DNA combing

O grande destaque desta técnica está na especificidade dos anticorpos utilizados para reconhecer os análogos de timidina incorporados no DNA.



# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

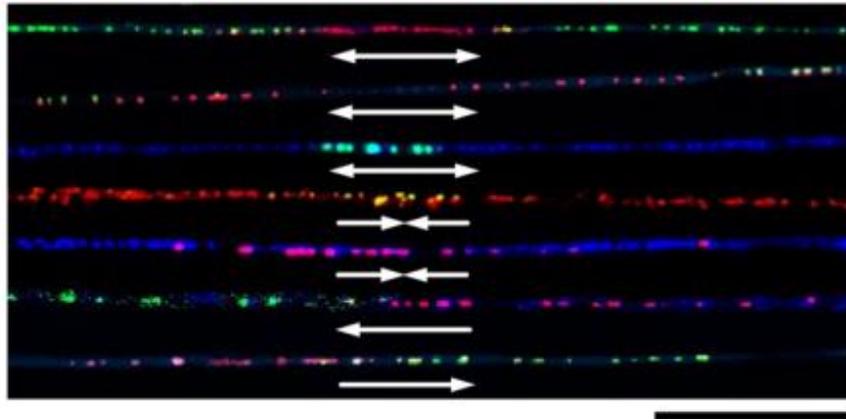
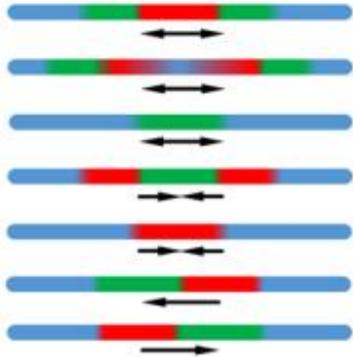
## 3- DNA combing

### Identificação de origens e forquinhãs de replicação

Primeiro análogo **IdU** (revelação com ac. secundário vermelho);

Segundo análogo **CIdU** (revelação com ac. secundário verde).

DNA é corado em **azul** (anti-ssDNA).



da Silva et al., 2017, Scientific Reports

Setas representam sentido da forquilha de replicação.

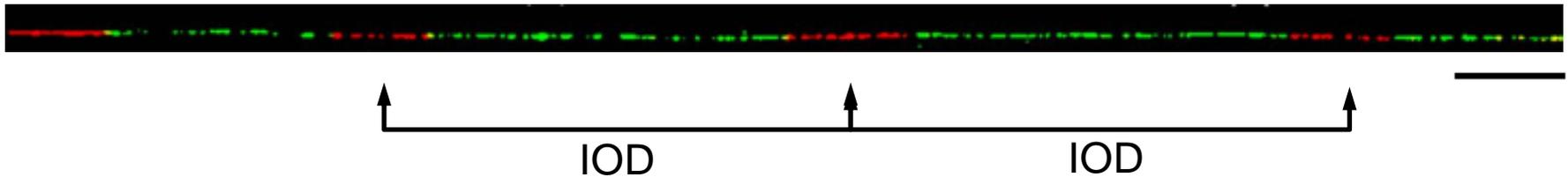
# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 3- DNA combing

Cálculo da distância inter-origens (IOD).

Necessário constante de conversão ( $\mu\text{m} \rightarrow \text{kb}$ ) do equipamento utilizado.

Por exemplo:  $1 \mu\text{m} = 2 \text{kb}$ .

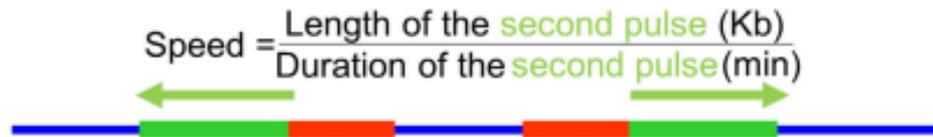


# Principais abordagens para investigação de eventos relacionados ao DNA em parasitos

## 3- DNA combing

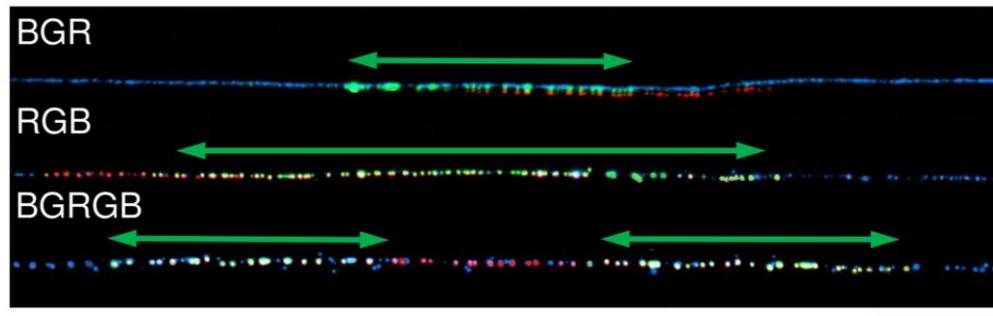
### Cálculo da velocidade média da forquilha de replicação

Também é necessário constante de conversão do equipamento utilizado.



Stanojic et al., 2016, Scientific Reports

Observação importante! Para o cálculo da velocidade, somente é permitido a utilização de segmentos verdes entre segmentos azul/vermelho, *i.e.*, padrões BGR, RGB e BGRGB.



Dados não-publicados

# Obrigado pela atenção

Dúvidas? Não hesitem em escrever:

[marcelo.santos-silva@unesp.br](mailto:marcelo.santos-silva@unesp.br)