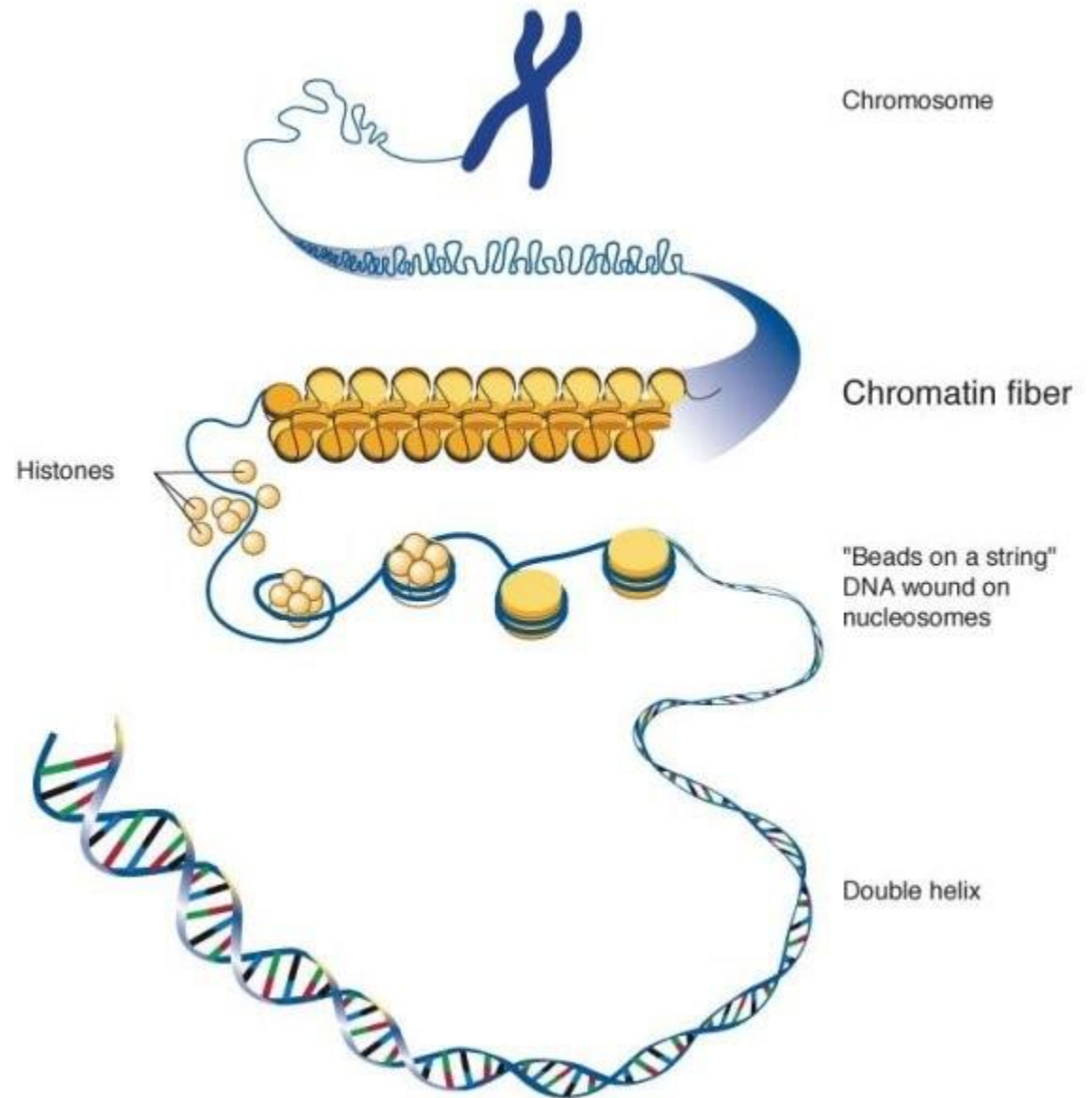
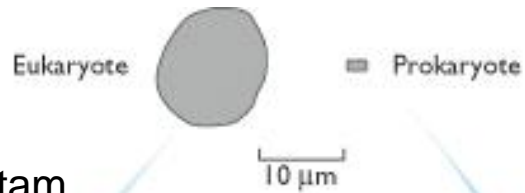


QBQ 136 Biologia Molecular

COMPACTAÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO: CROMATINA

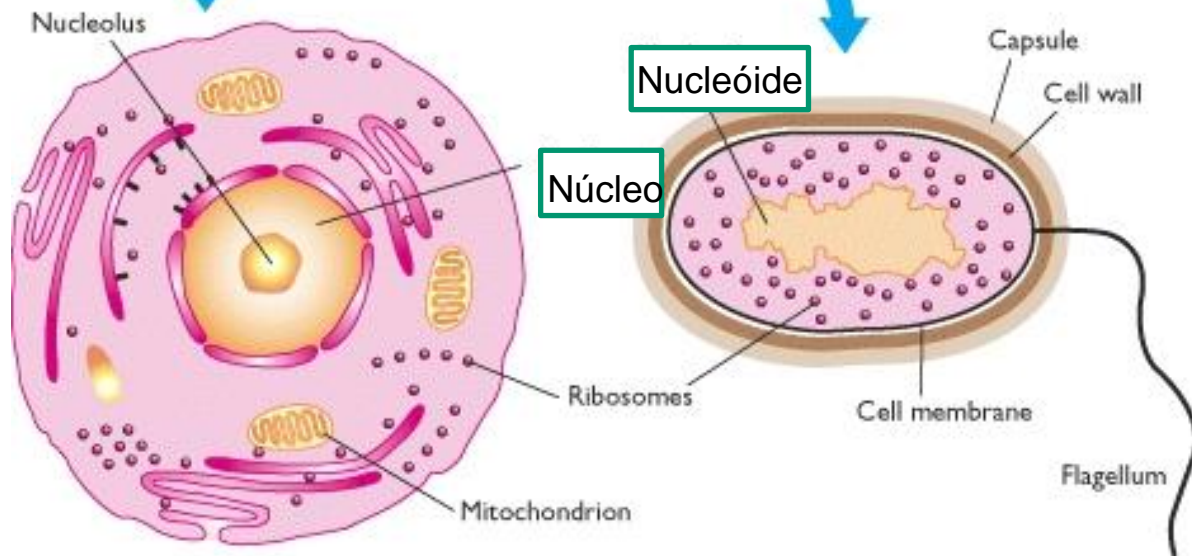


Células procarióticas e eucarióticas



Células eucarióticas apresentam um núcleo definido

Células procarióticas não apresentam um núcleo definido



Dimensões do material genético

E. coli

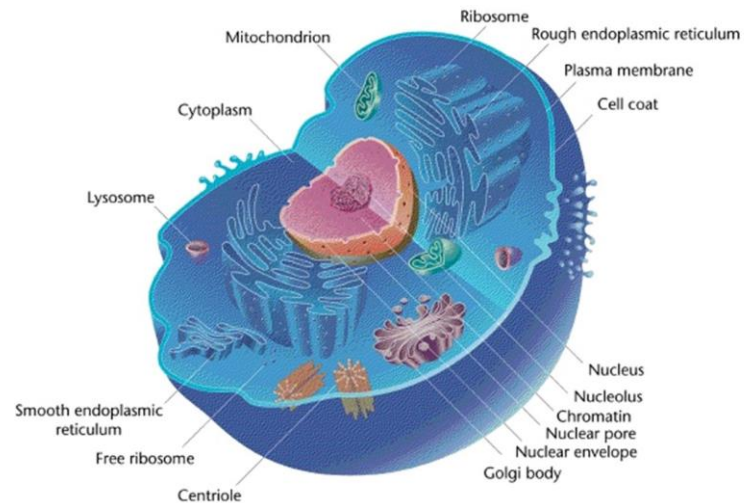
- 1 cromossomo circular
- $\sim 4,4 \times 10^6$ pb
- ~ 4.000 genes
- 1,3 mm comprimento
- 1 gene/1000 pb
- pode ter plasmídeos

H. sapiens

- 46 cromossomos
- $\sim 3,2 \times 10^9$ pb
- ~ 20.000 genes
- 1,8 m comprimento
- 1 gene/100.000 bp
- DNA circular ($1,6 \times 10^3$ pb)
(nas mitocôndrias)



$\sim 2 \mu\text{m}$

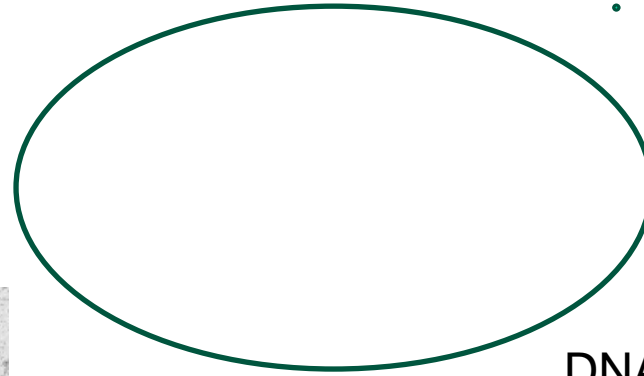


$\sim 6 \mu\text{m}$ (núcleo)

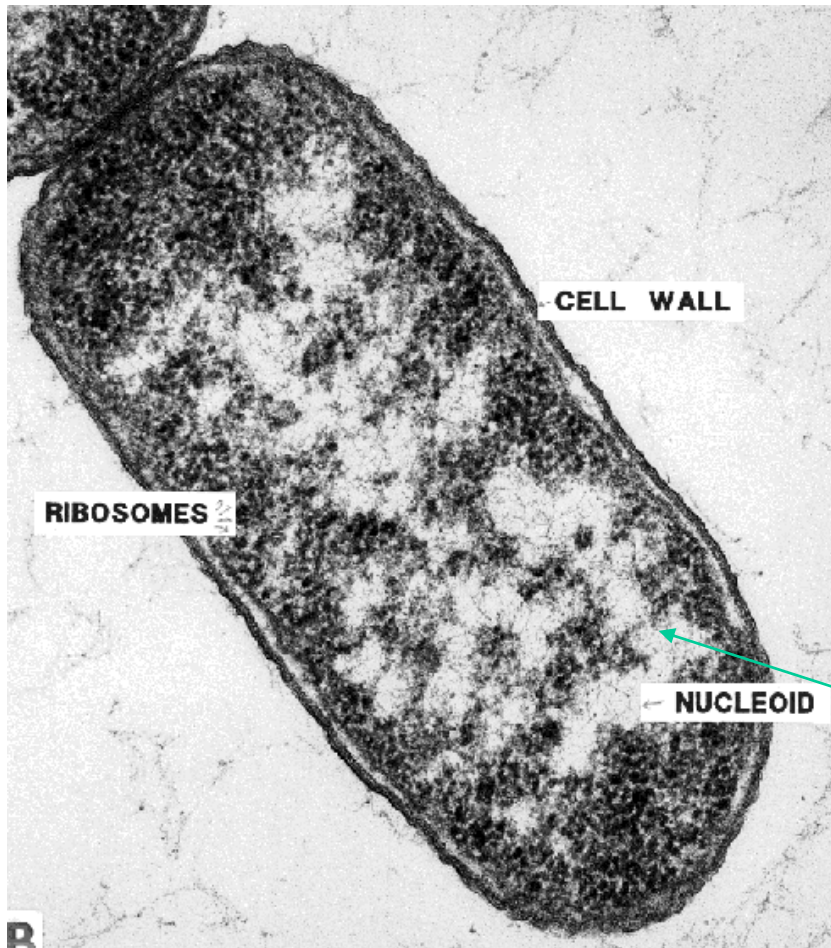
PROCARIOTOS

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

E.coli
2 μm

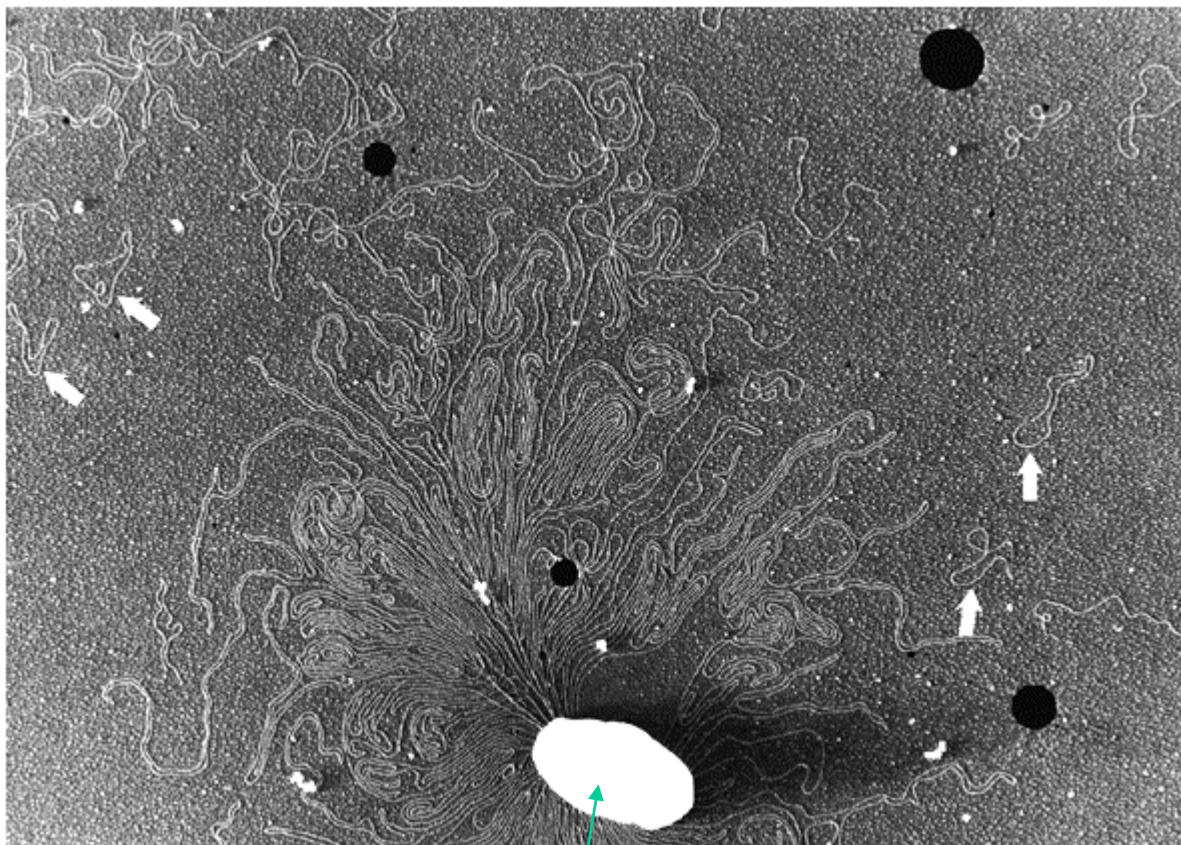


DNA crom. da *E.coli*
1,3 mm

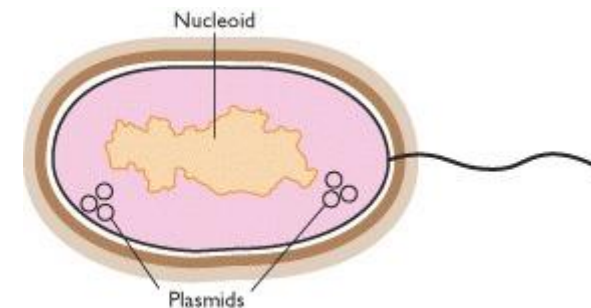


Nucleóide bacteriano:
DNA compactado + proteínas

Nucleóide expelido de um célula bacteriana lisada



bactéria



Além do cromossomo, bactérias podem ter Plasmídeos (indicados pelas setas)

Plasmídeos: DNA circular extracromossômico

Bactérias apresentam seu genoma estruturado em **nucleóides**

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

1- Interações com moléculas de carga positiva:



DNA



Spermine



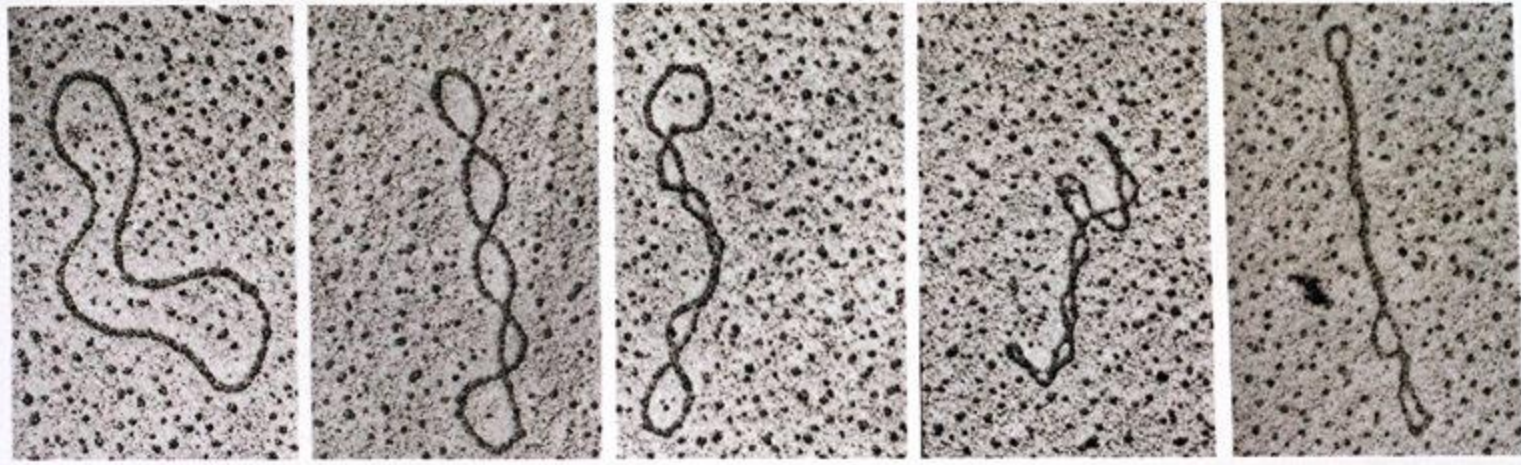
Spermidine

Poliaminas

2- DNA pode ser enovelado/superenrolado

Relaxado

Supercoil (superenovelado)



Molécula de
DNA dupla-fita
circular

0.2 μm

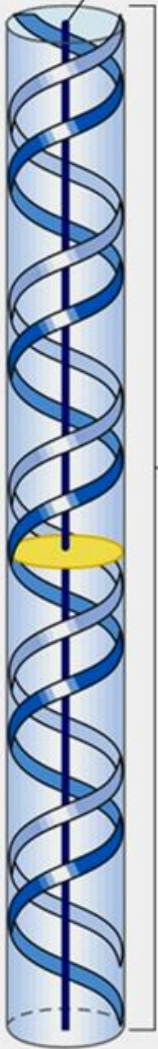
pouca compactação



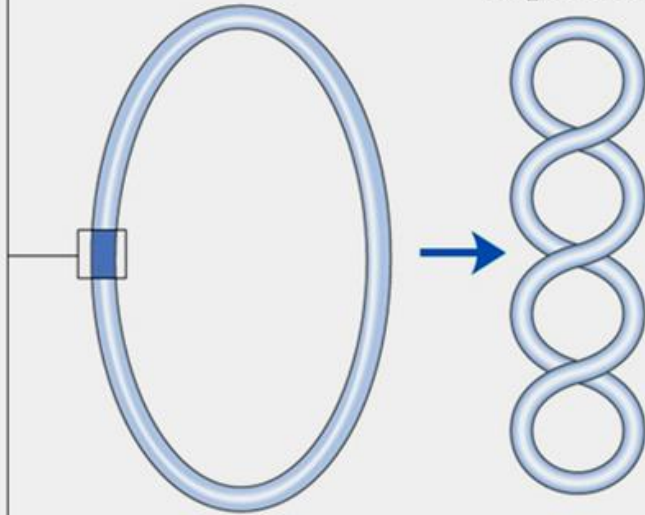
grande compactação

DNA double
helix (coil)

Axis



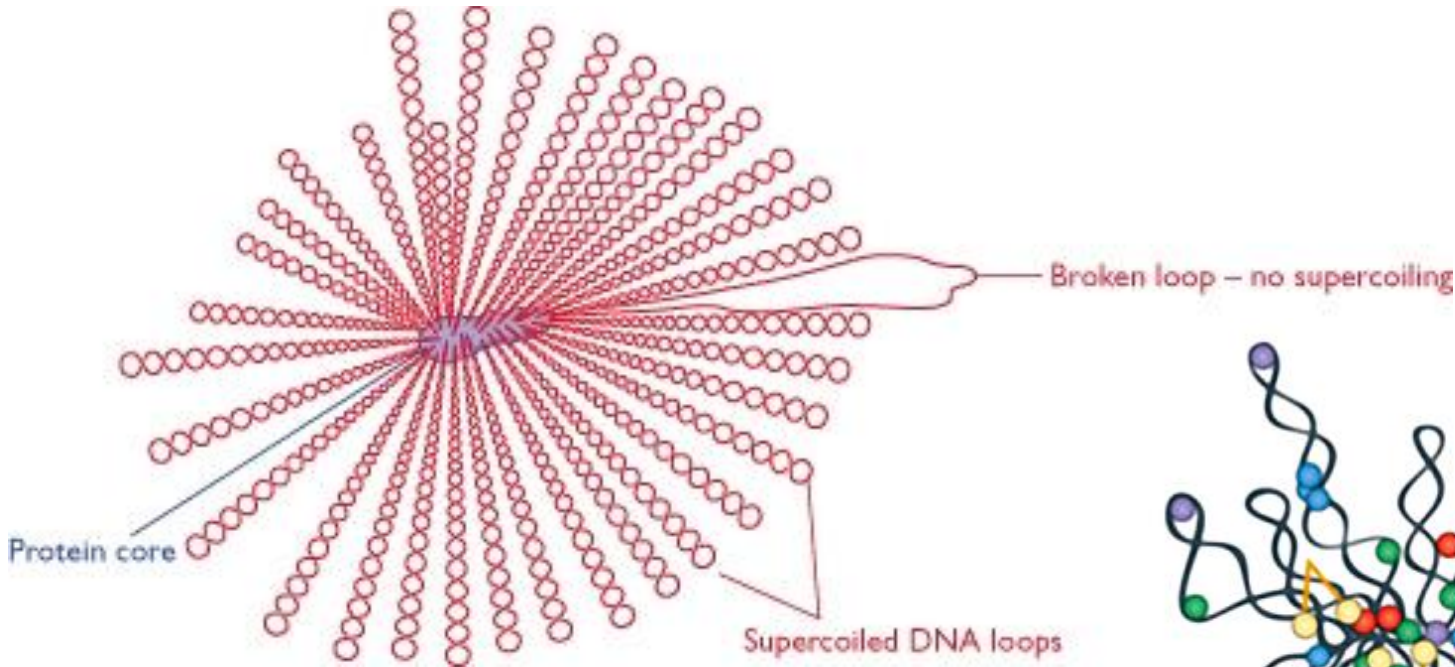
DNA
supercoil



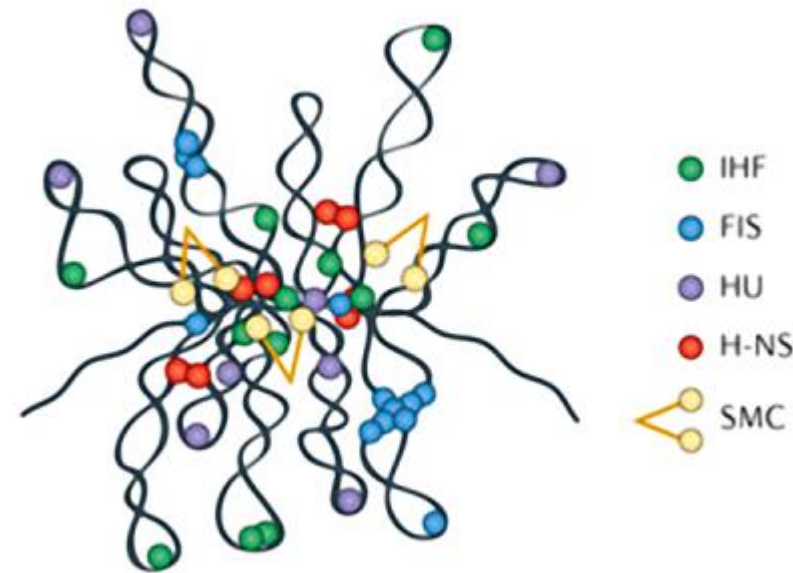
Conformação tridimensional do DNA circular fechado

Estrutura terciária do DNA
(super-hélice) é fundamental
para o empacotamento do DNA

3- Associação com NAPs (proteínas associadas a nucleóides)



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

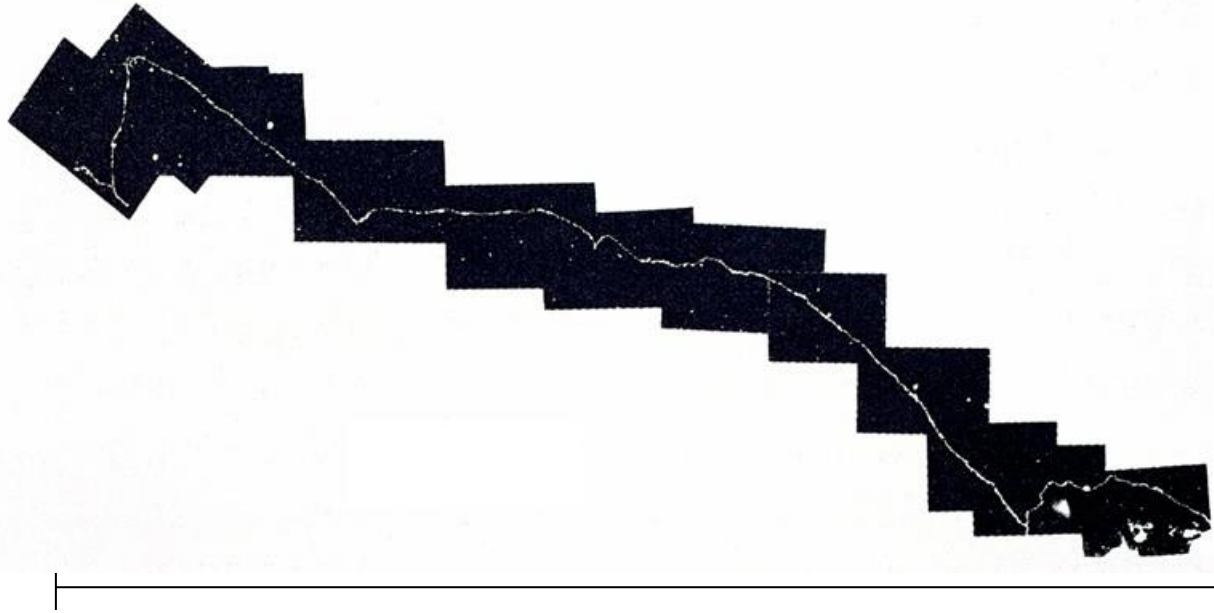


Representação esquemática das NAPs e SMC em nucleóide de *Pseudomonas*. Estas proteínas introduzem dobras no DNA e também funcionam como "ponte" entre loci cromossômicos localizados em domínios topológicos separados.

histone-like nucleoid-structuring protein (H-NS)

EUCARIOTOS

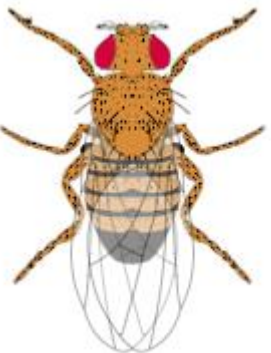
Os genomas de células eucarióticas contêm muito mais DNA que o dos procariotos, e portanto, apresentam mecanismos específicos para a compactação e organização deste DNA.



1,2 cm

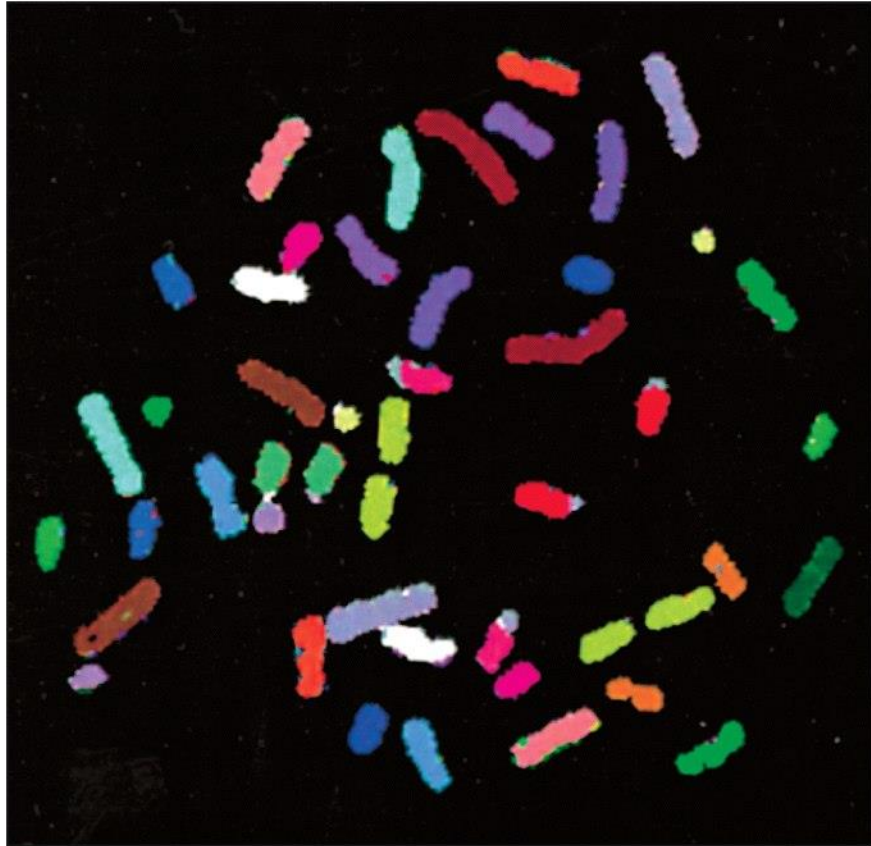


Formato assimétrico e rígido

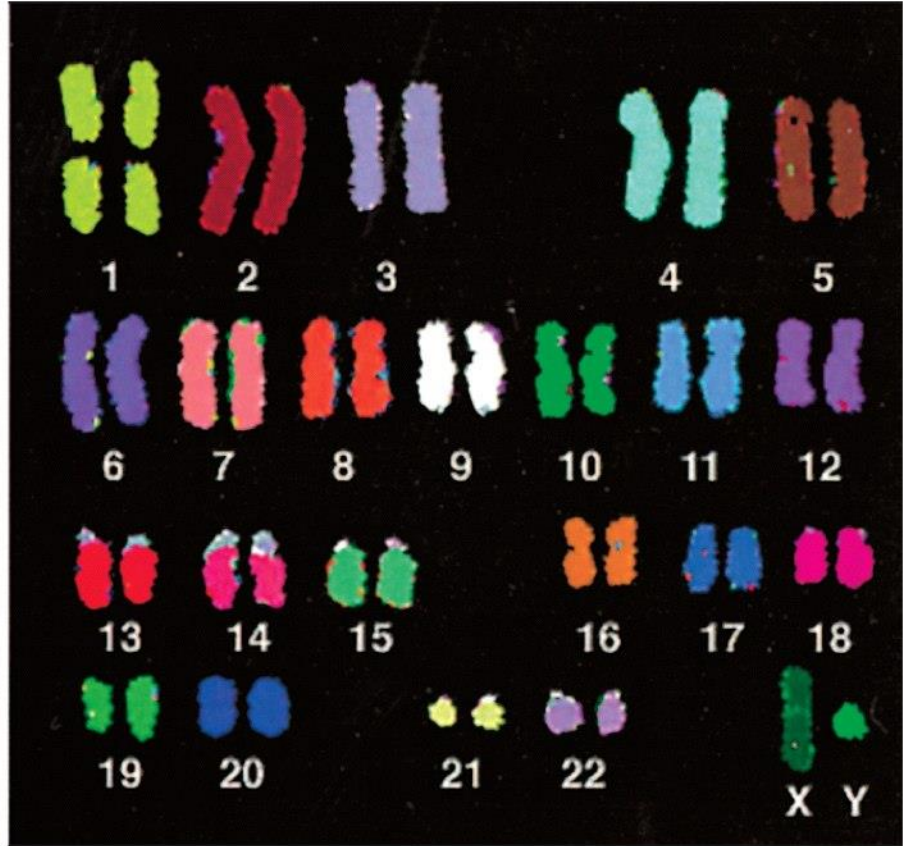


DNA de um cromossomo de *Drosophila melanogaster*

Cromosomas humanos



(A)



(B)

Figure 4-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Isolados de núcleo mitótico

Table 7.2 DNA content of human chromosomes

Chromosome	Amount of DNA (Mb)	Chromosome	Amount of DNA (Mb)
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

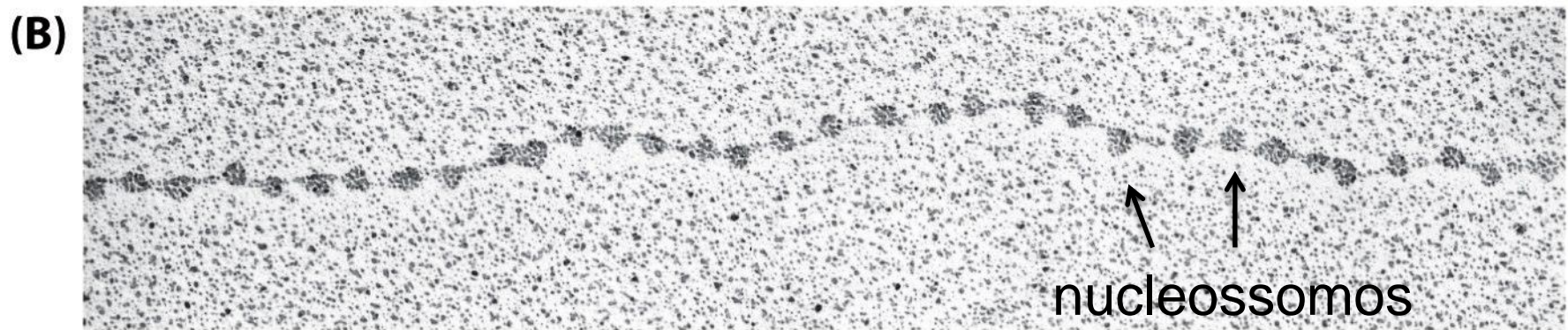
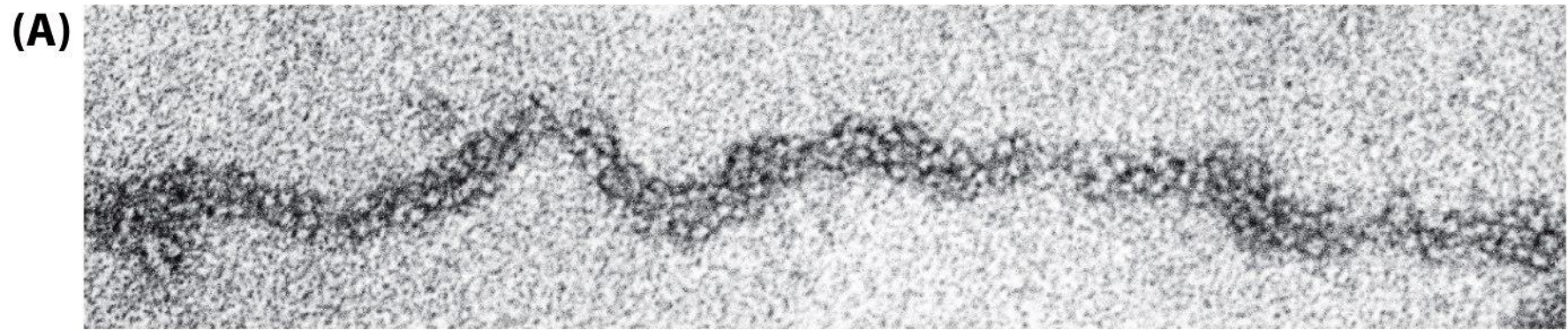
Human Molecular Genetics. 2nd edition.
Strachan T, Read AP.
New York: Wiley-Liss; 1999.

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)



Forma estendida 10 nm (isolado em baixa força iônica)  50 nm

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

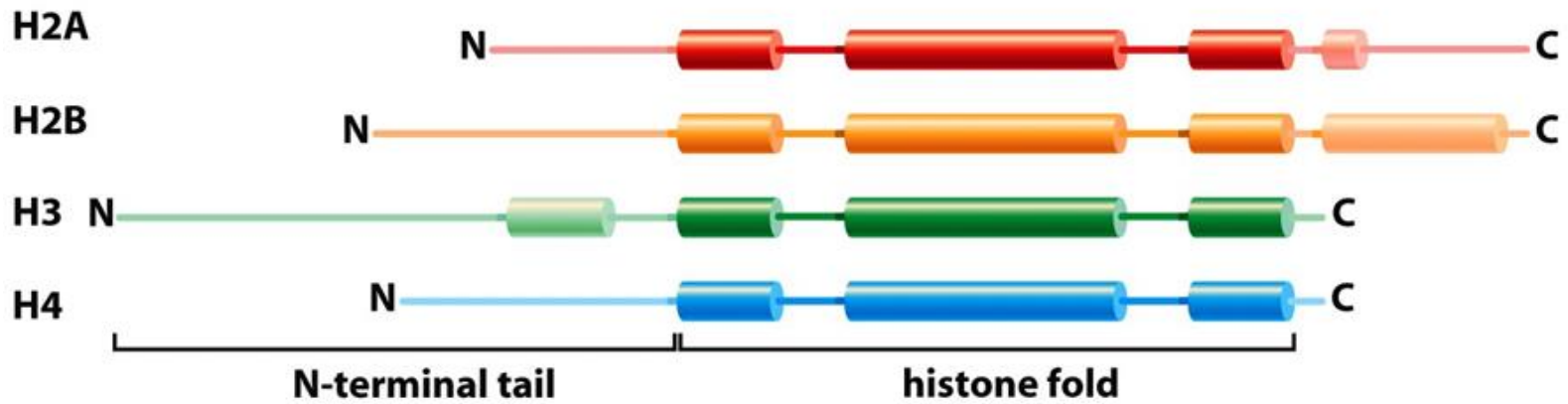
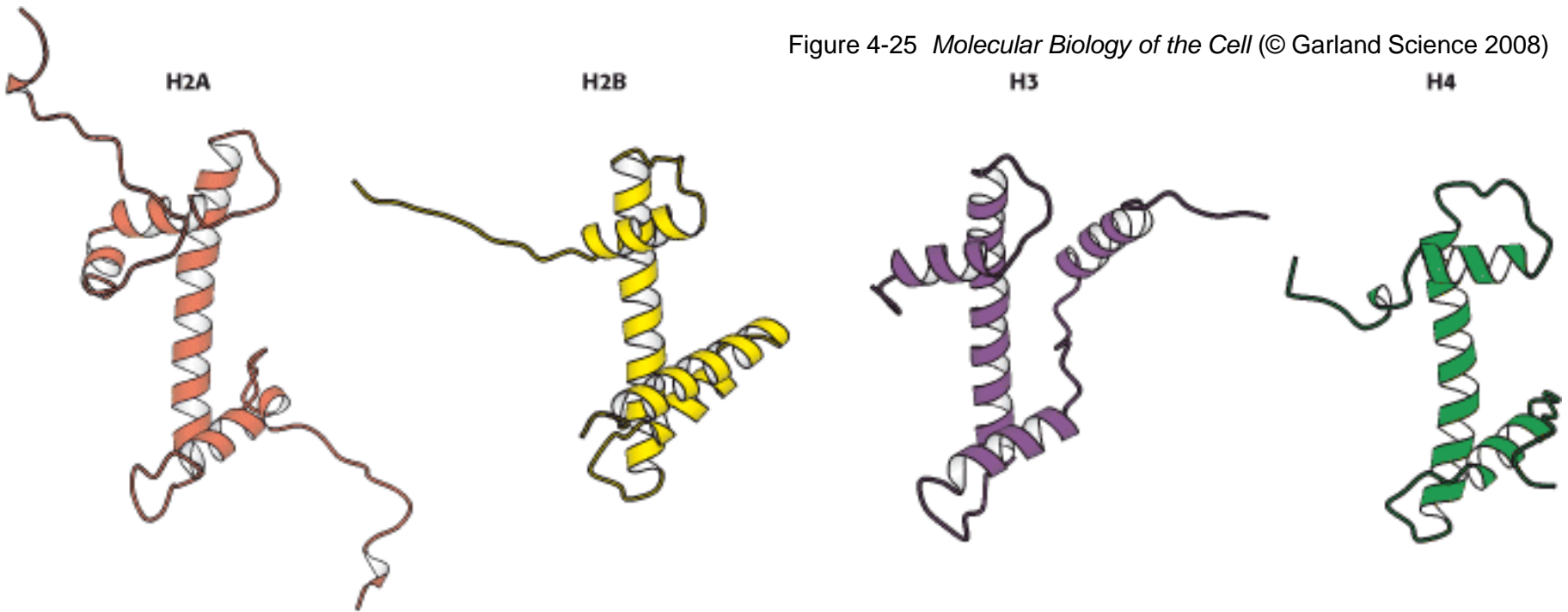


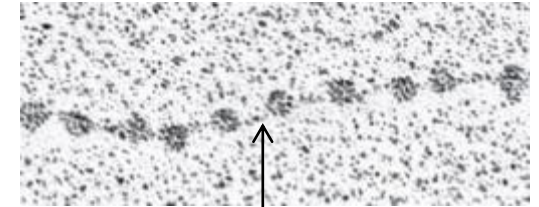
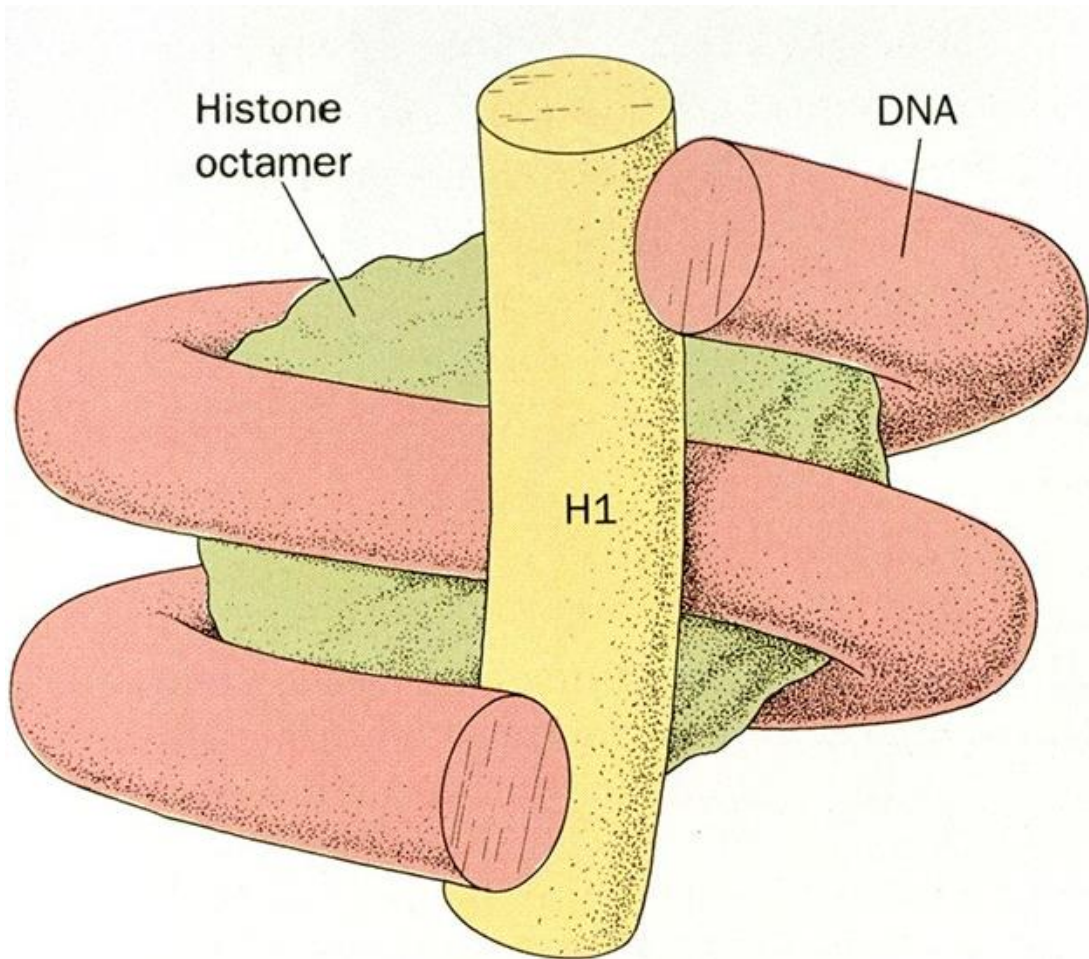
Figure 4-25 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



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)

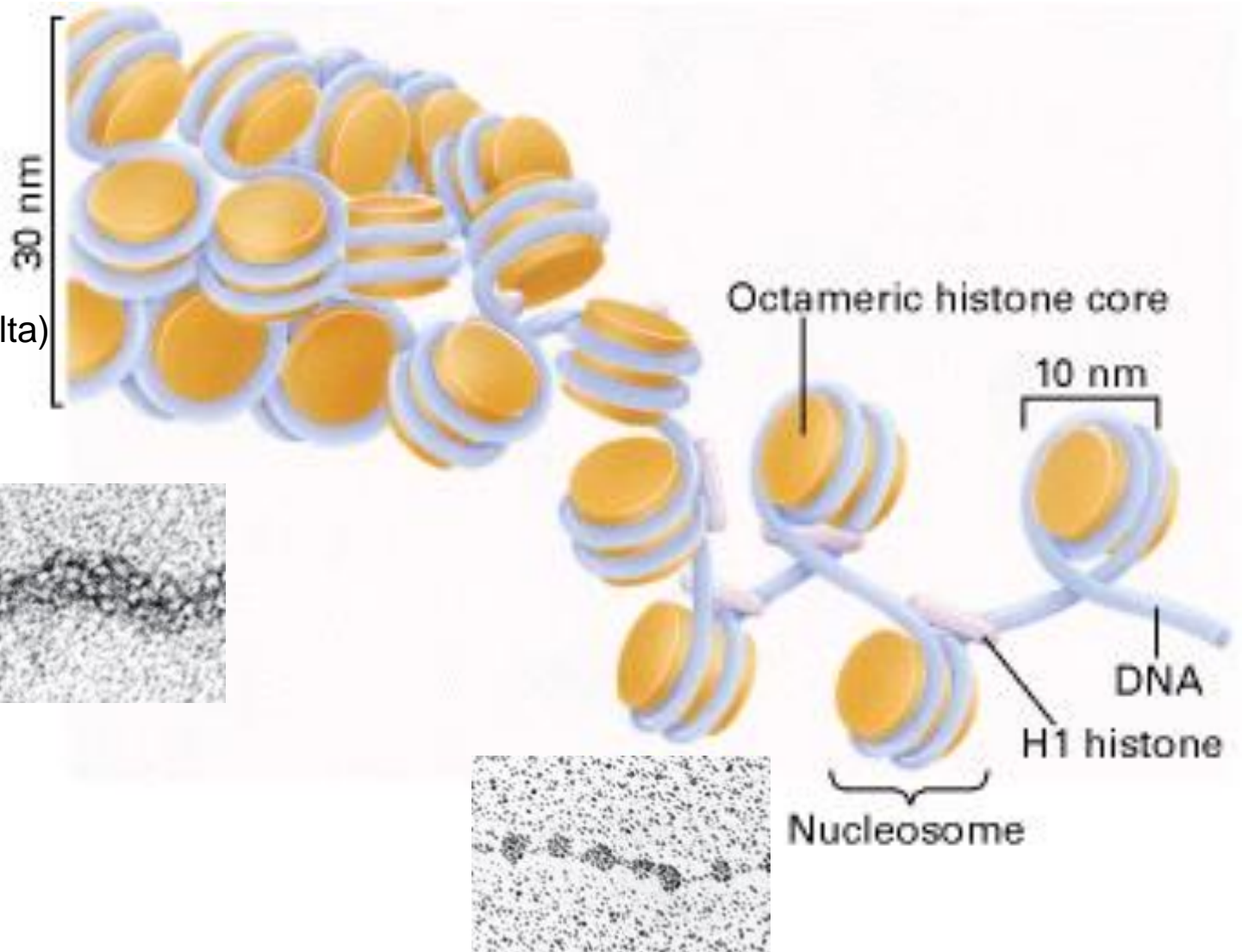
H3
H4
H2A
H2B



A cromatina tem diferentes níveis de empacotamento

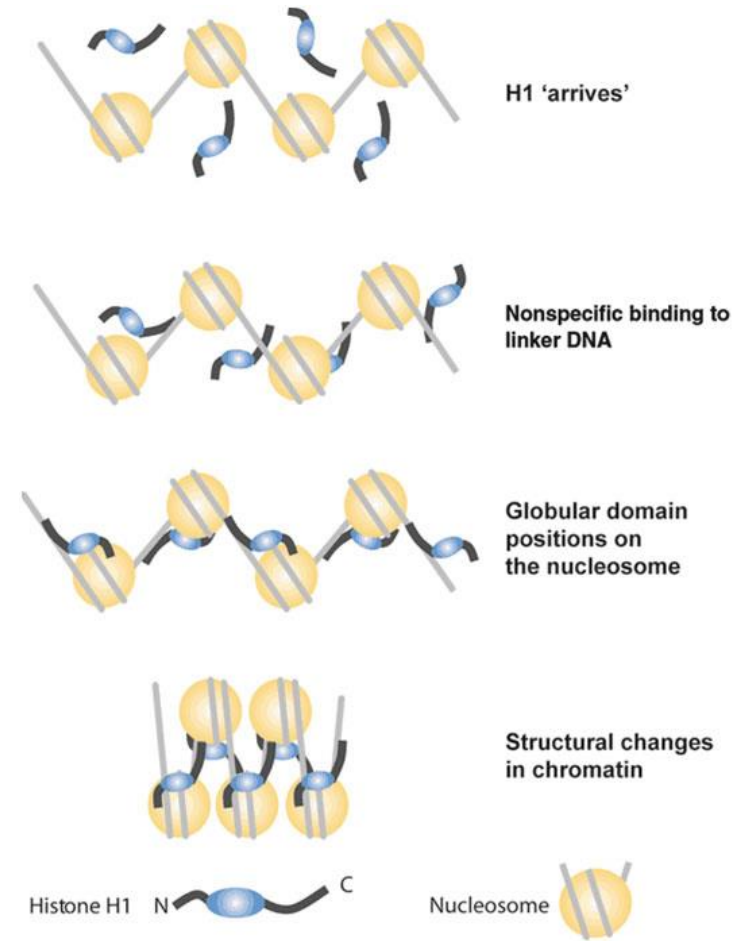
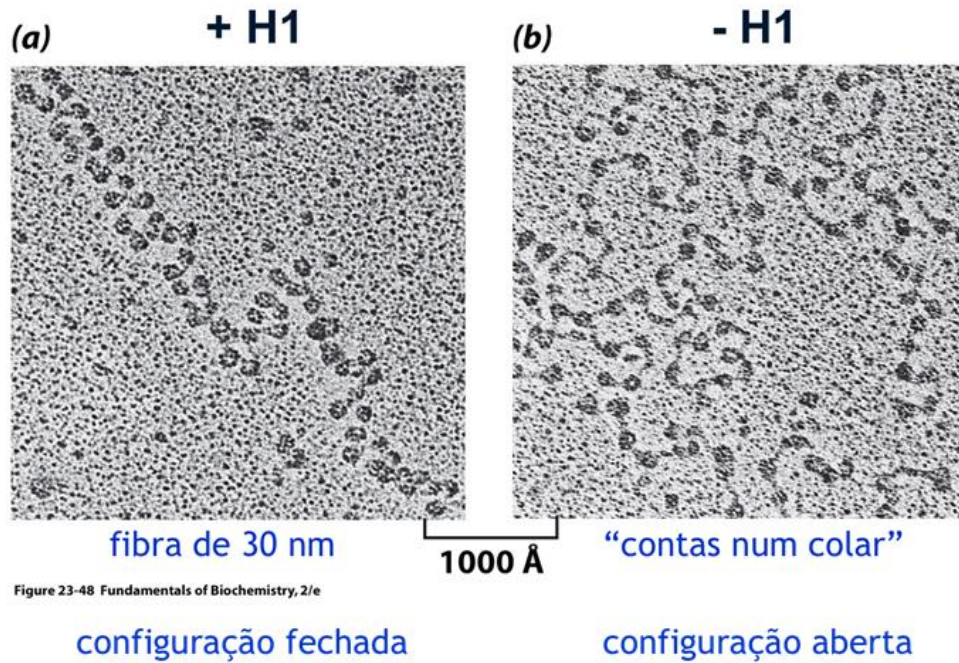
Modelo de solenóide

(6 nucleossomos/volta)



Histona H1: Histona de ligação

- Conecta os nucleossomos
- Aumenta o grau de compactação



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

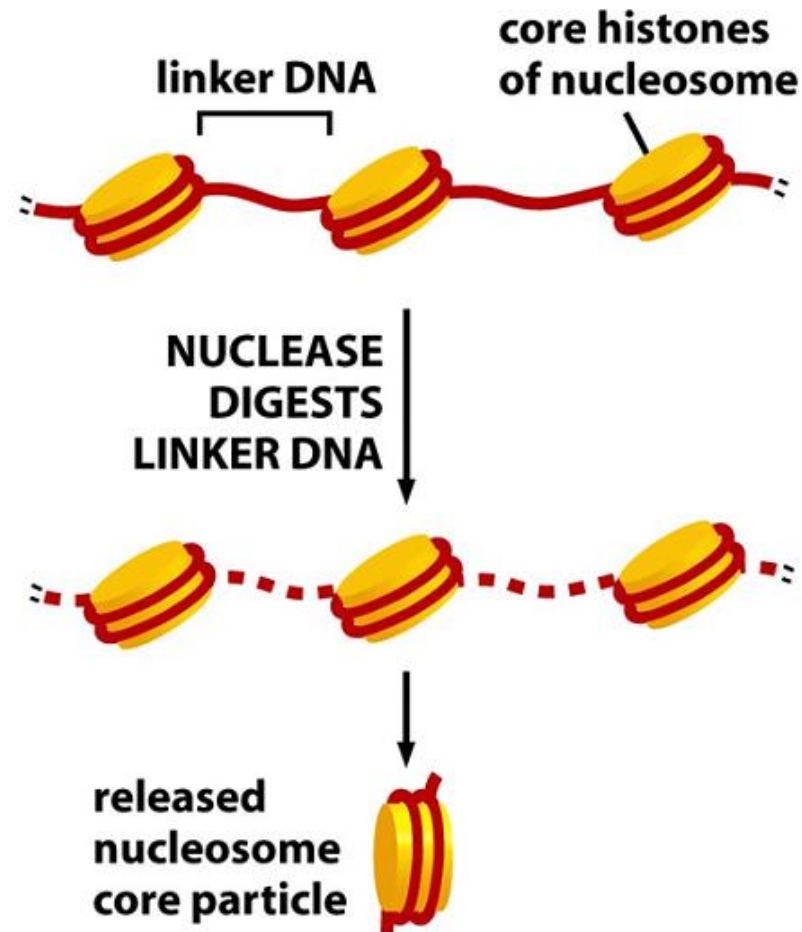
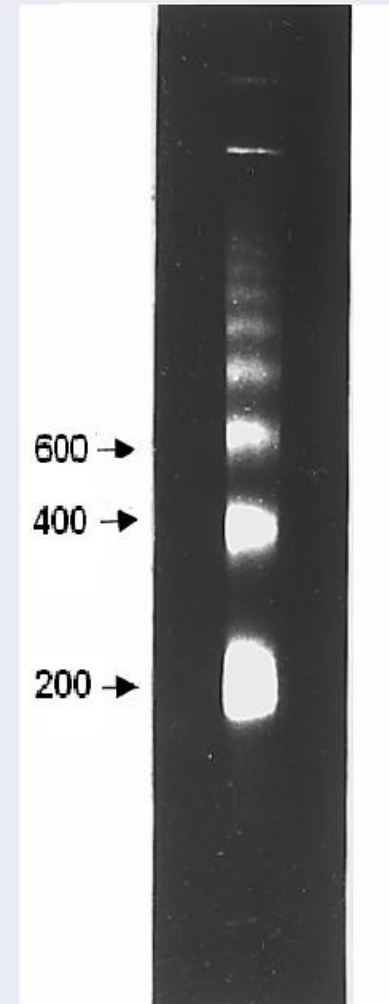


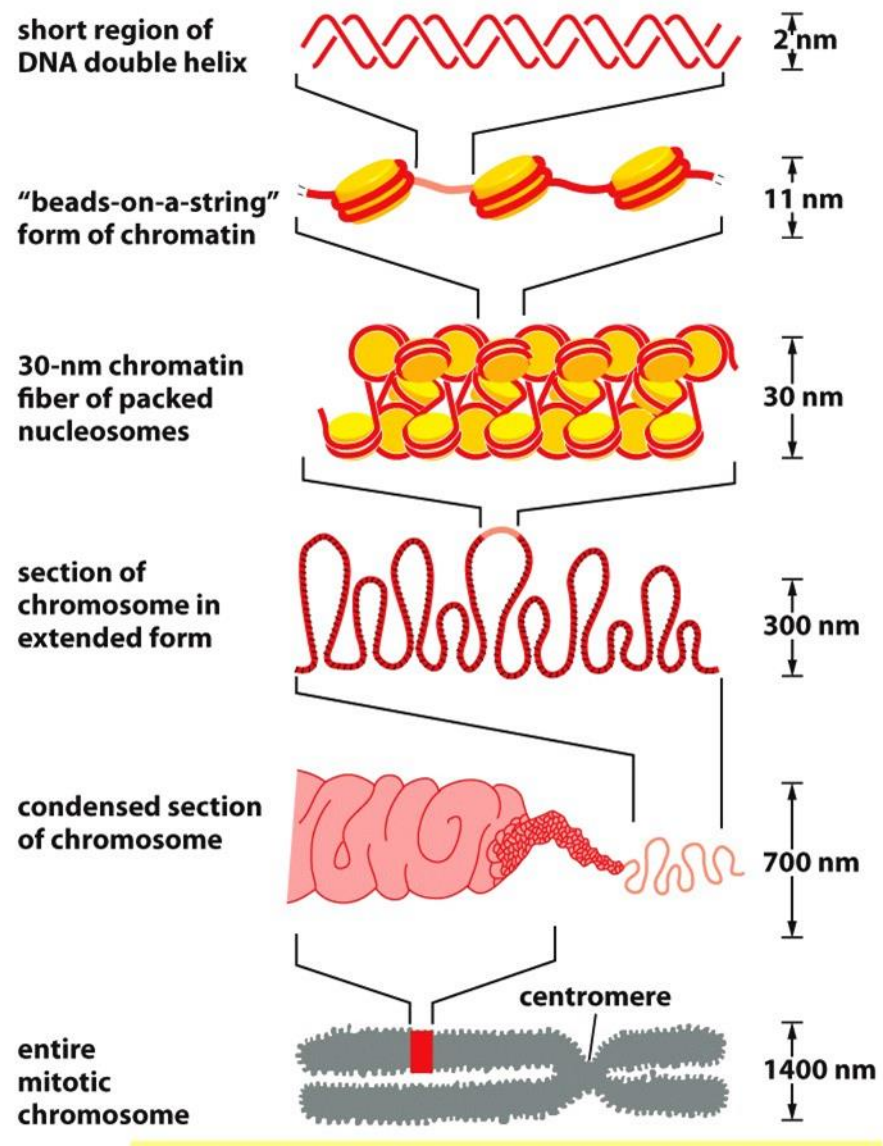
Figure 19.7 Micrococcal nuclease digests chromatin in nuclei into a multimeric series of DNA bands that can be separated by gel electrophoresis. Photograph kindly provided by Markus Noll.



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

Níveis de organização superior da cromatina

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



<https://www.dnalc.org/resources/3d/08-how-dna-is-packaged-advanced.html>

Vídeo!!!!!!

Proteínas não-histônicas da cromatina

- Que participam da estruturação superior da cromatina:

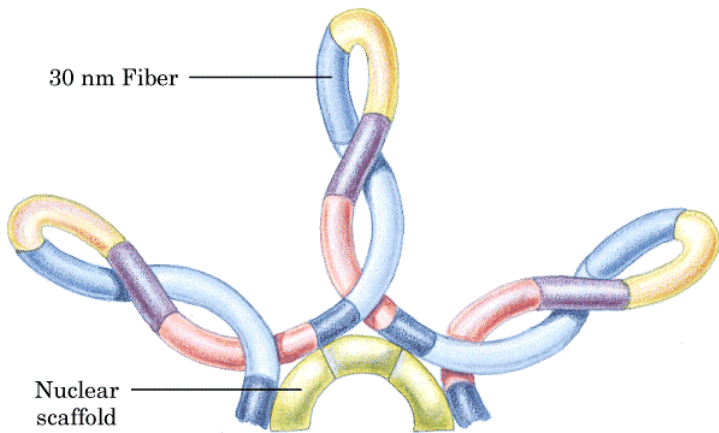
-HMG (*High Mobility Group*) = Grupo de Alta Mobilidade (pequeno peso molecular). Proteínas ativas na dinâmica de fibras de 30 nm.

-SMC (*Structural Maintenance of Chromosomes*)= Manutenção Estrutural de Cromossomos.

- Que apresentam outras funções:

-Proteínas envolvidas em diferentes funções nucleares, como por exemplo na regulação da transcrição de genes, replicação de DNA etc.

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



Plataforma nuclear formada por proteínas

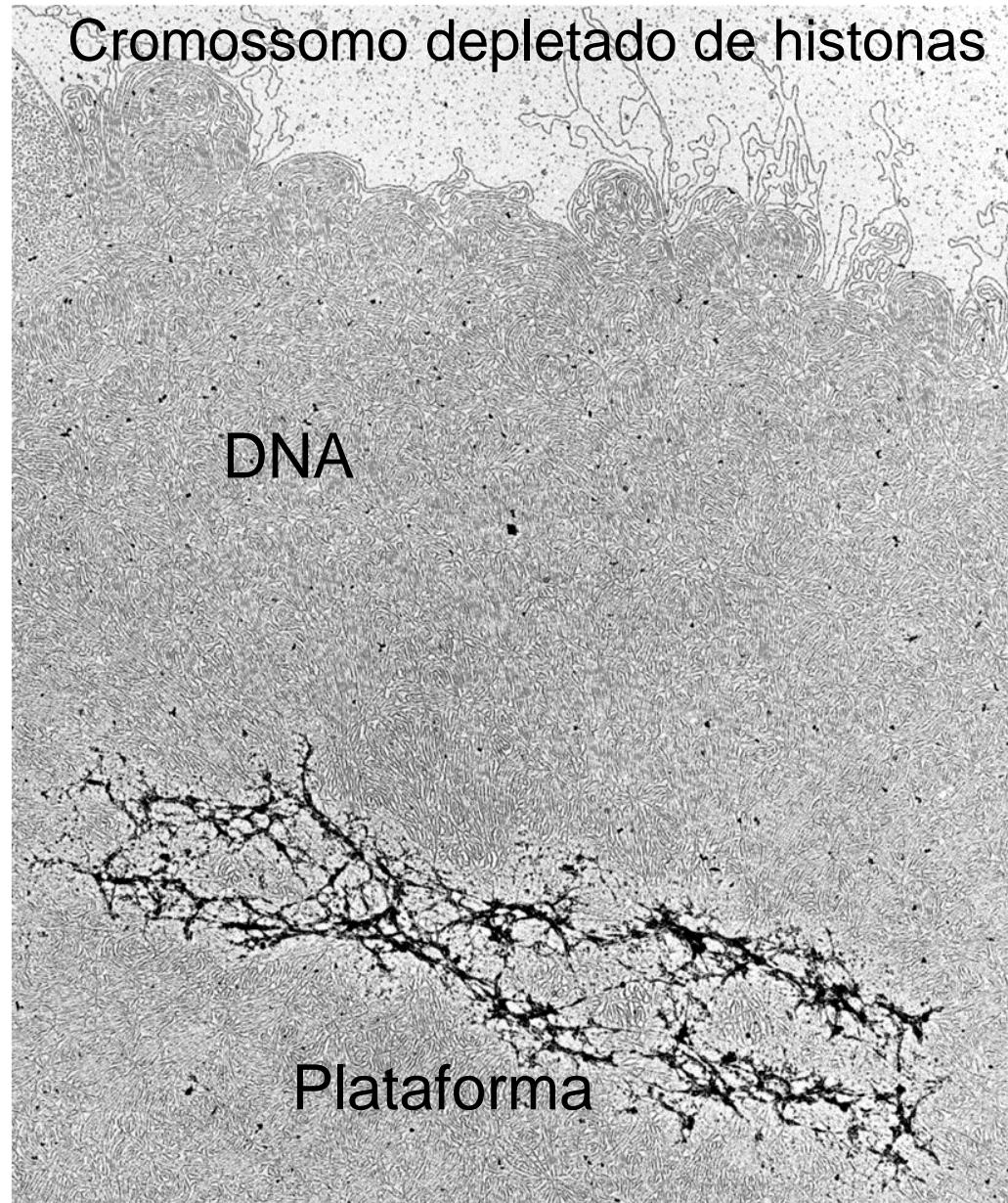


Figure 23-51a Fundamentals of Biochemistry, 2/e

Exemplo de proteína SMC (*structural maintenance of chromosomes*)

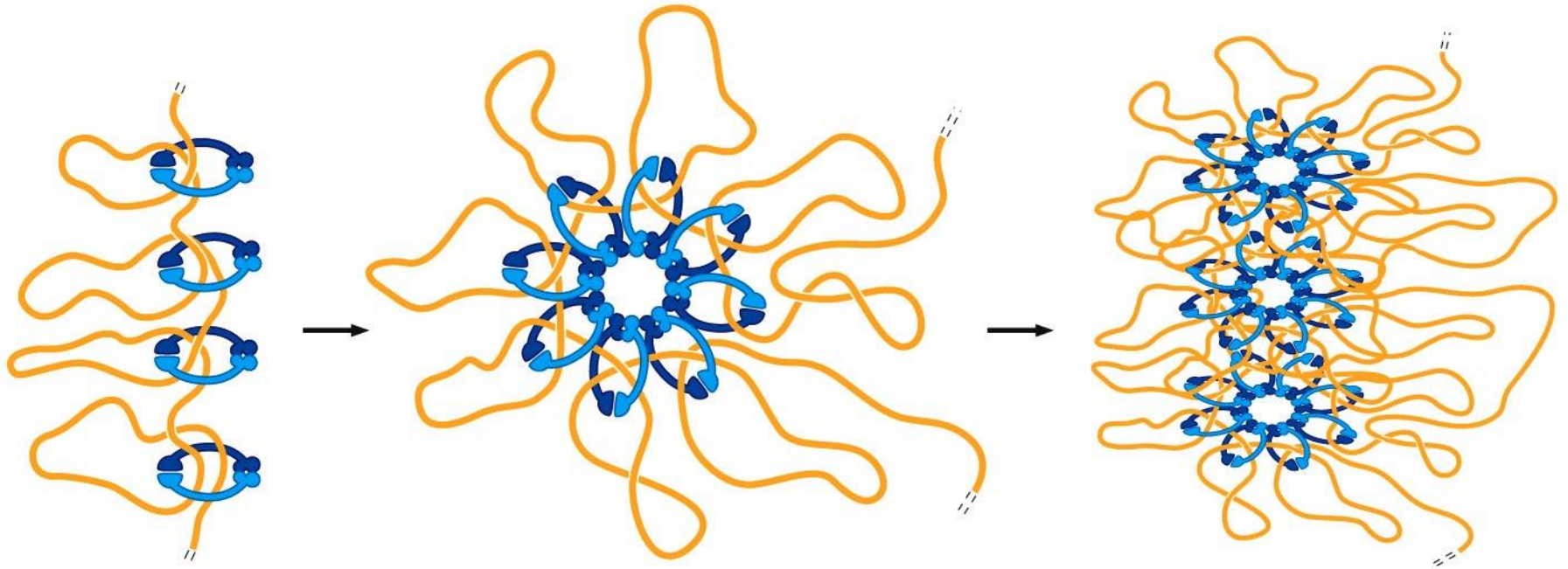
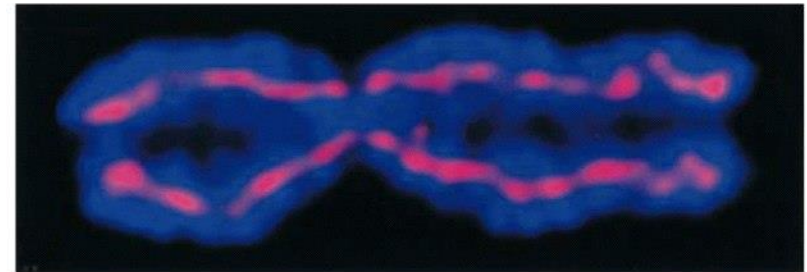
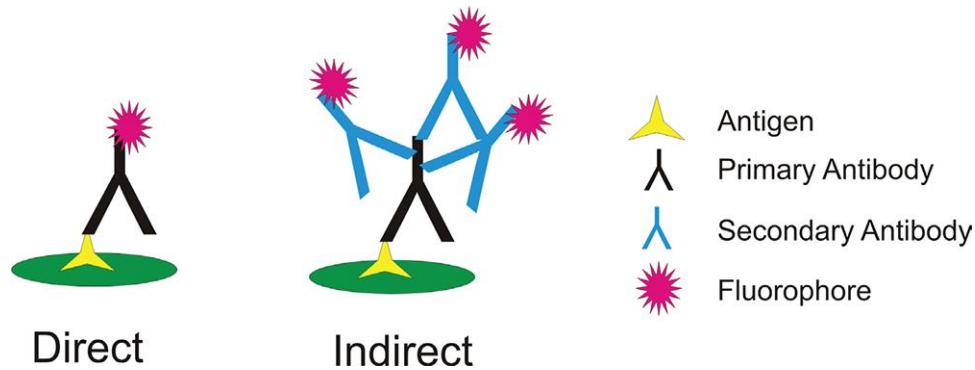


Figure 4-73c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Condensinas (SMC2-SMC4)

Localização da condensina em um cromossomo metafásico

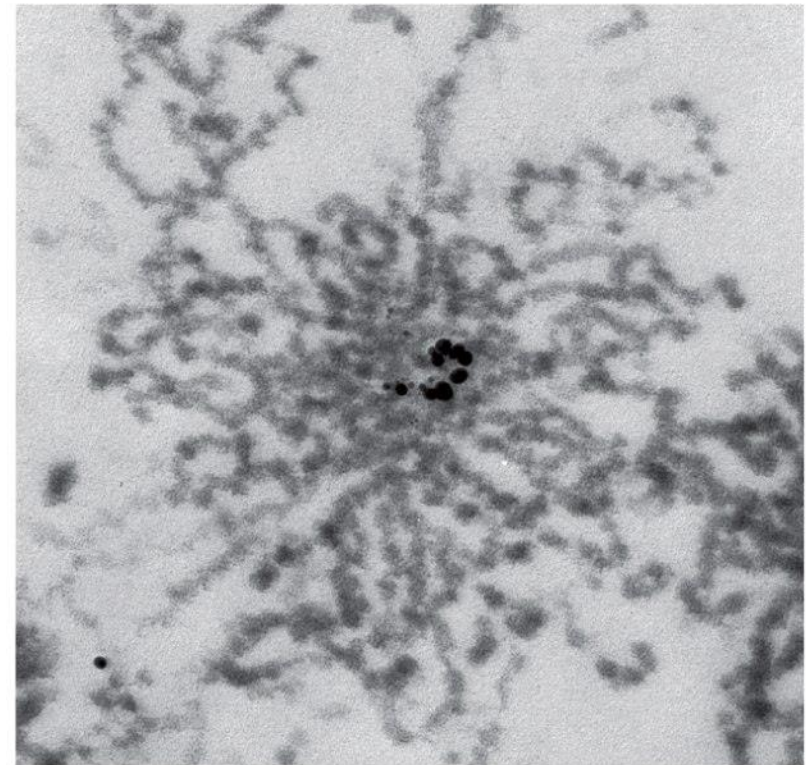
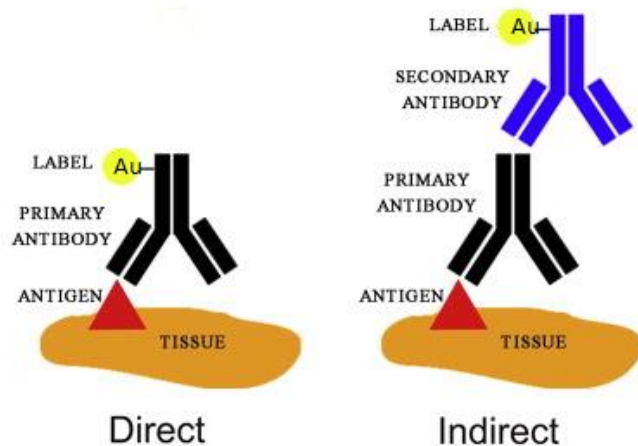
Imunofluorescência



(A)

1 μm

Imuno-ouro com microscópio eletrônico

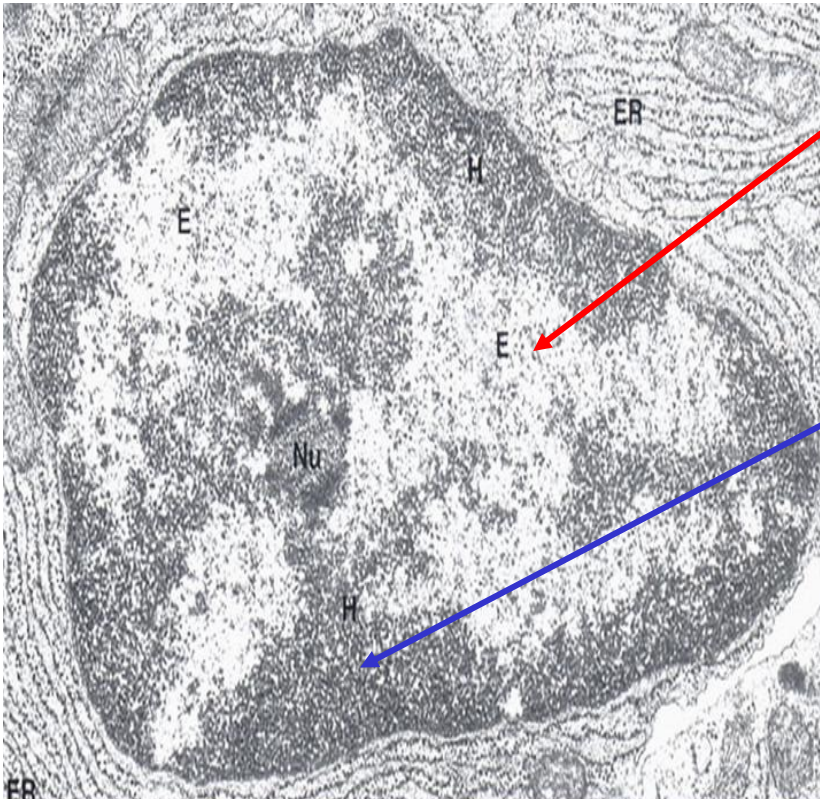


(B)

0.5 μm

Compactação da cromatina influencia a atividade do DNA na transcrição

Micrografia eletrônica de um núcleo interfásico



E = Eucromatina (ativa). Região menos compactada da cromatina na intérfase. Genes ativamente transcritos estão nestas regiões.

H = Heterocromatina (reprimida). Região compactada da cromatina na interfase

O mecanismo de compactação tem que permitir o acesso à informação genética e é um processo regulado

Compactação da cromatina influencia a atividade do DNA na transcrição

configuração aberta

configuração fechada

gene that will be transcribed a few hours later

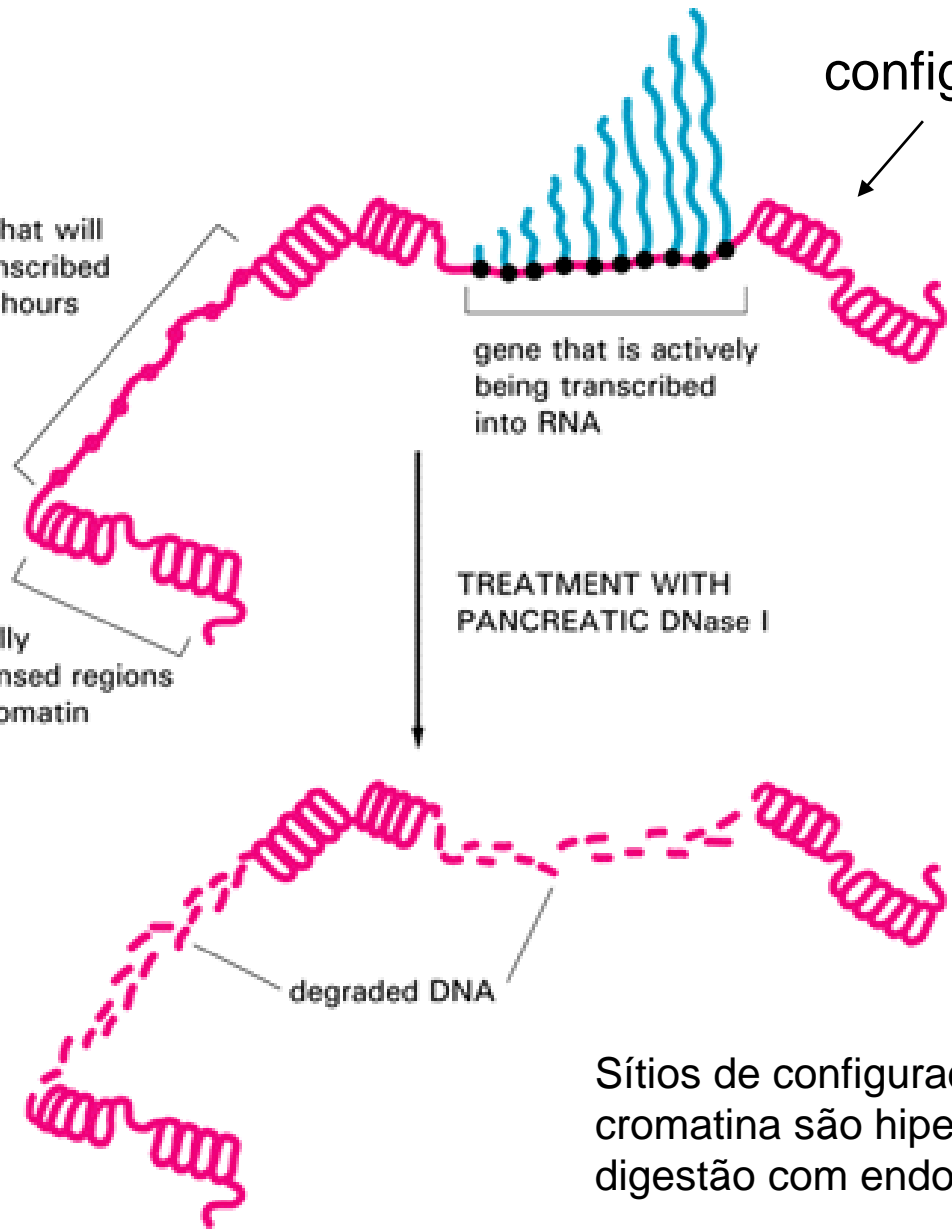
gene that is actively being transcribed into RNA

normally condensed regions of chromatin

TREATMENT WITH PANCREATIC DNase I

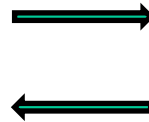
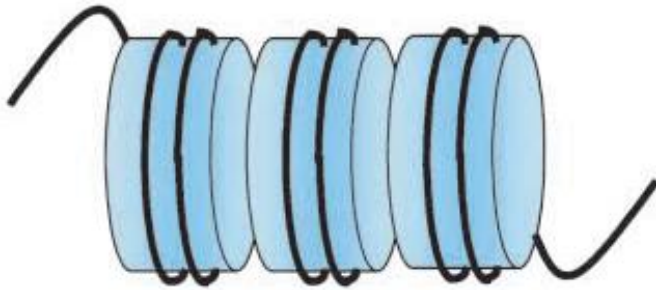
degraded DNA

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)

(Gene repression)



(transcriptional activation)

