

DNA

ESTRUTURA DO CROMOSSOMO  
RECOMBINAÇÃO HOMÓLOGA

# Revisão básica:

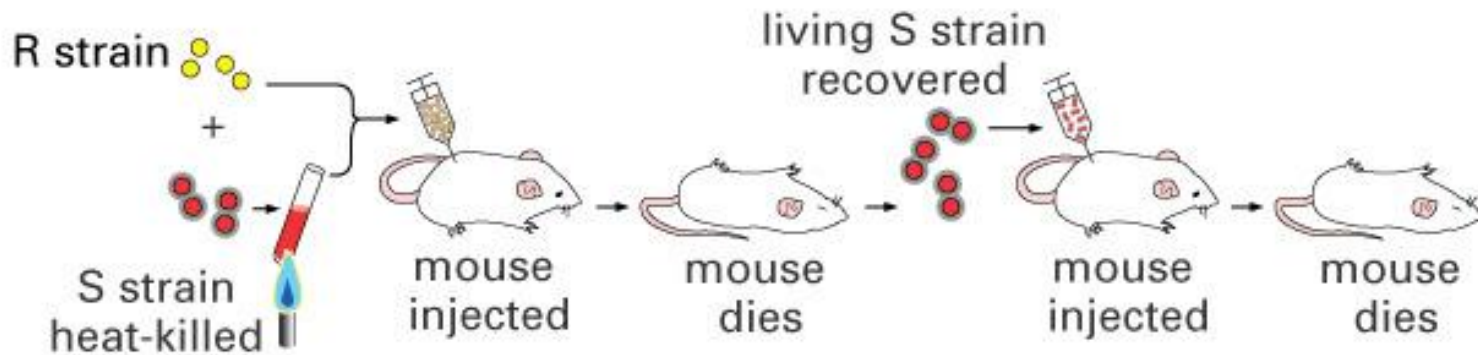
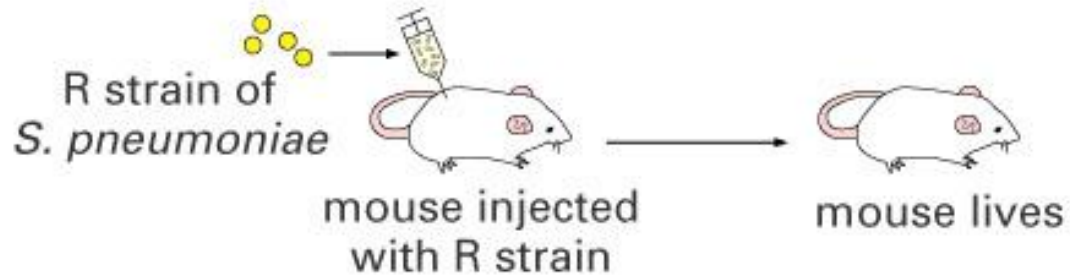
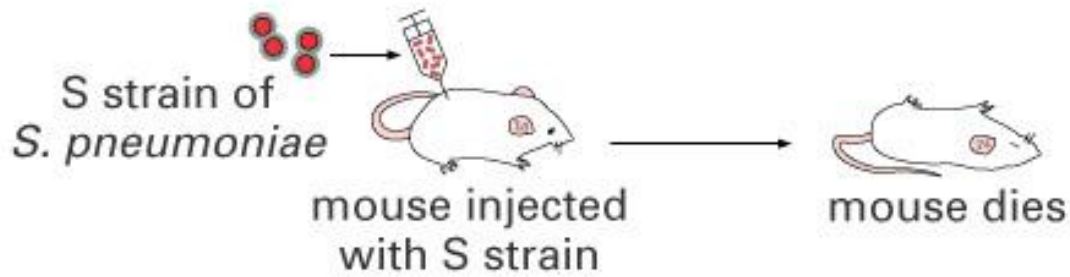
- Cromossomos são longos pedaços de DNA associados a proteínas
- Os genes são regiões curtas deste DNA que detêm as informações necessárias para construir e manter o corpo
- Genes têm locais fixos: cada gene está em um lugar especial em um cromossomo em particular
- Diplóides têm duas cópias de cada cromossomo, um de cada pai. Isto significa a existência de duas cópias de cada gene .
- As interações entre as duas cópias de cada gene dão origem às diversas formas de dominância

- O DNA foi isolado inicialmente pelo bioquímico suíço **Fredrich Miescher** 1860 de pus de curativos.
- O novo polímero continha C, O, H, N e fósforo (ausente em proteínas).
- Ele foi chamado de ácido nucléico porque ele foi isolado no núcleo e era ácido.
- Não era reconhecido como o material genético. Este papel pensava-se ser desempenhado pelas proteínas que, aparentemente, tinha maior potencial de variação.
- 20 aminoácidos ao invés de quatro diferentes nucleotídeos.

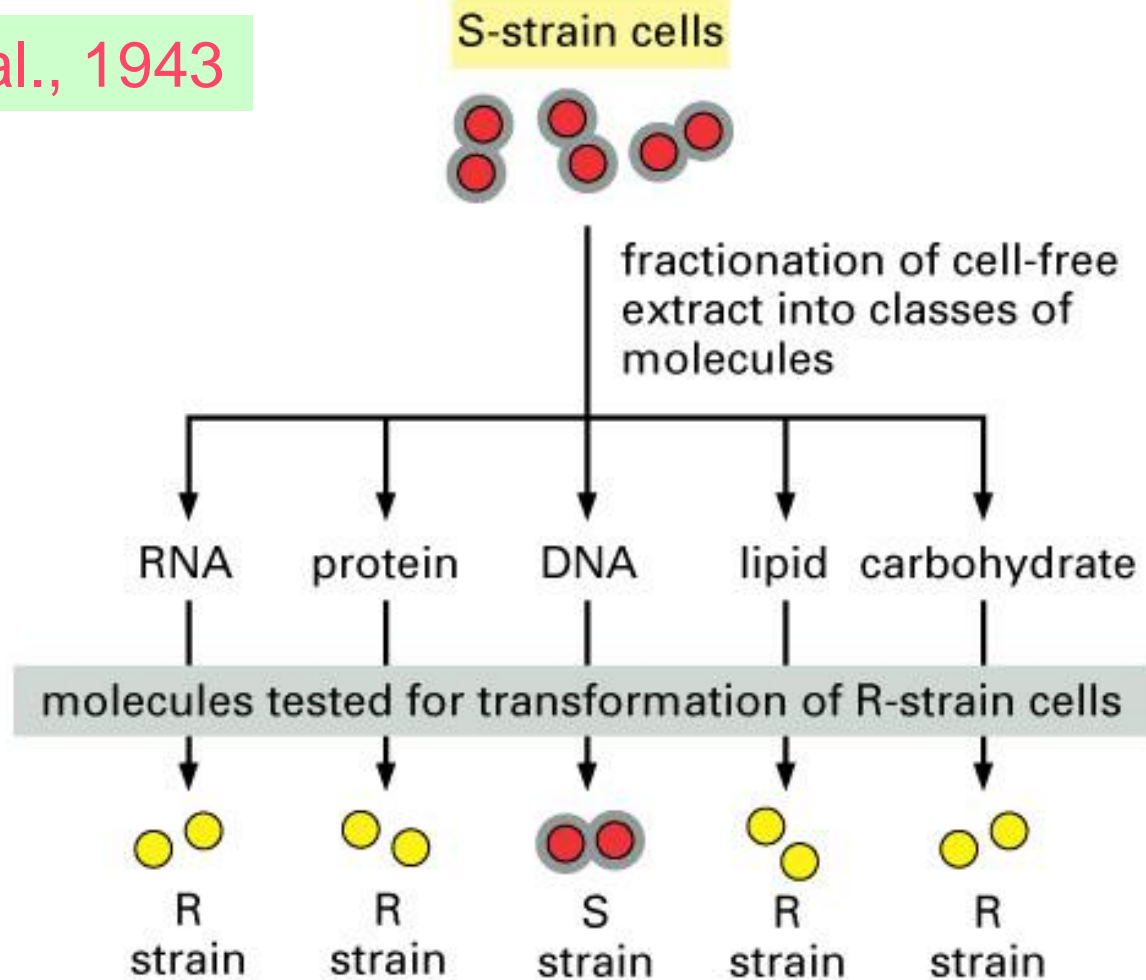
# O Papel do DNA como material genético

- Trabalho inicialmente realizado por Griffith e posteriormente por Avery e colaboradores
- Usando *Streptococcus pneumoniae* eles foram capazes de transformar a bactéria rugosa (R, rough=rugosa) não-patogênica na forma lisa (S, smooth=lisa) patogênica. Pelo processo de eliminação o ingrediente ativo no lisado celular foi identificado como DNA.

Griffith,  
final  
1920s



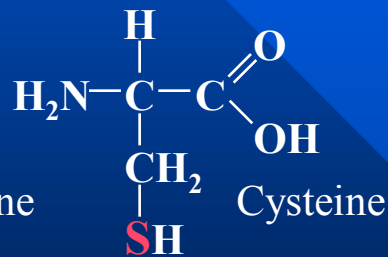
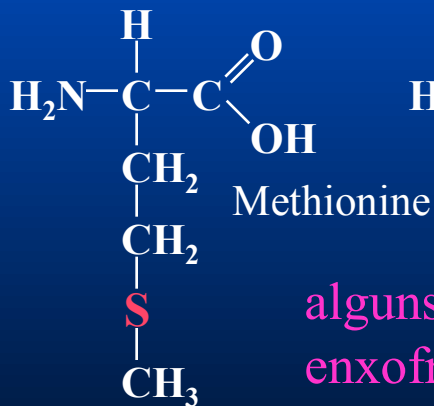
Avery et al., 1943



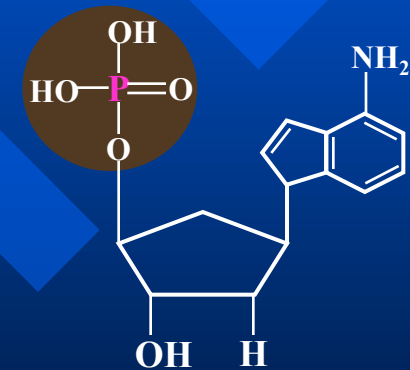
**CONCLUSION:** The molecule that carries the heritable information is DNA.

# O Experimento de Hershey-Chase

- Mostrou definitivamente que o DNA é o material genético.
- Hershey e Chase se valeram do fato de que o fago T2 é feito de somente duas classes de macromoléculas : Proteína e DNA



alguns aminoácidos contêm enxofre, assim proteínas contêm enxofre, mas não fósforo .

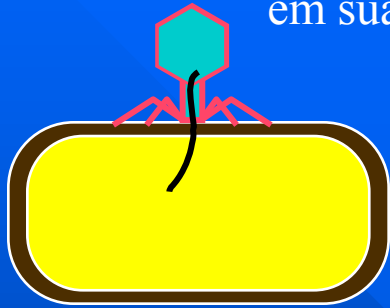


Nucleotídeos contêm fósforo, assim DNA contém fósforo, mas não enxofre

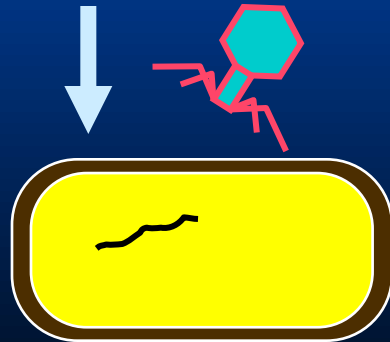
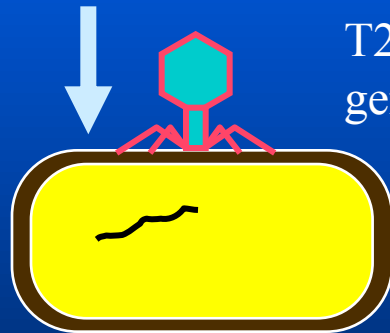
# Usando S<sup>35</sup>

T2 crescendo em meio contendo S<sup>35</sup> incorpora S<sup>35</sup> em suas proteínas

Bactéria crescendo em meio não radioativo



T2 injeta seu material genético



liquificação libera o fago



Após centrifugação, proteínas do fago permanecem no sobrenadante enquanto a bactéria forma o precipitado. O sobrenadante é radioativo mas o precipitado não.

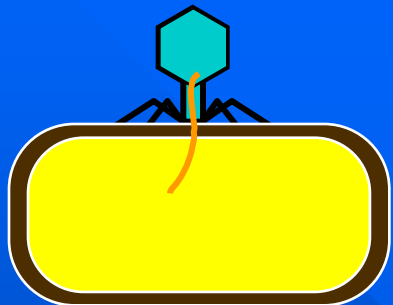
A proteína do fago entrou na bactéria?

A proteína é o material genético?

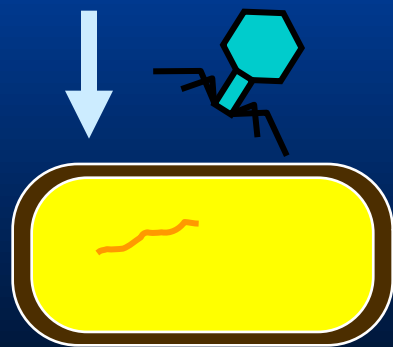
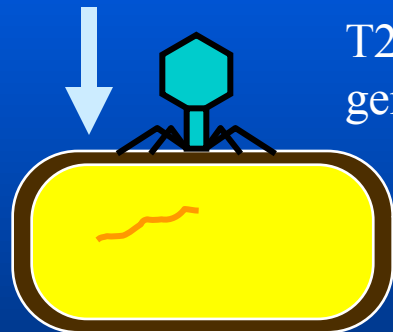


# Usando P<sup>32</sup>

T2 crescendo em meio contendo P<sup>32</sup>



T2 injeta o seu material genético

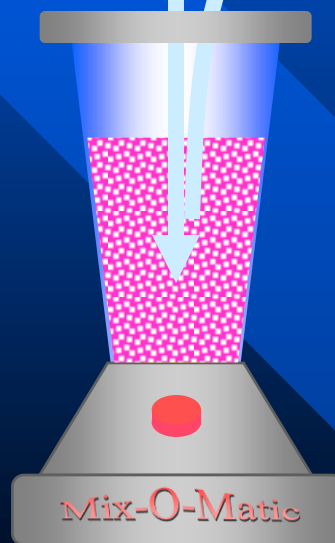


Liquidificação libera a capsula viral

Bacteria crescendo em meio não radioativo



Após centrifugação, as cápsulas virais permanecem no sobrenadante. A bacteria forma o precipitado



O precipitado é radioativo, mas o sobrenadante não

O DNA entra na bactéria?  
O DNA é o material genético?

# O papel do DNA como material genético

- **Experimento do liquidificador (Hersey and Chase).**
- O bacteriófago T2 o qual infecta certas bactérias foi marcado com  $^{35}\text{S}$  (somente proteínas) e a bactéria foi marcada como  $^{32}\text{P}$  (somente DNA). Os dois foram misturados e rapidamente misturados (liquidificador) e centrifugados. O  $^{35}\text{S}$  foi achado no sobrenadante. Portanto, as proteínas do fago não foram transferidas para a bactéria. Quando o experimento reverso foi realizado, o  $^{32}\text{P}$  foi achado no precipitado, indicando que o DNA foi transferido para a bactéria.

# Estrutura e função do **DNA**

Antes de 1953, os cientistas sabiam que os **genes** estavam nos **cromossomos**

O que se sabia:

Cromossomos = DNA + proteínas

# Estrutura e Função do DNA

- 1953, James Watson e Francis Crick - postularam o modelo estrutura de dupla hélice, informação que desvendou o quebra cabeça.
- Estrutura e a função dos genes podem ser compreendidas a nível molecular.

## DNA:

- Duas cadeias longas de polinucleotídeos = fita
- Cada fita = esqueleto de açúcar-fostato, mantidas juntas por ligações covalentes (fosfodiester)
- As duas fitas são mantidas juntas por pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas
- 4 bases – A, G, C, T

# Hélice dupla

- Cada fita de DNA tem uma “direção”
  - Em uma extremidade, o átomo de carbono terminal no esqueleto é o átomo de carbono 5' do açúcar terminal
  - Na outra extremidade, o átomo de carbono terminal é o the 3' do açúcar terminal
- Em uma dupla hélice, as fitas são antiparalelas

As duas cadeias são mantidas juntas por pontes de hidrogênio formada entre os pares de base. Este pareamento é altamente específico. Adenina pareia com timina, guanina com citosina.  $A = T$ ,  $G = C$ .

As bases são planas e aromáticas – bastante hidrofóbicas.

Elas tendem ficar “enterradas” no interior da molécula

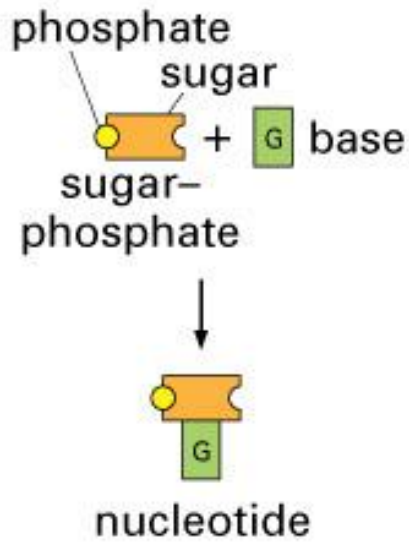
As seqüências de bases ao longo da cadeia carrega a informação genética.

# Propriedades do DNA pelo modelo de Watson and Crick

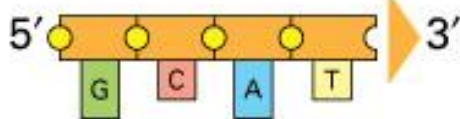
- Habilidade em armazenar a informação genética
- Habilidade para transferir uma cópia fiel desta informação para as células filhas.
- Estabilidade física e química possibilitando que a informação possa ser estocada por longos períodos de tempo.



building blocks of DNA

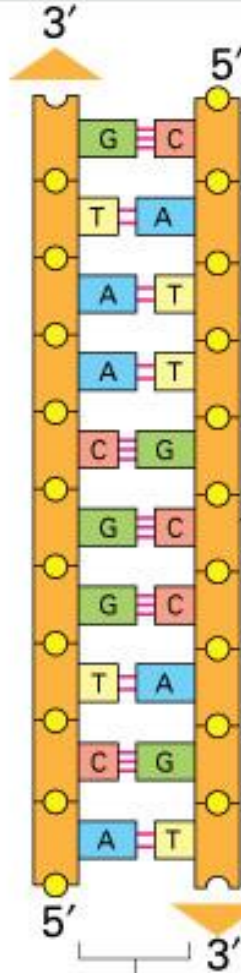


DNA strand



covalent bonds

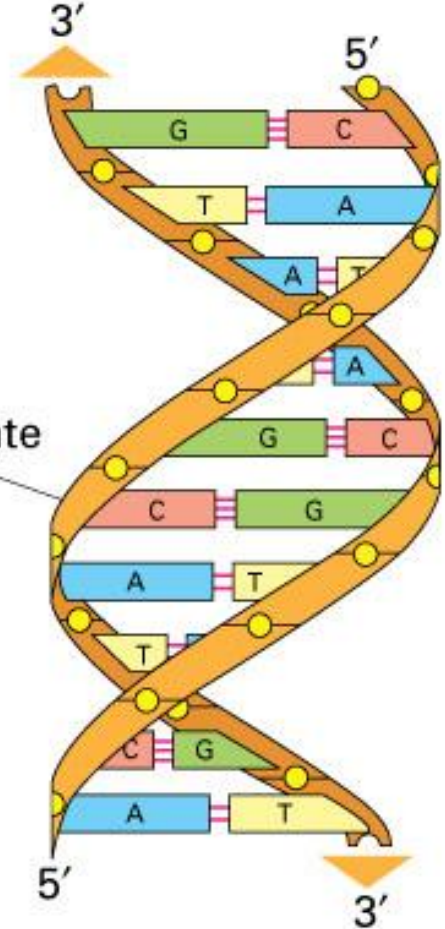
double-stranded DNA



hydrogen-bonded base pairs

H bonds

DNA double helix



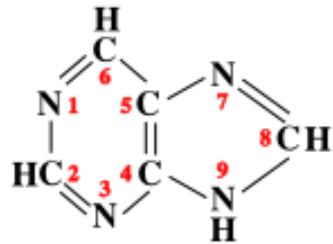
polarity;  
antiparallel

Figure 5-2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

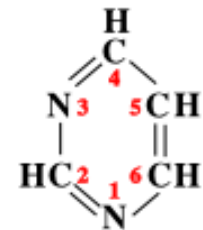
# Terminologia:

- **Base:** estrutura em anel (purinas ou pirimidinas): adenina, guanina, citosina, timina.
- **Nucleosídeo:** base + açúcar
- **Nucleotídeo:** base + açúcar + fosfato.

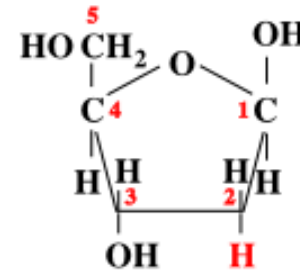
# Estruturas Básicas do DNA



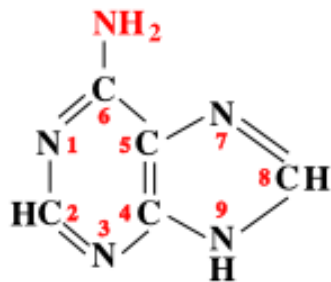
(Purine)



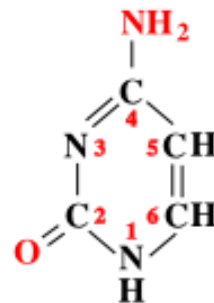
(Pyrimidine)



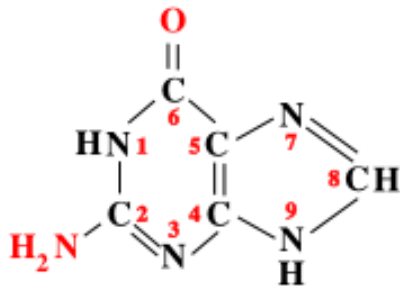
(Deoxy-Ribose)



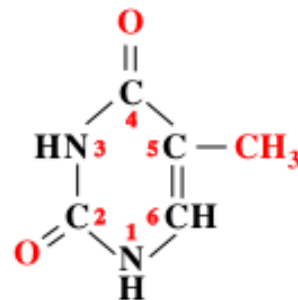
(Adenine)



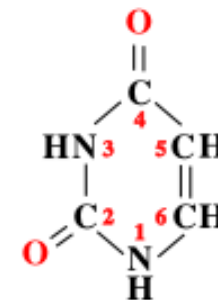
(Cytosine)



(Guanine)



(Thymine)



(Uracil)

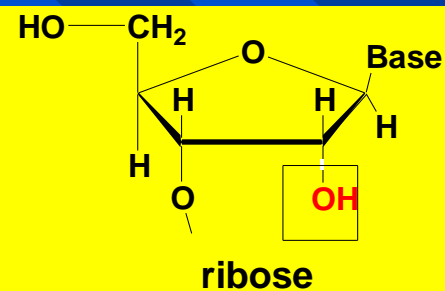
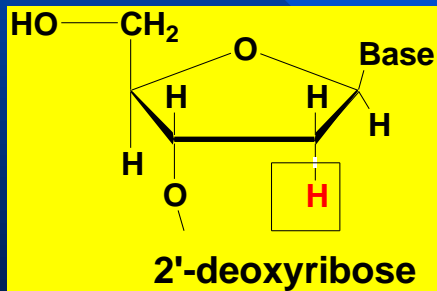
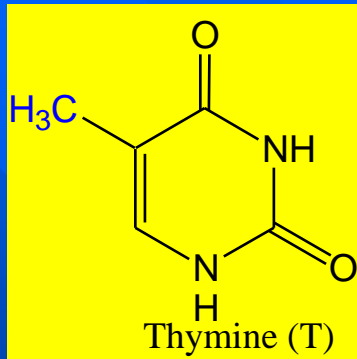
# Diferenças entre DNA e RNA:

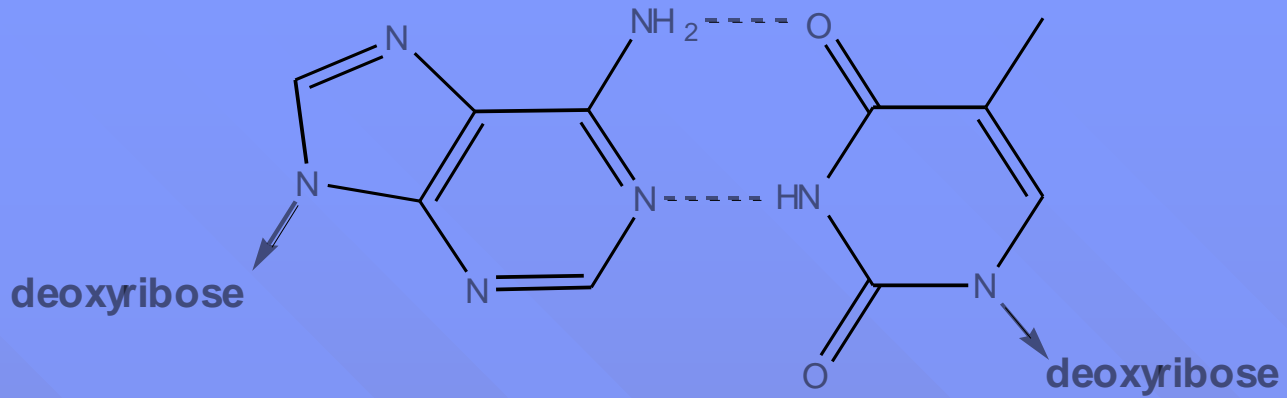
- O açúcar é desoxirribose, o qual não tem  $-OH$  na posição 2'
- O uracil é metilado na posição 5' formando a timina

# Diferenças estruturais entre DNA e RNA

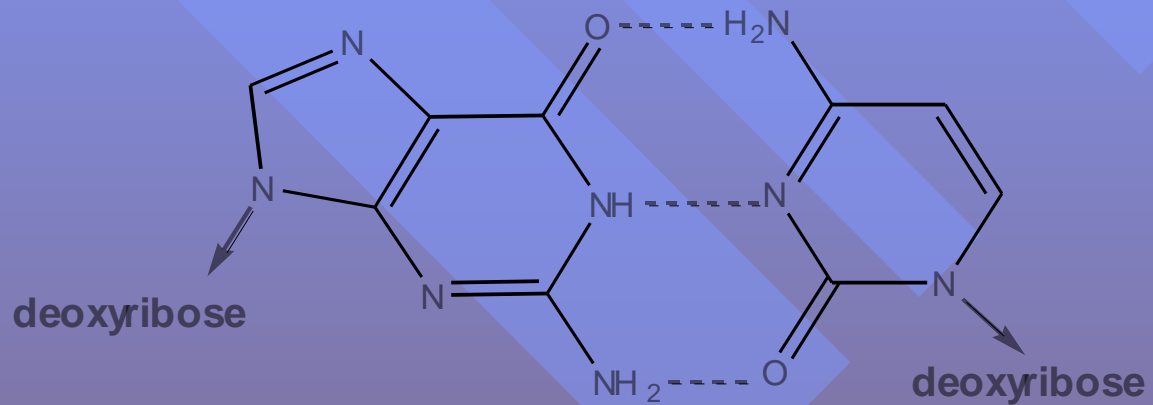
DNA

RNA



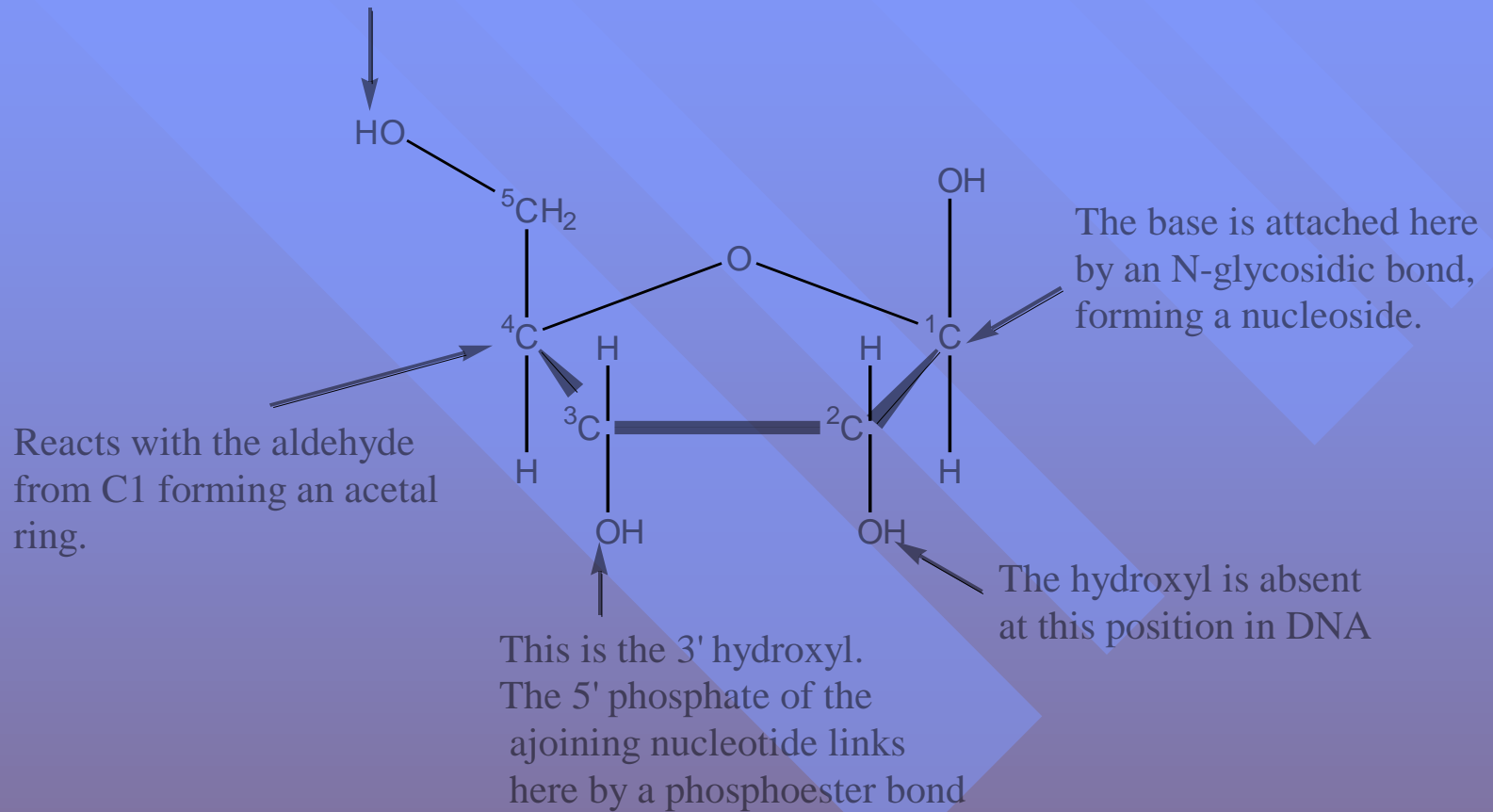


**Adenine base paired to Thymine**

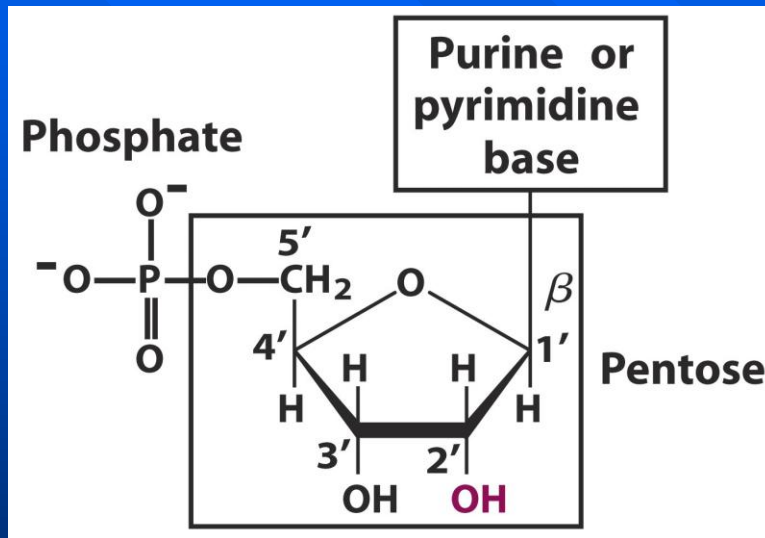


**Guanine base paired to Cytosine**

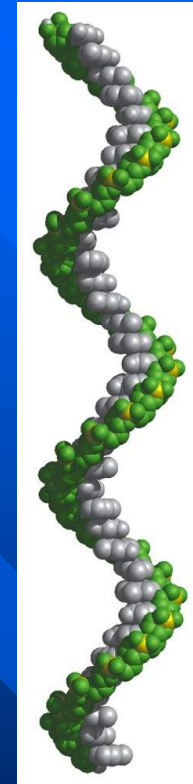
The 5' phosphate is attached here via a phosphoester bond, forming a nucleotide.  
The nucleotide is linked here to the 3' hydroxyl of the adjoining nucleotide in DNA and RNA by a second phosphoester bond (phosphodiester).



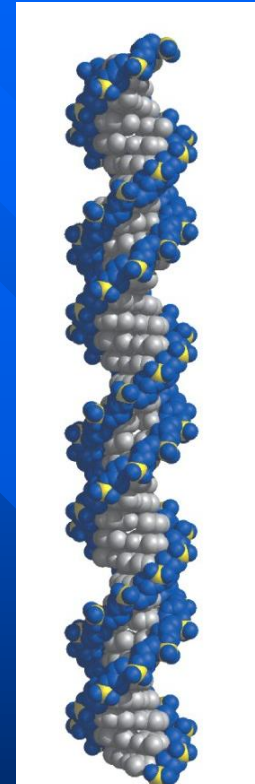
# Nucleotídeos e Ácidos Nucleicos



Nucleotídeo



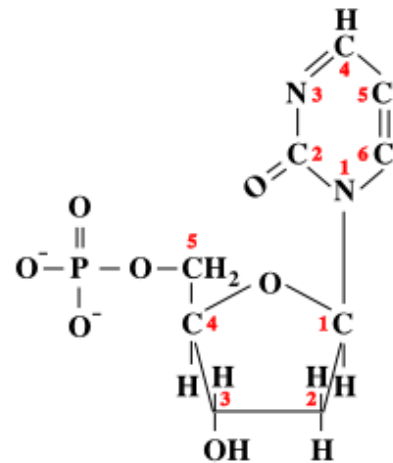
RNA



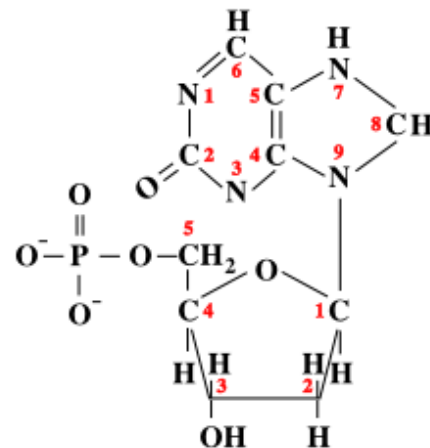
DNA



Um nucleotídeo consiste de um grupo ribose ligado a uma base nitrogenada por uma ligação N-glicosídica



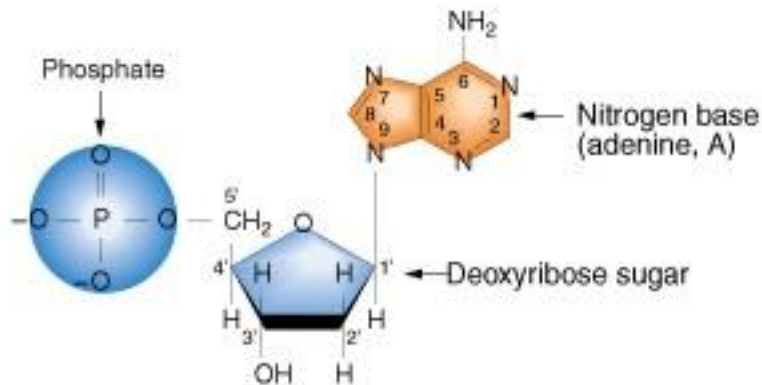
Ligações N-Glicosídicas



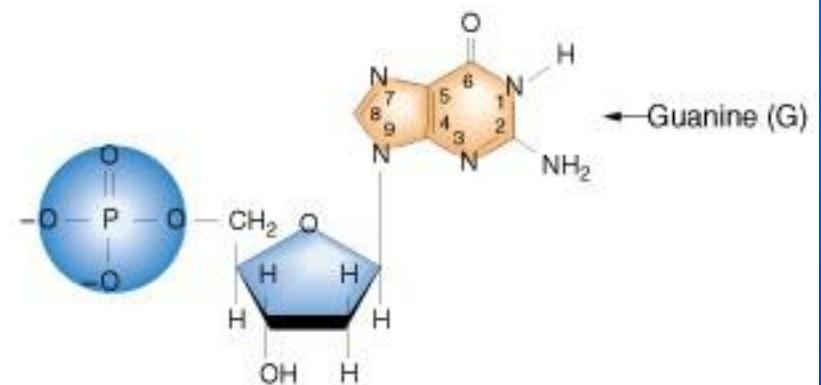
# Três componentes de cada nucleotídeo

## Quatro nucleotídeos diferentes no DNA

### Purine nucleotides

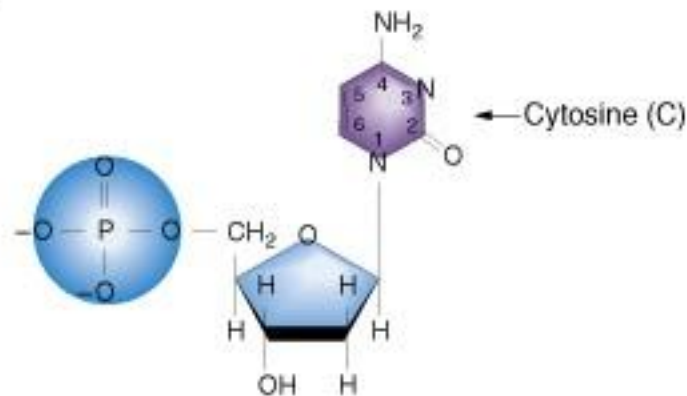


Deoxyadenosine 5'-phosphate (dAMP)

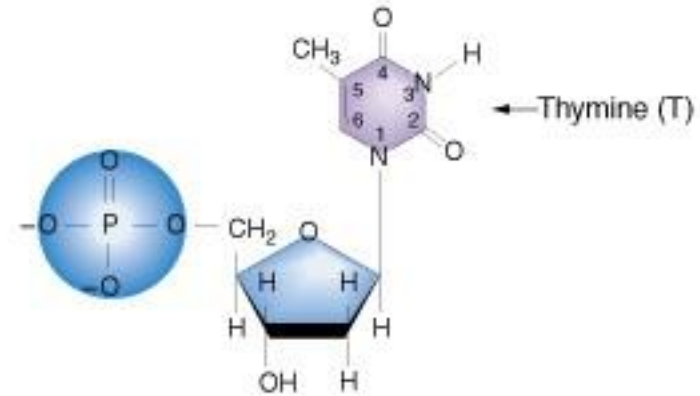


Deoxyguanosine 5'-phosphate (dGMP)

### Pyrimidine nucleotides

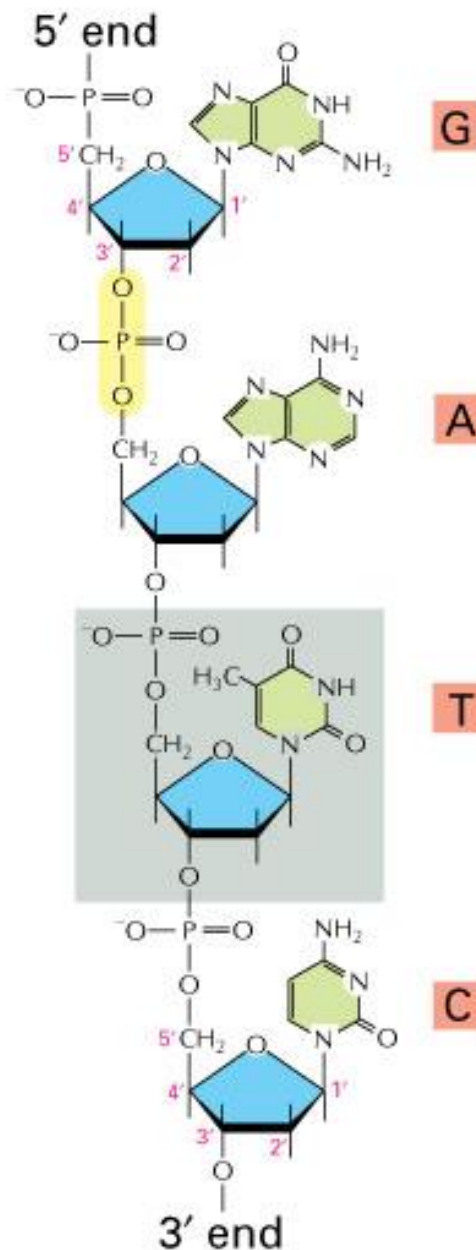


Deoxycytidine 5'-phosphate (dCMP)



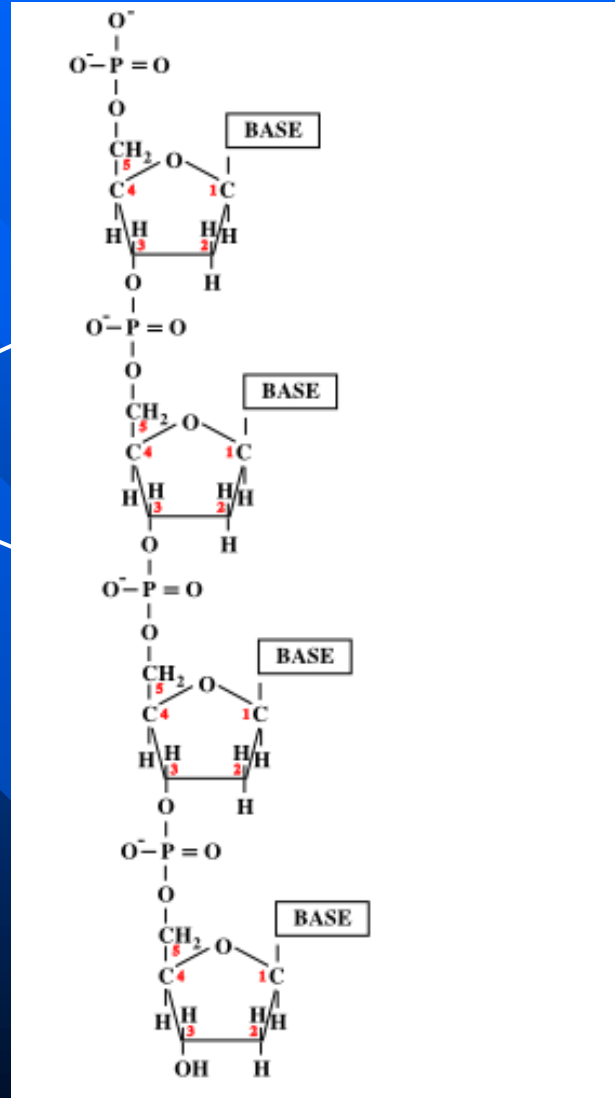
Deoxythymidine 5'-phosphate (dTMP)

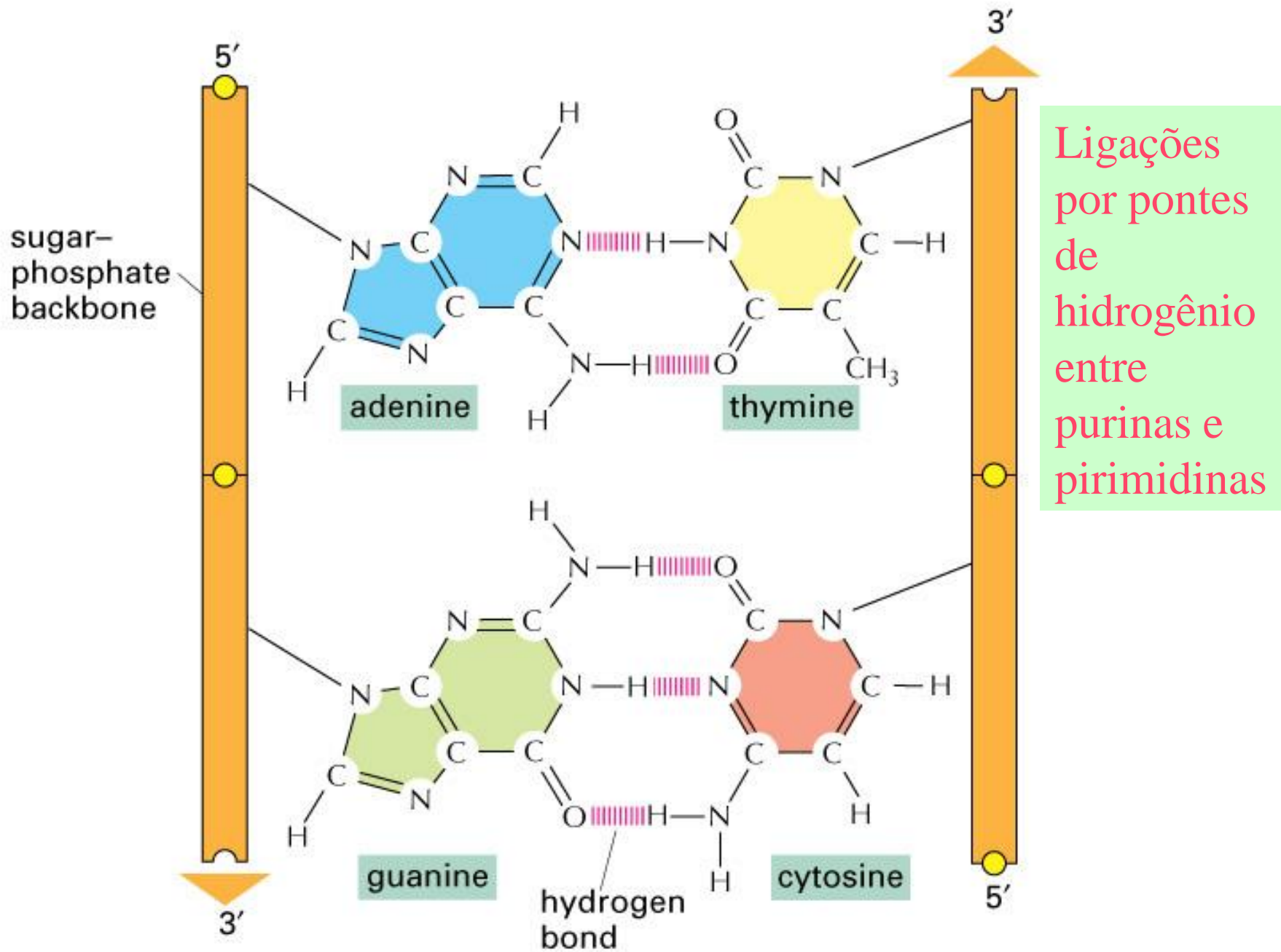
A ligação fosfodiéster 5'-3' = uma ligação covalente que mantém a fita unida



O esqueleto de DNA é invariável e consiste de moléculas de desoxirribose ligadas pelos grupos fosfatos

ligações fosfodiéster

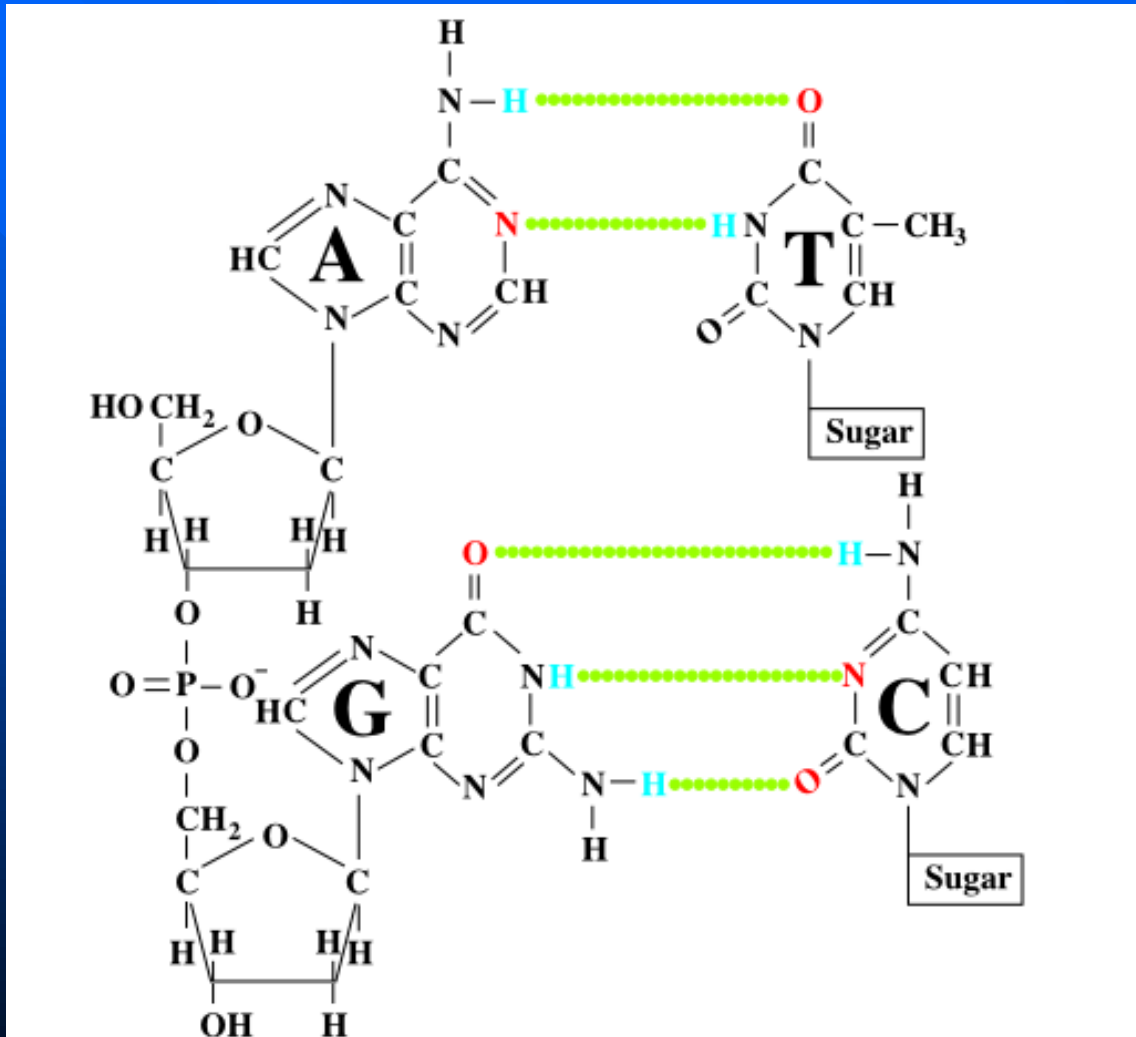




Ligações por pontes de hidrogênio entre purinas e pirimidinas

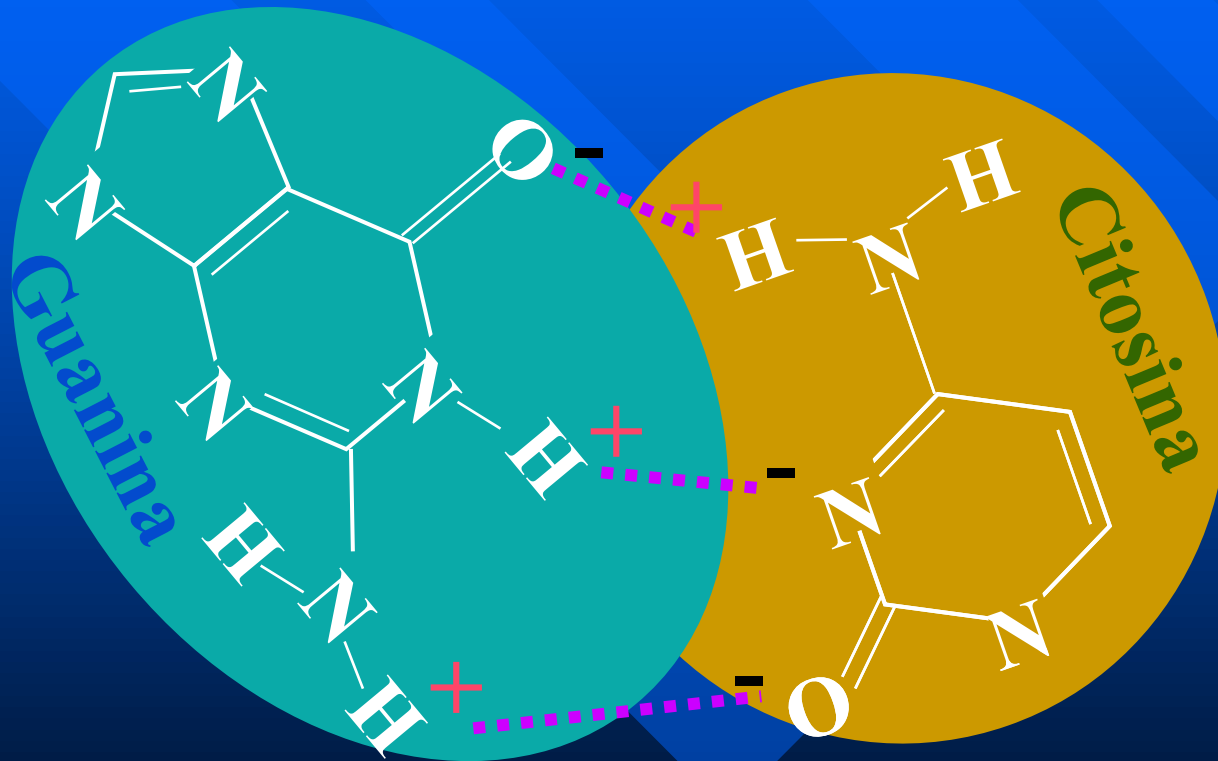
Figure 5-6 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Pontes de hidrogênio: o H carregado positivamente carregado de uma molécula é atraído pelos elementos N ou O carregados positivamente.

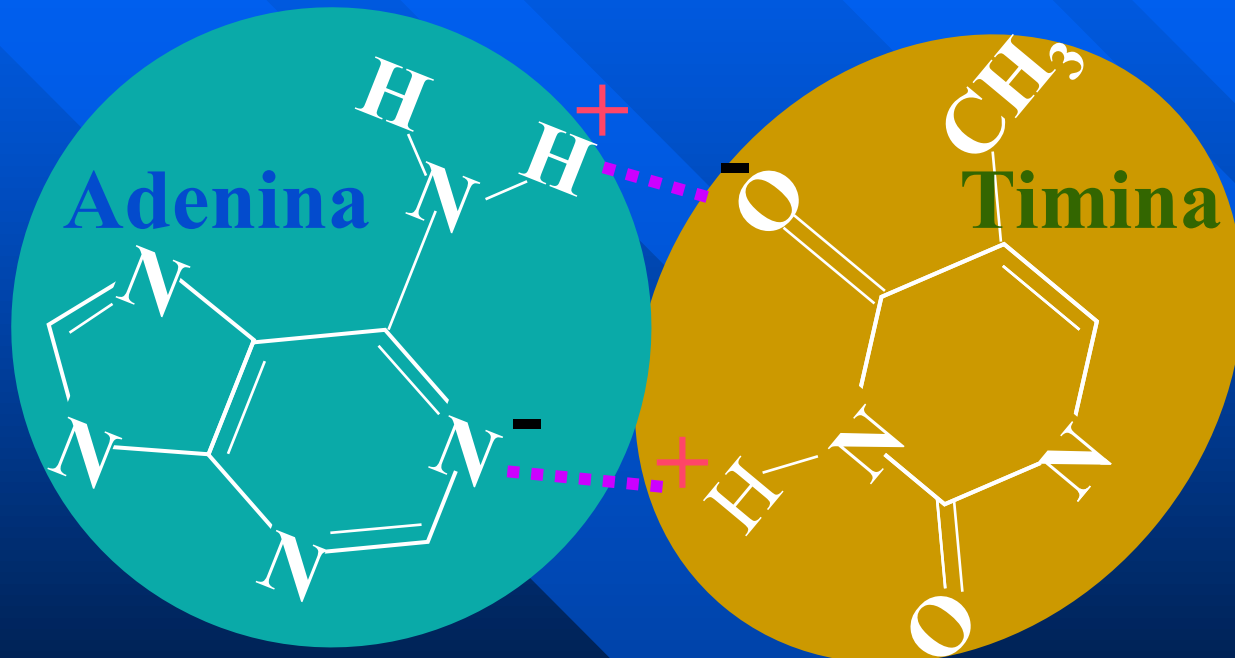


# Pareamento das bases

## Guanina e Citosina



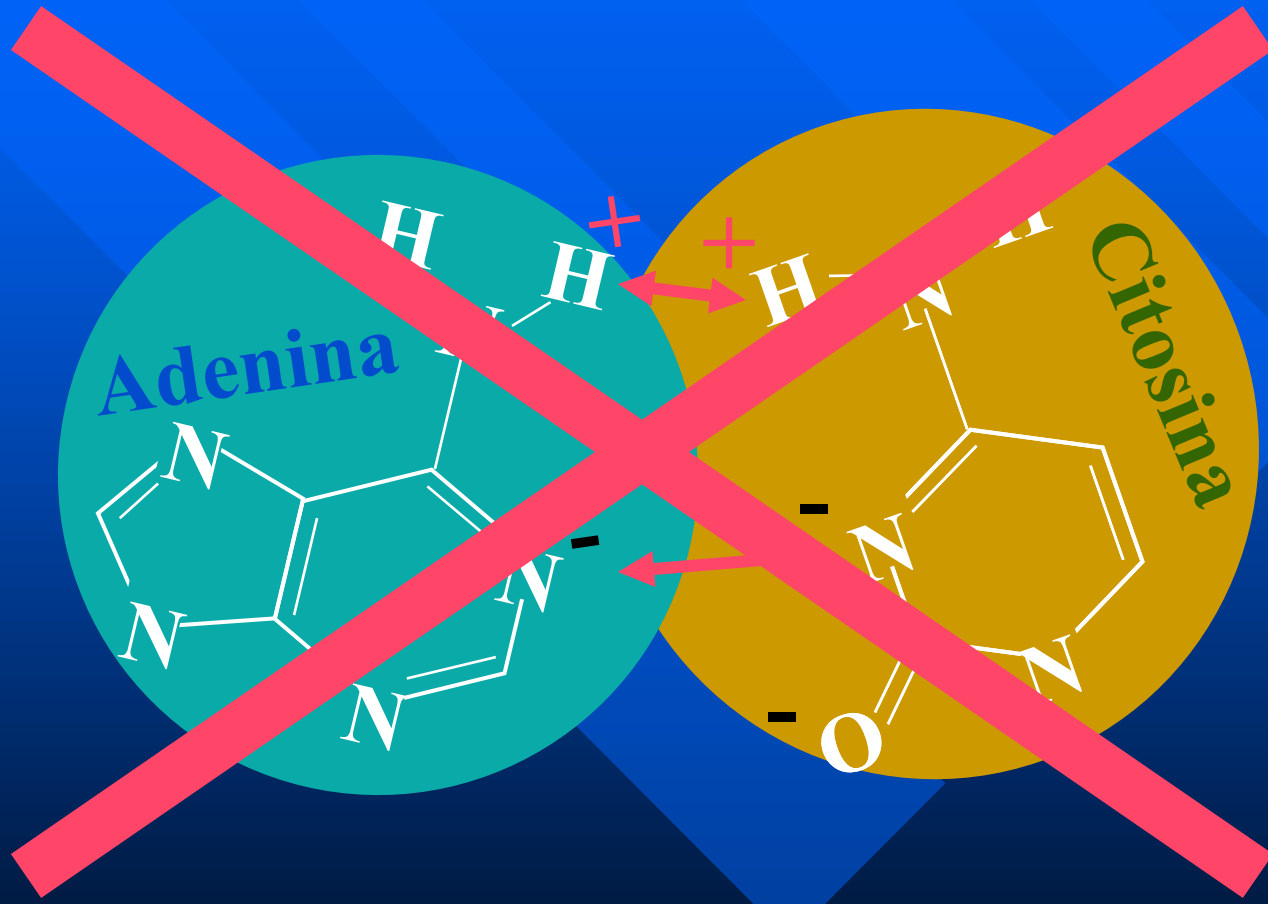
# Pareamento das bases Adenina e Timina





# Pareamento das bases

## Adenina e Citosina



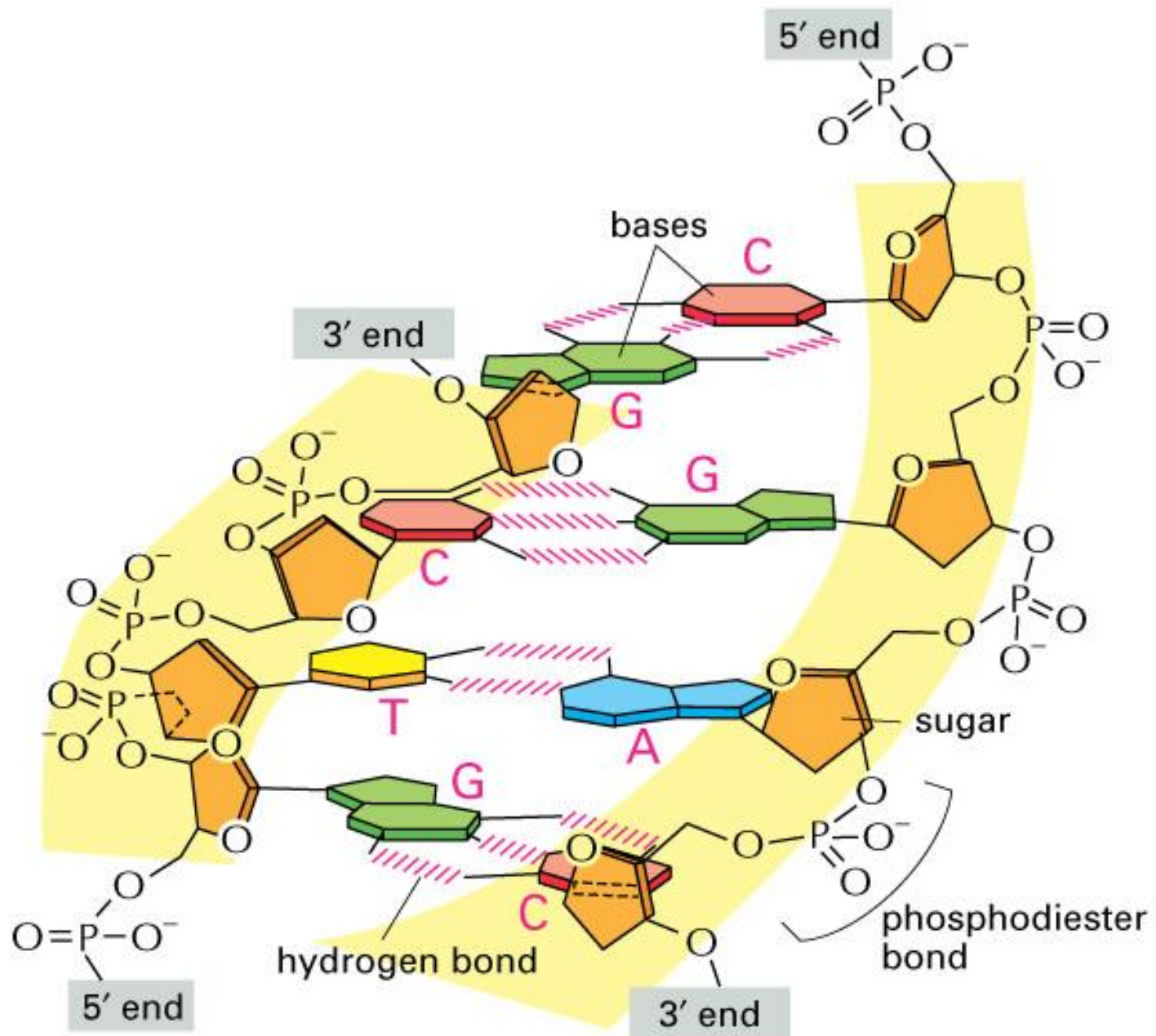


Figure 5-7 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

## Propriedades que fazem o DNA ideal para armazenar a informação genética:

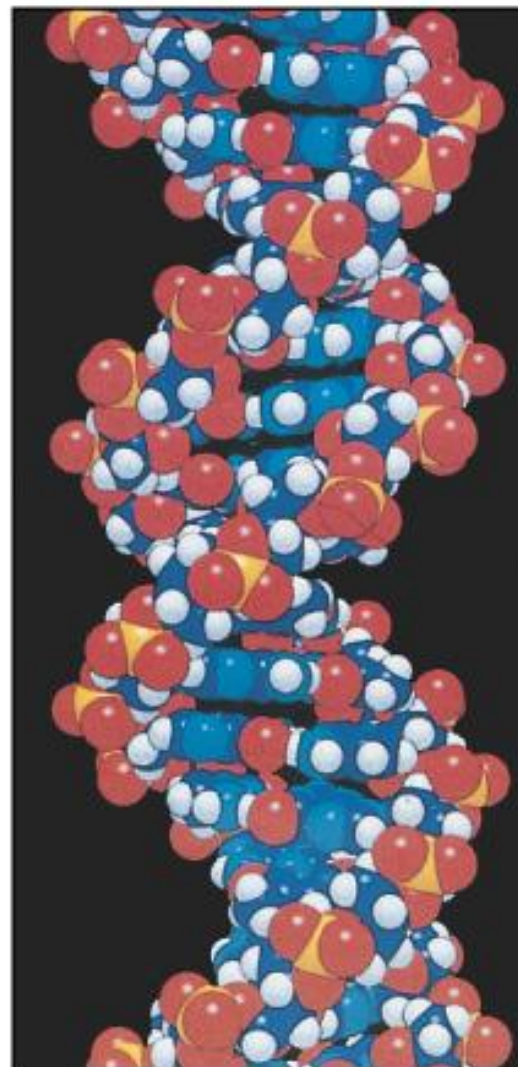
- O esqueleto açúcar-fosfato é muito estável ao ataque químico.
- A ausência de  $-OH$  na posição 2 no açúcar faz o DNA muito resistente a condições alcalinas.

# Propriedades que fazem o DNA ideal para armazenar a informação genética:

- A ligação N-glicosídica entre a ribose e as bases é muito estável porque as bases são hidrofóbicas
- As bases altamente empilhadas excluem quase toda a água protegendo a informação dos compostos solúveis em água que poderiam reagir com os grupos carregados.

# Estrutura do DNA

- Três maiores famílias de DNA.
  - Forma-A: DNA em baixa hidratação
  - Forma-B: Mais usual. DNA em alta hidratação em soluções aquosas. Condições fisiológicas
  - Forma-Z: DNA com regiões ricas em G-C.
- Forças estabilizantes do duplex.
  - Pontes de hidrogênio
  - vertical base-base interações hidrofóbicas.



0.34 nm

minor  
groove

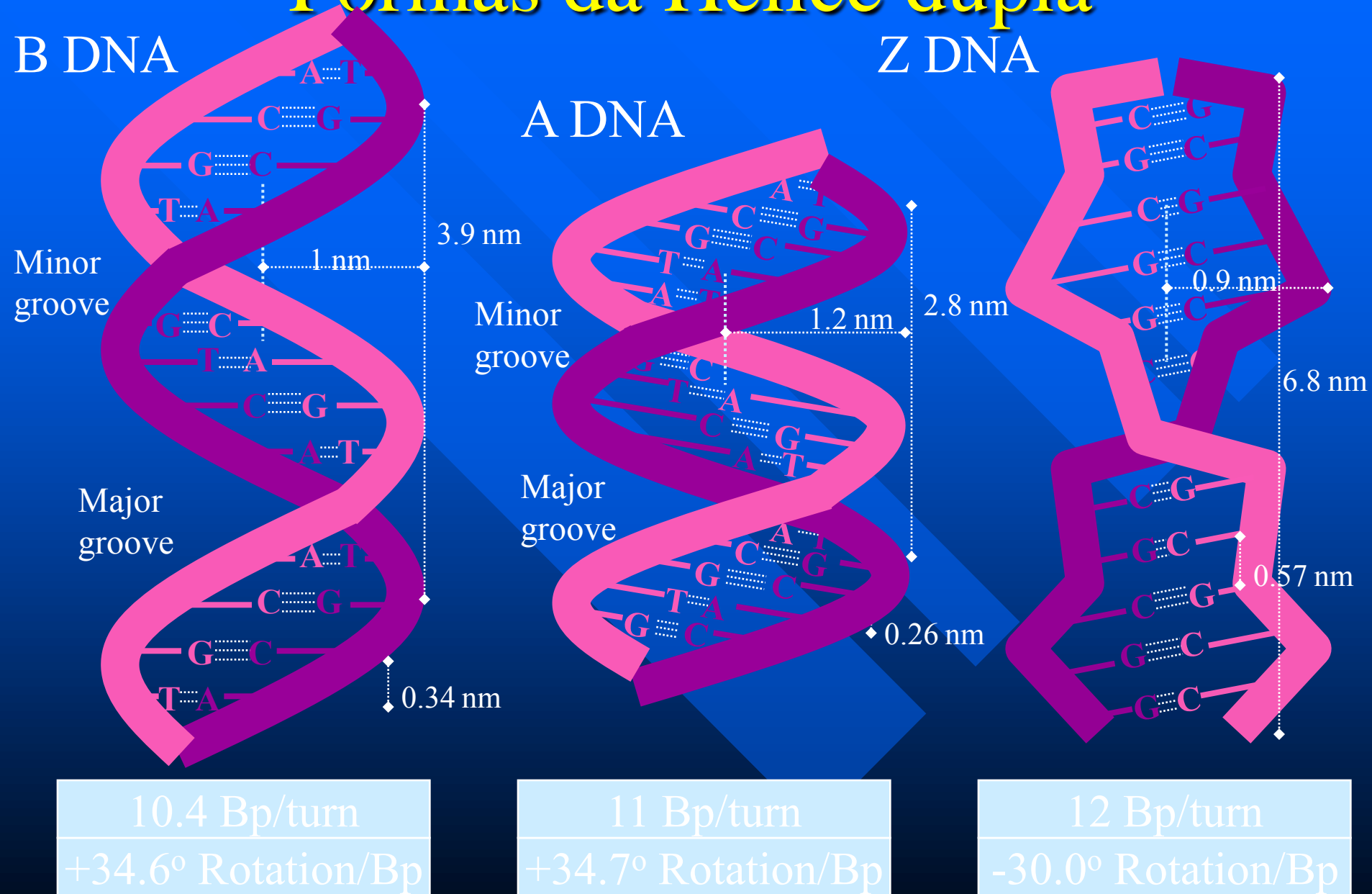
major  
groove

= é maior

10 nucleotideos  
por volta = 34Å

2 nm

# Formas da Hélice dupla



Se timina perfaz 15% das bases em uma certa fita de DNA, qual seria a percentagem de citosina neste mesmo DNA?



Se timina perfaz 15% das bases em uma certa fita de DNA, qual seria a percentagem de citosina neste mesmo DNA?

timina = 15%, então adenina = 15%

$A + T = 30\%$ , então  $G + C = 70\%$

Assim, citosina é  $1/2$  of  $70\%$ , = 35%

Um certo segmento de DNA tem a seguinte sequência de nucleotídeos em uma fita :

5' ATTGGCTCT 3'

Qual seria a sequência da outra fita nas direções 5' e 3'?

Um certo segmento de DNA tem a seguinte sequência de nucleotídeos em uma fita :

**5' ATTGGCTCT 3'**

Qual seria a sequência da outra fita nas direções 5' e 3'?

Escrevendo na mesma direção : 3' TAACCGAGA 5'

Escrevendo de 5' para 3': 5' AGAGCCAAT 3'

Quantas bases existem em 2 kb (2000 pares de bases) de DNA?

Quantas bases existem em 2 kb  
(2000 pares de bases) de DNA?

4000 bases.

Para a fita de DNA 5'-TACGATCATAT-3' a correta fita complementar de DNA é:

A 3'-TACGATCATAT-5'

B 3'-ATGCTAGTATA-5'

C 3'-AUGCUAGUAUA-5'

D 3'-GCATATACGCG-5'

E 3'-TATACTAGCAT-5'

**A resposta correta é:**

**B 3'-ATGCTAGTATA-5'**

**5'-TACGATCATAT3'**

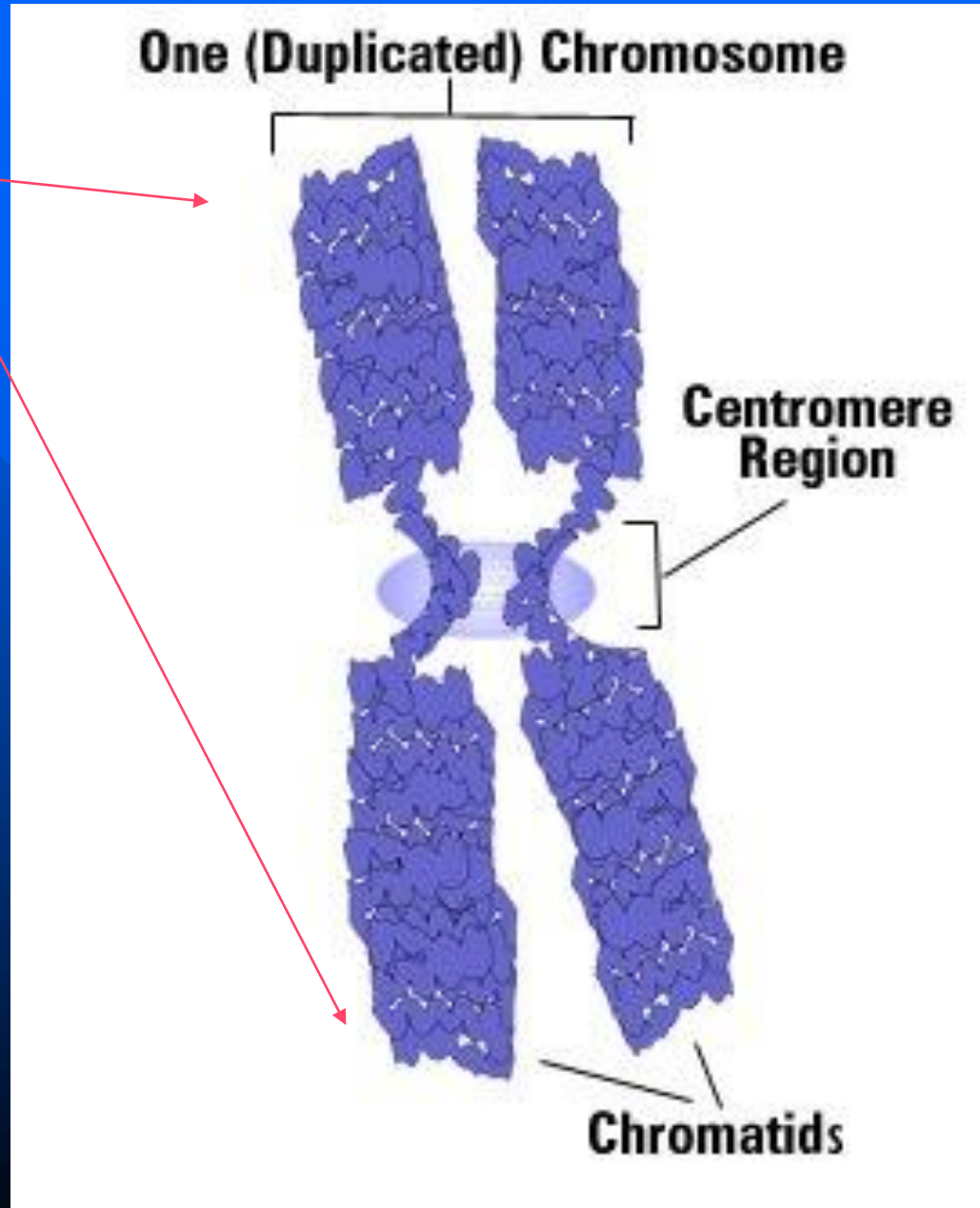
**3'-ATGCTAGTATA5'**

# ESTRUTURA DO CROMOSSOMO



# A estrutura de um cromossomo

Telomeros



# Cromossomos

- DNA é empacotado em cromossomos individuais (com proteínas)
- *procariotos* (organismos unicelulares sem núcleo) tem cromossomo único circular.
- *eucarioto* (organismos com núcleo) tem um número específico de cromossomos por espécie

# Características do Cromossomo

- Os cromossomos variam em número entre as espécies.
- Algas e fungos são haplóides; maioria dos animais e plantas são diplóides. Seres humanos tem 23 pares, vacas tem 39, carpas tem 52 e crocodilos tem somente 16 pares!
- Os cromossomos variam em tamanho dentro das espécies. No genoma humano existe uma diferença de quatro vezes no tamanho dos cromossomos

# Curiosidades:

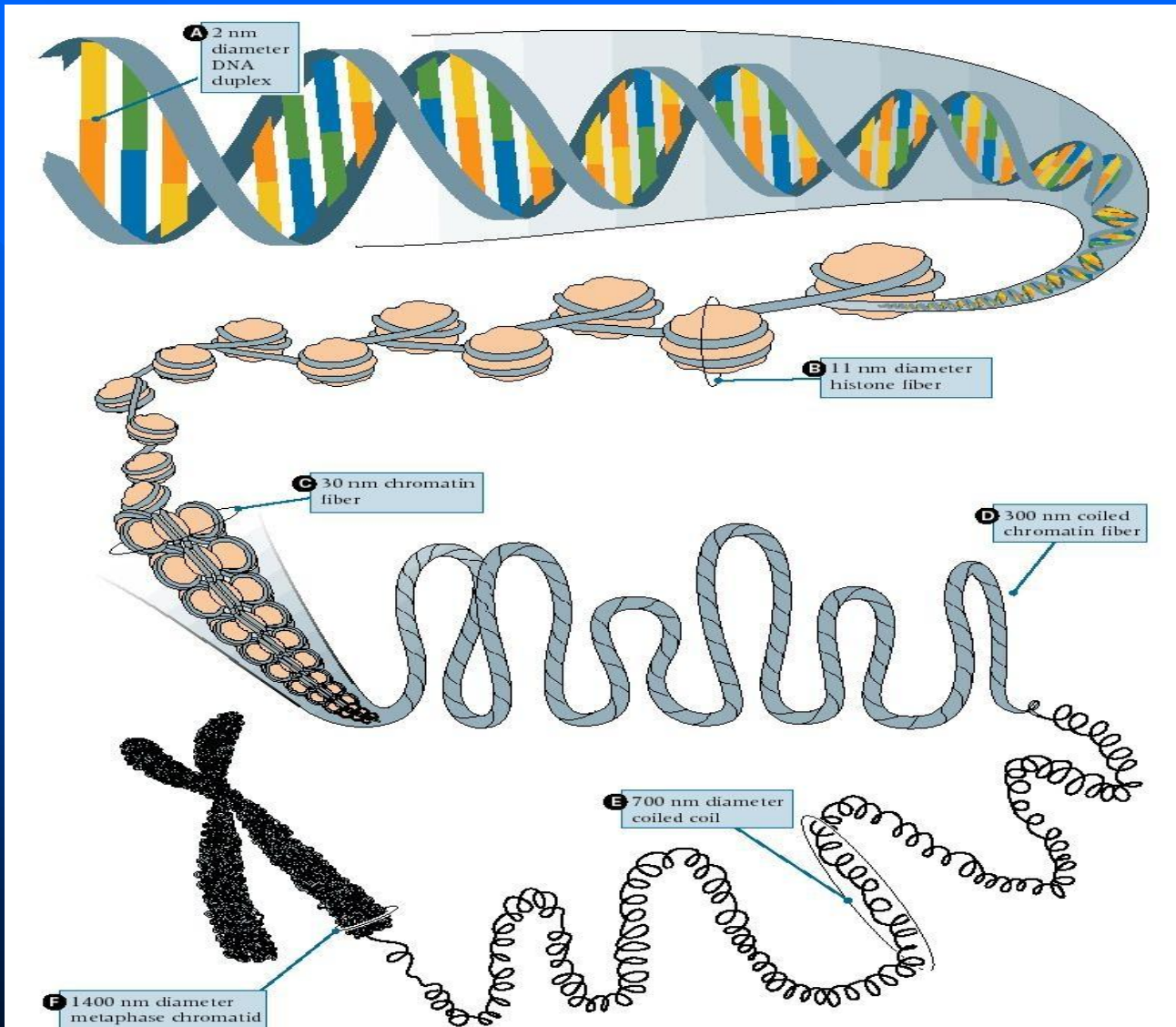
- O genoma humano completo contém 2 metros de DNA (todos os 46 cromossomos) em cada célula.
- Os 2 metros de DNA têm que ser empacotado dentro do núcleo com um diâmetro de ~6  $\mu\text{m}$ .

- Existem cerca de  $10^{13}$  células nos seres humanos.
- A distância da terra ao sol é de  $1,5 \times 10^{11}$  m.
- Existe bastante DNA no ser humano para ser esticado da terra ao sol e voltar cerca de 50 vezes!

# Como é feito este extraordinário empacotamento?

- Cromossomos!!

# Nível de organização do DNA



# Empacotamento do cromossomo a nível molecular

- Cada cromossomo contém uma única molécula de DNA
- Este DNA é enrolado em torno de proteínas pequenas chamadas histonas.
- Histonas constituem  $\sim 1/3$  da massa total do cromossomo
- Essas proteínas são ricas em resíduos de lisina e arginina, tornando-as altamente positivamente carregadas a pH 7 (e altos pIs  $\sim 12$ )



# Histonas

- Existem 5 histonas variantes principais: H1, H2A, H2B, H3 and H4.
- Cada duas moléculas de H2A + H2B + H3 + H4 perfazem um octômero sobre o qual o DNA se enrola com 1,7 volta.
- Esta estrutura é conhecida com nucleossomo.
- Cada nucleossomo tem uma H1 associada e uma sequencia 'espaçadora' de DNA.

# Histonas

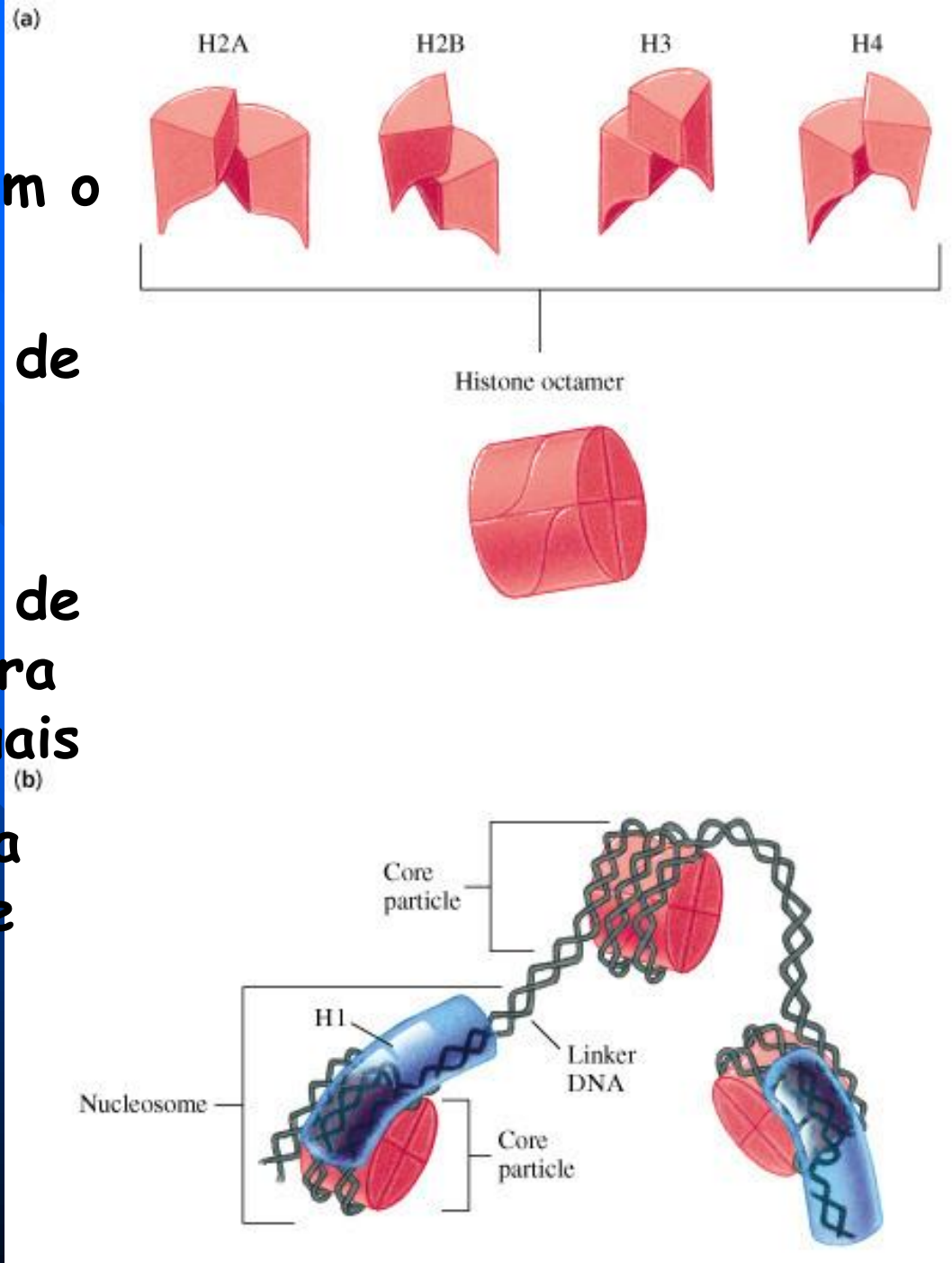
- A principal força que mantém a associação das histonas ao DNA é eletrostática.
- Para separar as histonas do DNA, o cromossomo é tratado com soluções de alta força iônica. A alta concentração de sais reduz as interações eletrostáticas e as proteínas se dissociam do DNA.

•4 histonas (H2A, H2B, H3, H4) formam o octomero

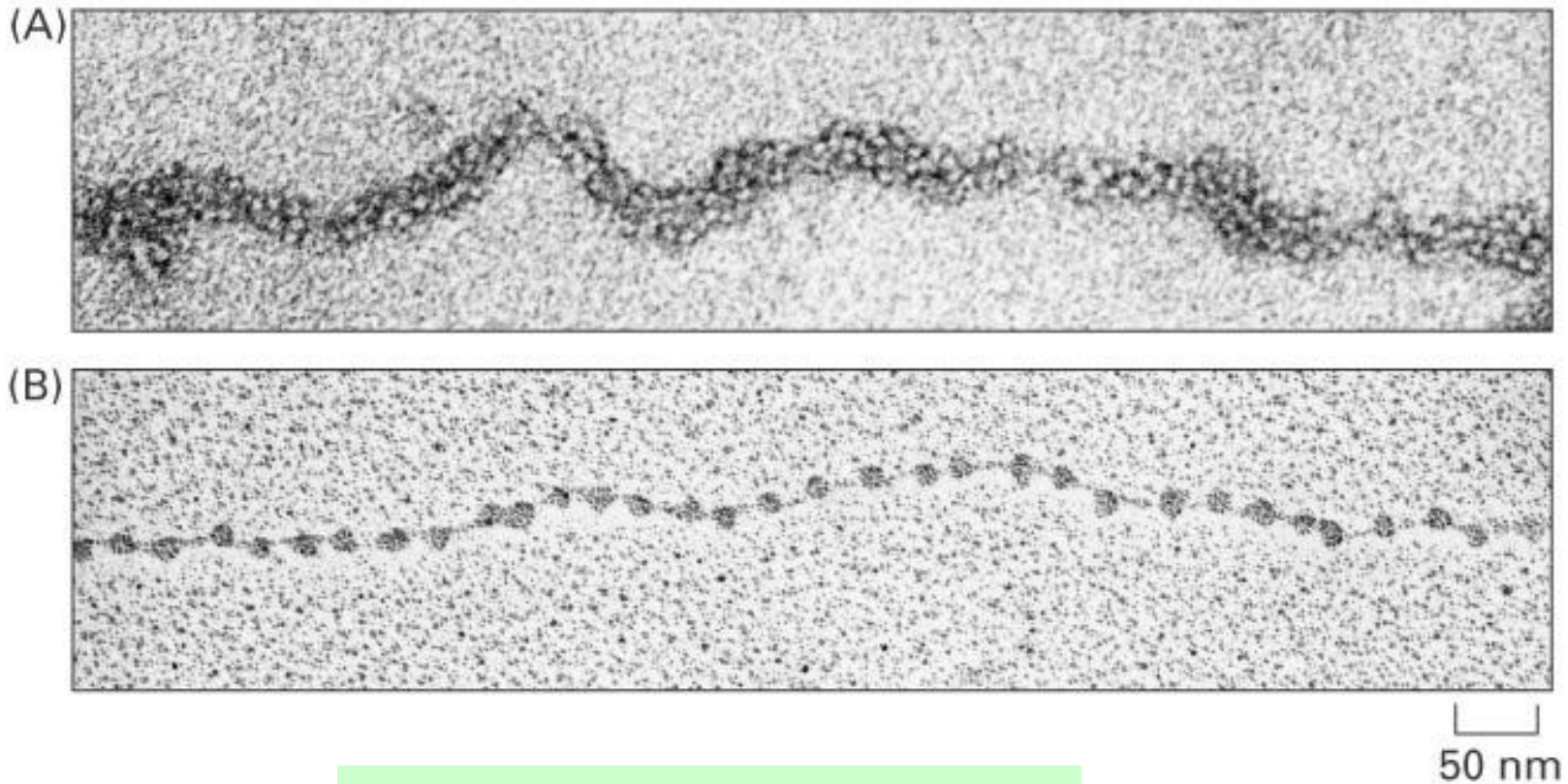
•200 pares de bases de DNA envolvem o octomero

•146 pares de bases de DNA espaçador separa nucleossomos individuais

•H1 está envolvida na estrutura de DNA de segunda ordem.



30 nm fibers



individual nucleosomes =  
“beads on a string”

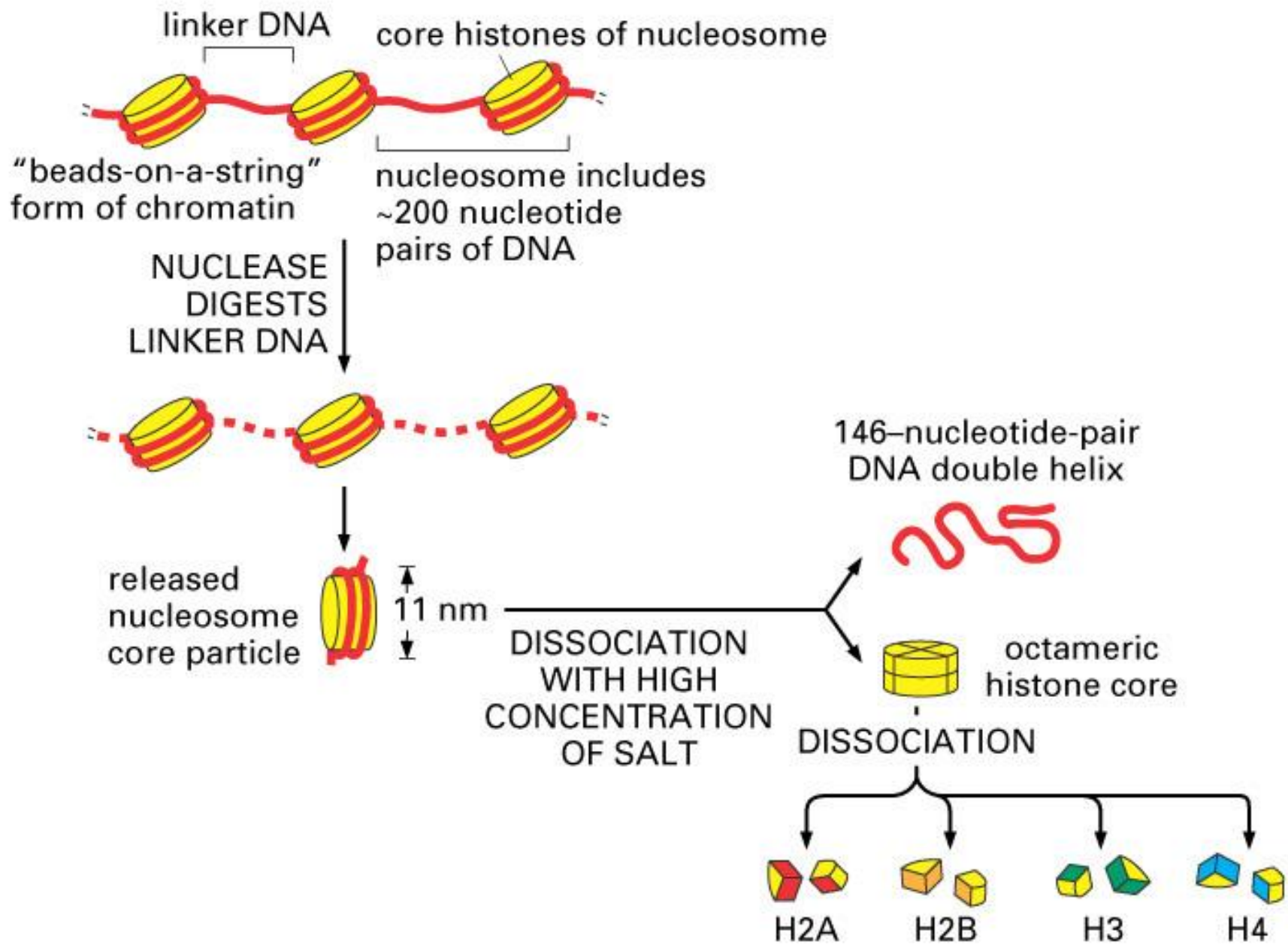


Figure 5-22 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

## As células podem rapidamente ajustar o acesso ao DNA:

Complexos proteicos usam ATP para mudar a estrutura dos nucleossomos tornando o DNA acessível às proteínas envolvidas na replicação, reparo e expressão gênica.



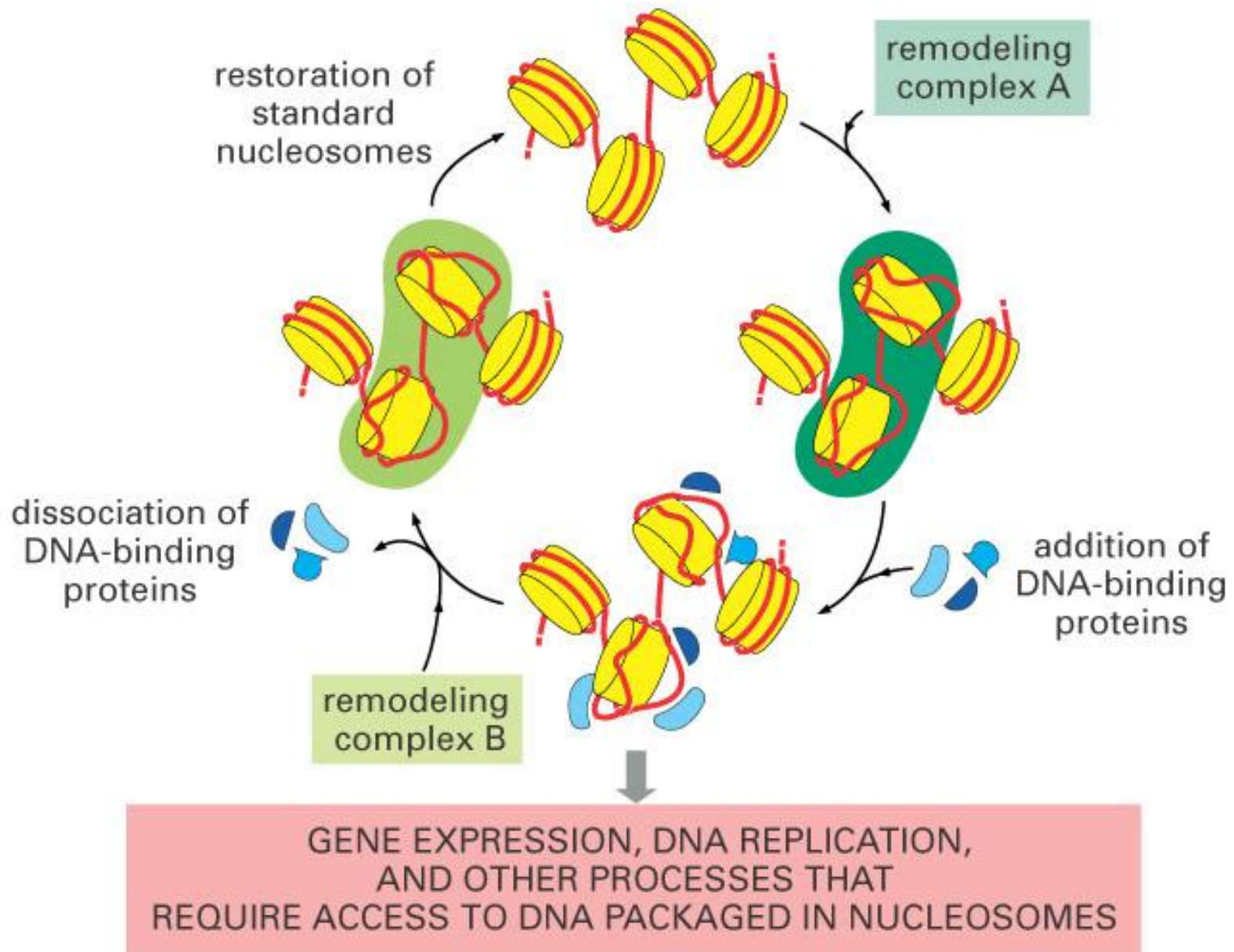
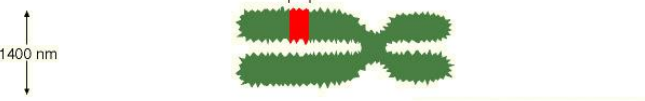
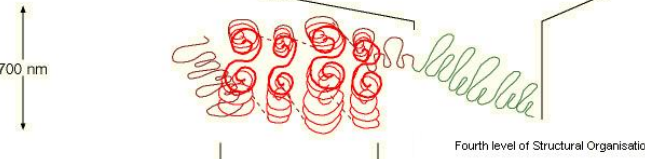
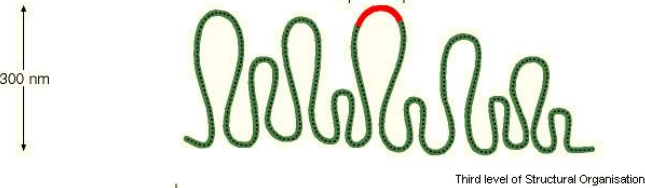
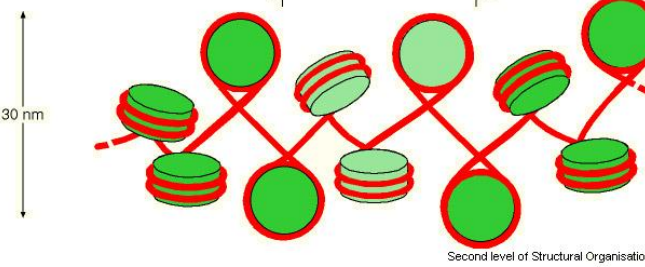
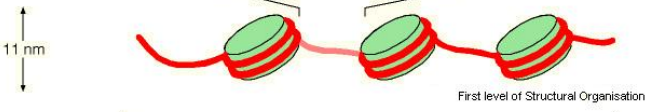
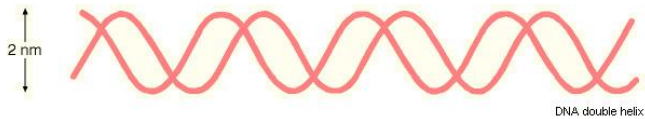


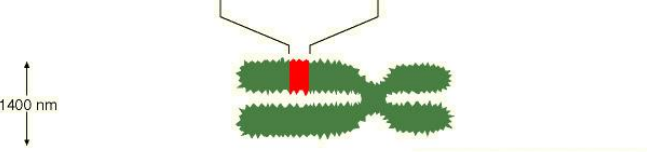
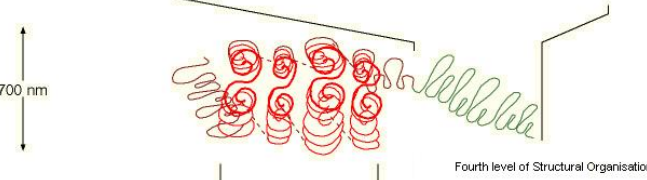
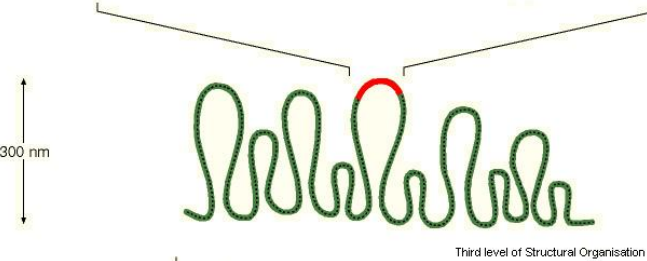
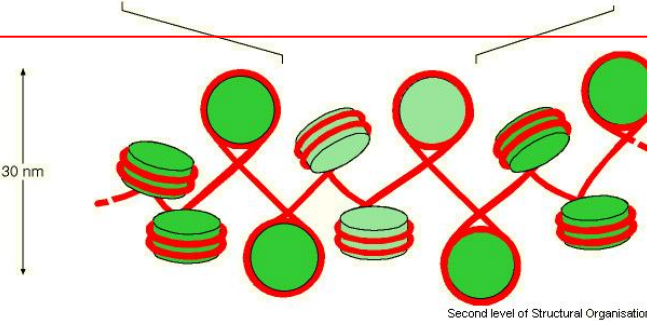
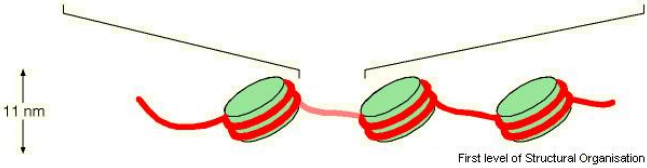
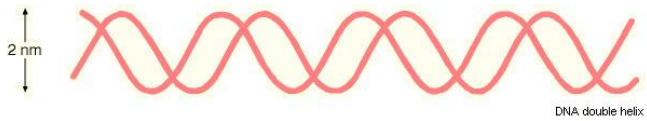
Figure 5-29 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)



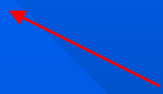
Compactação de DNA  
de primeira ordem

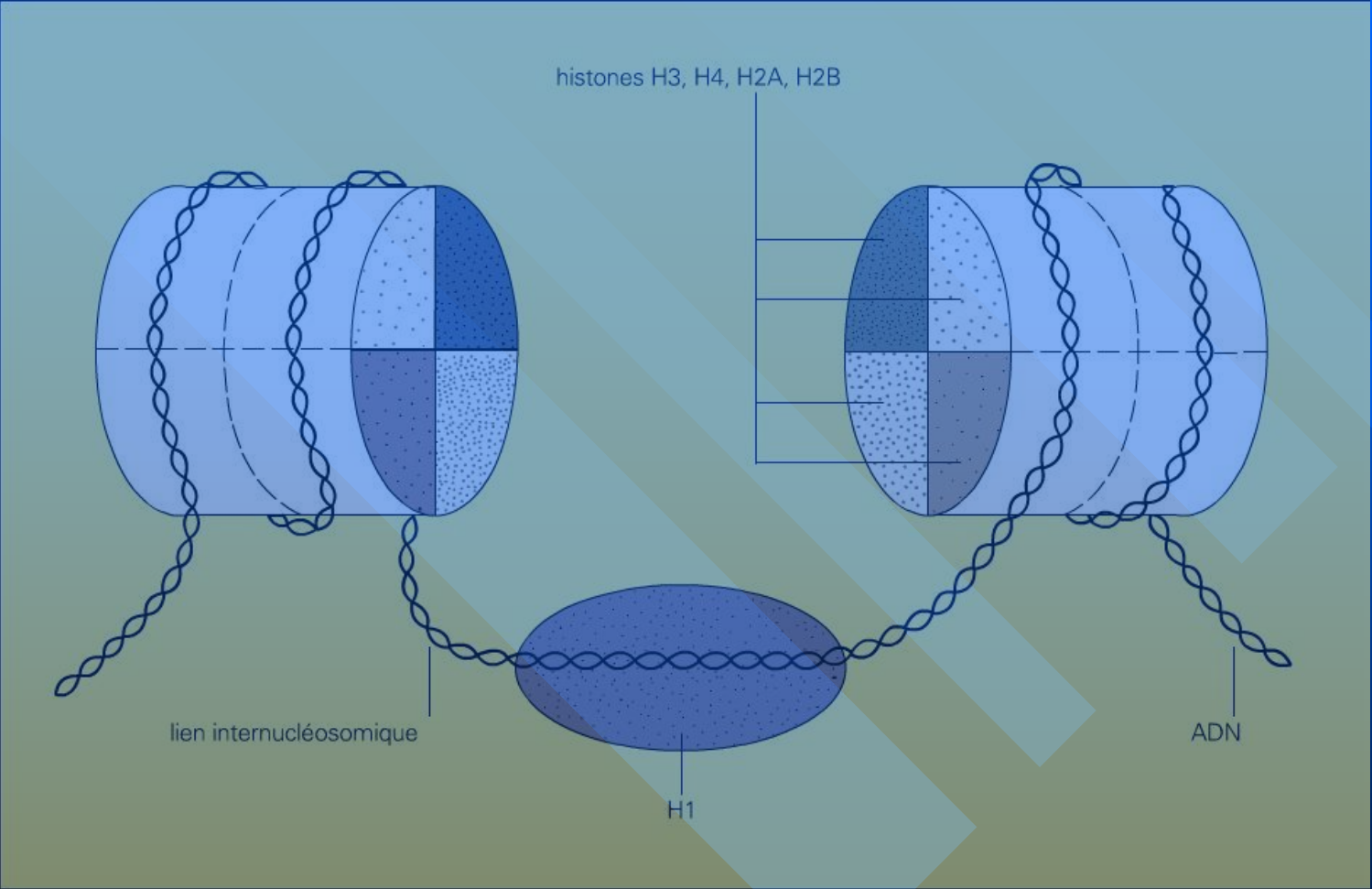
Nucleossomos



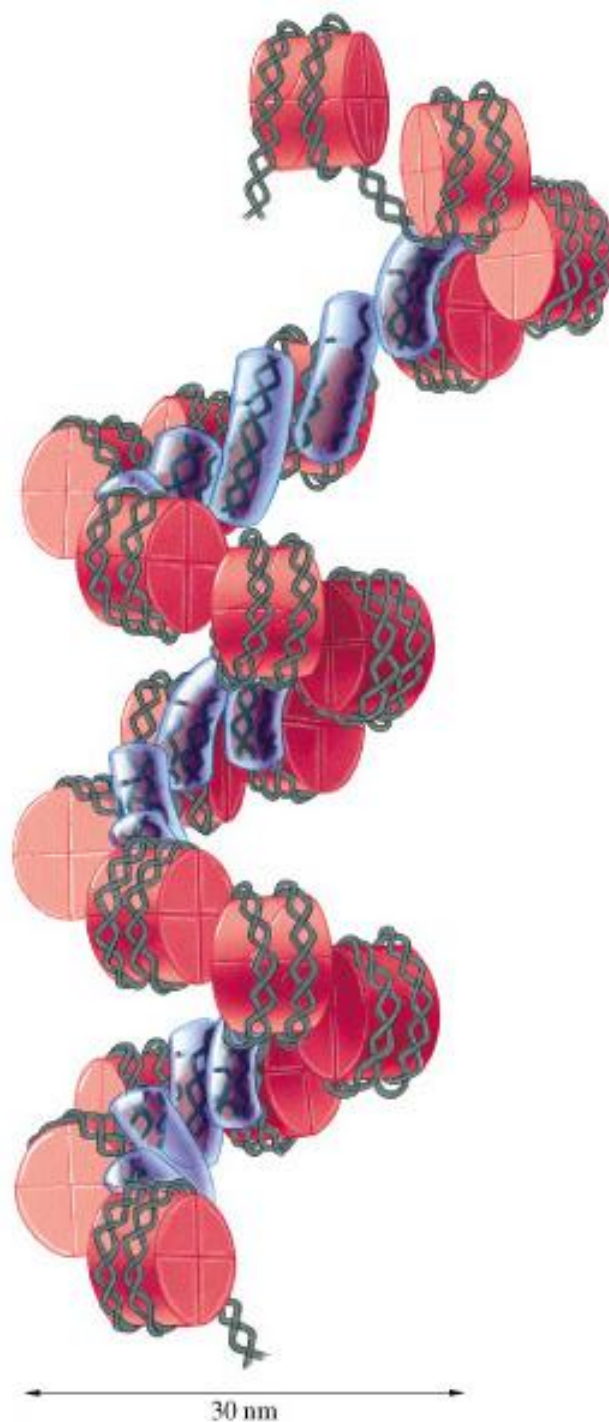


# Compactação de DNA de segunda ordem



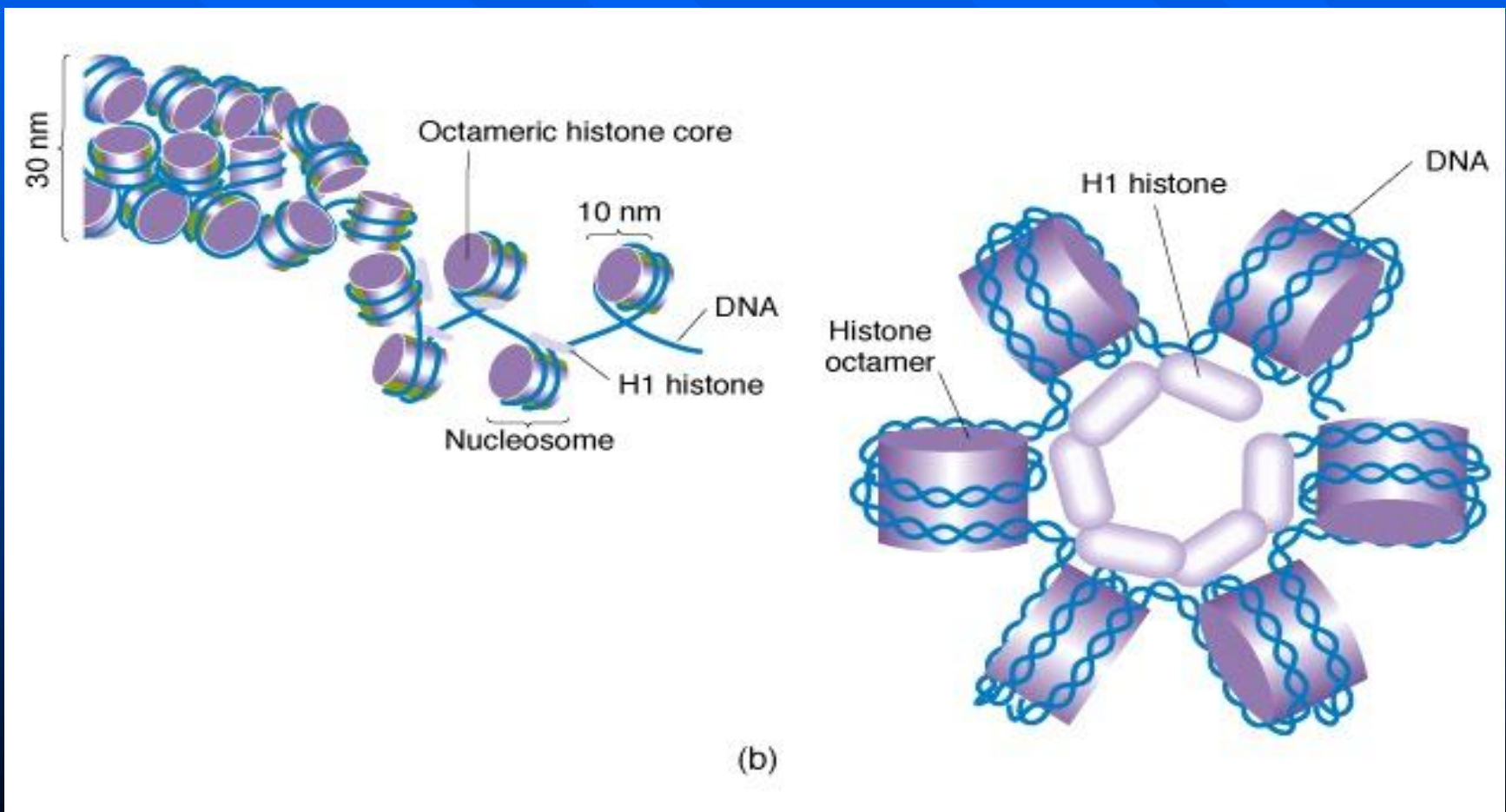


# Estrutura em Solenóide



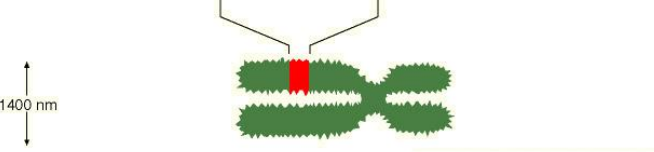
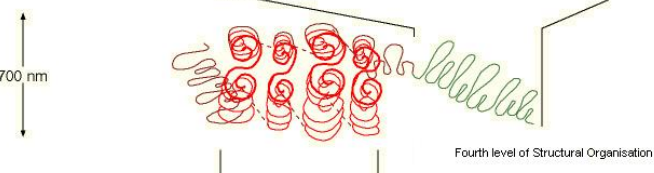
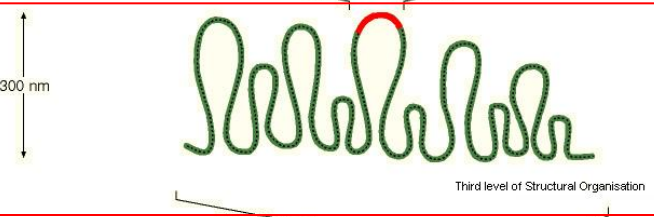
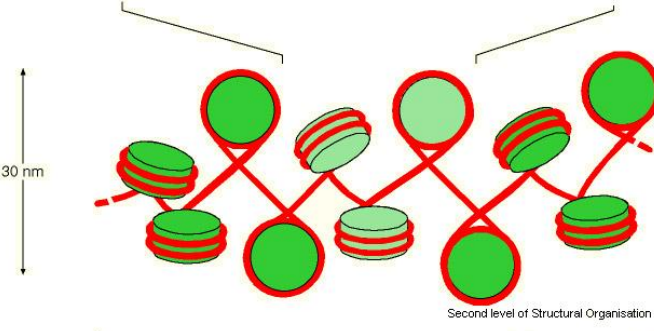
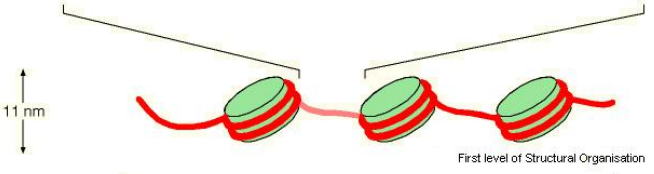
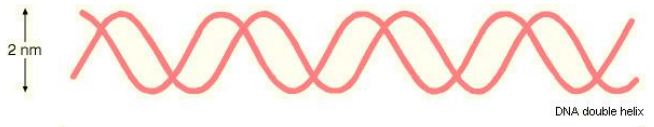
# Estrutura Secundária

- H1 : essencial para a estrutura da solenóide

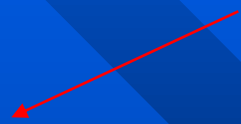


# Estrutura secundária: pontos essenciais

- A Solenóide é estabilizada pelas histonas H1
- H1 tem uma forma globular que se liga ao DNA entre os nucleossomos
- As duas extremidades de H1 se conectam com os nucleossomos adjacentes
- 1 volta da solenoide = 6 nucleossomos



# Compactação de DNA de terceira ordem





# Estrutura Terciária

- Fibras de cromatina enovelada de 300 nm
- Proteínas diferentes das histonas (~30% das proteínas cromossômicas) podem estar envolvidas no processo.

## ■ Proteínas diferentes das histonas

- Outras proteínas que são associadas com os cromossomos
- Muitos tipos diferentes em uma célula; altamente variáveis em tipos celulares, organismos e em diferentes momentos no mesmo tipo de célula.
- Quantidade varia
- Podem estar envolvidas na compactação ou com outras funções que requerem interação com o DNA
- Muitas são negativamente carregadas; ligam-se às histonas; ligação pode ser transiente.

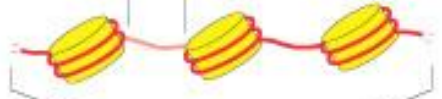


short region of  
DNA double helix



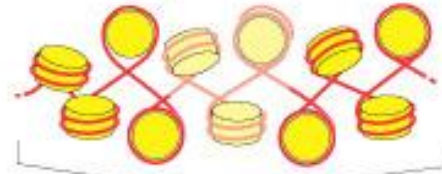
2 nm

"beads-on-a-string"  
form of chromatin



11 nm

30-nm chromatin  
fiber of packed  
nucleosomes



30 nm

section of  
chromosome in  
extended form



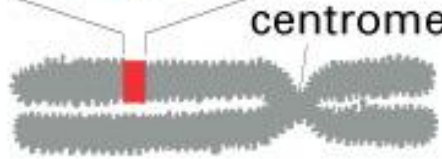
300 nm

condensed section  
of chromosome



700 nm

entire mitotic  
chromosome



centromere

1400 nm

**NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH**

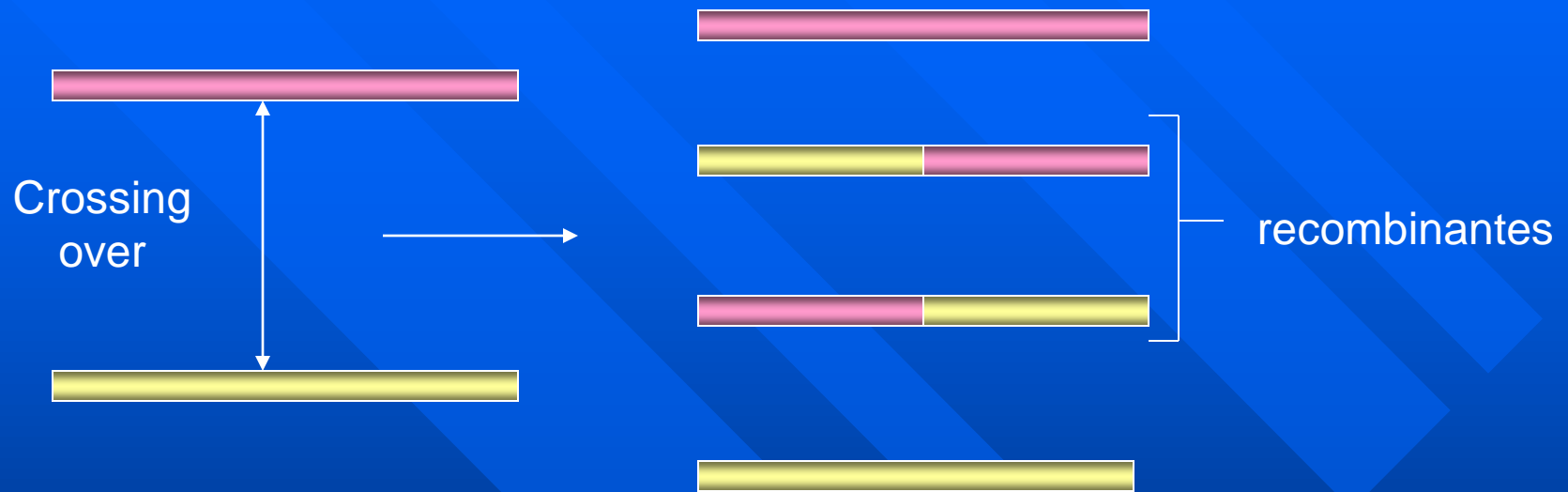
# RECOMBINAÇÃO HOMÓLOGA ou CROSSING-OVER

Definição: Formação de novas combinações gênicas (cromossômicas) como resultado de troca física de material genético entre os cromossômos homólogos (cromátides não-irmãs) durante a meiose (prófase I).

## Crossing-over

- A troca física de material cromossômico entre cromátides de cromossomos homólogos.
- Resultado: Geração de novas combinações de genes (alelos).
- Gera diversidade gênica

# O que é Recombinação?

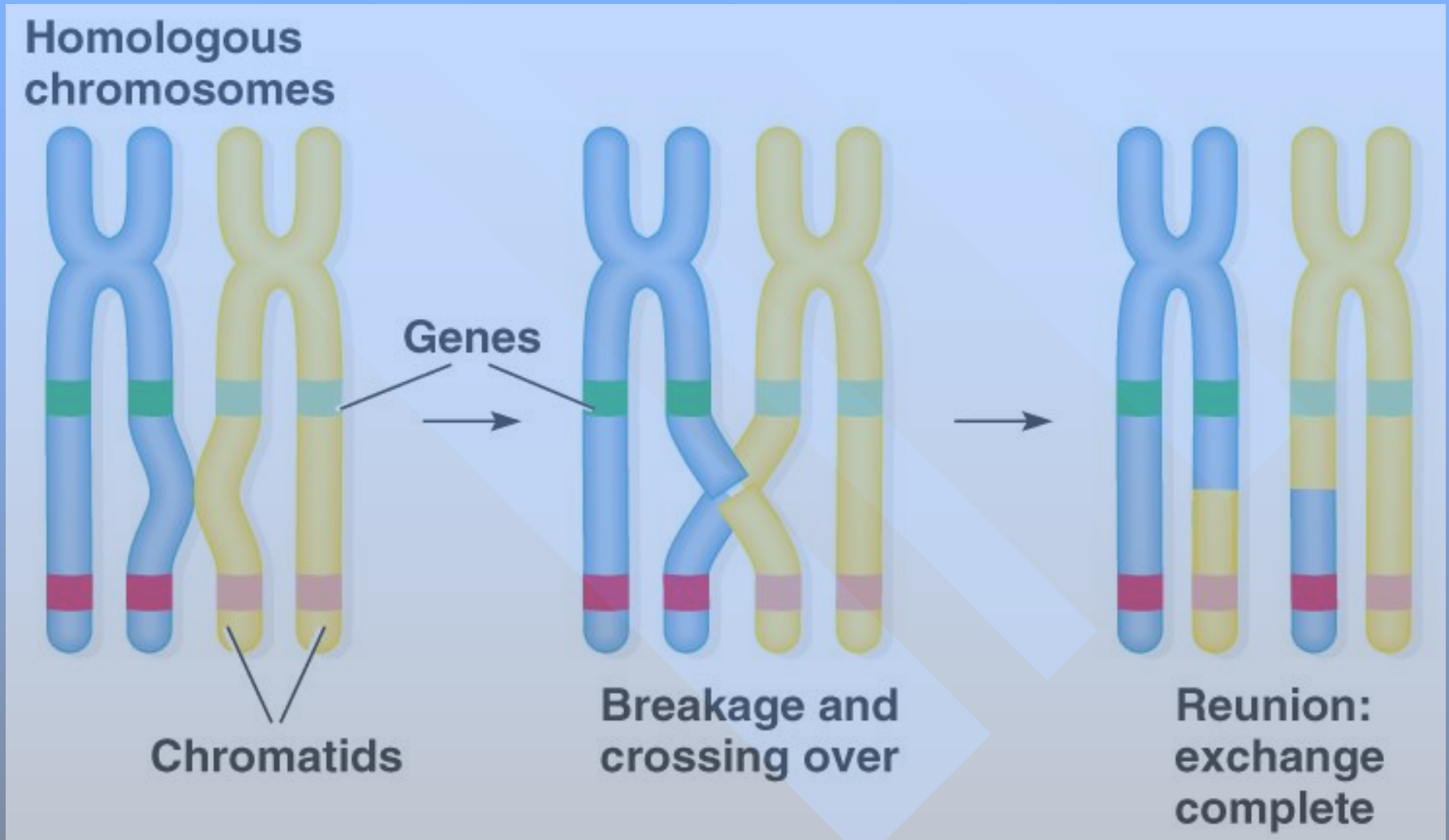


Sequencias parentais

Sequencias parentais e  
recombinantes

Obviamente as duas fitas de DNA estão na mesma célula

**Fig. 13.2, Mechanism of crossing-over gives rise to recombinant (non-parental) genotypes and phenotypes for linked genes.**



# Quiasma

Crossing over  
ou eventos de  
recombinação  
criam quiasma

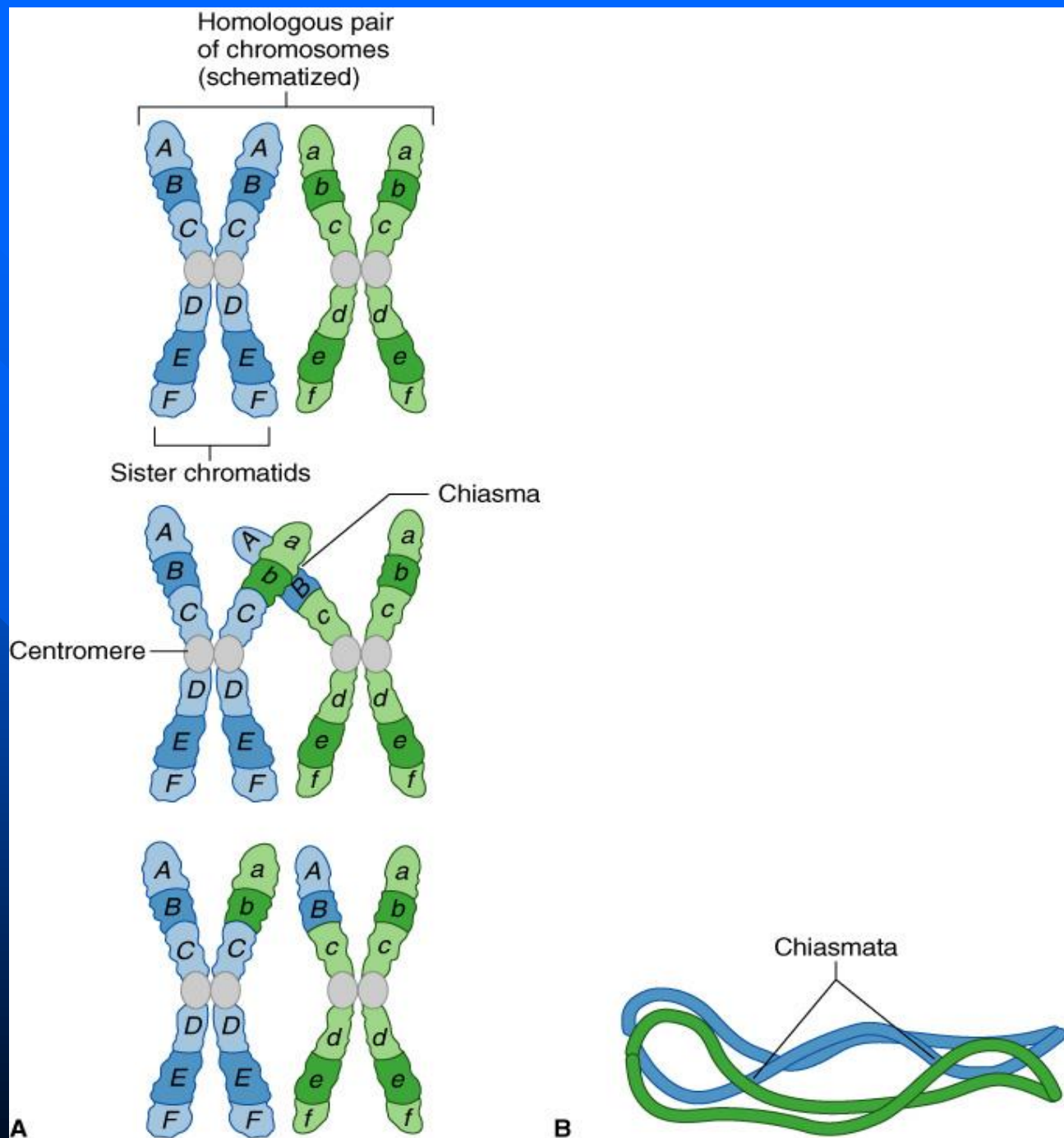
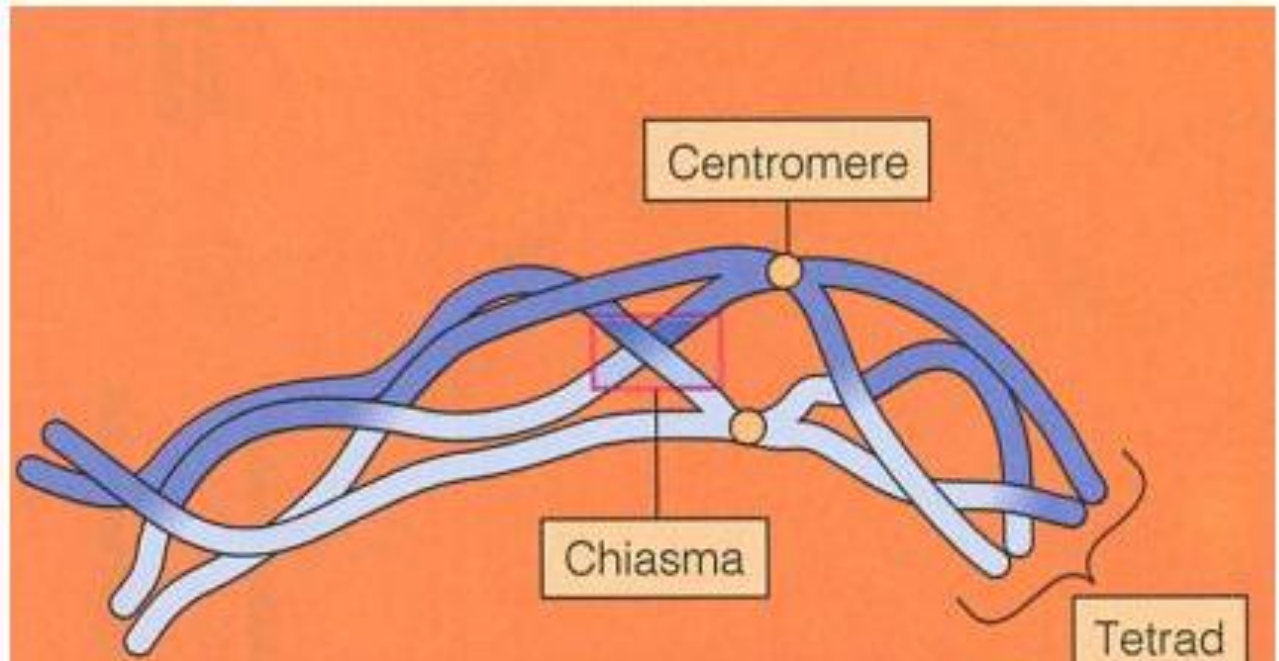
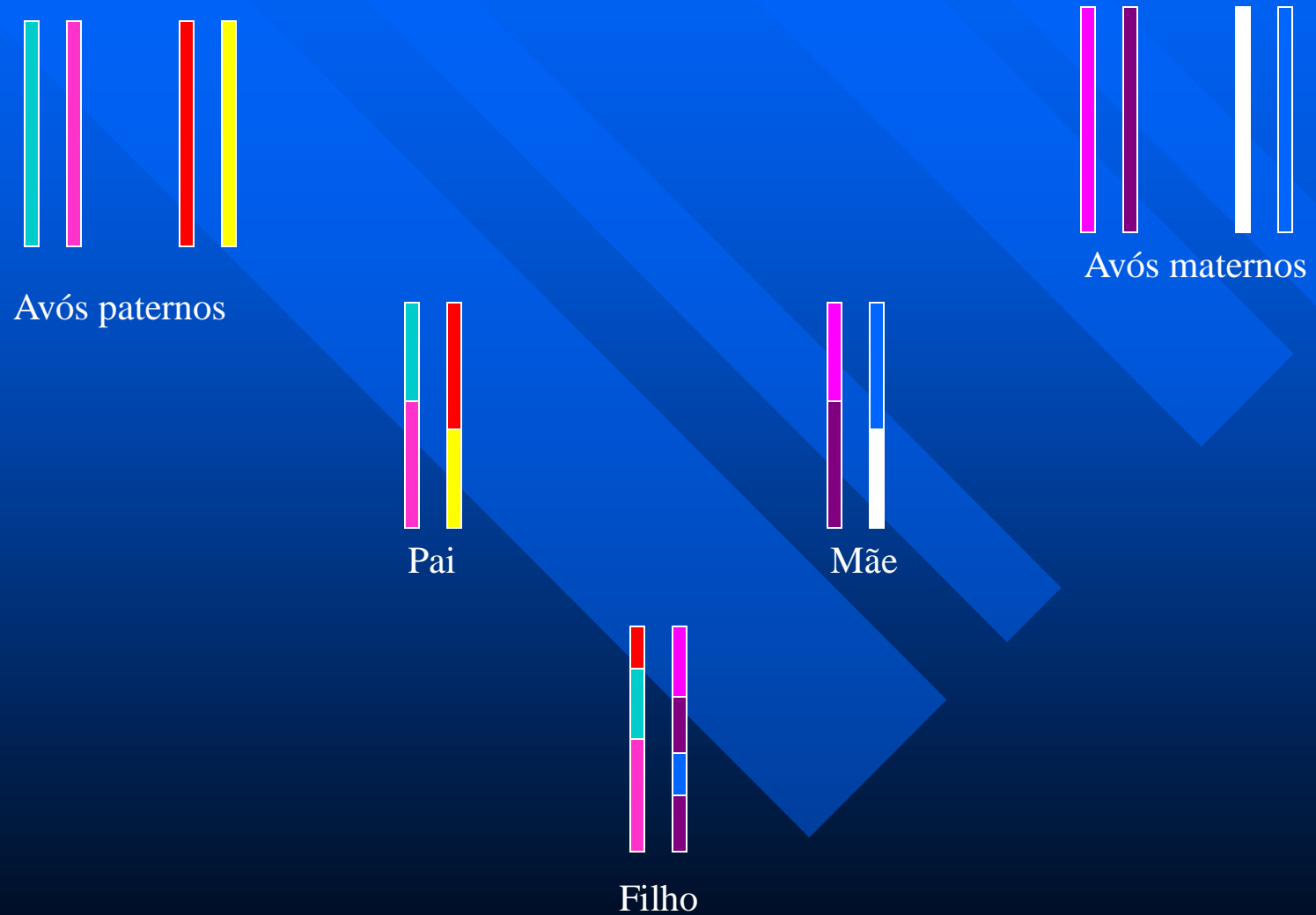




Fig 2.21



# Padrão de recombinação em uma família





Recombinação homóloga (crossing-over) – resulta em uma troca exata de informação genética.

Os mesmos princípios básicos em todos os organismos:

- 1) Dois homólogos, moléculas de fita dupla se alinham, e uma fita de cada uma das duas moléculas se quebra e se juntam = “crossing over”
- 2) O sítio de troca pode ocorrer em qualquer lugar nas sequências nucleotídicas homólogas.
- 3) Nenhuma sequência é alterada no sítio de troca = a religação é precisa.

# Efeito do Crossing Over

- Recombinação genética
- Após o crossing over, cada cromossomo conterá segmentos maternos e paternos  
Cria-se novas combinações de alelos e posterior variação na prole.



FIM