

# Estrutura e Organização do DNA pt2

*Rafael H.F. Valverde*

*[valverde@nano.ufrj.br](mailto:valverde@nano.ufrj.br)*

*Laboratório de Biomembranas G-37*

Biologia Celular para Nanotecnologia  
IBCCFº UFRJ

Abril 2022



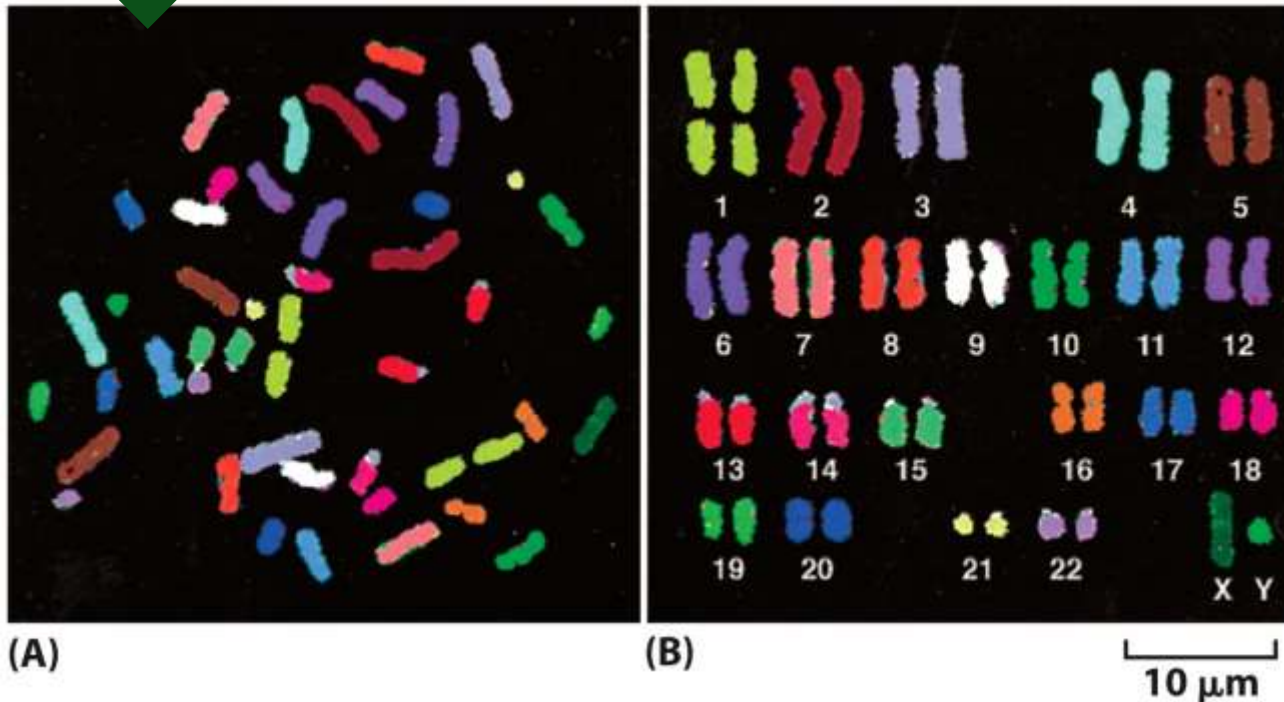
# A Compactação do DNA

como compactar um genoma de 46 cromossomos (2 m) em 6  $\mu\text{m}$  de diâmetro do núcleo?

associação com proteínas: dobram e retorcem o **DNA**

condensação e descondensação localizada e dinâmica! (replicação, reparo, expressão gênica, etc)

cromossoma 22: compactação de 10000x (1,5  $\mu\text{m}$ )

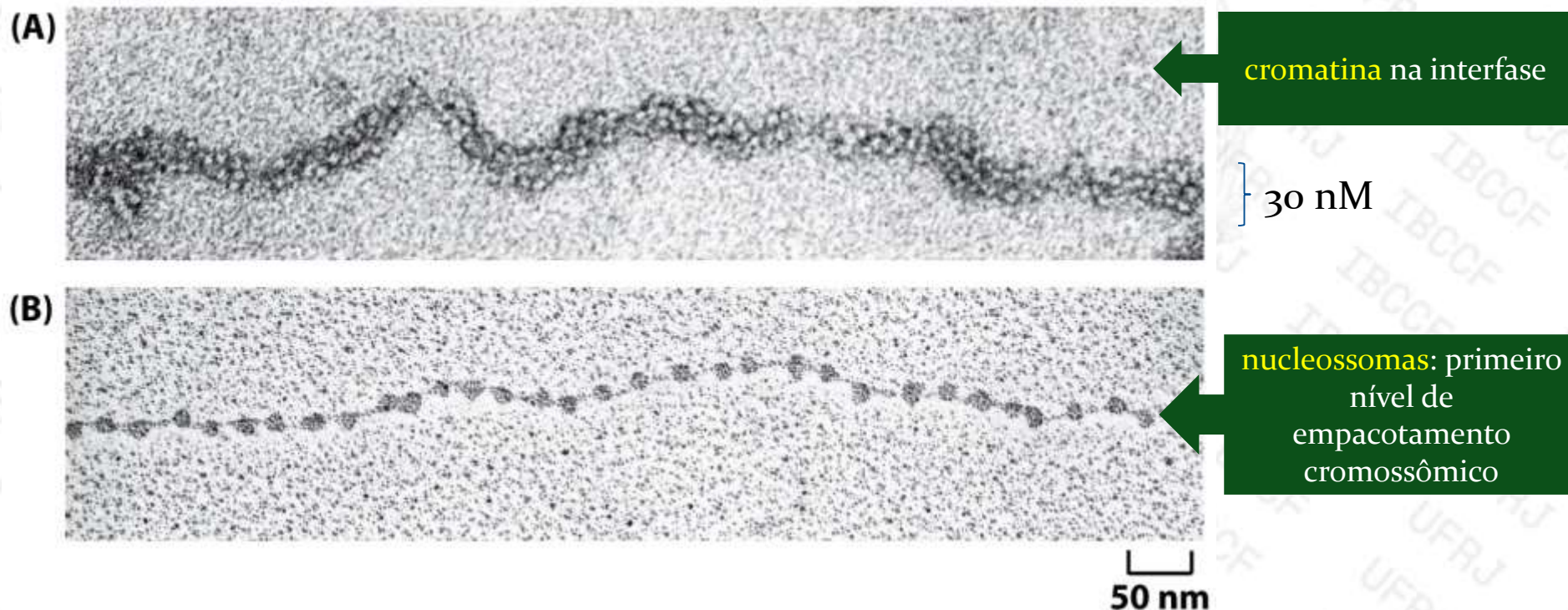


# Nucleossomas ao Microscópio

compactação graças a duas classes de proteínas: **histonas** e **não-histonas**

cromatina: complexo **DNA + proteínas**

massa do **DNA** = massa de **histonas**

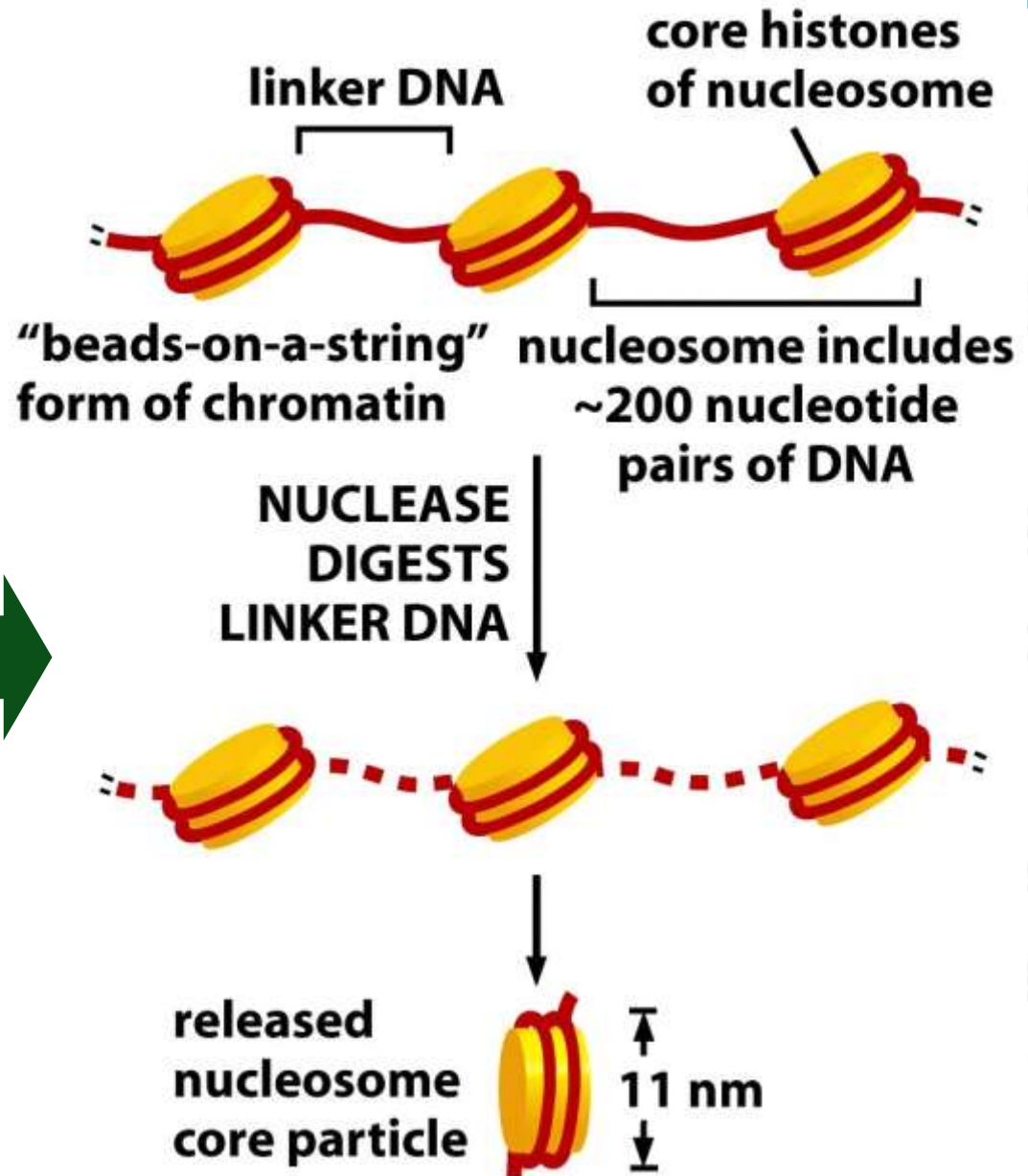




# A Organização Estrutural dos Nucleossomas

organização dos **nucleossomas** foi determinada utilizando **nucleases**

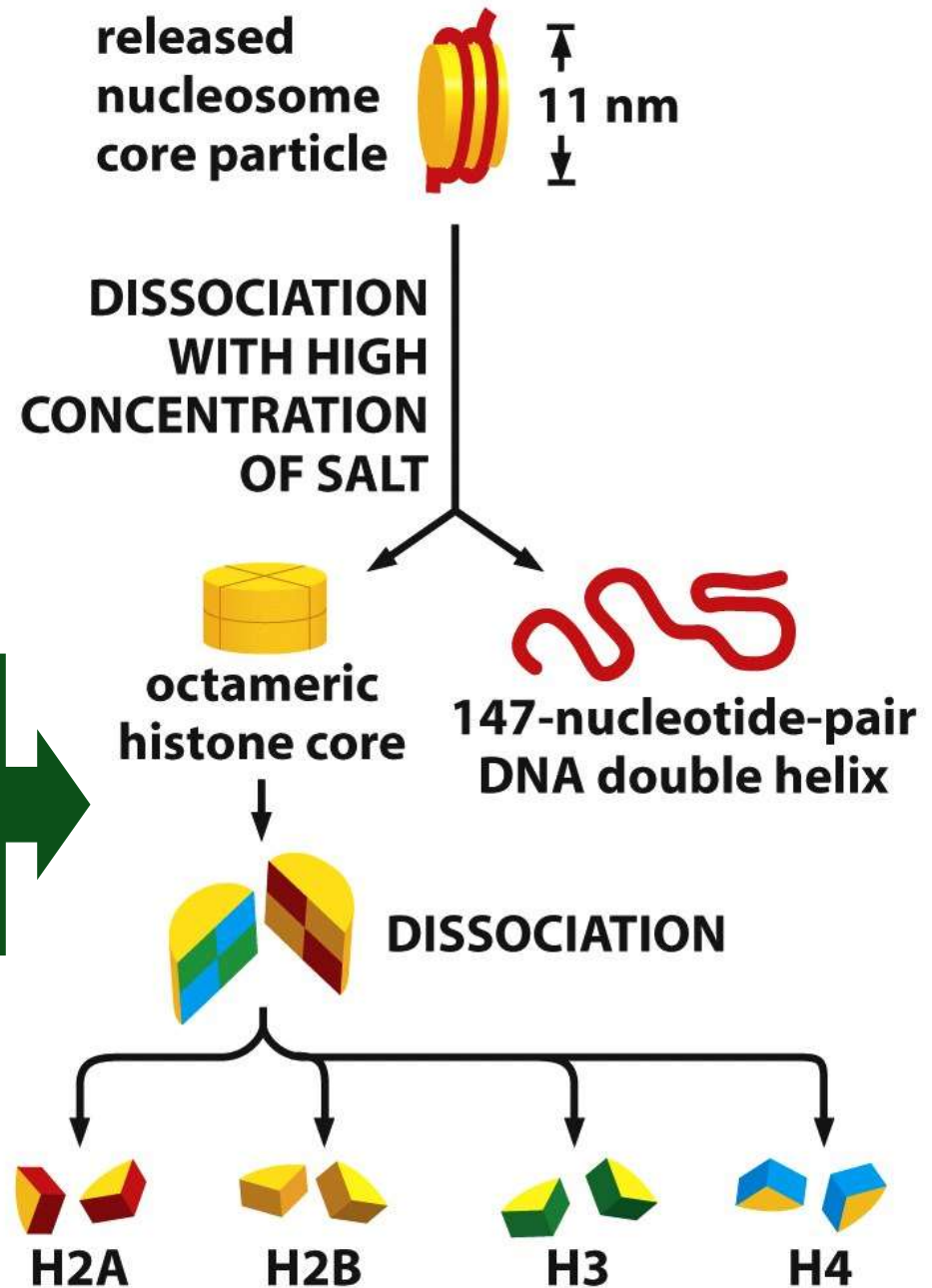
**nucleossomas**: core particle com 147 pares de nucleotídeos envolvendo 8 **histonas**  
+  
**linker DNA**



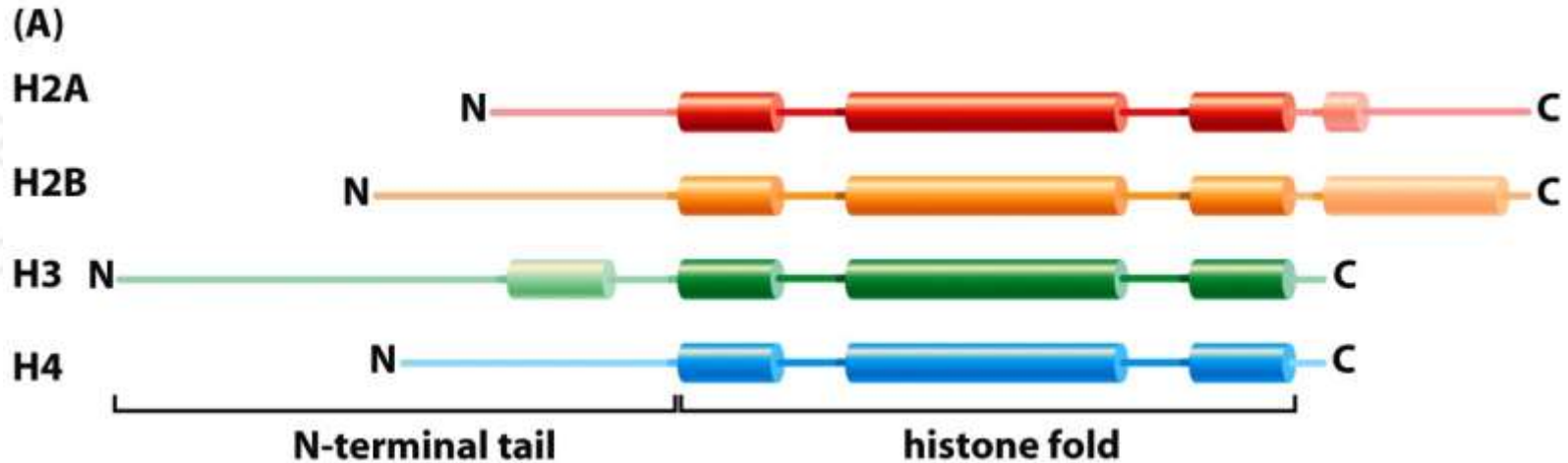
# A Organização Estrutural dos Nucleossomas

**nucleossoma** é empacotado por um octâmero de **histonas**:  
2 H<sub>2</sub>A, 2 H<sub>2</sub>B, 2 H<sub>3</sub>, 2 H<sub>4</sub>

além de um comprimento de **DNA** fita dupla contendo 147 pares de bases + **DNA linker**



# A Organização Estrutural das Histonas



motivos conservados:  
motivo de enovelamento das **histonas**  
e **cauda N-terminal**

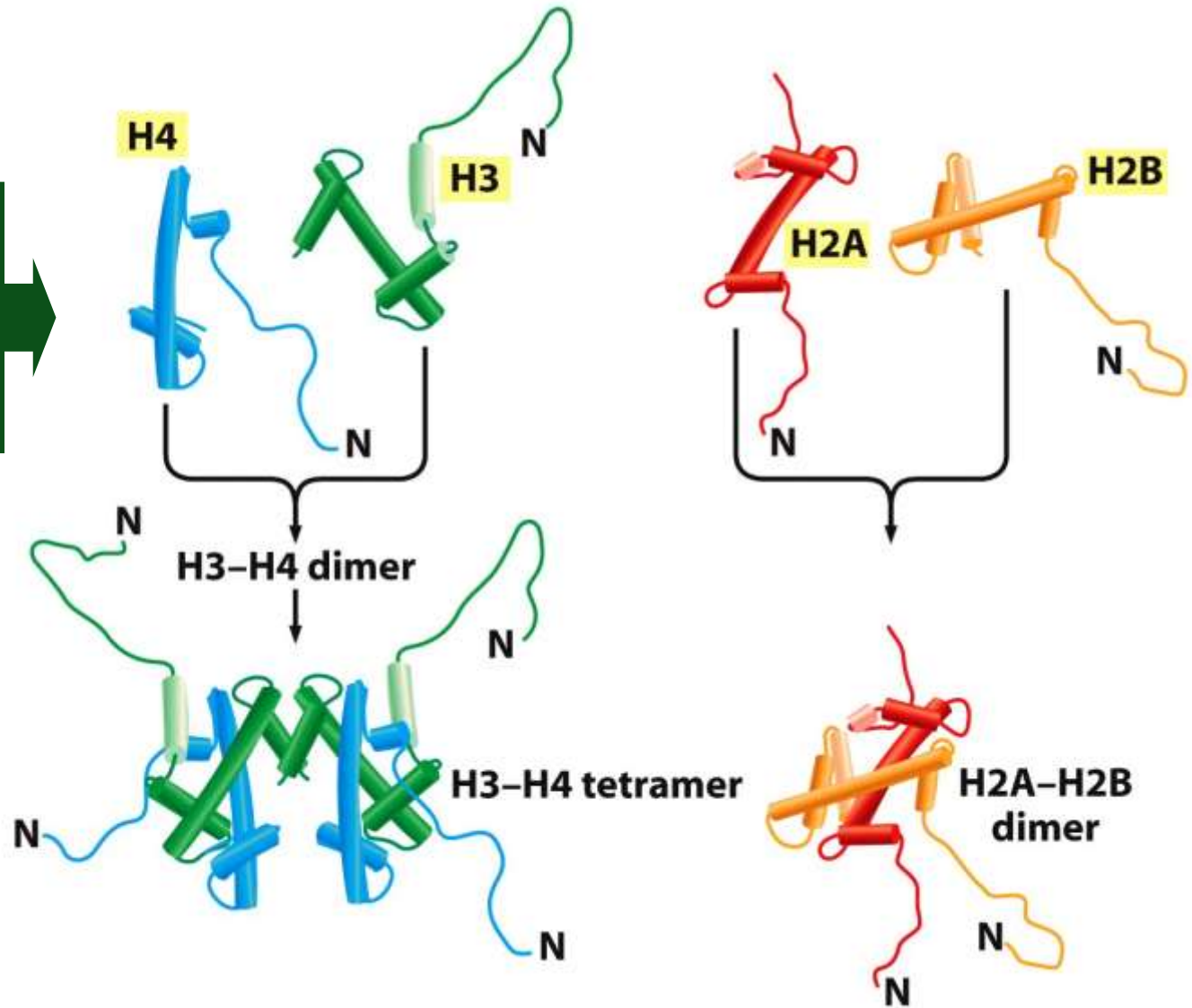
**caudas** são sujeitas a modificações pós-traducionais  
(mudanças estruturais e funcionais)



# A Montagem de um Octômero de Histonas no DNA

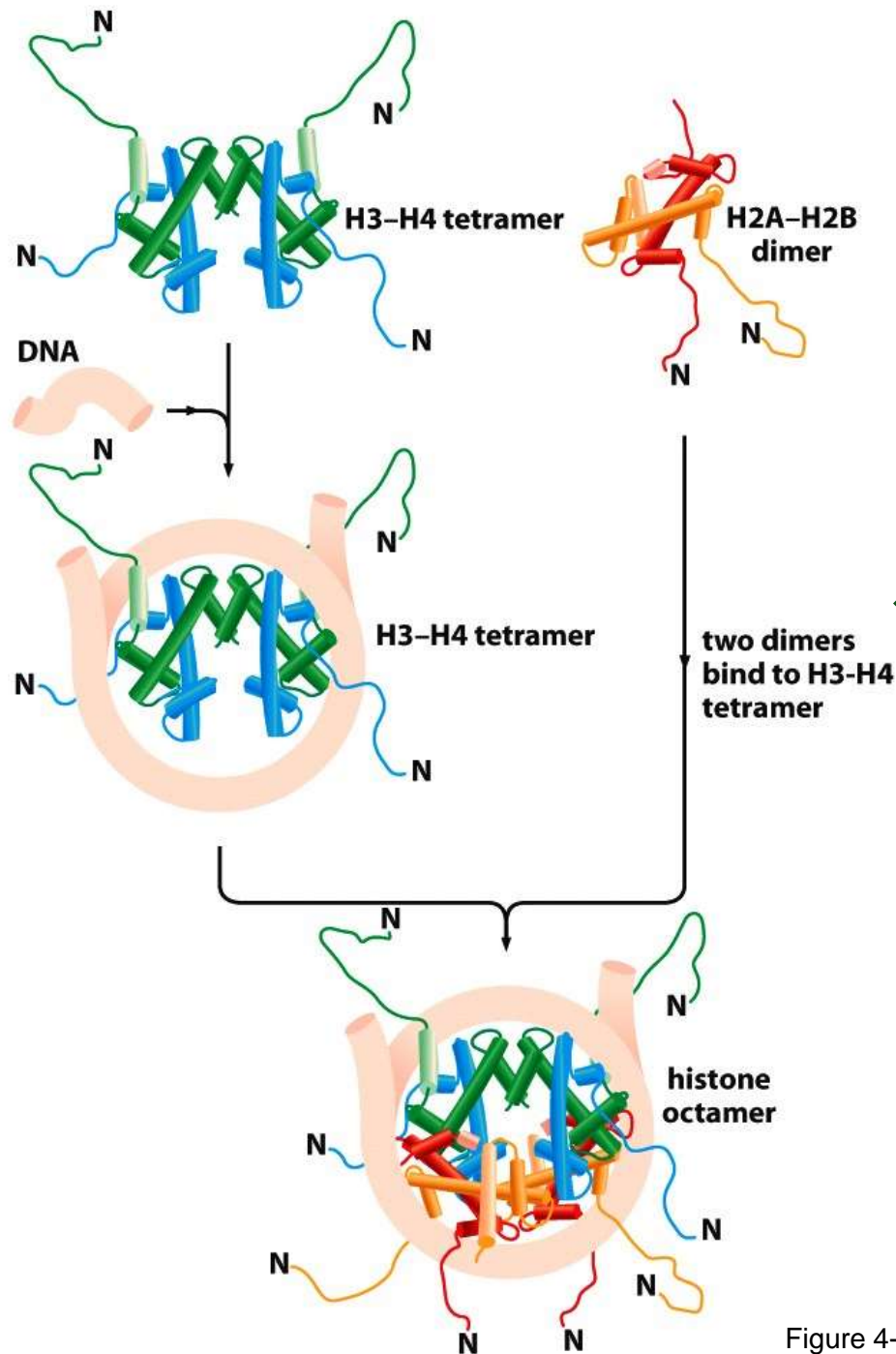
interação entre os domínios de enovelamento das histonas

*H<sub>3</sub> e H<sub>4</sub>  
H<sub>2</sub>A e H<sub>2</sub>B*





# A Montagem de um Octâmero de Histonas no DNA

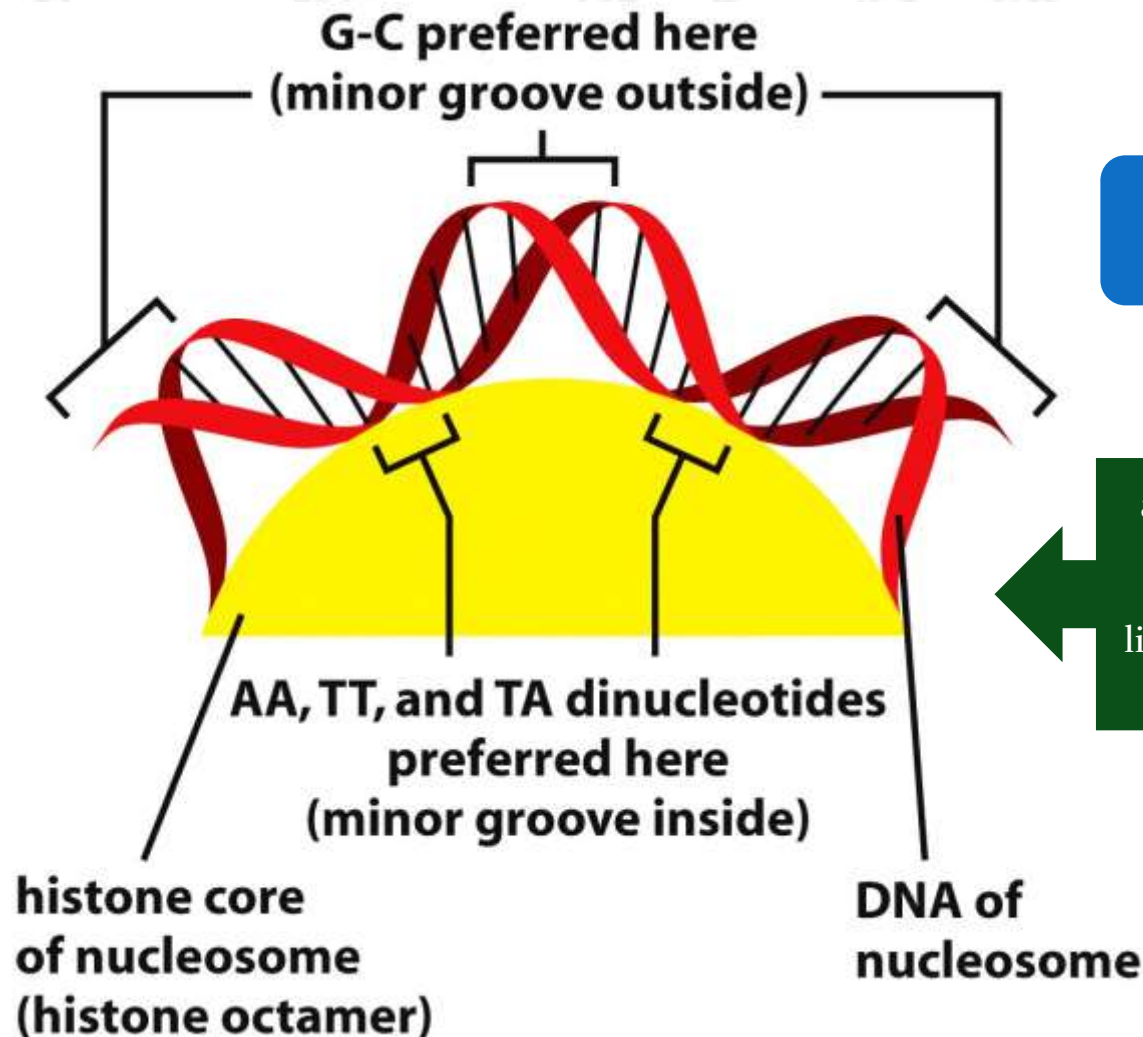


tetrâmero formado por **H<sub>3</sub>** e **H<sub>4</sub>** se combina a dois dímeros de **H<sub>2</sub>A** e **H<sub>2</sub>B** gerando o octâmero

**DNA** envolve o complexo



# O DNA é Moldado em um Nucleossoma



são formadas 142 pontes de hidrogenio entre o core de **histonas** e o DNA

argininas e lisinas das **histonas** neutralizam **DNA** negativamente carregado

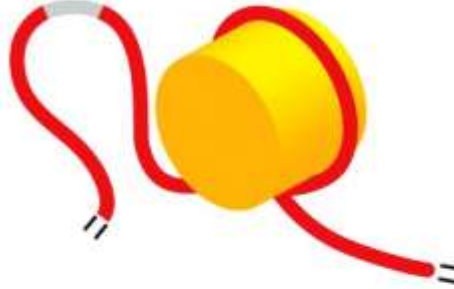
ligação AT é mais maleável que GC: preferível no contato com o core de **histonas**

# Nucleossomas tem Estrutura Dinâmica

**wrapped nucleosome  
exists for 250  
milliseconds**



**unwrapped nucleosome  
exists for 10-50  
milliseconds**



**rewrapped  
nucleosome**

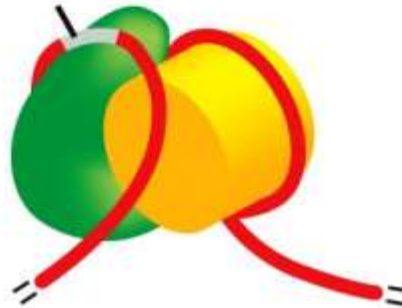


**sequence-specific  
DNA-binding  
protein**



**binding  
site**

**PROTEIN  
BINDS**



*in vitro*: **nucleossomas** passam por período  
transiente de abertura

**nucleossomas** são  
estruturas dinâmicas!!

permitem acesso quando  
necessário

# O Complexo de Remodelamento da Cromatina

ATP-dependent  
chromatin remodeling  
complex

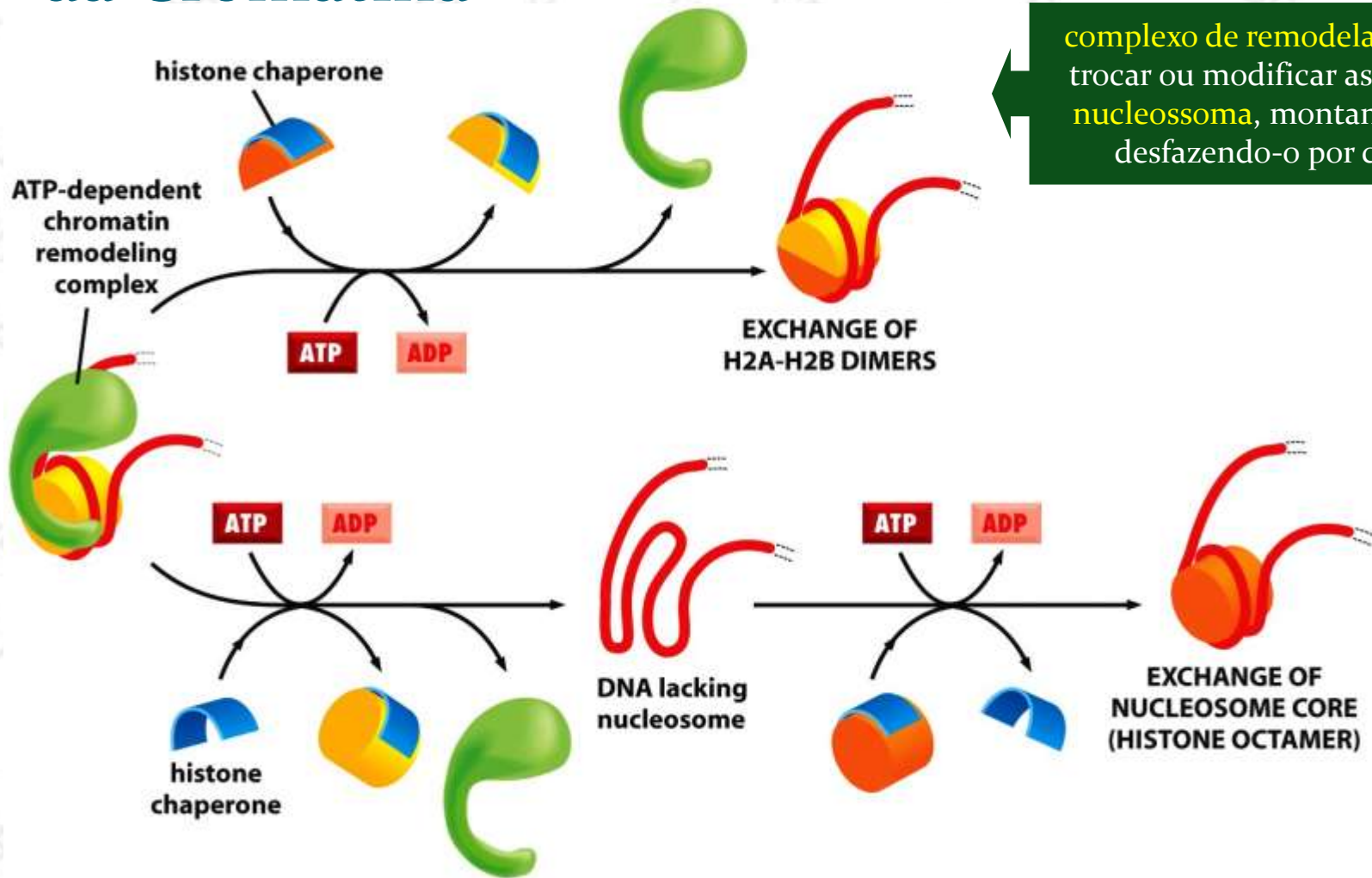
*in vivo*, o acesso a **cromatina** é  
controlado por proteínas: **complexo de  
remodelamento da cromatina**

ATP → ADP  
CATALYSIS OF  
NUCLEOSOME SLIDING

cataliza o afrouxamento da  
interação DNA-core de **histonas**!

permite a interação do **DNA** do  
**nucleossoma** com outras proteínas!

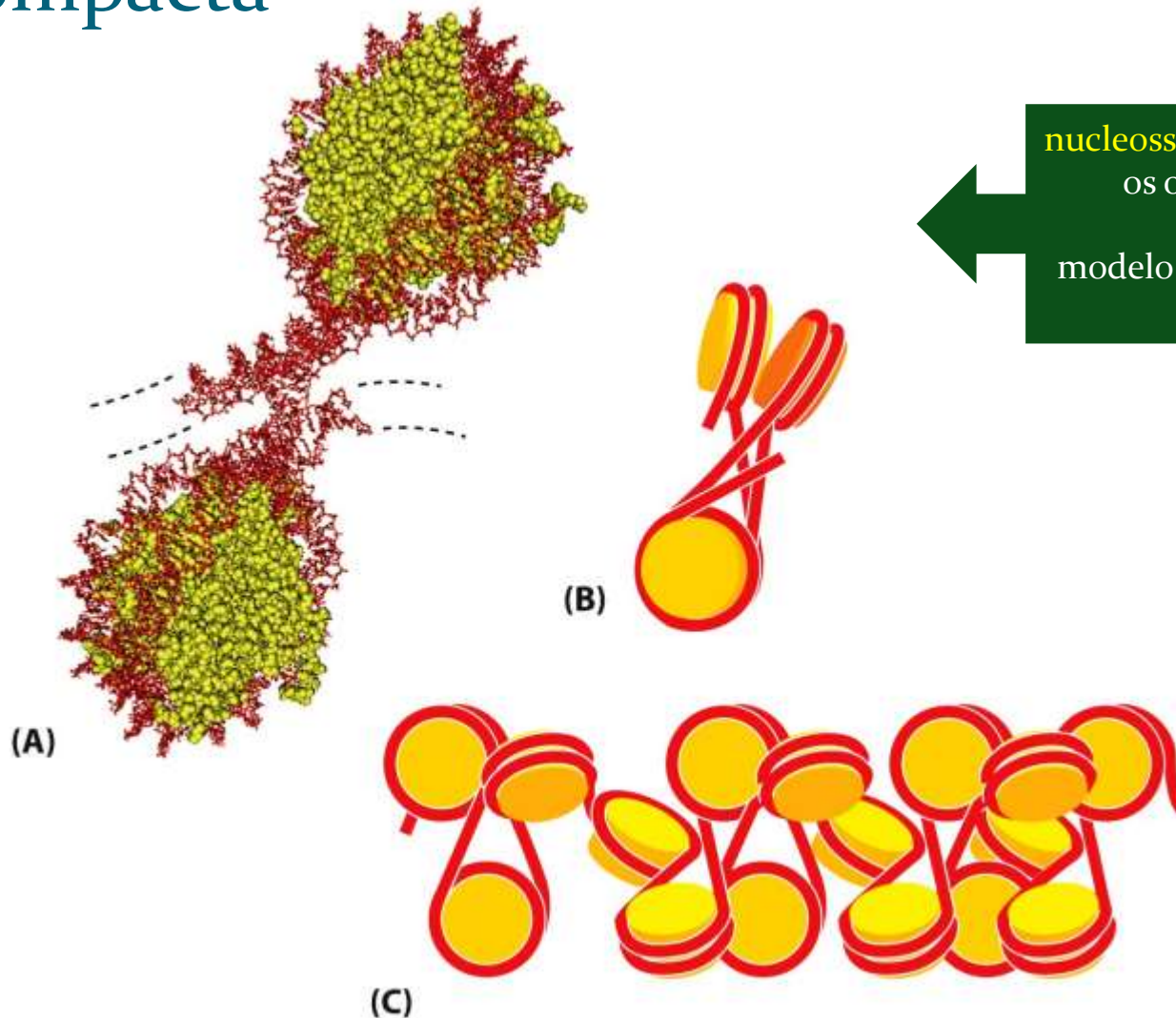
# A Remoção do Nucleossoma e Troca de Histonas Catalizada pelo Complexo de Remodelamento da Cromatina



complexo de remodelamento pode trocar ou modificar as **histonas** do **nucleossoma**, montando-o ou até desfazendo-o por completo



# Nucleossomas são Arranjados em uma Fibra Compacta

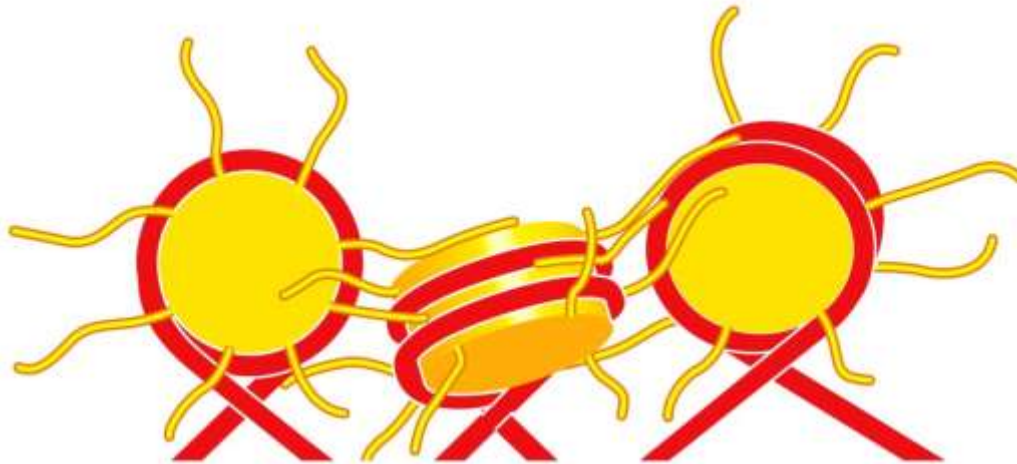
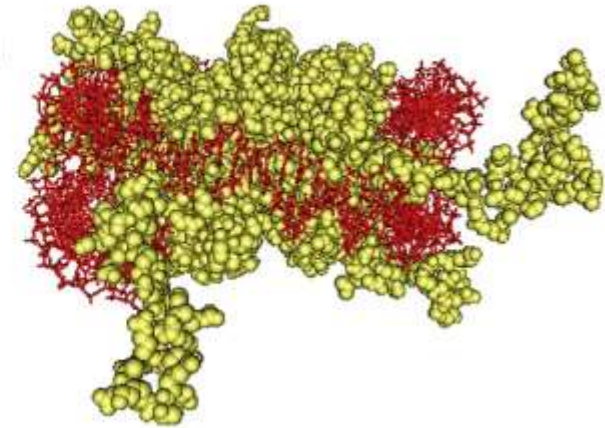
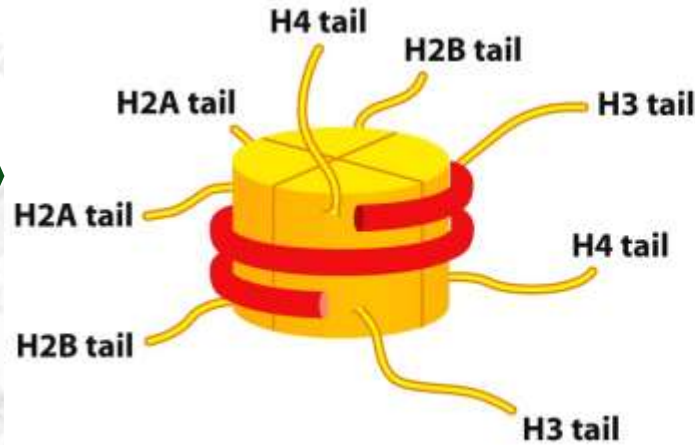


nucleossomas se arranjam uns sobre os outros (fibra de 30 nm)

modelo em “zigzag” (cristalografia de raios x)

# Empilhamento dos Nucleossomas

empilhamento devido a  
interação entre as caudas das  
**histonas** (sobretudo **H4**)  
caudas flexíveis

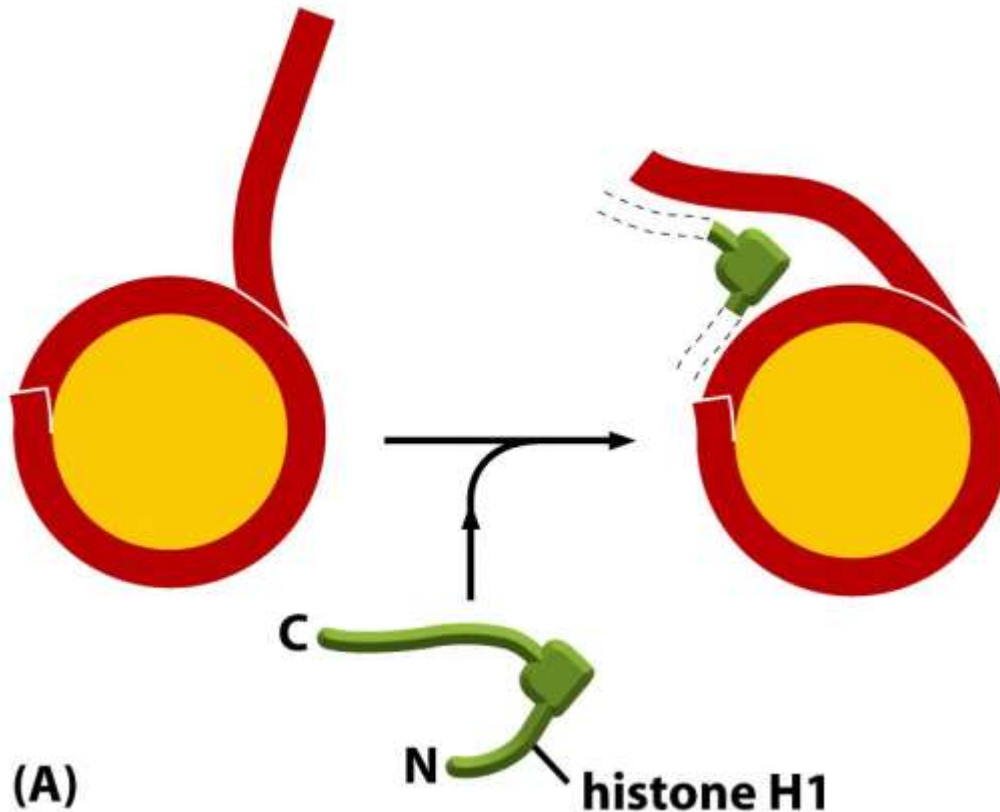


# Histona de Ligação (*linker*)

presença de uma **histona de ligação (histona H<sub>1</sub>)**: importante no empilhamento

presente em uma proporção de 1 : 1 com **nucleossomas**

muda a trajetória do **DNA** na saída do **nucleossoma**



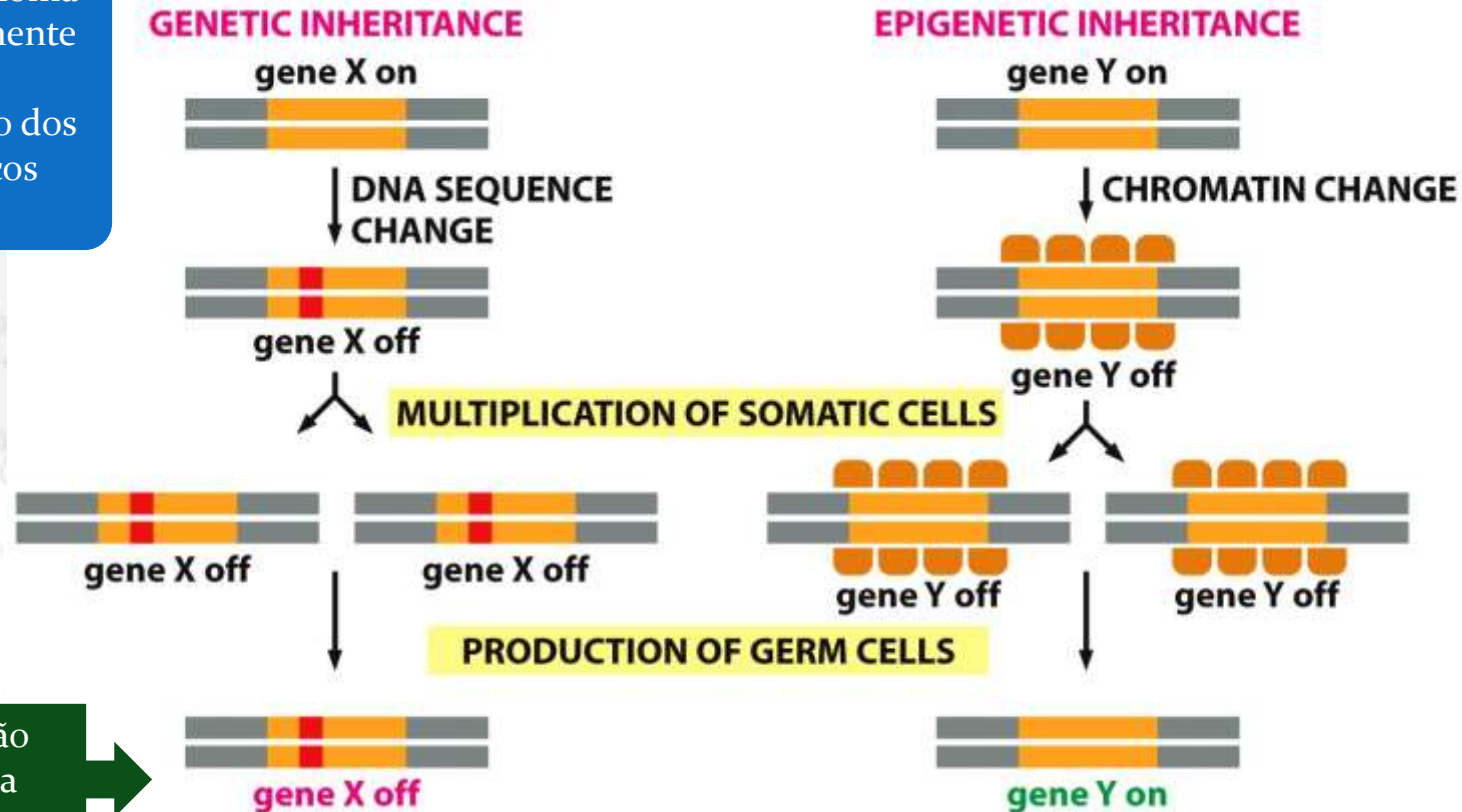


# Herança Genética vs. Herança Epigenética (Baseada na estrutura da Cromatina)

diferentes regiões do genoma se organizam diferentemente

essencial na manutenção dos organismos eucarióticos superiores

herança epigenética tem base proteica



alterações genéticas são transmitidas a prole, a epigenética não



# Eucromatina e Heterocromatina

## Eucromatina

região menos condensada

maioria dos genes  
transcritionalmente ativos

## Heterocromatina

extremamente compacta

concentrada em  
determinadas regiões do  
cromossoma (>10% do  
genoma)

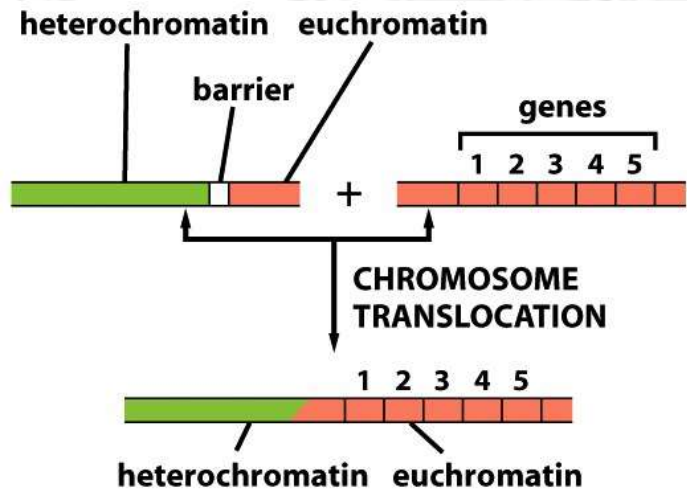
resistentes a expressão  
gênica

genes **eucromaticos** que  
passam à **heterocromatina**  
são silenciados: efeito de  
posição (**regulação da  
expressão gênica**)

# O Efeito de Posição

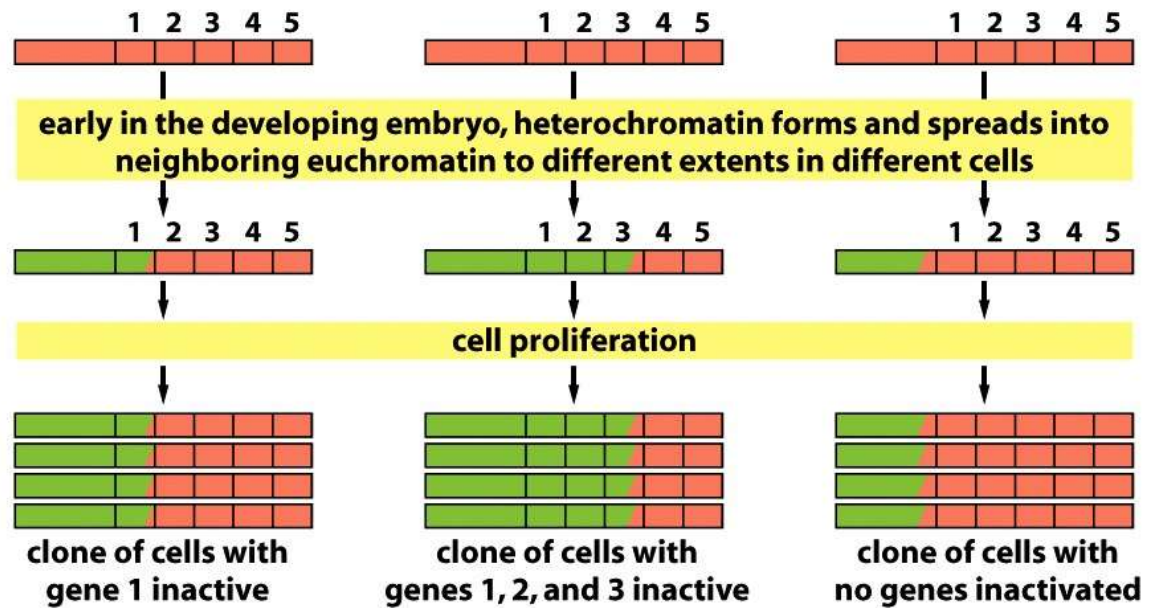
sequência barreira  
separando os dois tipos  
de cromatina

o padrão de espalhamento da **heterocromatina** resulta da inativação de um gene por proximidade a uma região de **heterocromatina** (pode ser herdado)



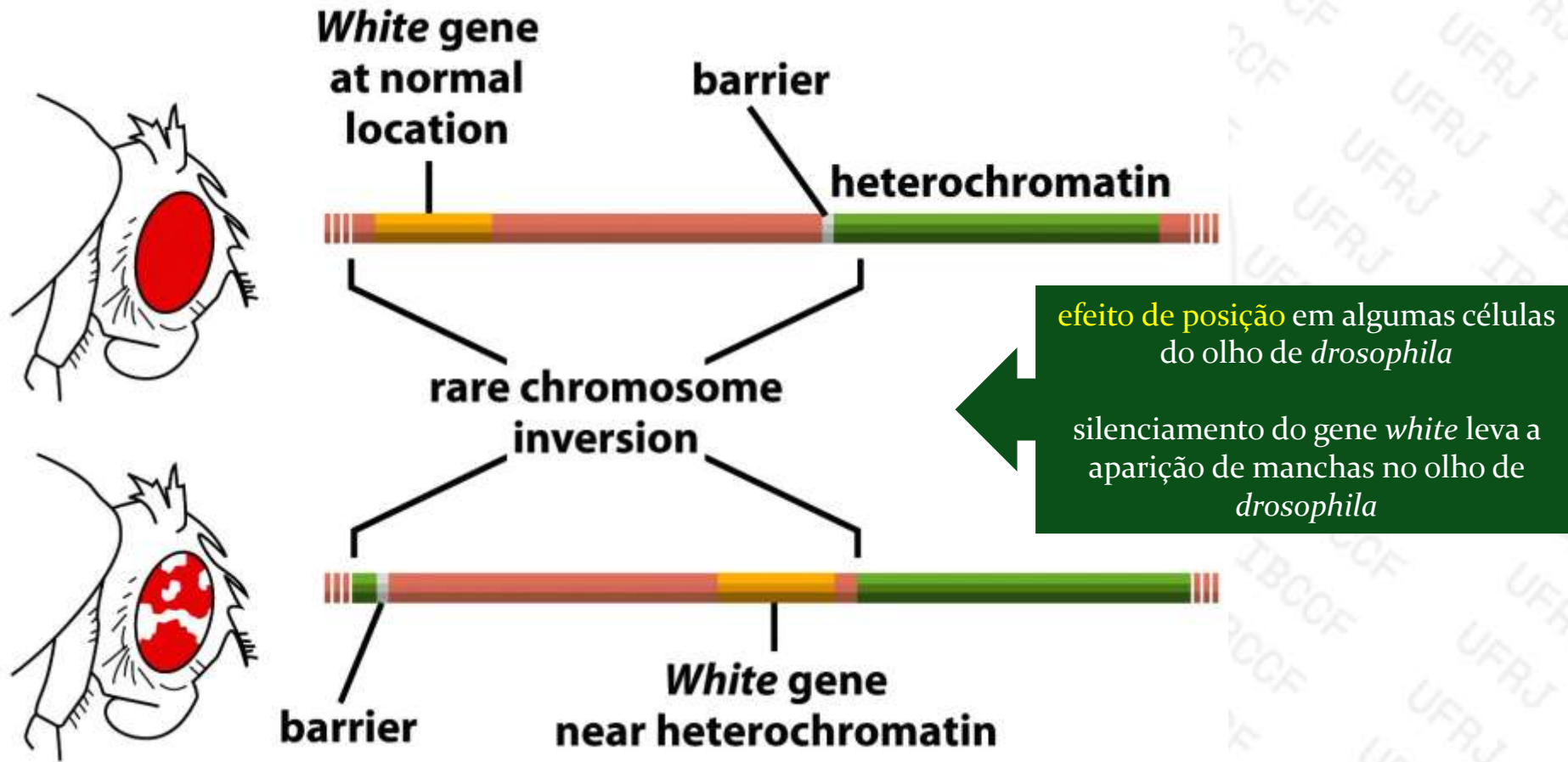
(A)

translocação com perda da  
barreira!!



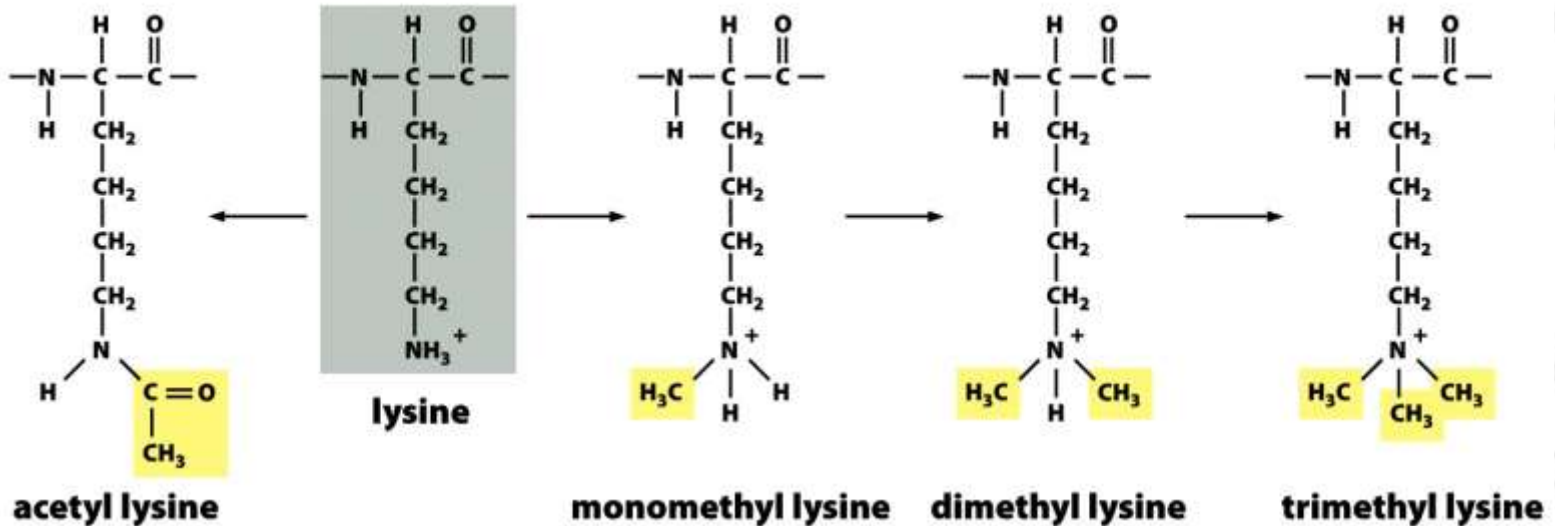
(B)

# A Descoberta dos Efeitos de Posição

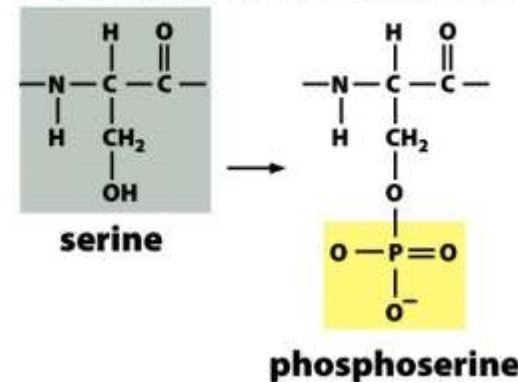


# Tipos Predominantes de Modificação das Histonas Nucleossomais

## (A) LYSINE ACETYLATION AND METHYLATION ARE COMPETING REACTIONS



## (B) SERINE PHOSPHORYLATION

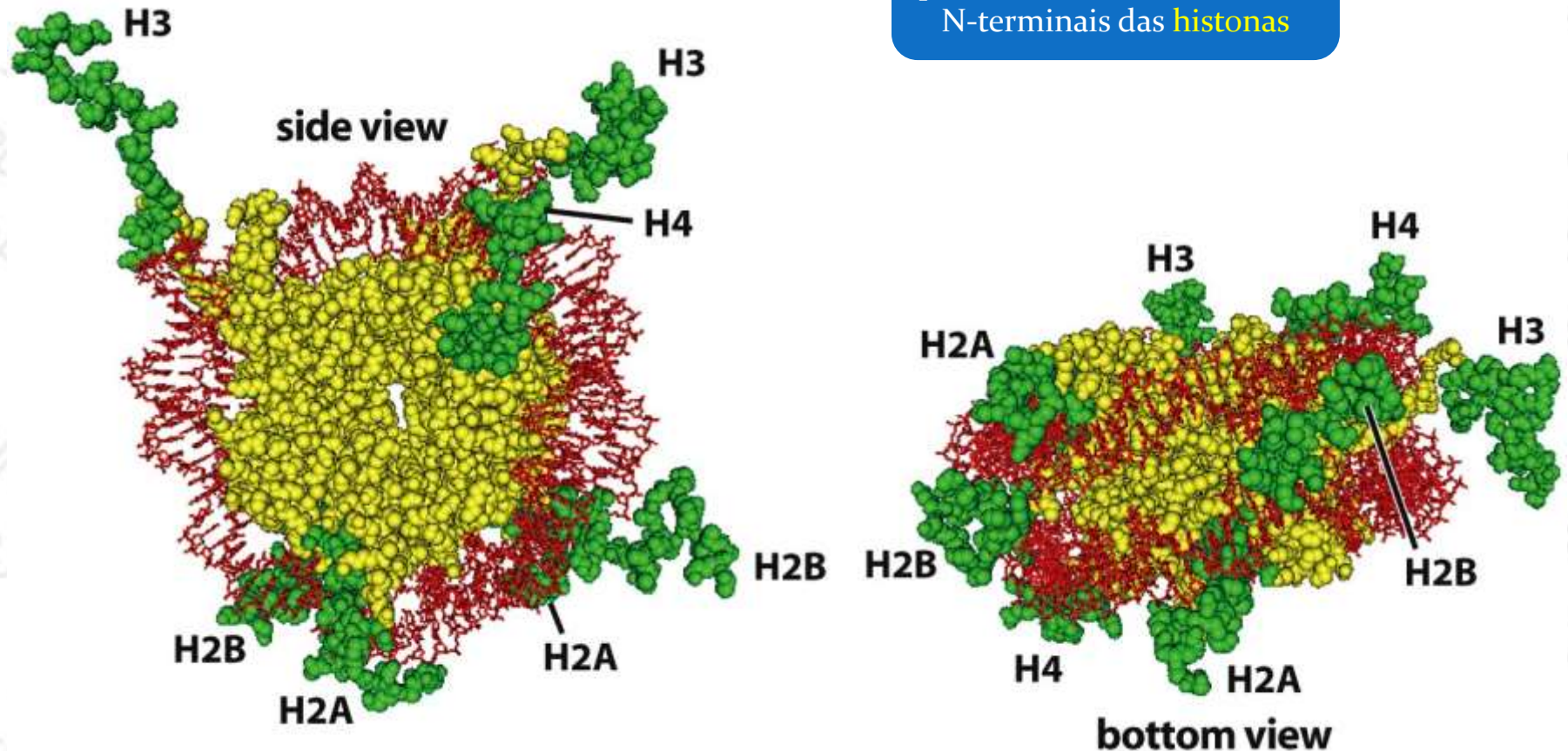


histonas sofrem modificações pós-traducionais  
modificações diferentes = efeitos biológicos diferentes  
metilação impede acetilação e vice-versa: mesmo aa

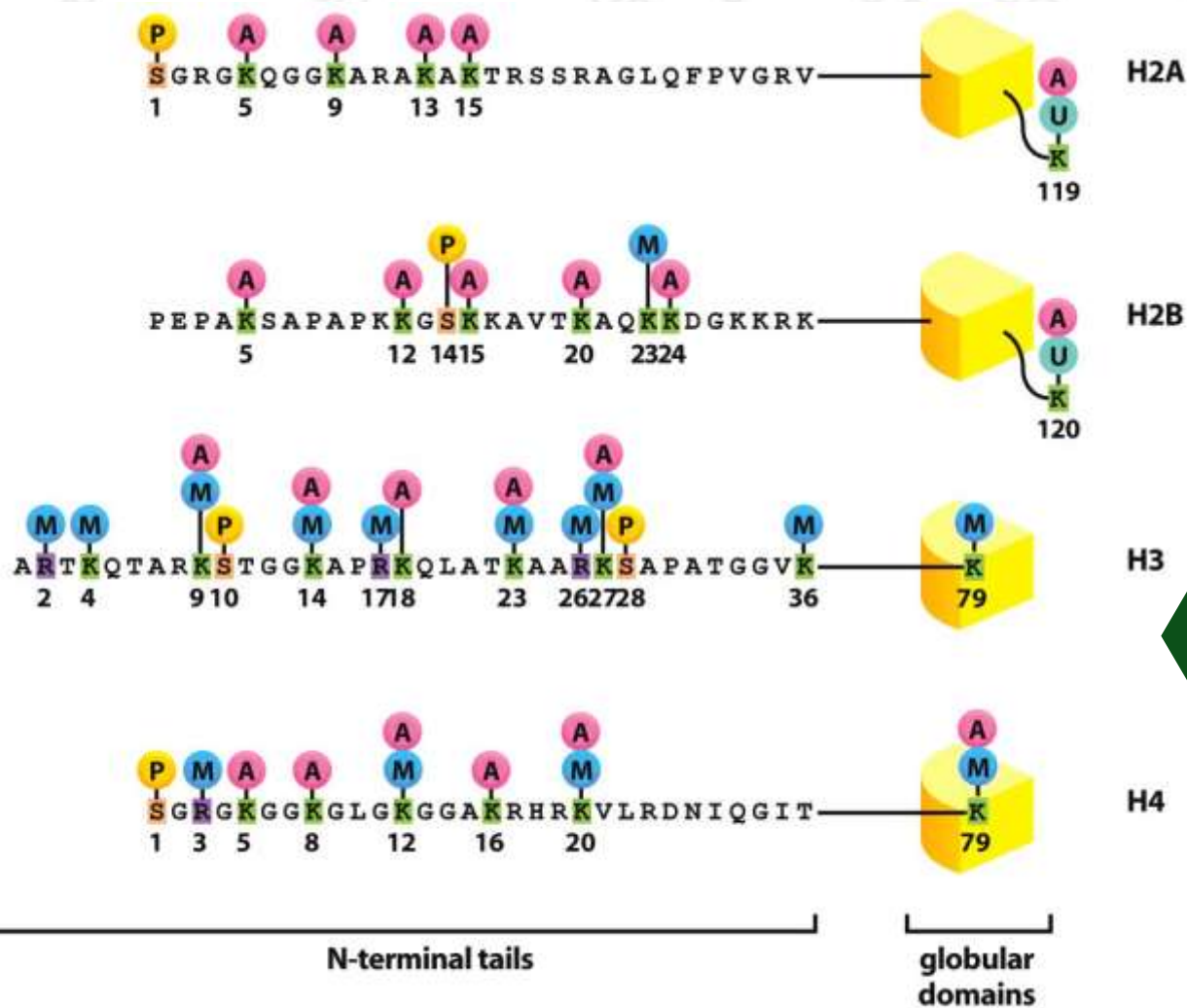


# As Modificações Covalentes nas Histonas Nucleossomais

modificações ocorrem  
prevalentemente nas caudas  
N-terminais das **histonas**



# A Modificação Covalente das Histonas



modificações são reversíveis

acetilação de lisinas é catalisada pelas *histonas acetil transferases* (FIATs)

e removidas por *histonas desacetilases* (HDACs)

metilação de lisinas é catalisada pelas *histonas metil transferases*

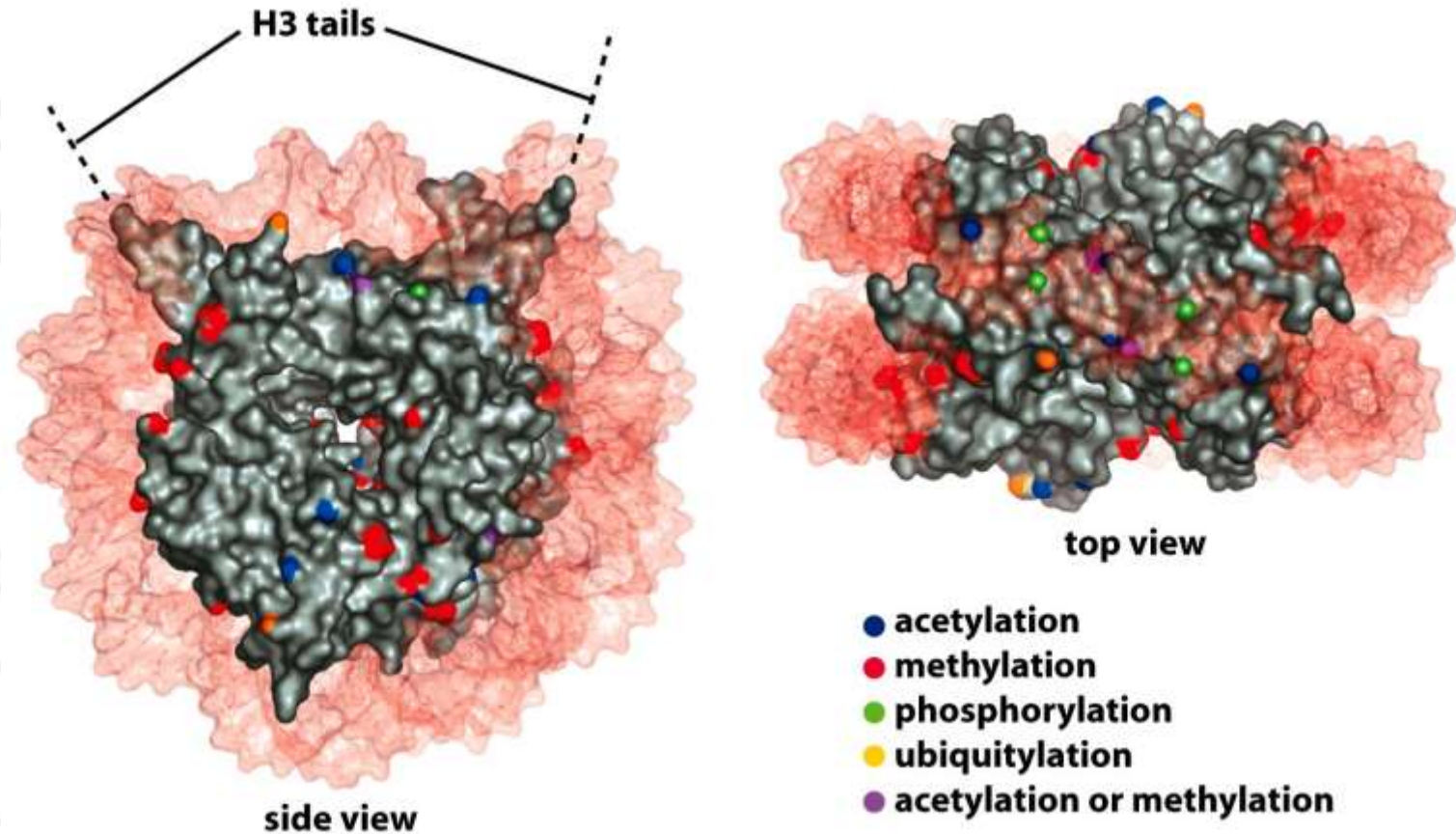
e removidas por *histona demetilases*

modificações são circunstanciais, recrutadas por *proteínas regulatórias gênicas*

M methylation P phosphorylation A acetylation U ubiquitylation



# Mapa Estrutural das Modificações Covalentes



modificações podem persistir durante intervalos prolongados

acetilação afrouxa a cromatina (carga positiva das lisinas é anulada!)

atração de proteínas regulatórias gênicas: quais genes, quando e com qual função!

# Variantes de Histonas Mudam a Expressão

histonas variantes: montadas nos nucleossomas em pontos específicos por complexos de remodelamento da cromatina

Essa montagem obedece a demanda celular por um processo específico

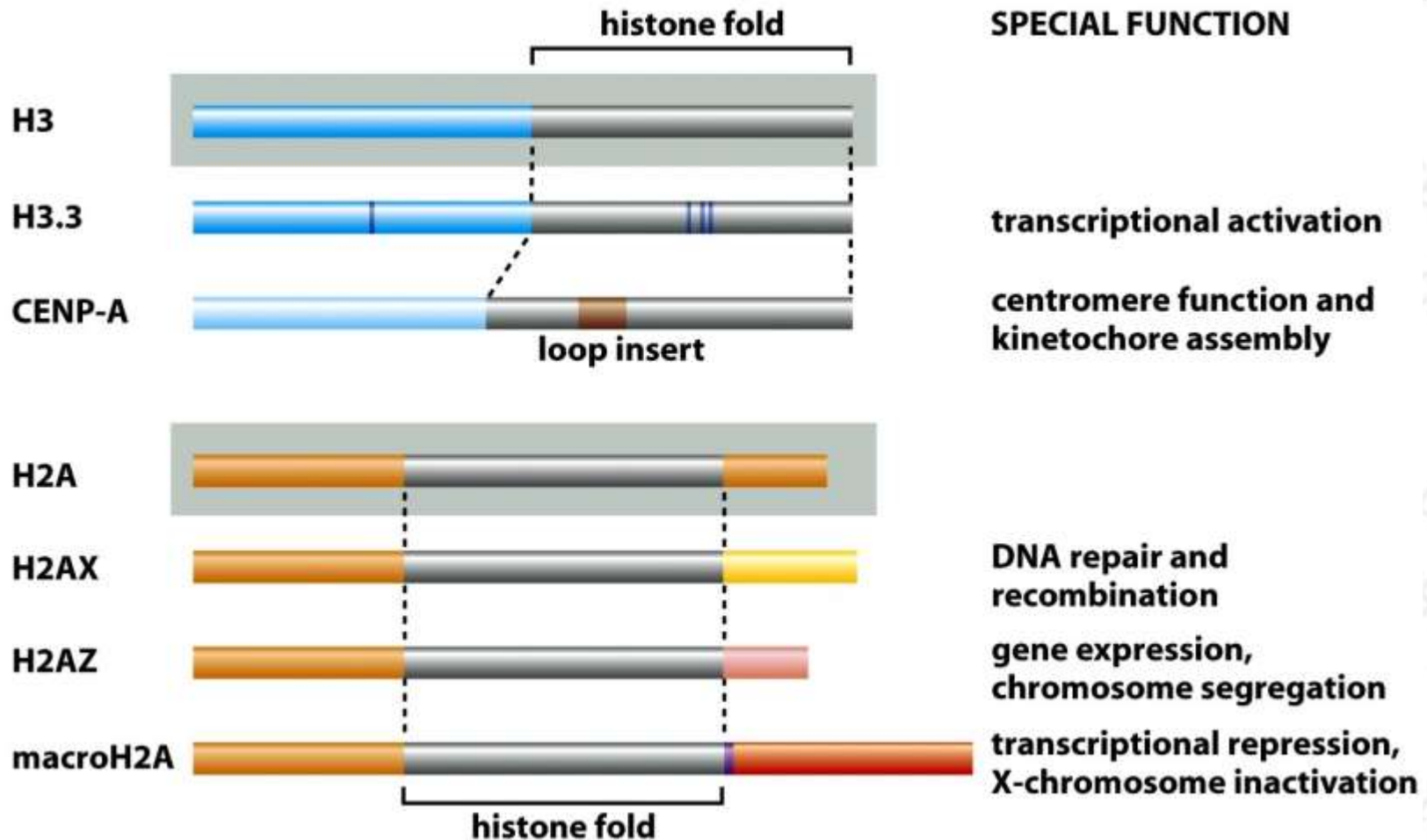


Figure 4-41 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



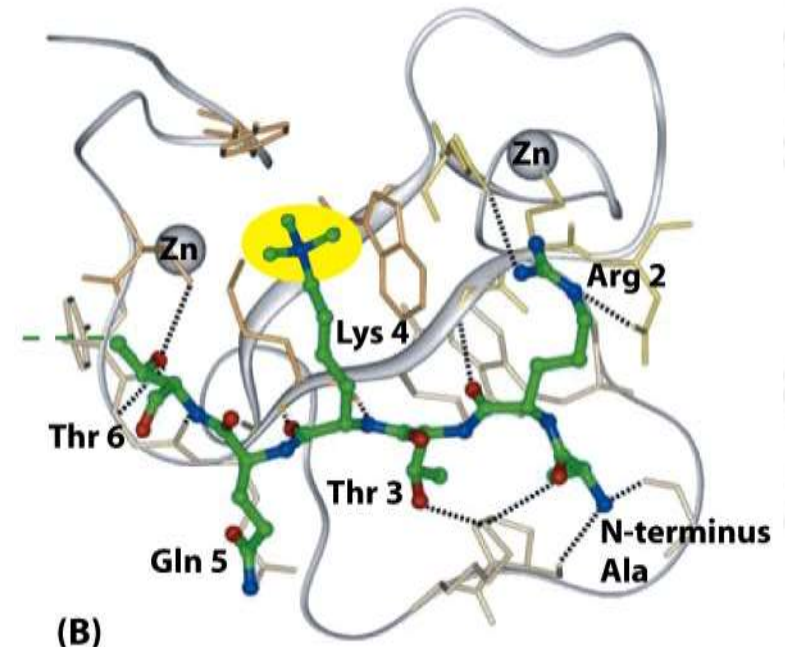
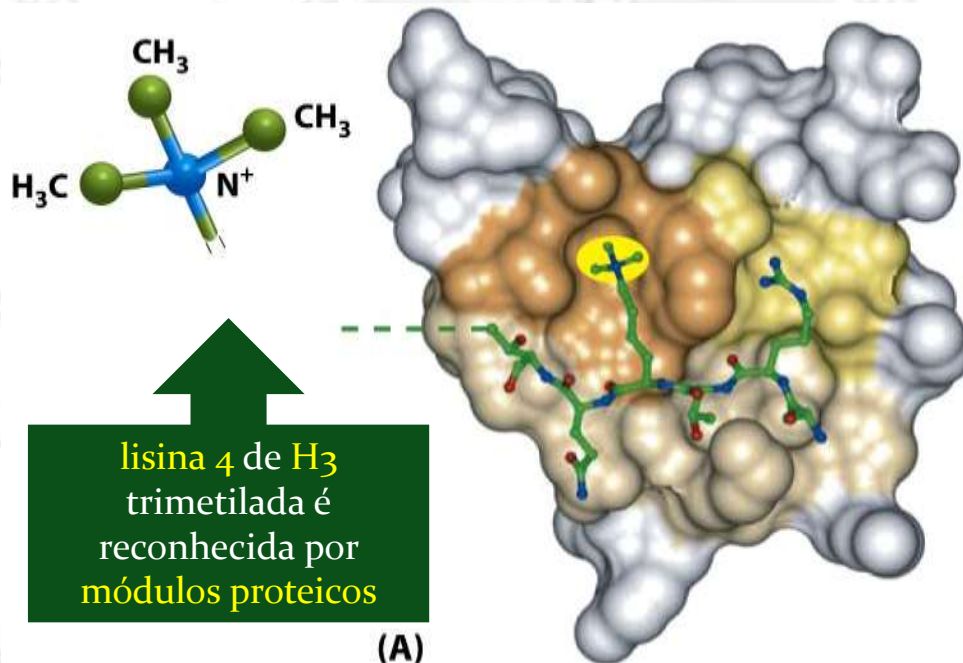
# O “Código das Histonas”

grande número de possíveis  
combinações de modificações em cada  
**nucleossoma!**

variação maior se consideramos as  
**variantes de histona**

combinações diferentes = mensagens  
diferentes

Ex: necessidade de reparo,  
necessidade de expressão gênica e etc.

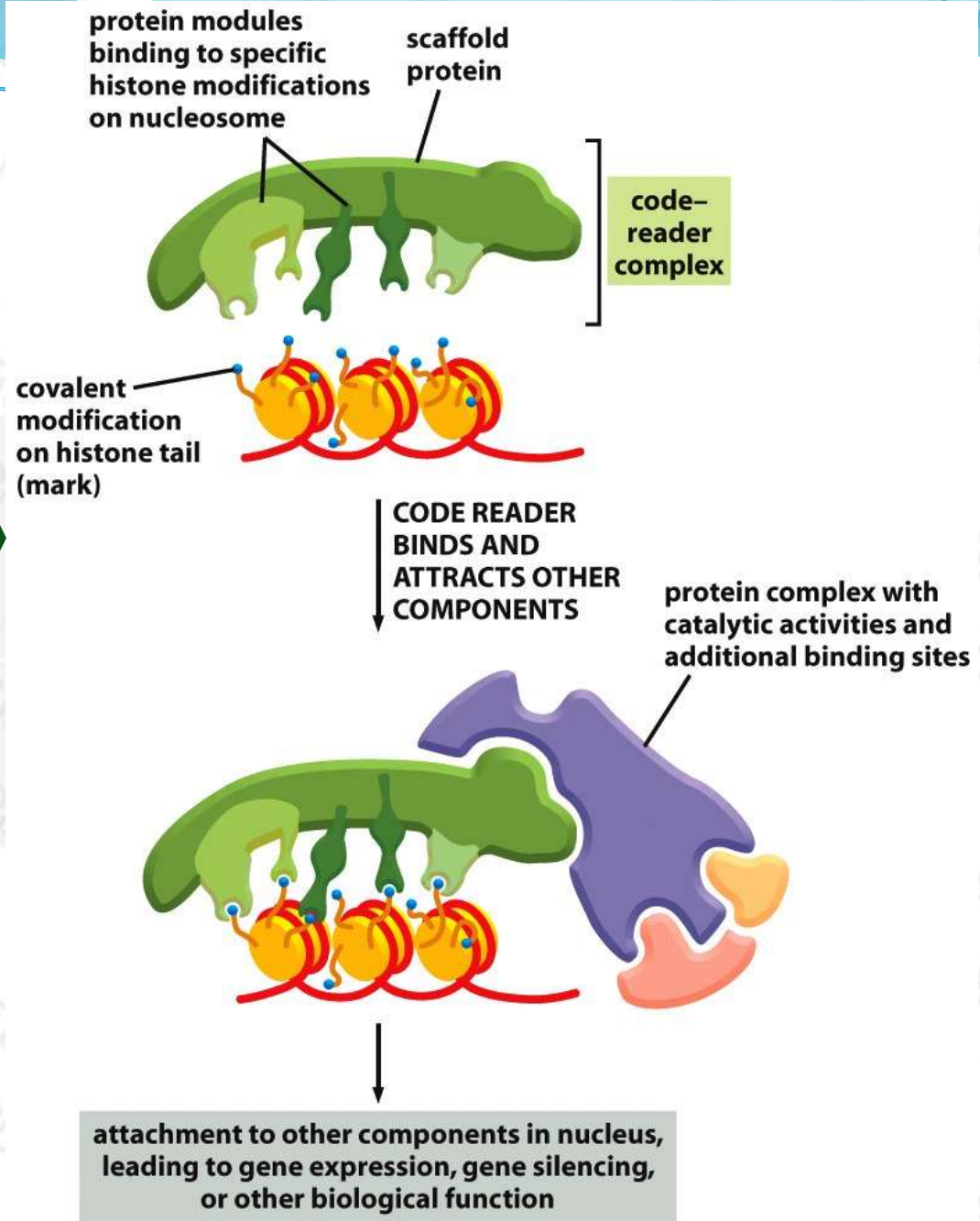


# O Complexo de Leitura do Código

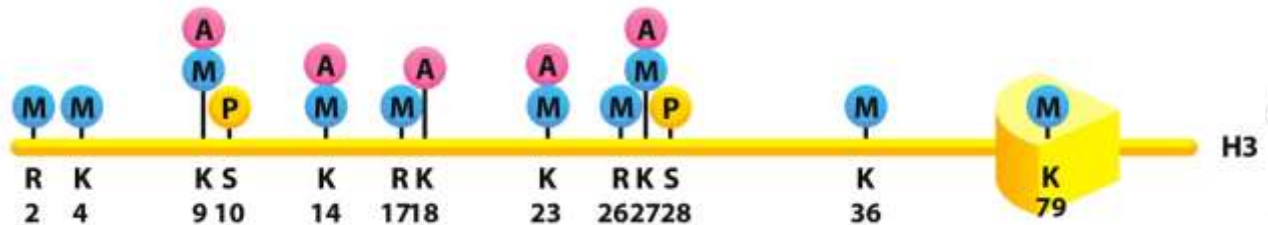
módulos proteicos atuam em conjunto:  
**complexo de leitura do código**

combinações diferentes de modificações  
atraem **complexos de leitura** diferentes

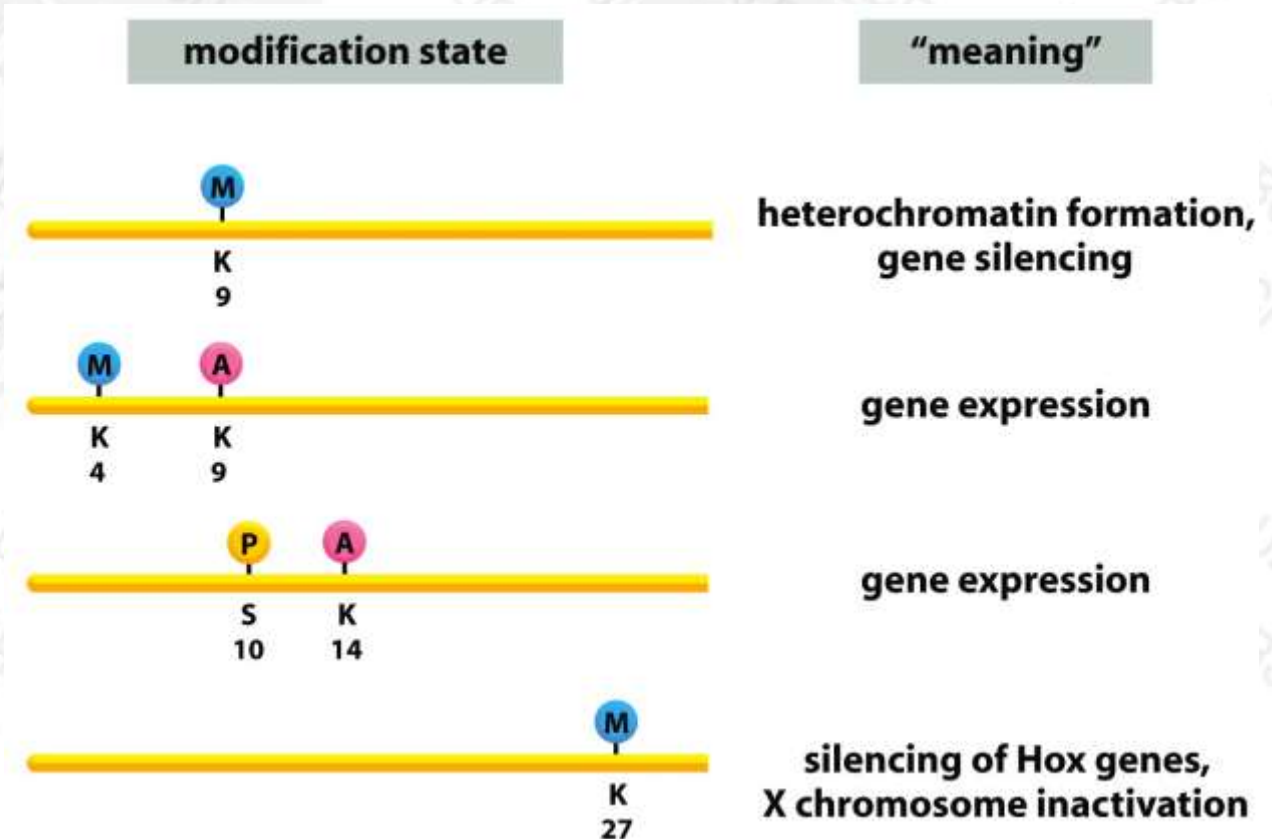
cada **complexo** recruta proteínas  
regulatórias diferentes



# O “Código das Histonas” (ex: Histona H3)



alguns poucos e bem entendidos exemplos na informação que pode ser codificada pela **histona H3**

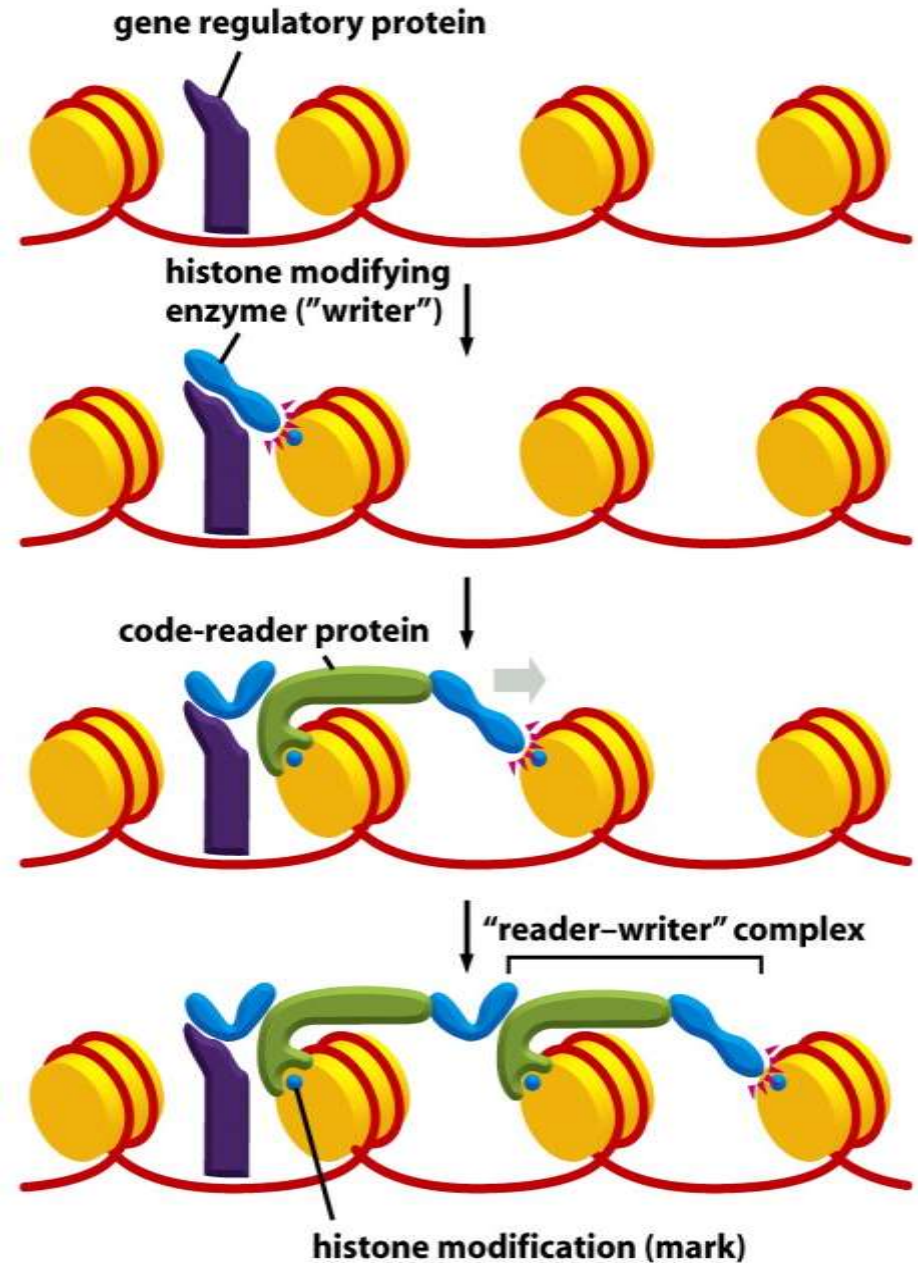




# O Complexo Proteico de Modificação/Leitura

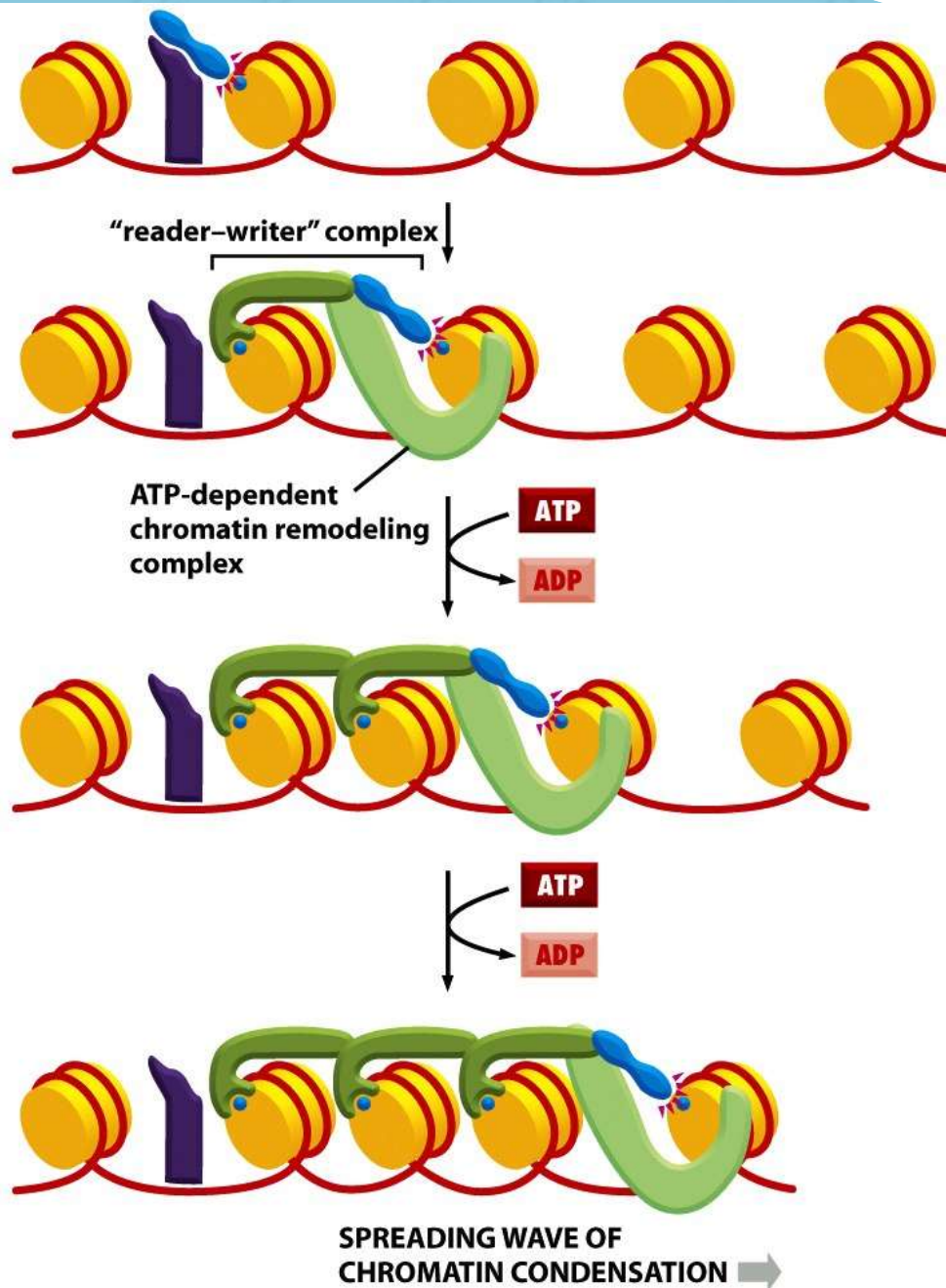
o que acarretaria o **efeito de posição**: propagação do código das **histonas**!

efeito em cadeia mediado por **complexos de leitura e modificação de histonas**





# A Proteína de Remodelagem da Cromatina atua em Conjunto



a propagação do código requer múltiplas proteínas de **leitura** e **modificação** além do **complexo de remodelagem da cromatina** (condensação e descondensação)

# As Sequências Barreira

o que previne a interferência entre domínios vizinhos de estrutura e função diferentes na **cromatina**?

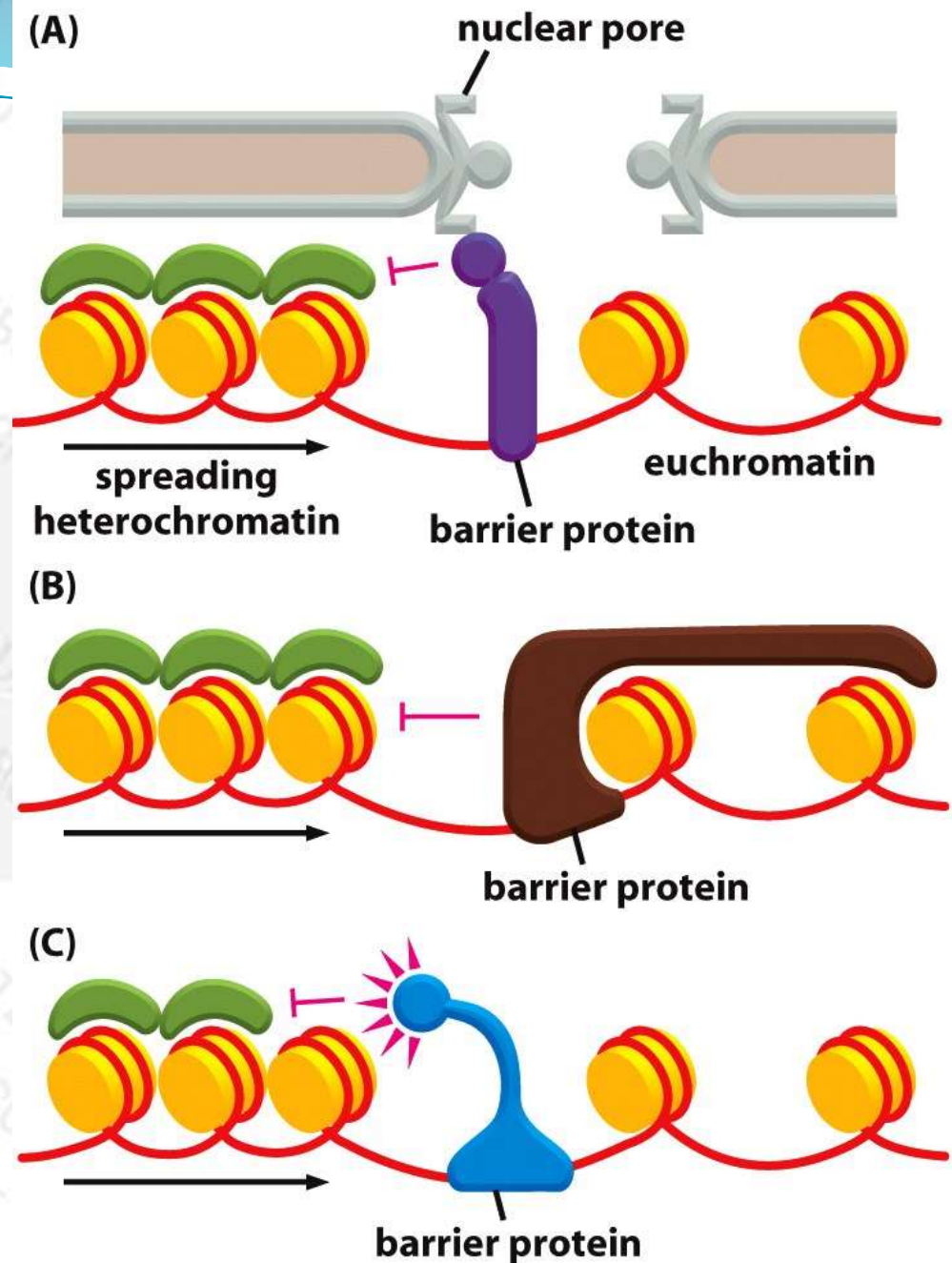
sequências de **DNA** específicas  
(**sequências barreira**)

bloqueiam o avanço do **complexo de modificação/leitura** (separação de domínios da cromatina!!)

ancoramento a um ponto fixo

proteína bloqueadora do **complexo de leitura**

recrutamento de **proteínas de modificação** diferentes (apagam marcação)



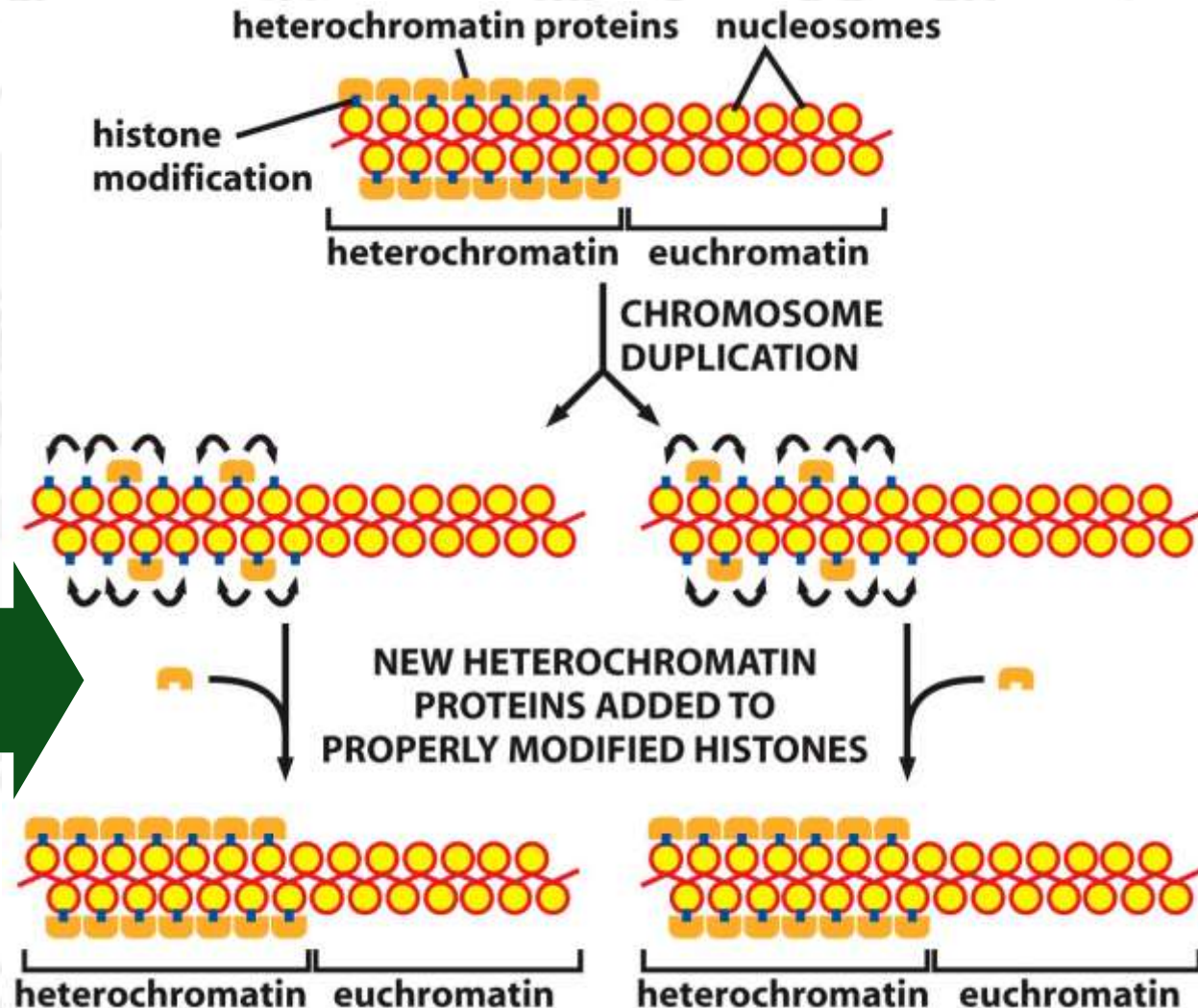
# O Empacotamento do DNA na Cromatina pode ser Herdado Durante a Replicação Cromossômica

modulação do empacotamento do **DNA**: essencial para a complexidade dos organismos

padrão de organização da **cromatina** é mantido após a duplicação

**heterocromatina** constitutivamente condensada contém a **proteína HPI**

enquanto **heterocromatina** com genes do desenvolvimento contém **polycomb** (empacotam 2% do DNA)





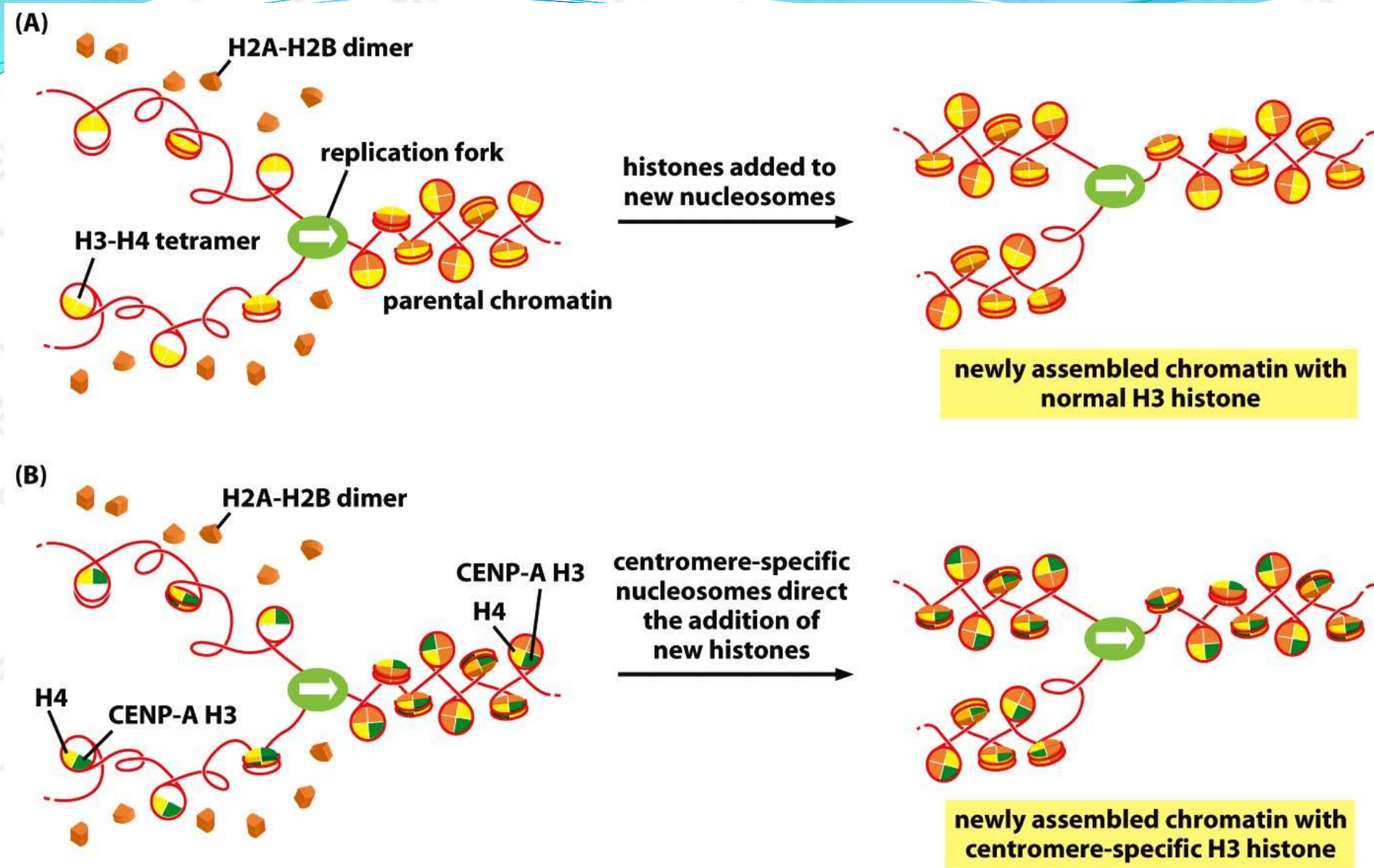


Figure 4-51 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



# A Memória Celular (Informação Epigenética)

memória é armazenada sob a forma de informação **epigenética** na cromatina dos genes de eucariotos

não se conhecem ainda todos os tipos de estrutura de empacotamento existentes

Algumas estruturas podem ter um tempo de existência curto, não sendo propagados

