



G•BIOTEC
Graduação Biotecnologia - UFPel

Cromossomos



Sibele Borsuk
sibele@ufpel.tche.br



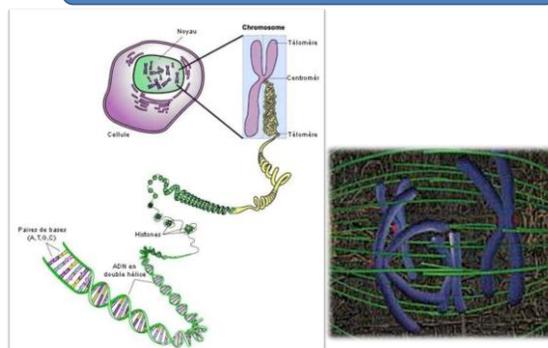
Cromossomos

O núcleo de uma célula humana tem 6 μm de diâmetro e a extensão total do DNA dos seus 46 cromossomos soma 1,8 m. Como é resolvida a discrepância entre estas duas grandezas?

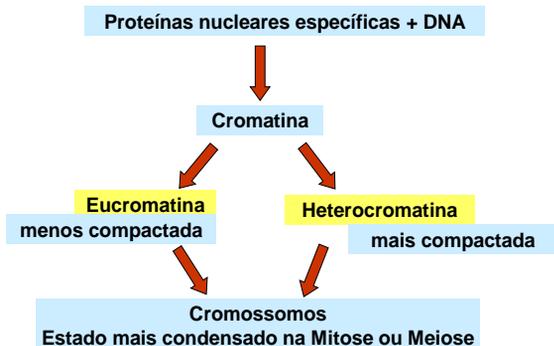
Espaço Físico

Organismo / Compartimento	Forma	Dimensões	Tamanho do DNA	Número de bases
Fago T4	icosaedro	0,065x0,10 μm	55 μm	170.000
<i>E.coli</i>	cilindro	1,7 x 0,65 μm	1,3 mm	4,6 x 10 ⁶
Mitocôndria humana	esferóide	3 x 0,5 μm	50 μm	16.000
Núcleo humano	esferóide	6 μm diâmetro	1,8 m 46 cromossomos	6 x 10 ⁹ (diploide)

Compactação organizada



Compactação de Genomas Eucarióticos



Proteínas envolvidas

Histonas

- Centrais – H2A, H2B, H3, H4 (conservadas)
- Ligação- H1 e H5 (mais variáveis)

Proteínas não-histônicas

- HMC (High Mobility Group) proteínas pequenas
- SMC (Structural Maintenance of Chromosomes)

- SMC1-SMC3- Coesina
- SMC2-SMC4- Condensina

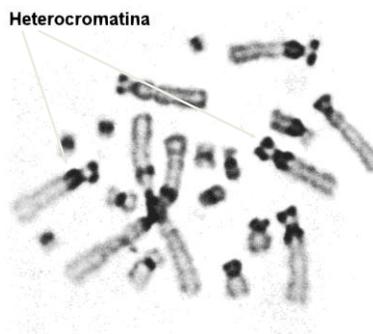
Formam anéis em torno das fitas de DNA

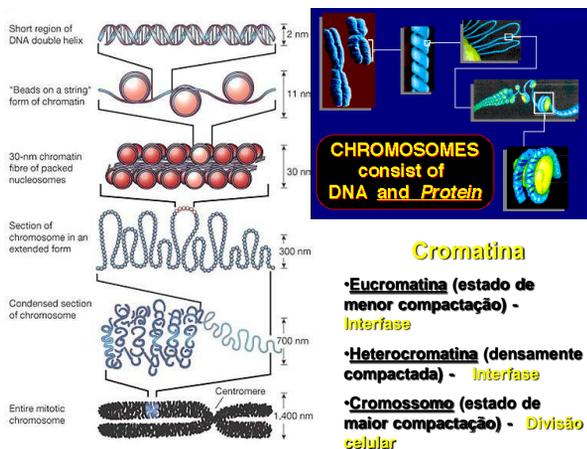
Proteínas envolvidas

Tabela 3.3 Proteínas associadas ao DNA na cromatina eucariótica e suas propriedades

Proteína*	Massa molecular	Estado oligomérico funcional	Sítios de ligação no DNA	Efeito(s) sobre o DNA ^b
Histonas centrais (H2A, H2B, H3 e H4)	11-14 kDa	Homodímero (parte do nucleossomo)	Preferencialmente regiões contendo dinucleotídeos TA repetidos a cada 10 pb e intercalados com dinucleotídeos GC (com 5 pb de distância entre cada TA e cada GC)	Enrolamento
Histonas de ligação (H1 e H5)	~21 kDa	Homodímero	Seqüências ricas em AT	Interligação
Proteínas HMG	11-38 kDa	Homodímero ou heterodímero	Trechos ricos em AT	Dobraamento
Proteínas SMC	~140 kDa	Heterodímero (p. ex. SMC2-SMC4, parte da condensina)	Seqüências ricas em AT capazes de formar	Interligação estruturas secundárias

Eucromatina e Heterocromatina





Nucleossomo

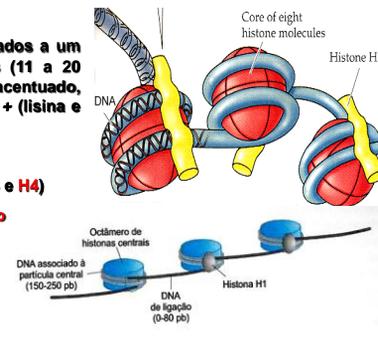
• Unidade estrutural básica da cromatina

• 150 a 250 pb associados a um octâmero de histonas (11 a 20 kDa, caráter básico acentuado, ou seja aa carregados + (lisina e arginina))

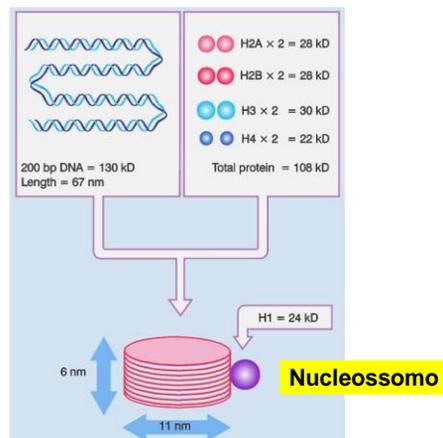
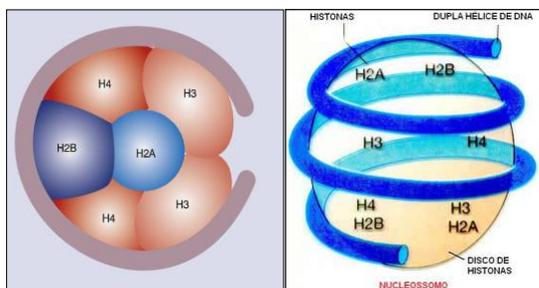
• **Histonas Centrais:**
2 X (H2A, H2B, H3 e H4)

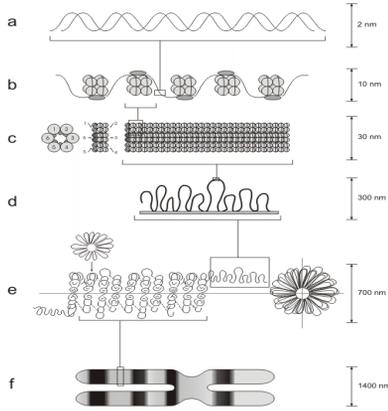
• **Alta conservação**

• **Histona de ligação**
H1 e H5



Organização das histonas no nucleossomo

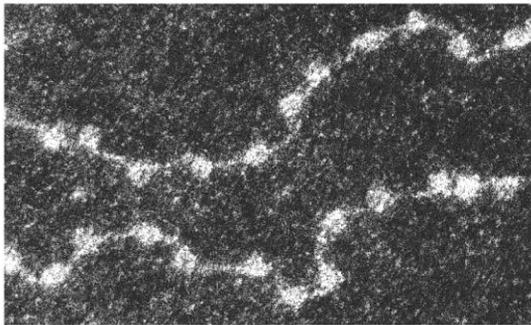
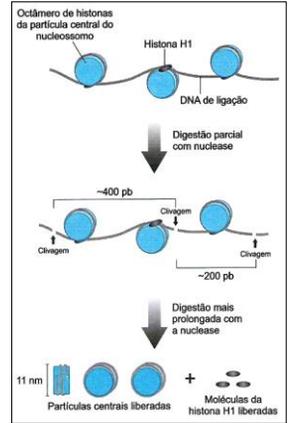




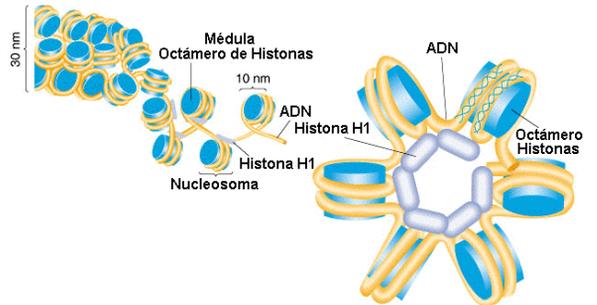
Periodicidade dos nucleossomos

• A cada 200 ± 50 pb

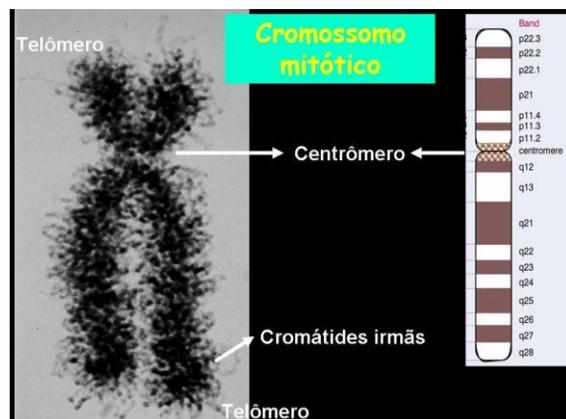
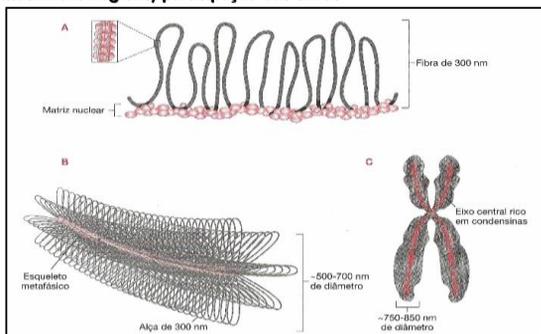
Fibra de 10 nm - primeiro nível de compactação da cromatina



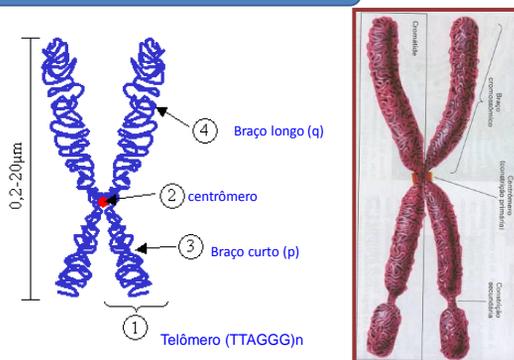
Fibra de 30 nm - segundo nível de compactação da cromatina (enrolamento da fibra de 10 nm em uma estrutura helicoidal na qual cada volta contém 6 nucleossomos)
Participação das proteínas HMG



Fibra de 300 nm — alças oscilando entre 40 e 90 kb (200 a 400 nucleossomos) DNA se associa a proteínas MARs (Matrix Attachment Regions) participação das SMCs

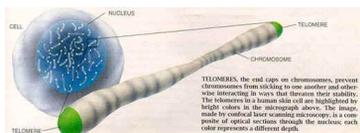


Cromossomos- Estrutura



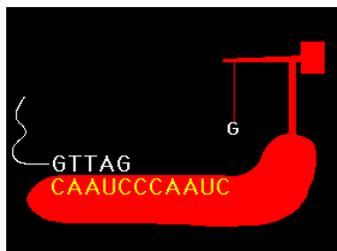
Propriedades dos Telômeros

- Proteção das extremidades dos cromossomos de exonucleases e ligases.
- Previne recombinações e fusão dos cromossomos.
- Regula reconhecimento e separação do cromossomo mitótico.
- Permite a completa replicação do DNA linear.

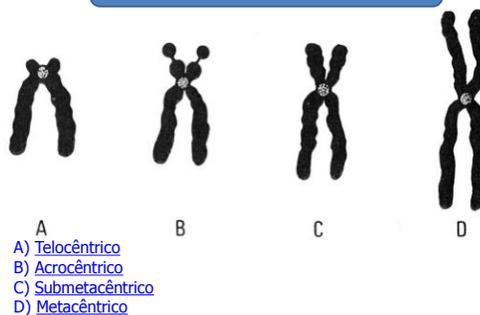


TELOMERASE

Centenas a milhares



Tipos



Tipos

A) [Telocêntrico](#): O centrômero está localizado na região terminal do cromossomo, possui braço único.

B) [Acrocêntrico](#): O centrômero está bem afastado do centro do cromossomo, próximo a uma das extremidades, resultando em um braço bem maior que o outro; Relação de 3:1 a 10:1.

C) [Submetacêntrico](#): O centrômero está um pouco afastado do meio do cromossomo.

D) [Metacêntrico](#): O centrômero se localiza no centro do cromossomo, sendo os braços do mesmo tamanho. Os dois braços tem relação de comprimento 1:1 até 2,5:1.

Números de cromossomos em diferentes espécies

Espécie	n de cromossomos	Espécie	n de cromossomos
Drosófila	8	Humano	46
Centeio	14	Macaco	48
Cobaia	16	Carneiro	54
Rôla	16	Cavalo	64
Caracol	24	Galo	78
Minhoca	32	Carpa	104
Porco	40	Borboleta	~380
Trigo	42	Samambaia	~1200

CROMOSSOMOS HUMANOS

N = 46

Utilizar cromossomos na fase mitótica
Tecidos com alta divisão celular



Metáfase

CARIÓTIPO

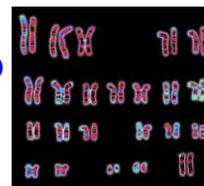
Microtécnica
Bandeamento cromossômico
Citogenética molecular - FISH

CARIÓTIPO

É o conjunto cromossômico ou a constante cromossômica diploide ($2n$) de uma espécie.

A representação do cariótipo pode ser um cariograma (imagem dos cromossomos) ou um idiograma (esquema dos cromossomos).

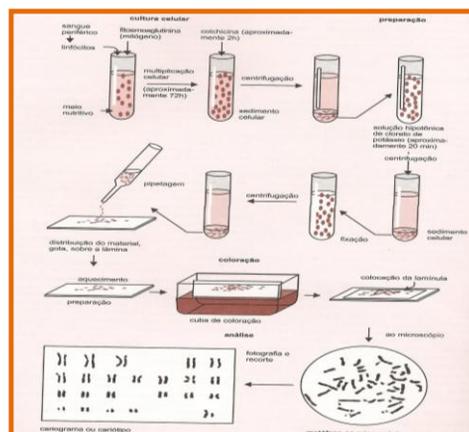
Cromossomos autossomos
Cromossomos sexuais (Allossomos)

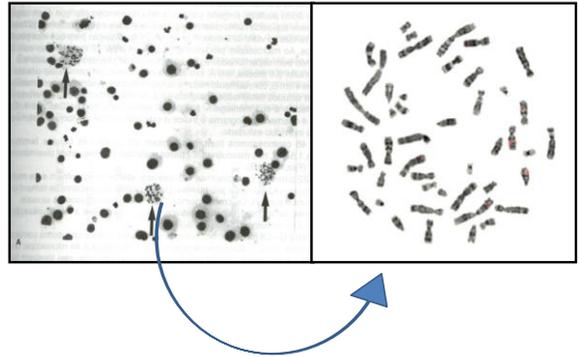
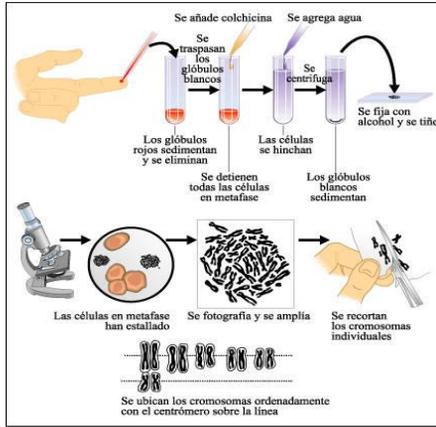


Análise dos Cromossomos Humanos

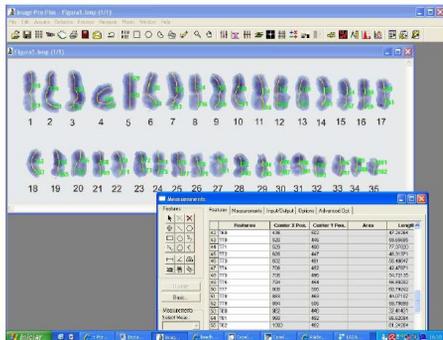
1-Cultura de leucócitos- Microtécnica

- coleta de sangue venoso periférico
- temperatura ambiente (sedimentação das hemácias)
- coloca-se as células em meio de cultura com fito-hemaglutinina (grande número de células em divisão).
- adiciona-se colchicina que impede a formação do fuso (divisão da célula)
- coloca-se a cultura em solução hipotônica (0,075 M KCl) para inchar as células.
- fixa-se o material em lâmina
- cora-se.



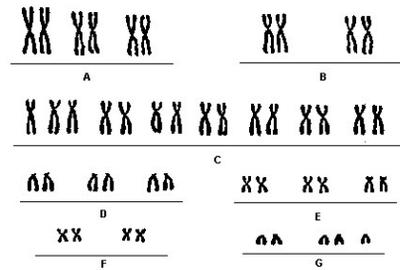


Cariotipagem por citometria de imagem
Image-Pro Plus,



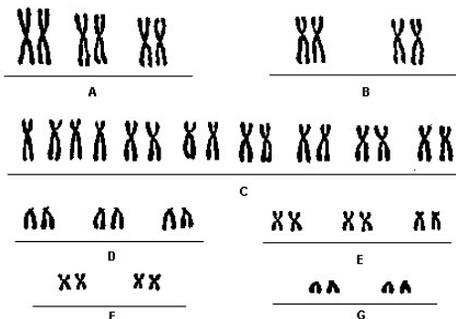
Cariótipo Humano Normal

Masculino (15 cromossomos no grupo C e 5 cromossomos no grupo G) -



Cariótipo Humano Normal

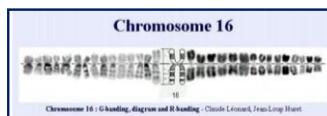
Feminino - (16 cromossomos no grupo C e 4 cromossomos no grupo G)



2-Bandeamento

No bandeamento G (tripsina + Giemsa) utiliza-se o corante Giemsa, após pré-tratamento das preparações com soluções proteolíticas (tripsina). Aparecem bandas coradas ao longo de todo o cromossomo. Claras-rica GC (não corado)
 Escuras- rica em AT (corado)

Bandeamento R - Os cromossomos recebem pré-tratamento com calor antes da coloração Giemsa. Nesse caso, as bandas claras e escuras resultantes (bandas R) são o inverso das produzidas por bandeamento G. Claras- AT (não corado); Escuras (GC) corado



No bandeamento C (hidróxido de sódio + Giemsa) utiliza-se o corante Giemsa, após pré-tratamento das preparações com soluções de pH básico. Aparecem bandas coradas nas regiões de heterocromatina constitutiva - Centrômeros

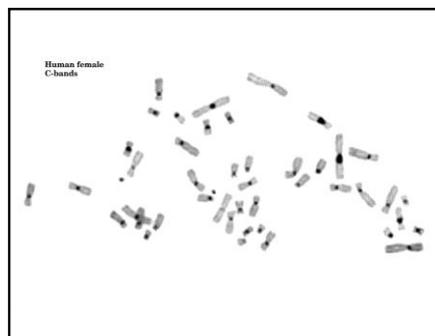
No bandeamento Q (quinacrina) utiliza-se o corante fluorescente Quinacrina ou seus derivados, aparecem bandas de diferentes intensidades luminosas ao longo dos cromossomos.

Bandeamento T- marcam as regiões teloméricas dos cromossomos.

Bandeamento NOR – coram as constrições secundárias. Grupos D.

Baixa Resolução – 400 bandas (regiões e bandas)
Alta resolução – 850 bandas (regiões, bandas e sub-bandas)
Altíssima resolução – 2.000 bandas (regiões, bandas, sub-bandas e sub-sub-bandas)

Bandas C (hidróxido de sódio + Giemsa)
 bandas coradas nas regiões de heterocromatina constitutiva



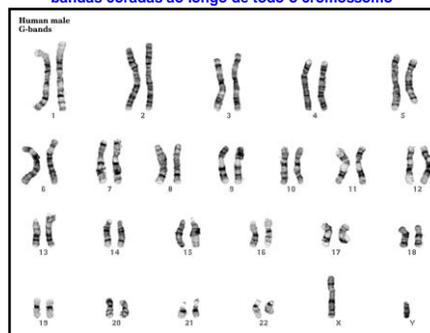
Bandas Q (quinacrina)

bandas de diferentes intensidades luminosas



Bandas G (tripsina + Giemsa)

bandas coradas ao longo de todo o cromossomo

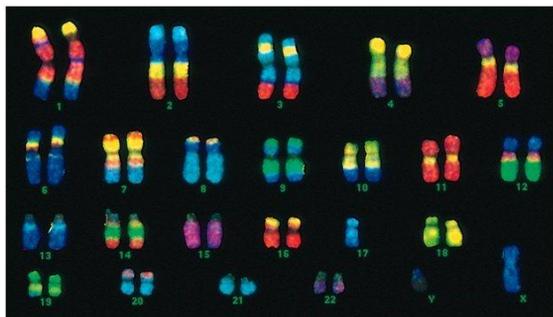


Cariograma-Idiograma



3- Hibridação *In-Situ* por Fluorescência (FISH)

- permite a localização direta através da utilização de fluorocromos específicos;
- permite detectar rápida e inequivocamente rearranjos cromossômicos complexos e simples e;
- pode-se caracterizar muitas anormalidades cromossômicas que não eram detectadas pelas técnicas de bandeamento tradicionais.

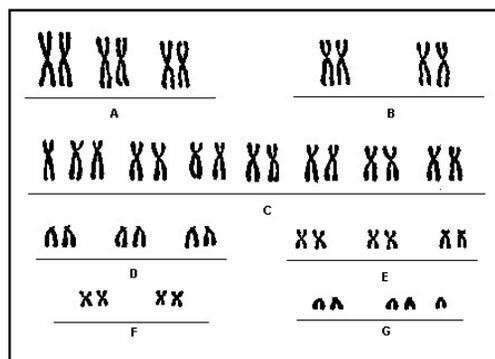
(FISH)**Aplicações**

•Medicina diagnóstica- Suspeita de microdeleções cromossômicas associadas a síndromes genéticas,, diagnóstico de câncer...

- Síndrome de Down (trissomia do cromossomo 21);
- Síndrome de Patau (trissomia do cromossomo 13);
- Síndrome de Edwards (trissomia do cromossomo 18);
- Síndrome de Turner (monossomia do cromossomo X);
- Síndrome de Klinefelter (47,XXY);
- Síndrome Cri-du-chat (deleção 5p);
- Síndrome de Klinefelter (47, XXY);
- Síndrome 47, XYY;
- Trissomia do X (47, XXX);
- Síndrome de Turner (45, X e variantes);
- Outras alterações cromossômicas raras.

Cariótipo Humano**GRUPOS**

Grupo	Características	Pares
A	Grandes / Metacêntricos ou submetacêntricos	1 a 3
B	Grandes / Submetacêntricos.	4, 5
C	Médios / Submetacêntricos.	6 a 12 + X
D	Médios / Acrocêntricos.	13 a 15
E	Pequenos / Metacêntricos ou submetacêntricos.	16 a 18
F	Muito pequenos / Metacêntricos.	19, 20
G	Muito pequenos / Acrocêntricos.	21, 22 + Y



Cariótipo Humano

NOMENCLATURA

•Padronização internacional da nomenclatura de cromossomos

•São identificados pelo seu tamanho, pela posição do centrômero e padrão de Bandas

•São arrumados em pares de homólogos, em ordem decrescente de tamanho.

Nomenclatura

- **A – G** Grupos cromossômicos
- **1 - 22** Números de autossomos
- **X, Y** Cromossomos sexuais
- **/** Separar as linhagens celulares
- **+ ou -** Indica se o cromossomo foi adicionado ou perdido; indica ganho ou perda no braço cromossômico
- **?** Identificação questionável do cromossomo ou da estrutura cromossômica
- ***** Indica que o cromossomo ou a estrutura deve estar explicada no rodapé
- **ace** Acêntrico

Nomenclatura

➤ cen centrômero	➤ Mat Origem materna
➤ dic cromossomo dicêntrico	➤ pat Origem paterna
➤ end endoreduplicação	➤ p braço curto do cromossomo
➤ h heterocromatina	➤ q braço longo do cromossomo
➤ i isocromossomo	➤ r cromossomo em anel
➤ inv inversão	➤ s satélite
➤ Inv(p+q-) Inv(q+p-) inversão pericêntrica	➤ t translocação
	➤ tri tricêntrico

Nomenclatura

➤ del deleção	➤ : quebra sem junção dos fragmentos
➤ der cromossomo derivativo	➤ :: quebra e junção
➤ dup duplicação	
➤ ins inserção	
➤ rcp translocação recíproca	
➤ rec translocação recombinante	
➤ Rob translocação robertsoniana	
➤ tan translocação em tandem	

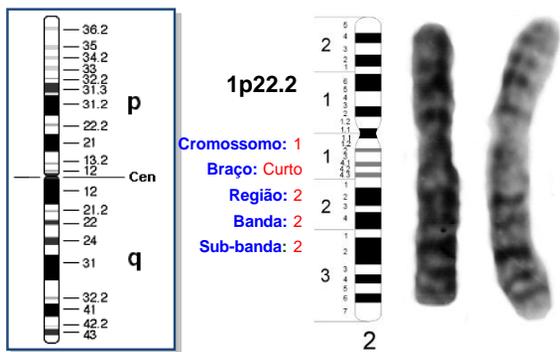


Tabela 5.3. Exemplos de aberrações cromossomais estruturais

Cariótipo	Comentário
46, XY, t(5;10) (p13;q25)	Translocação recíproca equilibrada envolvendo o braço curto do cromossoma 5 e o braço longo do cromossoma 10 (com pontos de ruptura nas bandas 13 e 25 respectivamente)
45, XX, t(13; 14) (p11;q11)	Translocação por fusão centromérica dos cromossomas 13 e 14
46, XY, del (5)(p25)	Deleção do braço curto do cromossoma 5 (síndrome do grito de gato)
46, X(Xq)	Isocromossoma do Xq
46, XX, dup (2)(p13p22)	Duplicação parcial do braço curto do cromossoma 2 (p13 para p22)
46, XY, r(3)(p26→q29)	Cromossoma anelar 3
46, XY, inv(11)(p15q14)	Inversão pericêntrica do cromossoma 11

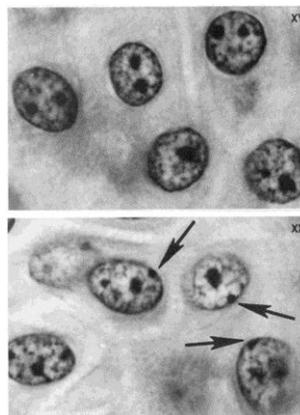
Estudos específicos dos cromossomos X e Y

Cromatina sexual do X

- Mulheres com crescimento retardado
- Homens com problema de fertilidade
- Gestantes com risco de transmissão de doença ligada ao X

Um dos cromossomos X permanece espiralado
 Hipótese de Lyon- geneticamente inativo
 inativação ocorre cedo (15 a 16º dia)
 inativação é incompleta
 inativação por metilação

$N. C \text{ BAAR} = n^{\circ}X - 1$



Cromatina Sexual