

ORGANIZACIÓN DE GENOMAS EUCARIONTES.

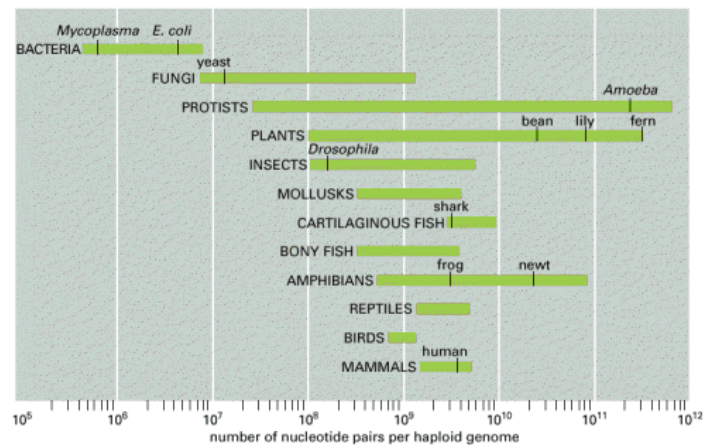
EL GENOMA HUMANO.

Prof. Laura Walker B.
Programa de Genética Humana

Facultad de Medicina- Universidad de Chile

GENOMA

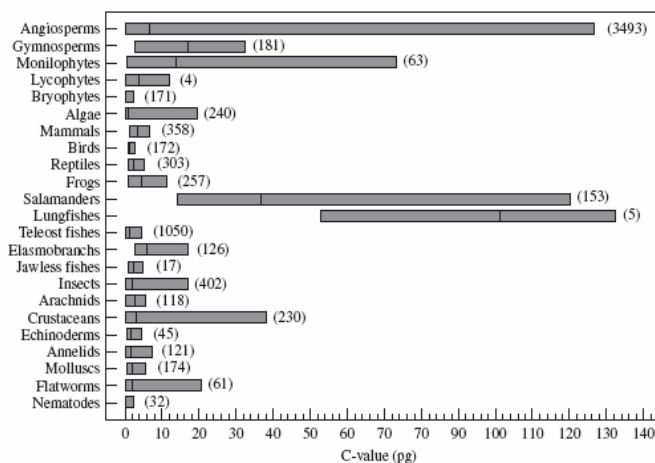
- ❖ **Complemento génico total de un organismo procariótico o eucariótico: el total de DNA que estos poseen (codificante y no codificante).**
- ❖ **Genoma Nuclear: complemento génico total del núcleo de eucariontes. El tamaño genómico usualmente se expresa en pares de bases nucleotídicas (pb) o en picogramos ($1\text{pg}=10^{-12}\text{g}$).**
- ❖ **Para comparaciones entre genomas usualmente se utiliza como referencia la cantidad haploide de DNA (C) presente en la especie en estudio.**



Tamaños genómicos expresados en número de pares de bases nucleotídicas por genoma haploide, en distintos organismos procariontes y eucariontes.

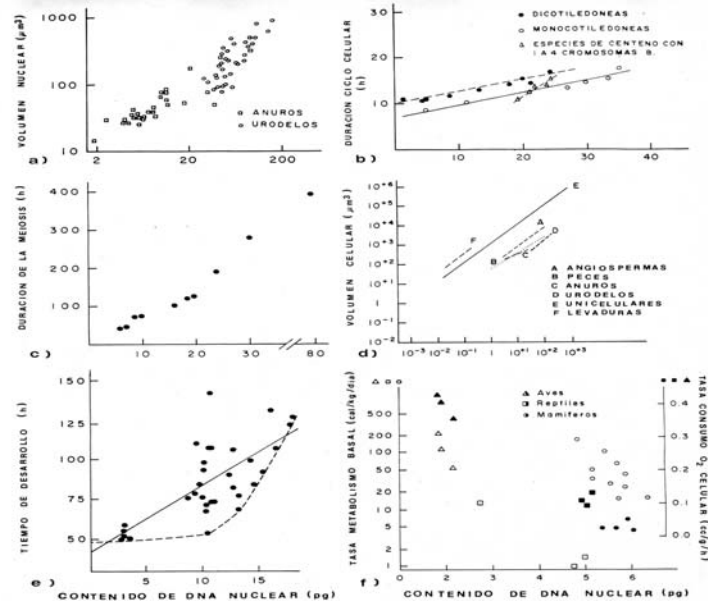
Gregory — The C-value Enigma in Plants and Animals

135



Rangos de variación en los valores haploides de C DNA (en pg), para los grupos eucariontes de animales y plantas hasta ahora estudiados (2003). El número de especies de cada grupo figura en paréntesis al final de las barras.

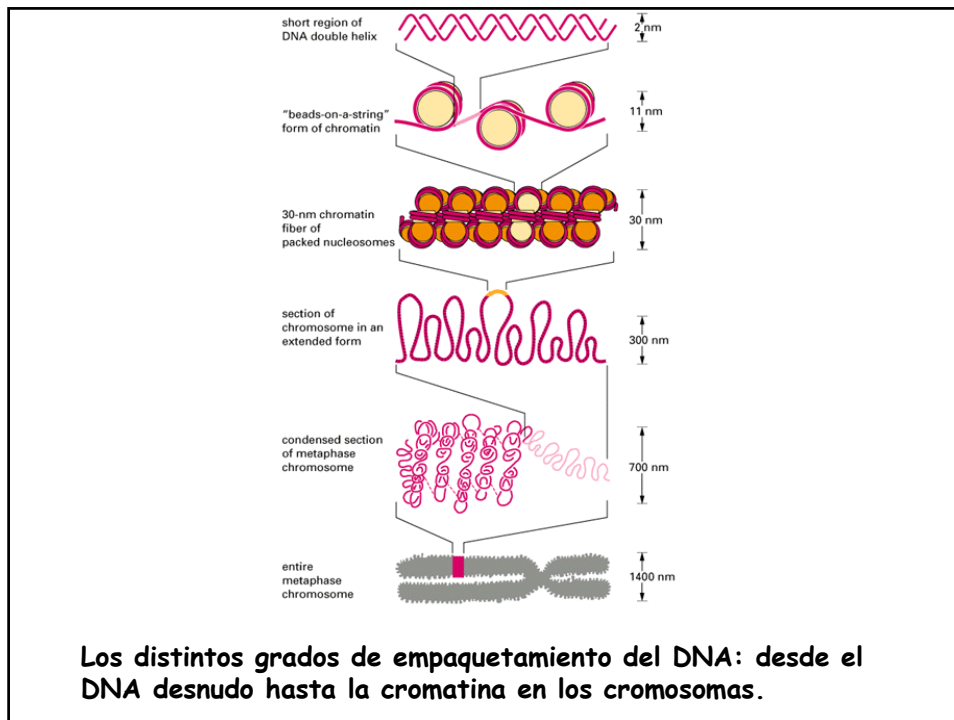
El valor promedio de C DNA para cada grupo se indica mediante una línea vertical dentro de cada barra (Gregory TR, 2005).



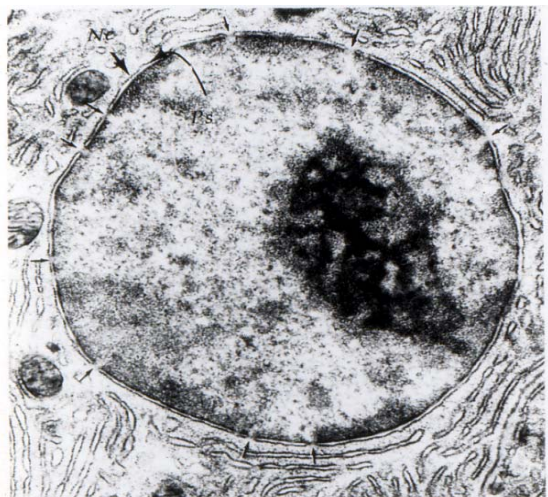
Relaciones entre contenido de DNA nuclear y volumen nuclear (a), duración del ciclo celular (b), duración de la meiosis (c), volumen celular (d), tiempo de desarrollo (e) y tasa metabólica basal (f).

GENOMA NUCLEAR HUMANO

- ❖ **Tamaño haploide:** 3×10^9 pb o 3,5 pg de DNA.
- ❖ **Número de genes codificantes estimados:** 30.000.
- ❖ **Tamaño promedio de genes conocidos:** 1.340 pb.
- ❖ **DNA codificante representa** < del 2% del DNA total.
- ❖ **DNA no codificante:** > 98 % del DNA total.
Está formado principalmente por distintos tipos de DNA de secuencias repetidas.

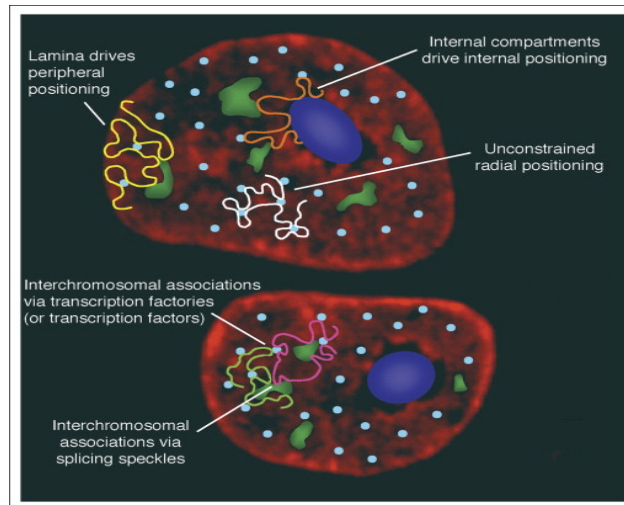


En eucariontes el material genético se encuentra acompañado con proteínas histónicas, formando las fibras de cromatina.....



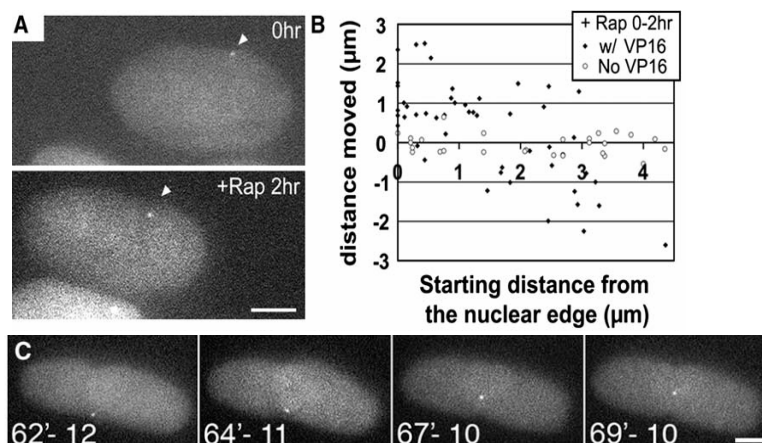
Sección de un núcleo de páncreas de murciélago, visto al microscopio electrónico. → = envoltura nuclear.

Los cromosomas en la interfase ocupan territorios nucleares específicos, asociándose con estructuras nucleares y entre si

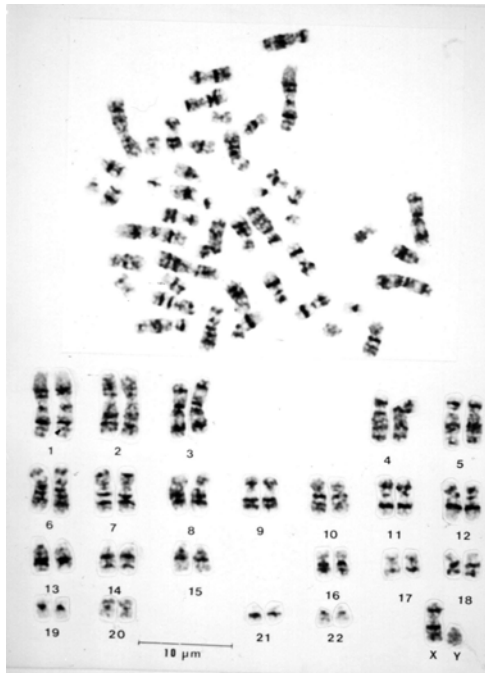


- Asociaciones con territorios nucleares específicos: con la lámina nuclear, en amarillo; con el nucléolo o los sitios de splicing, en anaranjado.
- Asociaciones entre cromosomas como consecuencia de las asociaciones independientes de estos a compartimientos nucleares, aquí a sitios de splicing (Pombo & Branco, *Current Opinion in Genet & Develop*, 2007).

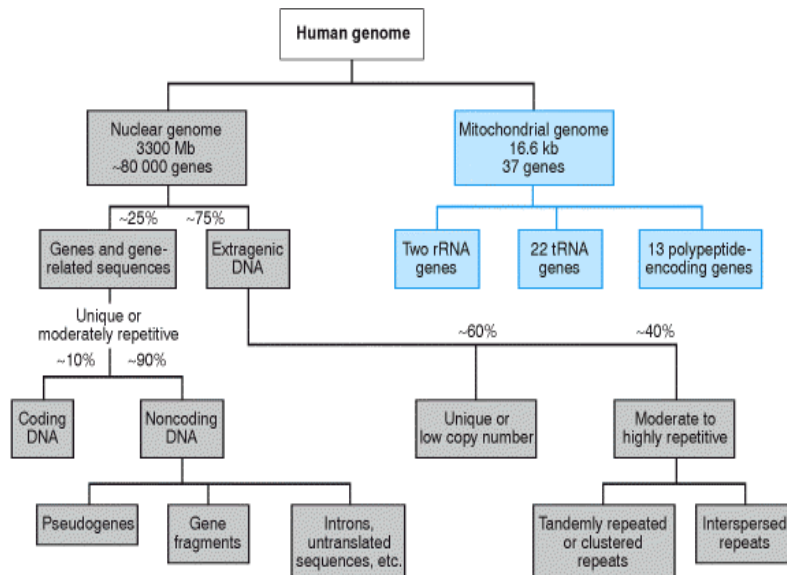
La cromatina al transcribir generalmente cambia su posición al interior del núcleo



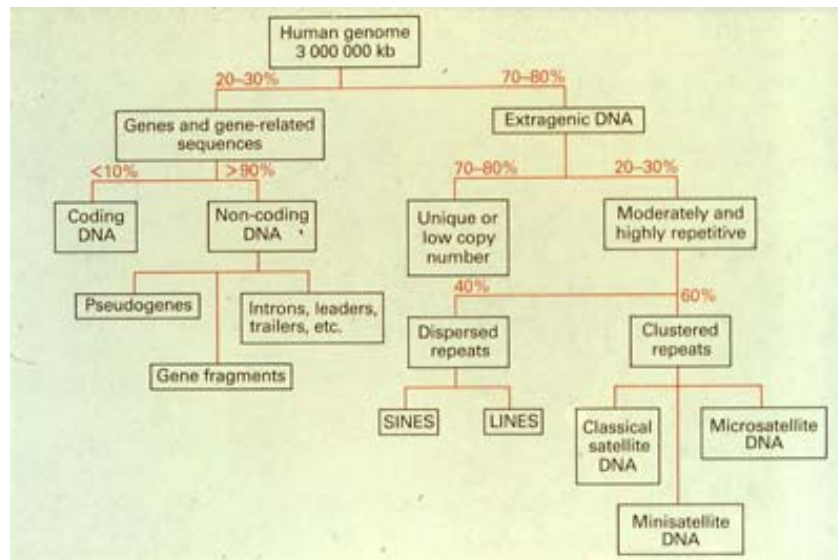
Migración de un loci desde la periferia al interior del núcleo (1-5 μm), 1 - 2 hrs. después de la estimulación del activador transcripcional de ese loci (Chuang et al., *Current Biology*, 2006).



Metafase mitótica y cariotipo bandeado G de un varón normal, mostrando las bandas claras y oscuras específicas para cada par de cromosomas. Abajo y a la derecha, los cromosomas sexuales X e Y.

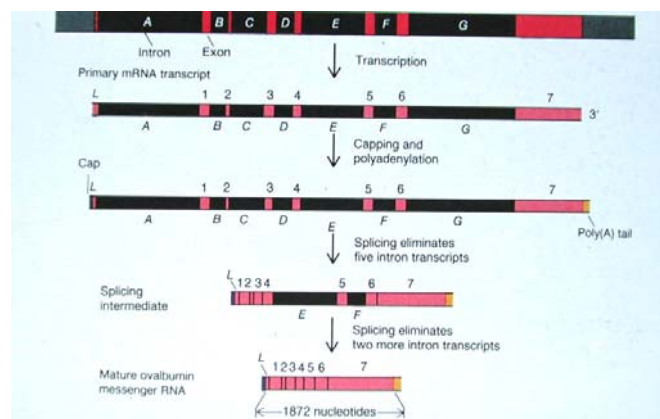


Tipos y proporciones de los distintos tipos de DNA del genoma humano.



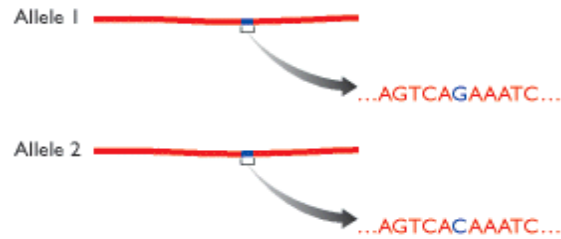
Tipos y proporciones de los distintos tipos de DNA del genoma humano.

Los genes de los eucariontes son fragmentados: están formados por exones e intrones



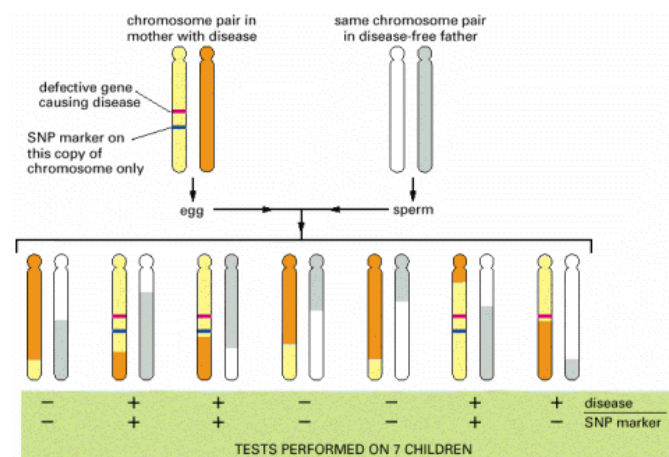
Estructura del gen de la ovoalbúmina y procesamiento ("splicing") de su RNAm al interior del núcleo.

Polimorfismos de Nucleótidos Simple (SNPs)



Dan cuenta de buena parte de la variabilidad genómica entre los individuos y se utilizan como marcadores genéticos para localizar genes en los cromosomas.

POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDOS SIMPLES (SNPs) SON MARCADORES QUE PERMITEN MAPEAR GENES EN LOS CROMOSOMAS

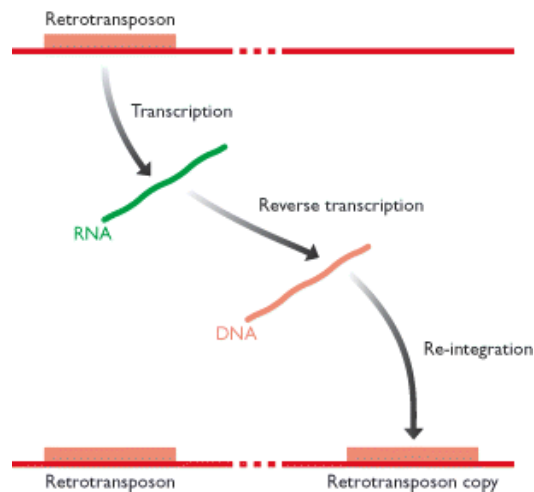


CONCLUSION: gene causing disease is coinherited with SNP marker from diseased mother in 75% of the diseased progeny. If this same correlation is observed in other families that have been examined, the gene causing disease is mapped to this chromosome close to the SNP. Note that a SNP that is either far away from the gene on the same chromosome, or located on a different chromosome than the gene of interest, will be coinherited only 50% of the time.

DNA REPETIDO DISPERSO : PRINCIPALES FAMILIAS

Tipos	DNA Repetido	SINES	LINES
Familia		Alu	Line-1
Longitud fragmento de repetición		250 pb	6.000 pb
Grado de repetición		60.000 x – 100.000 x	60.000 x – 100.000 x
Composición nucleotídica principal		G - C	A - T
Localización cromosómica *		Bandas G ⁻	Bandas G ⁺

* Corresponde al 13% - 18% de una banda (1 banda promedio = 6 Mb de DNA en una metafase mitótica que tiene $\pm$ 550 bandas)



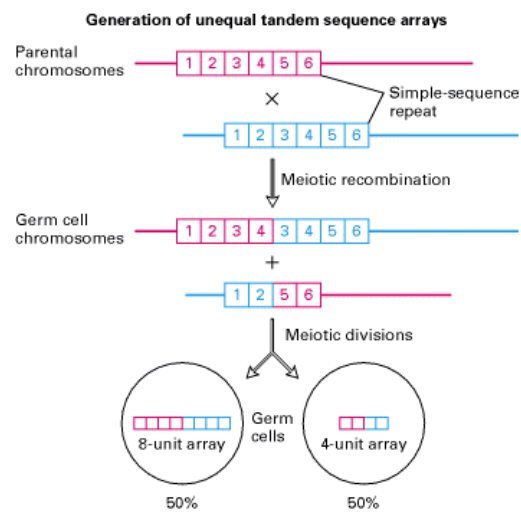
Mecanismo de retrotransposición, mediante el que se puede producir la inserción de secuencias dispersas a lo largo del genoma.

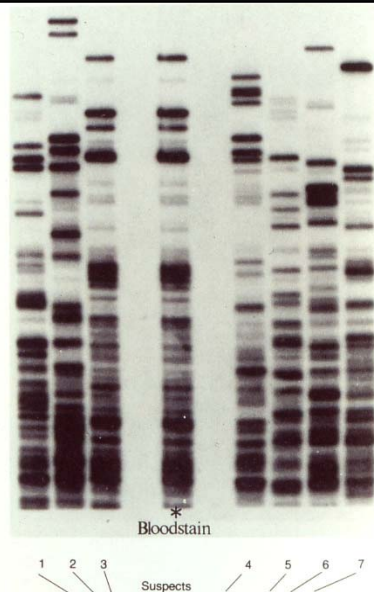
DNA REPETIDO AGRUPADO EN CLUSTERS (DNA satélite)

Tipo DNA	Longitud fragmento de repetición	Grado de repetición	Localización cromosómica
Satélite Clásico	171 pb (α DNA centromérico humano)	100 kb - 5.000 kb	Centrómeros
Minisatélite			
Telomérico	6 pb *	100 pb - 20 kb	Telómeros
Hipervariable	9 - 64 pb	100 pb - 20 kb	Regiones subtelométicas
Microsatélite	1 pb - 6 pb	± 150 pb	A lo largo de los cromosomas

* (TTAGGG) n = secuencia telomérica común para vertebrados

CROSSING-OVER DESIGUAL Y SUS CONSECUENCIAS





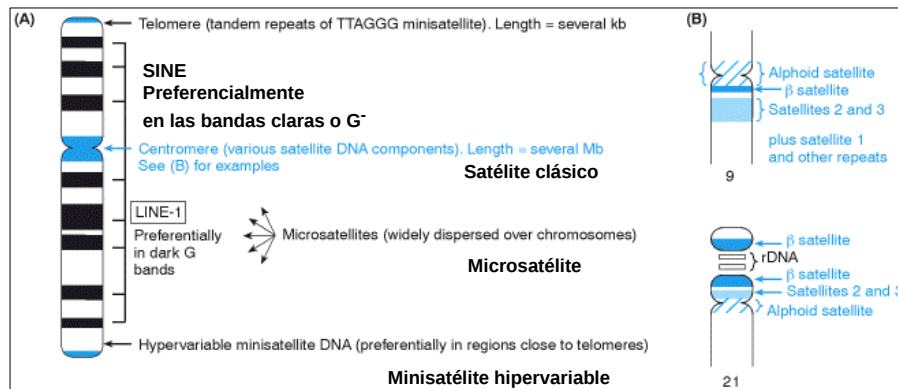
DNA “fingerprints” de una muestra de sangre que quedó en la escena de un crimen (*) y de la de siete sospechosos. Los patrones de hibridación obtenidos son específicos para cada individuo debido al alto grado de polimorfismo del DNA minisatélite hipervariable.

ALGUNAS REPETICIONES INESTABLES DE TRINUCLÉOTIDOS (DNA MICROSATÉLITE) EN EL GENOMA HUMANO Y SUS CONSECUENCIAS.

Enfermedad	Localización del gen	Secuencia repetida	Número de repeticiones		
			Normal	Premutación	Mutación
Corea de Huntington	4 p	(CAG)n	10 - 26	27 - 35	37 – 100
Ataxia espino-cerebelar	6 p	(CAG)n	19-36	?	43 – 81
X frágil	X q	(CGG)n	6-54	50 – 200	200 - >1.000
Distrofia miotónica	19 q	(CTG)n	5-35	37 - 50	50 – 4.000

? = para algunas enfermedades no se conoce el número de repeticiones de la premutación.

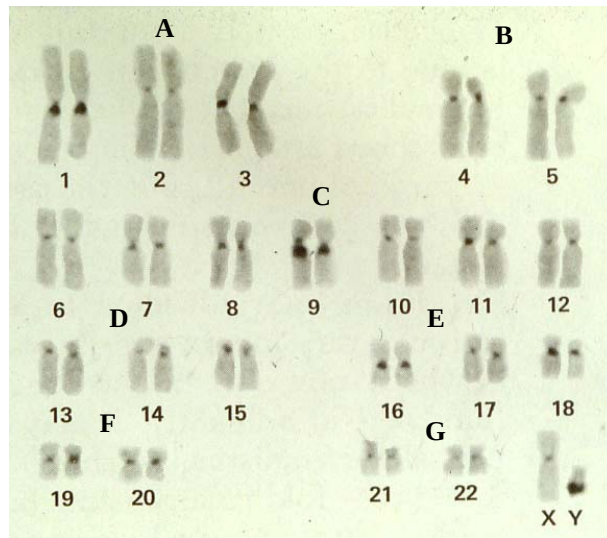
Localización cromosómica de los distintos tipos de DNA repetido



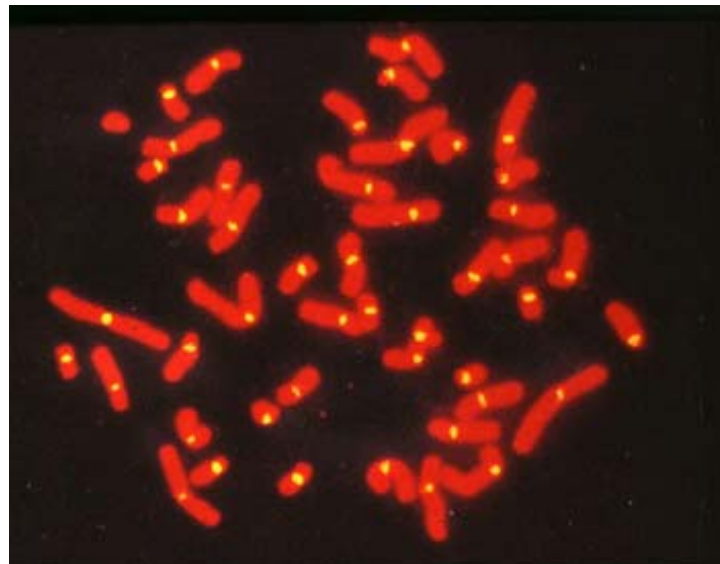
El DNAr se localiza en los brazos cortos de los cromosomas "nucleolares" (pares 13- 14- 15- 21 y 22), es moderadamente repetido y transcribe para RNAr que pasa al citoplasma formando los ribosomas.

COMPARTIMENTOS GENÓMICOS

- I) **SUBCOMPARTIMENTO ESPECÍFICO:** el DNA subyacente tiene características estructurales particulares y cumple funciones específicas.
- a) centromérico: formado por DNA satélite clásico, su función es formar centrómeros (presente en el centrómero de todos los cromosomas).
 - b) telomérico: formado por DNA microsatélite, su función es formar telómeros (presente en los telómeros de todos los cromosomas).
 - c) NOR (Región Organizadora del Nucléolo): formado por DNAr (DNA moderadamente repetido), su función es transcribir RNAr, formar el nucléolo y posteriormente los ribosomas (presente sólo en los NORes de los cromosomas nucleolares).
- II) **SUBCOMPARTIMENTO GENERAL:** el resto del genoma no incluido en el subcompartimento específico.
- Está formado por dos fases que se alternan a lo largo de los cromosomas:
- a) regiones (o bandas) G⁻
 - b) regiones (o bandas) G⁺



Cariotipo humano masculino, tratado con la técnica para obtención de bandas C.



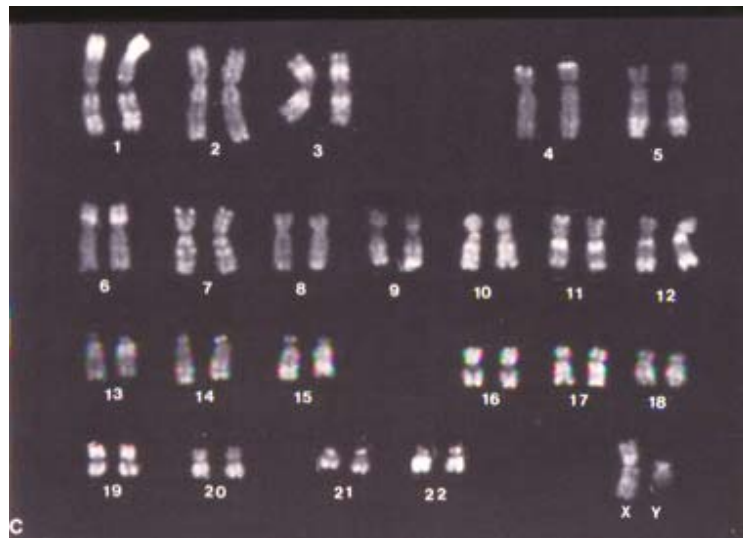
Detección del DNA satélite clásico humano, mediante FISH con una sonda para α DNA centromérico.



Detección de DNA minisatélite telomérico humano, mediante FISH con una sonda marcada con un fluorocromo.

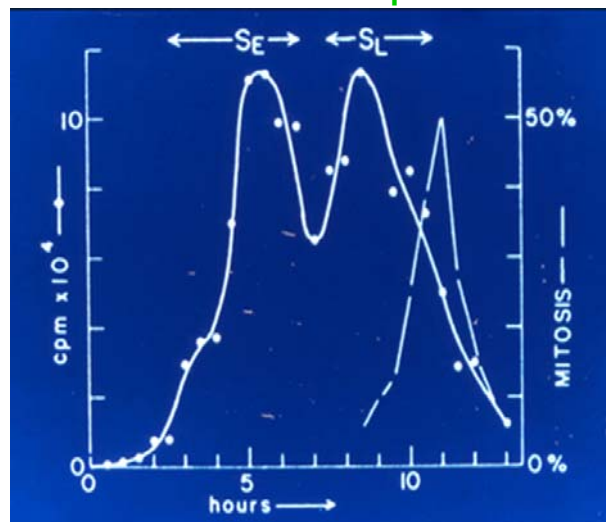


Metafase mitótica humana mostrando los NORes que reaccionaron positivamente con la Ag (→).

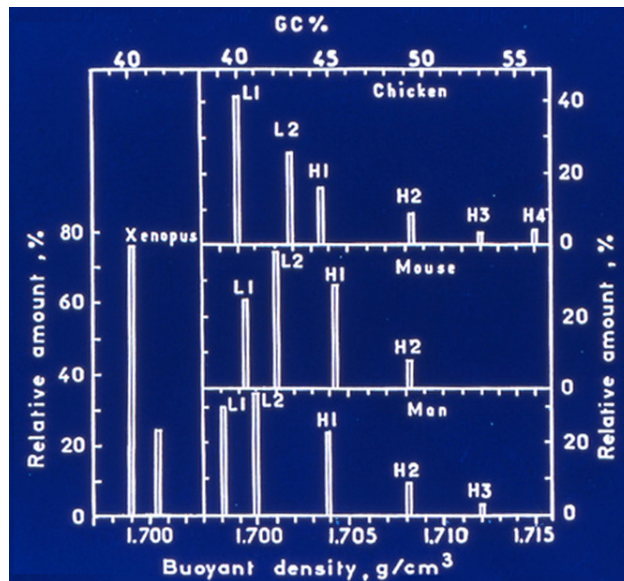


Cariotipo humano, mostrando un patrón de bandeo G- (R), por estar teñido con cromomicina A3, fluorocromo que tiene afinidad por DNA rico en bases G - C.

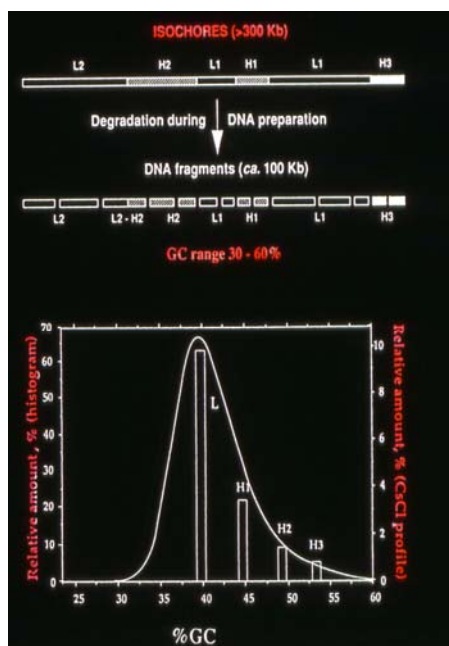
Replicación del DNA durante el período S.....



Una línea celular carente de heterocromatina y sincronizada, se hizo replicar en presencia de timidina H3. La incorporación de TH3 (cpm) se midió en un contador de centelleo en distintos tiempos del experimento.

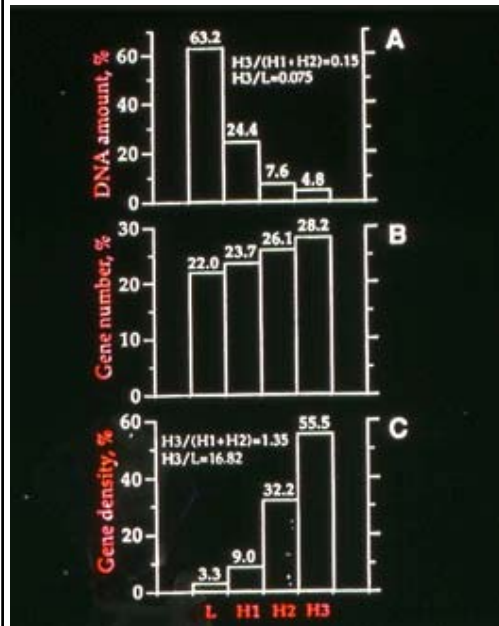


Histogramas que muestran las cantidades relativas, densidades de flotación y niveles de GC de los componentes principales del DNA (ISOCOROS) de vertebrados de sangre fría (*Xenopus*) y de sangre caliente (pollo, ratón y hombre).



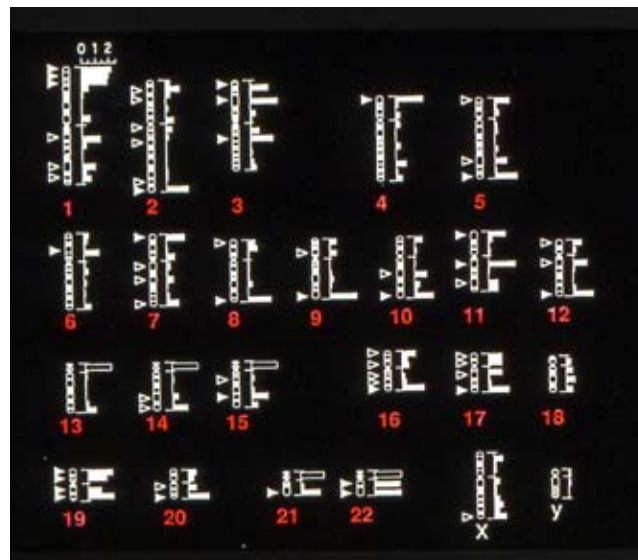
Esquema de la organización de un isocoro y de su degradación cuando el DNA es ultracentrifugado.

Frecuencia relativa de los distintos tipos de isocoros del genoma humano. Se representan dentro de la curva del DNA total.



Representación de las cantidades relativas de DNA (A), número de genes (B) y densidades génicas (C) de los cuatro tipos de isocoros humanos.

L (L1 + L2) = liviano
H1, H2 y H3 = pesados



Cariotipo humano bandeado G, mostrando la distribución de las secuencias que hibridan con una sonda H3 marcada radiactivamente. Barras a la derecha de los cromosomas representan los porcentajes de marcación de señales obtenidas.

**PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y
FUNCIONALES DE LOS COMPARTIMENTOS GENÓMICOS G⁺ Y G⁻**

	COMPARTIMENTO G ⁺ (Bandas oscuras)	COMPARTIMENTO G ⁻ (Bandas claras)
Composición nucleotídica principal	Ricas en bases A - T	Ricas en bases G - C
Replicación en período S	En S tardío	En S temprano
Densidad génica	Baja	Alta
Tipo de genes incluidos	Principalmente genes "tejido específicos"	Principalmente genes "house-keeping"
Actividad transcripcional	Baja	Alta
Actividad recombinacional	Baja	Alta
Riqueza en familias de DNA repetido disperso	Ricas en LINES (L1)	Ricas en SINES (Alu1)
Riqueza en tipos de isocoros	Isocoros livianos, pobres en contenido G-C (L1 y L2)	Isocoros pesados, ricos en contenido G-C (H1, H2 y H3)

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- Bernardi G. Isochores and the evolutionary genomics of vertebrates. *Gene* 241: 3 – 17, 2000.
- Brown TA. "Genomes", Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers Ltd; 2nd edition, 2002. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>
- InterInternational Human Genome Sequencing Consortium. "Initial sequencing and analysis of the human genome". *Nature*, vol. 409, pp. 860 – 921, 15 Feb. 2001. (Primer informe sobre el desarrollo del Proyecto Genoma Humano).
- Saccone S, De Sario A, Della Valle G and Bernardi G. The highest gene concentrations in the human genome are in telomeric bands of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci* 89: 4913 – 4917, 1992.
- Strachan T. and Read AP. "Human Molecular Genetics". John Wiley & Sons, Inc., Publication. N. Y. Second Edition, 1999. Chapters 7 and 13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>
- <http://www.ensembl.org/> (Contiene el número y la distribución de los genes en cada uno de los cromosomas humanos)