

ORGANIZACIÓN DE GENOMAS EUCARIONTES.

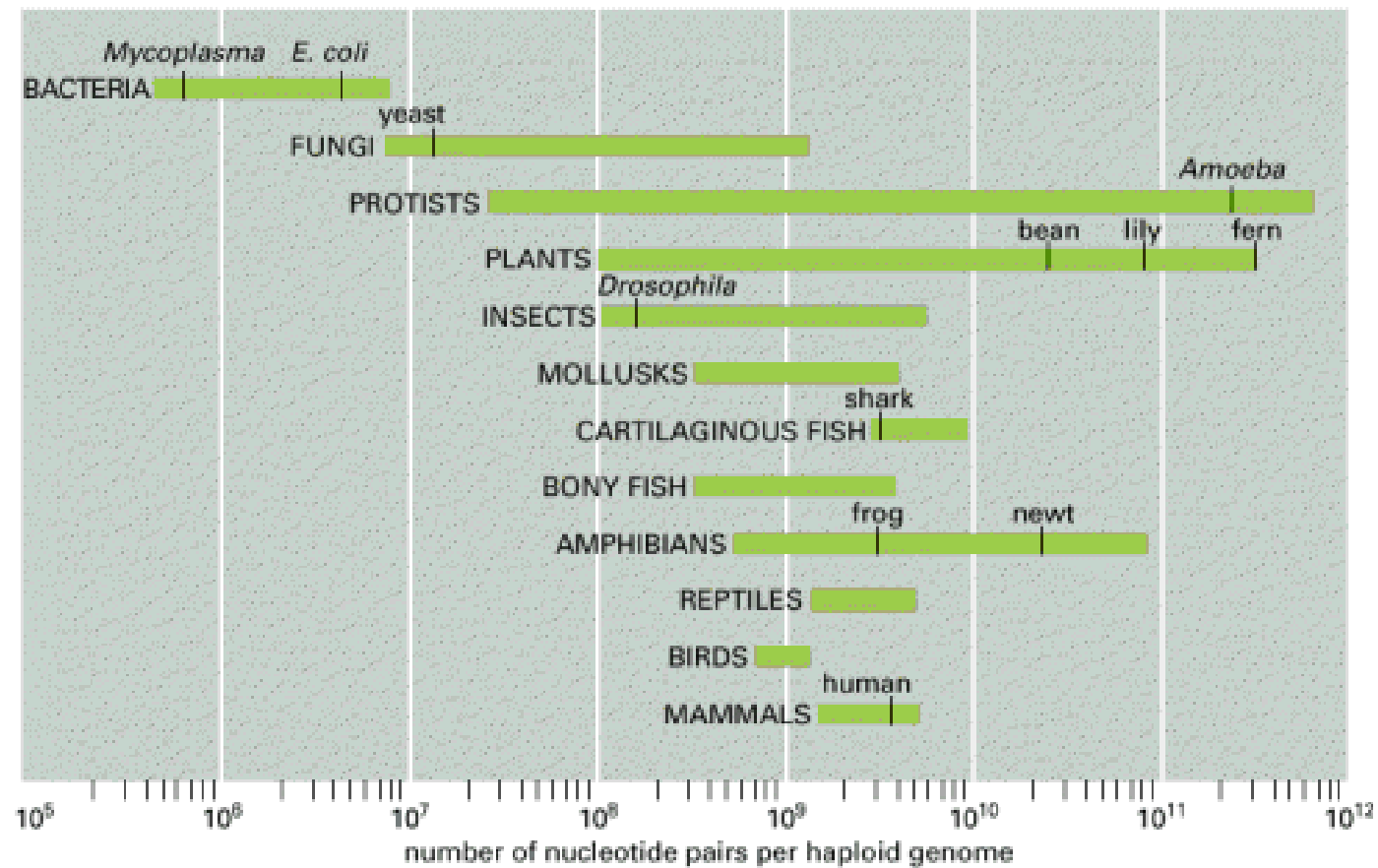
EL GENOMA HUMANO.

Prof. Laura Walker B.
Programa de Genética Humana

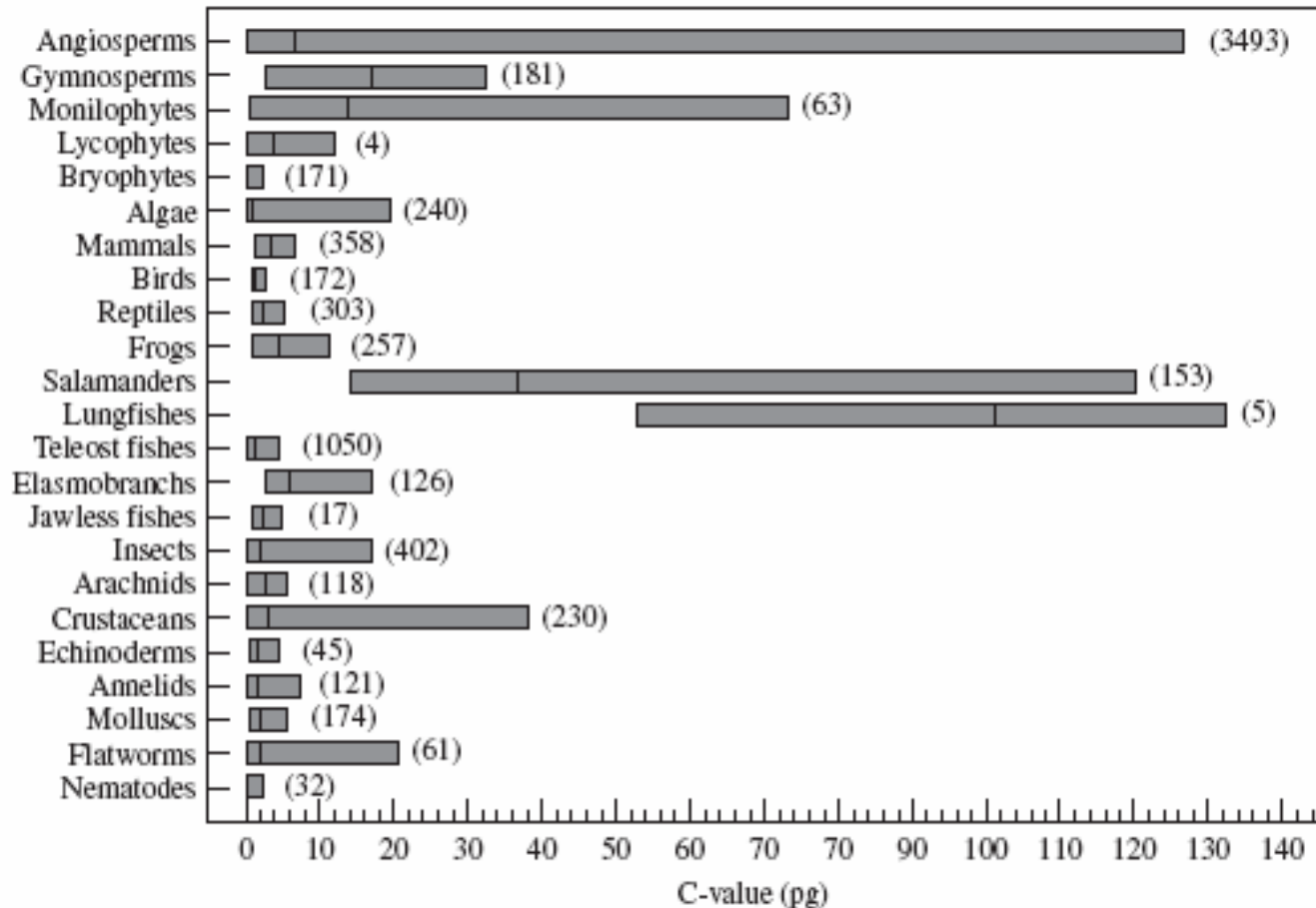
Facultad de Medicina- Universidad de Chile

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.



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).

TABLA 2.- NÚMERO DE GENES CODIFICANTES ESTIMADOS Y TAMAÑOS GENÓMICOS EN EUCARIONTES.

Eucariontes	C DNA *	Nº de genes (estimados)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.000.000	5.800
<i>Arabidopsis thaliana</i>	115.000.000	25.498
<i>Plasmodium falciparum</i>	23.000.000	5.300
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97.000.000	19.099
<i>Drosophila melanogaster</i>	116.000.000	13.601
<i>Anopheles gambiae</i>	278.000.000	14.653
<i>Danio rerio</i> (zebra fish)	1.560.000.000	20.000
<i>Mus musculus</i>	2.490.000.000	24.948
<i>Ratus norvegicus</i>	2.570.000.000	21.276
<i>Homo sapiens</i>	2.693.000.000	25.000

*C DNA = Cantidad de DNA por genoma haploide, estimada en pares de bases nucleotídicas.

El tamaño genómico (C DNA) de *H. sapiens* es más de 200.000 veces mayor que el de *S. cerevisiae*, sin embargo el número de genes de *H. sapiens* es solo 4,3 veces mayor que el de *S. cerevisiae*.

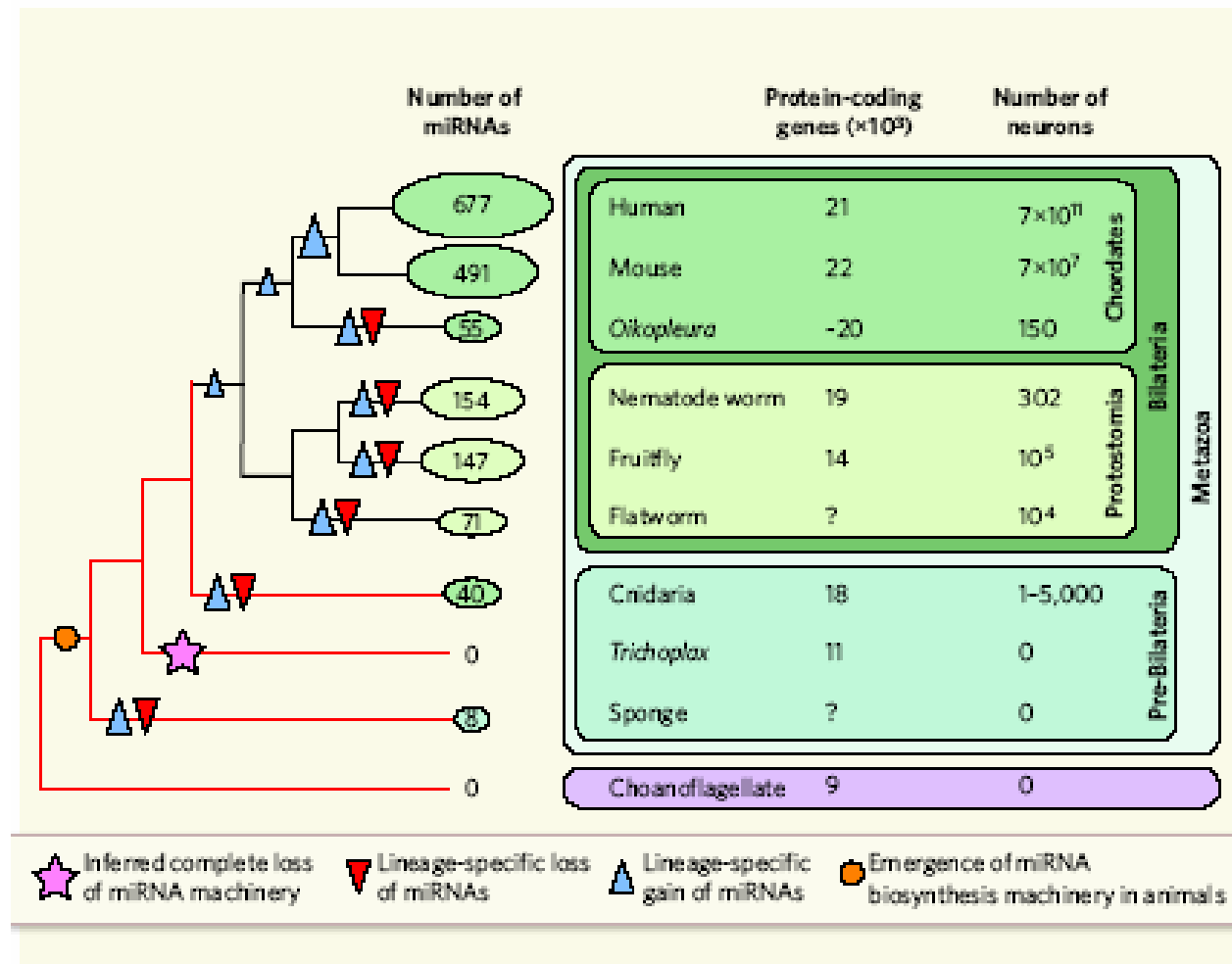
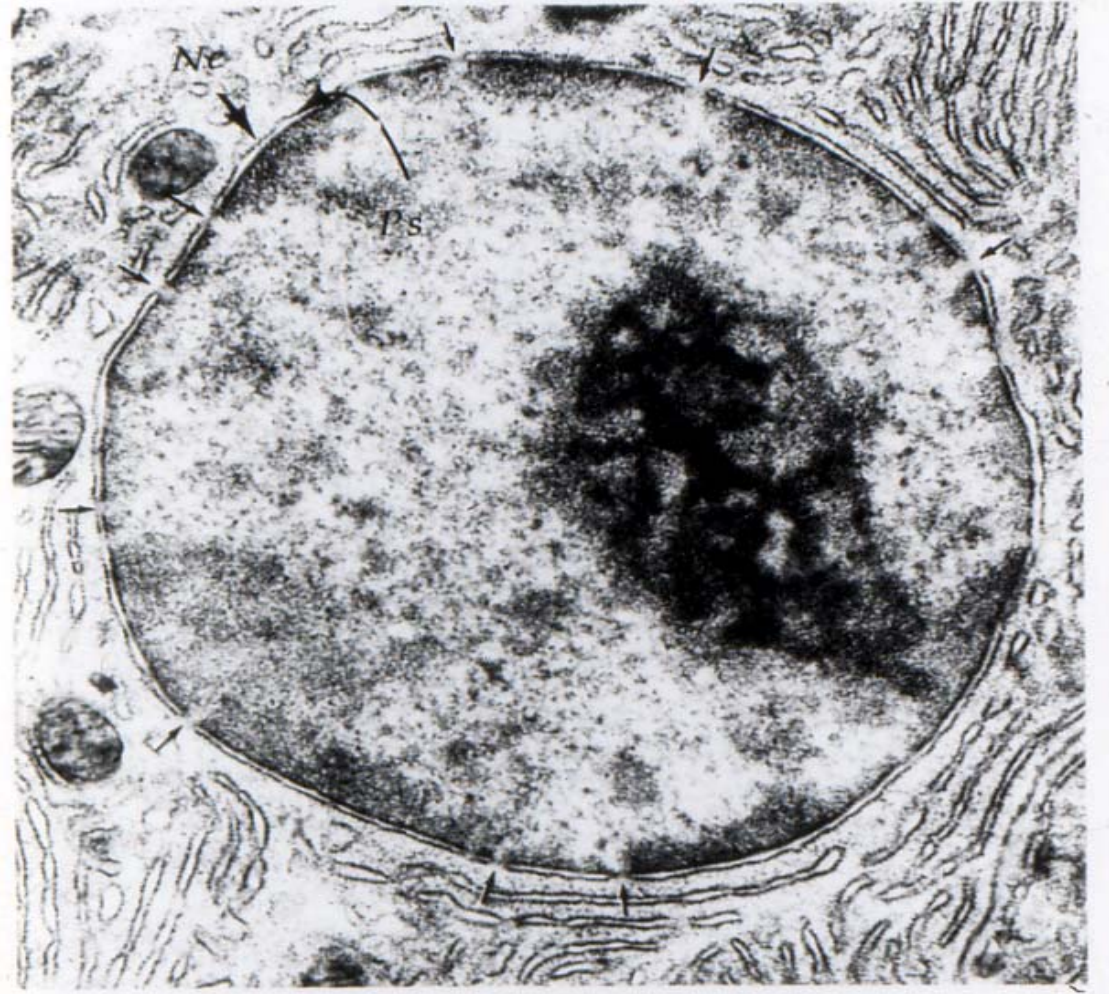


Figure1 | Animal miRNAs and morphological complexity. Grimson *et al.*³ (data along red lines) reveal the evolutionary origin of animal miRNAs by examining organisms at the base of the animal tree. Combining their data with previous work, three different measures of complexity become apparent: the number of protein-coding genes, total number of neurons and number of miRNAs. There is relatively little correlation between morphological complexity and the number and diversity of protein-coding genes. However, miRNA number correlates well with the organism's total number of neurons. Indeed, a large proportion of vertebrate miRNAs are expressed in the nervous system. These data also show the dynamic nature of the miRNA complement in each lineage, particularly visible in rapidly evolving species (*Oikopleura* and fruitfly).

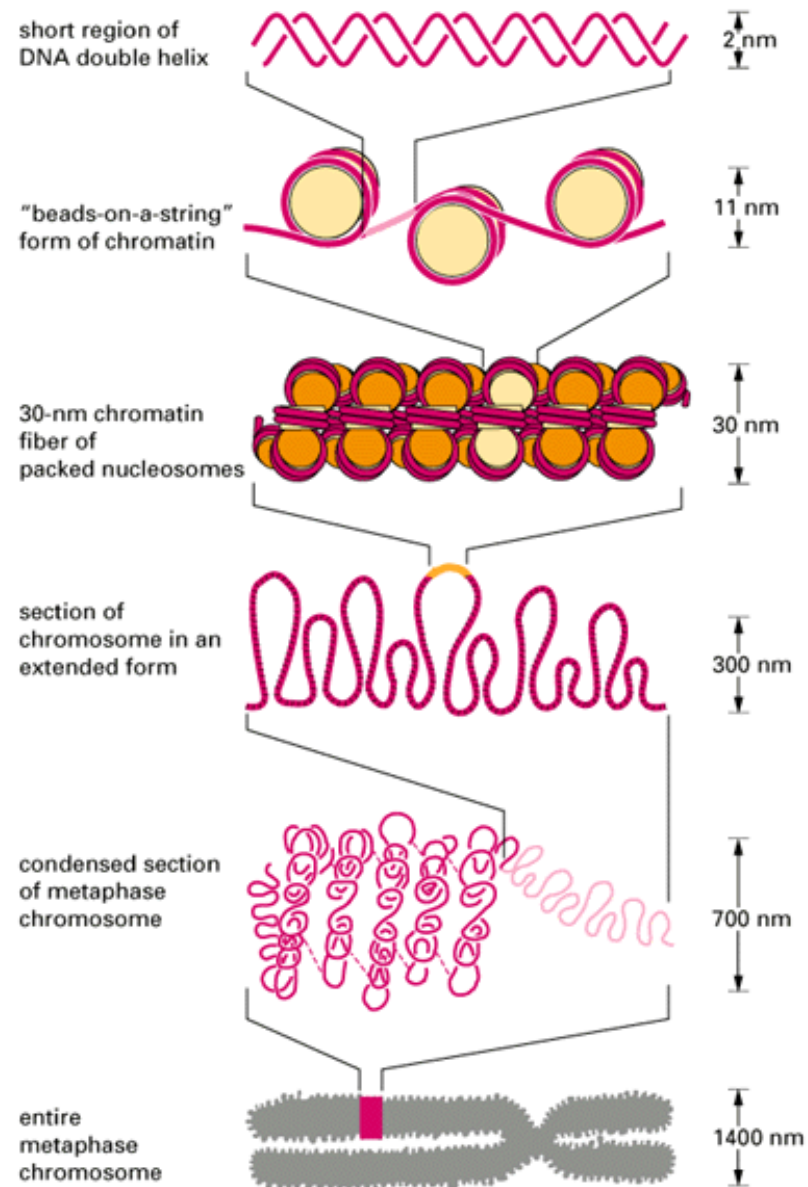
GENOMA NUCLEAR HUMANO

- ❖ **Tamaño haploide: 3×10^9 pb o 3,5 pg de DNA.**
- ❖ **Número de genes codificantes estimados: 25.000.**
- ❖ **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.

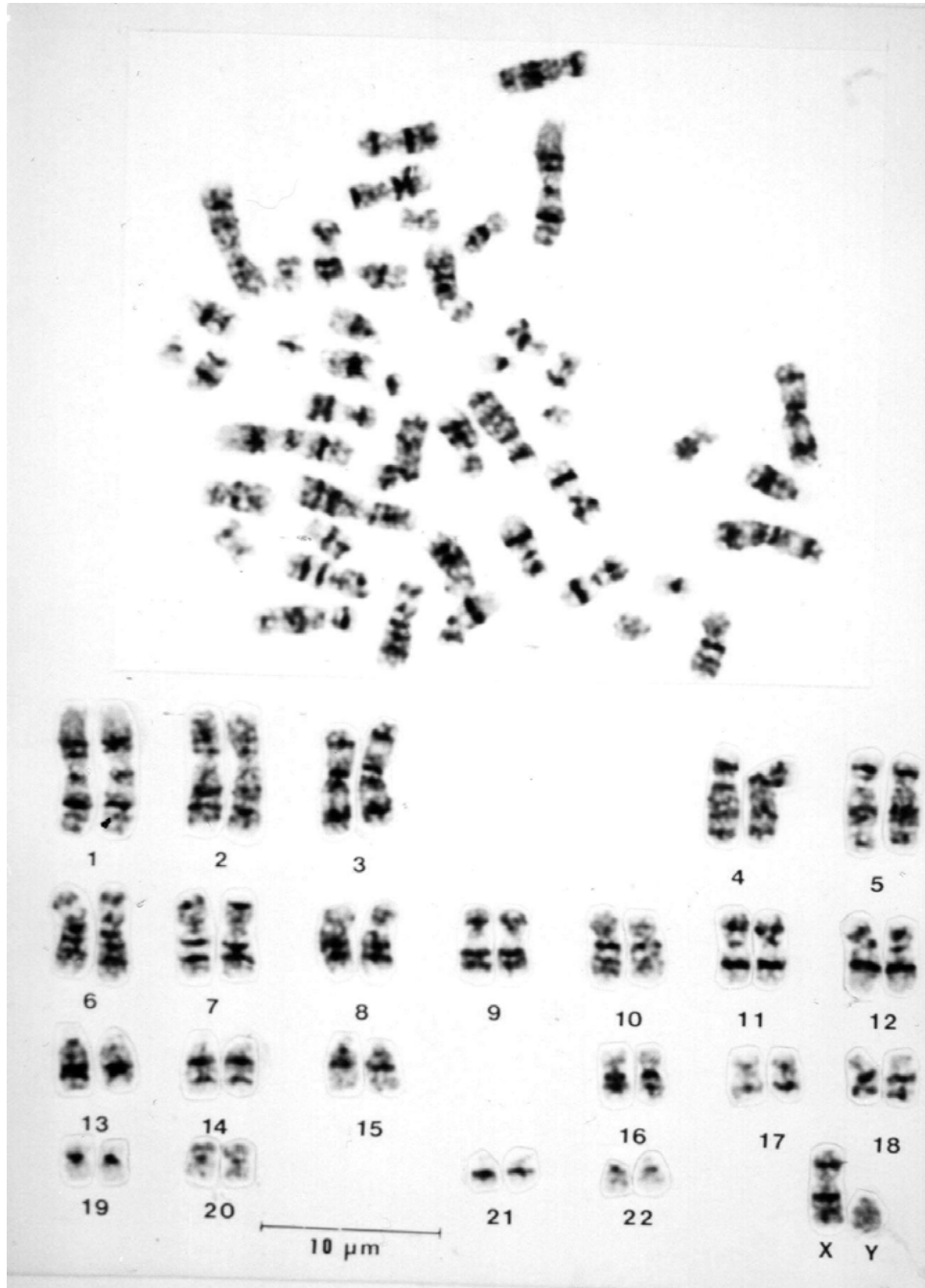
En eucariontes el material genético se encuentra acompañado con proteínas histónicas, formando las fibras de cromatina.....



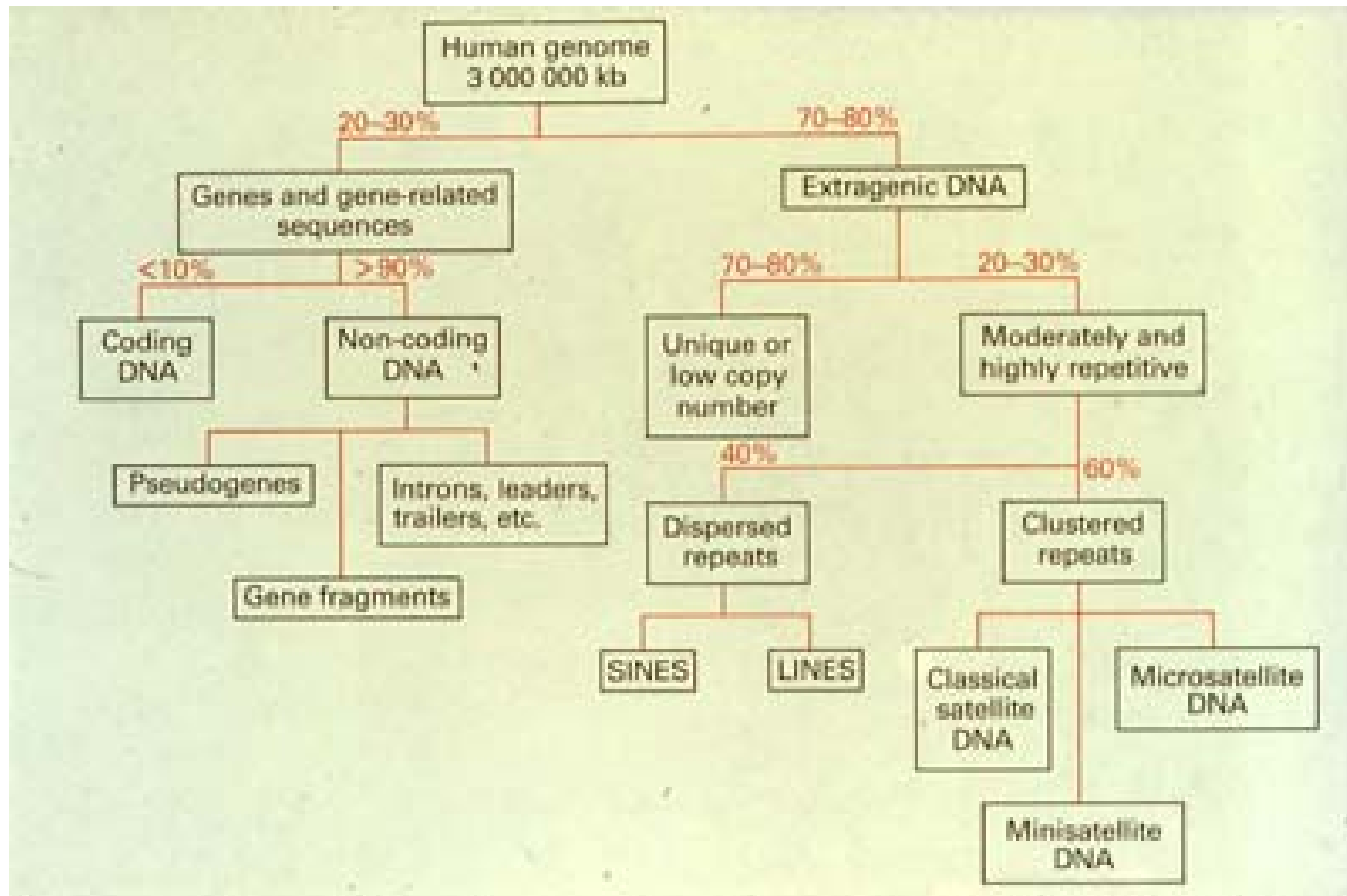
Sección de un núcleo de páncreas de murciélago, visto al microscopio electrónico. → = envoltura nuclear.



Los distintos grados de empaquetamiento del DNA: desde el DNA desnudo hasta la cromatina en los cromosomas.

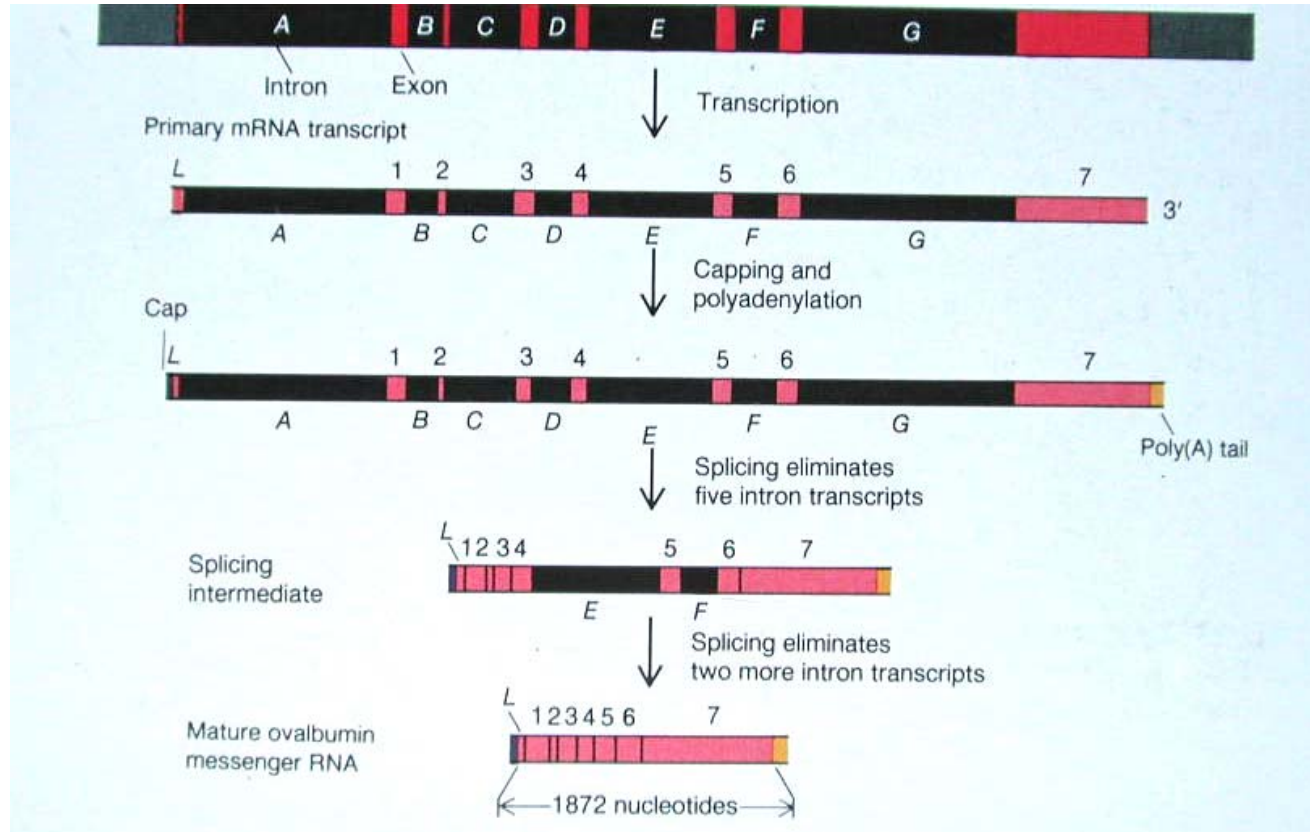


Metafase mitótica y cariotipo bandeo G de un varón normal, mostrando las bandas claras y oscuras específicas para cada par de cromosomas. Abajo y a la derecha, los cromosomas sexuales X e Y.



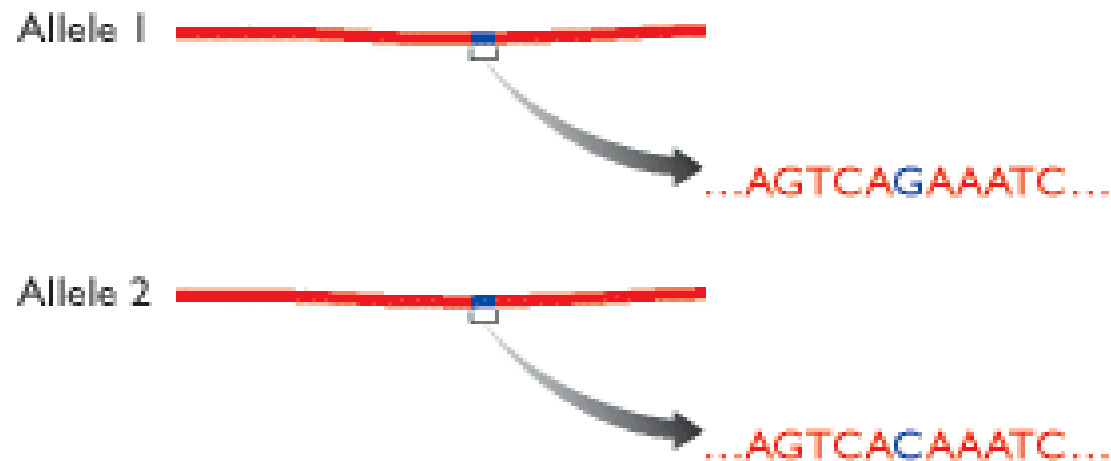
Tipos y proporciones de los distintos tipos de DNA del genoma humano.

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



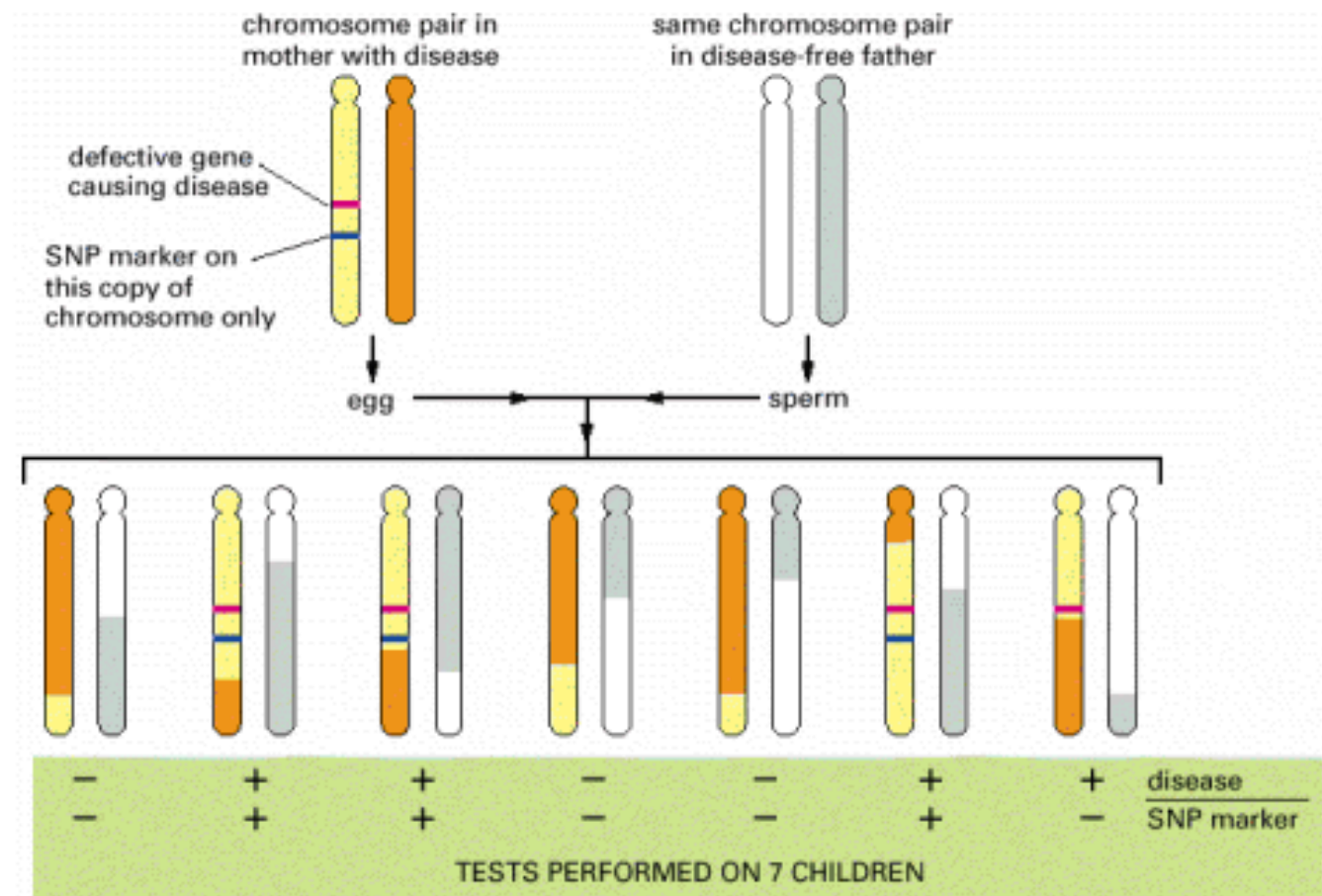
Estructura del gen de la ovoalbúmina y procesamiento (“splicing”) de su RNAm al interior del núcleo.

**Polimorfismos de Nucleótidos Simple (SNPs):
1,4 – 2,1 x 10⁶ SNPs descritos para el genoma humano.**



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

LOS 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.

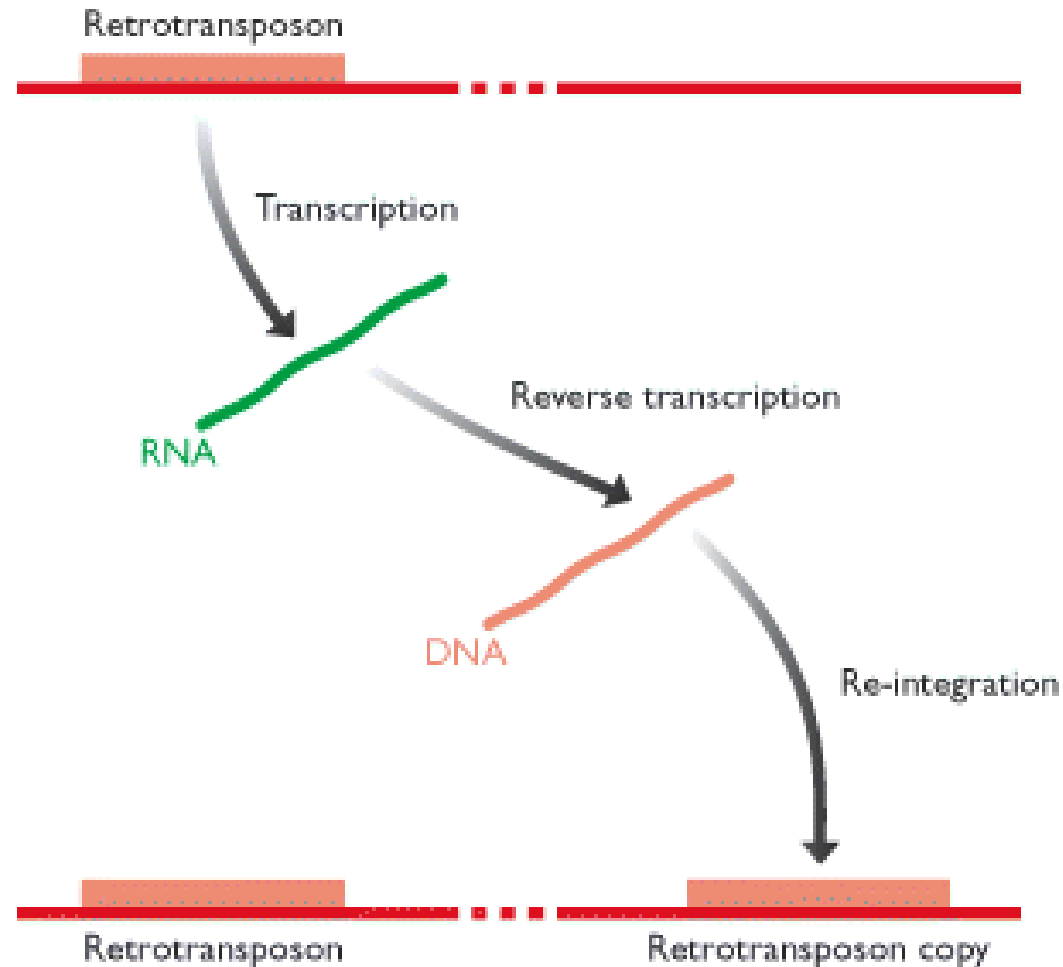
DNA REPETIDO DISPERSO: PRINCIPALES FAMILIAS

Tipos	DNA Repetido	SINES	LINES
Familia		Alu (corresponde al 10,7 % del genoma humano)	Line-1* (corresponde al 17,3 % del genoma humano)
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⁺

* provendrían de retrovirus, cuyo material genético es RNA, que parasitaron células humanas y dejaron inserto parte de su genoma en genoma humano

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

Mecanismo de retrotransposición, mediante el que se produciría la amplificación de secuencias repetidas dispersas a lo largo del genoma.



Ambas familias de DNA disperso utilizan el mismo mecanismo para amplificarse y dispersarse pero solo LINE-1 tiene la codificación para la transcriptasa reversa, Alu habría utilizado la maquinaria metabólica que le proporciona LINE-1.

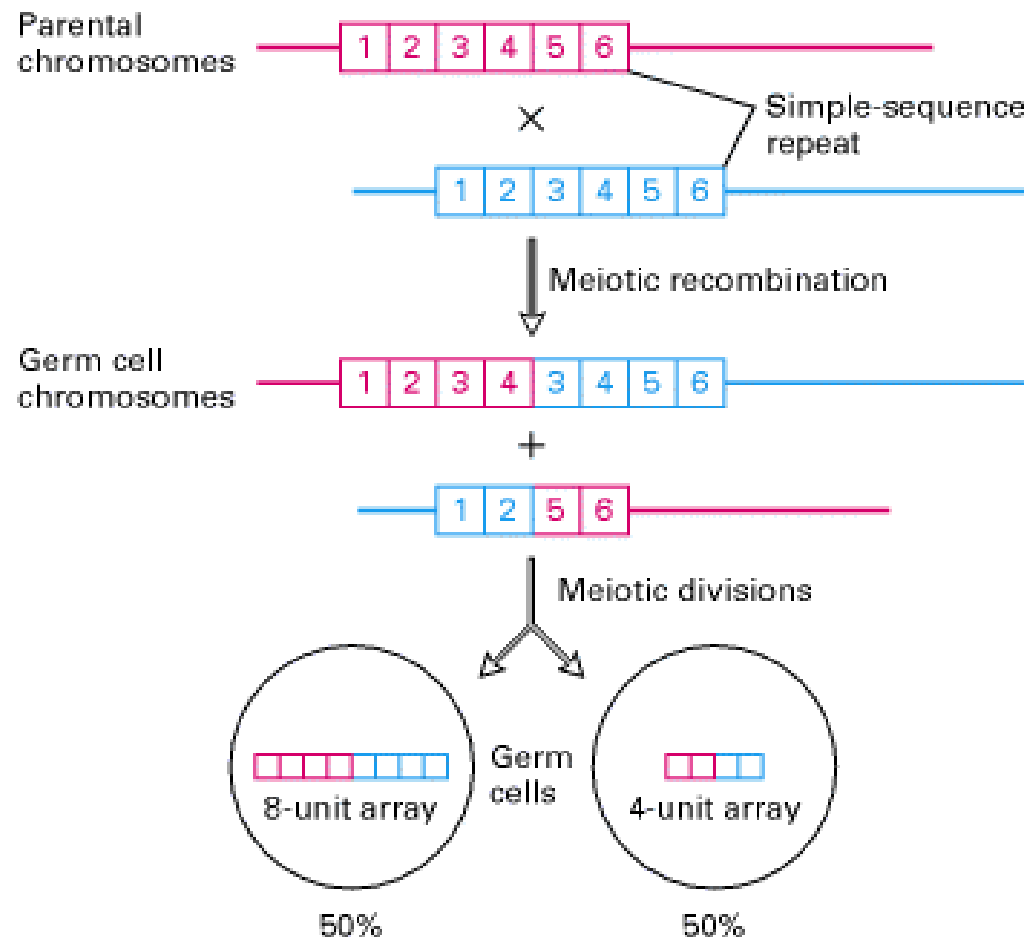
DNA REPETIDO AGRUPADO EN CLUSTERS (DNA satélite)

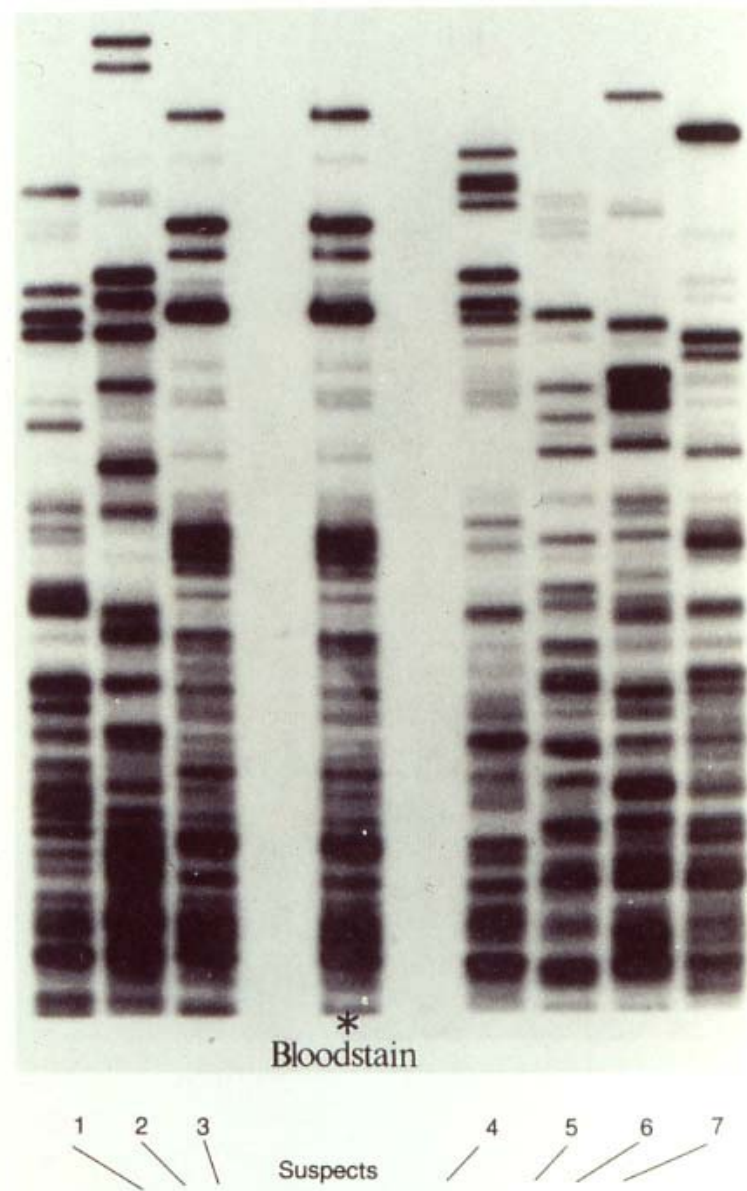
Tipo DNA	Longitud fragmento de repetición	Grado de repetición	Localización cromosómica
Satélite Clásico	171 pb (α DNA centromérico humano)	100 kb - 5.000 kb	Centrómeros
Minisatélite			
Telomérico	6 pb *	100 pb - 20 kb	Telómeros
Hipervariable	9 - 64 pb	100 pb - 20 kb	Regiones subtelométicas
Microsatélite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

* (TTAGGG) n = secuencia telomérica común para vertebrados

CROSSING-OVER DESIGUAL Y SUS CONSECUENCIAS

Generation of unequal tandem sequence arrays





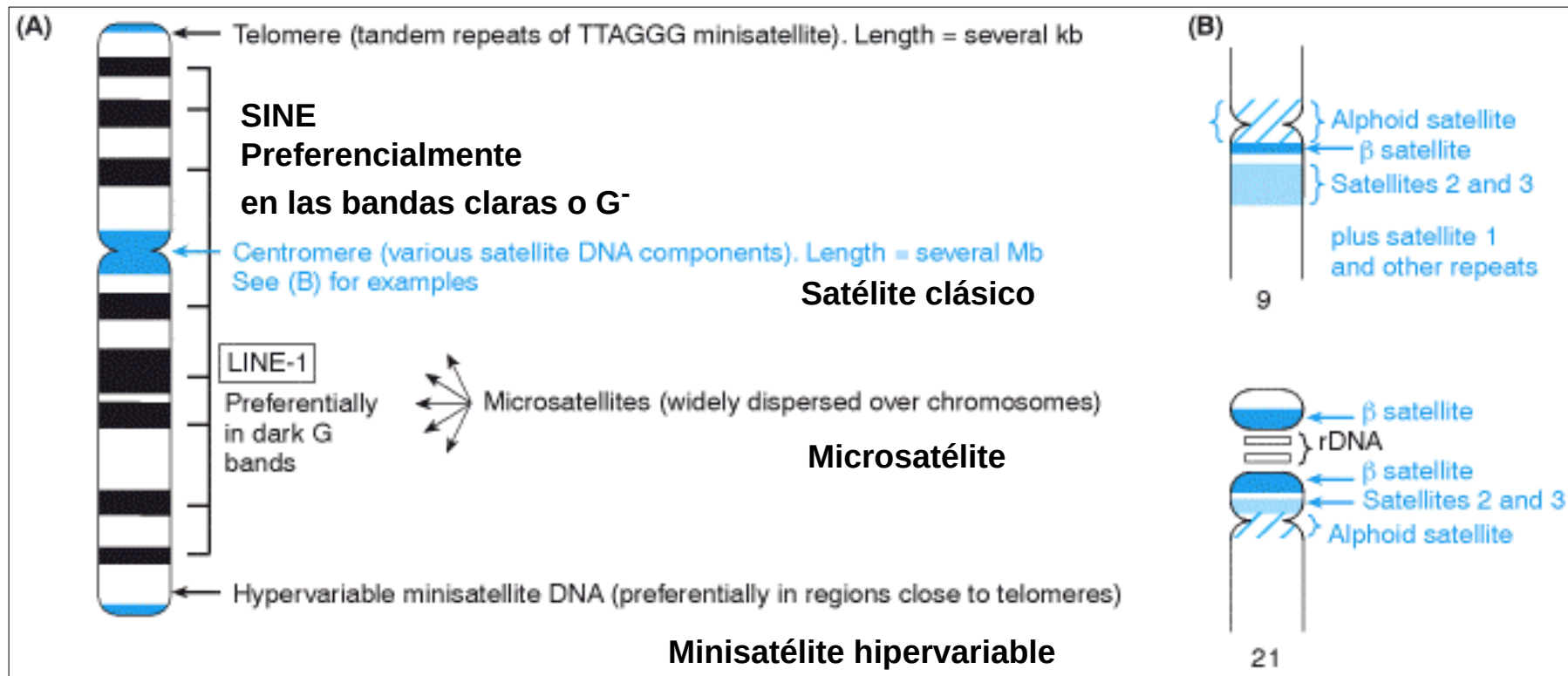
DNA “fingerprints” de una muestra de sangre que quedó en la escena de un crimen (*) y de la de siete sospechosos. Los patrones de hibridación obtenidos son específicos para cada individuo debido al alto grado de polimorfismo del DNA minisatélite hipervariable.

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

			Número de repeticiones		
Enfermedad	Localización del gen	Secuencia repetida	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 minisatélite, su función es formar telómeros (presente en los telómeros de todos los cromosomas).

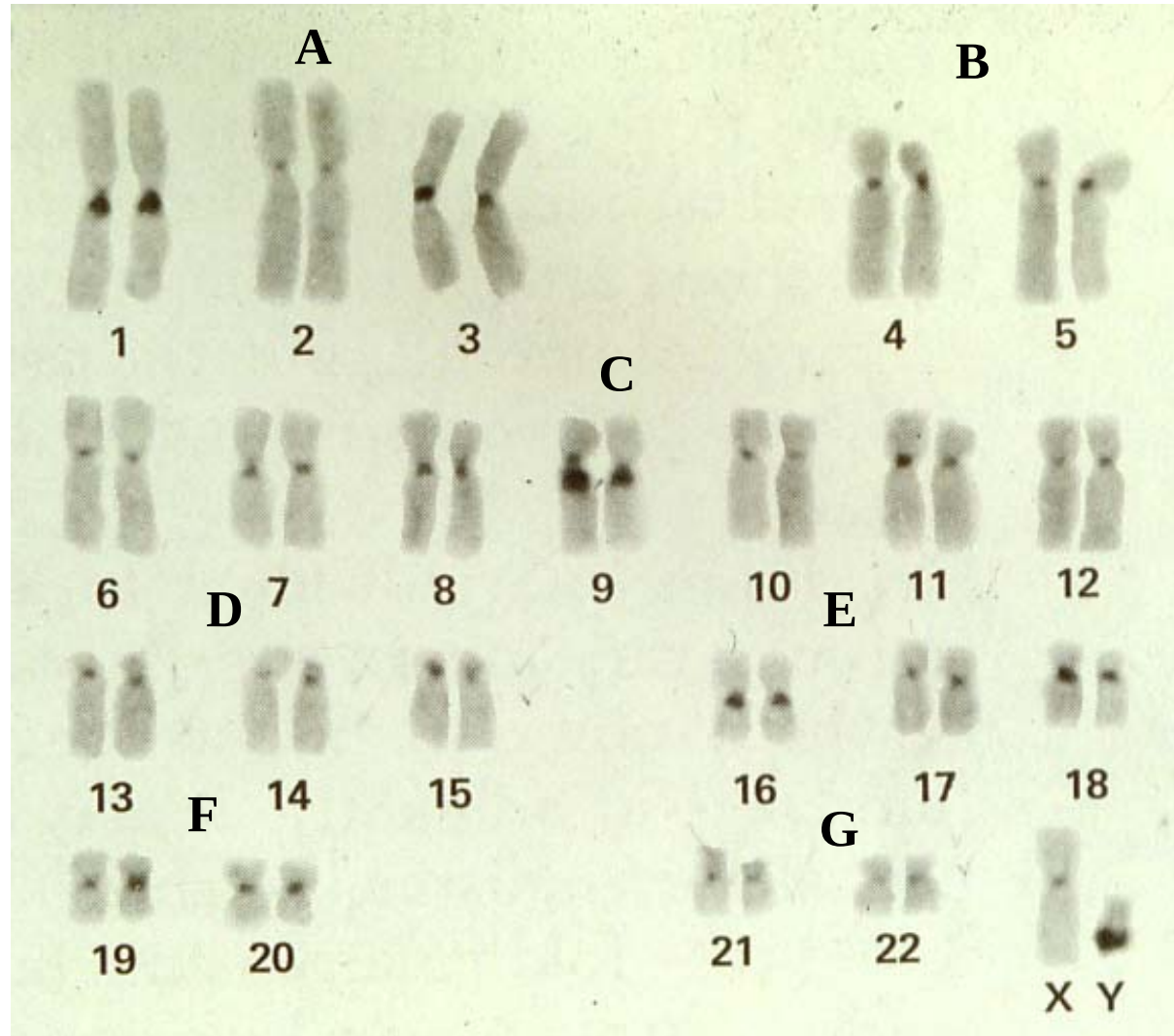
c) **NOR (Región Organizadora del Nucléolo):** formado por DNAr (DNA moderadamente repetido), su función es transcribir RNAr, formar el nucléolo y posteriormente los ribosomas (presente sólo en los NORes de los cromosomas nucleolares).

II) **SUBCOMPARTIMENTO GENERAL:** el resto del genoma no incluido en el subcompartimento específico.

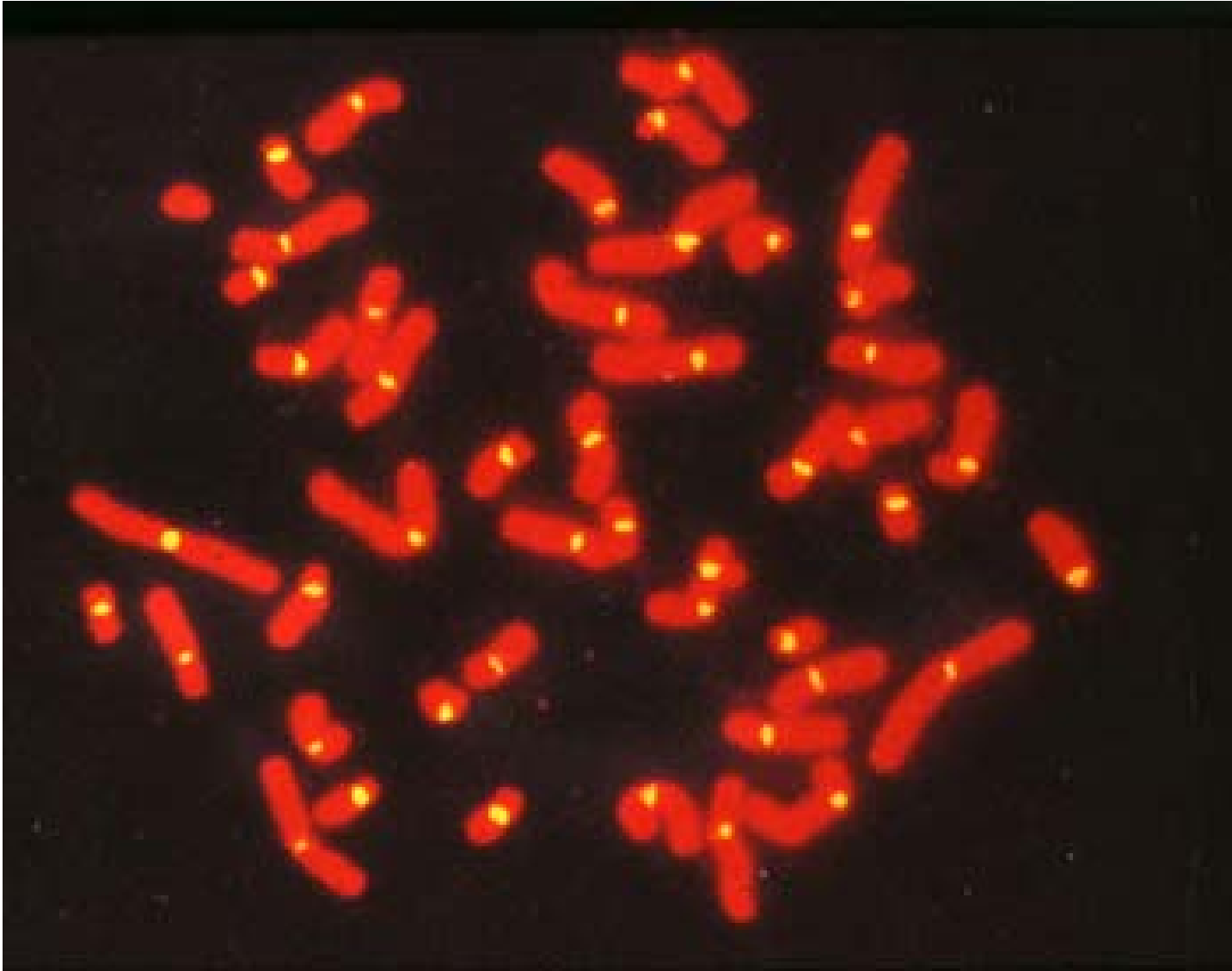
Está formado por dos fases que se alternan a lo largo de los cromosomas:

a) **regiones (o bandas) G-**

b) **regiones (o bandas) G+**



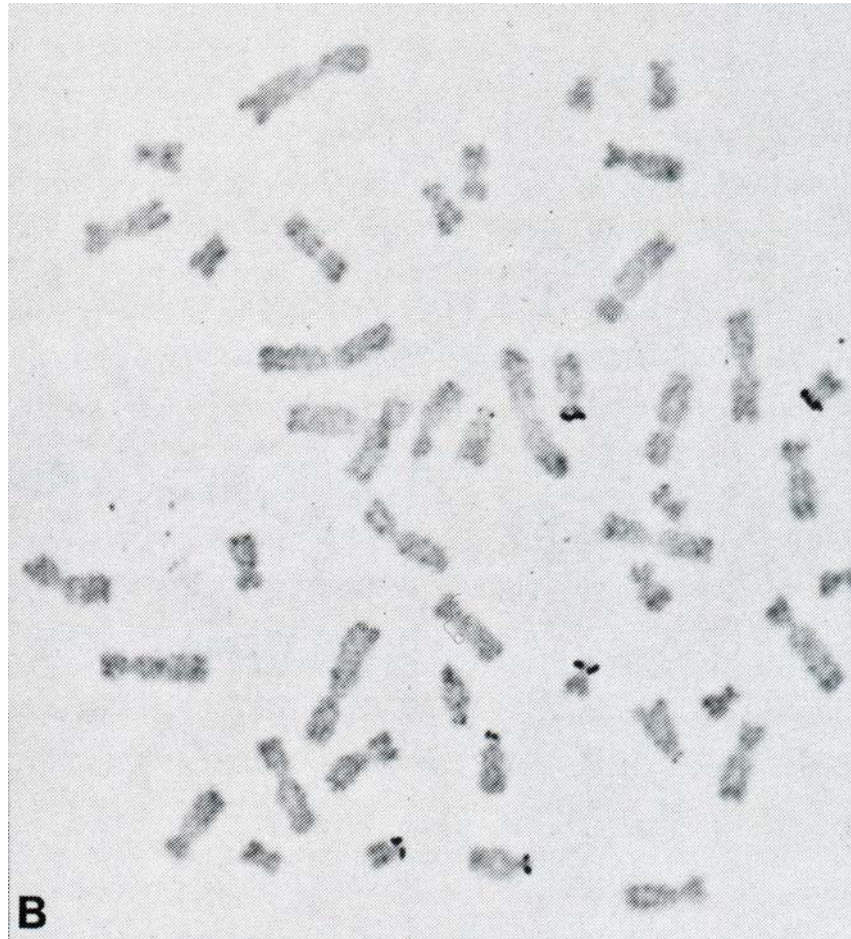
Cariotipo humano masculino, tratado con la técnica para obtención de bandas C.



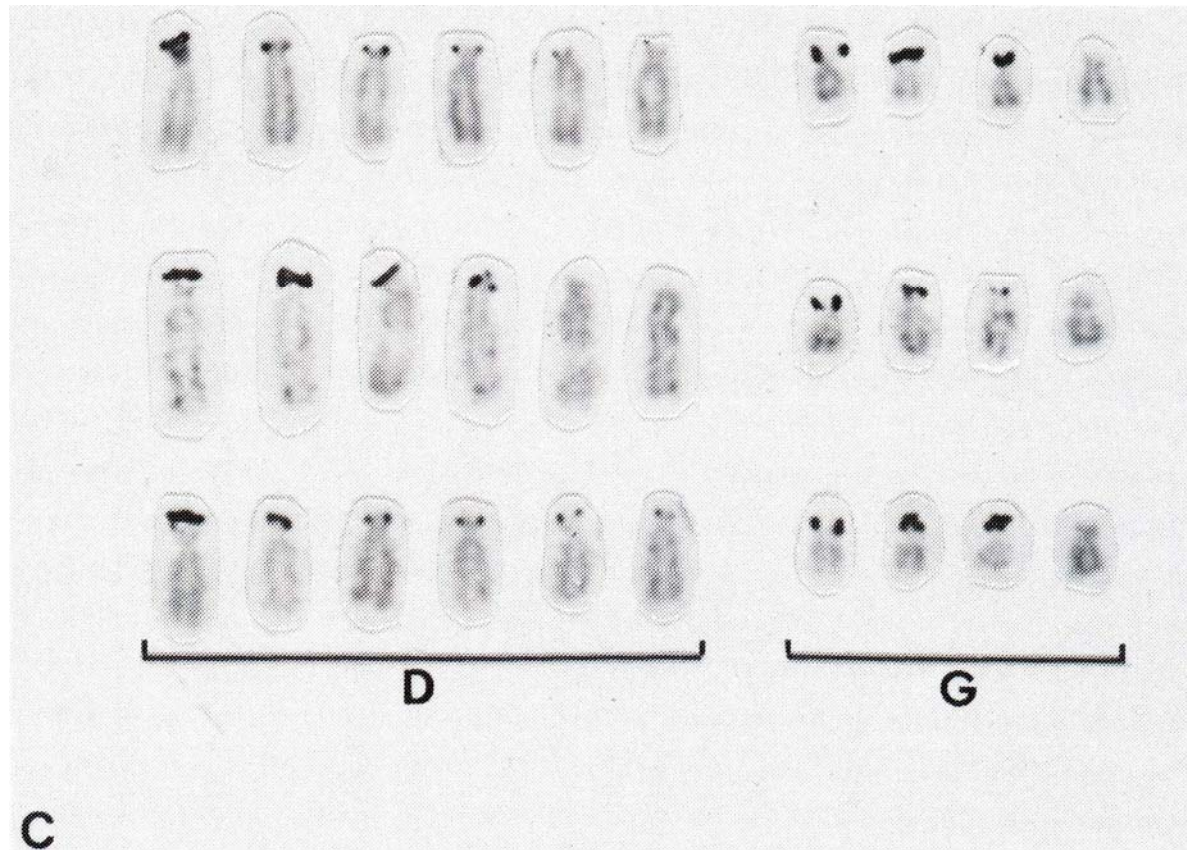
Detección del DNA satélite clásico humano, mediante FISH con una sonda para α DNA centromérico.



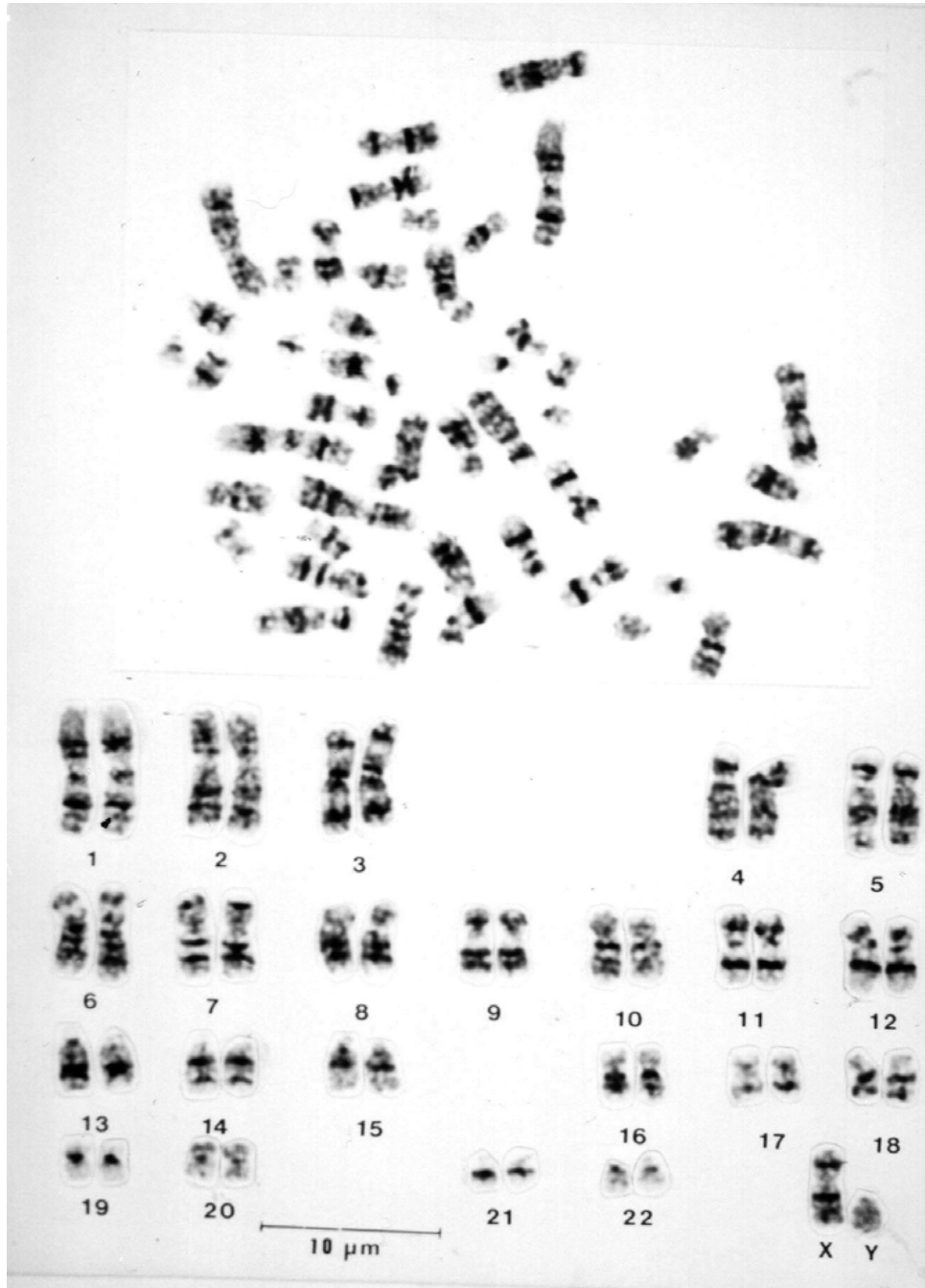
Detección de DNA minisatélite telomérico humano, mediante FISH con una sonda marcada con un fluorocromo.



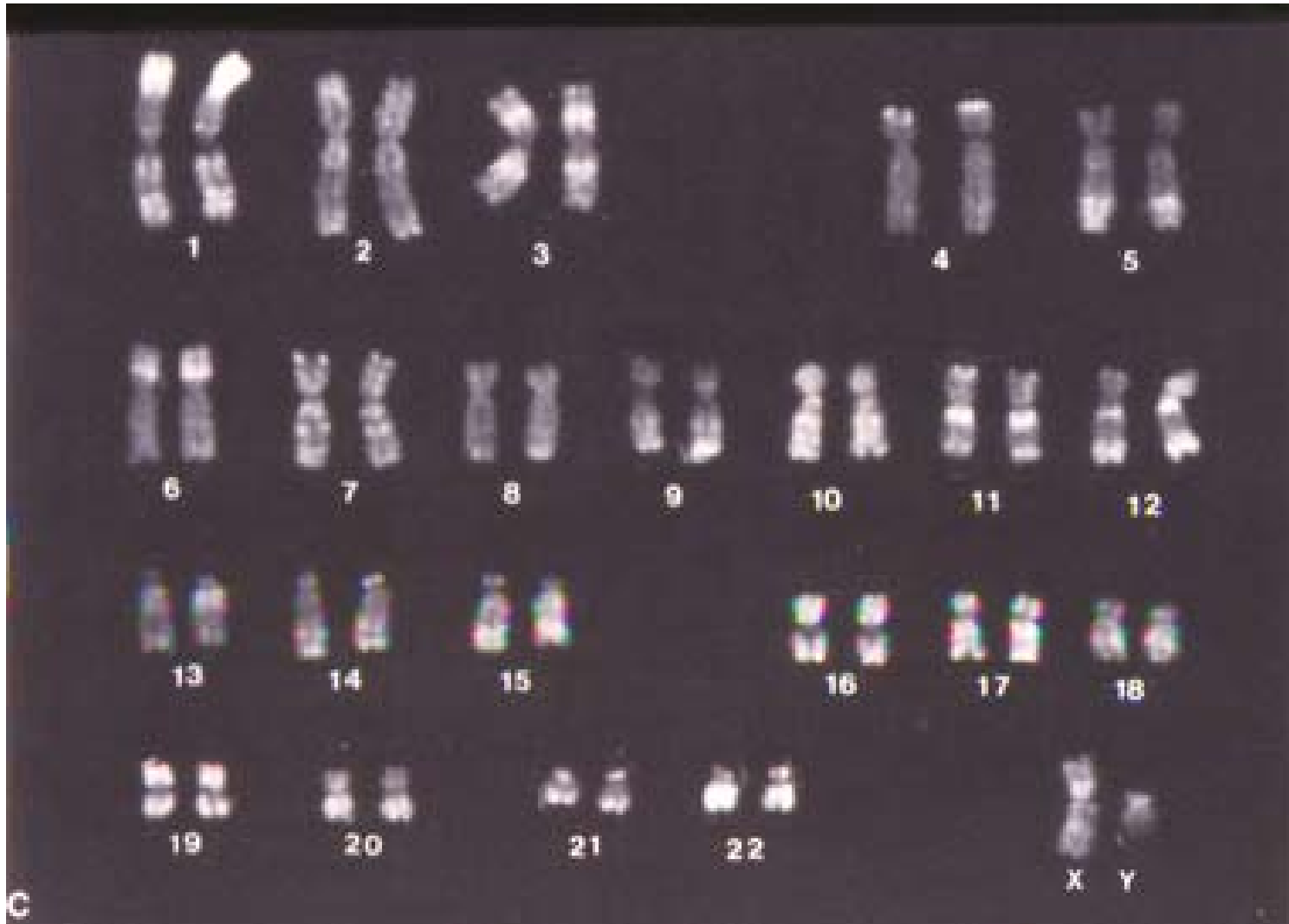
Metafase mitótica humana mostrando los NORes que reaccionaron positivamente con la Ag (sectores de color más oscuro ubicados en los telómeros de los brazos cortos de algunos cromosomas).



Cromosomas subtelocéntricos de los grupos D y G provenientes de tres células del mismo individuo, mostrando la variabilidad de los NORes al ser detectados por impregnación argéntica.

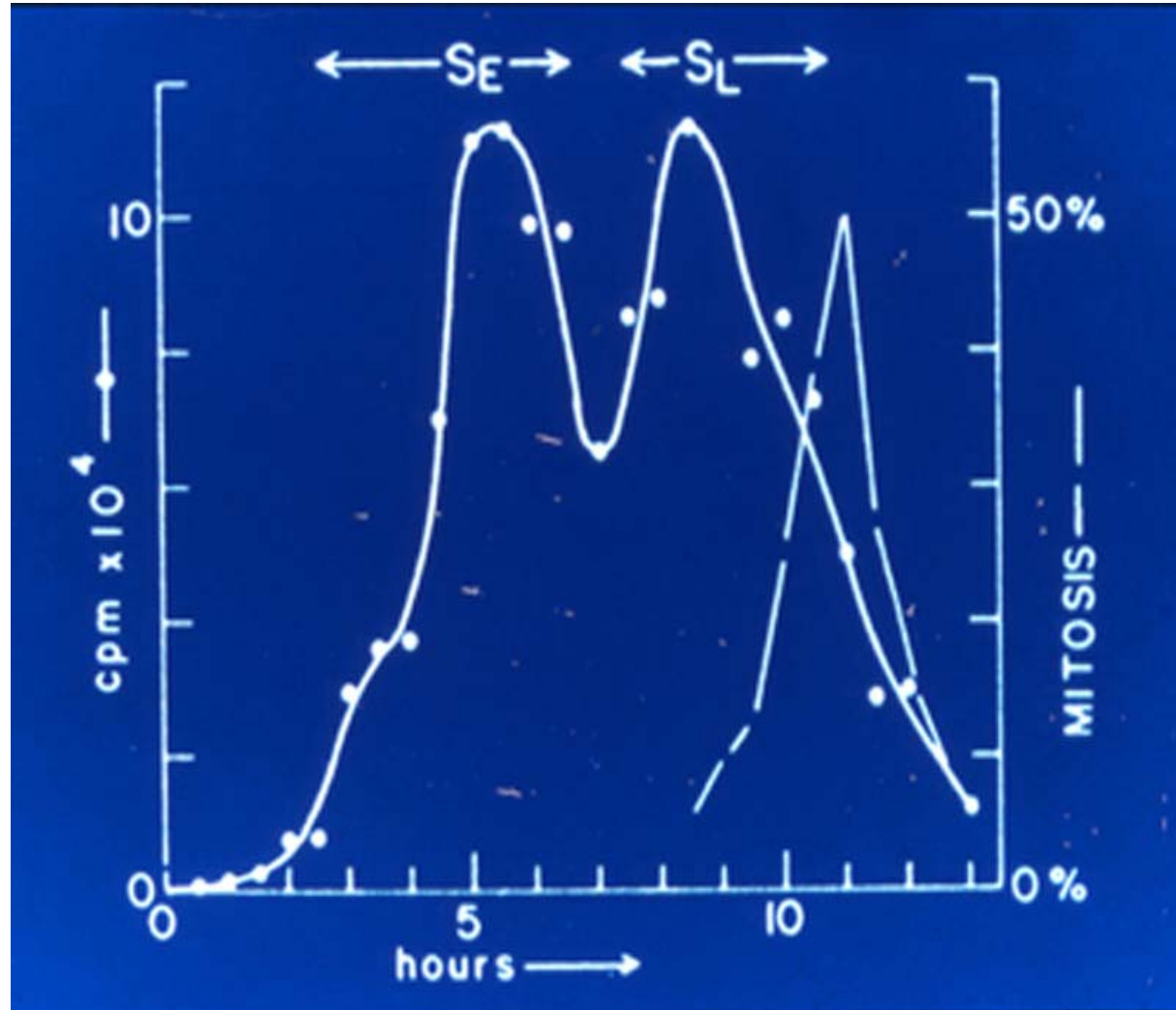


Metafase mitótica y cariotipo bandeo G de un varón normal, mostrando las bandas claras y oscuras específicas para cada par de cromosomas. Abajo y a la derecha, los cromosomas sexuales X e Y.

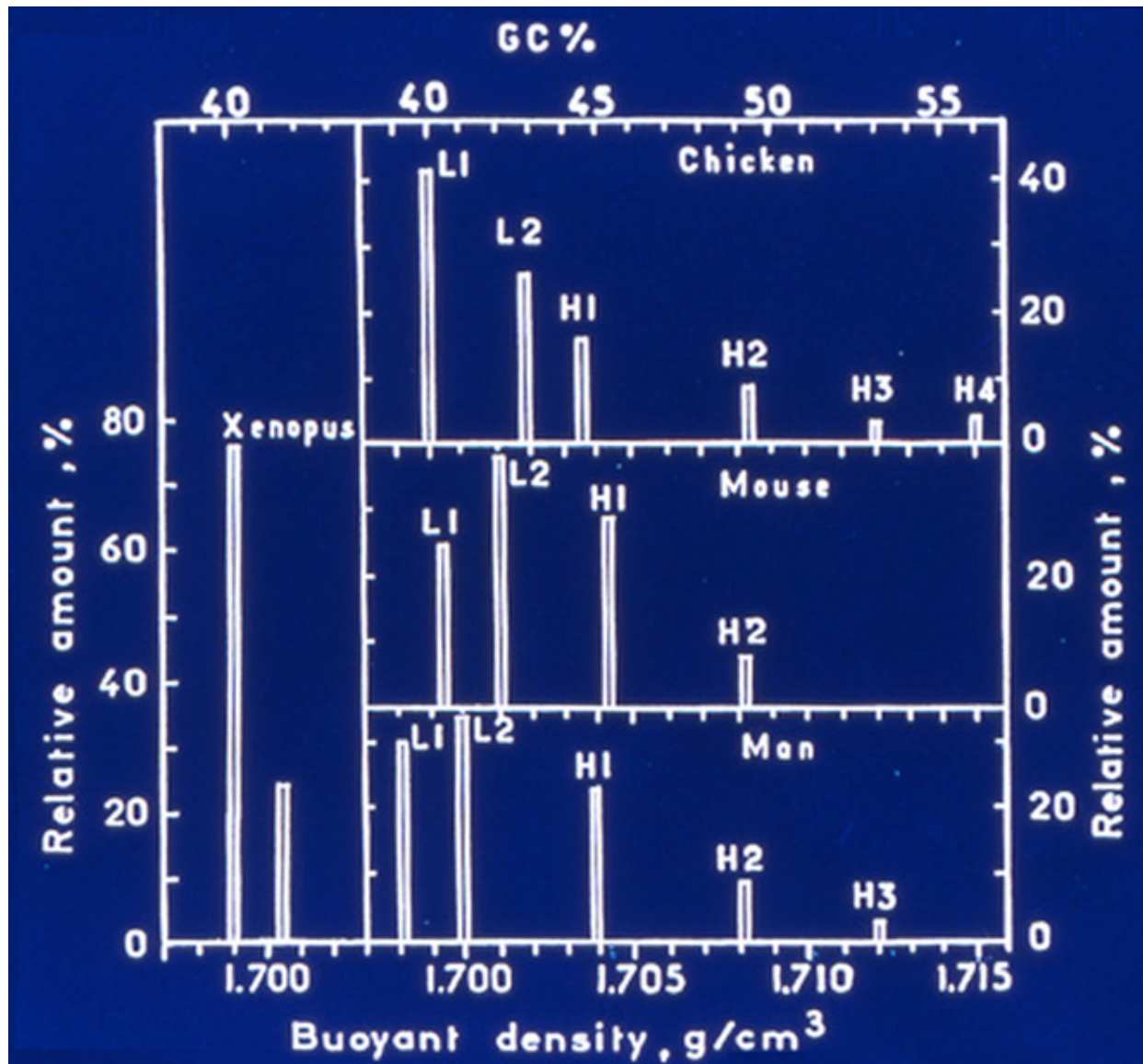


Cariotipo humano, mostrando un patrón de bandeo G- (R), por estar teñido con cromomicina A3, fluorocromo que tiene afinidad por DNA rico en bases G - C.

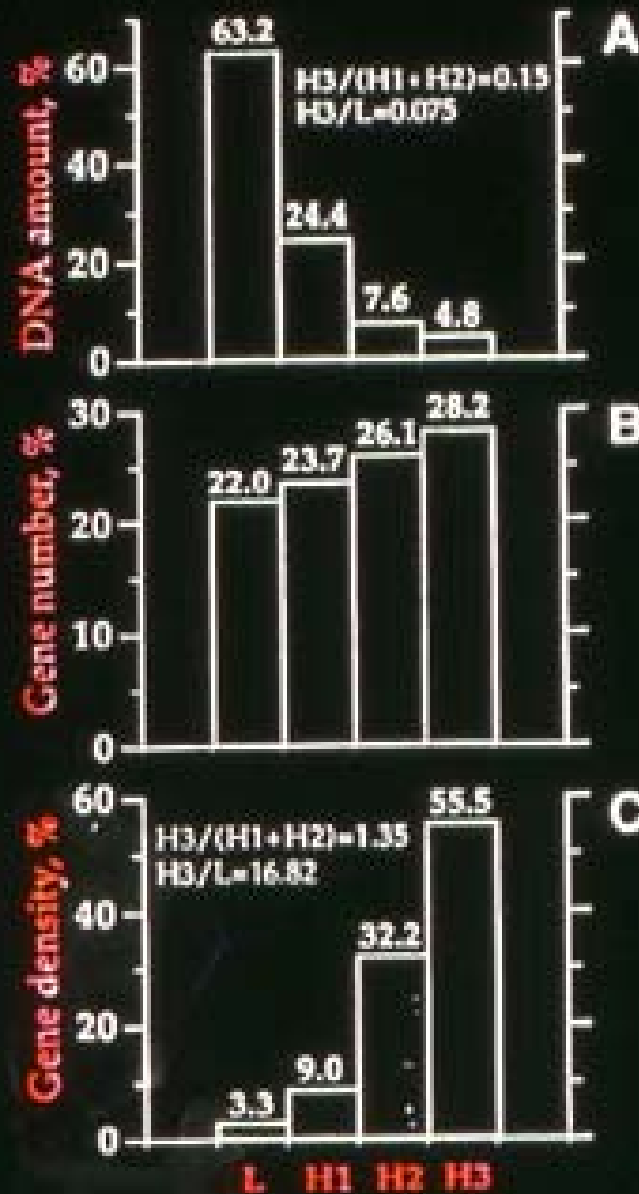
Replicación del DNA durante el período S.....



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.

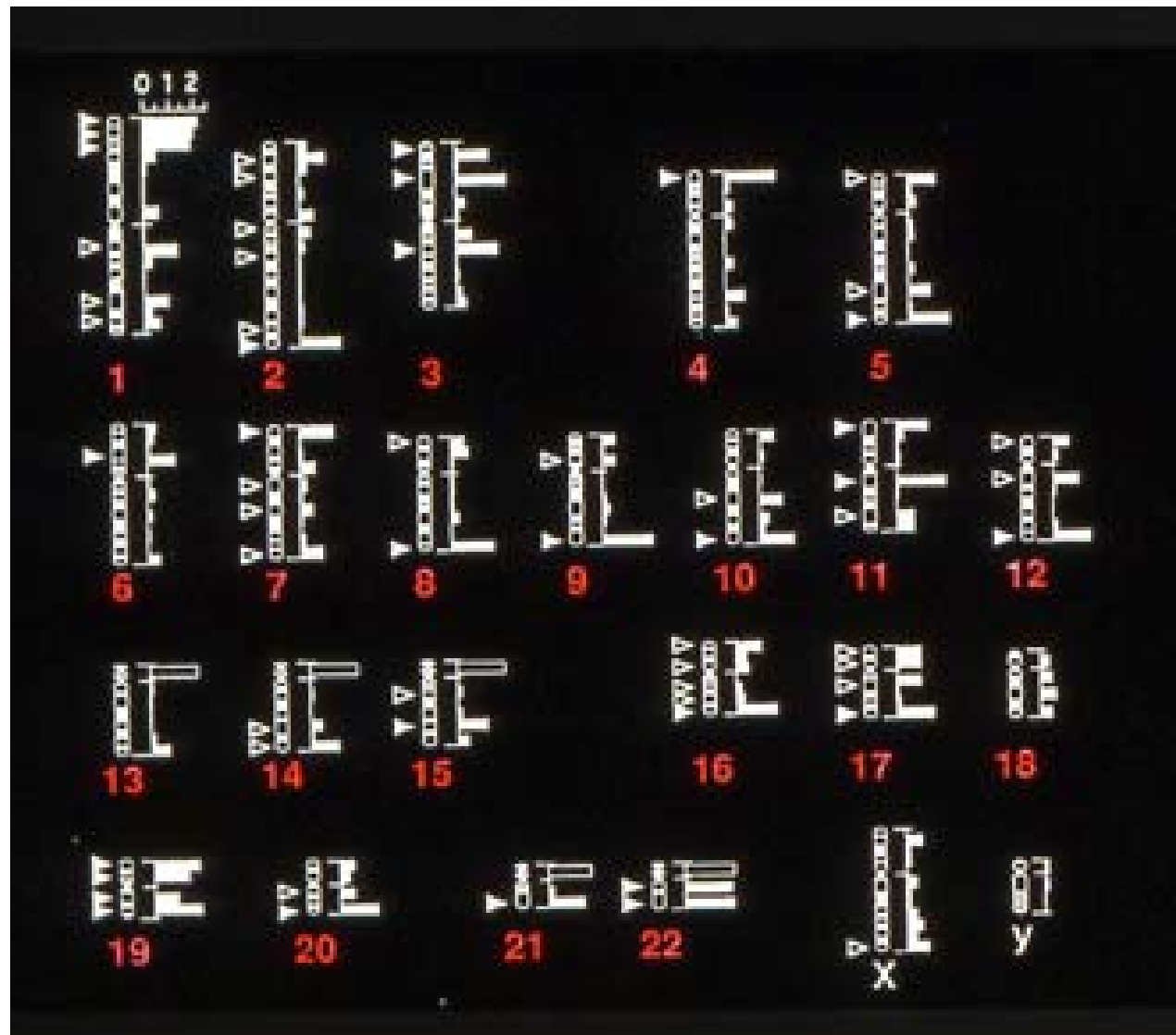


Histogramas que muestran las cantidades relativas, densidades de flotación y niveles de GC de los componentes principales del DNA (ISOCOROS) de vertebrados de sangre fría (*Xenopus*) y de sangre caliente (pollo, ratón y hombre).



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>
- International 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)