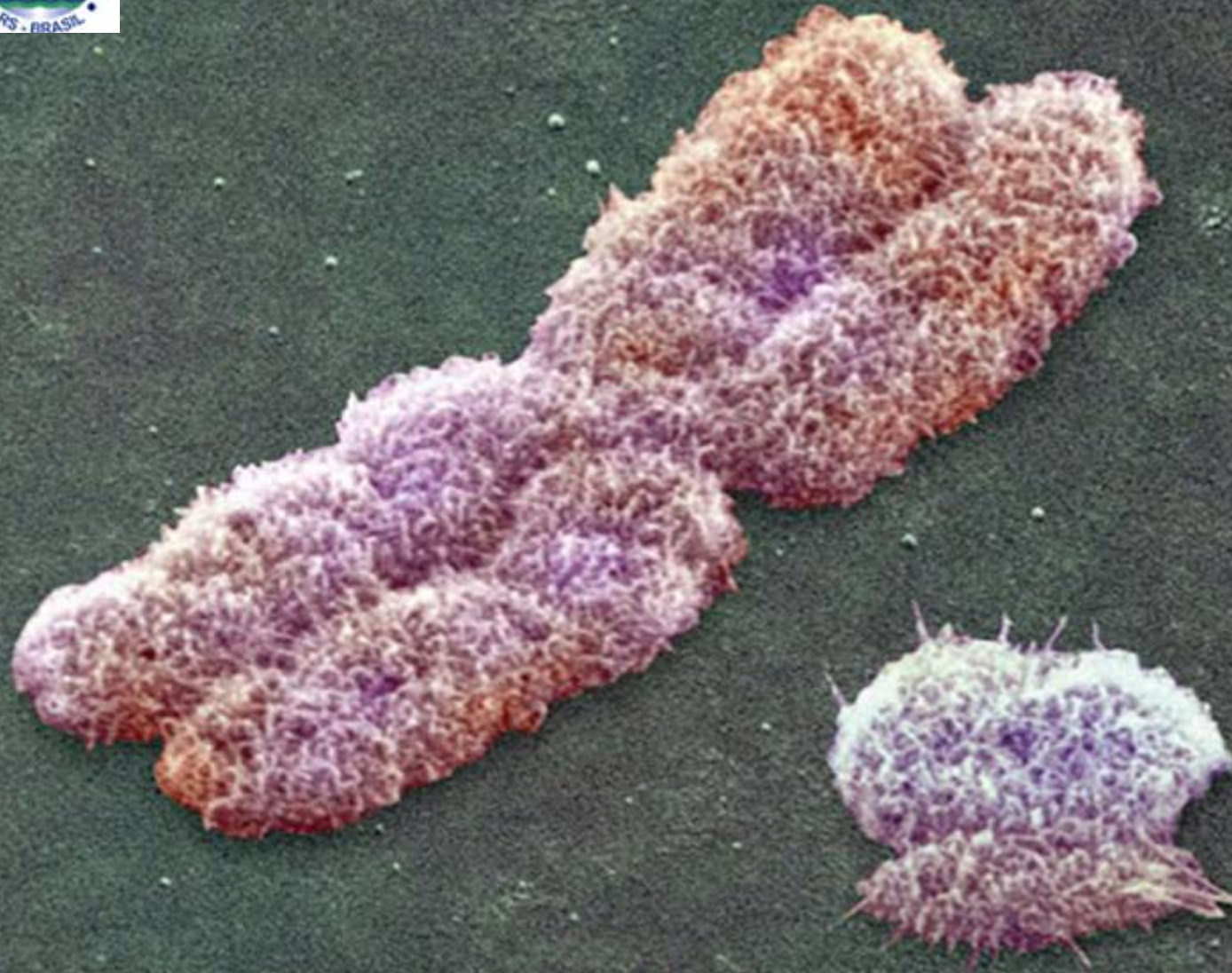
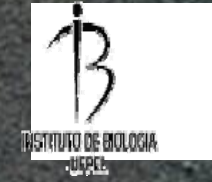




Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, UFPel  
Prof<sup>a</sup> Judith Viégas  
Cromatina do X e Mecanismo de compensação de dose - 2009





Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, UFPel  
Profª Judith Viégas  
Cromatina do X e Mecanismo de compensação de dose - 2009



## DETERMINAÇÃO DO SEXO EM MAMÍFEROS



### CROMOSSÔMICA

SEXO FEMININO: XX

SEXO MASCULINO: XY



em organismos diplóides (exemplo de mamíferos):

Genes ligados aos cromossomos sexuais:

➤ se ambos os alelos do X forem expressos em fêmeas XX

e

como apenas um alelo é expresso nos machos XY (dose única)

então

XX produziria o dobro de cópias dos transcritos do que XY,

MAS

➤ maioria dos produtos gênicos de fêmeas equivale à dose única dos machos



**MECANISMO DE COMPENSAÇÃO DE DOSE**

➔ inativação de um dos X das fêmeas

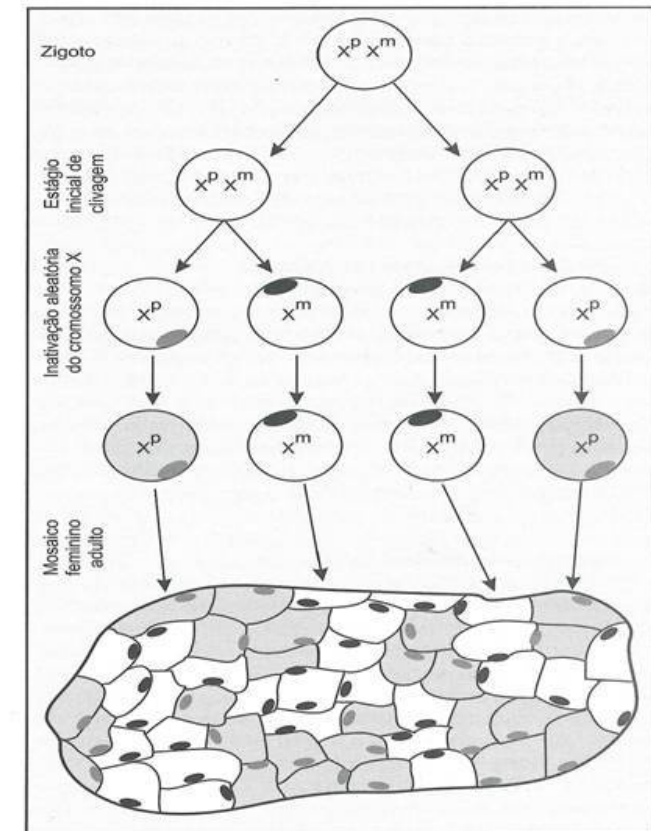
## Mecanismo de compensação de dose em mamíferos:

### Inativação do cromossomo X

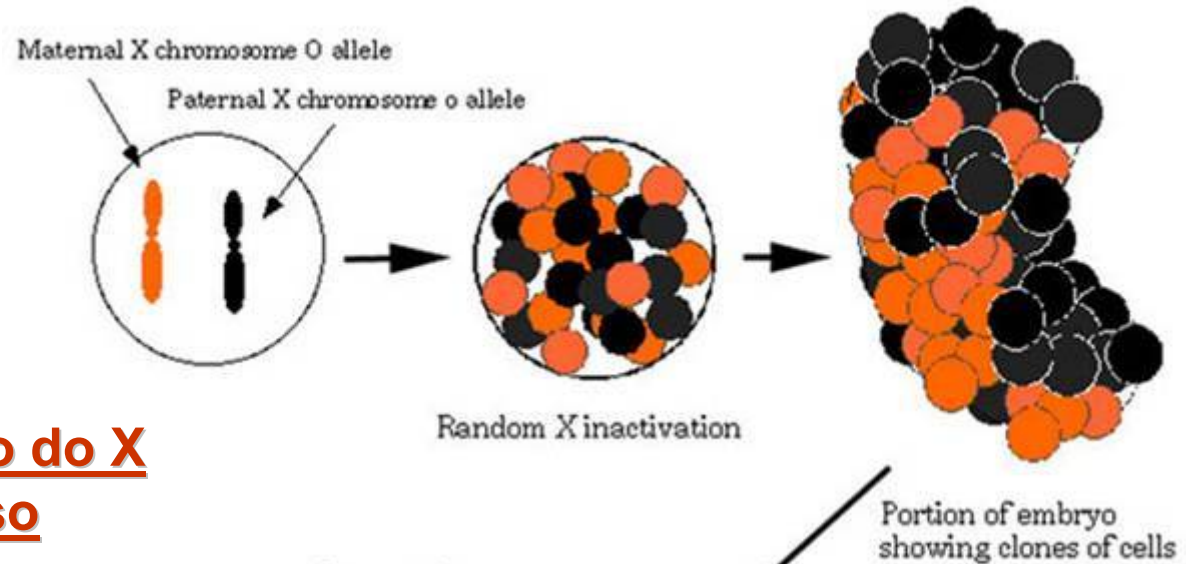
inativa ± 16º dia de gestação (humanos)

- ✓ inativa por condensação / heterocromatinização
- ✓ inativação ao acaso ( $X^{\text{paterno}}$  ou  $X^{\text{materno}}$ ) → → →
- ✓ inativação só é preferencial para X anômalo\*
- ✓ inativação é fixa → → → → → → →
- ✓ X inativado tem replicação tardia
- ✓ Inativação do X é uma herança epigenética

\* X com alteração estrutural (deleção, anel, etc...)



Inativação X se desfaz nas células germinativas



como a inativação do X  
se dá ao acaso

X<sub>paterno</sub> ou X<sub>materno</sub>

as fêmeas de mamíferos



são mosaicos para  
características



ligadas ao X



Mosaic adult  
some cells express O  
some cells express o



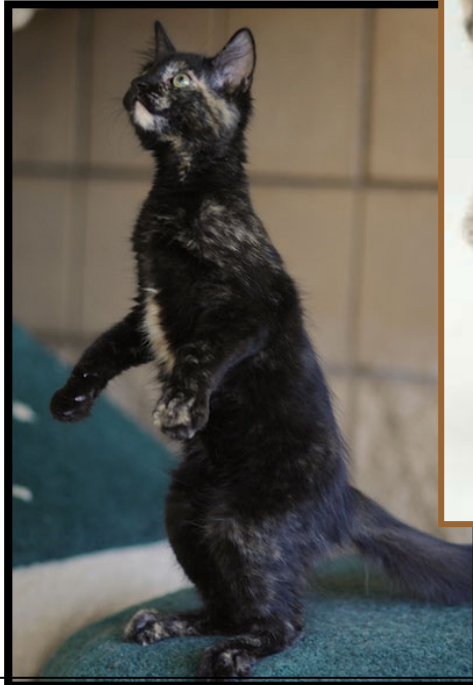
Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, UFPel  
Profª Judith Viégas  
Cromatina do X e Mecanismo de compensação de dose - 2009



© Scubagri's Themes n' Dreams, Mozart'sCat



## “GATAS” TORTOISESHELL



Eu não sou  
um  
tortoiseshell



A rare find in the feline world, a male tortoiseshell cat. The cat is up for adoption at the Escondido Humane Society, Escondido, EUA.

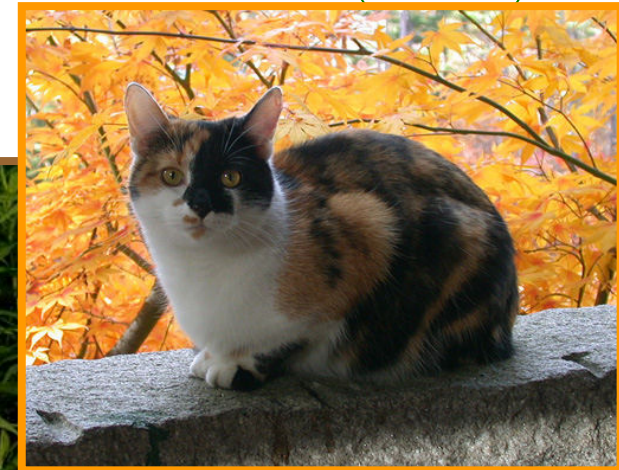
[images.townnews.com/.../inland/3\\_01\\_428\\_8\\_07.jpg](http://images.townnews.com/.../inland/3_01_428_8_07.jpg)

Este gato macho tortoiseshell é estéril e deve ter complemento cromossômico XXY (portanto um dos cromossomos X fica inativo) ou é mosaico XX/XY (um dos X das células XX fica inativo).

<http://cats.about.com/od/coatcolorpatternstyles/ss/tortievcalico.htm>  
[www.great-pictures-of-cats.com](http://www.great-pictures-of-cats.com)  
[http://cats.about.com/library/weekly/blmar\\_riley1.htm](http://cats.about.com/library/weekly/blmar_riley1.htm)

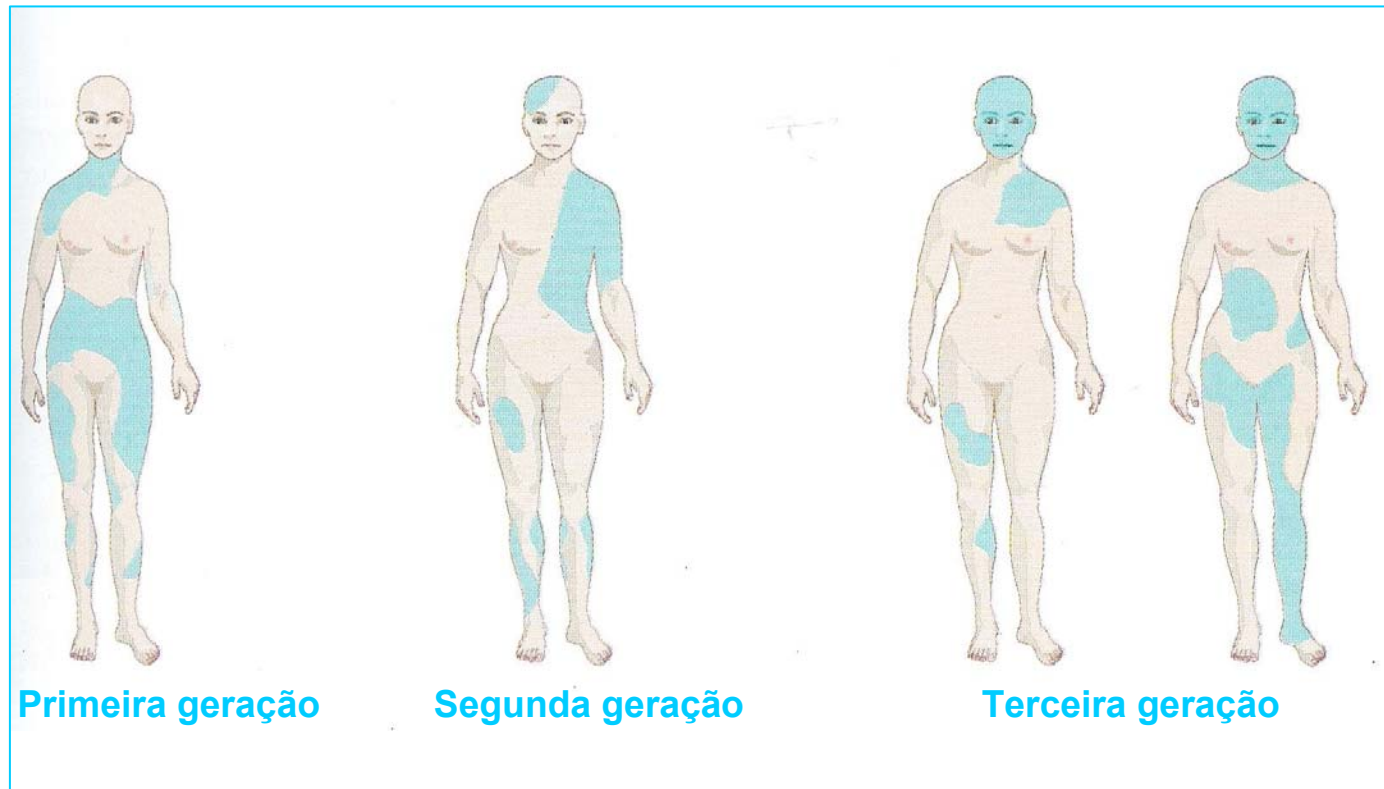


## GATAS CALICO



<http://cats.about.com/od/catspicturecalendar/ig/Calico-Cats-allery/CalicoMojo.htm>  
<http://z.about.com/d/cats/1/0/y/L/3/Ginger640x561.jpg>  
<http://cats.about.com/od/catspicturecalendar/ig/Calico-Cats-Gallery/Mae.htm>  
<http://cats.about.com/od/catspicturecalendar/ig/Calico-Cats-Gallery/CalicoCali.htm>  
<http://cats.about.com/od/catspicturecalendar/ig/Calico-Cats-Gallery/YumYum.htm>

## Mecanismo de compensação de dose



Displasia ectodérmica anidrótica ligada ao X (ausência de glândulas sudoríparas)  
Mosaicismo somático em três gerações de mulheres heterozigotas.  
Áreas sem glândulas sudoríparas estão marcadas em verde.



## CROMATINA SEXUAL DO X

### Barr e Bertram observaram (1949):

- massa fortemente corada
- forma plano-convexa
- $\pm 1 \mu\text{m}$  diâmetro
- em células interfásicas de fêmeas mamíferos

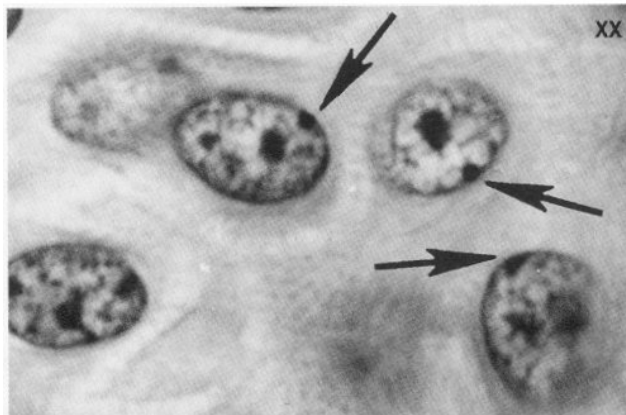
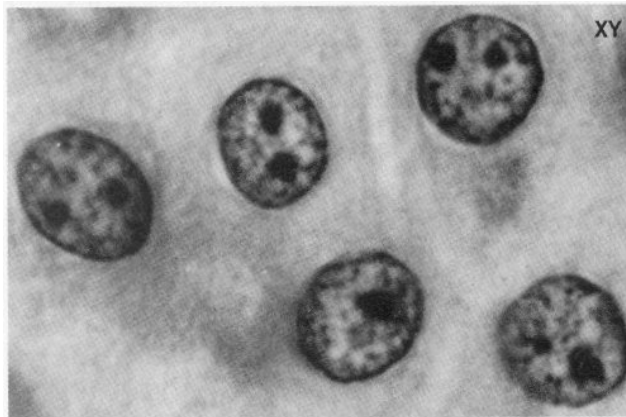
↓ foi chamada de ↓

### ➤ corpúsculo de Barr e/ou cromatina sexual do X

- = um dos cromossomos X das fêmeas
- permanece condensado
- tem replicação tardia em relação ao outro cromossomo X
- é geneticamente inativo



## CROMATINA SEXUAL DO X



Fenótipo	Cromossomos Sexuais	Cromatina do X Corpúsculo de Barr (nº)
Macho normal	XY	zero
Síndrome de Turner	XO	zero
Síndrome do XYY	XYY	zero
Fêmea normal	XX	1
Síndrome de Klinefelter	XXY	1
Síndrome do triplo X	XXX	2

$$\text{Nº cromossomos X} = \text{Nº cromatina do X} + 1$$

Células de mucosa oral coradas para  
detecção de cromatina do X  
(corpúsculos de Barr)

[bkt.wordpress.com/.../04/o-corpuculo-de-barr/](http://bkt.wordpress.com/.../04/o-corpuculo-de-barr/)



## Em organismos diplóides (exemplo de mamíferos):

Genes autossômicos → ambos os alelos são expressos

### Genes ligados aos cromossomos sexuais:

- X possui cerca de 1.000 genes
- Y possui mais ou menos 250 genes
- Y tem poucos genes necessários para o desenvolvimento
- falta homologia entre genes do X e do Y
- falta de alelos duplos do X, em machos (XY)



## **MECANISMO DE COMPENSAÇÃO DE DOSE** **inativação de um dos cromossomos X das fêmeas**

### **Cromossomo X inativado**

- maioria dos genes são silenciados
- possui marcas epigenéticas, entre as quais
  - metilação de H3 na lisina 9
  - hipermetilação do DNA

genes do cromossomo X inativo → inativos células descendentes



sequência do DNA não é alterada,  
nem a inativação



mas é uma alteração herdável via celular = herança epigenética



## HERANÇA EPIGENÉTICA

**São modificações herdáveis de uma geração celular para a seguinte, no funcionamento gênico, sem que haja alteração na sequência de DNA, e que se propagam mitoticamente**

**São variações transitórias induzidas pelo ambiente no fenótipo, que são perpetuadas por propagação assexuada, sem envolver mudanças permanentes (herdáveis) no genótipo.**

### **ETIOLOGIA DAS VARIAÇÕES EPIGENÉTICAS**

**As alterações epigenéticas podem ser decorrentes do ambiente interno ou externo da célula e são reversíveis, sendo devidas a marcas epigenéticas :**

- alteração na organização da cromatina (nas histonas)
- alteração na configuração do DNA
- metilação do DNA



## TIPOS DE HERANÇA EPIGENÉTICA

**Paramutação:** é a redução na atividade gênica, por alterações no loco, devido à interação intraalélica.

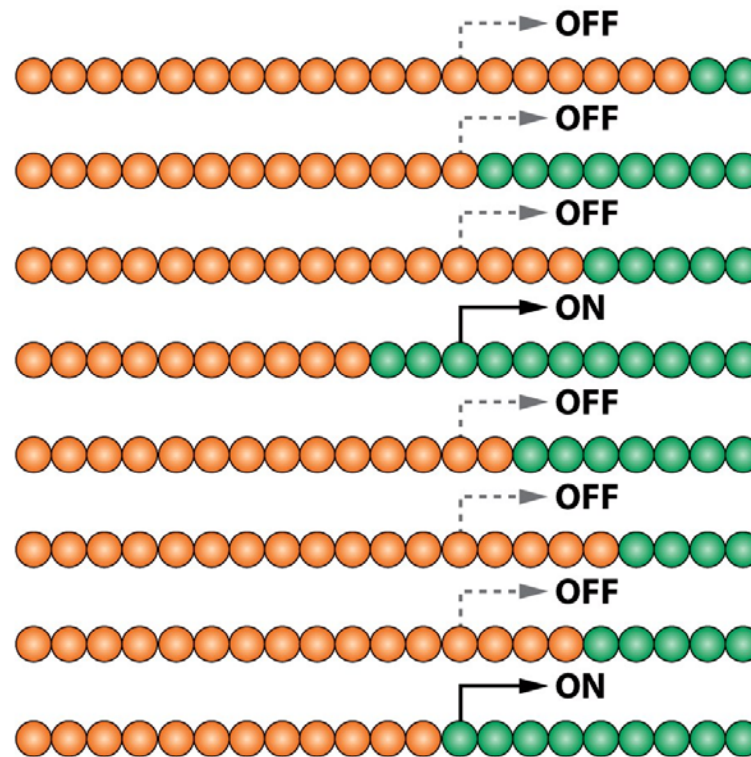
**Impressão genômica (*imprinting* parental):** é a expressão gênica específica para um alelo, dependendo da origem parental.

**Silenciamento epigenético:** é a variação de efeito de posição (PEV) devido à vizinhança e espalhamento da heterocromatina.

**Inativação do cromossomo X:** silenciamento transcricional de um cromossomo inteiro.



**Silenciamento epigenético:** “vizinhança e espalhamento da heterocromatina” pode levar a **variação de efeito de posição (PEV)**



Observar os vários genes que foram desligados devido à dispersão da heterocromatina

Figure 11-25  
*Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition*  
© 2008 W.H. Freeman and Company

Dispersão da heterocromatina na eucromatina adjacente é variável, podendo desligar gene em cromossomo de algumas células e não desligar em outras.

[**esferas laranja=heterocromatina**; **esferas verdes=eucromatina**]

Griffiths et al., 2008

**Silenciamento epigenético:** “vizinhança e espalhamento da heterocromatina” pode levar a **variação de efeito de posição (PEV)**

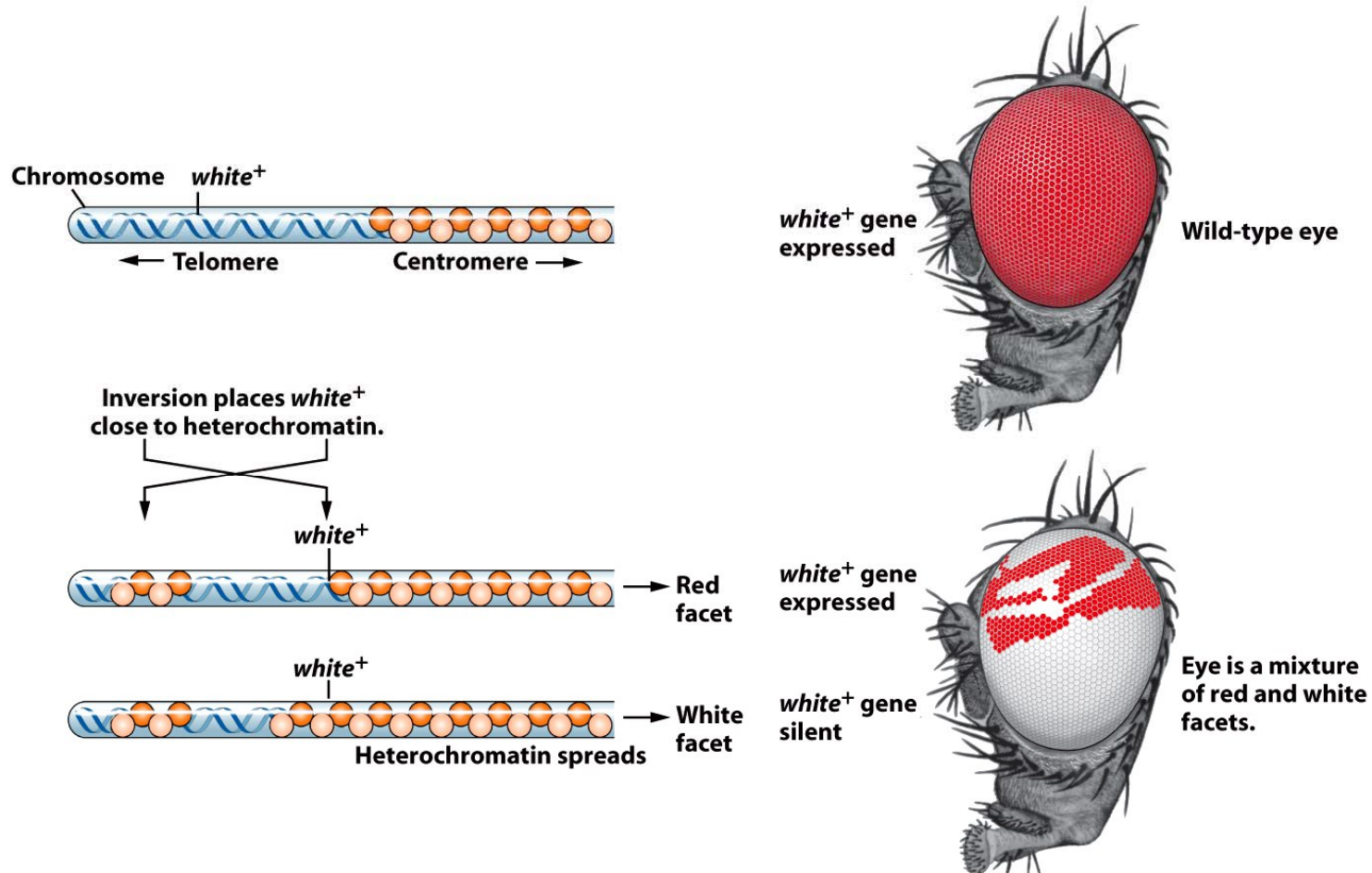


Figure 11-23  
*Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition*  
 © 2008 W. H. Freeman and Company



## COMPENSAÇÃO DE DOSE

- ❖ **Processo regulador**
- ❖ **Altera a expressão gênica**
- ❖ **Afeta os genes ao longo do cromossomo X**
- ❖ **Nivela os produtos gênicos de machos e fêmeas**
- ❖ **Ocorreu várias vezes durante a evolução**
  - **de maneiras diferentes: ≠s mecanismos**
  - **independentes uns dos outros**

### Mecanismos de compensação de dose

- **Hipertranscrição do cromossomos X do macho (drosófila)**
- **Inativação de um cromossomo X da fêmea (mamíferos)**
- **Hipotranscrição dos cromossomos X do hermafrodita (*C. elegans*)**



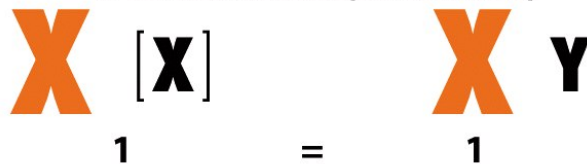
### Female

### Male

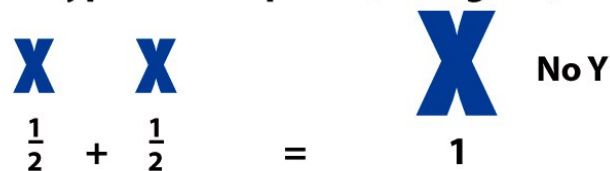
Hypertranscription (*Drosophila*)



X inactivation (mammals)



Hypotranscription (*C. elegans*)



## Mecanismos de compensação de dose

Formação do complexo RNA-proteína MSL, que adiciona grupos acetil às histonas do cromossomo X dos machos, acentuando sua transcrição → hipertranscrição do X

Silenciamento gênico / Silenciamento da transcrição de um cromossomo X das fêmeas → Inativação do X

Redução, pela metade, da transcrição dos genes dos cromossomos X dos hermafroditas XX → hipotranscrição dos Xs



## INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X

- processo complexo e altamente regulado
- ocorrente em mamíferos
- observado pela primeira vez em 1961
  - origina fenótipos em mosaico para cor da pelagem
  - em fêmeas de camundongos
  - heterozigotas para mutações da pelagem (gene ligado ao X)



## INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X

- Teoria da inativação do X comprovada em humanos
  - fibroblastos clonados de mulheres heterozigotas  $X^G X^g$ 
    - ▶  $X^G$  = variante do gene G6PD (glicose-6-fosfato desidrogenase)
      - expressavam ou o alelo materno ou o paterno
      - mas não expressavam ambos
  
- observações semelhantes feitas para outros genes ligados ao X
  - HPRT (hipoxantina-guanina fosforibosil transferase)
  - PGK (fosfoglicerato quinase)



## INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X

### ➤ Heterocromatinização e silenciamento transcricional

- atinge um dos X das fêmeas de mamíferos
- ocorre precocemente na embriogênese
- é mitoticamente estável
- para a maioria dos genes ligados ao X\*

(\*gene testados até o momento)

### ➤ Alguns genes não estão sujeitos à inativação do cromossomo X

- fibroblastos clonados de mulheres heterozigotas
- deficiência em STS (esteróide sulfatase)
- expressavam o gene STS, independente do X inativado

### ➤ Para genes não sujeitos à inativação do X:

as mulheres produzem maior quantidade dos produtos gênicos

### ➤ Cerca de 5% dos genes do X escapam ao silenciamento gênico

(Johnston et al., 2008)



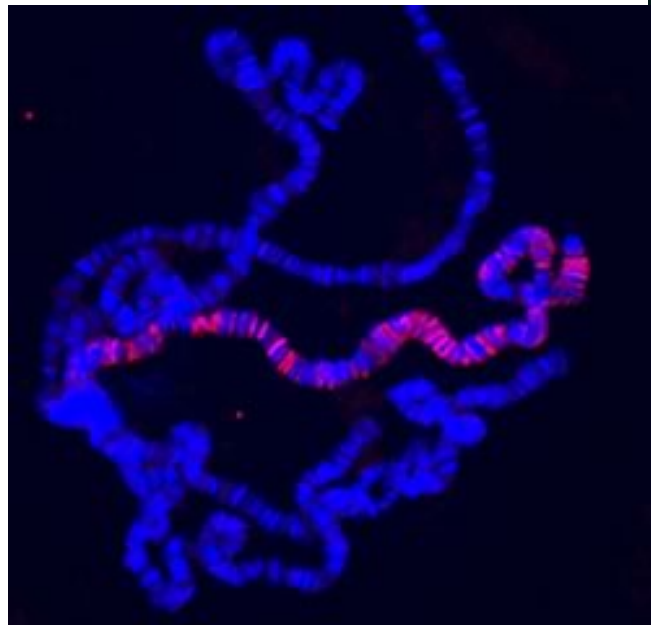
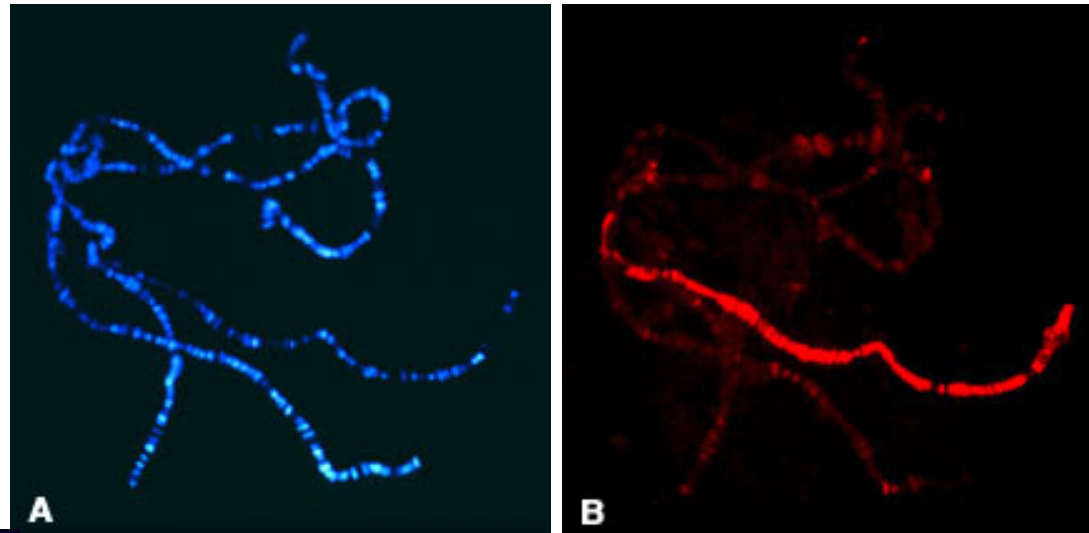
## Gene XIST (X inactivation specific transcript)

- situado no centro de inativação do X (XIC)
- localizado no braço longo do X (Xq13.2)
- o transcrito do gene XIST
  - não codifica uma proteína → codifica RNA XIST
    - RNA XIST permanece no núcleo
    - RNA XIST recobre o X inativo
  - metilação da lisina 9 da histona H3 no cromossomo X inativo ocorre imediatamente depois que o RNA XIST recobre o cromossomo e antes da inativação transcricional dos genes ligados ao X
- mutações no promotor do XIST → inativação familiar assimétrica do X



Cromossomos politênicos de *Drosophila* de glândula salivar de larva macho de terceiro instar (A: coloração para DNA, B: coloração da proteína MSL-1 no cromossomo X) →

<http://cmgm.stanford.edu/devbio/baker/doscomp.html>



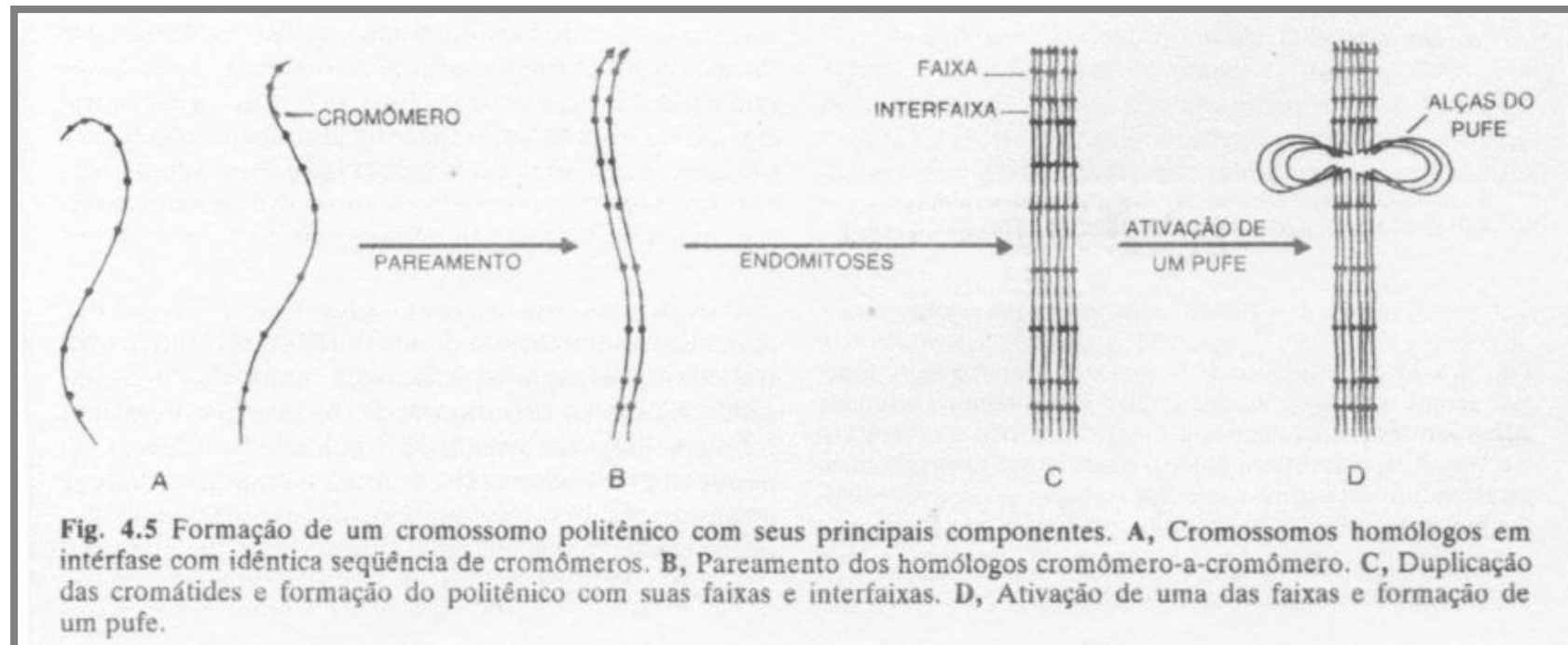
Imunocoloração dos cromossomos politênicos da glândula salivar da larva de *Drosophila*. O complexo MSL (rosa) liga-se a centenas de sítios do cromossomo X. Os núcleos estão corados com DAPI para ressaltar todos os cromossomos. [imbs.massey.ac.nz/scottm/research.htm](http://imbs.massey.ac.nz/scottm/research.htm)



No mecanismo de compensação de dose da drosófila, as proteínas MSL (male-specific lethal) e RNAs roX (RNA on X) formam grandes complexos, que modificam as caudas das histonas e podem se espalhar a longas distâncias dos sítios de início, flanqueando a cromatina do cromossomo X do macho.

### Cromossomos politênicos

- São cromossomos somáticos e Interfásicos
- Os homólogos pareiam
- Ligam-se pelos centrômeros → cromocentros
- Duplicam “n” vezes



- Bandas/faixas e interbandas/interfaixas
- Puffes e anéis de Balbiani



Cromossomos Politênicos de glândulas salivares de larvas de *Chironomus tentans*.  
[www.ucm.es/.../grupod/Cromoeuc/cromoeuc.htm](http://www.ucm.es/.../grupod/Cromoeuc/cromoeuc.htm)

## Cromossomos politênicos

- Cromossomos gigantes
  - Ocorrem em células com alto metabolismo
  - Duplicam “n” vezes
  - Politênicos de glândula salivar de:  
*Drosophila melanogaster*: 2.048 C  
*Sciara coprophila*: 8.192 C
  - Politênicos de suspensor do embrião de:  
*Phaseolus vulgaris*: 2.048C
- (C=quantidade máxima de DNA encontrada)



Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, UFPel  
Profª Judith Viégas  
Cromatina do X e Mecanismo de compensação de dose - 2009



## BIBLIOGRAFIA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. **Molecular Biology of the Cell**, Garland Science, New York, 2008, 1.268 p.
- Borges-Osório, M.R.; Robinson, W.M. **Genética Humana**, Ed. Artmed, Porto Alegre, 2001, 459 p.
- Bruce Baker's Laboratory, 2003. <http://cmgm.stanford.edu/devbio/baker/doscomp.html>
- Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., Carroll, S.B. **Introduction to Genetic Analysis**, W. H. Freeman and Company, New York, 2008, 838 p.
- Guerra, M. **Introdução à Citogenética Geral**, Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1988, 142p.
- Ingraham, H. Page, D. Vilain, E. **Biology of Sex and Gender**, In: **Rediscovering biology: Molecular to Global Perspectives**, Annenberg Media, Leamer. Org <http://www.learner.org/channel/courses/biology/index.html>
- Johnston, C.M., Lovell, F.L., Leongamornlert, D.A., Stranger, B.E., Dermitzakis, E.T., Ross, M.T. Large-Scale Population Study of Human Cell Lines Indicates that Dosage Compensation Is Virtually Complete. **PLoS Genetics**, Volume 4, Issue 1, e9, p. 88-98, January 2008, [www.plosgenetics.org](http://www.plosgenetics.org)
- Max Scott - Research Interests, 2007 [imbs.massey.ac.nz/scottm/research.htm](http://imbs.massey.ac.nz/scottm/research.htm)
- Viégas, J. **Meiose, Gametogênese e Fertilização em Animais e Vegetais**. Texto Didático, DZG, IB/UFPel, 14 p. 2006
- Wolpert, L. et al. **Biologia do Desenvolvimento**. Editora Artmed, Porto Alegre, 2000, 484 p.