

ORGANIZAÇÃO MOLECULAR DOS GENOMAS

2.1 Dimensão dos genomas

Verdadeiro/Falso

1. Teoricamente, a quantidade de DNA em células diplóides do mesmo indivíduo deverá ser aproximadamente a mesma, dentro dos limites do erro experimental.
2. Num mesmo indivíduo, a quantidade de DNA nas células germinais deverá ser aproximadamente metade da que existe nas células somáticas.
3. O número de intrões por gene é um dos factores que pode contribuir para a variação de dimensão dos genomas.
4. A dimensão dos intrões é geralmente inferior à dos exões.
5. A dimensão do genoma de organismos filogeneticamente próximos e com o mesmo grau de complexidade é sempre muito aproximada.
6. Genoma e transcrito são termos que se aplicam ao mesmo tipo de moléculas.

Escolha múltipla

1. A dimensão dos genomas está estreitamente relacionada com: a) o número de genes; b) a complexidade do organismo; c) a proximidade filogenética; d) a quantidade de sequências de DNA repetitivo; e) a dimensão do DNA intergénico.
2. O genoma de organismos procarióticos: a) é haplóide; b) pode conter profagos; c) pode conter elementos móveis; d) apresenta uma maior compactação da informação genética relativamente ao genoma dos organismos eucarióticos; e) pode conter plasmídeos.
3. O paradoxo C é a: a) falta de relação observada entre a dimensão do genoma e o número de genes, em diferentes organismos; b) falta de relação observada entre o grau de complexidade de um organismo e a dimensão do seu genoma, relativamente a outros organismos; c) falta de relação observada entre o número de genes e a complexidade de um organismo; d) falta de relação observada no número total de genes em organismos filogeneticamente próximos; e) relação observada no número total de genes em organismos filogeneticamente próximos.
4. No genoma eucariótico: a) o DNA cromossómico pode estar na forma haplóide ou diplóide; b) as moléculas de DNA cromossómico podem ser circulares ou lineares; c) o DNA mitocondrial é de dimensões semelhantes às do DNA cromossómico; d) o DNA mitocondrial é circular; e) a dimensão pode variar entre 1×10^2 Mb – 1×10^5 Mb.

Questões básicas

1. Estabeleça a diferença entre os termos genoma e cromossoma, com base no modo como podem ser aplicados aos organismos eucarióticos e procarióticos?
2. Aponte a principal razão molecular para o facto de organismos filogeneticamente próximos, nomeadamente em plantas (ex. arroz e milho), terem genomas com dimensões muito diferentes.
3. O que poderia avançar sobre a relação entre quantidade de DNA codificante e não codificante no conjunto de todos os organismos procariotas e eucariotas?

2.2 Estrutura do genoma procariótico: cromossoma bacteriano e DNA plasmídico

Verdadeiro/Falso

1. O genoma bacteriano é diplóide.
2. O DNA cromossómico bacteriano é constituído por cromatina.
3. Ao cromossoma bacteriano estão associadas proteínas com funções no superenrolamento e condensação da molécula de DNA.
4. O DNA cromossómico bacteriano pode ser linear.

5. O DNA cromossômico de *E. coli* sofre dobras e voltas na sua estrutura gerando um conjunto de domínios que contribuem para a compactação do DNA.
6. Nas bactérias, o DNA cromossômico circular está associado a certas proteínas, sofrendo dobras que formam múltiplos domínios, superenrolados e independentes, dando origem a uma estrutura chamada nucleóide.

Escolha múltipla

1. O genoma bacteriano: a) tem a informação genética condensada devido à inexistência praticamente total de DNA repetitivo; b) é sempre uma molécula de DNA circular; c) é sempre composto por uma única molécula de DNA; d) é haplóide; e) tem 90% de DNA codificante.
2. O cromossoma bacteriano: a) está enrolado formando uma estrutura densa designada por nucléolo; b) está enrolado formando uma estrutura densa designada por nucleóide; c) está envolvido pela membrana nuclear; d) tem, associadas à molécula de DNA, proteínas semelhantes a histonas (*histone-like*), com funções na condensação da molécula de DNA; e) tem a informação genética condensada porque possui sequências intergênicas muito curtas.

Questões básicas

1. Quais os componentes proteicos do cromossoma bacteriano?
2. O que são plasmídios? Onde foram identificados? Defina-os do ponto de vista estrutural e funcional.

2.3 Estrutura do cromossoma eucariótico

Verdadeiro/Falso

1. A cromatina é o termo genérico utilizado para designar o complexo DNA/histonas/proteínas não-histónicas encontrado no núcleo das células eucarióticas.
2. A cromatina dos cromossomas na metáfase está menos condensada do que na interfase.
3. A condensação da cromatina não afecta a função das sequências codificantes.
4. As histonas são proteínas compostas maioritariamente por aminoácidos de carácter ácido.
5. O DNA de ligação (DNA *linker*) é definido como o segmento de DNA que liga dois nucleossomas.
6. Observou-se que o DNA dos cromossomas em metáfase, superenrolado em *loops*, se encontra ligado a um esqueleto proteico (*chromosome scaffold* ou *nuclear-scaffold*), que apresenta uma estrutura semelhante no par de cromatídios-irmãos.
7. Os locais MARs (*Matrix-Associated Region*) ou SARs (*Scaffold-Attachment Region*), são sequências na molécula de DNA do cromossoma eucariótico que se ligam à matriz nuclear (*nuclear-scaffold*).
8. Diversas proteínas não-histónicas participam na dinâmica e organização dos *loops* de cromatina dos cromossomas em interfase e metáfase.
9. A localização de genes em regiões eucromáticas é suficiente para garantir a sua expressão.
10. O centrómero só tem relevância funcional no processo de separação dos cromossomas durante a meiose (e não durante a mitose).

Escolha múltipla

1. Quais das seguintes características distinguem melhor os cromossomas eucarióticos dos procarióticos?
a) os cromossomas eucarióticos são sempre lineares vs os cromossomas bacterianos são sempre circulares; b) muitos cromossomas eucarióticos vs um só cromossoma bacteriano; c) os cromossomas eucarióticos são constituídos por proteínas e DNA vs os cromossomas bacterianos são unicamente constituídos por DNA; d) as histonas são os principais componentes das proteínas cromossómicas eucarióticas vs as histonas não estão presentes nos cromossomas bacterianos; e) os cromossomas eucarióticos estão espacialmente confinados a um compartimento com membrana (o núcleo) vs os cromossomas bacterianos não estão rodeados por uma membrana, para além da membrana plasmática.

2. Um cromossoma eucariótico: a) também pode designar-se de cromatídio; b) é formado por uma única molécula de DNA; c) liga-se ao fuso acromático durante a prófase; d) contém sequências que nunca são transcritas; e) contém regiões que se mantêm condensadas durante a interfase.
3. A cromatina: a) composta por DNA e proteínas é característica dos organismos procarióticos; b) tem a ela associadas, proteínas não-histónicas, como DNA polimerases, topoisomerases, HATs; c) é constituída por subunidades, os nucleossomas, que têm o mesmo tipo de configuração em todos os eucariotas; d) é o mesmo que "código de histonas"; e) corresponde ao estado inalterado de enrolamento das moléculas de DNA cromossómico.
4. Os nucleossomas: a) correspondem a DNA repetitivo ao longo do cromossoma eucariótico; b) são estruturas condensadas de DNA localizadas no núcleo eucariótico; c) são unidades estruturais básicas da cromatina; d) uma das formas condensada têm um arranjo solenóide (fibra de 30 nm); e) correspondem ao complexo através do qual os cromossomas se ligam às fibras do fuso acromático.
5. O código de histonas: a) está associado à função da cromatina na transcrição dos genes; b) está associado à função da cromatina na tradução dos genes; c) refere-se ao diferente efeito que as modificações químicas das histonas têm na expressão génica; d) envolve a acetilação das lisinas; e) envolve essencialmente modificações químicas nos aminoácidos da porção C-terminal das histonas.
6. Relativamente às modificações químicas do DNA e das histonas, quais dos seguintes acontecimentos estão associados à regulação da expressão génica em eucariotas? a) as ilhas CpG localizadas em regiões promotoras, quando metiladas (^mCpG), conduzem frequentemente à activação transcricional; b) DNA metilado recruta complexos que contêm actividade de desacetilação de lisinas; c) numa histona, um mesmo aminoácido pode sofrer diferentes modificações químicas que têm efeitos opostos relativamente à activação da transcrição; d) as acetilases anulam a carga positiva das lisinas, favorecendo a condensação da cromatina; e) a acetilação de lisinas, geralmente na extremidade N-terminal das histonas, está associada à activação transcricional dos genes dessa região do cromossoma.
7. As histonas: a) são pequenas proteínas; b) têm um motivo estrutural comum, designado de *histone fold*; c) formam o centro proteico do nucleossoma, constituído exclusivamente por H2A, H2B; d) apresentam um elevado grau de homologia entre as diferentes espécies; e) ligam-se ao DNA carregado negativamente, neutralizando-o.
8. A histona H1: a) fixa o DNA ao centro proteico do nucleossoma formado pelas outras histonas; b) faz parte do centro proteico do nucleossoma; c) está protegida por DNA; d) possui uma extremidade N-terminal flexível que se projecta apresentando locais de modificação química importantes na função da cromatina; e) está associada ao DNA *linker*.
9. As sequências SARs: a) são regiões no DNA às quais se associam proteínas não-histónicas que organizam os *loops* de cromatina; b) são origens de replicação; c) são proteínas não-histónicas que permitem a formação do *chromosome scaffold*; d) são sequências de DNA às quais se ligam as histonas; e) significam o mesmo que *chromosome scaffold*.
10. A heterocromatina: a) contém unicamente, genes inactivos; b) contém frequentemente, DNA repetitivo; c) é visível durante a metáfase e em núcleos interfásicos; d) pode ser activada pela metilação das lisinas das histonas; e) contém uma elevada proporção de RNA polimerases.
11. Os centrómeros: a) são necessários à segregação normal dos cromossomas durante a mitose e a meiose; b) são necessários à formação do cinetocoro nos eucariotas superiores; c) correspondem ao cromocentro; d) são essencialmente regiões eucromáticas; e) nos eucariotas superiores são regiões ricas em sequências repetitivas.
12. Os telómeros: a) asseguram a estabilidade das extremidades das moléculas de DNA cromossómico lineares; b) são necessários para a replicação de plasmídeos; c) contêm curtas sequências repetitivas que variam de organismo para organismo; d) contêm emparelhamentos de bases não-canónicas; e) são sintetizados por uma ribonucleoproteína.
13. A telomerase: a) controla o número de sequências repetidas dos telómeros; b) existe em baixas concentrações nas células estaminais; c) é um tipo de transcritase reversa; d) é uma ribonucleoproteína, cujo conteúdo proteico é responsável pela actividade catalítica; e) é uma ribozima.

Questões básicas

1. Quais os componentes básicos dos cromossomas eucarióticos?
2. Quais as moléculas constituintes da cromatina?

3. O DNA das células eucarióticas está estreitamente associado a proteínas, formando um complexo designado por cromatina, que pode existir em formas mais ou menos condensadas. Descreva como é que a cromatina está organizada nos cromossomas, de forma a compactar o genoma no núcleo das células.
4. Em cada um dos pares de tipos de cromatina, qual é o elemento mais condensado?
 - a) fibra de 100 Å ou fibra de 300 Å
 - b) fibra de 300 Å ou *loop* de DNA associado ao *chromosome scaffold*
 - c) eucromatina ou heterocromatina
 - d) cromossoma em intérfase ou em metáfase
5. Quais são os principais constituintes moleculares dos nucleossomas?
6. Qual a consequência funcional da presença, em elevadas proporções, dos aminoácidos arginina e lisina nas proteínas histónicas?
7. O que significa dizer que uma sequência é conservada? Por que razão as proteínas histónicas são altamente conservadas nos diferentes organismos?
8. Por que razão os genes das histonas existem em mais do que uma cópia por cada histona (por exemplo, no genoma humano existem 60 genes, isto é, 10 a 15 cópias por cada tipo de histona)?
9. Por que motivo não são encontradas mutações nos genes que codificam histonas, originando histonas não-funcionais?
10. O que acontece aos cromossomas que perdem os telómeros?
11. Qual o análogo dos telómeros, no cromossoma de *E. coli*?

2.4 Estrutura e organização dos genes e das sequências genómicas

Verdadeiro/Falso

1. As proteínas são maioritariamente codificadas por sequências de DNA únicas.
2. A maioria dos genes é de cópia única em bactérias e em eucariotas inferiores.
3. A maior parte do genoma, nos eucariotas superiores, contém regiões codificantes de RNA e proteínas.
4. As famílias multigénicas podem ser definidas como grupos de genes que codificam proteínas relacionadas ou idênticas.
5. As famílias multigénicas têm que estar, necessariamente, agrupadas.
6. O valor $Cot_{1/2}$ indica a concentração do DNA que reassociou (dsDNA) a metade do tempo total da reassociação.
7. Quanto mais rápida a reassociação mais baixo é o valor de $Cot_{1/2}$.
8. A colisão das cadeias complementares de segmentos de DNA cujas sequências existem em elevado número de cópias (ex. centenas de milhar de cópias) ocorre a uma maior frequência, sendo a velocidade de reassociação maior e como tal o valor de $Cot_{1/2}$ maior.
9. Fragmentos de DNA longos e com a representação de uma ou duas cópias tendem a ter um elevado valor de $Cot_{1/2}$.
10. A velocidade de reassociação depende do número de cada segmento e da frequência com o qual as cadeias complementares podem reagir e reassociar-se.
11. Os microssatélites encontram-se em regiões heterocromáticas.
12. No DNA eucariótico, a fracção de DNA que se reassocia mais rapidamente é a que corresponde aos microssatélites.

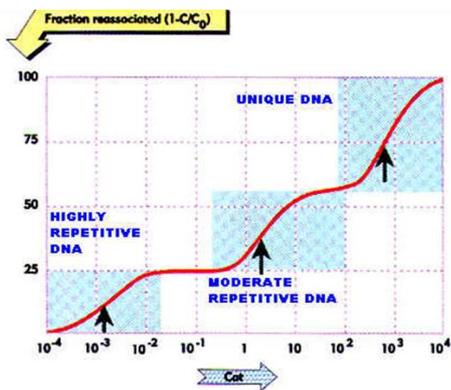
Escolha múltipla

1. Numa única célula diplóide, eucariótica e em condições normais, os cromossomas homólogos: a) possuem os mesmos genes, e pela mesma ordem; b) apresentam a mesma sequência de nucleótidos no DNA; c) possuem os mesmos genes, mas frequentemente com uma ordem diferente; d) têm dimensão, forma e padrão de bandas idênticos, numa análise de cariótipo; e) possuem genes com uma organização estrutural idêntica.

2. Nas células diplóides de um organismo, o número de alelos diferentes num dado gene nuclear de cópia única é: a) só um; b) um ou dois; c) um, dois, três ou quatro; d) indeterminado; e) variável.
3. Numa população de organismos diplóides, o número de alelos de um dado gene nuclear de cópia única, pode ser: a) só um; b) um ou dois; c) um, dois, três ou quatro; d) muito elevado; e) todas as possibilidades anteriores.
4. Os genes que codificam os rRNAs 5S incluem-se em que tipo de DNA? a) DNA altamente repetitivo; b) DNA moderadamente repetitivo; c) família génica simples; d) família génica complexa agrupada; e) família génica complexa dispersa.
5. Nas células eucarióticas, o DNA designado de não-codificante pode incluir: a) intrões; b) pseudogenes; c) elementos móveis; d) DNA intergénico; e) SSRs.
6. A análise de reassociação $Cot_{1/2}$ de uma dada molécula de DNA: a) reflecte o número, extensão e tipo de sequências presentes na molécula de DNA; b) baseia-se no tempo de reassociação da molécula de DNA; c) apresenta um valor elevado em moléculas ricas em sequências SSR; d) indica que quanto mais baixo é o valor calculado, mais lenta é a velocidade de reassociação do DNA; e) indica que o DNA eucariótico de cópia única se encontra na fracção que reassocia mais lentamente.
7. O DNA satélite: a) pode ser separado do DNA cromossómico por centrifugação em gradiente de densidade (centrifugação isopícnica); b) apresenta uma menor condensação da cromatina; c) apresenta grupos de sequências repetitivas não-codificantes; d) corresponde ao DNA alfa; e) refere-se às sequências de DNA centroméricas.
8. Os minissatélites: a) têm um número variável de repetições que resulta essencialmente de acontecimentos de recombinação; b) são bons marcadores de DNA; c) localizam-se igualmente em regiões codificantes e não-codificantes; d) também são conhecidos por VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*); e) podem ser detectados por PCR.
9. O genoma humano é predominantemente constituído por sequências: a) codificantes; b) exónicas; c) intrónicas; d) repetitivas; e) codificantes e exónicas.
10. Os marcadores genéticos ou marcadores de DNA: a) são *loci* identificáveis num cromossoma; b) são *loci* cuja hereditariedade não pode ser detectada; c) podem estar localizados em regiões codificantes e não-codificantes; d) correspondem a diferentes tipos de sequências de DNA sem função biológica atribuída; e) permitem distinguir indivíduos.
11. Um SNP (*single nucleotide polymorphism*): a) só é detectável por sequenciação do DNA; b) é um polimorfismo muito frequente nos genomas; c) origina sempre uma patologia; d) está na origem da *replication slippage*; e) é um polimorfismo que se refere a um único par de nucleótidos quando se comparam diferentes alelos.

Questões básicas

1. Em que medida é que a organização genética de *E. coli* difere da dos eucariotas?
2. Relativamente à organização genética, quais são os diferentes tipos de sequências de DNA que existem nos eucariotas? Exemplifique cada um dos tipos que referir.
3. O que entende por polimorfismos de DNA?
4. O que é uma família multigénica? Dê exemplos baseados no genoma humano.
5. Que vantagem metabólica, as sequências moderadamente repetidas dos genes de rRNA e das histonas representam para a célula?
6. O que entende por hiperchromicidade? De que forma este conceito está relacionado com a desnaturação do DNA?
8. O que entende por valor Cot? Que vantagens tem a sua determinação?
9. Observe o gráfico da cinética de reassociação de um DNA genómico, isolado de células eucarióticas. O DNA foi quebrado em fragmentos de cerca de 5 000 pb, desnaturado pelo calor em cadeias simples e colocado em condições de renaturação/reassociação de acordo com a complementaridade de bases. O que conclui relativamente à composição e proporção dos diferentes tipos de sequências nucleotídicas deste genoma?



10. Dê exemplos, baseados no genoma humano, que permitam distinguir entre DNA satélite, minissatélite e microssatélite.

2.5 Elementos móveis

Escolha múltipla

1. Que particularidade(s) não se aplica(m) aos elementos transponíveis? a) podem deixar uma cópia no local original, após a transposição; b) estão presentes num genoma, em geral em cópia simples; c) encontram-se em todos os membros de todas as espécies; d) podem não melhorar o *fitness* dos organismos hospedeiros; e) podem reverter um gene para o alelo selvagem, após transposição.

Questões básicas

1. O que é um elemento transponível?
2. O que são sequências de inserção?