



Organización genómica

Luisa Berná
Laboratorio de Genómica Evolutiva
Facultad de Ciencias

Unidad de Bioinformática
Institut Pasteur de Montevideo

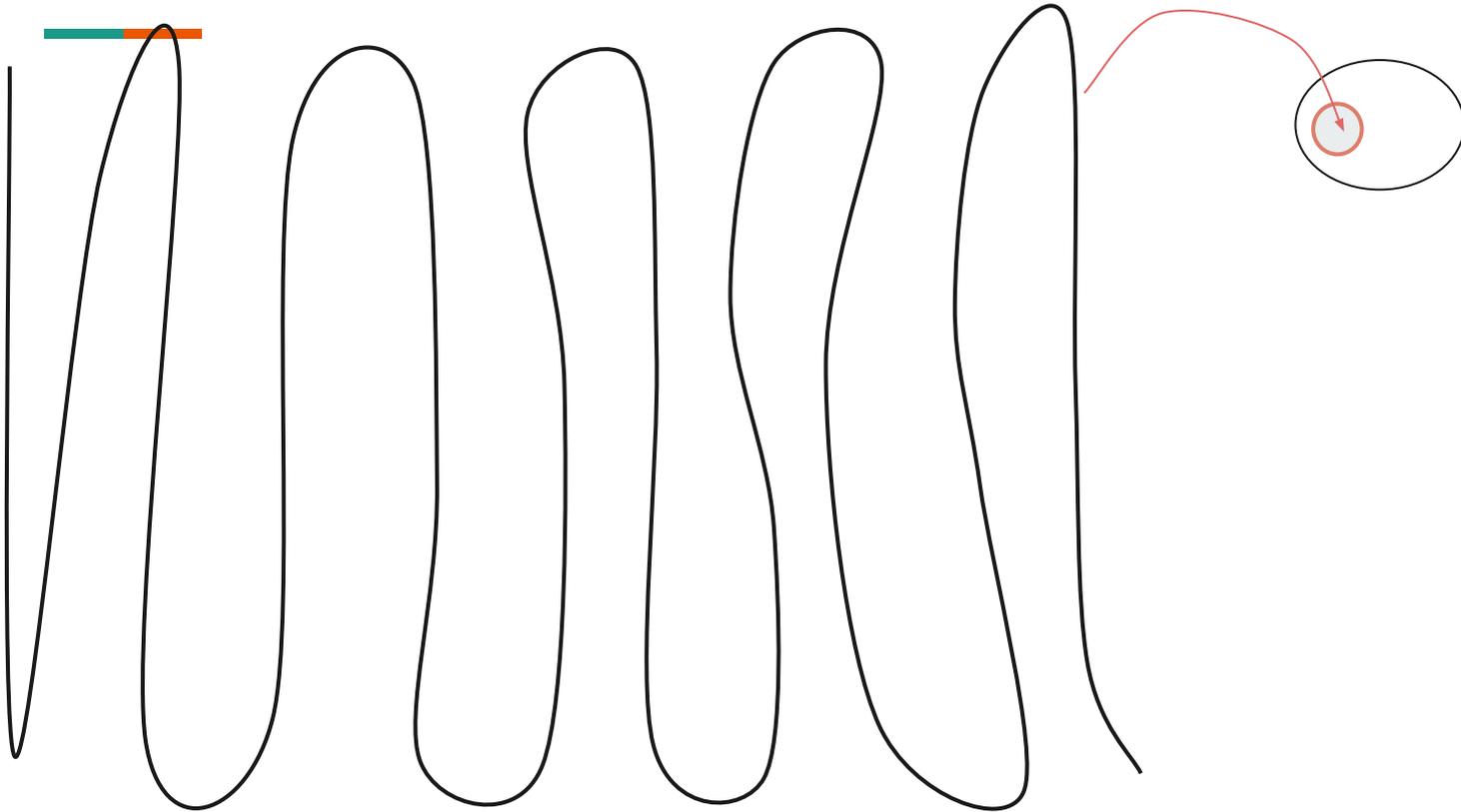
lberna@fcien.edu.uy

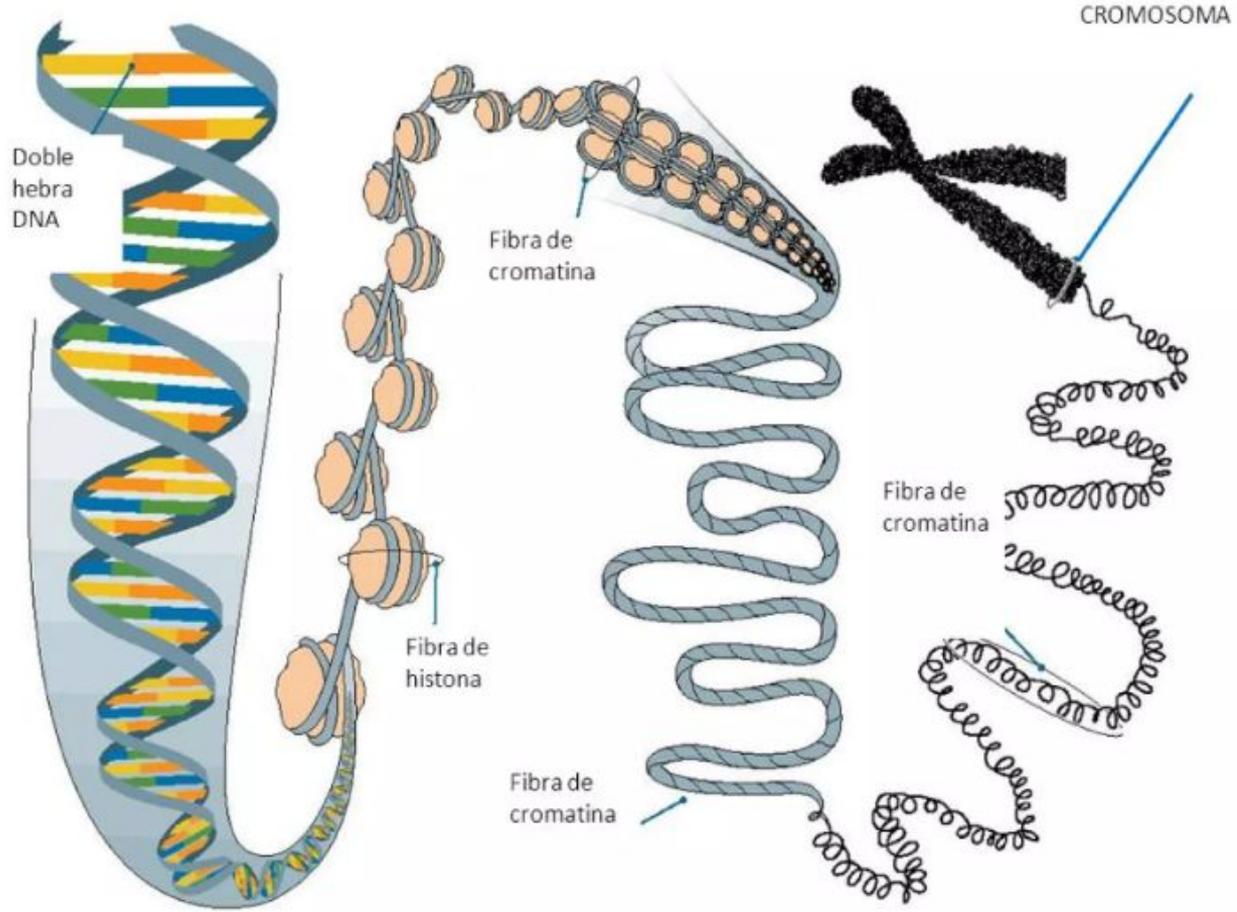
Características de la Organización Genómica Eucariota

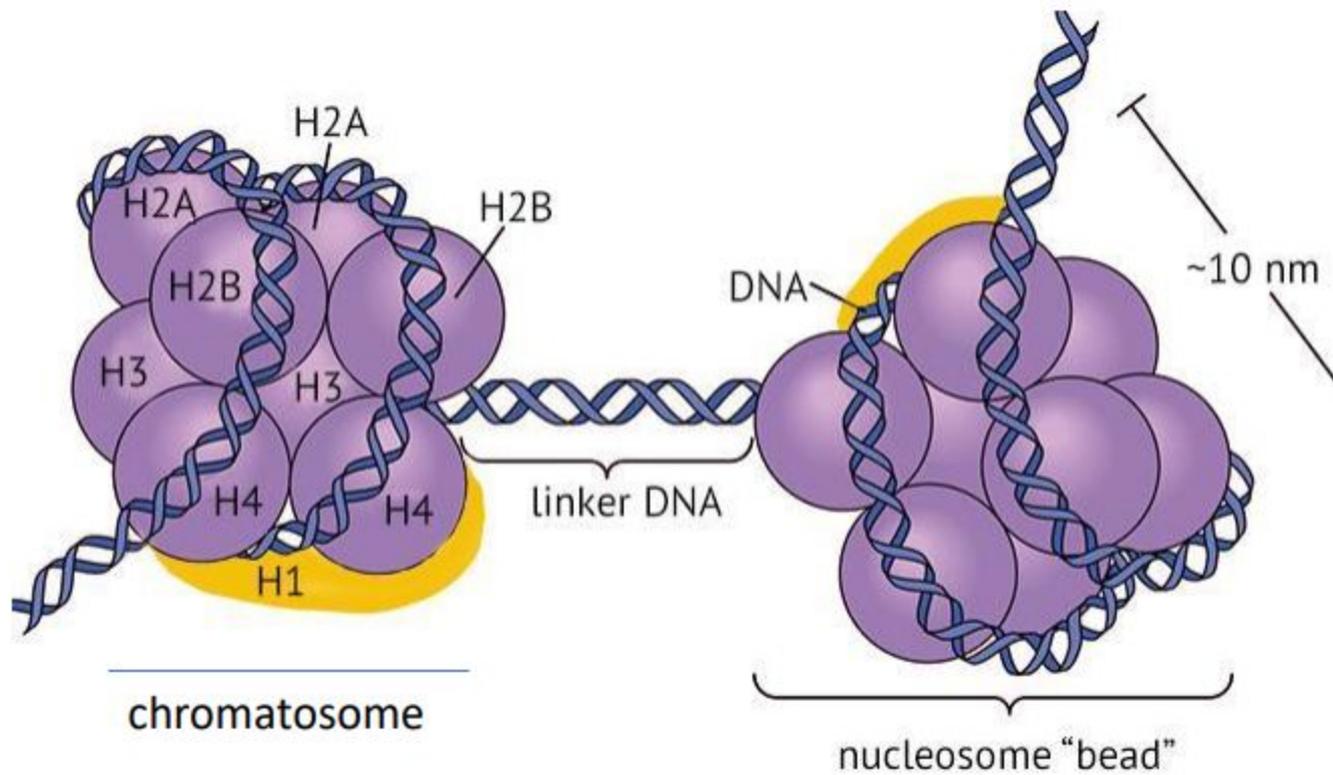


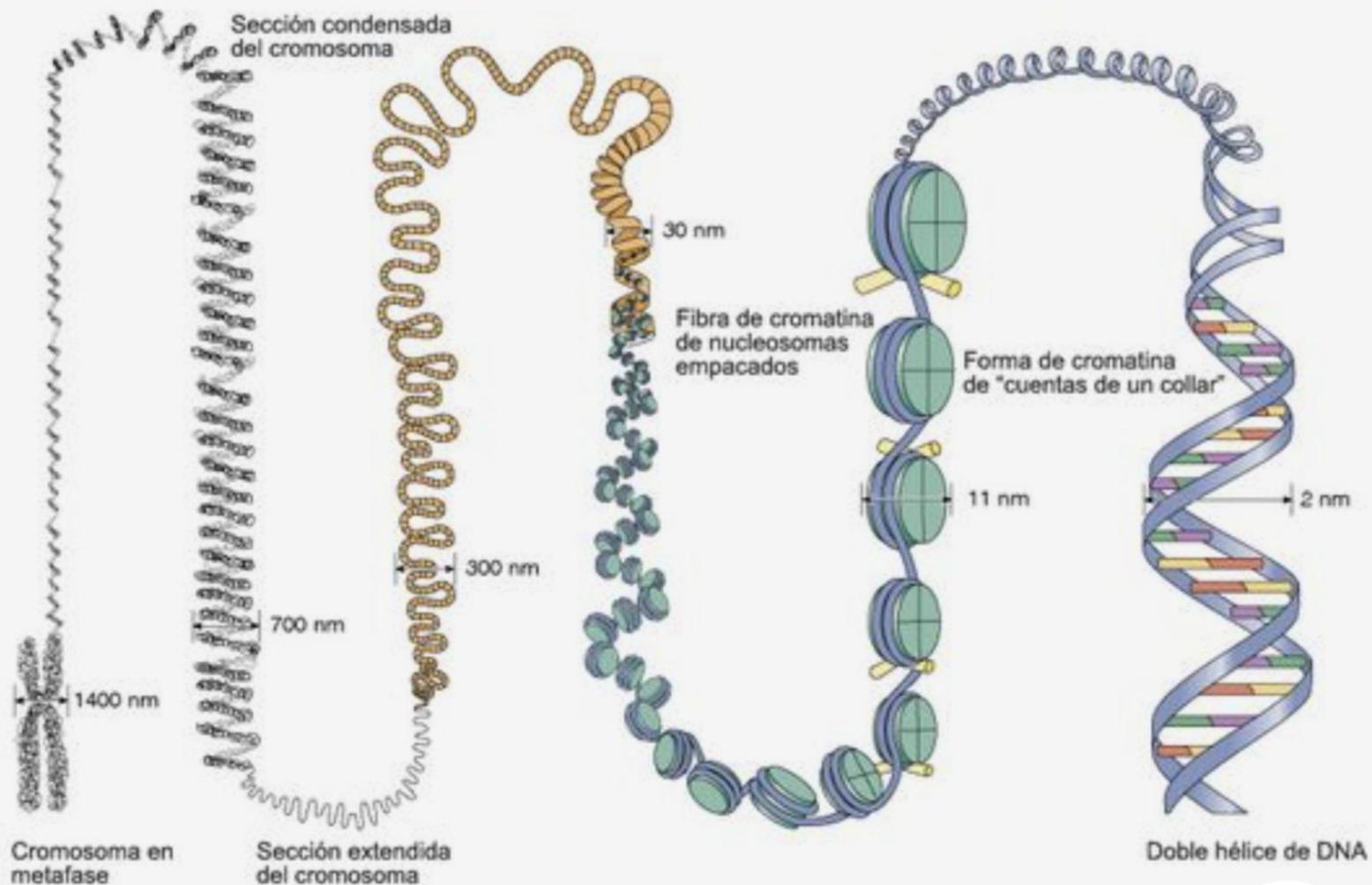
- Los genes eucariotas están compuestos por **exones** e **intrones**.
- **Splicing**
- Los genes están regulados por secuencias no codificantes como los **promotores**, **enhancers** y **silencers**, que controlan la transcripción y expresión génica.
- Contienen grandes regiones de **ADN intergénico**, que no codifican proteínas pero contienen elementos regulatorios.
- **Elementos repetitivos**, como **secuencias LINEs** y **SINEs**, y **ADN satélite**, que juegan roles estructurales o regulatorios.
- La organización lineal del genoma también incluye **orígenes de replicación**, **telómeros** (protección en los extremos de los cromosomas), y **centrómeros** (para la segregación cromosómica).

en mamíferos ADN lineal, 600mil veces más largo que el diámetro nuclear





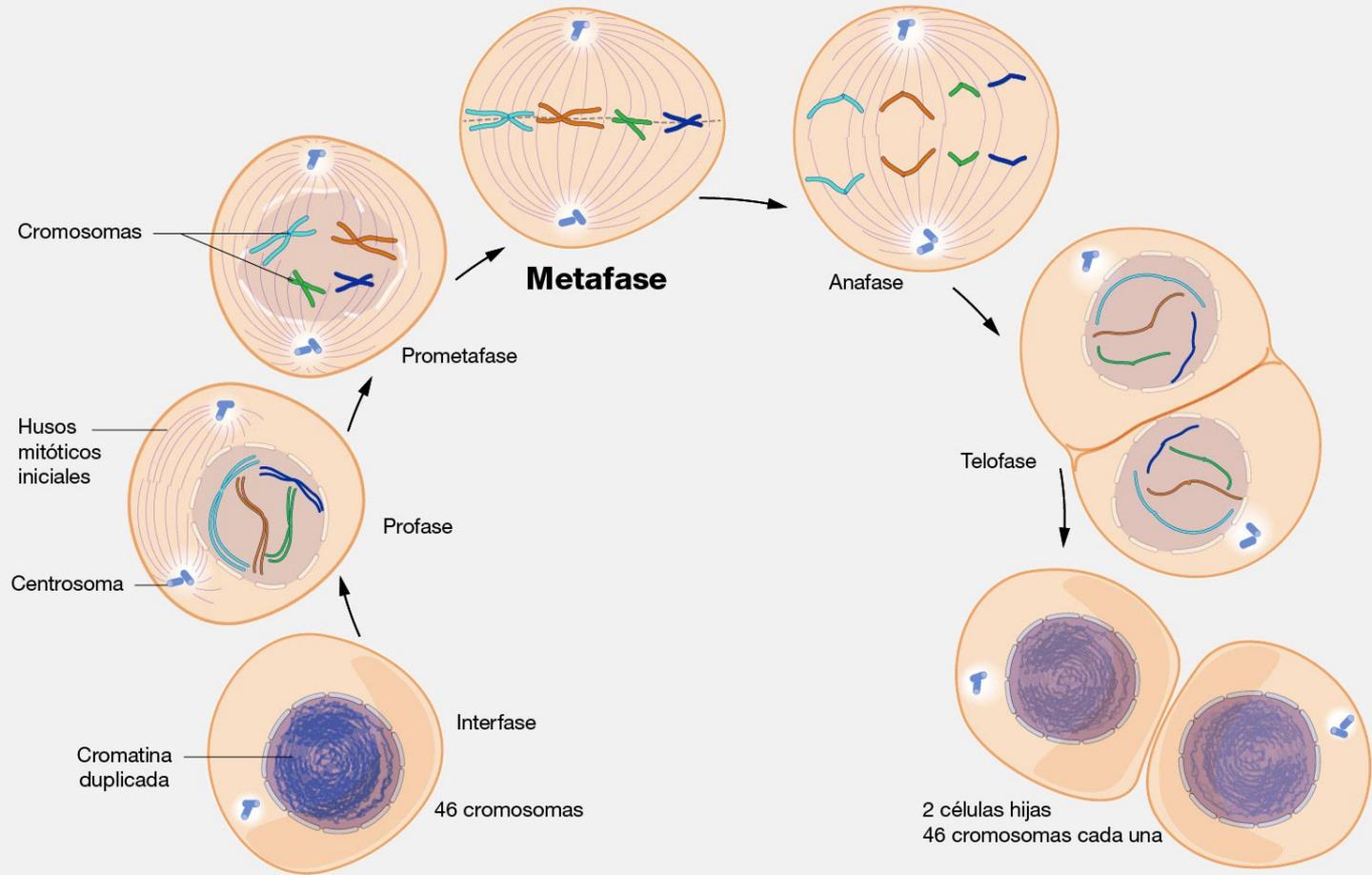




Cromosoma en metafase

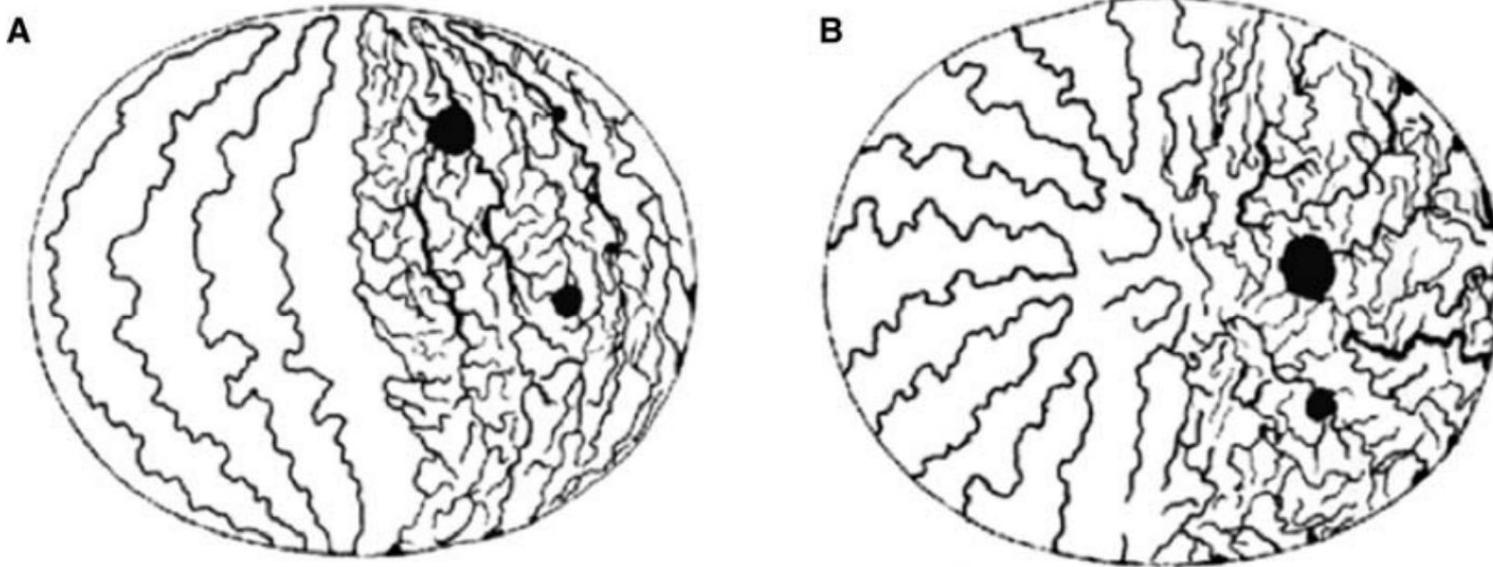
Sección extendida del cromosoma

Doble hélice de DNA



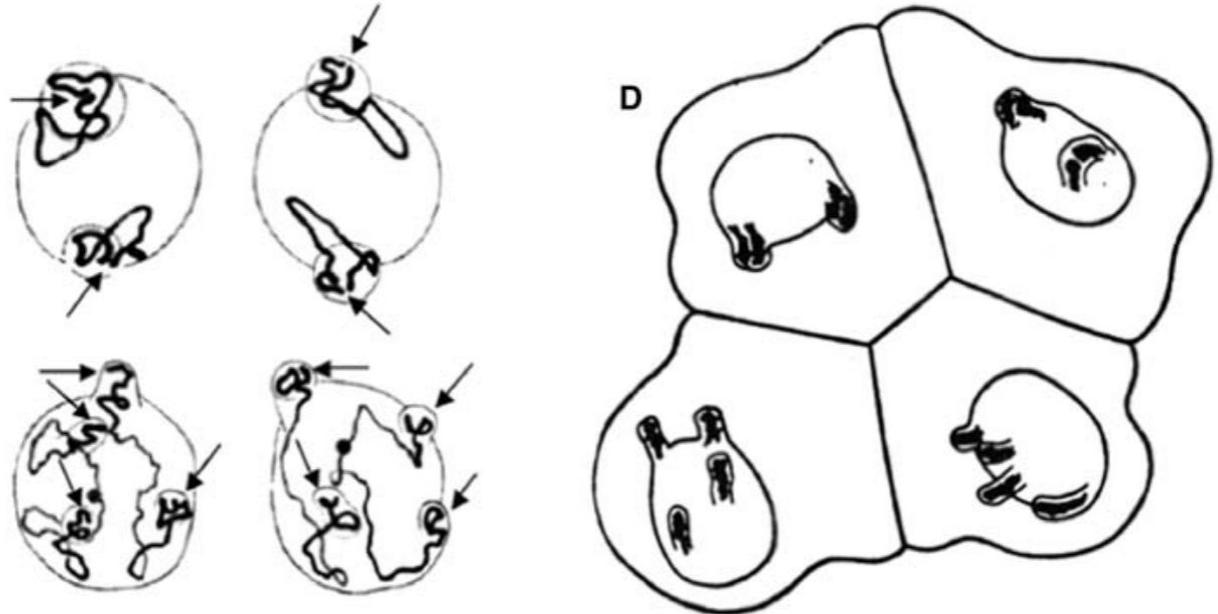
Territorios cromosómicos

Carl Rabl, en 1885, fue el primero en proponer la idea de una organización territorial de los cromosomas durante la interfase en los núcleos de células epiteliales de salamandra.

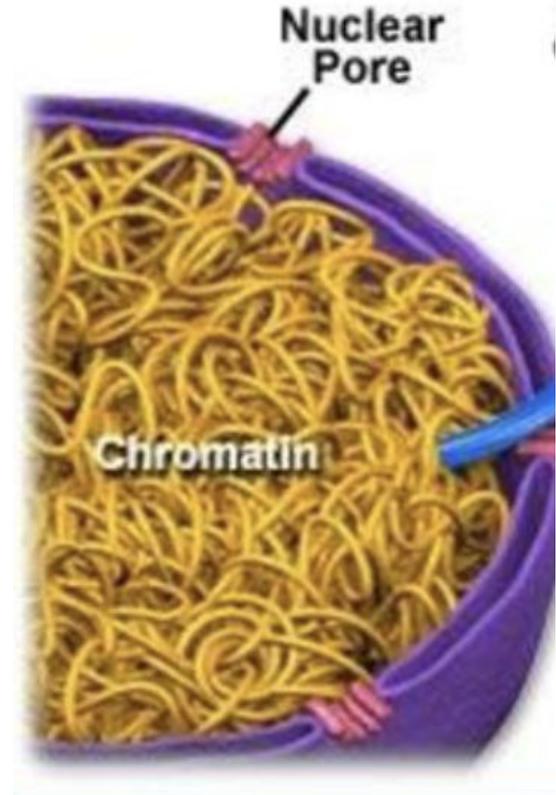
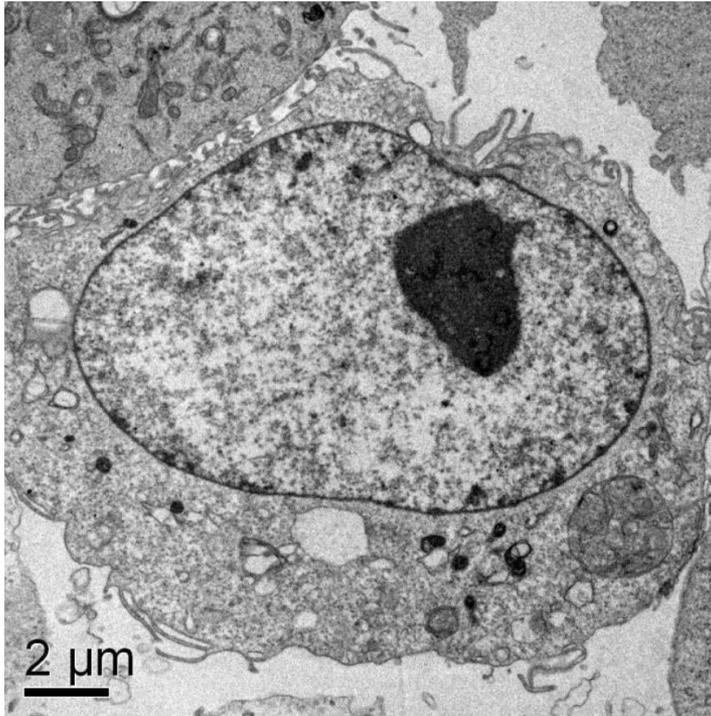


Dibujos de Theodor Boveri (1909) - Embriones de *Ascaris megalocephala univalens*

- En un embrión de cuatro células, Boveri observó que los pares de células superiores e inferiores mostraban **diferentes arreglos de protrusiones nucleares**.
- Estas diferencias se deben a los **movimientos cromosómicos durante la prometafase**.



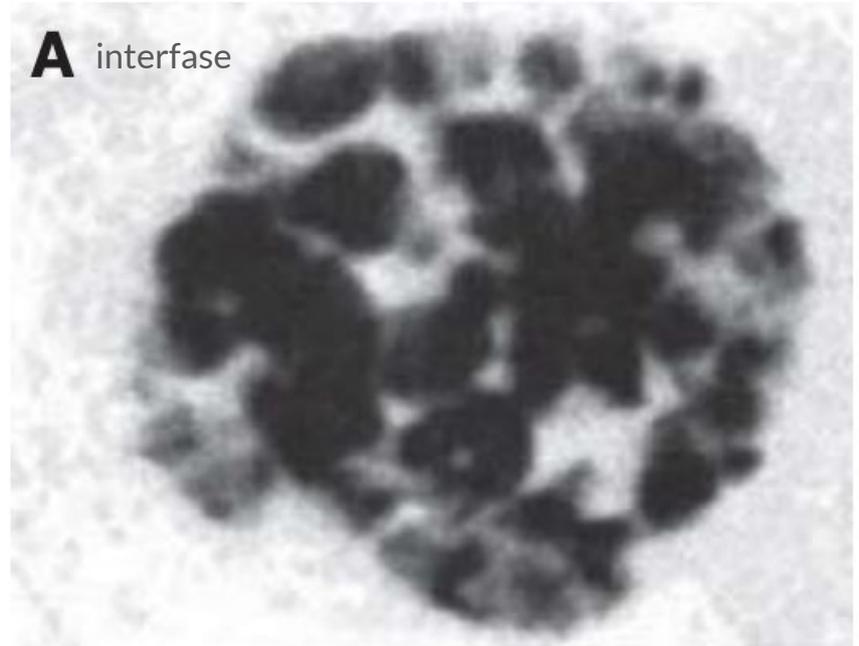
1950 - Micrografía electrónica de un núcleo interfásico



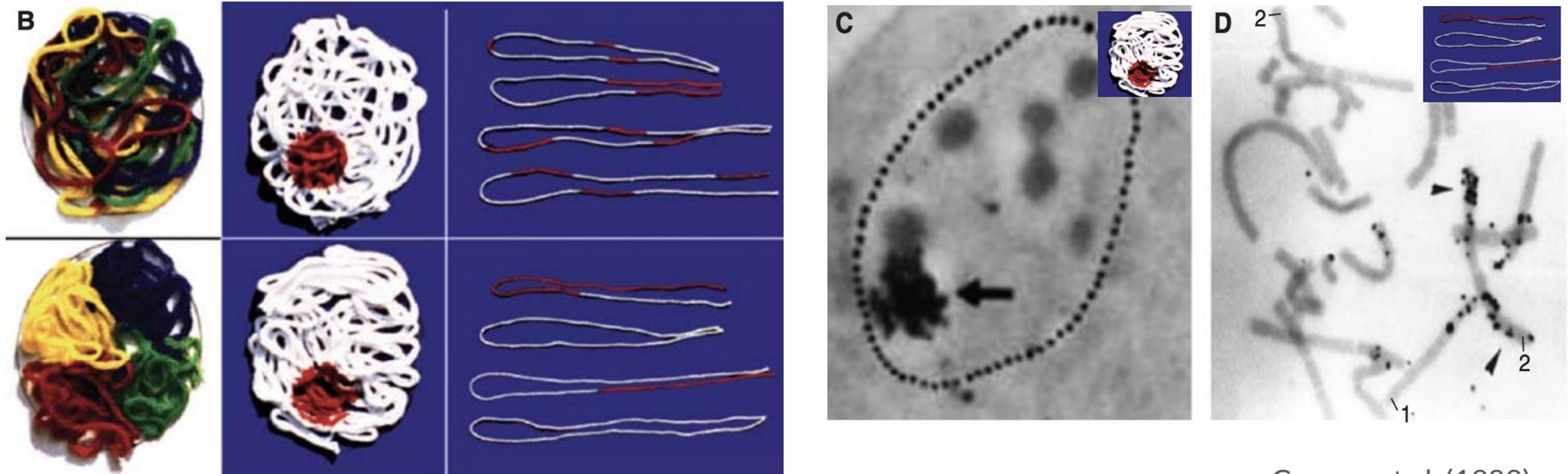
Estudios de Stack, Brown y Dewey en los años 1970

Experimentaron con células de *Allium cepa* y de hámster chino, utilizando una combinación de fijación en ácido acético, soluciones salinas con NaOH y tinción con Giemsa.

- Este tratamiento reveló cúmulos de cromatina condensada, sugiriendo que los cromosomas permanecen en dominios distintos durante la interfase.



Experimentos con microirradiación UV



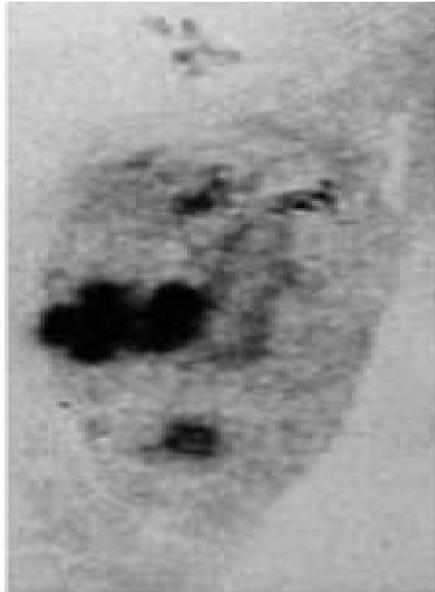
Cremer et al. (1982)

Visualización directa de territorios cromosómicos (TC)

metafase



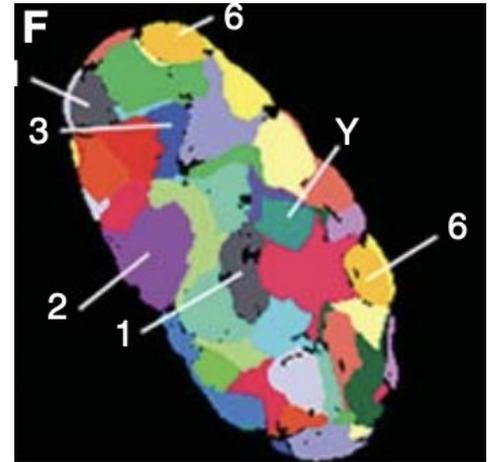
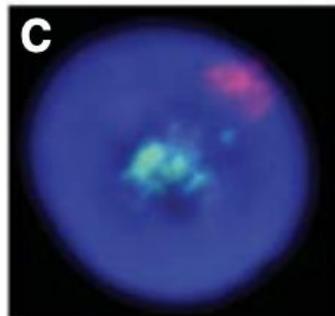
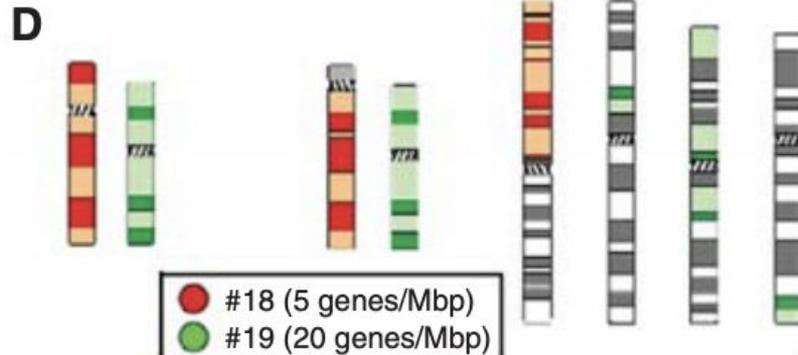
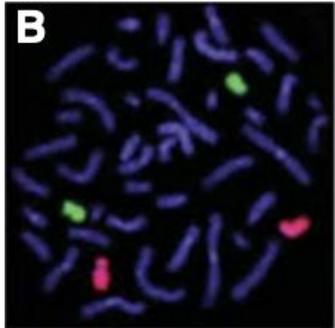
interfase



- La visualización de TC fue posible gracias a las técnicas de hibridación in situ desarrolladas a mediados de los 80.

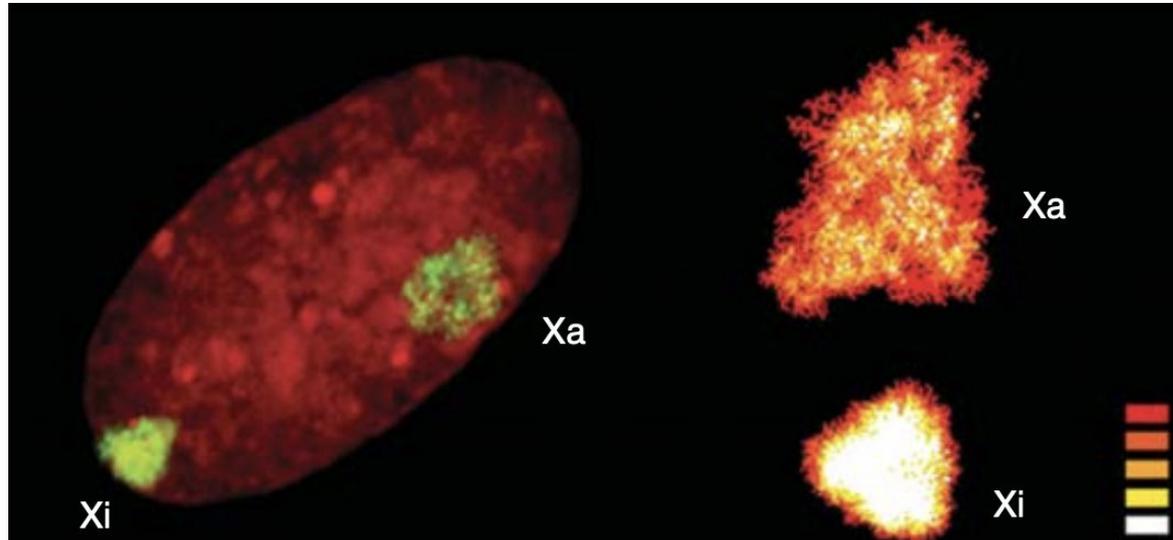
Evidencia de la distribución radial no aleatoria de TCs

- experimentos de **FISH 3D** en núcleos de linfocitos humanos



Diferencias entre los cromosomas X (inactivo y activo)

- + El X inactivo está más compacto, y se ubica en la periferia
- + el X activo menos, y se encuentra en el interior en el núcleo



- ofrecen un excelente modelo para estudiar la relación entre **estructura y función** en cromosomas homólogos con diferentes asignaciones funcionales

Factores que influyen en la disposición radial de la cromatina



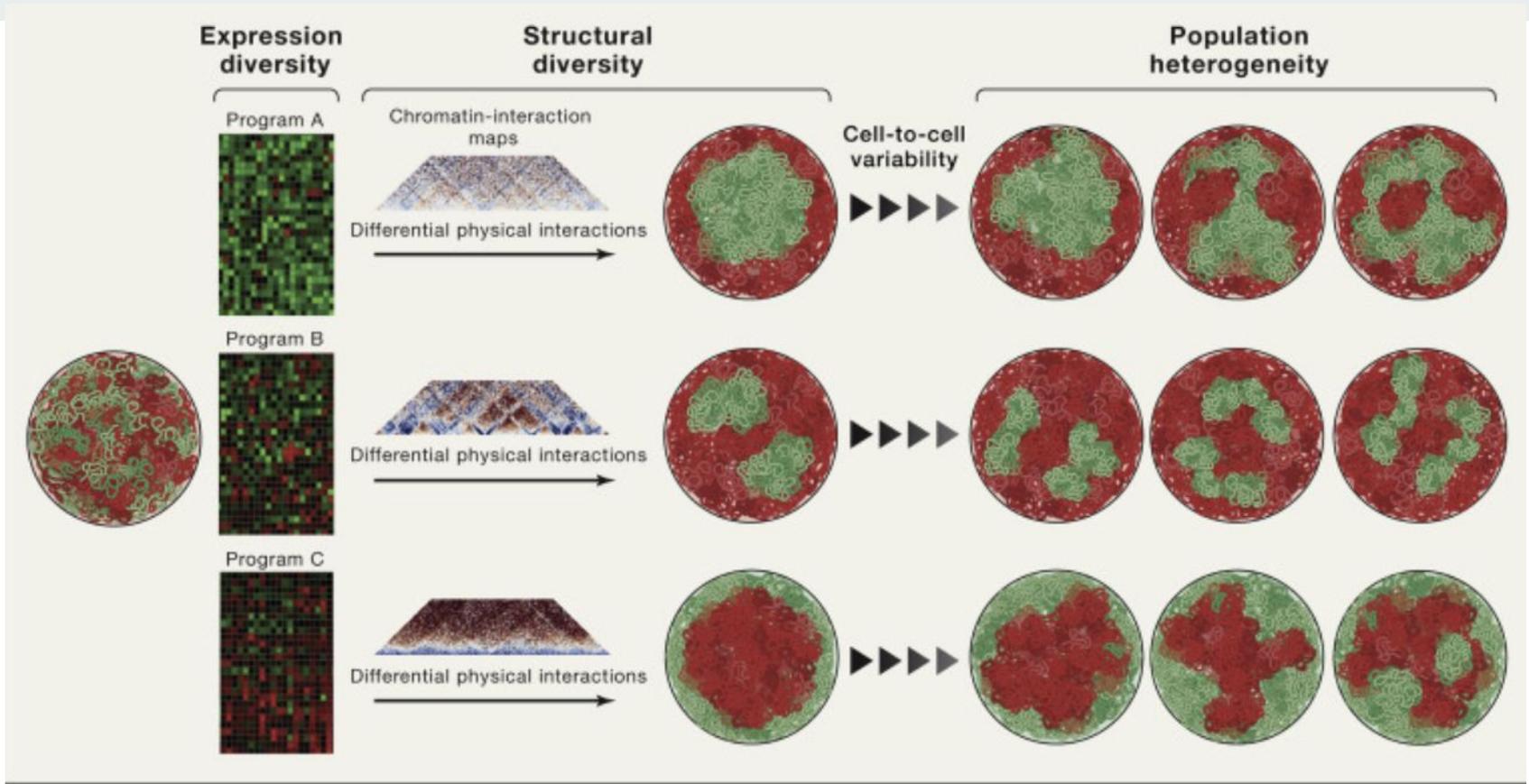
- + La **densidad génica** local en ventanas de 2-10 Mb es un factor clave para la posición radial de la cromatina en el núcleo.

Otros factores correlacionados con arreglos radiales no aleatorios incluyen:

- **Actividad transcripcional**
- Momento de replicación
- Contenido de GC

La interdependencia entre estos parámetros dificulta la separación de sus impactos individuales en la distribución radial de la cromatina en el núcleo.

La estructura del genoma no es estática



- Las interacciones c-c que ocurren durante la transcripción activa crean patrones distintos en cada célula
- La actividad génica tiene un impacto en la estructura de la cromatina

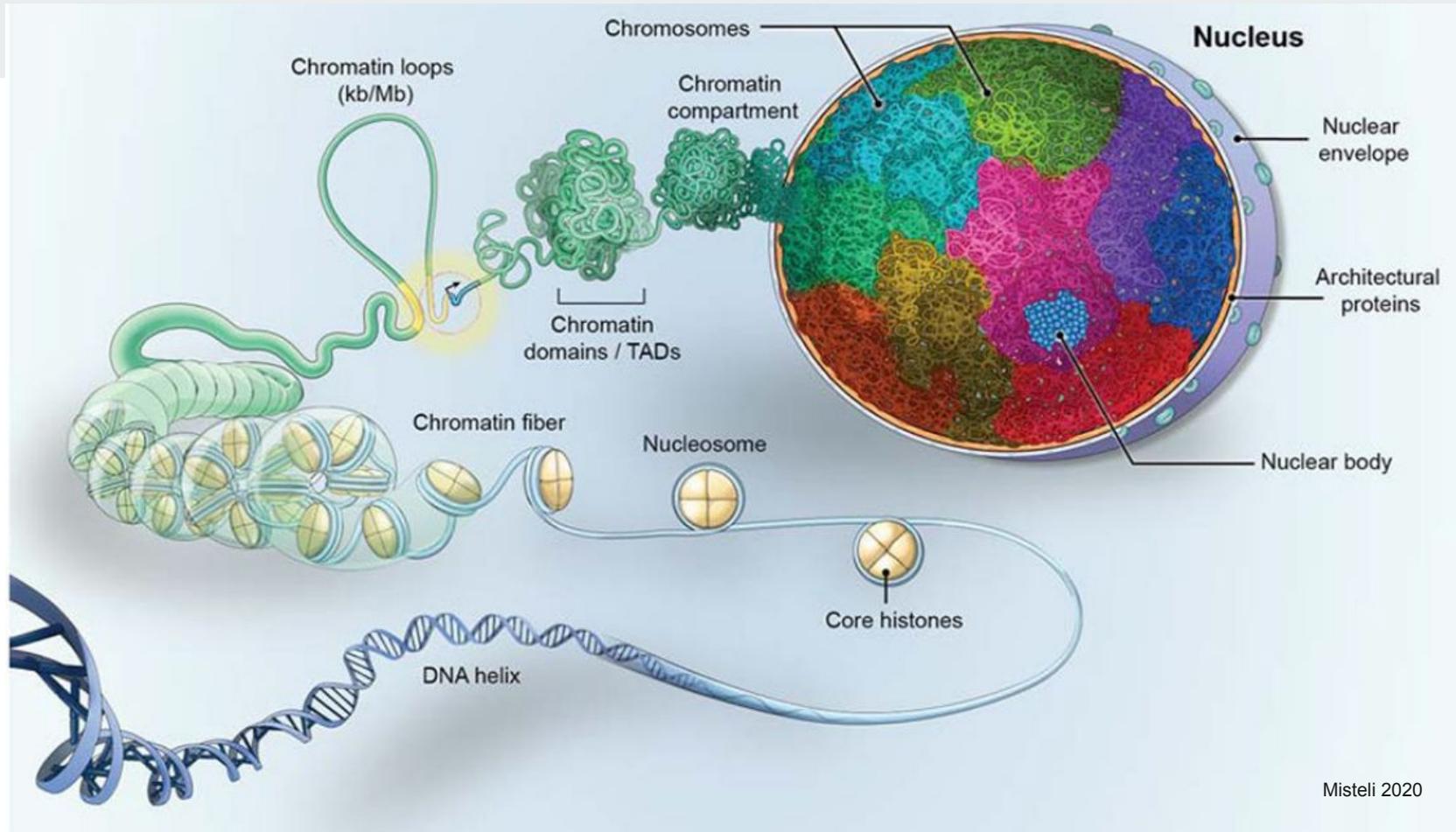
Espacio reducido => Orden



- + Los grandes arreglos de la cromatina pueden estar influenciados principalmente por restricciones geométricas que afectan la distribución 3D de los territorios cromosómicos
 - + Los TC más grandes y más pequeños deben organizarse dentro del espacio nuclear limitado, creando una disposición no aleatoria.
- La proximidad entre genes localizados en sitios distantes del mismo cromosoma o en diferentes cromosomas, sugiere pero NO PRUEBA implicaciones funcionales. Por ejemplo, la proximidad de ciertos genes puede reflejar su distribución radial en el núcleo no al azar.

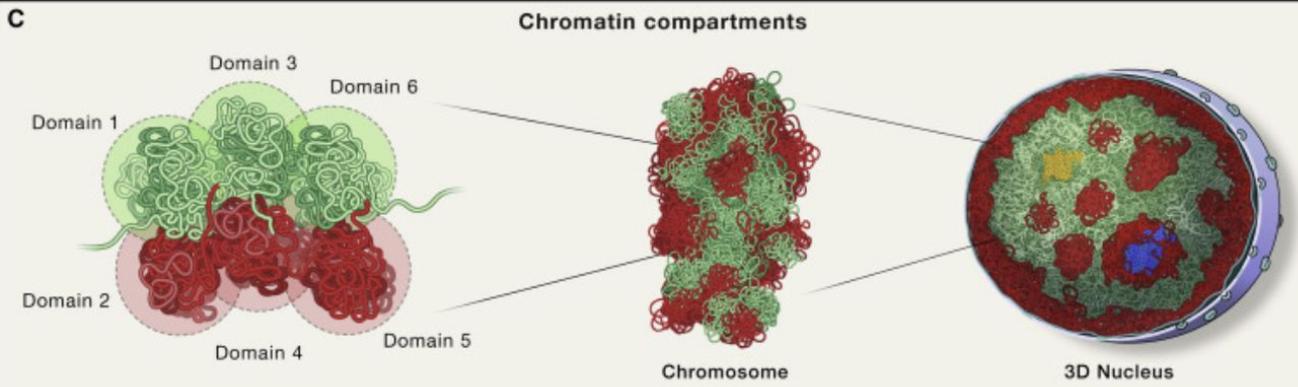
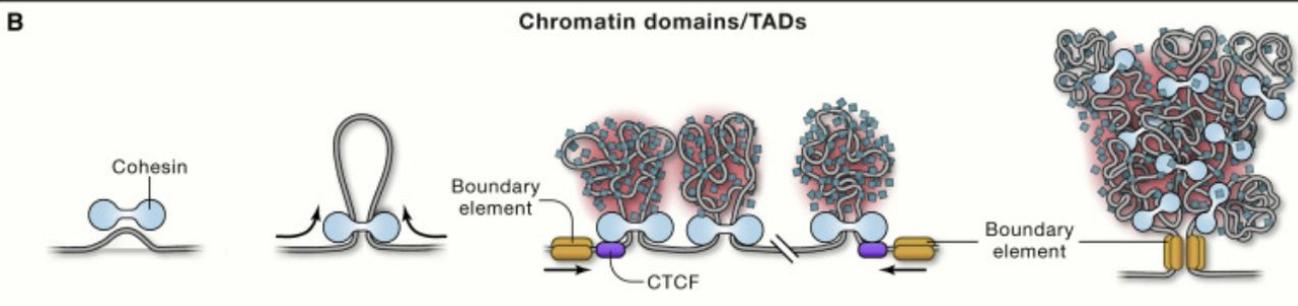
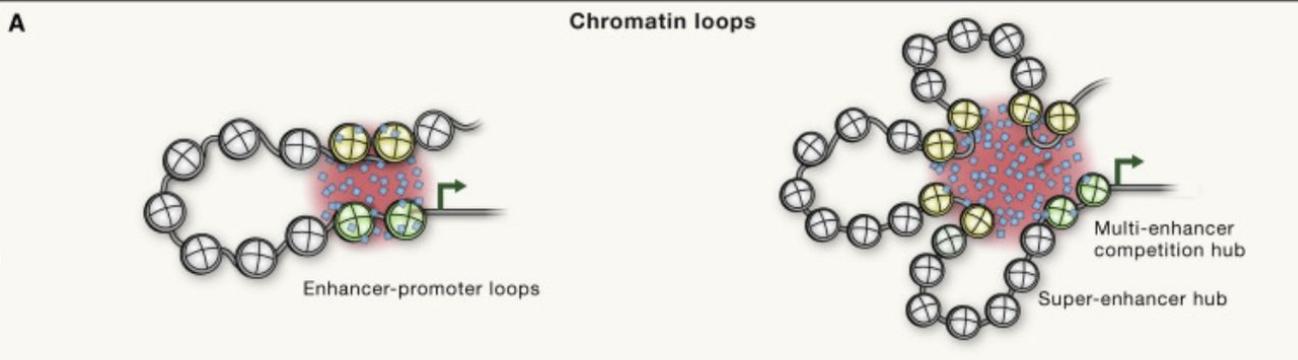
Espacio reducido => Orden

- + La distribución de los TCs según su densidad génica se ha observado en roedores, bovinos y aves, lo que sugiere que es un fenómeno universal en vertebrados.
- + En bovinos, se observó que los territorios cromosómicos NO están definidos todavía en blastómeros (dos días post fecundación, 4 células), pero SI son evidentes en los blastocistos (aproximadamente una semana post-fecundación, entre 70 y 100 células).
qué factores generan los territorios??
- + Factores adicionales específicos de tipo celular o tejido pueden influir en el arreglo espacial de los TCs.

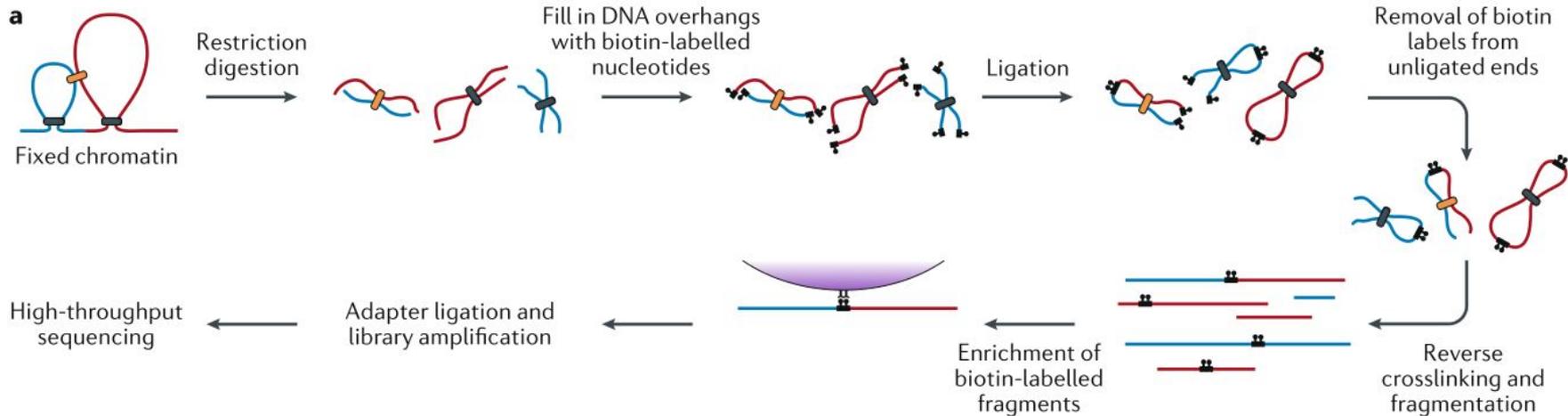


Misteli 2020

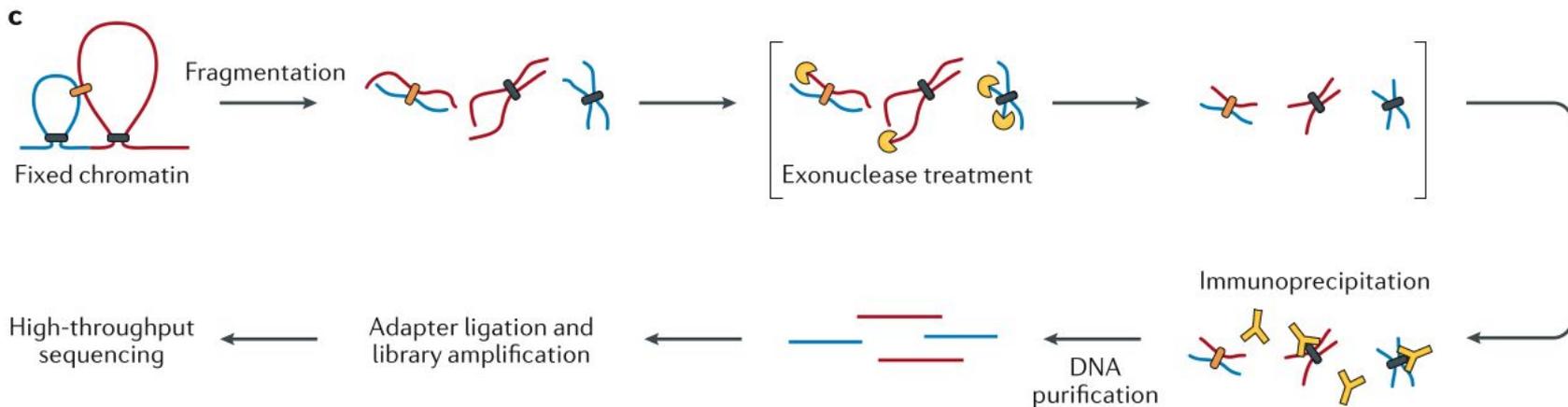
- los loops median interacción de elementos regulatorios
- contribuyen a la regulación de grupos de genes de forma temporal y espacial, de forma precisa



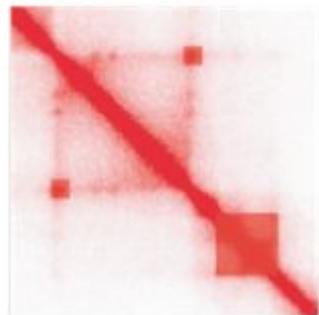
Hi-C Chromosome conformation capture (3C)



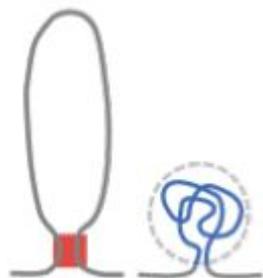
Chromatin immunoprecipitation



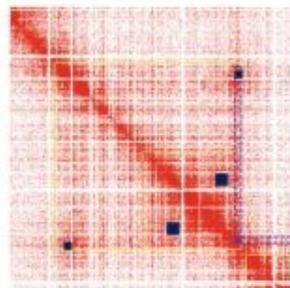
5Kb Interactions



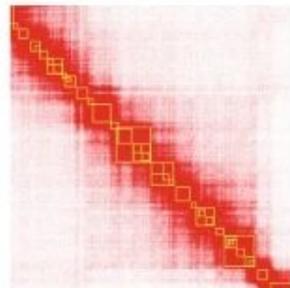
Loop TAD



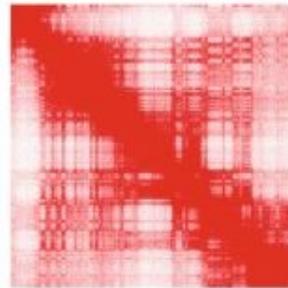
A 1 kb



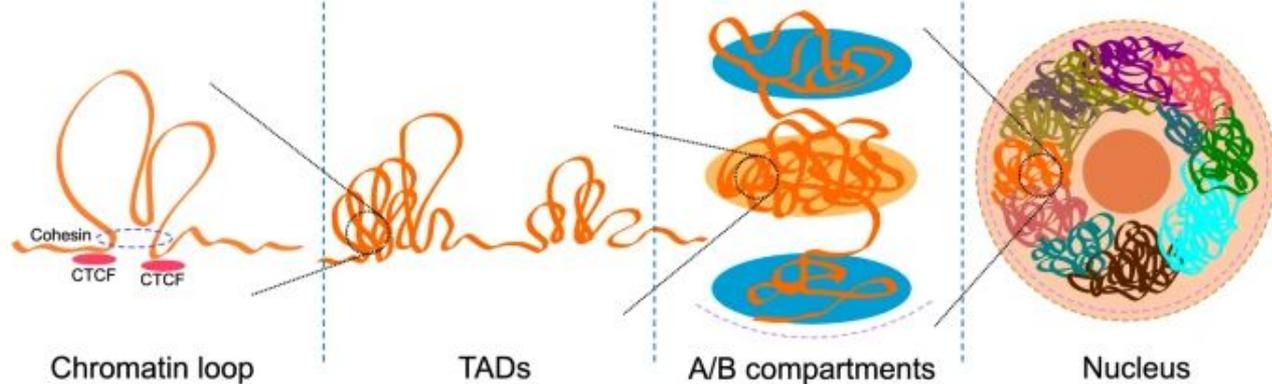
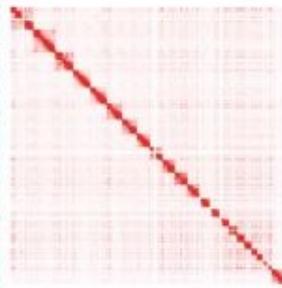
B 10 kb

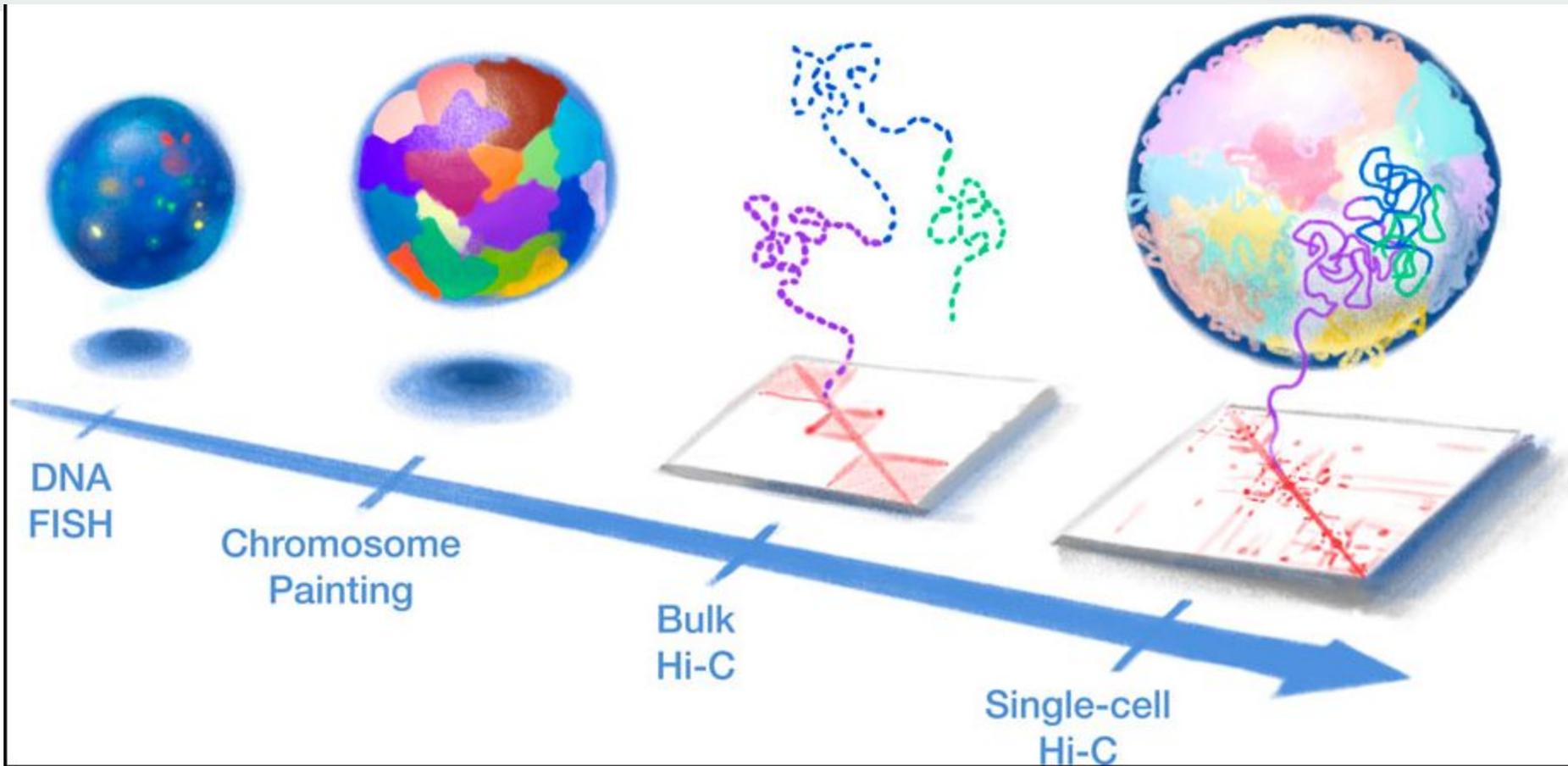


C 50 kb



D 6 Mb







Como aparecieron?

Algunos patrones de proximidad entre TC pueden haberse formado al azar, pero luego haber sido **favorecidos por selección natural** debido a su ventaja funcional.

La investigación sobre el **ensamblaje de cromatina**, sus mecanismos de formación y su función es un campo emergente en el estudio de la **arquitectura nuclear**



Y si no tengo núcleo?



Procariotas

- + primeras formas de vida de la tierra
- + seres vivos más abundantes en el planeta
- + Importantes determinantes de salud/enfermedad

- + Genoma compuesto mayoritariamente por regiones codificantes (85-95%)
- + Composición de bases estable a lo largo del cromosoma, pero muy variable entre especies (de 13 a 75%GC)
- + Arquitectura – Genomas configurados en dominios que tienen una relación con el sitio de replicación y el empaquetamiento
- + El mapa genético se mantiene estable entre especies relacionadas

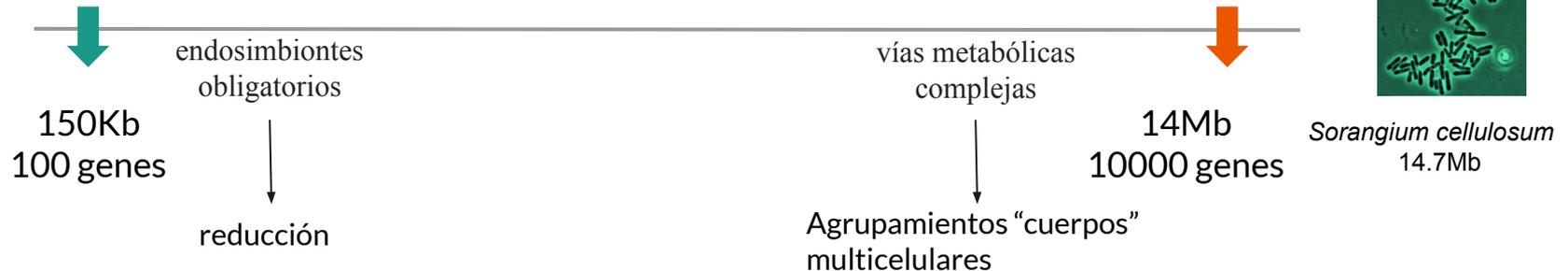
tamaño del
genoma

α

cantidad de
regiones
codificantes

Procariotas

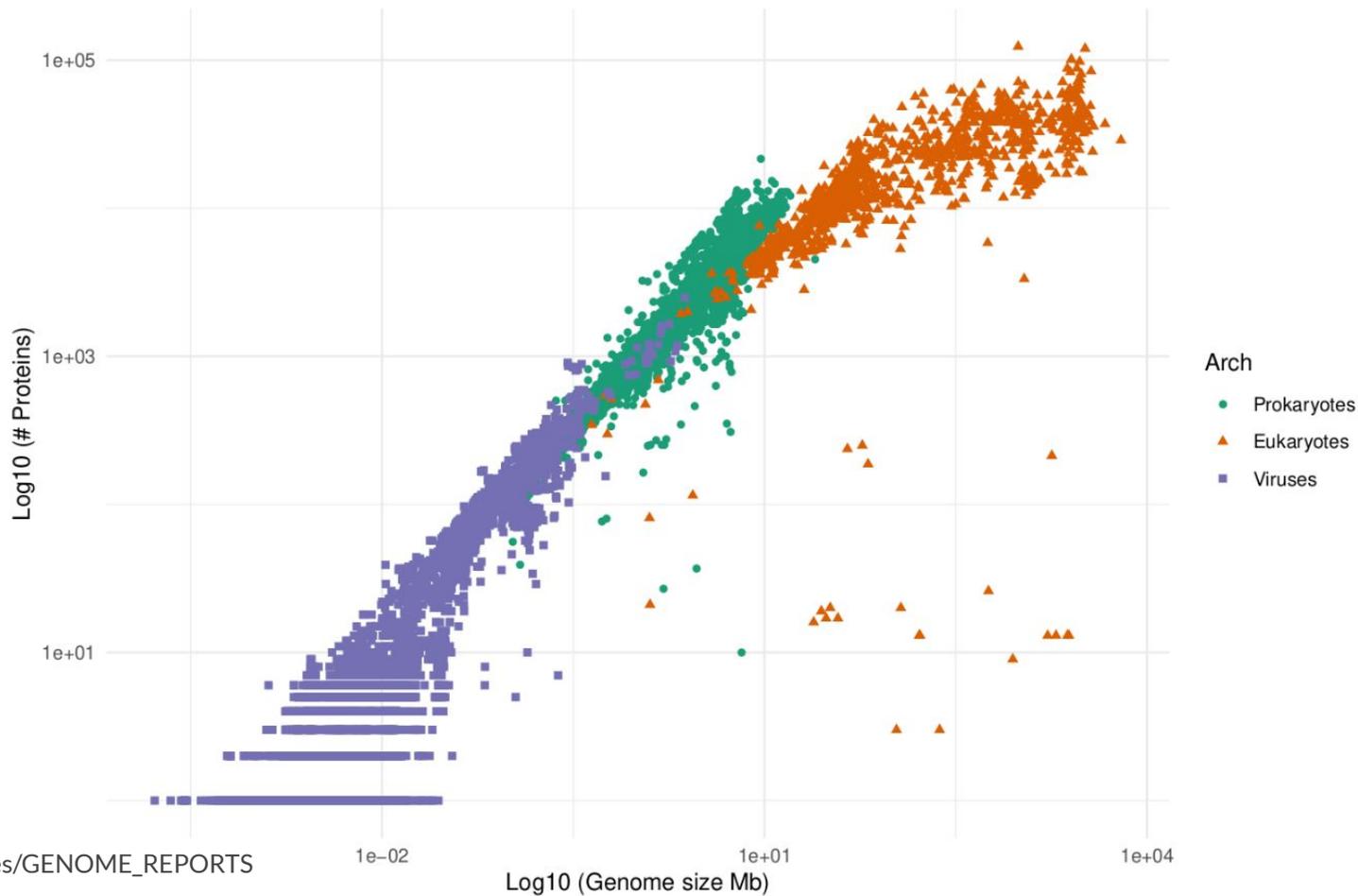
- + Genoma compuesto mayoritariamente por regiones codificantes
- + Composición de bases estable a lo largo del cromosoma, pero muy variable entre especies (de 13 a 75%GC)
- + Arquitectura – Genomas configurados en dominios que tienen una relación con el sitio de replicación y el empaquetamiento
- + El mapa genético se mantiene estable entre especies relacionadas



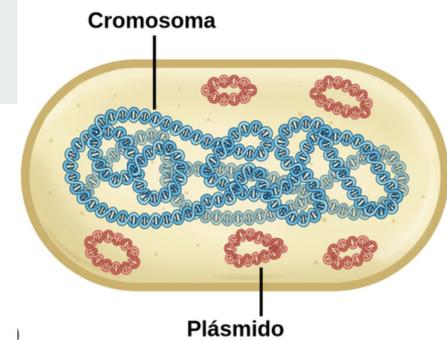
Datos recientes



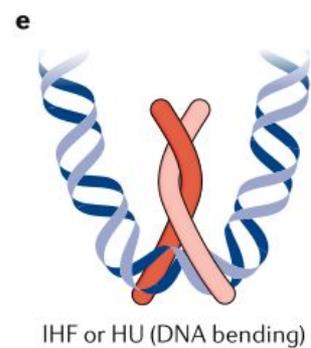
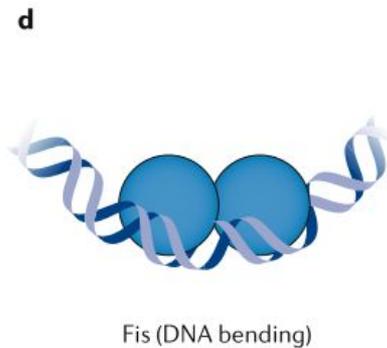
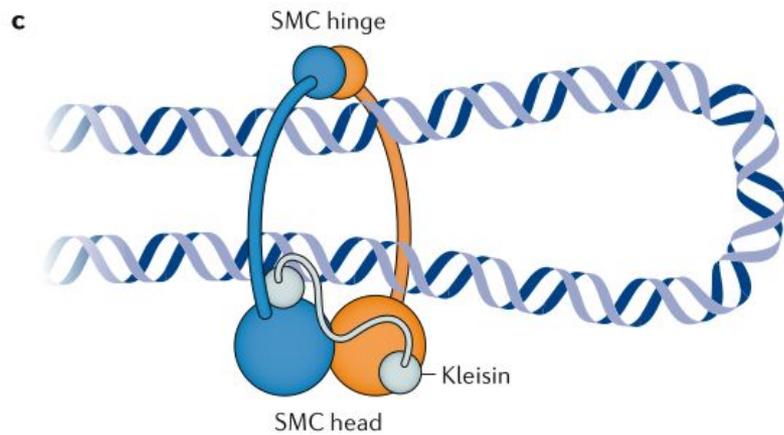
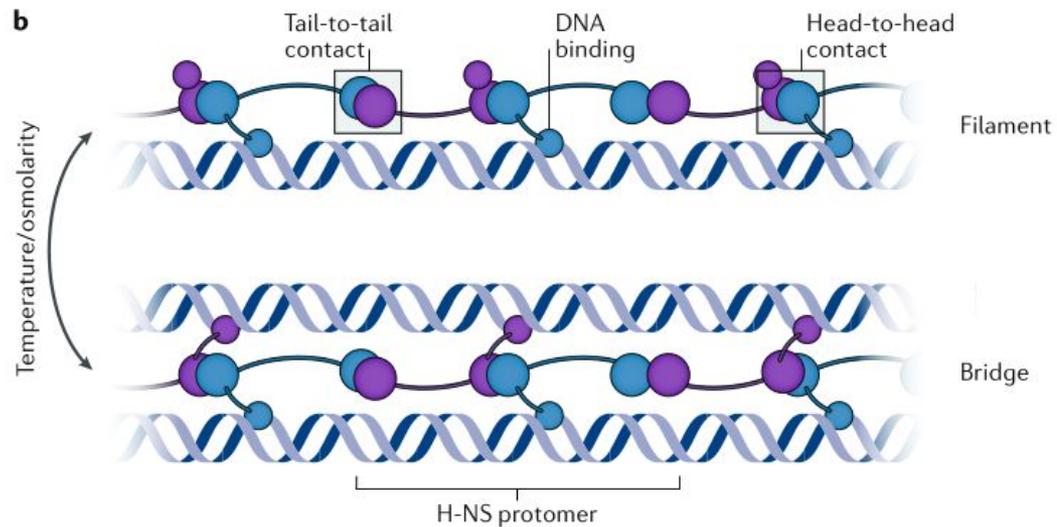
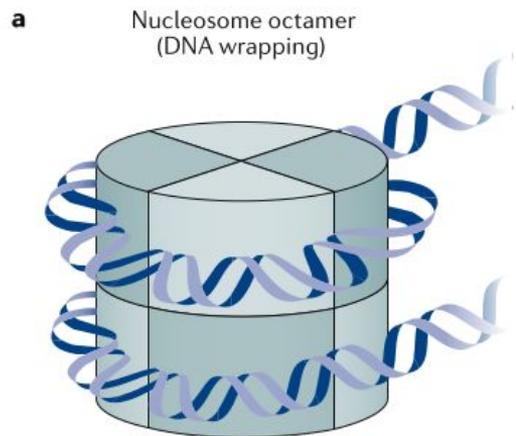
10.000 Virus
97.000 Procariotas
1.563 Eucariotas

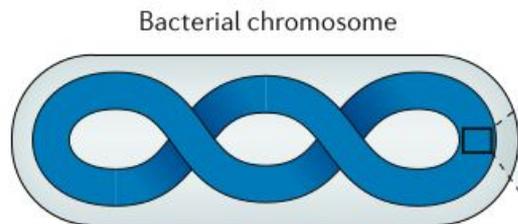


Particularidades del genoma procariota

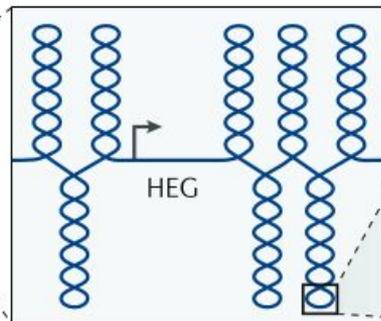


- Molécula circular, no está desnuda, sino rodeado de proteínas y iones, libre en el citoplasma
- en general tienen **una única copia** por célula
- Un sólo replicón (ori y ter en extremos opuestos)
- Diversas evidencias experimentales muestran que el plegamiento del genoma no es al azar y que determinadas regiones distantes en el cromosoma tienden a estar cerca en la estructura tridimensional del nucleoide.
- Portador de genes esenciales. Habitualmente es así, pero muchos procariotas con megaplásmidos suelen tener en estos últimos genes indispensables (tRNAs, Aa t-RNA sintetasas, proteínas ribosomales).

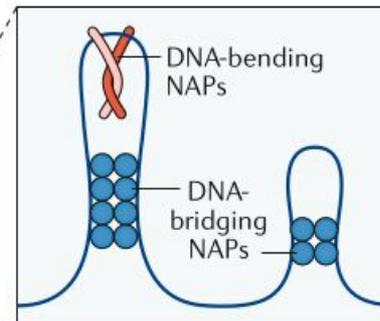
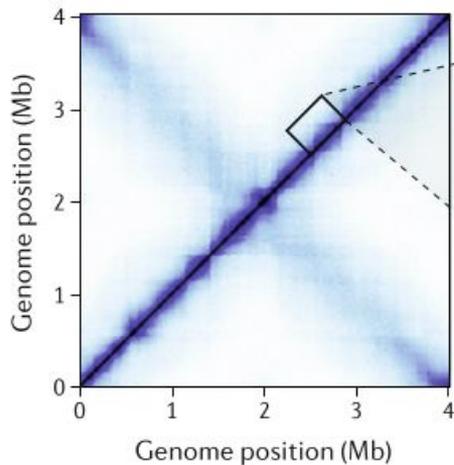
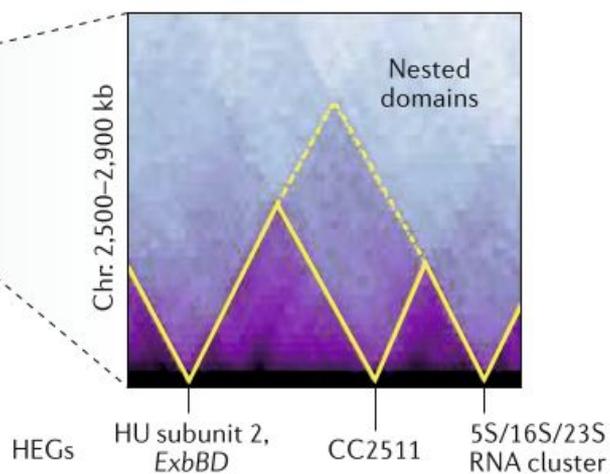


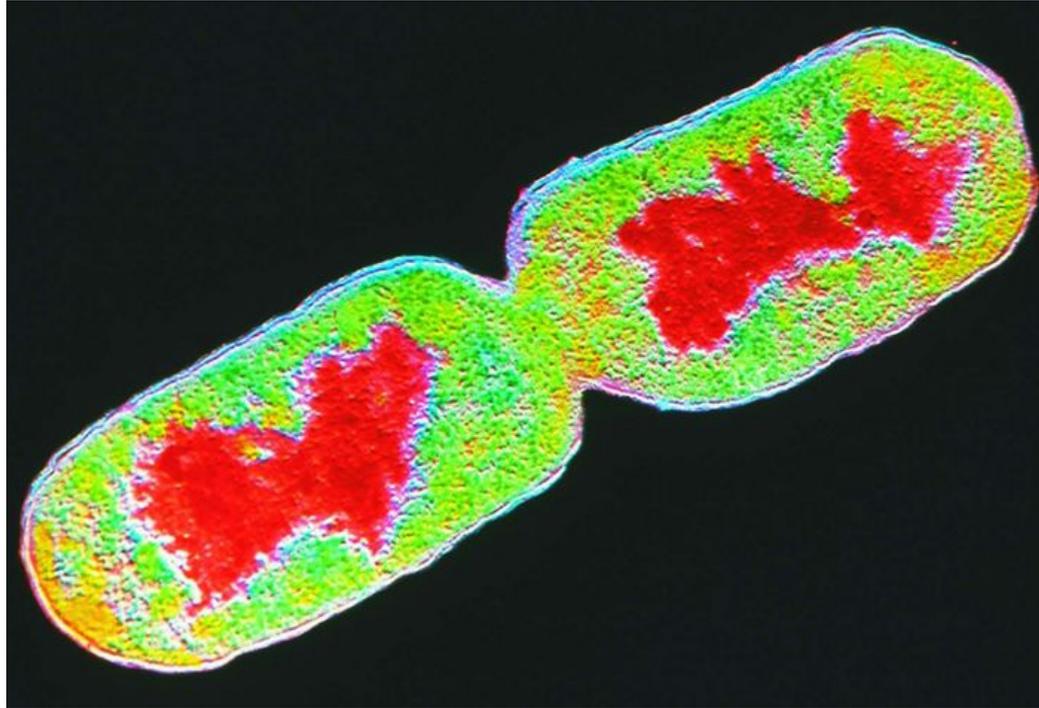
Aa**Ab**

Chromosome interaction domains

**Ac**

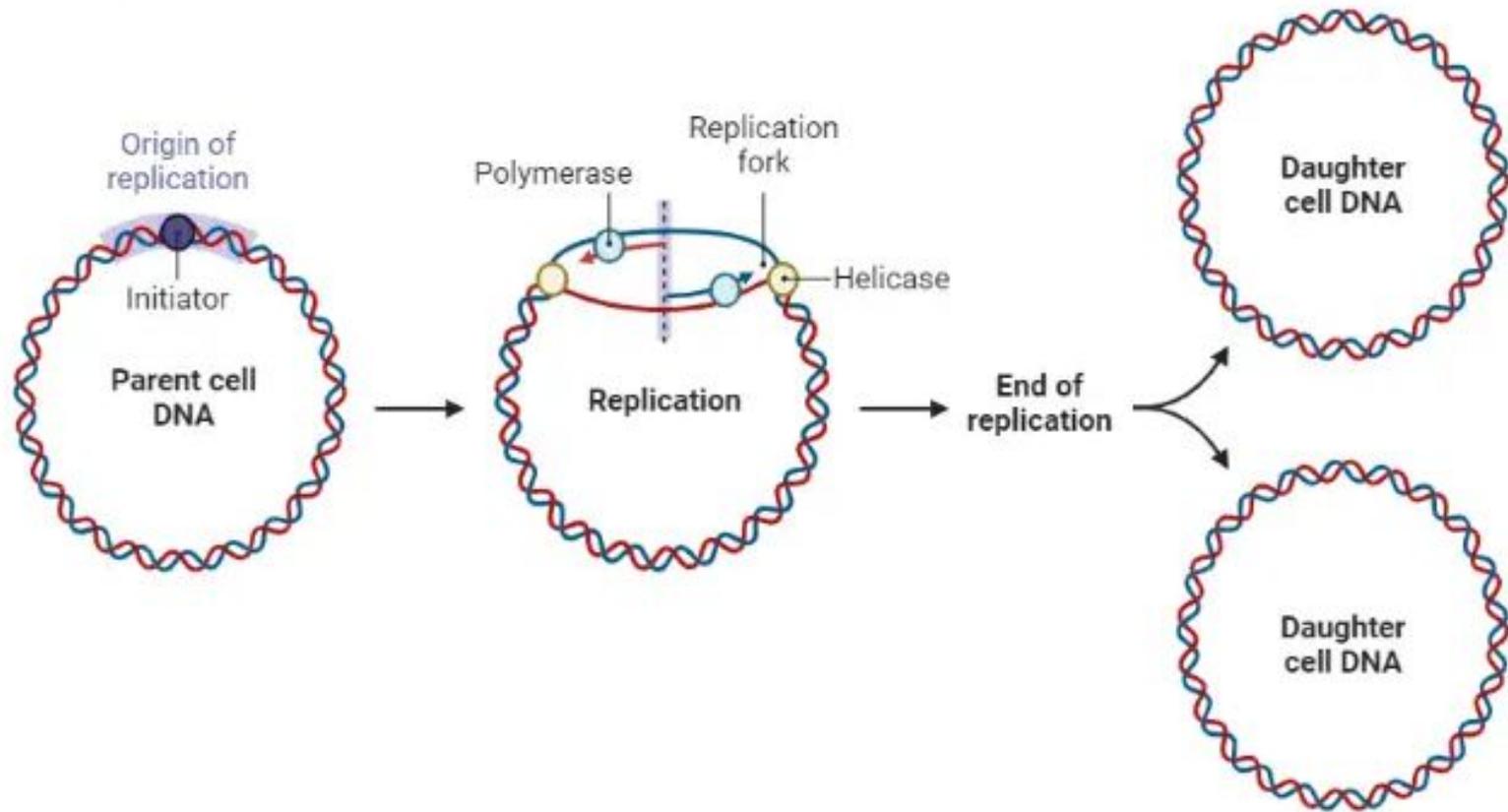
Operon-level loops

**Ad***Caulobacter crescentus***Ae**



E. coli dividiéndose
ano

Cada núcleo se organiza en diferentes
regiones



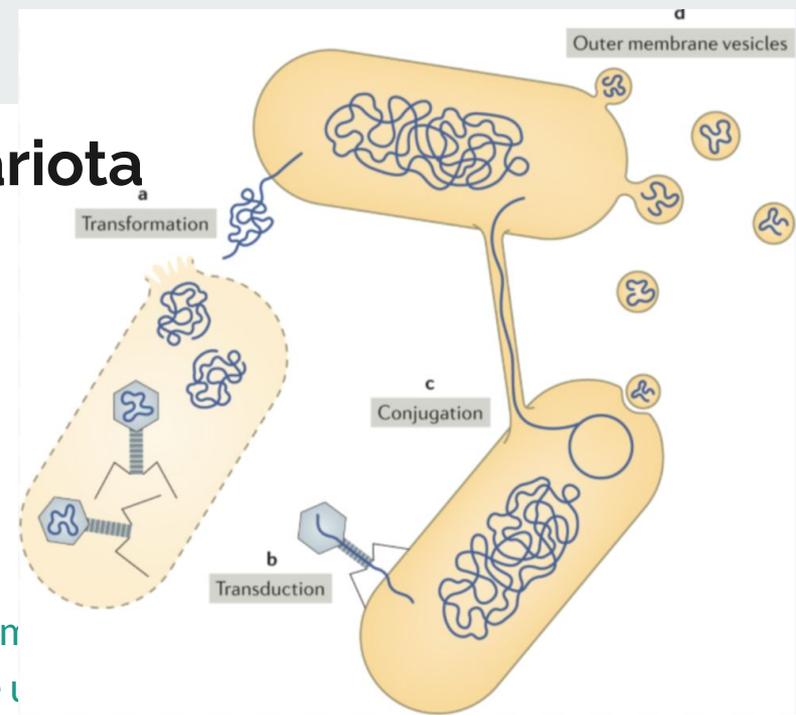
Particularidades del genoma procariota

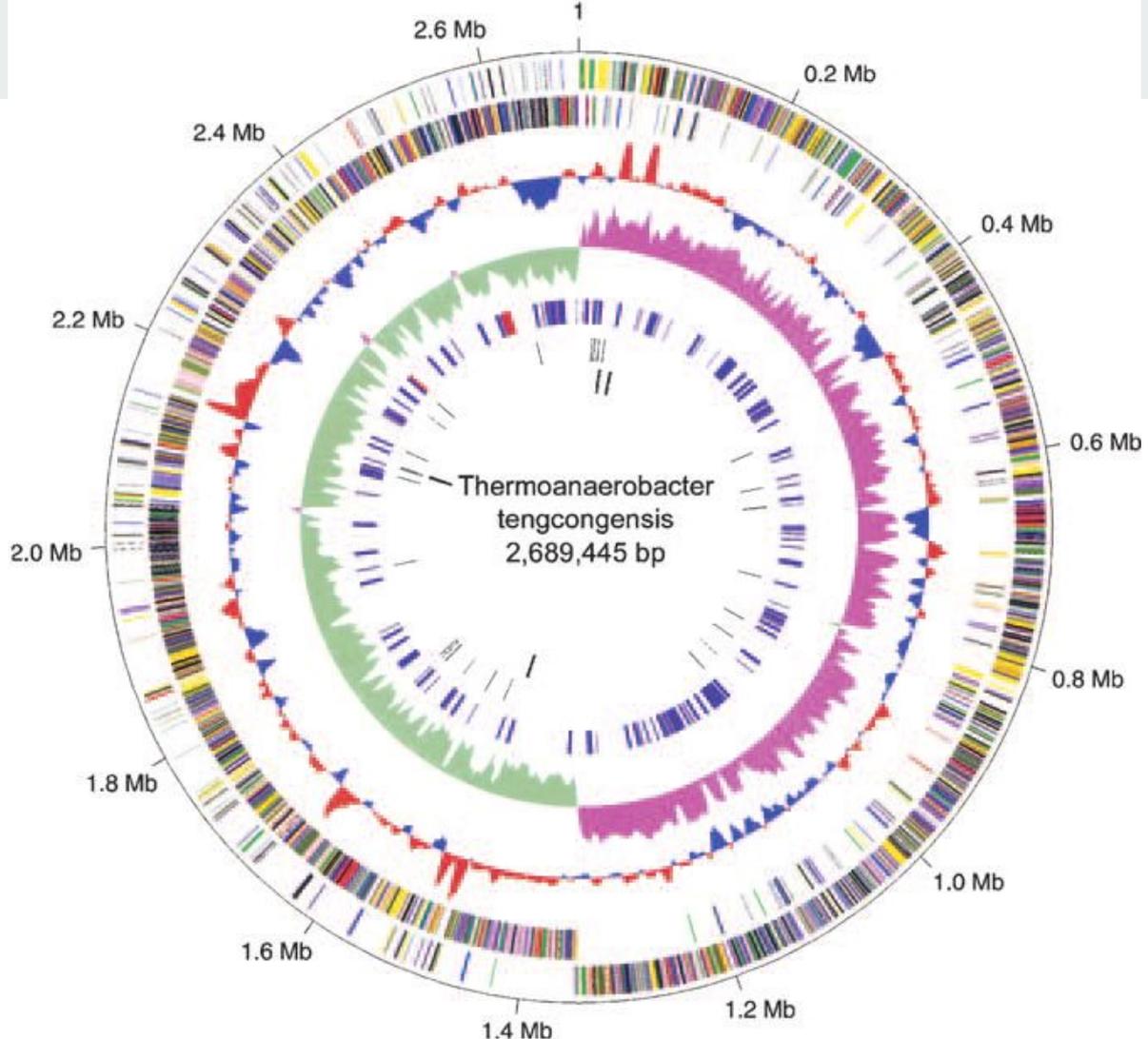
- Herencia por **transferencia vertical**
- También existe la **transferencia horizontal de genes**
- La THG puede ocurrir entre especies pertenecientes a diferentes géneros, familias e incluso dominios.

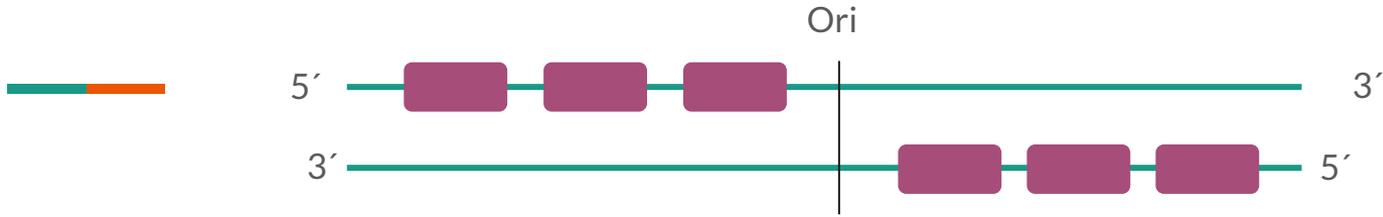
Los mecanismos básicos de la THG son:

1. **Transformación:** incorporación de ADN presente en el medio
2. **Transducción:** transferencia de ADN foráneo mediante un virus
3. **Conjugación:** intercambio de material genético entre una célula procariota donadora y una receptora a través de contacto directo o una conexión entre ellas.

La THG juega un papel fundamental en la evolución del genoma procariota.



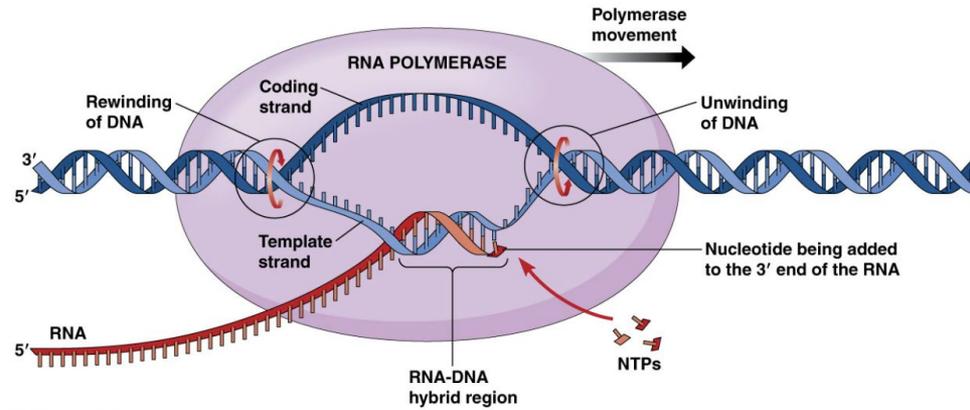
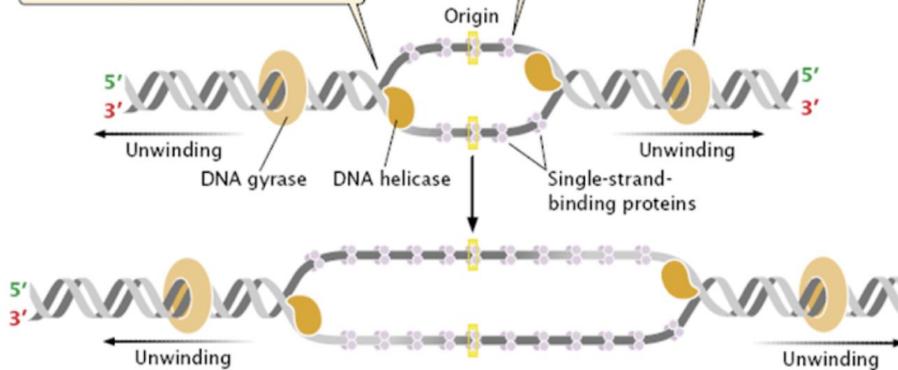




1 DNA helicase binds to the lagging-strand template at each replication fork and moves in the 5' → 3' direction along this strand, breaking hydrogen bonds and moving the replication fork.

2 Single-strand-binding proteins stabilize the exposed single-stranded DNA.

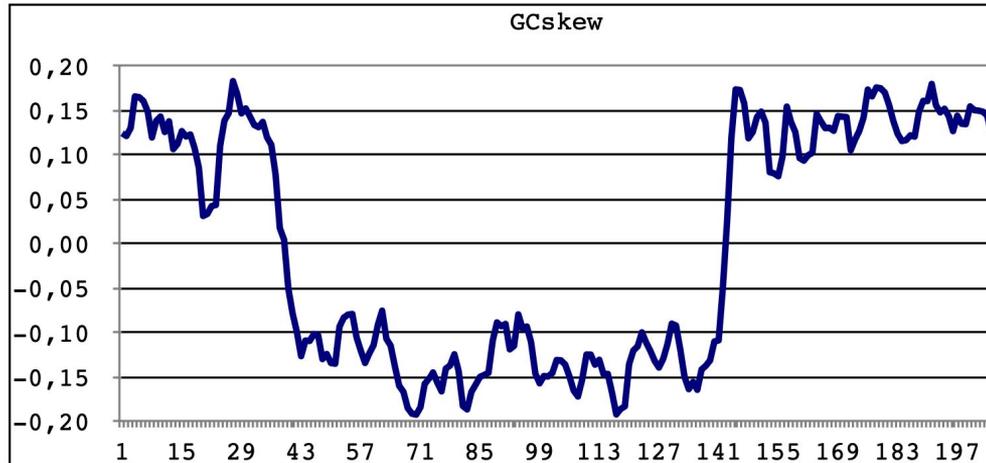
3 DNA gyrase relieves strain ahead of the replication fork.



GC-Skew

El **GC-skew** es una medida de la asimetría en la frecuencia de guaninas (G) y citosinas (C) a lo largo de una secuencia genómica. Se calcula como:

$$\text{GC-skew} = (G - C) / (G + C)$$



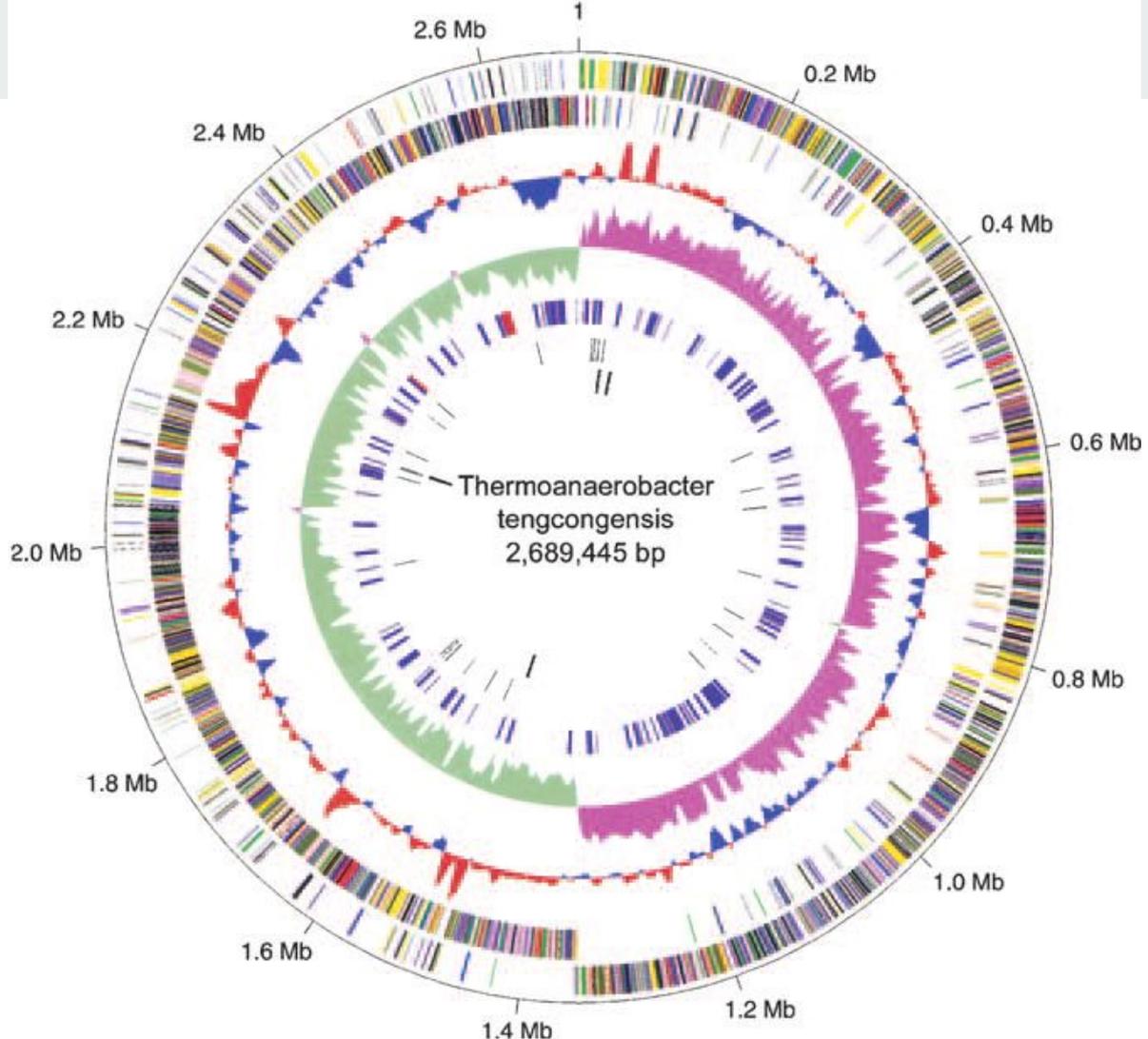
- En gen
- Suele r
- La heb
rezaga

Aplicaciones:

- Identifi
- Análisi:

aplicación del ADN.
ción de la replicación.
que la hebra

terianos y arqueales.



Genómica Evolutiva y Comparativa



La **genómica evolutiva** es un área de gran relevancia que nos permite estudiar cómo los genomas cambian a lo largo del tiempo. Aunque no sabemos cómo surgieron los primeros genomas, hoy podemos investigar cómo evolucionan: cómo varía su contenido de GC, cómo adquieren nuevos genes, qué genes son comunes a todas las especies, cómo cambian de tamaño, y qué define una especie o su patogenicidad.

¿Qué es la Genómica Comparativa?

Es el análisis y comparación de los genomas de diferentes especies, proporcionando una visión global del material genético.

- Estudiar la evolución y función de los genes.
- Comprender las similitudes y diferencias globales entre especies.