

MK : Genetika Molekuler

Prodi : Biologi (Sem 5)

Eukaryotic Genome



NUCLEAR GENOME & CHROMOSOME PACKAGING

Paramita C. Kuswandi, /FMIPA UNY/2013
Email : paramita@uny.ac.id

Genome...?

- ▶ Jumlah total materi genetis pada suatu organisme
- ▶ = satu set haploid
- ▶ Virus : DNA or RNA
- ▶ Prokaryote : usually circular DNA
- ▶ Eukaryote : circular (mitochondria, chloroplast) and in chromosomes

Karyotype and C – value

- ▶ Karyotype = the complete set of metaphase chromosomes in a eukaryotic cell
- ▶ C– value = the total amount of DNA in the haploid genome of a species
- ▶ C = constant
- ▶ C–value paradox = there is no direct relationship between the C–value and the structural or organizational complexity of the organism

1. Genetic Organization of The Nuclear Genome



Eukaryotic cells

3 genetic systems :

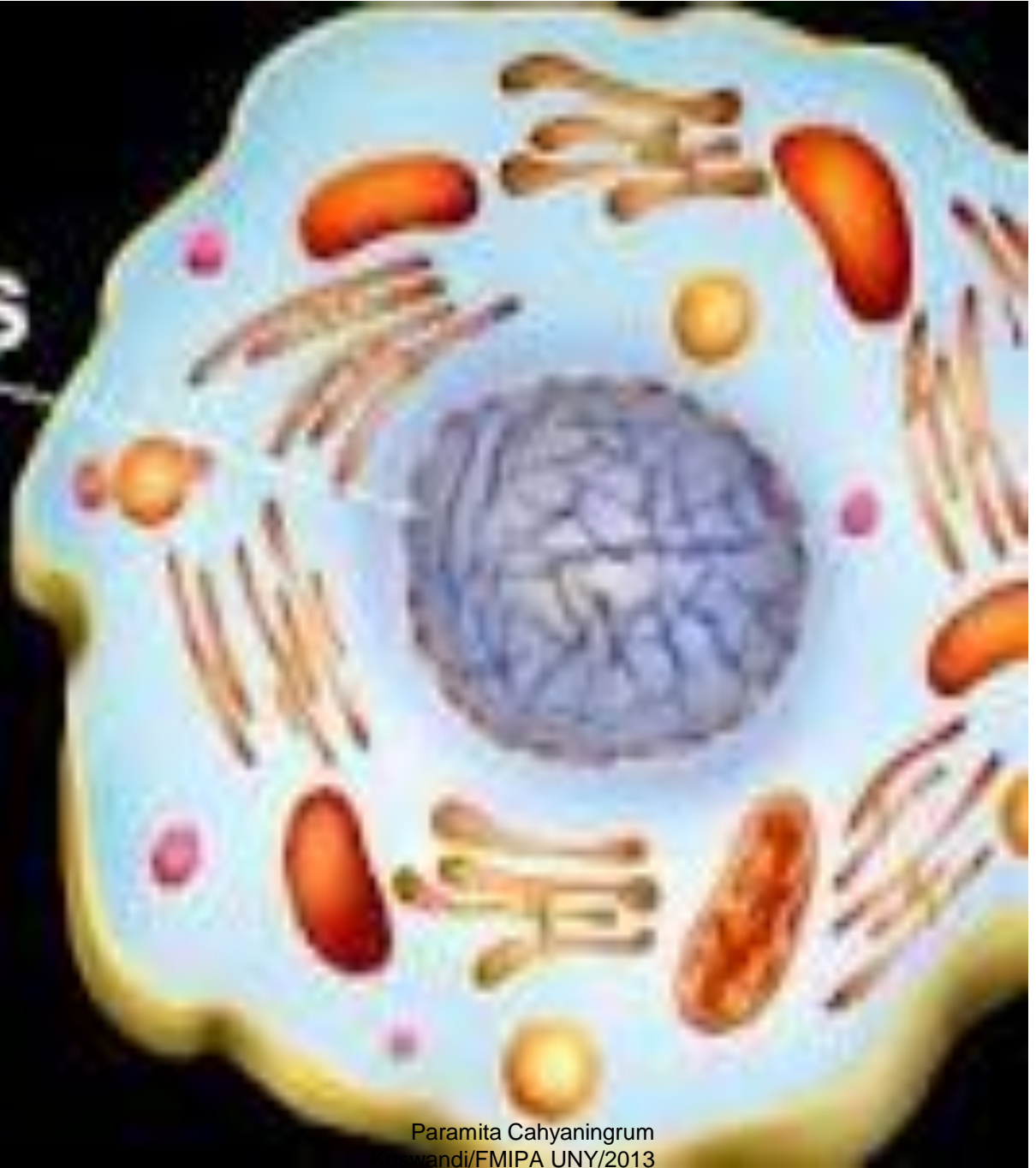
1. Nuclear (chromosomal)

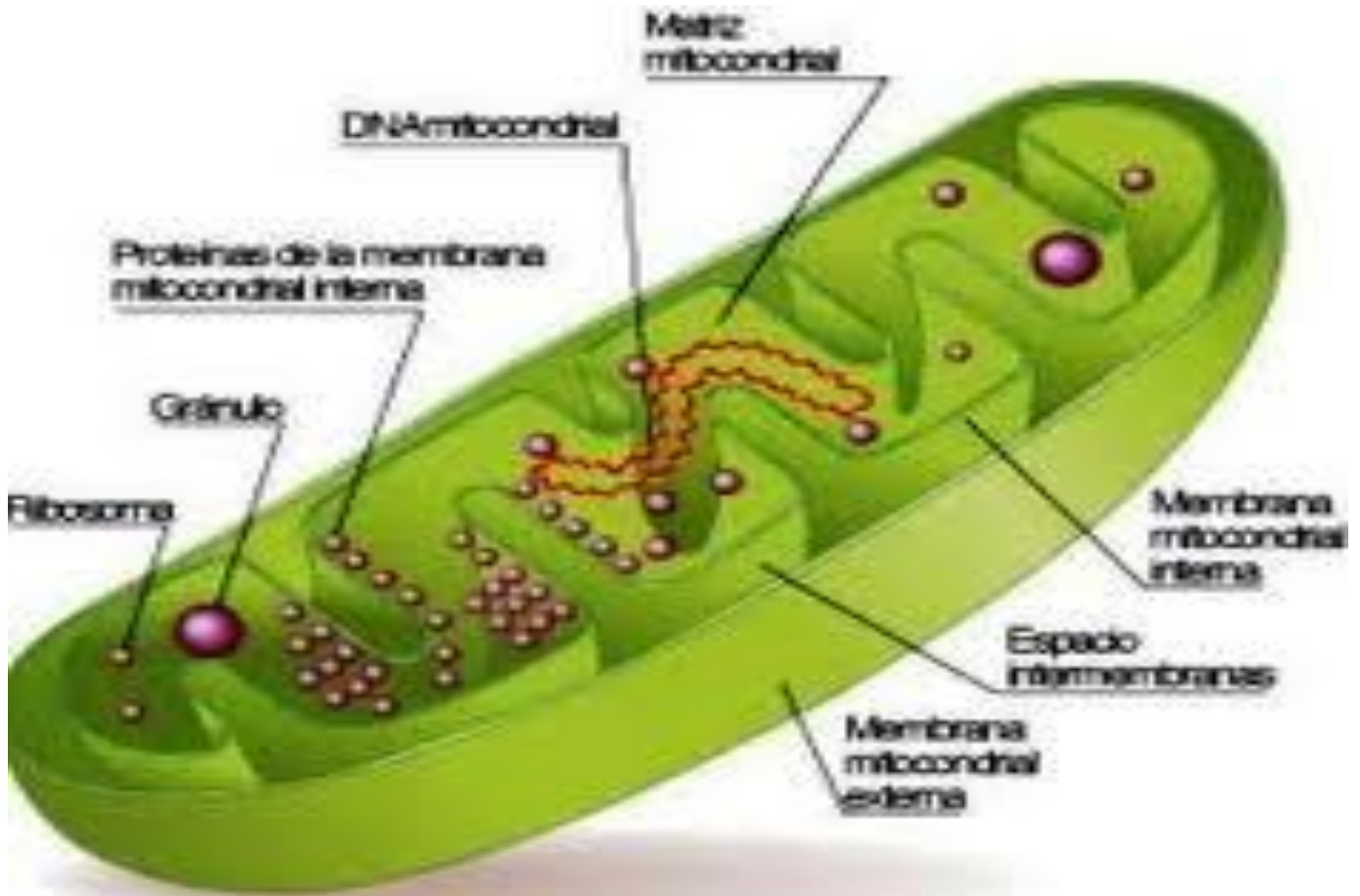
2. Mitochondria

3. Chloroplast

Extrachromosomal
genes

Nucleus



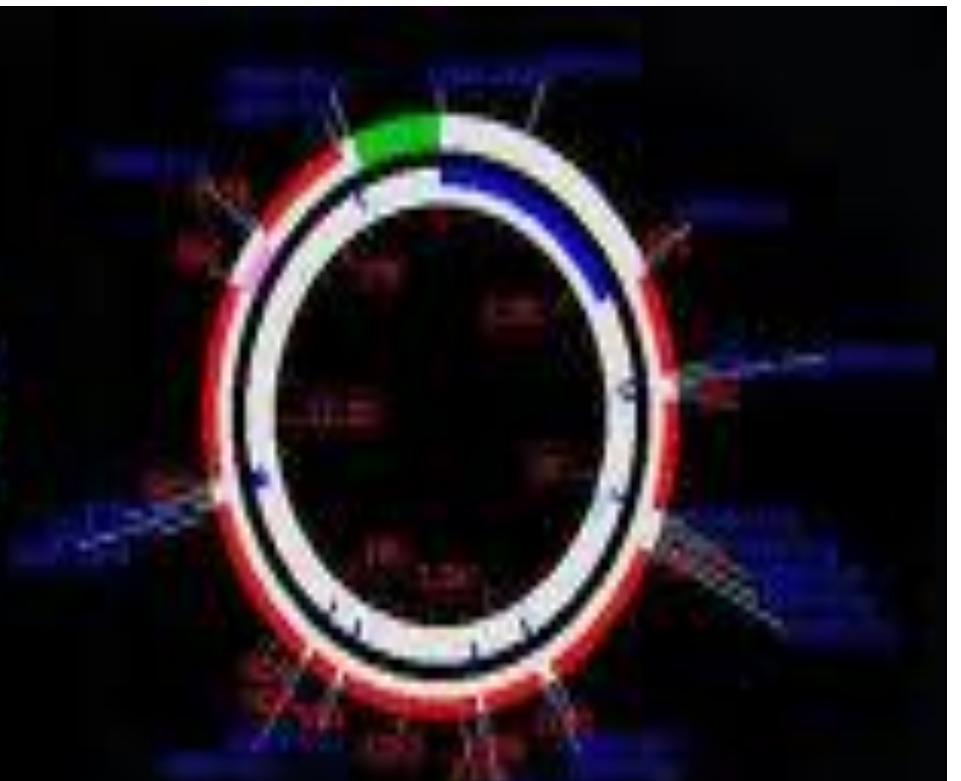




nucDNA genome

~3,000,000 Kbp

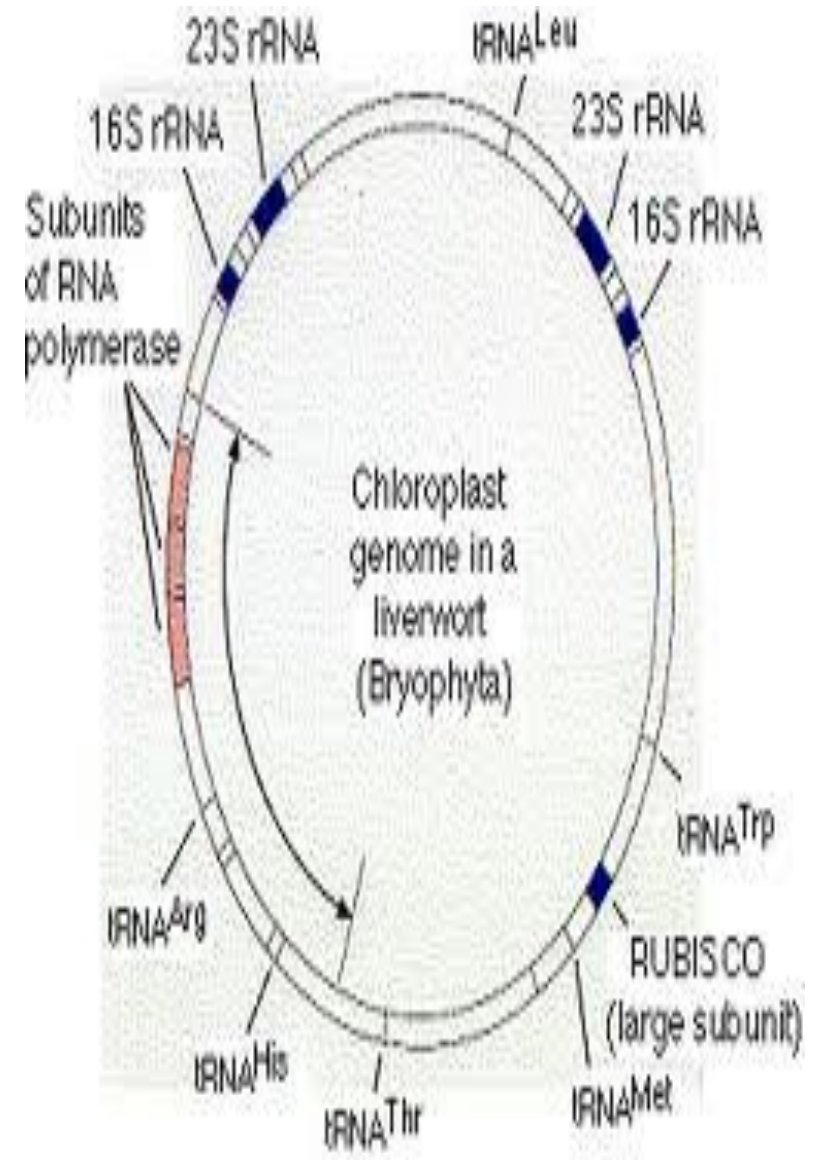
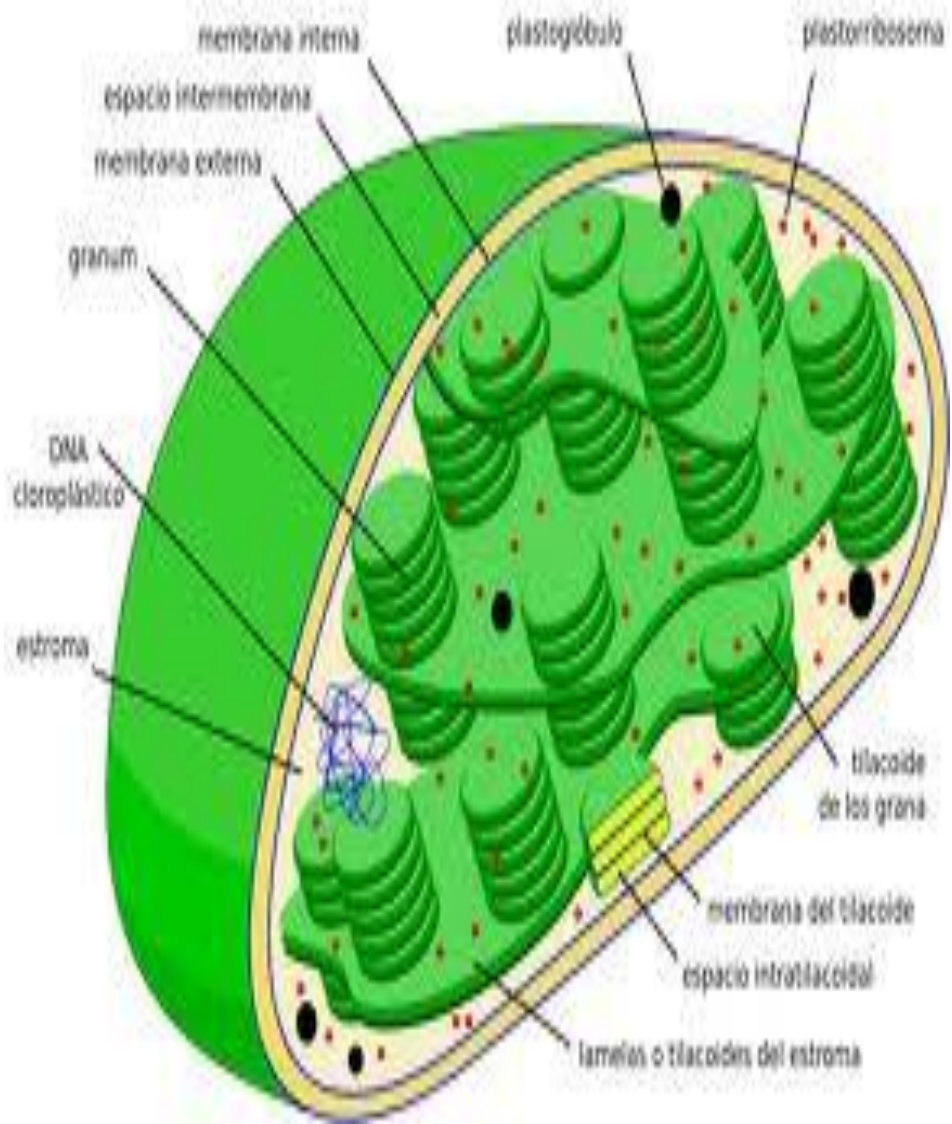
>50,000 genes



mtDNA genome

≈17 Kbp

38 genes



eukaryotic cells

1. Struktur yang lebih terorganisir
2. Ekspresi gen yang membutuhkan enzim dengan subunit yang lebih banyak
3. Faktor transkripsi & translasi yang lebih banyak
4. Mekanisme regulasi gen yang lebih canggih dibanding prokaryot

PREDIKSI...

**Genome eukaryot
seharusnya mengandung
lebih banyak gen dari
genome prokaryot...**

Jumlah gen 'nuclear genome'

- ❖ **Prokaryote :**

Contoh : E.coli mempunyai 2400 gen (2300 mengkode protein)

- ❖ **Eukaryote :**

Contoh : Saccharomyces cerevisiae mempunyai 6600 gen (5800 mengkode protein)

Ukuran 'nuclear genome'









➤ Prokaryot

E.Coli : 4639 kbp (1 gen tiap 1.93 kb)

➤ Eukaryot

S.cerevisiase : 12520 kbp (1 gen tiap 1.83 kb)

Manusia : 3000000 kb (1 gen tiap 37.5–46.2 kb DNA). Pada manusia terdapat sekitar 65000–80000 gen.

	Organism	Number of genes in the genome
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	517
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6,275
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	~ 20,000
	<i>Caenorhabditis elegans</i>	19,099
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,743
	<i>Drosophila melanogaster</i>	13,601
	<i>Neisseria meningitidis</i>	2,158
	<i>Homo sapiens</i>	~ 30,000

Species	Genome size (Mbp)	Number of introns per gene		Size of individual introns		Total intron size per kb cds		Sample size	
		All genes	Homologous genes	All genes	Homologous genes	All genes	Homologous genes	# genes	# introns
Human	3400	4.0	5.54	3413.4	1152.4	6824.6	5001.7	50	257
Mouse	3454	3.1	6.68	1321.4	666.1	3331.2	3260.3	32	159
Rat	2900	3.0	3.77	1091.7	566.8	3207.7	2998.8	31	115
Chicken	1200	3.2	3.69	706.3	329.1	1830.1	1920.6	23	79
Drosophila	180	2.5	2.44	563.9	445.3	662.1	779.2	36	73
C. elegans	100	4.2	4.26	466.6	280.7	1004.2	1033.4	50	213
Cress	100	4.8	4.10	239.7	156.9	835.7	733.9	39	143
Corn	5000	4.2	4.09	327.5	270.2	1153.7	872.4	11	35
S. pombe	14	2.2	2.39	92.7	104.0	285.0	256.5	23	54
Aspergillus	13	3.1	5.27	72.2	73.1	162.9	379.2	11	69
R (correlation)		0.22	0.45	0.50	0.57	0.60	0.60		

Kenapa ukuran genom beda??

1. Ukuran gen yang berbeda
2. Terdapat jumlah introns yang tidak sama
3. Terdapat daerah antar gen (*Intergenic region*)

Single copy DNA vs Repetitive DNA

1. Single copy DNA/unique – sequence DNA

- Terjadi pada kebanyakan gen
- Terdiri dari sekuen yang tidak terdapat di tempat lain

2. Repetitive DNA

- Sekuen DNA yang terdiri dari urutan basa yang berulang
- Dapat mengelompok atau tersebar di dalam genom
- Ada yang berulang 10–100 kali, ada yang sampai ribuan atau jutaan kali

Repetitive DNA

- ▶ **Moderately repetitive DNA** : sekuen berulang puluhan **sampai ratusan** kali dalam satu genom
- ▶ **Highly repetitive DNA** : sekuen berulang ratusan **sampai ribuan** kali dalam satu genom

Pengaturan Repetitive DNA

- ▶ **Dispersed repeated DNA**
/Interspersed repeated DNA :
distributed at irregular intervals
- ▶ **Tandemly repeated DNA :**
clustered together so that the
sequence repeats many times in a
row

Interspersed DNA Sequence

- ▶ **LINE (Long Interspersed Elements)** : sekuen dengan 1000–7000 bp
Contoh : LINE 1 (L1), sekitar 15% dari genome. LINE 1 dengan panjang maksimal adalah transposon yang dapat berpindah–pindah dalam genome
- ▶ **SINE (Short Interspersed Elements)** : sekuen dengan 100–400 bp
Contoh : Alu family pada primata. Berfungsi dalam titik pemotongan enzim restriksi Alu1

2. Packaging DNA into Chromosomes



Dnase protection experiment

Purified
chromatin



Endonuclease



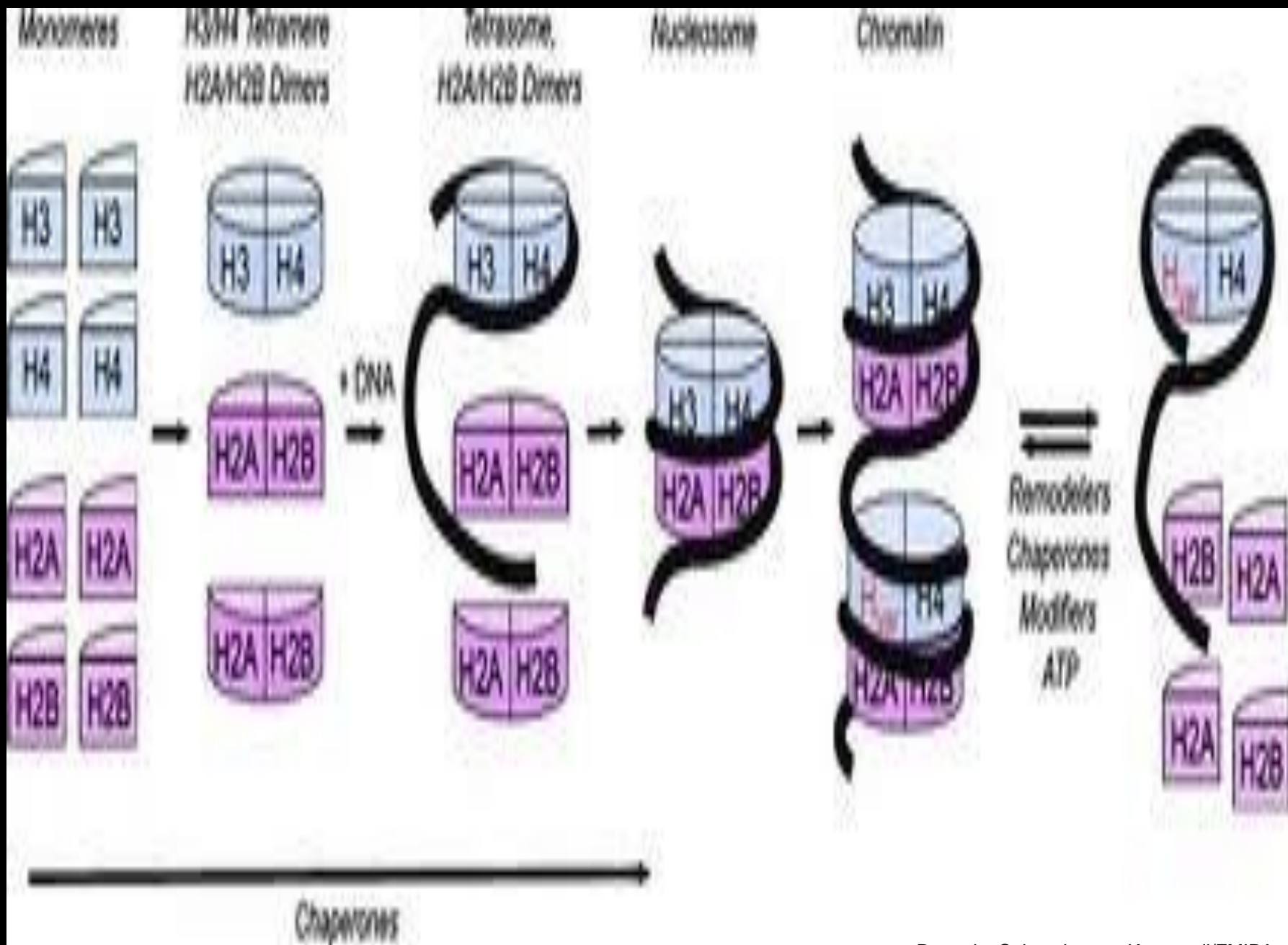
Multimer dengan ukuran sekitar 200 bp.
Bukan fragmen dengan ukuran yang
berbeda

Prove what ???

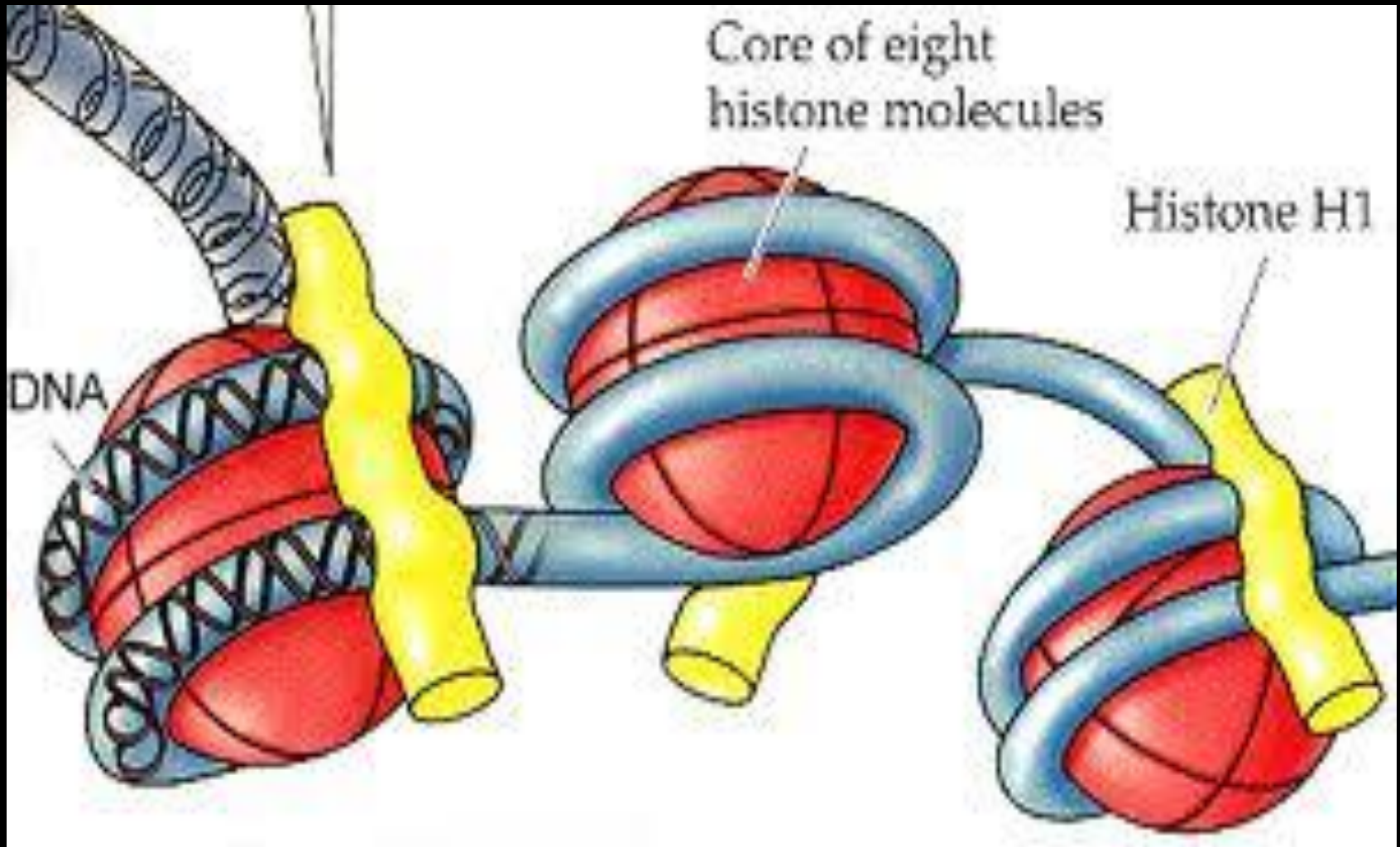
- ▶ Protein pada chromatin berkaitan dengan DNA dengan suatu pola tertentu
- ▶ Kompleks **protein melindungi** daerah molekul **DNA** dari endonuklease

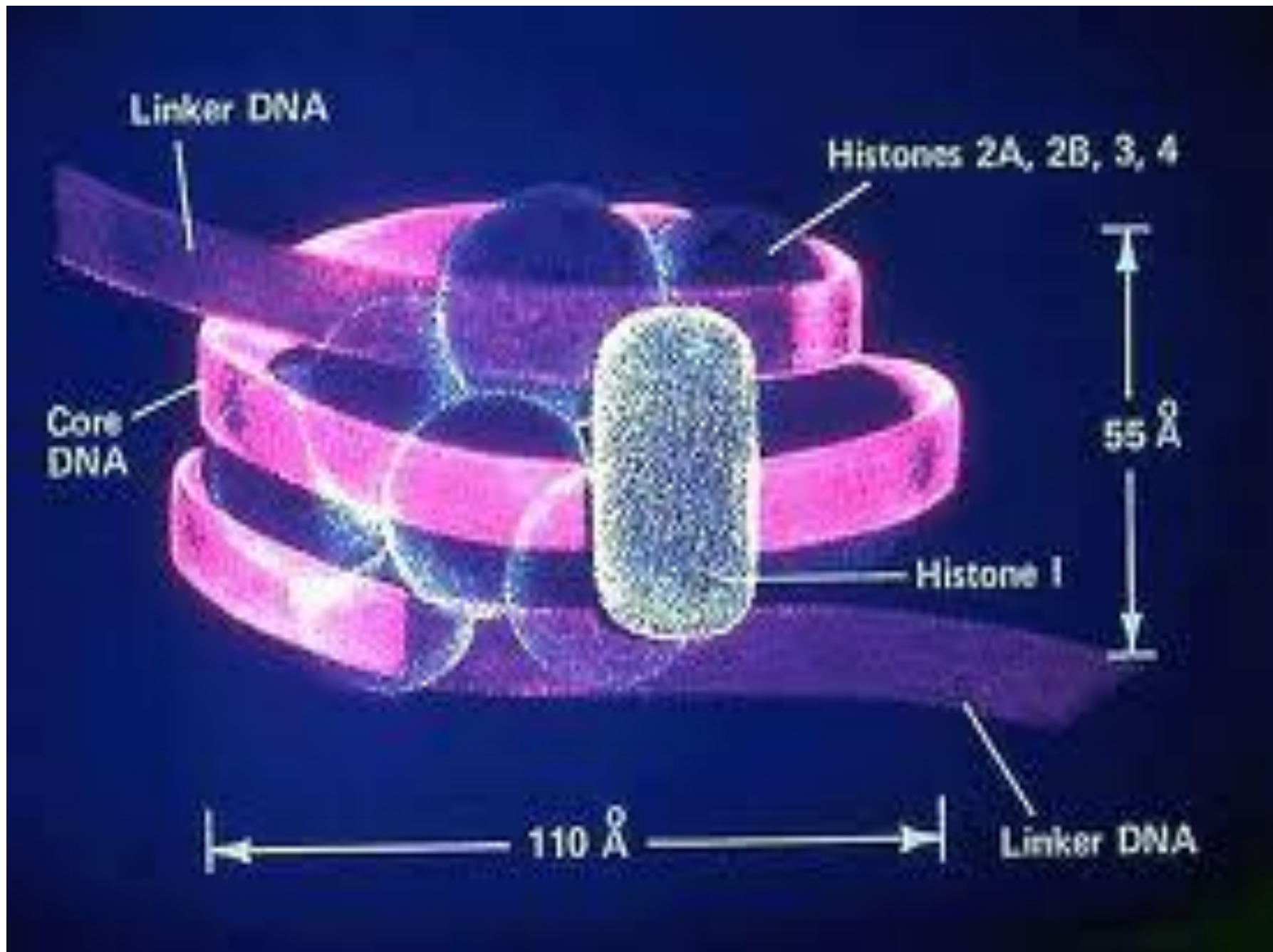
Struktur nucleosome

- ▶ Tahun 1974, menggunakan mikroskop elektron
- ▶ Terlihat struktur seperti kalung manik-manik
- ▶ Bulatan-bulatan adalah nucleosome yang terdiri dari protein histone (H2A, H2B, H3, H4)
- ▶ Molekul DNA melilit protein 2 putaran (sekitar 146 bp)
- ▶ Histone H1 menempel pada bagian luar nucleosome

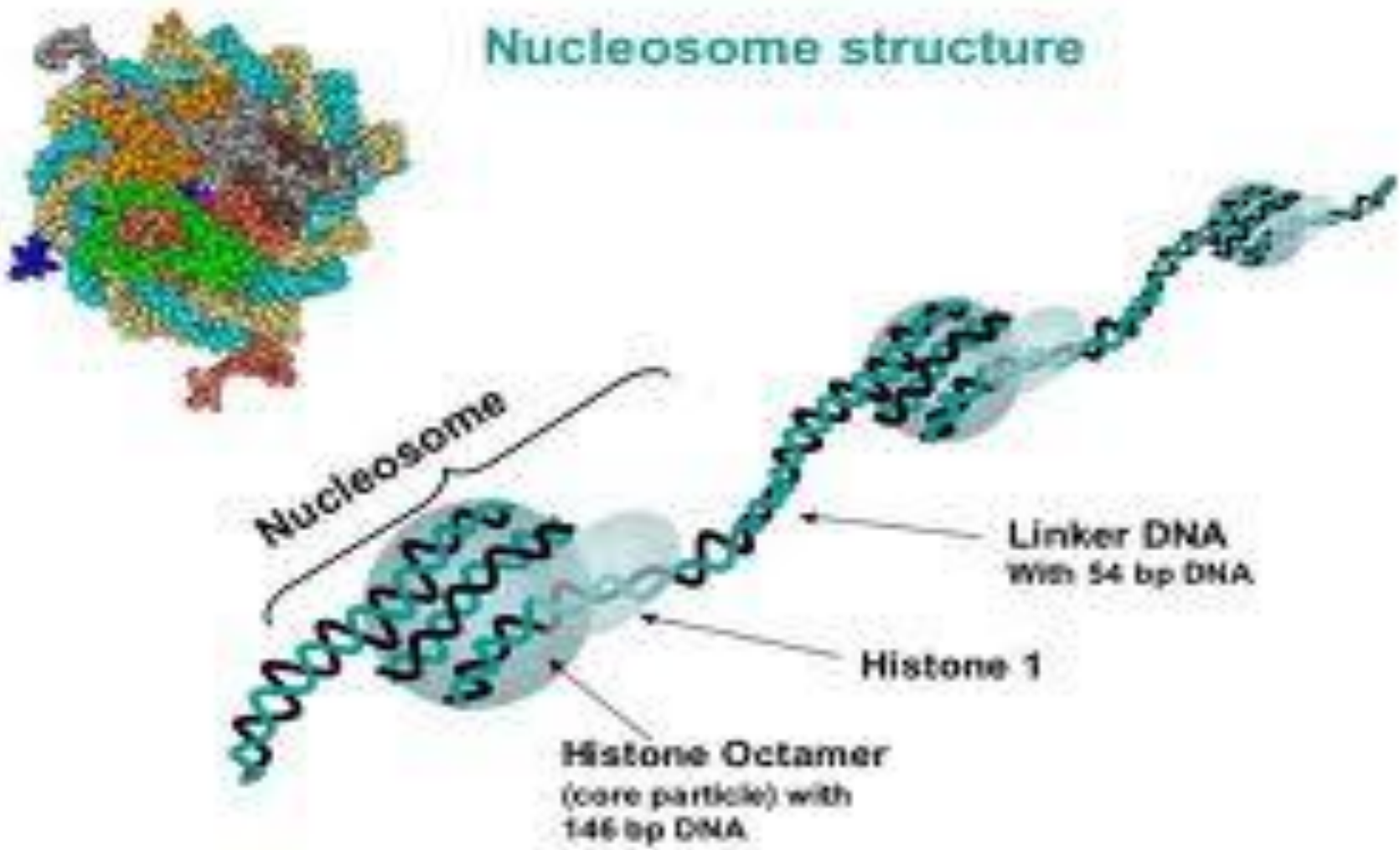


Struktur nukleosome



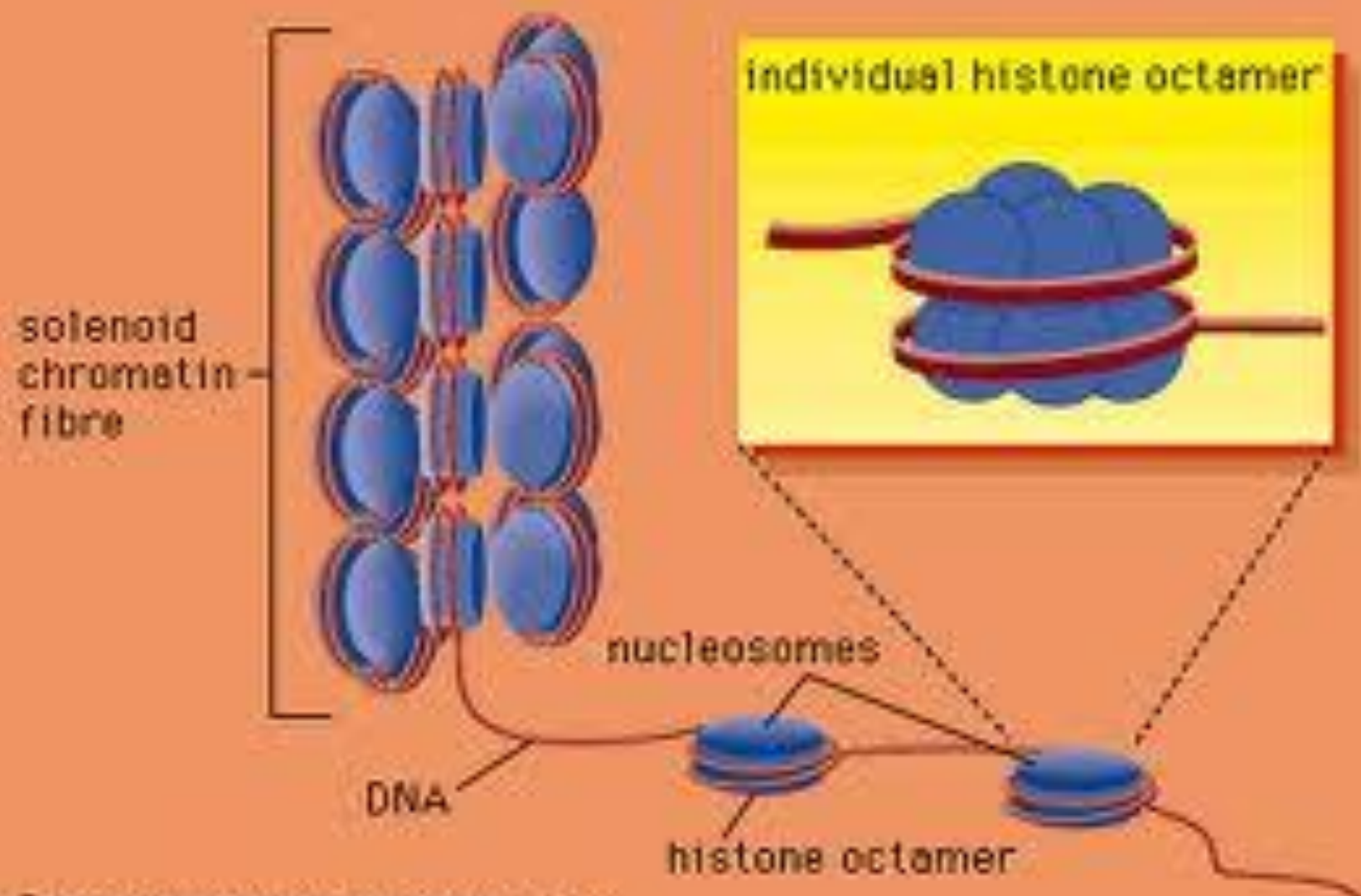


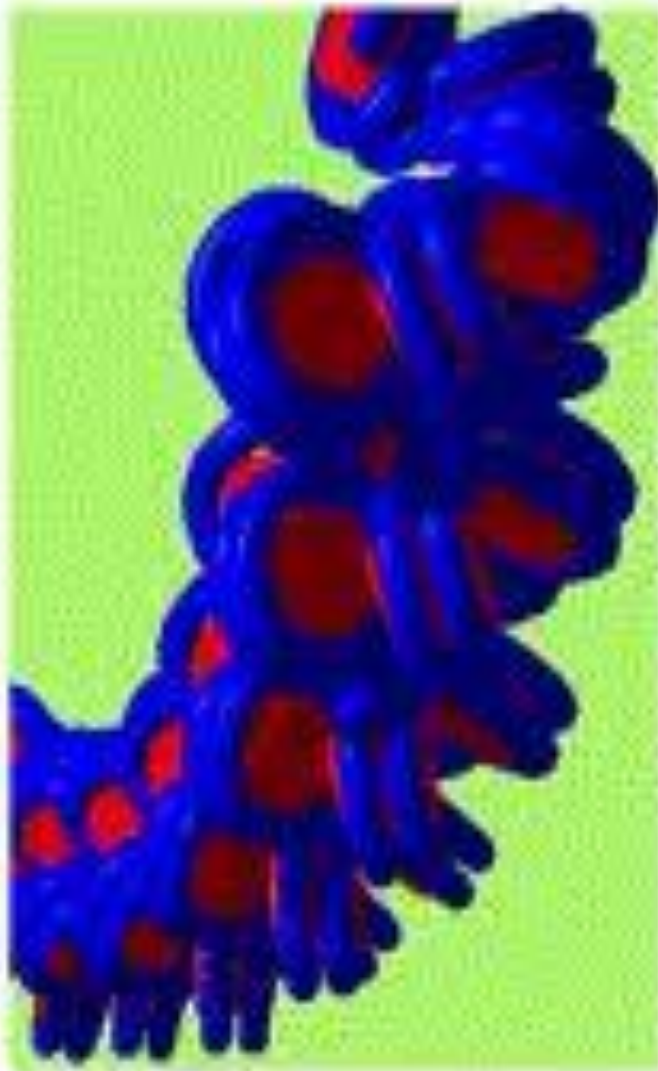
Nucleosome structure



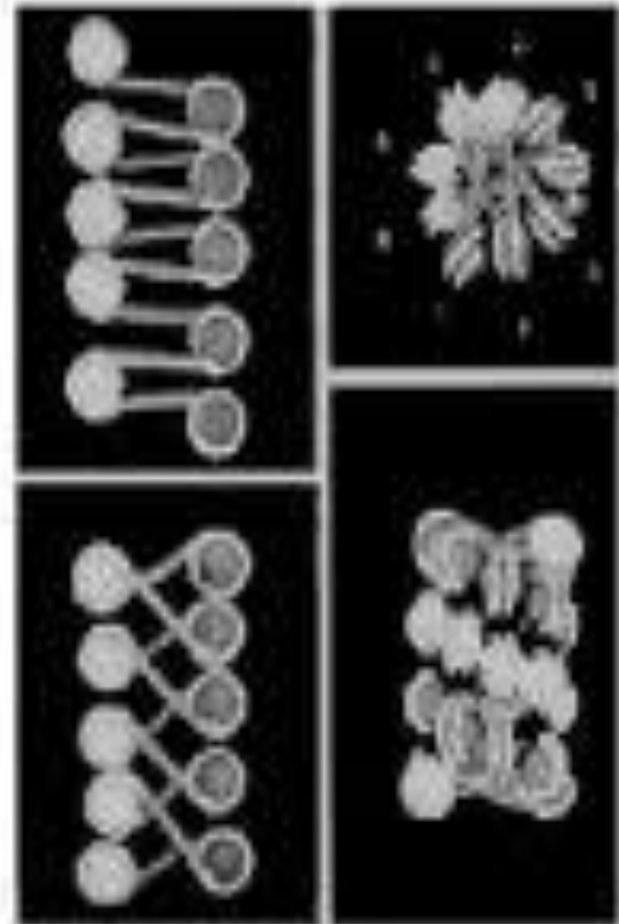
Model solenoid chromatin

- ▶ Struktur chromatin (kromatin) tingkat 2 ditemukan setelah Aaron Klug melakukan observasi dengan mikroskop elektron tahun 1977–1980
- ▶ Individu nucleosome dikemas lagi menjadi suatu bentuk ‘solenoid’ dengan lebar/tebal 30 nm
- ▶ Sehingga rantai DNA dengan 6cm bisa menjadi 1.4mm
- ▶ Saat sel tidak membelah, kromosom berada pada bentuk ini (tidak tampak)





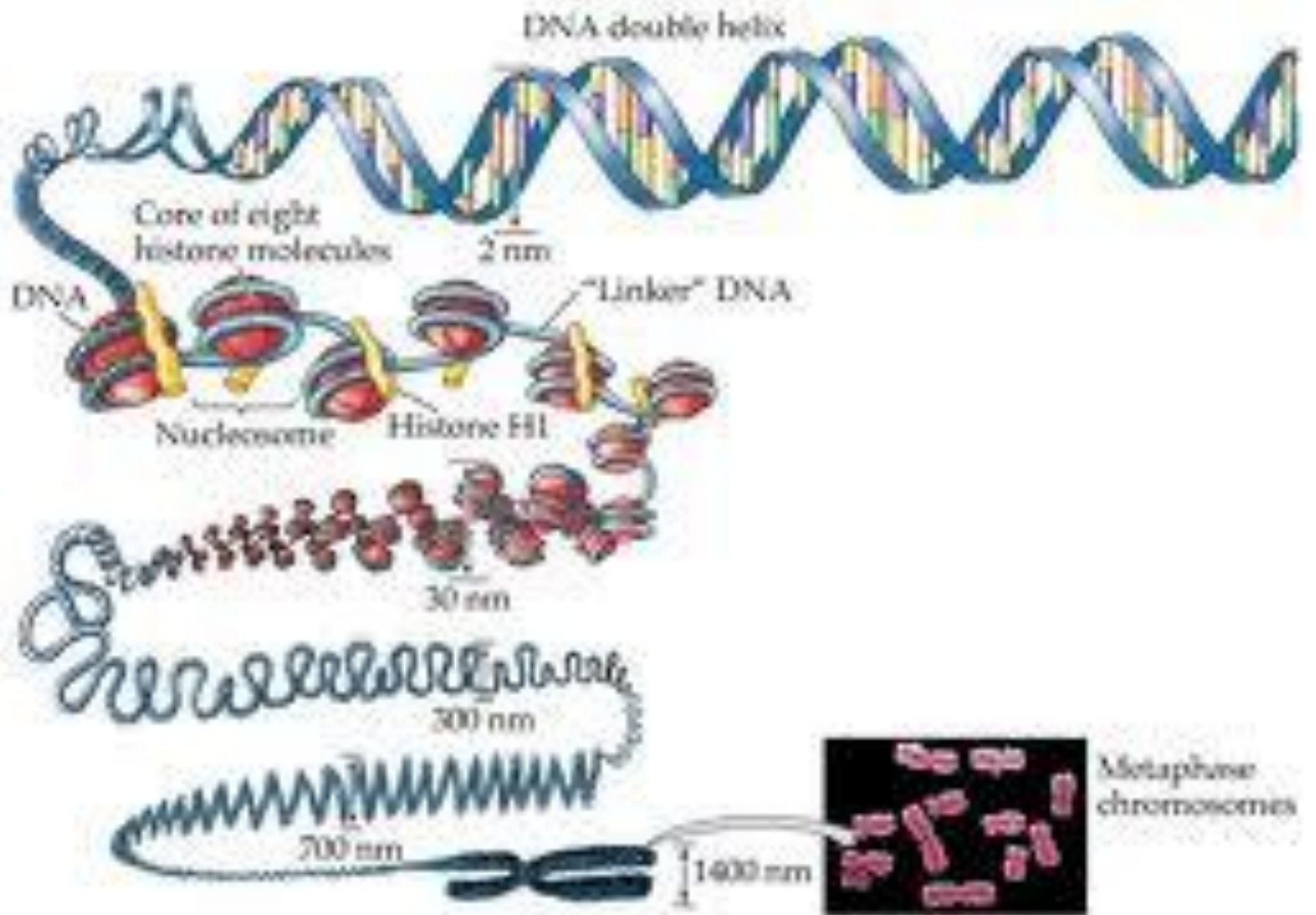
Solenoid of nucleosomes



Path of DNA between nucleosomes is unknown

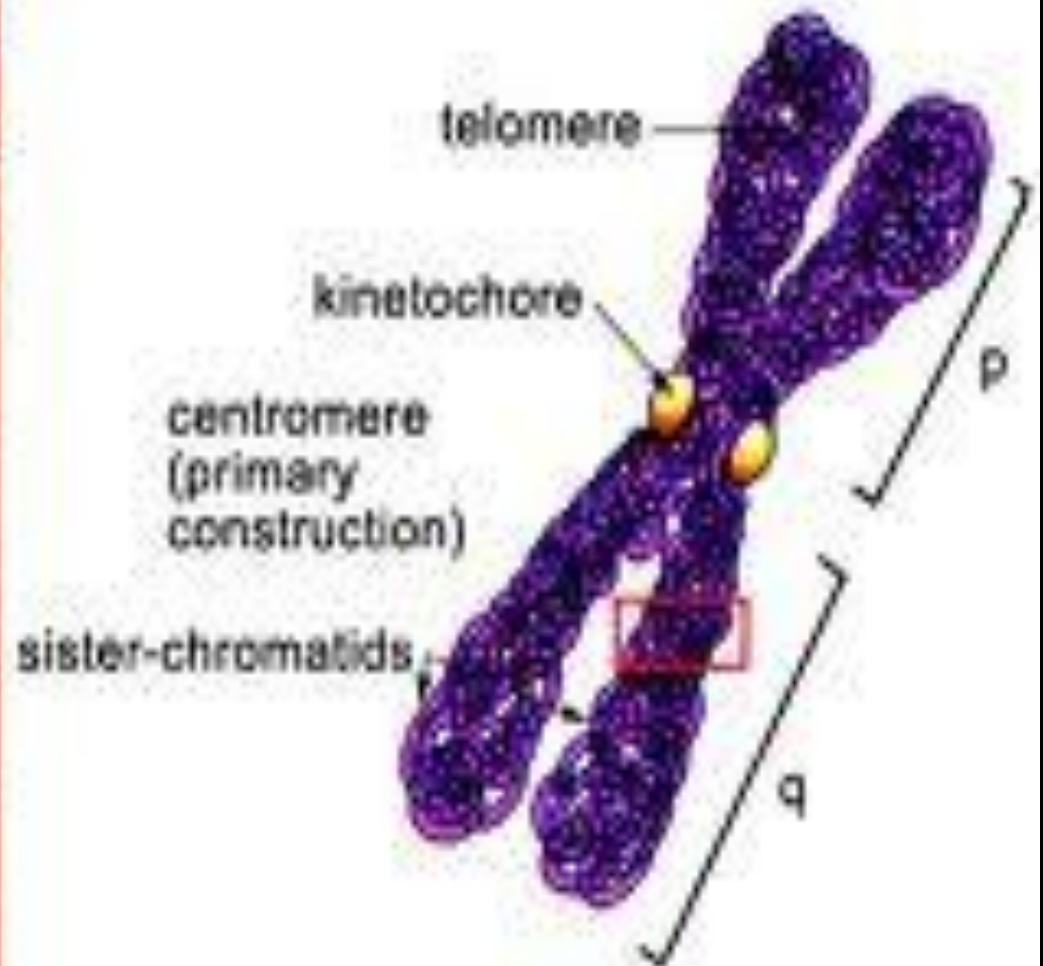
Pembentukan kromosom metafase

1. Benang kromatin (dengan lebar 30 nm) membentuk struktur yang lebih kecil, dengan supercoiled loops
2. Terdapat scaffold ditengah sebagai penyangga
3. Sekitar 15 DNA loop tiap putaran
4. Membentuk struktur dengan lebar $0.75\mu\text{m}$ sesuai dengan lebar kromosom saat metafase



Chromosome morphology

- ▶ Saat kromosom pada metafase, sebenarnya merupakan 2 kromosom yang masih menjadi 1
- ▶ Dihasilkan saat pembelahan sel dan sebelum sel memisah membawa informasi genetik yang sudah digandakan
- ▶ Kromosom metafase adalah 2 molekul DNA yang terhubung oleh sentromer
- ▶ Posisi sentromer adalah ciri khas pada kromosom
- ▶ Digunakan untuk menyusun karyotipe (susunan semua kromosom di dalam nukleus suatu organisme)



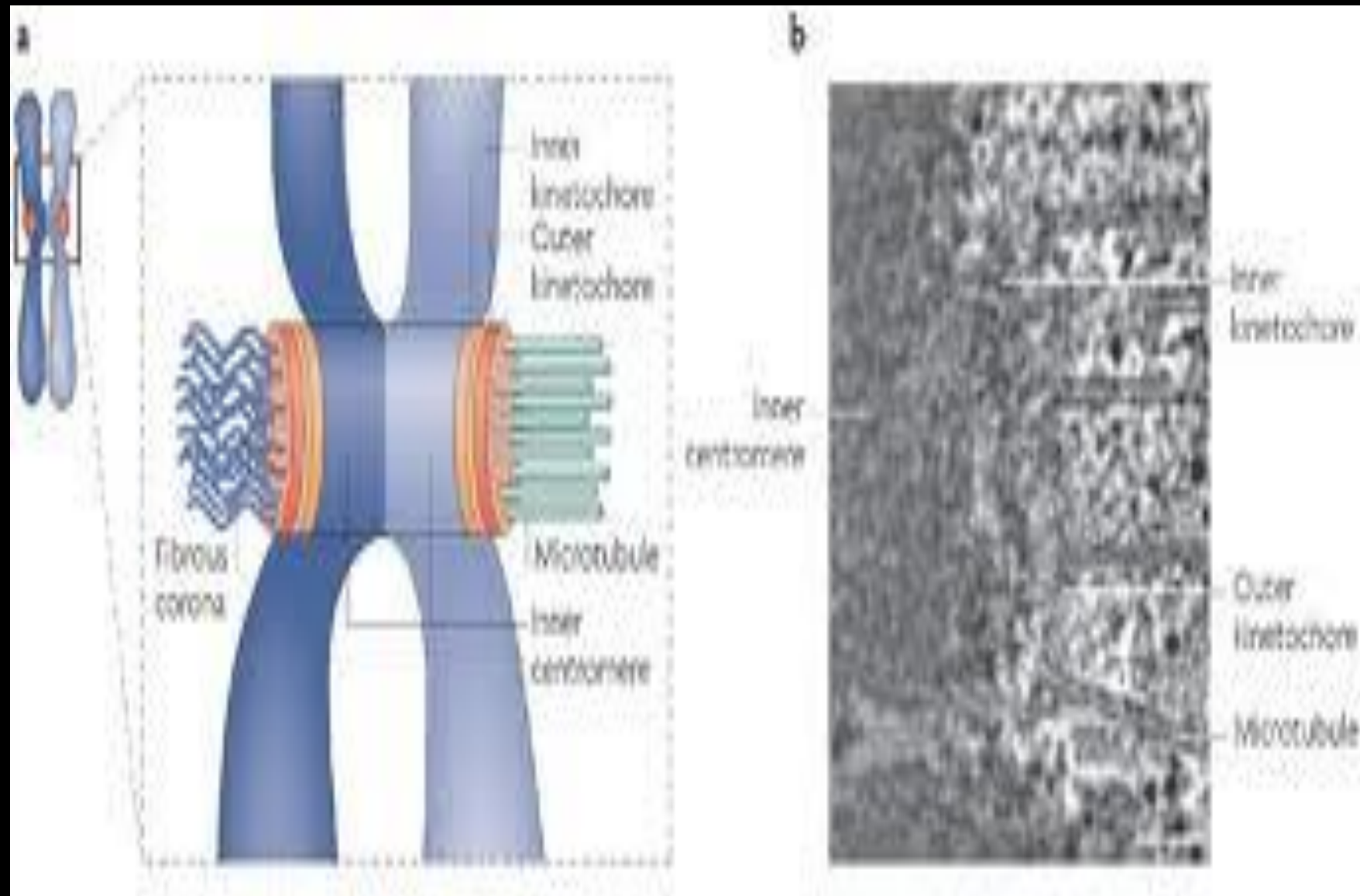
Sentromer (centromere)

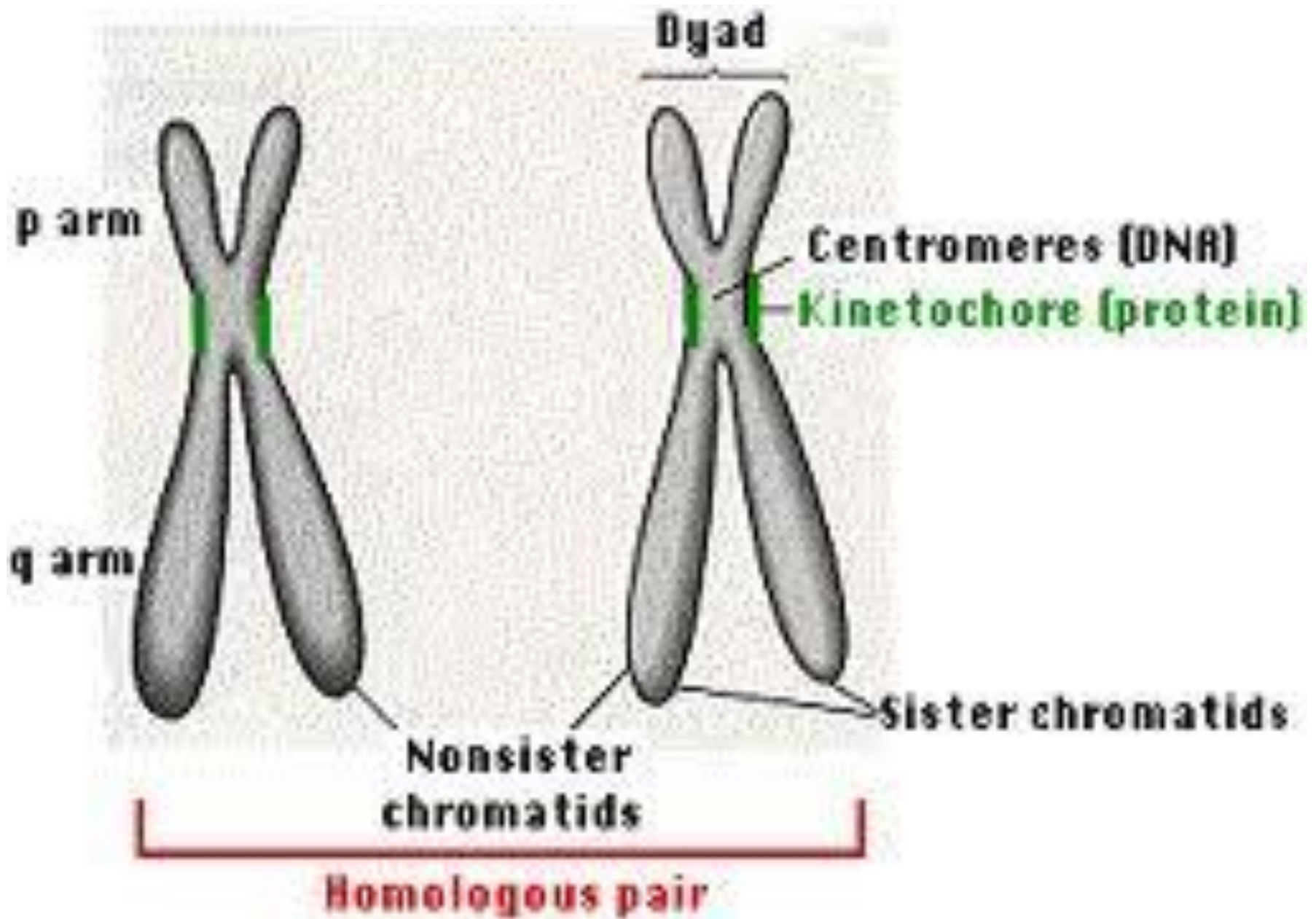
2 fungsi sentromer :

1. Titik dimana kedua kromatid berikatan
2. Posisi dimana kromosom berkaitan dengan mikrotubule yang akan menarik kromatid saat sel membelah

Pada daerah sentromer terdapat protein spesifik.

Contoh : pada *S.cerevisiae* terdapat 125 bp DNA pada sentromernya. Sekuen ini adalah titik dimana protein-protein dapat membentuk kinetochore, tempat mikrotubule dapat menempel







The mystery of centromere–kinetochore association....

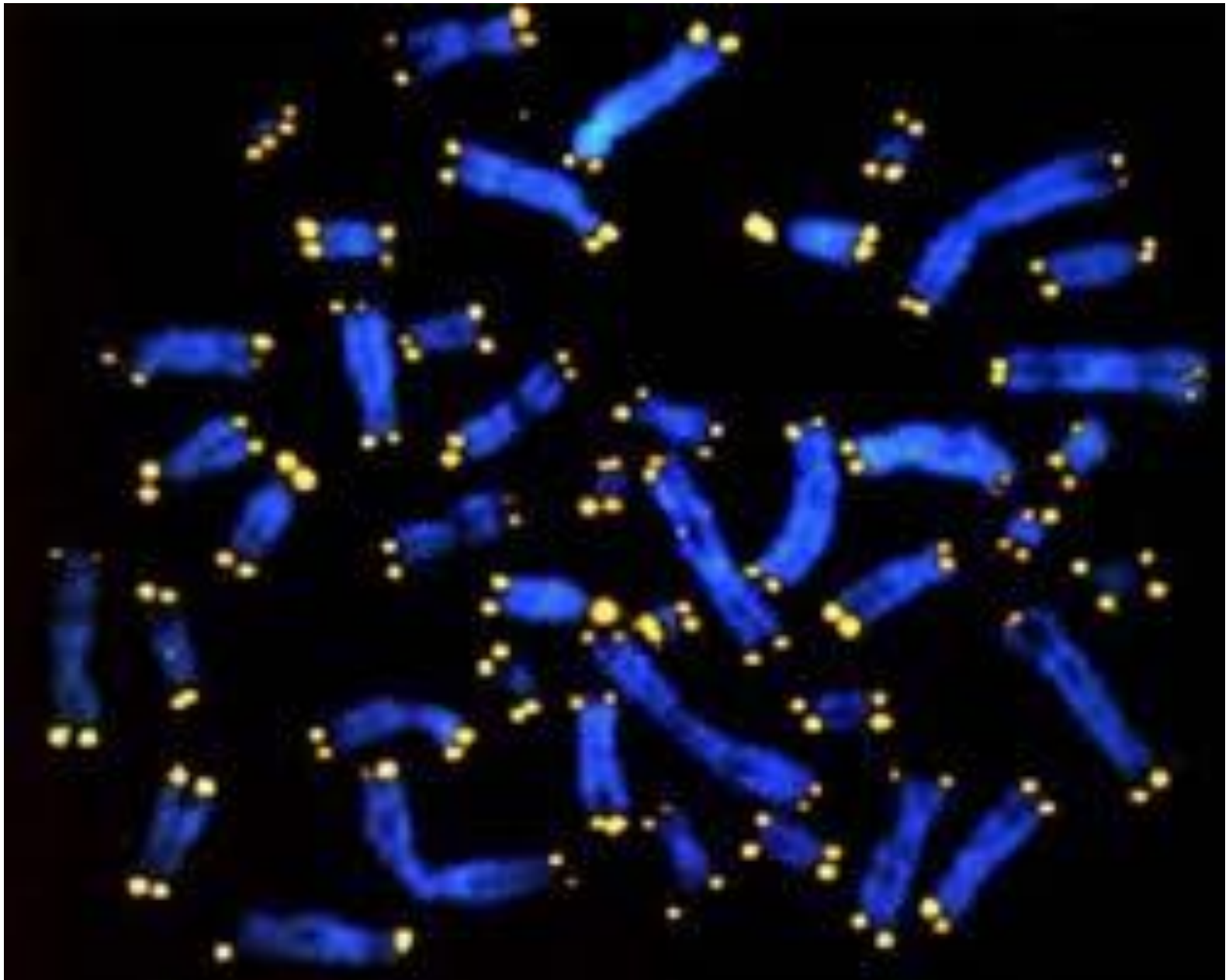
- ▶ Pada manusia :

DNA sentromer terdiri dari beberapa kopi sekuen 171 bp yang disebut **alpha DNA**. Tiap kopi merupakan tempat menempel protein yang centromere–specific CENP–B. Lima protein lain juga ada pada struktur centromere – kinetochore. Tetapi **bagaimana interaksinya dengan DNA, nukleosom atau satu dengan yang lain** masih belum diketahui....

Telomere

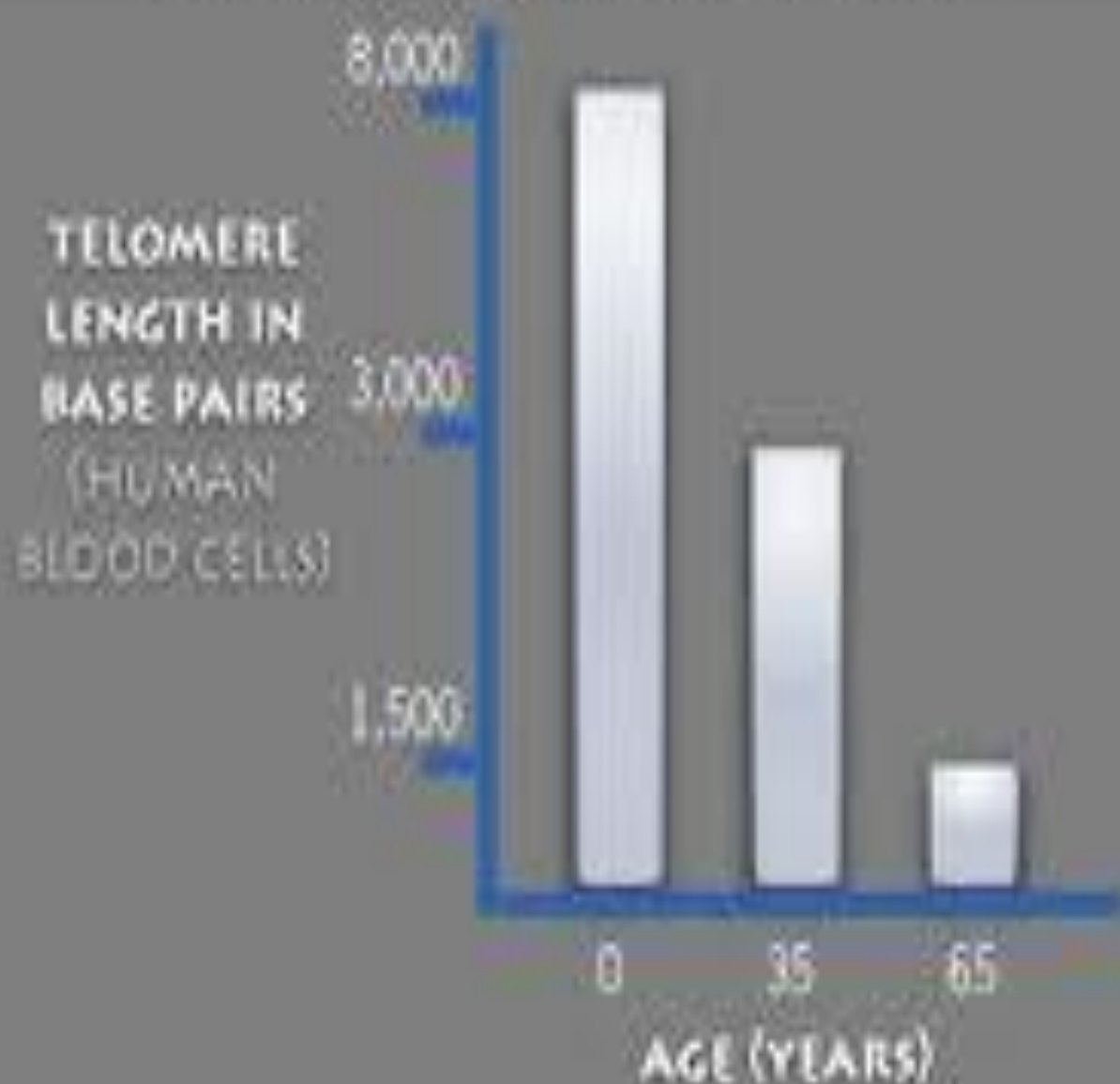
- ▶ Telomere : ujung kromosom

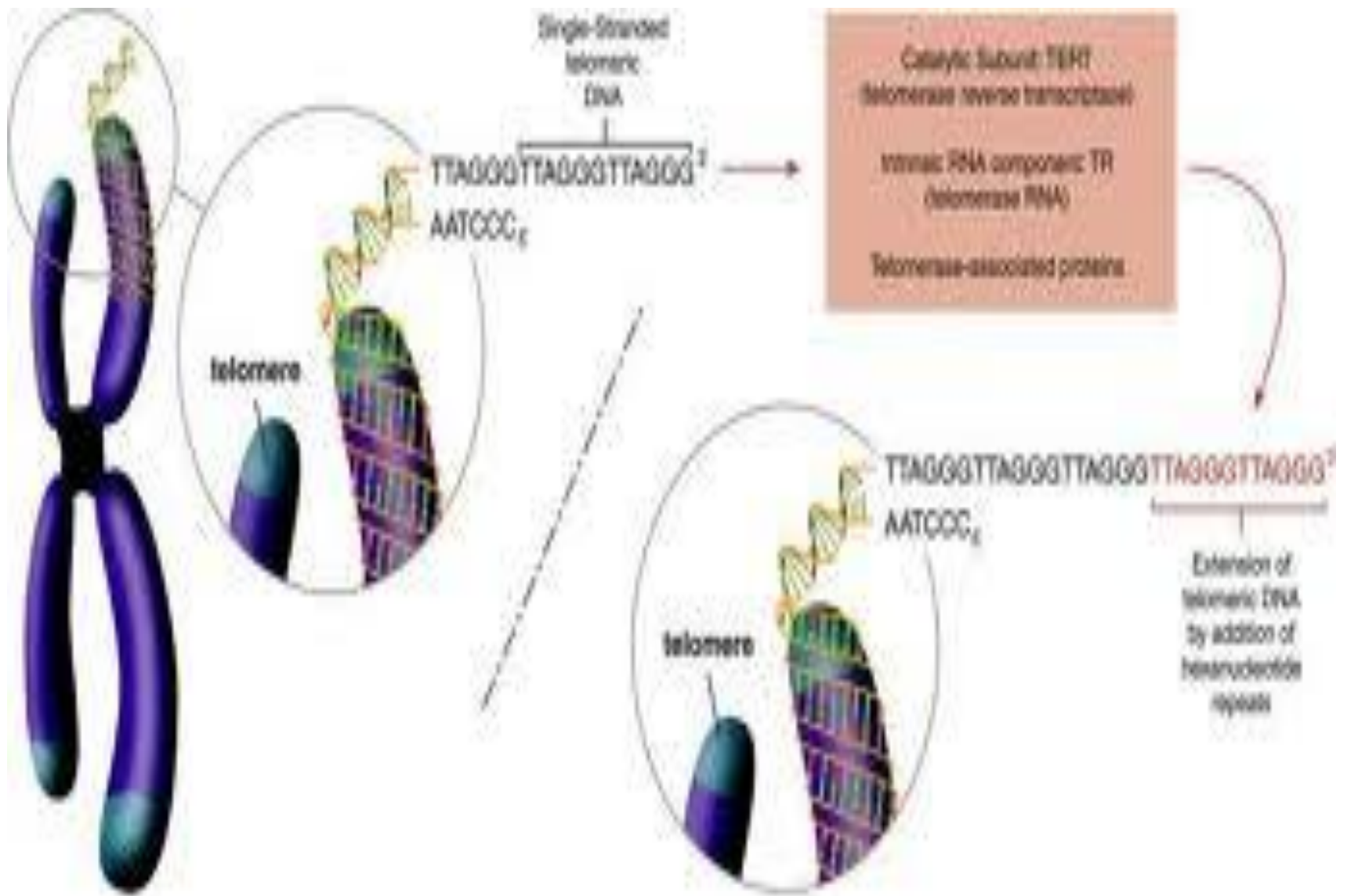
- ▶ Fungsi Telomere :
 1. Melindungi ujung kromosom dari enzim nuklease
 2. Mencegah kromosom saling menempel pada ujungnya
 3. Mencegah kromosom memendek saat replikasi



- ▶ Seperti sentromer, telomer terdiri dari sekuen berulang
- ▶ Pada manusia biasanya terdiri dari sekuen 5'–AGGGTT–3'
- ▶ Sekuen tsbt diulang ribuan kali atau lebih pada ujung kromosom
- ▶ Contoh :
5' AGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTT–3'
3' TCCCAATCCCAATCCCAATCCC 5'
- ▶ Strand atas : banyak G, lebih banyak daripada strand bawah
- ▶ Strand bawah : banyak C
- ▶ Pada telomere tidak terdapat nukleosome tapi trdpt protein lain seperti TRF1 pada manusia

TELOMERE LENGTH DECLINES IN DIVIDING CELLS AS WE AGE





Next Week..

The Human Genome

