

Cromozomii politeni

Cromozomii politeni

- **Cromozomii politeni** sunt cromozomi “uriași” care se găsesc în mod obișnuit în glandele salivare ale dipterelor (ex. *Drosophila melanogaster*, muscuțița de oțet, - au fost observați prima dată de către E.G. Balbiani (1881) în celulele glandelor salivare la larvele de *Chironomus* sp. (Diptera)

- Denumirea actuală de cromozomi politeni a fost sugerată de Kollar în 1935.



Drosophila melanogaster

Cromozomii politeni au fost observați și la:

- Plante *Phaseolus (P.) coccineus*, *P. vulgaris* și *Vigna unguiculata*.

- Protozoare *Ciliophora* sp.

- Mamifere la nivelul trofoblastelor, au fost observați în celulele musculare la persoanele cu distrofie musculară și în celulele tumorale.



Phaseolus coccineus



Chironomus sp.



Ciliophora sp.

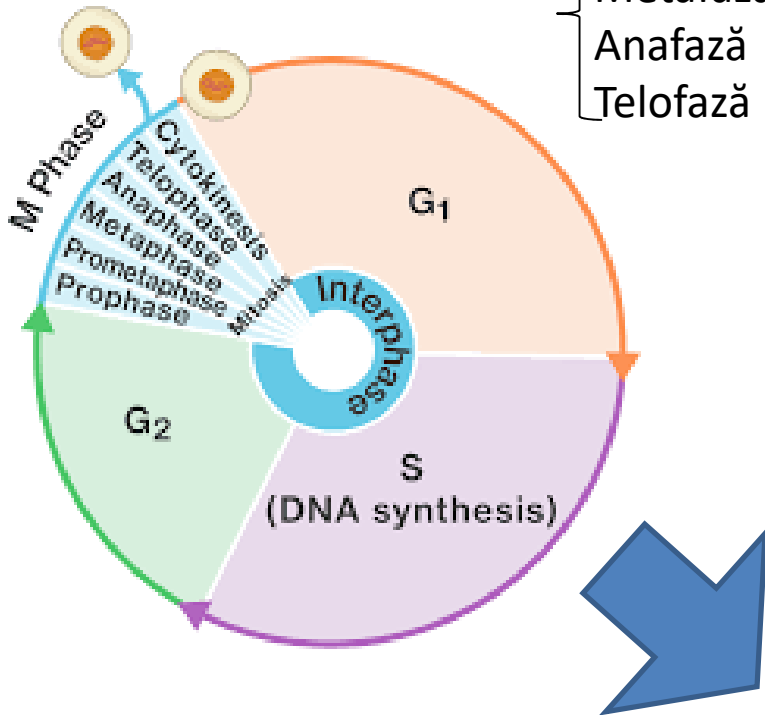
Procesul de politenizare

- Reprezintă un proces de ampificare genetică naturală
- Se întâlnește în celule care au nevoie de o rată metabolică extrem de ridicată
- Dacă ciclul celular al unor celule somatice obișnuite cuprinde:

Interfază – cu fazele G1, S și G2

Mitoză – cu fazele

- Profază
- Metafază
- Anafază
- Telofază



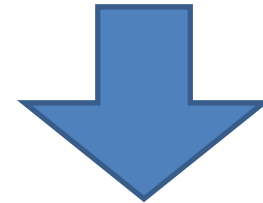
2 celule

- Ciclul celular al unor celule în proces de politenizare cuprinde:

Interfază – doar cu fază G1

Faza de **politenizare**

Fază **G2 modificată**



celula nu se mai divide,
ci moare

Procesul de politenizare este format din 3 sub-procese

1. endoreduplicarea
2. condensarea incompletă a materialului genetic
3. unirea centromerilor

1. Endoreduplicarea

- Constă în runde succesive de replicare, fără însă să fie urmate de separarea cromatidelor surori

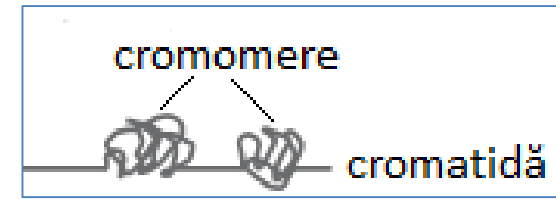
- ca urmare, rezultă cromozomi formați nu din câte 2 cromatide, ci din sute de cromatide

- La *Drosophila melanogaster*, în urma endoreduplicării rezultă 512 de cromatide per cromozom



2. Condensarea incompletă a materialului genetic

- Dacă într-un ciclu celular obișnuit al unei celule somatice, în profază începe procesul de condensare a materialului genetic până la gradul maxim de condensare care se atinge în metafază,



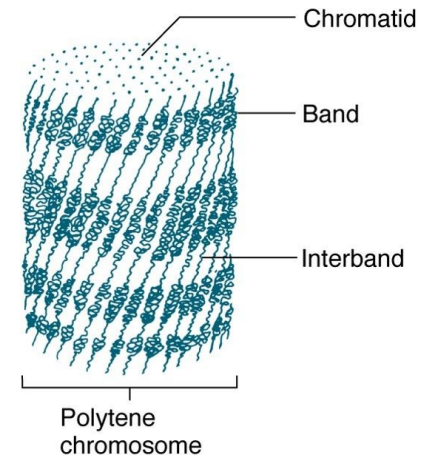
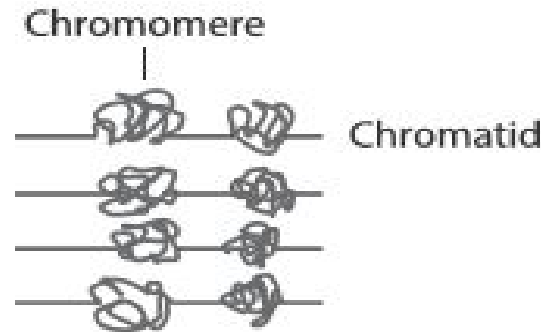
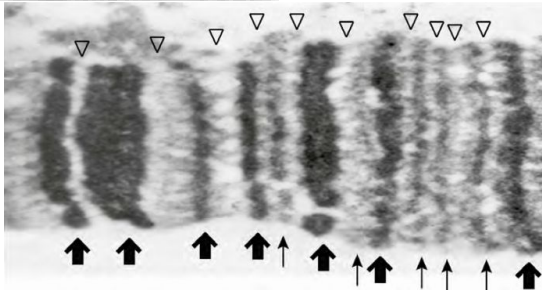
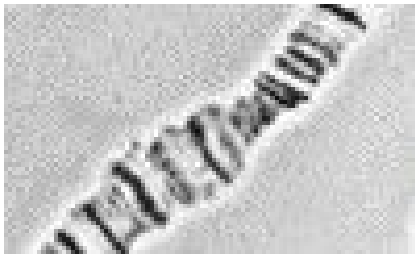
în politenizare condensarea materialului genetic este incompletă, oprindu-se la stadiul de **fibră de 30 nm (grosime)**

- ca urmare, lungimea cromozomilor politeni este de aprox. 100 de ori mai mare decât lungimea unui cromozom metafazic

- datorită nr. mare de cromatide, precum și nivelului de condensare, brațele cromozomilor politeni apar ca fiind bandate, chiar cu o colorație simplă cu carmin acetic, adică fără aplicarea unor tehnici de bandare cromozomală

- Modelul de bandare include **benzi** (de culoare închisă) și **interbenzi** (de culoare deschisă)

Și este specific fiecărui cromozom și respectiv braț cromozomal → pe baza acestui model pot fi identificați cromozomii și, respectiv, brațele cromozomale



3. Unirea centromerilor

- toți cei 8 centromeri (*D.melanogaster* are 8 cromozomi) se unesc, cu formarea unui corp unic = **cromocentru**

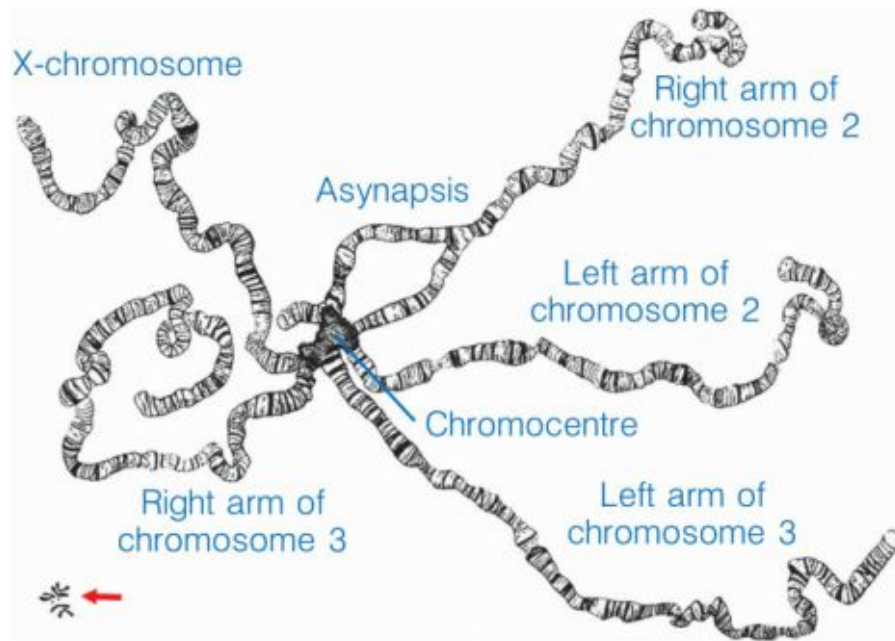
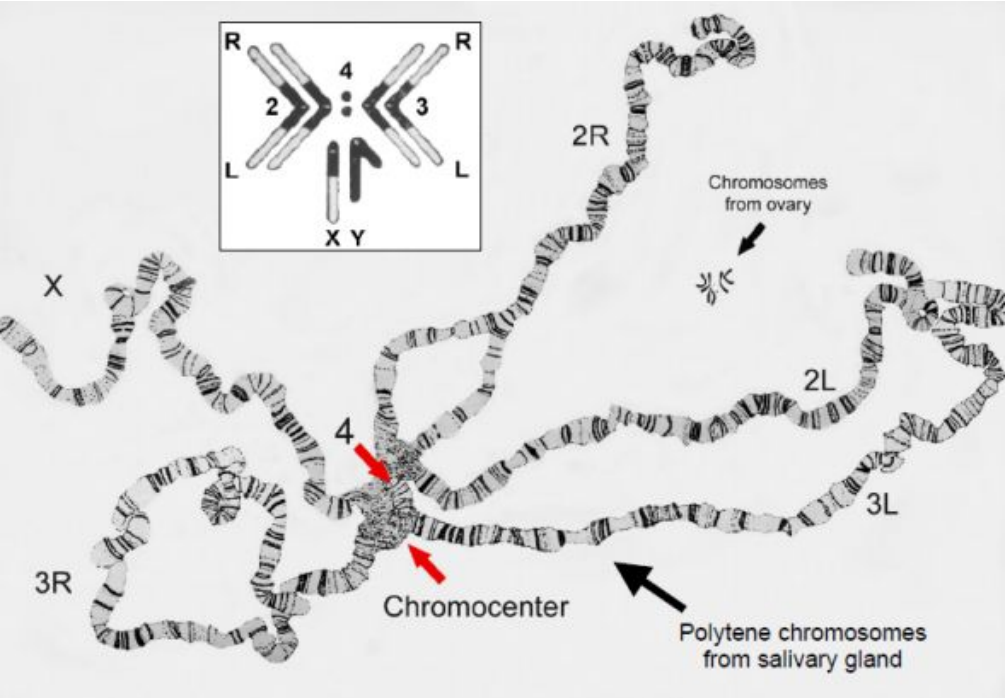
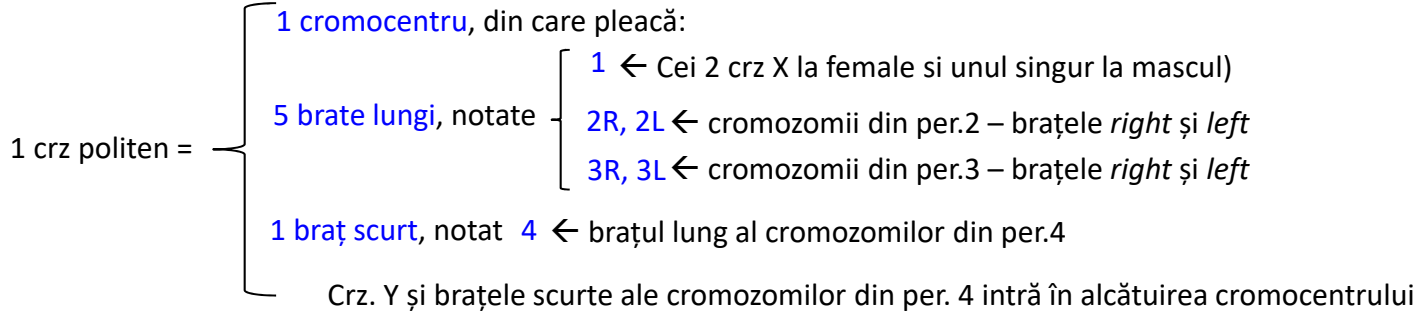
În final, din cei 8 cromozomi de la *D.melanogaster*, prin politenizare rezultă 1 singur cromozom

Cromozomii la *D.melanogaster*

Celule somatice **8 crz** (4 perechi de crz. omologi)

- de la per.1 la per.4, în ordine descrescătoare a lungimii
 - per. 1 = cromozomi de sex (XX sau XY) - la *Drosophila*
 - per. 4 = cei mai mici
- } crz. X = cel mai mare, este acrocentric
} crz. Y = mic, de dimensiunea per. 4

Celule cu cromozomi politeni **1 crz**



Rolul biologic al procesului de politenizare

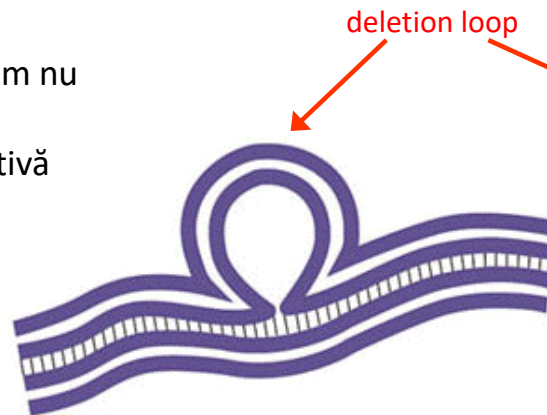
- Prin procesul de endoreduplicare, politenizarea reprezintă un fenomen de amplificare genetică naturală, ce oferă celulei un număr foarte mare de copii genice necesare intenselor procese de transcriere genetică și de sinteză proteică din celule ce au o rată metabolică extrem de înaltă
- Procesul de politenizare este considerat un tip de diferențiere celulară
- Celulele la care materialul genetic este politenizat reprezintă un cap "terminus": nu se mai divid
(la *D.melanogaster* celulele glandelor salivare ale larvelor de stadiul III mor, iar glandele salivare ale adultului se formează ulterior, în timpul împupării, din alte teritorii celulare)

Utilitatea studiului cromozomilor politeni

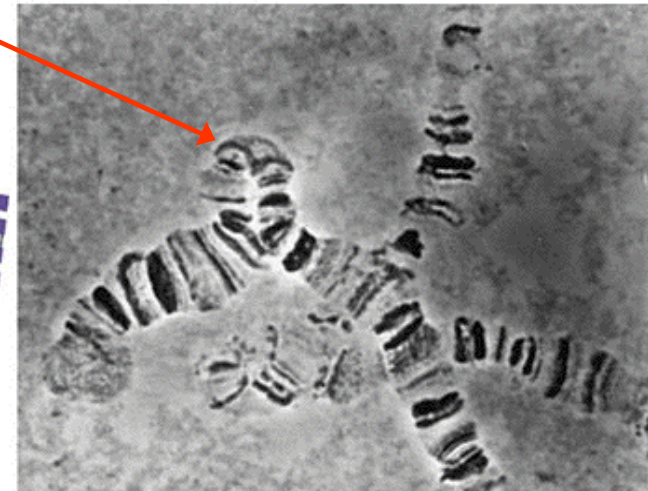
- identificarea taxonomică a unor specii – modelul de bandare este specie-specific
- elaborarea de hărți "citologice" – datorită endoreduplicării, precum și a sinapsei somatice dintre multitudinea de cromatide surori, este mai facilă identificarea locației genelor cu ajutorul crz. politeni
- identificarea unor mutații cromozomiale, de ex. deleții, duplicații, inversii etc

- în cazul unei asemenea anomalii cromozomiale, cromatidele unui cromozom nu se mai pot împerechea cu cromatidele cromozomului omolog, iar în zona respectivă apare o buclă

(a) Meiotic chromosome



(b) Polytene chromosome

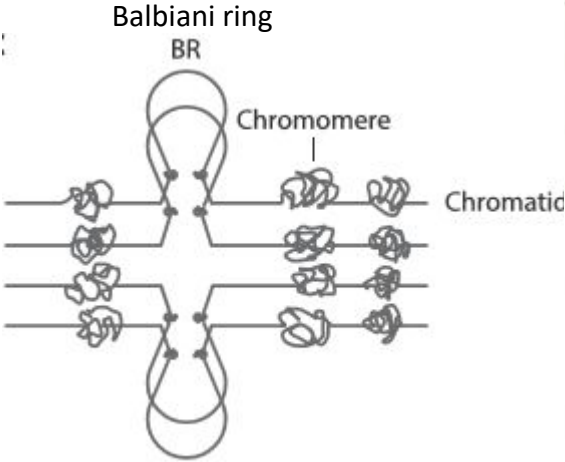
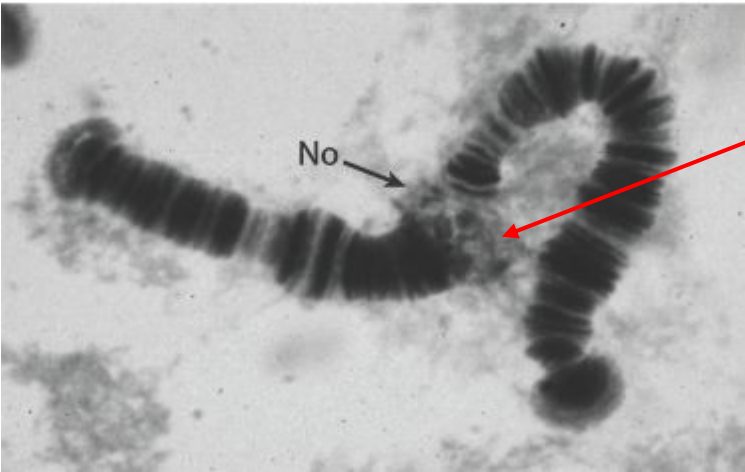


Utilitatea studiului cromozomilor politeni (cont.)

- Studiul proceselor de transcriere genetică

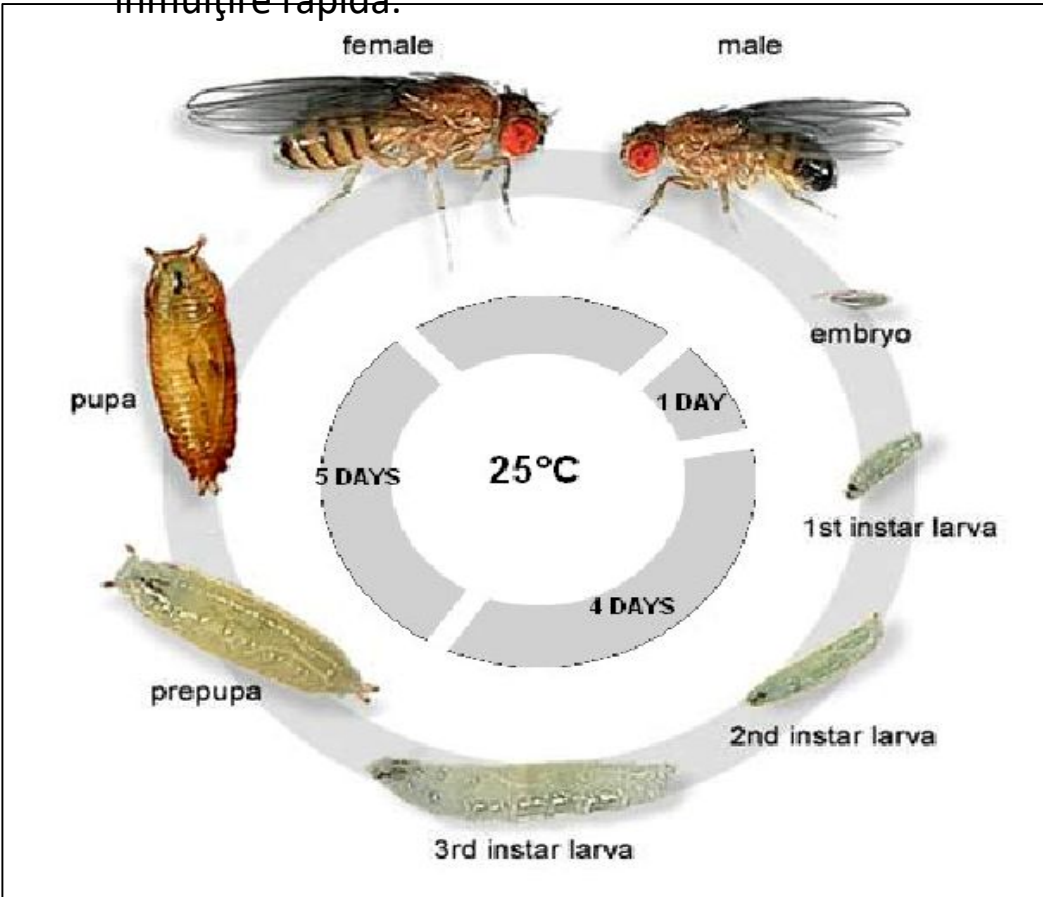
Pe cromozomii politeni au loc intense procese de transcriere genetică

- În regiunile cromozomiale respective, materialul genetic se decondensează, formându-se **pufe**; zonele mai mari se numesc **inele Balbiani**

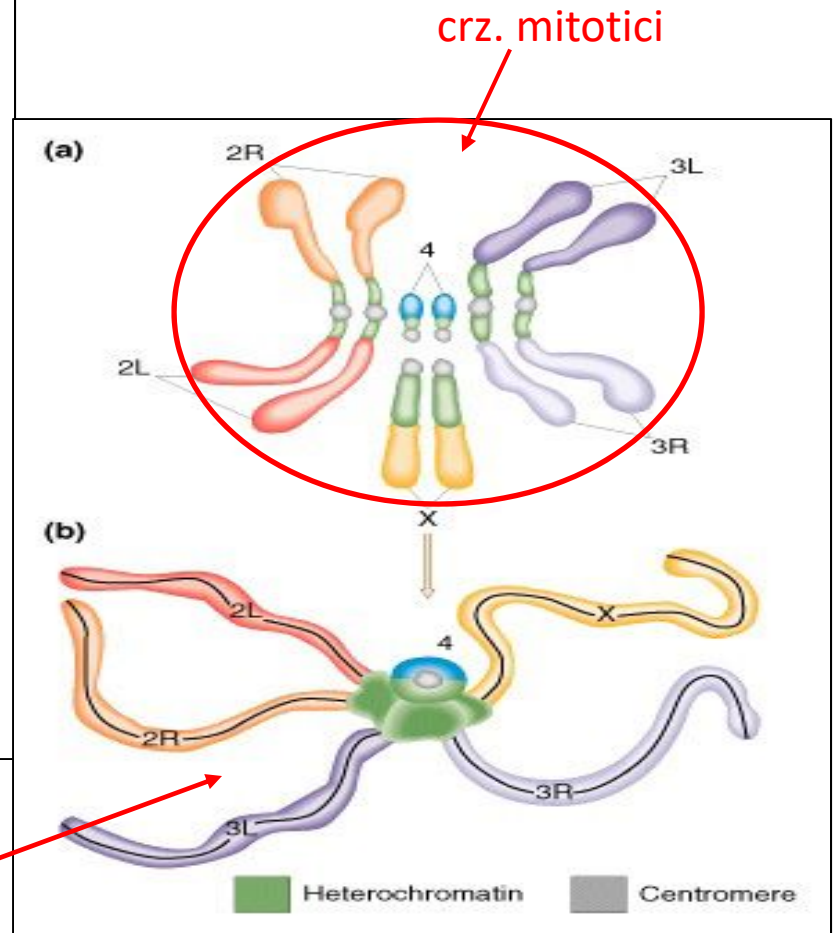


Model experimental *Drosophila melanogaster* (musculița de oțet)

A fost aleas ca model experimental *Drosophila melanogaster*, deoarece musculițele de oțet sunt ușor de crescut în laborator, mediile sunt ieftine, au dimensiuni relativ mici (2-3mm) și au o înmulțire rapidă.



Stadiile metamorfozei la *Drosophila melanogaster*



Cromozomii la *Drosophila melanogaster*

Evidențierea cromozomilor politeni la *D. melanogaster* (tehnica squash)

Materiale necesare:

- lame, lamele, ac spatulat, pensă
- soluție de carmin 2% în acid acetic 45% (= *carmin acetic*)
- larve de *D. melanogaster* în stadiul 3 (celulele glandelor salivare prezintă procesul maxim de politenizare)

Protocol de lucru:

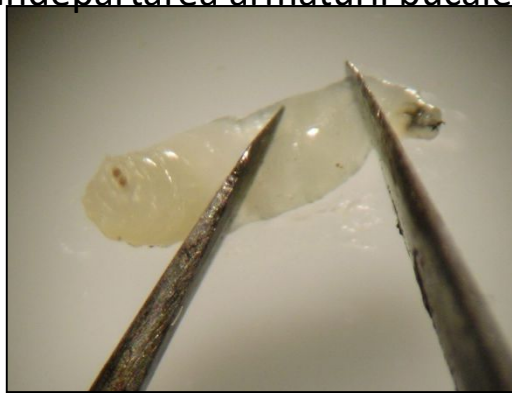
- larvele aflate în stadiul 3 sunt introduse în TFS (tampon fosfat steril)
- cu ajutorul unei pense este selectată o larvă și pusă pe o lamă microscopică
- se secționează larva: glandele salivare sunt semitransparente atașate de tubul digestiv
- se îndepărtează corpul larvei și armătura bucală cu ajutorul acului spatulat
- se adăugă o picătură de carmin acetic peste glandele salivare
- se lăsa să acționeze 3 min la temperatură camerei
- se pune o lamelă peste preparat și se trece de câteva ori peste flacăra
- se presează cu un băț de chibrit prin presare succesivă ușoară
- surplusul de colorant se absoarbe cu ajutorul hârtiei de filtru
- se preparatul se bate de mai multe ori cu bățul de chibrit (ptr spargerea membranelor nucleare și etalarea crz. politeni)
- se observă la microscopul optic folosind obiectivul de 40X

Desfășurarea experimentului

1. Selectarea larvelor



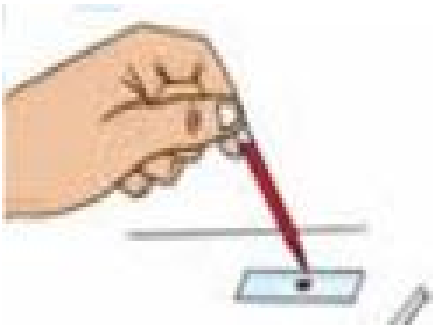
2. Secționarea larvei și îndepărtarea armăturii bucale



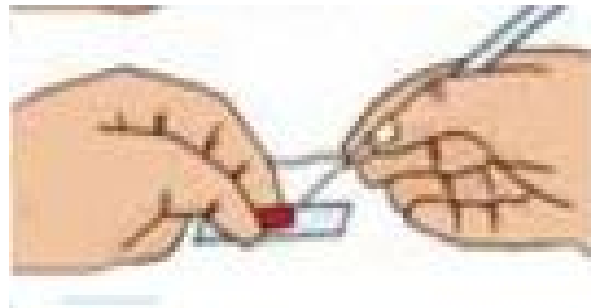
3. Izolarea glandelor salivare



4. Colorare



5. Presare și fixare

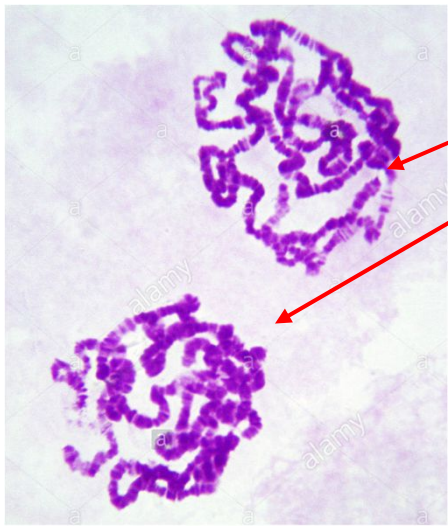


6. Vizualizarea la microscop



<https://www.youtube.com/watch?v=vVOhHFAazCo>
<https://www.youtube.com/watch?v=mh7i3nhzXzk>

Va rog sa vizionati filmuletele

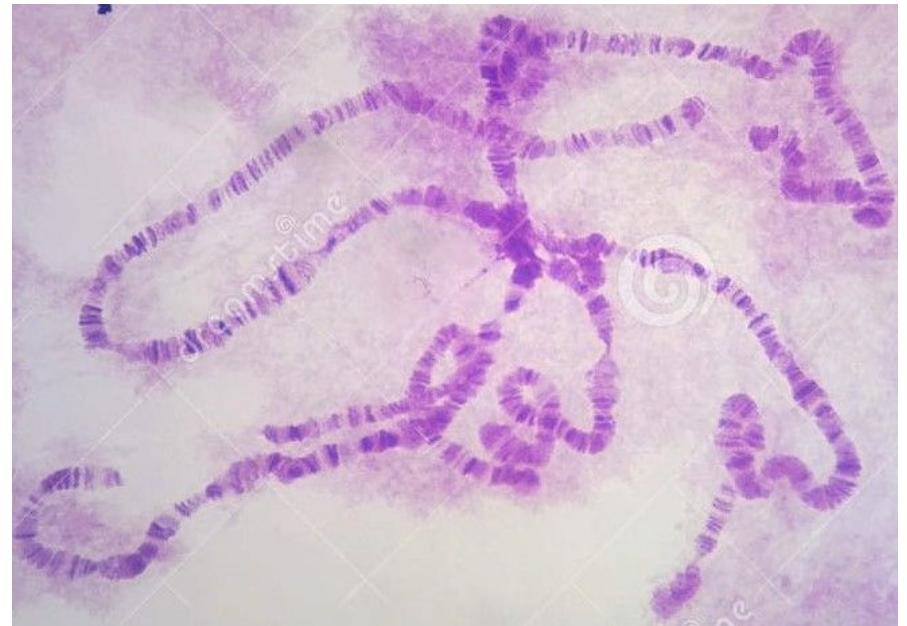


crz. politeni
incomplet
etalați



cromocentru

pufe



Cromozomi politeni la *D. melanogaster*

- Cromozomii apar ca o alternată de benzi întunecate (ADN condensat) și interbenzi (ADN relaxat și ARN).
- La nivelul benzilor luminoase au loc procese de transcriere
- Au o lungime de 0.5 mm și un diametru de 20 μm
- Benzile cromozomilor politeni se măresc în anumite momente și formează noduri numite noduri Balbiani (*puffs*) la nivelul carora procesul transcriptional este intens

Bibliografie:

- 1. Carvalheira G.M.G., 2000. Genetics and Molecular Biology, 23, 4, 1043-1050**
- 2. Stormo BM, Fox DT, 2017, Polyteny: still a giant player in chromosome research, Chromosome Res. doi: [10.1007/s10577-017-9562-z](https://doi.org/10.1007/s10577-017-9562-z)**