

# MAPEAMENTO EM CROMOSSOMOS POLITÊNICOS

## Décima quarta aula (T14)

Texto adaptado de:  
MOORE, J. A. Science as a Way of Knowing - Genetics. *Amer. Zool.* v. 26: p. 583-747, 1986.

### GENES E CROMOSSOMOS

Os conceitos da Genética foram desenvolvidos inicialmente a partir de resultados obtidos em cruzamentos, com uma assistência ocasional da Citologia. A Citologia forneceu à Genética algumas confirmações: o número de pares de cromossomos homólogos é igual ao número de grupos de ligação; há uma correlação entre cromossomos e o sexo dos indivíduos; o comportamento dos cromossomos é adequado para explicar a segregação dos alelos de um mesmo gene e a segregação independente dos alelos de genes diferentes. Contudo, uma maior utilização da Citologia foi impossível porque as técnicas disponíveis não eram suficientes para revelar a estrutura fina dos cromossomos. Se os genes estão localizados em uma ordem linear, seria de grande importância encontrar diferenças ao longo dos cromossomos.

Até a terceira década do século XX, as técnicas citológicas mostravam, com raras exceções, os cromossomos como unidades uniformes, sem nenhuma diferença que pudesse ser associada aos genes. Como hipótese de trabalho os geneticistas consideravam que os genes eram proteínas. Sendo assim, seria impossível observá-los, uma vez que as proteínas estavam abaixo do limite de resolu-

### Objetivos

1. Explicar a contribuição da Citologia para a Genética.
2. Discutir a descoberta dos rearranjos cromossômicos a partir de resultados de cruzamentos.
3. Analisar o impacto que a redescoberta dos cromossomos politênicos teve na Genética.
4. Explicar como os geneticistas usaram os cromossomos politênicos para testar a hipótese da distribuição linear dos genes nos cromossomos.
5. Arrolar os principais fundamentos da Genética clássica.

ção dos mais poderosos microscópios. Os geneticistas resignavam-se a investigar seus genes invisíveis, da mesma maneira que os químicos e físicos estudavam suas moléculas e partículas atômicas invisíveis, por meios indiretos.

Alguns métodos para marcar cromossomos (indução de aberrações por meio de radiações) foram desenvolvidos para *Drosophila melanogaster*, *Zea mays* e outras poucas espécies. Stern obteve diferentes cromossomos homólogos em *D. melanogaster* da mesma forma que Creighton e McClintock o fizeram com o milho. Dobzhansky usou a radiação para quebrar cromossomos de *D. melanogaster*, com a finalidade de construir um mapa do segundo cromossomo (1930) e demonstrar a presença de translocações (1929). Nenhum dos métodos disponíveis, no entanto, tinha a precisão desejada.

Na tentativa de explicar desvios observados nas proporções fenotípicas em diversos estudos genéticos realizados com *D. melanogaster*, foi postulada a existência de diversos tipos de rearranjos cromossômicos. Como citado anteriormente, casos de redução ou supressão de recombinação foram atribuídos às inversões. Suspeitava-se que o alelo *Bar* fosse uma duplicação de um dos locos responsáveis pelo olho normal.

Outros resultados genéticos aberrantes foram considerados como sendo consequência de translocações de conjuntos de genes de um cromossomo para outro.

Estas explicações sobre as consequências de rearranjos cromossômicos foram hipóteses brilhantes para resolver problemas difíceis, embora, exceto no caso de grandes translocações, elas não pudessem ser confirmadas citologicamente. Esta ausência de confirmações fez com que alguns biólogos considerassem os argumentos dos geneticistas um pouco exagerados. Estava o grupo de *Drosophila* construindo um sólido edifício de ciência ou construíam apenas um castelo de cartas? A resposta dependia a quem se fazia a pergunta.

No entanto, por quase meio século, um método esplêndido capaz de responder a estas questões esteve disponível, mas sua utilidade não foi percebida.

#### A DESCOBERTA DOS CROMOSSOMOS GIGANTES

Em 1881, Balbiani descreveu estruturas nucleares em células gigantes das glândulas salivares e dos túbulos de Malpighi de larvas da mosca *Chironomus*. Estas células não se dividiam e continham no núcleo estruturas muito grandes, que pareciam estar fundidas como um fio contínuo enrolado e portador de faixas transversais.

Em contraste com os trabalhos de Mendel, os de Balbiani foram muito lidos. E. B. Wilson (1900, p.36) escreveu: “*O caso mais extremo deste tipo [a cromatina do núcleo em repouso formando um fio contínuo] ocorre em glândulas salivares de larvas de dípteros (Chironomus), em que, como descrito por Balbiani, a cromatina tem a forma de uma fita simples enrolada composta por discos transversais, terminando em cada extremidade grandes nucléolos*”.

Wilson reproduziu a figura de Balbiani. Os discos ou faixas transversais foram chamados cromômeros e pensava-se que se dividiam na prófase. A possível importância destes cromossomos bandados não deve ter sido percebida porque se acreditava que eram parte de um fio contínuo e não cromossomos individuais.

Em 1933 Heitz e Bauer estudaram esses cromossomos gigantes em um outro Diptera, *Bibio hortulanus*, e concluíram que os cromossomos não estavam em um espírema contínuo mas formavam um número haplóide de elementos.

Eles observaram que cada cromossomo da glândula salivar consistia dos dois cromossomos homólogos intimamente emparelhados. Quando as células eram esmagadas os cromossomos se espalhavam e podiam ser estudados. Uma observação de grande importância foi o fato do padrão de faixas desses cromossomos ser específico para cada uma de suas regiões. Isso propiciava a identificação de cada cromossomo pelo seu padrão de faixas.

Neste mesmo ano, Painter (1933) publicou um trabalho preliminar descrevendo os cromossomos das glândulas salivares de larvas de *D. melanogaster*. Eles eram pelo menos 100 vezes maiores do que os cromossomos metafásicos e os homólogos se apresentavam intimamente emparelhados, sendo a linha que os separava difícil de ser identificada.

Mais uma vez, temos um caso onde, simultânea e independentemente, a mesma descoberta foi feita. Painter (1934a) escreveu: “*Quando eu estava no meio do meu primeiro ano de trabalho, apareceu um artigo de Heitz e Bauer sobre os cromossomos da glândula salivar de Bibio hortulanus.*”

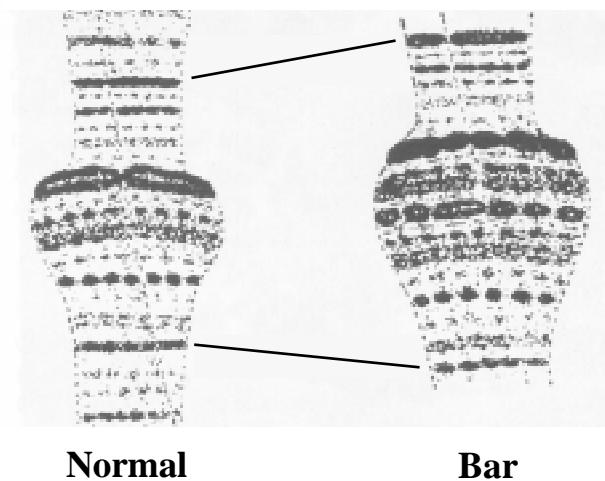
Painter descobriu os cromossomos politênicos das glândulas salivares independentemente de Heitz e Bauer. Ele não teve conhecimento da extensa literatura sobre esse assunto antes que seu trabalho já estivesse bem adiantado. Painter, em uma série de trabalhos, descreveu em detalhe a estrutura dos quatro cromossomos gigantes de *D. melanogaster* e mostrou que esses cromossomos correspondiam aos quatro grupos de ligação.

Como Painter foi capaz de associar grupos de ligação específicos aos cordões listados presentes nas células das glândulas salivares das larvas? Ele fez uma dedução simples: se fossem realmente cromossomos, nos estoques de moscas onde o comportamento dos genes indicavam a presença de aberrações cromossômicas, os cordões nucleares deveriam apresentar alterações estruturais correspondentes.

Como exemplo, pode-se tomar a inversão *C* usada no estoque *CIB* de Muller. Sabia-se, pelos dados genéticos, que essa inversão estava localizada no cromossomo X. Logo, deveria haver um cromossomo politênico nas glândulas salivares de algumas larvas desse estoque (nas fêmeas *CIB*) com um segmento de faixas invertido em relação ao cromossomo correspondente de uma linhagem selvagem. Isso realmente foi verificado. A confir-



A observação das faixas dos cromossomos das células das glândulas salivares permitiram que muitas das deduções feitas pelos pesquisadores de drosófilas, com base em dados somente genéticos, fossem testados criticamente. Quando uma reversão na ordem dos genes foi evocada para explicar a supressão da recombinação, as faixas dos cromossomos das glândulas salivares apresentaram-se invertidas. Quando os dados sugeriam que um segmento de um cromossomo estava ligado a outro, as faixas apresentaram-se translocadas. Para explicar algumas observações estranhas, foi sugerido que uma pequena parte do cromossomo havia sido perdida, e os cromossomos das glândulas salivares revelaram a falta de algumas faixas. Suspeitava-se que o alelo *Bar* fosse uma duplicação de um segmento do cromossomo X. A figura 48 mostra que isso é verdadeiro.



**Figura 48.** Porções de cromossomos X, de uma fêmea selvagem (acima) e de uma fêmea homocigótica *Bar* (abaixo). As linhas mostram as faixas correspondentes nos dois cromossomos. (Modificado de Bridges, 1936)

A equipe de drosofilistas teve a última palavra - eles necessitaram evocar uma lista, aparentemente interminável, de aberrações cromossômicas para explicar os resultados genéticos inesperados em seus experimentos e as faixas dos cromossomos das glândulas salivares confirmaram suas hipóteses.

### ONDE ESTÃO OS GENES?

No momento em que porções específicas dos cromossomos de *Drosophila melanogaster* passaram a ser definidas, houve um grande interesse na possibilidade de se determinar o local

ocupado pelos genes. Seriam as faixas os genes? E as áreas entre as faixas, seriam geneticamente inertes?

As tentativas para localizar os genes foram baseadas, principalmente, em pequenas deleções. Estas podiam ser produzidas em grande número por meio do uso de raios X. Embora não fosse possível, é claro, induzir-se deleções em locais específicos dos cromossomos. O procedimento consistia em irradiar um grande número de moscas, na esperança de se obter deleções na região desejada do cromossomo, e analisar sua prole. Um grande volume de trabalho foi necessário, mas, para geneticistas dedicados e motivados, isto valia a pena.

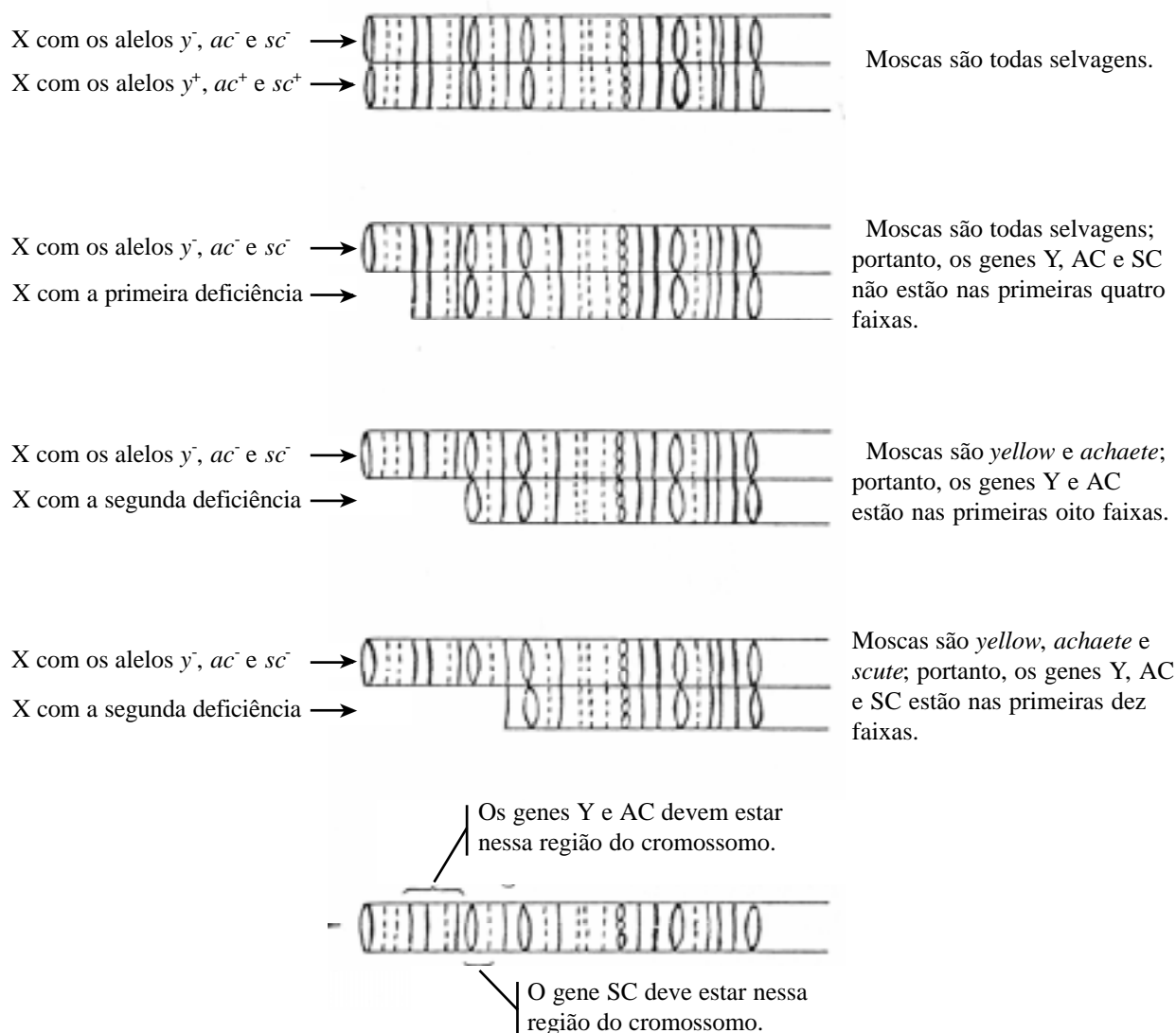
Demerec e Hoover (1936), por exemplo, estudaram estoques portadores de três deficiências próximas a uma das pontas do cromossomo X. A maioria das deficiências, exceto quando muito pequenas, embora viáveis quando em seu estado heterocigótico, são letais em homocigose. As deficiências possuem um efeito genético especial, como será visto a seguir.

Assuma que uma mosca seja heterocigótica para uma deficiência que inclui o loco do gene A. Isto significa que o alelo presente no cromossomo normal no loco A determina o fenótipo, uma vez que não há nada no cromossomo portador da deficiência que possa opor-se ao seu efeito. É uma situação similar à observada nos machos de *D. melanogaster* em que o alelo presente no cromossomo X é que determina o fenótipo, uma vez que o Y não possui praticamente nenhum gene.

Demerec e Hoover determinaram precisamente as faixas que faltavam nas três deficiências envolvidas. Eles selecionaram três alelos mutantes, *y* (*yellow* - mutante para a cor do corpo), *ac* (*achaete* - falta de algumas cerdas) e *sc* (*scute* - falta de outras cerdas). Estudos prévios haviam demonstrado que esses genes estavam localizados próximos à extremidade do cromossomo.

Os cruzamentos foram feitos de modo que as moscas estudadas possuíam um cromossomo inteiro com os alelos *y*, *ac* e *sc* e o outro com uma das deficiências, porém apenas com os alelos selvagens. O experimento está apresentado na figura 49.

A primeira deficiência removeu 4 faixas do final do cromossomo. Neste caso as moscas obtidas eram do tipo selvagem, indicando que os locos desses genes não se localizam nas 4



**Figura 49.** Esquema dos experimentos de Demerec e Hoover para localizar alguns genes do cromossomo X de *Drosophila melanogaster*.

primeiras faixas. A próxima deficiência removeu 8 faixas terminais e as moscas que a portavam eram *yellow* e *achaete*. Como a primeira deleção havia indicado que esses alelos não estavam nas 4 primeiras faixas, os locos *yellow* e *achaete* deveriam estar na região entre as faixas 4 e 8. A terceira deleção removeu as 10 faixas terminais e, neste caso, as moscas observadas eram *yellow*, *achaete* e *scute*. Logo, o loco para *scute* devia estar na região que incluía as faixas de 8 a 10.

Por meio desse método, os drosofilistas da época foram capazes de determinar os locos aproximados de vários genes. Nenhum loco foi encontrado nas regiões de interfaixas e, em alguns casos, foi possível localizar um loco numa pequena região onde havia apenas uma faixa. Estas observações sugeriram a hipótese de que as faixas, ou uma porção delas, eram os locos gênicos.

Se esta hipótese fosse verdadeira, uma estimativa do número de genes em *D. melanogaster* poderia ser feita contando-se o número de faixas de seus cromossomos. Esta era uma tarefa árdua pois o número de faixas depende, de certa forma, do nível de condensação dos cromossomos - elas variam de faixas fortemente condensadas a outras quase imperceptíveis por estarem no limite de resolução dos microscópios fotônicos. De qualquer forma, parece haver pelo menos 5 mil faixas nos cromossomos de *D. melanogaster* e este número é tomado como uma estimativa mínima do número de genes nesta espécie.

Uma vez que os genes foram localizados nos cromossomos das glândulas salivares, uma comparação entre os mapas cromossômicos citológicos e aqueles obtidos por ligação gênica pôde ser feita. Bridges realizou um cuidadoso estudo

e suas comparações estão mostradas na figura 50. A semelhança é muito grande e, apesar de ser isto o que os geneticistas esperavam, o resultado foi surpreendente. Note que a comparação, feita aqui, é entre um conjunto de dados baseado no fenótipo da prole de cruzamentos para análise genética e um outro conjunto de dados baseado em descrições citogenéticas.

Os dados genéticos apoiavam a hipótese de que os genes estavam arranjados em ordem linear e em uma certa seqüência. Os dados citológicos sustentavam a mesma hipótese. Só o fato da Genética e da Citologia apresentarem dados que corroboravam a mesma hipótese já era, em si, uma prova de que ela era verdadeira acima de qualquer suspeita.

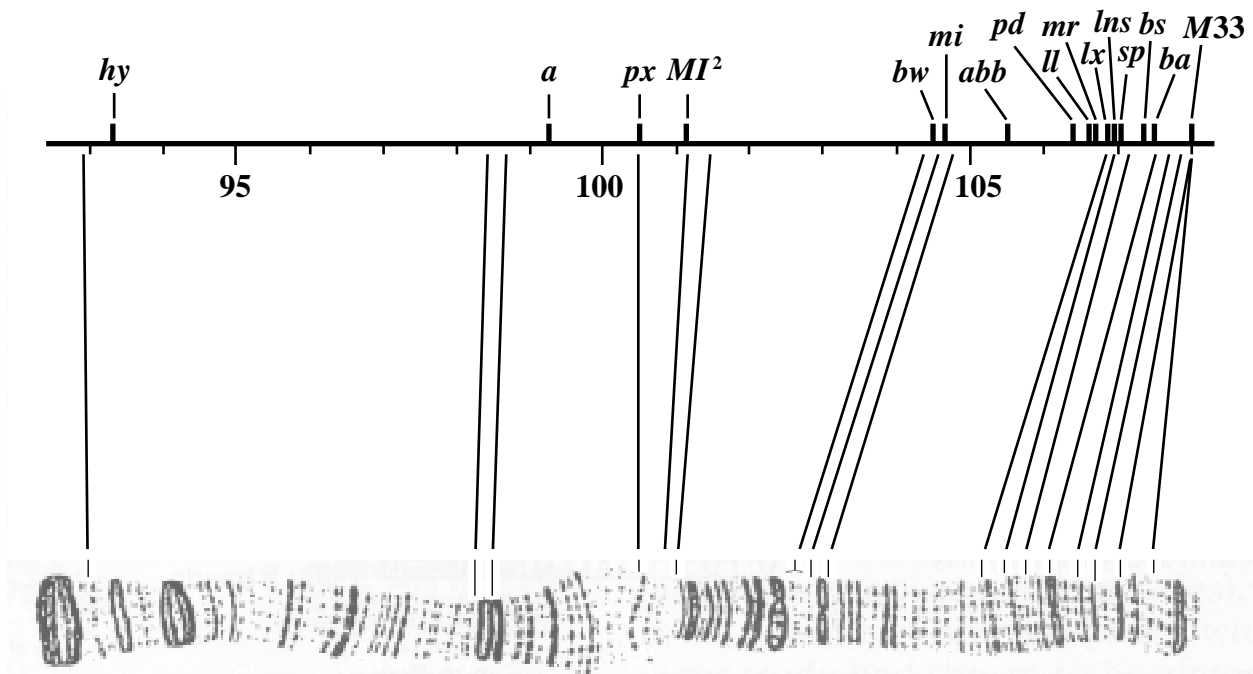
A oportunidade de se conferir uma descoberta em um campo com descobertas em campos completamente diferentes é uma das técnicas mais poderosas ao alcance dos cientistas. Se um conjunto de dados genéticos ou de dados citológicos fossem obtidos para apoiar a hipótese da ordem linear dos genes, esses dados não seriam tão convincentes como um conjunto de dados genéticos em concordância com um conjunto de dados citológicos.

## OS FUNDAMENTOS CONCEITUAIS DA GENÉTICA CLÁSSICA

Após milhares de cruzamentos terem sido feitos e milhões de descendentes classificados, os geneticistas do final dos anos trinta tinham um sentimento de satisfação, pois a grande questão que havia permanecido sem resposta convincente por séculos tinha, naquele momento, uma resposta aceitável.

A Genética foi o primeiro ramo da Biologia a alcançar um nível de amadurecimento conceitual que permitiu que os resultados de experimentos fossem previstos. Por estar ligada aos problemas mais básicos da Biologia, a Genética é a parte menos complexa das Ciências Biológicas. O genótipo deve ser mais simples do que o fenótipo, uma vez que o básico é menos complexo do que o derivado. O código genético é essencialmente universal, enquanto as estruturas e funções dos organismos possuem suas próprias características.

Afinal, qual é o objetivo comum à Genética e à Citologia? A resposta nada mais é do que descobrir as leis que governam a transmissão de genes dos pais para seus filhos. Essas leis, aparentemente universais, são válidas para plantas, animais e microrganismos. Quais são elas?



**Figura 50.** Correspondência entre faixas de um cromossomo politênico e o mapa de ligação dos genes da extremidade do cromossomo II de *Drosophila melanogaster*. (Modificado de Bridges, 1937)

Segue abaixo a lista dos principais fundamentos da Genética clássica:

1. Morfologia, a Fisiologia e a Biologia Molecular de um indivíduo são determinadas por sua herança genética, agindo num ambiente definido.
2. Embora o material genético herdado por um novo indivíduo seja menor em quantidade, ele contém toda a informação necessária para o desenvolvimento de um organismo semelhante a seus pais.
3. Os genes são partes dos cromossomos (pesquisas posteriores mostraram que parte da informação genética está contida em mitocôndrias, plastídeos e vírus).
4. Cada gene, geralmente, ocupa uma posição definida, seu loco, no cromossomo. São conhecidas exceções a este conceito como as inversões e as translocações. E, a cada dia, vem aumentando o número de exemplos de partes do material genético capazes de se movimentar de um cromossomo para outro (transposons).
5. Cada cromossomo possui muitos genes (exceto em alguns casos como o Y de *D. melanogaster*) e os genes estão arranjados em uma ordem linear.
6. As células somáticas possuem dois de cada um dos cromossomos. Eles estão, portanto, em pares homólogos, sendo que todo loco gênico é representado duas vezes. Existem algumas exceções bem conhecidas. Em algumas espécies, como abelhas por exemplo, as rainhas e operárias são fêmeas diplóides e os zangões, machos monoplóides. Os cromossomos sexuais são uma outra exceção, onde machos XO e XY possuem apenas uma cópia dos genes ligados ao sexo. Algumas células em alguns tecidos de certos animais podem ser poliplóides, como as do nosso fígado.
7. Durante cada ciclo mitótico os genes são duplicados a partir das substâncias químicas da célula. A duplicação celular envolve uma duplicação gênica anterior.
8. Embora os genes sejam caracterizados por uma grande estabilidade através do tempo, duplicando milhões de vezes em muitas gerações, existe a possibilidade de uma mutação ocorrer. Logo, os genes são capazes de existir em vários estados conhecidos como alelos.
9. Os genes podem ser transferidos de um cromossomo para seu homólogo por permutação. Ela ocorre regularmente na meiose, mas há algumas exceções, como em machos de *D. melanogaster*, onde a permutação não ocorre.
10. No processo meiótico, cada gameta recebe um cromossomo de cada um dos pares homólogos; qual será recebido, depende do acaso. Assim os gametas receberão um ou outro de cada um dos pares de genes (segregação). Cada homólogo, com os genes que contém, será distribuído para metade dos gametas. Machos XO são uma exceção óbvia.
11. Na formação dos gametas, a segregação dos cromossomos de um par de homólogos, com os seus genes, não tem nenhum efeito sobre a segregação de um outro par de cromossomos homólogos.
12. A fertilização consiste na união ao acaso do gameta feminino com o masculino, cada um portando um dos cromossomos de todos os pares homólogos. O zigoto recebe um cromossomo de cada um dos pares homólogos da mãe e outro, do pai.
13. Quando dois alelos diferentes do mesmo loco estão presentes, o indivíduo é heterozigótico para este gene. O alelo com o maior efeito fenotípico é conhecido como dominante, e o outro como, recessivo. Em muitos casos, o heterozigoto é idêntico aos indivíduos homozigóticos para o alelo dominante. Menos frequentemente, os heterozigotos são intermediários.
14. Nos anos trinta, uma vez que nenhuma outra alternativa parecia possível, considerava-se a hipótese de que os genes se expressam por meio da produção de substâncias químicas, que por sua vez controlam as reações químicas da célula. Alguns geneticistas sugeriram que a maior função dos genes seria produzir enzimas específicas que, em contra partida, controlariam a vida da célula.

Essas 14 proposições incluem grande parte dos fenômenos da Genética Clássica e formaram um conceito geral satisfatório. Mas isto não foi

suficiente. A mente inquisitiva do homem é mais estimulada pelo desconhecido do que pelo que se conhece. Conhecia-se com grande precisão como os genes para a cor dos olhos em *D. melanogaster* eram herdados mas, essencialmente,

nada sobre a estrutura destes genes ou seu modo de ação. Esse seria o próximo grande paradigma da Genética, que direcionaria as análises para o nível das células e das moléculas.

## EXERCÍCIOS

### PARTE A: REVENDO CONCEITOS BÁSICOS

Preencha os espaços em branco nas frases de 1 a 4 usando o termo abaixo mais apropriado:

- a) cromossomos politênicos
- b) cromossomos homólogos
- c) loco gênico
- d) transposon

1. Os cromossomos que se emparelham na meiose e nas células de glândulas salivares são ( ).
2. O local do cromossomo ocupado por um determinado gene é denominado ( ).
3. Cromossomos gigantes com centenas de cromátides arranjadas lado a lado são denominados ( ).
4. ( ) é um segmento de *DNA*, que pode sair de um local do cromossomo e se inserir em outro local do mesmo ou de outro cromossomo.

### PARTE B: LIGANDO CONCEITOS E FATOS

Utilize as alternativas a seguir para responder as questões de 5 a 8.

- (a) deficiência ou deleção
- (b) duplicação
- (c) inversão paracentromérica
- (d) inversão pericentromérica

Em um determinado cromossomo de *Drosophila*, a sequência normal de locos gênicos é 123●456789 (o ponto ● representa o centrômero). Que tipos de aberração cromossômica apresentam cada uma das moscas abaixo?

5. Uma drosófila com constituição 123●476589?
6. Uma drosófila com constituição 123●46789?
7. Uma drosófila com constituição 1654●32789?
8. Uma drosófila com constituição 123●4566789?

Indique a alternativa mais apropriada para completar as frases de 9 a 11.

- a) translocação
- b) inversão
- c) deficiência

9. Cromossomos com ( ) nunca reverterem para a condição normal e expressam alelos recessivos presentes nos homólogos, na região correspondente ao local da aberração.

10. Muller utilizou, no cromossomo *CIB*, um gene recessivo letal e o gene dominante *Bar*, que permaneciam ligados porque os produtos da recombinação entre eles eram inviáveis. Isto acontecia pelo fato desses genes estarem incluídos em uma ( ).

11. Assuma que em *Drosophila melanogaster*, os locos *A-B-C-D-E-F* estejam ligados nesta ordem. Uma mosca *abcdef / abcdef* foi cruzada com outra de um estoque selvagem. Cerca de metade dos descendentes foi selvagem como esperado, mas a outra metade apresentou fenótipo recessivo quanto aos genes *d* e *e*. Uma possível explicação seria a ocorrência de uma ( ) na mosca selvagem usada no cruzamento.

### PARTE C: QUESTÕES PARA PENSAR E DISCUTIR

12. O que levou os antigos geneticistas a concluir que algumas de suas linhagens de *D. melanogaster* apresentavam rearranjos cromossômicos?

13. O que impedia o teste da hipótese da existência de rearranjos cromossômicos?

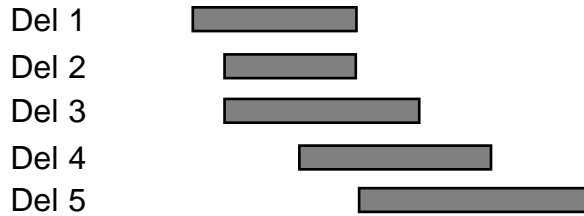
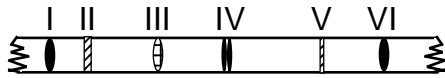
14. Quais foram as características dos cromossomos politênicos que os tornaram tão importantes para os testes das hipóteses dos geneticistas?

15. Como Painter conseguiu associar as informações obtidas em cruzamentos de *D. melanogaster* com os cromossomos gigantes das glândulas salivares das larvas?

16. Como os geneticistas usaram os cromossomos politênicos para testar a hipótese da distribuição linear dos genes nos cromossomos?



17. Seis faixas de um cromossomo politênico das glândulas salivares de *D. melanogaster* estão representados abaixo, juntamente com 5 deficiências distintas.



Os alelos recessivos *a*, *b*, *c*, *d*, *e* e *f* estão nesta região do cromossomo, mas a ordem deles é desconhecida. Quando as deficiências estão em heterozigose para cada um dos alelos, os seguintes resultados são obtidos:

	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>
Del 1	-	-	-	+	+	+
Del 2	-	+	-	+	+	+
Del 3	-	+	-	+	-	+
Del 4	+	+	-	-	-	+
Del 5	+	+	+	-	-	-

Nesta tabela, (-) corresponde a falta do alelo selvagem (ou seja, permite a expressão do alelo recessivo) e (+) corresponde a presença do alelo selvagem.

Determine a ordem dos 6 genes no cromossomo e a possível relação deles com as faixas numeradas.