



RECOMBINAREA GENETICĂ

Prin recombinare genetică se definește fenomenul producerii unor combinații genetice noi prin rearanjarea, reasortarea sau redistribuția materialului genetic cuprins în două unități genetice diferite.

Recombinarea genetică este un proces general în natură și reprezintă una din cheile mecanismelor prin care se formează noi indivizi, proces important în selecția naturală. Mecanismele de recombinare genetică sunt diferite la procariote și eucariote.

Recombinarea genetică la eucariote

La eucariote recombinarea materialului genetic este asigurată în general de procesele legate de înmulțirea sexuată și de fenomenele de transpoziție (vezi cap. 8). În dependență de cantitatea de material implicat în recombinare deosebim:

- **recombinare genomică** – recombinarea materialului ereditar în procesul fecundației;
- **recombinarea intercromozomică** – asortarea independentă a cromozomilor neomologi în anafaza I a meiozei;
- **recombinarea intracromozomică** – recombinarea genelor între cromozomii omologi în procesul crossing-overului;
- **recombinarea prin transpoziție** – inserarea secvențelor scurte de ADN într-un loc nou în același sau alt cromozom.

Recombinarea genomică

Eucariotele superioare se caracterizează printr-un mecanism particular de înmulțire – **înmulțire sexuată**, la care participă două celule specializate - **gameții**. De regulă, gameții sunt de origine diferită (maternă și paternă). Contopirea gameților haploizi poartă denumirea de **fecundare**, iar celula rezultată ce conține materialul genetic al ambilor gameți - **zigot**. Participarea gameților (unui organism) la fecundație este aleatorie, asigurând formarea diferitor tipuri de zigoti, ceea ce reprezintă **recombinarea genomică**.

Fuziunea celor doi gameți haploizi reface setul diploid de cromozomi, caracteristic speciei. Mitozele succesive ale zigotului duc la creșterea și dezvoltarea organismului pluricelular. Începând cu zigotul toate celulele somatice vor avea cromozomii în perechi de omologi identici ca morfologie și structură genică, dar diferiți ca origine.

Recombinarea intra- și intercromozomică

La animale formarea gameților are loc în gonade. Din celule precursorare (**gametogonii**), care sunt celule cu set diploid de cromozomi și sunt identice genetic cu zigotul, se formează gameți haploizi. Procesul de maturizare a gameților este reprezentat de **meioză**. Meioza este un mecanism complex ce implică desfășurarea succesivă a două diviziuni, care se termină cu înjumătățirea setului de cromozomi în celulele fiice. Din fiecare celulă cu un set de $2n$ (**set diploid**) cromozomi se formează 4 gameți cu câte $1n$ (**set haploid**) de cromozomi – proces invers fecundației. Gameții rezultați din meioză sunt produși ai recombinării inter- și intracromozomice. Aceste tipuri de recombinare au loc în diferite etape ale meiozei.

Meioza este precedată de o interfază premeiotică în care are loc replicarea ADN. Între cele două diviziuni există o perioadă scurtă – **interkineza** – în care nu are loc replicarea ADN.

I diviziune meiotică – diviziunea reduțională

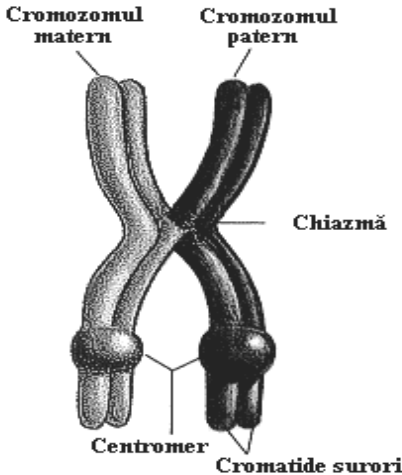
Diviziunea reduțională este responsabilă de înjumătățirea setului de cromozomi și de recombinarea inter- și intracromozomică.

Profaza I

Profaza I a meiozei reprezintă cea mai importantă și complexă fază, în care are loc conjugarea cromozomilor și recombinarea intracromozomică. Această fază este divizată în cinci etape în care are loc condensarea continuă a cromatinei și formarea aparatului de diviziune.

Leptotenul (leptonemul) – cromozomii bicromatidieni se condensează, devin vizibili și au aspectul unor filamente subțiri.

Zigotenul (zigonemul) – reprezintă momentul-cheie în care are loc conjugarea



cromozomilor omologi (perechea de cromozomi identică după lungime, formă, structură, dar de origine diferită – unul matern și altul patern). Conjugarea omologilor are loc centromer - la centromer, telomer – la telomer, genă alelă – la genă alelă, formând **bivalenți** sau **tetrade** (doi cromozomi omologi bicromatidieni) (fig. 14.1). Procesul

Fig. 14.1. Structura bivalentului (tetradă)

conjugării este facilitat de **complexul sinaptonemal**, format

Capitolul 14

din proteinele axului cromozomic, care asigură apropierea cromatidelor și stabilizează tetradele.

Cromozomii X și Y, nefiind omologi, în timpul conjugării se unesc prin capetele lor, formând un bivalent “vezicula sexuală”.

Pachitenul (pachinemul) – se caracterizează prin schimbul reciproc de fragmente între cromozomii omologi – *crossing-overul*, care reprezintă recombinația intracromozomică a materialului genetic. Astfel, fiecare dintre cromozomi va conține material genetic de la ambii părinți, iar noua combinație de gene va fi transmisă generațiilor următoare.

Un rol important în realizarea *crossing-overului* îl are complexul sinaptonemal în cadrul căruia se formează un complex catalitic multiproteic - **nodul de recombinație**, responsabil de ruperea și reunirea

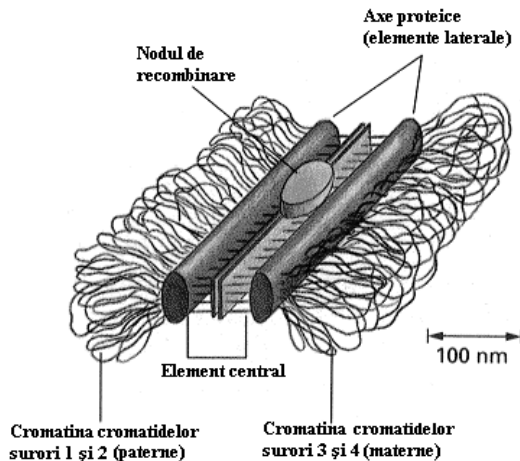


Fig. 14.2. Complexul sinaptonemal

încrucișată a fragmentelor omoloage (fig. 14.2).

Diplotenul (diplonemul) – reprezintă faza în care cromozomii omologi încep să se separe unul de altul prin dezorganizarea complexului sinaptonemal. Omologii rămân uniți în punctele, în care a avut loc *crossing-overul*, formând **chiasme** (fig. 14.1). Numărul chiasmelor coincide cu numărul nodurilor de recombinație.

Diachineza se remarcă prin fenomenul de *terminalizare a chiasmelor* – deplasarea chiasmelor spre extremitățile cromozomilor. Bivalenții rămân uniți doar prin capete.

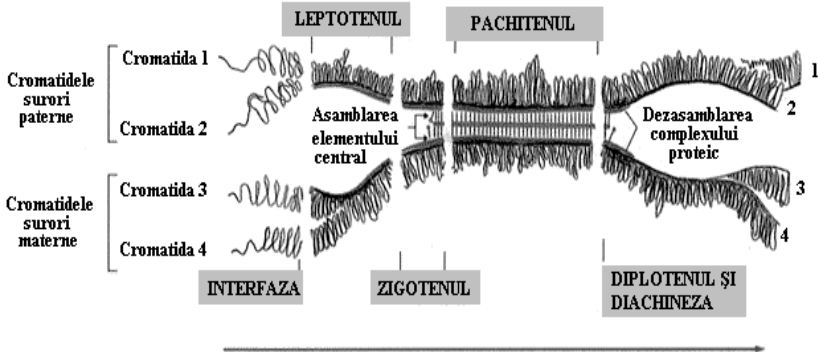


Fig. 14.3. Succesiunea principalelor evenimente din profaza I

La sfârșitul profazei I au loc următoarele procese: disocierea anvelopei nucleare, maturizarea kinetocorilor (câte un singur kinetocor pentru fiecare cromozom), unirea bivalenților la fusul de diviziune.

Metafaza I

În metafaza I are loc aranjarea bivalenților în plan ecuatorial, formând *placa metafazică*. Centromerii cromozomilor omologi sunt orientați spre poli opuși. La sfârșitul metafazei I are loc disocierea chiasmelor terminale și eliberarea cromozomilor omologi din bivalent (fig. 14.4).

Anafaza I

Anafaza I se caracterizează prin disjuncția cromozomilor omologi din bivalent și migrarea cromozomilor bicromatidieni spre polii celulei (fig. 14.4). Spre fiecare pol migrează câte un cromozom din fiecare pereche (la om se formează 23 bivalenți, astfel la fiecare pol ajung câte 23 cromozomi bicromatidieni). Cromozomii materni și cei paterni

Capitolul 14

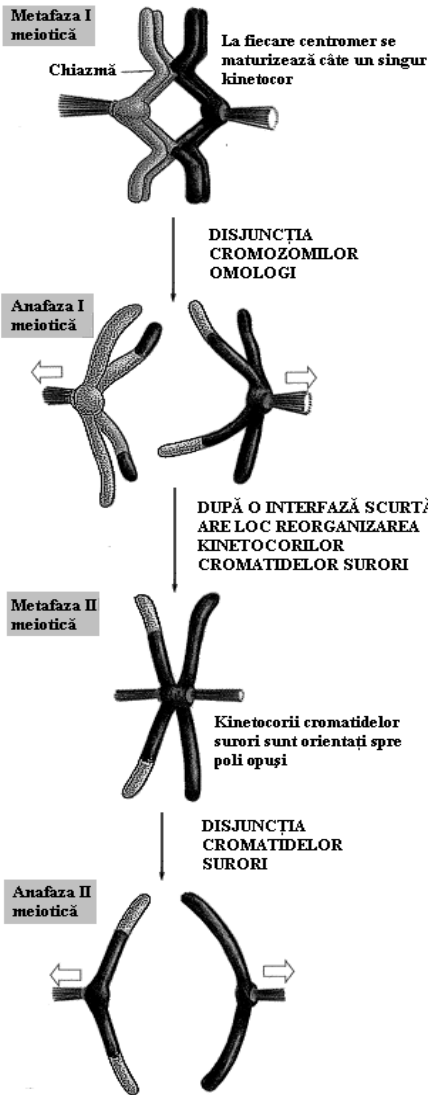


Fig. 14.4. Mecanismele de disjuncție a cromozomilor în meioză

segregă independent unii de alții, încât are loc o combinare independentă a cromozomilor neomologi – **recombinare intercromozomică**.

Numărul de combinații posibile poate fi 2^n (la om $2^{23} = 83886068$ combinații).

Telofaza I

În telofaza I cromozomii bicromatidieni se găsesc la polii celulei și are loc decondensarea lor parțială; se reorganizează membrana nucleară, iar prin citikineză se formează doi gametociți secundari cu set haploid de cromozomi bicromatidieni.

Diviziunea II – diviziunea ecvațională

După interkineza scurtă, are loc diviziunea ecvațională în ambele celule rezultate din I diviziune. Diviziunea II este asemănătoare cu mitoza și asigură repartizarea egală și identică a cromatidelor în celulele gameți (fig. 14.4).

Mecanismul molecular al crossing-overului

În procesul crossing-overului participă două molecule omoloage de ADN, care sunt apropiate fizic prin intermediul complexului sinaptonemal. Recombinarea are loc între secvențe înalt specifice și se bazează pe principiul complementarității. Este un mecanism foarte precis și se efectuează cu o acuratețe strictă.

Procesul de recombinare necesită ruperea duplexelor de ADN, formarea monocatenelor și reunirea încrucișată a secvențelor complementare. Ca rezultat al încrucișării moleculelor, se formează o configurație cruciformă specifică, numită *structura Holliday* (fig. 14.5).

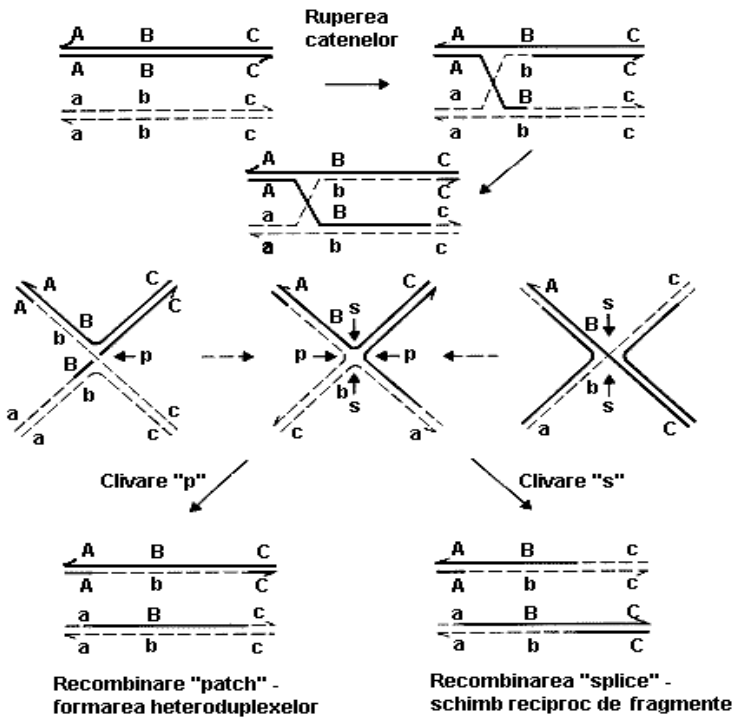


Fig. 14.5. Modelul Holliday de recombinare

Capitolul 14

În dependență de modul de tăiere a acestei structuri se pot obține molecule recombinate de ADN de două tipuri:

- (1) molecule recombinate cu secvențe heteroduplexe (numai una din catene este recombinată);
- (2) molecule recombinate, prin schimb reciproc de fragmente bicatenare.

Crossing-overul nu este un proces obligatoriu la toate eucariotele (de ex., la masculii dipterelor el n-a fost înregistrat). Mecanismul molecular de reglare, inclusiv proteinele implicate nu sunt deocamdată bine studiate. S-au găsit omologii între unele proteine participante la crossing-over cu proteinele de recombinare la *E.coli*.

Recombinarea genetică la procariote

La procariote există mai multe tipuri de recombinare genetică, bazate pe proprietatea ADN de a forma heteroduplexe și capacității de a insera fragmente străine de ADN.

Recombinarea naturală se produce atunci când două molecule de ADN omoloage sunt prezente în aceeași celulă. La bacterii recombinarea genetică generală se efectuează prin transferul unor fragmente de ADN de la o celulă la alta prin fenomenele de transformare, conjugare, sau prin transducție (vezi cap. 5).

Recombinarea prin transpoziție se caracterizează prin inserarea unor noi secvențe de ADN într-o moleculă-gază fără existența omologiei între secvențele implicate (vezi cap. 8).

Recombinarea situs-specifică se realizează între succesiuni specifice de nucleotide ale moleculelor de ADN bacterian și ADN fagic. Condiția pentru realizarea recombinării este prezența secvențelor omoloage în ambele molecule și a

unui complex enzimatic particular care asigură recunoașterea secvențelor implicate în recombinare.

Mecanismul molecular al recombinării la *E.coli*

Modelul cel mai accesibil pentru studierea recombinării genetice este *E.coli*. În procesul de recombinare participă:

- molecula ADN bicatenar recipient cu situsul *chi* (secvență conservată la bacterii, localizată la fiecare 5-10kb, formată din 8 perechi baze 5'GCTGGTGG3');
3'CGACCACC5'
- fragmentul ADN monocatenar donor (ADN fagic, ADN plasmidic);
- complexul proteic RecBCD format dintr-o endonuclează, o exonuclează și o ADN-helicază;
- proteina RecA ce catalizează reacția de formare a heteroduplexurilor (fig. 14.6);
- proteine SSB care stabilizează monocatenarele.

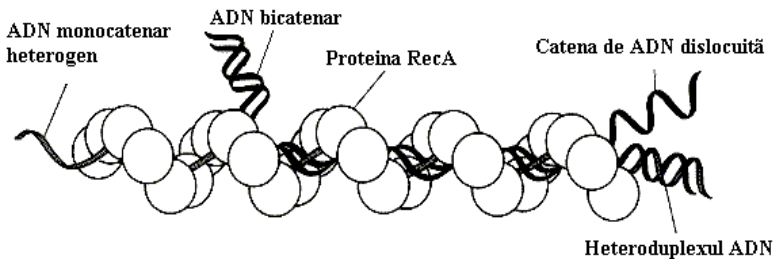


Fig. 14.6. Rolul proteinei RecA în recombinarea genetică la bacterii

Moleculele monocatenare donor se formează prin denaturarea unor molecule de ADN sau rezultă din replicarea σ a ADN fagic (vezi cap. 7). Pentru formarea heteroduplexului din molecula de ADN recipient se excizează una din catene, iar de cealaltă catenă originală se unește complementar ADN monocatenar donor.

Capitolul 14

Etapele recombinării:

- (1) Complexul RecBCD găsește în molecula ADN recipient secvența *chi*. RecBCD denaturează ADN bicatenar și produce o ruptură în una dintre catene, obținându-se un capăt 3' liber.
- (2) Proteina RecA asigură recunoașterea capătului 3' liber și catalizează unirea complementară cu fragmentul de ADN donor monocatenar.
- (3) Catena donor înlocuiește una dintre catenele originale, formând un heteroduplex (ADN recombinat).
- (4) Catena dislocuită este eliminată.

Există recombinare cu fragmente bicatenare omoloage de ADN, catalizată de complexul proteic RuvABC. Acest proces este asemănător cu mecanismul crossing-overului descris la eucariote.

Verificarea cunoștințelor:

1. Definiți noțiunile: recombinare genetică, complex sinaptonemal, nodul de recombinare, bivalent, cromozomi omologi, structura Holliday, heteroduplex.
2. Care este importanța biologică a recombinării genetice?
3. Care sunt tipurile de recombinare genetică la procariote și la eucariote?
4. Când și cum are loc crossing-overul?
5. Care este importanța biologică a anafazei I?
6. Care sunt condițiile pentru recombinarea genetică la bacterii?