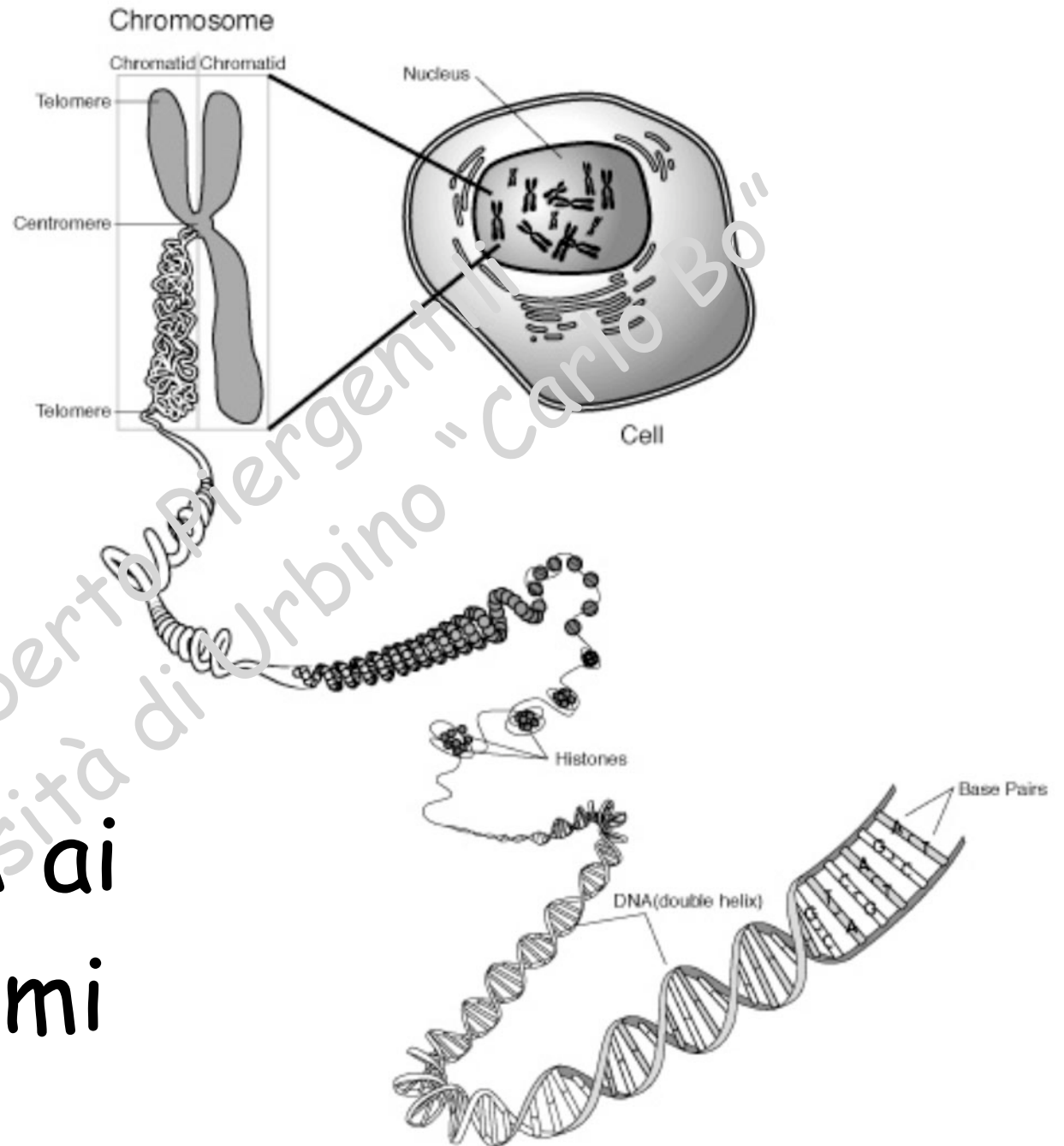


# **CORSO DI GENETICA**

**IL CROMOSOMA**

**E IL CARIOTIPO**

# Dal DNA ai cromosomi



# I cromosomi

Il materiale ereditario degli eucarioti è organizzato in cromosomi il cui numero e la cui morfologia sono costanti nelle varie specie.

I cromosomi sono fatti di **cromatina** = DNA + proteine.

I cromosomi sono visibili al microscopio ottico solo al momento della divisione cellulare perchè si condensano. Anche a causa di questa condensazione, durante la divisione cellulare non avviene trascrizione.

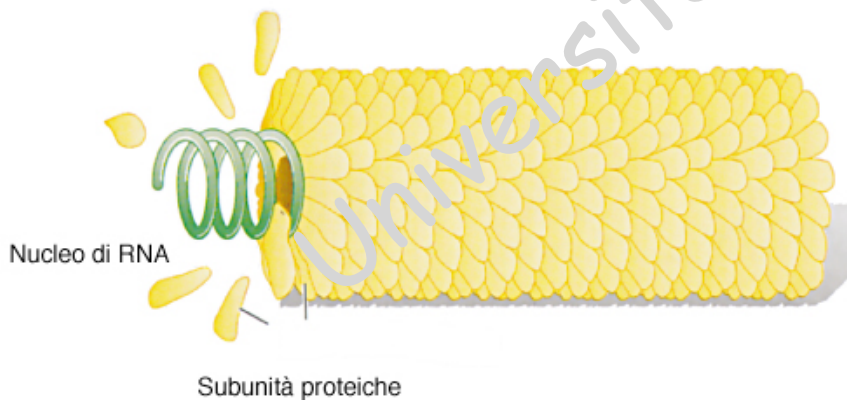


# I cromosomi virali e batterici

Nei virus, il materiale genetico (DNA o RNA, lineare o circolare) è legato direttamente alle proteine del capside; non c'è struttura cellulare. Nei batteri (procarioti) c'è un cromosoma circolare in un nucleoide organizzato ad anse.

**Figura 2.7**

Una tipica particella di virus del mosaico del tabacco (TMV). Il nucleo formato da un'elica di RNA è circondato da una struttura ad elica di subunità proteiche.



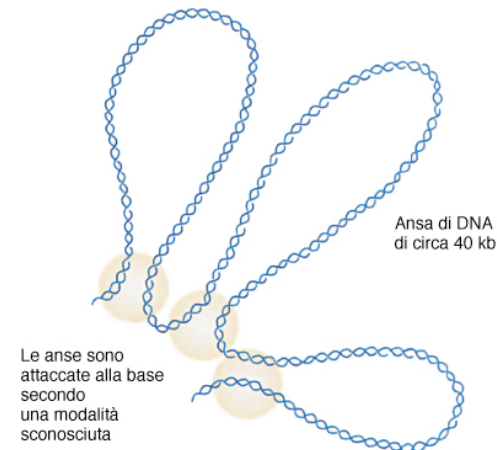
**Figura 2.21**

Cromosoma rilasciato da una cellula lisata di *E. coli*.



**Figura 2.24**

Modello della struttura di un cromosoma batterico. Il cromosoma è organizzato in domini ad ansa, le cui basi sono ancorate secondo una modalità sconosciuta.

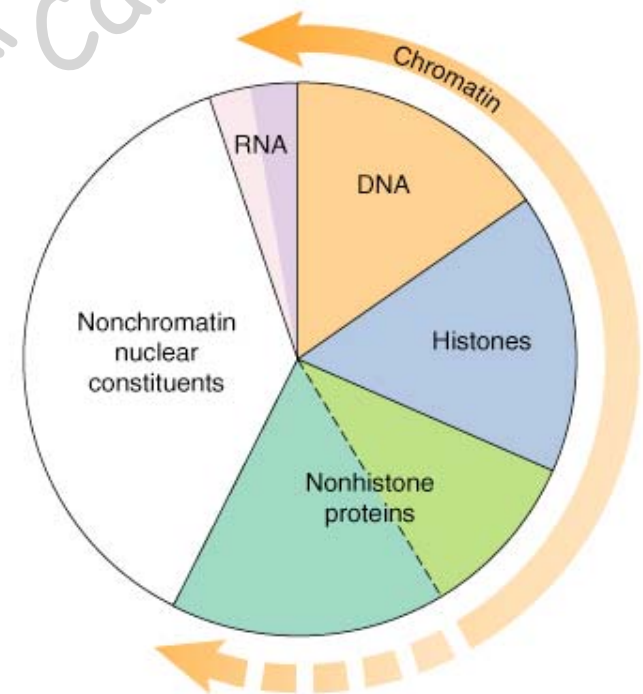


# Organizzazione del cromosoma eucariotico

Fattore di impacchettamento: la lunghezza del DNA decondensato diviso la lunghezza del DNA condensato.

Il più corto cromosoma umano:  $4.6 \times 10^7$  pb (circa 10 volte il genoma di *E. coli*), ovvero ca. 14.000  $\mu\text{m}$  di lunghezza lineare. Nel suo stato condensato (cromosoma mitotico), la sua lunghezza è circa 2  $\mu\text{m}$ .

Fattore di impacchettamento: 7.000 (14.000:2), ma per i cromosomi più lunghi si può arrivare a oltre 10.000.



Copyright 2000 John Wiley and Sons, Inc.

# Il DNA cromosomico

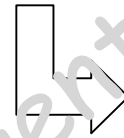


(questa cellula di *Drosophila* è da un maschio o una femmina?)

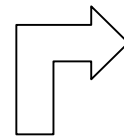
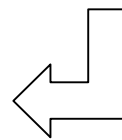
# Il DNA cromosomico



*E. coli*



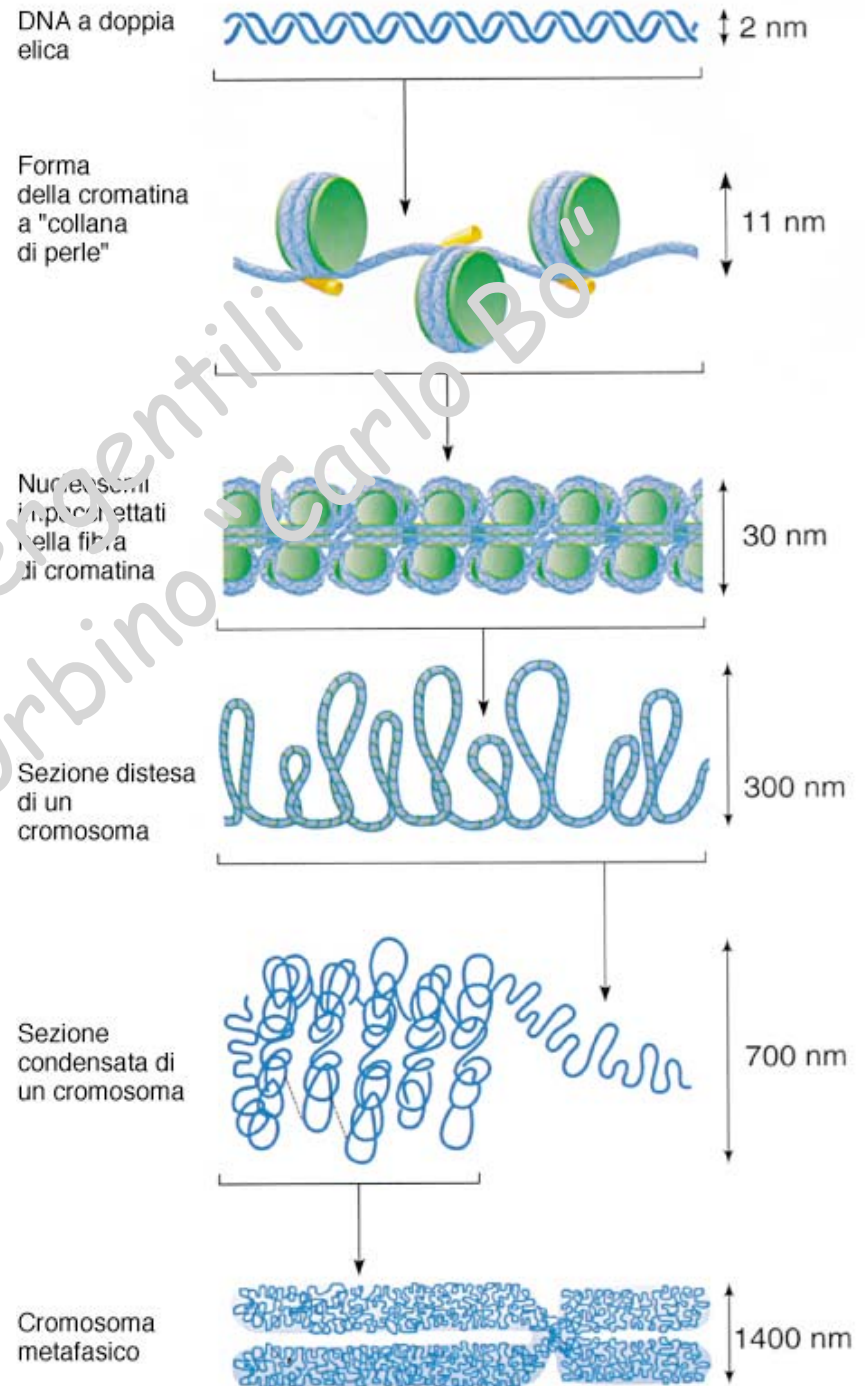
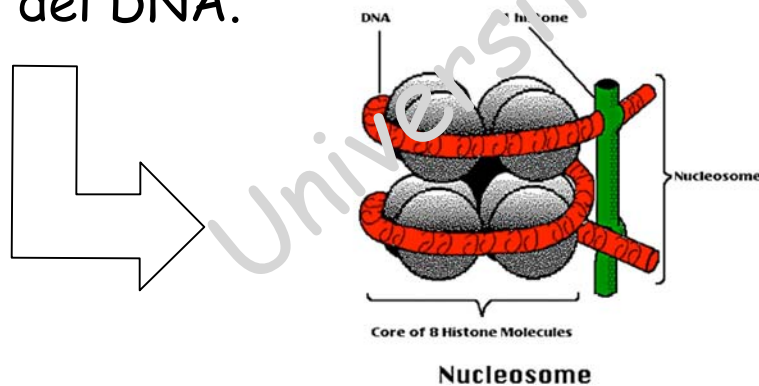
cromosoma  
zucariotico



fago T2

# Impaccamento della cromatina

Fattori di impacchettamento così elevati nei cromosomi eucariotici si ottengono grazie a una rigida successione di strutture proteiche altamente organizzate sulle quali si avvolge la doppia elica del DNA.

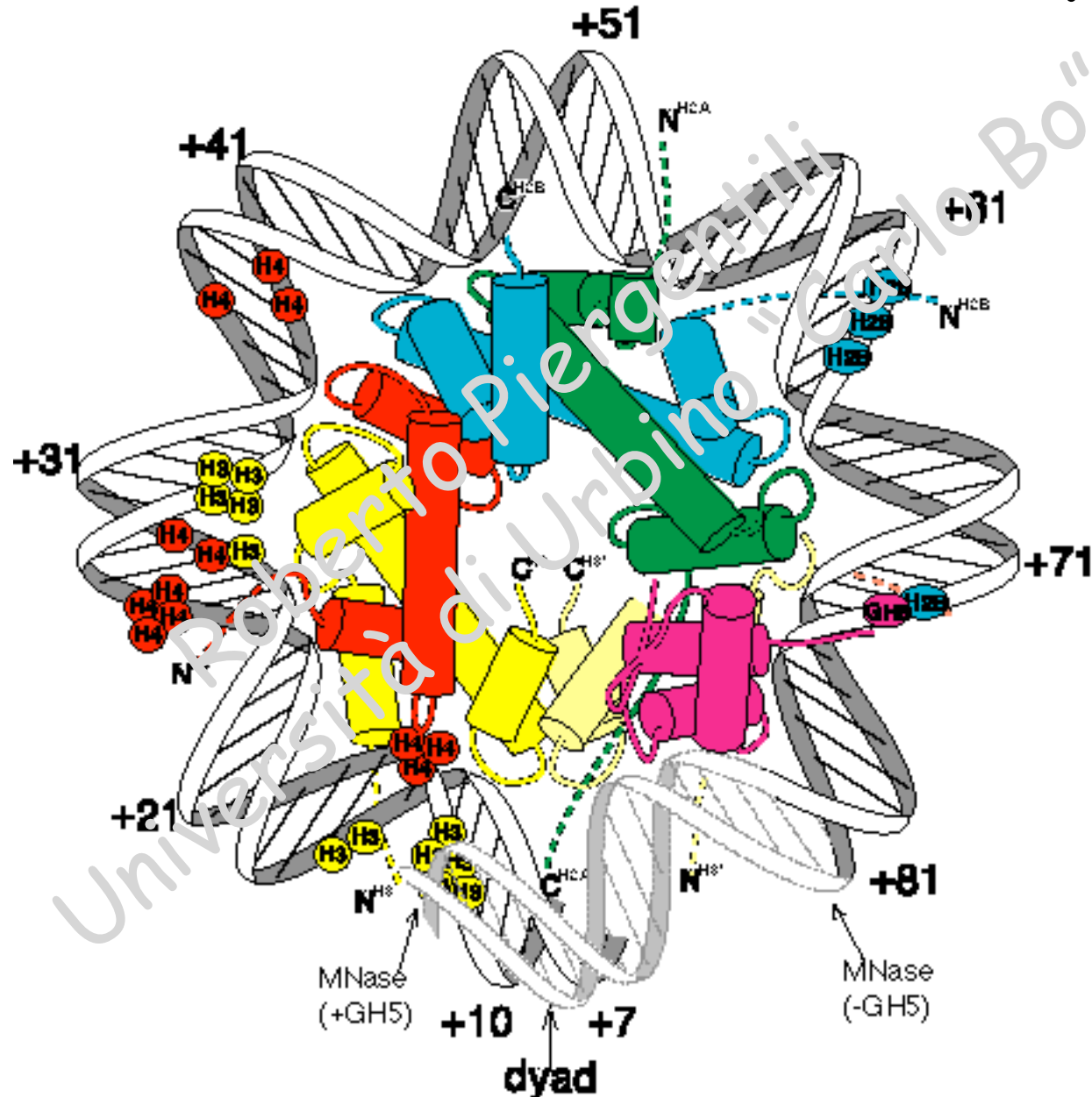




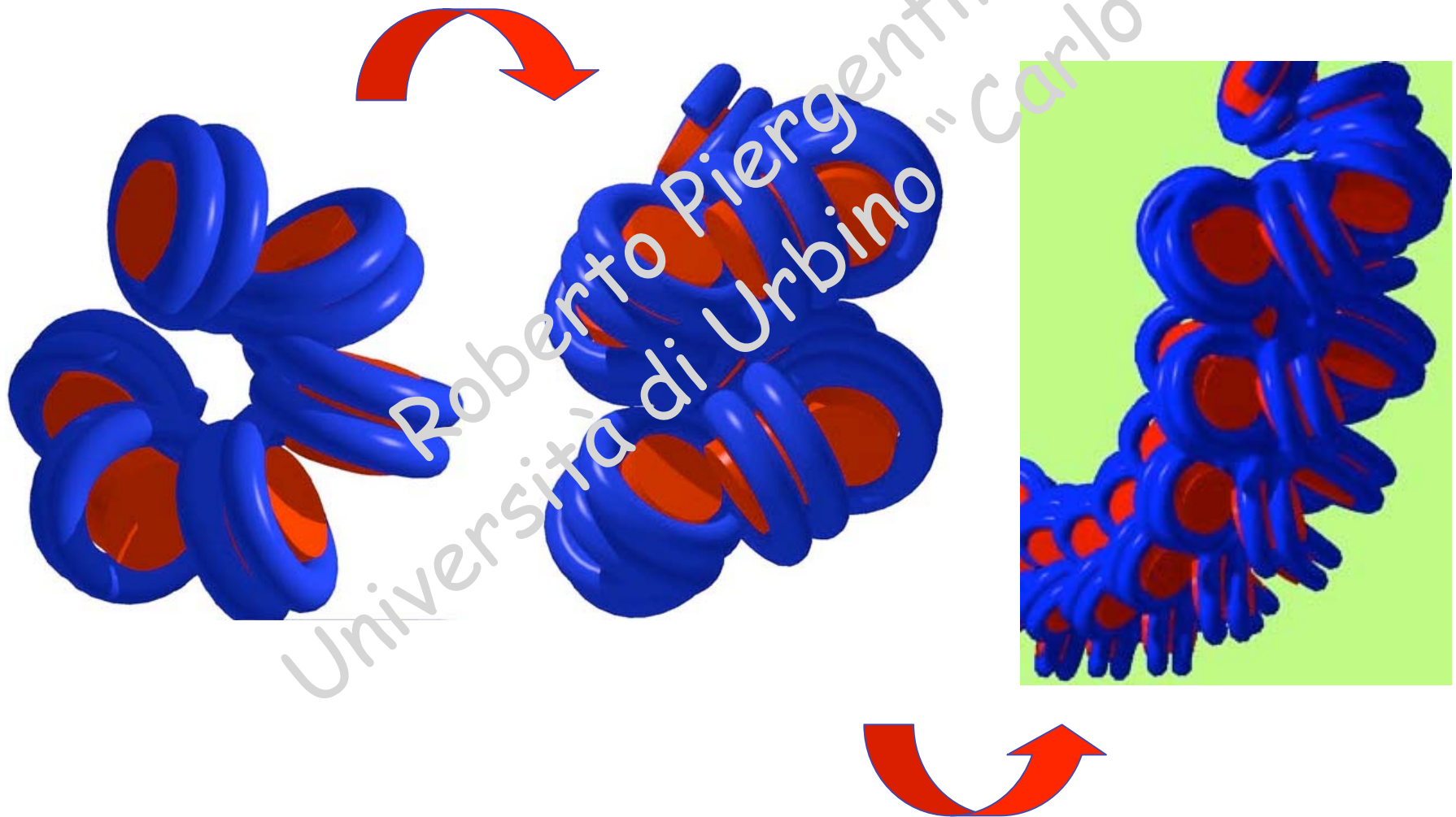
# Gli istoni

- Gli istoni sono proteine **basiche** che legano il DNA (**acido**) e rappresentano il primo ed il secondo livello di impaccamento del DNA.
- Il **nucleosoma** è composto da un ottamero di istoni (H2A, H2B, H3 ed H4, due volte) attorno a cui il DNA si avvolge per circa due giri (circa 140 pb) in una struttura detta *a collana di perle*. Fattore di impaccamento: 6.
- I nucleosomi si avvolgono su loro stessi in una struttura ad elica detta **fibra 30nm** grazie all'intervento dell'istone H1. Fattore di impaccamento: 40.
- Le fibre sono organizzate in strutture superiori (**scaffold**) comprendenti anse di DNA tenute in posizione da varie proteine (basiche e non). Fattore di impacchettamento: 1.000 per cromosomi interfasici, 10.000 per cromosomi mitotici.

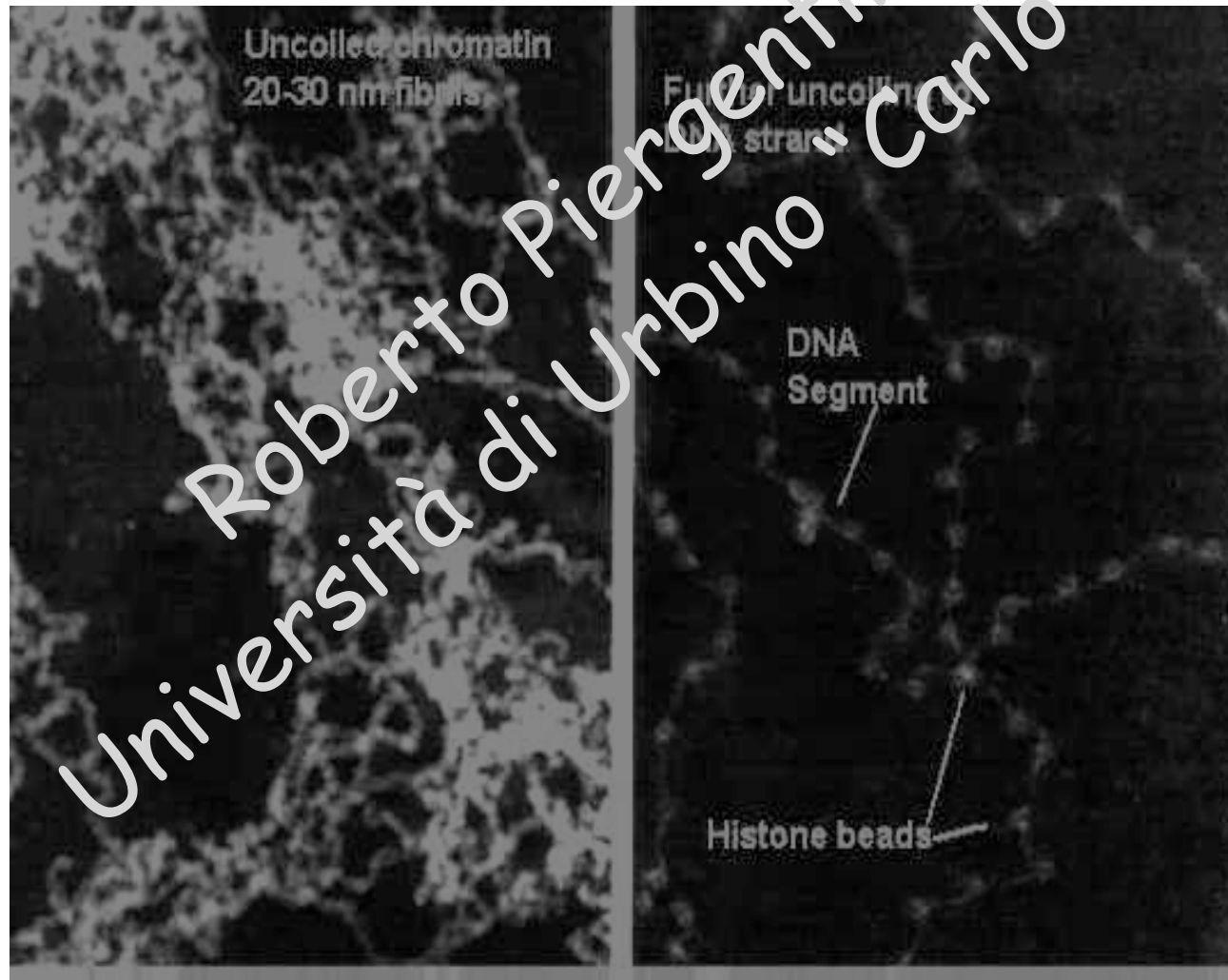
# Struttura del nucleosoma



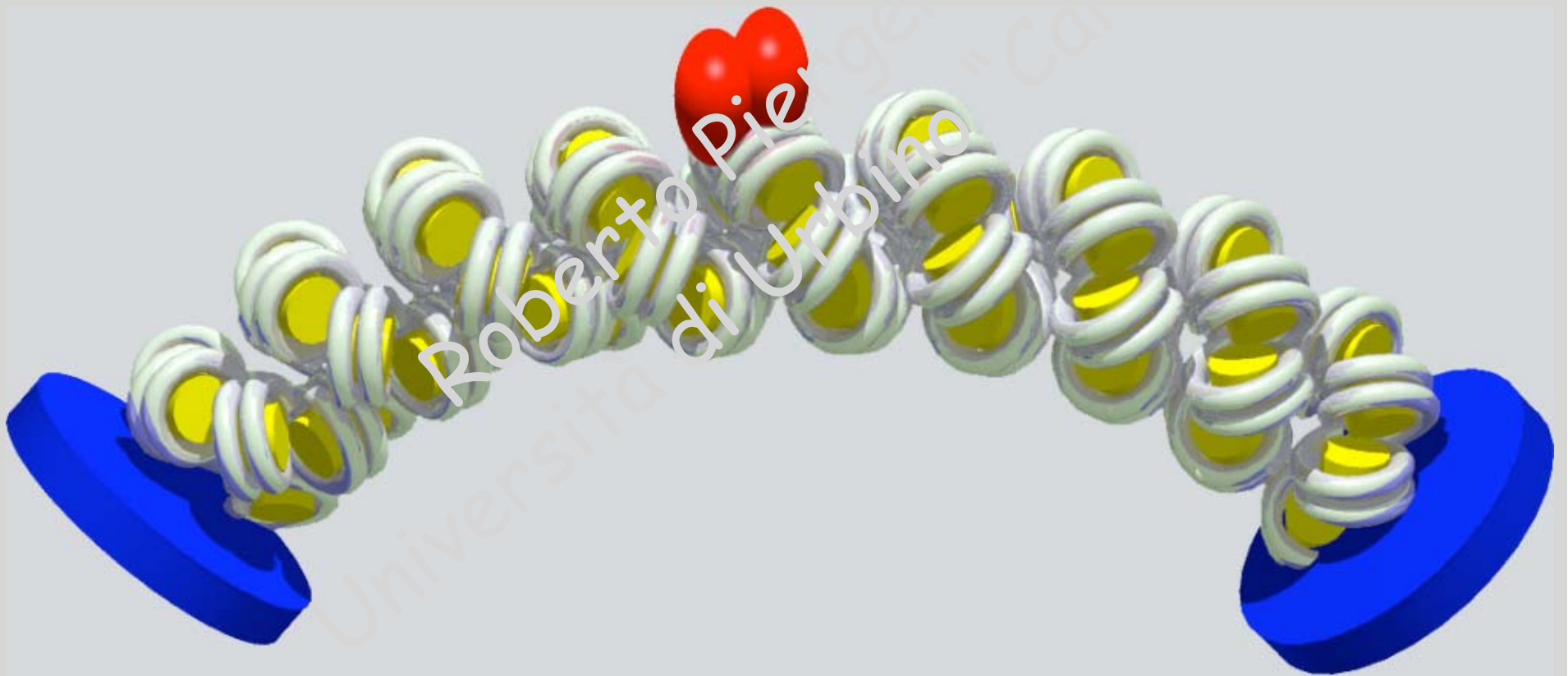
# Fasi successive di impaccamento



# Le fibre di DNA al microscopio elettronico a trasmissione



# Interazioni DNA-proteine



# Il cariotipo

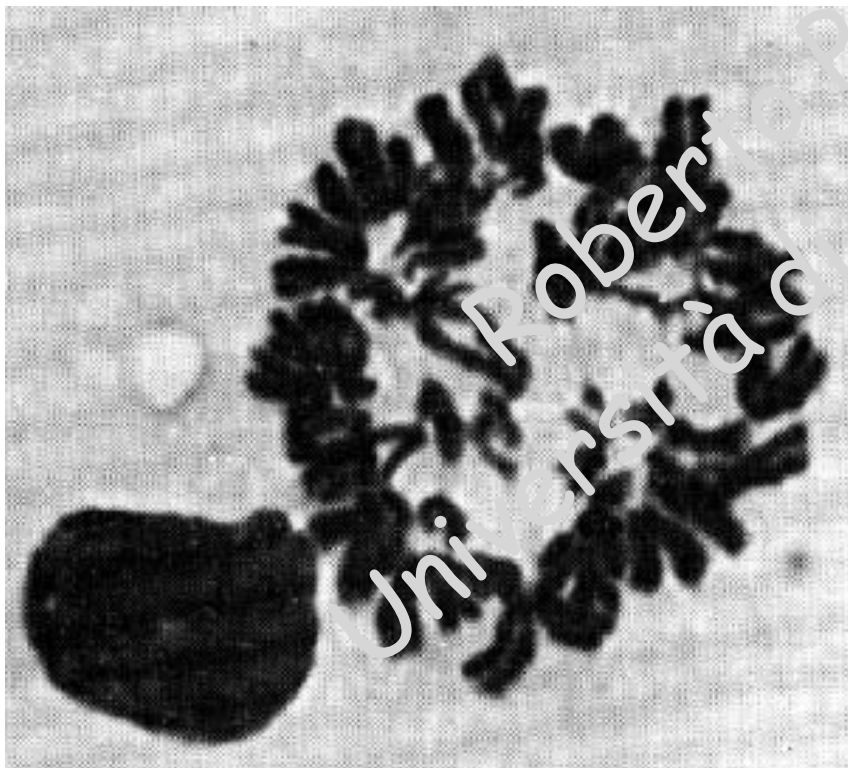
Il cariotipo è la caratterizzazione a livello cromosomico di una cellula. In altre parole, sapere il cariotipo di una cellula (e quindi dell'organismo cui appartiene) consiste nel sapere il numero di cromosomi che compongono quella cellula e la forma di ogni cromosoma. Per cariotipo si intende anche un'analisi citologica eseguita per identificare nell'uomo eventuali anomalie cromosomiche, sia numeriche (quali trisomie, monosomie), che strutturali (traslocazioni, delezioni, duplicazioni ed inversioni). L'analisi non è banale, e per molti anni non si è saputo di preciso quanti cromosomi contenesse una cellula umana!

# Storia della citogenetica

- 1882: W. Flemming ottiene immagini di cromosomi (cromatina).
- 1888: Waldeyer conia il termine *cromosoma*.
- 1900: Riscoperta delle leggi di Mendel. Sutton e Boveri ipotizzano la teoria cromosomica dell'eredità.
- 1923: Painter illustra la determinazione X-Y del sesso nell'uomo.

# Storia della citogenetica

1950 - Studi su sezioni di testicoli (cariotipo umano: 48 cromosomi).



1952 - Soluzione ipotonica (T.C.Hsu) (ancora 48 cromosomi).

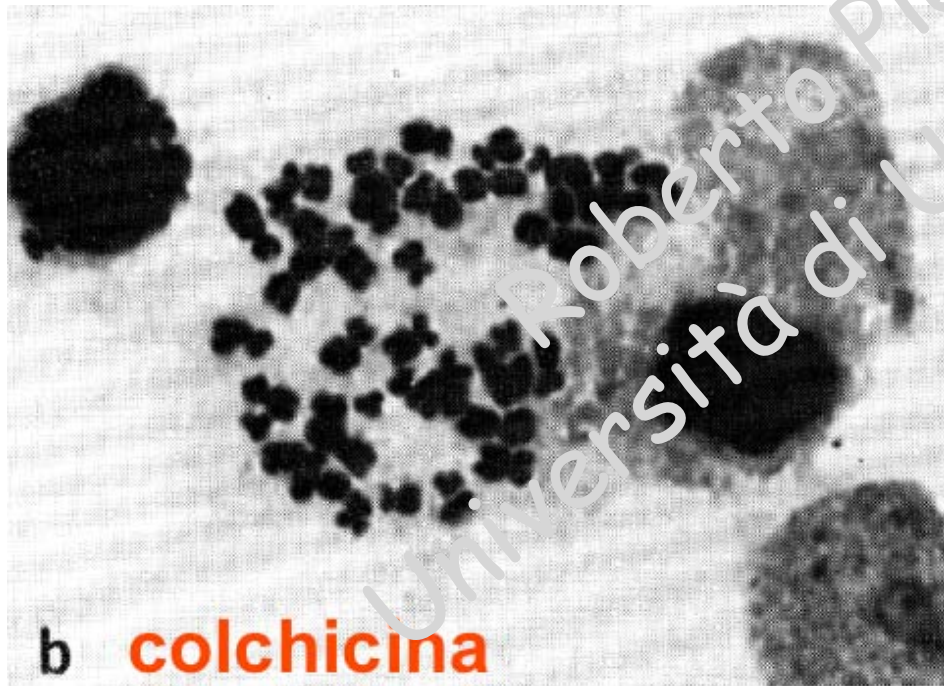




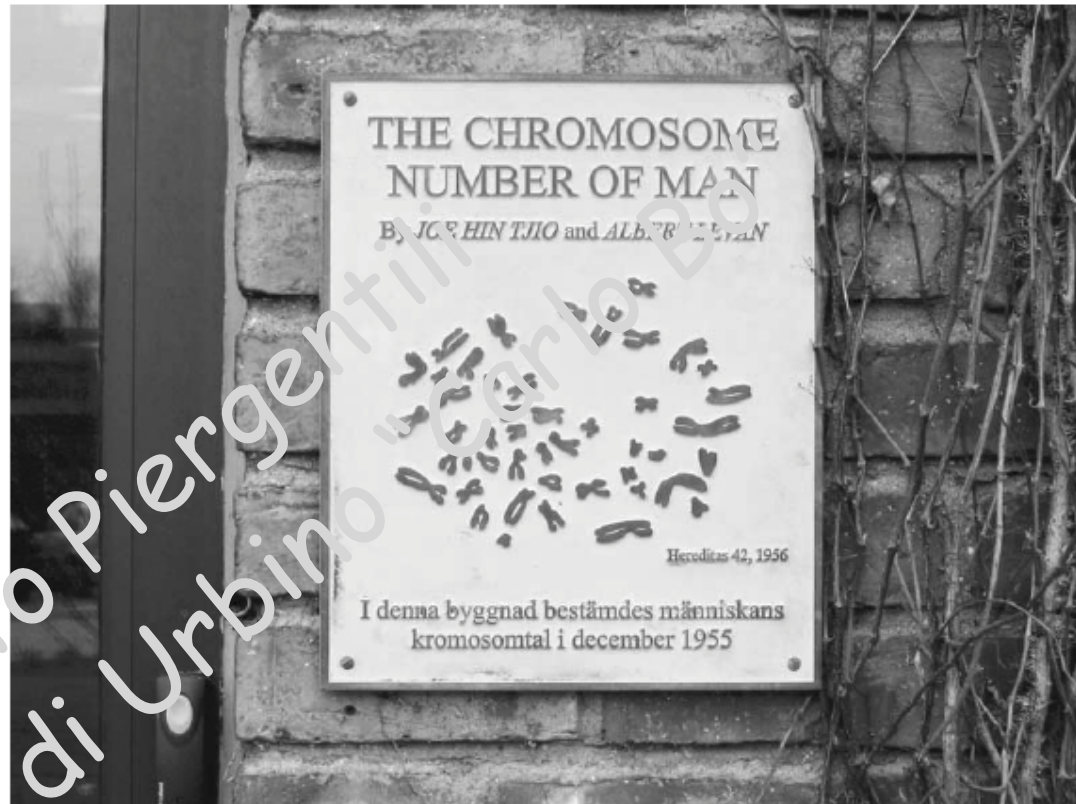
# Storia della citogenetica

1955 - Ford e Hamerton: uso della colchicina.

1956 - Tijo e Levan: uso della colchicina e dell'ipotonica; l'uomo possiede 46 cromosomi!

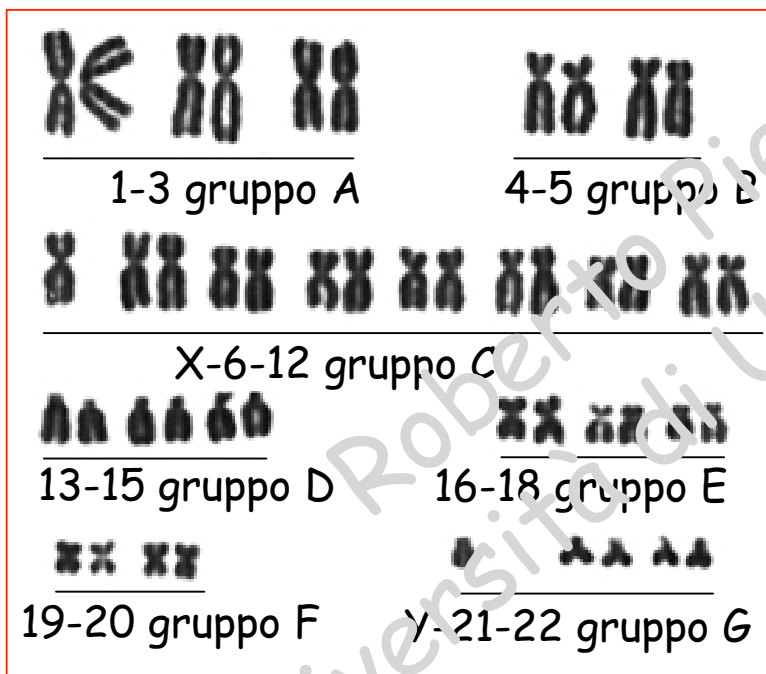


# Storia della citogenetica

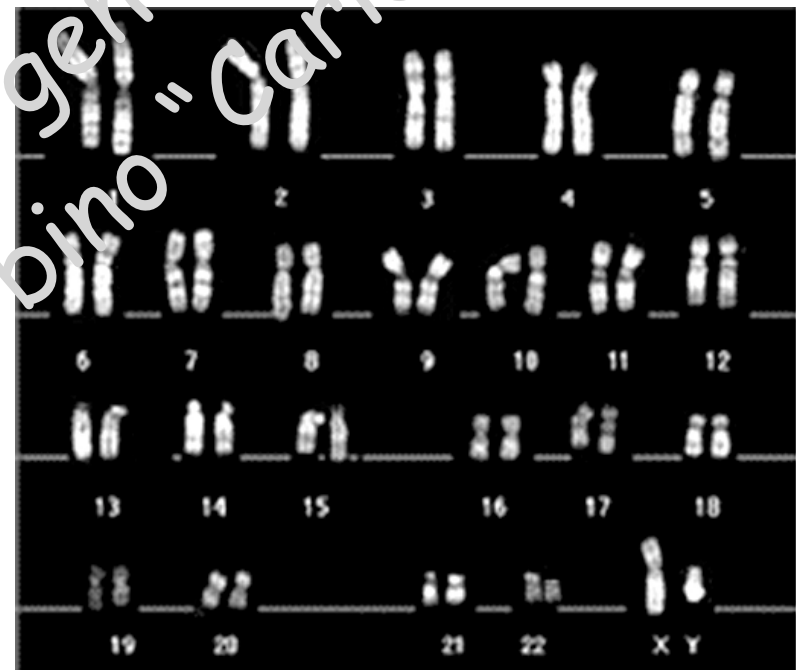


**Fig. 4.** The copper plate commemorating the establishment of the correct chromosome number of man. The title, the names of the authors and the metaphase are authentic replicates of the original paper. The Swedish text says in translation: “The chromosome number of man was determined in this building in December 1955.” The plate was uncovered on Karin Levan’s 100th birthday, March 8th, 2003. The current author had not had access to the “logbook” of the laboratory when the plate was designed. In retrospect it had probably been more appropriate to have a text saying: The chromosome number of man was determined in this building. The results were published in the first half of 1956.

# Cariotipi umani a confronto

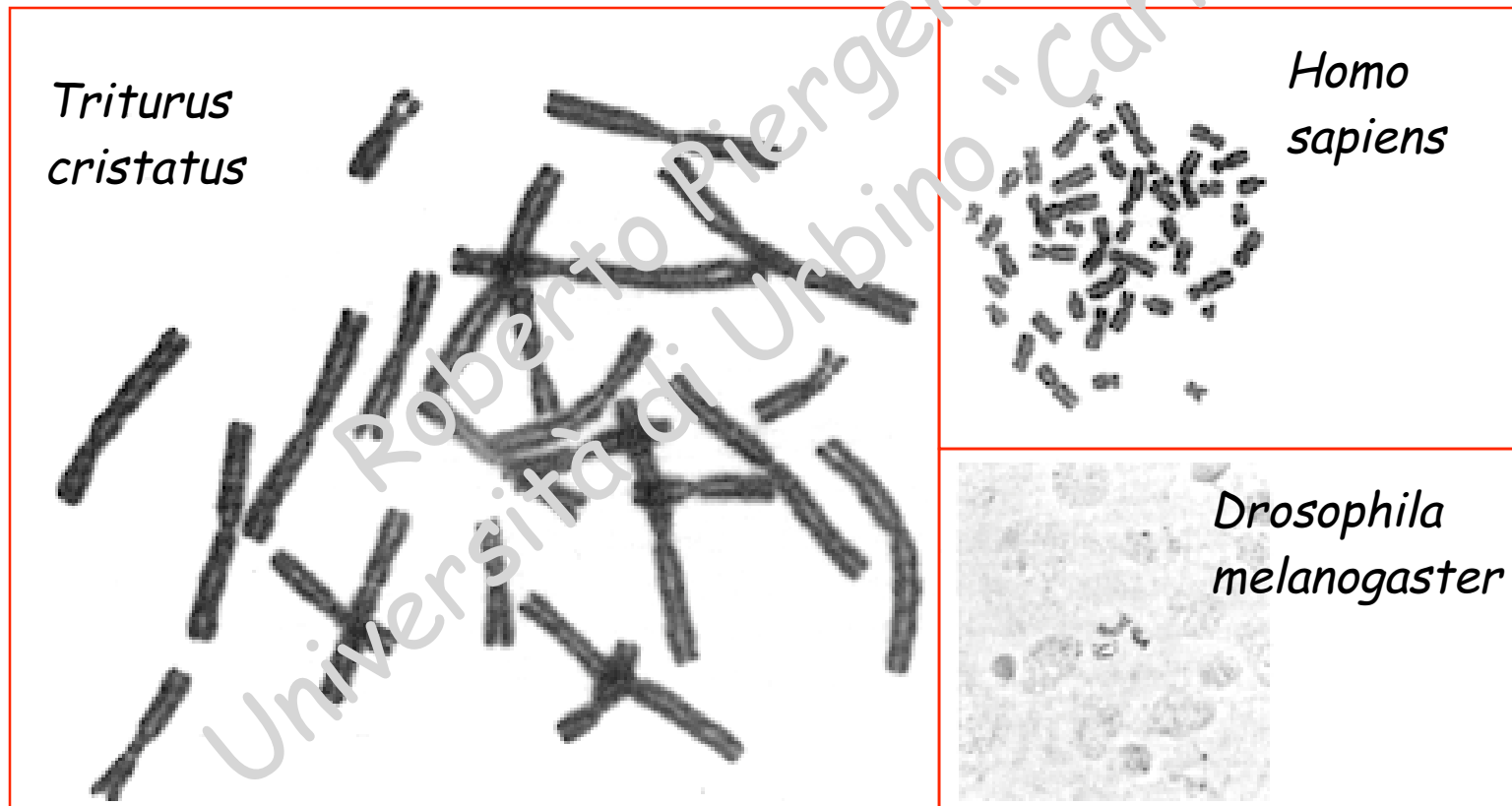


Denver 1966: l'uomo possiede ufficialmente 46 cromosomi organizzati in 7 gruppi.



QM Caspersenn 1972

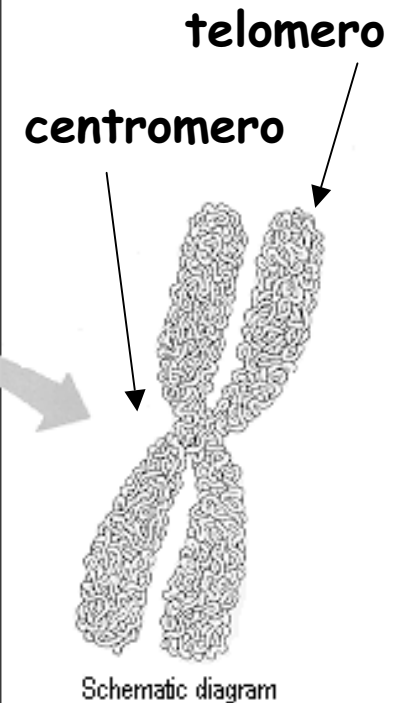
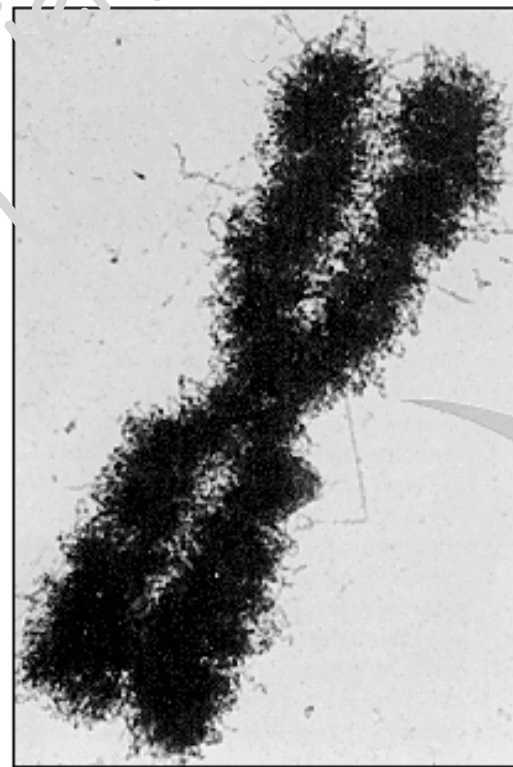
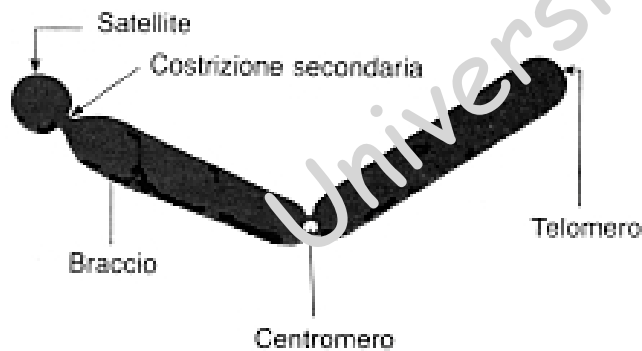
# Parametri per il cariotipo (1): le dimensioni dei cromosomi



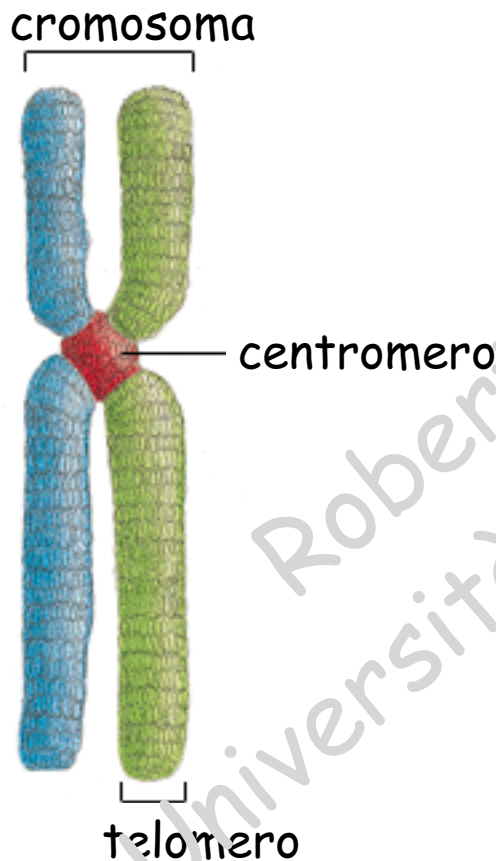
30μM

# Parametri per il cariotipo (2): la forma dei cromosomi

Facilmente riconoscibili in ogni cromosoma eucariotico in mitosi sono i bracci, il centromero e i telomeri.



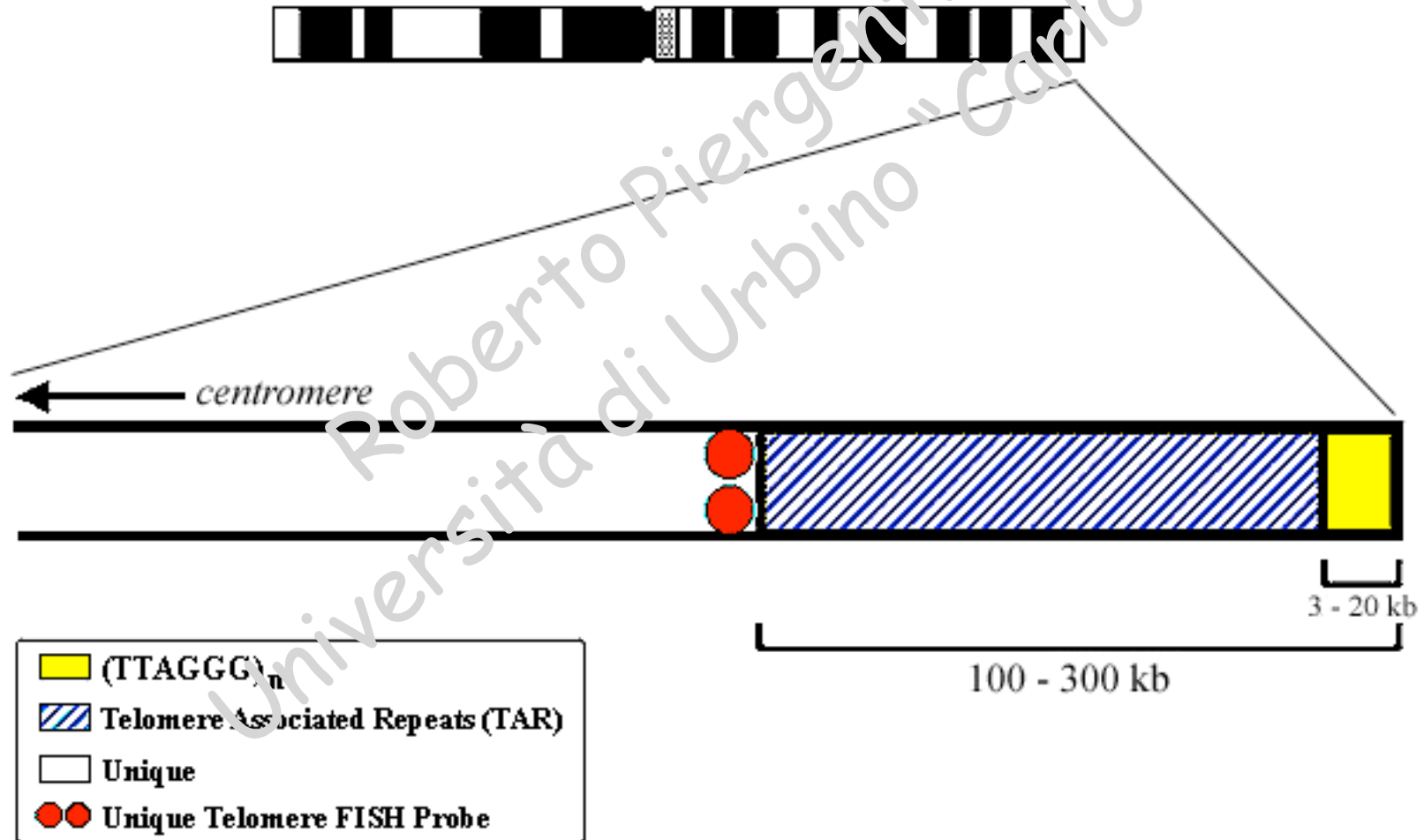
# Centromero e telomero



Sul **centromero** si forma una struttura nucleo-proteica detta **cinetocore** che serve per l'attacco ai fusi mitotico e meiotico.

I **telomeri** garantiscono la replicazione delle sequenze distali del cromosoma e impediscono l'appiccicosità delle porzioni terminali.

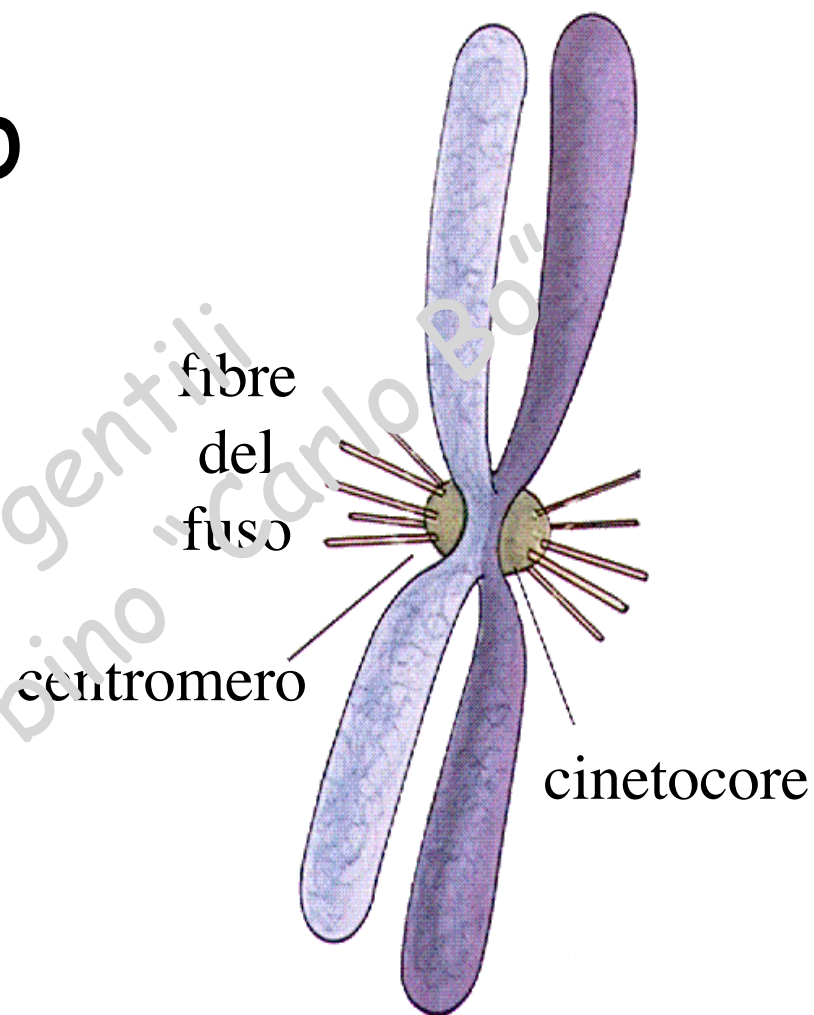
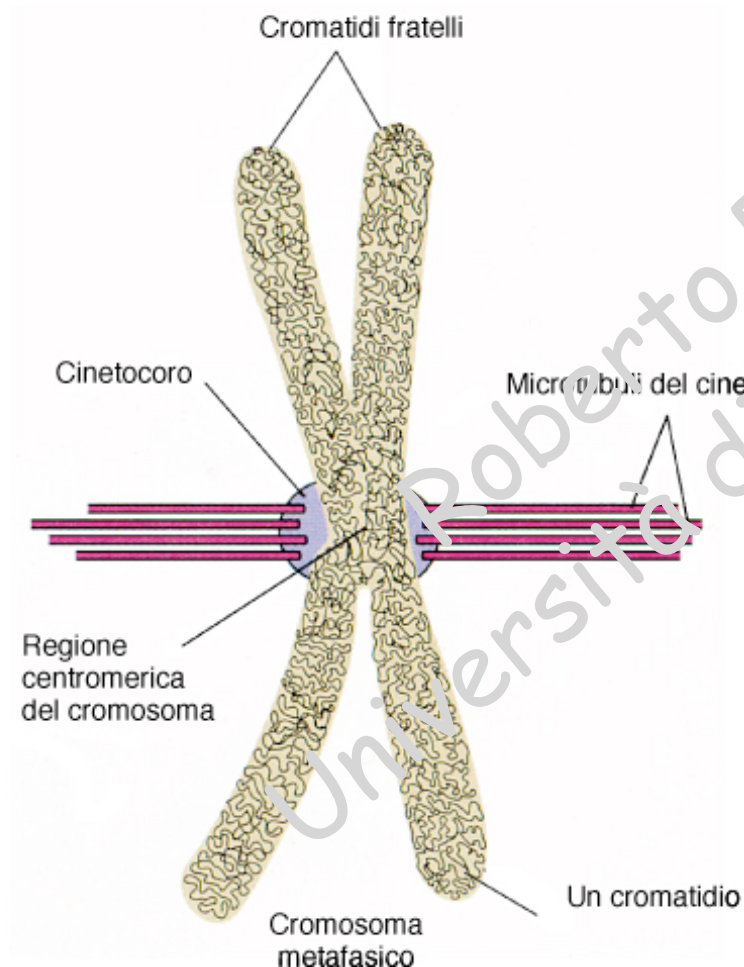
# Il telomero



# Il centromero

Figura 1.17

Cinetocori e microtubuli del cinetocoro.

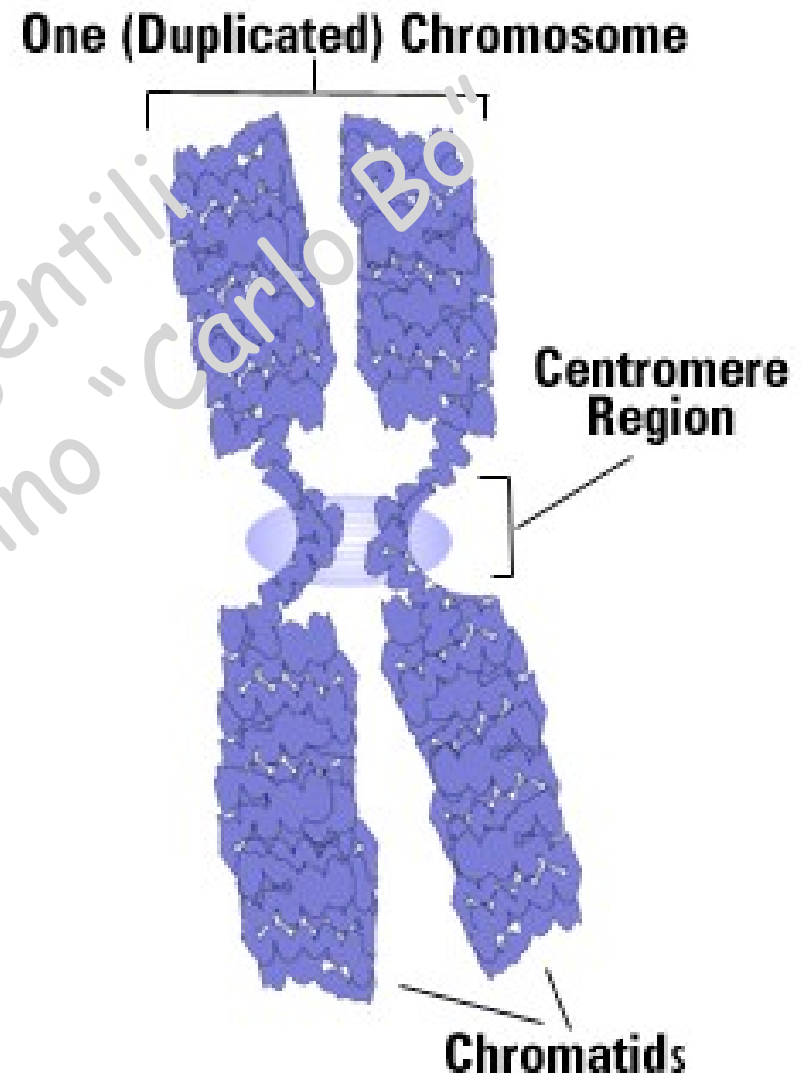


Le proteine del cinetocore fanno da ponte tra il DNA centromerico e le fibre del fuso ( $\alpha$  e  $\beta$  tubulina).

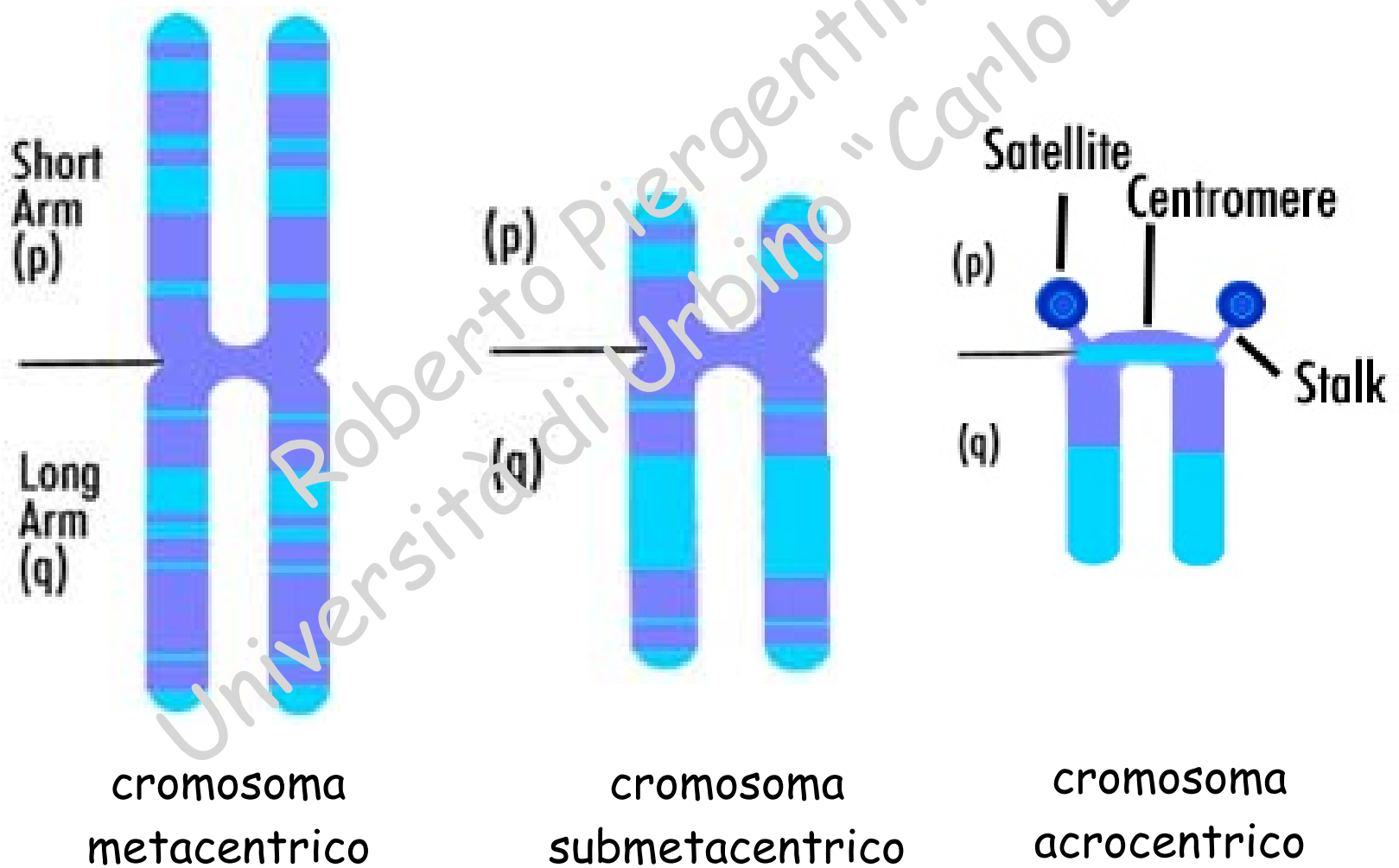


# Il centromero in metafase

Il centromero viene anche detto **costrizione primaria**; è presente in tutti i cromosomi eucariotici come **funzione**, e nella maggior parte di essi si presenta come una strozzatura in un punto fisso di un determinato cromosoma. La strozzatura è dovuta al fatto che il centromero replica tardivamente e quindi condensa anche in ritardo rispetto al resto del cromosoma.



# La posizione del centromero come elemento per il cariotipo

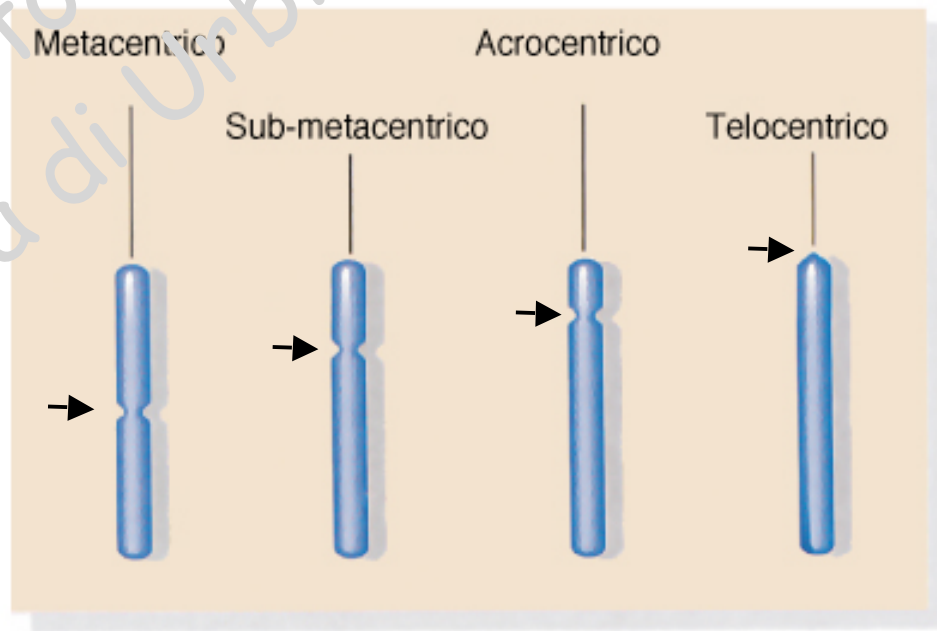


# Classificazione secondo la posizione del centromero

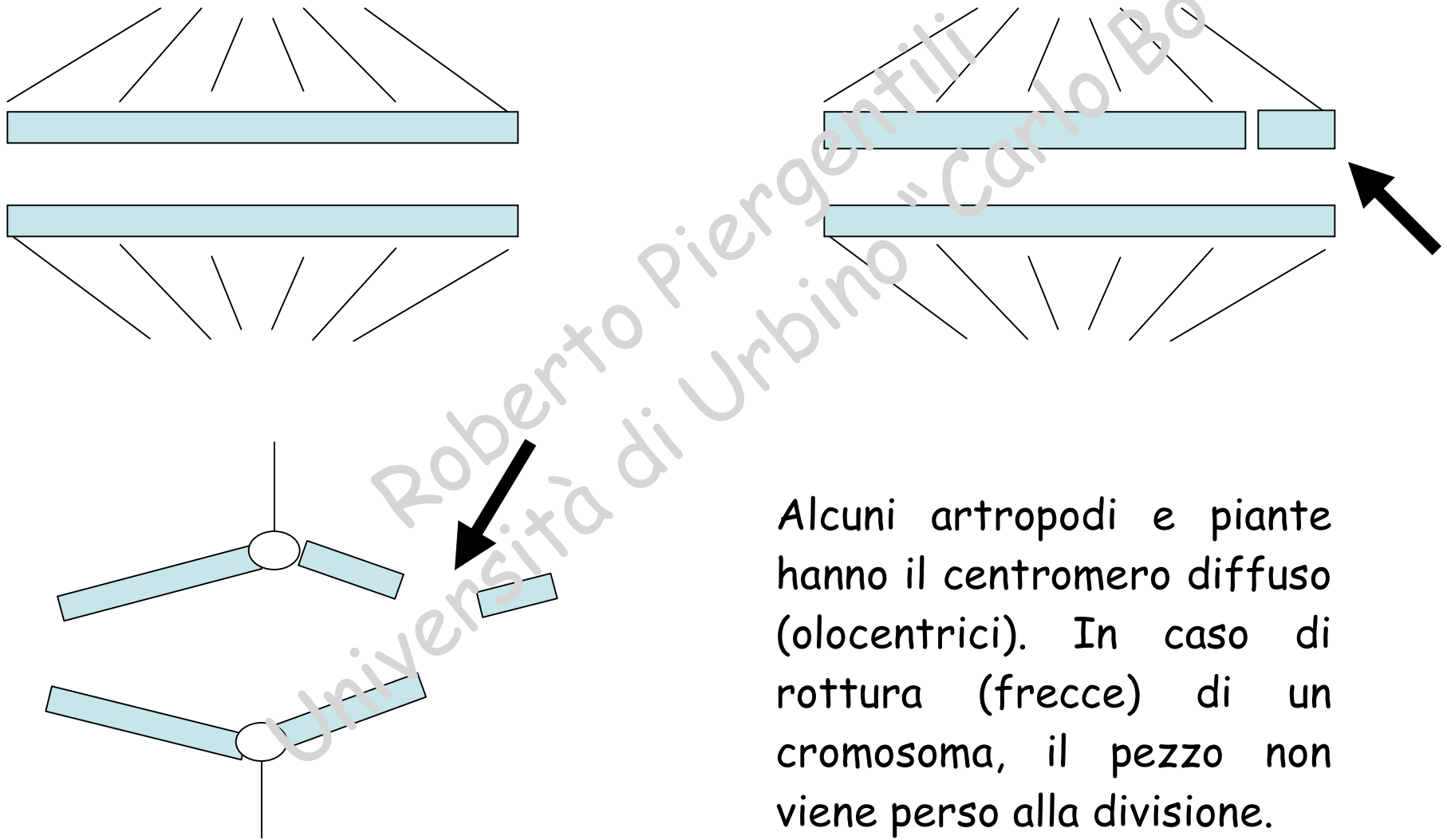
**Figura 1.12**

Classificazione generale dei cromosomi eucarioti in meta-centrici, sub-metacentrici, acrocentrici e telocentrici basata sulla posizione del centromero.

La posizione del centromero è specifica per ogni cromosoma e può essere utilizzata, insieme alla grandezza del cromosoma, per riconoscere gli omologhi in metafase.



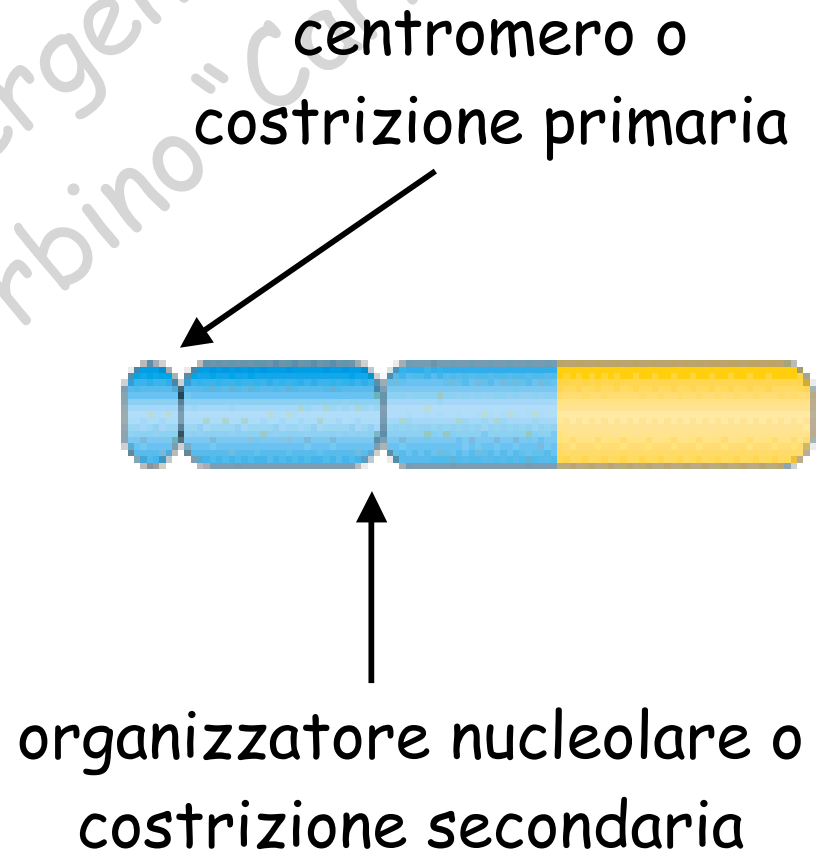
# I cromosomi olocentrici



Alcuni artropodi e piante hanno il centromero diffuso (olocentrici). In caso di rottura (freccie) di un cromosoma, il pezzo non viene perso alla divisione.

# Altri elementi di riconoscimento

L'organizzatore nucleolare, sede della sintesi di rRNA, tende a replicare per ultimo, e quindi anche a condensare per ultimo. Il risultato è la formazione di una costrizione secondaria, anche questa utile ai fini del cariotipo. Solo alcuni cromosomi hanno l'organizzatore nucleolare, quindi anch'esso può essere utile per il cariotipo.



# Terminologia

**46,XX - cariotipo normale Femminile**

**46,XY - cariotipo normale Maschile**

Questo modo di scrivere ci dà due informazioni:

- numero totale dei cromosomi (46);
- sesso dell'organismo.

**47,XY,+21**

**Maschio (XY) con 47 cromosomi (invece di 46) ed un cromosoma 21 in più (in questo caso, sindrome di Down).**

46,XX,del(14)(q23)

del=delezione

46,XY,dup(14)(q22q25)

dup= duplicazione

46,XX,r(7)(p22q36)

r=ring (cromosoma ad anello)

# Metodi di colorazione differenziale: il bandeggio cromosomico

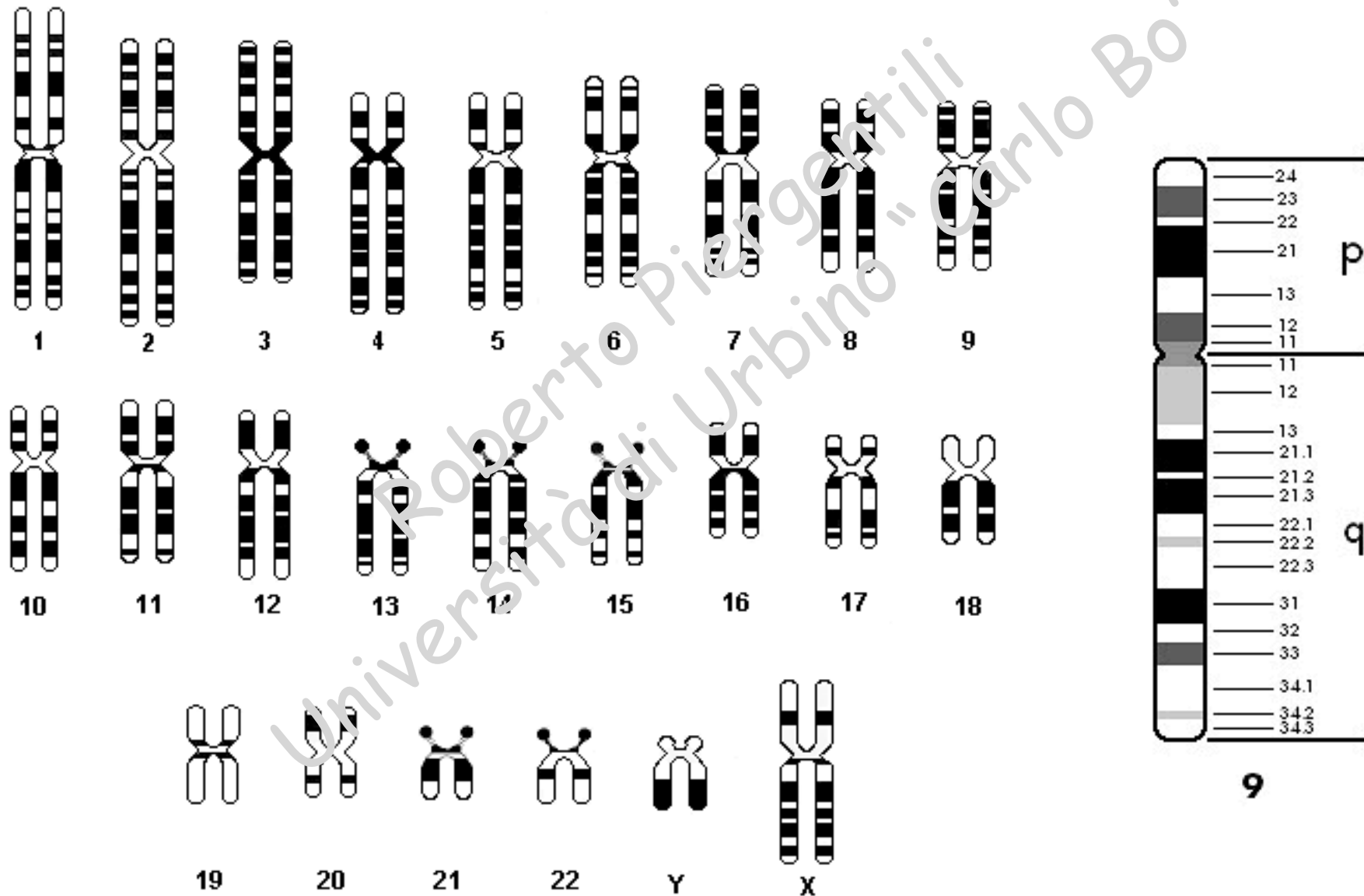
Nonostante i progressi in citogenetica, fino alla fine degli anni '60 era quasi impossibile fare un cariotipo che mettesse insieme i cromosomi omologhi con precisione a causa della somiglianza strutturale di alcune coppie di omologhi. Furono quindi sviluppate, un po' per caso e un po' per bravura, delle tecniche che permettessero di colorare una regione specifica di uno o più cromosomi, creando un'alternanza di bande chiare e scure lungo l'asse del cromosoma, specifica per ogni coppia di omologhi.

# Tecniche di bandeggio

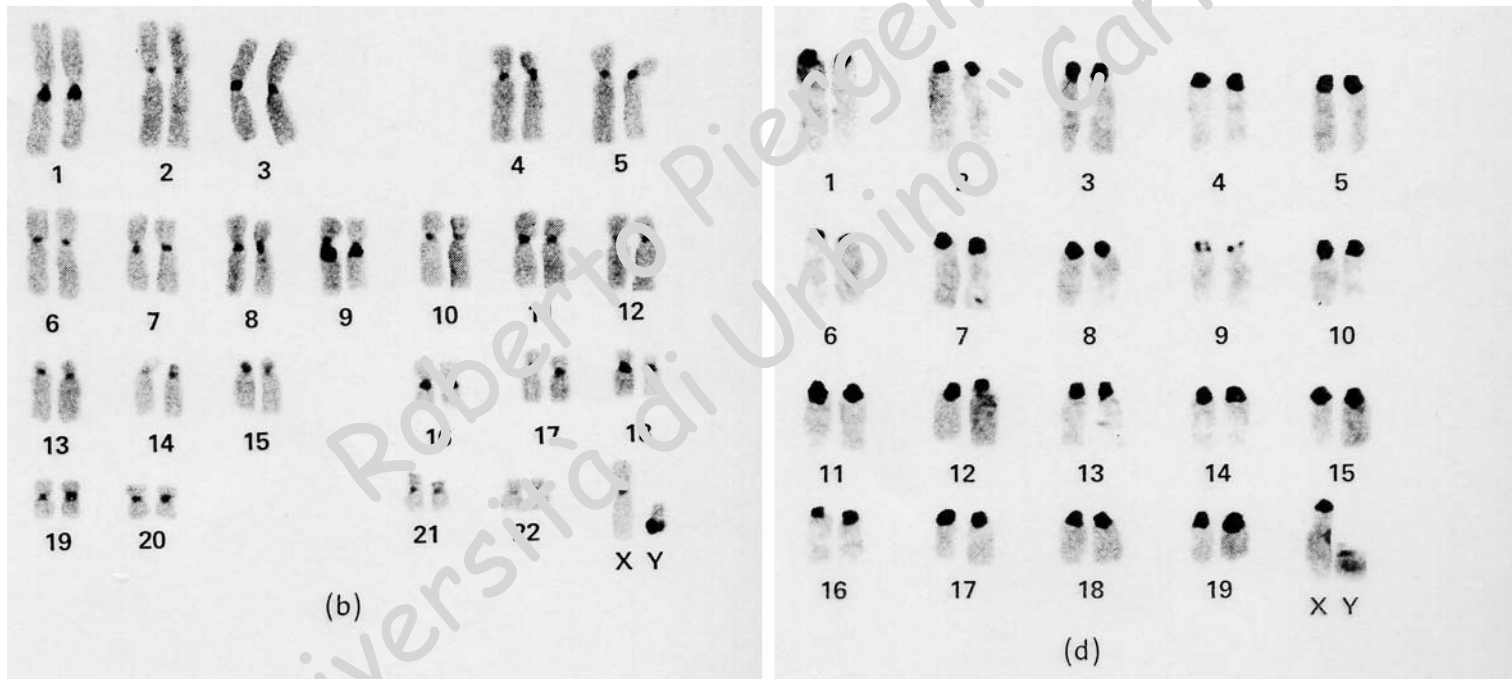
- **bande Q:** i cromosomi colorati con mostarda di Quinacrina, e osservati in fluorescenza, mostrano delle bande trasversali fluorescenti parallele, la cui disposizione è caratteristica per ciascun cromosoma;
- **bande C:** queste bande vengono siglate da *Constitutive*, e si possono ottenere per denaturazione con una soluzione di urea riscaldata a 87°C; colorano prevalentemente i centromeri e l'eterocromatina;
- **bande G:** le tecniche impiegate per ottenerle richiedono la colorazione con Giemsa; i cromosomi vengono trattati a temperatura ambiente con una soluzione di enzimi (pronasi, tripsina,  $\alpha$ -chimotripsina); le bande ottenute sono simili alle bande Q;
- **bande R:** sono il *Reversal* delle bande Q; si ottengono per denaturazione termica; i vetrini vengono immersi per 10-20 minuti in una soluzione di Earle a pH 6,5 riscaldata a 87°C.



# I risultati del bandeggio cromosomico



# C-Bande ed eterocromatina centromerica



UOMO

TOPO

# Eucromatina ed eterocromatina

La cromatina si distingue in:

eucromatina

eterocromatina

facoltativa

costitutiva

Roberto Piergentili  
Università di Urbino "Carlo Bo"

# L'eterocromatina

## COSTITUTIVA

- DNA satellite;
- C-bande positiva;
- Sempre *late-replicating*;
- "Mai" trascritta;
- Assenza di *crossing over*;
- *Appiccicosa* e soggetta ad appaiamento ectopico;
- Può concorrere al "silenzimento" dei geni;
- Localizzazione pericentromerica e peritelomerica.
- Bassa densità di geni

## FACOLTATIVA

- Qualsiasi tipo di DNA;
- Solitamente C-bande negativa;
- *Late replicating*;
- Non trascritta;
- presenza di *crossing over*;
- Nessun comportamento particolare;
- Silenzia i geni sul cromosoma X umano e sugli autosomi;
- Limitata a specifiche linee cellulari.
- Alta densità di geni

# Eucromatina ed eterocromatina

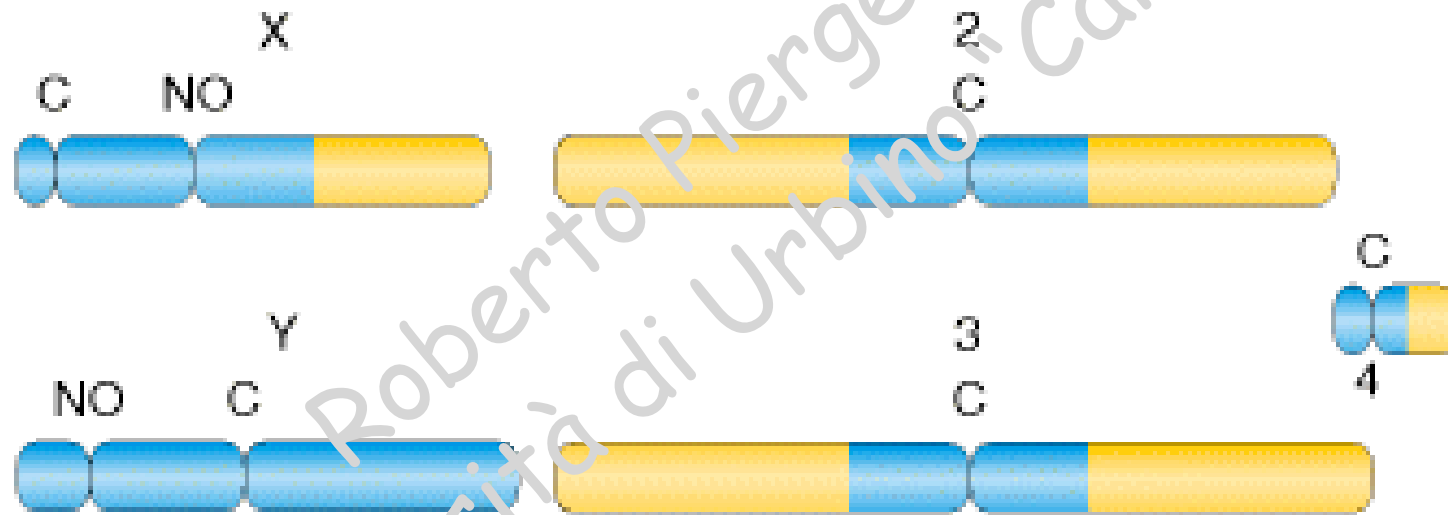
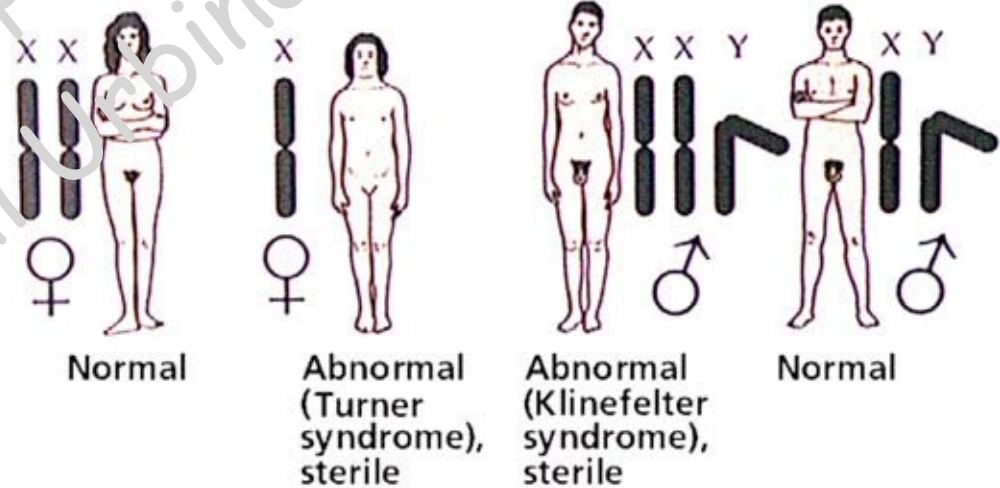
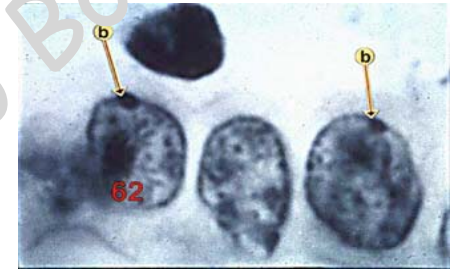
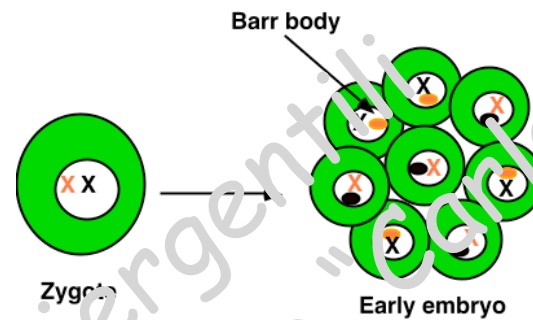
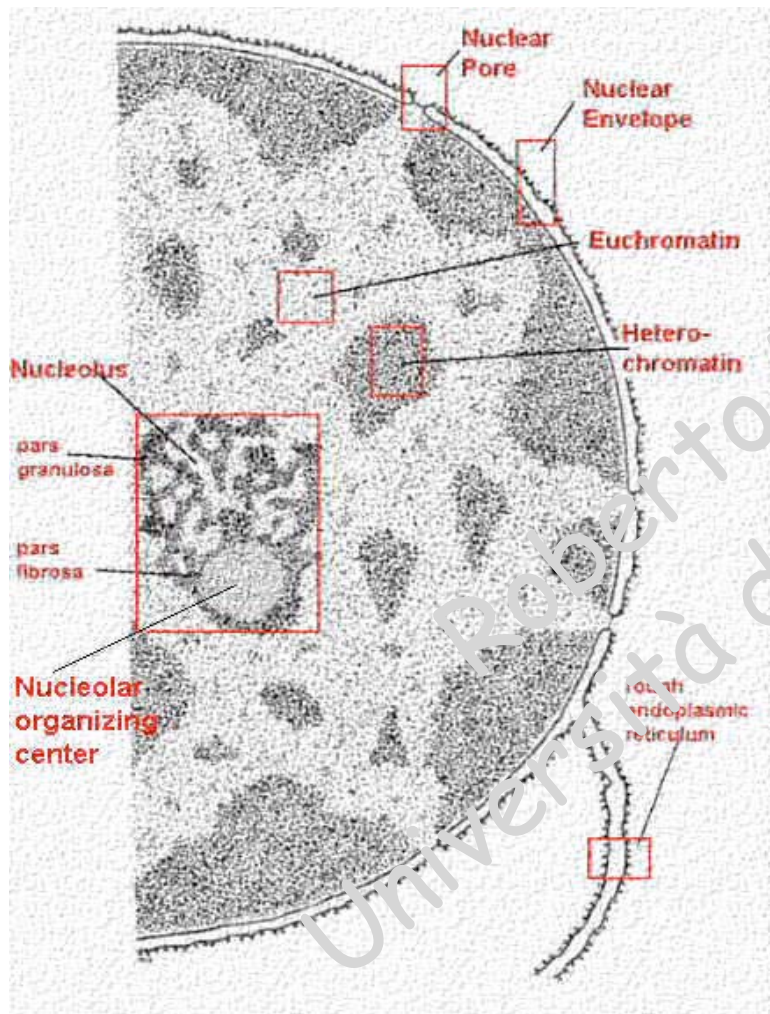


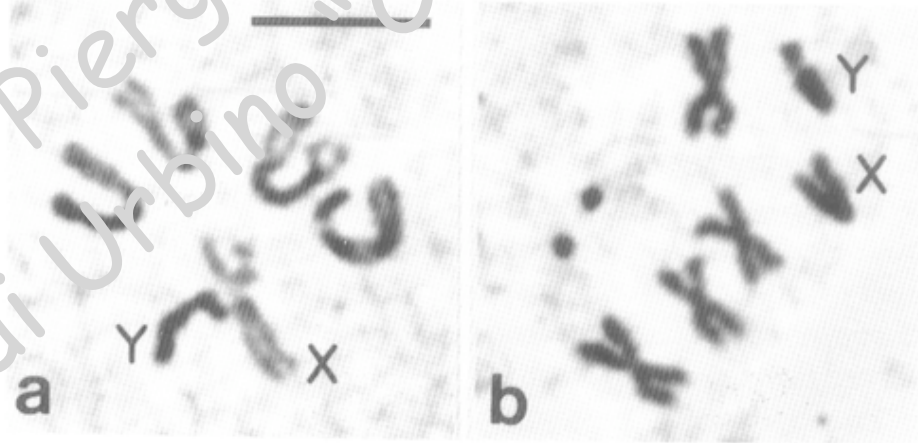
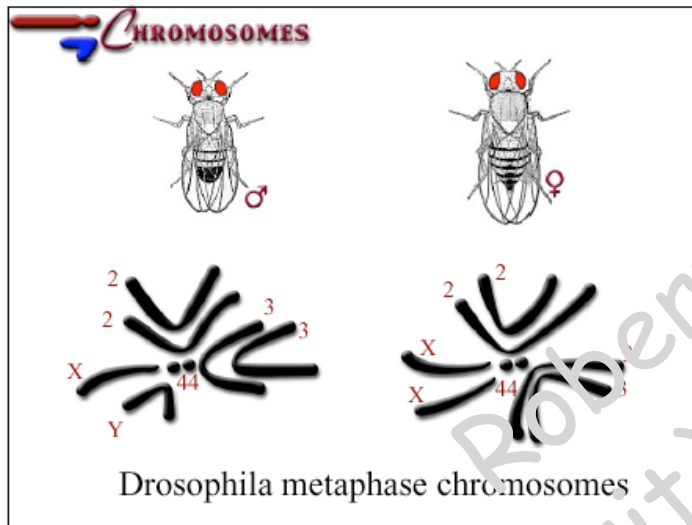
Diagramma dei cromosomi di *Drosophila melanogaster*; l'eterocromatina **costitutiva** è indicata in blu, l'eucromatina in giallo.

# Eucromatina ed eterocromatina



Il corpo di Barr è un esempio di eterocromatina facoltativa.

# Un caso particolare di cromosomi

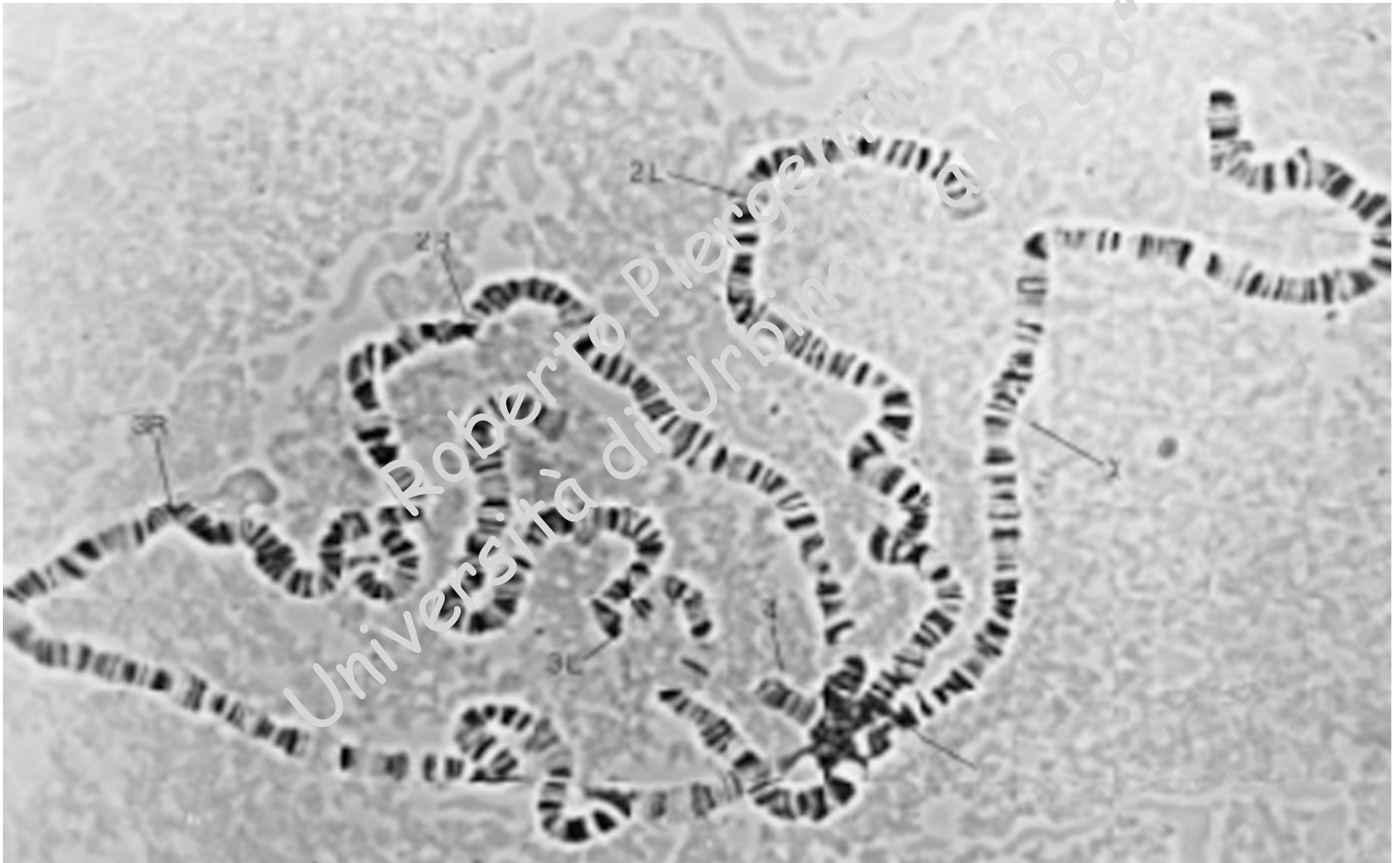


Senza colchicina

Con colchicina

Le metafasi di tipo selvatico (*wild type*) di *D. melanogaster*.

# I cromosomi politenici di *D. melanogaster*



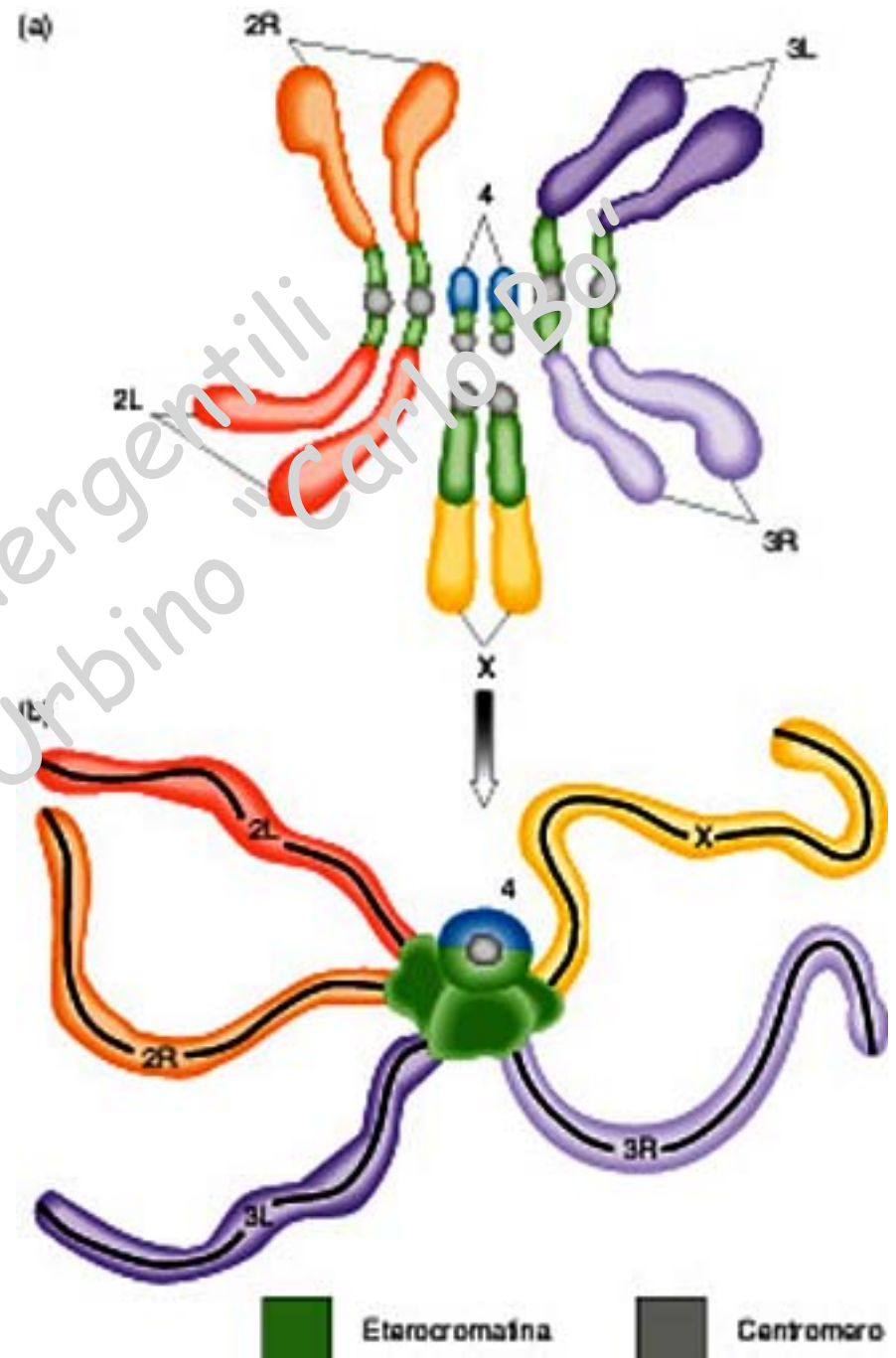


# Caratteristiche dei cromosomi politenici

I cromosomi **politenici** sono cromosomi giganti che si trovano nelle ghiandole salivari, nell'intestino e nei tessuti adiposi dei ditteri.

- Sono stati osservati per la prima volta da Balbiani (1881);
- sono cromosomi **endoreduplicati** in quanto prodotti per **endomitosi** (ripetuti cicli di replicazione non seguiti da segregazione);
- sono cromosomi di cellule che sono in **interfase**;
- sono uniti a livello di una regione centrale detta **cromocentro** (costituita da eterocromatina costitutiva, contenente quindi tutti i centromeri e, nei maschi, anche il cromosoma Y);
- gli omologhi sono appaiati per tutta la loro lunghezza;
- presentano un bandeggio naturale!

# Origine dei cromosomi politenici



# Dimensioni relative di cromosomi politenici e mitotici in *D. melanogaster*

