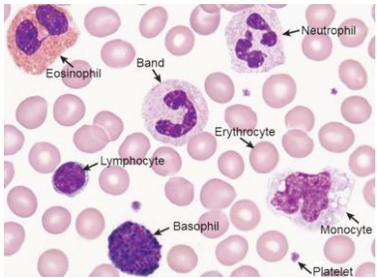


CITOGENETICA

Colorazione e studio dei cromosomi

anomalie cromosomiche ↔ particolari patologie

PASSO 1
Si preleva un campione di sangue.



PASSO 2
Si centrifuga per separare le cellule dal siero.

PASSO 3
Si rimuovono i linfociti e si allestisce una coltura in vitro.



PASSO 4
Si stimolano le cellule a dividersi.



PASSO 5
Si blocca il fuso mitotico.



PASSO 6
Si aggiunge soluzione ipotonica per far rigonfiare le cellule.



PASSO 7
Si schiacciano le cellule su un vetrino, si fissano e si colorano.

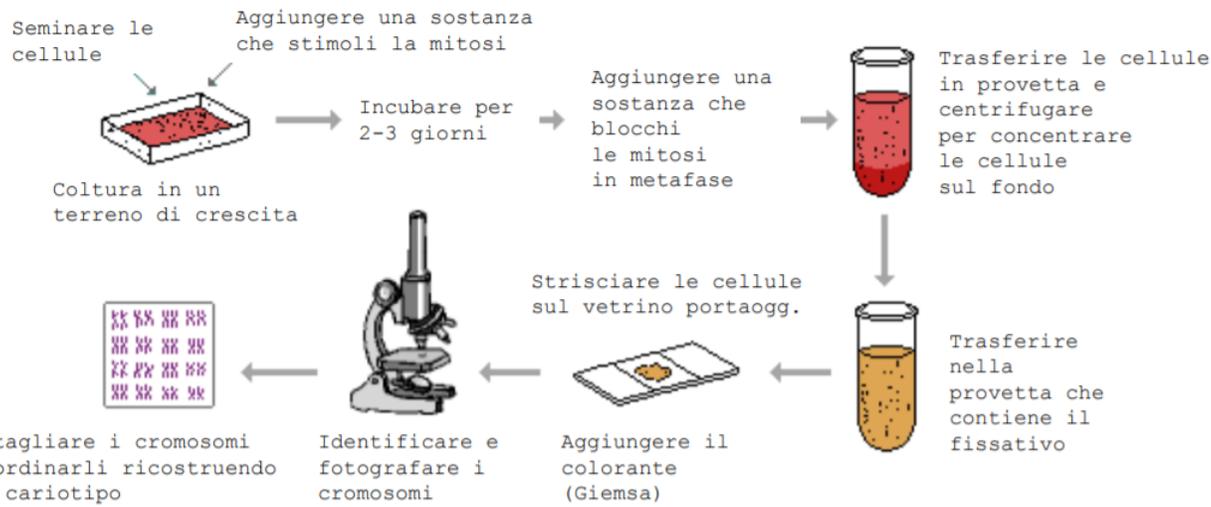
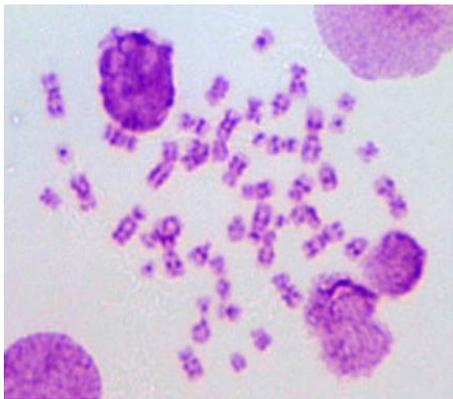
PASSO 8
Si esaminano i cromosomi.



Colorazione con reagente di Feulgen o aceto-carminio

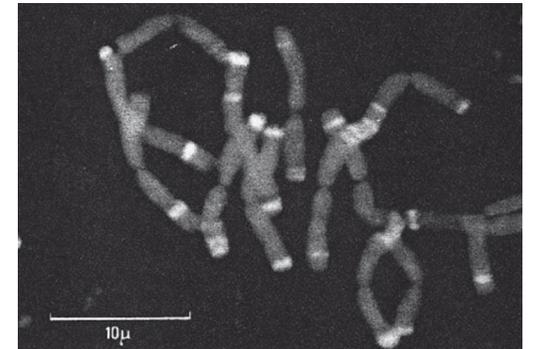
Colorazione uniforme dei cromosomi

Colorazione Giemsa (G banding)



Cromosomi in metafase sottoposti a colorazione con **quinacrina** (fluorescente)

bande chiare e scure





Colorazione di Giemsa

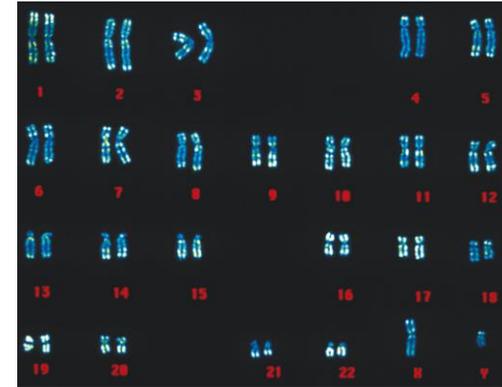
miscela complessa, costituita da

- blu di metilene cloruro,
- blu di metilene eosinato,
- azzurro II eosinato.

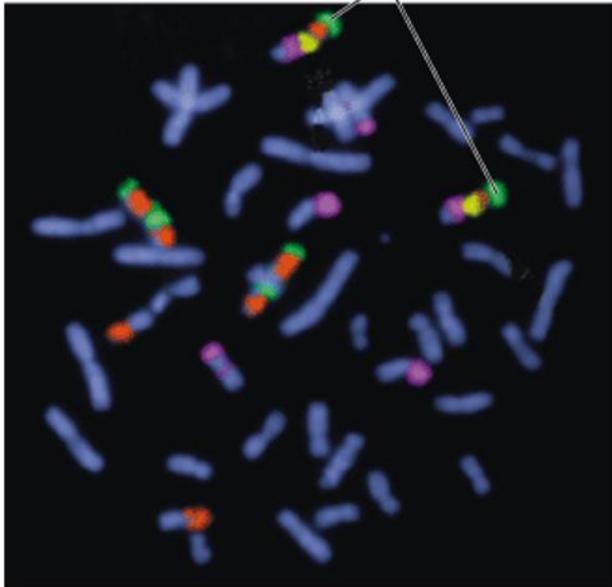
Colorazioni con
Quinacrina e Giemsa



schema di **bande riproducibili**



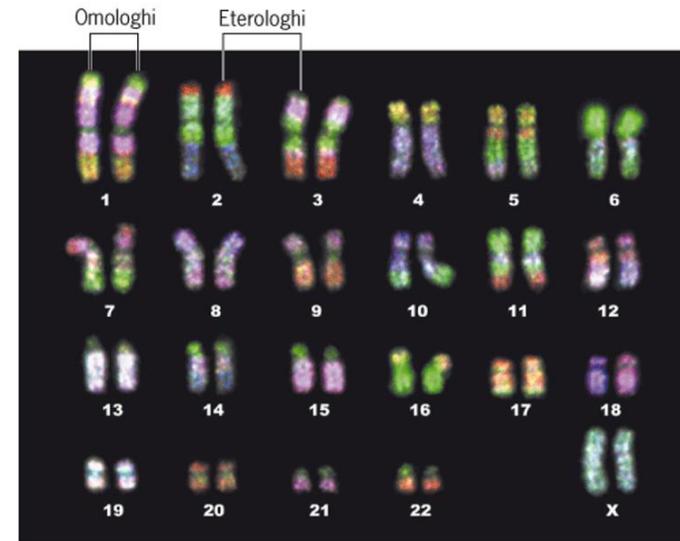
Complementare a tutte
e quattro le sonde



Painting cromosomico

Impiego di frammenti di cromosomi
marcati con sostanze fluorescenti
(*probe* o *sonde*).

Impiego di un **pannello di probe** per evidenziare le
caratteristiche sequenze dei
diversi cromosomi umani.



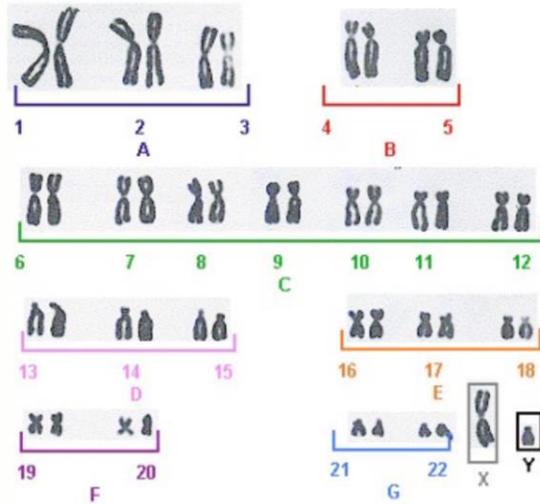
10 µm

Colorazioni → CARIOTIPO UMANO

46 cromosomi

- 44 autosomi
- 2 cromosomi sessuali

↓
XX femmina
XY maschi



I diversi cromosomi in metafase possono essere distinti per

- **dimensione,**
- **forma,**
- **bandeggio.**

I cromosomi autosomici duplicati di un organismo, sistemati secondo un preciso ordine (uomo → divisi in **7 gruppi**: A-G), più i cromosomi sessuali rappresentano il cariotipo.

↓
specie-sepcifico

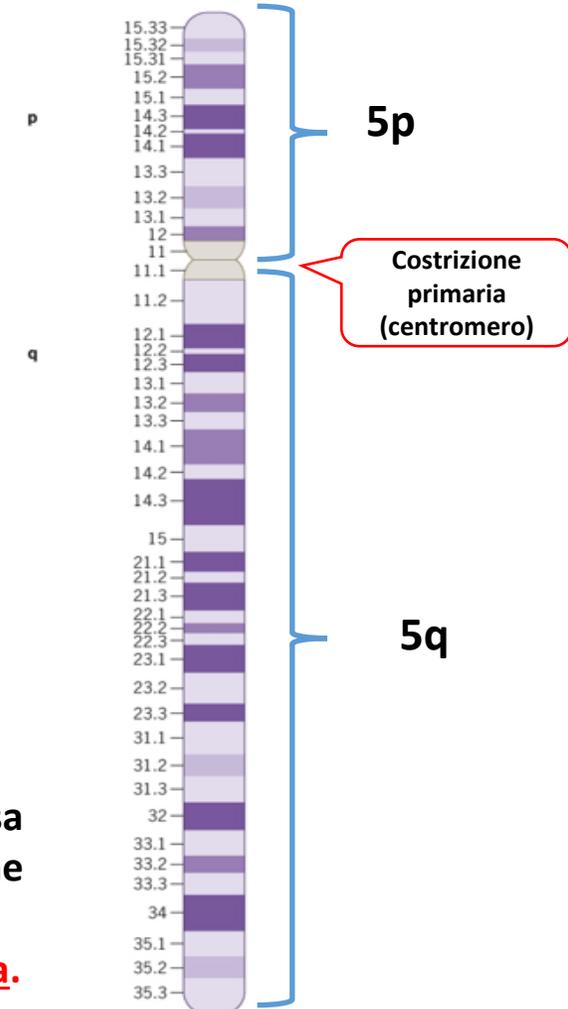
L'esame microscopico dei cromosomi consente di osservare il caratteristico bandeggio e la **posizione del centromero**, da cui ha origine il **braccio corto (p)** ed il **braccio lungo (q)**.

In ogni braccio dei cromosomi, partendo dal centromero, si possono osservare diverse **regioni**, ognuna delle quali è divisa in **bande**.

Banda «*cinque pi uno cinque*»
Cromosoma **cinque** - braccio **p** - regione **uno** - banda **cinque**

Ogni banda (es. 5p15), designata con un numero, è suddivisa in bande più piccole (**sottobande**) indicate da numeri che seguono un punto decimale (15.1, 15.2, 15.31, 15.32, 15.33). L'intero bandeggio del cromosoma viene definito ideogramma.

Cromosoma umano 5



NUMERO DI CROMOSOMI

Mutazioni cromosomiche \neq mutazioni geniche osservabili al microscopio

Cambiamenti nel **numero di cromosomi** (variazione della ploidia) o in **una parte di essi** \rightarrow possibile nuovo fenotipo

EUPLOIDE \rightarrow organismo con assetto completo o normale di cromosomi.

POLIPLOIDE \rightarrow organismo con assetto extra di cromosomi.

ANEUPLOIDE \rightarrow organismo con un cromosoma o un tratto di esso sovra- o sotto-rappresentato: cambiamento parziale del genoma.

Considerato **n** il numero base di cromosomi

Diploide \rightarrow organismo con 2 assetti di cromosomi ($2n$)

Triploide \rightarrow ...

Tetraploide \rightarrow ...

...

La poliploidia consiste in un cambiamento del numero di interi assetti di cromosomi.

squilibrio genetico

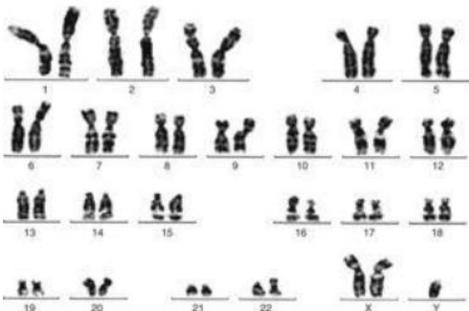
poliploidia \neq aneuploidia

Squilibrio genetico

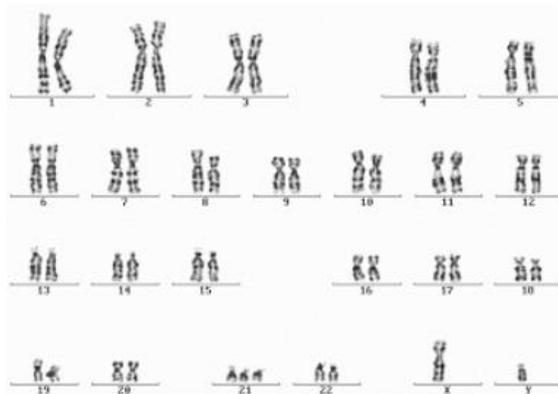
Anche cambiamenti strutturali dei cromosomi (**riarrangiamenti**) possono indurre stati di aneuploidia.

Anomalie nella segregazione

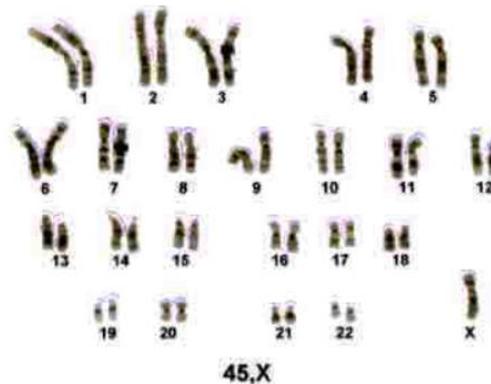
SINDROME DI KLINEFELTER



SINDROME DI DOWN



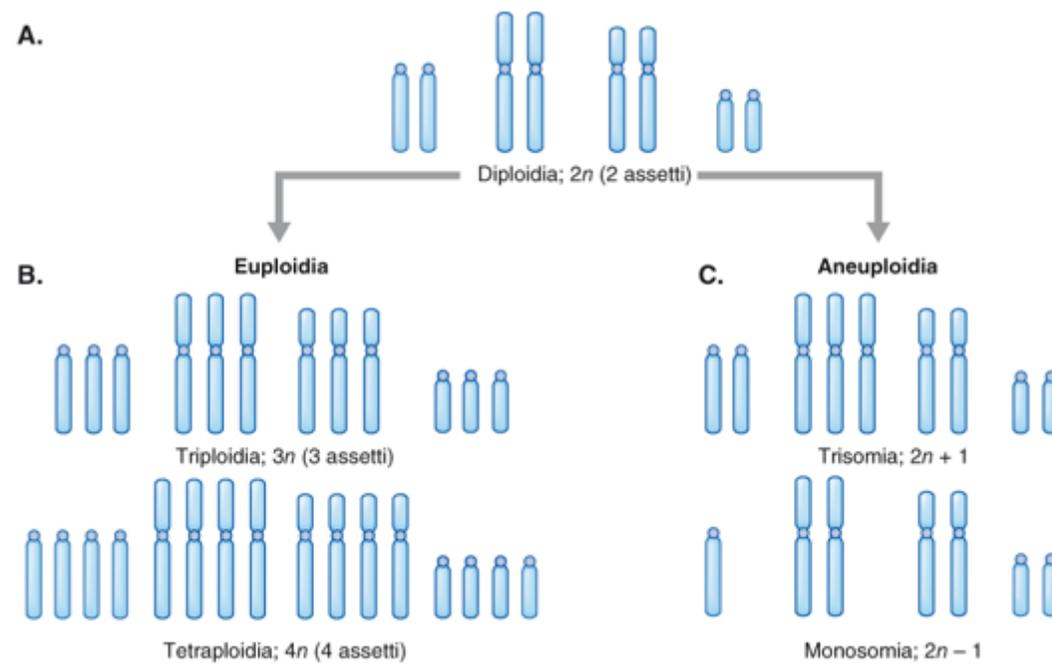
SINDROME DI TURNER



poliploidia \neq aneuploidia



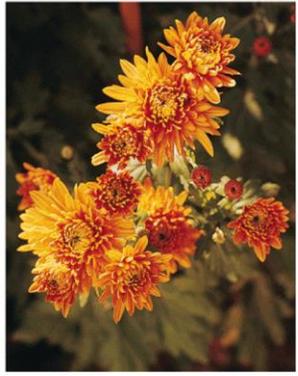
Squilibrio genetico



POLIPLOIDIA

Aspetto extra di cromosomi
Può avere conseguenze sulla fertilità

La poliploidia è rara negli animali, ma comune nelle piante



(a) $2n$



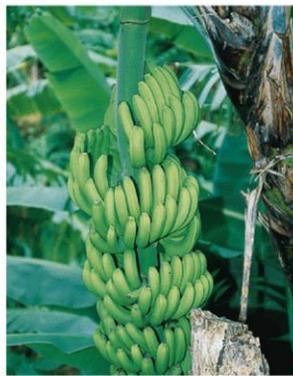
(b)



(c)

$8n$

$4n$



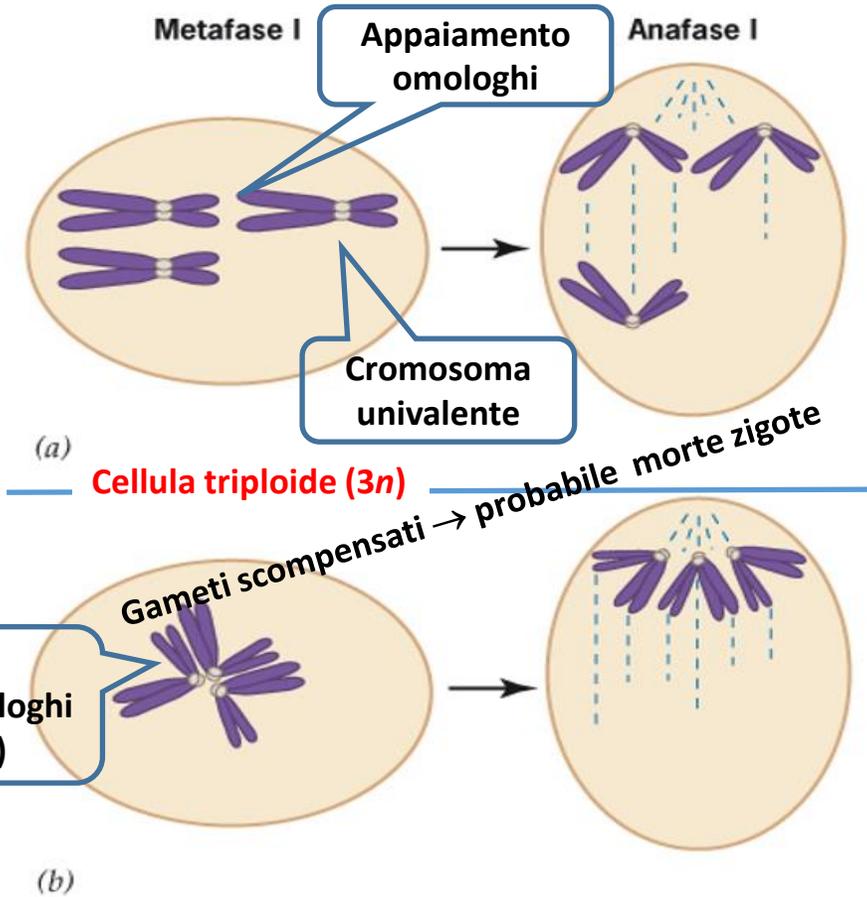
(d)

$3n$

↑ Dimensioni cellulari
↑ Grandezza
↑ Resistenza
↑ Produttività

Individui con **corredi cromosomici soprannumerari** (poliploidi) sono spesso sterili: morte dello zigote (gameti scompensati/aneuploidi in seguito ad anomalie durante la **segregazione**).

Per riprodurre (asessualmente) piante poliploidi si ricorre a **talee, innesti, bulbi**.



Alcune piante si riproducono (asessualmente) senza fecondazione, per **apomissia**, mediante semi generati da uova con numero cromosomico non ridotto (meiosi modificata).

Nei **triploidi** (o nei poliploidi di ordine dispari) gli omologhi, in prima divisione meiotica, non segregano in modo bilanciato.

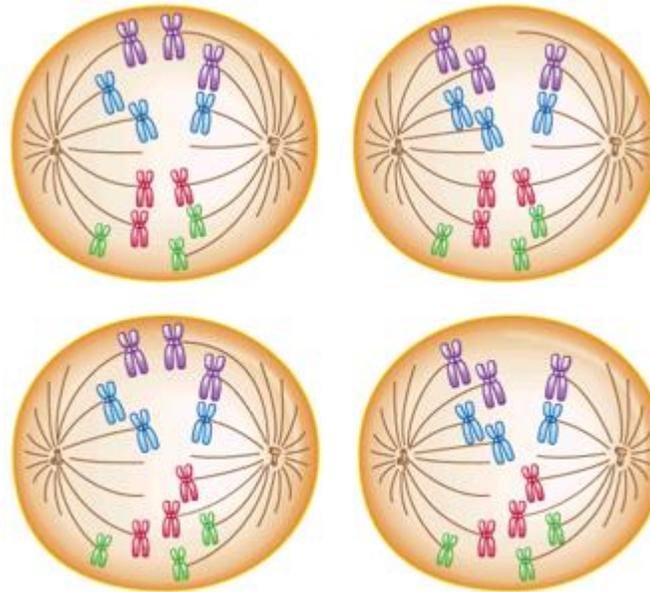


Formazione di **gameti con genomi sbilanciati** (numero diverso di cromosomi per ciascun tipo).

Sono **possibili gameti bilanciati** (migrazione di coppie dei diversi cromosomi ad un polo e di tutti i cromosomi singoli ad un altro polo) con probabilità pari ad $(1/2)^{n-1}$.
 n = numero di cromosomi

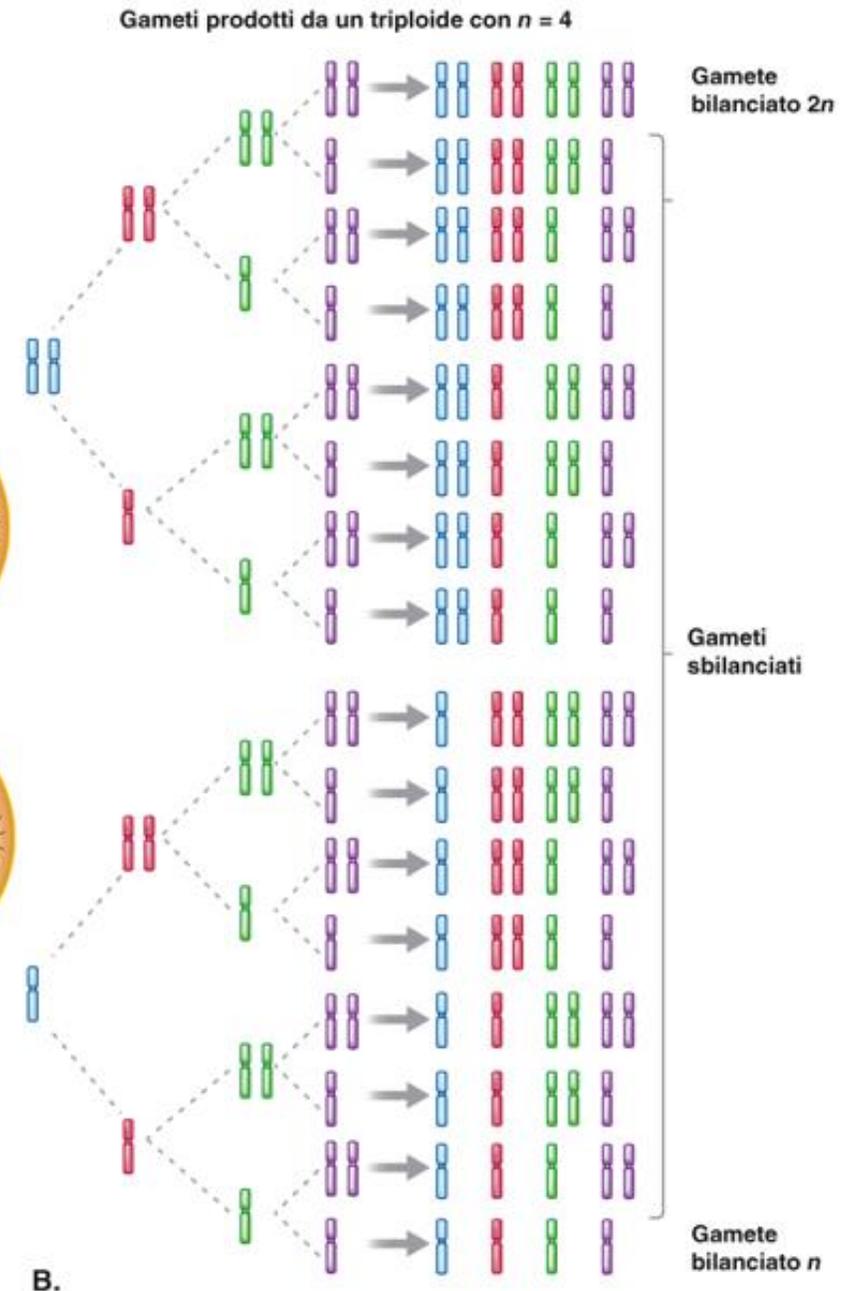


Un gamete aploide ed uno diploide.

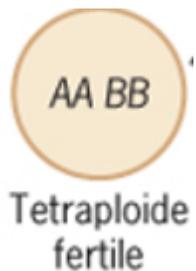
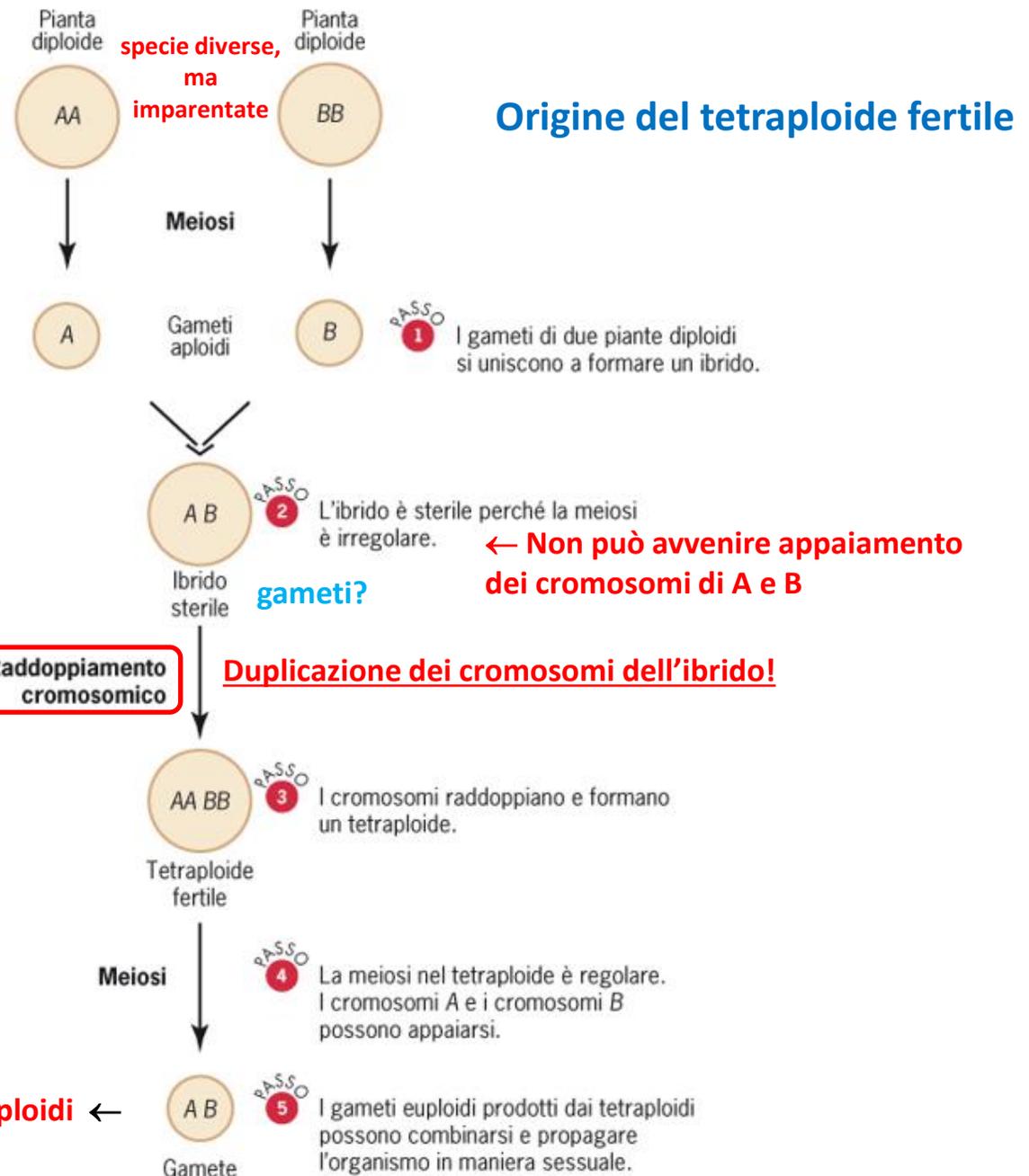


A.

Possibili segregazioni di un triploide $n = 4$



Tra i **tetraploidi** alcune specie possono essere **fertili** se i loro genomi segregano indipendentemente.



Dopo fecondazione, si ottengono zigoti tetraploidi ← con set di cromosomi parentali equilibrati.

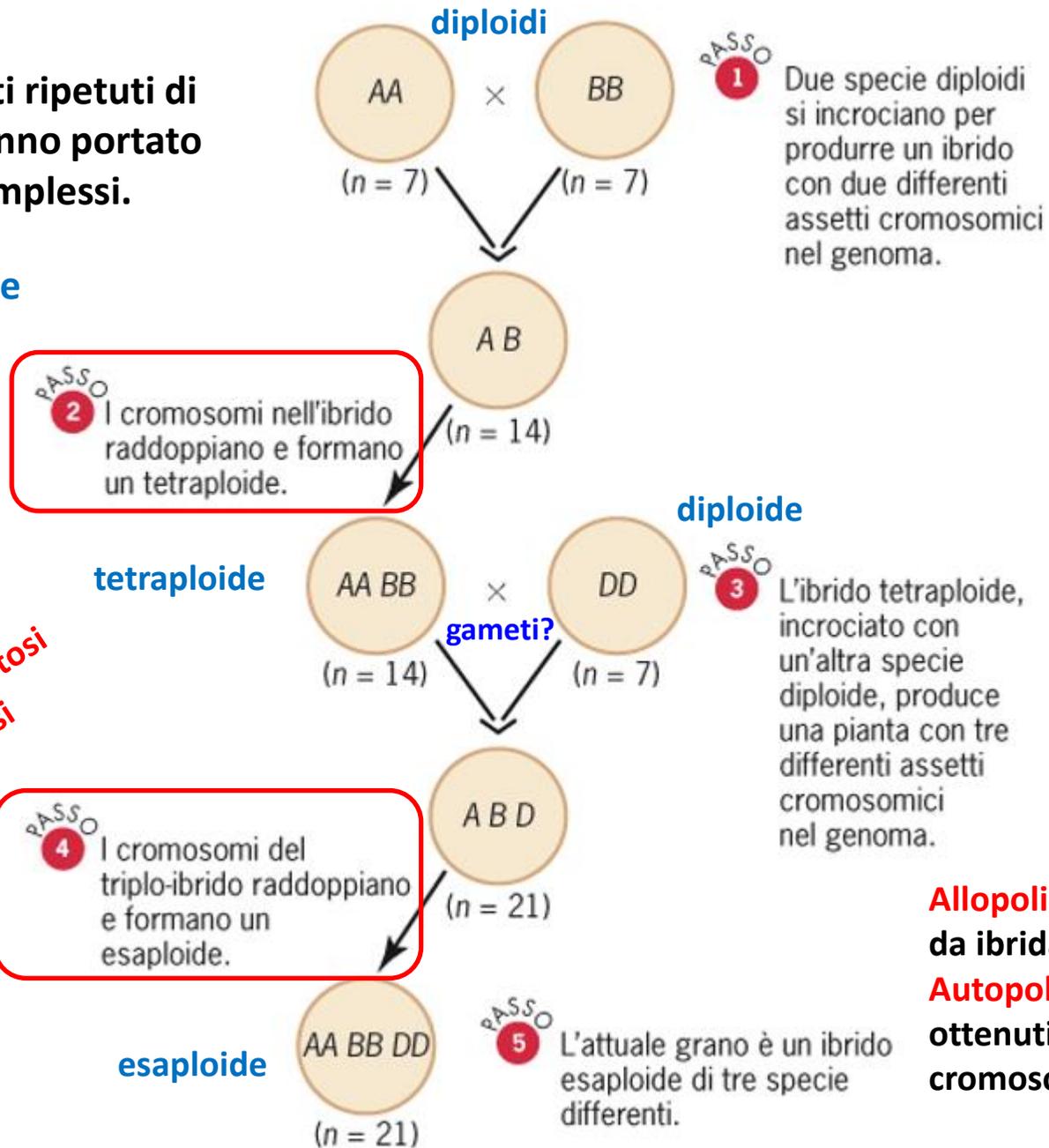
Esempio di poliploidia

Nel corso dell'evoluzione, eventi ripetuti di duplicazione dei cromosomi hanno portato alla formazione di poliploidi complessi.

Origine di un esaploide fertile grano (*Triticum aestivum*)

3 diversi assetti cromosomici (AA BB DD) ↓
derivanti da 2 eventi di **ibridazione**

Raddoppiamento cromosomi dovuto a mitosi non accompagnata da citocinesi o meiosi alterata (gameti non ridotti).



Allopoliploidi → poliploidi ottenuti da ibridazioni tra specie diverse.

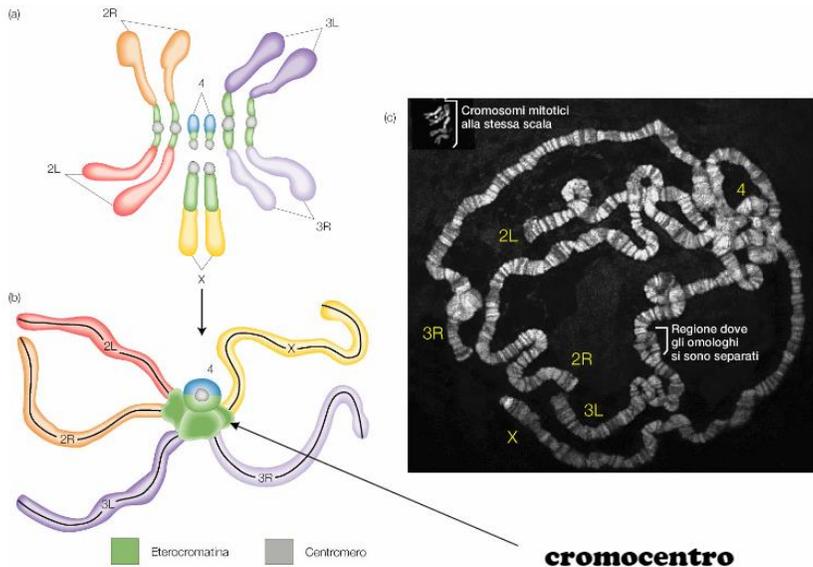
Autopoliploidi → poliploidi ottenuti dalla duplicazione dei cromosomi di una sola specie.

Poliploidia tessuto-specifica

In alcuni organismi diploidi, in seguito ad eventi di endomitosi, alcuni tessuti risultano costituiti da cellule poliploidi.

Uomo → fegato, rene

Endomitosi: duplicazione dei cromosomi, con separazione dei cromatidi fratelli, non seguita da citocinesi.



Particolare del **cromosoma politenico X** (con bandeggio) di *Drosophila* (Bridges).

Divise il cromosoma X in **sezioni** (20) e **sottosezioni** (A-F).

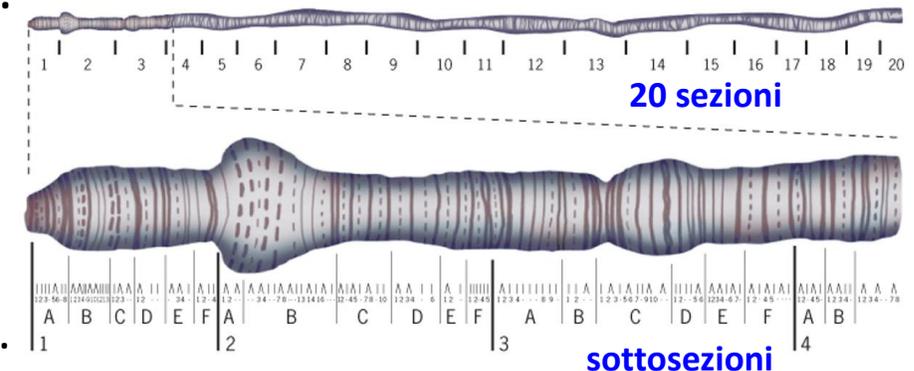
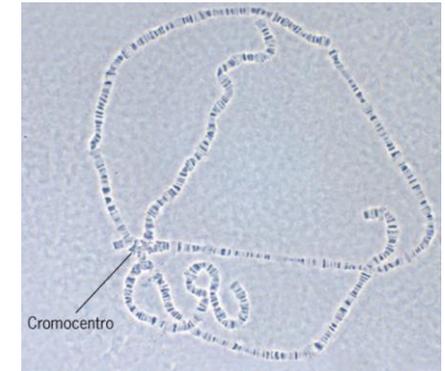
POLITENIA

Se alla duplicazione dei cromosomi non segue la separazione dei cromatidi fratelli, si formano **cromosomi politenici** (utili per l'analisi citogenetica). Nell'uomo non sono stati osservati cromosomi politenici.

Cromosomi politenici (~500 copie) in ghiandole salivari di *Drosophila* con bandeggio riproducibile (dopo colorazione).

Materiali di studio per analisi citogenetiche.

- Cromosomi politenici somatici omologhi possono appaiarsi.
- I **centromeri** dei cromosomi politenici si riuniscono in una massa scura, definita **cromocentro**.



ANEUPLOIDIA



- Cambiamento nel numero cromosomico
- Delezione o duplicazione di un segmento cromosomico

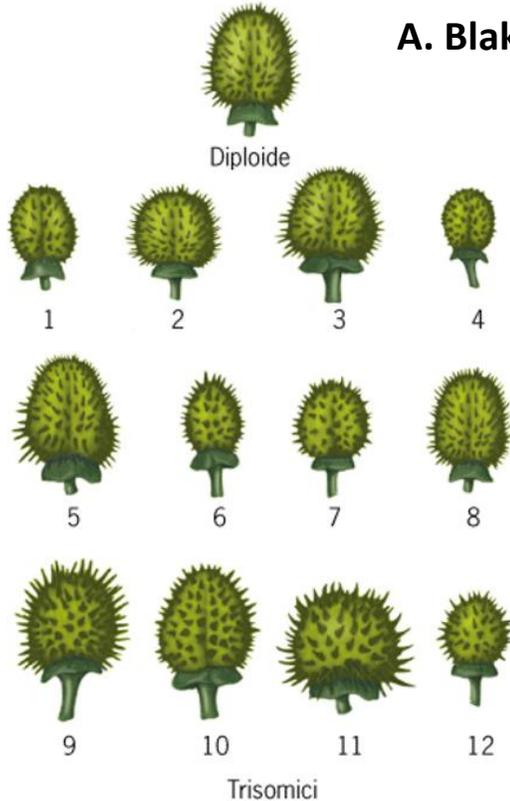


Cambiamento solo parziale del genoma (squilibrio cromosomico, di solito a carico di un solo cromosoma).



Effetto fenotipico

A. Blakeslee e J. Belling



Datura stramonium

12 coppie di cromosomi (24).

12 diversi fenotipi alterati per presenza di un cromosoma extra (triplicazione di un cromosoma).



12 diverse trisomie



Per uno sviluppo normale dell'organismo è necessario che ogni cromosoma sia presente nella giusta dose.

Errore durante la meiosi
(di solito nelle ♀♀)

Ipoploide: organismo con cromosoma o parte di esso sotto-rappresentato

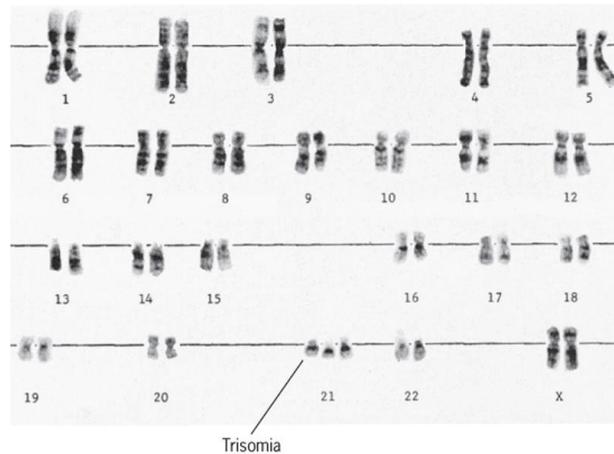
Iperploide: organismo con cromosoma o parte di esso iper-rappresentato

Aneuploidia nell'uomo
TRISOMIE



Cariotipo femmina normale
46, XX
Cariotipo femmina Down
47,XX,+21

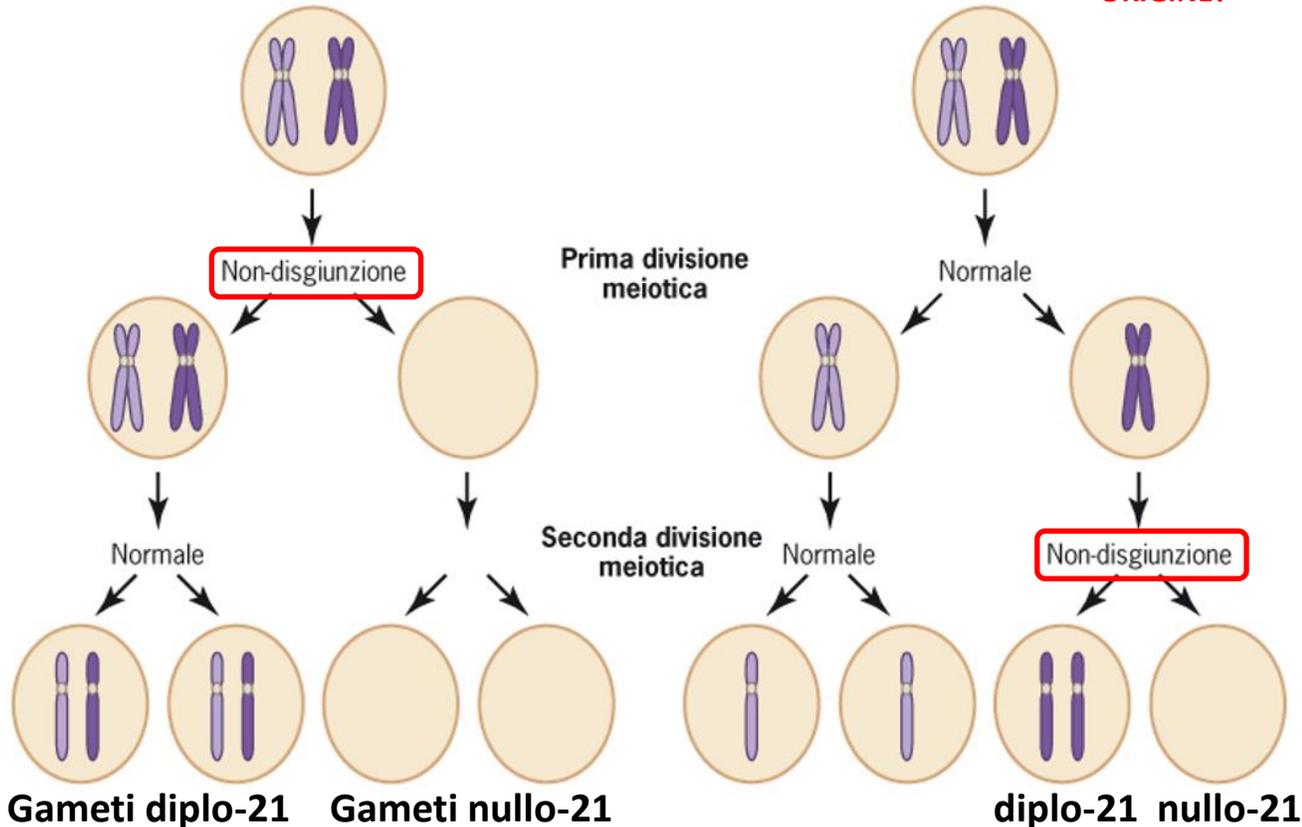
Trisomia del 21
↓
Sindrome di Down



copia soprannumeraria
ORIGINE?

I bambini affetti da sindrome di Down presentano

- ritardo nello sviluppo fisico e mentale,
- caratteristiche specifiche del cranio e del volto,
- spesso bassa statura,
- ...



La malattia è sporadica e non mostra familiarità.

Nel ~90% dei casi la malattia è dovuta ad un evento di **non-disgiunzione** in una delle divisioni meiotiche, soprattutto nella femmina.

Nella donna la frequenza della non-disgiunzione aumenta con l'età:

la **meiosi** inizia già nel periodo fetale, ma si completa con la fecondazione.

LE CELLULE MEIOTICHE FEMMINILI RESTANO BLOCCATE PER LUNGO TEMPO NELLA PROFASE DELLA PRIMA DIVISIONE.

↓
disappaiamento degli omologhi

Altre trisomie

47, +13 (sindrome di Patau, **letale**)

47, +18 (sindrome di Edward, **letale**)

47, XXX (aneuploidia triplo-X; **trisomia vitale** → 2 cromosomi inattivati)

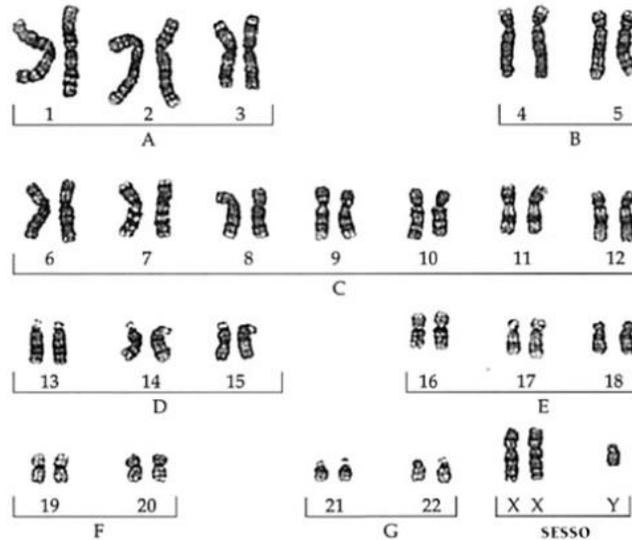
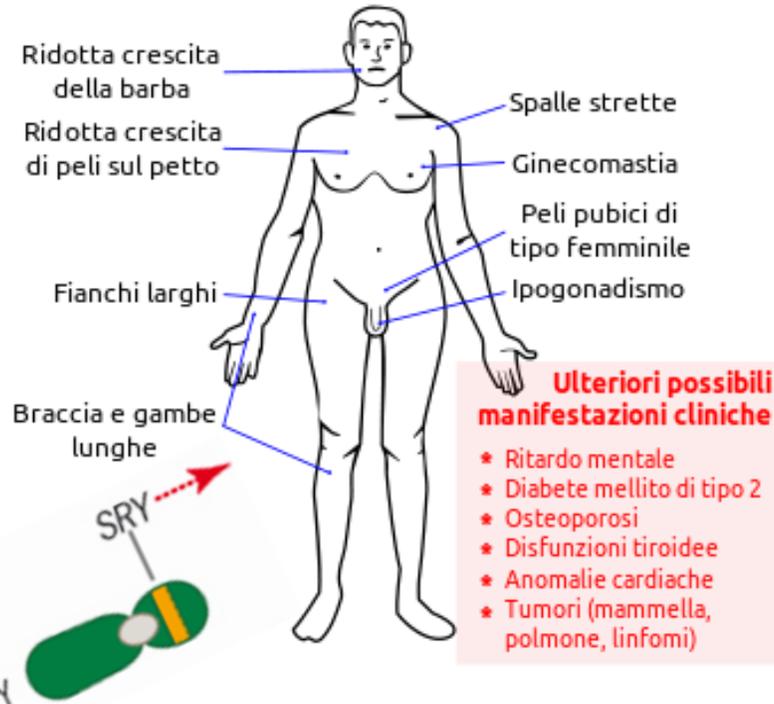
femmine fenotipicamente quasi normali e fertilità limitata.

47, XYY (**vitale**) maschi fenotipicamente quasi normali

...

47, XXY (sindrome di Klinefelter) →

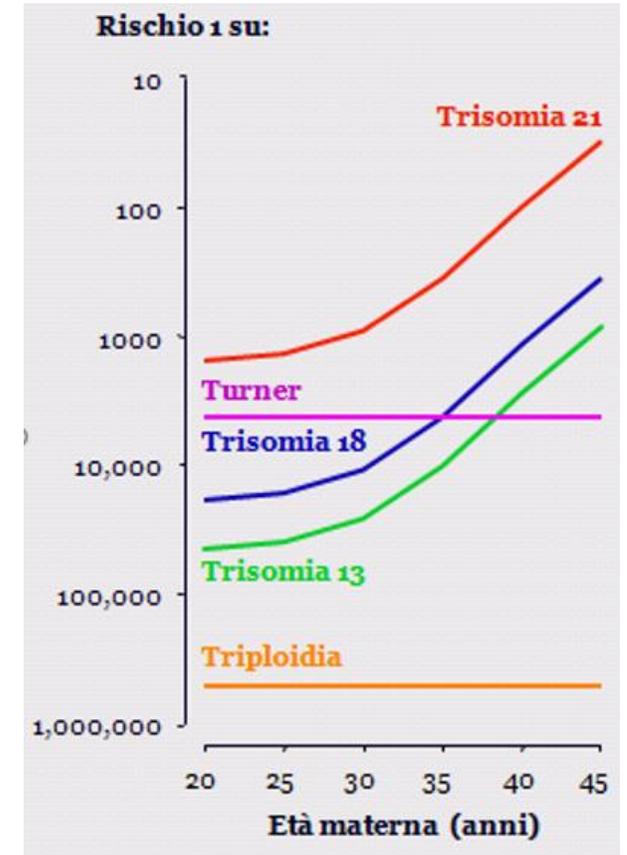
Maschi, di solito sterili, che alla pubertà manifestano caratteri secondari femminili.



Causa della trisomia:
Fecondazione

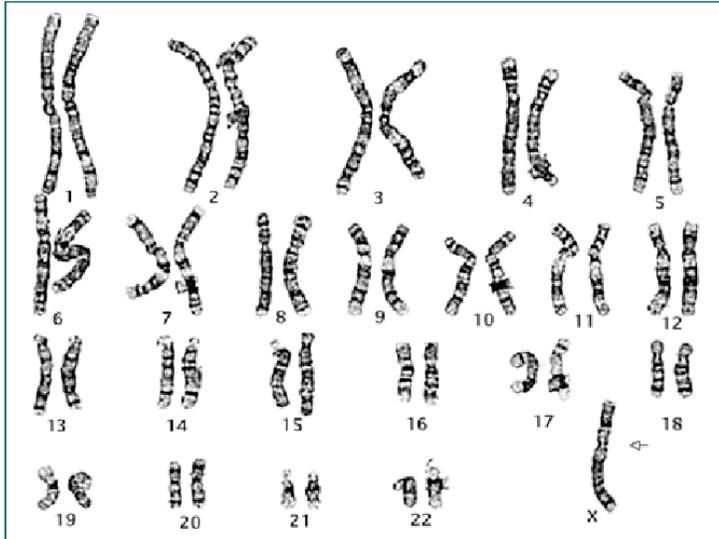
- uovo **XX** + spermatozoo **Y**
- uovo **X** + spermatozoo **XY**

La maggior parte delle trisomie sono mortali:
importante il **corretto dosaggio genico!**



MONOSOMIA

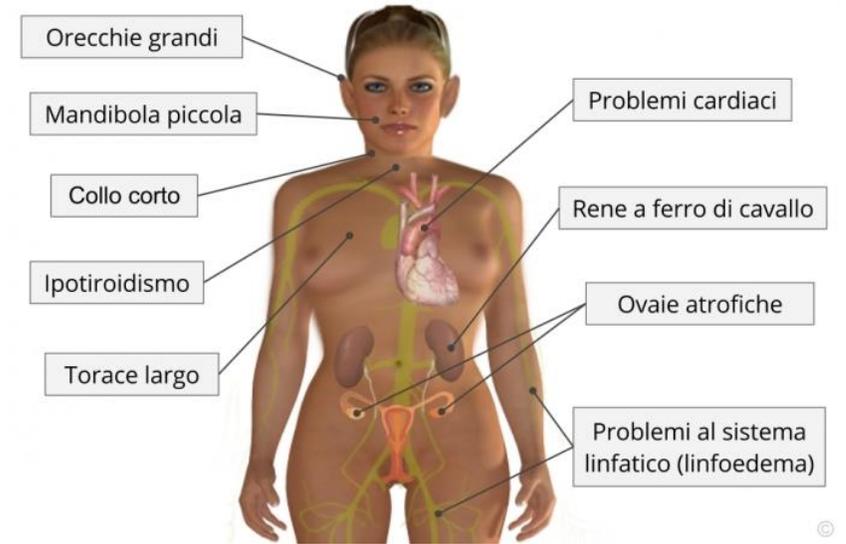
individuo diploide mancante di un cromosoma



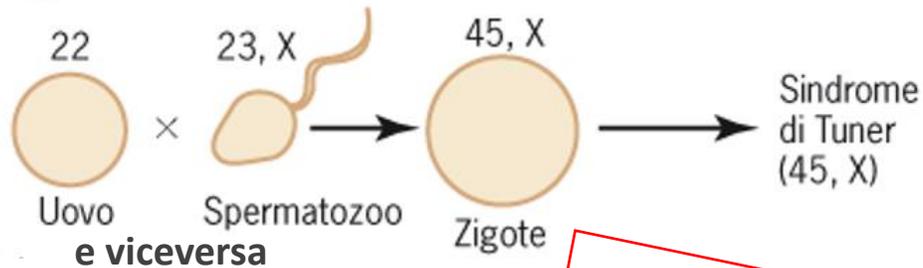
unica monosomia vitale nell'uomo
Sindrome di Turner (cariotipo 45, X)

← **Individuo ♀ (sterile)**
con un solo cromosoma X

Principali sintomi della sindrome di Turner



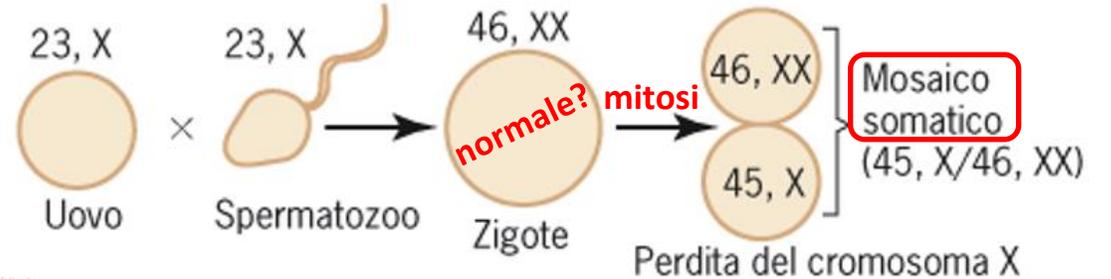
Origine della monosomia alla fecondazione.



Malgrado la compensazione del dosaggio, per uno sviluppo normale sono necessari alcuni geni che sono presenti anche sull'altro cromosoma X o sul cromosoma Y.

Evidentemente, durante l'oogenesi, il cromosoma X inattivato viene riattivato: femmine 45, X sono sterili!

Origine della monosomia nella divisione cellulare successiva alla fecondazione.



La gravità della sindrome è legata al momento in cui è avvenuta la perdita del cromosoma X.