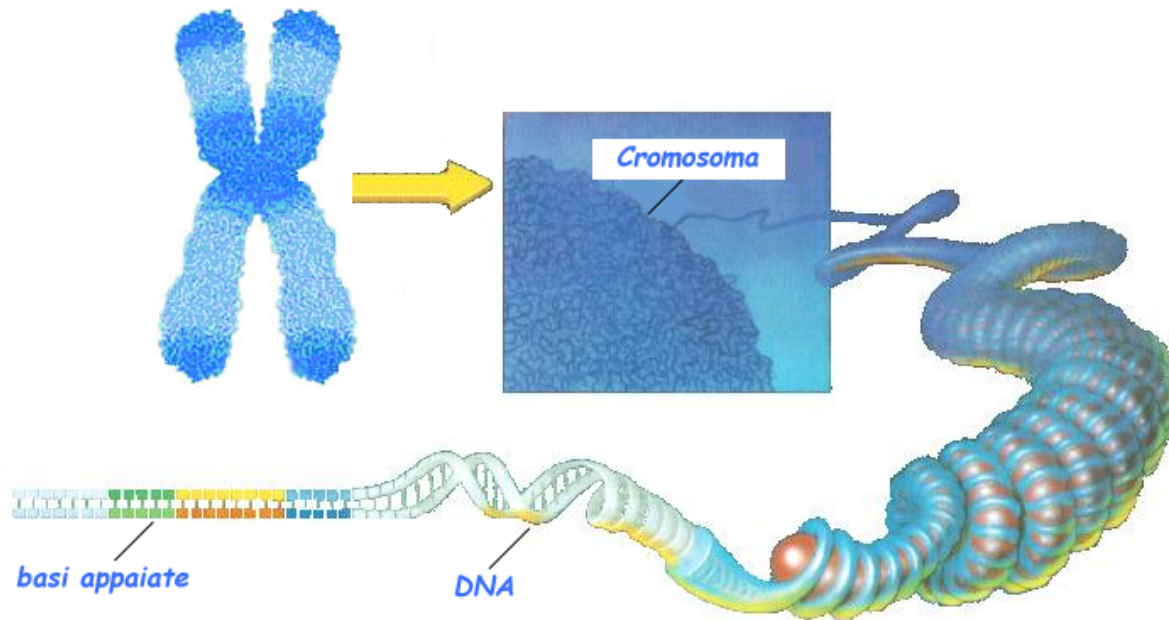


IL CROMOSOMA

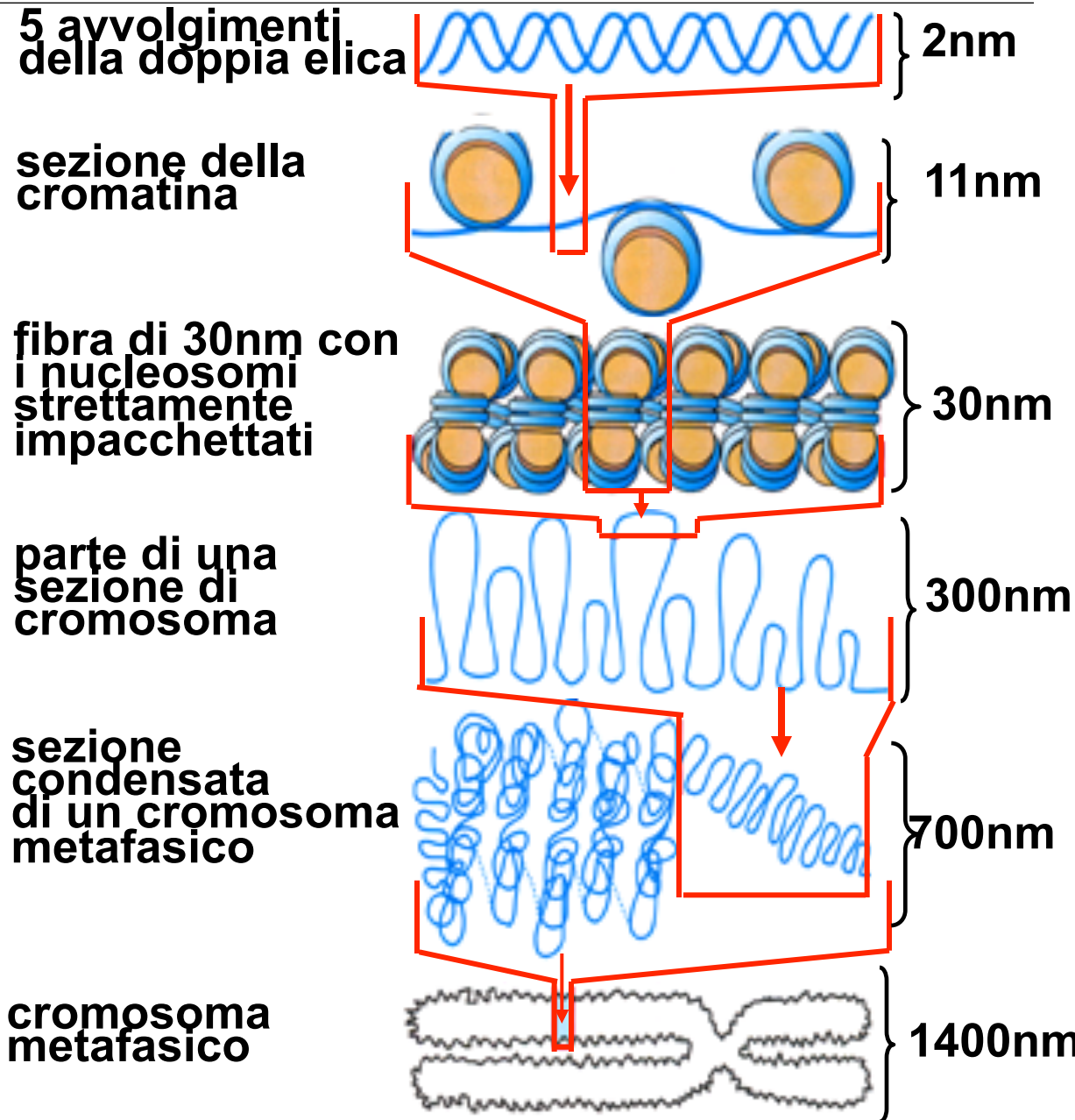
Un genoma può essere composto da uno o più frammenti di DNA organizzati in particolari strutture denominate **CROMOSOMI**.

Cromosoma

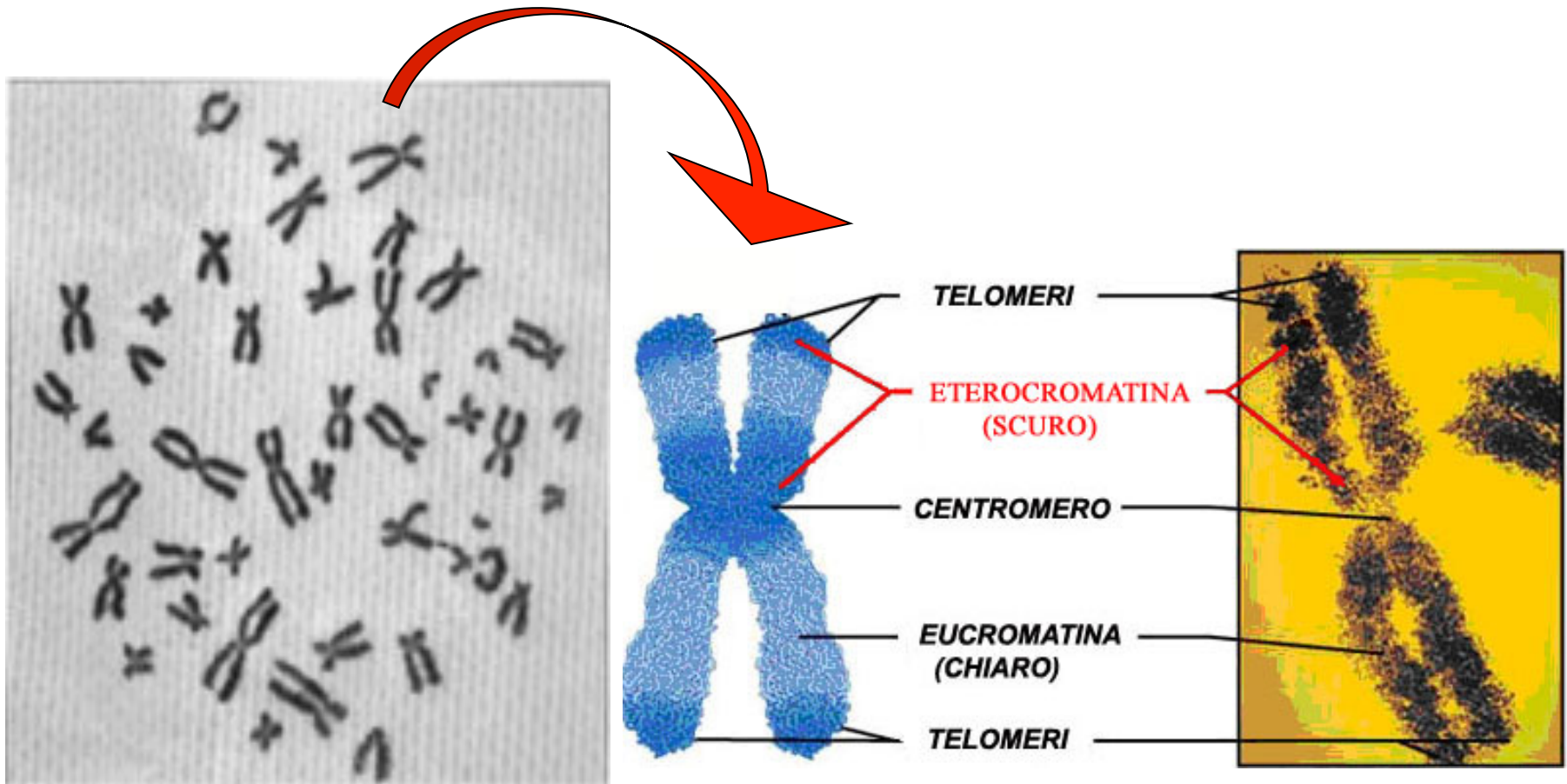


Lunghezza del cromosoma

50.000:1



Localizzazione dell'eterocromatina in cromosomi mitotici



Ogni specie ha il suo genoma “distintivo”



Organismo **n° cromosomi**

Pisello **14**

Girasole **34**

Gatto **38**

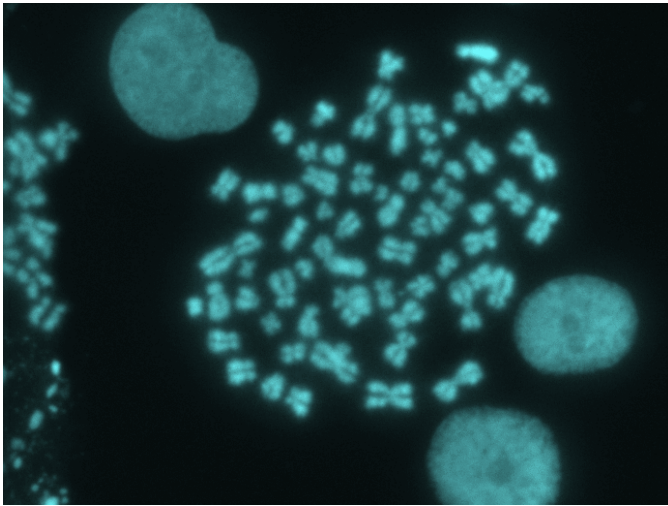
Pesce **42**

Uomo **46**

Cane **78**

I cromosomi in:

Homo sapiens

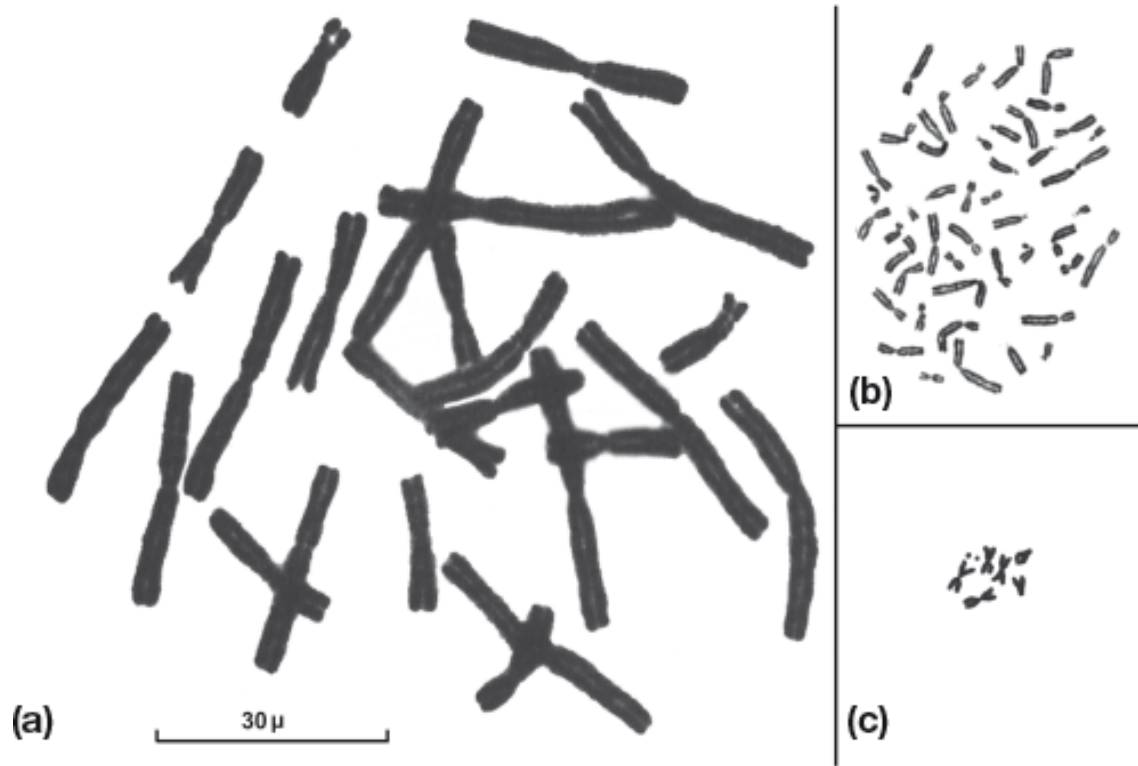


23 coppie

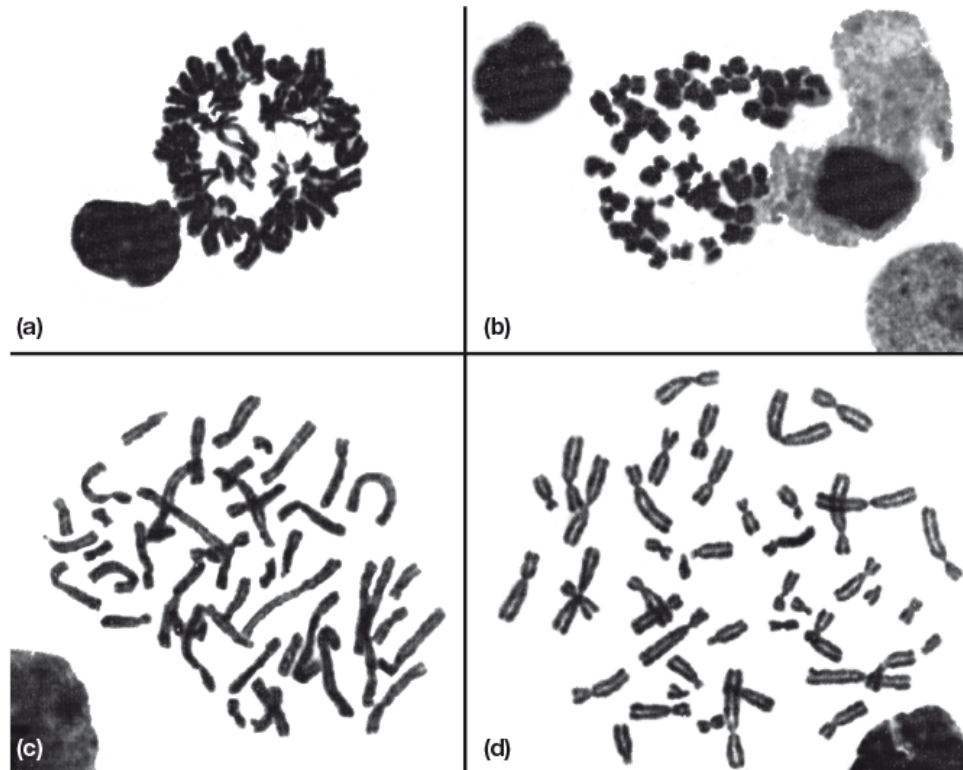
Parascaris univalens
(nematode)



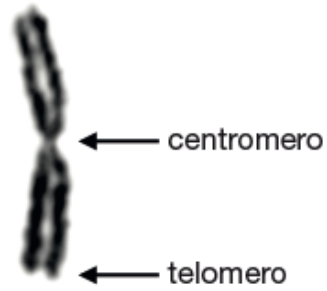
1 coppia



Miglioramenti tecnici per avere buoni preparati citologici



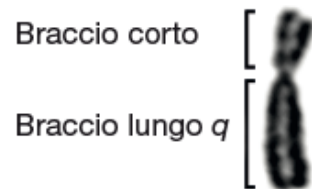
Cromosoma metacentrico



Cromosoma acrocentrico



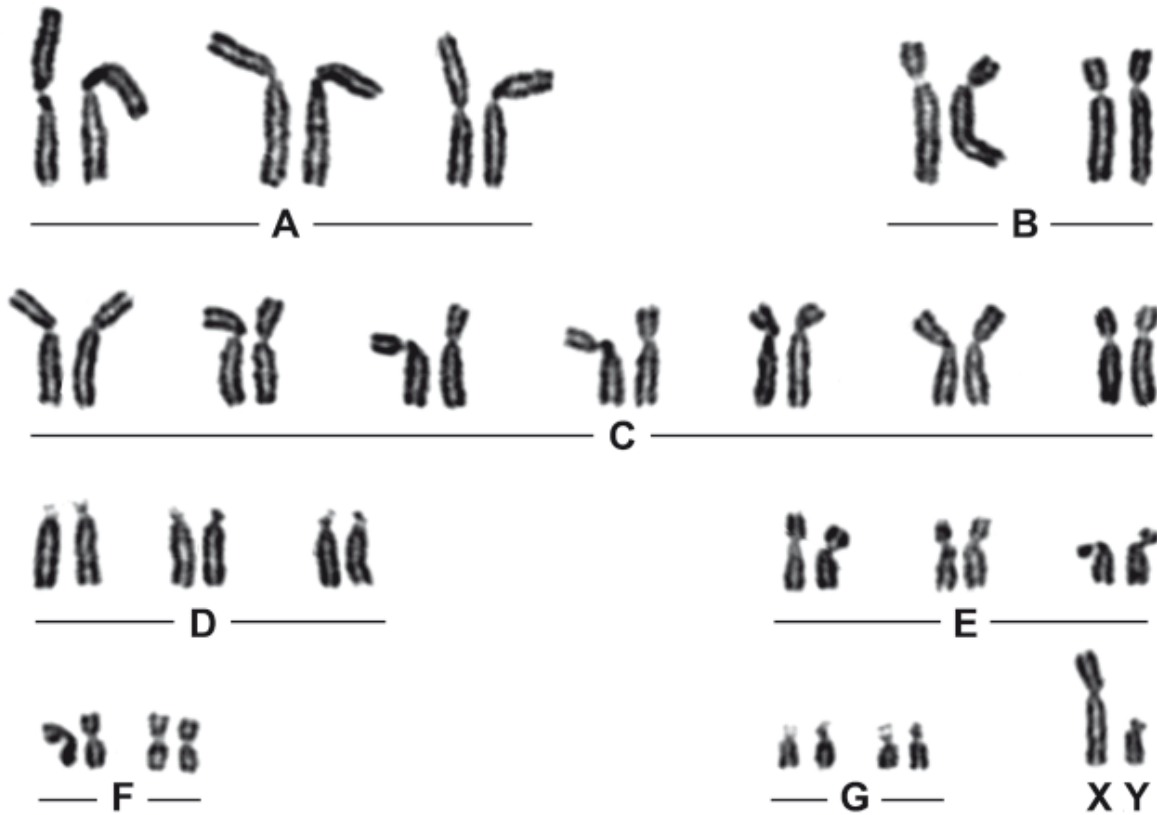
Cromosoma submetacentri-



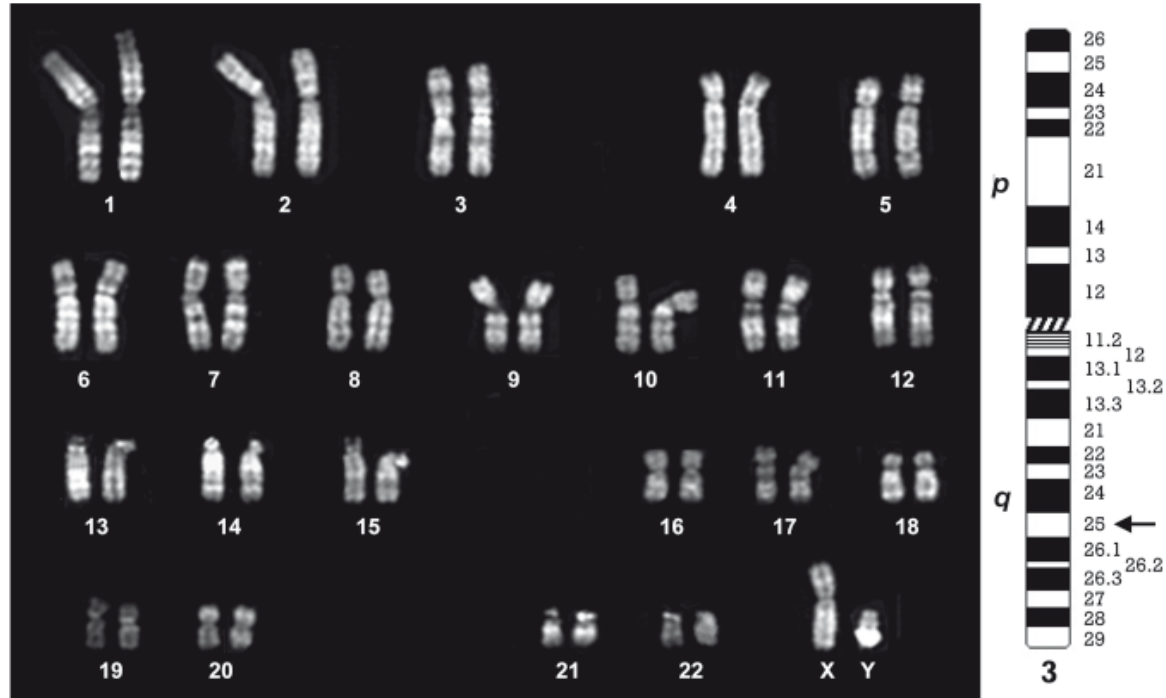
Cromosoma telecentrico



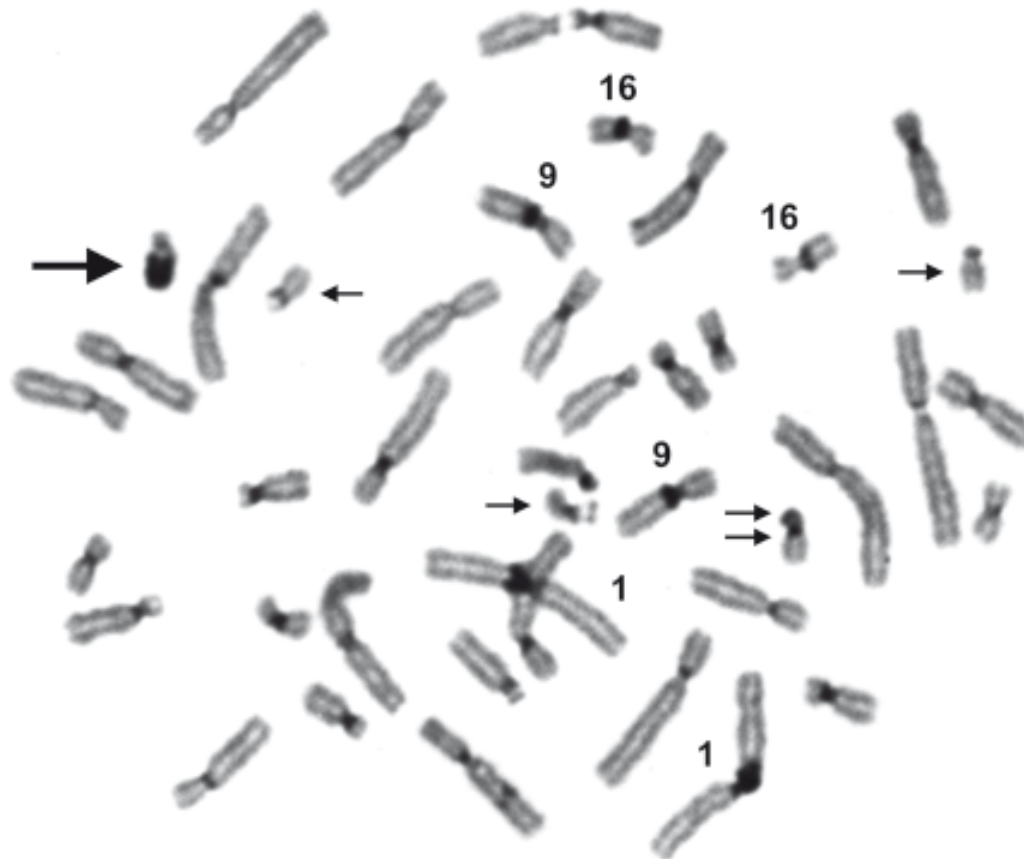
Cariotipo umano colorato con Giemsa

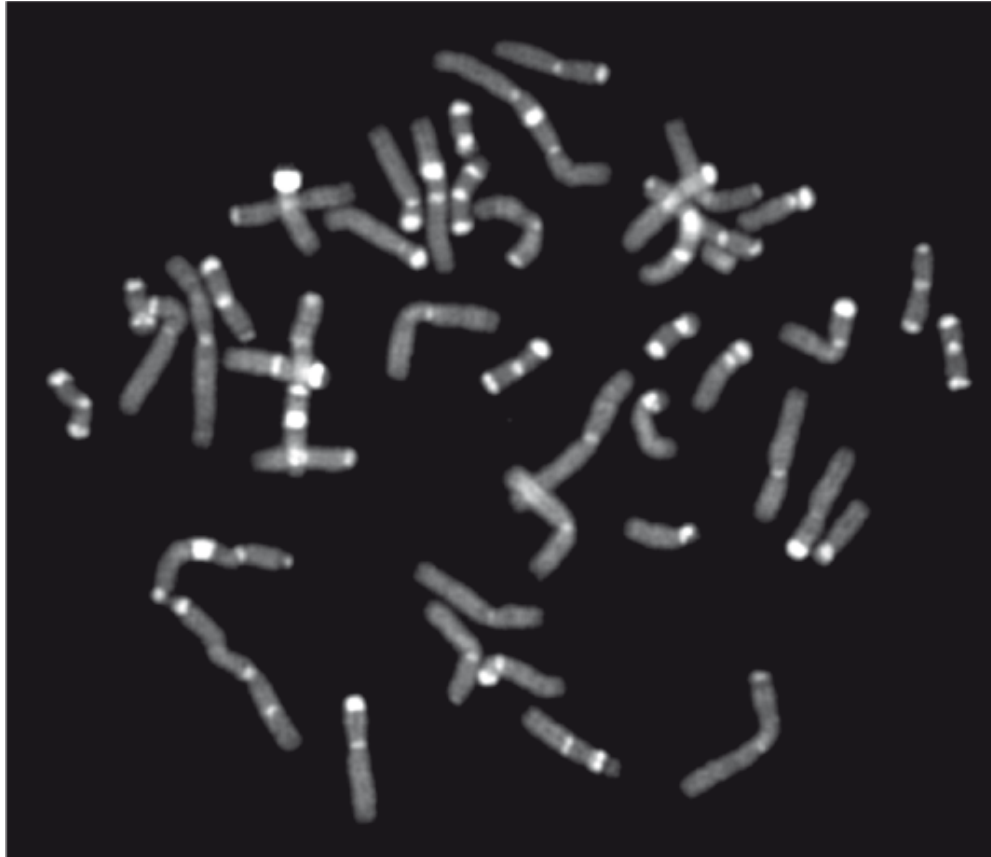


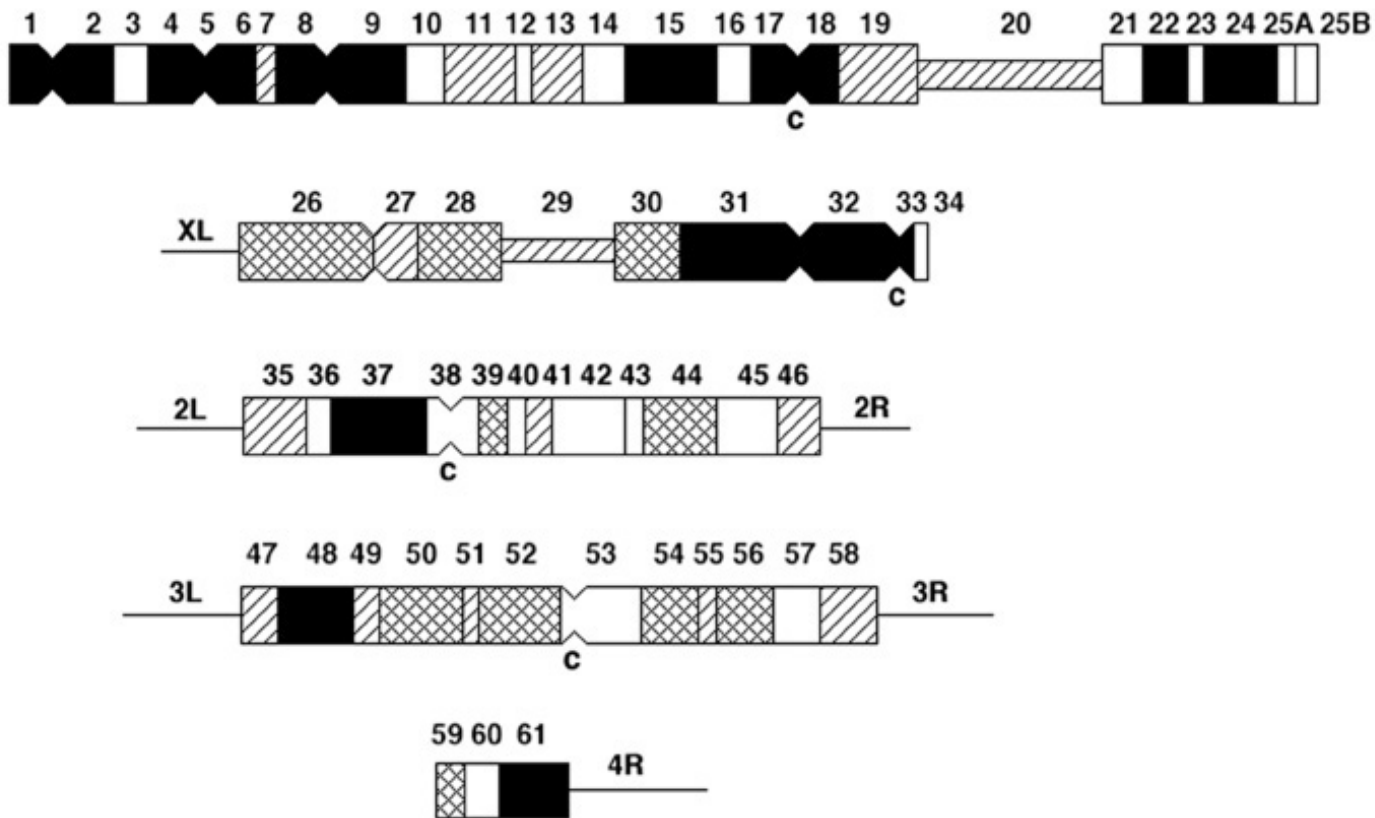
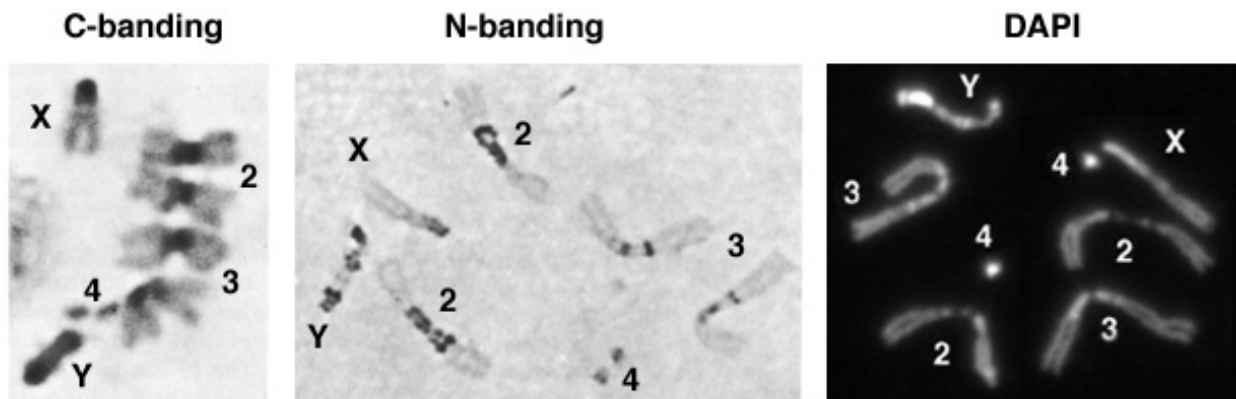
Q-bande: Cariotipo umano colorato con mostarda di quinacrina

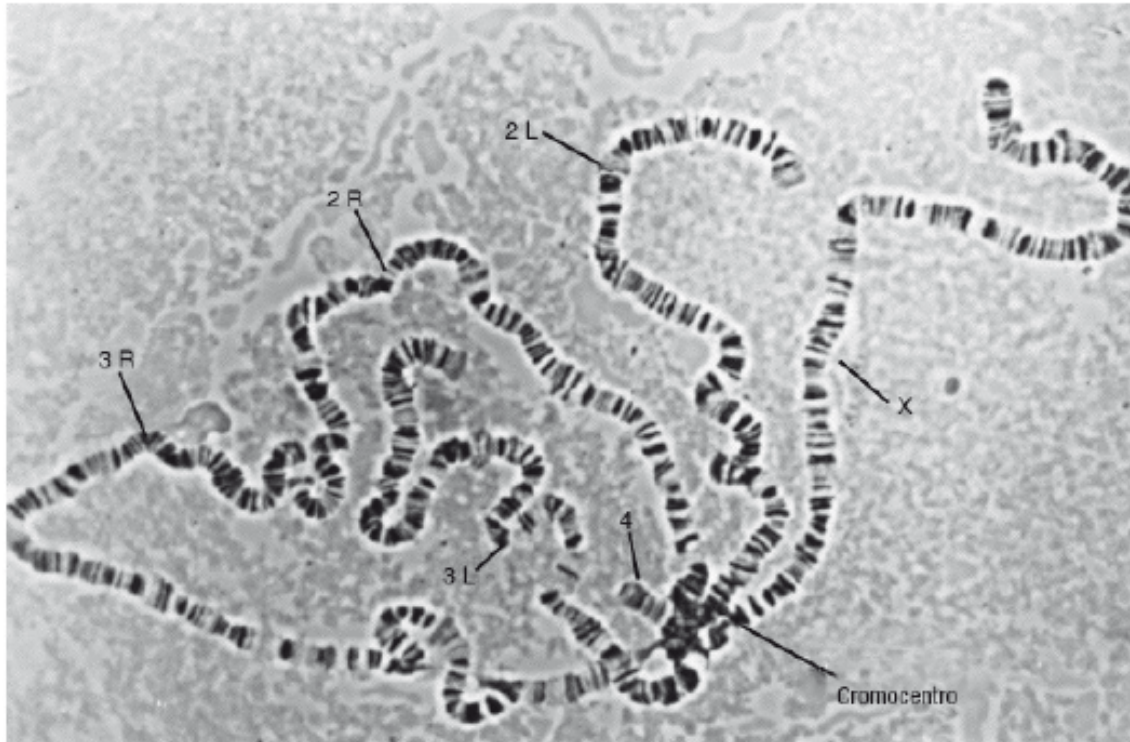


C-bande: denaturazione del DNA e colorazione con Giemsa









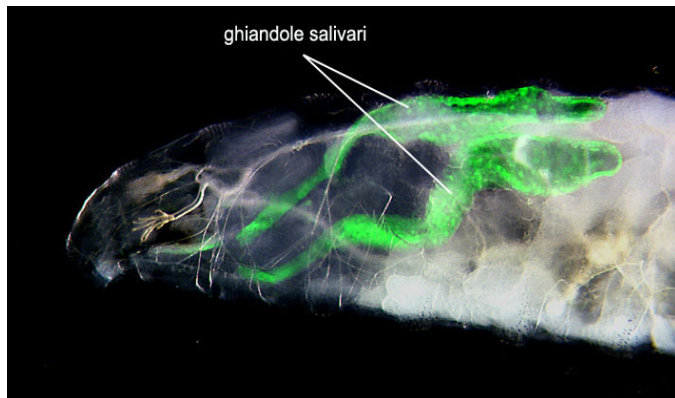
GHIANDOLE SALIVARI



Rappresentazione di ghiandole salivari



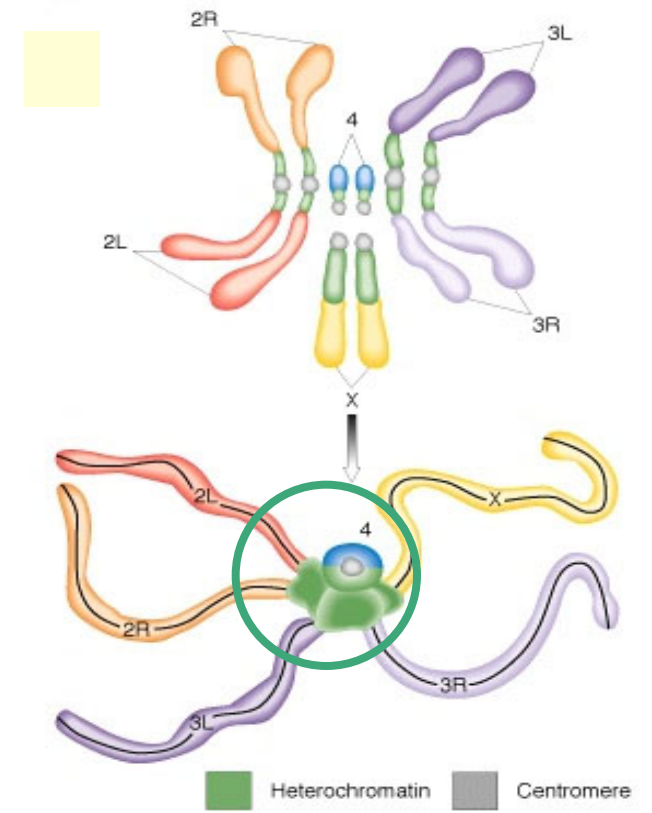
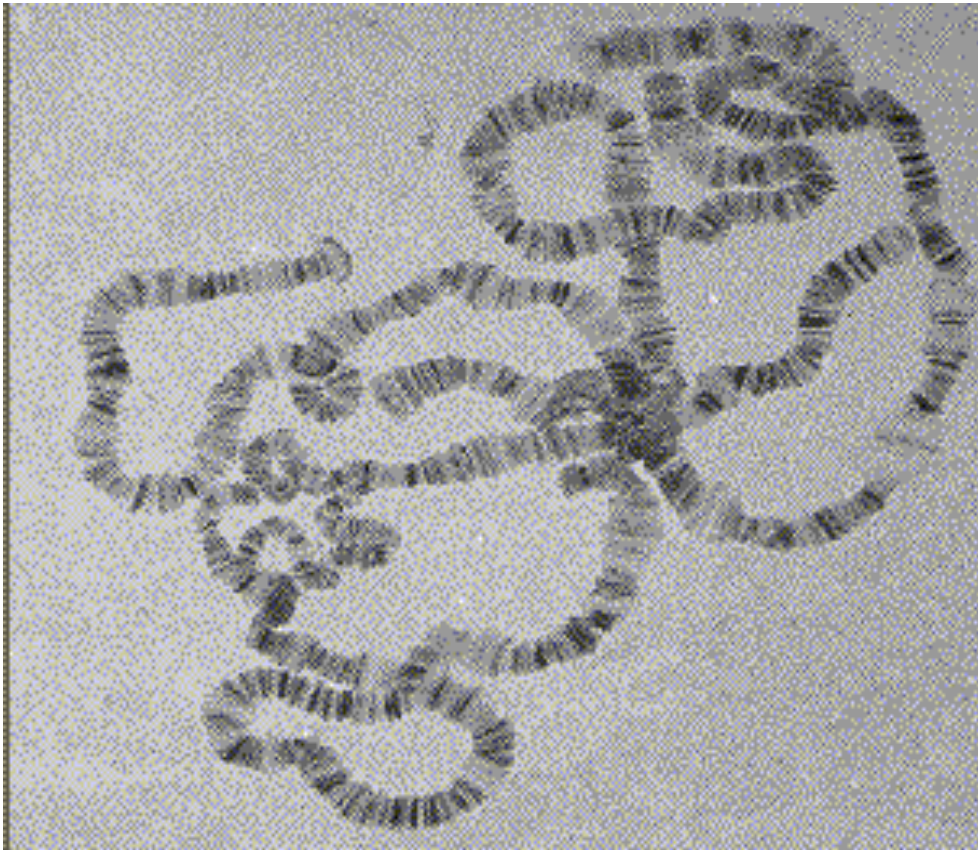
Larve di *Drosophila melanogaster* al terzo stadio larvale



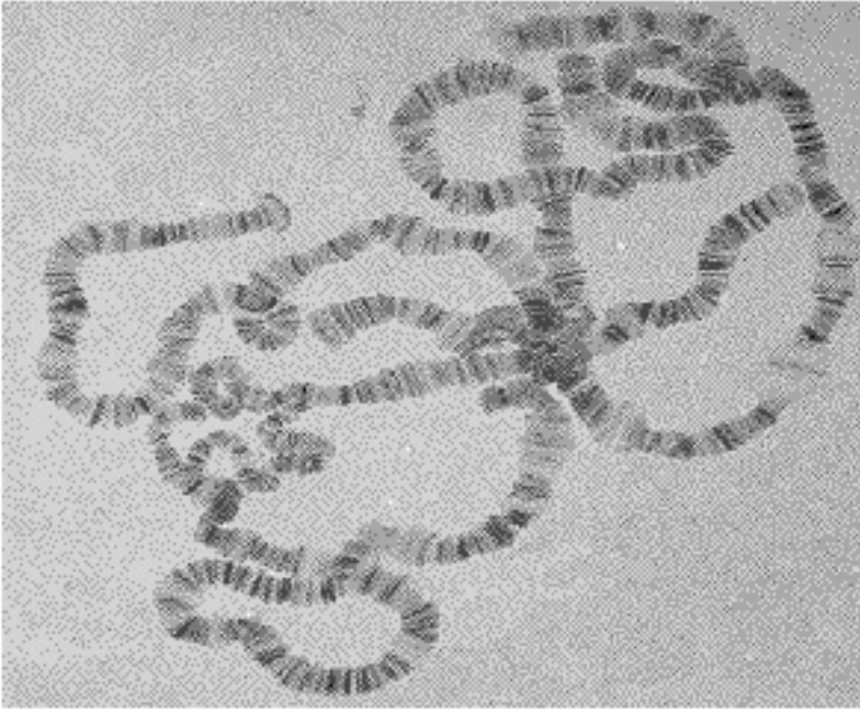
ghiandole salivari

Localizzazione delle ghiandole salivari in corrispondenza del primo segmento toracico larvale T1

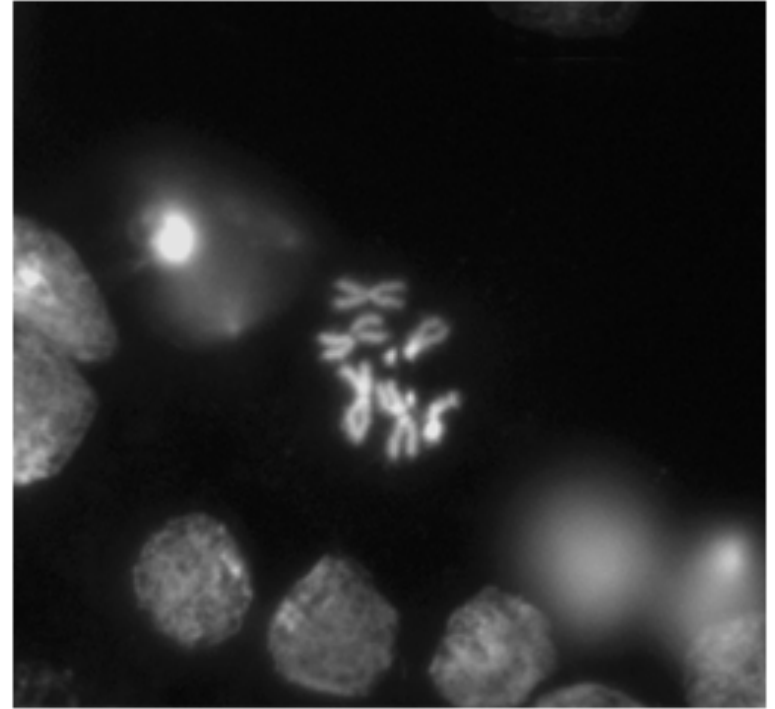
CROMOSOMI POLITENICI DI DROSOPHILA MELANOGASTER



I cromosomi di *Drosophila*

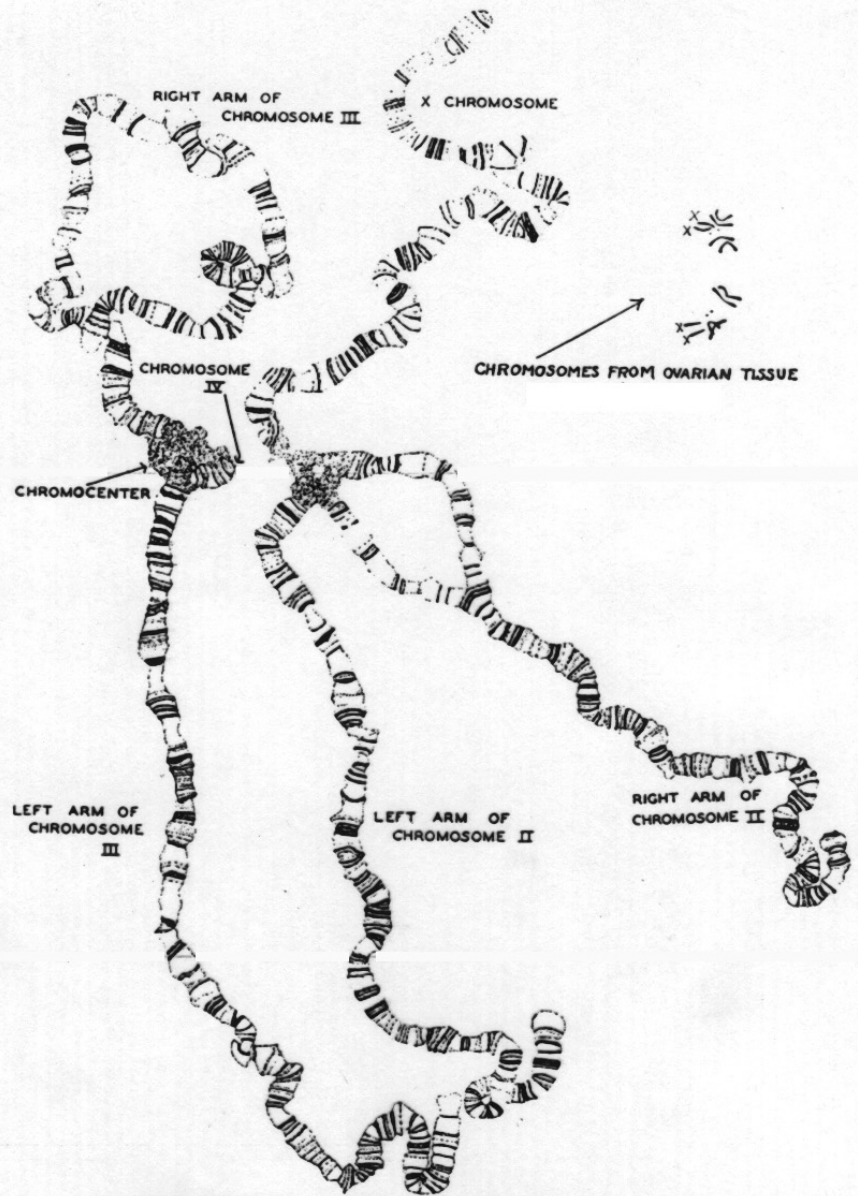


cromosomi politenici



cromosomi mitotici

Confronto tra cromosomi politenici e mitotici



GIANT CHROMOSOMES COMPARED WITH "NORMAL"

Figure 1

The main figure is a camera lucida drawing of the elements found in a salivary gland nucleus of a female larva, showing the chromosomes just as they lay on the slide. The chromocenter material, to which all elements or arms are apparently anchored, is composed of inert chromatin. All homologous elements or parts have undergone somatic synapsis except

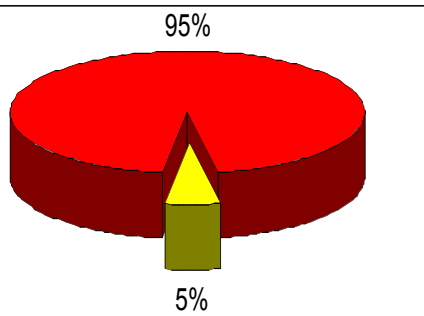
(Continued on next page)

ETEROCROMATINA

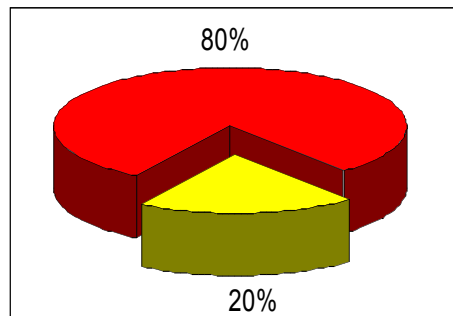
FACOLTATIVA: corrisponde a uno stato transitorio di inattivazione genica a livello cromosomico che può essere sesso e/o tessuto specifico.

COSTITUTIVA: presenta uno stato di condensazione permanente con conseguente ridotta attività trascrizionale

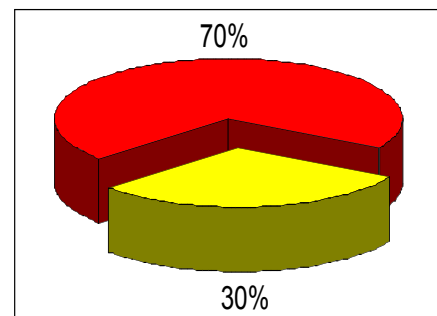
ARABIDOPSIS



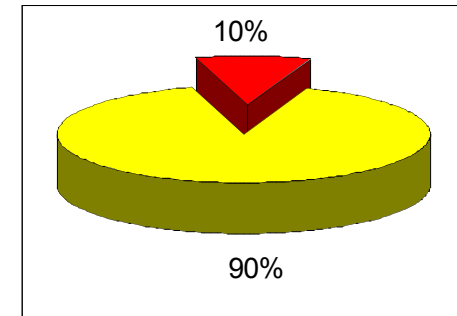
UOMO



DROSOPHILA
MELANOGASTER



NEMATODE



ETEROCROMATINA

- Definizione di eterocromatina (Heitz 1928)

-Caratteristiche citologiche:

eteropicosi positiva alla profase

positivita' alla tecnica delle C-bande

- Caratteristiche molecolari:

replicazione tardiva

ricchezza di sequenze altamente e mediamente ripetute

**regolazione quantitativa mediante sottoreplicazione o
eliminazione nelle cellule politeniche o poliploidi**

- Caratteristiche genetiche:

assenza di ricombinazione meiotica

bassa densita' di geni mappabili

variegazione per effetto di posizione

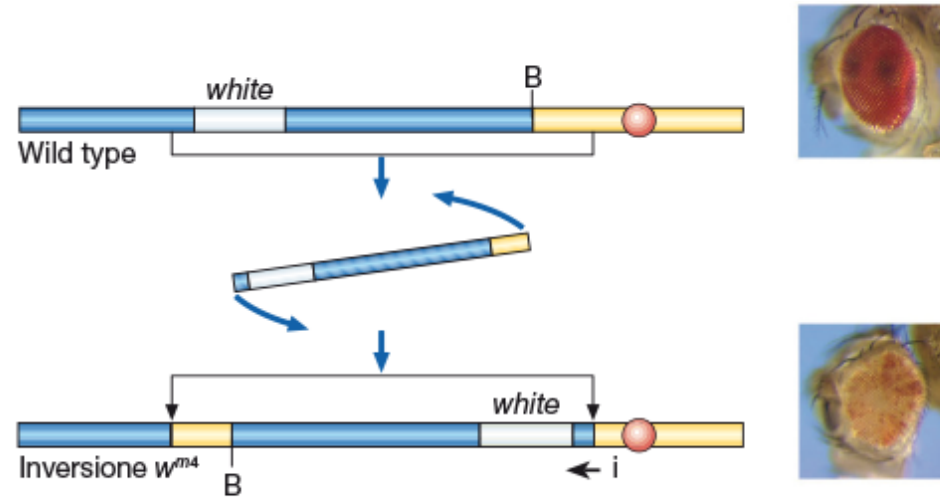
**mancanza di effetti fenotipici con piccole delezioni omozigoti
o grandi delezioni eterozigoti**

- Teorie:

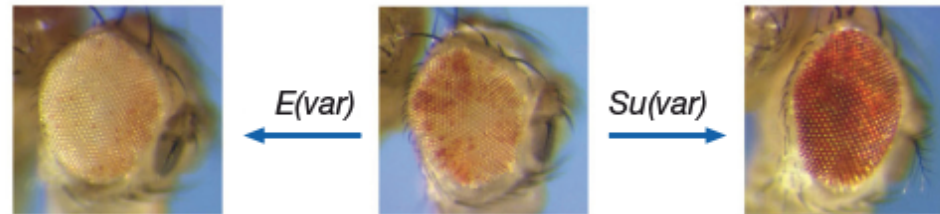
a) L'eterocromatina e' costituita da DNA selfish non funzionale

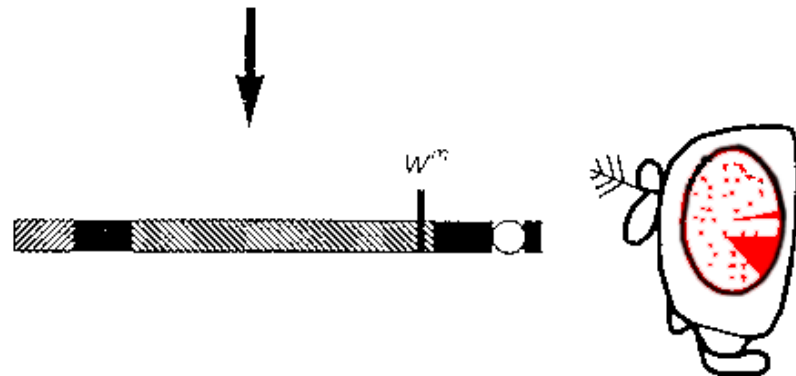
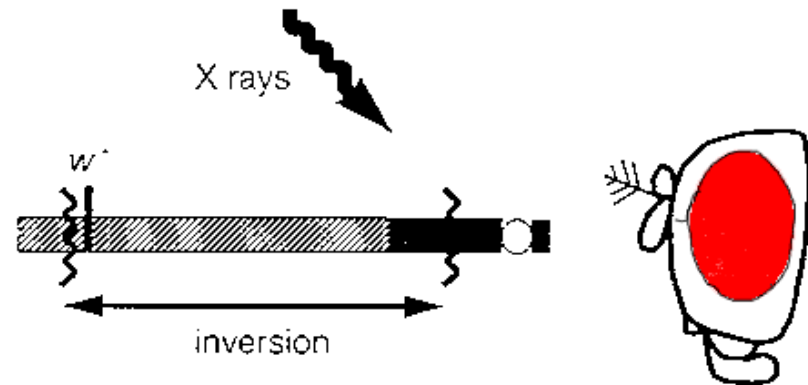
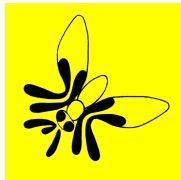
**b) L'eterocromatina e' funzionale ma e' organizzata in modo
diverso dall'eucromatina sia da un punto di vista molecolare
che genetico**

(a)



(b)



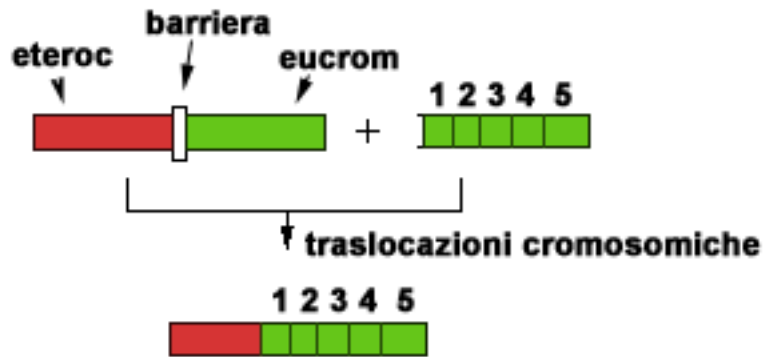


Suppressed
(e.g. XYY)



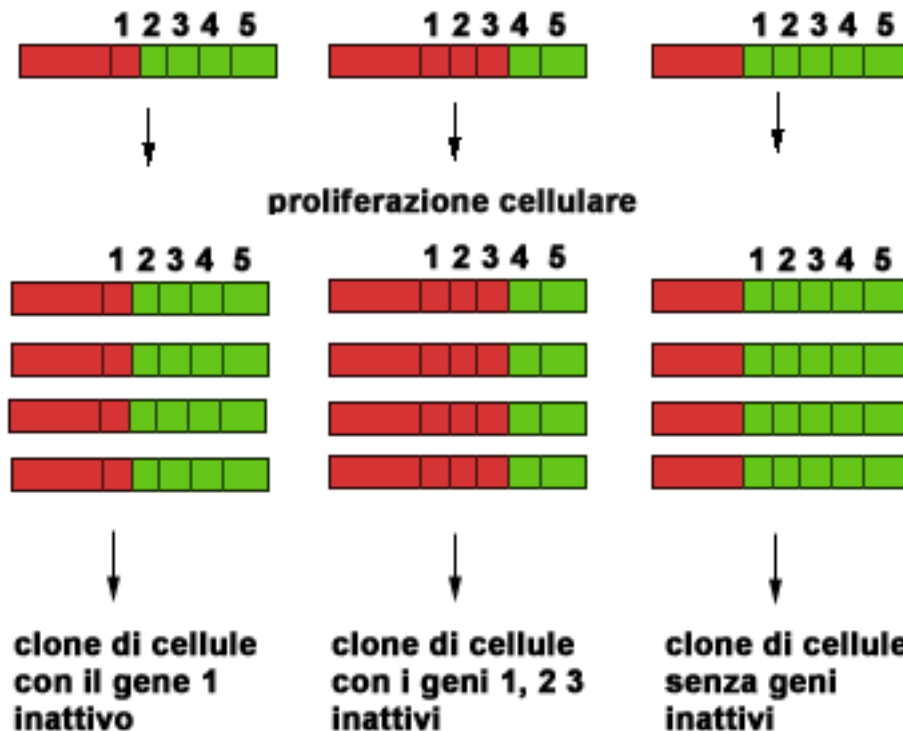
Enhanced
(e.g. X0)

Variegazione per effetto di posizione in *Drosophila*



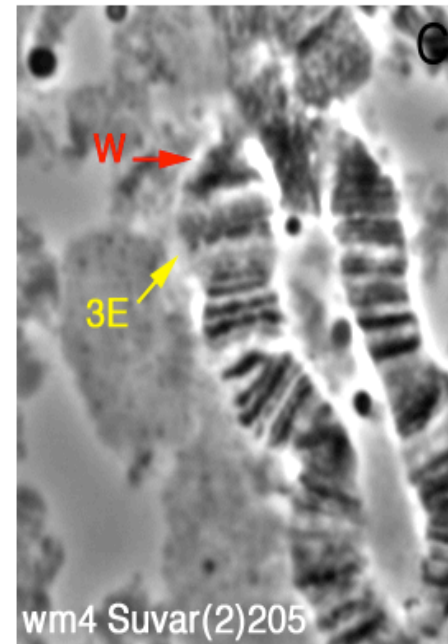
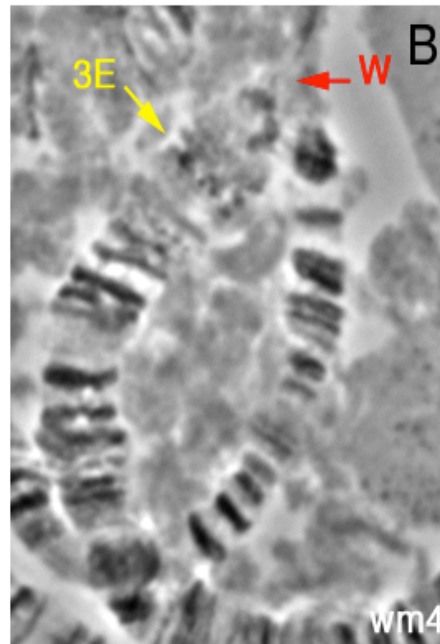
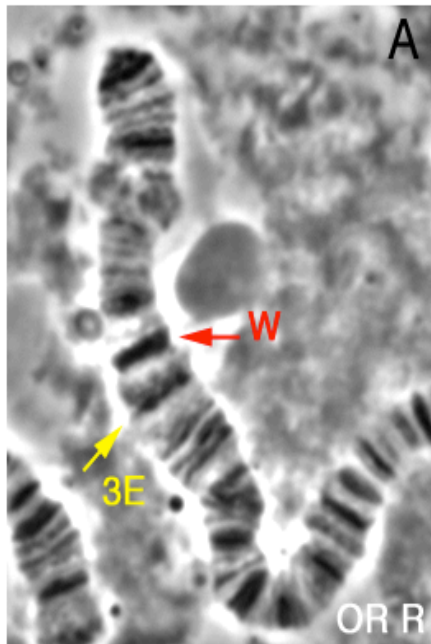
Variegazione Per effetto di posizione e memoria cellulare

precocemente nell'embrione che si sviluppa l'eterocromatina si forma e diffonde nell'eucromatina circostante in grado diverso in cellule diverse

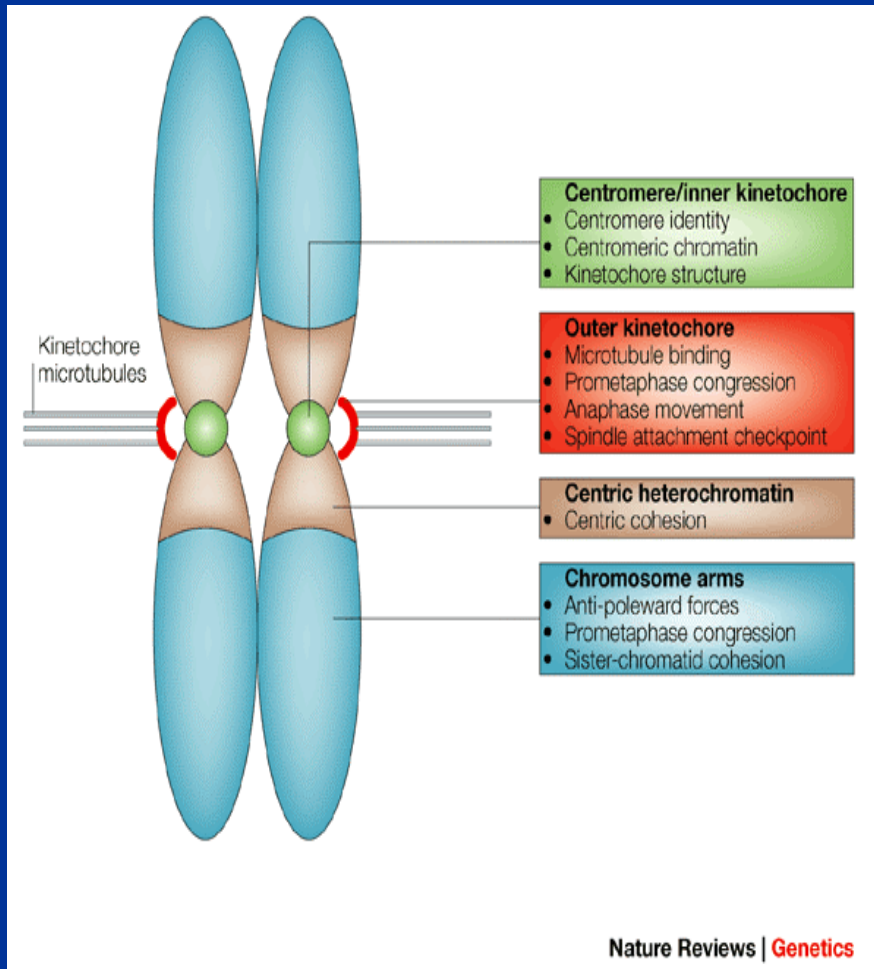




HP1 è coinvolta nel silenziamento genico indotto da modificazioni conformazionali della fibra cromatinica



Il centromero



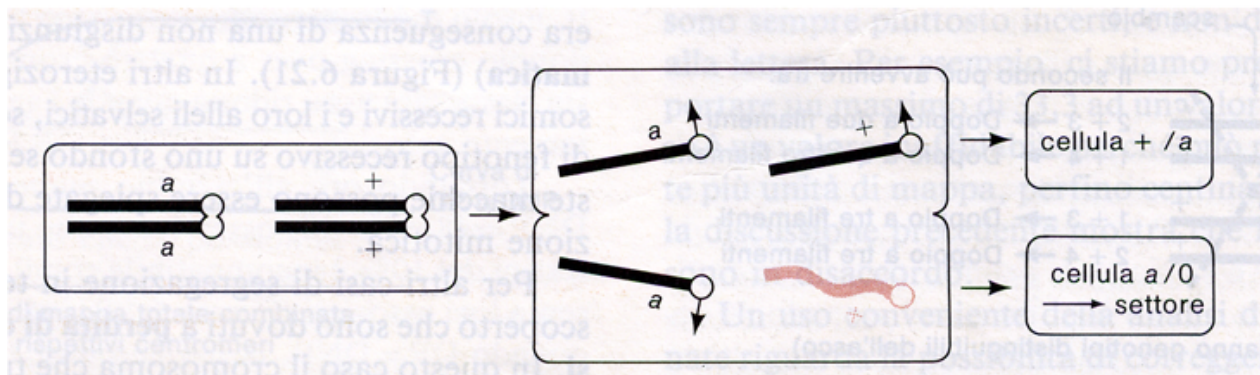
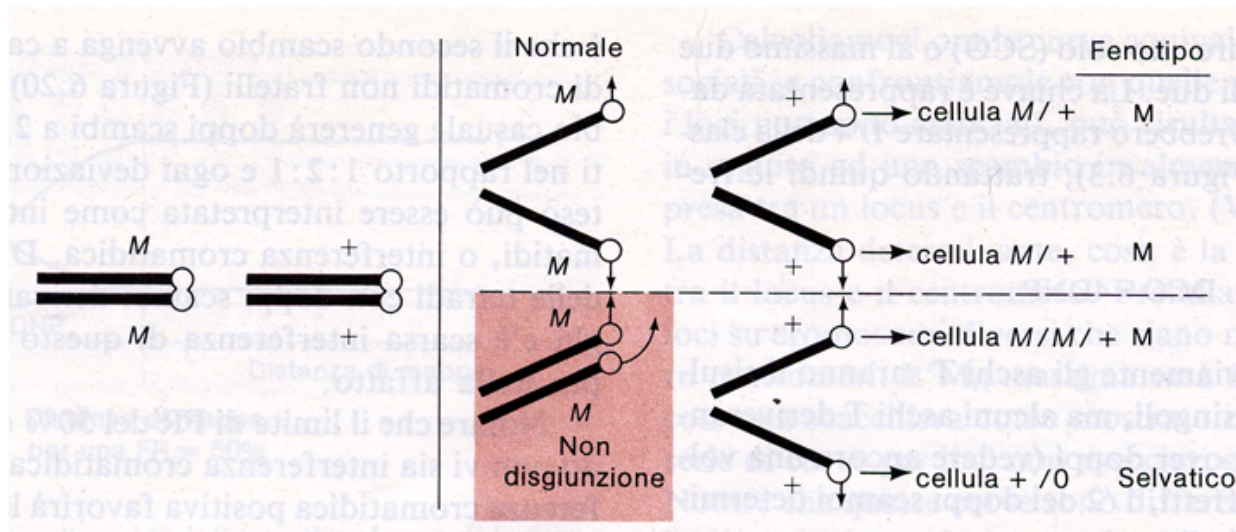
Nel **1880 Walther Flemming** definì i **centromeri** come **costrizioni primarie** citologicamente visibili sui cromosomi.

Agli inizi del 1900 i centromeri vennero definiti geneticamente come siti cromosomici essenziali per la normale ereditarietà e come regioni dove la ricombinazione meiotica era ridotta o assente.

Il centromero è il locus necessario per la segregazione cromosomica. E' una regione specializzata del cromosoma eucariotico necessaria per la **formazione del cinetocore**, l'attacco del fuso mitotico e il movimento dei cromosomi durante la meiosi e la mitosi.

Il centromero, quindi, assicura la stabilità genetica ed è quindi di vitale importanza.

Non-disgiunzione e perdita cromosomica



CENTROMERO

Sebbene il ruolo svolto dal centromero sia altamente conservato tra gli eucarioti, è ormai da molti anni evidente il fatto che la morfologia varia in maniera sorprendente.

Cromosomi monocentrici

Interagiscono con i microtubuli in una particolare regione e si muovono verso i poli in anafase seguendo il centromero.

Cromosomi olocentrici

Si legano ai microtubuli lungo tutto il cromosoma. Sono diffusi nel regno vegetale ed animale. Possono essere il prodotto di un'evoluzione convergente oppure possono rappresentare il modello centromerico ancestrale.

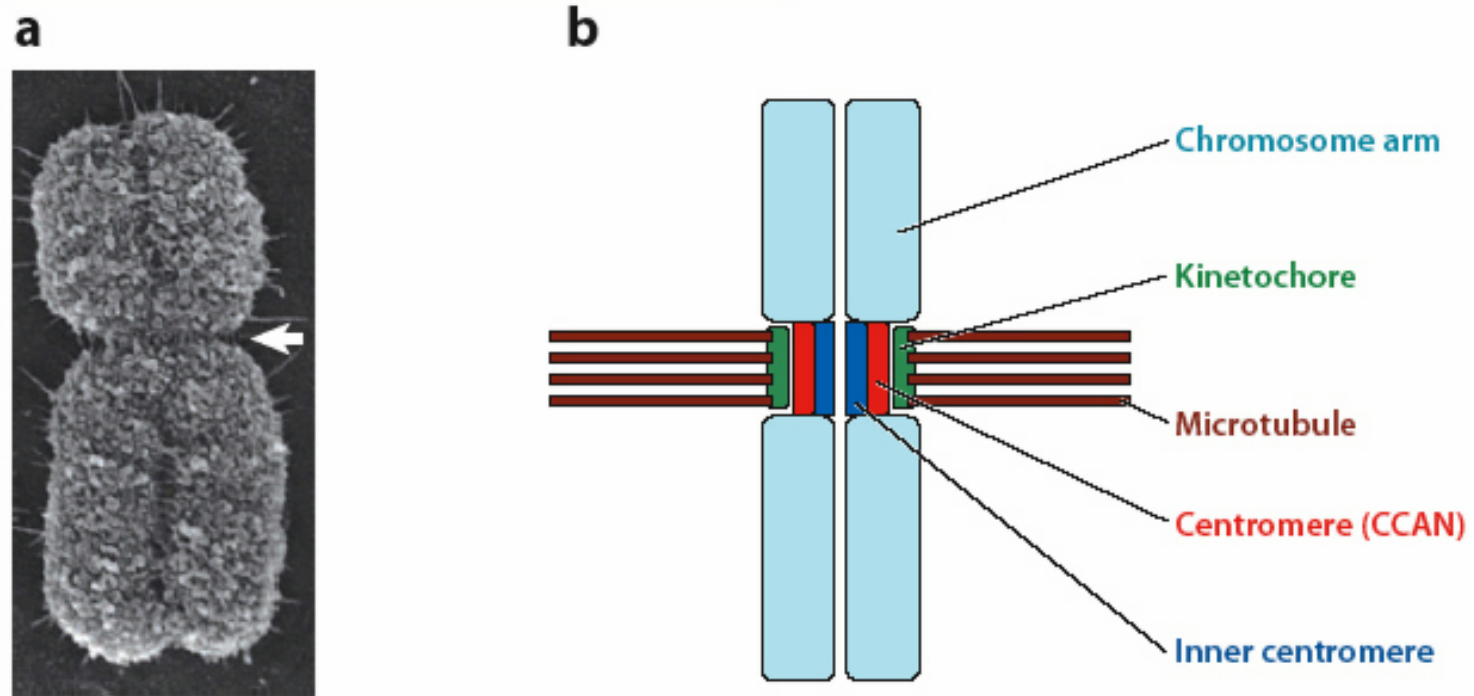


Figure 1

Kinetochores as seen through the microscope. (a) Scanning electron micrograph of a metaphase chromosome; sister chromatids are easily distinguishable and still attached at the centromere (*arrow*). (b) Schematic of a bi-oriented chromosome; labeled are structures discussed in this review and they comprise inner centromere, centromere (including CENP-A containing chromatin and CCAN) and kinetochore.

C

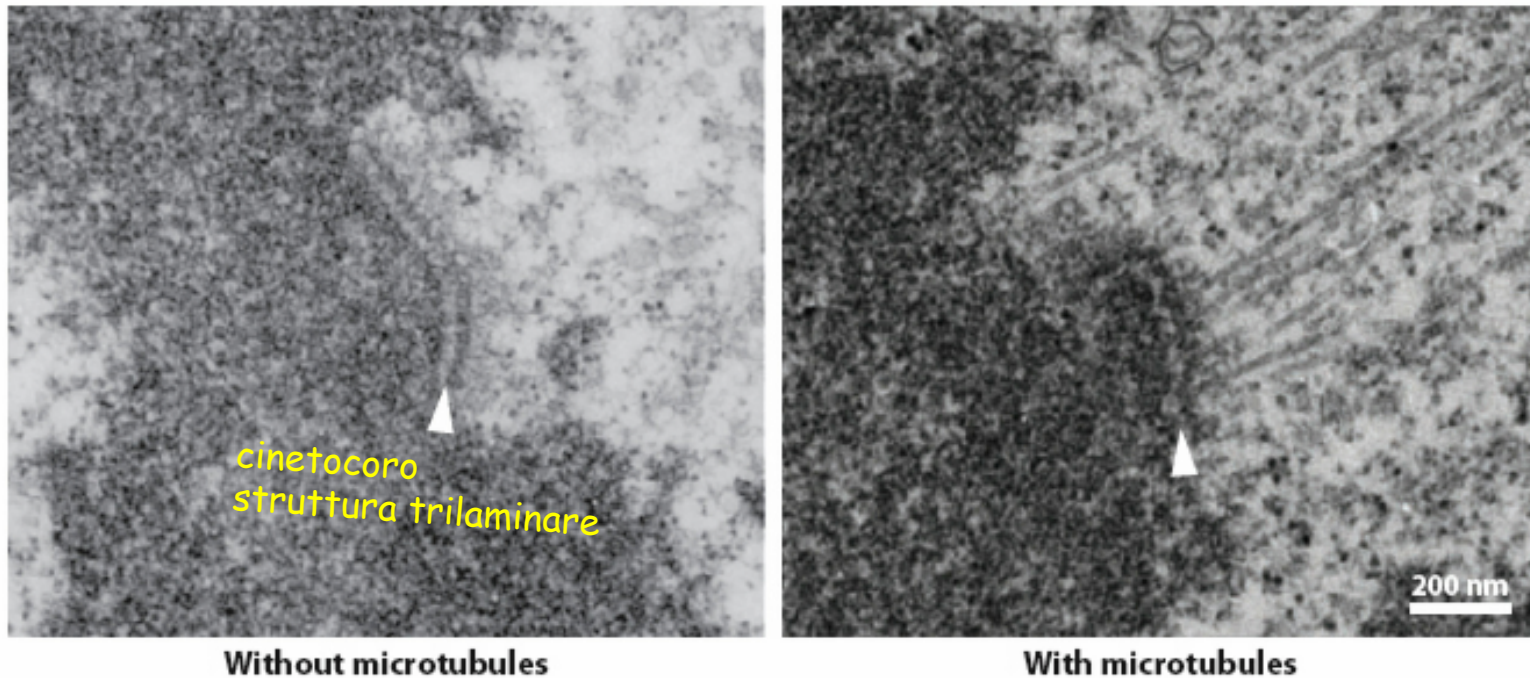


Figure 1

(c) Electron micrographs of kinetochores from PtK1 (rat kangaroo kidney epithelial) cells. Kinetochores without microtubules exhibit a trilaminar structure (*arrow head*) consisting of two dense plates and an external fibrous corona. The binding of microtubules does not alter the trilaminar configuration, although the corona is no longer conspicuous. (a) Courtesy of Terry D. Allen from “Molecular Biology of the Cell” by Alberts et al. 2008 (b) Courtesy of Helder Maiato from Maiato et al. 2006, *Chromosoma* 115:469–480 (100).

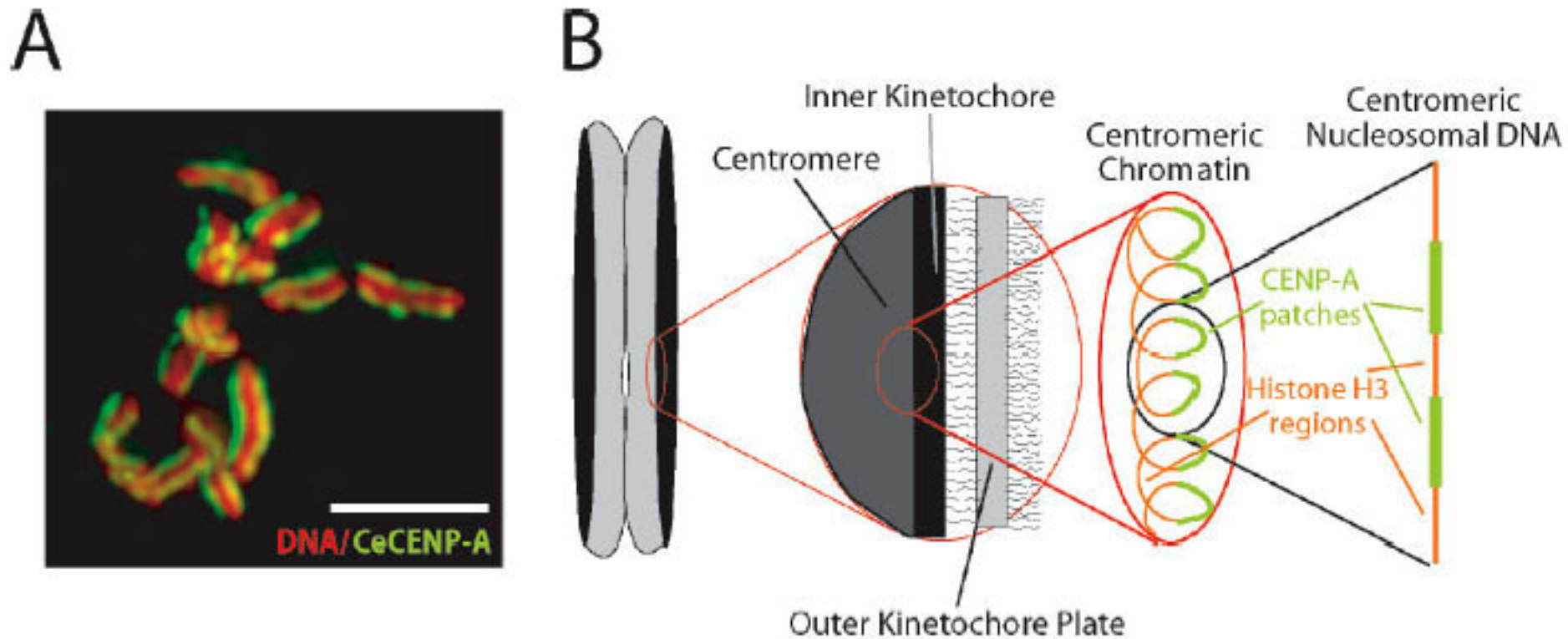


Figure 1. CENP-A is an essential determinant of kinetochore specification. (A) CENP-A^{HCP-3} localizes to the diffuse *C. elegans* kinetochores. Immunofluorescence showing CENP-A staining in yellow and DNA in red. Scale bar is 5 μ m. (B) Model for formation of physically juxtaposed CENP-A-containing chromatin domains on a condensed chromatid. Interspersed regions of histone H3-containing nucleosomes and CENP-A-containing nucleosomes are organized such that CENP-A-containing domains face outward and direct formation of the outer domains of the kinetochore, while histone H3 domains are internal and constitute the bulk of chromosomal chromatin.

Holocentric chromosome segregation

- Il centromero è costituito da DNA e proteine

Proteine centromeriche

La maggior parte delle informazioni sulle proteine centromeriche derivano dalla scoperta casuale nel 1980 di anticorpi anti-centromerici in pazienti affetti da un malattia autoimmune definita “**CREST**” [Calcinosi, Raynard’ s (spasmi vascolari), Esofago (perdita controllo muscolare di), Sclerodattilia (deformità delle dita), Telangiectasia (spot rossi sulla pelle)].

Sono state inizialmente identificate varie proteine (ad es. CENP-A, CENP-B, CENP-C CENP-G e CENP-H) specifiche per il centromero.

Tre hanno la capacità di legarsi al DNA e gli studi condotti hanno messo in evidenza il ruolo centrale svolto da CENP-A (proteina simile all'istone H3, chiamata talvolta CENH3) nella determinazione dell'identità centromerica.

Come il Centromero diventa Cinetocore

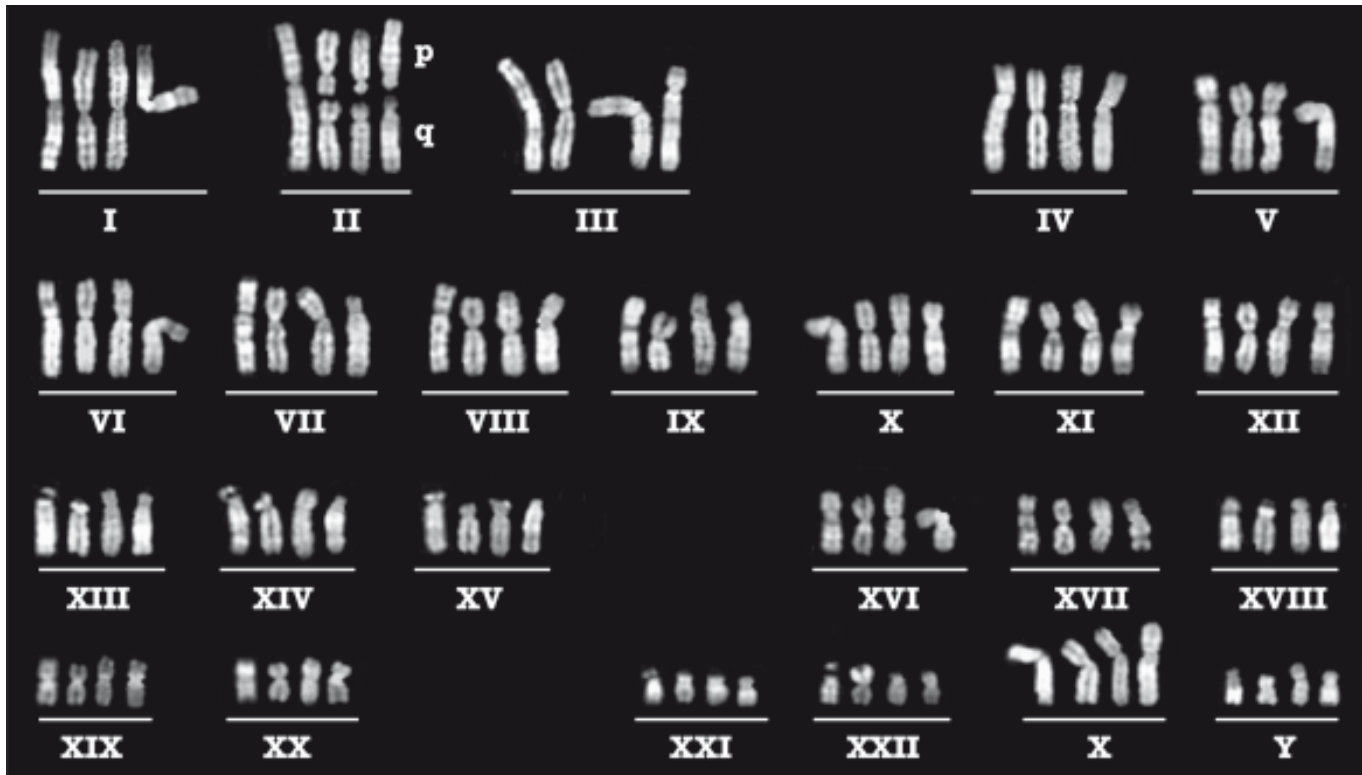
Le proteine centromeriche marcano il sito/siti sui cromosomi dove vengono reclutate le proteine del cinetocore.

- Centromero e cinetocore sono strutture dinamiche la cui composizione cambia in modo da riflettere le funzioni proprie dei specifici stadi del ciclo cellulare.
- Il centromero acquisisce la capacità di reclutare i componenti chiave del cinetocore che, a loro volta, attraggono proteine responsabili per il legame con i microtubuli e con gli aspetti sequenziali della regolazione mitotica.

Neocentromeri

Siti cromosomici che non contengono il DNA ripetitivo centromerico ma:

- ↳ acquisiscono le caratteristiche della cromatina centromerica,
- ↳ possono assemblare un cinetocore funzionale,
- ↳ reclutare le altre proteine centromeriche,
- ↳ essere trasmessi stabilmente in meiosi e mitosi.





The Nobel Prize in Physiology or
Medicine 1946

H. J. Muller 1938, 1940

"for the discovery of the production of mutations by means of X-ray
irradiation"



Hermann Joseph Muller

Muller mediante esperimenti di irradiazione con raggi X in *Drosophila* dimostrò l'**impossibilità** di recuperare cromosomi con **delezioni terminali**.

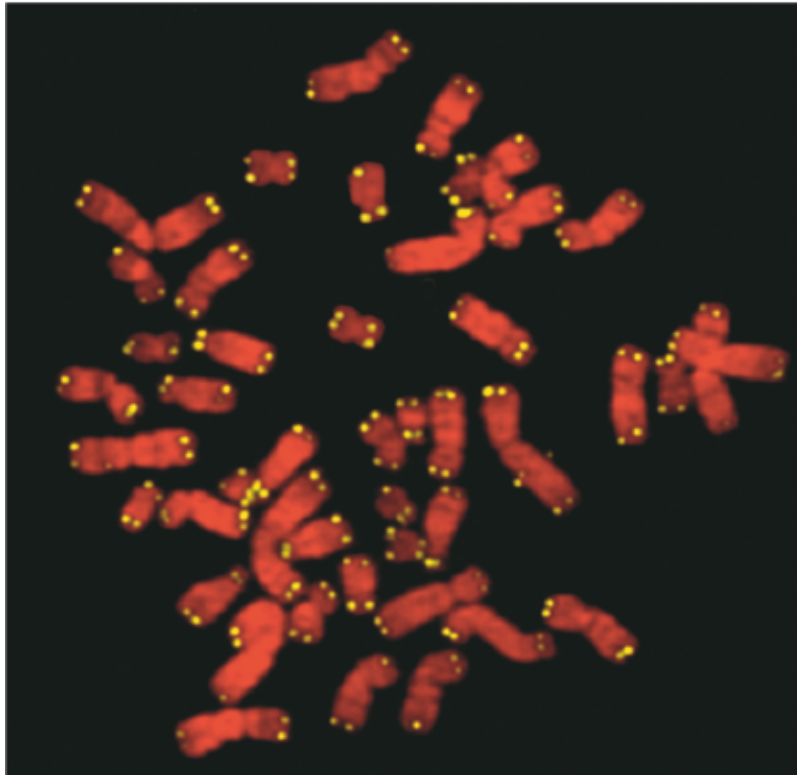
I cromosomi rotti recuperati erano sempre protetti da altri frammenti cromosomici.

Le **rottture cromosomiche indotte** da radiazioni **portavano i cromosomi a fondersi** mentre **le terminazioni naturali erano protette dalle fusioni e dai riarrangiamenti**.

Questa scoperta portò Muller alla elaborazione del concetto di **telomero** dalle parole greche:

TELOS (FINE) + MEROS (PARTE)

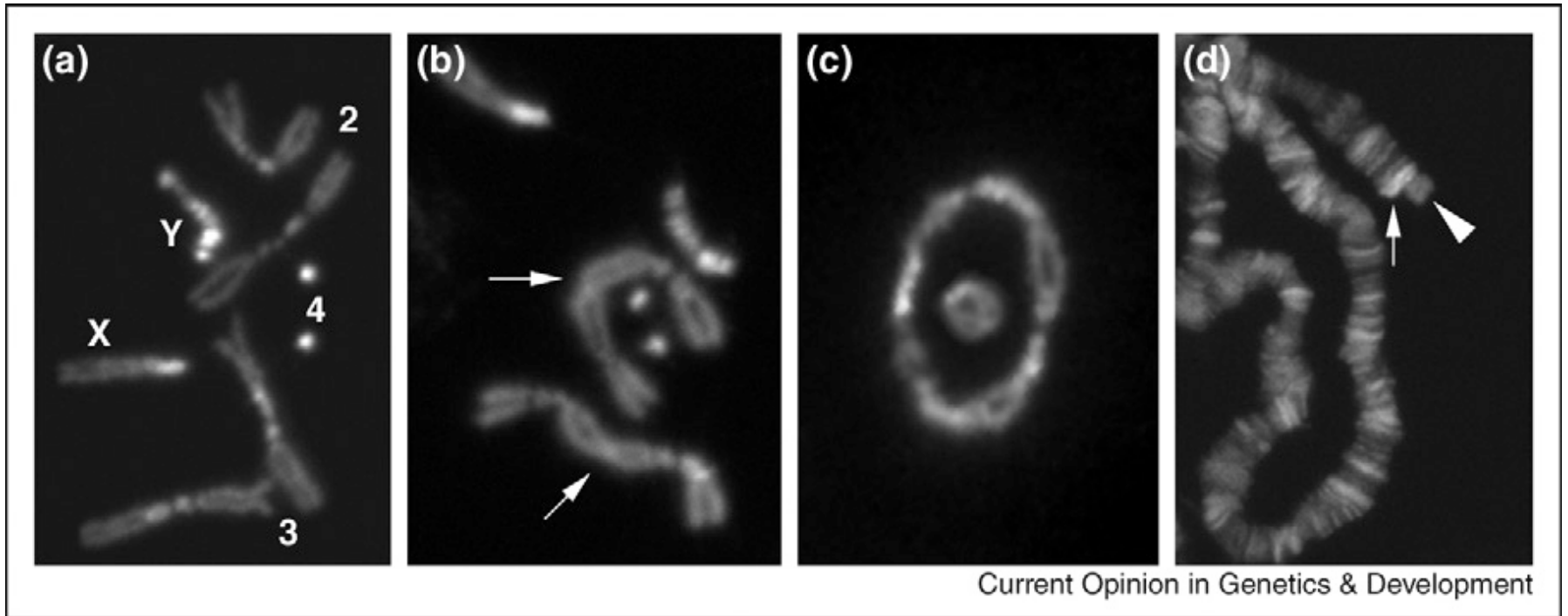
(a)



(b)



Fusioni telomeriche



TELOMERI

Studi citologici e genetici



definizione funzionale:

- » i cromosomi lineari con rotture terminali sono instabili



le estremità possono fondersi:

- » cromosomi dicentrici
- » cromosomi ad anello
- » etc

TELOMERI

Sono strutture complesse presenti alle estremità di tutti i cromosomi eucariotici lineari.

- * proteggono le estremità cromosomiche dalla degradazione e da eventi di fusione
- * permettono la replicazione completa dei cromosomi, compreso il ripristino di ripetizioni terminali semplici di caratteristica lunghezza

DNA TELOMERICO

I repeats telomerici di molte specie sono simili:

➤ diversi gruppi hanno la stessa unità ripetuta dei vertebrati (TTAGGG)

↳ possibile spiegazione

»»»▶ necessità delle sequenze telomeriche di funzionare come siti di legame di proteine per formare interazioni di basi non canoniche (G-quartet)

Tipo di organismo	Nome scientifico	Ripetizione telomerica (direzione 5' -> 3')
Vertebrati	<i>Homo sapiens</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Xenopus laevis</i>	TTAGGG
Funghi	<i>Neurospora crassa</i> , <i>Physarum</i> , <i>Didymium</i>	TTAGGG
Protisti	<i>Dictyostelium discoideum</i>	AG(1-8)
Kinetoplastea (protozoi)	<i>Trypanosoma</i> , <i>Crithidia</i>	TTAGGG
Protozoi ciliati	<i>Tetrahymena</i> , <i>Glaucoma</i>	TTGGGG
	<i>Paramecium</i>	TTGGG(T/G)
	<i>Oxytricha</i> , <i>Stylonychia</i> , <i>Euplotes</i>	TTTTGGGG
Apicomplexa	<i>Plasmodium</i>	TTAGGG(T/C)
Piante superiori	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TTTAGGG
Alghe verdi	<i>Chlamydomonas</i>	TTTTAGGG
Insetti	<i>Bombyx mori</i>	TTAGG
Anellidi	<i>Ascaris lumbricoides</i>	TTAGGC
Lieviti a scissione binaria	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	TTAC(A)(C)G(1-8)
Lieviti gemmanti	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TGTGGGTGTGGTG (da stampo RNA) o G(2-3)(TG)(1-6)T (sequenza consenso)
	<i>Candida glabrata</i>	GGGGTCTGGGTGCTG
	<i>Candida albicans</i>	GGTGTACGGATGTCTAACTTCTT
	<i>Candida tropicalis</i>	GGTGTAC[C/A]GGATGTCACGATCATT
	<i>Candida maltosa</i>	GGTGTACGGATGCAGACTCGCTT
	<i>Candida guilliermondii</i>	GGTGTAC
	<i>Candida pseudotropicalis</i>	GGTGTACGGATTTGATTAGTTATGT
<i>Kluyveromyces lactis</i>	GGTGTACGGATTTGATTAGGTATGT	

Sequenze dei repeats telomerici in eucarioti

GRUPPO	ORGANISMO	SEQUENZA TELOMERICA
Vertebrati	<i>Homo sapiens, Mus musculus, Xenopus</i>	TTAGGG
Insetti	<i>Bombyx mori</i> <i>Drosophila</i>	TTAGG HeT-A TART retrotrasposoni TAHRE
Nematodi	<i>Ascaris lumbricoides,</i> <i>C.elegans</i> <i>Parascaris univalens</i>	TTAGGC TTGCA
Piante	<i>Arabidopsis</i>	TTTAGGG
Alghe	<i>Chlamydomonas</i>	TTTTAGGG
Ciliati	<i>Paramecium</i> <i>Oxytricha</i>	TTGGG(T/G) TTTTGGGG
Funghi filamentosi	<i>Neurospora</i>	TTAGGG
Lieviti	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	TTACC(A)(C)(G)₍₁₋₈₎ G₍₂₋₃₎ (TG)₍₁₋₆₎ T