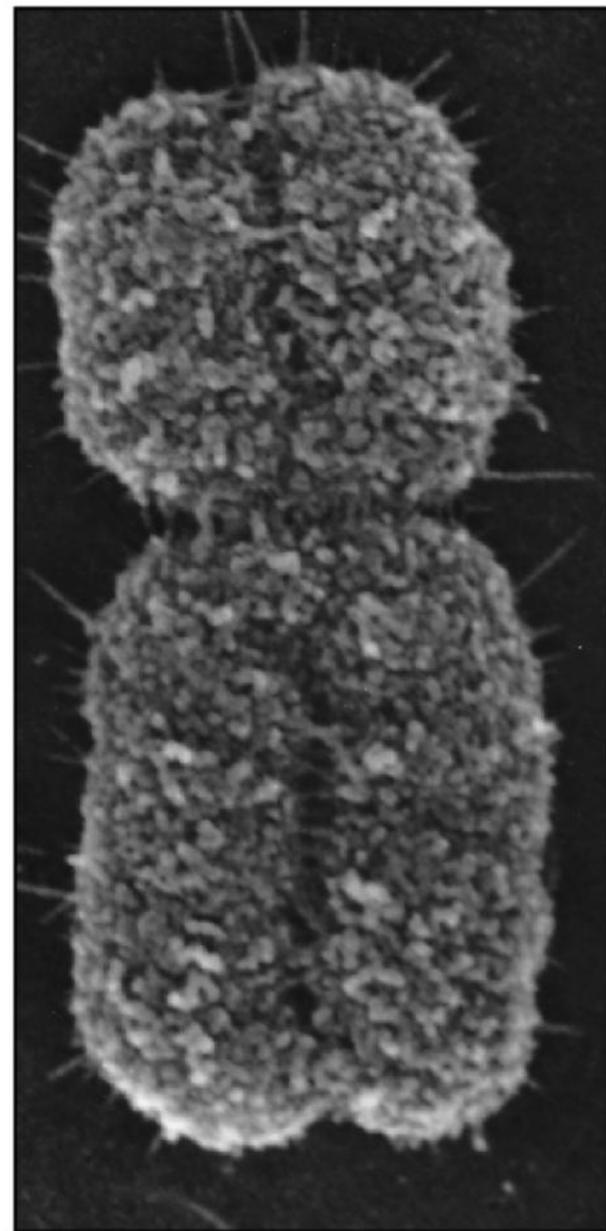
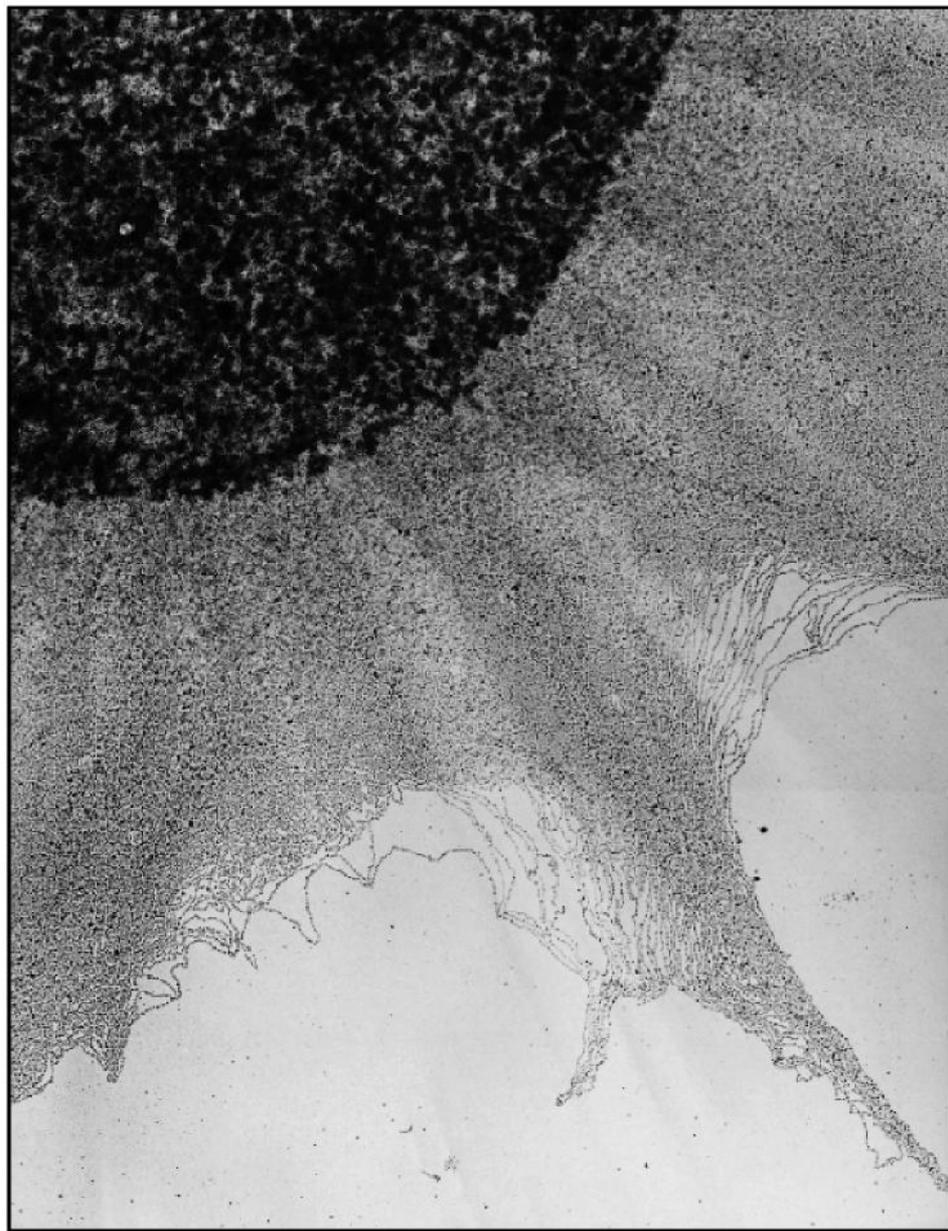
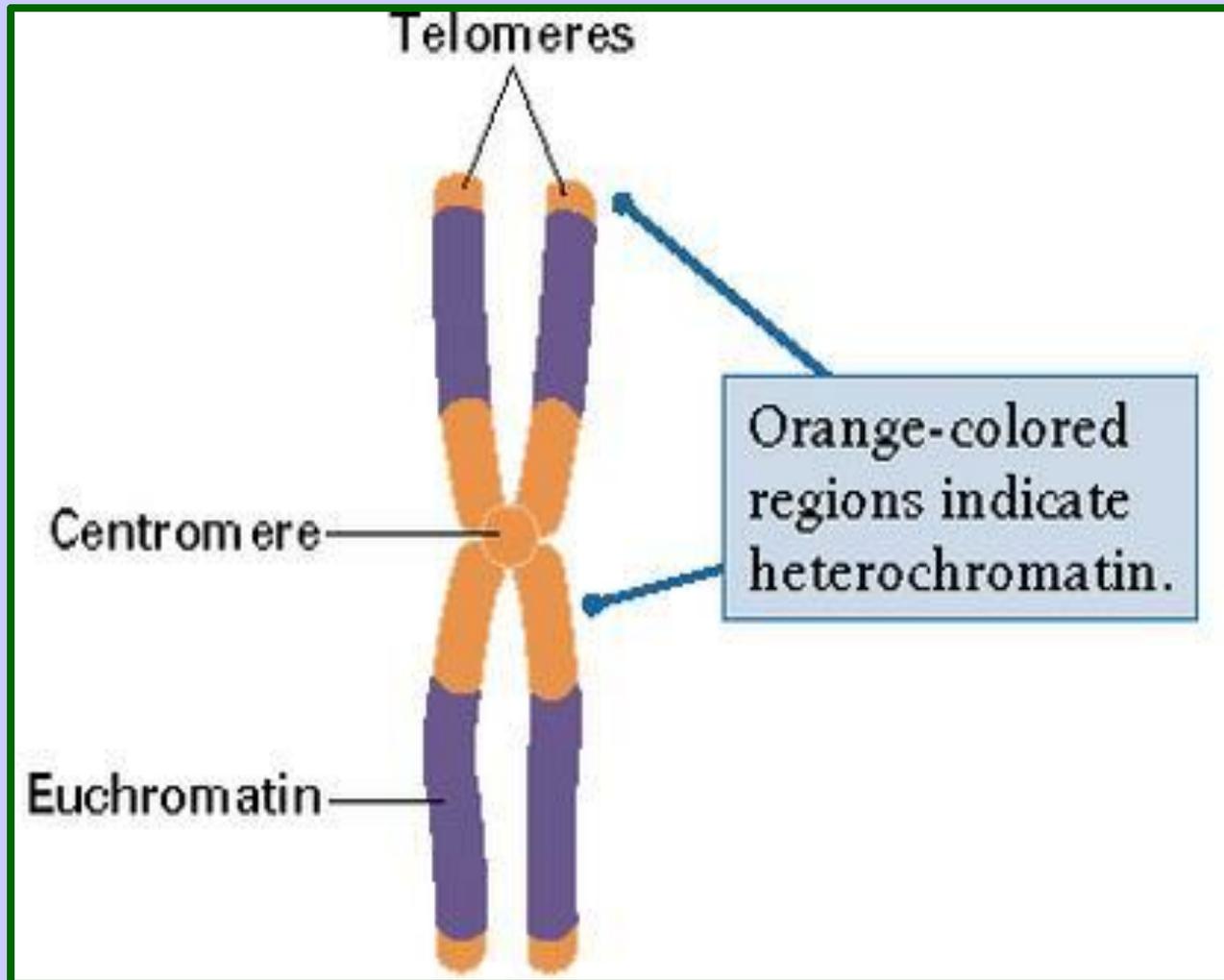
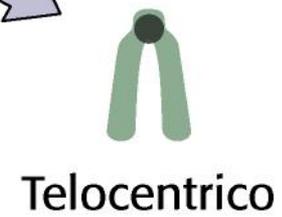
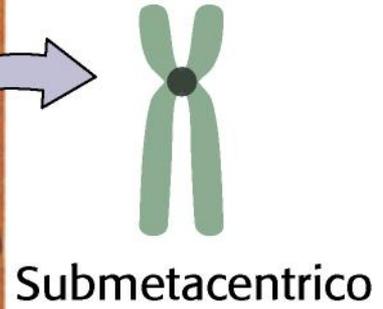
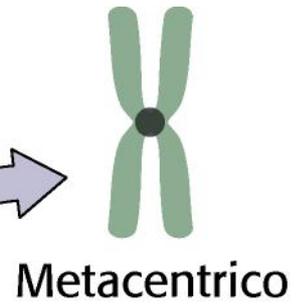


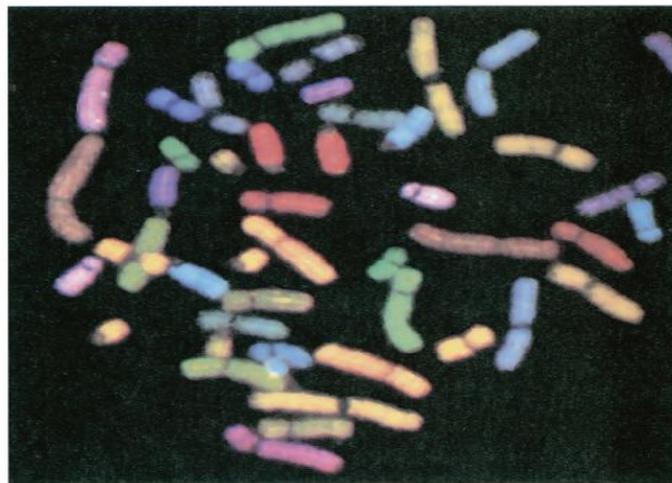
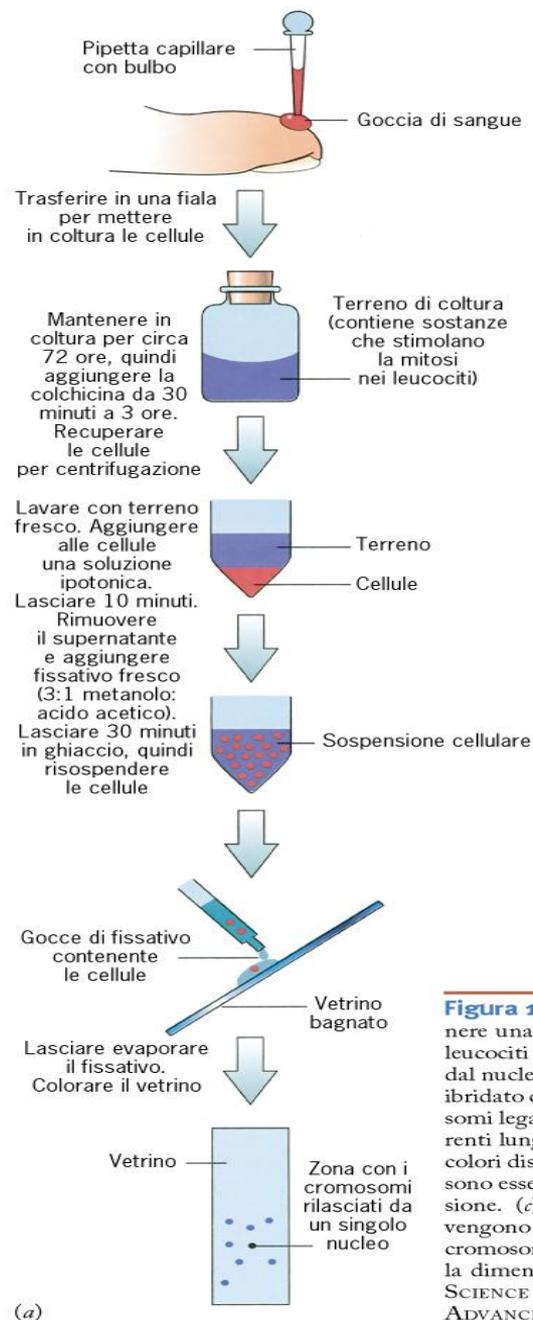
MUTAZIONI



NEL CROMOSOMA SI DISTINGUONO:







(b)



(c)

Figura 12.16 Cromosomi mitotici umani e cariotipo. (a) Procedura utilizzata per ottenere una preparazione di cromosomi mitotici per l'analisi con il microscopio, utilizzando leucociti di sangue periferico. (b) Fotografia di un gruppo di cromosomi mitotici ottenuti dal nucleo di una singola cellula umana in divisione. Il DNA di ciascun cromosoma è stato ibridato con una serie di sonde fluorescenti specifiche per ogni cromosoma. I diversi cromosomi legano diverse combinazioni di queste sonde e, di conseguenza, emettono luce a differenti lunghezze d'onda. Lo spettro di emissione dei diversi cromosomi viene convertito in colori distinti e riconoscibili attraverso analisi digitale. Coppie di cromosomi omologhi possono essere identificate cercando cromosomi con lo stesso colore e la stessa forma e dimensione. (c) Cromosomi di un individuo di sesso maschile disposti in un cariotipo. I cariotipi vengono preparati da una fotografia di cromosomi ottenuti da un singolo nucleo. Ciascun cromosoma viene ritagliato dalla fotografia e gli omologhi vengono appaiati in funzione della dimensione. (B: DA E. SCHRÖCK ET AL. GENTILMENTE CONCESSO DA THOMAS RIED, SCIENCE 273: 495, 1996, © COPYRIGHT 1993 AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE; C: DA CNRI/SCIENCE PHOTO LIBRARY/PHOTO RESEARCHERS).

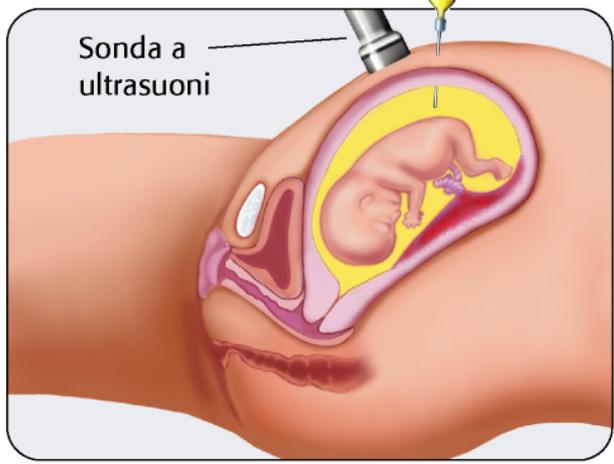
1 Sotto la guida degli ultrasuoni un ago sterile è inserito nel sacco amniotico attraverso la parete addominale.

2 Attraverso l'ago viene prelevata una piccola quantità di liquido amniotico.

3 Il liquido amniotico contiene cellule fetali, che vengono isolate...

4 ...e messe in coltura.

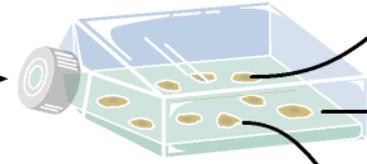
5 Sulle cellule in coltura si effettuano quindi dei test per evidenziare difetti metabolici, analizzare il DNA...



Liquido centrifugato



Cellule fetali



Analisi chimica

Analisi del DNA

Analisi cromosomica

6 ...o esaminare i cromosomi.



1 La CVS può essere effettuata nella fase iniziale della gravidanza.

2 Utilizzando l'ecografia come guida, viene inserito un catetere nella vagina e nella cervice fino all'utero...

3 ...dove viene messo a contatto con il corion, lo strato esterno della placenta.

4 L'aspirazione rimuove un piccolo frammento di corion.

5 Le cellule del corion sono usate direttamente per molti test genetici senza che sia necessario porle in coltura.

Feto di 10-11 settimane

Sonda a ultrasuoni

Utero

Corio

Catetere

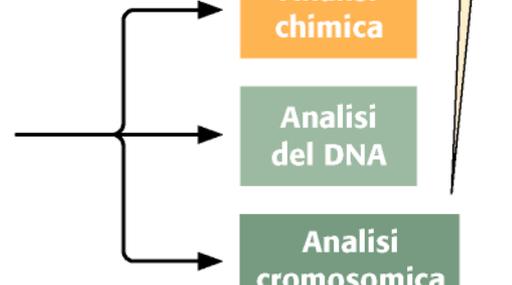
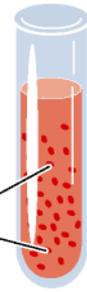
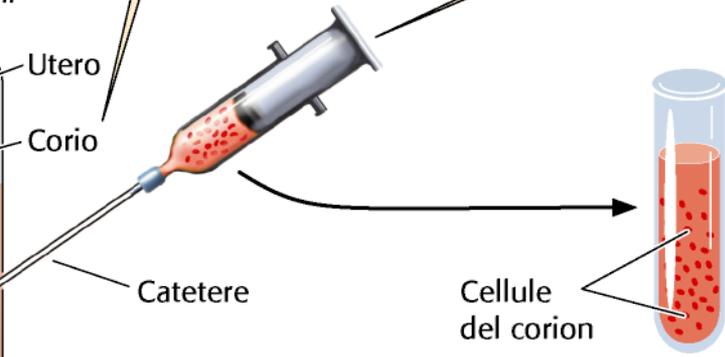
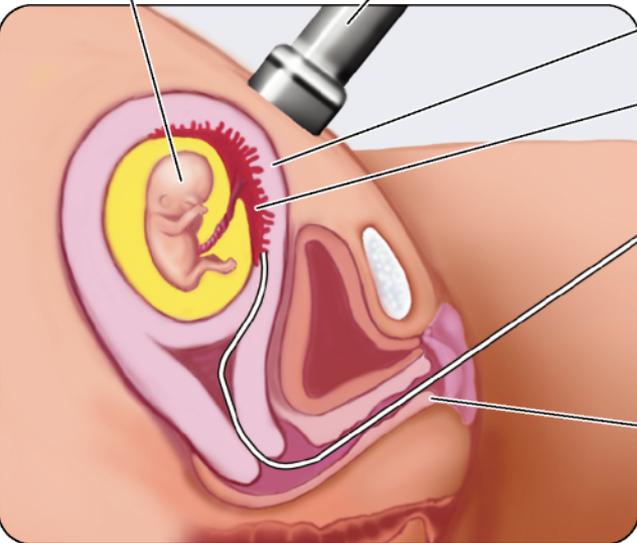
Vagina

Cellule del corion

Analisi chimica

Analisi del DNA

Analisi cromosomica



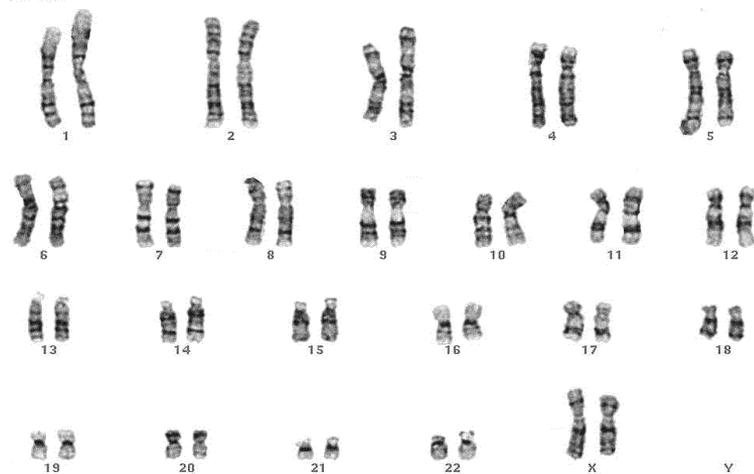
Human female
G-bands



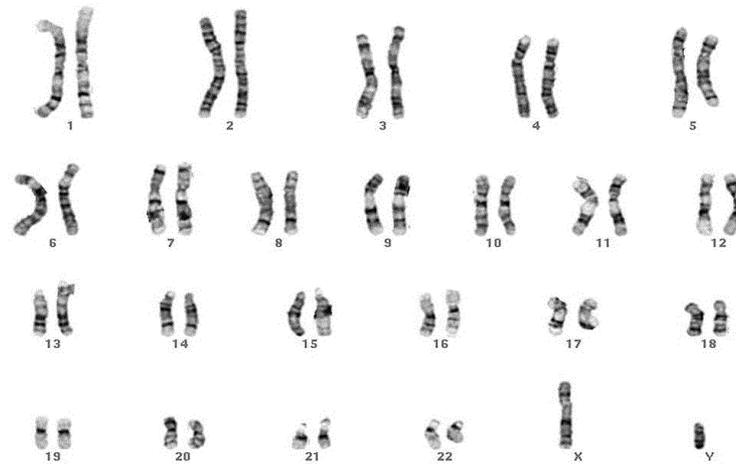
Human male
G-bands



Human female
G-bands



Human male
G-bands



LA MUTAZIONE

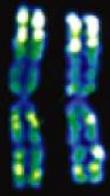
Cambiamento ereditario, raro, casuale ed improvviso che provoca una alterazione qualitativa e/o quantitativa dell'informazione genetica

La mutazione

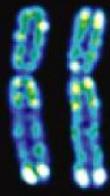
1. Crea variabilità sulla quale agisce la selezione naturale nel processo evolutivo
2. Permette l'analisi genetica
3. È alla base del miglioramento genetico di piante ed animali di interesse agronomico

Tipi di mutazioni

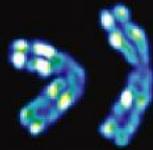
- *Geniche o puntiformi*
- *Cromosomiche*
- *Genomiche*



1



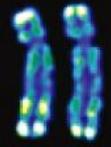
2



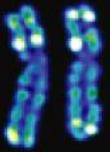
3



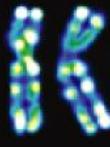
4



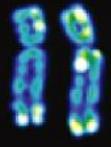
5



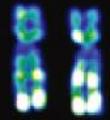
6



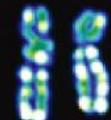
7



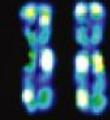
8



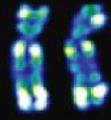
9



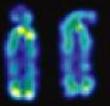
10



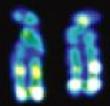
11



12



13



14



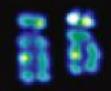
15



16



17



18



19



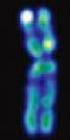
20



21



22



X



Y

Le mutazioni genomiche

Cambiamenti nel numero dei cromosomi

- **Aneuploidia**: perdita o aggiunta di uno o pochi cromosomi
- **Poliploidia**: il numero cromosomico diventa multiplo di quello normale
 - autopoliploidia
 - allopoliploidia

Aneuploidia

Nullisomia ($2n - 2$)

Monosomia ($2n - 1$)

Trisomia ($2n + 1$)

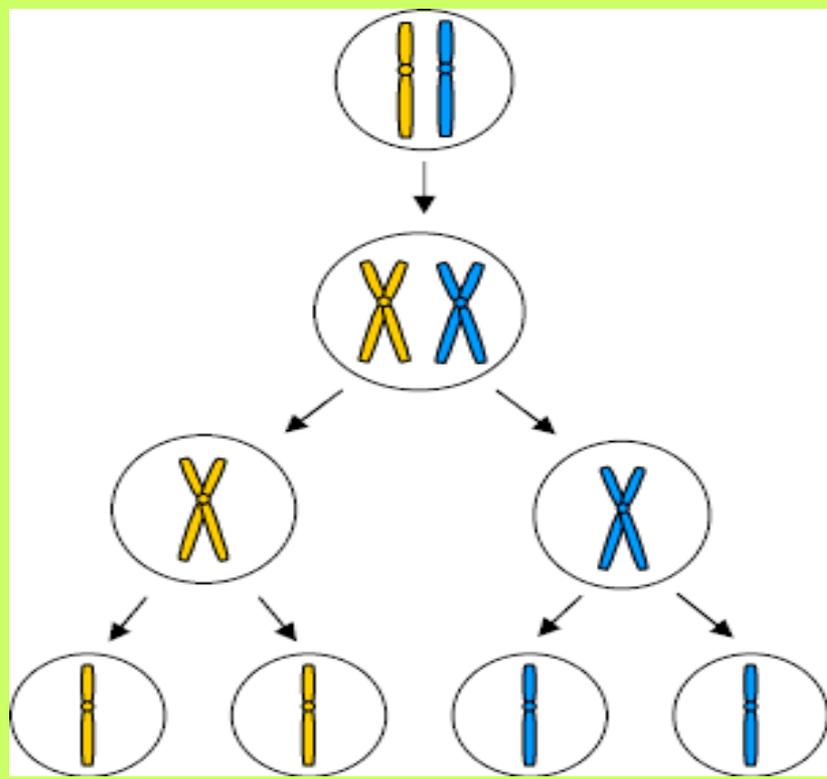
es. sindrome di Turner XO

es. sindrome di Klinefelter XXY

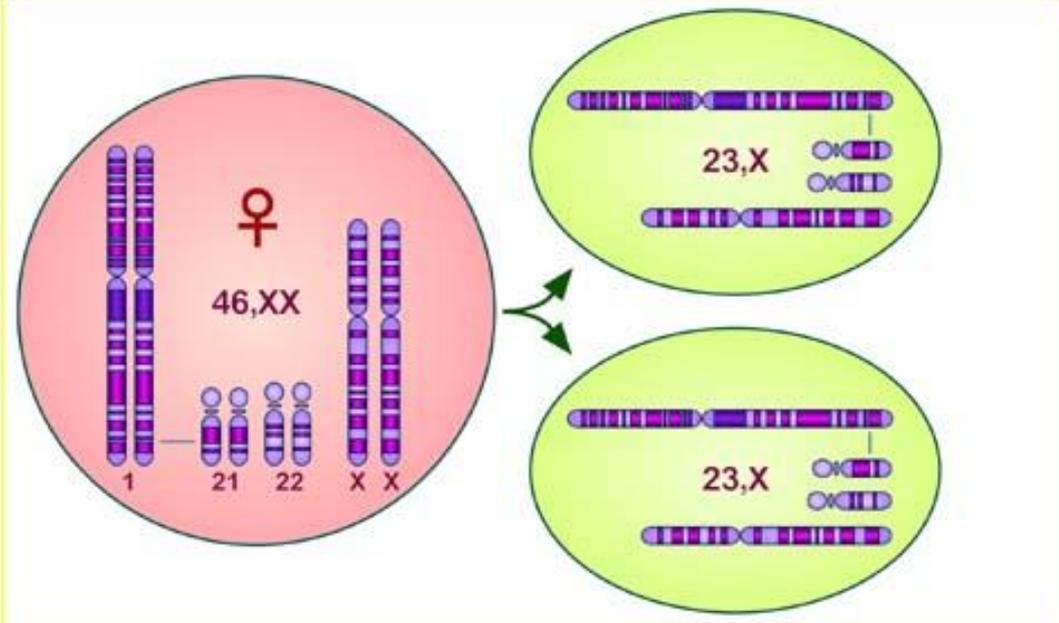
sindrome di Down (21)

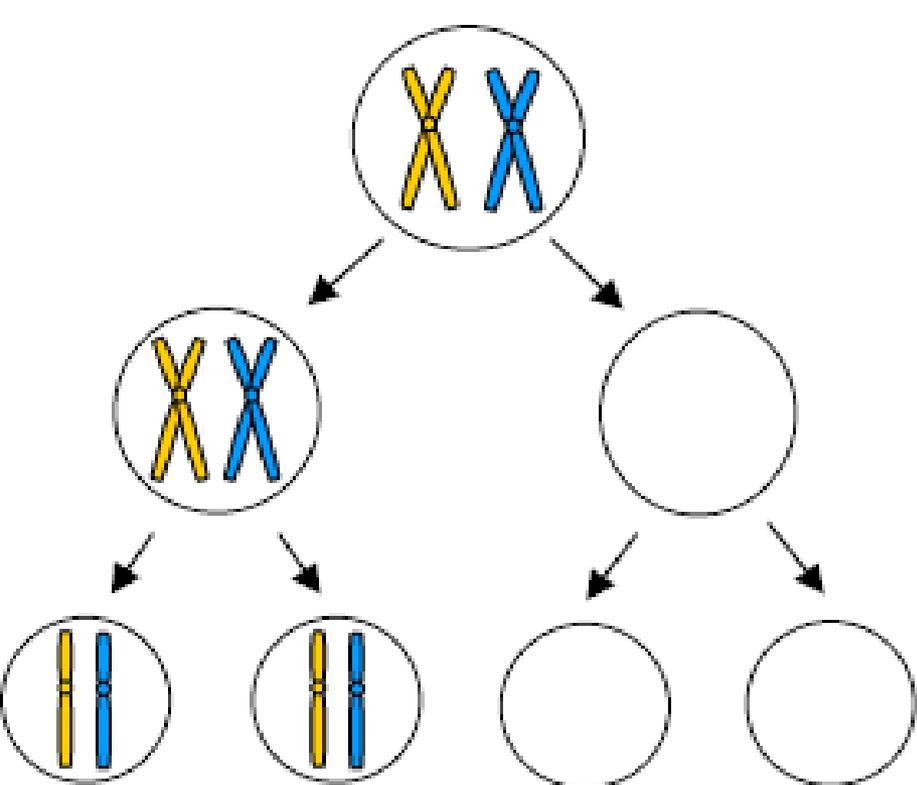
sindrome di Patau (13)

sindrome di Edwards (18)

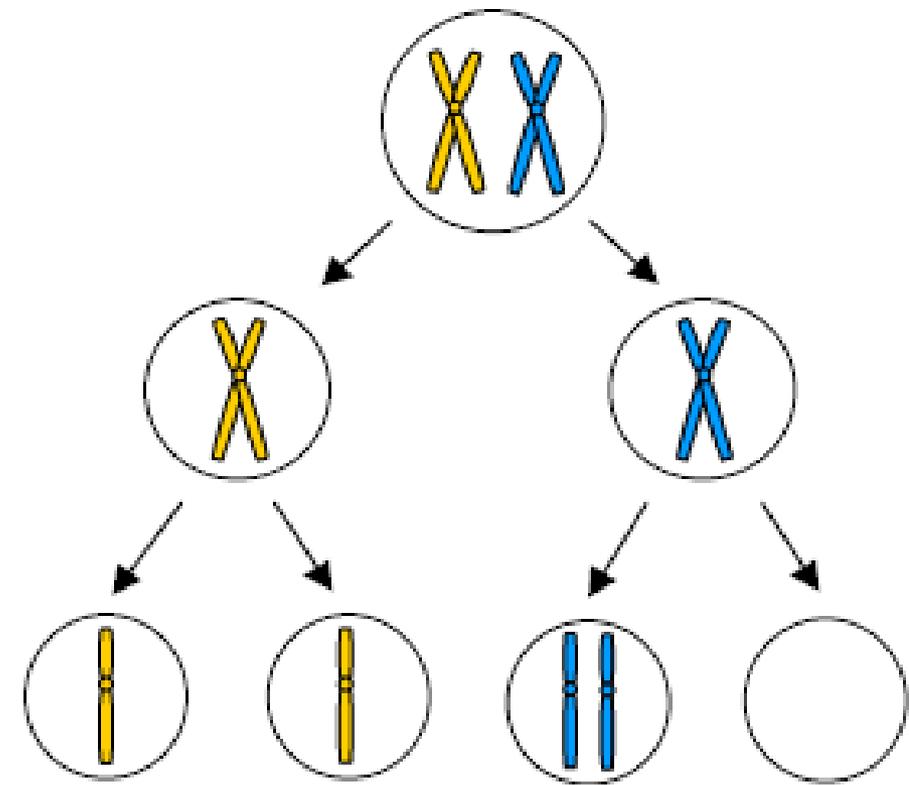


MEIOSI e FORMAZIONE DI GAMETI

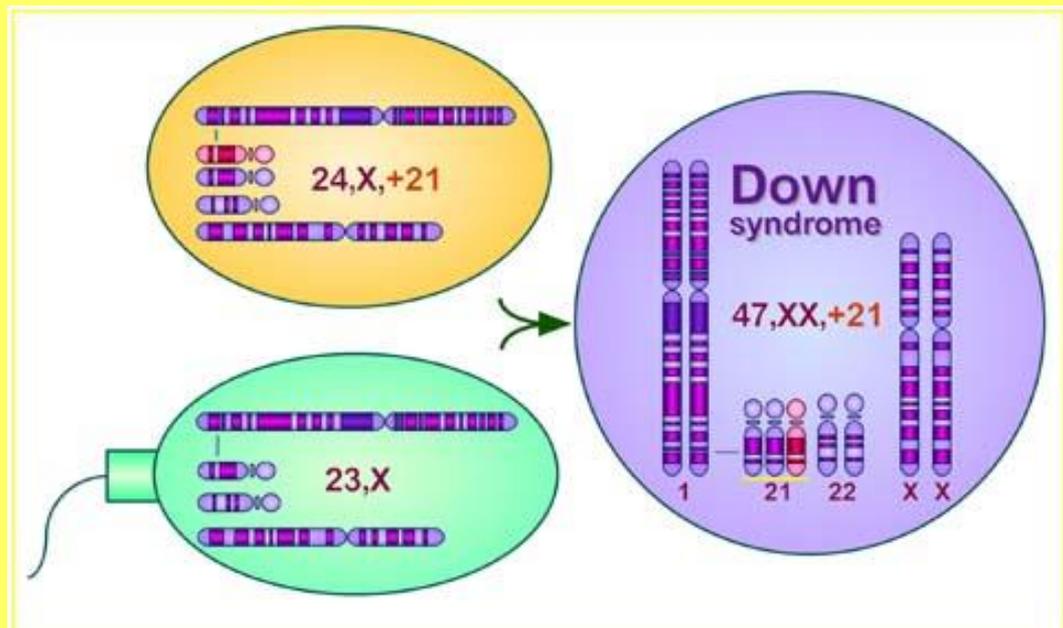
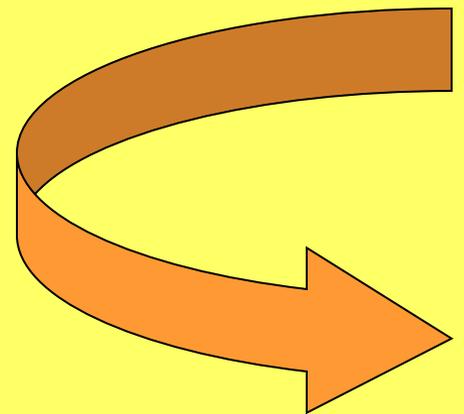
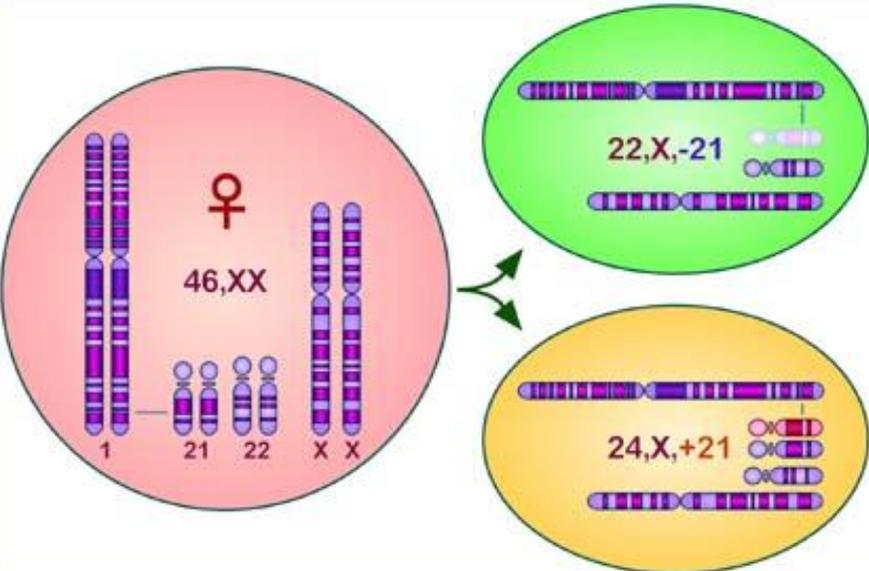


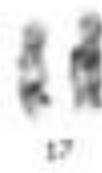
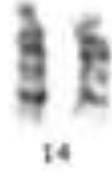


Non- disgiunzione Meiosi I



Non-disgiunzione Meiosi II

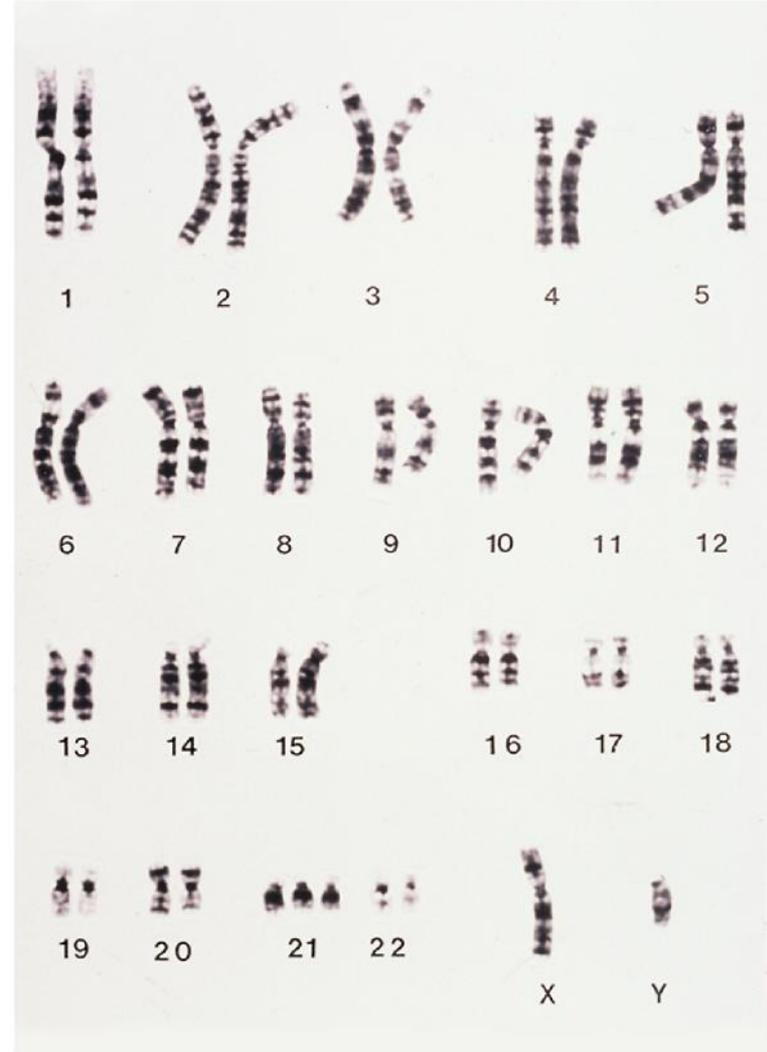




(a)



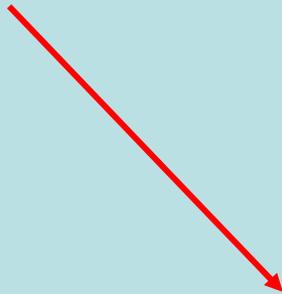
(b)



L'incidenza della trisomia 21 aumenta notevolmente con l'età della madre

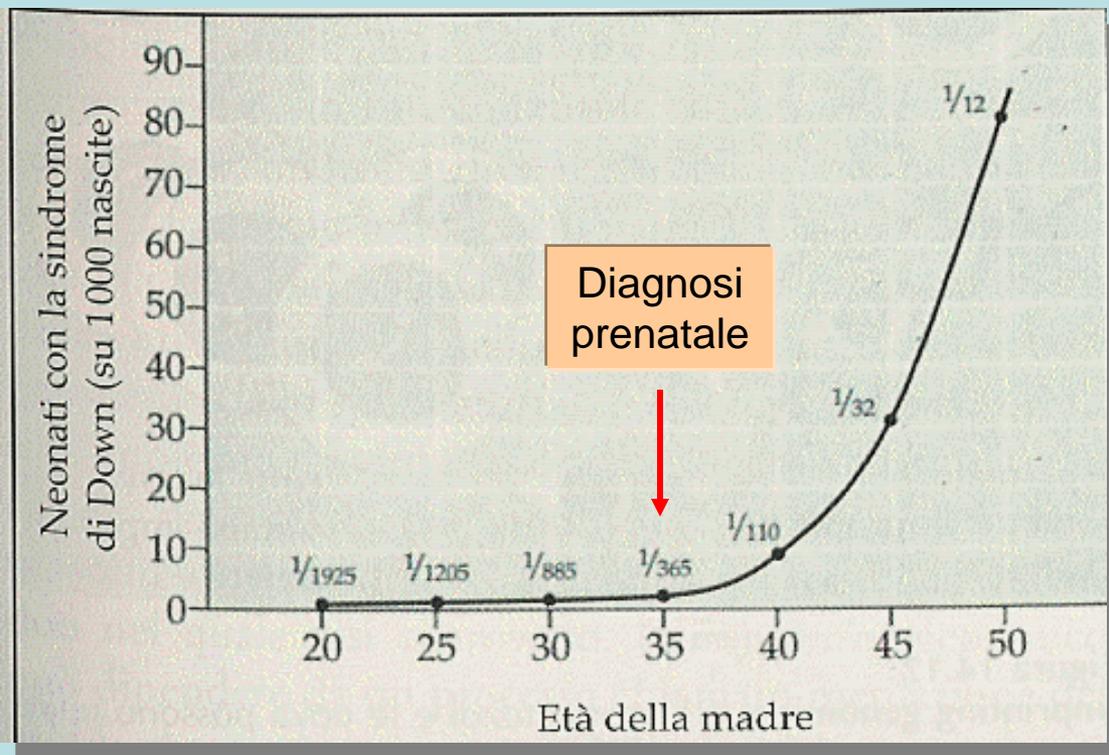


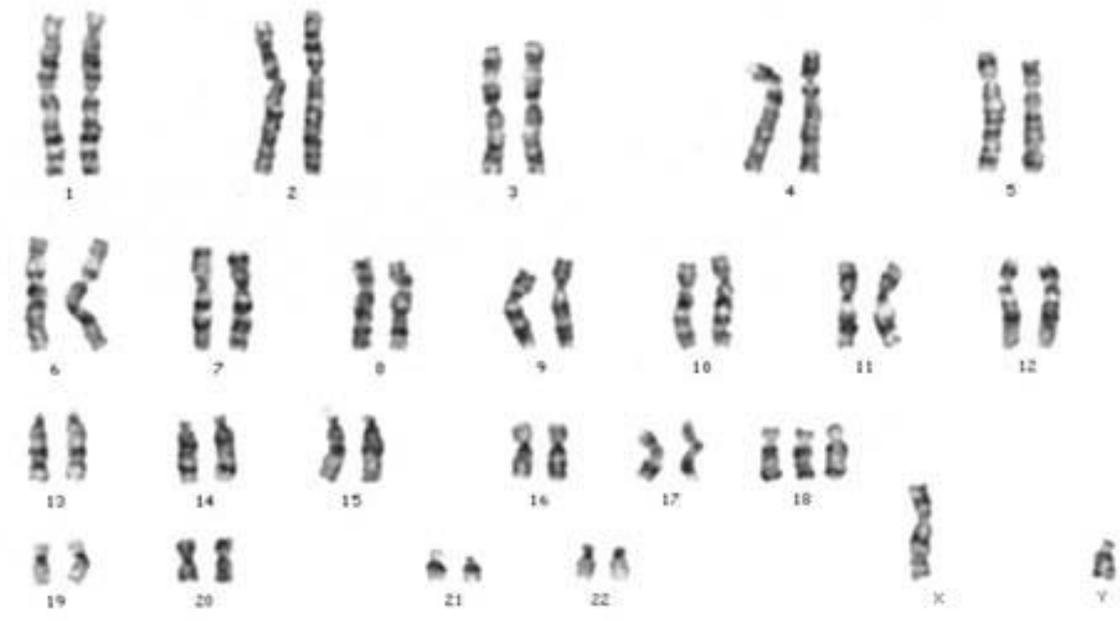
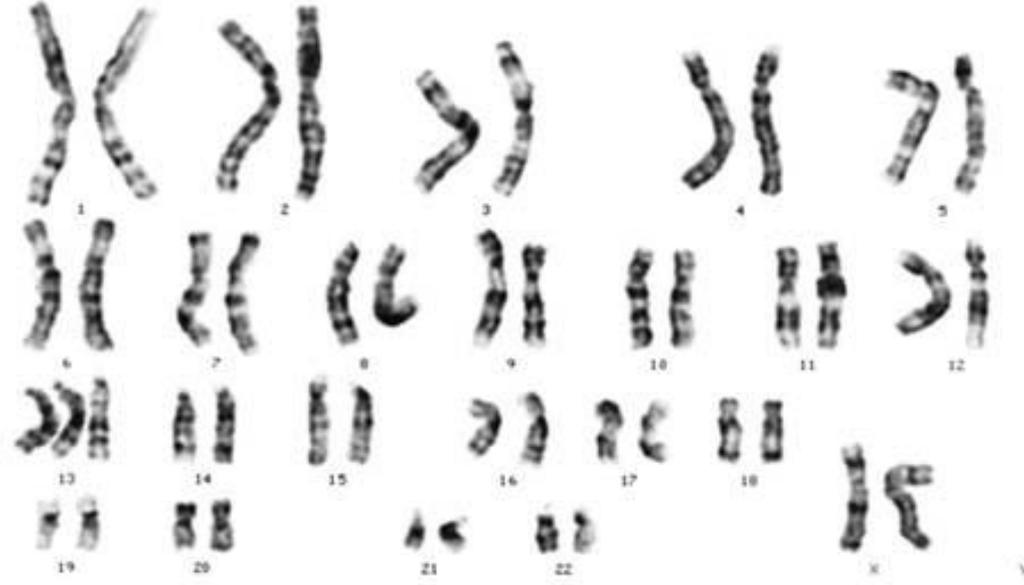
Possibili cause



Le donne anziane hanno maggior probabilità delle giovani di portare a termine la gravidanza di bambini Down

Alla nascita l'ovaia contiene già tutti i gameti che costituiscono la sua linea germinale. Essi sono bloccati allo stadio di oociti di primo ordine. È possibile che la probabilità di fallimento del sistema di disgiunzione aumenti con l'età





<i>Genotipo</i>	<i>Fenotipo</i>	<i>Origine della non-disgiunzione</i>	<i>Frequenza nella popolazione</i>
XO	Sindrome di Turner (femmina)	Meiosi nella formazione dell'uovo o dello sperma	1/5000
XXX	Metafemmina	Meiosi nella formazione dell'uovo	1/1000
XXY	Sindrome di Klinefelter (maschio)	Meiosi nella formazione dell'uovo o dello sperma	1/2000
XYY	Maschio normale	Meiosi nella formazione dello sperma	1/2000

Fenotipicamente femmine tuttavia gli organi sessuali non maturano alla pubertà e i caratteri sessuali secondari non si sviluppano. Statura inferiore alla media

Il fenotipo non è molto diverso da quello delle normali femmine XX ma hanno fertilità limitata

Fenotipicamente maschi con testicoli più piccoli del normale. Sterili e a volte con caratteri sessuali femminili (es. seno)

Indistinguibili dai maschi XY. Tendono ad avere altezza maggiore e caratteri maschili più sviluppati

Monosomia X (45,X0)

1:2.500

Solo l'1% delle gravidanze giunge a termine

▣ Errore nella spermatogenesi nell' 80% dei casi e non correla con l'età dei genitori

▣ Caratteristiche principali:

– linfedema periferico

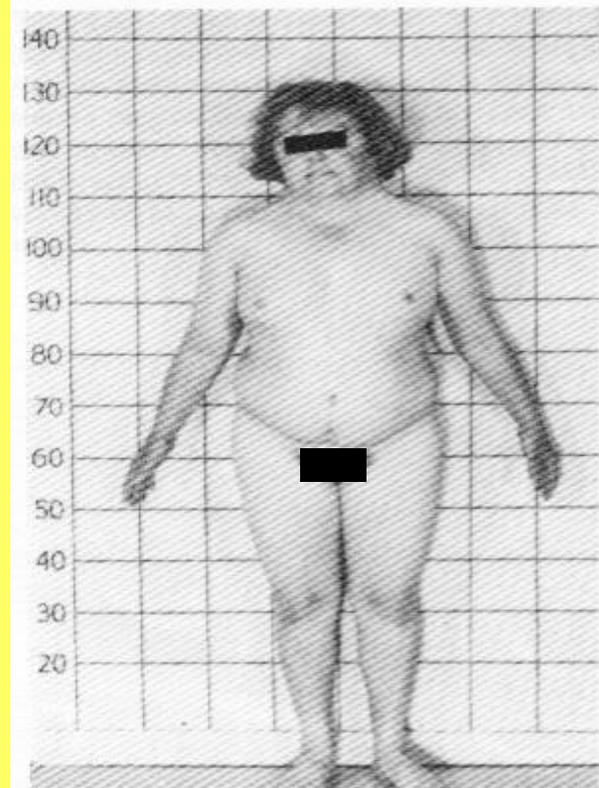
– pterigio del collo (collo corto "a tenda")

– bassa statura

– amenorrea primaria

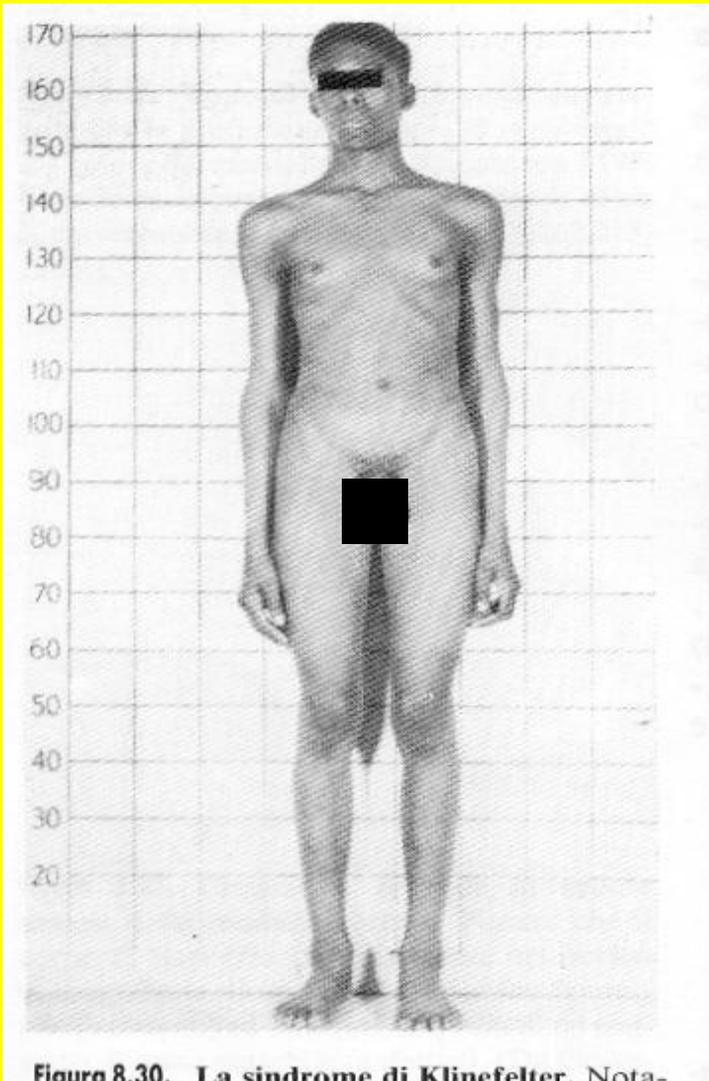
– talvolta sono presenti anche cardiopatia, ipertensione e anomalie renali.

– Sia l'intelligenza sia l'attesa di vita sono normali

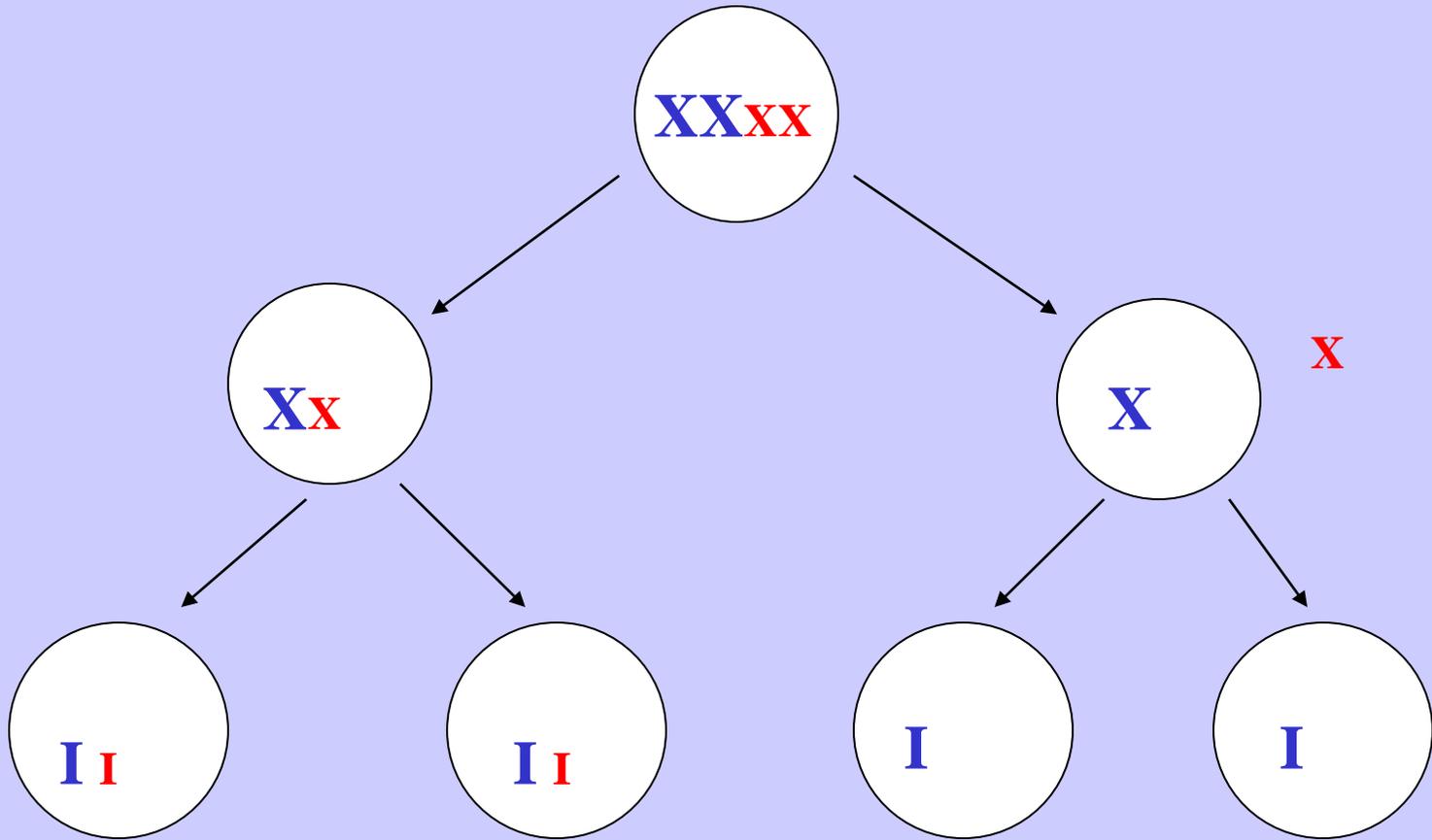


S. Klinefelter (47,XXY)

1:900 maschi

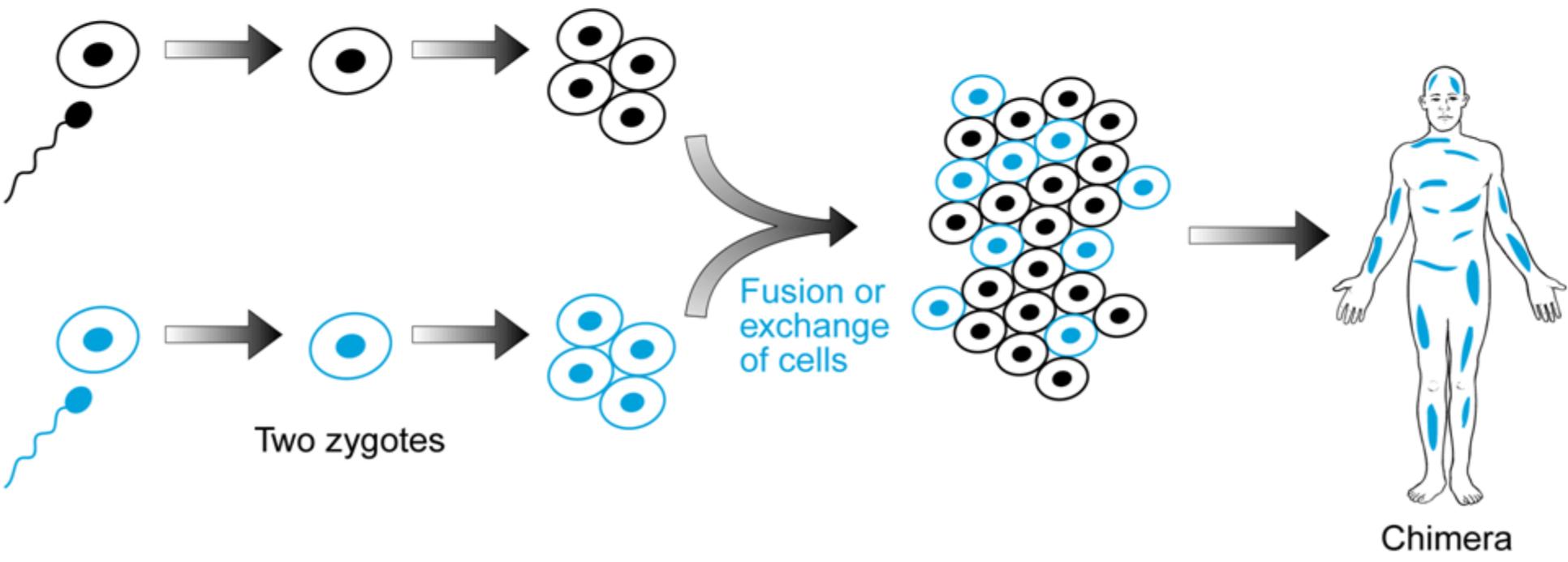
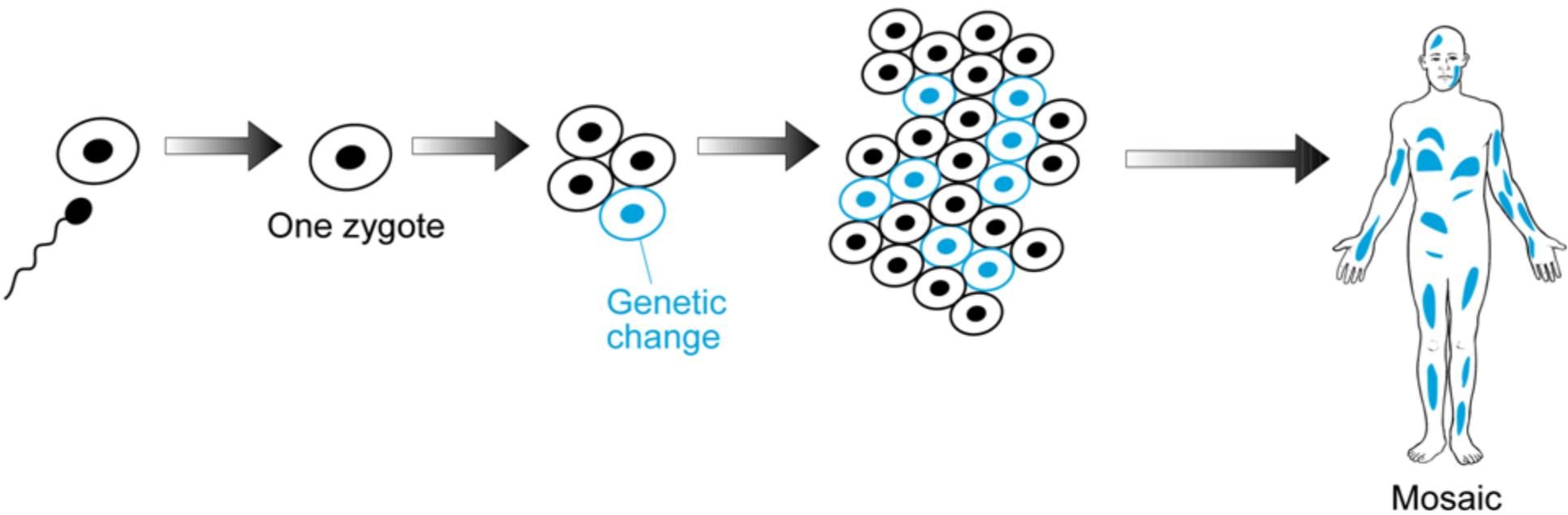


- Il 50% delle gravidanze giunge a termine
- Fenotipo maschile
- Caratteristiche principali:
 - **Statura alta**
 - **Ipogonadismo, bassi livelli di testosterone, mancata produzione di spermatozoi (azoospermia) e quindi sterilità**
 - **Ginecomastia**
 - **Sia l'intelligenza sia l'attesa di vita sono quasi normali**



ANEUPLOIDIA

- **MONOMIE e TRISOMIE**
- **CELLULE NEOPLASTICHE:** aneuploidia estrema, con anomalie cromosomiche multiple
- **CAUSE DI ANEUPLOIDIA:**
- **NON-DISGIUNZIONE:** incapacità di cromosomi separati di appaiarsi durante la prima divisione meiotica, o dei cromatidi fratelli appaiati di separarsi nella seconda divisione meiotica. I due cromosomi o cromatidi congiunti migrano ad un polo e vengono inclusi in una sola cellula figlia, mentre l'altra avrà materiale genetico in meno
- **RITARDO ANAFASICO:** ritardata migrazione del cromosoma durante l'anafase, conseguente perdita del cromosoma. Mancata incorporazione di un cromosoma nel nucleo di una delle cellule figlie.



Poliploidia

Autopoliploidia: presenza di più corredi cromosomici della stessa specie

Allopoliploidia: presenza di più corredi cromosomici di specie diverse

Es. la "raphanobrassica" (Karpechenko 1928)
il Triticale (frumento + segale)

Le piante (ma non gli animali) sono in grado di sopravvivere ad un raddoppio completo di tutto il cariotipo (e quindi anche ad un raddoppio dei geni), una condizione nota come **poliploidia**

Alcune varietà della stessa specie possono avere corredo cromosomico $2n$, $3n$, $4n$ (ad es 60 90 o 120 cromosomi)

Nelle piante la **poliploidia è un importante fattore di speciazione** in quanto individui con numero cromosomico differente non possono fare tra loro figli fertili

Animali poliploidi

Platelminti

Sanguisughe

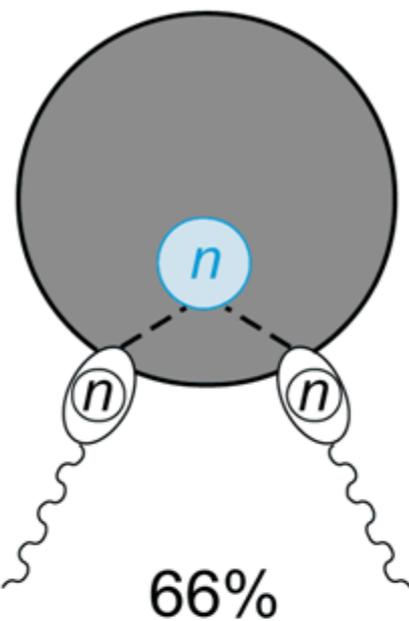
Crostacei

Anfibi

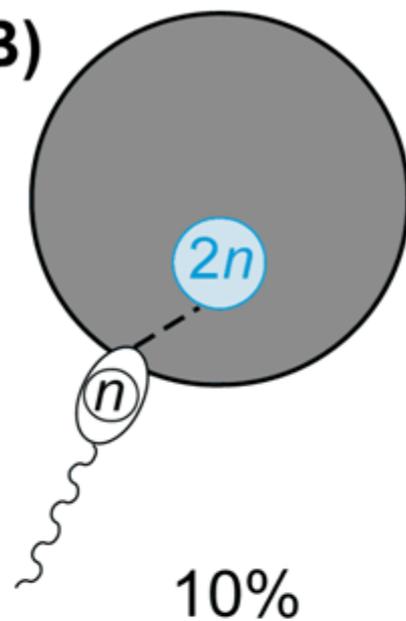
Rettili

Pesci

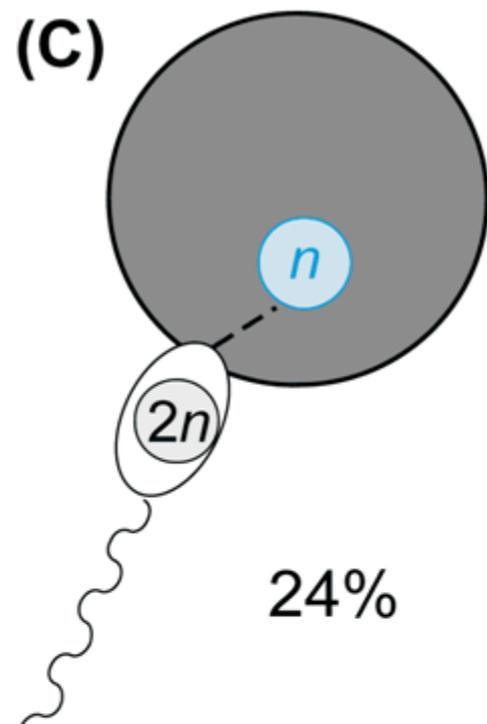
(A)



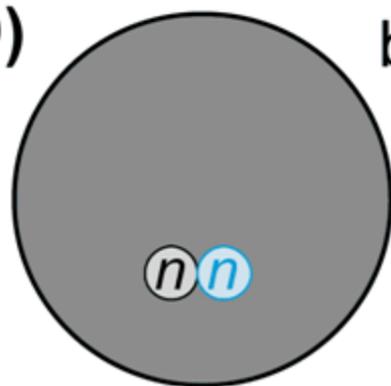
(B)



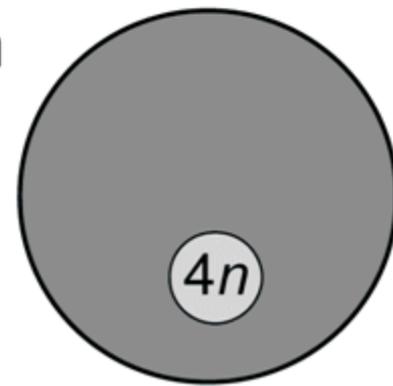
(C)



(D)



DNA duplication
but no cell division
(endomitosis)



Triploidy

Tetraploidy



Mutazioni cromosomiche:

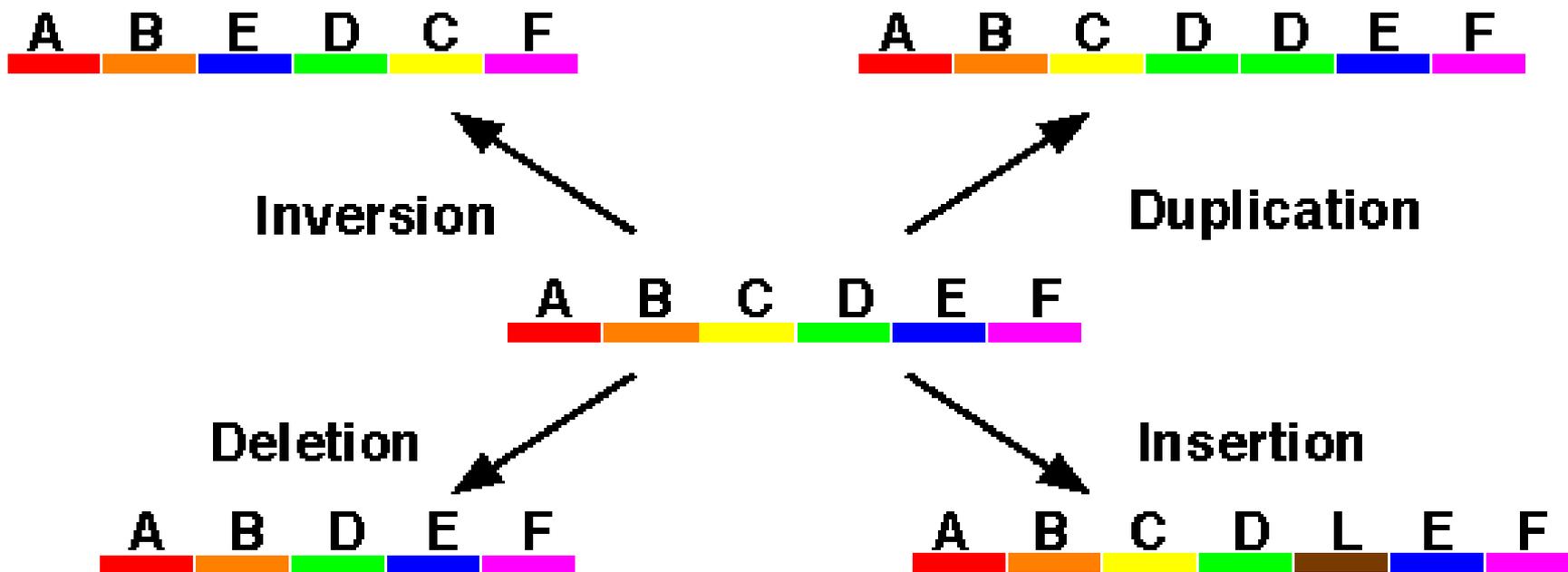
Cambiamenti nella struttura dei cromosomi

1. Delezioni
2. Duplicazioni
3. Inversioni
4. Traslocazioni

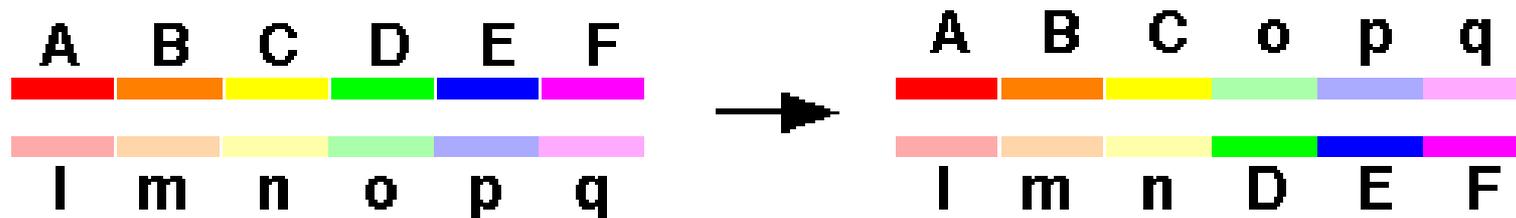
La Citogenetica Classica

- Permette di identificare riarrangiamenti cromosomici coinvolgenti non meno di 5 Mb.

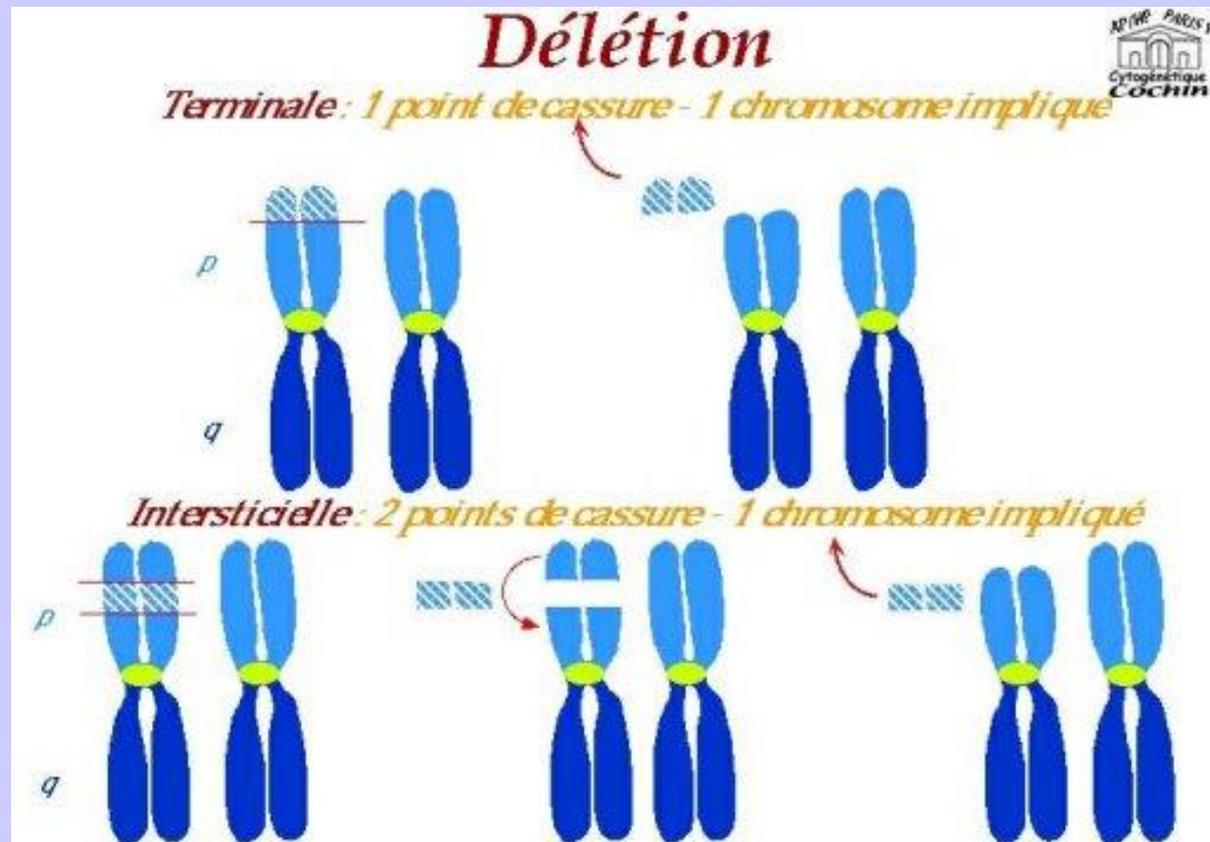




Translocation



DELEZIONI



Délétion du bras long du 12

Formule chromosomique :
 46,XY,del(12)(q14)



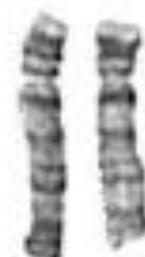
1



2



3



4



5



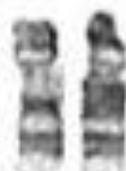
6



7



8



9



10



11



12



13



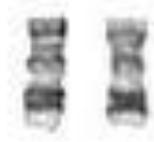
14



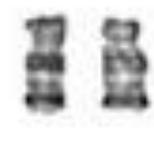
15



16



17



18



19



20



21



22



X



Y



1



2



3



4



5



6



7



8



9



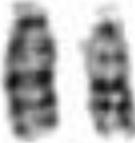
10



11



12



13



14



15



16



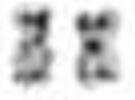
17



18



19



20



21

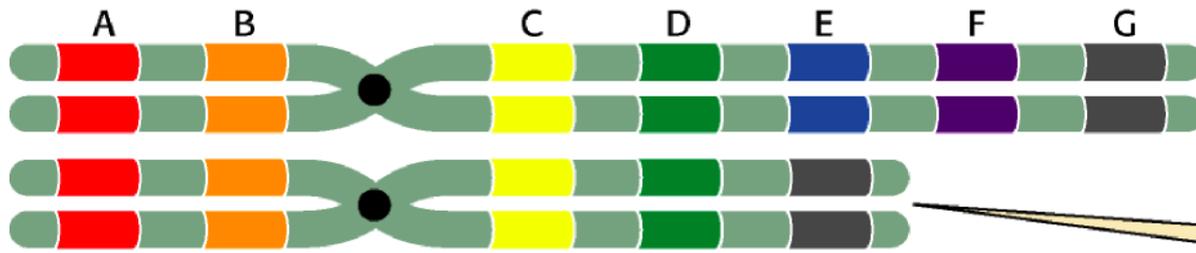


22



X

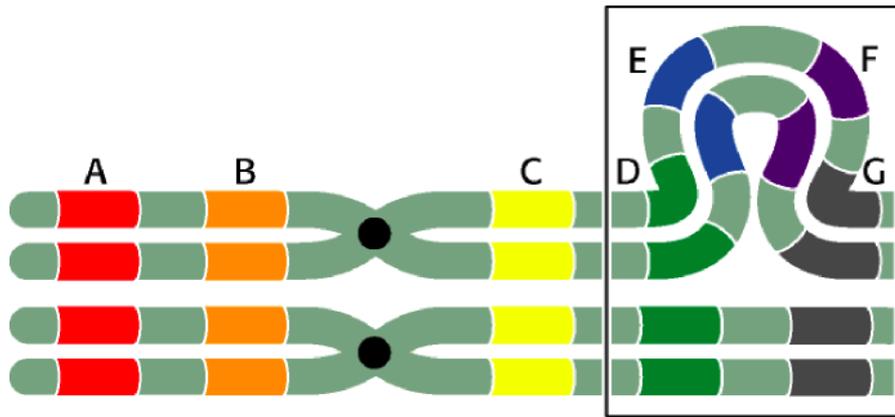
Y



L'eterozigote possiede un cromosoma normale...

...e un cromosoma con una delezione.

Formazione di un'ansa di delezione durante l'appaiamento degli omologhi nella profase I



Aspetto dei cromosomi omologhi durante l'appaiamento

Nella profase I il cromosoma normale deve formare un'ansa per permettere l'allineamento delle sequenze omologhe.

Conseguenze delle delezioni

- Pseudo-dominanza
- Malattie determinate da delezioni
 - Sindrome del "cri-du-chat": delezione del braccio corto del cromosoma 5
 - Sindrome di Prader-Willi: delezione di una parte del braccio lungo del cromosoma 15
 - Retinoblastoma: delezione di una banda del cromosoma 13
 - Tumori (alcuni tipi di neuroblastoma, melanoma, carcinoma polmonare, ecc.)

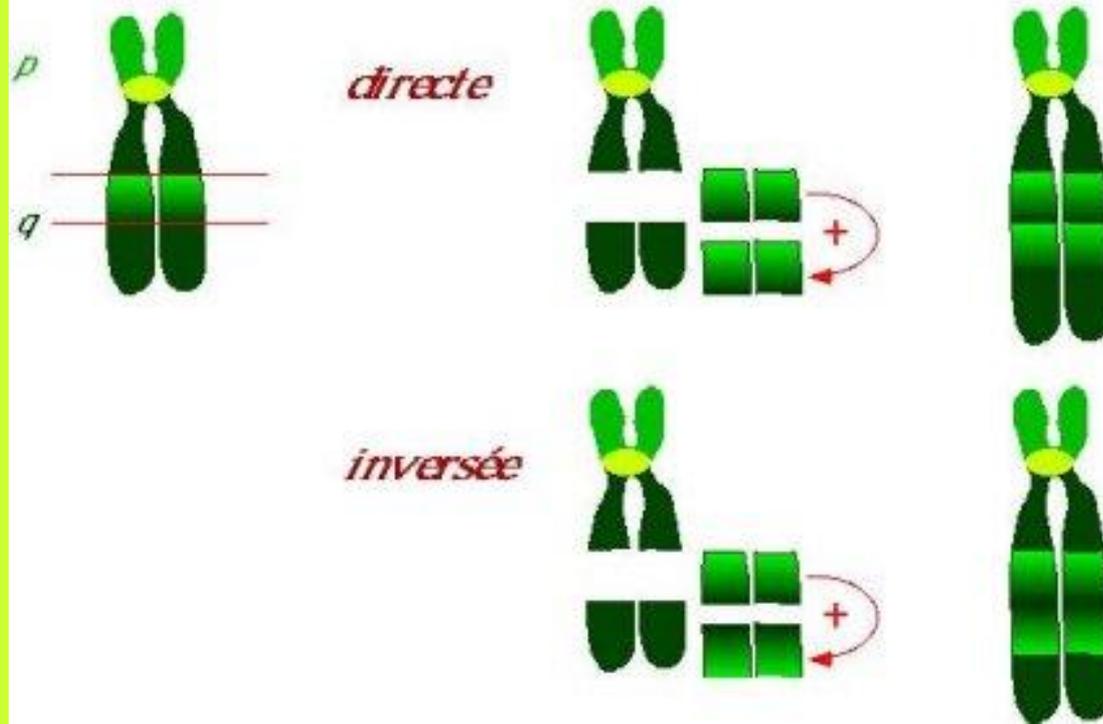
La **delezione** può essere causata da:

- Mutageni fisici: radiazioni ionizzanti
- Temperatura
- Elementi trasponibili
- Errori nella ricombinazione

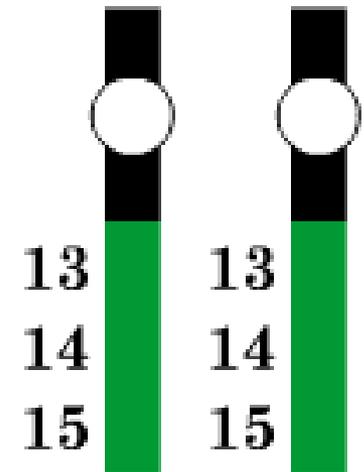
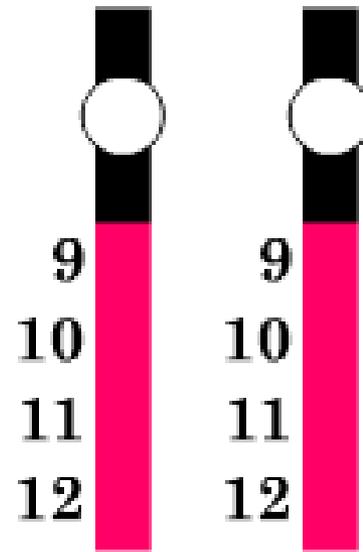
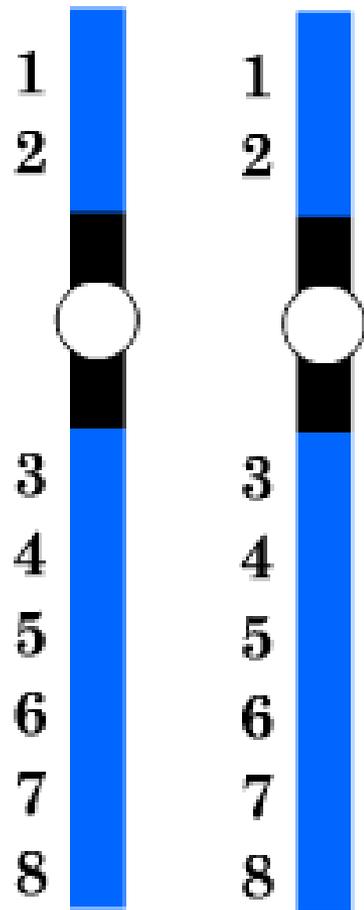
DUPLICAZIONE

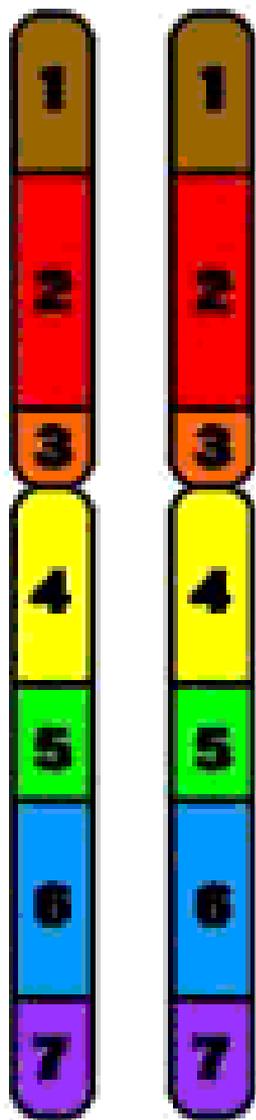
Duplication

2 points de cassure - 1 chromosome implique



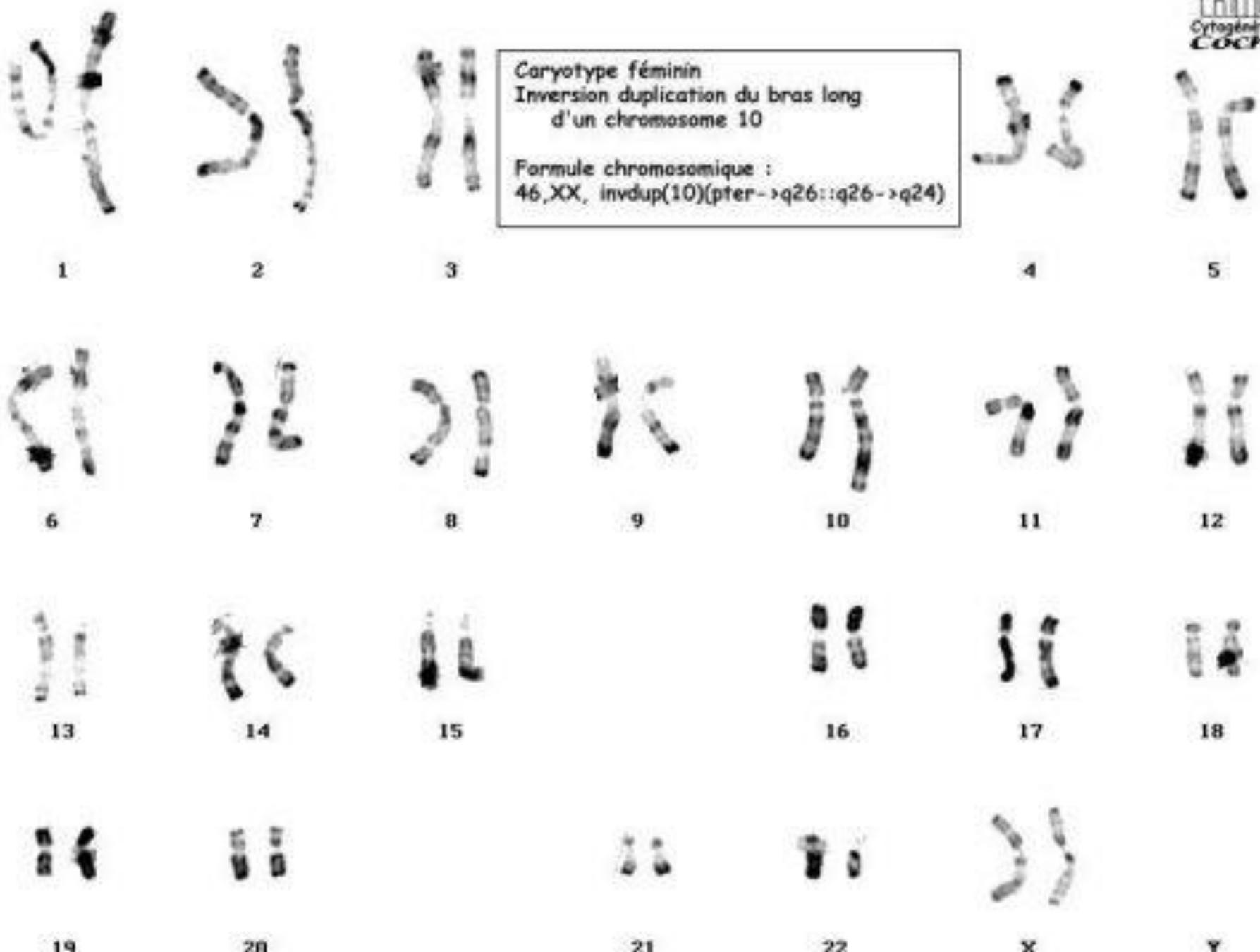
Duplication in the blue chromosome





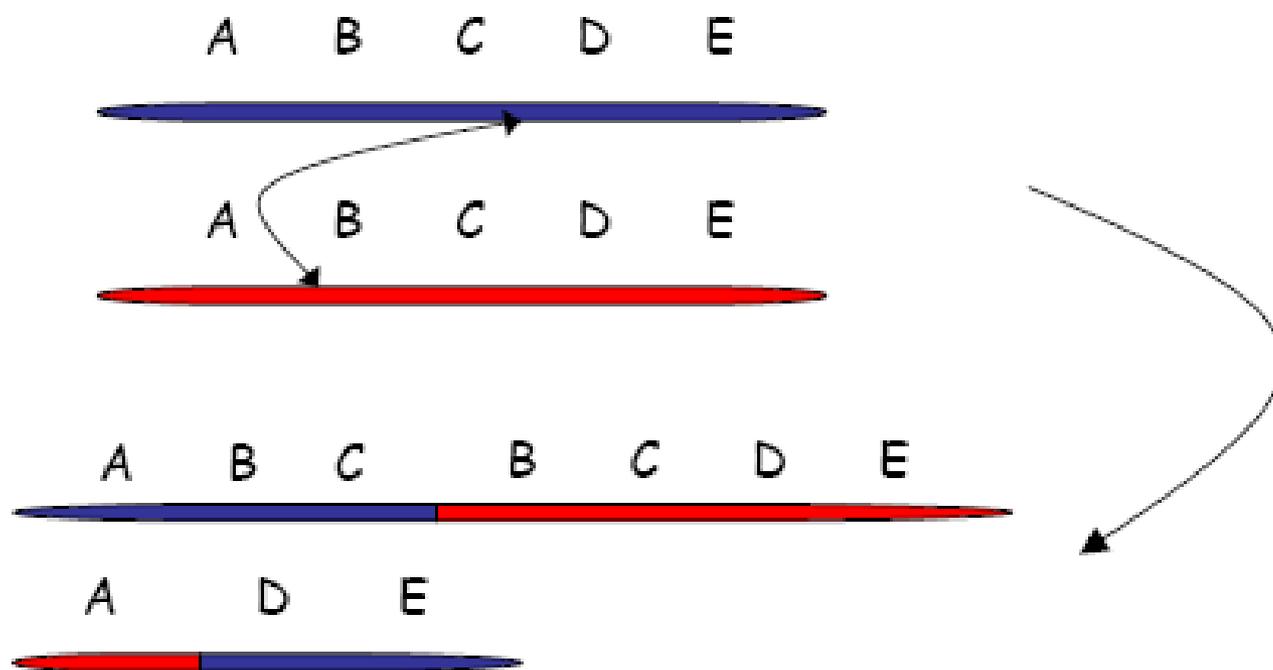
Caryotype féminin
Inversion duplication du bras long
d'un chromosome 10

Formule chromosomique :
46,XX, invdup(10)(pter-→q26::q26-→q24)



Duplicazione

Dovuta a crossing over ineguale fra cromosomi omologhi



AATTAATT
TTAATTAA

1 Se i cromosomi omologhi non si allineano in modo corretto durante il crossing-over,...

AATTAATT
TTAATTAA

Crossing-over ineguale

AATTAATT
TTAATTAA

AATT
TTAA

AATT
TTAA

2 ...un prodotto del crossing-over contiene un'inserzione...

AATTAATT AATT
TTAATTAATTAA

AATT
TTAA

3 ...e l'altro contiene una delezione.

Malattie associate a riarrangiamenti cromosomici mediati da duplicazioni segmentali

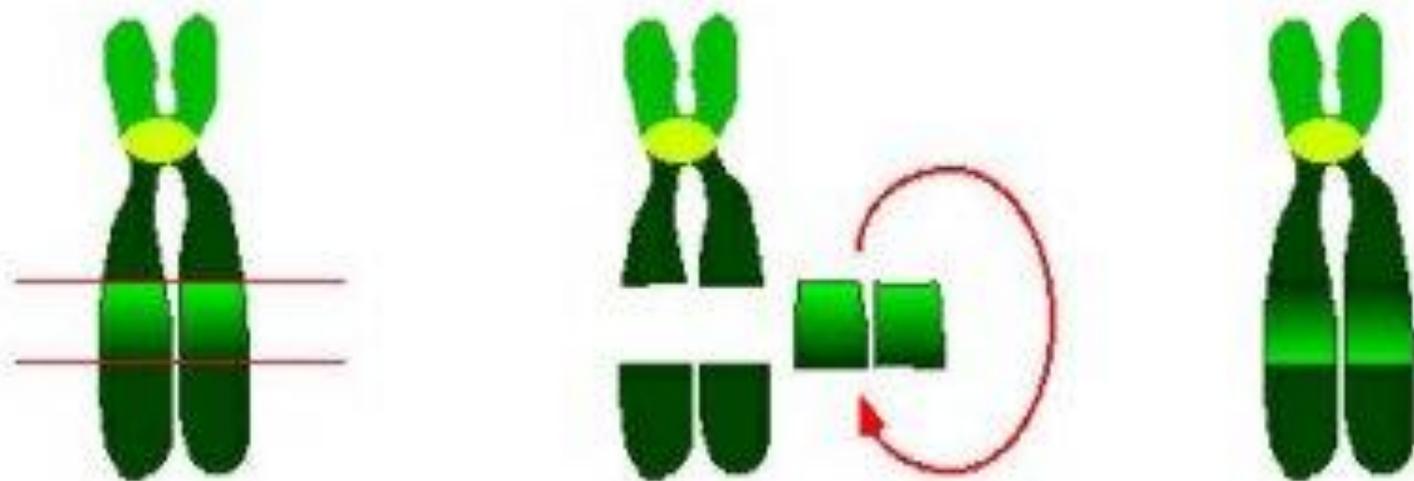
1. Emofilia A
2. Neurofibromatosi tipo 1
3. Neuropatia ereditaria (HNPP)
4. Sindrome di Prader-Willi
5. Sindrome di Williams-Beuren
6. Sindrome di Smith-Magenis
7.

Inversione

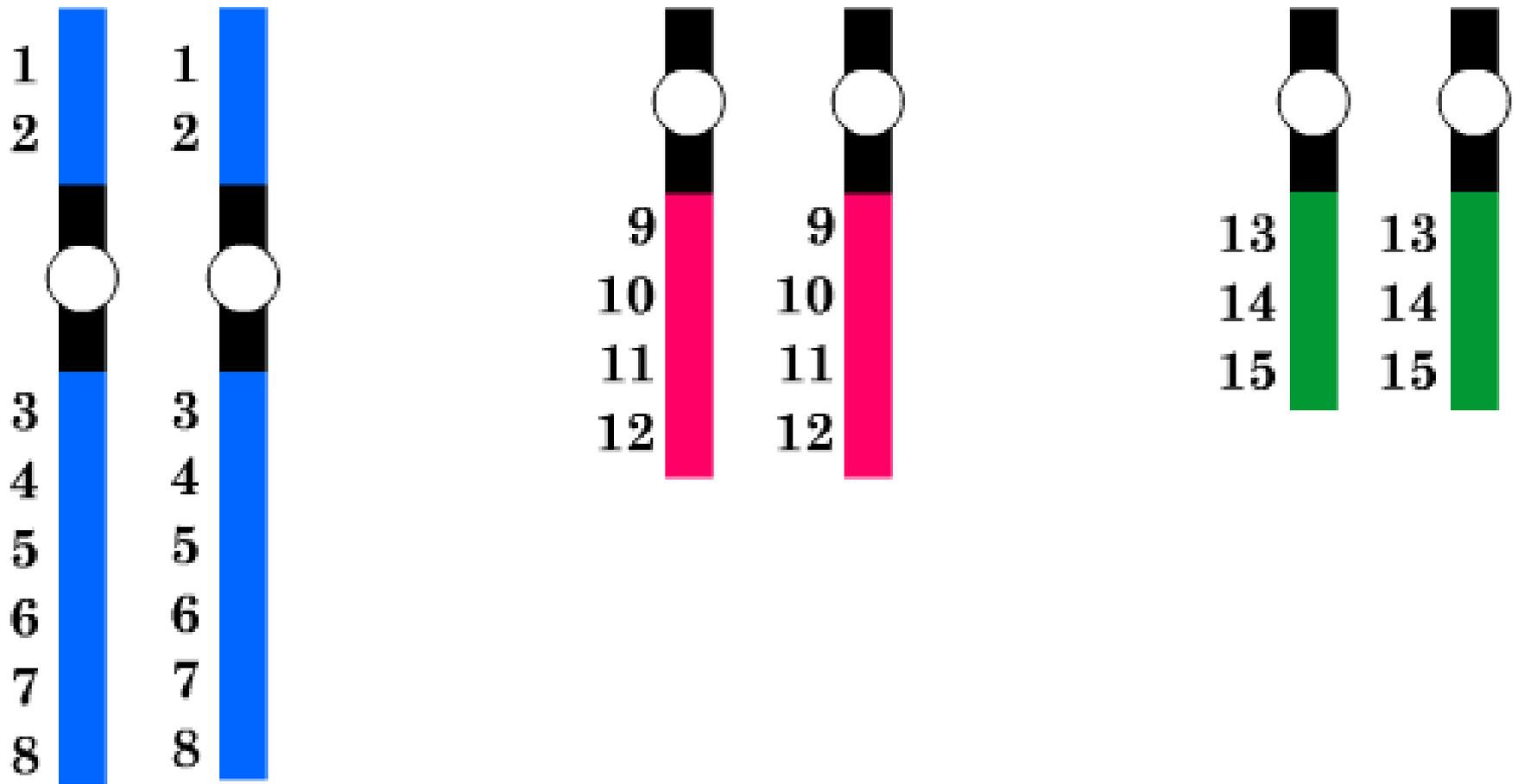
- Si possono distinguere due tipi di inversione
 - paracentrica, se non comprende il centromero
 - pericentrica, se comprende il centromero

Inversion paracentrique

2 points de cassure - 1 chromosome impliqué



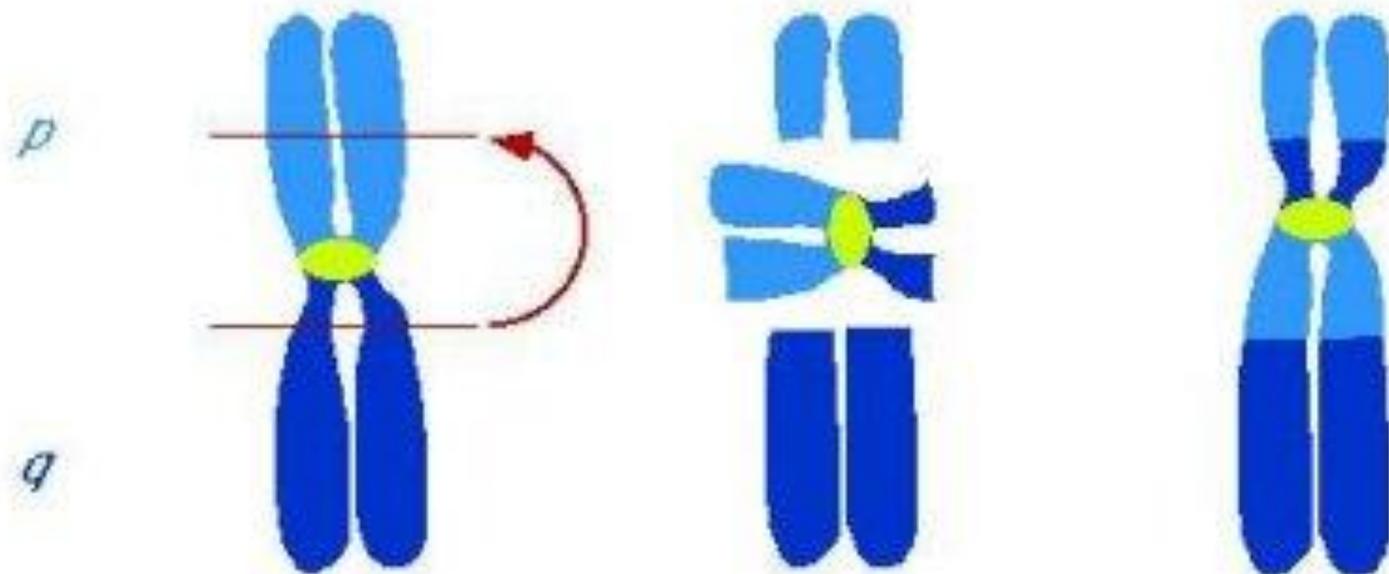
Paracentric inversion in the blue chromosome



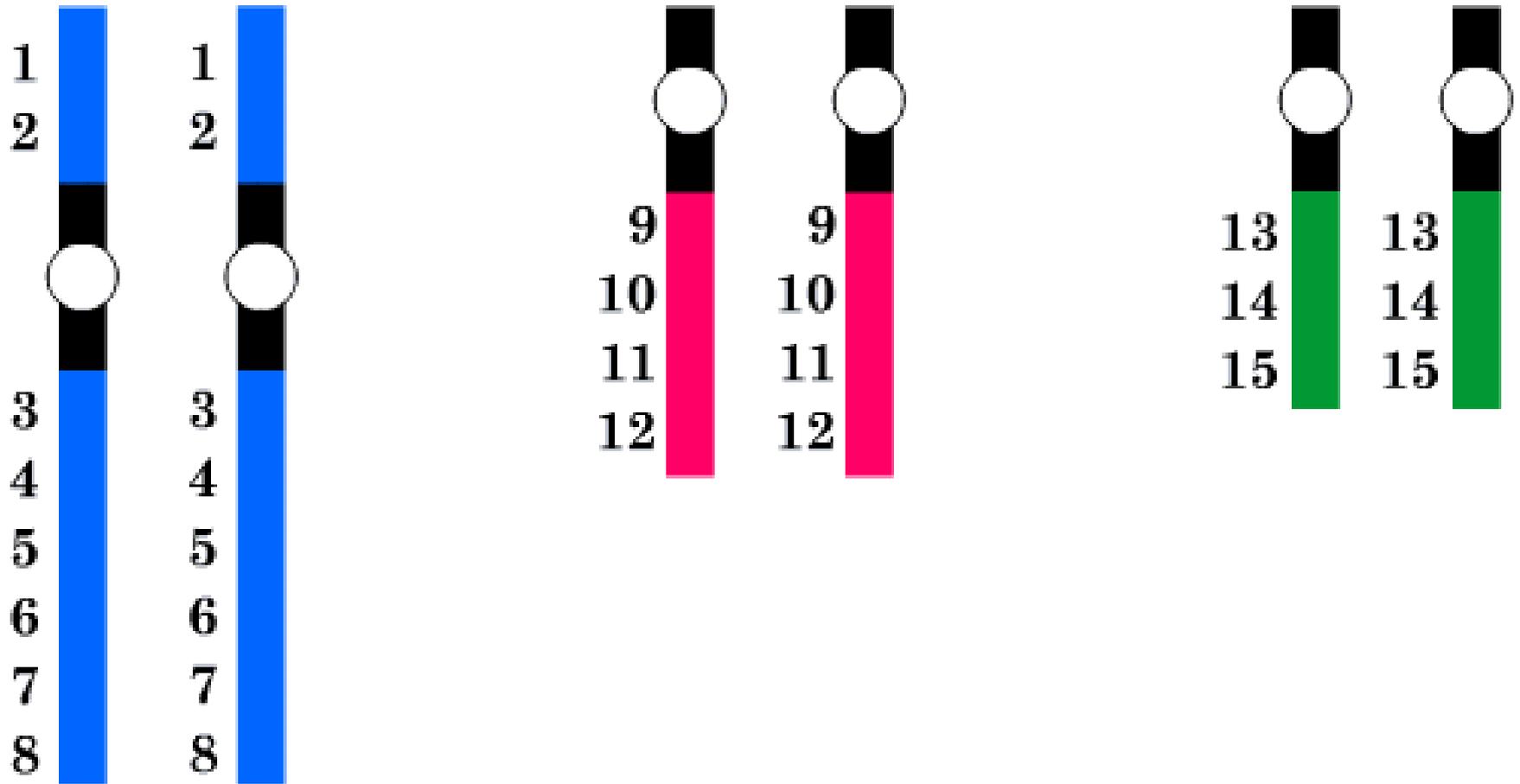


Inversion péricentrique

2 points de cassures - 1 chromosome impliqué



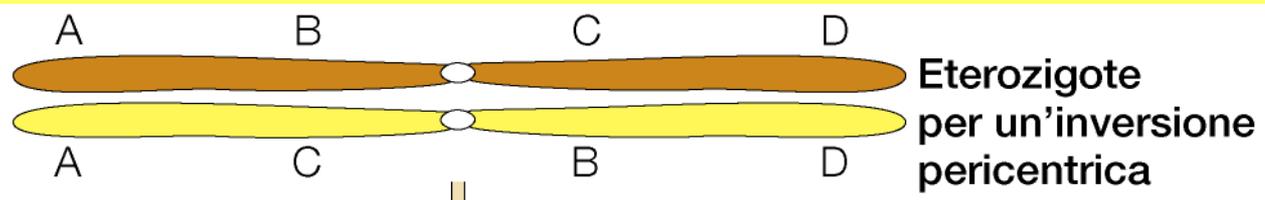
Pericentric inversion in the blue chromosome



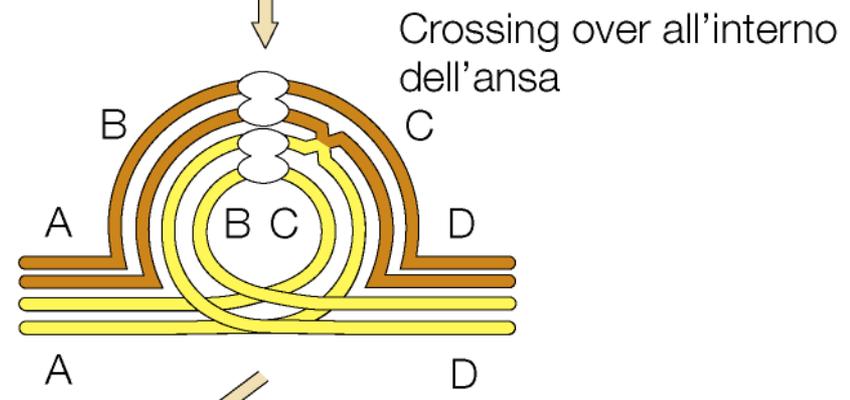


Conseguenze delle inversioni

- Effetto di posizione: un gene trasferito in una regione diversa potrà essere inattivato (se si tratta di una zona eterocromatica) oppure attivato (se finisce sotto il controllo di un promotore attivo)
- Soppressione del crossing over

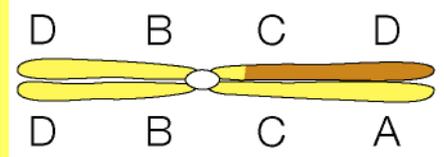
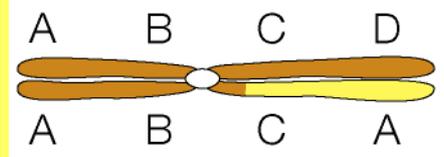


Appaiamento

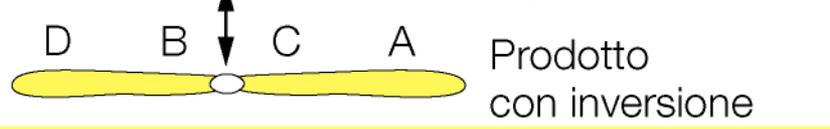
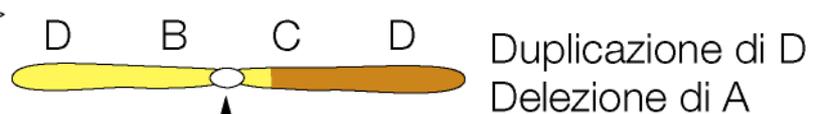


Segregazione

Fine della meiosi I

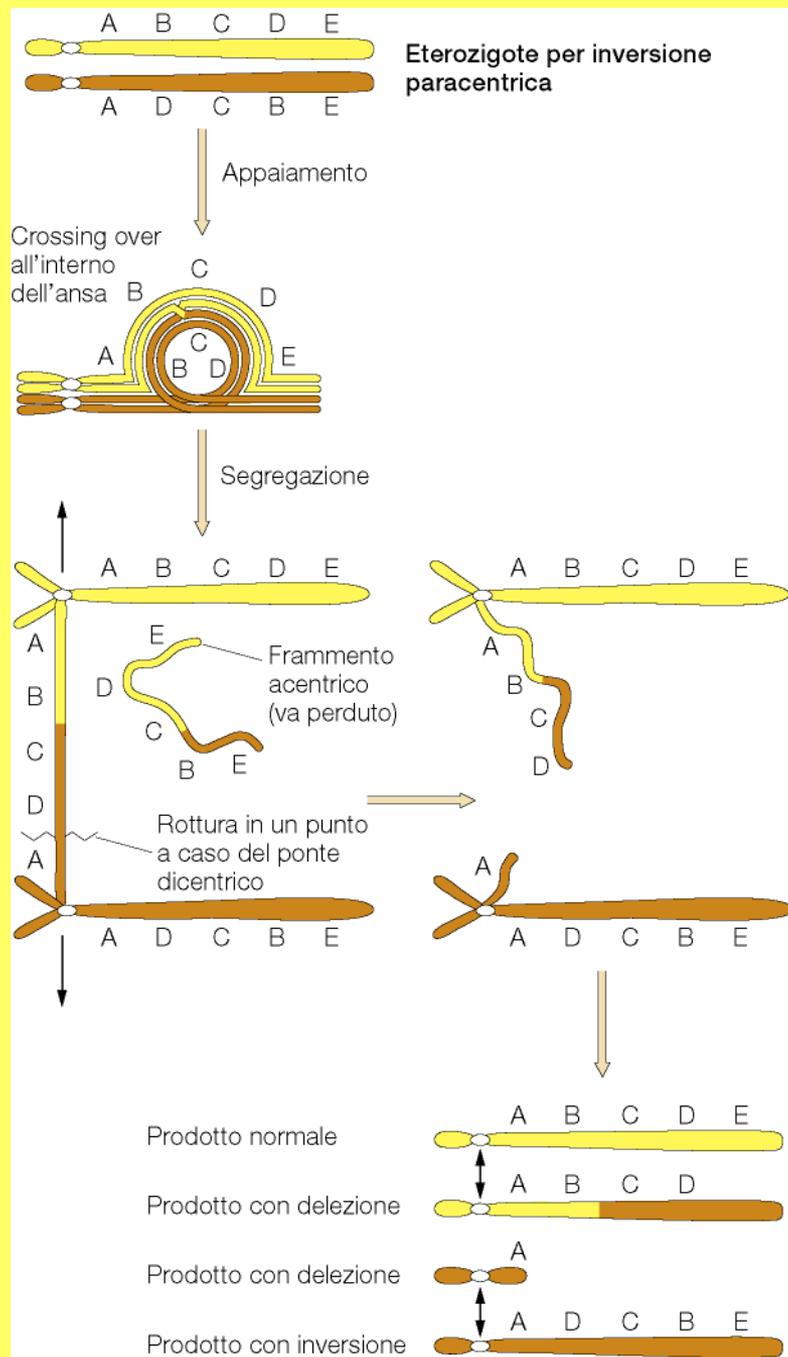


Fine della meiosi II



Inversione pericentrica

- I cromatidi che hanno subito il crossing over presenteranno delezioni e duplicazioni del materiale genetico, risultando sbilanciati e quindi non vitali
- I cromatidi che non hanno subito crossing over saranno normali e daranno origine a gameti vitali

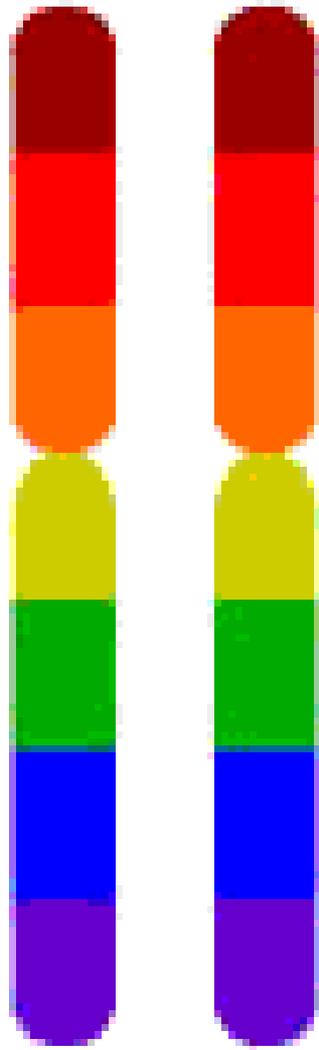


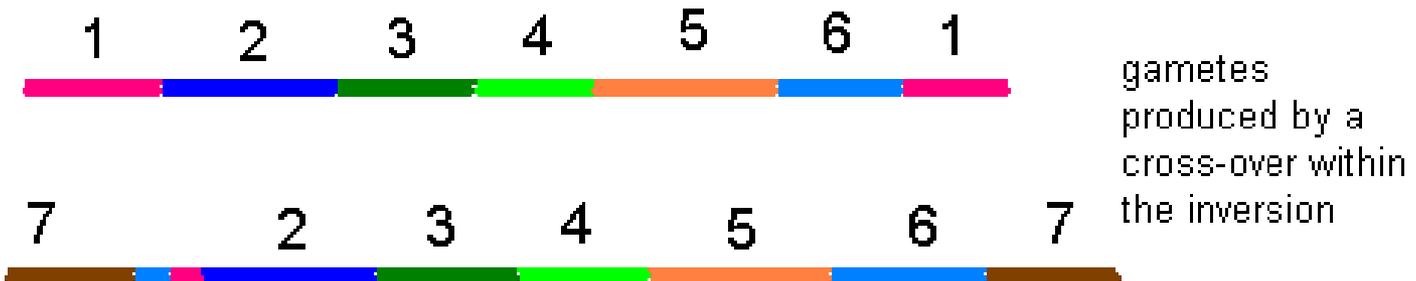
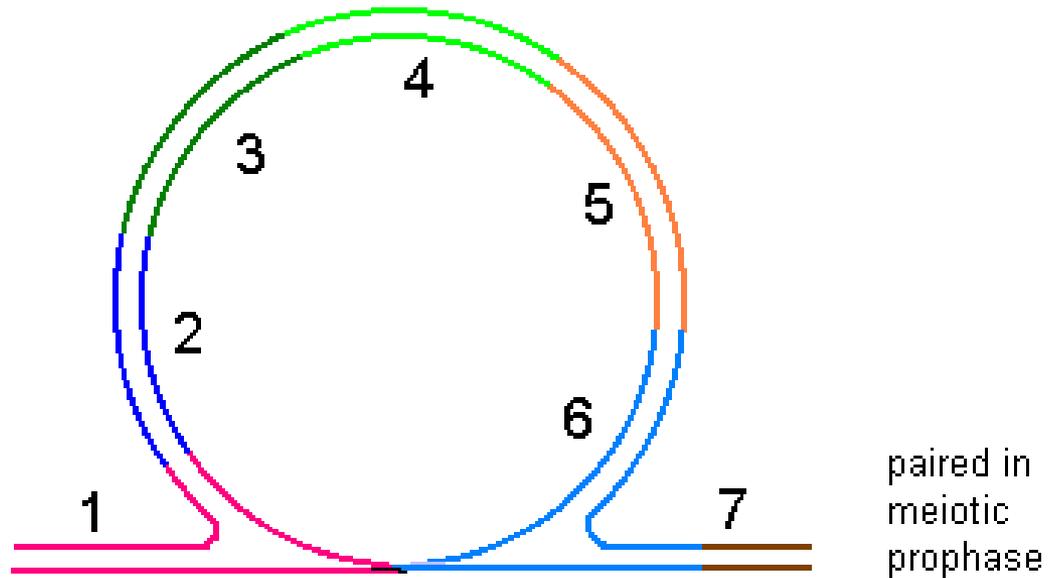
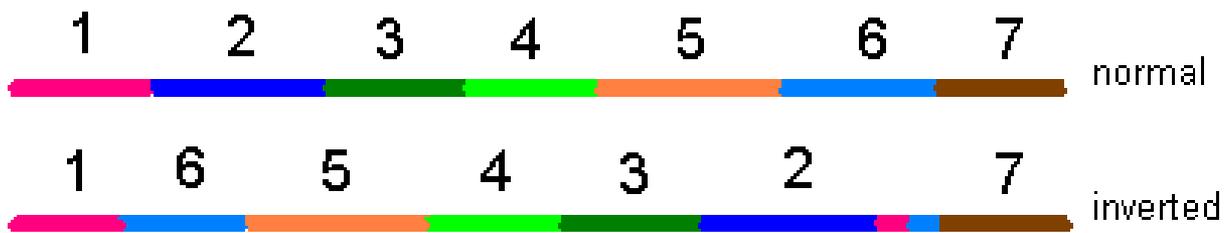
Inversione paracentrica

A seguito del crossing over si formano

- un frammento acentrico, che viene perso
- un frammento dicentrico, che alla divisione si attacca ai poli opposti del fuso mitotico e si rompe

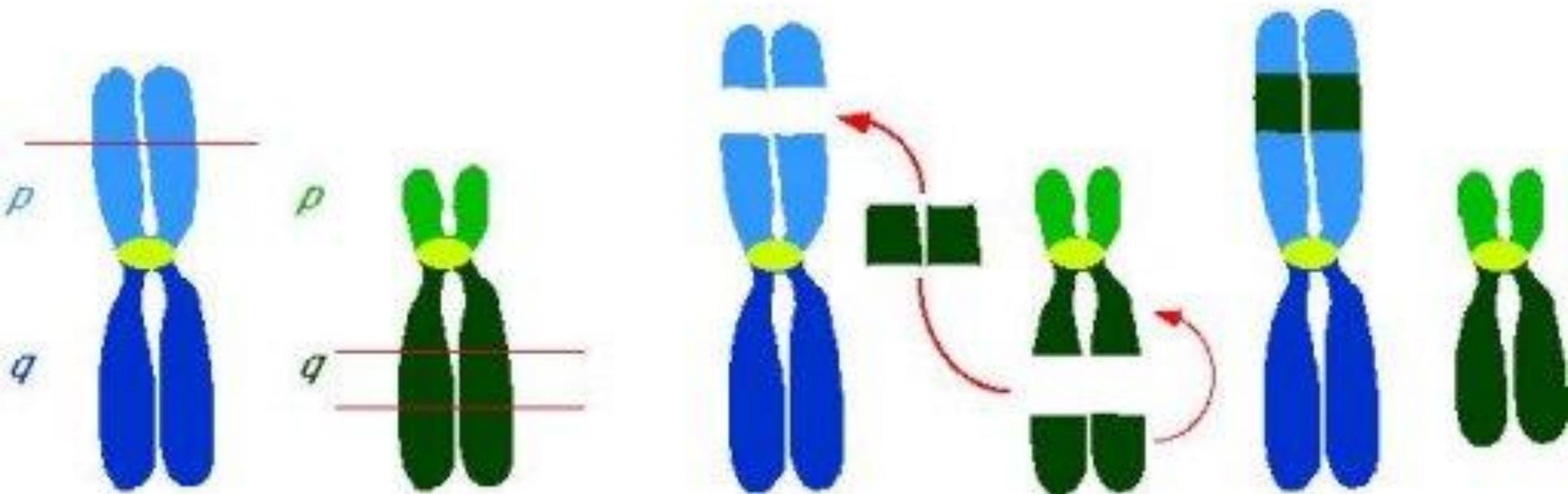
I gameti che contengono i cromatidi derivati dal crossing over non sono vitali perchè pesantemente sbilanciati





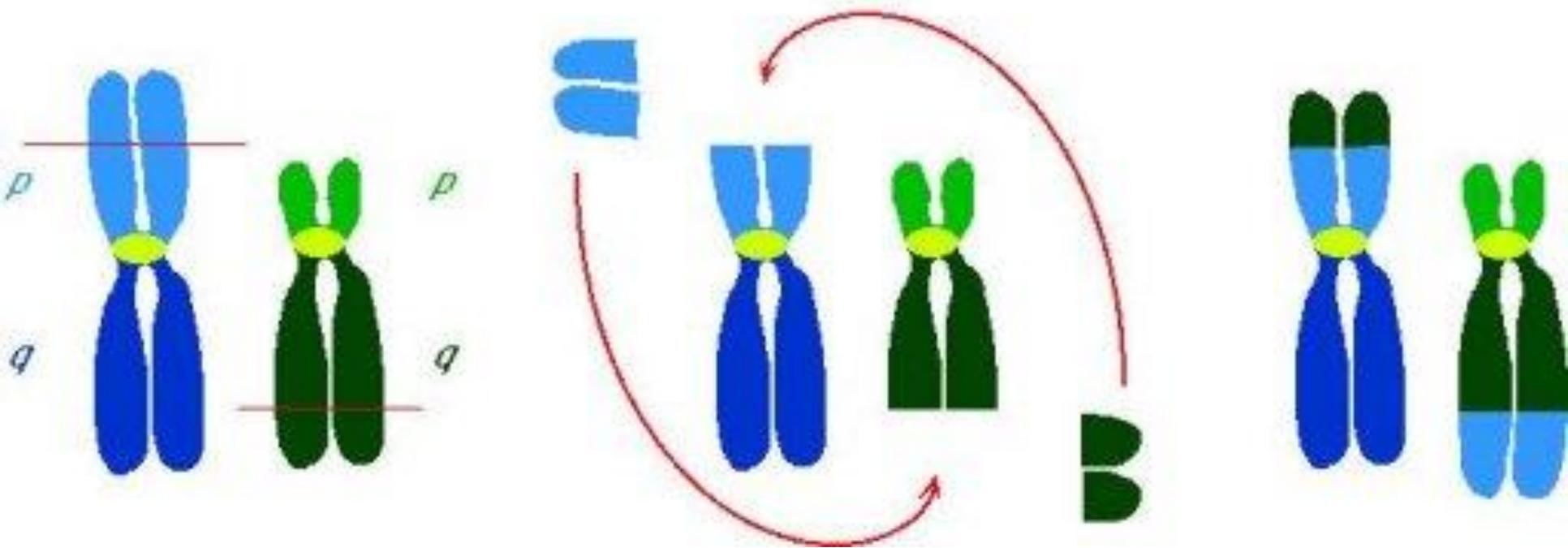
Insertion

3 points de cassure - 2 chromosomes impliqués

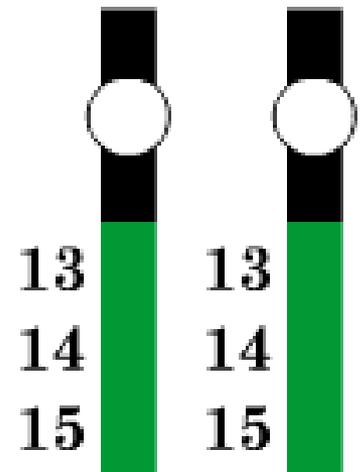
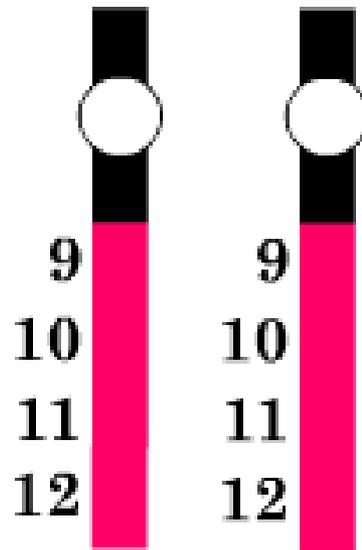
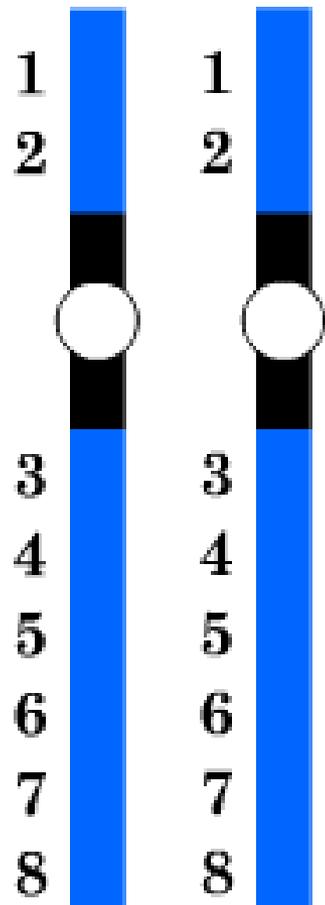


Translocation réciproque

2 points de cassure - 2 chromosomes impliqués



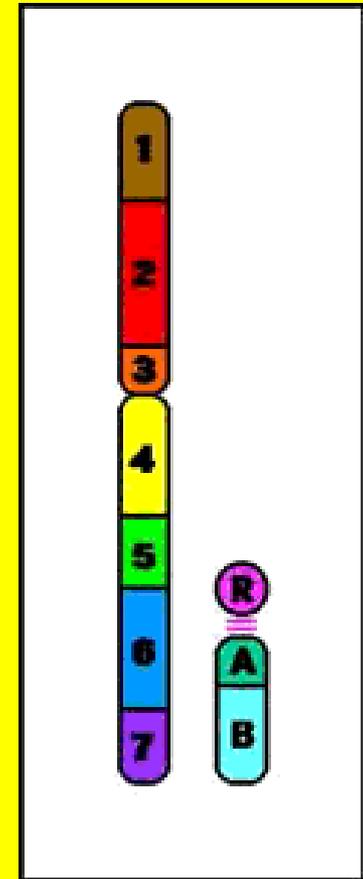
Reciprocal translocation between blue and red chromosomes



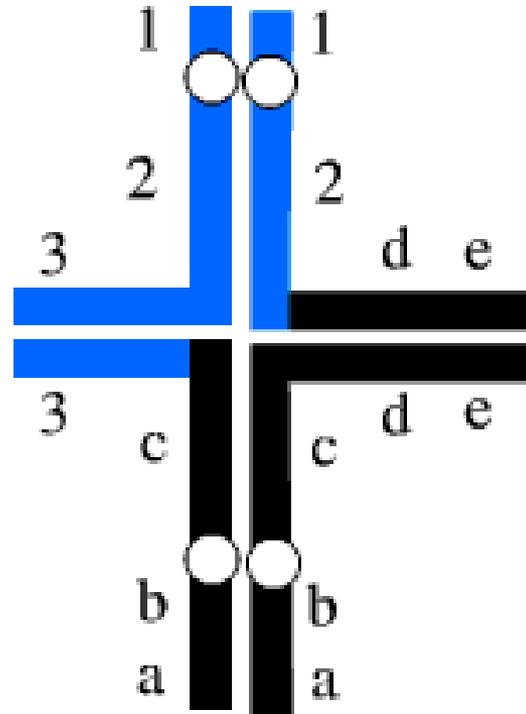


■ portatori di una traslocazione cromosomica bilanciata

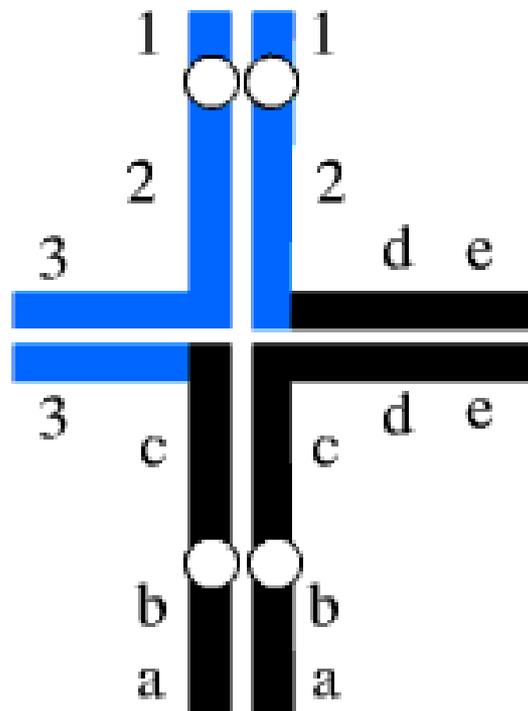
- scambio di materiale genetico tra cromosomi non omologhi
- non vi è modificazione della dose genica
- frequenza 1/520 nati
- fenotipicamente normale



reciproca



SEGREGAZIONE ADIACENTE



SEGREGAZIONE ALTERNATA

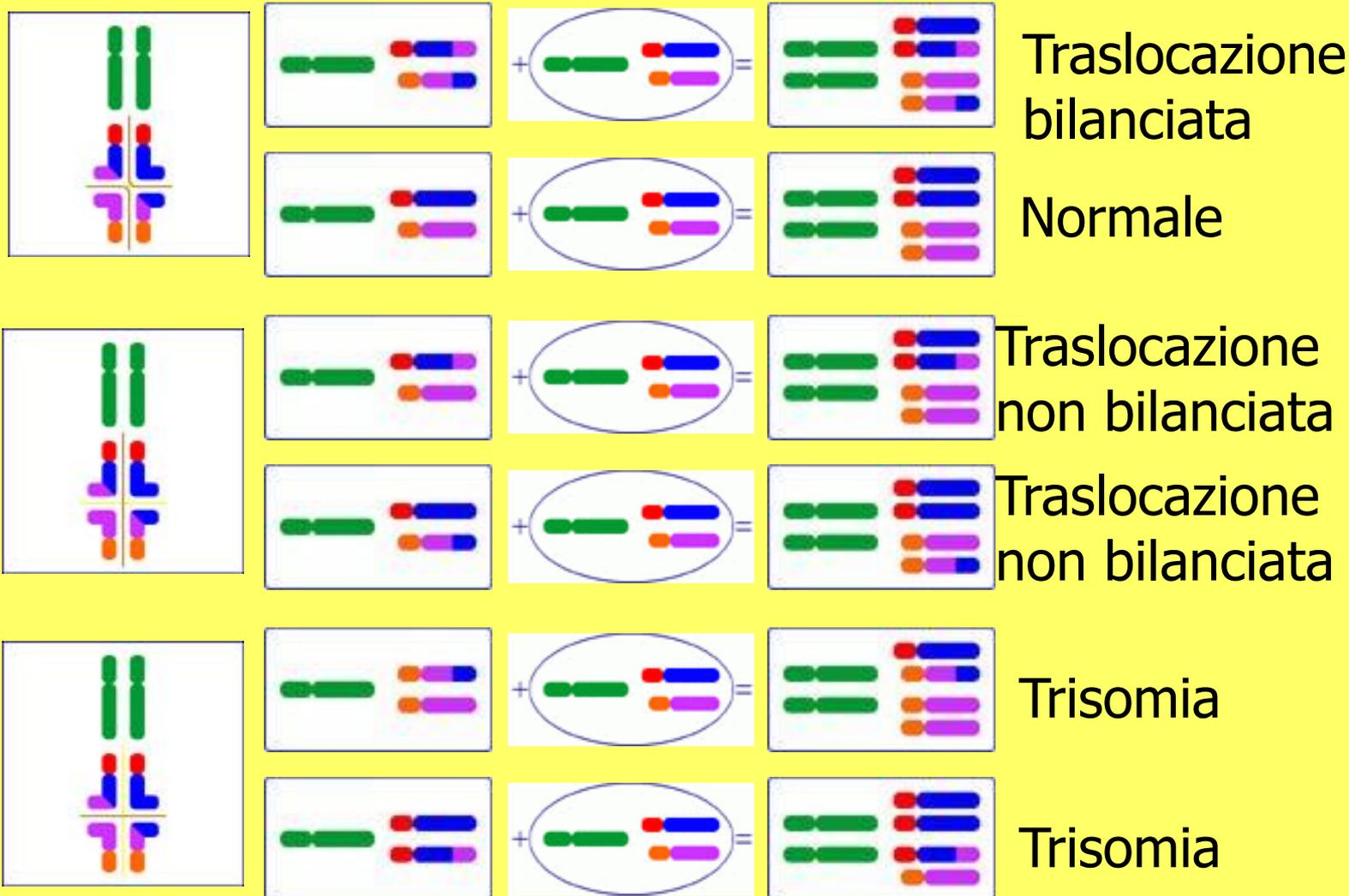
Semi sterilità

Gli effetti delle traslocazioni eterozigoti possono variare a seconda di come avviene la segregazione dei cromosomi:

- Adiacente 1 (circa 50%) o 2 (rara): un cromosoma normale segrega insieme ad uno traslocato, ne risultano gameti non vitali perchè portatori di delezioni e duplicazioni
- Alternata (circa 50%): i cromosomi normali e quelli con traslocazione segreagano insieme, i gameti hanno un corredo genetico completo e sono vitali

CIRCA LA META' DEI GAMETI NON E' VITALE

Conseguenze possibili delle traslocazioni bilanciate

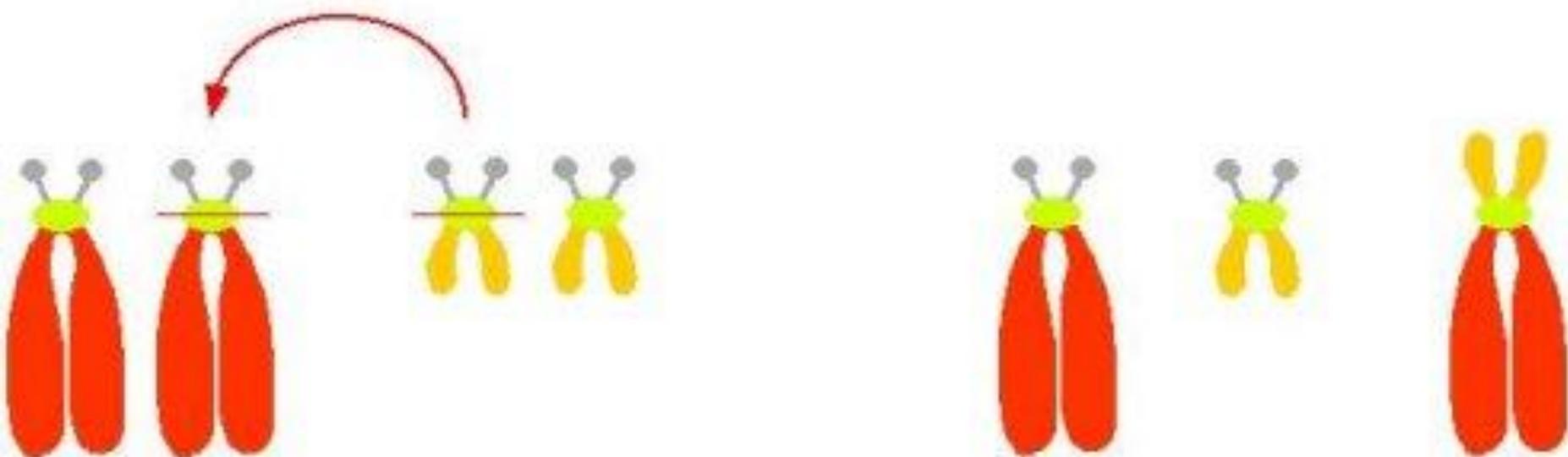


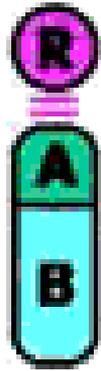
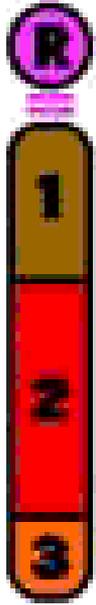
Conseguenze delle traslocazioni

- Effetto di posizione
- Semisterilità
- Pseudolinkage (associazione di loci su cromosomi differenti)

Translocation Robertsonienne

2 points de cassure - 2 chromosomes impliqués







Translocation robertsonienne entre un
 chromosome 13 et un chromosome 14

Formule chromosomique :
 45,XX,der(13;14)(q10;q10)



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



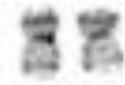
14



15



16



17



18



19



20



21



22



X

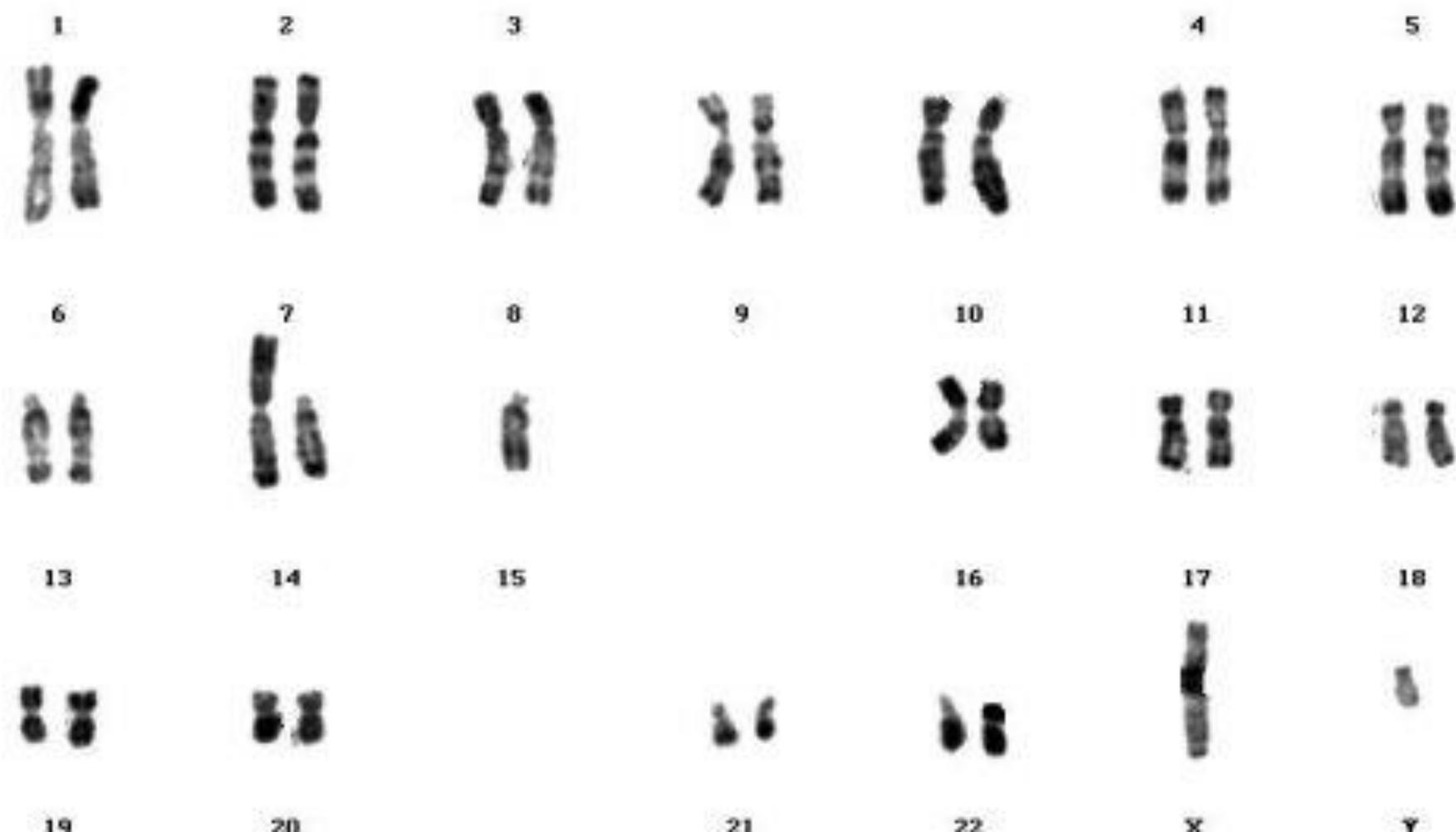
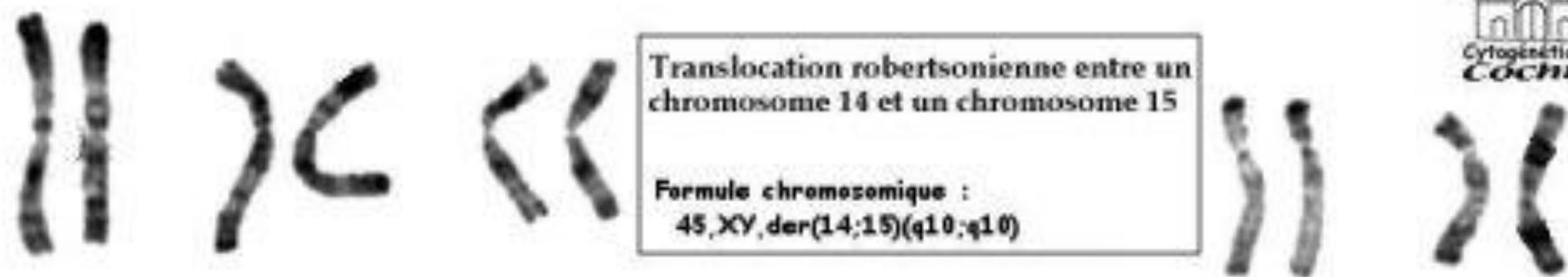


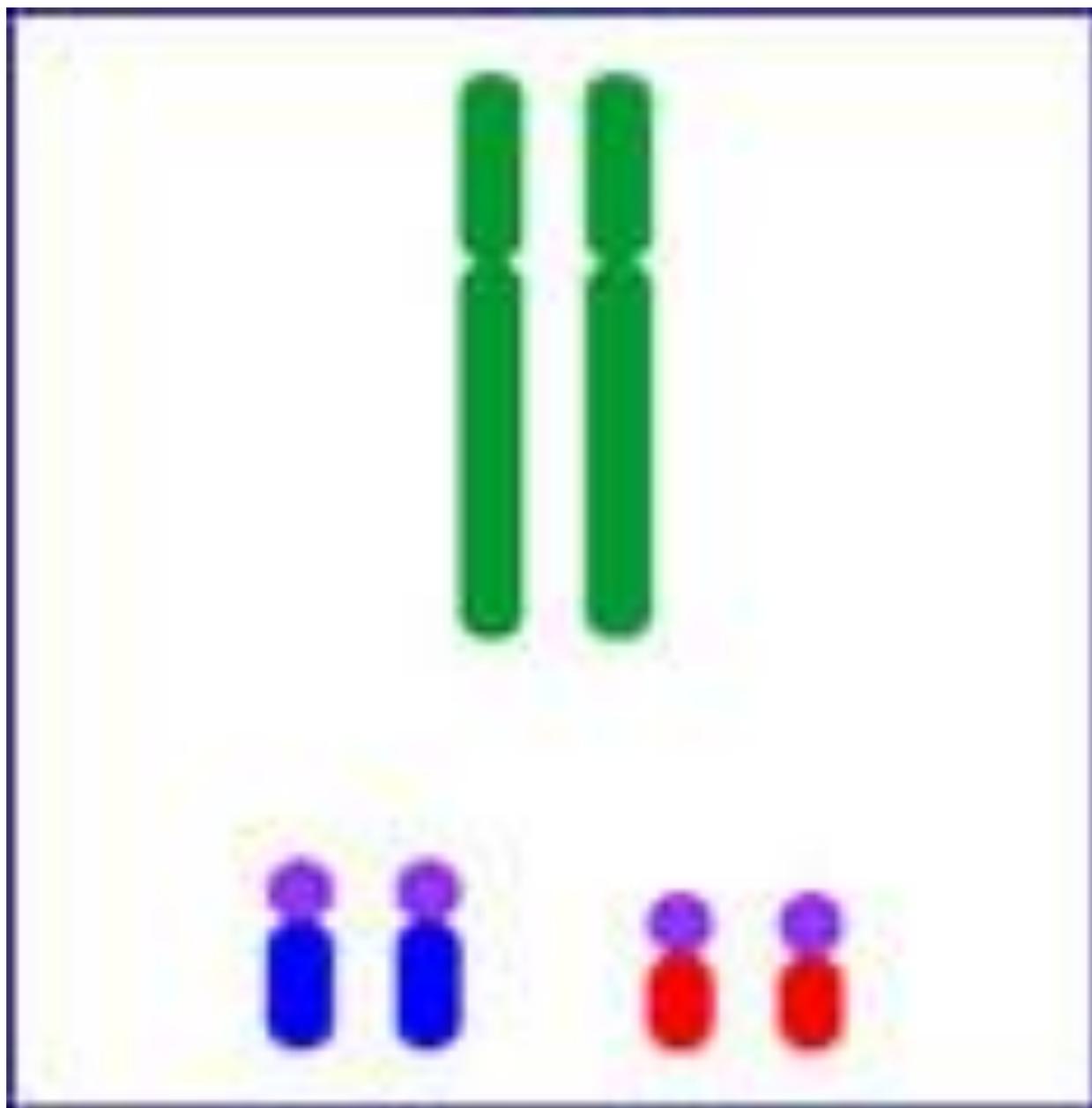
Y

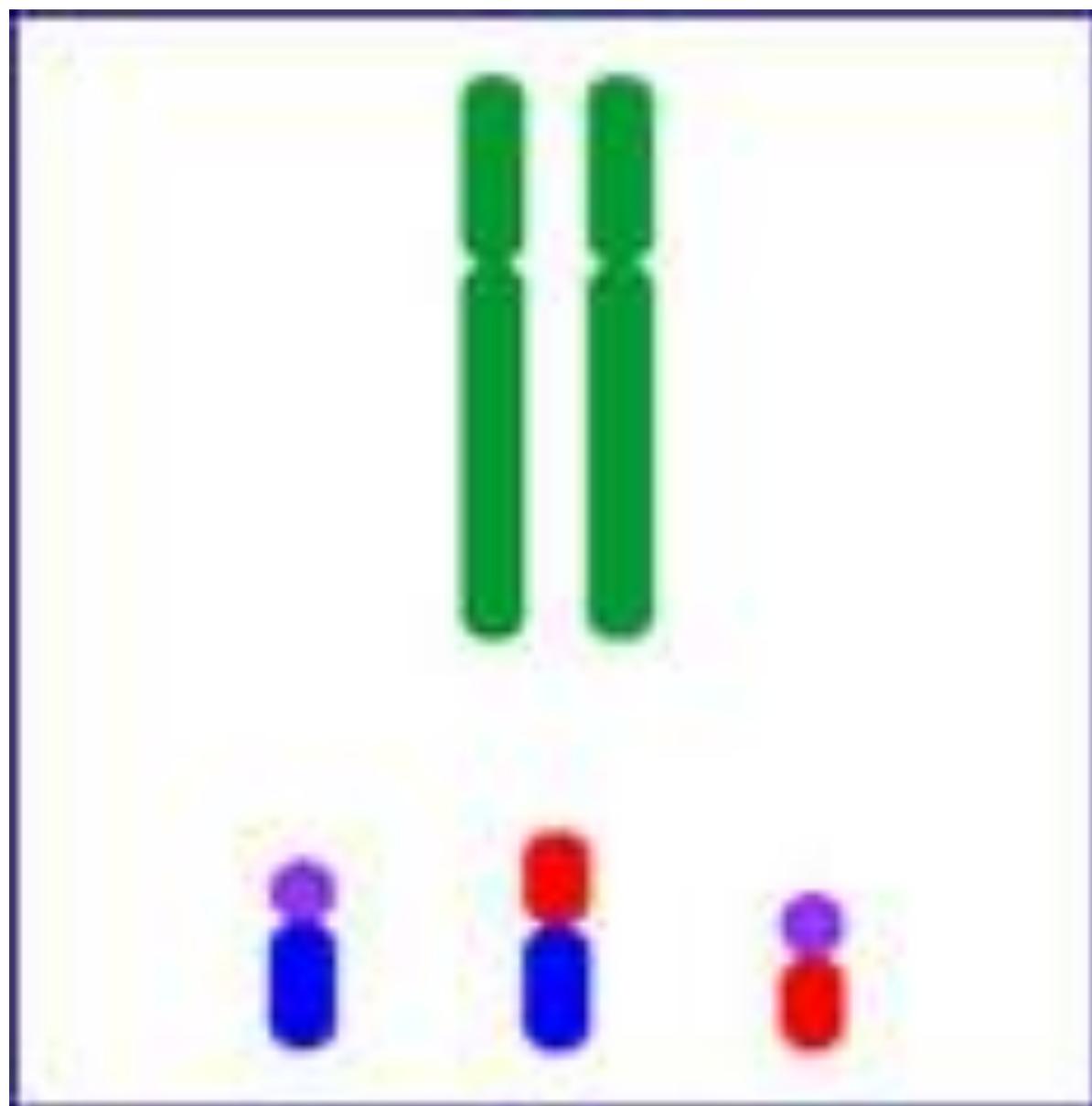


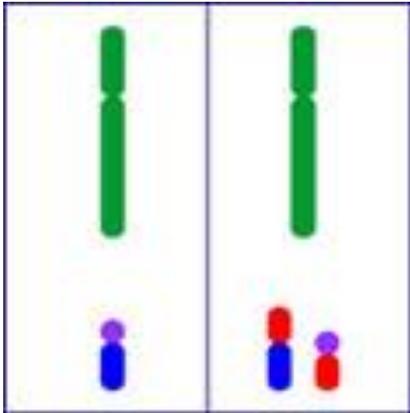
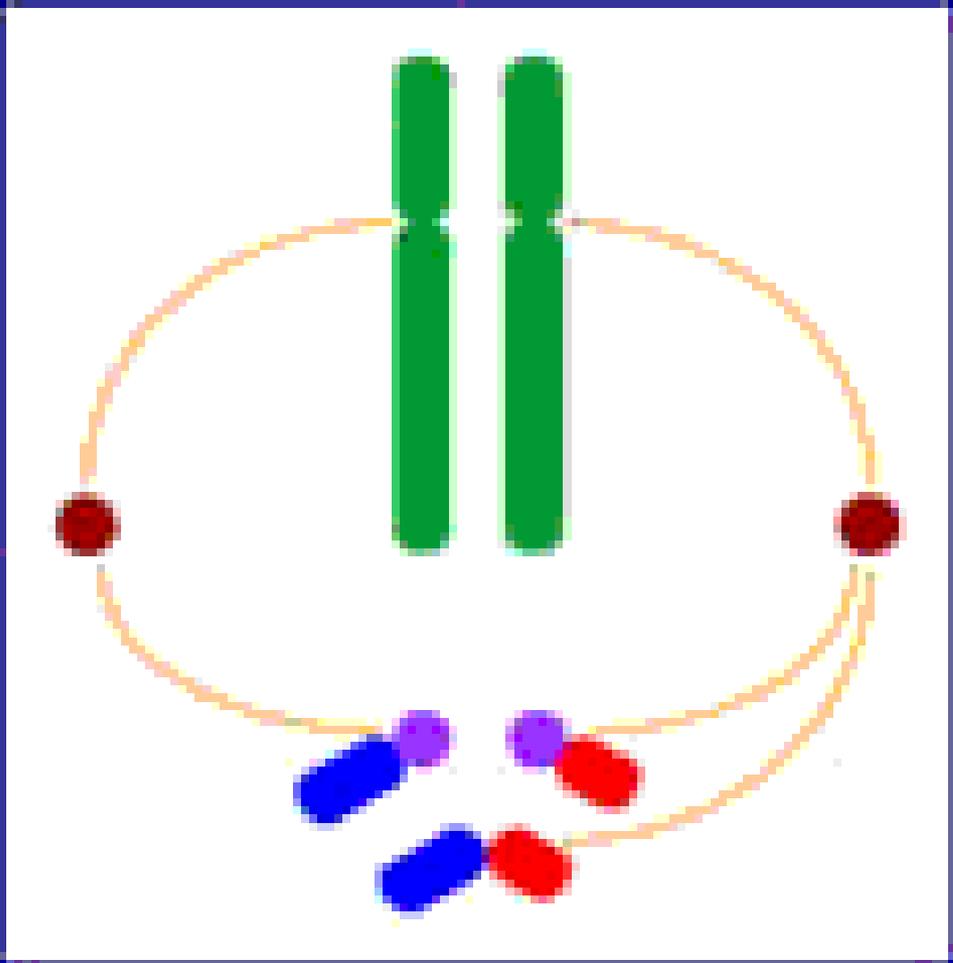
Translocation robertsonienne entre un chromosome 14 et un chromosome 15

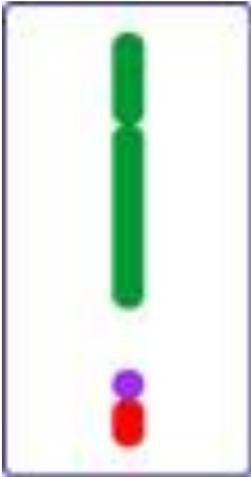
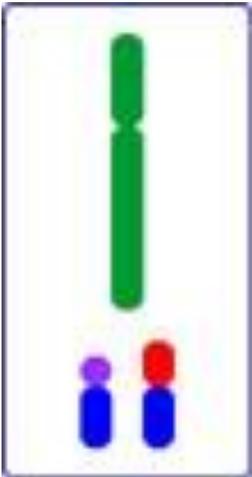
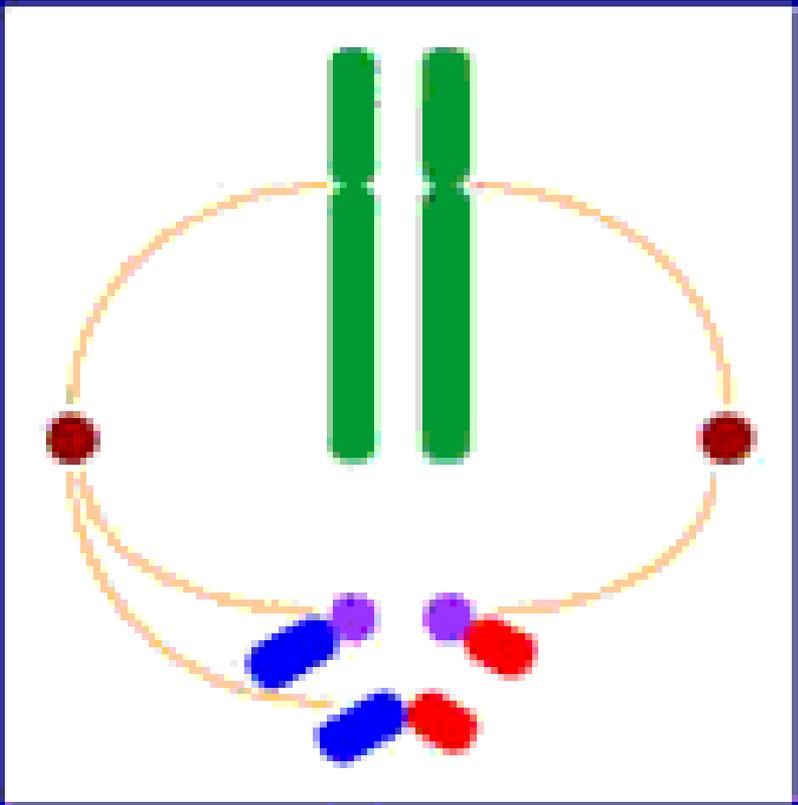
Formule chromosomique :
 45,XY,der(14;15)(q10;q10)

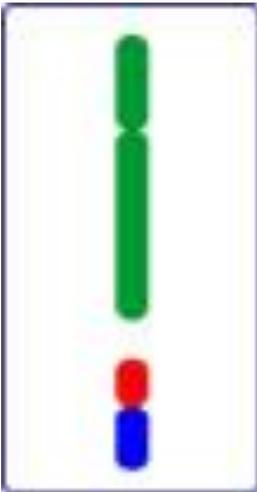
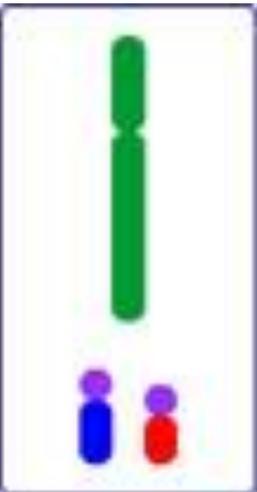
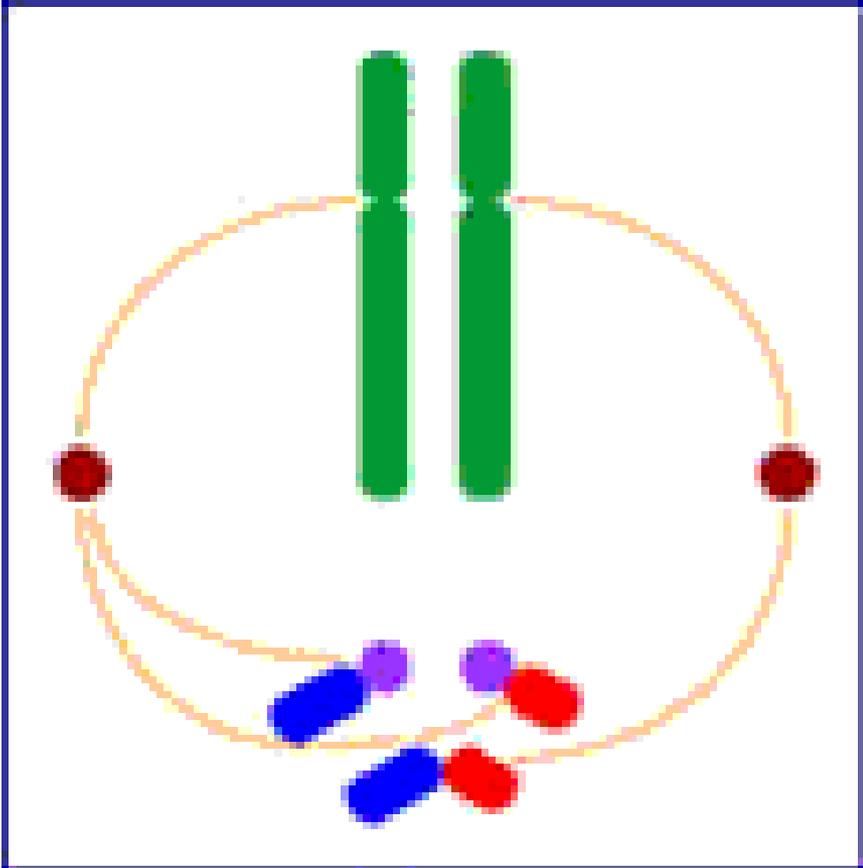


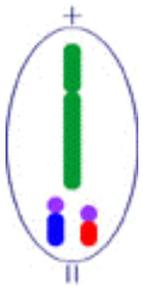
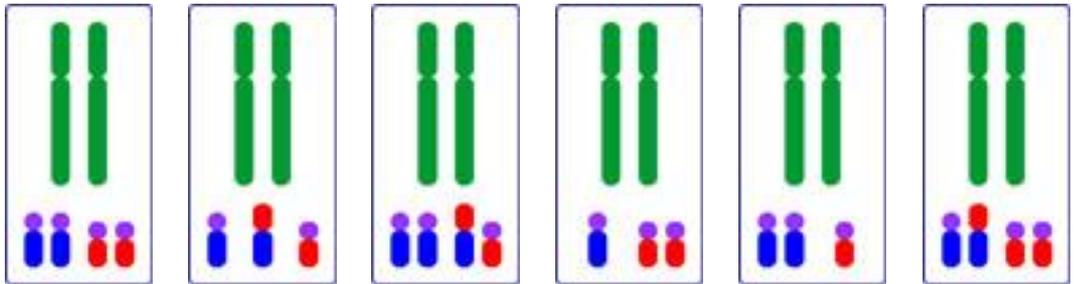
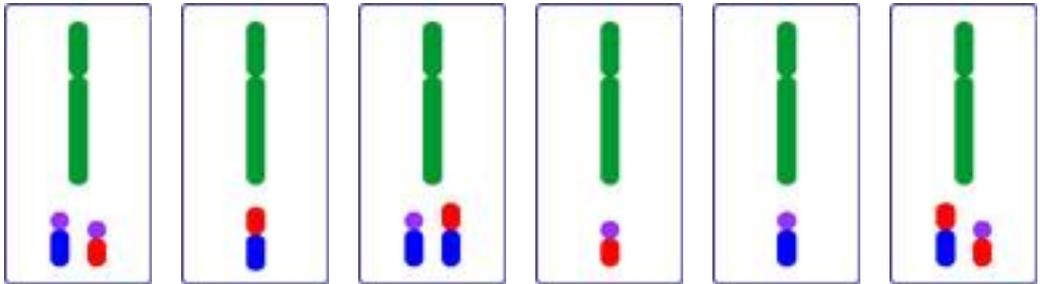
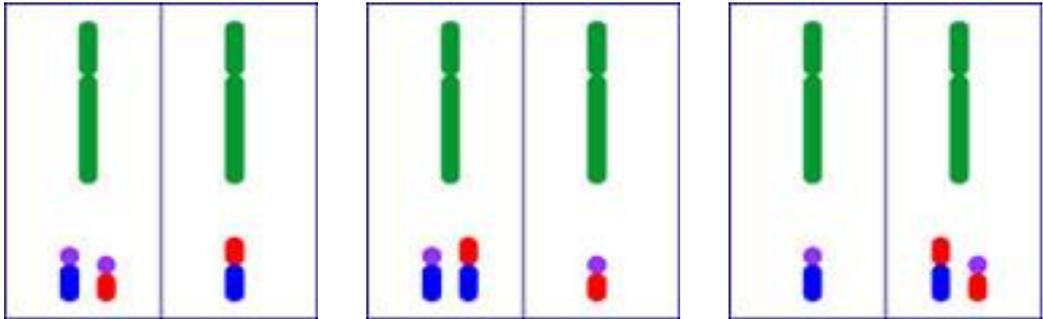










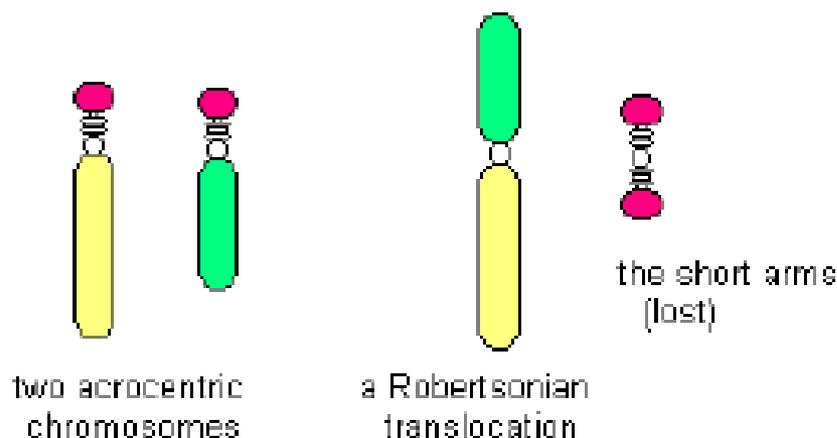


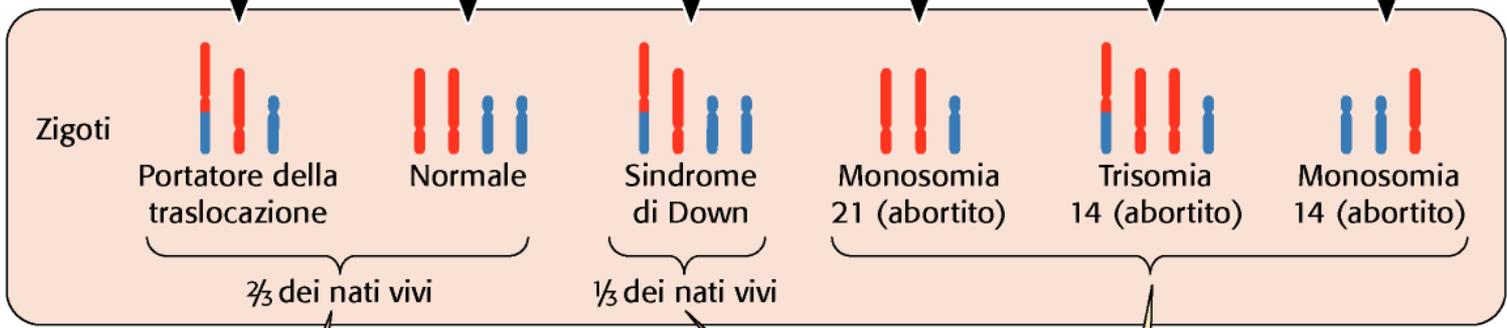
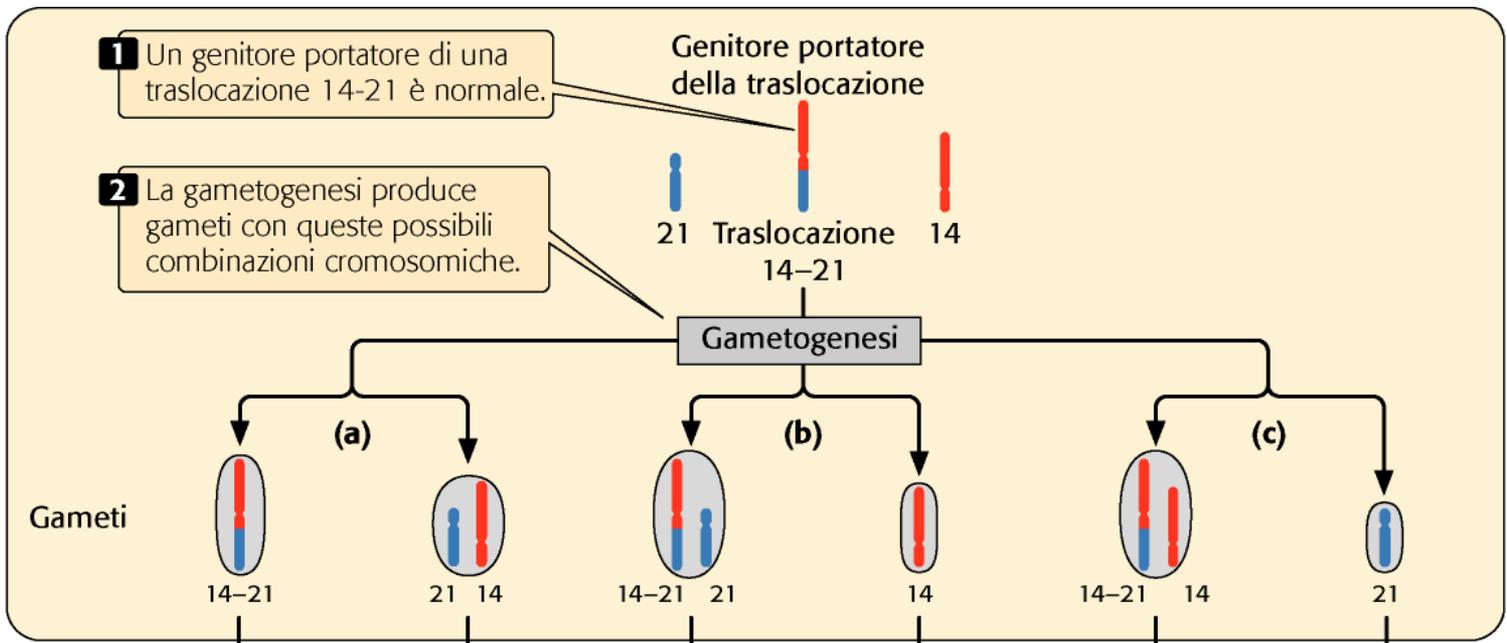
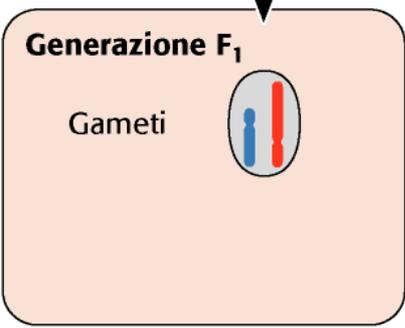
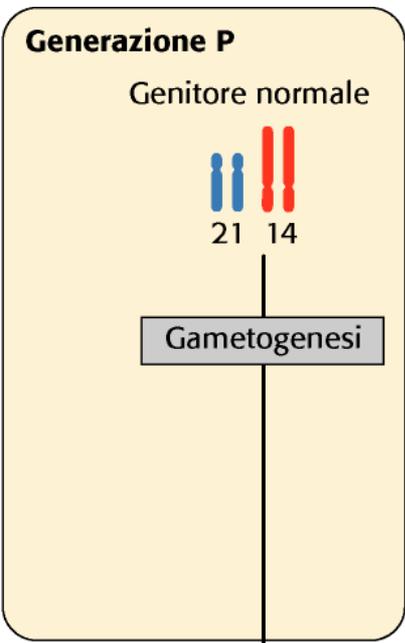
Sindrome di Down familiare

Traslocazione robertsoniana

Il braccio lungo del cromosoma 21 si unisce al braccio lungo del cromosoma 14 o 15

Tre copie del braccio lungo del cromosoma 21





3 Dall'unione di una persona normale con un portatore della traslocazione...

4 ...due terzi della prole saranno composti da individui sani e normali, compresi i portatori della traslocazione...

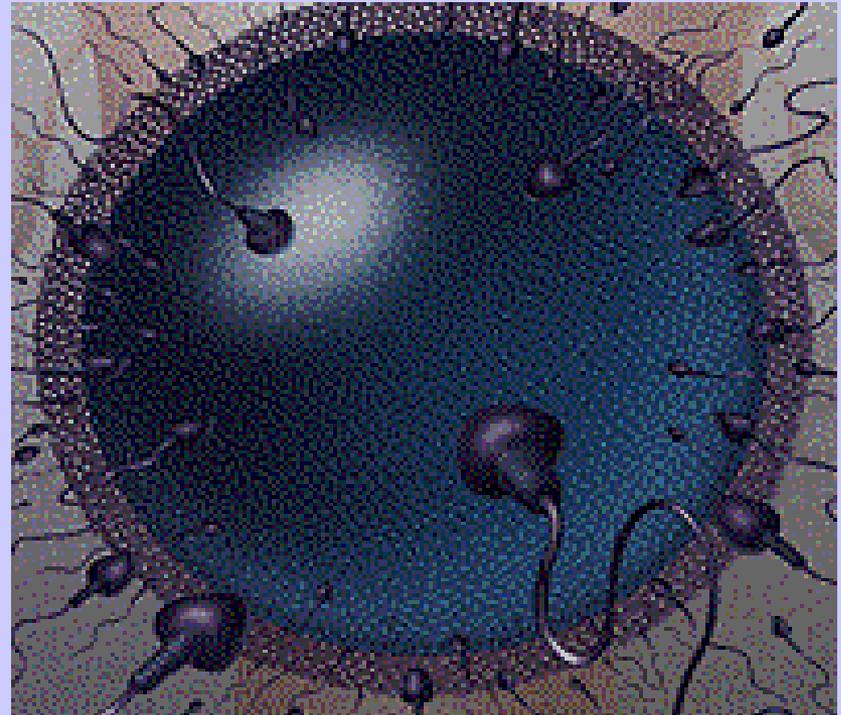
5 ...ma un terzo avrà la sindrome di Down.

6 Altre combinazioni cromosomiche provocano l'aborto degli embrioni.

Anomalie cromosomiche negli ovociti

Circa il 25 % degli ovociti presenta anomalie cromosomiche

(prevalentemente aneuploidie)

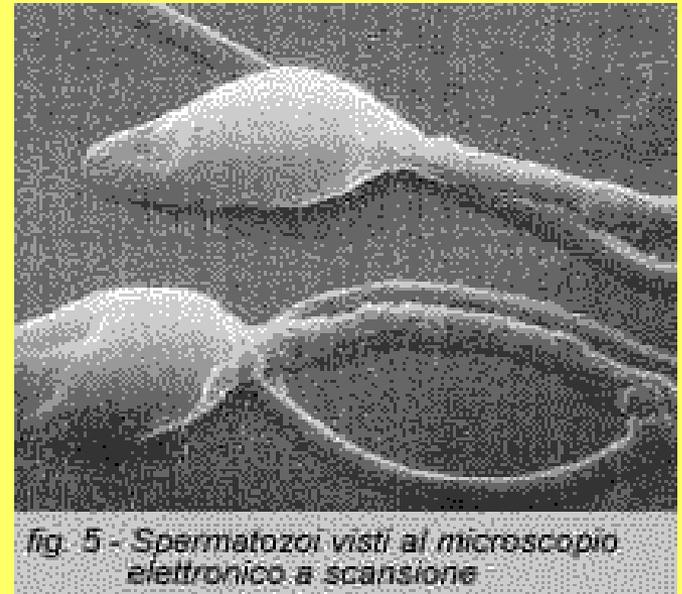


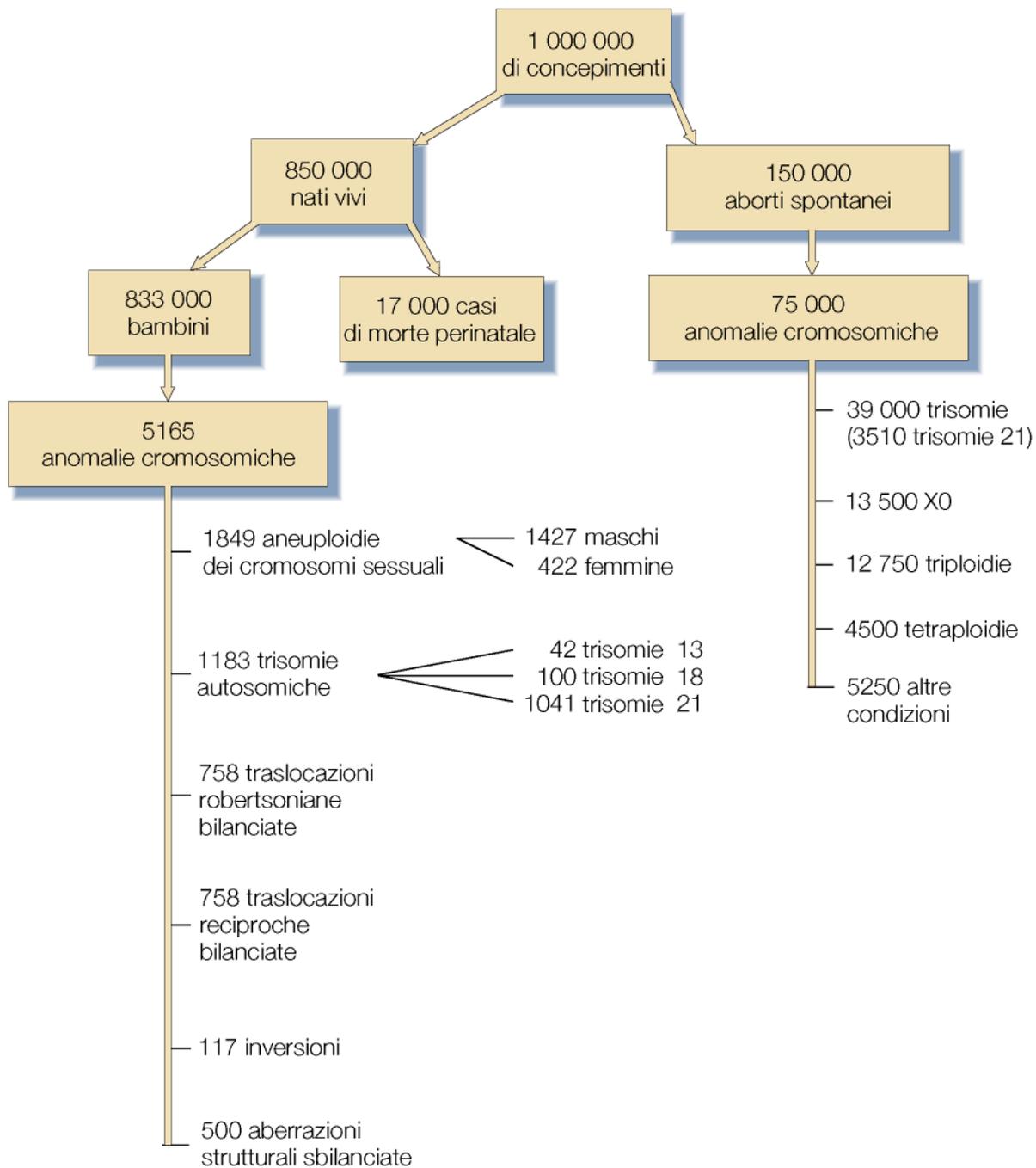
Anomalie cromosomiche negli spermatozoi

Circa il 10% degli spermatozoi di maschi fertili presenta anomalie cromosomiche:

- 45% anomalie numeriche
- 55% anomalie strutturali

(prevalentemente
rotture)



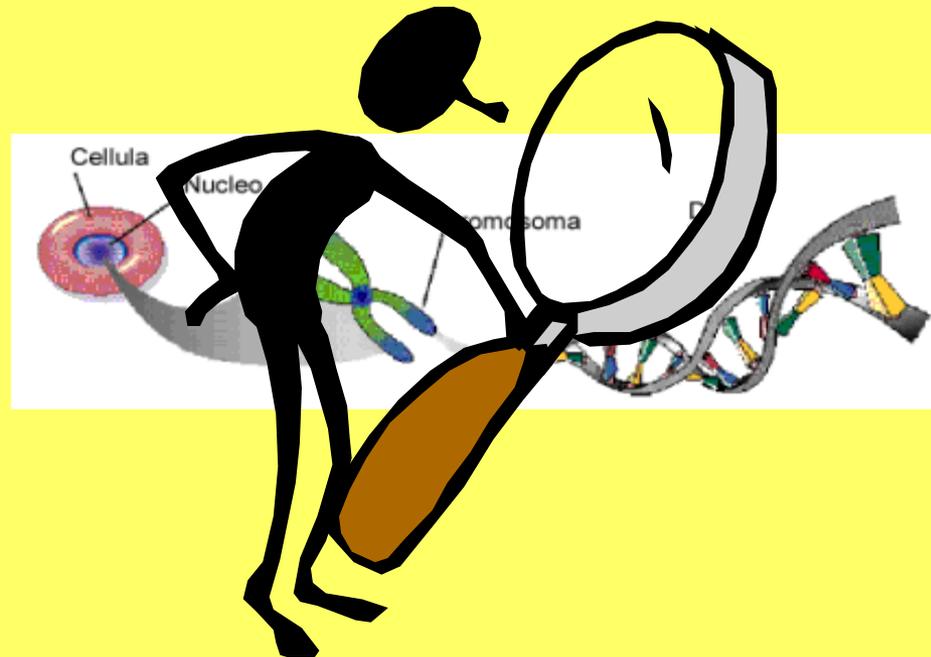


Un po' di storia

- **Dal 1970** possibilità di diagnosi di S. di Down su liquido amniotico mediante analisi cromosomica
- **Dal 1980** introduzione della FISH per l'identificazione della trisomia 21 su nuclei interfasici di amniociti non coltivati
- Una metodica introdotta da Mansfield (**1993**), Pertl (**1994**) e perfezionata da Pertl e Adinolfi nel **1997** che prende il nome di QF-PCR permette la diagnosi prenatale di aneuploidie.

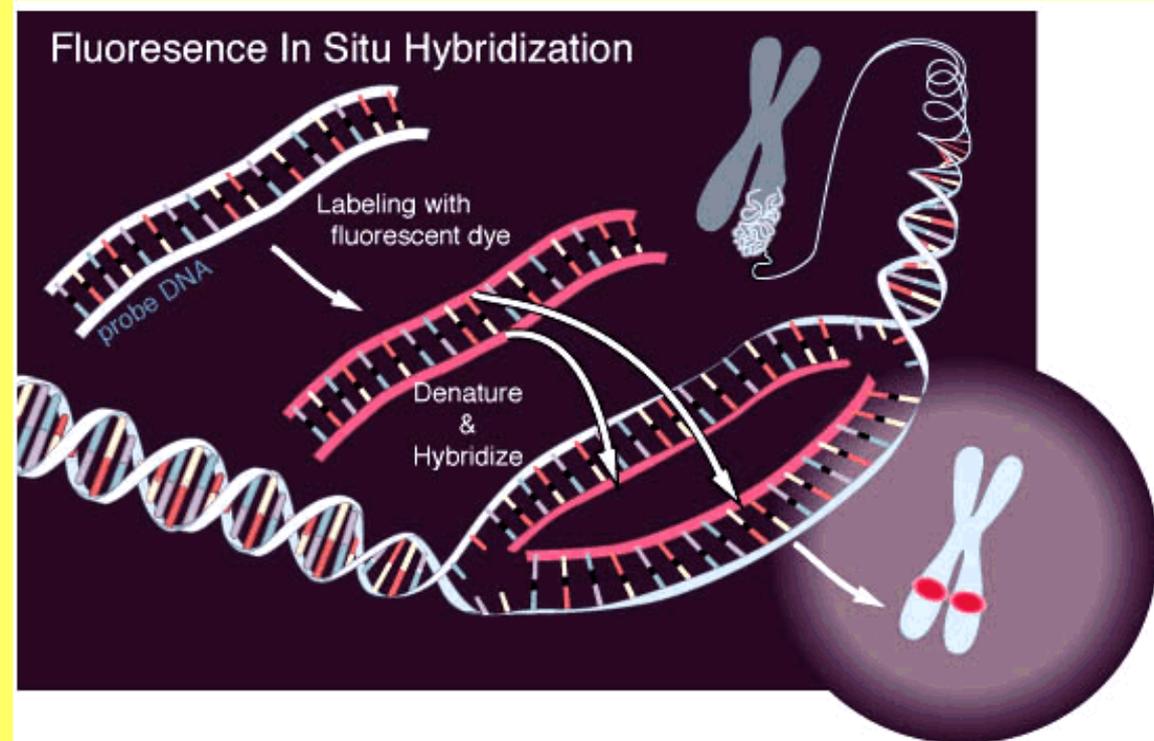
La Citogenetica Molecolare

Abbina la possibilità di un'analisi del DNA, propria delle tecniche di biologia molecolare, con la struttura cromosomica il cui studio è oggetto della citogenetica classica.



La Citogenetica Molecolare

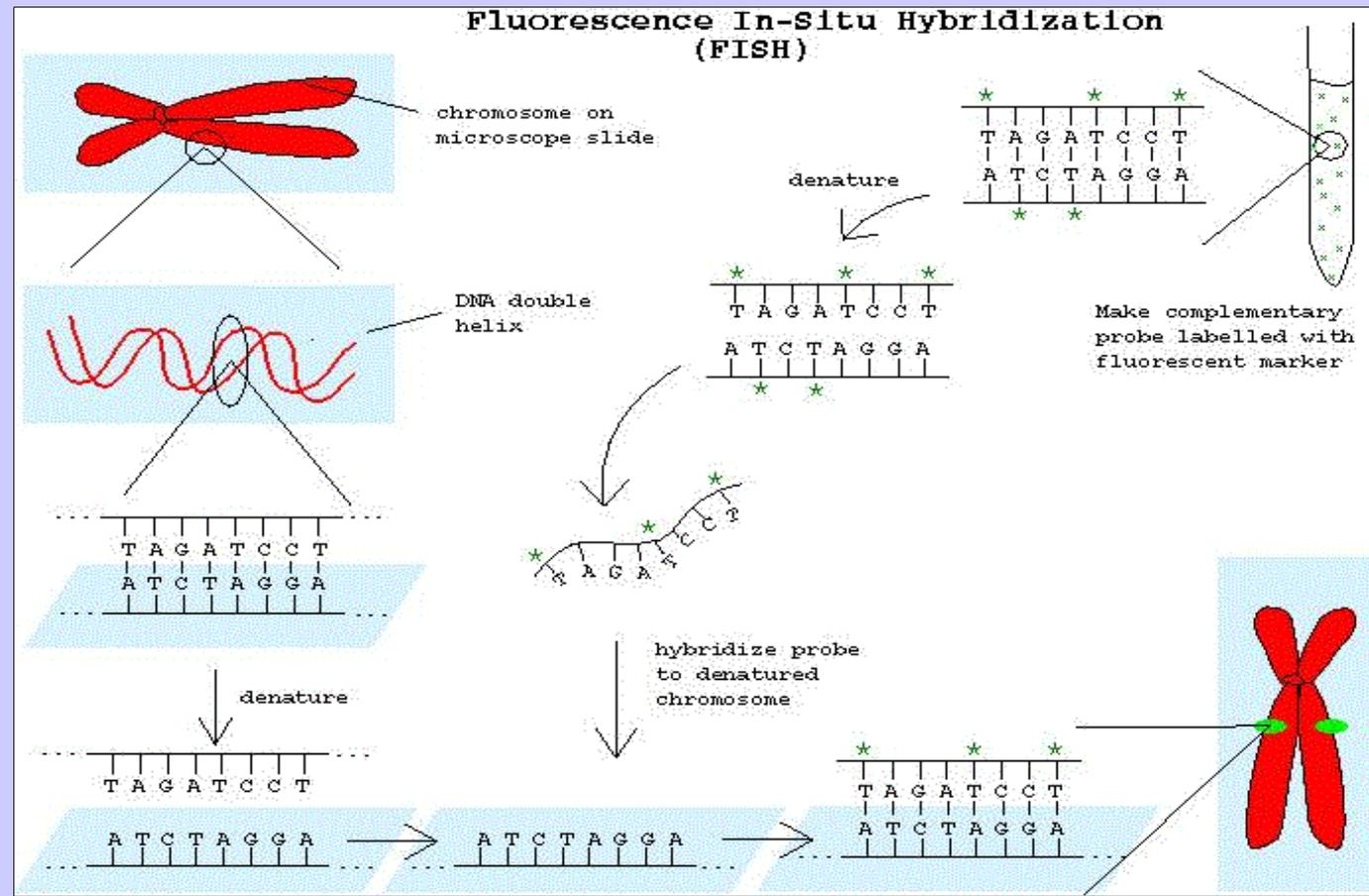
Permette un'analisi mirata di una regione cromosomica consentendo di mettere in evidenza riarrangiamenti di alcune centinaia di chilobasi.



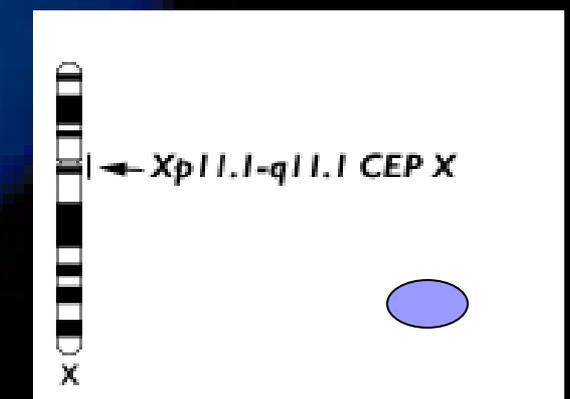
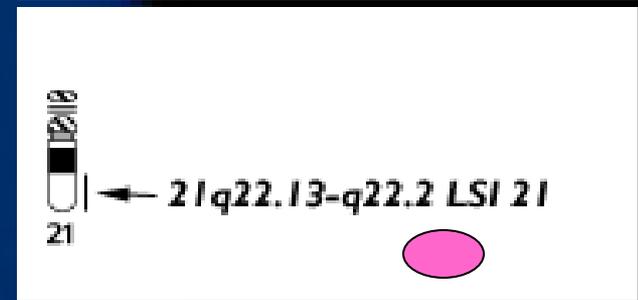
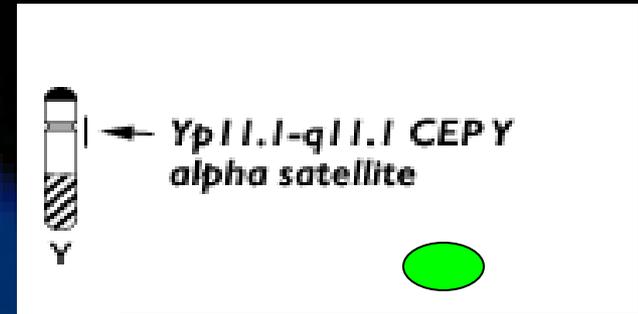
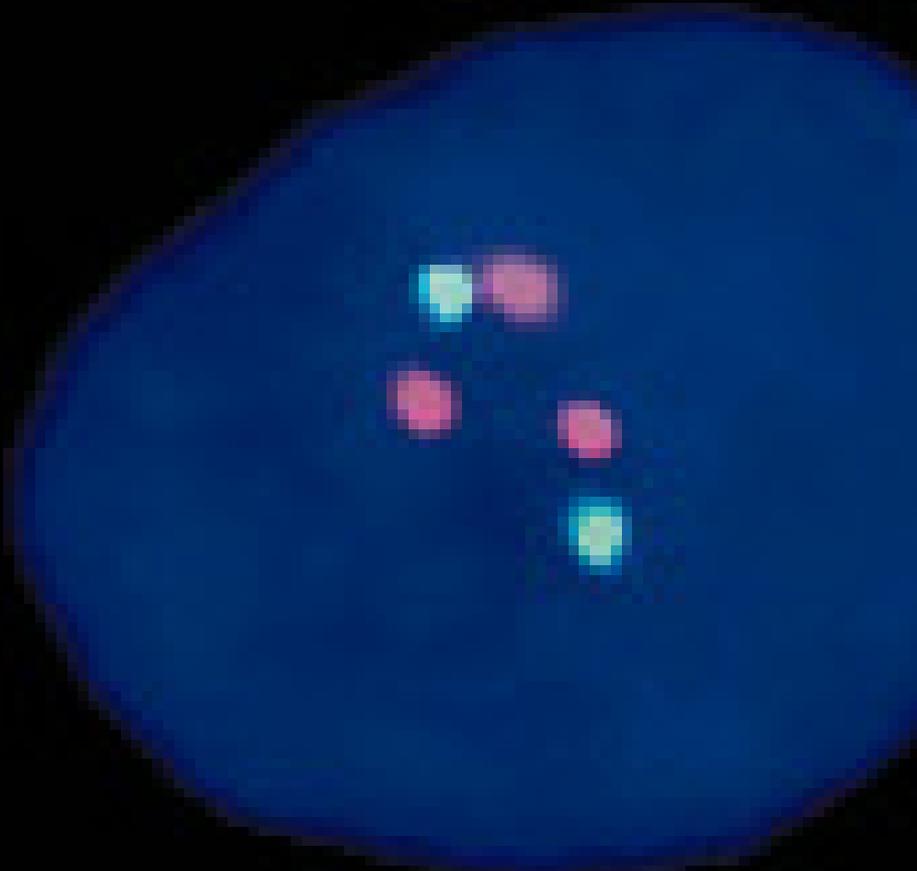
FISH (Fluorescence *in situ* hybridization)

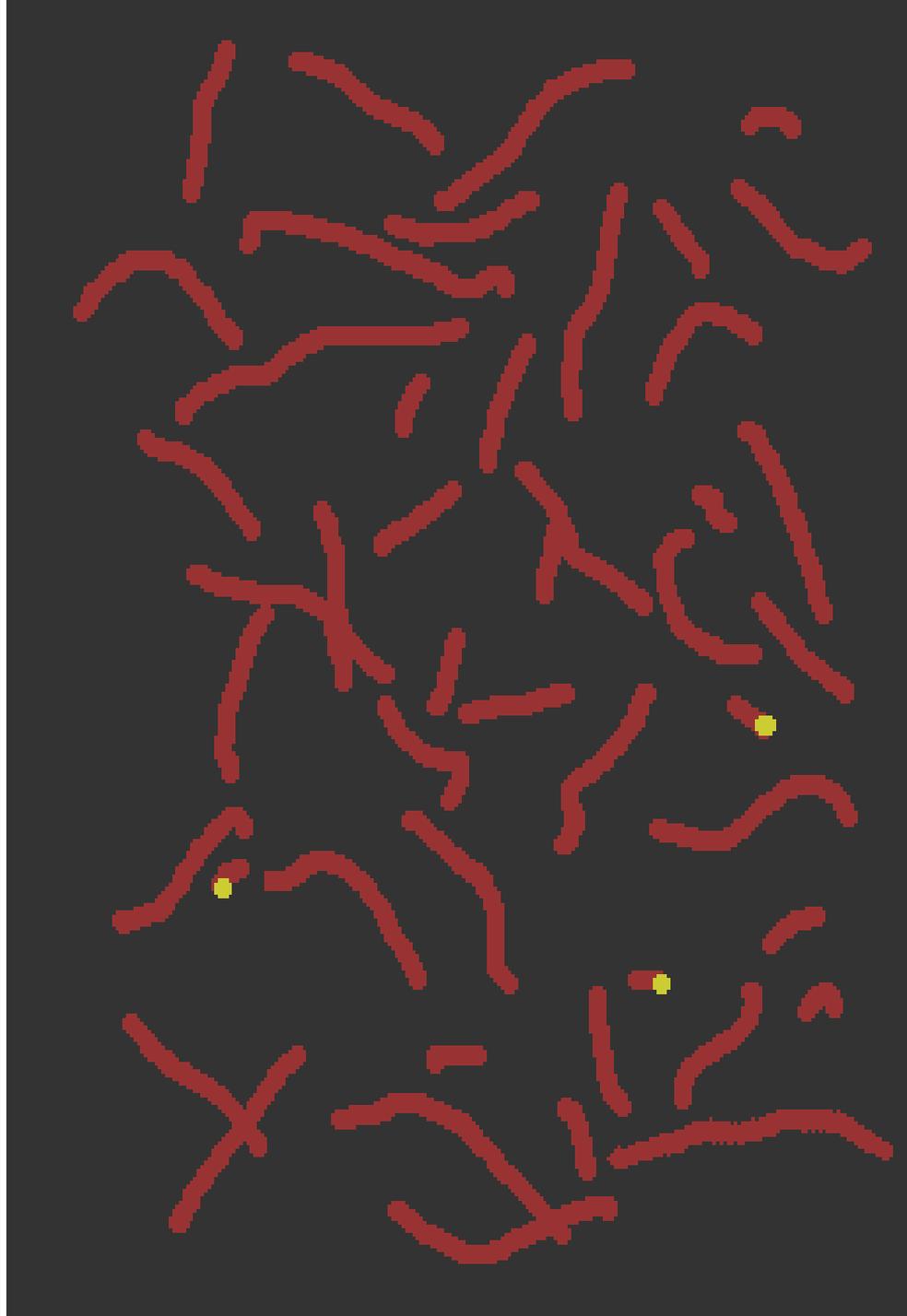
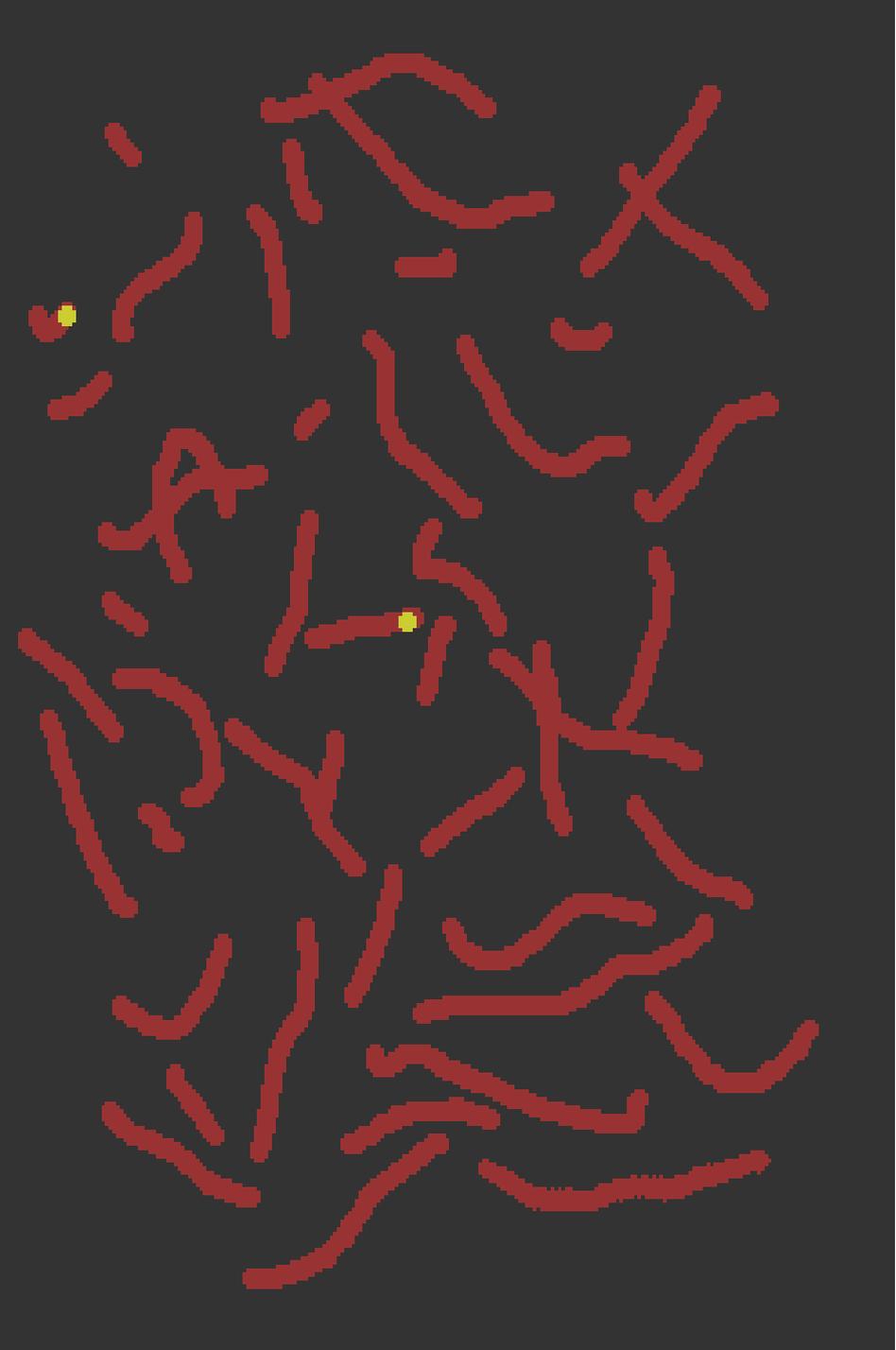
■ E' una tecnica di ibridazione che permette, dopo fissazione di metafasi e nuclei in interfase su vetrino, di identificare sequenze specifiche negli acidi nucleici.

■ Tale identificazione avviene mediante sonde marcate in maniera non isotopica, impiegando fluorocromi che emettono a diverse lunghezze d'onda.



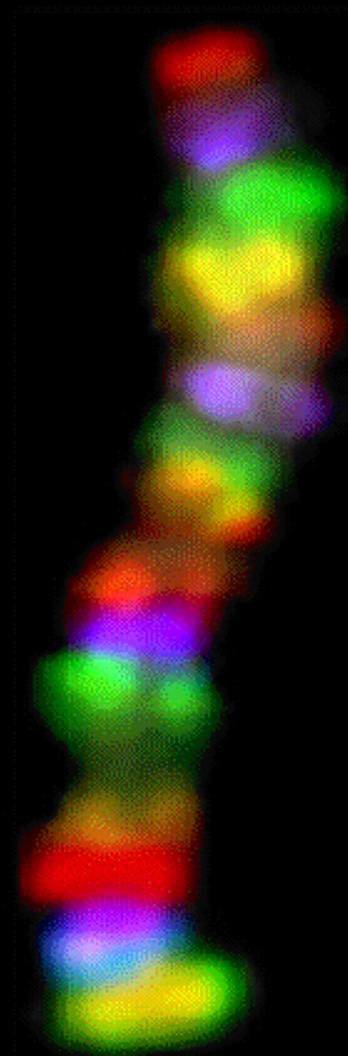
DIAGNOSI DI ANEUPLOIDIE





Sindrome di Down





-  78E1
 -  91A2
 -  81G1
 -  87G10
 -  98D7
 -  58C11
 -  101C7
 -  29F6
 -  106H5
 -  51H2
 -  60D11
 -  66E12
 -  911D9
 -  858H7
 -  932F11
 -  937A6
- 

CHROMA TECHNOLOGY CORP

AN EMPLOYEE-OWNED COMPANY

PRODUCING THE WORLD'S FINEST OPTICAL FILTERS AND FLUORESCENCE FILTER SETS

PRINCIPALI SINDROMI DA MICRODELEZIONE

SINDROME	LOCALIZZAZIONE CROMOSOMICA	SOGGETTI CON MICRODELEZIONE
Prader Willi/Angelman	15q11.13	70%
Williams	7q11.23	90%
DiGeorge/Velocardiofacciale	22q11.2	75%
Smith-Magenis	17p11.2	95%
Miller-Dieker	17p13.3	90%