5. Estensioni e deviazioni dai principi della genetica mendeliana:

Teoria cromosomica dell' ereditarietà ed eredità legata al sesso

Eredità Mendeliana

- I geni sono **ereditati in coppia** (uno dal padre e l'altro dalla madre)
- Ogni gene possiede **diversi alleli**, alcuni dei quali (dominanti) agiscono su altri (recessivi)
- Alla meiosi gli alleli **segregano singolarmente ed indipendentemente nei gameti** (legge di Mendel)

Eredità legata al sesso
e
teoria cromosomica dell' ereditarietà

- Un carattere determinato da un gene in un cromosoma sessuale è detto **associato al sesso.**

  - **I caratteri mendeliani si assortiscono indipendentemente perché i cromosomi si assortiscono indipendentemente**

TEORIA CROMOSOMICA DELL'EREDITARIETÀ

Esperimenti di Morgan

Thomas Hunt Morgan

PREMIO NOBEL
PER LA MEDICINA (1933)

Contribuì a rendere evidente che i cromosomi sono la sede dei fattori ereditari mendeliani



Il comune moscerino della frutta

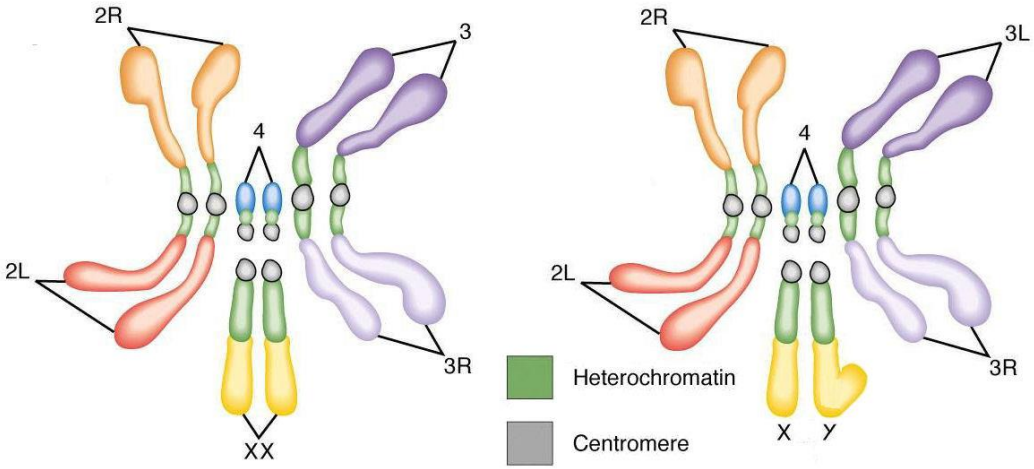
GRANDE MODELLO PER LA GENETICA

- facile da allevare in lab
- Prolifico (ogni incrocio produce 100 individui)
- Rapido tempo di ricambio generazionale (2 settim.)
- Cromosomi grandi ed evidenti (visibili al microscopio ottico)
- Quattro paia di cromosomi (3 autosomi e 1 paio di cromosomi sessuali)
- Tecniche di trasformazione genetica sono disponibili dal 1987;
- Sequenz. del suo genoma è stato complet. nel 1998.
- - Le mutazioni genetiche nella specie sono molto freq.



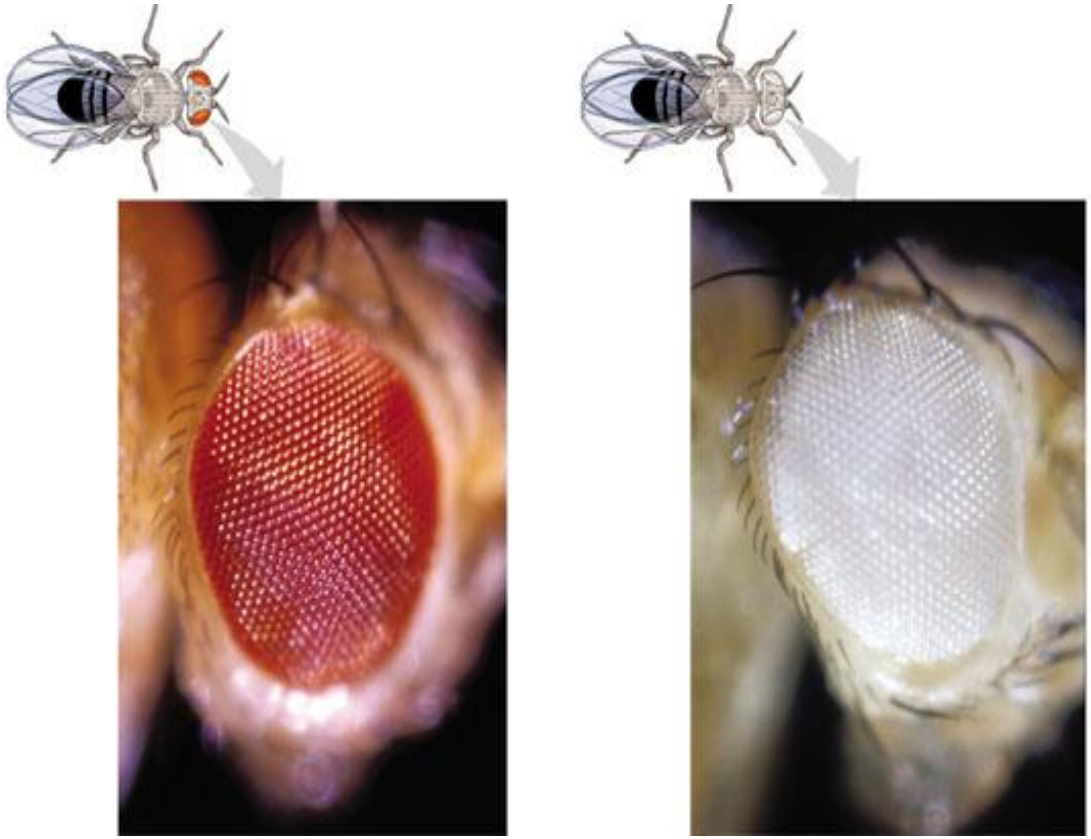


Pettini sessuali



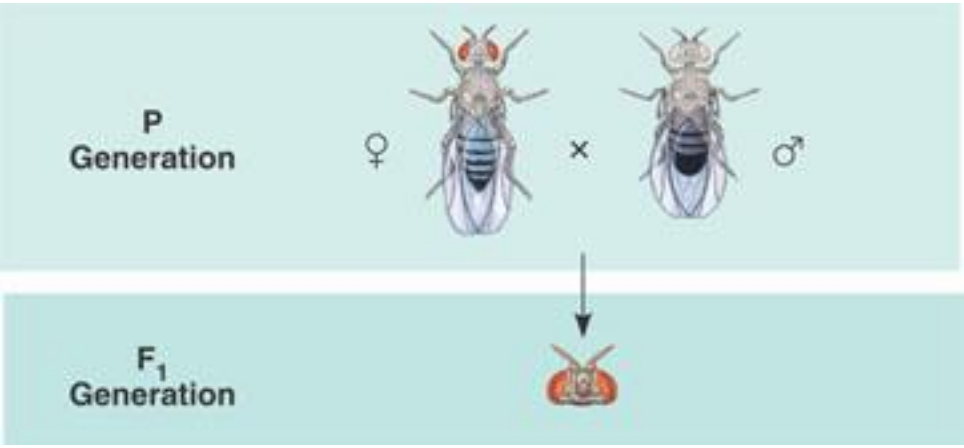
Basi cromosomiche dell'ereditarietà

- Morgan per primo osservò e chiamò
  - **Fenotipi normali o selvatici** quelli che erano comuni nella popolazione
  - **Caratteri alternativi al fenotipo selvatico** → sono chiamati fenotipi mutanti



Prove per la base cromosomica dell'erediterietà

FEMMINE occhi rossi X MASCHI occhi bianchi

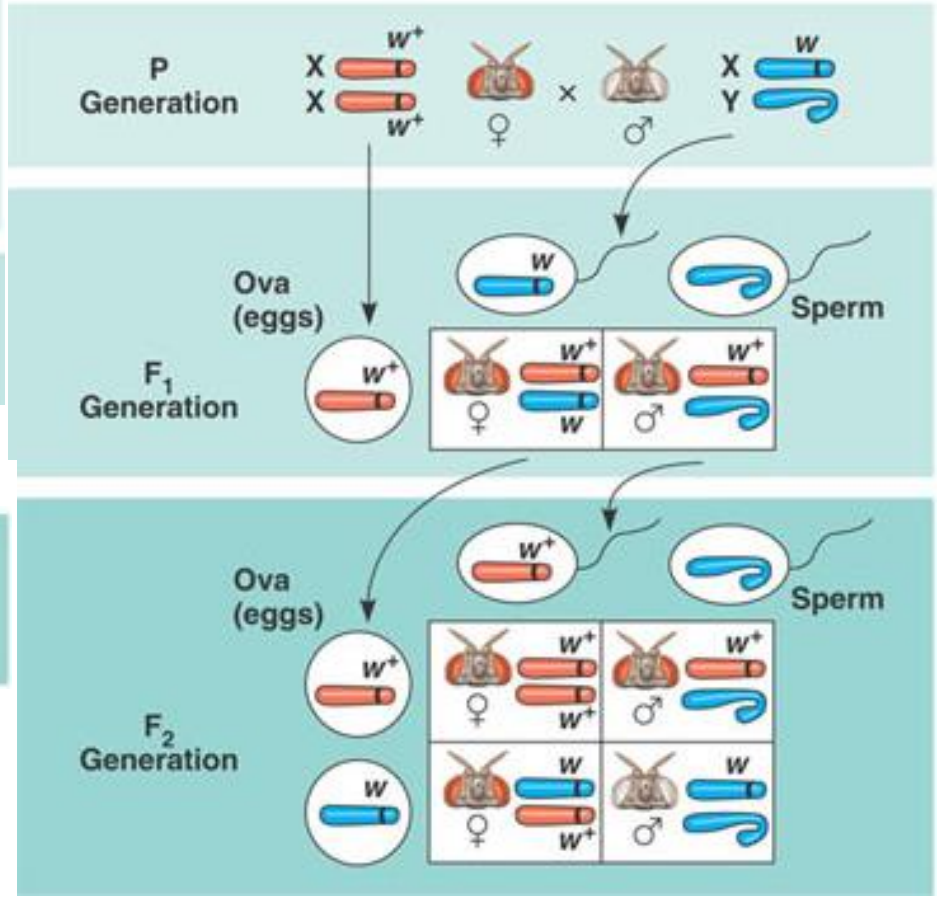


F1) TUTTI OCCHI ROSSI



F2) 3:1 ROSSI:BIANCHI,

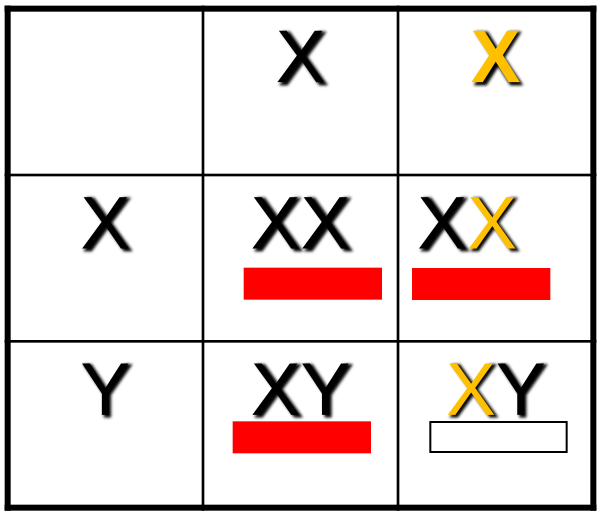
ma solo i maschi hanno occhi bianchi



Torna il rapporto 3:1 ma…

F1 X F1

XX x XY



Rossi : bianchi
3 : 1

MA

Tutti i bianchi sono maschi

Incrocio II.

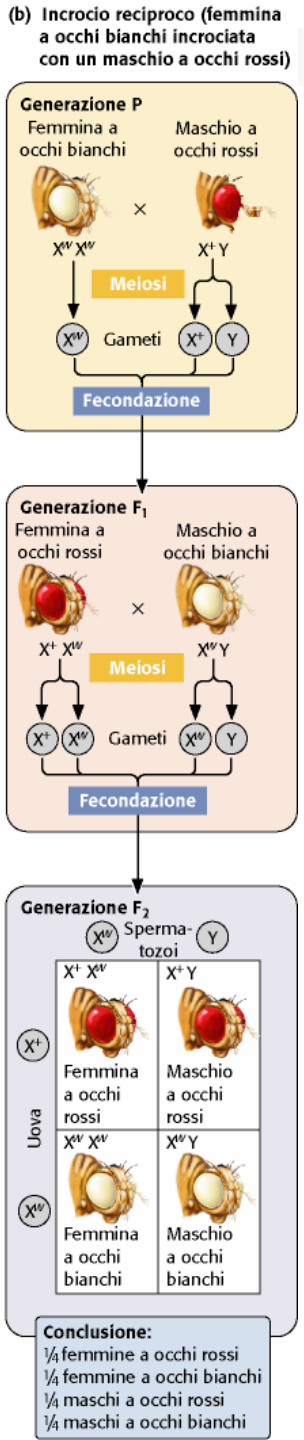
♀bianco X^wX^w x ♂rosso X^+Y

incrocio reciproco

F1
- ½ ♂ bianchi X^wY
- ½ ♀ rosso X^+X^w

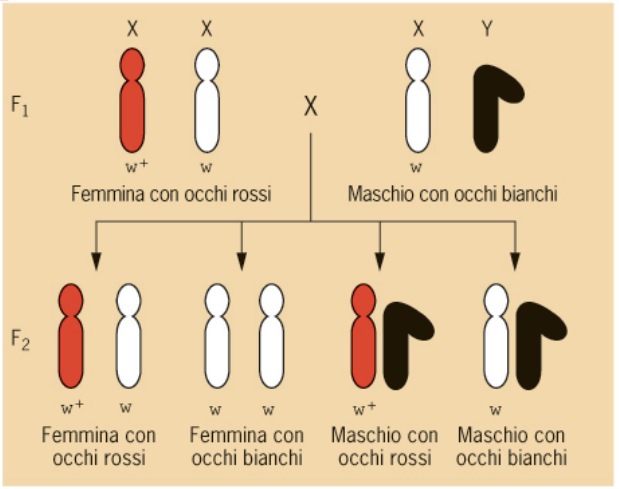
Diverso dall'atteso mendeliano

F2:
- ¼ ♀ rosso
- ¼ ♂rosso
- ¼ ♂ bianco
- ¼ ♀ bianco



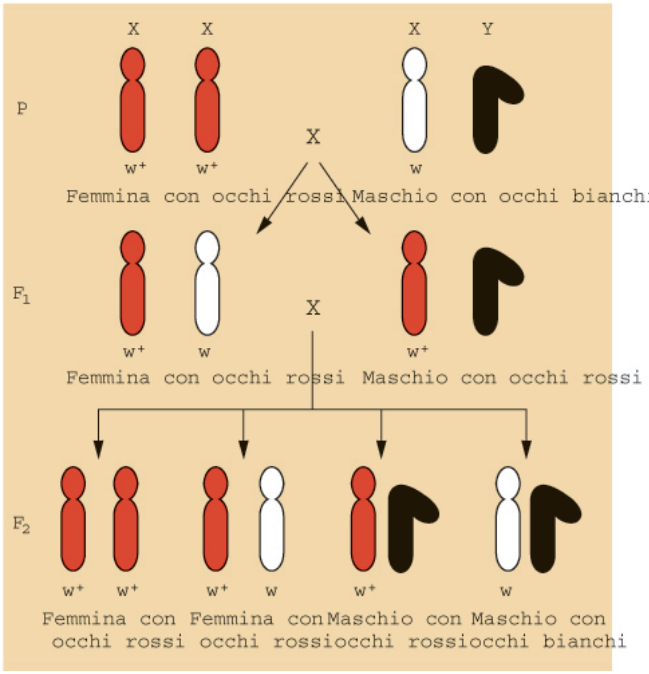
Osservazioni

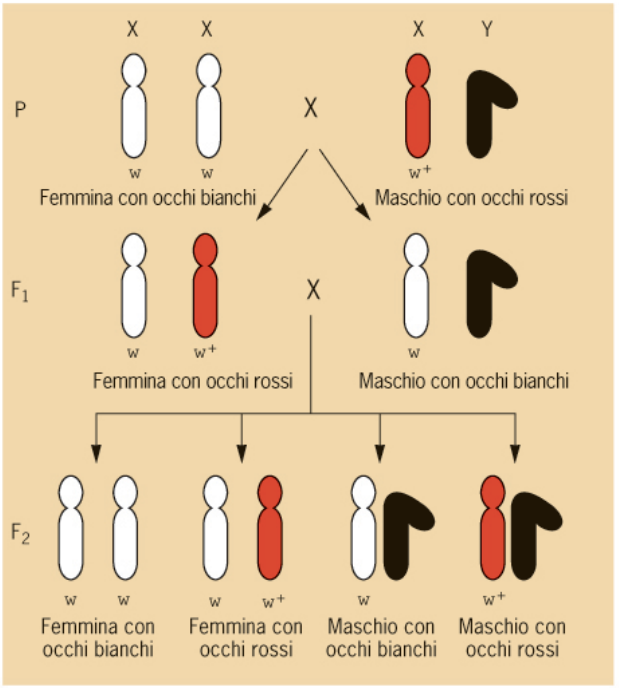
- Morgan concluse:
  - il **gene per il colore dell'occhio si trova sul cromosoma sessuale X:**
  - viene ereditato con rapporti diversi dai geni presenti sugli autosomi



(a) Incrocio tra una femmina eterozigote ed un maschio mutante emizigote

Figura 5.3 ■ Esperimento di Morgan per lo studio dell'ereditarietà degli occhi bianchi in *Drosophila*. La trasmissione della condizione mutante associata al sesso suggerì che il gene per il colore dell'occhio fosse presente sul cromosoma X ma non sull'Y.





(b) Incrocio tra una femmina mutante omozigote ed un maschio

Eredità legata al sesso:trasmissione dei caratteri

Caratteristiche

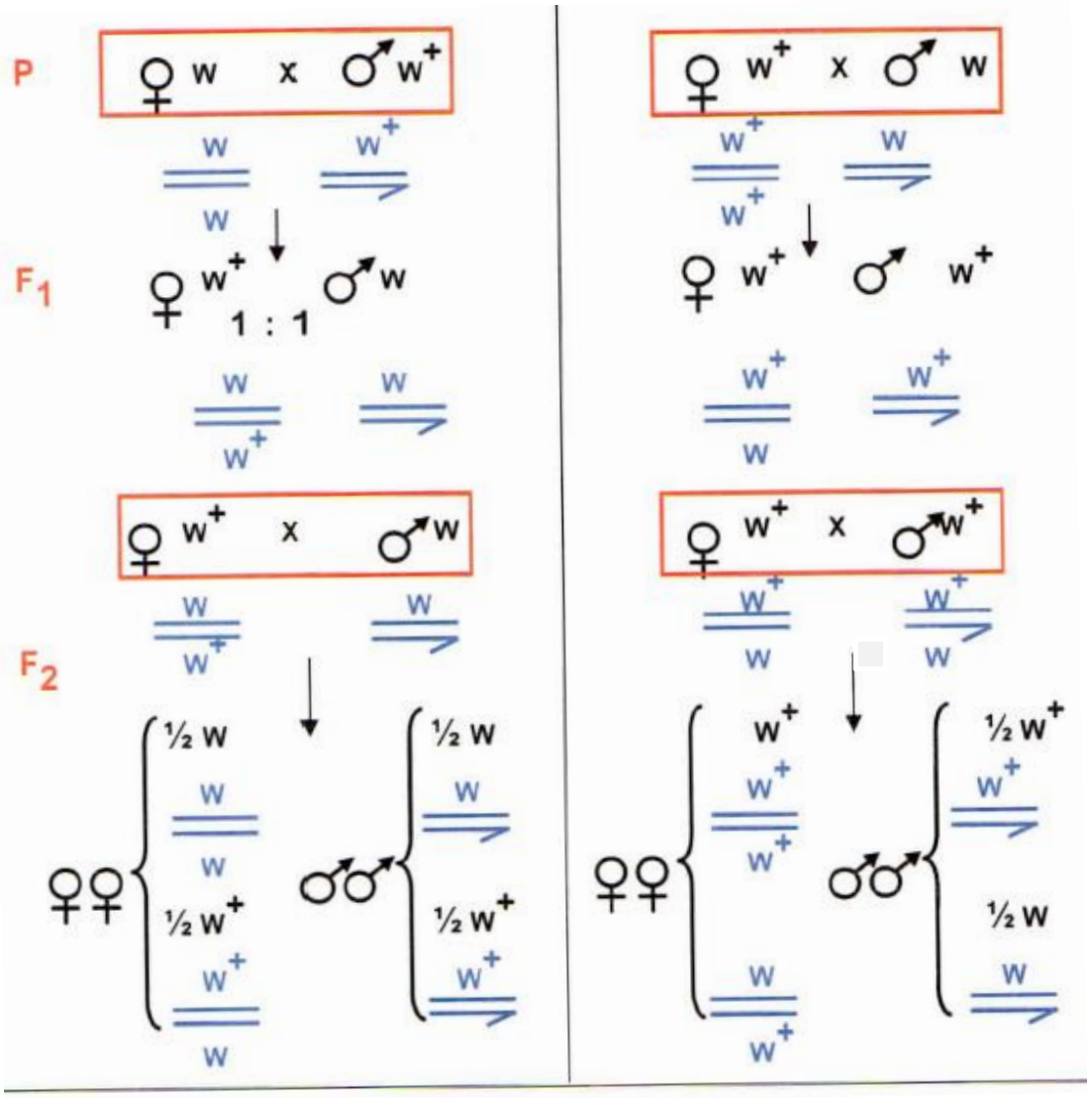
- tutti i geni nel **M** presenti in singola dose

-> manifestano alleli recessivi

- Incroci reciproci
- **per autosomi =**
- per caratteri legati al sesso #
- **Caratteri legati al sesso:**

eredità tipo criss-cross

(un maschio riceve il cromosoma X dalla madre e lo trasmette solo alle sue figlie)



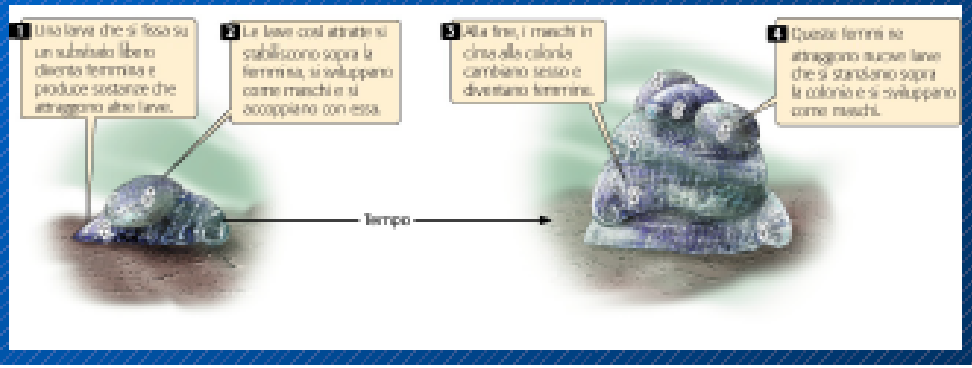
Determinazione del sesso

1. riproduzione asessuata
2. riproduzione sessuata → variabilità

   A. autofecondazione
   B. fecondazione crociata → eterozigosità

vantaggio evolutivo

Determinazione del sesso
- ambientale
- genetica



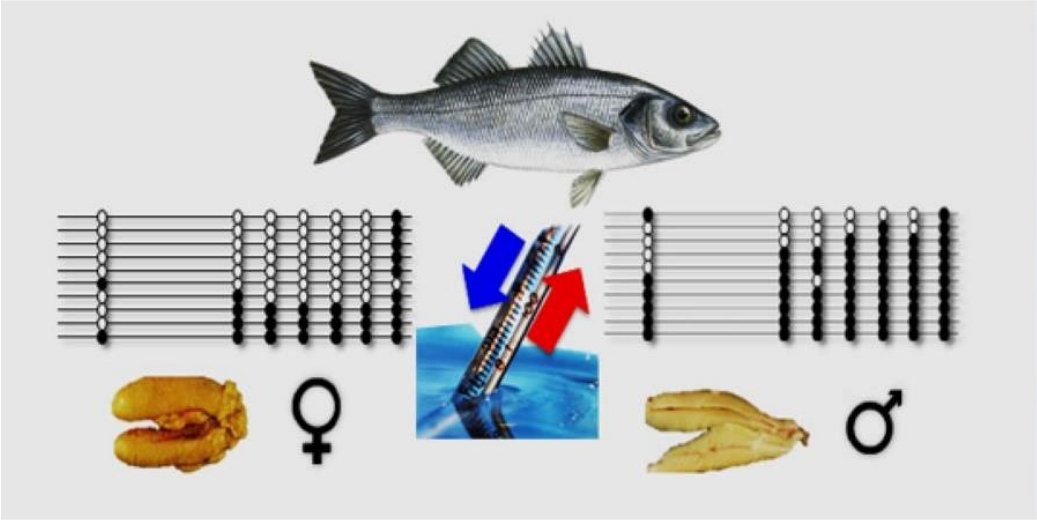
Meccanismi per la determinazione del sesso

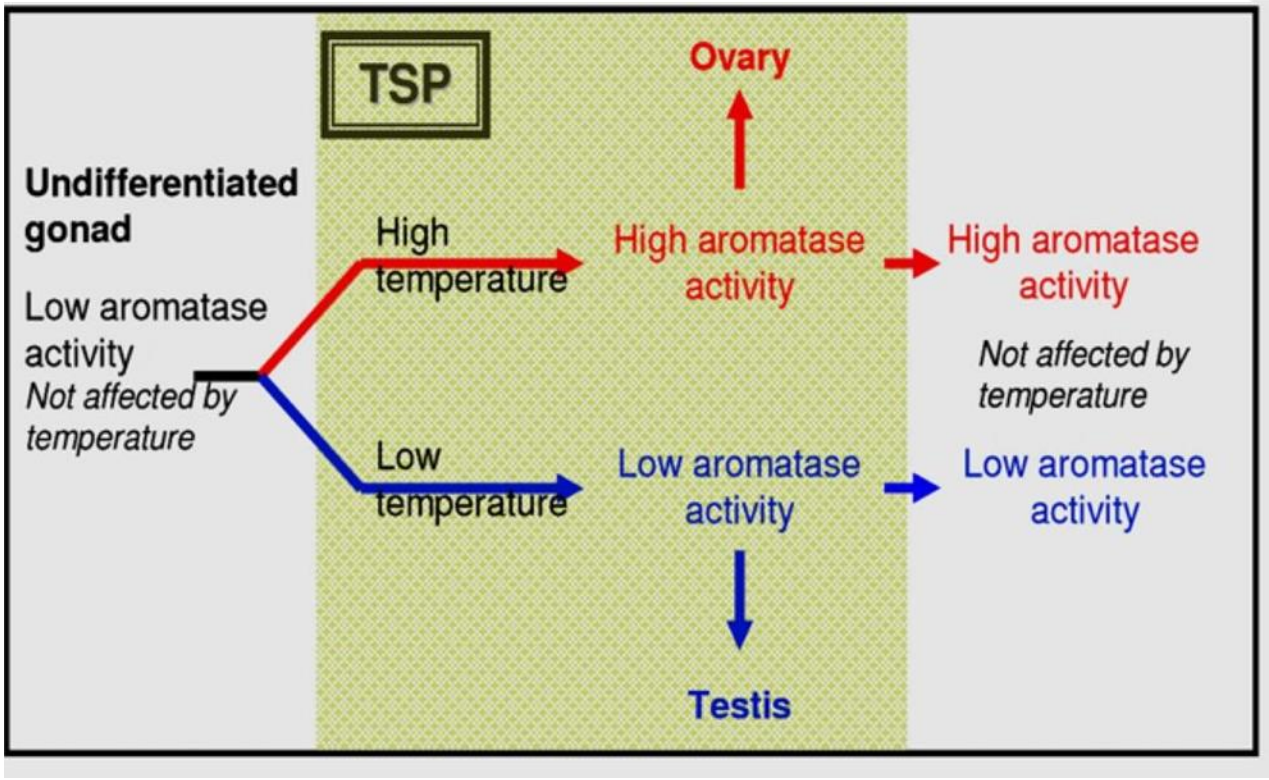
- Controllo genetico
- Controllo metabolico
- Controllo ormonale
- **Controllo ambientale**

1.Controllo ambientale della determinazione e differenziazione sessuale

- Tra i principali fattori ambientali che influenzano il processo di determinazione del sesso ci sono: **fattori fisici** (temperatura, pH, ecc.), **le interazioni sociali**, i **composti endocrini naturali e gli inquinanti ambientali.**
- La **temperatura, ed** in particolar modo le fluttuazioni di temperatura, anche solo di 5-6° C, che le larve possono affrontare, durante il loro sviluppo **ha effetto sulla determinazione del sesso.**
- Tale effetto temperatura-dipendente si pensa possa essere attribuibile all'influenza **sull'attività aromatasica e sulla sintesi di estradiolo.**
- Gli inquinanti possono determinare parziale o totale inversione sessuale, sviluppo di gonadi intersessuali finanche la completa distruzione del fenotipo sessuale.

DETERMINAZIONE DEL SESSO
Temperatura dipendente (TDS)



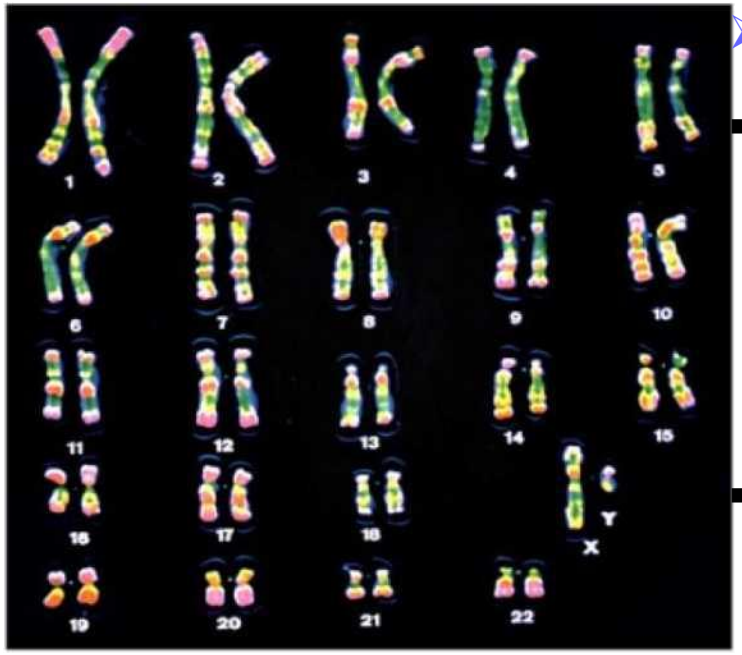


Meccanismi per la determinazione del sesso

- **Controllo genetico**
- Controllo metabolico
- Controllo ormonale
- Controllo ambientale

2. DETERMINAZIONE GENETICA

- I cromosomi sessuali **possiedono geni che regolano lo sviluppo degli organi sessuali interni ed esterni**
- quindi **determinano il fenotipo** maschile o femminile



- **Sesso omogametìco (ìsogamia)**
- **Sesso eterogametìco (anìsogamia)**

- Quando la femmina è omogametìca come nei mammìferi, molti anfìbi anuri, alcuni rettili ed alcuni teleostei, il cromosoma sessuale è definito X (Genotipo XX) ed il maschio eterogametìco (genotipo XY).
- Quando è il maschio omogametìco come uccelli, alcuni rettili, molti anfìbi urodeli e molti teleostei il genotipo è definito ZZ mentre la femmina è eterogametica con genotipo ZW.

Determinazione genetica del sesso: sesso omogametico e sesso eterogametico.

Genetici

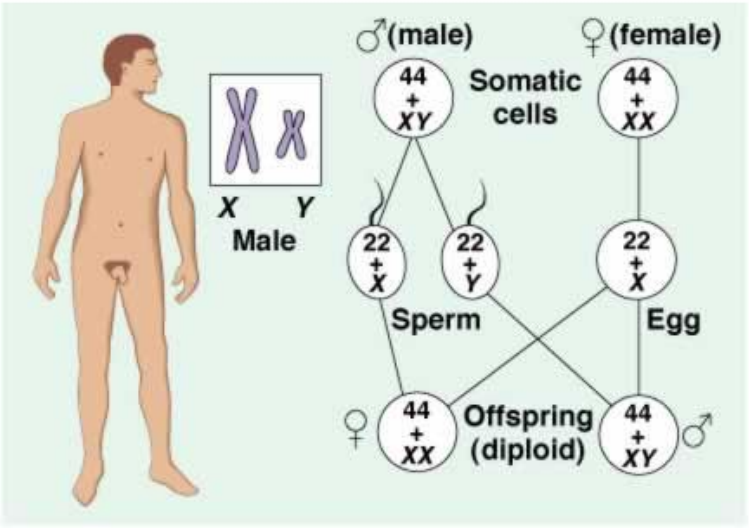
XX ♀/ XY ♂ Uomo, mammiferi, alcuni insetti

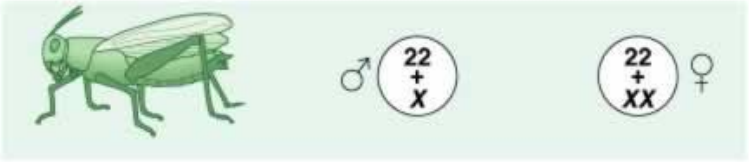
XX ♀/ X0 ♂ Molti insetti ,

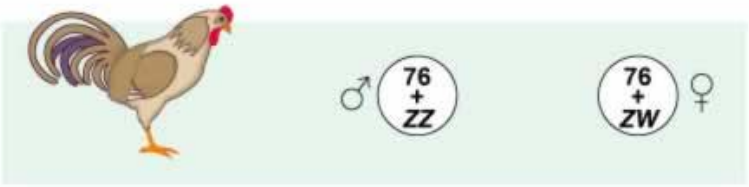
XX ♀./ X0 ♂ *Caenorabditis elegans* (Nematode)

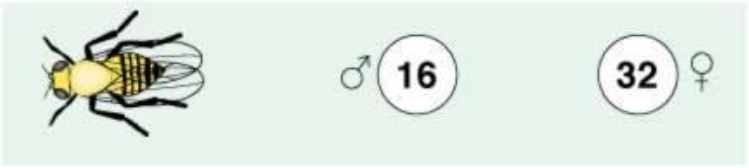
ZW ♀/ ZZ ♂ Uccelli, alcuni insetti

2N ♀/ N ♂ Alcuni insetti







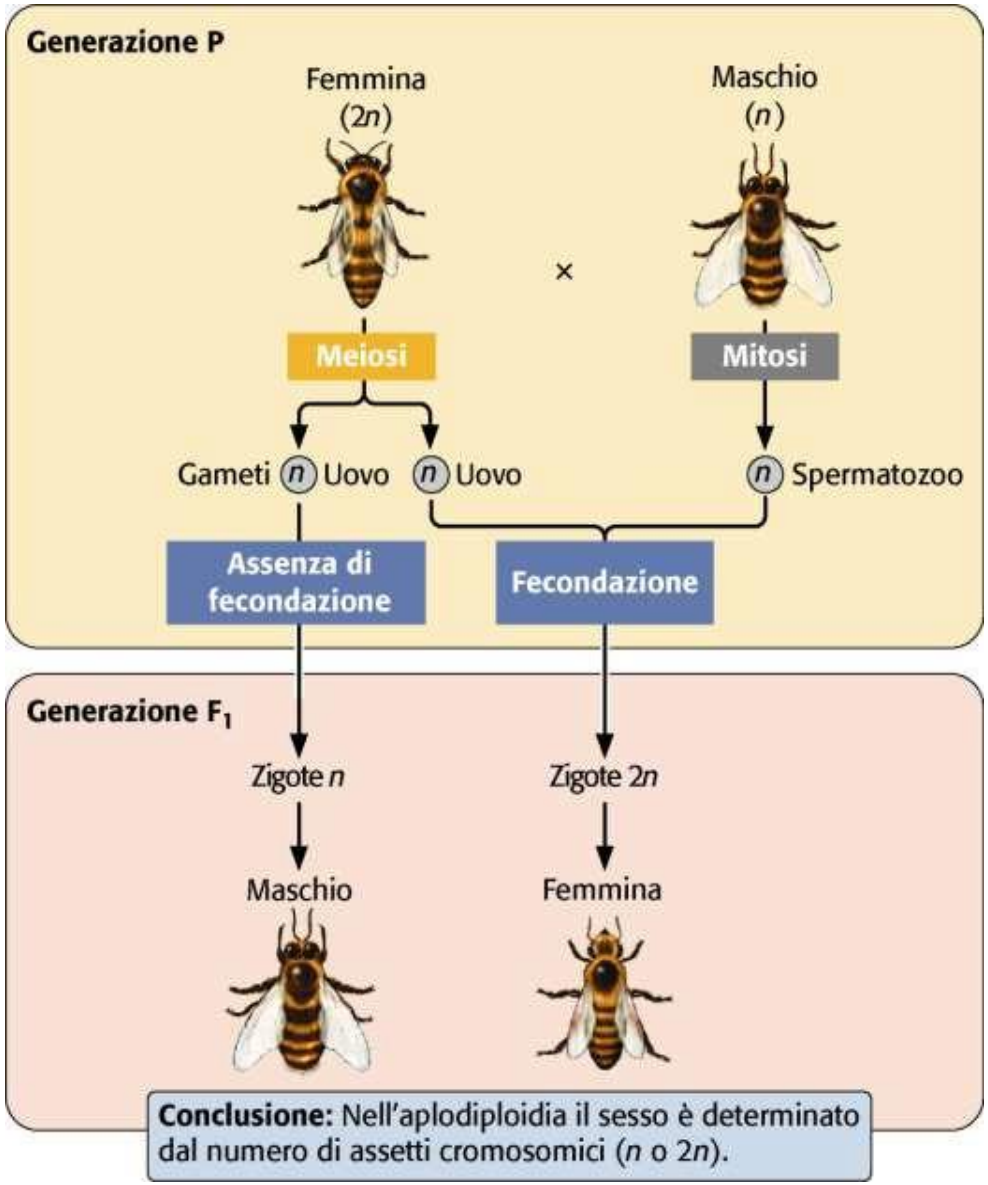


©Addison Wesley Longman, Inc.

Meccanismo di determinazione del sesso: controllo genetico

- Meccanismo di aploidia maschile o aplodiploidia
- Controllo del sesso per **singolo gene**
- Meccanismo di **bilancio genico**
- Meccanismo di **cromosoma sessuale** o eterogamia

a. APLO-DIPLOIDIA



- Alcuni **imenotteri** (api, vespe e formiche) **non hanno cromosomi sessuali**
  - la **determinazione del loro sesso** si basa **sull'assetto cromosomico (aploide vs diploide)**

- **Nell'aplo-diploidia il sesso dipende dal numero di gameti che l'individuo riceve.**
  - La **femmina (diploide)** è generata da un uovo fecondato,
  - mentre il **maschio (aploide)** può essere **generato dal solo uovo** anche se non fecondato.

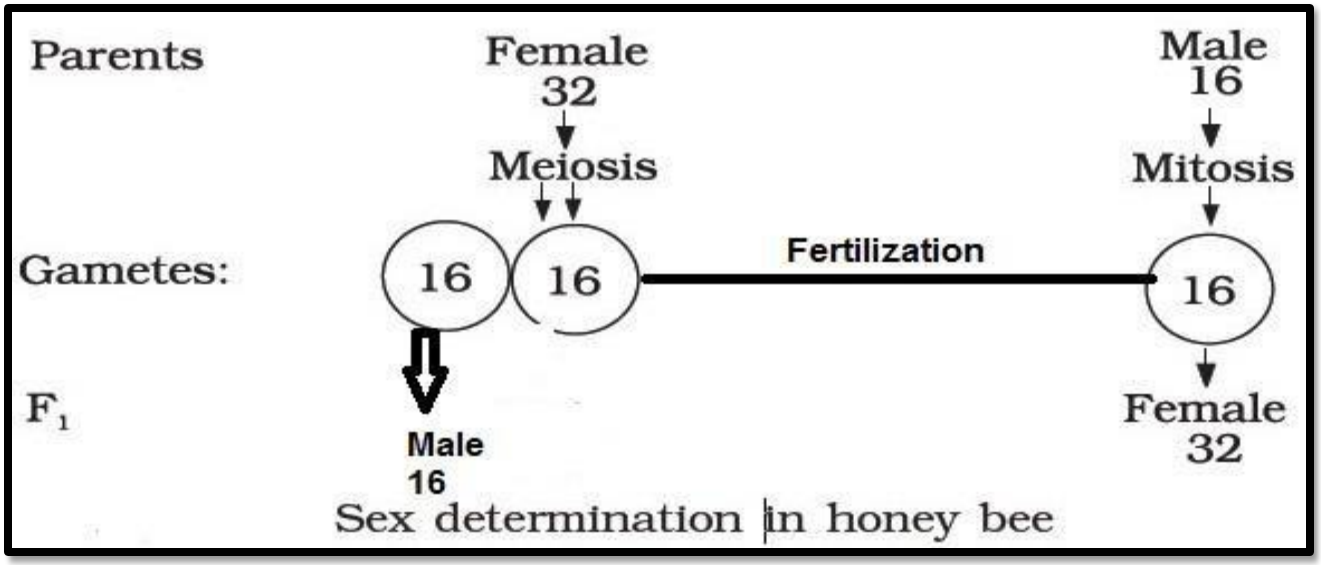
  - **Questo significa che i maschi hanno metà numero di cromosomi** rispetto alle femmine diploidi.

EXAMPLE OF MALE HAPLOIDY OR HAPLODIPLOIDY MECHANISM

✓ Hone bee Queen (2n=32) can produce two types of egg.

- **Fertilized egg (Diploid zygote) having 32 chromosome**
- **Unfertilized egg (haploid zygote) having 16 chromosome develops into a male.**

✓The diploid zygote can differentiate into either workers (sterile) & queens (fertile) depending on the diet they consumed during development.



b. SINGLE GENE CONTROL OF SEX

- Single genes are found to be responsible for the determination or expression of sex in

- *Chlamydomonas,*
- *Neurospora,*
- Yeast,
- *Asparagus,*
- maize,
- *Drosophila*.

Determinazione Mono-Genica del Sesso In Mais

- MAIS è una pianta monoica con infiorescenza maschile (pennacchio) e femminile (spiga/sete) localizzate sulla stessa pianta.
- Un gene chiamato *tassel seed (ts)* converte il pennacchio in un'infiorescenza con semi.
- Un altro gene ***silkless(sk***) è **responsabile assenza di sete**





- una pianta con genotipo ***sk/sk*** sarà effettivamente una pianta maschile

&

- piante con genotipo ***ts/ts*** **sarà in effetti una**
- **pianta** femminile
- Quindi i singoli geni individuali ***sk/ts*** possono imporre bi-sessesualità in mais.

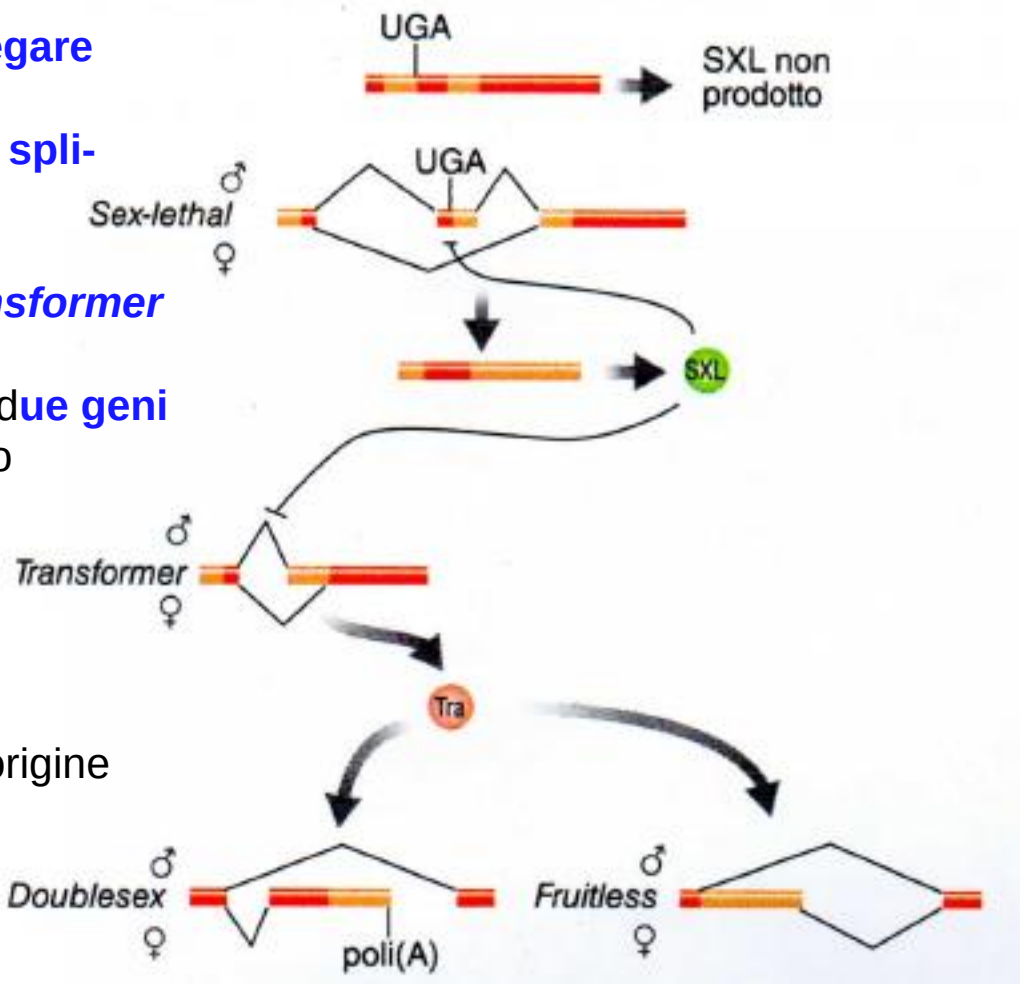
MONOGENIC SEX DETERMINATION IN DROSOPHILA

- In Drosophila a ***transformer gene (tra)*** has been recognised.
  - this gene when present in homozygous condition (*tra/tra*) transforms a female fly into a sterile male.

    But does not act upon normal male individual.
- Therefore,
  - XX female with *tra/tra* genotype will be sterile male
  - but XX male with *tra/tra* genotype will still a normal male.

Determinazione del sesso in *D. melanogaster*

- La presenza di **due cromosomi sessuali** X nell' embrione delle future **femmine (cariotipo XX**) attiva il gene *Sex-lethal* (***Sxl***),
- questo **codifica una proteina in grado di legare l'RNA**
- tale proteina agisce come re**golatore dello splicing alternativo femmina-specifico**
  - sia del suo stesso pre-mRNA
  - che del pre-mRNA del **gene target** ***transformer (tra),***
- ***tra*** controlla lo splicing femmina-specifico di d**ue geni bersaglio** responsabili, rispettivamente, dello
  - sviluppo sessuale somatico
  - e del comportamento sessuale,
  - ***doublesex (dsx) e fruitless (fru)*** , che codificano fattori di trascrizione .



- In embrioni con **cariotipo XY, che** daranno origine a individui maschi,
  - la presenza di **un solo cromosoma X non attiva** il gene ***Sxl*** e di conseguenza il gene ***tra***.
  - Ne consegue che i geni *dsx e fru* vengono maturati mediante uno splicing alternativo maschio-specifico.

c.GENIC BALANCE IN DROSOPHILA

- When geneticist **Calvin Bridges**, working with Drosophila, crossed a **triploid (3n) female with a normal male**, he observed many combinations of autosomes and sex chromosomes in the offspring.

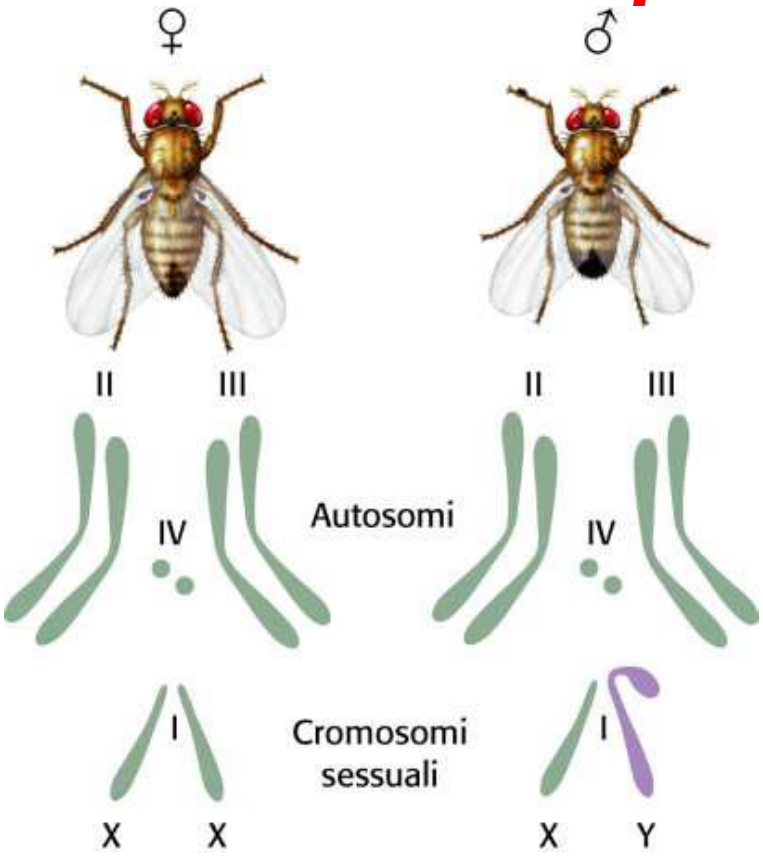
- From his results,Bridges suggested in 1921 that
- **sex in Drosophila is determined by the balance between (ratio of)**
  - **autosomal alleles** that favor maleness
  - **and alleles on the X chromosomes that favor femaleness**.

- He calculated a ratio of X chromosomes to autosomal sets to see if this ratio would predict the sex of a fly.
- An autosomal set (A) in *Drosophila* consists of one chromosome from each autosomal pair, or three chromosomes. (An autosomal set in human beings consists of twenty-two chromosomes.)

Determinazione del sesso in *Drosophila*

cromosomi,

- 3 copie di autosomi
- e una copia di cromosomi sessuali.



- **Sesso non determinato dal cromosoma Y,**
- **ma dall'equilibrio fra geni degli autosomi (che danno origine al fenotipo maschile) e geni del cromosoma X (che origina il fenotipo femminile):**
- **Sesso determinato dal rapporto num X: num assetti aploidi autosomi.**

- 1=femmina. 0,5=maschio: sistema di equilibrio genico

La determinazione del sesso in *Drosophila*….

- In Drosophila **il cromosoma Y non ha alcun ruolo nel determinare il sesso**
- Questo e' invece **determinato da rapporto tra cromosomi X (sessuali) ed autosomi**

Se ratio X:A ≤ 0.5 ♂

Se ratio X:A ≥ 1 ♀

Se ratio X:A compreso tra 0.5 e 1 si sviluppano gli intersessi

X:A	ratio	fenotipo
1X2A	0.5	♂
2X2A	1	♀
3X2A	1.5	♀
4X3A	1.33	♀
4X4A	1	♀
3X3A	1	♀
3X4A	0.75	intersesso
2X3A	0.67	intersesso
1X3A	0.33	♂
2X4A	0.5	♂

- **Il sesso nella *Drosophila* è determinato cellula per cellula dal rapporto tra i cromosomi X e gli autosomi.**
- **Nella femmina il rapporto è uguale a 1, mentre nel maschio è uguale a 0,5.**

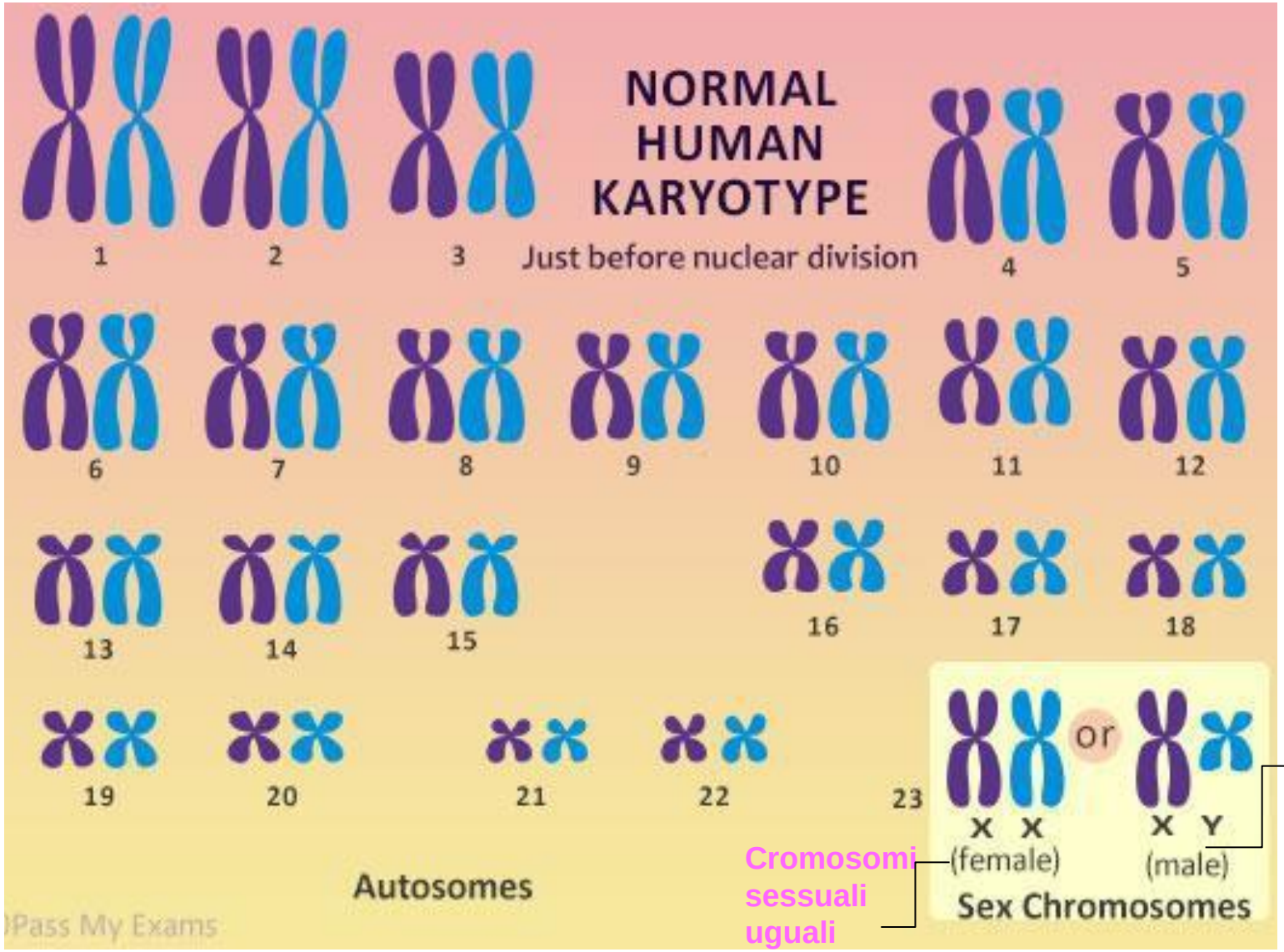
d. DETERMINAZIONE e DIFFERENZIAMENTO SESSUALE nei mammiferi:



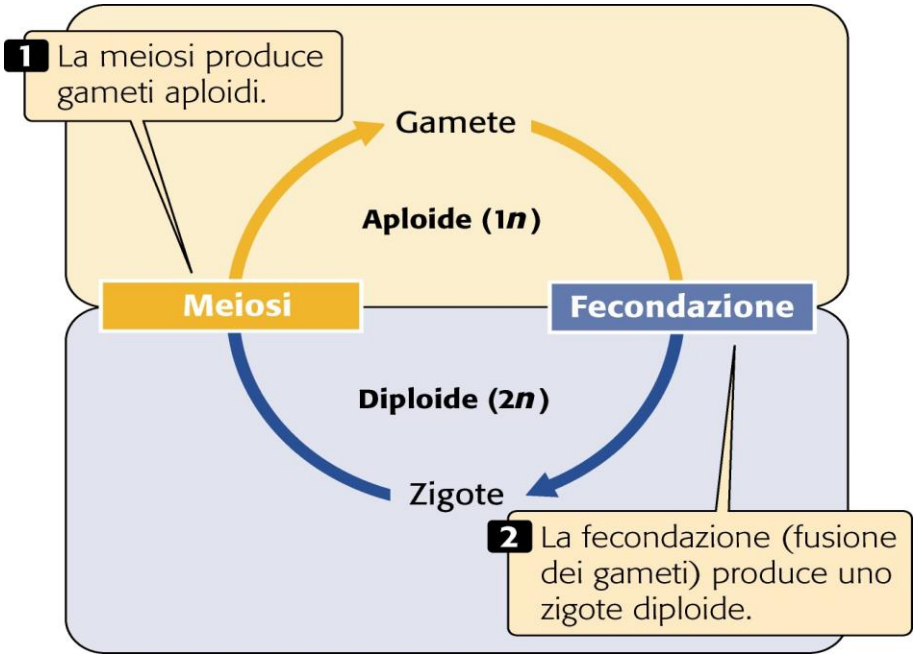
L’eredita’ legata al sesso: Uomo

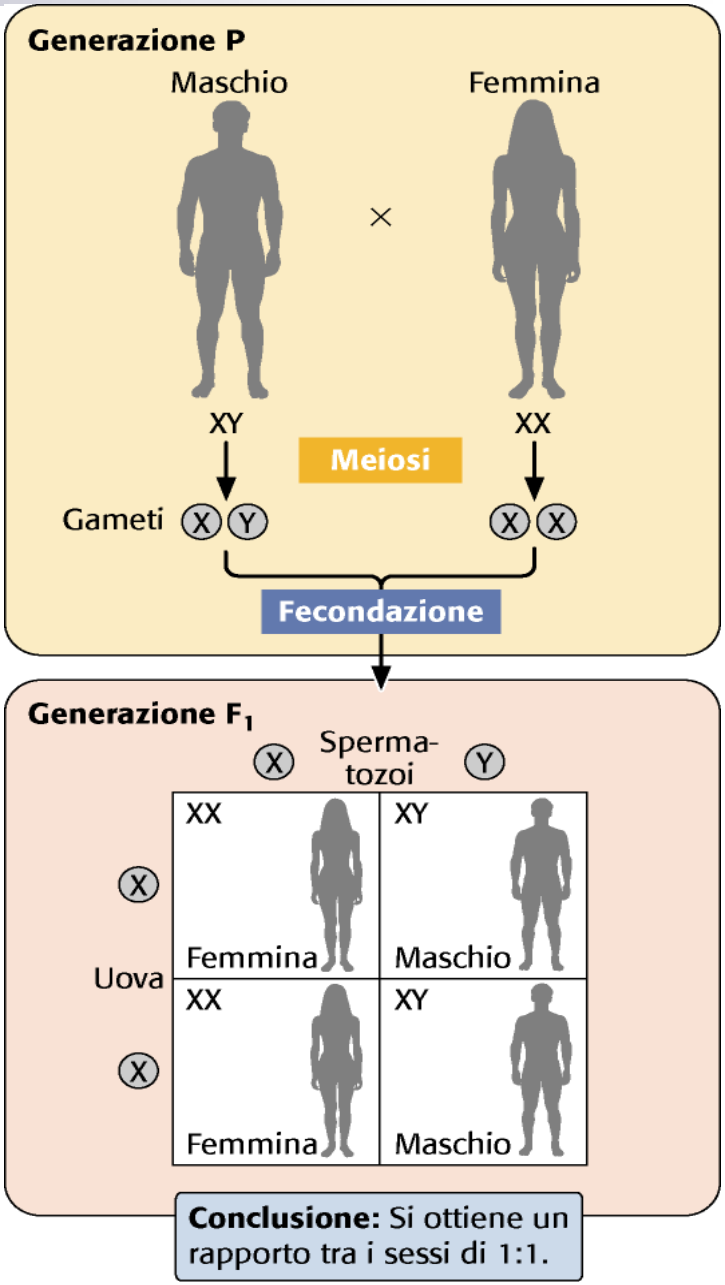
- Per es uomo: Il sesso e’ determinato da specifici cromosomi sessuali
- Nell’uomo ci sono **46 cromosomi** (22 coppie omologhe di autosomi e 1 coppia di cromosomi sessuali)
- tutti i geni nel M presenti in singola dose -> manifestano alleli recessivi
- **Incroci reciproci**
  - per autosomi =
  - per caratteri legati al sesso #
- Caratteri legati al sesso: **eredità tipo criss-cross**

CARIOTIPO FEMMINILE (Cromosomi sessuali XX) 46,XX
CARIOTIPO MASCHILE (Cromosomi sessuali XY) 46,XY



Rapporto tra i sessi di 1.1

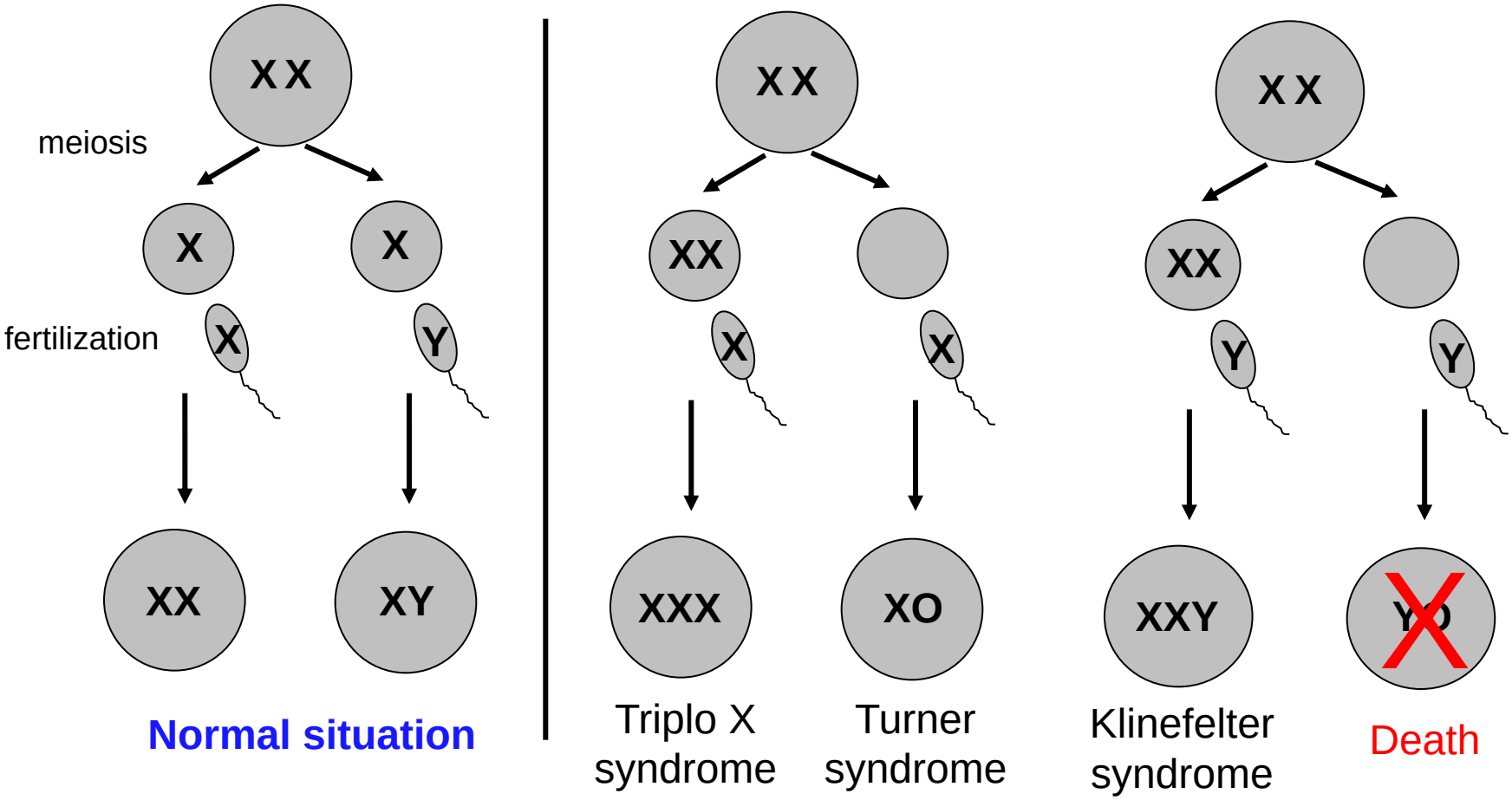




Pierce, GENETICA, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2005

Anomalie del numero dei cromosomi sessuali
Disordini

• Risulta da fenomeni di **non disgiunzione** dei crom. sessuali

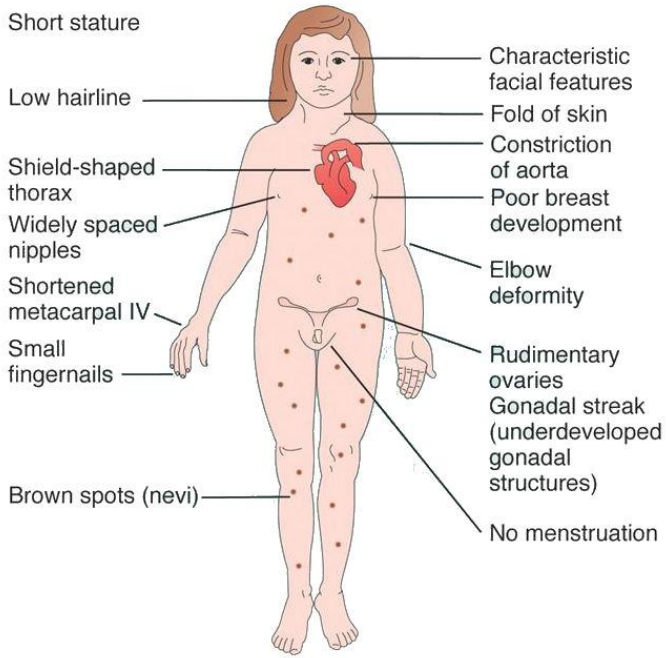


Anomalie del numero cromosomico nell'uomo

Tabella 11.2 **Conseguenze di anomalie relative a numeri diversi dei cromosomi X e Y nell'uomo, che dimostrano il ruolo dell'Y nella determinazione del sesso**

Costituzione cromosomica[a]	Descrizione dell'individuo	Numero di corpi di Barr
46,XX	Normale ♀	1
46, XY	Normale ♂	0
45,X	Sindrome di Turner ♀	0
47,XXX	Triplo-X ♀	2
47,XXY	Sindrome di Klinefelter ♂	1
48,XXXY	Sindrome di Klinefelter ♂	2
48,XXYY	Sindrome di Klinefelter ♂	1
47,XYY	Sindrome XYY ♂	0

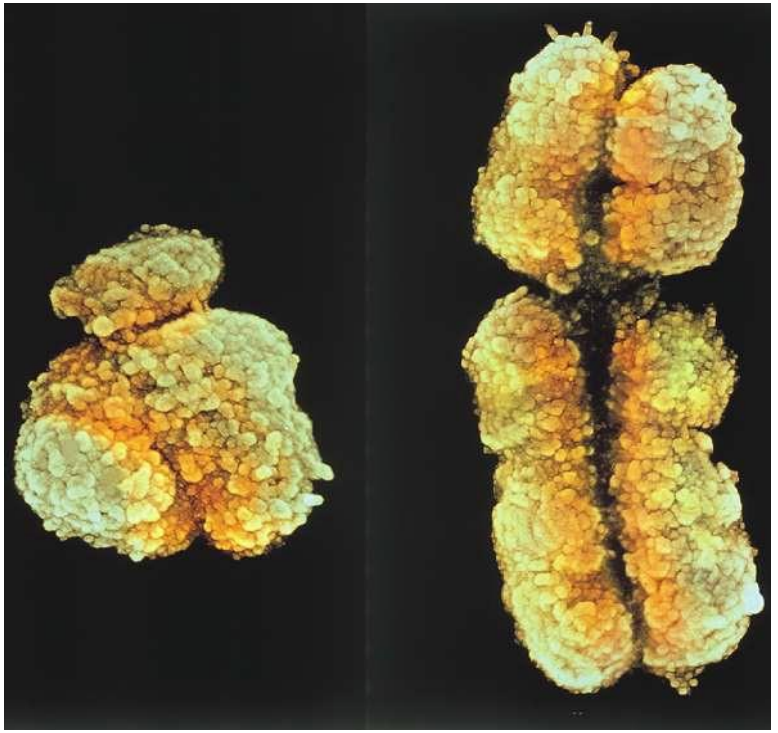
[a] Il primo numero indica il numero totale di cromosomi nel nucleo, X e Y indicano l'assetto relativo ai cromosomi del sesso.



È l'Y che determina il sesso maschile

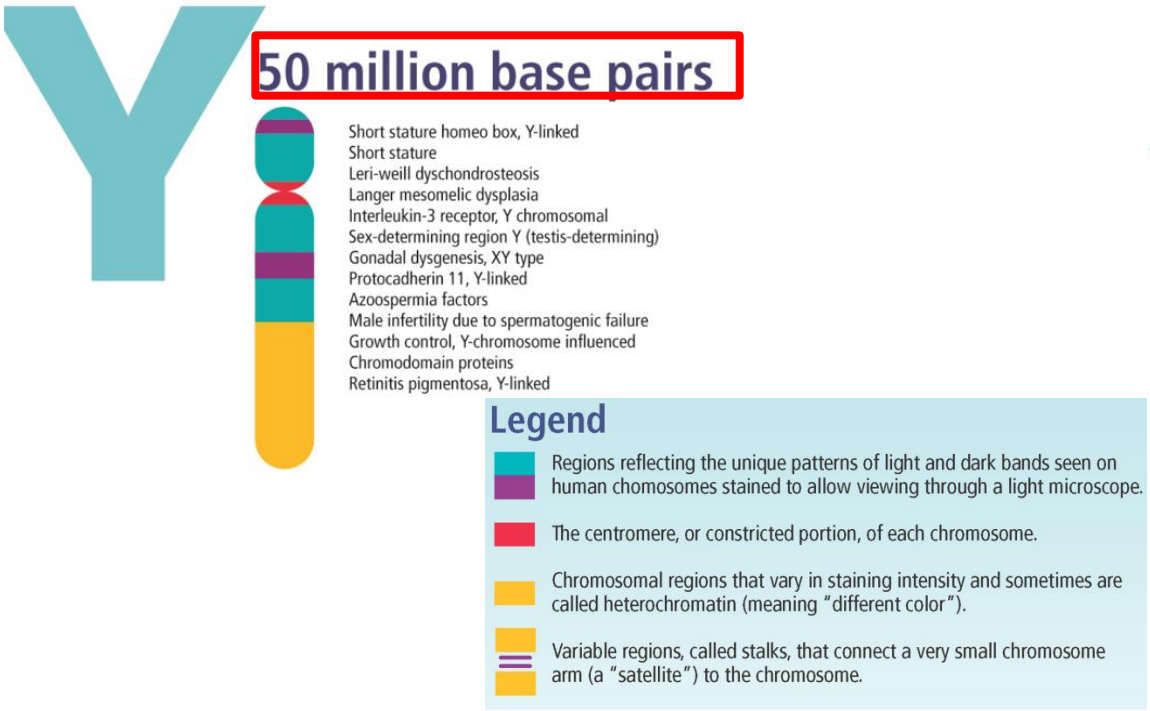
Determinazione del sesso nell'uomo

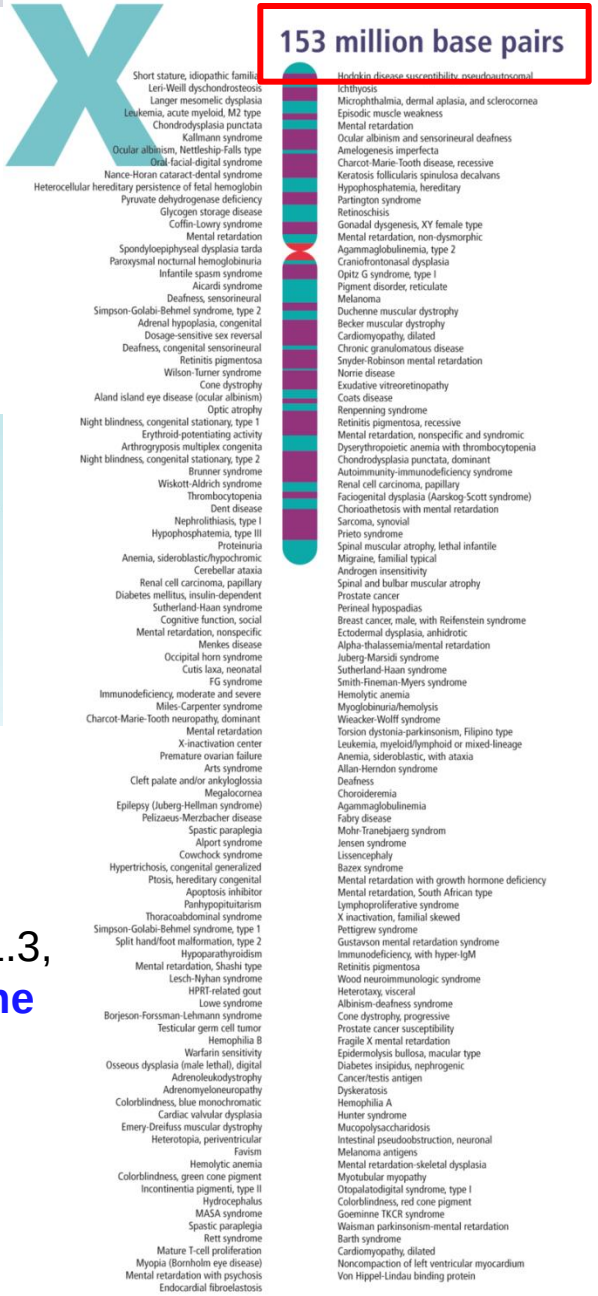
- Il **cromosoma X contiene informazioni genetiche** essenziali per entrambi i sessi
- **Il gene che determina il sesso maschile è localizzato sul cromosoma Y**
- **In assenza del cromosoma Y il fenotipo è femminile.**



alcuni rari maschi hanno cromosomi sessuali XX con un pezzo del cromosoma Y (**SRY: Sex determinig Region Y**) attaccato a qualche altro cromosoma…

- I **geni** che **influenzano la fertilità sono localizzati sia sul**
  - **cromosoma X**
  - **cromosoma Y.**
- Servono due cromosomi (XX e YX) per avere individui fertili
- Copie aggiuntive del cromosoma X sconvolgono il normale sviluppo di maschi e femmine

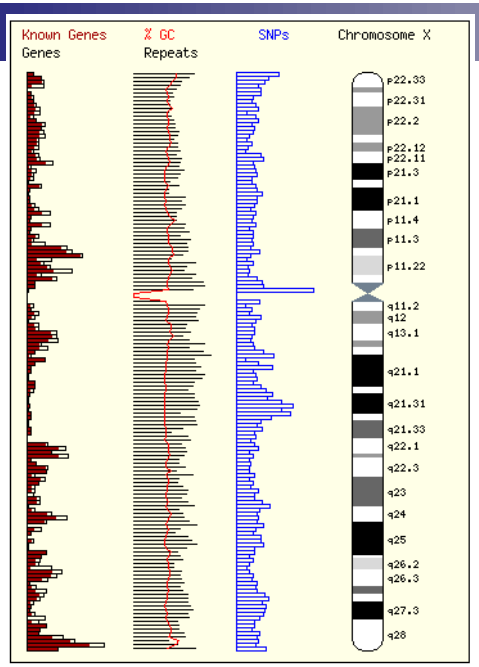




- Cromosoma Y molto più piccolo del cromosoma X
- Formato da 50 MLN di pb
- **Capacità codificante:** circa 200 geni
- Il **gene *Sry (Sex determining region***, localizzato su Y p11.3, **codifica per il fattore responsabile della determinazione del sesso maschile.**
- Mutazioni SRY portano alla reversione del sesso XY nell'uomo;
- un ratto XX transgenico per SRY origina maschi fertili.
- NB. il ratto di laboratorio, *Rattus norvegicus,* ha almeno 6 coppie complete del gene *Sry* .

Mappa Cromosomi

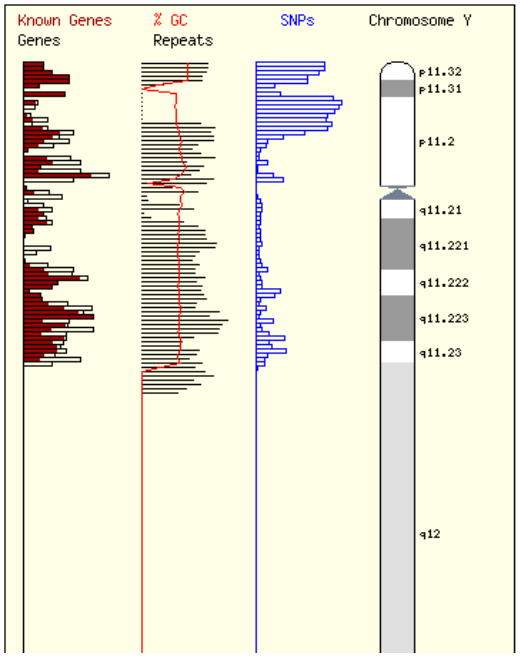
X Y



Chromosome X

Length:	154,913,754	bps
Known Protein-coding Genes:	876	
Novel Protein-coding Genes:	110	
Pseudogene Genes:	23	
miRNA Genes:	57	
rRNA Genes:	19	
snRNA Genes:	61	
snoRNA Genes:	30	
Misc RNA Genes:	46	
SNPs:	392,586	

For more information on gene statistics, see the MapView help page



Chromosome Y

Length:	57,772,954	bps
Known Protein-coding Genes:	83	
Novel Protein-coding Genes:	32	
Pseudogene Genes:	2	
rRNA Genes:	6	
snRNA Genes:	13	
snoRNA Genes:	3	
Misc RNA Genes:	2	
SNPs:	36,259	

For more information on gene statistics, see the MapView help page

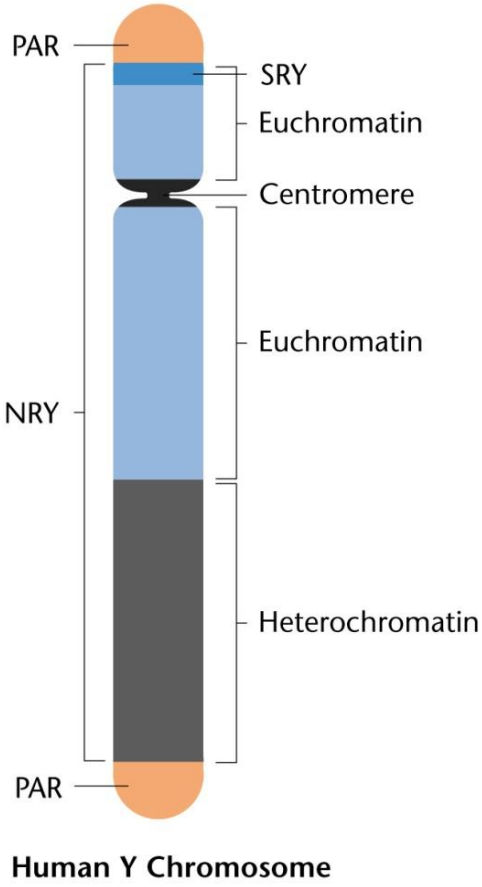
L' "Y" per diventare un maschio

- Cromosoma Y è estremamente piccolo – è stato considerato essere geneticamente vuoto

  - In anni recenti, i ricercatori hanno identificato **numerosi geni localizzati sul cromosoma Y (almeno 200) .**

- Sono state dentificate varie regioni distinte del cromosoma Y:

1) **Regioni pseudo-autosomiche (PAR)**
   - **Regioni omologhe esistono sul cromosoma X**
   - PAR su cromosomi X e Y **contengono geni omologhi**
   - questi permettono al cromosoma Y di appaiarsi con il cromosoma X durante la **I profase** (permettono il crossing over con X)
   - sono **critiche** per una corretta **segregazione di X/Y** durante la meiosi
   - Geni presenti nella regione **PAR mostrano un modello di ereditarietà simile ai geni localizzati sugli autosomi**
   - Quindi gli uomini sono diploidi per questi geni diversamente da tutti gli altri geni su X e Y



Human Y Chromosome

'Il cromosoma "Y" per diventare un maschio

2) **Regione dell'Y non ricombinante (NRY):** resto dell'Y

- questa può essere divisa in diverse sub-regioni:

a) **Eterocromatina**

– Manca di geni "funzionali"

- Resta i**percondensata** in interfase (quando la trascrizione dovrebbe avvenire)

- Geni, se presenti, non sono mai trascritti

b) **Eucromatin:**

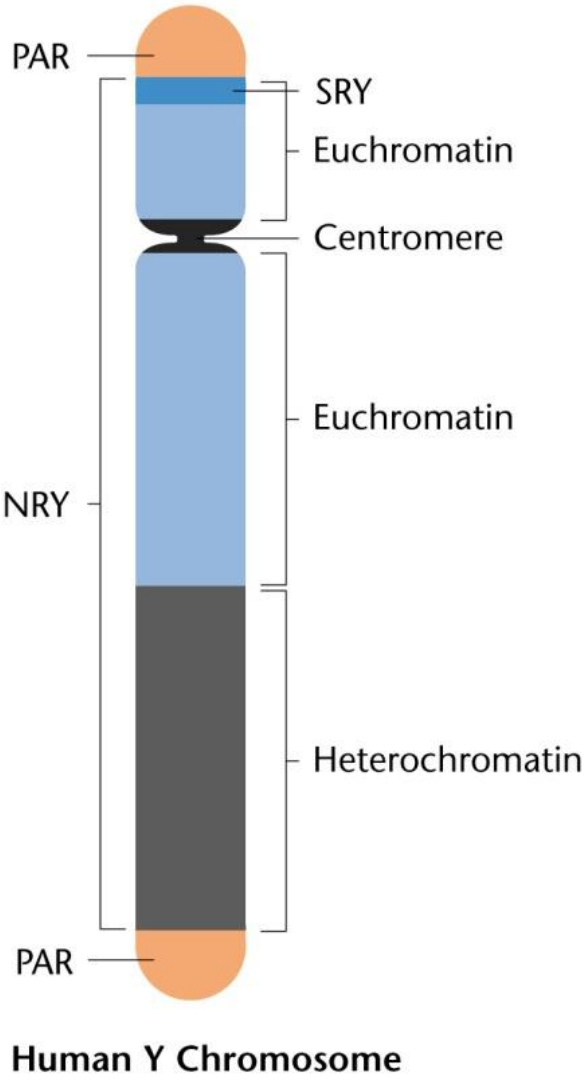
Regioni attive, contengono geni che

PAR che sono costantemente trascritti

- Una parte di questa eucromatina in prossimità del PAR sul braccio p contiene un gene critico che controlla la **sviluppo del maschio** (non riscontra sul crom. X)

- questa è chiamata **Sex determining region of Y (*SRY* ~ 135kb))**

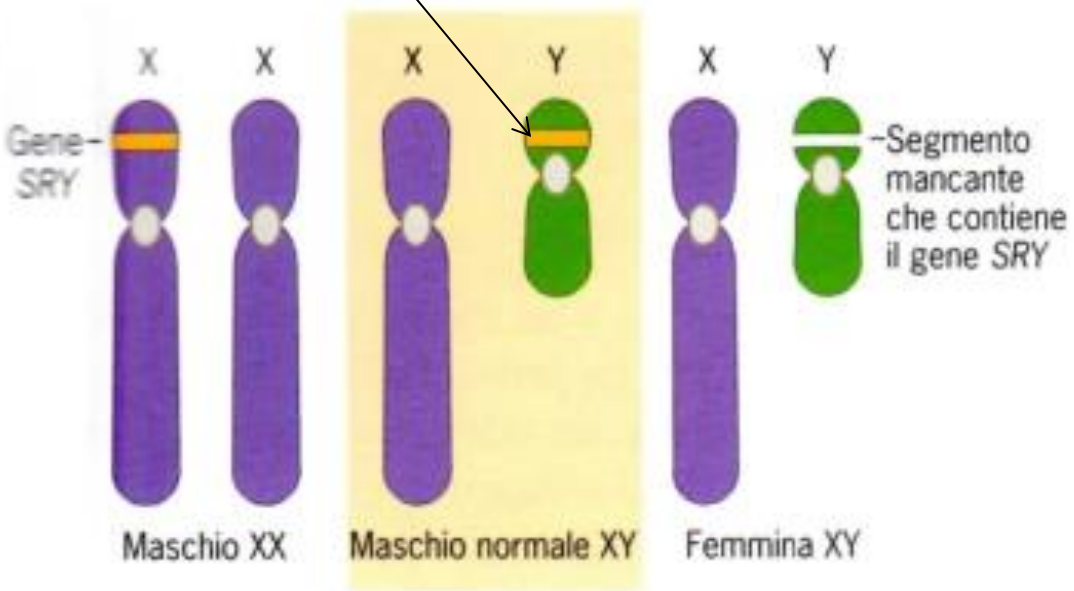
- ***SRY*:** codifica una proteina chiamata **testis-determining factor (TDF)**
- **TDF:** si lega al DNA e causa su esso un ripiegamento (sola funzione nota)
- Presente in tutti I maschi dei mammiferi (critica in termini evolutivi)



Human Y Chromosome

Ma cos'è che determina il sesso nel cromosoma Y? Studio delle anomalie

SRY : Sex determining Region

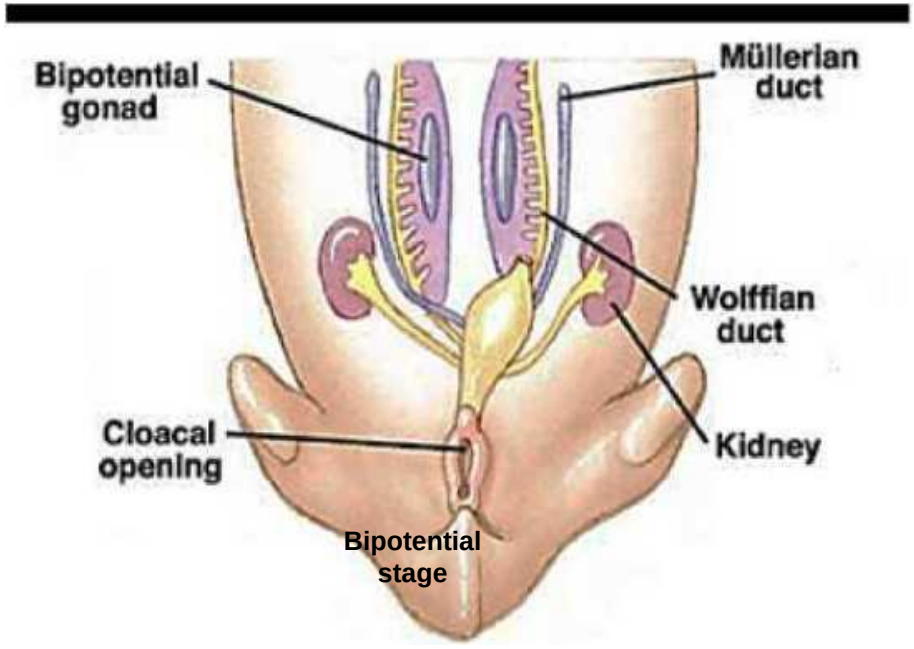


- **Prove che localizzano il gene per il fattore *TDF (testis-determining factor)* sul braccio corto del cromosoma Y in maschi normali.**

- **Il TDF è il prodotto del gene *SRY.***
- In questi maschi XX, una piccola regione che contiene questo gene è traslocata in uno dei cromosomi X;
- nelle femmine XY, invece, risulta deleta dal cromosoma Y.
- **Il gene *SRY*** agisce da **interruttore molecolare:**
  in questo senso, è considerato il gene della determinazione del sesso nei Mammiferi.

DIFFERENZIAMENTO SESSUALE

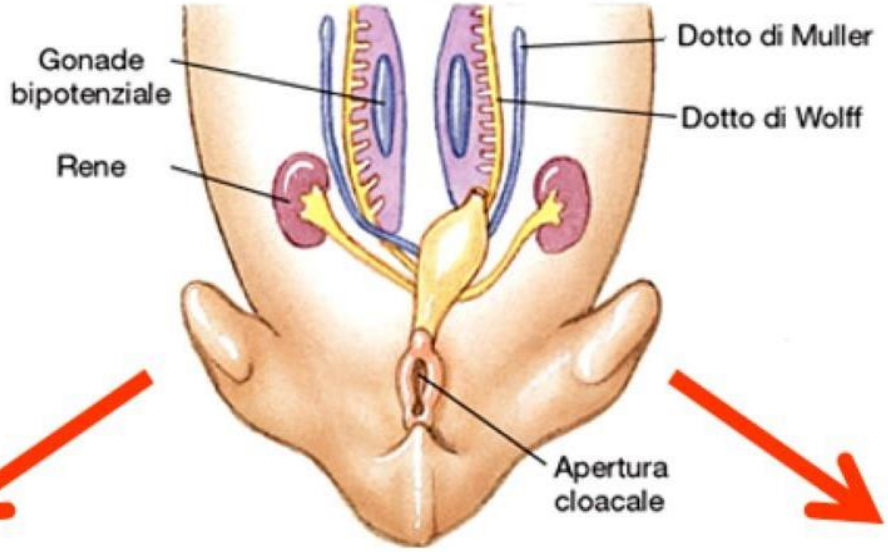
- **Lo sviluppo dell'embrione in senso maschile o femminile dipende dalla presenza o dall'assenza del "fattore di determinazione testicolare" (TDF) una proteina zinc-finger prodotta dal gene *SRY***
  - **Il differenziamento sessuale inizia nell'embrione alla VII settimana di sviluppo**



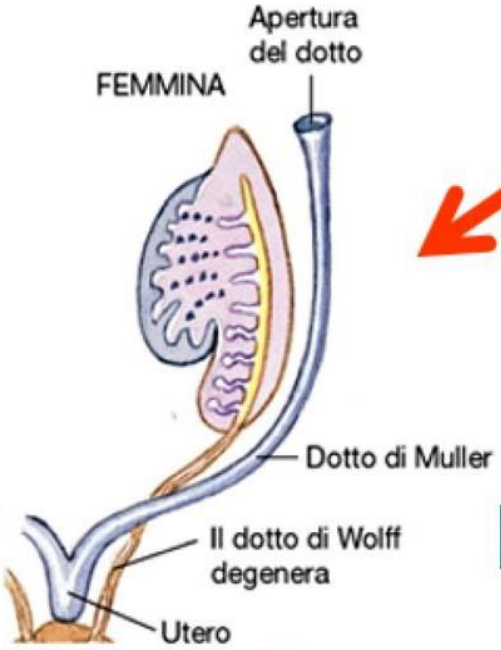
–Dotti di Wolf/ (maschio))

– Dotti di Muller (femmina)

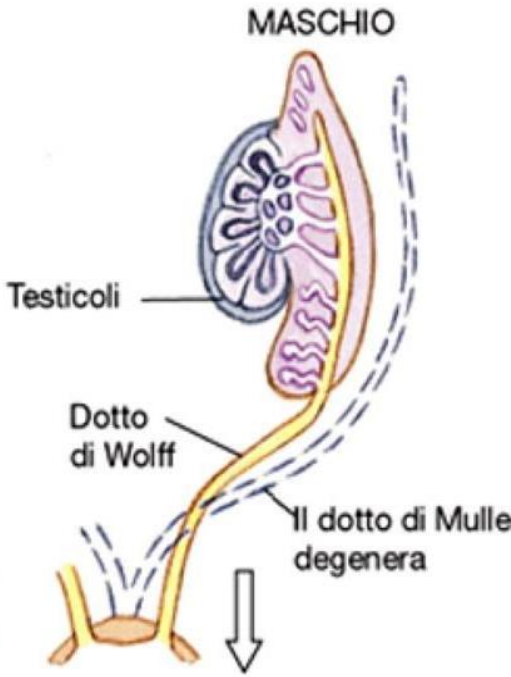
Sviluppo delle gonadi

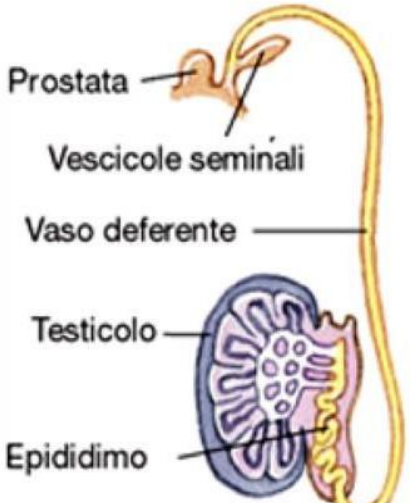


Stadio bipotenziale
Alla sesta settimana gli organi riproduttivi hanno la potenzialità di svilupparsi in strutture maschili o femminili





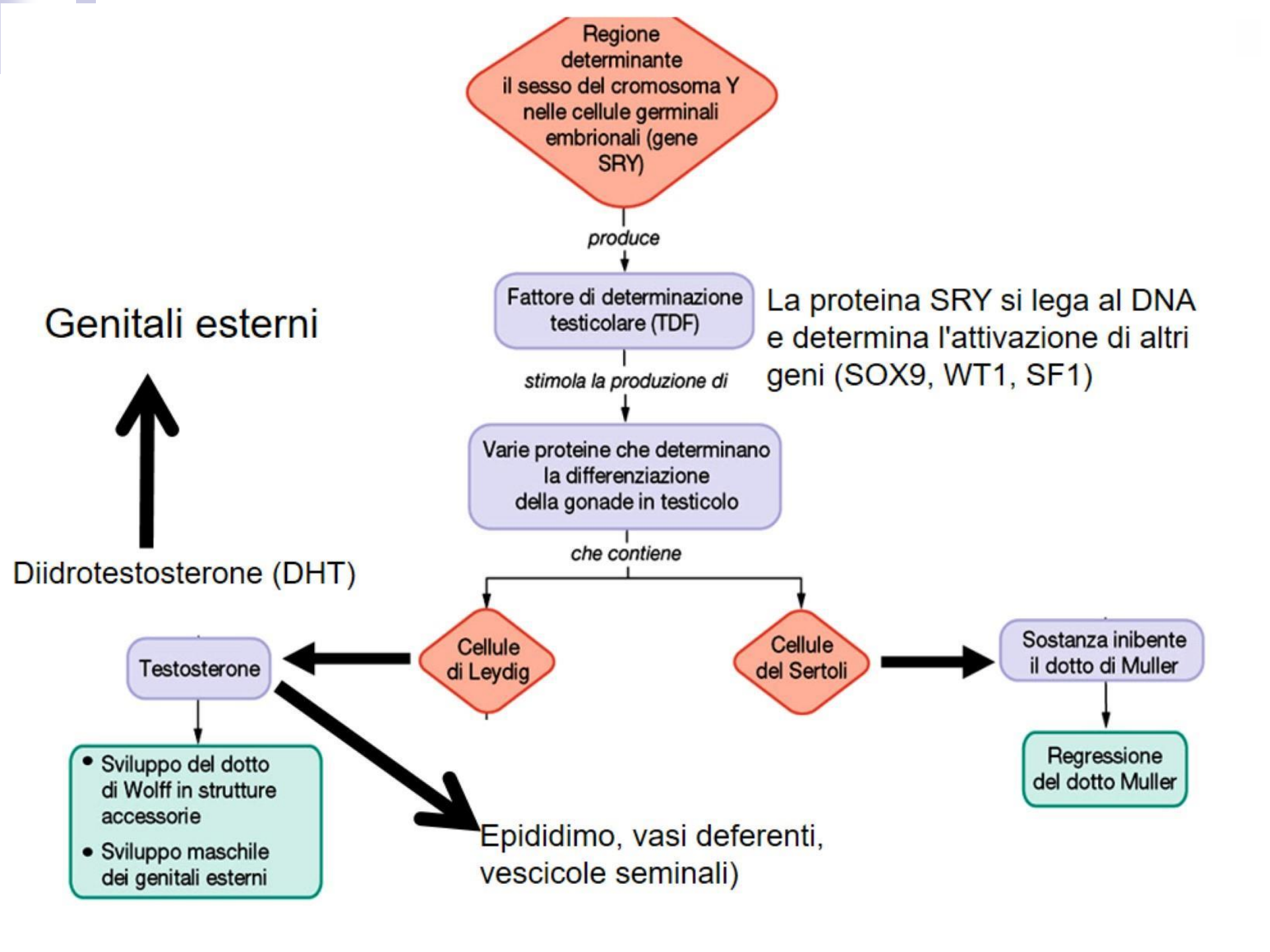




L'assenza di AMH permette alla gonade di trasformarsi nelle strutture femminili.
Il dotto di Wollf degenera

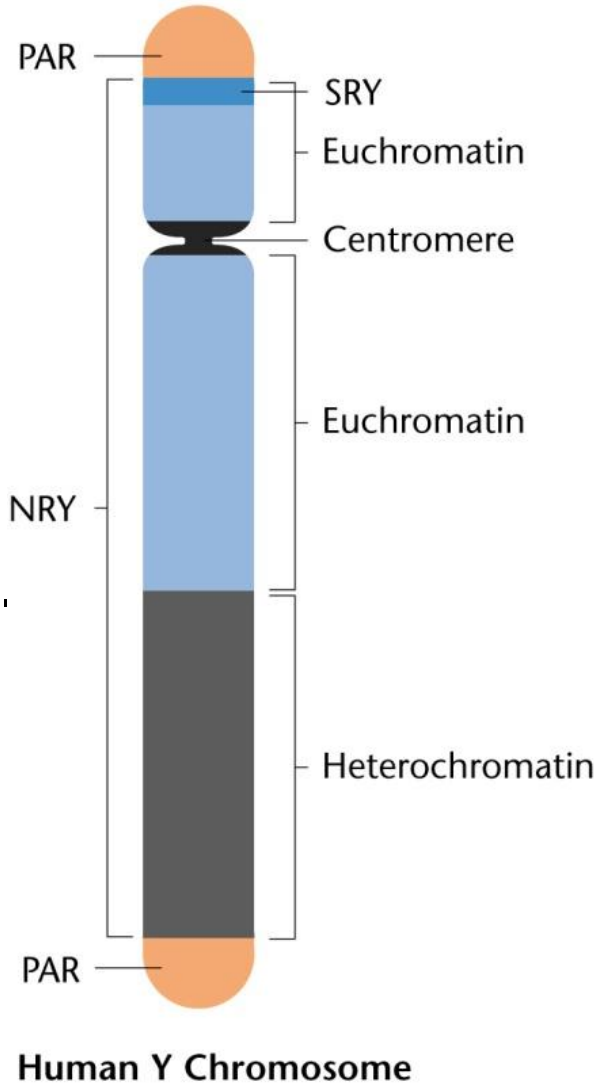
La proteina SRY indirizza la gonade a trasformarsi nei testicoli che producono testesterone e AMH che provoca la degenerazione del dotto di Muller

AMH:ormone anti-Mülleriano


Regione determinante il sesso del cromosoma Y nelle cellule germinali embrionali (gene SRY)
produce
Fattore di determinazione testicolare (TDF)
La proteina SRY si lega al DNA e determina l'attivazione di altri geni (SOX9, WT1, SF1)
stimola la produzione di
Varie proteine che determinano la differenziazione della gonade in testicolo
che contiene
Genitali esterni
Diidrotestosterone (DHT)
Testosterone
Cellule di Leydig
Cellule del Sertoli
Sostanza inibente il dotto di Muller
Regressione del dotto Muller
• Sviluppo del dotto di Wolff in strutture accessorie
• Sviluppo maschile dei genitali esterni
Epididimo, vasi deferenti, vescicole seminali)

In conclusione

- ***Sry* è l'unico gene del cromosoma Y necessario e sufficiente per attivare il differenziamento del fenotipo maschile.**
- **Esso agisce da interruttore molecolare e, in questo senso, è considerato il gene della determinazione del sesso nei Mammiferi**
- E' chiaro che esistono molti geni necessari per l'attuazione dei programmi di differenziamento sia maschile che femminile
- ***SRY* si trova sul cromosoma Y, in prossimità della regione PAR1 (Pseudo-Autosomal Region). Questa ha una elevata omologia (100%) con la regione PAR1 presente sul cromosoma X**



Anomalie del numero cromosomico nell'uomo

Tabella 11.2 Conseguenze di anomalie relative a numeri diversi dei cromosomi X e Y nell'uomo, che dimostrano il ruolo dell'Y nella determinazione del sesso

Costituzione cromosomica[a]	Descrizione dell'individuo	Numero di corpi di Barr
46,XX	Normale ♀	1
46, XY	Normale ♂	0
45,X	Sindrome di Turner ♀	0
47,XXX	Triplo-X ♀	2
47,XXY	Sindrome di Klinefelter ♂	1
48,XXXY	Sindrome di Klinefelter ♂	2
48,XXYY	Sindrome di Klinefelter ♂	1
47,XYY	Sindrome XYY ♂	0

[a] Il primo numero indica il numero totale di cromosomi nel nucleo, X e Y indicano l'assetto relativo ai cromosomi del sesso.



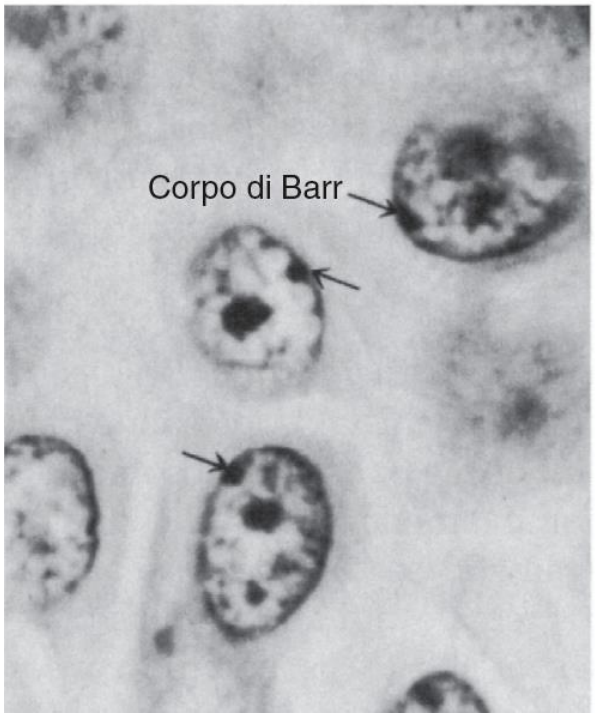
- Ma se un cromosoma X in più o in meno scatena tutti questi effetti fenotipici, come fanno i maschi normali a campare con un solo cromosoma X?
- I **mammiferi mantengono un solo cromosoma X attivo**:
  - le loro cellule somatiche hanno la capacità di contare i crom. X
    in tali cellule → solo uno di loro rimane attivo

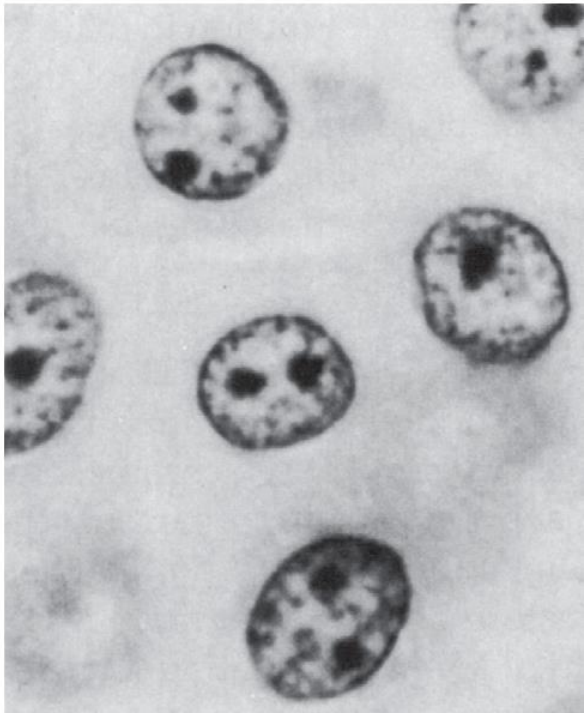
Effetto Lyon e corpi di Barr



a) Nuclei di cellule femminili XX, con presenza di un corpo di Barr

b) Nuclei di cellule maschili (XY) senza corpi di Barr





- Il **corpo di Barr è condensato** e quindi **inattivo trascrizional-mente.**
- L'altro cromosoma X non è condensato e quindi la trascrizione è attiva

L'inattivazione è parziale…

…quando la cellula si divide il cromosoma X inattivo si riattiva (decondensa)

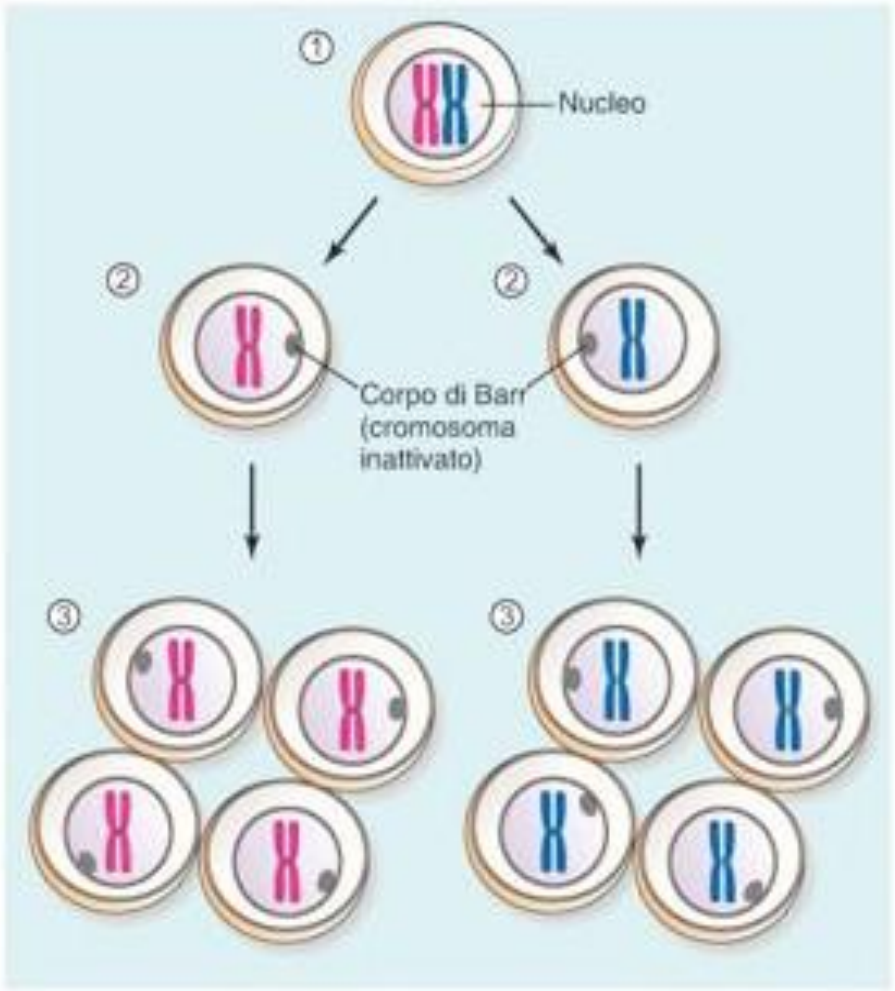
- **MASCHI EMIZIGOTI COSTITUZIONALMENTE**
- **FEMMINE EMIZIGOTI FUNZIONALMENTE**

- L'inattivazione del cromosoma X nelle femmine è un **fenomeno epigene-tico:** un cambiamento dell'espressione dei geni non accompagnato da cambiamenti della sequenza di DNA

INATTIVAZIONE DEL CROMOSOMA X

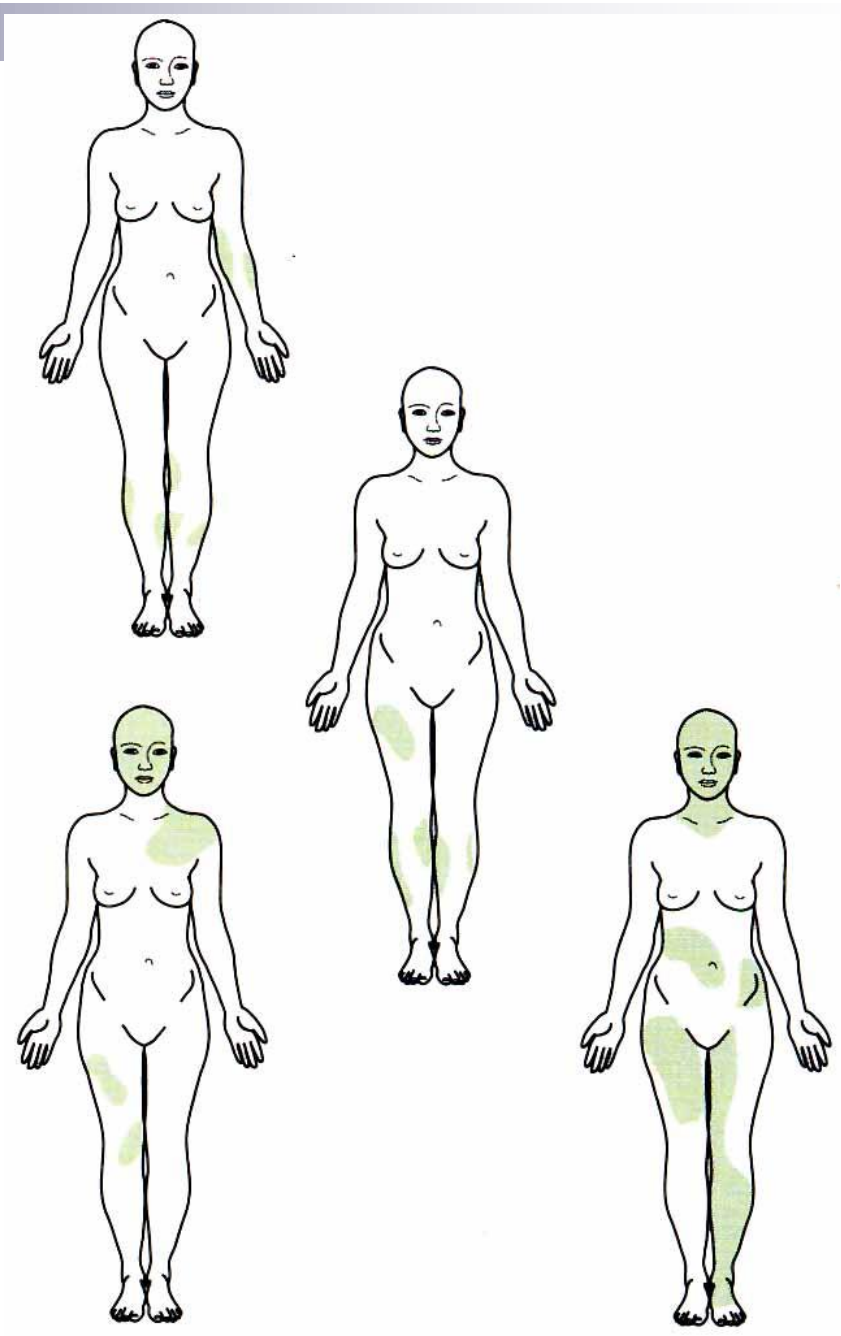
- Nella femmina l'inattivazione del cromosoma X avviene precocemente nell'embrione

- **Dopo che un cromosoma X è stato <u>inattivato</u> tutti i discendenti clonali di quella cellula mantengono inattivato lo stesso X.**



(a)

Mosaicismo somatico in femmine eterozigoti per un carattere legato al cromosoma X



Inattivazione di X in gatti calico



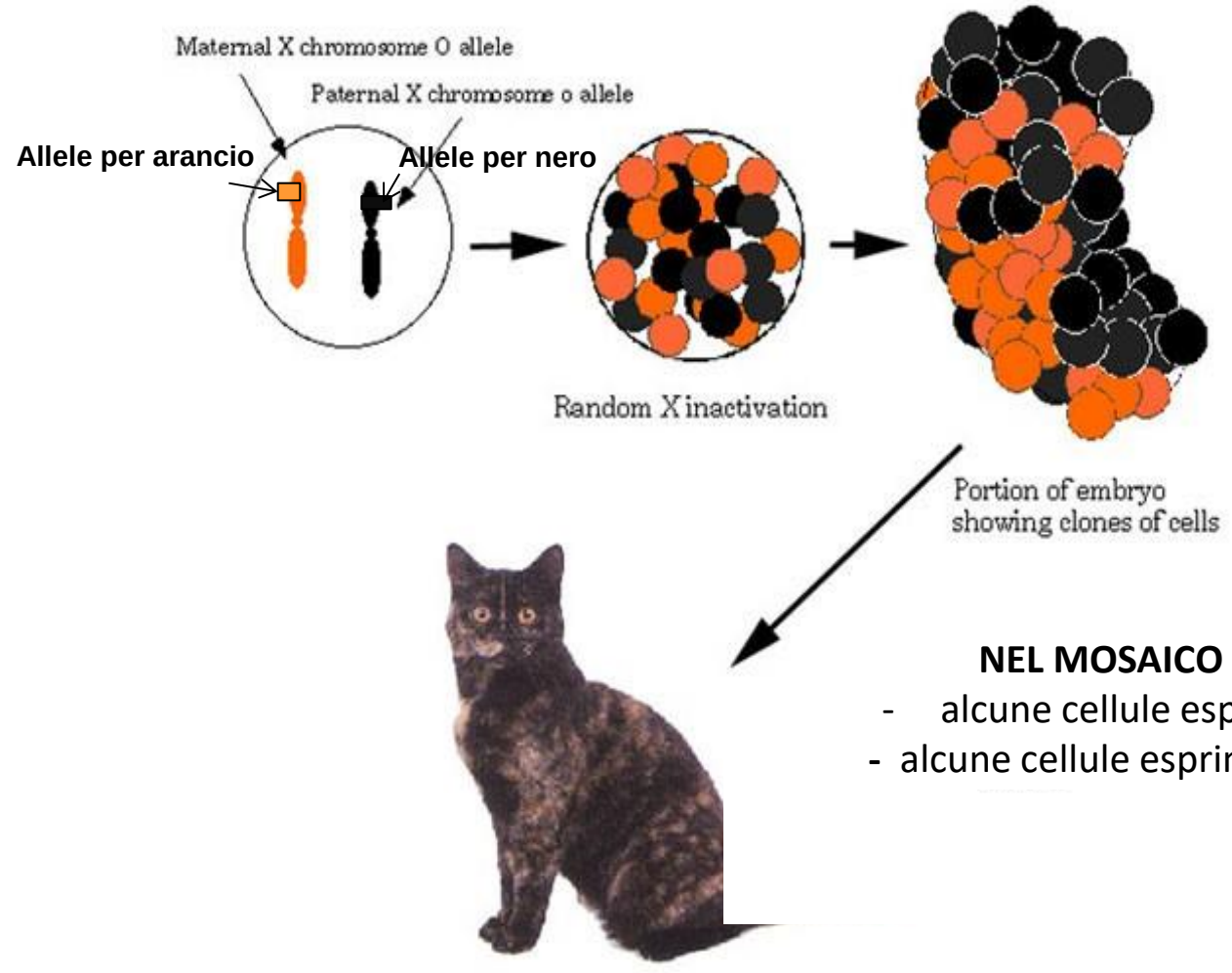
gatti calico

- Solo le **femmine possono essere eterozigoti per il gene del colore della pelo sul cromosoma X**
- Un allele codifica per arancio;
  - l'altro allele codifica per il **nero**
- ½ delle cellule hanno inattivato l'allele nero che risulta in chiazze di pelliccia arancio
- ½ delle cellule hanno inattivato l'allele arancio che risulta in chiazze di pelliccia nera
- I maschi sono solo neri o arancio, poiché sono emizigoti per il gene del colore associato al cromosoma X

INATTIVAZIONE DEL CROMOSOMA X

ESEMPIO DI CARATTERE LEGATO AL CROMOSOMA X NEL GATTO:

Gatto persiano calico geni X-linked per il pigmento nero e arancio del pelo



- Cloni di cellule con una X **(chiazze nere)**
- Cloni di cellule con l'altra X **(chiazze arancio)**

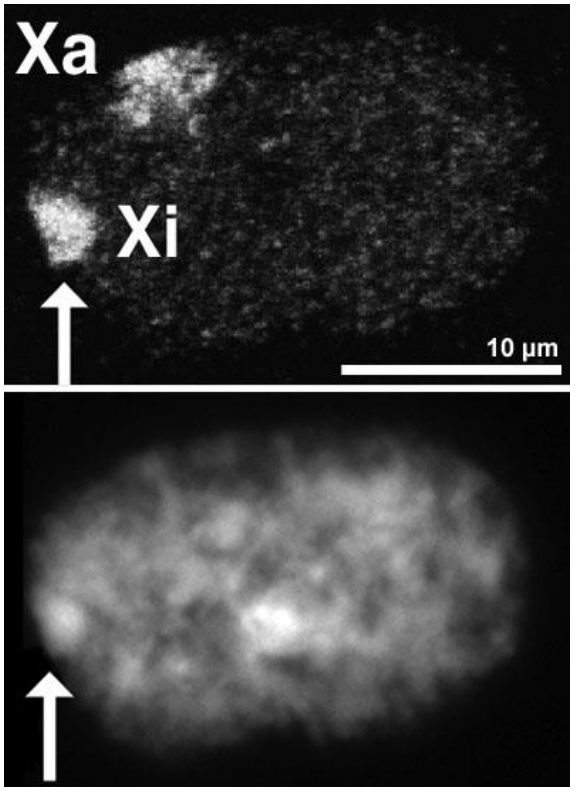
MOSAICO

NEL MOSAICO ADULTO

- alcune cellule esprimono **NERO**
- alcune cellule esprimono **ARANCIO**

Meccanismo di inattivazione cromosoma X

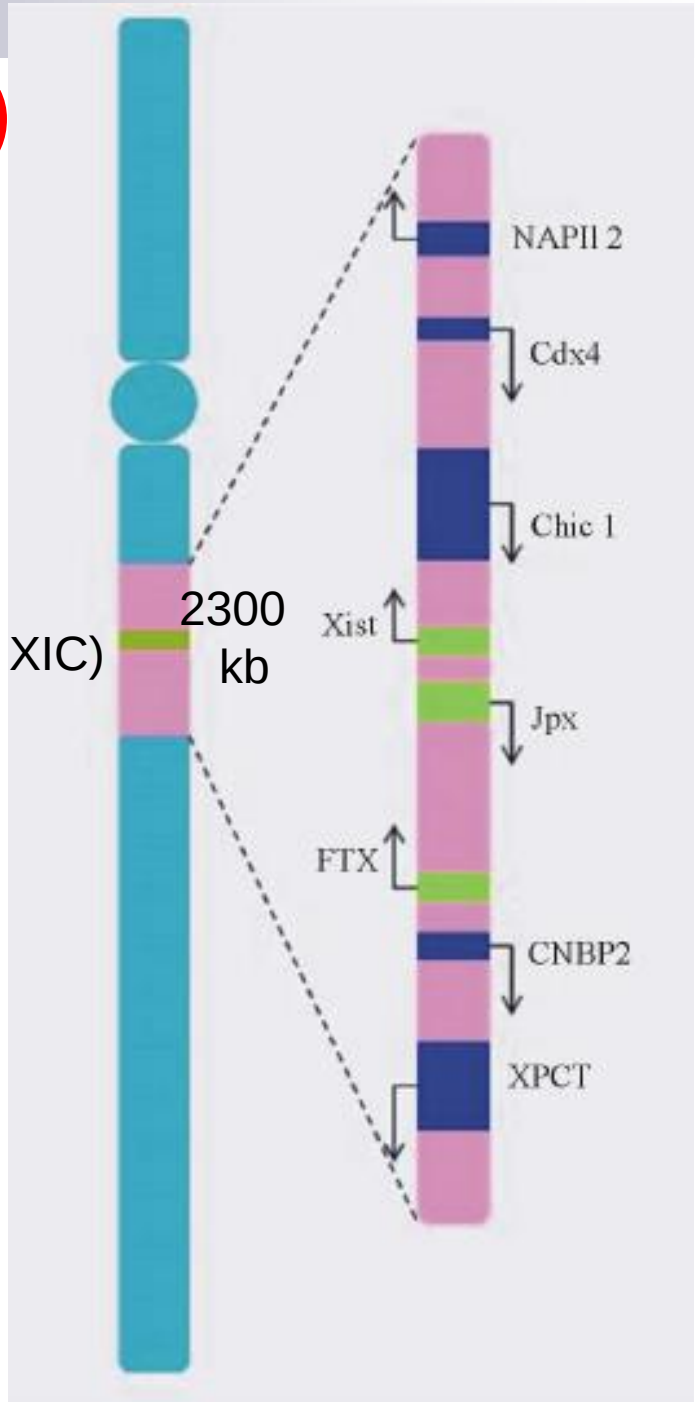
- **Random selection of X chromosome**
  - Inactive throughout cell's lifetime
  - Xa = active X chromosome
  - Xi = inactive X chromosome
- **Genetic control of X inactivation**
  - Not entirely understood
  - **X-inactivation center (Xic) is involved**
    - Short region of the X chromosome



X Inactivation Center (*XIC*)

- The human ***XIC*** ***(****pronounced "exist")* locus
  - localizes on the long arm of the X chromosome and
  - spans approximately 2300 kb.
- It **consists of genes transcribing into**
  - **long non-coding RNAs (in green)** and
  - **protein-coding genes (in blue).**

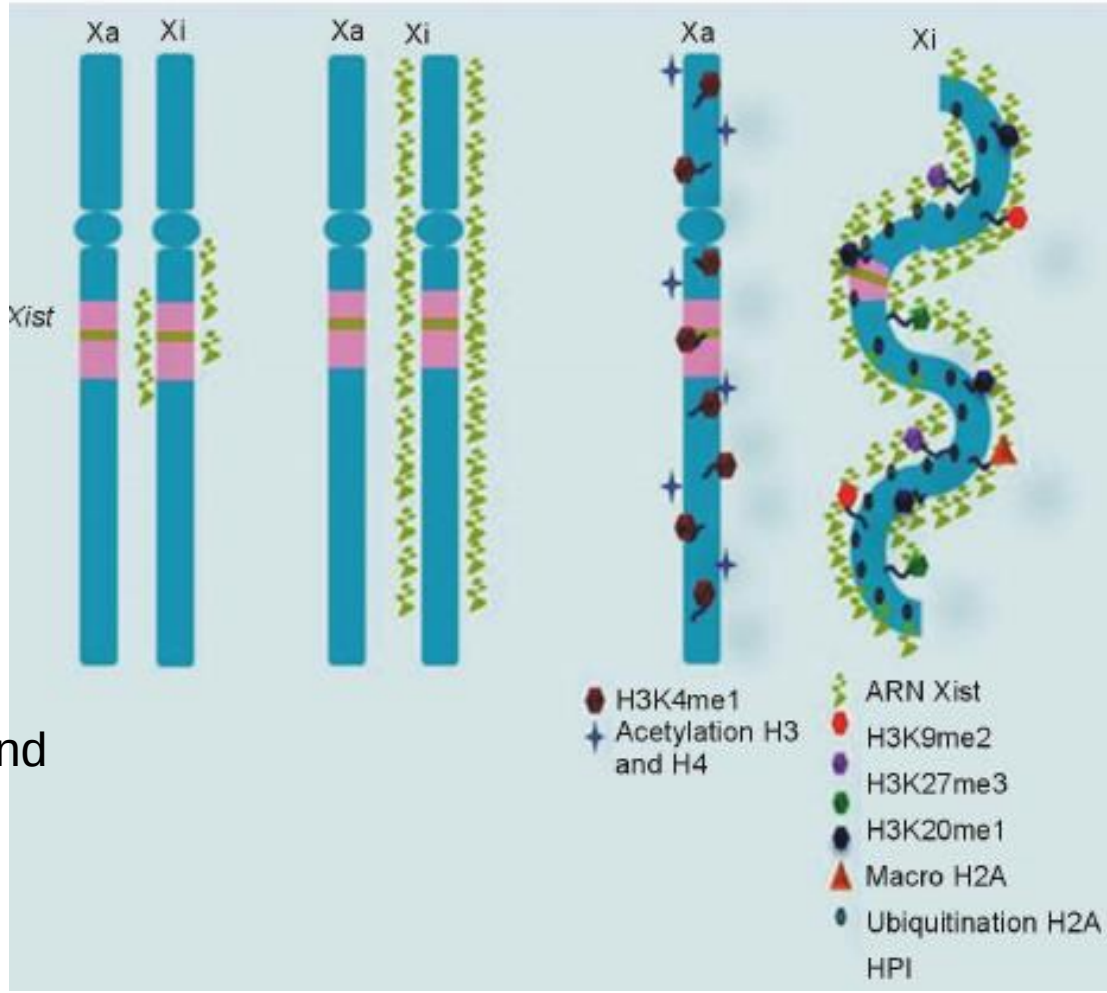
The arrows indicate transcription direction.



Heterochromatin formation on Xi.

- The histone code is involved in ***X Inactivation Center*** *(XIC*) (X **through histone modifications,** such as H3K9me2, H3K27me3, and H4K20me1, that occur after the
  - *Xist* RNA "cloud" has formed and the **Polycomb repressor complex 2** (PRC2) has been activated.

- These **changes allow for the**
- **recruitment of epigenetic modulators**, such as hetero-chromatin protein HPI, which binds H3K9me2 to cover the X and ensure its hetero-chromatinization.
- H**ypoacetylatio**n of histones H3 and H4 further contribute to this event, as does the insertion of the repressor histone variant macroH2A and the monoubiquitination of histone H2A.

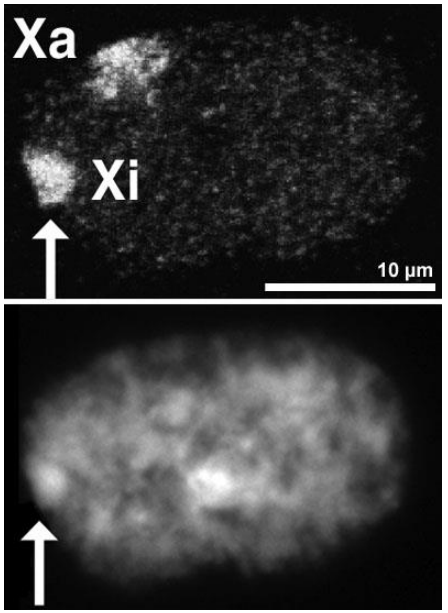


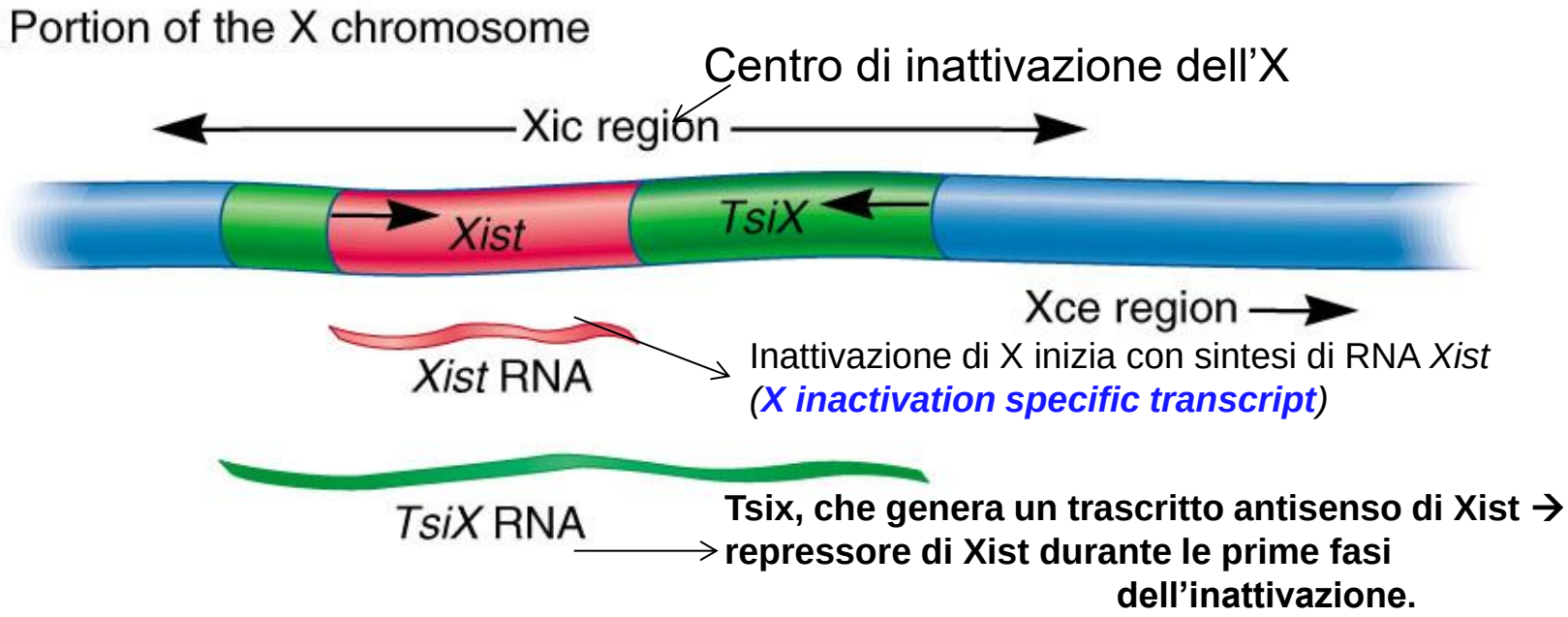
Modello

- ***Xist and Tsix***

  - **Two genes actively involved in inactivating an X chromosome**
  - Antagonistic roles: have a yin and yang relationship

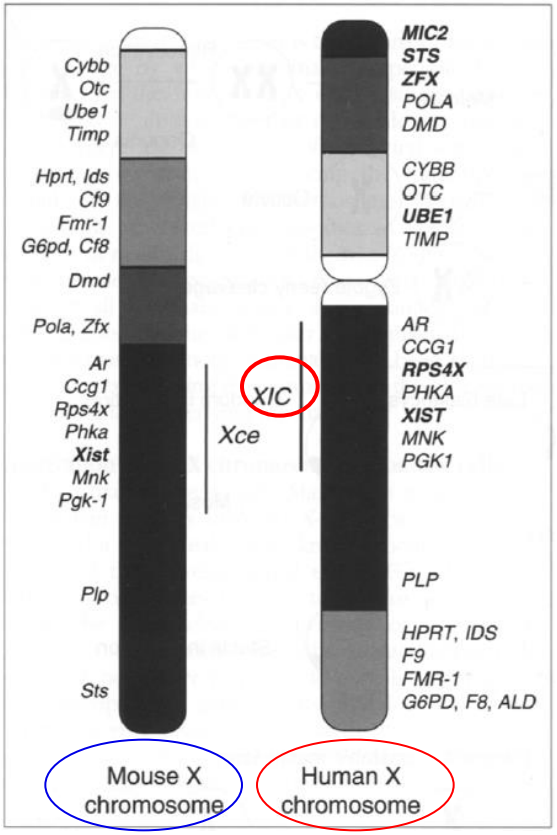
    - Xi → ↑ Xist expression
      ↓ Tsix expression
    - Xa → ↓ Xist expression
      ↑ Tsix expression

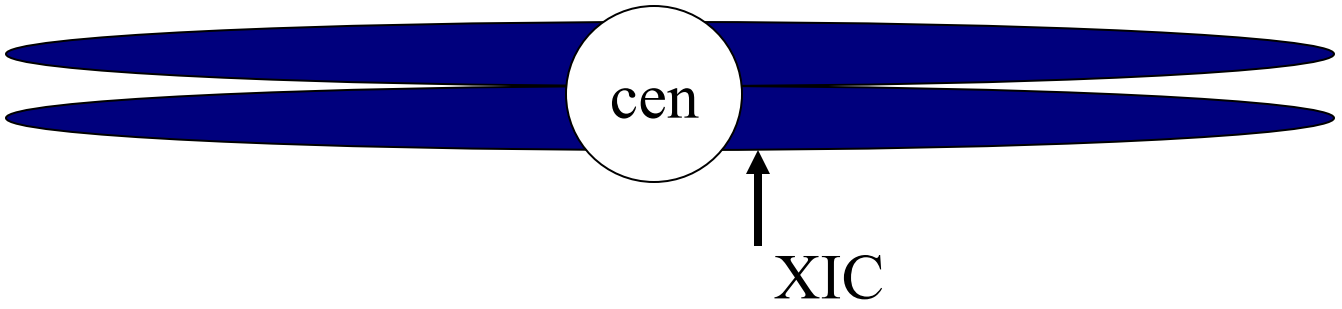




Process

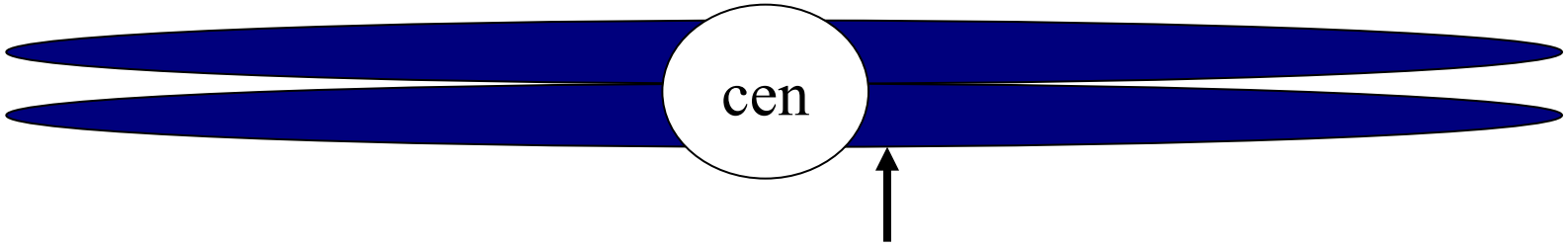
- **X inactivation center (XIC)**
  - Near centromere
  - Contains 12 genes
    - 7 genes code for proteins
    - 5 genes code for untranslated RNA





Process

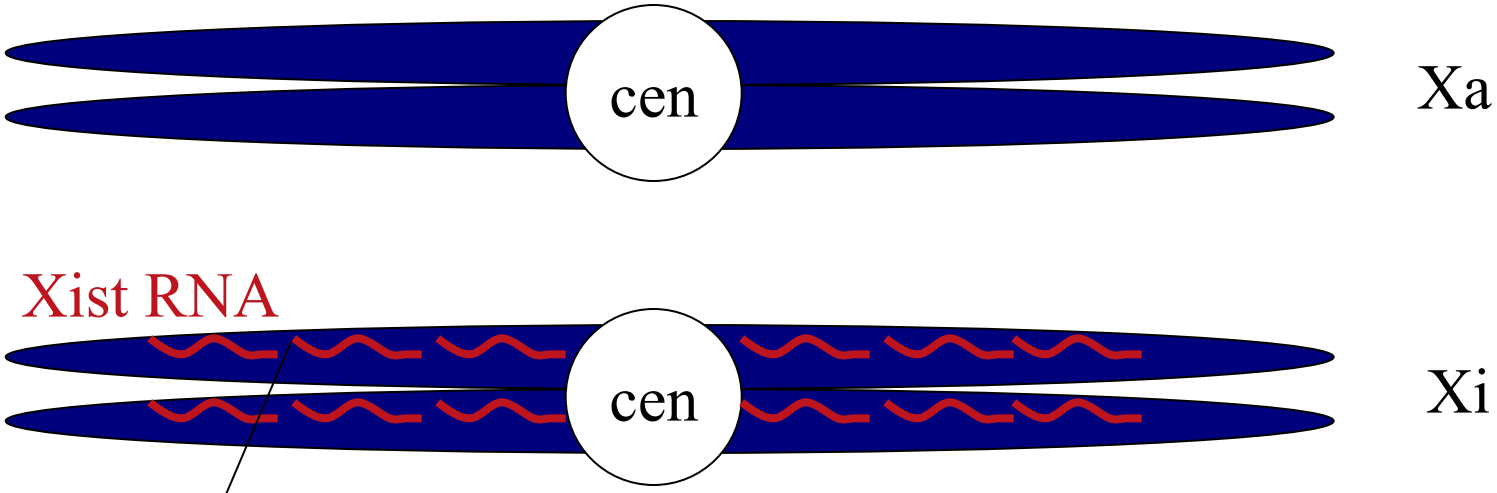
- Xist and Tsix
  - **Only genes expressed on Xi**
  - **X chromosome lacking Xist gene cannot be inactivated**
- X-chromosome contains X Inactivation Center (XIC) which located in long arm.
- XIC contains an unusual **gene called inactive X (*Xi*)-specific *transcripts* (*XIST*).**
- *XIST* expresses a noncoding functional 17 (kb) RNA molecule.
- ***XIST* expressed only when more than one X-chromosome** found in same cell.



Xist/Tsix in XIC

Process

- ***Xist*** gene
  - *XIST* expresses a large noncoding functional 17 (kb) RNA molecule. (longest ORF (open reading frame) is 400 bp)

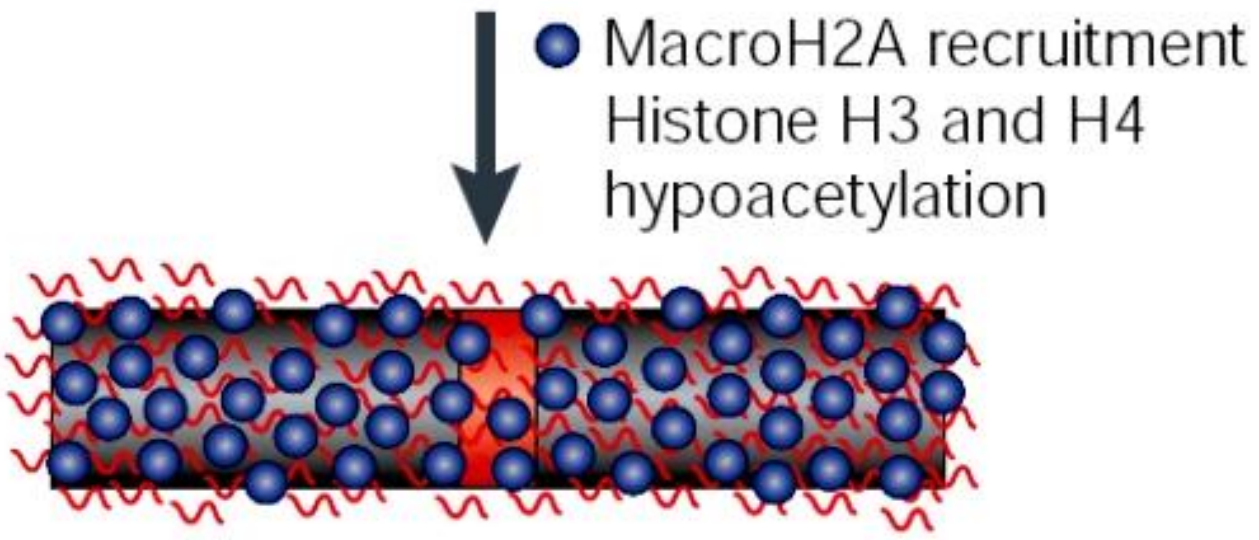


Xist RNA: Coats Xi from the XIC near the centromere outward the X chromosome

- RNA remains trapped in nucleus
- expressed only from the inactive X chromosome
- expressed in all mature female cells, and briefly in testes when an inactive X chromosome is present
- stabilization of Xist RNA mediates initiation of X inactivation

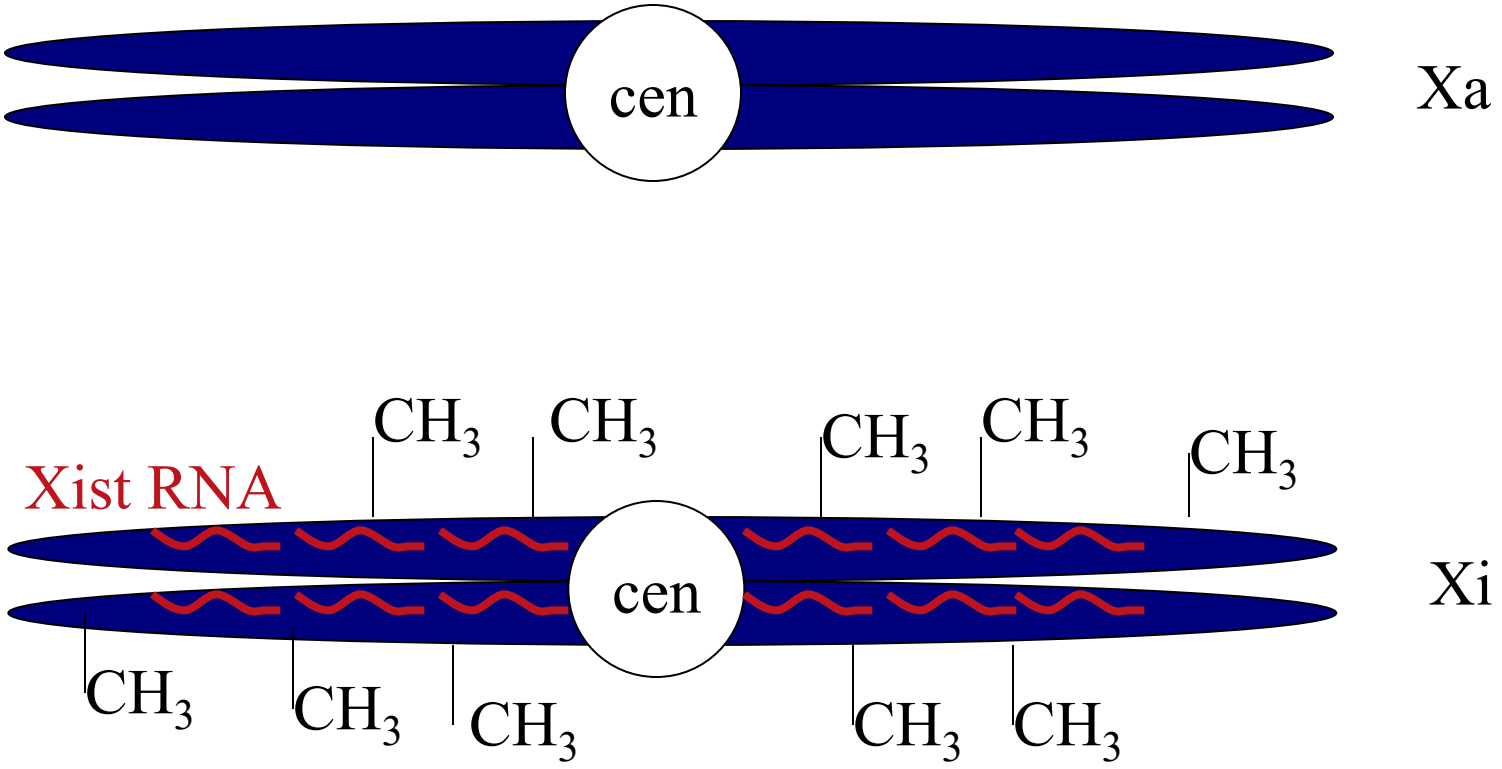
Molecular mechanisms of X inactivation

- **Chromatin modifications,** including histone deacetylation and methylation of **promoters of X-linked**.



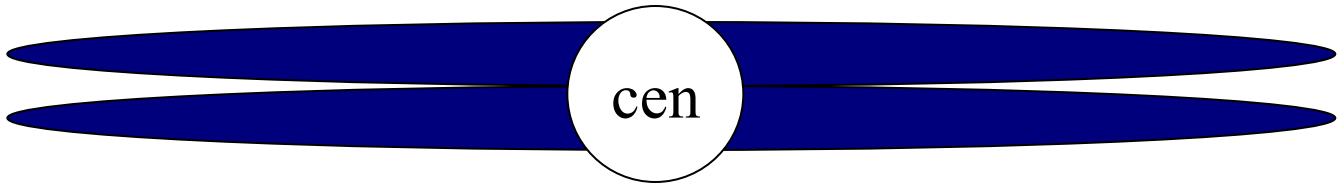
Process

- Mechanism for compacting Xi (Barr body)
  - Enzymes cause the following to occur:
    - High levels of DNA methylation (CH_3) (Chadwick et al., 2003)
    - Low levels of histone substitution of the acetyl group (CH_3CO) for a H atom in a -OH group


cen
Xa
Xist RNA
CH3
CH3
CH3
CH3
CH3
cen
Xi
CH3
CH3
CH3
CH3
CH3

Process

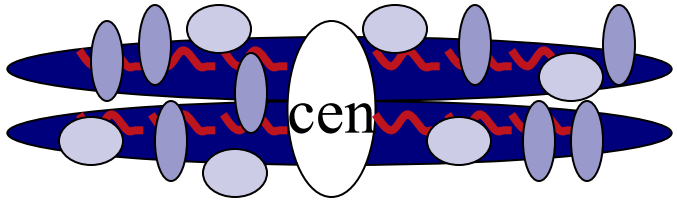
- High levels of histone H2A everywhere (deNapoles et al., 2004)
- High levels of histone H3 methylation (Heard et al., 2001)



Xa

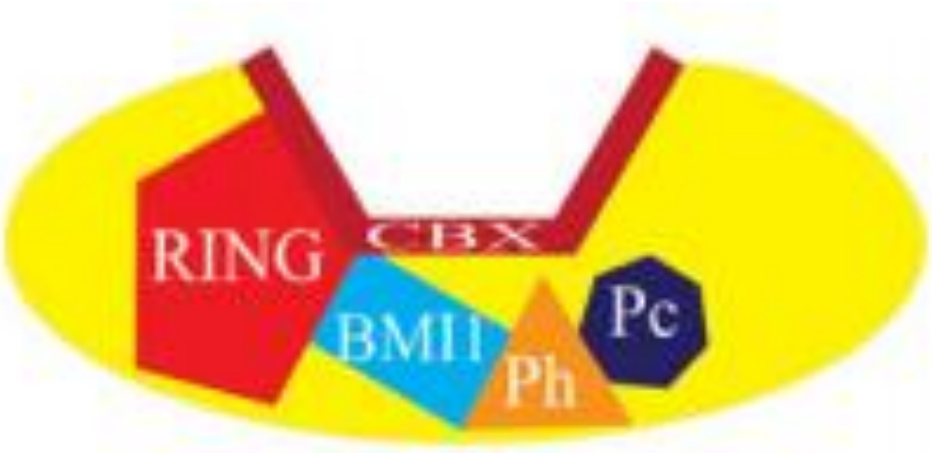
H2A

H3



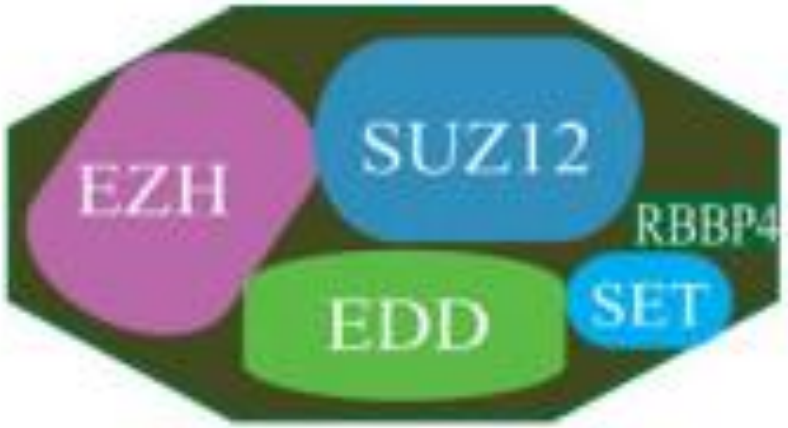
Xi

General constituents of Polycomb repression complexes (PRC1 and PRC2).



PRC1

consists of Cbx, BMI1, Ring, Ph, and Pc proteins.



PRC2

consists of Ezh2, Eed, Suz12, SET, and RBBP4.

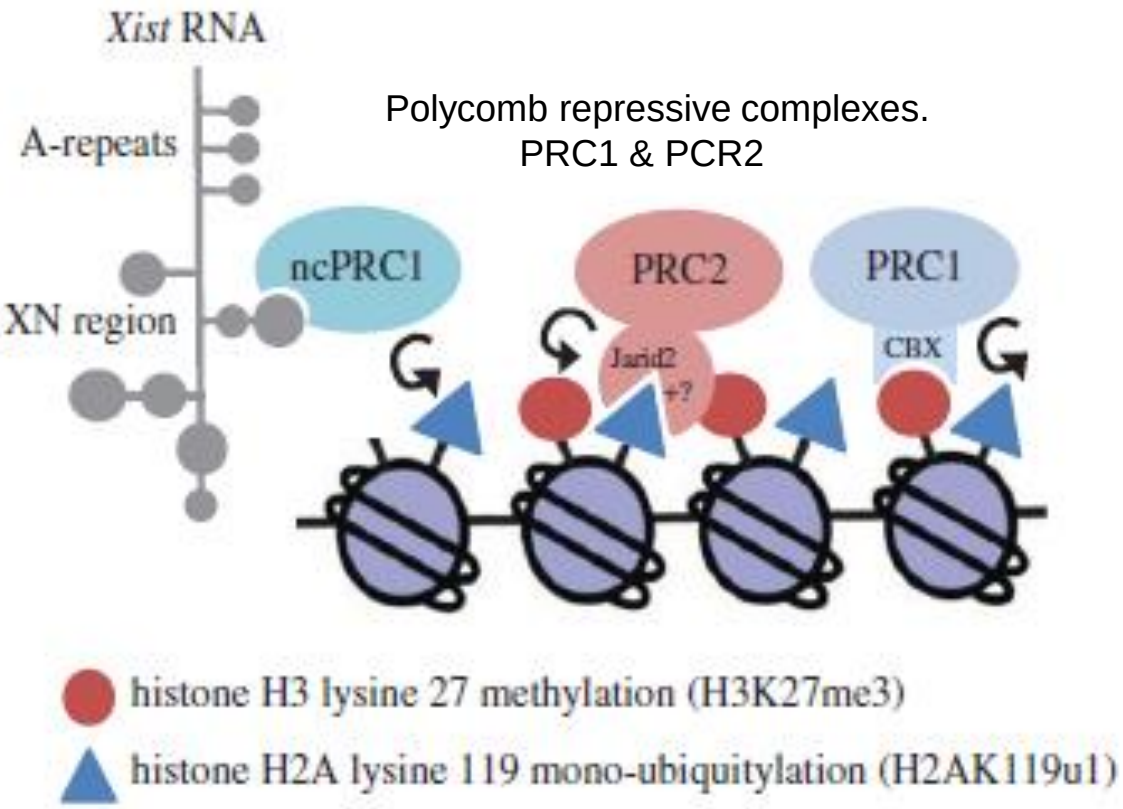
Revised model for Polycomb recruitment by Xist RNA.

- **The Polycomb cascade is initiated by non-canonical** (nc) PRC1 complexes
- that are recruited by the Xist XN region.
- PRC1 mediated H2AK119u1, deposited on underlying nucleosomes, serves to recruit PRC2

- through recognition by the cofactor, Jarid2
- or through an alternative but currently undefined pathway

CBX and PRC2 mediated H3K27me3

- then signals recruitment of canonical PRC1 complexes,
- further reinforcing 2AK119u1 deposition and Polycomb domain formation.

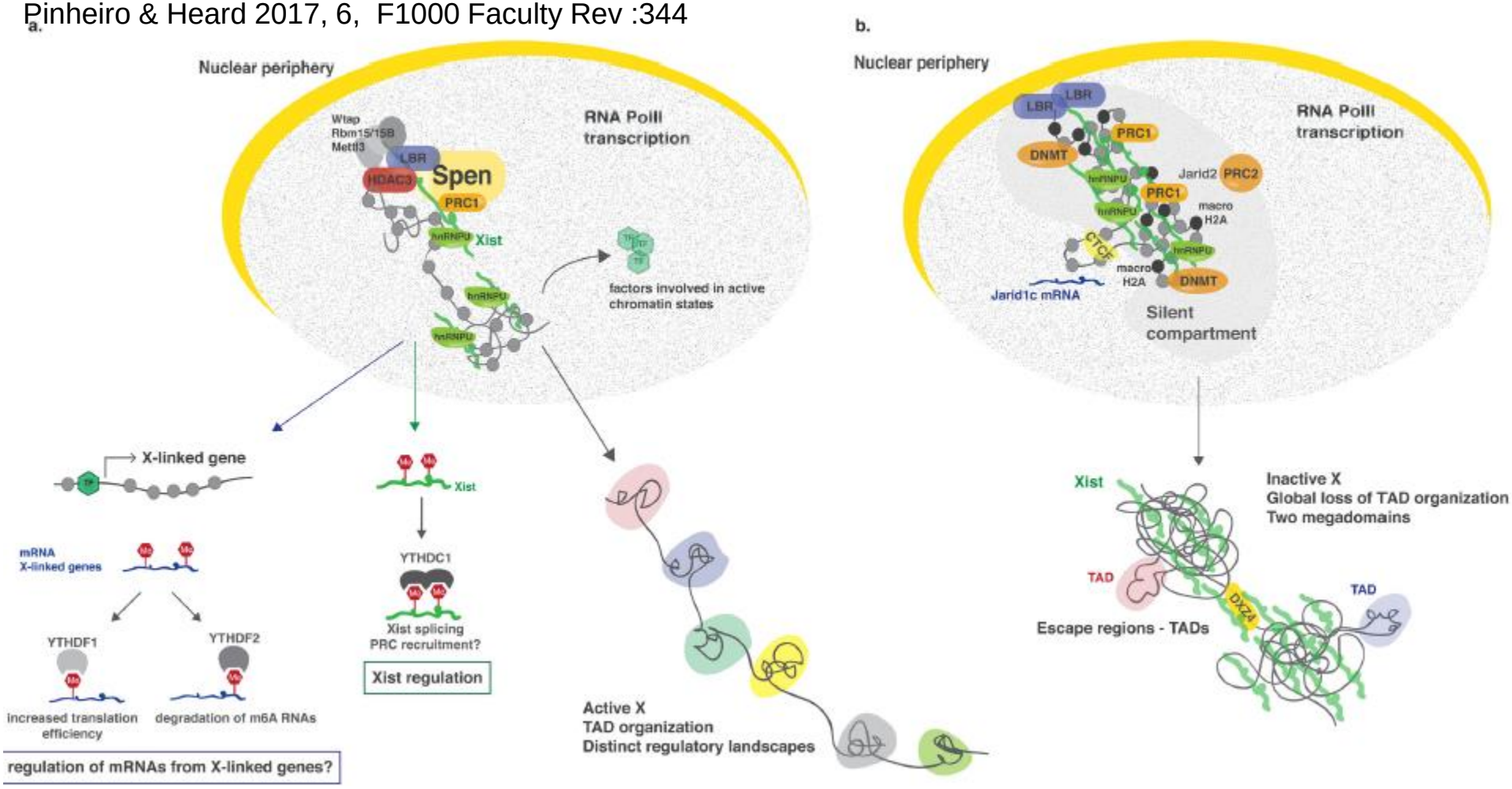


Polycomb repressive complexes.
PRC1 & PCR2

Brockdorff N. 2017, Phil. Trans. R. Soc. B 372:

Mechanisms involved in X-chromosome inactivation (XCI).

Pinheiro & Heard 2017, 6, F1000 Faculty Rev :344



Complex of proteins: “Split-ends” (Spen), lamin B receptor (LBR), Wilms tumor 1 associated protein (Wtap)/Rbm15/Rbm15B, Polycomb repressive complex 1 (PRC1), and heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U (hnRNPU).

In sintesi

- Il **comportamento parallelo di geni e cromosomi** alla meiosi dimostra **che i geni stanno sui cromosomi**
- Le leggi di Mendel descrivono (1) la separazione dei cromosomi omologhi e (2) l'assortimento indipendente dei cromosomi non omologhi alla meiosi.

- **Il sesso è determinato (con meccanismi diversi nelle diverse specie e parecchie eccezioni) dalle combinazioni dei cromosomi sessuali**

- **Nell'uomo, è stata identificata la regione del cromosoma Y che indirizza le gonadi allo sviluppo verso il sesso maschile: *SRY***

- **In molti organismi il cromosoma Y è geneticamente vuoto, cioè non contiene gli alleli dei loci portati dal cromosoma X; i ♂ sono detti emizigoti**

- Lo sbilanciamento genico fra ♀ e ♂ viene compensato **dall'inattivazione di un cromosoma X nel sesso omogametico**

- **Inattivazione di un cromosoma X nei mammiferi è mediata da un centro di inattivazione (Xic) e dal gene *Xist***

GRAZIE PER L'ATTENZIONE



Q&A