

Filogenomica dei Primati: evidenze dalla citogenetica molecolare

Phylogenomics in Primates: evidence from Molecular cytogenetics

F. Dumas¹, F. Bigoni²

¹Dipartimento di Biologia Animale “G. Reverberi”, via Archirafi 18, 90123 Palermo, Italy. fdumas@unipa.it

² Dipartimento di Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, via del Proconsolo 12, 50122 Firenze, Italy. francesca.bigoni@unifi.it

Parole chiave: filogenesi, evoluzione, genomi, cromosomi, mammiferi

Keywords: phylogeny, evolution, genomes, chromosomes, mammals

Riassunto

Il cariotipo ancestrale dei Primati (Proscimmie, scimmie del Nuovo Mondo, scimmie del Vecchio mondo, scimmie antropomorfe e Homo) e più di recente anche di tutti i Mammiferi euteri è stato ricostruito mediante la citogenetica molecolare. L'ibridazione fluorescente *in situ* di sonde cromosomiche “painting” permette di individuare le omologie cromosomiche tra specie a confronto e i riarrangiamenti intercromosomici (traslocazioni) che si verificano nel corso dell'evoluzione genomica. E' stato dimostrato con la tecnica “painting” che i genomi generalmente sono altamente conservati e costituiti da pochi segmenti cromosomici di grandi dimensioni. I riarrangiamenti di questi segmenti in diverse combinazioni spiegano la diversità riscontrata nei diversi cariotipi. L'analisi cladistica e parsimoniosa delle associazioni sinteniche conservate e derivate condivise permette lo studio delle relazioni di parentela tra le specie. L'approccio della citogenetica consente inoltre lo studio dell'evoluzione dei cromosomi umani negli ultimi 90 milioni di anni.

Abstract

The ancestral karyotype of Primates (Prosimians, New World Monkeys, Old World Monkeys, apes and humans), and later, that of all eutherian mammals has been reconstructed using molecular cytogenetics. Fluorescence *In Situ* Hybridization (FISH) using probes specific to whole single chromosomes (chromosome paints) allows the mapping of chromosomal homology between species and reveals the interchromosomal rearrangements (translocations) that occurred during genome evolution. Chromosome painting shows that genomes are generally conserved in a limited number of large chromosomal segments. Rearrangements of these segments explain much of the diversity that exists between the karyotypes of various species. A Cladistic analysis using parsimony of chromosomal synteny and associations can provide valuable information for determining the evolutionary, phylogenetic relationships of species. Furthermore, the cytogenetic approach allows us to trace the evolutionary history of each human chromosome over the last 90 million years.

Evoluzione genomica e filogenesi

La Teoria dell'Evoluzione di Charles Darwin afferma che le forme di vita presenti su questo pianeta sono imparentate tra loro, in quanto tutte discendono da antenati comuni. Per esempio, gli esseri umani e gli scimpanzé, derivano dalla divergenza da un comune antenato avvenuta circa 6 milioni di anni fa, invece cani ed esseri umani hanno avuto un antenato comune probabilmente oltre i 90 milioni di anni fa. Allontanandoci ancor più nel tempo, l'uomo e l'opossum condividono un antenato comune che risale a più di 150 milioni di anni fa. In passato, lo studio dell'evoluzione si è basato principalmente sull'anatomia comparata e sulle scoperte della paleontologia, ma durante gli ultimi cinquanta anni sono stati raggiunti grandi risultati, in questo ambito, grazie alla genomica comparata. Questo tipo di indagine ha fornito dati nuovi essenziali per ricostruire i processi evolutivi che hanno dato origine ai nostri parenti più prossimi e alla nostra stessa specie, *Homo sapiens*.

La genomica comparata permette infatti la ricostruzione del genoma ancestrale di gruppi di specie imparentate per ciascun nodo principale di ramificazione dell'albero della vita. Tale ricostruzione consente da un lato l'analisi della relazione di parentela tra le specie (filogenesi) e dall'altro la valutazione dei passaggi che hanno determinato la forma attuale dei cromosomi umani a partire dal cariotipo ancestrale di tutti i Mammiferi (Ferguson-Smith and Trifonov, 2007, Stanyon et al., 2008)

La Citogenetica Comparata

Tra gli approcci della genomica comparata quello della citogenetica è il primo ad essere stato applicato nello studio del genoma dei Primati. I primi studi di Citogenetica comparata utilizzarono la tecnica della colorazione di interi cromosomi che permise una valutazione delle differenze cromosomiche a livello morfologico (Chiarelli, 1963). Le ipotesi relative ai genomi ancestrali venivano formulate in termini di numero diploide ($2n$) e di numero di braccia cromosomiche (Numero Fondamentale o FN). Successivamente con l'introduzione dei metodi di colorazione differenziata (bandeggio cromosomico) è stato possibile distinguere ed appaiare i cromosomi omologhi. Mediante l'analisi dei cromosomi bandeggiati è stato possibile dimostrare che i cromosomi dei Primati e dei Mammiferi si sono in larga parte conservati durante il processo evolutivo (Dutrillaux 1979, Yunis and Prakash 1982, Nash and O'Brien 1982).

Citogenetica Molecolare

A partire dagli anni '90 (Wienberg et al., 1990) i cariotipi appartenenti a specie diverse di Mammiferi sono stati comparati a livello molecolare e messi in relazione tra di loro mediante la tecnica della Citogenetica Molecolare Comparativa nota come "chromosome painting" che prevede l'ibridazione *in situ* Fluorescente (FISH-Fluorescence *In Situ* Hybridization) di sonde cromosomiche umane (Fig.1).

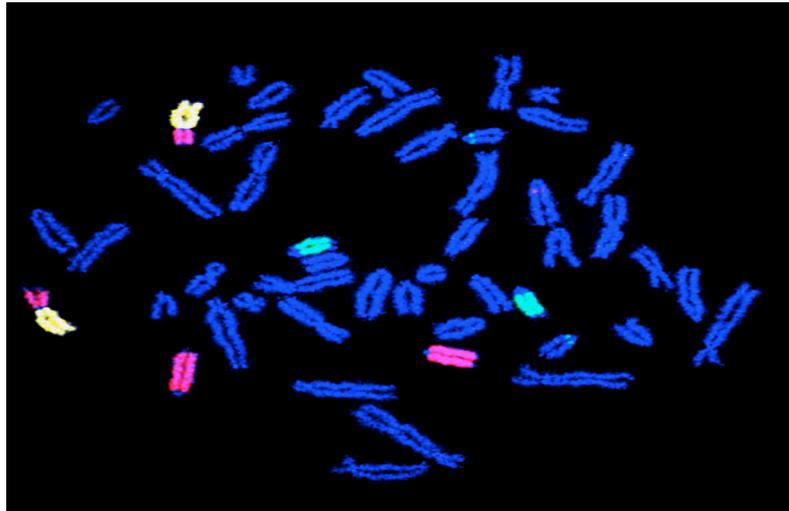


Figura 1. Esempio di FISH con sonde cromosomiche “painting” umane su una metafase di scimmia Platyrrhina (*Callicebus cupreus*): sonda “paint” 17 in verde, sonda 8 in rosso e 18 in giallo.

Figure 1. Example of FISH with Human chromosome painting probes on a Platyrrhini metaphase (*Callicebus cupreus*): painting Probe 17-green, probe 8-red, probe 18 yellow.

La tecnica FISH consiste nell’ibridare sonde di DNA marcate con una sostanza fluorescente su DNA di una metafase “target” e sfrutta la complementarità delle basi azotate della sonda e del preparato cromosomico, permettendo di stabilire le omologie cromosomiche tra specie diverse. Il “chromosome painting” consente di individuare le omologie a livello di interi cromosomi o parti di essi e i riarrangiamenti intercromosomici (traslocazioni, fissioni e fusioni) che intervengono durante il processo evolutivo. Con il *painting* cromosomico è possibile, quindi, determinare quali cromosomi, segmenti di cromosoma o sintenie (e quindi anche la localizzazione di due o più geni su uno stesso cromosoma) siano stati conservati tra i genomi di due o più specie messe a confronto. Permette inoltre di determinare quanti riarrangiamenti cromosomici sono stati necessari per trasformare il genoma di una specie in quello di un’altra. Negli ultimi anni sono state utilizzate anche sonde sub regionali o locus specifiche (Fig.2) prodotte mediante microdissezione o per clonaggio di DNA all’interno di vettori.

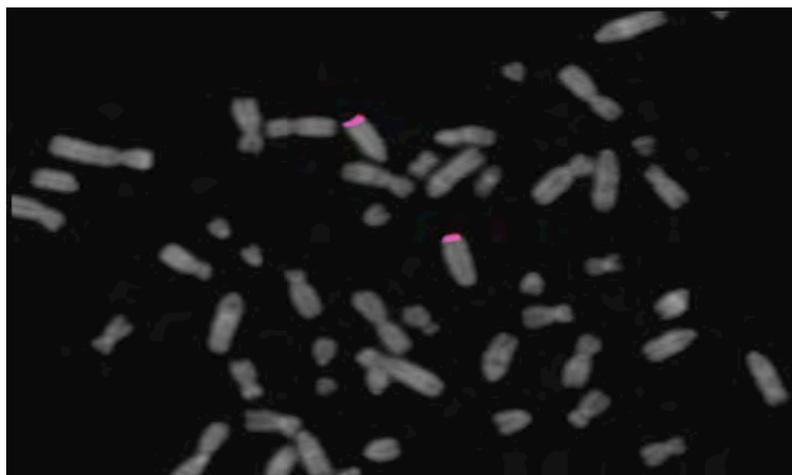


Figura 2. Esempio di FISH con sonda locus specifica WolfHirshorn (4p.11) su una metafase di una Platyrrhina (*Lagothrix lagotricha*).

Figure 2. Example of FISH with the single locus probe WolfHirshorn (4p.11) on a Platyrrhini metaphase (*Lagothrix lagotricha*).

Queste sonde, caratterizzate da elevato potere risolutivo, permettono di individuare i riarrangiamenti intracromosomici che non sono rivelabili mediante painting. La tecnica FISH con sonde di DNA clonate in BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) o in YACs (Artificial Yeast Chromosomes) permette di identificare, infatti, i riarrangiamenti intracromosomici (inversioni e lo spostamento del centromero) e i punti di rottura cromosomici con un livello di risoluzione elevato (100 kb), inferiore solo alla caratterizzazione mediante sequenziamento.

Analisi Cladistica dei dati sui cromosomi

Nelle ricostruzioni filogenetiche ottenute mediante la citogenetica viene adottato un approccio cladistico e parsimonioso al fine di individuare le sintenie cromosomiche ancestrali e le nuove associazioni cromosomiche formatesi a seguito dei riarrangiamenti (Wienberg and Stanyon, 1995). Per distinguere i caratteri conservati da quelli derivati si ricorre al confronto con una specie affine, ma esterna al gruppo considerato (outgroup). Secondo il principio di parsimonia tra le varie interpretazioni possibili di un fenomeno (organizzazione cromosomica) si preferisce quella che comporta il minor numero di passaggi ipotizzabili. I riarrangiamenti cromosomici determinano una riorganizzazione genomica formando nuove associazioni sinteniche costituite dalla diversa combinazione degli omologhi dei cromosomi umani. Quando una sintenia cromosomica viene ritrovata intatta in diverse specie, questa può essere interpretata come condizione ancestrale. Per esempio la presenza di una sintenia cromosomica uguale in ordini di Mammiferi molto divergenti tra loro, suggerisce la sua presenza nel cariotipo ancestrale di tutti i Mammiferi. I riarrangiamenti cromosomici che si fissano nel cariotipo di una specie rappresentano degli eventi rari e strettamente legati al processo di speciazione. Il basso tasso di riarrangiamenti intercromosomici (circa due per ogni 10 milioni di anni) permette una rapida distinzione delle omologie tra le varie specie. Poiché i riarrangiamenti sono eventi rari, i tratti derivati comuni tra due specie (nuove associazioni sinteniche) sono utili per le ricostruzioni filogenetiche. Gli studi di “painting” cromosomico sono stati effettuati inizialmente su specie di Primati molto vicine tra loro, utilizzando sonde cromosomiche umane per analizzare i cromosomi di scimmie antropomorfe, scimmie del Vecchio Mondo (Catarrhini), scimmie del Nuovo Mondo (Platyrrhini) e Proscimmie (Strepsirrhini) ed in seguito specie di Mammiferi più distanti da un punto di vista filogenetico (Wienberg et al. 1990, 1992; Stanyon et al., 1992; Jauch et al. 1992; Scherthan et al., 1994; Wienberg e Stanyon 1995, 1997, 1998).

Uso del Flow sorting per generare “chromosome paints”

Mediante la tecnica del “flow sorting” che permette di discriminare i cromosomi in base alle loro dimensioni e contenuto di basi azotate è possibile ottenere oggi oltre che sonde cromosomiche umane, anche sonde “painting” provenienti da altre specie di Mammiferi utili in esperimenti di painting cromosomico reciproco (Stanyon and Stone, 2008). Mediante tale tecnica i cromosomi mitotici in sospensione colorati con due fluorocromi che hanno una diversa specificità per le coppie di basi azotate, vengono introdotti all’interno di un tubicino che permette il passaggio di un cromosoma alla volta. L’intensità della fluorescenza di ciascuno delle centinaia di cromosomi viene misurata quando essi sono colpiti da due raggi laser. L’intensità viene rivelata in “peaks” distinti in un plotter ed è così possibile discriminare e deflettere i diversi cromosomi in differenti sospensioni. Successivamente con un primo giro di PCR si amplificano direttamente i cromosomi “sorteggiati”, e con una reazione secondaria di PCR si marcano i prodotti primari.

Il “painting” cromosomico reciproco (Zoo-FISH) consiste nell’ibridare sonde umane sulle metafasi di una specie e le sonde della stessa specie su metafasi umane. Questa tecnica permette di analizzare le omologie cromosomiche in due esperimenti indipendenti di FISH e di individuare inoltre i punti di rottura coinvolti durante l’evoluzione cromosomica (Dumas et al., 2005, 2007). Questa tecnica reciproca di Zoo-FISH è stata utilizzata per la comparazione di sintenie cromosomiche nei Mammiferi placentati (Wienberg and Stanyon, 1997; O’Brien et al., 1999; Murphy et al., 2001).

Partendo dalla ricostruzione del cariotipo ancestrale di Mammiferi placentati, è possibile, inoltre, determinare i passi più importanti che negli ultimi 90 milioni di anni hanno portato alla formazione dei cromosomi umani (Stanyon et al., 2008).

L'utilizzo di sonde del tipo "chromosome paint" presenta tuttavia alcuni limiti. Le sonde "paint" sono eccellenti nell'identificare i riarrangiamenti intercromosomici (traslocazioni, fissioni e fusioni), ma non lo sono altrettanto nell'individuare i cambiamenti intracromosomici come le inversioni e le duplicazioni. Inoltre il livello di risoluzione del "painting" è compreso tra 5 e 10 Mb per cui mediante questo approccio sfuggono i cambiamenti intercromosomici molto piccoli. Tale limite viene superato, come già detto, mediante il mappaggio di sonde piccole di DNA clonate all'interno di vettori ("Bacterial Artificial Chromosome"-BACs) e di sonde locus specifiche (Stanyon et al., 2008).

In ultimo è dimostrato che il "painting" cromosomico tra Marsupiali e Mammiferi placentati, non ha avuto mai successo, e come conseguenza la mancanza di un "outgroup" appropriato per i Mammiferi Euteri ha precluso il raggiungimento di conclusioni stabili riguardo il contenuto del genoma ancestrale ricostruito fin oggi (Svartman et al., 2004). Tuttavia, recentemente si è ottenuta la sequenza del genoma del marsupiale *Monodelphis domestica*, l'opossum, (Mikkelsen et al., 2007) attraverso cui è stato possibile convalidare le ipotesi proposte mediante painting.

Evoluzione cromosomica nei Mammiferi

L'evoluzione del cariotipo nei Mammiferi è stato un processo continuo nel corso degli ultimi 100 milioni di anni, durante i quali si sono verificate divergenze rispetto al comune cariotipo ancestrale. Successivi eventi mutazionali hanno causato la riorganizzazione della struttura dei cromosomi e del loro numero all'interno dei cariotipi.

Nelle fasi iniziali della citogenetica classica (colorazione uniforme o bandeggio dei cromosomi) alcuni ricercatori hanno proposto che il cariotipo ancestrale dei Mammiferi avesse un numero diploide alto, e che l'evoluzione abbia fatto il suo corso attraverso fusioni cromosomiche. Altri studiosi hanno proposto che le fissioni fossero invece il principale meccanismo evolutivo, e quindi hanno prospettato numeri diploidi bassi; altri ancora hanno mantenuto una posizione intermedia proponendo che entrambi i meccanismi fossero importanti (cf. Stanyon et al., 2002). Ora sappiamo che ciò è corretto e che il numero diploide ancestrale dei mammiferi placentati è intermedio.

Conservazione del genoma

I risultati del "painting" cromosomico dimostrano un alto livello di conservazione dei cromosomi in tutti gli ordini di Mammiferi placentati, anche se alcuni cladi sono caratterizzati da una rapida evoluzione cromosomica e presentano quindi dei genomi altamente riarrangiati. Per esempio l'evoluzione del cariotipo dei roditori, degli equidi, dei gibboni (Muller et al., 2003) è avvenuto con un alto tasso evolutivo mediante riarrangiamenti sia intracromosomici che intercromosomici (Romanenko, S.2007, Yang, F. et al., 2004). Al contrario il processo evolutivo è stato relativamente conservativo in gatti, foche (Froenicke et al., 1997) e cetacei (Bielec et al., 1998).

Sintenie ed associazioni cromosomiche

Nei Mammiferi durante l'evoluzione alcune sintenie del cariotipo ancestrale si sono conservate mentre altre nuove associazioni sinteniche sono state formate a causa dei riarrangiamenti (cf. Ferguson-Smith e Trifonov, 2007). Attraverso il painting cromosomico è stato dimostrato che alcuni riarrangiamenti e nuove associazioni sinteniche sono marker filogenetici per alcuni cladi e che gli omologhi di molti cromosomi umani sono intatti nei Mammiferi placentati. I cromosomi 13 e 17 per esempio sono conservati e da considerarsi sintenie presenti nel cariotipo ancestrale dei Mammiferi, altri omologhi dei cromosomi umani sono conservati nella maggior parte dei Mammiferi studiati e presenti su un cromosoma, ma in associazione con altre sintenie: 3/21, 14/15, 7/16, 16/19, due cromosomi con omologia 12/22 e l'associazione 4/8. Quest'ultima associazione è presente in tutti gli ordini dei Mammiferi euteri eccetto che nei Primati e certi specie di Afrotheria (Kellogg et al., 2007). Tuttavia è stato dimostrato mediante sequenziamento che l'associazione 4/8 è presente nell'outgroup dei mammiferi placentati, l'opossum, per cui questa associazione è inserita nel cariotipo ancestrale dei Mammiferi. Una delle due associazioni

sinteniche ancestrali degli omologhi dei cromosomi umani 12/22, e ulteriormente associata con un segmento dell'omologo del cromosoma umano 10, è stata osservata nei carnivori, nei cetartiodattili, nel cavallo, nel pipistrello ed anche nell'opossum a conferma che essa è presente nel cariotipo ancestrale di tutti i Mammiferi. L'associazione 1/19 è presente nei Mammiferi (Yang et al, 2003; Svartman et al, 2004, 2006) ma non è omologa a quella presente nell'opossum. Pertanto tale associazione non è inserita nel cariotipo ancestrale dei Mammiferi (Stanyon et al., 2008).

Evoluzione cromosomica nei Primati

Negli ultimi anni approssimativamente 50 specie di Primati sono state analizzate attraverso le tecniche di citogenetica molecolare, fornendo una descrizione sulle dinamiche dei cambiamenti genomici avvenuti durante l'evoluzione umana e quella dei nostri parenti più vicini. Le specie di Primati studiate appartengono alle Proscimmie, alle scimmie del Nuovo Mondo e del Vecchio Mondo e *Homo sapiens*. Il genoma del comune antenato di tutti i Primati, definito facendo riferimento all'omologia con il cariotipo umano, ha numero diploide di $2n=50$ (Stanyon et al., 2008) con i seguenti cromosomi 1, 2a, 2b, 3/21, 4, 5, 6, 7a, 7b/16b, 8, 9, 10a, 10b, 11, 12a/22a, 12b/22b, 13, 14/15, 16a, 17, 18, 19a, 19b, 20, X ed Y (Fig.3).



Figura 3. Ipotetico Cariotipo ancestrale di tutti i Primati con numero diploide $2n=50$ costruito mediante "painting" cromosomico comparativo. Ogni cromosoma è rappresentato da un rettangolo. Il numero all'interno indica l'omologia con i cromosomi umani. Ogni sintenia cromosomica umana è indicata con un colore diverso.

Figure 3. Hypothetical ancestral primate karyotype with diploid number $2n=50$ obtained through comparative chromosome painting. Every chromosomes is represented by a rectangle, the inside number represents the homology with human chromosomes. Each human chromosomal synteny is indicate by a different color.

Strepsirrhini

Un gruppo di Primati che è stato analizzato attraverso la tecnica FISH è quello delle proscimmie. Sia i caratteri morfologici che i cariotipi delle proscimmie ottenuti mediante bandeggio cromosomico, erano in passato considerati primitivi e quindi più simili all'antenato di tutti Primati (Dutrillaux, 1979). I dati ottenuti attraverso il painting cromosomico, tuttavia, indicano la situazione opposta, in quanto sono stati dimostrati molti riarrangiamenti e sinteniche cromosomiche derivate. Queste specie non possono quindi essere considerate vicine al cariotipo ancestrale dei Primati (Stanyon et al., 2006).

Anthropoidea

Il cariotipo ancestrale delle Anthropoidea (scimmie del Vecchio Mondo e scimmie del Nuovo Mondo) ha un numero diploide di $2n=50$. Il cariotipo di tutte le specie sono marcate da un punto di vista filogenetico dalla fissione della sintenia ancestrale 7/16, dalla traslocazione reciproca che diede origine ai cromosomi 12 e 22 e dalla fusione dei segmenti 19a e 19b.

Le Scimmie del Nuovo Mondo o Platyrrhini

Le Scimmie del Nuovo Mondo sono state ampiamente studiate attraverso la tecnica FISH che ha permesso di dimostrare che i riarrangiamenti cromosomici sono markers utili nelle ricostruzioni filogenetiche e nella comprensione della tassonomia delle scimmie del Nuovo Mondo (Neusser et al., 2001). Le scimmie del Nuovo Mondo presentano un'ampia gamma di modificazioni morfologiche ed etologiche, per cui risulta difficile identificare omologie a questo livello di studio. E' stato dimostrato mediante painting che il numero di specie riconosciute è sottostimato in quanto esistono specie identiche da un punto di vista morfologico, ma diverse dal punto di vista genomico. Per esempio, la scimmia gufo (*Aotus trivirgatus*), noto modello animale per diverse malattie umane, mostra almeno 12 differenti cariotipi all'interno della sua area di distribuzione geografica; la stessa situazione si verifica per le scimmie urlatrici del genere *Alouatta* (Consigliere et al. 1998) e per il genere *Callicebus* (Dumas et al., 2005). Il painting cromosomico supporta la monofilia dei Primati del Nuovo Mondo: tutti condividono, infatti, le associazioni sinteniche 8/18, 10/16, 2/16, 7/5 (Neusser et al., 2001, Dumas et al., 2007). Inoltre i dati FISH risolvono il dibattito sulla collocazione filogenetica di *Callimico goeldii*. Il painting cromosomico dimostra la presenza di riarrangiamenti cromosomici e di associazioni sinteniche (5/7, 8/18 e 10/16) che legano filogeneticamente *Callimico* ai marmosets (Neusser et al., 2001).

Le Scimmie del Vecchio Mondo o Catarrhini

Il cariotipo ancestrale delle scimmie del vecchio Mondo ha un numero diploide di $2n=46$. Il loro cariotipo è caratterizzato dalla fissione dell'associazione ancestrale 3/21 e dalle fusioni che hanno dato origine ai cromosomi 7, 10 e 16. Le scimmie del Vecchio Mondo, famiglia Cercopithecoidea, vengono suddivise in Cercopithecini (babbuini, macachi, guenoni) e Colobini (scimmie asiatiche ed africane). Sebbene da un punto di vista filogenetico queste specie siano, rispetto all'uomo, più distanti dei Gibboni, esse presentano un cariotipo molto più simile all'uomo. Fatta eccezione per i guenoni (cercopithecini), che si differenziano dagli altri Primati del Vecchio Mondo per numerosi eventi di fusione e fissione, in questo gruppo è stato osservato solo un piccolo numero di riarrangiamenti intercromosomici. In Macaca e Papio tutte le sintenie umane sono intatte tranne quella omologa al cromosoma umano 2 che è divisa (Wienberg et al., 1992). Poche sono le associazioni sinteniche presenti in Macaca e Papio: 7/21, 14/15 e 20/22.

Il painting cromosomico supporta inoltre la monofilia dei Colobini che condividono l'associazione 21/22 e la suddivisione in un clade africano ed uno asiatico (Bigoni et al., 1997, 2003, 2004).

Il cariotipo ancestrale dei Cercopithecini ha numero diploide di $2n=48$. Citogeneticamente il cariotipo dei cercopithecini è caratterizzato dalla fissione dei cromosomi 3 e 5 e dalla fusione che forma l'associazione 20/21 (Finelli et al., 1999, Stanyon et al., 2005, Moulin et al., 2008). Nei Cercopithecini, il painting cromosomico ha dimostrato che le fissioni sono responsabili dell'aumento del numero diploide di cromosomi. Inoltre i dati suggeriscono una biforcazione filogenetica costituita da un ramo che porta ai Cercopithecini terrestri (*Erythrocebus patas/Chlorocebus aethiops*) e dall'altro ai Cercopithecini arboricoli (*Cercopithecus neglectus, C. wolffi*) (Stanyon et al., 2005), anche se questa interpretazione non è sempre condivisa (Dutrillaux et al., 1979, Disotell and Raumer 2002, Moulin et al., 2008).

Ominoidi

Gli ominoidi (Hylobatidae, Pongidae e Hominidae) sono caratterizzati da un cariotipo ancestrale con numero diploide $2n=48$. I cariotipi degli ominoidi sono caratterizzati dalla fissione dell'associazione ancestrale 14/15.

Nei Gibboni, il “painting” cromosomico ha messo in evidenza un altissimo numero di riarrangiamenti, soprattutto traslocazioni, alcune comuni a tutte le specie, altre caratterizzanti alcuni raggruppamenti (Jauch et al., 1992; Koehler et al 1995a, 1995b).

Grande Scimmie Antropomorfe e l'uomo

La nostra specie e le scimmie Antropomorfe presentano un cariotipo notevolmente simile; *Homo sapiens* (2n=46) tuttavia differisce dalle grandi scimmie (2n=48) per un corredo cromosomico ridotto di un paio di cromosomi. Quando si ibrida la sonda cromosomica umana 2 sulle metafasi dello scimpanzè si ottengono due segnali su due cromosomi acrocentrici. Lo stesso risultato si riscontra nella maggior parte dei Primati e negli altri Mammiferi dimostrando che il cromosoma umano 2 ha avuto origine dalla fusione di due cromosomi. Nelle grandi scimmie non sono presenti altri riarrangiamenti intercromosomici, fatta eccezione per una traslocazione reciproca tra gli omologhi dei cromosomi umani 5 e 17, avvenuta nel Gorilla (Wienberg et al., 1990, Stanyon et al., 1992).

Gli studi effettuati mediante bandeggiamento dei cromosomi, tuttavia, hanno suggerito che l'evoluzione del cariotipo umano e delle grandi scimmie sia caratterizzato soprattutto da riarrangiamenti intracromosomici (Yunish and Prakash, 1982). Molti di questi riarrangiamenti sono stati confermati recentemente attraverso la tecnica FISH con sonde molecolari BAC o locus specifiche (Stanyon et al., 2008) e dagli assemblaggi delle sequenze del genoma.

Conclusioni

I dati forniti dalla citogenetica molecolare comparativa permettono l'indagine di tutto l'assetto genomico a livello cromosomico delle specie a confronto. L'utilizzo di pannelli di BAC con frammenti di DNA clonati permettono di approfondire lo studio a livello di ordine dei marker genici all'interno di ciascun cromosoma. Le prospettive future prevedono l'utilizzo parallelo e complementare degli approcci descritti agli studi di sequenziamento. Questa raccolta di dati a livelli risolutivi diversi permetterà una indagine genomica ancora più precisa. Un approccio integrato delle diverse metodologie afferenti alla genomica comparata fornirà un'analisi sempre più dettagliata sull'origine e sull'evoluzione dei Mammiferi, dei Primati, incluso *Homo sapiens*.

Bibliografia

- Bielec, PE, Gallagher, DS, Womack, JE, Busbee, DL, 1998, Homologies between human and dolphin chromosomes detected by heterologous chromosome painting. *Cytogenet Cell Genet* 81:18–25
- Bigoni, F, Houck, ML, Ryder, OA, Wienberg, J, Stanyon, R, 2004, Chromosome painting shows that *Pygathrix nemaeus* has the most basal karyotype among Asian Colobinae. *Int J Primatol* 25:679–688
- Bigoni, F, Stanyon, R, Koehler, U, Morescalchi, AM, Wienberg, J, 1997b, Mapping homology between human and black and white colobine monkey chromosomes by fluorescent in situ hybridization. *Am J Primatol* 42:289–298.
- Bigoni, F, Stanyon, R, Wimmer, R, Schempp, W, 2003, Chromosome painting shows that the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) has a derived karyotype and is phylogenetically nested within Asian Colobines. *Am J Primatol* 60:85–93
- Consigliere, S, Stanyon, R, Koehler, U, Arnold, N, and Wienberg, J, 1998, In situ hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between *Alouatta belzebul* (Platyrrhini, Cebidae) and other primates and reveals extensive interchromosomal rearrangements between howler monkey genomes. *Am J Primatol* 46(2):119-133.
- Chiarelli, B, 1963, Comparative morphometric analysis of primate chromosomes. III. The chromosomes of the genera *Hylobates*, *Colobus* and *Presbytis*. *Caryologia* 16: 637-648.
- Disotell, T,R, Raam RL, 2002, Molecular timescale and gene tree incongruence in the guenons. In: Glenn ME, Cords M, eds. *The Guenons: Diversity and Adaptation in African Monkeys*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp. 27-36.

- Dumas, F, Bigoni, F, Stone, G, Sineo L, & Stanyon, R, 2005, Mapping Genomic rearrangements in titi monkeys by chromosome flow sorting and Multidirectional in situ hybridization. *Chromosome Research* 13: 85-96.
- Dumas, F, Stanyon, R, Sineo, L, Stone, G, Bigoni, F, 2007, Phylogenomics of species from four Genera of New World monkeys by flow sorting and reciprocal chromosome painting. *BMC Evolutionary Biology* 2007, 7 (Suppl 2): S11
- Dutrillaux, B, 1979, Chromosomal evolution in primates: tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (Prosimian) to man. *Hum Genet* 48:251-314.
- Ferguson-Smith, MA, Trifonov, V, 2007, Mammalian karyotype evolution. *Nat Rev Genet*. Dec;8(12):950-62.
- Froenicke, L, Müller-Navia, J, Romanakis, K, Scherthan, H, 1997, Chromosomal homeologies between human, harbor seal (*Phoca vitulina*) and the putative ancestral carnivore karyotype revealed by Zoo-FISH. *Chromosoma* 106:108-113.
- Finelli P, Stanyon R, Plesker R, Ferguson-Smith M.A, O'Brien PCM, Wienberg J, 1999, Reciprocal chromosome painting shows that the great difference in diploid number between human and African green monkey is mostly due to non-robertsonian fissions. *Mammalian Genome* 10: 713-718.
- Jauch A, Wienberg J, Stanyon R, Arnold N, Tofanelli S, Ishida T, Cremer T (1992) Reconstruction of genomic rearrangements in great apes and gibbons by chromosome painting. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:8611-8615.
- Kellogg, ME, Burkett, S, Dennis, TR, Stone, G, Gray, BA, McGuire, PM, Zori, RT, and Stanyon, R, 2007, Chromosome painting in the manatee supports Afrotheria and Paenungulata. *BMC Evol Biol* 7:6.
- Koehler, U, Arnold, N, Wienberg, J, Tofanelli, S, and Stanyon, R, 1995, Genomic reorganization and disrupted chromosomal synteny in the siamang (*Hylobates syndactylus*) revealed by fluorescence in situ hybridization. *Am J Phys Anthropol* 97(1):37-47.
- Koehler, U, Bigoni, F, Wienberg, J, and Stanyon R, 1995, Genomic reorganization in the concolor gibbon (*Hylobates concolor*) revealed by chromosome painting. *Genomics* 30(2):287-292.
- Mikkelsen, TS, Wakefield, MJ, Aken, B, Amemiya, CT, Chang, JL, Duke, S, Garber, M, Gentles, AJ, Goodstadt, L, Heger, A, Jurka, J, Kamal, M, Mauceli, E, Searle, SM, Sharpe T, Baker ML, Batzer MA, Benos PV, Belov K, Clamp M, Cook A, Cuff, J, Das, R, Davidow, L, Deakin, JE, Fazzari, MJ, Glass, JL, Grabherr, M, Grealley, JM, Gu, W, Hore, TA, Huttley, GA, Kleber, M, Jirtle, RL, Koina, E, Lee, JT, Mahony, S, Marra, MA, Miller, RD, Nicholls, RD, Oda, M, Papenfuss, AT, Parra, ZE, Pollock, DD, Ray, DA, Schein, JE, Speed, TP, Thompson, K, VandeBerg, JL, Wade, CM, Walker, JA, Waters, PD, Webber, C, Weidman, JR, Xie, X, Zody, MC; Broad Institute Genome Sequencing Platform; Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Graves JA, Ponting CP, Breen M, Samollow PB, Lander ES, Lindblad-Toh K, 2007. Genome of the marsupial *Monodelphis domestica* reveals innovation in noncoding sequences. *Nature* 447: 167-177.
- Moulin, S, Gerbault-Seureau, M, Dutrillaux, B, & Richard F, 2008, Phylogenomics of African guenons. *Chromosome Research* 16:783-799.
- Romanenko, SA, Volobouev VT, Perelman PL, Lebedev, VS, Serdukova NA, Trifonov, VA, Biltueva LS, Nie, W, O'Brien, PC. M., Bulatova, NSh, Ferguson-Smith, MA, Yang & Graphodatsky AS, 2007 Karyotype evolution and phylogenetic relationships of hamsters (Cricetidae, Muroidea, Rodentia) inferred from chromosomal painting and banding comparison. 15, 293-298
- Muller, S, Hollatz, M, Wienberg, J, 2003, Chromosomal phylogeny and evolution of gibbons (*Hylobatidae*). *Hum Genet* 113: 493.
- Murphy, WJ, Stanyon, R, O'Brien, SJ, 2001b, Evolution of mammalian genome organization inferred from comparative gene mapping. *Genome Biol*
- Nash, WG, O'Brien, SJ, 1982, Conserved regions of homologous G-banded chromosomes between orders in mammalian evolution: carnivores and primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:6631-6635

- Neusser, M, Stanyon, R, Bigoni, F, Wienberg, J, and Muller, S, 2001, Molecular cytotaxonomy of New World monkeys (Platyrrhini) – comparative analysis of five species by multi-color chromosome
- O'Brien, SJ, Menotti-Raymond, M, Murphy, WJ, Nash, WG, Wienberg, J, Stanyon, R, Copeland, NG, Jenkins, NA, Womack, JE, and Marshall Graves, JA, 1999, The promise of comparative genomics in mammals. *Science* 286(5439):458-462, 479-481.
- Scherthan, H, Cremer, T, Arnason, U, Weier, HU, Limade-Faria, A, Froenicke, L, 1994, Comparative chromosome painting discloses homologous segments in distantly related mammals. *Nat Genet* 6:342–347
- Stanyon, R, Wienberg J, Romagno, D, Bigoni, F, Jauch, A, Cremer, T, 1992, Molecular and classical cytogenetic analyses demonstrate an apomorphic reciprocal chromosomal translocation in *Gorilla gorilla*. *Am J Phys Anthropol* 88:245–250
- Stanyon, R, O'Brien, PC, Ferguson-Smith, MA, Plesker, R, Wienberg, J, 1999, Defining the ancestral karyotype for all primates by multidirectional chromosome painting between tree shrews, lemurs and humans. *Chromosoma* 108:393–400
- Stanyon, R, Koehler U, and Consigliere, S, 2002, Chromosome painting reveals that galagos have highly derived karyotypes. *Am J Phys Anthropol* 117(4):319-326.
- Stanyon R, Bruening R, Stone G, Shearin A, Bigoni F, 2005, Reciprocal painting between humans, *De Brezza's* and patas monkeys reveals a major bifurcation in the Cercopithecini phylogenetic tree. *Cytogenetic genome Research* 108: 175-182.
- Stanyon, R, Rocchi, M, Capozzi, O, Roberto, R, Misceo, D, Ventura, M, Cardone, MF, Bigoni, F, and Archidiacono, N, 2008, Primate chromosome evolution: ancestral karyotypes, marker order and neocentromeres. *Chromosome Res* 16(1):17-39.
- Stanyon, R. and Stone, G, 2008, "Phylogenomic analysis by chromosome sorting and painting." *Methods Mol Biol* 422: 13-29.
- Svartman M, Stone G, Page JE, and Stanyon R, 2004, A chromosome painting test of the basal eutherian karyotype. *Chromosome Res* 12(1):45-53.
- Svartman, M, Stone, G, and Stanyon, R, 2006, The ancestral eutherian karyotype is present in *Xenarthra*. *PLoS Genet* 2(7):e109.
- Wienberg, J, Jauch A, Stanyon, R, Cremer, 1990, Molecular cytotaxonomy of primates by chromosomal in situ suppression hybridization, *Genomics* 8:347–350
- Wienberg J, Stanyon R, Jauch A, Cremer T, 1992, Homologies in human and *Macaca fuscata* chromosomes revealed by in situ suppression hybridization with human chromosome specific DNA libraries. *Chromosoma* 101:265–270.
- Wienberg, J, and Stanyon, R, 1995, "Chromosome painting in mammals as an approach to comparative genomics." *Curr Opin Genet Dev* 5(6): 792-7.
- Wienberg, J, and Stanyon, R, 1997, Comparative painting of mammalian chromosomes. *Current Opinion in Genetic Development* 7: 784–791.
- Wienberg, J., and Stanyon R, 1998, "Comparative Chromosome Painting of Primate Genomes." *ILAR J* 39(2-3): 77-91.
- Yang, F, Alkalaeva EZ, Perelman, PL, Pardini AT, Harrison, WR, O'Brien, PC, Fu, B, Graphodatsky, AS, Ferguson-Smith, MA, Robinson, TJ, 2003, Reciprocal chromosome painting among human, armadillo, and elephant (superorder Afrotheria) reveals the likely eutherian ancestral karyotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(3):1062-1066.
- Yang, F, Fu B, O'Brien, PC, Nie, W, Ryder, OA, Ferguson-Smith, MA, 2004, Refined genome-wide comparative map of the domestic horse, donkey and human based on cross-species chromosome painting: insight into the occasional fertility of mules. *Chromosome Res* 12:65–76
- Yunis, JJ, Prakash O, 1982, The origin of man: a chromosomal pictorial legacy. *Science* 215:1525–1530