

## Riarrangiamenti cromosomici: i nuovi centromeri evolutivi nei primati

*Chromosomal rearrangements: evolutionary new centromeres in primates*

Francesca Dumas

Dipartimento di Biologia ambientale e biodiversità, sezione di Biologia animale ed Antropologia biologica, Università degli Studi di Palermo, via Archirafi 18. Palermo, Italy  
e-mail address: [francesca.dumas@unipa.it](mailto:francesca.dumas@unipa.it)

**Parole chiave:** cromosomi, riposizionamento centromeri, mappaggio di BACs, citogenetica molecolare

**Keywords:** chromosomes, centromere repositioning, BACs mapping, molecular cytogenetics

### Abstract

Molecular cytogenetics by mapping cloned DNA fragments such as BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) on primates metaphases permitted researchers to show that the centromeres location is not conserved as previously thought. The analysis of data present in literature shows that new evolutionary centromeres (centromeres shifts) are not rare and have to be considered as other traditional chromosomal rearrangements (fission, fusion and inversion) as responsible of chromosomal evolutions. The comparison between neocentromere in humans and evolutionary new centromeres in primates permits to define their relationship in clinics and evolution.

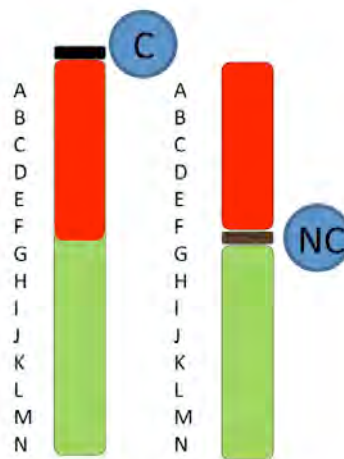
### Riassunto

La citogenetica molecolare mediante il mappaggio di sonde di DNA clonato in BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) su metafasi di Primati ha permesso di dimostrare che la posizione dei centromeri non è conservata come in precedenza ipotizzato. L'analisi dei dati presenti in letteratura dimostra che la formazione di un nuovo centromero evolutivo (o "shift" del centromero) non è un evento raro e deve essere considerato alla stregua degli altri riarrangiamenti (fissione, fusione e inversione) come responsabile dell'evoluzione cromosomica. Il confronto tra i neocentromeri nell'uomo e i nuovi centromeri evolutivi nei primati permette di definire il loro rapporto nei casi clinici e nell'evoluzione.

## Introduzione

Tutti i cromosomi hanno in una certa posizione una costrizione chiamata centromero, composta da blocchi di DNA satellite, responsabile della segregazione dei cromosomi e cromatidi durante la mitosi e meiosi. Tradizionalmente la posizione dei centromeri è stata considerata altamente conservata, recentemente mediante la citogenetica molecolare è stato dimostrato il contrario. Questo approccio ha permesso di enfatizzare il ruolo delle fissioni, fusioni di Robertson, così come delle inversioni pericentriche, negli eventi di trasformazione delle specie. In relazione a queste trasformazioni è stato attribuito al centromero un ruolo fondamentale nei cambiamenti cromosomici sia nel corso dell'evoluzione sia in campo clinico (Villasante et al., 2007).

I nuovi centromeri evolutivi e i neocentromeri nell'uomo emergono per epigenesi (non come conseguenza di una sequenza specifica) in "hot spot" cromosomici; i primi sono centromeri che si spostano ("shift") lungo il cromosoma durante l'evoluzione genomica senza alcuna variazione dell'ordine dei marcatori (senza l'intervento di inversioni o di altri riarrangiamenti strutturali) Fig. 1; i secondi sono centromeri che emergono, nei cromosomi umani, in regioni cromosomiche ectopiche, prive di sequenze alfoide, cioè di DNA satellite presente nei centromeri dei primati. Il dominio in cui si raggruppano i neocentromeri spesso corrisponde a centromeri ancestrali disattivati, per questo motivo i nuovi centromeri evolutivi e i neocentromeri possono essere considerati come le due facce dello stesso fenomeno (Capozzi et al., 2008, Rocchi et al., 2009).



**Figura 1.** Nuovi centromeri evolutivi (NC): riposizionamento del centromero in una regione cromosomica diversa senza alcun cambiamento nell'ordine dei marcatori (es. senza intervento di inversioni)

**Figure 1.** Evolutionarily new centromeres (NC). Evolutionarily New centromeres (centromere shifts) are centromeres found in a different genomic context without a change in marker order (i.e.no inversion)

## Prospettiva storica sui nuovi centromeri evolutivi nei Primati

La diversa posizione del centromero lungo un cromosoma è stata quasi sempre interpretata come il risultato di una inversione pericentrica o di riarrangiamenti complessi. Tuttavia, in uno studio sull'evoluzione dei cromosomi umani mediante la citogenetica classica (bandeggio dei cromosomi) in 60 specie di primati è stato definito, per la prima volta, il concetto di "traslocazione del centromero" come possibile meccanismo dell'evoluzione del cromosoma 11 in alcuni Cercopithecidae (Dutrillaux, 1979). Si è inoltre ipotizzato che in gruppi caratterizzati da un elevato numero diploide, a causa del verificarsi di fissioni non centromeriche, si acquisiscono nuovi centromeri. Più tardi, Clemente e colleghi (1990) ipotizzarono, studiando l'evoluzione dei cromosomi umani, che la differente posizione del centromero negli omologhi dei cromosomi umani 4, 6 e 10 non fosse risultato di inversioni, ma derivasse dall'attivazione ed inattivazione di nuovi centromeri.

L'avvento del painting comparativo di cromosomi o zoo-FISH (fluorescent *in-situ* hybridization) ha permesso la comparazione di genomi poco studiati, delineando l'omologia cromosomica a livello di DNA ed identificando le sintenie genomiche e i riarrangiamenti intercromosomici (Wienberg et al., 1990). Tale approccio ha permesso di acquisire una considerevole quantità di dati sui riarrangiamenti inter-cromosomici (traslocazioni, fissioni e fusioni) nei mammiferi, fornendo solo limitate informazioni sull'orientamento delle sintenie e sui riarrangiamenti intra-cromosomici come inversioni, duplicazioni e sul riposizionamento dei centromeri (Dumas et al., 2007). Tale limite viene superato mediante il mappaggio di sonde sub-cromosomiche, locus specifiche e di DNA clonato all'interno di vettori (Romagno et al., 2000, Ventura et al., 2004, Dumas e Sineo 2010).

### La rivelazione dei nuovi centromeri evolutivi: il mappaggio di sonde di DNA clonato

Sonde molecolari costituite da inserti di DNA in vettori come fagi, cosmidi, YAC (Yeast Artificial Chromosomes) e BACs (Bacterial Artificial Chromosomes) sono usate per identificare accuratamente i riarrangiamenti intra-cromosomici, i punti di rottura cromosomici (Muller et al., 2000), l'ordine dei marcatori nelle sintenie cromosomiche e i nuovi centromeri evolutivi (ENC) (Stanyon et al., 2008) Fig.2.

I nuovi centromeri evolutivi (ENC), come i neocentromeri, sono stati trovati in una nuova regione cromosomica funzionale senza che ciò influenzi in alcun modo l'ordine dei marcatori (es. BACs) e la loro formazione risulta essere sempre accompagnata dall'inattivazione di un vecchio centromero anche se è stato ipotizzato che per un certo tempo il vecchio e il nuovo centromero possono coesistere come polimorfismi.

Montefalcone *et al.* (1999) fu il primo a dimostrare in modo inequivocabile mediante FISH con sonde di DNA clonato l'esistenza del fenomeno del riposizionamento del centromero tracciando la storia evolutiva e filogenetica del cromosoma IX nei primati.

Da quel momento in poi nuovi centromeri evolutivi sono stati dimostrati mediante questo approccio in molti primati e in altri mammiferi (Ferreri et al., 2005, Cardone et al., 2006, Carbone et al., 2006, Kobayashi et al., 2008, Wade et al., 2009).



**Figura 2.** Ibridazione (FISH) con sonde di DNA clonato; in questo caso sonde BACs su metafasi di *Pongo pygmaeus* (PPY)

**Figure 2.** Hybridization (FISH) with cloned DNA; in this case BACs (Bacterial artificial chromosomes) on *Pongo pygmaeus* (PPY) metaphases

### **Nuovi centromeri evolutivi (ENC) nei Primati**

Molti nuovi centromeri evolutivi sono stati individuati studiando la storia evolutiva dei cromosomi umani nei primati (Stanyon e Bigoni, 2010, Rocchi et al., 2012): 3 (Ventura et al., 2004), 6 (Eder et al., 2003), 10 (Carbone et al., 2002), 11 (Cardone et al., 2007), 13 (Cardone et al., 2006), 14,15 (Ventura et al., 2003), 20 (Miscoe et al., 2005), X (ventura et al., 2001). Altri nuovi centromeri evolutivi sono stati identificati mediante il mappaggio di sonde BACs al fine definire l'ordine dei marcatori all'interno di specifici cromosomi nei primati (Stanyon et al., 2008, Rocchi et al., 2012).

Il caso più noto riguarda il cromosoma 2 dell'uomo che deriva dalla fusione di due cromosomi acrocentrici e dalla disattivazione di un centromero in posizione 2q21.1 (Yunish and Prakash 1982, Jauch et al. 1992, Avarello et al., 1992).

Particolare attenzione merita la sintenia cromosomica X in quanto nei mammiferi risulta uno dei cromosomi più conservati (Chowdhary et al., 1998) eccetto in alcune scimmie (Ventura et al., 2001); in questo contesto risultò strana l'ipotesi di Schempp et al. (1989) secondo cui il cromosoma X avesse subito qualche complesso riarrangiamento intracromosomico in *Saimiri sciureus*. Successivamente Dumas e colleghi (2007) ipotizzarono che il cromosoma X di *Saimiri sciureus* avesse subito o una inversione pericentrica o un riposizionamento del centromero. Rocchi e colleghi (2012) mediante il mappaggio di sonde BACs dimostrano l'occorrenza di un'inversione in concomitanza di uno "shift" del centromero nel cromosoma X di *Saimiri sciureus*.

Ventura e colleghi (2007) confrontando i cromosomi umani e di *Macaca* hanno dimostrato che il 50% dei cromosomi di *macaca* presenta nuovi centromeri evolutivi. In totale in *macaca* e uomo sono presenti 14 nuovi centromeri, nove nella scimmia del vecchio mondo e cinque in *Homo*, tutti costituiti da DNA satellite e duplicazioni pericentromeriche (presenti normalmente nei centromeri funzionali).

Persino a livello di popolazione è stato dimostrato, di recente, un polimorfismo sul cromosoma 9 di *Orango* frutto di un nuovo centromero evolutivo (Rocchi et al., 2012).

### **Relazione tra i Nuovi Centromeri Evolutivi e i Neocentromeri**

In ambito clinico sono stati descritti più di 100 casi di neocentromeri (Marshall et al. 2008) la cui apparizione è generalmente un evento secondario e opportunistico, concomitante al riarrangiamento che ha generato un frammento acrocentrico.

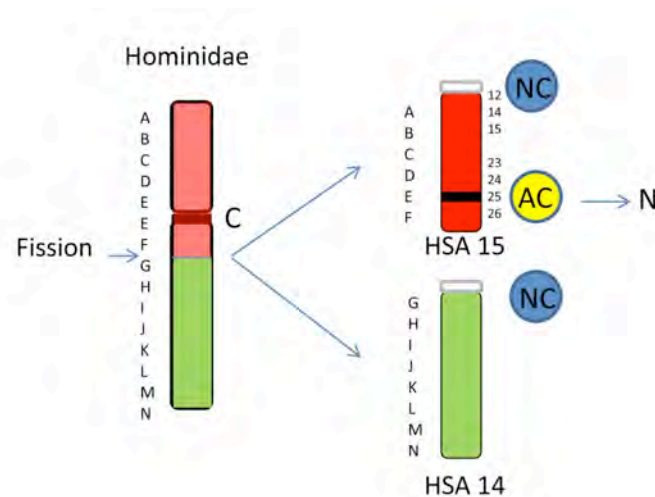
I neocentromeri sono centromeri ectopici, che si possono formare spontaneamente in regioni eucromatiniche del genoma umano prive di sequenze ripetute. La migrazione dei centromeri e l'esistenza dei neocentromeri umani al di fuori del DNA alfa-satellite sono un'evidenza del fatto che i centromeri sono determinati da un meccanismo epigenetico piuttosto che sequenza-specifico. I neocentromeri clinici tendono a raggrupparsi in "punti caldi" in determinati cromosomi come per esempio sul 3q, 8p, 13q, e 15q particolarmente prони a formare neocentromeri (Marshall et al., 2008, Ventura et al., 2004).

La conoscenza degli ENC, fornisce una buona spiegazione per l'inusuale "clustering" dei neocentromeri; lo studio della storia dei cromosomi umani ha permesso di identificare i nuovi centromeri evolutivi e nel caso dei cromosomi 3, 13 e 15 è stata dimostrata l'esistenza di una stretta correlazione tra la posizione dei nuovi centromeri evolutivi e i neocentromeri. In particolare nel caso del cromosoma 3 i neocentromeri si formano in un'area dove un nuovo centromero evolutivo si è formato nelle Catarrhinae (3q26). Lo stesso dicasi per il cromosoma 13 dove i neocentromeri si formano in corrispondenza del nuovo centromero evolutivo formatosi nel braccio lungo dell'omologo del cromosoma 13 nelle Catarrhinae (13q12). Nel caso del cromosoma 15, in posizione q24-26, dove si riscontrano tutti i casi di neocentromeri clinici è presente la regione dominio di un centromero ancestrale inattivato (Fig. 3).

Un caso di nuovo centromero funzionale è stato identificato durante uno "screening prenatale" in 6 individui di una famiglia, nel corso di tre generazioni, in posizione 6p22. Lo studio della storia evolutiva del cromosoma 6 ha permesso di dimostrare che 17 milioni di anni fa, il dominio 6p22, fosse la normale posizione del centromero (Capozzi et al., 2009).

Questi studi dimostrano che i nuovi centromeri evolutivi non sono rari e devono essere considerati alla stregua dei riarrangiamenti tradizionali (inversioni, traslocazioni, delezioni ed inserzioni) come meccanismi responsabili dell'evoluzione cromosomica.

La citogenetica molecolare fornisce gli strumenti necessari per l'identificazione dei nuovi centromeri evolutivi non individuabili mediante il sequenziamento "shot-gun" di DNA (Rocchi et al., 2009). Infatti le tecniche di sequenziamento presentano dei limiti, nell'assemblaggio nei cromosomi delle sequenze e nell'identificare i centromeri; tale limite può essere superato solo attraverso l'implementazione dei metodi della citogenetica.



**Figura 3.** Storia evolutiva dei cromosomi 14 e 15 dell'uomo mediante il mappaggio di sonde BAC (marcatori rappresentati con le lettere A-N) e relazione tra neocentromeri e nuovi centromeri evolutivi. I cromosomi 14 e 15 derivano dalla fissione di un cromosoma ancestrale presente nel comune antenato degli Hominidae (umani e grandi scimmie). Il mappaggio delle sonde BAC indica che l'ordine dei marcatori è conservato in *macaca* e nei due cromosomi umani. La fissione è avvenuta nella regione tra il marcatore F e G (Ventura et al., 2003). Si formano due nuovi centromeri: uno nella regione telomerica del cromosoma 15, l'altro in corrispondenza del punto di fissione sul cromosoma 14. Il centromero ancestrale mappa in corrispondenza dell'apparente suddivisione del marcatore E. In corrispondenza del centromero ancestrale 15q24-26 si riscontrano i neocentromeri umani. C= centromero; AC=centromero ancestrale; NC= nuovo centromero; N=Neocentromeri clinici

**Figure 3.** Evolutionary history of human chromosomes 14 and 15 by mapping BAC probes (markers A-N) and relationship between neocentromere and new evolutionary centromeres. Human chromosomes 15 and 14 derive from the fission of an ancestral chromosome in the hominidae ancestor (humans and great apes). The mapping of the BACs probes shows that the marker order is perfectly conserved in *Macaca* and on the two human chromosomes. The fission occurred in the region between markers F and G (Ventura et al., 2003). Two novel centromeres emerged: one on the telomeric region of chromosome 15 and the second in correspondence to the fission point on the chromosome 14. The ancestral chromosome is signed by the apparent split of marker E. Human neocentromeres cluster overlapping the ancestral centromeres (15q24-26). C=centromeres; AC= ancestral centromeres; NC= new centromeres; N=clinical neocentromere.

### Bibliografia

- Avarello, R., Pedicini, A., Caiulo, A., Zuffardi, O., Fraccaro M., 1992, Evidence for an ancestral alphoid domain on the long arm of human chromosome 2. *Human genet*, 89; (2) 335-339.
- Capozzi, O., Purgato, S., D'Addabbo, P., Archidiacono, N., Battaglia, P., Baroncini, A. Capucci A e Stanyon, R., 2009, Evolutionary descent of a human chromosome 6 neocentromere: a jump back to 17 million years ago. *Genome Res* 19: 778–784.
- Capozzi, O., Purgato, S., Verdun di Cantogno, L., Grosso, E., Ciccone, R., Zuffardi, O. della Valle G., e Rocchi, M., 2008, Evolutionary and clinical neocentromeres: two faces of the same coin? *Chromosoma* 117: 339–344.
- Carbone, L., Ventura, M., Tempesta, S., Rocchi, M., Archidiacono, N. Evolutionary history of chromosome 10 in primates. *Chromosoma* (2002) 111:267–272

- Carbone, L., Nergadze, SG., Magnani, E., Misceo, D., Francesca Cardone, M, Roberto, R, Bertoni, Attolini C, Francesca Piras M., de jong P., Raudsepp T., Chowdhary BP, Guerin G., Archidiacono, N., Rocchi, M., e Giulotto E., 2006, Evolutionary movement of centromeres in horse, donkey, and zebra. *Genomics* 87: 777–782.
- Cardone, MF., Alonso, A., Paziienza M., Ventura, M., Montemurro, G., Carbone, L., de jong P, Stanyon, R., D’Addabbo, P., Archidiacono, N., She, X., Eichler EE, Warburton PE, Rocchi, M., 2006, Independent centromere formation in a capricious, gene-free domain of chromosome 13q21 in old world monkeys and pigs. *Genome Biol* 7: R91.
- Cardone, MF., Lomiento, M., Teti, MG., Misceo, D., Roberto, R., Capozzi, O., D’Addabbo, P., Ventura, M., Rocchi, M., Archidiacono, N., 2007, Evolutionary history of chromosome 11 featuring four distinct centromere repositioning events in Catarrhini. *Genomics* 90:35-43.
- Chowdhary, BP., Raudsepp, T., Fronicke, L., e Scherthan, H., 1998, Emerging patterns of comparative genome organization in some mammalian species as revealed by Zoo-FISH. *Genome Res* 8: 577–589.
- Clemente, IC., Ponsa, M., Garcia, M., e Egozcue, J., 1990, Evolution of the Simiiformes and the phylogeny of human chromosomes. *Hum Genet* 84: 493–506.
- Dumas, F., Stanyon, R., Sineo, L., Stone, G., e Bigoni, F., 2007, Phylogenomics of species from four genera of new world monkeys by flow sorting and reciprocal chromosome painting. *BMC Evol Biol* 7(Suppl 2): S11
- Dumas, F., Sineo, L., 2010, Chromosomal dynamics in Cercopithecini studied by Williams Beuren probe mapping. *Caryologia* 3, 4:435-442.
- Dutrillaux, B., 1979, Chromosomal evolution in primates: tentative phylogeny from *Microcebus murinus* (Prosimian) to man. *Hum Genet* 48: 251–314.
- Eder, V., Ventura, M., Ianigro, M., Teti, M., Rocchi, M., e Archidiacono, N., 2003, Chromosome 6 phylogeny in primates and centromere repositioning. *Mol Biol Evol* 20: 1506–1512.
- Ferreri, GC., Liscinsky, DM., Mack, JA., Eldridge, MD., e O’Neill, RJ., 2005, Retention of latent centromeres in the mammalian genome. *J Hered* 96: 217–224.
- Kobayashi, T., Yamada, F., Hashimoto, T., Abe, S., Matsuda, Y., e Kuroiwa, A., 2008, Centromere repositioning in the X chromosome of XO/XO mammals, Ryukyu spiny rat. *Chromosome Res* 16: 587–593.
- Jauch, A., Wienberg, J., Stanyon, R., Arnold, N., Tofanelli, S., Ishida, T., e Cremer, T., 1992, Reconstruction of genomic rearrangements in great apes and gibbons by chromosome painting. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 8611–8615.
- Marshall, O.J., Chueh, AC, Wong, LH., e Choo, KH., 2008, Neocentromeres: new insights into centromere structure, disease development, and karyotype evolution. *Am J Hum Genet*, 2008. 82(2): p.261-82.
- Misceo D, Cardone MF, Carbone L, D’Addabbo P, de Jong PJ, Rocchi M., e Archidiacono, N., 2005, Evolutionary history of chromosome 20. *Mol Biol Evol* 22: 360–366.
- Montefalcone, G., Tempesta, S., Rocchi, M., e Archidiacono, N., 1999, Centromere repositioning. *Genome Res* 9: 1184–1188.
- Rocchi, M., Stanyon, R. e Archidiacono, N., 2009, Evolutionary new Centromere in Primates. *Prog Mol Subcell Biol.*;48:103-52.
- Rocchi, M., Archidiacono, N., Schempp, W., Capozzi, O., e Stanyon, R., 2012. Centromere repositioning in mammals. *Heredity* 108: 59-67.
- Romagnolo, D., Chiarelli, B., Guarducci, S., Giovannucci-Uzielli, ML., e Sineo, L., 2000, chromosome mapping of GABRB3 and PML loci in *Macaca* and *Cercopithecus* indicates the mechanism of evolution of human chromosome 15. *Chromosome Res* 8:747–749.
- Schempp, W., Weber, B., e Muller, G., 1989, Mammalian sex-chromosome evolution: a conserved homoeologous segment on the X and Y chromosomes in primates. *Cytogenet Cell Genet* 50: 201–205.
- Stanyon, R., e Bigoni, F., 2010, Primate chromosome evolution: with reference to marker order and Neocentromeres. *Russian journal of genetics* 46: 1087-1093.
- Stanyon, R, Rocchi, M, Capozzi, O, Roberto, R, Misceo, D, Ventura, M, Cardone, MF, Bigoni, F e Archidiacono, N, 2008, Primate chromosome evolution: Ancestral karyotypes, marker order and neocentromeres. *Chromosome Research*, 16:17-39.

- Ventura, M., Antonacci, F., Cardone, MF., Stanyon, R., D'Addabbo, P., Cellamare, A., Sprague, LJ., Eichler, EE., Archidiacono, N., e Rocchi, M, 2007, Evolutionary formation of new centromeres in macaque. *Science* 316: 243–246.
- Ventura, M., Archidiacono, N., e Rocchi, M., 2001, Centromere emergence in evolution. *Genome Res* 11: 595–599.
- Ventura M, Mudge JM, Palumbo V, Burn S, Blennow E, Pierluigi M, Giorda, R., Zuffardi, O., Archidiacono, N., Jackoson, MS., e Rocchi M., 2003. Neocentromeres in 15q24-26 map to duplicons which flanked an ancestral centromeres in 15q25. *Genome Res* 13: 2059–2068.
- Ventura, M., Weigl, S., Carbone, L., Cardone, MF., Misceo, D., Teti, M. D'Addabbo, P., Wandall, A., Björck, E., de Jong, PJ., She, X., Eichler, EE., Archidiacono, N., e Rocchi, M., 2004, Recurrent sites for new centromere seeding. *Genome Res* 14: 1696–1703.
- Villasante, A., J.P. Abad, e Mendez-Lago, M., 2007, Centromeres were derived from telomeres during the evolution of the eukaryotic chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 104(25): p. 10542-7.
- Wade, CM., Giulotto, E., Sigurdsson, S., Zoli, M., Gnerre, S., Immsland, F., Lear, TL., Adelson, DL., Bailey, E., Bellone, RR., Blöcker, H., Distl, O., Edgar, RC., Garber, M., Leeb, T., Mauceli, E., MacLeod, JN., Penedo, MC., Raison, JM., Sharpe, T., Vogel, J., Andersson, L., Antczak, DF., Biagi, T., Binns, MM., Chowdhary, BP., Coleman, SJ., Della Valle, G., Fryc, S., Guérin, G., Hasegawa, T., Hill, EW., Jurka, J., Kiiialainen, A., Lindgren, G., Liu, J., Magnani, E., Mickelson, JR., Murray, J., Nergadze, SG., Onofrio, R., Pedroni, S., Piras, MF., Raudsepp, T., Rocchi, M., Røed, KH., Ryder, OA., Searle, S., Skow, L., Swinburne, JE., Syvänen, AC., Tozaki, T., Valberg, SJ., Vaudin, M., White, JR., e Zody, MC., 2009, Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science* 326: 865–867.
- Wienberg, J., Jauch, A., Stanyon, R., e Cremer, T., 1990, Molecular cytogenetics of primates by chromosomal in situ suppression hybridization. *Genomics* 8: 347–350.
- Yunis, J.J. and Prakash, O., 1982, The origin of man: A chromosomal pictorial legacy. *Science* 215: 1525–1530.