



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea  
SCIENZE BIOLOGICHE**

Il DNA satellite e il suo coinvolgimento nell'evoluzione nei cromosomi sessuali dei lacertidi

Satellite DNA and its involvement in the evolution of the lacertidae sex chromosomes

Tesi di Laurea di:

Giulia Cannelonga

Docente Referente

Chiar.mo Prof. Vincenzo Caputo Barucchi

Sessione febbraio 2020


Anno Accademico 2018/2019

# IL DNA SATELLITE E IL SUO COINVOLGIMENTO NELL'EVOLUZIONE NEI CROMOSOMI SESSUALI DEI *LACERTIDI*

*Studente: Giulia Cannelonga*

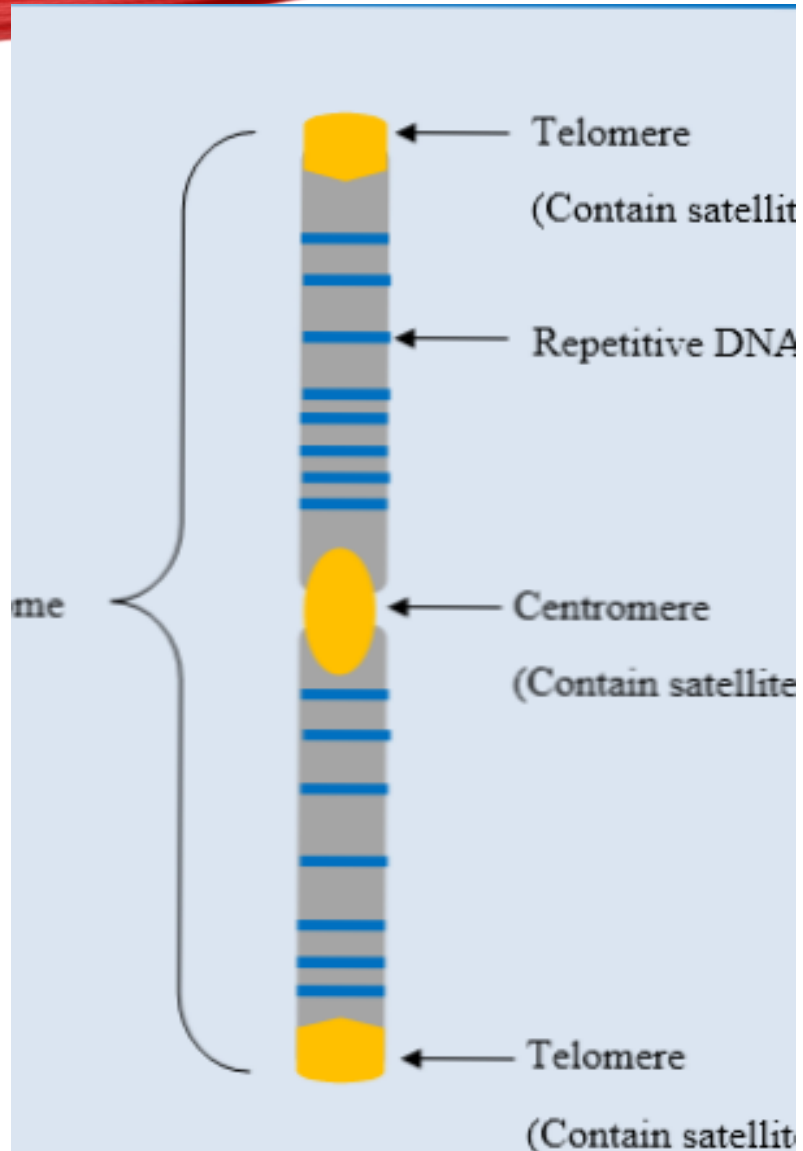
*Relatore: Prof. Vincenzo Caputo Barucchi*





In questo articolo è stato studiato il DNA satellite IMO-Taql, isolandolo e caratterizzandolo da 4 specie di *Lacerta* e 3 di *Timon*. Lo scopo è stato quello di ottenere ulteriori approfondimenti sulle dinamiche evolutive di questo satDNA, e capire se giochi un ruolo nell'evoluzione dei cromosomi sessuali in queste sette specie.

# STRUTTURA ED EVOLUZIONE DNA SATELLITE



I DNA satellite sono sequenze ripetute in tandem altamente organizzate situate nell'eterocromatina costitutiva in posizioni cromosomiche centromeriche, pericentromeriche e / o subtelomeriche.

Il termine "**DNA satellite**" deriva da esperimenti in cui si utilizzava una centrifugazione a gradiente sul DNA, che ha permesso di isolare, grazie al diverso contenuto in A + T, delle bande satelliti.

# Inizialmente definito **DNA «spazzatura»**

Fu osservata per la prima volta **l'attività trascrizionale**.

Furono attribuiti altri ruoli:

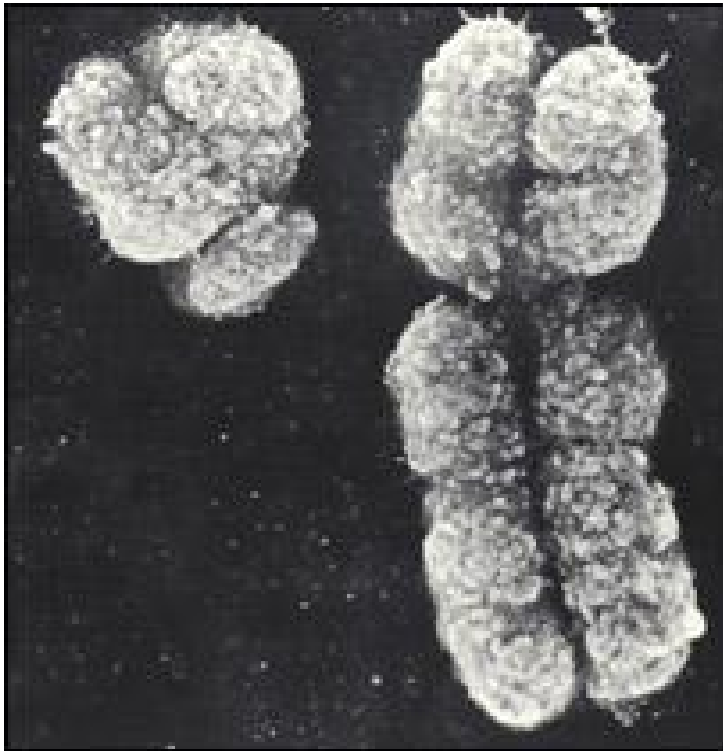
- organizzazione, associazione e segregazione dei cromosomi,

Le trascrizioni di DNA satellite possono essere coinvolte in:

- Assemblaggio del cinetocore
- controllo dell'allungamento dei telomeri,
- regolazione epigenetica dell'istituzione e del mantenimento dell'eterocromatina,

Uno tra i ruoli più importanti che gli è stato attribuito è la sua probabile presenza nelle sequenze telomeriche dei cromosomi sessuali negli animali, la quale permette il loro riconoscimento.

# ORIGINE ED EVOLUZIONE DEI CROMOSOMI SESSUALI



-Sono nati dalla duplicazione dello stesso cromosoma autosomico.

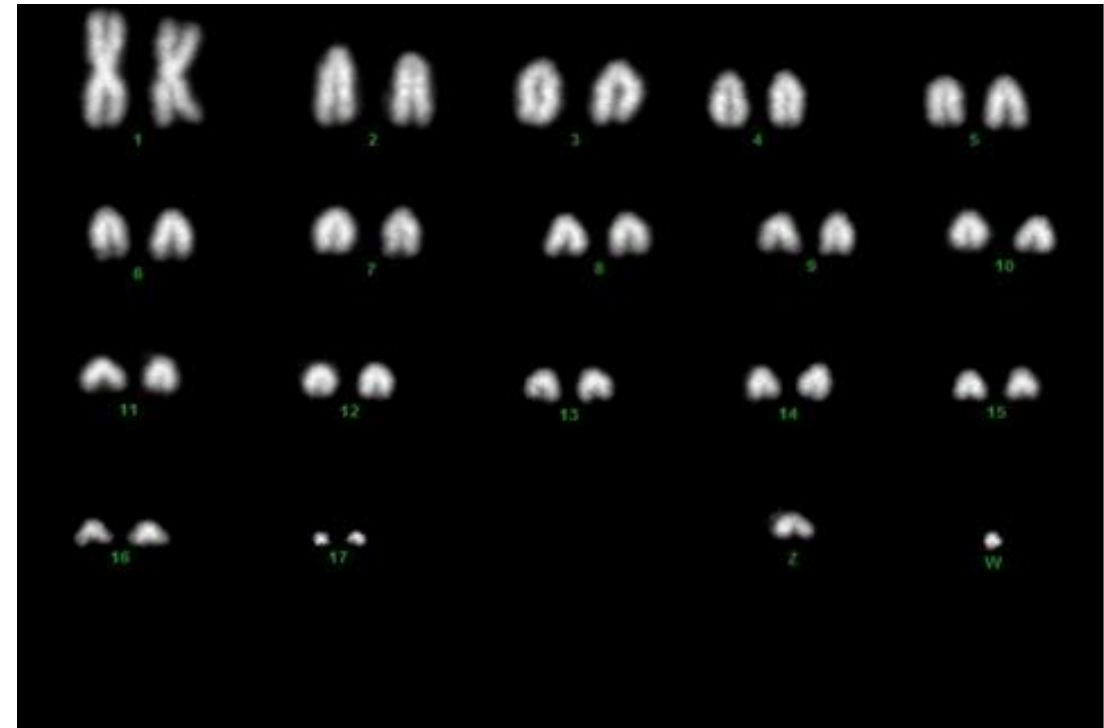
-Durante l'evoluzione del cromosoma Y, questo per una particolare regione contenente il gene **SRY**, smette di ricombinare con il cromosoma X.

-Il segmento divergente contenente il gene diventa sempre più grande e il cromosoma Y raggiunge lo stadio di determinazione cromosomica del sesso ,in cui è completamente diverso dal cromosoma X

# CARIOTIPO NEI LACERTIDI CON CROMOSOMI SESSUALI DI TIPO ZZ/ZW



Cariotipo DAPI di *Lacerta agilis* femmina



Cariotipo DAPI di *Timon lepidus* femmina.



PER SPIEGARE IL FENOMENO DELLA SOPPRESSIONE DELLA  
RICOMBINAZIONE E DELLA DEGENERAZIONE DEL  
CROMOSOMA ETEROGAMETICO CI SONO DUE IPOTESI :

-Presenza di geni sessualmente antagonisti, ossia loci con varianti alleliche che sono favorite in un sesso ma non in un altro.


-Accumulo di **DNA «spazzatura»(DNA satellite)**.



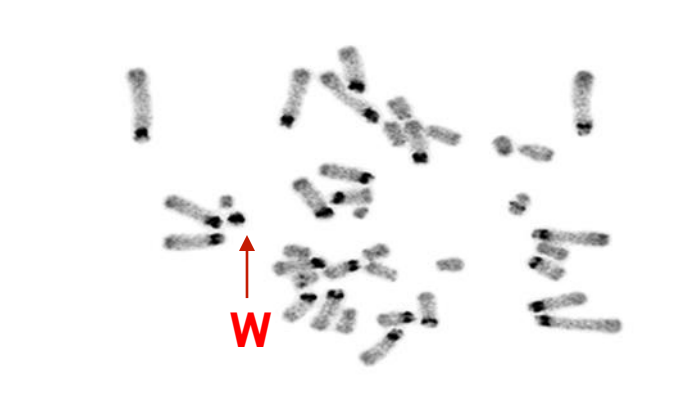
Specie studiate, tipo cellulare usato nelle colture per ottenere cromosomi metafasici, sesso e numero degli individui utilizzati per lo studio.

Specie	Tipo di coltura	Individui
<b>Lacerta agilis</b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>
<b>Lacerta bilineata</b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>
<b>Lacerta strigata</b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>
<b>Lacerta trilineata</b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♀</b>
<b>Timon lepidus</b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>
<b><i>Timon pater</i></b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>
<b><i>Timon tangitanus</i></b>	<b>fibroblasti</b>	<b>1 ♂ e 1 ♀</b>

# MATERIALI E METODI

1. Colture cellulari da fibroblasti.
  2. Preparazione cromosomi metafasici da fibroblasti.
  3. Bandeggio C (DAPI o Giesma).
  4. Fluorescence in situ hybridization (FISH).
1. Estrazione DNA genomico.
  2. Digestione DNA genomico con TaqI.
  3. Clonaggio del DNA satellite TaqI e sequenziamento dei cloni ottenuti.
  4. Analisi della variabilità genetica, delle relazioni filogenetiche.
- 

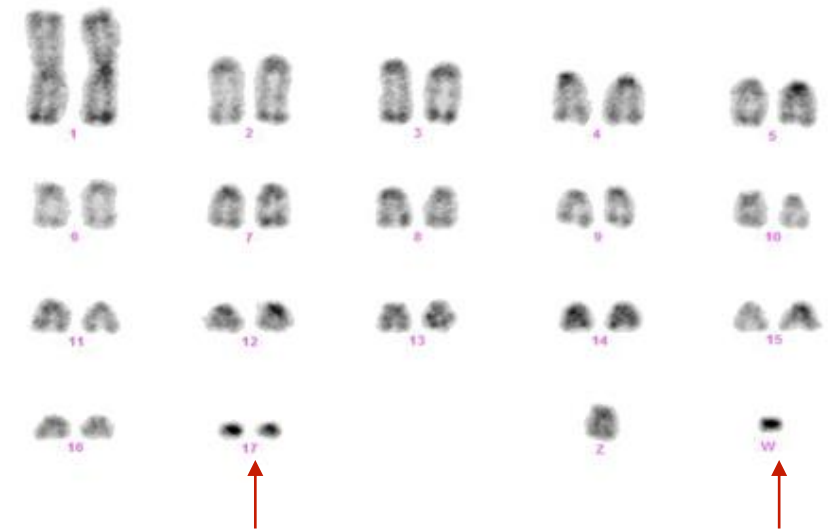
# RISULTATI-BANDEGGIO C



Metafase con bandeggio C di *Lacerta strigata* femmina.

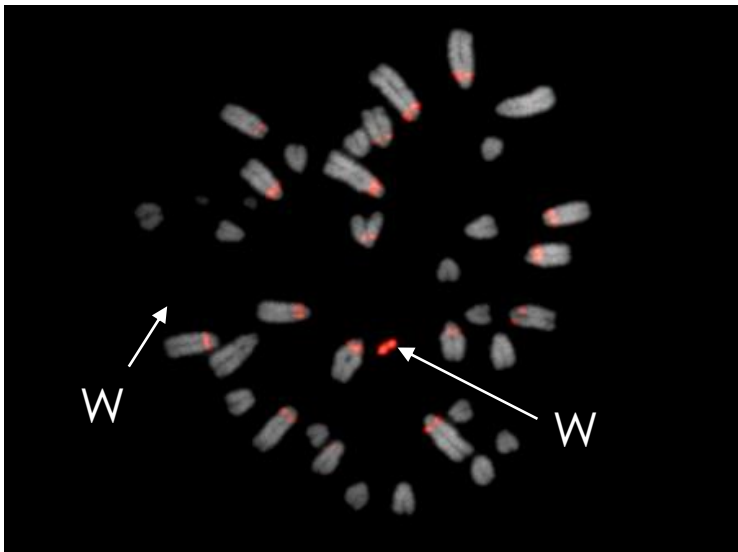


Metafase con bandeggio C di *Lacerta strigata* maschio.

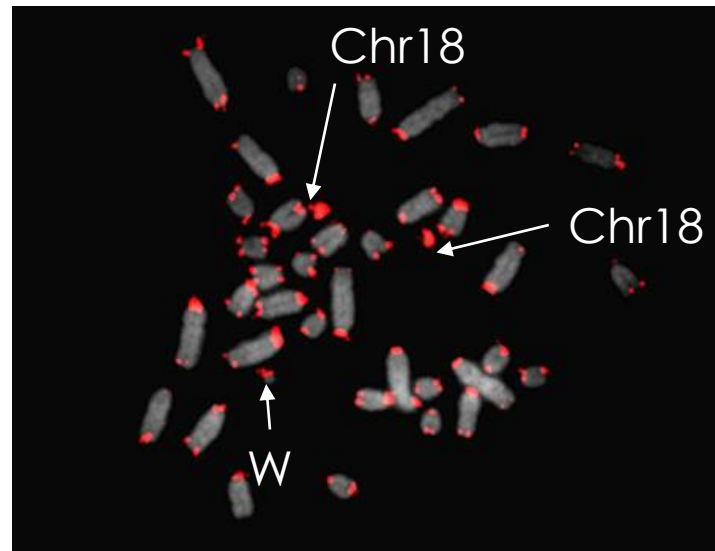


Cariotipo con bandeggio C di *Timon lepidus* femmina.

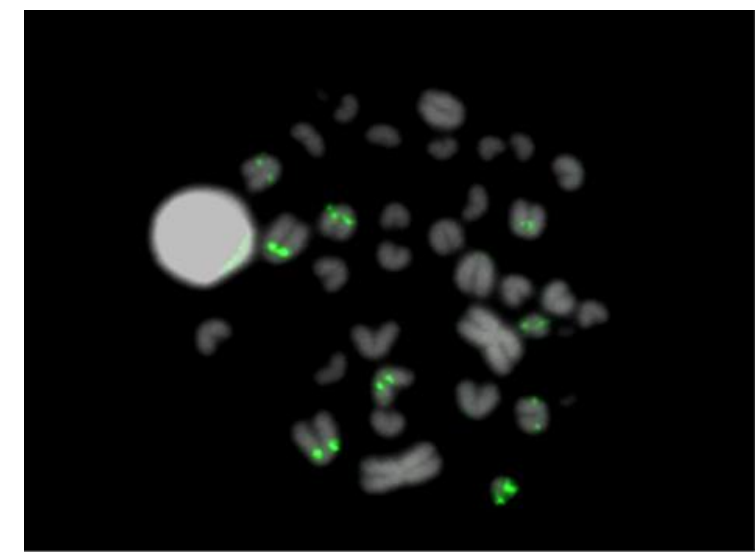
# RISULTATI-FISH (FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION



FISH condotta tramite sonda  
TaqI su metafase di *L. bilineata*  
femmina.



FISH condotta tramite sonda  
telomerica su metafase di *L.*  
*bilineata* femmina.



FISH condotta con sonda  
TaqI su metafase di *T. lepidus*  
femmina.

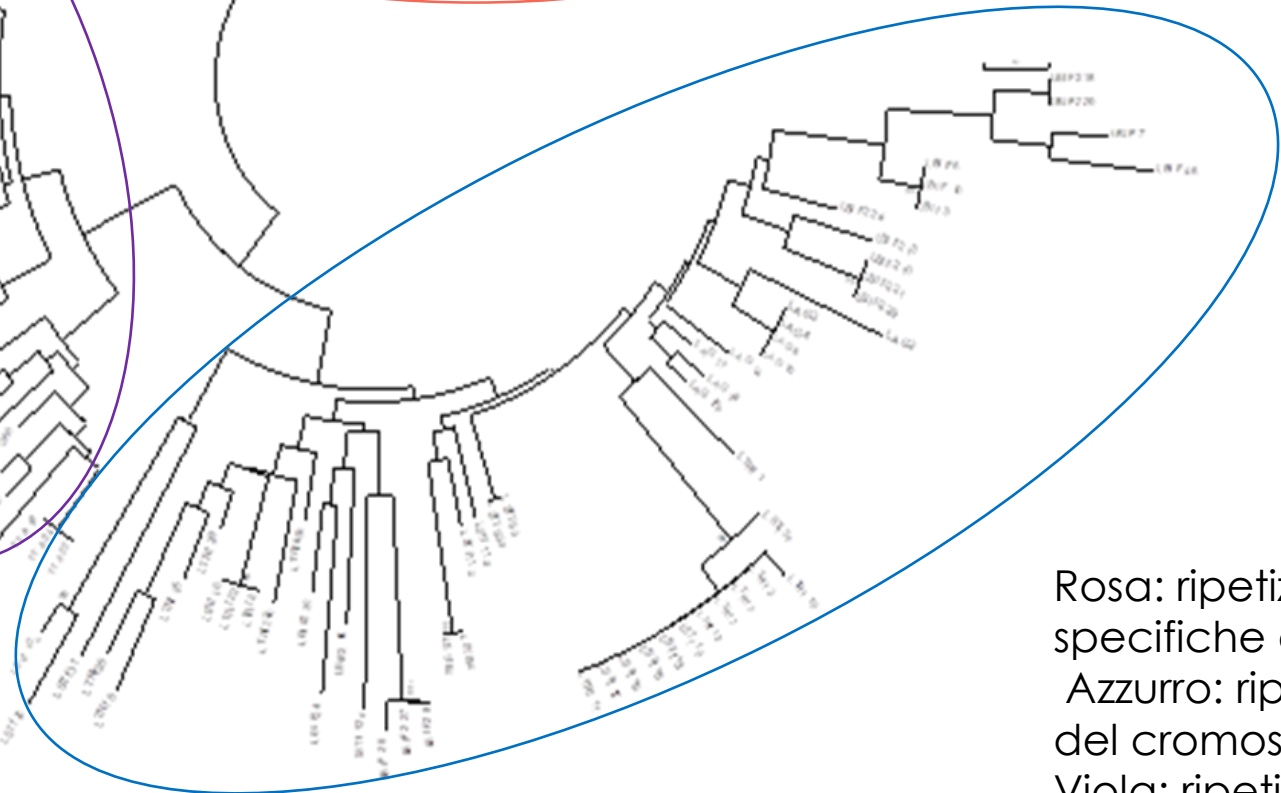
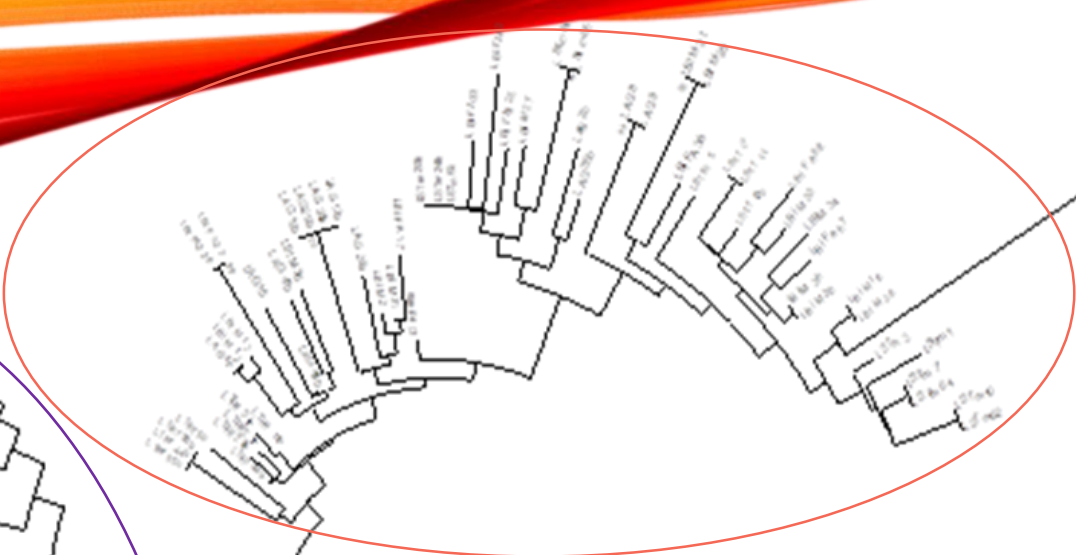
all	NCGAGGCCTGATTTCCTTTCCINTGATNAAAAAACCTTCTGTTCACCGCCAAATCTTC	60
TIM	-C.....T.....A..-TT.....C.C...C.....	58
W	NT.....C.....G..-AT.....T.A...G.....	59
A	-C.....C.....T..ATG.....T.A...C.....	59
all	CAGGGGAGTTNTGGCAACAGTTTGGCACCATTTTTGANGNAAATTGGAGAACGTCAGATT	120
TIM	.AGGG..G.TC.TG...C.G.....AG-TG.....	117
W	.AGGG..A.TG.GC...C.G.....NAGAA.....	119
A	.TTCA..G.CT.GG...A.T.....AG-GA.....	118
all	TTTGGTGAAATTCTGACCGCGNGGGGTTAGGATTTTTTCAAAAAANNNTTTT	180
TIM	....A.....C..G...-.....A.....ANNN....TCCG..	176
W	....G.....G..C...-.....N.....-TNN....TCNG..	177
A	....G.....G..C...N.....A.....AGTT....CNNN..	178
all	GGTNAAGTTGTNGN	194
TIM	G..T..G....C.-	189
W	A..A..G....N.-	190
A	G..C..C....N.N	192

Sequenze consenso di ripetizioni IMO-Taql satDNA (tutti) ottenute allineando le sequenze consenso di Timon (TIM), W-specifica (W), e ripetizioni autosomiche specifiche (A) di Lacerta. Evidenziato in giallo: tratti di A / T che caratterizzano le ripetizioni.

Lacerta A



Timon



Lacerta W

Albero ML che raffigura le **relazioni filogenetiche** tra ripetizioni satDNA IMO-Taql isolate da tre specie di Timon e quattro specie di Lacerta.

Rosa: ripetizioni autosomiche specifiche di *Lacerta*;  
Azzurro: ripetizioni specifiche del cromosoma *Lacerta W*;  
Viola: ripetizioni di *Timon*

# CONCLUSIONI

1) Il satellite TaqI è ampiamente rappresentato nel genoma dei *Lacertidi*, ed è stato isolato in 4 specie di *Lacerta* (*L.agilis*, *L.strigata*, *L.bilineata*, *L.trilineata*) e in 3 specie di *Timon* (*T.lepidus*, *T.pater*, *T.tangitanus*)



**Evidenziata una forte conservazione del satellite, attribuita al suo basso tasso di evoluzione, che potrebbe essere collegato alla sua localizzazione e distribuzione cromosomica.**

# CONCLUSIONI

2) Soltanto in quattro specie del genere *Lacerta* la sonda fluorescente del satellite TaqI ha prodotto un segnale molto forte sul cromosoma sessuale W.

Il segnale è invece assente in altre specie del genere *Lacerta* mentre questo satellite appare solo negli autosomi di tre specie di *Timon* studiate (*T. lepidus*, *T. pater*, *T. tangitanus*) e in *Iberolacerta*.



**Sembra quindi che in queste specie di *Lacerta*, il DNA satellite TaqI sia coinvolto nella differenziazione per eterocromatizzazione del cromosoma sessuale W.**