

# Evolucija kariotipa sisavaca

---

Jurković, Sven

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:023896>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

**Evolucija kariotipa sisavaca  
(Mammalian karyotype evolution)**

**SEMINARSKI RAD**

**Sven Jurković**

**Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)**

**Mentor:  
Prof. dr. sc. Mirjana Pavlica**

**Zagreb, 2009.**

## SADRŽAJ

<b>1. Uvod.....</b>	<b>2</b>
<b>2. Metode analize kariotipa i njihov razvoj .....</b>	<b>4</b>
<b>3. Očuvanje genoma među organizmima.....</b>	<b>6</b>
<b>4. Mehanizmi evolucije kariotipa.....</b>	<b>7</b>
<b>5. Pregled evolucije kariotipa sisavaca.....</b>	<b>9</b>
5.1. Kariotip nadredova sisavaca.....	11
5.2. Kariotip primata.....	13
5.3. Kariotip zvijeri.....	15
5.3. Kariotip reda Cetartiodactyla.....	17
5.4. Kariotip glodavaca.....	18
5.5. Kariotip pretka svih kralježnjaka.....	19
<b>6. Zaključak.....</b>	<b>20</b>
<b>7. Literatura.....</b>	<b>21</b>
<b>8. Sažetak.....</b>	<b>24</b>
<b>9. Summary.....</b>	<b>25</b>

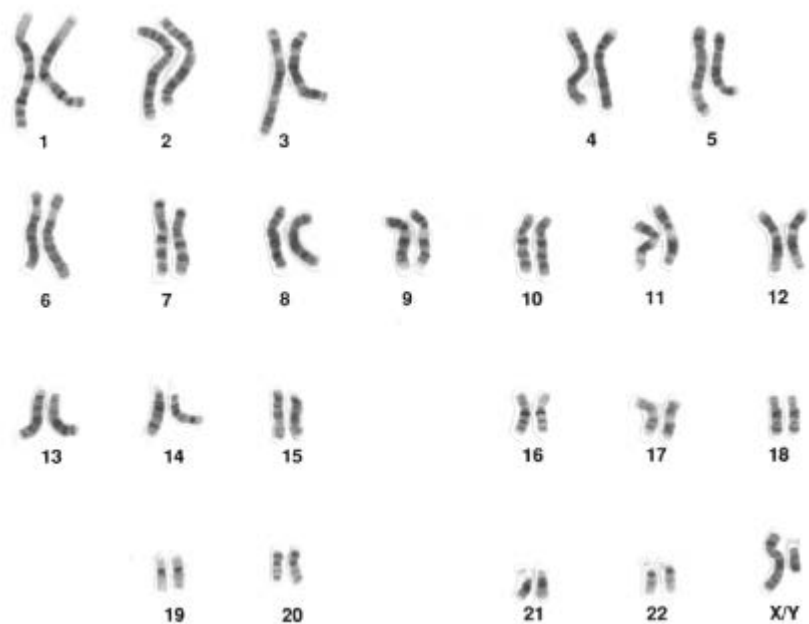
## 1. Uvod

Kariotip prikazuje broj, veličinu i izgled kromosoma izoliranih iz jedne stanice jedinke. Broj kromosoma u somatskim stanicama jedinke, odnosno vrste obilježava se sa  $2n$ . Kod čovjeka taj broj je  $2n = 46$ . U spolnim stanicama broj kromosoma iznosi  $n$ , znači kod čovjeka to je  $n = 23$ .

Dakle, u normalnom diploidnom organizmu, autosomalni kromosomi su prisutni u dvije kopije. Poliploidne stanice imaju višestruke kopije kromosoma, dok haploidne stanice sadrže samo jednu kopiju.

Proučavanje čitavog seta kromosoma se ponekad naziva i **kariologija**. Kromosomi su prikazani u standardnom obliku poznatom kao **kariogram** ili **idiogram** (Slika 1.) u parovima, poredani po određenim obilježjima. Obično se prilikom proučavanja kromosoma prati i uspoređuje šest karakteristika:

1. apsolutna veličina kromosoma koja odražava nejednaku duplikaciju DNA
2. pozicija centromere
3. relativna veličina kromosoma uzrokovana izmjenama segmenata nejednake veličine
4. razlika u broju kromosoma
5. broj i položaj satelita koji predstavljaju male čestice uz kromosome
6. stupanj pakiranja i distribucija heterokromatinskih regija koje se uglavnom sastoje od genetički inaktivnih repetitivnih DNA sekvenci



Slika 1. Kariogram čovjeka dobiven Giemsa bojanjem

Kariotipovi se mogu koristiti za mnoge svrhe, kao što su npr. proučavanje kromosomskih aberacija, brojnih staničnih funkcija, taksonomskih veza među organizmima i sakupljanje informacija oko evolucijskih procesa u prošlosti. Pored analize kromosoma odnosno kariotipova, za takva istraživanja koriste se mapiranje i sekvenciranje gena.

Moderna citogenetička istraživanja su brojnim korisnim informacijama doprinjela razlučivanju evolucijskih veza između brojnih vrsta sisavaca. Međutim, njihova upotreba u filogenomici nije uvijek u potpunosti prihvatljiva zbog poteškoća u sakupljanju konvencionalnih i molekularno-citogenetičkih informacija za filogenetsku analizu. Zato ih neki evolucijski biolozi ne smatraju pogodnima (Dobigny i sur., 2004).

Svaka vrsta ima specifičan kariotip. Zato je ovdje cilj, uspoređujući kromosome različitih vrsta sisavaca, saznati ne samo o evoluciji njihovog kariotipa, već i o mehanizmima koji su uključeni u takve procese, njihovom značaju u specijaciji vrsta te o genetičkim faktorima koji omogućuju razlikovanje blisko srodnih organizama. Također, postoji važnost u očuvanju brojnih sekvenci u genomu i kako varijacije u tim očuvanim sekvencama mogu dovesti do modifikacija u razvoju organizama. Analizama tih

varijacija, mogu se utvrditi evolucijski odnosi unutar sisavaca i njihovo podrijetlo od zajedničkog pretka u prošlosti.

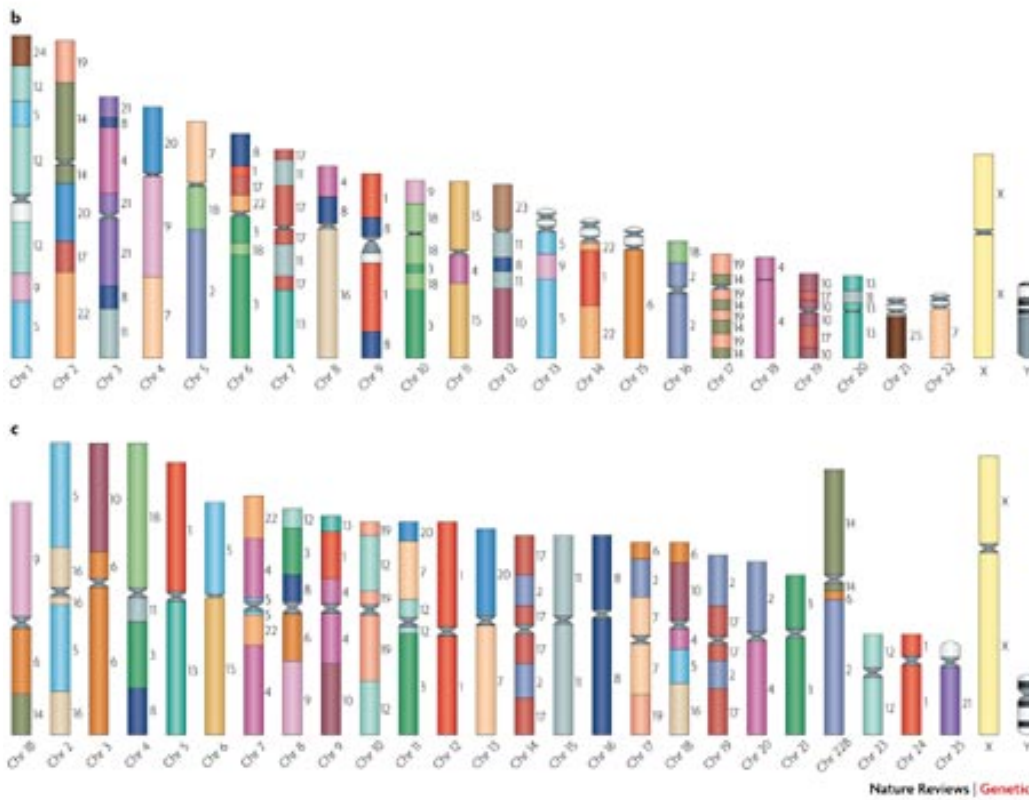
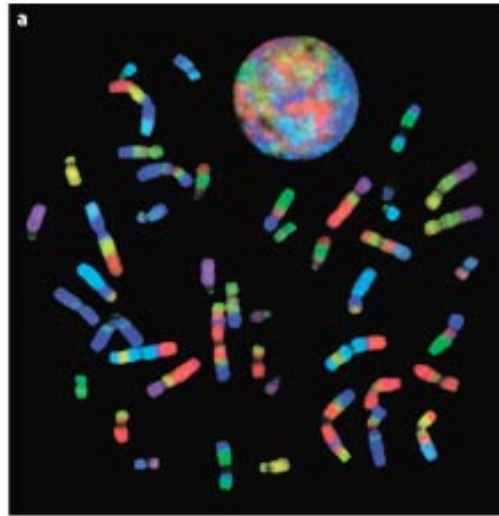
## **2. Metode analize kariotipa i njihov razvoj**

Začetak moderne citogenetike možemo smatrati otkrićem da je broj kromosoma čovjeka  $2n = 46$  1950-ih godina uzgajanjem tkiva dvaju embrija u kulturi *in vitro* (Tjio i Levan, 1956). Nakon toga, proučavani su brojevi kromosoma kod primata, a kasnije i kod drugih vrsta sisavaca. Istraživanja su pokazala da su broj i morfologija kromosoma karakteristični za pojedinu vrstu, dok filogenetski bliske vrste imaju slične kariotipove.

Različite regije homologije među vrstama postale su očitije upotrebom metode kromosomskog pruganja 1970-ih godina (Seabright, 1971). Danas je najraširenija metoda G-pruganja u kojoj koristimo boju Giemsa te se kromosomi razgrađuju tripsinom. Ona daje serije svjetlih i tamnih pruga, od kojih tamne pruge predstavljaju heterokromatinske, a svjetlije eukromatinske regije. Reverzna metoda od G-pruganja je R-pruganje u kojoj su tamne regije eukromatinske, a svjetlije heterokromatinske.

Preostale tri vrste kromosomskog pruganja su: C-pruganje u kojem se Giemsa veže za konstitutivni heterokromatin pa se boje centromere, Q-pruganje koje koristi fluorescenciju i T-pruganje koje vizualizira telomere.

Nova metoda koja je omogućila lakše uočavanje regija homologije bila je fluorescencijska hibridizacija *in situ* (FISH) u kojoj se kromosomska DNA čovjeka obilježena biotinom hibridizirala s DNA različitih primata, a vizualizirala se na temelju fluoresceina konjugiranog s avidinom (Wienberg i sur., 1990). Danas se ta metoda još zove i kromosomsko bojanje i vrši se tako što se iz ciljanih kromosoma, koji su sortirani protočnim citometrom, umnoženi PCR-om te označeni različitim fluorokromom izolira specifična kromosomska DNA. Takve preparacije se hibridiziraju s humanim metafaznim kromosomima, a do spajanja dolazi na regijama homologije. Na kraju, rezultati se detektiraju fluorescencijom (Slika 2.a). Ova tehnika se koristi za izradu komparativnih kromosomskih mapa homologije (Slika 2. b, c). Metoda je vrlo korisna za proučavanje kompleksnih kromosomskih aberacija i evolucije kariotipa pojedinih vrsta (Ferguson-Smith, 1997).



Slika 2.a – Metafazna ploča humanih kromosoma nakon tehnike FISH-a, b i c – Komparativne kromosomske mape homologije čovjeka i gibona (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)

Određivanje točnih preraspodjela kromosoma se utvrđuje metodom FISH-a s BAC mapiranjem. BAC-ovi (engleski Bacterial artificial chromosome) su klonovi dobiveni kloniranjem fragmenata DNA od oko 150 kb te mogu poslužiti kao pozicijski markeri duž kromosoma. Kad sadrže fragment nekog gena, pomažu u spajanju lokusa tog gena s njegovom regijom na kromosomu metodom FISH-a. BAC mapiranje je vrlo korisno za usporedbu kromosoma placentalnih sisavaca s ostalim sisavcima i kralježnjacima. Usporedbom X kromosoma australskog kljunaša sa Z kromosomima pileta i autosomima čovjeka, pronađene su određene homologije (Rens i sur., u tisku).

### **3. Očuvanje genoma među organizmima**

Metode sekvenciranja genoma različitih organizama pokazuju da su transkribirajuće sekvence genoma svih vrsta visoko očuvane. Očuvanje tih sekvenci se odnosi na veće regije kromosoma, ali i homologiju povezanih grupa gena koji se u sličnom redosljedu nalaze kod potpuno različitih skupina organizama, kao što su npr. ljudi, pilići, muhe, crvi i morske vlasulje. Kod sisavaca se velike regije DNA koje su slične unutar vrlo udaljenih skupina nazivaju sintenični blokovi.

Iako se pojedine vrste razlikuju po broju i morfologiji kromosoma, razlike su većinom posredovane razmještajem sinteničnih blokova u drugačijim kombinacijama. Ostali događaji koji dovode do razlika među organizmima su porast ili smanjenje broja kromosoma te inverzija pojedinih segmenata unutar sinteničnih blokova i premještanje centromera. Ti faktori mogu spriječiti uspješnu reprodukciju između populacija i biti temelj za proces specijacije novih vrsta.

Nove kombinacije sinteničnih blokova mogu rezultirati pogrešnom mejotskom rekombinacijom što može dovesti do genetički uravnoteženih produkata koji se prenose dalje kroz generacije i neuravnoteženih produkata koji se eliminiraju prirodnom selekcijom. Prilikom takvih preraspodjela, može doći do genskih duplikacija ili delecija što može biti uzrok pojavi kromosomskih aberacija.



U većini slučajeva, mjeru povezanosti među vrstama određuje ukupni broj preraspodjela blokova po haploidnom autosomalnom setu kromosoma. Placentalni sisavci imaju 30 – 40 blokova homologije s humanim genomom, dok neke vrste kao što su giboni i psi imaju skoro dvostruko više očuvanih blokova. Kariotip porodice pasa spada među kariotipove s najviše preraspodjela unutar skupine sisavaca (Yang i sur., 1999).

Prilikom pogrešaka tijekom replikacije, popravka DNA ili tretiranja okolišnim mutagenim agensima može doći do mutacija koje uzrokuju varijacije na razini sekvence DNA. Umetanje pokretnih genetičkih elemenata, poput retrotranspozona nastalih od tRNA (SINEs tj. "Short interspersed nuclear elements") čini vrlo važan dokaz za filogenetska proučavanja i određivanje zajedničkih predaka jer oni predstavljaju nehomologne markere pa je šansa za inserciju istog elementa vrlo niska (Shedlock i Okada, 2000).

Varijacije u broju kopija nemaju utjecaj na fenotip jedinki unutar vrste. One mogu pridonijeti nekim razlikama u fenotipu kao npr. one koje su se dogodile divergencijom čovjeka i čimpanze (Kehrer-Sawatzki i Cooper, 2007).

#### **4. Mehanizmi evolucije kariotipa**

Glavni mehanizam kojim se očuvani dijelovi genoma razdvajaju i spajaju u različite kombinacije je pogrešna odnosno nasumična homologna rekombinacija u kojoj dolazi do komplementarnog spajanja homolognih regija na nehomolognim kromosomima. Takve preraspodjele segmenata nastaju na mjestima duplikacije dijelova kromosoma, između umetnutih retrotranspozona, između gena iste porodice na različitim kromosomima te često u blizini centromere ili telomere. Ti događaji mogu biti temelj za pojavu brojnih kromosomskih aberacija, polimorfnih benignih promjena ili poremećaja u ponašanju. Navedene promjene nastaju zbog gubitka funkcije gena, doze gena, nastanka fuzioniranog gena, pozicijskog efekta, ispoljavanja recesivnih mutacija i sl. (Lupski i Stankiewicz, 2005).

Nepovratne preraspodjele pojedinih segmenata uzrokuje nehomologno spajanje krajeva kromosoma. Mjesta takvih događaja su uglavnom povezana s akrocentričnim kromosomima u jednih vrsta ili metacentričnim kromosomima u drugih vrsta. Fuzijom dvaju akrocentričnih nastaje metacentrični kromosom, a fisijom metacentričnog nastaju akrocentrični kromosomi. Oba procesa predstavljaju važan mehanizam evolucije kariotipa. Npr. svih 16 parova autosomalnih metacentričnih kromosoma lisice je nastalo fuzijom različitog broja (2-3) akrocentričnih kromosoma psa (Yang i sur., 1999).

Evoluciju kariotipa uzrokuje "neslučajna" segregacija tijekom mejoze ženke. Uzrok tome je prisustvo različitog broja centromera na sparenim homolognim kromosomima. Taj mehanizam objašnjava kako određene varijante kromosoma postaju fiksirane u populacijama (Pardo- Manuel de Villena i Sapienza, 2001).

Broj kromosoma nema velik utjecaj na razlike u fenotipu. Npr. kod divljači, Indijski jelen ima 6 kromosoma, dok Kineski jelen ima 46 kromosoma, ali njihov fenotipski izgled je gotovo identičan (Yang i sur., 1995).

Dostupnost rezultata kromosomskog bojanja mnogih vrsta različitih redova pomaže u procjeni brzine evolucije kariotipova pojedinih linija. Iako su predložena dva modela, brza i spora evolucija kariotipa (Murphy i sur., 2001), vidjelo se da se brzina evolucije, kao i količina preraspodjele kromosomskih elemenata, znatno mijenja tijekom svojeg dugog trajanja. Primjer možemo vidjeti u tome da su se tijekom 50 milijuna godina duge evolucije od pretka placentalnih sisavaca do pretka primata, dogodile samo tri preraspodjele. Nakon toga je u punom kraćem vremenskom periodu došlo do 24 preraspodjele koje su vodile ka nastajanju linije gibona (Mueller i sur., 2003). Za to isto vrijeme, evolucija kariotipa linija ostalih čovjekolikih majmuna tekla je veoma sporo. Varijacije u brzini su i dalje djelomično neobjašnjene, iako se smatra da na njih utječu uvjeti u okolišu, stopa mutacija, veličina populacija te aktivacija pokretnih genetičkih elemenata ili retrovirusa.

## 5. Pregled evolucije kariotipa sisavaca

Smatra se da je do divergencije prvih placentarnih sisavaca došlo prije oko 93 milijuna godina. Kromosomi reprezentativnih vrsta svakog reda sisavaca su proučavani bojanjem kromosoma te su napravljena zasebna filogenetska stabla koja prikazuju odnose između vrsta, rodova i porodica svakog reda sisavaca. Uspoređujući kariotipove pojedinih redova i uzimajući u obzir ljudski genom što se tiče očuvanih sekvenci, konstruiran je i najvjerojatniji kariotip pretka placentarnih (pravih) sisavaca.

U filogenetskim istraživanjima puno je bolje uspoređivati sinteničnost, koja predstavlja DNA sekvence locirane na istim kromosomima, nego fisiju kromosoma kod koje je vrlo teško razlikovati *de novo* događaje od ancestralnih osobina jer se ona može dogoditi više nego jednom na istom mjestu. Proučavajući lokacije sinteničnih blokova pojedinih skupina sisavaca, napravljena je usporedba s kromosomima čovjeka (Tablica 1.). Neke od tih poveznica predstavljaju zajedničke ancestralne osobine jer su zajedničke svim vrstama istog taksona, dok druge predstavljaju zajedničke osobine podrijetla jer su nastale u neposrednom pretku te grupe. Npr. možemo vidjeti da je sintenična poveznica 3/21 prisutna kod svih navedenih životinja pa predstavlja zajedničku ancestralnu osobinu svih sisavaca. Nasuprot tome, sinteničnost segmenata 5/21 je utvrđena samo kod mravojeda, roveke, afričkog slona, morske krave i zlatne krtice. To znači da te vrste dijele osobinu podrijetla, različitu od vanjske grupe (predstavlja vrste različitog taksona) te karakteristiku koja potječe od neposrednog pretka te grupe. Analizom sekvenci tri mitohondrijska i dva jezgrina gena, kako bi se utvrdio filogenetski odnos ovih vrsta s ostalim sisavcima, utvrđeno je da navedene skupine pripadaju nadredu Afrotheria (Springer i sur., 1997). Međutim, neke vrlo slične poveznice su pronađene u različitim grupama koje su se nezavisno razvijale. Primjer je sinteničnost segmenata 2/8/4 koji je vrlo sličan kod reda Pholidota i mravojeda iz nadreda Afrotheria, no izradom komparativnih kromosomskih mapa na temelju bojanja kromosoma je pokazano da su te skupine potpuno različite (Yang i sur., 2006).

Uzorci dobiveni bojanjem kromosoma, predstavljaju izvor informacija za proučavanje evolucije kariotipa i filogenetskih odnosa pojedinih skupina sisavaca.

Tablica 1. Sintenične poveznice dobivene bojanjem kromosoma sa specifičnim probama kromosoma čovjeka (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)

Table 1   Syntenic associations revealed by chromosome painting with human-chromosome-specific probes		Syntenic associations																										
Superorder/ order	Species	3/21	4/8p	7/16	12/22	14/15	16/19	10p/12	19p/1	9/21	2/8/4	3/20	18/19	2/8	7/10	4/20	1q/10q	2/20	3/19p	18/22	5/19p	11/19	19p/q	1/10p	20/15	12/8		
Afrotheria	Aardvark	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*											
	Elephant shrew	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*											
	African elephant	*		*	*	*	*	*	*	*			*															
	Golden mole	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*											
	Manatee	*		*	*	*	*	*	*	*	*		*															
Xenarthra	Two-toed sloth	*	*	*	*	*									*	*												
	Anteater	*	*	*	*	*	*	*	*						*	*												
Eulipotyphla	Shrew-hedgehog	*	*	*	*	*		*	*					*		*												
	Common shrew	*	*	*	*	*	*										*		*									
Carnivora	Cat	*	*	*	*	*	*	*										*	*	*								
	Hyena	*	*	*	*	*	*	*											*	*	*							
	Dog	*	*	*	*	*	*	*									*		*									
	Mink	*	*	*	*	*	*	*	*									*	*	*								
	Giant panda	*	*		*		*												*									
Pholidota	Rangolin	*	*	*	*	*	*				*		*		*		*											
Cetartiodactyla	Dolphin	*		*	*	*	*													*	*							
	Indian muntjac	*		*	*	*	*	*	*											*	*							
	Pig	*	*	*	*	*	*	*													*	*						
	Camel	*	*	*	*	*	*	*													*	*						
	Cow	*	*	*	*	*	*	*										*	*	*	*	*						
Perissodactyla	Rhinoceros	*	*	*	*	*	*										*		*									
	Zebra	*	*	*	*	*	*	*									*		*		*	*						
	Horse	*	*	*	*	*	*	*									*		*		*	*						
Scandentia	Tree shrew	*			*	*	*																					
Chiroptera	Bat	*	*	*	*	*	*																					
Primates	Howler monkey	*			*													*					*					
	Slow loris	*		*	*	*	*																					
Lagomorpha	Rabbit	*	*	*	*	*	*																		*			
Rodentia	Gray squirrel	*	*	*	*	*	*												*					*	*	*		
	Mouse*	*	*	*	*	*	*											*		*				*	*	*		

## 5.1. Kariotip nadredova sisavaca

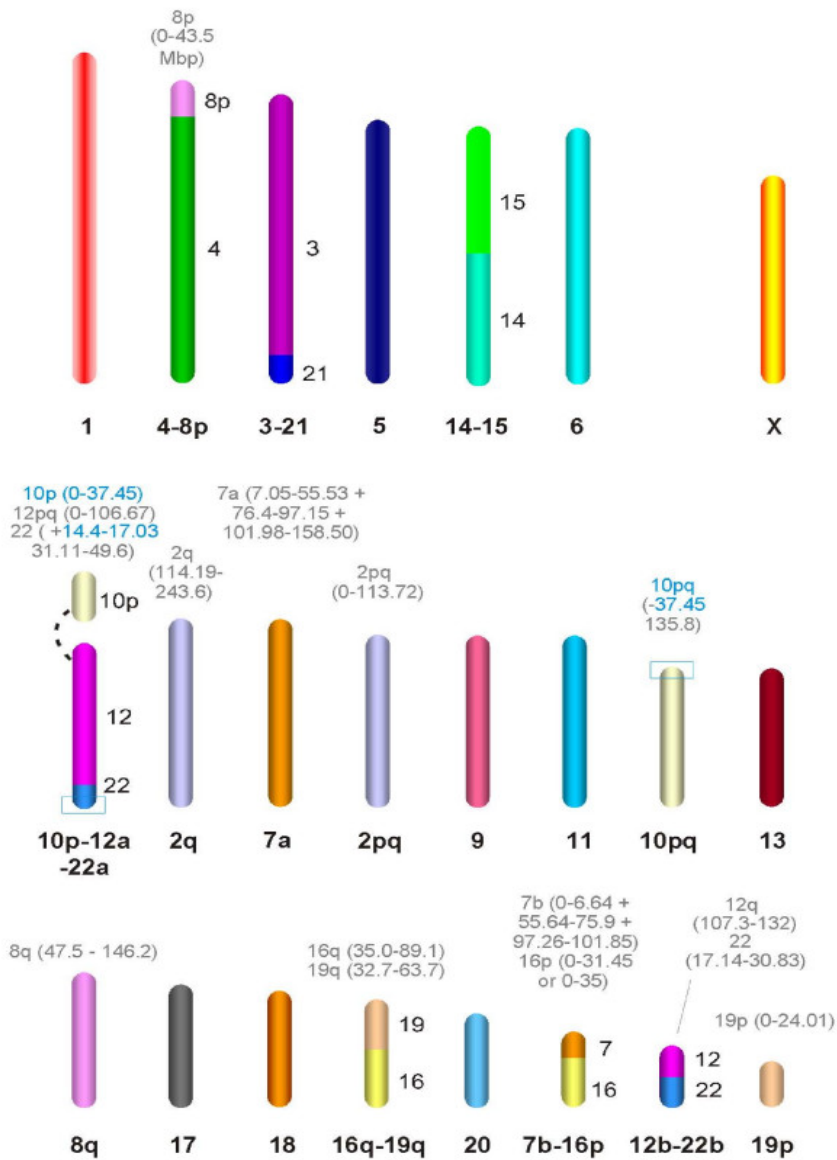
Redovi sisavaca su grupirani u šest nadredova. Svi nadredovi, osim Monotremata i Metatheria, se mogu povezati zajedničkim podrijetlom. Nadred Afrotheria spada u najbazalniju monofiletsku skupinu te se smatra da su se razvili prije oko 105 milijuna godina. Za njih su karakteristične poveznice sinteničnih segmenata 5/21 i 1/19. Kromosomskim bojanjem s probama ljudskog kromosoma pokazano je da mravojed kao predstavnik tog nadreda zadržava sve ancestralne sintenične poveznice (Yang i sur., 2003).

Također vrlo stara skupina je nadred Xenarthra koji se razvio prije oko 100 milijuna godina. Za njih su karakteristične poveznice 2/8 i 7/10 (Dobigny i sur., 2005). Moguća karika koja je zajednička za nadredove Afrotheria i Xenarthra je poveznica 19p/1.

Preostala dva nadreda sisavaca su Euarchontoglires i Laurasiatheria, no za njih još nisu identificirane citogenetičke poveznice, vjerojatno zbog razloga što njihova rana divergencija nije bila praćena većim preraspodjelama kromosoma.

Na temelju analize reprezentativnih vrsta Afrotheria (mravojeda) predložen je ancestralni kariotip svih placentarnih sisavaca (Slika 3.) On se sastojao od 46 kromosoma, koji je slučajno jednak broju kromosoma čovjeka. Sinteničke poveznice 3/21 (kromosom 2), 4/8 (kromosom 1), 7/16 (kromosom 6), 12/22 (kromosomi 4 i 9), 14/15 (kromosom 5), 16/19 (kromosom 1) i 10/12 (kromosom 4) su zajedničke širokom spektru vrsta i ukazuju na to da moraju biti prisutni i kod kariotipa zajedničkog pretka placentarnih sisavaca.

Također, ljudski kariotip pokazuje brojne sličnosti s predloženim ancestralnim kariotipom. Štoviše, kromosomi 1, 5, 6, 9, 11, 13, 17, 18, 20 i X su potpuno očuvani od kariotipa pretka, odnosno intaktni.



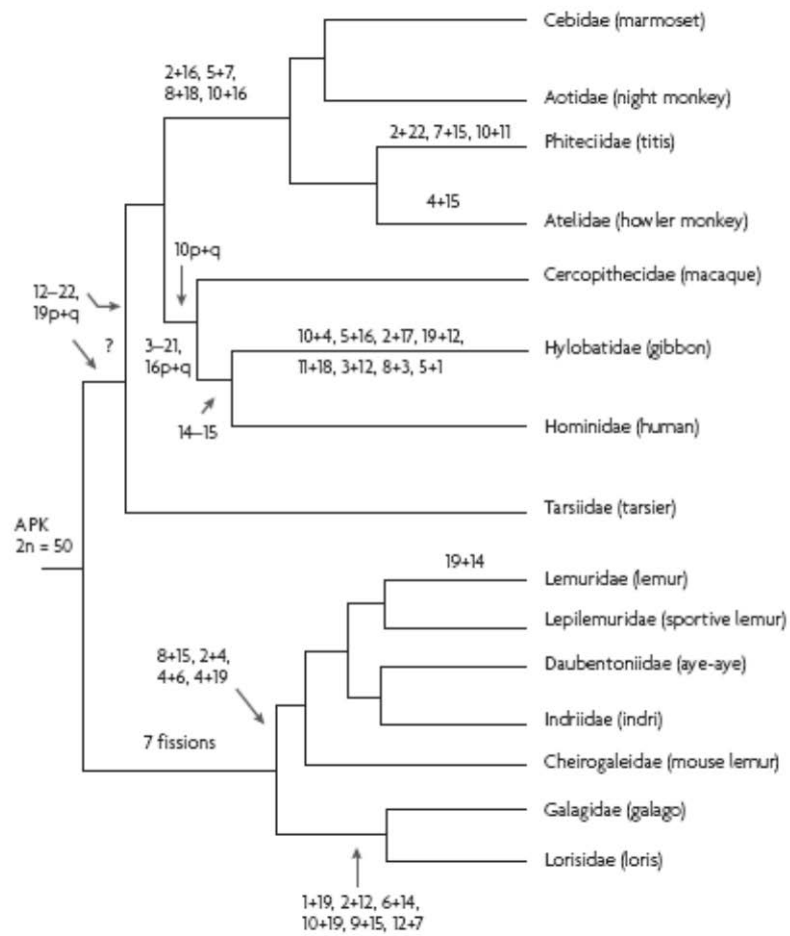
Slika 3. Kariotip pretka placentalnih sisavaca koji se temelji na sinteničnim poveznicama svojstvenim svim redovima današnjih sisavaca (preuzeto sa [www.biomedcentral.com/content/figures/1471-2148-9-84-3-l.jpg](http://www.biomedcentral.com/content/figures/1471-2148-9-84-3-l.jpg))

## 5.2. Kariotip primata

Istraživanjima je pokazano da su svi kromosomi čovjekolikih majmuna potpuno homologni ljudskim, uz dvije iznimke. Prva je fuzija dvaju kromosoma čovjekolikih majmuna kojim se formira ljudski kromosom 2 pogrešnom rekombinacijom između dupliciranih segmenata oba kromosoma (Ijdo i sur., 1991). Druga iznimka je recipročna translokacija između dvaju kromosoma gorile, homolognih ljudskim kromosomima 5 i 17 (Stanyon i sur., 1992).

Daljnje proučavanje je pokazalo da je između homologa čovjekolikih majmuna i čovjeka došlo do preraspodjela kromosomskih segmenata. Kod kromosoma 6 došlo je do intrakromosomske inverzije te promjene položaja centromera. Takvi procesi ukazuju na evoluciju ljudskog kariotipa ( $2n = 46$ ) iz kariotipa čovjekolikih majmuna ( $2n = 48$ ). Linija orangutana je divergirala nešto ranije od linija čimpanzi i gorila koje dijele iste inverzije unutar kromosoma 3, 7 i 11. Nakon nje, došlo je do divergencije linije gorila, a prije odvajanja linija čimpanzi i čovjeka, došlo je do inverzija unutar kromosoma 7, 9 i 10. Naposljetku, u liniji čovjeka dogodile su se intrakromosomske inverzije u 4., 17., i 18. kromosomu te fuzija dvaju akrocentričnih kromosoma u kromosom 2.

Identificiranjem sinteničnih poveznica kromosoma svih primata (prosimiji, majmuni Novog Svijeta, majmuni Starog Svijeta, giboni i čovjekoliki majmuni) s ljudskim kromosomima, determiniran je kariotip pretka svih primata čiji je broj kromosoma  $2n = 50$  (Slika 4.). Ključne poveznice s ljudskim kariotipom u takvog pretka su 3/21, 14/15, 12a/22b, 12b/22a i 7b/16p. Kod ranijih skupina neki su kromosomi postojali zasebno, dok je u slijedećem evolucijskom koraku došlo do njihove fuzije. Npr. takav proces možemo vidjeti kod prosimija koji sadrže dva zasebna kromosoma, 19p i 19q koji su kod ostalih skupina fuzionirani.



Slika 4. Evolucijsko stablo primata (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)



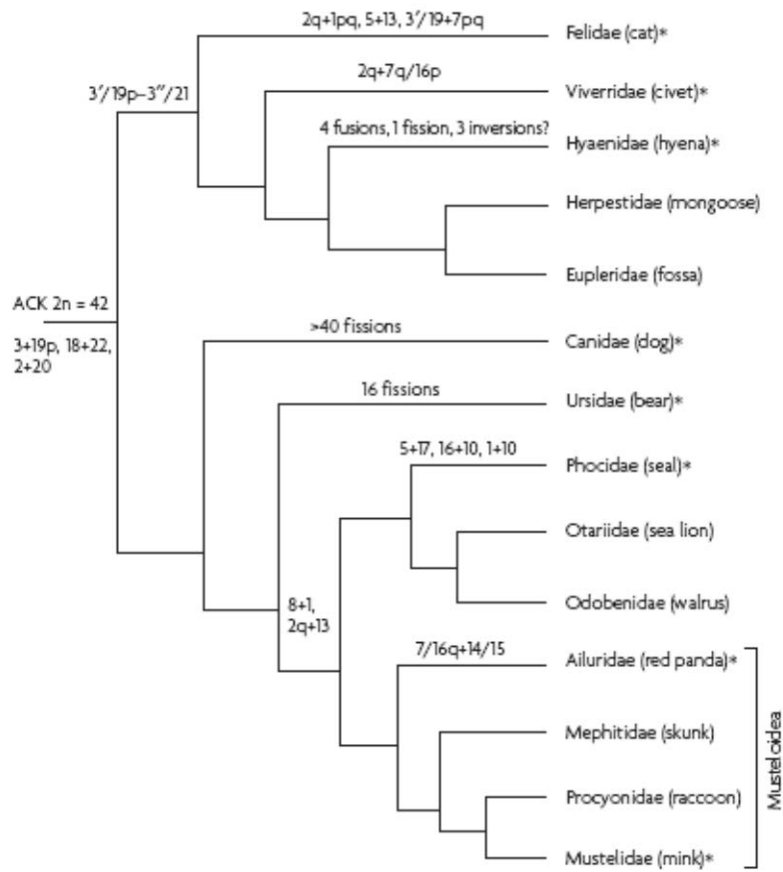
### 5.3. Kariotip zvijeri

Red zvijeri je podijeljen u dvije monofiletičke skupine. To su Feliformia koja obuhvaća mačke, mungose, hijene i civetke te Caniformia u koju spadaju psi, medvjedi, rakuni, svisci i perajari. Filogenetski odnosi utvrđeni su kromosomskim bojanjem s probama različitih predstavnika. Metodom FISH i izradom komparativnih kromosomskih mapa domaćeg psa i američke kune, probe iz porodice pasa su se pokazale najtemeljitijima za proučavanje intrakromosomskih preraspodjela u zvijeri (Graphodatsky i sur., 2000).

I za red zvijeri je napravljeno filogenetsko stablo (Slika 5.) te konstruiran kariotip pretka zvijeri ( $2n = 42$ ). Možemo vidjeti sintenične poveznice s kromosomima čovjeka, kao što su 3/19p, 18/22 i 2/20.

Porodica mačaka, uz par iznimki, pokazuje vrlo malu stopu evolucije kariotipa koji je ostao sličan ancestralnom kariotipu zvijeri te sadrži  $2n = 38$  kromosoma. Poput njih, slične kariotipove pokazuju i hijene i civetke potvrđujući čvrstu očuvanost kromosoma koja je karakteristična za cijelu monofiletsku skupinu Feliformia (Perelman i sur., 2005). I porodica Mustelidae sadrži visoko konzervirane kariotipove. Analizom kariotipa tvora utvrđena je sličnost s ancestralnim kariotipom zvijeri (Cavagna i sur., 2000).

S druge strane, porodica pasa pokazuje znatno preraspodijeljene kariotipove u odnosu na zajedničkog pretka (Graphodatsky i sur., 2001). Slično njima, i u porodici medvjeda došlo je do znatnijih promjena kariotipa. Kod njih se dogodila inverzija određenih kromosomskih segmenata te 16 fisija kromosoma pretka zvijeri što ukazuje na visoku stopu evolucije kromosoma.



Slika 5. Evolucijsko stablo zvijeri (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)

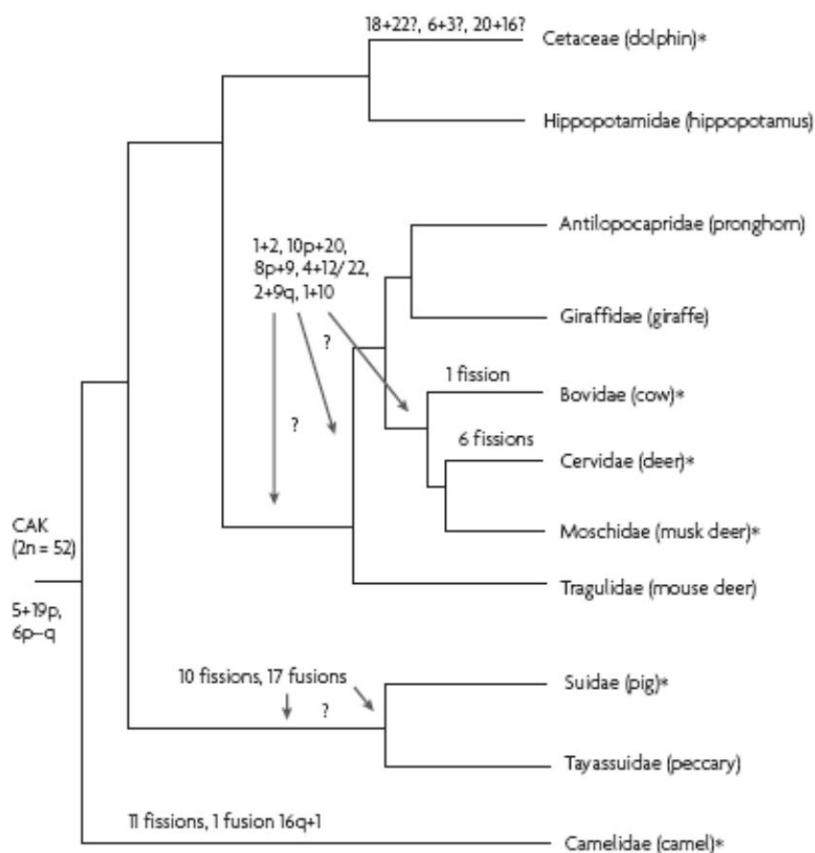
#### 5. 4. Kariotip reda Cetartiodactyla

Red Cetartiodactyla je zajednički takson parnoprstaša (Artiodactyla) i kitova te obuhvaća stoku, ovce, divljač, žirafe, svinje, deve i kitove. Usporedba kariotipa deve, krave, svinje i čovjeka je omogućila prvu rekonstrukciju kariotipa pretka Cetartiodactyla koji je imao  $2n = 52$  kromosoma (Slika 6.). Vidi se i da su se tijekom kasnije divergencije pojedinih skupina dogodile brojne i značajne preraspodjele kromosomskih segmenata.

Također je pokazano da unutar ovog taksona deve spadaju u najprimitivniju grupu (Balmus i sur., 2007). S druge strane, metode bojanja kromosoma morskog dupina i čovjeka su dokazale 36 regija sinteničnosti što ukazuje na to da je kariotip skupine kitova najočuvaniji u ovom redu (Bielec i sur., 1998).

Karakteristike evolucije njihovog kariotipa su fisija kromosoma 6p/6q te sintenična poveznica 5/19 s čovjekom. Te promjene su se vjerojatno dogodile i kod zajedničkog pretka Cetartiodactyla i Perissodactyla (neparanoprstaša) u koje spadaju konji, zebre, nosorozi i tapiri.

U šišmiša je prisutna poveznica 4/19p koja je kod njihove dvije porodice fuzionirana s homolognim elementom 5 tvoreći poveznicu 4/19p/5. To je dobar primjer karakteristike podrijetla (Volleth i sur., 2002).

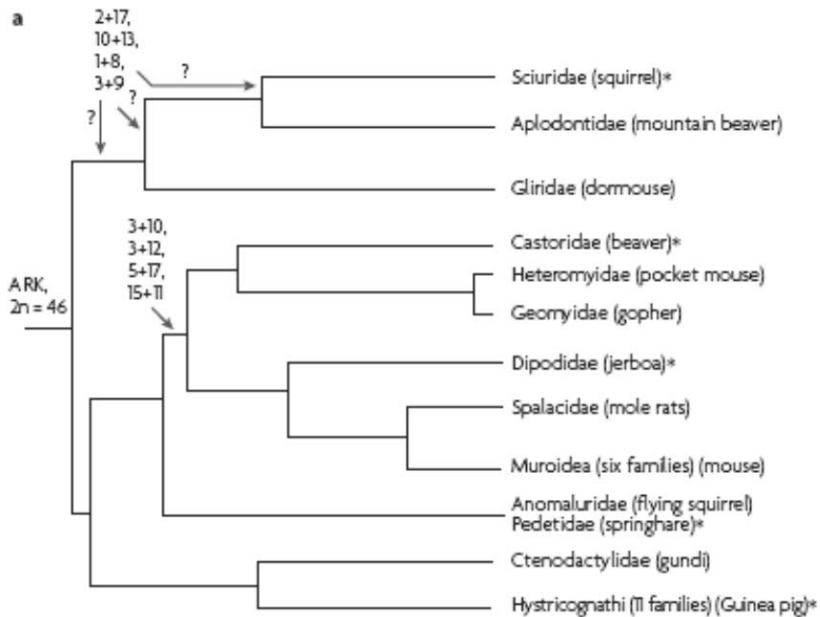


Slika 6. Evolucijsko stablo reda Cetartiodactyla (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)

## 5. 5. Kariotip glodavaca

Brojeći oko 2000 vrsta (40 % svih vrsta sisavaca), red glodavaca predstavlja najveći red sisavaca. Metode bojanja kromosoma su poglavito korisne u proučavanju visoke očuvanosti kariotipa vjeverica koji zadržava 12 sinteničnih poveznica s čovjekom, od kojih je barem 6 ancestralnog podrijetla (Stanyon i sur., 2003). U većini proučavanih vrsta pronađene su glavne sintenične poveznice 1/10p, 20/15, 12/8, 3/19 te 11/9 na temelju čega se mogao predvidjeti i kariotip zajedničkog pretka svih glodavaca (Slika 7.).

Za razliku od ostalih skupina, nadporodica Muroidea koja obuhvaća miševe, štakore i hrčke, važne laboratorijske životinje, ima visoko preraspodjeljen kariotip u odnosu na čovjeka. Zbog toga, metode bojanja kromosoma s ljudskim probama mogu biti teže za interpretiranje nego kod ostalih vrsta.



Slika 7. Evolucijsko stablo glodavaca (preuzeto iz Ferguson-Smith, M. A. i Trifonov V. Mammalian karyotype evolution, 2007)

## 5. 6. Kariotip pretka svih kralježnjaka

Kako se broj DNA sekvenci različitih vrsta sve više povećava, mogu se raditi usporedbe s genomom čovjeka. Iz takvih usporedbi izvode se kromosomske mape homologije između čovjeka i vrsta koje ne pripadaju sisavcima. Na temelju takvih istraživanja je rekonstruiran i kariotip zajedničkog pretka svih kralježnjaka koji je sadržavao 11 protokromosoma. Pokazano je da je kariotip takvog pretka visoko konzerviran kod ptica i riba, dok se kariotip pretka primata značajno razlikuje. Takva

saznanja ukazuju da su se vjerojatno nakon odvajanja linije ptica prije oko 300 milijuna godina, u evolucijskoj liniji sisavaca, dogodile velike promjene na kromosomskoj razini.

Kariotip oposuma, koji pripada tobolčarima, je vrlo različit u odnosu na ljudski, no pokazuje veliku sličnost s kariotipom kokoši koji sadži 10 homolognih segmenata s pretkom placentalnih sisavaca (Mikkelsen i sur., 2007). Ta činjenica govori da su se između divergencije tobolčara (prije oko 180 milijuna godina) i pravih sisavaca (prije oko 100 milijuna godina) dogodile intenzivne evolucijske promjene. No u daljnjoj evoluciji, kariotip većine redova pravih sisavaca je ostao relativno stabilan.

## **6. Zaključak**

Kromosomsko bojanje među vrstama te hibridizacija kromosoma na mjestima homologije se pokazala vrlo jednostavnom, praktičnom i pouzdanom metodom za određivanje očuvanih regija homologije kromosomskih segmenata između pojedinih vrsta sisavaca. Još jedna prednost ove metode za takva istraživanja je to što se rezultati gotovo odmah mogu detektirati fluorescencijom. Usporedbom dobivenih rezultata mogu se shvatiti filogenetski odnosi proučavanih organizama, konstruirati evolucijska stabla te pretpostaviti njihovo podrijetlo od zajedničkog pretka i njegov ancestralni kariotip. Ovom, ali i drugim metodama istraživanja evolucije kariotipa sisavaca nadopunjuju se podaci ostalih evolucijskih proučavanja kao što su sekvenciranje genoma, morfološke karakteristike ili pronalazak fosila.

Glavni nedostatak kromosomskog bojanja jest nemogućnost proučavanja detaljnih odnosa između pravih sisavaca (Eutheria) te ostalih nadredova kao što su Metatheria odnosno Marsupialia (tobolčari) i Monotremata (sisavci koji liježu jaja). Uzrok leži u tome što je tijekom evolucije navedenih linija došlo do značajnog razdvajanja nekodirajuće kromosomski specifične DNA. Slični nedostaci se vide i u uspoređivanju kromosoma te pokušavanju shvaćanja evolucijskih odnosa sisavaca i ostalih kralježnjaka (ptica, gmazova, vodozemaca i riba). U budućnosti se i takvi problemi mogu prevladati dodatnim sekvenciranjima genoma i komparativnog mapiranja gena brojnih nedovoljno istraženih organizama. Međutim, i to zahtijeva mnogo rada i utrošenog vremena.

Daljnja istraživanja i širenje spektra proučavanih vrsta bi, prema tome trebala donijeti odgovore na brojna pitanja o biološkim procesima kojima se još ne zna odgovor. Funkcija kromosomski specifične netranskribirajuće DNA, koja je očuvana među organizmima, se još nedovoljno razumije pa će možda daljnji razvoj komparativnih istraživanja pomoći pronalasku rješenja tih zapreka.

## 7. Literatura

1. Balmus, G. i sur. 2007. Cross-species chromosome painting among camel, cattle, pig and human: further insights into the putative Cetartiodactyla ancestral karyotype *Chromosome Res.* 15, 499-514.
2. Bielec, P.E., Gallagher, D.S., Womack, J.E., Busbee, D.L. 1998. Homologies between human and dolphin chromosomes detected by heterologous chromosome painting. *Cytogenet. Cell Genet.* 81, 18-26.
3. Cavagna, P., Menotti A., Stanyon R. 2000. Genomic homology of the domestic ferret with cats and humans *Mamm. Genome* 11, 866-870.
4. Dobigny, G., Yang, F., O'Brien, P., Volobouev, V., Kovács, A., Pieczarka, J., Ferguson-Smith, M.A., Robinson, T. 2005. Low rate of genomic re-patterning in Xenarthra inferred from chromosome painting data. *Chromosome Res.* 13, 651-663.
5. Dobigny, G., Ducroz, J.F., Robinson, T.J. 2004. Cytogenetics and cladistics. *Syst. Biol.* 53, 470-484.
6. Ferguson-Smith, M.A. i Trifonov V. 2007. Mammalian karyotype evolution, *Nature Review Genetics*, 950-962.
7. Ferguson-Smith, M.A. 1997. Genetic analysis by chromosome sorting and painting phylogenetic and diagnostic applications, *Eur. J. Hum. Genet* 5, 253-265.
8. Graphodatsky, A.S., Yang F., O'Brien P.C.M., Perelman P., Milne B.S., Serdukova N., Kawada S.I., Ferguson-Smith, M.A. 2001. Phylogenetic implications of the 38 putative ancestral chromosome segments for four canid species. *Cytogenet. Cell Genet.* 92, 243-247.
9. Graphodatsky, A.S., Yang, F., Serdukova, N., Perelman, P., Zhdanova, N.S., Ferguson-Smith, M.A. 2000. Dog chromosome-specific paints reveal evolutionary inter and

intrachromosomal rearrangements in the American mink and human. *Cytogenet. Cell Genet.* 90, 275-278.

10. Ijdo, J.W., Baldini, A., Ward, D.C., Reeders, S.T., Wells, R.A. 1991. Origin of human chromosome 2: an ancestral telomere-telomere fusion *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 9051-9055.

11. Kehrer- Sawatzki, H. i Cooper, D. 2007. Structural divergence between the human and chimpanzee genomes, *Human Genet.*, 120, 759-778.

12. Lupski, J. R. i Stankiewicz, P. 2005. Genomic disorders: molecular mechanisms for rearrangements and conveyed phenotypes, *PloS Genet.* 1 e49.

13. Mikkelsen, T.S. i sur. 2007. Genome of the marsupial *Monodelphis domestica* reveals innovation in non-coding sequences *Nature* 447, 167-177.

14. Mueller, S., Hollatz, M., Wienberg, J. 2003. Chromosomal phylogeny and evolution of gibbons (Hylobatidae). *Hum. Genet.* 113, 493-501.

15. Murphy, W.J., Stanyon, R., O'Brien, S.J. 2001. Evolution of mammalian genome organization inferred from comparative gene mapping. *Genome Biol.* 2 R0005.1-R0005.8.

16. Pardo-Manuel de Villena, F. i Sapienza, C. 2001. Female meiosis drives karyotypic evolution in mammals genetics. *Genetics* 159, 1179 – 1189.

17. Perelman, P.L., Graphodatsky, A.S., Serdukova, N.A., Nie, W., Alkalaeva, E.Z., Fu, B., Robinson, T.J., Yang, F. 2005. Karyotypic conservatism in the suborder Feliformia (Order Carnivora) *Cytogenet. Genome Res.* 108, 348-354.

18. Rens, W. i sur. U tisku. The multiple sex chromosomes of platypus and echidna are not completely identical and several share homology with the avian Z. *Genome Biol.*

19. Seabright, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes, *Lancet* 2, 971-972.

20. Shedlock, A. M. i Okada, N. 2000. SINE insertions: powerful tools for molecular systematics. *Bioessays* 22, 148-160.

21. Springer, M.S., Cleven, G.C., Madsen, O., Jong, W.W., Waddell, V.G., Amrine, H.M., Stanhope, M.J. 1997. Endemic African mammals shake the phylogenetic tree. *Nature* 388, 61-64.



22. Stanyon, R., Stone, G., Garcia, M., Froenicke, L. 2003. Reciprocal chromosome painting shows that squirrels, unlike murid rodents, have a highly conserved genome organization. *Genomics* 82, 245-249.
23. 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.
24. Tjio, J. H. i Levan, A. 1956. The chromosome number of man. *Hereditas* 42, 1-6.
25. Volleth, M., Heller, K.G., Pfeiffer, R.A., Hameister, H.A. 2002. A comparative Zoo-FISH analysis in bats elucidates the phylogenetic relationships between Megachiroptera and five microchiropteran families. *Chromosome Res.* 10, 477-497.
26. Wienberg, J., Jauch, A., Stanyon, R., Cremer, T. 1990. Molecular cytotaxonomy of primates by chromosomal *in situ* suppression hybridization. *Genomics* 8, 347-350.
27. Yang, F., Graphodatsky, A.S., Li, T., Fu, B., Dobigny, G., Wang, J., Perelman, P.L., Serdukova, N.A., Su, W., O'Brien, P.C.M., Wang, Y., Ferguson-Smith, M.A., Volobouev, V., Nie, W. 2006. Comparative genome maps of the pangolin, hedgehog, sloth, anteater, and human revealed by cross-species chromosome painting: further insight into the ancestral karyotype and genome evolution of eutherian mammals. *Chromosome Res.*, 14, 283-296.
28. Yang, F., Alkalaeva, E.Z., Perelman, P.L., Pardini, A.T., Harrison, W.R., O'Brien, P.C.M., Fu, B., Graphodatsky, A.S., Ferguson-Smith, M.A., Robinson, T.J. 2003. Reciprocal chromosome painting among human, aardvark and elephant (superorder Afrotheria) reveals the likely eutherian ancestral karyotype. *Proc. Natl Acad.Sci. USA*, 100, 1062-1066.
29. Yang, F., O'Brien, P.C.M., Milne, B.S., Graphodatsky, A.S., Solanky, N., Trifonov, V., Rens, W., Sargan, D., Ferguson-Smith, M.A. 1999. A complete comparative chromosome map for the dog, red fox, and human and its integration with canine genetic maps. *Genomics* 62, 189-202.
30. Yang, F., Carter, N.P., Shi, L., Ferguson-Smith, M.A. 1995. A comparative study of karyotypes of muntjacs by chromosome painting. *Chromosoma* 103, 642-652.
31. [www.biomedcentral.com/content/figures/1471-2148-9-84-3-1.jpg](http://www.biomedcentral.com/content/figures/1471-2148-9-84-3-1.jpg)
32. [www.wikipedia.org/wiki/Karyotype](http://www.wikipedia.org/wiki/Karyotype)

## 8. Sažetak

Kariotip neke jedinke se odnosi na broj, veličinu i izgled njezinih kromosoma. Kromosomi pojedinih vrsta predstavljaju širok spektar raznolikosti, od broja do njihove morfologije. Genomi svih vrsta su visoko očuvani i to ne samo u transkribirajućim sekvencama, već i u nekim kromosomski specifičnim nekodirajućim sekvencama ili u poretku gena. Razlike između kariotipa većine vrsta posredovane su različitim razmještajem većih kromosomskih segmenata koji se nazivaju sintenični blokovi. Glavni mehanizam kojim dolazi do takve preraspodjele unutar kromosoma je nasumična homologna rekombinacija u kojoj dolazi do komplementarnog spajanja homolognih regija na nehomolognim kromosomima. Postoje brojne metode za istraživanje kariotipa. Danas najraširenija je fluorescencijska hibridizacija *in situ* odnosno kromosomsko bojanje u kojima se specifično pripremljeni kromosomi pojedinih vrsta obilježeni fluorokromom hibridiziraju s ljudskim kromosomima. Do spajanja dolazi na mjestima homologije, a signali se vizualiziraju uz pomoć fluorescencijskog mikroskopa. Tom metodom se na jednostavan i precizan način mogu uspoređivati kromosomi određenih vrsta unutar skupine placentalnih sisavaca, dakle svih osim tobolčara te sisavaca koji liježu jaja. Ova metoda nije pogodna niti za usporedbu s ostalim kralježnjacima. Zato se uz tu metodu koristi još i BAC mapiranje u kojima BAC klonirani segmenti mogu poslužiti kao pozicijski markeri duž kromosoma. Istraživanjem takvih preraspodjela kromosomskih segmenata može se saznati mnogo o raznolikosti kariotipa među vrstama. Također, ona su vrlo korisna za proučavanje filogenetskih odnosa organizama, njihovog porijekla od zajedničkog pretka te pretpostavljanju ancestralnog kariotipa. Na temelju toga je za gotovo sve nadredove sisavaca napravljeno evolucijsko stablo koje jasno dočarava njihovu evolucijsku povezanost i podrijetlo od zajedničkog pretka.

## 9. Summary

A karyotype is the characteristic chromosome complement of species. It represents the number, size and the appearance of chromosomes. The karyotypes of animals display a great diversity, from their number to their morphology. The genomes of all species are remarkably conserved, not only in transcribed sequences, but also in some chromosome-specific non-coding sequences or gene order. Main differences between most of the species karyotype are due to different arrangements of larger chromosomal segments, called syntenic blocks. The principal mechanism of these intra-chromosomal rearrangements is illegitimate homologous recombination. It is the result of accidental crossing-over between homologous segments on non-homologous chromosomes. There are many methods for researching karyotypes. Today, the most common method is fluorescence *in situ* hybridization, known as chromosome painting. In this technique, chromosome-specific DNA labelled with fluorochromes is hybridized to human probes, which anneal to complementary sequences. The results can be detected by fluorescence microscopy. This method represents a simple and reliable way of comparing chromosomes between species among eutherians, except the marsupials, the mammals that lay eggs and other vertebrates. However, the additional method of BAC mapping is used in which individual BAC clones can be used as positional markers along the length of the chromosome. Rearrangements of these segments into different combinations explains much of the diversity in species karyotypes. Also, such investigations are useful for studying phylogenetic relationships between organisms, their origin from a common ancestor and reconstruction of the ancestral karyotype. Thus, for almost all mammalian superorders, the evolutionary tree is made, which clearly demonstrates their connection and descent from a common ancestor.