



1 Homologías y reorganizaciones cromosómicas.

El uso combinado de las técnicas de citogenética clásica e hibridación *in situ* fluorescente (FISH) ha permitido: (1) la caracterización citogenética de las especies de Primates estudiadas en el presente trabajo, (2) establecer las homologías cromosómicas entre sus cariotipos y el cariotipo humano, (3) determinar las reorganizaciones que explican las homologías descritas y (4) identificar las bandas cromosómicas implicadas en las reorganizaciones evolutivas.

La utilización de sondas de pintado cromosómico de todos los cromosomas humanos ha complementado los estudios citogenéticos previos que se basaban únicamente en la comparación del patrón de bandas G. Esto ha permitido corroborar las homologías cromosómicas entre las especies estudiadas y redefinir reorganizaciones intercromosómicas que eran difíciles de determinar con las técnicas de citogenética clásica. La posterior aplicación de clones de BACs y YACs específicos de bandas cromosómicas humanas ha permitido aumentar la resolución del estudio comparativo entre las diferentes especies hasta el nivel de banda cromosómica.

Con el empleo de las técnicas de hibridación *in situ* ha sido posible delimitar con mayor precisión reorganizaciones intra e intercromosómicas. En general, se han corroborado aquellas que

* Par cromosómico nº5 de *Cebus nigrivittatus*

ya habían sido deducidas mediante la comparación del patrón de bandas G, se han redefinido reorganizaciones cromosómicas descritas y en otros casos ha ayudado a detectar reorganizaciones no descritas anteriormente.

Las homologías cromosómicas descritas entre las diferentes especies de Primates comparadas en este trabajo están representadas en la Tabla 5.1. Al establecer las reorganizaciones que explican las homologías cromosómicas, se han tenido en cuenta los cariotipos ancestrales de los Primates, de los Catarrhini y de los Platyrrhini, descritos en la Introducción (*sección 1.4*). El cariotipo de *C. nigrivittatus* se ha numerado en función de las homologías con el cariotipo de *C. apella*, basadas en la comparación de los patrones de bandas G y en los resultados de la Zoo-FISH con sondas de pintado cromosómico para todos los cromosomas humanos.

Tabla 5.1: Homologías cromosómicas entre los cromosomas humanos y las especies de Primates estudiadas en este trabajo.

<i>M. sphinx</i>	<i>M. fascicularis</i>	<i>H. sapiens</i>	<i>C. apella</i>	<i>C. nigrivittatus</i>
1	1	1	14/22/23	14/22/23
2	2	7/21	1pdistal/15/11qdistal	1pdistal/15/11qdistal
3	3	3	18/11/20	18/11/20
4	4	4	2	2
5	5	5	1q+1pprox	1q+1pprox
6	6	6	3	3
7	7	14/15	6/24	6/24*
8	8	8	7p/8	7p/8
9	9	2p+q prox	5q	5q
10	10	10	4q/26	4q/26
11	11	11	16	16
12	12	12	12	12*
13	13	20/22	10/25	10/25
14	14	9	19	19
15	15	2q distal	13	13
16	16	13	17	17
17	17	17	21	21
18	18	18	7q	7q
19	19	19	9	9
20	20	16	4p/5p	4p/5p
X	X	X	X	X
Y	Y	Y	Y	Y

*: El cariotipo de *C. nigrivittatus* posee un cromosoma (CNI12/24) que es el resultado de una fusión derivada de los cromosomas homólogos al 12 y 24 de *C. apella*.

1.1 Reorganizaciones cromosómicas.

1.1.1 Tribu Papionini.

Entre las especies estudiadas que pertenecen a la Tribu Papionini (*M. fascicularis*, *M. sphinx* y *M. arctoides*) y el cariotipo humano, las reorganizaciones intercromosómicas detectadas han sido: tres translocaciones en las que están implicados los cromosomas humanos 7/21 (el cromosoma 2 de las especies de Papionini), 14/15 (el cromosoma 7 de las especies de Papionini) y 20/22 (el cromosoma 13 de las especies de Papionini). Estudios previos de comparación de bandas G en Cercopithecidos habían detectado dos de estas reorganizaciones, las que implican a los cromosomas humanos 14, 15, 20 y 22 (Clemente y col., 1990a; Borrell, 1995). Sin embargo, la fusión de los cromosomas humanos 7 y 21 sólo se detectó en los estudios de pintado cromosómico comparativo, primero en *Macaca fuscata* (Wienberg y col., 1992) y posteriormente en *Macaca fascicularis* (Ruiz-Herrera y col., 2002a).

Por lo que respecta a las reorganizaciones intracromosómicas, la comparación de bandas G y la aplicación de sondas de pintado cromosómico de todos los cromosomas humanos ha permitido establecer las siguientes reorganizaciones: 6 inversiones pericéntricas (cromosomas 1, 2, 11, 14, 18, 13 de las especies de Papionini), 1 inversión paracéntrica (cromosoma 10 de las especies de Papionini) y 4 activaciones/inactivaciones de centrómeros (cromosomas 3, 4, 6 y 16 de las especies de Papionini). Algunas de estas reorganizaciones ya habían sido descritas en otras especies de la F. Cercopithecidae en estudios citogenéticos comparativos anteriores, como son las detectadas en los cromosomas 1, 10 y 11 (Clemente y col., 1990a; Borrell, 1995).

Con la posterior aplicación de una batería de 19 clones de BACs/YACs específicos para diversas bandas cromosómicas de los cromosomas humanos HSA1 (RP11-161A11: 1p42.2, RP11-55M23: 1p32, RP11-125P20: 1p22, RP11-4J2: 1q25, RP11-45F21: 1q32 y RP11-155C15: 1q41), HSA5 (P11-88L18: 5p14, P11-19F12: 5p13, RP11-62D9: 5q13.3 y P11-4E2: 5q31), HSA7 (42C19: 7p22, S1-220D8: 7p13, GS1-6E1: 7p12, TB-20D2: 7q22 y S1-259E18: 7q32), HSA12 (RP11-666F17: 12p11 y RP11-1022B3: 12q14) y HSA18 (P11-90B5: 18q12.2 y P11-15C15: 18q21.3) se han confirmado la mayoría de las reorganizaciones cromosómicas descritas mediante la comparación de los patrones de bandas G y la Zoo-FISH, se han redefinido algunas de las reorganizaciones ya descritas y se han detectado otras que no fue posible identificar mediante la comparación de bandas G y los resultados del pintado cromosómico comparativo. Las reorganizaciones detectadas con la aplicación de las sondas específicas de banda han sido dos: una inversión paracéntrica en los cromosomas de *M. fascicularis*, *M. sphinx* y *M. arctoides* homólogos

al cromosoma 1 humano, y un cambio de posición de centrómero en los cromosomas homólogos al cromosoma 18 humano, la cual ya había sido planteada por Müller y col. (2001), descartándose la inversión pericéntrica descrita (Ruiz-Herrera y col., 2002a).

Los resultados obtenidos en este trabajo experimental nos indican que la comparación del patrón de bandas G entre diferentes especies sigue siendo un método imprescindible y fiable en cualquier análisis citogenético comparativo, ya que la mayor parte de las reorganizaciones que habían sido descritas anteriormente han sido confirmadas. Ahora bien, la aplicación de las nuevas metodologías que aporta la citogenética molecular (la aplicación de diferentes tipos de sondas) ha demostrado ser de gran utilidad cuando las reorganizaciones son demasiado complejas para poder analizarlas utilizando exclusivamente las técnicas de citogenética clásica.

Con las técnicas empleadas en este trabajo experimental se han detectado un gran número de reorganizaciones cromosómicas, pero probablemente muchas más permanecen crípticas todavía. Este es el caso de los cromosomas homólogos al 3, 6 ó 7 humanos, por citar algunos ejemplos. En estos casos, la aplicación de una batería de BACs ó YACs que permita analizar un mayor número de bandas cromosómicas probablemente aportará más información acerca de las reorganizaciones cromosómicas que no han podido ser detectadas hasta el momento, y al mismo tiempo ayudará a definir, con mayor precisión, los puntos de rotura evolutivos implicados en las reorganizaciones.

1.1.2 Género *Cebus*.

El uso combinado de la comparación del patrón de bandas G y la Zoo-FISH con sondas de pintado cromosómico de todos los cromosomas humanos en los cariotipos de *C. apella* y *C. nigrivittatus*, ha permitido: (1) establecer las homologías cromosómicas entre estas dos especies, las cuales difieren en número diploide ($2n=54$ y $2n=52$ respectivamente), y (2) delimitar, aunque no de manera definitiva, las regiones homólogas a los cromosomas humanos que eran difíciles de asignar basándonos exclusivamente en la comparación del patrón de bandas G. Este ha sido el caso de los fragmentos cromosómicos homólogos a los cromosomas humanos 3 y 7 que están asociados a otros cromosomas humanos (21 y 5 respectivamente). Dichos fragmentos cromosómicos han resultado ser tan pequeños que no pudieron ser detectados mediante la comparación de bandas G. Las asociaciones cromosómicas 3/21 y 5/7 detectadas en *C. capucinus* (Richard y col., 1996), *C. apella* (García y col., 2000) y *C. nigrivittatus* (García y col., 2002) son consideradas como características del cariotipo ancestral de los Platyrrhini (Neusser y col., 2001).

Los cariotipos de *C. apella* y *C. nigrivittatus* se diferencian a través de varias reorganizaciones: una fusión derivada de los cromosomas homólogos a CAP12 y CAP24, y tres inversiones en los cromosomas homólogos a CAP6, CAP8 y CAP10 (García y col., 2002). Recientemente se ha propuesto el cariotipo ancestral para el género *Cebus* (García y col., 2002), el cual estaría compuesto por los siguientes cromosomas: CAP/CNI1-5, CAP6 ó CNI6, CAP/CNI7, CNI8, CAP/CNI9, CNI10, CAP/CNI11-26 y CAP/CNIX (2n=54).

Las reorganizaciones cromosómicas necesarias para homologar los cariotipos de estas dos especies de *Cebus* con el cariotipo humano son, mayoritariamente, inversiones, seguidas de fusiones/fisiones, translocaciones y cambios en la posición de centrómeros. En los cariotipos de ambas especies de *Cebus* se encuentran representadas las asociaciones cromosómicas siguientes: 3/21, 5/7, 2/16, 8/18, 10/16 y 14/15. Tal como se había descrito anteriormente en trabajos citogenéticos basados exclusivamente en la comparación de patrones de bandas R y bandas G (Dutrillaux y Courturier 1981; Clemente y col., 1990b), los últimos estudios de pintado cromosómico comparativo (García, 2001; Neusser y col., 2001) han corroborado que el cariotipo ancestral de los Platyrrhini se encuentra representado en *C. apella* (a excepción de la inversión pericéntrica que interrumpe la asociación 14/15 y la transforma en 14/15/14).

1.2 Bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones cromosómicas evolutivas.

El estudio comparativo (siempre basándonos en los resultados obtenidos de la comparación de bandas G y la hibridación *in situ* fluorescente) entre los cariotipos de la especie humana, *M. fascicularis*, *M. sphinx*, *M. arctoides*, *C. apella* y *C. nigrivittatus*, ha permitido determinar las bandas cromosómicas implicadas en las reorganizaciones evolutivas en cada una de las especies. El caso de los cromosomas homólogos al cromosoma 3 humano ha sido una excepción. La evolución de dicho cromosoma es especialmente compleja ya que ha sufrido un gran número de reorganizaciones intracromosómicas desde el ancestro de los Primates (Müller y col., 2000). Por esta razón se han establecido las homologías cromosómicas, pero no se han podido determinar ni las reorganizaciones cromosómicas ni las bandas implicadas en ellas. De esta forma, no hay que descartar que con la aplicación de posteriores estudios citogenéticos que permitan aumentar el grado de resolución, se detecte un mayor número de reorganizaciones intra-cromosómicas en las especies estudiadas.

Con las técnicas de análisis empleadas en este estudio, las bandas cromosómicas implicadas en puntos de rotura evolutivos descritas en las diferentes especies de Primates no-humanos estudiadas han sido:

- 1) Tribu Papionini: *M. fascicularis*, *M. sphinx* y *M. arctoides*: 27 bandas cromosómicas implicadas en cambios evolutivos (Tabla 5.2). Las tres especies poseen el mismo cariotipo así que se ha unificado la denominación de las bandas cromosómicas.
- 2) Género *Cebus*: *C. apella* y *C. nigrivittatus*: 33 bandas cromosómicas implicadas en cambios evolutivos descritas (Tabla 5.3). La denominación de las bandas cromosómicas es la misma para las dos especies.

Tal como se había descrito anteriormente (Clemente y col., 1987) y como confirman nuestros resultados, las reorganizaciones cromosómicas evolutivas no ocurren al azar, sino que tienden a concentrarse en un número determinado de bandas cromosómicas en las diferentes especies de Primates analizadas. En los cariotipos de las especies de la Tribu Papionini existen bandas cromosómicas que son puntos de fisión cuando se comparan con diferentes especies de Platyrrhini, como son *C. apella* y *Ateles belzebuth hybridus* e incluso con otras especies de Catarrhini (*Cercopithecus aethiops* y *Homo sapiens*) (Tabla 5.2). Este es el caso de las bandas cromosómicas de las especies de Papionini 1p22, 1q22, 4q31, 5q31 y 6q16, entre otras. Lo mismo ocurre en los cariotipos de las especies de *Cebus* estudiadas, donde existen bandas cromosómicas con una tendencia a acumular reorganizaciones cromosómicas (Tabla 5.3).

Tabla 5.2: Bandas cromosómicas de las especies de la Tribu Papionini implicadas en reorganizaciones evolutivas.

Bandas cromosómicas	Reorganizaciones evolutivas
1p31 ^{a, b}	inv paracéntrica HSA1
1p21 ^b	inv paracéntrica HSA1
1p22 ^b	fisión CAP22/23+LLA25/26
1p12 ^b	inv pericéntrica HSA1
1q14 ^{a, b}	inv pericéntrica HSA1
1q22 ^{a, b}	fisión LLA9/28+ABH2/4
1q32 ^{a, b}	centrómero CN1c7
2p13 ^b	fusión HSA7/21
2q18 ^a	inv pericéntrica HSA7
2q22 ^a	fisión CAE21/28
2q24 ^{a, b}	fisión LLA11/16
4p21 ^a	centrómero HSA4
4q23 ^{a, b}	fisión ABH2/9
4q31 ^a	fisión LLA14/24+ABH2/15
5q31	fisión LLA3/11+ABH5/9
6q16	fisión ABH7/10+CAE13/17
8p14 ^{a, b}	inv pericéntrica CAP8/ABH1
8q22 ^a	inv pericéntrica GGO
9q12 ^a	centrómero LLA2
10q12 ^b	inv paracéntrica HSA10
10q14 ^{a, b}	inv paracéntrica HSA10
11p12 ^b	inv pericéntrica HSA11
11q12	inv pericéntrica HSA11
11q23 ^a	inv pericéntrica ABH11
14q22 ^{a, b}	inv pericéntrica HSA9
13p12 ^b	fusión HSA20/22
13q23 ^{a, b}	inv pericéntrica HSA22

^a: bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles en, al menos, una de las tres especies.

^b: bandas cromosómicas de *M. fascicularis* que contienen secuencias teloméricas intersticiales.

Abreviaturas: ABH (*Ateles belzebuth hybridus*), CAP (*Cebus apella*), LLA (*Lagothrix lagothricha*), CAE (*Cercopithecus aethiops*), CN1c (*Cercopithecus nictitans*), GGO (*Gorilla gorilla*), HSA (*Homo sapiens*), inv: inversión.

Tabla 5.3: Bandas cromosómicas de las especies de *Cebus* implicadas en reorganizaciones evolutivas.

Bandas cromosómicas	Reorganizaciones evolutivas
1p14 ^{a, b}	fisión HSA5/7
1q12	inv paracéntrica MFA5
1q36 ^b	inv paracéntrica MFA5
2q13 ^a	fisión LLA14/24+ABH2/15
2q24 ^{a, b}	fisión ABH 2/9
2q32 ^{a, b}	centrómero HSA4
3q22.1 ^{a, b}	fisión ABH7/10+CAE13/17
4q12	inv paracéntrica HSA10
4q32 ^a	inv paracéntrica HSA10
5q13 ^a	inv pericéntrica HSA2
5q15 ^{a, b}	centrómero LLA2
6p13 ^a	inv pericéntrica HSA14/15+CAP6
6q16 ^a	inv pericéntrica CAP6
6q23 ^a	fusión/fisión HSA14/15
7p14 ^b	inv paracéntrica HSA8
7p12	inv paracéntrica HSA8
7q14 ^a	inv pericéntrica HSA18
8q11	inv pericéntrica HSA8
8q14 ^{a, b}	inv pericéntrica GGO
10q12 ^{a, b}	inv pericéntrica HSA20
12q22 ^a	inv pericéntrica HSA12+fisión ABH2/16
13q24 ^a	fisión ABH3/14
14q13 ^a	fisión LLA9/28+ABH2/4
15q22 ^{a, b}	inv paracéntrica HSA7
15q24 ^{a, b}	fisión CAE21/28
15q32 ^{a, b}	fisión LLA11/16
16q13 ^a	inv pericéntrica MFA11
16q24 ^a	inv pericéntrica ABH11
16q26 ^a	inv pericéntrica HSA11
17q23 ^a	centrómero MFA16
19q16	inv pericéntrica HSA9
19q21 ^a	inv pericéntrica PTR9
21q16	inv pericéntrica HSA17

^a: bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles en, al menos, una de las dos especies.

^b: bandas cromosómicas de *C. apella* que contienen secuencias teloméricas intersticiales.

Abreviaturas: ABH (*Ateles belzebuth hybridus*), CAP (*Cebus apella*), LLA (*Lagothrix lagothricha*), CAE (*Cercopithecus aethiops*), GGO (*Gorilla gorilla*), HSA (*Homo sapiens*), MFA (*Macaca fascicularis*), PTR (*Pan troglodytes*), inv: inversión.

2 Implicaciones evolutivas de los lugares frágiles y las secuencias teloméricas intersticiales.

La actual hipótesis que considera a los lugares frágiles (características estructurales de los cromosomas de los mamíferos) y a las secuencias teloméricas intersticiales (STIs) como regiones cromosómicas inestables donde pueden producirse reorganizaciones estructurales y/o amplificaciones génicas, nos llevó al planteamiento de nuestra hipótesis de trabajo. ¿Existe una relación entre ambos fenómenos y los cambios cromosómicos ocurridos durante la evolución cariotípica de las especies?

Para poder determinar el posible papel que han desempeñado (o están desempeñando) los lugares frágiles y las secuencias teloméricas intersticiales en el proceso de evolución cariotípica en el caso particular de los Primates, en este trabajo se han establecido:

- (1) La distribución de los lugares frágiles inducidos por afidicolina en los cariotipos de *M. fascicularis*, *M. sphinx*, *C. apella* y *C. nigrivittatus*.
- (2) La distribución de las secuencias teloméricas intersticiales en los cariotipos de *M. fascicularis* y *C. apella*.

La localización de los lugares frágiles en las diferentes especies de Primates no-humanos se ha comparado con la descrita en el cariotipo humano (Human Gene Mapping, 1991), con la finalidad de determinar si dichas regiones se han conservado a lo largo del proceso evolutivo. Del mismo modo, la distribución de las STIs se ha comparado con la descrita en el cariotipo humano (Azzalin y col., 1997). Al mismo tiempo, se han relacionado ambos fenómenos con los puntos de rotura evolutivos descritos en los cariotipos de cada una de las especies comparadas con tal de estudiar la contribución evolutiva de los lugares frágiles y de las secuencias teloméricas intersticiales.

2.1 Conservación en la localización de lugares frágiles en los cariotipos de los Primates y sus implicaciones evolutivas.

El estudio sobre la conservación de los lugares frágiles entre diferentes especies de Primates se basa en la comparación de bandas G y en los resultados obtenidos de la aplicación de la técnica de hibridación *in situ* fluorescente con sondas de pintado cromosómico y sondas clonadas específicas de banda (BACs y YACs).

2.1.1 Lugares frágiles conservados en los Primates.

Los lugares frágiles inducidos por afidicolina en cada una de las especies de Primates estudiadas en este trabajo han sido:

M. fascicularis: 95 lugares frágiles.

M. sphinx: 50 lugares frágiles.

C. apella: 53 lugares frágiles.

C. nigrivittatus: 16 lugares frágiles.

Considerando que los lugares frágiles humanos inducidos por afidicolina descritos en la literatura son 76 (Human Gene Mapping, 1991; Sutherland y Richards, 1999), el estudio comparativo de la localización de dichas regiones muestra que el porcentaje de conservación entre los lugares frágiles de cada una de las especies estudiadas y el cariotipo humano se mantienen dentro del rango 37%-45%. En *M. fascicularis* el 37,89% de los lugares frágiles se conservan en el cariotipo humano. En el caso de *M. sphinx*, el grado de conservación es del 42%, mientras que en *C. apella* y *C. nigrivittatus*, se trata del 45,28% y del 37,50% respectivamente.

Comparando globalmente la localización de los lugares frágiles inducidos por afidicolina en las especies de Catarrhini y Platyrrhini estudiadas en este trabajo (*M. fascicularis*, *M. sphinx*, *C. apella* y *C. nigrivittatus*) y teniendo en cuenta el estudio de Smeets y Van de Klundert (1990) realizado en Homínidos (*H. sapiens*, *P. troglodytes*, *G. gorilla* y *P. pygmaeus*), podemos considerar que más del 60% de los lugares frágiles humanos inducidos por el mismo agente inductor, la afidicolina (Human Gene Mapping, 1991), se conservan en los cromosomas homólogos de, al menos, una de estas especies de Primates. En particular, hay tres lugares frágiles (HSA4q31, HSA7q32.3 y HSA16q22.1) que se conservan en las ocho especies comparadas. Cabe destacar que entre estos *loci*, el lugar frágil HSA7q32.3 también se conserva en el cromosoma homólogo del ratón (Djalali y col., 1987).

Entre las cuatro especies de Homínidos y las dos especies de la Tribu Papionini estudiadas bajo la inducción de la afidicolina, se conservan 6 (7,89%) lugares frágiles humanos (HSA1p22; HSA4q31; HSA7q32.3; HSA16q22.1; HSAXp22.1; HSAXq22.1); entre Homínidos y *M. fascicularis* se conservan 8 (10,53%) de los lugares frágiles humanos (HSA1p22; HSA4q31; HSA7p13; HSA7q32.3; HSA16q22.1; HSA16q23.2; HSAXp22.1; HSAXq22.1); y entre Homínidos, los lugares frágiles conservados (17) representan el 22,37% de los lugares frágiles humanos (Smeets y Van de Klundert, 1990).

Estos porcentajes de conservación entre los lugares frágiles humanos y los de los Homínidos no-humanos son mucho menores que los encontrados entre *H. sapiens* y las especies estudiadas en este trabajo (*M. fascicularis*, *M. sphinx*, *C. apella* y *C. nigrivittatus*) bajo las mismas condiciones experimentales. Los lugares frágiles no suelen expresarse en el 100% de las metafases analizadas y el grado de expresión depende de las condiciones de cultivo utilizadas, del individuo y del tipo celular estudiado. En este sentido, es necesario incidir en la importancia de diferentes factores a la hora de analizar la expresión de lugares frágiles entre diferentes especies:

- 1) Número de metafases analizadas. Al aumentar el número de metafases analizadas puede aumentar el número de lugares frágiles detectados.
- 2) Número de especímenes estudiados. Dada la existencia de una variabilidad de expresión de los lugares frágiles entre diferentes individuos de una misma especie, al aumentar el número de especímenes analizados aumentará el número de lugares frágiles detectados.
- 3) Tipo de tejido analizado. Estudios realizados en ratón evidencian la existencia de una variabilidad en la expresión de lugares frágiles en función del tejido y tipo celular analizado. El estudio comparativo realizado por Elder y Robinson (1989) muestran diferencias entre la expresión de lugares frágiles inducidos por afidicolina en cultivos de linfocitos provenientes de bazo y la expresión bajo la acción del mismo agente inductor en cultivos de fibroblastos.

Al mismo tiempo, para poder homologar los resultados obtenidos es necesario unificar las metodologías de estudio de la expresión de los lugares frágiles y su análisis en cuanto a parámetros estudiados y al análisis estadístico utilizado, con tal de permitir que los resultados obtenidos en diferentes estudios sean comparables entre sí.

La aplicación de sondas clonadas específicas de banda (BACs y YACs) ha confirmado, en la gran mayoría de los casos, las homologías anteriormente descritas mediante la comparación de bandas G. Las sondas específicas de bandas cromosómicas humanas que contienen lugares frágiles hibridan, y por tanto se conservan, con los lugares frágiles homólogos de los cariotipos de *M. fascicularis*, *M. sphinx* y *M. arctoides*. Este ha sido el caso de los lugares frágiles humanos FRA1B (1p32), FRA1D (1p22), FRA1H (1q42), FRA3B (3p14.2), FRA5A (5p13), FRA5C (5q31), FRA5E (5p14), FRA7D (7p13), FRA7F (7q22), FRA7H (7q32), FRA18A (18q12.2) y FRAXB (Xp22).

2.1.2 Lugares frágiles y puntos de rotura evolutivos.

Una vez definidas las bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones evolutivas (*apartado 1.2*) y la localización de los lugares frágiles, podemos afirmar que:

- 1) En el caso de las especies pertenecientes a la Tribu Papionini, el 62,96% (17 de 27) de los puntos evolutivos están situados en bandas cromosómicas que expresan un lugar frágil (Tabla 5.2).
- 2) Por lo que respecta a las especies del género *Cebus* estudiadas, el 75,75% (25 de 33) de los puntos evolutivos están situados en bandas cromosómicas que expresan un lugar frágil (Tabla 5.3).

Estos datos indican que existen regiones o bandas cromosómicas de los cariotipos de los Primates en las que se tienden a concentrar ciertas reorganizaciones evolutivas.

Si lo analizamos desde el punto de vista de la frágilidad cromosómica, vemos que un alto porcentaje de los lugares frágiles descritos en cada una de las especies de Primates están localizados en bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones evolutivas: el 15,79% de los lugares frágiles de *M. fascicularis*, el 22% de los lugares frágiles de *M. sphinx* y el 41,51% de los lugares frágiles de *C. apella*.

En el caso del cariotipo humano, más del 30% (26) de los lugares frágiles inducidos por afidicolina están localizados en bandas cromosómicas humanas implicadas en puntos de rotura evolutivos. De éstos, 10 lugares frágiles están localizados en bandas cromosómicas que coinciden con límites de hibridación de las sondas de pintado cromosómico de las especies de Platyrrhini *L. lagothericha*, *A. belzebuth hybridus*, y diversas especies de cercopitecidos y homínidos. Es el caso de los lugares frágiles humanos localizados en las bandas cromosómicas: HSA1p22, HSA1q25, HSA2q13, HSA2q31, HSA4q27, HSA4q31, HSA5q31, HSA6q13, HSA7q22 y HSA7q32.3, los cuales corresponden a puntos de fusión/fisión cromosómica. Otros lugares frágiles humanos inducidos por afidicolina están localizados en puntos de inversiones o en centrómeros ancestrales.

Los primeros estudios donde se relacionaban los lugares frágiles con el proceso de evolución cariotípica en Primates (Mirò y col., 1987; Clemente y col., 1987; 1990a), sugerían que algunos lugares frágiles humanos se correspondían con puntos de rotura implicados en reorganizaciones evolutivas, como puntos de fusión, inversiones, translocaciones, etc. Contemporáneamente, Smeets y Van de Klundert (1990) estudiaron la expresión de lugares frágiles inducidos por afidicolina en gorila, chimpancé y orangután, pero en este caso, no encontraron una clara relación entre estos

puntos y cambios cromosómicos evolutivos. Probablemente, esta diferencia en cuanto a las relaciones encontradas entre los lugares frágiles y las reorganizaciones cromosómicas entre los diferentes estudios, sea debida a los diferentes métodos de análisis utilizados.

Al ampliar el número de especies de Primates en las que se estudia la expresión de lugares frágiles y al aumentar el estudio incorporando los datos de los análisis comparativos de patrones de bandas G y pintado cromosómico con los cromosomas humanos en Platyrrhini y Catarrhini, los resultados obtenidos reflejan: (1) la existencia de un alto grado de conservación en la localización de los lugares frágiles entre las especies comparadas y, al mismo tiempo, (2) una clara relación entre la localización de estos *loci* y los puntos de rotura evolutivos.

2.2 Distribución de las secuencias teloméricas intersticiales en los cariotipos de los Primates y sus implicaciones evolutivas.

La hipótesis sobre el origen evolutivo de las secuencias teloméricas ha ido desarrollándose y complementándose desde principios de los años 90 con nuevos estudios donde se incluyen cada vez un mayor número de especies. En el momento de iniciar este trabajo experimental y a pesar de que habían pasado más de 10 años desde la primera descripción de las secuencias teloméricas intersticiales (Moyzis y col., 1988; Meyne y col., 1990), los estudios realizados en Primates se limitaban a los prosimios (Meyne y col., 1990; Garagna y col., 1997; Go y col., 2000) y al hombre (Azzalin y col., 1997). Dentro de este escenario, nos propusimos profundizar en el estudio de las secuencias teloméricas intersticiales en las especies de Primates que habíamos comenzado a caracterizar citogenéticamente en nuestro grupo de trabajo y de las cuales conocíamos los procesos evolutivos que se habían producido. El conocimiento de las reorganizaciones evolutivas que relacionan los cariotipos de las especies nos ha permitido explicar, dentro del contexto evolutivo, la posición de muchas de las secuencias teloméricas intersticiales descritas en los cariotipos de *M. fascicularis*, *C. apella* y el propio *H. sapiens*.

Los estudios realizados en los lémures (Meyne y col., 1990; Garagna y col., 1997; Go y col., 2000) describieron grandes bloques teloméricos pericentroméricos de diferente intensidad en la mayoría de los cromosomas metacéntricos y acrocéntricos. La localización de dichas secuencias coincidía con regiones de heterocromatina constitutiva, sugiriendo que el ADN satélite y las repeticiones teloméricas (TTAGGG)_n se localizaban en la misma región, a la vez que los mecanismos de amplificación de dichas secuencias explicarían los diferentes patrones observados en las especies de lémures. En nuestro estudio, y coincidiendo con Azzalin y col. (1997) no se han detectado secuencias teloméricas en regiones de heterocromatina constitutiva, ni en regiones

terminales ni en regiones intersticiales, centroméricas o no-centroméricas (Ruiz-Herrera y col., 2002b; Ruiz-Herrera y col., enviado). Una posible explicación a esta diferencia en el patrón de hibridación con la sonda telomérica podría ser el hecho de que en los Primates la heterocromatina constitutiva es muy heterogénea (García y col., 2003).

Tal como queda reflejado en el apartado de resultados, la distribución de las secuencias teloméricas intersticiales (STIs) en el cariotipo humano (103 *loci*; Azzalin y col., 1997), en *M. fascicularis* (90 *loci*; Ruiz-Herrera y col., 2002b) y en *C. apella* (55 *loci*; Ruiz-Herrera y col., enviado) es similar, se tratan de pequeñas señales de hibridación en ambas cromátides distribuidas en diferentes cromosomas. El estudio comparativo de la localización de ITSs en las tres especies, indica que, al menos, 9 ITSs se localizan en bandas cromosómicas homólogas.

Teniendo en cuenta el cariotipo ancestral de los Primates descrito a finales de la última década (Müller y col., 1997; O'Brien y Stanyon, 1999), muchas de las secuencias teloméricas descritas en los cariotipos de *H. sapiens*, *M. fascicularis* y *C. apella* se pueden explicar dentro de un contexto evolutivo. De este modo, las secuencias teloméricas intersticiales descritas en este trabajo experimental pueden considerarse, según los casos:

- 1) El resultado de reorganizaciones evolutivas, como son fusiones de cromosomas ancestrales y reorganizaciones intracromosómicas (internalizaciones de telómeros funcionales).
- 2) Regiones inestables donde pueden producirse, de forma preferente, reorganizaciones cromosómicas (fisiones y/o inversiones). De esta forma, las secuencias teloméricas intersticiales actuarían como “reservas” para la formación de nuevos telómeros, estabilizando nuevas reorganizaciones.

2.3 Relación entre los lugares frágiles, las secuencias teloméricas intersticiales y los puntos de rotura evolutivos.

Las secuencias teloméricas intersticiales, al ser consideradas regiones de inestabilidad cromosómica donde pueden producirse reorganizaciones evolutivas, podrían estar relacionadas con los lugares frágiles.

Nuestros resultados indican que en los cariotipos de *H. sapiens*, *M. fascicularis* y *C. apella* existe una coincidencia entre la localización de secuencias teloméricas intersticiales y los lugares frágiles.

- 1) *M. fascicularis*: el 51,14% de las secuencias teloméricas intersticiales se localizan en bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles.
- 2) *C. apella*: el 49,09% de las secuencias teloméricas intersticiales se localizan en bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles.

Estos resultados apoyan los estudios previos que consideran la hipótesis en la cual las secuencias teloméricas intersticiales coinciden con regiones de inestabilidad genómica, como pueden ser los lugares frágiles (Farr y col., 1991; Musio y col., 1996). Lo que todavía queda por discutir es si las secuencias teloméricas intersticiales son la causa o la consecuencia de dicha inestabilidad. En este sentido, estudios en humano (Azzalin y col., 2001) y en hamster chino (Faravelli y col., 2002) sugieren que la presencia de secuencias teloméricas en regiones internas de los cromosomas es el indicador de que en dichas regiones se han producido roturas cromosómicas que han sido reparadas por la telomerasa mediante la adición de secuencias teloméricas.

Recopilando todos los resultados obtenidos en este trabajo experimental y los análisis citogenéticos comparativos en Primates descritos en la literatura, podemos establecer una clara relación entre lugares frágiles, secuencias teloméricas intersticiales y la evolución cariotípica dentro de este grupo taxonómico. A continuación mostramos los ejemplos más significativos, teniendo en cuenta el cariotipo ancestral de los Primates (Müller y col., 1999) y las homologías cromosómicas descritas en este trabajo (aparatado resultados).

2.3.1 Cromosoma humano 1 (HSA1).

En el cariotipo ancestral de los Primates, el cromosoma 1 humano está representado en dos cromosomas diferentes (1a y 1b) (Figura 5.1). En las especies de la Tribu Papionini así como en otras especies de la F. Cercopithecidae, los dos cromosomas ancestrales se habrían fusionado para formar uno solo. Dichas especies habrían mantenido la forma ancestral de los Catarrhini, por lo que es necesario una inversión paracéntrica y otra pericéntrica (también descrita en otras especies de cercopitecidos y homínidos) para llegar a la forma actual del cromosoma 1 humano (HSA1). Las cuatro bandas cromosómicas implicadas en las inversiones (MFA1p31, MFA1p21, MFA1p12 y MFA1q14) contienen secuencias teloméricas intersticiales y dos de ellas (MFA1q14 y MFA1p12) expresan lugares frágiles.

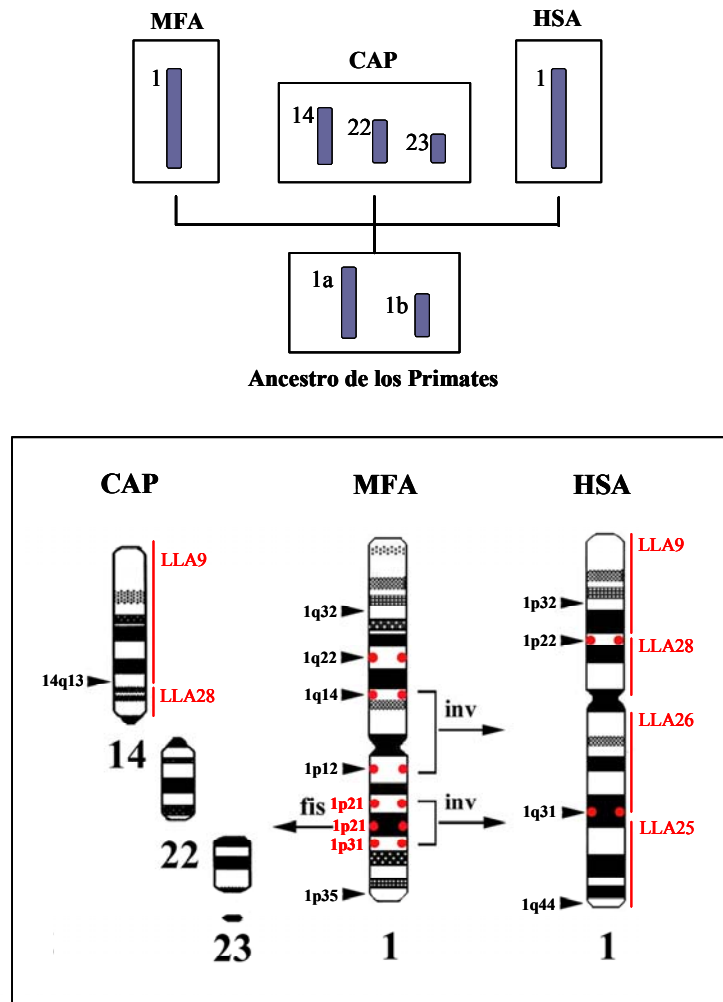


Figura 5.1: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 1 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos indican las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Las bandas cromosómicas en rojo sólo contienen STIs y no expresan lugares frágiles. Fis: fisión, inv: inversión, LLA: *L. lagothericha*.

En algunos Platyrrhini, como es el caso de *C. apella*, el cromosoma ancestral 1a se habría mantenido intacto (CAP14), mientras que la forma 1b se habría fisionado para producir dos cromosomas diferentes (CAP22 y CAP23). En otras especies de Platyrrhini, como *L. lagothericha*, los dos cromosomas ancestrales 1a y 1b se habrían fisionado para producir cuatro cromosomas diferentes homólogos al cromosoma 1 humano (1a: LLA9 y LLA28, 1b: LLA26 y LLA25).

Las secuencias teloméricas localizadas en las bandas homólogas HSA1q31 y MFA1p21 corresponderían con el punto de fisión de los cromosomas CAP22/23 y LLA25/26. En humano, la banda HSA1q31 también expresa un lugar frágil. Las bandas cromosómicas homólogas de *C. apella*, *M. fascicularis* y *H. sapiens* correspondientes al punto de fisión para los cromosomas LLA9 y LLA28 expresan lugares frágiles en las tres especies (CAP14q13, MFA1q22 y HSA1p22) y en *M. fascicularis* y *H. sapiens* contienen secuencias teloméricas intersticiales.

2.3.2 Cromosoma humano 2 (HSA2).

En el cariotipo ancestral de los Primates, el cromosoma 2 humano está representado en dos cromosomas diferentes (2a y 2b) (Figura 5.2) que se mantienen independientes en las dos grandes ramas de los Simios (Catarrhini y Platyrrhini). En el linaje humano estos cromosomas aparecen fusionados formando el cromosoma 2 humano, por lo que se trata de una fusión cromosómica telómero-telómero reciente. Las secuencias teloméricas intersticiales localizadas en la banda cromosómica HSA2q13, correspondiente al punto de la fusión, se han clonado demostrándose que se tratan de dos bloques de secuencias teloméricas orientadas de forma opuesta (Ijdo y col., 1991). En dicha banda cromosómica se expresa además un lugar frágil.

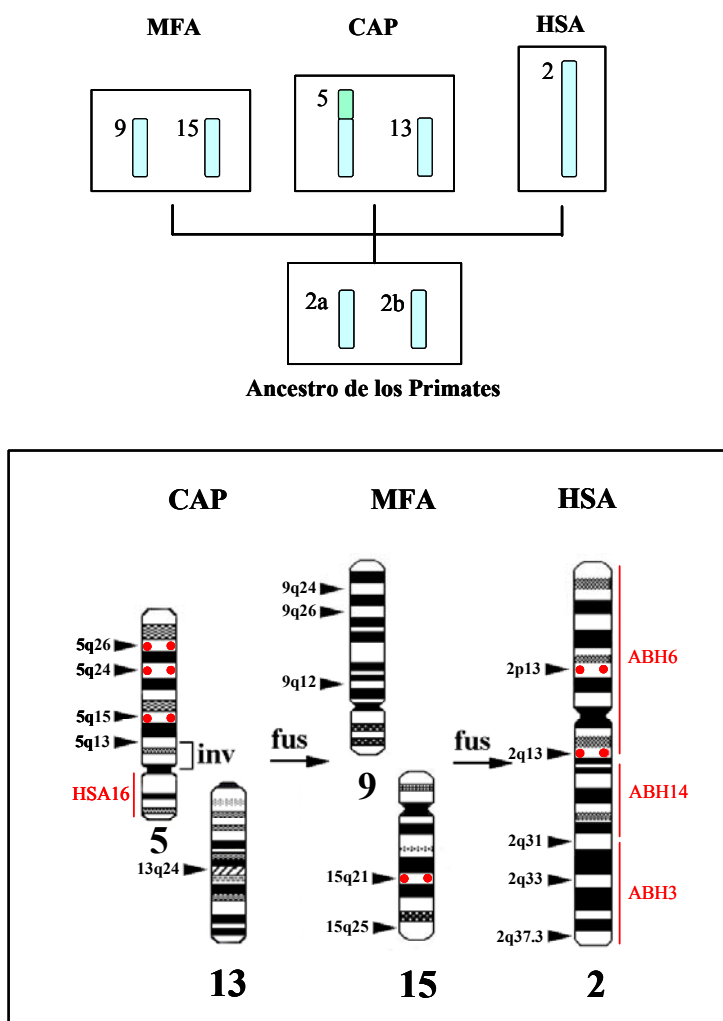


Figure 5.2: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 2 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos representan las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Fus: fusión, inv: inversión. Las líneas oblicuas indican las regiones heterocromáticas.

En *C. apella*, los cromosomas homólogos a HSA2 son CAP5q y CAP13. Para homologar CAP5q con la región homóloga del cromosoma HSA2 (2pter-2q13) es necesaria una inversión pericéntrica. Una de las bandas implicadas en la inversión (CAP5q13) expresa un lugar frágil. El cromosoma HSA2 está representado en el cariotipo de *A. belzebuth hybridus* en tres cromosomas (2pter-2q13=ABH6, 2q13-2q31=ABH14 y 2q31-2qter=ABH3. La banda cromosómica humana correspondiente al punto de fisión para los cromosomas ABH3 y ABH14 expresa un lugar frágil (HSA2q31). Dicho lugar frágil también se expresa en la banda cromosómica homóloga de *C. apella* (CAP13q24).

Entre los cromosomas de *M. fascicularis* y *C. apella* homólogos a la región 2pter-2q13 del cromosoma humano 2, se conservan tres lugares frágiles (MFA9q24, MFA9q26 y MFA9q12). Entre la región 2q13-2qter del cromosoma HSA2 y su cromosoma homólogo en el cariotipo de *M. fascicularis* se conservan dos lugares frágiles (HSA2q33 y HSA2q37.3). El primero de ellos también se expresa en el cariotipo del ratón (Djalali et al., 1987), mientras que el segundo se expresa también en los grandes monos (chimpanzé, gorila y orangután) (Smeets y Van de Klundert, 1990).

2.3.3 Cromosoma humano 4 (HSA4).

En el cariotipo ancestral de los Primates el cromosoma homólogo al 4 humano está representado en un solo cromosoma, el cual se mantiene en el cariotipo ancestral de los Platyrrhini y Catarrhini (Figura 5.3). En algunas especies de Platyrrhini, este cromosoma se fisiona en dos cromosomas, como es el caso de *L. lagothericha* (LLA14 y LLA24), o en tres cromosomas, como *A. belzebuth hybridus* (ABH2, ABH9 y ABH15). Los puntos de fisión localizados en el cariotipo humano (HSA4q27 y HSA4q31) y en el de *M. fascicularis* (MFA4q23 y MFA4q31) expresan lugares frágiles, conservados también en *C. apella* (CAP2q24 y CAP2q13). En *M. fascicularis*, dichas bandas cromosómicas contienen secuencias teloméricas intersticiales, mientras que en *C. apella* solo una de ellas (CAP2q24) contiene secuencias teloméricas intersticiales.

Las bandas cromosómicas de *M. fascicularis* y *C. apella* que corresponden con el centrómero de HSA4, expresan lugares frágiles en ambas especies (MFA4p21 y CAP2q32) y contienen secuencias teloméricas intersticiales.

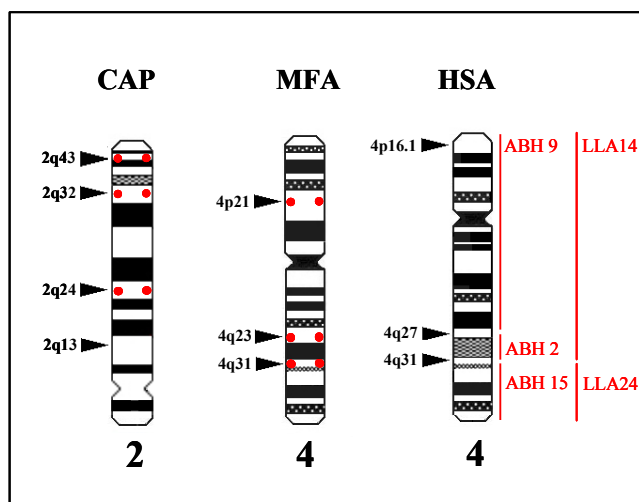
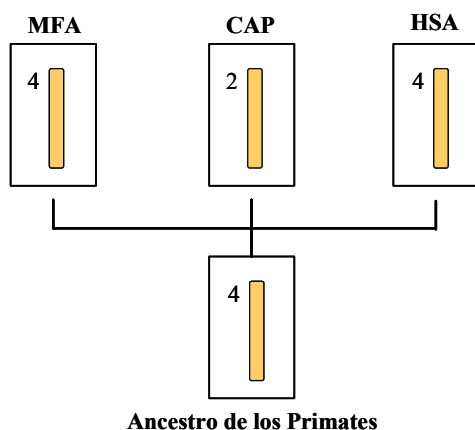


Figura 5.3: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 4 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. LLA: *L. lagothericha*, ABH: *A. belzebuth hybridus*.

2.3.4 Cromosoma humano 5 (HSA5).

La situación del cromosoma humano 5 es equivalente que HSA4, con la diferencia de que en el cariotipo ancestral de los Platyrrhini el cromosoma homólogo al cromosoma humano 5 está fusionado a un fragmento del cromosoma 7 humano (Figura 5.4). En el punto de fusión del cariotipo de *C. apella* (CAP1p14) se expresa un lugar frágil y se localizan secuencias teloméricas intersticiales. Además es necesaria una inversión paracéntrica para homologar el cromosoma CAP1 con HSA5. En los puntos de inversión (CAP1q11 y CAP1q34) se localizan secuencias teloméricas intersticiales.

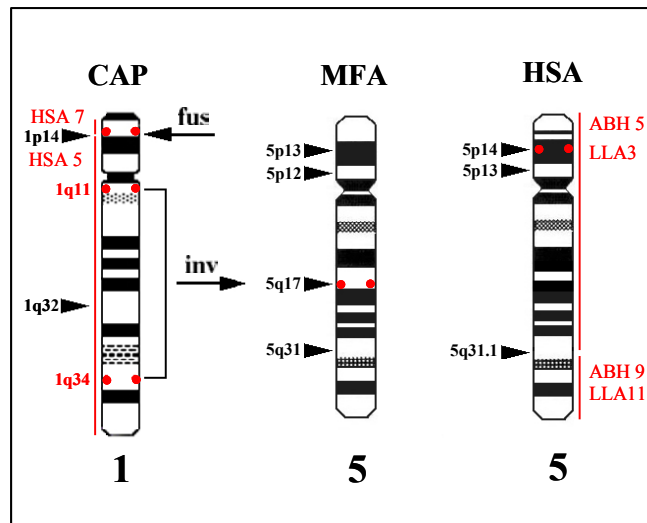
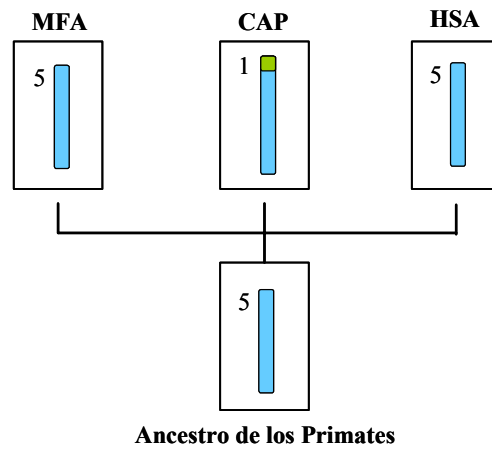


Figura 5.4: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 5 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Fus: fusión, inv: inversión, LLA: *L. lagothericha*, ABH: *A. belzebuth hybridus*.

En las especies de Platyrrhini *L. lagothericha* y *A. belzebuth hybridus*, el cromosoma 5 ancestral se fisiona en dos cromosomas (LLA3/LLA11 y ABH5/ABH9, respectivamente). El punto de fisión en el cariotipo humano (HSA5q31.1) expresa un lugar frágil y cuando se homologa con el cromosoma homólogo en *M. fascicularis*, se corresponde con una banda cromosómica que expresa un lugar frágil (MFA5q31). Ente estas dos especies, *H. sapiens* y *M. fascicularis*, se conservan dos lugares frágiles más (HSA5p14 y HSA5p13). Entre *M. fascicularis* y *C. apella* se conserva un lugar frágil en las bandas cromosómicas homólogas, MFA5q17 y CAP1q32, que además contiene secuencias teloméricas intersticiales en *M. fascicularis* (MFA5q17).

2.3.5 Cromosoma humano 7 (HSA7).

En el cariotipo ancestral de los Primates, el cromosoma homólogo a HSA7 se mantiene como un único cromosoma, con una morfología cromosómica similar a las encontradas en *C. apella* y *M. fascicularis* (Figura 5.5). En *C. apella*, dicha morfología se habría conservado sin ninguna reorganización desde el ancestro de los Platyrrhini, mientras que en *M. fascicularis* se habría producido una fusión con el cromosoma homólogo al HSA21. En el punto de fusión (MFA2p13) se han detectado secuencias teloméricas intersticiales.

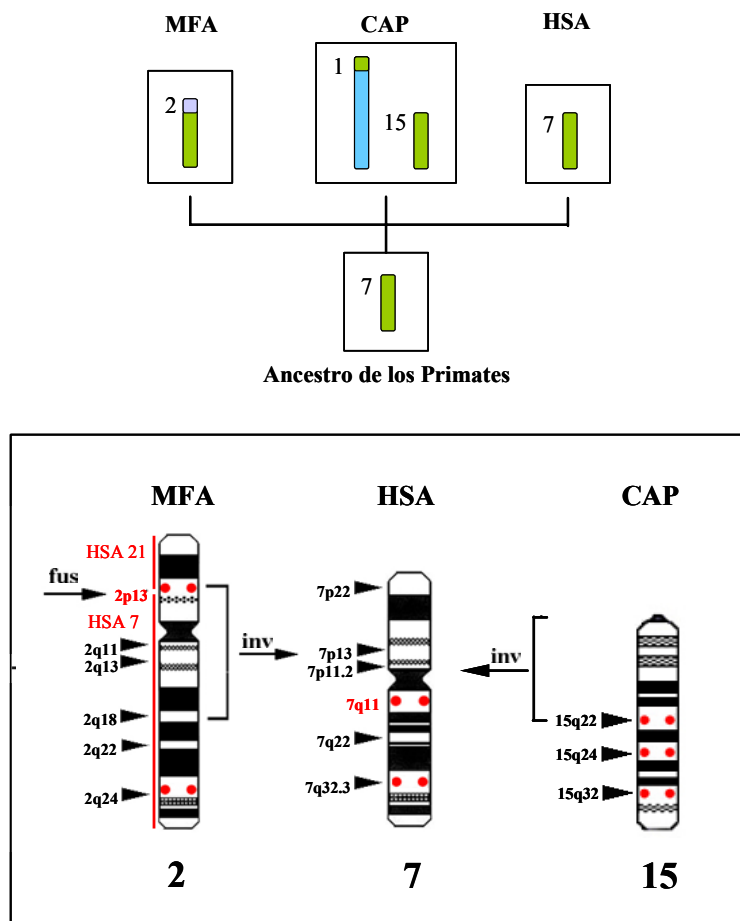


Figura 5.5: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 7 humano (HSA), donde el fragmento del cromosoma 7 humano asociado al 5 en *C. apella* no está representado. Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Fus: fusión, inv: inversión.

La forma cromosómica de HSA7 se explica a través de una inversión pericéntrica desde el cromosoma ancestral. En los cromosomas CAP15 y MFA2 el punto de inversión (CAP15q22 y MFA2q18) expresan un lugar frágil y contiene secuencias teloméricas intersticiales en *C. apella*. Las secuencias teloméricas localizadas en la banda HSA7q11 representarían el telómero, ahora no

funcional, que habría pasado a regiones internas del cromosoma después de la inversión pericéntrica.

Entre HSA7 y MFA2 se conservan cuatro lugares frágiles (HSA7p13, HSA7p11.2, HSA7q22 y HSA7q32.3) y dos de ellos (HSA7q22 y HSA7q32.3) también se expresan como lugares frágiles en las bandas homólogas de *C. apella* (CAP15q24 y CAP15q32). En esta última especie, todos los lugares frágiles detectados contienen secuencias teloméricas intersticiales, mientras que en el caso de HSA7 y MFA2, sólo uno de los lugares frágiles conservados contiene secuencias teloméricas.

2.3.6 Cromosoma humano 8 (HSA8).

En el cariotipo ancestral de los Primates el cromosoma homólogo a HSA8 se mantiene como un solo cromosoma cuya morfología correspondería a la que está presente en el cariotipo humano y en *M. fascicularis* (Figura 5.6).

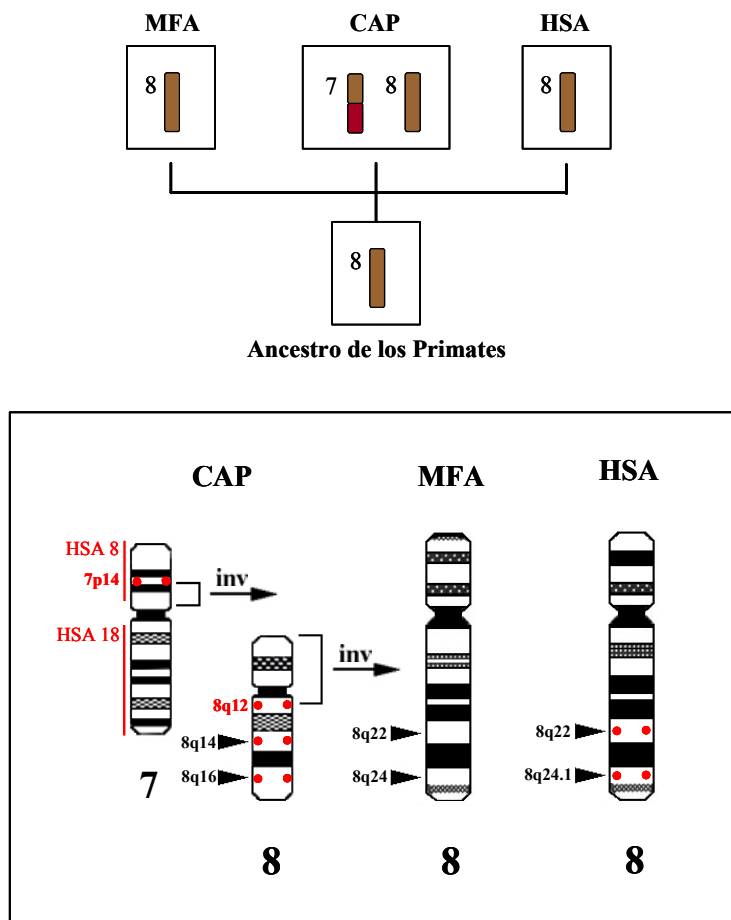


Figura 5.6: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 8 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Inv: inversión.

En *C. apella* el cromosoma HSA8 estaría representado en dos cromosomas diferentes (CAP7 y CAP8) a través de una fisión y dos inversiones, una pericéntrica y otra paracéntrica. En los puntos de inversión CAP7p14 y CAP8q12, se localizan secuencias teloméricas intersticiales.

Entre las tres especies (*H. sapiens*, *M. fascicularis* y *C. apella*) se conservan dos lugares frágiles en las bandas homólogas correspondientes. Las dos bandas cromosómicas que expresan los lugares frágiles en el cromosoma humano (HSA8q22 y HSA8q24.1) y en el cromosoma homólogo de *C. apella* (CAP8q14 y CAP8q16) contienen, además, secuencias teloméricas intersticiales.

2.3.7 Cromosoma humano 11 (HSA11).

El cromosoma ancestral homólogo a HSA11 se mantiene como un solo cromosoma desde el ancestro de los Primates hasta *M. fascicularis* y *C. apella* (Figura 5.7).

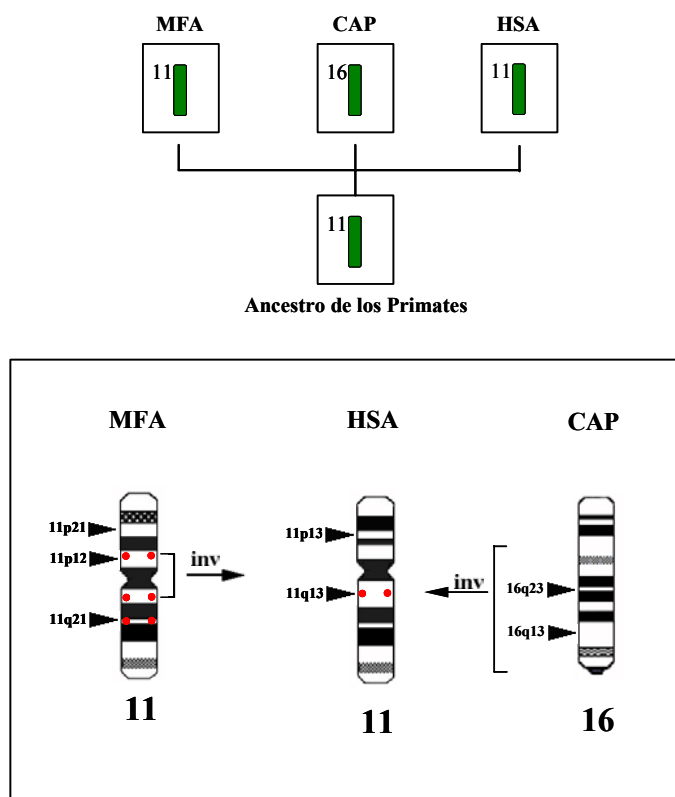


Figura 5.7: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 11 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Inv: inversión.

Los cromosomas de estas dos especies se homologan con el humano a través de dos inversiones pericentroméricas diferentes. La inversión detectada en *M. fascicularis* también se ha descrito en otras especies de la F. Cercopithecidae (Clemente y col., 1990a). En *M. fascicularis*, las dos bandas

cromosómicas implicadas en la inversión contienen secuencias teloméricas intersticiales y uno de los puntos de inversión (MFA11p12) expresa un lugar frágil.

Entre las tres especies se conserva un lugar frágil (HSA11q13, el cual se corresponde con MFA11p12 y CAP16q13). En humano y *M. fascicularis* dichas bandas cromosómicas contienen secuencias teloméricas intersticiales. Entre *M. fascicularis* y *C. apella* también se conserva un lugar frágil (MFA11q21 y CAP16q23). Las dos bandas cromosómicas HSA11p21 y MFA11p13 expresan lugares frágiles y corresponderían con centrómeros ancestrales.

2.3.8 Cromosoma humano 13 (HSA13).

El cromosoma homólogo a HSA13 se mantiene como un solo cromosoma en las tres especies (Figura 5.8), siendo necesario un cambio en la posición del centrómero para homologar MFA16 con CAP17 y HSA13.

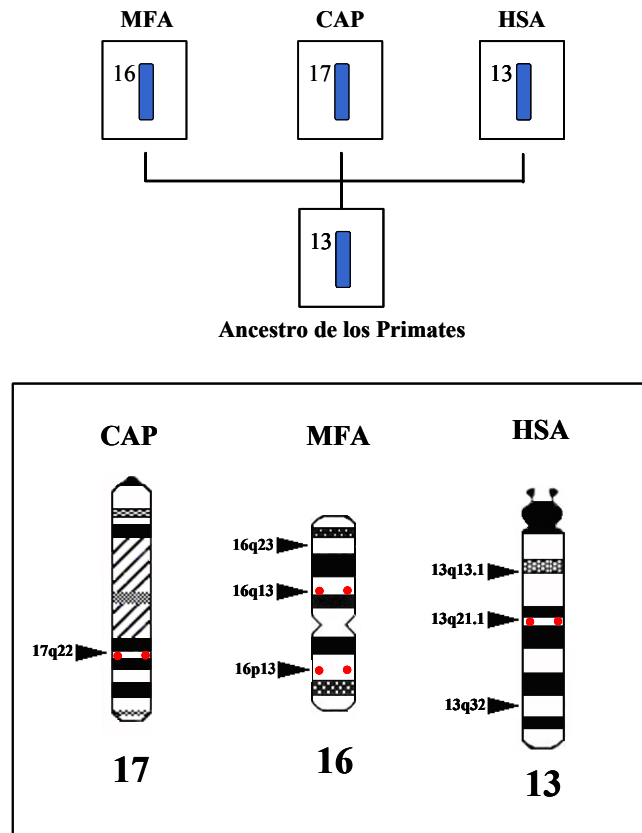


Figura 5.8: Reresentación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 13 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Las líneas oblicuas indican las regiones heterocromáticas.

Entre *H. sapiens* y *M. fascicularis* se conservan tres lugares frágiles. Dos de las tres bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles en MFA16, contienen secuencias teloméricas intersticiales (MFA16p13 y MFA16q13), mientras que en HSA13 sólo una de estas bandas homólogas contiene secuencias teloméricas (HSA13q21.1). Por lo que respecta a *C. apella*, sólo el lugar frágil humano 13q32 se expresa como tal en esta especie en la banda cromosómica CAP17q22. Dicha banda contiene secuencias teloméricas intersticiales.

2.3.9 Cromosoma humano 17 (HSA17).

Desde el cariotipo ancestral de los Primates, los cromosomas homólogos al 17 humano se mantienen como un solo cromosoma en las tres especies (Figura 5.9). En *M. fascicularis* y *H. sapiens*, habrían mantenido la misma morfología cromosómica, mientras que el cromosoma homólogo en *C. apella* necesita una inversión pericéntrica para ser homologable.

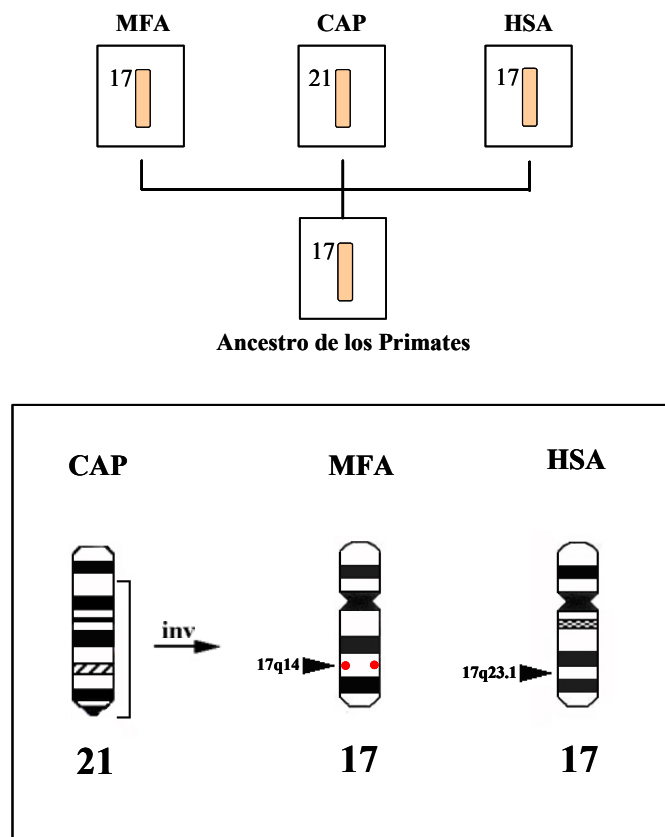


Figura 5.9: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 17 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Inv: inversión. Las líneas oblicuas indican las regiones heterocromáticas

Entre *H. sapiens* y *M. fascicularis* se conserva un lugar frágil (HSA17q23.1 y MFA17q14) que en el caso de *M. fascicularis* dicha banda cromosómica contiene secuencias teloméricas intersticiales.

2.3.10 Cromosoma humano 18 (HSA18).

En el cariotipo ancestral de los Primates y de los Catarrhini, el cromosoma homólogo a HSA18 se habría mantenido como un solo cromosoma (Figura 5.10). En cambio, en el cariotipo ancestral de los Platyrrhini, el cromosoma homólogo al 18 humano estaría asociado a un fragmento del cromosoma 8 humano (CAP7). Para homologar los cromosomas HSA18 y MFA18 es necesario un cambio en la posición del centrómero. En cambio, el cromosoma CAP7 es homólogo a los cromosomas MFA18 y HSA18 a través de una inversión pericéntrica. El punto de inversión (CAP7q14) expresa un lugar frágil.

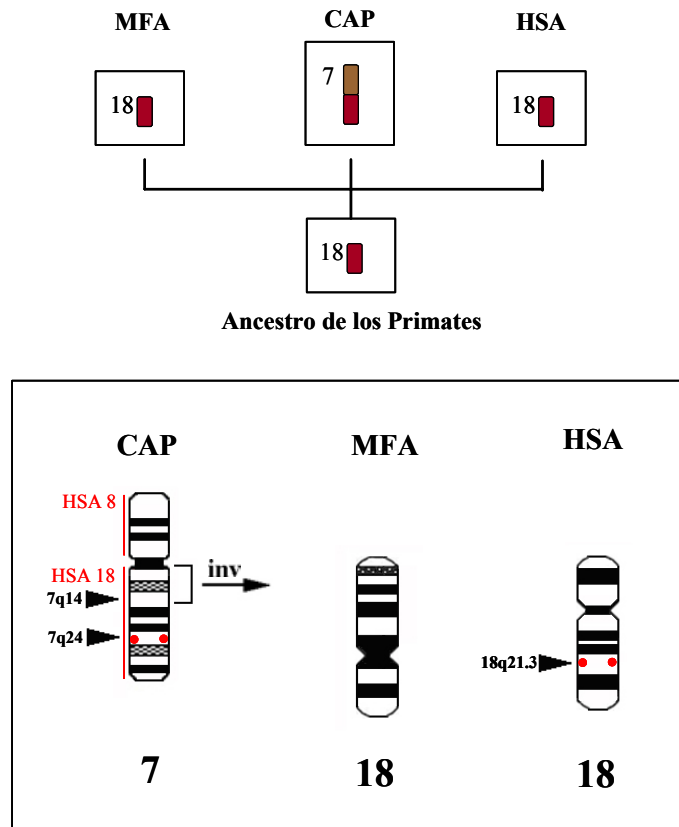


Figura 5.10: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 18 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Inv: inversión.

En los cromosomas HSA18 y CAP7, la banda cromosómica que correspondería al centrómero de MFA (HSA18q21.3 y CAP7q24, respectivamente), expresa un lugar frágil y contiene secuencias teloméricas intersticiales en las tres especies.

2.3.11 Cromosoma humano 20 (HSA20).

En el cariotipo ancestral de los Primates, el cromosoma homólogo al 20 humano se habría mantenido como un solo cromosoma (Figura 5.11), probablemente acrocéntrico, dada la similitud entre las morfologías cromosómicas encontradas en los cromosomas homólogos de *M. fascicularis* y varias especies del género *Cebus* (*C. nigrivittatus*, *C. capucinus* y *C. albifrons*). En el cariotipo ancestral de los Catarrhini, el homólogo al HSA20 estaría asociado al HSA22 a través de una fusión telómero-telómero. En el punto de fusión en el cromosoma de *M. fascicularis* (MFA13p12) se localizan secuencias teloméricas intersticiales.

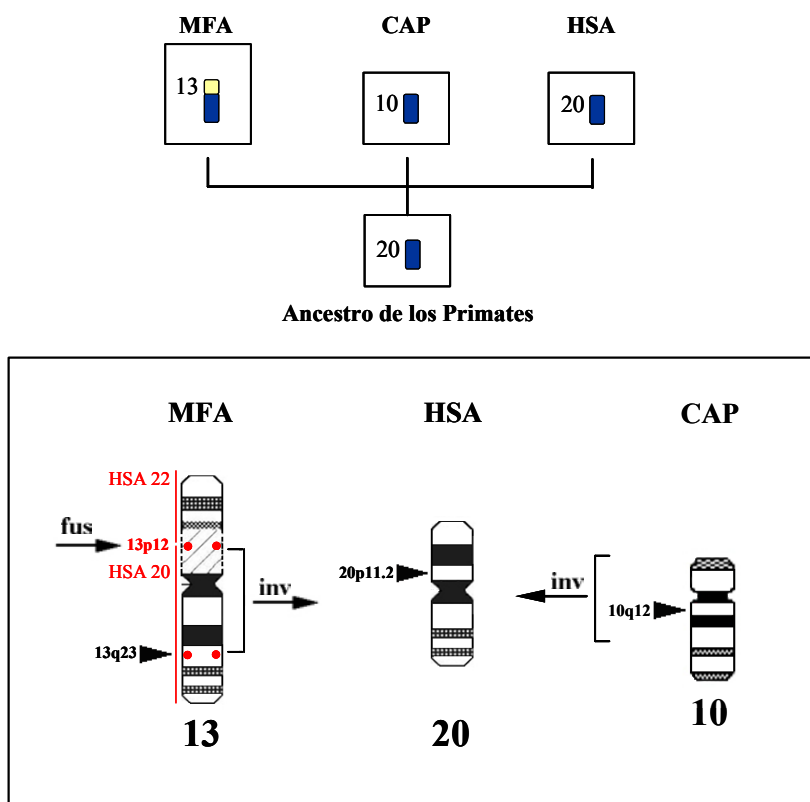


Figura 5.11: Representación de los idiogramas de los cromosomas de *M. fascicularis* (MFA) y *C. apella* (CAP) homólogos al 20 humano (HSA). Las cabezas de flecha indican bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y los círculos rojos, las STIs relacionadas con cambios evolutivos. Fus: fusión, inv: inversión. Las líneas oblicuas indican las regiones NOR.

La morfología presente en el cromosoma HSA20 se explica desde el cromosoma ancestral a través de una inversión pericéntrica. En *M. fascicularis*, el punto de inversión (MFA13q23) expresa un lugar frágil y contiene secuencias teloméricas intersticiales.

Para establecer las homologías entre los cromosomas 10 de *C. apella* (CAP10) y *C. nigrivittatus* (CNI10) es necesaria una inversión pericéntrica y el punto de inversión en *C. apella* expresa un lugar frágil (CAP10q12).

2.3.12 Consideraciones generales.

Sobre las implicaciones evolutivas de las secuencias teloméricas intersticiales y los lugares frágiles, en los estudios comparativos realizados en este trabajo experimental hemos comprobado que:

- (1) En los cariotipos de las especies de la Tribu Papionini estudiadas, el 88,88% (24 de 27) de las bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones evolutivas descritas expresan lugares frágiles y/o contienen secuencias teloméricas intersticiales.
- (2) En los cariotipos de las especies del Género *Cebus* estudiadas, el 81.81% (27 de 33) de las bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones evolutivas expresan lugares frágiles y/o contienen secuencias teloméricas intersticiales.

Este alto porcentaje de coincidencia sugiere que en realidad existe una clara relación entre los puntos de rotura evolutivos, los lugares frágiles y las secuencias teloméricas intersticiales. Evidentemente, no hay que descartar que este porcentaje pueda aumentar si se realiza un estudio comparativo que incluya un número mayor de especies comparadas y emplee técnicas de estudio que permitan aumentar la resolución para la detección de reorganizaciones intracromosómicas que permanecen crípticas hasta el momento.

Conclusiones



1. La aplicación de las técnicas de citogenética clásica y molecular de hibridación *in situ* fluorescente ha permitido determinar y comprobar las homologías cromosómicas entre las especies de Primates estudiadas. Estas técnicas también han permitido definir:
 - Las reorganizaciones cromosómicas que explican las homologías cromosómicas detectadas.
 - Los puntos de rotura evolutivos implicados en dichas reorganizaciones.
2. El análisis de los lugares frágiles inducidos por afidicolina mediante la aplicación del sistema estadístico FSM (versión 995) ha permitido determinar 95 lugares frágiles en el cariotipo de *Macaca fascicularis*, 50 lugares frágiles en el cariotipo de *Mandrillus sphinx*, 53 lugares frágiles en el cariotipo de *Cebus apella* y 16 lugares frágiles en el cariotipo de *Cebus nigrivittatus*.
3. El estudio comparativo de la localización de los lugares frágiles muestra que el porcentaje de conservación entre las especies estudiadas (*M. fascicularis*, *M. sphinx*, *C. apella* y *C. nigrivittatus*) y el cariotipo humano se mantiene entre el 37% y el 45%. Entre *M. fascicularis* y *M. sphinx* existe un mayor grado de conservación en la localización de los lugares frágiles (80%) que entre *C. apella* y *C. nigrivittatus* (18,87%). Las diferencias pueden ser consecuencia

* Par cromosómico nº6 de *Cebus nigrivittatus*

de la variabilidad interespecífica e interindividual que caracteriza a la expresión de los lugares frágiles y al diferente número de metafases estudiadas por espécimen y por especie.

4. Los puntos de rotura evolutivos no se distribuyen al azar a lo largo de los cromosomas. El 62,96% de los puntos de rotura evolutivos detectados en los cariotipos de las especies de la Tribu Papionini (*M. fascicularis* y *M. sphinx*) están localizados en bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles. Por lo que respecta a las especies del género *Cebus* estudiadas (*C. apella* y *C. nigrivittatus*) el 75,53% de los puntos de rotura evolutivos detectados están situados en bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles.
5. La aplicación de la hibridación *in situ* fluorescente utilizando un polinucleótido sintético (TTAGGG)_n como sonda ha permitido describir la distribución de las secuencias teloméricas intersticiales en los cariotipos de *M. fascicularis* y *C. apella*. En *M. fascicularis* se han detectado 90 loci intracromosómicos que hibridan con la sonda telomérica, mientras que en *C. apella* se han detectado 55 loci intracromosómicos. El estudio comparativo entre las secuencias teloméricas descritas en estas especies y en el cariotipo humano indica que entre estas tres especies 9 bandas cromosómicas homólogas contienen secuencias teloméricas intersticiales.
6. En algunos casos, las secuencias teloméricas intersticiales descritas en los cariotipos de *H. sapiens*, *M. fascicularis* y *C. apella* pueden interpretarse como el resultado de reorganizaciones cromosómicas evolutivas, como fusiones. Este es el caso de las secuencias teloméricas detectadas en las bandas cromosómicas 2q13 del cariotipo humano, 2p13 y 13p12 del cariotipo de *M. fascicularis* y 1p14 del cariotipo de *C. apella*.
7. Las secuencias teloméricas intersticiales también pueden interpretarse como regiones inestables donde pueden producirse, de forma preferente, reorganizaciones cromosómicas, como inversiones y fisiones. El 51,14% de las secuencias teloméricas intersticiales detectadas en el cariotipo de *M. fascicularis* se localizan en bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles. En el caso de *C. apella*, el 49,09% de las secuencias teloméricas detectadas se localizan en bandas que expresan lugares frágiles.
8. Existe una clara relación entre los puntos de rotura evolutivos, las bandas cromosómicas que expresan lugares frágiles y las secuencias teloméricas detectadas en las especies estudiadas,

- En las especies de la Tribu Papionini, el 88,88% de las bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones cromosómicas evolutivas detectadas expresan lugares frágiles y/o contienen secuencias teloméricas intersticiales.
- En las especies del género *Cebus*, el 81,81% de las bandas cromosómicas implicadas en reorganizaciones cromosómicas evolutivas detectadas expresan lugares frágiles y/o contienen secuencias teloméricas intersticiales.

Bibliografía



A

- Abuín M, Martínez P, Sánchez L (1996) *Localization of the repetitive telomeric sequence (TTAGGG)_n in four salmonid species*. Genome 39:1035-1038.
- Álvarez L, Evans JW, Wilks R, Lucas JN, Brown JM, Giaccia AJ (1993) *Chromosomal radiosensitivity at intrachromosomal telomeric sites*. Genes Chromosomes Cancer 8:8-14.
- Andrades-Miranda J, Zanchin NI, Oliveira LF, Langguth AR, Mattevi MS (2002) *(T₂AG₃)_n telomeric sequence hybridization indicating centric fusion rearrangements in the karyotype of the rodent *Oryzomys subflavus**. Genetica 114:11-16.
- Antonacci R, Marzella R, Finelli P, Lonoce A, Forabosco A, Archidiacono N, Rocchi M (1995) *A panel of subchromosomal painting libraries representing over 300 regions of the human genome*. Cytogenet Cell Genet 68:25-32.
- Arlt MF, Miller DE, Beer DG, Glower TW (2002) *Molecular characterization of FRAXB and comparative common fragile site instability in cancer cells*. Genes Chrom Cancer 33:82-92.
- Azzalin CM, Mucciolo E, Bertoni L, Giulotto E (1997) *Fluorescence "in situ" hybridization with a synthetic (T₂AG₃)_n polynucleotide detects several intrachromosomal telomere-like repeats on human chromosomes*. Cytogenet Cell Genet 78:112-115.

* Par 7 de *Cebus nigrivittatus*

Azzalin CM, Nergadze SG, Giulotto E (2001) *Human intrachromosomal telomeric-like repeats: sequence organization and mechanisms of origin*. Chromosoma 110:75-82.

B

Bender MA y Mettler LE (1958) *Chromosome studies of primates*. Science 128:186-190.

Bender MA y Chu EHY (1963) *The chromosomes of primates*. Evol Genet Biol Primates, NY Acad Press 1:261-310.

Berger R, Bloomfield CD, Sutherland GR (1985) *Report of the committee on chromosome rearrangements in neoplasia and on fragile sites (8th International Workshop on Human Gene Mapping)*. Cytogenet Cell Genet 40:490-535.

Bertoni L, Attolini C, Tessera L, Mucciolo E, Giulotto E (1994) *Telomeric and nontelomeric (TTAGGG)_n sequences in gene amplification and chromosome stability*. Genomics 24:53-62.

Bertoni L, Attolini C, Faravelli M, Simi S, Giulotto E (1996) *Intrachromosomal telomere-like DNA sequences in Chinese hamster*. Mamm Genome 7:853-855.

Best RG, Diamond D, Crawford E, Grass FS, Janish C, Lear TL, Soenksen D, Szalay AA, Moore CM (1998) *Baboon/human homologies examined by spectral karyotyping (SKY): a visual comparison*. Cytogenet Cell Genet 82:83-87.

Bigoni F, Stanyon R, Koehler U, Morescalchi AM, Wienberg J (1997a) *Mapping homology between human and black and white colobine monkey chromosomes by fluorescent in situ hybridization*. Am J Primatol 42:289-298.

Bigoni F, Koehler U, Stanyon R, Ishida T, Wienberg J (1997b) *Fluorescence in situ hybridization establishes homology between human and silvered leaf monkey chromosomes, reveals reciprocal translocations between chromosomes homologous to human Y/5, 1/9, and 6/16, and delineates an X1X2Y1Y2/X1X1X2X2 sex-chromosomes system*. Am J Phys Anthropol 102:315-327.

Blackburn EH (1991) *Structure and function of telomeres*. Nature 350:569-573.

Bobrow M y Madan K (1973) *A comparison of chimpanzee and human chromosomes using the Giemsa-11 and other chromosome banding techniques*. Cytogenet Cell Genet 12:107-116.

Borrell A (1995) *Els efectes de les radiacions ionitzants en els cromosomes de Cebus apella (Platyrrhini), Erythrocebus patas i Macaca fascicularis (Catarrhini)*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.

C

- Caballín MR, Miró R, Ponsà M, Florit F, Massa C, Egozcue J (1980) *Banding patterns of the chromosomes of Cercopithecus petaurista (Schreber 1775): comparison with other primate species*. Folia Primatol 34:278-285.
- Caballín MR (1981) *Estudio de la filogenia cromosómica de Homo, Pan y Gorilla. Inducción experimental de reorganizaciones*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Cahudhuri JP (1977) *On the origin and nature of acromatic lesions*. Chromosome today 3:147-151.
- Cardone MF, Ventura M, Tempesta S, Rocchi R, Archidiacono N (2002) *Analysis of chromosome conservation in Lemur catta studied by chromosome paints and BAC/PAC probes*. Chromosoma 111:348-356.
- Carvalho BA y Mattevi MS (2000) *(T2AG3)_n telomeric sequence hybridization suggestive of centric fusion in karyotype marsupials evolution*. Genetica 108:205-210.
- Castiglia R, Gornung E, Corti M (2002) *Cytogenetic analyses of chromosomal rearrangements in Mus minutoides/musculoides from North-West Zambia through mapping of the telomeric sequence (TTAGGG)_n and banding techniques*. Chromosome Res 10:399-406.
- Caspersson T, Zech L, Johansson C (1970) *Analysis of the human metaphase chromosome set by aid of DNA binding fluorescent agents*. Exp Cell Res 60:490.
- Chew JS, Oliveira C, Wright JM, Dobson MJ (2002) *Molecular and cytogenetic analysis of the telomeric (TTAGGG)_n repetitive sequences in the Nile tilapia, Oreochromis niloticus (Teleostei: Cichlidae)*. Chromosoma. 111:45-52.
- Chiarelli B (1962) *Comparative morphometric analysis of primate chromosomes. II. The chromosomes of the genera Macaca, Papio, Theropithecus and Cercocebus*. Caryologia 5:401-420.
- Chiarelli B y Barberis L (1966) *Some data on the chromosomes of Prosimiae and of New World monkeys*. Mamm Chromos News letter 22:16.
- Chiarelli B y Lin CC (1972) *Comparison of fluorescence patterns in human and chimpanzee chromosomes*. Genen Phaenen 15:103-106.
- Chowdhary BP y Raudsepp T (2001) *Chromosome painting in farm, pet and wild animal species*. Methods Cell Sci 23:37-55.
- Chu EHY y Giles NH (1957) *A study of Primate chromosomes complements*. Am Nature 91:273-282.
- Chu EHY y Bender MA (1961) *Chromosome cytology and evolution in primates*. Science 133:1399-1405.

- Clemente IC, Garcia M, Ponsà M, Egozcue J (1987) *High resolution chromosome banding in Cebus apella, Cebus albifrons and Lagothrix lagothricha: comparison with the human karyotype.* Am J Primatol 13:23-36.
- Clemente IC, Ponsà M, Garcia M, Egozcue J (1990a) *Chromosome evolution in the Cercopithecidae and its relationship to human fragile sites and neoplasia.* Inter J Primatol 11:377-398.
- Clemente IC, Ponsà M, Garcia M, Egozcue J (1990b) *Evolution of the simiiformes and the phylogeny of human chromosomes.* Hum Genet 84:493-506.
- Coquelle A, Pipiras E, Toledo F, Buttin G, Debatisse M (1997) *Expression of fragile sites triggers intrachromosomal mammalian gene amplification and sets boundaries to early amplicons.* Cell 89:215-225.
- Consigliere S, Stanyon R, Koehler U, Agoramoorthy G, Wienberg J (1996) *Chromosome painting defines genomic rearrangements between red howler monkey subspecies.* Chromosome Res 4:264-270.
- Corbin S, Neilly ME, Espinosa R 3rd, Davis EM, McKeithan TW, Le Beau MM (2002) *Identification of unstable sequences within the common fragile site at 3p14.2: implications for the mechanism of deletions within fragile histidine triad gene/common fragile site at 3p14.2 in tumors.* Cancer Res 62:3477-3484.

D

- Darlington CP y Haque A (1955) *Chromosomes of monkeys and man.* Nature 175:32
- Dekaban A (1965) *Persisting clone of cells with an abnormal chromosome in a woman previously irradiated.* J Nucl Med 6:740-746.
- Devriendt K, Petit P, Matthijs G, Vermeesch JR, Holvoet M, De Muelenaere A, Marynen P, Cassiman JJ, Fryns JP (1997) *Trisomy 15 rescue with jumping translocation of distal 15q in Prader-Willi syndrome.* J Med Genet 34:395-399.
- Djalali M, Adolph S, Steinbach P, Winking H, Hameister H (1987) *A comparative mapping study of fragile sites in the human and murine genomes.* Hum Genet 77:157-162.
- Djalali M, Adolph S, Steinbach P, Winking H, Hameister H (1990) *Fragile sites induced by 5-azacytidine and 5-azadeoxycytidine in the murine genome.* Hereditas 112:77-81.
- Dugoujon JM, Moro F, Larrouy G (1981) *Cytogenetic study of five species of Cercopithecus.* Folia Primatol 36:310-322.

- Dutrillaux B, Viegas-Péquignot E, Bubos C, Masse R (1978a) *Complete or almost complete analogy of chromosome banding between the baboon (Papio papio) and man*. Hum Genet 43:37-46.
- Dutrillaux B, Courturier J, Viegas-Péquignot E, Chauvier G, Trebbau P (1978b) *Présence d'une hétérochromatine abondante dans le caryotype de deux Cebus: C. capucinus et C. nigrivittatus*. Ann Génét 21:142-148.
- Dutrillaux B, Biemont MC, Viegas-Péquignot E, Laurent C (1979) *Comparison of the karyotypes of four Cercopithecoidea: Papio papio, P. anubis, Macaca mulatta, and M. fascicularis*. Cytogenet Cell Genet 23:77-83.
- Dutrillaux B y Courturier J (1981) *The ancestral karyotype of platyrrhine monkeys*. Cytogenet Cell Genet 30:232-242.

E

- Egozcue J, Aragonés J, Caballín MR, Goday C (1973a) *Banding patterns of the chromosomes of man and gorilla*. Ann Génét 16:207-210.
- Egozcue J, Caballín MR, Goday C (1973b) *Banding patterns of the chromosomes of man and the chimpanzee*. Humangenetik 18:77-80.
- Elder F y Robinson T (1989) *Rodent common fragile sites: Are they conserved? Evidence from mouse and rat*. Chromosoma 97:459-464.
- Engelman JA, Zhang XL, Lisanti MP (1998) *Genes encoding human caveolin-1 and -2 are co-localized to the D7S522 locus (7q31.1), a known fragile site (FRA7G) that is frequently deleted in human cancers*. FEBS Lett 436:403-410.
- Estop A, Garver JJ, Pearson PL (1978) *Further studies on the comparative karyology of the African green and rhesus monkeys*. Genetica 49:131-138.

F

- Fagundes V y Yonenaga-Yasuda Y (1998) *Evolutionary conservation of whole homeologous chromosome arms in the Akodont rodents Bolomys and Akodon (Muridae, Sigmodontinae): maintenance of interstitial telomeric segments (ITBs) in recent event of centric fusion*. Chromosome Res 6:643-648.
- Farr C, Fantes J, Goodfellow P, Cooke H (1991) *Functional reintroduction of human telomeres into mammalian cells*. Proc Natl Acad Sci U S A 88:7006-7010.

- Faravelli M, Azzalin CM, Bertoni L, Chernova O, Attolini C, Mondello C, Giulotto E (2002) *Molecular organization of internal telomeric sequences in Chinese hamster chromosomes*. Gene 283:11-16.
- Fanning TG, Seuánez H, Forman L (1993) *Satellite DNA sequences in the new world primate Cebus apella (Platyrrhini, Primates)*. Chromosoma 102:306-311.
- Fernández JL, Goyanes VJ, Ramiro-Diaz J, Gosalvez J (1995) *Evidence of a differential organization of chromatin containing terminal or interstitial (TTAGGG)*n* repeats by in situ digestion with nucleases*. Cytogenet Cell Genet 82:195-198.
- Finato AO, Varella-Garcia M, Tajara EH, Taddei VA, Morielle-Versute E (2000) *Intrachromosomal distribution of telomeric repeats in Eumops glaucinus and Euntops perotis (Molossidae, Chiroptera)*. Chromosome Res 8:563-569.
- Finelli P, Stanyon R, Plesker R, Ferguson-Smith MA, O'Brien PC, 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*. Mamm Genome 10:713-718.
- Flint J, Craddock CF, Villegas A, Bentley DP, Williams HJ, Galanello R, Cao A, Wood WG, Ayyub H, Higgs DR (1994) *Healing of broken human chromosomes by the addition of telomeric repeats*. Am J Hum Genet 55:505-512.
- Fontana F, Lanfredi M, Chicca M, Aiello V, Rossi R (1998) *Localization of the repetitive telomeric sequence (TTAGGG)*n* in four sturgeon species*. Chromosome Res 6:303-306.
- Ford CE y Hamerton JL (1956) *The chromosomes of man*. Nature 178:1020-1023.
- Freitas L y Seuánez H (1982) *Chromosome heteromorphisms in Cebus apella*. J Hum Evol 10:173-180.
- Fundia A, Gorostiaga M, Mudry M (2000) *Expression of common fragile sites in two Ceboidea species: Saimiri boliviensis and Alouatta caraya (Primates: Platyrrhini)*. Genet Sel Evol 32:87-97.
- Fuster C (1987) *Estudio de la fragilidad cromosómica en la especie humana*. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.

G

- Garagna S, Ronchetti E, Mascheretti S, Crovella S, Formenti D, Rumpler Y, Manfredi Romanini MG (1997) *Non-telomeric chromosome localization of (TTAGGG)*n* repeats in the genus Eulemur*. Chromosome Res 5:487-491.

- Garcia M, Miró R, Freitas L, Egozcue J (1978) *Banding patterns of the chromosomes of Cebus apella: unstable chromosomes and pericentric inversion*. Folia Primatol 29:196-205.
- Garcia M, Miró R, Ponsà M, Egozcue J (1979) *Chromosomal polymorphism and somatic segregation in Saimiri sciureus*. Folia Primatol 31:312-323.
- Garcia M, Miró R, Ponsà M, Egozcue J (1980) *Banding patterns of the chromosomes of Lagothrix lagothericha cana*. Genetica 54:181-184.
- Garcia M, Miró R, Estop A, Ponsà M, Egozcue J (1983) *Constitutive heterochromatin polymorphisms in Lagothrix lagotherixa cana, Cebus apella and Cebus capucinus*. Am J Primatol 4:117-126.
- García F, Nogues C, Ponsà M, Ruiz-Herrera A, Egozcue J, Garcia Caldés M (2000) *Chromosomal homologies between humans and Cebus apella (Primates) revealed by ZOO-FISH*. Mamm Genome 11:399-401.
- García F (2001) *Evolución cromosómica en Simiiformes: Homologías, reorganizaciones y heterocromatina*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- García F, Ruiz-Herrera A, Egozcue J, Ponsà, Garcia M (2002) *Chromosomal homologies between Cebus and Ateles (Primates) based on ZOO-FISH and G-banding comparisons*. Am J Primatol 57:177-188.
- García F, Garcia M, Mora L, Alarcón L, Egozcue J, Ponsà M (2003) *Qualitative analysis of constitutive heterochromatin and Primate evolution*. Biol J Linn Soc (en prensa).
- Garrido-Ramos MA, de la Herrán R, Ruiz Rejón C, Ruiz Rejón M (1998) *A satellite DNA of the Sparidae family (Pisces, Perciformes) associated with telomeric sequences*. Cytogenet Cell Genet 83:3-9.
- Glover TW y Stein CK (1987) *Induction of sister chromatid exchanges at common fragile sites*. Am J Hum Genet 41:882-890.
- Go Y, Rakotoarisoa G, Kawamoto Y, Randrianjafy A, Koyama N, Hirai H (2000) *PRINS analysis of the telomeric sequence in seven lemurs*. Chromosome Res 8:57-65.
- Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, de Lange T (1999) *Mammalian telomeres end in a large duplex loop*. Cell 97:419-422.
- Grouchy J, Turleau C, Roubin M, Klein M (1972) *Évolutions caryotypiques de l'homme et du chimpanzé. Étude comparative des topographies de bandes après dénaturation ménagée*. Ann Génét 15:79-84.

H

- Hastie ND y Allshire RC (1989) *Human telomeres: fusion and interstitial sites*. Trends Genet 5:326-331.
- Hecht F y Kaiser-McCaw B (1979) *The importance of being a fragile sites*. Am J Hum Genet 31:223-225.
- Hecht F y Sutherland GR (1984) *Fragile sites and cancer breakpoints*. Cancer Genet Cytogenet 12:179-181.
- Hewett DR, Handt O, Hobson L, Mangelsdorf M, Eyre H, Baker E, Sutherland GR y col. (1998) *FRA10B structure reveals common elements in repeat expansion and chromosomal fragile site genesis*. Mol Cell 1:773-781.
- Hirai H (2001) *Relationship of telomere sequences and constitutive heterochromatin in the human and apes as detected by PRINS*. Methods Cell Sci 23:29-35.
- Human Gene Mapping 11 (1991) Cytogenet Cell Genet 58:1-2200.
- Hsu TC (1979) *Human and mammalian cytogenetics: an historical perspective*. Springer New York.
- Hsu TC, Wu X, Trizna Z (1996) *Mutagen sensitivity in humans*. Cancer Genet Cytogenet 87:127-132.
- Huang H, Qian J, Proffit J, Wilber K, Jenkins R, Smith DI (1998a) *FRA7G extends over a broad region: coincidence of human endogenous retroviral sequences (HERV-H) and small polydispersed circular DNAs (spcDNA) and fragile sites*. Oncogene 16:2311-2319.
- Huang H, Qian C, Jenkins RB, Smith DI (1998b) *FISH mapping of YAC clones at human chromosomal band 7q31.2: identification of YACs spanning FRA7G within the common region of LOH in breast and prostate cancer*. Genes Chrom Cancer 21:152-159.
- Huebner K, Garrison PN, Barnes LD, Croce CM (1998) *The role of the FHIT/FRA3B locus in cancer*. Annu Rev Genet 32:7-31.

I

- Ijdo JW, Baldini A, Ward DC, Reeders ST, Wells RA (1991) *Origin of human chromosome 2: an ancestral telomere-telomere fusion*. Proc Natl Acad Sci USA 88:9051-9055.

J

- 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.
- John H, Birnstied M, Jones K (1969) *RNA:DNA hybrids at the cytological level*. Nature 223:582-587.

K

- Katinka MD y Bourgain FM (1992) *Interstitial telomeres are hotspots for illegitimate recombination with DNA molecules injected into the macronucleus of Paramecium primaurelia*. EMBO J 11:725-732.
- Kilburn AE, Shea MJ, Sargent RG, Wilson JH (2001) *Insertion of a telomere repeat sequence into a mammalian gene causes chromosome instability*. Mol Cell Biol 21:126-135.
- Koehler U, Arnold N, Wienberg J, Tofanelli S, Stanyon R (1995a) *Genomic reorganization and disrupted chromosomal synteny in the siamang (Hylobates syndactylus) revealed by fluorescence in situ hybridization*. Am J Phys Anthropol 97:37-47.
- Koehler U, Bigoni F, Wienberg J, Stanyon R (1995b) *Genomic reorganization in the concolor gibbon (Hylobates concolor) revealed by chromosome painting*. Genomics 30:287-292.
- Kubo K, Matsuyama S, Sato K, Shiomi A, Ono K, Ito Y, Ohashi F, Takamori Y (1998a) *Novel putative fragile sites observed in feline fibroblasts treated with aphidicolin and fluorodeoxyuridine*. J Vet Med Sci 60:809-813.
- Kubo K, Shiomi A, Asaeda A, Ohashi F, Matsuyama S, Ide H, Takamori Y (1998b) *Induction of fragile sites by fluorodeoxyuridine and caffeine accompanies with misincorporation of endogenous uridine nucleotide into DNA of feline fibroblasts*. J Vet Med Sci 60:1293-1297.
- Kurenova EV y Mason JM (1997) *Telomere functions. A review*. Biochemistry 62:1242-1253.

L

- de Lange T (1992) *Human telomeres are attached to the nuclear matrix*. EMBO J 11:717-724.
- Lear TL (2001) *Chromosomal distribution of the telomere sequence (TTAGGG)(n) in the Equidae*. Cytogenet Cell Genet 93:127-130.
- Le Beau MM y Rowley JD (1984) *Heritable fragile sites in cancer*. Nature 308:607-608.
- Le Beau MM, Rassool FV, Neilly ME, Espinosa R 3rd, Glover TW, Smith DI, McKeithan TW (1998) *Replication of a common fragile site, FRA3B, occurs late in S phase and is delayed*

further upon induction: implications for the mechanism of fragile site induction. Hum Mol Genet 7:755-761.

Lee C, Sasi R, Lin CC (1993) *Interstitial localization of telomeric DNA sequences in the Indian muntjak chromosomes; further evidence for tandem chromosome fusions in the karyotype evolution of the Asian muntjaks.* Cytogenet Cell Genet 63:156-159.

Lejeune J, Dutrillaux B, Lafourcade J, Berger R, Abonyi D, Rethoré MO (1968) *Endoreduplication sélective du bras long du chromosome 2 chez une femme et sa fille.* CR Acad Sci Paris 266:24-26.

Lengauer C, Eckelt A, Weith A, Endlich N, Ponelies N, Lichter P, Greulich KO, Cremer T (1991) *Painting of defined chromosomal regions by in situ suppression hybridization of libraries from laser-microdissected chromosomes.* Cytogenet Cell Genet 56:27-30.

Lengauer C, Green ED, Cremer T (1992) *Fluorescence in situ hybridization of YAC clones after Alu-PCR amplification.* Genomics 13:826-828.

Lichter P, Cremer T, Borden J, Manuelidis L, Ward DC (1988) *Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries.* Hum Genet 80:224-234.

Lichter P, Ledbetter SA, Ledbetter DH, Ward DC (1990) *Fluorescence in situ hybridization with Alu and L1 polymerase chain reaction probes for rapid characterization of human chromosomes in hybrid cell lines.* Proc Natl Acad Sci U S A 87:6634-6638.

Limongi MZ, Pelliccia F, Rocchi A (2003) *Characterization of the human common fragile site FRA2G.* Genomics 81:93-97.

Liu WS y Fredga K (1999) *Telomeric (TTAGGG)_n sequences are associated with nucleolus organizer regions (NORs) in the wood lemming.* Chromosome Res 7:235-240.

Lubs HA (1969) *A marker X chromosome.* Am J Hum Genet 21:231-244.

Lüdecke HJ, Senger G, Claussen U, Horsthemke B (1989) *Cloning defined regions of the human genome by microdissection of banded chromosomes and enzymatic amplification.* Nature 338:348-350.

M

Magenis RE, Hecht F, Lovrien EW (1970) *Heritable fragile sites on chromosome 16: probable localization of haptoglobulin locus in man.* Science 170:85-87.

- Mangelsdorf M, Ried K, Woollatt E, Dayan S, Eyre H, Finnis M, Hobson L, Nancarrow J, Venter D, Baker E, Richards RI (2000) *Chromosomal fragile site FRA16D and DNA instability in cancer*. *Cancer Res* 60:1683-1689.
- Matayoshi T, Howlin E, Nasazzi N, Nagle C, Gadow E, Seuánez HN (1986) *Chromosome studies of Cebus apella: The standard karyotype of Cebus apella paraguayus, Fischer, 1829*. *Am J Primatol* 10:185-193.
- Matayoshi T, Seuánez HN, Nasazzi N, Nagle C, Armada J, Freitas L, Alves G, Barrow CM, Howlin E (1987) *Heterochromatic variation in Cebus apella (Cebidae, Platyrrhini) of different geographic regions*. *Cytogenet Cell Genetics* 44:158-162.
- McAllister B y Greenbaum IF (1997) *How common are common fragile sites: variation of aphidicolin-induced chromosomal fragile sites in a population of the deer mouse (Peromyscus maniculatus)*. *Hum Genet* 100:182-188.
- McClintock B (1951) *Chromosome organization and genetic expression*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16:13-47.
- Metcalfé CJ, Eldridge MD, McQuade LR, Johnston PG (1997) *Mapping the distribution of the telomeric sequence (T2AG3)*n* in rock-wallabies, Petrogale (Marsupialia: Macropodidae), by fluorescence in situ hybridization. I. The penicillata complex*. *Cytogenet Cell Genet* 78:74-80.
- Metcalfé CJ, Eldridge MD, Toder R, Johnston PG (1998) *Mapping the distribution of the telomeric sequence (T2AG3)*n* in the Macropodoidea (Marsupialia), by fluorescence in situ hybridization. I. The swamp wallaby, Wallabia bicolor*. *Chromosome Res* 6:603-610
- Meyne J, Ratliff RL, Moyzis RK (1989) *Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)*n* among vertebrates*. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:7049-7053.
- Meyne J, Baker RJ, Hobart HH, Hsu TC, Rydez OA, Ward OG, Wiley JE, Wurster-Hill DH, Yates TL, Moyzis RK (1990) *Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG) telomeric sequence in vertebrate chromosomes*. *Chromosoma* 99:3-10.
- Meyne J, Hirai H, Imai HT (1995) *FISH analysis of the telomere sequences of bulldog ants (Myrmecia: Formicidae)*. *Chromosoma* 104:14-18.
- Miró R, Clemente IC, Fuster C, Egozcue J (1987) *Fragile sites, chromosome evolution, and human neoplasia*. *Hum Genet* 75:345-349.
- Mishmar D, Rahat A, Scherer SW, Nyakatura G, Hinzmann B, Kohwi Y, Mandel-Gutfroind Y, Lee JR, Drescher B, Sas DE, Margalit H, Platzer M, Weiss A, Tsui LC, Rosenthal A, Kerem B. (1998) *Molecular characterization of a common fragile site (FRA7H) on human chromosome 7 by the cloning of a simian virus 40 integration site*. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:8141-8146.

- Mondello C, Pirzio L, Azzalin CM, Giulotto E (2000) *Instability of interstitial telomeric sequences in the human genome*. Genomics 68:111-117.
- Morelli C, Karayianni E, Magnanini C, Mungall AJ, Thorland E, Negrini M, Smith DI, Barbanti-Brodano G (2002) *Cloning and characterization of the common fragile site FRA6F harboring a replicative senescence gene and frequently deleted in human tumors*. Oncogene 21:7266-7276.
- Morescalchi MA, Schempp W, Consigliere S, Bigoni F, Wienberg J, Stanyon R (1997) *Mapping chromosomal homology between humans and the black-handed spider monkey by fluorescent in situ hybridization*. Chromosome Res 5:527-536.
- Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu JR (1988) *A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes*. Proc Natl Acad Sci USA 85:6622-6626.
- Mudry MD (1990) *Cytogenetic variability within and cross populations of Cebus apella in Argentina*. Folia Primatol 54:206-216.
- Müller S, O'Brien PC, Ferguson-Smith MA, Wienberg J (1997a) *Reciprocal chromosome painting between human and prosimians (Eulemur macaco macaco and E. fulvus mayottensis)*. Cytogenet Cell Genet 78:260-271.
- Müller S, Rocchi M, Ferguson-Smith MA, Wienberg J (1997b) *Toward a multicolor chromosome bar code for entire human karyotype by fluorescence in situ hybridization*. Hum Genet 100:271-278.
- Müller S, O'Brien PC, Ferguson-Smith MA, Wienberg J (1998) *Cross-species colour segmenting: a novel tool in human karyotype by fluorescence in situ hybridization*. Cytometry 33:445-452.
- Müller S, Stanyon R, O'Brien PC, Ferguson-Smith MA, Plesker R, Wienberg J (1999) *Defining the ancestral karyotype of all primates by multidirectional chromosome painting between tree shrews, lemurs and human*. Chromosoma 108:393-400.
- Müller S, Stanyon R, Finelli P, Archidiacono N, Wienberg J (2000) *Molecular cytogenetic dissection of human chromosomes 3 and 21 evolution*. Proc Natl Acad Sci USA 97:206-211.
- Müller S y Wienberg J (2001) *"Bar-coding" primate chromosomes: molecular cytogenetic screening for the ancestral hominoid karyotype*. Hum Genet 109:85-94.
- Müller S, Neusser M, Wienberg J (2002) *Towards unlimited colours for fluorescence in-situ hybridization (FISH)*. Chromosome Res 10:223-232.

Musio A, Rainaldi G, Sbrana I (1996) *Spontaneous and aphidicolin-sensitive fragile site 3cen co-localizes with the (TTAGGG)_n telomeric sequence in Chinese hamster cells*. Cytogenet Cell Genet 75:159-163.

Musio A y Mariani T (1999) *Distribution of interstitial telomere-related sequences in the human genome and their relationship with fragile sites*. J Environ Pathol Toxicol Oncol 18:11-15.

N

Nancarow Jk, Kremer E, Holman K, Eyre H, Dogget NA, Le Paslier D, Callen DF, Sutherland GR, Richards RI (1994) *Implications of FRA16A structure for the mechanism of chromosomal fragile site genesis*. Science 264:1938-1941.

Nanda I y Schmid M (1994) *Localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in chicken (Gallus domesticus) chromosomes*. Cytogenet Cell Genet 65:190-193.

Nanda I, Schrama D, Feichtinger W, Haaf T, Scharl M, Schmid M (2002) *Distribution of telomeric (TTAGGG)_n sequences in avian chromosomes*. Chromosoma 111:215-227.

Napier JR y Napier PH (1985) *The natural history of the primates*. British Museum (Natural History). Cambridge University Press.

Neusser M, Stanyon R, Bigoni F, Wienberg J, Müller S (2001) *Molecular cytogenetics of New World monkeys (Platyrrhini)-comparative analysis of five species by multi-color chromosome painting gives evidence for a classification of Callimico goeldii within the family of Callitrichidae*. Cytogenet Cell Genet 94:206-215.

Nie W, Liu R, Chen Y, Wang J, Yang F (1998) *Mapping chromosomal homologies between humans and two langurs (Semnopithecus francoisi and S. phayrei) by chromosome painting*. Chromosome Res 6:447-453.

Nie W, Rens W, Wang J, Yang F (2001) *Conserved chromosome segments in Hylobates hoolock revealed by human and H. leucogenys paint probes*. Cytogenet Cell Genet 92:248-253.

O

O'Brien SJ y Stanyon R (1999) *Phylogenomics. Ancestral primate viewed*. Nature 402:365-366.

Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, Kastury K, Baffa R, Palazzo J, Siprashvili Z, Mori M, McCue P, Druck T, y col. (1996) *The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers*. Cell 84:587-597.

de Oliveira EH, Neusser M, Figueiredo WB, Nagamachi C, Pieczarka JC, Sbalqueiro IJ, Wienberg J, Müller S (2002) *The phylogeny of howler monkeys (Alouatta, Platyrrhini): reconstruction by multicolor cross-species chromosome painting*. Chromosome Res 10:669-683.

P

Paige AJW, Taylor KJ, Stewart A, Sgouros JG, Gabra H, Sellar G, Smyth JF, Porteous DJ, Watson JE (2000) *A 700-kb physical map of a region of 16q23.2 homozygously deleted in multiple cancers and spanning the common fragile site FRA16D*. Cancer Res 60:1690-1697.

Painter TS (1922) *The sex chromosomes of the monkey*. Science 56:286-287.

Pagnozzi JM, De Jesus Silva MJ, Yonenaga-Yassuda Y (2000) *Intraspecific variation in the distribution of the interstitial telomeric (TTAGGG)*n* sequences in Micoureus demerarae (Marsupialia: Didelphidae)*. Chromosome Res 8:585-591.

Pardue ML y Gall JG (1969) *Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations*. Proc Natl Acad Sci USA 64:600-604.

Paris Conference (1971, Suppl 1975) *Standardization in human cytogenetics*. Cytogenet Cell Genet 15:201-238.

Park VM, Gustashaw KM, Wathen TM (1992) *The presence of interstitial telomeric sequences in constitutional chromosomes abnormalities*. Am J Hum Genet 50:914-923.

Pellegrino KC, Rodrigues MT, Yonenaga-Yassuda Y (1999) *Chromosomal evolution in the Brazilian lizards of genus Leposoma (Squamata, Gymnophthalmidae) from Amazon and Atlantic rain forests: banding patterns and FISH of telomeric sequences*. Hereditas 131:15-21.

Pluta AF y Zakian VA (1989) *Recombination occurs during telomere formation in yeast*. Nature 337:429-433.

Ponsà M, Miró R, Egozcue J (1981a) *Banding patterns of the chromosomes of Cercopithecus neglectus: comparison with Miopithecus talapoin and Erythrocebus patas*. Int J Primatol 2:169-174.

Ponsà M, Miró R, Estop AM, Egozcue J (1981b) *Banding patterns of the chromosomes of Erythrocebus patas (Schreber 1774) compared to other primate species*. Genetica 56:39-45

Ponsà M, de Boer LEM, Egozcue J (1983) *Banding patterns of the chromosomes of Presbytis cristatus pyrrhus and P. obscurus*. Am J Primatol 4:165-169.

Ponsà M, Estop A, Egozcue J, Garcia M, Miró R (1986) *Comparative chromosome banding studies in the family Cercopithecidae*. Hum Evol 1:525-533.

Ponsà M, Garcia M, Borrell A, García F, Egozcue J, Gorostiaga MA, Delprat A, Mudry M (1995) *Heterochromatin and cytogenetic polymorphisms in Cebus apella (Cebidae, Platyrrhini)*. Am J Primatol 37:325-331.

R

Ribas M, Miró R, Gelabert A, Egozcue J (1999) *Chromosome instability in lymphocytes from two patients affected by three sequential primary cancers: the role of fragile sites*. Cancer Genet Cytogenet 110:133-135.

Richard F, Lombard M, Dutrillaux B (1996) *ZOO-FISH suggests a complete homology between human and capucin monkey (Platyrrhini) euchromatin*. Genomics 36:417-423.

Ried K, Finnis M, Hobson L, Mangelsdorf M, Dayan S, Nancarrow J, Woollatt E, Kremmidiotis G, Gardner A, Venter D, Baker E, Richards R (2000) *Common chromosomal fragile site FRA16D sequence: identification of the FOR gene spanning FRA16D and homozygous deletions and translocations breakpoints in cancer cells*. Hum Mol Genet 9:1651-1663.

Riggs PK, Kuczek T, Chrisman CL, Bidwell CA (1993) *Analysis of aphidicolin-induced chromosome fragility in the domestic pig (Sus scrofa)*. Cytogenet Cell Genet 62:110-116.

Robinson TJ y Elder FF (1987) *Multiple common fragile sites are expressed in the genome of the laboratory rat*. Chromosoma 96:45-49.

Rocco L, Costagliola D, Stingo V (2001) *(TTAGGG)_n telomeric sequence in selachian chromosomes*. Heredity 87:583-588.

Rodriguez V, Llambi S, Postiglioni A, Guevara K, Rincon G, Fernan G, Mernies B, Arruga MV (2002) *Localisation of aphidicolin-induced break points in Holstein-Friesian cattle (Bos taurus) using RBG-banding*. Genet Sel Evol 34:649-656.

Rossi E, Florida G, Casali M Danesino C, Chiumello G, Bernardi F, Magnani I, Papi L, Mura M, Zuffardi O (1993) *Types, stability and phenotypic consequences of chromosome rearrangements leading to interstitial telomeric sequences*. J Med Genet 30:926-931.

Ronne M (1992) *Putative fragile sites in the horse karyotype*. Hereditas 117:127-136.

Ronne M (1995a) *Localization of fragile sites in the karyotype of Sus scrofa domestica: present status*. Hereditas 122:153-162.

Ronne M (1995b) *Localization of fragile sites in the karyotype of Felis catus*. Hereditas 122:279-283.

Rowe N (1996) *The pictorial guide to the living primates*. Pogonias Press. Charlestown, Rhode Island.

- Rubio-Goday A, Caballín MR, García-Caldés M, Egozcue J (1976) *Comparative study of the banding patterns of the chromosomes of Cercopithecidae. I. Subfamily Papinae: Macaca fascicularis and Papio sphinx*. Folia Primatol 26:306-309.
- Ruiz-Herrera A, Ponsà M, García F, Egozcue J, García M (2002a) *Fragile sites in human and Macaca fascicularis are breakpoints in chromosome evolution*. Chromosome Res 10:33-44.
- Ruiz-Herrera A, García F, Azzalin CM, Giulotto E, Egozcue J, Ponsà M, García M (2002b) *Distribution of intrachromosomal telomeric sequences (ITS) on Macaca fascicularis (Primates) chromosomes and their implication for chromosome evolution*. Hum Genet 110:578-586.
- Ruiz-Herrera A, García F, Giulotto E, Attolini C, Egozcue J, Ponsà M, García M. *Implication of fragile sites and intrachromosomal telomeric (TTAGGG)*n* sequences in Primate chromosome evolution*. (enviado).
- Rumpler Y y Dutrillaux B (1990) *Chromosome evolution and speciation in primates*. Cell Biology Reviews. Springer International.

S

- Sanz MM, Jenkins EC, Brown WT, Davisson MT, Kevin MJ, Roderick TH, Silverman WP, Wisniewski HM (1986) *Mouse chromosome fragility*. Am J Med Genet 23:491-509.
- Scherthan H (1990) *Localization of the repetitive telomeric sequence (TTAGGG)*n* in two muntjac species and implications for their karyotype evolution*. Cytogenet Cell Genet 53:115-117.
- Scherthan H, Cremer T, Arnason U, Weier HU, Lima-de-Faria A, Fronicke L (1994) *Comparative chromosome painting disclosed homologous segments in distantly related mammals*. Nat Genet 6:342-347.
- Schmid M, Ott G, Haaf T, Scheres JMJC (1985) *Evolutionary conservation of fragile sites induced by 5-azacytidine and 5-azadeoxycytidine in man, gorilla and chimpanzee*. Hum Genet 71:342-350.
- Schmid M, Feichtinger W, Nanda I, Schakowski R, Visbal Garcia R, Manzanilla Puppo J, Fernandez Badillo A (1994) *An extraordinarily low diploid chromosome number in the reptile Gonatodes taniae (Squamata, Gekkonidae)*. J Hered 85:255-60.
- Seabright M (1971) *The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man*. Chromosoma 36:204-210.
- Senger G, Lüdecke HJ, Horsthemke B, Claussen U (1990) *Microdissection of banded human chromosomes*. Hum Genet 84:507-511.

- Seuáñez HN, Armada JL, Barroso C, Rezende C, da Silva VF (1986) *The meiotic chromosomes of Cebus apella (Cebidae, Platyrrhini)*. Cytogenet Cell Genetics 36:517-524.
- Sherlock JK, Griffin DK, Delhantry JD, Parrington JM (1996) *Homologies between human and marmoset (Callithrix jacchus) chromosomes revealed by comparative chromosome painting*. Genomics 33:214-219.
- Silva MJ y Yonenaga-Yassuda Y (1998) *Karyotype and chromosomal polymorphism of an undescribed Akodon from Central Brazil, a species with the lowest known diploid chromosome number in rodents*. Cytogenet Cell Genet 81:46-50.
- Slijepcevic P, Xiao Y, Dominguez I, Natarajan AT (1996) *Spontaneous and radiation-induced chromosomal breakages at interstitial telomeric sites*. Chromosoma 104:596-604.
- Smeets DF y Van de Klundert FA (1990) *Common fragile sites in man and three closely related primate species*. Cytogenet Cell Genet 53:8-14.
- Southern EM (1970) *Base sequence and evolution of guinea-pig alpha-satellite DNA*. Nature 227:794-798.
- Stanyon R, Ardito G, Lamberti L, Bigatti P (1983) *The banded karyotypes of Macaca fuscata compared with Cercocebus aterrinus*. Folia Primatol 41:137-46.
- Stanyon R, Consiglieri S, Müller S, Morescalchi A, Neusser M, Wienberg J (2000) *Fluorescent in situ hybridization (FISH) maps chromosomal homologies between the dusty titi and squirrel monkey*. Am J Primatol 50:95-107.
- Stanyon R, Consigliere S, Bigoni F, Ferguson-Smith M, O'Brien PC, Wienberg J (2001) *Reciprocal chromosome painting between a New World primate, the woolly monkey, and humans*. Chromosome Res 9:97-106.
- Stanyon R, Koehler U, Consigliere S (2002) *Chromosome painting reveals that galagos have highly derived karyotypes*. Am J Phys Anthropol 117:319-26.
- Stone DM, Jacky PB, Hancock DD, Prieur DJ (1991) *Chromosomal fragile site expression in dogs: I. Breed specific differences*. Am J Med Genet 40:214-22.
- Stone DM y Stephens KE (1993) *Bromodeoxyuridine induces chromosomal fragile sites in the canine genome*. Am J Med Genet 46:198-202.
- Stone DM, Stephens KE, Doles J (1993) *Folate-sensitive and aphidicolin-inducible fragile sites are expressed in the genome of the domestic cat*. Cancer Genet Cytogenet 65:130-134.
- Sumner AT (1972) *A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin*. Exp Cell Res 75:304-306.

- Sutherland GR (1977) *Fragile sites on human chromosomes: demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium*. Science 197:265-266.
- Sutherland GR (1979) *Heritable fragile sites on human chromosomes I. Factors affecting expression in lymphocyte culture*. Am J Hum Genet 31:125-135.
- Sutherland GR, Baker E, Richards RI (1996) *Fragile sites*. Encyclopedia Molec Biol Molec Med 2:313-318.
- Sutherland GR, Baker E, Richards RI (1998) *Fragile sites still breaking*. Trends Genet 14:501-506.
- Sutherland GR y Richards RI (1999) *Fragile sites-cytogenetic similarity with molecular diversity*. Am J Hum Genet 64:354-359.
- Sutherland GR y Baker E (2000) *The clinical significance of fragile sites on human chromosomes*. Clin Genet 58:157-161.
- Svartman M y Vianna-Morgante AM (1998) *Karyotype evolution of marsupials: from higher to lower diploid numbers*. Cytogenet Cell Genet 82:263-266.

T

- Telenius H, Pelmeur AHP, Tunnacliffe A, Carter NP, Behmel A, Ferguson-Smith MA, Nordenskjöld M, Pfragner R, Ponder BA (1992) *Cytogenetic analysis by chromosome painting using DOP-PCR amplified flow-sorted chromosomes*. Genes Chromosomes and Cancer 4:257-236.
- Tewari R, Juyal RC, Thelma BK, Das BC, Rao SRV (1987) *Folate-sensitive fragile sites on the X-chromosomes heterochromatin of the Indian mole rat Nesokia indica*. Cytogenet Cell Genet 44:11-17.
- Thomsen PD, Hoyheim B, Christensen K (1996) *Recent fusion events during evolution of pig chromosome 3 and 6 identified by comparison with the babirusa karyotype*. Cytogenet Cell Genet 73:203-208.
- Thorland EC, Myers SL, Persing DH, Sarkar G, McGovern RM, Gostout BS, Smith DI (2000) *Human papillomavirus type 16 integrations in cervical tumors frequently occur in common fragile sites*. Cancer Res 60:5916-5921.
- Tjio JH y Levan A (1956) *The chromosomes number of man*. Hereditas 42:1-6.
- Torres de Caballero OM, Ramírez C, Yunis E (1976) *Genus Cebus Q- and G-band karyotypes and natural hybrids*. Folia Primatol 26:310-321.

Turleau C y Grouchy J (1972) *Caryotypes de l'homme et du chimpanzé. Comparaison de la topographie des bandes. Mécanismes évolutifs possibles*. CR Acad Sci (Paris) 274, série D, 2355-2357.

V

Verma RS y Babu A (1995) *Human chromosomes. Principles and techniques*. McGraw-Hill, Inc.

Vermeesch JR, De Meurichy W, Van Den Berghe H, Marynen P, Petit P (1996) *Differences in the distribution and nature of the interstitial telomeric (TTAGGG)_n sequences in the chromosomes of the Giraffidae, okapi (Okapia johnstoni), and giraffe (Giraffa camelopardalis): evidence for ancestral telomeres at the okapi polymorphic rob(5;26) fusion site*. Cytogenet Cell Genet 72:310-315.

Vermeesch JR, Petit P, Speleman F, Devriendt K, Fryns JP, Marynen P (1997) *Interstitial telomeric sequences at the junction site of a jumping translocation*. Hum Genet 99:735-737.

Vries GF, de France HF, Schevers JA (1975) *Identical giemsa banding patterns of two macaca species: Macaca mulatta and Macaca fascicularis. A densitometric study*. Cytogenet Cell Genet 14:26-33.

W

Warburton D, Firschein IL, Miller DA, Warbunton FE (1973) *Karyotype of the chimpanzee, Pan troglodytes, based on measurements and banding pattern: comparison to the human karyotype*. Cytogenet Cell Genet 12:453-461.

Weber B, Collins C, Robbins C, Magenis RE, Delaney AD, Gray JW, Hayden MR (1990) *Characterization and organization of DNA sequences adjacent to the human telomere associated repeat (TTAGGG)_n*. Nucl Acids Res 18:3353-3361.

Weber B, Allen L, Magenis RE, Goodfellow PJ, Smith L, Hayden MR (1991) *Intrachromosomal location of the telomeric repeat (TTAGGG)_n*. Mamm Genome 1:211-216.

Wells RA, Germino GG, Krishna S, Bickle VJ, Reeders ST (1990) *Telomere-related sequences at interstitial sites in the human genome*. Genomics 8:699-704.

Wienberg J, Jauch A, Stanyon R, Cremer T (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 y Stanyon R (1998) *Comparative chromosome painting of primate genomes*. ILAR J 39:77-91.
- Wiley JE, Meyne J, Little ML, Stout JC (1992) *Interstitial hybridization sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequence on the chromosomes of some North American hylid frogs*. Cytogenet Cell Genet 61:55-57.
- Wilke CM, Hall BK, Hoge A, Paradee W, Smith DI, Glover TW (1996) *FRA3B extends over a broad region and contains a spontaneous HPV16 integration site: direct evidence for the coincidence of viral integration sites and fragile sites*. Hum Mol Genet 5:187-195.
- Wurster-Hill DH, Ward OG, Davis BH, Park JP, Moyzis RK, Meyne J (1988) *Fragile sites, telomeric DNA sequences, B chromosomes, and DNA content in raccoon dogs, Nyctereutes procyonoides, with comparative notes on foxes, coyote, wolf, and raccoon*. Cytogenet Cell Genet 49:278-281.

Y

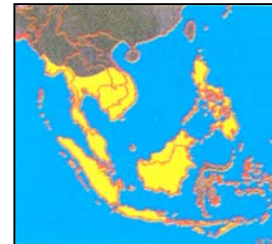
- Yang MY y Long SE (1993) *Folate sensitive common fragile sites in chromosomes of the domestic pig (Sus scrofa)*. Res Vet Sci 55:231-235.
- Yeager CH, Painter TS, Yerkes RM (1940) *The chromosomes of chimpanzee*. Science 91:74.
- Yu D, Yang F, Liu R (1997) *A comparative chromosome map between human and Hylobates hoolock built by chromosome painting*. Acta Genetica Sinica 24:417-423.
- Yu S, Mangelsdorf M, Hewett D, Hobson L, Baker E, Eyre HJ, Lapsys N, Le Paslier D, Doggett NA, Sutherland GR, Richards RI (1997) *Human chromosomal fragile site FRA16B is an amplified AT-rich minisatellite repeat*. Cell 88:367-374.
- Yunis JJ y Soreng AL (1984) *Constitutive fragile sites and cancer*. Science 226: 1199-1204.

Z

- Zakian VA (1989) *Structure and function of telomeres*. Annu Rev Genet 23:579-604.

Anexo 1

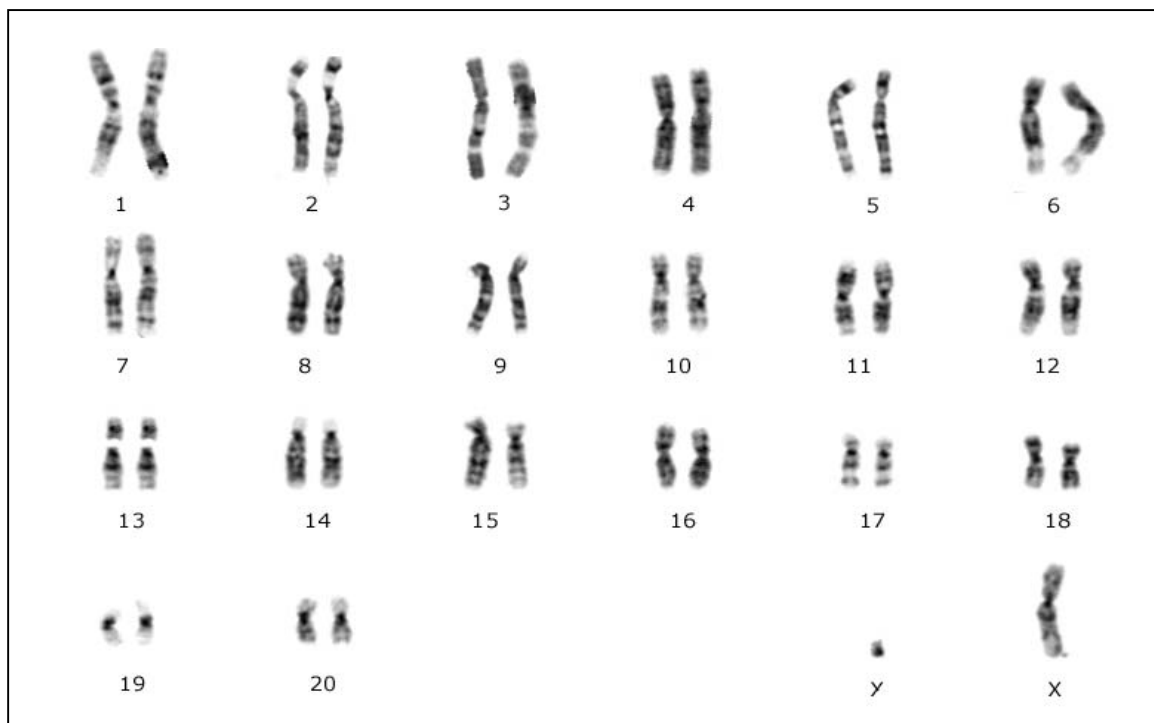
Macaca fascicularis (Catarrhini, F. Cercopithecidae)



Sur de Indochina
Burma
Indonesia
Filipinas
Islas Nicobar (India)

(Rowe, 1996)

Ejemplares *Macaca fascicularis*



Cariotipo de *Macaca fascicularis*

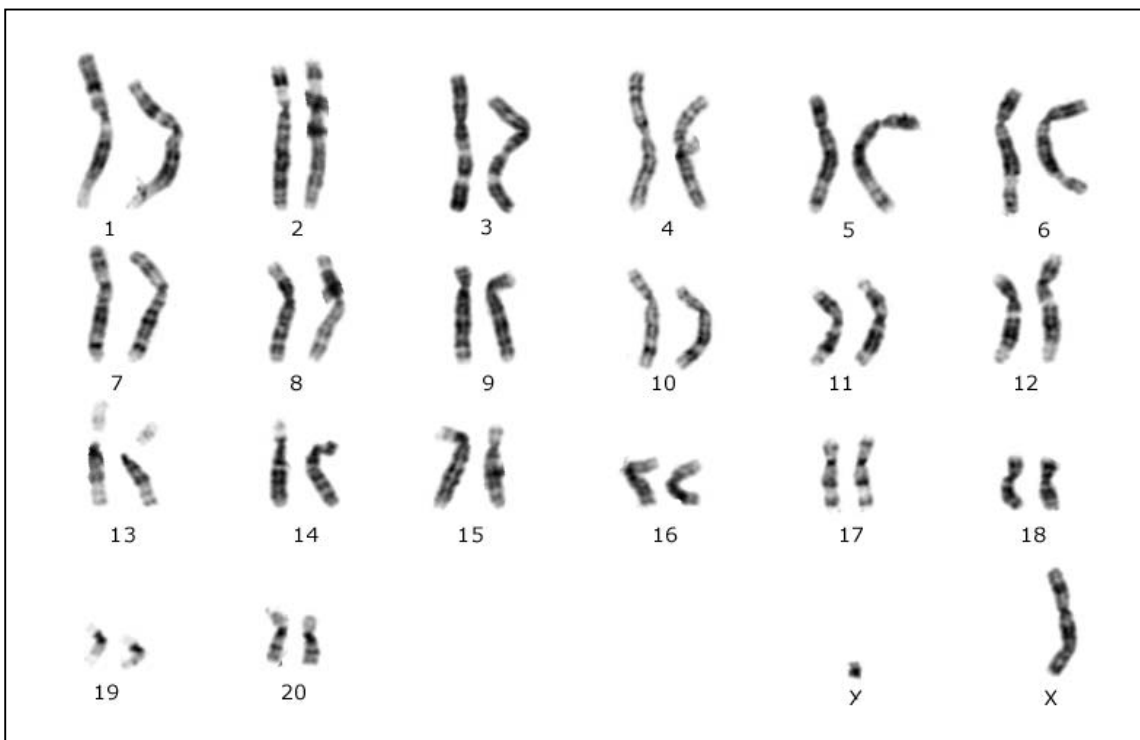
Anexo 2

Mandrillus sphinx (Catarrhini, F. Cercopithecoidea)



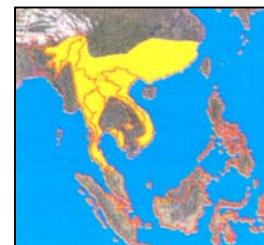
Camerún
Gabón
(Rowe, 1996)

Ejemplar *Mandrillus sphinx*



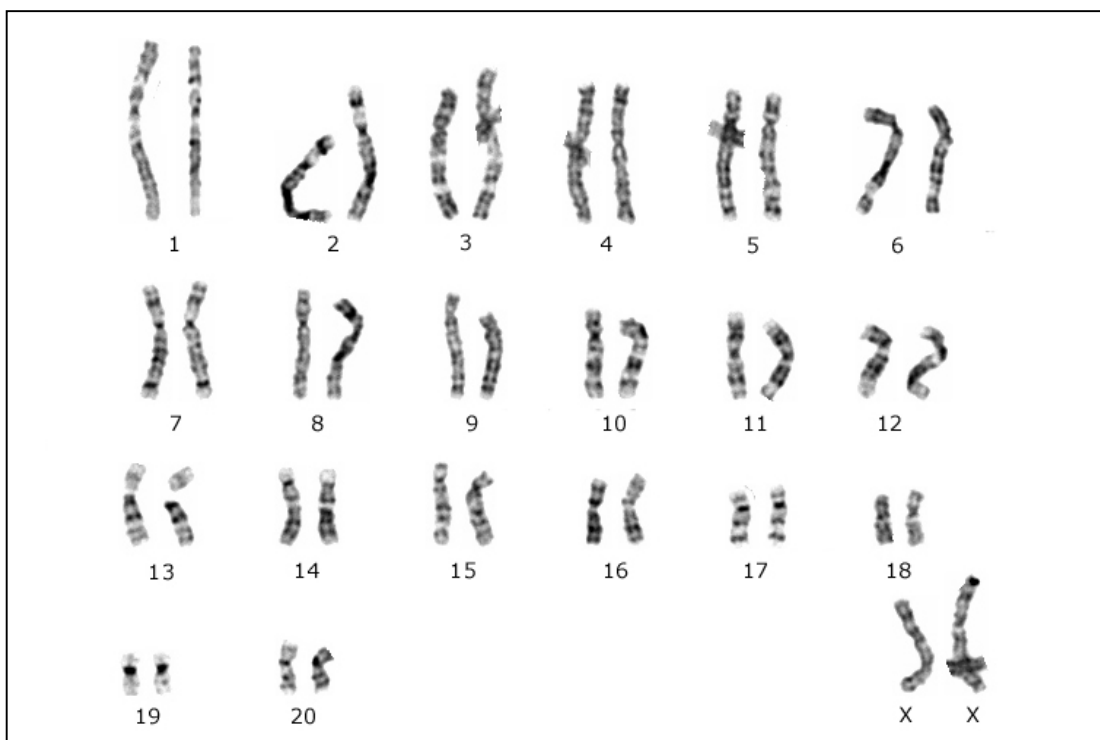
Cariotipo de *Mandrillus sphinx*

Anexo 3

Macaca arctoides (Catarrhini, F. Cercopitheciidae)

Sur de China
Sudeste de Asia
(Rowe, 1996)

Ejemplar adulto de *Macaca arctoides* junto a su cría
(Rowe, 1996)



Cariotipo de *Macaca arctoides*

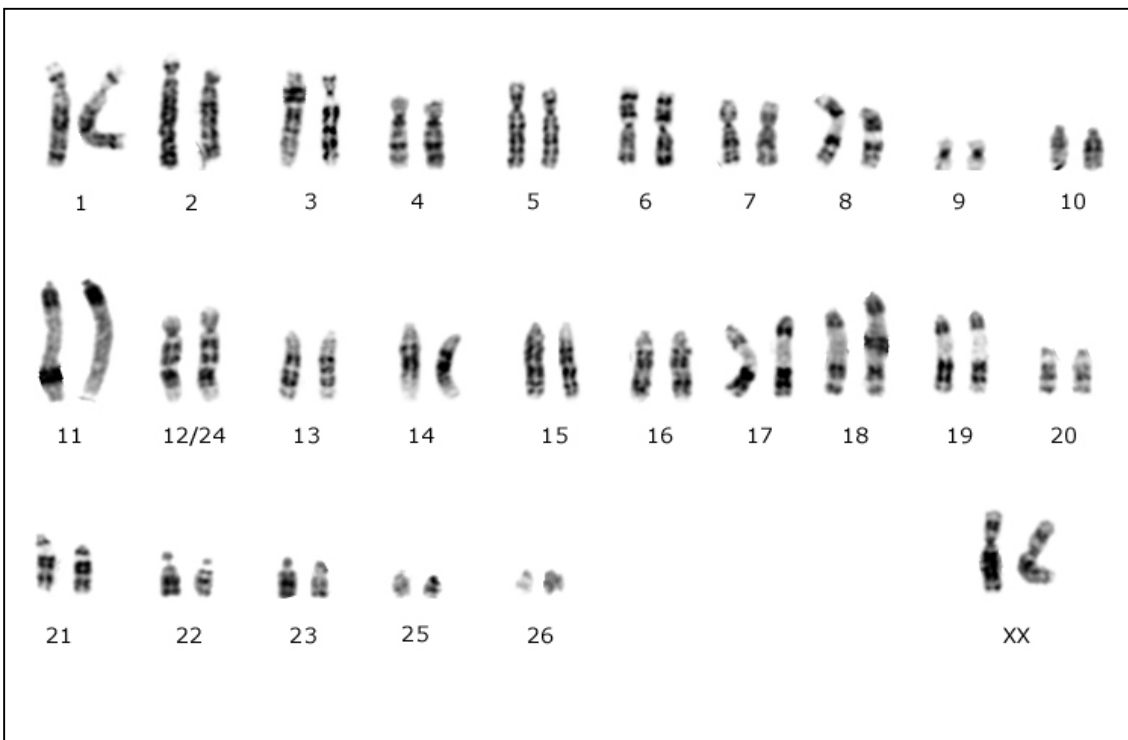
Anexo 4

Cebus nigrivittatus (Platyrrhini, F. Cebidae)



Guayana francesa
Surinam
Venezuela
Brasil
Colombia
(Rowe, 1996)

Ejemplar *C. nigrivittatus*
(Rowe, 1996)



Cariotipo de *Cebus nigrivittatus*

Anexo 5

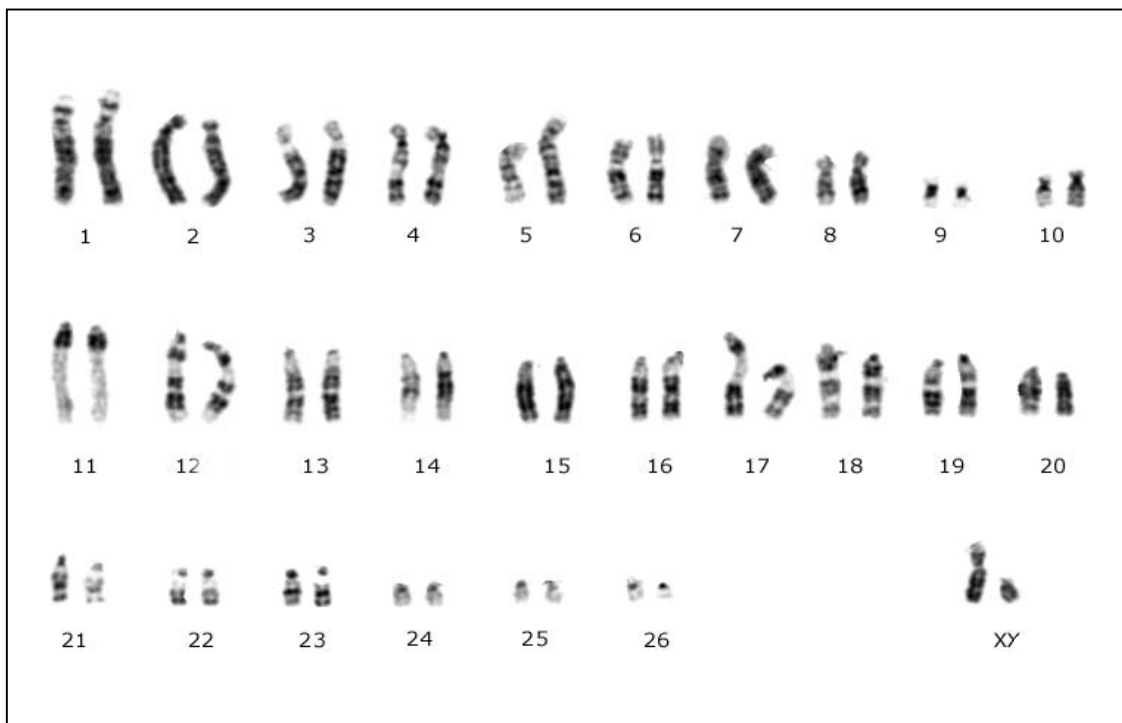
Cebus apella (Platyrrhini, F. Cebidae)



Ejemplar *Cebus apella*



Zona norte y central de Sudamérica
(Rowe, 1996)



Cariotipo de *Cebus apella*