

Il genoma del pisello comprende sette paia di cromosomi
(numero cromosomico $2n=14$).

La sua taglia è stimata a 4500 Mbp

Truncatula almeno 50.000 geni

Arabidopsis 27.000

I GENI ASSOCIATI NON SI ASSORTISCONO INDIPENDENTEMENTE

È facile vedere come nella maggior parte degli organismi il numero di cromosomi sia limitato, e che quindi sicuramente esistano più geni che cromosomi; di conseguenza alcuni geni devono essere collocati sul medesimo cromosoma e non dovrebbero assortire in modo indipendente.

I GENI ASSOCIATI NON SI ASSORTISCONO INDIPENDENTEMENTE

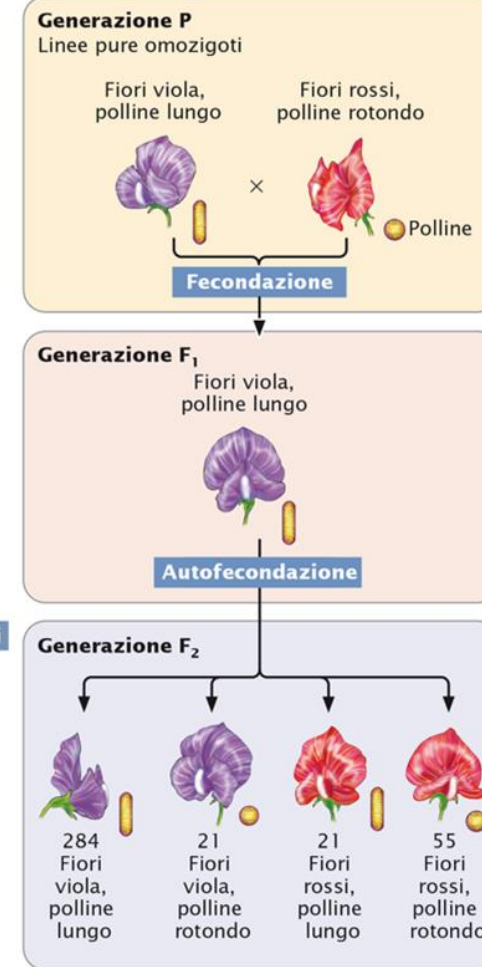
Tutti i caratteri esaminati da Mendel nei piselli mostravano un assortimento indipendente. Allo stesso modo, dopo la riscoperta del suo lavoro, le prime caratteristiche genetiche studiate in altri organismi sembravano assortirsi anch'esse in modo indipendente. Ma come potevano i geni essere localizzati su un numero limitato di cromosomi e malgrado ciò assortirsi in modo indipendente? Questa apparente contraddizione fra il principio dell'assortimento indipendente e la teoria cromosomica dell'ereditarietà scomparve rapidamente non appena i biologi cominciarono a scoprire dei caratteri che non si assortiscono in modo indipendente.

Un numero eccessivo di piante della F₂ mostrava fiori viola e granuli allungati, o fiori rossi e pollini rotondi, vale a dire gli stessi fenotipi parentali. Benché Bateson, Saunders e Punnett non fossero in grado di spiegare questi risultati, noi sappiamo che i due loci da loro analizzati si trovano sul medesimo cromosoma e perciò non si assortiscono in modo indipendente.

Esperimento

Domanda: Nei piselli odorosi, i geni responsabili del colore dei fiori e della forma dei granuli di polline si assortiscono in modo indipendente?

Metodi Incrocio di due varietà omozigote con due caratteri differenti.



Risultati

Conclusione: La progenie F₂ non compare nel rapporto 9:3:3:1 atteso con l'assortimento indipendente.

I GENI ASSOCIATI NON SI ASSORTISCONO INDIPENDENTEMENTE

I geni localizzati uno vicino all'altro sullo stesso cromosoma si chiamano **geni associati (concatenati, in linkage)** e fanno parte del medesimo **gruppo di linkage o di associazione**. I geni associati si muovono insieme durante la meiosi, alla fine giungono alla medesima destinazione (lo stesso gamete) e non ci si aspetta che si assortiscano in modo indipendente.

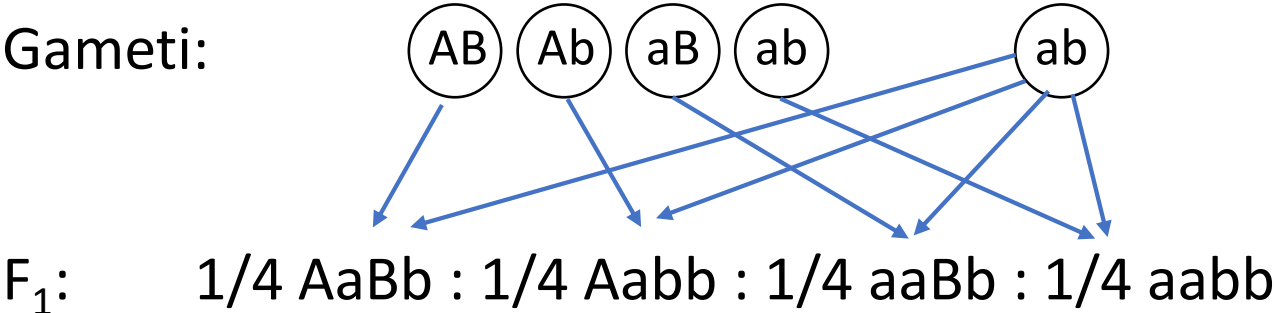
L' ASSOCIAZIONE O CONCATENAZIONE (LINKAGE)

I geni che si trovano su cromosomi diversi sono distribuiti nei gameti indipendentemente l'uno dall'altro (legge di Mendel dell'assortimento indipendente). I geni che si trovano sullo stesso cromosoma, invece, tendono a stare insieme durante la formazione di gameti. Così i risultati ottenuti sottoponendo individui diibridi a un testcross o incrocio di prova saranno diversi secondo che i geni siano associati oppure si trovino su cromosomi diversi.

L' ASSOCIAZIONE (O CONCATENAZIONE O LINKAGE)

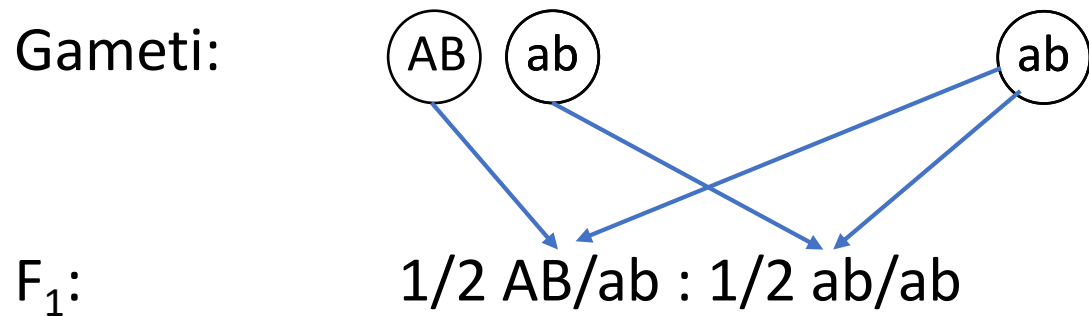
I geni su cromosomi diversi hanno un assortimento indipendente e danno nell' incrocio di prova un rapporto di 1 : 1 : 1 : 1.

Genitori: AaBb x aabb



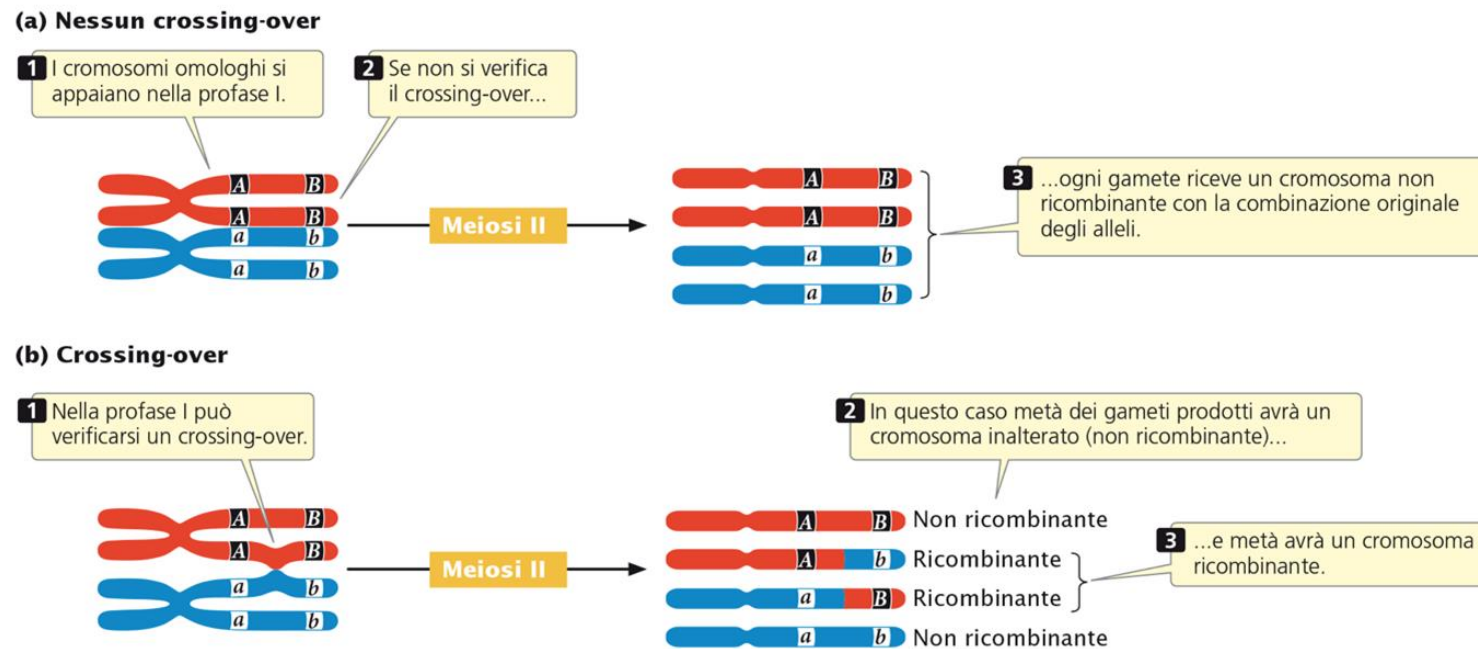
I geni associati non hanno un assortimento indipendente, ma tendono, nelle stesse combinazioni in cui si trovano nei genitori. I geni alla sinistra della sbarra (/) stanno su un cromosoma, quelli alla destra sul cromosoma omologo.

Genitori: AB/ab x ab/ab



Le importanti deviazioni dal rapporto 1 : 1 : 1 : 1, che si osserva nella progenie di un diibrido sottoposto a incrocio di prova, potrebbero essere usate come prova dell' associazione.

I geni che si trovano vicini sullo stesso cromosoma normalmente segregano insieme e sono perciò trasmessi insieme. Tuttavia gli alleli di tanto in tanto si scambiano il cromosoma tramite il processo di crossing-over. Il crossing-over determina la ricombinazione; in altre parole, rompe l'associazione fra geni che si trovano vicini sullo stesso cromosoma. Il linkage e il crossing-over si possono considerare come processi che determinano effetti opposti: il linkage tiene insieme determinati geni, mentre il crossing-over li rimescola dando luogo a nuove combinazioni.

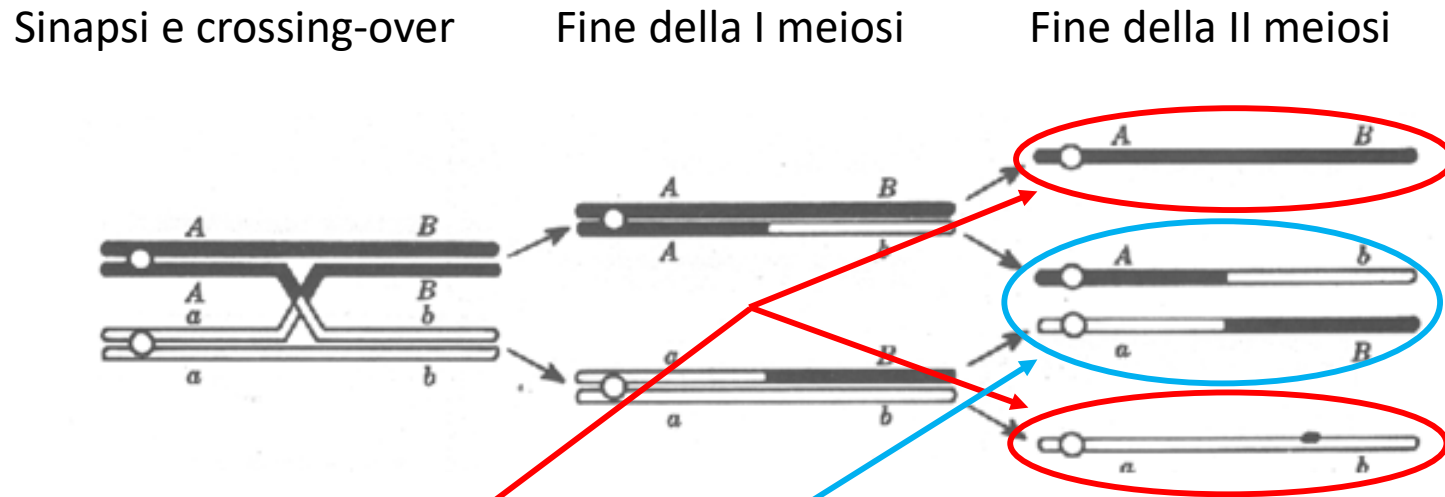


Sinora abbiamo visto diverse eccezioni ed estensioni del principio dell'eredità di Mendel. Il concetto di geni associati aggiunge un'ulteriore complicazione all'interpretazione dei risultati degli incroci genetici. Tuttavia grazie alla conoscenza del modo in cui il linkage influenza l'eredità, possiamo analizzare gli incroci con geni associati e prevedere con esattezza i tipi di progenie che saranno prodotti.

Il crossing-over.

Durante la meiosi, ciascun cromosoma si duplica formando due cromatidi fratelli identici. I cromosomi omologhi si appaiano (sinapsi) e il crossing-over avviene fra cromatidi non fratelli. Quest'ultimo processo comporta la rottura e il ricongiungimento di solo due dei quattro filamenti per ogni punto dato sui cromosomi.

Nello schema qui sotto si riporta un crossing-over avvenuto nella regione che si trova fra i loci A e B.



Si noti che due dei prodotti meiotici (AB e ab) hanno i geni associati nello stesso modo in cui si trovano nei cromosomi parentali. Essi sono prodotti dai cromatidi non coinvolti nel crossing-over e vengono indicati come **tipi parentali** o che non hanno subito il crossing-over. Gli altri due prodotti meiotici (Ab e aB), ottenuti dal crossing-over, hanno ricombinato i rapporti originari di associazione del genitore in due forme nuove, chiamate **tipi ricombinanti** o che hanno subito il crossing-over.

Per interpretare correttamente gli incroci con geni associati dobbiamo conoscere non solo i genotipi degli individui incrociati, ma anche la disposizione dei geni sui cromosomi.

Per rappresentare questa disposizione introduciamo un nuovo sistema di notazione in grado di descrivere gli incroci con geni associati. Consideriamo un incrocio fra un individuo omozigote per alleli dominanti posti su due loci associati e un altro individuo omozigote per alleli recessivi posti sugli stessi loci (AA BB × aa bb).

Nel caso dei geni associati è necessario annotare gli specifici alleli così come essi sono disposti su ciascuno dei cromosomi omologhi:

$$\frac{\begin{array}{cc} A & B \\ \hline A & B \end{array}}{\times} \frac{\begin{array}{cc} a & b \\ \hline a & b \end{array}}$$

$$\begin{array}{cc} A & B \\ \hline a & b \end{array}$$

In questo caso è evidente l'importanza di indicare come siano disposti gli alleli su ciascun cromosoma: uno possiede i due alleli dominanti A e B, mentre il cromosoma omologo possiede i due alleli recessivi a e b. Questa notazione può essere semplificata tracciando una sola linea, tenendo presente che i geni posti dalla stessa parte della linea si trovano sul medesimo cromosoma.

Si ricordi che i due alleli di un locus sono sempre localizzati su cromosomi omologhi differenti e perciò devono trovarsi dai lati opposti della linea; di conseguenza scrivere i genotipi in questo modo:

$$\frac{A \quad a}{B \quad b}$$

È UN GRAVE ERRORE perché gli alleli A e a non possono mai venire a trovarsi sullo stesso cromosoma. È anche importante mantenere il medesimo ordine dei geni sui due lati della linea; di conseguenza non dovremo mai scrivere:

$$\frac{A \quad B}{b \quad a}$$

perché ciò significherebbe che A e b sono alleli fra loro (cioè posti sullo stesso locus).

Gli alleli degli eterozigoti doppi (diibridi) in due loci associati possono apparire nell'una o nell'altra delle due posizioni. Se due alleli dominanti (o di tipo selvatico) si trovano su un cromosoma ed i due recessivi (o mutanti) sull'altro = AB/ab, il rapporto di associazione e' chiamato **fase di accoppiamento**. Quando l'allele dominante di un locus e l'allele recessivo dell' altro sono presenti sullo stesso cromosoma (Ab/aB) il rapporto e' definito **fase di repulsione**.

I gameti parentali e ricombinanti apparterranno a tipi diversi, a seconda di come i geni sopra menzionati sono associati nel genitore.

Genitore con alleli in fase di accoppiamento: AB/ab

Parentali (AB) (ab)

Gameti:

Ricombinanti: (aB) (Ab)

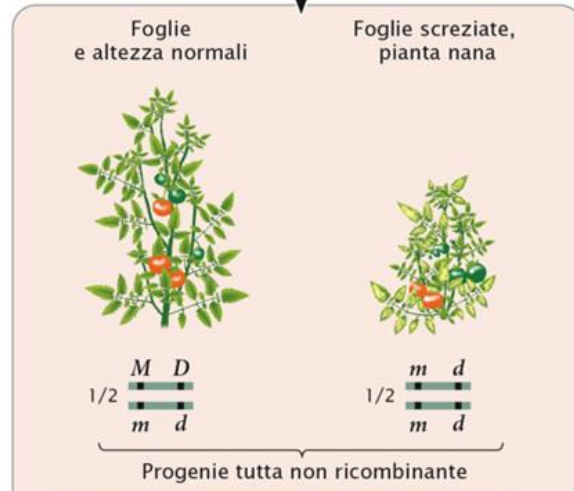
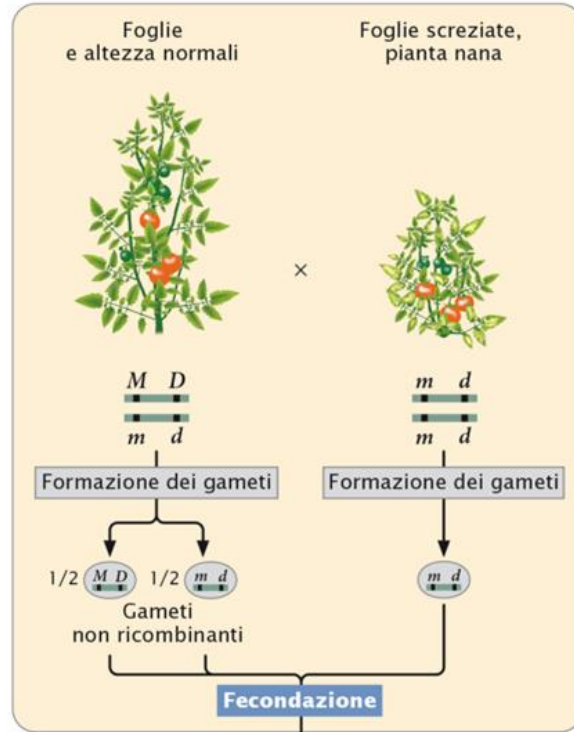
Genitore con alleli in fase di repulsione: Ab/aB

Parentali (aB) (Ab)

Gameti:

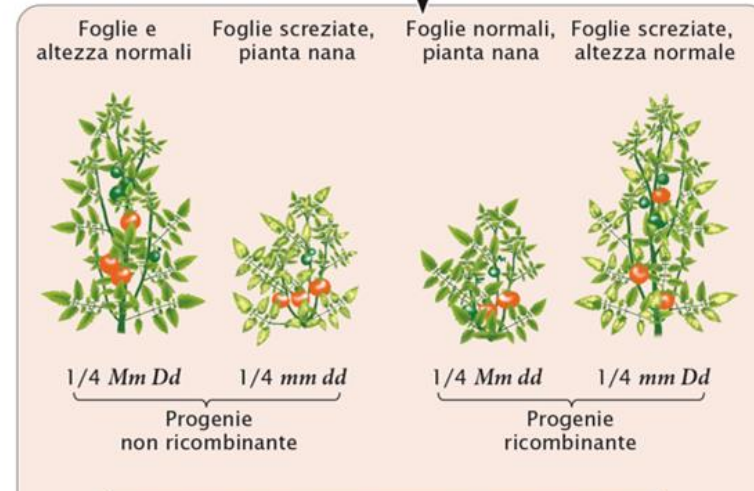
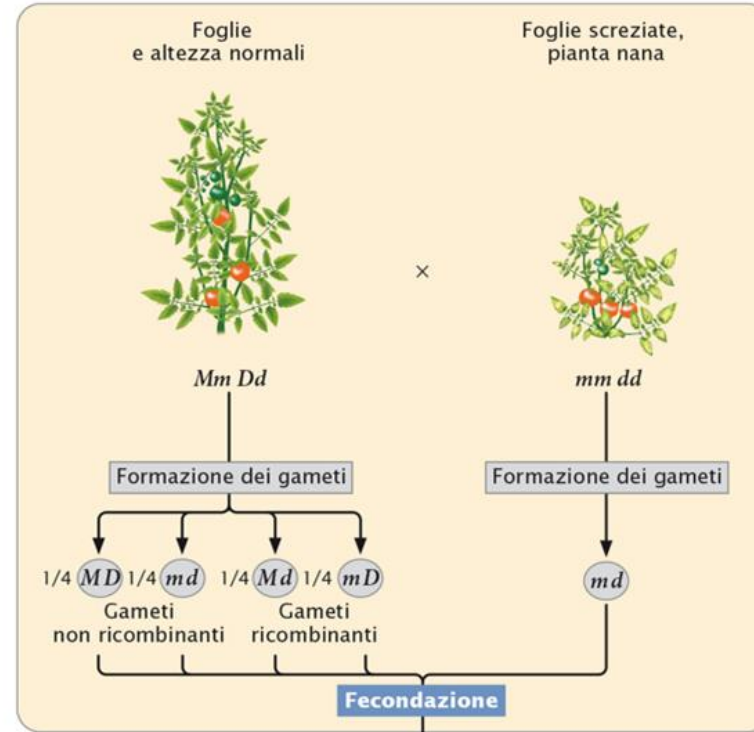
Ricombinanti: (AB) (ab)

(a) Se i geni sono in linkage completo (nessun crossing-over)



Conclusion: In caso di linkage completo si ottiene solo progenie non ricombinante.

(b) Se i geni non sono in linkage (assortimento indipendente)



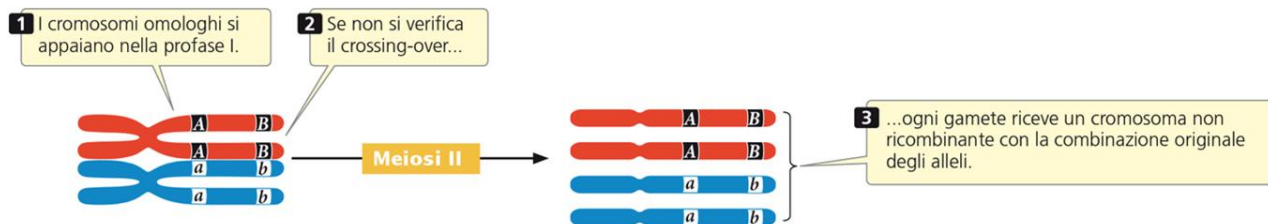
Conclusion: Nell'assortimento indipendente metà della progenie è ricombinante e metà non lo è.

Il crossing-over con geni associati

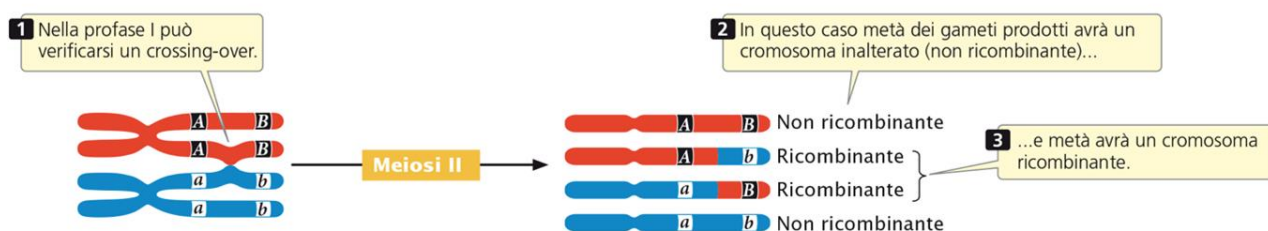
Di solito si verifica un certo numero di crossing-over fra i geni che sono posti sullo stesso cromosoma e in tal modo si producono nuove combinazioni di caratteri. I geni soggetti a crossing-over sono associati in maniera incompleta.

L'effetto del crossing-over sulla trasmissione ereditaria di due geni associati. Il crossing-over consiste nello scambio di materiale genetico fra cromatidi non fratelli. Dopo che c'è stato un singolo crossing-over, i due cromatidi che non vi sono stati coinvolti rimangono inalterati; i gameti che ricevono questi **cromatidi sono non ricombinanti**. Gli altri due cromatidi, quelli che hanno preso parte al crossing-over, adesso contengono nuove combinazioni di alleli; i gameti che ricevono questi **cromatidi sono ricombinanti**. Per ogni meiosi in cui avviene un crossing-over si produrranno due gameti non ricombinanti e due gameti ricombinanti. Tale risultato è analogo a quello prodotto dall'assortimento indipendente.

(a) Nessun crossing-over



(b) Crossing-over



Quando in ogni meiosi si verifica un crossing-over fra due loci, è impossibile determinare se i geni si trovano sullo stesso cromosoma e sono stati separati dal crossing-over, o se si trovano su cromosomi differenti.

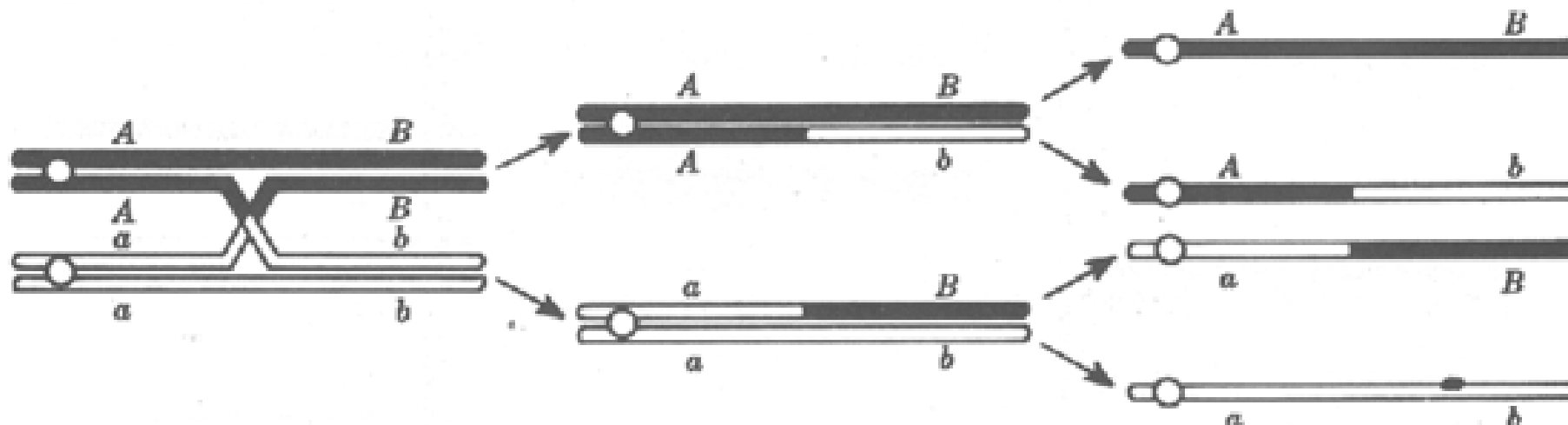
Il crossing-over con geni associati

Di solito si verifica un certo numero di crossing-over fra i geni che sono posti sullo stesso cromosoma e in tal modo si producono nuove combinazioni di caratteri. I geni soggetti a crossing-over sono associati in maniera incompleta.

Per i geni strettamente associati, il crossing-over non si verifica in ogni meiosi. Nelle meiosi in cui non avviene il crossing-over si producono solo gameti non ricombinanti. Nelle meiosi in cui si verifica un solo crossing-over, metà dei gameti sono ricombinanti e metà sono non ricombinanti, in quanto un singolo crossing-over ha effetto solo su due dei quattro cromatidi.

Dal momento che ogni crossing-over determina la produzione di una metà di gameti ricombinanti e un'altra metà di gameti non ricombinanti, la percentuale totale dei ricombinanti è sempre la metà della percentuale delle meiosi in cui avviene il crossing-over.

Anche se il crossing-over fra due geni si verifica in tutte le meiosi, sarà ricombinante al massimo il 50% dei gameti che ne derivano. In definitiva la **frequenza dei gameti ricombinanti è sempre la metà della frequenza dei crossing-over e la quantità massima di gameti ricombinanti è il 50%.**



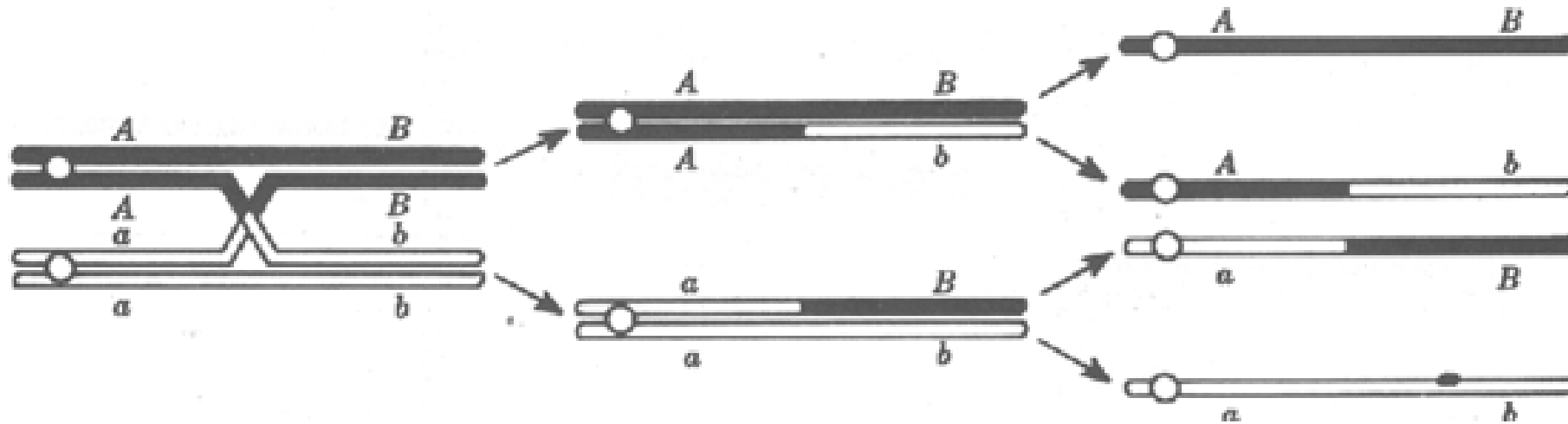
Quando fra due loci genici si forma un chiasma, solo la metà dei prodotti meiotici sarà del tipo che ha subito il crossing-over. Quindi la frequenza dei chiasmi è doppia di quella dei prodotti che hanno subito il crossing-over.

$\% \text{ di chiasmi} = 2 (\% \text{ di crossing-over})$ o $\% \text{ di crossing-over} = \frac{1}{2} (\% \text{ di chiasmi})$

Esempio Se, nel 30% delle tetradi di un individuo di genotipo AB/ab, si forma un chiasma fra i loci dei geni A e B, allora il 15% dei gameti sarà di tipo ricombinante (Ab o aB) e l' 85% sarà di tipo parentale (AB o ab).

Esempio Si supponga che la progenie del reincrocio con il doppio recessivo Ab/aB x ab/ab venga trovata nelle seguenti proporzioni: 40% Ab/ab, 40% aB/ab, 10% AB/ab, 10% ab/ab. I genotipi AB/ab e ab/ab sono stati prodotti da gameti che hanno subito crossing-over

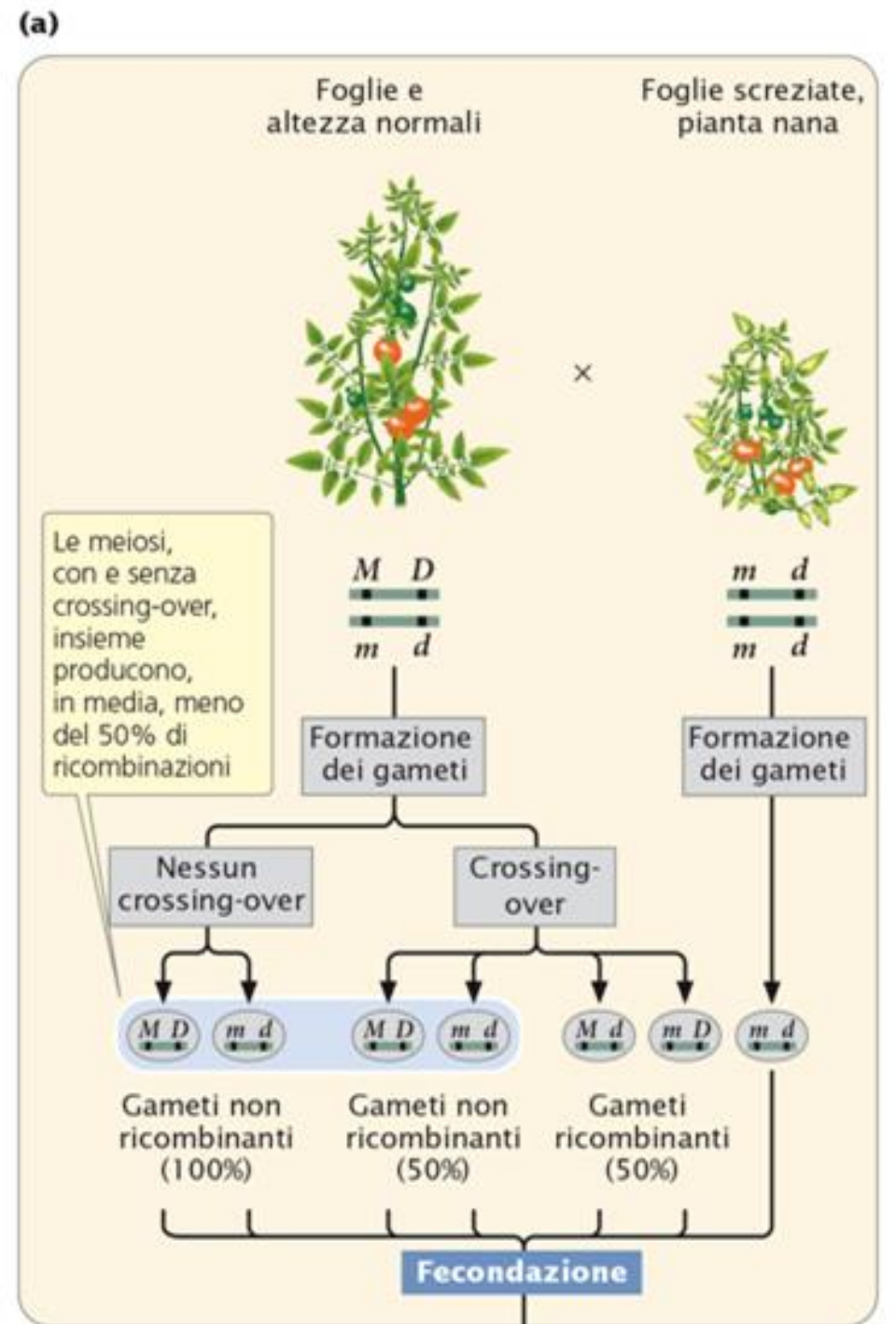
Il crossing-over al di fuori della regione A-B non ricombina questi marcatori.



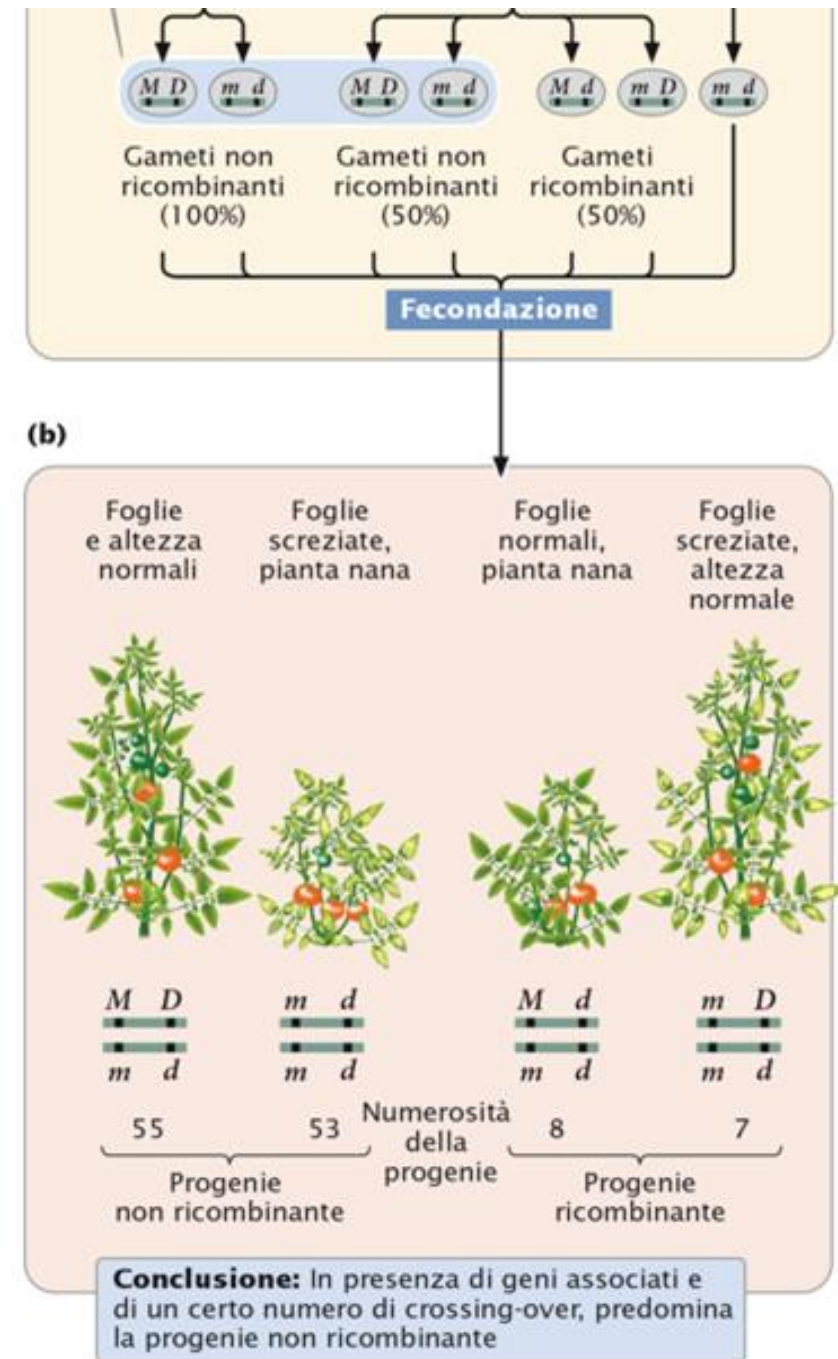
L'incrocio fra piante di pomodoro che differiscono fra loro per i geni codificano per il tipo di foglie e l'altezza. Ora immaginiamo che questi geni siano associati e che fra loro avvengano dei crossing-over. Supponiamo che un genetista abbia eseguito il reincrocio

$$\frac{M \quad D}{m \quad d} \times \frac{m \quad d}{m \quad d}$$

Quando si verifica il crossing-over fra i geni responsabili del tipo di foglie e dell'altezza della pianta, due dei quattro gameti sono ricombinanti. Quando il crossing-over non ha luogo tutti i gameti risultanti sono non ricombinanti. Dal momento che ogni crossing-over produce metà gameti ricombinanti e metà non ricombinanti, la maggior parte dei gameti sarà non ricombinante.



Successivamente questi gameti si uniscono con quelli prodotti dal genitore omozigote recessivo che contengono solo alleli recessivi, generando prevalentemente una progenie non ricombinante e in piccola parte una progenie ricombinante. Vediamo che in questo incrocio 55 piante della progenie reincrociata hanno foglie normali e sono alte e 53 hanno foglie screziate e sono nane. Queste piante rappresentano la progenie non ricombinante contenente la combinazione originale dei caratteri presenti nei genitori. Delle 123 piante della progenie, 15 presentano nuove combinazioni dei caratteri che non erano presenti nei genitori: 8 possiedono foglie normali e sono nane e 7 hanno foglie screziate e sono alte. Queste piante costituiscono la progenie ricombinante.



La percentuale di progenie ricombinante prodotta in un incrocio è detta frequenza di ricombinazione e si calcola nel modo seguente:

$$\begin{aligned} \text{frequenza di ricombinazione} &= \\ &= \frac{\text{numerosità della progenie ricombinante}}{\text{numerosità totale della progenie}} \times 100\% \end{aligned}$$

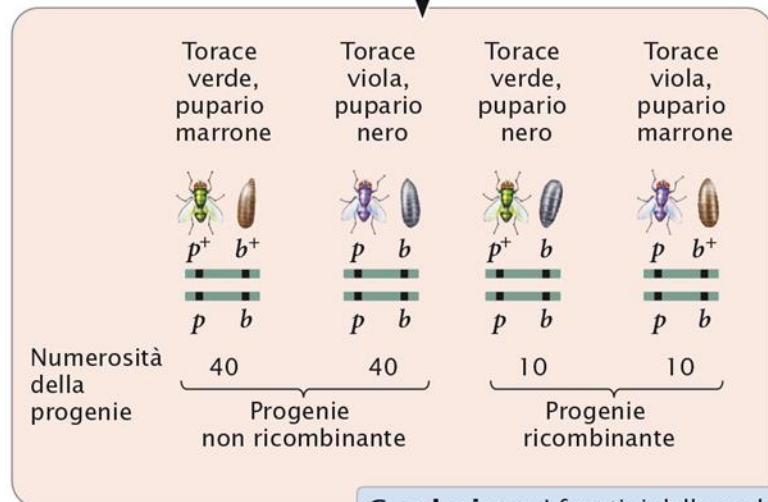
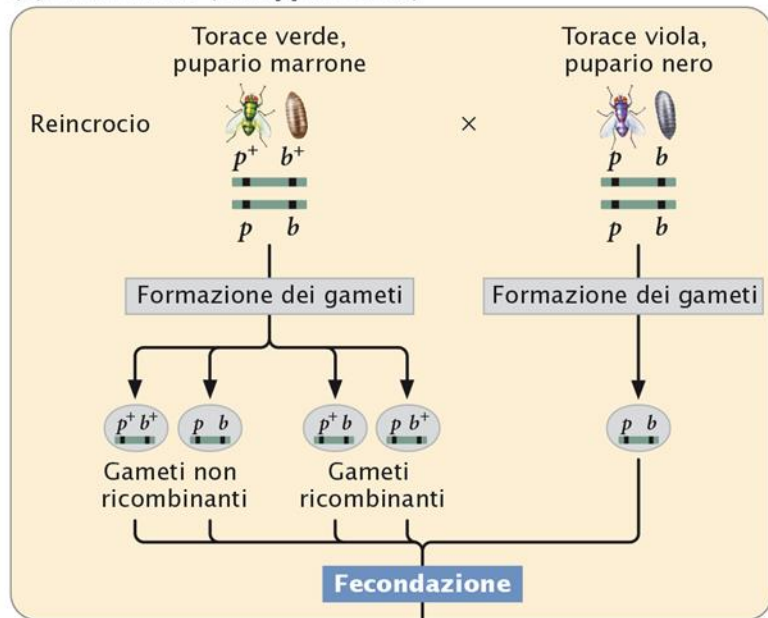
Nel reincrocio, 15 individui mostrano nuove combinazioni dei caratteri, e così la frequenza di ricombinazione sarà:

$$\frac{8 + 7}{55 + 53 + 8 + 7} \times 100\% = \frac{15}{123} \times 100\% = 12,2\%$$

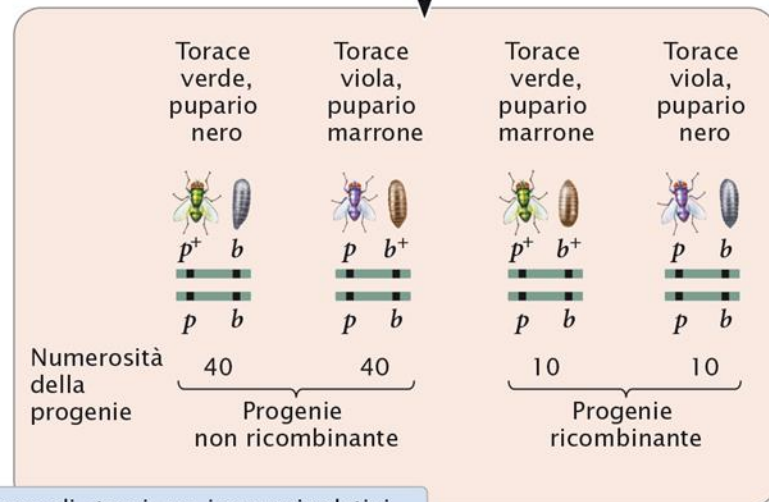
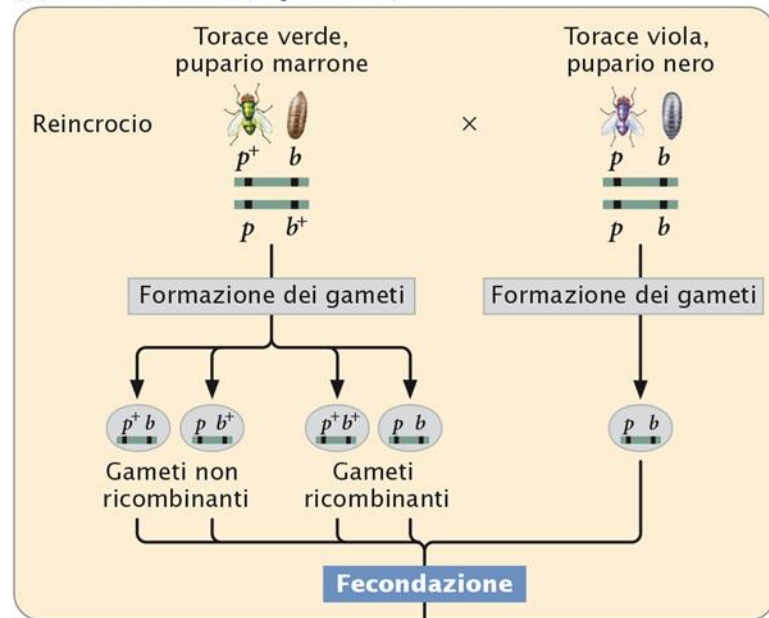
Pertanto il 12,2% della progenie mostra nuove combinazioni di caratteri come risultato del crossing-over. Si può esprimere la frequenza di ricombinazione anche in forma di frazione decimale (0,122).

Cis e Trans

(a) Alleli in cis (accoppiamento)



(b) Alleli in trans (repulsione)



Conclusion: I fenotipi della prole sono gli stessi, ma i numeri relativi sono diversi e dipendono dalla disposizione degli alleli in cis o in trans.

PREDIRE L'ESITO DEGLI INCROCI NEI GENI ASSOCIATI

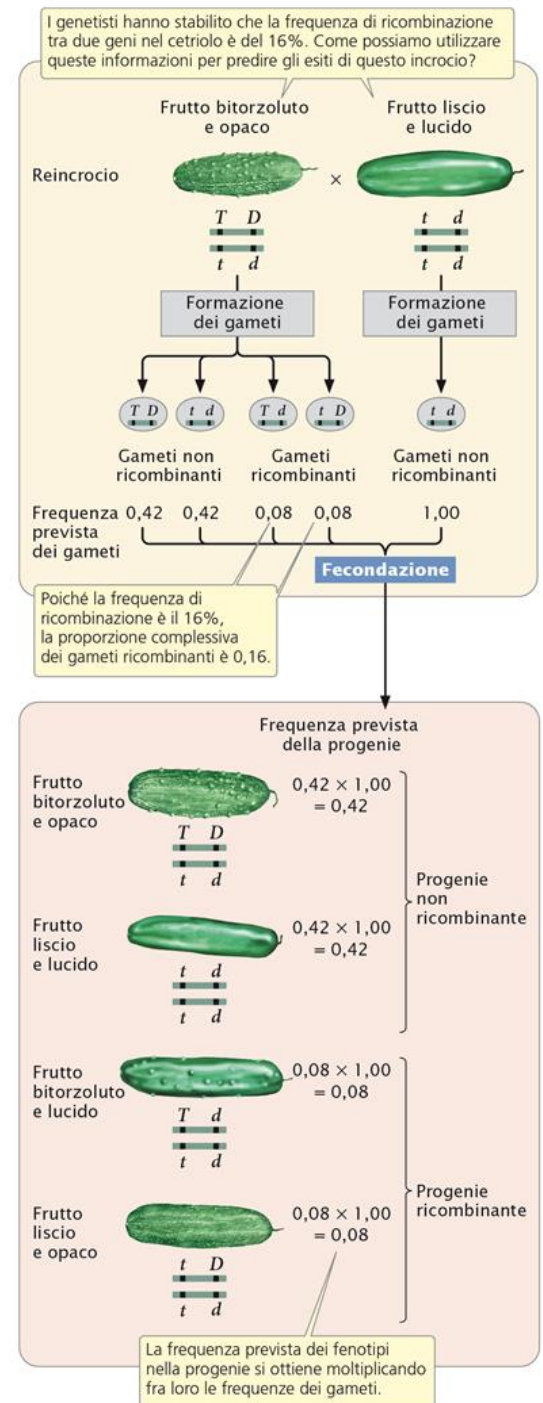
Nei cetrioli il frutto liscio (t) è recessivo rispetto a quello bitorzolato (T) e quello lucido (d) è recessivo rispetto a quello opaco (D). I due geni mostrano una frequenza di ricombinazione del 16%. Supponiamo di incrociare una pianta omozigote bitorzolata e opaca con una liscia e lucida e, successivamente, di reincrociare la F1 col doppio omozigote recessivo:

$$\frac{T \quad D}{t \quad d} \times \frac{t \quad d}{t \quad d}$$

Quali tipi di progenie, e in quali proporzioni, derivano da questo reincrocio?

Si avranno quattro tipi di gameti dal genitore eterozigote: due tipi di gameti non ricombinanti (T D e t d) e due ricombinanti (T d e t D).

Le frequenze di ricombinazione ci dicono che il 16% dei gameti prodotti dal genitore eterozigote sarà ricombinante. Poiché ci sono due tipi di gameti ricombinanti, ognuno di loro dovrebbe avere una frequenza pari a $16\% / 2 = 8\%$. Questa frequenza si può anche rappresentare come una probabilità pari a 0,08.



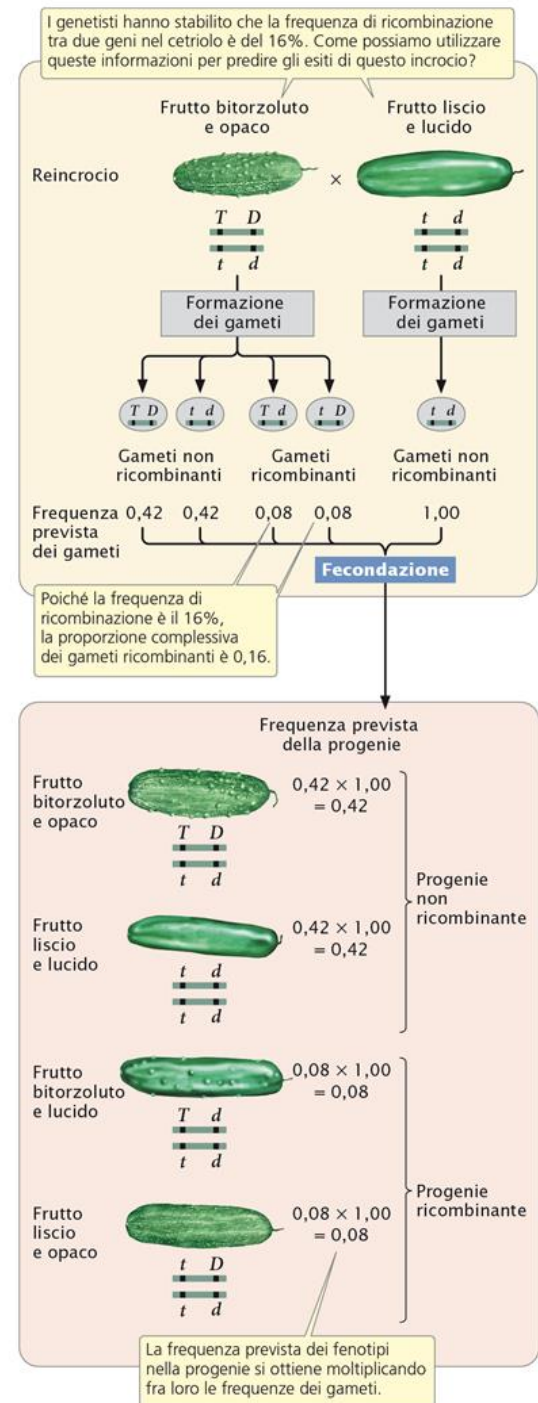
PREDIRE L'ESITO DEGLI INCROCI NEI GENI ASSOCIATI

Tutti gli altri gameti saranno non ricombinanti, pertanto avranno una frequenza pari a $100\% - 16\% = 84\%$. Poiché vi sono due tipi di gameti non ricombinanti ognuno di essi dovrà avere una frequenza di $84\% / 2 = 42\%$ (o 0,42). L'altro genitore del reincrocio è omozigote e perciò produce solo un tipo di gamete (t d) con una frequenza del 100% (o 1,00).

Dal reincrocio derivano quattro tipi di zigote e quattro classi di progenie. La proporzione attesa per ciascuna classe può essere determinata usando la regola del prodotto, cioè moltiplicando la probabilità di ciascun gamete. La progenie del reincrocio con il frutto bitorzolato e opaco (T D e t d) e due ricombinanti (T d e t D).

$$\frac{T \quad D}{t \quad d}$$

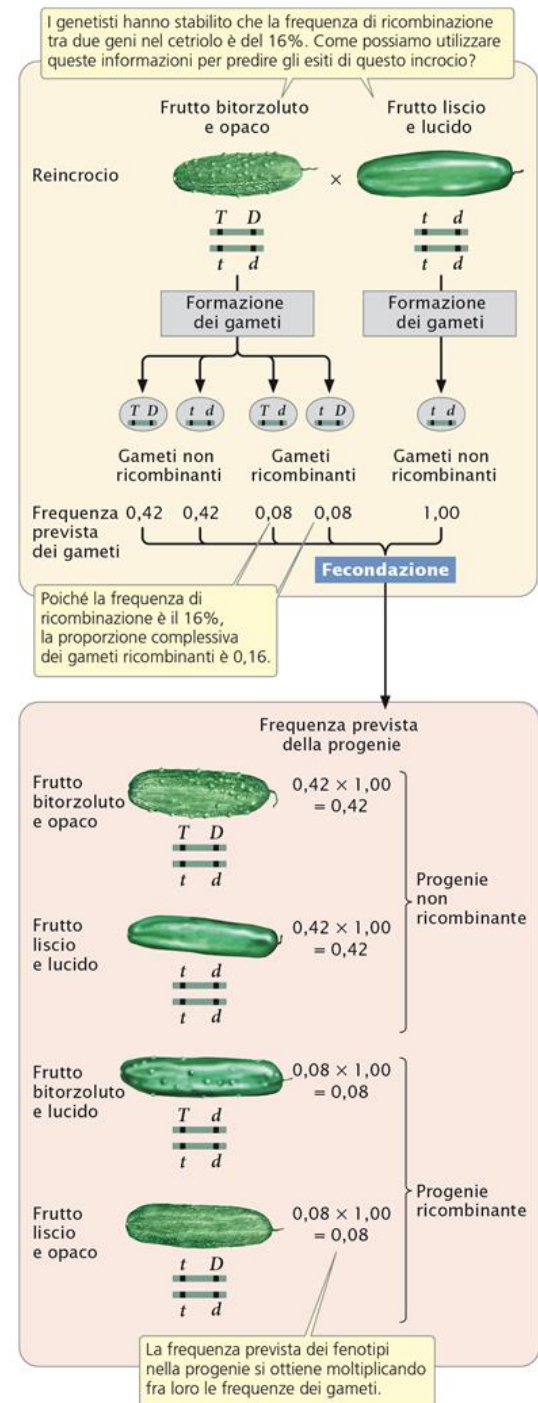
compare con una frequenza di 0,42 (la probabilità di ereditare un gamete con il cromosoma T D dal genitore eterozigote) \times 1,00 (la probabilità di ereditare un gamete con il cromosoma t d dal genitore doppio omozigote recessivo) = 0,42.



PREDIRE L'ESITO DEGLI INCROCI NEI GENI ASSOCIATI

Con lo stesso procedimento si possono calcolare le proporzioni delle altre classi di progenie F2.

Questo metodo può essere usato per prevedere l'esito di qualunque incrocio con geni associati dei quali sia nota la frequenza di ricombinazione.



FREQUENZA DEI CHIASMI

Un paio di cromosomi in sinapsi (bivalente) e' composto di quattro cromatidi che costituiscono una tetrade. Ogni tetrade ha normalmente almeno un chiasma in qualche punto della sua lunghezza. In generale, quanto piu' lungo e' il cromosoma tanto piu' grande e' il numero dei chiasmi. Da cio' deriva che quanto piu' sono lontani due loci genici sul cromosoma, tanto piu' aumenta la probabilita' che tra loro avvenga un crossing-over, e viceversa.

Queste probabilita' servono a predire i rapporti tra gameti parentali e ricombinanti che si attendono da un dato genotipo. La percentuale dei gameti che hanno avuto il crossing-over (ricombinanti) e che sono formati da un dato genotipo e' un riflesso diretto della frequenza con cui si forma un chiasma fra i geni in questione.

Due geni lontani sono piu' facilmente soggetti a crossing-over di due geni che si trovano vicini. Perciò le frequenze di ricombinazione permettono di determinare l'ordine dei geni lungo un cromosoma e forniscono delle stime delle distanze fra geni.

Le distanze su una mappa genetica sono misurate in unità di mappa (u.m. in forma abbreviata); un'unità di mappa equivale all'1% di ricombinazione. Le unità di mappa sono anche dette centiMorgan (cM), in onore di Thomas Hunt Morgan.

Thomas Hunt Morgan e i suoi studenti svilupparono l'idea che le distanze fisiche fra i geni sui cromosomi sono correlate ai tassi di ricombinazione. Partirono dall'ipotesi che i crossing-over avvengano in modo più o meno casuale lungo il cromosoma e che quindi due geni lontani siano più facilmente soggetti a crossing-over di due geni che si trovano vicini. Perciò proposero che le frequenze di ricombinazione permettessero di determinare l'ordine dei geni lungo un cromosoma e fornissero delle stime delle relative distanze fra geni. Le mappe cromosomiche calcolate mediante l'impiego della proprietà genetica della ricombinazione sono dette **MAPPE GENETICHE**. Viceversa, le mappe cromosomiche calcolate utilizzando le distanze fisiche lungo il cromosoma (spesso espresse in numero di paia di basi) sono dette **MAPPE FISICHE**

Le distanze genetiche misurate in tassi di ricombinazione sono approssimativamente additive.

L'ORDINE GENICO

L'additività delle distanze di mappa consente di sistemare i geni in un ordine lineare appropriato. Tre geni associati possono trovarsi in uno qualunque di tre ordini diversi, a seconda di quale gene sta nel mezzo. Per il momento non si terrà conto delle alternative alle estremità destra e sinistra. Se non si verificano doppi crossing-over, le distanze di mappa possono essere considerate come unità completamente additive. Quando vengono date le distanze $A-B = 12$, $B-C = 7$, $A-C = 5$, si dovrebbe essere in grado di determinare l'ordine corretto.

Caso 1. Si supponga che A stia nel mezzo.



Le distanze tra A e B e tra A e C non sono uguali. Quindi A non può essere nel mezzo.

L'ORDINE GENICO

L'additività delle distanze di mappa consente di sistemare i geni in un ordine lineare appropriato. Tre geni associati possono trovarsi in uno qualunque di tre ordini diversi, a seconda di quale gene sta nel mezzo. Per il momento non si terrà conto delle alternative alle estremità destra e sinistra. Se non si verificano doppi crossing-over, le distanze di mappa possono essere considerate come unità completamente additive. Quando vengono date le distanze $A-B = 12$, $B-C = 7$, $A-C = 5$, si dovrebbe essere in grado di determinare l'ordine corretto.

Caso 2. Supponiamo che B stia nel mezzo.



Le distanze tra A e B e tra B e C non sono uguali.
Quindi B non può essere nel mezzo.

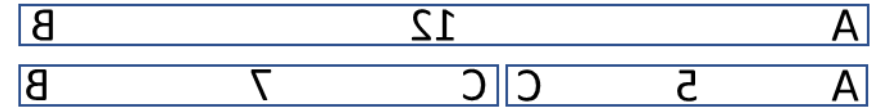
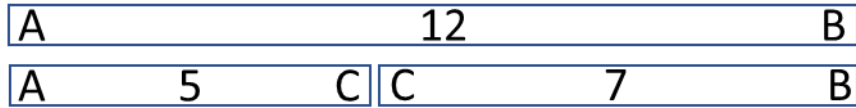
L'ORDINE GENICO

L'additività delle distanze di mappa consente di sistemare i geni in un ordine lineare appropriato. Tre geni associati possono trovarsi in uno qualunque di tre ordini diversi, a seconda di quale gene sta nel mezzo. Per il momento non si terrà conto delle alternative alle estremità destra e sinistra. Se non si verificano doppi crossing-over, le distanze di mappa possono essere considerate come unità completamente additive. Quando vengono date le distanze $A-B = 12$, $B-C = 7$, $A-C = 5$, si dovrebbe essere in grado di determinare l'ordine corretto.

Caso 3. Si supponga che C stia nel mezzo.

A	12	B			
A	5	C	C	7	B

Le distanze tra A e C e tra C e B sono eguali.
Quindi C deve essere nel mezzo.



Entrambe le mappe sono corrette e ugualmente valide; in realtà, disponendo solo dell'informazione circa le posizioni relative dei tre geni, il massimo che possiamo stabilire è che un gene si trova in mezzo agli altri due. Se conoscessimo le distanze anche di un altro gene, allora potremmo localizzare A e C in relazione a questo gene. Un gene D, esaminato attraverso incroci genetici, potrebbe presentare le seguenti frequenze di ricombinazione:

Coppia di Geni	Frequenza di Ricombinazione %
A e D	8
B e D	20
C e D	13

Si noti che C e D mostrano la più alta percentuale di ricombinazioni; perciò C e D devono essere molto più lontani, con i geni A e B posti in mezzo a loro. Utilizzando la frequenza di ricombinazione e tenendo a mente che 1 u.m. = 1% di ricombinazione, possiamo ora aggiungere D alla nostra mappa:

