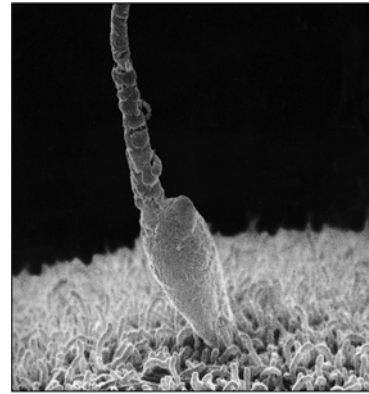
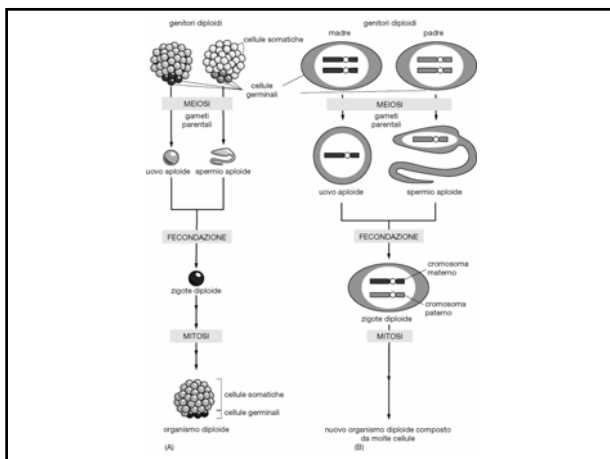


La modalità di trasmissione dei caratteri ereditari nelle specie a riproduzione sessuale

- I gameti, spermatozoi ed ovocellule, sono cellule germinali aploidi ( $n$ ), prodotto di un processo di divisione meiotica.
- Il processo di divisione meiotica comporta aploidia e variabilità genetica.
- La fecondazione ripristina il corredo cromosomico diploide caratteristico della specie



5  $\mu$ m



## Genetica Mendeliana

## Prime Teorie di Eredità

- Spermatozoi e uova contenevano un campione delle “essenze” da varie parti del genitore
- Al concepimento, queste “essenze” si mescolavano per formare il nuovo individuo.
- Questa idea fu chiamata = eredità per mescolamento
- Mendel stabilì che esistono unità discrete di eredità e poté predire il loro comportamento



## Gregor Johann Mendel



- Nato in 1822 a Heinzendorf, Czech Rep.
- Ammesso al monastero Agostiniano di St. Thomas in 1843
- In 1856, comincia gli esperimenti di ibridazione con i piselli da giardino per i quali è famoso.

## Esperimenti di Mendel

- Studiò come i caratteri venivano trasmessi dai genitori ai figli
- Utilizzò il Pisello da Giardino, *Pisum sativum*, come organismo sperimentale poiché
  - Auto impollinante
  - Facile da incrociare
  - Rapido tempo di generazione
  - Facile da crescere e maneggiare



- I fiori di Pisello sono tipicamente autoimpollinanti
- Per questa ragione è relativamente facile controllare gli incroci in questa pianta

## Giardino di Mendel



## Esperimenti di Mendel

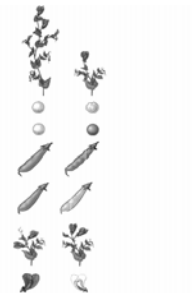
- Mendel stabilì che esistevano unità di eredità (fattori unitari) che noi ora chiamiamo geni
- Predisse il loro comportamento durante la formazione dei gameti
- Derivò dei postulati che ancora oggi rappresentano la pietra miliare della genetica formale

## Metodologia di Mendel

Ottenne **ceppi puri** da allevatori locali di piselli  
Studiò 7 caratteristiche visibili con 2 forme contrastanti

Una per volta

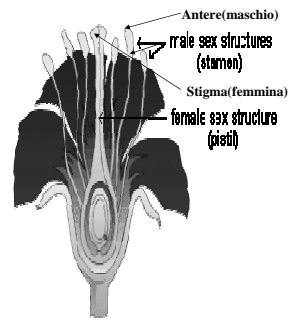
- Altezza dello stelo (alto/nano)
- Forma del seme (liscio/rugoso)
- Colore del seme (giallo/verde)
- Forma del baccello (pieno/compresso)
- Colore del baccello (verde/giallo)
- Posizione del fiore (assiale/terminale)
- Colore del fiore (violetto/bianco)



## Metodologia di Mendel

- Incrociò sperimentalmente piante con diversi caratteri e osservò i risultati
- Restrinse l'esame a una o poche coppie di caratteri contrastanti
- Tenne accurati registri dei risultati numerici degli esperimenti

## Impollinazione incrociata

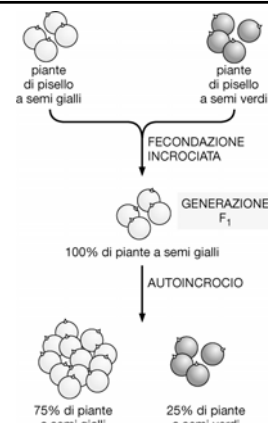


- Le antere sono rimosse dalla pianta prima che liberino il polline = demascolinizzazione
- Il polline ottenuto da un'altra pianta (maschio) è poi sparso sullo stigma della pianta femmina (demascolinizzata)

## Incrocio Monoibrido

Mendel eseguì l'incrocio più semplice:

- Accoppiò due ceppi parentali puri che mostravano ciascuno una delle due forme alternative
- Parentali originali = Generazione P1
- La loro progenie è detta Generazione F1 (prima filiale)
- La generazione F1 è poi lasciata autoimpollinarsi per produrre la Generazione F2

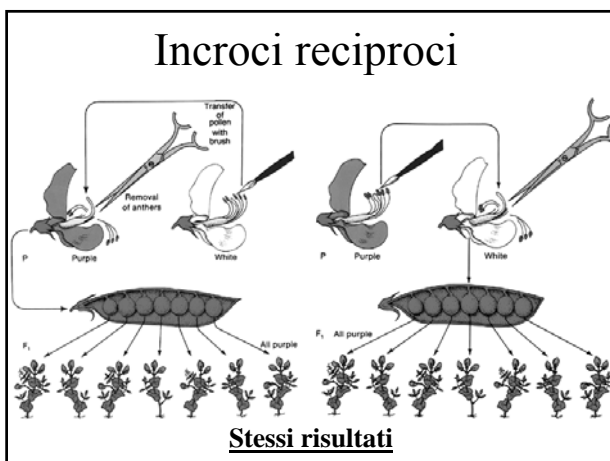


Character	Contrasting traits	F <sub>1</sub> results	F <sub>2</sub> results	F <sub>2</sub> ratio
Seeds	round/wrinkled	all round	5474 round 1850 wrinkled	2.96:1
	yellow/green	all yellow	6022 yellow 2001 green	3.01:1
	full/constricted	all full	882 full 299 constricted	2.95:1
Pods	green/yellow	all green	428 green 152 yellow	2.82:1
	axial/terminal	all axial	651 axial 207 terminal	3.14:1
Flowers	violet/white	all violet	705 violet 224 white	3.15:1
Stem	tall/dwarf	all tall	787 tall 277 dwarf	2.84:1

## Incrocio Monoibrido

- In tutti i casi, un carattere parentale scompariva in F<sub>1</sub>, per riapparire solo nella generazione F<sub>2</sub>
- In ciascuno dei 7 caratteri esaminati, Mendel osservò un rapporto di ~ 3:1 nella F<sub>2</sub>.
- ~ 3/4 della progenie presentava il carattere osservato nella F<sub>1</sub> e 1/4 il carattere che non era presente in F<sub>1</sub>

Gli incroci reciproci mostrarono simili pattern di eredità



## Primi Tre Postulati di Mendel

### 1. Fattori Unitari in coppie

- I caratteri genetici sono controllati da fattori unitari che si trovano in coppie (alleli) nei singoli organismi

### 2. Dominanza/Recessività

- Quando sono presenti due fattori (alleli) diversi responsabili di una singola caratteristica, uno sarà espresso nel fenotipo (dominante) e l'altro mascherato (recessivo)

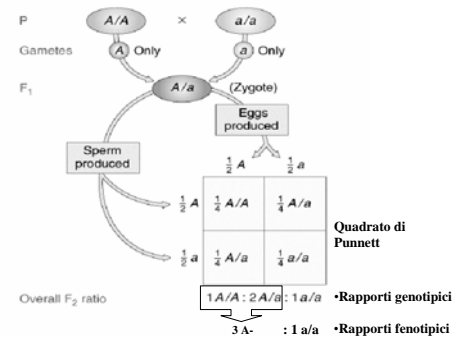
### 3. Segregazione

- Durante la formazione dei gameti, i fattori unitari presenti in coppie si separano a caso (segregano) così ciascun gamete riceve l'uno o l'altro con uguale probabilità ( pari a 1/2)

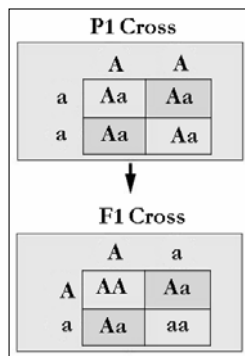
## Terminologia

- **Fenotipo** - l'apparenza fisica di un carattere
- **Gene** - una sequenza di DNA che codifica per una particolare proteina responsabile del carattere. Unità di eredità (i fattori unitari di Mendel)
- **Allele** - forma alternativa di un singolo gene  
Esempio: L'allele viola è dominante su bianco, ma entrambi gli alleli codificano per il colore del fiore  
Il colore del fiore è il gene  
viola e bianco sono alleli dello stesso gene
- **Genotipo** - la costituzione allelica o genetica di un organismo
- **Omozigote** - un individuo contenente alleli identici per un gene
- **Eterozigote** - un individuo contenente alleli diversi per un gene

## ANALISI MENDELIANA : 1 GENE

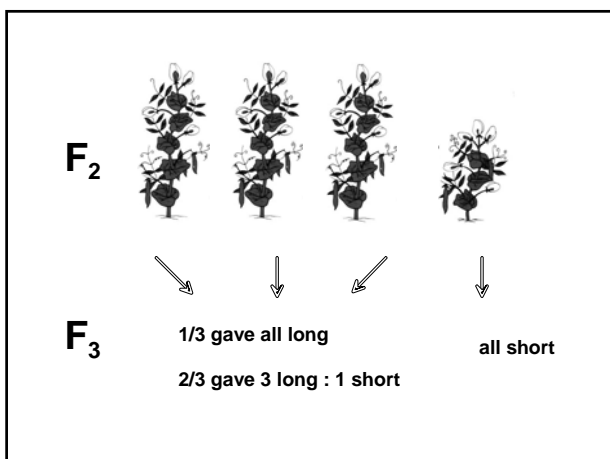
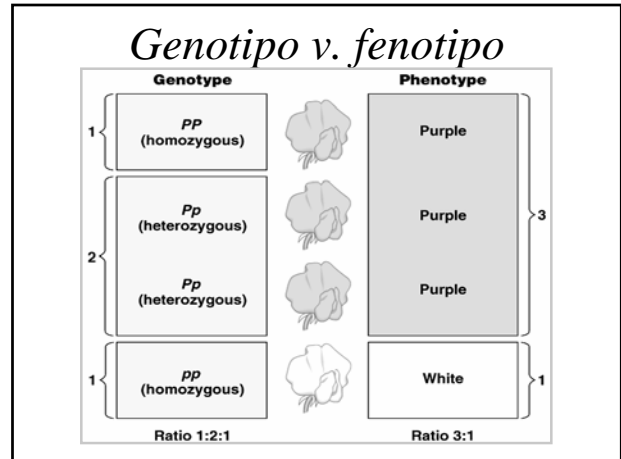
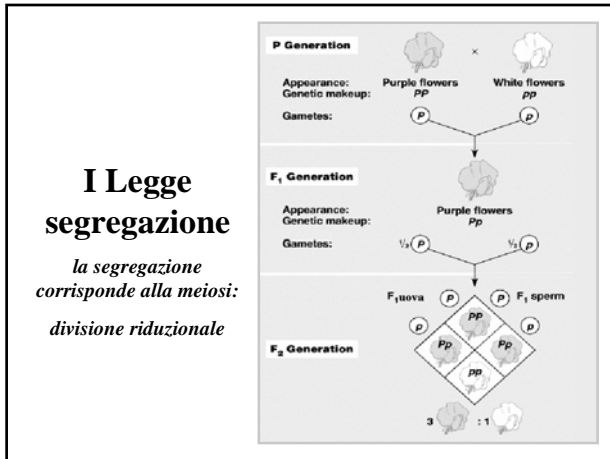


## Quadrato di Punnett



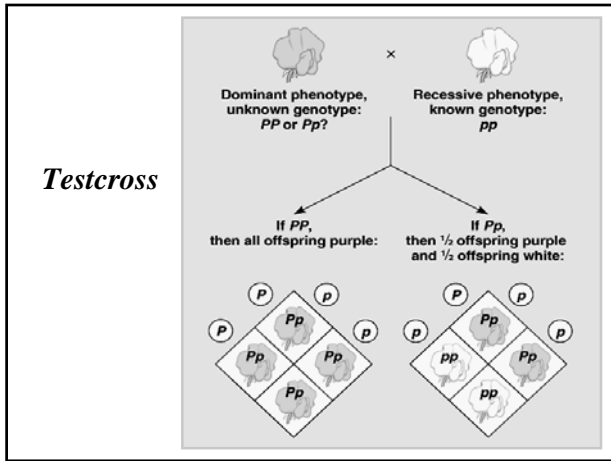
## Risultati del quadrato di Punnett

- **Risultati della F1**
  - tutti eterozigoti (Aa)
  - mostrano il fenotipo dominante
- **Risultati della F2**
  - 1 omozigote dominante (AA)
  - 2 eterozigoti (Aa)
  - 1 omozigote recessivo (aa)
- **Rapporti della progenie F2**
  - 3:1 rapporto fenotipico (dominanti:recessivi)**
  - 1:2:1 rapporto genotipico (AA:Aa:aa)**



**Test Cross**

- E' usato per determinare il genotipo di individui che mostrano il fenotipo dominante (omozigoti o eterozigoti?)
- L'individuo viene incrociato con un omozigote recessivo (fenotipo recessivo)
  - se l'individuo è omozigote dominante, tutta la progenie mostrerà il fenotipo dominante
  - se l'individuo è eterozigote, 1/2 della progenie esibirà il fenotipo dominante e l'altro 1/2 mostrerà il fenotipo recessivo

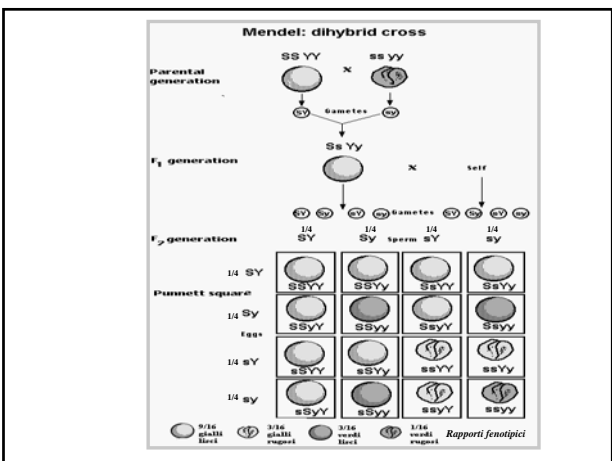


## Incrocio Diibrido

- Mendel considerò poi piante di piselli che differivano per **due** caratteri (incrocio a due fattori)
- Assortimento Indipendente (II legge)**
  - Durante la formazione dei gameti, coppie segreganti di fattori unitari assortiscono indipendentemente l'una dall'altra
  - Quindi, tutte le possibili combinazioni di gameti sono formate con uguale frequenza
- Concettualmente, un incrocio diibrido è come due incroci monoibridi condotti separatamente (eventi indipendenti)

## Incrocio Diibrido

- Consideriamo due caratteri
  - Colore del seme (giallo/verde)
    - Giallo è dominante ( $YY$ ), verde è recessivo ( $yy$ )
  - Forma del seme (liscio/rugoso)
    - Liscio è dominante ( $SS$ ), rugoso è recessivo ( $ss$ )



## Incrocio Diibrido

- Mendel vide che nella generazione F1 la dominanza di un carattere non influiva sulla dominanza dell'altro
- Lasciando riprodurre la F1 per autofecondazione, Mendel osservò nella F2 un rapporto fenotipico 9 : 3 : 3 : 1
- Nascosto dentro l'apparentemente più complesso rapporto 9:3:3:1, c'è il rapporto monoibrido 3:1
- Due rapporti 3:1 INDEPENDENTI!  $(3+1)(3+1)=9:3:3:1$

## Calcolo dei Rapporti Genetici

- Il numero dei diversi gameti possibili è uguale a  $2^n$  dove n = numero di geni in esame
  - Per l'incrocio diibrido precedente
    - gene per il colore del seme (giallo/verde)
    - gene per la forma del seme ( liscio/rugoso)
  - numero di diversi gameti =  $2^2 = 4$ 
    - YS
    - yS
    - Ys
    - ys

## Calcolo dei Rapporti Genetici

- Le probabilità o frequenze attese di specifici fenotipi o genotipi si possono calcolare con semplici regole statistiche
  - 1. La Regola del Prodotto
  - 2. La Regola della Somma

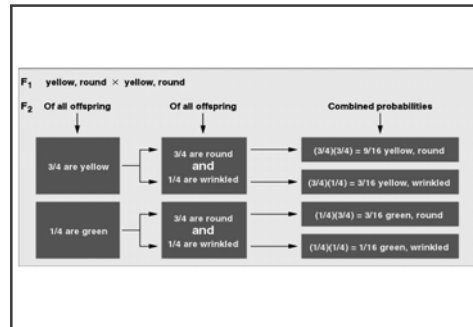
## Regola del Prodotto

- *La probabilità che eventi indipendenti si verifichino contemporaneamente è il prodotto delle probabilità degli eventi singoli*
  - Esempio = La probabilità di ottenere due quattro lanciando due dadi è  $1/6 \times 1/6 = 1/36$

## Regola del Prodotto

- Qual è la probabilità che una pianta F<sub>2</sub> produca semi gialli **E** lisci, se giallo e liscio sono caratteri dominanti??
  - YySs x YySs
  - 1. **Probabilità di giallo** (Yy x Yy) =  $\frac{3}{4}$
  - 2. **Probabilità di liscio** (Ss x Ss) =  $\frac{3}{4}$
  - 3. **Probabilità di giallo e liscio**  
( $\frac{3}{4}$  gialli) \* ( $\frac{3}{4}$  lisci) =  $\frac{9}{16}$  gialli e lisci

## Regola del Prodotto



## Regola del Prodotto

Generation of F<sub>2</sub> trihybrid phenotypes

A or a	B or b	C or c	Combined proportion
3/4 A	3/4 B	3/4 C	(3/4)(3/4)(3/4) ABC = 27/64 ABC
		1/4 c	(3/4)(3/4)(1/4) ABc = 9/64 ABc
	1/4 b	3/4 C	(3/4)(1/4)(3/4) AbC = 9/64 AbC
		1/4 c	(3/4)(1/4)(1/4) Abc = 3/64 Abc
1/4 a	3/4 B	3/4 C	(1/4)(3/4)(3/4) aBC = 9/64 aBC
		1/4 c	(1/4)(3/4)(1/4) aBc = 3/64 aBc
	1/4 b	3/4 C	(1/4)(1/4)(3/4) abC = 3/64 abC
		1/4 c	(1/4)(1/4)(1/4) abc = 1/64 abc

## Regola della Somma

- La probabilità che si realizzino **l'uno o l'altro** di due eventi mutualmente esclusivi è la somma delle loro probabilità individuali.
- Esempio: Probabilità lanciando due dadi di fare o due 4 o due 5 =  $\frac{1}{36} + \frac{1}{36} = \frac{1}{18}$

## Regola della Somma

- Qual è la probabilità che una pianta F<sub>2</sub> produca semi gialli **O** lisci se sia giallo che liscio sono caratteri dominanti??

– YySs x YySs

## Regola della Somma

– 4 possibili risultati

- Giallo e liscio  $(3/4) \cdot (3/4) = 9/16$
  - Giallo e rugoso  $(3/4) \cdot (1/4) = 3/16$
  - Verde e liscio  $(1/4) \cdot (3/4) = 3/16$
  - Verde e rugoso  $(1/4) \cdot (1/4) = 1/16$
- Probabilità di giallo o liscio =  $(9/16) + (3/16) + (3/16) = \mathbf{15/16}$

- Ricordare, le previsioni sono possibili risultati basati su una grande dimensione del campione.
- La probabilità che ci siano i 9/16 della progenie di un incrocio diibrido che esprimono il fenotipo dominante in un campione di progenie di 16 individui è veramente scarsa.
- Piuttosto, in campioni di piccole dimensioni la deviazione dall'atteso può essere attribuita al caso. Più grande è la dimensione del campione più piccola sarà la deviazione.

## Valutazione dei dati genetici

- I rapporti di Mendel sono naturalmente influenzati da eventi casuali. Se Mendel avesse avuto solo 16 progenie, avrebbe trovato un rapporto 9:3:3:1?
- Così, i risultati della segregazione, dell'assortimento indipendente e della fertilizzazione sono tutti soggetti al caso. Dimensioni grandi del campione riducono l'effetto del caso.
- Noi possiamo saggiare l'effetto del caso usando un metodo statistico chiamato chi-quadrato

## Analisi del Chi- Quadrato

- Cosa testa il chi-quadrato: se le differenze dal rapporto atteso sono dovute al caso o se sono differenze REALI.
- Passo 1: Stabilire l' Ipotesi Nulla ( $H_0$ )
  - *Quest'ipotesi assume che non esista nessuna differenza reale tra i valori osservati e i valori attesi*

## Analisi del Chi- Quadrato

- Quale sarebbe l'Ipotesi Nulla in un incrocio Monoibrido? E in un incrocio Diibrido?
  - Monoibrido
    - Il rapporto osservato non è diverso dal rapporto atteso (3:1)
  - Diibrido
    - Il rapporto osservato non è diverso dal rapporto atteso (9:3:3:1)

## Chi- Quadrato(cont.)

- Passo 2: L'Equazione
- Noi usiamo l'equazione del chi -quadrato per determinare se possiamo accettare l'ipotesi nulla (differenze dovute al caso) oppure se dobbiamo rifiutarla ( differenze reali)

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{osservati} - \text{attesi})^2}{\text{attesi}}$$

## Passo 3, il Calcolo

- **Passo 3:** Calcolare il valore di chi-quadrato per l'incrocio in esame
- Per ciascun fenotipo, calcolare un valore di chi-quadrato, poi sommare ciascun valore di chi-quadrato per ottenere il valore del chi-quadrato totale per quell'incrocio =  $\chi^2_{\text{calc}}$

## Passo 3, il Calcolo

Expected Ratio	Observed (o)	Expected (e)	Deviation (o - e)	Deviation <sup>2</sup> (d <sup>2</sup> )	d <sup>2</sup> /e
3/4	740	3/4 (1000) = 750	740 - 750 = -10	(-10) <sup>2</sup> = 100	100/750 = 0.13
1/4	260	1/4 (1000) = 250	260 - 250 = +10	(+10) <sup>2</sup> = 100	100/250 = 0.40
Total = 1000					$\chi^2 = 0.53$
					$p = 0.48$

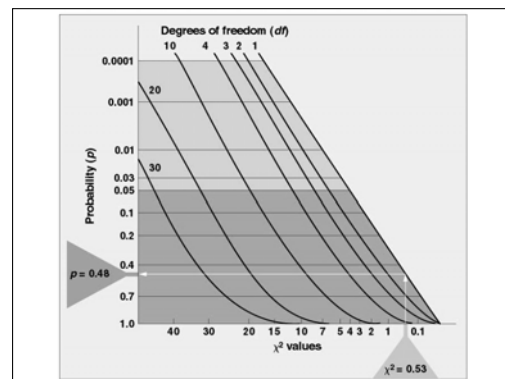
## Il Valore del Chi-Quadrato

- **Passo 4:** Determinare i gradi di libertà per quell'incrocio =  $n - 1$  dove  $n$  = numero di differenti classi (fenotipi in questo caso)
  - Per un incrocio monoibrido, fenotipi = 2
  - Gradi di libertà =  $2 - 1 = 1$

## Il Valore del Chi-Quadrato

- **Passo 5 :** Successivamente, dobbiamo determinare il valore- $p$  (probabilità) associato a quel Chi-quadrato per accettare o rifiutare l'ipotesi nulla (H<sub>0</sub>)
  - In Genetica, quasi sempre si usa  $p = .05$  or 5%
- Usiamo la tabella del Chi-quadrato per trovare il valore di  $\chi^2$  tabulare

## Chi-Square Probabilities



## Chi-Square Probabilities

		Probability ( $p$ )					
		0.90	0.50	0.20	0.05	0.01	0.001
df	1	0.02	0.46	1.64	3.84	6.64	10.83
	2	0.21	1.39	3.22	5.99	9.21	13.82
	3	0.58	2.37	4.64	7.82	11.35	16.27
	4	1.06	3.36	5.99	9.49	13.28	18.47
	5	1.61	4.35	7.29	11.07	15.09	20.52
	6	2.20	5.35	8.56	12.59	16.81	22.46
	7	2.83	6.35	9.80	14.07	18.48	24.32
	8	3.49	7.34	11.03	15.51	20.09	26.13
	9	4.17	8.34	12.24	16.92	21.67	27.88
	10	4.87	9.34	13.44	18.31	23.21	29.59
	15	8.55	14.34	19.31	25.00	30.58	37.30
	25	16.47	24.34	30.68	37.65	44.31	52.62
	50	37.69	49.34	58.16	67.51	76.15	86.60

$\chi^2$  values

## Interpretazione dei dati

- **Passo 6:** Confrontare il valore di  $\chi^2$  calcolato con il valore di  $\chi^2$  tabulare
- Se il valore di  $\chi^2$  calcolato è MINORE del valore tabulare, ACCETTIAMO L'IPOTESI  $H_0$
- Se il valore di  $\chi^2$  calcolato è MAGGIORE del valore tabulare, RIFIUTIAMO L'IPOTESI  $H_0$  e diciamo che la differenza non è dovuta al caso

## Chi-Square Probabilities

		Probability ( $p$ )					
		0.90	0.50	0.20	0.05	0.01	0.001
df	1	0.02	0.46	1.64	3.84	6.64	10.83
	2	0.21	1.39	3.22	5.99	9.21	13.82
	3	0.58	2.37	4.64	7.82	11.35	16.27
	4	1.06	3.36	5.99	9.49	13.28	18.47
	5	1.61	4.35	7.29	11.07	15.09	20.52
	6	2.20	5.35	8.56	12.59	16.81	22.46
	7	2.83	6.35	9.80	14.07	18.48	24.32
	8	3.49	7.34	11.03	15.51	20.09	26.13
	9	4.17	8.34	12.24	16.92	21.67	27.88
	10	4.87	9.34	13.44	18.31	23.21	29.59
	15	8.55	14.34	19.31	25.00	30.58	37.30
	25	16.47	24.34	30.68	37.65	44.31	52.62
	50	37.69	49.34	58.16	67.51	76.15	86.60

$\chi^2$  values

## Interpretazione dei dati

- Così, a un valore- $p$  di 0.05 and 1 grado di libertà
  - Il valore di  $\chi^2$  tabulare = 3.84
  - Il valore di  $\chi^2$  calcolato = 0.53
- Il valore calcolato è minore di quello tabulare
  - Quindi, accettiamo  $H_0$

## Interpretazione dei dati

- $H_0$  = Il rapporto misurato **non è diverso** dal rapporto atteso
  - Le deviazioni osservate sono attribuibili al caso

• Ceppi puri (true-breeding): danno progenie tutta uguale e uguale ai genitori.

• Esempio: una pianta a fiori viola è pura se i semi che produce danno tutti origine solo a piante a fiori viola.