

La genetica classica

Dopo l'affermazione degli esperimenti di Mendel, che peraltro rimasero pressoché sconosciuti per circa trent'anni, furono molti gli studiosi che ottennero risultati analoghi ma, nello stesso tempo, si notarono anche degli scostamenti dalle leggi di Mendel, talvolta anche abbastanza evidenti.

Nel 1902 il botanico e naturalista olandese **Hugo de Vries**, studiando gli incroci su *Oenothera biennis*, la rapunzia europea, vide che in alcuni casi comparivano dei caratteri totalmente nuovi: queste improvvise modificazioni ereditarie furono da lui stesso chiamate **mutazioni**. Gli organismi che presentavano le mutazioni furono denominati **mutanti**.

Ci furono diversi casi in cui gli studiosi videro che i risultati contrastavano con il principio dell'assortimento indipendente di Mendel. Due di questi, **Bateson e Punnett**, presentarono i risultati di vari esperimenti condotti su due caratteri presenti sulle piante di pisello. Essi incrociarono due linee pure:

fiore violaceo e polline allungato (CCRR) X fiore rosso e polline rotondo (ccrr)

il diibrido CcRr (F1) fu fatto autofecondare. Le piante F2 non presentavano le percentuali attese dell'assortimento indipendente: su 427 piante, 296 erano a fiore violaceo e polline allungato, 19 a fiore violaceo e polline rotondo, 27 a fiore rosso e polline allungato e 85 a fiore rosso e polline rotondo.

Vediamo i risultati in percentuale:

Piante a fiore viola e polline allungato 69%

Piante a fiore rosso e polline rotondo 19,9%

Piante a fiore viola e polline rotondo 4,4%

Piante a fiore rosso e polline allungato 6,3%

In pratica si avevano molti individui con fenotipi troppo simili a quelli parentali (i primi due) e pochi individui che presentavano fenotipi ricombinanti.

Bateson e Punnett eseguirono un altro incrocio:

fiore violaceo e polline rotondo (CCrr) X fiore rosso e polline allungato (ccRR)

il diibrido CcRr (F1) fu fatto autofecondare e si ottenne una generazione F2 in cui le combinazioni parentali erano ancora in percentuale superiore alle attese, mentre i ricombinanti erano percentualmente inferiori. Quindi, anche in questo secondo caso non si era avuto assortimento indipendente.

Bateson e Punnett tentarono di dare una spiegazione del fenomeno ammettendo la formazione preferenziale di gameti di tipo parentale dovuta alla tendenza dei due geni ad entrare nello stesso gamete. Essi chiamarono **coupling** la condizione in cui i due caratteri dominanti tendono a stare insieme sullo stesso gamete, così come i due caratteri recessivi e **repulsion** il caso in cui un carattere dominante viene a trovarsi con un carattere recessivo nello stesso gamete. Pur dando un nome ai fenomeni osservati Bateson e Punnett in realtà non spiegarono il meccanismo che li provocava.

Vediamo di capire che cosa succede.

Nell'assortimento indipendente si considera che l'unità della trasmissione ereditaria sia il cromosoma il quale deve portare necessariamente molti geni. Poiché un cromosoma porta molti geni e poiché il cromosoma è un'unità relativamente stabile durante il processo meiotico ne consegue che i geni situati nello stesso cromosoma tendono ad essere ereditati in blocco. Ciascun cromosoma può essere considerato quindi come un insieme di geni che tendono a rimanere associati: si parla quindi di **gruppo di associazione** o **gruppo linkage**.

Perché Mendel non si accorse del fenomeno del linkage? Molto probabilmente egli, oltre ai suoi meriti innegabili, ha avuto la fortuna di non imbattersi in caratteri i cui geni erano posizionati sullo stesso cromosoma. Pensate che la probabilità di selezionare sette coppie di alleli che siano posizionati in sette cromosomi diversi, in una specie come *Pisum sativum* (che possiede sette coppie di cromosomi in tutto), è solo dello 0,61 %!

Accanto alla ricombinazione dei geni indipendenti dovuta alla disposizione casuale dei cromosomi in metafase I, esiste inoltre un altro meccanismo in grado di spiegare la ricombinazione dei geni associati: il **crossing over** (che, vi ricordo, avviene nella profase I della meiosi).

Ricapitolando:

- quando studiamo dei geni indipendenti, cioè che sono presenti su cromosomi diversi, la ricombinazione avviene per la disposizione casuale dei geni considerati e quindi viene rispettato il principio di Mendel sull'assortimento indipendente;
- quando studiamo dei geni associati e quindi facenti parte di un gruppo linkage, la ricombinazione avviene solo per merito del crossing over; quindi il principio di Mendel sull'assortimento indipendente non viene rispettato.

Un altro scienziato che ha portato a modificare l'ereditarietà mendeliana è stato **Thomas Hunt Morgan**, nei primi anni del '900. Nel periodo in cui Morgan cominciò il suo lavoro, i cromosomi erano conosciuti ma non era ben chiara la loro funzione. Uno studente di Wilson, Walter Sutton, aveva proposto un loro coinvolgimento nella trasmissione dei caratteri, ma non aveva portato prove concrete a sostegno della sua ipotesi.



Morgan, per risolvere il problema e coadiuvato da un gruppo di ricerca (*A.H. Sturtevant, C.B. Bridges, H.J. Muller*), decise di lavorare sul moscerino della frutta, *Drosophila melanogaster*. Questo insetto richiede infatti poco spazio, procrea velocemente, presenta fenotipi caratteristici e facilmente rilevabili ed ha solo quattro cromosomi; tutte queste qualità ne fanno un modello ideale di organismo vivente per gli studi di genetica. Morgan e il suo gruppo di ricerca, a partire dal 1908, dimostrarono che i cromosomi trasportano i geni, che i geni sono delle unità fisiche discrete messe in ordine come delle perle di una collana, che i geni cambiano posto

lungo il cromosoma, che i geni subiscono mutazioni e che queste mutazioni sono trasmesse fedelmente alla progenie, che le mutazioni possono essere causate dall'esposizione di radiazioni ad alta energia oppure da altri fenomeni ambientali.

Qui verrà ricordato essenzialmente per due motivi:

gli esperimenti sui geni associati (linked)

gli esperimenti sui caratteri legati al sesso (X-linked)

Esperimenti sui geni associati (linked)

Uno degli esperimenti volto a determinare il fenomeno dell'associazione fu la formazione di un diibrido doppio eterozigote (F1), ottenuto dall'incrocio tra una femmina con fenotipo selvatico (wild type) presentante corpo grigio e ali normali, con un maschio doppio mutante, presentante colore del corpo nero e ali vestigiali, cioè non atte al volo. Tutti gli individui della F1 presentavano il corpo grigio e le ali normali. Poi Morgan incrociò una femmina della F1 con un maschio doppio recessivo: effettuò cioè quello che in genetica si chiama test cross a due punti. Utilizzando per l'incrocio un individuo doppio recessivo si facilita l'interpretazione dei dati: infatti il fenotipo dominante si manifesta solo in omozigosi. Teoricamente avrebbero dovuto essere presenti tutti e quattro i fenotipi con la stessa percentuale, ma così non fu.

		♀ corpo grigio, ali normali (F1)			
		Gameti di tipo parentale		Gameti ricombinanti	
		BV	bv	Bv	bV

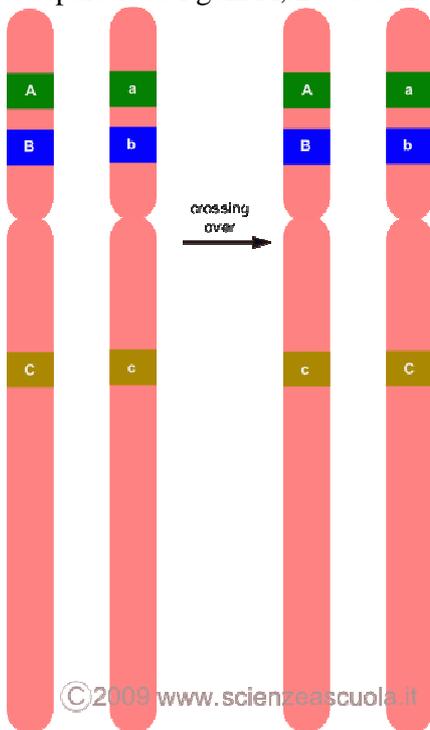
♂ corpo nero, ali vestigiali		Grigio, ali normali	Nero, ali vestigiali	Grigio, ali vestigiali	Nero, ali normali
<i>bbvv</i>	<i>bv</i>	<i>BbVv</i>	<i>bbvv</i>	<i>Bbvv</i>	<i>bbVv</i>
	Risultati attesi	25%	25%	25%	25%
	Risultati reali	41,5%	41,5%	8,5%	8,5%

Mendel aveva proposto la legge sull'assortimento indipendente, affermando che le forme alternative di caratteri diversi si separano e si ricombinano indipendentemente l'uno dall'altro, permettendo quindi di ottenere fenotipi ricombinanti. Morgan vide che ciò non era sempre vero. Infatti notò che alcune combinazioni di alleli non si separano facilmente l'una dall'altra, un fatto che egli attribuì alla coereditarietà dei due alleli sullo stesso cromosoma. Mentre gli alleli presenti su cromosomi distinti si assortiscono in maniera indipendente, come predetto da Mendel, quelli presenti sullo stesso cromosoma "viaggiano" insieme piuttosto che separati. Come dei passeggeri che viaggiano sulla stessa nave, una volta che particolari geni sono insieme, essi tendono a restare associati, legati, cioè **linked**, in inglese. Tuttavia, Morgan notò che specifiche combinazioni alleliche non sempre stanno assieme: trovò infatti alcuni moscerini i cui alleli per le ali vestigiali e per il corpo nero erano separati. Ciò condusse Morgan ad ipotizzare che i cromosomi talvolta si scambiano alcuni segmenti, permettendo ad i loro passeggeri di cambiare imbarcazione, per rimanere nella metafora.

Questo fenomeno è conosciuto come crossing over e fu più tardi fisicamente dimostrato, cioè attraverso delle osservazioni al microscopio, da **Barbara McClintock** su piante di mais.

Si sa ora che il crossing over si verifica durante la meiosi, la divisione cellulare che conduce alla formazione di cellule uovo e spermatozoi. Durante la meiosi i cromosomi omologhi di origine materna e paterna si appaiano. In questo stadio, detto sinapsi, i cromosomi si scambiano in maniera casuale diversi segmenti, conducendo ad una "miscela" di alleli derivati in parte dal padre ed in parte dalla madre. Essi successivamente, nel nuovo individuo adulto, si separeranno per formare uova e spermatozoi. Uno studente di Morgan, Sturtevant, sostenne che la probabilità che due geni associati si separassero durante il crossing over fosse proporzionale alla distanza esistente tra di essi.

In altre parole, più sono vicini, più staranno assieme, più sono distanti più probabilità hanno di venire separati. Se i geni A, B e C sono sullo stesso cromosoma, ed A si trova più spesso con B che non con C, si può dedurre che la distanza tra A e B sia più breve della distanza che separa A da C.



La presenza di ricombinanti è quindi un indizio dell'avvenuto crossing over. Per quantificare la distanza tra due loci, in genetica si usa la percentuale di ricombinazione, che è data da:

$$\% \text{ di ricombinazione} = \frac{\text{n}^\circ \text{ di ricombinanti} \cdot 100}{\text{totale degli individui}}$$

Per definizione un punto percentuale di ricombinazione vale 1 centimorgan (1 cM).

Esperimenti sui caratteri legati al sesso (X-linked)

La svolta nelle ricerche si ebbe quando un suo collaboratore scoprì un esemplare maschio con occhi bianchi tra migliaia di esemplari con normali occhi rossi. Morgan fece accoppiare questo mutante maschio con una femmina con occhi rossi. Tutta la progenie mostrava il fenotipo con l'occhio rosso, facendo intuire quindi che la forma ad occhi bianchi del gene (soprannominata l'allele bianco) era quella

recessiva.

Facciamo uno schema per facilitare la comprensione, indicando i genotipi parentali (P).

Moscerino maschio con occhi bianchi X^wY (allele w su cromosoma X)

Moscerino femmina con occhi rossi $X^W X^w$ (allele W su cromosoma X)

(per distinguere meglio le lettere, la W maiuscola, cioè il carattere normale e dominante, la indicherò in rosso)

Tracciamo ora un quadrato di Punnett:

F1		♂ occhi bianchi	
		X^w	Y
♀ occhi rossi	X^W	$X^W X^w$ ♀ occhi rossi	$X^W Y$ ♂ occhi rossi
	X^w	$X^w X^w$ ♀ occhi rossi	$X^w Y$ ♂ occhi rossi

Come si vede dallo schema, la F1 possiede totalmente il carattere occhi rossi. Quando questa progenie venne fatta riprodurre, vide che il rapporto tra fenotipo occhi rossi-occhi bianchi era quello atteso, cioè 3:1.

Nella F2 si ottennero:

2459 individui femmine con occhi rossi

0 individui femmine con occhi bianchi

1011 individui maschi con occhi rossi

782 individui maschi con occhi bianchi

Tuttavia Morgan notò un fatto abbastanza inusuale: tutti i moscerini con il fenotipo occhi bianchi erano maschi. Morgan sapeva che la femmina di *Drosophila* possiede una coppia di cosiddetti cromosomi X, mentre il maschio ne possiede solo uno. Combinando quindi questa conoscenza con il fatto che solo i maschi mostravano il fenotipo recessivo stabilì che l'allele mutato doveva essere presente per forza solo sul cromosoma X. I maschi, infatti, mostrano il fenotipo occhio bianco perché l'allele mutato è il solo che hanno; essi non possiedono un secondo cromosoma X con il normale allele per gli occhi rossi. Le femmine mostrano raramente il tratto occhio bianco, perché hanno il normale allele occhi rossi sull'altro cromosoma X. I risultati conseguiti da Morgan dimostrarono che l'allele occhi bianchi viene ereditato per mezzo di un cromosoma, il cromosoma X.

Facciamo uno schema dell'esperimento (reincrocio della F1)

Moscerino femmina F1 occhi rossi $X^W X^w$

Moscerino maschio F1 occhi rossi $X^W Y$

F2		♂ occhi bianchi	
		X^w	Y
♀ occhi rossi	X^w	$X^w X^w$ ♀ occhi rossi	$X^w Y$ ♂ occhi rossi
	X^w	$X^w X^w$ ♀ occhi rossi	$X^w Y$ ♂ occhi bianchi

Per capire come venivano assortiti i gameti, Morgan ed il suo gruppo fecero incrociare il maschio occhi bianchi (mutante) con una femmina della F1. Questo tipo di incrocio è un test cross perché il mutante occhi bianchi ha un fenotipo recessivo. I risultati di questo test cross furono:

129 individui femmine con occhi rossi

88 individui femmine con occhi bianchi

132 individui maschi con occhi rossi

86 individui maschi con occhi bianchi

Facciamo uno schema del test cross:

Moscerino femmina F1 occhi rossi $X^w X^w$

Moscerino maschio mutante occhi bianchi $X^w Y$

Test cross		♂ occhi bianchi	
		X^w	Y
♀ occhi rossi	X^w	$X^w X^w$ ♀ occhi rossi	$X^w Y$ ♂ occhi rossi
	X^w	$X^w X^w$ ♀ occhi bianchi	$X^w Y$ ♂ occhi bianchi

Questi risultati permisero di definire una ereditarietà legata ai cromosomi sessuali (caratteri ereditari legati al sesso), che quindi non segue le leggi di Mendel: nel maschio della specie umana si verifica una condizione di emizigosi, dato che esiste un solo cromosoma X.