

La variazione è alla base del processo evolutivo: tutti i grandi cambiamenti avvenuti nel corso del tempo e le differenze sviluppatesi tra le specie, mentre queste divergevano dai loro comuni antenati, hanno avuto origine come variazione all'interno delle popolazioni delle specie stesse

Per comprendere il processo evolutivo bisogna conoscere la variazione genetica e i modi in cui si traduce in cambiamento evolutivo

L'ORIGINE DELLA VARIAZIONE

**costituisce fonte di variabilità
selezionabile:**

Variabilità allelica di geni strutturali (1)

- variabilità prodotta dalle differenze nelle sequenze del DNA che codificano per proteine, marcatori molecolari

- *Strumento:* Genetica di popolazione

Variabilità nelle regioni regolative dei geni: alleli regolatori (2)

- codificano per fattori di trascrizione, sono in grado di regolare l'espressione di altri geni.

La possibilità di sequenziare interi genomi rileverà alleli regolatori, ad es. già oggi si conoscono numerosi polimorfismi negli enhancer di particolari geni.

Strumento: verso la genetica di popolazione degli alleli regolatori

Variabilità della plasticità dello sviluppo (3)

- cambiamenti fenotipici indotti dall'ambiente che migliorano l'adattamento;
- epigenetica, es. epialleli generati da agenti ambientali, costituisce fonte di variabilità selezionabile
- interazioni simbiotiche come promotori del cambiamento, olobionte come unità di selezione

2001 Febbraio : *Sequenza completa genoma umano*,
prodotta dall'International Human Genome Sequencing
Consortium 2001 e Venter *et al.* 2001 (compagnia privata)

2010: *Sequenza completa genoma di circa 800 specie*

L'ORIGINE DELLA VARIAZIONE GENETICA

Variabilità allelica di geni strutturali

GENI

Geni strutturali: sequenza di DNA che codifica una catena polipeptidica o gli RNA stabili (RNA stabili (tRNA e rRNA),

Sequenze regolative

GENOMI

Genoma aploide(gametico) *Drosophila melanogaster* - circa $1,5 \times 10^8$ bp

Genoma aploide(gametico) umano- circa $3,2 \times 10^9$ bp

Genoma aploide(gametico) anfibio cento volte il contenuto DNA umano

Genoma eucariote unicellulare *Amoeba dubia* 200 volte quello umano

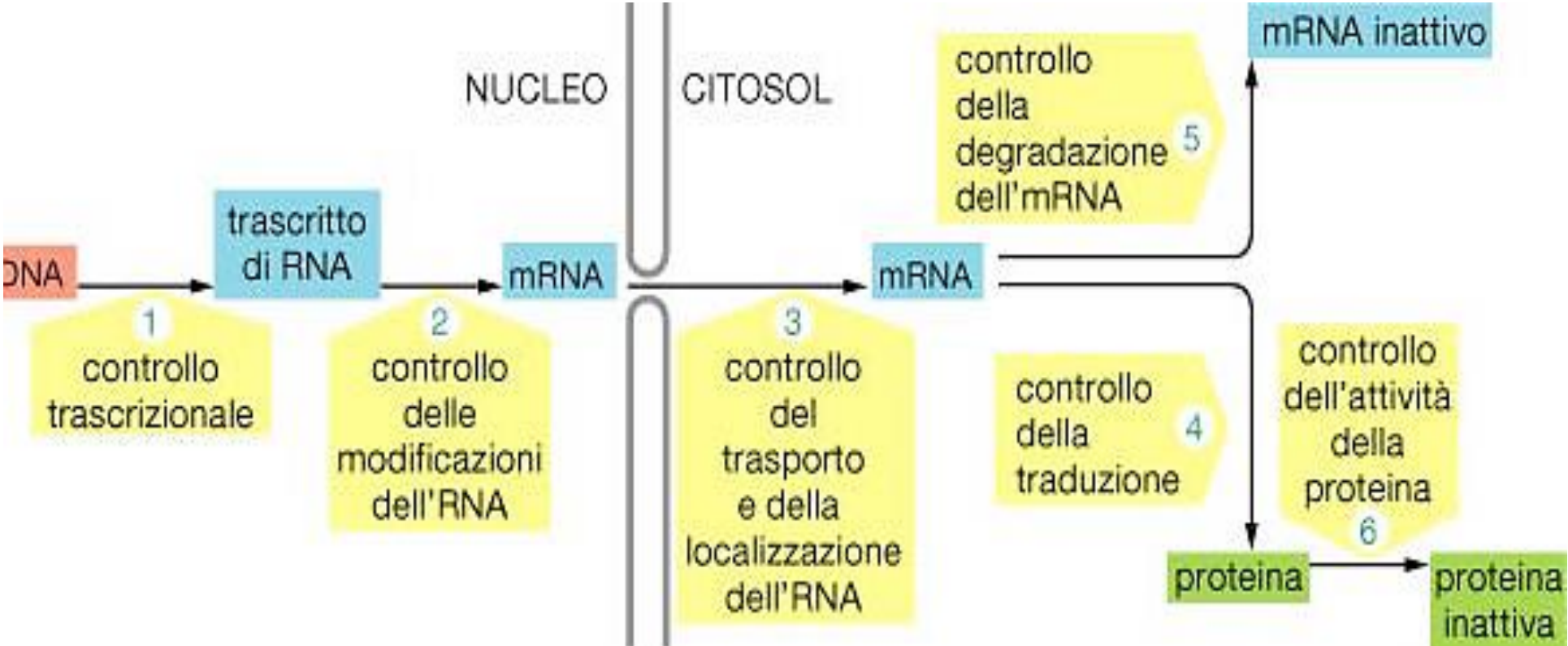
MUTAZIONI GENICHE

ALTERAZIONI DEL CARIOTIPO

- **un gene più sequenze regolative**
- **la trascrizione è legata alle regioni codificanti del gene, gli esoni**

Trascrizione geni: regioni di controllo, sequenze non trascritte (*enhancer*) alle quali si legano proteine regolative (*attivatori e repressori*) prodotte a loro volta da altri geni.

Punti di controllo: trascrizione e traduzione



		Secondo nucleotide				
		U	C	A	G	
Primo nucleotide	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } Ser UCC } UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G
	C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } Pro CCC } CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG Met	ACU } Thr ACC } ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } Ala GCC } GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	U C A G

Il codice genetico, come espresso nell'RNA messaggero

Nelle regioni codificanti

- **Alcuni cambiamenti sono neutrali**
- **Alcuni cambiamenti non sono neutrali**

MUTAZIONI GENICHE

Direzione della trascrizione
→

Sequenza originale:	DNA:	AGA	TGA	CGG	TTT	GCA
	RNA:	UCU	ACU	GCC	AAA	CGU
	Proteina:	Ser	Thr	Ala	Lys	Arg

Sostituzioni di paia di basi
Transizione (A → G)

G GGA	TGA	CGG	TTT	GCA
<u>CCU</u>	ACU	GCC	AAA	CGU
<u>Pro</u>	Thr	Ala	Lys	Arg

T GGA	TGA	CGG	TTT	GCA
<u>ACU</u>	ACU	GCC	AAA	CGU
<u>Thr</u>	Thr	Ala	Lys	Arg

Mutazioni frameshift
Inserzione (T)...

AG T	<u>ATG</u>	<u>ACG</u>	<u>GTT</u>	<u>TGC</u>	A_ _
<u>UCA</u>	<u>UAC</u>	<u>UGC</u>	<u>CAA</u>	<u>ACG</u>	
Ser	<u>Tyr</u>	<u>Cys</u>	<u>Glu</u>	<u>Thr</u>	

...seguita da delezione (T)

AGT	A T GGA	CGG	TTT	GCA
UCA	UCU	GCC	AAA	CGU
Ser	<u>Ser</u>	Ala	Lys	Arg

Esempi di mutazioni puntiformi e le loro conseguenze per l'RNA messaggero e la sequenza aminoacida

DIVERSITÀ !

L'ORIGINE DELLA VARIAZIONE GENETICA

Nature. 2015 May 7; 521(7550): 81–84. doi:10.1038/nature14173

Differential DNA mismatch repair underlies mutation rate variation across the human genome

Abstract

La **riparazione differenziale** del DNA è la causa principale della variazione del tasso di mutazione su larga scala nel genoma umano.

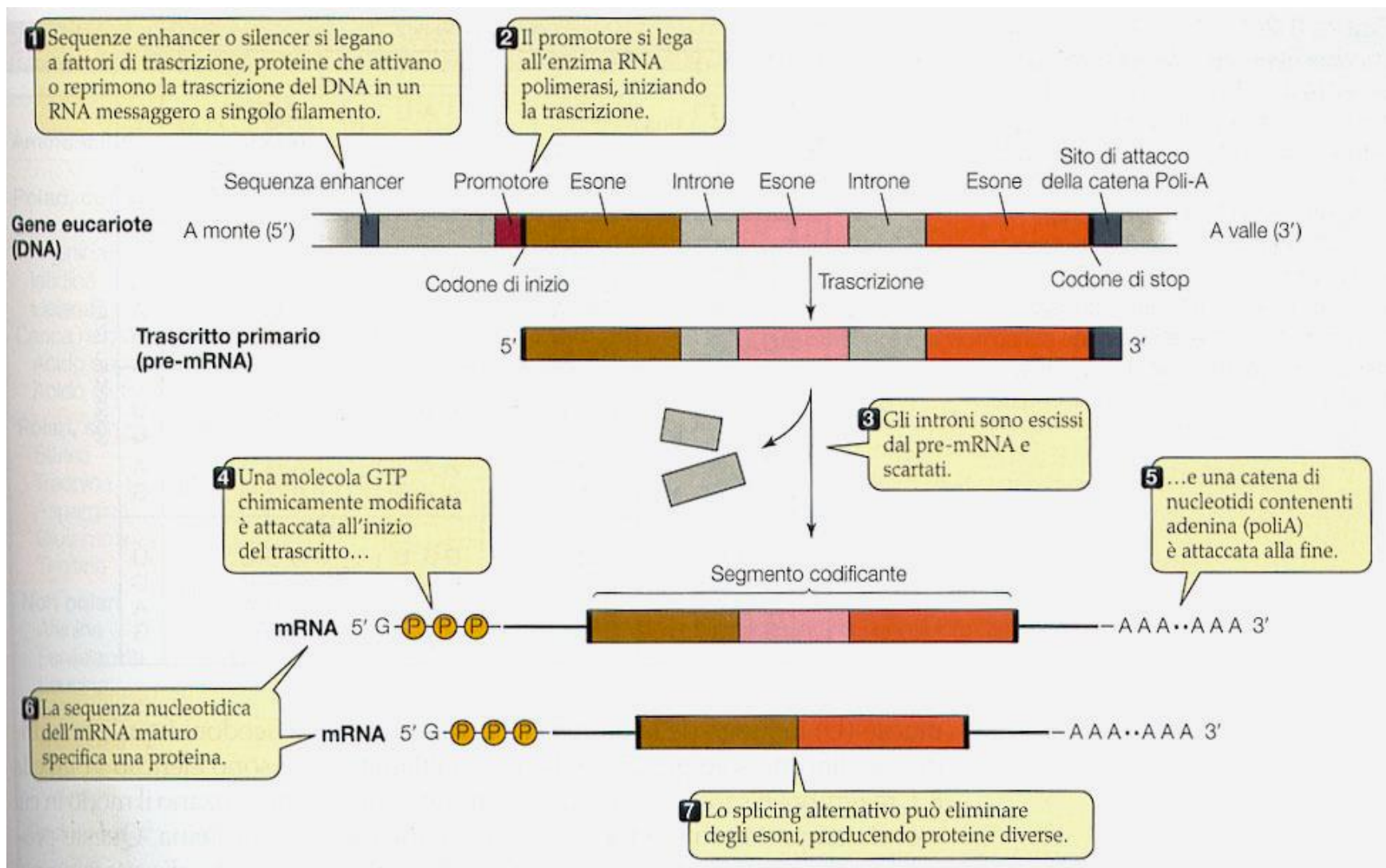


Diagramma di gene eucariote, del suo trascritto primario (pre-mRNA), e dell'mRNA maturo.

Splicing alternativo

Il 35% dei geni umani sembra essere soggetto a splicing alternativo

DIVERSITÀ !

L'ORIGINE DELLA VARIAZIONE GENETICA

28% genoma umano trascritto (ma consiste anche di introni)

5% genoma codifica per proteine

La gran parte del DNA non viene trascritto

45% genoma umano sequenze ripetitive (4,3 milioni di elementi)

DNA satellite : mini e microsatelliti

Pseudogeni: gene non codificante di una famiglia genica

Short and long interspersed nuclear elements (SINE; LINE)

DNA ripetitivo sparso che va incontro a processi di trasposizione: elementi trasponibili

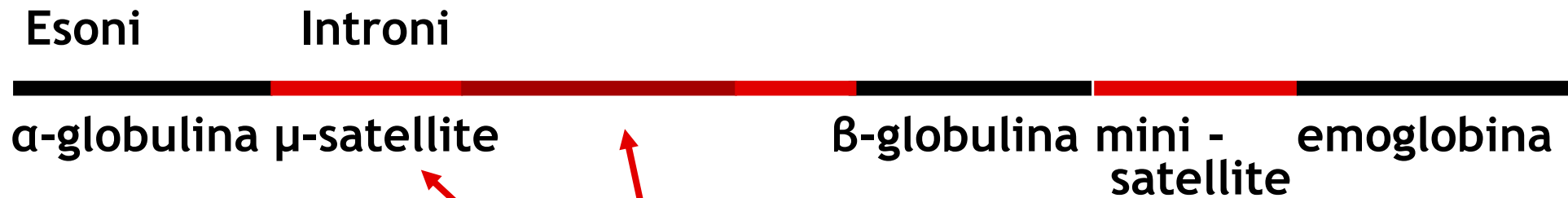
Regioni neutrali del genoma

Il DNA Mini-satellite è DNA ripetitivo costituito da sequenze ripetute lunghe ≈ 15 bp

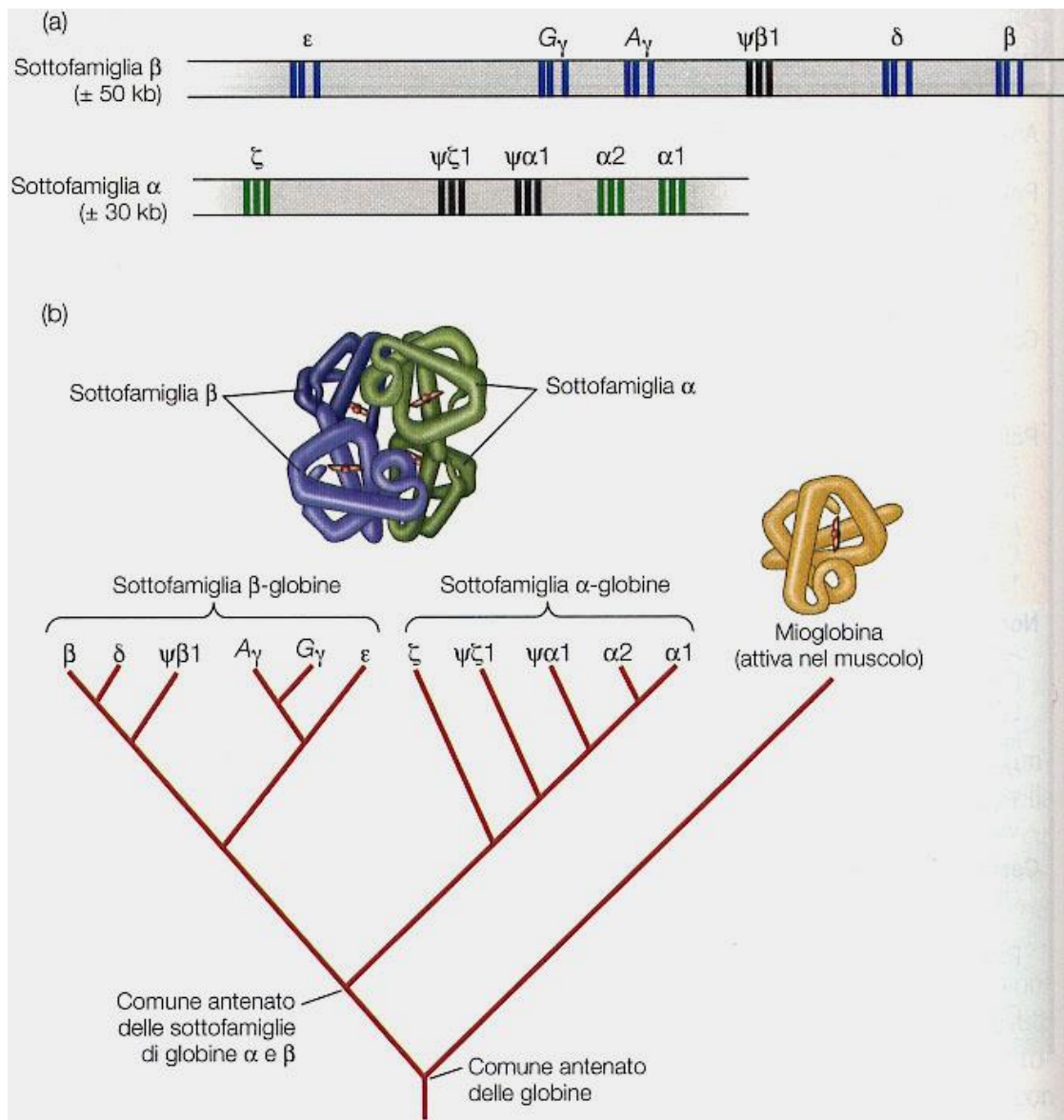
DNA fingerprinting spesso utilizza queste regioni

Il DNA Micro-satellite è DNA ripetitivo costituito da sequenze ripetute lunghe 2-4 bp.

Queste sono spesso molto variabili



Le regioni neutrali non codificano per una proteina



La famiglia genica delle globine dell'emoglobina umana ha due sottofamiglie, α (verde) e β (blu), situate su cromosomi diversi.

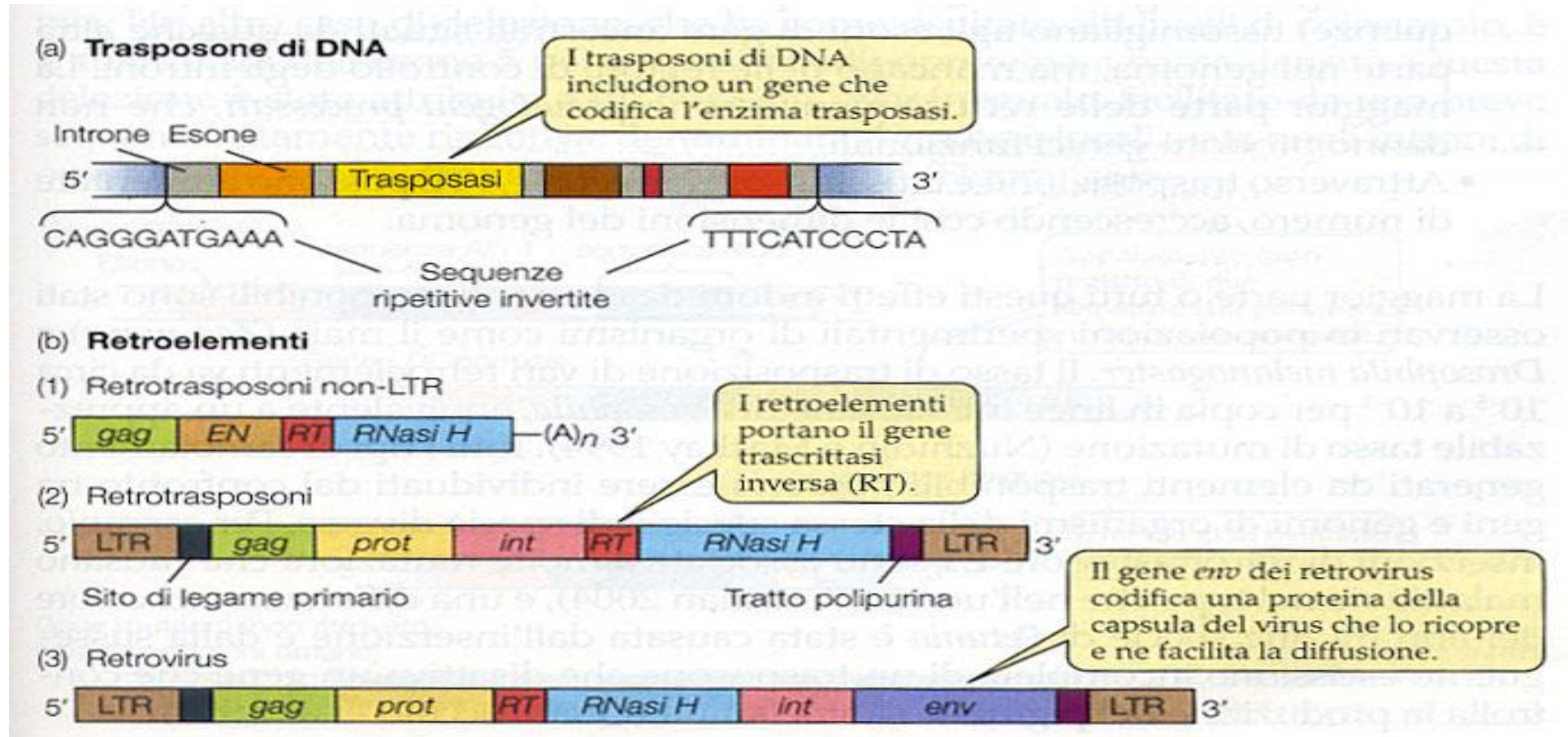
(a) Ogni gene funzionale è indicato da tre linee, che rappresentano i suoi tre esoni. Gli **pseudogeni** sono indicati con ψ .

(b) Un albero filogenetico per la famiglia genica delle globine dell'emoglobina, con la mioglobina come outgroup.

Molti dei geni che codificano per proteine sono membri di famiglie geniche: gruppi di geni con sequenza simile e funzione collegata, che derivano da un comune gene ancestrale.

*Tali famiglie sono **esempi di sequenze ripetute che si sono diversificati nel tempo.***

CAMBIAMENTI CAUSATI DA ELEMENTI TRASPONIBILI **DIVERSITÀ !**



Alcuni tipi di elementi trasponibili. (a) elementi trasponibili di DNA sono fiancheggiati da sequenze ripetitive invertite. (b) i retroelementi includono un gene (*RT*) che codifica la trascrittasi inversa, che trascrive una copia di RNA in una copia di DNA, poi inserita nel genoma.

- Il DNA mobile rappresenta una componente importante del genoma eucariotico e procariotico
- In *Drosophila* metà delle mutazioni sono generate da elementi genetici mobili
- Gli elementi trasponibili o retaggi di essi costituiscono il **40% del genoma umano**

Se inseriti in una regione codificante, possono distruggere la funzione della proteina

Se inseriti in una regione di controllo possono interferire con l'espressione genica.
Alcuni elementi trasponibili possono alterare l'espressione di fattori di trascrizione e il cambiamento di questi fattori, è stato dimostrato, gli ha permesso di abbinarsi con altri elementi con cui non avevano mai interagito.

Scoperti da Barbara McClintock durante i suoi studi sui marcatori genetici che controllano il colore delle cariossidi di mais: osservò che la perdita di marcatori del colore avveniva in associazione a rotture cromosomali con conseguente cambiamento del colore dell'aleurone

CAMBIAMENTI ORIGINATI PER RICOMBINAZIONE: **DIVERSITÀ !**

Ricombinazione intra-genica: origina nuove sequenze quando avviene l'allineamento tra sequenze omologhe che differiscono per due o più coppie di basi

Conversione genica: gameti di un eterozigote si ritrovano in proporzioni diverse

Crossing-over ineguale: può avvenire tra due sequenze o cromosomi omologhi non perfettamente allineati.

RICOMBINAZIONE

scambio di DNA tra cromosomi materni e paterni durante la meiosi

- **Facilita l'adattamento attraverso la creazione di nuove combinazioni genetiche,**
- **Rompe combinazioni favorevoli di alleli.**
- Garantisce un'accurata segregazione dei cromosomi

La regolazione del tasso di ricombinazione è prevista, può variare all'interno e tra cromosomi, individui, sessi, popolazioni e specie

I tassi di ricombinazione possono essere influenzati da fattori ambientali e demografici, ma sono anche ereditabili e sostenuti da loci genetici specifici in grado di rispondere alla selezione

Variation in recombination frequency and distribution across eukaryotes: patterns and processes

Jessica Stapley , Philine G. D. Feulner , Susan E. Johnston ,
Anna W. Santure and Carole M. Smadja

Phil. Trans. R. Soc. B **372**: 20160455. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0455>

Table 1. Summary of the linkage map data compiled from the literature; linkage map length (centimorgans, cM), genome size (megabases, Mb), haploid chromosome number and recombination rate (cM/Mb). SAR, Stramenopiles-Alveolates-Rhizaria Eukaryote.

group	n	linkage map length (cM)			genome size (Mb)			haploid chromosome number			recombination rate (cM/Mb)		
		mean	min	max	mean	min	max	mean	min	max	mean	min	max
SAR	9	1782	653	2884	189	18.87	560	18.78	9	34	38.67	3.24	108.00
fungi	15	2068	86	5860	49.26	19.05	170.2	13.27	4	21	48.68	1.40	119.90
animals	140	1813	90	5961	1538	43.15	30 880	22.27	3	73	2.52	0.12	28.10
plants	189	1567	309	8184	2956	120.40	29 280	13.91	5	90	1.85	0.03	9.22
total or mean	353	1807.5			1183.0			17.05			22.93		

Table 2. Summary of selected studies demonstrating a link between regional suppression of recombination and adaptation and/or speciation. Details include study species, the main finding and the methods used to identify regions of suppressed recombination (CG, cytogenetic; LM, linkage mapping; LD, LD-based estimate of recombination rate and others). Studies are grouped according to the nature of the relationship between recombination suppression and either adaptive and/or reproductive isolating (RI) traits or genetic differentiation (GD). SNP, single nucleotide polymorphism.

study system	main finding	CG	LM	LD	other	ref.
butterfly (<i>Heliconius numata</i>)	supergene for mimicry traits is associated with chromosomal rearrangements			X	X	[181]
threespine stickleback (<i>G. aculeatus</i>)	recombination rates in regions of exceptional differentiation were often reduced			X		[200]
European and American aspens (<i>Populus tremula</i> , <i>P. tremuloides</i>)	linked selection generates heterogeneity of differentiation correlated with recombination			X		[202]
house mouse (<i>M. m. musculus</i> , <i>M. m. domesticus</i>)	reduced introgression and higher genomic differentiation associated with lower rates of recombination					[208]
threespine stickleback (<i>G. aculeatus</i>)	adaptive alleles occur more often in regions of low recombination in the presence of divergent selection and gene flow		X			[209]

Variation in recombination frequency and distribution across eukaryotes: patterns and processes

Jessica Stapley , Philine G. D. Feulner , Susan E. Johnston ,
Anna W. Santure and Carole M. Smadja

Gene Expression in the Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) of Marine and Freshwater Ecotypes

[S. M. Rastorguey](#), [A. V. Nedoluzhko](#), [N. M. Gruzdeva](#), [E. S. Boulygina](#), [S. V. Tsygankova](#), [D. Y. Oshchepkov](#), [A. M. Mazur](#), [E. B. Prokhortchouk](#), and [K. G. Skryabin](#)

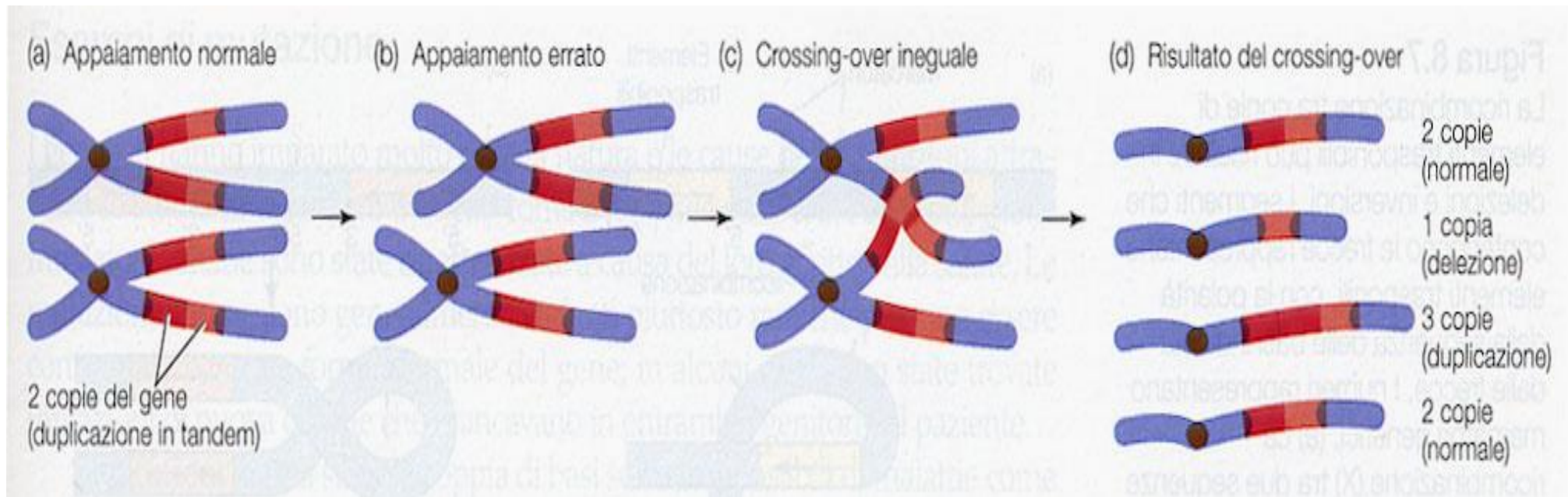
Abstract

Three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) is a well-known model organism that is routinely used to explore microevolution processes and speciation, and the number of studies related to this fish has been growing recently. The main reason for the increased interest is the processes of freshwater adaptation taking place in natural populations of this species. Freshwater three-spined stickleback populations form when marine water three-spined sticklebacks fish start spending their entire lifecycle in freshwater lakes and streams. To boot, these freshwater populations acquire novel biological traits during their adaptation to a freshwater environment. The processes taking place in these populations are of great interest to evolutionary biologists. Here, we present differential gene expression profiling in *G. aculeatus* gills, which was performed in marine and freshwater populations of sticklebacks. In total, 2,982 differentially expressed genes were identified. We assumed that differentially expressed genes are regularly of chromosomes and that they are regularly of stickleback freshwater adaptation.



Three-spined stickleback. Freshwater form. Stickleback female (top), stickleback male in breeding dress (bottom)

CAMBIAMENTI NELLA SEQUENZA NUCLEOTIDICA CHE SI ORIGINANO PER RICOMBINAZIONE



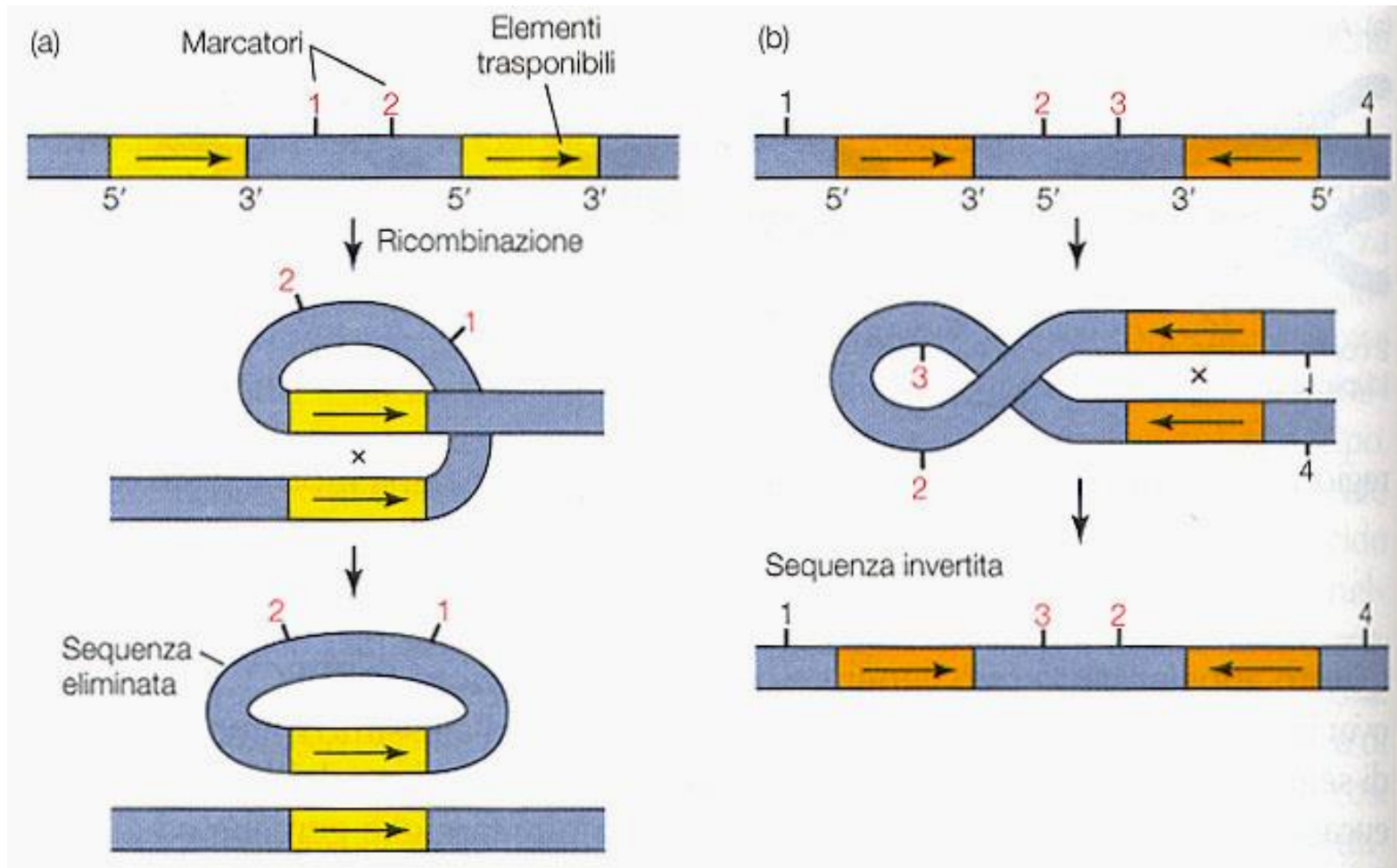
Il crossing-over ineguale, origina spesso tra sequenze che includono ripetizioni:

.....ABBC

...ABBC

DIVERSITÀ !

Ricombinazione tra copie di elementi trasponibili: delezioni e inversioni



- a)** ricombinazione tra due sequenze ripetitive dirette, stessa polarità
- b)** ricombinazione tra due sequenze ripetitive invertite, polarità opposta

TASSI DI MUTAZIONE

Tasso di mutazione è misurato come numero di origini indipendenti per copia del gene (es. per gamete) per generazione o per unità di tempo (es. per anno)

Metodi per stimare i tassi di mutazione:

- *Su base fenotipica (genetica classica, effetto fenotipico della mutazione)*
- *Su base molecolare, espressi per coppie di basi.*
- *Es. tasso di mutazione ad un locus $10^{-6} - 10^{-5}$ per gamete per generazione*

Metodo diretto: n° di mutazioni che insorgono in ceppi di laboratorio.

Metodo indiretto: n° di differenze di coppie di basi tra geni omologhi in diverse specie, in relazione al numero di generazioni passate, dalla divergenza dal loro più recente antenato comune.

RETROMUTAZIONI- mutazione di un allele mutante nell'allele da cui ha avuto origine. *Tasso molto inferiore alle mutazioni in avanti.*

Tassi di mutazione spontanea di specifici geni

Specie, locus

mutazioni stimate x100000 cellule o gameti

Drosophila melanogaster

Occhi bruni

3

Senza occhi

6

Homo sapiens

Retinoblastinoma

1,2-1,3

Acondroplasia

4,2-4,3

Tasso di mutazione per gamete per generazione di circa 10^{-5} - 10^{-6}

IMPLICAZIONI EVOLUTIVE

Con tassi così bassi di mutazione come può avvenire l'evoluzione?

IMPLICAZIONI EVOLUTIVE

Tuttavia sommate su tutti i geni, le mutazioni potrebbero dare un contributo non da poco!

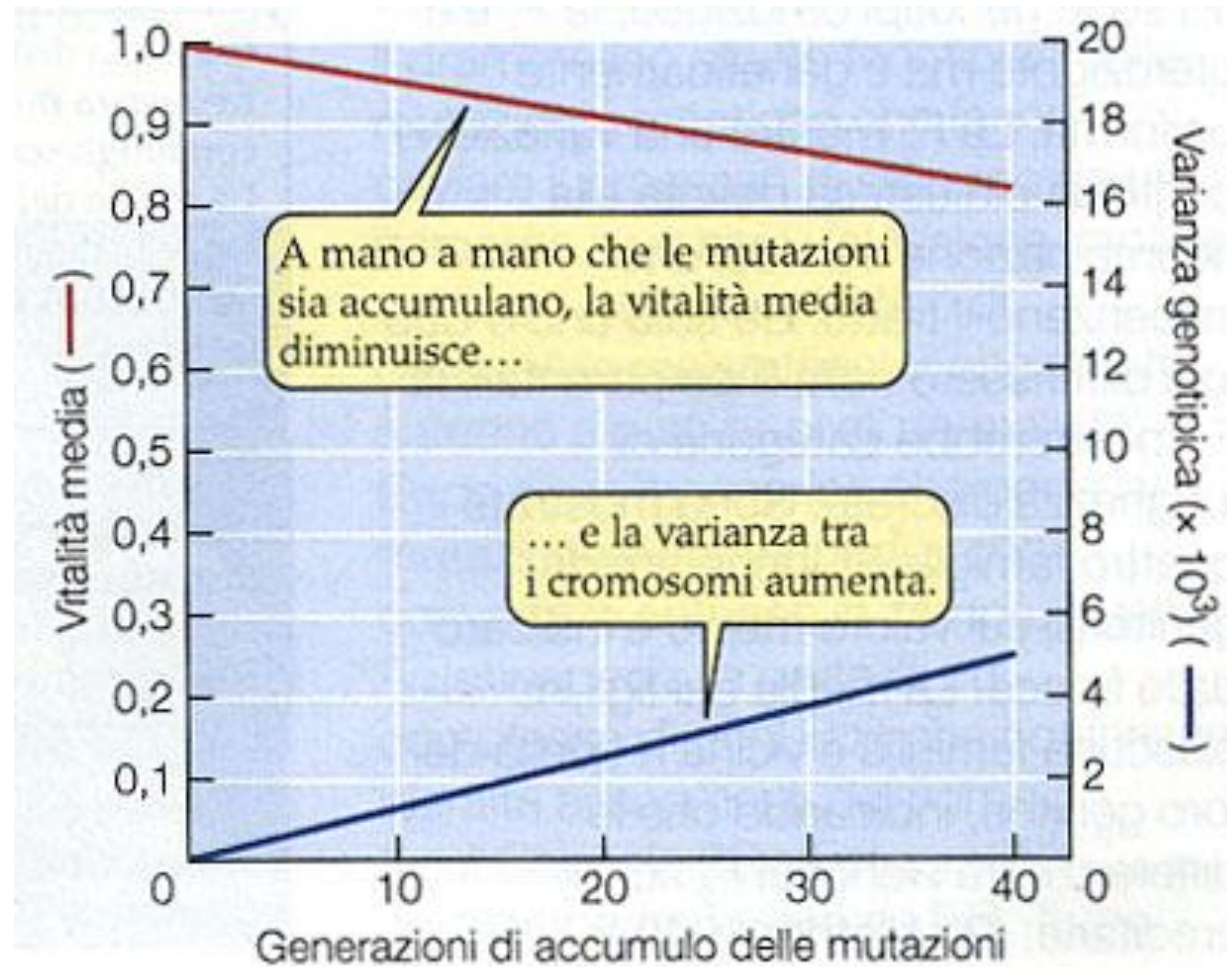
*Genoma umano costituito da $6,6 \times 10^9$ bp,
tasso m. $2,4 \times 10^{-9}$ bp per anno (una gener. =20 anni)*

*Uno zigote potrebbe portare **317** nuove mutazioni*

2,5 % sequenze genomiche trascritte funzionali

7 mutazioni saranno espresse

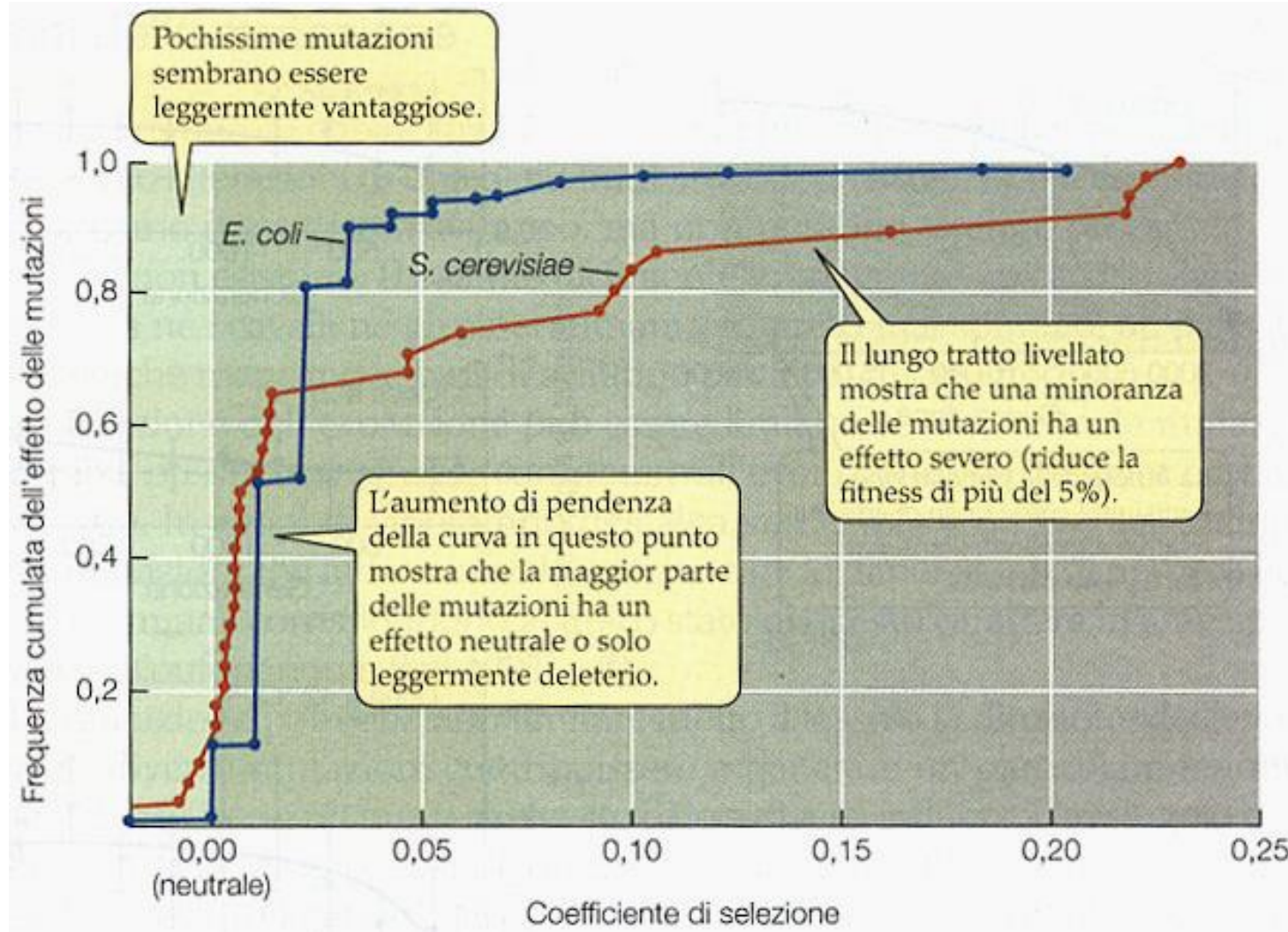
Popolazione di 500000 esseri umani: 800000 nuove mutazioni per generazione



Effetto dell'accumulo di mutazioni spontanee per la sopravvivenza dall'uovo all'adulto di *Drosophila melanogaster*.

Vitalità media di individui resi omozigoti per il cromosoma 2 che porta nuove mutazioni.

EFFETTI DELLE MUTAZIONI SULLA FITNESS



Distribuzione di frequenza cumulate degli effetti di nuove mutazioni sulla fitness del batterio *Escherichia coli* e del lievito *Saccharomyces cerevisiae*.

Effetto fenotipico delle mutazioni

ESEMPI DI MUTAZIONE: geni coinvolti nell'evoluzione di specifiche caratteristiche



Filogenesi degli Hominoidea e la sua divergenza da un outgroup, il topo.

90 milioni di anni fa: topo – orango; - 7 milioni di anni fa scimpanzé –uomo (in **giallo** sostituzioni non sinonime nel **gene FOXP2** che codifica per un fattore di trascrizione).

Una mutazione rara nel **gene FOXP2** causa disordini nella parola e articolazione del linguaggio

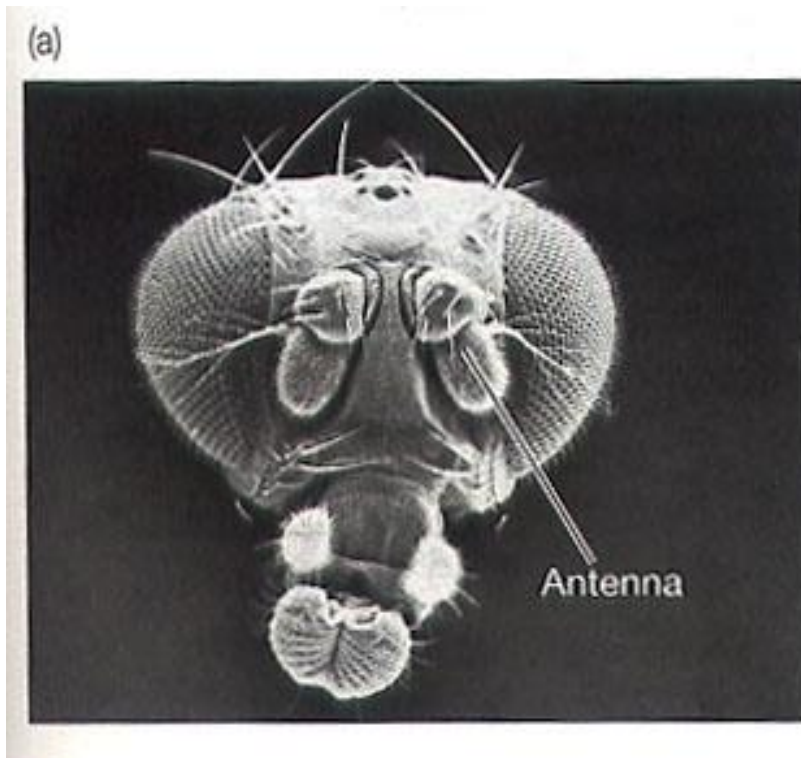
Le due mutazioni non sinonime nella linea evolutiva umana possono essere state importanti nell'evoluzione della parola e del linguaggio (Enard et al.2002, Reimers et al. 2011)

MUTAZIONI NEI “MASTER CONTROL GENE”

regolatori dell'espressione di altri geni implicati nei processi dello sviluppo

Complesso di geni Hox, geni che regolano il piano organizzativo conferendo identità alle regioni che si vanno formando, GENI OMEOTICI

Capo di moscerino che porta la mutazione *Antennapedia*



Effetto fenotipico delle mutazioni omeotiche che fanno deviare il processo di sviluppo da un percorso a un altro.

Ceppi sperimentali
AA andati incontro a
sostituzioni, in giallo

Popolazione naturale
AA in rosso influenzano
la fitness

Popolazione naturale
AA in celeste determinano le
differenze tra due ceppi



Sostituzioni in popolazioni sperimentali di ceppi di batteriofagi, che, come quelle naturali, sono adattate a due specie di batteri ospite, ad alta temperatura.

Tutte le differenze evolutesi naturalmente tra questi ceppi del fago sono le stesse che si osservano nelle linee sperimentali.

L'EVOLUZIONE DI QUESTI FAGI PUO' SEGUIRE UN CERTO NUMERO DI PERCORSI

MUTAZIONE COME PROCESSO CASUALE

LIMITI:

le m. possono causare alterazioni di tratti preesistenti.

La direzione è limitata

Possono essere vantaggiose ed interessare solo pochi geni

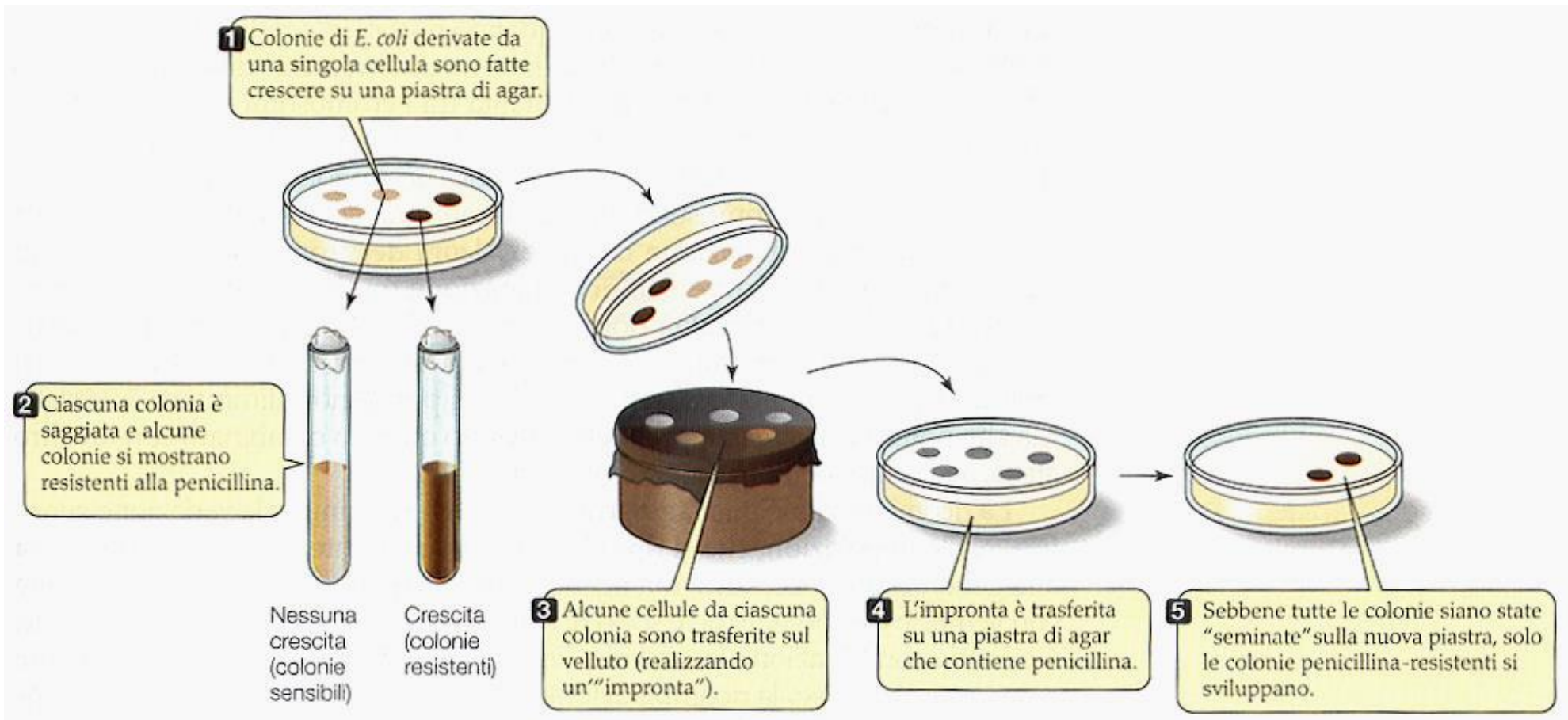
La rarità delle mutazioni può aiutare a spiegare perché i viventi non si sono adattati ad un più ampio spettro di ambienti

Le mutazioni avvengono casualmente, anche se non tutte le possibili mutazioni possono avvenire (vedi differenze nei tassi di m.)

- 1) Potremmo poter predire la probabilità che una certa m, avvenga, ma non si può conoscere quale copia del gene, tra le molte presenti nella popolazione, andrà incontro a mutazione.
- 2) La probabilità che compaia una mutazione non è influenzata dal fatto che la mutazione possa o meno essere vantaggiosa per l'organismo nell'ambiente in cui vive.

L'AMBIENTE NON INDUCE MUTAZIONI ADATTATIVE

DA DISCUTERE ALLA LUCE DELLE INTERAZIONI GENOTIPO-AMBIENTE



Il metodo del *replica plating*, usato da Lederberg per mostrare che la mutazione per la resistenza alla penicillina avviene spontaneamente, prima dell'esposizione alla penicillina, piuttosto che essere indotta dall'esposizione a questa sostanza.

Alterazioni del cariotipo

Poliploidia: presenza di più set (>2) di cromosomi omologhi. In una specie diploide vengono prodotti occasionalmente gameti diploidi, ovvero non avviene la riduzione dei cromosomi durante la meiosi. L'unione, per esempio, di un gamete non ridotto (con $2N$ cromosomi) e di un gamete ridotto (con N cromosomi), produrrà uno zigote triploide.

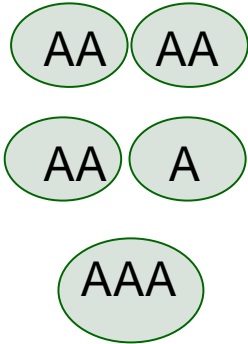
La poliploidia si distingue in

autopoliploidia

alloploidia

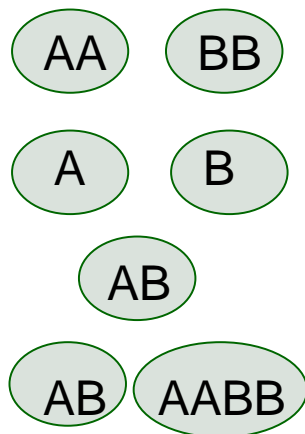
AUTOPOLIPLIDIA

I cromosomi provengono tutti dalla stessa specie E' causata dalla fusione di un gamete diploide con un normale gamete aploide



ALLOPOLIPLIDIA

I cromosomi provengono da specie diverse E' causata dall'ibridazione fra specie affini



L'allotetraploidia può essere la causa della formazione di nuove specie: set di cromosomi non omologhi non possono formare sinapsi durante la meiosi. Se entrambi i set sono doppi, tutti i cromosomi hanno il loro omologo e la meiosi può avvenire



Iris setosa N=18, 2N=36



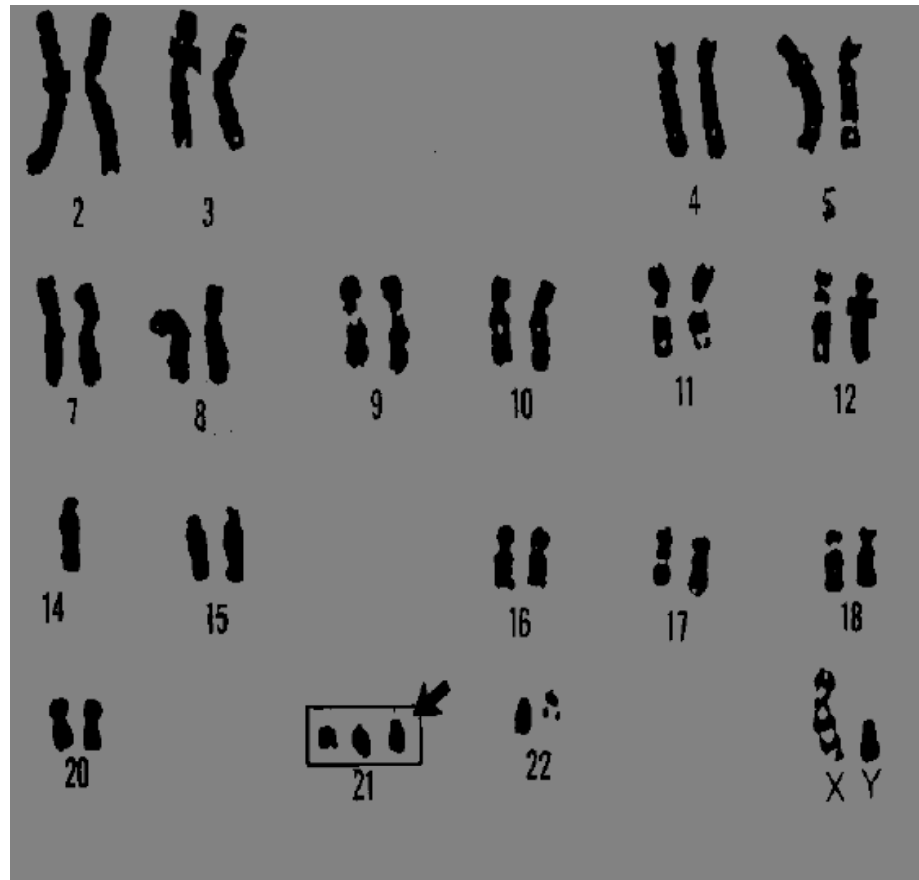
Iris virginica N=36, 2N=72



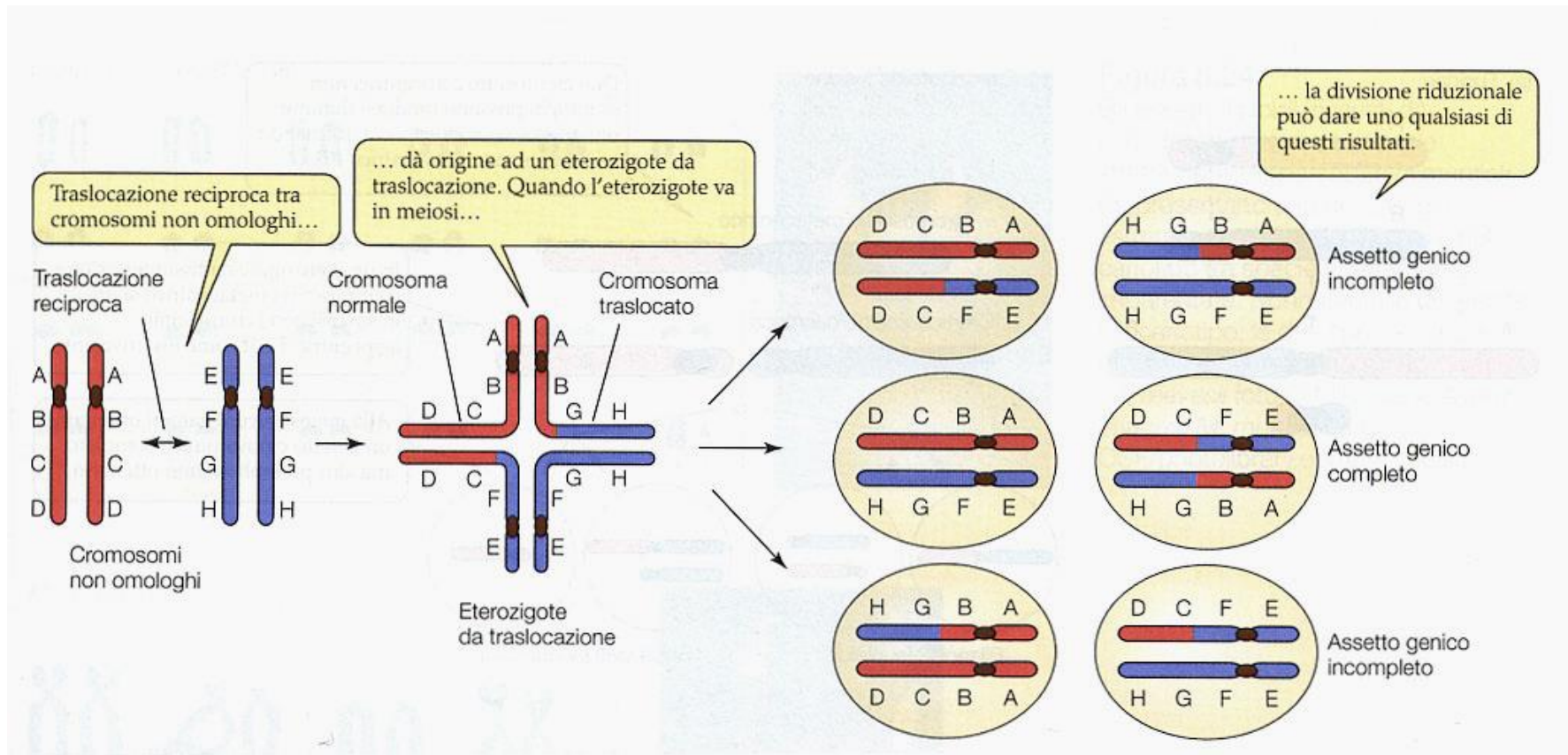
I. Versicolor N=54, 2N=108

La variazione genetica può essere generata da alterazioni cromosomiche

Monosomia e Trisomia: l'inseparabilità dei cromosomi può portare alla formazione di copie extra di cromosomi in alcuni gameti e alla perdita di cromosomi in altri gameti. Questa alterazione è spesso letale



Trisomia nell'uomo

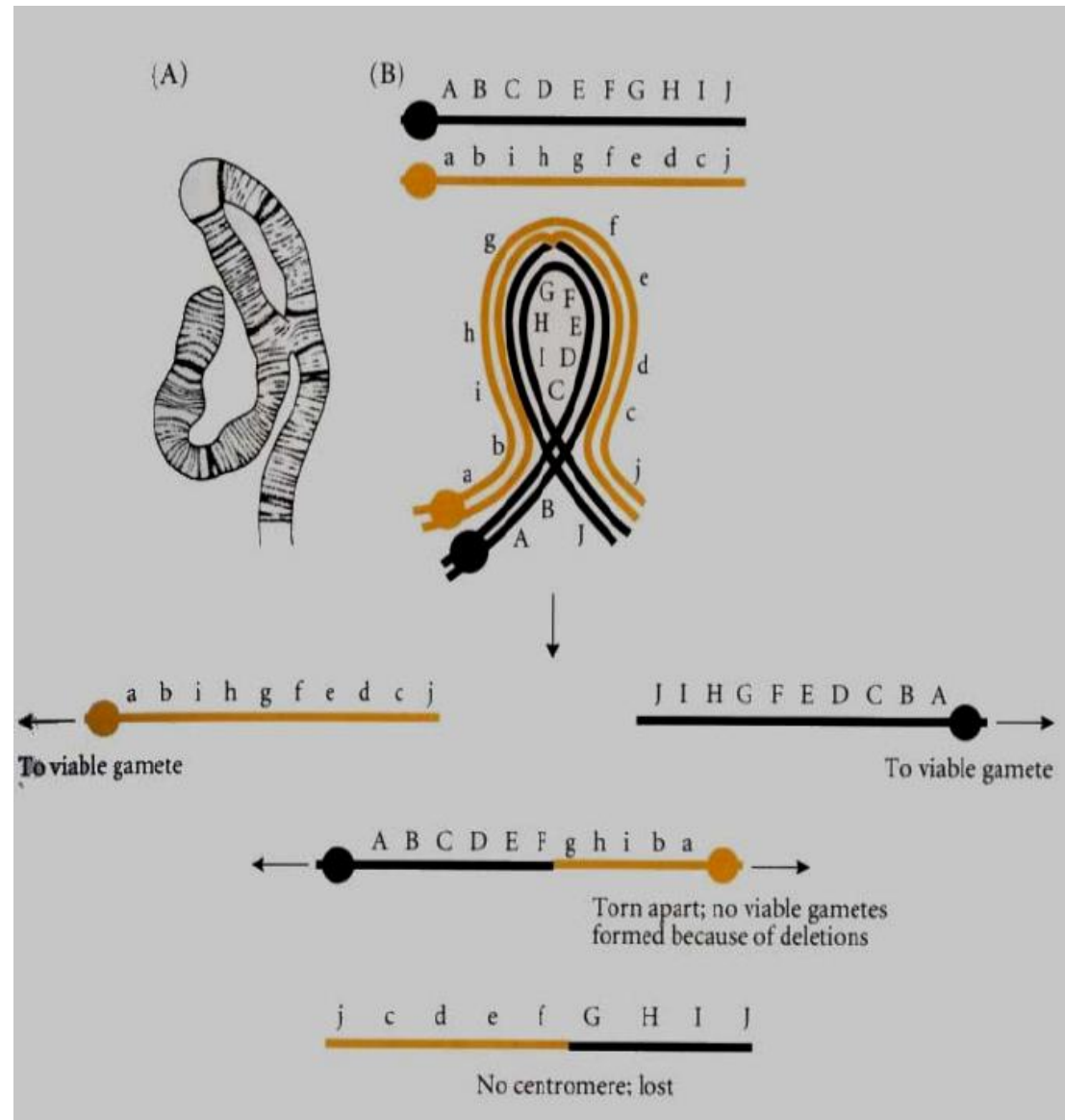


La traslocazione reciproca tra due cromosomi non omologhi

Inversioni

A) Cromosomi fusi nelle cellule delle ghiandole salivari di *Drosophila*, visibili al microscopio elettronico.

B) schematizzazione del loop in (A): due cromosomi omologhi differiscono per una inversione della regione C-I. Il crossing over fra i due cromatidi (fra F e G) origina prodotti privi di centromero o di blocchi di geni.



Variation in recombination frequency and distribution across eukaryotes: patterns and processes

Jessica Stapley , Philine G. D. Feulner , Susan E. Johnston ,
Anna W. Santure and Carole M. Smadja

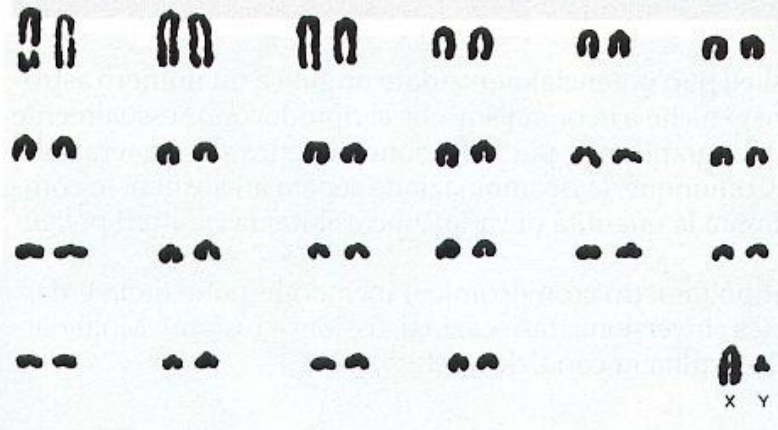
Phil. Trans. R. Soc. B 372: 20160455. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0455>

Table 2. Summary of selected studies demonstrating a link between regional suppression of recombination and adaptation and/or speciation. Details include study species, the main finding and the methods used to identify regions of suppressed recombination (CG, cytogenetic; LM, linkage mapping; LD, LD-based estimate of recombination rate and others). Studies are grouped according to the nature of the relationship between recombination suppression and either adaptive and/or reproductive isolating (RI) traits or genetic differentiation (GD). SNP, single nucleotide polymorphism.

study system	main finding	CG	LM	LD	other	ref.
mosquito (<i>Anopheles gambiae</i>)	GD pronounced at inversion breakpoints across an aridity cline	X				[178]
humans (<i>Homo sapiens</i>)	inversion shows molecular signatures of positive selection and is associated with higher fitness				X	[180]
threespine stickleback (<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	elevated GD and adaptive loci associated with inversions				X	[182]
European corn borer moth (<i>Ostrinia nubilalis</i>)	inversion contributed to accumulation of ecologically adaptive alleles and GD		X			[185]
mosquito (<i>Anopheles funestus</i>)	ecotypes segregate for inversion, but GD is low outside the inversion	X				[189]
Darwin finches (<i>Geospiza</i> , <i>Camarhynchus</i> , <i>Platyspiza</i> , <i>Pinaroloxias</i> spp)	genomic islands of locally elevated sequence divergence have low recombination rates				X	[203]

Differenze nel cariotipo

Muntiacus reevesii (2N = 46)



Gli assetti diploidi (ricavati da microfotografie) di due specie strettamente imparentate di muntjak rappresentano uno dei casi più estremi conosciuti di differenze nel cariotipo tra specie strettamente imparentate. Nonostante le differenze nel cariotipo, le due specie sono fenotipicamente molto simili. (*M. reevesii* foto © Mike Lane/Alamy Images; *M. muntiacus* © OSF/photolibrary.com.)

Muntiacus muntiacus (2N = 8)

