Nelle popolazioni naturali la variabilità genetica (ovvero ereditaria) può essere di tipo qualitativo o quantitativo

La variabilità qualitativa si riscontra in classi fenotipiche discrete

La variabilità quantitativa assume la forma di un intervallo fenotipico continuo

La variabilità intra-specifica viene generata da mutazione e ricombinazione e viene valutata dal livello di polimorfismo genetico.

Il livello di polimorfismo genetico in una popolazione viene valutato dalla frequenza degli alleli per specifici loci

Popolazione mendeliana con accoppiamento casuale per un gene con polimorfismo biallelico

Locus: A
Alleli: A_1, A_2
Genotipi: A_1A_1, A_1A_2, A_2A_2

E' possibile predire le frequenze genotipiche nella popolazione conoscendo le frequenze alleliche

Definiamo *p* la frequenza dell'allele A_1

Definiamo *q* la frequenza dell'allele A_2

Quadrato di Punnet

Spermatozoi

allele / frequenza	A_1 / p	A_2 / q
Cellule uovo A_1 / p	A_1A_1 p^2	A_1A_2 pq
Cellule uovo A_2 / q	A_1A_2 pq	A_2A_2 q^2

allele frequenza

Frequenze genotipiche della prole:

$A_1A_1 = p^2$

$A_1A_2 = 2pq$

$A_2A_2 = q^2$

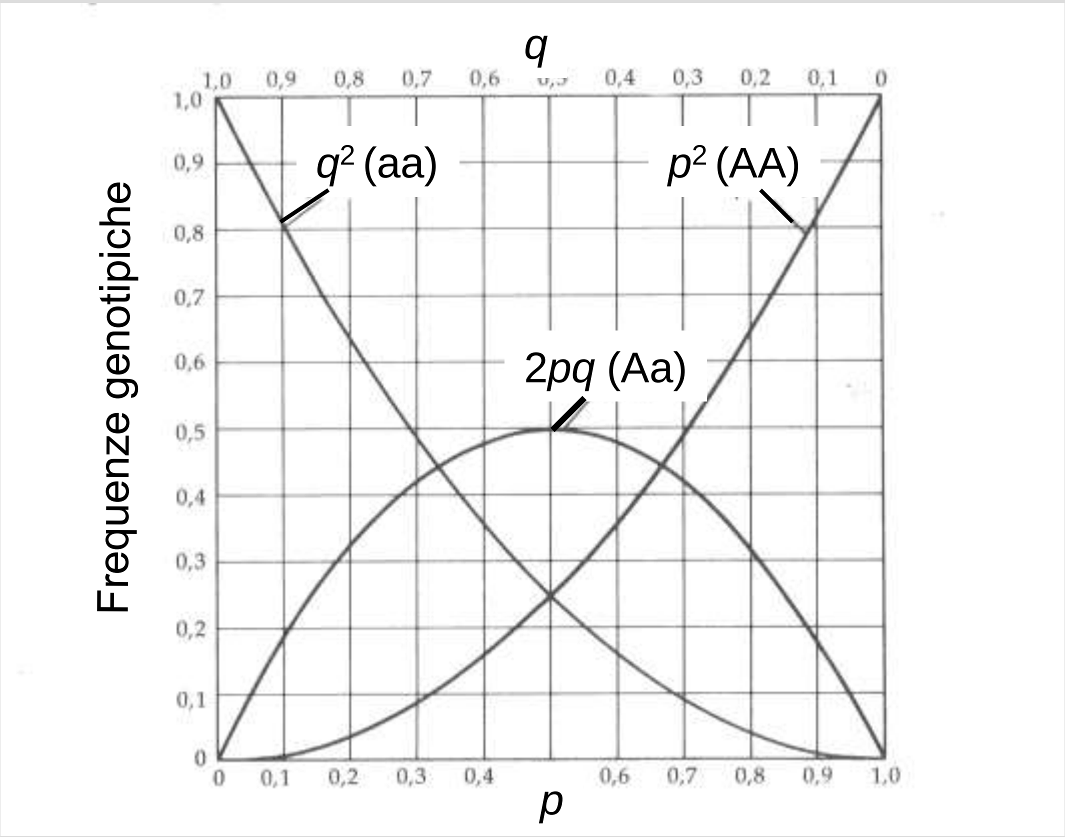
Dipartimento di Biologia
Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

Conoscendo le frequenze alleliche di un marcatore è possibile inferire la distribuzione delle frequenze genotipiche, a patto che:

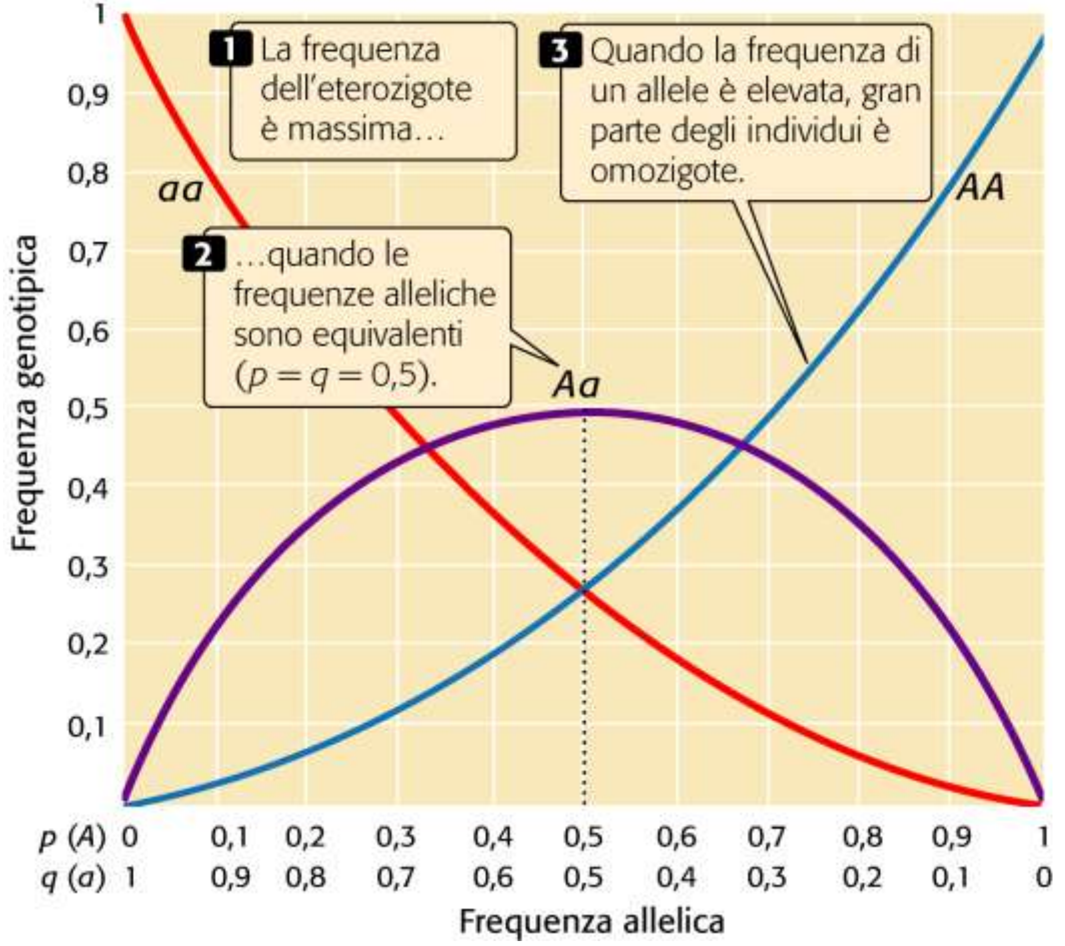
1) L’organismo in questione sia diploide.
2) La riproduzione sia sessuale.
3) Le generazioni non si sovrappongano.
4) L’accoppiamento sia casuale.
5) La dimensione della popolazione sia sufficientemente grande
6) La migrazione sia trascurabile.
7) La mutazione possa essere ignorata.
8) La selezione naturale non abbia influenza sul gene in esame.

Principio di Hardy-Weinberg per un locus autosomico con due alleli

$$p^2 + 2pq + q^2 = (p + q)^2 = 1$$



Se le frequenze alleliche sono comprese tra 1/3 (0,33) e 2/3 (0,66), gli eterozigoti saranno il genotipo più comune della popolazione. Hz max per p=q=0,5


1 La frequenza dell'eterozigote è massima…
2 …quando le frequenze alleliche sono equivalenti ($p = q = 0,5$).
3 Quando la frequenza di un allele è elevata, gran parte degli individui è omozigote.
aa
Aa
AA
Frequenza genotipica
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
p (A) 0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1
q (a) 1 0,9 0,8 0,7 0,6 0,5 0,4 0,3 0,2 0,1 0
Frequenza allelica

Una popolazione si dice in equilibrio di Hardy-Weinberg per un determinato locus se le sue frequenze genotipiche sono distribuite secondo la legge, o principio, di Hardy-Weinberg

Se le frequenze di una popolazione vengono stimate mediante l’analisi di un campione della popolazione stessa, le frequenze genotipiche osservate possono essere diverse da quelle attese per effetto del caso.

L’accordo tra le frequenze osservate e quelle attese può essere stimato quantitativamente per mezzo del “test del χ^2”.

Il valore di χ^2 si calcola come segue:

$$\chi^2 = \Sigma \frac{(\text{numero osservato} - \text{numero atteso})^2}{(\text{numero atteso})}$$

	GENOTIPO			
	+/+	**+/-**	**-/-**	**totale**
Numero di individui	16	28	20	**64**
Numero di alleli +	32	28	0	**60**
Numero di alleli -	0	28	40	**68**
Somma degli alleli + e -	**32**	**56**	**40**	**128**

Frequenza allelica di + = 60/128 = 0.469 = p
Frequenza allelica di - = 68/128 = 0.531 = q

Frequenza attesa	p^2	$2pq$	q^2	
relativa	0.220	0.498	0.282	**1**
Frequenza attesa assoluta	14.1	31.9	18.0	**64**

(ottenuta come proporzione
es: 0.220 :1= **x** :64 **x** = 0.220 x 64 = 14.1

Valore di χ^2 $[(A - O)^2/A]$	0.256	0.477	0.222	0.955

Gradi di libertà $\Rightarrow$ 3 - 1 - 1 = 1

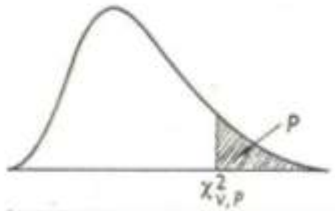
Gradi di libertà= n° delle classi - 1 - n° parametri stimati da questi dati

n° di classi = 3 (date 3 classi solo 2 sono libere di variare, la terza è determinata)

n° parametri stimati = 1 (frequenza di p o q)

Gradi di libertà per l'equilibrio di H-W = 1

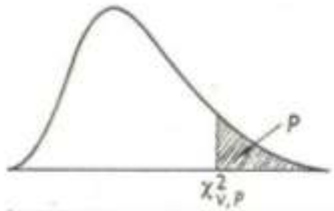
$\chi_1^2 = 0.955$



La funzione tabulata è $\chi^2_{\nu,P}$, valore superato con probabilità P in una distribuzione χ^2 con ν gradi di libertà.

Gradi di libertà, ν	Probabilità di un valore maggiore, P									
	0,975	0,900	0,750	0,500	0,250	0,100	0,050	0,025	0,010	0,001
1	—	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63	10,83
2	0,05	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21	13,82
3	0,22	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34	16,27
4	0,48	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28	18,47
5	0,83	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09	20,52
6	1,24	2,20	3,45	5,35	7,84	10,64	12,59	14,45	16,81	22,46
7	1,69	2,83	4,25	6,35	9,04	12,02	14,07	16,01	18,48	24,32
8	2,18	3,49	5,07	7,34	10,22	13,36	15,51	17,53	20,09	26,12
9	2,70	4,17	5,90	8,34	11,39	14,68	16,92	19,02	21,67	27,88
10	3,25	4,87	6,74	9,34	12,55	15,99	18,31	20,48	23,21	29,59
11	3,82	5,58	7,58	10,34	13,70	17,28	19,68	21,92	24,72	31,26
12	4,40	6,30	8,44	11,34	14,85	18,55	21,03	23,34	26,22	32,91
13	5,01	7,04	9,30	12,34	15,98	19,81	22,36	24,74	27,69	34,53
14	5,63	7,79	10,17	13,34	17,12	21,06	23,68	26,12	29,14	36,12
15	6,27	8,55	11,04	14,34	18,25	22,31	25,00	27,49	30,58	37,70

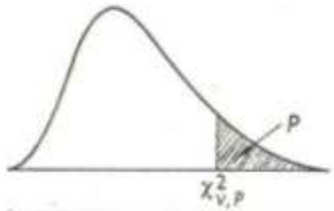
$\chi_1^2 = 0.955$



La funzione tabulata è $\chi^2_{\nu,P}$, valore superato con probabilità P in una distribuzione χ^2 con ν gradi di libertà.

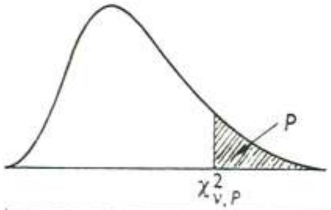
Gradi di libertà, ν	Probabilità di un valore maggiore, P									
	0,975	0,900	0,750	0,500	0,250	0,100	0,050	0,025	0,010	0,001
1	—	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63	10,83
2	0,05	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21	13,82
3	0,22	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34	16,27
4	0,48	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28	18,47
5	0,83	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09	20,52
6	1,24	2,20	3,45	5,35	7,84	10,64	12,59	14,45	16,81	22,46
7	1,69	2,83	4,25	6,35	9,04	12,02	14,07	16,01	18,48	24,32
8	2,18	3,49	5,07	7,34	10,22	13,36	15,51	17,53	20,09	26,12
9	2,70	4,17	5,90	8,34	11,39	14,68	16,92	19,02	21,67	27,88
10	3,25	4,87	6,74	9,34	12,55	15,99	18,31	20,48	23,21	29,59
11	3,82	5,58	7,58	10,34	13,70	17,28	19,68	21,92	24,72	31,26
12	4,40	6,30	8,44	11,34	14,85	18,55	21,03	23,34	26,22	32,91
13	5,01	7,04	9,30	12,34	15,98	19,81	22,36	24,74	27,69	34,53
14	5,63	7,79	10,17	13,34	17,12	21,06	23,68	26,12	29,14	36,12
15	6,27	8,55	11,04	14,34	18,25	22,31	25,00	27,49	30,58	37,70

$\chi_1^2 = 0.955$



La funzione tabulata è $\chi^2_{\nu,P}$, valore superato con probabilità P in una distribuzione χ^2 con ν gradi di libertà.

Gradi di libertà, ν	Probabilità di un valore maggiore, P 0,975	0,900	0,750	0,500	0,250	0,100	0,050	0,025	0,010	0,001
1	—	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63	10,83
2	0,05	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21	13,82
3	0,22	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34	16,27
4	0,48	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28	18,47
5	0,83	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09	20,52
6	1,24	2,20	3,45	5,35	7,84	10,64	12,59	14,45	16,81	22,46
7	1,69	2,83	4,25	6,35	9,04	12,02	14,07	16,01	18,48	24,32
8	2,18	3,49	5,07	7,34	10,22	13,36	15,51	17,53	20,09	26,12
9	2,70	4,17	5,90	8,34	11,39	14,68	16,92	19,02	21,67	27,88
10	3,25	4,87	6,74	9,34	12,55	15,99	18,31	20,48	23,21	29,59
11	3,82	5,58	7,58	10,34	13,70	17,28	19,68	21,92	24,72	31,26
12	4,40	6,30	8,44	11,34	14,85	18,55	21,03	23,34	26,22	32,91
13	5,01	7,04	9,30	12,34	15,98	19,81	22,36	24,74	27,69	34,53
14	5,63	7,79	10,17	13,34	17,12	21,06	23,68	26,12	29,14	36,12
15	6,27	8,55	11,04	14,34	18,25	22,31	25,00	27,49	30,58	37,70



La funzione tabulata è $\chi^2_{\nu,P}$, valore superato con probabilità P in una distribuzione χ^2 con ν gradi di libertà.

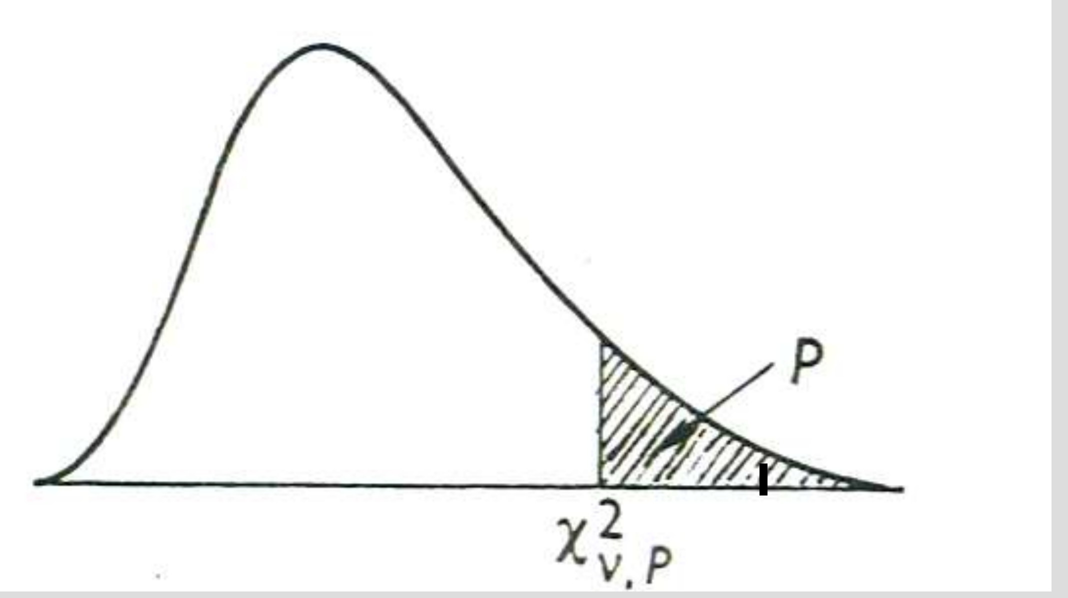
Gradi di libertà, ν	Probabilità di un valore maggiore, P									
	0,975	0,900	0,750	0,500	0,250	0,100	0,050	0,025	0,010	0,001
1	—	0,02	0,10	0,45	1,32	2,71	3,84	5,02	6,63	10,83
2	0,05	0,21	0,58	1,39	2,77	4,61	5,99	7,38	9,21	13,82
3	0,22	0,58	1,21	2,37	4,11	6,25	7,81	9,35	11,34	16,27
4	0,48	1,06	1,92	3,36	5,39	7,78	9,49	11,14	13,28	18,47
5	0,83	1,61	2,67	4,35	6,63	9,24	11,07	12,83	15,09	20,52
6	1,24	2,20	3,45	5,35	7,84	10,64	12,59	14,45	16,81	22,46
7	1,69	2,83	4,25	6,35	9,04	12,02	14,07	16,01	18,48	24,32
8	2,18	3,49	5,07	7,34	10,22	13,36	15,51	17,53	20,09	26,12
9	2,70	4,17	5,90	8,34	11,39	14,68	16,92	19,02	21,67	27,88
10	3,25	4,87	6,74	9,34	12,55	15,99	18,31	20,48	23,21	29,59
11	3,82	5,58	7,58	10,34	13,70	17,28	19,68	21,92	24,72	31,26
12	4,40	6,30	8,44	11,34	14,85	18,55	21,03	23,34	26,22	32,91
13	5,01	7,04	9,30	12,34	15,98	19,81	22,36	24,74	27,69	34,53
14	5,63	7,79	10,17	13,34	17,12	21,06	23,68	26,12	29,14	36,12
15	6,27	8,55	11,04	14,34	18,25	22,31	25,00	27,49	30,58	37,70

$P > 0.05$ ← non significativo

$P < 0.01$ → significativo

Il test del chi-quadro indica la probabilità che la differenza tra i valori osservati e quelli attesi sia dovuta al caso, ovvero permette di ottenere la probabilità che **solo il caso** possa produrre la differenza tra i valori attesi e quelli osservati

E’ stato arbitrariamente scelto il valore P=0,05 come limite per accettare o rifiutare l’ipotesi nulla.



	3,84	6,63
P	0,05	0,01

Quando la probabilità calcolata da tale test è alta (P>0,05) si assume che sia solo il caso a dare ragione di tale scarto, mentre, quando è bassa (P<0,05), si presume che qualche altro fattore diverso da esso, ossia un dato fattore significativo, abbia prodotto la differenza

Un valore di chi-quadro maggiore di quello corrispondente a P = 0,05 significa che nel 5% degli esperimenti, con un campione della stessa numerosità, la deviazione potrebbe essere dovuta al caso.

Quindi, nel rifiutare l'ipotesi zero sbagliamo il 5% delle volte

In assenza di forze perturbanti la quantità di variabilità resta costante di generazione in generazione, con piccole oscillazioni casuali delle frequenze alleliche e genotipiche

Attraverso il campionamento casuale è possibile stimare le frequenze degli alleli e calcolare la frequenza dei genotipi attesi.

Il campione deve essere grande e rappresentativo

Deviazioni dalle attese in base al principio di Hardy-Weinberg suggeriscono la presenza di cambiamenti genetici all'interno della popolazione (per es: selezione naturale contro un genotipo, inincrocio, deriva, mutazione direzionale)

Stima delle frequenze alleliche in presenza di dominanza

Le frequenze fenotipiche di un sistema biallelico in cui l'allele *A* è dominante su *a* sono

	Genotipo	Frequenza
Fenotipo A	*AA* + *Aa*	$p^2 + 2pq$
Fenotipo a	*aa*	q^2

Ammettendo a priori che questo locus sia in equilibrio di Hardy-Weinberg, le frequenze alleliche possono essere inferite dalle frequenze fenotipiche,

$$q = \sqrt{\text{fr. } aa} = \sqrt{q^2}$$

e

$$p = 1 - q$$

ESEMPIO

Nella popolazione caucasica la fibrosi cistica ha una frequenza di circa un caso ogni 2000 nascite.

frequenza omozigoti $\rightarrow$ $\frac{1}{2000} = 0.0005$

quindi in condizioni di equilibrio di Hardy-Weinberg

$$q^2 = 0.0005$$

da cui

$$q = \sqrt{0.0005} = 0.022$$

e, per conseguenza, la frequenza dell'allele normale è

$$p = 1 - 0.022 = 0.978$$

la frequenza dei portatori di fibrosi cistica è quindi

$$2 \times 0.022 \times 0.978 = 0.043$$

Loci associati al cromosoma sessuale X con alleli codominanti

	Fenotipi			
	Pelo nero	Pelo variegato	Pelo giallo	Totale
Femmine	XnXn	XnXg	XgXg	
	277	54	7	338
Maschi	XnY	-	XgY	
	311	-	42	353

$$\text{Alleli Xn} = \frac{(277\text{x}2) + 311 + 54}{(338\ \text{x}2) + 353} = 919/1029 = 0{,}893$$

Allele Xg = 0,107

Attesi: XnXn = 0,893 x 0,893 x 338 = 269,53

XnY = 0, 893 x 353 = 315,23