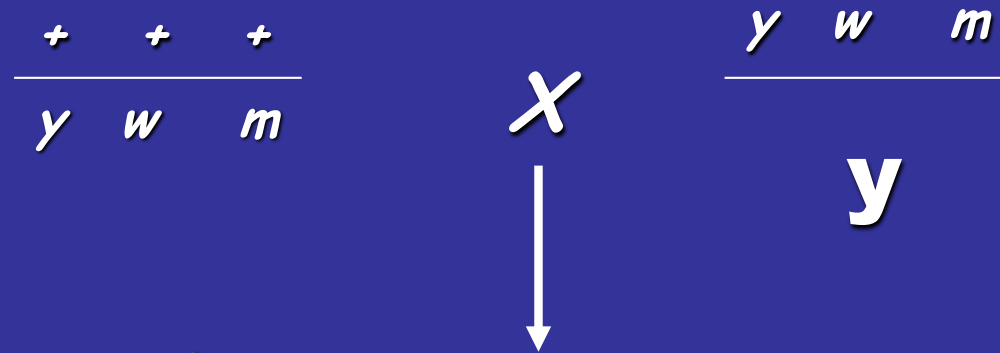


Analisi di un triibrido
o
Incrocio a tre punti

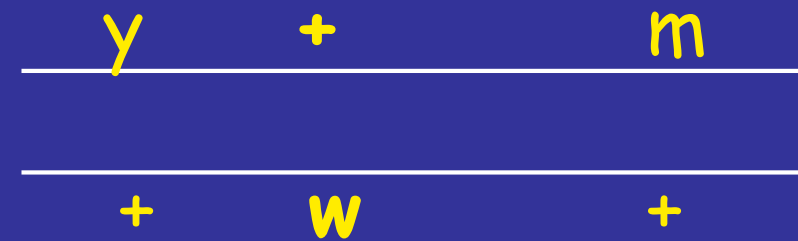
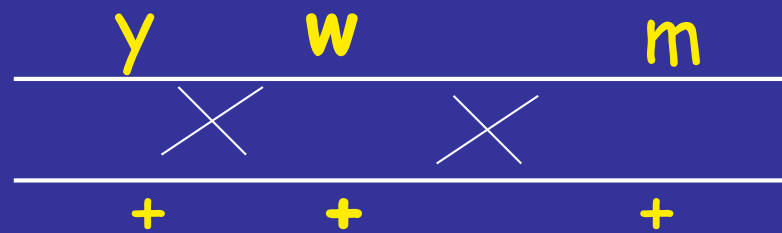
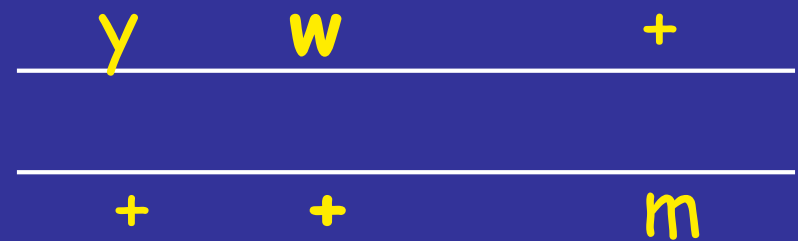
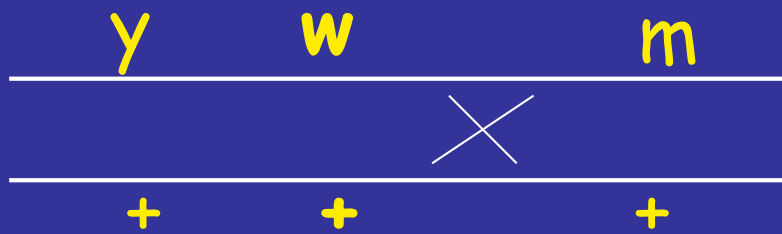
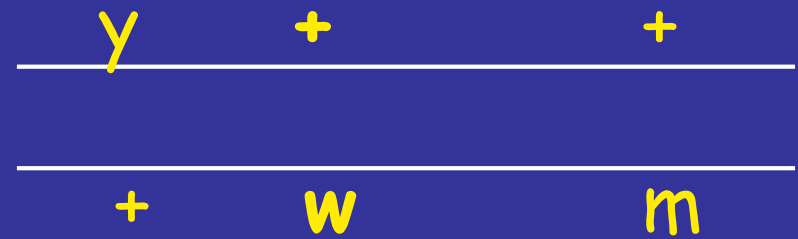
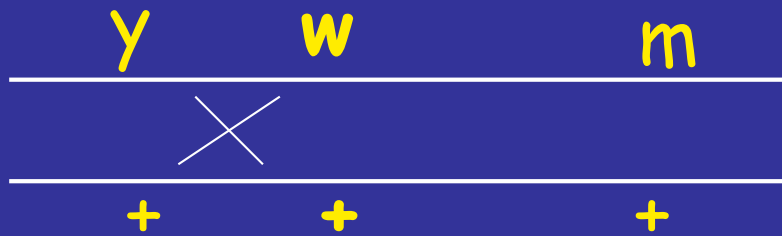
Analisi di un triibrido



Fenotipi maschi

<i>Parentali</i>	+	+	+	}	6972
	y	w	m		
<i>Ricombinanti II</i>	+	+	m	}	3454
	y	w	+		
<i>Ricombinanti I</i>	y	+	+	}	60
	+	w	m		
<i>Doppi Ricombinanti</i>	y	+	m	}	9
	+	w	+		

INCROCCIO A TRE FATTORI



La probabilità di avere due scambi è più bassa

Parentali

+ + +
y w m

6972

Distanza

Ricombinanti II

+ + m
y w +

3454

$$y-w = (60+9)/10459 = 0,007$$

Ricombinanti I

y + +
+ w m

60

$$w-m = (3454+9)/10459 = 0,330$$

Doppi Ricombinanti

y + m
+ w +

9

$$y-m = (3454+60)/10459 = 0,335$$

Distanza genetica

Y 0,7 W 33 m

33,5 u.m.

+ + +

33,7 u.m.

Somma

Simboli di Sturtevant:	B	C	P	R	M
Posizione sul cromosoma X:	00	10	30,7	33,7	57,6
Simboli moderni:	y	w	v	m	r
	Corpo giallo	Occhi bianchi	Occhi vermigli	Ali in miniatura	Ali rudimentali

***DALLE FREQUENZE DI RICOMBINANTI
ALLE DISTANZE DI MAPPA***

Analisi dei risultati di un saggio a tre punti

All' inizio dell' analisi non conosciamo la disposizione dei geni sul cromosoma

Con il test cross a tre punti si può valutare l' associazione tra tre o più geni in un unico incrocio

(a) Risultati dell'incrocio a tre punti

P ♀ $vg\ b\ pr / vg\ b\ pr$ × ♂ $vg^+\ b^+\ pr^+ / vg^+\ b^+\ pr^+$

F₁ (tutti uguali) $vg\ b\ pr / vg^+\ b^+\ pr^+$

Testcross ♀ $vg\ b\ pr / vg^+\ b^+\ pr^+$ × ♂ $vg\ b\ pr / vg\ b\ pr$

Progenie	1779	$vg\ b\ pr$	} Combinazioni parentali per tutti e tre i geni
del testcross	1654	$vg^+\ b^+\ pr^+$	
	252	$vg^+\ b\ pr$	} Ricombinanti per vg rispetto alle combinazioni parentali di b e pr
	241	$vg\ b^+\ pr^+$	
	131	$vg^+\ b\ pr^+$	} Ricombinanti per b rispetto alle combinazioni parentali di vg e pr
	118	$vg\ b^+\ pr$	
	13	$vg\ b\ pr^+$	} Ricombinanti per pr rispetto alle combinazioni parentali di vg e b
	9	$vg^+\ b^+\ pr$	
	<hr/>		
	4197		

(a) Risultati dell'incrocio a tre punti

P ♀ $vg\ b\ pr / vg\ b\ pr$ × ♂ $vg^+\ b^+\ pr^+ / vg^+\ b^+\ pr^+$

F₁ (tutti uguali) $vg\ b\ pr / vg^+\ b^+\ pr^+$

Testcross ♀ $vg\ b\ pr / vg^+\ b^+\ pr^+$ × ♂ $vg\ b\ pr / vg\ b\ pr$

Progenie del testcross	1779	$vg\ b\ pr$	} Combinazioni parentali per tutti e tre i geni
	1654	$vg^+\ b^+\ pr^+$	
	252	$vg^+\ b\ pr$	} Ricombinanti per vg rispetto alle combinazioni parentali di b e pr
	241	$vg\ b^+\ pr^+$	
	131	$vg^+\ b\ pr^+$	} Ricombinanti per b rispetto alle combinazioni parentali di vg e pr
	118	$vg\ b^+\ pr$	
	13	$vg\ b\ pr^+$	} Ricombinanti per pr rispetto alle combinazioni parentali di vg e b
	9	$vg^+\ b^+\ pr$	
	<u>4197</u>		

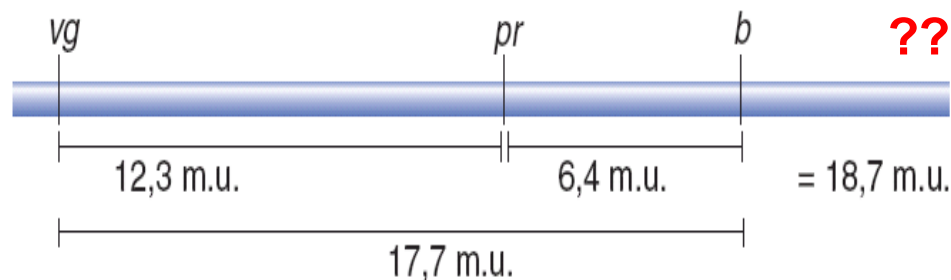
$$\frac{252 + 241 + 131 + 118}{4197} \times 100 = 17,7 \quad \text{vg} \quad \text{b}$$

$$\frac{252 + 241 + 13 + 9}{4197} \times 100 = 12,3 \quad \text{vg} \quad \text{pr}$$

$$\frac{131 + 118 + 13 + 9}{4197} \times 100 = 6,4 \quad \text{b} \quad \text{pr}$$

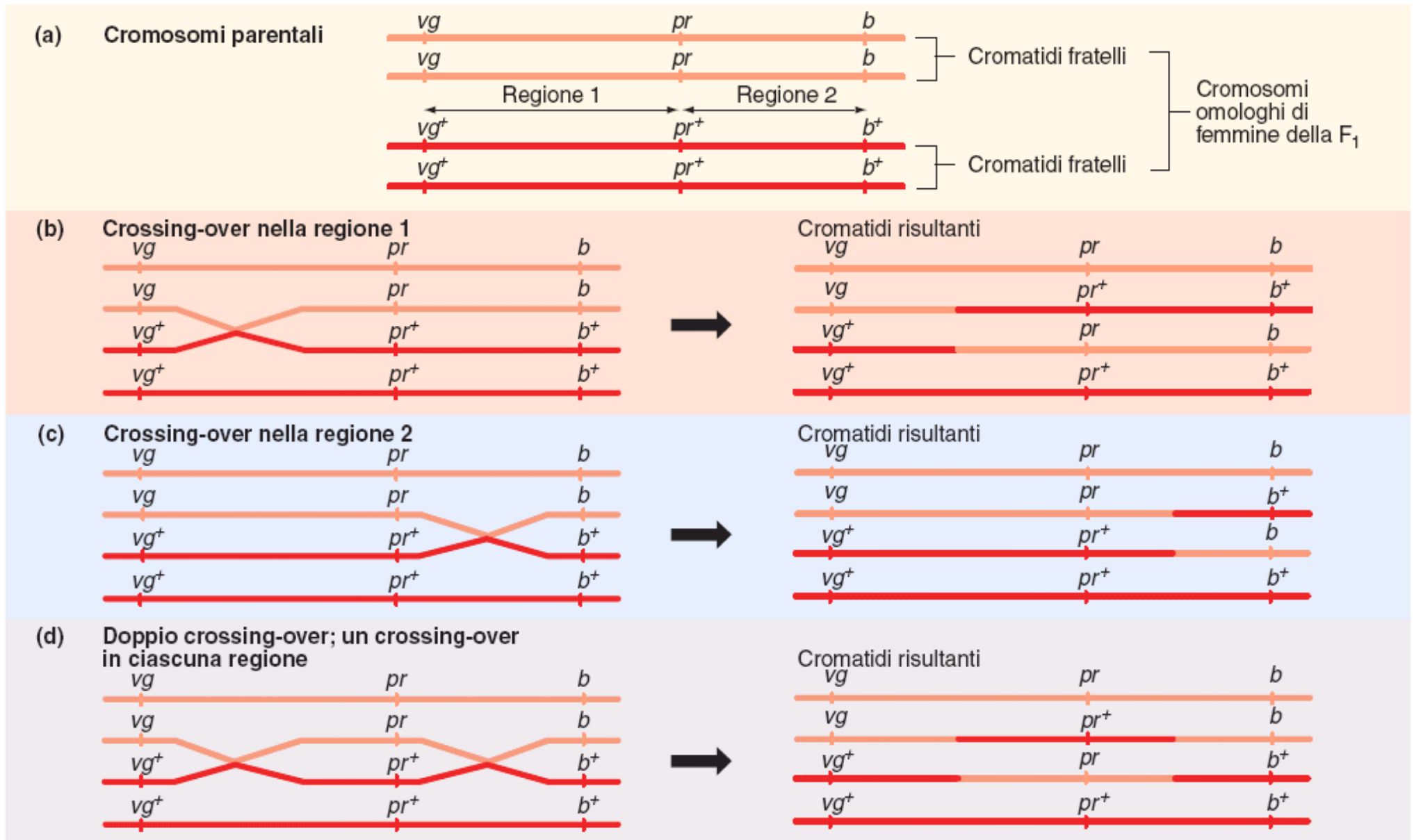
vg e **b** sono i geni più distanti
pr deve stare al centro

(b) Mappa genetica dedotta



Con l'analisi genetica possiamo sottostimare le distanze perché non teniamo conto dei doppi scambi

La progenie ottenuta in un saggio a tre punti dipende dalla posizione dei crossing over.



Come è l'ordine dei geni ??

A b c 23

a B C 24

A B c 43

a b C 55

A B C 300

a b c 299

A b C 3

a B c 2

Come è l'ordine dei geni ??

C F A 23

c f a 24

C F a 43

c f A 55

C f A 300

c F a 299

C f a 3

c F A 2

A E B 330

a e b 390

A E b 39

a e B 41

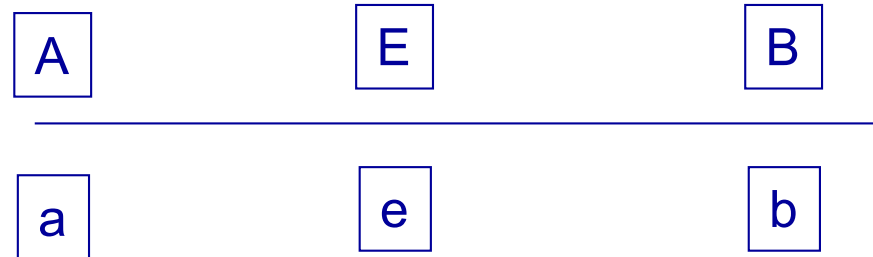
A e b 87

a E B 93

A e B 9

a E b 11

ORDINE dei geni:



Si deduce dalle classi dei doppi ricombinanti

Quante classi di numerosità ?

Distanza E-B

$$\frac{39 + 41 + 9 + 11}{1000} \times 100 = 10$$

Distanza A-E

$$\frac{87 + 93 + 9 + 11}{1000} \times 100 = 20$$

Distanza A-B

$$\frac{87 + 93 + 39 + 41}{1000} \times 100 = 26$$

A E B 330

a e b 390

A E b 39

a e B 41

A e b 87

a E B 93

A e B 9

a E b 11



30 ?

26 ?

Distanza A -B

$$\frac{87 + 93 + 39 + 41 + \mathbf{20+20}}{1000} \times 100 = 30$$

INOLTRE

può succedere che ...

il numero dei

doppi ricombinanti osservati

non corrisponde al numero dei

doppi ricombinanti attesi



I due eventi non sono indipendenti.

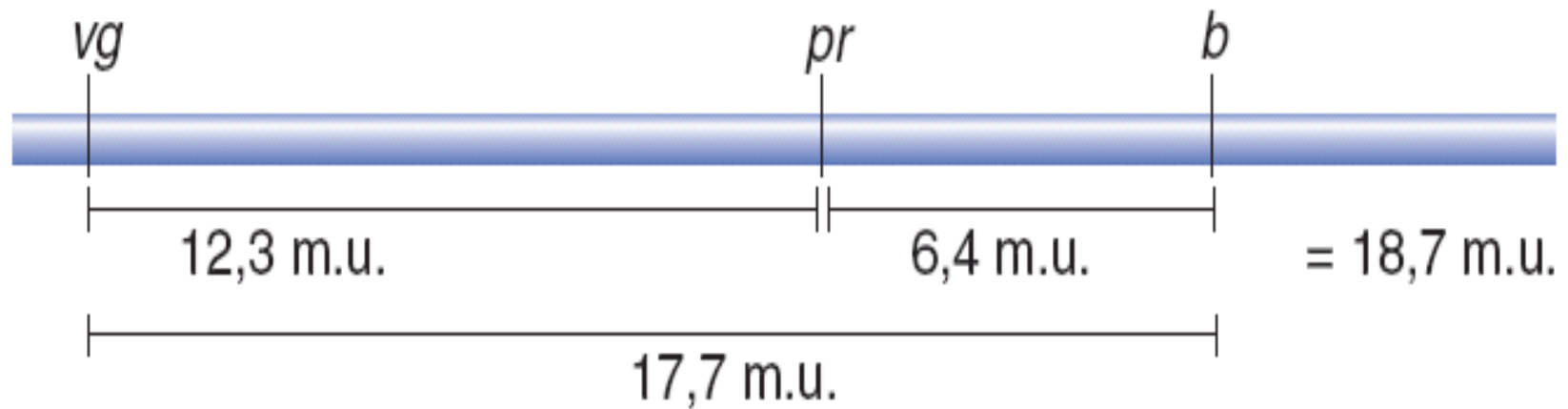
La probabilità che avvenga un cross over in prima regione dovrebbe essere indipendente dalla probabilità che avvenga un cross over in seconda regione.

Ricordiamo:

la probabilità che avvengano due eventi di cross over (due eventi indipendenti)

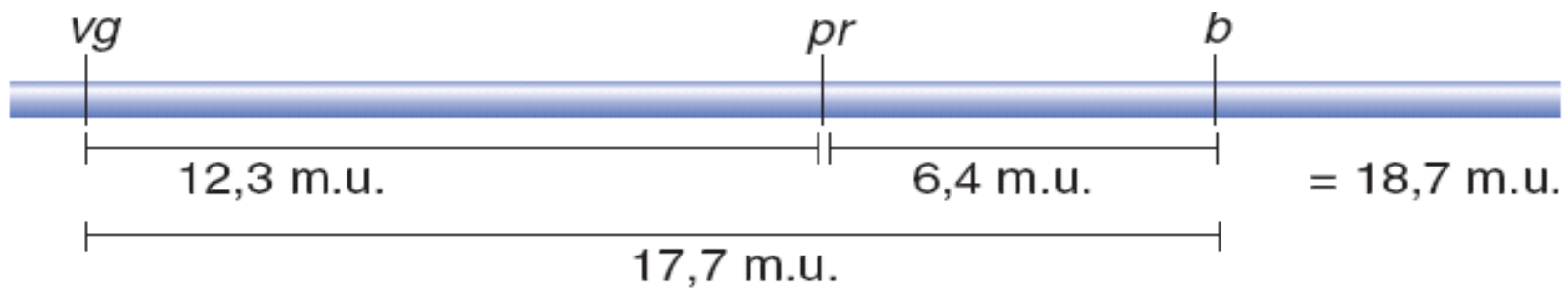
è data dal prodotto delle due probabilità.

(b) Mappa genetica dedotta



FR ***0,123***

0,064



Quanti sono i doppi scambi attesi ??

Vengono fuori dal prodotto delle frequenze (probabilità) dei singoli scambi

$$0.123 \times 0,064 = 0,0079 = 0.008 \longrightarrow \mathbf{0.8\%}$$

Doppi ricombinanti attesi:

Sul totale di **4197** individui:

$$0,8 : 100 = x : 4197$$

$$X = \mathbf{33} \text{ circa}$$

Definisco **COEFFICIENTE DI COINCIDENZA**

il rapporto tra i doppi ricombinanti osservati e i doppi ricombinanti attesi

CC = doppi ricombinanti osservati / doppi ricombinanti attesi

Lo calcolo:

CC (coefficiente di coincidenza) = $22 / 33 = 0,66$

INTERFERENZA

Interferenza $I = 1 - CC$ (OSSERV / ATTESI)

$$1 - 0,66 = 0,33$$

In questo caso c' è il 33% di interferenza

Funzione di Haldane

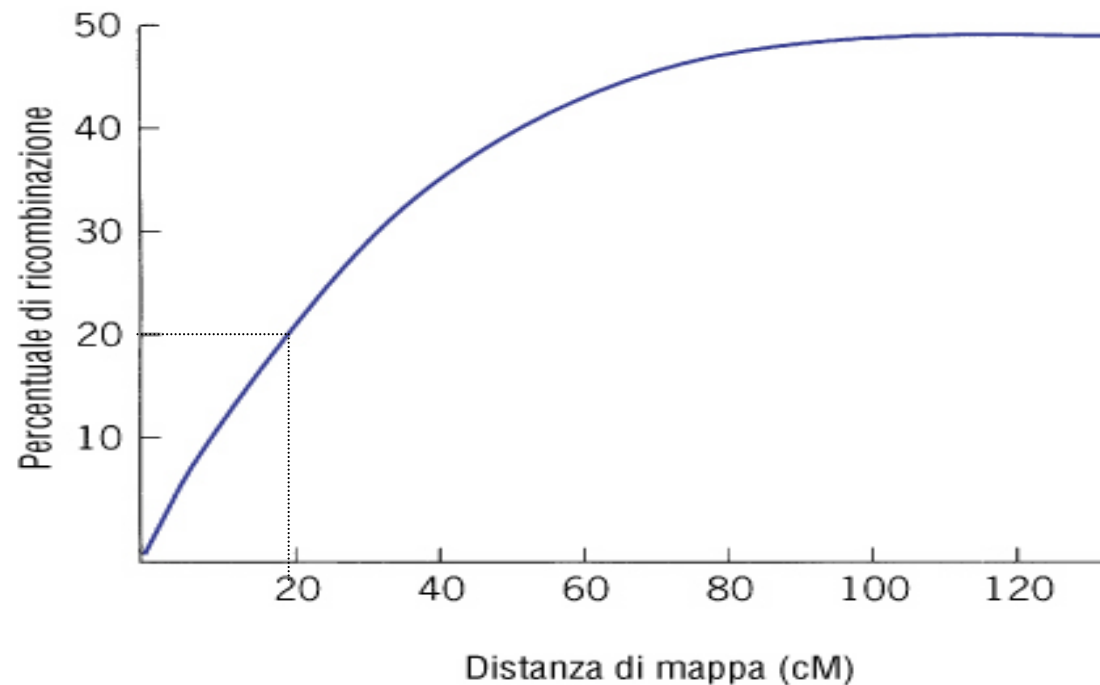


Figura 8.18 Relazioni tra la frequenza di ricombinazione e la distanza di mappa genetica. Per valori minori di 20 cM, c'è una relazione approssimativamente lineare tra la percentuale di ricombinazione e la distanza di mappa; per valori più grandi di 20 cM, la percentuale di ricombinazione fa sottostimare la distanza di mappa.



m=1

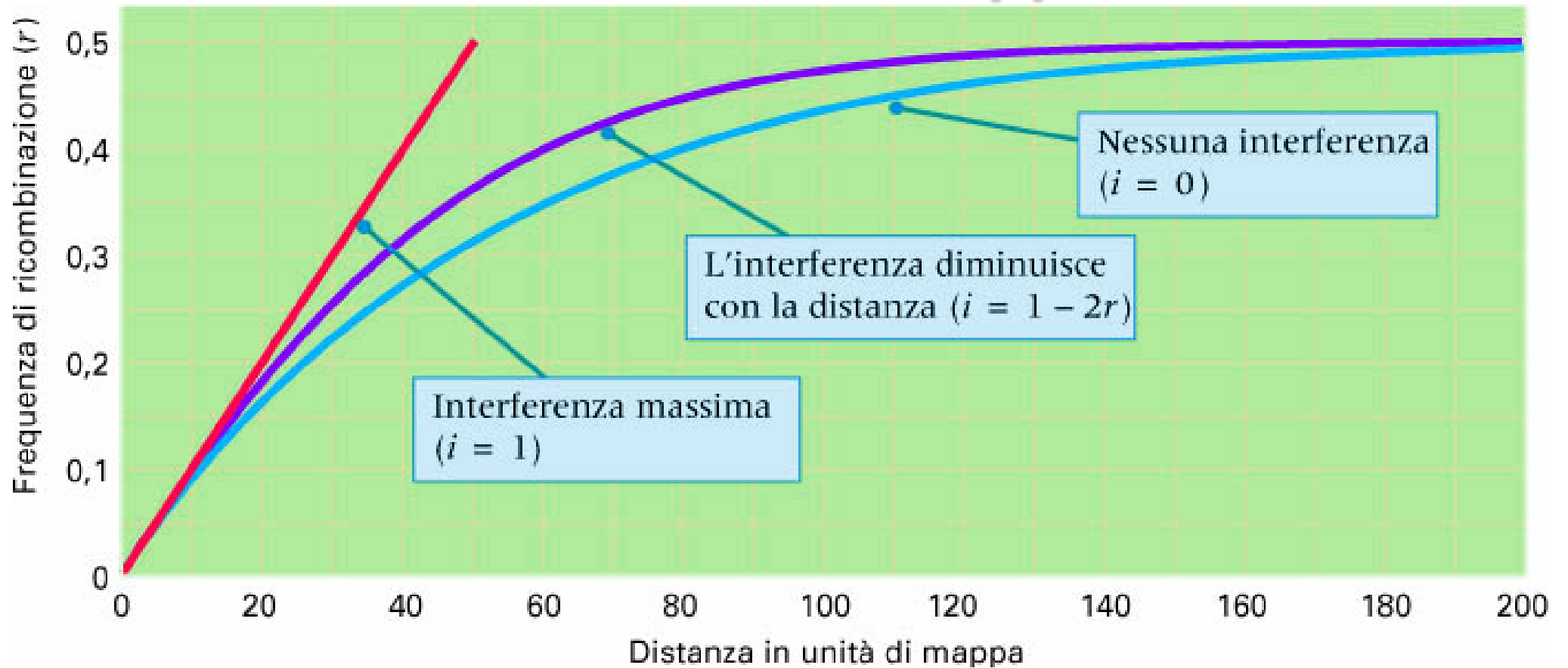
m=2

m=3

m=4

Principi di genetica
D. Peter Snustad

Funzione di mappa



Alterazioni della frequenza di ricombinazione

- Interferenza

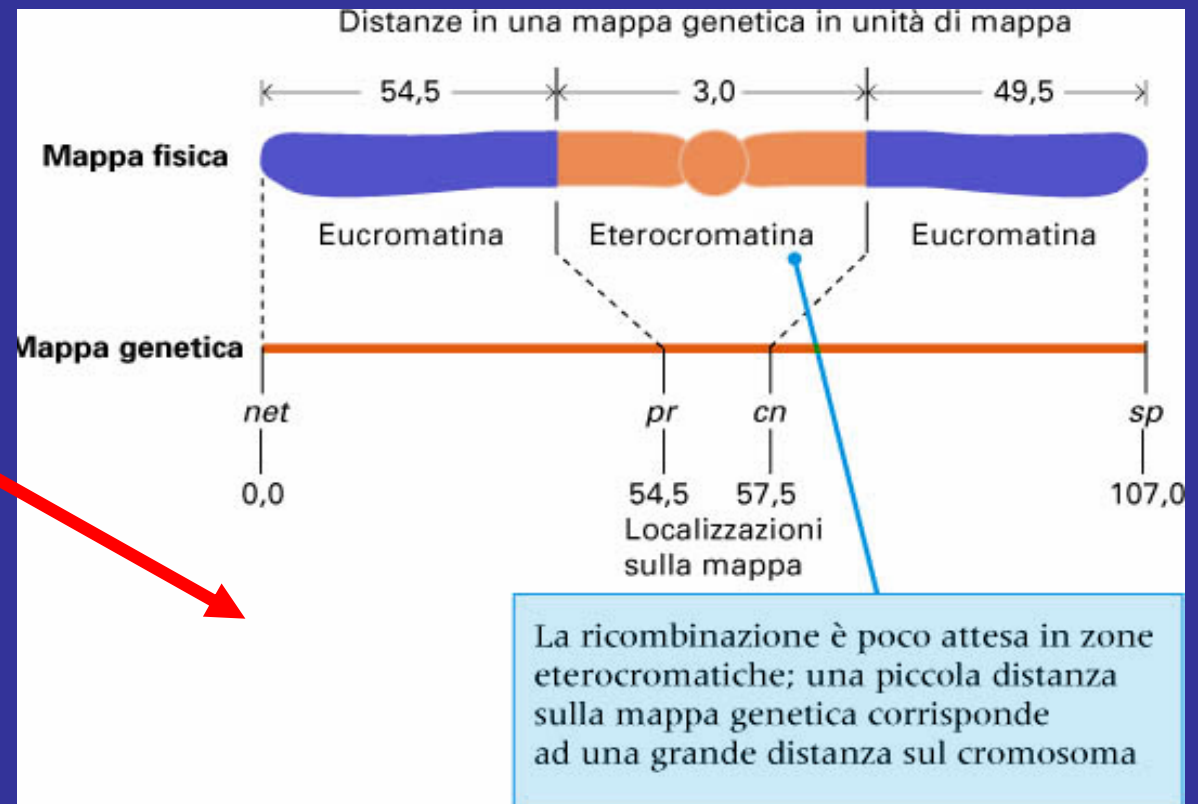
$$I = 1 - CC \quad (\text{Coefficiente di Coincidenza})$$

$$CC = \frac{ds \text{ osservati}}{ds \text{ attesi}}$$

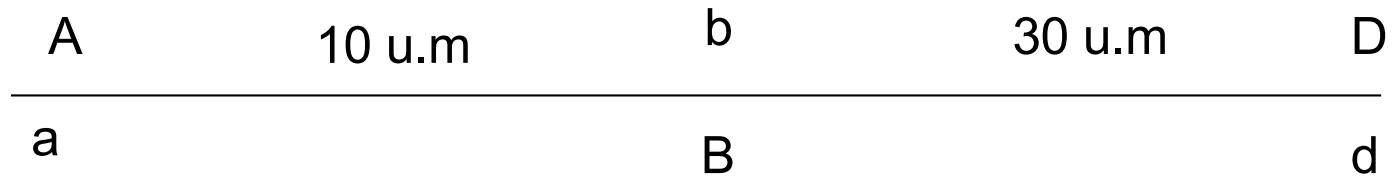
- Regioni eterocromatiche

- Aberrazioni cromosomiche

- Costituzione genetica (maschio Drosophila)



***DALLE DISTANZE DI MAPPA
ALLE FREQUENZE DI RICOMBINANTI***



Su 100

Ric I reg **A B d a b D**

Ric in II reg **A b d a B D**

Doppi ric **A B D a b d**

Parentali **A b D a B d**

10

30

3

60

?

TOT 103 !

SBAGLIATO

A	10 u.m	b	30 u.m	D
a		B		d

10%
probabilità di uno scambio

30%
probabilità di uno scambio

***Doppi ricombinanti* = $0.1 \times 0.3 = 0.03$**

3 **A B D** **a b d**

***Ric I regione* = $0.1 - 0.03 = 0.07$**

7 **A B d** **a b D**

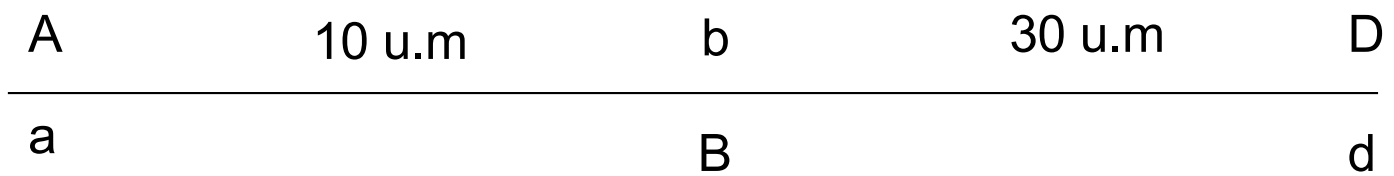
***Ric II regione* = $0.3 - 0.03 = 0.27$**

27 **A b d** **a B D**

Parentali
= $1 - (0.03+0.27+0.07)$
= $1 - 0.37$
= 0.63

63 **A b D** **a B d**

Su 100



10%
probabilità di uno scambio
70%
probabilità che non avvenga uno scambio

90%
probabilità che non avvenga uno scambio
30%
probabilità di uno scambio

cross 1	$0.1 \times 0.7 = 0.07$	7	A B d	a b D
cross 2	$0.9 \times 0.3 = 0.27$	27	A b d	a B D
cross 1-2	$0.1 \times 0.3 = 0.03$	3	A B D	a b d
No cross	$0.9 \times 0.7 = 0.63$	63	A b D	a B d

Su 100

A	10 u.m	b	80 u.m	D
a		B		d

10%
probabilità di uno scambio

80%
probabilità di uno scambio

***Doppi ricombinanti* = $0.1 \times 0.8 = 0.08$**

8 **A B D** **a b d**

***Ric I regione* = $0.1 - 0.08 = 0.092$**

9 **A B d** **a b D**

***Ric II regione* = $0.8 - 0.08 = 0.72$**

72 **A b d** **a B D**

Parentali
= $1 - (0.08 + 0.092 + 0.72)$
= $1 - 0.892$
= 0.108

10 **A b D** **a B d**

Parentali minori dei ricombinanti ?Sbagliato

A	10 u.m	b	80 u.m	D
a		B		d

10%
probabilità di uno scambio

50%
probabilità di uno scambio

***Doppi ricombinanti* = $0.1 \times 0.5 = 0.05$**

5 **A B D** **a b d**

***Ric I regione* = $0.1 - 0.05 = 0.05$**

5 **A B d** **a b D**

***Ric II regione* = $0.5 - 0.05 = 0.45$**

45 **A b d** **a B D**

Parentali
= $1 - (0.05 + 0.05 + 0.45)$
= $1 - 0.55$
= 0.45

45 **A b D** **a B d**

Corretto

Incrociamo prima un maschio di *Drosophila* selvatico con una femmina omozigote recessiva per i caratteri occhio marrone (m), corpo nero (n), ali sfrangiate (ech). Il risultato di un incrocio di femmine F1 con maschi omozigoti recessivi è riportato in a) Quale è l'ordine dei geni e quali sono le distanze relative?

a)	+	+	+	616
	+	+	ech	65
	+	n	+	170
	+	n	ech	147
	m	+	+	144
	m	+	ech	172
	m	n	+	66
	m	n	ech	620



CHART ROOM

SCHERMERHORN HALL

1918

	DELLINGER				
WEINSTEIN		BRIDGES	MR. X	MULLER	MORGAN
ANDERSON	E.G.				F. LUTZ
SCHRADER	STURTEVANT		HUETTNER		O.L. MOHR

- **Il Drosophila Group**

- Una stanzina piena di tavoli, microscopi e bottiglie di coltura dei moscerini.
- Qui cominciarono a lavorare **Calvin B. Bridges e Alfred H. Sturtevant**. Ospite frequente era poi **Hermann J. Muller, ancora studente**, che mantenne sempre un rapporto conflittuale di odio e amore nei confronti degli altri ricercatori. Era nato il "**Drosophila Group**".
- Il laboratorio era frequentato da ricercatori, studenti, interni post-dottorato e diversi visitatori.
- Il lavoro era condotto attraverso una stretta collaborazione fra tutti i membri del gruppo ed ogni giorno regnava l'entusiasmo, non senza senso critico e apertura mentale, una rara qualità.
- Gli scambi erano continui e, ogni volta che nasceva una nuova idea o si otteneva un nuovo risultato, la discussione interessava tutto il gruppo ed era condotta con un tale fervore da dimenticare chi per primo vi era giunto.
- **Il primo aspetto da verificare era il legame fra la distanza dei fattori sul cromosoma ed il grado di associazione dei caratteri.**
- **Durante un'intensa notte di lavoro, Sturtevant costruì un modello che mette in relazione la frequenza dei cross overs nel cromosoma con la distanza relativa dei fattori sul cromosoma stesso; anzi, la frequenza dei cross overs permette di calcolare la distanza dei due fattori sul cromosoma.**
- Il modello realizzato da Sturtevant permise, in pochi anni, di giungere a definire particolari associazioni dei geni anche sugli altri tre cromosomi di Drosophila (detti autosomi e presenti in duplice copia, a differenza del cromosoma X).
- Nel 1915, Morgan, Bridges, Sturtevant e Muller pubblicarono "**The Mechanism of Mendelian Heredity**", che proponeva gli studi condotti su Drosophila come una chiave di lettura dei sistemi genetici e che poneva le basi per la mappatura dei geni.
- Questi risultati, però, dovevano ancora sfidare la critica della comunità scientifica: ci vollero altri dieci anni, caratterizzati da continue scoperte, ma anche da polemiche, perché queste scoperte trovassero il consenso generale dei genetisti.
- Il lavoro del "Drosophila Group" proseguì per circa venti anni nel laboratorio della Columbia University e da lì si propagò nelle università del resto del mondo, dove si continuavano a trovare nuovi mutanti.
- **Un po' per volta vennero definite le leggi della genetica classica e si giunse al modello della "collana di perle" secondo cui i geni si dispongono sui cromosomi uno dopo l'altro come le perle sul filo di una collana.**
-