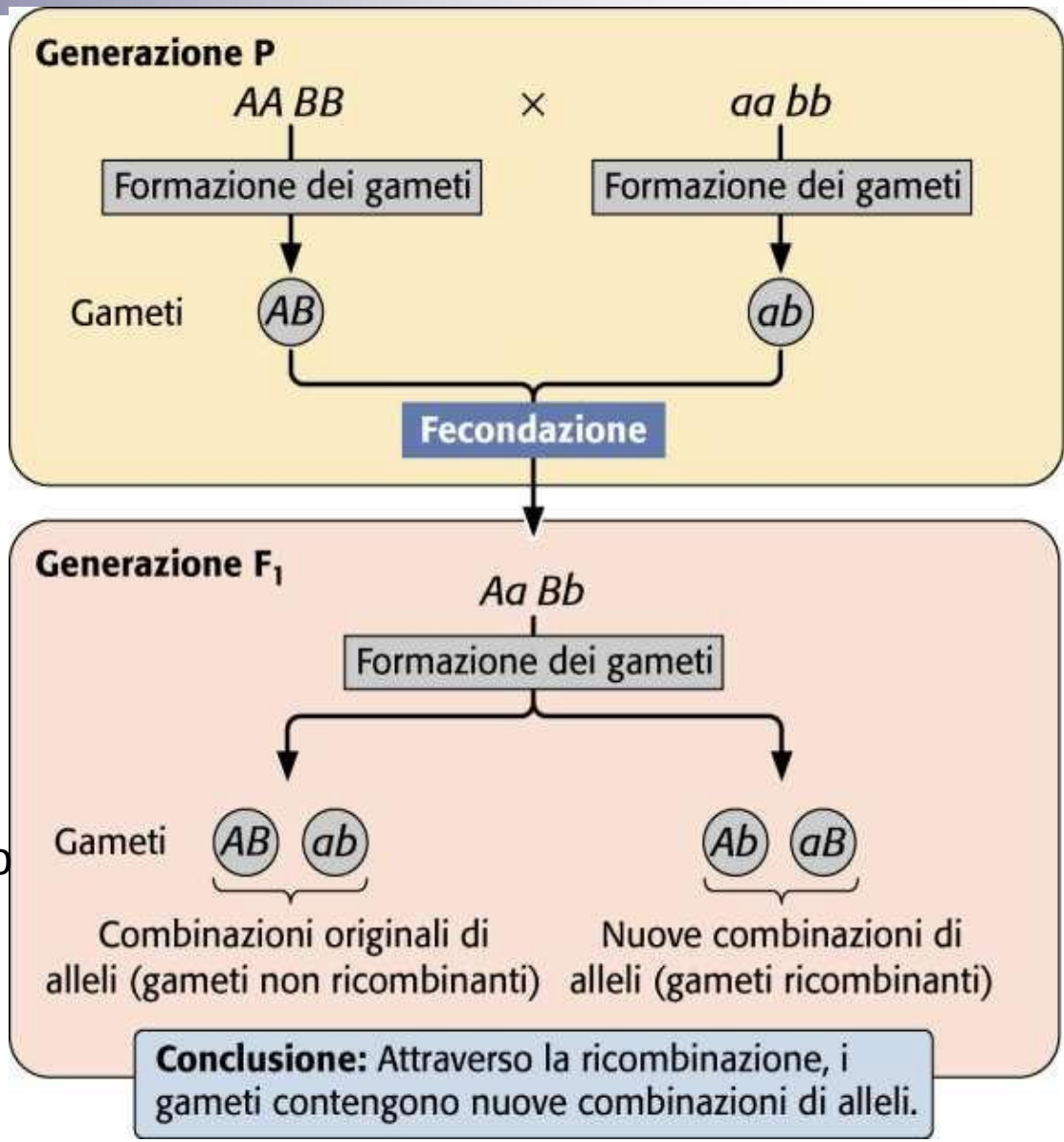
10. Ricombinazione tra geni associati

Domande

- Che conseguenze ha sulla trasmissione degli alleli il fatto che i geni (loci) sono tanti, stanno sui cromosomi, e i cromosomi sono pochi?
- Che conseguenze genetiche hanno gli scambi fra cromosomi omologhi alla meiosi?
- Con che frequenza avvengono questi scambi?
- Queste frequenze ci dicono qualcosa sulla posizione reciproca dei loci sul cromosoma?
- Quali posizioni occupano i geni sui cromosomi? –> Mappatura

➢ Il **principio della segregazione indipendente** afferma che la **separazione indipendente degli alleli produce la ricombinazione,**

cioè la disposizione degli alleli in nuove combinazioni



Quindi da AaBb x AaBb ci aspettiamo in F2 una segregazione fenotipica di

9:	3:	3:	1
AB	**Ab**	**aB**	**ab**

e in un reincrocio….

Infatti se: **AaBb** X **aabb**

I gameti prodotti saranno:

AB (25%)

Ab (25%)

aB (25%)

ab (25%)

ab (100%)

e il risultato dell'incrocio:

GENOTIPO		**FENOTIPO**
AaBb	(25%)	AB
Aabb	(25%)	Ab
aaBb	(25%)	aB
aabb	(25%)	ab

In alcuni casi si osserva un comportamento differente:

AaBb (AB) X **aabb (ab)**

dall'incrocio si ottengono i fenotipi seguenti:

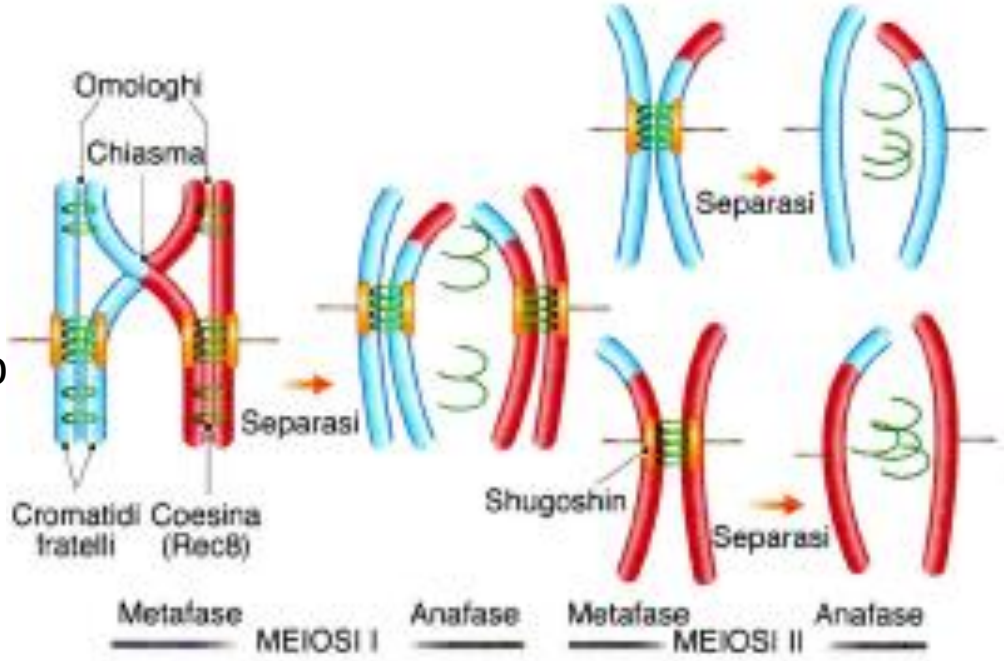
AB	50%
ab	50%
Ab	0%
aB	0%

il motivo di tale differenza è da imputare al fatto che i **geni A e B sono sullo stesso cromosoma**

- **Concatenazione completa però è una eccezione.**
- **Esempio il ♂ di drosofila**

Segregazione dei cromosomi in meiosi.

- Nei maschi di Drosophila **non avviene mai ricombinazione durante** la spermatogenesi.
- In essi **mancano completamente sia le sinapsi sia la ricombinazione.**
- Le frequenze di crossing-over meiotico sono essenzialmente zero per tutto il genoma, il che significa che non ci sono chiasmi a tenere uniti i bivalenti.



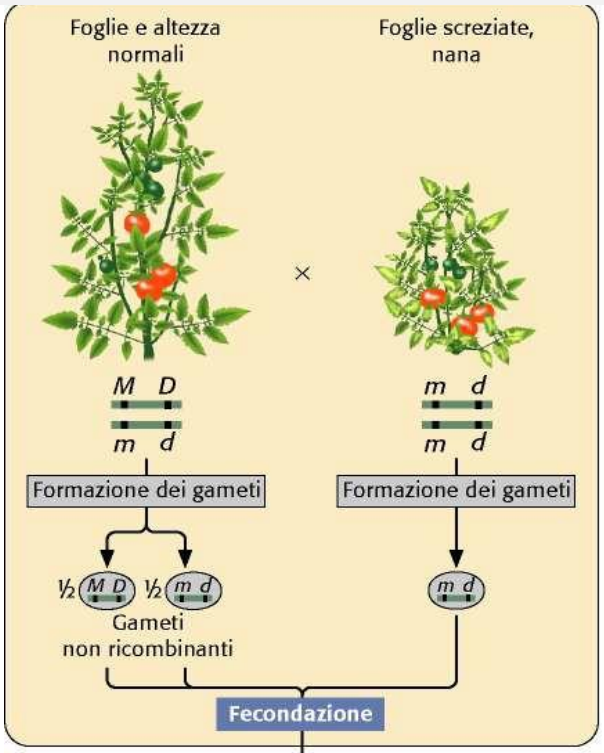
- Nei **maschi le proteine che mantengono le connessioni sono diverse** e almeno due, **SNM** (Stromalin in Meiosis**)** e **MNM** **(**Modifier of Mdg4 in Meiosis**)** **formano un "complesso di congiuzione"**
  - **questo si esprime solo nel maschio in meiosi I** e si localizza su tutte e quattro le coppie di cromosomi fino a **scomparire in anafase I.**
  - Si ipotizza che **la mancanza di ricombinazione nel maschio della Drosofila sia dovuta alla presenza di alti livelli di SNM che prevengono l'attività di fattori di ricombinazione.**

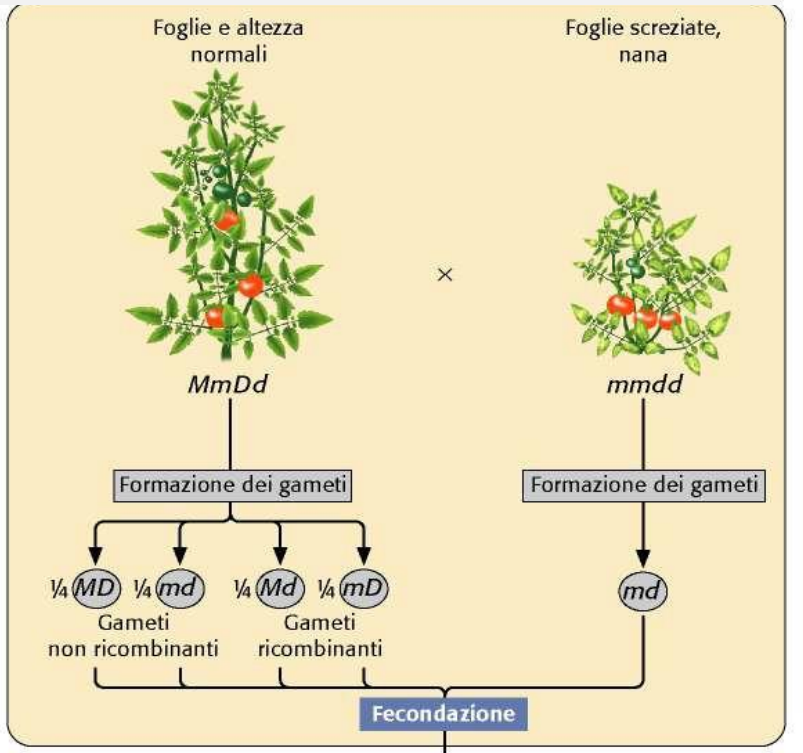
a)Geni che presentano associazione completa.

b) Geni ad assortimento indipendente

L'incrocio di prova

mostra gli effetti della associazione!





GENI INDIPENDENTI E GENI ASSOCIATI

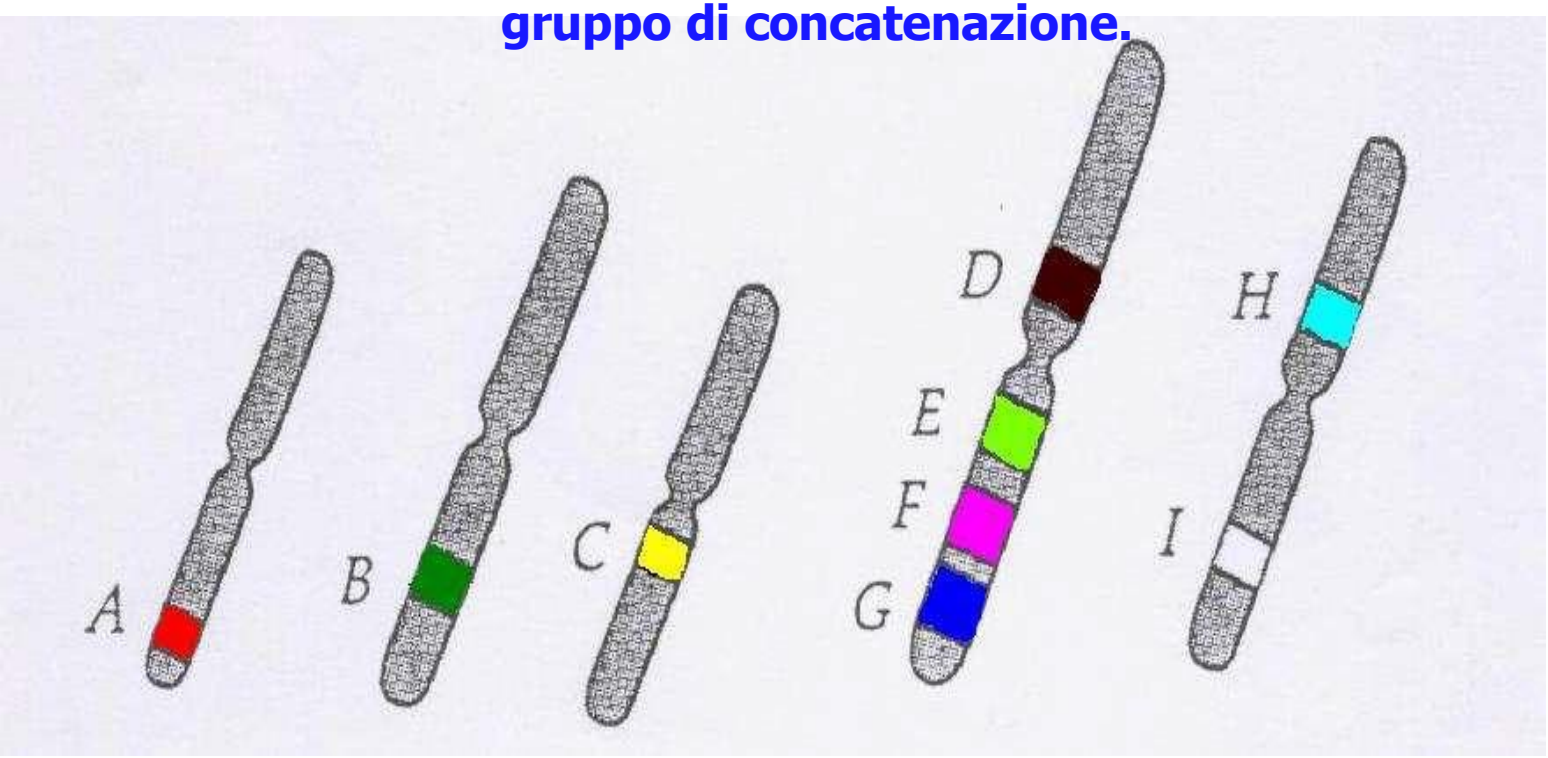
- Geni per i quali si verificano **le previsioni mendeliane sull'assortimento indipendente s**ono localizzati su cromosomi diversi e sono definiti **GENI INDIPENDENTI**

- Geni localizzati sullo stesso cromosoma, sono fisicamente uniti e si definiscono **GENI ASSOCIATI** o **GENI CONCATENATI** o **GENI IN LINKAGE**

  - **Due geni sono concatenati se**
    - non si trasmettono ciascuno in modo indipendente uno rispetto all'altro, cioè
    - **se sono localizzati sullo stesso cromosoma.**

Geni concatenati e gruppi di concatenazione

Geni localizzati sullo stesso cromosoma appartengono allo stesso **gruppo di concatenazione.**



A,B,C: Geni non concatenati

D,E,F,G: Geni dello stesso gruppo di concatenazione

H,I: Geni dello stesso gruppo di concatenazione

(A),(B),(C),(D-E-F-G), (H-I) : Gruppi di concatenazione

Associazione genica in cis e in trans

- Consideriamo i geni associati A e B in un doppio eterozigote.

  Sono possibili due diverse configurazioni:

---A------B---

---a------b---

---A------b---

---a------B---

In cis *(*con disposizione degli alleli in accoppiamento o coupling)

in trans (con disposizione in repulsione o repulsion)

*i gameti prodotti dal genitore eterozigote saranno:

½ AB e ½ ab ⟶ se la configurazione è in cis

½ Ab e ½ aB ⟶ se la configurazione è in trans

SIMBOLOGIA

Cis (accoppiamento**)** AB/ab

$$\frac{A \quad B}{a \quad b}$$

Trans (repulsione) Ab/aB

$$\frac{A \quad b}{a \quad B}$$

- Alleli situati sullo stesso cromosoma omologo NON sono separati da segni di interpunzione
- La barra trasversale separa i due cromosomi omologhi
- Alleli scritti nel MEDESIMO ordine su entrambi gli omologhi
- Quando l'associazione è ignota usare un punto centrale (A/a .· D/d)

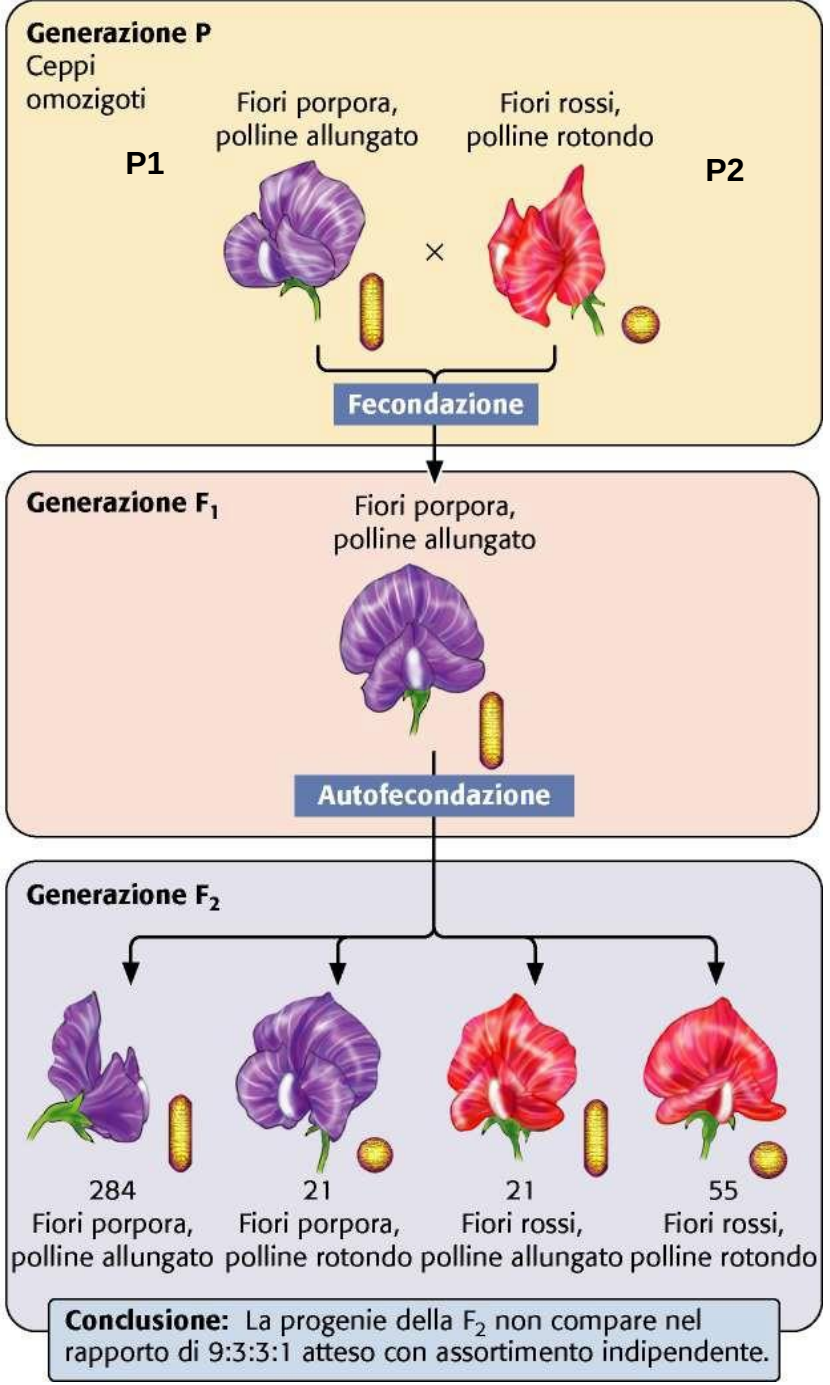
Geni associati, ma qualche ricombinante appare… Come possiamo spiegarlo?

Esperimento di Bateson e Punnett.

- **Geni →Caratteri:** Due geni che determinano

- il **colore del fiore** e la **forma del polline** sono disposti sullo stesso cromosoma.

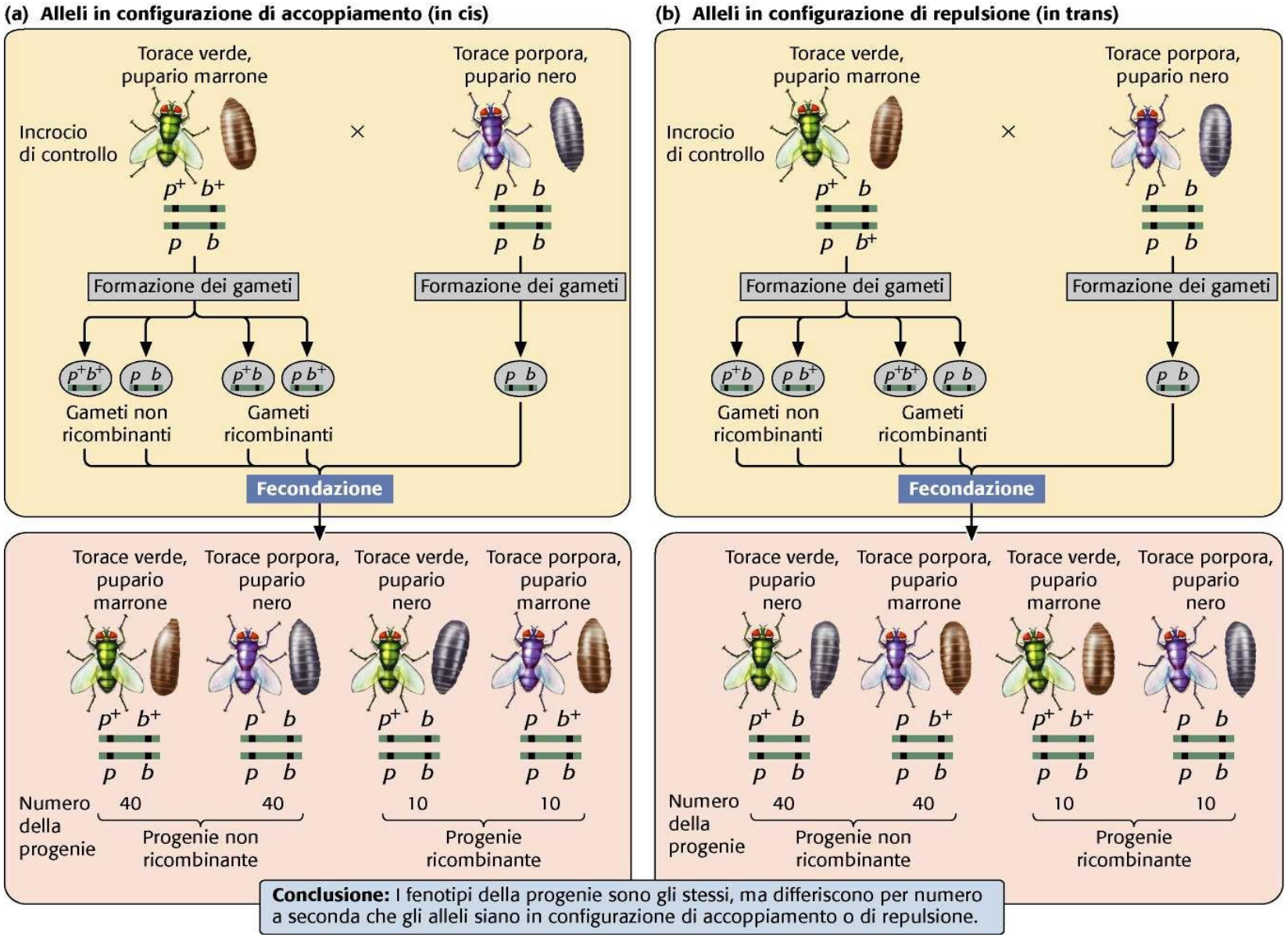
- Quindi la progenie tende a ereditare gli alleli della combinazione parentale (*PL* or *pl*).
- Per eventi di crossing over occasionali, una più bassa % della progenie eredita alleli in **combinazione non parentale (*Pl* or *pL*).**



AB > 9
Ab <3
aB <3
ab > 1

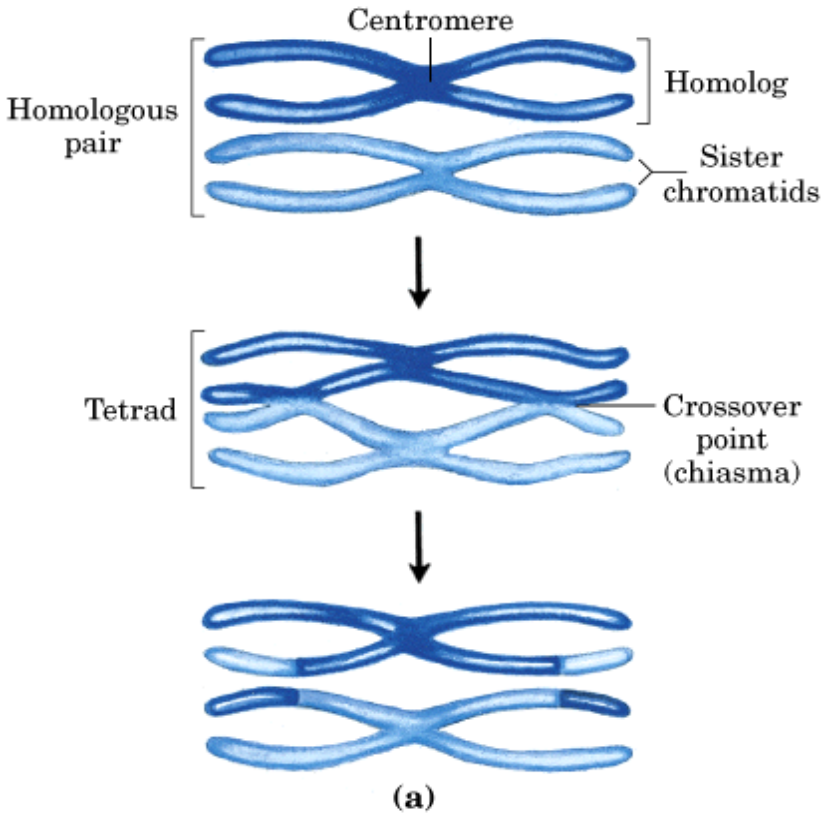
ma…

Evento che genera nuove combinazioni di alleli : ricombinazione genetica



Conclusione: I fenotipi della progenie sono gli stessi, ma differiscono per numero a seconda che gli alleli siano in configurazione di accoppiamento o di repulsione.

CROSSING OVER



- Il crossing over determina uno **scambio di materiale genetico.**
- Esso unisce effettivamente i quattro cromatidi omologhi ed è essenziale per l'adeguata segregazione dei cromosomi nelle successive divisioni meiotiche.
- Non si tratta di un processo interamente casuale (infatti esistono degli "hot spot" disseminati lungo i cromosomi)
- **La frequenza di ricombinazione** in una regione che separa due punti di un cromosoma è **proporzionale alla distanza tra i due punti:**
- Ciò permette la determinazione della posizione relativa e della distanza tra differenti geni.

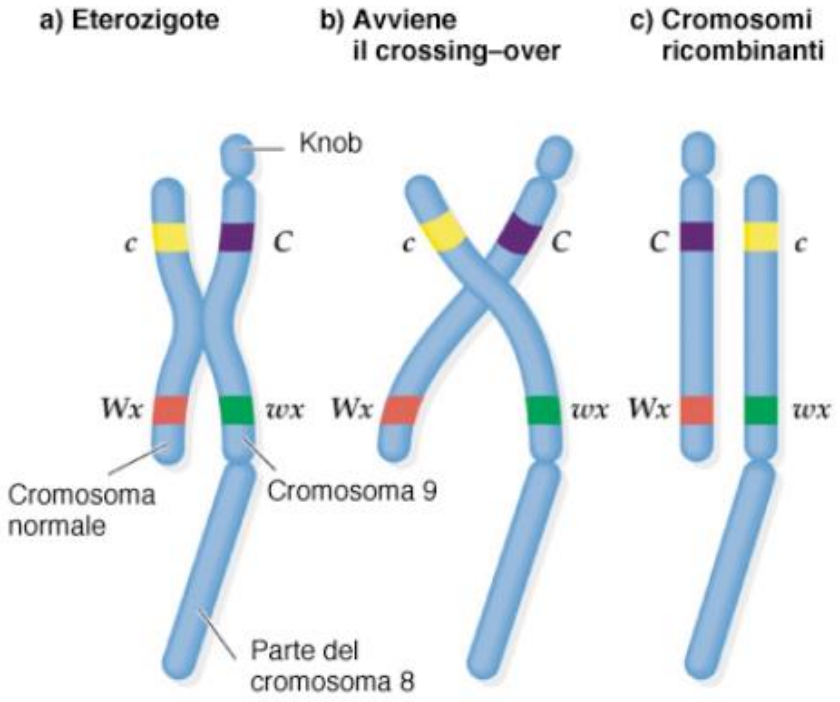
Creighton e McClintock (1931)



Barbara McClintock e Harriet Creighton

Figura 13.3

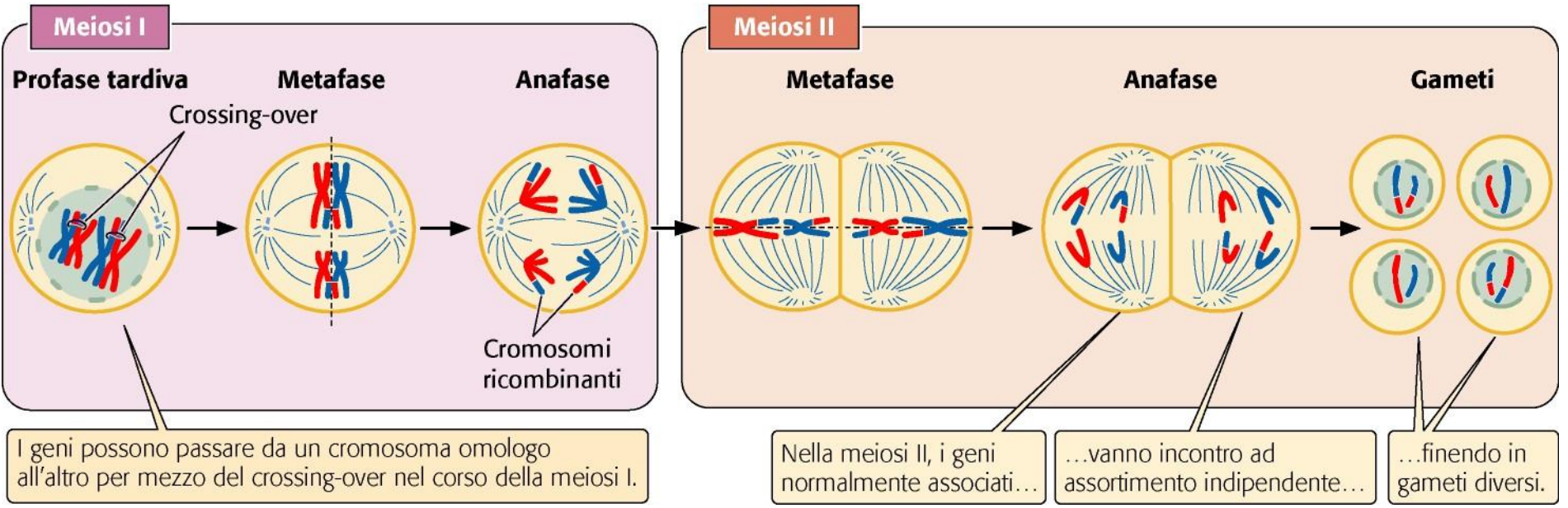
Dimostrazione dell'associazione tra ricombinazione genica e scambio cromosomico nel granturco. (**a**) Costituzione fisica e genetica dei due cromosomi nell'eterozigote; (**b**) avviene il crossing–over; (**c**) costituzione fisica e genetica dei cromosomi ricombinanti.



C: seme colorato, c: non colorato
Wx: amido normale, wx: amido waxy

- **Durante la meiosi avvengono realmente degli scambi fisici tra cromosomi omologhi:**
- c'è correlazione tra gli eventi citologici con quelli genetici

Per uomo 25.000 geni e solamente 23 cromosomi: il crossing-over garantisce la variabilità genetica



Associazione di geni

Principi base

ASSOCIAZIONE: tendenza di due o più geni ad essere ereditati insieme perché ubicati sullo stesso cromosoma.

RICOMBINAZIONE: formazione di gameti da parte dell'ibrido con combinazioni di geni diverse da quelle presenti nei gameti parentali.

Riconsiderando il doppio eterozigote AaBb questo produrrà gameti:

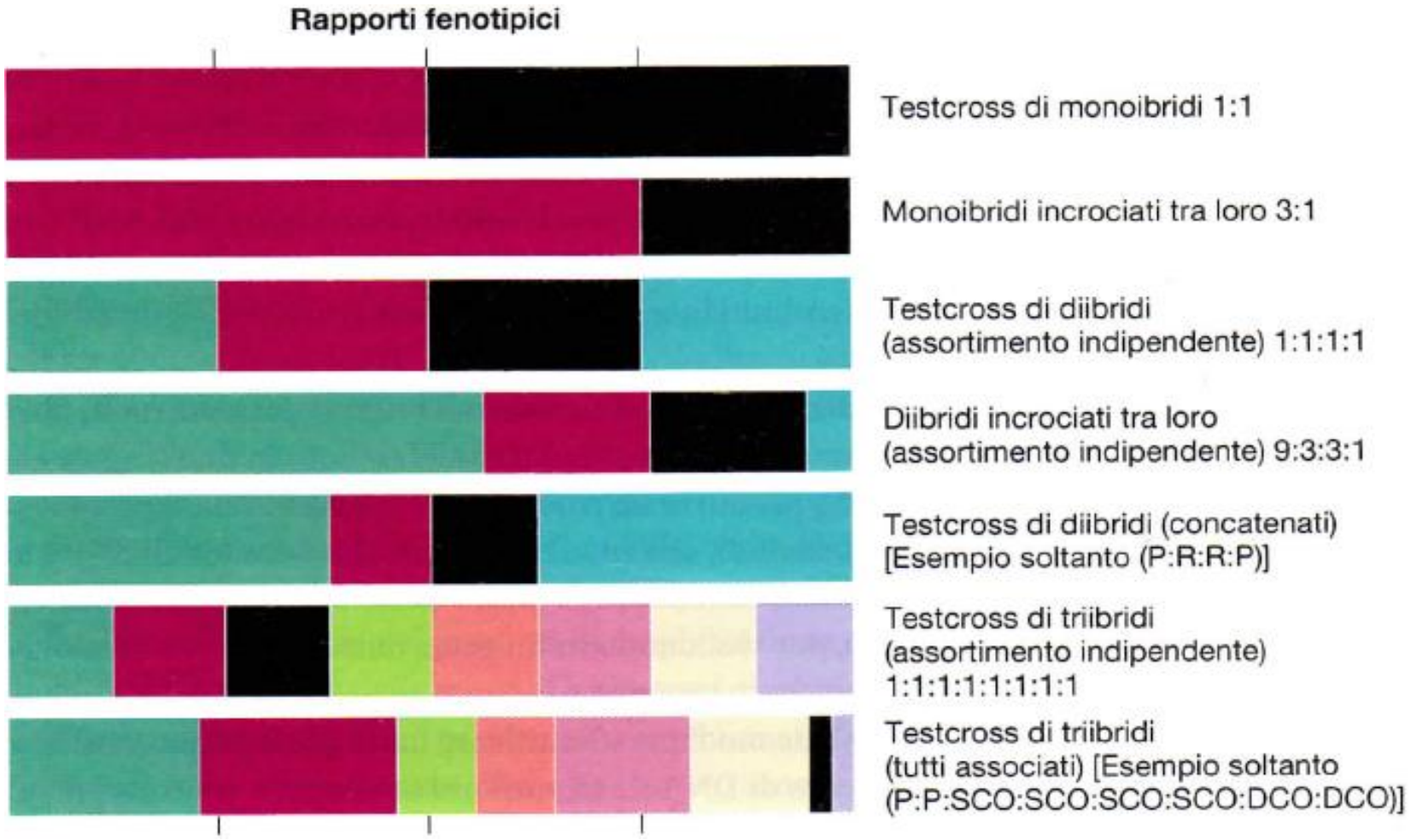
AB
Ab
aB
ab

così come si potevano prevedere in base ad un assortimento indipendente dei geni, ma le % (frequenze) saranno significativamente diverse.

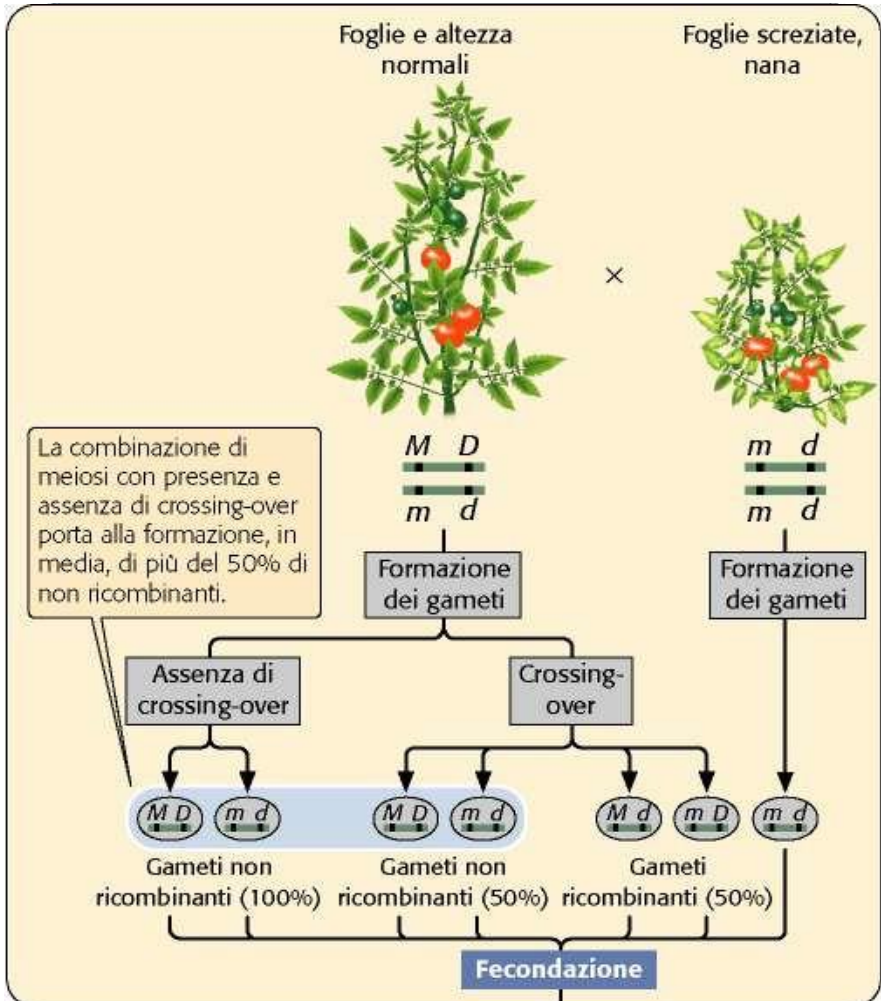
In F2	
cis	trans
$\frac{A\ B}{a\ b} \times \frac{A\ B}{a\ b}$	$\frac{A\ b}{a\ B} \times \frac{A\ b}{a\ B}$
AB>9	AB<9
Ab<3	Ab>3
aB<3	aB>3
ab>1	ab<1

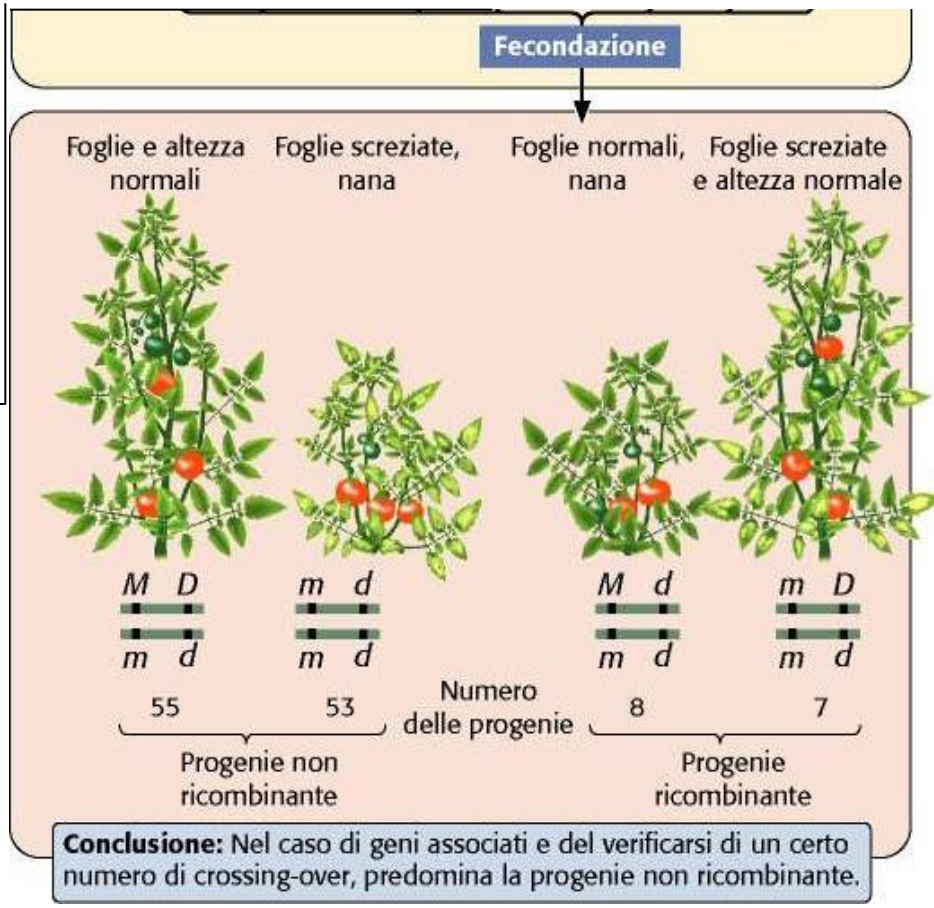
- L' **assetto originale degli alleli** viene detto **COMBINAZIONE PARENTALE**
- Il nuovo assetto (conseguente al crossing-over) è detto **COMBINAZIONE RICOMBINANTE**.

I rapporti fenotipici della progenie rivelano il tipo di incrocio.



Caso pratico:





Frequenza di ricombinazione

$$FR = \frac{\text{progenie ricombinante}}{\text{totale progenie}} \times 100$$

$$\frac{8+7}{55+53+8+7} \times 100 = 12 \ (12\%)$$

Frequenza di ricombinazione

- 50% geni non associati
- < 50% geni associati (associazione incompleta)
- 0% associazione completa

Calcoliamo il chi-quadrato

(ne dobbiamo calcolare 3)

Progenie totale: 55+53+8+7=123

Analisi dei rapporti in ciascun locus per stabilire se i valori osservati differiscono dagli attesi

Locus 1 (***M***). Ci si aspetta che *Mm* x *mm* generi 50% foglie normali e 50% foglie screziate, pertanto 62 Mm e 62 mm
Ne osserviamo 63 *M_* e 60 *mm*
Chi-quadro= 0.08, per cui > 50% di probabilità di sbagliare rigettando l'ipotesi nulla -> le differenze sono dovute al caso

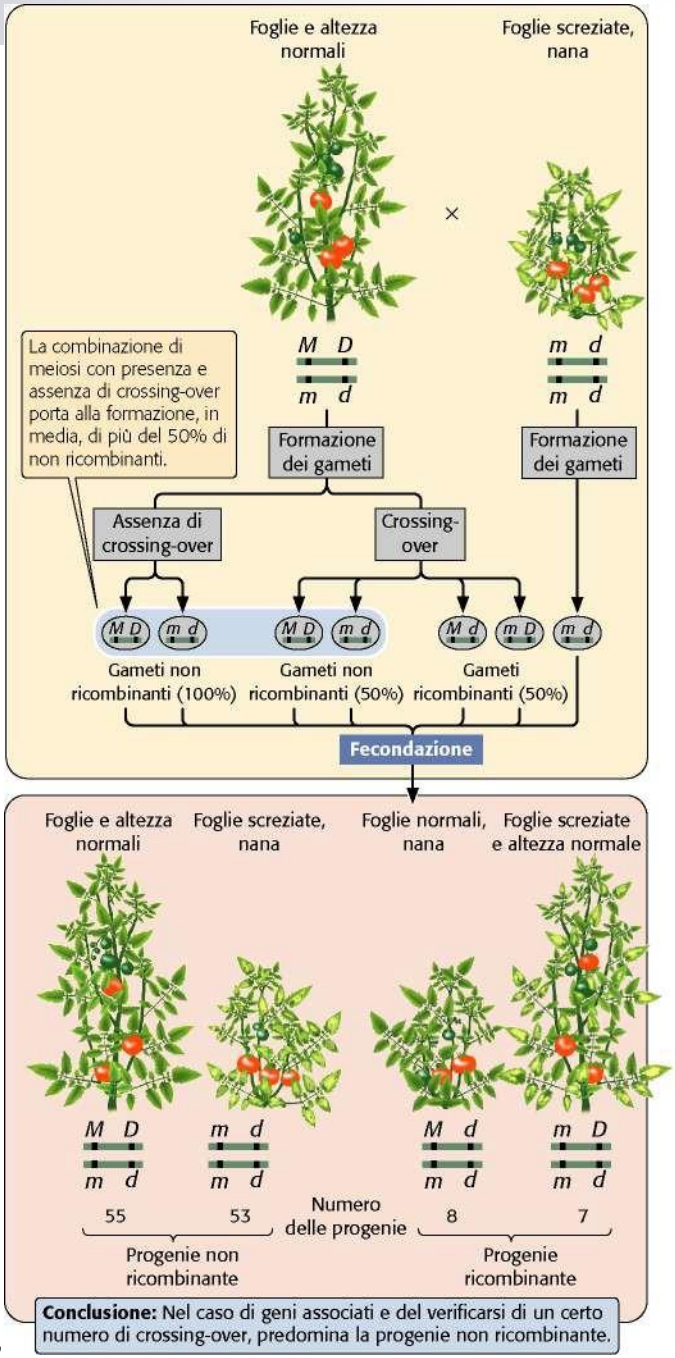
Locus 2 (***D***). Ci si aspetta che *Dd* x *dd* generi 50% piante normali e 50% piante nane, pertanto 62 D_ e 62 dd
Ne osserviamo 62 D_ e 61 dd
Chi-quadro= 0.08, per cui > 50% di probabilità di sbagliare rigettando l'ipotesi nulla -> le differenze sono dovute al caso

Ipotizziamo quindi assortimento indipendente dei due loci, e calcoliamo gli attesi con la regola del prodotto:

MmDd = ½ * ½ = ¼ = 31 (123*1/4) attesi, 55 osservati

mmdd = 31 attesi, 53 osservati
Mmdd = 31 attesi, 8 osservati
mmDd = 31 attesi, 7 osservati

➢ Chi quadro (4 classi fenotipiche, 3 gradi di libertà) = ~ 70!!!
< 1% di probabilità di sbagliare rigettando l'ipotesi nulla -> **le differenze NON sono dovute al caso!**

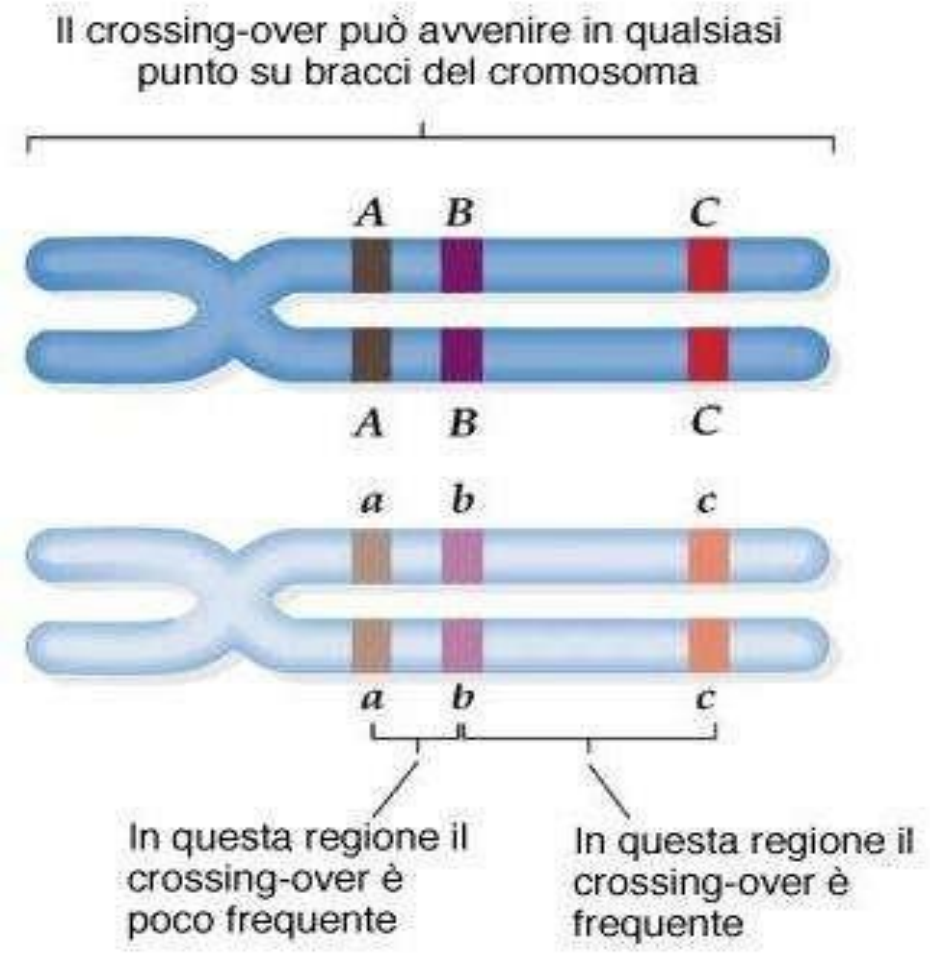


Pierce, GENETICA.

Valori critici della distribuzione de! Chi-quadrato

Gradi di libertil	Probabilità di un valore del chi-quadrato per caso								
	0,995	0,975	0,9	0,5	0,1	**0,05**	**0,025**	0,01	0,005
l	0,000	0,001	0,016	0,455	2,706	3,&41	5,024	6,635	7,879
2	0,010	0,051	0,211	1,386	4,605	5,991	7,378	9,210	10,597
3	0,072	0,216	0,5&4	2,366	6,251	7,815	9,348	11,345	12,838
4	0207	0.4&4	1.064	3.357	7.779	9.488	11.143	13277	14860
5	0.412	0.831	1.610	4.351	9236	11.070	12.833	15.086	16750
6	0.676	1237	2204	5.348	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0,989	1,690	2,833	6,346	12,017	14,067	16,013	18,475	20,278
8	1,344	2,180	3,490	7,344	13,362	15,507	17,535	20,090	21,955
9	1,735	2,700	4,168	8,343	14,6&4	16,919	19,023	21,666	23,589
10	2,156	3247	4,865	9,342	15,987	18,307	20,483	23209	25,188
11	2,603	3,816	5,578	10,341	17275	19,675	21,920	24,725	26,757
12	3074	4.404	6.304	11.340	18.549	21.026	23.337	26217	28.300
13	3.565	5.009	7042	12.340	19.812	22.362	24736	27.688	29.819
14	4075	5.629	7.790	13.339	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4,601	6,262	8,547	14,339	22,307	24,996	27,488	30,578	32,801
16	5,142	6,908	9,312	15,338	23,542	26,296	28,&45	32,000	34267
17	5,697	7,564	10085	16,338	24,769	27,587	30,191	33,409	35,718
18	6,265	8231	10,865	17,338	25,989	28,869	31,526	34,805	37,156
19	6.844	8.907	11.651	18.338	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582
20	7.434	9.591	12.443	19.337	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8034	10283	13240	20.337	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401
22	8.643	10.982	14041	21.337	30.813	33.924	36781	40289	42.796
23	9,260	11,689	14,&48	22,337	32,007	35,172	38,076	41,638	44,181
24	9,886	12,401	15,659	23,337	33,196	36,415	39,364	42,980	45,559
25	10,520	13,120	16,473	24,337	34,382	37,652	40,646	44,314	46,928
30	13,787	16,791	20,599	29,336	40256	43773	46,979	50,892	53,672
35	17.192	20.569	24797	34.336	46059	49.802	53203	57.342	60275
40	20707	24.433	29051	39.335	51.805	55758	59.342	63.691	66766
50	27.991	32.357	37.689	49.335	63.167	67.505	71.420	76.154	79.490

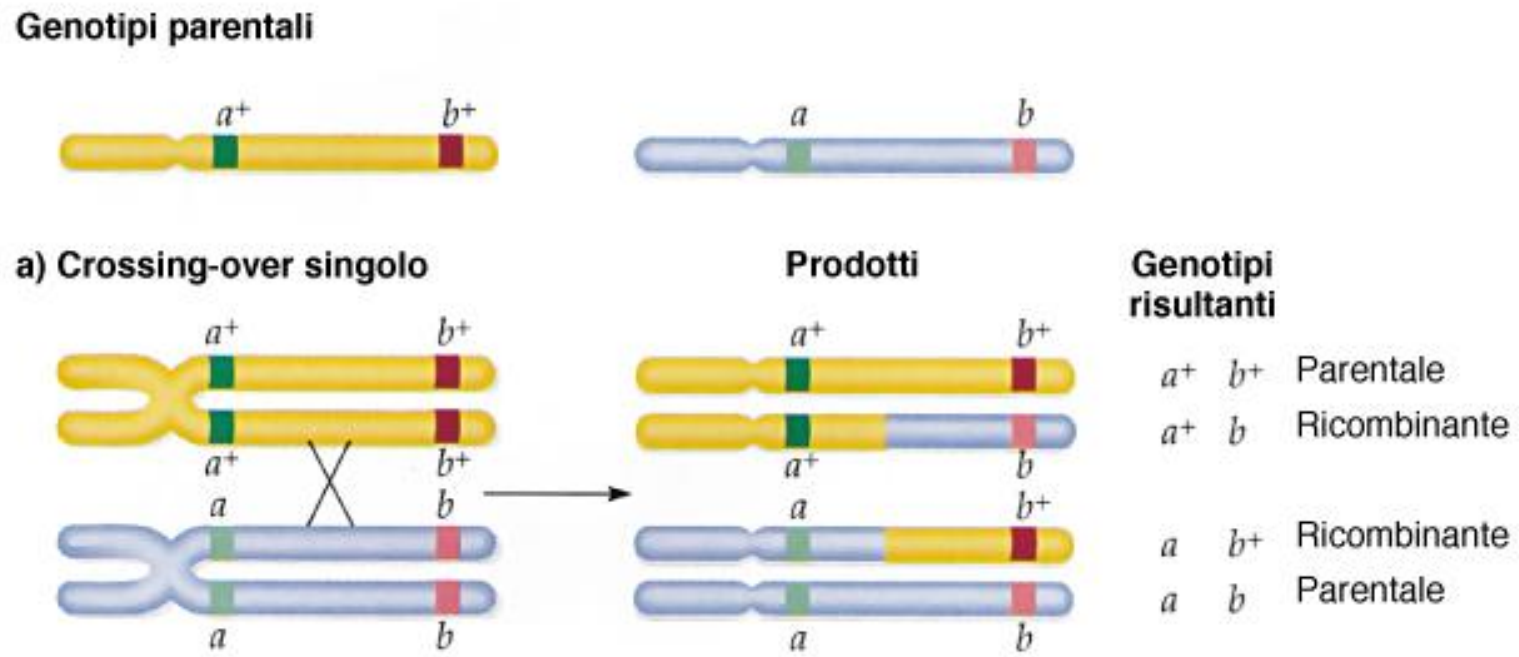
- **Quanto più due loci sullo stesso cromosoma sono distanti,**
  - **tanto più alta e la probabilità che si abbia il crossing-over** e
  - quindi il conseguente aumento del numero dei ricombinanti.



Su questo principio si basano le **MAPPE DI ASSOCIAZIONE o MAPPE GENICHE.**

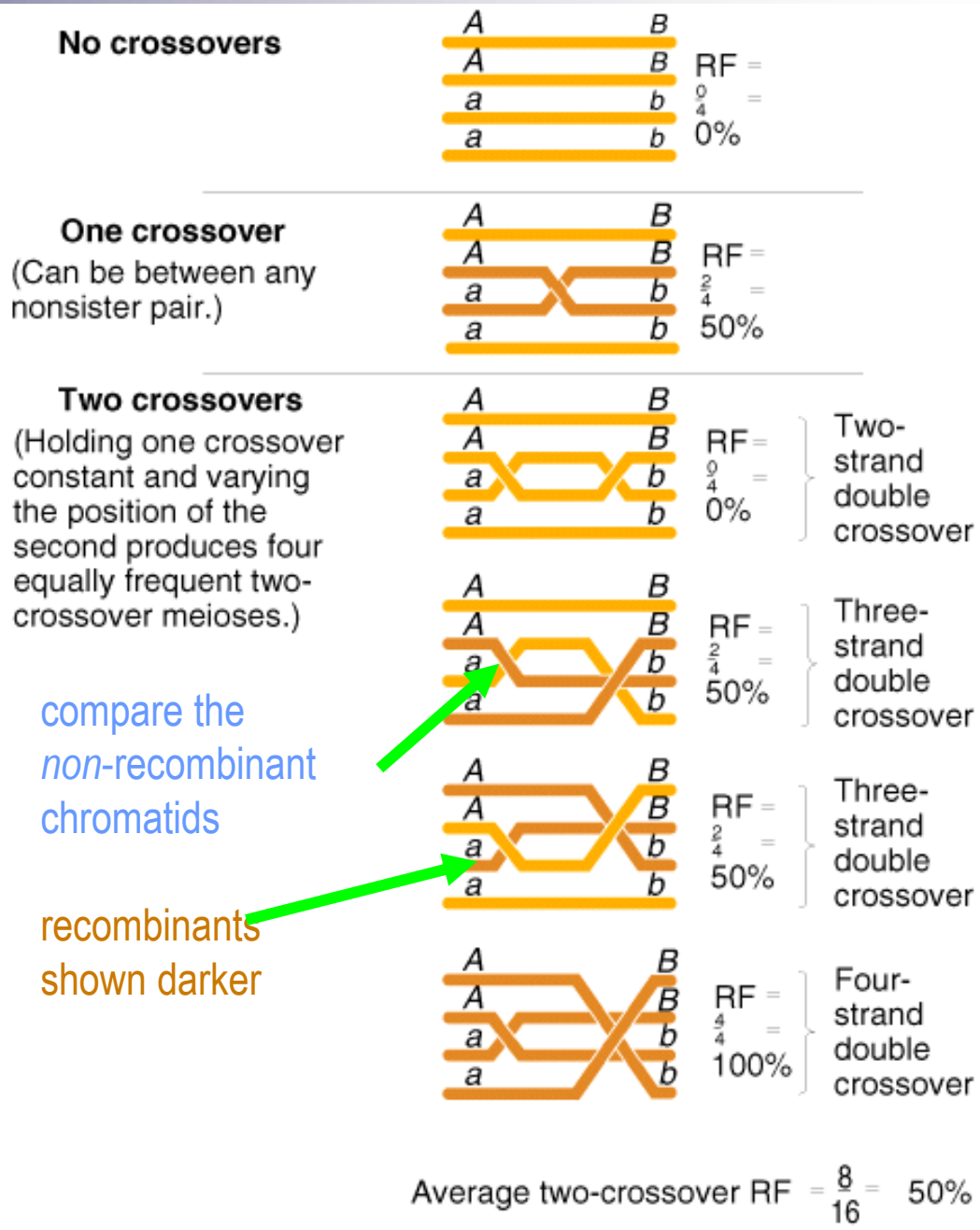
Se tutti i cromosomi subiscono crossing-over alla meiosi, la frequenza di ricombinazione è del 50%

- Cioè la stessa frequenza che si osserva se i geni sono indipendenti



La frequenza di ricombinazione è metà della frequenza di crossing over

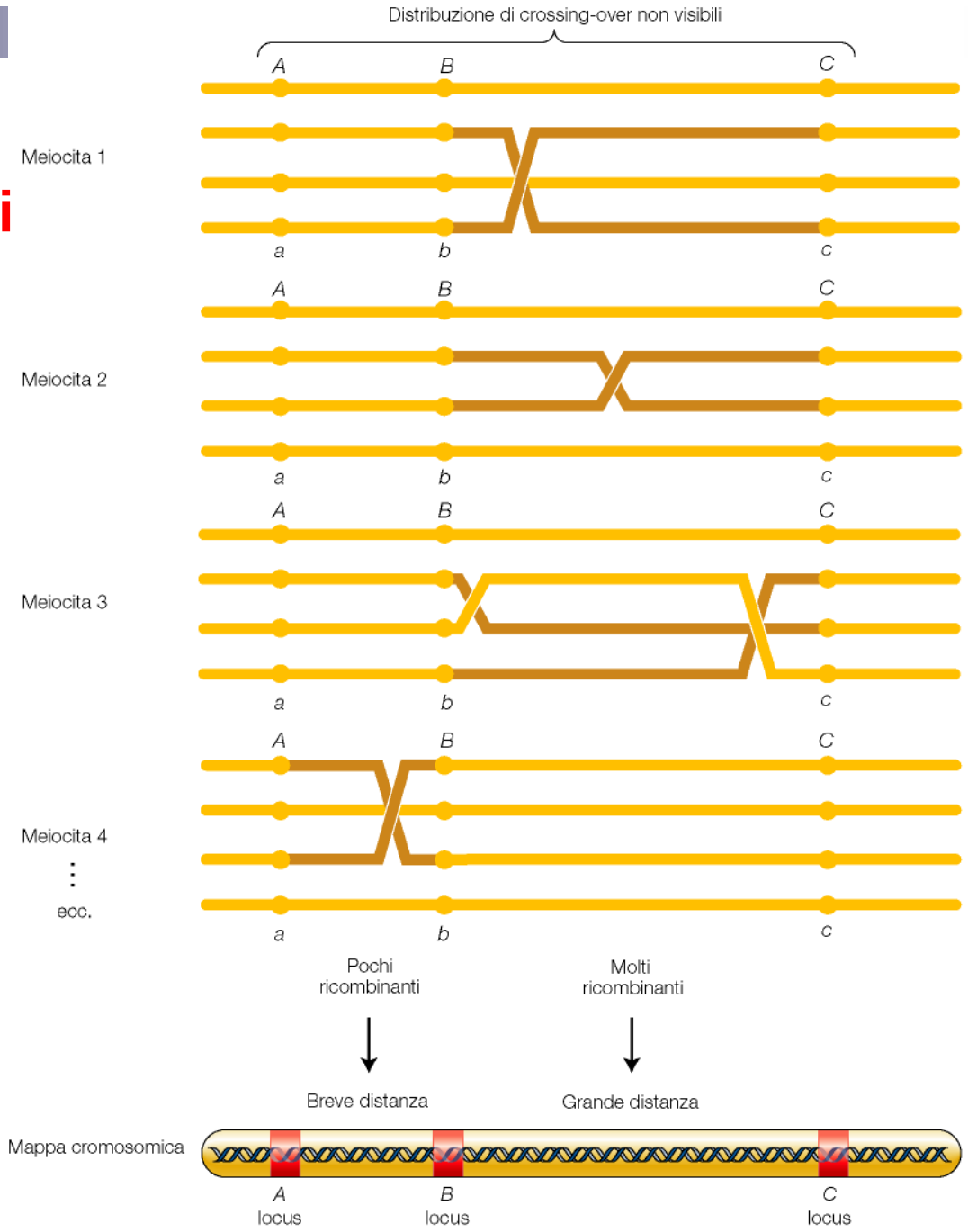
- meioses with 0 crossovers → RF of 0%
- meioses with > 0 crossovers → RF of 50%



Mappatura dei geni per mezzo delle frequenze di ricombinazione

- Morgan sviluppò il concetto che le distanze fisiche fra geni presenti sul un cromosoma sono correlate alle frequenze di ricombinazione

- Se i crossing-over avvengono in maniera casuale lungo il cromosoma,
- **maggiore è la distanza fra due geni e maggiore è la probabilità che vadano incontro a tale fenomeno**

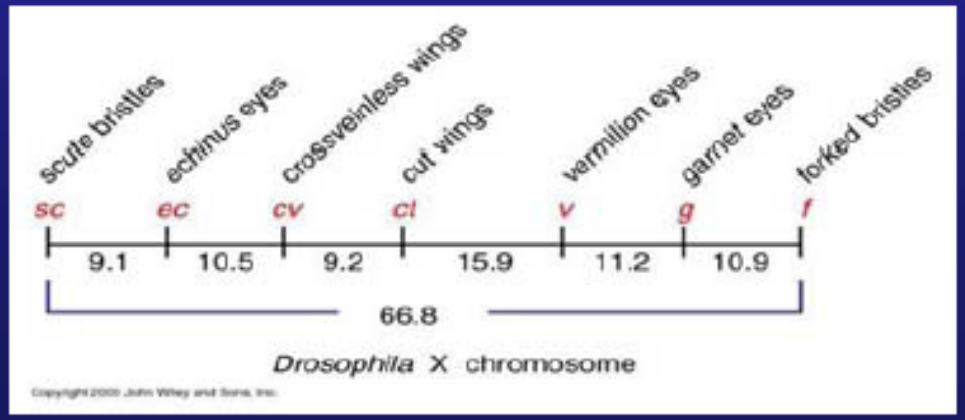


Unità di ricombinazione

È l'espressione della frequenza di ricombinazione assunta come misura della distanza tra geni lungo il cromosoma.

Viene espressa in centiMorgan (cM):

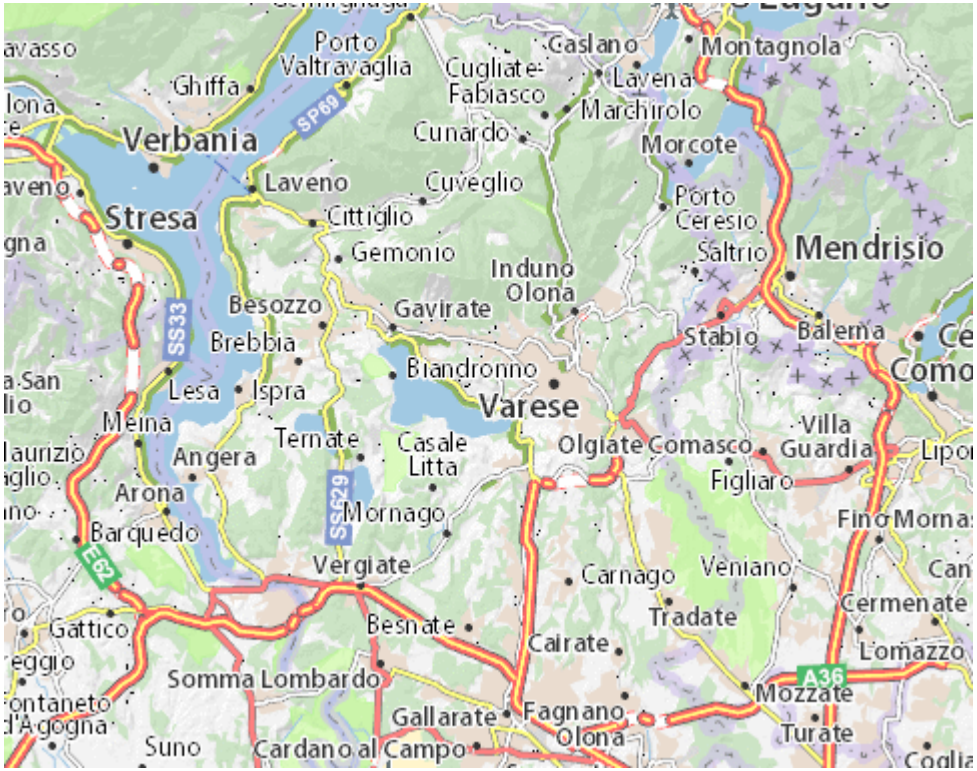
È pari ad una distanza tra geni che fa ottenere 1 gamete ricombinante (portatore di un cromosoma crossover) ogni 100 prodotti della meiosi.



MAPPE DI ASSOCIAZIONE o MAPPE GENICHE

- Mappare: identificare le relazioni tra geni sui cromosomi
  - Proprio come una mappa stradale mostra le distanze tra città su una strada:

    mappa fine
- Due tipi of mappatura:
- genetica
- fisica



Perchè mappare?

1. La **posizione dei geni è un'informazione** cruciale per costruire *genotipi complessi* necessari per scopi sperimentali o per applicazioni commerciali
2. La conoscenza della posizione occupata da un gene fornisce uno strumento per **individuare la sua *struttura e funzione*.**

- La **posizione di un gene può essere utilizzata** per **definirlo a livello del DNA,** e a sua volta la **sequenza del DNA del gene selvatico o del suo allele mutante costituisce l'elemento chiave per dedurne la funzione.**

3. I geni presenti e la loro disposizione sui cromosomi sono spesso leggermente diversi in specie correlate.

- Per esempio, il cromosoma 2 è piuttosto lungo nell'uomo, mentre nelle scimmie antropomorfe è diviso in due cromosomi più piccoli.
- Confrontando tali differenze, i genetisti possono dedurre i meccanismi genetici evolutivi attraverso i quali si è verificata la divergenza tra questi genomi.
- Quindi, le mappe cromosomiche sono **utili anche per interpretare i meccanismi dell'evoluzione.**

Come si misura la distanza tra due geni associati ?

…… **si misura in unità di mappa**

- **Unità di mappa**: distanza tra due geni che fa ottenere un gamete ricombinante (portatore di un cromosoma crossover) ogni 100 gameti

- in onore a T.H. Morgan:
  - **1 unità di mappa = 1 centiMorgan (cM)**
  - 1cM equivale alla distanza tra due geni che dà una frequenza di ricombinazione dell'1%
  - **1M = 100cM**

- la **distanza di mappa è quindi uguale alla frequenza di ricombinazione scritta come percentuale**

- **NB: la distanza di mappa non è una distanza fisica ma genetica**

COSTRUZIONE DI UNA MAPPA GENICA

- **MAPPATURA FISICA**: localizza i geni sui cromosomi dando una posizione espressa con **misure fisiche reali**, cioè il numero di **paia di basi (bp).**
  - **a bassa risoluzione**: permette di posizionare un gene su un cromosoma o in una regione del cromosoma;
  - **ad alta risoluzione**: localizza i geni con una precisione fino al singolo nucleotide.

- **MAPPATURA GENETICA: usa un metodo detto ANALISI DI LINKAGE** e fornisce informazioni sulla distanza genetica basata sulla **misura della frequenza c**on cui avviene la **ricombinazione** tra due geni durante la meiosi.
  - Viene misurata in **centimorgan (cM).**

- **LINKAGE** = ASSOCIAZIONE, cioè tendenza di geni vicini su uno stesso cromosoma ad essere trasmessi (ereditati) insieme durante la meiosi.

Incrocio di prova a 2 punti

(Incrocio di controllo tra due geni)

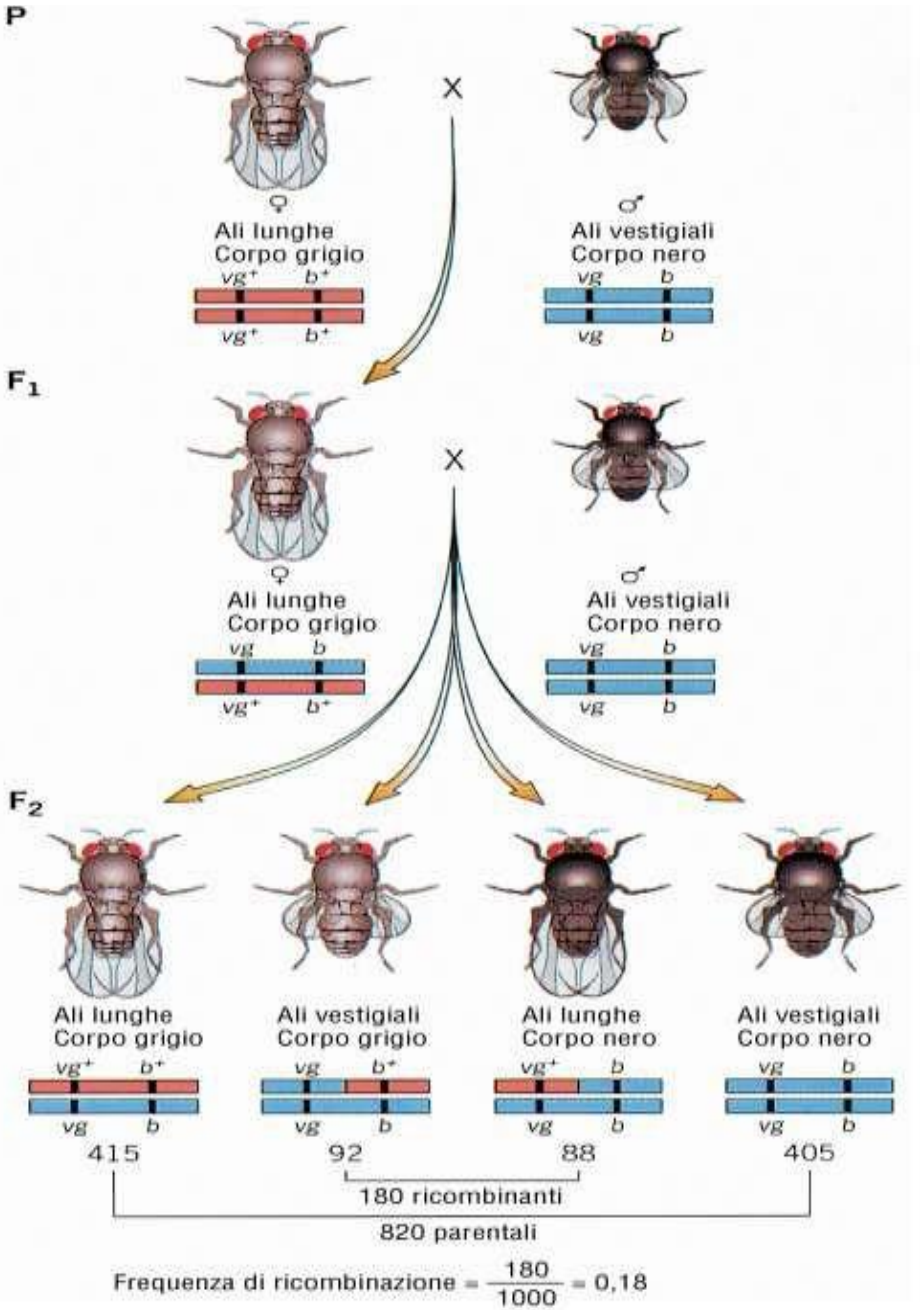


Figura 8.12 Un esperimento che coinvolge due geni associati, *vg* (ali *vestigial*, vestigiali) e *b* (corpo *black*, nero) in *Drosophila*.

FREQUENZA DI RICOMBINAZIONE

$$FR = \frac{\text{Progenie RICOMBINANTE}}{\text{Totale progenie}} \times 100$$

Esempio: n° progenie con i seguenti fenotipi

AB n° 85

ab n° 79

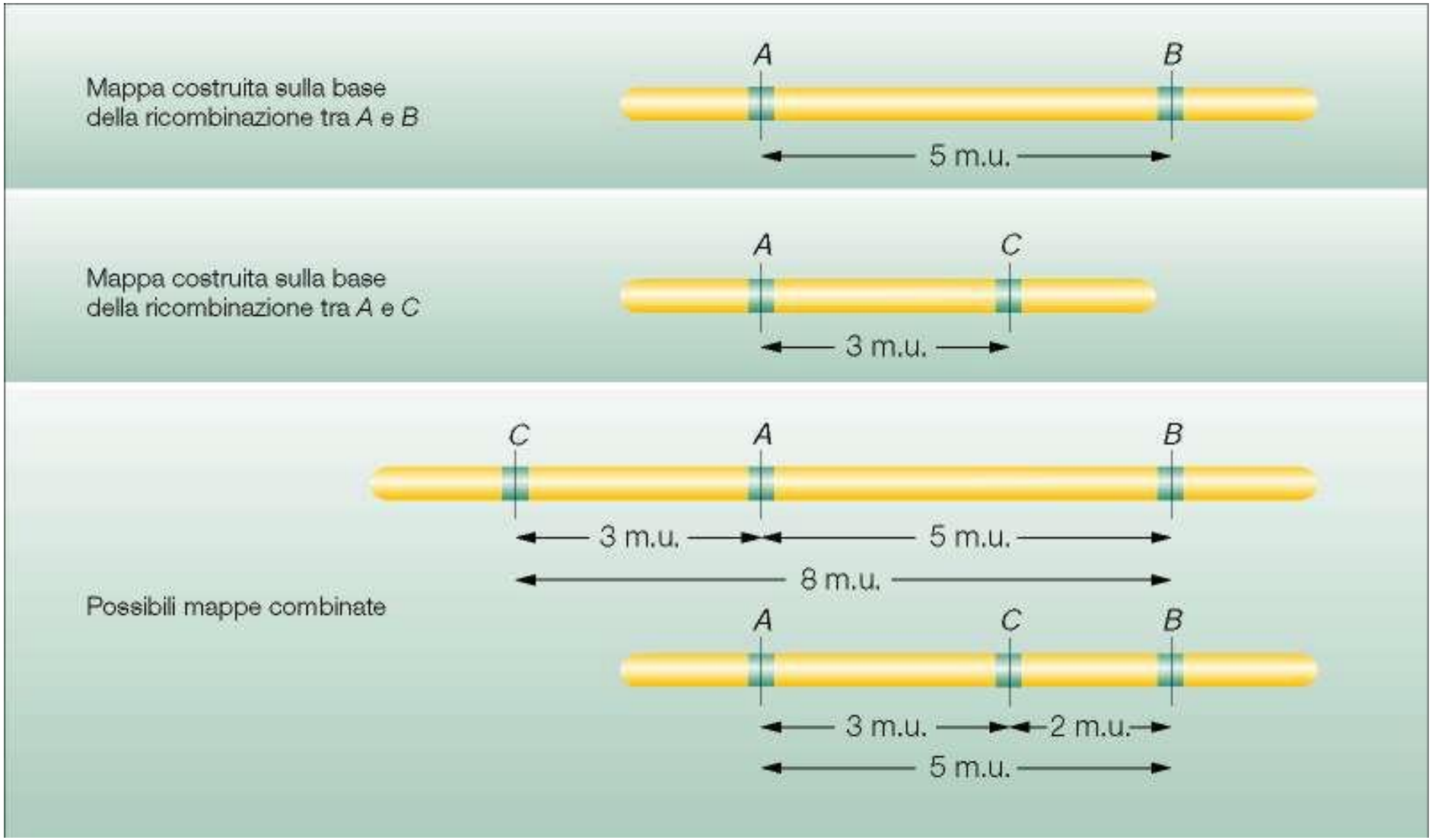
Ab n° 12

aB n° 10

frequenza di ricombinazione = $\frac{22}{186} \times 100 = 11{,}8\ \%$

I geni A e B distano 11,8 cM

Le distanze di mappa sono additive
(ma in modo approssimato!)



Griffiths et al., GENETICA 6/E, Zanichelli Editore S.p.A. Copyright © 2006

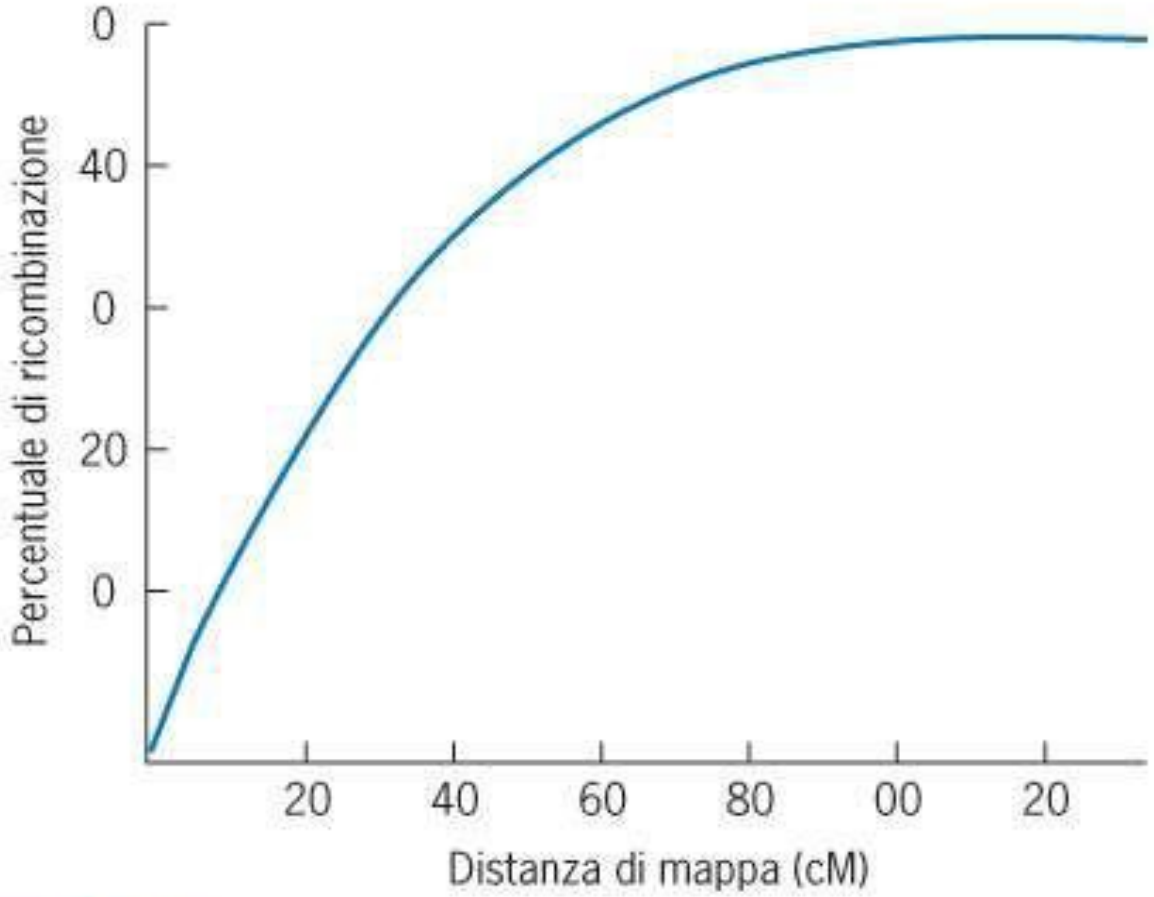


Figura 7.18 ■ Relazione tra la frequenza di ricombinazione e la distanza di mappa genetica. Per valori minori di 20 cM, c'è una relazione approssimativamente lineare tra la percentuale di ricombinazione e la distanza di mappa; per valori più grandi di 20 cM, la percentuale di ricombinazione fa sottostimare la distanza di mappa.

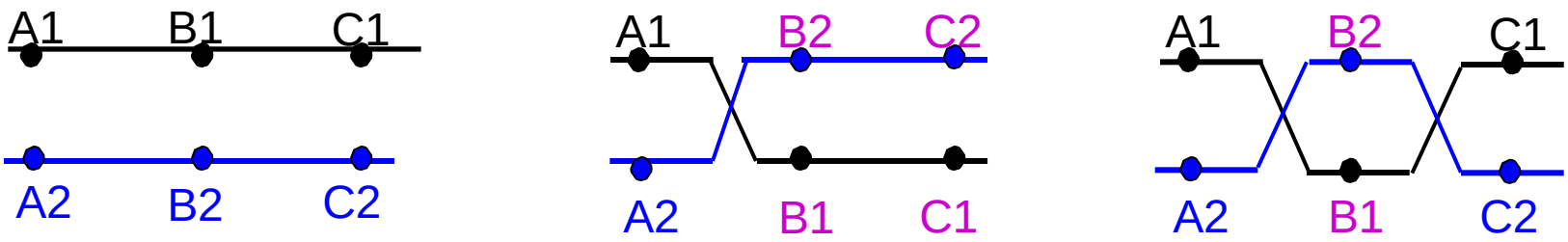
DISTANZA GENETICA

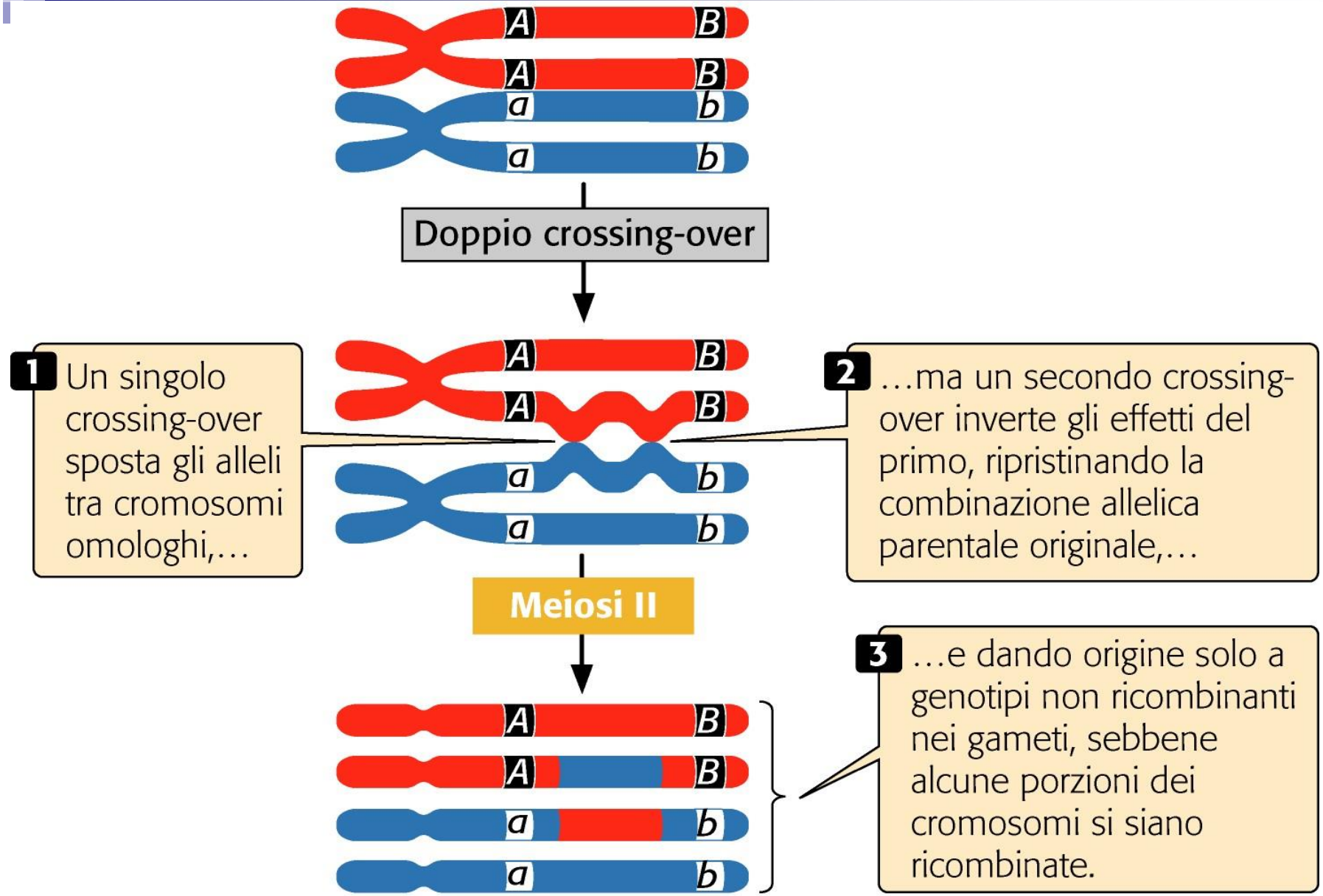
(numero atteso di crossing-over fra 2 loci, per meiosi)

•L'unità di misura della distanza genetica è il **centiMorgan** (**cM**)
1 Morgan = 100 cM

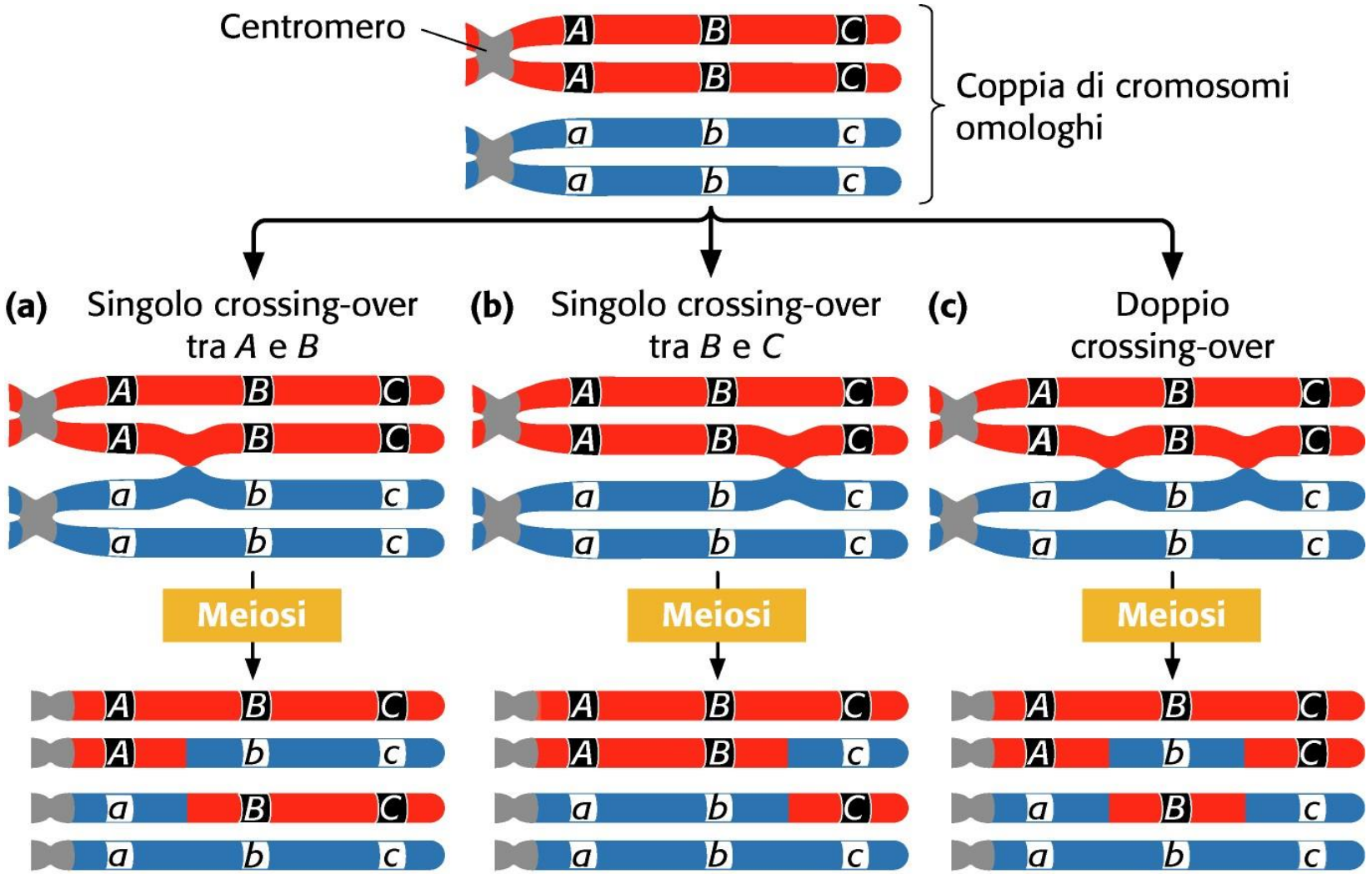
•Le frequenze di ricombinazione fra **loci piuttosto distanti non sono additive** (a causa dell'effetto dei crossing-over multipli)

• I doppi crossing-over tra i 2 geni esterni non vengono rivelati, provocando una **sottostima della distanza di mappa reale**





Pierce, GENETICA, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2005



Conclusione: I cromosomi ricombinanti derivanti da doppio crossing-over presentano una variazione solo a livello del gene intermedio.

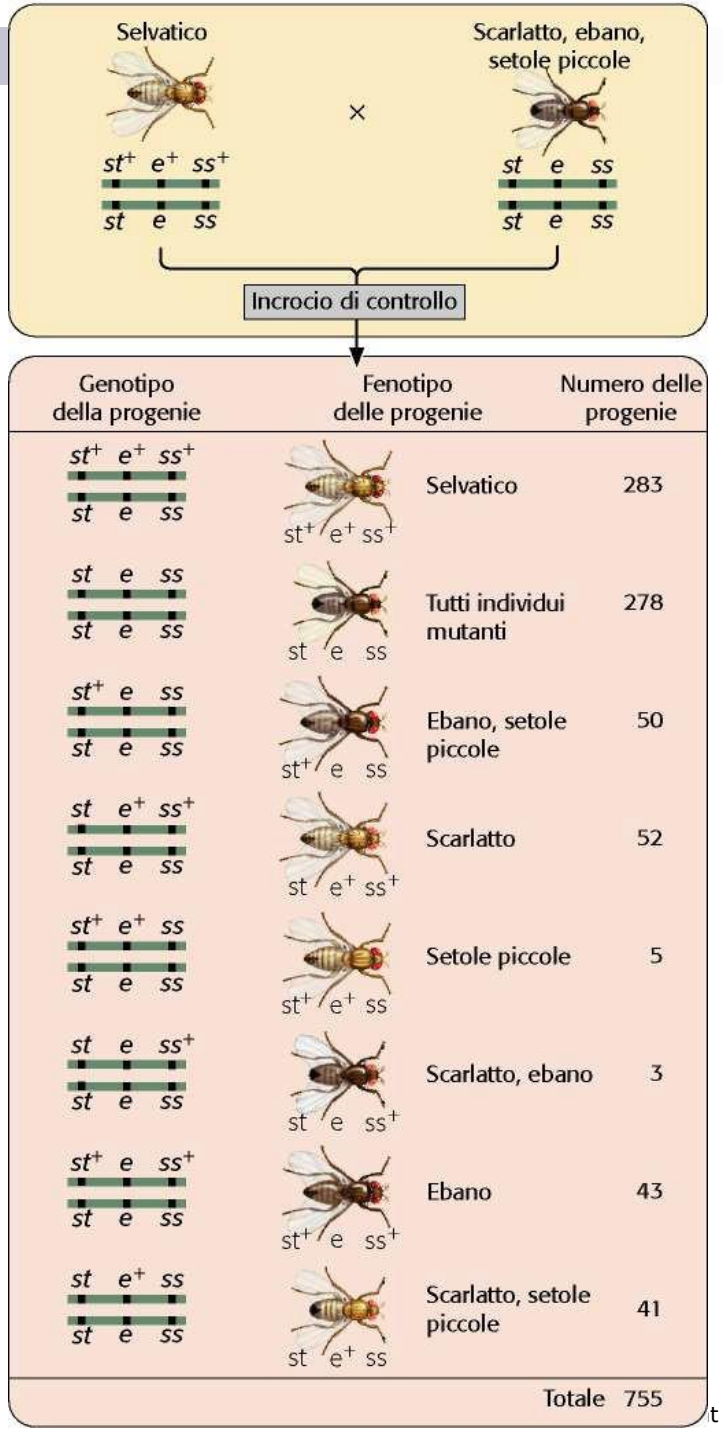
Pierce, GENETICA, Zanichelli editore S.p.A. Copyright © 2005

Incrocio di controllo a 3 punti

- ***st+*** (occhi rossi) dominante su *st* (occhi scarlatti)
- ***e+*** corpo grigio) dominante su ***e*** (corpo ebano)
- ***ss+*** (setole normali) dominante su ***ss*** (setole piccole)

- 8 classi distinguibili fenotipicamente:
  - 2 parentali
  - 6 ricombinanti!

- **Determinare l'ordine dei geni e la loro distanza**



t © 2005

Per mappare i geni, dobbiamo determinarne l'ordine sul cromosoma e le relative distanze genetiche

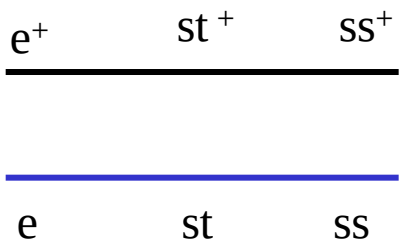
- **Si prende un individuo eterozigote per i 3 caratteri e si effettua un incrocio di controllo**
- Per ciascun locus vengono generate due classi di progenie: una eterozigote e una omozigote recessiva.
  Pertanto, 2 classi per locus, per 3 loci = 8 classi ($2^3 = 8$)

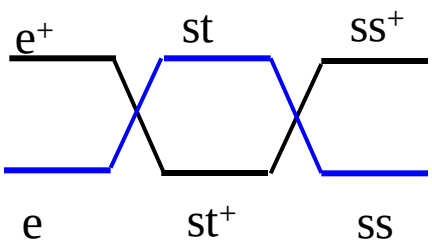
- **I crossing-over sono evidenziabili solo nei gameti dell'eterozigote**, le informazioni di cui abbiamo bisogno per la mappatura derivano perciò unicamente dai suoi gameti

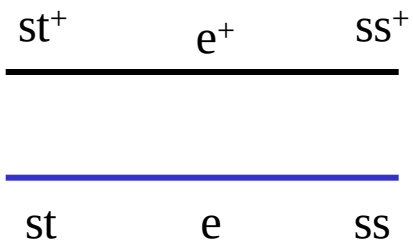
1. Determinare la progenie dei non ricombinanti (2 classi più numerose)
2. Identificare progenie da doppio crossing-over (2 classi meno numerose
3. Disegnare i cromosomi del parentale eterozigote in tutte e tre le possibili combinazioni, e osservare se un doppio crossing-over produce la combinazione riscontrata nella progenie del doppio crossing-over

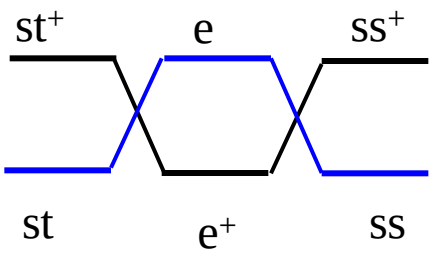
Dato che i doppi ricombinanti sono ***st⁺ e⁺ ss*** ***ed*** ***st e ss+***

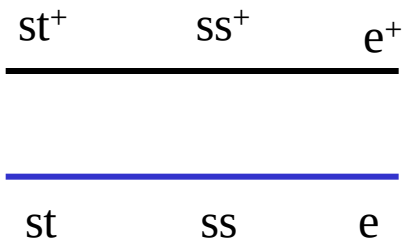
L'unico ordine dei geni in grado di produrli è quello in cui **ss** è in mezzo.
Perciò: ***st ss e***

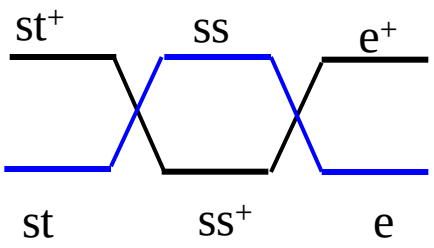












4. Riscriviamo ora i loci nell'ordine corretto, e sulla base dei fenotipi riscontrati determiniamo

le posizioni dei crossing-over (barre rosse a dx).

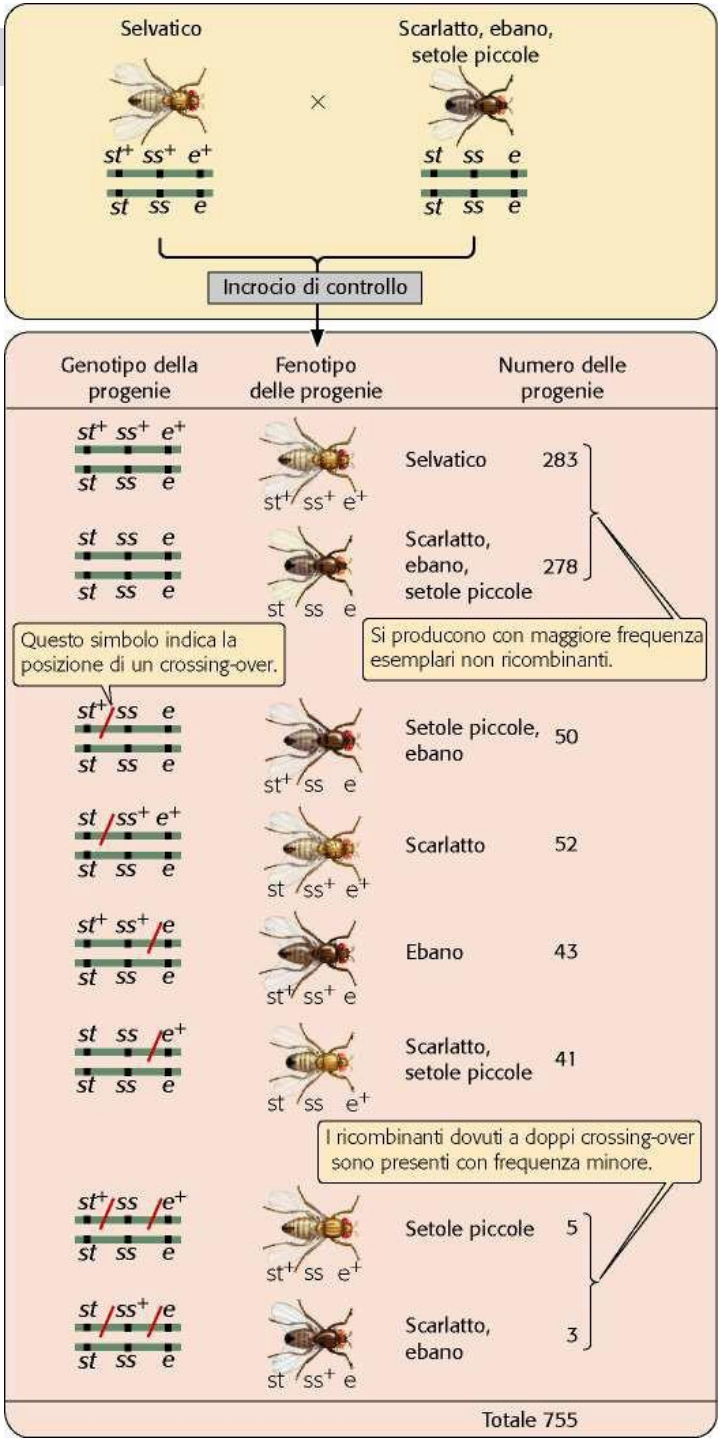
Poi calcoliamo le frequenze di ricombinazione

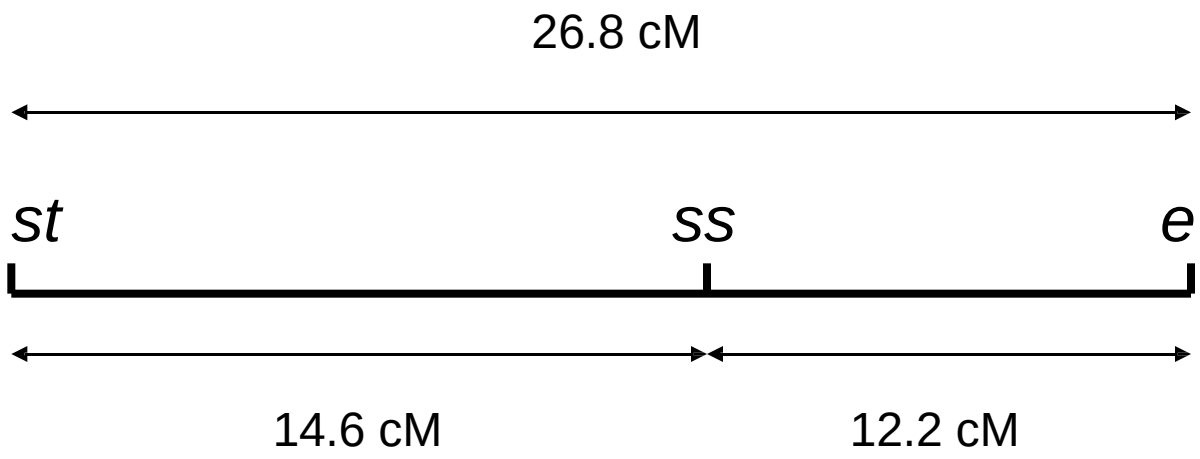
st-ss = $\frac{(50+52+5+3)}{755}$ X 100 = **14,6**

ss-e = $\frac{(43+41+5+3)}{755}$ X 100 = **12,2**

st-e = $\frac{(50+52+43+41+ (2x5) +(2x3))}{755}$ X 100 = **26,8**

(Poiché ci sono due crossing-over fra **st** ed **e**, i doppi crossing-over vanno conteggiati 2 volte)




26.8 cM
st
ss
e
14.6 cM
12.2 cM

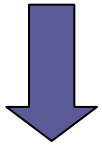
La distanza genetica non è sempre additiva

Crossover multipli

- **All'aumentare della distanza fra 2 loci, la probabilità che fra i due avvengano più crossing-over aumenta**
- **La frequenza di ricombinazione, quindi, sottostima la distanza genetica in quanto gli effetti dei crossing-over doppi vengono annullati**

Aspetti probabilistici o di indipendenza

- **È molto difficile che 2 crossing over avvengano in prossimità l'uno dell'altro (interferenza)**



➢ **Necessario definire delle funzioni di mappatura additive (funzioni di mappatura che tengano conto del numero di crossover dalla stima di r)**

Interferenza e coeff. di coincidenza

- Sovente i crossing-over non sono fenomeni indipendenti: il manifestarsi di uno tende ad inibirne altri nella medesima regione del cromosoma

- Il livello a cui un crossing-over interferisce con altri nella medesima zona viene definito **interferenza**.

- Per calcolare tale parametro è necessario determinare prima il **coefficiente di coincidenza**, cioè il rapporto dei doppi crossing-over osservati rispetto a quelli attesi

Interferenza e coeff. di coincidenza

- La regola del prodotto delle probabilità ci dovrebbe permettere di calcolare la frequenza dei gameti doppi ricombinanti: probabilità che gameti abbiano un doppio crossing over fra *st* ed *e* = probabilità di ricombinazione fra *st* e *ss* moltiplicata la probabilità di ricombinazione fra *ss* ed *e*: 0.146 x 0.122 = 0.0178

- Moltiplicando questo valore per la progenie otteniamo il numero di doppi crossing over attesi: 0.0178 x 755 = 13.4

- Tuttavia, il numero di doppi crossing-over osservati = 8

$$\textbf{Coeff. di coincidenza} = \frac{\text{doppi c.o. osservati}}{\text{doppi c.o. attesi}} = \frac{5+3}{13,4} = \mathbf{0.6}$$

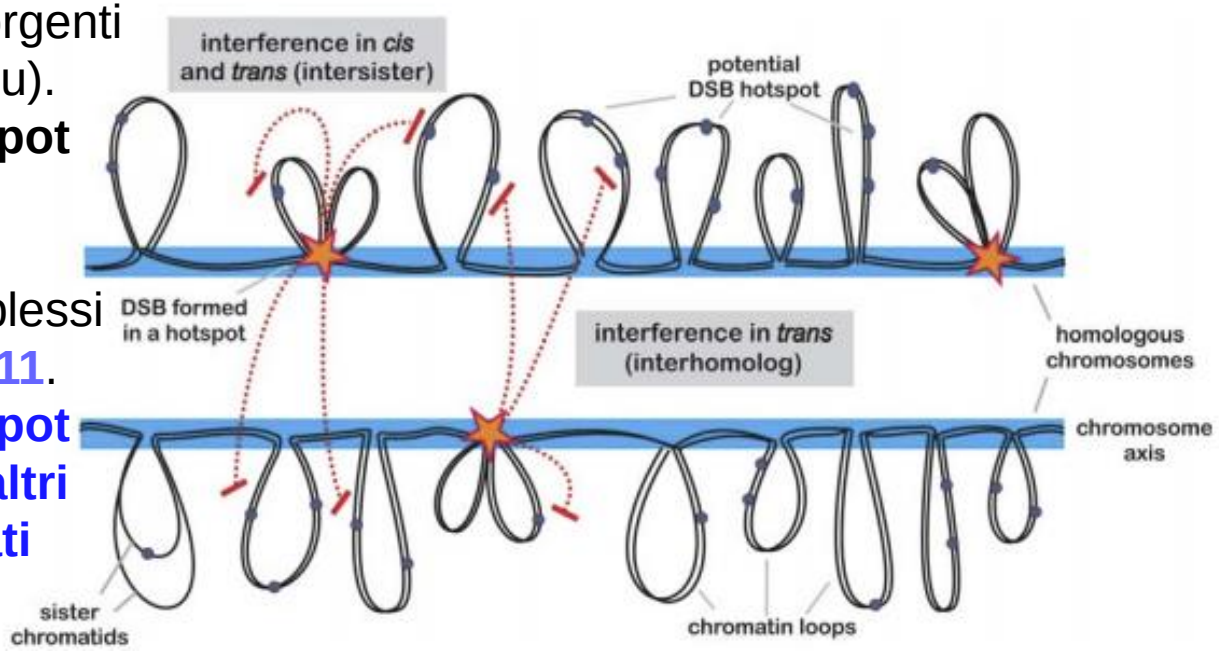
Interferenza = 1- coeff. di coincidenza = 1- 0.6 = **0.4**

- Tale valore di interferenza rivela che il 40% della progenie attesa derivante da doppio crossing-over non verrà osservato a causa dell'interferenza.

- Interferenza = 1 (coincidenza = 0) -> assenza di doppi crossing-over!

Modello di formazione e controllo di DSB.

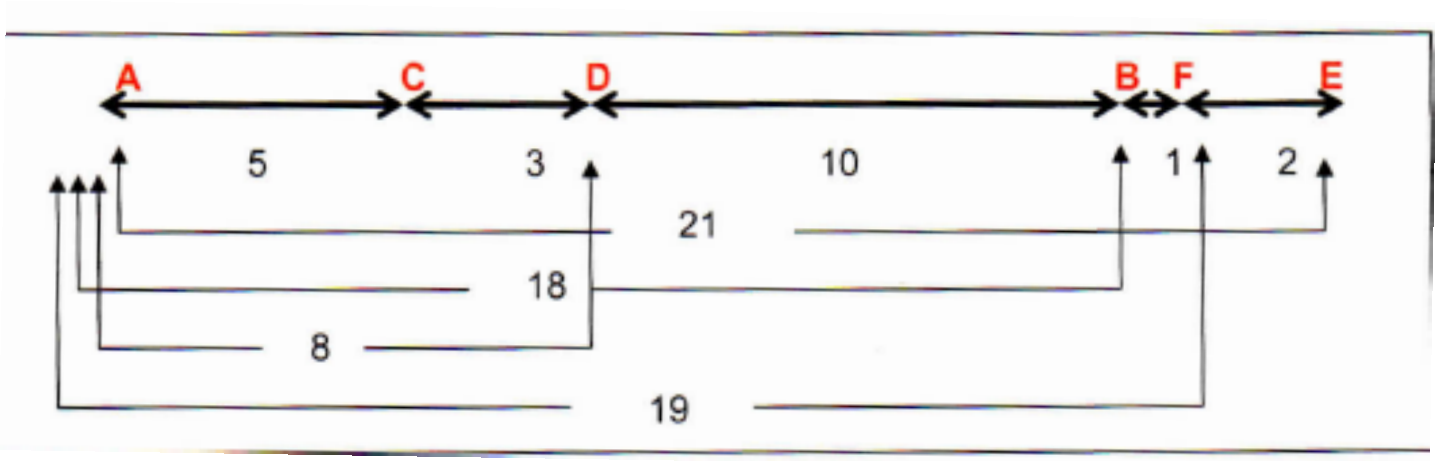
- I potenziali **siti hotspot sono situati all'interno delle anse di cromatina** (grigio) sporgenti dall' asse cromosomico (blu).
- **Attivazione di un hotspot** (stella) richiede il legame dell'ansa all'asse, dove sono depositati complessi **proteici contenenti SPO11**.
- **Una volta che un hotspot è attivato, comunica ad altri potenziali hot-spot situati sullo stesso cromatide (in cis)** o ai suoi cromatidi Fratelli (in trans) causando la loro inibizione (linee tratteggiate rosse).



- Questo processo di interferenza DSB positiva dipende da **ATM (TEL1) e ATR (MEC1)** vie di segnalazione della chinasi e
  - agisce su distanze di **30-100 kb** in lievito gemmante.

Inoltre, **un'altra forma di interferenza** inibisce la formazione di DSB in potenziali **hotspot situati nelle regioni corrispondenti** sul cromosoma omologo

	A	B	C	D	E	F
A	-	18	5	8	21	19
B		-	13	10	3	1
C			-	3	16	14
D				-	13	11
E					-	2
F						-



Posizione di mappa dei geni A,B, C,D

Problemi

1. Una pianta di genotipo $\frac{A\ B}{a\ b}$ è reincrociata

Se i due loci sono distanti 14 u.m., quale proporzione di progenie sarà AB/ab ?

43% AB, 43% ab, 7% Ab, 7% aB

Problemi

2. Una pianta di genotipo A/a . B/b reincrociata

Le progenie sono

74 A/a . B/b
76 a/a . b/b
678 A/a . b/b
672 a/a . B/b

Spiegare.

A e B sono associate in trans e sono distanti ≈10 u. m.

Problema

3. E' stata analizzata la progenie di un reincrocio di un tetraibrido.

I risultati mostrano che

10% delle progenie sono ricombinanti tra A e B
14% per B e C
24% per A e C
4% per B e D
10% per C e D
14% per A e D

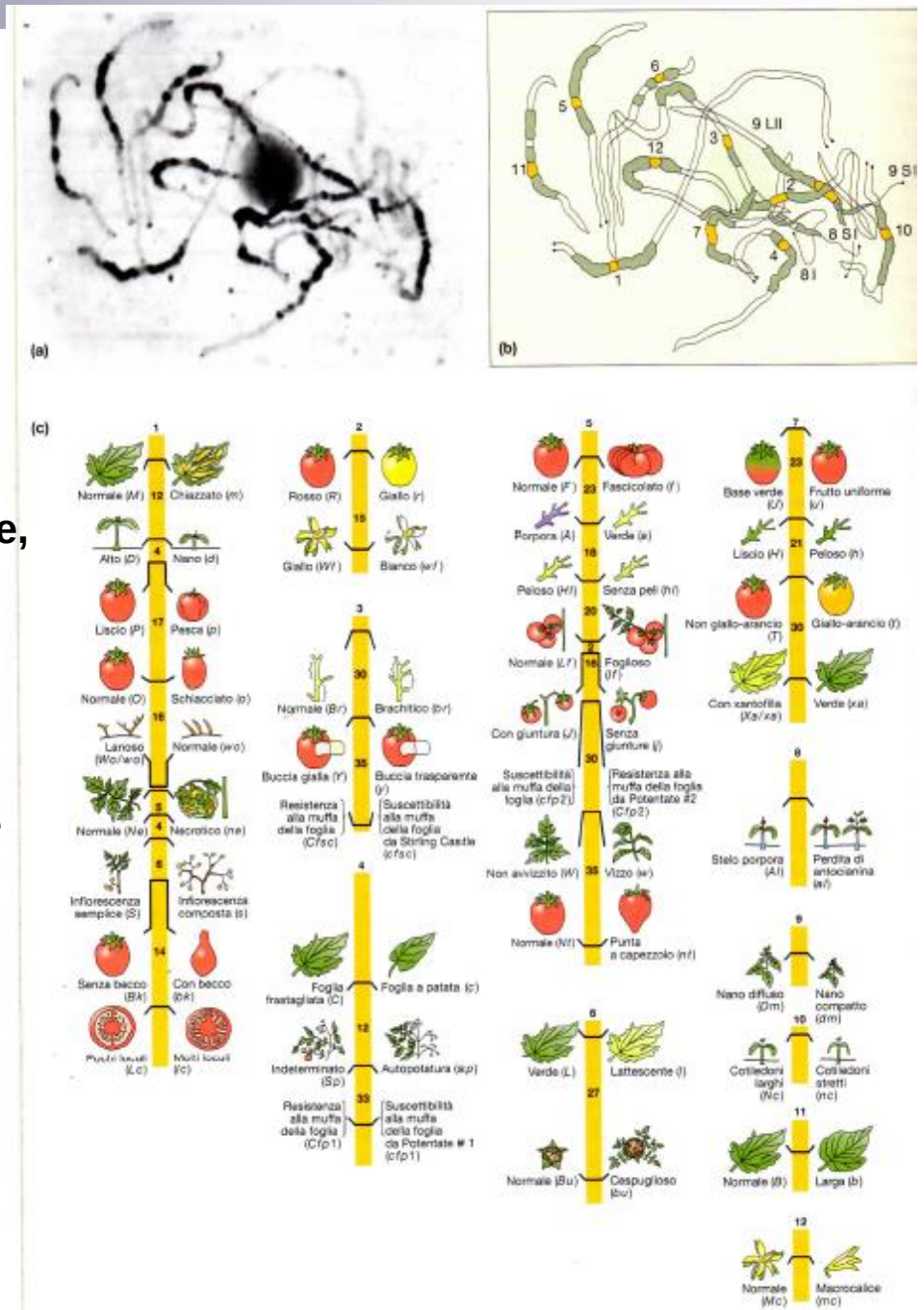
Costruire una mappa lineare per il cromosoma.

|---------|----|---------|

A 10 B 4 D 10 C

Mappa dei cromosomi di pomodoro

Una mappa del 12 cromosomi di pomodoro

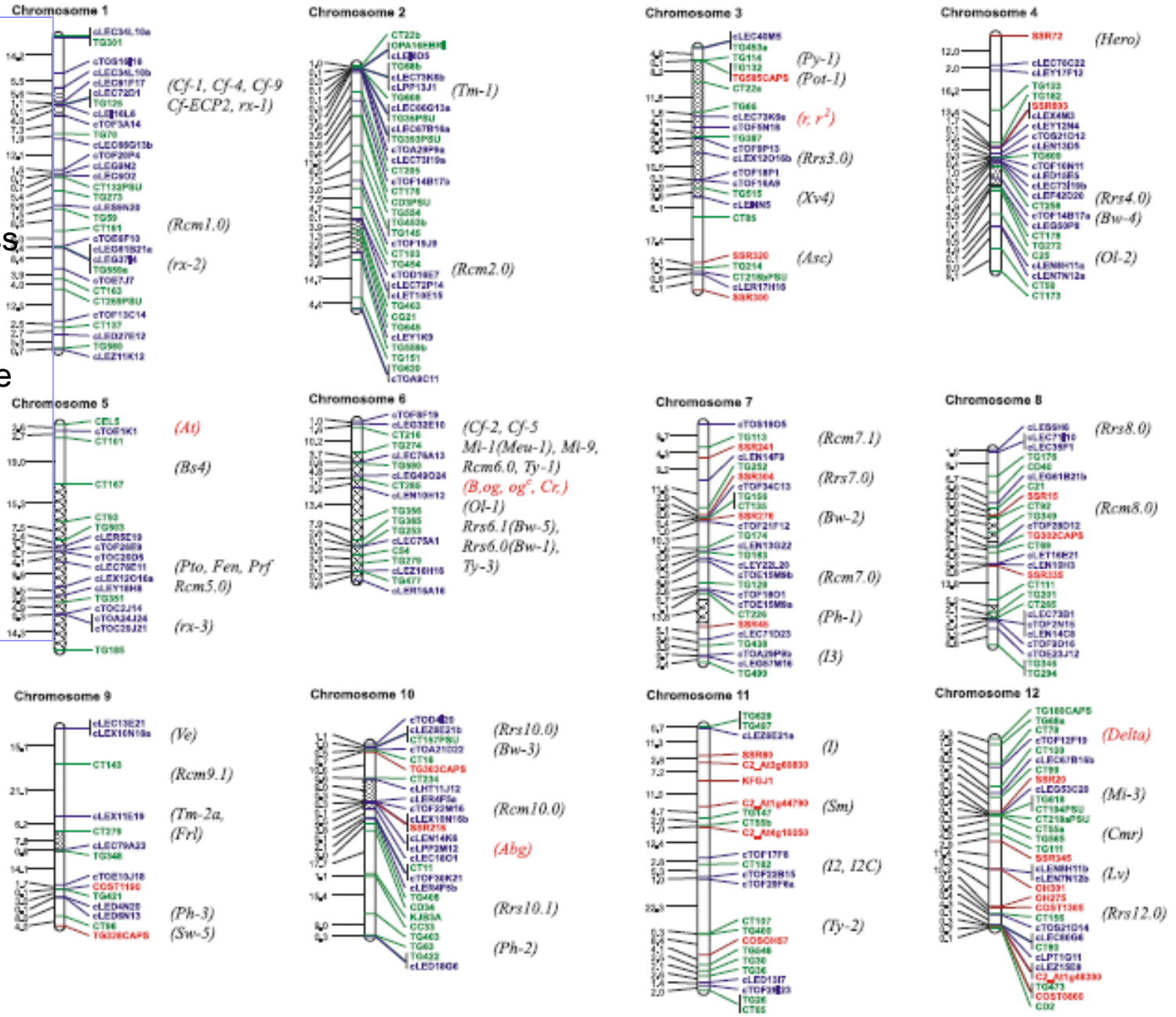


(a) Fotografia al ME di cromosomi nella profase I meiotica (pachitene) di cellule delle antere; sono **visibili le 12 coppie cromosomiche,**

(b) Illustrazione dei 12 cromosomi mostrati in (a). I cromosomi sono identificati in base al sistema di numerazione dei cromosomi attualmente in uso.
I centromeri sono evidenziati in arancione, e le regioni fiancheggianti, che si colorano intensamente (eterocromatina), sono in verde,

(c) **Mappa di linkage costruita** nel 1952. A ogni locus sono associate due illustrazioni: il fenotipo normale e il mutante.
Le distanze di mappa tra i loci sono indicate in unità di mappa.

- Genetic linkage map of tomato constructed based on an F7 RIL population of a cross between tomato *Solanum lycoper-sycum* breeding line NC-BR-1 and *S. pimpinellifolium* accession LA2093 and 294 DNA markers



COSTRUZIONE DI MAPPE GENETICHE

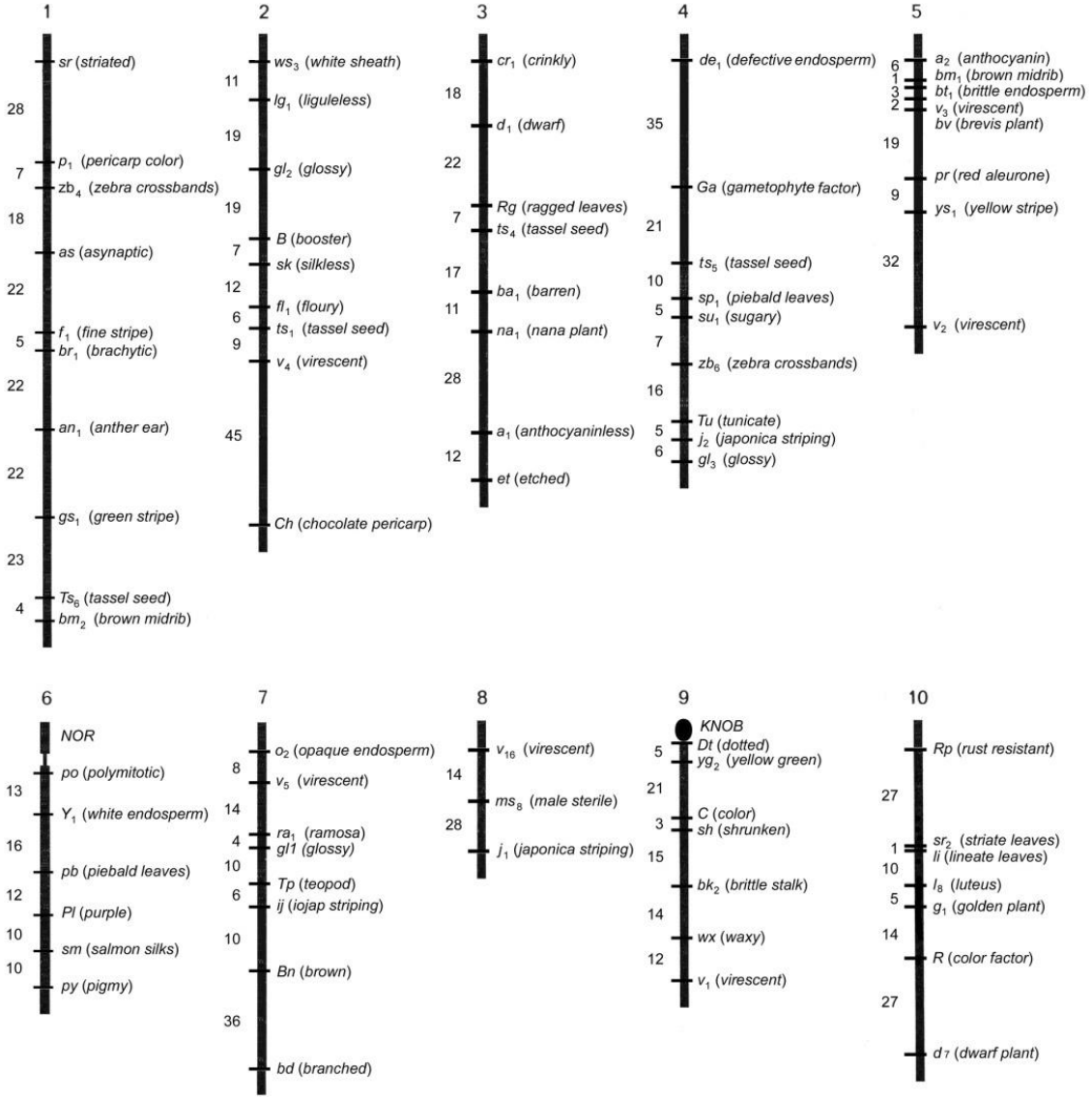


Figura 3.25
Una delle prime mappe genetiche di mais sviluppata da G.W. Beadle, R.A. Emerson, L.J. Stadler e M.M. Rhoades impiegando mutanti morfologici (le distanze di mappa sono espresse in cM).

COSTRUZIONE DI MAPPE GENETICHE

Cromosoma	Numero di chiasmi	Caratteri morfologici		Marcatori molecolari	
		No. di loci	Lunghezza (cM)	No. di loci	Lunghezza (cM)
1	183	16	156	278	254
2	163	10	128	183	213
3	150	11	121	202	172
4	148	10	111	200	181
5	148	8	72	172	180
6	110	7	64	146	165
7	123	10	96	150	153
8	123	3	28	167	188
9	110	8	71	147	155
10	98	6	57	127	139
Totale	1.356	89	904	1.772	1.800

Tabella 3.15
Confronto tra la prima mappa genetica di mais sviluppata usando quasi esclusivamente caratteri morfologici e la mappa genetica attualmente disponibile per questa specie definita soprattutto con marcatori molecolari.

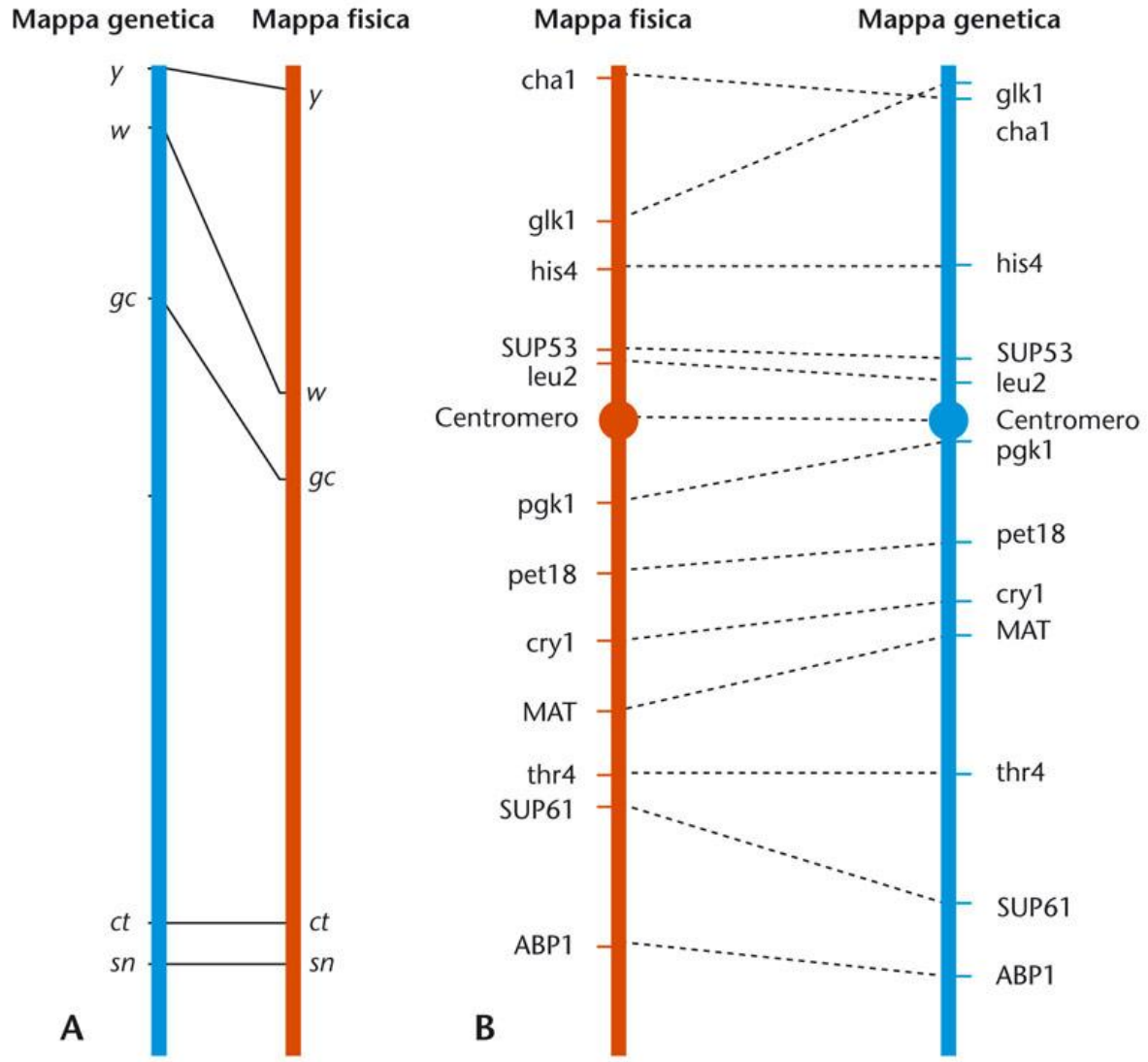
❖Mappe genetiche:

Si basano **sull'uso di tecniche genetiche** per costruire mappe di linkage che mostrano le posizioni di geni e altre sequenze che caratterizzano un genoma

❖Mappe fisiche:

Impiegano **tecniche di biologia molecolare** per esaminare direttamente molecole di DNA per costruire mappe che mostrano la posizione esatta dei geni e altre sequenze

CONFRONTO TRA MAPPE GENETICHE E MAPPE FISICHE



- **Relazione tra distanze genetiche e fisiche in un tratto del cromosoma X politenico di *Drosophila* (A).**

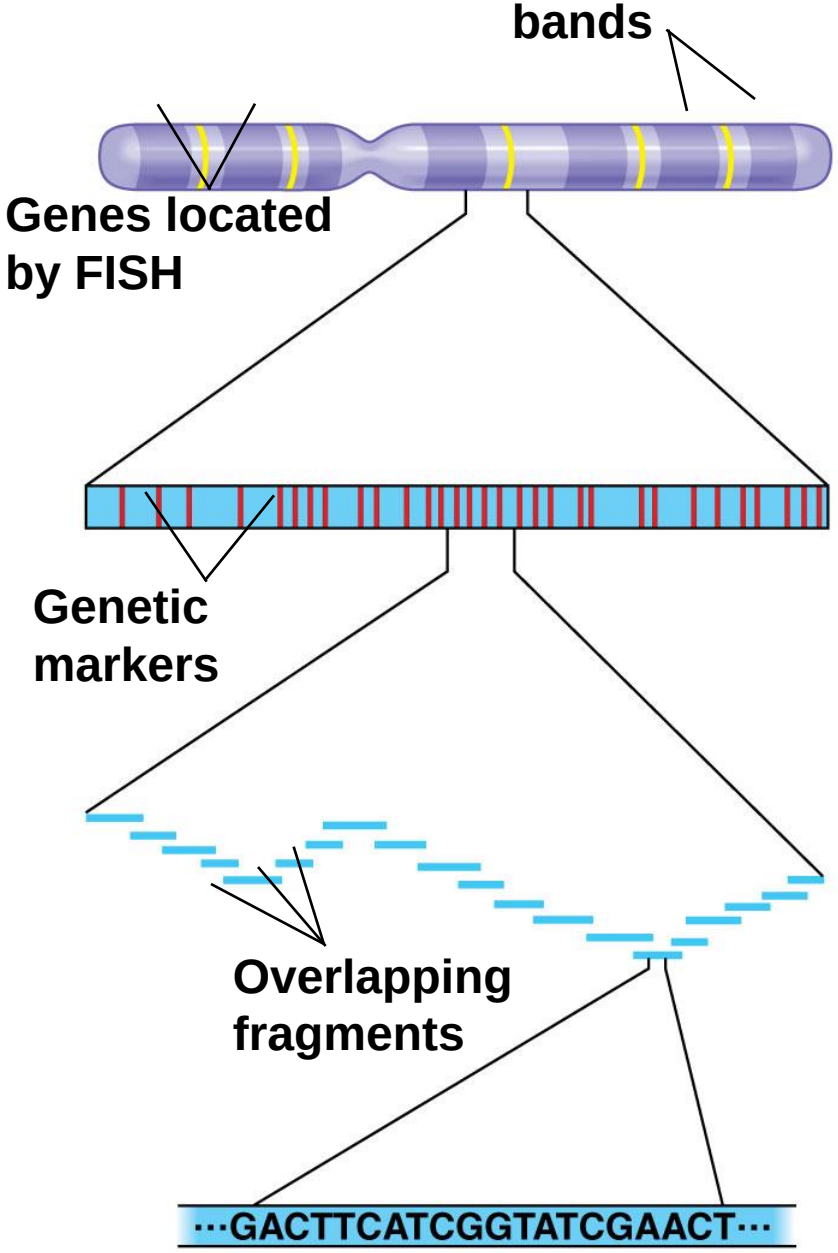
- **Relazione tra distanze genetiche e fisiche in *S. cerevisiae* (B).**

Cytogenetic map

1 Linkage mapping

2 Physical mapping

3 DNA sequencing



© 2011 Pearson Education, Inc.

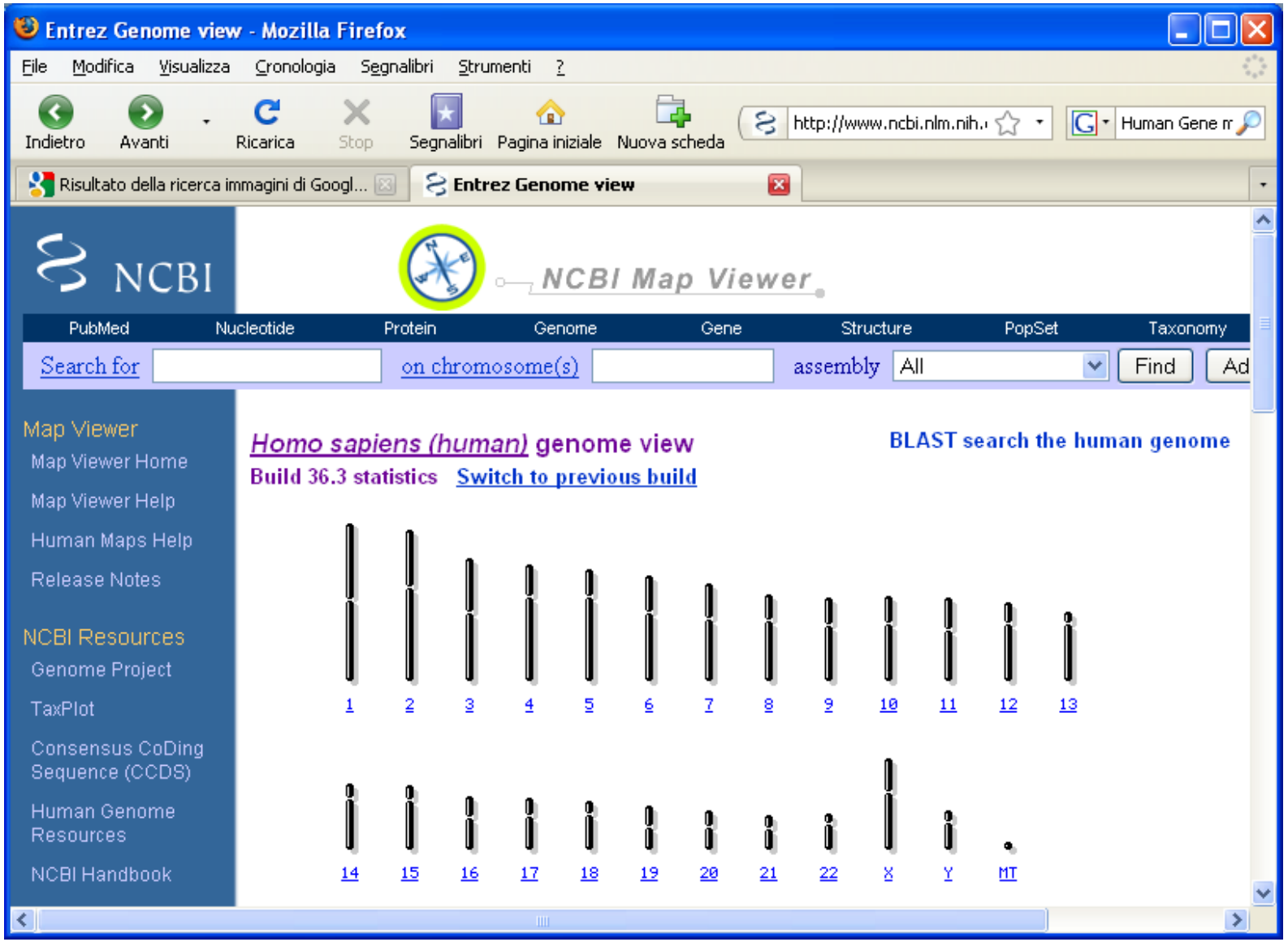
Marcatori genetici

- **Mappa genetica tra posizioni sui cromosomi**
  - Posizioni possono essere geni
    - Responsabili per il fenotipo
      - Esempio: carattere colore occhio, malattia: limitati
  - Posizioni possono essere marcatori fisici
    - variazioni sequenza DNA

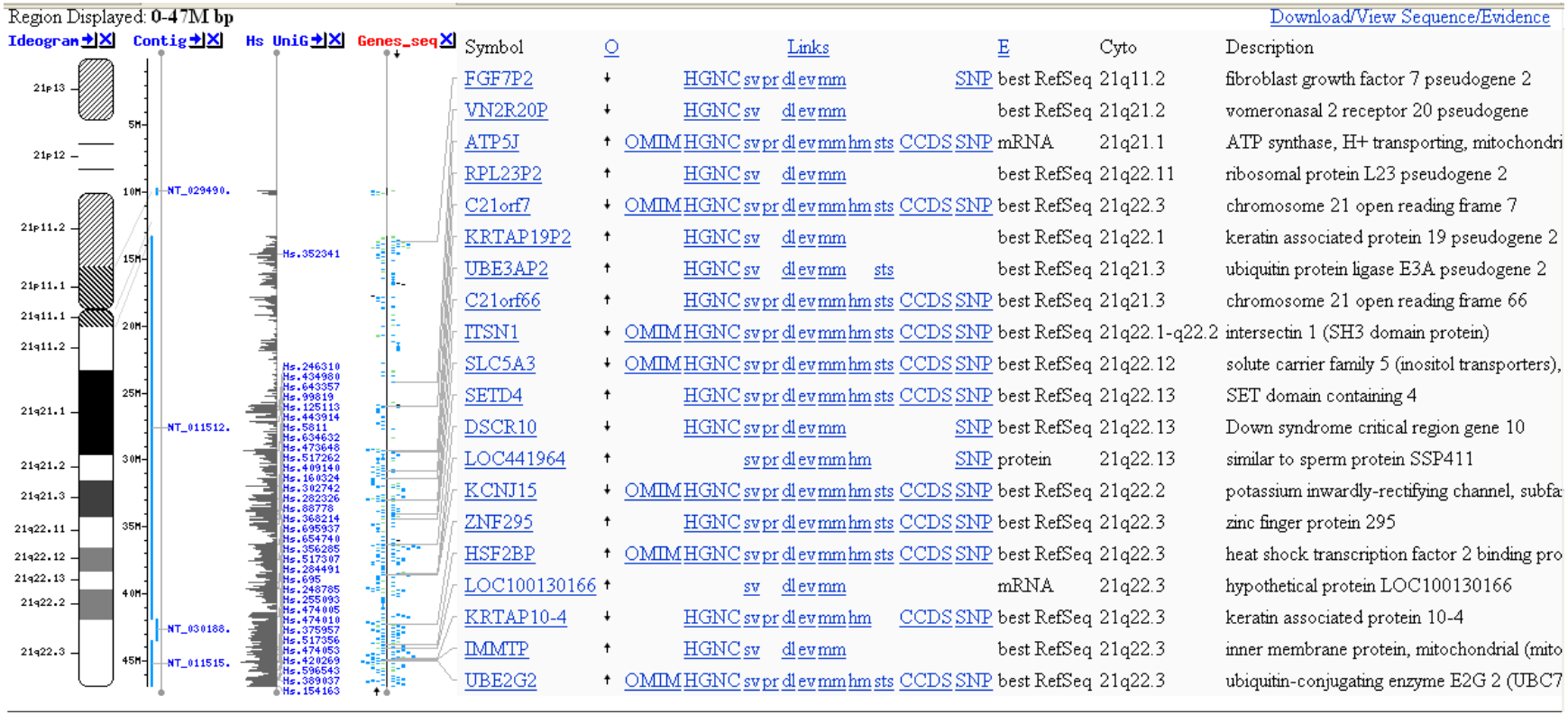
Marcatori fisici

- Marcatori fisici **sono sequenze di DNA** che variano tra due genomi correlati
  - Si riferiscono a un polimorfismo del DNA
  - Usualmente non in un gene
  - Esempi
    - RFLP
    - SSLP
    - SNP

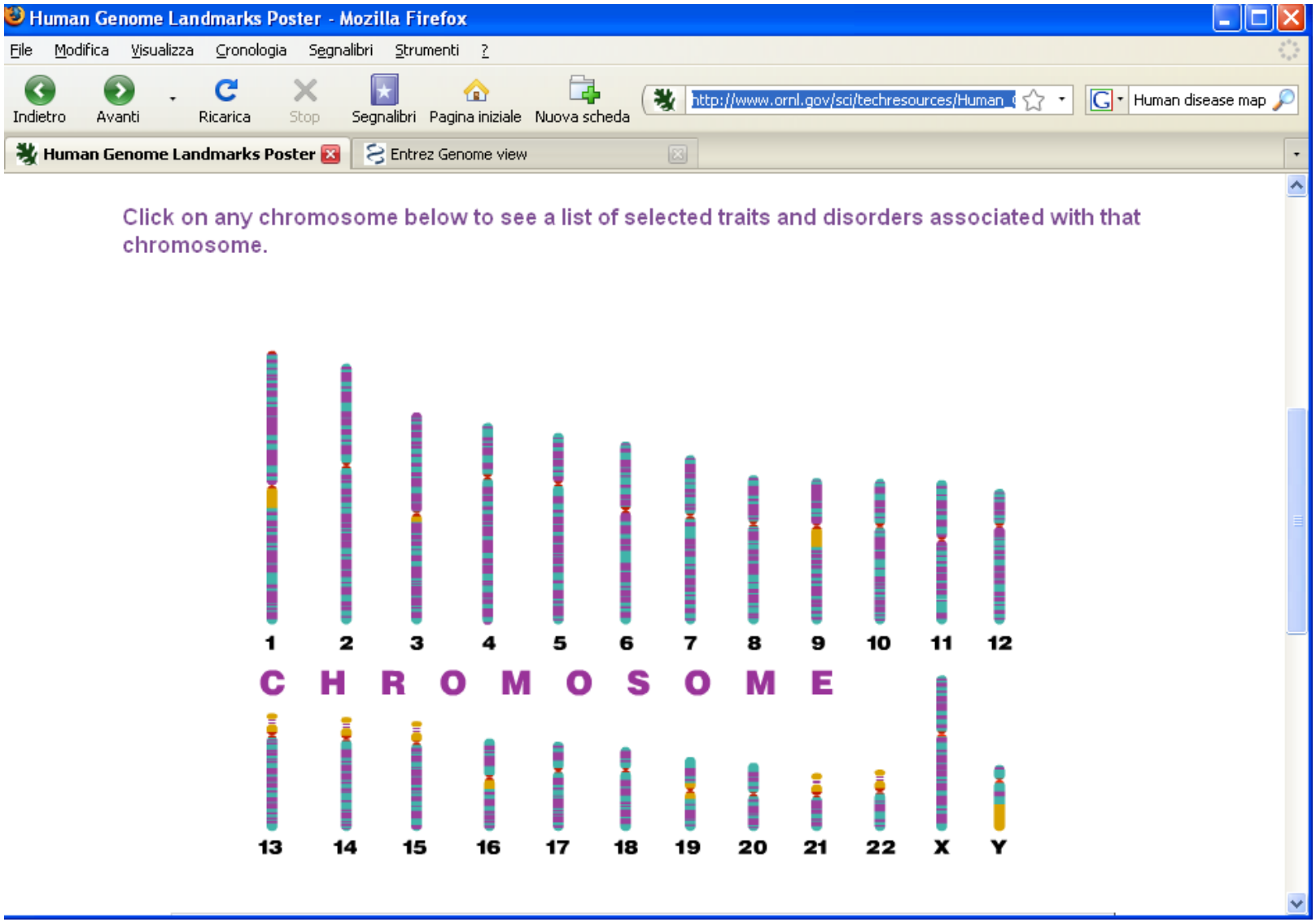
Una risorsa online: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/map_search.cgi?taxid=9606



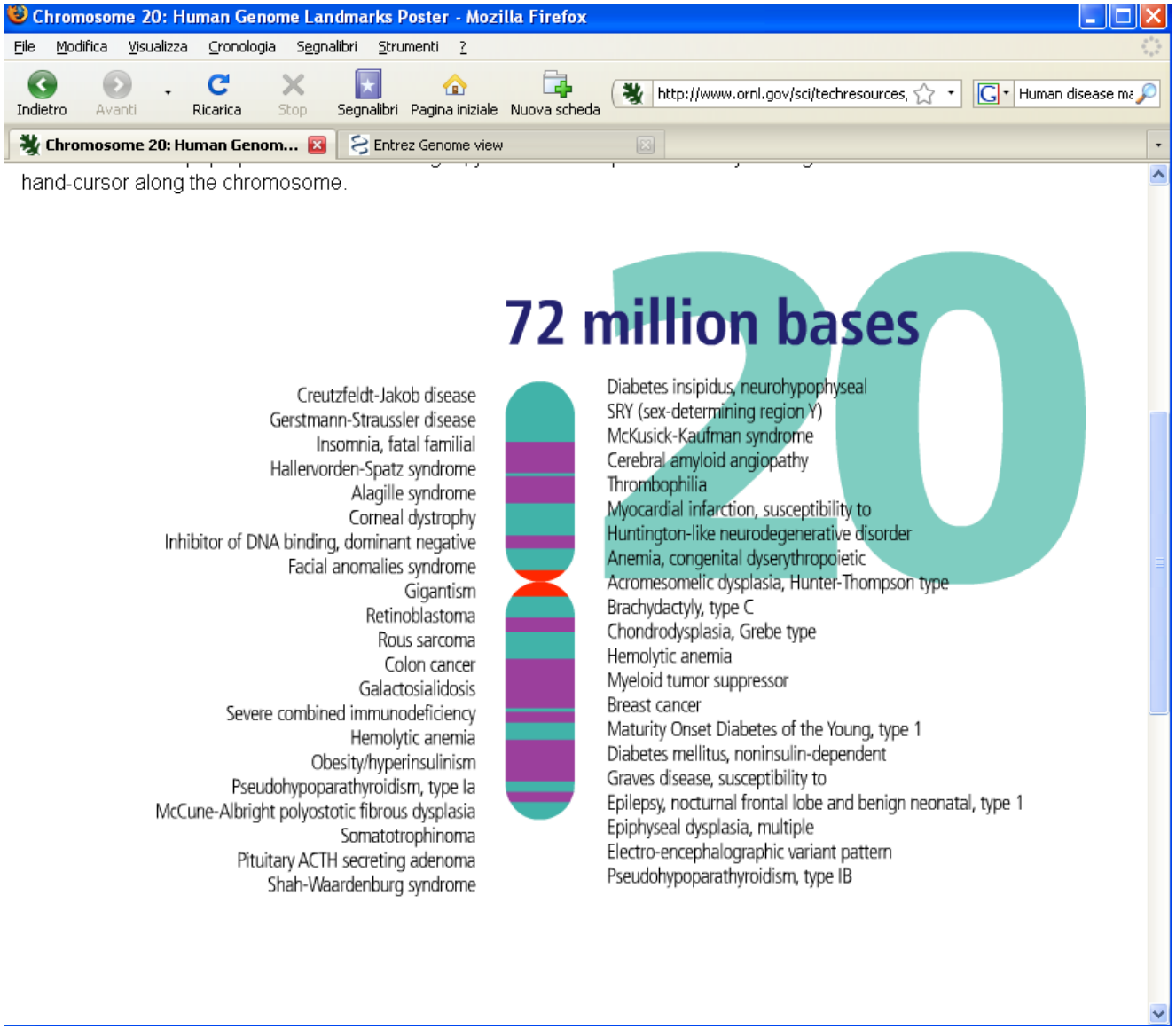
Mappa del Cromosoma 21



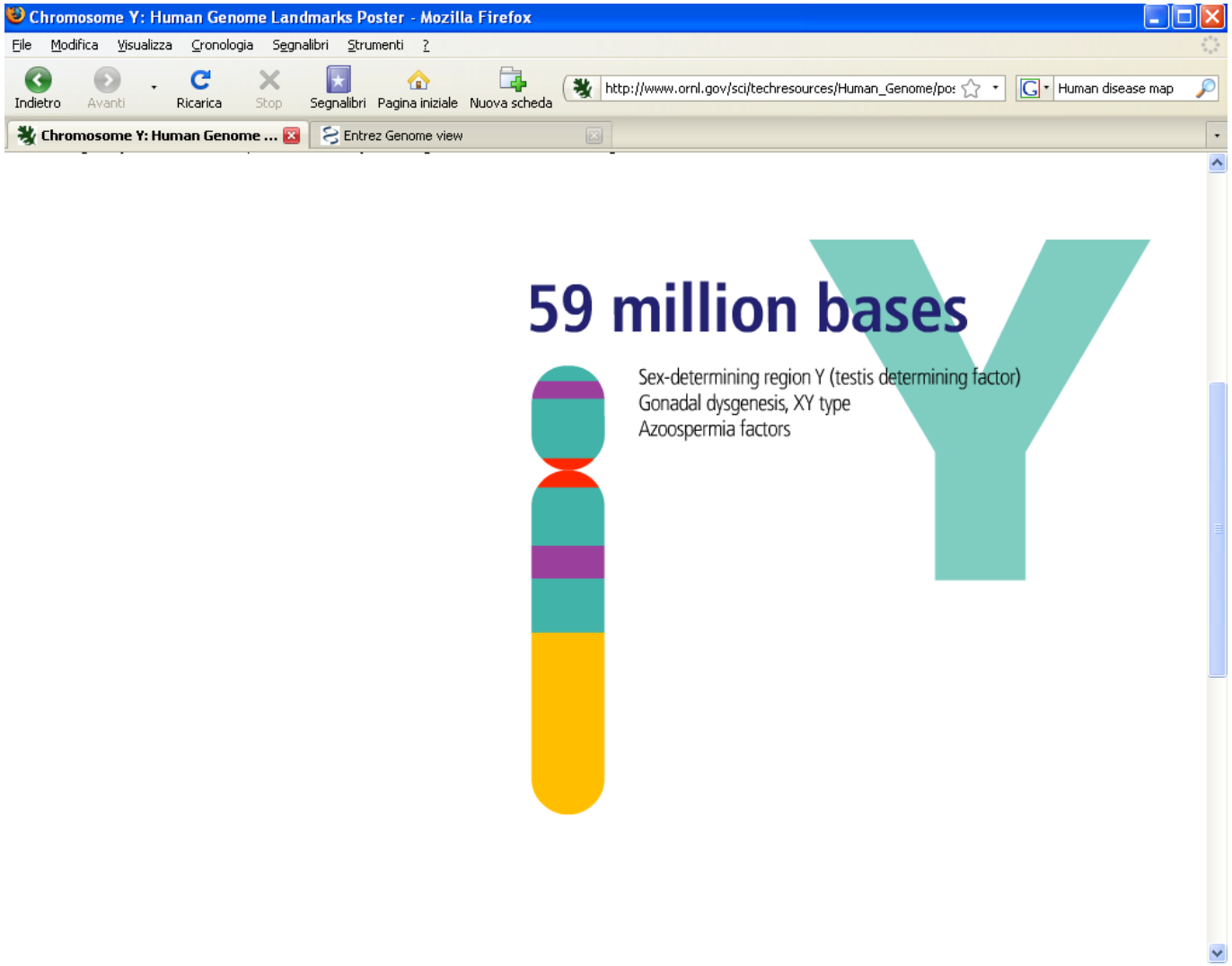
Una risorsa online:
http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/posters/chromosome/chooser.shtml



Mappa del Cromosoma 20



Mappa del Cromosoma Y





Home ▸ Maps & Markers ▸ Plant marker list

Marker list

50 data/page

Set number of search boxes (more than 3)

Search boxes: 4 boxes

Search method

Please select 'Word' or 'Phrase' (AND, OR, NOT).

For example,

starch [Word]

23024597 [Word]

starch content [Phrase]

10.1007/s10681-012-0651-y [Phrase]*

*In case that the DOI search does not work, trying AND search is recommended by using each part of the DOI as a [Word].

Search : Medicago truncatula × Phrase(AND)

Search : Word(AND)

Search : Word(AND)

Search : Word(AND) Search

Select species: - No selection - Select

Select marker type: - No selection - Select

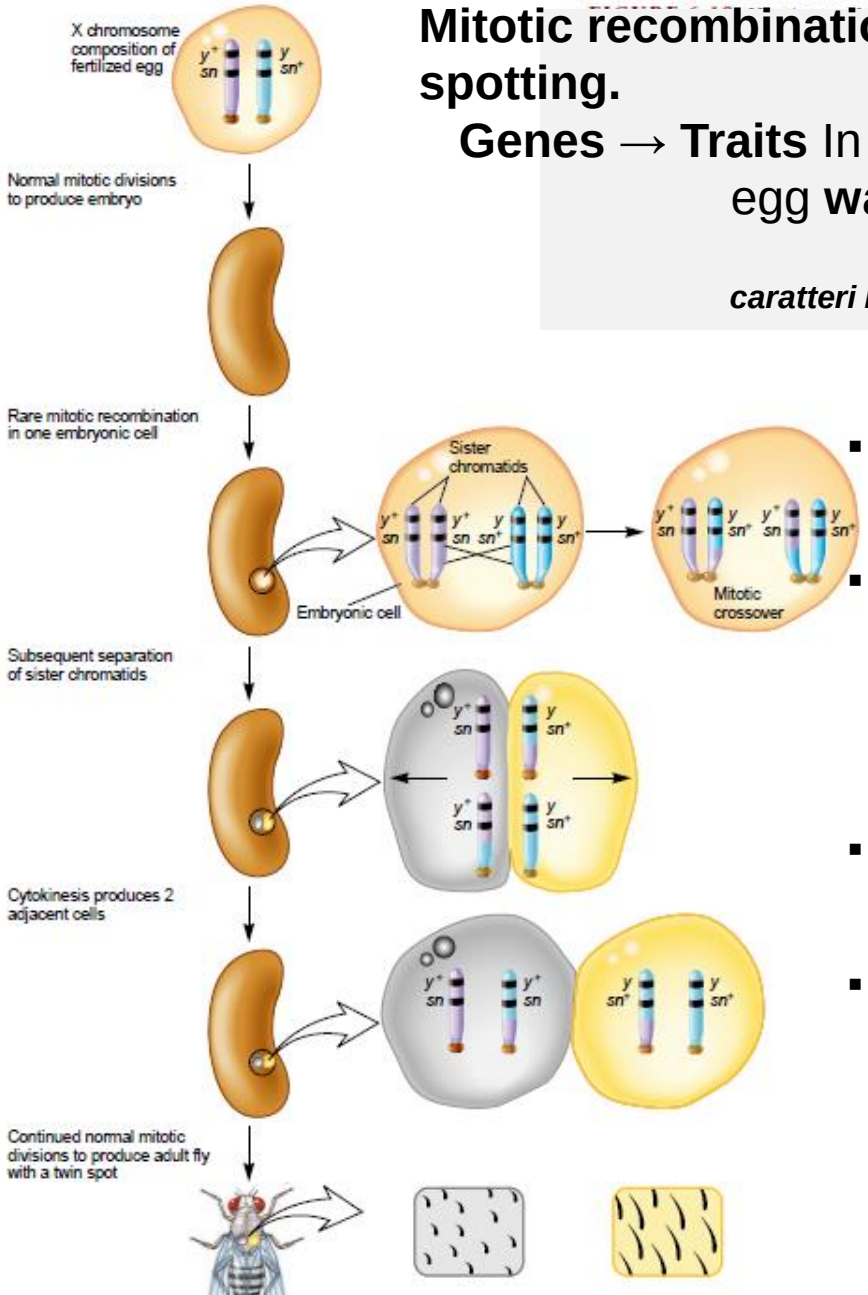
Total: 1436

Download Search results | Download Full Data

http://pgdbj.jp/en/dna-marker-linkage-map/

La ricombinazione avviene anche tra cromosomi mitotici

Macchie gemelle in Drosophila (Stern)



Mitotic recombination in *Drosophila* that produces twin spotting.

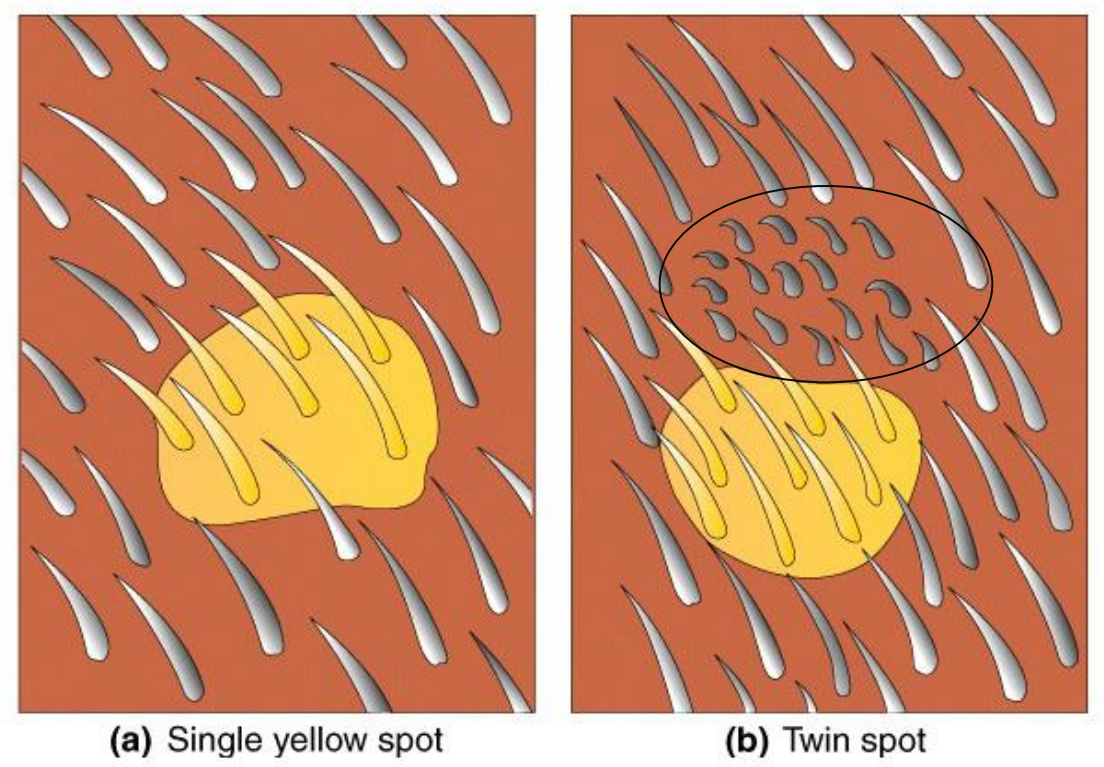
Genes → Traits In this illustration, the genotype of the fertilized egg **was y^+y sn^+sn**

caratteri recessivi yellow (y) e singed (sn).

- During development, a mitotic crossover occurred in a singe embryonic cell.
- After mitotic crossing over, the separation of the chromatids occurred, so one embryonic cell became y^+y^+ *snsn* and the adjacent sister cell became *yy* sn^+sn^+. The embryonic cells then continued to divide by normal mitosis to produce an adult fly.
- The cells in the adult that were derived from the y^+y^+ snsn embryonic cell produced a gray spot on the **adult body that was gray and had singed bristles**.
- The cells derived from the *yy sn+sn+* embryonic cell produced an adjacent spot on the body that was yellow and had long bristles. In this case, mitotic recombination produced an unusual trait known as a **twin spot.** The characteristics of this twin spot differ from the surrounding tissue, which is gray with long bristles.

La ricombinazione avviene anche tra cromosomi mitotici

Macchie gemelle in Drosophila (Stern)



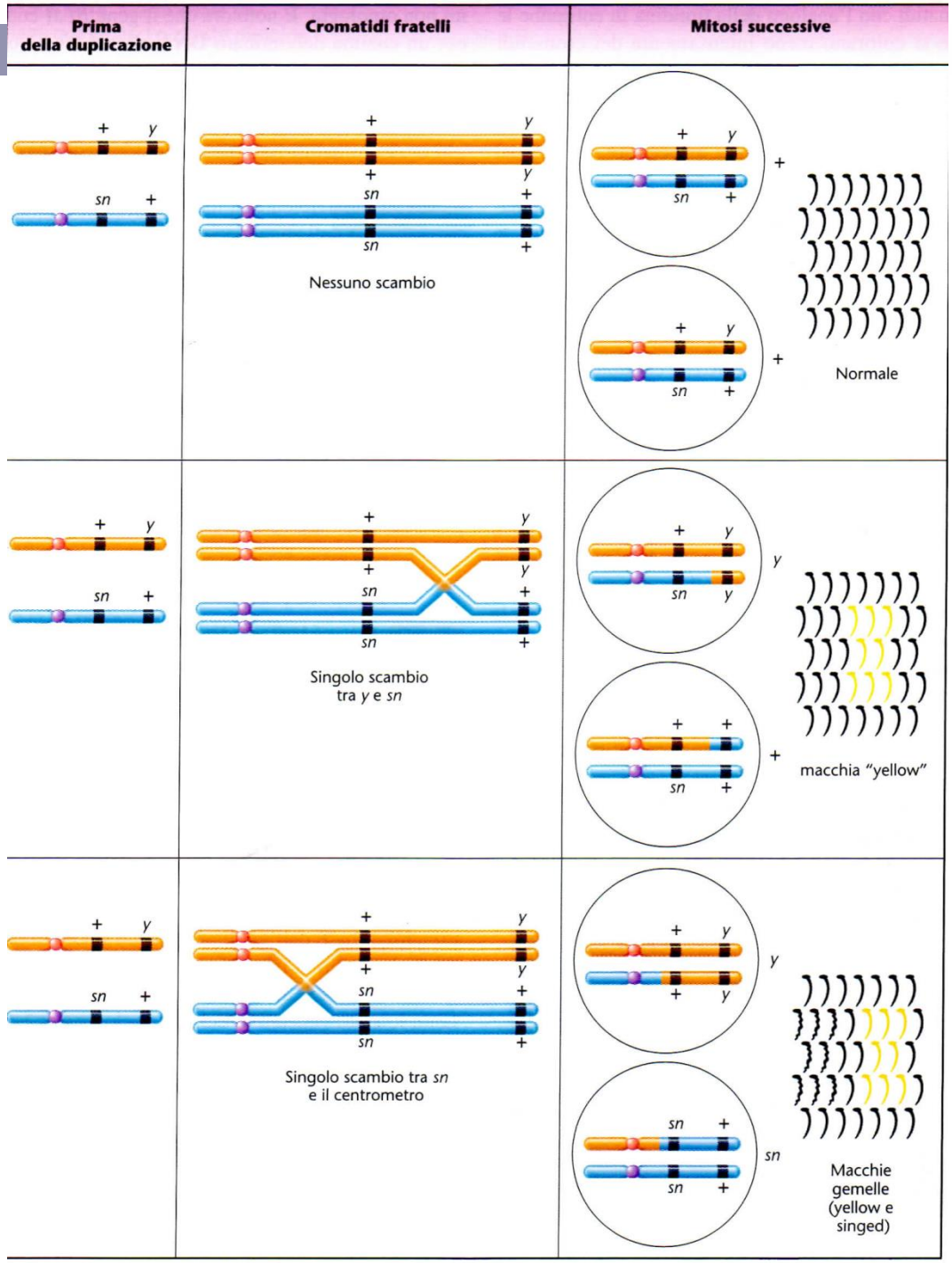
(a) Single yellow spot

(b) Twin spot

In femmine *y+ sn / y sn+*

Scambi tra cromatidi fratelli

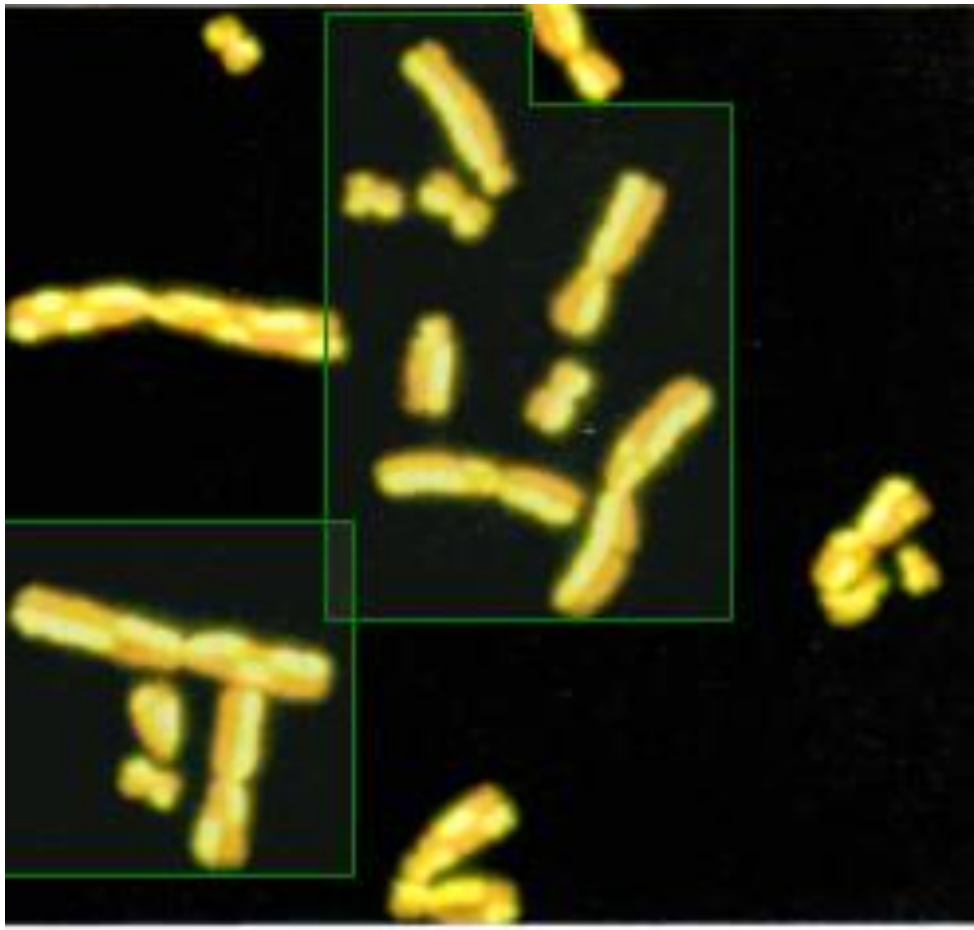
- produzione di un tessuto mutato come risultato di una ricombinazione mitotica in una femmina di Drosophila eterozigote per gli alleli che codificano per i caratteri recessivi
  - ***yellow (y)***
  - ***singed (sn).***



Un esempio di scambi tra cromatidi fratelli (SCE) in cromosomi mitotici.

- I cromatidi contenenti l'analogo della timidina BUdR su entrambe le emieliche del DNA emettono una fluorescenza meno intensa di quelli con l'analogo incorporato solo da un'emielica.

- Questi cromatidi fratelli sono talvolta definiti **cromosomi arlecchino**, a causa del loro caratteristico aspetto a macchie.
- In questa fotografia i cromosomi sono stati
  - colorati con il reagente 33258-Hoechst e arancio di acridina
  - poi osservati e fotografati al microscopio a fluorescenza



Sintesi

- La concatenazione dei geni, cioè la presenza di più geni sullo stesso cromosoma, fa sì che la loro trasmissione non sia indipendente
- L'associazione degli alleli sullo stesso cromosoma è modificata dal **fenomeno (genetico) della ricombinazione**, a cui corrisponde il fenomeno citologico del crossing-over
- La probabilità di ricombinazione è proporzionale alla distanza fra loci sul cromosoma; si può stimare la seconda sulla base della prima: mappe genetiche
- Un metodo classico per mappare i geni negli Eucarioti è l'incrocio a tre punti
- Molto raramente, il crossing-over può avvenire anche durante la mitosi
- Col sequenziamento dei genomi si è arrivati a produrre mappe genetiche molto dettagliate