

**ESERCITAZIONE GENETICA -  
MAPPE DI DELEZIONE e  
GENETICA BATTERICA  
19/05/26**

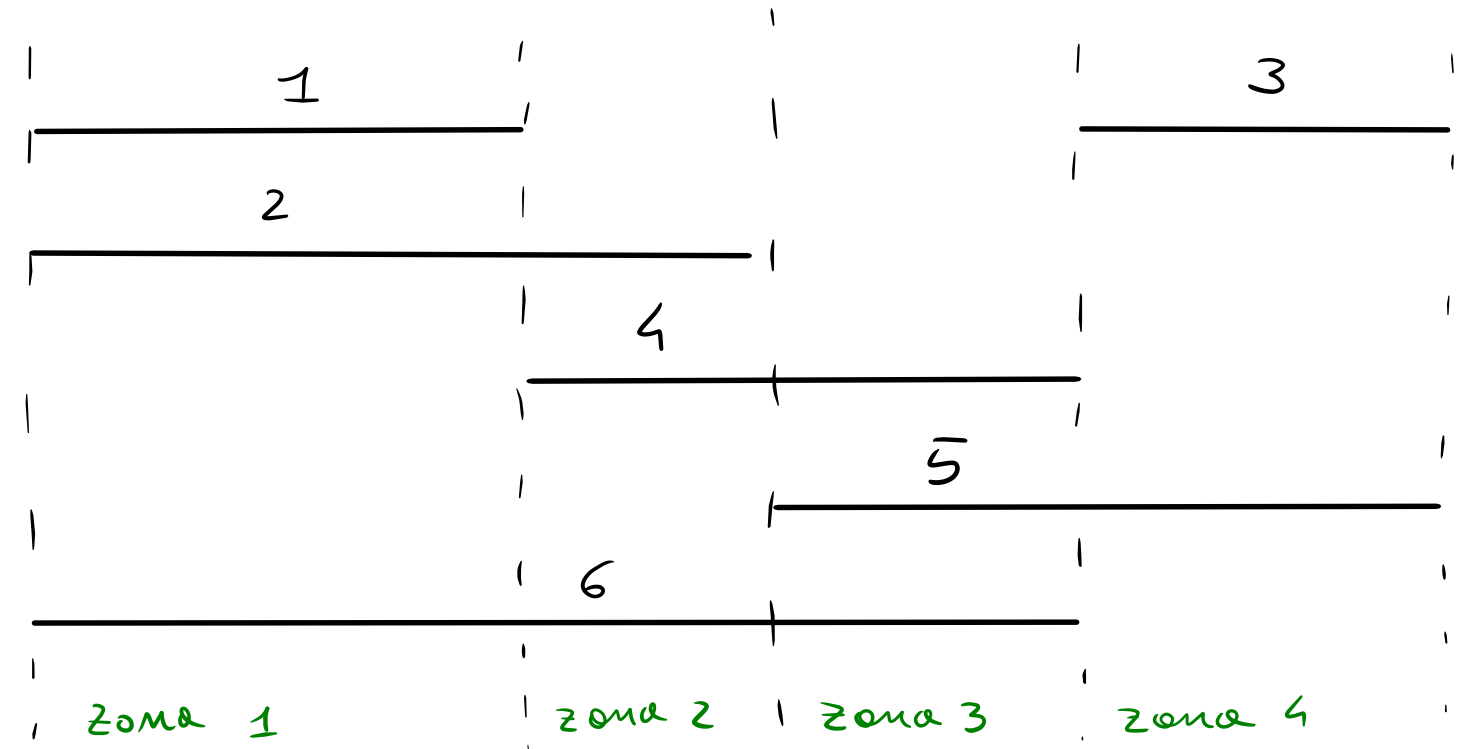
chiara.angioli@uniroma1.it

7) Sei mutanti da delezione rII del batteriofago T4 sono stati provati con lo "spot test" in tutte le combinazioni a coppia per saggiare la loro capacita' di dare ricombinanti r+. I risultati appaiono nella tabella seguente. Il segno "+" indica che si sono osservati ricombinanti; uno "0" indica che non si sono osservati ricombinanti. Disegnare una mappa topologica di queste mutazioni.

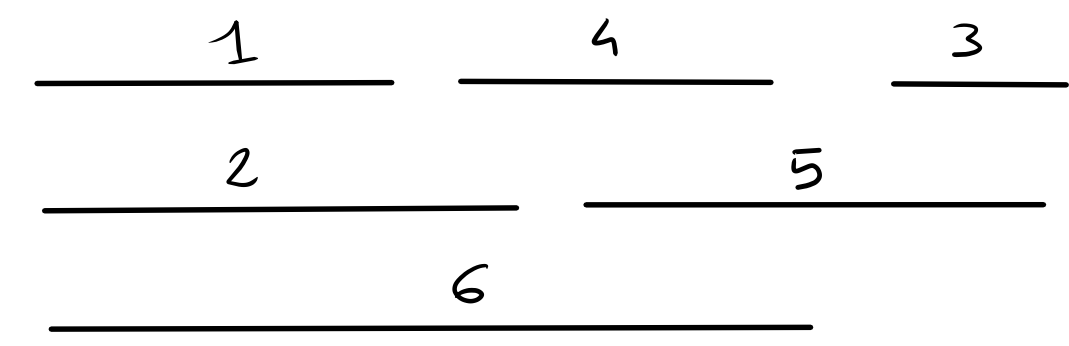
	1	2	3	4	5	6
1	0	0	+	+	+	0
2		0	+	0	+	0
3			0	+	0	+
4				0	0	0
5					0	0
6						0

⊖ → ASSENZA di ricombinanti → SOVRAPPOSTE

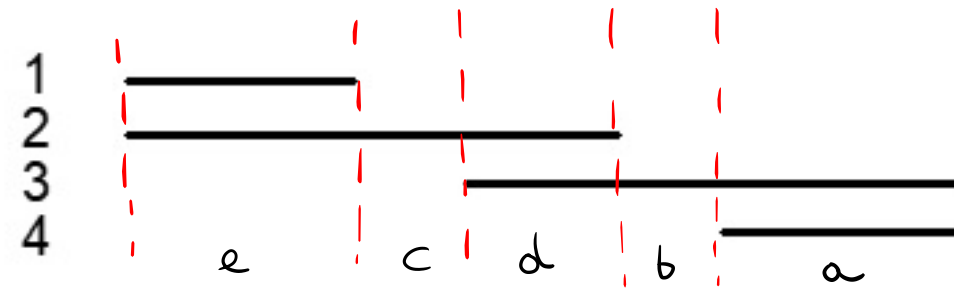
⊕ → PRESENZA di ricombinanti → NON SOVRAPPOSTE



→



4) La mappa di delezione che segue presenta quattro mutanti per delezione (da 1 a 4) relativi al cistrone *rIIA* del fago T4.



Cinque mutanti puntiformi (da *a* ad *e*) di *rIIA* sono cimentati con i 4 mutanti da delezione e si controlla se danno ricombinanti  $r^+$ ; si ottengono i seguenti risultati:

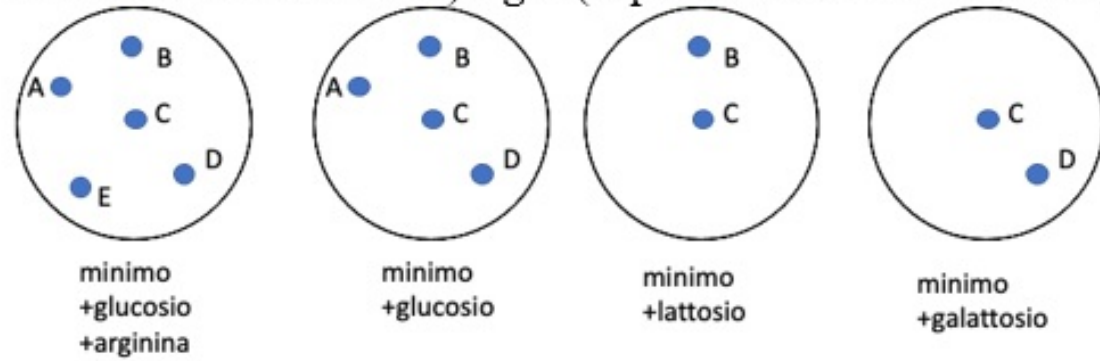
	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>
<b>1</b>	+	+	+	+	-
<b>2</b>	+	+	-	-	-
<b>3</b>	-	-	+	-	+
<b>4</b>	-	+	+	+	+

Qual è l'ordine delle mutazioni puntiformi?  $\rightarrow e, c, d, b, a$

⊕  $\rightarrow$  RICOMBINANO  $\rightarrow$  la delezione **NON** contiene il mutante

⊖  $\rightarrow$  NON RICOMBINANO  $\rightarrow$  la delezione **CONTIENE** il mutante

4) Sulla base della crescita su terreni a diversa composizione dopo replica su piastra, determinare (laddove possibile) il genotipo delle 5 colonie per i geni *arg*, *lac* (capacità di metabolizzare il lattosio) e *gal* (capacità di metabolizzare il galattosio).



A =  $arg^+$   $lac^-$   $gal^-$

B =  $arg^+$   $lac^+$   $gal^-$

C =  $arg^+$   $lac^+$   $gal^+$

D =  $arg^+$   $lac^-$   $gal^+$

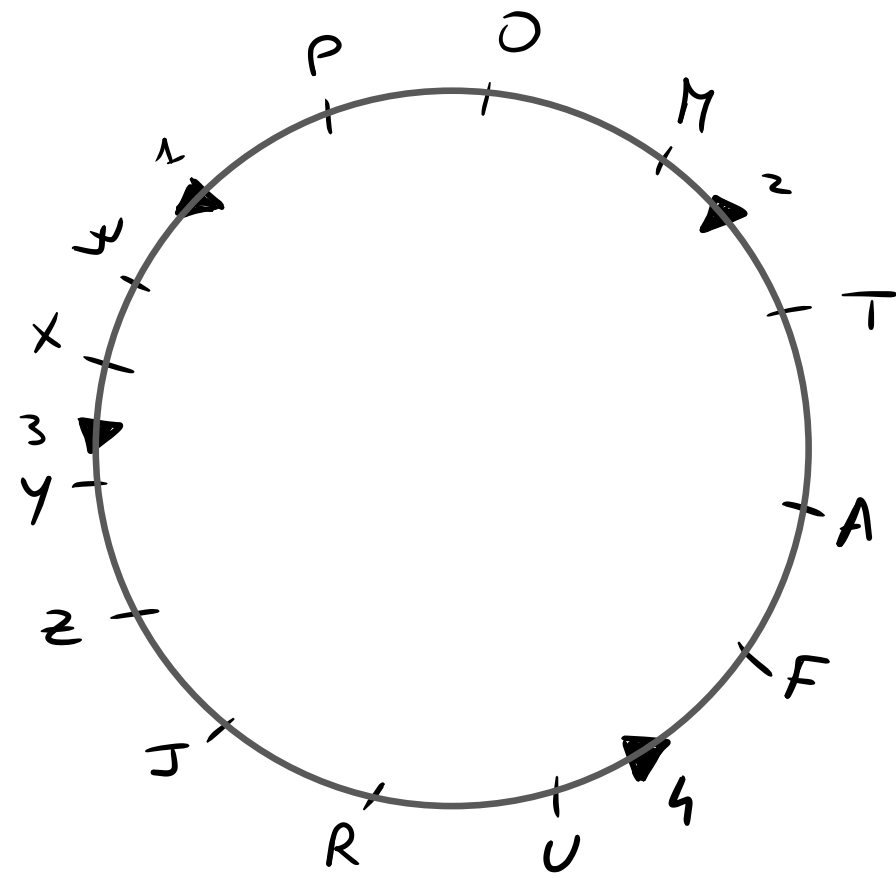
E =  $arg^-$

→ non possiamo definire l'intero genotipo perché nella piastra con lattosio e galattosio manca l'arginina. La sua assenza, di per sé, non permette la crescita della colonia E.

1) In *E. coli*, quattro ceppi *Hfr* donano i marcatori mostrati nell'ordine dato:

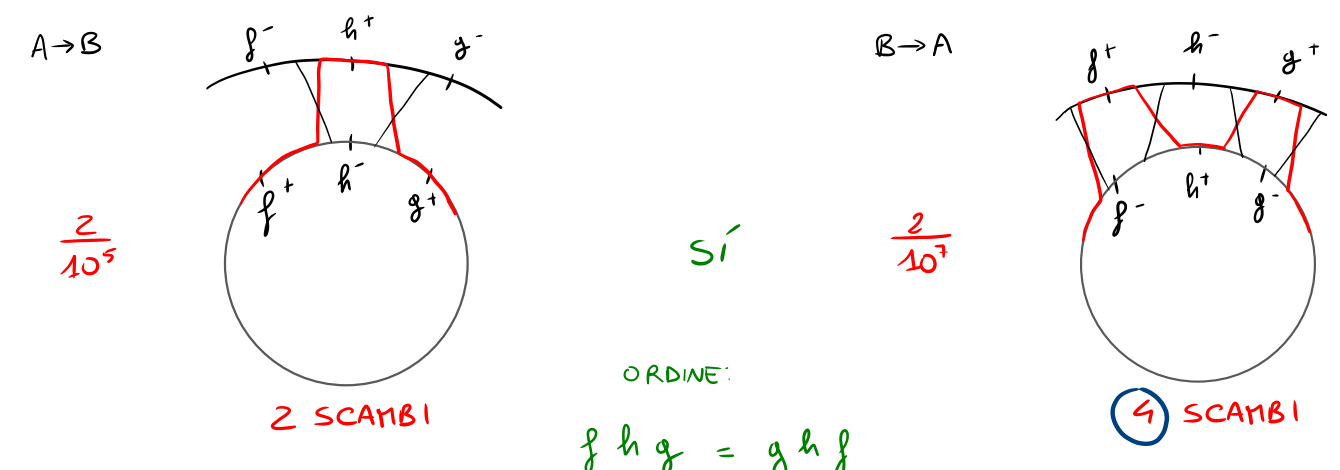
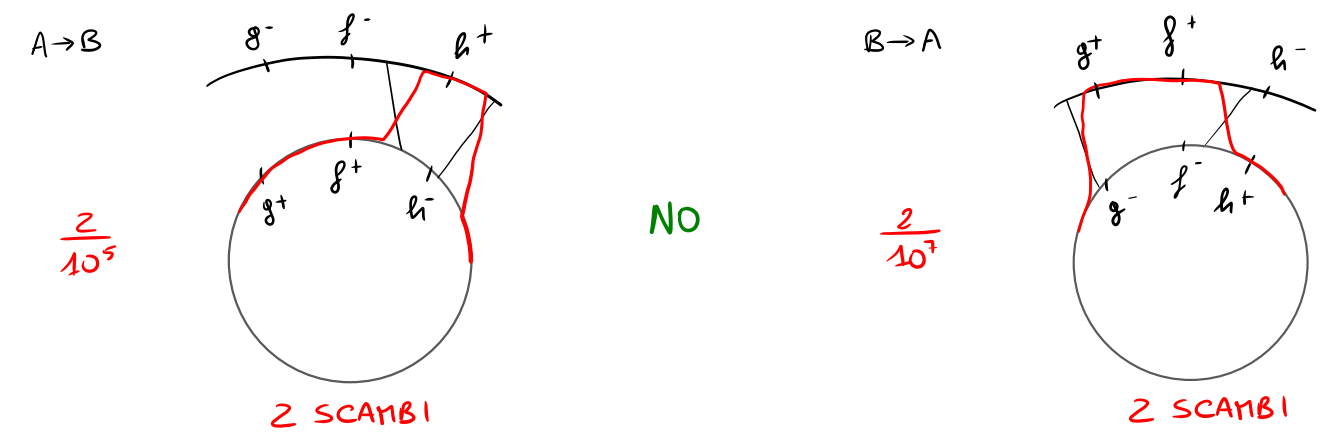
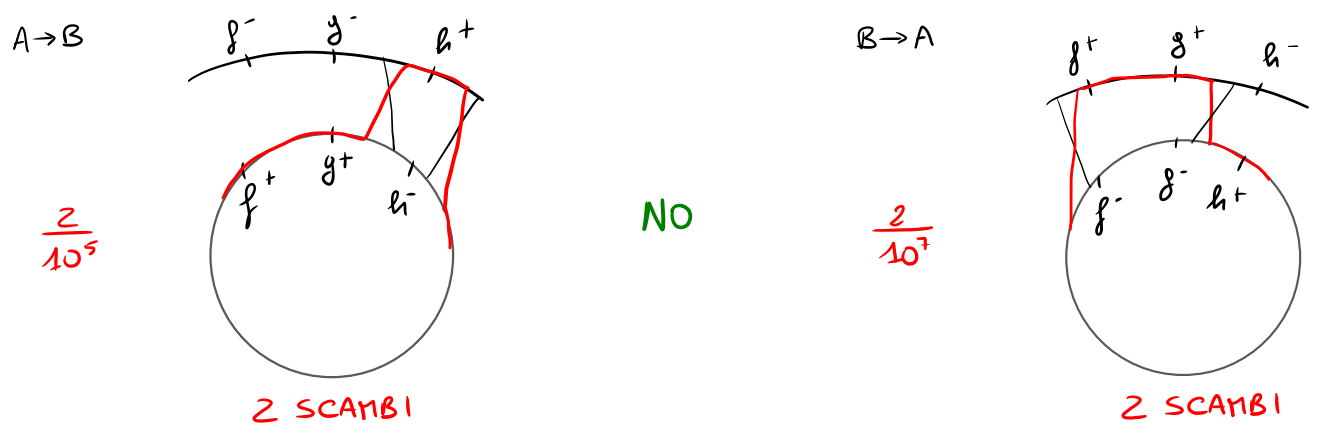
ceppo 1	P	O	M	T	A
ceppo 2	T	A	F	U	R
ceppo 3	X	W	P	O	M
ceppo 4	U	R	J	Z	Y

Tutti questi ceppi *Hfr* derivano dallo stesso ceppo *F+*. Qual e' l'ordine di questi marcatori sul cromosoma circolare dell'*F+* originale?



3) Il ceppo batterico A ha costituzione  $f^- g^- h^+$  e il ceppo B è  $f^+ g^+ h^-$ . Vengono usati fagi trasducenti per effettuare trasduzione generalizzata dal ceppo A al B e viceversa. Si ottengono i seguenti risultati dopo piastratura dei batteri riceventi:  
 trasduzione da A a B:  $2/10^5$  cellule di tipo selvatico;  
 trasduzione da B ad A:  $2/10^7$  cellule di tipo selvatico.  
 In base a questi risultati determinate l'ordine dei geni spiegando il vostro ragionamento.

ceppo A  $f^- g^- h^+$   
 ceppo B  $f^+ g^+ h^-$   
 $2/10^5 \rightarrow f^+ g^+ h^+$   $\frac{2}{10^5} > \frac{2}{10^7}$



⇒ Nelle trasduzioni da B ad A ( $B \rightarrow A$ ) si ottengono meno cellule selvatiche,  $f^+ g^+ h^+$ , pari a  $2/10^7$ , rispetto alla trasduzione da A a B ( $A \rightarrow B$ ) in cui se ne ottengono  $2/10^5$ . Questo indica che, nel primo caso ( $B \rightarrow A$ ), per ottenere il genotipo selvatico sono necessari 4 scambi, evento meno probabile, rispetto ai 2 scambi richiesti nel secondo caso ( $A \rightarrow B$ ).

4) Usando il batteriofago P22 avete allestito un incrocio a tre marcatori in *Salmonella typhimurium*. L'incrocio è tra un batterio ricevente  $Arg^- Leu^- His^-$  e il batteriofago P22 che è cresciuto nel ceppo  $Arg^+ Leu^+ His^+$ . Avete selezionato 1000 trasduttanti  $Arg^+$  e li avete testati su diversi terreni selettivi tramite replica di piastra. Avete ottenuto i seguenti risultati:

- $Arg^+ Leu^- His^-$  585
- $Arg^+ Leu^- His^+$  300
- $Arg^+ Leu^+ His^+$  114
- $Arg^+ Leu^+ His^-$  1

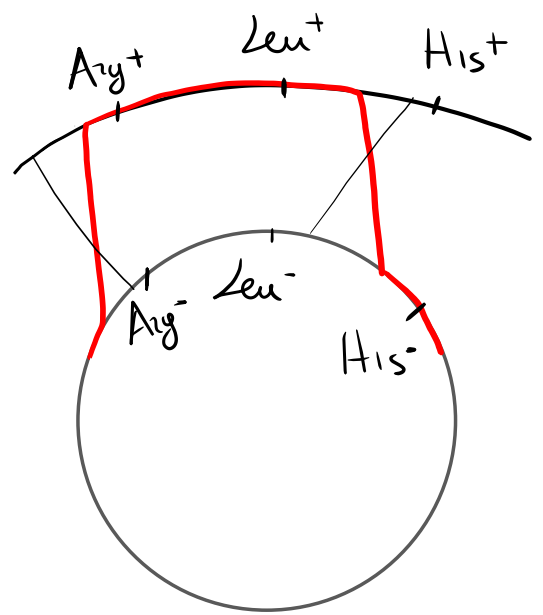
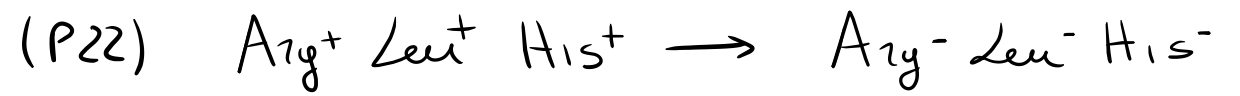
Determinare l'ordine dei marcatori e le frequenze di cotrasduzione tra Arg e Leu e tra Arg e His

$$freq \text{ cotrasduzione }_{Arg-Leu} = \frac{Arg^+ Leu^+}{TOT} = \frac{114 + 1}{1000} = 0,115 \rightarrow 11,5\%$$

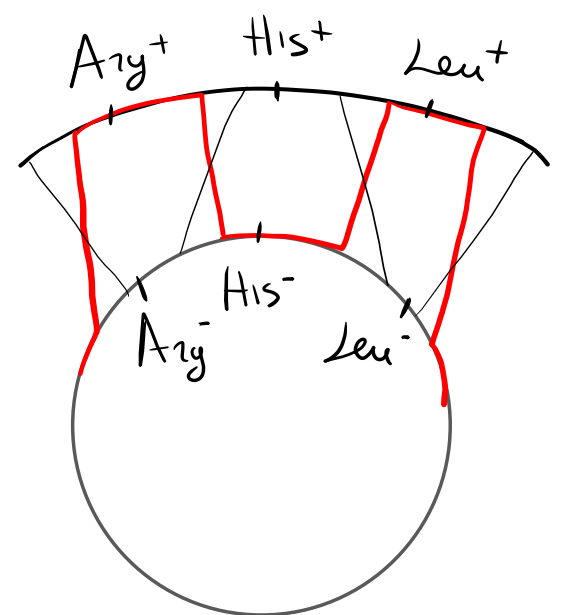
$$freq \text{ cotrasduzione }_{Arg-His} = \frac{Arg^+ His^+}{TOT} = \frac{300 + 114}{1000} = 0,414 \rightarrow 41,4\%$$

$41,4\% > 11,5\%$   $\Rightarrow$  conferma che Arg si trova più vicino a His rispetto a Leu

Poiché la classe di trasduttanti meno rappresentata è  $Arg^+ Leu^+ His^-$ , cerco l'ordine dei geni che rende possibile ottenerla tramite 4 scambi, cioè l'evento meno probabile:



2 SCAMBI  
↓  
NO



4 SCAMBI  
↓  
SÌ

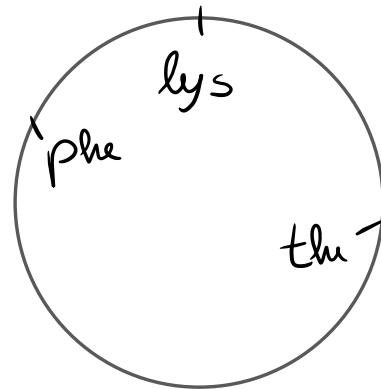
Ordine: Arg His Leu = Leu His Arg

6) Un batterio con genotipo  $lys^+ thi^+ phe^+$  è infettato da un batteriofago trasducente. Il lisato ottenuto viene utilizzato per infettare un batterio  ~~$lys^-$~~   $lys^- thi^- phe^-$ . I batteri di questa seconda infezione (riceventi) vengono selezionati su una prima piastra priva di lisina e su una seconda che non contiene tiamina. Le colonie cresciute vengono saggiate per la cotrasduzione degli altri geni. Determinare l'ordine dei geni

Marcatore selezionato	% di cellule con geni cotrasdotti	
$lys^+$	80 $phe^+$	2 $thi^+$
$thi^+$	3 $lys^+$	0 $phe^+$

→ Maggiore è la %  
di cotrasduzione più i  
geni sono vicini tra loro

ORDINE:  $phe lys thi$



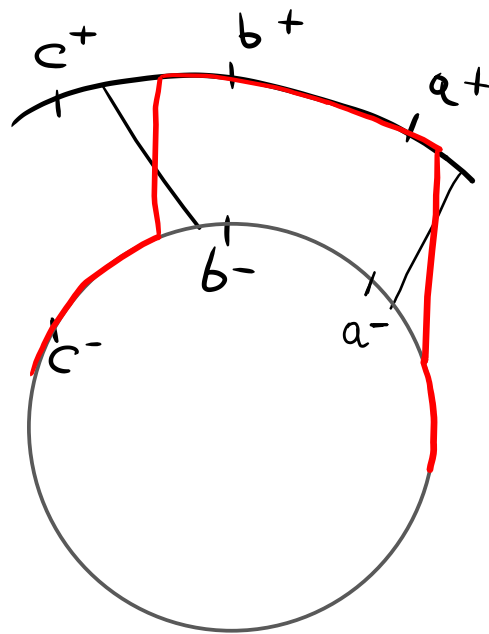
5) In un esperimento di coniugazione tra un ceppo *Hfr* donatore  $a^+b^+c^+$  ed uno ricevente  $F^- a^-b^-c^-$  si selezionano i ricombinanti  $a^+$  ( $a$  è il marcatore che entra nel ricevente per ultimo) e si saggiano per la presenza di  $b^+$  e  $c^+$ . Si ottengono i seguenti risultati

$a^+b^+c^+$  425;  $a^+b^-c^-$  0;  $a^+b^+c^+$  17;  $a^+b^-c^-$  65

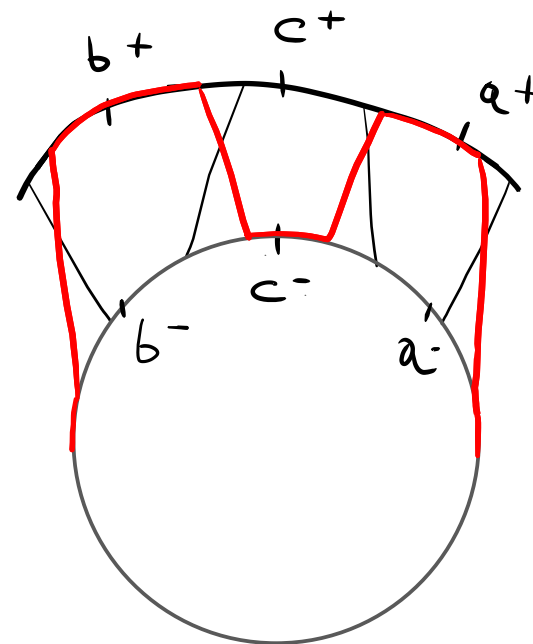
Calcolare le distanze di mappa in unità di ricombinazione

Poiché la classe meno rappresentata è  $a^+b^+c^-$ , cerco l'ordine dei geni che renda possibile ottenerla tramite 4 SCAMBI, cioè l'evento meno probabile

$Hfr\ a^+b^+c^+ \times F^- a^-b^-c^-$



2 SCAMBI  $\rightarrow$  NO



4 SCAMBI  $\rightarrow$  ordine bca

$$d_{b-c} = \frac{R_{b-c}}{TOT} \cdot 100 = \frac{b^+c^- + b^-c^+}{TOT} \cdot 100 = \frac{0 + 17}{507} \cdot 100 = 3,35 \text{ um}$$

$$d_{a-c} = \frac{R_{a-c}}{TOT} \cdot 100 = \frac{a^+c^- + a^-c^+}{TOT} \cdot 100 = \frac{0 + 65}{507} \cdot 100 = 12,8 \text{ um}$$

7) Sono noti due mutanti nel locus per il triptofano  $trpA^-$  e  $trpB^-$ , che stanno alla destra di un locus per la cisteina ( $cys$ ). Un ceppo batterico con genotipo  $cys^+ trpA^-$  viene trasdotto dal fago da un ceppo che è  $cys^- trpB^-$ . Si realizza anche un incrocio reciproco laddove il ceppo  $cys^- trpB^-$  viene trasdotto dal fago da un ceppo che è  $cys^+ trpA^-$ . In entrambi i casi il numero dei ricombinanti prototrofi è equivalente. Si determini l'ordine dei mutanti per il triptofano, in relazione al marcatore per la cisteina

①  $cys^- trpA^+ trpB^- \rightarrow cys^+ trpA^- trpB^+$

②  $cys^+ trpA^- trpB^+ \rightarrow cys^- trpA^+ trpB^-$

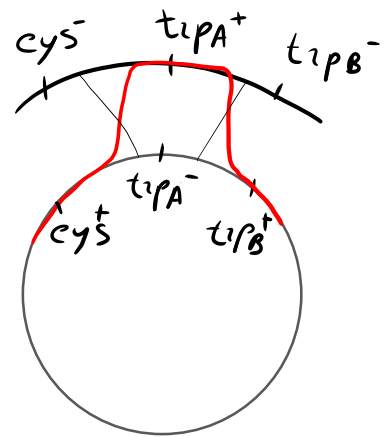
stesso  
NO PROTOTROFI

$\Rightarrow$

i ricombinanti devono derivare da eventi con la stessa probabilità, quindi dallo stesso numero di scambi

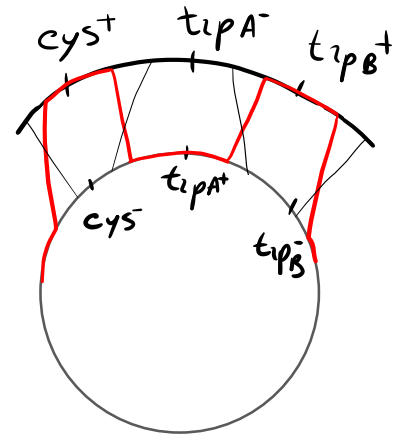
$cys^+ trpA^+ trpB^+$

①



2 SCAMBI

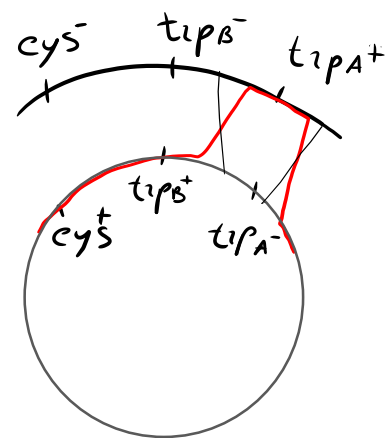
②



4 SCAMBI

NO  
n° scambi  
diverso

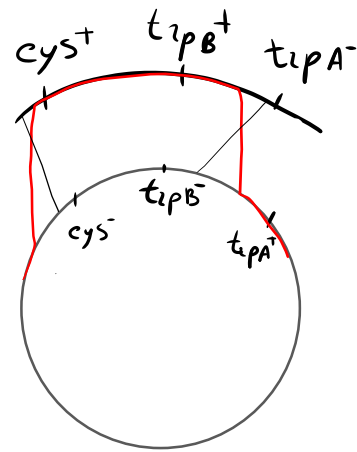
①



2 SCAMBI

=

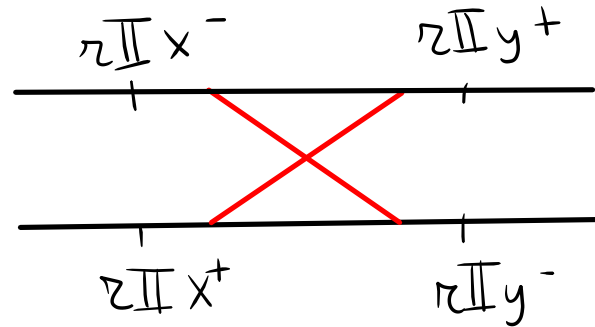
②



2 SCAMBI

Si  
↓  
 $cys trpB trpA$

8) Un genetista isola due nuove mutazioni della regione *rII* del batteriofago T4 chiamate *rIIx* e *rIIy*. Cellule di *E. coli B* vengono simultaneamente infettate con fagi che portano la mutazione *rIIx* e con fagi che portano la mutazione *rIIy*. Dopo la lisi delle cellule vengono raccolti campioni di lisato e uno viene fatto crescere in cellule di *E. coli K*, mentre il secondo in cellule di *E. coli B*; si ottengono rispettivamente 3 e 8322 placche. Qual è la frequenza di ricombinazione tra queste due mutazioni?



$E. coli K \rightarrow 3$  PLACCHE  $\rightarrow$  in *E. coli K* cresce solo  $rIIx^+ rIIy^+$

$E. coli B \rightarrow 8322$  PLACCHE

$R \left[ \begin{array}{l} rIIx^+ rIIy^+ \rightarrow 3 \text{ PLACCHE in } K \text{ (e } B) \rightarrow 3 \\ rIIx^- rIIy^- \rightarrow 3 \text{ (solo in } B) \end{array} \right.$

$$\text{freq ricombinazione} = \frac{R}{TOT} = \frac{3+3}{8322} = \frac{6}{8322} = 0,00072 \rightarrow 0,072\%$$