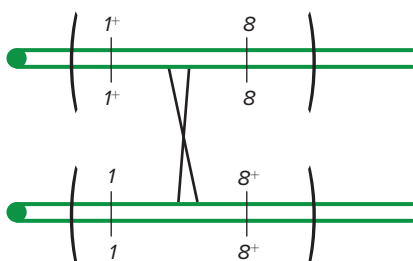


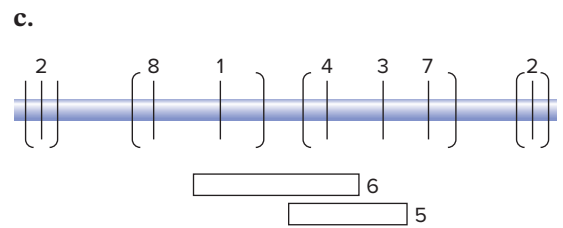
Soluzioni del Capitolo 7

- 7.1** a. 4; b. 7; c. 5; d. 9; e. 2; f. 6; g. 8; h. 1; i. 3
- 7.2** Un test di complementazione incrociando i due topi.
- 7.3** a. Tre gruppi: (1, 8); (2); (3, 4, 7).
b. Rapporto 3:1 $lys^-:lys^+$. Le cellule diploidi della parte (a) vanno incontro alla meiosi. Il fatto che i prototrofi siano rari indica che tutte le mutazioni puntiformi sono sullo stesso cromosoma e sono linked. Sappiamo che le delezioni 5 e 6 e i geni (1, 8) e (3, 4, 7) sono tutti sullo stesso cromosoma perché le delezioni si sovrappongono e non completano uno o entrambi questi geni. Se la mutazione 2 fosse su un cromosoma diverso da tutte le altre mutazioni (m), i prototrofi $2^+ m^+$ verrebbero prodotti frequentemente dall'assortimento indipendente. Questo non avviene, quindi il gene (2) è sintetico con gli altri.

Se le due mutazioni puntiformi nel diploide eterozigote sono nello stesso gene (mutazioni 1 e 8 o mutazioni 4, 3 e 7), può verificarsi una ricombinazione intragenica tra due mutazioni che producono spore prototrofiche (Lys^+). L'esempio seguente mostra il risultato per le mutazioni 1 e 8, che sono nello stesso gruppo di complementazione. Dopo l'evento di ricombinazione mostrato, le 4 spore saranno 1 $1^+ 8^+$ (Lys^+): 1 $1^- 8^-$ (Lys^-): 1 $1^+ 8^-$ (Lys^-): 1 $1^- 8^+$ (Lys^+). Il numero di tetradi che mostrano il rapporto 3 Lys^- : 1 Lys^+ dipenderà dalla distanza tra le mutazioni.



Anche due mutazioni puntiformi in geni differenti linked sullo stesso cromosoma danno spore prototrofiche, relativamente rare, in seguito a crossing-over tra i due geni. Poiché le mutazioni in geni diversi sono quasi sempre più distanti di due mutazioni nello stesso gene, il numero di tetradi 3 Lys^- : 1 Lys^+ sarà maggiore rispetto a quando le mutazioni sono nello stesso gene.

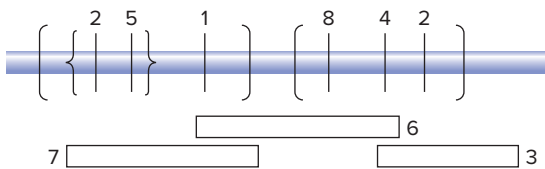


- 7.4** a. La provetta di partenza (provetta A) contiene 5 mL di batteriofago a una concentrazione di $1,5 \times 10^{10}$; aggiungere 1 μL (0,001 mL) della provetta A, corrispondente a $1,5 \times 10^7$ fagi, a 999 μL (in pratica, 1 mL) di diluente nella provetta B. Questo passaggio è una diluizione 10^{-3} . Ripetere questo passaggio con 1 μL della provetta B ($1,5 \times 10^4$ fagi) e mischiarlo con 999 μL di diluente nella provetta C (diluizione 10^{-6}). Quindi prendere 1 μL della provetta C ($1,5 \times 10^1$ fagi) e mischiarlo con i batteri (circa 100 volte più cellule che fagi = bassa molteplicità di infezione [MOI]). Consentire al fago di infettare le cellule, quindi aggiungerlo al top agar e colare il tutto su una piastra di agar. Ripetere il passaggio infezione/top agar con 10 μL della provetta C ($1,5 \times 10^2$ fagi) e piastrare. Ci dovrebbero essere 15 placche sulla prima piastra e circa 150 sulla seconda.

b. Per calcolare il numero totale dei fagi, avete bisogno di osservare una particolare diluizione al microscopio elettronico e di contare tutte le particelle fagiche. Il rapporto tra le placche e i fagi totali è l'efficienza di piastramento. Nella parte a,

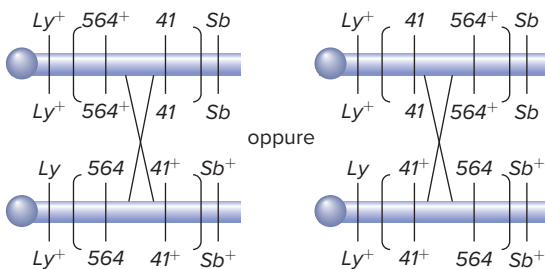
è ragionevole assumere che solo un fago abbia formato ogni placca, a causa della MOI molto bassa. Poiché c'erano molte più cellule batteriche che fagi, sono molto alte le possibilità che ogni cellula batterica possa essere stata infettata solo da un singolo fago.

- 7.5 a.** Una delezione non può andare incontro a reversione. Inoltre, una delezione non può ricombinare con nessuna delle mutazioni rII^- , che invece possono ricombinare fra loro generando fagi rII^+ .
b. Mutazioni rII^- nella stessa coppia nucleotidica non possono ricombinare e generare fagi rII^+ .
- 7.6 a.** Ci sono due gruppi di complementazione e quindi due geni.
b. I gruppi di complementazione sono (1, 4) e (2, 3, 5).
- 7.7 a.** 3, 6 e 7 sono delezioni (non possono dare reversione).
b.



c. Si possono usare altre delezioni incrociandole con i mutanti 2 e 5.

- 7.8 a.** Proviamo entrambi gli orientamenti delle due mutazioni ry per vedere quale ordine produce occhi selvatici insieme con ali strette e setole corte, come risultato di un crossover tra loro.

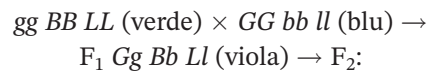


L'orientamento II produce i ricombinanti $Ly ry^+$ Sb ottenuti, perciò l'ordine deve essere $Ly ry^{41} ry^{564} Sb$.

- b.** Assumiamo che la progenie $ry^{41} ry^{564}$ sia trovata in egual numero nei ricombinanti ry^+ , così la frequenza di ricombinazione = $(8 + 8)/100\,000 = 0,0016\%$. La distanza tra ry^{41} e $ry^{564} = .0016$ mu.
- 7.9 a.** Dittipo parentale: tutte le spore Arg^- . Dittipo non parentale: 2 Arg^- : 2 Arg^+ .
b. Due spore PD crescono su ornitina, citrullina, arginosuccinato e arginina; le altre due crescono

solo su arginina; le spore NPD Arg^- crescono solo su arginina.

- 7.10 a.** La F_2 dovrebbe avere 9 serpenti marroni, 3 neri, 4 arancioni. In altre parole, si dovrebbe osservare epistasi. (Nota: non conosciamo l'ordine dell'arancione e del nero in questo pathway. Se l'ordine fosse nero \rightarrow arancione \rightarrow marrone, si osserverebbe un rapporto 9 marrone: 3 arancione: 4 nero).
b. Se ci sono solo due pathway, uno produce l'arancione e l'altro il nero, quindi ci sarebbero quattro diversi fenotipi nella generazione F_2 : 9 marroni ($O^- B^-$) : 3 neri ($oo B^-$) : 3 arancioni ($O^- bb$) : 1 non pigmentato ($oo bb$).
- 7.11** 45 viola : 16 verde : 3 blu. Il prodotto del gene W converte un pigmento incolore (bianco) in verde. Il prodotto del gene G converte i fiori verdi in blu; l'allele mutante (non funzionale) è g . Uno dei due prodotti genici B o L può convertire i fiori blu in viola; b e l sono gli alleli mutanti. Si disegna l'incrocio. Da notare che entrambi i genitori sono WW . Tutta la progenie avrà genotipo WW , che non influirà sulla serie di fenotipi nella progenie. Per questo motivo non è considerato in questo incrocio:



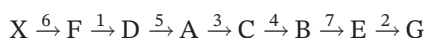
$$\begin{aligned} 3/4 G^- \times 3/4 SI^- \times 3/4 L^- &= 27/64 G^- SI^- L^- \text{ (viola)} \\ 3/4 G^- \times 1/4 bb \times 3/4 L^- &= 9/64 G^- bb L^- \text{ (viola)} \\ 3/4 G^- \times 3/4 B^- \times 1/4 ll &= 9/64 G^- B^- ll \text{ (viola)} \\ 3/4 G^- \times 1/4 bb \times 1/4 ll &= 3/64 G^- bb ll \text{ (blu)} \\ 1/4 gg \times 3/4 B^- \times 3/4 L^- &= 9/64 gg B^- L^- \text{ (verde)} \\ 1/4 gg \times 1/4 bb \times 3/4 L^- &= 3/64 gg bb L^- \text{ (verde)} \\ 1/4 gg \times 3/4 B^- \times 1/4 ll &= 3/64 gg B^- ll \text{ (verde)} \\ 1/4 gg \times 1/4 bb \times 1/4 ll &= 1/64 gg bb ll \text{ (verde)} \end{aligned}$$

Il rapporto è 0 bianco: 45 viola: 16 verde: 3 blu. Si capisce perché il problema specificava che il genitore verde era mutante in un solo gene, perché se così non fosse, le piante doppio mutanti $gg bb LL$ o $gg BB ll$ sarebbero ancora verdi ma darebbero un rapporto di fenotipi molto diverso alla F_2 rispetto a $gg BB LL$.

- 7.12 a.** In tutti e quattro gli incroci, sono coinvolti due geni non associati che mostrano dominanza completa a entrambi i loci.
b. (Ciascuna freccia rappresenta una reazione biochimica catalizzata da uno dei due prodotti genici.) (Incrocio 1) bianco blu viola; (Incrocio 2) bianco 1 \rightarrow bianco 2 \rightarrow viola; (Incrocio 3) bianco 1 rosso e bianco 2 blu, con rosso + blu = viola; (Incrocio 4) bianco 1 \rightarrow viola e bianco 2 \rightarrow viola.
c. Incrocio 2.

d. Solo F₂. (Incrocio 1) 2 viola : 1 blu : 1 bianco; (Incrocio 2) 1 viola : 1 bianco; (Incrocio 3) 2 viola : 1 rosso : 1 blu; (Incrocio 4) tutto viola.

- 7.13** Primo, ordinate i componenti dal prodotto finale al primo nel pathway. Il componente finale è quello su cui tutti i mutanti nel pathway cresceranno. Il componente precedente (E in questo esempio) è quello che consente a tutti i mutanti, tranne una classe, di crescere. Continuate a lavorare verso l'inizio del pathway in questo modo. Quindi, ordinate i mutanti. Ancora, potete fare ciò lavorando a ritroso, dal prodotto finale attraverso gli intermedi, cercando il mutante che cresce solo quando è stato provvisto di G. In questo problema è il mutante 2. La mutazione deve essere nel gene che codifica l'enzima che catalizza l'ultimo passaggio che sintetizza il composto G. Quindi cercate il mutante che cresce solo quando è stato munito di G o di un altro intermedio. Il mutante 7 può crescere solo quando è stato fornito di un intermedio E o G. Questo conferma la nostra prima assegnazione di E come l'intermedio che precede G, e ci dice anche che il gene, in cui la mutazione 7 è localizzata codifica l'enzima che permette la sintesi di E. In questo modo, continuate a lavorare attraverso il pathway per ottenere la risposta.



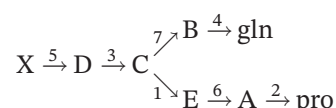
7.14 a.



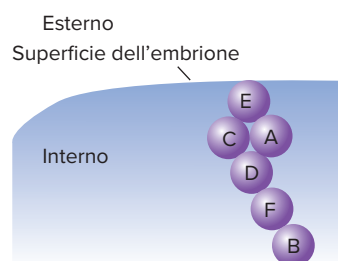
b. 9 e 10 accumulano B; 10 e 14 accumulano D.

- 7.15** Per risolvere questo problema, considerate prima solo quei mutanti che sono difettivi esclusivamente nella biosintesi di un amminoacido. I mutanti difettivi solo nel pathway della prolina sono quelli che crescono quando viene fornita prolina nel terreno, ma non glutammina. I mutanti 2, 6 e 1 sono di questo tipo. Non c'è intermedio che consente la crescita del mutante 2, perciò il difetto deve essere nell'enzima finale che produce prolina. Lavorando a ritroso da questo punto nel pathway, il mutante 6 cresce quando provvisto di un intermedio A, così A è l'intermedio finale e il mutante 6 è bloccato nel passaggio che porta ad A. Il mutante 1 cresce quando provvisto di intermedi E o A, indicando che E è prima di A nel pathway della prolina. Ora conducete la stessa analisi per la glutammina. I mutanti 7 e 4 sono solo difettivi nella biosintesi della glutammina. Il mutante 4 cresce solo su glutammina, mentre il mu-

tante 7 cresce quando fornito di B o di glutammina, indicando che il mutante 7 è bloccato nella produzione di B e il mutante 4 non può convertire l'intermedio B in glutammina. Ora considerate i mutanti che sono difettivi nella sintesi sia di glutammina sia di prolina. I mutanti 5 e 3 sono di questo tipo. Il mutante 3 cresce solo se fornite l'intermedio C, così deve essere bloccato esattamente prima di questo passaggio. Il mutante 5 cresce se date C o D, perciò è bloccato prima dell'intermedio D. Questo rappresenta la prima parte del pathway che è impiegato nella biosintesi sia della prolina sia della glutammina. Mettendo insieme tutte queste informazioni, abbiamo il seguente pathway ramificato:



7.16



- 7.17** I dati rappresentano esperimenti di complementazione effettuati a livello biochimico in provetta. I risultati suggeriscono che esistono due geni diversi legati all'X che, quando mutati, causano l'emofilia. Gli individui 1 e 2 sono mutanti in un gene (gene A) e gli individui 3 e 4 sono mutanti nell'altro gene (gene B). Gli individui 1 e 2 mancano quindi della funzione di un fattore necessario per la coagulazione, mentre 3 e 4 mancano di un fattore diverso. Quando i due tipi di sangue complementano (come nella miscela di sangue degli individui 1 e 3), si verifica la coagulazione perché il sangue di ciascun paziente fornisce il fattore carente nell'altro paziente.

Diversi tipi di percorsi biochimici che coinvolgono possibili funzioni dei prodotti di questi due geni sono coerenti con i dati. I due geni potrebbero codificare enzimi che convertono in sequenza un composto, presente nel siero, in un prodotto finale necessario per la coagulazione. Un'altra delle numerose possibilità è che una delle proteine (diciamo A) sia il substrato per una reazione catalizzata dall'enzima B, e questa reazione produce il fattore di coagulazione necessario.

D'altra parte, i risultati escludono un percorso in cui il prodotto di uno di questi geni (diciamo il gene A) è richiesto per la sintesi della proteina codificata dall'altro gene (B). In tal caso, il plasma sanguigno di un paziente mutante per il gene A non avrebbe né la proteina A né la proteina B, quindi la miscela di plasma mutanti non avrebbe alcuna fonte di composto B. (I plasma sono privi di cellule, quindi le nuove proteine non potrebbero essere sintetizzate.)

Come interessante osservazione storica, l'articolo citato nel *British Medical Journal* è stato pubblicato nel numero del 27 dicembre (Natale = Christmas) del 1952. Il primo paziente il cui sangue poteva complementare in provetta quello della maggior parte degli altri emofiliaci (indicando così l'esistenza di due diversi tipi di emofilia legata all'X) era un bambino di 5 anni il cui cognome era Christmas. A causa di questi fatti, la forma più rara della malattia, solitamente chiamata emofilia B, è ancora spesso chiamata "Christmas disease" (malattia di Natale).

7.18 a. Efficace, immediato, prolungato.

b. Inefficace.

c. Efficace, ritardato, prolungato.

d. Efficace, immediato, prolungato.

e. Inefficace.

f. Inefficace.

g. Efficace, ritardato, prolungato.

h. Inefficace.

i. Efficace, immediato, temporaneo.

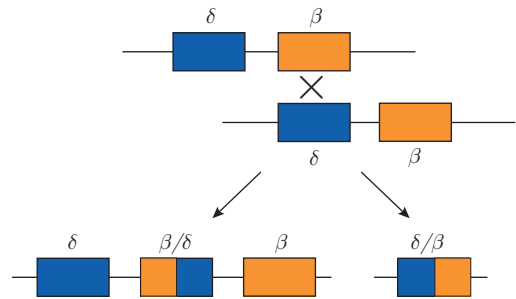
j. Efficace, immediato, prolungato.

7.19 a. Sono necessari due loci, uno per i polipeptidi della globina α e uno per i polipeptidi della globina β .

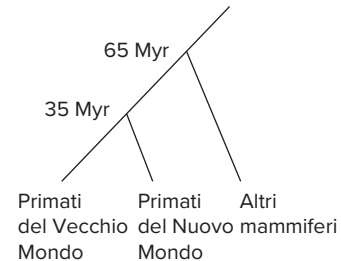
b. Assumendo che entrambi gli alleli di tutti e due i geni siano espressi agli stessi livelli, si rileverebbero $1/2 \alpha_1 : 1/2 \alpha_2$ per le due forme della subunità α dell'emoglobina e $1/2 \beta_1 : 1/2 \beta_2$ per le forme delle subunità β . Le subunità α formerebbero i seguenti tipi di dimeri: $1/4 \alpha_1\alpha_1 : 1/2 \alpha_1\alpha_2 : 1/4 \alpha_2\alpha_2$. Le subunità β si assemberanno in dimeri nello stesso modo, dando un rapporto fenotipico monoibrido di: $1/4 \beta_1\beta_1 : 1/2 \beta_1\beta_2 : 1/4 \beta_2\beta_2$. Per calcolare i tipi di etero-tetrameri e le loro frequenze, applicare la regola del prodotto ai due rapporti monoibridi: $1/16 \alpha_1\alpha_1 \beta_1\beta_1 : 1/8 \alpha_1\alpha_2 \beta_1\beta_1 : 1/16 \alpha_2\alpha_2 \beta_1\beta_1 : 1/8 \alpha_1\alpha_1 \beta_1\beta_2 : 1/4 \alpha_1\alpha_2 \beta_1\beta_2 : 1/8 \alpha_2\alpha_2 \beta_1\beta_2 : 1/16 \alpha_1\alpha_1 \beta_2\beta_2 : 1/8 \alpha_1\alpha_2 \beta_2\beta_2 : 1/16 \alpha_2\alpha_2 \beta_2\beta_2$.

7.20 Un cromosoma con $\beta \beta/\delta \delta$; un altro con solo β/δ (dove / significa che una parte della proteina di

cui, per esempio, la porzione N-terminale, è un tipo di globina e l'altra parte l'altro tipo di globina.)



7.21 a.



Confrontando questo schema con la Figura 7.12d si può osservare che l'evento finale di duplicazione genica, quello che alla fine ha dato origine a differenti geni di fotorecettori del rosso e del verde, molto probabilmente è avvenuto nella linea che porta ai primati tricromatici del "Vecchio Mondo" (come gli uomini), ma non nella linea che porta ai primati dicromatici del "Nuovo Mondo" (come un tipo di scimmie). Questo data l'evento finale di duplicazione genica a un tempo successivo a 35 milioni di anni (Myr). L'informazione consente anche di concludere che i due precedenti eventi di duplicazione genica mostrati in Figura 7.12 sono avvenuti in una fase posteriore a 65 Myr, poiché tutti i mammiferi hanno la rodopsina più almeno due fotorecettori del colore.

b. I maschi saranno dicromatici, poiché essi sono emizigoti per il gene associato all'X. Comunque, ci saranno tre classi di maschi che vedono i colori in modo differenti. Le femmine possono essere dicromatiche se sono omozigoti per un allele del gene associato all'X, quindi ci saranno ancora tre classi. Le femmine possono anche essere tricromatiche se sono eterozigoti per questo gene, con tre differenti combinazioni: 1-2, 1-3 e 2-3.

c. Il fatto che il 95% dei nostri recettori funzioni meglio in condizioni di luce bassa suggerisce che i primi mammiferi fossero attivi in situazioni di luce fioca, per esempio nelle foreste di notte!