

# Esercizio 1

6 mutanti puntiformi nel gene *rII*:  $a-b-c-d-e-f$  del fago  $\lambda$ , sono stati fatti ricombinare nel ceppo B di *E. coli* con 5 delezioni dello stesso gene: 1-2-3-4-5.

I risultati della ricombinazione sono indicati nella tabella, dove: + indica che dopo l'incrocio si ottengono ricombinanti selvatici, mentre - indica che dopo l'incrocio si ottengono solo i mutanti incapaci di sviluppare lisi in un ceppo K di *E. coli*.

Si disegni una mappa del gene *rII* indicando l'estensione delle delezioni e le posizioni delle 6 mutazioni ( $a-b-c-d-e-f$ ).

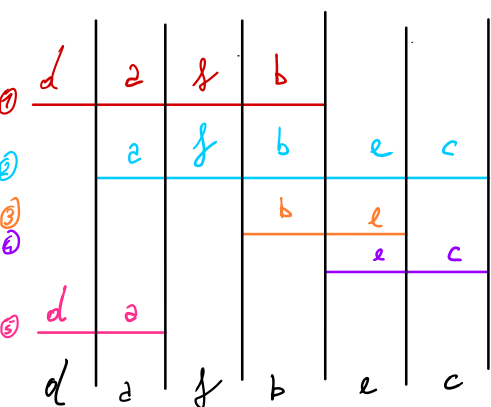
Delezioni	Mutazioni puntiformi					
	a	b	c	d	e	f
1	-	-	+	-	+	-
2	-	-	-	+	-	-
3	+	-	+	+	-	+
4	+	+	-	+	-	+
5	-	+	+	-	+	+

Si individua quali mutazioni sono contenute nelle 5 delezioni (1,2,3,4,5).

- La delezione 1 contiene le mutazioni a, b, d, f perché non osservo RICOMBINAZIONE (-) e non ripristino la lisi in *E. coli* K(2).
- La delezione 2 contiene le mutazioni a, b, c, e, f
- La delezione 3 contiene le mutazioni b, e
- La delezione 4 contiene le mutazioni c, e
- La delezione 5 contiene le mutazioni a, d

MUTAZIONI:	a	b	c	d	e	f
①	a	b		d		f
②	a	b	c		e	f
③		b			e	
④			c		e	
⑤	a			d		

a, b, f si sovrappongono tra 1 e 2, b si sovrappone anche con 3.  
 3 non ha né a, né f quindi metterlo più esterno: a, f, b  
 d si sovrappone solo con 5 lo metto più interno: d, a, f, b  
 della 5 ho anche che a si sovrappone a 1 e 2



l'ordine è:  $d-a-f-b-e-c$

## Esercizio 2.

In un esperimento di mappatura di geni richiesti per la formazione del capside del batteriofago T4 sono state utilizzate 8 delezioni: 1-2-3-4-5-6-7-8. Il test di complementazione in *E. coli* K( $\lambda$ ) ha prodotto i risultati nella *tabella a* dove: +  $\rightarrow$  lisi / -  $\rightarrow$  assenza di lisi.

1. Quanti gruppi di complementazione ci sono?

Successivamente si fa un test di mutagenesi indotta con EMS il quale ha permesso di isolare 14 mutazioni (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m) che determinano una formazione dei capsidi alterata. Ciascun mutante è stato fatto ricombinare con le delezioni identificate precedentemente in *E. coli* B e la progenie risultante è stata utilizzata per infettare *E. coli* K( $\lambda$ ). I risultati sono mostrati nella *tabella b* dove: +  $\rightarrow$  lisi / -  $\rightarrow$  assenza di lisi.

2. Disegnare la mappa delle delezioni ed inserire le mutazioni trovate.

a	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	+	+	+	-	+	-	+
2		-	+	-	+	+	+	+
3			-	+	+	-	+	-
4				-	+	+	+	+
5					-	+	-	+
6						-	+	-
7							-	+
8								-

b	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
3	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
4	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
5	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
7	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

1. Quanti gruppi di complementazione ci sono?

Per individuare i GRUPPI DI COMPLEMENTAZIONE si guarda la tabella a. Quando ho "-" le delezioni si sovrappongono e fanno parte dello stesso gruppo.

GRUPPO I: 1, 5, 7

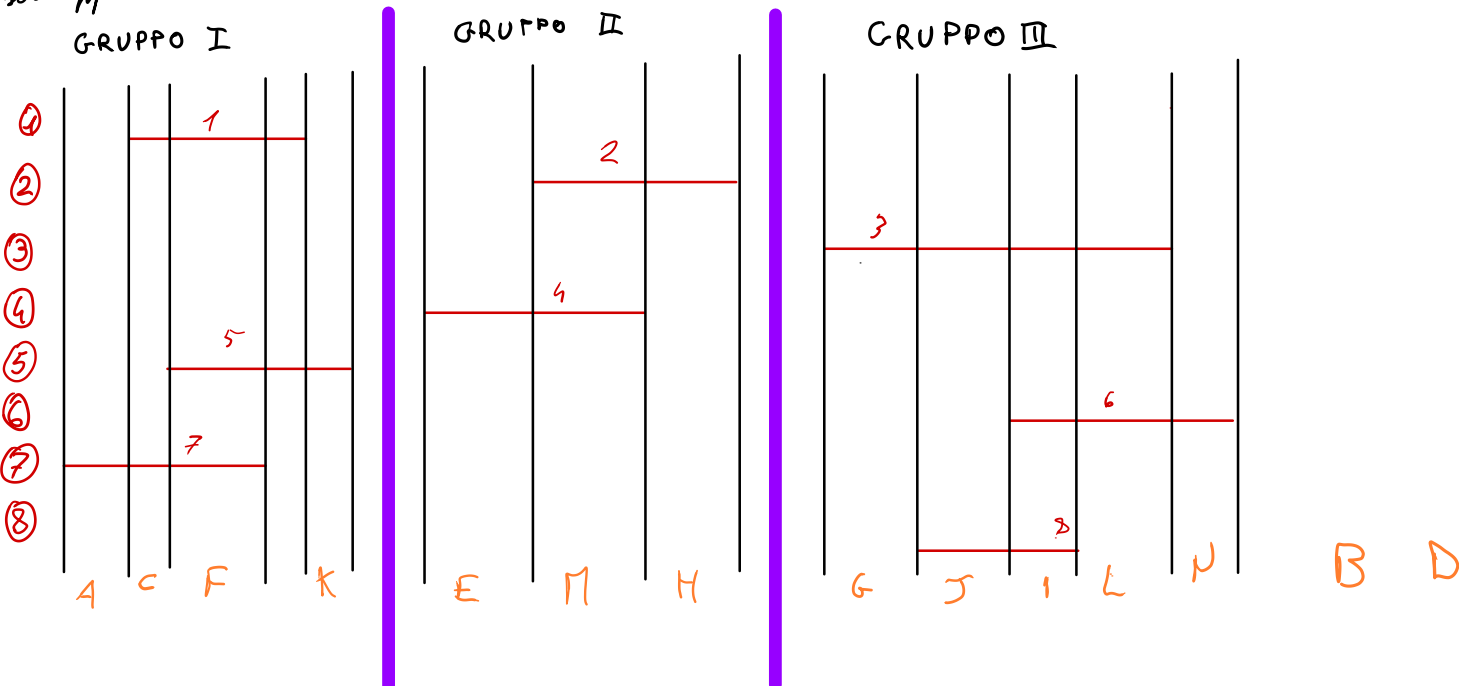
GRUPPO II: 2, 4

GRUPPO III: 3, 6, 8

2. Disegnare la mappa delle delezioni ed inserire le mutazioni trovate.

Per disegnare la mappa di delezione inversisco prima le delezioni rispettando i gruppi di complementazione e poi con le mutazioni aggiusto le

sovrapposizioni



# Esercizio 3

7 mutanti per **delezione** nel cistone A della regione *rII* del fago T4 sono saggiati a coppie per individuare i ricombinanti di tipo selvatico. In questo modo è stata costruita la **Tabella 1**, dove:

- + → ricombinazione;
- 0 → no ricombinazione.

1. Costruire la mappa di queste delezioni.

2. Vengono prese **5 mutazioni puntiformi** che vengono saggiate per i ricombinanti di tipo selvatico con le delezioni del punto 1. I risultati di questa analisi sono mostrati nella **Tabella 2** (+ → ricombinazione; 0 → no ricombinazione). Si determini l'ordine delle mutazioni puntiformi eventualmente modificando la mappa citologica.

TABELLA 1

	1	2	3	4	5	6	7
1	0	0	0	0	0	0	0
2		0	+	+	0	+	+
3			0	0	0	0	0
4				0	+	0	0
5					0	+	0
6						0	+
7							0

TABELLA 2

	1	2	3	4	5	6	7
a	0	+	0	+	+	+	0
b	0	0	+	+	0	+	+
c	0	+	0	0	+	0	+
d	0	+	0	0	+	+	+
e	0	+	+	+	0	+	+

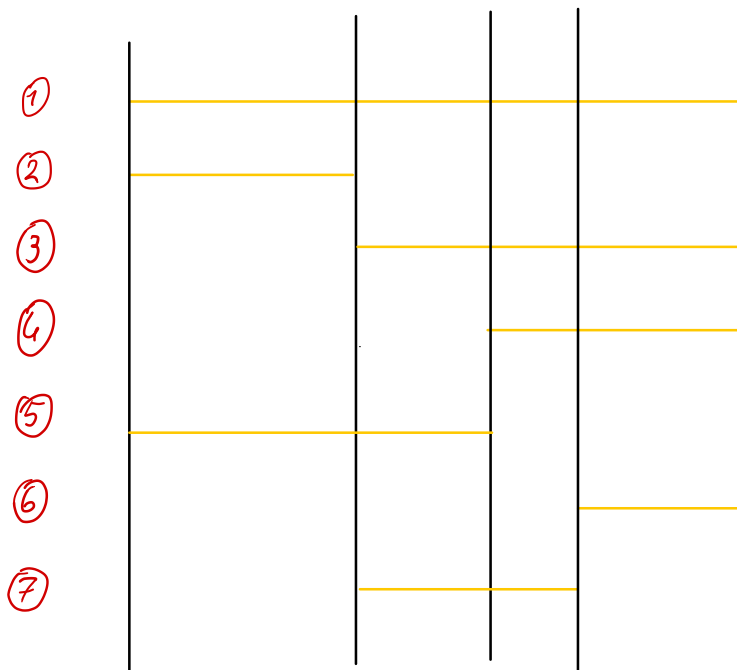
1. Costruire la mappa di queste delezioni.

Guardando la TABELLA 1 (righe e colonne) posso vedere quali delezioni si sovrappongono (0) e quali non si sovrappongono (+).

Disegnare la MAPPA DI DELEZIONE partendo da delezioni più informative come la 1 e la 2.

TABELLA 1

	1	2	3	4	5	6	7
1	0	0	0	0	0	0	0
2		0	+	+	0	+	+
3			0	0	0	0	0
4				0	+	0	0
5					0	+	0
6						0	+
7							0



2. Vengono prese **5 mutazioni puntiformi** che vengono saggiate per i ricombinanti di tipo selvatico con le delezioni del punto 1. I risultati di questa analisi sono mostrati nella *Tabella 2* (+ → ricombinazione; 0 → no ricombinazione). Si determini l'ordine delle mutazioni puntiformi eventualmente modificando la mappa citologica.

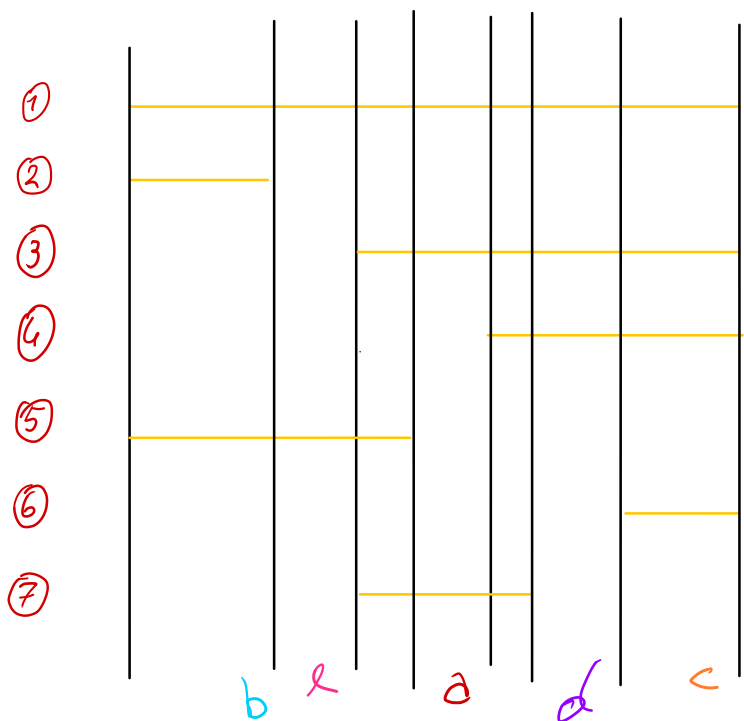


TABELLA 2

	1	2	3	4	5	6	7
a	0	+	0	+	+	+	0
b	0	0	+	+	0	+	+
c	0	+	0	0	+	0	+
d	0	+	0	0	+	+	+
e	0	+	+	+	0	+	+

Basandosi sulla tabella 2 possiamo inserire le mutazioni a, b, c, d, e

La mutazione a è presente nelle delezioni 1, 3 e 7. Nella mappa possiamo spostare la delezione a per non farla cadere nella regione in cui mappa a

La mutazione b è presente nelle delezioni 1, 2, 5

La mutazione c è presente nelle delezioni 1, 3, 4, 6

La mutazione d è presente nelle delezioni 1, 3, 4

La mutazione e è presente nelle delezioni 1, 5 quindi rimpicciolisco la delezione 2 per

creare una zona in cui non si sovrappone con 5

# Esercizio 4.

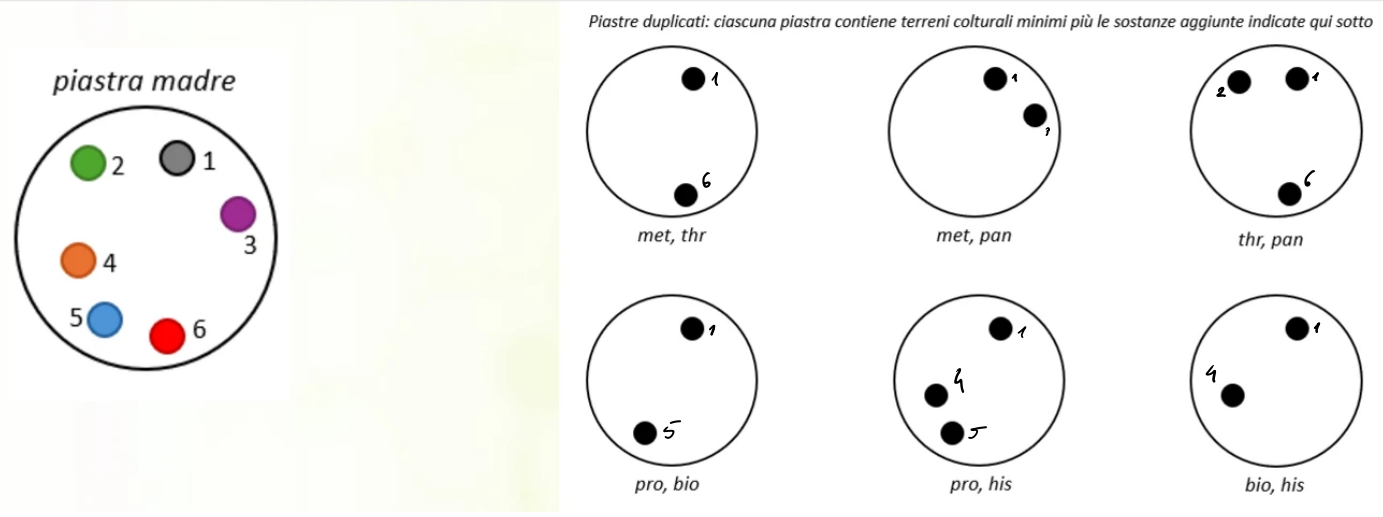
Due ceppi batterici **auxotrofi** vengono coniugati nel brodo di coltura, diluiti e poi inoculati e poi piastrati su un **terreno completo** (piastra madre, contenente tutti i nutrienti).

Il genotipo dei batteri è il seguente:

$$met^- thr^- pan^- pro^+ bio^+ his^+ \times met^+ thr^+ pan^+ pro^- bio^- his^-$$

Da questa piastra vengono fatti dei duplicati su terreni minimi aggiunti delle sostanze indicate nell'immagine.

- Dalla posizione delle colonie e dal tipo di terreno si determinino i genotipi dei batteri di ciascuna colonia.



La colonia 1 cresce su tutti i terreni minimi indipendentemente da cosa aggiungo quindi la colonia 1 è prototrofo:  $met^+ thr^+ pan^+ pro^+ bio^+ his^+$

La colonia 2 cresce solo quando aggiungo CONTEMPORANEAMENTE thr e pan, ma non cresce se metto thr e pan divisi, quindi la colonia 2 è auxotrofa sia per thr che per pan:  $met^+ thr^- pan^- pro^+ bio^+ his^+$

La colonia 3 cresce solo quando aggiungo CONTEMPORANEAMENTE met e pan, ma non cresce se metto met e pan divisi, quindi la colonia 3 è auxotrofa sia per met che per pan:  $met^- thr^+ pan^- pro^+ bio^+ his^+$

La colonia 4 cresce sui terreni pro-bio e bio-his, ma non cresce se aggiungo pro e bio. Questo suggerisce che nonostante si aggiungono pro e bio, la colonia 4 è comunque auxotrofa per his che è assente. Il genotipo quindi  $met^+ thr^+ pan^+ pro^+ bio^+ his^-$

La colonia 5 cresce quando aggiungo pro-bio e pro-his, ma non cresce se aggiungo bio e his. In modo uguale alla 4 il ceppo non cresce su bio-his perché manca pro. Quindi:  $met^+ thr^+ pan^+ pro^- bio^+ his^+$

La colonia 6 cresce sui terreni met-thr e thr-pan, ma non cresce su met-pan. Questa colonia è riciccante  $thr^-$  perché non cresce quando non lo aggiungo al terreno. La colonia, inoltre, è  $met^+$  perché sul terreno thr-pan che manca di met la colonia cresce comunque. Analogamente è  $pan^+$  perché cresce sul terreno met-thr dove pan non è aggiunto. Quindi:  $met^+ thr^- pan^+ pro^+ bio^+ his^+$

① PROTOTOFO  $\rightarrow met^+ thr^+ pan^+ pro^+ bio^+ his^+$

②  $met^+ thr^- pan^- pro^+ bio^+ his^+$

③  $met^- thr^+ pan^- pro^+ bio^+ his^+$

④  $met^+ thr^+ pan^+ pro^+ bio^+ his^-$

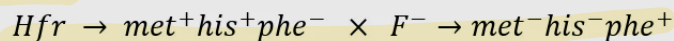
⑤  $met^+ thr^+ pan^+ pro^- bio^+ his^+$

⑥  $met^+ thr^- pan^+ pro^+ bio^+ his^+$

RICAPITOLANDO:

# Esercizio 5.

Vengono incrociati due ceppi di *E. coli*:



È noto che  $met^+$  entra nel ricevente ( $F^-$ ) per ultimo; quindi si selezionano i ricombinanti per  $met^+$  e si saggiano per la presenza dei marcatori  $his^+$  e  $phe^+$ . Di ciascun tipo si trovano:

$met^+ his^+ phe^-$	400
$met^+ his^+ phe^+$	4
$met^+ his^- phe^+$	80
$met^+ his^- phe^-$	205

1. Stabilire l'ordine dei 3 geni e calcolare le distanze di mappa in unità di ricombinazione.

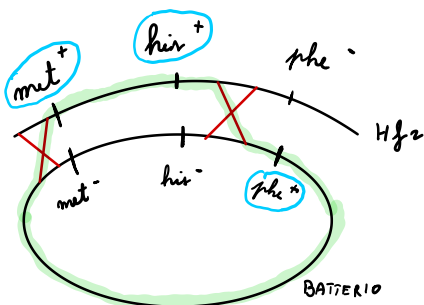
Guardando i tipi ricombinanti individuiamo i doppi ricombinanti che sono i meno numerosi

Distinguiamo le due ipotesi che possono dare questi ricombinanti:

- ①  $met^+ his^+ phe^+$  → *his* al centro
- ②  $met^+ phe^+ his^+$  → *phe* al centro.

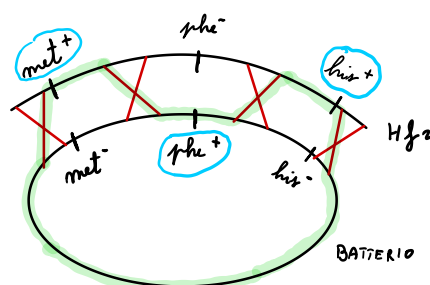
↓  
 $met^+ his^+ phe^+$

IPOTESI 1:



2 crossing-over

IPOTESI 2:



4 crossing-over

↓  
L'IPOTESI 2 è quella che prevede il maggior numero di crossing-over quindi *phe* È IL GENE CENTRALE

Calcoliamo le distanze di ricombinazione:

$$f \text{ ricombinanti } met-phe = \frac{n^{\circ} \text{ doppi ricombinanti} + \text{ricombinanti } met^+ phe^+}{TOT} = \frac{4 + 80}{689} = 0,122 \rightarrow d_{met-phe} = 0,122 \cdot 100 = 12,2 \text{ u.m.}$$

$$f \text{ ricombinanti } phe-his = \frac{n^{\circ} \text{ doppi ricombinanti} + \text{ricombinanti } phe^+ his^-}{TOT} = \frac{4 + 205}{689} = 0,303 \rightarrow d_{phe-his} = 0,303 \cdot 100 = 30,3 \text{ u.m.}$$