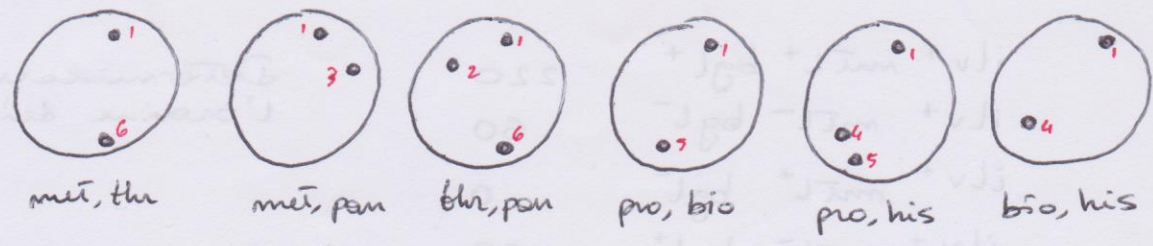


15.12 | met⁻ thr⁻ pan⁻ pro⁺ bio⁺ his⁺ × met⁺ thr⁺ pan⁺ pro⁻ bio⁻ his⁻

Piastrea madre



Piastre duplicate



Determinare il genotipo dei cloni

I batteri crescono su terreni minimi addizionati con gli elementi per cui sono auxotrofi, mentre non crescono in terreni in cui questi elementi non sono presenti.

Il clone 1 è presente su tutti i terreni, quindi è prototrofo per tutti gli elementi considerati.

Il clone 2 è presente nella piastra contenente thr e pan, ma non cresce nella piastra dove ci sono thr e met né in quella dove c'è met e pan, quindi sarà auxotrofo per entrambi gli elementi.

Il clone 3 cresce in presenza di met e pan, ma non cresce in terreni contenente solo met o solo pan, quindi è auxotrofo per entrambi.

Il clone 4 è cresciuto in presenza di pro e his ma anche in terreni contenente his e bio, quindi non ha bisogno di pro ^{per crescere} quanto di his, per cui risulta auxotrofo his.

Il clone 5 cresce in presenza di pro e bio e di pro e his quindi sarà auxotrofo per pro.

Il clone 6 cresce se si aggiungono thr e pan ma anche se si aggiunge thr e met, quindi è thr⁻.

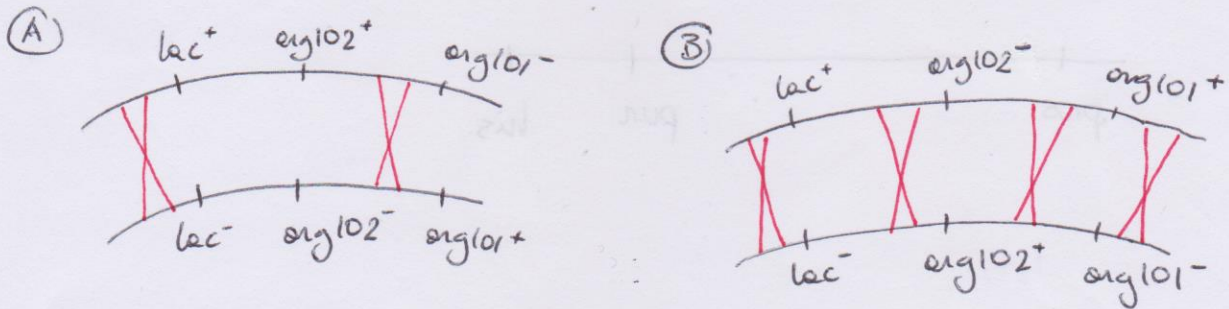
	met	thr	pan	pro	bio	his
1	+	+	+	+	+	+
2	+	-	-	+	+	+
3	-	+	-	+	+	+
4	+	+	+	+	+	-
5	+	+	+	-	+	+
6	+	-	+	+	+	+

Incroccio	Hfr (lac^+)	F ⁻ (lac^-)	% di lac^+ che sono arg^+
A	$arg101^-, 102^+$	$arg101^+, arg102^-$	0,50
B	$arg101^+, arg102^-$	$arg101^-, arg102^+$	0,02
C	$arg101^+, arg103^-$	$arg101^-, arg103^+$	0,50
D	$arg101^-, arg103^+$	$arg101^+, arg103^-$	0,04
E	$arg102^+, arg103^-$	$arg102^-, arg103^+$	0,50
F	$arg102^-, arg103^+$	$arg102^+, arg103^-$	0,06

Disegnare la mappa genetica delle mutazioni arg e mostrare l'ordine dei tre siti in relazione a lac .

Risoluzione:

Del confronto degli incroci A e B deduco che ci sono voluti più crossing-over per ottenere ricombinanti $lac^+ arg101^+ arg102^+$ nel secondo incrocio che nel primo. Cerco quindi una disposizione dei tre marcatori che richieda 4 crossing-over per ottenere un genotipo $lac^+ arg101^+ arg102^+$ dell'incrocio B e solo due nell'incrocio A. Questa disposizione è: $lac, arg102, arg101$



Dai risultati degli incroci C e D, analogamente deduco che l'ordine dei tre marcatori è: $lac, arg101, arg103$. N.B. Attenzione ai genotipi di donatore e ricevente.

Dagli incroci E ed F, deduco che l'ordine dei geni è: $lac, arg102, arg103$.

Mettendo insieme le informazioni ricavate finora si può disegnare una mappa dei tre marcatori:

$\frac{lac \quad arg102 \quad arg101 \quad arg103}{| \quad | \quad | \quad |}$

14-12

Hfr $ilv^+ met^+ bgl^+$ \times F⁻ $ilv^- met^- bgl^-$

Seleziono per ilv^+ (perché è trasferito più tardi rispetto agli altri)

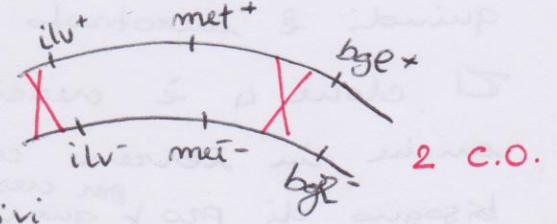
$ilv^+ met^+ bgl^+$	220
$ilv^+ met^- bgl^-$	60
$ilv^+ met^+ bgl^-$	0
$ilv^+ met^- bgl^+$	20

Determinare l'ordine dei geni.

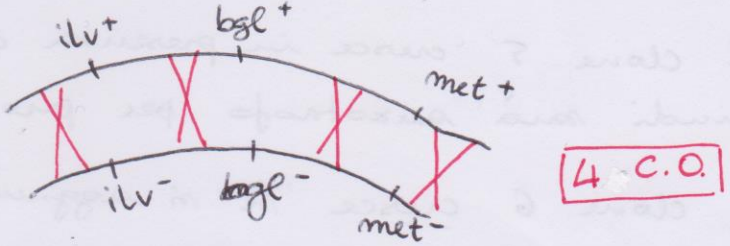
Risoluzione:

Sapendo che per essere integrato e mantenuto nel cromosoma batterico un frammento di DNA esogeno deve andare incontro ad un numero pari di crossing-over con questo, si possono dedurre gli eventi ricombinativi che hanno portato alla formazione dei genotipi indicati ~~ricordando che in base alle posizioni e la posizione~~ dei geni considerati, ricordando che un numero maggiore di crossing-over è meno probabile (e quindi porterà al genotipo meno rappresentato).

In questo caso, se l'ordine dei geni fosse $ilv met bgl$, per ottenere il genotipo meno rappresentato basterebbero 2 crossing-over:



Se l'ordine fosse invece $ilv bgl met$, gli eventi ricombinativi richiesti sarebbero:



⇒ ORDINE CORRETTO
 ilv, bgl, met

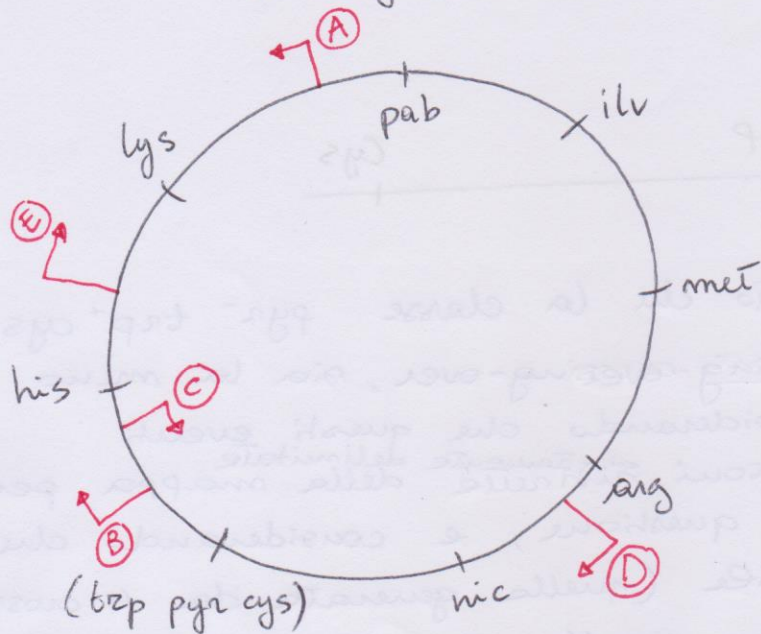
4 C.O.

+	+	+	+	+	+	1
+	+	+	-	-	+	2
+	+	+	-	+	-	3
-	+	+	+	+	+	4
+	+	-	+	+	+	5
+	+	+	+	-	+	6

14.14

Ceppo Hfr	Ordine di trasferimento
Hfr A	pab ilv met arg nic (trp pyr cys) his lys
Hfr B	(trp pyr cys) nic arg met ilv pab lys his
Hfr C	his lys pab ilv met arg nic (trp pyr cys)
Hfr D	arg met ilv pab lys his (trp pyr cys) nic
Hfr E	his (trp pyr cys) nic arg met ilv pab lys

a. Derivare una mappa dei marcatori e per ogni ceppo Hfr indicare posizione e orientamento del plasmide F integrato.



b. Per determinare l'ordine relativo dei marcatori trp, pyr e cys e le loro distanze reciproche, incrocio il ceppo Hfr B con un ceppo F⁻ (auxotrofo per tutti i marcatori) per un tempo sufficiente a far entrare nic e poi seleziono per trp⁺. I risultati ottenuti sono:

trp ⁺	pyr ⁺	cys ⁺	790
trp ⁺	pyr ⁻	cys ⁻	145
trp ⁺	pyr ⁺	cys ⁺	60
trp ⁺	pyr ⁻	cys ⁻	5

Determinare l'ordine dei geni e stabilire le distanze di mappa come frequenza di ricombinazione.

N.B. In questo caso, non conoscendo la posizione del gene trp rispetto agli altri due (e non sapendo quindi se è lui ad entrare per ultimo) non si può determinare l'ordine dei geni confrontando la classe meno frequente con il genotipo del donatore e del ricevente.

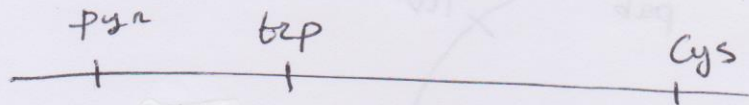
Bisogna invece calcolare le frequenze di ricombinazione e dedurre da queste l'ordine relativo dei marcatori.

$$FR_{trp-pyr} = \frac{60+5}{1000} = 0,065$$

$$FR_{trp-cys} = \frac{145+5}{1000} = \frac{150}{1000} = 0,150$$

$$FR_{pyr-cys} = \frac{145+60}{1000} = \frac{215}{1000} = 0,215$$

⇒ Pyr e cys sono esterni e trp si trova al centro, più vicino a pyr.



In questo caso, il fatto che la classe $pyr^- trp^+ cys^-$ più derivando da oli due crossing-over sia la meno frequente si spiega considerando che questi eventi debbano riguardare regioni strettamente delimitate della mappa per generare la classe in questione, e considerando che la classe meno probabile (quella generata da 4 crossing-over, $pyr^+ trp^- cys^+$) non risulta tra quelle registrate perché esclusa dalla prima selezione operata (per trp^+).

