

# **Ligação, Recombinação e Mapeamento gênico em eucariotas**

**Genética Básica  
Licenciatura em Biologia**

**Victor Martin Quintana Flores**

# **A lei da segregação independente estabelece que:**

Em um cruzamento envolvendo mais de um gene, os genes diferentes se separam ou segregam independentemente um do outro.

# **A segregação indenpedente é verdadeira para:**

Genes em cromossomos separados

Genes no mesmo cromossomo (genes ligados) se eles estiverem bem distantes

**Genes ligados:** genes localizados num mesmo cromossomo.

Padrão de herança diferente do padrão mendeliano devido as recombinações, que por sua vez são resultados dos crossings overs da meiose.

$$\frac{AB}{ab} \times \frac{ab}{ab}$$

$$AaBb \times aabb$$

**Segregação independente** (genes em cromossomos diferentes ou no mesmo cromossomo mas muito distantes):

|           | <i>ab</i>   |          | Freq. |
|-----------|-------------|----------|-------|
| <i>AB</i> | <i>AaBb</i> | Parental | 1/4   |
| <i>ab</i> | <i>aabb</i> | Parental | 1/4   |
| <i>Ab</i> | <i>Aabb</i> | Recomb   | 1/4   |
| <i>aB</i> | <i>aaBb</i> | Recomb   | 1/4   |



$$\frac{AB}{ab} \times \frac{ab}{ab}$$

$$AaBb \times aabb$$

**Ligação completa** (genes muito próximos impossibilitando o crossing over entre eles):

|           | <i>ab</i>   |          | Freq. |
|-----------|-------------|----------|-------|
| <i>AB</i> | <i>AaBb</i> | Parental | 1/2   |
| <i>ab</i> | <i>aabb</i> | Parental | 1/2   |
| <i>Ab</i> | <i>Aabb</i> | Recomb   | 0     |
| <i>aB</i> | <i>aaBb</i> | Recomb   | 0     |



$$\frac{AB}{ab} \times \frac{ab}{ab}$$

$$AaBb \times aabb$$

## Ligação incompleta:

|           | <i>ab</i>   |          | Razão  |
|-----------|-------------|----------|--------|
| <i>AB</i> | <i>AaBb</i> | Parental | $>1/4$ |
| <i>ab</i> | <i>aabb</i> | Parental | $>1/4$ |
| <i>Ab</i> | <i>Aabb</i> | Recomb   | $<1/4$ |
| <i>aB</i> | <i>aaBb</i> | Recomb   | $<1/4$ |

**Mais de 50% da descendência com combinações parentais e menos de 50% com alelos recombinantes.**

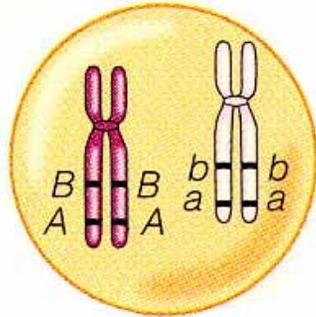
Genes que mostram segregação independente (FR=50%) podem estar:

- 1) em diferentes cromossomos
- 2) distantes no mesmo cromossomo.

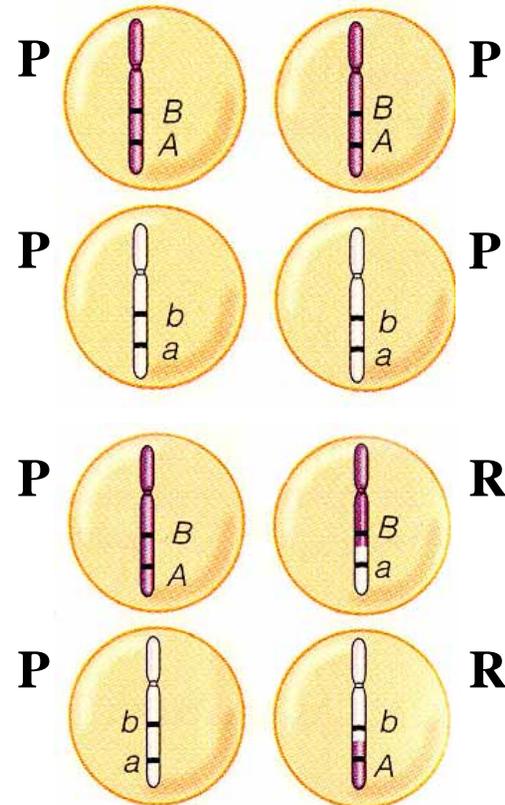
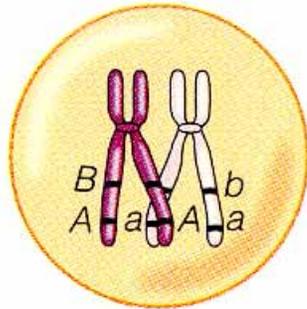
A análise de recombinantes não pode distinguir entre eles.

# Genes no mesmo cromossomo podem recombinar através do crossing over.

**Cromossomos na meiose sem crossing over**



**Cromossomos na meiose realizando crossing over**



**\*Notar que os alelos recombinantes estão localizados no mesmo cromossomo homólogo**



- 1) Para a recombinação ocorrer entre dois genes ligados deve ocorrer necessariamente “*crossing over*” **entre** eles.
- 2) A probabilidade do “*crossing*” ocorrer entre dois genes ligados é diretamente proporcional à **distância** entre eles.
- 3) Então, a **frequência de recombinação** pode ser usada como um **indicador** da distância entre dois genes.

# Análise de Recombinação

A análise de recombinação é a técnica usada para determinar quão frequentemente um “*crossing*” pode ocorrer entre dois genes durante a meiose e portanto quão distantes esses genes estão um do outro.

# Para fazer análises de recombinação você precisa:

- 1) Um heterozigota para dois genes conhecidos no mesmo cromossomo.
- 2) Um homozigota recessivo para fazer o cruzamento teste (assim cada genótipo terá um fenótipo único).
- 3) Suficiente descendência para cálculos acurados da progenie proveniente ou não de “*crossing over*”.

# Análise de recombinantes

$$AABB \times aabb$$

A linha indica os alelos diferentes no mesmo cromossomo.

$\rightarrow \frac{AB}{ab}$  [ligação acoplada (*cis*)]

$$AAbb \times aaBB$$

$$\frac{Ab}{aB}$$

[ligação em repulsão (*trans*)]

# Qual a distância entre dois genes ligados ao X em *Drosophila*?

$b$  = olhos brancos;  $b^+$  = olhos vermelhos

$p$  = asas pequenas;  $p^+$  = asas normais

|                           | Fêmeas      | machos      |
|---------------------------|-------------|-------------|
| <u>Linhagens puras #1</u> |             |             |
| olhos brancos,            | $b$ $p$     | $b$ $p$     |
| asas pequenas             | <hr/>       | <hr/>       |
|                           | $b$ $p$     | Y           |
| <u>Linhagem pura #2</u>   |             |             |
| olhos vermelhos,          | $b^+$ $p^+$ | $b^+$ $p^+$ |
| Asas normais              | <hr/>       | <hr/>       |
| (selvagem)                | $b^+$ $p^+$ | Y           |

1) Produzir os híbridos da F1.

$$\frac{b^+ \quad p^+}{b \quad p}$$

2) Fazer o cruzamento teste.

$$\frac{b^+ \quad p^+}{b \quad p} \times \frac{b \quad p}{Y}$$

Cruzamento teste:  $\frac{b^+ p^+}{b p} \times \frac{b p}{Y}$

Gametas:  $b p$  ou  $Y$       Fenótipos F2 :

|          |           |                                 |                       |                   |
|----------|-----------|---------------------------------|-----------------------|-------------------|
| <b>P</b> | $b^+ p^+$ | $b^+ p^+ / (b p \text{ or } Y)$ | <b>Verm., normal</b>  | <b>376</b>        |
| <b>P</b> | $b p$     | $b p / (b p \text{ or } Y)$     | <b>branco, peq.</b>   | <b>367</b>        |
| <b>R</b> | $b^+ p$   | $b^+ p / (b p \text{ or } Y)$   | <b>Verm., peq.</b>    | <b>217</b>        |
| <b>R</b> | $b p^+$   | $b p^+ / (b p \text{ or } Y)$   | <b>branco, normal</b> | <b><u>230</u></b> |
|          |           |                                 | <b>Total</b>          | <b>1,190</b>      |

Calcular a percentagem de descendentes que resultam do crossing over (recombinantes).

$$= 217 + 230 / 1190 \times 100.$$

# Frequência de Recombinação (RF)

$$\left( \frac{\text{Número de recombinantes}}{\text{Total}} \right) \times 100$$

$$\left( \frac{447}{1190} \right) \times 100 = 37,6\%$$

**Olho branco**

**Asas pequenas**

*b*

*p*

Cromossomo X



**37,6% frequência de recombinação (FR)**

**37,6 unidades de mapa**

**37,6 centiMorgans (cM)**

# Exemplo 2(cromossomos somáticos):

*op* = olhos púrpura, *op*<sup>+</sup> = olhos vermelhos

*av* = asas vestigiais, *av*<sup>+</sup> = asas normais

**Linhagem 1:**

$\frac{op^+ \quad av^+}{op^+ \quad av^+}$  (selvagem)

**Linhagem 2:**

$\frac{op \quad av}{op \quad av}$  (olhos púrpura,  
asas vestigiais)

1) Produzir os híbridos da  $F_1$   $\frac{op^+ \ av^+}{op \ av}$  (fenótipo selvagem)

2) Fazer o cruzamento teste.  $\frac{op^+ \ av^+}{op \ av} \times \frac{op \ av}{op \ av}$

3) Listar os possíveis gametas e os descendentes.



$$\begin{array}{c} \downarrow \\ \frac{op^+ \ av^+}{op \ av} \times \frac{op \ av}{op \ av} \end{array}$$

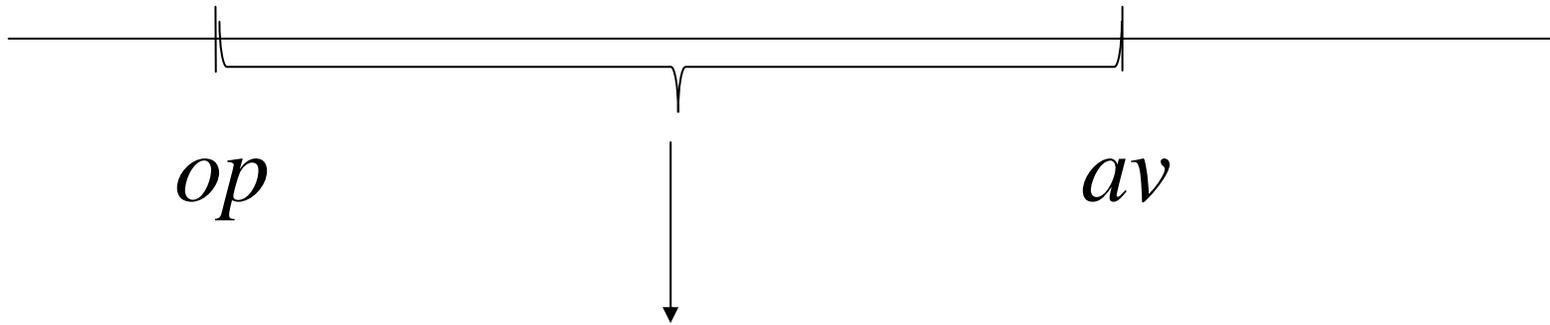
*op av*

|          |                                      |  |                         |                  |
|----------|--------------------------------------|--|-------------------------|------------------|
| <b>P</b> | <i>op<sup>+</sup> av<sup>+</sup></i> | <i>op<sup>+</sup> av<sup>+</sup> / op av</i> | <b>verm., normal</b>    | <b>165</b>       |
| <b>P</b> | <i>op av</i>                         | <i>op av / op av</i>                         | <b>púrp., vestigial</b> | <b>175</b>       |
| <b>R</b> | <i>op<sup>+</sup> av</i>             | <i>op<sup>+</sup> av / op av</i>             | <b>verm., vestigial</b> | <b>20</b>        |
| <b>R</b> | <i>op av<sup>+</sup></i>             | <i>op av<sup>+</sup> / op av</i>             | <b>púrp., normal</b>    | <b><u>22</u></b> |
|          |                                      |  | <b>Total</b>            | <b>382</b>       |

**Frequência de recombinação (FR) =  
 (20 + 22 / 382 x 100) = 10,99% = 11%**

**Olhos  
púrpura**

**Asas  
vestigiais**



**11% Frequência de recombinação**

**11 unidades de mapa**

**11 centiMorgans (cM)**

# Problema

O cruzamento teste de um duplo heterozigota produziu o seguinte resultado:

|    |     |   |                   |
|----|-----|---|-------------------|
| AB | 9   | R |                   |
| ab | 12  | R | <i>Ab</i>         |
| Ab | 141 | P | <u>          </u> |
| aB | 138 | P | <i>aB</i>         |

Qual é o arranjo de ligação dos parentes desta descendência?

Qual a distância entre os genes genes?

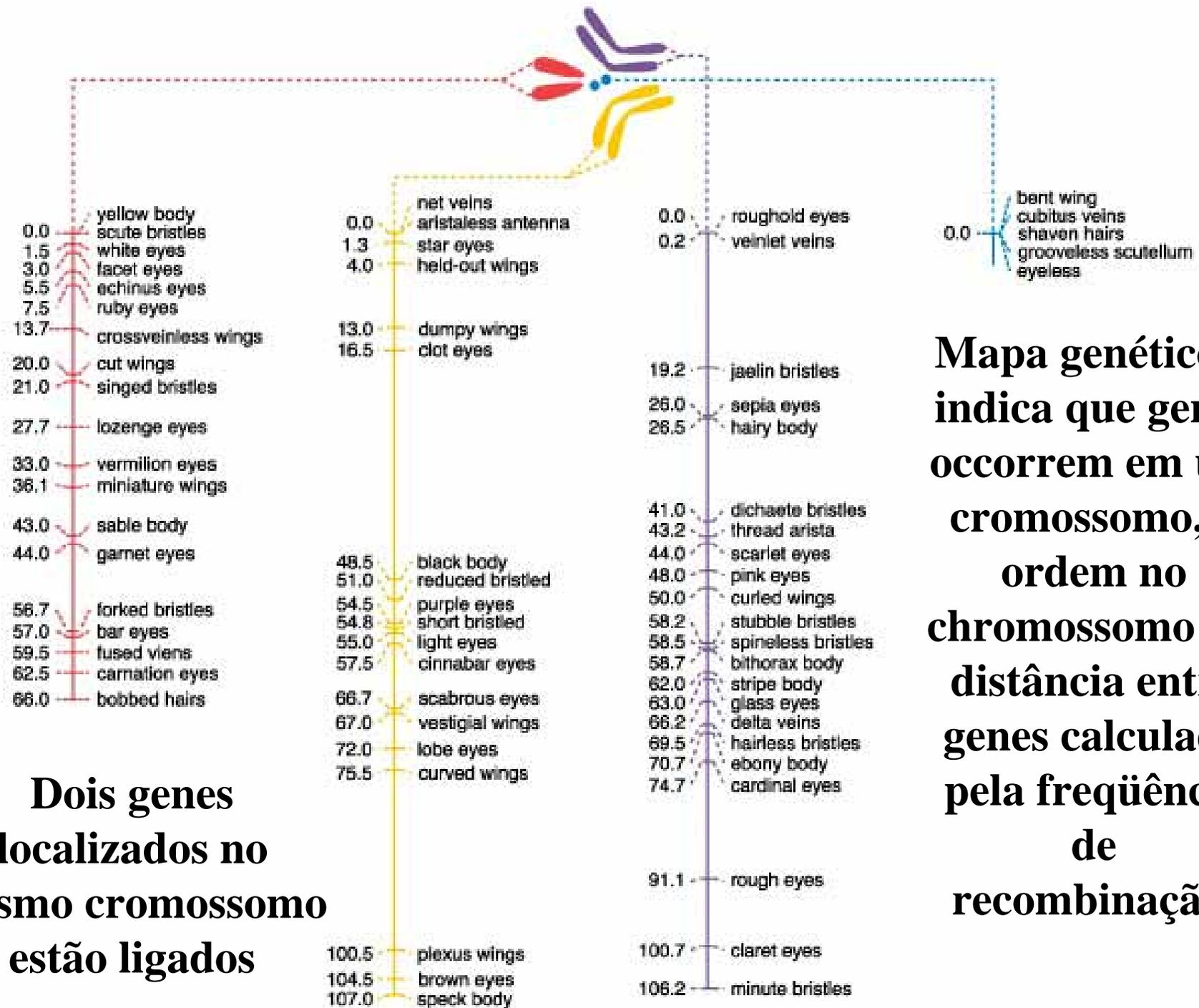
# Interferência

- Os “*crossing over*” em regiões cromossômicas adjacentes **não** são independentes. Esta interação é chamada de **interferência**
- O “*crossing over*” em uma região usualmente **diminui** a possibilidade de ocorrer “*crossing over*” em região adjacente.

$$\text{Interferência(I)} = 1 - \left[ \frac{\text{Número de duplos recombinantes observados}}{\text{Número de duplos recombinantes esperados}} \right]$$

A análise de recombinação revela **grupos ligados** (grupos de genes localizados perto um do outro no mesmo cromossomo)

Cada cromossomo representa um grande grupo ligado



**Dois genes localizados no mesmo cromossomo estão ligados**

**Mapa genético – indica que genes ocorrem em um cromossomo, a ordem no cromossomo e a distância entre genes calculada pela frequência de recombinação.**

# Importância do mapeamento cromossômico

- (1) Que genes estão em um cromossomo em particular.
- (2) A ordem em que estes genes se encontram neste cromossomo.
- (3) Um indicativo da distância relativa entre estes genes (não necessariamente verdadeira).

# Efeito posição

O “*crossing over*” é inibido perto das regiões centroméricas



A distância calculada será a mesma?  
Maior ? Menor?

# Como se determina atualmente a distância entre genes?

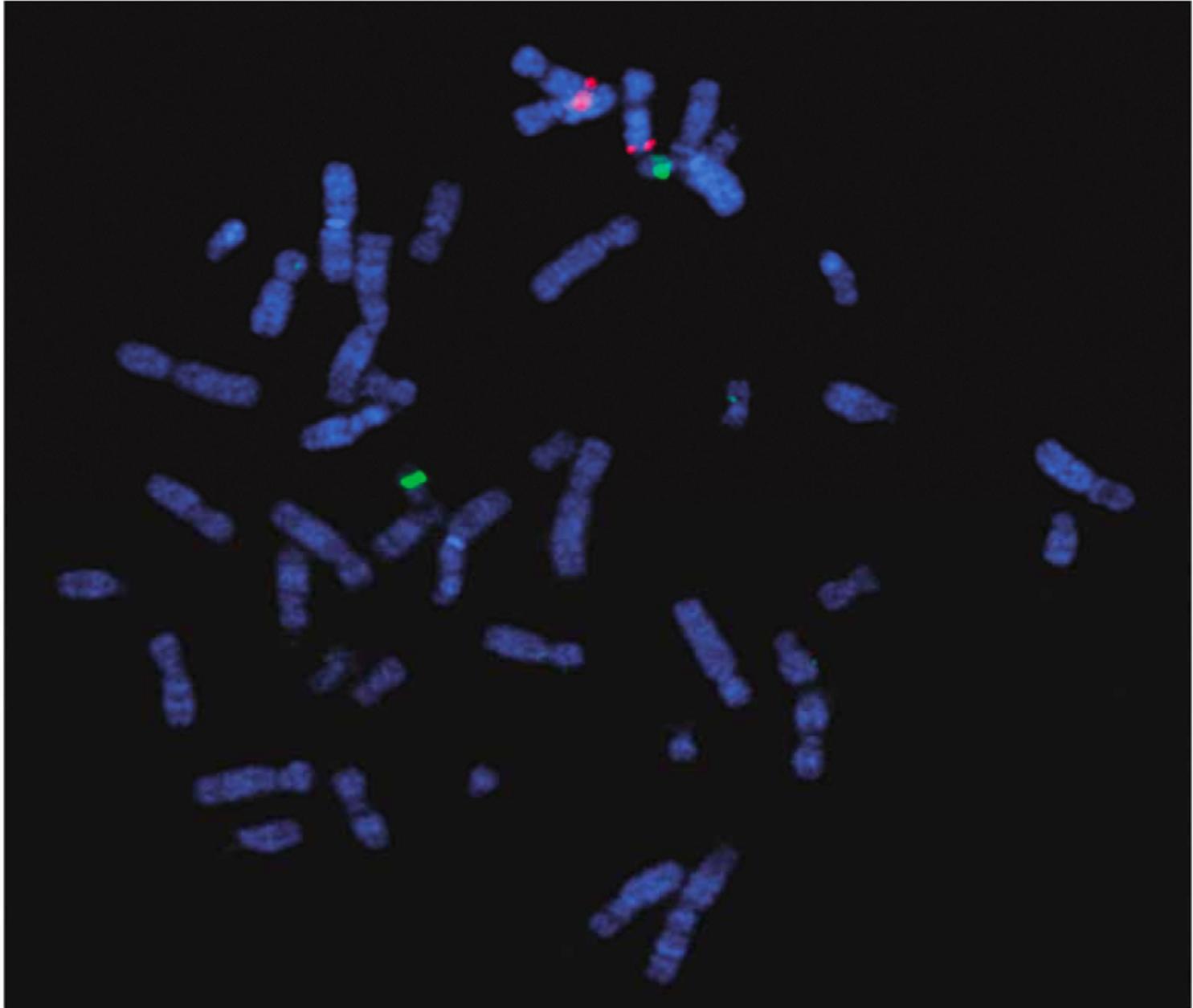
Mapeamento por deleção (eliminação)

Hibridização de células somáticas

Hibridização *in situ*

Mapeamento por sequenciamento

# Hibridização *in situ* usando sondas específicas para os cromossomos 9 e 22



# SKY (Spectral Karyotyping) - 24 sondas únicas

