

Genética General. Grupos A y B. Segundo parcial. 21 de Diciembre de 2018.

Apellidos	Nombre	Firma:
-----------	--------	--------

1/4- Se cruzaron dos líneas puras de *Drosophila melanogaster* diferentes para dos caracteres **A** y **B**, cada uno de ellos determinado por un gen con dos variantes alélicas, una dominante sobre la otra. Tal como se esperaba, los individuos de la F1 resultaron ser de fenotipo doble dominante (**AB**). Las hembras de esta F1 se cruzaron con machos de otra línea pura con fenotipos recesivos para los dos genes, obteniéndose la siguiente descendencia:

Fenotipo	(AB)	(Ab)	(aB)	(ab)	TOTAL
Hijos	104	95	92	107	398
Hijas	99	102	107	100	408
TOTAL	203	197	199	207	806

Por otro lado, también se cruzaron los machos de la F1 con hembras de la línea pura con fenotipos recesivos para los dos genes con los siguientes resultados:

Fenotipo	(AB)	(Ab)	(aB)	(ab)	TOTAL
Hijos	0	208	192	0	400
Hijas	0	195	205	0	400
TOTAL	0	403	397	0	800

Indique el genotipo de las líneas puras, razone si los genes están ligados al sexo, determine si están ligados entre sí e intente calcular la frecuencia de recombinación entre ellos. Realice las pruebas estadísticas que considere convenientes. (3 puntos)

Grados de libertad	Probabilidad						Distribución χ^2	
	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
1	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27

Se observa que las distribuciones de hijos y de hijas son prácticamente las mismas. Esto es así para las dos tablas de descendientes. Se pueden hacer pruebas de X2 para probarlo (X2 3gl=1,66 en la tabla de arriba y X2 1gl=1,12 en la de abajo). No hay evidencias de ligamiento al sexo y por lo tanto se reúnen hijos e hijas.

El cruzamiento de machos de la F1 con hembras dobles recesivas (aabb) dan descendientes de dos fenotipos (Ab) y (aB), es decir, los machos producen gametos Ab y aB. Esto descarta definitivamente el ligamiento al sexo de los dos genes. Cuando se prueba si los dos caracteres aparecen asociados mediante una prueba de X2 de independencia:

	(A)	(a)	
(B)	0	397	397
	200.0	197.0	
(b)	403	0	403
	203.0	200.0	
	403	397	800

X2 1gl = 800 >>3,84 por lo que se concluye que los dos genes están en el mismo cromosoma. No se conoce a qué distancia porque la meiosis de los machos de *Drosophila* es aquiasmática.

Cuando se analiza la descendencia del cruzamiento entre hembras de la F1 y machos aabb se obtiene el siguiente resultado:

	(A)	(a)	
(B)	203	199	402
	199.5	202.5	
(b)	197	207	404
	200.5	203.5	
	400	406	806

X2 1gl = 0.24 <3,84 . Se comportan como independientes.

Por lo tanto se concluye que los dos genes están en el mismo cromosoma pero a una distancia tan grande como para que las hembras dobles heterocigotas produzcan los cuatro tipos gaméticos a igual frecuencia (r=0.5).

Las líneas puras originales eran AAbb y aaBB.

2/4- La función del gen **a** de *Sordaria fimicola* es necesaria para la biosíntesis de arginina mientras que la del gen **h** es necesaria para la biosíntesis de histidina. Otros dos genes **b** y **c** controlan características morfológicas del hongo que no están relacionadas ni con la viabilidad ni con el crecimiento. Ud. dispone de dos cepas de *Sordaria*: una de ellas tiene genotipo **a⁺b⁻c⁺h⁻** mientras que la otra es **a⁻b⁺c⁻h⁺**. Los genes **a** y **b** se localizan en el mismo cromosoma a una distancia entre ellos de 5cM mientras que los genes **c** y **h** se localizan en otro cromosoma a una distancia entre ellos de 10cM.

a) Prediga la frecuencia de esporas resultantes del cruzamiento entre las dos cepas que se esperan que sean normales para los cuatro genes (**a⁺b⁺c⁺h⁺**). **(1,5 puntos)**

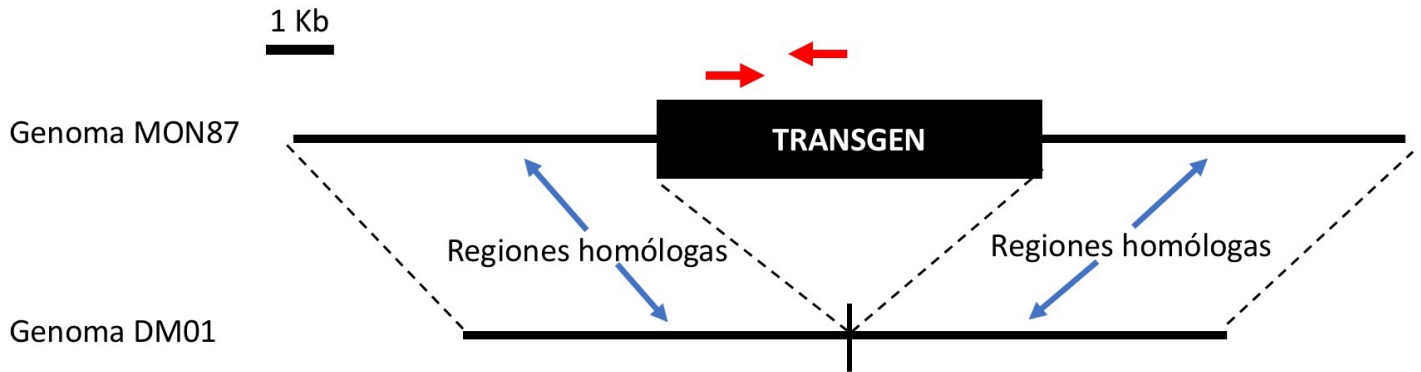
$$1/2 * 0.05 * 1/2 * 0.10 = 0.00125$$

b) Se sembraron las esporas resultantes del cruzamiento indicado en viales individuales (una espora por vial). Estos viales contenían medio mínimo (i.e. no suplementado ni con arginina ni con histidina). Después de unos días de incubación, se descartaron los viales en los que no se apreció crecimiento. Prediga la proporción del genotipo **a⁺b⁺c⁺h⁺** entre los cultivos con crecimiento. **(0,5 puntos)**

Solo quedan los cultivos a⁺h⁺ :

$$0.05 * 0.10 = 0.005$$

3/4- Se dispone de la variedad de soja transgénica **MON87** que contiene el transgén *cry1Ac* que confiere resistencia a las plagas de lepidópteros. A efectos prácticos, este transgén es recesivo, ya que se requieren dos copias del transgén para obtener una protección efectiva. Se desea transferir esa resistencia a la variedad altamente productiva **DM01**. En el esquema se indican los mapas de la zona de inserción del transgén en las dos variedades, cuyas secuencias genómicas son conocidas. Diseñe un procedimiento que permita incluir la resistencia en la variedad **DM01** conservando aproximadamente un 93% del genoma original de esta variedad. Diga también hasta qué punto es válido su cálculo para cualquier región del genoma. (2 puntos)



La introgresión del transgén en DM01 se inicia cruzando las dos variedades MON87 y DM01 para obtener una F1 (50% del genoma de cada variedad) que a continuación se retrocruza con la variedad DM01. La descendencia (~25% genoma MON87) se vuelve a retrocruzar con DM01. La descendencia (~12.5% genoma MON87) se vuelve a retrocruzar con DM01 y así sucesivamente.

Como en cada retrocruzamiento se reduce a la mitad la proporción del genoma de MON87, el número de generaciones n necesarias para llegar a un 7% de MON87 es:

$$\left(\frac{1}{2}\right)^n = 0.07$$

por lo que $n \approx 4$ generaciones de retrocruzamientos

Entre la descendencia de cada retrocruzamiento tenemos que seleccionar a individuos que son portadores del transgén para no perderlo. Dado que el gen es recesivo, el modo más rápido es realizar una simple PCR con primers específicos del transgén (figura) para identificar a los individuos que lo heredan.

Al seleccionar el transgén en cada retrocruzamiento, estamos seleccionando también la región genómica adyacente que procede de la variedad MON87. Por lo tanto, el cálculo del número de generaciones no es válido para las regiones próximas al transgén.

Para aislar homocigotos para el transgén, una vez finalizado todo el proceso de introgresión, se realiza un último cruzamiento entre los individuos portadores del transgén y se seleccionan las plantas resistentes a lepidópteros (homocigotas para el transgén). La técnica de PCR puede ser una alternativa en este paso.

4/4- Deduzca la fórmula que permite estimar la frecuencia de recombinación entre un gen y el centrómero a partir de las ordenaciones de esporas en las ascas ordenadas linealmente de los hongos ascomicetos. (1 punto)

La frecuencia de recombinación entre dos genes es igual a la mitad de la frecuencia de meiosis en las que ocurre al menos un sobrecruzamiento entre los genes:

$$r = \frac{1}{2}(1 - f_0)$$

donde f_0 es la frecuencia de meiosis en las que ocurren cero sobrecruzamientos entre los dos genes.

Partimos de esta fórmula básica (o si se prefiere, se puede deducir desde el principio como se ha hecho en clase), y ASUMIMOS que entre el gen y el centrómero ocurre como máximo un sobrecruzamiento, es decir ambos están cerca uno de otro. Las meiosis con cero sobrecruzamientos (frecuencia f_0) generan ascas del tipo 4:4 (llamémoslas directas) y las meiosis con un sobrecruzamiento generan ascas 2:4:2 o 2:2:2:2 (inversas).

Entonces la frecuencia observada de ascas inversas es una estimación de $(1 - f_0)$, por lo que:

$$r = \frac{1}{2} \frac{I}{I + D}$$

Donde I es el conteo de ascas inversas y D el de ascas directas.

(deducción resuelta en clase y aplicada en prácticas)