

# LGN 215 - GENÉTICA

## Aula 6 - Ligação II

Antonio Augusto Franco Garcia  
Filipe Inácio Matias  
Marianella F. Quezada Macchiavello

Departamento de Genética  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
Universidade de São Paulo

# Sumário

Ligação

Teste de três pontos

Interferência

Marcadores genéticos

Literatura

# Ligação

## 2ª Lei de Mendel: Lei da Segregação Independente

Para genes situados em cromossomos diferentes ou no mesmo cromossomo, mas a uma distância maior que 50 cM

### Genes Ligados

- ▶ Dois genes situados no mesmo cromossomo, a uma distância menor que 50cM, não segregam de forma independente.
- ▶ **Ligação:** dois genes situados no mesmo cromossomo a uma distância menor que 50 cM são ditos ligados

# Mapas genéticos

- ▶ A frequência de recombinação entre dois genes está diretamente relacionada a distância entre eles
- ▶ **Centimorgan (cM)**: unidade de medida utilizada para descrever a distância entre dois genes
- ▶ Estabelecendo as distâncias entre os genes é possível construir **mapas genéticos**
- ▶ **Mapa genético**: diagrama no qual são representados os genes com suas respectivas posições no cromossomo



# Teste de três pontos

- ▶ Para a construção (preliminar) de mapas genéticos pode ser utilizado um procedimento denominado teste de três pontos, que visa estimar a posição e ordem de três genes no cromossomo, tendo como base a relação de ligação entre eles
- ▶ Exemplo: *Drosophila*
  - *sc*: perda de cerdas torácicas
  - *ec*: olhos com superfície rugosa
  - *vg*: asas vestigiais

*scsc ecec vgv* × *sc<sup>+</sup> sc<sup>+</sup> ec<sup>+</sup> ec<sup>+</sup> vg<sup>+</sup> vg<sup>+</sup>*



*sc<sup>+</sup> sc ec<sup>+</sup> ec vg<sup>+</sup> vg* × *scsc ecec vgv*

Progênie:

<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	235
<i>sc<sup>+</sup></i>	<i>ec<sup>+</sup></i>	<i>vg<sup>+</sup></i>	241
<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg<sup>+</sup></i>	243
<i>sc<sup>+</sup></i>	<i>ec<sup>+</sup></i>	<i>vg</i>	233
<i>sc</i>	<i>ec<sup>+</sup></i>	<i>vg</i>	12
<i>sc<sup>+</sup></i>	<i>ec</i>	<i>vg<sup>+</sup></i>	14
<i>sc</i>	<i>ec<sup>+</sup></i>	<i>vg<sup>+</sup></i>	14
<i>sc<sup>+</sup></i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	16
<i>Total</i>			1008

- ▶ Observando os dados, percebemos que existe um desvio óbvio da segregação 1:1:1:1:1:1:1 esperada para genes não ligados
- ▶ Tomando-se um par de locos de cada vez, calcula-se a frequência de recombinação entre eles:
  - *sc ec*

<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	235
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	241
<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	243
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	233
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	12
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	16
<i>Total</i>			1008

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

$$FR = (12+14+14+16)/1008$$

$$FR = 56/1008$$

$$FR = 0,055 \times 100$$

$$FR = 5,5 \text{ cM}$$



► *sc* e *vg*

<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	235
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	241
<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	243
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	233
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	12
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	16
<i>Total</i>			1008

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

$$FR = (243+233+14+16)/1008$$

$$FR = 506/1008$$

$$FR = 0,5020 \times 100$$

$$FR = 50,2 \text{ cM} > 50 \text{ cM}$$

Locos *sc* e *vg* não estão ligados

► *ec* e *vg*

<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	235
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	241
<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	243
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	233
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i>	12
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i>	<i>ec</i> <sup>+</sup>	<i>vg</i> <sup>+</sup>	14
<i>sc</i> <sup>+</sup>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	16
<i>Total</i>			1008

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

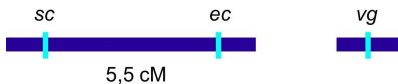
$$FR = (243+233+12+14)/1008$$

$$FR = 502/1008$$

$$FR = 0,4980 \times 100$$

$$FR = 49,8 \text{ cM } \text{aprox. } 50 \text{ cM}$$

Locos *ec* e *vg* não estão ligados



- ▶ Tendo informações a respeito das relações de ligação entre os três genes, podemos reescrever os genótipos dos genitores da seguinte forma:

$$sc^+ ec^+ / sc ec ; vg^+ / vg \quad \times \quad sc ec / sc ec ; vg / vg$$

- ▶ Observação: em situações reais, a hipótese de ligação entre os genes ( $r=50$  cM) deve sempre ser testada estatisticamente.

- ▶ Outro exemplo em *Drosophila*:
  - *v*: olhos vermilion
  - *cv*: ausência de nervuras nas asas
  - *ct*: margens das asas cortadas

$$v^+ v^+ cvcv ctct \quad \times \quad vv cv^+ cv^+ ct^+ ct^+$$



$$v^+ v cv^+ cv ct^+ ct \quad \times \quad vv cvcv ctct$$

Progênie:

<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	580
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	592
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	45
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	40
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	89
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	94
<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	3
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	5
<i>Total</i>			1448

► *v* e *cv*

<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	580
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	592
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	45
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	40
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	89
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	94
<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	3
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	5
<i>Total</i>			1448

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

$$FR = (45+40+89+94)/1448$$

$$FR = 268/1448$$

$$FR = 0,1850 \times 100$$

$$FR = 18,5 \text{ cM}$$

► *v e ct*

<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	580
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	592
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	45
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	40
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	89
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	94
<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	3
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	5
<i>Total</i>			1448

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

$$FR = (89+94+3+5)/1448$$

$$FR = 191/1448$$

$$FR = 0,1320 \times 100$$

$$FR = 13,2 \text{ cM}$$

► *cve ct*

<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	580
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	592
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	45
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	40
<i>v</i>	<i>cv</i>	<i>ct</i>	89
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	94
<i>v</i>	<i>cv</i> <sup>+</sup>	<i>ct</i>	3
<i>v</i> <sup>+</sup>	<i>cv</i>	<i>ct</i> <sup>+</sup>	5
<i>Total</i>			1448

Recombinantes

FR= Frequência de recombinação

$$FR = (45+40+3+5)/1448$$

$$FR = 93/1448$$

$$FR = 0,0640 \times 100$$

$$FR = 6,4 \text{ cM}$$

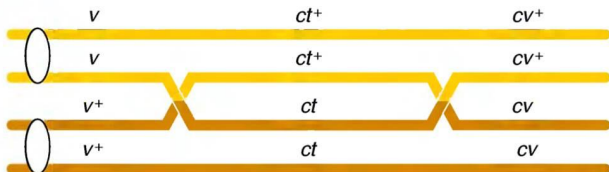


- ▶ Todos os locos estão ligados (situados no mesmo cromossomo), pois os valores de FR são menores que 50%

Locos	FR(cM)
<i>v e cv</i>	18,5
<i>v e ct</i>	13,2
<i>cv e ct</i>	6,4



- ▶ Com o cruzamento teste foi possível determinar a ordem dos três genes no cromossomo
- ▶ As duas distâncias no mapa, 13,2 cM e 6,4cM, somam 19,6 cM, que é maior que 18,5 cM (distância calculada para  $v$  e  $cv$ )
- ▶ As duas classes mais raras de genótipos correspondem a duplos recombinantes que surgem de dois crossings



# Interferência

- ▶ A detecção de classes recombinantes duplas mostra que podem ocorrer crossing-over duplos
- ▶ Um crossing-over em uma determinada região do cromossomo afeta a probabilidade de ocorrência de outro crossing em uma região adjacente, ou seja, esses fenômenos não são independentes. Essa interação é chamada de **interferência**.
- ▶ Se os crossings em duas regiões são independentes, então, a frequência de recombinantes duplos seria igual ao produto das frequências de recombinantes nas regiões adjacentes
- ▶ **Interferência (I)**: um crossing reduz a probabilidade de outro crossing em uma região adjacente

## Coincidência (C)

Proporção de recombinantes duplos observados em relação ao esperado

▶ Assim:

-  $I = 1 - C$

-  $C = \frac{n^{\circ} \text{ observado de recombinantes duplos (FRDO)}}{n^{\circ} \text{ esperado de recombinantes duplos (FRDE)}}$

▶ No exemplo de *Drosophila*

$$v^+ ct cv / v ct^+ cv^+ \quad \times \quad v ct cv / v ct cv$$



$$v^+ v cv^+ cv ct^+ ct \quad \times \quad vv cvcv ctct$$

<i>v</i>	<i>ct<sup>+</sup></i>	<i>cv<sup>+</sup></i>	580
<i>v<sup>+</sup></i>	<i>ct</i>	<i>cv</i>	592
<i>v</i>	<i>ct<sup>+</sup></i>	<i>cv</i>	45
<i>v<sup>+</sup></i>	<i>ct</i>	<i>cv<sup>+</sup></i>	40
<i>v</i>	<i>ct</i>	<i>cv</i>	89
<i>v<sup>+</sup></i>	<i>ct<sup>+</sup></i>	<i>cv<sup>+</sup></i>	94
<i>v</i>	<i>ct</i>	<i>cv<sup>+</sup></i>	3
<i>v<sup>+</sup></i>	<i>ct<sup>+</sup></i>	<i>cv</i>	5
<i>Total</i>			1448

## Interferência

**FRDO = 8**

**FRDE =**

$$0,064 \times 0,132 = 0,0084$$

$$0,0084 \times 1448 = 12$$

$$C = 8/12 = 2/3 = \mathbf{0,66}$$

$$I = 1 - 2/3 = 1/3 = \mathbf{33\%}$$

Recombinantes Duplos

## Interferência completa

- ▶  $C = 0$  ( $I = 1$ )
- ▶ Nesse caso não são observados duplo recombinantes

## Ausência de interferência

- ▶  $C = 1$  ( $I = 0$ )
- ▶ Nesse caso o número de duplo recombinantes observado é igual ao número esperado de duplos recombinantes

- ▶ As funções de mapeamento são utilizadas para converter as frações de recombinação entre locos em distâncias nos mapas genéticos

$$d_{ij} = -\frac{1}{2} \ln(1 - 2r_{ij}) \quad (\text{HALDANE, 1919})$$

$$d_{ij} = r_{ij} \quad (\text{MORGAN, 1928})$$

$$d_{ij} = \frac{1}{4} \ln \left( \frac{1+2r_{ij}}{1-2r_{ij}} \right) \quad (\text{KOSAMBI, 1944})$$

- ▶ Em que:

- $r_{ij}$ : fração de recombinação entre os locos  $i$  e  $j$ ;
- $d_{ij}$ : distância entre os locos  $i$  e  $j$  (em Morgans);
- Dado que 1 M = 100 cM

# Marcadores genéticos

- ▶ **Marcadores genéticos:** utilizados para marcar alelos cuja expressão é de difícil identificação (seleção do alelo de forma indireta, com base no marcador)
- ▶ No entanto, para ser um marcador é necessário que o loco esteja intimamente ligado ao alelo de interesse e tenha herança mendeliana (de preferência controlado por um único gene)
- ▶ Podem ser:
  - **Marcadores Morfológicos**
  - **Marcadores Moleculares**



- ▶ **Marcadores morfológicos:** um fenótipo de fácil identificação
- ▶ **Exemplo: milho**
  - Alelo  $v_1$ , que corresponde a planta jovem de coloração verde claro, pode ser utilizado como marcador do alelo  $ms_2$ , responsável pela macho-esterilidade (importante para a produção de híbridos)
  - Alelos  $v_1$  e  $ms_2$  ocorrem no cromossomo 9 (distantes apenas 1cM)
  - Seleção de plantas macho-estéreis através da coloração da planta jovem (marcador e alelo de interesse estão fortemente ligados)
- ▶ **Limitação:** número reduzido de marcadores desse tipo (baixa cobertura do genoma)

- ▶ **Marcadores moleculares:** baseados em polimorfismos na própria sequência de DNA
- ▶ Vantagem: grande variabilidade observada entre indivíduos de uma mesma espécie. Assim é possível a obtenção de um grande número de marcadores distribuídos ao longo do genoma, permitindo marcar grande parte dos alelos dos genes de interesse para uma espécie
- ▶ Tipos: RFLP, RAPD, AFLP, SSR e SNPs

# Leitura recomendada



A.J.F. GRIFFITHS; S.R. WESSLER; R.C. LEWONTIN; S.B. CARROLL.

Capítulo 4: Mapeamento de cromossomos eucarióticos por recombinação.

*Introdução à genética, 2008.*



M.A.P RAMALHO, J.B. SANTOS, and C.A.B.P. PINTO.

Capítulo 9: Ligação, permuta genética e pleiotropia.

*Genética na Agropecuária, 2004.*



D.P. SNUSTAD and M.J. SIMMONS.

Capítulo 7: Ligação, crossing-over e mapeamento cromossômico em eucariontes.

*Fundamentos de Genética, 2010.*