

Construcción de mapas

[Concepto de mapa en Genética](#)

[Análisis de Tétradas](#)

[- Recombinación con el centrómero](#)

[- Recombinación entre dos loci](#)

[Sobrecruzamiento somático](#)

[Mapas físicos](#)

Localización de genes y mapas

La localización de genes pretende la ubicación más exacta posible de un locus. Cuando sólo es posible situar un locus sobre un cromosoma hablamos del término localización, y cuando lo situamos dentro de un cromosoma tomando como referencia el centrómero u otros locus ya situado, entonces estamos construyendo mapas genéticos.

Los mapas pueden ser genéticos (cuando se realizan exclusivamente por análisis genético), citogenéticos (el estudio va acompañado de observaciones citológicas) y físicos o de restricción (se utiliza la fragmentación y secuenciación del ADN).

Un mapa genético es la representación, en términos de distancia genética relativa, del orden y separación de los genes no alélicos dentro de un grupo de ligamiento o de un cromosoma. Estos mapas se pueden construir por análisis de recombinación meiótica o mitótica.



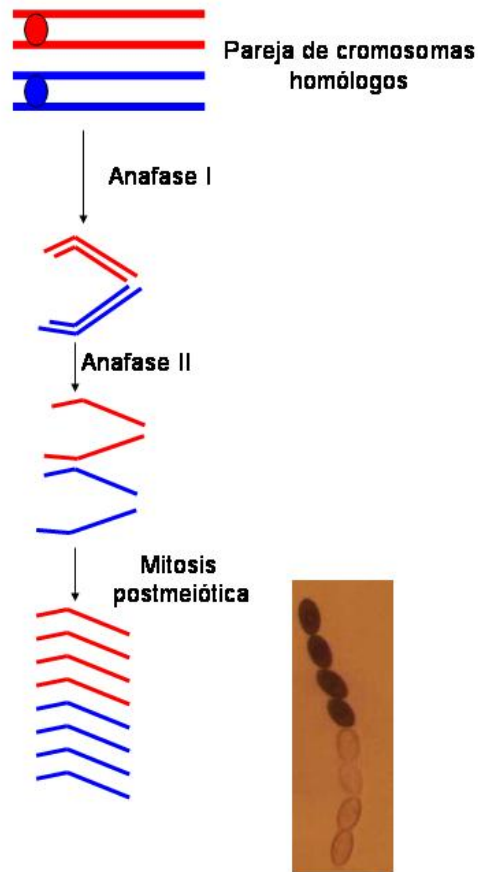
Análisis por recombinación meiótica: Análisis de Tétradas

El análisis por recombinación meiótica se basa en la correlación existente entre distancia física y probabilidad de sobrecruzamiento. Cuanto más alejados estén dos loci dentro de una estructura de ligamiento, más probable será que ocurra un sobrecruzamiento entre ellos. El análisis de los productos meióticos, bien sea estudiando los gametos, o bien observando la descendencia de un cruce, será la prueba de la ocurrencia o ausencia de sobrecruzamiento.

El estudio de la descendencia de un cruce, permite deducir la constitución genética de los gametos que han formado un individuo. Es el caso más frecuente en los organismos superiores, los productos meióticos no pueden ser aislados entre sí, no sabemos si derivan de un mismo meiocito o no. El análisis se realiza por prueba de la existencia de ligamiento y estimación de la fracción de recombinación estudiando la segregación para dos loci, tres loci o más por métodos como el Lod Score.

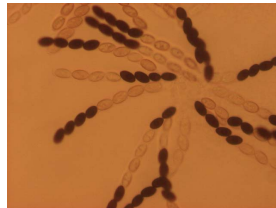
Cuando los gametos producidos por un mismo meiocito permanecen juntos y aislados del resto de productos meióticos, es posible analizar por separado el resultado de cada meiosis, a nivel de 4 células, o a nivel de 8 o 16 según las mitosis postmeióticas que ocurran. Este tipo de estudios se denominan genéricamente Análisis de Tétradas, independientemente si se analiza el conjunto de 4, 8 ó 16 productos meióticos.

El estudio de Tétradas tiene dos variantes dependiendo de como queden los productos meióticos. Si los 4 quedan aislados del resto y desordenados internamente sin guardar relación con las divisiones meióticas, el análisis se denomina Tétradas desordenadas. Otras veces los productos quedan aislados y ordenados dentro de una estructura, la ordenación de estos productos es un reflejo de las divisiones meióticas y de las mitosis posteriores, ya que quedan ordenados verticalmente. Veamos un ejemplo con 8 productos meióticos



Este es un caso en el que el gen que determina el color de la espora tiene dos alelos el black (negro, rojo en el esquema) y el white (blanco, azul en el esquema), y se representa la meiosis de un individuo heterocigótico.

Este tipo de análisis se realiza en ascomicetos y otros hongos, en los cuales las esporas (productos meióticos) quedan encerrados dentro de un asca. En levaduras, los 4 productos meióticos quedan aislados en un asca, pero sin ordenación espacial ni temporal.



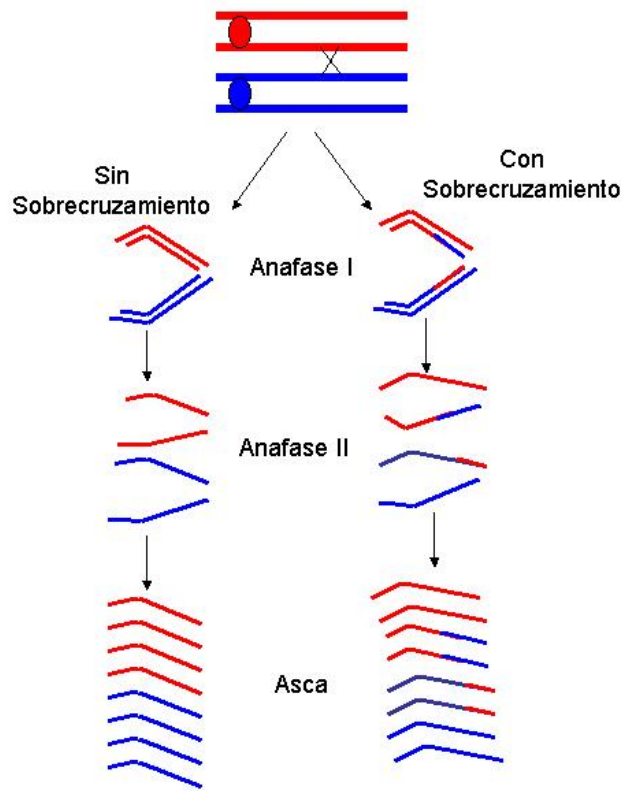
La construcción de mapas utilizando tétradas se realiza estudiando la recombinación con el centrómero o entre dos loci.

↑ Inicio

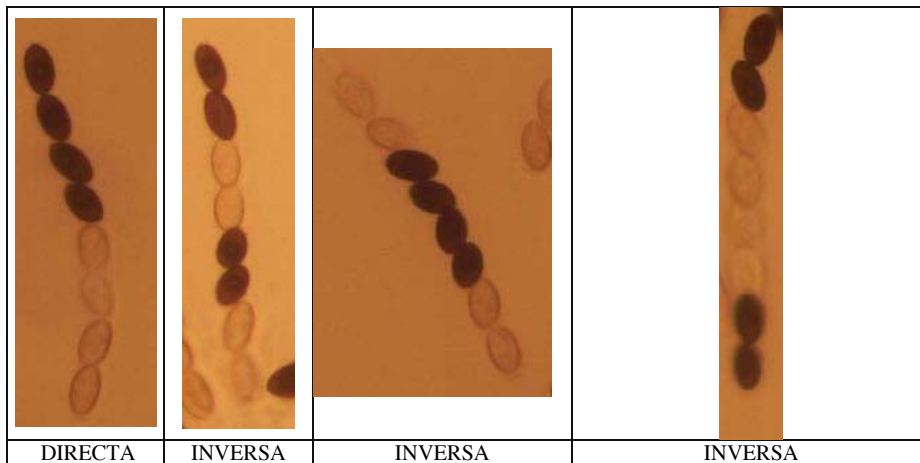
Análisis de tétradas por recombinación con el centrómero

- Tétradas ordenadas

Si consideramos un gen con dos alelos, y un individuo heterocigótico, el esquema de su meiosis sería el siguiente:



Dependiendo de la orientación en la segunda anafase meiótica podríamos ver los siguientes tipos de ascas:



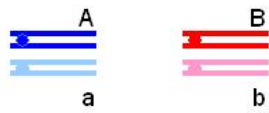
Cuando no se produce sobrecruzamiento, cada una de las 8 esporas lleva una hélice de ADN del parental original, 4 de un cromosoma homólogo y cuatro del otro. Si cada juego de 4 hélices permanecen juntas, la tétrada se denomina directa (segregación 4:4). Si existe algún proceso de sobrecruzamiento, se altera el orden y dependiendo de la orientación de los husos en Anafase II pueden aparecer segregaciones distintas (2:2:2:2; y 2:4:2) que se denominan tétradas inversas.

Es obvio que la frecuencia de sobrecruzamiento se puede estimar como el cociente entre la frecuencia de tétradas inversas entre el total de tétradas analizadas, y consecuentemente la fracción de recombinación será la mitad de la frecuencia de sobrecruzamiento.

- Tétradas desordenadas

Si cruzamos dos cepas, que difieren en dos loci independientes, (A,a;B,b), los productos meióticos que obtendríamos serían los siguientes:

--	--

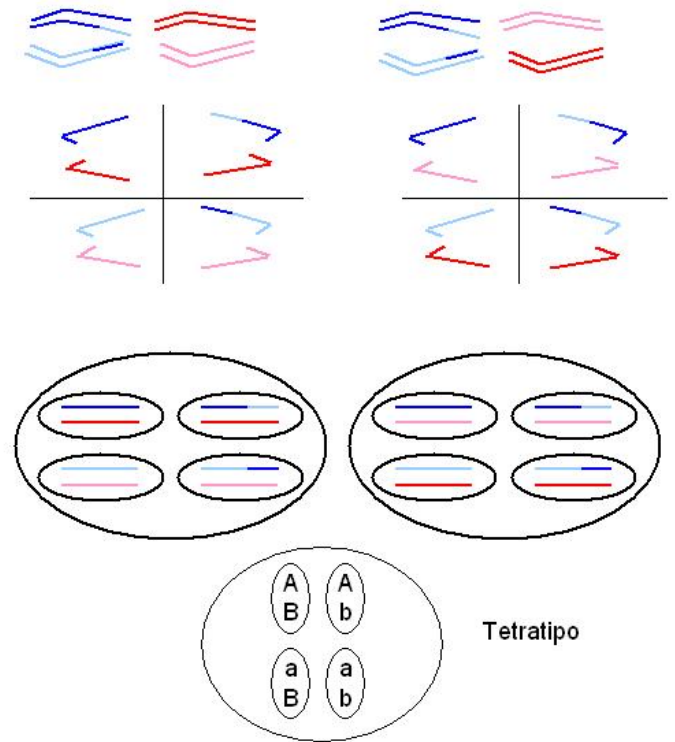
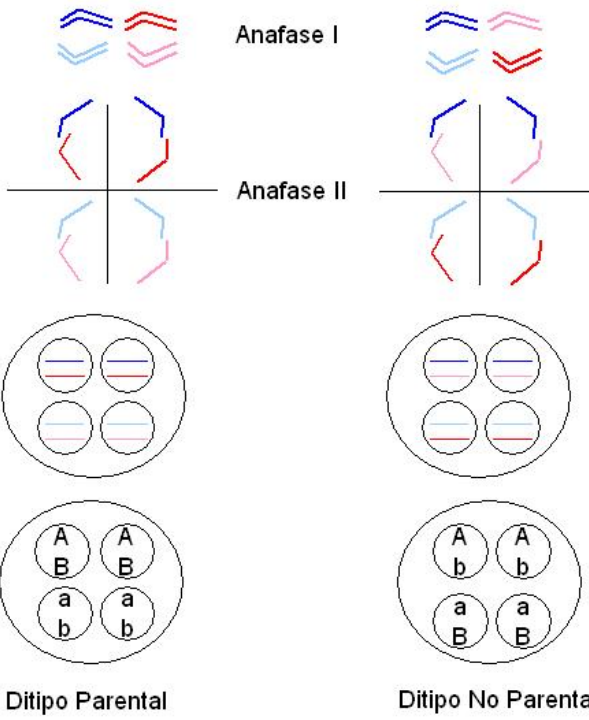


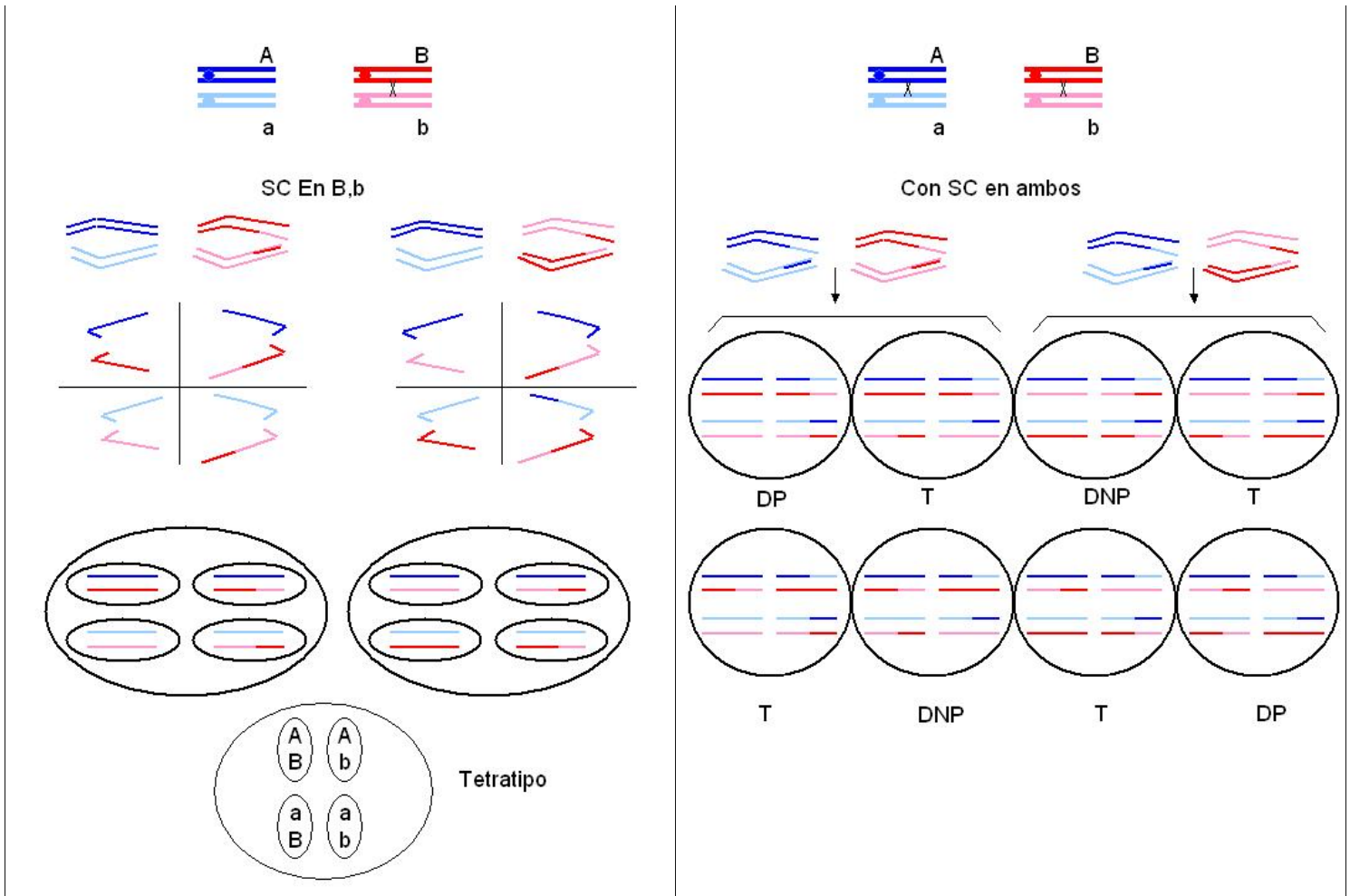
1/2

Sin SC

1/2

SC En A,a





En este caso el análisis es independiente de si hay 4 u 8 productos, lo que se estudia es el tipo de tétrada que se obtiene. Decimos que una tétrada es:

- Ditipo parental (DP) cuando sólo existen ascosporas con los genotipos parentales y en segregación 2:2 (4:4).
- Ditipo no Parental (DNP) Cuando las ascas muestran exclusivamente los genotipos recombinantes y en segregación 2:2 (4:4)
- Tetratipo Cuando las esporas muestran los 4 genotipos posibles y en segregación 1:1:1:1 (2:2:2:2)

Para calcular las distancias de cada locus a su centrómero, haremos los siguientes cálculos y razonamientos:

Llamemos x a la frecuencia de sobrecruzamiento entre el locus A,a y su centrómero, y llamemos y a la frecuencia de sobrecruzamiento entre B,b y el suyo.

Supuesto	Probabilidad	Tipo de Asca
No sobrecruzamiento	$(1-x)(1-y)$	1/2 DP + 1/2 DNP
Sobrecruzamiento en A,a	$x(1-y)$	Tetratipo
Sobrecruzamiento en B,b	$(1-x)y$	Tetratipo
Sobrecruzamiento en ambos	xy	1/4 DP + 1/4 DNP + 1/2 T

Por lo tanto la frecuencia de cada tipo de asca será:

Ditipo parental: $1/2 (1-x)(1-y) + 1/4 xy$

Ditipo No parental: $1/2 (1-x)(1-y) + 1/4 xy$

Tetratipo: $x(1-y) + y(1-x) + 1/2 xy = x + y - 3/2 xy$

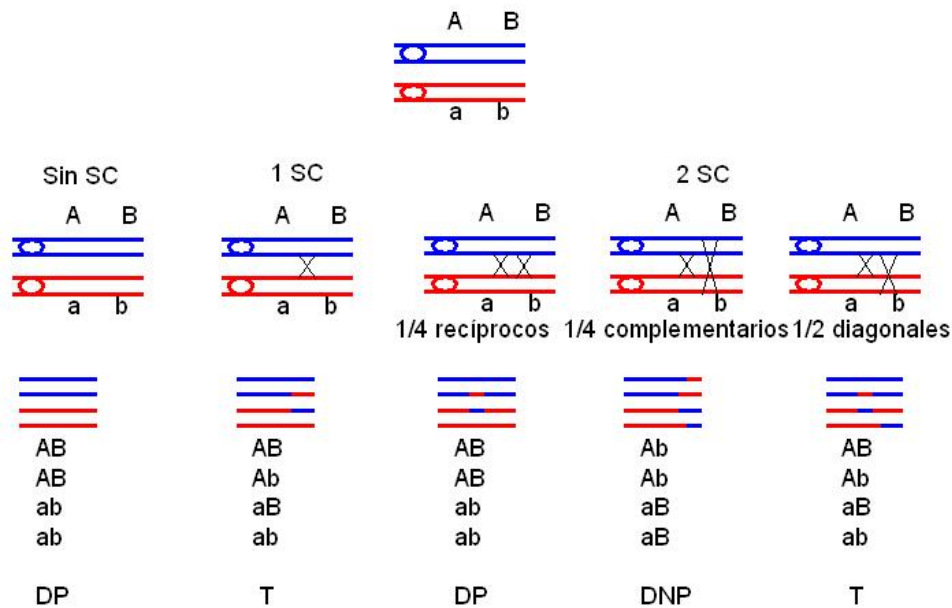
Con esto, en teoría tendríamos 3 ecuaciones y dos incógnitas pero analicemos más profundamente la situación:

Como podemos observar cuando dos loci no están ligados la frecuencia de tetradas DP y DNP es la misma. Este hecho hace que el sistema de 3 ecuaciones quede reducido a 2. Por otra parte las dos ecuaciones que nos quedan, son combinaciones lineales ya que una es igual a la probabilidad total (igual a 1) menos la otra. Por lo tanto es como si únicamente tuviéramos una ecuación con dos incógnitas.

El sistema tiene solución únicamente si conocemos previamente una de las frecuencias de sobrecruzamiento, o bien pudiéramos distinguir en tétradas ordenadas los distintos tipos de DP, DNP y Tetratipo para cada uno de los loci, esto es ver si son directas o inversas para cada uno de los locus, y así calcular independientemente la distancia de cada uno a su centrómero respectivo.

Análisis de tétradas por recombinación entre dos loci

Cuando tenemos dos loci ligados el esquema básico del análisis sería el siguiente:



En el caso más frecuente, en el que sólo ocurriera 1 o ningún sobrecruzamiento nuestro análisis seguiría el siguiente razonamiento:

- Detectaríamos que los dos loci están ligados por la ausencia de tétradas Ditipo no Parental.
- La estimación de la frecuencia de sobrecruzamiento sería el cociente entre la frecuencia de tétradas tetratipo y el total de tétradas analizadas.

Este tipo de análisis no resulta generalmente tan sencillo como se ha expuesto anteriormente. Es muy frecuente que la distancia entre los dos loci ligados permita la presencia de dobles sobrecruzamientos, con lo cual tendremos que introducir ciertas modificaciones en nuestro análisis anterior:

- Podremos observar tétradas DNP, sin embargo estas serán siempre mucho menos frecuentes que las DP. Tengamos en cuenta que cuando se producen dobles sobrecruzamientos aparecen tétradas DP y DNP en la misma proporción, por lo tanto las tétradas DP aparecerán cuando no hay sobrecruzamiento y en 1/4 de cuando hay dobles, mientras que las DNP, sólo aparecerán en 1/4 de cuando hay dobles sobrecruzamientos.

- Si aparecen tétradas DNP, hay que introducirlas en la fórmula para el cálculo de la frecuencia de sobrecruzamiento. Hemos de tener en cuenta que cuando hay dos sobrecruzamientos se obtienen igual proporción de DNP que de DP además de las tetratipo. Como no sabemos de todas las DP obtenidas cuales se producen por ausencia de sobrecruzamiento y cuales por dos sobrecruzamientos, la mejor estima para la frecuencia de sobrecruzamiento será la siguiente:

frec. sobrecruzamiento = $(2 \text{ DNP} + \text{T}) / \text{total de tétradas analizadas}$

y por tanto la fracción de recombinación será igual a $a = (\text{DNP} + 1/2 \text{T}) / \text{Total}$

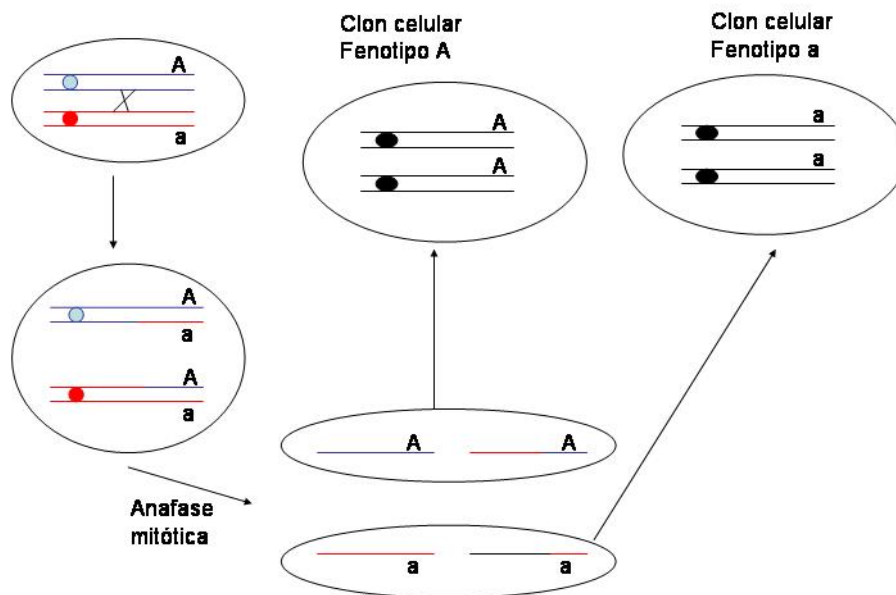


Análisis por recombinación mitótica: Sobrecruzamiento somático

Los fenómenos de recombinación en mitosis, aunque escasos no son imposible de producirse. Pueden ocurrir en la replicación del ADN y detectarse como un intercambio de material genético entre las dos cromátidas de un mismo cromosoma



Cuando el proceso de recombinación ocurre entre dos cromosomas homólogos (sobrecruzamiento somático), en un individuo heterocigótico, se pueden obtener clones celulares genéticamente diferentes después de la anafase y posterior replicación.



De esta forma podemos observar en un determinado tejido de un individuo, que una región del mismo muestra un fenotipo distinto de sus células adyacentes. De esta forma podemos explicarnos también ciertos bilateralismos o mosaicos que aparecen en muchos individuos. Es normal encontrarse con una persona que tiene un ojo de cada color, o con mechones de pelo diferentes en su pigmentación, la mayoría de estos casos se producen por sobrecruzamiento somático.

La frecuencia de sobrecruzamiento somático entre un locus y su centrómero será función de la distancia física entre ellos, al igual que ocurre en meiosis. La aparición de mosaicos celulares para dos o más genes, será un indicativo de la existencia de ligamiento entre esos genes. La construcción de un mapa por sobrecruzamiento somático se realiza tomando como unidad la frecuencia absoluta de células con fenotipo recesivo para el locus que más veces muestre ese carácter. Los demás loci se relativizan bien a este locus, bien a la frecuencia total de mosaicos.

Veamos un ejemplo: Supongamos que en un individuo heterocigótico observamos los siguientes tipos de mosaicos:

Fenotipo mosaico	Genotipo mosaico	Frecuencia
a	aa	56
ab	aabb	78
abc	aabbcc	24

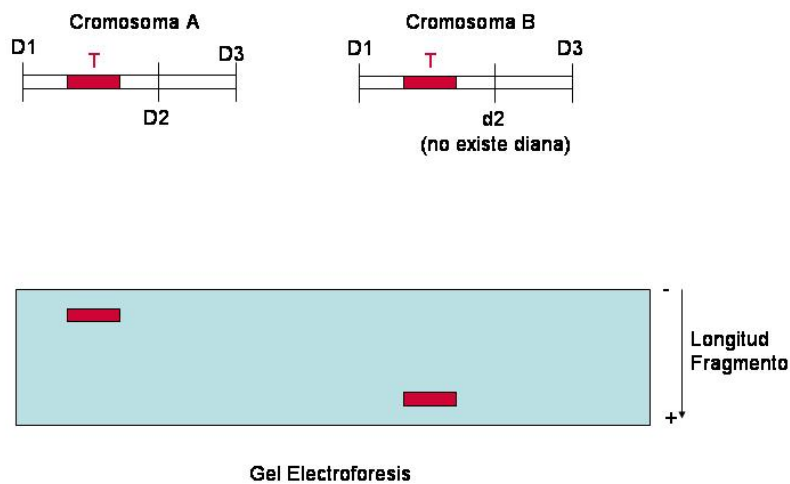
Hay un total de 200 mosaicos, el fenotipo presente en todos es el "a", luego éste será el locus más alejado del centrómero. El siguiente más alejado será el "b", a una distancia en porcentajes de 39 ($100 \times 78/200$) del "a"; el "c" estará a una distancia de 12 del "b", y finalmente el "d" estará a una distancia de 21 del "c".

Inicio

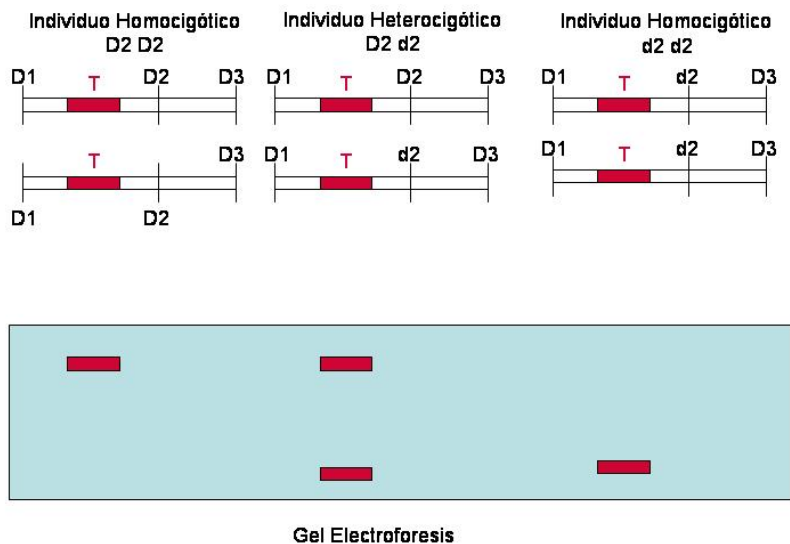
Mapas físicos

Los mapas físicos se realizan por análisis de fragmentos de restricción del ADN. Este proceso consiste en una fragmentación del genoma utilizando una endonucleasa de restricción. El patrón que aparece al separar dichos fragmentos en electroforesis será distinto, ya que el número de fragmentos y la longitud de los mismos dependerá del número de dianas para esa enzima que tenga el ADN. Mediante este método se observa que existe un polimorfismo para la longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) entre los diversos individuos de las distintas especies.

Supongamos una determinada secuencia de ADN que tenemos clonada y que representamos con la letra "T". Esta secuencia está en un cromosoma que puede presentar un polimorfismo para una de las dianas de la enzima de restricción. El lugar de las dianas dentro del cromosoma lo representamos por D1, D2 etc., si el cromosoma no tiene esa diana lo representamos como d1, d2, etc. El cromosoma tipo A tiene todas las dianas y el cromosoma tipo B (homólogo del A) no tiene la diana D2. Cuando separamos los fragmentos de restricción y los hibramos con nuestra secuencia (marcada radiactivamente), dependiendo el tipo de cromosoma el marcaje nos aparecerá en un fragmento u en otro.



Habrán tres tipos de individuos con respecto a esta pareja cromosómica los que posean dos cromosomas de tipo A, los que posean dos cromosomas de tipo B y aquellos que tengan un cromosoma de cada tipo. El perfil electroforético que mostrará cada uno de estos individuos será distinto



De esta forma podemos ir localizando genes o secuencias de ADN en regiones concretas y físicas del cromosoma.

↑ Inicio

