

VIII. Test trois points

1- Présentation

Le test 3 points **permet de cartographier 3 gènes** dans des croisements trihybrides. L'étude simultanée de 3 gènes liés permet d'établir d'abord l'ordre de ces gènes puis les distances qui les séparent.

2-Exemple 1 : croisement de trois couples d'allèles chez la drosophile

Soient les trois couples d'allèles : cn^+/cn vg^+/vg b^+/b

cn^+ : œil rouge brun

vg^+ : ailes normales

b^+ : corps jaune

cn : œil blanc

vg : ailes vestigiales

b : corps noir

On croise deux souches pures :

- L'une aux yeux rouges brun, aux ailes normales et au corps jaune ($cn^+ vg^+ b^+$)
- L'autre aux yeux blancs, aux ailes vestigiales et au corps noir ($cn vg b$).

Remarque : nous ne connaissons pas l'ordre des gènes. Nous choisissons un ordre au hasard.

Nous avons choisi de placer vg au milieu. Cela peut être correct ou non.

Femelle ($cn^+ vg^+ b^+$) \times mâle ($cn vg b$)

F1 : 100% ($cn^+ vg^+ b^+$)

Test cross : ($cn vg b$) \times ($cn^+ vg^+ b^+$)

Classe 1 :	810 ($cn^+ vg^+ b^+$)] P
Classe 2 :	790 ($cn vg b$)	
Classe 3 :	94 ($cn^+ vg^+ b$)] R
Classe 4 :	90 ($cn vg b^+$)	
Classe 5 :	106 ($cn^+ vg b^+$)	
Classe 6 :	100 ($cn vg^+ b$)	
Classe 7 :	6 ($cn vg^+ b^+$)	
Classe 8 :	4 ($cn^+ vg b$)	

2-1- Analyse des résultats

- **Relation de dominance et de récessivité**

D'après la F1 : cn^+ est dominant sur cn , vg^+ est dominant sur vg , b^+ est dominant sur b

- **Nombre de gènes** : nous prenons chaque caractère séparément :

- **Couleur de l'œil : cn+/cn**

$$cn+ = 810 + 94 + 106 + 4 = 1014 = \frac{1}{2}$$

$$cn = 790 + 90 + 100 + 6 = 986 = \frac{1}{2}$$

}] Ségrégation monogénique

- **Forme des ailes : vg+/vg**

$$vg+ = 810 + 94 + 100 + 6 = 1010 = \frac{1}{2}$$

$$vg = 790 + 90 + 106 + 4 = 990 = \frac{1}{2}$$

}] Ségrégation monogénique

- **Couleur du corps : b+/b**

$$b+ = 810 + 90 + 106 + 6 = 1012 = \frac{1}{2}$$

$$b = 790 + 94 + 100 + 4 = 988 = \frac{1}{2}$$

}] Ségrégation monogénique

Trois gènes interviennent dans ce croisement

2-2- Liaison et distances

Rappelons que dans le trihybridisme (3 gènes indépendants), nous avons obtenu 8 classes phénotypiques équiprobables. Dans cet exemple, ce n'est pas le cas. On analyse les gènes deux à deux :

cn+/cn – vg+/vg

$$P : (cn+ vg+) \text{ et } (cn vg) = 810 + 94 + 790 + 90 = 1784$$

$$R : (cn+ vg) \text{ et } (cn vg+) = 106 + 4 + 100 + 6 = 216$$

}] $P > R$. Les deux gènes sont liés

$$d = \%R = 216 \times 100 / 2000 = \mathbf{10,8 \text{ cM}}$$

cn+/cn – b+/b

$$P : (cn+ b+) \text{ et } (cn b) = 810 + 106 + 790 + 100 = 1806$$

$$R : (cn+ b) \text{ et } (cn b+) = 94 + 4 + 90 + 6 = 194$$

}] $P > R$. Les deux gènes sont liés

$$d = \%R = 194 \times 100 / 2000 = \mathbf{9,7 \text{ cM}}$$

vg+/vg – b+/b

$$P : (vg+ b+) \text{ et } (vg b) = 810 + 6 + 790 + 4 = 1610$$

$$R : (vg+ b) \text{ et } (vg b+) = 94 + 100 + 90 + 106 = 390$$

}] $P > R$. Les deux gènes sont liés

$$d = \%R = 390 \times 100 / 2000 = \mathbf{19,5 \text{ cM}}$$

2-3- Ordre des gènes

La plus grande distance ($d_{vg-b} = 19,5 \text{ cM}$) correspond aux gènes extrêmes. cn est donc le gène central. L'ordre est : $vg - cn - b$.

2-4- Génotypes des parents et de la F1

Après avoir trouvé l'ordre correct, nous pouvons écrire les génotypes des parents :

$$\frac{vg+ \text{ cn+ } b+}{vg+ \text{ cn+ } b+}$$

$$\frac{vg \text{ cn } b}{vg \text{ cn } b}$$

$$vg+ \text{ cn+ } b+$$

$$vg \text{ cn } b$$

Et le génotype de la F1 : $\frac{vg^+ \quad cn^+ \quad b^+}{vg \quad cn \quad b}$

Remarque : Dans le test cross chez la drosophile, c'est la femelle qui doit être hétérozygote pour donner des gamètes recombinés (car le mâle de la drosophile ne subit pas de C.O et ne donne pas de gamètes recombinés) :

femelle $\frac{vg^+ \quad cn^+ \quad b^+}{vg \quad cn \quad b}$ x mâle $\frac{vg \quad cn \quad b}{vg \quad cn \quad b}$

2-5- Additivité des distances

Nous remarquons que les deux distances intermédiaires ne sont pas additives : $9,7 + 10,8 = 20,5$ et non pas $19,5$.

Schématisons un triple hétérozygote avec l'ordre correct des gènes, en délimitant deux intervalles : l'intervalle I entre le gène vg^+/vg et le gène cn^+/cn , l'intervalle II entre le gène cn^+/cn et le gène b^+/b . Considérons les possibilités suivantes :

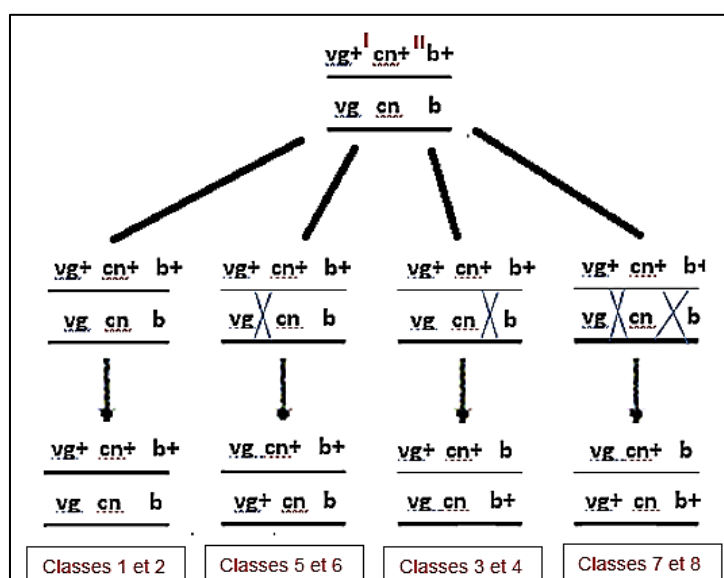


Figure 1 : Différentes classes phénotypiques chez un hétérozygote impliquant 3 gènes liés

- Lorsqu'il n'y a pas de C.O, on obtient les classes 1 et 2. Ce sont les catégories parentales.
- Si un C.O a lieu entre vg et cn (intervalle I), on obtient les classes 5 et 6. Ce sont des simples recombinaisons
- Si un C.O a lieu entre cn et b (intervalle II), on obtient les classes 3 et 4. Ce sont des simples recombinaisons
- Si un double C.O a lieu dans les intervalles I et II en même temps, on obtient les classes 7 et 8. Ce sont des doubles recombinaisons

Les catégories 7 et 8 sont donc obtenues avec un double C.O (deux événements de recombinaison), l'un dans l'intervalle I, l'autre dans l'intervalle II. Or, dans le calcul de la distance entre b et vg, nous n'avons pas tenu compte de ce double C.O.

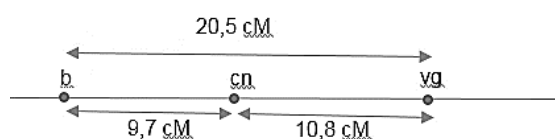
2-6- Correction de la distance entre gènes extrêmes

On corrige la formule de la distance en considérant les simples recombinés (classes 3, 4, 5 et 6) une fois et les double recombinés (classes 7 et 8) deux fois :

$$d_{vg-b} = \frac{94 + 90 + 106 + 100 + 2(6+4)}{2000} \times 100 = 20,5 \text{ cM}$$

Cette distance obtenue après correction est bien la somme des deux distances intermédiaires.

2-7- Carte factorielle



2-8- Détermination du gène central sans calcul des distances

Les catégories parentales sont majoritaires : (cn+vg+ b+) (cnvg b)

Les catégories issues d'un double C.O sont minoritaires : (cnvg+ b+) (cn+vg b)

En comparant les catégories P et les double R, le gène central est le gène qui permute :

cn+/cn est le gène central. L'ordre est donc : vg – cn – b.

3 – Interférence chromosomique et coefficient de coïncidence

Le phénomène d'interférence se produit quand **un C.O dans une région chromosomique inhibe un second événement dans les régions proches**, c'est-à-dire que la formation d'un chiasma à un point donné du chromosome réduit la probabilité de production d'un second chiasma dans une région proche.

Pour quantifier l'interférence, on calcule le coefficient de coïncidence (cc). Ce dernier est exprimé par le rapport entre la proportion des doubles C.O observés et la proportion des doubles C.O théoriques (calculés ou prévus), soit :

$$cc = \% \text{ doubles C.O observés} / \% \text{ doubles C.O calculés}$$

Dans la plupart des expériences de cartographie, la fréquence des DCO observés est plus faible que la fréquence des DCO théoriques (les DCO sont rares).

Si l'on suppose que le C.O dans la région I est un événement indépendant de celui de la région II, la fréquence des DCO est égale à la probabilité d'avoir deux C.O à la fois dans les deux régions qui séparent les trois gènes.

Dans notre cas :

$$p(2 \text{ C.O})_{(b-vg)} = p(1 \text{ C.O})_{(b-cn)} \times p(1 \text{ C.O})_{(cn-vg)}$$

$$= 9,7\% \times 10,8\% = 0,0104 = 1,04\% = \text{résultat théorique (calculé)}$$

Cela veut dire que 1,04% de la descendance du croisement doit présenter un DCO

En réalité, on obtient seulement $6+4/2000 \times 100 = 0,005 = 0,5\% = \text{résultat réel obtenu}$

Cela veut dire que 0,5% de DCO sont obtenus dans ce croisement

Dans notre expérience, seulement 0,5% de DCO sont observés au lieu de 1,04% attendus, ce qui s'explique par le phénomène d'interférence

$$cc = 0,005 / 0,0104 = 0,48$$

Remarque : la valeur de cc varie, en principe, de 0 à 1

Une fois cc calculé, nous pouvons quantifier l'interférence (I) grâce à l'équation :

$$I = 1 - cc$$

Dans notre exemple : $I = 1 - 0,48 = 0,52$

Seulement 48% des DCO attendus théoriquement se produisent dans cette région. Dans 52% des cas, il n'y a pas de DCO

Les cas suivants peuvent être observés :

- Si l'interférence est totale (pas de DCO), $I = 1$, $cc = 0$: deux C.O ne peuvent pas avoir lieu dans cette région
- Si $cc = 1$, $I = 0$: un maximum de DCO ont lieu dans cette région
- S'il y a moins de DCO que prévus, il y a interférence positive (I est positif)
- S'il y a plus de DCO que prévus, il y a interférence négative (I est négatif)

Remarque : Dans notre exemple, I est positif