

ЗАНЯТИЕ № 12

Тема: ГИБРИДОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД. КАНОНИЧЕСКИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАСЩЕПЛЕНИЯ И ОТКЛОНЕНИЯ ОТ НИХ

Цель занятия: изучить особенности гибридологического метода генетического анализа у эукариотических организмов, модельные генетические расщепления при моногибридном скрещивании, отклонения от них и их причины, типы взаимодействия аллельных генов.

Вопросы, рассматриваемые на занятии:

1. Предмет и задачи генетического анализа, его методы. Особенности гибридологического метода.
2. Генетические расщепления при моногибридном скрещивании.
3. Методы статистики для оценки генетических расщеплений (метод χ^2).
4. Отклонения от канонических расщеплений и их причины.
5. Множественные аллели, типы взаимодействий аллелей, межаллельная комплементация.

Формируемые понятия: аллель, множественный аллелизм, генетический анализ, гибридологический метод, доминирование, кодоминирование, межаллельная комплементация

Ученые, работавшие (работающие) в данном направлении: Грегор Мендель, Карл Эрхарт Корренс, Эрхарт Чермак-Зейзенегг, Хуго де Фриз, Д. Вудвард.

Некоторые аспекты темы:

1. Отклонения от менделевских расщеплений Закономерности наследования при моногенных различиях исходных форм могут соответствовать менделевским только при соблюдении ряда условий:

- 1) организмы размножаются половым путем;
- 2) исходные формы гомозиготны;
- 3) гаметы разного генотипа у гетерозигот образуются с равной вероятностью и с равной вероятностью выживают;
- 4) оплодотворение имеет случайный характер, то есть участие в нем разных гамет равновероятно;
- 5) зиготы разных генотипов имеют одинаковую выживаемость;
- 6) полная пенетрантность гена.

При несоблюдении этих условий при моногибридном скрещивании наблюдаются различные отклонения от менделевских (канонических) расщеплений. В следующих примерах рассматриваются случаи таких отклонений, обусловленных, в частности, различной жизнеспособностью гамет и зигот.

Пример 1. Какое расщепление по фенотипу следует ожидать в F_1 -моногибридного скрещивания, если у гетерозиготы жизнеспособные женские гаметы образуются с частотой 0,4А и 0,6а, мужские гаметы - с частотой 0,8А и 0,2а?

Пример 2. Какое расщепление по фенотипу следует ожидать в F_2 моногибридного скрещивания, если в эмбриогенезе гибнет 20% зигот Aa и 80% зигот AA ?

Пример 3. При скрещивании хохлатых уток с нормальными было получено 62 хохлатых и 73 нормальных особи. От скрещивания хохлатых уток между собой также появились хохлатые и нормальные утята (92 и 44 соответственно), причем часть эмбрионов погибла перед вылуплением. Какое потомство следует ожидать при скрещивании нормальных уток между собой?

Как видно из приведенных примеров, нарушение условий менделевского наследования либо изменяет число классов в расщеплении, либо ведет к статистически значимым отклонениям в соотношении фенотипов по сравнению с теоретически ожидаемым. Причины систематических отклонений в расщеплении различны. Некоторые из них связаны с нарушением нормального расхождения хромосом в мейозе. Так, практически нормальное расхождение хромосом у гетерозигот по Робертсоновским транслокациям (центрические слияния акроцентрических хромосом) нарушается, если их носители имеют в генотипе определенные аллели.

Пример 4. Какое расщепление по гену tf , определяющему характер роста волос у мыши, следует ожидать в анализирующем скрещивании гетерозиготной самки с Rb -транслокацией (в метацентрике - нормальная аллель, в акроцентрике - мутантная) с самцом без транслокации, если в овогенезе с частотой 0,7 акроцентрик попадает в яйцеклетку?

2. Межаллельная комплементация. Известно, что большинство генов имеет не два, а несколько аллельных состояний, и тогда говорят о множественных аллелях. Наблюдаются такие типы взаимодействия разных аллелей гена в диплоидном организме, как полное и неполное доминирование, кодминирование и межаллельная комплементация. В последнем случае у компаунда (например, генотипа a_1/a_2) восстанавливается нормальный фенотип. Одно из возможных объяснений этого явления - функциональное исправление дефекта мультимерного белка при объединении мутантных субъединиц. Белок (фермент) должен состоять не менее чем из двух одинаковых субъединиц.

Пример 5. Возможна ли межаллельная комплементация, если ген кодирует: а) фермент, состоящий из четырех субъединиц; б) бифункциональный

моносубъединичный фермент; в) α -субъединицу белка $\alpha_2\beta_2$; г) β -субъединицу белка $\alpha_2\beta_2$; д) β -субъединицу белка $\alpha_2\beta_4\gamma_2$?

Различные аллели одного гена можно объединить в группы комплементации, при этом в одну группу комплементации входят аллели, не дающие при объединении в компаунде нормального фенотипа. Аллели разных групп комплементации в компаунде восстанавливают нормальный фенотип.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

Применение метода χ^2 для оценки генетических расщеплений.

В генетическом анализе после выдвижения гипотезы о соответствии наблюдаемого на практике расщепления какому-то известному расщеплению ее подвергают проверке. Для этого оценивают величину отклонения от теоретически ожидаемого расщепления и ее значимость с помощью, например, метода χ^2 . *Рассмотрим конкретный пример:*

При скрещивании львиного зева с желтыми и красными цветками в F_1 все растения с розовыми цветками, в F_2 - 54 с красными, 122 с розовыми, 58 с желтыми цветками. Так как расщепление "похоже" на соотношение 1:2:1, выдвинута нулевая гипотеза о моногенном различии исходных форм и неполном доминировании.

Проведите ее проверку методом χ^2 .

Внесем в таблицу опытные данные и теоретически ожидаемые (q), которые рассчитаем, поделив сумму потомков на величину возможных сочетаний гамет (1+2+1). Рассчитаем отклонение (d) - разницу между опытными данными и теоретически ожидаемыми - и его квадрат. Квадрат отклонения делим на теоретически ожидаемую для каждого класса потомков величину. **Показатель χ^2 представляет собой сумму d^2/q .**

Данные	Фенотипические классы		
	Красные	Розовые	Желтые
Опытные			
Теоретически ожидаемые (q)			
Отклонение (d)			
d^2			
d^2/q			

Теперь по таблице Фишера определяем вероятность случайности отклонения. При этом учитываем число степеней свободы, которое на одно меньше числа классов в расщеплении. Если χ^2 не превышает табличного значения (для $P = 0,05$), отклонение случайно; если превышает - неслучайно и нулевая гипотеза отвергается.

Таблица Фишера (фрагмент)

Степени свободы	Уровни значимости		
	0,05	0,01	0,001
1	3,84	6,64	10,83
2	5,99	9,21	13,82
3	7,82	11,34	16,27
4	9,49	13,26	18,47
5	11,07	15,09	20,52
6	12,59	16,81	22,46

При оценке расщепления методом χ^2 следует учесть, что он не применим, если значения выражены в относительных числах и %, а также не применим к выборкам с числом особей меньше 5 в каком-либо классе.

Оценка по методу χ^2 ничего не говорит в пользу гипотезы, но на ее основе отвергают ложные гипотезы, если отклонение значимо, т. е. нет соответствия между опытными и теоретически рассчитанными величинами.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Задача 1. Среди потомков от браков людей с группой крови MN 39 детей имеют группу крови N , 70 детей - MN , 42 ребенка - группу крови M . Как наследуются группы крови системы MN ? Проверьте выдвинутую вами гипотезу генетического расщепления методом χ^2 .

Задача 2. Две черные самки мыши скрещивались с коричневым самцом. Одна самка в нескольких пометах дала 20 черных и 17 коричневых потомков, вторая - 35

черных. Определите генотипы родителей и потомков. Проверьте выдвинутую гипотезу генетического расщепления в первом скрещивании методом χ^2 .

Задача 3. От скрещивания чалых шортгорнов получено 280 телят. Из них 136 имеют окраску родителей. Определите генотипы и фенотипы остальной части потомства, если известно, что чалые шортгорны рождаются от скрещивания красных и белых животных. Возможна ли проверка выдвинутой гипотезы методом χ^2 ?

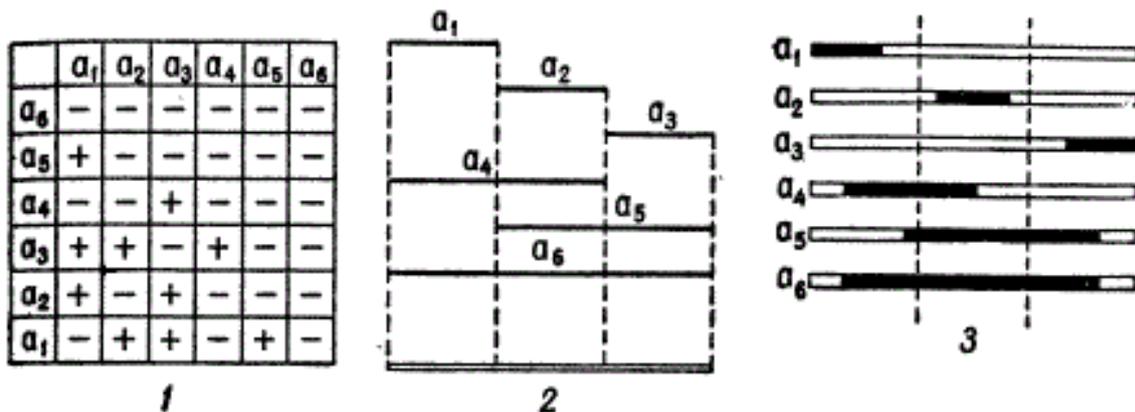
Задача 4. Болезнь Тея-Сакса развивается у гомозигот по рецессивному гену и приводит к смерти в раннем детском возрасте. Какова вероятность рождения больных детей в браке гетерозигот? Какое соотношение по фенотипу и генотипу будет наблюдаться среди новорожденных потомков нескольких таких браков? Среди взрослых потомков?

Задача 5. Гомозиготы по гену брахидактилии гибнут внутриутробно, а гетерозиготы имеют аномалии скелета. Какое соотношение по фенотипу и генотипу будет наблюдаться среди потомков от нескольких браков гетерозигот? Какой летальный эффект оказывает ген брахидактилии: рецессивный или доминантный?

Задача 6. У пчел ген, определяющий вислоккрылость, проявляется только в гетерозиготном состоянии, а в гомозиготном вызывает гибель организма. Известно, что у пчел самцы развиваются из неоплодотворенных яиц и гомозиготны. Определите генотипы и фенотипы потомства от скрещивания вислоккрылой пчелы с нормальным трутнем и самцов - потомков вислоккрылых пчел.

Задача 7. Аллели серии T у мышей определяют длину хвоста (T - короткий хвост, t - бесхвостые мыши) и обладают рецессивным летальным эффектом. Какое расщепление произойдет в скрещивании компаундов $T/t^{(1)}$ и $T/t^{(2)}$, если аллели t относятся к разным группам комплементации (1-я и 2-я)?

Задача 8. Гены A и B , кодирующие α и β -субъединицы белка $\alpha_2\beta_2$, перекрываются. Мутация № 1 гена A лежит вне общей части генов, а мутация № 2 - в общей. Возможно ли у компаунда по этим аллелям гена A восстановление функции белкового продукта обоих генов?



$a_1 - a_6$ — разные мутантные аллели одного гена; 1 — наличие (+) или отсутствие (-) комплементации при всех возможных комбинациях этих мутаций; 2 — построение карты комплементации (мутации изображены в виде отрезков; перекрывание отрезков соответствует отсутствию комплементации между данными мутациями, неперекрывание отрезков — наличие комплементации); 3 — вероятная картина повреждения (зачернено) в белковых субъединицах, соответствующих разным мутантным аллелям одного гена.

Схема межаллельной комплементации

ЛИТЕРАТУРА:

1. Жимулев И.Ф. *Общая и молекулярная генетика*. — Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2003.
2. Инге-Вечтомов С.Г. *Генетика с основами селекции*. — СПб.: изд-во Н-Л, 2010.
3. *Генетика*./Под ред. В.И. Иванова. - М.: Академкнига, 2006.
4. У. Клаг, М. Камминс. *Основы генетики*. М.: Техносфера, 2009. — 894 стр.
5. Дымищ Г.М. *Проблема репликации концов линейных молекул ДНК и теломераза*