

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-биологический факультет

Кафедра Молекулярной биологии и генетики

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Методы и объекты генетического анализа»

Тема: «Тетрадный анализ независимого и сцепленного наследования.»

Студентка гр. 301 _____ Коскина Я.В.

Преподаватель _____ Замарин А.А.

Волгоград – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
1. Основные понятия тетрадного анализа.	3
2. Тетрадный анализ, его суть.	4
3. Тетрадный анализ независимого наследования.	6
4. Тетрадный анализ сцепленного наследования.	8
Список литературы	11

Введение.

Еще в 20-х годах были найдены объекты (мхи), у которых удалось проанализировать расщепление в пределах одиночной тетрады. Данный метод, позволяющий устанавливать расщепление гамет после двух делений созревания (мейоза) был назван тетрадным анализом. Он дает возможность анализировать гаметы, возникшие в результате мейотического деления, и развившиеся из них гаплоидные особи. Этот метод впервые позволил непосредственно доказать, что менделевское расщепление является результатом закономерного хода мейоза, что оно представляет не статистическую, а биологическую закономерность.

1. Основные понятия тетрадного анализа.

Тетрада — четыре споры, образовавшиеся после ряда делений и рекомбинации у некоторых грибов (главным образом аскомицетов, например, дрожжей и нейроспоры) и одноклеточных водорослей (например, хламидомонады). Если два родителя различаются по двум аллелям двух разных генов, то возможные споры в тетраде можно подразделить на три типа: родительский дитип (P), неродительский дитип (N) и тетратип (T).

Родительским дитипом (P) называется тип тетрад, сочетающий в своих генотипах два исследуемых гена в родительском варианте (например, при скрещивании $AB \times ab$ в этом случае появляются родительские дитипы AB и ab). У аскомицетов этому типу соответствует расщепление в спорах, при котором имеется лишь два нерекомбинантных типа аскоспор (AB , AB , ab , ab).

Неродительский дитип (N) — это такая тетрада, что в четырёх спорах встречаются только два рекомбинантных генотипа (aB и Ab).

В случае тетратипа, в тетраде встречается 4 различных генотипа, два из которых являются рекомбинантными (aB и Ab), а два — нет (AB и ab). У сумчатых грибов образование тетратипа свидетельствует о наличии единичного кроссинговера между двумя сцепленными локусами.

2. Тетрадный анализ, его суть.

Перед мейозом ДНК обоих наборов хромосом зиготы удваивается, так что хромосомы двойного набора теперь содержат по 2 хроматиды (то есть зигота имеет генетическую формулу $2n4c$, где n — количество гаплоидных наборов хромосом, а c — количество ДНК). Ядро, которое содержит два набора таких хромосом, делится в две стадии, разделяясь на четыре новых ядра ($2n4c \rightarrow n2c \rightarrow nc$). Каждое из них имеет одинарный (гаплоидный) набор однохроматидных хромосом. После этого процесса каждое из четырёх новых ядер снова удваивает ДНК и делится митозом ($n2c$). В результате образуется аска с четырьмя парами спор.

Итак, каждая из аск (сумок) содержит 4 гаплоидные споры с удвоенным количеством ДНК, то есть они имеют генетическую формулу $n2c$.

Следовательно, расщепление в асках (сумках) соответствует гаметическому расщеплению (после I деления мейоза, когда и происходит рекомбинация, предшественники половых клеток имеют генетическую формулу $n2c$, которая при последующем митотическом делении становится nc , так как каждая клетка отдаёт по одному комплекту ДНК дочерним клеткам).

По этой причине расщепление в тетрадах моногетерозиготы A/a соответствует $2A : 2a$, а у дигетерозиготы AB/ab наблюдается 3 вышеописанных типа тетрад: родительский дитип $2AB : 2ab$, неродительский дитип $2Ab : 2aB$ и тетратип $1AB : 1Ab : 1aB : 1ab$. Частота появления каждого из этих типов тетрад даёт право делать выводы о сцеплении генов и центромер (сцеплённые участки рекомбинируют вместе). Кроме того, на основании того, что частота кроссинговера зависит от расстояния между генами, можно судить и о расстоянии между генами или генами и центромерами.

Тетрадный анализ помог установить, что кроссинговер происходит на стадии четырёх, а не двух хроматид (хотя теоретически этот вариант был возможен). Объектом исследований был выбран сумчатый гриб нейроспора густая (*Neurospora crassa*). Особенность нейроспоры в том, что аскоспоры располагаются в аске линейно, а направление расхождения хромосом совпадает с длинной осью аска. Четыре гаплоидных ядра после мейоза ещё раз делятся митозом, в результате в аске в один ряд располагаются 4 пары гаплоидных спор, и генотип каждой пары должен быть идентичен.

Если бы кроссинговер происходил на стадии двух хроматид, то при скрещивании $AB : ab$ наблюдалось бы единственное линейное расположение $Ab-Ab-Ab-aB-aB-aB$. В действительности же обычно наблюдаются куда более сложные варианты расположений, например, $AB-AB-Ab-Ab-aB-aB-ab-$

ab и Ab-Ab-AB-AB-aB-aB-ab-ab. Это связано с тем, какие именно хроматиды из четырёх вступили в рекомбинацию.

Технически, такие наблюдения осуществляют при помощи техники микроманипуляции, позволяющей изолировать под микроскопом каждую из четырех спор аска. После проращивания в подходящих условиях споры образуют клоны, что позволяет определить их фенотип, а следовательно, и генотип.

3. Тетрадный анализ независимого наследования.

При независимом наследовании у грибов-аскомицетов с упорядоченными тетрадами (или октадами) по каждому гену после мейоза образуется 6 типов тетрад с равной вероятностью, если гены не сцеплены со своей центромерой (больше 33% кроссинговера). Например, по гену А - ААаа, ааАА, АаАа, аАаА, АааА и аААа, по гену В - ВВbb, bbВВ, VbVb, bVbV, bVVb и VbbV. При этом образуются три типа тетрад с разным сочетанием генов А и В: - I - АВ, АВ, ab, ab; II - Ab, Ab, aV, aV; III - АВ, Ab, aV, ab. Если в скрещивании используются формы с генотипами АВ и ab, то тетрады 1-го типа будут называться родительскими (Р - родительский дитип), II типа - неродительскими (N - неродительский дитип), III типа - тетрадитом, так как содержат 4 разных генотипа (Т). (Нетрудно понять, что если исходные формы имеют генотипы Ab и aV, то родительский дитип будет представлен тетрадами II, а неродительский - 1-го типа.) Очевидно, что *T-тип тетрад возникает только при кроссинговере между генами и их центромерами*.

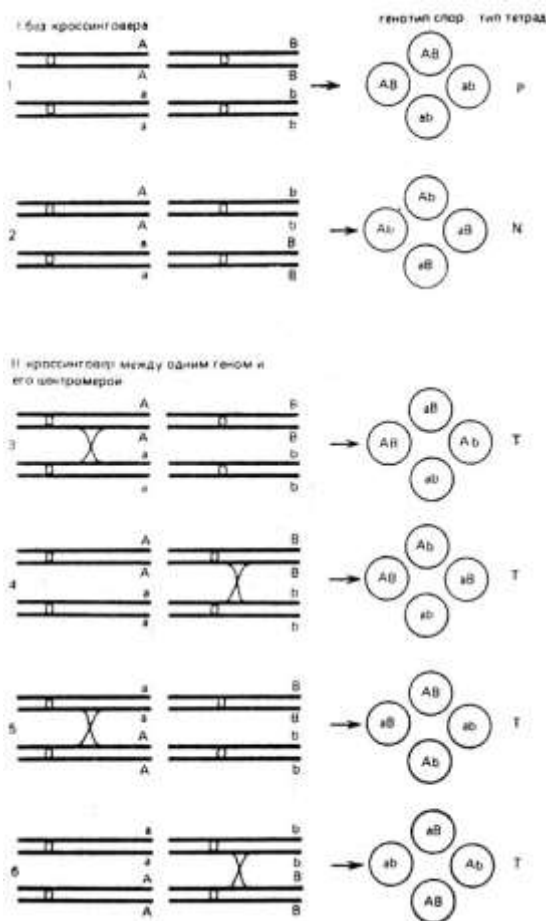


Рис.1 Образование разных типов тетрад при независимом наследовании в отсутствие сцепления между генами и их центромерами. 1-6 - варианты расхождения хромосом.

Из таблицы видно, что соотношение тетрад разного типа при независимом наследовании и отсутствии сцепления генов со своими центромерами составляет 6P:6N:24T, т. е. **1P:1N:4T**. Исходя из этого соотношения можно определить частоты тетрад каждого типа: $f(P) = f(N) = 1/6 = 0,16$; $f(T) = 4/6 = 0,67$.

		Расщепление по гену А													
		↑ расщепление в I делении			расщепление по II делению										
		А, А, а, а	а, а, А, А	А, а, а, А	а, А, А, а	А, а, А, а	а, А, а, А								
Расщепление по гену В	расщепление в I делении	B, B b, b	AB, AB, ab, ab	aB, aB, Ab, Ab	AB, aB, ab, Ab	aB, AB, Ab, ab	AB, aB, Ab, ab	aB, AB, ab, Ab	P	N	T	T	T	T	
		b, b B, B	Ab, Ab aB, aB	ab, ab, AB, AB	Ab, ab, aB, AB	ab, Ab, AB, aB	Ab, ab, AB, aB	Ab, ab, AB, aB	ab, Ab, aB, AB	N	P	T	T	T	T
	расщепление по II делению	B, b b, B	AB, Ab, ab, aB	aB, ab, Ab, AB	AB, ab, ab, AB	aB, Ab, Ab, aB	AB, ab, Ab, aB	aB, Ab, Ab, aB	AB, ab, Ab, aB	T	T	P	N	T	T
		B, b b, B	AB, Ab, aB, ab	aB, ab, AB, Ab	AB, ab, aB, Ab	aB, Ab, AB, ab	AB, ab, AB, ab	aB, Ab, AB, ab	aB, Ab, aB, ab	T	T	T	T	P	N
		b, B b, B	Ab, AB, ab, aB	ab, aB, Ab, AB	Ab, aB, ab, AB	ab, AB, Ab, aB	Ab, aB, AB, ab	Ab, aB, AB, ab	T	T	T	T	N	P	

Таблица 1. Образование разных типов при независимом наследовании и отсутствии сцепления между генами и их центромерами в дигибридном скрещивании $AB \times ab$.

В упорядоченных тетрадах генотип каждой споры и тип тетрады определяют по росту колоний, выросших из спор, *извлеченных из аска по порядку*, на полной, минимальной и селективных средах (число селективных сред зависит от числа маркеров, используемых в скрещивании). Затем суммируют аски с одинаковым типом тетрад, определяют соотношение асков с тетрадами разных типов (P, N и T) и по χ^2 проверяют соответствие опытного расщепления с теоретически ожидаемым - 1P:1N:4T. Применение метода χ^2 возможно лишь в том случае, когда количество проанализированных тетрад не менее 30.

В неупорядоченных тетрадах соотношение тетрад разного типа при независимом наследовании также равно 1P:1N:4T.

Гены наследуются независимо и локализованы далеко от своих центромер. Независимое наследование трех генов приводит к образованию 12 типов неупорядоченных тетрад; например, в скрещивании $ABC \times abc$.

4. Тетрадный анализ сцепленного наследования у грибов-аскомицетов.

При сцеплении между генами нарушается соотношение разных типов тетрад, свойственное независимому наследованию: увеличивается доля Р-тетрад и уменьшаются доли N- и Т-тетрад. Особенно уменьшается доля N-тетрад, так как они возникают только при двойном кроссинговере между генами с участием четырех хроматид. Доля Т-тетрад зависит от расстояния между генами и от расстояния между каждым из них и центромом. Если частота Р-тетрад больше, чем частота N-тетрад, а частота Т-тетрад меньше $2/3$, то это однозначно свидетельствует о сцеплении генов.

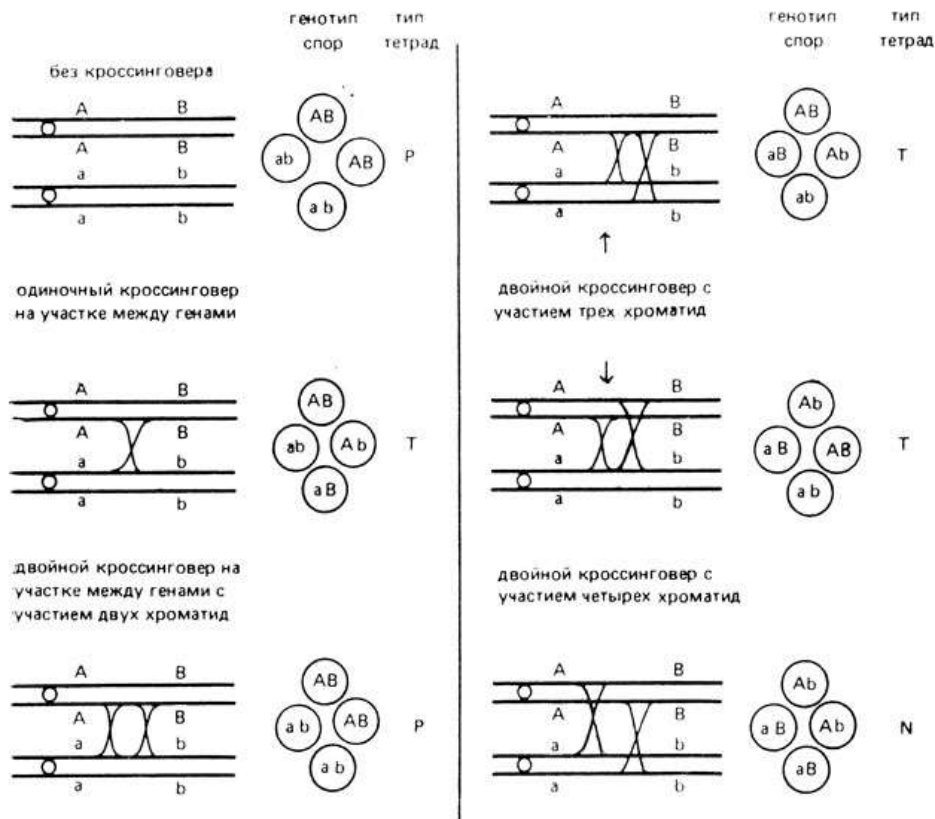


Рис.2. Образование разных типов тетрад при сцепленном наследовании генов.

Из рис.2 следует, что N-тетрады содержат четыре, а P-тетрады - две кроссоверные хроматиды. Исходя из этого, расстояние между генами (D) можно определить по частоте N- и Т-тетрад: $D_{AB} = f(N) + 1/2f(T)(1)$.

Однако наблюдаемая частота рекомбинантов не равна истинной частоте происшедших обменов, если гены расположены далеко друг от друга, так как множественные обмены по своим последствиям не отличаются от одиночных, а некоторые из них не проявляются фенотипически. Для того, чтобы ввести поправку на множественные обмены, при определении

расстояния между генами (D) используют формулу: $D_{AB} = -33,33 \ln(1-1,5f(T))$ (2). В первом случае (1) расстояние между генами выражается в процентах кроссинговера (в морганидах или сантиморганах см), во втором - также в условных единицах - стрейнах.

Если гены локализованы в разных хромосомах, но тесно сцеплены со своими центромерами, то $f(P) = f(N)$, а $f(T) < 2/3$, так как для появления Т-тетрад необходимо прохождение кроссинговера между геном и центромерой. Чем ближе ген расположен к центромере, тем реже появляются Т-тетрады. Таким образом, возникновение Р и N-тетрад при тесном сцеплении генов с центромерами не связано с кроссинговером, поэтому их соотношение остается равным ~1:1.

В неупорядоченных тетрадах также можно картировать центромеру, но для этого в скрещивании должно быть не менее трех маркеров, сцепленных с центромерами, например А, В и С. Определяют частоту Т-тетрад - $f(T)$ - для пар А-В, А-С и А-В и соответственно расстояния между ними D_{AB} , D_{AC} , D_{BC} . Расстояния между каждым из них и центромерой в стрейнах находят из уравнений:

$$D_{oA} = \frac{D_{AB} + D_{AC} - D_{BC}}{2};$$

$$D_{oB} = \frac{D_{AB} + D_{BC} - D_{AC}}{2};$$

$$D_{oC} = \frac{D_{AC} + D_{BC} - D_{AB}}{2}.$$

Рис.3

Т. о. по расщеплению в F_2 или F_a можно различать два типа ядерного наследования - независимое и сцепленное. Сцепление генов, обнаруживаемое по преимущественной передаче потомкам родительских комбинаций признаков, служит указанием на локализацию генов в одной группе сцепления. Однако следует подчеркнуть, что *гены, локализованные в одной группе сцепления, но на большом расстоянии друг от друга, проявляют независимое наследование*. Для того, чтобы установить их сцепление, необходима постановка скрещиваний с участием других генов, сцепленных хотя бы с одним из них и локализованных на небольшом расстоянии. Частота возникновения рекомбинантов при сцепленном наследовании зависит от силы сцепления между генами и служит основой для определения расстояний между ними и построения генетических карт хромосом. Расщепления в F_2 и F_a - источник для получения и отбора анализаторов - гомозиготных рецессивов по нескольким генам, необходимых для решения

многих задач генетического анализа и прежде всего для картирования хромосом.

Список источников:

1. <https://studfile.net/preview/6859410/page:8/>
2. <https://visacon.ru/stati/24916-tetrada-genetika.html>
3. <http://genetiku.ru/books/item/f00/s00/z00000016/st064.shtml>
4. <http://genetiku.ru/books/item/f00/s00/z00000016/st065.shtml>