

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

**ТЕМА: ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО
И СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ**

**СТУДЕНТКА 301ГР. САЛОВА ВИКТОРИЯ ВЛАДИМИРОВНА
ПРЕПОДАВАТЕЛЬ АНТОН АЛЕКСАНДРОВИЧ ЗАМАРИН**

ЦЕЛЬ:

- **ознакомление с темой тетрадного анализа независимого и сцепленного наследования**
- **установить последовательность действий при проведении анализа**
- **рассмотреть тетрадный анализ независимого и сцепленного наследования и выявить, в чем их отличительные особенности.**
- **рассмотреть примеры решения задач**

1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

Тетрадный анализ - метод генетического анализа низших эукариотных организмов, основанный на одновременном изучении генотипов всех четырёх гаплоидных продуктов мейоза отдельной диплоидной клетки.

Он используется при изучении организмов, образующих стабильные, но в последствие распадающиеся тетрады (водоросли, грибы), которые остаются внутри оболочки родительской клетки.

1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

1.1. РАЗДЕЛЕНИЕ, ПРОРАЩИВАНИЕ СПОР И АНАЛИЗ.

Если происходит расщепление по одной аллельной паре (В и b), то соотношение аскоспор во всех асках должно быть 2В:2b (или 4В:4b, если аски восьмиядерные), что служит прямым доказательством закона чистоты гамет. В тетрадном анализе не сокращают коэффициенты, т.е. не пишут 1В:1b, (такая запись означает, что из 4 (или 8) аскоспор проросло только 2).



1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

1.2. ОСОБЕННОСТЬ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА – КАРТИРОВАНИЯ ЦЕНТРОМЕРЫ

Картирования центромеры, позволяет выступать этой части хромосомы в качестве генетического маркера.

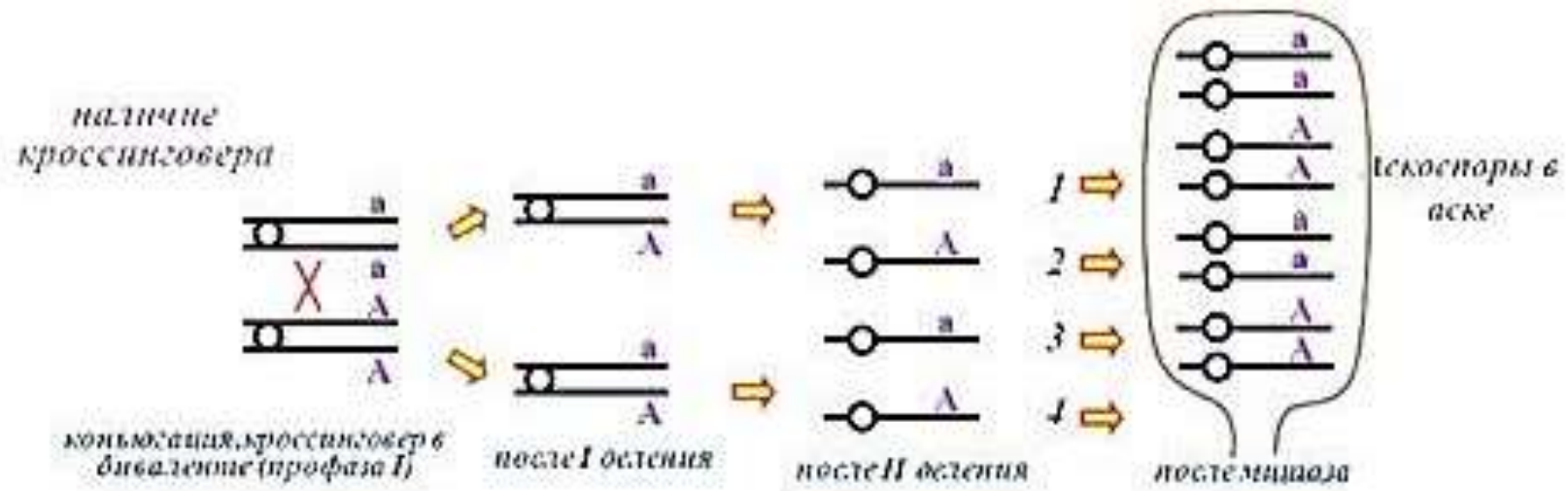
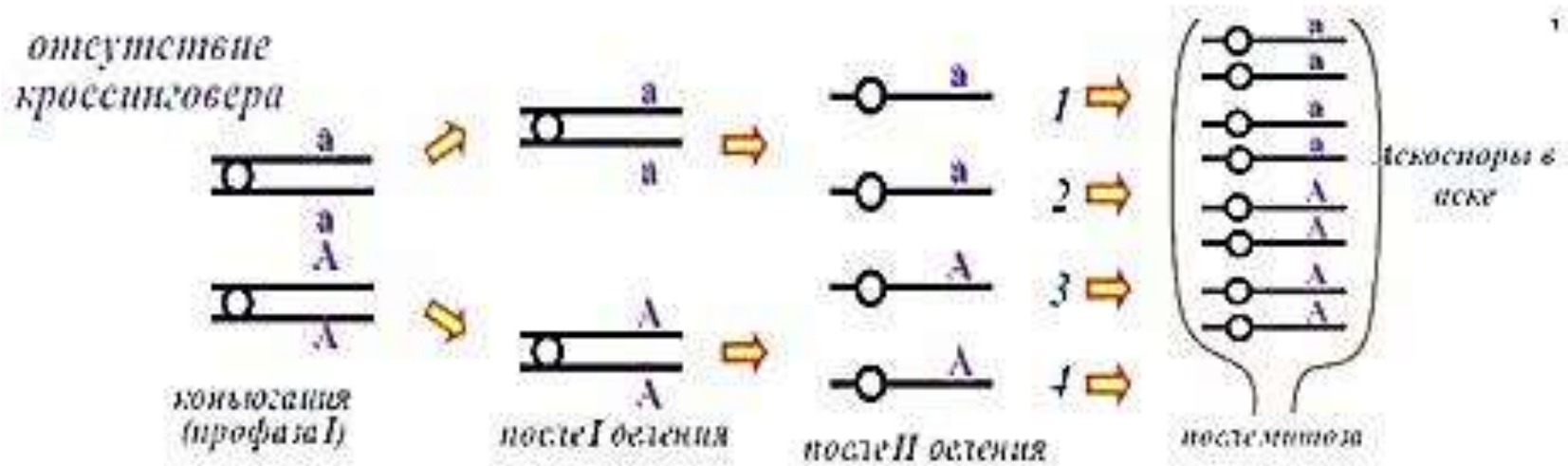
Упорядоченные тетрады спор - аски, в которых споры лежат в том порядке, как происходило расхождение наборов хромосом в двух делениях созревания.

Картирование центромеры можно сделать на основе расщепления по одному гену, анализируя порядок расположения спор разного генотипа (А и а) в аске.

Неупорядоченные - аски, где расположение спор случайно и не отражает порядка расхождения наборов. Картирование центромеры можно сделать на основе расщепления по трем генам, анализируя порядок расположения спор разного генотипа в аске.

1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

1.2. ОСОБЕННОСТЬ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА – КАРТИРОВАНИЯ ЦЕНТРОМЕРЫ



1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

1.2. ОСОБЕННОСТЬ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА – КАРТИРОВАНИЯ ЦЕНТРОМЕРЫ

Пример.

В скрещивании между штаммом нейроспоры, продуцирующим черные споры, со штаммом, дающим споры рыжего цвета в поколении гетерозиготы обнаружены аски со следующим расположением спор (всего 146):

Число асков	Споры			
	1, 2	3, 4	5, 6	7, 8
58	черные	черные	рыжие	рыжие
62	рыжие	рыжие	черные	черные
8	черные	рыжие	рыжие	черные
6	рыжие	черные	черные	рыжие
5	рыжие	черные	рыжие	черные
7	черные	рыжие	черные	рыжие

1. ПОНЯТИЕ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА

1.2. ОСОБЕННОСТЬ ТЕТРАДНОГО АНАЛИЗА – КАРТИРОВАНИЯ ЦЕНТРОМЕРЫ

Вывод:

Соотношения спор разной окраски в каждом аске – 4:4, следовательно различия обусловлены аллелями одного гена. Порядок расположения спор в 26 асках свидетельствует о расхождении аллелей во втором делении, т.е. о прошедшем кроссинговере между геном и центромерой. Доля кроссоверных асков=17,8%; расстояние 8,9.

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

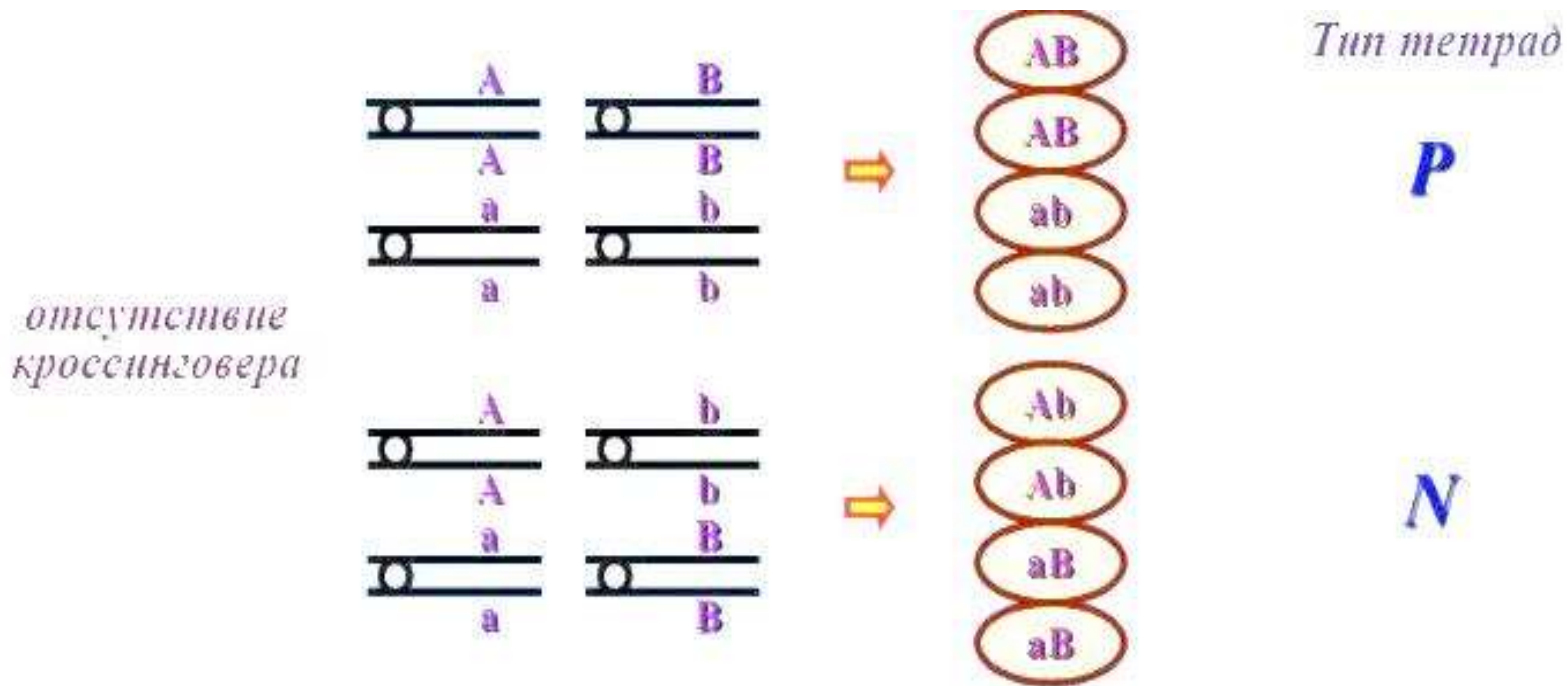
Ход анализа.

1. Из аска по порядку извлечь споры.
2. Прорастить их на питательных средах (полноценной, минимальной, селективных).
3. Определить фенотипические проявления признака.
4. Определить генотип анализируемого организма – генотип споры.
5. Определить тип тетрады.
6. Сформировать группы для асков с тетрадами определенного генотипа.
7. Определить соотношение асков с тетрадами разных типов (P, N, T).
8. Выдвинуть гипотезу о генотипах родительских организмах и характере наследования признаков.
9. Осуществить статистическую проверку соответствия выдвинутой гипотезы с полученными результатами.

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.1. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

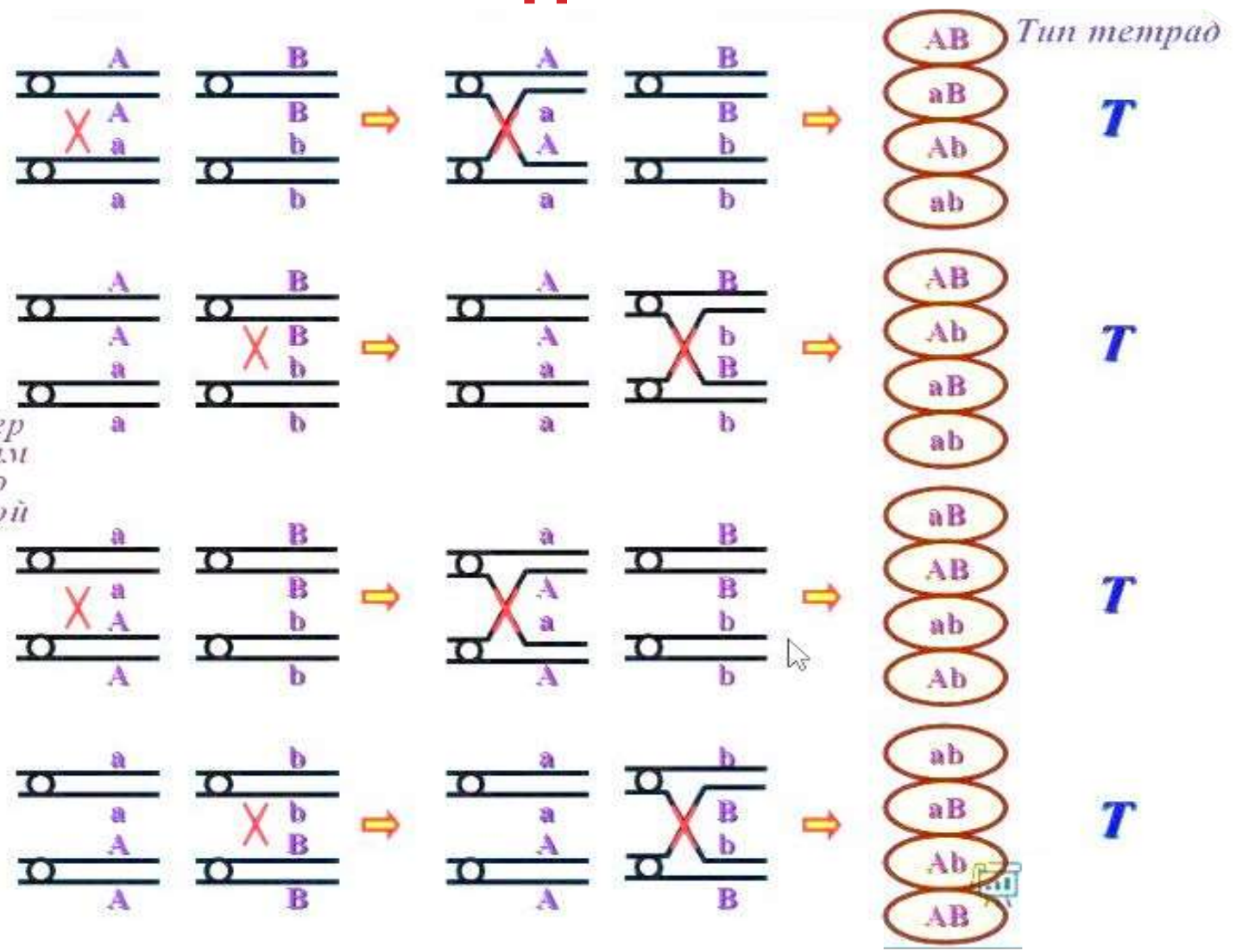
- (I) P – родительский дитип: АВ, АВ, ab, ab;
- (II) N – неродительский дитип: Ab, Ab, aB, aB;
- (III) T – тетратип, содержит 4 разных генотипа: АВ, Ab, aB, ab.



2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.1. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

кроссинговер между одним геном и его центромерой



2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.1. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ

НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Образование разных типов тетрад при независимом наследовании и отсутствии сцепления между генами и их центромерами в дигибридном скрещивании АВ х аb

P – родительский дитип			Расщепление по гену А					
N – неродительский дитип			pIд		pIIд			
T - тетратип			AAaa	aaAA	Aaaa	aAAa	AaAa	aAaA
Расщепление по гену В	pIд	BBbb	AB, AB, ab, ab	aB, aB, Ab, Ab	AB, aB, ab, Ab	aB, AB, Ab, ab	AB, aB, Ab, ab	aB, AB, ab, Ab
		bbBB	Ab, Ab, aB, aB	ab, ab, AB, AB	Ab, ab, aB, AB	ab, Ab, AB, aB	Ab, ab, AB, aB	ab, Ab, aB, AB
	pIIд	BbbB	AB, Ab, ab, aB	aB, ab, Ab, AB	AB, ab, ab, AB	aB, Ab, Ab, aB	AB, ab, Ab, aB	aB, Ab, ab, AB
		bBBb	Ab, AB, aB, ab	ab, aB, AB, Ab	Ab, aB, aB, Ab	ab, AB, AB, ab	Ab, aB, AB, ab	ab, AB, aB, Ab
		BbBb	AB, Ab, aB, ab	aB, ab, AB, Ab	AB, ab, aB, Ab	aB, Ab, AB, ab	AB, ab, AB, ab	aB, Ab, aB, Ab
		bBbB	Ab, AB, ab, aB	ab, aB, Ab, AB	Ab, aB, ab, AB	ab, AB, Ab, aB	Ab, aB, Ab, aB	ab, AB, ab, AB

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.1. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Соотношение тетрад разного типа при независимом наследовании и отсутствии сцепления генов с центромерами составляет 6Р: 6N: 24Т или 1Р: 1N: 4Т.

Соответственно частоты возникновения тетрад каждого типа будут составлять:

$$f(P)=f(N)=1/6=0,167 \text{ или } 16,7\%;$$

$$f(T)=4/6=0,667 \text{ или } 66,7\%;$$

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.1. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ НЕЗАВИСИМОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Практически опытные данные (1P: 1N: 4T) сравнивают с теоретически ожидаемым отношением при независимом наследовании с помощью статистического метода χ^2 . Специально для тетрадного анализа соответствующие формулы были выведены Н. Н. Хромовым-Борисовым:

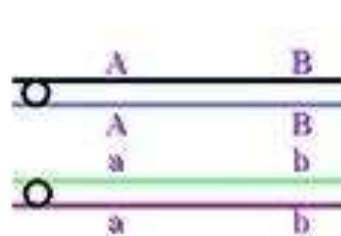
$$\chi_{1:1:4}^2 = \frac{4(P-N)^2 + (T-4P)^2 + (T-4N)^2}{4(P+N+T)} = \frac{3(P-N)^2}{P+N+T} + \frac{|2(P+N)-T|^2}{2(P+N+T)} = \chi_{1:1}^2 + \chi_{2:4}^2.$$

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

При сцеплении между генами нарушается соотношение разных типов тетрад, свойственное независимому наследованию: увеличивается доля тетрад (I) P – родительского дитипа (AB, AB, ab, ab) и уменьшаются доли (II) N – неродительского дитипа (Ab, Ab, aB, aB) и (III) T – тетратипа (AB, Ab, aB, ab).

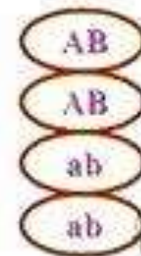
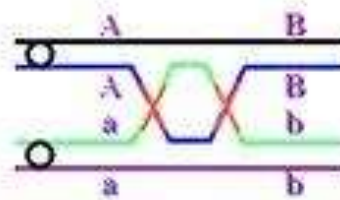
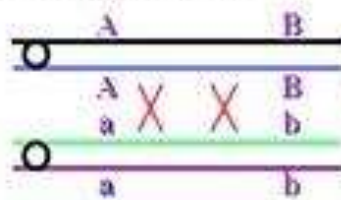
отсутствие кроссинговера



Тип тетрад

P

двойной кроссинговер на участке между генами с участием двух хроматид

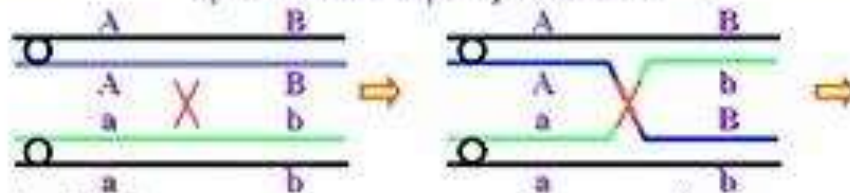


P

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

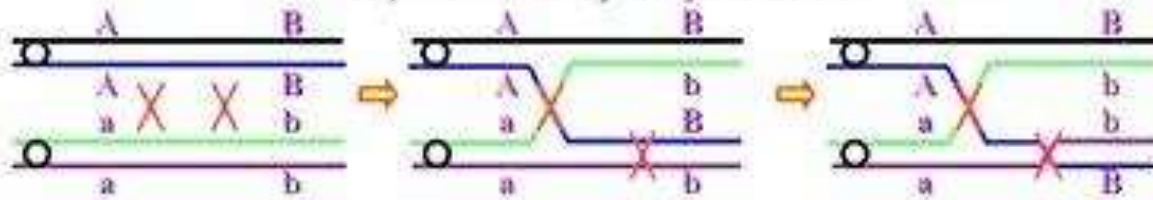
одиночный кроссинговер на участке между генами с участием двух хроматид



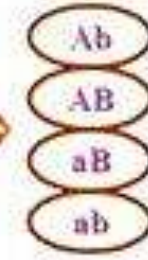
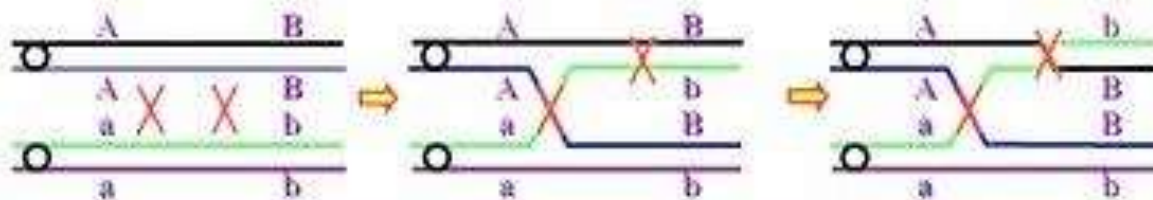
Тип тетрад

T

двойной кроссинговер на участке между генами с участием трех хроматид

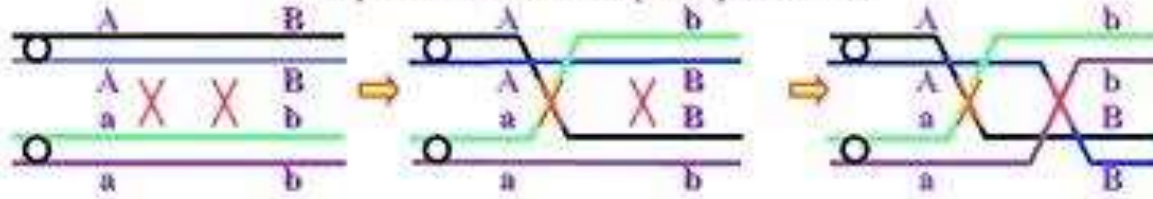


T



T

двойной кроссинговер на участке между генами с участием четырех хроматид



N

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Закономерности и выводы:

-при сцепленном наследовании резко уменьшается доля N-тетрад, так как они возникают только при двойном кроссинговере между генами с участием четырех хроматид;

-доля T-тетрад зависит от расстояния между генами и от расстояния между каждым из них и центромерой;

-Если частота P-тетрад больше, чем частота N-тетрад, а частота T-тетрад меньше чем, то это однозначно свидетельствует о сцеплении генов.

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Так как N-тетрады содержат четыре, а T-тетрады только две кроссоверные хроматиды (споры), то расстояние между генами A и B (D_{AB}) можно определить по частоте N- и T-тетрад:

$$D_{AB} = f(N) + \frac{1}{2}f(T), \text{ в \% кроссинговера или сМ.}$$

Так как наблюдаемая частота рекомбинантов не всегда равна истинной частоте произошедших обменов (в случае, когда гены расположены далеко друг от друга), так как множественные обмены по своим последствиям не отличаются от одиночных, а некоторые из них не проявляются фенотипически, вводят поправку. При этом для определения расстояния используют формулу:

$$D_{AB} = -33,33 \ln(1 - 1,5f(T)), \text{ в стрейнах (Стертевант и Холдейн).}$$

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

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. Следовательно, возникновение Р и N тетрад при тесном сцеплении генов с центромерами не связано с кроссинговером, поэтому их соотношении остается равным 1:1.

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Пример.

При скрещивании двух штаммов дрожжей, различающихся по трем генам (а) *s*, *t*, и *X* (А) +++ в потомстве гетерозигот, выращенных на соответствующих селективных средах, получили следующие результаты тетрадного анализа:

Число тетрад	Тип тетрад			
59	<i>stu</i>	<i>stu</i>	STU	STU
53	<i>sTu</i>	<i>sTu</i>	StU	StU
26	<i>stU</i>	StU	<i>sTu</i>	STu
30	<i>sTU</i>	STU	<i>stu</i>	Stu
32	Stu	StU	<i>sTu</i>	STU
Всего: 200				

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

АНАЛИЗ.

**ОПРЕДЕЛЯЕМ ТИП ТЕТРАД И РАСЩЕПЛЕНИЕ ПО
КАЖДОЙ ПАРЕ ОТДЕЛЬНО:**

Расщепление s-t:

59P:53N:88T, 1:1:4
 $\chi^2=32,9$ $p<0,01$.

$P=N$, $T < 2/3$,

-гены в разных
хромосомах,
-тесно сцеплены со
своими
центромерами.

Расщепление s-u:

144P:56T,

$P>N$, $T < 2/3$, $N=0$,

-гены сцеплены

$D_{su} = \frac{1}{2} * 56/200 = 14\%$

$D_{su} = -33,33 \ln(1 - 1,5 * 56/200) = 18.1\%$

Расщепление t-u:

89P:79N:32T,

$P=N$, $T < 2/3$,

-гены в разных хромосомах,
-тесно сцеплены со своими
центромерами.

2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ.

2.2. ТЕТРАДНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

Тип тетрад для каждой пары генов			Число тетрад
s - t	s - u	t - u	
P	P	P	59
N	P	N	53
T	T	N	26
T	T	P	30
T	P	T	32

Вывод:

Гены s и u локализованы в одной хромосоме на расстоянии 14 % кроссинговера.

Ген t локализован в другой хромосоме и тесно сцеплен со своей центромерой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ознакомились с темой тетрадного анализа независимого и сцепленного наследования.

Выявили, что данный метод используется на водорослях и грибах. При помощи него устанавливается генотип исходных диплоидных клеток, а также исследуется поведение отдельных генов, центромер и целых хромосом в мейозе.