

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Кафедра Молекулярной биологии и генетики

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Методы и объекты генетического анализа»

Тема: «Тетрадный анализ независимого и сцепленного наследования.»

Студент

Коскина Я.В.

Преподаватель

Замарин А.А.

Волгоград, 2021

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).
- ▶ 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).

Тетрадный анализ, его суть.

Тетрадный анализ

Тетрадный анализ – комплекс методов, направленных на определение генотипа особи по генотипу микроспор тетрады или четырех гамет, образованных в результате гаметического расщепления в процессе мейоза. Тетрадный анализ используется при изучении организмов, образующих стабильные, но в последствие распадающиеся тетрады (водоросли, грибы). Поскольку аскоспоры в аске некоторое время сохраняются вместе, можно учесть расщепление в каждой четверке спор, образовавшихся после одного мейоза (или четырех парах спор, если аски восьмиспоровые).

Разделение, проращивание спор и анализ.

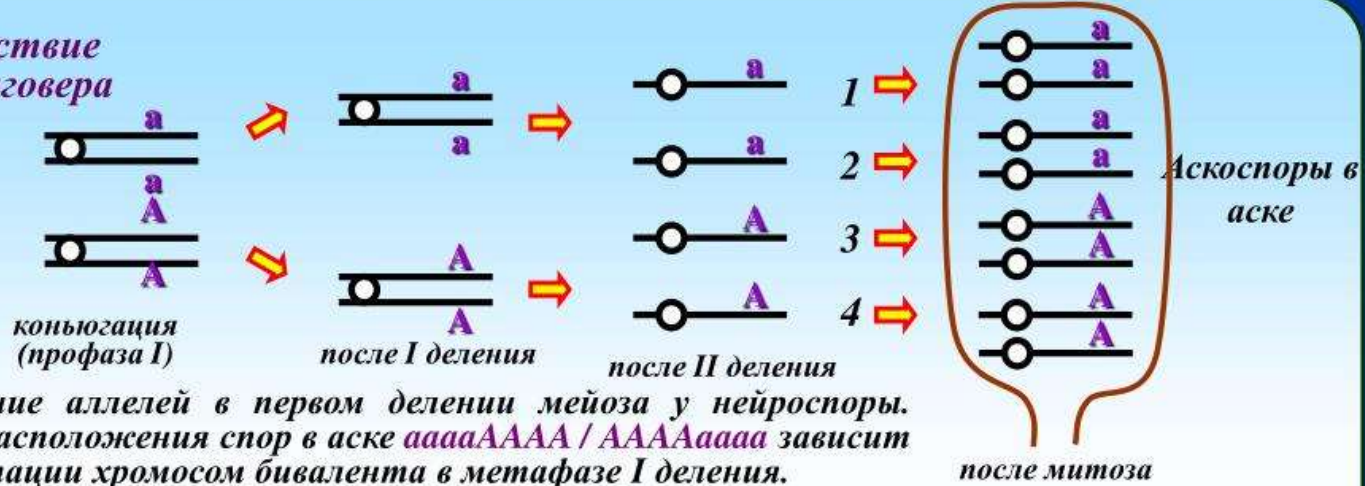


Если происходит расщепление по одной аллельной паре (B и b), то соотношение аскоспор во всех асках должно быть $2B:2b$ (или $4B:4b$, если аски восьмиядерные), что служит прямым доказательством закона чистоты гамет.

В тетрадном анализе не сокращают коэффициенты, т.е. не пишут $1B:1b$, (такая запись означает, что из 4 (или 8) аскоспор проросло только 2).

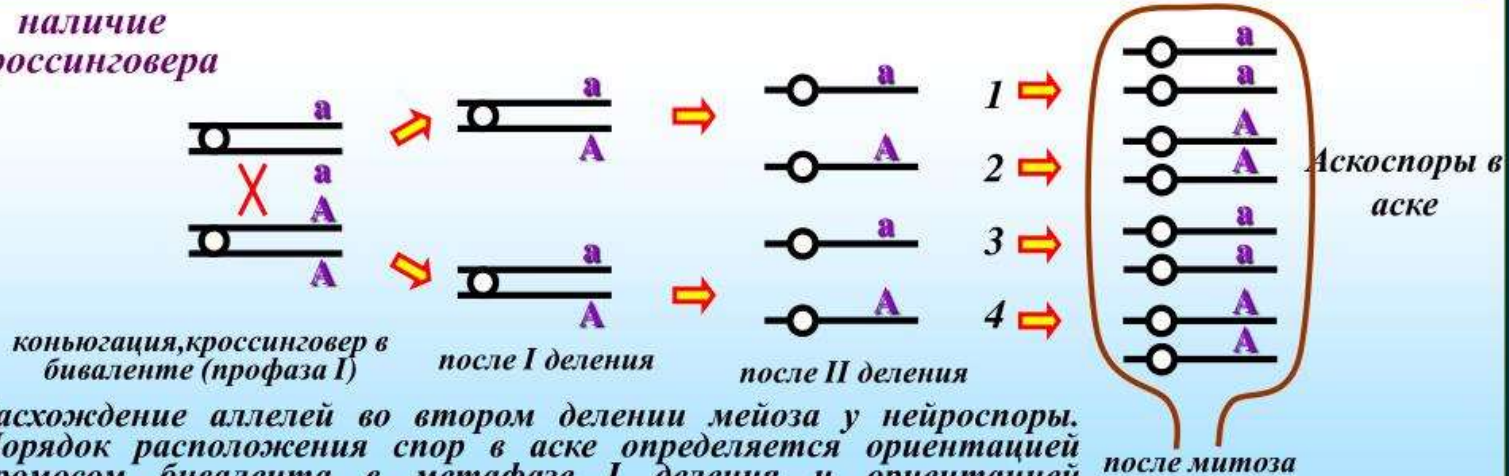
Тетрадный анализ

*отсутствие
кроссинговера*



Расхождение аллелей в первом делении мейоза у нейроспоры. Порядок расположения спор в аске $aaaaAAAA / AAAAaaaa$ зависит от ориентации хромосом бивалента в метафазе I деления.

*наличие
кроссинговера*



Расхождение аллелей во втором делении мейоза у нейроспоры. Порядок расположения спор в аске определяется ориентацией хромосом бивалента в метафазе I деления и ориентацией хроматид в метафазе II деления. Может иметь 4 варианта: $aaAAaaAA / AAaaAAaa / aaAAAAaa / AAAaaaAA$.

Тетрадный анализ независимого наследования.

Тетрадный анализ независимого наследования

При независимом наследовании у аскомицетов с упорядоченными тетрадами (октадами) по каждому гену образуется 6 типов тетрад: ген *A* - *AAaa*, *aaAA*, *AaAa*, *aAaA*, *Aaaa*, *aAAa*; ген *B* - *BBbb*, *bbBB*, *BbBb*, *bBbB*, *bBBb*; образование равновероятное при отсутствии сцепления с центромерой (более 33%). При этом образуется три типа тетрад с разным сочетанием генов *A* и *B*:

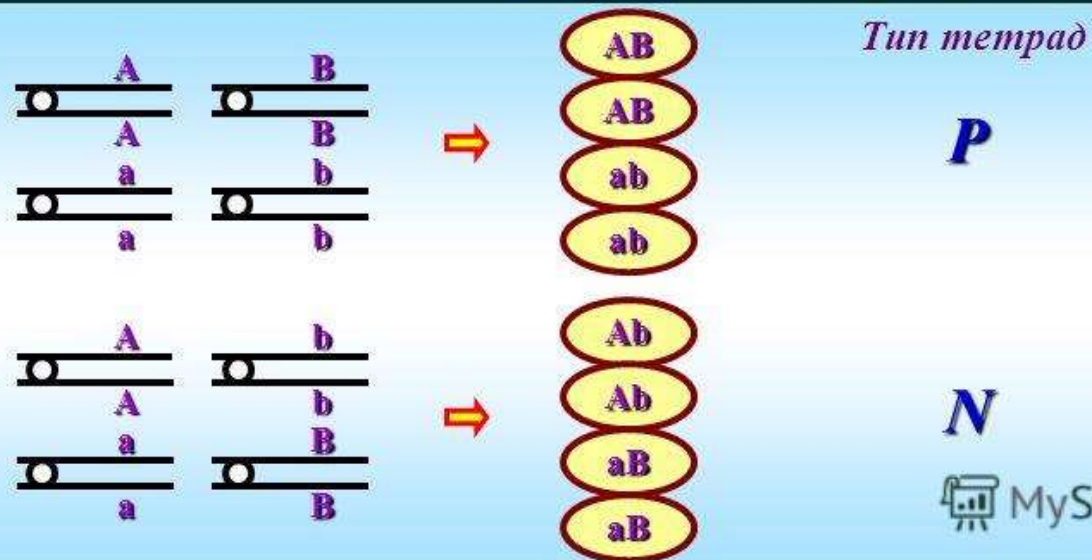
(I) *P* – родительский дитип: *AB*, *AB*, *ab*, *ab*;

(II) *N* – неродительский дитип: *Ab*, *Ab*, *aB*, *aB*;

(III) *T* – тетратип, содержит 4 разных генотипа: *AB*, *Ab*, *aB*, *ab*.

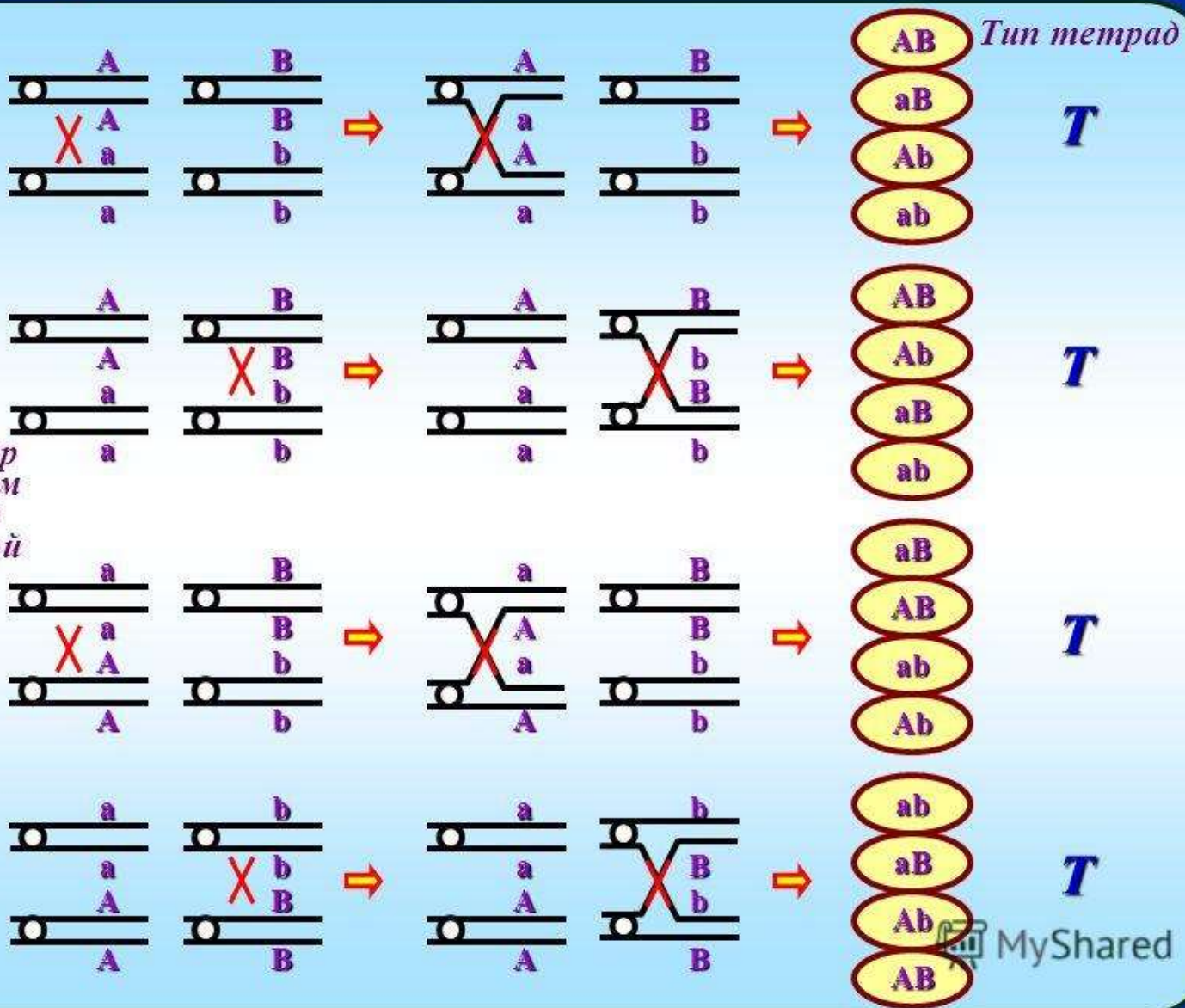
***T*-тип тетрад возникает только при кроссинговере между генами и их центромерами.**

отсутствие
кроссинговера



Тетрадный анализ независимого наследования

кроссинговер
между одним
геном и его
центромерой



Тетрадный анализ независимого наследования

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

<i>P</i> – родительский дитип		Расщепление по гену <i>A</i>						
<i>N</i> – неродительский дитип		<i>pI</i> θ		<i>pII</i> θ				
<i>T</i> – тетрадитип		<i>AAaa</i>	<i>aaAA</i>	<i>Aaaa</i>	<i>aAaA</i>	<i>AaAa</i>	<i>aAaA</i>	
Р а с щ е п л е н и е по г е н у В	<i>pI</i> θ	<i>BBbb</i>	AB, AB, ab, ab	aB, aB, Ab, Ab	AB, aB, ab, Ab	aB, AB, Ab, ab	AB, aB, Ab, ab	aB, AB, ab, Ab
		<i>bbBB</i>	Ab, Ab, aB, aB	ab, ab, AB, AB	Ab, ab, aB, AB	ab, Ab, AB, aB	Ab, ab, AB, aB	ab, Ab, aB, AB
	<i>pII</i> θ	<i>Bbbb</i>	AB, Ab, ab, aB	aB, ab, Ab, AB	AB, ab, ab, AB	aB, Ab, Ab, aB	AB, ab, Ab, aB	aB, Ab, ab, AB
		<i>bBBb</i>	Ab, AB, aB, ab	ab, aB, AB, Ab	Ab, aB, aB, Ab	ab, AB, AB, ab	Ab, aB, AB, ab	ab, AB, aB, Ab
		<i>BbBb</i>	AB, Ab, aB, ab	aB, ab, AB, Ab	AB, ab, aB, Ab	aB, Ab, AB, ab	AB, ab, AB, ab	aB, Ab, aB, Ab
		<i>bBbb</i>	Ab, AB, ab, aB	ab, aB, Ab, AB	Ab, aB, ab, AB	ab, AB, Ab, aB	Ab, aB, Ab, aB	ab, AB, ab, AB

Соотношение тетрад разного типа при независимом наследовании и отсутствии сцепления генов с центромерами составляет $6P: 6N: 24T$ или $1P: 1N: 4T$. Соответственно частоты возникновения тетрад каждого типа будут составлять $f(P)=f(N)=1/6=0,167$ или 16,7%; $f(T)=4/6=0,667$ или 66,7%;

Тетрадный анализ сцепленного наследования.

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).

P-тип тетрад возникает при мейотическом делении в отсутствие кроссинговера и при наличии двойного кроссинговера на участке между генами с участием двух хроматид.

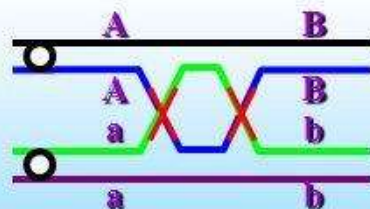
отсутствие кроссинговера



Тип тетрад

P

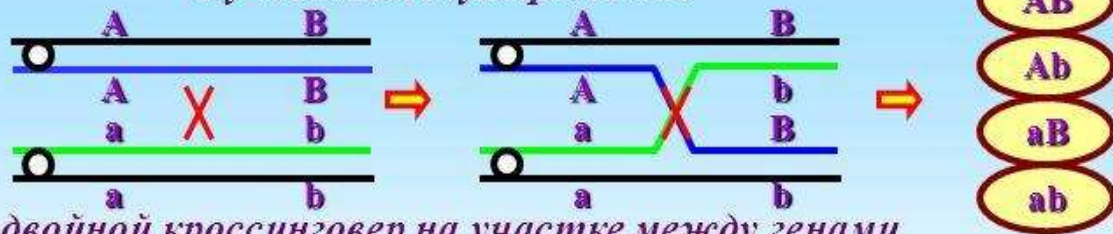
двойной кроссинговер на участке между генами с участием двух хроматид



P

Тетрадный анализ сцепленного наследования

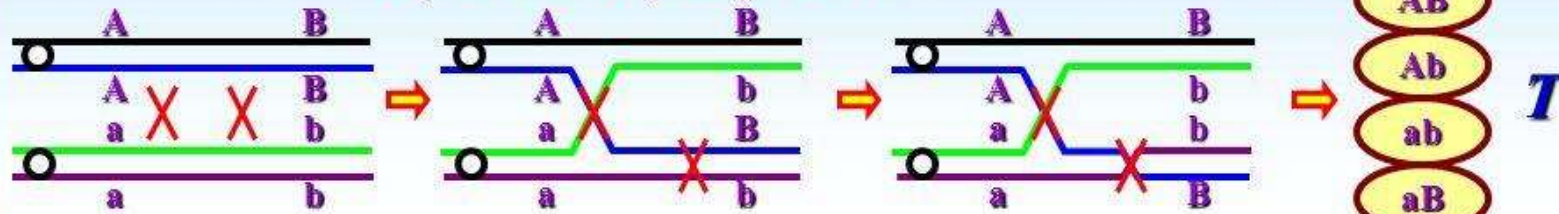
одиночный кроссинговер на участке между генами с участием двух хроматид



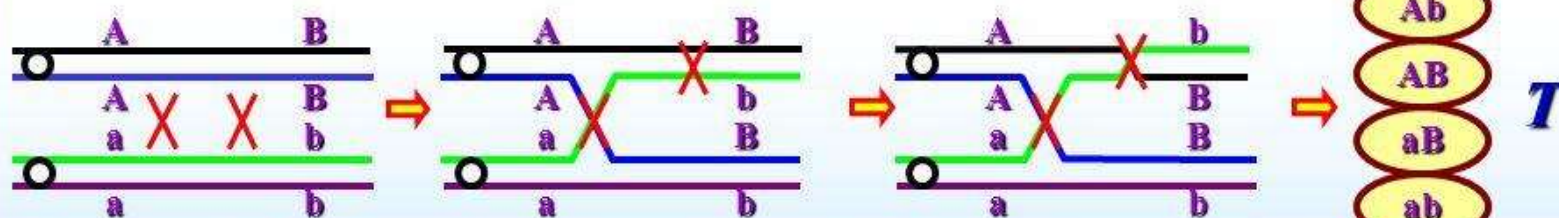
Тип тетрад

T

двойной кроссинговер на участке между генами с участием трех хроматид

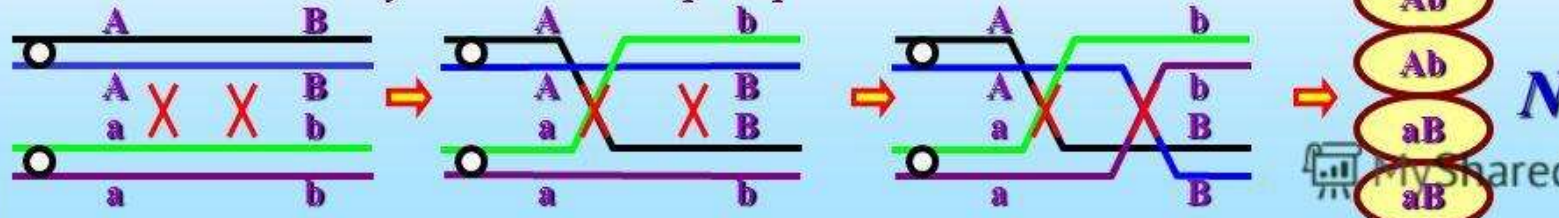


T



T

двойной кроссинговер на участке между генами с участием четырех хроматид



N

Тетрадный анализ сцепленного наследования

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

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

Анализ

Определяем тип тетрад и расщепление по каждой паре отдельно:

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

Гены *s* и *u* локализованы в одной хромосоме на расстоянии 14 % кроссинговера.
Ген *t* локализован в другой хромосоме и тесно сцеплен со своей центромерой.

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.

Тетрадный анализ сцепленного наследования

При скрещивании двух штаммов нейроспоры: дикого типа и ауксотрофа по аденину и триптофану (A) ++ X (a) ade try получили следующие результаты тетрадного анализа:

Анализ

Определяем тип октад и их соотношение.

170P : 24N : 106T - Уменьшение доли N-октад по сравнению с P-октадами и появление T-октад в количестве меньшем чем 2/3 свидетельствует о сцеплении генов.

Число асков (300)	аскоспоры			
	1 и 2	3 и 4	5 и 6	7 и 8
147	ade try	ade try	++	++
91	ade try	ade +	+ try	++
23	ade try	++	ade try	++
22	ade +	ade +	+ try	+ try
8	ade try	+ try	ade +	++
7	ade try	++	+ try	ade +
2	ade +	+ try	ade +	+ try

Определяем расстояние между генами ade и try

Процент кроссинговера между ними составляет:

$$f(N) + \frac{1}{2}f(T) = 24/300 + \frac{1}{2} * 106/300 = 0,257 * 100\% = 25,7\% \pm 2,5\%$$

Определяем тип октад и расщепление по каждому гену отдельно:

Расщепление по гену ade:

В 40 асках расхождение аллелей гена ade произошло во втором делении мейоза: ade+ade+ (23+8+2) и ade++ade (7)

Соответственно расстояние между геном ade и центромерой составляет:

$$\frac{1}{2} 40/300 = 0,066 * 100\% = 6,6\%$$

Расщепление по гену try:

В 123 асках расхождение аллелей гена try произошло во втором делении мейоза: try+try+ (91+23+7) и +try+try (2)

Соответственно расстояние между геном try и центромерой составляет:

$$\frac{1}{2} 123/300 = 0,205 * 100\% = 20,5\%$$

На основании этих данных строим карту участка хромосомы, включающего центромеру, гены ade и try:

