



Генетический анализ:
картирование хромосом,
кроссинговер и группы
сцепления генов

Минск, 2010

Генетические задачи решаются легко только тогда, когда они предварительно уже решены другими. Поэтому необходимо предостеречь тех, кто впервые приступает к генетическому анализу, от уныния и пессимизма, если их первые попытки окажутся неудачными.

Александр Сергеевич Серебровский

Вопросы

1. Сцепленное наследование признаков: группы сцепления и кроссинговер.
2. Картирование хромосом.

ОЦЕНКА И НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ

Группа сцепления

Группа сцепления - совокупность генов, лежащих в одном генетическом носителе (одной хромосоме или одном нехромосомном элементе), для которой характерен совместный характер наследования в ряду поколений.

Особенности:

- Сцепленные гены, а также детерминируемые ими признаки в ряду поколений передаются вместе, единым блоком.*
- Число групп сцепления равно гаплоидному набору хромосом. Исключением являются высшие организмы с гетерогаметным полом (у человека диплоидный набор равен 46 хромосомам, но у ♂ 24 группы сцепления: 22 соответствуют 22 аутосомам и 2 – X- и Y-хромосомам).*
- Совместное наследование генов ограничивает их свободное комбинирование во время гаметогенеза.*
- Нарушение сцепления обеспечивает дополнительный источник комбинативной изменчивости.*

Особенности проявления

Сцепление отсутствует – независимое наследование признаков (генов), лежащих в одном генетическом носителе (одной хромосоме или одном нехромосомном элементе), для которых совместный характер наследования не выявляется в ряду поколений.

- Равновероятностное образование гамет всех классов (2^n , где n – число анализируемых генов).
- Наследование подчиняется законам независимого наследования признаков.

Сцепление полное – наследование признаков (генов), локализованных в одном генетическом носителе (одной хромосоме или одном нехромосомном элементе), для которых установлен строгий (полный) совместный характер наследования в ряду поколений.

- Для одной группы сцепления характерно образование в равном соотношении только двух классов гамет с исходным родительским сочетанием аллелей.
- Наследование группы сцепления подчиняется законам моногибридного скрещивания.

Особенности проявления

Сцепление неполное - наследование признаков (генов), локализованных в одном генетическом носителе (одной хромосоме или одном нехромосомном элементе), для которых установлен нестрогий (неполный) совместный характер наследования в ряду поколений.

- Образование гамет всех классов (2^n , где n -число анализируемых генов).
- Образованные гаметы представлены 2 группами: гаметы родительского типа (некроссоверные, 2 класса), несущих родительские комбинации аллелей, и $2^n - 2$ (максимально) классов кроссоверных, или рекомбинантных гамет, которые несут хромосомы с новыми комбинациями аллелей. При этом соотношение таких классов гамет и, как следствие, фенотипических классов потомства, будет иным, нежели при независимом наследовании: частота появления особей родительского типа будет достоверно выше, чем частота появления особей кроссоверного типа. Внутри одного типа (родительского или кроссоверного) гаметы представлены парами с одинаковой частотой, такие пары называют реципрокными классами.

Примеры

Сцепление отсутствует

Сцепление полное

$P:$ ♀ $AABB$ × ♂ $aabb$

$Gp:$ AB ab

$F_1:$ ♀ $AaBb$ × ♂ $AaBb$
единообразие

$G_{F1}:$ $\frac{1}{4} AB$ $\frac{1}{4} Ab$ $\frac{1}{4} aB$ $\frac{1}{4} ab$

Gp	$\frac{1}{4} AB$	$\frac{1}{4} Ab$	$\frac{1}{4} aB$	$\frac{1}{4} ab$
$\frac{1}{4} AB$	$AABB$	$AABb$	$AaBB$	$AaBb$
$\frac{1}{4} Ab$	$AABb$	$AAbb$	$AaBb$	$Aabb$
$\frac{1}{4} aB$	$AaBB$	$AaBb$	$aaBB$	$aaBb$
$\frac{1}{4} ab$	$AaBb$	$Aabb$	$aaBb$	$aabb$

$F_2:$ расщепление
по генотипу $(1:2:1)^2$ или $1:2:1:2:4:2:1:2:1$,
по фенотипу $(3:1)^2$ или $9:3:3:1$

$P:$ ♀ $AA//BB$ × ♂ $aa//bb$

$Gp:$ AB ab

$F_1:$ ♀ $AB//ab$ × ♂ $AB//ab$
единообразие

$G_{F1}:$ $\frac{1}{2} AB$ $\frac{1}{2} ab$

Gp	$\frac{1}{2} AB$	$\frac{1}{2} ab$
$\frac{1}{2} AB$	$AB//AB$	$AB//ab$
$\frac{1}{2} ab$	$AB//ab$	$ab//ab$

$F_2:$ расщепление
по генотипу $1:2:1$,
по фенотипу $3:1$

Сцепление неполное

Дигибридное

Тригибридное

AB – 20 cM, BC – 15 cM

P: ♀ *AB//AB* × ♂ *ab//ab*

Gp: *AB* *ab*

F₁: ♀ *AB//ab* × ♂ *AB//ab*

единообразие

G_{F1}: родительский рекомбинантный

2

AB - 40%

ab - 40%

2ⁿ-2

Ab - 10%

aB - 10%

P: ♀ *ABC//ABC* × ♂ *abc//abc*

Gp: *ABC* *abc*

F₁: ♀ *ABC//abc* × ♂ *ABC//abc*

единообразие

G_{F1}: родительский рекомбинантный

2

ABC - 34%

abc - 34%

2ⁿ-2

Abc - 8,5%

aBC - 8,5%

ABc - 6%

abC - 6%

AbC - 1,5%

aBc - 1,5%

Gp	0,4 AB	0,1 Ab	0,1 aB	0,4 ab
0,4 AB	<i>AABB</i>	<i>AABb</i>	<i>AaBB</i>	<i>AaBb</i>
0,1 Ab	<i>AABb</i>	<i>Aabb</i>	<i>AaBb</i>	<i>Aabb</i>
0,1 aB	<i>AaBB</i>	<i>AaBb</i>	<i>aaBB</i>	<i>aaBb</i>
0,4 ab	<i>AaBb</i>	<i>Aabb</i>	<i>aaBb</i>	<i>aabb</i>

по генотипу 1 :2 :1 :2 :4 :2 :1 :2 :1
16 :8 :1 :8 :34 :8 :1 :8 :16

F₂: расщепление

по фенотипу 9 :3 :3 :1
66 :9 :9 :16

Частота появления кроссоверных особей определяется частотой кроссинговера (rf), происходящего между двумя сцепленными генами. Этот показатель рассчитывается по формуле:

$$rf = \frac{\text{сумма кроссоверных особей}}{\text{сумма всех особей}} \times 100\%$$

Величина кроссинговера является мерой расстояния (силы сцепления) между генами: чем ближе друг к другу расположены гены в хромосоме, тем реже между ними происходит кроссинговер, и, наоборот, чем дальше друг от друга гены располагаются, тем чаще между ними возможен перекрест. Т.е. гены могут принадлежать к одной группе сцепления, но находиться на расстоянии более 50 сМ друг от друга (1сМ = 1% кроссинговера). Поскольку частота кроссинговера между ними составляет 50% и более считается, что такие гены наследуются независимо, а детерминируемые ими признаки не сцеплены. Так, гены, контролирующие окраску цветка и семени у садового гороха, локализованы в одной хромосоме на расстоянии 200 сМ.

Анализирующее скрещивание

Разная частота появления особей в анализирующем скрещивании позволяет:

- 1. - утверждать о том, что гены сцеплены;*
- 2. - установить силу сцепления (частоту кроссинговера) между этими генами;*
- 3. - установить частоту образования кроссоверных гамет и гамет родительского типа ($100\% - G_K$, где G_K - частота кроссоверных гамет);*
- 4. - определить генотип гетерозиготного родителя (по классам особей родительского типа, т.е. особей, возникающих с большей частотой).*

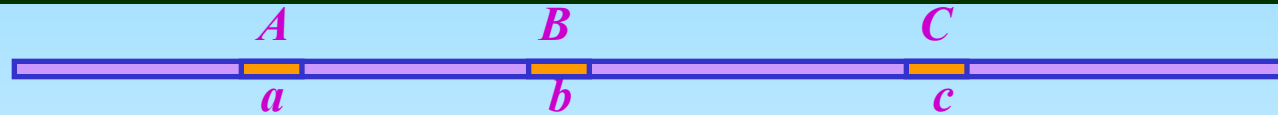
Следует помнить, что генотип кроссоверных гамет и, как следствие, кроссоверных особей, зависит от исходного положения доминантных аллелей в гомологичных хромосомах дигетерозиготной особи (цис- и транс-положения).

Картирование хромосом

Картирование – это определение локализации и расположения генов и/или других структурных элементов ДНК друг относительно друга на последовательности хромосом или других нехромосомных элементов.

Одним из основных методов построения генетических карт является трехфакторное анализирующее скрещивание, которое позволяет определить принадлежность изучаемых генов к одной (или разным) группе сцепления, оценить относительное расстояние между ними и их взаимное расположение на хромосоме. скрещивание, в котором родительские формы различаются по одной паре альтернативных признаков, контролируемых аллелями одного гена.

Трехфакторное анализирующее скрещивание



Для определения расстояния между генами, необходимо определить частоту рекомбинации на участках АВ, ВС и АС

$P: \text{♀ } ABC//abc \times \text{♂ } abc//abc$

$G_{\text{♀}} :$ $G_{\text{♂}} : abc$

родительский (2) $Fa :$

ABC 38,25	} 76,5 %	$AaBbCc$
abc 38,25		$aabbcc$

рекомбинантный
($2^n - 2$)

кросс. класс (X)	} 8,5 %	$Aabbcc$
Abc 4,25		$aaBbCc$
aBC 4,25		

кросс. класс (Y)	} 13,5 %	$AaBbcc$
ABc 6,75		$aabbCc$
abC 6,75		

Дв. кросс. класс (Z)	} 1,5 %	$AabbCc$
AbC 0,75		$aaBbcc$
aBc 0,75		
	$\Sigma = 100 \%$	

Между генами А и В частота рекомбинации определяется как доля кроссоверных гамет (т.е. гамет Ab_{-} и aB_{-} типа), возникающих в результате кроссинговера на участке АВ и двойного кроссинговера:

$$rf_{AB} = \frac{X + Z}{\text{сумма всех особей}} \times 100\% \quad (1)$$

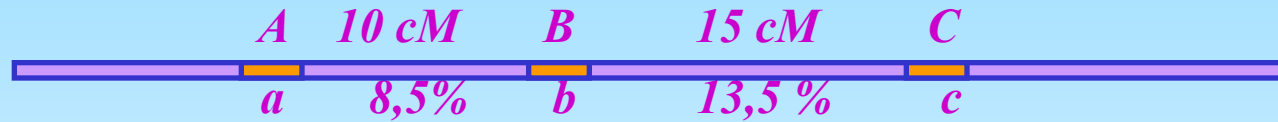
Аналогично определяется расстояние между генами В и С (как доля кроссоверных гамет $-Bc$ и $-bC$ типа):

$$rf_{BC} = \frac{Y + Z}{\text{сумма всех особей}} \times 100\% \quad (2)$$

Расстояние между крайними генами А и С определяется как доля кроссоверных гамет $A_{-}c$ и $a_{-}C$ типа, возникающих в результате одиночных обменов на участках АВ и ВС:

$$rf_{AC} = \frac{X + Y}{\text{сумма всех особей}} \times 100\% \quad (3)$$

Правило аддитивности



$$rfAC = \frac{X + Y}{\text{сумма всех особей}} \times 100\% \quad (3)$$

= 22 %

Расстояние между крайними генами A и C, должно равняться сумме расстояний между генами A-B и B-C:

$$rfAC = rfAB + rfBC \quad (4) = 25 \%$$

Однако это правило справедливо только в том случае, когда расстояние между крайними генами не превышает 10–15 cM. Если же расстояние между крайними генами больше 15 cM, то

$$rfAC < rfAB + rfBC \quad (5)$$

Это обусловлено двумя факторами:

- множественным кроссинговером, протекающим между крайними генами,
- низкой разрешающей способностью классического гибридологического анализа.

Множественный кроссинговер – это одновременный кроссинговер, протекающий сразу на нескольких участках хромосомы. Частный случай – двойной кроссинговер, который приводит к образованию класса двойных кроссоверных гамет (AbC и aBc), возникающих в результате одновременного протекания кроссинговера на участках между генами A и B и генами B и C. С помощью классического гибридологического анализа такие гаметы можно обнаружить только тогда, когда расстояние между крайними генами превышает 15 cM. В конечном итоге их обнаружение будет искажать истинное расстояние между крайними генами, т.е. значение $rfAC$, рассчитанное по формуле 3 будет меньше суммы $rfAB$ и $rfBC$. Для снятия этого противоречия для нахождения $rfAC$ необходимо использовать расширенную запись формулы 4 в виде формулы 6:

$$rfAC = \frac{X + Y + 2Z}{\text{сумма всех особей}} \times 100\% \quad (6)$$

Истинное расстояние между генами A и C равно сумме частот $rfAB$ и $rfBC$ или(=) сумме определенной по числу образования гамет, возникающих в результате одиночного кроссинговера на участке AC, и удвоенного числа образования двойных кроссоверных гамет. Если же расстояние между крайними генами составляет менее 15 cM, то в анализирующем скрещивании реально не обнаруживается класса двойных кроссоверных гамет.

Интерференция и коинциденции

Практический (или наблюдаемый) двойной кроссинговер можно определить по результатам трехфакторного анализирующего скрещивания как долю двойных кроссоверных гамет. При этом практический двойной кроссинговер происходит, как правило, с меньшей частотой, чем теоретически ожидаемый двойной кроссинговер (определяется как произведение частот одиночных кроссинговеров). Это противоречие возникает в силу положительной интерференции – явления, при котором кроссинговер, происходящий на одном участке, препятствует одновременному прохождению кроссинговера на соседнем участке. Значение интерференции определяется по формуле:

$$I = 1 - C \quad \text{где } C - \text{коэффициент коинциденции (или коэффициент совпадения).}$$

В свою очередь коэффициент коинциденции рассчитывается по формуле:

$$C = \frac{\text{практический двойной кроссинговер}}{\text{теоретический двойной кроссинговер}}$$

Общие выводы

1. Картирование генов осуществляют по результатам трехфакторных анализирующих скрещиваний. При этом расстояние между генами определяют в процентах кроссинговера.
2. В силу линейного расположения генов, расстояние между крайними генами равно сумме расстояний между промежуточными генами.
3. Наиболее точно можно картировать гены, когда расстояние между крайними генами не превышает 10–15 сМ.
4. Частота кроссинговера между крайними генами, расположенными на расстоянии более 15 сМ, всегда меньше суммы частот рекомбинации между промежуточными генами на удвоенное значение двойного кроссинговера.
5. Наиболее точно картировать гены можно тогда, когда отсутствует практический двойной кроссинговер ($C = 0$, $I = 1$).

Общие принципы картирования

При построения генетических карт:

- 1. учитывают максимальное расстояние между генами;*
- 2. наносят на карту два каких-либо гена, локализованных на наибольшем расстоянии друг от друга;*
- 3. находят положение третьего гена, расположенного на небольшом расстоянии относительно первых двух. Он может быть либо между ними, либо справа, либо слева от них, что определяется путем сопоставления расстояний между первым и вторым, первым и третьим, вторым и третьим генами;*
- 4. последовательно располагая близко лежащие гены относительно уже картированных, определяют порядок их локализации в хромосоме, т.е. строят генетическую карту.*