

Ćwiczenie 16/17

Szacowanie częstości mutacji punktowych. Mutacje chromosomowe strukturalne. Mutacje chromosomowe liczbowe.

Prof. dr hab. Roman Zieliński

1. Szacowanie częstości mutacji punktowych

1.1. Pytania i zagadnienia

- 1.1.1. Podaj definicję mutacji punktowych.
- 1.1.2. Jakie wyróżniamy typu mutacji punktowych?
- 1.1.3. Jakie efekty wywołują mutacje punktowe na poziomie białka?
- 1.1.4. Co to jest mutacja neutralna?

1.2. Ćwiczenia

1.2.1. Wyjaśnienia

- Dawki promieniowania jonizującego podawane są często w rentgenach (R), które mierzą jonizację w określonych warunkach. Jeden rentgen to ilość promieniowania, która produkuje 2.083×10^9 par jonów w 1 cm^3 powietrza w warunkach normalnych. Dawki podawane w rentgenach są wygodne, gdyż nie zależą od czasu oraz częstość generowanych mutacji wrasta liniowo wraz ze wzrostem dawki.
- Częstość mutacji zawsze wzrasta wraz ze wzrostem dawki promieniowania.
- Napromieniowanie plemników *Drosophila melanogaster* powoduje wzrost częstości mutacji punktowych o 3% na każde 1000 R. Przykładowo, wzrost częstości mutacji dla 2000 R wyniesie 6%.

1.2.2. Ocena częstości mutacji w wybranych genach *Drosophila melanogaster*.

- W tabeli 1 przedstawiono częstość mutowania niektórych genów u *Drosophila melanogaster*.
- Oblicz częstość mutacji po napromieniowaniu plemników samca *D. melanogaster* promieniowaniem X. Wszystkie cechy u napromieniowywanego samca były dzikie.
- Zaznacz, które z nowopowstałych mutacji pojawią się w potomstwie uzyskanym z napromieniowanych plemników.

Tabela 1. Częstość mutacji w wybranych genach *D. melanogaster*: mutacje spontaniczne i indukowane.

Gen	Częstość mutacji spontanicznych	Dziedziczenie	Dawka		Ujawnienie się mutacji w potomstwie
			1 500 R	4 000 R	
<i>Hex</i>	11.57×10^{-6}	Heksokinaza, kodominujące, chr. 1			
<i>p</i>	8.75×10^{-6}	Oczy brzoskwiniowe, recesywne, chr. X			
<i>Lobe</i>	20.00×10^{-6}	Oczy zredukowane, dominujące, chr. 2			
<i>yellow</i>	6.35×10^{-5}	Oczy Bar, dominujące, chr. X			

- **A:** O ile więcej zmutowanych osobników będziemy obserwować po działaniu promieniowania X. Czy jest to istotne podniesienie częstości mutacji?
- **B:** Jaką dawkę promieniowania należałoby zastosować aby podnieść częstość mutacji o rząd wielkości?

1.3. Problemy

- 1.3.1. na podstawie wyników uzyskanych w tabeli oraz informacji dostarczonych przez prowadzącego, zastanów się nad efektywnością różnych mutagenów. Który z typów mutagenów jest efektywniejszy: fizyczny (promieniowanie jonizujące) czy chemiczny (np. związki aromatyczne, alkilujące etc.)?

2. Mutacje chromosomowe strukturalne

2.1. Pytania i zagadnienia

- 2.1.1. Mutacje chromosomowe strukturalne to wszelkie zmiany w układzie genów na chromosomach. Związane są one najczęściej z pęknięciem chromosomów. Mutacje typu deficyjencji polegają na utracie fragmentu chromosomu wraz z zawartymi w nim genami. Jaki będzie obraz deficyjencji w I podziale mejotycznym u heterozygot względem tej mutacji?
- 2.1.2. Duplikacja to zwielokrotnienie fragmentu chromosomu w obrębie jednego chromosomu. Narysuj schematycznie duplikację dla chromosomu z genami ABCDE. Jak zaobserwujemy duplikację w trakcie I podziału mejotycznego?
- 2.1.3. Translokacja to przeniesienie fragmentu chromosomu do innego niehomologicznego.
- Narysuj schemat translokacji dla dwóch chromosomów: 1: ABCDE i 2: STUXYZ.
 - Na czym polega translokacja wzajemna?
 - Zastanów się jak będą koniugowały chromosomy z translokacją wzajemną w mejozie u osobników heterozygotycznych względem translokacji (przedstaw na schemacie)?
 - Ile możliwych gamet wytworzy powyższa heterozygota translokacyjna?
 - Dlaczego część gamet wytwarzanych przez heterozygotę translokacyjną jest nieżywotna?
- 2.1.4. Inwersja to odwrócenie fragmentu chromosomu o 180° . Narysuj schemat inwersji dla chromosomu ABCDEFGH.

2.2. Ćwiczenia

2.2.1. U pewnego organizmu na chromosomie 1 zlokalizowane są geny ABD, a na chromosomie 3 geny GMR. Pomiędzy tymi chromosomami doszło wcześniej do translokacji wzajemnej w taki sposób, że powstał układ ABR oraz GMD. Osobnika homozygotycznego względem tej translokacji skrzyżowano z homozygotą recesywną względem wszystkich wymienionych genów, przy czym homozygota nie miała translokacji.

- A: Przedstaw na schemacie osobnika heterozygotycznego otrzymanego w wyniku powyższego krzyżowania.
- B: Przedstaw na schemacie sposób koniugacji chromosomów u otrzymanej heterozygoty w profazie I podziału mejotycznego (narysuj figurę jaką utworzą chromosomy).
- C: Ile typów gamet wytworzy omawiana heterozygota?
- D: Przedstaw schematycznie wszystkie możliwe typy gamet wytworzone przez heterozygotę.
- E: Zaznacz gamety, które są żywotne. Ile ich jest?
- F: Podaj częstość występowania gamet żywotnych u rozważanej heterozygoty translokacyjnej.

Samodzielne wykonanie 2.2.1. 3 punkty

3. Mutacje chromosomowe liczbowe

3.1. Pytania i zagadnienia

- 3.1.1. Co to są aneuploidie? Wymień kilka przykładów u człowieka.
- 3.1.2. Co to są euploidie? Czy znasz jakieś euploidy?
- 3.1.3. Na czym polega różnica między allopoliploidem i autopoliploidem?

3.2. Ćwiczenia

3.2.1. Aneuploidie w genetyce były wykorzystane do skorelowania grup sprzężeń z określonym chromosomem. U roślin wytworzono całe zestawy linii aneuploidalnych. Najczęściej są to linie trisomiczne. Krzyżowanie takich linii z osobnikiem o normalnym układzie chromosomów zmienia rozszczepienia w potomstwie. Dzięki temu można łatwo określić, na którym chromosomie jest zlokalizowany określony gen.

3.2.2. Gen *A* warunkuje barwę purpurową kwiatów *Datura* natomiast jego allel recesywny, *a* odpowiada za barwę białą. Podaj stosunki rozszczepień pod względem barwy kwiatów uzyskane w wyniku krzyżowania następujących roślin (podaj gamety i pokaż w tabeli oraz podaj stosunek kwiatów purpurowych do białych):

- A: AAa: x AAa
- B: AAa x Aa
- C: AAa x aa
- D: Czy otrzymane stosunki rozszczepień są zgodne z prawami Mendla?

3.2.3. U jęczmienia gen *B* warunkuje wystąpienie czarnego ziarniaka. Jego allel recesywny, *b* odpowiada za powstanie białych ziarniaków. Homozygotyczną linię o białych ziarniakach skrzyżowano z serią linii trisomicznych, przy czym wszystkie wykorzystane linie trisomiczne miały czarne ziarniaki. W pokoleniu F_1 otrzymano rośliny diploidalne oraz trisomiczne.

- A: Podaj genotyp trisomicznych roślin F_1 przy założeniu, że gen *B* leży na chromosomach, których dotyczy trisomia. Jaki fenotyp mają te rośliny?
- B: na podstawie rozszczepień uzyskanych z samozapylenia roślin trisomicznych ustal, na którym chromosomie leży gen warunkujący barwę ziarniaka
 - ▶ Chr. 1: 306 roślin o czarnym ziarniaku i 101 roślin o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 2: 107 roślin o czarnym ziarniaku i 36 roślin o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 3: 234 roślin o czarnym ziarniaku i 77 roślin o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 4: 356 roślin o ziarniaku czarnym i 10 roślin o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 5: 165 roślin o ziarniaku czarnym i 56 roślin o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 6: 429 roślin o ziarniaku czarnym oraz 142 rośliny o ziarniaku białym.
 - ▶ Chr. 7: 185 roślin o ziarniaku czarnym i 59 roślin o ziarniaku białym.

Samodzielne wykonanie 3.2.3. 3 punkty

3.3. Problemy

3.3.1. Czy euploidie mają znaczenie ewolucyjne? Omów na przykładach?

3.3.2. Zastanów się nad rolą mutacji w żywieniu człowieka. Uwzględnij mutacje punktowe oraz mutacje chromosomowe liczbowe?

3.3.3. Czy możemy powiedzieć, że udomowienie roślin uprawnych to historia mutacji?

- W jaki sposób człowiek mógł przyczynić się do powstania lub utrwalenia mutacji u roślin uprawnych?
- Czy wykorzystanie mutacji w uprawie roślin może doprowadzić do ograniczenia bioróżnorodności?

Zagadnienie może być omówione w formie dyskusji.

4. Odpowiedzi

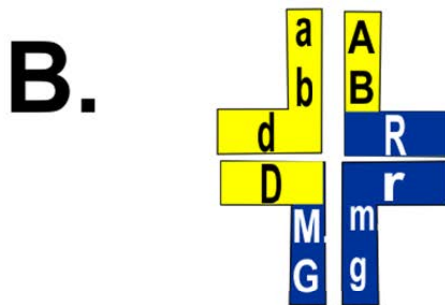
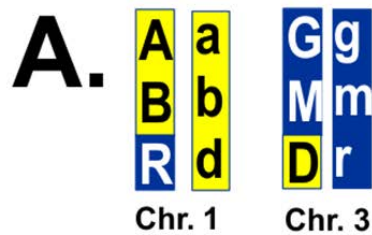
4.1. 1.2.2.: Tabela: częstość mutacji u *Drosophila*

Tabela 1. Częstość mutacji w wybranych genach *D. melanogaster*: mutacje spontaniczne i indukowane.

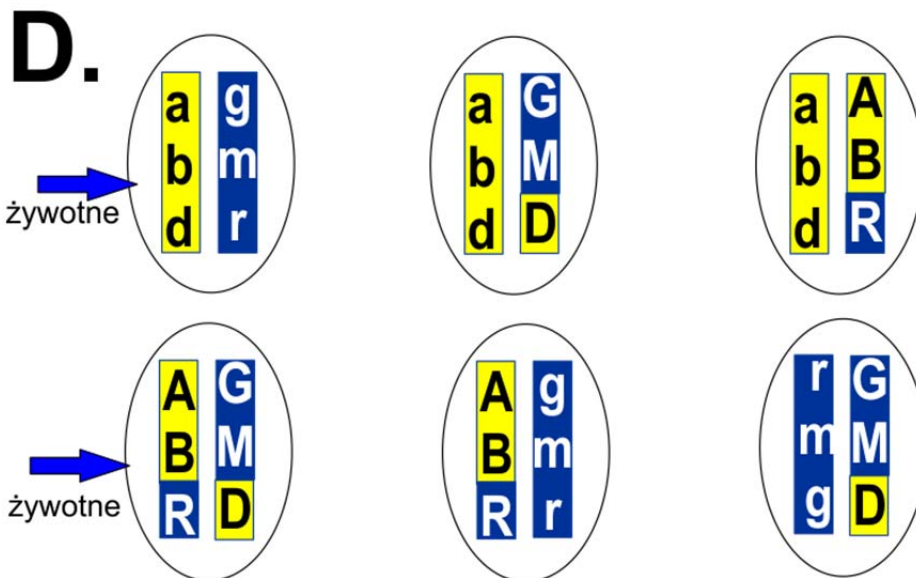
Gen	Częstość mutacji spontanicznych	Dziedziczenie	Dawka		Ujawnienie się mutacji w I pokoleniu po napromieniowaniu
			1 500 R 4,5%	4 000 R 12%	
<i>Hex</i>	11.57×10^{-6}	Heksokinaza, Kodominujące, chr.1	12.09×10^{-6}	12.95×10^{-6}	Tak, heterozygoty mają 2 prążki
<i>p</i>	8.75×10^{-6}	Oczy brzoskwińowe, recesywne, chr. X	9.14×10^{-6}	9.80×10^{-6}	Nie, gdyż mutacja jest na X, który otrzymają tylko samice a one będą heterozygotyczne względem tej mutacji.
<i>Lobe</i>	20.00×10^{-6}	Oczy zredukowane, dominujące, chr. 2	20.90×10^{-6}	22.40×10^{-6}	Tak, zarówno samce i samice będą heterozygotami, mutacja jest dominująca więc ujawni się
<i>yellow</i>	6.35×10^{-5}	Oczy Bar, Dominujące, chr. X	6.63×10^{-6}	7.11×10^{-6}	Tylko u samic, które będą heterozygotami względem mutacji. Mutacja jest dominująca, więc ujawni się u heterozygot.

A: Po działaniu mutagenu liczba zmutowanych osobników na 1 000 000 wzrosła o 1–2. Jest to liczba mieszcząca się w zakresie błędu i trudno ocenić czy faktycznie podniosła się częstość mutacji. Mutagen musiałby podnieść częstość mutowania o rząd wielkości.

B: Aby podnieść częstość mutacji o rząd wielkości, np. z 11.57×10^{-6} do 11.57×10^{-5} częstość mutacji musiałaby wzrosnąć 10-krotnie czyli o 1000%. Jeżeli 1000 rentgenów podnosi częstość mutacji o 3% to podniesienie o 1000% wymaga $1000\% \times 1000/3\%$ co daje 3.33×10^5 rentgenów = 333 000 rentgenów.



C.
heterozygota wytworzy
6 typów gamet: chromosom
1 (abd) będzie segregował
z każdym z 3 pozostałych



F:
Częstość każdej z gamet żywotnych wynosi 1/6 zatem wszystkie gamety żywotne to 2/6 = 1/3. Stosunki rozszczepień się nie zmieniają, zmieniają się jedynie sprzężenia. osobniki wykazują częściową sterylność ze względu na nieżywotne gamety.

4.2. Ćwiczenie 2.2.1: Translokacje

4.3. Trisomiki: rozszczepienia: 3.2.2.

A. AAa x AAa: **purpurowe do białych = 35:1**

	AA	a	Aa	A	Aa	A
AA	AAAA	AAa	AAAa	AAA	AAA	AAA
a	AAa	aa	Aaa	Aa	Aaa	Aa
Aa	AAAa	Aaa	Aaa	AAa	AAa	AAa
A	AAA	Aa	AAa	AA	AA	AAa
Aa	AAAa	Aaa	AAaa	AAa	AAaa	AAa
A	AAA	Aa	AAa	AA	AAa	AA

B: AAa x Aa: **purpurowe do białych = 11:1**

	AA	a
AA	AAAA	AAa
a	AAa	aa
Aa	AAAa	Aaa
A	AAA	Aa
Aa	AAAa	Aaa
A	AAA	Aa

C: AAa x aa: **purpurowe do białych = 5:1**

	a	a
AA	AAa	AAa
a	aa	aa
Aa	Aaa	Aaa
A	Aa	Aa
Aa	Aaa	Aaa
A	Aa	Aa

D: Nie, stosunki rozszczepień wykazują odstępstwa od praw Mendla.

4.4. Trisomiki, zadanie 3.2.3: położenie genu barwy ziarniaka

1. Linia homozygotyczna o białych ziarniakach: bb
2. Linie trisomiczne, jeżeli trisomia dotyczy chromosomu, na którym jest gen B: BBB
3. Krzyżujemy BBB x bb:
 - ▶ otrzymujemy Bb o czarnych ziarniakach, diploidy,
 - ▶ otrzymujemy BBb o czarnych ziarniakach, trisomiki, te uwzględniamy w dalszej analizie.
 - ▶ Samozapylenie czyli BBb x BBb
4. Odpowiedzi:
 - ▶ A: BBb, czarne ziarniaki
 - ▶ B: Chromosom 4, stosunek 35:1, typowy dla krzyżowania BBb x BBb, pozostałe chromosomy stosunek 3:1 – rozszczepienie mendlowskie