

Ćwiczenie 01

Kariotyp człowieka. Analiza sprzężeń, odległości genetyczna. Katalog GWAS.

Kornelia Polok

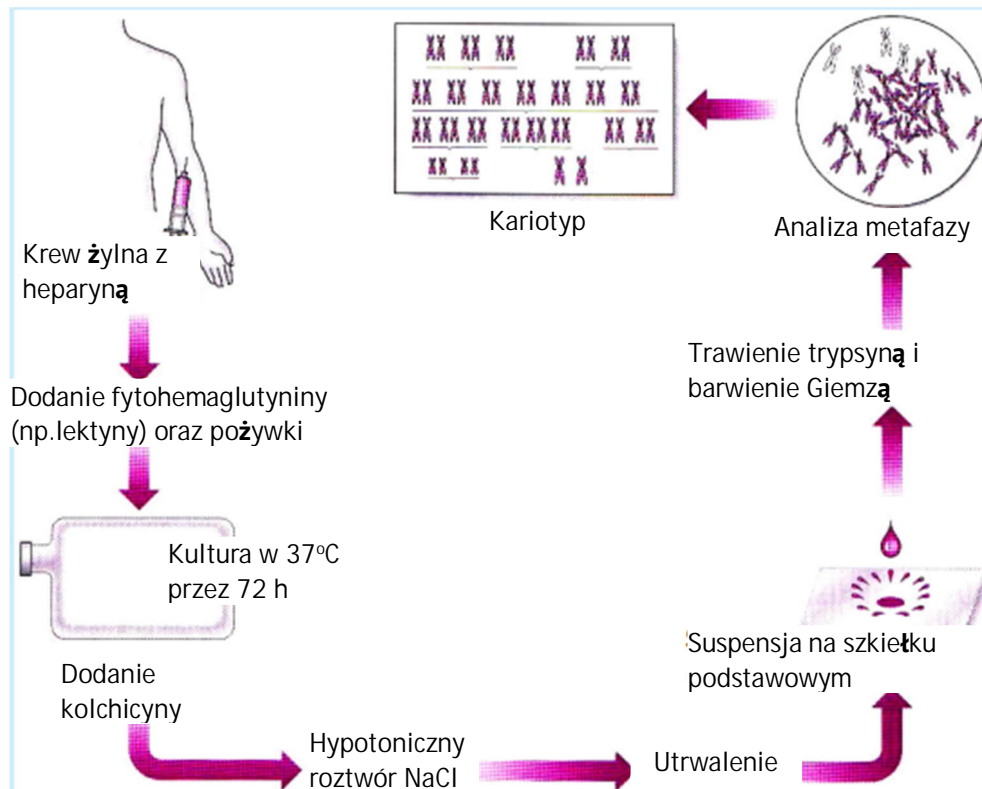
1. Kariotyp człowieka

Kariotyp to zestaw chromosomów w komórce somatycznej. Opisuje on liczbę chromosomów i ich wygląd (prążkowanie). Kariotyp jest przedstawiany w postaci diagramu, na którym chromosomy uporządkowane są pod względem wielkości i kształtu.

1.1. Analiza cytogenetyczna

➔ 1.1.1. Cytogenetyka: dział genetyki oraz biologii komórki, który zajmuje się strukturą chromosomów oraz ich zachowaniem w trakcie podziałów komórkowych. W cytogenetyce wykorzystuje się techniki barwienia chromosomów metodą Feulgena, acetokarminem, metodą Giemsa itd. Ponadto wykorzystuje się techniki cytogenetyki molekularnej, w tym fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH) oraz genomową hybrydyzację *in situ* (GISH). Tradycyjną analizą cytogenetyczną wykonuje się najczęściej z limfocytów otrzymanych z krwi żyłnej. Etapy analizy:

- dodanie fitohemaglutyniny z fasoli, która ma działanie mitogenne;
- kultura komórek na pożywce (limfocytów);
- dodanie kolchicyny, która powoduje zahamowanie podziałów komórek poprzez wiązanie z mikrotubulami w metafazie; w efekcie nie dochodzi do podziału komórki i możemy obserwować chromosomy w metafazie; zahamowanie podziałów komórek można także uzyskać poprzez działanie temperatury około 0°C; w tym celu dzielące się komórki umieszcza się w wodzie z lodem na 24 h;
- komórki utrwalą się np. w płynie Carnoya (60% etanol, 30% chloroform, 10% kwas octowy) przez około 3 h, następnie umieszcza w 80% etanolu w celu przechowywania lub od razu wykonuje się preparat; wówczas lepiej sprawdza się metanol do utrwalania;
- tworzenie suspensji na szkiełku podstawowym, barwienie np. odczynnikami Giemsa (mieszanka błękitu metylenowego, eozyliny oraz Azure B, barwienie trwa około 30 min.

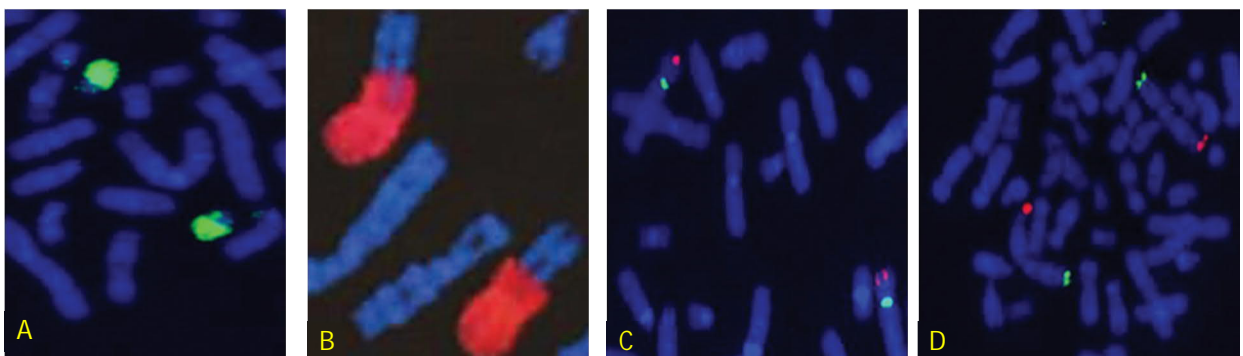


Rys. 1.1.1. Schemat wykonania preparatu cytogenetycznego.

1.1.2. FISH: fluorescencyjna hybrydyzacja in situ teoretycznie pozwala na wykrywanie położenia pojedynczych sekwencji na chromosomach. Metoda wykorzystuje zjawisko hybrydyzacji kwasów nukleinowych. W metodzie wykorzystuje się sondę.

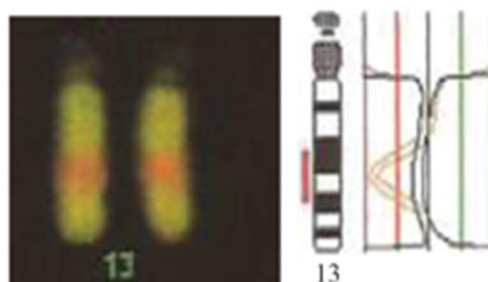
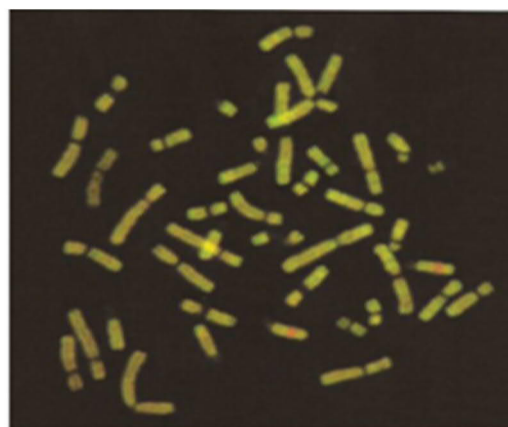
Sonda: jednoniciowy fragment DNA lub RNA komplementarny do sekwencji, którą chcemy zbadać.

Sondą może być zarówno DNA jak i RNA. Jednakże, ze względu na szybkie rozkładanie się RNA, na ogół RNA przeprowadza się na cDNA i ten ostatni jest wykorzystywany jako sonda. Sondy są znakowane specjalnymi barwnikami, fluorochromami, biotyną lub dołączane są miejsca rozpoznawane przez przeciwciała znakowane fluorescencyjnie.



Rys. 1.1.2. Wykorzystanie różnych sond w technice FISH u człowieka. A. Sonda dla całego chromosomu 21, pozwala wykryć trisomia 21. B. Sonda dla części długiego ramienia chromosomu 9. C. Sonda specyficzna dla locus 4p16.3 (czerwona) oraz 4p11-q11 (zielona). D. Sonda specyficzna dla regionu subtelerowego ramienia krótkiego (czerwona) i długiego (zielona) chromosomu 1 (Riegel et al., 2014).

1.1.3. CGH (CGISH): porównawcza hybrydyzacja genomowa polega na hybrydyzacji całych zestawów chromosomów. Metoda polega na różnym barwieniu zestawu chromosomów kontroli oraz badanej próby. W biologii jest najczęściej wykorzystywana do identyfikacji allopoliploidów (gatunki, które powstały w wyniku krzyżowania gatunków biologicznych, ale mejoza przebiega jak u diploidów, przykładem jest pszenica), a także śledzenia ewolucji blisko spokrewnionych gatunków. U człowieka znajduje GISH polega na hybrydyzacji badanej próby z standardowym genomem. Metoda ta pozwala wykrywać liczbę kopii wszystkich chromosomów w jednej analizie. Początkowo stosowana była do analizy komórek nowotworowych. Metoda jest jednak czasochłonna i nie uzyskuje się większej rozdzielczości niż dla prążków G (Giemsa, >3 Mbp). Z drugiej strony jest to jedyna technika molekularna, która może zastąpić klasyczne metody prążkowania chromosomów. Metoda ta okazała się skuteczna w identyfikacji aberracji chromosomowych w wielu chorobach hematologicznych, w tym CLL (przewlekła białaczka limfocytowa), MDS (zespół mielodysplastyczny), ALL (ostra białaczka limfoblastyczna), AML (ostra białaczka szpikowa), CMML (przewlekła białaczka mielomonocytoza).

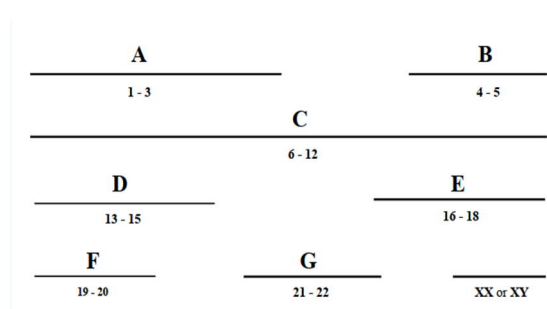


Rys.1.1.3. Technika CGH u człowieka. Góra: hybrydyzacja DNA badanego (żółto-zielone, fluoresceina) z DNA testowym barwionym na czerwono (Texas red). Dół, lewa: na chromosomie 13 widoczny czerwony prążek wskazujący na delecję w badanym chromosomie. Dół, prawa: miejsce delecji oraz wykres stosunku fluoryzujących barwników, czarna linia oznacza równowagę typową dla prawidłowego układu, linia czerwona to wartość graniczna dla utraty fragmentu, zielona dla insercji fragmentu (Riegel et al., 2014).

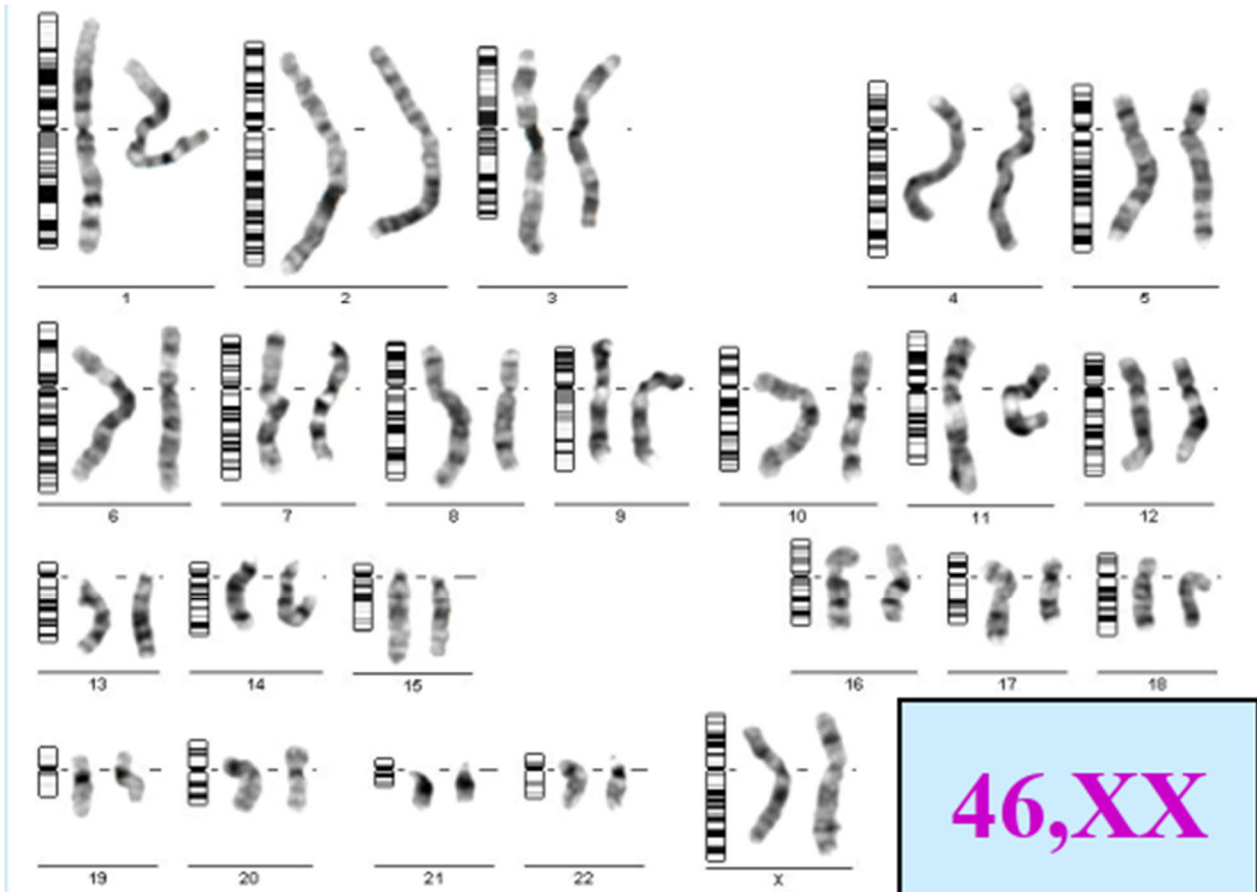
1.2. Opis kariotypu

1.2.1. Prawidłowy kariotyp obejmuje 22 pary autosomów oraz dwa chromosomy płci (XX lub XY). Chromosomy człowieka tworzą 7 grup w zależności od długości i morfologii. Układ chromosomów na diagramie jest ściśle określony:

- Grupa A: chromosomy 1-3, duże metacentryczne;
- Grupa B: chromosomy 4-5, duże submetacentryczne;
- Grupa C: chromosomy 6-12, średnie metacentryczne;
- Grupa D: chromosomy 13-15, średnie akrocentryczne;
- Grupa E: chromosomy 16-18, krótkie submetacentryczne;
- Grupa F: chromosomy 19-20, krótkie metacentryczne;
- Grupa G: chromosomy 21-22, krótkie akrocentryczne;
- Chromosomy płci



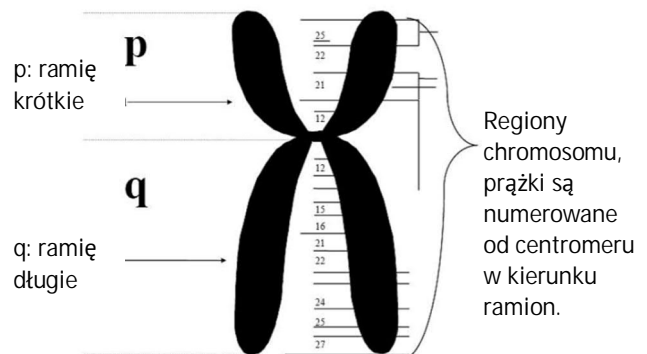
Rys.1.2.1a. Schemat układania chromosomów na diagramie przedstawiającym kariotyp człowieka.



Rys.1.2.1b. Prawidłowo ułożony karyotyp człowieka wraz z przedstawionym wzorem prążkowania.

1.2.2. Terminologia

- p+/add (p): dodatkowy fragment w ramieniu krótkim
- q+/add (q): dodatkowy fragment w ramieniu długim
- p-/del(p): delecja w obrębie ramienia krótkiego
- q-/del(q): delecja w obrębie ramienia długiego
- t (a;b): translokacja pomiędzy chromosomami a i b
- +a: dodanie całego chromosomu a, np. +21
- Inv(a)(obszar): inwersja, np. inv(1)p36q21



Rys.1.2.2. Zasada numerowania prążków.

W analizie karyotypów należy zwrócić uwagę na liczbę zmienionych komórek. Przykładowo obecność wielu zmienionych komórek wskazuje oddzielną, zmienioną linię komórkową. Z kolei obecność jednej zmienionej komórki może wskazywać na przypadkową zmianę lub błąd diagnosty. Dlatego zazwyczaj zmiana musi wystąpić w większej liczbie komórek (na ogół w 2-3). Badanie powinno być także powtórzone oraz skorelowane z objawami.

1.2.3. Odczytywanie kariotypu

- 47,XY,del(7)(q21q34),+8,t(8;9)(q13;q34)[6]/46,XY[3]
 - ▶ 47: liczba chromosomów
 - ▶ XY: chromosomy płci
 - ▶ Del(7)(q21q34): delecja w ramieniu długim chromosomu 7 między prążkami 21 i 34
 - ▶ +8: trisomia chromosomu 8
 - ▶ T(8;9)(q13;q34): translokacja pomiędzy długim ramieniem chromosomu 8 (prążek 13) i długim ramieniem chromosomu 9 (prążek 34)
 - ▶ [6]: liczba komórek w metafazie, w których stwierdzono zmiany
 - ▶ 46: liczba chromosomów
 - ▶ XY: chromosomy płci
 - ▶ [3]: liczba komórek z prawidłowym kariotypem

● Proszę odczytać następujące kariotypy



- A. 47,XX,add(8)(p31p33),+21[10]/46,XX[2] (1 punkt)
- B. 46,XY,t(6;12)(p23q12)[2] (1 punkt)
- C. 45,X0,del(5)(p8p21)[6]/47,XYY,del(5)(p8p21)[21]/46XY[6] (1 punkt)

Czas wykonania: 15 minut

2. Analiza sprzężeń i odległość genetyczna

2.1. Sprzężenia: terminologia

- Częstość, z jaką heterozygota wytwarza gamety zrekombinowane (z układem genów zmienionym w stosunku do gamet rodzicielskich) jest równa częstości rekombinacji między genami sprzężonymi i stanowi miernik intensywności sprzężenia. Częstość rekombinacji wyrażona w procentach nosi nazwę odległości genetycznej. Wartość 1 jednostki mapowej lub 1 centyMorgana (cM) odpowiada 1% rekombinacji. W 1931 roku H. Creighton i B. McClintock po raz pierwszy udowodnili, że rekombinacja pomiędzy genami sprzężonymi jest związana z wymianą materiału genetycznego pomiędzy chromosomami homologicznymi. Proces ten znany jest jako crossing-over i zachodzi w pachytenie mejozy. Dlatego możemy powiedzieć, że odległość genetyczna pomiędzy dwoma genami jest równa częstości crossing-over.
- Dla jakichkolwiek dwóch genów sprzężonych częstość rekombinacji nie przekracza wartości 0,5 (50%). Z częstością 0,5 powstają gamety zrekombinowane, gdy geny leżą na różnych chromosomach – czyli dziedziczą się niezależnie. Zdarza się także, że geny zlokalizowane na przeciwległych końcach długich chromosomów, a czasami nawet ich ramion rekombinują z częstością $\geq 50\%$, czyli spełniają warunek niezależnego dziedziczenia, tak jakby były na różnych chromosomach. Dlatego dla genów zlokalizowanych na jednym chromosomie używa się pojęcia grupa sprzężeń. Geny leżące w dużej odległości na jednym chromosomie, pomimo iż z matematycznego punktu widzenia mogą być niesprzężone, nadal należą do jednej grupy sprzężeń.
- W genetyce wyróżnia się odległość fizyczną i genetyczną. Odległość fizyczna jest mierzona w parach zasad i ma znaczenie w sekwencjonowaniu genów. Odległość fizyczna nie zawsze odpowiada intensywności sprzężenia. Odległość genetyczna określa częstość rekombinacji i ma znaczenie w mapowaniu, a także w hodowli, gdzie istotna jest wiedza, z jaką częstością pojawią się rekombinanty o pożądanym cechach. Ponieważ crossing-over zachodzi z różną częstością wzdłuż chromosomów, określonej odległości genetycznej, np.

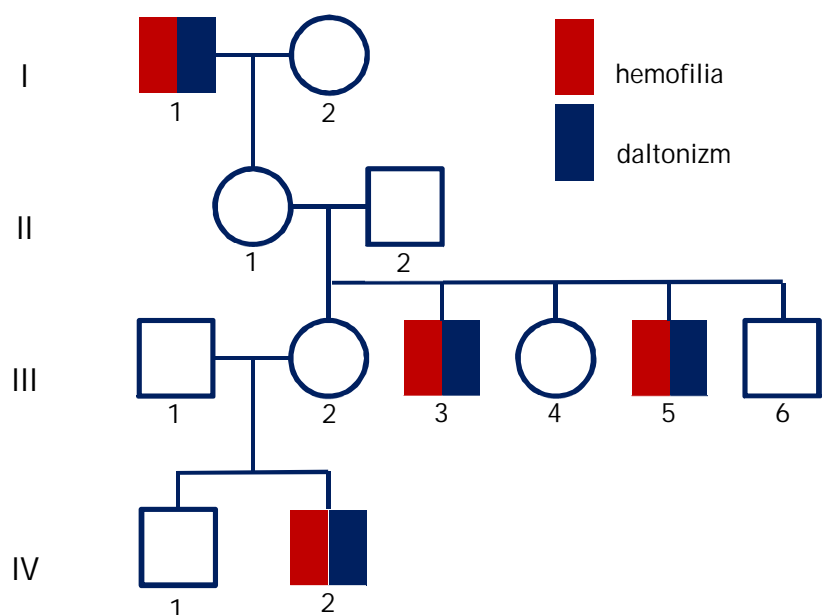
1 cM odpowiada różna odległość fizyczna. Przy dużej częstotliwości crossing-over geny oddalone o zaledwie kilkaset par zasad mogą wykazywać znaczną odległość genetyczną. Jeżeli częstotliwość crossing-over jest mała to geny mogą być oddalone o tysiące par zasad, a mimo to sprzężone całkowicie. Ponieważ obie miary odległości nie są tożsame i mają różne zastosowania, są one na równi podstawą zaawansowanych badań z zakresu genomiki.

- **Częstość** gamet zrekombinowanych wynikająca z odległości genetycznej jest **częstością sumaryczną** dla wszystkich gamet zrekombinowanych (np. 0,2). Jeżeli mamy 2 typy gamet zrekombinowanych (np. Ab i aB) to częstość każdego z nich jest równa połowie częstości sumarycznej (np. $0,2/2 = 0,1$). Jeżeli są 4 typy gamet zrekombinowanych (np. AbD, Abd, aBD, aBd) to częstość każdego z nich równa się jednej czwartej częstości sumarycznej (np. $0,2/4 = 0,05$). Sumaryczna częstość gamet rodzicielskich jest różnicą pomiędzy wartością 1 a sumaryczną częstością gamet zrekombinowanych (np. $1 - 0,2 = 0,8$). Podobnie jak w przypadku gamet zrekombinowanych, częstość danego typu gamety rodzicielskiej (np. AB) jest ilorzem częstości sumarycznej i liczby typów gamet rodzicielskich (np. dla dwóch typów – $0,8/2 = 0,4$; dla 4 typów $0,8/4 = 0,2$).
- **Prawdopodobieństwo wystąpienia** jakiegokolwiek fenotypu w analizowanym pokoleniu w przypadku sprzężenia genów oblicza się na podstawie częstości gamet, z których interesujący nas fenotyp powstaje. W tym celu musimy znać fazę sprzężenia (skupiona lub rozproszona) oraz odległość genetyczną pomiędzy genami sprzężonymi (lub wyniki krzyżówki testowej). Na podstawie fazy sprzężenia ustalamy gamety rodzicielskie i zrekombinowane, a na podstawie odległości obliczamy częstość gamet rodzicielskich i zrekombinowanych. Jeżeli fenotyp odpowiada tylko jednemu genotypowi, to obliczamy prawdopodobieństwo wystąpienia danego fenotypu/genotypu jako iloczyn częstości gamet (np. $0,1 \times 0,1$), z których on powstaje. Gdy genotypów składających się na nasz fenotyp jest więcej (np. 3), prawdopodobieństwo wystąpienia określonego fenotypu jest sumą prawdopodobieństw pojawienia się każdego z genotypów dających interesujący nas fenotyp. (np. $0,01 + 0,04 + 0,04 = 0,09$). W bardziej skomplikowanych przypadkach, gdy segreguje wiele genów i na dany fenotyp składa się wiele genotypów najlepiej posłużyć się szachownicą.

2.2. Analiza sprzężeń na podstawie rodowodów



Na rysunku 2.1 przedstawiono rodowód rodziny, w której wystąpiła hemofilia i daltonizm. Symbolem *h* oznaczamy allel warunkujący hemofilię, a symbolem *d* – allel warunkujący daltonizm.



Rys.2.1. Rodowód rodziny, u której wystąpiła hemofilia i daltonizm.

- A. Proszę podać genotypy wszystkich członków pokolenia III (2 punkty).
- B. Czy na podstawie tego rodowodu można stwierdzić występowanie rekombinacji pomiędzy genami warunkującymi hemofilię i daltonizm? Proszę uzasadnić odpowiedź. (1 punkt)

Czas wykonania 15 minut

2.3. Odległość genetyczna



2.3.1. Pewna kobieta odziedziczyła kataraktę po ojcu a polidaktylię po matce. Jakie jest prawdopodobieństwo urodzenia się zdrowego dziecka w związku tej kobiety ze zdrowym mężczyzną jeżeli odległość między genami warunkującymi kataraktę oraz polidaktylię wynosi 15 jednostek mapowych? (2 punkty)

Czas wykonania: 15 minut



2.3.2. Dwie siostry będące bliźniaczkami jednojajowymi miały niebieskie oczy oraz przyrośnięte płatki uszu. Siostry miały dzieci z mężczyznami, którzy także byli bliźniakami jednojajowymi o oczach ciemnych i wolnych płatkach uszu. Obie pary miały łącznie 12 dzieci, które miały następujące cechy:

- 5 dzieci: oczy niebieskie, przyrośnięte płatki uszu;
- 5 dzieci: oczy ciemne, wolne płatki uszu;
- 1 dziecko: oczy niebieskie, wolne płatki uszu;
- 1 dziecko: oczy ciemne, przyrośnięte płatki uszu.

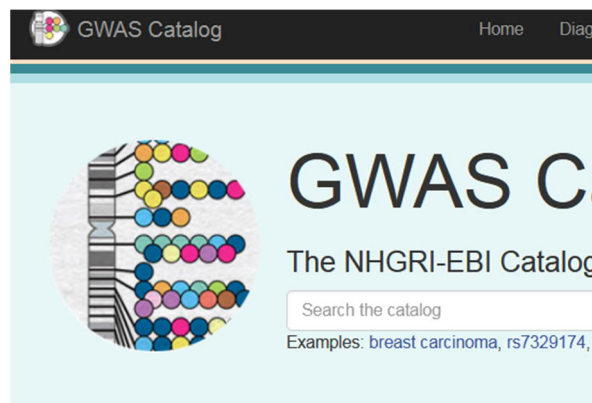
Na podstawie otrzymanych stosunków rozszczepeń wśród potomstwa proszę ustalić:

- A. Która cecha jest dominująca, a która recesywna przy założeniu, że literami B, b oznaczamy barwę oczu, a E, e płatki uszu. Proszę uzasadnić wniosek. (1 punkt)
- B. Genotypy sióstr bliźniaczek i mężczyzn bliźniaków z podaniem ich rozkładu na chromosomach. (1 punkt)
- C. Prawdopodobieństwo urodzenia się dziewczynki o oczach ciemnych i przyrośniętych płatkach uszu w potomstwie dziecka o oczach ciemnych z wolnych płatkach uszu z partnerem będącym homozygotą recesywną względem obu cech. Proszę przedstawić obliczenia. (3 punkty).

Czas wykonania: 20 minut

3. Katalog GWAS

Badania asocjacyjne polegają na poszukiwaniu korelacji między częstością wariantów SNP a występowaniem choroby. Grupę osób chorych porównuje się z kontrolą. W przypadku wyższej częstości danego wariantu u osób chorych przyjmuje się, że istnieje korelacja. Analiza korelacji pozwala szacować ryzyko wystąpienia choroby, ale nie jest miarą faktycznego sprzężenia między wariantem SNP a chorobą. Katalog ma być pomocny w namierzeniu regionów genomu, które należy poddać badaniom, natomiast nie służy określaniu przyczyn choroby. Asocjacja może być przypadkowa. Kluczem to efektywnego wykorzystania GWAS jest dostęp do dużej liczby SNPs.



Rys.3.1a. Zrzut ekranu katalogu GWAS.

Katalog GWAS jest utrzymywany przez EMBL-EBI (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>). Gromadzi on dane o wszelkich korelacjach między SNP a chorobami jakie ustalono przy pomocy badań asocjacyjnych. Lokalizacja SNP, które wykazują korelację z chorobą jest pokazana na chromosomach. Katalog jest oparty na sekwencji genomu ludzkiego GRCh38.p13. Ostatnia aktualizacja zawiera dane z około 4 tys. publikacji oraz blisko 144 tys. SNP. Korzystanie z katalogu jest możliwe przez:

- graficzny interfejs,
- pobranie całej bazy,
- wykorzystanie specjalnego oprogramowania.

A GWAS CATALOG RETRIEVAL FUNCTIONS S4 CLASSES

B Search by Example

Search by	Example	S	A	V	T
study_id	"GCST000858"	●	●	●	●
association_id	"24300113"	●	●	●	●
variant_id	"rs12752552"	●	●	●	●
efo_id	"EFO_0005543"	●	●	●	●
pubmed_id	"21626137"	●	●	●	●
user_requested	TRUE	●	●	●	●
full_pvalue_set	FALSE	●	●	●	●
efo_uri	"http://www.ebi.ac.uk/efo/EFO_0004761"	●	●	●	●
genomic_range	list(chromosome = "22", start = 1L, end = 15473564L)	●	●	●	●
gene_name	"BRCA1"	●	●	●	●
efo_trait	"lung adenocarcinoma"	●	●	●	●
reported_trait	"Breast cancer"	●	●	●	●
cytogenetic_band	"1p36.33"	●	●	●	●

Rys.3.1b. Efekt wykorzystania programu R do wizualizacji danych GWAS.

Graficzny interfejs jest stosunkowo trudny w nawigacji ze względu na czas ładowania i niewiele opcji przeszukiwania. Bardziej efektywne jest ściągnięcie całej bazy lub wykorzystanie oprogramowania. Do ciekawych opcji należy pakiet R, który umożliwia swobodną nawigację w katalogu.

Odpowiedzi

1. Kariotyp człowieka

1.2. Opis kariotypu

1.2.3. Odczyt kariotypu

🍇 Proszę odczytać następujące kariotypy

A. 47,XX,add(8)(p31p33),+21[10]/46,XX[2] (1 punkt)

- ▶ 10 komórek z 47 chromosomami, chromosomy płci XX, insercja w chromosomie 8, w długim ramieniu między prążkami 31-33, trisomia 21 chromosomu
- ▶ 2 komórki o prawidłowym kariotypie
- ▶ Duże prawdopodobieństwo opisanych aberracji chromosomowych

B. 46,XY,t(6;12)(p23q12)[2] (1 punkt)

- ▶ 2 dwie komórki z 46 chromosomami, chromosomy płci XY, translokacja między chromosomami 6 (prążek 23 w długim ramieniu) oraz chromosomem 12 (prążek 12 w ramieniu krótkim)
- ▶ Mała liczba komórek, chociaż wskazuje na zmianę, należy powtórzyć.

C. 45,X0,del(5)(p8p21)[6]/47,XYY,del(5p8p21)[21]/46XY[6] (1 punkt)

- ▶ 6 komórek z monosomią X (zespół Turnera), delecja w krótkim ramieniu chromosomu 5 obejmująca prążki 8-21
- ▶ 21 komórek z trisomia chromosomów płci, delecja w krótkim ramieniu chromosomu 5 obejmująca prążki 8-21
- ▶ 6 komórek o prawidłowym kariotypie
- ▶ Występują liczne aberracje chromosomowe, zróżnicowana populacja komórek.

2. Analiza sprzężeń i odległość genetyczna

2.2. Analiza sprzężeń na podstawie rodowodów



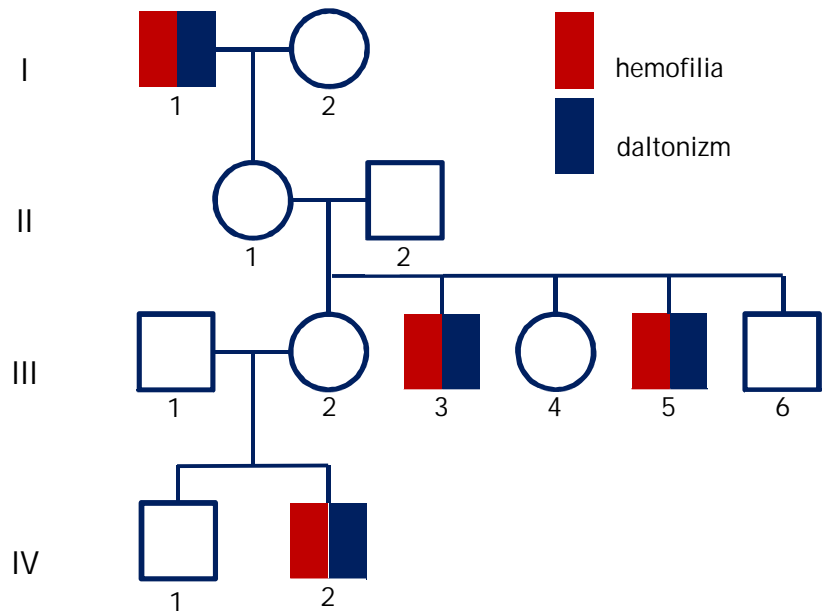
Na rysunku 2.1 przedstawiono rodowód rodziny, w której wystąpiła hemofilia i daltonizm. Symbolem h oznaczamy allel warunkujący hemofilię, a symbolem d – allel warunkujący daltonizm.

A. Proszę podać genotypy wszystkich członków pokolenia III (2 punkty).

- Hemofilia i daltonizm są sprzężone z płcią, są cechami recesywnymi. W związku z tym zdrowi mężczyźni mają genotyp $X^{HD}Y$, natomiast zdrowe kobiety mogą mieć genotypy $X^{HD}X^{HD}$, $X^{hd}X^{HD}$, $X^{HD}X^{hd}$.
- Mężczyzna I-1 miał daltonizm i hemofilię, zatem córka II-1 odziedziczyła chromosom X od ojca o genotypie X^{hd} . Ponieważ była zdrowa, od matki musiała otrzymać chromosom X^{HD} , zatem jej genotyp był $X^{hd}X^{HD}$.
- Mężczyzna II-2 był zdrowy zatem miał genotyp $X^{HD}Y$, a więc córkom z pokolenia III przekazał chromosom X^{HD} .
- Córki pokolenia III od matki II-1 otrzymały chromosom X^{HD} lub X^{hd} .
- Genotypy kobiet pokolenia III:
 - ▶ III-2: $X^{HD}X^{hd}$ ponieważ syn IV-2 był chory, natomiast mężczyzna III-1 był zdrowy ($X^{HD}Y$);
 - ▶ III-4: $X^{HD}X^{hd}$ lub $X^{HD}X^{HDd}$ ponieważ przy braku potomstwa nie można jednoznacznie określić genotypu.
- Genotypy mężczyzn pokolenia III
 - ▶ III-1: $X^{HD}Y$ ponieważ był zdrowy;
 - ▶ III-3: $X^{hd}Y$ ponieważ był chory;
 - ▶ III-5: $X^{hd}Y$ ponieważ był chory;
 - ▶ III-6: $X^{HD}Y$ ponieważ był zdrowy.

B. Czy na podstawie tego rodowodu można stwierdzić występowanie rekombinacji pomiędzy genami warunkującymi hemofilię i daltonizm? Proszę uzasadnić odpowiedź. (1 punkt)

- O ewentualnej rekombinacji można wnioskować na podstawie pokolenia III i IV.
- Wszyscy mężczyźni byli chorzy na obie choroby. W przypadku rekombinacji u mężczyzny wystąpiłaby tylko jedna z chorób. Taki osobnik się nie pojawił.
- Na podstawie kobiet pokolenia III nie można wnioskować o rekombinacji, gdyż ojciec z pokolenia II był zdrowy,
- W przedstawionym rodowodzie nie ma dowodów na rekombinację.



Rys.2.1. Rodowód rodziny, u której wystąpiła hemofilia i daltonizm.

2.3. Odległość genetyczna

2.3.1. Pewna kobieta odziedziczyła kataraktę po ojcu a polidaktylię po matce. Jakie jest prawdopodobieństwo urodzenia się zdrowego dziecka w związku tej kobiety ze zdrowym mężczyzną jeżeli odległość między genami warunkującymi kataraktę oraz polidaktylię wynosi 15 jednostek mapowych? (2 punkty)

- Z treści zadania można wywnioskować, że katarakta i polidaktylia były cechami dominującymi. Geny są sprzężone, a więc należy je zapisać na jednym chromosomie.
- Jeżeli kataraktę oznaczymy jako K , a polidaktylię jako P , to wówczas genotypy rodziców byłyby:
 - ▶ Ojciec Kp/Kp
 - ▶ Matka kP/kP
- Genotyp kobiety, która miała oba schorzenia:
 - ▶ Kp/kP
 - ▶ Kobieta wytwarza:
 - 2 typy gamet rodzicielskich: Kp i kP z częstością 85%, czyli 42,5 każda (0,425),
 - 2 typy gamet zrekombinowanych: kp i KP z częstością 15%, czyli 7,5% każda (0,075).
- Zdrowy mężczyzna jest homozygotą recesywną o genotypie kp/kp .
- Pytanie dotyczy prawdopodobieństwa urodzenia się zdrowego dziecka, czyli genotyp dziecka to kp/kp . Powstanie on z połączenia gamety matki kp o częstości 0,075 (7.5%) z gametą ojca kp (częstość 1). Zatem prawdopodobieństwo pojawienia się zdrowego dziecka wynosi 0,075, czyli 7,5%.

2.3.2. Dwie siostry będące bliźniaczkami jednojajowymi miały niebieskie oczy oraz przyrośnięte płatki uszu. Siostry miały dzieci z mężczyznami, którzy także byli bliźniakami jednojajowymi o oczach ciemnych i wolnych płatkach uszu. Obie pary miały łącznie 12 dzieci, które miały następujące cechy:

- 5 dzieci: oczy niebieskie, przyrośnięte płatki uszu;
- 5 dzieci: oczy ciemne, wolne płatki uszu;
- 1 dziecko: oczy niebieskie, wolne płatki uszu;
- 1 dziecko: oczy ciemne, przyrośnięte płatki uszu.

Na podstawie otrzymanych stosunków rozszczepień wśród potomstwa proszę ustalić:

A. Która cecha jest dominująca, a która recesywna przy założeniu, że literami B , b oznaczamy barwę oczu, a E , e płatki uszu. Proszę uzasadnić wniosek. (1 punkt)

- Siostry bliźniaczki jednojajowe miały takie same genotypy, podobnie jak mężczyźni będący bliźniakami jajowymi. Zatem potomstwo można rozpatrywać łącznie, tak jakby pochodziło od jednej pary.
- W potomstwie stosunek dzieci o oczach niebieskich do dzieci o oczach ciemnych jest 1:1, zatem nie można ustalić na podstawie samego rozszczepienia która z cech jest dominująca, a która recesywna. Wiadomo jednak, że u człowieka oczy ciemne są cechą dominującą, zatem B oznacza oczy ciemne, a b – oczy niebieskie.
- Stosunek dzieci o wolnych płatkach uszu do dzieci o płatkach przyrośniętych jest 1:1. Podobnie jak w przypadku barwy oczu nie ustalimy sposobu dziedziczenia. Wiemy jednak, że u człowieka wolne płatki uszu są cechą dominującą, zatem E oznacza wolne płatki uszu a e – przyrośnięte.

B. Genotypy sióstr bliźniaczek i mężczyzn bliźniaków z podaniem ich rozkładu na chromosomach. (1 punkt)

● Otrzymany stosunek rozszczepień dla każdej cechy odpowiada krzyżowaniu heterozygoty z homozygotą recesywną. Jeżeli obie cechy dziedziczyłyby się niezależnie wówczas otrzymane stosunki rozszczepień powinny być 1:1:1:1. Ponieważ odbiegają one od tego stosunku geny odpowiedzialne za barwę oczu i płatkę uszu są sprzężone. W tej sytuacji klasy najliczniejsze odpowiadają genotypom rodzicielskim i odzwierciedlają układ genów na chromosomach oraz gamety rodzicielskie.

- ▶ Siostry bliźniaczki o niebieskich oczach i przyrośniętych płatkach uszu: be/be.
- ▶ Mężczyźni bliźniacy o oczach ciemnych i wolnych płatkach uszu musieli być heterozygotami w obu genach ze względu na otrzymane rozszczepienie w potomstwie. Układ na chromosomach mógł być Be/bE lub BE/be. Ponieważ w potomstwie najliczniejsze klasy to dzieci o dwóch cechach recesywnych (oczy niebieskie, przyrośnięte płatki) oraz dwóch dominujących (oczy ciemne, wolne płatki), genotyp bliźniaków musiał być: BE/be.

C. Prawdopodobieństwo urodzenia się dziewczynki o oczach ciemnych i przyrośniętych płatkach uszu w potomstwie dziecka o oczach ciemnych z wolnych płatkach uszu z partnerem będącym homozygotą recesywną względem obu cech. Proszę przedstawić obliczenia. (3 punkty).

- Rozpatrujemy potomstwo dziecka o oczach ciemnych i wolnych płatkach uszu. Dziecko takie powstało w wyniku połączenia się gamety mężczyzny BE oraz gamety matki be, zatem genotyp był: BE/be.
- Dziecko o genotypie BE/be łączy się z partnerem będącym homozygotą recesywną, czyli be/be.
- W potomstwie tej pary poszukujemy dziecka o oczach ciemnych i przyrośniętych płatkach uszu, czyli B_ee. Ponieważ partner był homozygotą be/be, poszukiwane dziecko mogło powstać tylko z połączenia gamety Be partnera o genotypie BE/be.
- Gameta Be powstaje w wyniku rekombinacji. Aby ustalić jej częstość należy obliczyć odległość genetyczną:
 - ▶ Osobniki zrekombinowane: 2
 - ▶ Osobniki wszystkie: 12
 - ▶ Odległość genetyczna $2/12 = 1/6 = 0,17 = 17\%$.
 - ▶ Oznacza to, że gameta Be powstanie z częstością $0,17:2 = 0,085$
 - ▶ Ponieważ partner był homozygotą recesywną i wytwarzał tylko jeden typ gamet, częstość dziecka o oczach ciemnych i przyrośniętych płatkach uszu wynosi $0,085 = 8,5\%$.
- W zadaniu jest pytanie o dziewczynkę. Prawdopodobieństwo pojawienia się dziewczynki to $1/2$, czyli prawdopodobieństwo dziewczynki o oczach ciemnych i przyrośniętych płatkach uszu wynosi $8,5\%:2 = 4,25\%$.