

Ćwiczenie 02

Dziedziczenie cech uwarunkowanych jednogenowo. Analiza rozszczepień. Dziedziczenie grup krwi. Projektowanie doświadczeń, χ^2

Kornelia Polok

1. Dziedziczenie cech uwarunkowanych jednogenowo. Analiza rozszczepień.

1.1. Definicje



1.1.1. Podstawowe terminy

- **Fenotyp:** zestaw ujawnionych cech danego osobnika.
- **Genotyp:** zestaw genów danego osobnika.
- **Locus:** miejsce genu w chromosomie.
- **Allel:** alternatywna forma genów; u osobników diploidalnych zawsze występują dwa allele w locus; w populacji alleli może być wiele.
- **Homozygota:** osobnik mający dwa takie same allele w locus.
- **Heterozygota:** osobnik mający dwa różne allele w locus.
- **Dominacja:** w heterozygocie ujawnia się fenotypowo tylko jeden z alleli; allel ujawniający się w heterozygocie to allel dominujący, allel nieprzejawiający się fenotypowo w heterozygocie to allel recesywny, jego efekt można obserwować tylko u homozygot.
- **Linia czysta:** populacja składająca się z homozygot względem danej cechy, ang. pure line, true breeds. U roślin linie homozygotyczne względem wielu cech otrzymuje się między innymi w wyniku hodowli wsobnej, krzyżowania oddalonego oraz androgenezy.

1.1.2. Pokolenia

- **P:** pokolenie rodzicielskie, ang. parental generation, łac. parentes.
- **F₁:** pierwsze pokolenie mieszańców, ang. first filial generation, łac. Filus; powstaje w wyniku krzyżowania linii czystych. F₁ jest fenotypowo jednorodne i składa się z heterozygot.
- **F₂:** drugie pokolenie mieszańców, ang. secondo filial generation; powstaje w wyniku samozapłodnienia lub zapłodnienia krzyżowego osobników F₁.

1.1.3. I Prawo Mendla

I prawo Mendla mówi, że allele jednego genu wykluczają się wzajemnie w gametach.

Oznacza to, że u osobników diploidalnych do gamet przechodzi tylko jeden allel. A więc jeżeli osobnik ma genotyp Aa to do gamet przechodzą:

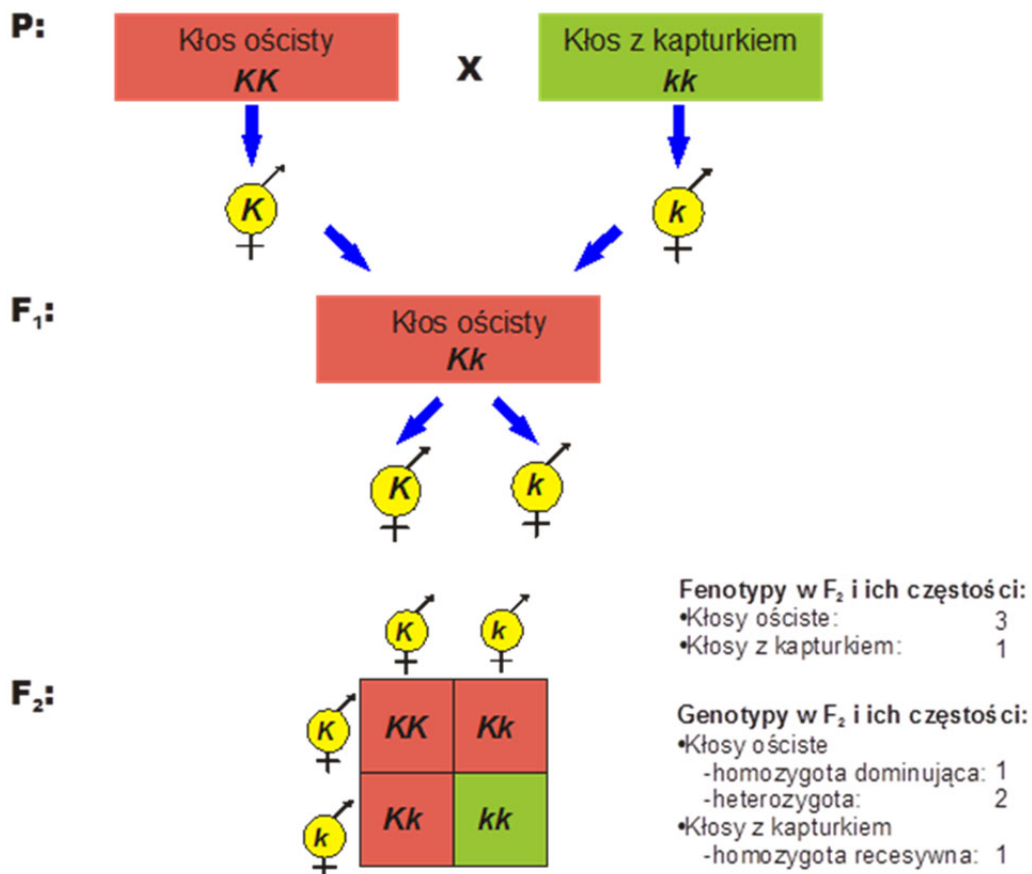
- A do jednej gamety,
- a do drugiej gamety.
- Heterozygota Aa wytwarza dwa typy gamet, przy czym każda występują z taką samą częstością wynoszącą 50% dla każdej gamety.

1.2. Przykłady

Przykład 1.2.1.

Podaj rozszczepienie, jakie wystąpi w pokoleniach F₁ i F₂ uzyskanych ze skrzyżowania linii czystych jęczmienia o kłosie ościstym z jęczmieniem o kłosie kapturkowym, jeżeli ościstość kłosa jest uwarunkowana allelem dominującym, K, a kapturek allelem recesywnym, k.

- Linia czysta o kłosie kapturkowym (cecha recesywna) musi być homozygotą recesywną. Jej genotyp to kk.
- Osobnik o cesze dominującej, ościsty może być heterozygotą o genotypie Kk lub homozygotą dominującą o genotypie KK. Ponieważ jest to linia czysta, a więc homozygotyczna, to jej genotyp jest KK.
- W pokoleniu F₁ nie obserwowano rozszczepienia. U wszystkich roślin wystąpiły kłosa ościste i były one heterozygotami. W pokoleniu F₂ wystąpiło rozszczepienie na rośliny o kłosach ościstych (cecha dominująca) i kłosach przekształconych w kapturek w stosunku 3:1. Wśród roślin z kłosami ościstymi wystąpiły homozygoty dominujące i heterozygoty w stosunku 2:1. Rośliny z kłosem przekształconym w kapturek były homozygotami recesywnymi.



1.3. Zadania



- 1.3.1. W pokoleniu F₂ 75% stanowią rośliny o kwiatach barwnych i 25% rośliny o kwiatach białych. Jeżeli spośród roślin o kwiatach barwnych wybrać losowo jedną i samozapylić, to jakie jest prawdopodobieństwo, że w jej potomstwie będzie się obserwowało segregację. (2 punkty)
- 1.3.2. Barwa oczu u ludzi zależy od jednego genu. Dominujący allel B jest odpowiedzialny za barwę ciemną, a recesywny allel b za barwę jasną. Jakie jest prawdopodobieństwo urodzenia jasnookiego dziecka w małżeństwie kobiety o oczach ciemnych z mężczyzną o oczach jasnych, jeżeli matka kobiety miała oczy jasne? (2 punkty)
- 1.3.3. Czy jest prawdziwe twierdzenie: jeżeli w małżeństwie heterozygotycznych ciemnookich rodziców urodziło się troje dzieci ciemnookich, to czwarte dziecko będzie miało oczy jasne? Uzasadnij odpowiedź. (2 punkty)
- 1.3.4. Fenylketonuria jest metaboliczną chorobą człowieka wywołaną allelem recesywnym. Jeżeli heterozygotyczna kobieta będzie miała pięcioro dzieci z heterozygotycznym mężczyzną to:
- A. Jaka jest szansa, że wszystkie dzieci będą zdrowe?
- B. Jaka jest szansa, że czwórka dzieci będzie zdrowa a jedno będzie chore? (2 punkty)

Czas wykonania: 15 minut

2. Dziedziczenie grup krwi u człowieka

2.1. Definicje



- **Kodominacja:** w heterozygotcie ujawniają się fenotypy determinowane przez oba allele danego genu. Każdy z alleli ulega ekspresji. Kodominujące są allele warunkujące grupy krwi A i B u człowieka. Kodominacja najczęściej dotyczy cech biochemicznych, izoenzymów, cech molekularnych.
- **Izoenzymy:** formy danego enzymu pełniące taką samą funkcję, ale różniące się niektórymi właściwościami fizycznymi, w tym ruchliwością w polu elektrycznym. Izoenzymy o różnej ruchliwości często uwarunkowane są różnymi allelami jednego genu. Różnice w ruchliwości można wykryć przy pomocy elektroforezy enzymów. Metoda ta polega na nałożeniu ekstraktu białkowego na stały nośnik (skrobia, agaroz, poliakrylamid). Następnie żel podłącza się do prądu o określonym napięciu. W powstałym polu elektrycznym enzymy migrują, przy czym kierunek i szybkość migracji zależą od znaku i wielkości ładunku elektrycznego. Po odłączeniu napięcia, enzymy zostają unieruchomione w określonym miejscu nośnika i można je ujawnić za pomocą specyficznej reakcji histochemicznej. W efekcie otrzymuje się obraz barwnych prążków w określonej odległości od miejsca naniesienia ekstraktu.
- **Allele wielokrotne:** w populacji występuje 3 lub więcej alleli danego genu. Pomiedzy allelami wielokrotnymi występują stosunki dominacji i recesywności, kodominacji. Allele wielokrotne mogą tworzyć szereg alleli wielokrotnych na podstawie kolejności dominowania.
- **Polimorfizm:** w populacji występuje 2 lub więcej alleli danego genu. Allele wielokrotne są przejawem polimorfizmu.

2.2. Przykłady

Przykład 2.2.1.

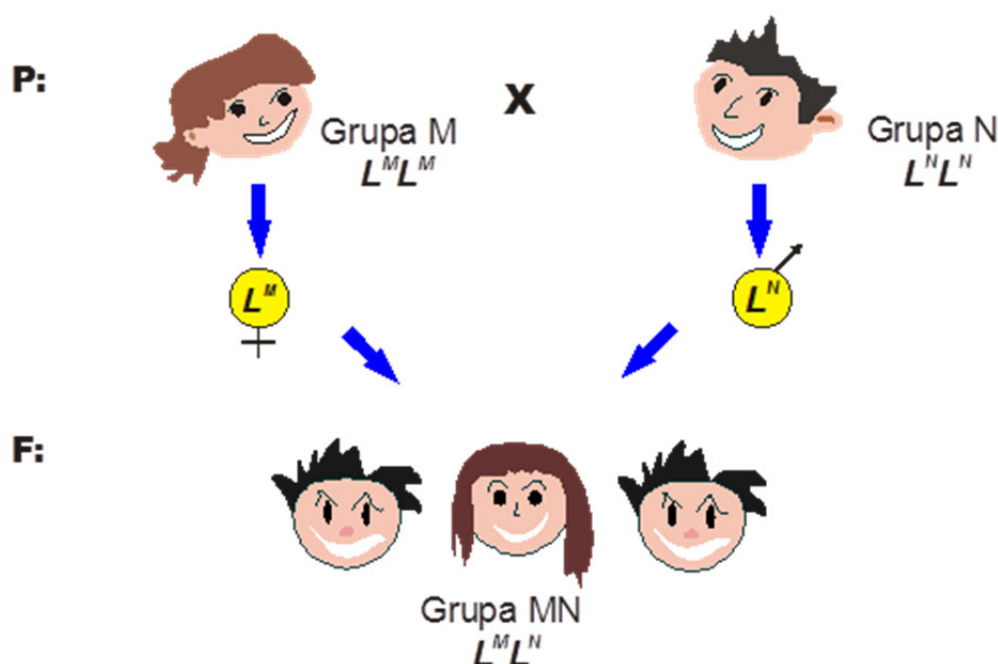
U człowieka zdolność do wytwarzania antygenów krwinkowych M i N jest warunkowana przez gen L z dwoma allelami. Jeden z alleli genu L warunkuje produkcję antygeny typu M, a drugi jest odpowiedzialny za wytworzenie antygeny typu N. W małżeństwie kobiety z grupą krwi M oraz mężczyzny z grupą krwi N urodziło się troje dzieci. W krwi wszystkich dzieci stwierdzono występowanie zarówno antygeny M jak i N, a ich grupę krwi oznaczono jako MN. Wyjaśnij genetyczne uwarunkowania produkcji antygenów M i N oraz podaj genotypy rodziców i dzieci.

Rozwiązanie

- Dzieci otrzymały po jednym allelu od każdego z rodziców. Matka przekazała allel L^M odpowiedzialny za produkcję antygeny M. Ojciec przekazał allel L^N odpowiedzialny za produkcję antygeny N.
- Wszystkie dzieci są heterozygotami o genotypie $L^M L^N$. U dzieci produkowany jest zarówno antygen M jak i N, co prowadzi do powstania grupy MN. Oba allele dają efekt fenotypowy „niezależnie od siebie”. Oba allele przejawiają się w heterozygotcie. Żaden z nich nie jest dominujący.

- Ten typ działania alleli jednego genu nosi nazwę kodominacji. Od niepełnej dominacji różni się tym, iż w przypadku kodominacji widoczne są efekty działania obu alleli, natomiast niepełna dominacja charakteryzuje się fenotypem pośrednim, który powstaje na skutek osłabienia efektu genotypowego allele dominującego.

W przypadku kodominacji, żaden z alleli nie jest dominujący, ani nawet częściowo dominujący. Dlatego nie zapisuje się ich dużymi i małymi literami. Zapisuje się je jako indeksy górne przy literze symbolizującej gen. Kodominacja najczęściej występuje na poziomie molekularnym. Obserwuje się ją między innymi w odniesieniu do grup krwi AB, izoenzymów, niektórych markerów DNA (SSR, RFLP).



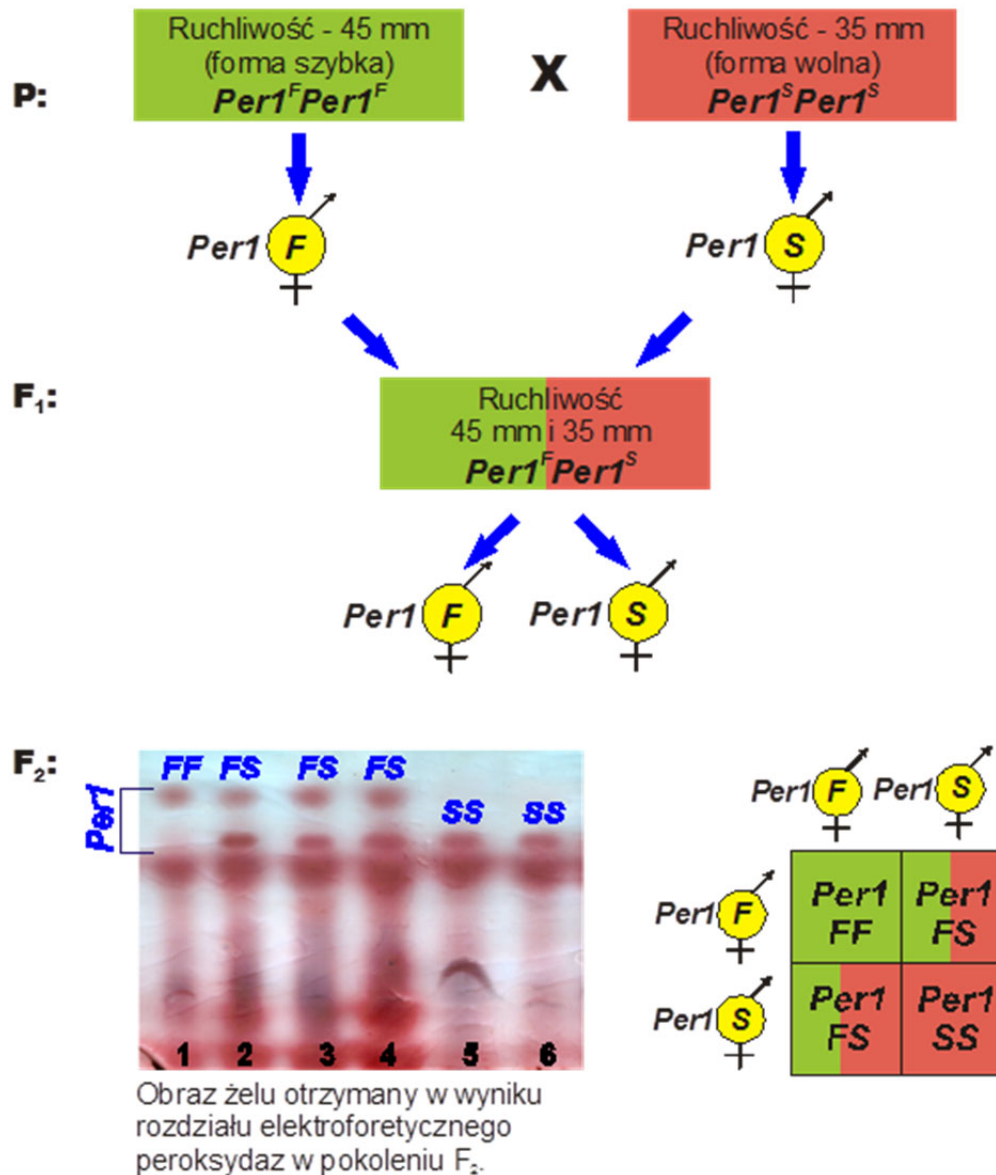
Przykład 2.2.2.

Izoenzymy są to formy danego enzymu pełniące taką samą funkcję, ale różniące się niektórymi właściwościami fizycznymi, w tym ruchliwością w polu elektrycznym. Izoenzymy o różnej ruchliwości często uwarunkowane są różnymi allelami jednego genu. Różnice w ruchliwości można wykryć przy pomocy elektroforezy enzymów. Metoda ta polega na nałożeniu ekstraktu białkowego na stały nośnik (skrobia, agarozą, poliakrylamid). Następnie żel podłącza się do prądu o określonym napięciu. W powstałym polu elektrycznym enzymy migrują, przy czym kierunek i szybkość migracji zależą od znaku i wielkości ładunku elektrycznego. Po odłączeniu napięcia, enzymy zostają unieruchomione w określonym miejscu nośnika i można je ujawnić za pomocą specyficznej reakcji histochemicznej. W efekcie otrzymuje się obraz barwnych prążków w określonej odległości od miejsca naniesienia ekstraktu.

Gen *Per1* u *Lolium perenne* jest odpowiedzialny za wytwarzanie peroksydazy. W locus tym występuje allel *Per1^F* kodujący enzym (allozyme) o ruchliwości 45 mm oraz allel *Per1^S* kodujący enzym migrujący wolniej, o ruchliwości 35 mm. Po skrzyżowaniu rośliny homozygotycznej z szybko migrującą peroksydazą (45 mm) z rośliną homozygotyczną, u której wystąpił wariant

wolnomigrujący (35 mm) w F_2 pojawiły się dwa rodzaje fenotypów jednoprzędkowych oraz fenotypy dwuprzędkowe (patrz rysunek: obraz rozdziału elektroforetycznego w pokoleniu F_2).

- Wyjaśnij skąd wzięły się fenotypy dwuprzędkowe?
- Jakie były genotypy roślin obserwowanych w F_2 oraz jaki był genotyp i fenotyp pokolenia F_1 ?
- W jakich proporcjach wystąpiły poszczególne fenotypy w pokoleniu F_2 ?



- Allel $Per1^F$ jest odpowiedzialny za wytworzenie cząsteczki enzymu o ruchliwości 45 mm. Homozygoty pod względem allele $Per1^F$ wytwarzają jedynie formy peroksydazy o ruchliwości 45 mm, co jest widoczne na żelu jako jeden, szybko migrujący prążek, tzn. widoczny jako prążek położony dalej od początku żelu (ścieżka na żelu nr 1).
- Podobnie, homozygoty względem allele $Per1^S$ wytwarzają jedynie cząsteczki peroksydazy o ruchliwości 35 mm, co jest widoczne na żelu jako wolno migrujący prążek, tzn. widoczny jako prążek położony bliżej od początku żelu (ścieżki nr 5 i 6 na żelu).
- W wyniku skrzyżowania dwóch homozygot rodzicielskich o genotypach $Per1^F Per1^F$ i $Per1^S Per1^S$ otrzymujemy heterozygotyczne pokolenie F_1 o genotypie $Per1^F Per1^S$. U

heterozygot allel **Per1^F** jest odpowiedzialny za wytwarzanie szybko migrujących cząsteczek peroksydazy (45 mm), zaś allel **Per1^S** warunkuje wytwarzanie cząsteczek wolno migrujących (35 mm). Heterozygoty będą wytwarzały dwa typy cząsteczek peroksydazy, które będą widoczne na żelu jako dwa prążki (ścieżki nr 2-4 na żelu). Fenotypy dwuprążkowe w F₂ pochodzą od heterozygot F₂ i podobnie jak dwuprążkowe fenotypy F₁ są efektem zjawiska kodominacji.

- Obserwowane w pokoleniu F₂ fenotypy jednoprążkowe odpowiadają genotypom **Per1^FPer1^F** oraz **Per1^SPer1^S**, a fenotypy dwuprążkowe, genotypowi **Per1^FPer1^S**.
- Stosunki rozszczepień w F₂ będą zgodne z częstościami genotypów zakładanych przez Pierwsze Prawo Mendla i będą wynosiły 1:2:1, z podziałem na rośliny **Per1^FPer1^F** (jeden prążek o ruchliwości 45 mm), **Per1^FPer1^S** (dwa prążki o ruchliwości 45 mm i 35 mm) i **Per1^SPer1^S** (jeden prążek o ruchliwości 35 mm).

2.3. Zadania



2.3.1. Grupy krwi ABO u człowieka uwarunkowane są serią alleli wielokrotnych, które warunkują wytwarzanie antygenów krwinkowych. Potomstwo homozygot o grupie krwi A z osobami o grupie krwi 0 zawsze ma grupę krwi A. Podobnie, potomstwo homozygot o grupie B z osobami o grupie 0 zawsze ma grupę B. Potomstwo homozygot, z których jedna ma grupę krwi A a druga B zawsze ma grupę krwi AB.

A. Ustal dziedziczenie grup krwi u człowieka. (2 punkty)

B. Dobierz tak genotypy rodziców dwójki dzieci, aby każda osoba w czteroosobowej rodzinie mogła potencjalnie mieć inną grupę krwi. Podaj dwie możliwości. (2 punkty)

2.3.2. Pewna kobieta o grupie krwi AB urodziła dziecko o grupie krwi A. Który z wymienionych mężczyzn był ojcem dziecka – a) o grupie krwi A, b) o grupie B? (2 punkty)

2.3.3. Jeżeli każdy z rodziców ma grupę krwi AB, to jakich genotypów i z jakim prawdopodobieństwem możemy spodziewać się wśród ich dzieci? (2 punkty)

Czas wykonania: 15 minut

3. Projektowanie doświadczeń. Wykorzystanie testu χ^2 do sprawdzania zgodności otrzymanych rozszczepień z rozkładem teoretycznym

3.1. Zastosowanie testu



- Test χ^2 (χ^2) jest prostą metodą pozwalającą na sprawdzenie czy hipoteza dotycząca dziedziczenia cechy jest zgodna z danymi eksperymentalnymi. Test χ^2 pozwala porównać dane eksperymentalne z przewidywanymi wartościami i ocenić czy odchylenia od wartości przewidywanych są istotne statystycznie.
- Przyjmuje się, że 5% odchylenia od przewidywanych wartości są wynikiem czynników losowych i tym samym nie są istotne statystycznie. Dlatego wartości testu χ^2 przyjmuje się dla poziomu 0.05.
- Aby ocenić czy dany poziom zmian jest istotny należy obliczyć wartość χ^2 dla danych doświadczalnych przy określonej hipotezie genetycznej. Obliczoną wartość należy porównać z wartością χ^2 dla prawdopodobieństwa $P = 0.05$ przy określonej liczbie stopni swobody, v . W uproszczeniu, stopnie swobody to liczba zdarzeń niezależnych we wzorze. W przypadku χ^2 liczba zdarzeń niezależnych, a więc stopni swobody jest równa liczbie przewidywanych klas fenotypowych pomniejszona o 1.
- Wzór na test χ^2

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}, \text{ gdzie:}$$

- O_i to liczebność obserwowana;
- E_i to liczebność przewidywana.
- $E_i = p \times n$ (p : prawdopodobieństwo wystąpienia danej klasy, n : liczebność całej próby).

3.2. Ćwiczenia

3.2.1. Na podstawie tabeli przedstawiającej liczebności klas fenotypowych otrzymanych w doświadczeniu nad grochem przez Mendla (wykład 3), oblicz wartości testu χ^2 dla badanych przez niego cech i zakładanego przez niego sposobu dziedziczenia 3:1.

Liczba stopni swobody dla rozkładu teoretycznego 3: 1 wynosi 1.

Wartość testu χ^2 dla $P = 0.05$ i $v = 1$ wynosi 3.841

Klasa fenotypowa	Prawdopodobieństwo	Liczebność obserwowana	Liczebność oczekiwana	Chi ²
Czerwone kwiaty	0.75	310	300	0,33
Białe	0.25	90	100	1,0
Suma		400	400	1,33

Otrzymana wartość testu χ^2 (1,33) jest mniejsza od wartości dla $P = 0.05$, a więc możemy przyjąć, że barwa kwiatu dziedziczy się zgodnie z I prawem Mendla.