



Massachusetts
Institute of
Technology



2

ГЕНЕТИКА

лекция

проф. Крис Кайзер

—

Комплементарный тест и функция гена

Данная лекция знакомит с экспериментами над дрожжами, а также дает функциональное определение термина «Ген».

Prof. Chris Kaiser
GENETICS

www.kursomir.ru

vk.com/kursomir

fb.com/groups/kursomir

КУРСОМИР

ЛУЧШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ ОНЛАЙН

Над лекцией работали:

Переводчики:

Игорь Попович

Редакторы:

Алексей Скобанев
Татьяна Харченко

Дизайнеры:

Роман Семёнов

Верстальщики:

Никита Кряжев

Менеджер проекта:

Артём Зверковский

*Оснaвaтeль и
руководитель проекта:*

Ильмир Саитов

КУРСОМИР

Курсомир — это широкомасштабный волонтерский образовательный проект. Мы — сообщество людей, переводящих лекции MIT на русский язык. Такие переводы уже сделаны на многие другие языки: китайский, турецкий, португальский, испанский, корейский и фарси. Теперь настала очередь русского.

Своей целью мы видим снижение барьера входа русскоязычных людей в науку и образовательные курсы на других языках.

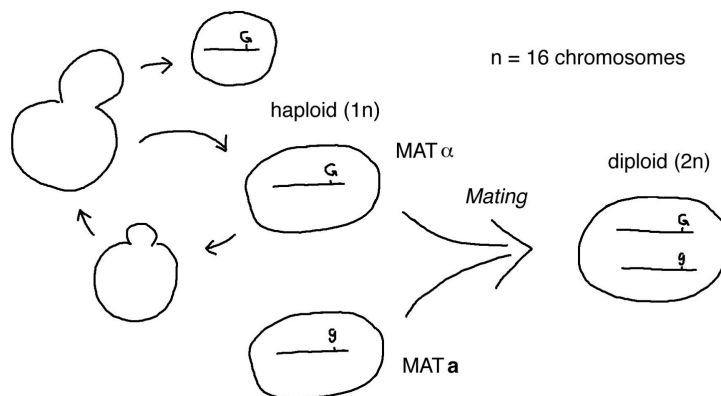
Комплементарный тест и определение функции гена

В этой лекции мы рассмотрим эксперименты над дрожжами (являются модельным объектом для генетических исследований). *Saccharomyces cerevisiae* или дрожжи — это одноклеточные грибы, используемые для приготовления хлеба и пива.

У *S. cerevisiae* в жизненном цикле присутствует диплоидная и гаплоидная стадии. У гаплоидных форм происходит детерминация типов спаривания.

Всего возможны два типа: тип α ($\text{MAT}\alpha$) и тип a ($\text{MAT}a$).

Когда гаплоидные клетки разных половых типов спариваются, образуется диплоидная клетка.

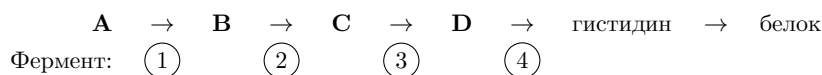


Гаплоидные и диплоидные организмы являются изоморфами. Соответственно, определенные мутации вызовут одинаковые изменения в них. Это позволяет увидеть, какой эффект оказывает нахождение двух разных аллелей в одной (диплоидной) клетке.

Все что нужно для роста дрожжей — это соли, минералы и глюкоза (минимальная среда). Из этих соединений, клетки дрожжей могут синтезировать все молекулы, включая аминокислоты и нуклеотиды, которые нужны для построения клетки. Синтез сложных молекул требует прохождения реакций с участием ферментов.

Комбинация этих реакций составляет *биохимический путь*.

Рассмотрим путь синтеза одной из аминокислот — гистидина.



Каждое промежуточное соединение в этой реакции превращается в следующее с помощью фермента. Например, если произошла мутация в гене, который отвечает за третий фермент, тогда промежуточное соединение С не сможет превратиться в D, и клетка не сможет произвести гистидин. Такой мутант сможет расти, только если гистидин представлен в среде.

Такая мутация называется ауксотрофической и часто используется для генетического анализа.

	Рост на минимальной среде	Рост на минимальной среде + гистидин
<i>His</i> ⁺ (дикий тип)	+	+
<i>His</i> [−]	−	+

Генотип	Фенотип	Спарен с:	Диплоидный генотип	Диплоидный фенотип
<i>MATaHis3</i> [−]	<i>His</i> [−]	<i>MATαHis3</i> [−]	<i>His3</i> [−] / <i>His3</i> [−]	<i>His</i> [−]
<i>MATaHis3</i> [−]	<i>His</i> [−]	<i>MATαHis3</i> ⁺	<i>His3</i> [−] / <i>His3</i> ⁺	<i>His</i> ⁺

Основываясь на *His*⁺ фенотипе гетерозиготы *His3*[−]/*His3*⁺, мы можем сказать, что аллель *His3*[−] рецессивна по отношению к дикому типу.

Давайте рассмотрим разные виды мутаций, дающих сопротивление к меди. В данном случае, при экспрессии гена *Cup1*.

Генотип	Фенотип	Спарен с:	Диплоидный генотип	Диплоидный фенотип
<i>MATaCup1</i> ⁺	устойчивость к меди	<i>MATαCup1</i> ⁺	<i>Cup1</i> ⁺ / <i>Cup1</i> ⁺	устойчивость к меди

Доминантная аллель: экспрессия признака в гетерозиготе *Cup1*⁺ доминантна по отношению к дикому типу (*Cup1*⁺).

Термины «доминантность» и «рецессивность» — это упрощенные выражения для результатов конкретных экспериментов. Если говорится, что аллель доминантная, то это означает, что был создан гетерозиготный диплоидный организм, и обнаруживалась экспрессия доминантного признака у этого организма.

Рассмотрим пример. Аллель серповидноклеточного гемоглобина у людей обозначается как *Hbs*. Гетерозиготные виды (*Hbs/Hba*) более устойчивы к малярии, поэтому *Hbs* — это

Иногда аллель будет иметь более чем одно фенотипическое проявление и может быть рецессивной для одного и доминантной для другого организма. В таких случаях, фенотип должен быть указан, когда делается утверждение о доминантности или рецессивности аллели.

доминантная аллель признака устойчивости к малярии. С другой стороны, такие гетерозиготы не подавляют серповидноклеточную анемию, а гомозиготные виды (Hbs/Hbs) подавляют ее. Поэтому Hbs рецессивна для признака анемии.

Так мы выяснили, является ли аллель доминантной или рецессивной, и можем сделать вывод о ее природе.

Рецессивные аллели обычно вызывают потерю чего-то, что присутствовало в диком типе.

Доминантные аллели обычно вызывают повышенную активность, либо новое свойство. Например, оказывается, что аллель *Supr* содержит больше копий гена белка, который присоединяет медь.

На прошлой лекции мы определили ген структурно, как часть молекулы ДНК, необходимую для кодировки определенного белка.

Сейчас мы можем определить ген, основываясь на его функции.

Используя фенотипическую разницу между диким типом и рецессивной аллелью, мы можем использовать *комплементарный тест*, чтобы определить, находятся ли две разные рецессивные аллели на одном гене.

Предположим, вы изолируете новую рецессивную мутацию, приводящую к невозможности синтеза гистидина, назовем ее $HisX^-$. В принципе, эта мутация может быть и на других генах (например, $His3$), которые контролируют биосинтетический путь гистидина.

Для того чтобы отличить их друг от друга, нам нужно понять, являются ли $HisX$ и $His3$ одинаковыми.

Для этого нам нужен диплоид несущий обе аллели: $His3^-$ и $HisX^-$. Простой путь получить диплоида — это скрестить $MAT\alpha HisX^-$ штамм с $MAT\alpha His3^-$ штампом.

Вероятность	Генотип диплоида	Фенотип диплоида	Комплементация
$HisX = His3$	$His3^-/His3^-$	His^-	Нет
$HisX \neq His3$	$His3^-/His3^-, HisX^-/HisX^-$	His^+	Да

Если две мутации не комплементарны, мы делаем вывод, что они на одном гене. И наоборот, если они комплементарны, мы можем сделать вывод, что они на разных генах.

Этот тест работает только для рецессивных мутаций. Подумайте, какой итог мог бы быть, если $HisX$ была бы доминантной.

Комплементарный тест может быть объяснен следующим образом.

Если мы имеем аллель с видимым фенотипическим проявлением, и она может быть обеспечена генотипом дикого типа (т.е. аллель рецессивна) — мы сможем проверить, будет ли

проявленная функция связана с рецессивной аллелью другого мутантного генотипа. Если нет, то аллели должны быть дефектными на одном гене. Особенность этого теста в том, что признак может служить как определитель функции гена, даже без знания того, как ген экспрессируется на молекулярном уровне.

Терминологический словарь

<i>Ген</i>	основная единица наследственности, которую можно охарактеризовать тремя способами: <ul style="list-style-type: none">а) ген, в молекулярном значении, обозначает сегмент ДНК несущий информацию, нужную для экспрессии белка или молекулы РНК, включая промотор и кодирующую последовательность.б) определение гена по функции: группа рецессивных мутаций, которые не комплементарны друг к другу.в) определение гена по позиции: однолокусная сегрегация при скрещивании двух видов с разными аллелями. Например, 1:3 фенотипическое соотношение в F_2 поколении при скрещивании между диплоидными организмами или 2:2 в тетрадном анализе у дрожжей.
<i>Аллели</i>	различные формы одного и того же гена.
<i>Локус</i>	место на хромосоме, где находится ген. Обычно определяется рекомбинационным картированием относительно соседнего локуса.
<i>Генотип</i>	аллельный состав индивидуума, обычно с акцентом на ген или гены, участвующие в исследовании.
<i>Фенотип</i>	все признаки или характеристики организма, обычно с акцентом на признаки контролируемые геном или генами в исследовании.
<i>Дикий тип</i>	стандартный генотип, который используется как ссылка в экспериментах по разведению. Заметьте, в скрещиваниях между людьми нет стандартного генотипа, и поэтому термин «дикий тип» не употребляется.
<i>Гаплоид</i>	клетка или организм с одинарным набором хромосом ($1n$).
<i>Диплоид</i>	клетка или организм с двойным наборами хромосом ($2n$).
<i>Гомозиготный</i>	две одинаковые аллели у диплоида.
<i>Гетерозиготный</i>	две разные аллели у диплоида.
<i>Доминантная аллель</i>	аллель, которая проявляется в фенотипе.
<i>Рецессивная аллель</i>	аллель, которая не проявляется в фенотипе.
<i>Неполное доминирование</i>	случай, в котором гетерозигота экспрессирует промежуточный фенотип между соответствующими гомозиготными фенотипами.
<i>Комплементарный тест</i>	тест на определение функции гена, где два генотипа с рецессивными аллелями комбинируются путем скрещивания, чтобы проверить, может ли генотип одного родителя предоставить потомку признак, отсутствующий у другого родителя.
<i>F1</i>	первое поколение, произведенное скрещиванием двух линий.
<i>F2</i>	первое поколение, произведенное скрещиванием двух линий F_1 .

<i>Неполная пенетрантность</i>	случаи, когда некоторые аллели не всегда экспрессируются из-за других природных и генетических воздействий.
<i>Чистая линия</i>	относится к линии индивидуумов, которые при скрещивании всегда производят индивидуумов с одинаковым фенотипом. Это почти всегда значит, что виды гомозиготны.