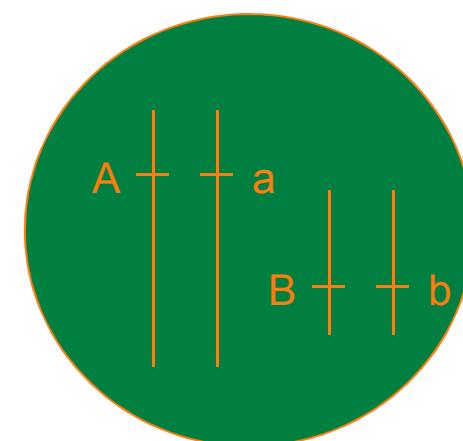
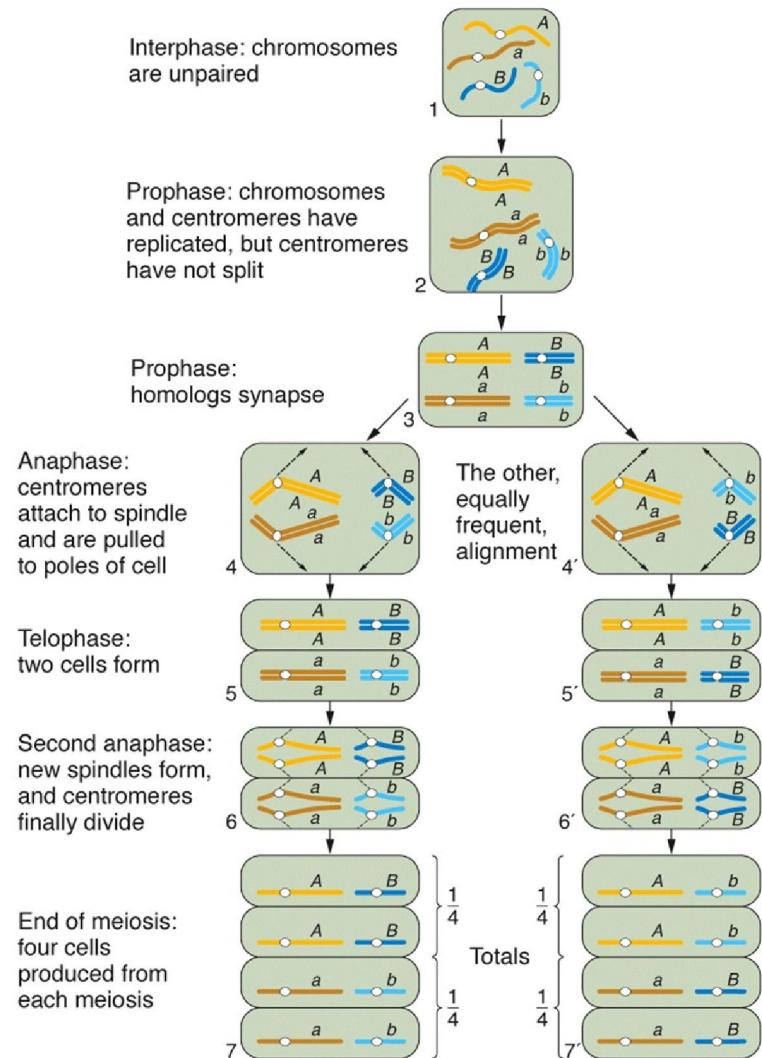


Väzba génov, rekombinácia a genetická analýza



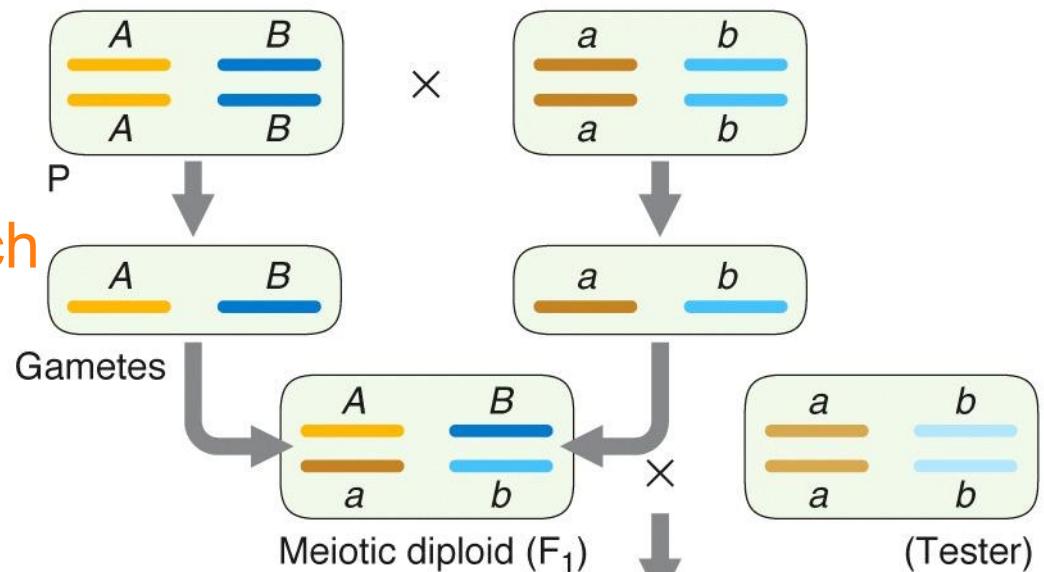
- ▶ Väzba génov, rekombinácia, crossing over
- ▶ Mapovanie chromozómov
- ▶ Cytogenetické mapovanie
- ▶ Tetrádová analýza
- ▶ Väzbová analýza u ľudí
- ▶ Rekombinácie a evolúcia

Mendelistická dedičnosť

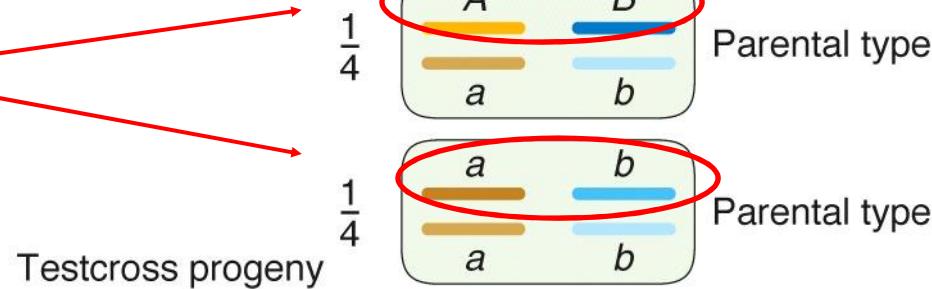


Ak sú dva gény na rôznych chromozónoch

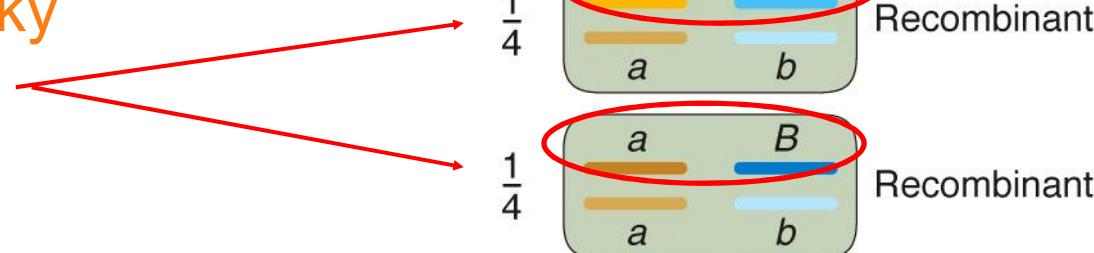
...



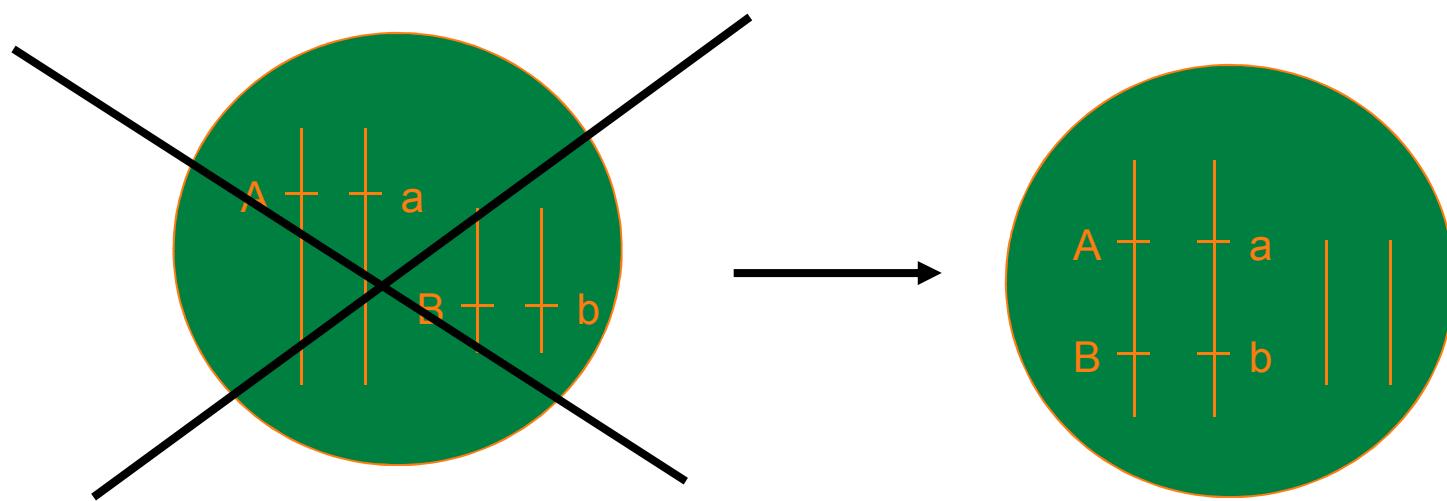
Polovica potomstva sa podobá na jedného z rodičov...

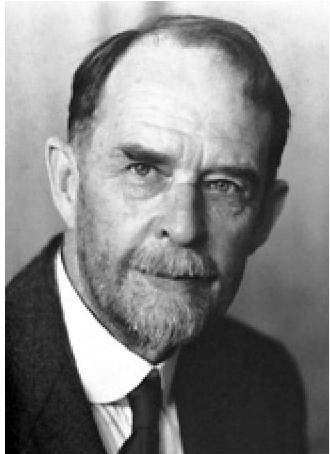


A polovica má znaky oboch rodičov...



Väzba génov





História



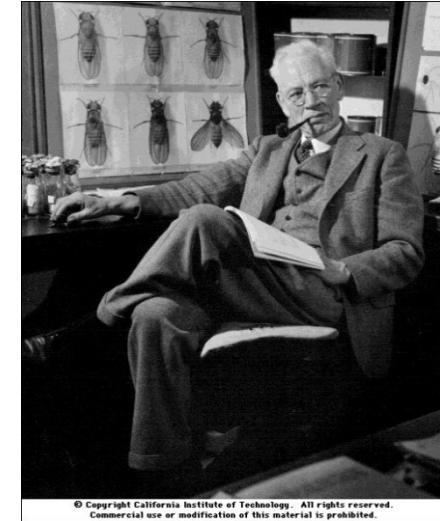
- ▶ T.H.Morgan – štúdium dedičnosti znakov u *D. melanogaster*

**The Nobel Prize in Physiology or Medicine
1933**

*"for his discoveries concerning the role played
by the chromosome in heredity".*



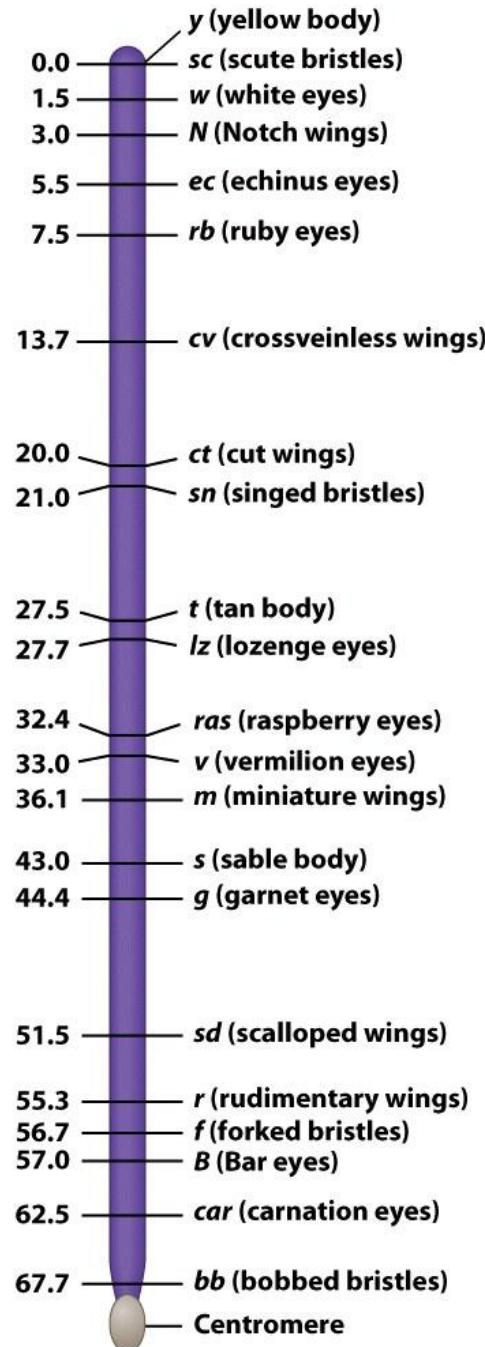
História



- ▶ Alfred H. Sturtevant – Morganov študent, vymyslel postup mapovania génov, zstrojil prvu chromozómovú mapu
- ▶ Gény na chromozóme ako „korálky na šnúrke“

Chromozómová mapa

- ▶ gény lokalizované na tom istom chromozóme putujú v meióze spoločne
- ▶ medzi homologickými chromozómami však môže dochádzať k rekombinácii procesom crossing over.



Objav genetickej väzby – prvý dôkaz



William Bateson
(1861-1926)

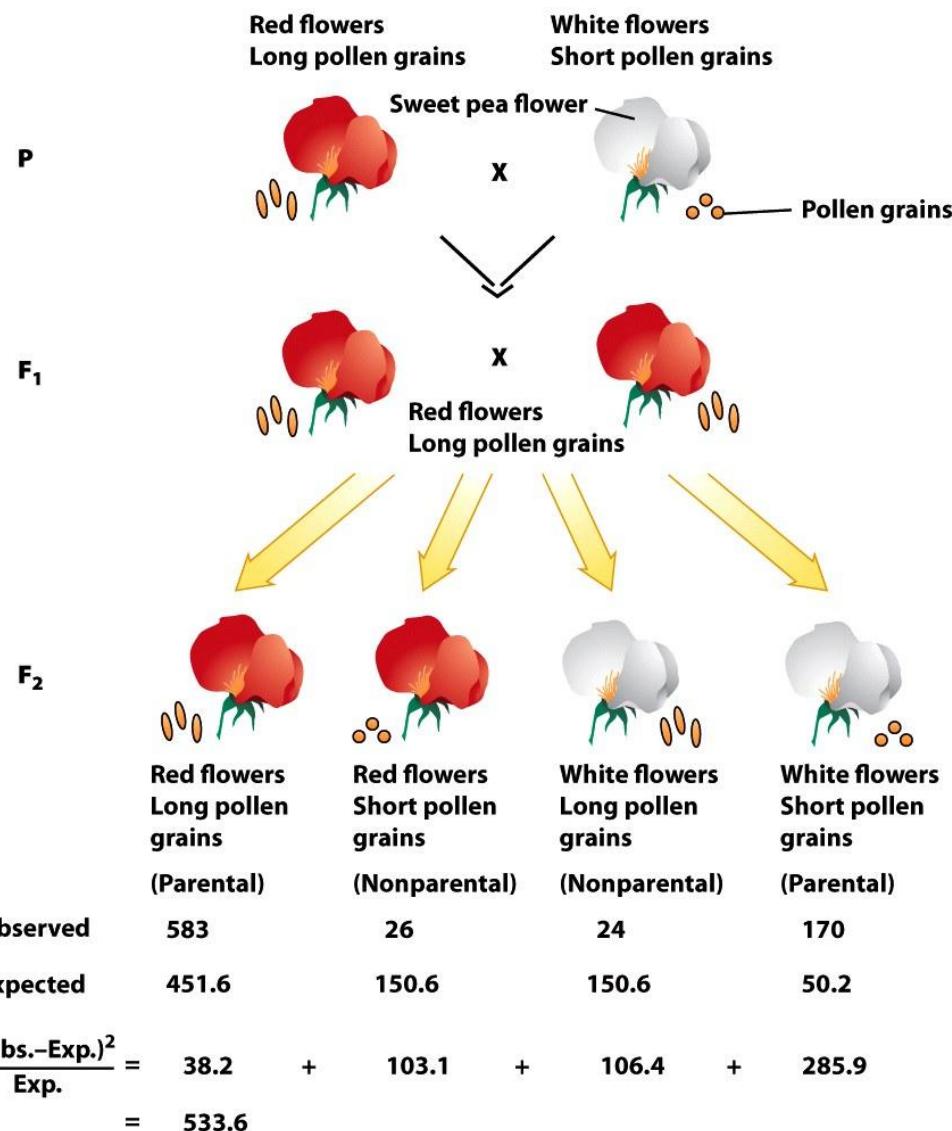


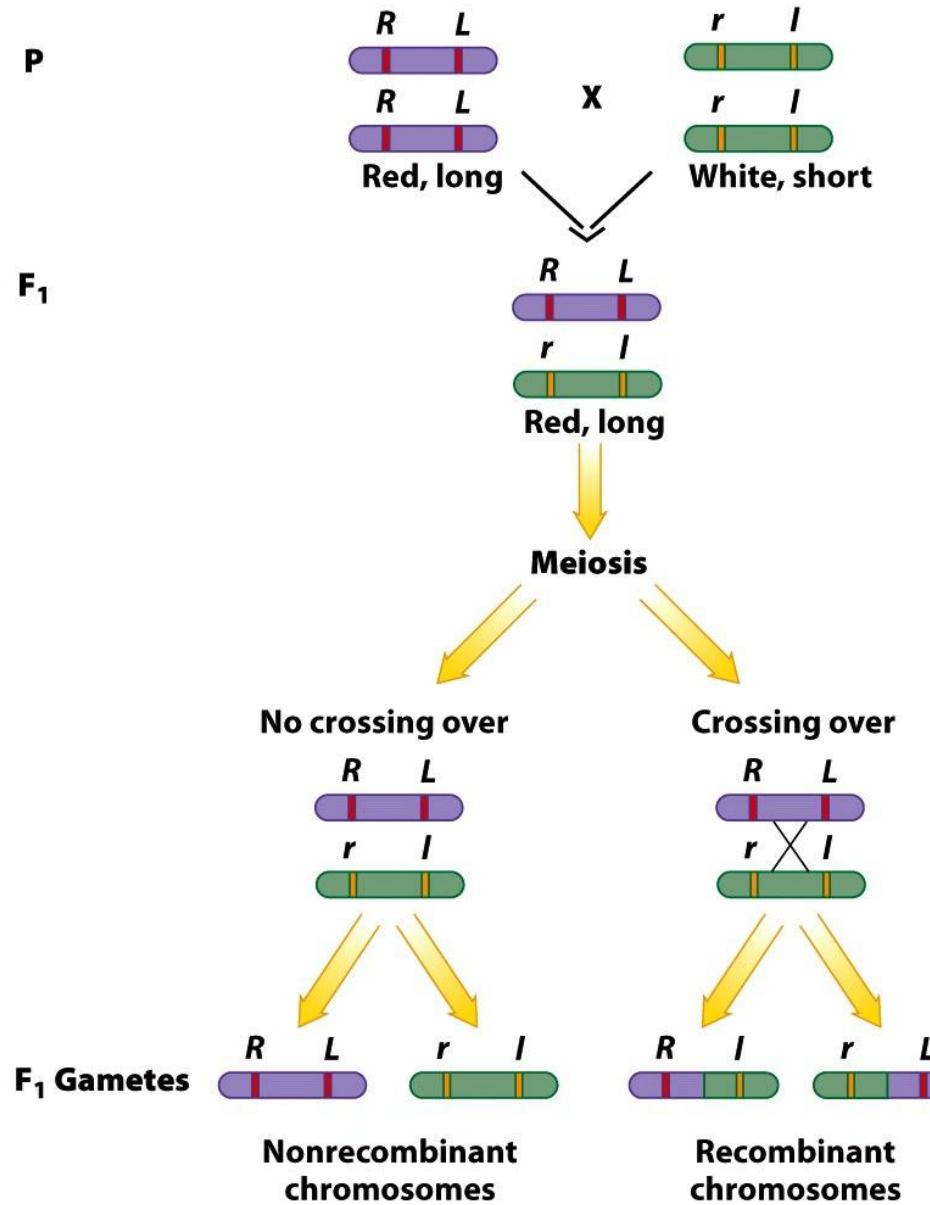
W. Bateson

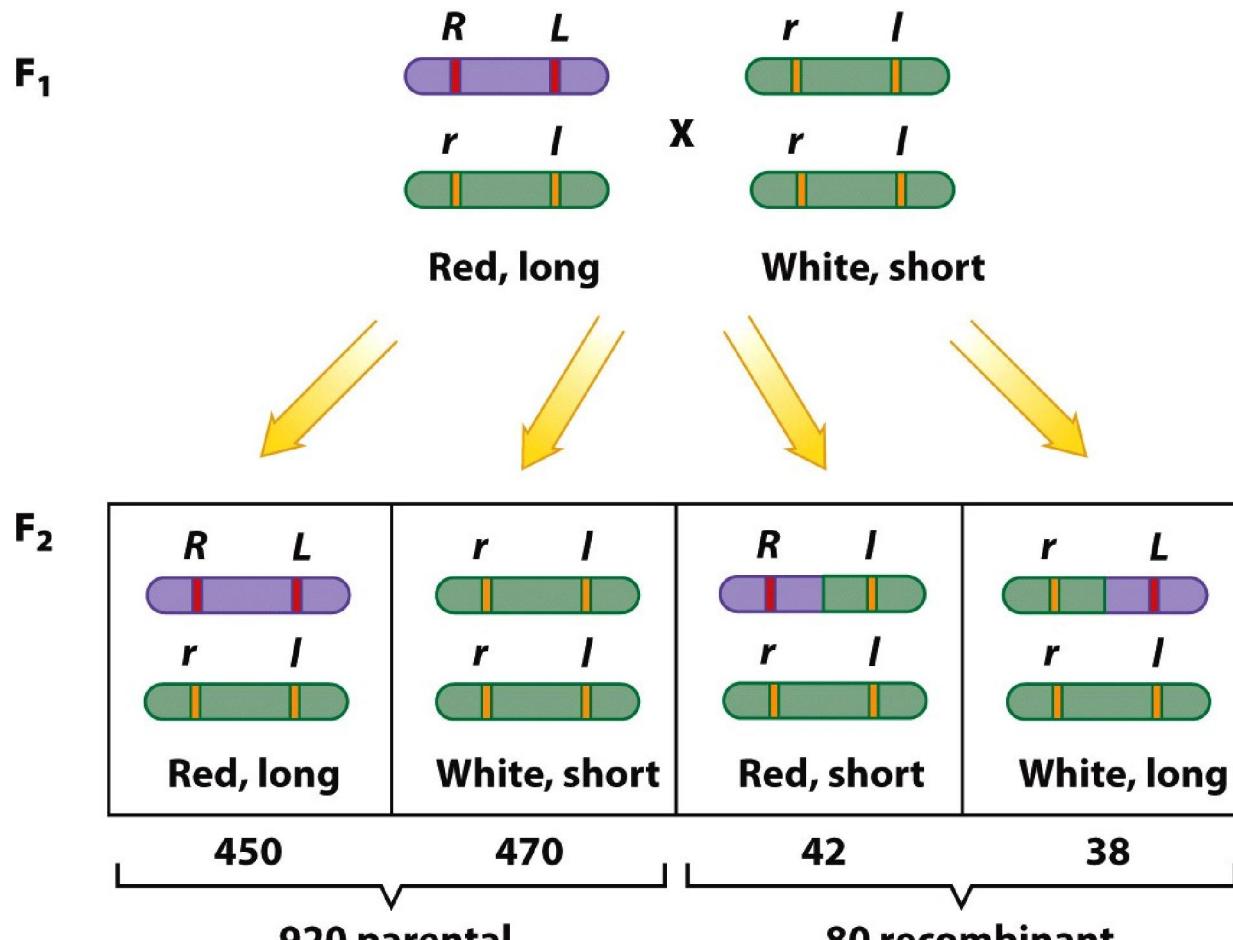
R.C. Punnett

2 znaky u hrachora:

- Červené/ biele kvety
- Dlhé/ krátke peľové zrná







$$\text{Frequency of recombinants} = \frac{80}{80 + 920} = 0.08$$

frekvencia rekombinantov – ukazovateľ sily väzby

Väzbové fázy: Coupling (cis) a Repulsion (trans)

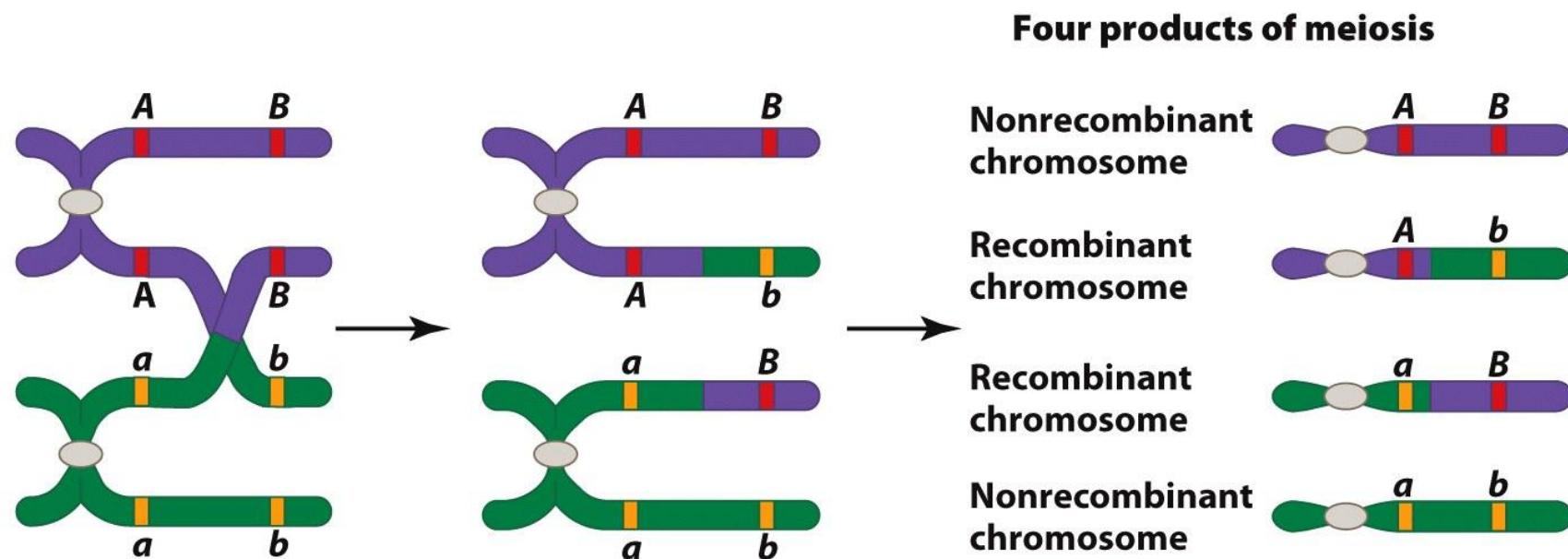
**Coupling
heterozygote**



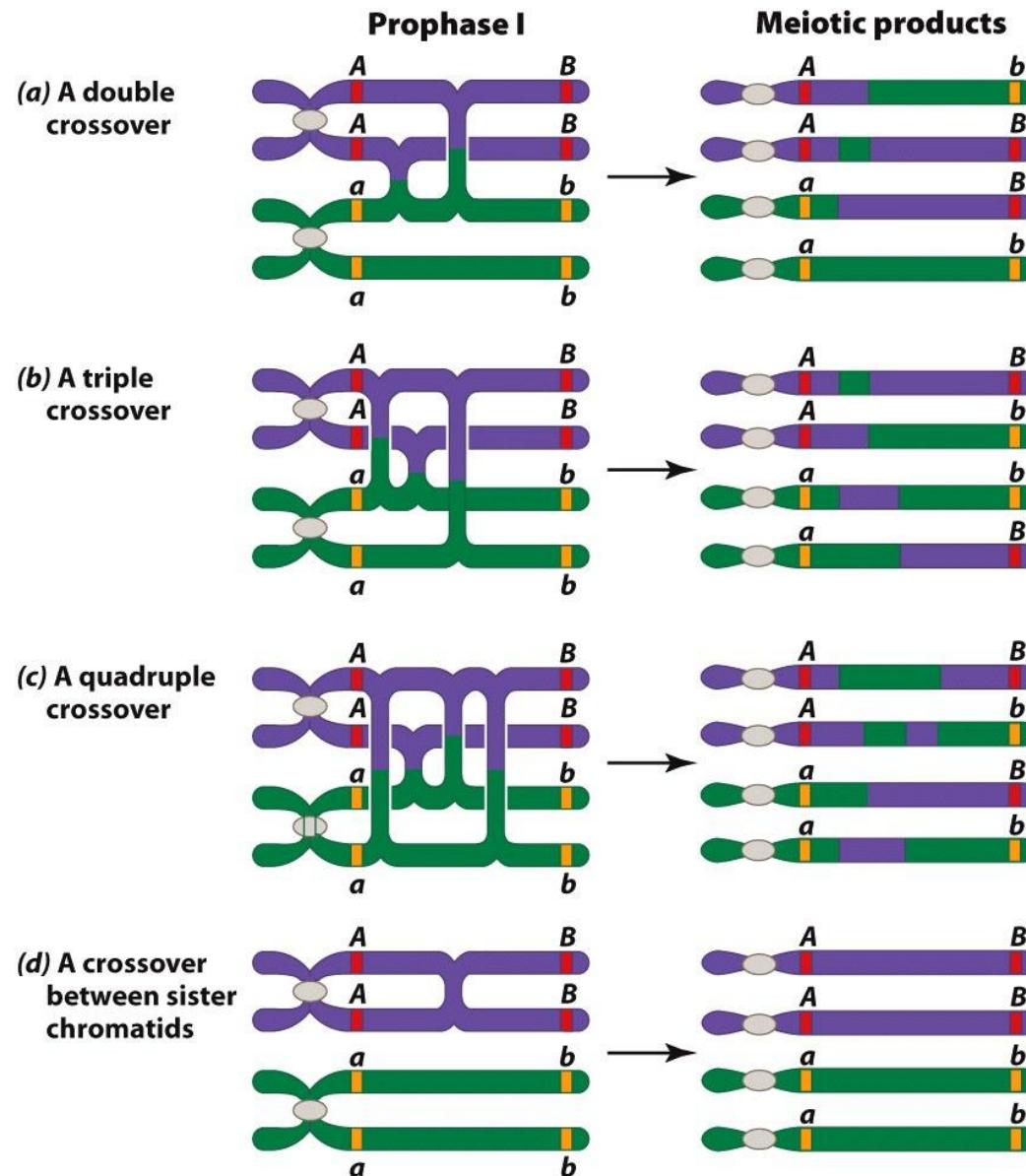
**Repulsion
heterozygote**



Crossing Over — medzi nesesterskými chromatidami homologických chromozómov



Viacnásobný crossover

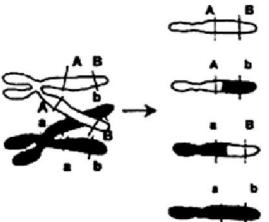
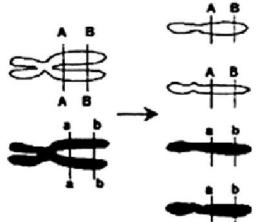


3. Úplná väzba

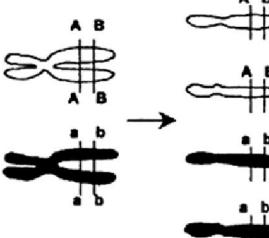
Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
žiadny crossing over		Všetky rodičovské typy
		50% AB
		50% ab
% rodičovských gamét	100%	
% rekombinantných gamét	0%	

Obr. 8.1 Pravdepodobnosť vzniku rekombinantných gamét vzhľadom na polohu génov na chromozóme. a) gény nie sú vo väzbe, b) neúplná väzba, c) úplná väzba.

2. Neúplná väzba

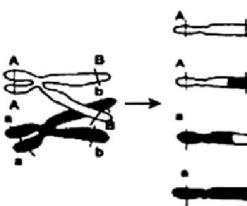
Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
Crossing over v 2% meiotických buniek	Rodičovské chromatidy 	0,5% AB 0,5% Ab 0,5% aB <hr/> 0,5% ab Spolu: 2%
žiadny crossing over v 98% meiotických buniek		49% AB <hr/> 49% ab Spolu: 98%
% rodičovských gamét	99%	
% rekombinantných gamét	1%	

3. Úplná väzba

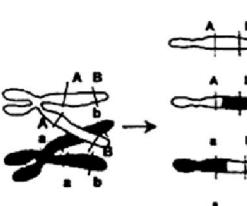
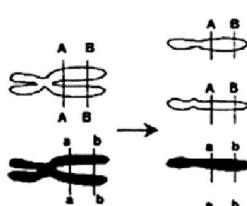
Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
žiadny crossing over		Všetky rodičovské typy
		50% AB 50% ab

Obr. 8.1 Pravdepodobnosť vzniku rekombinantných gamét vzhľadom na polohu génov na chromozóme. a) gény nie sú vo väzbe, b) neúplná väzba, c) úplná väzba.

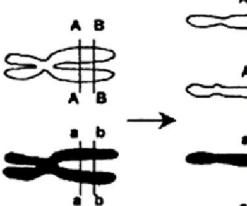
1. Voľná kombinovateľnosť

Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
Crossing over	Rodičovské chromatidy	
		
		25% AB
% rodičovských gamét	50%	
% rekombinantrých gamét	50%	

2. Neúplná väzba

Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
Crossing over v 2% meiotických buniek	Rodičovské chromatidy	
		
		0,5% AB
		0,5% Ab
		0,5% aB
		<u>0,5% ab</u>
		Spolu: 2%
žiadny crossing over v 98% meiotických buniek		
		
		49% AB
		<u>49% ab</u>
		Spolu: 98%
% rodičovských gamét	99%	
% rekombinantrých gamét	1%	

3. Úplná väzba

Meióza	Výsledok meiózy	Výsledná frekvencia rekombinantov
žiadny crossing over		
		
		50% AB
		50% ab
% rodičovských gamét	50%	
% rekombinantrých gamét	0%	

Obr. 8.1 Pravdepodobnosť vzniku rekombinantných gamét vzhľadom na polohu génov na chromozóme. a) gény nie sú vo väzbe, b) neúplná väzba, c) úplná väzba.

Voľná kombinovateľnosť – gény ležia na rôznych chromozómoch alebo obr. 1

Chromozóm 9 u kukurice

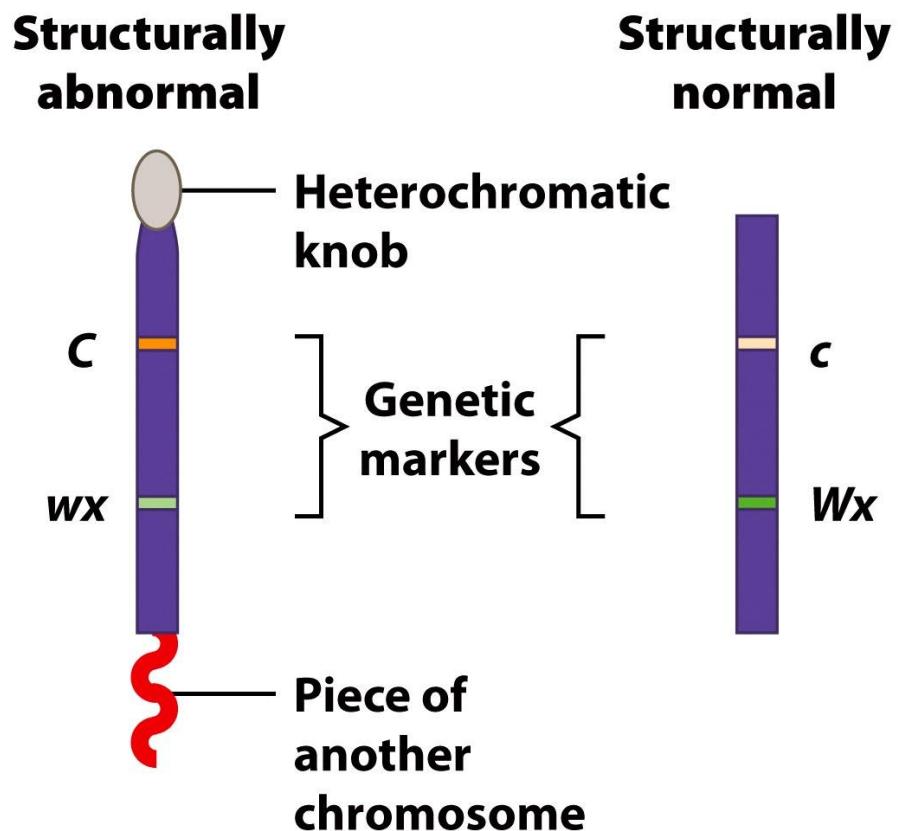
- dôkaz, že crossing over je príčinou rekombinácie



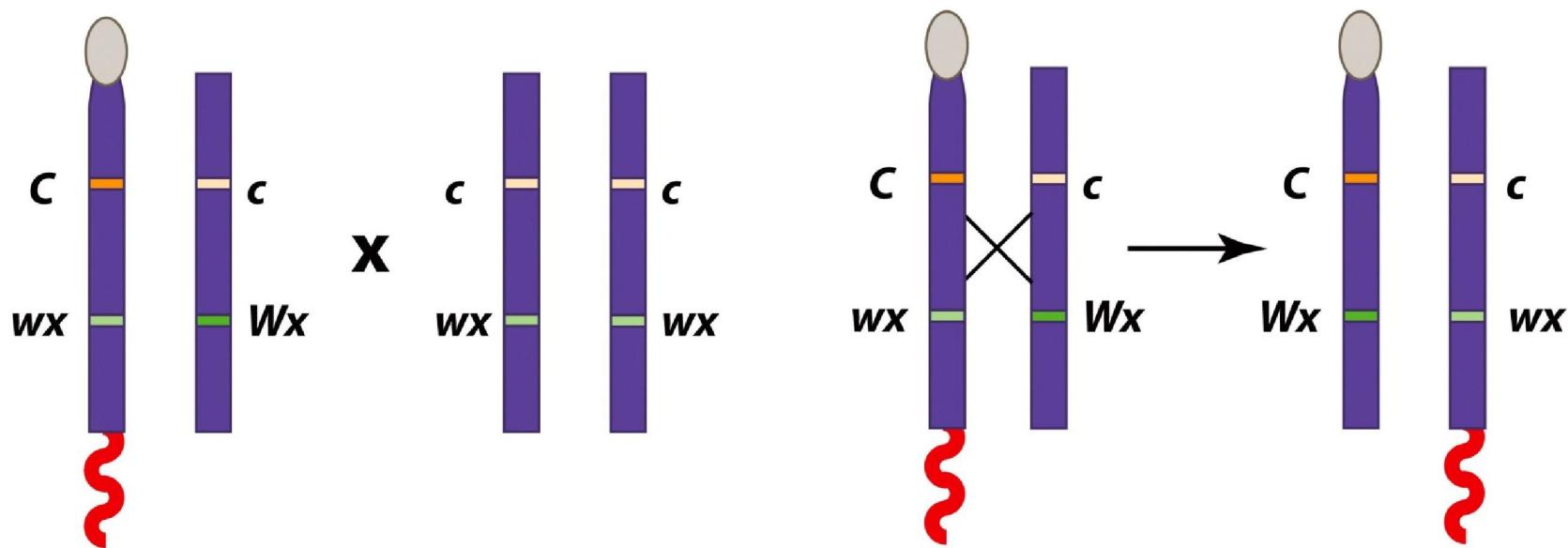
Harriet Creighton



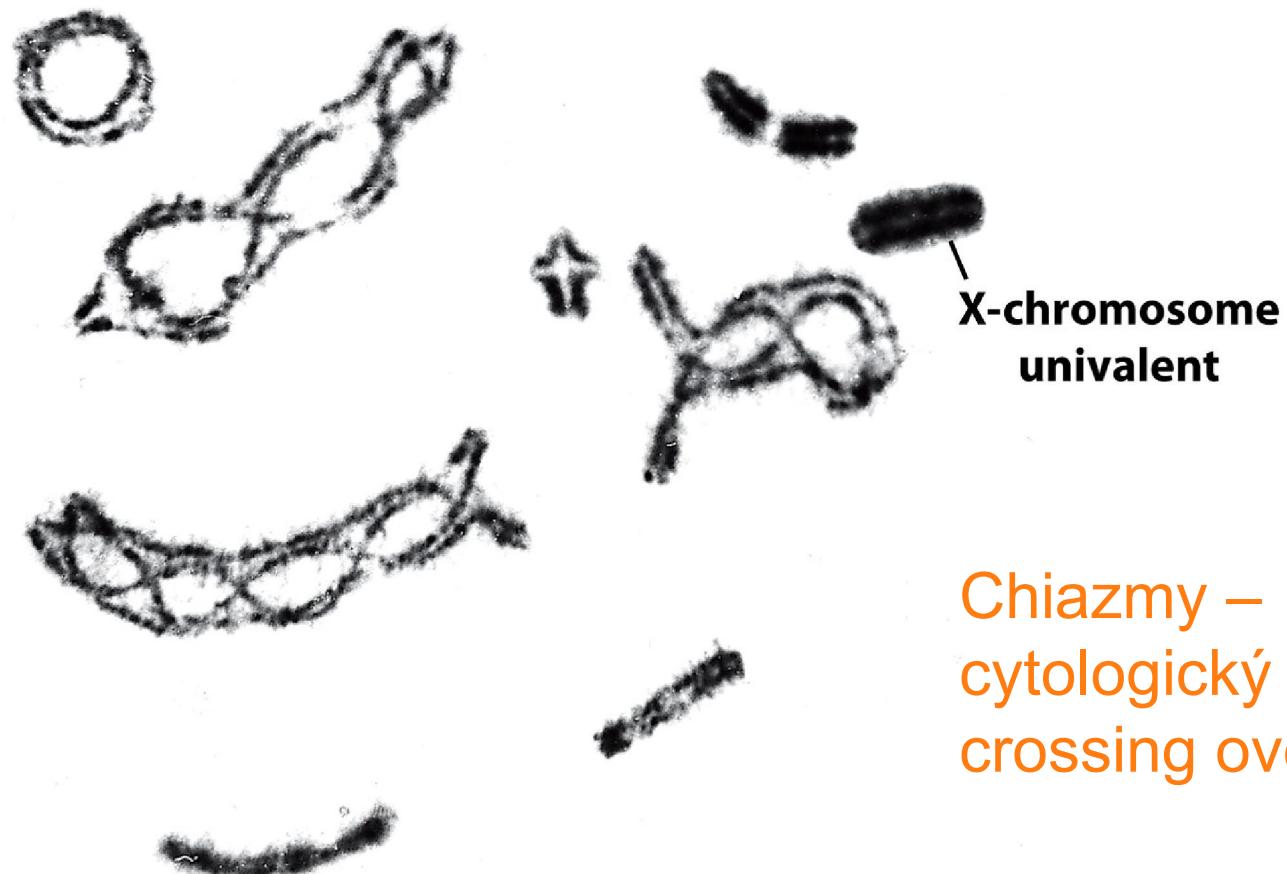
Barbara McClintock



Dôkaz, že crossing over spôsobuje rekombináciu



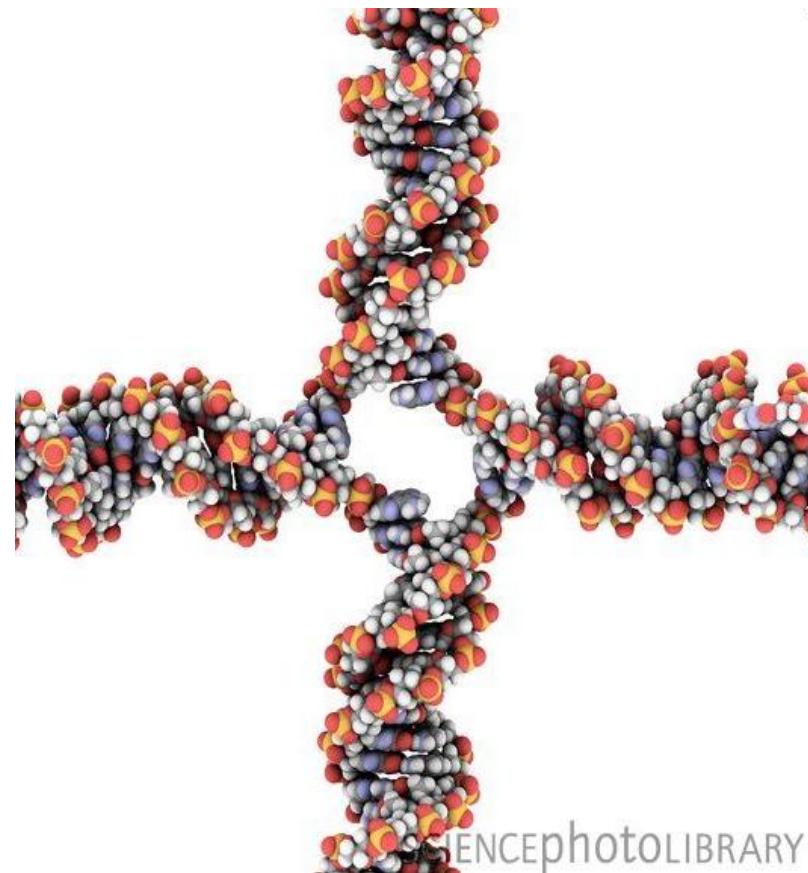
Crossing over sa uskutočňuje v profáze meiózy I



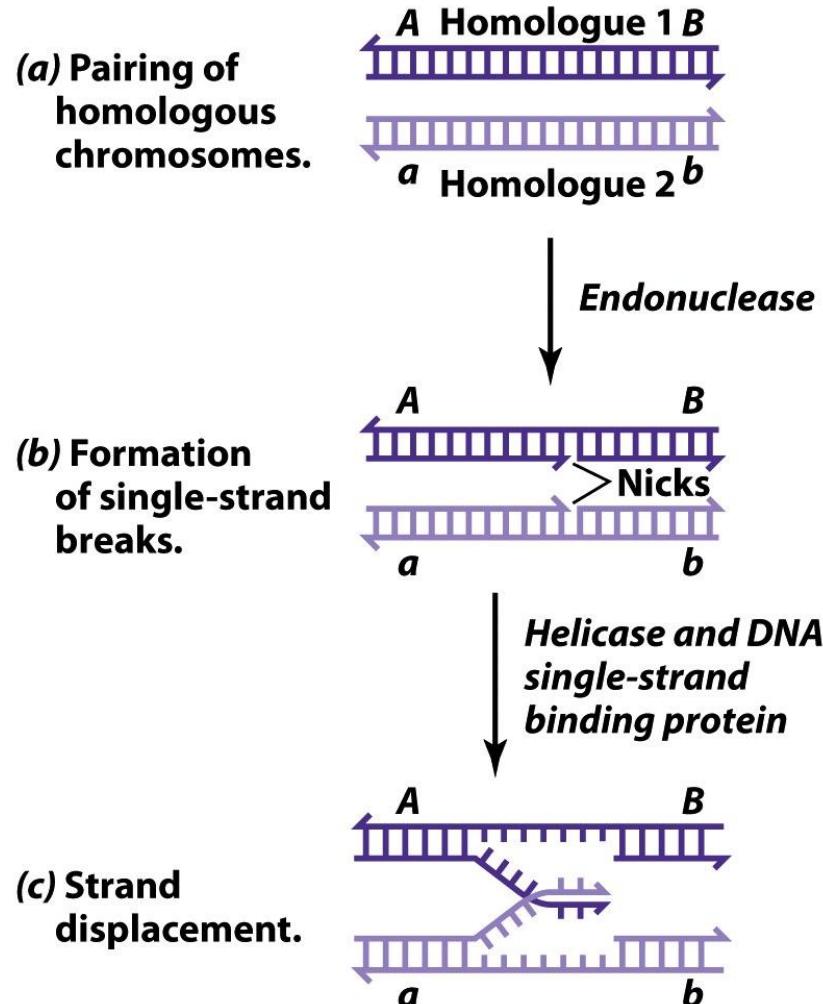
Chiazmy –
cytologický dôkaz
crossing over

Crossing over

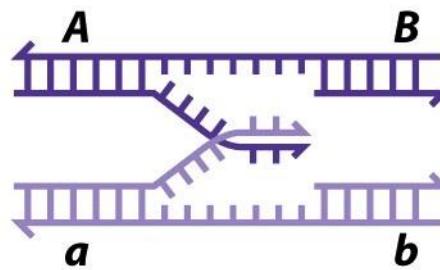
- ▶ Mechanizmus crossing overu zahrňa zlom a znovuspojenie chromozómov
- ▶ Hollidayov model slúži na vysvetlenie procesu rekombinácie



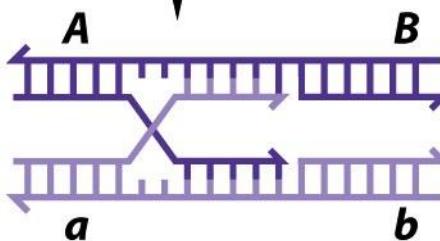
Hollidayov Model



(c) Strand displacement.

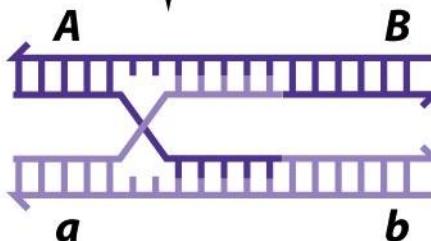


(d) Strand exchange.



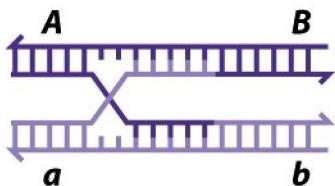
Rec A-type proteins

(e) Formation of covalent single-strand bridge.

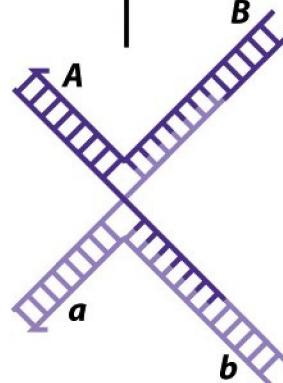


*DNA ligase,
probably preceded
by exonuclease
and DNA polymerase*

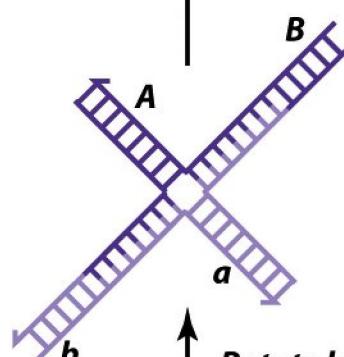
(e) Formation of covalent single-strand bridge.



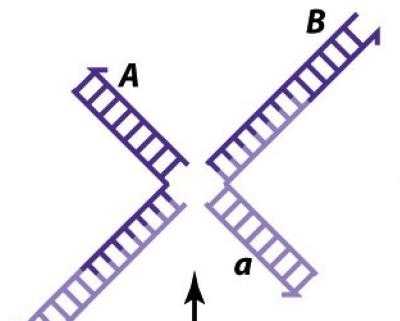
(f) Three-dimensional structure.

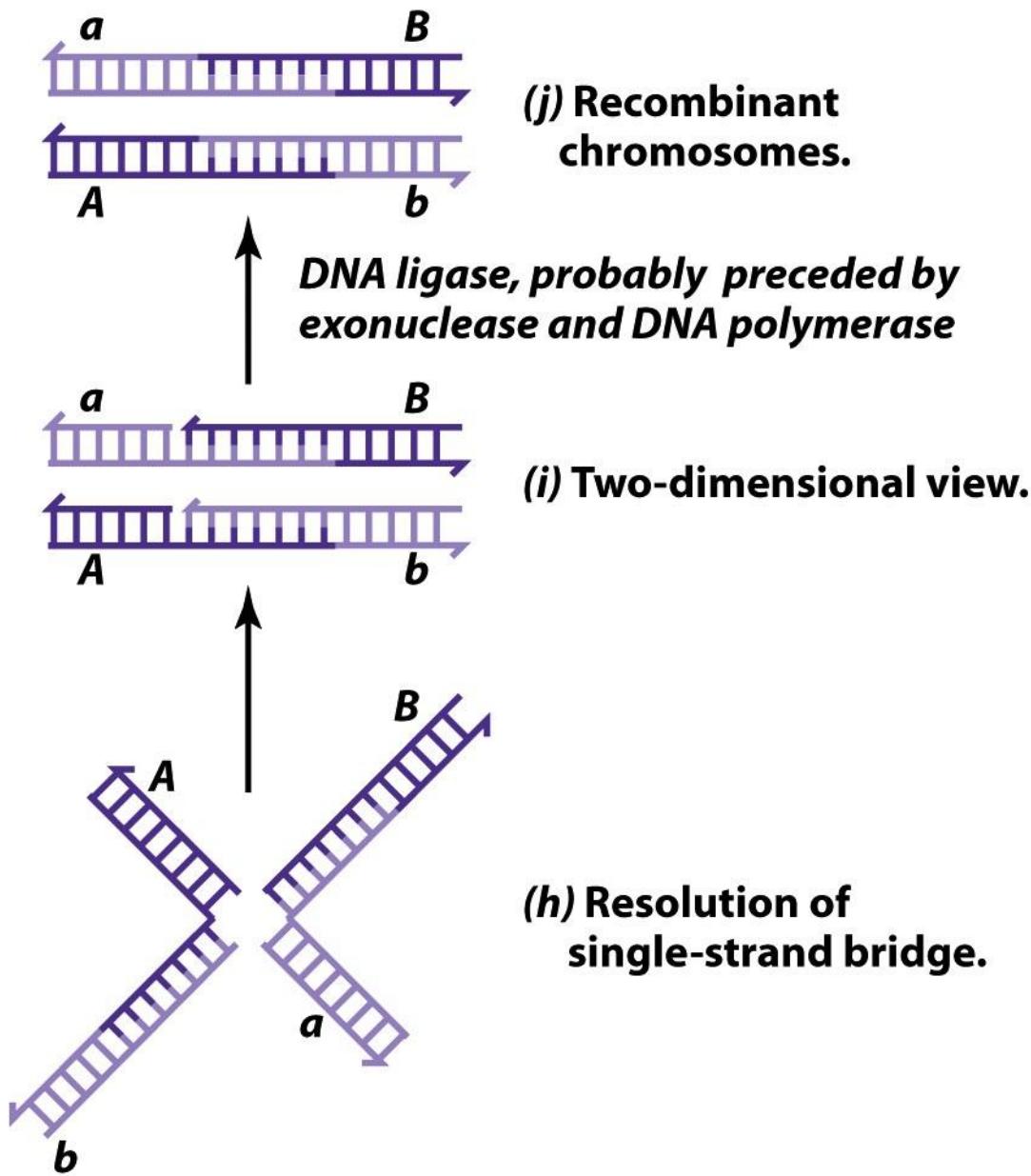


(g) Equivalent 3-D structure.



(h) Resolution of single-strand bridge.

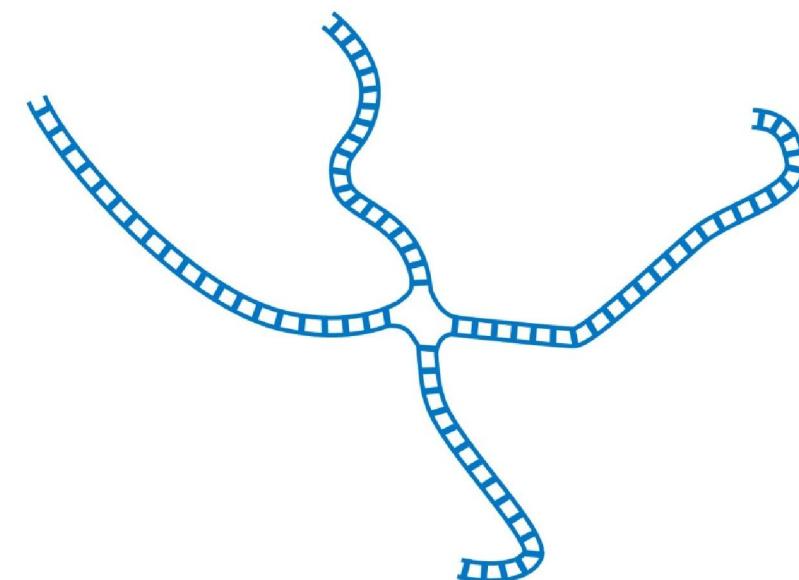




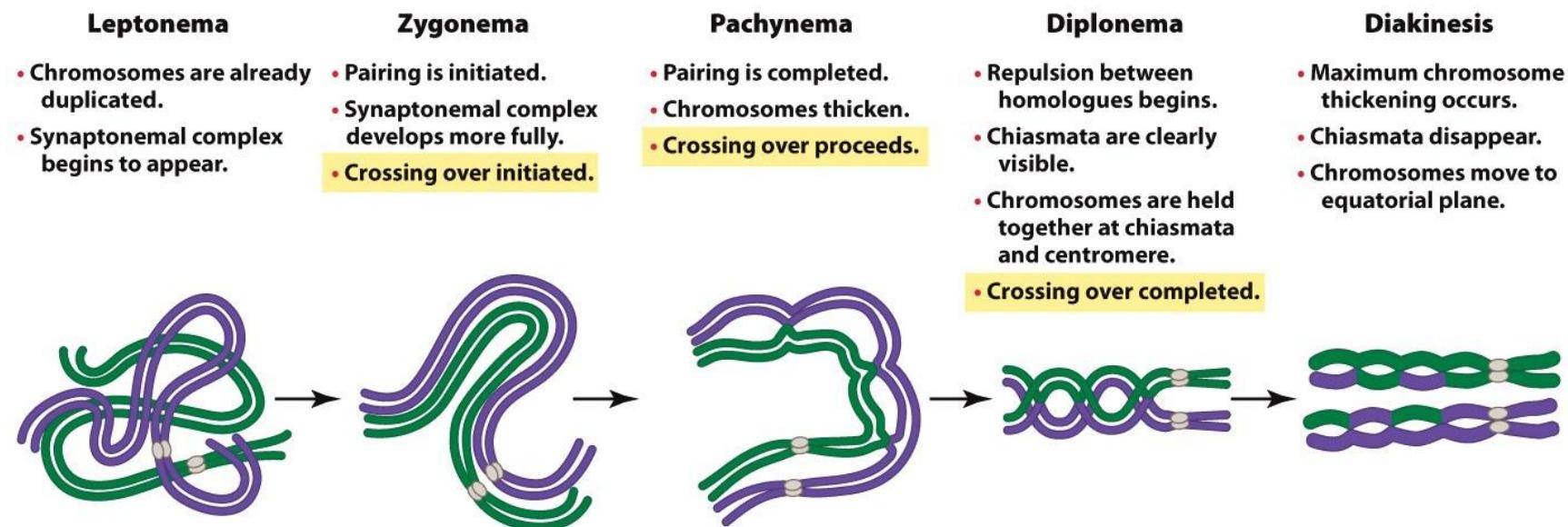
Rekombinačný intermediát má tvar X
alebo tzv. Chi štruktúry



0.1 μm



Profáza meiózy I



Zhrnutie

- ▶ Väzba génov sa prejaví ako odchýlka od Mendlovho pravidla voľnej kombinovateľnosti
- ▶ Frekvencia rekombinácie určuje silu väzby (0 - 50%)

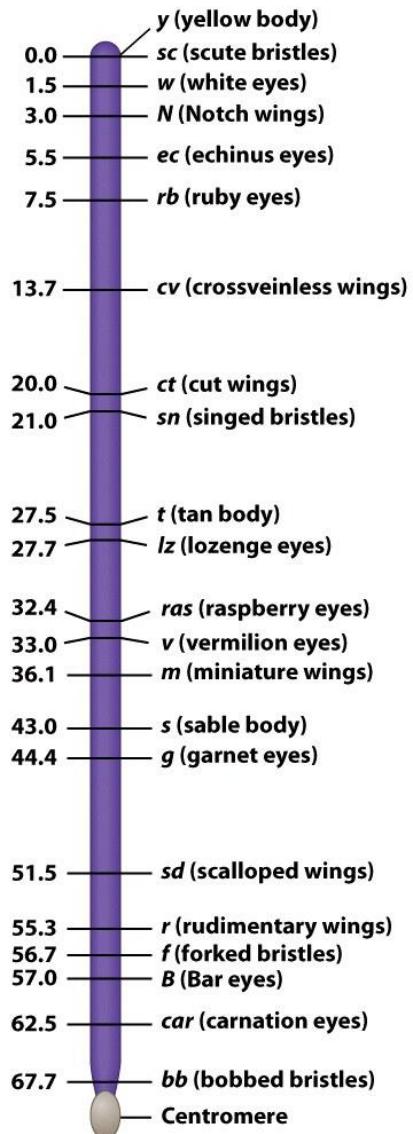
Zhrnutie

- ▶ Pri rekombinácii dochádza k fyzickej výmene medzi homologickými chromozómami v skorej profáze prvého meiotického delenia.
- ▶ V akomkoľvek mieste na chromozóme dochádza k procesu výmeny (crossing overu) len medzi dvoma zo 4 chromatíd v meiotickej tetráde
- ▶ V neskorej profáze I môžeme crossover pozorovať ako chiazmy.

Mapovanie chromozómov

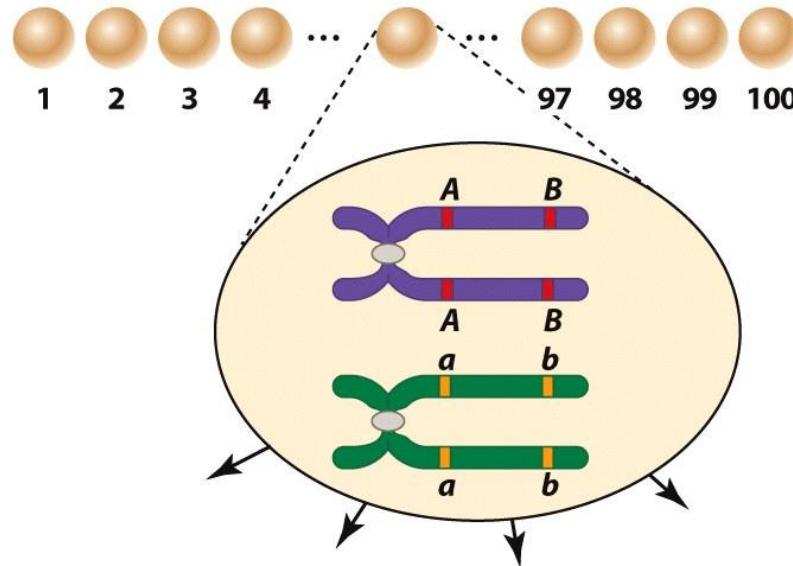
Gény vo väzbe môžeme mapovať
na chromozóm na základe
frekvencie rekombinácie

Genetická mapa

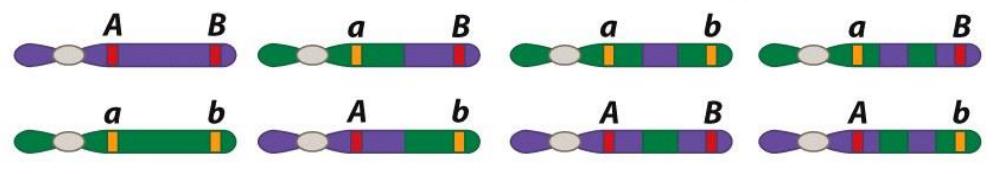


► Vzdialenosť medzi dvoma bodmi na genetickej mape chromozómu je daná priemerným počtom crossing overov medzi nimi.

100 Oogonia



Chromosomes recovered from meiosis in gametes



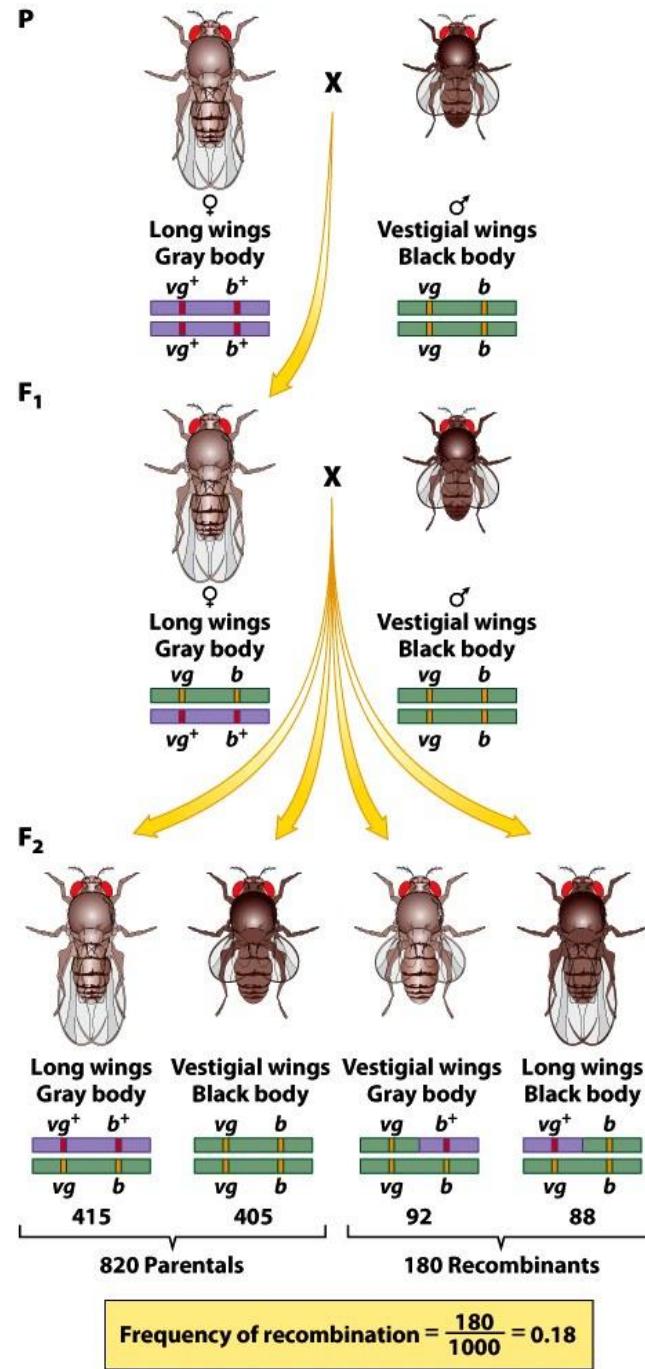
No crossover Single crossover Double crossover Triple crossover
70 20 8 2

Total
100

Average number of crossovers between A and B =

$$0 \times \left(\frac{70}{100} \right) + 1 \times \left(\frac{20}{100} \right) + 2 \times \left(\frac{8}{100} \right) + 3 \times \left(\frac{2}{100} \right) = 0.42$$

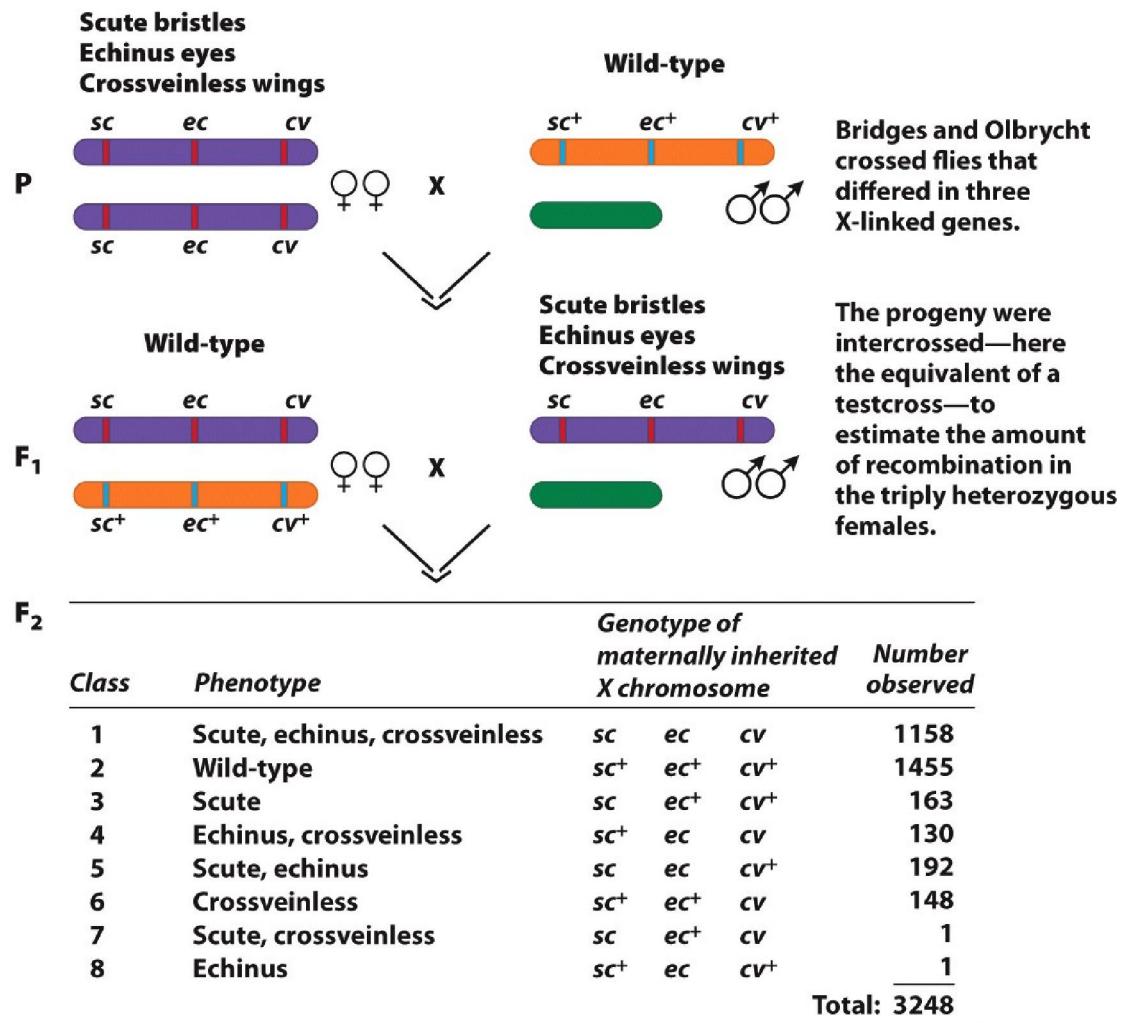
Rekombinačné mapovanie pomocou dvojbodového testu - *Two-Point Testcross*



- ▶ Frekvencia rekombinácie medzi génmi *vg* a *b* je 18%
- ▶ Gény *vg* a *b* sú teda na genetickej mape od seba vzdialené 18 mapovacích jednotiek (alebo 18 centiMorganov (cM)).

Trojbodový test

Three-Point Testcross



1. Stanovenie poradia génov

- ▶ 3 možnosti poradia génov
 1. sc - ec - cv
 2. ec - sc - cv
 3. ec - cv - sc
- ▶ Ktorá možnosť je správna?
 - porovnanie fenotypových tried, určenie parentálnych typov a rekombinantov (jednoduchých a dvojitych)

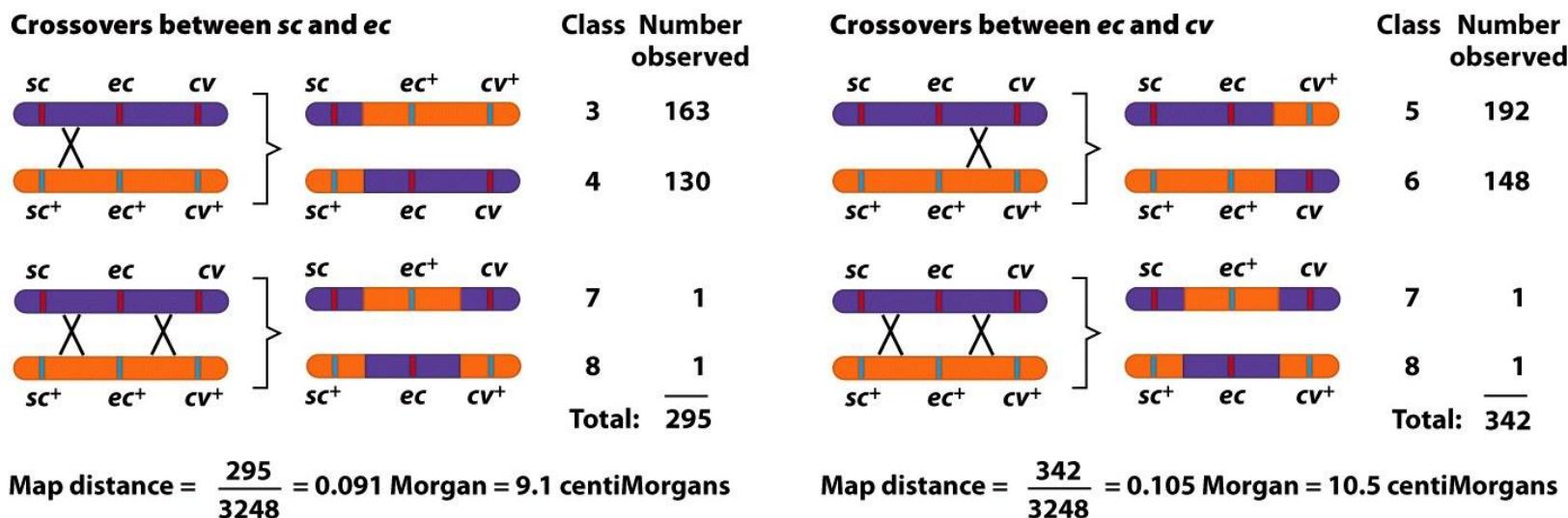
1. Stanovenie poradia génov

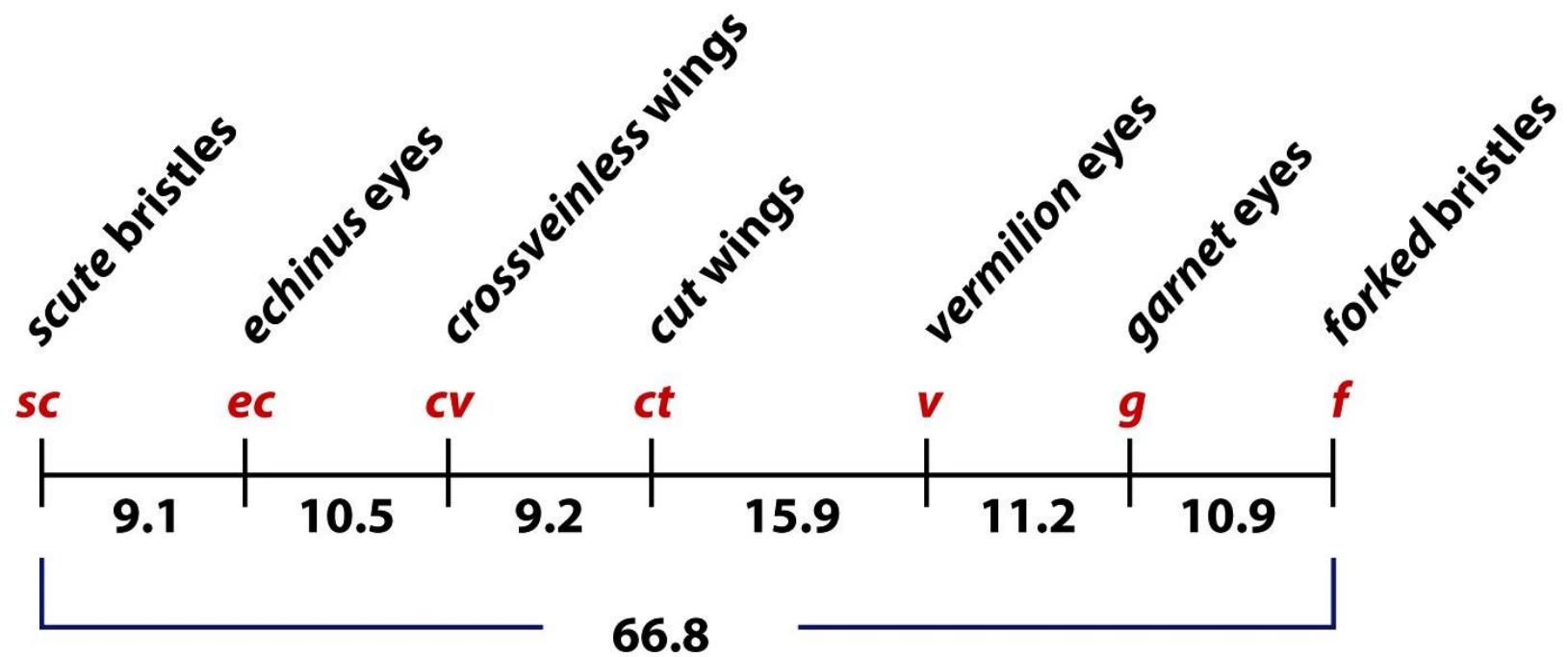
- ▶ 3 možnosti poradia génov
 1. sc - ec - cv
 2. ec - sc - cv
 3. ec - cv - sc
- ▶ Najviac jedincov parentálneho typu.
- ▶ Medzi rekombinantami, najmenej jedincov s dvojitým crossoverom.

1. Stanovenie poradia génov

- ▶ 3 možnosti poradia génov
 1. sc - ec - cv
 2. ec - sc - cv
 3. ec - cv - sc
- ▶ gén, ktorý je “presunutý” počas dvojitého crossoveru v porovnaní s parentálnymi typmi, je gén uprostred (v tomto prípade, ec).
- ▶ V našom prípade je správne poradie **sc - ec - cv**

2. Výpočet vzdialenosí medzi génmi





Drosophila X chromosome

Interferencia a koeficient koincidencie

- ▶ Teoretická pravdepodobnosť dvojitého crossoveru by mala byť: $0.091 \times 0.105 = 0.0095$.
- ▶ Pozorovaná frekvencia dvojitého crossoveru bola $2/3248 = 0.0006$.
- ▶ Crossover v jednej oblasti inhiboval crossover v príľahlej oblasti.

Interferencia a koeficient koincidencie

- ▶ Koeficient koincidencie (c) je pomer pozorovaných dvojitých crossoverov ku teoreticky možným dvojitým crossoverom

$$\text{t.j. } c = 0.0006 / 0.0095 = 0.063$$

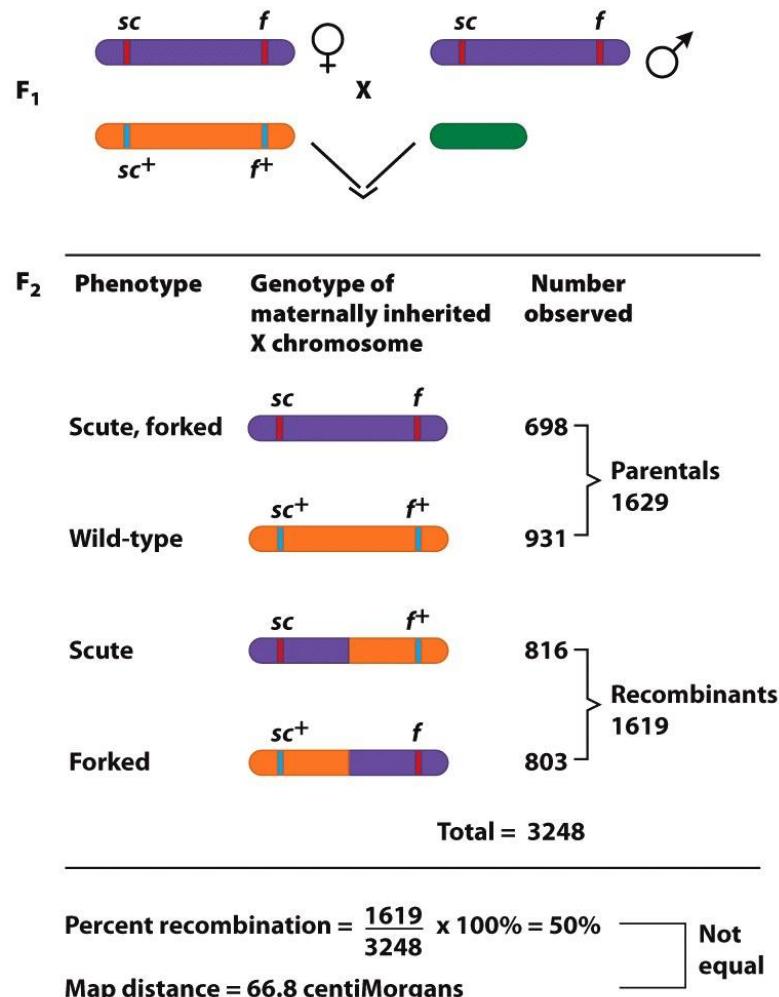
- ▶ Stupeň interferencie (I) = $1 - c$

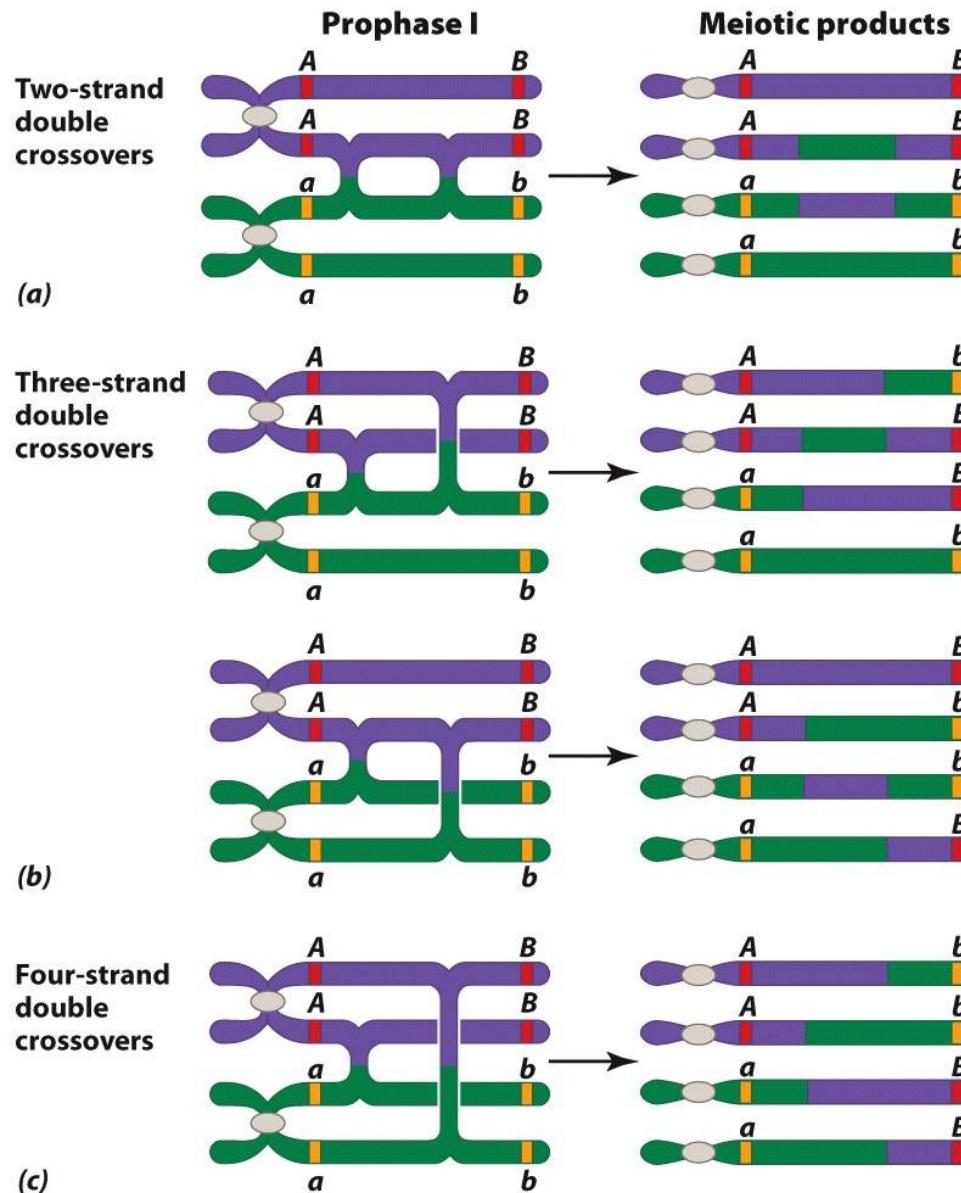
$$I = 1 - 0.063 = 0.937$$

Interferencia a koeficient koincidencie

- ▶ koeficient koincidencie od 0 – 1
- ▶ koincidencia 1 – v danej oblasti vznikajú všetky c-o očakávané podľa výpočtu (interferencia = 0)
- ▶ koincidencia 0 – v danej oblasti nevznikajú žiadne dvojité c-o (úplná interferencia = 1)

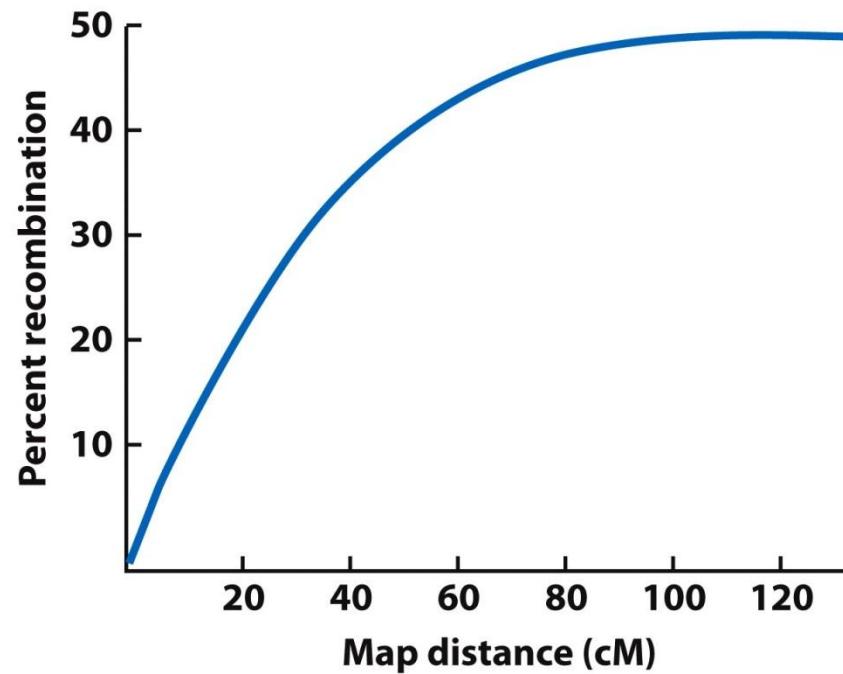
Rekombinačná frekvencia a vzdialenosť génov na genetickej mape





Rekombinačná frekvencia a vzdialenosť génov na genetickej mape

- ▶ Čím sú dva gény od seba ďalej, tým je väčšia frekvencia netegovaných dvojitých crossoverov medzi nimi.
- ▶ Preto sa mapy robia tak, že sa mapujú len gény, ktoré ležia blízko pri sebe.
- ▶ Dôsledok: maximálny počet rekombinantov je 50%, ale mnoho dlhých chromozómov má niekol'ko stoviek mapovacích jednotiek, napr. ľudský chromozóm 13 je dlhý 125 mapovacích jednotiek. .



Zhrnutie

- ▶ Genetické mapy sú založené na priemernom počte crossoverov, ku ktorým dochádza počas meiózy
- ▶ Genetické mapové vzdialenosť sa určujú z frekvencie rekombinácie medzi génymi v experimentálnych kríženiach

Zhrnutie

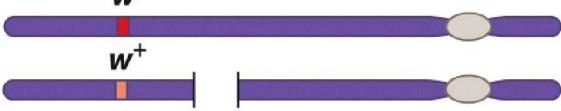
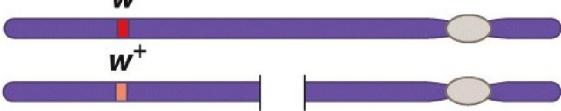
- ▶ Rekombinačné frekvencie menej ako 20 percent určujú priamo mapovaciu vzdialenosť, frekvencie vyššie ako 20 percent podhodnocujú mapovú vzdialenosť, pretože viacnásobný crossing over nevedie vždy k tvorbe rekombinantných chromozómov.

Cytogenetické mapovanie

Genetici vyvinuli techniky na
lokalizáciu génov na cytologickú
mapu chromozómov.

Delečné mapovanie

w/Df Genotype	Phenotype
 <p><i>w</i></p> <p>Df removes the <i>w⁺</i> gene.</p>	White eyes
 <p><i>w</i></p> <p>Df does not remove the <i>w⁺</i> gene.</p>	Red eyes

w/Df heterozygotes	Deficiency	Breakpoints	Phenotype
	<i>Df(1)wrJ1</i>	3A1; 3C2	White eyes
	<i>Df(1)ct78</i>	6F1-2; 7Cl-2	Red eyes
	<i>Df(1)m259-4</i>	10C1-2; 10E1-2	Red eyes
	<i>Df(1)r+75c</i>	14B13; 15A9	Red eyes
	<i>Df(1)mal3</i>	19A1-2; 20A	Red eyes

The mutant eye color observed with *Df(1)wrJ1* indicates that the *white* gene is between the deficiency breakpoints in bands 3A1 and 3C2 on the X chromosome.

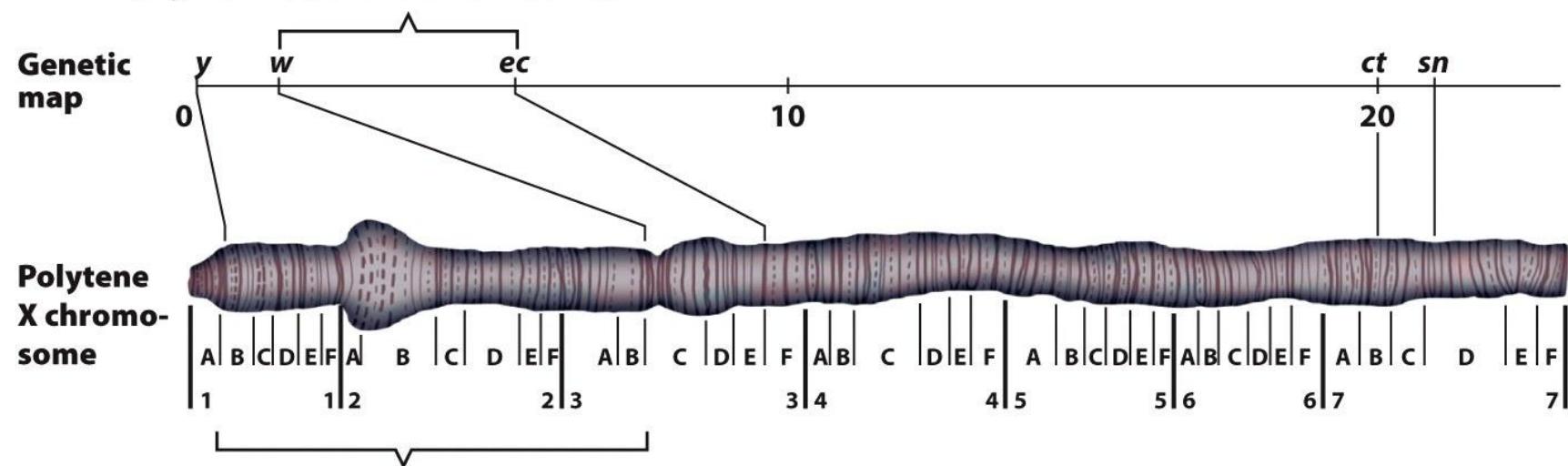
Duplikačné mapovanie

w/Dp combinations	Duplication	Breakpoints	Phenotype
	Dp1	tip; 1E2-4	White eyes
	Dp2	2D; 3D	Red eyes
	Dp3	6E2; 7C4-6	White eyes
	Dp4	9F3; 10E3-4	White eyes
	Dp5	14B13; 15A9	White eyes

The wild-type eye color observed with Dp2 indicates that the white gene is between the duplication breakpoints in regions 2D and 3D on the X chromosome.

Genetické vzdialosti a fyzické vzdialosti

The genes *w* and *ec* are far apart on the genetic map, but close together on the physical map of the chromosome.



The genes *y* and *w* are far apart on the physical map of the chromosome, but close together on the genetic map.

Zhrnutie

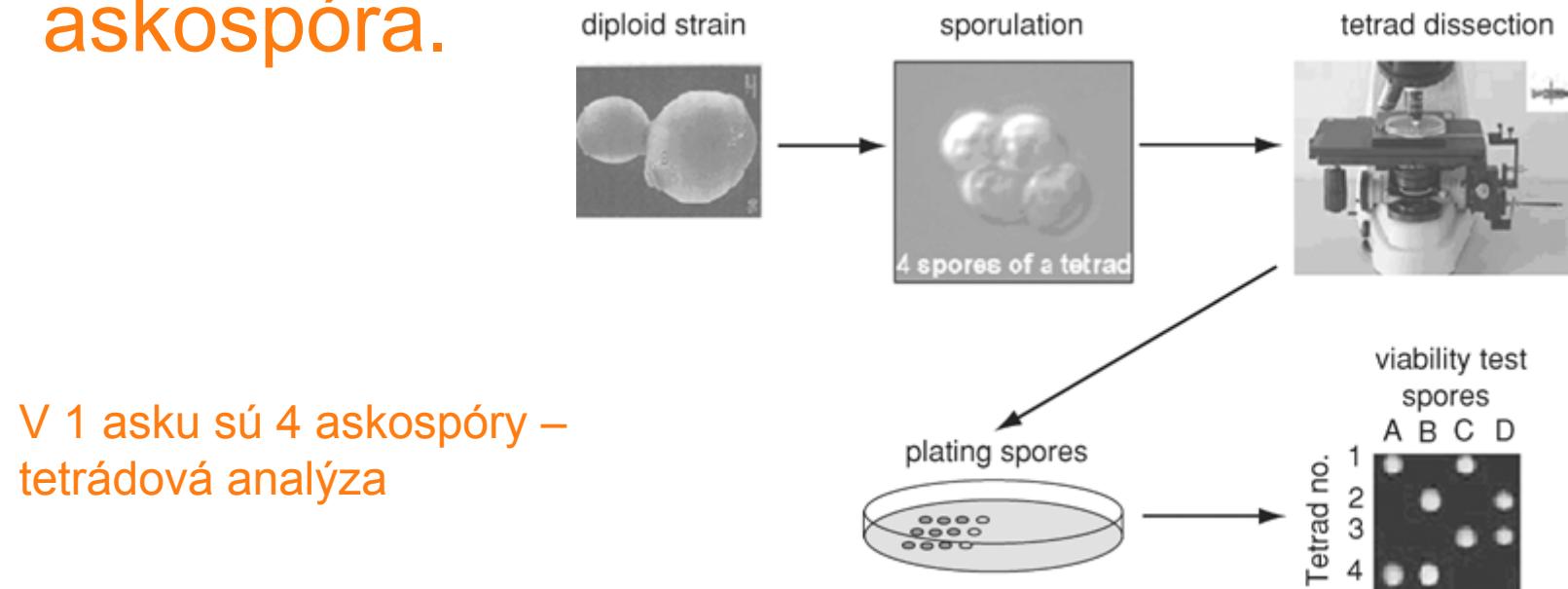
- ▶ U *Drosophila* možno lokalizovať gény na mapu kombináciou recesívnych mutácií s cytologicky definovanými deléciami a duplikáciami
- ▶ Delécia odhalí fenotyp recesívnej mutácie lokalizovanej medzi jej koncovými bodmi, zatiaľčo duplikácia zamaskuje mutantný fenotyp
- ▶ Genetické a cytologické mapy sú kolineárne, genetické mapy však nezodpovedajú fyzickým vzdialenosťam

Tetrádová analýza húb

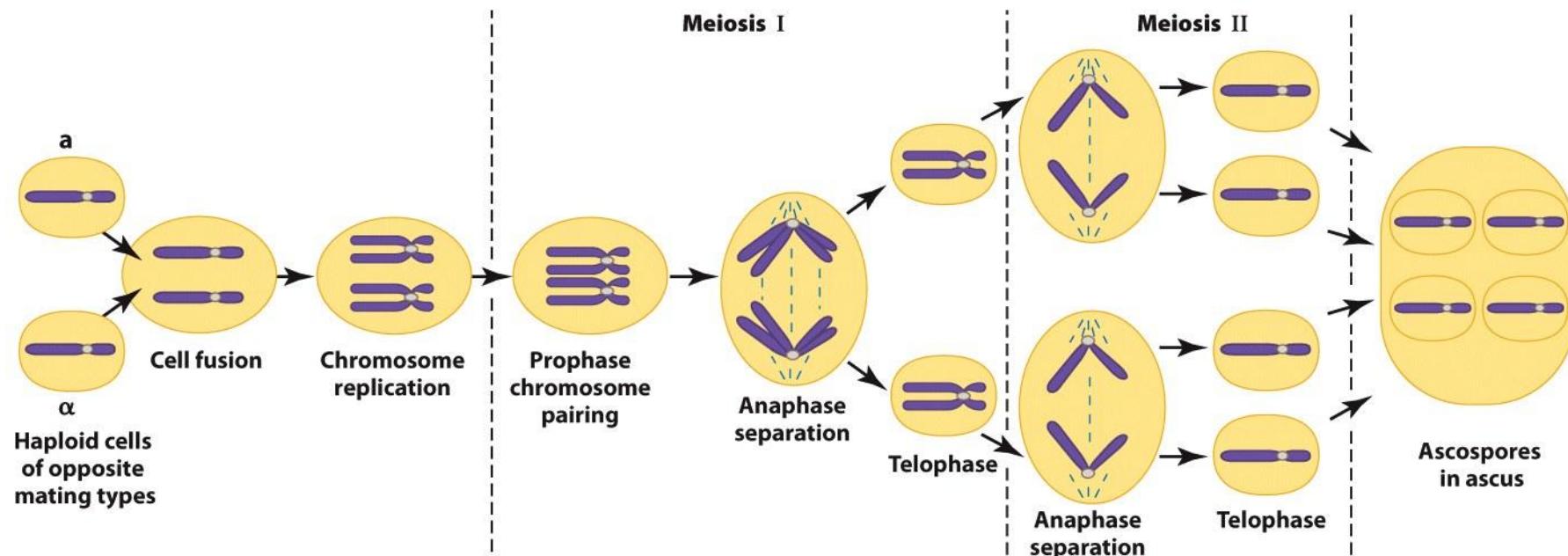
Jedinečná vlastnosť pohlavného rozmnožovania u húb sa môže využiť na mapovanie génov a centromér.

Meióza u Ascomycét

- ▶ Všetky haploidné produkty jednej meiotickej bunky sa objavujú spoločne v štruktúre nazývanej askus.
- ▶ Každý haploidný produkt sa nazýva askospóra.



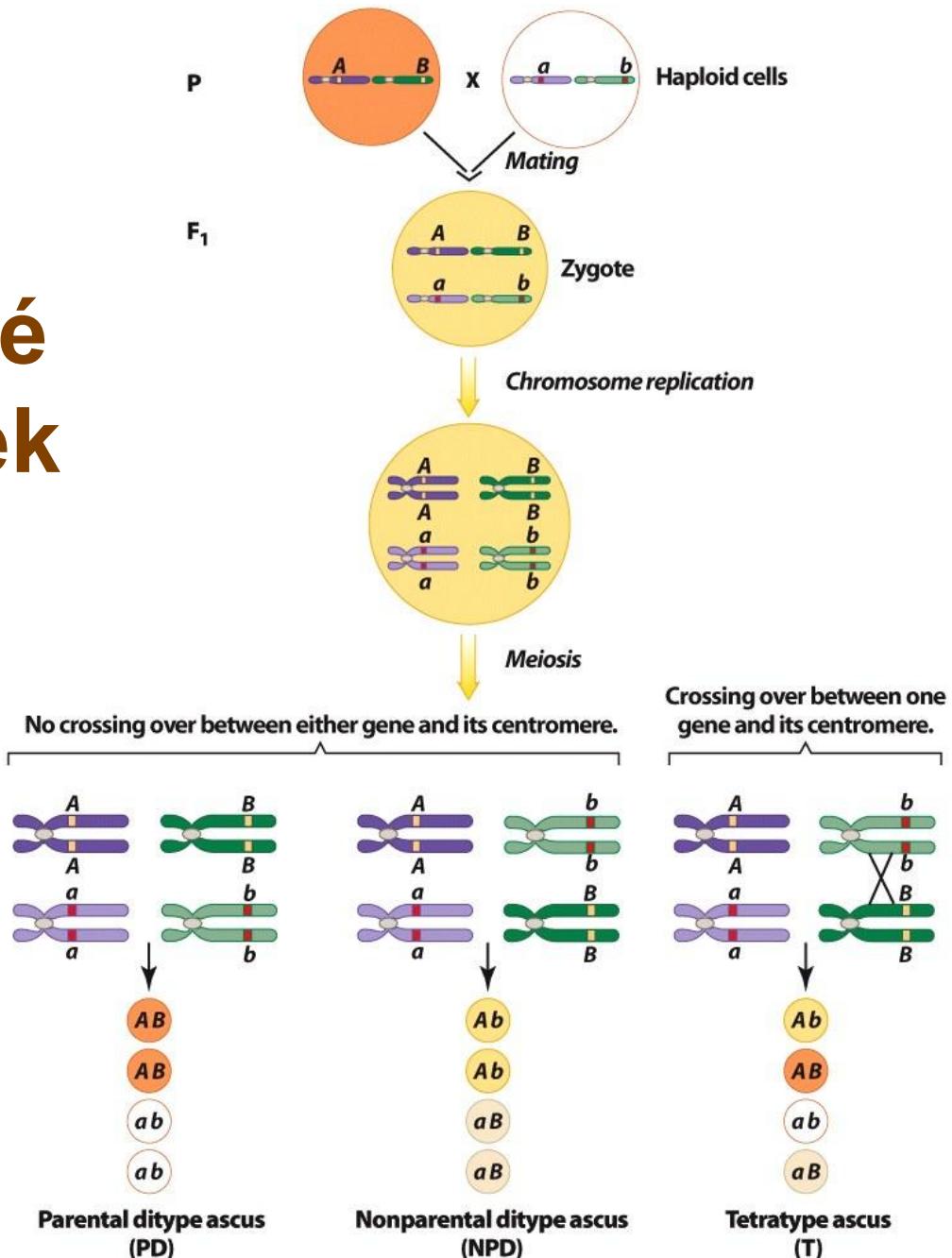
Tetrády u *Saccharomyces cereviciae*



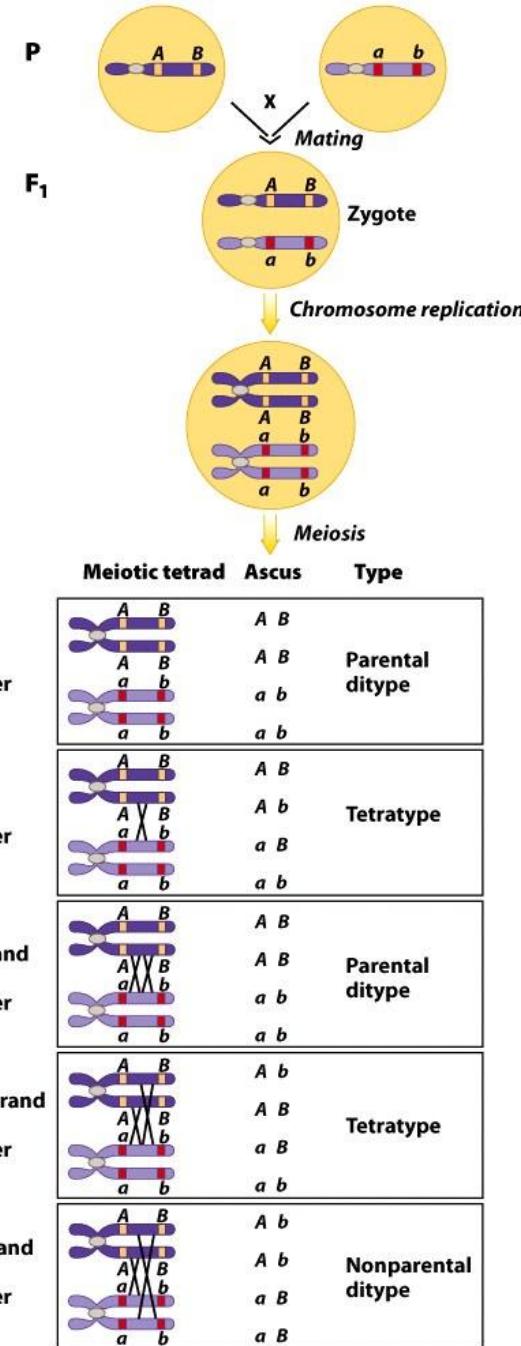
Tetrádová analýza

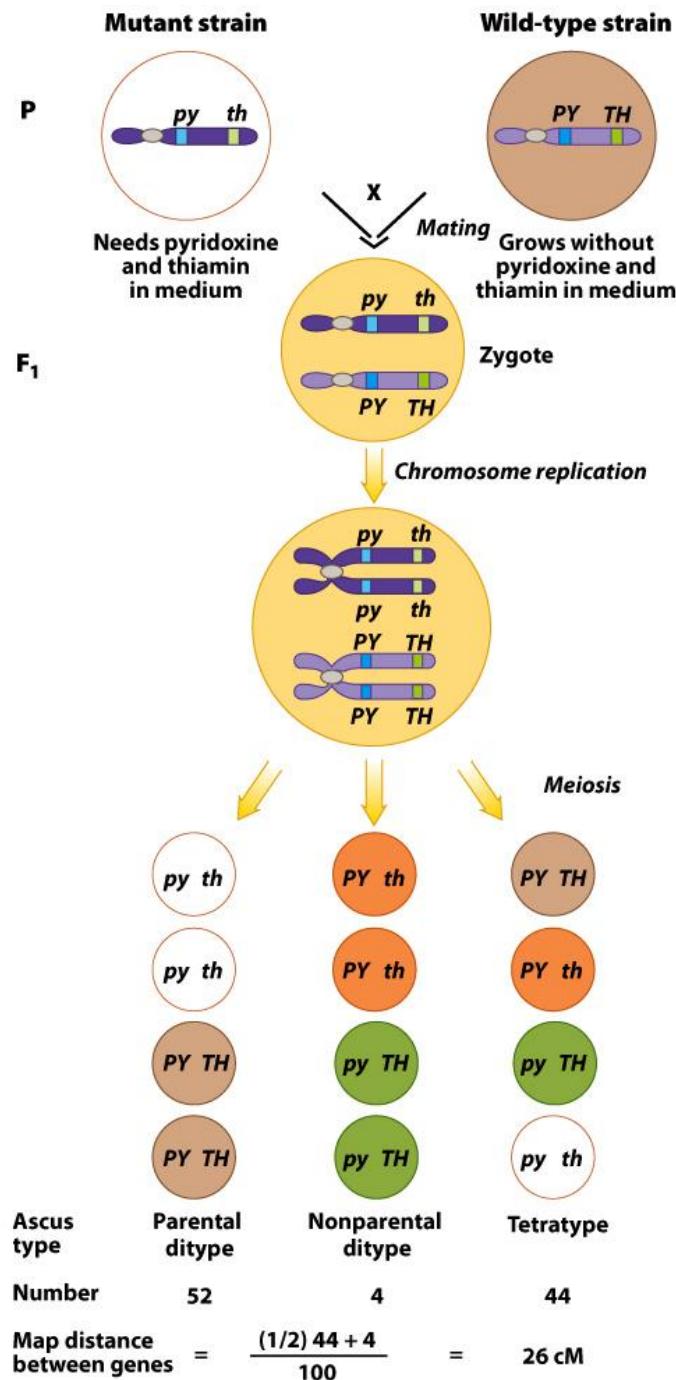
- ▶ Analyzované askospóry z jedného asku
- ▶ V neusporiadaných tetrádach askospóry nie sú zoradené v špecifickom poradí (*Saccharomyces cerevisiae*)
- ▶ V usporiadaných tetrádach sú askospóry usporiadané v poradí, v akom vznikli (*Neurospora crassa*)

Vol'ne kombinovatel'né gény u kvasiniek



Gény vo väzbe u kvasiniek



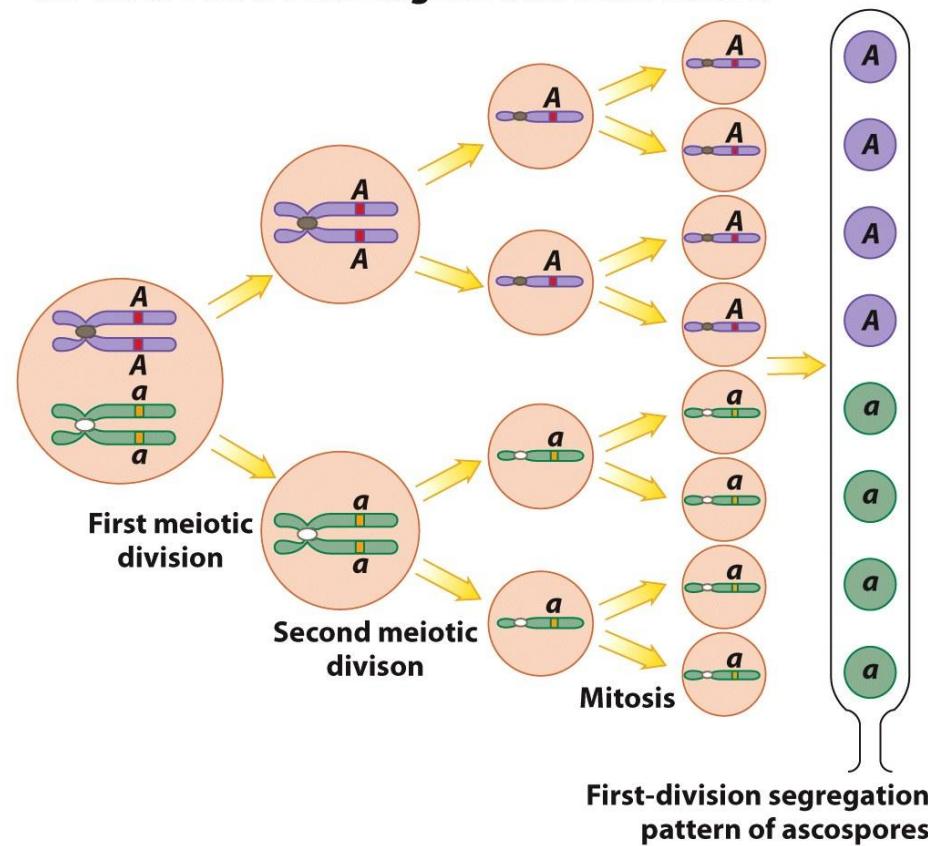


Tetrádová Analýza

- ▶ Ak gény nie sú vo väzbe, počet tetrád s parentálnymi ditypmi a neparentálnymi ditypmi je približne rovnaký: $PD = NPD$
- ▶ Ak sú gény vo väzbe, tetrády s neparentálnymi ditypmi sa vyskytujú v omnoho nižšej frekvencii ako tetrády s parentálnymi ditypmi: $PD \gg NPD$
- ▶ Mapová vzdialenosť medzi génmi sa rovná
 $1/2 \times (\text{počet TT} / \text{celkový počet tetrád}) \times 100$

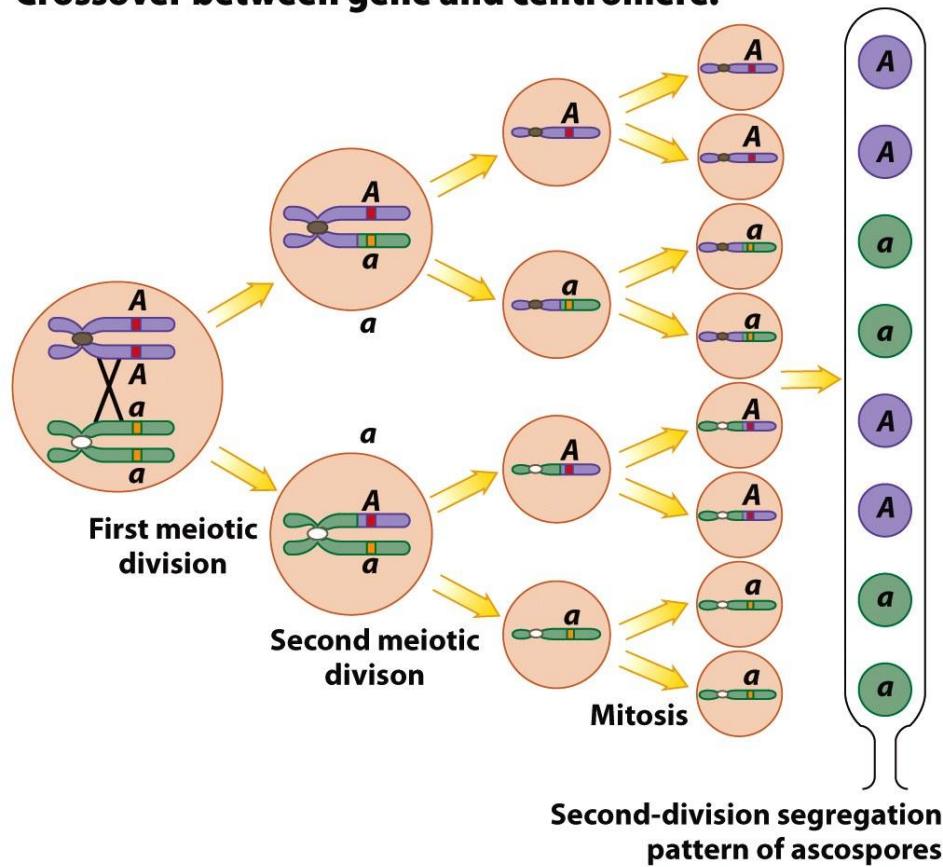
Usporiadané tetrády: segregácia počas prvého delenia

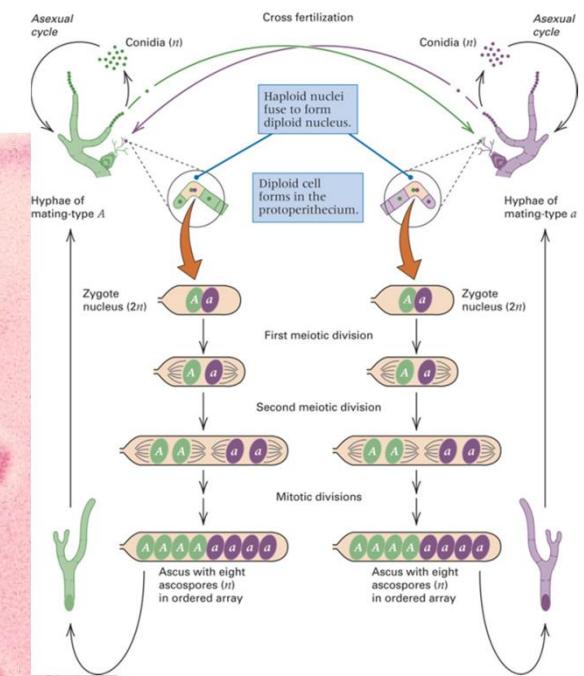
No crossover between gene and centromere.



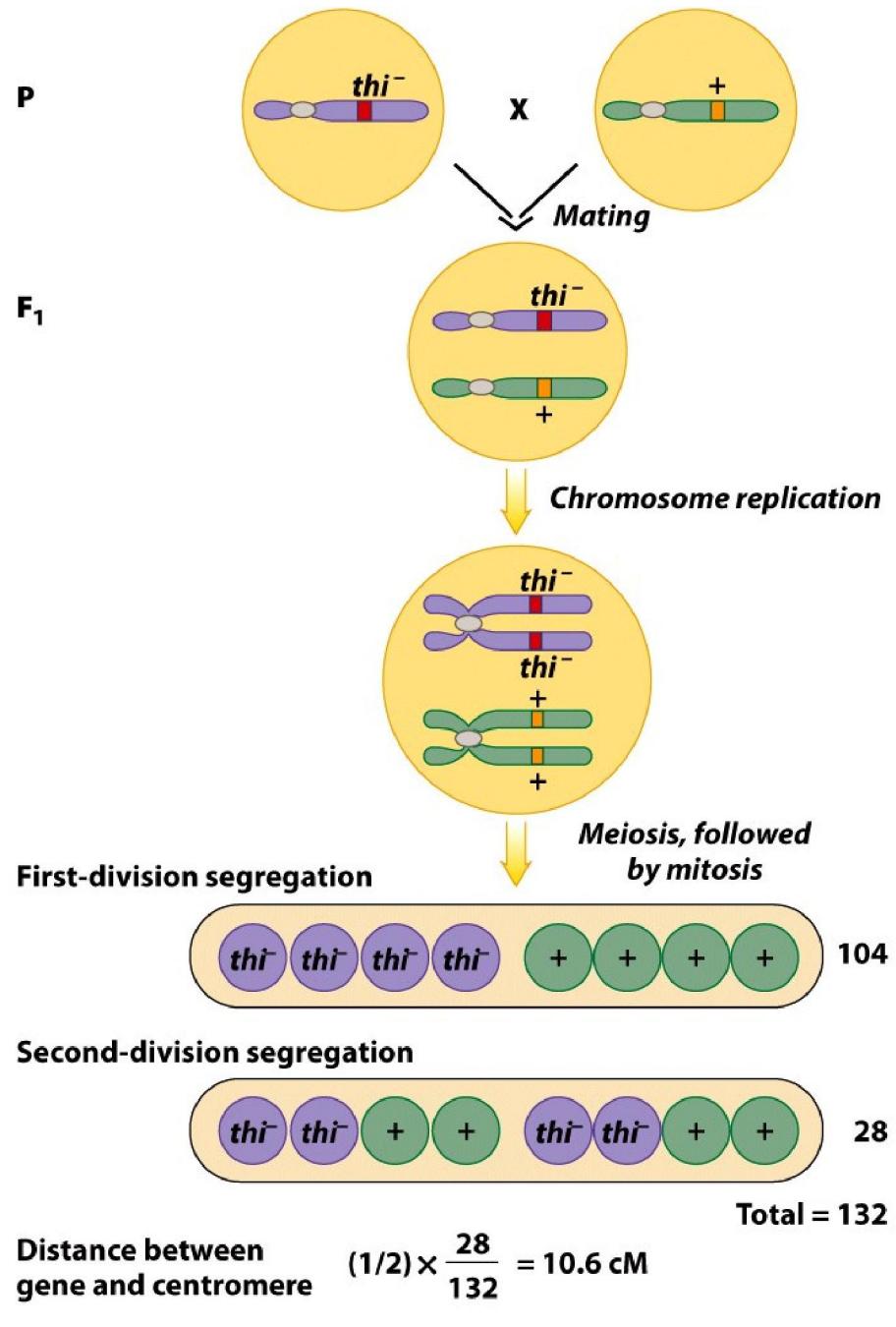
Usporiadané tetrády: segregácia počas druhého delenia

Crossover between gene and centromere.

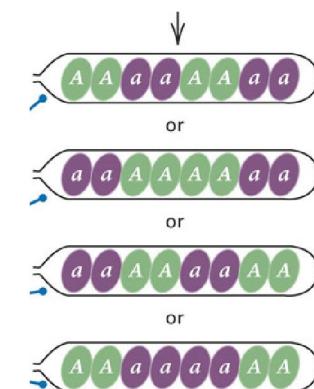




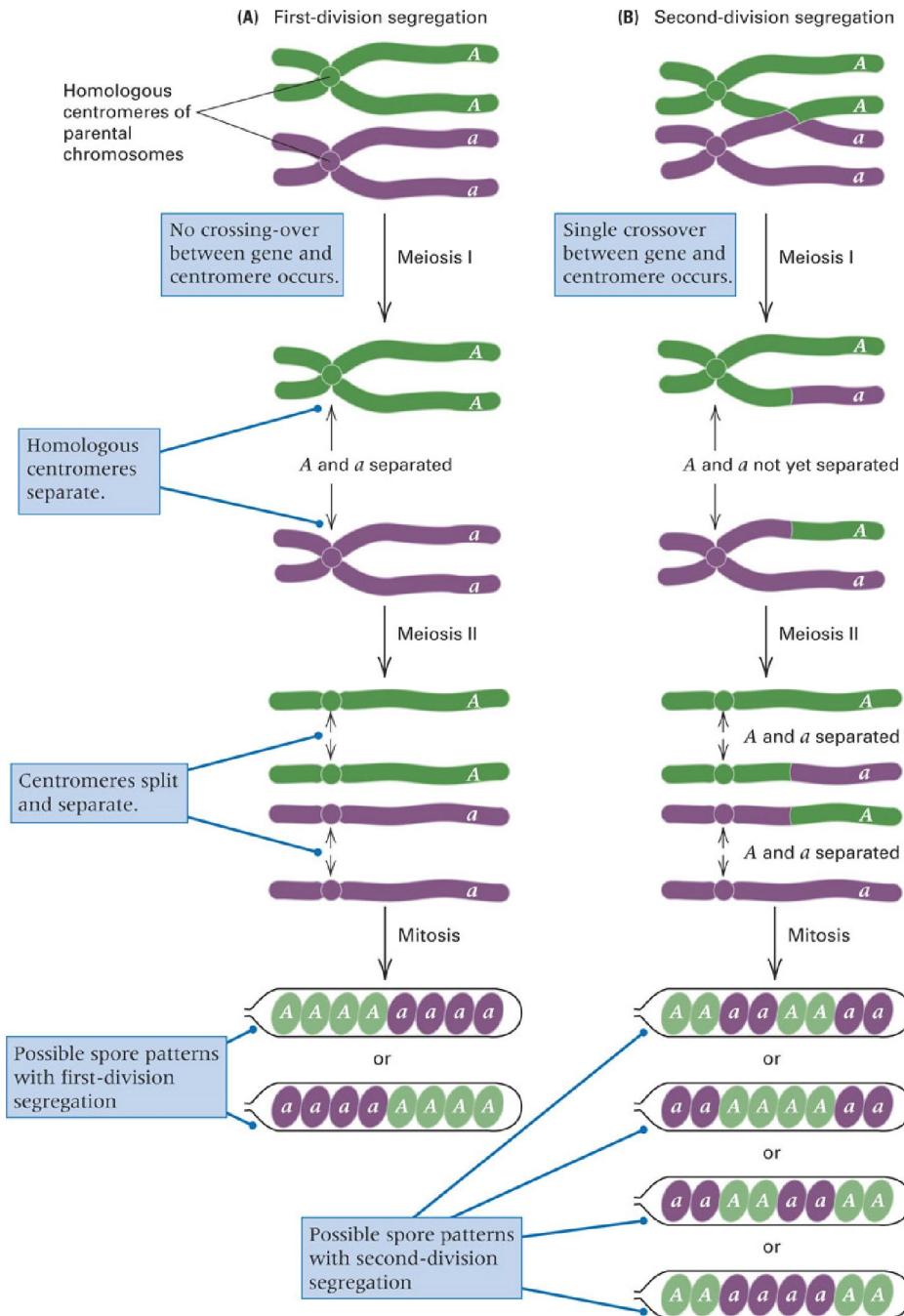
30 μm



Možnosti askov, v ktorých došlo k segregácii v druhom meiotickom delení



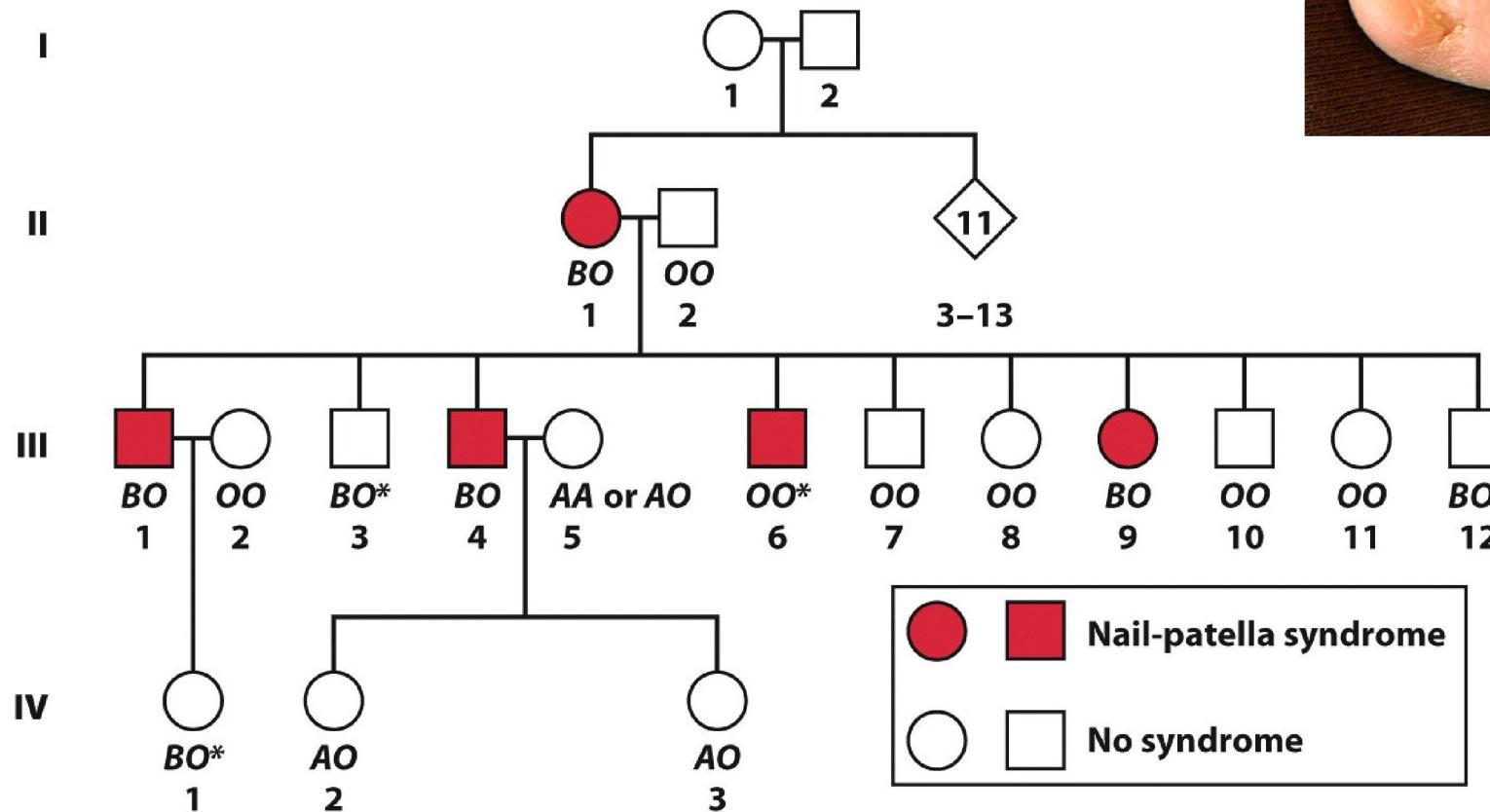
- The map distance between the gene and its centromere equals
- $\frac{1}{2} \times (\text{Number of asci with second division segregation} / \text{Total number of asci}) \times 100$
- This formula is valid when the gene is close enough to the centromere and there are no multiple crossovers

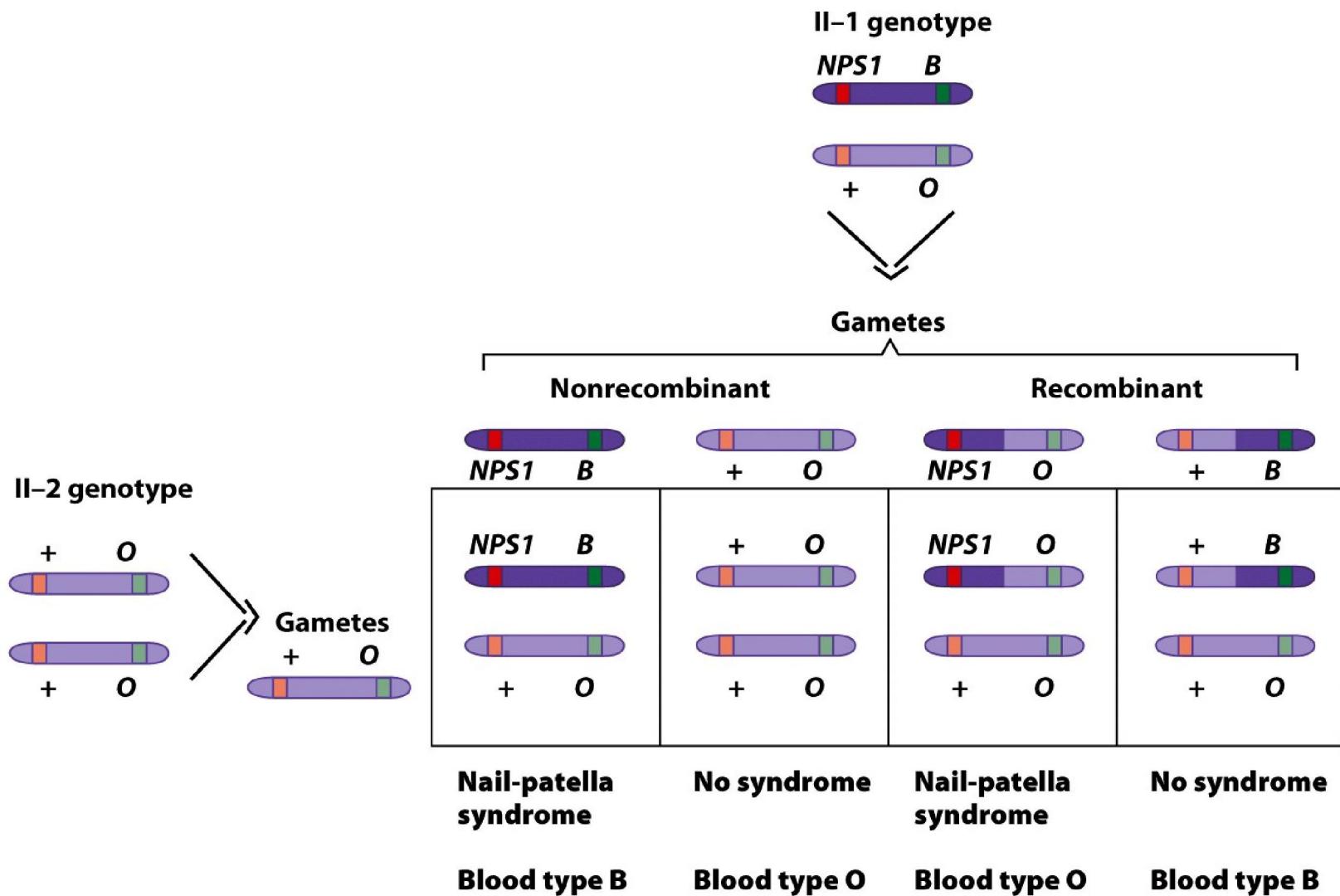


Väzbová analýza u ľudí

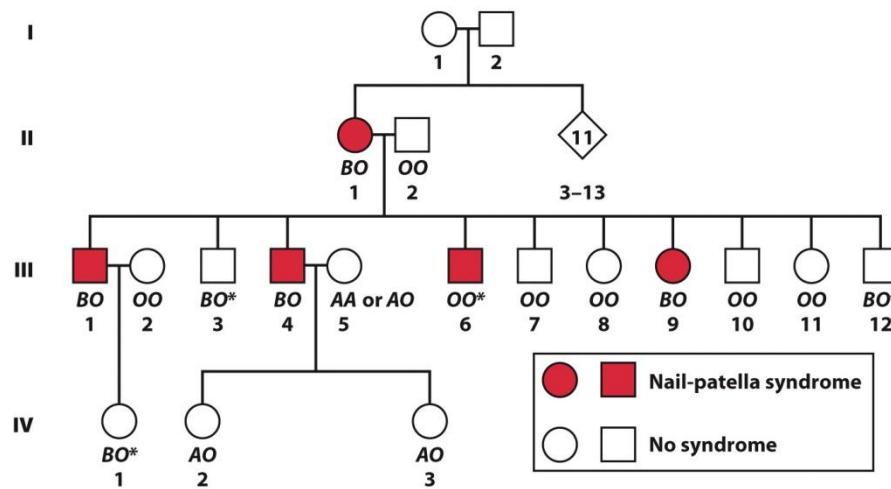
Analýza rodokmeňov umožňuje
lokalizovať gény na ľudské
chromozómy

Väzba medzi lokusmi ABO a Nail-Patella





Výpočet rekombinačnej frekvencie



- ▶ 4/13 potomkov (31%) v tomto rodokmeni sú rekombinanti
- ▶ Kombináciou dát z viacerých rodokmeňov bola stanovená vzdialenosť medzi lokusmi *ABO* a *NPS1* lokusmi na 10 cM.

Zhrnutie

- ▶ Väzba medzi génmi u ľudí sa dá odhaliť analýzou rodokmeňov
- ▶ Analýza rodokmeňov tiež umožňuje odhadnúť rekombináčne frekvencie na mapovanie génov na chromozómy

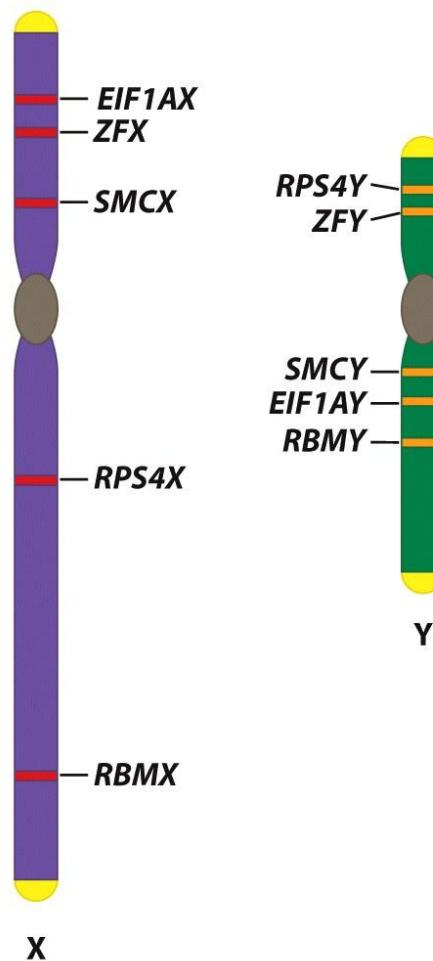
Rekombinácia a evolúcia

- ▶ Rekombinácia hrá dôležitú úlohu v evolúcii.
- ▶ Rekombinácia môže viest' k nahromadeniu priaznivých mutácií

Evolučný význam rekombinácie

- ▶ Meiotická rekombinácia je spôsob zvýšenia genetickej rozmanitosti na zosilnenie evolučnej zmeny
- ▶ Pri pohlavnom rozmnožovaní sa môžu navzájom stretnúť dve zvýhodňujúce alely rozličných génov v jednom organizme

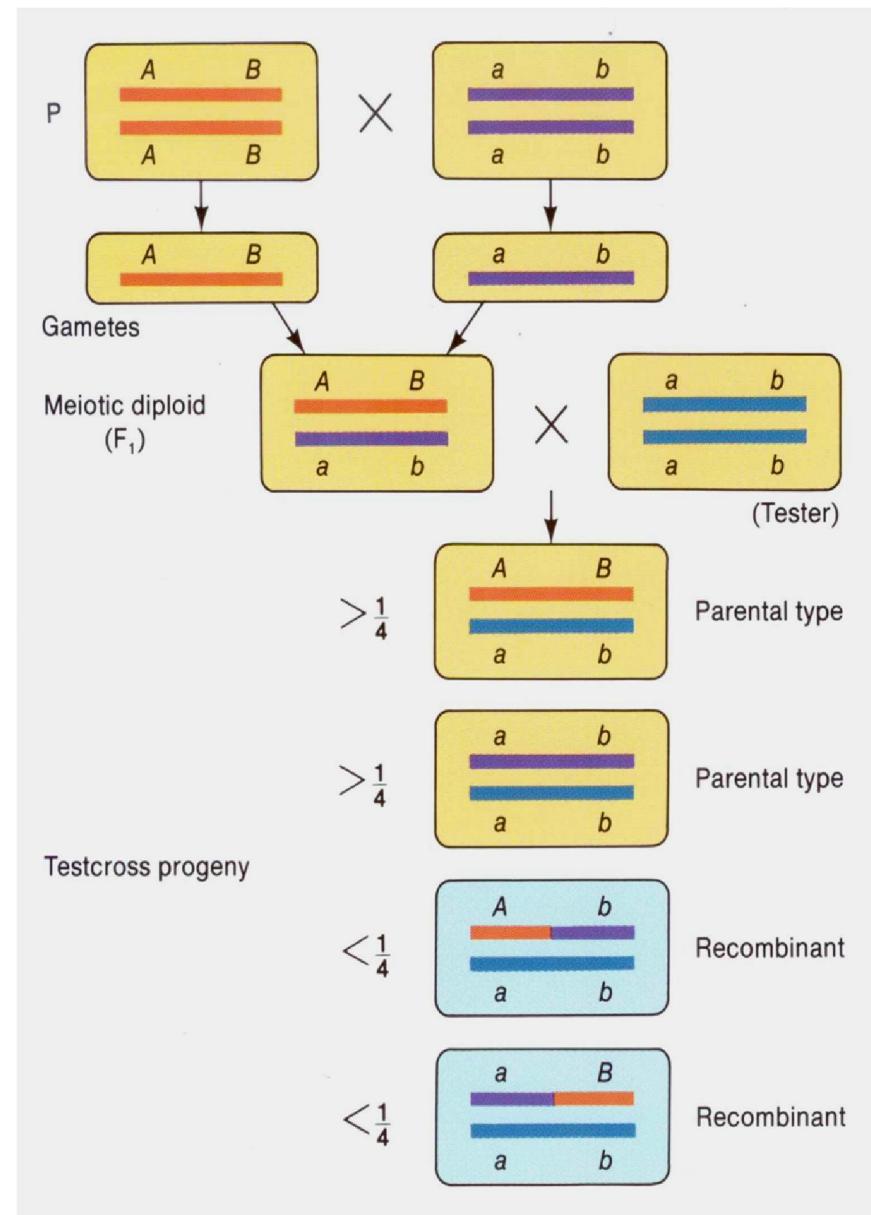
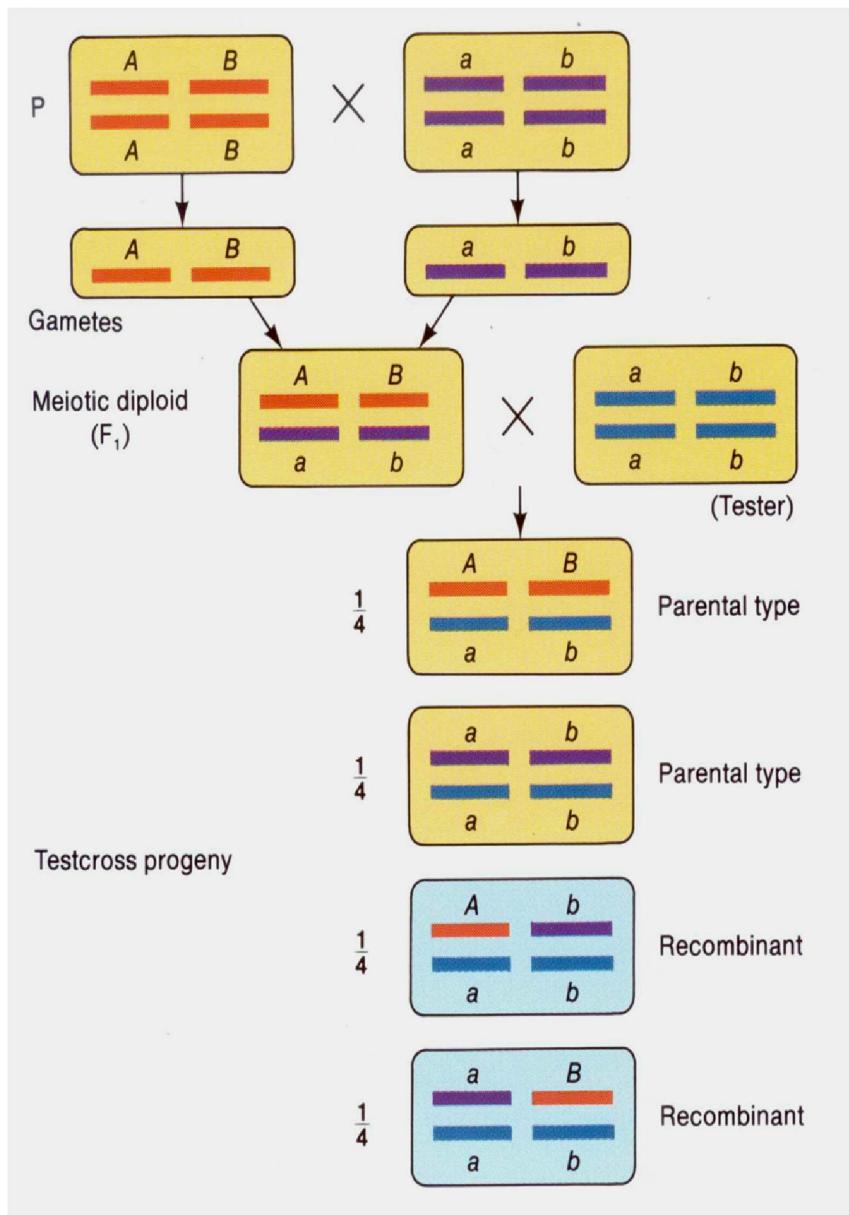
Ludské chromozómy X a Y



Genetická kontrola rekombinácie

- ▶ Do procesu rekombinácie je zapojených množstvo génov
- ▶ Chromozómové prestavby potláčajú rekombináciu
- ▶ U samčekov *D. melanogaster* nedochádza ku crossing overu.
- ▶ Intenzita rekombinácie je u rôznych druhov rôzna.

Porovnanie vol'nej kombinovateľnosti a väzby génov.



Now suppose both gene A and B were next to each other on the same chromosome.

What happens to the ratios in this diagram?

