

GENETYKA

OGÓLNA

I WETERYNARYJNA

Barbara Kosowska

GENETYKA

OGÓLNA

I WETERYNARYJNA



WROCLAW 2010

Opiniodawca

dr hab. Tadeusz Malewski

Redaktor merytoryczny

dr hab. Krystyn Chudoba, prof. nadzw.

Opracowanie redakcyjne

mgr Elżbieta Winiarska-Grabosz

Korekta

Janina Szydłowska

Łamanie

Teresa Alicja Chmura

Projekt okładki

Halina Sebzda

Dofinansowanie:

Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej oraz Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław 2010

ISBN 978-83-7717-004-5

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU

**Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Andrzej Kotecki
ul. Sopotka 23, 50-344 Wrocław, tel./fax 71 328-12-77
e-mail: wyd@up.wroc.pl**

Nakład 300+16 egz. Ark. wyd. 8,5. Ark. druk. 10,0

Druk i oprawa: F.P.H. „ELMA”

SPIS TREŚCI

Rozdział 1. Dziedziczenie cech (w tym schorzeń) monogenowych	
uwarunkowanych autosomalnie	7
Dziedziczenie cech w typie <i>pisum</i> (z pełną dominacją)	8
Dziedziczenie cech w typie <i>zea</i> (bez dominowania)	12
Dziedziczenie kilku cech niezależnych	15
Rozdział 2. Współdziałanie par alleli w wyznaczaniu jednej cechy	23
Współdziałanie dopełniające par alleli	23
Współdziałanie epistatyczne par alleli	25
Rozdział 3. Molekularne podstawy dziedziczenia cech	29
Replikacja DNA	35
Biosynteza białka	37
Transkrypcja	37
Kod genetyczny	39
Translacja	40
Mutacje genowe	44
Obliczanie częstości mutacji	47
Rozdział 4. Seria alleli jako efekt kolejnych mutacji.	
Polimorfizm genetyczny antygenów erytrocytarnych	
 oraz białek osocza	49
Allele wielokrotne	49
Genotypy letalne związane z polimorfizmem genetycznym	51
Polimorfizm genetyczny białek osocza krwi oraz antygenów erytrocytarnych	52
Układ grupowy ABO człowieka	55
Genetyczna determinacja antygenów ABO w erytrocytach	58
Genetyczna determinacja antygenów ABO na innych komórkach ustroju	62
Rozdział 5. Cechy sprzężone. Rekombinacja homologiczna	65
Sprzężenie całkowite genów	67
Sprzężenie względne genów	68
Rozdział 6. Sprzężeniowe mapy chromosomowe	71
Mapa genetyczna trzech sprzężonych <i>loci</i>	72
Rozdział 7. Aberracje chromosomowe	77
Aberracje liczby chromosomów	77
Aberracje strukturalne	81
Aberracje chromosomowe w komórkach nowotworowych	81
Rodzaje strukturalnych aberracji chromosomowych	81
Translokacje: zrównoważone i niezrównoważone	82
Disomia jednorodzielska. Imprinting genomowy	86

Rozdział 8. Mitoza i mejoza. Gametogeneza	89
Podział mejotyczny	92
Trzy ważne następstwa mejozy	94
Rozdział 9. Determinacja płci zwierząt	101
Determinacja płci ssaków	101
Płeć chromosomowa	101
Chromatyna płciowa	102
Płeć chromatynowa	104
Płeć genetyczna	105
Determinacja płci u ptactwa domowego	106
Rozdział 10. Cechy zwierząt sprzężone oraz związane z płcią	109
Cechy ssaków sprzężone z płcią	109
Cechy związane z płcią	115
Rozdział 11. Grupy krwi ssaków	119
Grupy krwi zwierząt	119
Praktyczne wykorzystanie polimorfizmu białek ustroju w hodowli i medycynie	125
Układ grupowy Rh człowieka	128
Rozdział 12. Pokrewieństwo i podobieństwo genetyczne. Ryzyko ujawnienia się chorób i anomalii dziedzicznych wskutek inbredowania. Analiza rodowodów	133
Rozdział 13. Obliczanie współczynników pokrewieństwa i inbredu	139
Obliczanie współczynnika pokrewieństwa	139
Obliczanie współczynnika inbredu	141
Rozdział 14. Laboratorium cytogenetyczne. Analiza prawidłowych kariotypów zwierząt	145
Rozdział 15. Laboratorium cytogenetyczne. Diagnostyka patologii kariotypowych zwierząt	153
Wskazania do badania kariotypu	153
Zmiany kariotypowe specyficzne gatunkowo	155
Polimorfizm chromosomowy	156
PIŚMIENNICTWO	158

1

Dziedziczenie cech (w tym schorzeń) monogenowych uwarunkowanych autosomalnie

W organizmie wielokomórkowym wyspecjalizowane komórki budujące tkanki żyją zgodnie z prawidłami wyznaczonymi przez geny, które zawierają w swych jądrach komórkowych. Podstawową prawidłowością określającą długość życia komórki jest jej cykl komórkowy, który obejmuje fazy życia komórki od podziału do podziału. Na cykl życiowy komórki linii somatycznej składają się dwie podstawowe fazy: interfaza oraz mitoza, kończąca się cytokinezą, czyli podziałem komórki na dwie potomne. Cykle życiowe komórek somatycznych oraz komórek linii płciowej zostaną omówione w rozdziale 5. Interfaza składa się z trzech etapów: G1, S oraz G2. W fazie G1 wszystkie chromosomy składają się z pojedynczych chromatyd. Każda chromatyda utworzona jest z cząsteczki DNA, zbudowanej z dwóch przeciwbieżnych, antyrównoległych pasm, a geny są nielicznymi fragmentami tych pasm. Faza S oznacza syntezę (replikację) całego jądrowego DNA komórki, zatem w fazie G2, która następuje po S, zreplikowane semikonserwatywnie DNA istnieje w postaci chromosomów zbudowanych już z dwóch chromatyd. Replikacja DNA umożliwia podwojenie materiału genetycznego, niezbędnego do powstania dwóch potomnych komórek z jednej komórki wyjściowej. Komórki, które się nie dzielą, nie przechodzą całej interfazy, funkcjonują zasadniczo w fazie G1 (czasem w fazie spoczynkowej G₀), w których chromosomy zbudowane są z jednej chromatydy. Chromosomy eukariotyczne funkcjonują w parach zwanych homologami, które w odpowiadających sobie (tych samych) pozycjach mają geny zwane allelami, z reguły kodujące dwa białka determinujące określoną cechę. Zatem cecha prosta jest najczęściej uwarunkowana jedną parą genów, dlatego nazywana jest także cechą monogenową. Miejsce w chromosomie zajmowane przez dany gen określa się z języka łacińskiego terminem *locus* (w l.m. *loci*). W tym rozdziale będzie mowa o dziedziczeniu cech prostych, których geny zlokalizowane są na chromosomach zwanych autosomami. Autosomy to wszystkie chromosomy jądrowe komórki poza chromosomami płci. Tak więc, geny alleliczne zlokalizowane na autosomach kodują cechy autosomalne. Wzajemny stosunek dwóch genów allelicznych kodujących dowolną cechę może być dwójakiego rodzaju: albo jeden gen dominuje całkowicie nad drugim, a ten mu ustępuje (tzw. typ *pisum* z pełną dominacją),

albo w obrębie pary alleli żaden z genów nie dominuje nad swoim allelem, a powstała cecha jest wypadkową współdziałania obu genów (tzw. typ *zea* – bez dominacji).

Dziedziczenie cech w typie *pisum* (z pełną dominacją)

Aby zrozumieć przekazywanie prostej cechy autosomalnej, należy prześledzić dziedziczenie cechy w obrębie potomstwa jednej pary rodziców, w sposób jaki opracował to Grzegorz Mendel w jeszcze w XIX wieku.

Przykład 1. Określony osobnik w każdej prostej cesze autosomalnej jest nosicielem dwóch alleli, z których jeden odziedziczył od matki, a drugi od ojca. Dwa geny alleliczne osobnika, kodujące tę samą cechę, mogą być albo takie same, albo różne. Gdy są takie same, osobnik jest homozygotą, gdy zaś się różnią, jest heterozygotą. Aby wysnuć prawidłowe wnioski co do charakteru badanego genu (jego dominowania, braku dominowania bądź recesywności), należy zastosować model badawczy opracowany przez Mendla, w którym będzie można obserwować przejawianie się siły (ekspresji) alleli w trzech kolejnych pokoleniach: rodzicielskim – P (łac. *parentes* – rodzice), pierwszym pokoleniu potomnym – F_1 , (łac. *filia* – potomstwo) oraz drugim pokoleniu potomnym – F_2 . Osobniki rodzicielskie (P), w zakresie badanej cechy, muszą być przeciwstawnymi homozygotami w parach alleli odpowiedzialnych za powstanie alternatywnych odmian tej samej cechy. Przykładem niech będzie umaszczenie bydła europejskiego, które uwarunkowane jest przez dwa podstawowe allele: jednomaściści (S) i łaciatości (s). Każdy z rodziców, będąc homozygotą, podczas gametogenezy może wytwarzać tylko jeden rodzaj gamet ze względu na to *locus*: rodzic homozygotycznie jednomaścisty tylko gamety z genem S, rodzic łaciaty – tylko z genem s. Po połączeniu się gamet powstaną zygoty, a następnie osobniki o heterozygotycznym genotypie Ss, które fenotypowo będą podobne do rodzica o cesze dominującej, czyli wszystkie będą jednomaściste. Osobniki pokolenia F_1 , zwane także pierwszym pokoleniem mieszańców, gdy zostaną skojarzone między sobą (łac. *inter se*), dadzą pokolenie F_2 (drugie pokolenie mieszańców), w którym wystąpią znów dwa fenotypy, identyczne z tymi jakie mieli rodzice w pokoleniu wyjściowym: jednomaściste oraz łaciaste. Liczebność jednak tych dwóch klas fenotypowych będzie różna: osobników o cesze dominującej (jednomaściстых) będzie trzy razy więcej (3/4), tj. 75% niż osobników o cesze recesywnej (łaciatych), których będzie 1/4 (25%). Liczebność genotypów będzie się jednak różnić od liczebności fenotypów: wśród osobników jednomaściстых (których było w sumie 75%) 25% stanowić będą homozygoty dominujące (SS), a 50% heterozygoty (Ss). Zatem w pokoleniu F_2 , gdy badamy cechy dziedziczone w typie *pisum*, występują dwie klasy fenotypów (jednomaściste i łaciaste) oraz 3 klasy genotypów. Dzieje się tak dlatego, że nie można odróżnić w klasie osobników jednomaściстых, heterozygot od homozygot dominujących. W celu odróżnienia heterozygot od homozygot recesywnych Mendel opracował model kojarzenia zwany testowym lub sprawdzającym. Polega on na kojarzeniu osobników, co do których hodowca nie jest pewien czy są heterozygotami, czy homozygotami dominującymi – z osobnikami, które są homozygotami recesywnymi (takie rozróżnienie może mieć często ważne znaczenie

hodowlane bądź zdrowotne). Wynik kojarzenia (w obrębie czystej rasy) lub krzyżowania (między rasami), w wypadku gdy testowany osobnik jest heterozygotą, powinien w pokoleniu potomnym wynosić jak 1:1. Na przykład, gdy połączymy osobniki Ss x ss, w pokoleniu potomnym powinny wystąpić 2 fenotypy w stosunku 50% do 50%: jednościsty i łaciaty. Gdy zaś testowany osobnik nie jest heterozygotą, po połączeniu go z homozygotą recesywną, w pokoleniu potomnym wystąpi tylko jeden fenotyp, w którym będzie obecna cecha dominująca. Na przykład: gdy skrzyżujemy osobniki SS x ss, w pokoleniu potomnym po krzyżowaniu testowym 100% osobników będzie miało ten sam genotyp i fenotyp jednościsty: Ss.

Przykładami cech zwierzęcych dziedziczących się wg wzorca *pisum* są:

u bydła: (gen dominujący D, recesywny r)

- umaszczenie czarne (D) i czerwone (r);
- brak rogów (D) i obecność rogów (r);
- głowa biała (D) i barwna (r);

u koni:

- umaszczenie kare (D) i kasztanowate (r);
- umaszczenie łaciate (D) i jednolite (r);

u owiec:

- umaszczenie białe (D) i czarne (r);
- umaszczenie jednolite (D) i pstre (r);
- tłuszcz biały (D) i żółty (r);

u trzody chlewnej:

- czarny pigment skóry (D) i brak pigmentu (r);
- włosy białe (D) i czarne (r);
- racica mułowa (końska, zrośnięta) (D) i normalna (r);

u kur:

- skóra biała (D) i żółta (r);
- grzebień groszkowy (D) i prosty (r);
- niebieska skorupa jaja (D) i biała (r);
- obecność brody i baków (D) oraz ich brak (r);

u świnek morskich:

- okrywa krótkowłosa (D) i długowłosa (r);
- umaszczenie czarne (D) i brązowe (r);

u królików:

- umaszczenie łaciate (D) i jednolite (r);
- umaszczenie czarne (d) i brązowe (r);

u kotów:

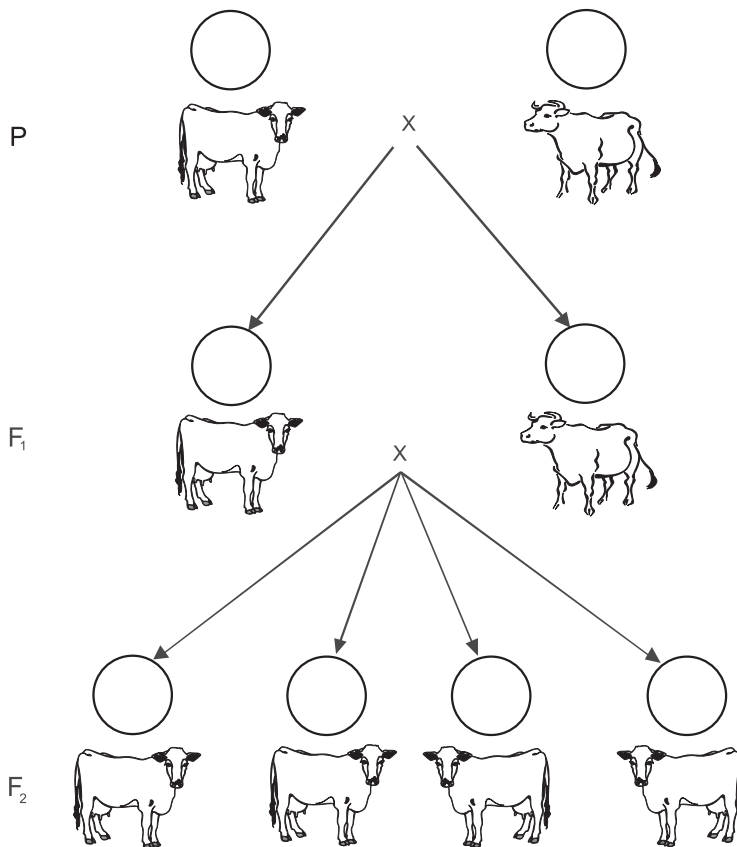
- krótka sierść kotów syjamskich (D) i długa sierść kotów perskich (r);
- umaszczenie czarne kotów perskich (D) i podpalane umaszczenie kotów syjamskich (r).

u psów:

- umaszczenie czarne (D) i żółte (r);
- umaszczenie czarne (D) i dzikie wilczaste (r);
- uszy długie wiszące (D) i krótkie stojące (r);
- jasne siodła (D) i brak siodła (r);

Zadanie 1.1

Przedstaw na rysunku 1.1 dziedziczenie umaszczenia czarnego i czerwonego u bydła, przy założeniu, że pokolenie rodzicielskie jest homozygotyczne i reprezentuje alternatywne odmiany umaszczenia.



Rys. 1.1. Dziedziczenie umaszczenia czarnego i czerwonego u bydła europejskiego

Zadanie 1.2

Skojarzono bezrogiego buhaja z 30 rogatymi krowami. Uzyskano 27 osobników bezrogich oraz 3 osobniki rogate. Jaki jest genotyp buhaja?

Zadanie 1.3

Czarny buhaj Angus rasy aberdeen, mający gen czerwonego umaszczenia, użytkowany rozplodowo w stadzie krów czarnych, pozostawił 40 córek. Córki te, skojarzone z buhajem Celtus o genotypie CC, urodziły w ciągu 2 lat 32 jałówki, które zostały pokryte buhajem Zen. Okazało się, że jest heterozygotą. Czy jest możliwe, że wśród jego potomstwa wystąpią osobniki czerwone? Jeśli tak, to ilu osobników czerwonych należy oczekiwać?

Zadanie 1.4

W Szwecji opisano występowanie dziwnych zaburzeń nerwowych u foksterierów. Występowały one u psów w wieku 4–6 miesięcy, a później uniemożliwiały im normalne poruszanie się, nie były jednak letalne. Wśród 91 szczeniąt z 23 miotów 25 psów wykazywało wadę, którą oznaczono jako ataksję mózdkową (*ataxia cerebellitis*). Wykazujące ataksję szczenięta z różnych miotów miały wspólnego przodka. Wadą dotknięte były psy obu płci. Czy można mówić o genetycznym podłożu ataksji i o jego ewentualnym charakterze?

Zadanie 1.5

Także w Szwecji opisano 143 źrebięta splotzone przez doskonałego belgijskiego ogiera Godvan, pochodzące po 124 klaczach, wśród których 65 dotkniętych było kompletnym brakiem tęczówki (*aniridia*). Po upływie 2 miesięcy od urodzenia rozwijała się u nich katarakta. Godvan miał również tę wadę, lecz oboje jego rodzice byli normalni. Co spowodowało wystąpienie wady u Godvana, a co u jego 65 potomków? Ponieważ cecha ta uniemożliwia używanie do pracy koni dotkniętych chorobą, większość z nich została przeznaczona na rzeź, jednak zachowano normalne potomstwo ogiera Godvana. Czy ewentualne użycie ich do rozplodu będzie decyzją słuszną?

Zadanie 1.6

W stadzie koni rasy perszeron 16 klaczy pochodzących po ogierze Tarzan skojarzono z ogierem o imieniu Oskar. Wśród 39 źrebiąt 5 miało kędzierzawą sierść, nie spotykaną u żadnego z krewniaków. Ojciec Tarzana był jednocześnie jego dziadkiem ze strony matki, matka zaś także babką ze strony ojca ogiera Oskar. Jak można wytłumaczyć pojawienie się kędzierzawej sierści?

Zadanie 1.7

Pewien lekarz weterynarii pisząc o dziedzicznej anomalii przejawiającej się różową barwą zębów u bydła i trzody chlewnej, stwierdził, że „krowy i buhaje z normalnymi zębami mogą przenieść chorobę na swoje potomstwo, podczas gdy nie zdarza się to nigdy w potomstwie świń, których rodzice mieli normalne zęby”. Jakie jest podłoże genetyczne tej wady u bydła, a jakie u trzody chlewnej?

Zadanie 1.8

U psów dalmatyńskich występuje dziedziczna głuchota, łącząca się z pewnym charakterystycznym markerem fenotypu, jakim są oczy niebieskie, a czasem także niewłaściwe dla wzorca rasy umaszczenie (obecność zamiast niewielkich czarnych pla-

mek na białej sierści – dużych czarnych łat). Przy badaniu częstości występowania tej anomalii u dalmatyńczyków stwierdzono jej obecność u 35 psów pochodzących ze spokrewnionych ze sobą 40 miotów, których ogólna liczebność wyniosła 145 osobników. Jaki jest model dziedziczenia tego schorzenia u psów dalmatyńskich?

Dziedziczenie cech w typie *zea* (bez dominowania)

Ten rodzaj współdziałania genów allelicznych prześledzić można na przykładzie dziedziczenia upierzenia normalnego oraz szurpatego u kur.

Przykład 2. Osobnik homozygotyczny, silnie szurpaty ma genotyp FF, a normalnie upierzony – ff. Gdy je skojarzymy ze sobą, pokolenie F_1 będzie miało genotyp heterozygotyczny, a fenotyp pośredni – słabo szurpaty. Gdy następnie skojarzymy osobniki słabo szurpate między sobą ($F_1 \times F_1$), w pokoleniu F_2 wystąpią osobniki o 3 genotypach i 3 fenotypach: 25% silnie szurpatych – FF, 50% słabo szurpatych heterozygot Ff oraz 25% osobników upierzonych normalnie, o genotypie ff. Zatem, każdemu z trzech fenotypów odpowiada własny odmienny genotyp, pozwalający na odróżnienie od siebie wszystkich 3 fenotypów. Tak więc, kojarzenie testowe w przypadku cech dziedziczących się w typie *zea* nie ma zastosowania.

Według wzorca *zea* dziedziczą się następujące cechy:

u bydła:

- umaszczenie czerwone (CC), deresowate (Cc) oraz białe (cc) u bydła rasy shorthorn;
- wielkość plam białych i barwnych u bydła łaciatego; ich wzajemne relacje uwarunkowane są działaniem genów modyfikatorów. Genotyp LL warunkuje przewagę plam barwnych nad białymi, genotyp heterozygotyczny wyznacza stosunek wielkości plam białych do barwnych w przybliżeniu jak 1:1, zaś genotyp ll determinuje zdecydowaną przewagę plam białych nad barwnymi.

u koni:

- umaszczenie kare (DD), gniade (Dd) oraz kasztanowate (dd);
- umaszczenie bladokremowe (DD), palomino (Dd) oraz jasnokasztanowe lub jasnogniade (dd);

u kur:

- upierzenie szurpate (DD), słabo szurpate (Dd) oraz normalne (dd);
- ubarwienie czarne (DD), niebieskie (Dd) i białe (dd) u rasy andaluzyjskiej (rys. 1.2);
- ubarwienie czarne (DD), gronostajowe (Dd) i białe (dd) u kur rasy sussex gronostajowy;

u świń:

- reakcja w czasie na halotan, silna (DD), średnia (Dd) oraz słaba (dd).

Zadanie 1.10

Białe jałówki shorthorn często są bezpłodne. Pewien lekarz weterynarii pisząc o tym problemie, podał, że Molos – biały buhaj shorthorn był ojcem 20 dereszowatych i czerwonych jałówek, z których wszystkie były normalnie płodne oraz 10 białych jałówek, które okazały się niepłodne. Czy jest coś, co mogłoby nasunąć wątpliwości co do tego doniesienia?

Zadanie 1.11

W jaki sposób umaszczone konie należy kojarzyć, by otrzymywać stale potomstwo:

- kare,
- gniade,
- kasztanowate?

Zadanie 1.12

Czy ze skojarzenia konia karego z klaczami gniadymi można otrzymać źrebięta kasztanowate? Jakiej maści konie należy kojarzyć, by otrzymać w potomstwie jednej pary rodziców źrebięta kare, gniade oraz kasztanowate?

Zadanie 1.13

Konie palomino są bardzo atrakcyjne fenotypowo. Określenie palomino oznacza barwę sierści konia zbliżoną do koloru pomarańczy (jasnokasztanowate). Najpiękniejsze są konie palomino z płową (konopiastą) grzywą i ogonem. W USA wystarczy, by koń (nawet o nieznanym pochodzeniu) mający temperament gorącokrwisty i umaszczenie palomino, został wpisany do księgi rasy palomino.

Co należy zrobić, by otrzymywać wyłącznie konie palomino?

Czy hodowca kojarząc konie palomino *inter se* (między sobą), otrzyma wyłącznie konie o tym umaszczeniu?

Zadanie 1.14

Kury gronostajowe rasy sussex są chętnie hodowane przez hodowców amatorów. Czy w celu otrzymania gronostajowych kur tej rasy wystarczy skrzyżować kurę czarną (np. minorę) z kogutem białym, np. rasy leghorn (lub odwrotnie)?

Zadanie 1.15

U świń rasy pietrain (belgijska łaciata rasa świń z wyraźną hipertrofią mięśniową, tzw. czteroszynkowa) występują często podczas transportu upadki związane z tzw. rzekomą hipertermią złośliwą (MHS – malignant hyperthermia syndrome). Objawy tego zespołu, w postaci wzrostu temperatury, sztywności mięśni, kwasicy oddechowej i metabolicznej, prowadzą szybko do śmierci oraz pogorszenia struktury i wartości mięsa. Opisany zespół objawów określa się mianem świńskiego zespołu stresowego (ang. PSS – porcine stress syndrome). Mięso świń padłych w takich sytuacjach jest blade, miękkie i wodniste (ang. PSE – pale, soft and exudative) i w efekcie nieprzydatne technologicznie do przetwórstwa. Padają przeważnie osobniki homozygotyczne pod względem recesywnego genu ryr, który jest obecny w rasie pietrain wskutek

mutacji zaistniałej w dominującym genie typu dzikiego Ryr, determinującym budowę rianodiny, białka transbłonowego budującego kanał jonowy, odpowiedzialny za regulację przepływu wapnia między komórką a przestrzenią pozakomórkową. Świnie w celu ich zdiagnozowania pod kątem obecnego u nich genotypu poddaje się często testowi polegającemu na traktowaniu zwierząt oparami halotanu, co wywołuje analogiczne objawy do ww. choroby transportowej, będącej dla świń ciężkim stresem. Homozygoty recesywne i heterozygoty ujawniają swą wrażliwość na halotan w różnym czasie, co pozwala na ich klasyfikację do jednego lub drugiego genotypu. Jednakże zmutowany gen ryr wykazuje tzw. niepełną penetrację, w związku z tym objawy pozwalające sklasyfikować podczas testu osobniki na homo- i heterozygotyczne nie zawsze występują u heterozygot. W takich przypadkach lepiej zastosować test DNA (obecny na rynku polskim).

Zakładając, że wewnątrz rasy pietrain prawie wszystkie osobniki są homozygotyczne pod względem mutacji ryr, a mutacja ta łączy się z posiadaniem znacznie większej masy mięśniowej i wydajności rzeźnej w porównaniu z innymi rasami świń, jak należy dalej postępować? Czy należy krzyżować świnie tej rasy z przedstawicielami innych ras mięsnych, wolnych od mutacji w *locus* ryr? Czy może należy usuwać osobniki homozygotyczne recesywne z rasy pietrain?

Dziedziczenie kilku cech niezależnych

Omawiając dziedziczenie kilku cech monogenowych, niezależnych, mamy do czynienia zawsze z cechami, których geny ulokowane są na kilku różnych parach chromosomów homologicznych. Oznacza to, że każda para genów allelicznych leży na innej parze homologów. Podczas mejozy geny warunkujące cechy niezależne podlegają segregacji mendelowskiej razem z chromosomami, na których leżą. Ponieważ sytuacja w przypadku badania cech niezależnych sprowadza się do bardzo spektakularnego uproszczenia: 1 gen = 1 chromosom, łatwo można zrozumieć, dlaczego jeszcze wiele lat po ponownym odkryciu praw Mendla uważano, że to właśnie chromosom stanowi jednostkę dziedziczności. Minęło wiele lat, zanim odkryto, iż w chromosomach leżą z reguły zbiory genów.

Dziedziczenie niezależne dotyczy położenia np. dwóch par alleli (A, a) i (B, b) na dwóch parach autosomów, ale może dotyczyć także szczególnej sytuacji, gdy jedna para alleli (A, a) leży na parze autosomów, natomiast para (B, b) leży na dwóch homologicznych chromosomach płci (X). W wyniku losowej segregacji chromosomów heterozygoty w każdej parze genów, np. (A, a) wytwarzają 2^n rodzajów gamet (n = liczba par genów); w tym konkretnym przypadku liczba par genów $n = 1$, a więc powstaną $2^1 = 2$ rodzaje gamet: jedna z genem A, druga z genem a. Jeśli te dwa rodzaje gamet połączą się, powstaną wówczas 4^n kombinacje genów ($2^n \times 2^n$). W tym konkretnym przypadku 2 rodzaje gamet (A), (a) połączą się losowo z takimi samymi gametami (A), (a) i stworzą cztery kombinacje genów (4^1): AA, Aa, aA, aa, z których powstanie 3^n rodzajów genotypów. Tutaj $n = 1$, zatem powstaną trzy rodzaje genotypów o następującej frekwencji: AA, 2Aa, aa.

Rozpatrując z kolei dziedziczenie dwóch cech przejawiających się w fenotypie osobników, polegające na ekspresji dwóch par genów dziedziczących się niezależnie (czyli zgodnie z prawami Mendla), kombinacja ta może się składać z następujących możliwości:

- a) obie cechy dziedziczą się w typie *pisum*;
- b) obie cechy dziedziczą się w typie *zea*;
- c) jedna z cech dziedziczy się w typie *pisum*, a druga w typie *zea*.

Dziedziczenie dwóch cech w typie *pisum*

Przykład 3. U bydła występują dwie pary alleli dziedziczących się w typie *pisum*, z których pierwsza wyznacza umaszczenie czarne C bądź czerwone – c, a druga jednomaściłość – S bądź łaciaty – s (rys. 1.3). Jeżeli skojarzymy osobniki czarne jednomaściste CCSS z czerwonymi łaciatymi (ccss) lub osobniki czarne łaciate CCss z czerwonymi jednomaścistymi ccSS, to pokolenie F_1 będzie w całości posiadało cechy dominujące, pochodzące od dowolnego rodzica, a zatem będzie czarne i jednomaściste, o genotypie podwójnej heterozygoty (podwójnego mieszańca, dihybryda): CcSs. Po skojarzeniu ze sobą pierwszego pokolenia mieszańców ($F_1 \times F_1$) – w pokoleniu F_2 wystąpią cztery rodzaje fenotypów, ale w nierównych ilościach, a mianowicie na szachownicy Punnetta liczącej 16 pól – 4 klasy fenotypowe ułożą się w stosunku 9:3:3:1. Najwięcej osobników, bo aż 9/16, będzie miało fenotyp powstały z kombinacji dwóch cech dominujących (C-,S-), czyli będą to cielęta czarne jednomaściste, następne w kolejności będą dwie równoliczebne klasy fenotypowe liczące po 3/16 osobników, posiadających jedną cechę dominującą, a jedną recesywną (czarne łaciate – C-ss oraz czerwone jednomaściste – cc-S), zaś najmniej liczebną, czwartą klasę fenotypową (1/16) utworzą osobniki o fenotypie czerwonym łaciatym, czyli powstałe z kombinacji dwóch cech recesywnych; będą to zawsze homozygoty – ccss.

Zadanie 1.16

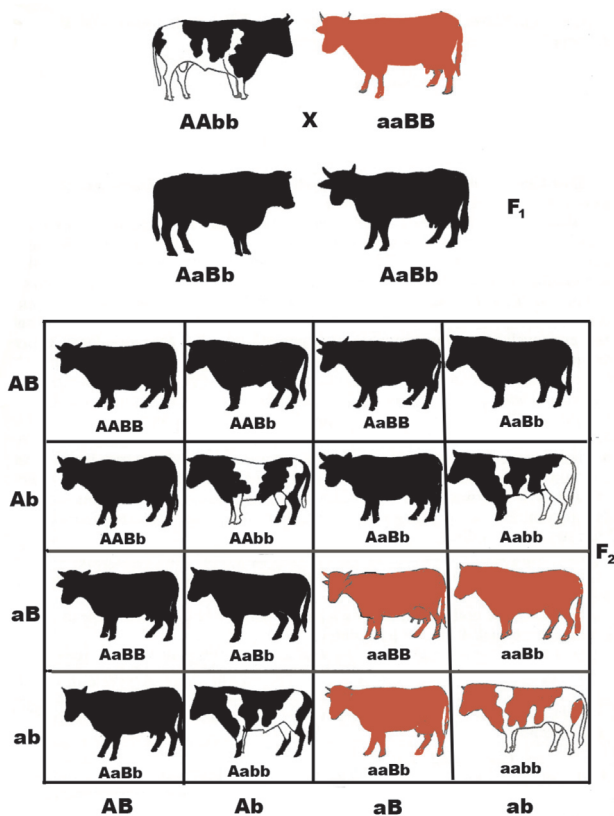
Jaki genotyp miał czarny buhaj, jeśli jego potomstwo uzyskane z kojarzenia z dwoma czerwonymi łaciatymi krowami było czerwono-białe oraz czarne?

Zadanie 1.17

Bydło rasy afrykander jest z reguły czerwone i rogate, ale w pld.-zach Afryce powszechnie występuje żółte i rogate bydło tej rasy. Ferma doświadczalna w pld. Afryce zakupiła żółtego i bezrogiego buhaja rasy afrykander. Gdy skojarzono go z czerwonymi i rogatymi krowami, dał on następujące cielęta: 7 żółtych bezrogich; 6 żółtych rogatych; 7 czerwonych bezrogich; 7 czerwonych rogatych. Co na podstawie tych wyników można powiedzieć o dziedziczeniu umaszczenia żółtego i czerwonego oraz bezrożności w tym stadzie?

Zadanie 1.18

U królików gen umaszczenia łaciatego dominuje nad genem umaszczenia jednolitego, a gen barwy sierści czarnej nad genem sierści brązowej. Całe potomstwo łaciatego brązowego samca i jednolicie czarnej samicy było czarne łaciate. Jakie były genotypy rodziców. Jakie genotypy i fenotypy wystąpią w F_2 ?

Rys. 1.4. Dziedziczenie u bydła dwóch cech niezależnych w typie *pisum***Zadanie 1.19**

U kotów perskich długa sierść jest uwarunkowana genem recesywnym, a krótka kotów syjamskich genem dominującym. Z kolei umaszczenie czarne kotów perskich dominuje nad podpalanym umaszczeniem kotów syjamskich. Jakie fenotypy i genotypy wystąpią u potomstwa kotki perskiej z kocurem syjamskim? Jakie genotypy i fenotypy wystąpią, gdy skojarzy się ze sobą potomstwo F_1 ?

Dziedziczenie dwóch cech niezależnych w typie *zea*

Przykład 4. U kur rasy andaluzyjskiej występują dwie cechy dziedziczące się zgodnie z modelem *zea*: ubarwienie piór czarne (BB) i białe (bb) oraz upierzenie silnie szurpate (FF) i normalne (ff). Po skojarzeniu kogutów czarnych o normalnym upierzeniu (BBff) z kurami silnie szurpatymi, białymi, uzyskano pokolenie F_1 heterozygotyczne, które w całości miało fenotypy nie występujące u rodziców – niebieskie, słabo szurpate.

Zadanie 1.21

Jakie fenotypy i w jakich proporcjach wystąpią u potomstwa białego, słabo szurpatego koguta skojarzonego z dwiema kurami: niebieską, szurpatą i białą, słabo szurpatą, gdy z obu kojarzeń uzyskano po 50 kurecząt?

Dziedziczenie dwóch cech niezależnych o różnym typie dominowania (*zea x pisum*)

Przykład 5. Przeanalizujmy dziedziczenie umaszczenia czerwonego i białego (typ *zea*) oraz rogatości i braku rogów (typ *pisum*) u bydła rasy shorthorn. Po skojarzeniu homozygotycznych czerwonych rogatych buhajów (BBpp) z homozygotycznymi białymi, bezrogimi krowami (bbPP), w pokoleniu F_1 uzyskano potomstwo dereszowate, bezrogie (BbPp). Natomiast w drugim pokoleniu mieszańców (F_2) otrzymano osobniki o 6 różnych fenotypach (3 fenotypy cechy *zea*: czerwony, biały, dereszowaty segregują się niezależnie z dwoma fenotypami cechy *pisum*: rogaty, bezrogi; zatem $3 \times 2 = 6$ fenotypów).

Zadanie 1.22

W Szwecji najchętniej jest hodowane silnie pigmentowane, czerwono-białe bydło mleczne. W umaszczeniu osobnika przeważają obszary czerwone, a powierzchnie białe są bardzo małe i ograniczone jedynie do podbrzusza, podgardla i czasem nóg. Hodowcy szwedzcy twierdzą, że osobniki słabo pigmentowane, prawie całe białe, z przewagą plam białych nad czerwonymi, podatne są na uczulenia słoneczne oraz białaczkę i dlatego farmerzy unikają takich zwierząt. Wielkość plam białych i barwnych determinowana jest przez parę genów modyfikujących L, l. Zwierzęta o przewadze plam czerwonych nad białymi mają genotyp LL, osobniki o przewadze powierzchni białej nad pigmentowaną mają genotyp recesywny – ll, zaś fenotyp pośredni, w którym powierzchnia plam białych równa się powierzchni plam czerwonych, mają osobniki heterozygotyczne – Ll. Umaszczenie czerwone jest homozygotycznie recesywne i dziedziczy się w typie *pisum*.

Jakie osobniki należy kojarzyć, by utrzymywać w hodowli wyłącznie osobniki czerwono-białe o jak najmniejszym udziale powierzchni białych?

Zadanie 1.23

Na rysunku 1.5 należy wypisać genotypy i fenotypy osobników F_1 i F_2 z przykładu 5. Jaki będzie wzajemny stosunek liczbowy genotypów i fenotypów w drugim pokoleniu mieszańców?

zachodzą niezależnie od siebie, to prawdopodobieństwo wystąpienia ich razem równa się iloczynowi prawdopodobieństw każdego z nich. Jakie jest zatem prawdopodobieństwo, że potomek rodziców o genotypach Aa będzie miał genotyp aa? Potomek ten musiałby odziedziczyć recesywny gen a od obojga rodziców. Prawdopodobieństwo powstania gamety maczycznej z genem a wynosi $1/2$ i jest takie samo, jak prawdopodobieństwo powstania plemnika z genem a u ojca. Oba te zdarzenia są niezależne, a więc prawdopodobieństwo zaistnienia tych dwóch zdarzeń jednocześnie jest iloczynem poszczególnych prawdopodobieństw ($1/2 \times 1/2 = 1/4$). Obliczenie to można sprawdzić, stosując szachownicę genetyczną.

Jeśli chcemy obliczyć stosunek wzajemny fenotypów w drugim pokoleniu mieszańców (F_2), w przypadku gdy analizujemy dziedziczenie dwóch cech wg modelu *pisum* (barwa okrywy u bydła: czarna i czerwona oraz umaszczenie: jednolite i łaciate), musimy przypomnieć sobie rozkład fenotypów w F_2 każdej z cechy z osobna. Rozkład fenotypów w F_2 , a zatem także prawdopodobieństwo wystąpienia fenotypu czarnego z uwagi na zasadę pełnej dominacji wynosi $3/4$, zaś czerwonego $1/4$. Identyczne prawdopodobieństwa występują w stosunkach fenotypowych przy analizowaniu umaszczenia jednolitego ($3/4$) i łaciatego ($1/4$). Zakładając, że dwie odmiany każdej z dwóch cech, jako zdarzenia niezależne, mogą wystąpić jednocześnie, ich łączne wystąpienie będzie się równało ich iloczynowi.

Tak więc, prawdopodobieństwo wystąpienia w F_2 poszczególnych fenotypów wyniesie:

czarny, jednomaścisty	$3/4 \times 3/4 = 9/16$
czarny, łaciaty	$3/4 \times 1/4 = 3/16$
czerwony, jednomaścisty	$1/4 \times 3/4 = 3/16$
czerwony, łaciaty	$1/4 \times 1/4 = 1/16$

Zadanie 1.25

Korzystając z wyżej podanego przykładu zastosowania zasady iloczynu rachunku prawdopodobieństwa do analizy genetycznej, oblicz prawdopodobieństwo uzyskania w pokoleniu F_2 liczebności poszczególnych fenotypów, w przypadku gdy:

- obie cechy dziedziczą się w typie *zea*;
- jedna cecha dziedziczy się w typie *zea*, a druga w *pisum*.

Dziedziczenie większej liczby cech niezależnych

Gdy analizujemy większą liczbę cech, w pokoleniu F_2 znacznie wzrasta liczba genotypów i fenotypów oraz zmienia się ich wzajemny stosunek liczbowy. Na proporcje fenotypów wpływa typ dziedziczenia cech (*pisum*, *zea*). Jedynym i najlepszym wyjściem jest posłużenie się zasadą iloczynu rachunku prawdopodobieństwa, która zapewni szybkie i bezbłędne otrzymanie wyników, pod warunkiem że wiemy do jakiego modelu dziedziczenia dana cecha się zalicza.

Zadanie 1.26

Skojarzono homozygotycznego czarnego, jednomaścistego, rogatego buhaja z homozygotyczną czerwoną, łaciatą i bezrogą krową. Jakie będą genotypy i fenotypy potomstwa w pokoleniach F_1 i F_2 ?

Zadanie 1. 27

Jaki będzie rozkład fenotypów w drugim pokoleniu mieszańców u bydła, jeśli pokolenie rodzicielskie było homozygotyczne i miało następujące fenotypy: czarno-białe, o dużym udziale obszarów białych i rogate oraz: czerwono-białe, o dużym udziale obszarów barwnych i bezrogie?

2

Współdziałanie par alleli w wyznaczeniu jednej cechy

W dotychczas omawianych przykładach dziedziczenia cech obowiązywała prosta zasada – para alleli zajmująca ten sam *locus* w chromosomach homologicznych determinowała fenotyp jednej cechy.

Współzależność między genem a cechą może być jednak bardziej złożona. Jedna para alleli (a nawet jeden allel przy braku drugiego) może wpływać na wiele cech, w znaczeniu wywoływania różnorodnych efektów. Wpływ taki nosi nazwę plejotropii. Przejawia się ona w wielu chorobach genetycznych ludzi i zwierząt, w których część objawów zapoczątkowana jest przez jedną tylko parę alleli. Zwierzęta i ludzie np. o cechach albinosów, u których nie występuje barwnik w skórze, włosach i tęczówce oka (albinizm tyrozynazo-ujemny), to przykłady sytuacji, kiedy allele jednego *locus* mają wpływ na wiele cech jednocześnie.

Znane są także liczne przykłady uwarunkowań genetycznych odwrotnych do zjawiska plejotropii. Przykłady te grupują cechy determinowane współdziałaniem dwóch (lub większej liczby) par alleli. Odmiany fenotypowe jednej cechy zależą wówczas od charakteru genów (dominujące, recesywne) wchodzących w skład obu par alleli, ulokowanych na różnych parach chromosomów homologicznych, które podczas gametogenezy, w końcu I podziału mejotycznego (w fazie segregacji mendlowskiej), rozchodzą się do powstających gamet niezależnie od siebie, w różnych wzajemnych kombinacjach. Współdziałać ze sobą mogą nie tylko dwie pary alleli, ale znacznie więcej par. Na przykład ponad 12 par alleli współuczestniczy w różny sposób w wytwarzaniu barwy sierści u królika, a przeszło 100 par zaangażowanych jest w przejawianiu się barwy i kształtu oczu u muszki owocowej.

Współdziałanie dopełniające par alleli

Najprostszą formą współdziałania par genów jest dopełnianie się par alleli. Powstająca cecha wskutek działania dwóch lub większej liczby par alleli może mieć różne odmiany fenotypowe.

Przykład 1. Cecha kształtu grzebienia u kur uwarunkowana jest współdziałaniem dwóch niezależnie dziedziczających się par alleli. Gen warunkujący wykształcenie się grzebienia różyczkowego (R) jest dominujący w stosunku do swego allelu grzebienia nieróżyczkowego (r). Inna para alleli kontroluje pojawienie się grzebienia groszkowego (G) oraz prostego (g). Gdy skojarzy się homozygotyczne ptaki o grzebieniu groszkowym z ptakami homozygotycznymi o grzebieniu różyczkowym, otrzyma się pokolenie, w którym wszystkie ptaki będą miały odmienny kształt grzebienia niż mieli rodzice, zwany orzeszkowym. Wykształci się on dlatego, że w genotypie potomstwa spotkają się allele dominujące z obu par genów G-R- (do wywołania efektu wystarczą tylko pojedyncze allele z obu par). Taki rodzaj współdziałania, którego efektem jest powstanie nowego fenotypu wywołanego równoważnym współdziałaniem alleli dominujących z obu par lub dwóch par genów recesywnych, nazywamy współdziałaniem dopełniającym par alleli.

Grzebień groszkowy: G-rr powstaje wskutek współdziałania genu dominującego jednej pary genów z inną parą genów recesywnych. Współdziałanie to można określić jako formę słabej epistazy. Silna epistaza miałaby miejsce wówczas, gdyby np. gen dominujący G tłumił działanie wszystkich genów z analizowanych 2 par alleli i w efekcie jego obecność w genotypie równałaby się obecności u osobnika zawsze grzebienia groszkowego. Tymczasem obecność genu G przy obecności genu R skutkuje obecnością innego grzebienia – orzeszkowego. Grzebień różyczkowy powstaje na zasadzie analogii do grzebienia groszkowego, powoduje go słaba epistaza genu R nad inną parą genów gg (R-gg). Jeszcze innym efektem współdziałania było powstanie nowego, czwartego już w tym przykładzie fenotypu grzebienia – pojedynczego, zwanego także prostym. Grzebień prosty powstał wskutek współdziałania dopełniającego dwóch par alleli recesywnych (rrgg). Osobniki o grzebieniu prostym, jako homozygoty recesywne, będą płodziły potomstwo tylko o takim samym kształcie grzebienia, jaki mieli rodzice. W efekcie w pokoleniu F₂ nastąpiło mendlowskie rozszczepienie cech w stosunku 9:3:3:1 (9/16 osobników posiadających oba geny dominujące (G-R-), dwie równoliczebne klasy fenotypowe po 3/16 osobników mających po jednym genie dominującym (G-rr; R-gg) oraz 1/16 osobników bez żadnego genu dominującego (rrgg).

Zadanie 2.1

Jakie są genotypy rodziców – jednego o grzebieniu różyczkowym, drugiego o grzebieniu orzeszkowym, jeśli u ich potomstwa wystąpiło rozszczepienie fenotypów w stosunku: 3 orzeszkowe, 3 różyczkowe, 1 groszkowy, 1 prosty?

Zadanie 2.2

Jakie są genotypy rodziców – jednego o grzebieniu orzeszkowym, a drugiego różyczkowym, jeśli potomstwo ma wyłącznie grzebień orzeszkowy?

Przykład 2. Papużki faliste mogą mieć różne barwy upierzenia, będące skutkiem współdziałania dopełniającego par alleli. Kiedy skojarzymy ptaki żółte (TTbb) z niebieskimi (ttBB), otrzymamy całe potomstwo pokolenia F₁ posiadające pióra w kolorze zielonym, a w pokoleniu F₂ pojawią się też ptaki białe. Tak więc w pokoleniu F₂ otrzymamy w sumie

4 klasy fenotypowe papużek, z których $9/16$ będzie upierzonych na zielono, po $3/16$ na żółto oraz niebiesko, a $1/16$ pokolenia F_2 będzie miała pióra białe.

Zadanie 2.3

Jakie ptaki należy kojarzyć, by otrzymywać stale papużki niebieskie? Czy niebieskie kojarzone z niebieskimi dadzą zawsze także niebieskie?

Zadanie 2.4

Kiedy kojarzy się papużki faliste żółte i niebieskie, otrzymuje się potomstwo zielone. Czy kojarząc ze sobą na powrót papużki zielone, można otrzymać oprócz żółtych i niebieskich również inne fenotypy?

Przykład 3. U amerykańskiej rasy świń duroc jersey, hodowanej także z powodzeniem w Polsce, umaszczenie uwarunkowane jest dwoma parami genów dziedziczących się niezależnie i współdziałających ze sobą. U osobników tej rasy występują trzy genotypy: pierwszy ciemnorudy, będący efektem dopełniania się genów dominujących z obu par: A-B-; drugi fenotyp piaskowy, determinowany dwoma genotypami, będący w obu przypadkach efektem słabej epistazy: A-bb oraz aaB-; wreszcie fenotyp biały, podwójnie recesywny: aabb, będący wynikiem słabego współdziałania dopełniającego obu par alleli recesywnych. Jest to modyfikacja rozszczepienia z przykładu 1 (9:3:3:1), polegająca na tym, iż fenotyp piaskowy występujący w dwóch formach genetycznych świń: A-bb oraz aaB- jest nie do odróżnienia i w ten sposób dwie klasy fenotypowe po $3/16$ osobników (z przykładu 1) łączą się w jedną ($6/16$), i ostatecznie w tym przykładzie występują trzy klasy fenotypowe w stosunku 9:6:1.

Zadanie 2.5

Ile osobników rudych, piaskowych i białych wystąpi w pokoleniu F_2 , jeśli skojarzono ze sobą rodziców homozygotycznych o fenotypie piaskowym, a pokolenie F_2 liczyło 16 prosiąt? Jaki to udział procentowy?

Współdziałanie epistatyczne par alleli

Terminem epistaza określa się zjawisko hamowania ekspresji jednej pary alleli przez gen/y drugiej pary leżące na innej parze chromosomów. Z silną epistazą mamy do czynienia wtedy, gdy pojedynczy gen jednej pary alleli (z reguły dominujący) całkowicie hamuje ujawnianie się genów drugiej pary, nawet wtedy gdy w drugiej parze genów występują oba allele w formie dominującej.

Przykład 4. U bydła umaszczenie czarne dominuje nad czerwonym, ale czasem można spotkać zwierzęta o umaszczeniu czekoladowym, określane jako brunatne. Rodzą się one wyłącznie w stadach krów czarno-białych, lub czarnych jednomaścistych

(np. aberdeen angus). Pojawienie się takich osobników wywołuje wiele zamieszania, bowiem hodowcy przypuszczają, iż zawinił w tej sytuacji inseminator, przez pomyłkę inseminując krowy czarno-białe nasieniem buhaja czerwono-białego lub w przypadku mięsnego bydła aberdeen angus nasieniem buhaja czerwonego odmiany red angus. Z reguły taki osobnik zostaje przydzielony do rasy czerwono-białej lub czerwonej, siejąc jeszcze więcej zamieszania, bowiem brunatno-biały osobnik wewnątrz rasy czerwono-białej płodzi potomstwo, którego połowa jest także brunatno-biała, podczas gdy wśród osobników rasy czarno-białej, z dużym prawdopodobieństwem, w jego potomstwie nie byłoby ani jednego cielęcia brunatno-białego, a jedynie czarno-białe. Z tego przykładu wynika, iż umaszczenie brunatne uwarunkowane parą genów BB przejawia się w fenotypie osobnika jedynie w obecności pary genów recesywnych aa, warunkujących brak umaszczenia czarnego. Choć geny umaszczenia brunatnego mogą być obecne w genotypie osobnika czarnego, nie przejawiają swego działania, ponieważ gen umaszczenia czarnego – A jako silnie epistatyczny tłumi działanie genów innej pary, warunkujących brunatność (B) lub czerwoność (b). Tak więc, genotyp zwierząt czarnych jest następujący: A---, co oznacza kilka możliwych genotypów: A-B- oraz A-bb. Genotyp zwierząt brunatnych jest następujący: aaB-, natomiast genotyp zwierząt czerwonych może być tylko jeden – aabb. Gen brunatności – B jest hipostatyczny względem genu czarności A (zlokalizowanym na innym chromosomie), słabo epistatyczny w stosunku do pary genów aa i dominujący względem swego allela b. Gdy osobnik w swym genotypie nie ma żadnego genu dominującego i zarazem epistatycznego A, wtedy może się ujawnić działanie genu brunatności B, który jest epistatyczny w stosunku do recesywnej pary aa oraz dominujący w stosunku do swego recesywnego allela b, który w podwójnej dawce warunkuje umaszczenie czerwone. Tak więc, w sytuacji braku u określonego osobnika przynajmniej jednego genu epistatycznego A wystarczy obecność tylko jednego dominującego genu brunatności B, by zwierzę miało fenotyp czekoladowy: aaBb. Ponieważ z ras obejmujących zwierzęta wyłącznie czerwone oraz czerwono-białe usuwa się w procesie selekcji osobniki brunatne, pozostają wyłącznie zwierzęta o dwóch parach genów recesywnych: aabb, wśród których nie mogą urodzić się zwierzęta brunatne, a jedynie czerwone. Wynika z tego, iż osobniki brunatne mogą się urodzić jedynie wśród osobników ras czarnych oraz czarno-białych, w których gen epistatyczny czarnego umaszczenia A, tłumi występowanie alleli innej pary genów: B oraz b.

Zadanie 2.6

Jaki jest genotyp czarnego buhaja, który skojarzony z czerwonymi krowami dał potomstwo w 50% czarne, a pozostałe w równych częściach czerwone i brunatne?

Przykład 5. U koni cztery podstawowe umaszczenia wyznaczone są przez dwie pary genów dziedziczących się niezależnie (S,s i K,k). Gen S jest epistatyczny w stosunku do pary K,k. Powoduje odbarwienie włosów w ciągu pierwszych lat życia (konie siwe rodzą się ciemne), bez względu na to, czy źrebię jest homo- (SS), czy heterozygotą (Ss) w tej parze alleli. Przy braku dominującego genu S para genów K,k ujawnia się i daje następujące umaszczenia: ssKK – kare; ssKk – gniade, sskk – kasztanowate. Konie o genotypie S--- zawsze stają się siwe.

Zadanie 2.7

Jakiej maści potomstwa i w jakich proporcjach należy oczekiwać w stadzie kasztanowatych klaczy krytych podwójnie heterozygotycznym siwym ogierem?

Zadanie 2.8

Siwa klacz została pokryta dwoma ogierami: karym i kasztanowatym. Urodziła źrebię maści kasztanowatej. Który z ogierów był jego ojcem?

Przykład 6. Barwa sierści u psów zależy od dwóch, dziedziczących się niezależnie i współdziałających ze sobą genów. Psy czarne mają genotyp: A-B-, rude: A-bb, szare: aaB-, żółte: aabb.

Zadanie 2.9

Czarnego psa skojarzono z żółtą suką. Jakie fenotypy mogą wystąpić w miocie, jeśli pierwsze szczenię urodziło się żółte? Jak można określić typy współdziałań par alleli wyznaczających poszczególne umaszczenia psów?

Przykład 7. U kur występuje białość upierzenia zarówno recesywna, jak i dominująca, zależna od dwóch par genów współdziałających ze sobą. Gdy recesywnie białe kury rasy white rock o genotypie ccii skrzyżujemy z białymi homozygotycznymi kogutami rasy leghorn o genotypie CCII, otrzymamy pokolenie F₁, które w całości będzie białe. Gen dominujący C warunkuje syntezę melaniny, natomiast jego recesywny allel stanowi efekt mutacji, która powoduje brak syntezy pigmentu. Gen dominujący (I) jest genem inhibitorem, który tłumy ujawnianie się pigmentu (wyznaczanego przez geny drugiej pary alleli) nawet wtedy, gdy w genotypie w drugiej parze genów występują dwa allele dominujące (CC). Dlatego osobniki rasy white rock muszą być białe, ponieważ w ich genotypie nie ma genów dominujących wyznaczających syntezę melaniny, ale też nie ma genu epistatycznego. Przeciwnie zjawisko występuje u kur leghorn, które mogą być barwne, ponieważ mają geny odpowiedzialne za syntezę pigmentu, ale są białe, ponieważ w obecności nawet tylko jednego genu I (epistatycznego) nie może się barwnik ujawnić. W pokoleniu F₂ wskutek rozszczepienia cech pojawiają się jednak ptaki barwne (białe z nielicznymi czarnym plamkami).

Zadanie 2.10

Jakie będą miały genotypy i ile barwnych osobników wystąpi w pokoleniu F₂, gdy recesywnie białe kury rasy white rock skrzyżujemy z białymi homozygotycznymi kogutami rasy leghorn?

Przykład 8. Psy rasy labrador najczęściej mają umaszczenie czarne (B---), brązowe (bb EE), biskoptowe (bbEe) lub białokremowe (bbee).

Zadanie 2.11

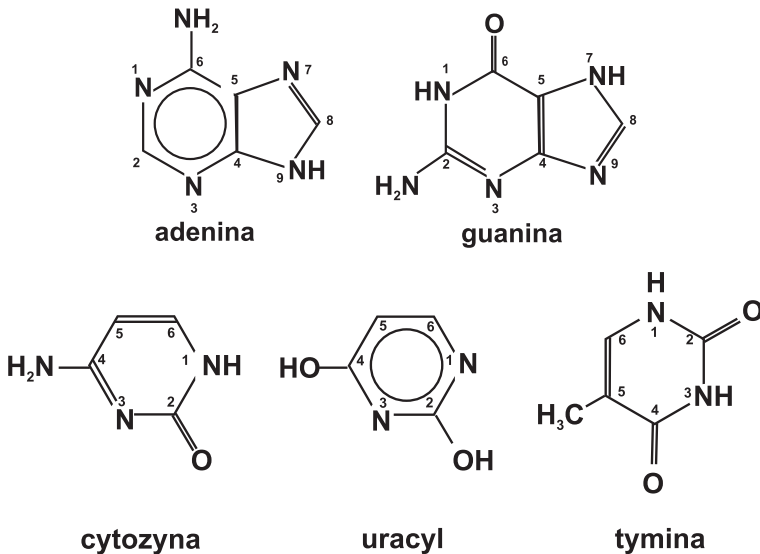
Skojarzono ze sobą brązową sukę i czarnego psa rasy labrador. Otrzymano liczny miot, w którym szczenięta miały umaszczenia czarne oraz biskoptowe. Jakie genotypy mieli rodzice? Jakie typy współdziałań międzyallelicznych determinowały umaszczenia szceniąt?

3

Molekularne podstawy dziedziczenia cech

Nośnikami informacji genetycznej są kwasy nukleinowe. Istnieją dwa główne typy kwasów nukleinowych: DNA (kwas deoksyrybonukleinowy) i RNA (kwas rybonukleinowy). Każdy z nich składa się ze szkieletu cukrowo-fosforowego, z wystającymi zasadami azotowymi. Zasady azotowe mogą być purynami: adeniną (A) i guaniną (G) lub pirymidynami: tyminą (T) i cytozyną (C). W RNA zamiast tyminy występuje uracyl (U).

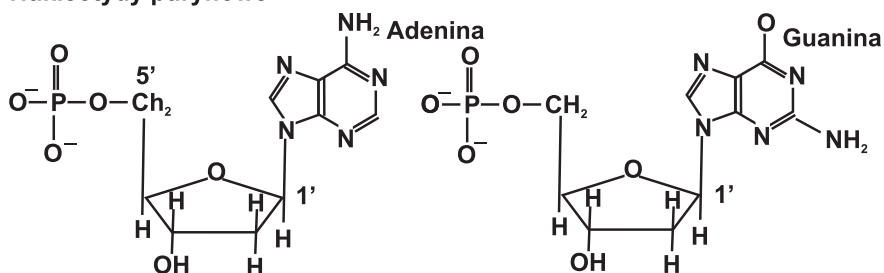
W DNA cukrem jest pentoza zwana dezoksyrybozą, a w RNA pentoza, zwana rybozą (rys. 3.1). Zasady azotowe wiążą się w pozycji 1' (jeden prim) z każdym cukrem, a fosforan łączy grupy hydroksylowe 3' i 5'. Częsteczka złożona z zasady purynowej lub pirymidynowej wraz z dołączonym cukrem i grupą fosforanową nazywa się nukleotydem.



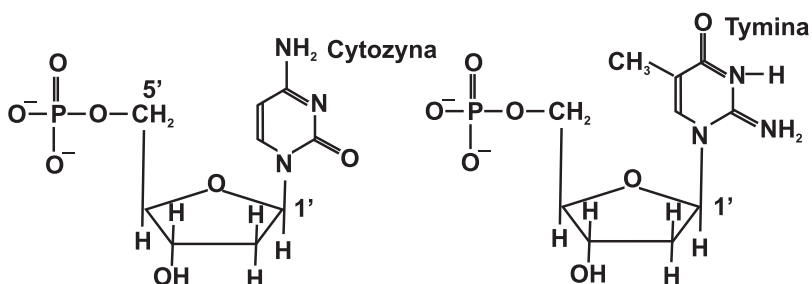
Rys. 3.1. Budowa zasad azotowych: puryn (u góry) oraz pirymidyn (na dole)

Budowę deoksyrybonukleotydu przedstawiono poniżej, na rysunku 3.2.

Nukleotydy purynowe



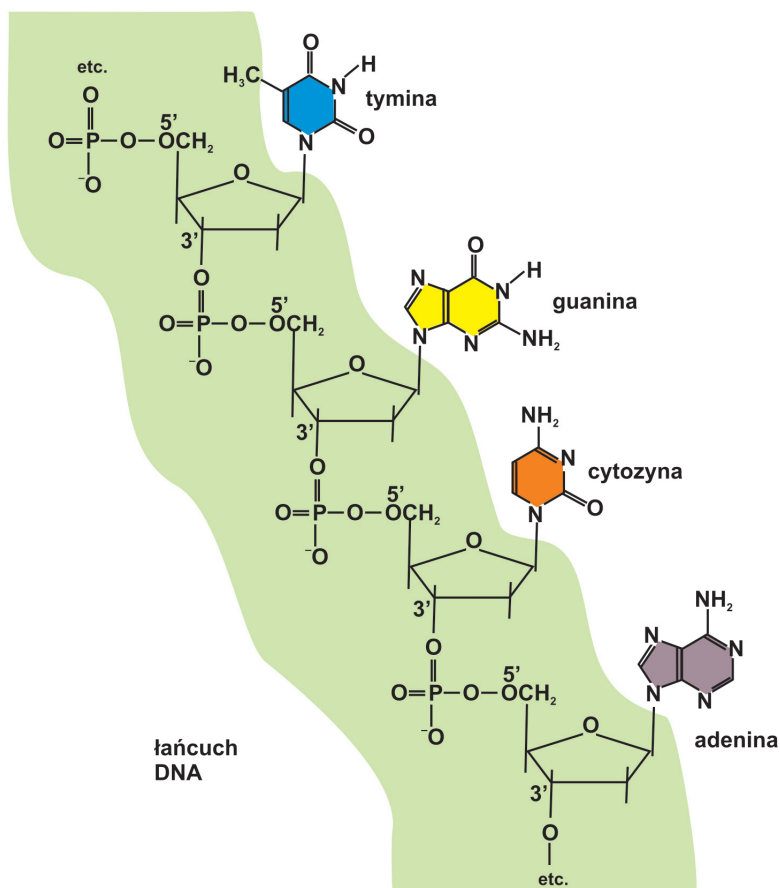
Nukleotydy pirymidynowe



Rys. 3.2. Budowa deoksyrybonukleotydów, zaznaczono numerację atomów węgla w cukrze

Cząsteczka DNA zbudowana jest z dwóch, biegnących przeciwniebieżnie pasm DNA. Budowę pojedynczego pasma DNA obrazuje rysunek 3.3. Dodawanie jednostek deoksyrybonukleotydowych do pojedynczego łańcucha DNA zachodzi na kolejnych etapach. Do syntezy łańcucha DNA przez polimerazę DNA są niezbędne następujące składniki:

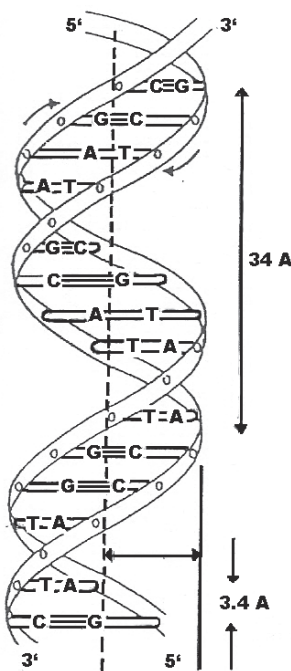
- wszystkie (cztery) aktywowane prekursorzy trifosforanów deoksyrybonukleotydów: dATP, dGTP, dTTP, dCTP;
- jony magnezu;
- odcinki starterowego DNA (primera), ponieważ polimeraza DNA dołącza deoksyrybonukleotydy do wolnej grupy 3'-hydroksylowej już istniejącego odcinka DNA;
- matrycy DNA jako istotnego składnika układu.



Rys. 3.3. Budowa pojedynczego pasma DNA

Matrycą jest najczęściej jednociowy DNA. Dwuniciowy DNA jest efektywną matrycą tylko wtedy, gdy jego rdzeń cukrowo-fosforanowy ulegnie zerwaniu co najmniej w jednym miejscu.

Cząsteczka DNA składa się z dwóch przeciwrównoległych (antyrownoległych) łańcuchów nukleotydowych, skręconych zgodnie z kierunkiem wskazówek zegara, jeden wokół drugiego (rys. 3.4).

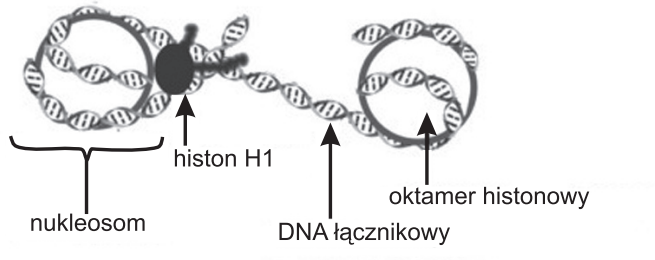


Rys. 3.4. Budowa podwójnej helisy DNA

Tworzą w ten sposób podwójną helisę z 10 nukleotydami na pełny skręt DNA. Oba łańcuchy, tworzące podwójny heliks, mają odwrotną polarność i są utrzymywane razem przez wiązania wodorowe między A w jednym łańcuchu i T w drugim łańcuchu i analogicznie w parze G i C. Takie łączenie zasad jest wysoce swoiste. Ponieważ łączą się ze sobą pary: A:T i G:C, więc równoległe nici muszą być do siebie komplementarne. Tak więc, gdy w jednej nici DNA występuje sekwencja ATGA, w nici komplementarnej powinna wystąpić w tym samym miejscu sekwencja TACT. Wynika z tego, że stosunek A do T i G do C jest jak 1 do 1 (reguła Chargaffa). Stwierdzono jednak dużą zmienność w stosunku par (A+T) do (G+C). Zwierzęta i wyższe rośliny mają z reguły nadmiar (A+T), a np. u naczelnych stosunek ten wynosi 1,4:1. U człowieka – gatunku najlepiej dotychczas pod tym względem przebadanego – całkowita długość DNA w genomie (haploidalnym zestawie chromosomów – n) wynosi 3 miliardy par zasad, tj. 3 miliony kilobaz (1 kilobaza – kb równa się 1000 par zasad). Gdyby łańcuch został wyprostowany, miałby długość 1,74 metra.

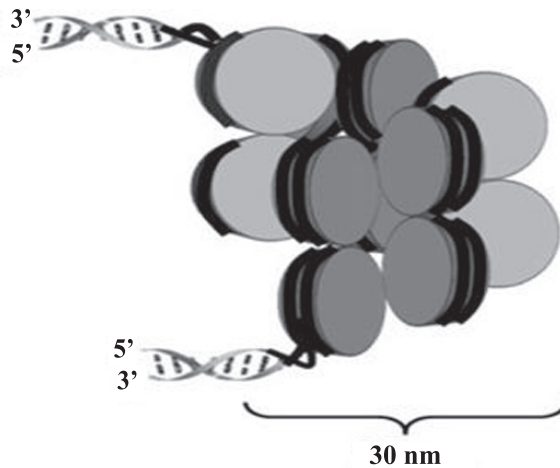
Poza DNA w skład chromosomu wchodzi białka, przeważnie histonowe, które mają bardzo konserwatywną budowę. Oznacza to, że ich skład jest prawie identyczny u tak odmiennych organizmów, jak np. krowa czy groch. Histony to kategoria białek mających zwiększoną liczbę aminokwasów zasadowych (lizyna, arginina), co ułatwia im wiązanie się z DNA. Z białek histonowych zbudowane są nukleosomy, które są podstawowym poziomem upakowania łańcuchów DNA. Pojedyncza cząstka rdzenia nukleosomu składa się z kompleksu ośmiu białek histonowych: 2x H2A, 2x H2B, 2x H3 2x H4. Oktamer histonowy

tworzy rdzeń białkowy, wokół którego nawinięta jest helisa dwuniciowego DNA. Rolą histonu H1 jest łączenie nukleosomów w zwartą strukturę (rys. 3.5) z zachowaniem właściwych odległości między oktamerami. Pomiędzy cząstkami rdzeniowymi nukleosomu występuje DNA łącznikowy.



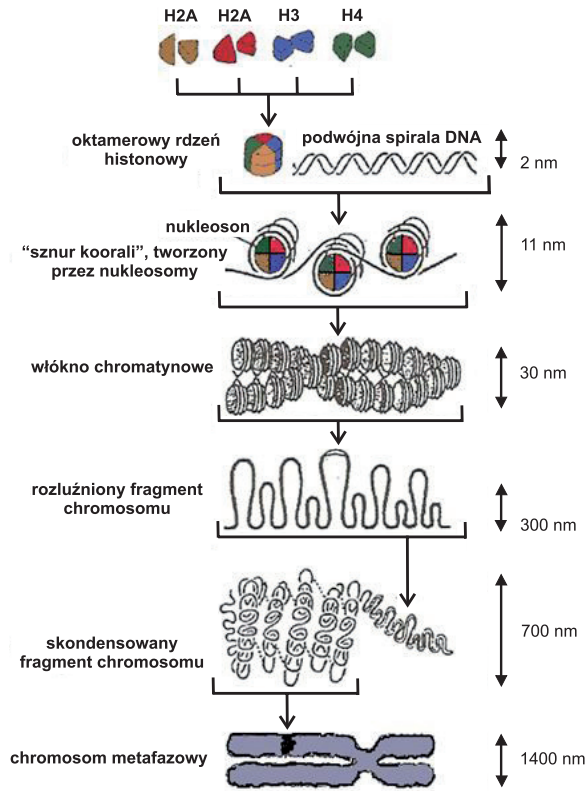
Rys. 3.5. Upakowanie chromatyny na oktamerze histonowym

Nukleosomy upakowane są jeden na drugim, tworząc strukturę o średnicy 30 nm zwaną solenoidem (rys. 3.6).



Rys. 3.6. Budowa solenoidu

DNA u Eukaryota upakowany jest głównie w chromosomach. Upakowanie tak wielkich cząsteczek, jakimi są chromosomy, jest skomplikowanym procesem. Kolejne etapy upakowania chromatyny obrazuje rysunek 3.7.



Rys. 3.7. Etapy upakowania jądrowego DNA (omówienie w tekście) (wg Alberts'a i wsp., 2002 – zmodyfikowane)

RNA w przeciwieństwie do DNA jest jednoniciowy. Obecnie znanych jest 5 typów RNA (tab. 3.1).

Kwasy nukleinowe mają dwie główne funkcje: dokładne przekazywanie informacji genetycznej z pokolenia na pokolenie poprzez komórki linii płciowej oraz przekazywanie informacji podczas całego cyklu komórkowego w celu kierowania syntezą białek komórkowych.

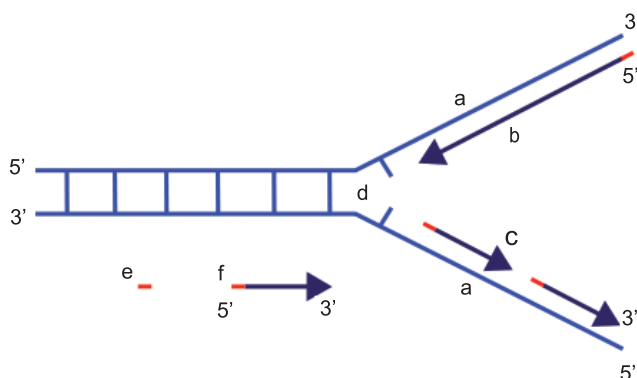
Tabela. 3.1

Typy RNA (wg Connora i Fergusona-Smitha, 1998)

Typ	Umiejscowienie	Budowa i funkcja
Matrycowy RNA (mRNA) (informacyjny RNA)	jądro i cytoplazma	Zmienne rozmiary, sekwencja zasad komplementarna do transkrybowanego DNA, około 4% całkowitego komórkowego RNA, okres półtrwania 7–24 godzin
Transportowy RNA (tRNA)	cytoplazma	Kształt koniczyny, 40 typów, swoisty dla przyłączonego aminokwasu, 70–90 nukleotydów w każdym tRNA, stanowi 10% komórkowego RNA, obecność w genomie 10–100 kopii genów dla każdego specyficznego tRNA
Rybosomalny RNA (rRNA)	rybosomy i jąderka	Okolo 40–50% całkowitego komórkowego RNA, syntetyzowany i gromadzony w jąderkach
Heterogeniczny RNA (HnRNA– heterogenic nuclear RNA)	jądro	RNA o dużej masie cząsteczkowej, 40–50% całkowitego komórkowego RNA
Mały jądrowy RNA (snRNA – small nuclear RNA)	jądro	Sześć rodzajów (U1 do U6), bierze udział w składaniu RNA

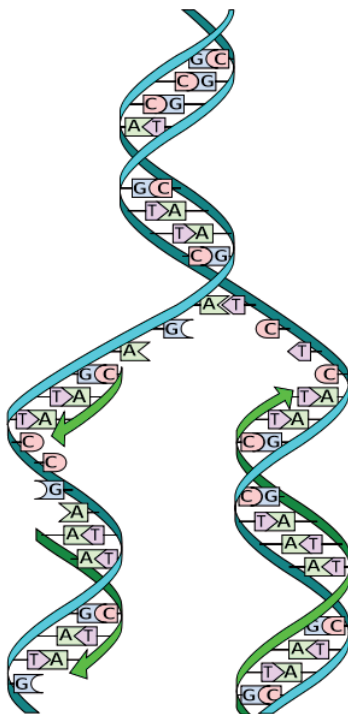
Replikacja DNA

Przed każdym podziałem komórkowym musi zachodzić dokładna replikacja DNA. Dwie nici DNA oddzielają się od siebie w wielu punktach i każda służy jako matryca, na której powstaje nowa nić poprzez łączenie zasad z wolnymi nukleotydami (rys. 3.8).



Rys. 3.8. Replikacja DNA. Schemat struktury widelki: a – matryca, b – nić wiodąca, c – nić opóźniona, d – widelki replikacyjne, e – prIMER, f – fragmenty Okazaki (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

Reakcja wydłużania łańcucha katalizowana przez polimerazę DNA zachodzi w wyniku nukleofilowego ataku grupy 3'-OH primera na atom fosforu trifosforanu deoksyrybonukleozydu położony najbliżej deoksyrybozy. Powstaje wiązanie fosfodiesterowe i równocześnie zostaje uwolniony pirofosforan. Polimeraza DNA katalizuje tworzenie się wiązań fosfodiesterowych tylko wtedy, gdy zasada przyłączanego nukleotydu jest komplementarna do zasady w łańcuchu stanowiącym matrycę, tj. gdy tworzy z nią parę typu Watsona-Cricka. W innych przypadkach utworzenie wiązania kowalencyjnego jest mało prawdopodobne. Polimeraza DNA jest enzymem czerpiącym instrukcję postępowania od matrycy i dokonuje syntezy produktu, którego sekwencja zasad jest komplementarna do sekwencji zasad matrycy. Inną niezwykłą właściwością polimerazy DNA jest jej zdolność do korygowania pomyłek przez eliminację nukleotydów nie pasujących do matrycy. Dzięki tej właściwości polimerazy DNA replikacja DNA przebiega bardzo wiernie, a błędy (przyłączenie niewłaściwej zasady) pojawiają się nie częściej niż w jednym przypadku na 108 przyłączonych poprawnie zasad. Replikacja następuje w dwóch kierunkach, na każdej nici od końca 3' do 5', od każdego punktu inicjacji aż do zakończenia dwóch nowych łańcuchów DNA (rys. 3.9).



Rys. 3.9. Model semikonserwatywnej replikacji DNA (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

Taki sposób replikacji nazwano semikonserwatywnym, ponieważ jeden z dwóch łańcuchów każdej nowej cząsteczki DNA jest zachowany z cząsteczki poprzedniej.

Biosynteza białka

W sekwencji nukleotydów DNA zakodowana jest informacja o strukturze białek strukturalnych i enzymatycznych, klasach kwasów nukleinowych oraz właściwościach regulacyjnych genów. Odczytywanie informacji dotyczącej białek odbywa się na dwóch etapach. Na pierwszym, zwanym transkrypcją, czyli przepisywaniem, fragmenty jednej nici DNA są przepisywane na cząsteczki informacyjnego RNA (mRNA). Na drugim etapie, zwanym translacją – czyli tłumaczeniem, sekwencje nukleotydowe mRNA zostają przetłumaczone na sekwencje aminokwasów. W procesie translacji niezbędny jest udział transportujących kwasów nukleinowych (tRNA) oraz rybosomów. Cząsteczki tRNA spełniają rolę klucza, umożliwiającego rozszyfrowywanie struktury mRNA, rybosomy zaś są organellami komórkowymi, na których katalizowany jest proces biosyntezy białka.

Transkrypcja

Dwie nici DNA rozdzielające się w okolicy genu – oznaczają początek transkrypcji. Jedno z pasm DNA, tzw. niekodujące, działa jako matryca dla syntezy komplementarnego mRNA, przy udziale polimerazy RNA. Naprzeciwko znajdujących się w DNA deoksyrybonukleotydów G, C, T, A podstawiane są w RNA odpowiednie rybonukleotydy: C, G, A, U (rys. 3.10).

Pasma DNA:

Kodujące -----5' - TGG AAT TGT GAG CGG ATA ACA ATT TCA ATG- 3'

Matrycowe -----3'- ACC TTA ACA CTC GCC TAT TGT TAA AGT TAC- 5'
(transkrybowane
ale niekodujące)

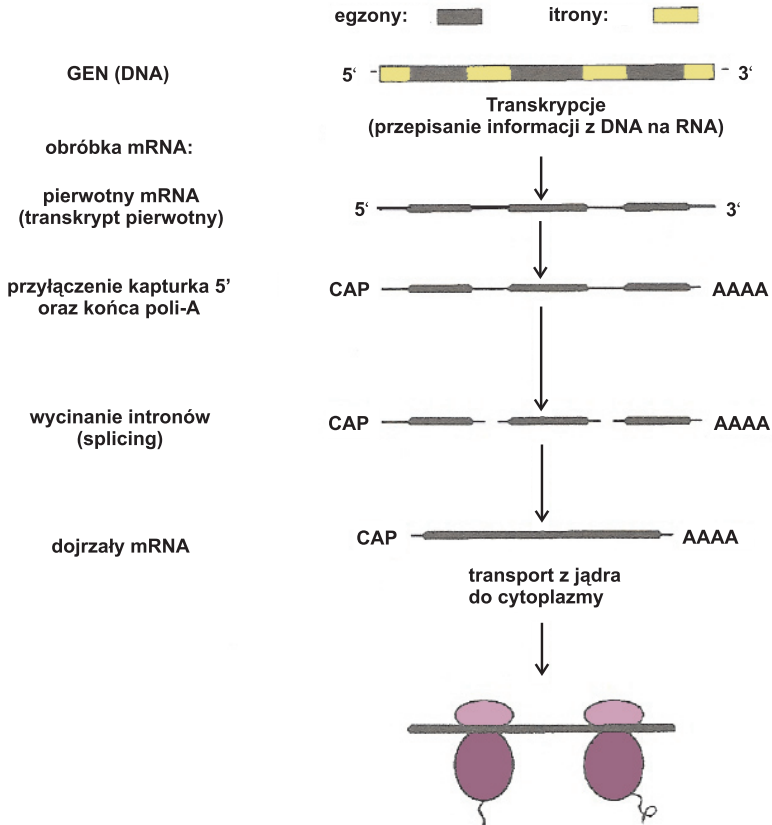
Transkrypt -----5'- AAU UGU GAG CGG AUA ACA AUU UCA AUG- 3'
mRNA

Rys. 3.10. Współzależność między transkryptem RNA i sekwencją jego genu

Powyżej przedstawiono kodujące i niekodujące pasma DNA i ich polarność. Transkrypt RNA 5' do 3' ma taką samą polarność i taką samą sekwencję jak w paśmie DNA kodującym (nietranskrybowanym), z wyjątkiem U w transkrypcie mRNA, zastępującym T w DNA (Murray i wsp., 1998).

Polimeraza RNA inicjuje proces transkrypcji w sąsiedztwie miejsca poprzedzającego sekwencję genu określanego jako promotor i kończy po osiągnięciu sekwencji nazywanej terminatorem. Transkrypcja postępuje w kierunku od 5' do 3' aż do kodonu kończącego transkrypcję. U eukariontów synteza RNA odbywa się w jądrze komórkowym. RNA w zasadzie nie tworzy struktury dwuniciowej, ale komplementarne fragmenty pasma RNA mogą łączyć się ze sobą. Po zakończeniu transkrypcji mRNA ulega tzw. dojrzewaniu.

Podczas tego skomplikowanego procesu – modyfikacji ulegają oba końce transkryptu. W toku dalszej obróbki – z pierwotnego transkryptu wycinane są introny (sekwencje niekodujące), a pozostają jedynie eksony, czyli sekwencje kodujące (rys. 3.11). Transkrypt, który nie przeszedł właściwej obróbki, nie jest zdolny do przejścia z jądra do cytoplazmy na rybosomy. Introny to często bardzo długie, liczące kilkadziesiąt tysięcy nukleotydów fragmenty struktury transkryptu każdego eukariotycznego genu. Na przykład w obrębie genu alfa prokolagenu znajduje się 50 różnej długości intronów.



Rys. 3.11. Proces transkrypcji, obróbki mRNA oraz translacji transkryptu na rybosomach (Wg Connora i Fergusona-Smitha, 1998; zmodyfikowane)

Kod genetyczny

Jednostkami składowymi kwasów nukleinowych są nukleotydy, jednostkami białek są aminokwasy. Istotą kodu genetycznego jest zjawisko wyznaczania przez sekwencję nukleotydów kolejno w DNA i RNA, kolejności aminokwasów w białku. Ponieważ jednak pośrednikiem odwzorowującym dokładnie informację przechowywaną w DNA jest mRNA, zatem sekwencje nukleotydów podawane dalej w tym rozdziale będą zgodne z ich kolejnością w mRNA. Informacja genetyczna zapisana jest w postaci trójek nukleotydów, które stanowią podstawową jednostkę translacji, zwaną kodonem. Z uwagi na to, że cząsteczka DNA jest polimerem złożonym z 4 różnych nukleotydów, liczba możliwych kodonów (tripletów) wynosi 43, czyli 64 (tab. 3.2).

Tabela. 3.2

Kod genetyczny

		DRUGA LITERA KODONU					
		U	C	A	G		
PIERWSZA LITERA KODONU	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UC } Ser UAA } UAG }	UAU } Tyr UAC } UAA } STOP UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } STOP UGG } Trp	TRZECIA LITERA KODONU	U
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }		C
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AUU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }		A
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }		G

STOP – kodony terminacyjne

Skróty dla aminokwasów

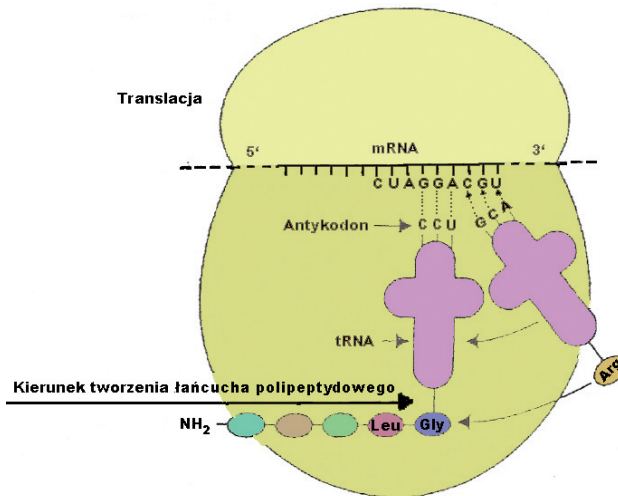
ala alanina	gln glutamina	leu leucyna	ser seryna
arg arginina	glu kwas glutaminowy	lys lizyna	thr treonina
asn asparagina	gly glicyna	met metionina	try tryptofan
asp kw. asparaginowy	his histydyna	phe feniloalanina	tyr tyrozyna
cys cysteina	ile izoleucyna	pro prolina	val walina

Wynika z tego, że większość spośród 20 aminokwasów wchodzących w skład białek kodowana jest przez więcej niż jeden triplet. O takim kodzie mówi się, że jest zdegenerowany. Trzy spośród 64 tripletów: UAA, UAG i UGA nie kodują żadnego aminokwasu i sygnalizują koniec syntezy polipeptydu. Określa się je mianem kodonów terminacyjnych lub kodonów stop. Wśród tripletów kodujących należy wyróżnić kodon AUG, zwany inicjacyjnym.

Stanowi on początek zapisu informacji dla każdego białka. Właściwe jego rozpoznanie przez aparat translacyjny jest warunkiem prawidłowego odczytania następujących po nim tripleatów. Kodon ten wyznacza bowiem tzw. **ramkę odczytu**. Przesunięcie ramki o jeden lub dwa nukleotydy prowadzi do zmiany sensu zapisu i do powstania innego niż kodowany peptydu lub do przerwania translacji.

Translacja

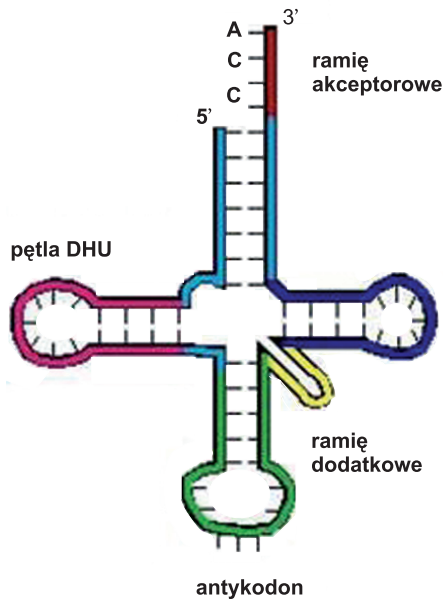
W procesie translacji obok mRNA biorą także udział cząsteczki tRNA oraz rybosomy. Tworzenie i wydłużanie (elongacja) łańcucha polipeptydowego odbywa się na rybosomie (rys. 3.12).



Rys. 3.12. Proces translacji na rybosomie (wg Connora i Ferguson-Smitha, 1998)

Rola cząsteczki tRNA polega na dostarczaniu odpowiednich aminokwasów dla tworzącego się peptydu oraz odczytywaniu kodonów na nici mRNA. Odczytywanie sekwencji nukleotydów na mRNA dokonuje się za pośrednictwem jednej z pętli cząsteczki tRNA (rys. 3.13).

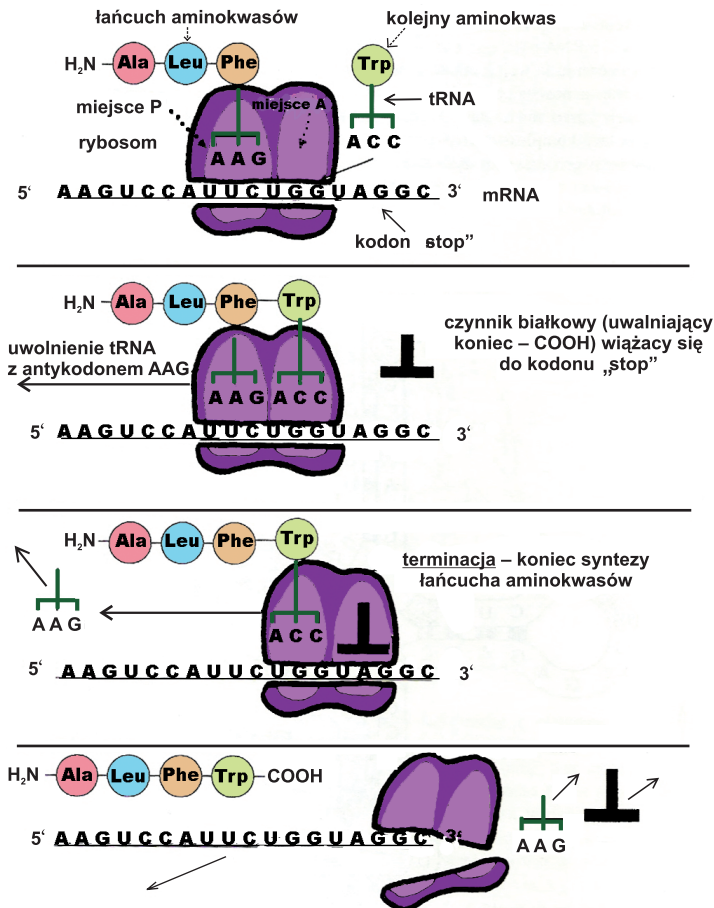
Wśród siedmiu nukleotydów wchodzących w jej skład trzy stanowią tak zwany antykodon, ponieważ sekwencja antykodonu jest komplementarna do trójki nukleotydów w mRNA.



Rys. 3.13. Budowa cząsteczki tRNA

Proces syntezy polipeptydu można podzielić na trzy fazy: inicjację, elongację i terminację. W fazie inicjacji dochodzi do stopniowego formowania się kompleksu mRNA-rybosom-inicjacyjny tRNA. Inicjacyjny tRNA, przenoszący metioninę, jest cząsteczką, której antykodeon rozpoznaje na mRNA sekwencję AUG. Nie oznacza to, że wszystkie białka będą się rozpoczynać od tego aminokwasu, bowiem jest on w dalszej obróbce polipeptydu zazwyczaj usuwany. Wydłużanie łańcucha polipeptydowego następuje w szczególnych miejscach rybosomów. Na rybosomie można wyróżnić tzw. miejsce P (peptydylowe) i miejsce A (akceptorowe) (rys. 3.14).

W miejscu P – tRNA wiąże się z rosnącym polipeptydem. Do miejsca A natomiast dołącza się naładowana odpowiednim aminokwasem cząsteczka tRNA, której antykodeon rozpoznaje na mRNA – komplementarną dla siebie trójkę nukleotydów, czyli kodon. Pomiędzy aminokwasami z miejsca P i z miejsca A tworzy się wiązanie peptydowe, a cząsteczka tRNA po zerwaniu połączeń z peptydem usuwana jest z miejsca P. Cząsteczka tRNA, z przyłączonym do niego peptydem, przenoszona jest wtedy z miejsca A na miejsce P, a rybosom przesuwa się na nici mRNA o kolejne trzy nukleotydy. Zwolnione w ten sposób miejsce A oczekuje na przyłączenie nowej, „naładowanej” cząsteczki tRNA. Proces elongacji powtarza się, przez co powstający polipeptyd wydłuża się. Sygnałem kończącym translację jest sekwencja zasad zawierających jeden lub kilka kodonów nonsensownych. Po zakończeniu translacji kompleks mRNA – rybosom rozpada się, a jego elementy są wykorzystywane ponownie w procesie syntezy białka.



Rys. 3.14. Proces translacji. Etapy elongacji i terminacji

Zadanie 3.1

Wykorzystując podane niżej trójki nukleotydów mRNA, na podstawie tabeli kodu genetycznego, określ, jakie aminokwasy będą włączone w skład polipeptydu podczas translacji:

-AUG- -UCU- -CCC- -GGG- -AUU- -UAA-

Zadanie 3.2

W komórce wystąpił deficyt białka enzymatycznego. Gen zawierający informację genetyczną determinującą powstanie tego enzymu ulega ekspresji wskutek zadziałania nań czynnika transkrypcyjnego. Obie nici DNA rozsuwają się w okolicy genu i jedna

Zadanie 3.8

Pewne białko strukturalne ma podany niżej skład aminokwasowy.

Ala Fen Val Tre Cys Gli Pro Ser Ala His Leu Glu

- Czy można odtworzyć na tej podstawie sekwencję nukleotydów w DNA?
Co oznacza praktycznie w tym zadaniu pojęcie degeneracja kodu genetycznego?
- Przedstaw możliwie najwięcej różnych wariantów sekwencji nukleotydowych DNA, które mogłyby kodować taki skład aminokwasowy białka.

Zadanie 3.9

W fazie S komórki dokonuje się replikacja DNA. Tworzą się widelki replikacyjne (rys. 3.15). Jaki układ nukleotydów będą miały tworzące się nici komplementarne? Z którego końca nici zaczyna się replikacja? Gdzie są fragmenty Okazaki?

łańcuch stary

5' GCCCATAACGCTTAAATGTCCGTATAAACCCATGGTCGGTGCTCA 3'

primer

widelki replikacyjne

primer

3' - 5'

łańcuch stary

Rys. 3.15. Schemat do zadania 3.9

Mutacje genowe

Mutacje genowe są prąródłem wszelkiej zmienności genetycznej. Odpowiadają one za tworzenie nowych alleli danego genu lub też zupełnie nowych genów. Stanowią zatem zasadniczy czynnik ewolucji organizmów. Mutacje dziedziczne powstają w komórkach rozrodczych męskich i żeńskich, w okresie poprzedzającym gametogenezę lub podczas gametogenezы, w różnych jej fazach.

Mutacje zachodzące w komórkach somatycznych podczas całego życia osobnika – nie dziedziczą się, ale powodują zmiany w jego komórkach, przeważnie niekorzystne (np. mutacje prowadzące do procesu nowotworowego). Mutacje wynikające z uszkodzenia DNA podczas replikacji i transkrypcji odgrywają istotną rolę w powstawaniu licznych stanów chorobowych, starzeniu się organizmów czy zmianach ewolucyjnych. Uszkodzenia DNA dzielą się na spontaniczne, czyli zachodzące w komórce bez udziału czynników zewnętrznych oraz indukowane czynnikami mutagennymi. Niektóre sekwencje nukleotydów w DNA podlegają częstszym mutacjom spontanicznym niż inne. Miejsca tych częstych mutacji określa się jako „gorące” (hot spots). Do najczęściej spotykanych uszkodzeń, indukowanych czynnikami zewnętrznymi, należą fotouszkodzenia, wywołane promieniowaniem nadfioletowym, na które szczególną wrażliwość wykazują sekwencje CT w DNA. Promieniowanie to wywołuje fotodimeryzację zasad pirymidynowych, głównie tyminy z cytozyną lub tyminy z tyminą. Uniemożliwia to wytworzenie wiązań wodorowych z komplementarnymi zasadami w drugiej nici DNA i w konsekwencji prowadzi do inaktywacji komórki. Do innych czynników mutagennych zalicza się promieniowanie jonizujące (radiację), na które są szczególnie wrażliwe nukleotydy tyminowe. Czynniki chemiczne alkilujące i niealkilujące oraz związki je aktywujące prowadzą z reguły do znacznych zaburzeń konformacyjnych cząsteczki DNA.

Ogólnie, mutacje genowe ze względu na charakter zmian wywoływanych w DNA dzielą się na cztery typy: mutacje punktowe, insercje, delecje oraz mutacje dynamiczne. W mutacji punktowej jeden nukleotyd zostaje zastąpiony przez inny. Nie musi takie zjawisko prowadzić do zmiany składu aminokwasowego peptydu w związku z tzw. zasadą tolerancji Cricka. Takie mutacje stanowią 25% przypadków.

Może jednak nastąpić podstawienie w peptydzie innego aminokwasu. Mutacja, polegająca na podstawieniu w kodonie zasady purynowej inną puryną bądź pirymidynowej inną pirymidyną, zwana jest tranzycją. Z kolei, zamiana puryny na pirymidynę lub pirymidyny na purynę zwana jest transwersją. Tranzycje i transwersje mogą powodować mutacje zmiany sensu w peptydzie finalnym lub mutacje terminalne, prowadzące do przedwczesnego zakończenia translacji i wykształcenia peptydu niedojrzałego.

Mutacje terminalne przeważnie znoszą funkcję danego białka. W różnych przypadkach poznanych mutacji punktowych odnotowano powstanie białek o zmienionej funkcji i ruchliwości elektroforetycznej. Mutacje punktowe mogą zaburzać proces transkrypcji, np. poprzez zmiany w obrębie sekwencji promotora, który jest sekwencją inicjującą transkrypcję.

Delecje i insercje to mutacje genowe skutkujące zmianą długości pasma DNA w obszarze genu. Ubytek (delecja) jednej lub dwóch par zasad zakłóca zazwyczaj transkrypcję przez zmianę ramki odczytu mRNA, przez co powstają sekwencje zmienione lub skrócone. Tego rodzaju uszkodzenia noszą nazwę mutacji zmiany ramki odczytu (rys. 3.16).

Większość takich mutacji w obszarze genu stanowi niewielką zmianę w chromosomie i z tego powodu trudno dostrzegalną w mikroskopie świetlnym. Większe delecje i insercje dotyczące wielu tysięcy nukleotydów mogą być jednak widoczne nawet w mikroskopie świetlnym. Takie znaczne zmiany obejmujące delecje i insercje dużych fragmentów DNA noszą nazwę aberracji chromosomowych.

Stan

normalny

Typ dziki

mRNA UAG UUUG AUG GCC UCU UGC AAA GGC UAU AGU AGU UAG ...
 Polipeptyd Met—Ala—Ser—Cyr—Lys—Gly—Tyr—Ser—Ser STOP

Przykład 1

Delecja (-1)

mRNA UAG UUUG AUG GCC CUU GCA AAG GCU AUA GUA GUU AG ...
 Polipeptyd Met—Ala—Leu—Ala—Lys—Ala—Thr—Val—Val—Ser—
 Sekwencja zniekształcona

Przykład 2

Delecja (-3)

mRNA UAG UUUG AUG GCC UCU AAA GGC UAU AGU AGU UAG ...
 Polipeptyd Met—Ala—Ser—Lys—Gly—Tyr—Ser—Ser STOP
 Sekwencja zniekształcona

Przykład 3

Insercja (+1)

mRNA UAG UUUG AUG GCC CUC UUG CAA AGG CUA UAG UAG UUAG ..
 Polipeptyd Met—Ala—Leu—Leu—Gln—Arg—Leu STOP
 Sekwencja zniekształcona

Przykład 4

**Insercja (+1)
Delecja (-1)**

mRNA UAG UUUG AUG GCC UCU UUG CAA AGG UAU AGU AGU UAG ...
 Polipeptyd Met—Ala—Ser—Leu—Gln—Arg—Tyr—Ser—Ser STOP
 Sekwencja zniekształcona

Rys. 3.16. Przykłady delecji i insercji w genie oraz skutki tych zmian w łańcuchu polipeptydowym, uzyskanym z mRNA. Strzałki pokazują miejsca delecji i insercji, a liczby w owalach odpowiadają liczbie usuniętych lub włączonych nukleotydów (Murray i wsp., 1998)

Mutacje dynamiczne powstają wskutek poślizgu polimerazy podczas replikacji w fazie S komórki. Poślizg polimerazy zdarza się szczególnie wtedy, gdy polimeraza przyłącza wiele trójnukleotydowych powtórzeń, których liczba wskutek niekontrolowanego ich przyłączania wielokrotnie się zwiększa i w efekcie prowadzi do fizycznego wydłużenia genu nawet o kilkadziesiąt procent. Tego rodzaju mutacje prowadzą do powstawania wielu chorób neurodegeneracyjnych, mają z reguły charakter dominujący i są letalne.

Zadanie 3.10

Poniżej w tabeli 3.3 podano przykład prawidłowego przebiegu biosyntezy białka (pozycja 1) oraz różne możliwości mutacji genowych (przykład 2–6), prowadzące do powstania różnych zmutowanych form peptydu. Uzupełnić pozostałe elementy procesu transkrypcji i translacji oraz określić (przy każdej pozycji) rodzaj mutacji.

Tabela. 3.3

Różne możliwości mutacji genowych

	Sekwencja DNA	Sekwencja mRNA	Aminokwasy	Mutacja
1	TAC TTC GCA CGA	AUG AAG CGU GCU	met lys arg ala	brak
2	TAC TTT GCA CGA	_____	_____
3	TAC CTC GCA CGA	_____	_____
4	TAC ATC GCA CGA	_____	_____
5	TAC TCC GAC GA	_____	_____
6	TAC TTT GCG ACGT	_____	_____

Zadanie 3.11

Nastąpiła tranzycja G w pozycji 4 i transwersja A w pozycji 8 łańcucha DNA. Czy powstały peptyd będzie miał zmieniony skład aminokwasowy?

prawidłowy DNA **T-A-C-G-T-T-T-A-G-A-C-A-A-C-C-C-C-T-G-C-C-**

peptyd _____

peptyd po mutacji _____

Obliczanie częstości mutacji

Przykład 1. Katarakta u bydła jest chorobą dziedziczną, przekazywaną w sposób autosomalny dominujący, z pełną penetracją genu. W badaniach prowadzonych w stadzie bydła, liczącym 18 500 sztuk, wykryto 8 przypadków choroby; wszyscy rodzice tych cieląt byli zdrowi. Ponieważ jest to anomalia dominująca, był to dowód na powstanie nowych mutacji. U 18 500 cieląt występuje łącznie $2 \times 18\,500$ *loci* (miejsc) genowych, czyli 37 000 *loci*. Mutacja wystąpiła w 8 miejscach genowych, więc częstość mutacji wynosi: $8/37\,000 = 0,00021 = 2,1 \times 10^{-4}$ na 1 pokolenie.

Zadanie 3.12

U koni brak tęczówki dziedziczy się jako cecha dominująca autosomalna (semiletalna), z pełną penetracją genu. W populacji 64 128 koni stwierdzono wystąpienie 4 takich przypadków. Obliczyć częstość występowania tej mutacji na 1 pokolenie.

4

Seria alleli jako efekt kolejnych mutacji. Polimorfizm genetyczny antygenów erytrocytarnych oraz białek osocza

Allele wielokrotne

Serią alleli lub allelami wielokrotnymi określa się kilka zróżnicowanych form tego samego genu, zajmujących to samo miejsce (*locus*) w chromosomach homologicznych i determinujących powstanie różnych wariantów (często odmiennych fenotypowo) tej samej cechy. Terminy te wprowadził do genetyki Thomas Morgan w 1914 roku. Formy te powstały wskutek wielu różnych mutacji i zostały zweryfikowane na drodze doboru naturalnego. Gen pochodzący z serii alleli podlega tym samym regułom dziedziczenia co allel mający tylko jedną formę alternatywną, dlatego określony osobnik może posiadać z danej serii alleli jedynie dwie jego formy, jedną od ojca, drugą od matki. Reszta alleli z danej (często licznej) serii jest obecna u innych osobników w populacji.

Liczbę genotypów teoretycznie możliwych (N), wytwarzanych przez znaną liczbę alleli w serii (n) określa wzór:

$$N = 1/2 n (n+1) \quad (4.1)$$

Z kolei pojęcie „szereg alleli” jest pomocne przy uszeregowaniu alleli wielokrotnych w zależności od ich wzajemnego oddziaływania. Na podstawie wyników krzyżowań genetycznych, uszeregowano wykryte allele tak, że gen zapisany w serii najbardziej na lewo jest dominujący w stosunku do wszystkich alleli w serii i do allelu następującego po nim, a ten z kolei dominuje nad następnym, który znajduje się po jego prawej stronie itd. Najbardziej recesywny gen w danej serii znajduje się zatem na końcu całej serii, skrajnie po stronie prawej. Zaznacza się także stopniowanie ich działania na nasilenie cechy, np. pierwszy w serii alleli wywołuje najbardziej intensywne zabarwienie, drugi nieco słabsze, trzeci najslabsze.

Ponieważ w genotypie danego osobnika diploidalnego mogą występować tylko dwa allele danego *locus*, pozostałych alleli tworzących serię należy szukać wśród innych osobników danej populacji.

Wszystkie allele z danej serii będą występować w całej populacji obejmującej określony gatunek. Będą się one ujawniać w fenotypie wskutek tworzenia różnych kombinacji dwóch alleli z danej serii. Wielopostaciowość cech uwarunkowana istnieniem szeregu alleli nosi nazwę **polimorfizmu genetycznego**. Polimorfizm genetyczny oznacza występowanie w populacji – większej (od dwóch) liczby alleli danego genu.

Przykłady serii alleli:

- 3 główne allele (I^A , I^B , i), wyznaczające u ludzi cztery grupy krwi w układzie ABO;
- 8 alleli (B^b , B^c , B^d , B^e , B^f , B^g , B^h , B^{Pb-17}), kodujących 8 antygenów erytrocytarnych w *locus* układu grupowego krwi B owiec;
- 4 allele (TF^A , TF^{D1} , TF^{D2} , TF^E), kodujące 4 współdominujące odmiany transferyny bydła europejskiego;
- 3 allele wyznaczające u kotów umaszczenia: ciemne, srebrzyste i syjamskie;
- 5 alleli determinujących różne umaszczenia królików;
- 3 allele warunkujące umaszczenia: srebrzyste, platynowe i srebrzyste białopyskie lisów;
- 4 allele determinujące różne barwy futerka norek;
- 5 alleli wyznaczających różne umaszczenia świnek morskich.

Zadanie 4.1

Jaka liczba genotypów może teoretycznie wystąpić w populacji, zakładając, iż liczba genów w 3 badanych seriach alleli wyznaczających różne odmiany 3 cech wynosi odpowiednio 3, 6 i 10.

Przykład 1. Umaszczenie królików uwarunkowane jest szeregiem alleli, które pod względem dominowania dadzą się uszeregować w następującej kolejności: C – umaszczenie jednolite ciemne (pełna barwa: czarne lub brązowe), C^h – umaszczenie szynszyla, C^m – umaszczenie kuny, C^h – umaszczenie himalajskie, c – umaszczenie albinotyczne.

Zadanie 4.2

Jakie genotypy i fenotypy mieli rodzice miotu składającego się z 7 królicząt: 4 o umaszczeniu szynszylowym, 1 o umaszczeniu himalajskim i 2 o umaszczeniu albinotycznym?

Zadanie 4.3

Wypisz genotypy i fenotypy królików, oczekiwane w pokoleniach F_1 i F_2 , pochodzących z dwóch krzyżowań: pełna barwa x himalajski oraz szynszyl x himalajski.

Przykład 2. U norek seria 4 alleli warunkuje różne barwy futra (w kolejności dominowania):

- gen T wyznacza umaszczenie standard (ciemny, prawie czarny);
- gen ts wyznacza umaszczenie tzw. pastel soklocki;
- gen tp wyznacza umaszczenie palomino;
- gen t wyznacza umaszczenie albinotyczne.

Zadanie 4.4

Norka o umaszczeniu standard powiła dwa mioty norcząt o następujących barwach futerek:

- 1) standard, pastel soklocki, palomino,
- 2) standard, albinos,

Czy oba mioty mogły pochodzić po tym samym ojcu?

Zadanie 4.5

Jakie genotypy i fenotypy mają rodzice norcząt urodzonych w jednym miocie i mających następujące umaszczenia: 2 osobniki w kolorze pastel soklocki i po 1 osobniku albinotycznym oraz palomino.

Przykład 3. U kotów gen C wyznacza futro ciemne, c^r – futro srebrzyste, c^s – syjamskie. Geny podano w kolejności dominowania.

Zadanie 4.6

Srebrzysta kotka w jednym miocie powiła kocięta srebrzyste, ciemne i syjamskie. Jaki był genotyp i fenotyp kocura?

Zadanie 4.7

Ciemno umaszczona kotka powiła w jednym roku dwa mioty. W pierwszym kocięta miały futerka ciemne i srebrzyste, w drugim – ciemne i syjamskie. Czy oba mioty mogły być potomstwem tego samego kocura?

Genotypy letalne związane z polimorfizmem genetycznym

Przykład 4. U lisów gen P warunkuje umaszczenie platynowe, P^b – srebrzyste białopyskie, a p – srebrzyste. Geny P oraz P^b dominują nad genem p. Homozygoty PP i P^bP^b zamierają w okresie embrionalnym (nie rodzą się). Czasem rodzi się platynowy osobnik homozygotyczny (czysto biały), który ginie w okresie okołoporodowym, ale znane są przypadki przeżycia nawet do 5. tygodnia życia. Śmiertelności osobników platynowych homozygotycznych nie rejestrowano bardzo długo z powodu otrzymywania heterozygot z kojarzeń osobników platynowych ze srebrzystymi. Hodowcy otrzymywali kolejne pokolenia lisów

platynowych (heterozygot) i srebrzystych (homozygot recesywnych) w stosunku 1:1, jak w klasycznym kojarzeniu testowym. Dopiero gdy hodowcy spróbowali kojarzyć lisy platynowe z platynowymi, średnia wielkość ich miotów spadła do około 3/4 przeciętnej dotychczasowej liczby szceniąt. Nie otrzymano osobników platynowych utrzymujących się w typie, tj. homozygotycznie białych. Od czasu do czasu, z takich kojarzeń, pojawiało się czysto białe szcenię, które wkrótce padało. Zwykle zjadała szcenię jego matka, zanim zostało odsadzone. Sytuacja genetyczna jest więc jasna:

rodzice:	platynowy (Pp)	x	platynowy (Pp)			
potomstwo:	1 PP	:	2 Pp	:	1 pp	
	czysto biały (platynowy – ginie)		platynowy		srebrzysty	

Taki rodzaj wyników – wielkość miotu zredukowana o 1/4, stosunek fenotypów i genotypów jak 2:1, charakteryzuje śmiertcionośne współdziałanie genów allelicznych (w tym wypadku dominujących), które są letalne wyłącznie w podwójnej dawce.

Zadanie 4.8

Ile i jakich genotypów można teoretycznie i praktycznie oczekiwać w stadzie lisów, w którym występują wszystkie 3 allele?

Zadanie 4.9

Skojarzono lisy platynowe i srebrzyste. Otrzymano 252 platynowe oraz 247 srebrzystych, a średnia miotu wyniosła 5,5 szcenięcia. W innym kojarzeniu połączono lisy platynowe między sobą. Otrzymano 43 platynowe oraz 21 srebrzystych, a średnia liczba szceniąt w miocie wyniosła średnio 3,7 osobnika. Jak można wyjaśnić te wyniki?

Zadanie 4.10

W jaki sposób można otrzymać lisy srebrzyste białopyskie oraz platynowe, by średnia miotu nie wskazywała na istnienie genotypów letalnych?

Polimorfizm genetyczny białek osocza krwi oraz antygenów erytrocytarnych

Oprócz cech polimorficznych postrzeganych w fenotypie istnieją takie cechy ustroju, które dotyczą cech biochemicznych (enzymów) bądź immunogenetycznych (antygenów). Cechy te także wykazują szeroki polimorfizm genetyczny oparty o szeregi alleli. Dobrym przykładem są grupy krwi ssaków oraz liczne białka krwi, w tym osocza (hemoglobina, transferyna, ceruloplazmina, albumina). Wszystkie białka osocza dziedziczą się jako proste cechy mendlowskie, a ich ostateczna postać w danym organizmie jest efektem kodominacji (współdominowania) alleli jednego *locus*. Pule genów zwierząt kryją w sobie ogromne zasoby

polimorfizmu genetycznego, ale całkowita wielkość polimorfizmu nie jest znana, ponieważ można zidentyfikować tylko tę jego część, która wywołuje efekt fenotypowy. Obecnie uważa się, że około 30% *loci* kręgowców jest genetycznie polimorficzne. Polimorfizm wielu *loci* utrzymuje plastyczność ewolucyjną gatunku i pozwala szybko reagować w zmieniających się warunkach środowiska.

Antygeny grupowe komórek krwi odpowiadają za swoistość immunologiczną tkanki łącznej, jaką jest krew. W immunogenetyce, spośród wszystkich komórek krwi, bierze się pod uwagę przede wszystkim antygeny związane z erytrocytami jako najliczniejszymi (są 1000-krotnie liczniejsze od leukocytów). Liczba dotychczas odkrytych antygenów grupowych człowieka przekracza 600, zdecydowaną większość z nich przyporządkowano do 29 grup (tab. 4.1). Bardzo istotna jest znajomość antygenów erytrocytarnych dwóch głównych układów grupowych krwi: ABO oraz Rh, pomyłka bowiem w tej kwestii przy transfuzji bądź przeszczepie może spowodować śmierć pacjenta. W bardzo rzadkich przypadkach powstają problemy na tle niezgodności serologicznej z powodu niektórych antygenów z innych niż ABO i Rh układów: MNSs – antygenów: S i U, Kidd – antygeny: Ik, Kell – antygeny: K.

Określenie „grupa krwi” odnosi się do fenotypu antygeny, zwykle rozpoznawanego przy użyciu właściwych przeciwciał. U ludzi antygeny grupowe krwi to przeważnie produkty genowe jednego *locus*. W obrębie jednego antygeny może istnieć wiele miejsc specyficznie wiążących przeciwciała. Miejsca te noszą nazwę epitopów lub determinant antygenowych.

Cząsteczki tworzące antygeny grupowe krwi zarówno ludzi, jak i zwierząt są zróżnicowane chemicznie, mogą być wielocukrami bądź polipeptydami/białkami albo lipidami najczęściej zmodyfikowanymi (np. glikoproteinami, lipoproteinami lub glikolipidami).

Immunogenność, określona jako zdolność do indukcji przeciwciał u biorcy, zależy od budowy chemicznej antygeny, przy czym glikoproteiny czy lipoproteiny są silniejszymi antygenami niż polipeptydy. Antygeny mogą wykazywać cechy bądź tylko antygenowości, bądź także immunogenności, czyli zdolności pobudzającej do wywoływania przeciwko sobie swoistej odpowiedzi immunologicznej warunkowanej przez przeciwciała obecne w surowicy krwi.

Tabela 4.1

Antygeny 29 układów grupowych krwi człowieka poznane dotychczas (wg raportu Międzynarodowego Towarzystwa Transfuzjologicznego – International Society of Blood Transfusion – ISBT, 2006)

Lp.	Układ	Symbol	Rodzaj antygeny	Liczba antygenów	<i>Locus</i> na chromosomie
1	2	3	4	5	6
1.	ABO	ABO	Wielocukier	4	9
2.	Rh	RH	Białka C,D,c,E,e	45	1
3.	MNSs	MNS	Glikozyloforyny A,B i E	40	4
4.	P	P1	Glikosfingolipid	1	22
5.	Kell	KEL	Endopeptydaza	22	7
6.	Luthern	LU	Immunoglobulina	18	19
7.	Lewis	LE	Wielocukier	3	19
8.	Duffy	FY	Glikoproteina (receptor dla chemokin)	6	1

Tabela 4.1 c.d

1	2	3	4	5	6
9.	Kidd	JK	Białko (transporter mocznika)	3	18
10.	Diego	DI	Białko (transporter anionów)	9	17
11.	Yt	YT	Enzym acetylocholinesteraza	2	7
12.	Xg	XG	Glikoproteina – cz.adhezyjna/receptor	1	X
13.	Scianna	SC	Glikoproteina – cz.adhezyjna/receptor	3	1
14.	Dombrock	DO	Enzym – ADP – rybozylotransferaza	5	12
15.	Colton	CO	Białko – akwaporyna	3	7
16.	Landsteiner- Wiener	LW	Glikoproteina – cz.adhezyjna/receptor	3	19
17.	Chido/Rodgers	CH/RG	Glikoproteina – składnik C4 dopełniacza	9	6
18.	Hh	H	Wielocukier – składnik glikokaloksu	1	19
19.	Kx	XK	Glikoproteina – transporter neurotransmitterów	1	X
20.	Gerbich	GE	Glikoproteina – wiąże błonę cytoszkieletu z cytoszkieletem	7	2
21.	Cromer	CROM	Glikoproteina – czynnik hamujący aktywację dopełniacza (CD55)	10	1
22.	Knops	KN	Glikoproteina – czynnik hamujący aktywację dopełniacza (CD35)	5	1
23.	Indian	IN	Glikoproteina – wiąże kwas hialuronowy (CD44)	2	11
24.	Ok	OK	Glikoproteina – receptor dla cyklofiliny (CD147)	?	19
25.	Reph	MER2	Glikoproteina przezbłonowa wiążąca się z integryną	?	11
26.	JMH	JMH	Proteina – cz.adhezyjna/receptor	?	6
27.	Ii	I	Wielocukier	?	6
28.	Globoside	P	Glikolipid	?	3
29.	GIL	GIL	Białko – akwaporyna	?	9

Układ grupowy ABO człowieka

Antygeny układu ABO odkrył w 1900 roku austriacki badacz Karl Landsteiner, za co w 1930 roku uhonorowany został Nagrodą Nobla. Są one najlepiej poznaną grupą antygenów erythrocytarnych, a ze względu na wysoką immunogenność są antygenami, na które zwraca się największą uwagę w transfuzjologii. Antygeny układu ABO są obecne na powierzchni wszystkich komórek organizmu oprócz neuronów. W Polsce nazwę układu ABO wymawia się „abezero”, ale pisze się ABO (abeo), zgodnie z przyjętą międzynarodową terminologią. Podstawy nauki o grupach krwi oraz międzynarodową terminologię stworzyli – polski uczyony Ludwik Hirszfild oraz Niemiec Emil von Dungern. W 1928 roku wprowadzili oznaczenie grup krwi symbolami A, B, AB, oraz O i terminologia ta obowiązuje do dzisiaj. Symbol „O” (pochodzący od niemieckiego słowa „ohne”, czyli „bez”), określał grupę krwi, która istniała „bez” antygeny A i B.

Układ grupowy ABO to układ zróżnicowanych glikosfingolipidów zlokalizowanych w błonie komórkowej erythrocytów, wyznaczanych przez pojedyncze *locus* umiejscowione na chromosomie 9, zawierające serię 3 głównych alleli. W układzie grupowym krwi ABO geny wchodzące w skład serii alleli oznaczają się jako I^A , I^B oraz i , zaś ich produkty genowe – jako antygeny A, B i O.

Oznaczenie alleli literami I oraz i pochodzi od terminu – izoaglutynina, który był dawniej synonimem przeciwciała. Wymieniona wyżej seria 3 alleli bywa oznaczana także literami L oraz l (od nazwiska odkrywcy tego układu grupowego krwi – Landsteinera). Dwa z trzech wymienionych alleli są równocenne, czyli kodominujące (I^A oraz I^B), zaś trzeci – i , jest względem obu wymienionych – recesywny. Takie wzajemne układy dają w populacji ludzkiej możliwość istnienia 6 genotypów: $I^A I^B$, $I^A I^A$, $I^B I^B$, $I^A i$, $I^B i$ oraz ii , a także 4 fenotypów (grup krwi): A, B, AB oraz O (tab. 4.2). Opis ten jest uproszczony, gdyż zarówno w obrębie grupy A, jak i B występują podgrupy, które różnicuje stężenie antygeny. Przy oznaczaniu fenotypu grupy krwi nie jest możliwe odróżnienie genotypu $I^A I^A$ od $I^A i$ lub $I^B I^B$ od $I^B i$. Dla wysnucia wniosku co do genotypu określonej grupy krwi badanego osobnika należy posłużyć się jego rodowodem, szczególnie wtedy, gdy każdy członek rodziny ma oznaczoną grupę krwi. Najbardziej jednak dokładną odpowiedź w tym względzie może dać analiza DNA określonego osobnika.

Organizm produkuje przeciwciała wobec tych antygenów z grupy ABO, których sam nie posiada. Stąd też osoba o fenotypie O, nie mająca ani antygeny A, ani B, będzie posiadać w krwiobiegu przeciwciała zarówno anty-A, jak i anty-B. Analogicznie osoba o fenotypie AB (jak wspomniano, geny antygenów grupowych mogą kodominować) nie będzie tworzyć żadnych przeciwciał (tab. 4.2).

Należy pamiętać, że przeciwciała skierowane przeciwko antygenom ABO należą do kategorii przeciwciał „naturalnych” – czyli powstających bez kontaktu z antygenem A oraz B. Uważa się, że do immunizacji poprzedzającej syntezę przeciwciała wystarczy w tym przypadku kontakt jedynie z antygenami z najbliższego otoczenia, podobnymi do antygenów ABO, niesionymi np. przez bakterie czy pyłki roślin. Na główną rolę bakterii wskazują przypadki braku przeciwciał anty-A oraz anty-B u osobników przebywających w sterylnych warunkach. Wytlumaczeniem, dlaczego kontakt z takim, względnie niespecyficznym czynnikiem, wystarczy do syntezy przeciwciał względem antygenów A oraz B, może być fakt, iż takie przeciwciała najczęściej są klasy IgM, a te charakteryzują się niższą specyficznością

niż na przykład IgG. Przeciwciała IgM nie przechodzą przez łożysko, stąd też zwykle nie obserwuje się konfliktu serologicznego między matką a dzieckiem. Wyjątkiem są osoby z grupą krwi O, które syntetyzują przeciwciała IgG. Gdy matka posiada grupę krwi O, a dziecko nie (czyli posiada inne determinanty grupowe), matka syntetyzuje przeciwciała IgG, które przechodzą przez łożysko i mogą powodować hemolizę u noworodka. Hemoliza z tej przyczyny zwana jest hemolitycznym schorzeniem noworodków układu ABO; w międzynarodowej terminologii – ABO HDN (ang. ABO Hemolytic Disease of the Newborn).

Tabela 4. 2

Przeciwciała syntetyzowane w surowicy krwi osób z określonymi grupami krwi, fenotypami oraz antygenami układu ABO

Genotyp	Fenotyp	Antygeny krwinek czerwonych	Przeciwciała surowicy
ii	O	brak	anty-A i anty-B
I ^A i	A	A	anty-B
I ^A I ^A	A	A	anty-B
I ^B i	B	B	anty-A
I ^B I ^B	B	B	anty-A
I ^A I ^B	AB	A, B	Brak

Zadanie 4.11

W tabeli 4.3 wypisano pary rodzicielskie o wszystkich możliwych kombinacjach grup krwi. Należy uzupełnić tabelę, wpisując w odpowiednie kolumny możliwe genotypy rodziców o danych grupach krwi oraz możliwe grupy krwi ich potomstwa.

Tabela 4.3

Możliwe grupy krwi w poszczególnych rodzinach

Grupy krwi rodziców	Możliwe kombinacje genotypów potomstwa	Możliwe grupy krwi potomstwa
O x O		
O x A		
O x B		
O x AB		
A x A		
A x AB		
A x B		
B x AB		
B x B		
A x AB		

Zadanie 4.12

Znając grupę krwi matki i dziecka przedstawione w tabeli 4.4, wpisz w odpowiednie kolumny grupy krwi ojca danego dziecka.

Tabela 4. 4

Możliwe grupy krwi nieznanego ojca, przy znanych grupach krwi matki i dziecka (do zadania 4.12)

Grupa krwi dziecka \ Grupa krwi matki	A	B	C	D
A				
B				
AB				
O				

Zadanie 4.13

Czy w rodzinie złożonej z rodziców i dwojga dzieci możliwym jest, by każdy członek rodziny miał inną grupę krwi? Odpowiedź uzasadnij, wykorzystując szachownicę Punnetta.

Zadanie 4.14

Kobieta z grupą krwi A wychowuje potomka z grupą B. Dwaj mężczyźni, jeden o grupie krwi A, drugi z grupą AB podejrzani są o ojcostwo. Który z nich z całą pewnością nie jest ojcem dziecka?

Zadanie 4.15

Rodzice o grupach krwi AB oraz B wychowują dziewczynkę z grupą krwi A oraz chłopca z grupą O. Które z dzieci nie jest prawdopodobnie ich potomkiem?

Zadanie 4.16

Wnuczek posiada grupę krwi A, jego dziadek grupę B, zaś babcia (żona tegoż dziadka) grupę O. Jakie genotypy układu ABO mieli rodzice dziecka?

Zadanie 4.17

Matka ma grupę krwi O, zaś płód A. Pierwsze jej dziecko ma grupę O. Czy ojcem obu dzieci może być ten sam mężczyzna? Czy może dojść u płodu do hemolizy krwinek z przyczyn konfliktu serologicznego ABO HDN?

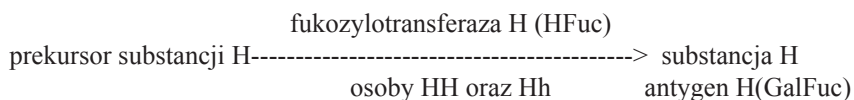
Genetyczna determinacja antygenów ABO w erytrocytach

Podstawowy związek układu ABO z dziedzicznością polega na tym, iż przekazujemy potomstwu: 1) geny kodujące aktywne białka enzymatyczne przekształcające prekursor antygenów A oraz B (zwany substancją H) w antygeny A i B wyznaczające grupy krwi A, B lub AB; 2) geny kodujące nieaktywne białka enzymatyczne, nieprzekształcające dalej prekursora antygenów A oraz B i w efekcie wyznaczające grupę krwi O.

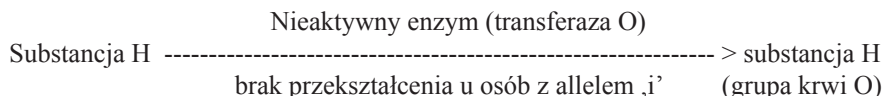
Synteza antygenów układu ABO związanych z błoną erytrocytów zależy od współdziałania 2 niezależnych *loci*, zawierających poniższe allele:

- 1) H lub h;
- 2) I^A, I^A₂, I^B, i.

Geny warunkujące obecność określonego antygeny w błonie erytrocytów kodują enzymy z grupy transferaz, które przenoszą reszty cukrowe na końcowe miejsce łańcucha prekursorowego, na bazie którego budowany jest antygen. Łańcuch prekursorowy składa się z wielocukru: – glikosfingolipidu, w którym część cukrowa składa się z łańcucha galaktoz, N-acetylogalaktozaminy oraz galaktozy. Allel H koduje 1,2 fukozylotransferazę (transferazę H), której działanie katalityczne polega na przyłączeniu cukru fukozy do terminalnej cząsteczki galaktozy w łańcuchu prekursorowym i zakończeniu syntezy łańcucha, który w końcowej formie zwany jest substancją H. U osób, które mają genotyp HH, transferaza fukozylowa (transferaza H) jest aktywna i katalizuje przejście prekursora substancji H w substancję H:

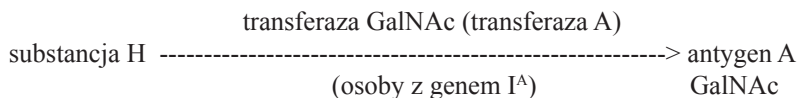


Za swoistość antygeny odpowiada cukier zajmujący ostatnią pozycję łańcucha. W roku 1990 ustalono ostatecznie różnicę między produktami genów I^A, I^B oraz i. Gen I^A koduje enzym transferazę A, gen I^B odmienną formę enzymu – transferazę B, zaś gen i – nieaktywną transferazę O – enzym powstały w wyniku delecji w genie A (najstarszej ewolucyjnie odmiany genu układu ABO), tylko jednego nukleotydu (G) w pozycji 258, powodującej zmianę ramki odczytu. Na skutek mutacji, w pozycji 349–351, doszło do utworzenia kodonu stop. Powstała cząsteczka fukozylotransferazy posiada zaledwie 115 aminokwasów (wobec 353 aminokwasów transferazy A i B) i pozbawiona jest domeny katalitycznej. Tak więc, antygen O jest w istocie tożsamy z końcowym produktem genu H, ponieważ produkt allelu recesywnego „i” (transferaza O) jest nieaktywny i nie jest w stanie przekształcać dalej substancji H:

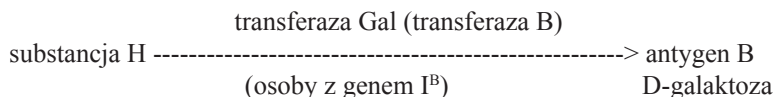


Ostateczny produkt allelu H w postaci substancji H, pod wpływem transferaz kodowanych przez allel I^A oraz I^B, przyłącza następne (odmienne) reszty cukrowe, co powoduje zakończenie syntezy antygenów A oraz B.

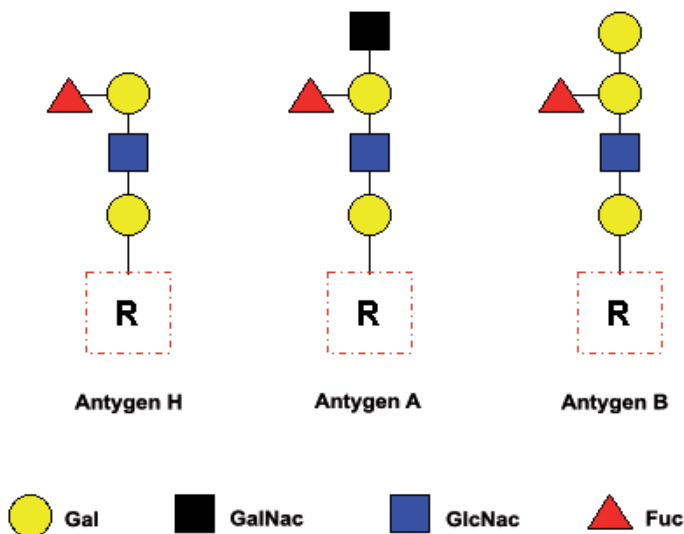
U osób z genotypami $I^A I^A$, $I^B I^B$, $I^A I^B$, $I^A i$, $I^B i$ następuje dalsze przekształcenie:



oraz:



Osoby z grupą krwi AB posiadają obydwie enzymy (transferazy A i B) i dwa różne produkty końcowe występujące niezależnie obok siebie w postaci różniących się łańcuchów oligosacharydowych na tej samej krwince czerwonej. Zjawisko takie jest istotą ko-dominacji, czyli współdominowania.



Rys. 4.1. Synteza antygenów oligosacharydowych układu ABO (Gal – galaktoza; GalNac – terminalny cukier dołączony do galaktozy na drodze syntezy antygeny A; GlcNac – cukrowcy prekursor substancji H; Fuc – fukoza)

Brak dominującego allelu H (genotyp h/h) i wynikający z tego brak transferazy H w krwinkach czerwonych zdarza się wyjątkowo rzadko. Erythrocyty nosicielei tej cechy nie wykazują obecności antygenów A oraz B. Jednakże w ich krwi obecne są odpowiednie transferazy jako produkty istniejących w ich DNA genów dla antygenów A oraz B. Osoby takie posiadają grupę krwi **Bombay** (pseudo O). Oznacza się ją odpowiednio: $O_h A$, $O_h B$, $O_h AB$ (O_h -Bombay lub ABHnull). Ludzie ci są trudnymi pacjentami w razie koniecznej transfuzji i dawca musi być nosicielem takiego samego defektu i musi posiadać tę samą grupę krwi (zgodność w *locus h/h*).

Z treści zawartych powyżej wynika, iż dominujący allel *H* *locus* *H/h* współdziała z dominującymi allelami I^A oraz I^B *locus* *ABO*, tak jak opisano to w rozdziale 2 (współdziałanie dopełniające par alleli).

Przykład 1. Rodzice mają następujące grupy krwi: ABHH oraz Ohh, czyli mają następujące genotypy:

P: $I^A I^B HH$ x $iihh$

Gamety: $I^A H$ $I^B H$ x ih

Genotypy potomstwa: $I^A i Hh$, $I^B i Hh$

Fenotypy potomstwa: **grupa AO oraz BO**

Wynika z tego, iż obecność tylko jednego epistatycznego allelu *H* pozwala na syntezę obu antygenów grupowych układu ABO, czyli A i B, oraz wszystkich grup krwi. W związku z kodominacją genów I^A oraz I^B , mimo obecności jednego allelu epistatycznego *H*, na erytrocytach u potomstwa powinno być ilościowo znacznie mniej antygenów zarówno A, jak i B, gdyż w krwinkach czerwonych jest o połowę mniej substancji *H*. Ponadto, w komórkach potomstwa obecna jest transferaza O, która nie przekształca dalej około połowy powstającej (pod wpływem obecności tylko jednego allelu *H*) substancji *H*.

Przykład 2. Pierwszy rodzic ma następujący genotyp: $iihh$ (grupa O, drugi $I^A i H H$ (grupa A). Gamety jakie wytwarzają rodzice to: ih , a także: $I^A H$ oraz iH . Potomstwo może mieć następujące genotypy: $I^A i H h$ (grupa AO) oraz $ii H h$ (grupa O). Czy rodzic z grupą krwi O, nie posiadający genu epistatycznego, ma grupę krwi **Bombay** ($ABHnull$)? Czy w jego płynach ustrojowych będzie obecny jakikolwiek antygen A, B lub H?

Rodzic, który ma grupę O, posiada oba allele (ii) dla transferazy O, która nie przekształca substancji *H* i nie powstaje ani antygen A, ani B. Jednakże rodzic o genotypie $iihh$ nie ma także substancji *H*, ponieważ synteza prekursora dla antygenów nie została zakończona z powodu braku transferazy *H* – produktu genu epistatycznego *H*. Dowodem na to powinna być nieobecność w surowicy krwi przeciwciał anty-H. Mimo to u osób z grupą krwi O nie bada się nieobecności przeciwciał anty-H w ich surowicy, a jedynie obecność przeciwciał anty-A oraz anty-B. Z tego powodu osoby takie są rzadko rozpoznawane jako homozygoty hh . Inna sytuacja jest w wypadku posiadania takiego genotypu razem z genotypem warunkującym syntezę antygenów A lub B. Jeśli rodzice posiadający allele dla antygenów A oraz B będą np. heterozygotami Hh , to w ich związku może pojawić się potomstwo z fenotypem **Bombay**, co wzbudza zdziwienie w rodzinie i powoduje chęć wyjaśnienia przyczyn tego zjawiska.

Przykład 3. Rodzice mają następujące genotypy: $I^A i H h$ (grupa A) oraz $I^B i H h$ (grupa B).

Gamety jakie wytwarzają rodzice to: $I^A H$, $I^A h$, iH , ih x $I^B H$, $I^B h$, iH , ih .

Z tego związku może pojawić się następujące potomstwo:

Gamety:	$I^A H$	$I^A h$,	iH	ih
$I^B H$	$I^A I^B H H$ (AB)	$I^A I^B H h$ (AB)	$I^B i H H$ (B)	$I^B i H h$ (B)
$I^B h$	$I^A I^B H h$ (AB)	<u>$I^A I^B h h$</u>	$I^B i H h$ (B)	<u>$I^B i h h$</u>
iH	$I^A i H h$ (A)	<u>$I^A i H h$</u> (A)	$ii H H$ (O)	$ii H h$ (O)
ih	$I^A i H h$ (A)	<u>$I^A i h h$</u>	$ii H h$ (O)	<u>$ii h h$</u>

Wyniki powyższe wskazują, iż w potomstwie omawianych rodziców mogą pojawić się dzieci z grupą krwi A (3/16), B (3/16), AB (3/16) oraz O (3/16). Fenotyp Bombay (ABHnull) wystąpił w 4 przypadkach na 16, tj. z prawdopodobieństwem $4/16 \times 100\% = 25\%$. Zatem, o wartości prawdopodobieństwa decyduje jedna recesywna para alleli hh. Gdy kojarzy się heterozygoty w cesze *pisum*, istnieje prawdopodobieństwo 25%, iż $1/4$ potomstwa będzie homozygotycznie recesywna (rozdział 1). Tak więc, mimo iż rozpatrywano w powyższym przykładzie rozkład dwóch par alleli, okazało się to nieuzasadnione, bowiem o wystąpieniu fenotypu Bombay decyduje tylko jedna recesywna para alleli **hh**, która jest epistatyczna w stosunku do genów *locus* ABO. Mamy w tym przykładzie do czynienia z epistazą recesywną. Jeśli w genotypie jest obecna para genów hh, uniemożliwia ona syntezę jakiegokolwiek antygeny układu ABO, tj. A, B oraz H. Jak już wspomniano, w populacji rasy kaukaskiej, genotypy heterozygotyczne w *locus* Hh występują bardzo rzadko, zatem istnieje niewielkie prawdopodobieństwo na ich spotkanie i ewentualne pojawienie się potomstwa z fenotypem Bombay.

W ustroju człowieka istnieją dwa warianty prekursora antygenów ABO: typ I i II, różniące się jedynie wiązaniem między terminalną galaktozą a poprzedzającą ją N-acetylogalaktozaminą. W wariacie pierwszym jest to wiązanie $\alpha(1,4)$ glikozydowe, w drugim zaś $\alpha(1,3)$ glikozydowe. Na erytrocytach występuje jedynie wariant II prekursora H, podczas gdy na powierzchniach pozostałych komórek występują oba.

Znanych jest kilka wersji genu I^A , kodujących wiele odmian antygeny A: istnieją podtypy różniące się stopniem ekspresji i immunogenności: I^{A1} (najsilniejszy), I^{A2} oraz rzadsze: I^{A3} , I^{Ax} , I^{Am} , spośród których najczęstszą odmianą jest allel I^{A2} występujący u około 20% osób z grupą krwi A. Transferaza A2 różni się od transferazy A1 zaledwie jednym aminokwasem w pozycji 467. W wyniku tej mutacji transferaza ma znacznie mniejszą wydajność katalityczną i przenosi N-acetylogalaktozaminę jedynie na pewne warianty cukrowego prekursora H typu II. W efekcie, osoby będące posiadaczami genu I^{A2} wykazują 4-krotnie mniejsze zagęszczenie determinant A2 na powierzchni erythrocytu w porównaniu z osobami mającymi grupę A1.

Zmniejszona aktywność transferazy A2 sprawia, że na powierzchni erythrocytu pozostaje wolny antygen H. W dodatku, osoby o fenotypie A2, rozpoznają antygeny A1 jako odrębne i produkują przeciwko nim odpowiednie naturalne przeciwciała anti-A1.

Poza wariantami antygeny A istnieją także podtypy antygeny B: B_x i B_m , jednak nie mają znaczenia diagnostycznego.

Tak więc, ostateczne powiązanie między fenotypem układu ABO a genotypem wygląda następująco (w nawiasach umieszczono zapisy alternatywne stosowane dla genotypów układu ABO):

Grupę A_1 posiadają osoby o genotypie: $I^{A1}i$ ($A1O$), $I^{A1}I^{A1}$ ($A1A1$), $I^{A1}I^{A2}$ ($A1A2$);

Grupę A_2 posiadają osoby o genotypie: $I^{A2}I^{A2}$ ($A2A2$) lub $I^{A2}i$ ($A2O$);

Grupę **B** posiadają osoby o genotypie: $I^{B1}I^{B1}$ (BB) lub $I^{B1}i$ (BO);

Grupę A_1B posiadają osoby o genotypie: $I^{A1}I^{B1}$ ($A1B$);

Grupę A_2B posiadają osoby o genotypie: $I^{A2}I^{B1}$ ($A2B$);

Grupę **O** posiadają osoby o genotypie: ii (OO).

Każda grupa krwi charakteryzuje się odpowiednim zestawem naturalnych przeciwciał należących do klasy IgM:

- Grupa A_1 : anti-B
- Grupa A_2 : anti-B i niekiedy anti- A_1

- Grupa B: anty-A
 - Grupa O: anty-A i anty-B
 - Grupa A₁B: brak naturalnych przeciwciał
 - Grupa A₂B: mogą wystąpić przeciwciała anty-A₁
- Poniżej, w tabeli 4.5 przedstawiono frekwencję grup krwi układu ABO w Polsce.

Tabela 4.5

Częstotliwość grup krwi *locus* ABO w Polsce (%)

Grupa krwi	O	A1	A2	B	A1B	A2B
Frekwencja	32	34	6	19	7	2

Genetyczna determinacja antygenów ABO na innych komórkach ustroju

W syntezie antygenów układu ABO, na innych niż erythrocyty komórkach ustroju (poza neuronami), bierze udział dodatkowa para alleli *locus* **Se/se**, dziedzicząca się niezależnie od *loci* ABO oraz H,h. Antygeny układu ABO są złożonymi oligosacharydami obecnymi w większości komórek organizmu i obecne są w wielu wydzielinach. W błonach erythrocytów antygeny ABO występują w postaci glikosfingolipidów, natomiast w płynach ustrojowych – w postaci glikoprotein. Obecność tych ostatnich w płynach ustrojowych jest wyznaczana przez przynajmniej jeden gen dominujący **Se** (od secretor – wydzielacz), który koduje odmienną formę transferazy zwaną fukozylotransferazą Se (sFuc), swoistą jedynie dla narządów wydzielniczych i nieaktywną w erythrocytach (w których aktywna jest transferaza H – HFuc). Transferaza Se katalizuje analogiczną reakcję jak transferaza H, ale wykazuje powinowactwo do prekursora typu I, obecnego głównie na powierzchni nabłonków. Część powstałych antygenów grupowych uwalnia się z komórek i przedostaje się do płynów ustrojowych. Osoby rasy kaukaskiej w 80% posiadają genotypy Se/Se lub Se/se; osobnicy ci zwani są „wydzielaczami”, ponieważ w ich wszystkich płynach ustrojowych (z wyjątkiem płynu mózgowo-rdzeniowego) znajdują się antygeny A lub B (albo obydwa) oraz H, natomiast osoby se/se nie wydzielają do płynów ustrojowych tych antygenów, mimo iż w erythrocytach antygeny A, B oraz H są syntetyzowane i występują na powierzchni krwinek czerwonych.

Zadanie 4.18

Dziecko posiada genotyp hh oraz Sese. Jakich antygenów grupowych (A, B, H) należy się spodziewać w jego płynach ustrojowych oraz w błonach erythrocytów?

Zadanie 4.19

Jakie antygeny będą syntetyzowane w błonach erythrocytów oraz na pozostałych komórkach ustroju u osób z następującymi genotypami układu ABO: BOHhsese, A1BHHSese, A1A2hhSeSe, BBHhsese, A2OHHsese?

Zadanie 4.20

Dziecko posiada w surowicy krwi przeciwciała anty-A, a jego rodzice (oboje) mają grupy krwi O. Czy jest to możliwe?

Zadanie 4.21

Jaką grupę krwi oznacza w praktyce posiadanie nieaktywnej formy TFH (hFuc), a jaką aktywnej, przy założeniu iż zdecydowana część populacji posiada genotyp HH?

Zadanie 4.22

Ojciec rodziny ma genotyp A1OHh, matka A2BHh. Jaki odsetek potomstwa będzie miał genotyp A1OHH oraz A2OHH, a jaki fenotyp Bombay?

Zadanie 4.23

Matka posiada genotyp AAHh, ojciec ABHh. Czy jest możliwe, by część ich dzieci miała grupę krwi O?

Zadanie 4.24

Mężczyzna o genotypie ABHh ożenił się z kobietą o genotypie BBHh. Jaki procent ich dzieci będzie posiadał antygen grupowy A? Do obliczeń wykorzystaj regułę iloczynu rachunku prawdopodobieństwa.

5

Cechy sprzężone. Rekombinacja homologiczna

Chromosomy w procesie dziedziczenia zachowują się jak odrębne, niezależne jednostki. Podczas mejozy każdy chromosom łączy się ze swoim homologiem w parę zwaną bivalentem, ale następnie jako jednostki odrębne oddzielają się od siebie. Zatem, geny zajmujące swe *loci* w jednym chromosomie dziedziczyć się będą zawsze razem. Zachodzące podczas mejozy zjawisko crossing over może jedynie doprowadzić do wzajemnej wymiany genów leżących w chromosomach homologicznych w obrębie par alleli, ale nie może zmienić liniowego ułożenia genów w chromosomach w stosunku do innych genów leżących na tym samym chromosomie. Zjawisko crossing over polega na przecięciu w poprzek połączonych ze sobą chromosomów homologicznych, wycięciu wzajemnie (allelicznie) sobie odpowiadających odcinków DNA, a następnie ich wymianie między homologicznymi (lecz niesiostrzanymi) chromatydami. Crossing over ma miejsce w fazie, gdy każdy z homologów (tworzących bivalent) znajduje się w stadium złożonym z dwóch jednoniciowych chromatyd. Ponieważ bivalent składa się w sumie z 4 chromatyd, więc w odniesieniu do ich liczby nosi nazwę tetrady.

Geny leżące na tym samym chromosomie nazywamy genami sprzężonymi. Zatem chromosom to grupa sprzężonych ze sobą genów. W przypadku gdy określone *loci* znajdują się w tym samym chromosomie bardzo blisko siebie, to geny je zajmujące (i cechy przez nie wyznaczone) będą dziedziczone razem. Jeśli zaś geny leżące na tym samym chromosomie leżą w pewnej odległości od siebie, w wyniku crossing over może dojść do rozerwania sprzężenia między nimi (ale nie zmiany odległości) i wymiany genów jedynie w obrębie par alleli. Powstają wtedy osobniki o innej kombinacji cech, niż mieli rodzice. Osobniki takie nazywa się rekombinantami. Częstość zachodzenia crossing over między genami sprzężonymi jest wprost proporcjonalna do odległości między nimi.

Jak więc u potomstwa odróżnić obserwowaną w ich fenotypie nową kombinację cech powstałych w wyniku zjawiska crossing over od także nowej kombinacji cech powstałych w pokoleniu potomnym w wyniku losowej segregacji chromosomów podczas mejozy?

Jak wiadomo, geny których wzajemny alleliczny układ zmienia crossing over, leżą w jednym chromosomie i nie dziedziczą się zgodnie z prawami Mendla. Natomiast geny leżące w różnych chromosomach podlegają w mejozie losowej segregacji razem z chromo-

somami, na których leżą, zatem – dziedziczą się zgodnie z prawami Mendla. Aby można było rozróżnić wpływ tych dwóch zjawisk zachodzących w mejozie (wcześniejszego – crossing over i późniejszego – losowej segregacji chromosomów) na genotyp i fenotyp osobnika, zastosowano model oparty o kojarzenia testowe. Zakłada on, iż rodzice (pokolenie wyjściowe) są homozygotami i reprezentują przeciwstawne odmiany danej cechy, a uzyskane w ten sposób pokolenie F_1 (w całości identyczne, o jednakowym fenotypie i genotypie) poddaje się kojarzeniu testowemu, tj. łączeniu osobników z pokolenia F_1 z homozygotami recesywnymi. Otrzymane w ten sposób pokolenie F_2 (po kojarzeniu testowym, a nie jak w przypadku klasycznego kojarzenia mendlowskiego, uzyskane z kojarzenia $F_1 \times F_1$) stanowi podstawę do wysnucia wniosku, czy kombinacja cech obserwowana u osobników pokolenia F_2 po kojarzeniu testowym – jest efektem crossing over, czy losowej segregacji chromosomów podczas mejozy. Innymi słowy, uzyskamy odpowiedź na pytanie, czy badane u danego osobnika cechy wyznaczone są przez geny leżące na jednym chromosomie, czy na różnych chromosomach. W celu otrzymania odpowiedzi niezbędne jest kojarzenie dużej liczby osobników. Podstawą do odróżnienia efektu zjawiska crossing over od efektu zjawiska losowej segregacji chromosomów podczas mejozy jest liczebność poszczególnych klas fenotypowych pokolenia F_2 . Gdy w pokoleniu F_2 , po kojarzeniu testowym, otrzymano wyraźnie różniące się liczebnie 4 klasy fenotypowe (przy badaniu 2 cech, z których każda uwarunkowana była 2 alternatywnymi allelami), mamy z pewnością do czynienia z genami, których *locus* znajduje się w tym samym chromosomie. Najbardziej liczebne klasy fenotypowe tego pokolenia stanowią osobniki, u których między badanymi *loci* nie doszło do crossing over w *loci* badanych genów (tzw. formy rodzicielskie, fenotypowo identyczne z rodzicami w zakresie analizowanych cech), zaś znacznie mniej liczebne klasy odpowiadające sobie wielkością stanowią osobniki, u których zaszło crossing over (tzw. rekombinanty). Zjawisko crossing over, mimo że zachodzi zawsze podczas mejozy, nie rozrywa sprzężenia między wszystkimi genami na wszystkich chromosomach. Crossing over dotyczy wszystkich chromosomów podczas mejozy, ale w nich znajdują się tysiące genów, więc oczywistym jest fakt, iż podczas jednej mejozy może dojść średnio do jednej lub dwóch, najwyżej trzech wymian między dwiema chromatydami niesiostrzanymi.

Stosunki liczbowe fenotypów uzyskanych po kojarzeniu testowym, w różnych typach dziedziczenia i różnych układach sprzężenia, przedstawiono w tabeli 5.1.

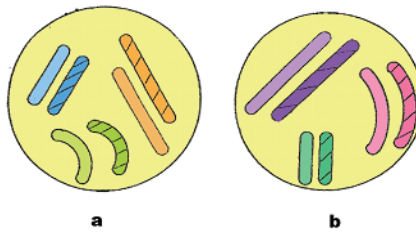
Tabela 5.1
Wyniki kojarzenia testowego dihybrydów w zależności od typu sprzężenia cech

Rodzaj zależności	Kombinacje cech u potomstwa			
	ojcowska	matczyna	rekombinacyjna I	rekombinacyjna II
Cechy niezależne	25	25	25	25
Cechy sprzężone całkowicie	50	50	–	–
Cechy sprzężone względnie	25>50	25>50	0>25	0>25

Jak widać z danych zamieszczonych w tabeli, geny sprzężone (leżące na jednym chromosomie) mogą znaleźć się w dwóch układach: sprzężeniu całkowitym oraz w sprzężeniu względnym. Dla łatwiejszej interpretacji wyników przyjęto oznaczanie wzajemnych układów dwóch par genów terminem *cis* oraz *trans*. Układ *cis* oznacza, iż w genotypie określonego osobnika (homozygotycznego) występują pary genów w następujących konstelacjach, np. AB/AB lub ab/ab, zaś w układzie *trans*: Ab/Ab lub aB/aB. U heterozygot częściowych, np. AB/aB, oznacza to, że geny pochodzące od jednego z rodziców, leżące na jednym z homologów mogą mieć układ *cis*: AB, a pochodzące od drugiego rodzica, leżące na drugim homologu mają układ *trans*: aB.

Zadanie 5.1

Komórka somatyczna zawiera trzy pary chromosomów, mieszczących 5 par genów (A,a; B,b; C,c; D,d; E,e). Para A,a i para E,e leżące w jednym chromosomie są ze sobą sprzężone w układzie *trans*, a pary B,b i C,c leżące w innej parze chromosomów są ze sobą sprzężone w układzie *cis*. Para alleli D,d dziedziczy się niezależnie od wcześniej wymienionych genów. Przedstaw na rysunku 5.1a wzajemny układ omawianych genów.



Rys. 5.1a,b. Schemat dwóch komórek o trzech parach chromosomów

Zadanie 5.2

Sześć par genów w komórce somy tworzy dwie grupy sprzężeń. Pierwsza grupa składa się z trzech par alleli: A,a i B,b pozostających ze sobą w układzie *cis* oraz z pary E,e sprzężonej z wyżej wymienionymi w układzie *trans*. Druga grupa genów sprzężonych, niezależna od poprzedniej, zawiera pary C,c i D,d pozostające ze sobą w układzie *trans*. Ostatnia para genów F,f dziedziczy się niezależnie od wszystkich poprzednio wymienionych. Wzajemny układ genów przedstaw na rysunku 5.1b.

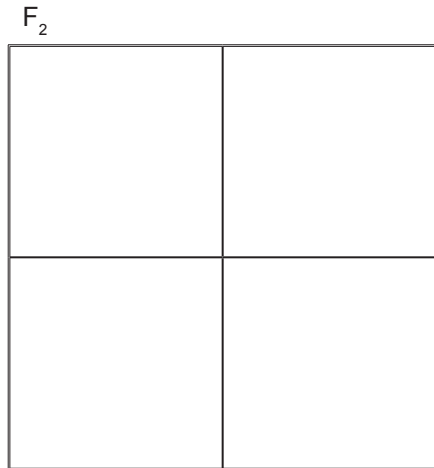
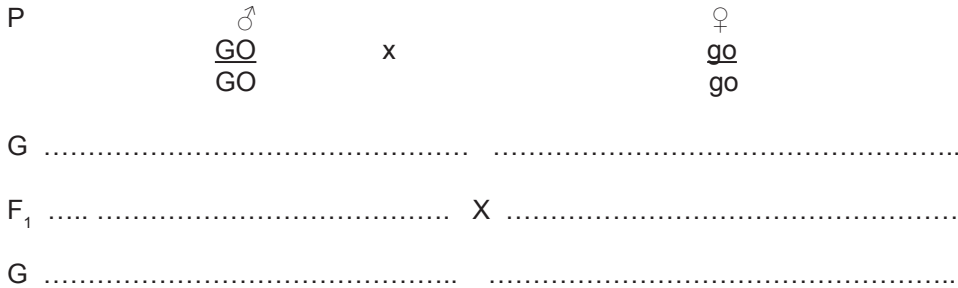
Sprzężenie całkowite genów

Sprzężenie całkowite genów jest terminem umownym, bowiem zawsze istnieje prawdopodobieństwo, iż między genami leżącymi w najbliższej nawet odległości zajdzie crossing over i w pokoleniu F_2 po kojarzeniu testowym pojawiają się rekombinanty. Warunkiem ich prawdopodobnego pojawienia się jest uzyskanie bardzo dużej liczby potomstwa w pokoleniu F_2 .

Przykładem genów (cech) sprzężonych całkowicie są u kur allele grzebienia groszkowego (G) lub pojedynczego (g) oraz leżące bardzo blisko wymienionych genów – allele barwy skorupy jaja: niebieskiej (O) lub białej (o). Wymienione dwie pary alleli leżą tak blisko siebie, że crossing over między nimi nie zachodzi.

Zadanie 5.3

Skojarzono ze sobą koguty homozygotyczne o grzebieniu groszkowym i posiadające w swym genotypie geny niebieskiej skorupy jaja z kurami homozygotycznymi o grzebieniu prostym oraz niosące jaja o białej skorupie. Przedstaw na rysunku 5.2. (poniżej) dziedziczenie do pokolenia F_2 tych dwóch cech sprzężonych całkowicie.



Rys. 5.2. Schemat dziedziczenia dwóch cech sprzężonych całkowicie

Sprzężenie względne genów

Sprzężenie względne genów występuje wtedy, gdy geny tworzące pary alleli mieszczą się w jednym chromosomie, ale leżą w pewnej odległości od siebie. Między *loci* tych genów zachodzi crossing over, co powoduje powstanie nowych kombinacji cech u potomstwa, zwanego rekombinantami. Stosunek liczby osobników zwanych rekombinantami do ogółu

potomstwa uzyskanego z kojarzenia testowego, wyrażony w procentach (centymorganach – cM) jest jednocześnie względną miarą odległości między badanymi genami. 1% crossing over (1% wymian) = 1 centymorgan (1cM); 100 centymorganów = 1 morgan (1M). Całkowita długość genomu haploidalnego człowieka wynosi 3000 cM, a ponieważ DNA ma 3×10^9 pz, przeciętnie 1 cM = 1 milionowi pz.

Zadanie 5.4

Geny upierzenia szurpatego (F) i normalnego (f) u kur leżą na tym samym chromosomie, lecz w pewnej odległości od alleli ubarwienia piór: białego (I) i barwnego (i). Koguty o genotypie Fi/Fi skojarzono z kurami fI/fI. Pokolenie F₁ w całości miało genotyp Fi/fI. Podwójne mieszańce pokolenia F₁ skojarzono testowo z osobnikami fi/fi. Uzyskane z tego kojarzenia testowego liczebności czterech klas fenotypowych potomstwa, na podstawie których można wyliczyć odległości między *loci* genów F,f oraz I,i, przedstawiono poniżej, w tabeli 5.2.

Tabela 5.2

Wyniki kojarzenia testowego kur

Gamety rodzica		Genotyp potomstwa	Fenotyp potomstwa	Liczba potomstwa	Odsetek całego potomstwa %
heterozygoty	homozygoty				
			szurpaty, barwny	68	
			normalny, biały	66	
			normalny, barwny	12	
			szurpaty, biały	14	

6

Sprzężeniowe mapy chromosomowe

Obliczenie odległości między genami – umożliwia opracowanie mapy genowej chromosomu. Mapa chromosomu graficznie przedstawia liniowe ułożenie genów w oszacowanej odległości. Najprostsza mapa genowa chromosomu zawiera lokalizację dwóch sprzężonych *loci*. Klasyczny sposób opracowania mapy chromosomowej polega na kolejnym obliczaniu odsetka crossing over między każdym ze sprzężonych *loci*. Odsetki (procenty crossing over) oblicza się na podstawie kolejnych kojarzeń testowych podwójnych mieszańców F_1 (dihybrydów) w dwóch, z badanych trzech (lub więcej) sprzężonych *loci*. Kojarzenia takie noszą nazwę dwupunktowego testu sprzężenia. Dla ustalenia wzajemnych odległości 3 badanych *loci* niezbędne jest przeprowadzenie 3 testów dwupunktowego sprzężenia.

Przykład 1. Ustalono, że częstość crossing over między *loci* F (szurpatość) lub f (pióra normalne) u kur oraz *loci* I (białość piór) lub i (barwność piór) wynosi 18%. Z kolei, crossing over między *loci* F,f oraz Cr (genem warunkującym czubatość) zachodzi z częstością 30%. Ponadto ustalono częstość crossing over między *loci* genów I,i oraz Cr na 12%. Według powyższych ustaleń – najbardziej prawdopodobny układ genów na jednym chromosomie homologicznym będzie następujący: F-----18%-----I---12%---Cr. Taki układ wynika z obserwacji, iż crossing over zachodzi częściej między *loci* znacznie od siebie oddalonymi.

Zadanie 6.1

Przeprowadzono trzy kolejne kojarzenia testowe. Na ich podstawie stwierdzono, że między *loci* X i V crossing over zachodzi z częstością 17%, między G i V z częstością 23%, a między X i G z częstością 6%. Przedstaw mapę chromosomu.

Zadanie 6.2

U szczurów testowano sprzężenie genów barwy srebrzystej (s) lub niesrebrzystej (S) oraz czekoladowej (b) lub czarnej (B). W pokoleniu F_2 po kojarzeniu testowym otrzymano cztery klasy fenotypowe o następujących liczebnościach:

- | | | |
|------------------------------|-----|-----------|
| • czarne, niesrebrzyste | 195 | osobników |
| • czarne, srebrzyste | 9 | -/- |
| • czekoladowe, niesrebrzyste | 18 | -/- |
| • czekoladowe, srebrzyste | 181 | -/- |

Jaka jest odległość między *loci* B,b oraz *loci* S,s?

W innych testach stwierdzono, że *loci* S wykazuje 43,5% wymian z genem Cu warunkującym kędzierzawość sierści u szczura, a gen Cu wykazywał z kolei 48% crossing over z *loci* B. Narysuj najbardziej prawdopodobną mapę tego chromosomu.

Zadanie 6.3

Loci mieszczące geny D,d oraz M,m są ze sobą sprzężone w układzie cis, a crossing over zachodzi między nimi z częstością 10%. Z kojarzenia testowego uzyskano 600 osobników. Ile będzie wśród nich osobników o poszczególnych genotypach?

Zadanie 6.4

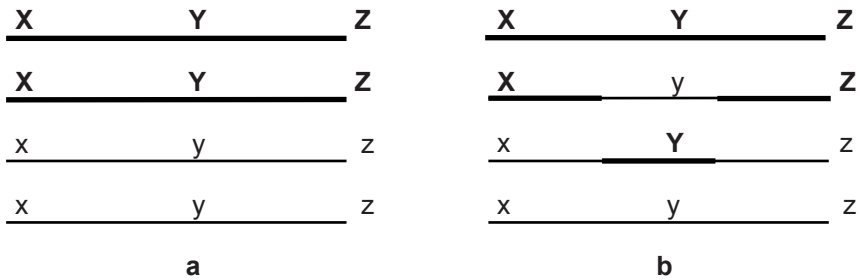
Heterozygotę BbDd skojarzono testowo i uzyskano następujące liczebności potomstwa: 182 BD/bd, 179 bd/bd, 35 Bd/bd, 32 bD/bd. Oblicz odległość między tymi *loci* oraz określ układ sprzężenia u dihybryda.

Zadanie 6.5

W wyniku kojarzenia testowego dihybrydów PpRr uzyskano następujące liczebności osobników czterech klas fenotypowych: 50 o obu cechach dominujących, 48 o obu cechach recesywnych, 380 o pierwszej cesze dominującej i drugiej recesywnej oraz 375 osobników o odwrotnej konfiguracji cech. Jaka jest odległość między testowanymi *loci*? Jaki układ sprzężenia występował u rodziców dihybrydów?

Mapa genetyczna trzech sprzężonych *loci*

Jeśli trzy hipotetyczne geny X, Y i Z są ze sobą sprzężone i znana jest liczba wymian (crossing over) między X i Y oraz Y i Z, to częstość rekombinacji między X i Z powinna stanowić sumę lub różnicę dwóch pozostałych. Jednakże, gdy dwa hipotetyczne geny leżą na tym samym chromosomie w znacznej odległości od siebie, pojawia się możliwość zachodzenia na tym odcinku oprócz pojedynczych wymian także podwójnego crossing over. Podwójne crossing over polega na jednoczesnym zajściu dwóch pojedynczych wymian w odcinku chromosomu zawartym między dwoma sprzężonymi *loci*, który to odcinek może zawierać różną liczbę *loci*. Skutki podwójnego crossing over obrazuje rysunek 6.1.



Rys. 6.1. Schemat tetrady: (a) przed crossing over, (b) po podwójnym crossing over zaistniałym między loci X,x oraz Z,z

Z powyższego rysunku wynika, że jeśli podwójny crossing over zajdzie między loci X i Z, to nastąpi wzajemna wymiana alleli Y i y, których locus znajduje się pośrodku tego fragmentu. Z układu XYZ powstanie układ XyZ. Ekwiwalentnie, wymiana y na Y spowoduje zamianę układu xyz na układ xYz. Gamety powstałe z tak zrekombinowanych chromosomów (tzw. podwójne rekombinanty) różnią się od gamet tzw. rodzicielskich: XYZ i xyz (czyli od gamet, w których nie doszło do crossing over między omawianymi loci) jedynie zmianą układu w locus Y,y. Pojedyncze wymiany dotyczą zaś zmiany układu genów allelicznych w loci położonych skrajnie od Y, tj. X, x oraz Z, z. Jeśli pojedynczy crossing over zajdzie na odcinku X – Y, powstaną w ten sposób kombinacje genów: xYZ oraz Xyz, jeśli z kolei pojedynczy crossing over zajdzie na drugim końcu tego układu, powstaną kombinacje XYz oraz xyZ. Prawdopodobieństwo zajścia pojedynczego crossing over jest większe niż podwójnego c.o., więc gamet po pojedynczym crossing over, powinno być więcej niż po podwójnym. Jednakże najwięcej osobników powstaje z gamet nie zrekombinowanych, tj. z takich, w których w badanych miejscach chromosomów w ogóle nie doszło do crossing over. Prawdopodobieństwo zajścia crossing over w konkretnym miejscu genomu, obejmującym np. 3 blisko położone loci jest bardzo małe, zatem gamet, które pozostały nie zrekombinowane w obserwowanym miejscu genomu, jest zawsze najwięcej. Nie oznacza to, że crossing over w ogóle nie zaszedł, prawdopodobnie doszło do niego w innym miejscu chromosomu. Wszystkich klas fenotypowych należy się spodziewać dopiero w pokoleniu drugim, uzyskanym z kojarzenia testowego trihybrydów z homozygotą potrójnie recesywną. W pokoleniu F_2 po krzyżowaniu testowym największy udział mają zawsze dwie zbliżone liczebnością grupy osobników zwanych rodzicielskimi, tj. fenotypowo podobne do jednego bądź drugiego rodzica, powstałe z gamet nie zrekombinowanych, a w omawianym przykładzie mające układy: XYZ i xyz. Zbliżona liczebność klas rodzicielskich jest efektem losowej segregacji chromosomów podczas mejozy. Ponadto, wśród pokolenia F_2 po kojarzeniu testowym wystąpi jeszcze 6 klas fenotypowych osobników, będących skutkiem rekombinacji, wśród których będą 2 grupy najmniej liczne o zbliżonej wielkości, złożone z osobników powstałych po podwójnym crossing over i 4 liczniejsze grupy osobników, których fenotypy są skutkiem pojedynczych crossing over. Wśród tych czterech grup wystąpią dwie klasy grup o liczebnościach (w przybliżeniu) sobie odpowiadających. Równa liczebność wzajemnie odpowiadających sobie układów ma swoje przyczyny w ekwiwalentnej wymianie genów allelicznych w tych samych loci, zarówno podczas pojedynczych, jak i podwójnych crossing

over, oraz wynika także z równego prawdopodobieństwa powstania gamet z każdym nowo powstałym układem genów. Pewne różnice w liczebności potomstwa jakie obserwuje się wśród grup pokolenia F_2 po kojarzeniu testowym, są skutkiem losowości zapłodnień określonych gamet oraz konsekwencji tego zjawiska (ewentualnego zamierania zarodków).

Procedura zmierzająca do sporządzenia mapy genowej chromosomu z wyznaczeniem właściwej kolejności genów oraz ich wzajemnej odległości zostanie wyjaśniona poniżej.

Przykład 2. Stwierdzono, że gen D wyznaczający podwójny grzebień u kur leży na jednym chromosomie z dominującym genem M, warunkującym wielokrotne ostrogi, stanowiące pożądaną cechę rasową czarnych bojowców malajskich (black sumatra) (tab. 6.1). Koguty tej rasy używane są do walk pokazowych w Azji. Gen M sprzężony jest z genem dominującym P, odpowiedzialnym za powstawanie wielopalczastości lub podwojenia krótkiego palca wewnętrznego (*hallux*). Wielopalczastość jest cechą rasową kur dorking i houdan.

Homozygotyczne kury o grzebieniu podwójnym, bez ostróg oraz jednopalczaste, skrzyżowano z homozygotycznymi kogutami o grzebieniu pojedynczym, wieloma ostrogami i wielopalczaste. Otrzymano pierwsze pokolenie potrójnych mieszańców o jednakowym fenotypie, przejawiającym się ekspresją trzech genów dominujących. Następnie przeprowadzono kojarzenie wsteczne (testowe) z homozygotami potrójnie recesywnymi. W pokoleniu potomnym po kojarzeniu testowym – otrzymano 520 osobników, tworzących 8 klas fenotypowych o różnej liczebności. Ta różna liczebność poszczególnych klas fenotypowych świadczy o tym, iż *loci* badanych genów są sprzężone (leżą w jednym chromosomie). W przeciwnym wypadku, tj. wtedy gdyby geny te leżały na różnych chromosomach (dziedziczyły się niezależnie) zgodnie z danymi zamieszczonymi w tabeli 5.1 (rozdział 5), otrzymano by 8 równo liczebnych klas fenotypowych.

Tabela 6.1

Wyniki kojarzenia testowego kur i kogutów (do przykładu 2)

Fenotyp potomstwa	Liczba osobników	Genotypy
grzebień pojed. wielokr. ostrogi, wielopalcz.	128	MdP/mdp
grzebień podw. wielokr. ostrogi, wielopalcz.	60	MDP/mdp
grzebień podw. wielokr. ostrogi, wielopalcz.	27	MDp/mdp
grzebień pojed. normal. ostrogi, normal. palcz.	61	mdp/mdp
grzebień podw. normal. ostrogi, normal. palcz.	132	mDp/mdp
grzebień pojed. normal. ostrogi, normal. palcz.	24	mdP/mdp
grzebień pojed. wielokr. ostrogi, normal. palcz.	50	Mdp/mdp
grzebień podw. normal. ostrogi, wielopalcz.	48	mDP/mdp
Ogółem	520	

Aby można było wykreślić mapę genową tego chromosomu, należy wykonać następujące czynności:

- 1) ustalić kolejność występowania *loci* badanych genów;
- 2) obliczyć odległości między tymi genami.

W celu ustalenia kolejności występowania genów w chromosomie, trzeba porównać fenotypy osobników będących podwójnymi rekombinantami z osobnikami o fenotypach rodzicielskich. Ponieważ wśród potomstwa F_2 po kojarzeniu testowym najmniej powinno być osobników, których fenotyp jest skutkiem podwójnego crossing over, a najwięcej osobników nie będących rekombinantami, ich porównanie powinno wykazać, iż różnią się one jedną cechą (w tym wypadku liczbą ostróg). Z faktu tego można wysnuć wniosek, iż *locus* genu wyznaczającego liczbę ostróg (M,m) znajduje się między *loci* genów (D,d) oraz (P,p). Zatem kolejność *loci* oraz ułożenie genów w chromosomach rodziców było następujące:

d-----M-----P
d-----M-----P

oraz

D-----m-----p
D-----m-----p

natomiast ułożenie genów u mieszańca F_1 (trójhybryda):

d-----M-----P
D-----m-----p

Aby obliczyć odległość między *loci* (D,d) i (M,m), należy znaleźć wśród osobników pokolenia F_2 klasy fenotypowe pojedynczych rekombinantów (podwójne zostały zidentyfikowane, bowiem są najmniej liczebne; w przykładzie stanowią w sumie 51 osobników). W wyniku pojedynczego crossing over w odcinku (D, d) \leftrightarrow (M,m) – potrójna heterozygota wytworzyła gamety z następującym układem genów: DMP i dmp. W odcinku tym miał również miejsce podwójny crossing over (niezależnie od pojedynczego). Zatem całkowita częstość crossing over na tym odcinku miała wartość następującą:

$$[(60+61+51):520] \times 100\% = 33\%$$

W ten sam sposób oblicza się odległość między *loci* (M,m) i (P,p). Z gamet powstałych po pojedynczym crossing over w tym fragmencie – wykluło się odpowiednio 50 i 48 kurcząt. Do tych liczb należy dodać, analogicznie jak powyżej, 51 osobników po podwójnym crossing over. Zatem odległość między analizowanymi *loci* wynosi:

$$[(50+48+51):520] \times 100\% = 28\%$$

Zatem, całkowita odległość między skrajnymi *loci* zawierającymi geny (D,d) oraz (P,p) stanowi sumę odległości obu obliczonych odcinków, czyli $33\% + 28\% = 61\%$

Chociaż crossing over między odległymi od siebie genami nie może przekraczać 50%, całkowita odległość na mapie może z łatwością być większa. Na przykład crossing over między genami położonymi na przeciwległych końcach drugiego chromosomu u *Drosophila melanogaster*, a warunkującymi plamistość tułowia i gwiazdzistość oczu, wynosi około 50%,

to odległość między nimi na mapie (jak ustalono na podstawie oddzielnych oznaczeń wielu krótkich segmentów tego chromosomu), wynosi ok. 150 jednostek.

Zadanie 6.6

U królików stwierdzono występowanie trzech sprzężonych *loci*. Geny pary C, c determinują tzw. pełną barwę (C) i umaszczenie himalajskie (c), para B, b wyznacza umaszczenie czarne (B) i brązowe (b), zaś para Y, y wpływa na barwę tłuszczu królików: Y – determinuje syntezę tłuszczu białego, a jego recesywny allel (y) wyznacza tłuszcz barwy żółtej.

Poniżej w tabeli 6.2 przedstawiono wyniki kojarzenia testowego trihybrydów z potrójną homozygotą recesywną. Na podstawie danych przedstawionych w tabeli wyznacz kolejność *loci* genów w chromosomach homologicznych trójhybryda, przedstaw graficznie wzajemny układ *loci* oraz oblicz odległość między nimi w % crossing over (centymorganach).

Tabela 6.2

Wyniki kojarzenia testowego królików (do zadania 6.6)

Fenotyp potomstwa	Liczba osobników	Genotyp rodzica trójhybryda
Himalajski, czarny, biały tłuszcz	276	Bc ^h Y/bcy
Himalajski, czarny, żółty tłuszcz	7	Bc ^h y/bcy
Himalajski, brązowy, biały tłuszcz	125	bc ^h Y/bcy
Himalajski, brązowy, żółty tłuszcz	46	Bc ^h y/bcy
Barwny, czarny, biały tłuszcz	55	BCY/bcy
Barwny, czarny, żółty tłuszcz	108	BCy/bcy
Barwny, brązowy, biały tłuszcz	16	bCY/bcy
Barwny, brązowy, żółty tłuszcz	275	bCy/bcy

Zadanie 6.7

W wyniku kojarzenia testowego potrójnej heterozygoty z potrójną homozygotą recesywną otrzymano następujące genotypy potomstwa (podano jedynie gamety trihybryda): xYz - 70, XYZ - 300, xyz - 295, XYz - 11, xyZ - 10, xYZ - 111, Xyz - 118, XyZ - 69. Ustal kolejność ułożenia *loci* genów w chromosomach homologicznych potrójnego mieszańca i oblicz odległość między badanymi *loci*.

7

Aberracje chromosomowe

Mutacje dotyczące bardzo dużych zmian chromosomów, w odniesieniu do prawidłowej ich struktury, liczby oraz pochodzenia rodzicielskiego, określa się aberracjami. Zjawiska takie są bardzo częste. U ludzi występują w 7,5% poczęć, są zazwyczaj silnie letalne i większość zarodków z takimi zmianami jest przez organizm spontanicznie usuwana. W związku z tym, częstość żywego urodzenia płodu obciążonego aberracją wynosi u ludzi tylko 0,6%. Aberracje stanowią przyczynę 60% wczesnych poronień, 5% późnych poronień i 4–5% martwych urodzeń. Zmiany tego rodzaju dotyczą zarówno autosomów, jak i chromosomów płci. Aberracje mogą powstawać w komórkach rozrodczych u któregoś z rodziców lub u bardziej odległego przodka, albo też być efektem mutacji spontanicznej i w tym przypadku tylko część komórek organizmu zawierać będzie kariotypy nieprawidłowe (chimeryzm lub mozaicyzm komórkowy). Definicje poszczególnych typów aberracji oraz ich skutków zawarto w tabeli 7.1. Aberracje chromosomowe dotyczące zarówno struktury, jak i liczby chromosomów występują w 64–90% przypadków ostrych białaczek szpikowych u ludzi i psów.

Dowiedziano, wielokrotnie, niekorzystnego wpływu nosicielstwa nieprawidłowego kariotypu na płodność, rozwój i stan zdrowia zwierząt, dlatego istnieje zasadność kontroli kariotypów w Polsce, głównie w odniesieniu do reproduktorów.

Aberracje liczby chromosomów

Jeśli w komórkach somatycznych organizmu występuje genom pojedynczy lub wielokrotniony, przy założeniu że osobniki normalne są diploidami ($2n$ chromosomów), zjawisko to nazywa się euploidią. Jeżeli zaś liczba chromosomów w komórce jest dokładną wielokrotnością liczby haploidalnej ($1n$) i przekracza diploidalną, zjawisko takie nosi nazwę poliploidii. Gdy liczba chromosomów nie jest dokładną wielokrotnością genomu (n), mówi się o aneuploidii.

Tabela 7.1

Najważniejsze rodzaje aberracji chromosomowych

Rodzaj aberracji		Definicja	Skutki, uwagi
1		2	3
Aberracje liczbowe (tzw. mutacje genomowe)			
Aneuploidalność	nullisomia	zmiany obejmujące poszczególne pary chromosomów (występują głównie jako skutek nierównomiernego rozdziału chromosomów podczas mejozy)	brak którejś pary chromosomów; skutki letalne
	monosomia		brak jednego chromosomu ($2n - 1$ zamiast $2n$; u ssaków na ogół letalne)
	trisomia		jeden chromosom dodatkowy ($2n + 1$ zamiast $2n$; u ssaków ciężkie schorzenia, u człowieka np. zespół Downa)
	tetrasomia		dwa chromosomy dodatkowe ($2n + 2$ zamiast $2n$; u ssaków na ogół bardzo ciężkie schorzenia)
Euploidalność	haploidalność	zmiany obejmujące całe genomy (zwykle skutek braku rozdziału chromosomów w mitozie lub mejozie albo zapłodnienia jaja przez wiele plemników)	pojedynczy garnitur chromosomowy (n zamiast $2n$); u ssaków łżyskowych się nie zdarza
	diploidalność		podwójny garnitur chromosomowy ($2n$) zamiast innego typowego dla danego organizmu (np. n)
	poliploidalność		triploidy ($3n$), tetraploidy ($4n$) itd.; stosunkowo częste u roślin, u zwierząt rzadkie
Fuzja		połączenie dwóch chromosomów w jeden	skutki na ogół letalne, ale niekiedy przejawiają się tylko mniejszą płodnością
Allopoloidalność		połączenie się genomów różnych gatunków	bastardy międzygatunkowe; na ogół bezpłodne, choć niekiedy bardzo żywotne
	allopoliploidalność	już, z równoczesnym powieleniem ilości genomów	zjawisko dość częste u roślin uprawnych (nierzadko odmiany plenniejsze)
Aberracje strukturalne			
Deficjencja		utrata części chromosomu	przeważnie są następstwem pęknięcia nici DNA i złamań chromosomów, wadliwego zajścia procesu crossing over, a także łączenia się w pary chromosomów niehomologicznych; na ogół letalne, wywołują drastyczne zmiany fenotypowe lub znacznie obniżają płodność; u diplotów w stanie heterozygotycznym niekiedy powodują ujawnienie się alleli recesywnych położonych na chromosomie homologicznym (nieuszkodzonym)
Duplikacja		podwojenie jakiegoś odcinka chromosomu	
Inwersja		obrócenie odcinka o 180°	
Translokacja		przyłączenie części jednego chromosomu do drugiego	
Chromosomy pierścieniowe		złączenie się końców chromosomu w pętlę	
Izochromosomy		jedno ramię chromosomu podwojone, drugiego brak	

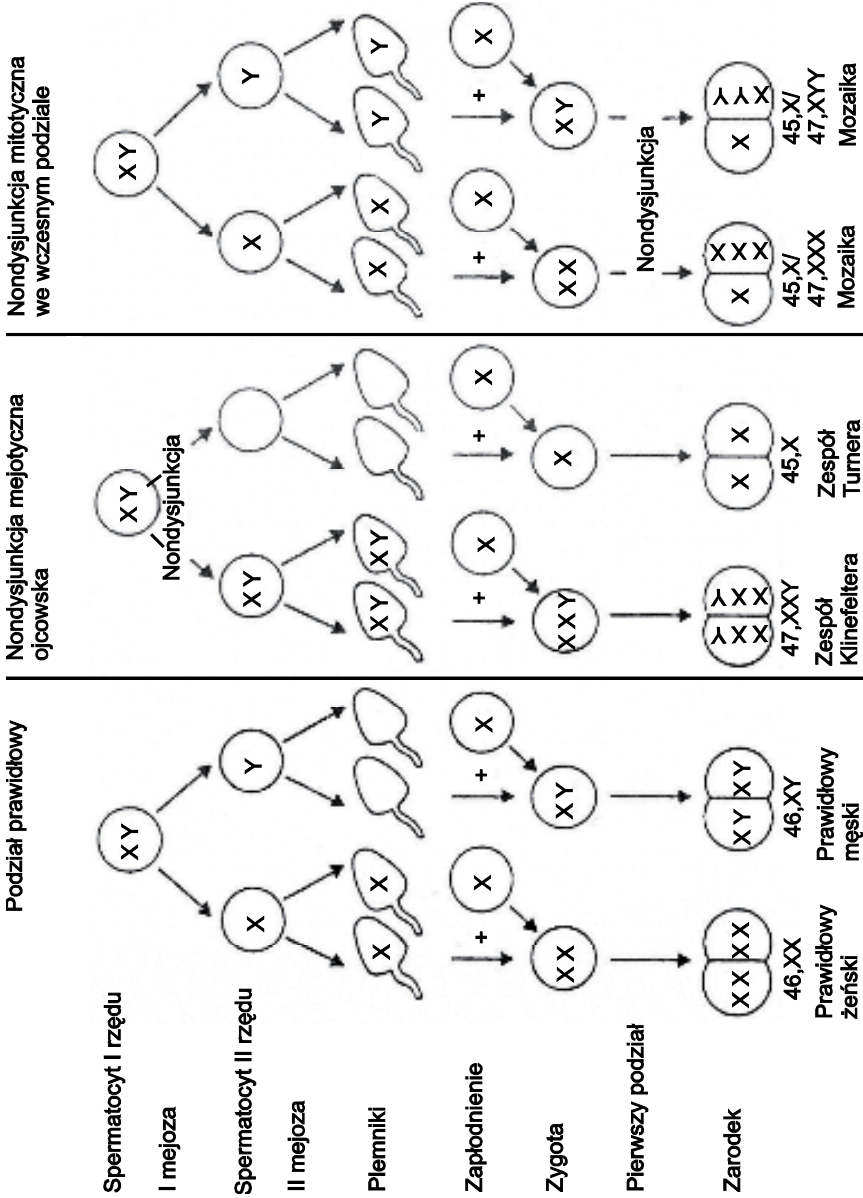
Tabela 7.1. c.d.

1	2	3
Inne aberracje chromosomowe		
Chimeryzm	osobnik zawiera linie komórkowe pochodzące z różnych zygot	nie musi prowadzić do widocznych schorzeń, może być wynikiem np. wymiany komórek bliźniąt w łonie matki lub zlania się dwu zygot
Mozaikowość	osobnik zawiera linie komórkowe wykazujące odmienne aberracje	skutki mogą być poważne, niedostrzegalne albo pośrednie – zależy to od rozmieszczenia obu linii komórkowych w organizmie
Disomia lub izodisomia jedorodzicielska	oba chromosomy danej pary pochodzą od jednego z rodziców (ojca lub matki)	zaburzone jest piętnowanie genomowe, a gdy oba chromosomy są identyczne (izodisomia) – ujawniają się też wszystkie geny recesywne

Euploidia (poliploidia) występuje często w świecie roślin, natomiast w świecie zwierzęcym bardzo rzadko. Monoploidami (haploidami) są np. trutnie u pszczoł, ale jedynie w stadium zarodka. Względnie częsty zestaw $3n$ chromosomów w komórkach ssaków (triploidia) powstaje zazwyczaj z zapłodnienia prawidłowej komórki jajowej przez dwa plemniki (dispermia) lub wynika z innych zaburzeń dojrzałego jaja lub plemnika, w wyniku których powstaje gameta diploidalna. Płód obarczony taką aberracją ulega najczęściej poronieniu. Tetraploidia ($4n$) u ssaków zależy zwykle od zaburzeń pierwszego podziału zygotycznego.

Komórki poliploidalne w dojrzałym organizmie ssaka występują w prawidłowym szpiku niektórych ssaków (tzw. megakariocyty – mają $8n$ – $16n$ chromosomów). Komórki w zestawie $4n$ występują często w procesach regeneracji wątroby, ale także innych tkanek. Tego rodzaju komórki powstają przez tzw. reduplikację endomitotyczną, podczas której chromosomy dzielą się dwukrotnie, a komórki tylko raz. Aneuploidia występuje zwykle z powodu nierozdzielenia (nondysjunkcji) pary chromosomów, czyli chromatyd siostrzanych w anafazie. Mechanizm ten powoduje powstawanie dwóch komórek, z których jedna ma kopię dodatkową chromosomu (trisomia), a w drugiej brakuje drugiego homologicznego chromosomu (monosomia). Przyczyny występowania takich mutacji są różne. Aneuploidia powstaje podczas mejozy lub mitozy i nondysjunkcja mejozytyczna może zachodzić podczas pierwszego lub drugiego podziału mejozytycznego. Różne możliwości powstania aneuploidii przedstawiono na rysunku 7.1.

Jeżeli do nierozdzielności dochodzi podczas pierwszego podziału, gameta z chromosomem dodatkowym zawiera oba jego rodzicielskie homologi. Gdy nierozdzielność ma miejsce w drugim podziale, to zarówno jego kopia normalna, jak i dodatkowa są pochodzenia bądź matczynego, bądź ojcowskiego. Aneuploidia w mitozie prowadzi do powstania mozaikowości, gdyż z pojedynczej zygoty wyrasta osobnik z liniami komórkowymi o dwóch lub więcej różnych składach chromosomów.



Rys. 7.1. Różne możliwości powstania zmian typu aneuploidii (wg Connora i Ferguson-Smitha, 1998)

Aberracje strukturalne

Wszystkie aberracje strukturalne powstają wskutek pęknięć chromosomów. Gdy chromosom pęka, powstają dwa niestale, tzw. lepkie końce, a mechanizmy naprawcze komórki niezwłocznie je łączą. Jeśli dochodzi do więcej niż jednego pęknięcia, systemy reperacyjne nie mogą odróżnić jednego lepkiego końca od drugiego i mogą je połączyć błędnie. Częstość pęknięć chromosomowych szacuje się na 1:1000 gamet. Tego rodzaju znaczne zmiany struktury chromosomów pojawiają się najczęściej wskutek działania silnych mutagenów chemicznych i fizycznych (radiacja) oraz pewnych zaburzeń wrodzonych. Niektóre z aberracji strukturalnych są tak duże, że są widoczne nawet w mikroskopie świetlnym, czyli obejmują obszar minimum 4 milionów pz delekcji lub insercji.

Aberracje chromosomowe w komórkach nowotworowych

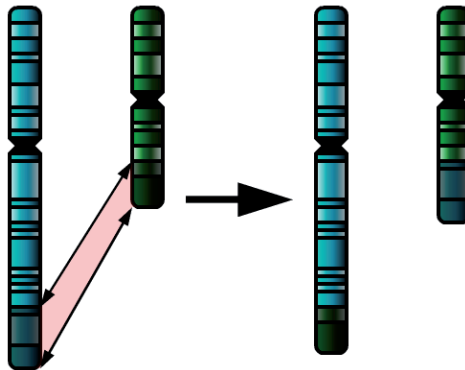
Wiele nowotworów powstaje z przyczyn translokacji oraz utraty niektórych genów lub całych chromosomów. Silne mutageny prowadzą do powstawania dużych zmian strukturalnych w obrębie chromosomów. Zmiany takie wykazano, analizując cytogenetycznie guzy nowotworowe u ludzi, psów i kotów. We wszystkich przypadkach guzów (naczyniak złożony z perycytów, naczyniak krwionośny z komórek śródbłónka, mięsak wrzecionowato-komórkowy i mięsak sutka) stwierdzono liczne i bardzo znaczne zmiany w strukturze chromosomów: fuzje centryczne oraz translokacje. Ponadto u kotek z nowotworem sutka stwierdzono aberracje chromosomowe polegające na delekcji ramienia q chromosomu B2 i E3, utracie liczby chromosomów w komórkach guza (monosomie), redukujące liczbę chromosomów w komórkach do $2n=30$, $2n=37$, podczas gdy prawidłowy kariotyp kota to $2n=38$. Aberracjom strukturalnym (translokacjom, delekcjom i inwersjom) towarzyszą dodatkowo rearanżacje genów. Obecność i liczba aberracji mają wpływ i pozwalają prognozować skalę przebiegu choroby, okresy remisji i czas przeżycia chorych.

Rodzaje strukturalnych aberracji chromosomowych

Translokacja (z łac. *translocatio* = przemieszczenie), aberracja polegająca na przemieszczeniu fragmentu chromosomu w inne miejsce tego samego lub innego chromosomu. Często jest przyczyną m.in. białaczki szpikowej. Dochodzi do niej w wyniku pęknięcia dwóch niehomologicznych chromosomów bądź przypadkowej rekombinacji niehomologicznej w mejozie. Taka wymiana nie powoduje zazwyczaj utraty DNA, więc osobnik – nosiciel translokacji, zwanej zrównoważoną, jest prawidłowy. Jednakże ten rodzaj aberracji ma zasadnicze znaczenie dla przyszłych pokoleń, bowiem nosiciel translokacji zrównoważonej może mieć potomstwo niezrównoważone. Oznacza to, że potomstwo może mieć ubytek DNA i jeśli urodzi się żywe, wykaże liczne wrodzone wady rozwojowe. W praktyce często translokacja niezrównoważona prowadzi do poronienia.

Praktyczne znaczenie mają dwa rodzaje translokacji – wzajemna i robertsonowska (zwana także fuzją centryczną), obserwowane w patologii człowieka i zwierząt:

- **Translokacja wzajemna:** dwa chromosomy wymieniają między sobą odcinki. Całkowita liczba chromosomów pozostaje niezmienną, a dwa spośród nich mają nieprawidłowe kształty (rys. 7.2).



Rys. 7.2. Translokacja wzajemna (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

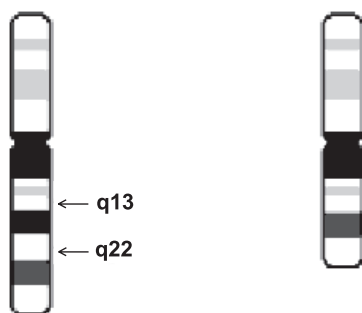
- **Translokacja robertsonowska (fuzja centryczna):** łączą się całe lub prawie całe ramiona długie chromosomów. Miejszem połączenia jest rejon centromeru. Dochodzi do utraty ramion krótkich obu chromosomów i w konsekwencji stwierdza się brak chromosomu.

Translokacje: zrównoważone i niezrównoważone

W **translokacji zrównoważonej** zasadniczo nie zmienia się ilość materiału genetycznego, ale następuje zmiana jego rozmieszczenia w genomie. Liczba chromosomów może być prawidłowa lub zmieniona. Aberracja ta może nie przejawiać się fenotypowo. Często problem pojawia się dopiero, gdy nosiciel translokacji zrównoważonej spłodzi potomstwo, u którego stwierdza się translokację niezrównoważoną.

W **translokacji niezrównoważonej** zmianie ulega ogólny skład genowy. Ilość materiału jest większa, a liczba chromosomów może być prawidłowa lub zmieniona. Aberracja ta może nie przejawiać się fenotypowo. Często problem pojawia się dopiero, gdy nosiciel translokacji zrównoważonej spłodzi potomstwo, u którego stwierdza się translokację niezrównoważoną.

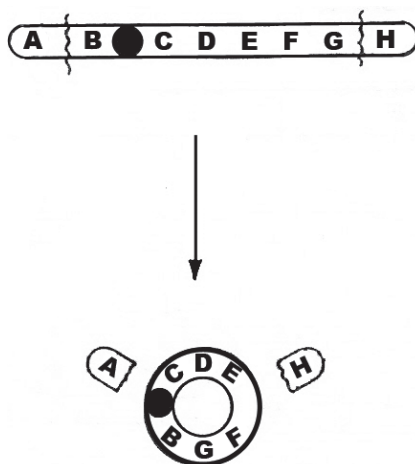
Delecje i powstawanie chromosomu kolistego. Oba te uszkodzenia struktury chromosomu często sobie towarzyszą. Delecja to utrata części chromosomu wskutek jego pęknięcia w dwóch punktach i wypadnięcia odcinka ograniczonego pęknięciami (rys. 7.3). Delecja może także wiązać się z utratą fragmentu chromosomu wskutek powstania translokacji niezrównoważonej.



Chromosom prawidłowy Chromosom z delecją

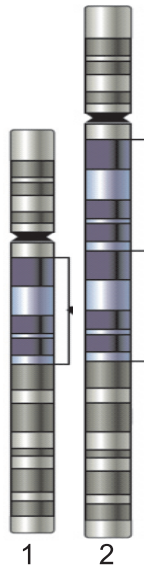
Rys. 7.3. Delecja fragmentu długiego ramienia (q) chromosomu

Chromosom kolisty powstaje, gdy pękają oba jego ramiona. Końce oderwane ulegają utracie (z uwagi na brak centromeru), a powstałe dwa lepkie końce łączą się ze sobą, tworząc koło (7.4).



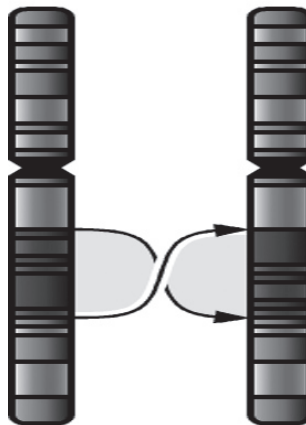
Rys. 7.4. Powstawanie chromosomu kolistego (wg Boczkowskiego, 1990)

Duplikacja charakteryzuje się obecnością dwóch kopii tego samego odcinka w obszarze jednego chromosomu (rys. 7.5). Aberracja ta może pochodzić z nierównego crossing over podczas mejozy, a zjawiskiem jej towarzyszącym jest wówczas delecja. Duplikacja może być także efektem translokacji, inwersji oraz wytworzenia izochromosomu. Duplikacje są częstsze niż delecje i na ogół powodują mniejsze nieprawidłowości. Bardzo nieznaczne duplikacje zachodzące w DNA na poziomie submolekularnym, tworzące różne sekwencje powtarzalne, odgrywają istotną rolę w ewolucji poprzez tworzenie nowych genów, a zatem i nowych cech.



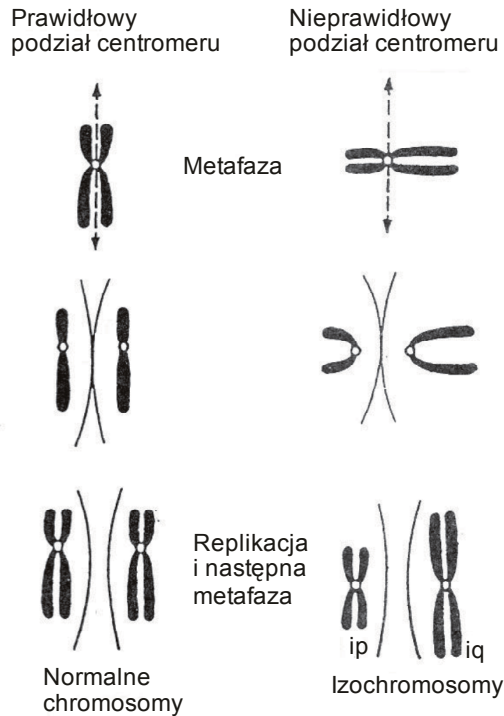
Rys. 7.5. Schemat duplikacji w obszarze jednego chromosomu: 1 – chromosom prawidłowy, 2 – chromosom z duplikacją (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

Inwersja. Zjawisko to ma miejsce, gdy nastąpi odwrócenie jakiegoś odcinka chromosomu w ten sposób, że geny leżą na nim w porządku odwrotnym, niż to było pierwotnie (rys. 7.6). Choć nie nastąpiła utrata DNA, działanie genów może być inne wskutek zmiany ich pozycji w stosunku do innych genów (tzw. efekt pozycji).



Rys. 7.6. Przykład inwersji w długim ramieniu chromosomu (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

Izochromosom jest to chromosom nieprawidłowy, wykazujący utratę jednego ramienia, a duplikację drugiego (rys. 7.7).



Rys. 7.7. Powstawanie izochromosomu (wg Boczkowskiego, 1990)

Najczęściej występującym przykładem tej aberracji są osobniki z izochromosomem długich ramion allosomu X. Chromosom ten ma jedno krótkie ramię i aż trzy długie ramiona. Prowadzi to do występowania częściowego zespołu Turnera (w związku z monosomią krótkiego ramienia). Spotyka się także przypadki izochromosomu Y. Powstanie izochromosomów autosomów prowadzi z reguły do poronień samoistnych.

Chimeryzm

Chimerą jest organizm, którego część komórek pochodzi z jednego organizmu, a część z drugiego. Na przykład mysz, której w czasie rozwoju embrionalnego na etapie blastocysty do wewnętrznej jamy blastocysty wprowadzono komórki macierzyste od innej myszy, posiada w dorosłym organizmie linie komórkowe pochodzące z obu wyjściowych komórek reprezentujących dwie różne myszy.

Mozaicyzm

Mozaika to organizm, którego komórki różnią się między sobą liczbą chromosomów, ale pochodzą od tego samego organizmu. Mozaicyzm także prowadzi do różnych patologii zwierząt. Wykazano to przy okazji badań kariotypu koni. U kilku klaczy stwierdzono kariotyp w formie mozaiki **64,XX/63,X**. Klacze te rodziły martwe źrebięta oraz jałowily lub w kolejnych ciążach dochodziło u nich do resorpcji płodów.

Disomia jednorodzielska. Imprinting genomowy

Termin disomia jednorodzielska (uniparentalna disomia – UPD) – oznacza taki układ chromosomów autosomalnych w komórkach organizmu, w którym oba autosomy jednej lub większej liczby par pochodzą od tego samego rodzica (oba od ojca lub oba od matki). Prawidłowa para chromosomów powinna zawierać jeden chromosom od matki, zaś drugi od ojca. Częstość występowania zygot z UPD u ludzi szacuje się na 3:10000.

Istnieją dwie formy UPD:

- **uniparentalna heterodisomia** (UPHD), gdy dwa różne homologi pochodzą od jednego rodzica;
 - **uniparentalna izodisomia** (UPID), gdy ten sam homolog występuje dwukrotnie.
- Obie te aberracje chromosomowe są konsekwencją zaburzeń mejozy. Jeżeli nondysjunkcja miała miejsce w I podziale mejotycznym, to występuje UPHD, jeżeli zaś w drugim – to UPID. Różne możliwości powstawania uniparentalnej disomii przedstawiono na rysunku 7.8.

Zjawisko rodzicielskiego piętnowania genomu (**imprinting genomowy**), polega na metylacji pewnych regionów chromosomów w czasie gametogenezy, w celu zróżnicowania ekspresji alleli ojcowskich i matczyńskich ważnych podczas rozwoju zarodkowego ich potomka. Metylacja cytozynowych fragmentów DNA inaktywuje pewne regiony genów (napiętnowuje je). Ten wzór metylacji jest utrzymany podczas replikacji DNA. Napiętnowanie obecne w zapłodnionym jajku zostanie przekazane do wszystkich komórek organizmu, w których utrzymuje się w komórkach somatycznych przez cały okres rozwoju zarodkowego. W komórkach linii płciowej „imprint” odziedziczony po rodzicach zostaje wymazany, a w jego miejsce wprowadzany jest nowy, którego specyfika zależy od płci. Nadawanie piętna genomowego pozostaje pod kontrolą obszaru zwanego centrum piętnowania (ang. imprinting centre), wyciszającego ekspresję genów wzdłuż regionów chromosomu, które mają ulec inaktywacji.

	Przebieg prawidłowy	Komplementacja gamet	Od monosomii do pseudodisomii	Od trisomii do pseudodisomii	Błędy powstające po zapłodnieniu	
Gamety						
Zygota	 Disomia	 Uniparentalna disomia	 Monosomia	 Trisomia	 Disomia	 Disomia
Komórka somatyczna	Mitoza ↓ 	Mitoza ↓ Uniparentalna heterodisomia lub izodisomia	Duplikacja ↓ Izodisomia	Nondysjunkcja ↓ Możliwości ↓ Uniparentalna heterodisomia lub izodisomia Biparentalna pseudodisomia	Nondysjunkcja i duplikacja ↓ Izodisomia	Mitotyczny crossing-over Częściowa izodisomia

Rys. 7.8. Możliwości powstawania uniparentalnej disomii (wg Bartscha, 1992)

Eksperymenty przeprowadzone na myszach wykazały, że bez aktywności genów pochodzących od matki nie rozwija się zarodek, zaś bez chromosomów ojcowskich nie rozwija się łożysko. U zarodków tworzyło się hipertroficzne łożysko z cystami, zwane zaśniadem groniastym. Na tej podstawie sądzi się, że u ssaków geny matki odpowiadają za wzrost embrionu, natomiast geny ojca odpowiadają za struktury zewnątrzembrionalne, a więc za łożysko i błony płodowe.

Zadanie 7.1

W anafazie mitozy nie nastąpiła dysjunkcja (rozdział) chromatyd jednego chromosomu i przeszły one razem do jednego z biegunów nowej komórki. Jaki rodzaj aberracji wystąpi w komórkach potomnych? Czy będzie to miało znaczenie dla potomstwa tego osobnika?

Zadanie 7.2

Narysuj schemat translokacji zwanej fuzją centryczną albo translokacją Robertsona.

Zadanie 7.3

W anafazie mejozy wystąpiła nondysjunkcja dwóch chromatyd i przeszły one razem do komórki potomnej. Jaki rodzaj aberracji wystąpi w komórkach potomnych? Jakie to będzie miało znaczenie dla potomstwa tego osobnika?

Zadanie 7.4

Narysuj schemat delecji połączonej z powstaniem chromosomu kolistego. Czy chromosom kolisty zostanie przekazany do komórki potomnej?

Zadanie 7.5

Prawidłowo ukształtowana gameta została zapłodniona przez dwa plemniki. Jaki układ chromosomów wystąpi w zygocie? Jaki to rodzaj aberracji?

Zadanie 7.6

Podczas drugiego podziału mejotycznego doszło do nondysjunkcji chromosomów płci. W efekcie do jednej z gamet przeszły 2 chromosomy płci, a do innej nie przeszedł żaden chromosom płci. Jaki będzie skład i los zygoty, jeśli dojdzie do zapłodnienia?

Zadanie 7.7

Chromosom pękł i oderwał się od niego krótki, terminalny fragment centromeru. Określić, do jakich zniekształceń chromosomu może dojść i jaki będzie los oderwanego fragmentu?

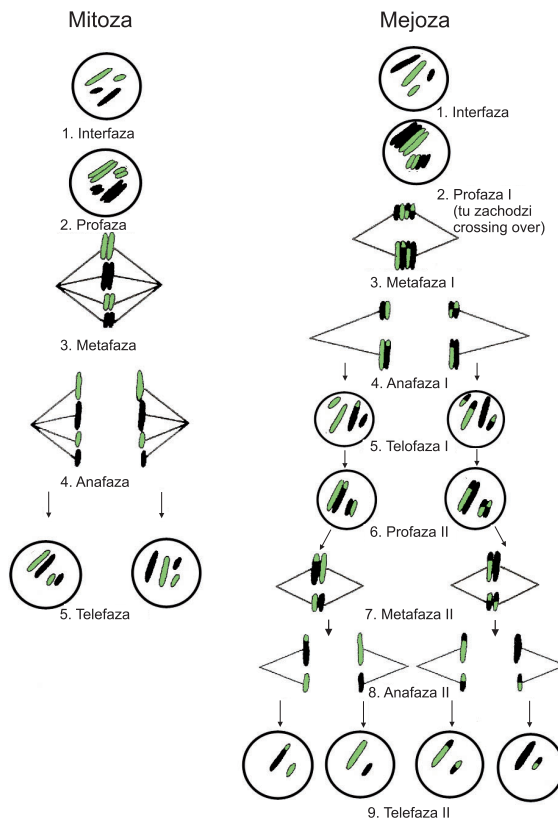
Zadanie 7.8

U osobników różnych gatunków zwierząt zdiagnozowano następujące linie komórkowe: 60,XX/60,XY; 38,XX/39,XY; 38,XY/39,XXY/40,XXYY; 53,X0/55,XXX, 37,X0/39,XXY, 77,X0/79XXY. Z jakiego typu aberracjami chromosomowymi mamy do czynienia w tym zadaniu?

8

Mitoza i mejoza. Gametogeneza

Jednym z przejawów życia komórki są jej podziały. Znane są dwa rodzaje podziałów komórkowych: mitotyczny i mejotyczny. Podział mitotyczny obejmuje podział jądra komórkowego (kariokinezę) i podział cytoplazmy (cytokinezę). W obu typach podziałów komórkowych występują te same stadia zwane **profazą**, **metafazą**, **anafazą** i **telofazą**. Okres pomiędzy podziałami komórki nazywany jest **interfazą** (rys. 8.1).



Rys. 8.1. Schemat porównawczy mitozy i mejozy w komórce o czterech chromosomach

W wyniku mitozy powstają dwie komórki potomne zawierające identyczną, diploidną liczbę chromosomów, charakterystyczną dla danego gatunku (tab. 8.1).

Tabela 8.1

Diploidalna liczba chromosomów niektórych gatunków zwierząt

Nazwa zwyczajowa	Nazwa gatunkowa	2n
1	2	3
Człowiek	<i>Homo sapiens</i>	46
Szympan	<i>Pan troglodytes</i>	48
Goryl	<i>Gorilla gorilla</i>	48
Rezus	<i>Macaca mullata</i>	42
Bydło domowe	<i>Bos taurus</i>	60
Bydło zebu	<i>Bos indicus</i>	60
Bawół azjatycki	<i>Bubalus bubalis</i>	48
Koza	<i>Capra hircus</i>	60
Owca	<i>Ovis aries</i>	54
Świnia domowa	<i>Sus scrofa f.domestica</i>	38
Dzik	<i>Sus scrofa</i>	36
Koń domowy	<i>Equus caballus</i>	64
Koń Przewalskiego	<i>Equus przewalski</i>	66
Osiół	<i>Equus asinus</i>	62
Onager (pólosiół)	<i>Equus hemionus onager</i>	56
Wielbłąd jednogarbny	<i>Camelus dromedarius</i>	70
Pies	<i>Canis lupus familiaris</i>	78
Szakal	<i>Canis aureus</i>	78
Lis pospolity	<i>Vulpes vulpes</i>	34+B
Lis polarny	<i>Alopex lagopus</i>	48, 49, 50
Jenot (Japonia)	<i>Nyctereutes procyonoides</i>	38+B
Jenot (Finlandia)	<i>Nyctereutes procyonoides</i>	56
Kot domowy	<i>Felis catus</i>	38
Norka	<i>Mustella vison</i>	30
Królik	<i>Oryctoagus cuniculus</i>	44
Nutria	<i>Myocastor coypus</i>	42
Świnka morska	<i>Cavia cobaya</i>	64
Jeż	<i>Erinaceus europeus</i>	48
Mysz domowa	<i>Mus musculus</i>	40
Szczur norweski	<i>Rattus norvegicus</i>	42
Szczur śniady	<i>Rattus rattus</i>	42
Szczupak	<i>Esox lucius</i>	18
Okoń	<i>Perca fluviatilis</i>	28
Żaba zielona	<i>Rana pipens</i>	26
Rak pustelnik	<i>Eupagurus ochotensis</i>	254
Rak rzeczny	<i>Potamobius astacus</i>	200
Jedwabnik morwowy	<i>Bombyx mori</i>	56
Pszczola miodna	<i>Apis malifera</i>	32
Mucha domowa	<i>Musca domestica</i>	12
Mucha owocowa	<i>Drosophila melanogaster</i>	8
Glista końska	<i>Parascaris equorum</i>	2

Tabela 8.1 c.d.

1	2	3
Moskit	<i>Culens pipiens</i>	26
Kura	<i>Gallus gallus</i>	78
Indyk	<i>Meleagris gallopavo</i>	80
Perliczka	<i>Numida meleagris</i>	78
Kaczka domowa	<i>Anas platyrhynchos</i>	80
Kaczka piżmowa	<i>Cairina moschata</i>	80
Gęś domowa	<i>Anser domesticus</i>	80
Gołąb	<i>Columbia livia</i>	80

Gdy komórka osiągnie określone rozmiary, musi albo przestać rosnąć, albo zacząć się dzielić. Niektóre komórki somatyczne, np. nerwowe, mięśni szkieletowych i erytrocyty, po osiągnięciu stanu dojrzałości nie ulegają już podziałom. Podziały mitotyczne mają miejsce w komórkach somatycznych, które zachowały zdolność do podziałów, a także w prakomórkach rozrodczych (spermatogoniach i oogoniach), zlokalizowanych w gonadach. Dla ułatwienia opisu mitozy podzielono go na cztery fazy oraz okres między podziałami zwany **interfazą**. Podczas interfazy zachodzi replikacja DNA. Podczas replikacji każdy chromosom ma swój własny wzorec syntezy DNA i niektóre odcinki replikują się wcześniej od innych.

W stadium **profazy** następuje rozpuszczenie błony jądrowej i rozpad jąderek, a jego cząsteczki składowe są rozpraszane. Dwie nitki podwojonego w interfazie chromosomu zwane chromatydami siostrzanymi połączone są w rejonie centromeru; układają się równolegle i ulegają silnej kondensacji przez intensywną spiralizację, dzięki czemu w tej fazie stają się dobrze widoczne. Centrosom dzieli się i dwa produkty tego podziału wędrują do położonych naprzeciw siebie biegunów komórki.

Metafaza zaczyna się wtedy, gdy chromosomy (złożone z dwóch chromatyd połączonych jednym centromerem) są najbardziej skondensowane, a przez to najlepiej widoczne. Pomiędzy centromerami poszczególnych podwojonych chromosomów a biegunami wrzeciona podziałowego wytwarzają się włóknienka zbudowane z mikrotubul białkowych. Włókna te łączą centrosomy z centromerem każdego zdwojonego chromosomu.

Początek **anafazy** stanowi podział centromerów. Mogą się wtedy oddalić od siebie chromatydy siostrzane, z których każda posiada swój centromer i staje się w ten sposób samodzielnym chromosomem. Włókna wrzeciona przyczepione do centromerów kurczą się, pociągając za sobą chromosomy (siostrzane) do przeciwległych biegunów komórki.

W **telofazie** chromosomy siostrzane docierają do biegunów komórki. Wówczas dzieli się cytoplazma, a chromosomy zaczynają się despiralizować (rozkręcać). Tworzy się błona jądrowa. W wyniku mitozy powstają dwie komórki potomne o analogicznej do komórki wyjściowej liczbie chromosomów oraz par chromosomów homologicznych. Czasem podczas mitozy (w profazie) może dojść do wymiany odcinków chromatyd siostrzanych chromosomów homologicznych, zwanej rekombinacją somatyczną. Skutki takiej wymiany w komórce somy są niekorzystne i mogą prowadzić do nowotworzenia.

Podział mejotyczny

W wyniku mejozy, która dotyczy komórek linii płciowej, z komórek diploidalnych powstają komórki haploidalne. Podziały mejotyczne zachodzą w procesie powstawania gamet (gametogenezie). Mejoza składa się z dwóch kolejnych podziałów komórki, w których replikacja DNA (duplikacja chromosomów) odbywa się tylko raz, przed podziałem pierwszym.

Pierwszy podział mejotyczny

Podział pierwszy, zwany **redukcyjnym**, rozpoczyna się **profazą**, która jest bardzo złożona. Składa się na nią pięć okresów:

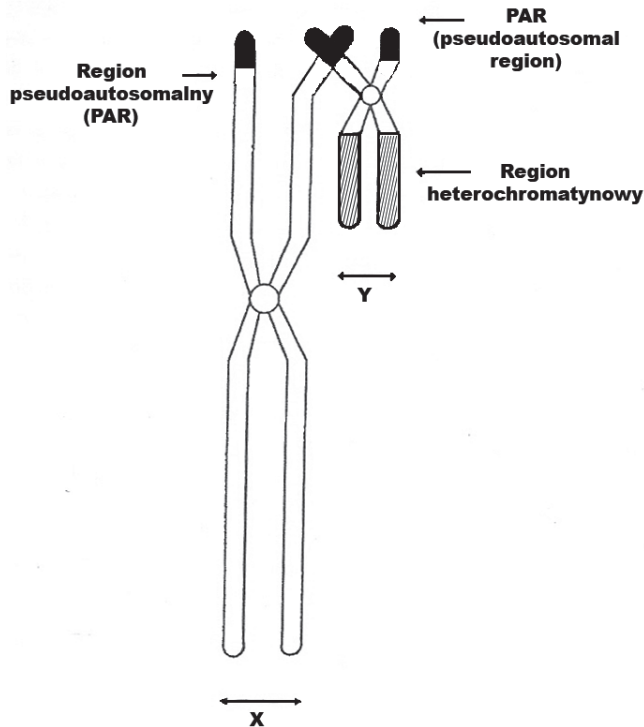
1. **Leptoten** (gdy chromosomy są nitkopodobne);
2. **Zygoten** (podczas którego dochodzi do koniugacji chromosomów);
3. **Pachyten**, kiedy chromosomy są najgrubsze, tworzą się biwalenty i zachodzi crossing over;
4. **Diploten**, w czasie którego powstają zrekombinowane chromatydy niesiostrzane;
5. **Diakineza**, podczas której następuje przygotowanie do rozdziału chromosomów przeznaczonych do komórek potomnych.

W leptotenie chromosomy uwidaczniają się w postaci cienkich nitek. W tym stadium każdy chromosom składa się z pary chromatyd siostrzanych. Każda chromatyda zbudowana jest z jednoniciowego DNA oraz tzw. składnika bocznego umieszczonego między chromatydami. Replikacja chromosomów nastąpiła już wcześniej, podczas fazy S interfazy przedmejozy. W czasie zygotenu chromosomy homologiczne układają się w pary i tworzą biwalenty, ściśle powiązane kompleksem synaptomenalnym. W tym czasie chromosomy X i Y tworzą niewielki obszar styczny, w miejscu gdzie dojdzie do crossing over w regionie pseudoautosomalnym – PAR). Tworzony w ten sposób biwalent płciowy nie znajduje się w tej samej fazie co inne chromosomy i podlega następnie szybkiej kondensacji już we wczesnym pachytenie jako pęcherzyk płciowy. To zagęszczenie ma zasadnicze znaczenie w zapobieganiu crossing over między sekwencjami niehomologicznymi w obrębie chromosomów płci X i Y.

Pachyten jest okresem największego grubienia chromosomów. Każdy chromosom składa się teraz z dwóch chromatyd, więc biwalent jest tetradą złożoną z 4 chromatyd zbudowanych z pojedynczych nici DNA. Na tym etapie zachodzi między chromatydami niesiostrzanymi crossing over.

Po pachytenie następuje diploten – stadium bardzo krótkie i trudne do badania u ssaków. Podczas diplotenu biwalenty zaczynają się rozdzielać. Mimo iż dwa chromosomy jednego biwalentu (każdy chromosom złożony jest nadal z dwóch chromatyd) zaczynają się rozdzielać, centromer pozostaje nietknięty i dwie chromatydy pozostają razem. Rozdział dwóch członów biwalentu odbywa się podłużnie i zachowują one łączność w kilku miejscach zwanych chiazmami. W miejscach tych, w biwalencie doszło do zjawiska crossing over. Zjawisko to (rekombinacja homologiczna) istotnie zwiększa zmienność genetyczną między gametami, a w konsekwencji między poszczególnymi osobnikami w populacji. Na jedną komórkę męską (w przypadku mejozy u *Homo sapiens*) przypada średnio około 52 chiazm, co oznacza wytworzenie przynajmniej jednej chiazmy na biwalent i 0–2 chiazm na jedno ramię chromosomu. W diplotenie u samców ssaków biwalent płciowy odsłania się i wyraźnie są

widoczne chromosomy X i Y, przyciepione do siebie homologicznymi odcinkami PAR na końcach ich krótkich ramion. W regionie tym dochodzi do crossing over (rys. 8.2). U samic w diplotenie dwa chromosomy płciowe X, podzielone na chromatydy i tworzące bivalent płciowy, wymieniają ze sobą fragmenty chromatyd niesiostrzanych (crossig over) w analogiczny sposób, jak dzieje się to we wszystkich pozostałych chromosomach (autosomach).



Rys. 8.2. Bivalent płciowy z zaznaczonym regionem rekombinacji homologicznej (PAR)

Diakineza jest okresem końcowym profazy, podczas którego chromosomy skręcają się coraz ciaśniej. Metafaza rozpoczyna się z chwilą zanikania błony jądrowej i przesunięcia chromosomów do płytki równikowej. Następuje anafaza I, podczas której dwa człony każdego bivalentu wędrują losowo do biegunów komórki. Cytoplazma rozdziela się i każda komórka potomna ma teraz n chromosomów (liczbę haploidalną). Każdy chromosom składa się nadal z dwóch chromatyd, różniących się od siebie tylko zmianą wynikającą z zakończonego crossing over.

Drugi podział mejotyczny

Zachodzi on bezpośrednio po pierwszym bez interfazy, zatem bez replikacji DNA. Podział ten przypomina mitozę przez to, iż teraz dzielą się centromery utrzymujące dwie chromatydy siostrzane, losowo przechodząc do przeciwległych biegunów komórki.

Ponieważ chromosomy przechodzą podczas II podziału mejotycznego do tworzonych gamet losowo, daje to $2n$ różnych możliwych kombinacji połączeń chromosomów w gametach każdego rodzica. Zjawisko to nosi nazwę losowej segregacji chromosomów podczas tworzenia gamet. Stąd np. u gatunku *Bos taurus* (bydło europejskie) liczba możliwych kombinacji chromosomów w gametach wynosi 2^{30} , u *Sus scrofa* (świnia domowa) 2^{19} , u *Canis familiaris* (pies) 2^{39} , zaś u *Homo sapiens* 2^{23} . Daje to np. u człowieka 83.888.608 różnych możliwych kombinacji chromosomów w gametach każdego z rodziców. W zygocie możliwość kombinacji wzrasta u człowieka do 2^{46} . Za wzrost zmienności genetycznej w gametach odpowiada najpierw zachodzący w I podziale mejotycznym crossing over, który wyprzedza późniejszą losową segregację chromosomów, zachodzącą w drugim podziale mejotycznym.

Trzy ważne następstwa mejozy

1. Gamety zawierają tylko po jednym (losowo wysegregowanym) chromosomie z każdej pary.
2. Łączenie gamet w zygotę jest procesem losowym. Oznacza to, że dobór w parę homologu matczynego i ojcowskiego podczas powstawania zygoty jest panmiktyczny (losowy, przypadkowy).
3. Crossing over poprzez wymianę fragmentów chromatyd niesiostrzanych w obrębie homologów – zwiększa zmienność i niepowtarzalność gamet, a w konsekwencji zygot.

Spermatogeneza

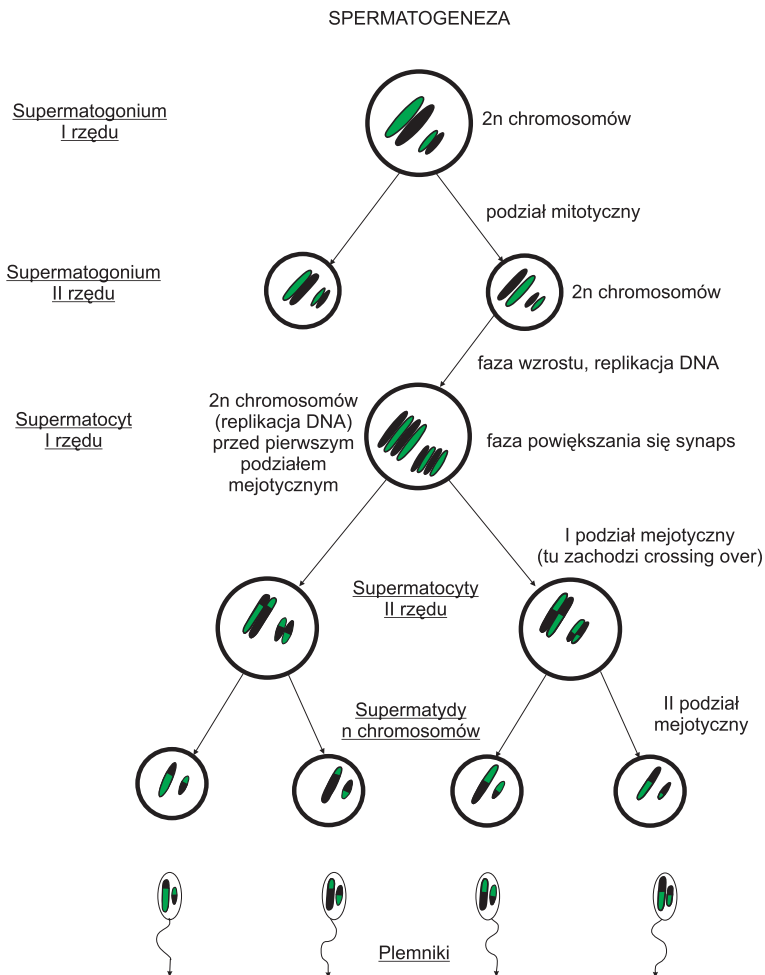
Zjawisko to zachodzi w kanalikach nasiennych samca po osiągnięciu dojrzałości płciowej. Na obwodzie kanalików znajdują się komórki zwane spermatogoniami, z których część stanowią komórki samoodnawiające, a pozostałą część – komórki zaangażowane w tworzenie plemników. Spermatocyt I rzędu powstaje ze spermatogonium i przechodzi pierwszy podział mejotyczny, wskutek którego powstają spermatocyty II rzędu zawierające n chromosomów (liczbę haploidalną). Szybko następuje drugi podział mejotyczny, a w jego efekcie wytwarzają się spermatozoidy, przekształcające się bez dalszego podziału w plemniki uwalniane do światła kanalików nasiennych (rys. 8.3).

Wytworzenie dojrzałego plemnika ze spermatogonium u mężczyzny zajmuje 75 dni. Duża liczba podziałów komórkowych, a zatem i replikacji zwiększa ryzyko mutacji, co w starszym wieku, wskutek osłabienia własnych mechanizmów naprawczych zwiększa istotnie prawdopodobieństwo wystąpienia mutacji u potomstwa.

Oogeneza

W przeciwieństwie do spermatogenezy proces oogenezy jest w swej większej części zakończony dopiero po zapłodnieniu. Wywodzące się z pierwotnych komórek rozrodczych – oogonia, mające swą lokalizację w jajnikach, namnażają się początkowo mitotycznie. Każde oogonium jest komórką centralną w rozwijającym się pęcherzyku jajnikowym. U *Homo*

sapiens oogonia stają się oocytami I rzędu około 3 miesiąca życia płodowego i niektóre z nich wchodzi już w profazę I podziału mejotycznego (redukcyjnego), w którym to stadium pozostają aż do dojrzałości płciowej. Wtedy, przy dojrzewaniu każdego pęcherzyka jajnikowego (Graffa), uwalnia się oocyt do jajowodu (owulacja) i kończy się I podział mejotyczny. W ten sposób u kobiety ukończenie I podziału mejotycznego może się odbyć nawet po 45 latach. W wyniku I podziału mejotycznego dochodzi do nierównego podziału cytoplazmy i powstania oocytu II rzędu, który zawiera większą część cytoplazmy oraz pojawienia się i następnie biodegradacji – pierwszego ciała kierunkowego, tzw. polocytu. Drugi podział mejotyczny kończy się dopiero po zapłodnieniu niedojrzałego jaja (oocytu II rzędu) w jajowodzie. Zapłodnienie prowadzi do powstania dojrzałego jaja i polocytu II rzędu. W tym stadium – istniejący jeszcze czasem polocyt I rzędu może się podzielić na dwa ciała kierunkowe, które niebawem zanikają (rys. 8.4).



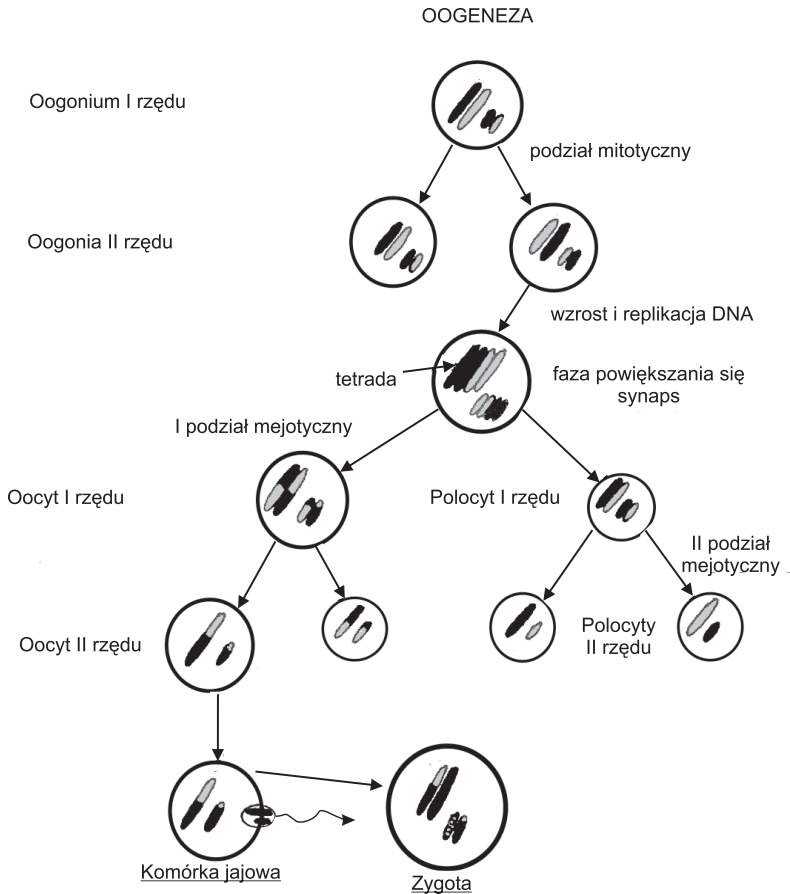
Rys. 8.3. Schemat spermatogenezy. Z każdego spermatocyta pierwszego rzędu powstają cztery dojrzałe plemniki

Tak więc, w porównaniu do spermatogenezy, podczas której z jednego spermatogonium tworzą się w obu podziałach mejotycznych 4 plemniki, oogeneza prowadzi do wytworzenia z jednego oogonium – tylko 1 komórki jajowej.

Dla przykładu, u ludzkiego płodu żeńskiego w 5. miesiącu ciąży maksymalna liczba komórek rozrodczych wynosi $6,8 \times 10^6$. Tuż po urodzeniu jest ich 2×10^6 , przy pokwitaniu (dojrzałości płciowej – pierwszej owulacji) mniej niż 200 000, zaś rzeczywiście wyowuluje podczas całego życia kobiety około 400 komórek jajowych.

Długo trwająca faza spoczynkowa w profazie I podziału mejotycznego może być u starszych matek czynnikiem podwyższającym ryzyko nierozdzielności (nondysjunkcji) chromosomów homologicznych podczas I podziału mejotycznego oraz nierozdzielności chromatyd podczas II podziału mejotycznego.

Do zapłodnienia zwykle dochodzi w jajowodzie. Kiedy plemnik wnika do jaja, zachodzi zmiana chemiczna, która zazwyczaj zapobiega wejściu innego plemnika. Po wnikięciu do jaja plemnik zaokrągla się, tworząc przedjądrze (*pronucleus*).



Rys. 8.4. Schemat oogenezy. Z każdego oocytu pierwszego rzędu powstaje tylko jedna komórka jajowa (1n) oraz trzy ciała kierunkowe (polocyty), które ulegają degeneracji

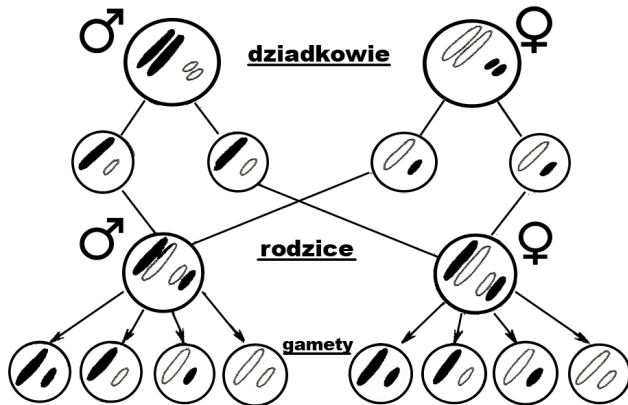
Dopiero wtedy jajo kończy II podział mejotyczny i wytwarza żeński *pronucleus*. Oba przejrzera zlewają się, tworząc zygotę, co daje początek rozwojowi płodu.

Zadanie 8.1

Na rysunku 8.5 przedstaw dziedziczenie chromosomów od dziadka i babki do ich wnuków. Zwróć uwagę, że na rysunku skojarzono potomstwo dziadków, będące pełnym rodzeństwem (kojarzenie krewniacze). Który z wnuków odziedziczył identyczny zestaw chromosomów:

- babki.....
- dziadka.....
- rodziców.....

Czy potomek, pod względem chromosomowym, może być bardziej podobny do swych dziadków niż do rodziców?



gamety rodziców				

pokolenie F₂ - wnuki

Rys. 8.5. Schemat do zadania 8.1

Zadanie 8.2

Diploidalne liczby chromosomów dwóch gatunków: *Gorilla gorilla* (goryl) i *Mus musculus* (mysz domowa) wynoszą odpowiednio 48 i 40. Odpowiedz:

- Ile chromosomów występuje w komórkach somatycznych tych gatunków?
- Ile chromosomów zawierają komórki obu gatunków w stadium mitotycznej profazy?
- Ile tetrad powstanie podczas gametogenezy w komórkach tych zwierząt w profazie pierwszego podziału mejotycznego?
- Ile chromosomów będą zawierały gamety tych ssaków?

Zadanie 8.3

Podaj liczbę możliwych kombinacji chromosomowych w gametach i zygotach:

- *Drosophila melanogaster*.....
- *Homo sapiens*.....
- *Bos taurus*.....
- *Equus caballus*.....
- *Sus scrofa*.....
- *Ovis aries*.....
- *Gallus gallus*.....
- *Canis lupus familiaris*.....
- *Capra hircus*.....
- *Felis domesticus*.....

Zadanie 8.4

Ile gamet może powstać:

- ze 100 spermatocytów I rzędu, 100 spermatocytów II rzędu, 100 spermatyd;
- ze 100 oocytów I rzędu, 100 oocytów II rzędu, 100 ootyd?

Zadanie 8.5

Jaka liczba plemników i jaj oraz jaka liczba wszystkich możliwych kombinacji chromosomów w gametach może powstać ze 100 spermatogonii i 100 oogonii, z których każde zawiera $2n = 8$ chromosomów.

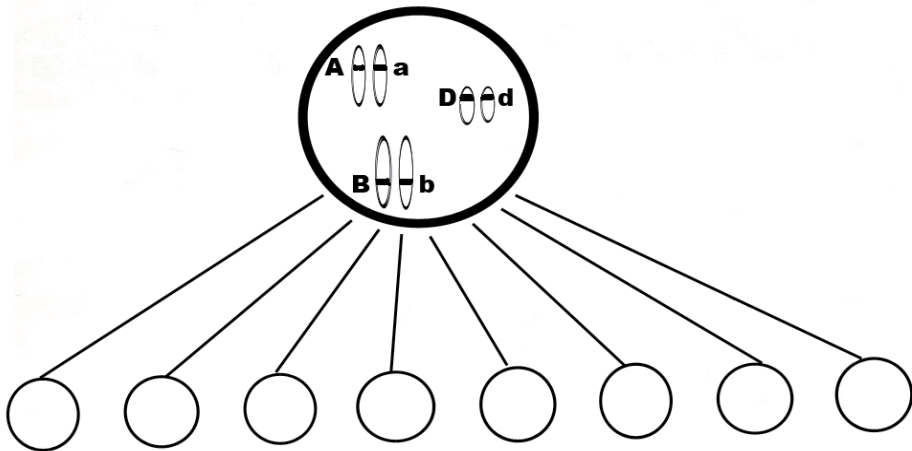
Zadanie 8.6

Przedstaw i prześledź los chromosomów w komórce ($2n = 6$) dzielącej się mejotycznie, w następujących stadiach:

- pachyten
- diploten
- metafaza I
- anafaza I
- metafaza II
- anafaza II

Zadanie 8.7

Na rysunku 8.6 przedstaw liczbę możliwych kombinacji chromosomów, jakie mogą powstać w gametach po II podziale mejotycznym, z komórki o $2n = 6$ chromosomów.



Rys. 8.6. Komórka linii płciowej podczas tworzenia gamet (rys. do zad. 8.7)

9

Determinacja płci zwierząt

Determinacja płci ssaków

U ssaków podczas diagnozowania płci stosuje się odpowiednie klasyfikacje, by można orzec o stopniu wykształcenia się cech płciowych, głównie pierwszorzędowych (gonady) i drugorzędowych (wewnętrzne drogi wyprowadzające oraz zewnętrzne narządy płciowe). Klasyfikacja ta opiera się na analizie: 1) chromosomów płci (płeć chromosomowa), 2) analizie chromatyny płciowej (płeć chromatynowa), 3) identyfikacji genów determinujących płeć męską bądź żeńską (płeć genetyczna).

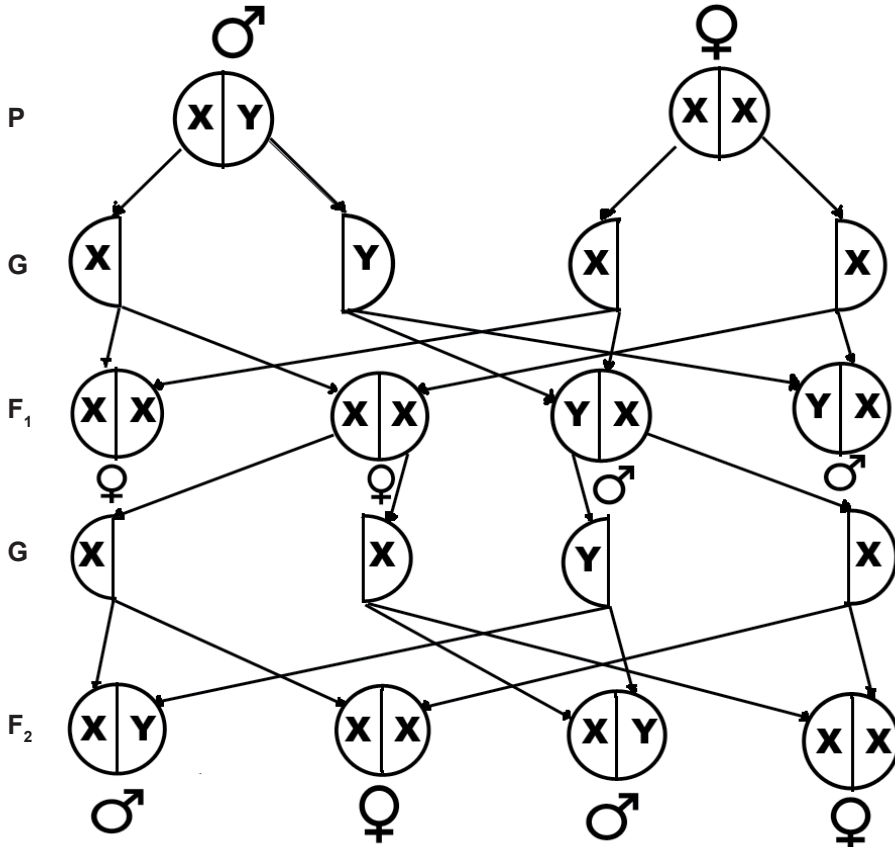
Płeć chromosomowa

Pierwszym etapem jest ustalenie, czy dany osobnik posiada właściwe dla płci męskiej i żeńskiej chromosomy płci, które powinny pochodzić po jednym od obojga rodziców. Ssaki posiadają chromosomy płci zwane allosomami lub heterosomami. Samice mają dwa takie same chromosomy płci XX, natomiast samce posiadają w komórkach somatycznych dwa różne chromosomy płci X oraz Y. W związku z tym, samice ssaków są płcią homogametyczną, ponieważ produkują tylko jeden rodzaj gamet: wszystkie jaja (komórki linii płciowej) zawierają haploidalny zestaw autosomów oraz chromosom płci X. Z kolei samce ssaków są płcią heterogametyczną, bowiem produkują dwa rodzaje gamet: połowa plemników zawiera haploidalną liczbę autosomów oraz chromosom płci X, druga połowa plemników mieści taki sam zestaw autosomów i chromosom Y (rys. 9.1).

Zadanie 9.1

Podczas pierwszego podziału mejotycznego u suki doszło do nierozdzielenia się (nondysjunkcji) chromosomów płci. Jakiej aberracji chromosomowej można się spodziewać, jeśli skojarzy się ją z psem, którego plemniki były:

- prawidłowe;
- z nondysjunkcją w I podziale mejotycznym;
- z nondysjunkcją w II podziale mejotycznym;
- z nondysjunkcją mitotyczną.



Rys. 9.1. Schemat dziedziczenia płci u ssaków

Chromatyna płciowa

U wszystkich **samic** ssaków, w ich wczesnym stadium zarodkowym, gdy zarodek składa się z kilku tysięcy komórek, ma miejsce fenomen biologiczny zwany **lionizacją**. Termin ten pochodzi od nazwiska odkrywczyni tego zjawiska – Mary Lyon, która opisała je

u samic kotów w latach 60. XX wieku. Lionizacja polega na losowym unieczynnieniu jednego z chromosomów płci X, w każdej komórce somatycznej zarodka samicy. Sens biologiczny tego zjawiska polega na wyrównaniu w komórkach samic stężenia produktów genowych wywodzących się z chromosomu X, w stosunku do komórek samców, u których występuje tylko jeden chromosom X. Dowiedziono, że gdyby w procesie rozwoju, w komórkach somatycznych samic brała udział informacja genetyczna z obu chromosomów X, dochodziłoby do zaburzeń rozwoju zarodka. W komórkach potomnych wywodzących się z komórek embrionu w których doszło do inaktywacji jednego z chromosomów X, pozostaje czynny tylko jeden chromosom X, drugi zaś zwija się w grudkę zwaną chromatyną płciową.

U *Homo sapiens* lionizacja zachodzi w trofoblaście (zewnętrznej warstwie późnej blastocysty, z której powstaje kosmówka i łożysko) w 12 dni po zapłodnieniu, a w zarodku dopiero po 16 dniach, kiedy składa się on z około 5000 komórek. Dlaczego do unieczynnienia dochodzi dopiero wówczas, gdy zarodek ma parę tysięcy komórek, a nie od razu w zycie?

Inaktywacja jednego z chromosomów X odsunięta w czasie pozwala na namnożenie się puli komórek zarodka samicy, co ma decydujące znaczenie dla zminimalizowania ryzyka zachorowania na recesywne choroby genetyczne sprzężone z płcią, czyli z chromosomem X. Sytuację tę można porównać ze skutkami rzutów monetą określoną ilość razy. Moneta posiada awers i rewers, tj. dwie alternatywne strony na które może spaść. Jeśli rzucimy monetą tylko raz, nie ma już innej alternatywy, niż powstała w danym momencie. Gdy awers będzie dla przykładu szkodliwą recesywną mutacją mającą *locus* na X, a rewers chromosomem X bez szkodliwej mutacji, upadek monety awersem spowoduje od razu wybór jednoznaczny: wyselekcjonowany został chromosom, na którym istnieje uszkodzony gen i choroba na pewno się ujawni. W każdym kolejnym rzucie prawdopodobieństwo wyboru chromosomu X z genem zmutowanym lub prawidłowym wynosi 50:50%. Gdy ilość rzutów wzrasta, rośnie wielkość próby, a zatem rośnie prawdopodobieństwo upadku także na rewers i wyselekcjonowania chromosomu z genem prawidłowym, gwarantującym brak zachorowania. Tak więc, z każdym dodatkowym rzutem wzrasta szansa, iż stosunek awersów do rewersów będzie się zbliżał do proporcji 50:50%. Zgodnie z teorią rachunku prawdopodobieństwa, przy pewnej optymalnej wielkości próby (np. paru tysiącach rzutów), prawdopodobieństwo wyboru 50% awersów i 50% rewersów ustali się blisko tej proporcji i w następnych próbach (rzutach) odstępstwa będą minimalne, ponieważ wraz ze wzrostem wielkości próby maleje jednocześnie błąd próby. Taka sytuacja ma miejsce w czasie inaktywacji jednego z chromosomów X w komórkach zarodka samicy ssaka, bowiem kilka tysięcy komórek embrionu stanowi odpowiednio dużą próbę, przy której błąd jest niewielki i gwarantuje brak choroby. Sytuacja ta jest wielokrotnie weryfikowana na drodze doboru naturalnego. Oznacza to, iż nawet w przypadku odziedziczenia przez samicę mutacji recesywnej zlokalizowanej na jednym z chromosomów X nie rozwiną się objawy choroby, ponieważ w około 50% komórek inaktywacji ulega chromosom ojcowski, a w 50% matczyński. Gwarantuje to, iż komórki somatyczne samic powstałe z komórek zarodka utworzą w dojrzałym organizmie dwie linie komórkowe, z których co najmniej jedna będzie produkowała około 50% prawidłowego produktu genowego, a to zupełnie wystarczy, by samica nie chorowała. Zatem, inaktywacja jednego z chromosomów X mająca miejsce nie w zycie, ale w późniejszej fazie rozwoju zarodka stanowi ważny bufor ewolucyjny, zwiększający szansę przeżycia samic w wypadku posiadania szkodliwych mutacji na jednym z chromosomów X.

Unieczynniony w komórkach somatycznych samic chromosom X nie ulega ekspresji, z wyjątkiem regionu PAR. U tych samic, u których doszło do utraty fragmentu jednego z chromosomów X (przed inaktywacją), jest wybiórczo inaktywowany właśnie ten uszkodzony chromosom X. W przypadkach translokacji chromosomu X na autosom inaktywacji podlega chromosom X prawidłowy, tj. ten, który nie uległ translokacji, a aktywny pozostaje ten, który uległ translokacji. Gdyby inaktywacja rozprzestrzeniła się na cały połączony kompleks – chromosom X/autosom, doprowadziłaby do unieczynnienia genów zlokalizowanych na autosomie i w efekcie powstałaby aberracja zwana monosomią autosomalną, która jest cechą zawsze letalną.

Płeć chromatynowa

W komórkach somy prawidłowych samic ssaków powinien być czynny tylko jeden chromosom X, drugi zaś powinien być widoczny w interfazie w postaci grudki chromatyny płciowej. Z kolei we wszystkich komórkach prawidłowych samców chromatyna płciowa, nieaktywna nie może być widoczna, ponieważ jedyny chromosom X samca musi być stale aktywny.

U prawidłowych samic inaktywowany chromosom X jest widoczny w komórkach większości tkanek podczas znacznej części interfazy, w postaci silnie barwiącej się grudki chromatynowej zwanej ciałkiem Barra lub chromatyną płciową, albo też chromatyną X (w komórkach krwi – pałeczkami Dobosza). Jeżeli komórka zawiera więcej niż jeden allosom X, wszystkie (oprócz jednego) chromosomy X są także inaktywowane (rys. 9.1). W takich przypadkach proces ten dotyczy nie tylko prawidłowych samic ssaków, ale także samic i samców – nosicieli aberracji chromosomowych, zwanych aneuploidami. Wskutek nierozdzielności (nondysjunkcji) chromosomów płci może dojść do powstania osobników, które zamiast pary allosomów zawierają np. trzy chromosomy XXX lub XXY, lub jeszcze więcej. Zatem u takich osobników będzie w komórkach widoczna większa liczba ciałek Barra.

Zadanie 9. 2

Ile chromosomów X w prawidłowych komórkach somatycznych gatunku *Homo sapiens* powinno znajdować się w losowych próbach, liczących 100 komórek każdego z następujących rodzajów:

- spermatocyty I rzędu;
- spermatocyty II rzędu;
- spermatydy;
- oocyty I rzędu;
- oocyty II rzędu;
- oocyty.

Zadanie 9. 3

Ile ciałek Barra powinny zawierać komórki somy o następujących zestawach allosomów: X0, XYY, XX, XY, XXX, XXY, XXXX, XXXY, XYYYY?

Płeć genetyczna

Genem determinującym płeć męską (samczą) u ssaków jest leżący na krótkim ramieniu chromosomu Y, bardzo konserwatywny u wszystkich ssaków gen regulatorowy, odpowiedzialny za determinację płci męskiej (samczej), zwany SRY (**S**ex **R**egion of the **Y**). Ekspresja genu SRY powoduje we wczesnym zarodku samca ssaka uruchomienie kaskady reakcji prowadzących od stanu niezróżnicowania gonady pierwotnej do wykształcenia prawidłowych struktur anatomicznych jąder, będących pierwszorzędową męską cechą płciową. Komórki podporowe (Sertoliego) wydzielają peptydowe inhibitory przewodów Müllera (inhibinę oraz MIS – **M**illerian **I**nhibiting **S**ubstance), których pochodne przekształciłyby się docelowo w macicę i jajowody. Komórki Leydiga (śródmiaższowe jąder) zarodka zaczynają wydzielać testosteron, który stymuluje przekształcanie się pochodnych przewodów Wolffa w najądrza, nasieniowody i pęcherzyki nasienne. Testosteron syntetyzowany i wydzielany lokalnie w uformowanej gonadzie – dyfunduje do komórek docelowych i pod wpływem enzymu 5 α -reduktazy ulega konwersji w silny androgen dihydrotestosteron (DHT), pod wpływem którego kształtują się zewnętrzne narządy płciowe (prącie). Wynika z tego, że chociaż płeć męska jest zdeterminowana genetycznie (Y^{SRY}), realizuje się pod wpływem współdziałania z wieloma genami autosomalnymi, hormonami własnymi płodu oraz hormonami matki, a także pod wpływem warunków środowiska wewnętrznego (macica) oraz zewnętrznego.

Położenie genu SRY blisko granicy z regionem PAR, który ulega rekombinacji podczas mejozy, niesie ryzyko, iż gen SRY może zostać przeniesiony przypadkowo na chromosom X. Ewentualna translokacja SRY na X lub na autosom w przypadku zaistnienia błędu podczas crossing over – powoduje, że u osobnika XY nie dojdzie do ekspresji genu SRY, a w konsekwencji nie zostaną uformowane pierwszorzędowe cechy płciowe, jakimi są jądra. Samiec XY z delecją genu SRY, z reguły staje się bezpłodnym osobnikiem interseksualnym, fenotypowo przypominającym samicę, pozbawionym zarówno pierwszorzędowych cech płciowych męskich, jak i żeńskich. Podobnie, osobnik cytogenetycznie żeński (XX) z translokacją genu SRY/X, jest całkowicie bezpłodnym osobnikiem interseksualnym, posiadającym czasem w jamie ciała anatomiczne struktury jądropodobne, fenotypowo podobnym do samicy, jednakże bez zrębów gonad żeńskich. Dzieje się tak dlatego, iż płeć żeńska (samicza), podobnie do płci męskiej, powstaje w aktywnym procesie zdeterminowanym ekspresją genu, który ma locus w regionie Xp21. na chromosomie X i określa się go czasem skrótem DSS (**D**osage **S**ensitive **S**ex **R**eversal). Sekwencja DSS ulega ekspresji później niż SRY. Podwojenie sekwencji DSS na chromosomie X samca prowadzi do odwrócenia jego płci w fenotypową samicę. Gen ten u prawidłowego samca, (który ma jeden chromosom X), ulega unieczynnieniu przez produkt genu SRY z chromosomu Y natychmiast po aktywacji genu SRY, ponieważ w przeciwnym wypadku mógłby zostać zaburzony rozwój samca w stronę żeńską. Gdy region SRY nie ulegnie ekspresji z przyczyn mutacji bądź translokacji w ściśle określonym czasie, dochodzi do aktywacji genu DSS i osobnik cytogenetycznie XY rozwija się w fenotypową, niepłodną samicę. Te i podobne patologiczne zjawiska związane z różnicowaniem płciowym, mające swe odbicie w fenotypie osobnika, określa się mianem interseksualizmu, bowiem istnieje trudność w ustaleniu zgodności płci genetycznej z płcią fenotypową. U niektórych interseksów obserwuje się szeroką ekspresję fenotypową w zakresie cech płciowych, od skrajnych form pseudoobojnaczych aż do niemal prawidłowych fenotypów, czasem płodnych, częściej jednak podobnych do samic niż do samców.

Zadanie 9.4

Narysuj schemat determinacji i wykształcenia się płci męskiej ssaka, pod wpływem opisanych w literaturze genów.

Zadanie 9.5

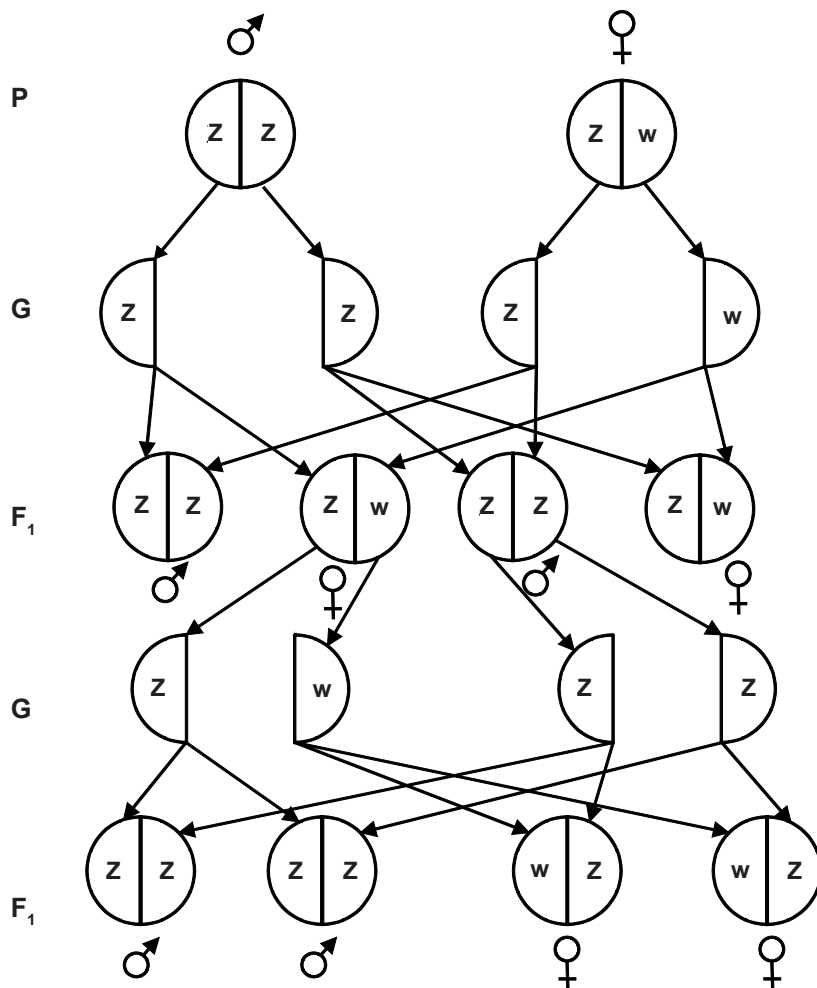
Sporządź klasyfikację poznanych rodzajów płci z opisem elementów niezbędnych do ich prawidłowego zdiagnozowania.

Determinacja płci u ptactwa domowego

U wszystkich gatunków ptaków gospodarskich określanych mianem drobiu, a więc u kur, perlic, indyków oraz kaczek i gęsi, osobnikami decydującymi o płci potomstwa są, przeciwnie niż u ssaków – samice. Samice to płeć heterogametyczna wytwarzająca dwa rodzaje gamet: połowa jaj zawiera haploidalny zestaw autosomów oraz duży allosom Z, zwany niekiedy X (na zasadzie analogii do chromosomu płci ssaków), druga połowa – haploidalny zestaw autosomów, ze szczątkowym chromosomem W, zwanym niekiedy Y. Ponieważ u drobiu nie jest znana żadna cecha sprzężona z chromosomem W, czasem pomija się go i opisuje samice jako XO. Interesujące jest, iż spory fragment chromosomu Z wykazuje homologię z chromosomem 5 człowieka, który chociaż jest duży (liczy 181 mln pZ), to geny są na nim porzucane dość rzadko. Zawiera 923 geny kodujące białka (z których powstaje ponad 1 500 transkryptów mRNA), około 500 pseudogenów oraz 20 genów kodujących tRNA i 4 pseudogeny tRNA. Mutacje w genach położonych na chromosomie 5 łączy się z 80 chorobami ludzi. Wynika z tego, że ssacze i ptasie chromosomy płciowe wyewoluowały niezależnie.

Identyfikacja chromosomów płci np. u kur (*Gallus gallus*) jest niezwykle trudna, ponieważ wśród dużej liczby chromosomów ($2n = 78$), ponad połowę stanowią chromosomy niezwykle małe, tzw. mikrochromosomy, które pod względem morfologicznym są prawie identyczne.

Ponieważ osobniki o płci heterogametycznej wytwarzają dwa rodzaje gamet w proporcji zbliżonej do 1:1, stosunek liczbowy samców do samic u potomstwa ssaków i ptaków wynosi także w przybliżeniu 1:1 (rys. 9.2).



Rys. 9.2. Schemat dziedziczenia płci u ptaków

Zadanie 9.6

Jak określa się płć samczą u ptaków, a jak płć samiczą? Czy nazewnictwo to jest analogiczne jak u ssaków?

10

Cechy zwierząt sprzężone oraz związane z płcią

Cechy ssaków sprzężone z płcią

Cechami sprzężonymi z płcią określa się u ssaków właściwości wyznaczone przez geny mające *locus* z reguły na chromosomie X, ponieważ na chromosomie Y znajduje się ich niewiele. Chromosom Y ssaków jest trzy razy krótszy niż chromosom X. Region eukromatyczny Y jest sześć razy krótszy niż na chromosomie X.

Jak podano w rozdziale poprzednim, soma samic ssaków jest mozaiką komórek, z których część zawiera aktywny chromosom X dziedziczony od ojca, a część – aktywny chromosom X pochodzący od matki. Proporcje między nimi mogą być nieco zróżnicowane nawet u bliźnięt monozygotycznych, ponieważ lionizacja ma charakter przypadkowy (losowy, panmiktyczny). Zjawisko to wyjaśnia, dlaczego samice nie chorują na żadną z recesywnych chorób sprzężonych z płcią.

Do najlepiej zbadanych recesywnych cech ssaków sprzężonych z płcią należą: hemofilia A i B, daltonizm oraz dystrofie mięśniowe: Duchenne’a i Bakera.

Hemofilie typu A lub B są to schorzenia podobne co do przyczyny i symptomów, objawiające się brakiem lub obniżoną krzepliwością krwi, mogące prowadzić do śmiertelnego wykrwawienia organizmu. Hemofilie A i B występują praktycznie u wszystkich ssaków będących w zainteresowaniu człowieka (psów, kotów, świń, bydła, koni i owiec). *Loci* genów hemofilii A i B znajdują się u wszystkich ssaków w chromosomie X, w odległości około 50 cm od siebie.

Samce chorują na hemofilię A lub B wówczas, gdy na jedynym chromosomie X jaki posiadają, istnieje szkodliwa mutacja, z powodu której nie wytwarzają odpowiedniej ilości czynnika antyhemofilowego VIII bądź IX (dawniej krzepliwości krwi odpowiednio VIII bądź IX).

U samic omawianych gatunków, w przypadku nosicielstwa na jednym z chromosomów X recesywnego genu hemofilii, na jego homologu (drugim chromosomie X) występuje niezmutowany, dominujący allel, którego produkt genowy jest prawidłowym czynnikiem krzepnięcia krwi. Losowa inaktywacja jednego z chromosomów X, obejmująca w razie

nosicielstwa choroby zmniejszenie poziomu produktu prawidłowego, nie powoduje wystąpienia objawów choroby u nosicielki. W niezwykle rzadkich przypadkach, gdy u samicy na obu chromosomach X wystąpiły dwa recesywne geny hemofilii, rozwinęły się u niej objawy podobne jak u samca, jednakże nie doprowadziły do całkowitego wykrwawienia i śmierci.

Analogicznemu modelowi dziedziczenia do przedstawionego powyżej podlegają również daltonizm i dystrofia mięśniowa: Duchenne’a, Bakera, rdzeniowo-opuszkowa (występujące także u psów oraz kotów), hypotrichosis (niedostatek owłosienia) u psów i bydła oraz anadontia (brak zębów) u cieląt. Istnieją także, mniej liczne, cechy dominujące sprzężone z chromosomem X.

Zadanie 10.1

Czy w miocie złożonym z 8 szczeniąt, w którym 4 szczenięta były suczkami, a jedno szczenię wykazało objawy hemofilii, można oczekiwać u innych szczeniąt objawów tej choroby? Które z nich na pewno nie będą chorowały? Ile szczeniąt może przynieść chorobę na następne pokolenie? Czy ojciec hemofilicznych szczeniąt będzie płodził hemofiliczne szczenięta także z innymi sukami, o których wiadomo, że nigdy nie rodziły hemofilicznych synów?

Zadanie 10.2

W pewnej rodzinie muzułmańskiej, złożonej z męża oraz czterech żon, pojawili się synowie obarczeni ślepotą na barwy (daltonizmem – wadą najczęściej związaną z nierozróżnianiem barwy czerwonej – protanopię oraz zielonej – deuternatopię, rzadziej niebieskiej – tritanopię). Wszystkie żony urodziły w sumie 6 córek i 8 synów, z których ostatni spłodzony z najmłodszą żoną był obarczony daltonizmem. O rodzinie matki wiadomo, że jedynie jej wuj wykazywał podobną anomalię, zaś w rodzinie ojca daltonistą był jego stryjeczny brat. Ponadto druga z żon także miała w swej rodzinie daltonistę. Co można powiedzieć o „winie” obojga rodziców. Czy rodzice chłopca przyczynili się w równym stopniu do daltonizmu swego syna? Co można powiedzieć o pozostałych żonach? Co można powiedzieć o babce chłopca? Czy charakter dziedziczenia tej wady różni się od hemofilii?

Zadanie 10.3

Na szachownicach Punnetta przeanalizuj dziedziczenie genów hemofilii u świń, koni oraz psów w następujących krzyżowaniach:

- zdrowy knur i zdrowa locha „nosicielka”;
- ogier z hemofilią i zdrowa klacz;
- pies z hemofilią i suka obciążona genem hemofilii.

W przypadku mutacji dominujących nie istnieje pojęcie „nosicielstwa” choroby (genu – cechy), bowiem wystarczy, że osobnik posiada w chromosomie X jeden tylko zmutowany gen dominujący, aby cecha uzewnętrzniła się bez względu na to, czy jest samcem, czy samicą. Do cech dominujących ssaków sprzężonych z płcią należą m.in.: u bydła achondroplazja (karłowatość) i tzw. pasmowy brak owłosienia (cecha letalna u samców, a objawiająca się skłonnością do hipotermii u samic) oraz krzywica hiposfatemiczna oporna na działanie

witaminy D u ludzi. U ptaków gospodarskich: umaszczenie srebrzyste (dominujące) i złociste (recesywne), barwa żółta lub biała skoków (Z) oraz zielona (z), późne opieranie się (K) i wczesne (k), a także upierzenie jastrzębate (prążkowane – B) i jednolite (b) u kur oraz choroba „wibracyjna” u indyków.

Zadanie 10.4

W kilku rodzinach badano przypadki niskiego poziomu fosforanów we krwi, ponieważ podejrzewano, iż obserwowane w tych rodzinach pojawianie się krzywicy ma charakter dziedziczny. Klinicznie choroba nie różni się w sposób istotny od krzywicy wywołanej niedoborem witaminy D. Cechą charakterystyczną krzywicy dziedzicznej jest wydalanie dużej ilości fosforanów z moczem, co wywołuje hipofosfatemię. Ten rodzaj krzywicy łączy się z zupełną niewrażliwością na leczenie witaminą D. Skuteczne są natomiast dwuhydroksypochodne witaminy D. Objawy ujawniają się już w pierwszym roku życia. Dotyczą rozmiękczenia całego kośćca oraz zniekształcenia czaszki.

Badania w tych rodzinach wykazały, że 8 dotkniętych tą chorobą mężczyzn, ożenionych ze zdrowymi żonami, spłodziło 11 córek, z których wszystkie miały hipofosfatemię oraz 12 synów, z których żaden nie wykazywał tej dolegliwości. Czy występujące w tych rodzinach przypadki krzywicy mogły mieć charakter dziedziczny? Jeśli tak, to jaki charakter ma mutacja w stosunku do genu prawidłowego? Na jakim chromosomie leży *locus* tego genu i czym różni się ta choroba od hemofilii?

Zadanie 10.5

W USA opisano osobliwe drzenie u indyków rasy bronz szerokopierśny, co do którego dowiedziono, że jest dziedziczne i nazwano je „wibracją”. Dotknięte tą wadą ptaki wykazywały normalną żywotność. Gdy ptaki „wibratory” kojarzono *inter se*, całe ich potomstwo było „wibratorami”. Kiedy jednak samce wibratory krzyżowano z normalnymi indyczkami, wszystkie samice wśród potomstwa były wibratorami, natomiast samce były normalne. Jaki jest mechanizm dziedziczenia tej anomalii? Jaki charakter ma gen wywołujący tę wadę?

Zadanie 10.6

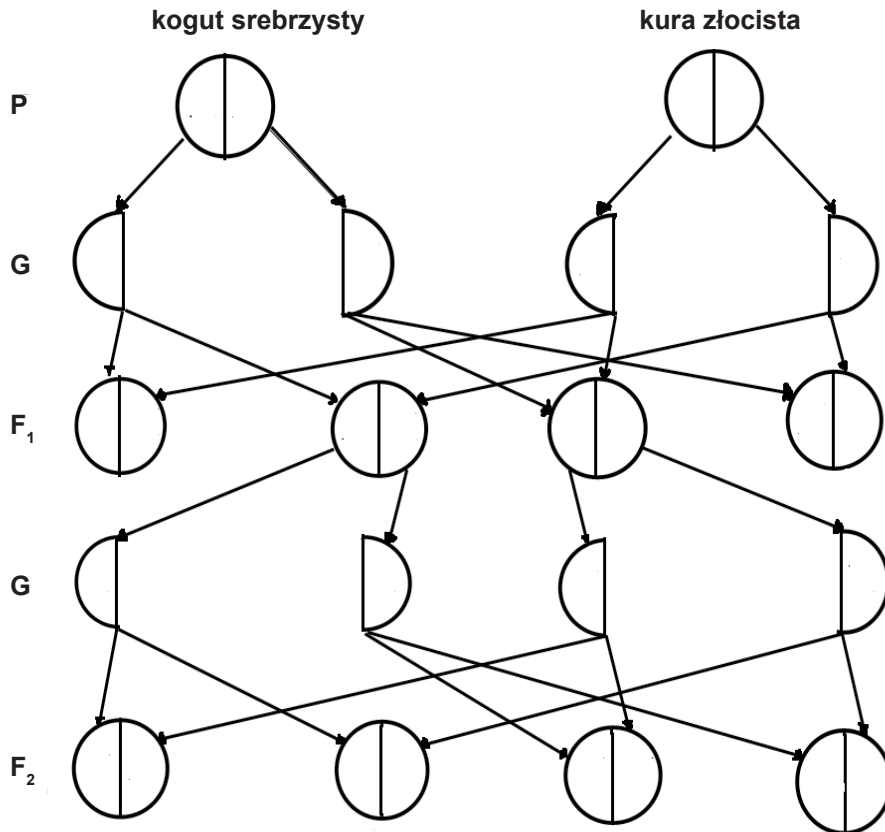
Jakiego potomstwa i w jakich proporcjach można się spodziewać po jastrzębiatym, homozygotycznym kogucie i czarnych kurach?

Zadanie 10.7

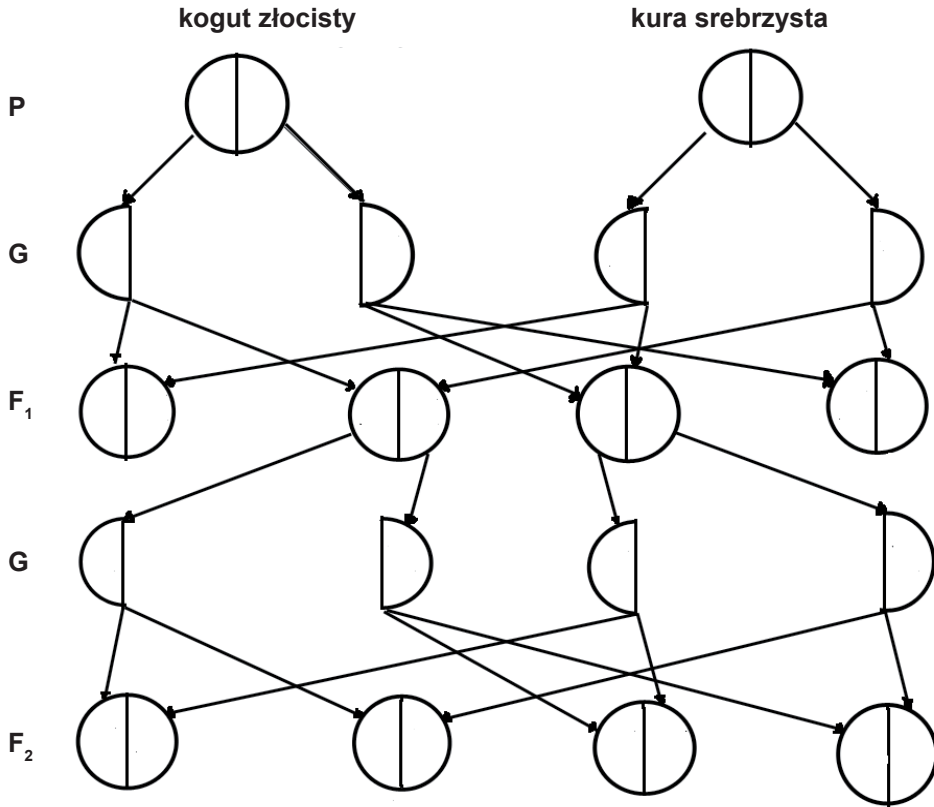
Wykorzystując rysunek 10.1a, b, uzupełnij wyniki następujących kojarzeń:

- kogut homozygotycznie srebrzysty i kura złocista;
- kogut homozygotycznie złocisty i kura srebrzysta.

Czy w którymś z tych kojarzeń wystąpiło dziedziczenie na krzyż (cris-cross)? Co ten rodzaj dziedziczenia oznacza w przypadku cech sprzężonych z płcią?



Rys. 10.1a. Schemat kojarzeń do zadania 10.7a



Rys. 10.1b. Schemat kojarzeń do zadania 10.7b

Zadanie 10.8

U kur grzebień groszkowy uwarunkowany jest przez autosomalny gen G, a grzebień prosty przez recesywny gen alleliczny – g. Barwa piór srebrzysta jest cechą dominującą (S), mającą swój *locus* na allosomie X. Gen alleliczny, mający recesywny charakter (s), wywołuje złociste upierzenie. Jakich fenotypów i genotypów można oczekiwać w potomstwie:

- homozygotycznych kogutów złocistych, o grzebieniu groszkowym z homozygotycznymi kurami srebrzystymi, o grzebieniu prostym;
- homozygotycznych kogutów srebrzystych, o grzebieniu prostym z homozygotycznymi kurami złocistymi, o grzebieniu groszkowym;
- heterozygotycznych kogutów srebrzystych, o grzebieniu prostym z homozygotycznymi kurami złocistymi o grzebieniu groszkowym.

Interesującym przykładem losowej ekspresji genów sprzężonych z chromosomem X w wyniku inaktywacji jednego z chromosomów X u samic ssaków, zwanej **mozaikowością fenotypową**, jest występowanie umaszczenia **szylkretowego** u samic kota domowego.

Przykład 1. Rude umaszczenie kota domowego, zwane także imbirowym lub pomarańczowym, wyznaczone jest przez epistatyczny gen dominujący O (orange), sprzężony z chromosomem X. Gen ten dominuje nad swoim allelem oznaczonym X^0 lub X^- , a ponadto wykazuje silnie epistatyczny wpływ na inną parę genów autosomalnych, warunkujących umaszczenie czarne (B) bądź przegowane (b).

Prawidłowy samiec kota domowego posiada tylko jeden chromosom X. Jeśli na nim znajduje się gen epistatyczny ($X^{0+}Y$), samiec jest zawsze cały rudy. Jeśli kocur odziedziczył po swojej matce chromosom X z nieepistatycznym wariantem tego genu, ma genotyp X^0Y lub X^-Y , a fenotyp jest ukształtowany przez geny autosomalne. Tak więc kocur może być czarny (X^-Y, BB lub X^-Y, Bb) albo przegowany (X^-Y, bb).

Wśród samic sytuacja jest bardziej skomplikowana, bowiem kotki posiadają dwie somatyczne linie komórkowe. W jednej z nich ulega unieczynnieniu chromosom X odziedziczony od ojca, w drugiej – od matki. Tak więc, ustrój samicy jest mozaiką komórek; w około połowie aktywny jest chromosom X ojcowski, w pozostałej połowie X matczyny. W związku z tym, u samic mogą występować następujące genotypy: X^+X^+ (fenotyp rudy), X^+X^-, BB oraz X^+X^-, Bb (fenotyp szylkretowy, rudo-czarny); X^+X^-, bb (fenotyp łaciaty – rudo-przegowany); X^-X^-B- (fenotyp cały czarny); X^-X^-bb (fenotyp cały przegowany). Czasem można spotkać samice trzykolorowe (tzw. trikolor), czarno-rudo-białe zwane w USA „calico”. Białe odmiany futra dziedziczą się dwojako, bądź jako cecha dominująca autosomalna, bądź jako cecha poligenowa (wielogenowa), a geny warunkujące białą okrywę nie wpływają na ekspresję genów determinujących wymienione powyżej umaszczenia.

Opisany mechanizm powstawania umaszczenia szylkretowego wyklucza istnienie tego umaszczenia u prawidłowych genetycznie kocurów, ponieważ nie mają one dwóch chromosomów X. Jednakże czasem można spotkać kocury szylkretowe. Są one efektem różnych zaburzeń chromosomowych. Każdy samiec posiadający dwa chromosomy X jest podobnie do samicy mozaiką dwóch somatycznych linii komórkowych, w których ulegają losowej ekspresji allele tego samego *locus*, wyznaczające barwy futra analogiczne do spotykanych u samic. Najczęstszymi układami chromosomów u samców szylkretowych są: chimery $38,XY/38,XX$ (30% przypadków), zespół Klinefeltera – $39,XXY$ (20%) – (kocury te są całkowicie bezpłodne), chimeryczna postać zespołu Klinefeltera $38,XY/39,XXY$ (10%) oraz układ pozornie prawidłowy $38,XY$ (10%), któremu z pewnością towarzyszy dodatkowa linia komórkowa, ale nigdy nie udało się jej wykryć.

Zadanie 10.9

Analizując dziedziczenie barwy szylkretowej u samicy kota domowego, odpowiedz, czy możliwe jest urodzenie przez kotkę w jednym miocie trzech samiczek, z których każda będzie miała inny (czarny, rudy i szylkretowy) kolor futerka?

Zadanie 10.10

Pewien badacz doniósł, że szylkretowy kocur był ojcem 6 kociąt czarnych, rudych oraz czarno-rudych. Czy w tym doniesieniu istnieje coś, co nasuwa wątpliwości co do tego stwierdzenia?

Zadanie 10.11

Co odpowiesz, gdy spotkasz się z decydującym stwierdzeniem osoby znającej się na hodowli i umaszczeniach kotów, iż niewątpliwie widziała ona kocura (samca) o barwie szylkretowej?

Zadanie 10.12

Ruda kotka w jednym miocie pochodzącym od tego samego kocura dała 5 kociąt: 2 rude i 3 szylkretowe. Określ genotyp matki, genotyp i fenotyp ojca oraz płć potomstwa.

Zadanie 10.13

Skojarzono rudo-burą kotkę z czarnym kocurem. Jakie były genotypy rodziców oraz genotypy i fenotypy potomstwa?

Zadanie 10.14

Znaleziono miot 3 kociąt o następujących fenotypach: 1) cały rudy, 2) rudo- pręgowa-ny, 3) szylkretowy. Jaki był genotyp i fenotyp matki, a jaki kocura? Jakie są genotypy i płć kociąt?

Zadanie 10.15

U kotów krótka okrywa typu rex jest dominującą cechą autosomalną nad okrywą długą. Z kolei allosomalny gen O jest epistatyczny w stosunku do autosomalnej pary B (futro czarne) oraz b (okrywa pręgowana) i wyznacza barwę rudą. Jakich fenotypów i genotypów można oczekiwać u potomstwa:

- homozygotycznego kocura o futrze rex i barwie czarnej z homozygotyczną samicą o długiej okrywie i barwie szylkretowej;
- homozygotycznego kocura o długiej sierści i barwie żółtej z heterozygotyczną samicą typu rex i barwie czarnej.

Cechy związane z płcią

Cechy związane z płcią uwarunkowane są przez geny mające swój *locus* na autosomach, a nie jak w przypadku cech sprzężonych z płcią – na chromosomie X. Płć osobnika formująca się pod wpływem jego hormonów płciowych odgrywa istotną rolę w ekspresji cechy (stopniu jej ujawnienia), co widoczne jest szczególnie u osobników heterozygotycznych. Płć nie ma wpływu na różnicę w ekspresji cechy u homozygot obu płci zarówno dominujących, jak i recesywnych. Tylko heterozygoty samce różnią się stopniem ekspresji cechy od heterozygot samic.

Przykładami cech związanych z płcią są: obecność bądź brak rogów u owiec oraz odciń plam barwnych u czerwono-białego bądź mahoniowo (wiśniowo)-białego bydła mlecznego rasy ayrshire, a także u ludzi sposób łysienia. Charakterystyczne dla mężczyzn łysienie (od czoła aż do potylicy) uwarunkowane jest parą genów autosomalnych, związanych

z płcią. Kobiety i mężczyźni, gdy są homozygotami BB, łysieją bez względu na płeć, jednakże kobiety po menopauzie, a mężczyźni w młodości. Natomiast gdy obie płcie są homozygotami bb – w ogóle nie łysieją. Kiedy jednak są heterozygotami Bb, mężczyźni łysieją w okresie andropauzy, a kobiety nie łysieją wcale. Czyli u heterozygot mężczyzn cecha ta jest dominującą, a u heterozygot kobiet jest ona recesywna. Zatem, ogólny model dziedziczenia łysienia u ludzi jest analogiczny z modelem przekazywania cech związanych z płcią u owiec i bydła omówionych powyżej.

Przykład 2. Gdy skojarzono rogate owce – samice (maciorki) rasy dorset horn (RR) z bezrogimi trykami rasy suffolk (rr), to potomstwo F_1 płci męskiej było rogate, zaś płci żeńskiej bezroge, mimo iż wszystkie osobniki miały ten sam heterozygotyczny genotyp: Rr. W pokoleniu drugim (F_2) pojawiło się 75% macierek bezrogich i 25% rogatych oraz wystąpiły odwrotne proporcje w tym samym pokoleniu samców: 75% tryków rogatych i 25% tryków bezrogich.

Zadanie 10.6

Na rysunku 10.2 przedstaw dziedziczenie obecności rogów bądź ich braku u potomstwa macierek rasy dorset horn i tryków rasy suffolk.

P	dorset horn		suffolk
F_1	fenotyp.....		fenotyp.....
	genotyp.....	X	genotyp.....
F_2			

Rys. 10.2. Schemat do zadania 10.6

Zadanie 10.7

Skojarzono rogatego tryka z rogatą maciorką. W ich potomstwie wystąpiły obok osobników rogatych także bezrogie. Jaki procent stanowiły osobniki bezrogie i jakiej były płci?

Zadanie 10.8

Czy w potomstwie bezrogich rodziców mogą wystąpić owce rogate? Jakiej będą płci i jaki odsetek będą stanowić?

Zadanie 10.9

Jaki genotyp miały dwie czerwono-białe krowy rasy ayrshire, jeśli skojarzone z czerwono-białym buhajem tej samej rasy urodziły: pierwsza - mahoniowo-białego buhajka, druga – czerwono-białą jałówkę?

Zadanie 10.10

- a) Czy czerwono-biała krowa i taki sam buhaj rasy ayrshire mogą być rodzicami mahoniowo-białego potomstwa? Jakiej płci będzie to cielę?
- b) Czy mahoniowo-biali rodzice mogą mieć czerwono-białe potomstwo? Jakiej będzie płci?

11

Grupy krwi ssaków

Grupy krwi zwierząt

Badania nad grupami krwi zwierząt i ich dziedziczeniem zapoczątkowali w 40. latach naszego stulecia Ferguson, Stormont i Irwin na Uniwersytecie w Wisconsin, w USA.

U **bydła** wykazano istnienie ponad 80 antygenów krwinkowych, które z uwagi na ich dziedziczenie zakwalifikowano do 12 układów grupowych. W tabeli 11.1 podano układy grupowe krwi bydła oraz odpowiadające im antygeny krwinkowe, które można poznać, stosując surowice testowe.

Tabela 11.1

Układy grupowe krwi bydła

Układy grup krwi	Antygeny krwinkowe
A	A ₁ , A ₂ , D ₁ , D ₂ , H, Z', Ł
B	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , G ₀ , I ₁ , I ₂ , I ₀ , K, O ₁ , O ₂ , O ₃ , O _x , P ₁ , P ₂ , Q ₁ , Q ₂ , T ₁ , T ₂ , A ₁ ', A ₂ ', B', D', E ₁ ', E ₂ ', F', G', I ₁ ', I ₂ ', J ₁ ', J ₂ ', K', O', P ₁ ', P ₂ ', Q', Y', A'', B'', D'', G'', I''
C	C ₁ , C ₂ , E, R ₁ , R ₂ , R ₀ , W ₁ , W ₂ , X ₁ , X ₂ , C', L', X', C''
F	F ₁ , F ₂ , V ₁ , V ₂
J	J ₁ , J ₂
L	L
M	M ₁ , M ₂
S	S ₁ , S ₂ , H', U ₁ , U ₂ , U ₁ ', U ₂ ', H'', S'', U''
Z	Z, +Z
R'	R', S'
N'	N'
T'	T'

W najprostszym układzie grupowym bydła (np. J) znany jest tylko jeden aktywny i jeden nieaktywny allel. Tak więc, istnieją jedynie 3 możliwe genotypy: J/J, J/-, -/-. Tym trzem genotypom odpowiadają dwa fenotypy, jeden wyznaczany przez obecność antygeny J, a więc: J/J i J/- i drugi przez brak antygeny -/-. Każda z obecnych cech antygenowych dominuje nad jej brakiem, wyznaczanym przez gen recesywny.

Układ grupowy B u bydła jest najliczniejszy – zawiera 40 antygenów. Pewne z nich dziedziczą się razem, wyznaczając w wyniku różnych kombinacji – ponad 400 grup krwi, tzw. fenogrup. Grupy te dziedziczą się kompleksowo w formie albo fenogrup prostych, np. J_2G' , albo złożonych, np. $BO_3Y'A_1$, $G'P_1Q'G''$. Fenogrupy w procesie dziedziczenia zachowują się często jak przeciwstawne odmiany tej samej cechy uwarunkowanej jedną parą alleli. Fenogrupa zachowuje się jak pojedynczy gen. W związku z istnieniem ponad 400 fenogrup w układzie B można by wnioskować, że w *locus* wyznaczającym antygeny tego układu istnieje szereg liczący ponad 400 alleli (obecnych w całej światowej populacji bydła), z których określony osobnik może mieć jedynie dwa allele tego układu. Hipoteza dotycząca modelu dziedziczenia fenogrup B i C u bydła, oparta o istnienie szeregu alleli w *loci* tych genów, jest obecnie jedną z dwóch branych pod uwagę.

Badania prowadzone na wielotysięcznych populacjach bydła wykazały, że w obrębie od dawna uznanych fenogrup układów B i C obserwuje się nieregularności dziedziczenia poszczególnych cech antygenowych. Wyniki te uzasadniły alternatywną hipotezę sugerującą liniowe uszeregowanie i sprzężenie genów warunkujących cechy kompleksów antygenowych fenogrupy, możliwe do rozerwania podczas crossing-over w mejozie. Jest to obecnie drugi uznawany w świecie pogląd na temat modelu dziedziczenia cech kompleksów antygenowych w *locus* B i C jako grupy genów sprzężonych i tworzących pojedynczą jednostkę dziedziczną, przypominający w przybliżeniu konstrukcję genetyczną najbardziej złożonego układu grupowego człowieka – Rh.

Antygeny krwinek czerwonych bydła w układach: A, B, C, F, J, L, M, H', Z, N', R' i T' identyfikowano za pomocą 80 reagentów testowych w teście hemolitycznym. Do analizy polimorfizmu DNA wybrano 11 mikrosatelitarnych *loci* zalecanych przez ISAG do kontroli rodowodów bydła. Stwierdzono, że w nielicznych populacjach oraz w przypadkach wysokiego spokrewnienia między rodzicami układy grupowe nie zawsze wystarczają do kontroli prawidłowości zapisów w księgach hodowlanych. W takich przypadkach dużą przydatność wykazuje określenie tzw. sekwencji mikrosatelitarnych.

U owiec wykryto następujące układy grupowe krwi i antygeny krwinkowe (tab. 11.2).

Tabela 11.2

Układy grupowe krwi u owiec

Układy grup krwi	Antygeny krwinkowe
A	Aa, Ab
B	Ba, Bb, Bc, Bd, Be, Bf, Bg, Bh, Bi, PLB-17
C	Ca, Cb
D	Da
M	Ma, Mb, Mc
R	R, O
X	X, Z

Tabela 11.3

Układy antygenowe krwi u świń

Układy grup krwi	Antygeny krwinkowe
A	Aa, Ac, Ap, Ao
B	Ba, Bb
C	Ca, Cb
D	Da, Db
E	Ea, Eb, Ec, Ed, Ee, Ef, Eg, Eh, Ei, Ej, Ek, El, Eł, Em, En, Eo, Er
F	Fa, Fb, Fc, Fd
G	Ga, Gb, Gc, Gd
H	Ha, Hb, Hc, Hd, He
I	Ia, Ib
J	Ja, Jb
K	Ka, Kb, Kc, Kd, Ke, Kf, Kg
L	La, Lb, Lc, Ld, Le, Lf, Lg, Lh, Li, Lj, Lk, Ll, Lm
M	Ma, Mb, Mc, Md, Me, Mf, Mg, Mh, Mi, Mj, Mk, Ml
N	Na, Nb, Nc
O	Oa, Ob

U **trzody chlewnej** wykryte antygeny krwinkowe zakwalifikowano do 15 układów grupowych (tab. 11.3).

U **koni** wyodrębnione antygeny krwinkowe zakwalifikowano do 7 układów grupowych. Najbardziej złożony jest układ grupowy D. Spośród 11 antygenów krwinkowych 10 występuje u koni, zaś antygen B jest charakterystyczny tylko dla osłów i mułów (tab. 11.4).

Tabela 11.4

Układy grupowe krwi u koni

Układy grup krwi	Antygeny krwinkowe
A	Aa, Ab, Ac, Az, Af, Ag
C	Ca
D	Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Di, Dk, Dl, Dn, Dm, Do, Dp
K	Ka
P	P ₁ , P ₂ , Pb, Pc, Pd
Q	Qa, Qb, Qc
U	Ua

U **psów**, od czasu pierwszych badań w latach 50., rozpoznano kilka grup krwi. W nazewnictwie stosuje się obecnie dwie klasyfikacje:

- duże litery określające grupę i małe oznaczające czynnik (np. Ca) i czasem dodatkowo podawana jest cyfra oznaczająca podgrupę (np. Aa1) (tab. 11.5);
- DEA = antygeny erytrocytarne psów (np. DEA 1).

Tabela 11.5

Charakterystyka grup krwi u psów

Układ	Czynniki
A	a1
A	a2
A	a3
B	a
C	a
D	a
F	a
Tr	tr
Tr	o
J	a
K	a
L	a
M	a
N	a

Dla transfuzji krwi u psów mają znaczenie tylko nieliczne grupy krwi. U zwierząt tych w warunkach naturalnych bardzo rzadko w surowicy występują przeciwciała, a jeśli tam się pojawiają, mają niskie miano i wywołują reakcję w temperaturze innej niż temperatura organizmu. Jedynie u około 15% psów stwierdzono występowanie naturalnych przeciwciał przeciwko kilku grupom. Najważniejszą praktyczną konsekwencją tej sytuacji jest rzadkie występowanie reakcji poprzetoczeniowej w wyniku pierwszej transfuzji krwi niezgodnej grupowo.

U **kotów** występują trzy grupy krwi: A, B i AB, których charakterystykę immunogenetyczną podano w tabeli 11.6.

Tabela 11.6

Charakterystyka grup krwi u kotów

Fenotyp	Genotyp
A	A / A
A	A / B
B	B / B
AB	AB / AB

Grupa krwi A występuje najczęściej w populacji kotów domowych zarówno krótko- i długowłosych, przy czym u tych osobników bardzo rzadko stwierdzano w surowicy wysoki poziom naturalnych przeciwciał. Odwrotną sytuację odnotowano u dużo mniejszej liczby kotów z grupą krwi B, u których bardzo często w surowicy występuje wysoki poziom naturalnych przeciwciał anty-A. Antygen A jest dominujący w stosunku do B. Grupa krwi A występuje w formie (A/A) lub (A/B). Grupa krwi AB jest bardzo rzadka i nie została dobrze poznana. Można jednak stwierdzić, że składnik A jest tak samo silny jak składnik B. Grupa

AB w stosunku do grupy A jest recesywna, natomiast w stosunku do grupy B dominująca. Aby potomstwo miało grupę AB, rodzice niekoniecznie muszą posiadać grupy A i B. Grupa AB powstaje w formie zarówno czystego dziedziczenia (AB/AB), jak też w formie mieszanego dziedziczenia (AB/B). Testy wykazały, że kocięta z grupą AB również dotknięte są nietolerowaniem się grup krwi, ponieważ reagują na przeciwciała anti-B matki z grupą krwi B. Faktem jest, że częstość występowania grup krwi u poszczególnych ras kotów jest różna. Grupa AB pojawia się tylko u niektórych ras, które mają grupy A i B.

Identyfikacja grup krwi u psów i kotów umożliwia rozpoznanie oraz zapobieganie zjawisku erytrolizy noworodków. Erytroliza kociąt spowodowana konfliktem serologicznym występuje, gdy kotka ma grupę B, a jej potomstwo dziedziczy grupę A po kocurze. Koty z grupą krwi B syntetyzują w surowicy przeciwciała przeciwko grupie A. Podczas ciąży nie dochodzi do żadnych komplikacji, gdyż przeciwciała matki nie przedostają się do krwiobiegu płodu. Kocięta rodzą się zdrowe, ale po porodzie mogą się pojawić następujące problemy:

- nagła śmierć kociąt;
- kocięta przestają ssać;
- mocz kociąt przyjmuje zabarwienie brązowo-czerwone;
- kocięta przestają się rozwijać i giną w pierwszym tygodniu życia;
- kocięta ssą normalnie, ale w ciągu 14 dni tracą czubek ogona.

Opisane symptomy są charakterystyczne dla największego problemu w hodowli kotów, zwanego syndromem słabnących kociąt, u których często występuje grupa B. Do erytrolizy dochodzi, gdy kocięta z grupą krwi A (dziedziczną od ojca) ssą siarę matki z grupą krwi B. W siarce kotek z grupą krwi B znajdują się naturalne przeciwciała anti-A, które po wchłonięciu się z przewodu pokarmowego kociąt wiążą się z ich antygenami erytrocytarnymi A, wywołując hemolizę erytrocytów, w efekcie żółtaczkę, bilirubinurię, niedokrwistość i śmierć w ciągu kilku dni. Erytrolizę kociąt rozpoznaje się testem Coombsa. Najlepszym rozwiązaniem byłoby łączenie w pary kotów wyłącznie z grupą krwi B, ale w praktyce nie jest to łatwe. Jeśli istnieje niepewność co do grupy krwi rodziców i potomstwa, należy natychmiast po urodzeniu odseparować kocięta od matki, tak aby nie mogły pić jej mleka. Przez około 36 godzin konieczne jest wówczas karmienie kociąt sztucznymi preparatami mlekozastępczymi lub przy pomocy mamki z grupą krwi A, która mogłaby przejściowo karmić małe. Później kociętom nie zagraża już żadne niebezpieczeństwo, gdyż po upływie 36 godzin przeciwciała matki nie przenikają już przez ściany jelit kociąt. Ponadto, istnieje szybki test pozwalający w kilka sekund ustalić grupy krwi kociąt. Kiedy znana jest grupa krwi wszystkich kociąt w miocie – można pozostawić kocięta z grupą B pod opieką matki, a kocięta A i AB na 36 godzin odseparować od matki.

Profilaktyka erytrolizy polega na oznaczaniu grup krwi kotów przed kryciem.

Dotychczas nie wyjaśniono, dlaczego zdarzają się kocięta z antygenami A, które rosną bez problemów i nie chorują. Problem neonatalnej izoerytrolizy odnosi się także do kociąt z grupą krwi AB, chociaż skutki nie są tak ciężkie.

W przypadku przetoczenia krwi niezgodnej grupowo okres życia erytrocytów kocich znacznie się skraca i trwa od kilku godzin do kilku dni, podczas gdy normalna długość życia krwinek czerwonych u kotów wynosi 4–5 tygodni. Transfuzje takie mogą wywołać ostrą reakcję organizmu, szczególnie gdy krew grupy A została (nawet pierwszy raz) zmieszana z krwinkami grupy B.

Wśród kotów rasowych stwierdza się znaczne różnice w częstości występowania określonych grup krwi, z powodu stosowania długotrwałej selekcji skierowanej na różne cechy.

Erytroliza noworodków (choć rzadko) występuje także u psów. Spotyka się ją u szczeniąt suk, które otrzymały dawniej niezgodną grupowo krew, zawierającą antygen DEA 1. Objawy i środki zapobiegawcze są analogiczne jak u kotów. Stałym i istotnym problemem medycyny weterynaryjnej jest pozyskiwanie zwierząt – dawców krwi.

Antygeny krwinkowe zdecydowanej większości układów grupowych są warunkowane pojedynczymi genami, które dziedziczą się niezależnie (zgodnie z regułami Mendla). Na podstawie dziedziczenia podstawowych cech antygenowych ustalono trzy zasady dziedziczenia grup krwi:

- 1) osobnik nie może posiadać cech grupowych, które nie występują przynajmniej u jednego z rodziców;
- 2) osobnik homozygotyczny pod względem jednej cechy nie może być potomkiem rodzica-homozygoty pod względem cechy przeciwstawnej;
- 3) każdy potomek musi posiadać po jednym z dwu alleli ojca i matki w każdym układzie grup krwi.

Na podstawie oznaczonych grup krwi można z dużą pewnością ustalić pochodzenie zwierząt.

Przykład 1. Identyfikację zwierzęcia na podstawie oznaczonych grup krwi przeprowadza się, wypisując tzw. formułę antygenową osobnika oraz jego matki i domniemanych ojców (tab. 11.7). Analizę tak zestawionych formuł antygenowych przeprowadza się zgodnie z trzema wyżej wymienionymi zasadami dziedziczenia grup krwi.

Tabela 11.7

Formuła antygenowa cielęcia i jego domniemanych rodziców

Osobnik	Układy grupowe krwi											
	A	B	C	F	J	L	M	S	Z	R	N	T
Matka	-/-	G ['] Y ₂ E ₁ '/-	C ₁ L ['] /R ₁ W	F/V	J/-	L/-	-/-	S/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Potomek	-/-	BI/G ['] Y ₂ E ₁ '	C ₁ L ['] /R ₁ W	F/V	-/-	L/L	-/-	S ['] /-	-/-	-/-	-/-	-/-
Samiec A	-/-	BG ['] K ['] /-	WX ₁ /-	F/F	J/-	-/-	-/-	S ['] /-	Z ₁ /-	-/-	-/-	-/-
Samiec B	-/-	BI/-	C ₁ L ['] /R ₁ W	F/F	-/-	L/-	-/-	S ['] /-	-/-	-/-	-/-	-/-

Potomek (cielę) w układzie grupowym B posiada antygen BI, który mógł odziedziczyć tylko po ojcu (samcu B), ponieważ taki antygen nie występuje ani u matki, ani u samca A. Samiec B ma także antygen R₁W, wykryty u potomka, a nieobecny u matki i samca A. Za wykluczeniem samca A jako domniemanego ojca przemawia również nieobecność u niego antygeny w układzie L, podczas gdy potomek jest homozygotą w parze alleli L/L, które mógł odziedziczyć po heterozygotycznej matce L/- i heterozygotycznym ojcu L/-, tj. samcu B.

Metody immunogenetyczne pozwalają na identyfikację zwierząt, jak też sprawdzanie ich pochodzenia. Dotychczasowe badania wykazały, że niezgodność pochodzenia buhajów po wskazanych rodzicach wynosi średnio 6,7%, a jałówek zarodowych 15,1%. Możliwe

stało się również identyfikowanie bliźniąt monozygotycznych stanowiących niezwykle cenny obiekt badań biologicznych.

Metody immunogenetyczne umożliwiają również stwierdzenie genetycznego podobieństwa lub odrębności ras zwierząt tego samego gatunku. Podobieństwo lub jego brak mają znaczenie przy kreśleniu planów tworzenia nowych ras zwierząt, doskonaleniu istniejących lub przy produkcji mieszańców. Na przykład wykazano, że największe podobieństwo immunogenetyczne w układzie grupowym B u bydła występuje między rasą polską czerwoną i czerwoną duńską, co oznacza, że przy krzyżowaniu przedstawicieli tych dwóch ras nie wystąpi z pewnością efekt heterozji.

Praktyczne wykorzystanie polimorfizmu białek ustroju w hodowli i medycynie

Niezależnie od badań nad określeniem grup krwi, dla celów medycznych i hodowlanych, identyfikuje się również genotypy białek krwi, w tym osocza. Znaczna część białek krwi wykazuje polimorfizm genetyczny, dlatego są one wykorzystywane jako *loci* wspomagające w identyfikacji zwierząt, dla ustalenia ich tożsamości. Wykrycie polimorfizmu hemoglobiny u bydła nasunęło przypuszczenie o możliwym związku między określonym fenotypem hemoglobiny a cechami użytkowymi. W związku z tym, przebadano uwarunkowania genetyczne i dziedziczenie innych białek osocza, takich jak transferryna, ceruloplazmina czy amylaza. Formy polimorficzne tych białek wykrywa się metodą elektroforezy, podczas której każde białko wykazuje charakterystyczną dla siebie ruchliwość w polu elektrycznym, co pozwala na zróżnicowanie genotypów, a następnie genów tych białek.

Zadanie 11.1

Na podstawie formuł antygenowych obejmujących białka erythrocytarne oraz dwa białka polimorficzne krwi, zawartych w tabeli 11.8 i 11.9, należy ustalić zgodność pochodzenia cieląt po wskazanych (domniemanych) rodzicach.

Tabela 11.8

Formuły antygenowe buhajka, matki i wskazanego ojca

Osobnik	Układy grupowe krwi									Wariant transferyny	Wariant hemoglobiny
	A	B	C	FV	J	L	M	SU	Z	Tf	HB
Buhajek	A ₁ /-	BO _x Y ₂ /I ₀	X ₂ /L'	F/V	J ₁ /J ₂	-/-	M ₁ /M ₂	S ₁ /U ₁	Z/Z	A/D ₁	A/B
Matka	-/-	BO _x Y ₂ /I ₀ A'	X ₁ W ₁ /L'	F/F	J ₁ /-	L/-	M ₁ /-	S ₁ /H'	Z/Z	E/D ₁	A/A
Ojciec	A ₁ /-	BQP ₂ /I ₀	X ₂ /J ₂ O ₃	F/V	J ₁ /J ₂	L/-	M ₂ /-	S ₂ /U ₁	Z/-	A/D ₁	B/B

Tabela 11.9

Formuły antygenowe jałówki i domniemanych rodziców

Osobnik	Układy grupowe krwi									Wariant genetyczny	
	A	B	C	FV	J	L	M	SU	Z	Tf	Hb
Jałówka	A ₁ /-	B ₂ O ₃ Y ₂ /I ₀	X ₂ /R ₀ '	F/V	J ₁ /-	-/-	M ₁ /M ₂	S ₁ /U ₂	Z/Z	E/E	A/B
Matka	-/-	B ₂ O ₃ Y ₂ /I ₀ A'	X ₁ W ₁ /R ₀ '	F/F	J ₁ /-	L/-	M ₁ /-	S ₁ /H'	Z/Z	A/E	B/B
Ojciec I	A ₁ /-	BQP ₂ /I ₀	X ₂ /J ₂	F/V	J ₁ /-	L/-	M ₂ /-	H'S ₂ /U ₂	Z/-	A/D ₁	A/B
Ojciec II	A ₁ /A ₁	BO _x P ₁ /I ₀	W ₂ /L'X ₂	F/-	J ₂ /J ₂	-/-	-/-	S ₁ H''/U ₁	Z/-	A/A	A/B

Zadanie 11.2

Na podstawie formuł antygenowych obejmujących białka erytrocytarne oraz dwa białka polimorficzne krwi, zawartych w tabeli 11.10, 11.11, należy ustalić zgodność pochodzenia cieląt po domniemanych rodzicach.

Tabela 11.10

Formuły antygenowe jałówki i domniemanych rodziców

Osobnik	Układy grupowe									Wariant genetyczny	
	A	B	C	FV	J	L	M	SU	Z	Tf	Hb
Jałówka	A ₁ /-	BE ₂ P ₂ /I ₁	X ₂ /L'C ₂	F/V	J ₁ /J ₂	-/-	M ₁ /M ₂	S ₁ /U ₂	Z/Z	A/A	A/A
Matka	-/-	BE ₂ P ₂ /I ₀ A'	X ₁ W ₁ /L'C ₂	F/F	J ₁ /-	L/-	M ₁ /-	S ₁ /H'	Z/Z	A/E	A/B
Ojciec I	A ₁ /-	BQP ₂ /I ₁	X ₂ /J ₂ O ₃	F/V	J ₁ /J ₂	L/-	M ₂ /-	H'S ₂ /U ₂	Z/-	E/E	A/B
Ojciec II	A ₁ /A ₂	BO _x Y ₂ /I ₁ '	X ₂ /C ₁ R ₂	V/-	J ₂ /-	-/-	M ₁ /M ₂	U ₁ /U ₂ S''	Z/-	A/D ₁	B/B

Tabela 11.11

Formuły antygenowe buhajka i domniemanych rodziców

Osobnik	Układy grupowe krwi									Wariant genetyczny	
	A	B	C	FV	J	L	M	SU	Z	Tf	Hb
Buhajek	A ₁ /-	BO _x Y ₂ /I ₀	X ₂ /L'	F/V	J ₁ /J ₂	-/-	M ₁ /M	S ₁ /U ₁	Z/Z	E/D ₁	A/A
Matka I	-/-	BO _x Y ₂ /I ₀	X ₁ W ₁ /L'	F/F	J ₁ /-	L/-	M ₁ /-	S ₁ /H'	Z/Z	A/D ₁	A/B
Matka II	A ₁ /-	BQP ₂ /I ₀	X ₂ /J ₂ O ₃	F/V	J ₁ /J ₂	L/-	M ₂ /-	H'S ₂ /U ₁	Z/-	D ₁ /D ₂	A/B
Ojciec I	A ₂ /-	BO _x Y ₂ /G'	X'/L'	V/V	J ₂ /-	-/-	M ₁ /M	H'/S ₁	Z/-	A/D ₂	A/B
Ojciec II	A ₁ /A ₂	B ₁ T ₂ /I ₀	X ₂ /R ₂	F/F	-/-	-/-	M ₂ /-	U ₁ /S ₁	Z/-	D ₁ /E	A/A

Zadanie 11.3

Na podstawie formuł antygenowych zawartych w tabeli 11.12 należy ustalić pochodzenie prosiąt po domniemanych rodzicach.

Tabela 11.12

Formuły antygenowe knurka i domniemanych rodziców

Osobnik	Grupy krwi								
	A	B	C	E	F	H	K	L	M
Knurek	b/o	ab/-	a/-	de/k	bc/d	a/-	de/f	ghi/kl	d/fg
Locha	p/o	a/ab	b/-	k/mn	bc/-	ab/-	df/e	ij/kl	d/-
Knur	a/b	b/-	a/a	de/op	a/d	a/de	f/de	gh/ij	f/d

Zadanie 11.4

Na podstawie formuł antygenowych zawartych w tabeli 11.13 należy ustalić pochodzenie prosiąt po domniemanych rodzicach.

Tabela 11.13

Formuły antygenowe lochy, knura i prosiąt

Osobnik	Układy grupowe krwi								
	A	B	C	E	F	H	K	L	M
Locha	a/b	a/b	a/-	aef/ijm	a/d	ac/d	abe/cd	a/cde	b/de
Knur	a/-	b/-	a/b	ac/jk	a/c	d/e	ab/efk	i/kl	h/i
Loszka 1	a/-	a/b	a/-	aef/jk	a/c	ac/e	ab/cd	cde/i	h/de
Loszka 2	b/-	b/b	b/-	ac/ijm	a/d	b/d	ab/abe	a/kl	b/i
Loszka 3	a/b	a/-	a/a	ac/aef	a/a	d/e	abe/efk	cde/kl	b/de
Knurek 1	a/a	b/-	a/b	aef/jk	c/d	ac/b	abe/efk	cde/kl	b/i
Knurek 2	a/b	a/b	a/a	ac/k	a/c	ac/e	ab/cd	cde/k	h/Cd
Knurek 3	a/-	b/b	b/-	ac/ijm	a/d	ac/d	ab/abe	a/i	b/h

Zadanie 11.5

Na podstawie formuł antygenowych oraz białek polimorficznych krwi zawartych w tabeli 11.14 należy przeanalizować pochodzenie tryczków po wskazanych rodzicach.

Tabela 11.14

Formuły antygenowe tryczka i domniemanych rodziców

Osobnik	Grupy krwi							Warianty genetyczne	
	A	B	C	D	M	R	XZ	Tf	Hb
Tryczek 1	a/b	ab/g	b/-	a/-	a/bc	a/-	x/z	B/C	A/B
Tryczek 2	b/-	fg/-	-/-	-/-	c/bc	-/-	z/-	C/D	B/B
Maciorka	a/b	ab/fg	a/b	a/-	a/c	o/-	x/z	A/C	B/B
Tryk	b/-	g/-	a/-	-/-	a/bc	a/-	-/-	C/D	B/B

Zadanie 11.6

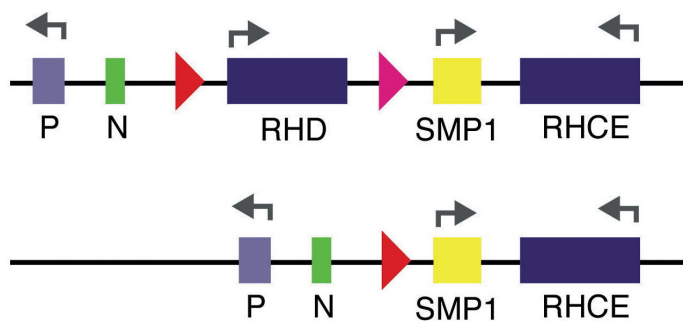
Kotka będąca w ciąży ma grupę krwi A, zaś kocur, ojciec kociąt grupę B. Druga kotka ma grupę krwi B, natomiast kocięta grupę A. Czy w którymś miocie może wystąpić konflikt serologiczny między matką a kociętami, skutkujący śmiercią kociąt, zwany syndromem słabnących kociąt?

Układ grupowy Rh człowieka

Ze wszystkich układów grupowych krwi człowieka układ Rh jest najbardziej skomplikowany, a jego natura przypomina ważne i podobnie złożone układy grupowe krwi innych ssaków. Nazwa układu pochodzi od gatunku małpy *Maccacus rhesus*, u którego w 1940 roku Landsteiner i Wiener odkryli tę grupę krwi. Mają ją wszystkie naczelne. Układ grupowy Rh nie został do końca poznany. Dziedziczy się niezależnie od prostego monogenowego układu ABO.

Czynnik Rh zwany antygenem D jest integralnym białkiem **wyłącznie** błony komórkowej erytrocytów i jest produktem dwóch blisko leżących *loci* (RHD i RHCE) umiejscowionych na chromosomie 1. Największe znaczenie w praktyce przetaczania krwi u ludzi ma antygen D, który nazwano czynnikiem Rh. Antygen D odznacza się szczególną mocą pobudzającą do wytwarzania przeciwciał (silna immunogenność). Czynniki Rh kodowany jest przez *locus* Rh człowieka, w którym znajdują się dwie kopie genu RH przedzielone jedynie genem SMP1 (ang. Small Molecular Protein 1). Kopie te to RHD i RHCE (rys. 11.1).

Gen RHD powstał przez duplikację oraz inwersję genu RHCE. Gen RHD jest flankowany przez dwie konserwatywne sekwencje zwane jako kasety *Rhesus*. Większość Europejczyków posiadających fenotyp RHD(-) ma genotyp, w którym nastąpiła utrata sekwencji (delecja) genu RHD i jednej z kaset *Rhesus* w wyniku niezrównoważonego crossing over. Geny RHD i RHCE kodują białka przezbłonowe o długości 417 aa, przechodzące przez błonę erytrocytu aż 12 razy. Ostatnie wyniki sugerują, że geny układu Rh kodują białka budujące kanały gazowe związane z wymianą CO₂. Różnice alleliczne w *locus* RHCE między allelami Cc i Ee dotyczą tripletów kodujących aminokwasy między aa 103 i 226 peptydu i dotyczą 2 i 4 pętli zewnątrzkomórkowej.



Rys. 11.1. *Locus* RHD i RHCE u człowieka z antygenem D \leftrightarrow Rh(+), powyżej oraz *locus* RHCE człowieka bez antygeny D \leftrightarrow Rh(-), poniżej

W medycynie praktycznej wprowadzono podział ludzi na dwie grupy: Rh(+) i Rh(-); w zależności od obecności w krwinkach antygeny D osoby Rh(-) w ogóle nie posiadają genu D, który uległ delecji (rys. 11.1). Osoby DD oraz D- są Rh(+), zaś osoby - - są Rh(-). Wśród ludności rasy białej osoby Rh(+) stanowią około 85%, a Rh(-) około 15% populacji.

Locus RHD zawiera jedynie allel **D**, natomiast *locus* RHCE posiada allele: **C**, **c** oraz **E**, **e**. Wskutek crossing over zachodzącego między tymi dwoma sprzężonymi *loci*, a właściwie trzema (CcEeD-) teoretycznie może istnieć 8 rodzajów gamet: Cd-, cDe, ce-, CDE, cDE, cE-, CE-, CDE oraz 64 genotypy. Jednakże pewnych genotypów nie spotyka się w populacji ludzkiej.

Antygeny układu Rh są polipeptydami związanymi z resztami kwasu palmitynowego. Wykazują znaczne podobieństwo składu aminokwasowego, a ich swoistość warunkują pojedyncze, różniące je aminokwasy. Ponadto, cząsteczki układu Rh wiążą się silnie z białkami cytoszkieletu erytrocytów oraz z antygenami układu ABO, a także z epitopami innych układów grupowych (LW, Ss, U).

Najczęściej występujące fenotypy i genotypy w populacji polskiej przedstawiono poniżej w tabeli 11.15.

Tabela 11.15

Najczęściej występujące fenotypy i genotypy układu Rh w Polsce

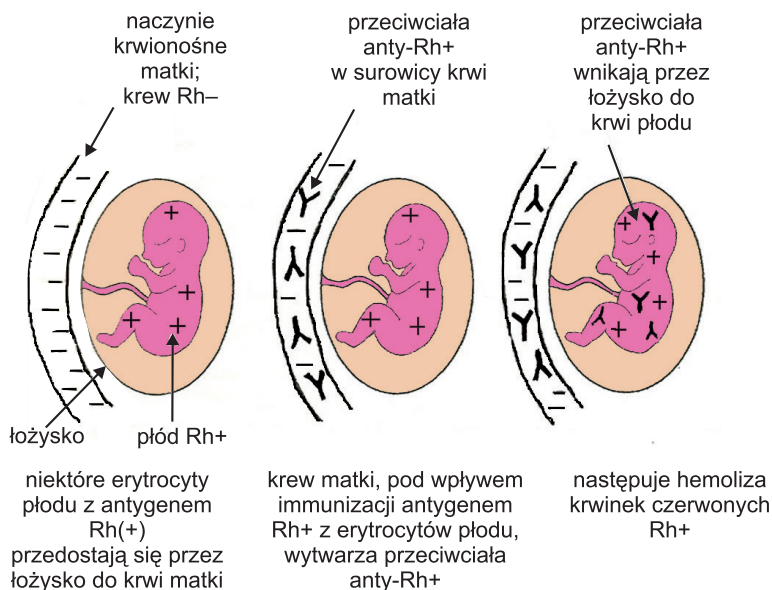
Lp.	Fenotyp	Najczęstszy genotyp	Częstość występowania %
1	CcDee	CeD/ce-	37
2	CCDee	CDe/CDe	17
3	ccddee	Ce-/ce-	17
4	ccDEe	cDE/ce-	13
5	CcDEe	CDe/cDE	10
6	ccDee	cDE/ce-	3
7	ccDEE	cDE/cD	2
8	Cc--Ee	Ce-/ce-	0,8
9	cc--Ee	cE-/ce-	0,2

Układ Rh(-) pojawił się jako mutacja w Europie ok. 25–35 tys. lat temu, obecnie ma ten układ ok. 16% Europejczyków (najczęściej spotykany wśród **Basków** – ok. 35% populacji). Układ Rh(-) występuje bardzo rzadko u rdzennych mieszkańców innych kontynentów (którzy nie mają przodków Europejczyków) – ma go zaledwie 9 na 10 000 osób w Afryce i 1 na 10 000 na pozostałych kontynentach. Spośród mieszkańców USA ok. 15% osób ma układ Rh(-), gdyż wielu z nich posiada korzenie europejskie (układ ten występuje np. u ok. 5–10% Afroamerykanów). Genotyp D- ma ok. 40–45% Europejczyków, 3% rdzennych Afrykańczyków i mniej niż 1% rdzennych mieszkańców Azji, Ameryki i wysp Pacyfiku.

Zarówno osoby Rh(+), jak i Rh(-) nie mają naturalnych przeciwciał w osoczu. Przeciwciała układu Rh posiadają charakter odpornościowy i powstają w ustroju w następstwie przetaczania krwi grupy Rh(+) osobom Rh(-) albo w przypadku immunizacji matki Rh(-) antygenem płodu Rh(+). Przeciwciała układu Rh są immunoglobulinami klasy IgG i mają zdolność przechodzenia przez łożysko. Ten fakt jest przyczyną konfliktu serologicznego (*Morbus haemolyticus neonatorum*) – zwanego też konfliktem w układzie Rh.

Konflikt serologiczny Rh jest następstwem reakcji immunologicznej, jaka zachodzi między antygenami krwinek czerwonych płodu o grupie krwi Rh(+) a przeciwciałami anty-Rh(+) zawartymi w surowicy krwi matki o grupie krwi Rh(-) (rys. 11.2). Krwinki płodu przechodzące przez łożysko dostają się do krążenia matki, stymulując w surowicy jej krwi powstawanie przeciwciał anty-Rh. Przeciwciała anty-Rh, przechodząc przez łożysko, wnikają do krwiobiegu płodu, wiążą się z jego erytrocytami, powodując opłaszczenie krwinek. Krwinki z zaadsorbowanymi przeciwciałami dostają się do śledziony i ulegają hemolizie najczęściej na drodze immunofagocytozy. Hemoglobina ulega przemianie do bilirubiny, która pokonując barierę krew-mózg, wnika do jąder podstawy mózgu i kory mózgowej, wywołując żółtaczkę jąder podstawy mózgu (*kernikterus*). Zmiany takie są już nieodwracalne. W zależności od poziomu bilirubiny w surowicy krwi noworodka wyróżnia się kilka postaci choroby hemolitycznej noworodków, której towarzyszą różnego stopnia objawy żółtaczki, niedokrwistości oraz obrzęki płodu. Oprócz pojęcia konfliktu serologicznego istnieje również pojęcie **niezgodności serologicznej**, czyli niezgodności antygenowej między matką i płodem, na którą to niezgodność matka nie reaguje wytwarzaniem przeciwciał dopóty, dopóki krwinki płodu nie przedostaną się do krwiobiegu matki i nie rozpoczną immunizacji jej ustroju.

Okolo 90% kobiet Rh(-) nie wytwarza przeciwciał podczas pierwszej ciąży, jeżeli wcześniej nie miały przetaczanej krwi Rh(+). Dziecko Rh(+) urodzone z takiej ciąży nie jest zagrożone chorobą hemolityczną.



Rys. 11.2. Konflikt serologiczny związany z układem Rh (wg Drewy i wsp., 1995; zmodyfikowane)

Zadanie 11.7

Przyszli rodzice są zaniepokojeni, ponieważ ojciec ma grupę krwi Rh(-), zaś matka Rh(+). Sądzą, iż między matką a płodem wystąpi konflikt serologiczny. Czy ich obawy są uzasadnione?

Zadanie 11.8

Młoda kobieta o grupie Rh(-) spodziewa się pierwszego dziecka. Jej mąż ma grupę krwi Rh(+). Czy istnieje zagrożenie dla ich pierwotnego dziecka?

Zadanie 11.9

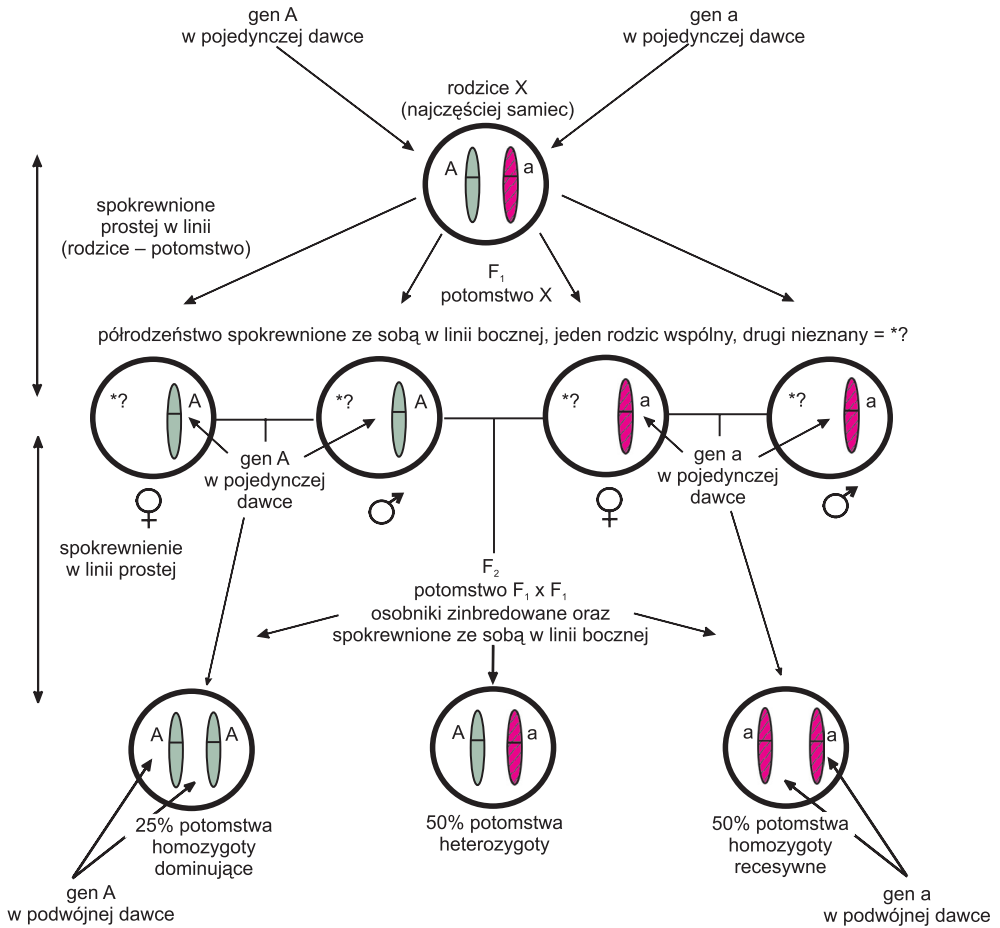
Czy w rodzinie złożonej z rodziców oraz dwojga dzieci, uwzględniając dwa układy grupowe krwi (ABO oraz Rh), może zaistnieć taka sytuacja, iż połowa z jej członków ma grupę krwi O,Rh(+), zaś pozostali A, Rh(-)?

12

Pokrewieństwo i podobieństwo genetyczne. Ryzyko ujawnienia się chorób i anomalii dziedzicznych wskutek inbredowania. Analiza rodowodów

W medycynie weterynaryjnej bardzo ważna jest umiejętność analizowania rodowodów zwierząt, z uwagi na częste pochodzenie zwierząt z hodowli krewniaczej. Zwierzęta hodowlane, amatorskie oraz laboratoryjne są dobierane do rozrodu przez człowieka, nie zaś na drodze doboru naturalnego. Dobór sztuczny, który uwzględnia możliwość stosowania chowu w pokrewieństwie, może mieć wiele pozytywnych konsekwencji hodowlanych, ale w odniesieniu do zdrowia zwierząt także negatywnych. Hodowla krewniacza nazywa się inbridingiem (od ang. inbreeding – kojarzenie w pokrewieństwie). Łączenie zwierząt w pokrewieństwie musi zawsze łączyć się z ostrą selekcją ich potomstwa. Z jednej strony ma to na celu wybór na rodziców następnego pokolenia najlepszych zwierząt, z drugiej – wybrakowanie z hodowli zwierząt słabych lub obciążonych genetycznie efektem ujawnienia się genów niekorzystnych (głównie recesywnych) bądź depresją inbredową.

Istotą pokrewieństwa jest podobieństwo genetyczne, czyli posiadanie przez osobniki spokrewnione takich samych (i tych samych) genów, odziedziczonych od ich wspólnego przodka lub przodków. W wyniku łączenia ze sobą osobników spokrewnionych, u ich potomstwa (określonego jako zinbredowane), wzrasta prawdopodobieństwo spotkania się w parach alleli tych samych genów. Efektem jest zwiększenie się w genotypie potomka udziału par homozygotycznych, który łączy się z ryzykiem ujawnienia się schorzeń genetycznych uwarunkowanych genami recesywnymi (rys. 12.1). Dobór naturalny, który preferuje w rozrodzie kojarzenia losowe (łączenie osobników niespokrewnionych), zmniejsza ryzyko rodzenia się homozygot i w ten sposób preferuje udział w potomstwie heterozygot, których genotypy nie ujawniają chorób recesywnych, a ponadto są bardziej plastyczne i osiągają przewagę selekcyjną w procesie adaptacji zwierząt.



W F₂ udział par homozygotycznych w puli genowej każdego osobnika jest połową spokrewnienia jego rodziców

Rys. 12.1. Schemat określający pokrewieństwo między osobnikami oraz konsekwencje łączenia osobników spokrewnionych (potomstwo inbredowane). Znak: *? oznacza chromosom homologiczny, pochodzący od drugiego rodzica, nieistotny w omawianych zależnościach

W przypadku wystąpienia u zwierzęcia hodowlanego symptomów wady rozwojowej lub schorzenia o nietypowych objawach lekarz weterynarii powinien przeprowadzić analizę rodowodów obojga rodziców pacjenta, w celu stwierdzenia ich ewentualnego pokrewieństwa i oszacowania stopnia zimbredowania pacjenta. Poziom inbrodu osobnika może mieć bowiem bezpośredni związek z przejawami choroby, najczęściej autosomalnej recesywnej. Analiza rodowodów powinna być oparta na szczegółowym wywiadzie i badaniu członków rodzin, a także spokrewnionych ze sobą szczepów, gniazd oraz stad.

Rodowód jest to usystematyzowany zapis przodków i krewnych badanego osobnika, zwanego probantem i stanowi nieoceniony zasób informacji o jego przodkach. Z danych zawartych w rodowodach można pozyskać informacje (lub wysnuć wnioski), jakiego rodzaju schorzenia dziedziczne występowały dotychczas w rodzinie probanta. Choroba występująca rodzinnie może mieć charakter monogenowy, sprzężony z płcią, bądź poligenowy o warunkowaniu wieloczynnikowym, może dziedziczyć się w sposób recesywny, dominujący albo inny. W razie braku odpowiednich zapisów w rodowodzie należy wziąć pod uwagę, iż schorzenie może być także efektem mutacji *de novo*, co jest charakterystyczne dla schorzeń dominujących. Rodowód pozwala prześledzić zależności między krewnymi, analizować ich stopień spokrewnienia i podobieństwo genetyczne. Kojarzenie osobników spokrewnionych powoduje u ich potomstwa wzrost stopnia inbrodu, zależny proporcjonalnie od wielkości spokrewnienia jego rodziców. Istniejąca w niektórych dużych populacjach zwierząt (szczególnie dzikich) naturalna niewielka homozygotyczność jest efektem działania selekcji naturalnej.

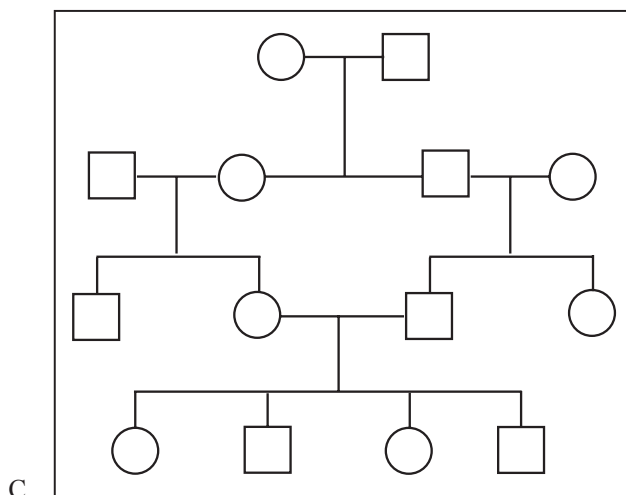
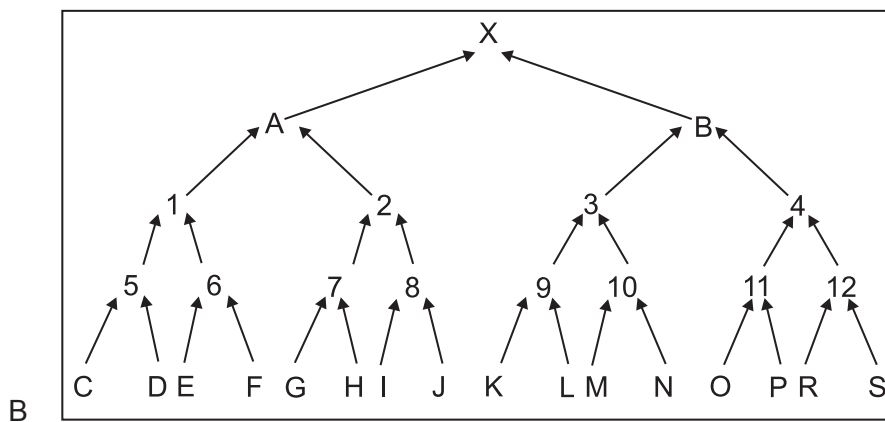
Inbred potomka rodziców spokrewnionych ze sobą określa stosunek liczby par genów homozygotycznych osobnika w stosunku do wszystkich par genów jego genotypu. Inbred potomka możliwy jest do oszacowania dzięki opracowaniu specjalnych wzorów matematycznych. Wartość inbrodu danego osobnika jest ułamkiem o znaku dodatnim, którą można wyrazić w procentach. Ogólna homozygotyczność genotypu zwierzęcia hodowlanego jest sumą jego poziomu inbrodu, homozygotyczności osiągniętej na drodze selekcji sztucznej oraz homozygotyczności, której źródłem jest selekcja naturalna.

Badania w kierunku szacowania ryzyka genetycznego myszy rozmnażanych stale w pokrewieństwie wykazały, iż razem ze wzrostem poziomu inbrodu, w kolejnych pokoleniach potomnych myszy, ujawniało się znacznie więcej chorób recesywnych autosomalnych niż dominujących, odpowiednio: 222 (63%) i 194 (37%). W populacji ludzkiej odpowiednie wartości przedstawiały się odmiennie: choroby recesywne autosomalne 626 (30%), a dominujące 1442 (70%). Można z tych danych wnosić, iż w genomie człowieka znajduje się jeszcze wiele dotychczas nieznanymi i nie zidentyfikowanymi genów warunkujących schorzenia recesywne autosomalne, które nie ujawniają się wskutek unikania przez ludzi małżeństw w pokrewieństwie i łączeniu się w pary rodzicielskie w oparciu o dobór naturalny, który sprzyja heterozygotyczności genotypów potomstwa.

W polskiej dokumentacji najczęściej używa się rodowodów tabelarycznych (rys. 12.2), (przykład A), strzałkowych (przykład B) bądź schematów (przykład C).

A

X – PROBANT															
A								B							
1		2				3				4					
5	6	7	8	9	10	11	12								
C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S



Rys. 12.2. Rodowód tabelaryczny (A), strzałkowy (B) oraz w formie schematu (C), na którym kwadraty oznaczają samca, a koła – samice

Na podstawie rodowodu można oszacować wartość spokrewnienia między wszystkimi osobnikami występującymi w rodowodzie zarówno w linii prostej, jak i bocznej, a jeśli probant lub inny osobnik są produktami kojarzenia krewniczego, można oszacować ich współczynniki inbredu.

Przykład 1

X															
5							6								
1				2				3				4			
N		O		P		R		S		T		U		W	
B	C	D	A♣	E	F	G	A♣	H	I	J	A♣	K	L	M	A♣

Rys. 12.3. Proband X jest zimbredowany, ponieważ po stronie ojcowskiej i matczynej rodowodu X powtarza się przodek A. Oprócz X zimbredowane są także osobniki 5 i 6

Przykład 2

Z															
1							2								
S				T				U				W			
L		M		N		D■		O		P		R		D■	
A	E	B♥	F	8	C▲	H	I	B♥	J	K	C▲	3	4	H	I

Rys. 12.4. Proband Z jest zimbredowany, gdyż przodkowie D,B,C występują po obu stronach jego rodowodu

Przykład 3

Y															
A							B								
C				D				E				F			
G		H		I		J		K		L♦		M		L♦	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	11	12

Rys. 12.5. Osobnik Y nie jest zimbredowany, ponieważ żaden z jego przodków nie powtarza się po obu stronach jego rodowodu. Zimbredowany jest natomiast osobnik B, ponieważ po obu stronach jego rodowodu występuje ten sam osobnik L

Wskaźnik (współczynnik) pokrewieństwa jest miarą genetycznego podobieństwa między dwoma spokrewnionymi osobnikami. Spokrewnienie może być spowodowane pochodzeniem od jednego lub kilku wspólnych przodków. Współczynnik pokrewieństwa określa, jaka część (procent) genów (ale nie par genów) obu spokrewnionych osobników jest wspólna przez pochodzenie. Innymi słowy, wskaźnik pokrewieństwa wyraża prawdopodobieństwo, z jakim wspólne przez pochodzenie geny jednego osobnika występują wśród genów drugiego osobnika. Nie oznacza to oczywiście, że dowolne geny, które są identyczne

u różnych zwierząt, wskazują automatycznie na ich spokrewnienie. Dla przykładu, świnie rasy wielkiej białej polskiej (wbp) mają identyczne geny umaszczenia (wszystkie są dominująco białe), nie znaczy to jednak, że dowolne dwa osobniki tej rasy są ze sobą spokrewnione na przestrzeni ostatnich trzech (rodowód płytki) bądź pięciu (rodowód głęboki) pokoleń.

Zadanie 12.1

Opracuj rodowód, w którym probant jest inbredowany i jeden z jego rodziców także.

Zadanie 12.2

Przedstaw rodowód, w którym rodzice probanta są inbredami oraz są ze sobą spokrewnieni przez dwóch wspólnych przodków.

Zadanie 12.3

Narysuj rodowód, w którym probant jest produktem kojarzenia dziadka z wnuczką.

Zadanie 12.4

Rodzice probanta są inbredowani, lecz nie są ze sobą spokrewnieni. Czy probant jest inbredem?

Zadanie 12.5

Probant W jest potomkiem rodziców, którzy byli kuzynostwem. Jego rodowód płytki obejmuje tylko dwa pokolenia przodków. Czy analiza jego rodowodu pozwoli na nazywanie go osobnikiem zinbredowanym? Narysuj rodowód i odpowiedz na pytanie.

Zadanie 12.6

Narysuj rodowód, w którym probant jest potomkiem a) półkuzynostwa, b) kuzynostwa.

Zadanie 12.7

Narysuj rodowody, w których probant a) jest produktem kojarzenia pełnego rodzeństwa oraz b) półrodzeństwa.

13

Obliczanie współczynników pokrewieństwa i inbredu

Obliczanie współczynnika pokrewieństwa

Do oszacowania współczynnika pokrewieństwa przydatne są dwa pojęcia spokrewnienia: w linii prostej oraz w linii bocznej. Przykładem spokrewnienia w linii prostej jest spokrewnienie potomstwa z rodzicami lub dziadkami. Natomiast relacje między rodzeństwem, półrodzeństwem, kuzynostwem są przykładem spokrewnienia w linii bocznej.

W przypadku spokrewnienia w linii prostej (gdy jeden osobnik jest przodkiem drugiego) współczynnik pokrewieństwa między nimi oblicza się wg wzoru:

$$R_{XA} = \Sigma 0,5^n \quad (13.1)$$

gdzie: n – oznacza liczbę pokoleń dzielących przodka A od jego potomka X, a znak Σ (sigma) – sumowanie wartości ścieżek łączących osobniki A oraz X.

Wzór na oszacowanie spokrewnienia w linii bocznej (spokrewnienie kolateralne) przedstawia się następująco:

$$R_{XY} = \Sigma 0,5^{(n_1 + n_2)} \quad (13.2)$$

gdzie: R_{XY} jest współczynnikiem pokrewieństwa boczego między dwoma osobnikami oznaczonymi symbolami x i y; Σ oznacza sumowanie wartości ścieżek w przypadku, gdy spokrewnienie zachodzi przez większą liczbę przodków, lub gdy jeden przodek powtarza się w rodowodzie innego kilkakrotnie; n_1 oraz n_2 oznacza liczbę pokoleń od osobników X oraz Y do ich wspólnego przodka lub przodków.

Przykład 1. Obliczyć współczynnik pokrewieństwa między probantem X i jego przodkiem A (rys. 13.1).

X							
9				F			
7		8		E		B	
1	2	3	4	5	A♥	6	A♥

Rys. 13.1. Rodowód osobnika z przykładu 1

Osobniki X i A łączą dwie ścieżki:

- 1) A - E - F - X $n = 3$ (liczba pokoleń); wartość ścieżki = $0,5^3$
- 2) A - B - F - X $n = 3$ (liczba pokoleń); wartość ścieżki = $0,5^3$

Podstawiając wartości ścieżek do wzoru na spokrewnienie w linii prostej, otrzymujemy: $R_{XA} = 0,5^3 + 0,5^3 = 0,125 + 0,125 = 0,250 \times 100\% = 25\%$

Odpowiedź. Osobniki X oraz A są ze sobą spokrewnione w 25%. Oznacza to, że w puli genowej osobnika X znajduje się 25% genów osobnika A (przodka X). Inaczej sprawę ujmując, można stwierdzić, iż te dwa osobniki (X i A) mają 25% genów wspólnych przez pochodzenie. Chociaż osobnik A jest tylko pradiadkiem X, wartość wskaźnika pokrewieństwa jest taka, jak gdyby był jego dziadkiem (25%). Wynika to z faktu, iż pradiadek A występuje dwa razy w rodowodzie X, raz jako ojciec babki, a raz jako ojciec dziadka. Świadczy to o spokrewnieniu dziadków probanta X – byli oni półrodzeństwem, a ojciec X wskutek spokrewnienia swoich rodziców był osobnikiem zimbredowanym. Jednak probant X nie jest inbredem, ponieważ jego rodzice (9 i F) nie są ze sobą spokrewnieni.

Przykład 2. Obliczyć współczynnik pokrewieństwa między osobnikami X oraz Y, których płytkie rodowody przedstawia rysunek 13.2.

X				Y			
A		B●		G		H	
C	D	E	F	I	J	K	B●

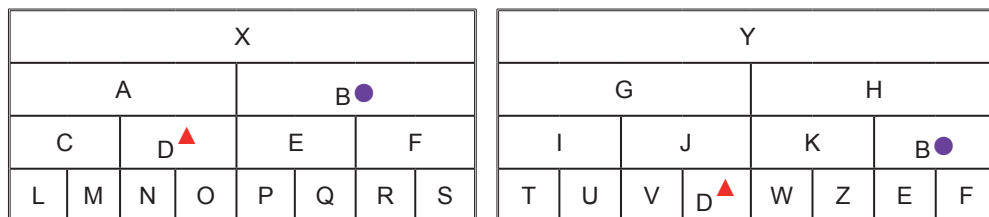
Rys. 13.2. Rodowody płytkie osobników z przykładu 2

Osobniki X oraz Y łączy ścieżka przez B: X - B - H - Y (od X do B idziemy w tył, a od B do Y w przód), o wartości: $n_1 + n_2 = 3$, czyli: $R_{XY} = 0,5^3 = 0,125 \times 100\% = 12,5\%$

Odpowiedź. Osobniki X oraz Y są ze sobą spokrewnione w 12,5%. Oznacza to, że mają w swych genotypach 12,5% genów wspólnych przez pochodzenie.

Przykład 3. Rysunek 13.3 przedstawia rodowody osobników z przykładu 2 z dołączonym jeszcze jednym pokoleniem przodków. Teraz osobniki X i Y łączą dwie ścieżki: pierwsza jak poprzednio przez **B**: X - B - H - Y, z $n_1+n_2=3$, a druga przez **D**: X - A - D - J - G - Y, z $n_1+n_2=5$; a zatem:

$$R_{XY} = 0,5^3 + 0,5^5 = 0,125 + 0,0312 = 0,1562 \times 100\% = 15,62\%$$



Rys. 13.3. Rodowody do przykładu 3

Odpowiedź. Osobniki X oraz Y mają w sumie 15,62% genów wspólnych przez pochodzenie. Wynika ono ze spokrewnienia obu osobników (X i Y) z ich wspólnymi przodkami – osobnikami B (12,5%) oraz D (3,12%). Dla X osobnik B jest jego ojcem, zaś D dziadkiem ze strony matki, natomiast dla Y – B jest jego dziadkiem ze strony ojca, a D pradziadkiem ze strony matki. Wynika z tego, że im przodek znajduje się w rodowodzie dalej od probanta (dalej D niż B), tym mniejszy wpływ genetyczny wywiera na niego.

Zadanie 13.1

Rodzice probanta Z (X i Y) są ze sobą spokrewnieni przez B, rodzic X w pokoleniu 1, a rodzic Y w pokoleniu 2. Narysuj rodowód i oblicz R_{XY} .

Zadanie 13.2

Osobniki X i Y są ze sobą spokrewnione w 1 pokoleniu przodków przez W, w pokoleniu 2 przez T (niebędącego ojcem W), zaś w pokoleniu 3 przodek T występuje jako pradziadek Y i X ze strony ich matek. Narysuj rodowód i oblicz R_{XY} .

Zadanie 13.3

Skojarzono kuzynostwo. Oblicz wskaźnik pokrewieństwa między nimi. Czy ich potomek będzie inbredem?

Obliczanie współczynnika inbrodu

Kojarzenie osobników ze sobą spokrewnionych nazywa się kojarzeniem krewniaczym lub hodowlą wsobną. Osobniki ze sobą spokrewnione przekazują do swych gamet pewną część genów identycznych przez pochodzenie. Po połączeniu się gamet, w zygocie w pewnej części *loci* powstają homozygotyczne układy złożone z genów takich samych,

odziedziczonych od wspólnego przodka obu partnerów płciowych (rys.12.1). Współczynnik inbrodu określa poziom uzyskanej w ten sposób homozygotyczności, wyraża zatem względną intensywność chowu w pokrewieństwie. Im bliżej spokrewnieni są ze sobą partnerzy płciowi, tym wyższy jest wskaźnik inbrodu ich potomstwa.

Wysoki poziom homozygotyczności można osiągnąć także na drodze długotrwałej selekcji skierowanej na określoną cechę bądź cechy, szczególnie w mało licznej populacji. Tego rodzaju homozygotyczności nie można oszacować, stosując niżej podany wzór. Do tego celu stosuje się inne metody (biochemiczne, immunogenetyczne, biologii molekularnej).

Współczynnik inbrodu F osobnika X można wyliczyć ze wzoru:

$$F_X = 0,5 R_{OM} \quad (13.3)$$

gdzie: R_{OM} oznacza współczynnik pokrewieństwa rodziców osobnika X .

Z powyższego wzoru wynika, iż wartość wskaźnika inbrodu potomka (F_X), jest połową wskaźnika spokrewnienia jego rodziców (R_{OM}).

Jeśli nie znamy współczynnika pokrewieństwa rodziców osobnika zimbredowanego, wartość jego wskaźnika inbrodu można oszacować wg wzoru:

$$F_X = \Sigma 0,5^{n_1 + n_2 + 1} \quad (13.4)$$

gdzie: n_1 i n_2 oznacza odpowiednio liczbę pokoleń dzielących wspólnego przodka od ojca i matki osobnika X (ich potomka); znak Σ oznacza sumowanie wszystkich ścieżek, po których płynęły geny od wspólnych przodków do rodziców osobnika X .

Przykład 1. Osobniki X i Y z rysunku 13.2 są ze sobą spokrewnione przez wspólnego przodka B , więc ich potomek Z będzie zimbredowany. Osobniki X i Y są spokrewnione w 12,5%. Gdy podzielimy ten wynik na pół zgodnie ze wzorem nr 13.3, otrzymamy wartość inbrodu ich potomka $Z = 6,25\%$. Jeśli zaś skorzystamy ze wzoru nr 4, musimy wykreślić ścieżkę taką samą jak przy obliczaniu spokrewnienia osobników X i Y (rodziców Z) przez $B : X-B-H-Y$, z której wynika, że $n_1 + n_2 = 3$, zatem współczynnik inbrodu ich potomka Z wynosi:

$$F_Z = \Sigma 0,5^{n_1 + n_2 + 1} = 0,5^{1+2+1} = 0,5^4 = 0,0625 \times 100\% = 6,25\%$$

Analizując powyższe działanie, widzimy, iż wzór 13.4 w porównaniu ze wzorem 13.2 zawiera w potęgę dodaną jedynkę ($n_1 + n_2 + 1$), co powoduje, iż wynik spokrewnienia rodziców wynikający z sumowania ścieżek ($n_1 + n_2$) jest od razu dzielony na pół. Zatem, jeśli posiadamy wartość wskaźnika spokrewnienia rodziców, inbred potomka łatwiej jest wyliczyć ze wzoru 13.3, jeśli zaś nie wiemy, jaka jest wartość spokrewnienia rodziców, wówczas inbred ich potomka lepiej jest wyliczyć ze wzoru 13.4.

Odpowiedź. Osobnik Z jest zimbredowany w 6,25%. Oznacza to, że osobnik Z na 100% wszystkich par genów w swym genotypie (układów allelicznych) – posiada 6,25% par genów homozygotycznych, powstałych wskutek istnienia pokrewieństwa między jego

rodzicami ze względu na przodka B. Jest to miara względna, bowiem bezwzględna homozygotyczność osobnika Z jest na pewno wyższa, gdyż powyższe obliczenia nie uwzględniają homozygotyczności osobnika osiągniętej po wpływie selekcji sztucznej (zootechnicznej, stosowanej u zwierząt domowych) oraz naturalnej, która działa zawsze i niezależnie od pozostałych czynników.

Przykład 2. Jeśli skojarzymy osobniki X i Y z rysunku 13.3, wówczas ich potomek Z będzie zimbredowany. Wartość spokrewnienia rodziców Z (X oraz Y) wynosi 15,62%, tak więc połowa tej wartości (wg wzoru nr 13.3) to 7,81%. Jeśli wartość spokrewnienia osobników X i Y nie jest znana, należy wykreślić ścieżki łączące osobniki X i Y ze wspólnymi przodkami B i D. Dla przodka B wartości ścieżek $n_1 + n_2 = 1 + 2 = 3$, natomiast wartość ścieżki łącząca X i Y z przodkiem D wynosi $2 + 3 = 5$. Zatem podstawiając dane do wzoru, otrzymujemy:

$$F_Z = 0,5 R_{XY} = 0,5^{3+1} + 0,5^{5+1} = 0,0781 \times 100\% = 7,81\%$$

Odpowiedź. Wynik uzyskany na podstawie wzoru nr 3 jest analogiczny jak na podstawie wzoru nr 13.4: wartość wskaźnika inbrodu osobnika Z wynosi 7,81%, co oznacza, że w jego genotypie na 100% par genów – 7,81% to pary homozygotyczne.

Zadanie 12.4

Samica A i samiec B są ze sobą spokrewnieni przez wspólnego przodka (samca) C, który występuje w 3 pokoleniu przodków osobnika A po stronie ojcowskiej i dwukrotnie w 4 pokoleniu przodków osobnika B po stronie matczynej. Narysuj rodowód i oblicz inbred potomka A i B.

Zadanie 12.5

Osobnik A ma matkę B i ojca C. Prababka B i C nazwana L występuje dwukrotnie w rodowodzie B i raz w rodowodzie C, nie powodując ich zimbredowania. Pradziadek B i C nazwany H występuje dwukrotnie w rodowodzie C i raz w rodowodzie B, także nie powodując ich zimbredowania. Narysuj rodowód A i oblicz F_A . Które osobniki występujące w tym rodowodzie są również zimbredowane? Oblicz ich wskaźniki inbrodu.

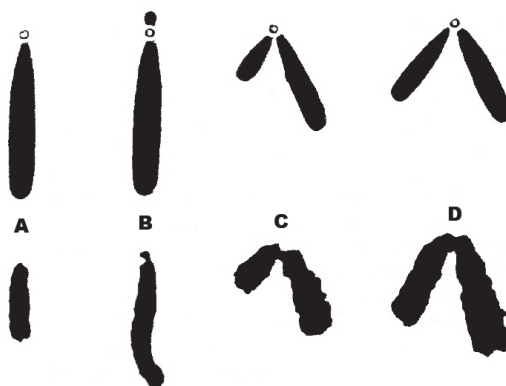
Zadanie 12.6

Oblicz wskaźniki inbrodu osobników X i Y, których rodowody znajdują się na rysunku 13.3.

14

Laboratorium cytogenetyczne. Analiza prawidłowych kariotypów zwierząt

Cytogenetyka jest działem genetyki zajmującym się badaniem chromosomów, zarówno ich kształtu, składu, jak i liczby. Chromosomy mogą być morfologicznie zróżnicowane (rys. 14.1).

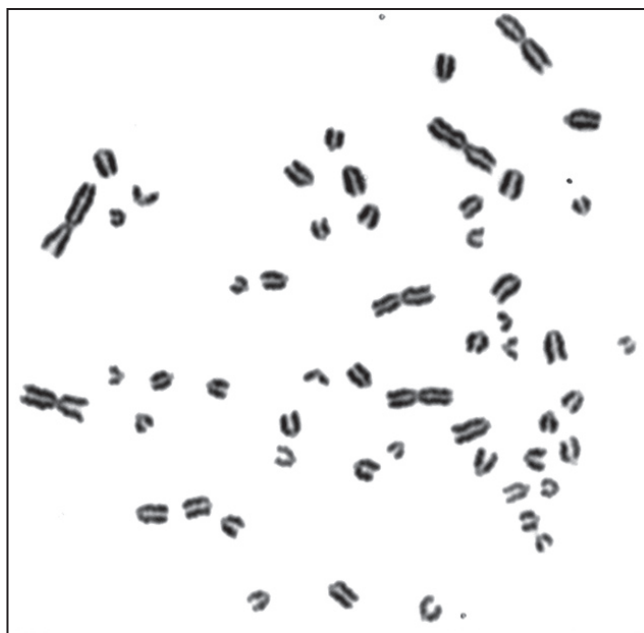


Rys. 14.1. Typy morfologiczne chromosomów zwierząt: A – telocentryczny, B – akrocentryczny, C – submetacentryczny, D – metacentryczny

Wykonanie klasycznego badania cytogenetycznego opiera się na wyhodowaniu *in vitro* komórek, których chromosomy będą następnie poddane badaniu. Najczęściej są to limfocyty krwi obwodowej, amniocyty, komórki guza, rzadziej fibroblasty. W metafazie mitozy chromosomy są najbardziej skondensowane, przygotowane do podziału komórki i przez to najlepiej widoczne pod mikroskopem. W celu zatrzymania podziałów komórkowych na etapie metafazy – do hodowli dodaje się kolchicynę bądź jej pochodne. Powoduje to zahamo-

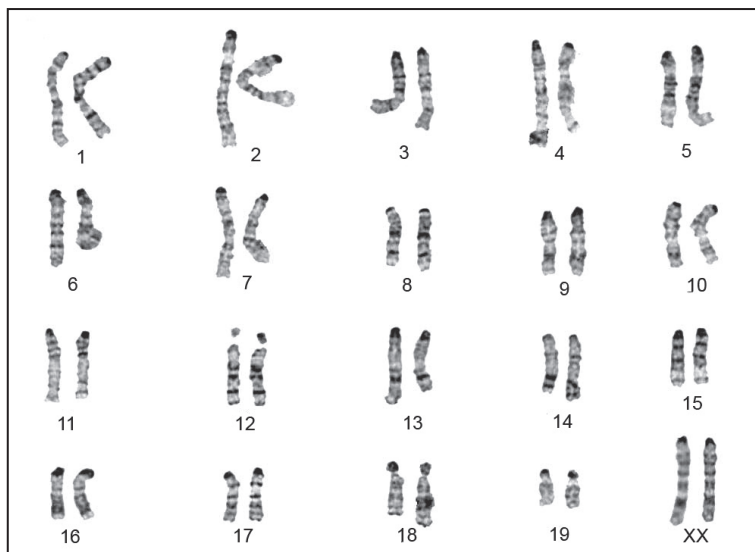
wanie tworzenia wrzeciona kariokinetycznego. Następnie komórki są utrwalane, barwione w formie preparatu na szkiełku mikroskopowym i fotografowane w formie **kariotypu**. Kariotypem określa się sumę wszystkich chromosomów komórki, o charakterystycznej dla danego gatunku liczbie i morfologii rozrzucone na płycie metafazowej (fot. 14.1).

Po sfotografowaniu wybarwionych, rozrzuconych na płytkach metafazowych chromosomów, przystępuje się do ułożenia **kariogramu** z wyciętych z fotografii chromosomów (fot. 14.2). Kariogram jest obrazem zespołu chromosomów jednej komórki somatycznej, uszeregowanych systematycznie według ich długości oraz położenia centromeru. Sporządzanie kariogramu odbywa się, stosując kryteria klasyfikacji chromosomów przyjęte dla poszczególnych gatunków zwierząt.



Fot. 14.1. Kariotyp: płytka metafazowa muflona (*Ovis musimon*) (Tomaszewska, 2008)

Dużym ułatwieniem w analizie cytogenetycznej było opracowanie międzynarodowych wzorców chromosomów w formie idiogramów. Jest to graficzne przedstawienie kariogramu, w którym każdy chromosom jest wyprostowany, co pokazuje całą jego długość. Położenia centromeru, przewężeń oraz satelity zaznacza się w umowny sposób. W idiogramie przedstawiony jest jeden chromosom z każdej pary oraz chromosomy X i Y. Metodą pozwalającą na dokładne analizowanie chromosomów oraz ujawnienie nawet niewielkich nieprawidłowości w ich strukturze jest technika polegająca na ujawnieniu obecności poprzecznych prążków wynikających z ich składu. W zależności od użytej techniki wyróżnia się następujące rodzaje prążków: G, R, Q oraz C. Wzór wyznaczony położeniem określonych prążków w ramieniu chromosomu jest stały i specyficzny dla poszczególnych par chromosomów homologicznych. W wyniku barwienia uzyskuje się obraz ciemniejszych i jaśniejszych prążków, charakterystyczny dla danego chromosomu.



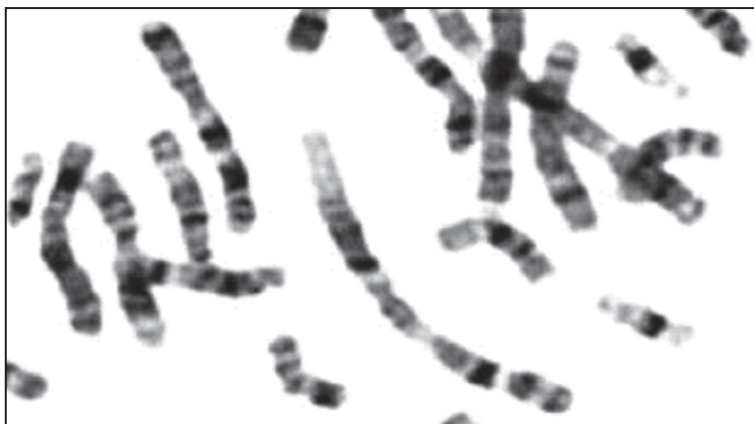
Fot. 14.2. Prawidłowy kariogram myszy (*Mus musculus*) $2n = 40$ (wg Wikipedii; GNU Free Documentation License ver. 1.2. Free Software Foundation)

Wzory prążkowań są wynikiem wybarwienia zróżnicowanych fragmentów chromosomu, w których występuje bądź odmienny skład DNA, bądź inny stopień powiązania DNA z białkami, albo różna kondensacja chromatyny. Na przykład, odcinki zwane heterochromatyną są utworzone z chromatyny bardzo silnie skondensowanej, które mogą w pewnych fazach życia niektórych komórek przechodzić w postać euchromatyny, czyli chromatyny zdekondensowanej. Inne odcinki heterochromatyny, zwane heterochromatyną fakultatywną lub chromatyną zwartą, przyjmują postać silnie skondensowaną tylko okresowo.

W zależności od metody barwienia odcinki heterochromatyny barwią się silniej lub słabiej niż odcinki euchromatyny. Na przykład, przy badaniu na prążki G (najczęściej stosowana forma barwienia) euchromatyna barwi się słabiej niż heterochromatyna fakultatywna, a przy badaniu na prążki R – odwrotnie. Rozmieszczenie prążków w chromosomach jest cechą stałą i powtarzalną.

Metody barwienia chromosomów mają najczęściej na celu wizualizację:

- **prążków G** – które powstają w wyniku wybarwienia badanego materiału odczynikiem Giemsy i roztworem trypsyny (fot. 14.3);
- **prążków R** – których obraz jest odwrotny do prążków G (stąd nazwa: R = reverse), obszary ciemne w barwieniu na prążki G, są w prążkach R jasne i *vice versa*;
- **prążków Q** – uzyskuje się je w wyniku zabarwienia chromosomów barwnikiem fluorescencyjnym kwinakryną;
- **prążków C** – które uwidaczniają heterochromatynę konstytutywną, charakterystyczną dla heterochromatyny centromerowej;
- **prążków T** – które uwidaczniają telomery;
- **regionu NOR** – który pozwala na analizę regionu organizatorów jąderka (fot. 14.4).



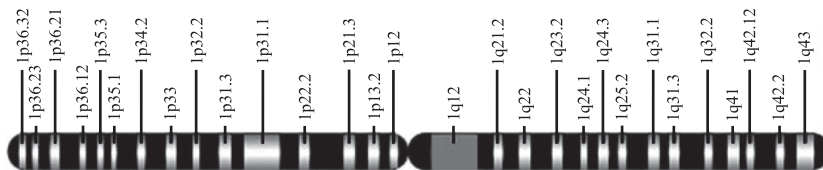
Fot. 14.3. Barwienie chromosomów człowieka odczynnikiem Giemzy (prążki G)



Fot. 14.4. Wybarwienie srebrem rejonów organizacji jąderka (NOR)

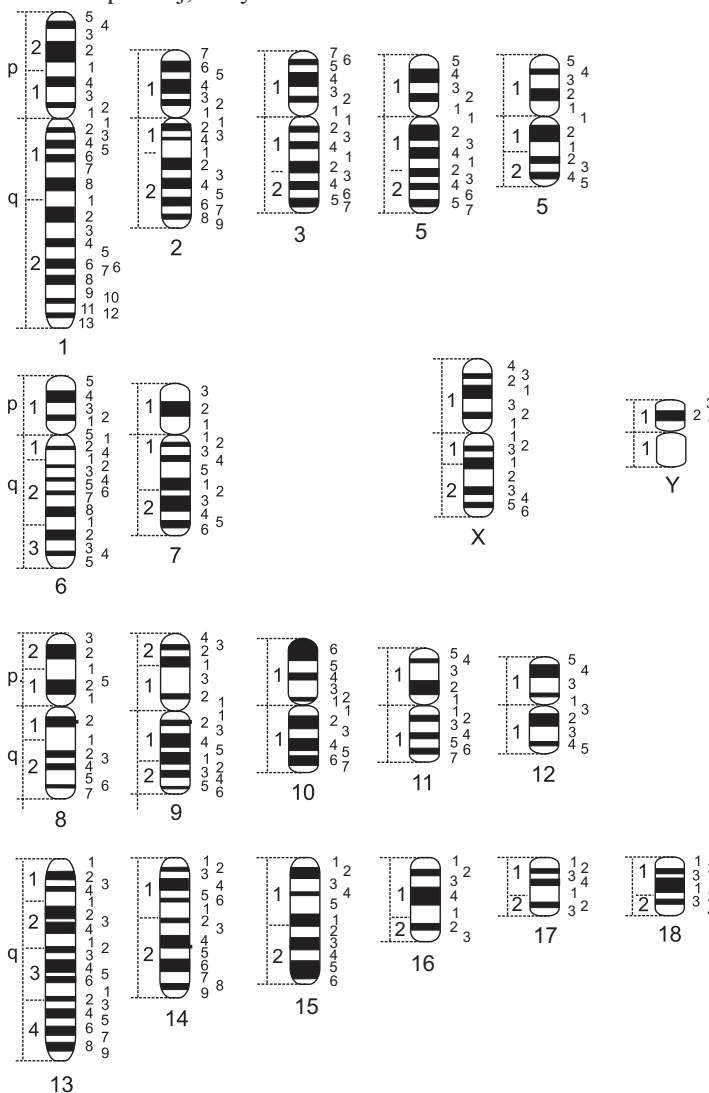
Wzory układów prążków zostały ustalone na I Międzynarodowej Konferencji Standaryzacji Prążkowych Kariotypów Zwierząt Domowych w Reading, w Anglii w 1976 roku. Ustalono tam modele kariotypów w formie idiogramów: bydła, owcy, kozy, świni, konia, kota i królika. Jest to graficzne przedstawienie kariotypu, w którym każdy chromosom jest wyprostowany, co pokazuje całą jego długość, a ramię dłuższe zawsze zwrócone jest w dół. Położenia centromeru, przewężeń oraz satelity zaznacza się w umowny sposób. W idiogramie przedstawiony jest tylko jeden autosom z każdej pary homologów oraz chromosomy X i Y. Określenie pozycji w obrębie prążka na chromosomie wymaga podania numeru chromosomu, następnie ramienia (p – ramię krótkie lub q – ramię długie), numeru regionu i numeru prążka. Regiony leżące najbliżej centromeru (proksymalne) noszą numer 1, a oddalające się (dystalne) w kierunku telomerów – kolejne numery.

Przykład. Chromosom numer 1 człowieka, z rysunku 14.2, z zapisem: 1q31, oznacza: chromosom 1, ramię długie, region 3 i prążek 1. Dokładniejsze pozycje subprążka podaje się po kropce, np. 1q31.1, 1q31.2, 1q31.3.



Rys. 14.2. Wzór prążkowy chromosomu 1 człowieka (wg Wikipedii)

Przykład międzynarodowego wzorca chromosomów świnie domowej w formie idio-gramu przedstawiono poniżej, na rysunku 14.3.



Rys. 14.3. Idiogram chromosomów metafazalnych świnie domowej ($2n = 38$). Ramiona (p i q) są podzielone na regiony, a te na prążki oraz subprążki. Numeracja prążków zaczyna się od centromerów, a kończy przy telomerach (wg Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig, 1988)

W trakcie obserwacji mikroskopowej preparatu z płytką metafazalną, precyzyjna ocena prążków jest możliwa tylko w niewielu przypadkach. W sytuacji gdy chromosomy barwione są technikami niepozwalającymi na uzyskanie wzoru prążkowego, ich analiza opiera się na klasyfikacji poszczególnych chromosomów do specyficznemu gatunkowo grup, na podstawie długości chromosomu i położenia centromeru.

Analiza i diagnostyka kariotypów odbywa się na odpowiednio powiększonych i przygotowanych fotografiach badanych płytek metafazalnych. Taka fotografia musi spełniać szereg warunków, między innymi: odpowiedniej jakości (ziarnistości uniemożliwiającej analizę kształtu i prążkowania chromosomów) oraz wielkości – najczęściej są to rozmiary 18 x 24 cm. Na takiej fotografii chromosomy mają długość od 1 do 5 cm. Na przygotowanych fotografiach przeprowadza się badanie w trzech etapach:

- 1) ocena całej płytki metafazalnej (np. liczby chromosomów);
- 2) wycięcie chromosomów i ułożenie kariogramu oraz ocena kariotypu;
- 3) przygotowanie dokumentacji przeprowadzonego badania.

Opis kariotypów sporządza się według jednolitego schematu. Poszczególne pary chromosomów autosomalnych oznacza się kolejnymi cyframi arabskimi, a chromosomy płci symbolami X i Y. Prawidłowy zapis kariogramu buhaja będzie więc następujący: 60,XY; oznacza on obecność w komórkach somatycznych buhaja 29 par chromosomów autosomalnych oraz parę chromosomów płciowych X i Y.

Chromosomy bydła, owcy i kozy mają bardzo wiele cech wspólnych. Podobieństwa te pozwalają na pełną identyfikację chromosomów o wspólnym pochodzeniu ewolucyjnym. Kozy tak jak bydło mają 60 chromosomów, które są prawie identyczne z bydlęcymi, z wyjątkiem chromosomów płci X i Y. Chromosom X u kóz jest akrocentryczny (X bydła jest submetacentryczny), a Y – jest mniejszy niż u bydła. U owcy istnieją podobieństwa chromosomowe do kozy, ale dodatkowo istnieją trzy oryginalne różnice w postaci fuzji centrycznych 1/3, 2/8 i 5/11 i dlatego owca ma mniej chromosomów niż jej kuzyni, tylko 54.

Zazwyczaj gatunki, u których przeważają chromosomy akrocentryczne, mają ich bardzo wiele. Przykładem jest pies, który ma aż 78 chromosomów, wszystkie akrocentryczne, z wyjątkiem chromosomów płci. W porównaniu z rodziną *Bovidae* ewolucja chromosomów *Canidae* była bardzo szybka, dowodem na to jest silne zróżnicowanie chromosomowe między psem a jego krewniakami (lisy, jenoty), które mają nie tylko zupełnie odmienną liczbę, ale również kształt chromosomów.

Prawidłowy kariotyp dzika (*Sus scrofa ferus*) wynosi $2n = 36$ chromosomów. Jest on przodkiem środkowoeuropejskiej świni domowej (*Sus domestica*), której kariotyp zawiera $2n = 38$. Wynika z tego, że w procesie udomowienia przybyła świni para chromosomów. Podczas domestykacji świni domowa wydłużyła się, zwiększyła się jej liczba sutków (z 6 do nawet 16), zmienił się jej metabolizm i skrócił wiek dojrzewania płciowego. Zwiększenie się liczby i ogólnej długości chromosomów może mieć związek z tym procesem.

Świnią ma $2n = 38$ chromosomów, tyle samo co kot domowy (*Felis catus*). Sześć par chromosomów świni to chromosomy akrocentryczne, pozostałe są metacentryczne. Z kolei wszystkie chromosomy kota mają budowę metacentryczną.

Chromosomy kury są podobne do chromosomów innych ptaków domowych i gadów. Sześć par dużych chromosomów jest podobnych do ssaczy, pozostałe są mikrochromosomami. Chromosomy płci Z i W należą do dużych, widocznych w mikroskopie świetlnym.

Zadanie 14.1

Narysuj wszystkie typy morfologiczne chromosomów i nazwij je. Następnie w przedstawionych preparatach chromosomowych określ, jakie rodzaje chromosomów występują w kariotypach tych zwierząt.

Zadanie 14.2

Określ na preparatach mikroskopowych, od jakiego gatunku pochodzą analizowane kariotypy. Ile zawierają chromosomów? Opisz morfologię obecnych na preparacie chromosomów.

Zadanie 14.3

Czy na fotografii obrazującej kariotyp znajdują się chromosomy ssaka? Jak rozróżnisz kariotyp psa od kariotypu kury? Jakie cechy kariotypów lub chromosomów wykorzystasz do ich zróżnicowania?

Zadanie 14.4

Narysuj chromosom metafazalny submetacentryczny, zaznacz ramiona jak na idiogramie, nanieś prążki i ponumeruj je zgodnie z międzynarodowymi wymogami.

15

Laboratorium cytogenetyczne. Diagnostyka patologii kariotypowych zwierząt

Badanie kariotypu i diagnoza cytogenetyczna pacjenta mogą być pomocne w rozpoznaniu przyczyn jego problemów zdrowotnych lub niepowodzeń w rozrodzie. Na podstawie analizy kariotypu badanego zwierzęcia lekarz weterynarii podejmuje decyzję co do dalszych jego losów. Czasem mogą okazać się zbędne próby jego dotychczasowego leczenia, a konieczne staje się szczegółowe kariotypowanie jego krewnych, w celu wyjaśnienia rodzaju rodzinnego nosicielstwa defektu genetycznego. W przypadku zwierząt gospodarskich praktyczne zastosowanie badań kariotypu dotyczy głównie reproduktorów użytkowanych w stacjach hodowli i unasienniania zwierząt. Szczególnie niekorzystne dla reproduktorów są przypadki strukturalnych aberracji chromosomowych (translokacji wzajemnych oraz robertsonowskich), ponieważ prawie zawsze łączą się z obniżoną płodnością nosicieli, wpływają negatywnie na fenotyp oraz często się dziedziczą. Obniżenie płodności może się wahać od kilku do kilkudziesięciu procent. Z kolei anomalie chromosomowe stwierdzane u samic są jedną z najczęstszych przyczyn zamierania zarodków.

Wskazania do badania kariotypu

- Kliniczne podejrzenie określonej aberracji chromosomowej.
- Fenotyp zwierzęcia sugerujący bliżej nieokreśloną aberrację chromosomową (dysmorfia, mnogie wady rozwojowe, upośledzenie i opóźnienie rozwoju).
- Niepowodzenia rozrodu: brak ciąży, poronienia samoistne, porody martwe, zgony potomstwa z wadami (badanie kariotypu dotyczy obojga rodziców).
- Zaburzenia determinacji i różnicowania płciowego (badanie kariotypu pozwala określić płęć chromosomową i rozpoznać ewentualne aberracje chromosomów płciowych).
- Wystąpienie niektórych chorób nowotworowych – nieprawidłowy kariotyp w komórkach guza może ułatwić jego identyfikację i leczenie (cytogenetyka onkologiczna).

W diagnostyce cytogenetycznej obowiązują zasady opisu kariotypu przedstawione w tabeli 15.1.

Tabela 15.1

Zasady opisu kariotypu w diagnostyce cytogenetycznej

Skrót	Opis
p	Ramię krótkie
q	Ramię długie
pter	Koniec krótkiego ramienia chromosomu
qter	Koniec długiego ramienia chromosomu
cen	Centromer
h	Heteromorfizm
del	Delecja
der	Wynik rearanżacji chromosomowej
dic	Chromosom dicentryczny
dup	Duplikacja
i	Izochromosom
ins	Insercja
inv	Inwersja
mat	Pochodzenia matczynego
pat	Pochodzenia ojcowskiego
r	Chromosom pierścieniowy
t	Translokacja
::	Połączone złamanie
/	Mozaicyzm
+	Przed oznaczeniem chromosomu oznacza dodatkowy chromosom
—	Przed oznaczeniem chromosomu oznacza brak chromosomu

Przykład. Wykaz niektórych skrótów i symboli w powyższym opisie przedstawiono poniżej na przykładzie zmienionego kariotypu byłą:

- przy braku jednego z chromosomów płciowych: 59, X;
- przy obecności trzech chromosomów X: 61, XXX;
- przy czterech chromosomach płciowych: 62, XXXX lub 62, XXXY lub 62, XXYY;
- zapis: 61, XY, +12 oznacza samca z dodatkowym chromosomem 12 (trisomia chromosomu 12);
- zapis 46, XX, 12p+ oznacza zwiększenie długości ramion krótkich w chromosomie pary 12;
- zapis: 60, XY, t(4p-; 13q+), translokacja fragmentu ramienia krótkiego chromosomu 4 na ramię długie pary 13.

Zmiany kariotypowe specyficzne gatunkowo

Bydło

Bydło stanowi najczęstszy obiekt badań cytogenetycznych wśród zwierząt gospodarskich. Najczęściej występującą aberracją chromosomową jest fuzja centryczna 1/29. Stwierdzono ją u około 60 ras bydła na świecie. Nosiciele translokacji Robertsona mają obniżoną płodność nawet o 10%. Ponadto u bydła opisano także nieco rzadziej występujące aberracje strukturalne, takie jak: inwersje pericentryczne, translokacje wzajemne oraz dwa rodzaje tandem-fuzji.

Drugą kategorię aberracji u bydła stanowią aneuploidie, występujące u tego gatunku stosunkowo rzadko. Znanych jest kilkanaście przypadków trisomii allosomalnej 6l,XXY w postaci czystej oraz mozaikowej. Szczególnym wyjątkiem jest obserwowana u bydła skłonność do donoszenia płodów z trisomią autosomalną 17. i 18. chromosomu. W pierwszym przypadku nosiciele tej trisomii wykazują karłowatość, czasem wodogłowie, mikroocznosc i wnetrostwo; zaś w drugim przypadku obarczeni są wystąpieniem tzw. zespołu letalnej brachygnatii. Skróceniu żuchwy często towarzyszy wodogłowie, wodobrzusze, defekty kończyn i serca.

Trisomie rzadko występują u zwierząt, najczęściej są letalne. Odnotowane przypadki trisomii 22 u bydła, były poronionymi płodami lub umierały w okresie okołoporodowym.

Owce

Najczęściej występującą anomalią u owiec, analogicznie jak u bydła, są fuzje centryczne. Jednak zasięg badań cytogenetycznych u owiec jest znacznie mniejszy niż u bydła.

Konie

Najczęstszą nieprawidłowością kariotypu koni (ok. 50% przypadków) jest monosomia X (63,X). Przyczynę stanowi nondysjunkcja chromosomów płci w mejozie u jednego z rodziców, a następnie powstanie gamety pozbawionej chromosomu płci. Rozwój zarodka i jego układu rozrodczego przebiega w kierunku żeńskim, ale hipoplastyczne gonady nie zawierają rozwijających się pęcherzyków jajnikowych. Często klacze te mają niższy wzrost od klaczy prawidłowych. Taki przypadek jest odpowiednikiem ludzkiego zespołu Turnera.

Znacznie rzadziej występują u koni inne przypadki aneuploidii chromosomów płciowych, takie jak: trisomia 65, XXX; mozaicyzm 63,X0/64,XY; chimeryzm 64,XX/64,XY oraz 64,XX/65,XXY. Zespół XXX prowadzi do dysfunkcji jajników i niedorozwoju dróg płciowych. Trisomia XXY (odpowiednik ludzkiego zespołu Klinefeltera) wywołuje hipoplazję jąder i degenerację spermatogoniów. Opisano także po sześć przypadków translokacji wzajemnych oraz trisomii autosomalnej.

Chociaż tzw. zrównoważone translokacje nie powodują powstawania anomalii u ich nosicieli, to gametogeneza u takich osobników jest zaburzona. Dochodzi do degeneracji komórek płciowych lub tworzenia części gamet o niezrównoważonym genetycznie składzie, a w konsekwencji do wczesnej śmiertelności zarodkowej i defektów rozwojowych u źrebiąt. Nosiciele translokacji powinni być eliminowani z rozrodu.

Trzoda chlewna

U świń częstym rodzajem aberracji są zrównoważone translokacje wzajemne. Do tychczas u zwierząt tych opisano około 60 translokacji, w których udział brały chromosomy autosomalne wszystkich par oraz chromosom płciowy X. W drugiej kolejności ujawniono fuzje centryczne. Prawie wszystkie takie przypadki dotyczyły fuzji chromosomów 13. i 17. Przeprowadzona analiza użytkowości rozplodowej i tucznej nosicieli tej aberracji wykazała nieznacznie tylko obniżoną użytkowość rozplodową (o około 5%) oraz mniejsze dobowe przyrosty masy ciała o około 9%.

Drób

Stwierdzane u ptaków domowych aberracje kariotypu powodują zaburzenia rozwoju zarodkowego i zamieranie jaj. Do częstych defektów kariotypu należy haploidalność (monoploidalność) komórek, triploidalność, monosomie i trisomie oraz różne postacie chimeryzmu. Wykazano predyspozycje genetyczne do występowania aberracji kariotypu u zarodków drobiu. Stwierdzono, że dojrzewanie plemników *in vitro* zwiększa istotnie frekwencję aberracji chromosomalnych u wczesnych zarodków kurzych.

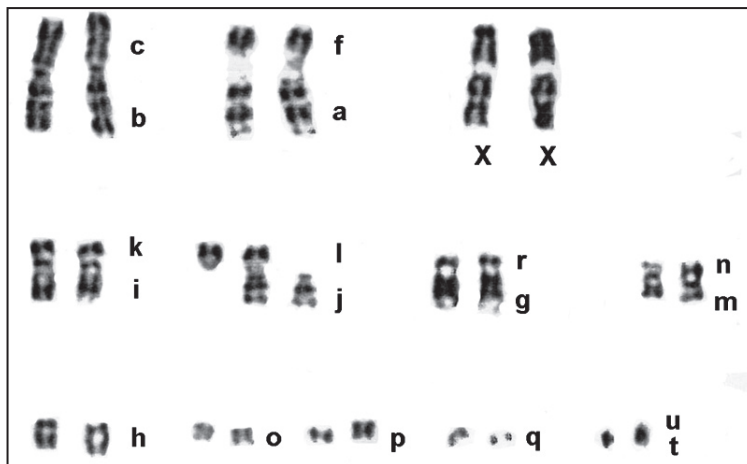
Psy

U psowatych (oprócz występującego często u lisów polimorfizmu liczby chromosomów) najczęściej opisywano trisomie XXY oraz monosomie X0 chromosomów płciowych.

Polimorfizm chromosomowy

Podczas badań cytogenetycznych niejednokrotnie stwierdzano, iż niektóre chromosomy występują w kariotypie w zmiennej liczbie. Zjawisko to zwane polimorfizmem liczby chromosomów jest z reguły skutkiem fuzji centrycznych (translokacji Robertsona). Ten rodzaj polimorfizmu chromosomowego występuje u psowatych, głównie lisów oraz u rzadkich ras bydła, a także u gatunków dziko żyjących. W rezultacie translokacji Robertsona, w populacji lisów występują osobniki o trzech różnych diploidalnych liczbach chromosomów: 48, 49 i 50. Samice o $2n = 48$ chromosomów mają wyższą plenność od pozostałych, posiadających inne rodzaje kariotypów.

Zjawisko polimorfizmu chromosomowego jest silnie rozpowszechnione u ryjówki aksamitnej. Przykład translokacji Robertsona u osobnika tego gatunku ukazano na fotografii 15.1.



Fot. 15.1. Polimorfizm chromosomowy ryjówki aksamtnej: heterozygota Robertsona $j1/-$ (Moska, niepublikowane)

Zadanie 15.1

Na prezentowanych preparatach należy odszukać pod mikroskopem nadającą się do oceny płytkę metafazową i przeprowadzić analizę kariotypu w zakresie:

- liczby chromosomów i par chromosomów;
- próby ustalenia gatunku, do którego należy kariotyp;
- morfologii chromosomów (metacentryki, submetacentryki, telocentryki);
- opisu rodzaju aberracji.

Na końcu należy opisać diagnozę cytogenetyczną zgodnie z międzynarodową nomenklaturą.

PIŚMIENICTWO

- Agerholm J.S., Christensen K., 1993. Trisomy 22 in a calf. *J. Vet. Med.*, 40, 576–581.
- Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P., 2005. *Biologia molekularna komórki*. PWN, Warszawa.
- Hohenhaus A.E., 2004. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals, [in:] *Transfus Med. Rev.* 2004 Apr., 18(2), 117–26.
- Hutt F.B., 1972. *Genetyka zwierząt*. PWRiL, Warszawa.
- Kosowska B., Nowicki B., 1999. *Genetyka weterynaryjna*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa.
- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., 1998. *Biochemia Harpera*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa.
- Pawlina E., Geringer H., Kosowska B., Kruszyński W., 1995. *Genetyka zwierząt. Przewodnik do ćwiczeń*. Wrocław.
- Tomaszewska A., 2008. *Muflon (Ovis musimon Pallas, 1762) na Dolnym Śląsku – inwentaryzacja i cytogenetyka*. Praca magisterska. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.
- Trela E., 1974. *Immunogenetyczna charakterystyka bydła rasy nizinnej czerwono-białej na podstawie grup krwi i typów beta-globulin (transferyn)*. Maszynopis. Kraków.