

### 3. МЕХАНИЗМИ НА УНАСЛЕДЯВАНЕТО

#### Основи на Менделовата генетика

##### Основни концепции

Първото ясно доказателство за това, което ние днес наричаме ген идва от работите на Грегор Мендел, който извършва експерименти върху унаследяване в грахови растения в средата на 19-ти век. Преди разглеждането на неговите опити е необходимо да се дефинират и изяснят някои основни термини, които се използват при изследване на унаследяването при висшите организми.

##### 3.1.1.1. Фенотип

Всяка характеристика (белег), за която се установи, че се унаследява, като цвят на очите, форма на листата или наследствено заболяване, като цистозната фиброза, се означават като фенотип. Мухата (*Drosophila*) може да се опише като фенотип с червени очи, или детето – като фенотип с цистозна фиброза. Комбинацията от гени, които са отговорни за дадения фенотип, се нарича генотип.

##### *Чисто-кръстосани линии*

Това се отнася до организми, които са кръстосвани помежду си (инбредно) за много поколения и в които даден фенотип остава постоянен. Родословията от породи кучета или котки са типичен пример за чисти линии.

### . Доминиране

Вътре във вида може да има разлика по отношение на един унаследяван белег. В хибридите между два индивида, показващи различен фенотип, може да се наблюдава само единия. Например при кръстосването на чисти линии мухи с къси крила с мухи, имащи дълги крила, всички индивиди от поколението ще имат дълги крила. Фенотипът, който се проявява в поколението се означава като доминантен, а другият – като рецесивен. В посочения пример дългите криле са доминантен белег.

Ключовите особеност за успеха на експериментите на Мендел са били използването на чисти линии грахови растения, както и факта, че е използвал качествени (форма, цвят), а не количествени белези, както и простите математически изчисления, на които подлага данните от своите опити.

### Монохбридно кръстосване

Мендел изследва няколко фенотипа грахови растения, един от които е цветът на цветовете на граха. Той кръстосва две чисти линии грах, едната от които има бели цветове, а другата – виолетови. Хибридите, получени при това кръстосване се означават като F1 – първо поколение (*first filial*) и всички имат виолетови цветове. Това означава, че виолетовият цвят е доминантен над белия, който е рецесивен. След това Мендел оставя тези растения да се самоопрашват и така получава F2 – второ поколение (*second filial*). Някои цветове на получените растения са бели, а някои – виолетови. Съотношението на виолетовите към белите цветове е 3:1. При кръстосването на грахови растения, които се различават по цвят на зърна, по форма на шушулката или по други белези, се получава същият резултат. Рецесивният фенотип винаги се появява във второто поколение и винаги е около една четвърт от всички получени растения.

Тези експерименти позволяват на Мендел да предположи, че наследствеността се дължи на действието на специфични фактори, които ние днес наричаме гени. Това очевидно и просто обяснение обаче идва в конфликт с конвенционалния тогавашен възглед, че наследствеността се дължи на смесване на течности от двата родителя. Очевидно е, че в експериментите на Мендел няма никакво смесване, нито в F1, където

се проявява само доминантният фенотип, нито в F<sub>2</sub>, където двата фенотипа се проявяват отделно.

От нивото на нашите днешни знания е лесно да разберем заключенията и обясненията на Мендел какво става в неговите експерименти, показани на Фиг. 3.1. Той предполага, че чистата линия от растението, което има виолетови цветове носи две копия на гена за виолетовия пигмент, V. Растенията, цъфтящи с бели цветове носят две копия от модифицирания ген, който кодира белия цвят, v. Индивидите, които носят две еднакви копия на един и същи ген се наричат хомозиготни. Хибридите от F<sub>1</sub> унаследяват две различни копия на гена за пигмент, V и v. Такива растения се наричат хетерозиготни. Тъй като виолетовият цвят е доминантен по отношение на белия, тези растения имат виолетови цветове. Когато растенията от F<sub>1</sub> се самоопрашват са възможни три различни генотипа – VV, Vv и vv, и те са в съотношение 1:2:1 (Табл. 3.1). По този начин се получава съотношението 3:1 на фенотиповете (три виолетови и един бял).

Табл. 3.1. Продукти от самоопрашването на грахови растения от F<sub>1</sub>

Фенотип (цвят на венчетата)

Отношение

VV Vv vv

Виолетови Виолетови Бели

1 2 1

Валидността на тази хипотеза се потвърждава когато отделните растения от F<sub>2</sub> се

кръстосат чрез самоопрашване. Установява се, че всички растения с бял цвят са чисти линии. Една трета от растенията с виолетови цветове са чисти линии, а две трети дават виолетови и бели цветове в съотношение 3:1. По-нататък се установяват много случаи в различни видове на съотношението 3:1, в случаите, при които белезите се контролират от един ген. Няколко от тях са представени на Табл. 3.2.

Табл. 3.2. Примери за унаследяване, контролирано от един ген

Белег (фенотип)

Мишка Червена детелина Дрозофила Човек

Албинос/нормална козина, светли/нормални уши Червени/бели цветове Нормални/деформирани

По-нататък е необходимо да се дефинира един нов термин. Гените могат да се променят от въздействието на процеси, които предизвикват мутации. Различните варианти на гените се означават като алели. Не бива да се смесват термините гени и алели. В предишния пример е по-добре  $V$  и  $v$  да се означават като различни алели на гена за обагряне на цветовете. Прието е доминантните алели да се означават с главни букви, а рецесивните – с малки. Съотношението 3:1 се означава като монохбридно кръстосване и е основа за различните начини на унаследяване при висшите организми.

Една вариация на съотношението от фенотипове 3:1 е отношението 1:1, което се получава когато се кръстосат индивидите от  $F_1$  с хомозиготен, рецесивен родител. Както е показано на Фиг. 3.2, хетерозигота  $F_1$  може да даде два вида гамети, носещи или рецесивния или доминантния фенотип. Родителят с рецесивния фенотип може да образува само един тип гамети – тези с рецесивния алел, така че поколенията от кръстосването има равен брой доминантни и рецесивни фенотипове в съотношение 1:1. Този тип кръстоски се означават като тестово кръстосване (фиг. 3.2) и се използват в много случаи, когато е необходимо да се разбере дали един индивид е хетерозиготен. Ако резултатът е съотношение на фенотипове 1:1, то индивидът е хетерозиготен. Ако се получат само рецесивни генотипове, индивидът е хомозиготен по

рецесивния алел. Ако получим разпадане на фенотиповете 3:1, индивидът е хомози-готен по отношение на доминантния алел. Това е също така очакваното съотношение между фенотиповете в семейства, където единият родител е носител на рядкото заболя-ване хорей на Хънтингтън. Тъй като доминантният алел е рядък, не е много вероятно засегнатият индивид да е хомозиготен.

### Варианти на съотношението 3:1

Не винаги простото монохбридно кръстосване 3:1 може да се наблюдава при унаследяване на белези, определяни от един ген. Това може да се дължи на множество фактори.

#### *Частично или непълно доминиране*

В предишният раздел използваните варианти показват пълно доминиране. Това означава, че в F1 всички индивиди имат фенотипа на единият родител, т.е. на доминан-тния фенотип. Това обаче не се наблюдава винаги. Често поколението очевидно е меж-динно между двата родителя. Типичен пример за подобно унаследяване е предаването на обагрянето на цветовете на антиринум (лъвска муцунка). Когато се кръстосва чиста линия с червени цветове с чиста линия бели цветове, се получава F1 поколение, което има розови цветове, вместо бели или червени. F2 поколението е представено от три класа растения (Табл. 3.3).

Таблица 3.3. Унаследяване на баграта на цветовете на *Antirrhinum* Генотип

Фенотип

Съотношение

*Rr*

*Rr*

*RR*

*Бели цветове*

*Розови цветове*

*Червени цветове*

1

2

1

Това е съотношението 1:2:1 от три фенотипа, което е много различно от 3:1, но не е трудно да се види, че двете са свързани. Генотипът на червените цветове е RR, а на белите цветове – rr. Поколението в F1 се състои от хетерозиготата Rr. В F2 разпадането на генотипите е същото, както описаното по-рано в монохбридното кръстосване. Разликата тук е, че хетерозиготата Rr има розов цвят, което променя съотношението на фенотиповете

Оцветените в червено и бяло растения в F2 са хомозиготни и затова са чисти линии, докато розовата хетерозигота, когато се самоопрашва, дава съотношение 1:2:1 на растения, цъфтящи с бели, розови и червени цветове.

### . Ко-доминиране

То е подобно на непълното доминиране, но тук хетерозиготата показва и двата алела. Примери за това се откриват често при унаследяване кръвните групи. При човека кръвната група MN се контролират само от един ген. Съществуват само два алела – M и N. Децата с баща хомозигот MN, с кръвна група N, и майка - MM хомозигот с кръвна група N, са хетерозиготи MN, с кръвна група MN. И двата генотипа се експресират във фенотипа. Ко-доминирането също модифицира съотношението 3:1 на 1:2:1. Алелите, които се дефинират като маркери ДНК чрез полимеразна верижна реакция (PCR) или Southern blotting са също ко-доминантни.

### Летални алели

Някои алели засягат жизнеността на индивидите, които ги носят. В повечето случаи хомозиготните индивиди не преживяват, но хетерозиготните могат да имат нормална продължителност на живота. За да се открият тези алели, са необходими видими фенотипове. Добре изучен пример е унаследяването на жълтия цвят на козината при мишки. Жълти разновидности мишки могат да се получат от индивиди с различен цвят, например черен. Жълтия цвят е доминантен над черния. Мишките *BB* са черни, а *BVу* – жълти. Когато се чифтосат две жълти мишки, се очаква съотношението да е като на Табл. 4. Въпреки това обаче, комбинацията

*VуVу*

е летална и всички мишки с този гено-тип загиват

*in utero*

. Оттук живороденото поколение от тази кръстоска е както на Табл. 5. Фенотипното съотношение 3:1 се променя на 2:1, както и фенотипното съотношение 3:1 се променя на 2:1.

Табл. 3.4. Очаквано унаследяване на жълта козина от кръстоски на мишки *BVу* x *BVу*

Фенотип

Съотношение

ВВ

ВВу

ВуВу

Черна козина

Жълта

Жълта

1

2

1



При всички разгледани дотук примери има само два алтернативни алела. За някои гени наистина са установени само два алела, но повечето гени имат повече различни алели. Един пример в това отношение е човешкият  $\beta$ -глобинов ген, където една специфична мутация в шести кодон има за резултат поява на алел, отговорен за заболяването сърповидно-клетъчна анемия, докато мутации в няколко други места в гена има друг ефект и предизвиква друг синдром, а именно  $\beta$ -таласемия. Въпреки, че това са промени на един и същи ген, те са в различни кодони. Получените белтъци са варианти на  $\beta$ -глобина с дискретни разлики в АК състав, поради което функционират различно.

При зайците множествените алели на един ген са отговорни за голям брой различни фенотипове с различен цвят на козината. Открити са четири члена на тази алелна серия – агути, чинчила, Хималая и албино (agouti, chinchilla, Himalayan, albino). Когато са хомозиготни всеки дава определен тип оцветяване на козината. При хетерозиготите има ясни правила за доминантност. Агути е доминантен над всички останали алели, чинчила е доминантен над Хималая и албино, докато Хималая е доминантен само над албино, който не може да образува пигмент и затова е рецесивен по отношение на всички останали.

Друг много добре изучен пример за множествени алели е човешката ABO кръвно-групова система. Тук има един ген, който е отговорен за добавяне на захари към специфични гликопротеини в мембраната на еритроцитите. Известни са три различни алела на този ген. Една форма на ензима добавя една молекула N-ацетил-галактозамин към гликопротеина и дава кръвна група А. Втори алел кодира вариант на ензима, който добавя галактоза, вместо N-ацетил-галактозамин и това дава кръвна група В. Трети алел кодира нефункционален ензим, който не може да прибавя захари към гликопротеина, което дава група О. Всичките три алела са произлезли от мутация на един единствен ген-предшественик.

Основният комплекс, който ръководи хистологичната съвместимост на тъканите и определя пригодността на органите за трансплантация също е пример за сложна множествена алелна система. Човешката левкоцитна антигенна система (HLA) е пример за гени, които имат повече от 50 алелни форми.

Съществуват много други такива примери и в много случаи тези алели могат да се отдиференцират с молекулни методи. Те са много удобни за използване като маркери за картиране, понеже много рядко могат да са в хомозиготно състояние. -

### Закони на Мендел

Монохбридното и дихибридното кръстосване идват директно от работите на Мендел. Да не забравяме, че тези опити се правят без всякакво знание за хромозомите или за ДНК. Работата на Мендел често се изразява като два закона или принципи, които той използва, за да обясни унаследяването на фенотиповете.

Първият от тях гласи, че във формирането на гаметите, двата алела на един и същи ген сегрегират (разделят се) така че всяка гамета получава само един алел. Това е ясно показано с монохбридното съотношение 3:1.

Вторият закон гласи, че алелите на всеки един ген сегрегират независимо от алелите на всеки друг ген. Той води началото си от данните за дихибридното кръстосване, когато (примерът, описан на Фиг. 3.4) четирите алела R, r, Y и y трябва да действат независимо един от друг, така че се появяват равен брой от четири различни класа гамети, RY, Ry, rY и ry. Тези два принципа формират основата на знанията ни по трансмисионна генетика.

### Проблеми при изследване на кръстосването

Независимо дали е студент на изпит, или генетик, който прави научни изследвания, човек се среща с данните, получени от поколенията F1 и F2, получени след кръстоските. Тук е важно да се разпознае съотношението, за да се разбере колко гена участват и дали се наблюдава епистаза. Така например може да се получи следния казус:

Кръстоската между чисти линии домати растения с бели и червени плодове дава в F1 поколение, в което растенията имат пурпурни плодове. В следващото F2 поколение са получени 160 растения, като от тях 99 имат пурпурни, 25 имат червени плодове, а 36 са бели. Как бихме могли да обясним този резултат?

Тъй като не знаем нищо за гените, които контролират цветът на домати, първо

трябва да си зададем въпроса “Дали данните отговарят на Менделовите съотношения?”. Най-простият начин е да изключим тези отношения, които не пасват. Причината е, че в F2 има три различни фенотипа и отношения като 9:7 или 3:1 са изключени. От разглежданите в предишните раздели отношения 9:3:4 изглежда добър кандидат, но е възможно да се приложи и съотношението 1:2:1. Кое от тях трябва да бъде избрано?

За целта се предлага статистиката, известна като  $\chi^2$ , която е подходяща за изследване на подобни отношения. Подробното описание на метода е дадено в раздел C13, но тук може да се използва за дадения пример. Наблюдаваните данни се сравняват с тези, които могат да се предскажат с даденото отношение. Изчисленията се правят за двете предположени отношения.

Наблюдавани данни: 99 пурпурни 25 червени 36 бели 160 общо

Резултатите, предположени от отношението 9:2:4

9/16 x 160 3/16 x 160 4/16 x 160

90 30 40

(99-90)<sup>2</sup> (30-25)<sup>2</sup> (40-36)<sup>2</sup>

$\chi^2 = \frac{\dots}{\dots}$

90 30 40

= 2.13 с две степени на свобода

Това не се различава от отношението 9:3:4 при 5% степен на вероятност.

Резултати, прогнозираны от отношението 1:2:1

1/4 x 160 2/4 x 160 1/4 x 160

40 80 40

(40-25)<sup>2</sup> (99-80)<sup>2</sup> (40-39)<sup>2</sup>

$\chi^2 = \text{-----}$

40 80

= 10.53 с две степени на свобода

Това е различно от отношението 1:2:1 с 5% степен на вероятност.

На тази основа може да се приеме за вярно отношението 1:2:1, за сметка на отношението 9:3:4.

Мейоза и гаметогетеза

### Размножаване

Размножаването се извършва по един от двата метода – безполово и полово. Без-половото размножаване представлява образуването на нови индивиди от клетки и тъка-ни на съществуващи организми. Този процес е типичен за растенията и много микроор-ганизми. Той може да представлява просто делене на едноклетъчни микроорганизми или образуването на специализирани безполови спори. Тези процеси могат да бъдат използвани в практиката за вегетативно размножаване на растенията. Напоследък стана

възможно изкуствено да се регенерира цял организъм от една клетка. За първи път това беше показано при моркови и жаби, но сега е осъществено при бозайници и се предпо-лага, че е възможно при всички бозайници, включително и човека. Безполово размно-жавашите се организми са генетично идентични с индивидите, от които те са произлез-ли. Група от такива генетично идентични организми се означава като клон.

Половото размножаване се различава по това, че представлява сливане на клетки (гамети) като двете са получени от различни родители, за да формират зигота. Гене-тичните процеси, участващи в образуването на гаметите позволяват някои генетични промени на поколенията. Половото размножаване е ограничено само до организми, които са диплоидни или имат период в техния жизнен цикъл, в който са в диплоидно състояние.

Образуването на гаметите се означава като гаметогенеза. Това е сложен процес, включващ полова диференциация и образуване на високо диференцирани мъжки и женски гамети. При нисшите еукариоти могат да се сливат и еднакви клетки (изога-мия). Каквато и да е биологията на процеса, един факт е очевиден: при гаметогенезата трябва да има намаляване наполовина броя на хромозомите. В противен случай всяко следващо поколение ще има удвоен брой хромозоми, в сравнение с родителите. Нама-ляването на броя на хромозомите се постига в специална форма на клетъчно делене, мейоза, която се наблюдава при гаметогенезата. По време на процеса на намаляване наполовина на броя на хромозомите, комбинациите от алели се размесват и дават ре-комбинантни гамети. Тук участват два различни процеса – независимо сортиране на хромозомите и кросинговър

Скаченост

. Определение

Скачеността е тенденция на алелите на два или повече гена да се прехвърлят в ед-на и съща комбинация от едно поколение в друго. Това означава, че колкото по-близо един до друг са два гена, толкова по голяма е вероятността да покажат скаченост.

Гените, локализирани на различни (нехомоложни) хромозоми по правило не по-казват никаква скаченост. Както беше описано в раздел 3.3 гените на различните хро-мозоми се сортират независимо при първото делене на мейозата.

Нека да разгледаме една двойна хетерозигота  $Aa, Bb$ , където двата гена са на раз-лични хромозоми. Да предположим, че този индивид е получил доминантните си алели  $A$  и  $B$  от единия родител, а рецесивните алели  $a$  и  $b$  от другия.

При мейозата четирите генетично различни гамети

$AB$

,  
 $Ab$

,  
 $aB$

и  
 $ab$

ще се получат в еднакво съотношение. Га-метите

$AB$

и  
 $ab$

се означават като родителски, а тези, носещи

$Ab$

,  
 $aB$

– рекомбинантни. Очевидно е, че рекомбинацията става с честота 50%. Това е максималната честота на рекомбинация, която може да се получи между всеки два гена и гените, които показват такава честота са нескачени.

Какво щеше да се случи, ако двата гена бяха на едната хромозома? В този случай родителската комбинацията алели  $AB$  или  $ab$  може да бъде реаранжирана (рекомбинирана) само ако само ако се извърши кросинговър с хиазма между двата гена (Вж. 3.3). Колкото по-близо са разположени гените, толкова по-рядко между тях ще се извършва кросинговър. По този начин измерването на честотата на рекомбинация може да даде индиректна представа за относителното разстояние между гените.

На практика честотата на кросинговъра на повечето хромозоми е висока и това значи, че гените, които се намират далеч един от друг на една и съща хромозома могат да рекомбинират с честота до 50%. Ако два гена показват скаченост, а трети ген показва скаченост само с един от двата, то и трите гена трябва да са на една и съща хромозома. Такива гени принадлежат на т. нар. група на скаченост. По такъв начин могат да се създадат карти на скаченост, макар, че някои гени не показват скаченост с всички останали гени в групата.

#### . Пример за измерване на скачеността

С изключение на някои случаи, когато скачеността може да се мери по центромер-а, е необходимо да има хетерозиготност за поне два гена във всяко измерване на скаченост. Такива системи се означават като двуфакторни кръстоски. Подобен пример е даден по-долу.

При кръстосването на две чисти линии домати, едната от които е хаплоидна за пурпурен цвят на плодовете и космати стъбла (с много трихоми) –  $PP, HH$ , а другата – за червени плодове и гладки стъбла,

$pp$

,  
 $hh$

се получава хибридно  $F_1$  поколение. Хибрида има пурпурни плодове и космати стъбла. Пурпурният цвят е доминантен по отношение на червените и косматото стъбло по отношение на гладкото. За да се определи дали гените за цвят и окосмяване на стъблото са скачени, двойно-хетерозиготния хибрид се кръстосва с двойно-рецесивния родител (с червени плодове и гладки стъбла). Това е всъщност тестовото кръстосване, описани в раздел С1 и С2. Получават се четири класа поколения (Табл. 3.4): класове 1 и 2 със същите фенотипове, както и родителските, наречени родителски, и класове 3 и 4 представляват нови комбинации от алели, и затова наречени рекомбинантни.

