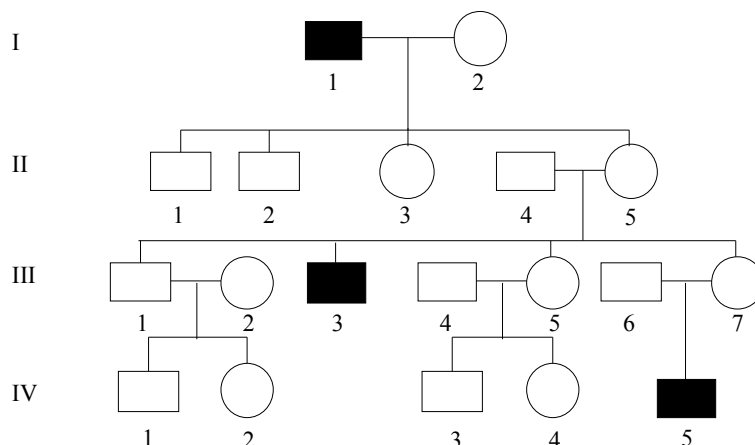


Υποδειγματική αντιμετώπιση ενός γενεαλογικού δένδρου

Το παρακάτω γενεαλογικό δένδρο αφορά μια ασθένεια και συγκεκριμένα την αιμοροφιλία Α.



α. Βρείτε τον τρόπο που κληρονομείται η αρρώστια

β. Βρείτε τους γονότυπους των ατόμων που περιλαμβάνονται στο δένδρο

Ξεκινώντας δείχνουμε με λατινικούς αριθμούς τις γενιές και με αραβικούς αριθμούς τη σειρά του ατόμου στην γενιά του.

α. Για να βρούμε τον τρόπο κληρονομικότητας πρώτα προσπαθούμε να διαπιστώσουμε αν η αρρώστια κληρονομείται με επικρατή ή υποτελή τρόπο. Η μελέτη του δένδρου ξεκινά ανάποδα. Εντοπίζουμε τα άρρωστα άτομα της κάθε γενιάς. Ομαδοποιούμε τα αδέρφια και κοιτάζουμε τους γονείς τους. Γαμπροί και νύφες εξαιρούνται. Στο συγκεκριμένο δένδρο έχουμε το άτομο IV₅ άρρωστο με δυο υγιείς γονείς III₆ και III₇. Όπως και το άτομο III₃ με επίσης δυο υγιείς γονείς II₄ και II₅. Καταλήγουμε επομένως στο συμπέρασμα ότι η αρρώστια είναι κρυμμένη ιδιότητα άρα κληρονομείται με υποτελή τρόπο (προσοχή στην εύρεση της επικράτειας –υποτέλειας δεν λαμβάνω υπόψιν το φύλο των ατόμων). Με δεδομένο ότι η αρρώστια κληρονομείται με υποτελή τρόπο ακολουθεί ο προσδιορισμός αν το υπεύθυνο γονίδιο είναι αυτοσωμικό ή φυλοσύνδετο. Στην περίπτωση αυτή πρέπει πλέον να ληφθεί υπόψιν το φύλο των γονιών και των παιδιών. Μια πατρική γενιά που θα μπορούσε να αξιολογηθεί θα ήταν υγιής (επικρατής) πατέρας και μια ασθενή (υποτελής) μάνα. Στο συγκεκριμένο δένδρο δεν υπάρχει τέτοιο ζευγάρι. Μια δεύτερη περίπτωση είναι να ελέγξουμε τους απογόνους που προκύπτουν από

δυο υγιείς (επικρατής) γονείς. Στο παραπάνω δένδρο υπάρχουν τέσσερα τέτοια ζευγάρια. Το ζεύγος $\Pi_4 \times \Pi_5$, το ζεύγος $\text{III}_1 \times \text{III}_2$, το ζεύγος $\text{III}_4 \times \text{III}_5$ και το ζεύγος $\text{III}_6 \times \text{III}_7$. Για να έχουμε στατιστική αξιοπιστία αξιολογούμε τους απογόνους όλων αυτών των ζευγαριών. Συνολικός αριθμός απογόνων 18. Στους 18 απογόνους υπάρχουν δυο άρρωστα άτομα, το III_3 και το IV_5 . Επειδή τα άρρωστα άτομα είναι αγόρια και κανένα κορίτσι δεν εκδηλώνει την αρρώστια θεωρώ σαν πιο πιθανή εκδοχή ότι πρόκειται για περίπτωση υποτελούς αλλά φυλοσύνδετης κληρονομικότητας.

β. Εύρεση του γονότυπου των ατόμων του δένδρου:

Η αρρώστια είναι μονογονιδιακή πυρηνική επομένως ισχύει ο α' νόμος του Mendel. Τα αλληλόμορφα του γονιδίου στον πληθυσμό είναι δυο. X^A υγιής και X^a άρρωστος.

Τα αρσενικά άτομα έχουν γονότυπο XY. Τα άτομα αυτά έχουν ένα αλληλόμορφο στο X χρωμόσωμά τους. Επομένως ο γονότυπος είναι $X^A Y$ για τα υγιή και $X^a Y$ για τα άρρωστα. Τα θηλυκά άτομα έχουν γονότυπο XX. Τα άτομα αυτά έχουν δυο αλληλόμορφα. Επομένως αυτά που είναι άρρωστα έχουν γονότυπο $X^a X^a$. Αν όμως είναι υγιή έχουν δυο πιθανούς γονότυπους $X^A X^A$ για τα ομόζυγα υγιή και $X^A X^a$ για τους φορείς της ασθένειας. Κάθε θηλυκό άτομο υγιές που έχει έστω και έναν άρρωστο γονέα ή ένα άρρωστο απόγονο είναι οπωσδήποτε φορέας. Αν έχει άρρωστο πατέρα έχει πάρει οπωσδήποτε το X^a από αυτόν διότι ο πατέρας διαθέτει μόνο X^a . Αν είναι η μητέρα άρρωστη έχει πάρει οπωσδήποτε ένα X^a αφού ο γονότυπος της μητέρας της είναι $X^a X^a$. Αν έχει άρρωστο γιο του έχει δώσει οπωσδήποτε X^a αφού μόνο αυτή ελέγχει την ιδιότητα στον γιο. Αν πάλι έχει άρρωστη κόρη της έχει δώσει οπωσδήποτε X^a αφού η κόρη της είναι ομόζυγη με γονότυπο $X^a X^a$.

Στο παραπάνω δένδρο η II_3 είναι φορέας λόγω του πατέρα της I_1 , η II_5 είναι φορέας εξαιτίας του I_1 πατέρα αλλά και του III_3 γιου της. Τέλος και η III_7 είναι φορέας εξαιτίας του IV_5 γιου της και της II_5 μητέρας της που είναι φορέας. Για το III_5 θηλυκό άτομο υπάρχει ενδεχόμενο να είναι φορέας εξαιτίας της II_5 μητέρας της που είναι φορέας, έστω και αν δεν έχει άρρωστο γιο. Παρατηρώντας όμως ότι αποκτά πέντε γιους όλους υγιείς (ικανοποιητικό κατά κάποιο τρόπο στατιστικό δείγμα) στους οποίους μόνο αυτή ελέγχει την αρρώστια καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το πιθανότερο είναι να είναι ομόζυγη $X^A X^A$ και όχι φορέας $X^A X^a$. Για τις υπόλοιπες γυναίκες θεωρούμε ότι είναι υγιείς ομόζυγες.

Τελικοί γονότυποι

I_1, III_3, IV_5 άτομα με γονότυπο X^aY

$II_1, II_2, II_4, III_1, III_4, III_6, IV_1, IV_3$ άτομα με γονότυπο X^AY

$I_2, III_2, III_5, IV_2, IV$ άτομα με γονότυπο X^AX^A .

Για το άτομο III_2 δεν έχουμε πληροφορίες από τους γονείς του και αποκτά τρεις γιους υγιείς.

II_3, II_5, III_7 άτομα με γονότυπο X^AX^a

Ποιες είναι οι διαφορές γονιδιωματικής και cDNA βιβλιοθήκης.

- A.** Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη είναι ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας έχει ένα πλασμίδιο με διαφορετικό τμήμα DNA ενός οργανισμού δότη. Η cDNA βιβλιοθήκη είναι ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας περιέχει αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων.
- B.** Στους κλώνους της γονιδιωματικής βιβλιοθήκης μπορεί να περιλαμβάνονται ολόκληρα γονίδια (μαζί με τα έσωνια), τμήματα γονιδίων, τμήματα DNA που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες (υποκινητές, αλληλουχίες λήξης μεταγραφής, εσώνια, DNA αγνώστου λειτουργίας). Στους κλώνους της cDNA βιβλιοθήκης περιλαμβάνονται μόνο τα εξώνια των ενεργών γονιδίων 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές.
- Γ.** Στην γονιδιωματική βιβλιοθήκη κάθε αποικία που έχει ανασυνδιασμένο DNA αποτελεί και διαφορετικό κλώνο διότι περιέχει διαφορετικό τμήμα του γονιδιώματος. Στην cDNA βιβλιοθήκη συναντάμε τόσους κλώνους όσα τα διαφορετικά mRNA που απομονώθηκαν. Δηλαδή κάποιες αποικίες που έχουν ανασυνδιασμένα πλασμίδια ανήκουν στον ίδιο κλώνο μιας και κάποια cDNA είναι ίδια. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι από ένα ενεργό γονίδιο μεταγράφονται περισσότερα από ένα mRNA.
- Δ.** Για την κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης χρησιμοποιούμε περιοριστική ενδονουκλεάση (πρέπει να χρησιμοποιηθεί η ίδια ενδονουκλεάση και για την πέψη του γονιδιώματος και για τον φορέα κλωνοποίησης), πλασμίδιο ή φάγος ως φορέας κλωνοποίησης, DNA δεσμάση, κύτταρα ξενιστές, θρεπτικό υλικό, αγαρ, αντιβιοτικό ή αντιβιοτικά και τέλος ανιχνευτές. Για την cDNA θα χρησιμοποιήσω ότι και για την γονιδιωματική αλλά επιπλέον θα

χρησιμοποιήσω ώριμο mRNA, ελεύθερα δεσοξυριβονουκλεοτίδια, αντίστροφη μεταγραφάση, DNA πολυμεράση, (S_1 νουκλεάση, τρανσφεράση), ενώ ο φορέας κλωνοποίησης μπορεί να εξασφαλίσει και τον απαραίτητο υποκινητή για να εκφραστεί το γονίδιο.

- Ε.** Στην κατασκευή μιας γονιδιωματικής βιβλιοθήκης το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στο δότη του γονιδιώματος, στην ενδονουκλεάση που θα χρησιμοποιηθεί και όχι στον κυτταρικό τύπο από όπου θα προέρχεται το γονιδίωμα. Στην cDNA βιβλιοθήκη σημασία δεν έχει ο δότης οργανισμός ούτε η ενδονουκλεάση αλλά ο κυτταρικός τύπος από τον οποίο προέρχεται το ολικό ώριμο mRNA που απομονώνεται.
- ΣΤ.** Η γονιδιωματική βιβλιοθήκη συμβάλλει στην μελέτη του γονιδιώματος και την εύρεση του τρόπου οργάνωσής του. Η cDNA βιβλιοθήκη βοηθάει στην μελέτη των εξωνίων αλλά και στην παραγωγή της ανθρώπινης πρωτεΐνης από βακτήρια.