

## 9. 4. LOD analízis

### 9.4.1 A rekombinációs gyakoriság meghatározása LOD módszerrel

Ha a rekombináció gyakoriságát ( $R$ ) meg tudjuk határozni a kromoszómán két hely (két lokusz, két mutáció, két gén) között, akkor a **genetikai térképezési függvény** (Haldane függvény) szerint a két hely között az **átlagos crossing over gyakoriságot** is kiszámíthatjuk, azaz a **M** (Morgan), ill. **cM** (centimorgan) dimenziókat. Ha pedig az **M** értéket tudjuk, akkor a két hely fizikai távolságával egyenesen arányos **genetikai térképtávolságot** ( $d$ ) mérőszáma van a kezünkben. Különböző  $a$ ,  $b$ ,  $c$ , stb. helyek, pl.  $a^+/a^-$ ,  $b^+/b^-$ ,  $c^+/c^-$  stb. allélpárokkal jelzett lokuszok között meghatározott genetikai térképtávolságok ( $d$ ) ismeretében összeállítható **genetikai térkép a kétfaktoros (kétpontos) térképezési logikával**, azaz az **additivitási elvvel**. Ha a  $R_{a-b} \rightarrow d_{a-b}$ ,  $R_{b-c} \rightarrow d_{b-c}$ ,  $R_{a-c} \rightarrow d_{a-c}$  esetében  $d_{a-c} = d_{a-b} + d_{b-c}$  akkor az  $a$ - $b$ - $c$  helyek sorrendje a kromoszómán  $a - b - c$ .

A genetikai térkép annál részletesebb, azaz annál nagyobb a felbontása, minél több térkép pontot (azaz allélikus változatokkal bíró helyet) tartalmaz.

Emlékeztetőül a genetikai térképezési (Haldane) függvény  $R_{a-b} = 1/2(1 - e^{-2d(a-b)})$  ahol  $R$  a rekombináció gyakorisága tetszőleges  $a$  és  $b$  hely között és ahol  $d$  a crossing overek átlagos gyakorisága  $a$  és  $b$  hely között. Ne feledjük, hogy rekombináns elrendezéshez csakis **páratlan számú crossing overek** vezetnek.

A rekombináció gyakorisága ( $R$ ) meghatározható közvetlenül pl. tesztelő keresztezéssel (teszt cross), mint a rekombináns utód (gaméták) per összes utód (rekombináns + nem rekombináns, azaz szülői) (gaméta), amelyek a tesztelendő heterozigóta meiozisa során keletkeznek.

A rekombinációs gyakoriság egy próbálkozásokon alapuló közelítő eljárással is meghatározható. Ez a LOD módszer.  $LOD = 10$  alapú **logaritmus odds**. A módszer 1955 óta ismert (Morton), de elterjedését valójában a számítógépek műveleti sebességének fejlődésének köszönhetjük. Mint látni fogjuk 1-nél kisebb számok sokadik hatványait kell meghatározni hozzá. A LOD értékek és a rekombináció esélyére kapott függvények általában nem túl kifejezett maximumot adnak. Ez a maximum a rekombináció gyakoriságának azon **legvalószínűbb** értéke, amellyel a vizsgált populáció genotípusos eloszlása a legjobban magyarázható. A LOD-dal kapott R gyakoriságokat (megfelelő lötyögéssel, lásd a példákat) a térképszerkesztő programok (pl. Mapmaker) a **legvalószínűbb** géntérképekké rakják össze. Azaz az R értékekből levezetett d értékeket (l. fentebb a térképezési Haldane függvényt) a kétfaktoros térképezési logika (additivitások) alapján rendezik.

Három különböző alap „élet helyzetre” hozunk példákat:

1. Legvalószínűbb rekombinációs gyakoriság meghatározása **családfák** adataiból.
2. Legvalószínűbb gyakoriság meghatározása **közeli rokon fajokból** származó **fajhibridek** visszakeresztkezésével (inter specifikus back cross).
3. Legvalószínűbb rekombinációs gyakoriság meghatározása ugyanazon **faj távoli alfajainak keresztkezéséből** származó inter se  $F_2$  populációból.

### 9.4.1.1 Kapcsoltság és rekombinációs gyakoriság számítása

24. Legyen  $a^+$  allél domináns  $a^-$  allél felett (jelöljük  $a^+ > a^-$ ), valamint  $b^+$  allél domináns  $b^-$  allél felett (jelöljük  $b^+ > b^-$ )

Legyen  $a^+$  allél fenotípusos megjelenése A (jelöljük  $a^+ \rightarrow A$ )

$a^-$  allél fenotípusos megjelenése a (jelöljük  $a^- \rightarrow a$ )

Ennek megfelelően:  $b^+ \rightarrow B$ ,  $b^- \rightarrow b$

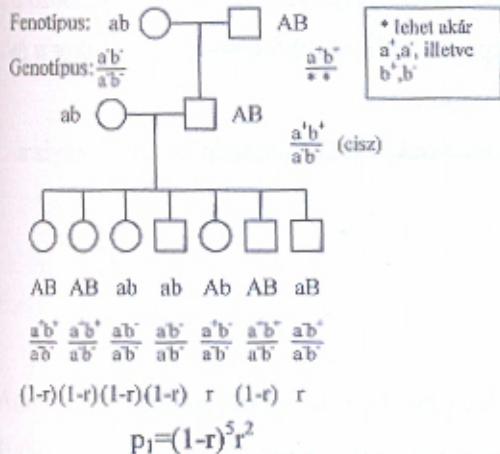
Legyen  $a$  és  $b$  gén (azaz  $a^+/a^-$ ,  $b^+/b^-$ ) **kapcsolt**

Vegyünk két családot, amelyben 3 generáció ismert.

Legyen: „ $r$ ” a valószínűsége a **rekombináns** gaméta képződésének, tehát

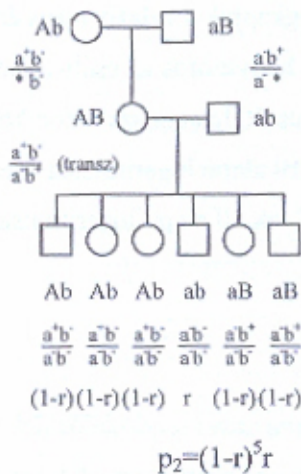
„ $1-r$ ” annak az esélye, hogy **nem-rekombináns**, azaz szülői gaméta képződik.

1. család



Heterozigóta szülő 7 gamétája

2. család



Heterozigóta szülő 6 gamétája



Mi a valószínűsége annak, hogy az 1. ill. a 2. család külön-külön ilyen arányban jelenítsen meg **rekombináns** gamétát és **nem – rekombináns** (azaz szülői kombinációt, haplotípusú) gamétát a heterozigóta szülőtől?

**Megoldás:** odds<sub>1</sub>, azaz  $p_1=(1-r)^5r^2$  7 gaméta alapján

odds<sub>2</sub>, azaz  $p_2=(1-r)^5r$  6 gaméta alapján

Mi a valószínűsége annak, hogy a 2 család összevontan (amely összesen 11 gamétát reprezentál, amelyek heterozigóta szülőktől, „meioziszból”, származnak) ilyen arányban jelenítsen rekombináns és nem- rekombináns utódokat.

**Megoldás:** az összesített „odds” a két „odds” szorzata:  $p_1 \times p_2$

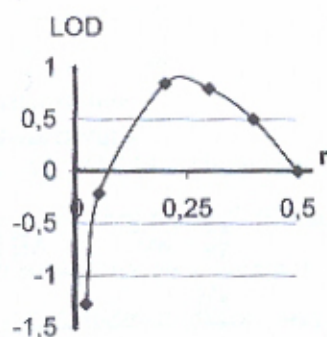
$$p_1 \times p_2 = p = (1-r)^5r^2 \times (1-r)^5r = (1-r)^{10}r^3$$

Most számoljuk ki  $p$  értékét különböző  $r$  értékekre. Az értékeket vonatkoztatjuk  $r = 0,5$ -nél kapott értékre, azaz osszuk el az egyes  $p$  értékeket  $p(r:0,5)$  értékkel.

Ezáltal megkapjuk a **relatív odds** értékeket (relatív esélyeket). Azaz a különböző  $r$  értékeknél hányszoros az esély ahhoz képest mintha  $r = 0,5$  lenne, azaz amikor  $a$  és  $b$  nem kapcsolt, hanem szabadon kombinálódik.

Vegyük a **10 alapú** logaritmusát ezen értékeknek: LOD (logaritmus odds vagyis a relatív esélyek 10 alapú logaritmus).

r	p(odds)	relativ odds	LOD (log odds)
0.5	0.000122	1	0
0.4	0.000387	3.170169	0.501082
0.3	0.000763	6.247900	0.795734
0.2	0.000859	7.036874	0.847380
0.05	7.48E-05	0.613106	-0.212460
0.02	6.54E-06	0.053547	-1.271260

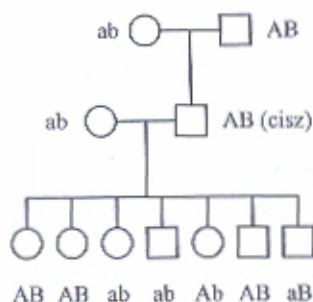


Amint a táblázatból kitűnik a LOD értéke a 3-as küszöbértéktől (azaz amikor 1000-szer valószínűbb, hogy a két hely kapcsolt mint az, hogy nem kapcsolt) még a legmegbízhatóbb  $r$  értéknél is ( $r=0.3$ ) messze van. Tehát a minta nagysága a

térképezést nem engedi meg. Ez nem meglepő, hiszen mindössze 13 gamétáról tudunk ítéletet mondani és közöttük a nem szülői kombinációt hordozók száma jelentős (3 a 13-ból). Minden esetre ezek az adatok azt érzékeltetik, hogy az **a** és **b** gének kapcsoltak és a rekombináció gyakorisága valahol a 20 és 40 %-os érték tágas körzetében elképzelhető.

25. Vegyünk két családot, amelyekben azonosak az utódok a 24. mintapéldában látottakhoz. Minden egyéb feltétel is azonos, **kivéve**: a 2. családban nem ismert a heterozigóta szülő fázisa, azaz az, hogy **cisz**, vagy **transz** heterozigóta. Ennek oka az, hogy nem ismertek a nagyszülők.

1. család (1. mintapéldát)



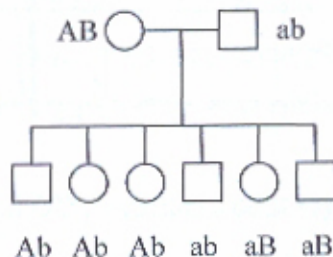
$$p_1 = (1-r)^5 r^2$$

az összesített odds =  $p_1 \times p_2$

2. család

Nem ismert AB-ről, hogy **cisz** vagy **transz** heterozigóta?

$\frac{a^+b^+}{a^-b^-}$  cisz  
 $\frac{a^-b^+}{a^+b^-}$  transz



cisz      r    r    r    (1-r)    r    r

transz    (1-r) (1-r) (1-r) (r) (1-r) (1-r)

cisz és transz esély átlaga

$$p_2 = \frac{(1-r)r^5 + (1-r)^5 r}{2}$$

$$p_1 \times p_2 = p = (1-r)^5 r^2 \left[ \frac{(1-r)r^5 + (1-r)^5 r}{2} \right] = \frac{(1-r)^6 r^2 + (1-r)^{10} r^3}{2}$$

Számítsuk ki LOD értékeit r változó értékeinél:

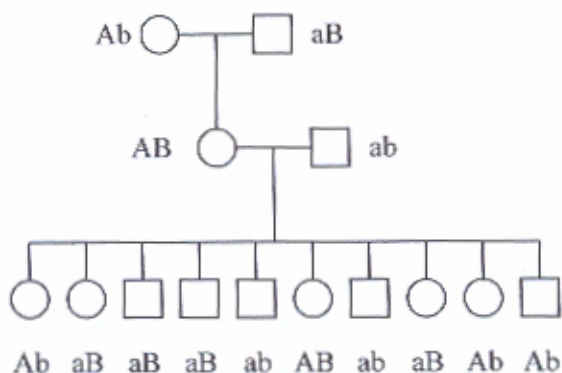
r	p(odds)	relatív odds	LOD(log odds)
0.5	0.000122	1	0
0.4	0.000232	1.898187	0.278339
0.3	0.000394	3.229339	0.509114
0.2	0.000431	3.532181	0.548043
0.05	3.74E-05	0.306555	-0.513490
0.02	3.27E-06	0.026773	-1.572290

Amint a táblázatból kitűnik, a LOD 3 küszöb értéktől még a legbiztosabb r értéknél is (r=0.2 és 0.3) messze vagyunk. Még az előző példánknál is kisebb és alig elkülöníthető a legnagyobb érték, tehát az adatok a további térképezéshez nem elegendek, hiszen csak 13 gamétáról tudunk ítéletet mondani. Ráadásul az egyik esetben a heterozigóta fázisát (cisz vagy transz) nem tudtuk, így a cisz és transz számtani átlagával kellett számolnunk. Ennek ellenére talán „beleérezhetjük” az adatokba, hogy az **a** és **b** gének kapcsolata és közöttük a rekombináció gyakorisága 0,1-0,4 értékek tágas körzetében elképzelhető.

26. a) Írja fel a p (odds) képletét az alábbi családra.

b) Számolja ki a LOD értéket  $r = 0,2$ -re

c) Kapcsolt-e, vagy nem  $a$  és  $b$  lokusz



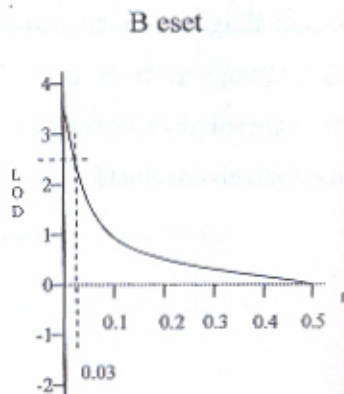
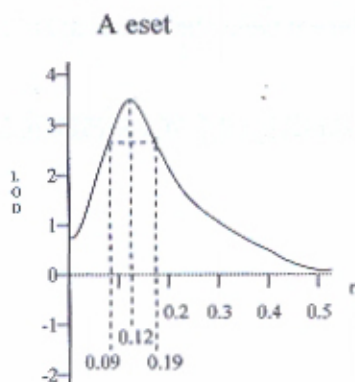
**Megoldás:**

a)  $p = (1-r)^9 r$

b)  $\log[(0,8)^9 0,2] / \log(0,5)^{10} = 1,44$

c) Lehetnek kapcsoltak, mert LOD értéke 0-nál nagyobb, noha 3-nál sokkal kisebb. Mindössze 10 gametából nem lehet precíz értéket számolni.

27. Lod értékei  $a$  és  $b$  lokuszra, nagyszámú utódból sok  $r$  értékre kiszámítva az alábbi lefutást jelzik.





1. Megbízhatóan jelzi-e a függvény azt, hogy **a** és **b** lokuszok kapcsoltak-e, vagy sem?

A esetben

B esetben

2. Ha kapcsolt **a** és **b** lokusz: mekkora a rekombináció **legvalószínűbb** mértéke, amely ezt a populáció struktúráját kiadta?

A esetben

B esetben

3. Egy független vizsgálatban **a** és **b** lokusz rekombinációját egy másik és ettől független, de azonos nagyságú populációban is mérték. Milyen lefutást tart valószínűnek LOD-ra, A esetre és B esetre.

a) Rajzolja le az ön szerinti legvalószínűbb lefutást A esetre, B esetre.

b) Mekkora biztonsággal állítja ezt.

4. Mekkora intervallummal („löttyögéssel”) vinné be a rekombináció értékét a térképező programba.

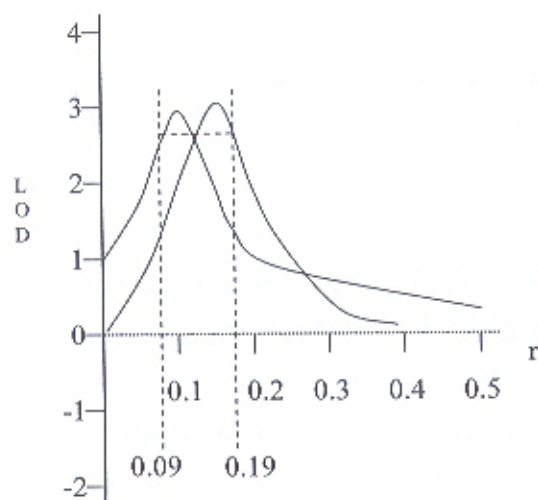
#### Megoldás:

1. Megbízhatóan jelzi azt, hogy **a** és **b** kapcsolt, mert LOD 3 feletti értékeket (és maximumot) kaptunk, azaz 1000-szer (ill. többször) valószínűbb, hogy **a** és **b** kapcsolt, mint azt, hogy nem-kapcsolt. A válasz azonos A esetre is és B esetre is.

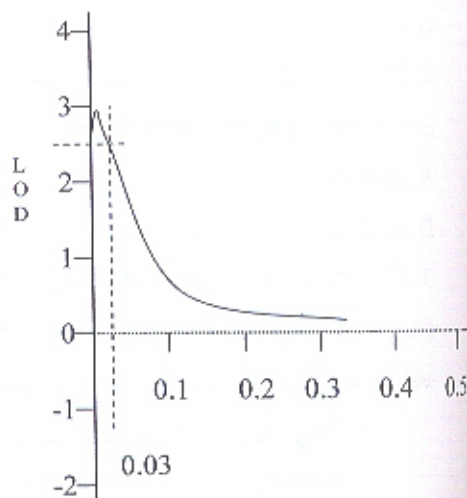
2. Mivel  $r = 0,12$ -nél maximumot látunk A esetre, a rekombináció legvalószínűbb értéke 0,12. Mivel  $r = 0$ -nál maximumot látunk B esetben, a rekombináció nagyon kis érték lehet, azaz **a** és **b** lokuszok közel fekszenek a kromoszómán. Ebben a populációban nem akadt rekombináns, ezért kaptunk maximumot  $r = 0$ -nál.

### 3. Valószínű lefutások A esetre és B esetre

A eset



B eset



A esetben a maximum 95% biztonsággal  $r = 0,09$  és  $0,19$  közé esne.

B esetben a maximum 95% biztonsággal  $r = 0,0$  és  $0,03$  közé esne.

A maximumtól visszalépve 1 LOD-nyit a görbét két ponton metsszük.

A esetben  $r = 0,09$ -nél és  $r = 0,19$ -nél, tehát a „lötyögés”  $r = 0,09 - 0,19$ .

Ezen intervallumba esne 95% biztonsággal a független mérés maximuma.

B esetben  $r = 0$ -nál és  $r = 0,03$ -nál, tehát a lötyögés  $r = 0,0 - 0,03$ .

Ezen intervallumba esne 95% biztonsággal a független mérés maximuma.

#### 9.4.1.2. Kapcsoltság és rekombinációs gyakoriság számítása inter-specifikus visszakeresztezésből (back-cross-ból)

Tételezzük fel, hogy van két közeli rokonságban lévő állatfaj, A faj és B faj. Gondolhatunk például házi macskára, halász macskára és leopárd macskára, szarvasmarhára és bantengra, gímszarvasra és milura (Dávid atya szarvasa), barna medvére és jeges medvére, házi egérre (*Mus musculus*) és *Mus spretus*ra cséögóra és törpe csimpánzra stb. Az A és B fajban a gének és a mikroszatelliták, genetikai markerek sorrendje még nem változott. Géntérképük tehát megegyezik. Feladatunk éppen a két faj géntérképezésének meghatározása 2 faktoros térképezéssel, amihez rekombinációs gyakoriságokat kell meghatározni. A két fajban a gének nukleotid sorrendjei és az allélikus változatok is nagyon hasonlóak lehetnek, mivel még nem telt el elég idő a két faj elválása óta. A géntérkép (azaz a gének, mikroszatelliták, genetikai markerek sorrendjének) változásához inverzióknak, transzlokációknak kell fellépni, amelyek megtörténtéhez és rögzüléséhez nem telt még el elégséges idő. Egy transzlokáció, vagy inverzió rögzüléséhez 20-25 millió év volt szükséges pl. az emlősök evolúciója során. Más a helyzet mikroszatellitákkal jelzett lokuszok sokaságán.

A valós génekkel ellentétben, amelyekre a funkció megtartása miatt erőteljes szelekciós nyomás nehezedik, a mikroszatelliták jelentős részére nem nehezedett szelekciós nyomás, hiszen élettani működéseikhez nem köthetők. A mikroszatellita lokuszok következmények nélkül halmozhattak mutációkat, pl. CA dinukleotid inszerciókat, deléciókat.

Vegyük *a* mikroszatellita lokuszt, amelynek allélikus variációit ugyanazon primer párral specifikusan amplifikálni tudunk egy PCR reakcióban A és B fajban egyaránt. Az A fajban mondjuk *a<sub>1</sub>*, *a<sub>2</sub>*, *a<sub>3</sub>*, a B fajban *a<sub>5</sub>*, *a<sub>6</sub>*, *a<sub>7</sub>* allél variációk amplifikálhatók, amelyeket hosszuk alapján egyértelműen azonosítani tudunk.



Tehát a hossz ismeretében azonnal azt is tudjuk, hogy melyik fajról van szó, A-ról, vagy B-ről. Elmondhatjuk a fentieket sok más, akár több ezer mikroszatellita lokuszról, így *b*, *c*, *d* stb. lokuszokról is. Genetikai analízishez, térképezéshez, térkép pont szempontjából nagyon érzékeny markerekhez jutottunk. Miközben a mikroszatellita allélek variációit jelentő változások száma a két faj DNS szekvenciájának elenyésző részét érintik, a két faj, A és B, teljes szekvenciája szinte korlátlan homológiákat biztosít a crossing overek, így a rekombináció megvalósulásához. *a-b*, *a-c*, *b-c*, *a-d*, *b-d* stb lokuszok között.

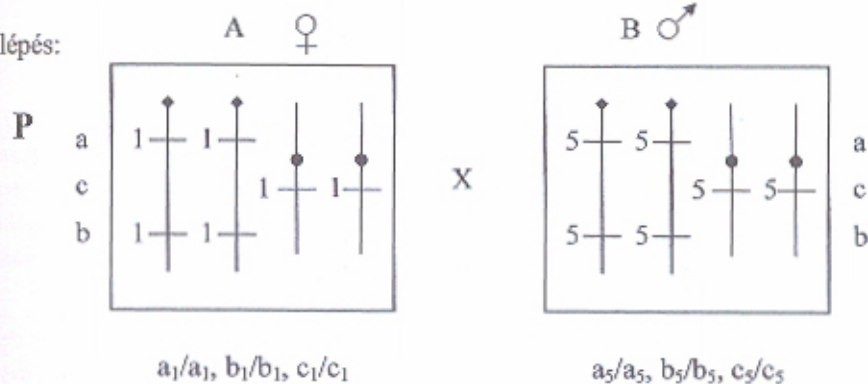
28. A és B közeli fajban a gének, mikroszatellita lokuszok és egyéb genetikai markerek sorrendje azonos, de magát a sorrendet, azaz a géntérképet nem ismerjük. A markerek között crossing over megtörténhet, rekombinációs gyakoriságokat lehet számolni, 2 faktoros térképezés valósítható meg. A és B fajra legyen érvényes a Haldane szabály (nem összetévesztendő a Haldane függvény ami, a térképezési függvény). A Haldane szabály szerint: A és B faj keresztezésekor létrejövő AB hibrid egyedek heterogamétás (pl. XY) szexusa sterilis, a homogamétás (pl. XX) fertilis. Jelen esetben az AB ♂ legyen XY (tehát sterilis) az AB ♀ (XX) fertilis. A hibrid AB ♀ visszakeresztezve bármely kiindulási faj ♂ egyedével (A ♂ vagy B ♂) utódok születnek. Ezeket az utódokat nevezzük **interspecifikus back cross** utódoknak. Nem nehéz felismernünk a hasonlóságot a tesztelő keresztezés (teszt cross) és az interspecifikus back cross között.

Legyen A és B fajok haploid kromoszóma száma 2.

A és B egyedeket keresztezzük az alábbi koreográfia szerint:

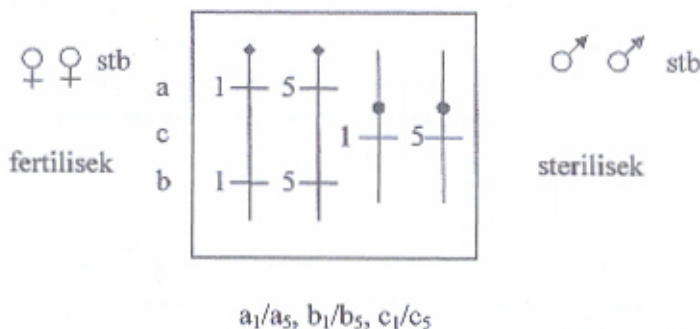


1. lépés:

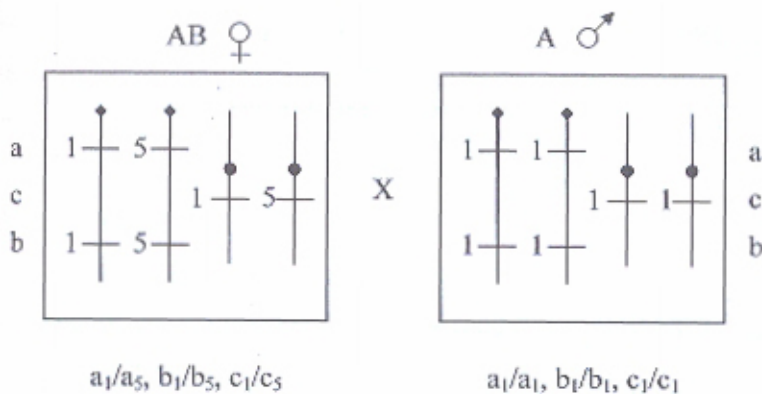


2. lépés:

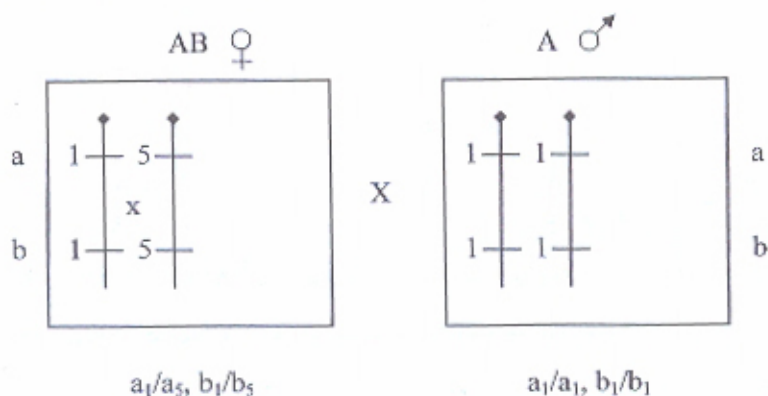
**F<sub>1</sub>**  
AB  
hibrid



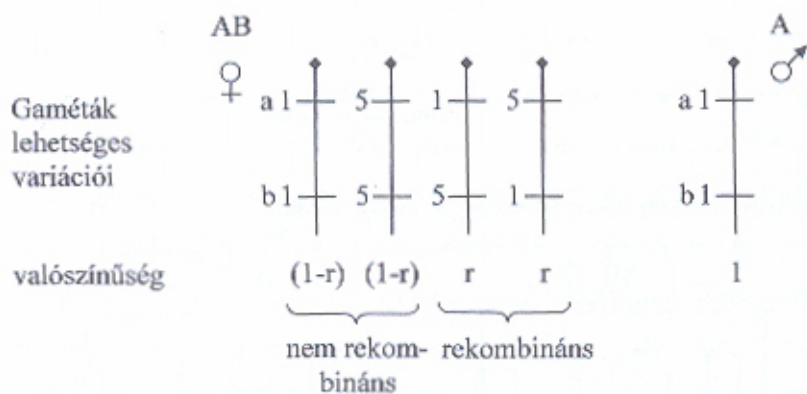
3. lépés: F<sub>1</sub> AB ♀ visszakeresztése pl. A faj ♂-mel.



4. lépés: Kövessük először *a* és *b* lokuszok közötti rekombinációt



x: a crossing over lehetséges helye, amely rekombináns gamétát eredményez



	P <sub>1</sub> kombináció	P <sub>2</sub> kombináció	R <sub>1</sub> kombináció	R <sub>2</sub> kombináció
5 lépés:				
100 utód				
F <sub>2</sub> back cross	a			
utódok				
variációi	b			
valószínűség	(1-r)	(1-r)	r	r
egyedszám (idealizált)	40	40	10	10

6. lépés: LOD számítás

$$\text{odds}(p_{a-b}) = (1-r)^{80} r^{20}$$

LOD maximuma várhatóan  $r = 0,2$ -nél lesz

29. Kiindulva a 28. példából és követve **a** és **b** lokuszokon lévő allélok öröklődését, milyen összegzett odds képlettel (azaz  $p_{a-b}=?$ ) írható le az az interspecifikus back cross F<sub>2</sub> populáció, amelyben az alábbi megoszlást tapasztaljuk:

P<sub>1</sub> típusúak 24

P<sub>2</sub> típusúak 19

R<sub>1</sub> típusúak 1

R<sub>2</sub> típusúak 3

Megoldás:  $p_{a-b} = (1-r)^{43} r^4$

30. Kiindulva a 28. példából és követve **a** és **b** lokuszokon lévő allélok öröklését egy 107 egyedből álló back cross F<sub>2</sub> populáció lett az eredmény.

a) Írjon fel egy olyan hasadási mintázatot, ami a valóságban is előfordulhat, ha  $r_{a-b} = 0,05$ -nél LOD maximumot ad.

**Megoldás:** pl:

P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
54	47	2	4
49	54	3	1
50	52	3	2

stb.

31. A szarvasmarha és a ritka banteng keresztezhető és a fajhibrid ♀ egyedek fertilisek. A fajhibrid ♀ visszakeresztezve szarvasmarha vagy banteng ♂-mel F<sub>2</sub> back cross utódok születnek. A gímszarvas és a rendkívül ritka milu szintén keresztezhető és a fajhibrid ♂ egyedek fertilisek (megszegve a Haldane szabályt). A fajhibrid ♂ keresztezhető gímszarvas, vagy milu tehennel, és F<sub>2</sub> back cross utódok születnek.

Mindkét interspecifikus keresztezésben a mesterséges megtermékenyítés megvalósítható. A fajok háziasított környezetben tenyésztethetők.

1. Melyik fajhibrid kombináció előnyösebb a kérődzők alap géntérképének elkészítéséhez.

2. A fenti lehetőségen túl milyen lehetőséget látna a szarvasmarha géntérkép szerkesztéséhez a LOD kihasználásával.

**Megoldás:**

1. A gímszarvas/milu fajhibrid előnyösebb, mert akár egyetlen hibrid ♂ is sok back cross megtermékenyítést tesz lehetővé. Gímszarvas tehén ui. bőven van a „back cross” borjak kihordásához.

2. Szarvasmarha esetében pl. a családfák összevont adataiból számolt LOD értékek segítségével.



32. Térjünk vissza a 28. mintapéldára. Most két nem kapcsolt, azaz szabadon kombinálódó mikroszatellita allélpár öröklődését kövessük:  $a$  és  $c$  lokuszok alléljeit.

A faj legyen  $a_1/a_1, c_1/c_1$                       B faj legyen  $a_5/a_5, c_5/c_5$

Az AB fajhibrid ♀ egyed tehát  $a_1/a_5, c_1/c_5$

Az interspecifikus visszakeresztezés legyen AB ♀ x A ♂

1. Milyen mikroszatellitákat hordoznak az interspecifikus back cross  $F_2$  nemzedék tagjai?
2. Egy 100 egyedből álló interspecifikus back cross  $F_2$  populáció idealizált esetben milyen hasadási mintázatot ad?
3. Milyen odds ( $p$ ) képlettel írható le ez az  $F_2$  nemzedék?
4. Írjon le egy életszerű hasadási mintázatot  $F_2$  populációra.

**Megoldás:**

1.  $a_1/a_1, c_1/c_1$  vagy  $a_5/a_1, c_1/c_1$  vagy  $a_1/a_1, c_5/c_1$  vagy  $a_5/a_1, c_5/c_1$

2. 25                      25                      25                      25

3.  $(1-r)^{50} r^{50}$

4. például    22    27    28    23  
                   29    28    21    22  
                   32    25    15    28    stb.

#### 9.4.1.3. Kapcsoltság és rekombinációs gyakoriság számítása távoli alfajok keresztezésével, $F_2$ populációból

Vegyünk egy növény fajt, amely önbeporzó, s amelynek A és B alfajait elterjedésükben nagy földrajzi távolság választja el. Legyen A alfaj pl. eurázsiai, B

alfaj pl. amerikai. A két alfaj az izoláltságban számos helyen a genomban eltérő polimorfizmusokat halmozott fel.

Például: A alfaj populációiban az **a** lokuszon  $a_1, a_2, a_3$  allélok találhatóak, B alfaj populációban  $a_5, a_6, a_7$ . Mondjuk ugyanez vonatkozik **b** lokuszra is, azaz A alfaj  $b_1, b_2, b_3$ ; B alfaj populációi  $b_5, b_6, b_7$  allélikus variációkat hordoznak.

Tételezzük fel, hogy **a** és **b** lokuszok kapcsoltak és ugyanakkor ko-dominánsak.

Ennek megfelelően legyen:

$a_1$  allél fenotípusos megnyilvánulása **A**

$a_2$  allél fenotípusos megnyilvánulása **a**

$a_5$  allél fenotípusos megnyilvánulása  **$\alpha$**

$a_6$  allél fenotípusos megnyilvánulása  **$\alpha$**

$b_1$  allél fenotípusos megnyilvánulása **B**

$b_2$  allél fenotípusos megnyilvánulása **b**

$b_5$  allél fenotípusos megnyilvánulása  **$\beta$**

$b_6$  allél fenotípusos megnyilvánulása  **$\beta$**

**33.** 1. lépés : Keresztezzük A és B távoli alfajt. Az egyszerűség kedvéért:

A alfaj hordozza  $a_1/a_1, b_1/b_1$  alléleket

B alfaj hordozza  $a_5/a_5, b_5/b_5$  alléleket

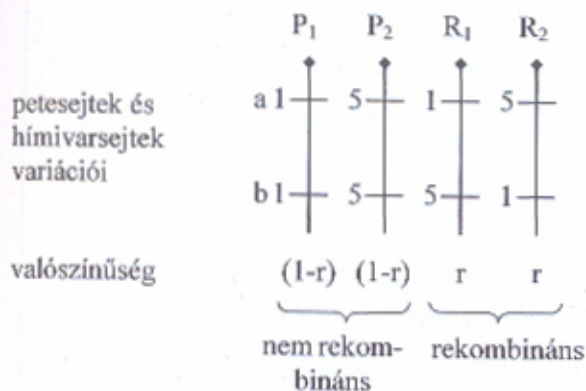
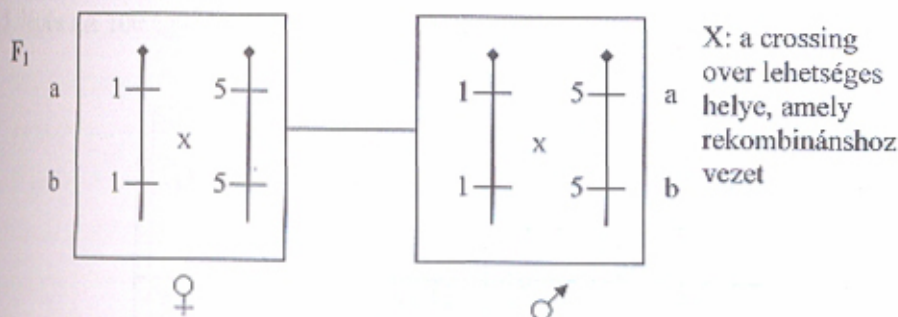
Következésképp:

A alfaj szülő fenotípusa **AB**

B alfaj szülő fenotípusa  **$\alpha\beta$**

Az  $F_1$  hibrid egyedeket ( $\text{♀♀}$  és  $\text{♂♂}$ ) fenotípusa:  **$\alpha\alpha, B\beta$**

2. lépés : Keresztezzük  $F_1$  hibrid egyedeket inter se.



3. lépés :

Vizsgáljuk meg az F<sub>2</sub> nemzedéket:

- Punnett táblán ábrázoljuk a lehetséges zigótákat (genotípusokat)
- Írjuk be az egyes zigóta féleségek fenotípusát
- Írjuk be az egyes zigóták létrejöttének esélyét, mint  $r$  és  $(1-r)$  tényezők szorzatát.

d) Írjuk le egy 100 egyedből álló F<sub>2</sub> populáció idealizált hasadását arra az esetre, ha  $r = 0,2$ . Sorszámozzuk a Punnett tábla mezőit (1).....(16)-ig.

Az a., b., c., kérdésre a választ az alábbi táblázat tartalmazza, amelyből kitűnik, hogy

A P típusú gaméták zigótává egyesülhetnek  $4x(1-r)^2$  eséllyel

A P és R típusú gamétákra az esély  $8x(1-r)r$

Az R típusú gaméták egyesülési esélye  $4xr^2$

4. lépés :

$\begin{matrix} \text{♂} \\ \text{♀} \end{matrix}$	$P_1$ (1-r)	$P_2$ (1-r)	$R_1$ r	$R_2$ r
$P_1$ (1-r)	$(1-r)^2$ $\Lambda B$	$(1-r)^2$ $\Lambda \alpha B \beta$	$(1-r)r$ $\Lambda B \beta$	$(1-r)r$ $\Lambda \alpha B$
$P_2$ (1-r)	$(1-r)^2$ $\Lambda \alpha B \beta$	$(1-r)^2$ $A \beta$	$(1-r)r$ $\Lambda \alpha \beta$	$(1-r)r$ $\alpha B \beta$
$R_1$ r	$(1-r)r$ $A B \beta$	$(1-r)r$ $\Lambda \alpha \beta$	$r^2$ $A \beta$	$r^2$ $\Lambda \alpha B \beta$
$R_2$ r	$(1-r)r$ $\Lambda \alpha B$	$(1-r)r$ $\alpha B \beta$	$r^2$ $\Lambda \alpha B \beta$	$r^2$ $\alpha B$



5. lépés : A 100 egyedből álló idealizált  $F_2$  populáció hasadása, ha  $r=0.2$

♂ \ ♀	$P_1$ (1-r)	$P_2$ (1-r)	$R_1$ r	$R_2$ r
$P_1$ (1-r)	(1) 16	(2) 16	(3) 4	(4) 4
$P_2$ (1-r)	(5) 16	(6) 16	(7) 4	(8) 4
$R_1$ r	(9) 4	(10) 4	(11) 1	(12) 1
$R_2$ r	(13) 4	(14) 4	(15) 1	(16) 1

6. lépés :

Írjuk fel a LOD számításhoz szükséges odds ( $p$ ) képletet.

A 100  $F_2$  egyed 200 gamétát jelenít meg. Gondot okoz, hogy a  $P_1/P_2$  (2 és 5. mezők) és az  $R_1/R_2$  (12 és 15. mezők) zigótái nem különíthetők el, fenotípusuk azonos: **AaBb**.

Melyik egyedeket vegyük úgy számba, hogy odds értékük  $(1-r)(1-r)$ , és melyiket úgy, hogy  $r \times r$ ?

Az összes többi egyedről egyértelműen ítéletet mondhatunk:

Valamennyi  $P_1/P_1$  ill.  $P_2/P_2$  zigóta  $(1-r)^2$ -tel veendő számításba

Valamennyi  $R_1/R_1$  ill.  $R_2/R_2$  zigóta  $r^2$ -tel

$$\left. \begin{array}{l} \text{Valamennyi } P_1/R_1, P_2/R_1 \\ \\ P_1/R_2, P_2/R_2 \end{array} \right\} \text{ zigóta } (1-r)r\text{-el}$$

Ez eddig 64 egyed, összesített odds (p) értékük :

$$[(1-r)^2]^{32} \times [r^2]^2 \times [(1-r)r]^{32} = (1-r)^{96} \times (r)^{36}$$

Maradhat még  $100-64=34$  egyed, az **A $\alpha$ B $\beta$**  fenotípusuk.

-Látjuk pl., hogy  $P_1/P_1$  zigóta fele akkora eséllyel keletkezik, mint a  $P_1/P_2$  zigóta.

-Látjuk pl. azt is, hogy  $R_1/R_1$  zigóta fele akkora eséllyel keletkezik, mint  $R_1/R_2$  zigóta

-Aránypárt állíthatunk fel:

$$16(AB) : 1(AB) = 34-X(A\alpha B\beta) : X(A\alpha B\beta)$$

$$X = 2$$

Tehát 32 (A $\alpha$ B $\beta$ ) egyedat  $(1-r)^2$  értékkel vesszünk figyelembe

2 (A $\alpha$ B $\beta$ ) egyedat  $r^2$  értékkel

Az összesített odds (p) ezek után:

$$p = (1-r)^{96} \times (r)^{36} \times [(1-r)^2]^{32} \times [r^2]^2 = (1-r)^{160} \times (r)^{40}$$

7. lépés :

Írjuk fel a **relatív odds** számolási képletét, ha  $r = 0,2$

$$r = 0,2\text{-nél } p = 0,8^{160} \times 0,2^{40}$$

$$r = 0,5\text{-nél } p = 0,5^{160} \times 0,5^{40} = 0,5^{200}$$

$$\text{relatív odds (p)} = \frac{0,8^{160} \times 0,2^{40}}{0,5^{200}} = 5,51 \times 10^{16}$$

$$\text{LOD} = 16,74$$

Mivel eleve egy idealizált  $F_2$  adathalmazból indultunk ki, a függvényünk is  $r = 0,2$ -nél adna LOD maximumot, tehát  $a$  és  $b$  lokuszok között a rekombináció gyakorisága 20%. (Idealizált volt, mert a reciprocitás tökéletesen érvényesült, mert a rekombinánsok pontosan 0,2 gyakorisággal jelentek meg, mert a gaméták találkozása tökéletesen követte a statisztikai várakozást, mert a ♀ és ♂ meiózis azonos volt stb.).

34. Az előző példát módosítjuk életszerűbbé. A 100 egyedből álló  $F_2$  populáció az alábbi fenotípus megoszlást adta.

AB	egyedek száma	14
$\alpha\beta$	egyedek száma	17
AB $\beta$	egyedek száma	6
A $\alpha$ B	egyedek száma	9
A $\alpha\beta$	egyedek száma	8
$\alpha$ B $\beta$	egyedek száma	10
A $\beta$	egyedek száma	1
$\alpha$ B	egyedek száma	0
A $\alpha$ B $\beta$	egyedek száma	35

a) Milyen odds ( $p$ ) képletet állítana fel a LOD számításához?

b) Miért kulcsfontosságúak a kodomináns genetikai markerek ebben a térképezési koreográfiában?

**Megoldás:**

$$\left. \begin{array}{l} \text{a) } AB [(1-r)^2]^{14} \\ \alpha\beta [(1-r)^2]^{17} \end{array} \right\} (1-r)^{62}$$

$$\left. \begin{array}{l} AB\beta \\ A\alpha B \\ A\alpha\beta \\ \alpha B\beta \end{array} \right\} [(1-r)r]^{6+9+8+10} = (1-r)^{33} \times r^{33}$$

$$\left. \begin{array}{l} A\beta \\ \alpha B \end{array} \right\} (r^2)^{1+0} = r^2$$

A 35 A $\alpha$ B $\beta$  megoszlása:

$$31(AB + \alpha\beta) : 1(A\beta + \alpha B) = (35 - x) : x$$

$$x = \frac{35}{32} = 1,1$$

Tehát vegyük úgy, hogy a 35 egyedből:

34 P<sub>1</sub>/P<sub>2</sub> zigóta és 1 R<sub>1</sub>/R<sub>2</sub> zigóta

odds (p) értékük [(1-r)<sup>2</sup>]<sup>34</sup>, ill. (r<sup>2</sup>)<sup>1</sup>

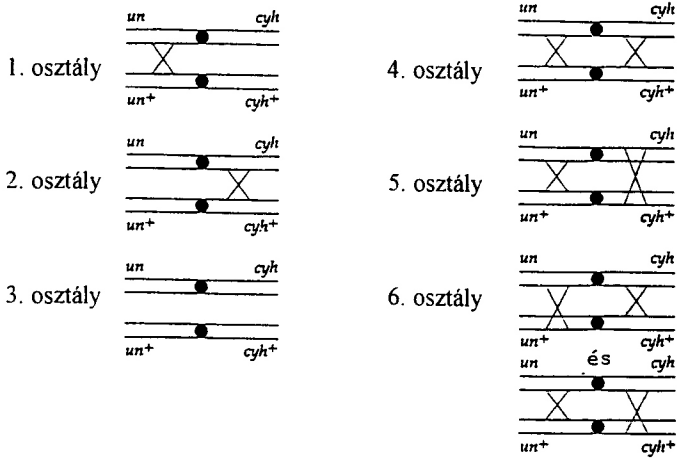
Ezek után a 100 egyedből álló F<sub>2</sub> odds (p) képlete:

$$p = (1-r)^{62} \times (1-r)^{33} \times r^{33} \times r^2 \times [(1-r)^2]^{34} \times (r^2)^1 = (1-r)^{163} \times (r)^{37}$$



b) Azért, mert ez esetben a heterozigóták haplotípusai egyértelműen megmondhatók a „Punnett tábla” 3, 4, 9, 10; 7, 8, 10, 14 mezejében (ld. Mintapéllda 4. és 5. lépését). Mindössze a kettős heterozigóták jelentkeznek összevontan (2, 5, 12, 15 mezők). Domináns/recesszív viszonyban 9 kategória (1, 2, 3, 4, 5, 9, 12, 13, 15 mezők) összeolvad, továbbá a 7., 10, 11.; 8, 14, 16 mezők is.

b)



c) Ha a crossoverok száma kettőre korlátozott, a hiányzó tetrádok meghatározására jól használható az alábbi ábra:

