

Πολυμορφισμοί, συχνότητες γονιδίων & Hardy- Weinberg

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ & ΕΞΕΛΙΞΗ

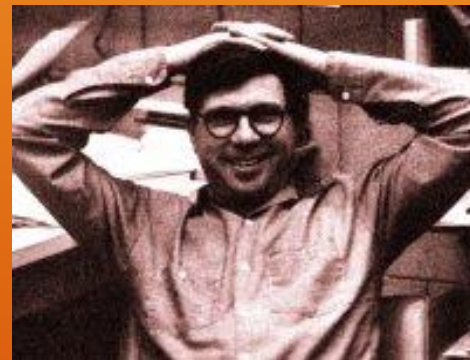
- ▶ Μέγεθος του ανθρώπινου γονιδιώματος:
 - ▶ ~ 3×10^9 νουκλεοτίδια
- ▶ Ποικιλομορφία εμφανίζεται κάθε 1/200-1/500 νουκλεοτίδια
 - ▶ Είμαστε ίδιοι κατά 99,5-99,8%
- ▶ Δύο τυχαία χρωμοσώματα μπορεί να διαφέρουν σε $6 - 15 \times 10^6$ νουκλεοτίδια (σε όλους τους πιθανούς συνδυασμούς)



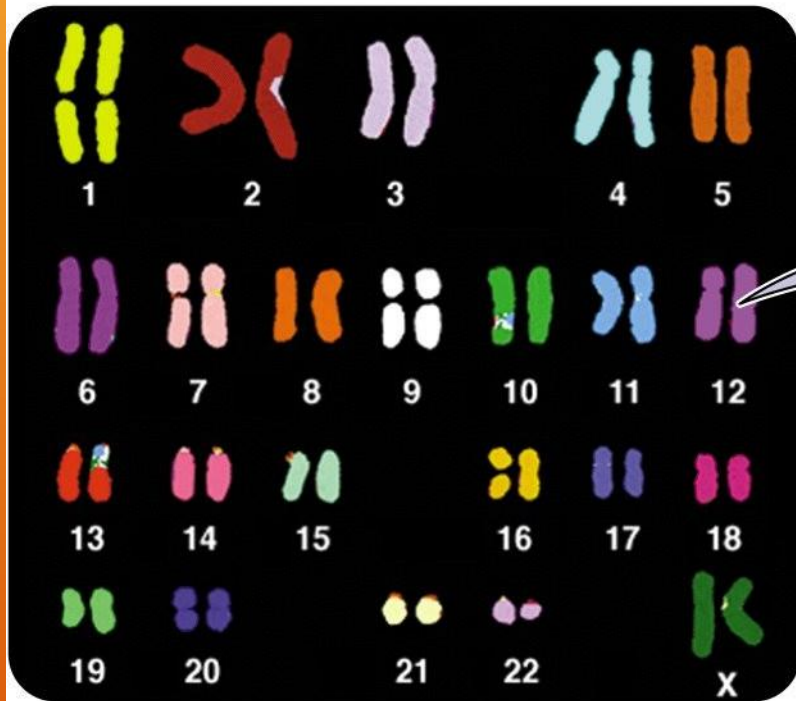
Πόσο διαφορετικοί είμαστε;

- ▶ Η εμφάνιση πάνω από μία μορφή γονιδίου (αλληλόμορφο) σε ένα γονίδιο
 - ▶ Η ύπαρξη γενετικής ποικιλότητας
- ▶ Τύποι πολυμορφισμού (Lewontin 1984)
 - ▶ Ελάσσων πολυμορφισμός (minor): Ένα αλληλόμορφο κυριαρχεί σε έναν πληθυσμό και όλα τα άλλα είναι σπάνια
 - ▶ Μείζων πολυμορφισμός (major): Δύο αλληλόμορφα κυριαρχούν σε έναν πληθυσμό και τα άλλα είναι σπάνια
- ▶ Τα αποτελέσματα από τις γενετικές αναλύσεις δείχνουν και τους δύο τύπους πολυμορφισμού
 - ▶ Επιστημονική διαμάχη
 - ▶ Για γονίδια που ελέγχουν σημαντικές ασθένειες, θεωρούμε ότι υπάρχει ελάσσων πολυμορφισμός

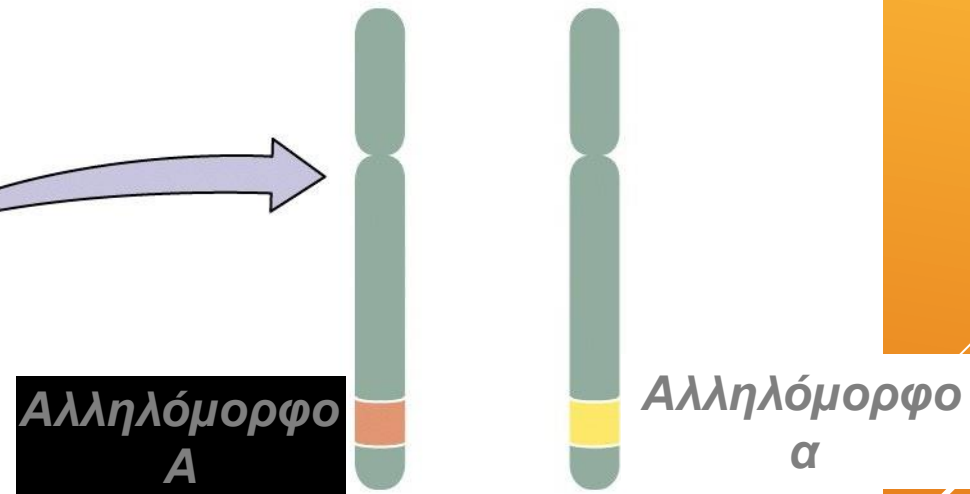
Πολυμορφισμός



(a)



(b)

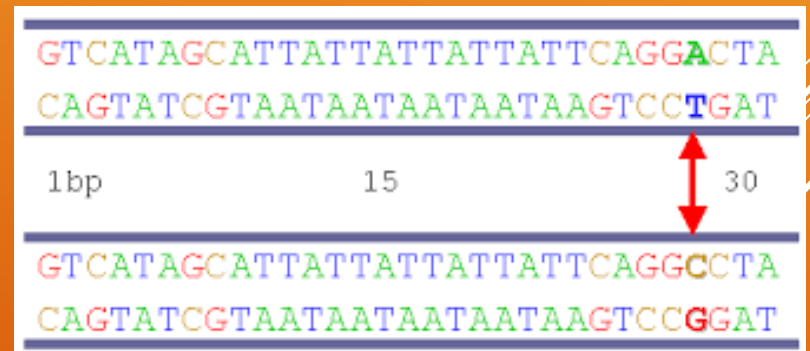
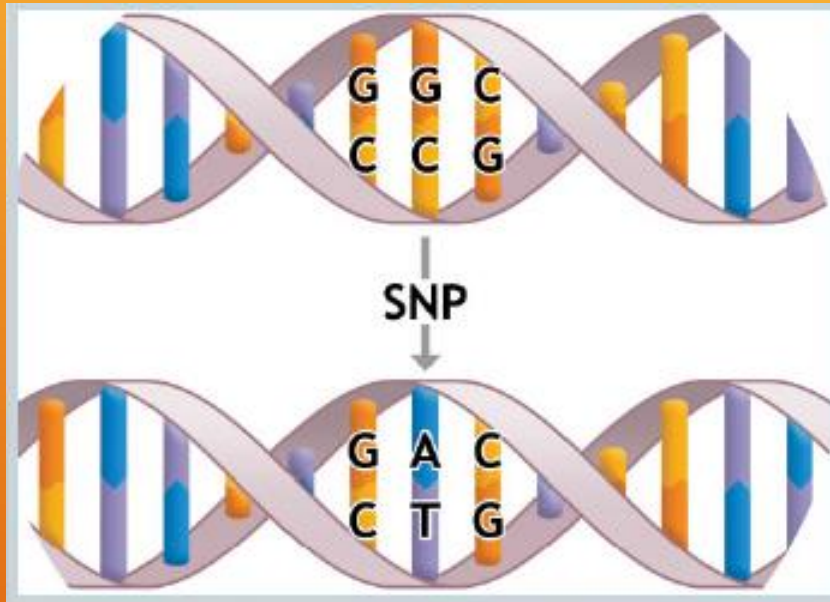


- ▶ Πρωτεϊνικοί πολυμορφισμοί
 - ▶ Ηλεκτροφόρηση αλλοενζύμων (ισοένζυμα)
- ▶ Νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί
 - ▶ Πολυμορφισμοί μήκους περιοριστικών θραυσμάτων (Restriction Fragment Length Polymorphisms – RFLPs),
 - ▶ Insertions/Deletions
 - ▶ Τυχαίοι κυρίαρχοι δείκτες
 - ▶ Επαναλήψεις - Tandem repeats (VNTR's-
microsatellites)
 - ▶ Single Nucleotide Polymorphisms - SNPs



Πειραματικές μέθοδοι ανίχνευσης
της γενετικής ποικιλότητας

Πολυμορφισμοί σε μία θέση (SNP)



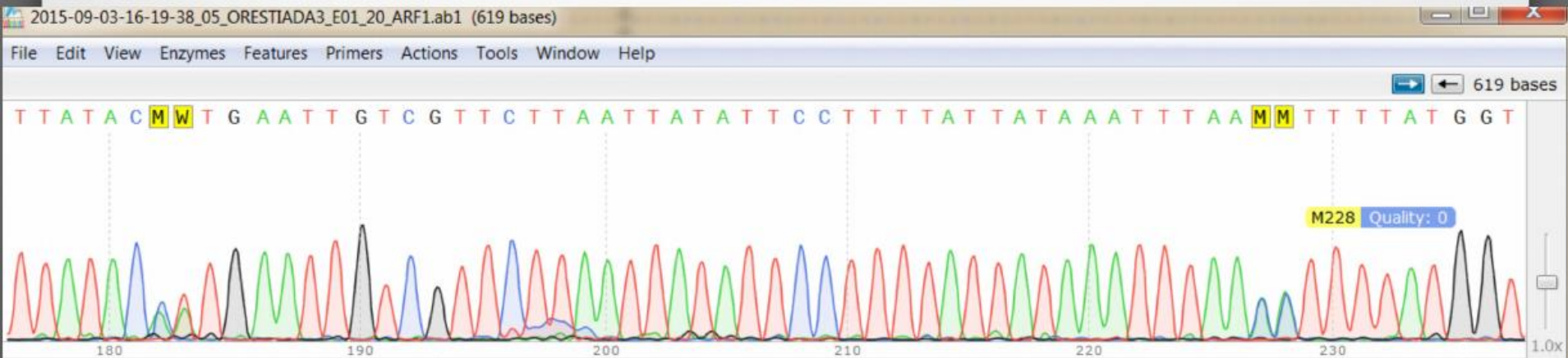
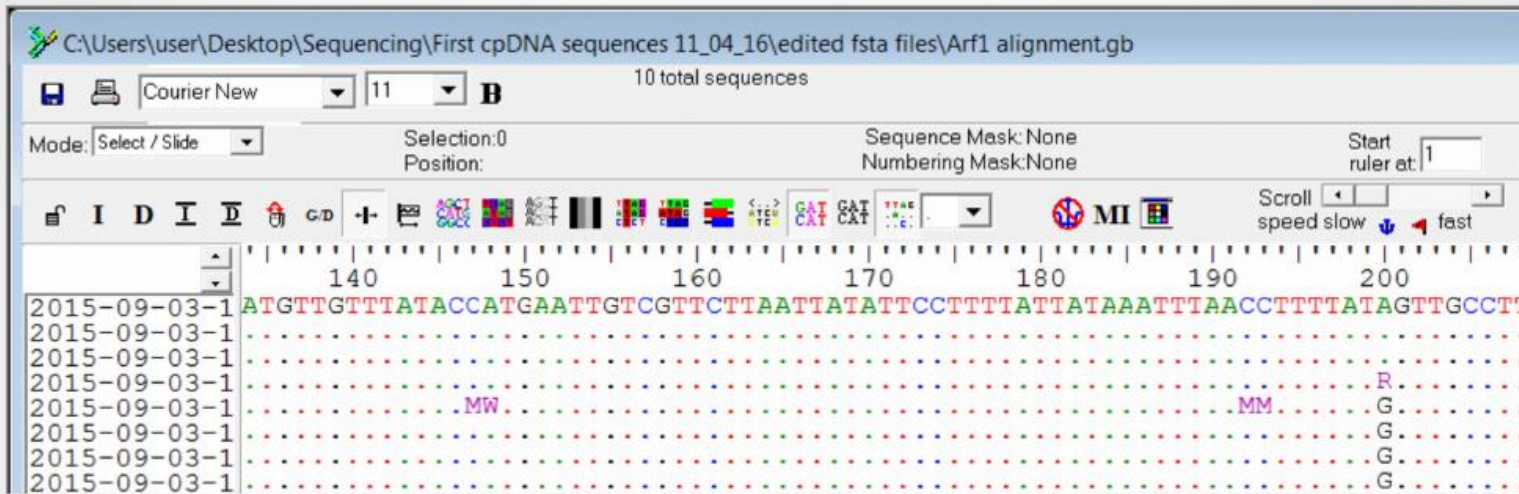
- ▶ Τα SNPs είναι πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου
- ▶ Γενετικοί δείκτες με δύο αλληλόμορφα
- ▶ Πολύ συχνή η εμφάνισή τους στο ανθρώπινο γονιδίωμα
- ▶ Πιο σταθερά από τους μικροδορυφόρους
- ▶ Εύκολη και γρήγορη τυποποίηση σε μεγάλη κλίμακα
- ▶ Με την πρόοδο της αλληλούχησης, αποκτούν ιδιαίτερη σημασία

SNP

- ▶ Δύο άτομα είναι όμοια κατά 99.9%
- ▶ Το 90% της διαφοράς οφείλεται σε SNPs
- ▶ Υπολογίζονται 10.000.000 συνήθη SNPs (MAF>10%)
- ▶ dbSNP: > 9.000.000 καταχωρήσεις
- ▶ Οι βάσεις δεδομένων με SNPs συνεχώς εμπλουτίζονται με τα αποτελέσματα ερευνών

Ποικιλότητα του ανθρώπινου DNA

Εντοπισμός SNP σε αλληλουχίες



Γονίδιο Arf στο *Fagus sylvatica*

The raw data

SNPs

AG CT GT GG CT CC CC CC CC AG AG AG AG AG AA CT AA GG GG CC GG AG CG AC CC AA CC AA GG TT AG CT CG CG CG AT CT CT AG CT AG GG GT GA AG
GG TT TT GG TT CC CC CC CC GG AA AG AG AG AA CT AA GG GG CC GG AA GG AA CC AA CC AA GG TT AA TT GG GG GG TT TT CC GG TT GG GG TT GG AA
GG TT TT GG TT CC CC CC CC GG AA AG AG AA AG CT AA GG GG CC AG AG CG AC CC AA CC AA GG TT AG CT CG CG CG AT CT CT AG CT AG GG GT GA AG
GG TT TT GG TT CC CC CC CC GG AA AG AG AG AA CC GG AA CC CC AG GG CC AC CC AA CG AA GG TT AG CT CG CG CG AT CT CT AG CT AG GT GT GA AG
GG TT TT GG TT CC CC CC CC GG AA GG GG GG AA CT AA GG GG CT GG AA CC AC CG AA CC AA GG TT GG CC CG CG CG AT CT CT AG CT AG GG TT GG AA
GG TT TT GG TT CC CC CG CC AG AG AG AG AG AA CT AA GG GG CT GG AG CC CC CG AA CC AA GT TT AG CT CG CG CG AT CT CT AG CT AG GG TT GG AA
GG TT TT GG TT CC CC CC CC GG AA AG AG AG AA TT AA GG GG CC AG AG CG AA CC AA CG AA GG TT AA TT GG GG GG TT TT CC GG TT GG GT TT GG AA

Notes:

- Ο γονότυπος κάθε SNP αποτελείται από δύο αλληλόμορφα
- Κάθε στήλη από γονότυπους αντιστοιχεί σε ένα SNP

Καταγραφή γενετικής ποικιλομορφίας

Από τα αποτελέσματα των γενετικών αναλύσεων παίρνουμε μια καταγραφή των γονοτύπων ενός δείγματος για έναν πληθυσμό

- Για ένα γονίδιο (γονιδιακός τόπος ή γονιδιακή θέση)

Έστω ένας τόπος με δύο αλληλόμορφα, A και a

- p : η συχνότητα του αλληλόμορφου A
- q : η συχνότητα του αλληλόμορφου a

Οι τρεις δυνατοί γονότυποι είναι AA , Aa και aa

- P : η συχνότητα του γονοτύπου AA
- H : η συχνότητα του γονοτύπου Aa
- Q : η συχνότητα του γονοτύπου aa

Έστω ένας τόπος με αλληλόμορφα A και a .

Ποιες είναι οι συχνότητές τους σε αυτό το δείγμα (p και q)?



Εμφανίζονται οι γονότυποι AA , Aa , και aa . Ποιές οι συχνότητές τους (P , H και Q);

$$p+q=1 \text{ και } P+H+Q=1$$

Υπολογισμός συχνοτήτων

Συχνότητες γονοτύπων

$$P = \frac{N_{AA}}{N}$$

$$H = \frac{N_{Aa}}{N}$$

$$Q = \frac{N_{aa}}{N}$$

Συχνότητες αλληλομόρφων με καταμέτρηση

$$p = \frac{2N_{AA} + N_{Aa}}{2N}$$

$$q = \frac{2N_{aa} + N_{Aa}}{2N}$$

200 άτομα: 83 AA, 62 Aa, 55aa

1η μέθοδος: υπολογίστε το ποσοστό των αλληλομόρφων A στους γονείς:

Γονότυπος	Αριθμός	A	a	
AA	83	166	0	$228/400 = 0.57 A$
Aa	62	62	62	$172/400 = 0.43 a$
aa	55	0	110	

Υπολογισμός συχνοτήτων

Συχνότητες γονοτύπων

$$P = \frac{N_{AA}}{N}$$

$$H = \frac{N_{Aa}}{N}$$

$$Q = \frac{N_{aa}}{N}$$

Συχνότητες αλληλομόρφων με υπολογισμό από συχνότητες γονοτύπων

$$p = P + \frac{H}{2}$$

$$q = Q + \frac{H}{2}$$

200 άτομα: 83 AA, 62 Aa, 55aa

2η μέθοδος: υπολογίστε το ποσοστό των γαμετών που φέρουν το A:

Γονότυπος Αριθμός Συχνότητα γονότυπου

AA	83	0.415	→ 0.57 A	
Aa	62	0.31		1/2
aa	55	0.275		1/2

→ 0.43 a

Νόμοι πιθανοτήτων

Πιθανότητα για ένα γεγονός να συμβεί:

- Σχετίζεται με τον πληθυσμό των πιθανών γεγονότων

Τυχαία γεγονότα θεωρούνται ισοπίθανα

- Πιθανότητα να φέρουμε κορώνα αν ρίξουμε ένα νόμισμα = $\frac{1}{2}$
- Πιθανότητα ένα βρέφος να γεννηθεί αγόρι = $\frac{1}{2}$
- Πιθανότητα να φέρουμε 6 με ένα ζάρι = $\frac{1}{6}$
- Πιθανότητα ένα αλληλόμορφο ενός ετερόζυγου γονοτύπου να περάσει σε έναν γαμέτη = $\frac{1}{2}$

Οι πιθανότητες λαμβάνουν τιμή από 0 ως 1

- Πιθανότητα 0 = ένα γεγονός δεν θα συμβεί ποτέ
- Πιθανότητα 1 = ένα γεγονός συμβαίνει πάντα

Το άθροισμα των πιθανοτήτων για όλα τα αλληλο-αποκλειόμενα γεγονότα είναι ίσο με 1

Πολλαπλασιαστικός κανόνας

*Η πιθανότητα να συμβούν ταυτόχρονα δύο ανεξάρτητα γεγονότα, είναι ίση με το **γινόμενο** των πιθανοτήτων για το καθένα από τα επιμέρους γεγονότα*

Παράδειγμα: Ποια η πιθανότητα ένα ζευγάρι να αποκτήσει δύο αγόρια με δύο ανεξάρτητες εγκυμοσύνες;

Πιθανότητα να γεννηθεί αγόρι στην πρώτη εγκυμοσύνη = $1/2$

Πιθανότητα να γεννηθεί αγόρι στη δεύτερη εγκυμοσύνη = $1/2$

Δύο αγόρια (στην πρώτη **ΚΑΙ** στη δεύτερη εγκυμοσύνη) = $1/2 \times 1/2 = 1/4$

Αθροιστικός κανόνας

*Η πιθανότητα να συμβεί το ένα από δύο συμπληρωματικά γεγονότα είναι ίση με το **άθροισμα** των πιθανοτήτων για το καθένα από τα επιμέρους γεγονότα*

Παράδειγμα:

Ας θεωρήσουμε μια μονοϋβριδική διασταύρωση για το κίτρινο/πράσινο χρώμα σπόρου στα μπιζέλια ($Y/y \times Y/y$).

Ποιά είναι η πιθανότητα ότι δύο σπόροι από τη διασταύρωση θα έχουν το ίδιο χρώμα (και οι δύο κίτρινοι ή και οι δύο πράσινοι);

$$P(\text{κίτρινο}) = 3/4. \quad P(\text{και οι δύο απόγονοι κίτρινοι}) = 3/4 \times 3/4 = 9/16$$

$$P(\text{πράσινο}) = 1/4. \quad P(\text{και οι δύο απόγονοι πράσινοι}) = 1/4 \times 1/4 = 1/16$$

$$P(\text{δύο σπόροι κίτρινοι} \cup \text{δύο σπόροι πράσινοι}) = 9/16 + 1/16 = 10/16$$

Δύο άτομα είναι ετερόζυγα για το αλληλόμορφο R (Rr). Το αλληλόμορφο R είναι φυσιολογικό. Το r μπορεί να προκαλέσει αναιμία.

Ποιά είναι η πιθανότητα ότι το παιδί τους έχει τουλάχιστον ένα R;

A. $\frac{1}{4}$

B. $\frac{1}{2}$

Γ. $\frac{3}{4}$







Δ. 1

	R	r
R	RR	Rr
r	Rr	rr
		$\frac{1}{4}$

$$P(RR) = \frac{1}{4} \quad P(Rr) = \frac{1}{2}$$

$$P(rr) = \frac{1}{4}$$

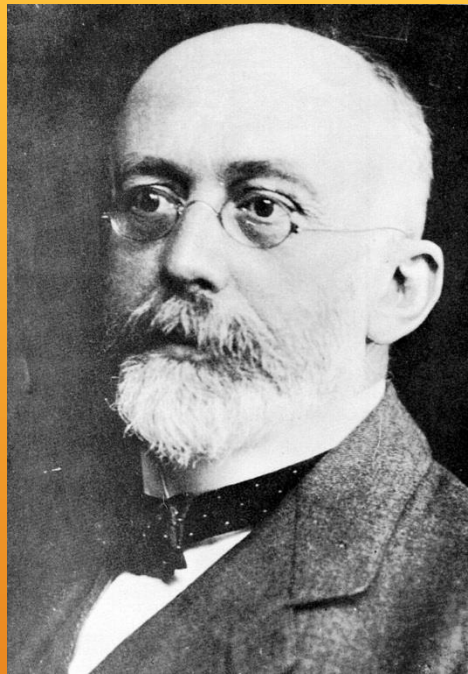
$$P(\text{τουλάχιστον ένα R}) = \frac{1}{4} + \frac{1}{2} = \frac{3}{4} \quad \text{εξαρτημένα γεγονότα}$$

		 pollen ♂	
		1/2 B	1/2 b
 pistil ♀	B 1/2	 BB 1/4	 Bb 1/4
	b 1/2	 Bb 1/4	 bb 1/4

ΜΕΝΔΕΛΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

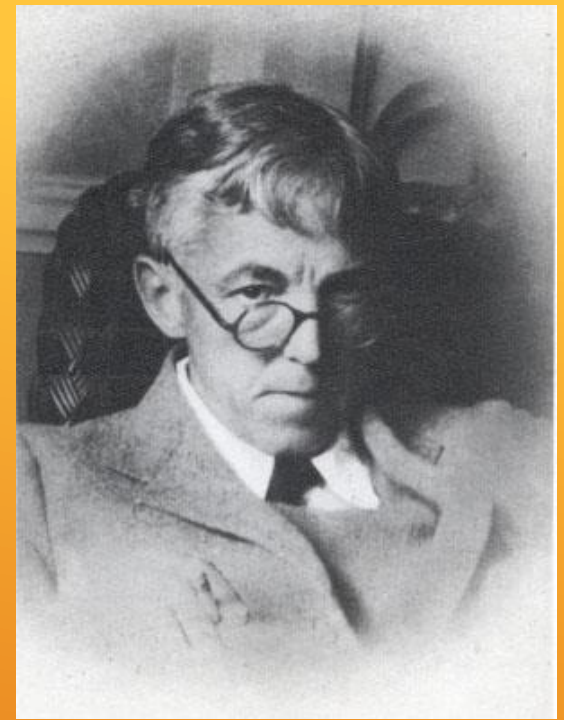
Ο Mendel προβλέπει
φαινοτυπικές και γονοτυπικές
αναλογίες στους απογόνους
με βάση τον γονότυπο των
γονιών

Yule 1902,
Castle 1903,
Pearson 1904



Wilhelm *Weinberg*
(1862–1937)

1908



Godfrey Harold *Hardy*
(1877–1947)

- Hardy, G. H. (1908). "Mendelian proportions in a mixed population". *Science* **28**: 49–50.
- Weinberg, W. (1908). "Über den Nachweis der Verebung beim Menschen". *Jahreshefte des Vereins für vaterländische Naturkunde in Württemberg* **64**: 368–382.

Οι Hardy & Weinberg δίνουν τη λύση σε ένα παράδοξο (1908)

Την εποχή εκείνη επικρατούσε η αντίληψη ότι για διακριτούς μενδελικούς χαρακτήρες, όλα τα ζεύγη φαινοτύπων σε έναν πληθυσμό θα έφταναν τελικά την αναλογία 3:1 με το επικρατές αλληλόμορφο να αυξάνει τη συχνότητά του και το υπολοιπόμενο να μειώνεται

- Ο Yule, υποστήριζε ότι «εφόσον η **βραχυδακτυλία** είναι επικρατές νόσημα, με τον καιρό θα συναντάμε τρία άτομα με βραχυδακτυλία και ένα φυσιολογικό»
- Στην πραγματικότητα η βραχυδακτυλία είναι πολύ σπάνιο νόσημα

Ο Hardy απάντησε ότι «είναι τελείως αβάσιμη η ιδέα ότι ένας επικρατής χαρακτήρας θα τείνει να εξαπλωθεί στον πληθυσμό ενώ ένας υπολειπόμενος θα τείνει να εξαφανιστεί»

Μενδελικός πληθυσμός

Υπάρχει τρόπος να υπολογίσουμε τη συχνότητα των γονοτύπων των απογόνων από τις συχνότητες των γονοτύπων των γονέων σε έναν πληθυσμό;

- Ναι, αν η αναπαραγωγή είναι **τυχαία**

Ένας πληθυσμός όπου οι συζεύξεις μεταξύ των ενήλικων ατόμων γίνεται τυχαία λέγεται **μενδελικός πληθυσμός**



Τυχαία αναπαραγωγή

Ένας πληθυσμός με δύο γένη και ενήλικα (σεξουαλικά ώριμα) άτομα

Όταν όλες οι δυνατές διασταυρώσεις είναι ισοπίθανες τότε έχουμε **πληθυσμό τυχαίας αναπαραγωγής** (μενδελικό πληθυσμό)

Η πιθανότητα διασταύρωσης μεταξύ ατόμων με συγκεκριμένο γενότυπο ή φαινότυπο ισούται με το γινόμενο των συχνοτήτων τους στον πληθυσμό

- Πανμειξία (πανμεικτικός πληθυσμός)

Εξαγωγή του θεωρήματος Hardy-Weinberg

Θηλυκοί γαμέτες (συχνότητα)

	A (p)	a (q)
Αρσενικοί γαμέτες (συχνότητα)	AA (p ²)	Aa (pq)
	Aa (pq)	aa (q ²)

$$pAA = p^2$$

$$pAa = pq + pq = 2pq$$

$$paa = q^2$$

Γύρη

A

p

a

q

A

AA

Aa

p^2

pq

p

Ωάρια

a

Aa

aa

pq

q^2

q

Περιγραφή των συχνοτήτων αλληλομόρφων και γονοτύπων σε έναν πληθυσμό, εφόσον πληρούνται οι παραδοχές των Hardy-Weinberg

		Σπερματοζώαρια	
		Συχν. (A) = 0,7	Συχν. (a) = 0,3
Ωάρια	Συχν. (A) = 0,7	Συχν. (AA) = $0,7 \times 0,7$ = 0,49	Συχν. (Aa) = $0,7 \times 0,3$ = 0,21
	Συχν. (a) = 0,3	Συχν. (aA) = $0,3 \times 0,7$ = 0,21	Συχν. (aa) = $0,3 \times 0,3$ = 0,09

Η συχνότητα του αλληλομόρφου A είναι p και η συχνότητα του αλληλομόρφου a είναι q . Μετά τη διασταύρωση, οι 3 γονότυποι AA, Aa και aa έχουν συχνότητες p^2 , $2pq$ και q^2 αντίστοιχα.

- ▶ Γενιά απογόνων: $P(AA)=0,49 + P(Aa)=0,42 + P(aa)=0,09$
- ▶ Υπολογισμός συχνότητας αλληλόμορφου A στη γενιά την απογόνων:
 - ▶ $p(A)=P(AA)+P(Aa)/2 = 0,49+0,21=0,7$
 - ▶ $p(a)= P(aa)+P(Aa)/2 = 0,09+0,21=0,3$
- ▶ Οι συχνότητες των αλληλομόρφων από γενιά σε γενιά δεν αλλάζουν

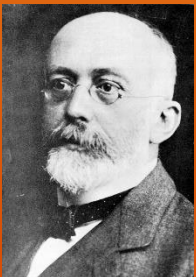
Υπολογισμός συχνοτήτων
αλληλομόρφων στην επόμενη Γενιά

Νόμος Hardy-Weinberg

Η πιο βασική σχέση στη γενετική πληθυσμών

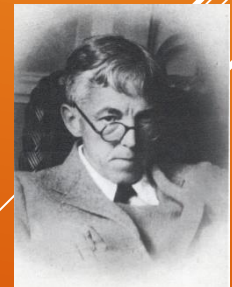
Όταν έχουμε τυχαία αναπαραγωγή, μετά από μία γενιά μπορούμε να υπολογίσουμε τις συχνότητες των γενοτύπων ενός πληθυσμού σαν **διωνυμική συνάρτηση** των συχνοτήτων των αλληλομόρφων

Αν απουσιάζουν άλλοι εξελικτικοί παράγοντες (π.χ. επιλογή), και η αναπαραγωγή παραμένει τυχαία, τότε οι συχνότητες αυτές **δεν μεταβάλλονται** από γενιά σε γενιά



Wilhelm *Weinberg*
(1862–1937)

Godfrey Harold *Hardy*
(1877–1947)

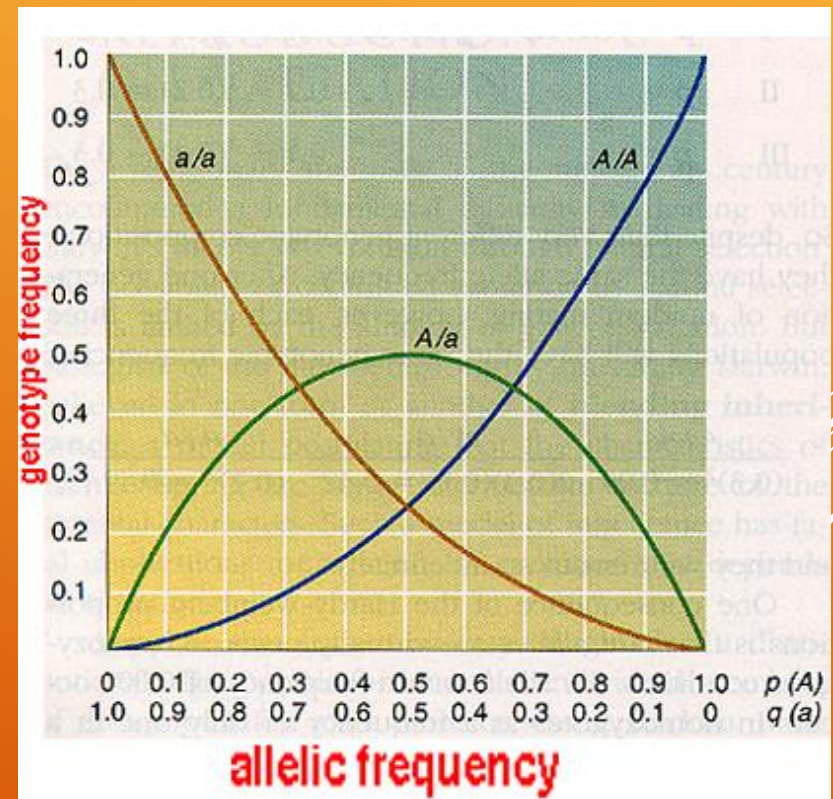


Ανάπτυγμα

$$p^2 + 2pq + q^2 = (p+q)^2$$

Σημαίνει ότι με τυχαία αναπαραγωγή, συνδυάζονται τυχαία ανά δύο τα αλληλόμορφα A και a με συχνότητες p και q

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$



Προϋποθέσεις για την ισχύ του θεωρήματος H-W

- Διπλοειδής οργανισμός
- Σεξουαλική αναπαραγωγή
- Μη επικαλυπτόμενες γενιές
- Μέγεθος πληθυσμού άπειρο
- Ίδιες αλληλικές συχνότητες σε αρσενικά και θηλυκά
- Τυχαία σύζευξη των ατόμων (παμμισία)
- Δεν υπάρχει επιλογή
- Δεν υπάρχει εισροή αλληλομόρφων στον πληθυσμό (μετανάστευση ή μεταλλαγή)

Ισορροπία Hardy - Weinberg

- Υποθέτουμε τυχαίες συζεύξεις, πολύ μεγάλο μέγεθος πληθυσμού, απουσία επιλογής, μεταλλάξεων, μεταναστεύσεων κτλ ώστε οι γονιδιακές συχνότητες να μην αλλάζουν από γενιά σε γενιά
- Το θεώρημα H-W προβλέπει ότι οι γονιδιακές και γονοτυπικές συχνότητες παραμένουν ίδιες από γενιά σε γενιά.
- Αν ξεκινήσουμε από ένα πληθυσμό με συγκεκριμένες γονιδιακές συχνότητες και τυχαίες γονοτυπικές συχνότητες, στην επόμενη γενιά (αν ισχύουν οι προϋποθέσεις H-W) οι γονιδιακές συχνότητες θα παραμείνουν αναλλοίωτες ενώ οι γονοτυπικές θα αποκτήσουν τη συχνότητα που προβλέπεται από το θεώρημα H-W ($P=p^2$, $H=2pq$, $Q=q^2$)
- Η σχέση (επικρατής ή υπολειπόμενη) ανάμεσα στα αλληλόμορφα δεν παίζει ρόλο

- ▶ Η συχνότητα των ετερόζυγων γονοτύπων σε έναν πληθυσμό για ένα γονίδιο λέγεται ετεροζυγωτία
- ▶ Σε έναν πληθυσμό ισορροπίας είναι $P(Aa)=2pq$
- ▶ Συμβολίζεται και με H οπότε $H=2pq$ ή και $H=\sum p_i^2$
- ▶ Σε πραγματικούς πληθυσμούς διακρίνουμε δύο είδη ετεροζυγωτίας:
 - ▶ Παρατηρούμενη ετεροζυγωτία H_o (συχνότητα ετερόζυγων γονοτύπων στον πληθυσμό)
 - ▶ Αναμενόμενη ετεροζυγωτία H_e (ετεροζυγωτία κάτω από συνθήκες ισορροπίας)
- ▶ Σε έναν πληθυσμό ισορροπίας ισχύει: $H_o=H_e$

ΕΤΕΡΟΖΥΓΩΤΙΑ

Κατανόηση των νόμων του Mendel και των Hardy- Weinberg

- Για έναν πληθυσμό σε ισορροπία Hardy-Weinberg, δεν υπάρχει τάση εξαφάνισης ή επικράτησης ενός αλληλομόρφου
- Αυτή η ικανότητα για διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας είναι από τα πιο σημαντικά σημεία της μενδελιανής γενετικής σε αντίθεση με τις παλιότερες θεωρίες αναμιγνύουσας κληρονομικότητας