

GENOM TÉRKÉPEZÉS

Genomika: a gén és kromoszóma szóösszetétel

a genetika olyan területe, mely a teljes genomot,
vagy 1 kromoszómát vizsgál.

Cél: A gének pozícióját határozza meg a kromoszómában

MÉRTÉKEGYSÉGEK

Alap: 1 bp (bázispár) a duplaszálú DNS alapegysége

Ha ez 1 mm; 1 kbp=1 m és 1 mbp=1 km

1 átl. emberi kromoszóma hossza 150 mbp=150 km

1 átl. emlős gén hossza 3 kbp=3 m

1 ember összes kromoszómájának

hossza=3000 mbp= 3000 km

(Barcelona-Moszkva)

1 bp mutáció megtalálása = 3000 km-en 1 gombostűfej!

GENETIKAI TÉRKÉPEZÉS

A lokuszok pozícióját kell ismerni, majd ezek kapcsolódásait

(kapcsolódási csoportok)

adott kromoszómához kell azonosítani

(ezek a tájékozódó pontok a keresett gén felé!)

GENETIKAI MARKEREK

Tájékozódási pontok!

Követelmények:

- polimorf legyen
- allélváltozatai kimutathatók legyenek

Genetikai jegyek= • szín, szarvaltság,

enzimek, vércsoportok

(nem volt elégséges)

- DNS polimorfizmusok

génektől független változó

DNS szakaszok

REKOMBINÁCIÓ

Kromoszómák testi sejtekben, párban vannak

(autoszómák)

Rajtuk a gének gyöngyfűzése.

A rekombináció során a kapcsolt allélek átkereszteződnek az új „rekombináns” generációban

A rekombináció mértéke = a térképtávolság

Minél távolabb van a kromoszómán a két lokusz, annál valószínűbb az átkereszteződés

$$\text{Rekombinációs \%} = \frac{\text{összes rekombináns} \times 100}{\text{összes utód}}$$

R % = max 50 centimorgan

Genetikai távolság= alapegység R % = 1 centimorgan

1 cM

2 lokusz között max 50cM

A KAPCSOLTSÁG KIMUTATÁSA

A mendeli keresztezés módszerével térképezési populáció előállítása

Az allél – fázis fogalma:

- két kapcsolt lokusz azonos kromoszómán

cisz pozícióban

- ellentétes kromoszómán

transz pozícióban vannak

Az összegyűjtött családadatok alapján számítógéppel azonosítható a térképtávolság

KÉT – HÁROMPONTOS TÉRKÉPEZÉS

A kapcsoltság kimutatása után, két lokusz genetikai kimutatására

A két lokusz közötti R % mérése

A kétpontossal a kapcsoltság, majd a többpontossal a lokusz sorrend is (számítógéppel) azonosítható

Térképfüggvények: a két lokusz közötti

R % gyakoriság és valós genetikai

távolság viszonyát fejezi ki

A többszörös átkeresztezések torzító hatásaival is számolnak

A hím és nőstény adatok eltérőek!

Készülnek a kettő átlagát mutató térképek is.

KROMOSZÓMA TECHNIKÁKON ALAPULÓ TÉRKÉPEZÉSI MÓDSZEREK

Alap = citogenetikai térképek

a kromoszómák mérete, alakja, festése alapján

Kariotípus= egy faj kromoszómainak morfológiája

- Fluorescens in - situ hibridizáció

megkülönböztethető alakú kromoszómáknál

(ember, sertés) fénymikroszkóppal

- Összehasonlító géntérkép

- Lézeres kromoszóma osztályozás (festéssel)

- Kromoszóma mikrodarabolás (uv lézerrel)

10 mbp fragmentek készülnek

- Kromoszóma mikroklónozás baktérium vektorokba.

SEJTHIBRIDITÁCIÓN ALAPULÓ GÉNTÉRKÉPEZÉS

1. Szomatikus sejthibridek

szarvasmarha fehérvérsejt fúziója egér ráksejtekkel

A hibridsejtek végül csak 1-2 szarvasmarha kromoszómát tartalmaznak

2. Radiációs (sugárzásos) hibridek a klónokat adott markerre tesztelik

FIZIKAI GÉNTÉRKÉPEZÉS

A DNS analízisén alapszik!

Itt a távolságokat bázispárban mérjük

(bp, kbp, mbp)

A genetikai térképeknél a rekombináció gyakoriság

(cM a mérték)

SZEKVENCIA ÁLTAL JELÖLT HELYEK

1. A genom egyetlen pontján, 1 kópiában lévő DNS szakasz

kb. 200-500 bp hosszú

A mikroszatellit is ilyen

2. Makrorestrikciós térképezés

megabázis tartományban tud fragmentumokat

elválasztani

3. Makroklónozó rendszerek

kilobázis tartományban (sörélesztőben)

4. Baktérium klónozó rendszerek

350 kilobázis alatt

5. Egybefüggő klónsorozatok készítése

TRANSZKRIPTUM TÉRKÉPEZÉS

A gének névjegyei

- Szövetminta – DNS
- Génekről – mRNS termelődik ezeket normalizálják
- Adott génhelyek meghatározása
- Majd ezek számítógépes összehasonlítása
- Az újak kiszűrése és azonosítása

A KÜLÖNBÖZŐ TÉRKÉPEK ÁTJÁRHATÓSÁGA

- citogenetikai (zsúfoltság)
- genetikai (rekombináció)
- fizikai

mind a lokuszok kromoszómális sorrendjét hordozza

A lokuszok távolsága eltérő, csak a fizikain valós a távolság.

Integrált térképek készítése

Genom szekvenálás

Embernél a teljes génszekvencia ismeretével azonosítható a gén és nem kódoló regulátor elemek sorrendje, a gének exon – intron sorrendje, a különböző genetikai változások száma, elhelyezkedése is.

a. klónról – klónra szekvenálás

(ember, egér)

b. véletlenszerű szekvenálás

(E. coliba klónozott)

teljes genomot feldarabolják és összeillesztik

ÖSSZEHASONLÍTÓ GÉNTÉRKÉPEZÉS

Egyes fajok között.

Evolúciós vizsgálatok

pl. emlős evolúció=200 millió év

Egyes fajokban azonos régiók léte, újabb feltérképezetlen régiókat segít azonosítani

Ősi és újabb genetikai változatok kimutatása.

Homológia = megegyezőség

Azon Homológ gének, melyek ugyanabban a fajban ősi génből keletkeztek a **paralóg gének**

Azon homológ gének, melyek eltérő fajokban mutathatók ki az **ortológ gének**

Szinténia = azonos kromoszómán lévő gének

KONZERVÁLÓDOTT DNS SZAKASZOK

1. Konzerválódott szinténia

két faj két, vagy több homológ génje

azonos kromoszómán van

függetlenül a sorrendtől

2. Konzerválódott szegment

két faj két, vagy több homológ génje

azonos kromoszómán van,

folytonos sorrendben helyezkedik el

3. Konzerválódott sorrend

két faj két, vagy több homológ génje

azonos kromoszómán van,

azonos sorrendben

MARKEREK

I. típusú markerek – a gének

II. típusú markerek – mikroszatellitek

III. típusú markerek – 500-1000 bp-onként kb. 3 millió

exonban, intronban, gének között

AZ ÖSSZEHASONLÍTÓ GÉNTÉRKÉPEK FEJLETTSÉGE

Ember - betegségek feltérképezése

Egér mint modell állat

elhízás, magas vérnyomás, alkohol függőség

tanulmányozása

Háziállatok gazdaságilag fontos tulajdonságok

A GÉNEK AZONOSÍTÁSÁNAK MEGKÖZELÍTÉSE

1. Funkció alapján – fehérje termék

2. Pozíció alapján, mikor nincs funkcionális információnk

3. Esélyes gén megközelítés (hátránya a sok lehetőség)

ismert, hogy egyes gének egyes tulajdonságokat

befolyásolnak

pl. növekedés – növekedési hormon gén

4. Pozicionálisan esélyes gén először térképezés, majd a
funkciót is keresni kell

GENOM PROJEKTEK

Ember 1984- től

Hirosimai következmények

1990- től indult USA – nemzetközi

cél = 2-5 cM felbontású térkép

1994-re 1 cm felbontású készült 99% pontossággal

Egér

Háziállatok – szarvasmarha, sertés, tyúk, juh, ló