

Klausurvorbereitung Genetik

1. Klassische Genetik und Stammbäume

Gregor Mendel: 1822-1884

1. Mendelsche Regel: Nachkommen reziproker Kreuzungen reiner Linien besitzen einheitlichen Phänotyp → *Uniformitätsregel*
2. Kreuzungen der heterozygoten Nachkommen (F_1) zweier reinrassiger Elternlinien untereinander führen zur Aufspaltung der Phänotypen in bestimmten Zahlenverhältnis → *Spaltungsregel*
3. Allele verteilen sich im Prinzip unabhängig voneinander und unabhängig von den Allelen anderer Gene auf die Nachkommen → *Unabhängigkeitsregel*

Allel: eine von zwei oder mehr alternativen Formen eines Gens, das sich am selben Genlocus zweier homologer Chromosomen befindet.

1.1. multiple Allelie

Mehrere Allele eines Merkmals vorhanden.

1.2. Kodominanz:

beide Phänotypen nebeneinander nachweisbar

1.3. Dominanz:

ein Allel überwiegt & ist für Ausprägung des Merkmals allein maßgebend

- Merkmalsträger geben Gen an Hälfte der Nachkommen weiter
- Keine Bevorzugung eines bestimmten Geschlechts
- Unter Nachkommen merkmalsfreier Personen kein Auftreten

Beispiele autosomal dominanter Krankheiten:

- Familiäre Hypercholesterinämie
- Marfan-Syndrom (lange Gliedmaßen)
- Retinoblastom

1.4. Penetranz:

Durchschlagskraft eines Gens, angegeben in Prozent der Häufigkeit

1.5. Expressivität:

Grad der phänotypischen Ausprägung eines penetranten Gens

Grund für unregelmäßige Dominanz z.B. *Spätmanifestation* → z.B. Chorea Huntington (große Penetranz, sofern bestimmtes Alter erreicht, aber große Variabilität in Expressivität)

1.6. Pleiotropie / Polyphänie:

ein Gen für mehrere Merkmale zuständig → *Marfan-Syndrom, Mukoviszidose, PKU*

1.7. Rezessivität:

Phänotyp nur im homozygoten Zustand ausgeprägt (klinisch gesehen, nur wenn es zu einer äußerlich sichtbaren Fehlbildung kommt) → praktisch alle Stoffwechseldefekte

Beispiel autosomal rezessiver Krankheiten:

- PKU → Schwachsinn durch gehemmte Myelinisierung

- Albinismus
- Mukoviszidose

1.8. Pseudodominanz:

wenn heterozygoter und homozygoter zusammen Kinder kriegen, ist Aufspaltungsmuster wie bei dominantem Erbgang

1.9. Heterozygotentest:

1. Bestimmung der Enzymaktivität
2. abgeschwächte Manifestation des Merkmals
3. Belastung eines Probanden mit der abzubauenen Substanz
4. gentechnologisch durch DNA-Sonden

1.10. X-chromosomale rezessive Vererbung:

- **Hemizygotie:** beim Mann gibt es bei X-chromosomaler Vererbung weder Hetero- noch Homozygotie → Hemizygotie

Erkennung X-chromosomal rezessiver Erbgänge:

1. hemizygoter Mann bekommt mit homozygot gesunder Frau nur gesunde Söhne, und alle Töchter sind Konduktorinnen
2. Konduktorinnen (mit gesundem Mann) übertragen das kranke Gen auf die Hälfte ihrer Kinder → Hälfte der Söhne krank & Hälfte der Töchter Konduktorinnen
3. Homozygotie bei Frauen, wenn hemizygoter Vater mit heterozygoter Mutter
4. homozygote Frau mit gesundem Mann hat nur kranke Söhne und Konduktorinnen als Töchter
5. hemizygoter Mann mit homozygoter Frau → nur befallene Kinder

Beispiel: *Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Defekt*

1.11. X-chromosomal dominante Vererbung:

- bei Frauen doppelt so häufig wie bei Frauen

Erkennung X-chromosomal dominanter Erbgänge:

1. Söhne befallener Männer sind merkmalsfrei, alle Töchter krank
2. heterozygot erkrankte Frauen haben zur Hälfte kranke Kinder (unabhängig vom Geschlecht)
3. Elternteile beide krank → alle Töchter krank, Hälfte der Söhne krank
4. bei homozygot erkrankter Mutter → alle Kinder krank, egal ob Vater hemizygot oder nicht

Kranke Männer sind i.a. schwerer betroffen.

Beispiel: *VitaminD-resistente hypophosphatämische Rachitis (Phosphatdiabetis)*

1.12. Mitochondriale Vererbung

Mitochondrien schwimmen nicht einfach so in der Zelle rum, sie sind an das Cytoskelett assoziiert, aber trotzdem noch flexibel beweglich.

Mitochondriale DNA 37 Gene → 22 tRNAs, 2rRNAs, 13 polyadenylierte Transkripte für die oxidative Phosphorylierung (größerer Anteil der Untereinheiten ist nukleär kodiert).

bei menschlichen Mitos keine Introns (bei Hefe schon) → sehr kompakt, *veränderter genetischer Code*

D-loop: in vielen Vertebratenzellen ein Dreistrangabschnitt, Replikationsstart

Es gibt *nur einen Promotor* (bei Hefe hat jedes Gen eigenen Promotor)

Größe: Mensch: ~17kb

Es finden viel mehr Mutationen als im Kern statt, weil *Histone und ein Reparatursystem* nicht vorhanden sind.

Polyplasmie: In jedem Mitochondrium befinden sich *2-10 Kopien* der mitochondrialen DNA

Die tRNA aus Mitochondrien hat eine andere Struktur → höhere Flexibilität in der Codon-Anticodon-Erkennung; es genügen 22 tRNAs

Das mitochondrielle Genom (mtDNA) wird **maternal** vererbt, da Spermienkopf praktisch keine Mitos enthält. → Krankheiten werden bloß über Frauen vererbt.

Heteroplasmie: In einer Zelle können sowohl Mitochondrien mit normaler als auch mit mutierter mtDNA vorliegen.

Mutational load: Krankheitsgrad abhängig davon, wie viel Prozent krank

Schweregrad mitochondrialer Krankheiten hängt ab von:

- Energiebedarf des Gewebes (, in dem Störung auftritt)
- Anteil mutierter Mitochondrien in einer Zelle
- Alter des Patienten (je älter desto mehr Mutationen!) → Huntington, Alzheimer

Mutationen in Mitochondrien:

- Viele Punktmutationen
- Viele Umorganisationen
- Oft t-RNAs von Mutation betroffen
- Seltener gibt es Deletionen großer DNA-Stücke (im kb-Bereich)
- Eine Mutation kann mehrere Phänotypen haben, umgekehrt können mehrere Mutationen gleichen Phänotyp haben

1.13. Genkopplung

Wenn Gene auf einem Chromosom liegen und somit zusammen vererbt werden.

Crossing-over: Überkreuzung der homologen Chromosomen → Chiasma, abhängig vom genetischen Abstand

1.14. Heterogenie

Gleiche Phänotypen werden durch verschiedene Gene verursacht.

1.15. Epistasie

Wenn Gene in mutanter Form die Ausprägung anderer Gene unterdrücken.

1.16. imprinted Characters

Merkmale, bei denen es entscheidend ist, ob man es vom Vater oder von der Mutter bekommen hat.

Der Imprint-Mechanismus funktioniert oft über Methylierung. In somatischen Zellen bleibt die Methylierung erhalten. In Keimzellen hingegen wird sie wieder rückgängig gemacht und neu methyliert → Erklärung, warum die Krankheit Generationen überspringen kann.

1.17. X-Inactivation

Während der Embryogenese inaktivieren sich die beiden X-Chromosomen gegenseitig durch Methylierung.

2. Genetic mapping

2.1. Genkarten:

Beschreibung der Anordnung und Reihenfolge der Gene in einem Genom

Genkarten werden erstellt, indem man Bakterien gegenseitig ihr Genom übertragen lässt und sie dabei unterbricht. Die Einheit einer Genkarte ist die Minute (Genkarte von *E. coli* hat 100 Minuten).

2.2. Erkennung & Isolierung von Bakterien-Mutanten:

Züchtung der Bakterienkultur auf Vollmedium → Abdruck mit Samtstempel → Inkubation auf Minimalmedium → Mutante fehlt & kann auf dem Vollmedium (wegen Stempel) wiedergefunden werden.

Prototroph: Bakterien, die benötigte Stoffe herstellen können

Auxotroph: Mutanten, denen bestimmter Syntheseschritt fehlt

2.3. Erstellung von Genkarten durch Konjugation:

Gibt Donor- & Rezipientzelle; Donor hat F-Plasmid (fertility), das als DNA-Ring isoliert vorliegen kann (können bis zu 3 Plasmide enthalten) → Entstehung von Hfr-Zellen („high frequency of recombination“), die das F-Plasmid in ihr Hauptchromosom integriert haben. F-Plasmid enthält auch Gene für Aufbau des Sex-Pilus.

Bei dem Transfer wird jeweils nur ein Strang der DNA übertragen, gleichzeitig wird sowohl bei Donor als auch bei Rezipient der jeweils andere Strang repliziert.

F'-Plasmid sind ehemals integrierte Plasmide, die wieder rausgeschnitten (exzisiert) worden. Dabei können benachbarte Gene mitrausgeschnitten worden sein bzw. Gene des ursprünglichen F-Plasmids vergessen worden sein → verändertes F'-Plasmid. Wenn diese F'-Plasmide übertragen werden, sind Rezipienten in Bezug auf Hauptchromosomale F'-Gene diploid → können auch heterozygot sein. Diese partiell diploiden Stämme nennt man **Merodiploide** oder **Heterogenote**.

Wenn man nun die Konjugation zu verschiedenen Zeitpunkten unterbricht, so kann man die Reihenfolge der Gene bestimmen, die unmittelbar hinter der Insertionsstelle des F-Plasmids liegen. Um das vollständige Bakteriengenom zu kartieren, muss man unterschiedliche Hfr-Stämme nehmen, die das F-Plasmid jeweils an verschiedenen Stellen einbauen.

Methode der *unterbrochenen Konjugation* ist aber ungenau. Analyse der Rekombinationshäufigkeit oder Methode der Transduktion genauer.

Episomen: DNA-Strukturen, die sowohl in Hauptchromosom integriert als auch isoliert sein können → Plasmide.

2.4. Genkartierung durch Transduktion:

Transduktion beschreibt den Vorgang, dass Bakteriophagen genetisches Material von einer Wirtszelle auf eine andere übertragen können. Der Abschnitt des Wirtsgenoms, der dabei übertragen wird, ist so lang, wie das Phagengenom. Zur Genkartierung benutzt man meist das Prinzip der **Cotransduktion**: Wie häufig wird Marker1 mit Marker2 übertragen? Wenn sehr oft, liegen die beiden Marker nah beieinander im Wirtsgenom. Die Cotransduktionsfrequenz steht also in einer Beziehung zum Abstand der beiden Markergene abhängig von der Länge des Phagengenoms.

Genetische Karten geben meist die **Reihenfolge** der Gene an, aber nicht deren **genaue Länge** und den **genauen Abstand** zwischen den verschiedenen Genen. → **Genetische & physikalische Karten sind zwar colinear, aber nicht kongruent.**

3. Untersuchungen an komplexen Genomen wie dem des Menschen

Zunächst muss erkannt werden, auf welchem Chromosom sich das Gen befindet. Zuordnung von Genen zu ihren Chromosomen erfolgt über *in-situ-Hybridisierung* oder über *Herstellung von Fusionszellen*.

3.1. In-situ-Hybridisierung:

Durch Renaturierung komplementärer DNA-Stränge. Dabei liegt einer der Stränge im Chromosom (in situ) vor, der andere als DNA-Sonde, die i.a. radioaktiv markiert ist. Dabei wird die DNA denaturiert, die DNA-Sonden eingeführt und dann wieder renaturiert.

Radioaktiv ist aber nicht so genau → Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH). FISH hat eine höhere Auflösung.

3.2. Zell-Fusion:

Es gibt Stoffe, die die Verschmelzung von Membranen benachbarter Zellen fördern. Dabei entstehen zunächst Zellen mit 2 Kernen. Bei der nächsten Mitose vermischen sich die Chromosomen und gelangen am Ende der Mitose in einen Kern. Bei allen darauffolgenden Mitosen gehen „überschüssige“ Chromosomen verloren, weil z.B. Menschzellzyklus gegenüber Mauszellzyklus verzögert ist. Meist fusioniert man menschliche Lymphozyten mit mauslichen Fibroblasten. Dann muss man dafür sorgen, dass die Vermehrung der Eltern-Zellarten unterdrückt wird.

Wenn man nun guckt, welche Merkmale in der Hybrid-Zelle übriggeblieben sind und welche Chromosomen, so kann man die Gene für diese Merkmale auf den entsprechenden Chromosomen lokalisieren.

3.3. Bestrahlungs-Hybridzellen:

Dabei wird das menschliche Chromosom in Bruchstücke „gestrahlt“, und man guckt dann anschließend, wie häufig zwei Gen-Orte zusammen auf einem Stück liegen. Hybrid-Zellen werden dabei mit Röntgenstrahlen beschossen, das hat zur Folge, dass die Zelle stirbt. Um die DNA-Fragmente zu retten, werden die Zellen mit lebendigen Mauszellen fusioniert. Dort werden dann die DNA-Fragmente in das Genom eingebaut.

3.4. Erstellung biologischer Genkarten:

Einheit hier ist centiMorgan. Die Nukleotid-Sequenzen einzelner Humangenome unterscheiden sich in den nicht-kodierenden Regionen stärker → *Sequenzpolymorphismus*. Je größer der Sequenzpolymorphismus, desto informativer für Kopplungsanalyse.

2 Methoden: *Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)* & *Mikrosatelliten-Polymorphismus*

3.5. Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP):

Dabei wird die DNA mit Restriktionsenzymen behandelt. Durch die Sequenzpolymorphismen wird die DNA bei verschiedenen Personen in unterschiedlich viele Fragmente geteilt, weil Restriktionserkennungsstellen entstehen können. Da diese Sequenz-Polymorphismen nach den Mendelschen Regeln vererbt werden, kann man die Kopplung ermitteln. Je öfter zwei Marker zusammenbleiben, desto enger sind sie gekoppelt.

3.6. Mikrosatelliten-Polymorphismus:

Mikrosatelliten-DNA besteht aus Kopien von 1-6 Basenpaaren. AC-Dinucleotide kommen sehr häufig vor und viel vor oder hinter Genabschnitten. Zwei Allele unterscheiden sich mit

hoher Wahrscheinlichkeit in der Zahl ihrer AC-Dinucleotide. Diese Mikrosatelliten-Marker werden nach den Mendelschen Regeln vererbt. Durch die unterschiedlichen Längen entstehen unterschiedliche Banden im Gel; die Banden von Eltern können dann mit denen der Kinder verglichen werden.

Weibliche Genkarten sind größer als männliche, weil bei der Oogenese häufiger Rekombination stattfindet als bei der Spermio-genese.

3.7. SNP's

Single nucleotide polymorphisms. Blocks von SNPs sind Haplotypen.

3.8. Haplotyp

Sehr eng gekoppelte und gemeinsam vererbte DNA-Marker.

4. Association studies

Aufgrund von engerer Kopplung braucht man zur Kopplungsanalyse mehr Daten. Deswegen führt man die Rekombinationsanalyse nicht an einer Familie sondern an einer Population durch. Ist aber im Prinzip das gleiche.

5. Genbibliotheken

Ziele:

- Zerlegen der Lagen DNA → Restriktion
- Trennung der einzelnen DNA-Abschnitte voneinander → Herstellung einer Genom-Bibliothek
- Isolierung und Vermehrung des gesuchten DNA-Abschnittes und nachfolgende Analyse dessen → Bestimmung der DNA-Sequenz & Untersuchung des kodierten Gens

5.1. Zerlegung der DNA

Mit Hilfe von Restriktions-Nucleasen wird die DNA in Fragmente zerschnitten. Die Fragmentlänge hängt von der Eigenschaft der Nuclease als auch vom Genom selbst ab. Während DNA sich gut in vorbehandelte Bakterien einschleusen ließe, geht das mit Restriktionsfragmenten nicht so einfach. Man muss sie deswegen erst in Vektoren einbauen. Diese Vektoren können Plasmide oder Phagen, aber auch eine Kombination aus beidem sein.

5.2. Plasmide als Vektoren

Als Vektoren verwendet man abgewandelte R-Plasmide (Plasmide mit Resistenz-Genen). Diesen Plasmiden fehlen die entsprechenden Gene für den Transfer des Vektors, damit nicht das isolierte Fragment weitergegeben werden kann.

Die Vektoren werden dann mit Hilfe von Restriktionsnucleasen (möglichst die gleichen) linearisiert, das Fragment kann eingebaut werden. Durch Überschuss an Fragmenten, wird dafür gesorgt, dass der Vektor sich möglichst nicht wieder schließt, ohne ein DNA-Fragment aufgenommen zu haben.

Die Vektoren können anschließend in Bakterien eingeschleust werden, die diese nach speziellen Behandlungen bereitwillig aufnehmen. Die Bakterien werden auf Nährböden gesetzt und in einzelne Kolonien verteilt; dort beginnt die Selektion. Da wir ja Resistenzgene in den Plasmiden haben, können Bakterien ohne Plasmid nicht auf einem Nährboden mit Antibiotika überleben.

5.3. Lambda-DNA als Vektor (mit Phagen)

1. Die Fremd-DNA wird vorsichtig durch Restriktions-Nukleasen in lange Fragmente (10 - 20kb) geschnitten.
2. Die lineare Lambda-DNA wird so prepariert, dass nur noch die Enden (cos-Elemente) übrigbleiben und anschließend mit den Fremd-DNA-Stücken vereinigt.
3. Verpackung der DNA in Phagen-Partikel.
4. Auf Bakterien-Nährböden werden die Phagen ausgesetzt. Wenn eine Phage ein Bakterium infiziert, so bilden sich dort ganz viele Phagen mit genau der gleichen DNA → Phagen-Plaques. Das ermöglicht eine leichte Auftrennung der Phagen nach der eingeschleusten Fremd-DNA.

5.4. Cosmide als Vektoren

Haben die Vorteile von Plasmiden → Einfache Handhabung und die Vorteile von Lambda-Vektoren → Möglichkeit des Einschleusens von langer Fremd-DNA.

Cosmide sind Plasmide, die die Cos-Elemente von der Lambda-DNA besitzen. Es können DNA-Fragmente von 40-50kb eingebaut werden. Der Vektor wird anschließend in Phagen-Partikel gepackt, und dann werden Bakterien damit infiziert und können sich auf Nährböden vermehren.

5.5. YACs

YAC = yeast artificial chromosome;

Hierbei werden Vektoren genommen, die Elemente enthalten, die für die spätere Replikation und Mitose in Hefezellen unentbehrlich sind. In diese Vektoren wird die Fremd-DNA, die diesmal sehr sehr vorsichtig geschnitten wurde → ~100 kb, eingesetzt. Zusätzlich wird der Vektor linearisiert, indem ihm ein Teil rausgeschnitten wird. So kann die DNA als Chromosom in eine Hefezelle eingesetzt werden und wird dort wie auch alle natürlichen Chromosomen bei der Mitose repliziert und an die Tochterzellen weitergegeben. YACs werden besonders gern bei der Untersuchung des menschlichen Genoms verwendet.

5.6. cDNA-Bibliotheken

Mit Hilfe von reverser Transkriptase wird mRNA in DNA umgeschrieben → cDNA. Diese kann dann auch wieder in Plasmide oder Lambda-Vektoren eingeschleust werden. Man kann so die Genaktivität von Zellen beobachten.

5.7. Sequenzieren nach dem Kettenabbruch-Verfahren von Sanger

Es wird zunächst einsträngige Ring-DNA erzeugt, die mit der Hilfe von einem Primer angefangen wird zu replizieren. Die Replikation wird aber immer abgebrochen, weil zu den normalen Nukleotiden außerdem Dideoxynukleotide gegeben werden, die nicht mehr verlängert werden können. Dadurch entstehen DNA-Ketten verschiedener Längen, die dann in der Gelelektrophorese verglichen werden können.

6. Physical Mapping

Physikalische Karte: Beschreibung der Nukleotidsequenz, Einheit ist hier bp oder kb. Erfolgt meist über 2 Wege: Aneinanderreihung von Restriktionsfragmenten und eine lineare Ordnung von klonierten DNA-Fragmenten.

6.1. Ordnung klonierter DNA:

Man nennt eine Reihe von DNA-Klonen aus Klon-Bibliotheken, die einen definierten Abschnitt eines Chromosoms darstellen *Contig*. Diese erhält man, indem man sich einen oder

mehrer Klone als Sonden nimmt, damit den nächst benachbarten Klon findet, der dann wiederum als Sonde zur Identifizierung des nächsten Klons dient. Dabei gibt es 2 Methoden:

1. **Fingerprint-Methode:** Herstellung von DNA-Fragmenten mit häufig schneidenden Nucleasen → Muster in Gelelektrophorese; Überprüfung, ob in anderen Klonen auch Elemente dieses Muster auftauchen.
2. **Vorhandensein spezifischer Einzelkopie-DNA-Sequenzen:** mit Hilfe von ESTs und STSs und PCR

snRNP: “small nuclear ribonucleoprotein”, binden an wachsende RNA-Ketten bei der Transkription und verrichten Spleißarbeit. Enthalten RNA-Komponenten, die man **snRNAs** nennt.

Kleine Arme des Chromosoms werden mit p, große mit q bezeichnet.

Satelliten-DNA: repetitive DNA-Elemente, die in der Centromer-Gegend liegen.

Heterochromatin: Chromatin, das sich meist nicht vollständig entpackt. Meist genleer (in Centromerregionen).

6.2. Radiation hybrid mapping

Schon oben bei Gene-Mapping beschrieben. Dienen wie die Klon-Bibliotheken.

7. Positionelles Klonen (positional cloning)

→ Identifizierung von Genen, deren Produkte man nicht kennt und deren Wirkungsweise man nur am Phänotyp / Auftreten von Krankheiten erkennen kann.

Die jeweiligen Schritte sind vom bestimmten Gen abhängig, diese werden aber grundsätzlich eingehalten:

- Durch Kopplungsanalysen wird das Gen auf der Gen-Karte lokalisiert.
- DNA-Marker, die möglichst auf beiden Seiten des Gens liegen, werden identifiziert.
- Die DNA-zwischen diesen Markern wird aus einer Genom-Bibliothek isoliert. Das Gen muss ja da drauf liegen!
- Vergleich des Gens mit dem eines gesunden Menschen.

8. Genetik & Statistik

8.1. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Bedingungen dafür (Mendel-Population):

- Alle Organismen sind diploid.
- Sie pflanzen sich sexuell fort.
- Keine Beschränkung in der Fortpflanzungsfähigkeit
- Mendelsche Regeln gelten.
- Möglichst große Population (am besten unendlich groß)

Hardy-Weinberg-Regel:

In einer Mendel-Population bleiben Allelenfrequenz (Häufigkeit, mit der Allel in Population vorkommt) und Allelenverteilung in aufeinanderfolgenden Generationen gleich.

Sei p die Allelfrequenz von Allel A, q die von Allel a. In der Elterngeneration gilt:

$$p + q = 1$$

In der nächsten Generation gilt dann:

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

8.2. Rekombinationsrate

#rekombinante Nachkommen / (#rek. Nachkommen + #nicht-rek. Nachkommen)

8.3. Genetische Distanz

Crossing-over-Häufigkeiten nehmen proportional zum Abstand der beiden Gene zu.

→ Erstellung genetischer Chromosomenkarten

1 cM (centiMorgan) 1% Rekombination

% Rekombination = 100 × Rekombinationsrate

(~10⁶ bp beim Menschen)

Wird 50% überschritten, so kann man die beiden Gene nicht mehr als gekoppelt erkennen.

Um zu testen, ob das wirklich so ist, werden Markergene zwischen den beiden Genen betrachtet.

ω sei die erwartete Anzahl von Crossing-Overs zwischen 2 Loci. Dann kann ω mit Hilfe der Rekombinationsrate Θ berechnet werden:

$$\omega = -0,5 \cdot \log(1 - 2\Theta)$$

Während Θ nicht additiv ist, ist es ω schon!

8.4. Lod-Score

Siehe auch Maximum-Likelihood-Estimation

“Logarithm of the odds”

Kopplungsinformationen werden mit statistischen Methoden ausgewertet und als Lod-Scores angegeben.

Lod = log (P(Kopplung) / P(Zufallsverteilung))

Je größer der Lod-Score desto näher liegen die Gene zusammen. Lod \geq 3 → Kopplung.

8.5. Kopplungsungleichgewicht

Wenn zwei Loci häufiger gekoppelt sind, als es der Zufall tun würde, stehen die beiden Loci im Kopplungsungleichgewicht. Dies kann geschehen entweder durch sehr enge Nachbarschaft oder durch einen evolutionären Vorteil dieser Konstellation.

2 Loci befinden sich im Kopplungsgleichgewicht, wenn die Wahrscheinlichkeiten für die unterschiedliche Kombination gleich ist, also:

$$p_{Ab} p_{ab} = p_{Ab} p_{aB}$$

Die Wahrscheinlichkeit von p_{AB} in der n-ten Generation berechnet sich folgendermaßen:

$$\begin{aligned} p_{AB}^{(n)} &= (1 - \Theta) p_{AB}^{(n-1)} + \Theta p_A p_B - p_{APB} \\ \Leftrightarrow p_{AB}^{(n)} - p_{APB} &= (1 - \Theta) p_{AB}^{(n-1)} + (\Theta - 1) p_{APB} \\ \Leftrightarrow p_{AB}^{(n)} - p_{APB} &= (1 - \Theta) (p_{AB}^{(n-1)} - p_{APB}) = (1 - \Theta)^n (p_{AB}^{(0)} - p_{APB}) \end{aligned}$$

Wenn 2 Loci stark gekoppelt sind, stellt sich das Kopplungsgleichgewicht sehr langsam ein.

Wenn sie ungekoppelt sind, sehr schnell.

8.6. Kopplungsanalyse

Bei der Betrachtung zweier Loci muss man zunächst die Likelihood dieser Anzahl von Rekombinationen aufstellen:

$$L(\Theta) = \Theta^r (1 - \Theta)^n,$$

wobei Θ die Rekombinationsrate, r die Anzahl der Rekombinationen und n die Anzahl der Nicht-Rekombinationen.

Im Beispiel in der Vorlesung waren die beiden Möglichkeiten der Kopplung gleichwahrscheinlich (man wusste die Phasenverteilung nicht), deshalb:

$$L(\Theta) = 0.5 \Theta^r + 0.5 (1 - \Theta)^r,$$

wobei Θ die Rekombinationsrate, r die Anzahl der rekombinierten. Mit Hilfe der Maximum-Likelihood-Estimation gucke ich nun, welches der Θ am wahrscheinlichsten ist.

8.7. Maximum-Likelihood-Estimation

Sei Θ die Rekombinationsrate. Ich möchte nun herausfinden, wie wahrscheinlich meine Beobachtungen (der Stammbaum!) sind bei einem gegebenen Θ bzw. $L(\Theta)$.

Der lod score ist dann folgendermaßen definiert:

$$\text{Lod} = Z(\Theta) = \log(L(\Theta) / L(0.5)).$$

Nun muss ich diesen Ausdruck auf dem Intervall $[0, 1]$ maximieren.

Bekomme ich als Maximum einen Wert > 3 heraus, gilt die Kopplung als sicher. Bei einem Wert < -2 gilt die Nicht-Kopplung als sicher. Der Vorteil der lod-scores ist, dass sie über Familien summiert werden können.

9. Molekulare Pathologien

Wie führt eine genetische Veränderung zu einer Pathologie?

- Loss of function bzw. gain of function
- Dosage effects
- Dominant-negative Effekte

9.1. Chromosomale Pathologien

Numerische Anomalien = Aneuploidie; Beispiele dafür sind die Trisomie und die Monosomie.

9.2. Strukturelle Pathologien

Jene sind:

- Brüche
- Inter- und Intrachromosomale Rearrangements (Translokationen)
- Punktmutationen, die zu folgendem führen können
 - o Nonsense → Erzeugung eines Stop-Codons
 - o Missense → dabei entsteht eine veränderte Aminosäuresequenz
 - o Frameshift
- Kleine Insertionen oder Deletionen
- Speißeffecte: Mutationen in Introns, die das Spleißen beeinflussen
- Promotormutationen können Effekte auf das Expressionslevel, die Expressionszeit als auch auf den Ort der Expression haben.

9.3. Dominant-negativer Effekt

Beispiel: Huntington

Bei Huntington werden G-Repeats in die DNA eingebaut. Das dadurch veränderte Protein verdrängt das normale.

10. Location scores

Gemeinsame Likelihood von Markern und einem Krankheitsgen in Abhängigkeit der genetischen Distanz:

$$d = -0,5 \ln(1 - 2\Theta)$$

Location scores dienen der Anordnung mehrerer Gene / Marker.tg

11. Assoziation

Identical by descent (IBD) = haben gleiches Allel, weil sie es von der gleichen Person geerbt haben.

Identical by state (IBS) = haben gleiches Allel, aber jeder von einem anderen Elternteil bekommen.

12. Polygene Modelle

13. Praktikum – Stammbaumanalyse

14. comparative Genomics

14.1. HOX-Gene