

Πως λειτουργεί η εξέλιξη;

Μεταλλαγή και Ποικιλομορφία

Η πλέον εντυπωσιακή παρατήρηση στην εξελικτική γενετική είναι ότι σχεδόν όλοι οι πληθυσμοί όλων των ειδών περιέχουν άφθονη **γενετική ποικιλομορφία**.



Οι άνθρωποι γύρω μας διαφέρουν στο χρώμα των μαλλιών τους, στο σχήμα της μύτης τους, στο μήκος των δακτύλων τους και με αμέτρητους άλλους τρόπους.

Η ποικιλομορφία:

- Αποτελεί το στάρι που τροφοδοτεί το μύλο της εξέλιξης
- Δημιουργείται μέσω ενός συνδυασμού:
 - **Μεταλλαγών**, που αποτελεί αλλαγή του γονιδιώματος μεταξύ γονέων και απογόνων (από απλές αλλαγές βάσεων έως μικρές αναστροφές, διπλασιασμούς και ελλείμματα ή χρωμοσωματικές αλλαγές όπως μεταθέσεις και το σχηματισμό πολυπλοειδών)
 - και **γενετικού ανασυνδυασμού** (κυρίως του φύλου στους ευκαρυώτες και της οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς στα βακτήρια και τα αρχαία) που δημιουργεί νέα πρότυπα ανάμειξης και συγκερασμού ποικιλότητας από διάφορες γενεαλογικές γραμμές.

Τα κεντρικά ερωτήματα στην εξελικτική βιολογία περιλαμβάνουν:

- τι διατηρεί την ποικιλομορφία;
- και πώς η ποικιλομορφία διαμορφώνεται από την επιλογή και άλλους εξελικτικούς παράγοντες;

Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο ποικίλουν τα χαρακτηριστικά και τα γονίδια και πώς κληρονομείται αυτή η ποικιλομορφία είναι θεμελιώδης για την κατανόηση της εξέλιξης.

Η γενετική μας παρέχει επίσης μια τεράστια πληροφορία για την ιστορία της ζωής στη Γη και για τους εξελικτικούς παράγοντες που δρουν σε ζωντανά είδη.



Ο μηχανισμός της κληρονομής

Το γενετικό υλικό σχεδόν όλων των οργανισμών στη Γη είναι το **DNA**. (Ορισμένοι ιοί χρησιμοποιούν RNA αντί DNA). Ολόκληρο το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από 3,2 δισεκατομμύρια bp.

Το γενετικό υλικό ενός οργανισμού μεταφέρεται από ένα ή περισσότερα **χρωμοσώματα**.

Τα **γονίδια (genes)** είναι τμήματα χρωμοσωμάτων που εκτελούν μια λειτουργία. (Το ανθρώπινο γονιδίωμα έχει περίπου 20.000 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες).

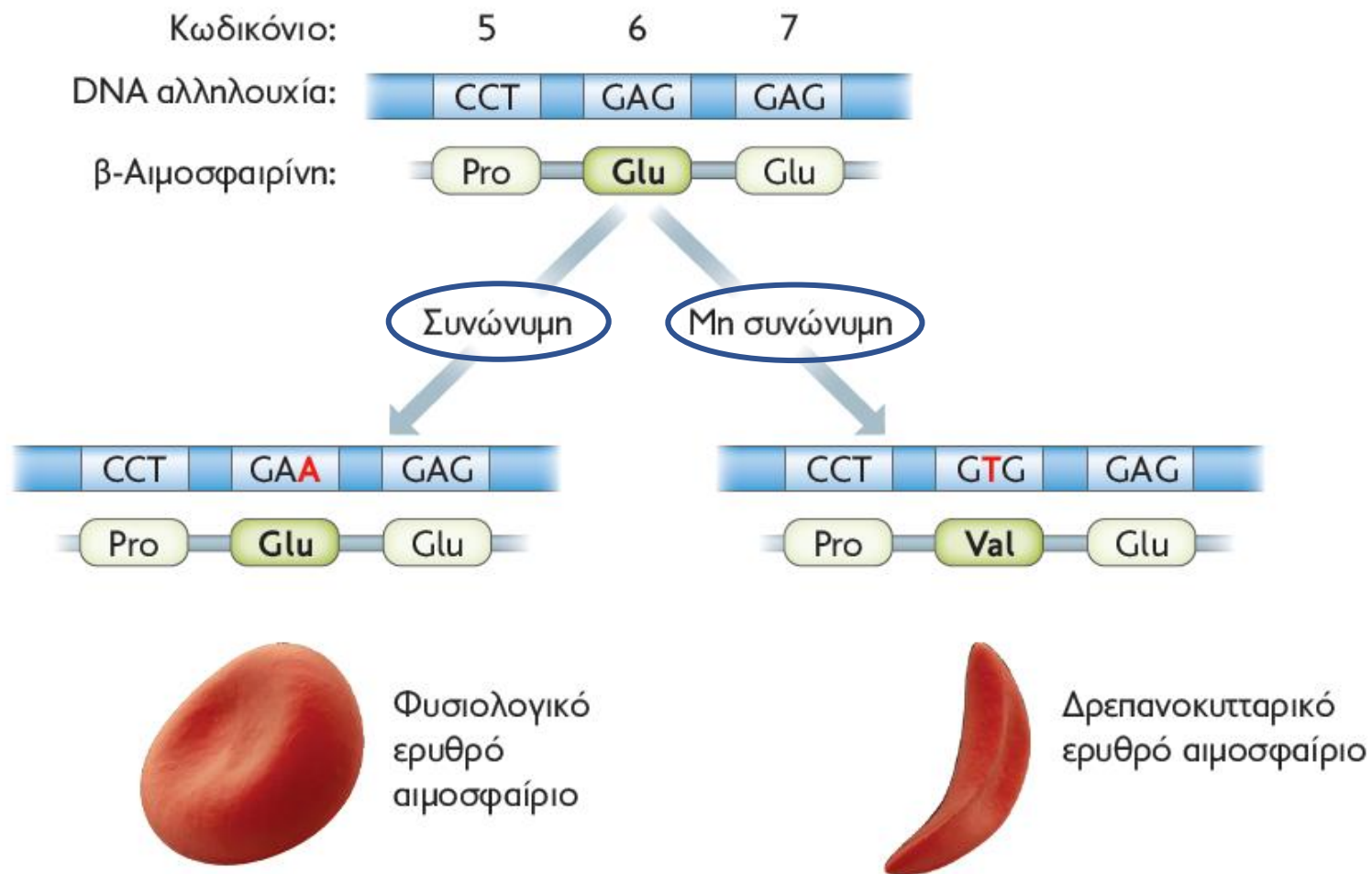
Για να δημιουργήσει μία πρωτεΐνη, ο κυτταρικός μηχανισμός διαβάζει το DNA ενός γονιδίου σε ομάδες τριών βάσεων, που ονομάζονται **κωδικόνια (codons)**. Ο **γενετικός κώδικας (genetic code)** είναι ένα σύνολο κανόνων που συσχετίζει τα κωδικόνια με τα αμινοξέα που αντιπροσωπεύουν.

		Δεύτερο γράμμα			
		Τ	С	Α	С
Πρώτο γράμμα	Τ	TTT Φαινυλ-αλανίνη TTA Λευκίνη	TCT Σερίνη TCC TCA TCG	TAT Τυροσίνη TAA ΛΗΞΗ TAG ΛΗΞΗ	TGT Κυστεΐνη TGA ΛΗΞΗ TGG Τρυπτοφάνη
	С	CTT Λευκίνη CTC CTA CTG	CCT Προλίνη CCC CCA CCG	CAT Ιστιδίνη CAA Γλουταμίνη CAC CAG	CGT Αργινίνη CGC CGA CGG
	Α	ATT Ισολευκίνη ATC ATA ATG Μεθειονίνη; ENAPΞΗ	ACT Θρεονίνη ACC ACA ACG	AAT Ασπαραγίνη AAA Λυσίνη AAC AAG	AGT Σερίνη AGA Αργινίνη AGC AGG
	С	GTT Βαλίνη GTC GTA GTG	GCT Αλανίνη GCC GCA GCG	GAT Ασπαρτικό οξύ GAA Γλουταμικό οξύ GAC GAG	GGT Γλυκίνη GGC GGA GGG

Η οικομενικότητα του γενετικού κώδικα αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι όλη η ζωή εξελίχθηκε από έναν μοναδικό κοινό πρόγονο.

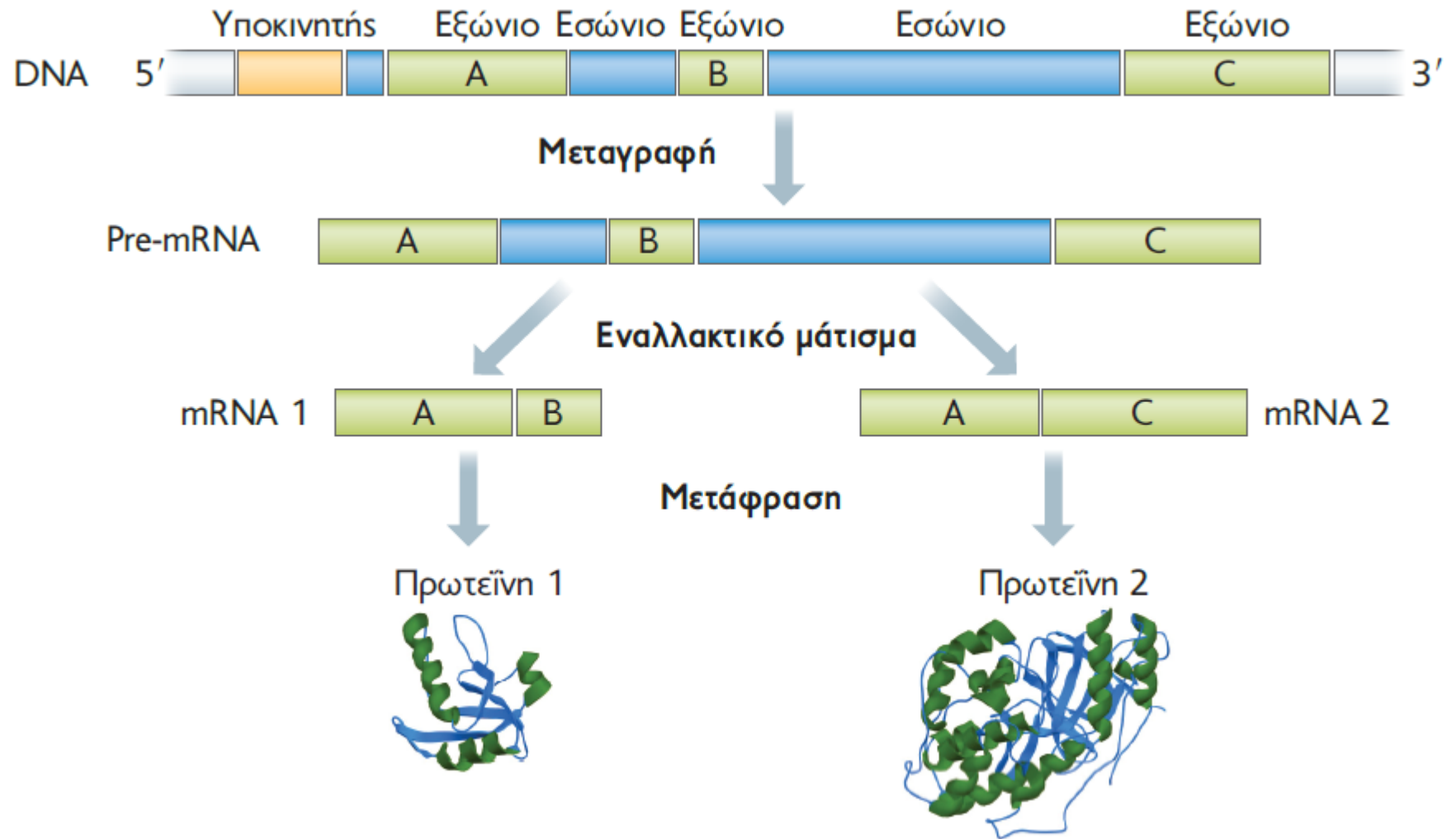
Μεταλλαγές σε ένα κωδικόνιο που δεν μεταβάλλουν ένα αμινοξύ, για παράδειγμα από GAG σε GAA, ονομάζονται **συνώνυμες (synonymous)** ή 'σιωπηλές' ('silent').

Αντίθετα, οι μεταλλαγές σε ένα κωδικόνιο που μεταβάλλουν ένα αμινοξύ, όπως το GAG στην GTG, ονομάζονται **μη συνώνυμες (non-synonymous)** ή 'αντικατάσταση' ('replacement').



Οι μη συνώνυμες μεταλλαγές οδηγούν σε ενδιαφέρουσες εξελικτικές συνέπειες.

Τα γονίδια αποτελούν μόνο ένα μικρό μέρος του γονιδιώματος στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Στους ανθρώπους, για παράδειγμα, το 98% του DNA δεν κωδικοποιεί κανένα γονιδιακό προϊόν. Ένα μικρό κλάσμα αυτού του **μη κωδικοποιητικού (noncoding) DNA** επηρεάζει το πώς εκφράζονται τα γονίδια κωδικοποίησης.



Όπως και ο γενετικός κώδικας, ο κυτταρικός μηχανισμός για τη μεταγραφή του DNA και τη μετάφραση του mRNA είναι σχεδόν καθολικός σε ολόκληρη τη ζωή στη Γη.

Τα μέλη ενός πληθυσμού διαφέρουν ευρέως στην αλληλουχία του DNA και των πρωτεϊνών

- Μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1960, το ποσό της γενετικής ποικιλομορφίας δεν ήταν γνωστό ακόμη και για τους πιο καλά μελετημένους οργανισμούς (π.χ., άνθρωπο και *Drosophila*).
- Οι μέθοδοι της κλασικής γενετικής και της βιοχημείας μπορούσαν να εντοπίσουν ποικιλομορφία μόνο τυχαία, σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά συγκεκριμένων οργανισμών (π.χ., ομάδες αίματος ή ορατούς πολυμορφισμούς).



Τα πρότυπα οστράκων στο σαλιγκάρι *Cerata nemoralis*



Ο μελανισμός στην πασχαλίτσα, *Adolia bipunctata*

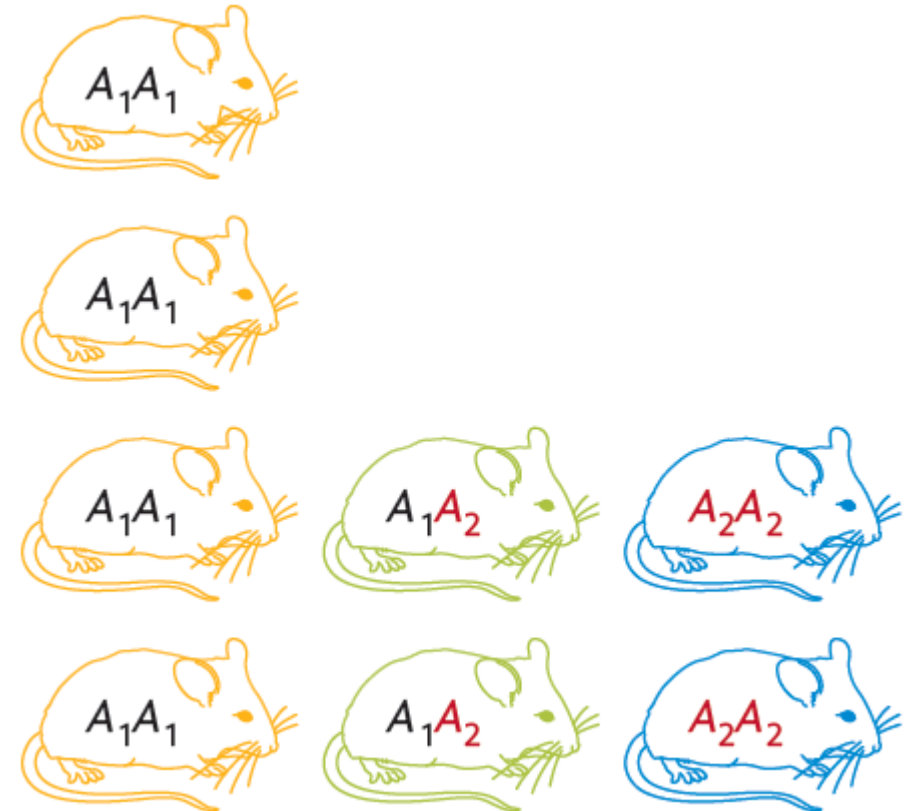
Συχνότητα αλληλομόρφων

- Ορισμένα αλληλόμορφα είναι πολύ σπάνια. Για παράδειγμα, ένα από τα αλληλόμορφα που προκαλεί αλφισμό συμβαίνει με συχνότητα περίπου 0,0002 στους Ευρωπαίους.
- Άλλα αλληλόμορφα εμφανίζονται σε πολύ υψηλότερες συχνότητες. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η συχνότητα του αλληλομόρφου τύπου A αίματος είναι περίπου 0,4 (δηλαδή περίπου 40% των ατόμων του πληθυσμού φέρουν αυτό το αλληλόμορφο).

Οι συχνότητες αλληλομόρφων και οι γονοτυπικές συχνότητες.

Σε αυτόν τον πληθυσμό, η γονοτυπική συχνότητα του ομοζυγώτη A_1A_1 είναι $1/2$, η γονοτυπική συχνότητα του ετεροζυγώτη A_1A_2 είναι $1/4$ και η γονοτυπική συχνότητα του ομόζυγου A_2A_2 είναι $1/4$.

Δέκα από τα 16 αντίγραφα του γονιδίου είναι το αλληλόμορφο A_1 , επομένως η συχνότητα αλληλομόρφου του είναι $p = 10/16 = 0,625$.



Νουκλεοτιδική ποικιλομορφία (nucleotide diversity)

- Αποτελεί μια έννοια της μοριακής γενετικής που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του βαθμού πολυμορφισμού εντός ενός πληθυσμού.
- Το μέτρο αυτό ορίζεται ως ο μέσος όρος των διαφορών νουκλεοτιδίων ανά θέση μεταξύ δύο αλληλουχιών DNA σε όλα τα δυνατά ζεύγη δειγμάτων σε έναν πληθυσμό και συμβολίζεται με π .
- Υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\pi = \sum_{i,j} x_i x_j \pi_{ij}$$

όπου, x_i και x_j οι συχνότητες εμφάνισης των αλληλουχιών i και j στον πληθυσμό,
 π_{ij} ο αριθμός των διαφορετικών νουκλεοτιδίων ανά θέση μεταξύ των αλληλουχιών i και j .

Παράδειγμα

Φανταστείτε έναν πληθυσμό στον οποίο υπάρχουν τέσσερα αλληλόμορφα ενός μικρού γονιδίου. Χρησιμοποιώντας την ακόλουθη στοίχιση των τεσσάρων αλληλουχιών και τις συχνότητες εμφάνισης των αλληλομόρφων που υποδεικνύονται,

seq #	alignment	freq
1	ATCGTTCAGG--TC TTGGACATTAAGACAAAAACATGCATAGCAT	0.40
2	ATG-ACAGGGGGTCATGGACAATAAGTCAA----CATCCACAGAAAT	0.08
3	ATA-ACAGGCGGTCATGCACAATAAGTCTA----CATCGACAGAAT	0.02
4	ATG-ACAGGGGCTCTTGGGCAATTAGTCAG----GATCCACAGAAT	0.50

υπολογίστε τη νουκλεοτιδική ποικιλομορφία στον πληθυσμό.

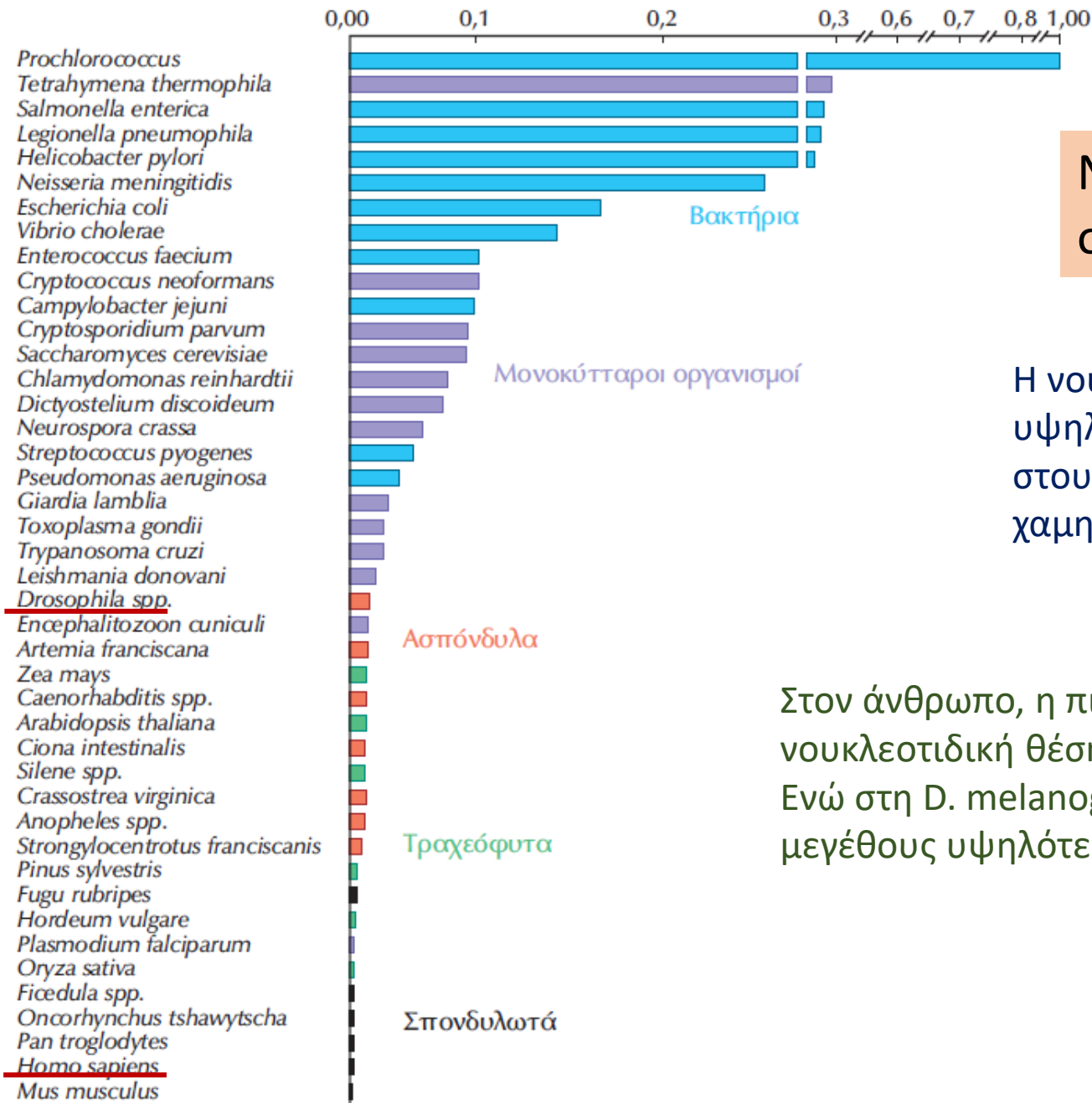
Η νουκλεοτιδική ποικιλομορφία είναι το άθροισμα του $x_i x_j \pi_{ij}$ σε όλες τις συγκρίσεις ανά ζεύγη, όπου X είναι η συχνότητα κάθε αλληλόμορφου και π_{ij} είναι η νουκλεοτιδική ποικιλότητα για οποιοδήποτε ζεύγος αλληλουχιών.

Το π για κάθε ζεύγος αλληλομόρφων ισούται με:

seq 1 με 2: $11/39 = 0.28$
seq 1 με 3: $14/39 = 0.36$
seq 1 με 4: $14/39 = 0.36$
seq 2 με 3: $4/41 = 0.10$
seq 2 με 4: $6/41 = 0.15$
seq 3 με 4: $11/41 = 0.27$

και η νουκλεοτιδική ποικιλομορφία στον πληθυσμό ισούται με το άθροισμα των παρακάτω:

$$(0.40)(0.08)(0.28) + (0.40)(0.02)(0.36) + (0.40)(0.50)(0.36) + (0.08)(0.02)(0.10) + (0.08)(0.50)(0.15) + (0.02)(0.50)(0.27) = \mathbf{0.09}$$

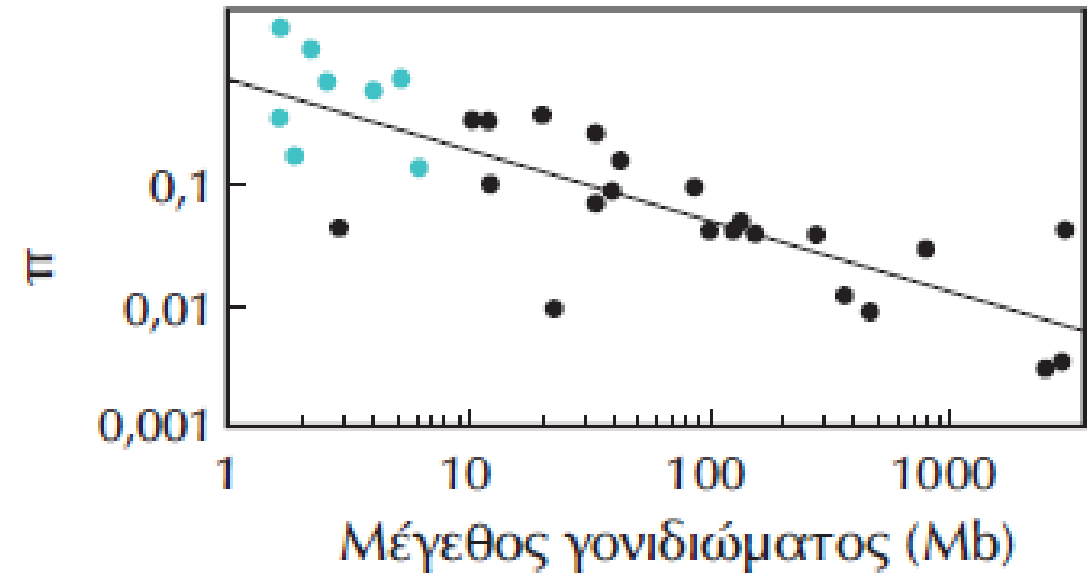
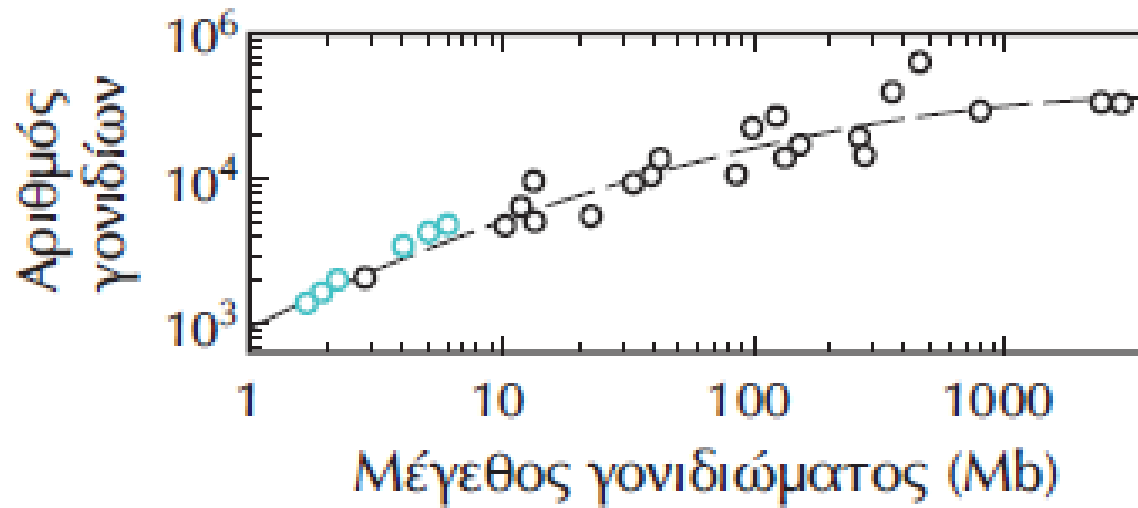


Νουκλεοτιδική ποικιλομορφία (π) σε ένα ευρύ φάσμα οργανισμών

Η νουκλεοτιδική ποικιλομορφία είναι υψηλότερη στους προκαρυώτες, χαμηλότερη στους μονοκύτταρους ευκαρυώτες και ακόμη χαμηλότερη στους πολυκύτταρους ευκαρυώτες

Στον άνθρωπο, η πιθανότητα μία τυχαία επιλεγείσα νουκλεοτιδική θέση να είναι ετερόζυγη είναι $\pi \sim 0,0008$, Ενώ στη *D. melanogaster*, αυτή η μέτρηση είναι μια τάξη μεγέθους υψηλότερη, $\pi \sim 0,01$.

Οι οργανισμοί με τα μεγαλύτερα γονιδιώματα που συνήθως έχουν περισσότερα γονίδια τείνουν να έχουν χαμηλότερη νουκλεοτιδική ποικιλομορφία.



Τα δεδομένα από τα βακτήρια και τα αρχαία παρουσιάζονται με μπλε.

Η ποικιλομορφία είναι μεγαλύτερη σε επίπεδο είδους παρά όταν μετράτε μέσα στους τοπικούς πληθυσμούς.

Η γενετική ποικιλομορφία είναι μεγαλύτερη στα πιο πολυάριθμα είδη

Η αύξηση της ποικιλομορφίας από τα θηλαστικά, μέχρι τη *Drosophila* και εν συνεχεία την *E. Coli* είναι συμβατή με μία επίδραση της αύξησης του μεγέθους του πληθυσμού.

Οι εξαιρετικά μικροί πληθυσμοί μπορεί να διαθέτουν μικρή ή καθόλου ποικιλομορφία.

Παρ' όλ' αυτά, μικροί πληθυσμοί μπορεί να είναι εξαιρετικά ευμετάβλητοι.

Για παράδειγμα οι θαλάσσιοι ελέφαντες, που κυνηγήθηκαν σχεδόν μέχρι εξαφάνισης στα τέλη του 19ου αιώνα, δεν εμφανίζουν καμία ποικιλομορφία σε 24 τόπους που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.



Για παράδειγμα, ένας πληθυσμός λίγων εκατοντάδων προβάτων Soay στο απομονωμένο νησί Hebridean του Hirta περιέχει ποικιλομορφία στα αλλοένζυμα και στους μικροδορυφόρους που δεν είναι πολύ μικρότερη από εκείνη των άγριων πληθυσμών προβάτων της ηπειρωτικής ενδοχώρας.



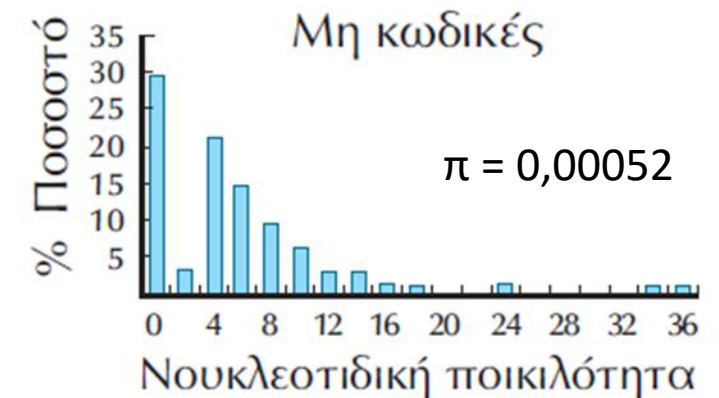
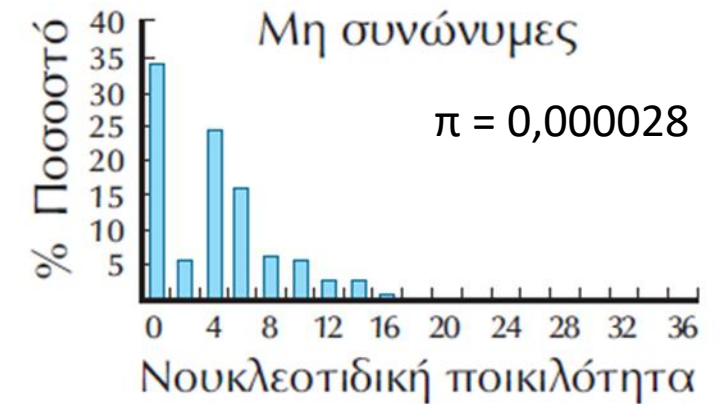
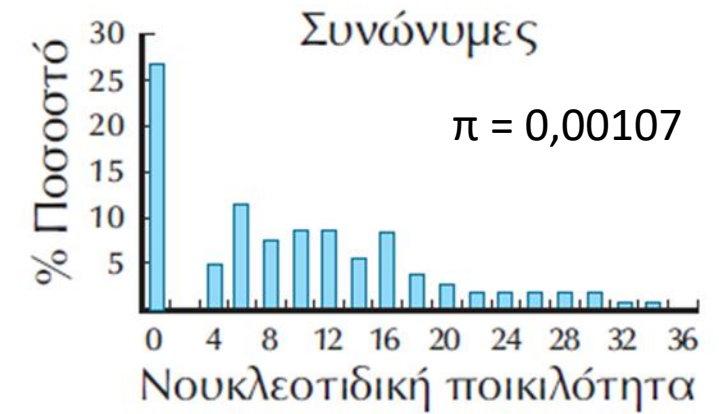
ΣΥΓΚΡΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΜΕΡΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ

Πρωταρχική παρατήρηση: Οι αλλαγές που έχουν την ελάχιστη επίδραση στον οργανισμό είναι πιο πιθανό να εμφανίζονται ως πολυμορφισμοί.

Αυτός ο κανόνας ισχύει για όλα σχεδόν τα πρότυπα που βλέπουμε σε συγκρίσεις μεταξύ γονιδιωμάτων.

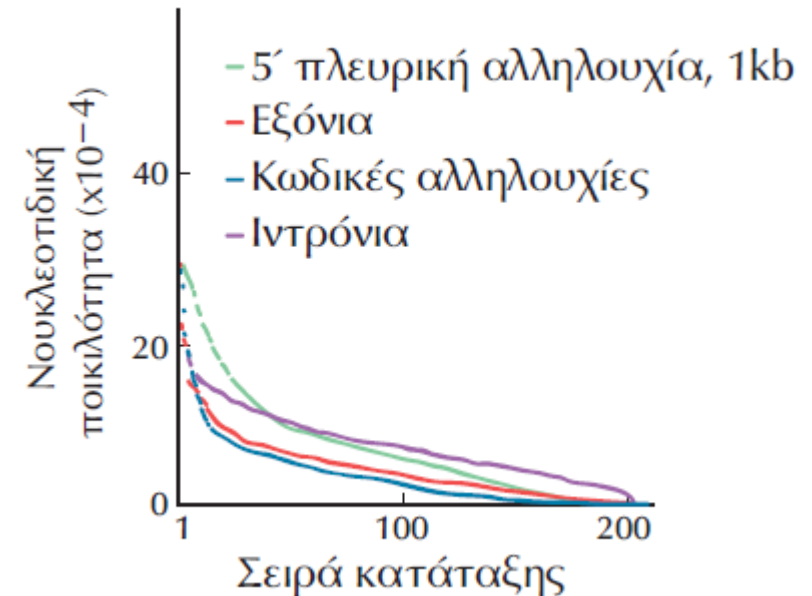
Για τις κωδικές αλληλουχίες του ανθρώπου, η μέση νουκλεοτιδική ποικιλομορφία για εκείνες τις αλλαγές που μεταβάλλουν την πρωτεϊνική αλληλουχία (**μη συνώνυμες**) είναι μικρότερη από το ένα τρίτο σε σχέση με τις **συνώνυμες** θέσεις εντός της κωδικής αλληλουχίας.

Η ποικιλομορφία στις **μη κωδικές** περιοχές που βρίσκονται δίπλα στα γονίδια είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με τις συνώνυμες θέσεις, αλλά υψηλότερη σε σχέση με τις μη συνώνυμες, υποδηλώνοντας ότι αυτές έχουν κάποια λειτουργία στη γονιδιακή ρύθμιση.

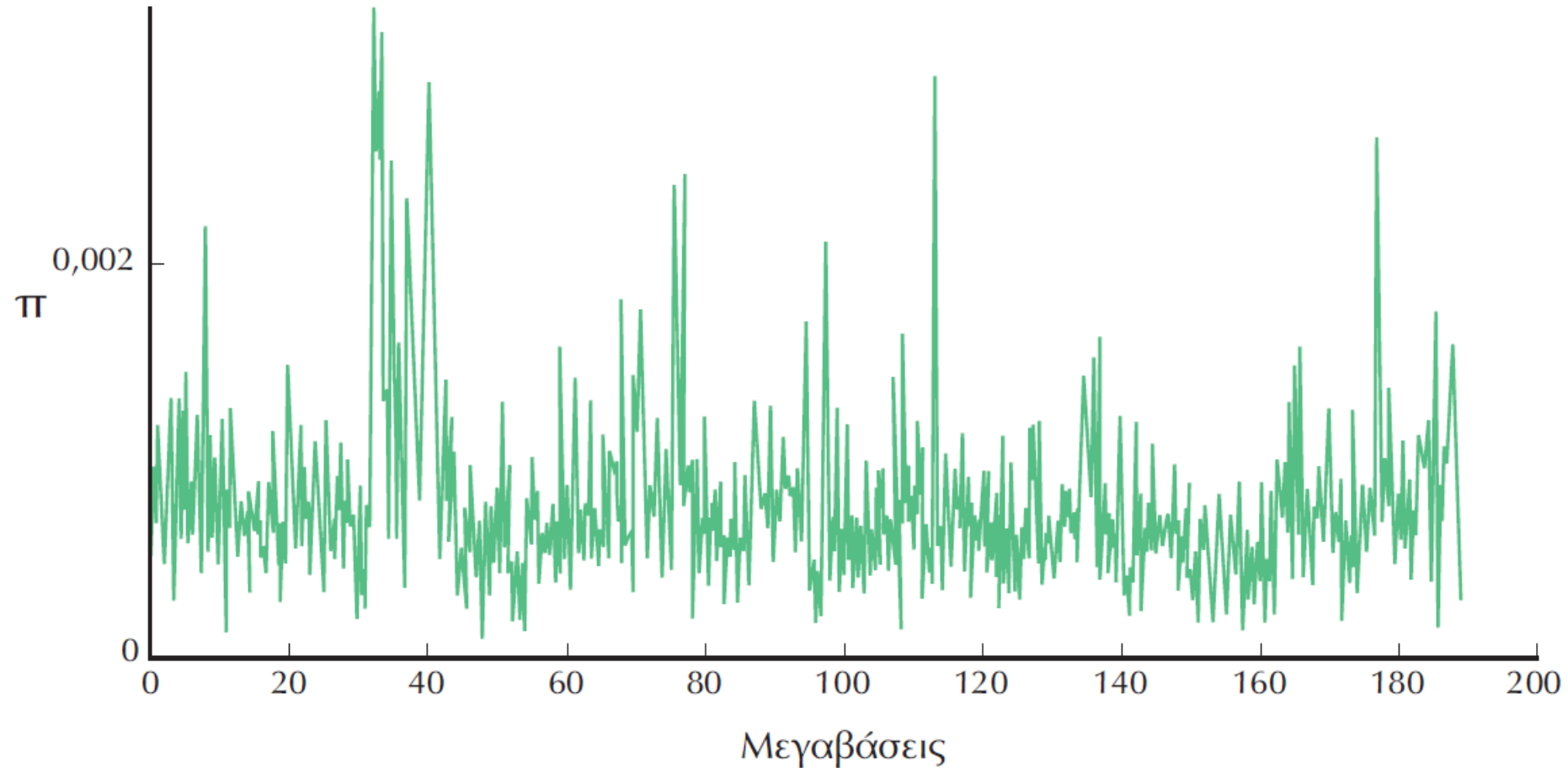


ΟΙ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΥΨΗΛΟΥΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥΣ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΧΑΜΗΛΟΤΕΡΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ.

- Γονίδια που υπάρχουν ως μοναδικά αντίγραφα τείνουν να είναι λιγότερο μεταβαλλόμενα απ' ότι τα μέλη των γονιδιακών οικογενειών.
- Τα γονίδια “κυτταρικής οικονομίας (house-keeping genes)”, που υπάρχουν σε όλους τους ιστούς, τείνουν να είναι λιγότερο μεταβαλλόμενα από τα γονίδια που έχουν μια πιο περιορισμένη λειτουργία.
- Τα ψευδογονίδια (pseudogenes) εμφανίζουν υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού (ακόμη υψηλότερα από εκείνα των συνώνυμων αλλαγών).
- Οι κωδικοποιητικές αλληλουχίες τείνουν να είναι λιγότερο μεταβαλλόμενες από τα ιντρόνια και άλλες μη κωδικοποιητικές αλληλουχίες όπως η 5' UTR.

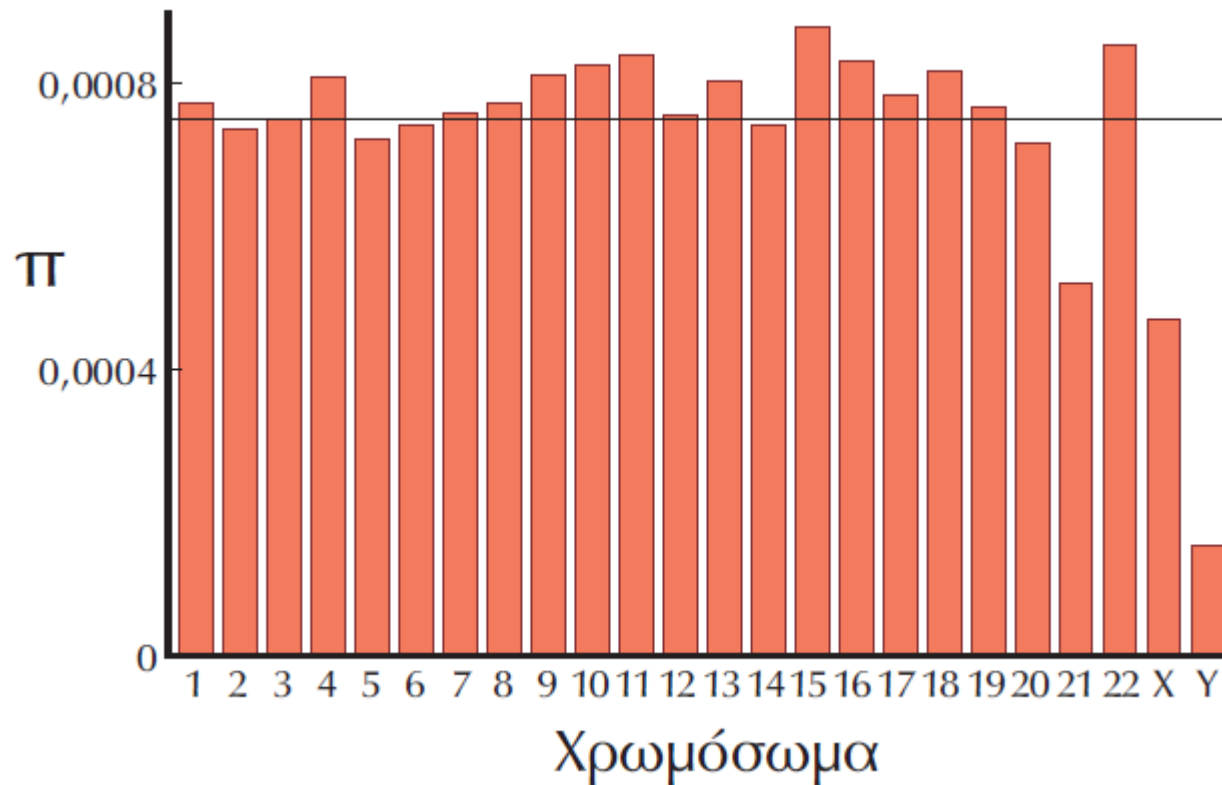


Η ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΚΑΤΑ ΜΗΚΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ.



Το γράφημα δείχνει τιμές του π για κάθε τμήμα 200 kb κατά μήκος του ανθρώπινου χρωμοσώματος 6. Η περιοχή υψηλής ποικιλομορφίας κοντά στις 34 Mb αντιστοιχεί στην εξαιρετικά ποικίλη περιοχή γύρω από το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας, που παρουσιάζει αντιγόνα στο ανοσοποιητικό σύστημα.

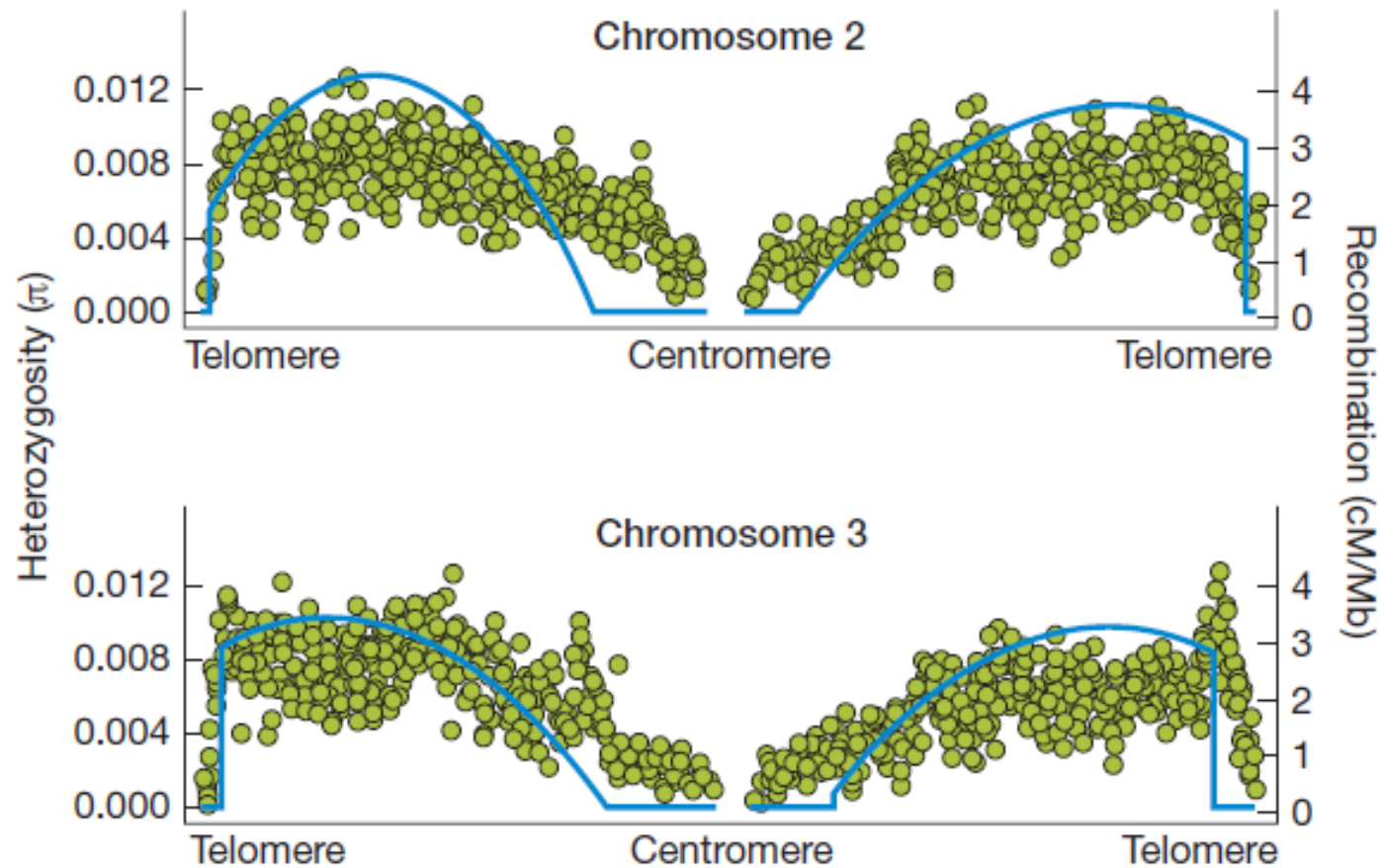
Η νουκλεοτιδική ποικιλομορφία, π, διαφέρει μεταξύ των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου.



Το X εμφανίζει το 61% της ποικιλομορφίας των αυτοσωμάτων και το Y το 20% αυτής της ποικιλομορφίας

Αυτοί οι υπολογισμοί προέρχονται από ένα δείγμα 24 εθνολογικά διαφορετικών ατόμων.

Τα επίπεδα πολυμορφισμού ποικίλλουν επίσης συστηματικά κατά μήκος των χρωμοσωμάτων.



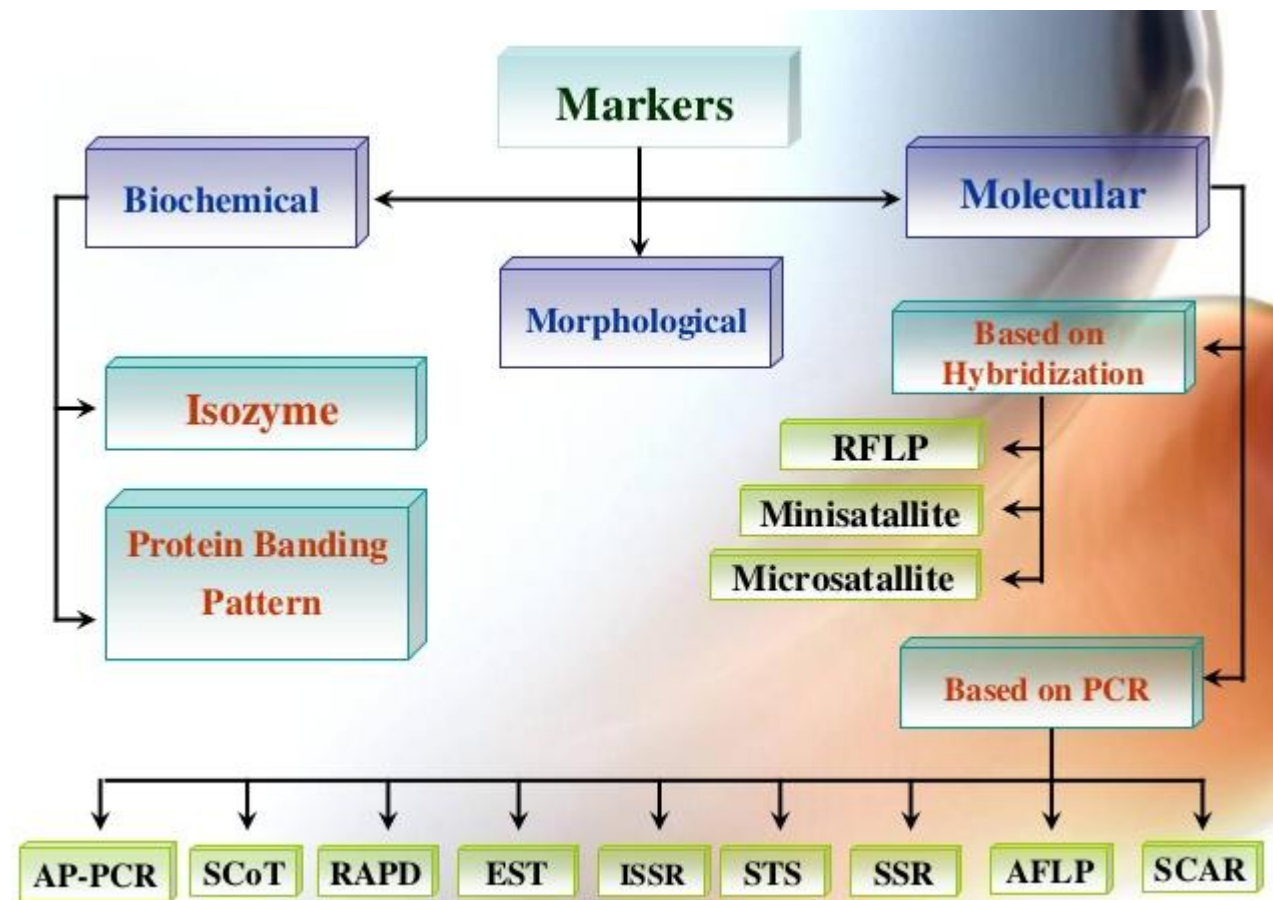
Οι περιοχές με υψηλά ποσοστά ανασυνδυασμού τείνουν να είναι περισσότερο πολυμορφικές, ενώ περιοχές χαμηλού ανασυνδυασμού (πλησίον των κεντρομερών και των τελομερών) εμφανίζουν χαμηλά ποσοστά νουκλεοτιδικής ποικιλομορφίας (π).

Προσδιορισμός της γενετικής ποικιλομορφίας

- Η ραγδαία ανάπτυξη μιας σειράς Βιοχημικών τεχνικών καθώς και μεθόδων της Μοριακής Βιολογίας (π.χ. ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών, πολυμορφισμοί μήκους τμημάτων περιορισμού (Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLPs), οι μικροσυστοιχίες, η αλληλούχηση DNA) μας επιτρέπει τη **μέτρηση της γενετικής ποικιλομορφίας** μεταξύ των ατόμων ενός πληθυσμού.
- Κατ' αρχήν, θα μπορούσαμε να διεξαγάγουμε μία ακριβή καταμέτρηση της γενετικής ποικιλομορφίας συγκρίνοντας απευθείας πλήρεις αλληλουχίες DNA.
 - Π.χ. η πρώτη πρόχειρη μορφή της γονιδιωματικής αλληλουχίας του ανθρώπου το 2001, συνοδεύτηκε από μία καταμέτρηση 1,4 εκατομμυρίων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs, single-nucleotide polymorphisms) μεταξύ των γονιδιωμάτων 24 ανθρώπων με διαφορετική καταγωγή.
 - Για να περιγραφεί η γενετική ποικιλομορφία του ανθρώπινου είδους θα χρειαζόταν η δειγματοληψία πολύ περισσότερων ανθρώπων. Αυτό θα ήταν απαγορευτικά δαπανηρό για μεγάλα δείγματα και, σε κάθε περίπτωση, συνήθως δεν είναι αναγκαίο.
- Σήμερα διαθέτουμε μία ευρεία ποικιλία **γενετικών δεικτών** που απεικονίζουν την ποικιλομορφία της αλληλουχίας του DNA και οι οποίοι μπορούν να επιλεγούν ώστε να ταιριάζουν σε διάφορα είδη προβλημάτων (π.χ. συσχέτιση με ασθένειες, προσδιορισμός γενετικής ποικιλομορφίας)

Γενετικός δείκτης (genetic marker)

- Είναι ένα κληρονομούμενο παράλλαγμα που μπορεί εύκολα να ανιχνευθεί, ποικίλλει εντός και μεταξύ των πληθυσμών και έχει ασήμαντη επίδραση στο φαινότυπο.
- Έχουν μία μεγάλη ποικιλία χρήσεων, όπως:
 - την ανεύρεση γονιδίων υπεύθυνων για την ποικιλότητα των ποσοτικών χαρακτηριστικών
 - την ανεύρεση γονιδίων υπεύθυνων για ασθένειες
 - τη διάγνωση της πατρότητας
 - τη γεωγραφική προέλευση
 - Την επισήμανση των επιδράσεων της επιλογής



Απαιτούν έναν τρόπο καθορισμού ειδικών γενετικών τόπων και έναν τρόπο διάκρισης της ποικιλομορφίας σε αυτούς τους τόπους.

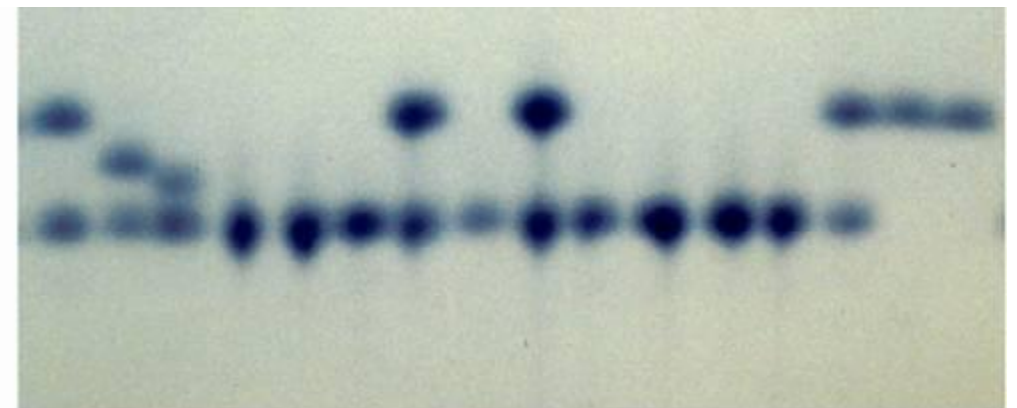
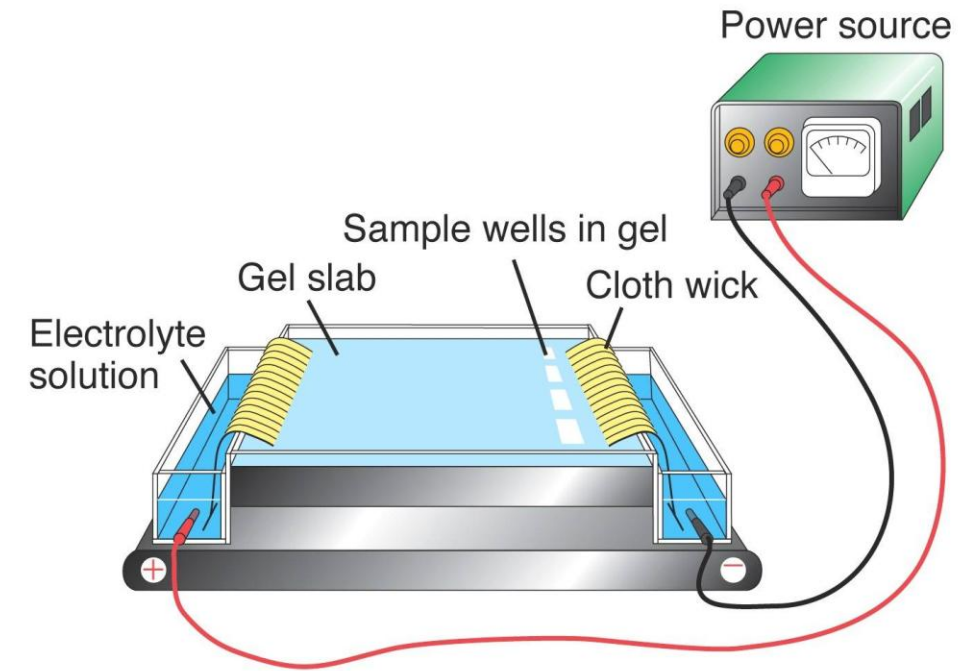
Ηλεκτροφόρηση αλλοενζύμων

Τα αλλοένζυμα είναι αλληλομορφικά παραλλάγματα κάποιου ενζύμου που κωδικοποιούνται από έναν τόπο.

Ακατέργαστο πρωτεϊνικό εκχύλισμα τοποθετείται σε πήκτωμα (αμύλου ή πολυακρυλαμιδίου, ή οξικής κυτταρίνης) και εκτίθεται σε ηλεκτρικό πεδίο.

Στη συνέχεια μία συγκεκριμένη πρωτεΐνη-ένζυμο εντοπίζεται με μία χρώση που ανιχνεύει τη συγκεκριμένη ενζυμική ενεργότητα.

Οι πρώτες εφαρμογές αυτής της τεχνικής εξέπληξαν τους ερευνητές αποκαλύπτοντας πολύ περισσότερη γενετική ποικιλομορφία απ' αυτή που είχαν φανταστεί. Τόσο στον άνθρωπο όσο και τις μύγες, περίπου το ένα τρίτο των ενζύμων που εξετάστηκαν βρέθηκαν πολυμορφικά.



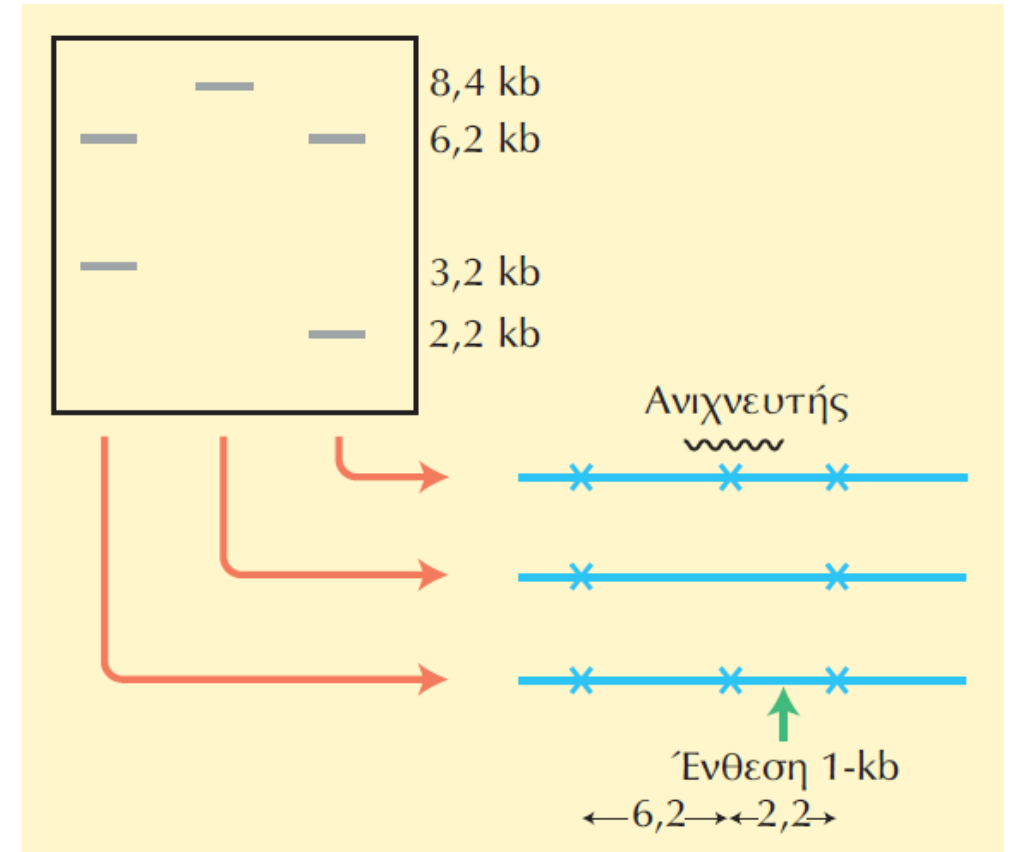
Οι ομοζυγώτες εμφανίζουν μία ζώνη ενώ οι ετεροζυγώτες δύο.

Πολυμορφισμοί μήκους τμημάτων περιορισμού (Restriction fragment length polymorphisms, RFLPs)

Το DNA τεμαχίζεται με ένα ένζυμο περιορισμού και εκτίθεται σε ηλεκτρικό πεδίο πάνω σε ένα πήκτωμα.

Ανιχνευτές μονόκλωνου DNA, σημασμένοι ραδιενεργά ή με μία φθορίζουσα χρωστική, εφαρμόζονται στη συνέχεια πάνω στο πήκτωμα και συνδεόμενοι με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες, επιτρέπουν τον εντοπισμό ακριβώς εκείνων των θραυσμάτων που έχουν κοινές ομολογίες με την αλληλουχία των ανιχνευτών.

Η ποικιλότητα μεγεθών μπορεί να οφείλεται είτε σε υποκαταστάσεις των μεμονωμένων βάσεων (που προκαλούν την απώλεια ή την απόκτηση θέσεων περιορισμού) ή σε ενθέσεις ή ελλείμματα μεταξύ των θέσεων περιορισμού.



Οι θέσεις των ζωνών στο πήκτωμα αντικατοπτρίζουν τα μήκη των θραυσμάτων.

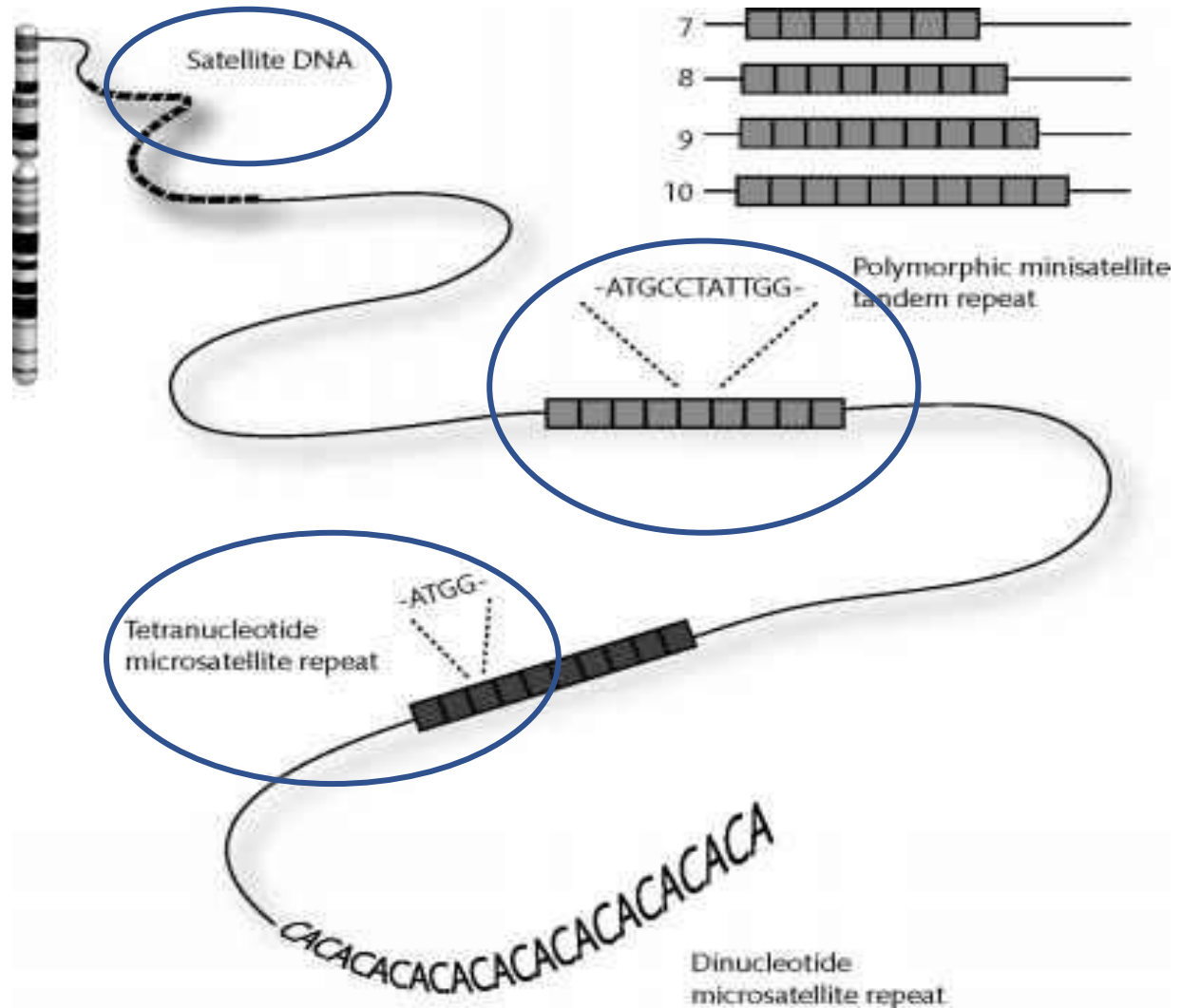
Μεταβαλλόμενος αριθμός διαδοχικών επαναλήψεων (Variable Number Tandem Repeats)

- Πολλοί δείκτες περιέχουν επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που διαφέρουν στον αριθμό αντιγράφων.
- Κατατάσσονται σύμφωνα με το μήκος των επαναλήψεων που περιλαμβάνονται και τον αριθμό των αντιγράφων.

Δορυφορικό DNA [satellite DNA]: Συνίσταται από εξαιρετικά μεγάλους αριθμούς επαναλήψεων. Μολονότι ποικίλλει, είναι δύσκολο να μετρηθεί και έτσι δεν αποτελεί κατάλληλο γενετικό δείκτη.

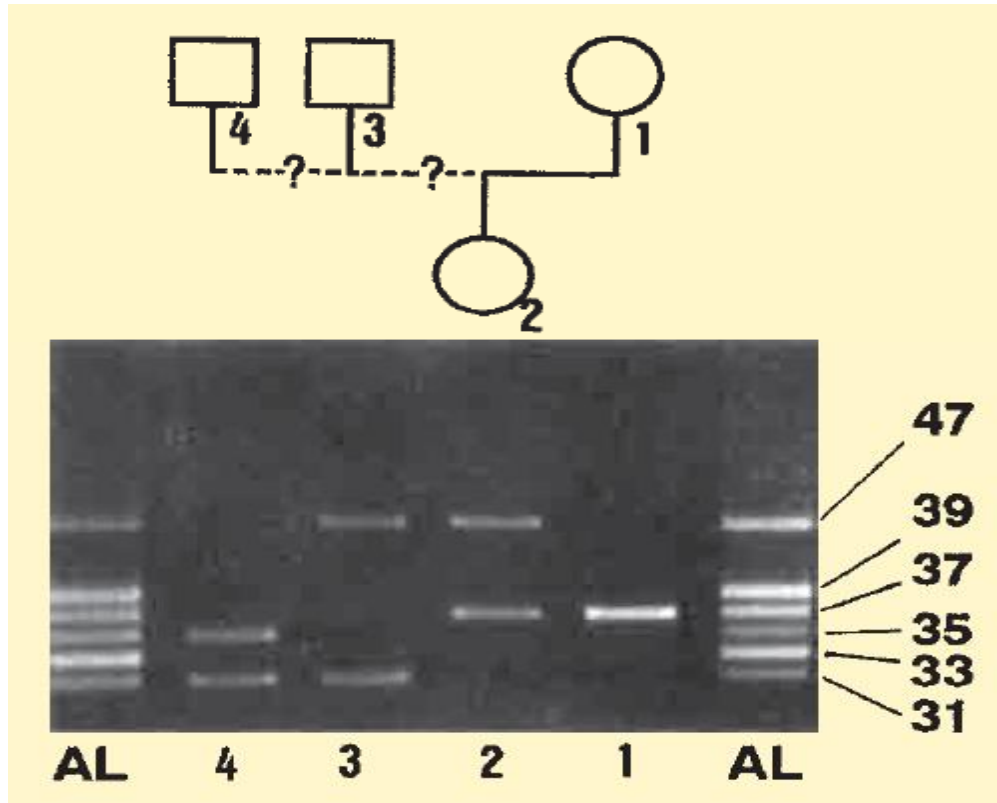
Μινιδορυφόροι [minisatellites]: Πρόκειται για συστοιχίες με πολλά αντίγραφα βραχέων επαναλήψεων, που μπορεί να αποτελούνται από εννέα ζεύγη βάσεων μέχρι λίγες εκατοντάδες ζευγών βάσεων. Αυτές οι συστοιχίες είναι διασκορπισμένες στο γονιδίωμα και τυπικά η κάθε μια αποτελείται από 10-100 επαναλήψεις.

Μικροδορυφόροι [microsatellites]: Είναι συστοιχίες με βραχείες διαδοχικές επαναλήψεις όπου η κάθε μονάδα αποτελείται από λίγες μόνο βάσεις. Για παράδειγμα, υπάρχουν 300.000 τρι- και τετρα-νουκλεοτιδικές επαναλήψεις στο ανθρώπινο γονιδίωμα – μία κάθε 10 kb – και περίπου 50.000 επαναλήψεις των δύο βάσεων, ...CACACA... . (Έχουν υψηλό μεταλλακτικό ρυθμό και εμφανίζουν αντίστοιχα υψηλή ποικιλότητα εντός των πληθυσμών).



Οι μινιδορυφορικοί τύποι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ακριβή αναγνώριση σχέσεων.

- Μεμονωμένοι τύποι μπορεί να αποκαλυφθούν επιλέγοντας δύο ειδικές αλληλουχίες ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται σε αντίδραση PCR, τα προϊόντα της οποίας αναλύονται σε πήκτωμα αγαρόζης.
- Κάθε ζώνη αντιστοιχεί σε ένα από τα δύο αλληλόμορφα ενός μινιδορυφορικού τύπου και η θέση του στο πήκτωμα αντιστοιχεί στον αριθμό των επαναλήψεων σε αυτόν τον τύπο.



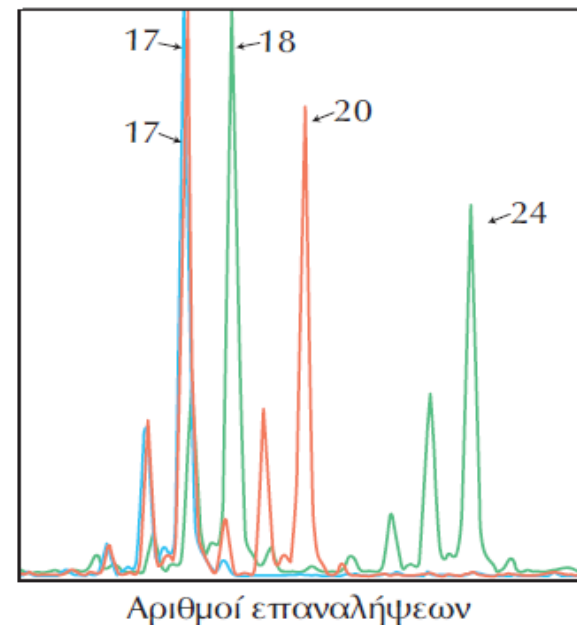
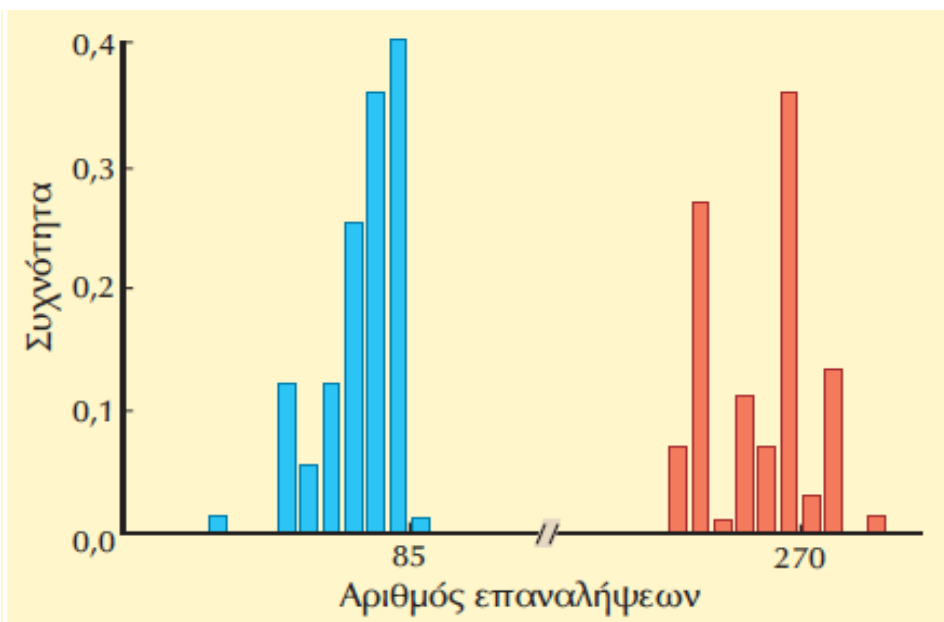
Παράδειγμα: Μία μητέρα (1), μία κόρη (2) και δύο υποτιθέμενοι πατέρες (3, 4).

Η κόρη είναι ετερόζυγη για δύο αλληλόμορφα, με 37 και 47 επαναλήψεις. Το άτομο 4 δεν φέρει το αλληλόμορφο των 47 επαναλήψεων κι ως εκ τούτου δεν μπορεί να είναι ο πατέρας, ενώ το άτομο 3 είναι ετερόζυγο γι' αυτό το αλληλόμορφο και έτσι θα μπορούσε να είναι ο πατέρας.

Παραδείγματα ποικιλομορφίας μικροδορυφόρων

Ηλεκτροφορητικά ίχνη για τρία άτομα στο κόκκινο ελάφι (*Cervus elaphus*). Οι κορυφές δείχνουν το μέγεθος του μικροδορυφορικού αλληλόμορφου, που ποικίλλει με τον αριθμό των επαναλήψεων AC.

Αυτά τα τρία άτομα είναι ετερόζυγα για 17 και 20 επαναλήψεις (κόκκινο), ομόζυγα για 17 επαναλήψεις (μπλε) και ετερόζυγα για 18 και 24 επαναλήψεις (πράσινο).



Ποικιλομορφία στον αριθμό επαναλήψεων σε δύο μικροδορυφορικούς τόπους του ανθρώπου.

Και οι δύο αποτελούν δι-νουκλεοτιδικές επαναλήψεις.

Οι μικροσυστοιχίες (microarrays) μπορεί να σχεδιασθούν για να ανιχνεύουν αποτελεσματικά πολύ μεγάλους αριθμούς SNP.

Βραχείες αλληλουχίες, μήκους 10-20 bp, που περικλείουν κάθε SNP προσκολλώνται σε ένα τσιπ, τέτοιο ώστε μόνο το DNA που φέρει ένα από τα αλληλόμορφα SNP να μπορεί να υβριδοποιηθεί με το τσιπ.

SNPs : Human Genome and Personalized Medicine

GTAC → GTGC

SNPs : Single Nucleotide Polymorphism
> 1% Abundance

Human Genome: 3 million SNPs

SNPs can be used in personalized medicine

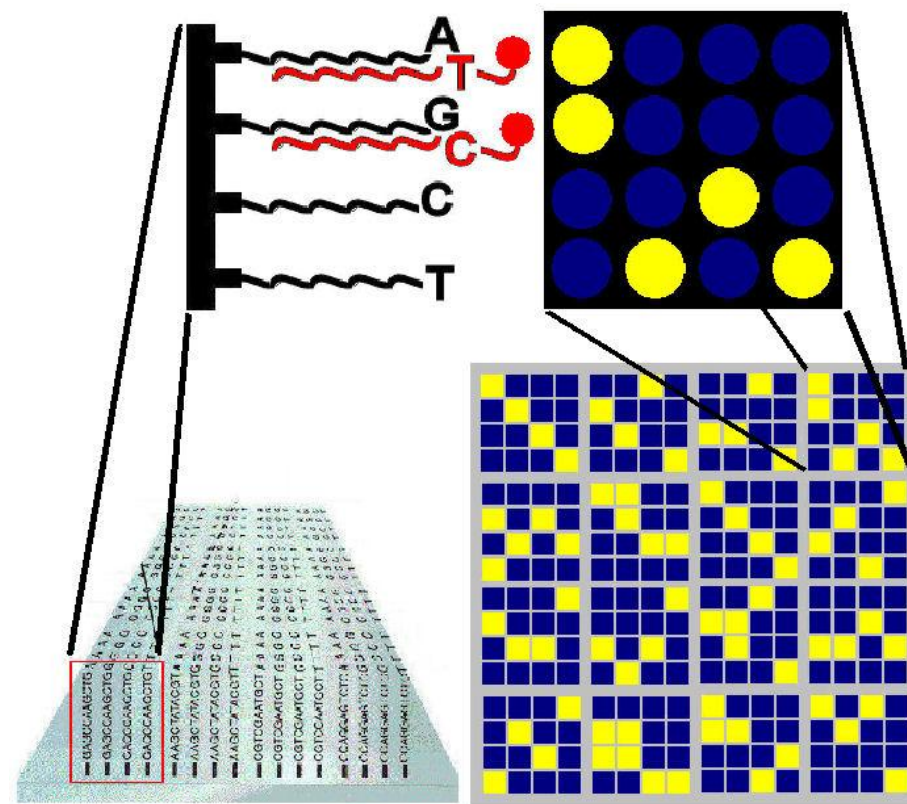
- > To predict side effects of drugs
- > To predict possible effects of Drug:
- > To predict doses required



It is known that persons experiencing side effects often have more G-bases.

200 base-sequences* of 100 persons experiencing no side effects from Drug A

A	A	G	T	C	A	T	G	G	T	C	A	T	G	T	160 units
A	A	G	T	C	A	T	C	G	T	C	A	T	G	T	40 units
A	A	G	T	C	A	T	G	G	T	C	A	T	G	T	50 units
A	A	G	T	C	A	T	C	G	T	C	A	T	G	T	150 units



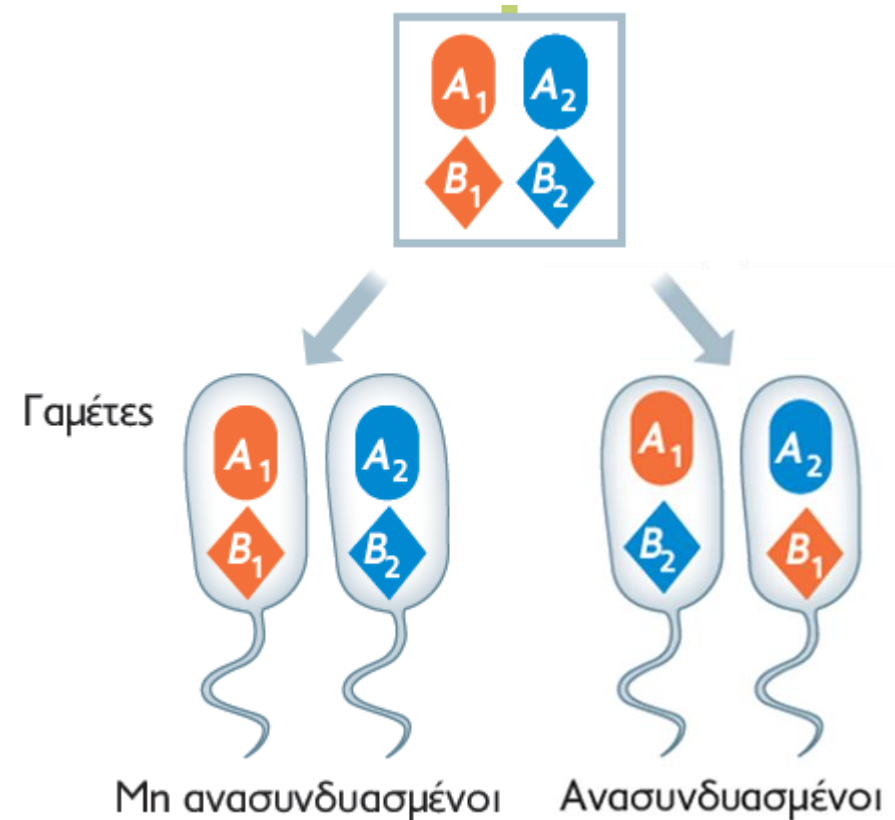
Εκτιμάται ότι ο ανθρώπινος πληθυσμός περιέχει περίπου 10 εκατομμύρια SNPs που έχουν ως ελάχιστη συχνότητα αλληλομόρφου τουλάχιστον το 1%.

Η κληρονóμηση της ποικιλομορφίας

- Γενετική ποικιλομορφία στα φυλετικά είδη παράγεται όταν τα γονίδια των δύο γονέων αναμιγνύονται κατά τη σεξουαλική αναπαραγωγή με **διαχωρισμό** και **ανασυνδυασμό**.
- Στα αφυλετικά είδη (οργανισμοί χωρίς μείωση, όπως τα βακτηρίδια και οι ιοί), τα γονίδια αναμιγνύονται μόνο με τον **ανασυνδυασμό** και σπανιότερα από ό,τι σε σεξουαλικά είδη.

Ο **διαχωρισμός (segregation)** είναι η τυχαία επιλογή του ενός από τα δύο αντίγραφα μιας γενετικής θέσης όταν ένας γαμέτης δημιουργείται κατά τη διάρκεια της μείωσης.

Ο **ανασυνδυασμός** τυχαιοποιεί τον συνδυασμό των αλληλομόρφων σε δύο γενετικούς τόπους που μπορεί να βρίσκονται στο ίδιο ή σε διαφορετικά χρωμοσώματα.



Ανάμιξη γονιδίων με διαχωρισμό

(Α) Σκεφτείτε έναν πληθυσμό στον οποίο το 30% των ενηλίκων είναι ομοζυγώτες A_1A_1 και το 70% είναι ομοζυγώτες A_2A_2 .

Η συχνότητα του αλληλομόρφου A_2 είναι $p = 0,7$ και η συχνότητα του αλληλομόρφου A_1 είναι $1 - p = 0,3$.

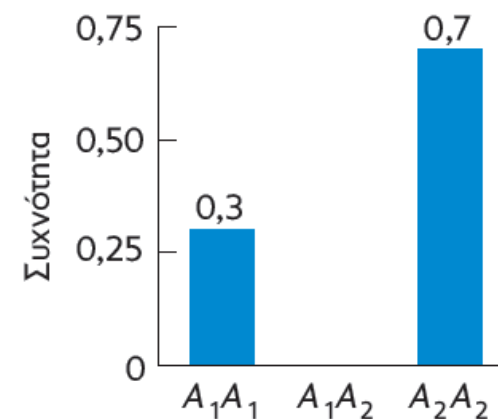
(Β) Αφού τα σπερματοζωάρια και τα ωάρια παράγονται με μείωση, οι συχνότητες των αλληλομόρφων στο σπέρμα και στα ωάρια είναι οι ίδιες με αυτές των ενηλίκων.

(Γ) Οι αριθμοί μέσα στον πίνακα είναι οι συχνότητες των γονοτύπων στους απογόνους που σχηματίζονται από τυχαία γονιμοποίηση μεταξύ σπέρματος και ωαρίων.

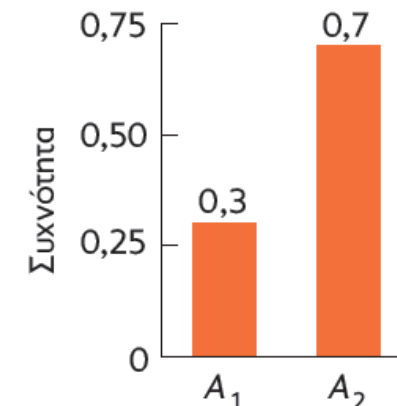
(Δ) Οι συχνότητες των γονοτύπων στους απογόνους υπολογίζονται αθροίζοντας τους αριθμούς του πίνακα είναι: η συχνότητα των ομοζυγώτες $A_1A_1 = 0,09$, ετεροζυγώτες $A_1A_2 = 0,42$ και ομοζυγώτες $A_2A_2 = 0,49$.

Οι συχνότητες γονοτύπων είναι διαφορετικές από αυτές των γονέων (συγκρίνετε Α και Δ), χωρίς ωστόσο οι συχνότητες των αλληλομόρφων, A_1 και A_2 , να έχουν αλλάξει.

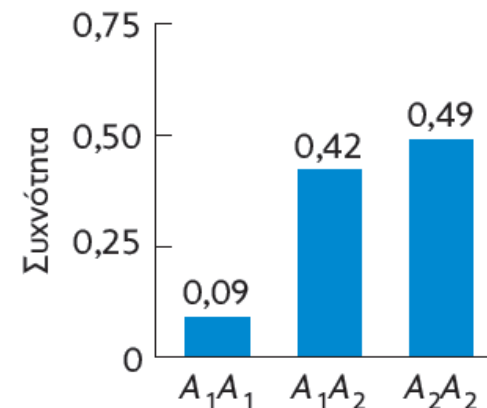
(Α) Ενήλικοι



(Β) Γαμέτες



(Δ) Απόγονοι



(Γ)

Σπερματοζωάρια

A_1 0,3	A_2 0,7
A_1 0,3	0,09 0,21
A_2 0,7	0,21 0,49

Όταν ο απόγονοι συζεύγνυνται για να παραγάγουν μια τρίτη γενεά, οι συχνότητες των γονοτύπων A_1A_1 , A_1A_2 και A_2A_2 θα είναι και πάλι 0,09%, 0,42% και 0,49%. Έτσι, ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία **Hardy-Weinberg (Hardy-Weinberg equilibrium)**: μόλις ο πληθυσμός φθάσει σε αυτήν την κατάσταση, δεν θα συμβεί άλλη αλλαγή στις συχνότητες των γονοτύπων.

Ισορροπία Hardy-Weinberg

Μας λέει τις σχετικές αναλογίες των γονοτύπων σε έναν πληθυσμό όταν ο διαχωρισμός είναι ο μόνος παράγοντας που αλλάζει τις γονοτυπικές συχνότητες.

Αν συμβολίσουμε τη συχνότητα του αλληλομόρφου A_2 σε ένα πληθυσμό με το σύμβολο p (είναι οποιοσδήποτε αριθμός μεταξύ 0 και 1), η συχνότητα του αλληλομόρφου A_1 είναι $(1 - p)$. Σε κατάσταση ισορροπίας Hardy-Weinberg, θα έχουμε:

Γονότυπος:	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
Συχνότητα:	$(1 - p)^2$	$2p(1 - p)$	p^2

Οι βασικές συνθήκες για την ισορροπία Hardy-Weinberg είναι:

- ένα άπειρο μέγεθος πληθυσμού,
- απουσία φυσικής επιλογής,
- καμία μεταλλαγή,
- καμία μετακίνηση μεταξύ των πληθυσμών,
- τυχαία ζευγαρώματα.

Κανένας πραγματικός πληθυσμός δεν πληροί όλες αυτές τις προϋποθέσεις. Επομένως, κανένας πραγματικός πληθυσμός δεν αναμένεται να είναι ακριβώς στην ισορροπία Hardy-Weinberg (αν και η διαφορά μπορεί να είναι πολύ μικρή).

Παρόλα αυτά η ισορροπία Hardy-Weinberg παίζει ρόλο κλειδί στην εξελικτική βιολογία. Είναι η βάση για τα μαθηματικά μοντέλα εξέλιξης για την ανάλυση δεδομένων.

Εάν ένας πληθυσμός δεν βρίσκεται στην ισορροπία Hardy-Weinberg, τότε έχει παραβιαστεί μία από τις παραπάνω συνθήκες.

Παράδειγμα:

Ο γενετικός τύπος της β-αιμοσφαιρίνης στους ανθρώπους έχει δύο αλληλόμορφα που ονομάζονται A και S, που διαφέρουν σε μία μόνο βάση στο έκτο κωδικόνιο (δρεπανοκυτταρική αναιμία). Μετρώντας τις συχνότητες των γονοτύπων σε αυτή τη θέση μεταξύ των 654 ενηλίκων από το Musoma της Ταγκανίκας και υπολογίζοντας τις αναμενόμενες συχνότητες εάν ο πληθυσμός ήταν σε ισορροπία Hardy-Weinberg βρέθηκαν:

Γονότυποι:	AA	AS	SS
Αριθμός ενηλίκων:	400	249	5
Παρατηρούμενη συχνότητα:	0,612	0,381	0,008

Αναμενόμενη συχνότητα κατά Hardy-Weinberg:	0,643	0,317	0,039
---	-------	-------	-------

Η παρατηρούμενη συχνότητα των ετεροζυγωτών είναι υψηλότερη και οι συχνότητες και των δύο ομοζυγωτών είναι χαμηλότερες από αυτές που προβλέπει η ισορροπία Hardy-Weinberg.

Οι διαφορές είναι μικρές αλλά στατιστικά σημαντικές. Προκύπτουν από διαφορές στην επιβίωση: οι γονότυποι AA και SS δεν επιβιώνουν εξίσου καλά όπως και ο γονότυπος AS.

Πρόκειται για ένα από τα πιο διάσημα παραδείγματα φυσικής επιλογής το οποίο εξηγεί πώς χρησιμοποιείται η ισορροπία Hardy-Weinberg για να διερευνηθεί η επιλογή και άλλες εξελικτικές διαδικασίες.