



Osnove genetike

Olga Jovanović Glavaš



Izdavač
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
ODJEL ZA BIOLOGIJU

Za izdavača:
Tanja Žuna Pfeiffer

Autor:
Olga Jovanović Glavaš

Recenzenti:
Vera Cesar
Miroslav Plohl
Sonja Petrović

Lektor:
Livija Reškovic

listopad, 2024. godine

ISBN 978-953-8154-25-6

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku



Suglasnost za izdavanje ovog priručnika
donio je Senat Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
na 1. sjednici održanoj 30. listopada 2024. godine pod brojem 35/24.

Predgovor

Ovaj priručnik namijenjen je studentima preddiplomskog studija Biologije na Odjelu za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Priručnik prati gradivo predmeta i daje osnovne informacije iz područja genetike. Osim toga ovaj priručnik mogu koristiti i studenti drugih smjerova koji se susreću s gradivom iz genetike.

Materijali korišteni u ovom priručniku preuzeti s mrežnih stranica su pod licencom otvorenog pristupa (Creative Commons Attribution International). Ostali materijali su autorsko djelo ili su preuzeti iz drugih izvora uz dopuštenje.

Ovim se putem želim zahvaliti recenzentima, profesoru emeritusu dr. sc. Miroslavu Plohl, profesorici dr. sc. Veri Cesar i profesorici Sonji Petrović koji su znatno pomogli da ovaj priručnik bude što bolji.

U Osijeku, siječanj 2023.

Sadržaj

Uvod.....	4
Struktura i funkcija molekule DNA	5
Stanična dioba	16
Osnove nasljeđivanja.....	26
Monohibridno križanje.....	27
Intermedijarni način nasljeđivanja i kodominantni geni	29
Letalni geni.....	31
Multipli aleli.....	33
Sustavi krvnih grupa.....	35
Zakon neovisnog nasljeđivanja: 3. Mendelov zakon i dihibridno križanje	38
Dihibridno test-križanje.....	42
χ^2 test.....	45
Mehanizmi determinacije spola.....	48
Vinska mušica	51
Spolno vezani geni	54
Kromosomi.....	57
Vezani geni i <i>crossing-over</i>	60
Rekombinacija gena	61
Mehanizmi prijenosa gena mikroorganizama: konjugacija, transformacija, transdukcija	66
Mutageni i mutacije. Mutacije <i>sensu stricto</i> : insercija, delecija, <i>frame-shift</i>	73
Mehanizmi popravka DNA	78
Ekstranuklearno (citoplazmatsko) nasljeđivanje.....	81
Regulacija genske ekspresije.....	84
Promjene broja kromosoma: aneuploidije, euploidije.....	89
Genomski utisak (<i>Genomic imprinting</i>)	96
Kvantitativne i kvalitativne promjene strukture kromosoma: duplikacija, delecija, translokacija, inverzija – promjene strukture kromosma (kromosomske aberacije).....	98
Populacijska genetika: kvalitativni i kvantitativni geni, ravnoteža i frekvencija gena.....	102
Literatura	111

Uvod

Genetika je znanost o nasljeđivanju, odnosno o prijenosu i promjenama genetičkog materijala tijekom vremena i proučava sve aspekte ovog procesa od različitih osobina ljudi i njihova rodoslovlja do biokemijskih procesa u našim kromosomima, odnosno molekulama DNA.

U današnje je vrijeme znanost došla do brojnih postignuća iz genetike i većina saznanja potječe iz sredine 20. stoljeća, a počeci genetičkih istraživanja vezani su uz drugu polovicu 19. stoljeća. Mendela se često naziva ocem genetike jer je prvi istraživao nasljeđivanje pojedinih osobina kod graška i na temelju svojih rezultata došao je i do dviju temeljnih postavki klasične genetike, koje danas i nazivamo njegovim zakonima. Uslijedilo je otkriće kromosoma i gena, a neka od važnijih istraživanja provedena su na vinskoj mušici (*Drosophila melanogaster*) te je u skladu s tim osnovana i *Drosophila school*, koja je uključivala brojne znanstvenike predvođene Thomasom Huntom Morganom. U prvoj polovici 20. stoljeća utvrđuju se zakoni populacijske genetike koji doprinose boljem razumijevanju procesa evolucije. Doba moderne genetike započinje otkrićem molekule DNA i njezine strukture te istraživanjima djelovanja restriktivskih endonukleaza, enzima koji prepoznaju i specifično cijepaju kratke nukleotidne slijedove molekule DNA, čime su se pak otvorila vrata metodama „prekrajnja“ i kloniranja molekule DNA.

Tradicionalno genetiku dijelimo na tri osnovna područja: Mendelova (klasična) genetika, molekularna genetika i evolucijska genetika. Mendelova se genetika bavi istraživanjem pojedinih svojstava koja se pripisuju nasljeđivanju putem gena. Molekularna genetika se primarno bavi proučavanjem strukture, zatim i nasljeđivanja, replikacije i ekspresije gena, a evolucijska se genetika bavi mehanizmima evolucijskih promjena i promjenama frekvencija pojedinih gena u populaciji. Ipak danas ova podjela nije toliko stroga jer postoje brojna preklapanja u ovim područjima upravo zbog sve boljeg razumijevanja procesa na molekularnoj razini, koji se odnose i na sve aspekte postojanja, funkcioniranja i evolucije živih organizama.

Sve do nedavno su se geni smatrali najvažnijim (i jedinim) načinom određivanja pojedinih osobina. No danas znamo da se ekspresija pojedinih gena u organizmu može promijeniti i bez promjena sekvenci u molekuli DNA. Takve se promjene nazivaju epigenetičke promjene i epigenetika (što znači „iznad genetike“) se bavi njihovim proučavanjem. Epigenetičke promjene mogu biti izazvane različitim čimbenicima kao što su prehrana, stres, djelovanje toksina itd. One mogu biti nasljedne, što znači da se prenose iz jedne generacije u drugu. Primjer mehanizma epigenetičke regulacije je metilacija molekule DNA, koja uključuje dodavanje metilne skupine na citozin. Ova promjena može utišati ili aktivirati aktivnost pojedinih gena, ovisno o položaju

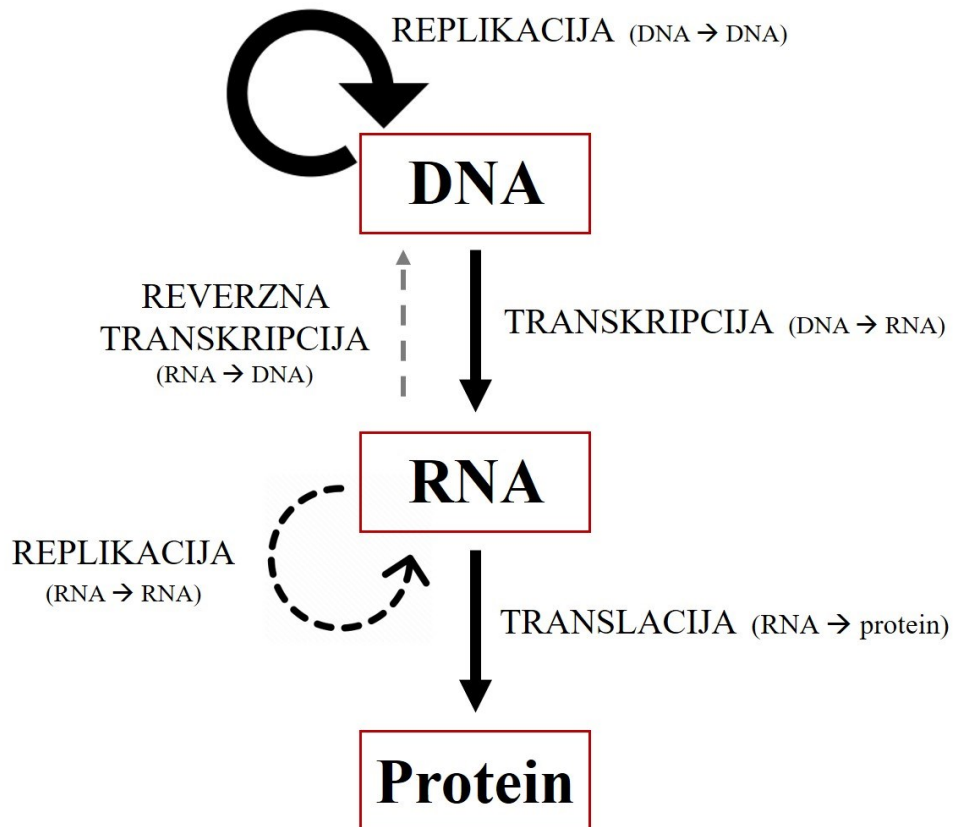
na genomu i regulatornim proteinima. Drugi mehanizam epigenetičke regulacije uključuje modifikacije histona dodavanjem ili uklanjanjem nekih kemijskih skupina, o čemu ovisi stupanj kondenzacije molekule DNA u jezgri. Ovakve promjene olakšavaju ili onemogućavaju pristup transkripcijskim faktorima i drugim regulatornim proteinima molekuli DNA i na taj način sudjeluju u regulaciji ekspresije gena. Epigenetičke se promjene događaju u brojnim biološkim procesima kao što su rast i razvoj, starenje i nastanak nekih bolesti kao karcinom i Alzheimerova bolest. Danas je epigenetika izuzetno važna i pomaže nam razumjeti kompleksne odnose između genetike i okoliša.

Struktura i funkcija molekule DNA

Molekula DNA je osnova života na Zemlji te je kao takva jedinstvena i ispunjava nekoliko važnih funkcija. Molekula DNA je genetički materijal koji sadrži upute za razvoj i funkcioniranje svih organizama. Slijed baza u molekuli DNA određen genetičkim kôdom predstavlja informaciju za sintezu svih proteina koji će tijekom života biti potrebni za život svake stanice. Takvi dijelovi molekule DNA koji se prepisuju nazivaju se genima i upravo je ekspresija gena izuzetno važna za funkciju svake stanice. Molekula DNA kodira i sintezu drugih funkcionalnih molekula koje se ne translatiraju u proteine. Takvi su primjerice geni za sintezu rRNA i tRNA. Geni odgovorni za sintezu histonskih proteina i rRNA su u genomu prisutni s 10 do 1000 kopija, a ostali su geni uglavnom jedinstvene sekvence. Osim toga u genomu postoje i regulatorne sekvence koje imaju važnu ulogu u aktivaciji pojedinih gena.

Unatoč velikom broju parova baza u molekuli DNA (npr. 3 milijarde u haploidnom genomu čovjeka), broj gena je relativno malen (oko 22 000 kod svih sisavaca, uključivo čovjeka). Geni zajedno sa svojim regulatornim regijama čine tek do 2 % ukupne DNA u stanici, a ostatak predstavlja sekvence DNA, koje na različite načine sudjeluju u organizaciji i strukturiranju arhitekture genoma i kromosoma te su važne za sveukupnost funkcioniranja i evolucije genoma.

Prijenos informacija s molekule DNA odvija se pomoću molekula RNA. Molekula DNA, osim što sadrži sve informacije i sudjeluje u njihovoj realizaciji (putem ekspresije gena), može se sama replicirati i stvarati identične kopije, odnosno osigurava nasljeđivanje toga genetičkog materijala (Slika 1). Osim navedenog molekula DNA ima i sposobnost provjere, kao i popravka. Iako je molekula DNA u svim stanicama jednog organizma u pravilu identična, pri prijenosu iz jedne u drugu generaciju može doći do izmjene genetičkog materijala procesom rekombinacije.



Slika 1. Molekula DNA je ključna za osnovne procese u stanici – replikaciju, transkripciju i translaciju („Dogma molekularne biologije“). Ona se može replicirati i stvarati identične kopije. U molekuli DNA sadržane su informacije za sintezu svih proteina potrebnih u pojedinoj stanici i te informacije se najprije prepisuju u RNA (transkripcijom), a zatim prevode u aminokiselinski slijed (translacijom) u procesu sinteze proteina.

Sama replikacija molekule DNA je semikonzervativna, što znači da se u svakoj novoj molekuli DNA nalazi jedan originalni i jedan novosintetizirani lanac. Ovo su 1958. godine dokazali Meselson i Stahl u eksperimentu koji se često naziva i „najljepšim eksperimentom u biologiji“. Uzgajali su bakteriju *Escherichia coli* na podlozi s teškim dušikom ^{15}N nakon čega su bakterije prebacili na podlogu s lakim dušikom ^{14}N i tijekom četiriju generacija pratili učestalost pojedinog izotopa u molekulama DNA, što je potvrdilo njihovu hipotezu.

Kako bismo mogli razumjeti genetiku od njezinih osnovnih postavki, važno je znati kako je građen genetički materijal, odnosno molekula deoksiribonukleinske kiseline DNA (engl. *deoxyribonucleic acid*) i na koji način djeluje na procese u organizmu.

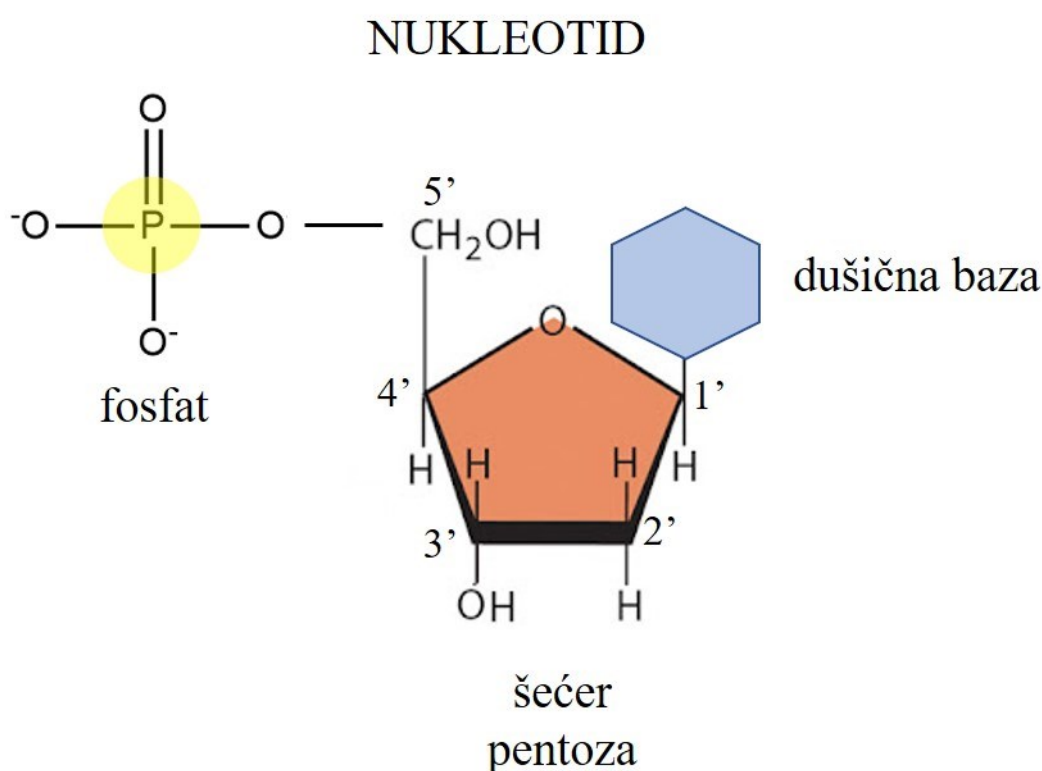
Molekula DNA je polimer, što znači da se sastoji od velikog broja podjedinica koje su građene po istom principu, a nazivaju se **nukleotidi** (Slika 2). Svaki nukleotid je građen od triju dijelova: šećer pentoza, fosfatna skupina i dušična baza.

Dušična baza i šećer (bez fosfatne skupine) tvore nukleozid.

baza + šećer (pentoza) → nukleozid

baza + šećer (pentoza) + fosfat → nukleotid (dCMP, dTMP, dAMP, dGMP)

nukleozidtrifosfat = „aktivirani nukleotid“ (dCTP, dTTP, dATP, dGTP)

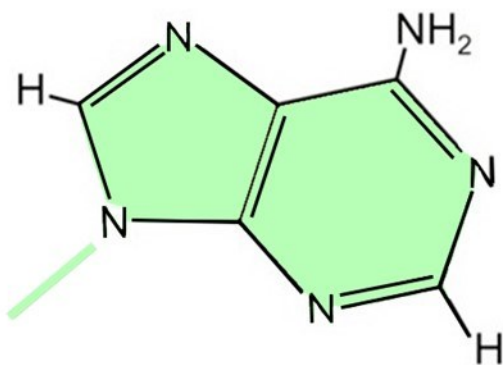


Slika 2. Građa nukleotida. Svaki je nukleotid građen od fosfatne skupine, šećera pentoze i dušične baze, koja može biti purinska (A, G) ili pirimidinska (C, T) (izvor: Blausen.com, 2014, Betts i sur., 2013).

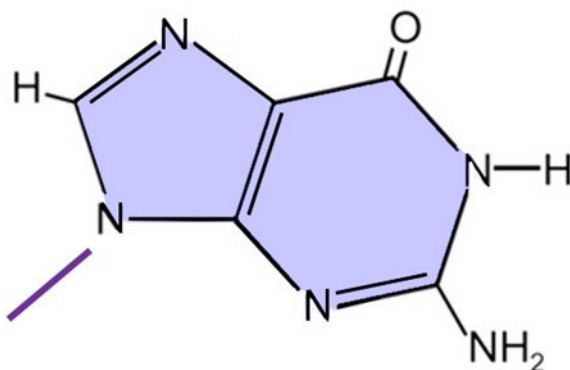
U molekuli DNA šećer u nukleotidu je deoksiriboza, a od dušičnih baza u molekuli DNA postoje četiri različita tipa baza: adenin (A) i gvanin (G), koje se sastoje od dvostrukog prstena i nazivaju se purinske baze, i timin (T) i citozin (C), koje se sastoje od jednostrukog prstena i nazivaju se pirimidinske (Slika 3). Purinske baze se uvijek vežu na pirimidinske i to na načinda se adenin veže na timin tvoreći dvije vodikove veze, a gvanin se veže za citozin tvoreći tri vodikove veze. Iz razloga što se baze uvijek vežu samo za svoj par kažemo da su lanci u molekuli DNA

komplementarni i ako znamo strukturu jednog lanca, na temelju njega možemo odrediti i strukturu komplementarnog lanca.

PURINI

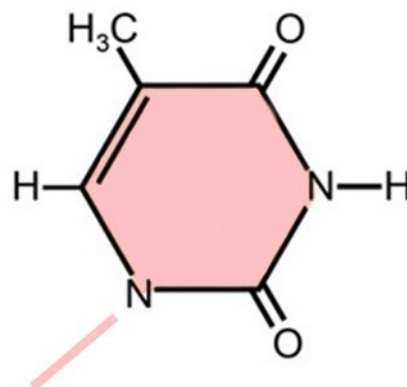


adenin

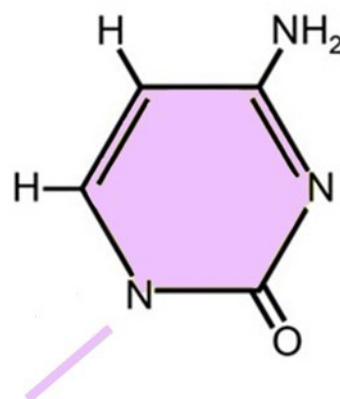


gvanin

PIRIMIDINI



citozin

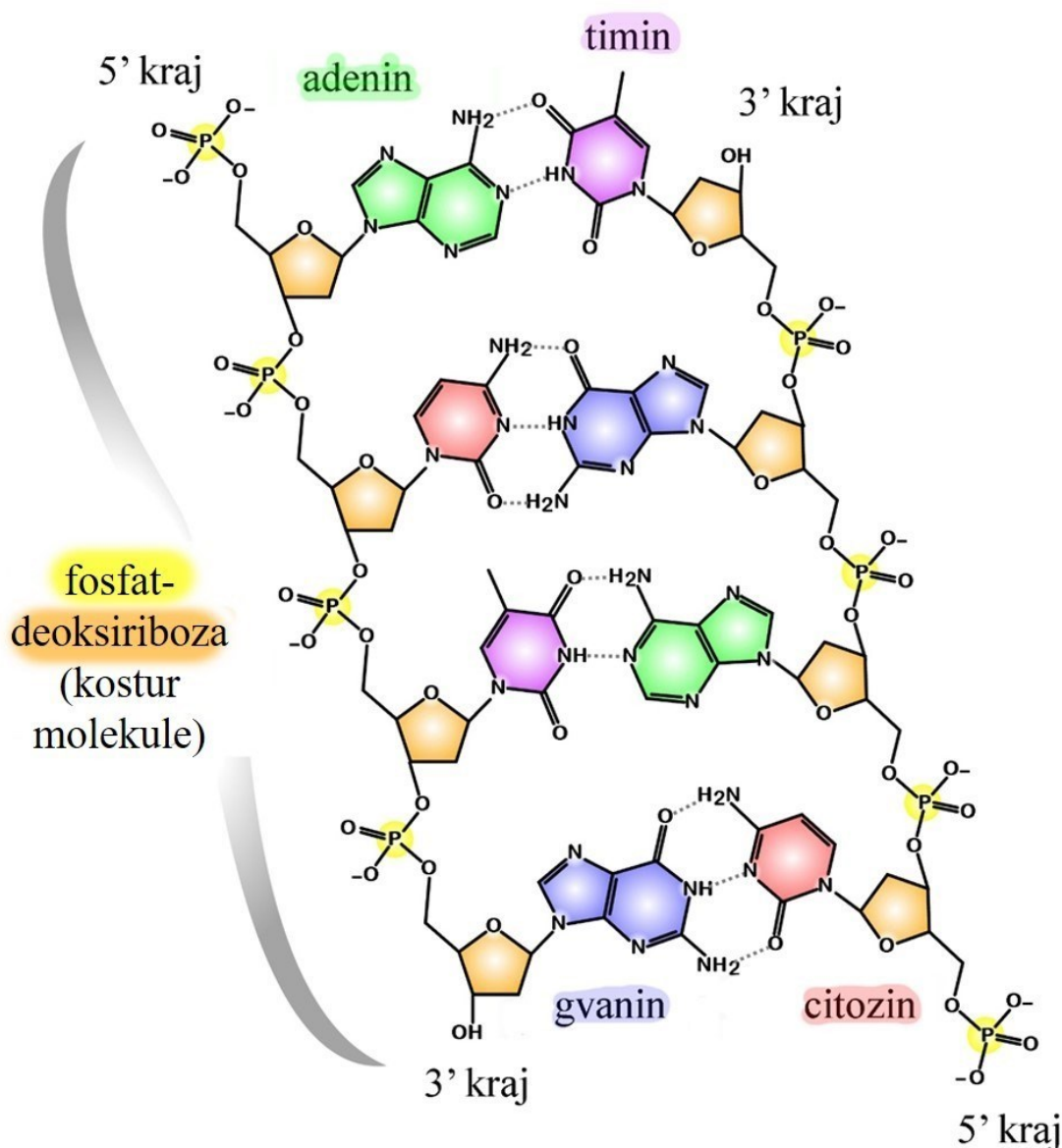


timin

Slika 3. Građa dušičnih baza. Purinske su baze (adenin i gvanin) građene od dvostrukog prstena, a pirimidinske baze (citozin i timin) su građene od jednostrukog prstena (izvor: modificirano po Blausen.com 2014, Betts i sur. 2013).

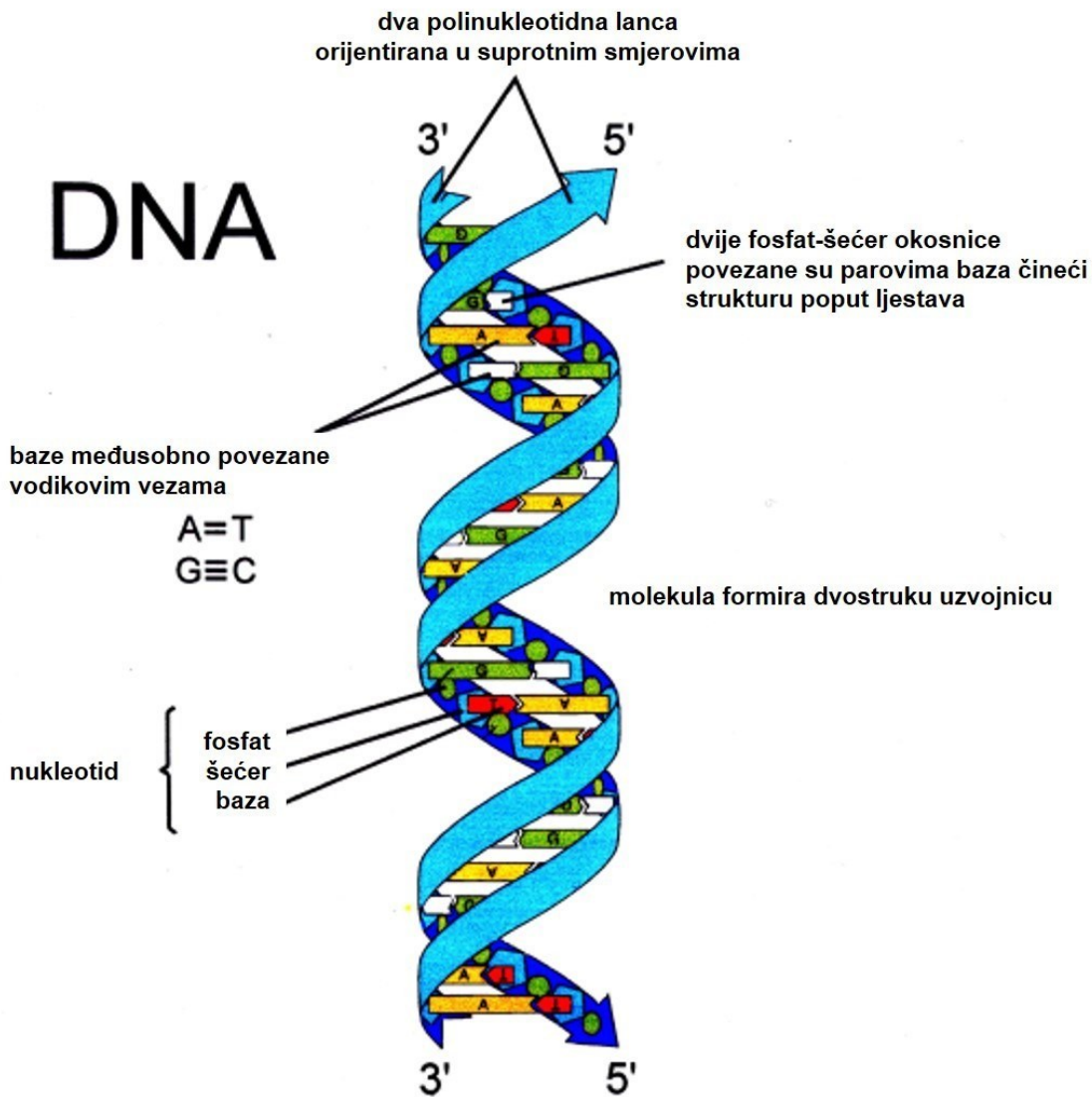
U molekuli DNA šećeri i fosfatne skupine čine okosnicu svakog lanca dvostruke uzvojnice molekule DNA, a dušične baze vodikovim vezama formiraju tzv. „ljestve“, koje međusobno povezuju dva lanca (Slika 4). Šećer i fosfatna skupina povezani su fosfodieterskom vezom i čine osnovicu lanca, a baze su vezane na šećer N-glikozidnom vezom. Oba su lanca DNA

građena na isti način, no razlikuje se njihov „smjer“. Jedan lanac počinje fosfatnom skupinom, a završava hidroksilnom (-OH) skupinom, dok je drugi lanac okrenut suprotno i počinje -OH, a završava fosfatnom skupinom. Fosfatna se skupina nalazi na 5. atomu ugljika u deoksiribozi i taj kraj molekule DNA naziva se 5', a -OH skupina nalazi se na 3. ugljikovu atomu i naziva se 3'. To znači da je jedan lanac okrenut u 5' → 3' smjeru, a drugi je lanac okrenut suprotno, od 3' → 5'. Zbog toga se lanci molekule DNA nazivaju antiparalelni lanci. Svaki lanac molekule DNA ima jedan 3' i jedan 5' kraj.



Slika 4. Molekula DNA je polimer koji čine dva komplementarna lanca povezana vodikovim vezama između dušičnih baza, a svaki je lanac građen od velikog broja nukleotida koji su međusobno povezani fosfodieterskim vezama (autor originala: Madeleine Price Ball).

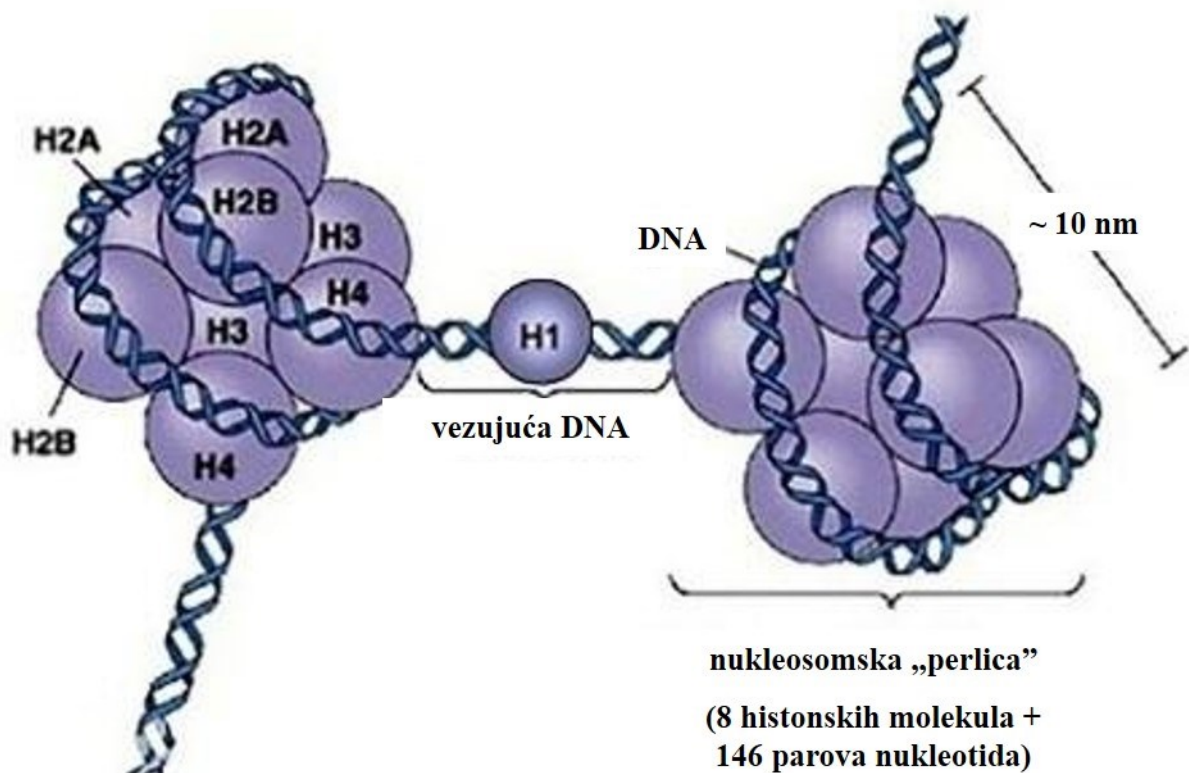
Da je DNA građena kao dvostruka uzvojnica, prvi su 1953. godine otkrili Watson, Crick i Wilkins, koji su za svoje otkriće dobili Nobelovu nagradu 1962. godine, a Franklin, koja je također doprinijela ovom otkriću, preminula je ranije (Slika 5).



Slika 5. Shema građe molekule DNA. Nju tvore dva antiparalelna lanca koja su međusobno povezana vodikovim vezama između komplementarnih dušičnih baza. Između adenina i timina stvaraju se dvije vodikove veze, a između gvanina i citozina tri vodikove veze te čine središnji dio molekule DNA formirajući „ljestve“.

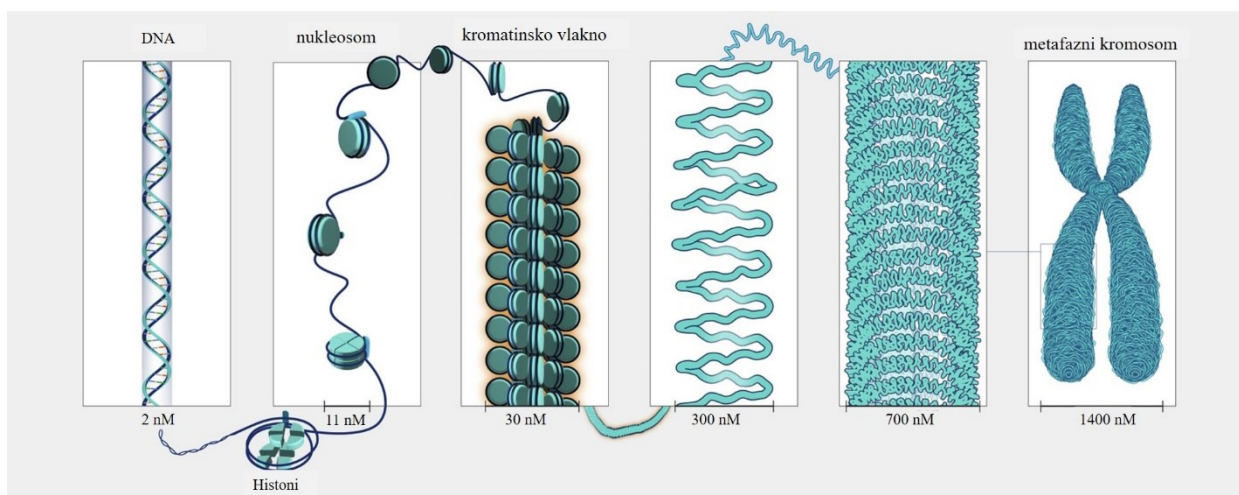
Kod eucita je DNA organizirana u linearne kromosome koji se nalaze u jezgri. U eucitnim kromosomima DNA je u interakciji s brojnim proteinima i zajedno čine kromatin. Proteini

jezgre dijele se u dvije skupine: histoni i nehistonski proteini. Poznato je pet histonskih proteina: H1, H2A, H2B, H3 i H4.



Slika 6. Nukleosom je histonski oktamer koji se sastoji od ukupno osam histona, po dva od svake vrste (2 x H2A, 2 x H2B, 2 x H3, 2 x H4) oko kojeg je obavijena molekula DNA. Nukleosom je osnovna jedinica kromatina. Nukleosomi su povezani vezujućom DNA i histonom H1 (preuzeto i prilagođeno iz Lu i sur., 2017).

Molekula DNA je omotana oko histonskog oktamera koji se sastoji od 2 x H2A, 2 x H2B, 2 x H3, 2 x H4 (Slika 6). Histonski oktamer i 146 parova baza (pb) molekule DNA omotane oko njega tvore **nukleosom**. To je osnovna jedinica pakiranja DNA, a niz nukleosoma se zbog svog izgleda često naziva i *beads-on-a-string* (perlice na niti; Slika 7). Histon H1 međusobno povezuje nukleosome i zbog toga se naziva i „vezujući“ histon.



Slika 7. Molekula DNA je kod eucita omotana oko oktamera histonskih proteina (2 x H2A, 2 x H2B, 2 x H3, 2 x H4), koji su potom pakirani u nekoliko razina i na kraju tvore metafazne kromosome. Metafazni kromosomi su najkondenziraniji oblik pakiranja DNA, pogodni za razdjeljivanje genetičkog materijala u stanici koja se dijeli (izvor: web 1).

Nehistonski se proteini nazivaju i HMG proteini (*High Mobility Group Proteins*) i također sudjeluju u strukturiranju kromatina, u regulaciji transkripcije, a neki imaju ulogu i u mehanizmima popravka DNA te diferencijaciji i proliferaciji stanica.

Kod protocita se molekula DNA nalazi u citoplazmi, kružnog je oblika i oni imaju DNA-vezujuće proteine koji se razlikuju od nuklearnih DNA-vezujućih proteina kod eucita.

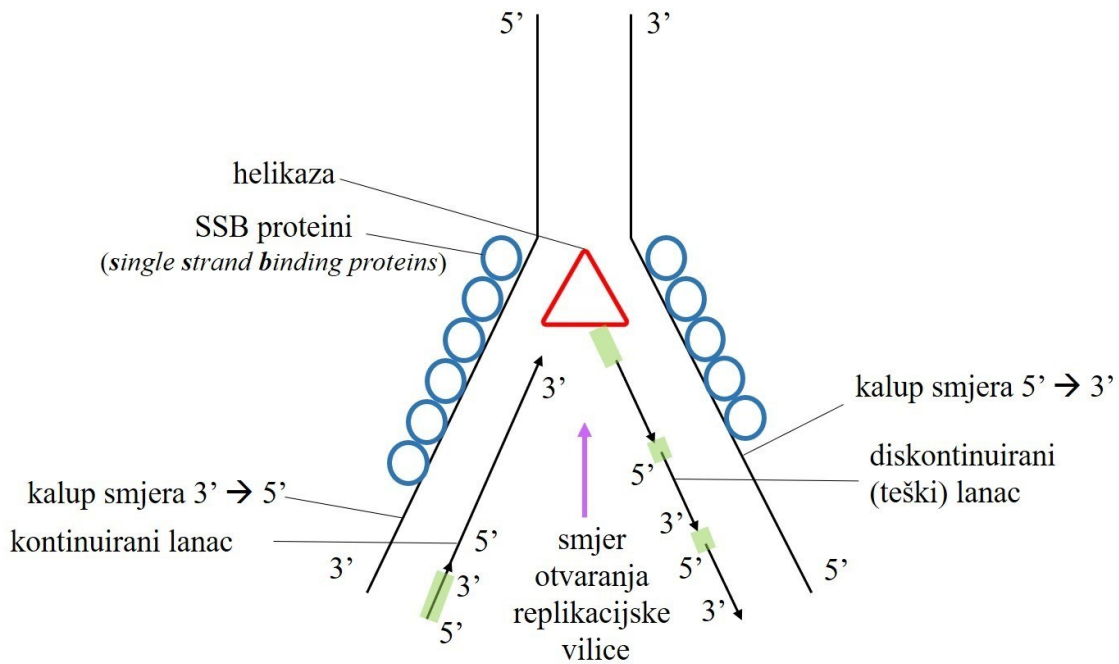
Kromatin po njegovoj građi i funkciji dijelimo na **eukromatin**, dijelove kromatina koji su u interfazi djelomično dekonenzirani i **heterokromatin**, odnosno dijelove kromosoma koji su uvijek maksimalno kondenzirani. U eukromatinu se nalazi većina strukturalnih gena, kao i jedinstvene sekvence molekule DNA (dijelovi koji se ne ponavljaju nigdje u genomu). Osim sekvenci koje se nalaze u jedinstvenoj kopiji u genomu, mnogi se dijelovi molekule DNA mogu javiti u više kopija (repetitivne sekvence), koje možemo podijeliti na raspršeno ponovljene (pokretni genetički elementi, odnosno transponirajući elementi) i različite oblike uzastopno ponovljenih sekvenci DNA, tradicionalno nazvane satelitne DNA. Ponovljene sekvence DNA najčešće izgrađuju > 50 % genomske DNA, a u pravilu ih (iako ne nužno) nalazimo u heterokromatinskim genomskim odjeljcima. Većina repetitivnih sekvenci ne kodira proteine, no mnoge se od njih prepisuju (transkribiraju) i takve molekule RNA imaju važnu ulogu u funkcioniranju stanice (primjerice u remodeliranju kromatina). Heterokromatin većinom predstavlja genetski neaktivne dijelove kromosoma koji ili ne sadrže gene ili su ti geni „utišani“ (nisu aktivni). U pojedinim slučajevima cijeli kromosomi mogu biti heterokromatski, kao primjerice neaktivna kopija kromosoma X kod ženki sisavaca (Barrovo tijelo; str. 49).

Heterokromatin je većinom prisutan u području centromera i telomera, a pojavljuje se i kao intersticijski heterokromatin, tj. između centromernih i telomernih područja.

DNA replikacija započinje djelovanjem helikaza, enzima koji odvajaju komplementarne lance razdvajanjem vodikovih veza i uz pomoć SSB proteina (*single strand binding proteins*; jednolančani vezni proteini), koji sprečavaju njihovo ponovno vezanje, tvori replikacijsku vilicu (Slika 8). Sama replikacija odvija se uz pomoć enzima DNA polimeraza (najvažnije su DNA polimeraza III i DNA polimeraza I), koje na temelju postojećih lanaca sintetiziraju komplementarne lance. Da bi DNA polimeraza započela djelovati, najprije moraju biti zadovoljeni određeni uvjeti; moraju biti prisutni aktivirani nukleotidi (dATP, dTTP, dCTP i dGTP), mora biti prisutna početnica (klica, *primer*), koju formira primaza (poseban tip RNA polimeraze) i mora postojati kalup, tj. otvorena dvostruka uzvojnica prema kojoj DNA polimeraza formira nov komplementarni lanac.

Novi lanac sintetizira se u smjeru $5' \rightarrow 3'$ jer se na $3'$ kraj (odnosno na -OH skupinu šećera) dodaje novi nukleotid stvarajući fosfodistersku vezu. To znači da se lanac $5' \rightarrow 3'$ sintetizira kontinuirano, a lanac $3' \rightarrow 5'$ se sintetizira u suprotnom smjeru od otvaranja replikacijske vilice.

To znači da u svakom koraku mora sintetizirati novu početnicu i polimerizacija se odvija diskontinuirano do prethodno sintetiziranog fragmenta DNA. Te novosintetizirane fragmente povezuje u jednu cjelinu enzim DNA ligaza. Takve fragmente nazivamo Okazakijevim fragmentima i svaki fragment odgovara DNA omotanoj oko jednog nukleosoma (oko 200 pb). Ovaj lanac koji se sintetizira u fragmentima nazivamo i teškim ili diskontinuiranim lancem. Osim toga lanac $3' \rightarrow 5'$ služi kao kalup za transkripciju koja se odvija djelovanjem RNA polimeraze.



Slika 8. Replikacijska vilica. Helikaza odvaja komplementarne lance molekule DNA koji čine kalup za sintezu novih lanaca. S obzirom na to da su lanci antiparalelni, jedna strana je kalup u smjeru $3' \rightarrow 5'$ i sinteza se novog lanca odvija kontinuirano, a drugi lanac je kalup u smjeru $5' \rightarrow 3'$ te se taj lanac sintetizira u Okazakijevim fragmentima (jedan fragment odgovara jednom nukleosomu).

Općenito, polimeraze su enzimi koji vežu nukleotide jedan za drugi tako što povezuju 3' atom ugljika nukleotida u lancu koji raste za 5' atom ugljika novododanog nukleotida te je smjer polimerizacije uvijek $5' \rightarrow 3'$. S druge strane egzonukleaze sudjeluju u procesu popravka

molekule DNA tako što hidroliziraju (odstranjuju) nukleotide na otvorenim krajevima nukleinskih kiselina. Ovisno o smjeru odstranjivanja nukleotida, mogu biti $5' \rightarrow 3'$ ili $3' \rightarrow 5'$.

DNA polimeraza I građena je od velike (Klenov fragment) i male podjedinice, a svaka od njih ima vlastitu ulogu. Velika podjedinica polimerizira u smjeru $5' \rightarrow 3'$, a u suprotnom smjeru $3' \rightarrow 5'$ ima egzonukleazno djelovanje. Velika podjedinica nasumično dodaje nove nukleotide, uspoređuje ih s kalupom i ako oni nisu komplementarni s kalupom, egzonukleaznim se djelovanjem taj nukleotid odstranjuje i polimerizacija se nastavlja. Mala podjedinica ima egzonukleazno djelovanje u $5' \rightarrow 3'$ smjeru. Za razliku od velike podjedinice čija je uloga stvaranje novoga komplementarnog lanca DNA, mala podjedinica svojom egzonukleaznom aktivnošću izrezuje početnice iz teškog lanca (s korakom 10 – 15 nukleotida).

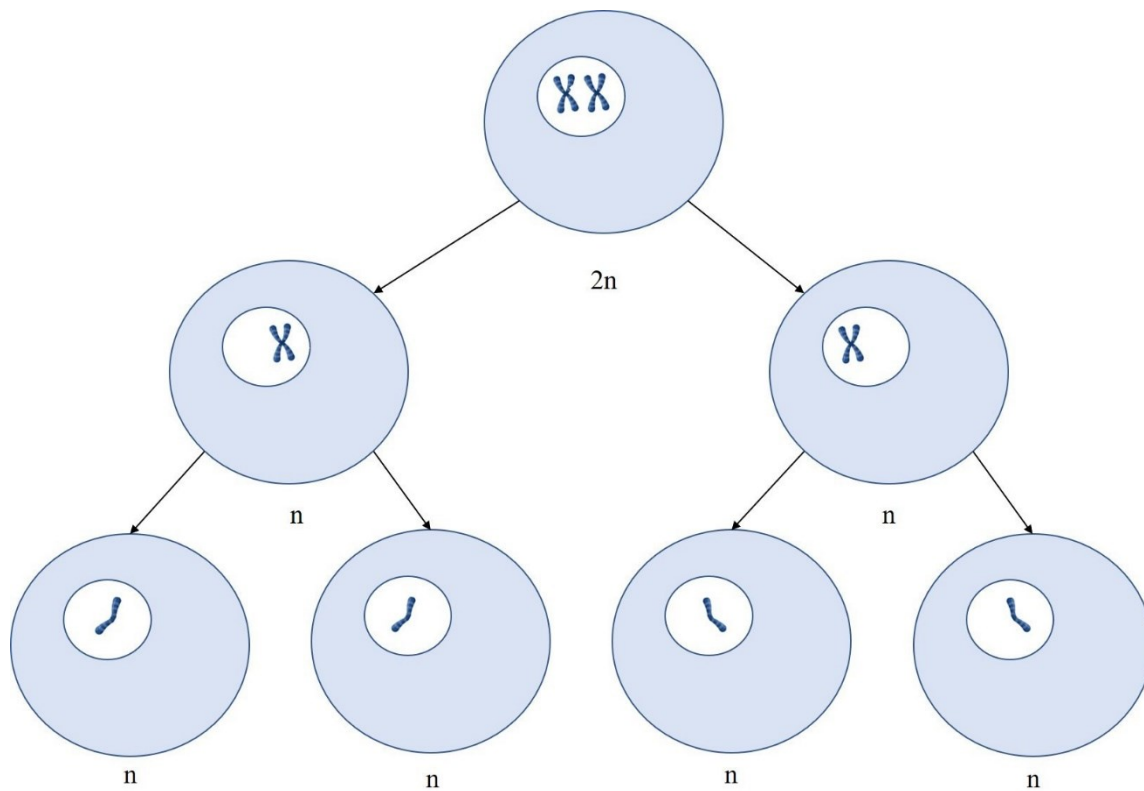
Prilikom procesa replikacije i sinteze nove molekule DNA povremeno dolazi do pogreški. No sama stanica ima nekoliko mehanizama koji služe kako bi se spriječilo da takve pogreške trajno ostanu u molekuli DNA (odnosno da postanu mutacije). Prije dodavanja svakoga novog nukleotida DNA polimeraza najprije provjerava je li prethodna baza pravilno sparena s bazom u komplementarnom lancu (engl. *proofreading*). Ako DNA polimeraza uoči krivo sparenu bazu, dolazi do premještanja novog lanca molekule DNA na drugo aktivno mjesto na DNA polimerazi na kojem se odvija uklanjanje krive baze egzonukleaznim djelovanjem u smjeru $3' \rightarrow 5'$. Nakon što je uklonjena pogrešno sparena baza lanac molekule DNA vraća se na početno aktivno mjesto u enzimu i proces se polimerizacije nastavlja. DNA polimeraza vrlo jednostavno prelazi iz polimerizacijske aktivnosti u egzonukleazno djelovanje promjenom konformacije proteina.

Stanična dioba

Pravilna razdioba genetičkog materijala (nakon replikacije molekule DNA) je ključan proces za opstanak pojedinih vrsta (i pojedinih organizama) i s obzirom na genetički sastav i broj kromosoma koji nastaju diobom, govorimo o dvama tipovima stanične diobe. Mitoza je stanična dioba somatskih stanica, a mejoza je stanična dioba kojom nastaju spolne stanice.

Mitoza je dio staničnog ciklusa u kojem dolazi do odvajanja sestrinskih kromatida i formiranja dviju stanica kćeri. To je ekvacijska dioba te je broj i sastav kromosoma u stanicama kćerima identičan ishodišnoj stanici. Stanica većinu vremena provodi u interfazi koja se dijeli na faze G1, S i G2. Najvažnija je S faza jer u njoj dolazi do sinteze novih molekula DNA, odnosno do njihova udvostručavanja. Nakon interfaze stanica ulazi u mitozu koja se dijeli na četiri faze: profaza, metafaza, anafaza i telofaza. U profazi se kromatin kondenzira, čime se molekula DNA (tj. genetički materijal) priprema za samu diobu. Formira se diobeno vreteno, čije se niti vežu za centromere i razgrađuje se jezgrina ovojnica. U metafazi su kromosomi (koji se još uvijek sastoje od dviju sestrinskih kromatida) raspoređeni u središnjoj ravni. U anafazi dolazi do odvajanja sestrinskih kromatida i svaka kromatida putuje na suprotni pol stanice. Telofaza je završna faza mitoze u kojoj dolazi do dekonenzacije kromosoma i raspada diobenog vretena, a na kraju same mitoze i do citokineze, odnosno potpunog odvajanja stanica kćeri.

Za razliku od mitoze u kojoj stanice kćeri imaju identičan genetički sastav kao i stanica od koje su nastale, kao produkt mejoze nastaju četiri stanice koje se genetički međusobno razlikuju, a razlikuju se i od roditeljskih stanica od kojih su nastale te imaju i upola manji broj kromosoma (haploidne su i imaju samo jedan set kromosoma – n , za razliku od somatskih stanica koje su diploidne – $2n$, s po jednim setom kromosoma od svakog roditelja; Slika 9). Mejoza se sastoji od dvaju ciklusa diobe – u prvoj diobi dolazi do redukcije broja kromosoma razdvajanjem homolognih kromosoma (redukcijska dioba), a u drugoj diobi dolazi do odvajanja sestrinskih kromatida (ekvacijska dioba).

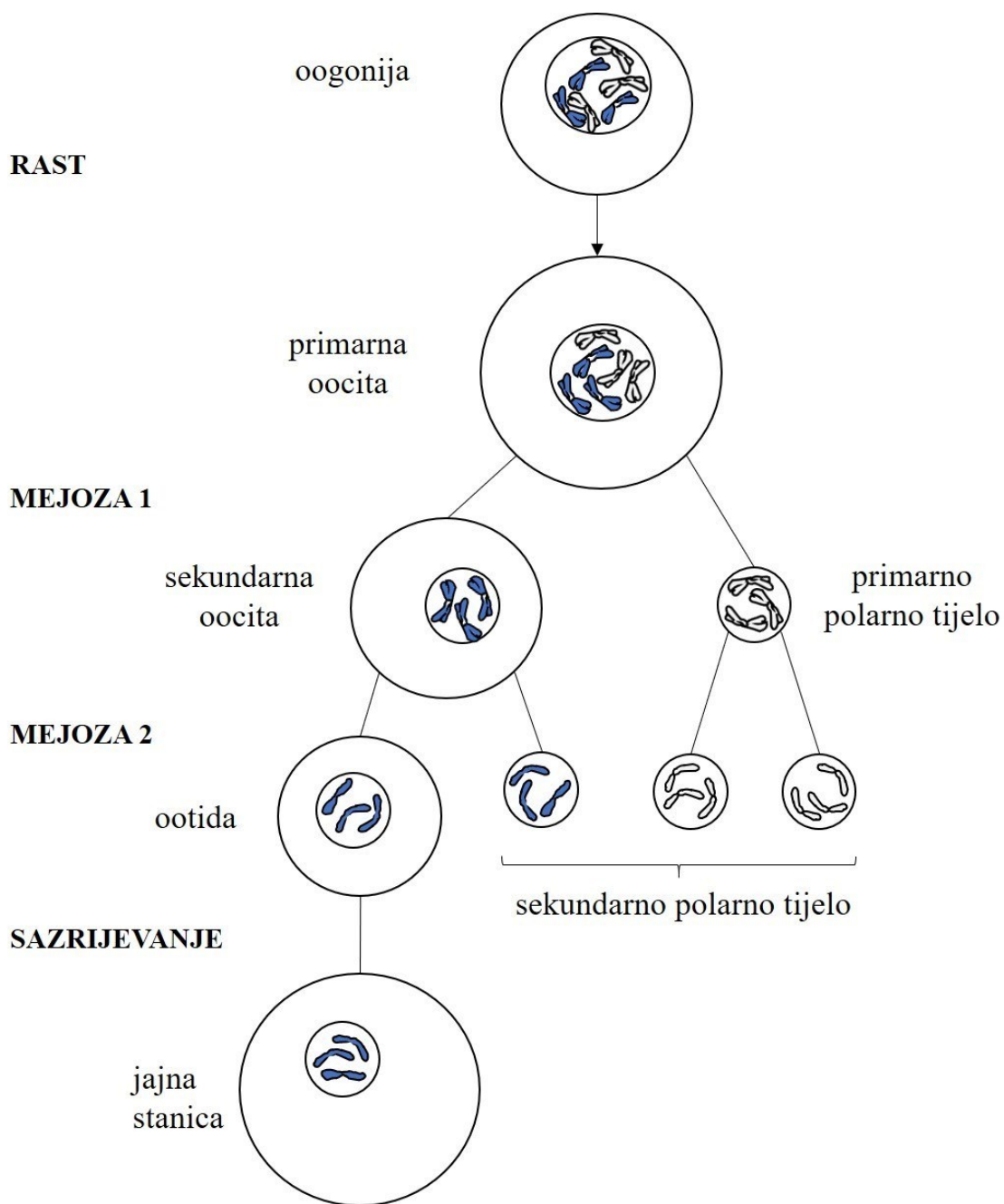


Slika 9. Mejoza se sastoji od dviju diobi. U prvoj diobi dolazi do odvajanja homolognih kromosoma i to je redukcijaska dioba ($2n \rightarrow n$), a u drugoj se odvajaju kromatide i to je ekvacijska dioba.

Profazu I dijelimo u pet faza: leptoten, zigoten, pahiten, diploten i dijakineza. U leptotenu započinje kondenzacija kromosoma. U zigotenu se stvara sinaptonemalni kompleks u kojem se u pahitenu može dogoditi rekombinacija (*crossing-over*). Tijekom rekombinacije dolazi do izmjene genetičkog materijala među nesestrinskim kromatidama homolognih kromosoma, što za rezultat ima nastanak stanica s jedinstvenom kombinacijom gena (alela). U diplotenu se razgrađuje sinaptonemalni kompleks, a u dijakinezi dolazi do razgradnje jezgrine ovojnice i pripreme stanice za metafazu I u kojoj se kromosomske tetrade nalaze u metafaznoj ravnini. U anafazi I dolazi do odvajanja homolognih kromosoma i u telofazi nastaju stanice koje su haploidne (imaju n broj kromosoma). U drugoj diobi mejoze dolazi do odvajanja sestrinskih kromatida. Stanice koje nastaju mejozom su spolne stanice (gamete), pa se proces nastanka gameta naziva **gametogeneza**.

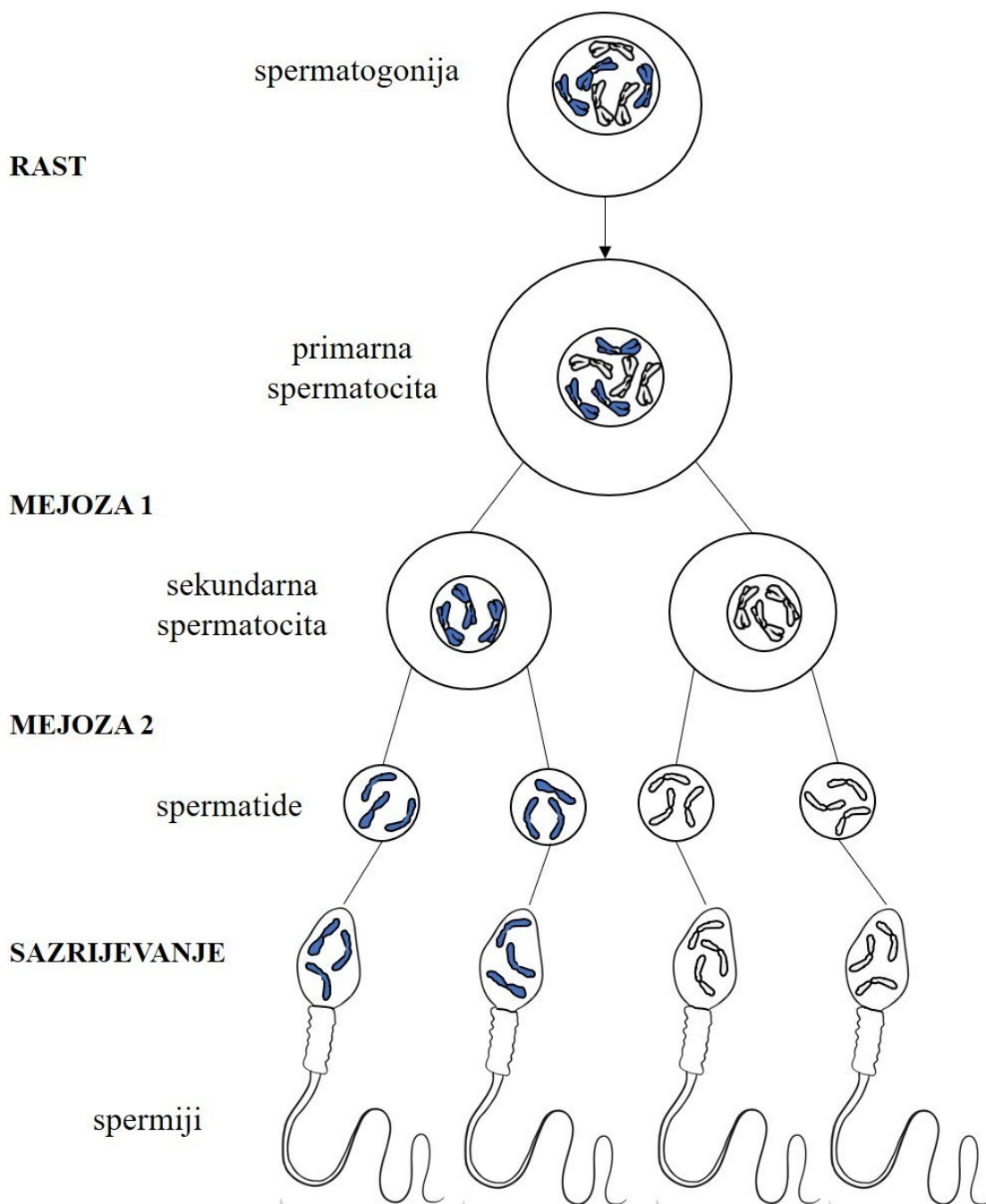
Gametogeneza se razlikuje kod životinja i kod biljaka te se također razlikuje ovisno o spolu organizma. Kod životinja gametogenezu dijelimo na oogenezu (proces nastanka jajne stanice) i spermatogenezu (proces nastanka spermija).

Od ishodišnih stanica oogonija, koje se dijele mitozom, neke se od stanica diferenciraju u primarnu oocitu, koja zatim ulazi u mejozu (Slika 10). U prvoj diobi u mejozi nastaje sekundarna oocita i primarno polarno tijelo od čega obje imaju haploidan broj kromosoma (n), no razlikuju se u količini citoplazme (primarno polarno tijelo ima jako malo citoplazme jer je većina citoplazme pripala sekundarnoj oociti; nejednaka dioba). U drugoj diobi u mejozi se sekundarna oocita dijeli na ootidu koja sazrijeva u jajnu stanicu i sekundarno polarno tijelo, primarno se polarno tijelo također dijeli na dva sekundarna polarna tijela.



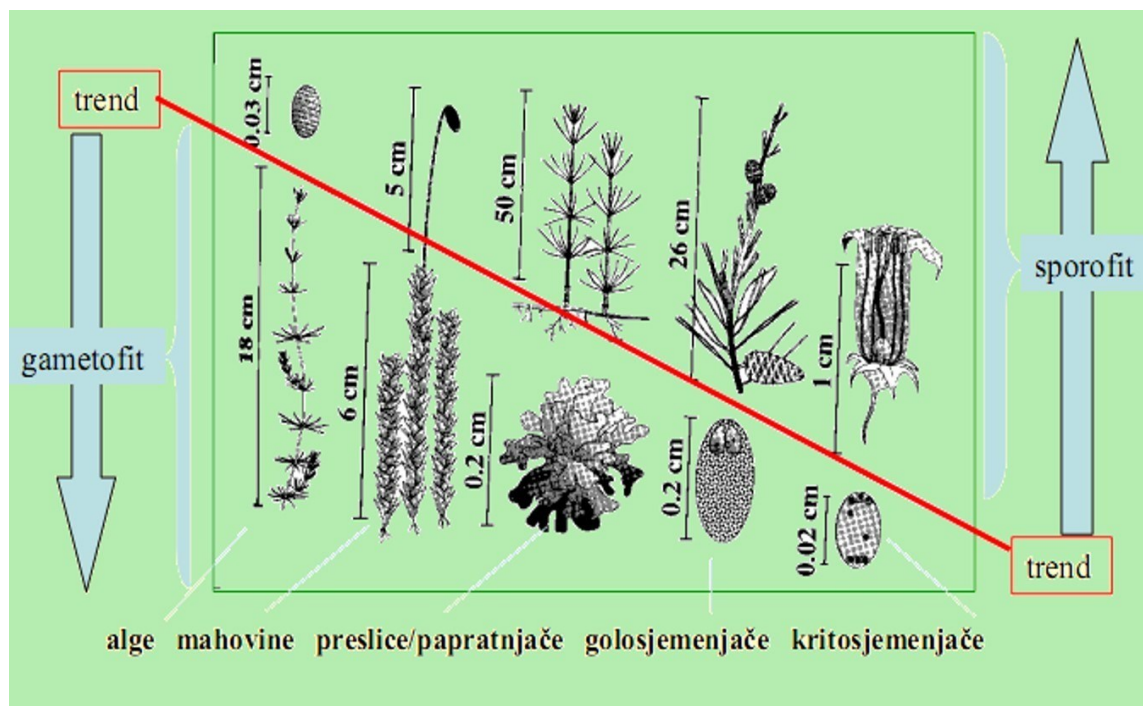
Slika 10. Oogeneza je proces nastanka jajne stanice. Iz oögonije mitozom nastaju stanice koje rastu u primarnu oocitu i koja potom ulazi u mejozu. U prvoj mejotičkoj diobi nastaje sekundarna oocita i primarno polarno tijelo. U drugoj mejotičkoj diobi se iz sekundarne oocite razvija ootida koja sazrijevanjem prelazi u jajnu stanicu i jedno sekundarno polarno tijelo. Iz primarnoga polarnog tijela također nastaju još dva sekundarna polarna tijela (preuzeto i prilagođeno iz Stansfield, 1991).

Spermatogonija je ishodišna stanica iz koje mitozom nastaje stanica koja, nakon diferencijacije u primarnu spermatocitu, ulazi u proces spermatogeneze (Slika 11). U prvoj se diobi u mejozi primarna spermatocita dijeli na dvije sekundarne spermatocite koje su haploidne (n), a zatim se u drugoj diobi u mejozi dijele svaka na dvije spermatide iz kojih se sazrijevanjem razvijaju četiri spermija.



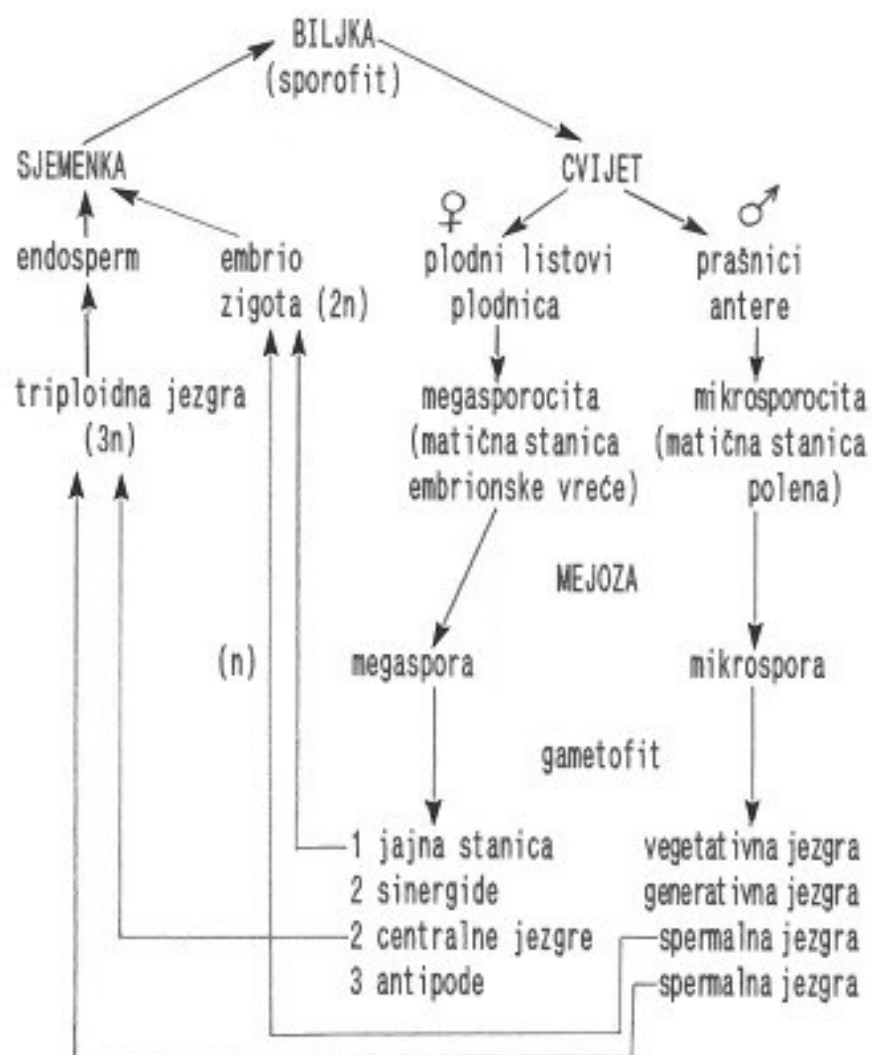
Slika 11. Spermatoogeneza je proces nastanka spermija. Spermatogonija je stanica koja se dijeli mitozom i neke se od novonastalih stanica diferenciraju u primarne spermatocite, koje potom ulaze u mejozu. U prvoj mejotičkoj diobi nastaju dvije sekundarne spermatocite iz kojih u drugoj mejotičkoj diobi nastaju četiri spermatide koje sazrijevaju u spermije (preuzeto i prilagođeno iz Stansfield, 1991).

Za razliku od životinja koje su (gotovo uvijek) diploidni organizmi i kod kojih su haploidne isključivo gamete, biljke imaju specifičnu reproduktivnu strategiju kod koje dolazi do izmjene diploidne (sporofita) i haploidne generacije (gametofita). Kod evolucijski nižih biljaka kao što su mahovine dominantan je gametofit, što znači da je veći i dulje živi od sporofita. No kako su se biljke evolucijski razvijale, polako dolazi do redukcije gametofita i prevladavanja sporofita (Slika 12) s obzirom na to da za njegovo razmnožavanje voda više nije neophodna. Najodvedeniji primjer redukcije gametofita nalazimo kod kritosjemenjača, a zato što su one danas dominantna skupina biljaka, na njihovu ćemo primjeru proučiti procese gametogeneze i izmjene generacija.



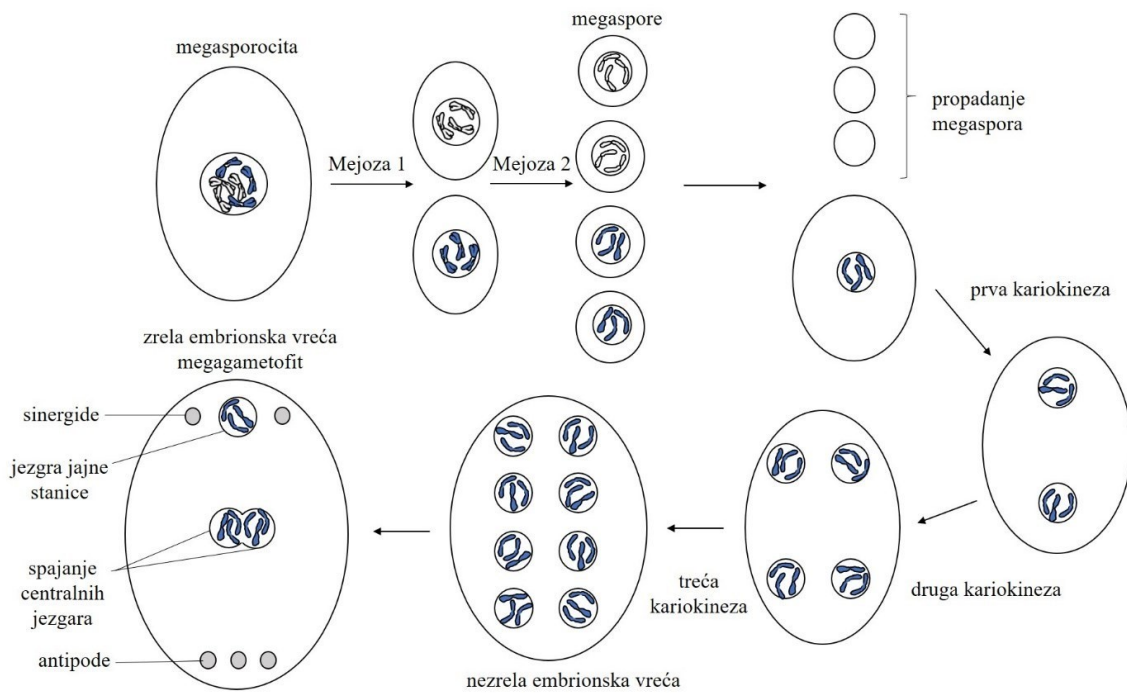
Slika 12. Kod biljaka evolucijski dolazi do smanjenja gametofita (spolne generacije) i dominacije sporofita (nespolne generacije). Kod kritosjemenjača je gametofit reduciran na svega nekoliko stanica.

Kod kritosjemenjača je, kao što je spomenuto, sporofit dominantni oblik. Iz sporofita se mejozom razvijaju spore (mikrospore i megaspore) koje su haploidne, a iz kojih se klijanjem razvija gametofit, odnosno haploidna generacija reducirana na svega nekoliko stanica (za razliku od primjerice mahovina kod kojih je gametofit dominantni oblik). U gametofitnoj generaciji nastaju haploidne gamete koje se oplodnjom spajaju u diploidnu zigotu, iz koje se razvija sporofit (Slika 13).



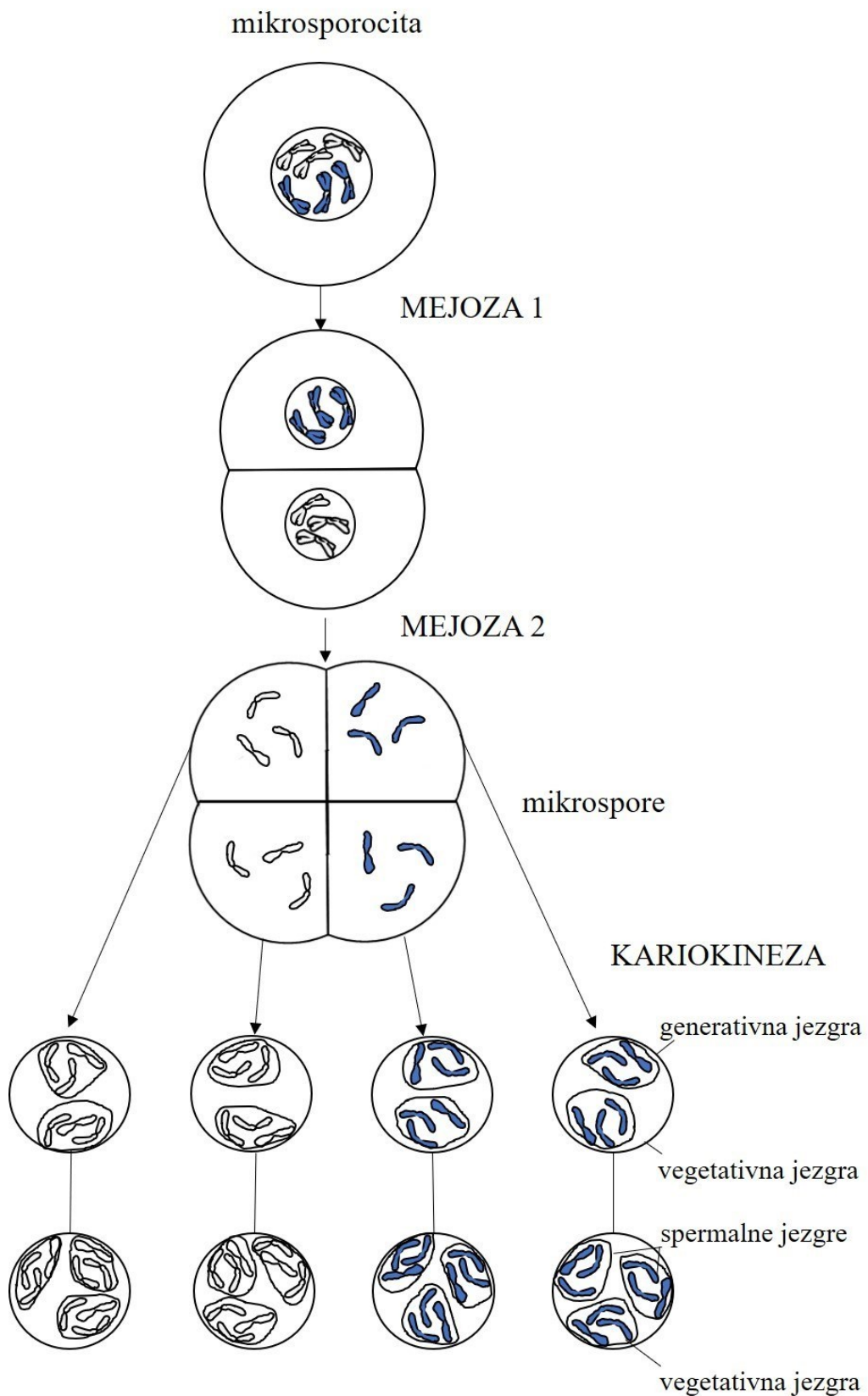
Slika 13. Izmjena sporofita i gametofita kod biljaka. Biljke su haplo-diploidni organizmi kod kojih dolazi do izmjene diploidne (nespolne generacije; sporofit; sama biljka) i haploidne faze (spolne generacije; gametofit; reduciran na nekoliko stanica).

Kod biljaka razlikujemo megasporogenezu (proces nastanka megaspore) i mikrosporogenezu (proces nastanka mikrospore). Megasporogenezom se megasporociti u prvoj i drugoj diobi u mejozi dijeli na četiri haploidne megaspore od kojih tri propadaju, a preostala megaspore raste i prolazi proces triju uzastopnih kariokineza (proces sličan mitozu gdje dolazi do diobe jezgri, ali bez podjele citoplazme), koje se kod kritosjemenjača odvijaju u nezreloj embrionskoj vreći (Slika 14). Sazrijevanjem embrionske vreće nastaje megagametofit koji se sastoji od jajne stanice i dviju stanica sinergida, dviju centralnih jezgri koje se spajaju i od triju antipoda.



Slika 14. Megasporogeneza je proces razvoja ženskih gameta na biljci koja je sporofit. Iz megasporocite procesom mejoze nastaju četiri megaspore od čega tri propadaju i preostala megaspore prolazi tri uzastopne kariokineze (diobe jezgri bez podjele citoplazme) iz kojih nastaje megagametofit, koji se sastoji od jajne stanice i dviju stanica sinergida, dviju centralnih jezgri koje se spajaju i od triju antipoda.

Mikrosporogeneza iz mikrosporocite tijekom mejoze nastaju četiri mikaspore koje potom prolaze kariokinezu, pri čemu nastaju generativna i vegetativna jezgra (Slika 15). Generativna jezgra se nakon dolaska na njušku tučka dijeli na dvije spermalne jezgre od kojih se jedna spaja s jajnom stanicom i formira zigotu ($2n$), a druga se spermalna jezgra spaja s diploidnom centralnom jezgrom i tvori endosperm ($3n$). Zbog toga se oplodnja kod biljaka naziva i dvostrukom oplodnjom (Slika 13, 14).



Slika 15. Mikrosporogeneza je proces u kojem mejozom nastaju četiri mikrospore koje potom prolaze kariokinezu, pri čemu nastaju generativna i vegetativna jezgra. Generativna jezgra se dolaskom na njušku tučka dijeli na dvije spermalne jezgre (preuzeto i prilagođeno iz Stansfield, 1991).

OSNOVNI POJMOVI

Genski lokus (genlokus) – mjesto na kromosomu na kojem se nalazi gen za određeno svojstvo.

Dominantni alel – alel čije je svojstvo uvijek ispoljeno.

Recesivni alel – alel čije je svojstvo ispoljeno jedino u slučaju kada drugi oblik toga gena nije prisutan.

Letalni aleli – aleli čija prisutnost uzrokuje smrt jedinke.

Kodominantni aleli – različiti aleli koji su istovremeno ispoljeni, pa je fenotip prijelazni oblik između tih alela.

Multipli aleli – aleli koji su u populaciji prisutni s više od dviju različitih formi.

Genotip – svi geni nekog organizma.

Fenotip – izraz genetskog nasljeđa; uočljive karakteristike nekog organizma.

Zigota – stanica nastala spajanjem ženske i muške gamete.

Homozigot – jedinka koja nosi dva jednaka alela za određeno svojstvo.

AA – dominantni homozigot.

aa – recesivni homozigot.

Heterozigot – jedinka koja nosi dva različita alela za određeno svojstvo.

Monohibridno križanje – praćenje nasljeđivanja jednog svojstva.

Monohibrid – heterozigotna jedinka na jedan genlokus, pri čemu dominantni alel može imati punu dominaciju nad recesivnim alelom ili parcijalnu dominaciju nad recesivnim alelom.

Dihibrid – jedinka koja je heterozigot za dva neovisno smještena (genlokusi na različitim kromosomima) promatrana svojstva.

Dihibridno križanje – križanje kod kojeg se prati nasljeđivanje dvaju svojstava čiji su geni smješteni na neovisnim genskim lokusima.

Test-križanje – križanje jedinke dominantnog fenotipa s recesivnim homozigotom s ciljem određivanja genotipa dominantne jedinke (homozigot ili heterozigot).

Osnove nasljeđivanja

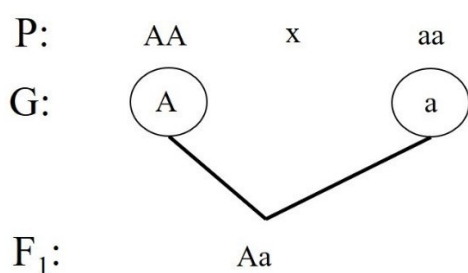
Genetika se bavi proučavanjem prijenosa, ekspresije i evolucije gena te molekularnim mehanizmima koji djeluju na njihove funkcije i razvoj te osim toga na fizički izgled pojedine jedinke. Zakoni prijenosa gena danas se nazivaju i Mendelovim zakonima (Zakon uniformnosti i dominacije, Zakon segregacije i Zakon neovisnog nasljeđivanja; str. 38) po augustinskom redovniku Gregoru Johannu Mendelu, koji ih je prvi otkrio i proučavao. Iako je rezultate svojih istraživanja objavio 1866. godine, tek su početkom 20. stoljeća njegova istraživanja dobila na značenju nakon što su znanstvenici Carl Correns, Erich von Tschermak i Hugo de Vries također proučavali pravila nasljeđivanja, čiji su se rezultati podudarali s Mendelovim.

Gregor Mendel je proučavao nasljeđivanje diskretnih svojstava kod jedinki koje je sâm unakrsno križao. Diskretna svojstva su određena djelovanjem jednog gena i mogu označavati prisutnost ili odsutnost nekog svojstva (npr. boja cvijeta graška koja može biti ružičasta ili bijela) bez prisutnosti mnogobrojnih prijelaznih formi. Radio je na vrtnom grašku (*Pisum sativum*) jer mu se ova biljka činila prikladnom iz više razloga. Grašak je biljka koja se lako uzgaja i ima kratak životni ciklus. Osim toga obiluje diskretnim svojstvima kao što su boja cvijeta i tekstura zrna. I možda najvažnije svojstvo za njegova istraživanja je mogućnost jednostavna umjetnoga kontroliranog oprašivanja. Istraživao je sedam međusobno nepovezanih svojstava: oblik (strukturu) i boju zrna, boju nezrelih i oblik zrelih mahuna, visinu biljke, boju cvijeta i položaj cvjetova na stabljici.

Križao je roditeljske biljke s različitim oblikom za pojedino svojstvo (primjerice visoku biljku s niskom, biljku s glatkim i biljku s naboranim zrnom itd.) i roditeljsku (parentalnu) je generaciju označavao s P, a potomke prve (filijalne) generacije F₁ nazivao bi hibridima jer su od svakog roditelja naslijedili različiti gen (alel) za istraživano svojstvo. Kod križanja visoke i niske biljke u prvoj generaciji dobio je sve biljke s visokom stabljikom i visoku je stabljiku označio kao **dominantno** svojstvo, a niska je stabljika označena kao **recesivno** svojstvo. Različite forme gena za pojedino svojstvo (primjerice visoka i niska stabljika) nazivaju se i **alelima**. Ako je neko svojstvo dominantno, to znači da je u slučaju heterozigotnih jedinki za istraživano svojstvo ono ispoljeno, a gen za recesivno svojstvo ne dolazi do izražaja. **Prvi Mendelov zakon** uniformnosti i dominacije govori da će križanjem homozigotnih roditelja i potomci imati jednaki genotip i fenotip za promatrano svojstvo.

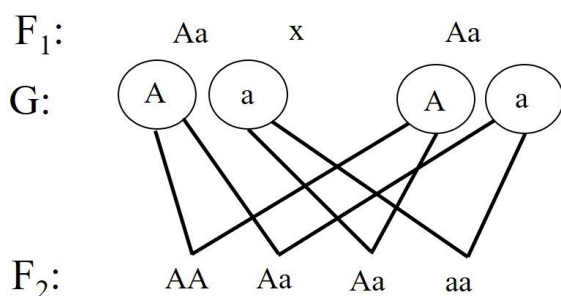
Monohibridno križanje

U svojim je istraživanjima nasljeđivanja jednog svojstva (visine biljke graška) Mendel primijetio da prilikom samooprašivanja heterozigota (odnosno kod monohibridnog križanja) iz F_1 generacije (dobivenih križanjem visoke i niske biljke) u drugoj filijalnoj generaciji (F_2) ima i visokih i niskih biljaka, i to u omjeru 3 : 1. Na temelju je tih rezultata došao do svoga **drugog zakona – zakona o segregaciji**. Po ovom zakonu par alela za neko svojstvo razdvaja se tijekom gametogeneze i svaka gameta dobija po jedan alel. Križanjem dominantnog homozigota s recesivnim homozigotom u filijalnoj generaciji će sve jedinke biti heterozigoti (Slika 16).



Slika 16. Križanje dominantnog i recesivnog homozigota. P – roditeljska generacija; G – gamete; F – potomci (F_1 – prva generacija potomaka, F_2 – druga generacija potomaka...); A – dominantni gen; a – recesivni gen.

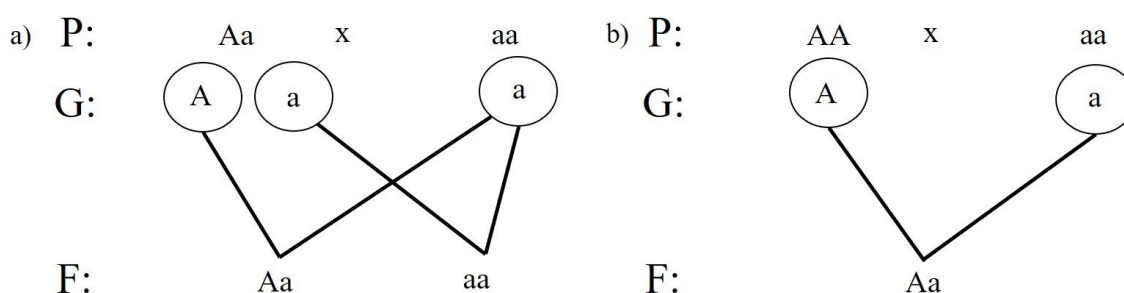
Jedinke koje su homozigoti su ujedno i homogametne jer mogu proizvesti samo jedan tip gameta, a heterozigotne jedinke su heterogametne jer proizvode dvije različite vrste gameta (Slika 17).



Slika 17. Monohibridno križanje heterozigota dobivenih u F_1 generaciji križanjem dominantnog i recesivnog homozigota. G – gamete; F – potomci (F_1 – prva generacija potomaka, F_2 – druga generacija potomaka...); A – dominantni gen; a – recesivni gen.

Međusobnim križanjem heterozigotnih potomaka prve generacije dobit ćemo genotipski omjer 1 : 2 : 1 (dominantni homozigot : heterozigot : recesivni homozigot), a fenotipski će omjer biti 3 : 1 u korist dominantnog fenotipa.

Mendel je također uspostavio metodu **test-križanja** kod kojeg se križa jedinka dominantnog fenotipa s recesivnim homozigotom. Svrha test-križanja je određivanje genotipa jedinke dominantnog fenotipa. Ako je istraživana jedinka heterozigot, test-križanjem ćemo dobiti jedinke obaju fenotipa (dominantnog i recesivnog) u omjeru 1 : 1 (Slika 18a). Ako je istraživana jedinka dominantni homozigot, sve jedinke dobivene test-križanjem bit će dominantnog fenotipa (Slika 18b).



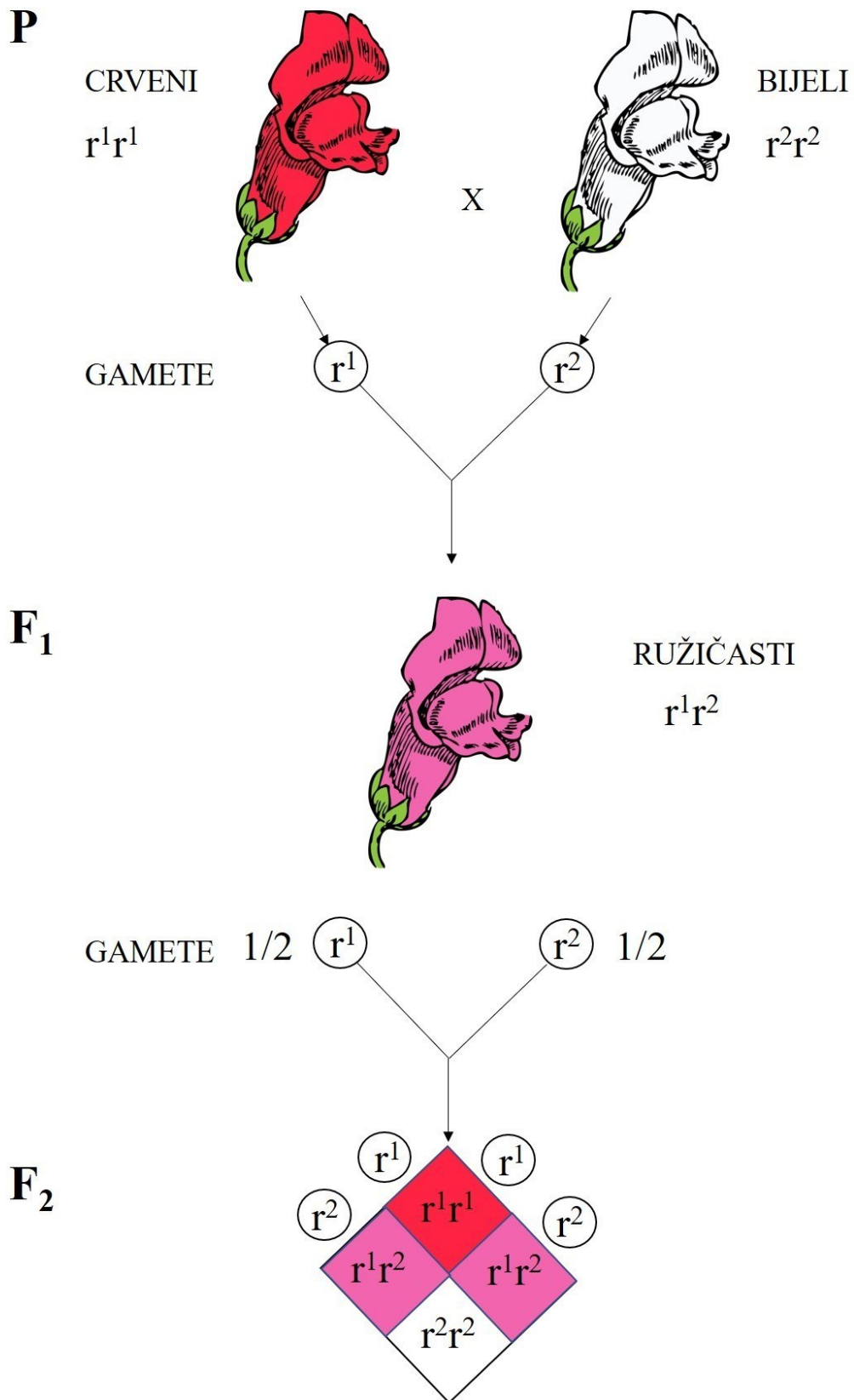
Slika 18. Test-križanje: a) križanjem heterozigotne jedinke dominantnog fenotipa s recesivnim homozigotom u filijalnoj generaciji dobit ćemo jedinke obaju fenotipa u omjeru 1: 1, b) križanjem dominantnog homozigota s recesivnim homozigotom u filijalnoj generaciji sve će jedinke biti dominantnog fenotipa.

Ova Mendelova istraživanja postavila su osnovu za razvoj genetike, a s obzirom na to da je velik broj osobina reguliran samo jednim genom, nasljeđuju se upravo po njegovu 2. zakonu. To se odnosi i na istraživanje ljudske populacije kod koje postoji velik broj takvih gena. Iako kod ljudi iz etičkih razloga ne možemo provoditi test-križanje, u tu nam svrhu koriste rodoslovlja, odnosno shematski prikazi obiteljskog stabla na temelju kojih se može odrediti učestalost pojedinih gena. Mnoge nasljedne bolesti i stanja su posljedica djelovanja jednoga gena kao što su srpasta anemija, albinizam, cistična fibroza i ABO krvna grupa.

Intermedijarni način nasljeđivanja i kodominantni geni

Mendel je bio vrlo vješt u jednostavnu prikazivanju kompliciranih pojava. Njegovi aleli kod graška savršeni su primjer jasno određenih pojmova – svojstvo je ili recesivno ili dominantno. No danas znamo da situacija nije uvijek tako jednostavna i da postoje aleli koji se ne ponašaju po tom principu.

Za razliku od svojstava za koja postoji dominantni i recesivni alel, postoje svojstva kod kojih u slučaju heterozigotnih jedinki do izražaja dolaze oba oblika gena. U takvim situacijama govorimo o **kodominantnim** genima ako su oba oblika jednako izražena. Ukoliko pak heterozigotna jedinka ima fenotip koji je prijelazni oblik između dvaju homozigotna fenotipa i nijedan gen u potpunosti nema dominaciju nad drugim oblikom, utoliko govorimo o djelomičnoj dominaciji (**intermedijarno djelovanje gena**). Jedan od primjera djelomične dominacije nalazimo kod nekih biljaka, primjerice kod zijevalice *Antirrhinum majus* kod koje nalazimo bijele i crvene cvjetove kod homozigotnih jedinki, a heterozigotne jedinke su ružičaste boje. Ako križamo cvijet bijele boje s cvijetom crvene boje, u F₁ generaciji sve će jedinke biti ružičaste boje (Slika 19). Međusobnim križanjem ružičastih jedinki u F₂ generaciji dobit ćemo jedinke triju različitih fenotipa u omjeru 1 : 2 : 1, odnosno 25 % jedinki će biti crveni homozigoti, 25 % jedinki bijeli homozigoti, a 50 % heterozigotnih jedinki će biti ružičaste boje.

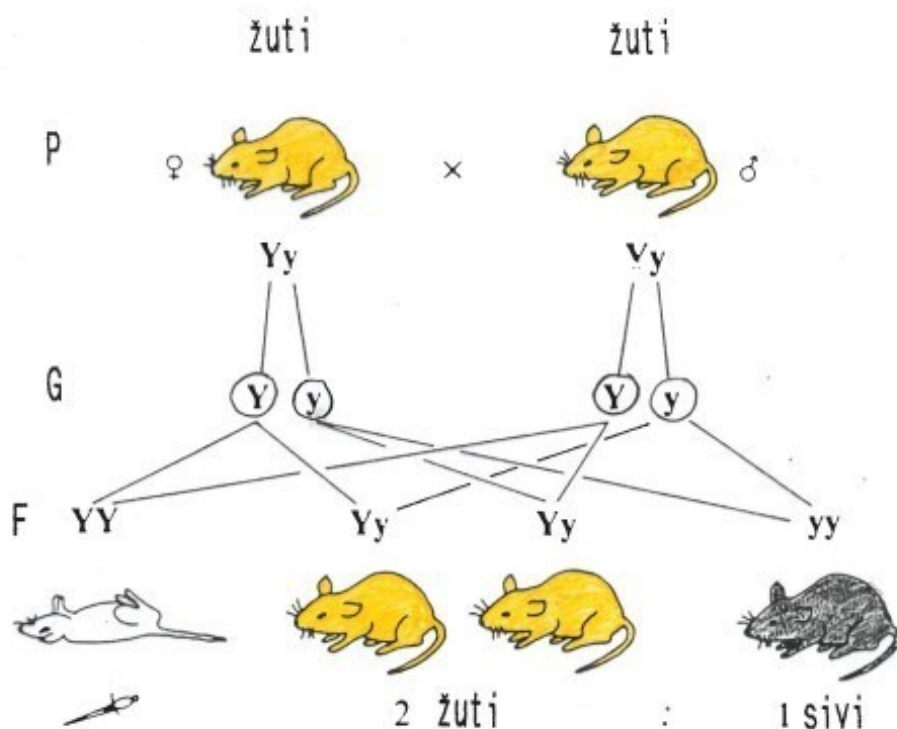


Slika 19. Križanje biljke zijevalice *Antirrhinum majus* je primjer intermedijarnog djelovanja gena. Sve biljke iz F₁ generacije imaju prijelazni fenotip (ružičaste su boje), a u F₂ generaciji međusobnim križanjem heterozigota dobit ćemo tri različita fenotipa u omjeru 1 : 2 : 1 (bijeli : ružičasti : crveni).

Letalni geni

Mutacije mogu imati različite posljedice na prilagođenost jedinki, pa ponekad mogu nastati mutacije gena koje utječu na preživljavanje i uzrokuju smrt jedinki. Takve gene nazivamo letalnim genima. Ovisno o genima, smrt se jedinki može javiti već tijekom embrionalnog razvoja ili jedinka može živjeti određeno vrijeme i smrt nastupa kasnije, ponekad i nakon nekoliko godina. Takvi geni onemogućavaju normalan rast, razvoj i preživljavanje organizma te mogu biti dominantni i recesivni, a postoje i geni koji su semiletalni ili uvjetno letalni.

Letalni geni otkriveni su kod miševa kada je 1905. godine Cuénot primijetio da križanjem miševa žute boje krzna ne može dobiti fenotipski omjer 3 : 1, nego je taj omjer uvijek 2 : 1 te je test-križanjem potvrdio da su svi žuti miševi heterozigoti. Njegove rezultate potvrdili su 1910. godine Castle i Little koji su utvrdili da su svi žuti homozigoti umrli tijekom embrionalnog razvoja. Ako se i ta skupina uzme u obzir, omjer genotipova je 1 : 2 : 1 i u skladu je s Mendelovim nasljeđivanjem (Slika 20).



Slika 20. Žuta boja miševa je posljedica djelovanja gena koji je u homozigotnom obliku letalan. Križanjem dvaju heterozigota u F₁ generaciji podaci se prividno ne podudaraju s Mendelovim predviđanjima i dobiven je omjer 2 : 1 (žuti : sivi) zato što se homozigoti s letalnim genom ne rađaju jer umiru tijekom embrionalnog razvoja.

Ista je opažanja zabilježio i Baur 1907. godine na biljci zijevalici *Antirrhinum* kod koje je promatrao pojavu zlatnih listova (umjesto zelenih) i također nije uspio dobiti zlatne homozigote jer bi takve biljke dosegle starost od najviše dva do tri dana i uginule bi zbog nedostatka klorofila. Žuta boja krzna kod miševa je dominantna naspram sive boje krzna, no umiru samo homozigoti, a zlatni listovi kod zijevalice primjer su recesivnoga letalnoga gena i dolaze do izražaja isključivo kod homozigotnih jedinki.

Letalni geni mogu biti i dominantni (Slika 20), što znači da su izraženi kod svih jedinki kod kojih su prisutni. Upravo su zbog toga takvi geni obično vrlo brzo eliminirani iz populacije te su rijetko i otkriveni s obzirom na to da jedinke s tim genom vrlo brzo ugibaju. Jedan od primjera dominantnoga letalnoga gena u ljudskoj populaciji je gen odgovoran za pojavu Huntingtonove neurodegenerativne bolesti, koja se javlja tek u srednjim godinama i stoga se gen može prenijeti i na potomstvo.

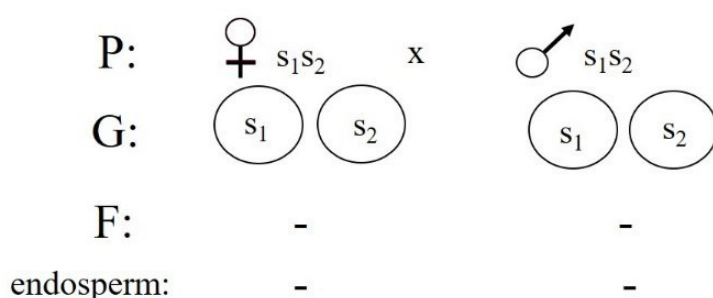
Multipli aleli

Iako svaka diploidna jedinka ima dva alela za određeno svojstvo (jedan od majke, drugi od oca), često je slučaj da u cijeloj populaciji za isto svojstvo može postojati veći broj alela i oni se nazivaju **multipli** aleli. Razni primjeri multiplih alela prisutni su kod biljaka, životinja i ljudi.

Samoinkompatibilnost

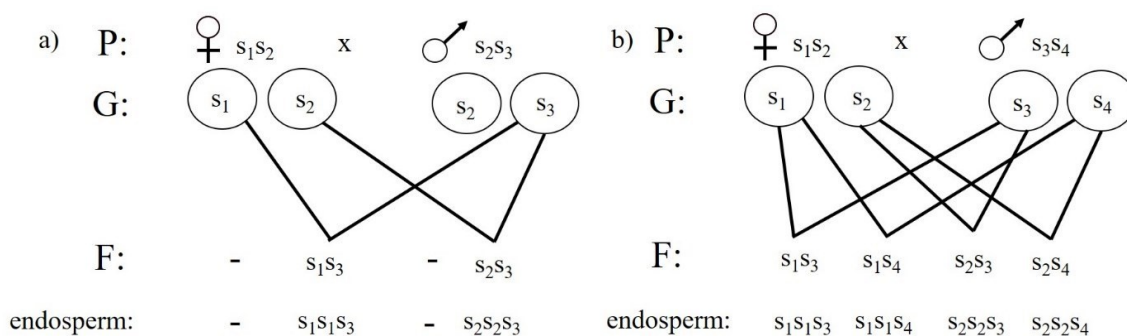
Samooplodnja s genetičkog stanovišta nije optimalna strategija razmnožavanja i mnoge su dvospolne biljke razvile različite mehanizme sprečavanja samooplodnje, odnosno samoinkompatibilnosti. Kod brojnih biljaka razvijen je sustav gametofitske ili sporofitske samoinkompatibilnosti koji za rezultat imaju autosterilnost biljke, a ovise o interakcijama između peludnog zrnca i stigme na njuški tučka.

Gametofitska samoinkompatibilnost ovisi o genotipu muškoga gametofita (haploidnoga peludnog zrnca) u odnosu na ženski sporofit za gen S, koji proizvodi proteine važne za raspoznavanje peluda i stigme tučka. Kada peludno zrnce padne na njušku tučka, započinje proces klijanja. Kod gametofitske samoinkompatibilnosti ako peludno zrnce ima iste alele (npr. aleli S_1S_2 u peludnom zrcu) kao i ženski sporofit (Slika 21), proces klijanja se zaustavlja.



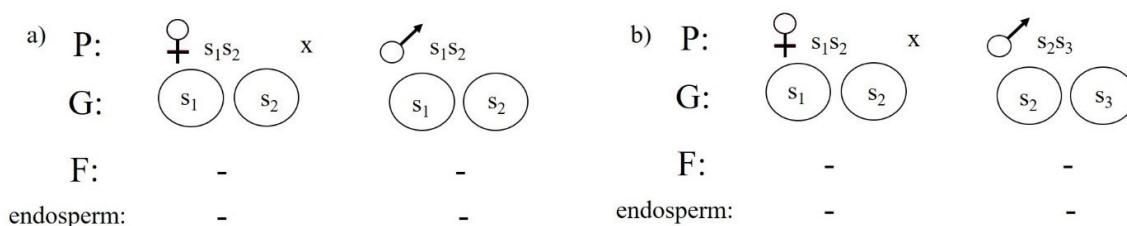
Slika 21. Ako peludno zrnce (gametofit) i njuška tučka (sporofit) imaju iste alele (npr. S_1S_2), klijanje peludnog zrnca se zaustavlja i ne dolazi do oplodnje.

Ako peludno zrnce heterozigotne biljke oprašuje njušku tučka druge biljke s kojom ima jedan zajednički alel (npr. alel S_2 ; Slika 22a), klija samo ono peludno zrnce koje ima različiti alel, a kod peludnog zrnca sa zajedničkim alelom dolazi do zaustavljanja procesa klijanja. Takav slučaj nazivamo seminkompatibilnost. U slučaju kada se genotip peludnog zrnca razlikuje od genotipa njuške tučka, peludno zrnce klija i dolazi do oplodnje (Slika 22b).



Slika 22. a) kod gametofitske samoinkompatibilnosti ako peludno zrnce i njuška tučka imaju jedan zajednički alel (S_2), samo će peludno zrnce koje nosi različit alel od onih prisutnih u njuški tučka proklijati do kraja i doći će do oplodnje; b) ako ne postoji podudaranje u alelima između peludnog zrnca i njuške tučka, klijanje i oplodnja se odvijaju normalno.

Za razliku od gametofitske samoinkompatibilnosti kod koje jedan alel S može biti zajednički i jednoj i drugoj biljci (semikompatibilnost), to nije slučaj kod **sporofitske samoinkompatibilnosti**. Kod ovih biljaka klijanje peludnih zrnaca ovisi o genotipu ženske biljke (sporofitu). S aleli ženske biljke odgovorni su za proizvodnju glikoproteina na njuški tučka, koji reagiraju s proteinima peludnog zrnca ako postoji podudaranje u alelima njuške tučka (ženskog sporofita) i peludnog zrnca (muškoga gametofita). Ako u peludnom zrcu postoji zajednički alel s nekim od alela ženske biljke, dolazi do nakupljanja kaloze na njuški tučka i na taj se način onemogućuje klijanje peludnih zrnaca (Slika 23).

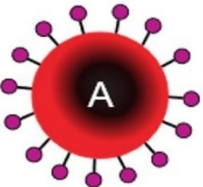
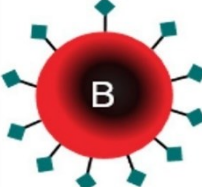
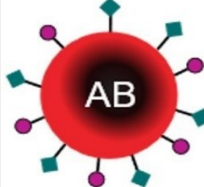
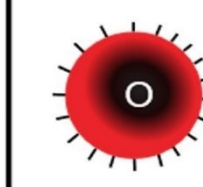


Slika 23. Kod sporofitske samoinkompatibilnosti ne dolazi do klijanja peludnih zrnaca ako postoji potpuno podudaranje u alelima između njuške tučka i peludnog zrnca (a), kao ni ako je podudaranje samo djelomično (b).

Sustavi krvnih grupa

Jedan od poznatijih primjera multiplih alela je sustav krvnih grupa ABO koji su 1902. godine opisali Lansteiner, Decastello i Struli, a čiji se geni nalaze na 9. kromosomu. Po tom sustavu krvne grupe dijelimo po prisutnosti antigena na površini eritrocita na grupe A, B, AB i 0. U populaciji su prisutna tri alela, I^A , I^B i alel i . Aleli I^A i I^B su međusobno kodominantni, a alel i je recesivan u odnosu na I^A i I^B . Osobe krvne grupe A mogu biti homozigoti ($I^A I^A$) ili heterozigoti ($I^A i$), kao i osobe krvne grupe B ($I^B I^B$ ili $I^B i$). Osobe krvne grupe AB su heterozigoti i imaju genotip $I^A I^B$, a osobe krvne grupe 0 su recesivni homozigoti (genotip ii). Eritrociti kod osoba krvne grupe A na površini imaju antigene A, a kod osoba krvne grupe B antigene B, od kojih su oba tipa antigena ujedno i aglutinogeni (izazivaju reakciju sljepljivanja eritrocita). Osoba krvne grupe AB ima antigene A i B, kod osoba krvne grupe 0 postoje antigeni O, no oni nemaju aglutinogeno svojstvo (ne izazivaju reakciju sljepljivanja eritrocita). Prisutnost određenog tipa antigena sprečava stvaranje istovrsnih antitijela u serumu krvi. Antitijela koja su u kontaktu s eritrocitima koji imaju drugi tip antigena reagiraju aglutiniranjem. Aglutinacija je reakcija antigen – antitijelo koja uzrokuje sljepljivanje eritrocita (i razlikuje se od zgrušavanja krvi koje se odvija djelovanjem fibrinogena). To znači da u serumu krvi osobe krvne grupe A postoje antitijela anti-B, koja u kontaktu s eritrocitima krvne grupe B reagiraju sljepljivanjem eritrocita. Kod osoba krvne grupe B u serumu su prisutna antitijela anti-A, a kod osoba krvne grupe 0 prisutna su antitijela anti-A i anti-B, te iz tog razloga osobe krvne grupe 0 mogu primiti isključivo krv iste krvne grupe. Budući da eritrociti krvne grupe 0 nemaju aglutinogene na površini, njihovu krv mogu primiti osobe bilo koje krvne grupe (**univerzalni davatelj**). Osobe krvne grupe AB nemaju antitijela u serumu jer na površini eritrocita imaju antigene i A i B, što znači da ove osobe mogu primiti krv bilo koje krvne grupe (**univerzalni primatelj**). Prikaz krvnih grupa nalazi se u Tablici 1. Krvne grupe su određene rođenjem i ne mijenjaju se tijekom života.

Tablica 1. Krvne grupe sustava ABO i prisutnost antitijela i antigena kod svake krvne grupe (preuzeto i prilagođeno iz web 2).

	grupa A	grupa B	grupa AB	grupa O
tip crvenih krvnih stanica				
antitijela u plazmi	 anti B	 anti A	nema	 anti A i anti B
antigeni u crvenim krvnim stanicama	 A antigen	 B antigen	 A i B antigeni	nema

Osim ABO sustava krvnih grupa danas se zna da postoji nekoliko drugih sustava kao što su Rhesus (Rh) i MN sustavi. Važno je naglasiti da ove krvne grupe nisu primjer multiplih alela. Rhesus sustav otkrili su 1940. godine Landsteiner i Wiener i sastoji se od dvaju nezavisnih gena (RHD i RHCE). Najvažniji antigen D nalazi se na stanicama eritrocita (Rh+), što je dominantno svojstvo i nasljeđivanje ovog alela može se prikazivati po Mendelovu nasljeđivanju s dvama alelima (Rh pozitivna osoba ima genotip DD ili Dd, a Rh negativna osoba je recesivni homozigot dd). Kod Rh negativnih osoba antigen nije prisutan. Rh faktor može biti problematičan za Rh– majku u drugoj trudnoći ako je prvo dijete Rh+. Naime, tijekom prvog poroda može doći do imunizacije majke na D antigen (majka stvara antitijela anti-D) i pri idućoj trudnoći s Rh+ plodom antitijela prepoznaju antigene u krvi ploda i napadaju ih. Zbog toga se Rh negativnim majkama preventivno daje imunosupresijska terapija (RhoGAM imunoglobulini). Rhesus faktor se zbog svoje važnosti piše uz osnovnu krvnu grupu osobe i označava + ili – (npr. A+, A–). Osim alela D koji je s imunološkog stanovišta najvažniji alel ovog sustava krvnih grupa, u ovaj sustav spadaju još dva neovisna alela C/c i E/e, koji kodiraju za sintezu pripadajućih antigena na membrani eritrocita te je moguć veći broj kombinacija alela.

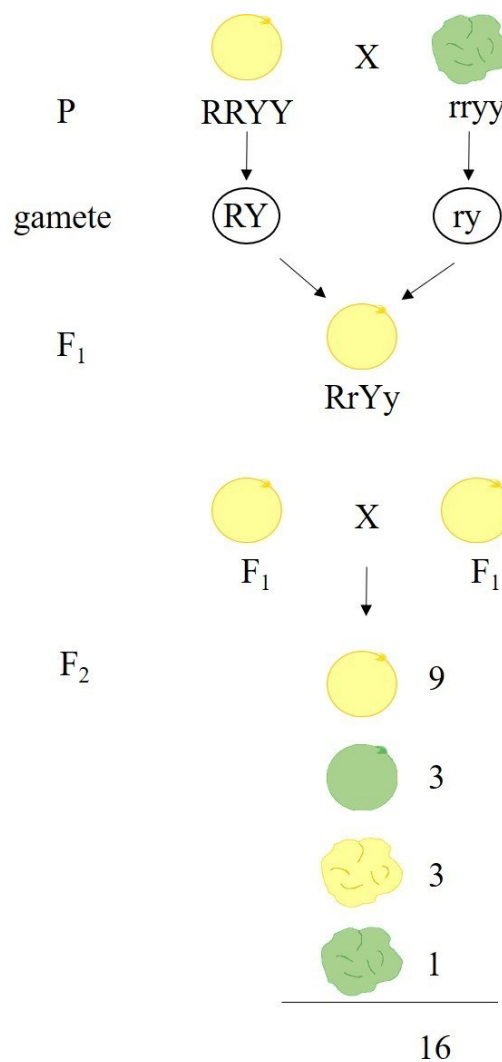
Aleli M i N u sustavu krvnih grupa MN su kodominantni i uzimaju se u obzir osnovna dva tipa alela (iako stvarno postoji više podtipova u obama tipovima alela). Osobe krvne grupe M su homozigoti (MM), kao i krvne grupe N (NN), a osobe krvne grupe MN heterozigoti. Krvne

grupe sustava ABO, Rh i MN su se ranije koristile kao jedan od dokaza očinstva, a danas se većinom u tu svrhu koriste DNA testovi.

Osim navedenih najčešćih sustava krvnih grupa danas je opisano 36 sustava krvnih grupa (ISBT – International Society of Blood Transfusion) s 346 poznatih antigena i preko 1250 alela koji kontroliraju njihovu ekspresiju. Neki od klinički značajnijih sustava krvnih grupa su Kell, Duffy i Kidd.

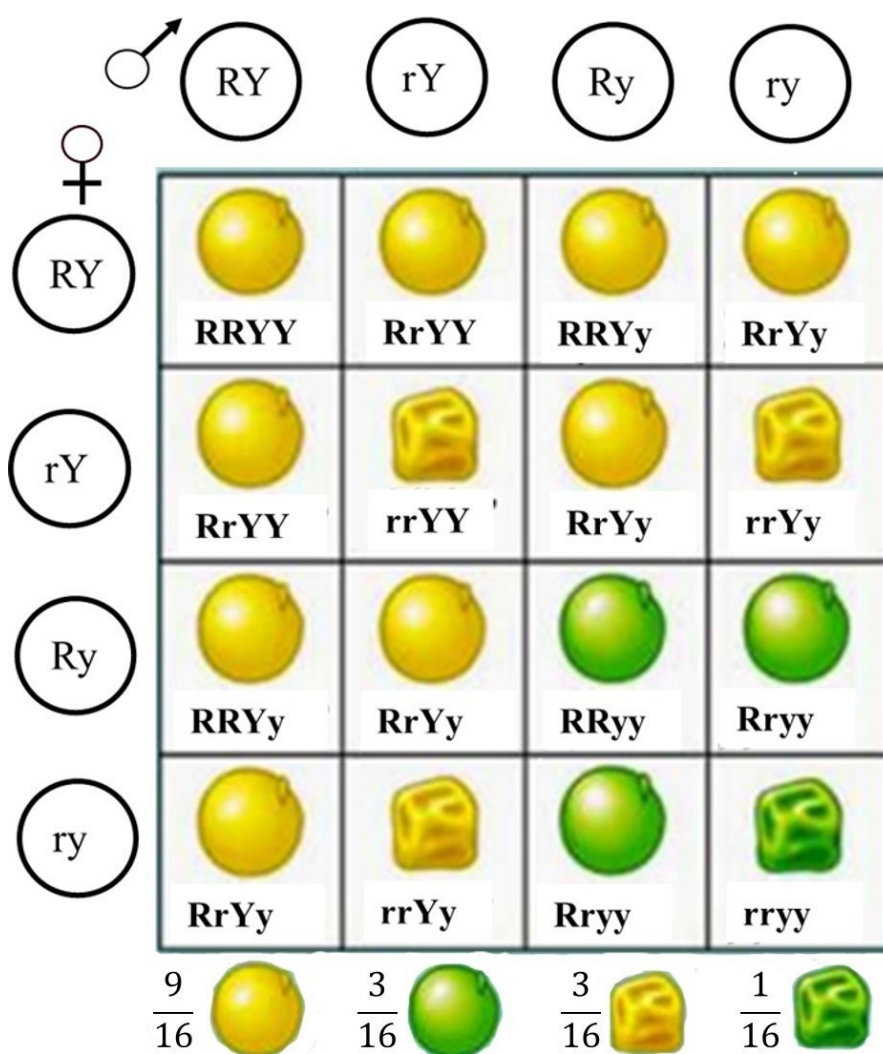
Zakon neovisnog nasljeđivanja: 3. Mendelov zakon i dihibridno križanje

Mendel je istovremeno promatrao nasljeđivanje više različitih svojstava. U istraživanjima nasljeđivanja dvaju neovisnih svojstava križao je homozigote okruglog žutoga graška s naboranim zelenim graškom. U F₁ generaciji dobio je sve biljke s okruglim i žutim graškom, što je pokazalo da su to dominantna obilježja. Potom je međusobno križao F₁ generaciju da bi u F₂ generaciji dobio četiri kombinacije; žuti okrugli, zeleni okrugli, žuti naborani i zeleni naborani grašak. Mendel je zabilježio sljedeće brojeve za svaku fenotipsku skupinu: 315, 108, 101 i 32, što bi otprilike odgovaralo omjeru 9 : 3 : 3 : 1. Križanje je prikazano na Slici 29.



Slika 29. Dihibridno križanje vrtnoga graška. U roditeljskoj generaciji križana je biljka sa žutim okruglim zrnom (homozigot za oba dominantna svojstva) s recesivnim homozigotom (biljka sa zelenim naboranim zrnom). U F₁ generaciji su sve jedinke bile heterozigoti dominantnog fenotipa za oba svojstva. U F₂ generaciji dobiveno je potomstvo imalo četiri kombinacije fenotipa (žuto okruglo, zeleno okruglo, žuto naborano i zeleno naborano zрно) u omjeru 9 : 3 : 3 : 1. Y – žuto zrno; y – zeleno zrno; R – okruglo zrno; r – naborano zrno).

Ovakav rezultat moguć je isključivo ako se gameta za svako svojstvo pojavljuje istom učestalošću, odnosno da ne ovisi o drugim gametama i nasljeđuje se neovisno. To znači da svaka gameta ima vjerojatnost 50 : 50 da će imati određeni gen (primjerice ili za okruglo ili za naborano sjeme). Ukupno gledano, kod križanja dvaju dihibrida nastaju četiri tipa gameta (RY, rY, Ry, ry), svaka u omjeru 1 : 1 : 1 : 1 (Slika 30). Njihovim spajanjem nastaje devet različitih genotipova koji ukupno daju četiri fenotipske klase (žuto okruglo, zeleno okruglo, žuto naborano i zeleno naborano zrno). Takvo neovisno nasljeđivanje predstavlja **Mendelov 3. zakon**, odnosno **zakon neovisnog nasljeđivanja**, a križanje kod kojeg promatramo istovremeno nasljeđivanje dvaju neovisnih svojstava nazivamo **dihibridno križanje**.

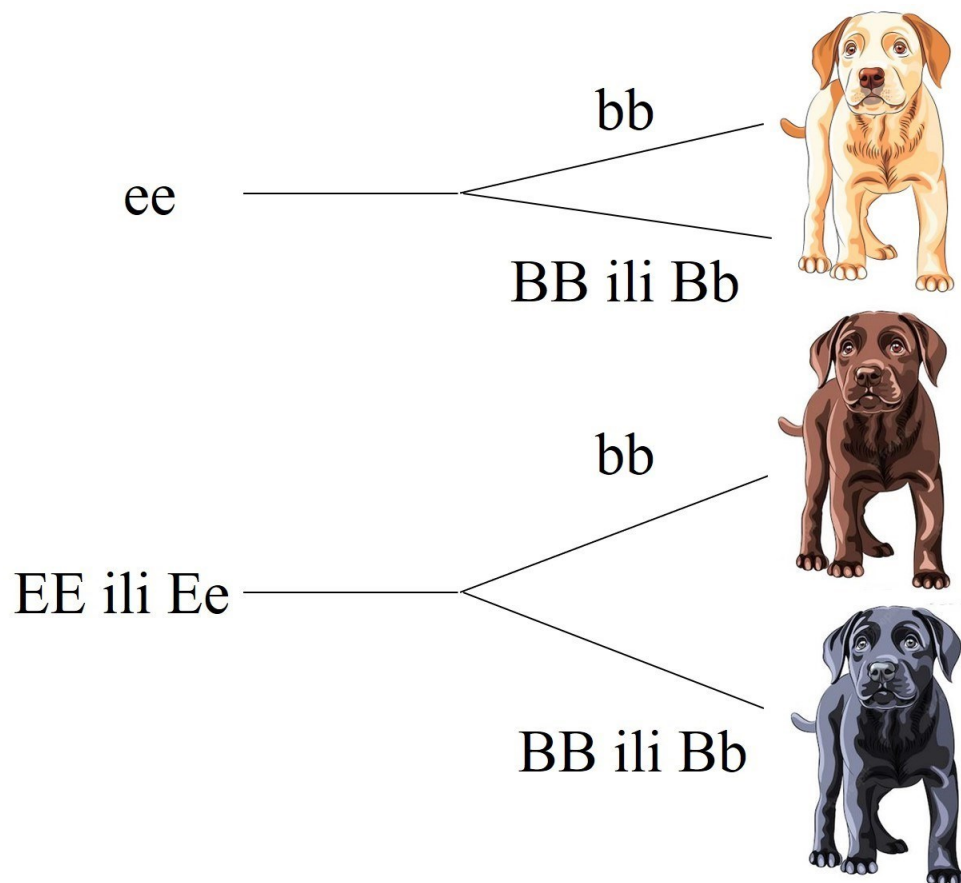


Slika 30. Križanjem dvaju dihibrida nastaju četiri tipa gameta, RY, rY, Ry, ry, koje spajanjem daju devet različitih genotipova (tipova fertilizacije) i četiri fenotipske klase (žuto okruglo, zeleno okruglo, žuto naborano i zeleno naborano zrno).

Međusobnim križanjem dihibridnih jedinki (jedinki koje su heterozigoti za oba promatrana svojstva) dobit ćemo potomstvo koje pokazuje četiri različita fenotipa, no neki od tih fenotipova mogu imati različiti genotip. Oba dominantna svojstva (glatko žuto zrno) mogu imati sljedeće kombinacije gena: RRY Y , RRY y , RrYY i RrY y . Hrapavo žuto zrno može biti određeno rrYY i rrY y genotipovima, a glatko zeleno može biti određeno RRyy i Rryy. Jedino recesivni homozigot za oba svojstva može imati samo jedan genotip – rryy.

Kada promotrimo 3. Mendelov zakon i stavimo ga u kontekst svih kromosoma u stanici nekog organizma, dolazimo do spoznaje da se svi homologni kromosomi mogu nasumično i neovisno orijentirati u ekvatorijalnoj ravnini i raspoređivati pri nastanku gameta. Taj broj ovisi o haploidnom broju kromosoma (n) nekog organizma i računa se po formuli 2^n . Za organizme s većim brojem kromosoma poput čovjeka ($2n = 46$) vidimo da je broj mogućih gameta izuzetno velik, odnosno kod čovjeka čini 8 388 603 kombinacija. Upravo je tako velik broj mogućnosti od izuzetne važnosti za sprečavanje širenja štetnih mutacija i održavanje genetičke raznolikosti, odnosno evolucijskog potencijala populacije, a time i evolucije.

Kod nekih svojstava aktivnost jednoga gena može biti određena djelovanjem drugoga gena. Kod labradora dlaka može biti crne, smeđe ili žute boje, a određena je djelovanjem dvaju neovisnih gena. Jedan gen određuje boju pigmenta i dominantna boja je crna (B), a smeđa je recesivna (b). No hoće li se pigment nakupljati u dlaci, ovisi o drugom genu i ako je jedinka recesivni homozigot (ee) za ovo svojstvo, pigment se neće nakupljati u dlaci te će jedinka imati žutu boju dlake (Slika 31). Pojava kada jedan gen spriječi djelovanje drugoga gena naziva se **epistaza**, te je boja dlake kod labradora primjer recesivne epistaze. Kod križanja dvije dihibridne jedinke u F $_1$ generaciji će doći do odstupanja od uobičajenog omjera te će fenotipski omjer biti 9 : 3 : 4 (crni : smeđi : žuti).



Slika 31. Primjer recesivne epistaze kod labradora – jedinke koje su recesivni homozigoti za nakupljanje pigmenta (ee) bit će žute boje bez obzira na gen koji određuje boju pigmenta, a jedinke s dominantnim genom za nakupljanje pigmenta (E) mogu biti crne boje (dominantni fenotip) ili smeđe boje (recesivni homozigoti; bb).

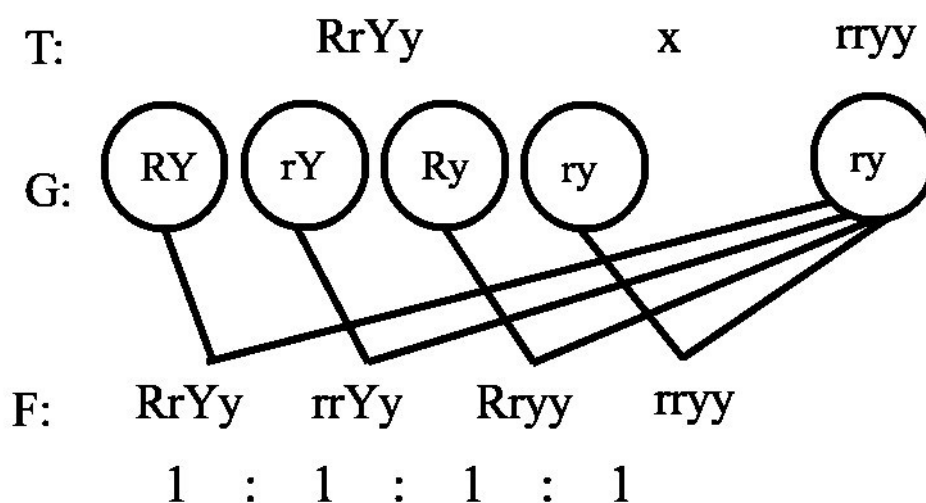
Dihybridno test-križanje

Kao kod monohybridnog križanja, tako i kod dihybridnog križanja također možemo primijeniti metodu test-križanja. Test-križanje se provodi na način da se jedinka dominantnog fenotipa za oba promatrana svojstva križa s recesivnim homozigotom za oba promatrana svojstva. Svrha test-križanja je utvrđivanje genotipa jedinke dominantnog fenotipa (je li jedinka dominantni homozigot ili heterozigot za jedno ili oba promatrana svojstva). Kod test-križanja nije važan spol jedinki koje se križaju (osim kod vinske mušice).

Kod monohybridnog test-križanja ako je križana jedinka heterozigot ($Aa \times aa$), u F_1 generaciji je omjer potomaka s dominantnim i recesivnim fenotipom u omjeru $1 : 1$, a ako se radi o dominantnom homozigotu, u F_1 generaciji će sve jedinke pokazati samo dominantni fenotip (str. 26).

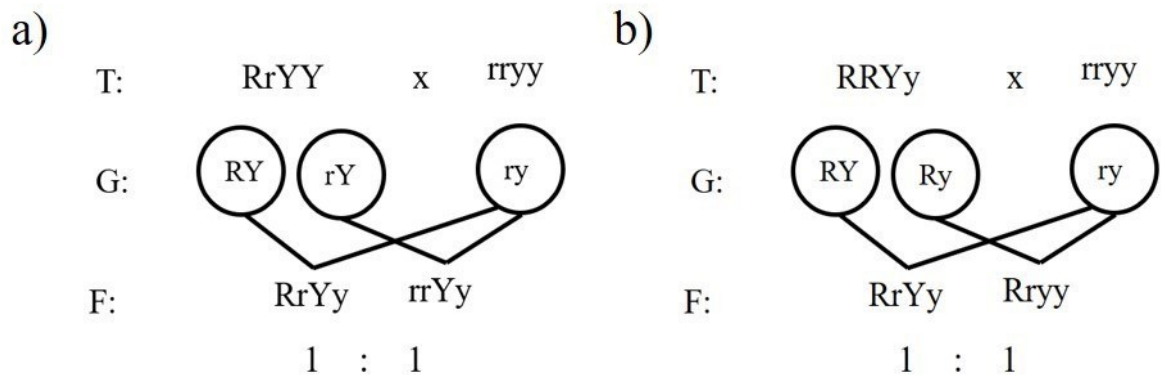
Kod dihybridnog test-križanja jedinke koje pokazuju dominantni fenotip za oba svojstva mogu imati četiri različita genotipa: $RRYY$, $RRYy$, $RrYY$ i $RrYy$ te samim time i test-križanje može dati četiri različite mogućnosti. Kod križanja dviju dihybridnih jedinki se u potomstvu javljaju četiri različite fenotipske klase u omjeru $9 : 3 : 3 : 1$. Za razliku od tog slučaja, u dihybridnom test-križanju možemo dobiti četiri, dvije ili samo jednu fenotipsku klasu, ovisno o genotipu jedinke koju križamo s recesivnim homozigotom.

1. mogućnost – križana jedinka je heterozigot za oba promatrana svojstva (Slika 32). Kao rezultat ovog križanja u F_1 generaciji će biti prisutna sva četiri različita fenotipa (okruglo žuto zrno, hrapavo žuto, okruglo zeleno i hrapavo zeleno) u omjeru $1 : 1 : 1 : 1$.



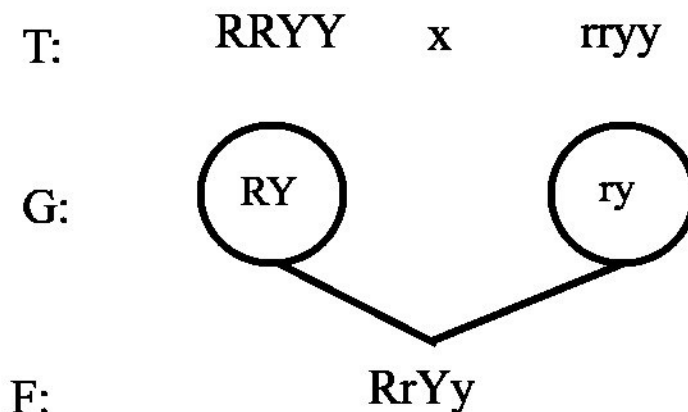
Slika 32. Test-križanjem jedinke koja je heterozigot za oba promatrana svojstva dobit će se potomci svih četiriju fenotipskih klasa u omjeru $1 : 1 : 1 : 1$.

2. mogućnost – jedinka je heterozigot za jedno, a homozigot za drugo promatrano svojstvo. Rezultat ovakvog križanja su jedinke s dvama različitim fenotipima (okruglo žuto i hrapavo žuto zrno; Slika 33a; okruglo žuto i okruglo zeleno zrno; Slika 33b) u omjeru 1 : 1.



Slika 33. Test-križanjem jedinke koja je homozigot za jedno, a heterozigot za drugo promatrano svojstvo dobit će se potomci s dvama različitim fenotipima (a) okruglo žuto i hrapavo žuto zrno; b) okruglo žuto i okruglo zeleno zrno) u omjeru 1 : 1.

3. mogućnost – jedinka je dominantni homozigot za oba svojstva. Rezultat ovog križanja su jedinke sa samo jednim fenotipom (sve jedinke imaju okruglo žuto zrno; Slika 34).



Slika 34. Test-križanjem dominantnog homozigota za oba svojstva svi će potomci biti dominantnog fenotipa za oba istraživana svojstva (okruglo žuto zrno).

Sažeto, rezultate dihibridnog test-križanja možemo podijeliti u tri skupine: 1) ako sve jedinke pokazuju isti fenotip, istraživana jedinka je dominantni homozigot; 2) ako jedinke pokazuju sva četiri moguća fenotipa, istraživana jedinka je dihibrid; 3) ako jedinke pokazuju dva fenotipa u

omjeru 1 : 1, istraživana jedinka je heterozigot za jedno i homozigot za drugo promatrano svojstvo.

Važno je naglasiti da su rezultati test-križanja pouzdani samo kod jedinki s velikim brojem potomaka (kao što je primjerice vrtni grašak) jer kod jedinki s malim brojem potomaka (primjerice leopard), u slučaju da su sve jedinke dominantnog fenotipa, može biti da recesivni fenotip nije došao do izražaja zbog obične vjerojatnosti.

χ^2 test

Nakon provođenja eksperimenata u kojima želimo utvrditi da naši eksperimentalni podaci pokazuju određenu pravilnost, odnosno da odgovaraju hipotezi, često se koristi χ^2 test. Ovaj test ima široku primjenu jer je jednostavan, a može se koristiti samo ako su prikazani pravi brojčani podaci, a ne postoci. Osim toga se χ^2 test ne može koristiti ako je očekivana frekvencija u nekoj kategoriji manja od pet. Vrijednost χ^2 računa se po sljedećoj formuli:

$$\chi^2 = \sum \frac{(e - t)^2}{t}$$

e = opažena (eksperimentalno zabilježena) frekvencija

t = teorijska (očekivana) frekvencija; dobije se tako da se ukupan broj rezultata/događaja razvrsta u očekivane klase (kategorije) u skladu s teorijom.

Broj stupnjeva slobode = broj razreda (klasa/kategorija) – 1 (jedna se od mogućnosti mora dogoditi, pa iz tog razloga oduzimamo taj 1).

Ako naši rezultati pokažu podudaranje s teorijskim vrijednostima koje je veće od 5 %, tada se smatra da se dobiveni rezultati i teorija podudaraju te hipotezu možemo prihvatiti (Tablica 5).

Tablica 5. Granične vrijednosti χ^2

broj stupnjeva slobode	vjerojatnost								
	0,99	0,95	0,90	0,75	0,50	0,25	0,10	0,05	0,01
1	0,000	0,004	0,016	0,102	0,455	1,32	2,71	3,84	6,63
2	0,020	0,103	0,211	0,575	1,386	2,77	4,61	5,99	9,21
3	0,115	0,352	0,584	1,212	2,366	4,11	6,25	7,81	11,34
4	0,297	0,711	1,064	1,923	3,357	5,39	7,78	9,49	13,28
5	0,554	1,014	1,610	2,675	4,351	6,63	9,24	11,07	15,09
6	0,872	1,635	2,204	3,455	5,348	7,84	10,64	12,59	16,81
7	1,239	2,167	2,833	4,255	6,346	9,04	12,02	14,07	18,48
8	1,647	2,733	3,490	5,071	7,344	10,22	13,36	15,51	20,09
9	2,088	3,325	4,168	5,899	8,343	11,39	14,68	16,92	21,67
10	2,558	3,940	4,865	6,737	9,342	12,55	15,99	18,31	23,21
11	3,053	4,575	5,578	7,584	10,341	13,70	17,28	19,68	24,72
12	3,571	5,226	6,304	8,438	11,340	14,85	18,55	21,03	26,22
13	4,107	5,892	7,042	9,299	12,340	15,98	19,81	22,36	27,69
14	4,660	6,571	7,790	10,165	13,339	17,12	21,06	23,68	29,14
15	5,229	7,261	8,547	11,037	14,339	18,25	22,31	25,00	30,58
16	5,812	7,962	9,312	11,912	15,338	19,37	23,54	26,30	32,00
17	6,408	8,672	10,085	12,792	16,338	20,49	24,77	27,59	33,41
18	7,015	9,390	10,865	13,675	17,338	21,60	25,99	28,87	34,80
19	7,633	10,117	11,651	14,562	18,338	22,72	27,20	30,14	36,19
20	8,260	10,851	12,443	15,452	19,337	23,83	28,41	31,41	37,57
22	9,542	12,338	14,041	17,240	21,337	26,04	30,81	33,92	40,29
24	10,856	13,848	15,659	19,037	23,337	28,24	33,20	36,42	42,98
26	12,198	15,379	17,292	20,843	25,336	30,43	35,56	38,89	45,64
28	23,565	16,928	18,939	22,657	27,336	32,62	37,92	41,34	48,28
30	14,953	18,493	20,599	24,478	29,336	34,80	40,26	43,77	50,89
40	22,164	26,509	29,051	33,660	39,335	45,62	51,80	55,76	63,69
50	27,707	34,764	37,689	42,942	49,335	56,33	63,17	67,50	76,15
60	37,485	43,188	46,459	52,294	59,335	66,98	74,40	79,08	88,38

Primjer: učestalost pojedinog fenotipa zrna graška iz Mendelovih istraživanja.

Od ukupno 556 zrna graška Mendel je zabilježio četiri fenotipske klase i postavlja se pitanje jesu li njegovi rezultati u skladu s njegovim 2. zakonom. Da bismo to provjerili, primijenit ćemo χ^2 test (Tablica 6).

Tablica 6. Tablica vrijednosti dobivenih dihibridnim križanjem vrtnoga graška u Mendelovim istraživanjima i očekivane vrijednosti

FENOTIP (KLASA)	EKSPERIMENTOM DOBIVENA FREKVENCIJA e	TEORETSKA (OČEKIVANA) VRIJEDNOST (FREKVENCIJA) t	e-t	(e-t) ²	(e-t) ² /t
OKRUGLO ŽUTO ZRNO	315	$556 \times 9/16 = 312,75$	2,25	5,06	0,016
OKRUGLO ZELENO	108	$556 \times 3/16 = 104,25$	3,75	14,06	0,135
NABORANO ŽUTO	101	$556 \times 3/16 = 104,25$	-3,25	10,56	0,101
NABORANO ZELENO	32	$556 \times 1/16 = 34,75$	-2,75	7,56	0,218
SUMA	Σ				0,47

Iz dobivenih rezultata iz tablice za χ^2 vrijednosti možemo vidjeti da se za tri stupnja slobode za vjerojatnost 90 – 95 % sigurnosti vrijednosti kreću između 0,35 i 0,58 te da se naša dobivena vrijednost od 0,47 nalazi u tom intervalu, što znači da su naše zabilježene vrijednosti u skladu s očekivanjima.

Mehanizmi determinacije spola

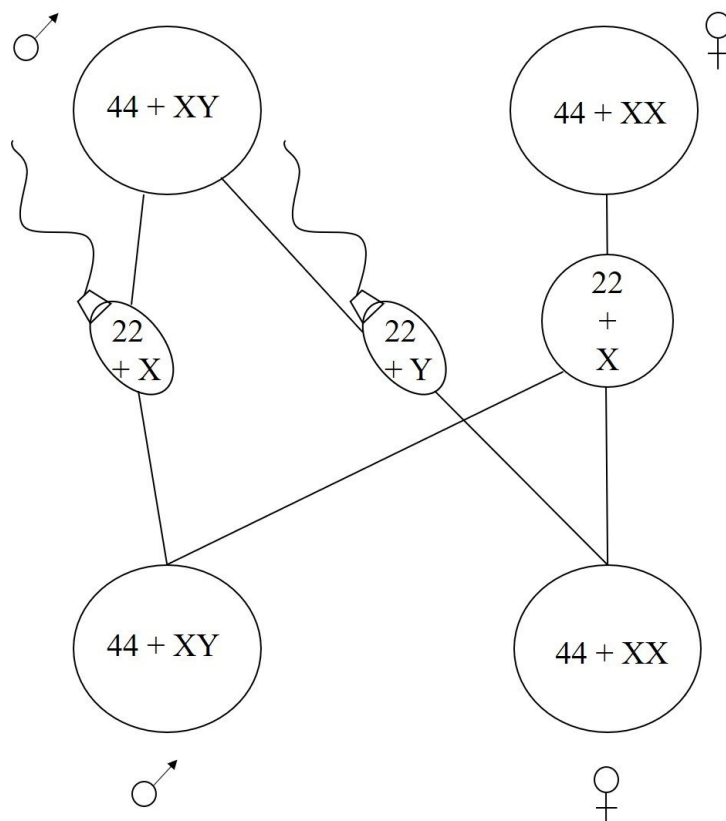
Kod većine organizama spol je genetski određen i ovisi o spolnim kromosomima, spolnim genima, stupnju ploidnosti ili omjeru spolnih kromosoma i autosoma (Tablica 2). To znači da se spol određuje već prilikom oplodnje. Ipak, kod nekih organizama spol ovisi o stupnju ploidije, a postoje i organizmi kod kojih je spol određen fizikalnim čimbenicima okoliša (temperaturom). Kod takvih organizama klimatske promjene mogu imati značajan utjecaj na omjer spolova u populaciji, a samim time i na njihovu vijabilnost.

Tablica 2. Tipovi genetičke determinacije spola

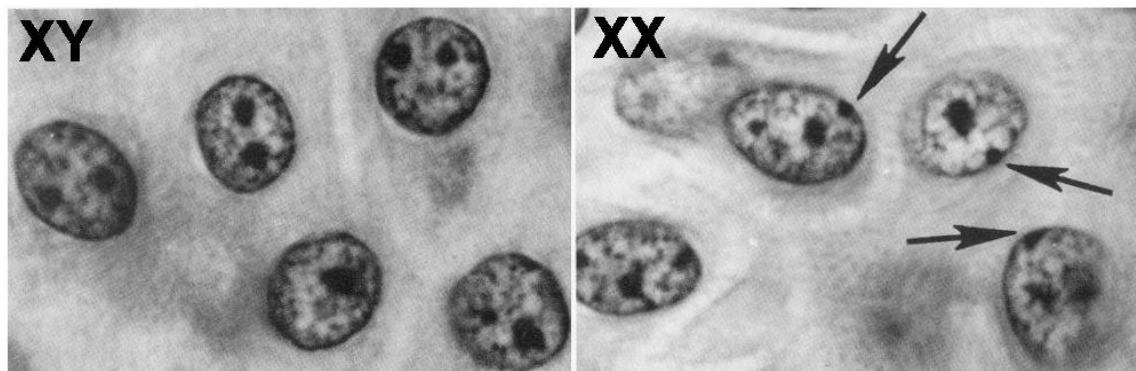
NAČIN ODREĐIVANJA SPOLA	PRIMJER
spolni kromosomi	XY sustav, X0 sustav, ZW sustav
spolni gen M	mx – mužjak; mm – ženka
stupanj ploidnosti	haploidi – mužjaci, diploidi – ženke
smjer broja setova autosoma i X kromosoma	$X/A \geq 1$ ženka, $X/A \leq 0,5$ mužjak

Spol je kod sisavaca određen kromosomima X i Y (Slika 24, Tablica 3). Ova dva kromosoma nisu pravi homolozi i ne nose gene za ista svojstva. Gene na X kromosomu nazivamo spolno vezanim genima, a geni na Y kromosomu su holandrični geni. Kod ženki sisavaca nalazimo XX kromosome i one su homogametne, a kod mužjaka nalazimo XY kromosome i oni su heterogametni. To znači da mužjaci proizvode dvije vrste gameta u omjeru 1 : 1, one koje nose kromosom X i one s kromosomom Y.

Kod ženki sisavaca aktivan je samo jedan X kromosom zbog kompenzacije doze kod muških i ženskih jedinki, a drugi, inaktiviran X kromosom nalazi se uz jezgrinu ovojnicu, naziva se **Barrovo tjelešće** i nalazimo ga u svim stanicama (Slika 25). Inaktivacija X kromosoma je slučajna i nasumična, što se naziva lionizacija po britanskoj genetičarki Mary Lyon koja je predložila tu teoriju.



Slika 24. Genom čovjeka sastoji se od 44 autosoma (22 para) i dva spolna kromosoma – X i Y. Žene su homogametne (44 + XX) i proizvode jednu vrstu gameta, a muškarci su heterogametni (44 + XY) i proizvode dvije vrste gameta.



Slika 25. Barrovo tjelešce je inaktivirani kromosom X kod osoba ženskog spola i nalazi se uz jezgrinu ovojnicu. Ostali kromocentri vidljivi na slikama su jezgrice koje predstavljaju mjesto u kojemu se sintetizira rRNA i ribosomi (izvor: web 3).

Kod mužjaka skakavaca nedostaje Y kromosom i oni imaju jedan kromosom manje od ženki (mužjaci $X0$, $2n = 23$; ženke XX , $2n = 24$). Kod ptica, leptira i riba spol je određen kromosomima Z i W i u ovom su slučaju ženke heterogametne (ZW), a mužjaci homogametni (ZZ). Kod komaraca je spol određen dominantnim genom M koji određuje muški spol, a ženke su recesivni homozigoti (mm; Tablica 2).

Tablica 3. Različiti tipovi određivanja spola na temelju prisutnosti spolnih kromosoma

TIP	podtip	spolni kromosomi	organizmi
heterogametni mužjaci	XX – XO	ženke – 2X mužjaci – 1X	neki kornjaši, vretenca i skakavci
	XX – XY	ženke – 2X mužjaci – XY	sisavci, neki kornjaši i dvokrilci
+heterogametne ženke	ZO – ZZ	ženke – 1 Z mužjaci – 2 Z	leptiri
	ZW – ZZ	ženke – ZW mužjaci – 2Z	hrastov gubar, ribe, neki gmazovi, ptice

Kod pčela je spol određen stupnjem ploidnosti i iz oplodjenih se jaja ($2n = 32$) razvijaju ženke koje mogu biti matica ili radilice, a partenogenezom se razvijaju haploidni mužjaci (trutovi; $n = 16$). Matice pčela proizvode gamete mejozom, a trutovi mitozom. Kod dvodomnih biljaka (kod vrsta kod kojih su odvojeno ženske i odvojeno muške biljke) spol je većinom određen kromosomima X i Y kao i kod sisavaca.

Vinska mušica

Vinska mušica *Drosophila melanogaster*, Meigen 1830. iz reda Diptera, već je preko stotinu godina, od istraživanja Thomasa Hunta Morgana, jedan od najvažnijih modelnih organizama u genetici. Upravo je Morgan zaslužan za otkriće vezanih gena i genske rekombinacije. Istraživanja vinske mušice doprinijela su brojnim otkrićima iz biologije stanice i razvojne biologije, neurobiologije i ponašanja, molekularne biologije, evolucijske i populacijske genetike i sl. Nekoliko je razloga za njezinu široku primjenu u istraživanjima. Ova se vrsta lako uzgaja u laboratoriju, ima kratko generacijsko vrijeme i velik broj potomaka. Osim toga ima kompaktan genom i lako se može genetski manipulirati. Vinska mušica je u prirodi široko rasprostranjena i naseljava sve kontinente osim Antarktike. Njezin je genom sekvenciran 2000. godine i bila je drugi mnogostanični organizam sa sekvenciranim genomom (nakon oblića *Caenorhabditis elegans*).

Kod vinske mušice razvoj od oplođene jajne stanice do odrasle jedinke traje 9 – 10 dana pri temperaturi od 25 °C, a pri 18 °C potrebno je 19 dana.

Kod vinske je mušice spol određen genskom ravnotežom, omjerom X i Y kromosoma, odnosno omjerom broja X kromosoma i broja haploidnih setova autosoma (Tablica 4). Y kromosom je važan za fertilnost mužjaka, no na njemu se ne nalaze geni za određivanje spola, nego su oni raspoređeni na svim autosomima. Za razliku od kromosoma Y, na kromosomu X se nalaze geni koji određuju ženski spol.

Normalna ženka ima XX kromosome, a mužjak ima XY, no X0 su također mužjaci zbog manjka X kromosoma. Ipak, svaka stanica određuje svoj spol, pa tako postoje ginandromorfi, jedinke kod kojih je dio tijela muškog, a dio ženskog spola (primjerice zbog gubitka jednog X kromosoma u nekim stanicama).

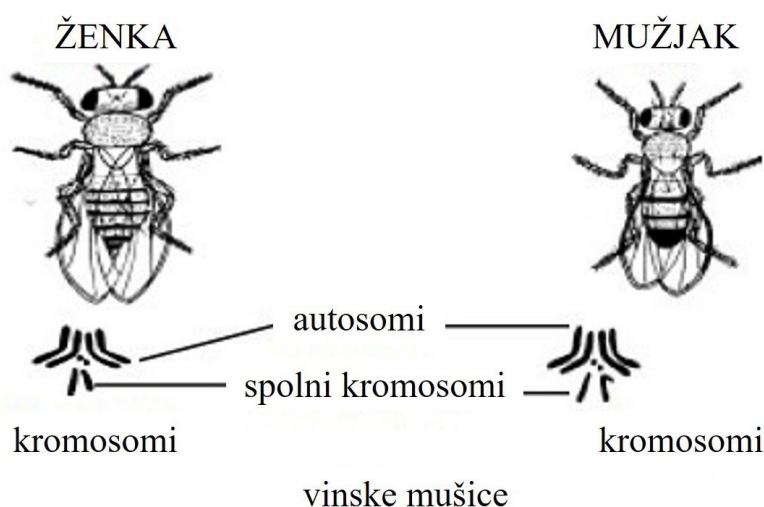
Jedinka $2n = 6$, XX ima $2X/2A = 1 \rightarrow$ ženka

Jedinka $2n = 6$, XY ima $1X/2A = 0,5 \rightarrow$ mužjak

Tablica 4. Spol vinske mušice određen je omjerom broja X kromosoma i setova autosoma

fenotip		broj X kromosoma	broj setova autosoma	X/A omjer
superžensko		3	2	1,5
triploid	normalno žensko	3	3	1
tetraploid		4	4	1
diploid		2	2	1
haploid		1	1	1
međuspol		2	3	0,67
normalno muško		1	2	0,5
supermuško		1	3	0,33

Spol vinske mušice može se odrediti na temelju morfologije (Slika 26); mužjaci su generalno manji te imaju tamniji i okrugliji abdomen, a na prvom paru nogu imaju tarzalni češalj (vidljiv je samo pod velikim povećanjem).



Slika 26. Razlika između ženskih i muških jedinki vinske mušice. Ženke su veće od mužjaka, imaju zašiljen i duži abdomen s više pruga, a su mužjaci manji, s kraćim i zaobljenim abdomenom i malim brojem pruga.

Genom vinske mušice sastoji se od oko 180 Mb (milijuna parova baza), od čega je oko 120 Mb eukromatin. Od četiriju parova kromosoma jedan par čine spolni kromosomi i tri para autosoma. Kromosomi 2 i 3 su veliki metacentrični kromosomi, a 4. je kromosom jako malen.

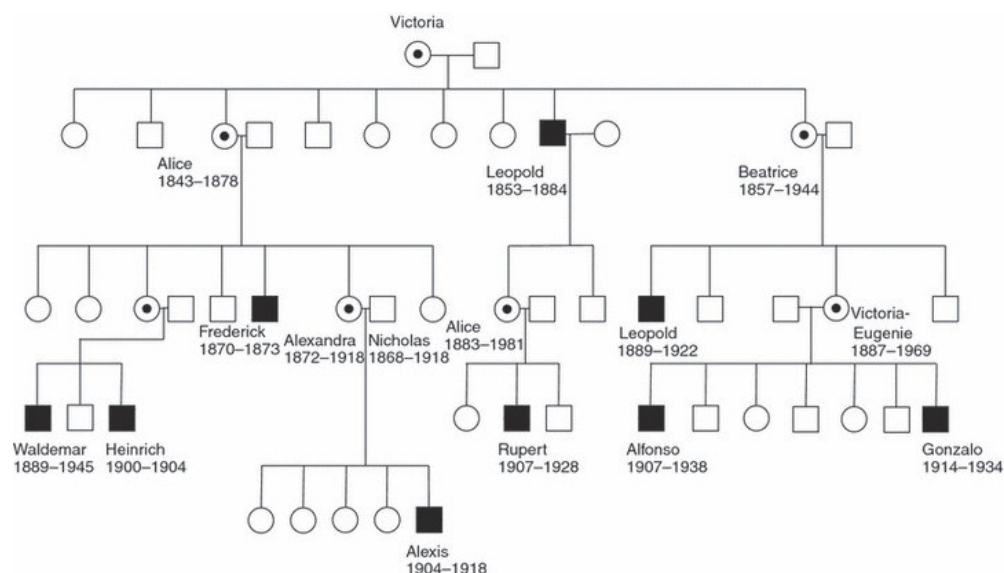
Građa ovih kromosoma je prvi put prikazana 1935. godine (Calvin Bridges) na temelju politenih kromosoma iz žlijezda slinovnica. Politeni kromosomi nastaju endoreplikacijom DNA bez odvajanja kromatida. Nakon bojenja dobivaju poseban isprugani izgled za svaku kromosomsku regiju te je takva genska karta i danas u upotrebi. Nakon sekvenciranja cijelog genoma danas se pretpostavlja da postoji 13 920 gena koji kodiraju proteine. Geni koji su istraženi dobivaju naziv po mutaciji koju uzrokuju (a ne po divljem tipu) i obično se pišu malim slovima i u kurzivu (ako je mutant dominantan, gen se piše velikim slovom). Divlji tip se označava + pokraj naziva gena.

Vinka mušica vrlo je važna i u istraživanju ljudskih bolesti. Oko 65 % gena koji uzrokuju bolesti kod čovjeka imaju svoj pandan u genomu vinske mušice i brojne su bolesti istražene upravo zahvaljujući tomu: srčane bolesti, mentalne i neurološke bolesti, pretilost itd.

Spolno vezani geni

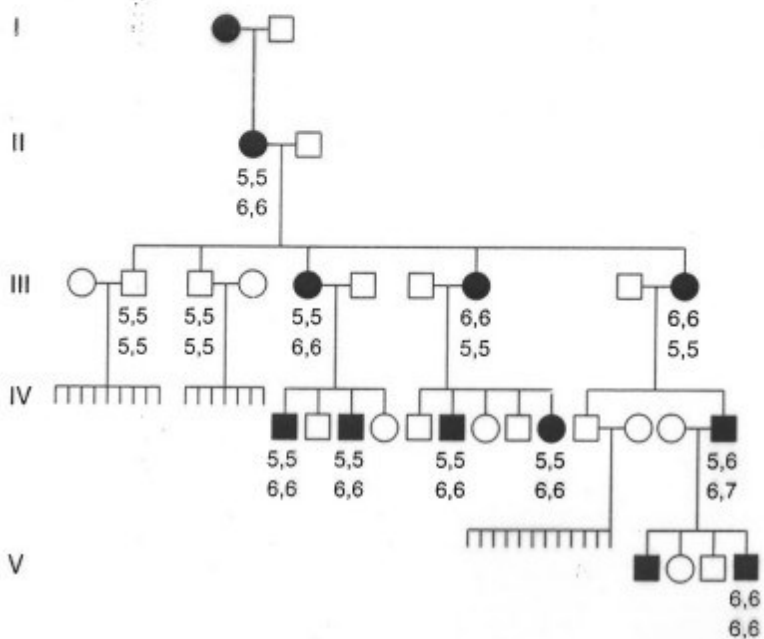
Spolno vezani geni su oni geni koji se nalaze na kromosomu X te se njihova ekspresija i nasljeđivanje razlikuju kod muških i ženskih jedinki. Spolno vezani geni nisu isto što i vezani geni i ne treba ih miješati. Autosomi (nespolni, odnosno somatski kromosomi) su raspoređeni u homologne parove (jedna kopija od oca, jedna od majke). Kod osoba ženskog spola kromosomi XX predstavljaju par homolognih kromosoma. No kod muškaraca se kromosomi X i Y znatno razlikuju i nisu pravi homologni par. Kromosom Y je obično manji i na njemu je smješten mali broj gena, koji se nazivaju holandrični geni i određuju holandrična (isključivo muška) svojstva. Na kromosomu X nalazi se preko 1000 gena. To znači da muške osobe imaju samo jednu kopiju pojedinoga gena i ako je na njemu prisutna mutacija, ona se nasljeđuje kako se nasljeđuje i taj kromosom X te će osoba biti bolesna. Primjerice, ako muška osoba ima gen za hemofiliju, taj će gen doći do izražaja. Upravo su iz tog razloga spolno vezani geni često važni za bolesti od kojih uglavnom obolijevaju muškarci. Za razliku od muških osoba koje imaju jednu kopiju kromosoma X, žene imaju dvije kopije kromosoma X, no samo je jedan aktivan. Iz tog razloga kod žena koje su heterozigoti ovisit će hoće li neka bolest biti izražena o tome koji je kromosom X inaktiviran. Ako je inaktiviran kromosom sa zdravim genom, i ženska osoba može pokazivati fenotip mutiranoga gena.

Neke od bolesti koje su vezane uz spolne kromosome su Duchennova mišićna distrofija, hemofilija i daltonizam. Da bi osoba normalno mogla razaznati crvenu i zelenu boju, treba imati barem jednu „zdravu“ kopiju gena za raspoznavanje boja. No s obzirom na to da muškarci imaju samo jednu kopiju, kod njih daltonizam (i druge bolesti vezane uz spolne kromosome) češće dolazi do izražaja (1 od 12, naspram 1 od 250 kod ženskih osoba). Hemofilija je nasljedna bolest uzrokovana nedostatkom faktora zgrušavanja (koagulacije) plazme i karakterizira ju povećana sklonost hemoragijama (krvarenjima). Hemofiliju uzrokuje recesivni gen **h** koji ima svoj lokus na kromosomu X. S obzirom na to da je u britanskoj kraljevskoj obitelji velik broj potomaka bolovao od hemofilije, ova je bolest vrlo dobro dokumentirana u njihovu rodoslovlju (Slika 27).



Slika 27. Rodoslovlje britanske kraljevske obitelji. Muškarci se prikazuju kvadratićima, žene krugovima, a spolni su partneri povezani vodoravnom linijom. Okomitim linijama ispod njih prikazani su njihovi potomci. Osobe koje posjeduju istraživano svojstvo označene su punim oblicima, a prazni oblici označavaju njegovu odsutnost. Ženske osobe nositeljke gena su označene točkom u sredini (izvor: Green, 2010).

Rodoslovlje, odnosno „obiteljsko stablo“ je alat koji se koristi u genetici kako bi se pratilo nasljeđivanje pojedine osobine generacijama (primjer rodoslovlja polidaktilije, Slika 28). Osobine koje su određene jednim genom nazivaju se **monogenetska** svojstva i takva se svojstva prikazuju u rodoslovlju. Mogu se promatrati osobine čiji se geni nalaze na autosomima, poput albinizma i polidaktilije ili se mogu promatrati osobine koje se prenose putem spolnih kromosoma kao što su daltonizam i hemoofilija.



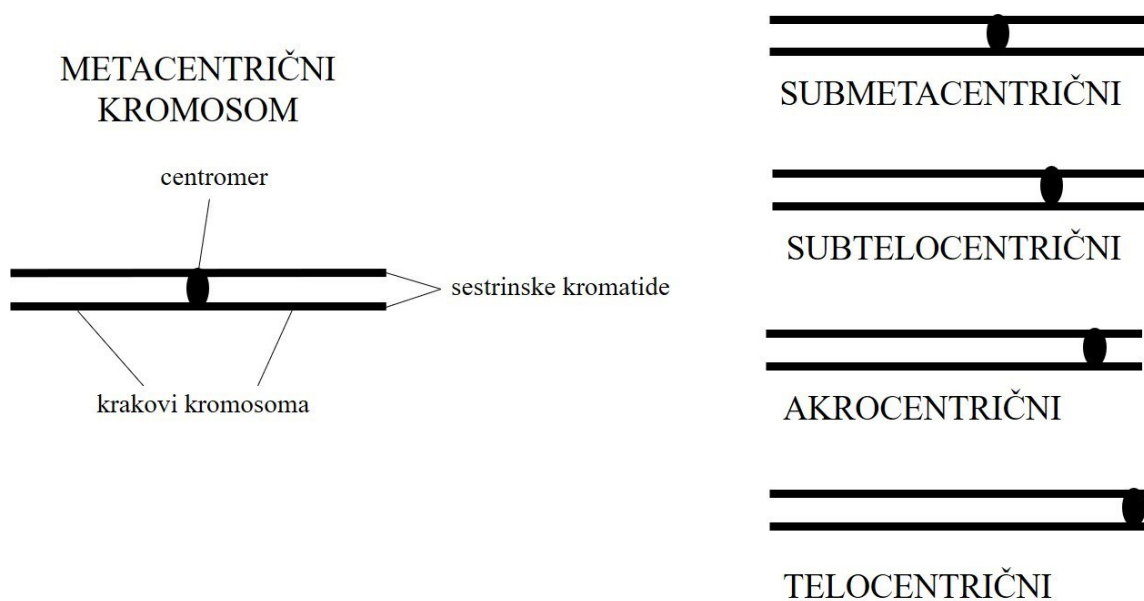
57

Kromosomi

Morfologija (ili oblik) kromosoma određena je njihovom veličinom i položajem centromera (primarne konstrikcije) te nukleolarnim organizatorom (sekundarnom konstrikcijom). U centromeru se u asocijaciji s kromatinom formiraju kinetohore iz kojih se tijekom diobe razvijaju kinetohorni mikrotubuli, koji osiguravaju pričvršćivanje kromosoma za diobeno vreteno i centromer dijeli kromosome na krakove. S druge strane neki kromosomi imaju sekundarnu konstrikciju koja odgovara položaju gena za rRNA i tu se u interfazi formira jezgrica (*nucleolar organizer region*; NOR), koja se nalazi na kraju kromosoma, a sâm vrh kromosoma se tada označava kao „satelit“.

Položaj centromera je važan za određivanje tipa kromosoma (Slika 35) i dijelimo ih na metacentrične (kod kojih je centromer na sredini), submetacentrične (centromer je pomaknut u stranu i omjer duljina krakova je 1 : 2), subtelocentrični (centromer je pomaknut u stranu i omjer duljina krakova je 1 : 3), akrocentrični (centromer dijeli krakove u omjeru 1 : 4) i telocentrični (kod kojih je centromer na samom kraju kromosoma i kromosomi imaju takoreći samo jedan krak). Osim spomenutih tipova kromosoma kod nekih organizama (npr. *C. elegans*) ne postoji centromer kao jedinstveno suženje s kinetohornim nitima, nego su kinetohorne niti raspoređene po cijelom kromosomu.

Morfologija kromosoma nam je važna kod izrade kariograma, odnosno uređenog prikaza kromosomskih parova neke vrste poredanih po veličini i položaju centromera, a kromosomska slika neke stanice (stanične linije) naziva se kariotip. Kariotip se često koristi kako bi se ustanovile anomalije u broju i strukturi kromosoma.



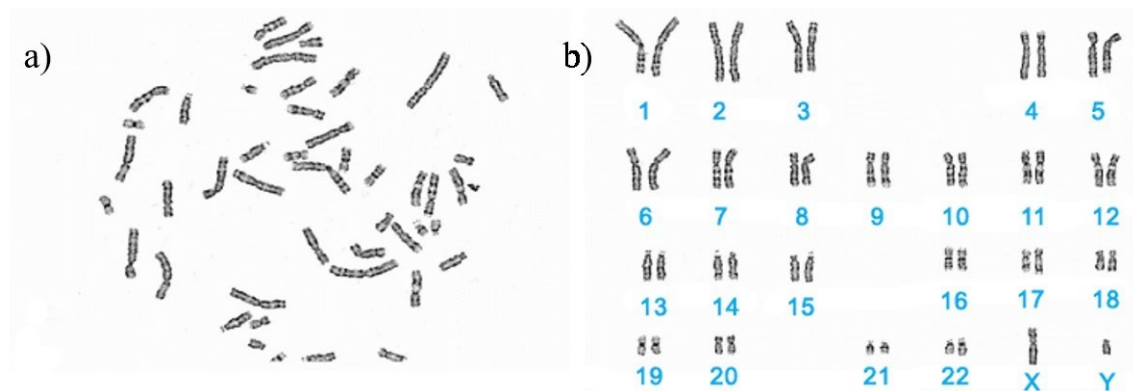
Slika 35. Tipovi kromosoma s obzirom na položaj centromera.

Pri izradi kariotipa i kariograma kromosomi moraju biti u metafazi s obzirom na to da su tada kondenzirani i najbolje vidljivi. Znanstvenici Tijo i Levan su 1956. godine dokazali da somatske stanice čovjeka imaju po 46 kromosoma (22 para autosoma i dva spolna kromosoma, X i Y). Standardizirani humani kariotip predložen je 1966. godine u Chicagu te se i danas koristi (Slika 36). Kromosomi čovjeka razvrstani su u sedam grupa po veličini i položaju centromera: A – tri para meta- i submetacentričnih kromosoma (parovi 1 – 3); B – dva para submetacentričnih kromosoma (parovi 4 – 5); C – sedam parova meta- i submetacentričnih kromosoma (parovi 6 – 12); D – tri para akrocentričnih kromosoma sa satelitima (parovi 13 – 15); E – tri para, parovi 16 i 17 su submetacentrični, a par 18 je metacentričan; F – dva para metacentričnih kromosoma (parovi 19 – 20); G – dva para akrocentričnih kromosoma sa satelitima (parovi 21 – 22); spolni kromosomi: X kromosom je metacentričan i pripada u B grupu, a Y kromosom u G grupu.

Kariotip je specifičan za svaku vrstu. Kod jedne se vrste mrava u jezgri nalazi samo jedan par kromosoma, a kod jedne je papratnjače zabilježeno oko 720 parova kromosoma.

Prilikom izrade kariotipa kromosome je najprije potrebno obojiti kako bi se mogli promatrati pod mikroskopom. Ako se kromosomi gledaju pod svjetlosnim mikroskopom, najčešće se koristi Giemsa i na kromosomu su vidljive G-pruge (regije bogate A-T parovima). Ovisno o tehnici bojenja, mogu biti vidljive i C-pruge (kod kojih se boji konstitutivni heterokromatin u

kojem su najčešće uklopljene centromere) i R-pruge (regije bogate G-C parovima). Za fluorescencijsku mikroskopiju od fluorokromnih boja primjenjuju se kvinakrin, daunomicin, DAPI i Hoechst 33258. Za bojenje se još mogu koristiti i teški metali kao što su kompleksi platine, uranil-acetat i osmijev-tetraoksid.

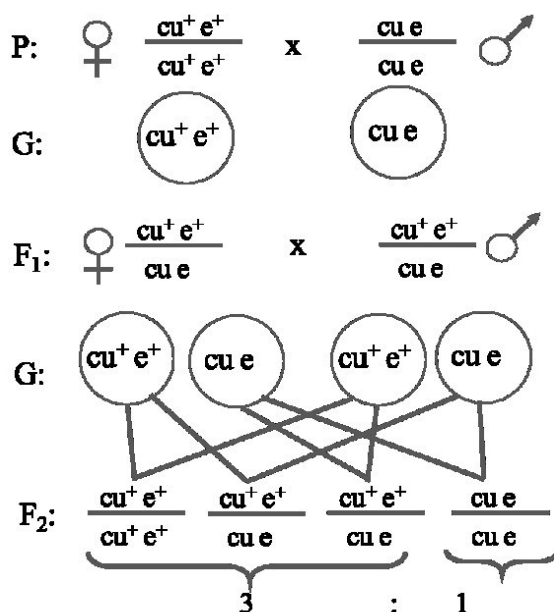


Slika 36. a) Slika humanog kariotipa, odnosno svih kromosoma jedne stanice, b) kariogram čovjeka čine svi kromosomi jedne stanice poredani po brojevima i skupinama. Svaki se kromosom nalazi u dvjema kopijama (homologi kromosomi), jedna kopija od majke, jedna od oca.

Vezani geni i *crossing-over*

Mendelov zakon o nezavisnoj segregaciji nije uvijek primjenjiv jer se promatrani geni mogu nalaziti na istom paru kromosoma. To znači da se takvi geni, zato što se nalaze na istom kromosomu, nasljeđuju zajedno. Zbog toga se nazivaju vezani geni s obzirom na to da njihovo nasljeđivanje više nije neovisno. Vezani geni prikazuju se pomoću razlomka gdje se u brojnik označavaju aleli na jednome homolognom kromosomu, a u nazivnik aleli na drugome homolognom kromosomu. Ako je jedinka homozigot za oba promatrana svojstva, kažemo da je homogametna s obzirom na to da stvara samo jedan tip gameta.

Nasljeđivanje vezanih gena najviše se istraživalo na vinskoj mušici *D. melanogaster*. Za primjer ćemo promatrati nasljeđivanje oblika krila i boje tijela (zatka) s obzirom na to da se ova dva gena nalaze na istom kromosomu i nasljeđuju se zajedno. Normalna krila (divlji tip) su dominantna i označavaju se **cu⁺**, a zakrivljena krila su recesivna i označavaju se **cu**. Prugasti zadak (divlji tip) je dominantno svojstvo **e⁺**, a ebonitna (crna) boja tijela je recesivno svojstvo **e**. Križane su ženke normalnih krila i boje tijela divljeg tipa s mužjacima zakrivljenih krila i ebonitne boje tijela. U F₁ generaciji su sve mušice normalnih krila i boje tijela divljeg tipa. Međusobnim križanjem ženki i mužjaka iz F₁ generacije dobivene su mušice normalnih krila i boje tijela divljeg tipa i mušice zakrivljenih krila i ebonitne boje tijela u omjeru 3 : 1. Križanje je prikazano na Slici 37.



Slika 37. Nasljeđivanje vezanih gena; gen **cu** određuje oblik krila, a gen **e** određuje boju zatka. S obzirom na to da se oba gena nalaze na istom kromosomu, nasljeđuju se zajedno i jedinke u gametama imaju roditeljsku kombinaciju alela.

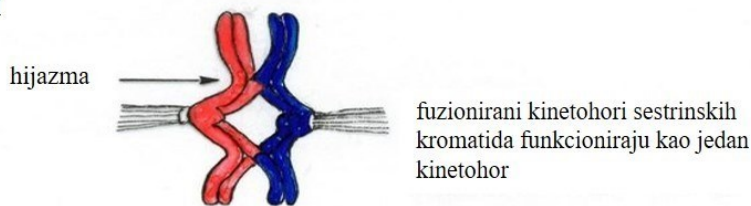
Rekombinacija gena

Nasumičan raspored roditeljskih kromosoma u gametama i oplodnja, koja je također rezultat slučajnog događaja, od izuzetne su važnosti za genetičku raznolikost organizama u populaciji. Ovi procesi mogu dovesti do stvaranja novih kombinacija gena koje ne nalazimo ni kod jednog od roditelja. Osim ovih dvaju čimbenika takve jedinstvene kombinacije gena mogu nastati i kao posljedica rekombinacije tijekom mejoze.

Mejoza se sastoji od dvaju ciklusa diobe kao što je objašnjeno u poglavlju „Gametogeneza“, str. 15. Prva mejotička dioba je redukcijska, a druga ekvacijska i odvija se kao i mitozu. U prvoj mejotičkoj diobi najprije dolazi do stvaranja sinapsi, odnosno sparivanja homolognih kromosoma (istih kromosoma od majke i od oca) u bivalente. Potom dolazi do izmjene genetičkog materijala (Slika 38), odnosno do rekombinacije ili *crossing-overa*. To je proces kod kojeg dolazi do izmjene homolognih dijelova molekule DNA (koji nose gene za ista svojstva) između neseestrinskih kromatida (između jedne kromatide od majke i jedne kromatide od oca).

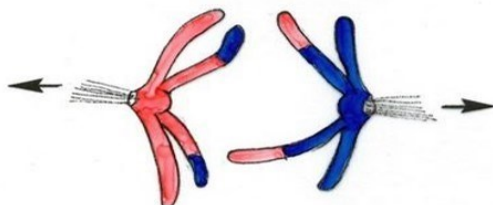
Rekombinacija se odvija u profazi I mejoze koja se dijeli na leptoten, zigoten, pahiten, diploten i dijakinezu. U leptotenu započinje kondenzacija kromatina. U zigotenu počinje formiranje sinaptonemalnog kompleksa, odnosno proteinskih struktura koje omogućavaju proces rekombinacije. Također u zigotenu počinje sparivanje homolognih kromosoma i to na način da se nalaze jedan iznad drugog (a ne jedan pored drugog). U pahitenu dolazi do rekombinacije koja se odvija u prostoru rekombinacijskog nodula. To je prostor u kojem se nalaze brojni enzimi koji prepoznaju mjesto gdje se može dogoditi rekombinacija, sudjeluju u presijecanju fosfodiesterskih veza i spajanju kromatida nakon rekombinacije. Rekombinacijski nodul je dio sinaptonemalnog kompleksa koji tvore tri dijela: centralni, lateralni i transverzalni elementi. Centralni elementi su proteinske strukture koje tvore središnji dio sinaptonemalnog kompleksa i stabiliziraju ga. Lateralni elementi zajedno s centralnim elementima doprinose čvrstoj povezanosti i poravnavanju homolognih kromosoma tijekom mejoze, a transverzalni elementi povezuju centralne i lateralne elemente sinaptonemalnog kompleksa i pomažu u njegovoj stabilnosti (Slika 39). Sinaptonemalni kompleks ima ključnu ulogu u sparivanju i poravnavanju homolognih kromosoma, kao i u rekombinaciji. Sinaptonemalni kompleks nastaje i razgrađuje se poput zatvarača (postepeno, dio po dio), što uzrokuje premještanje hijazmi (mjesto križanja kromatida) prema krajevima kromosoma. Do razgradnje sinaptonemalnog kompleksa i terminalizacije hijazmi dolazi u diplotenu.

METAFAZA I



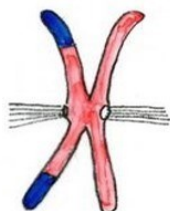
KRAKOVI SESTRINSKIH
KROMATIDA SE RAZDVAJAJU

ANAFaza I



IZA KRATKE INTERFAZE SLIJEDI ORGANIZIRANJE KINETOHORA
TAKO DA SVAKA KROMATIDA IMA PO JEDAN KINETOHOR

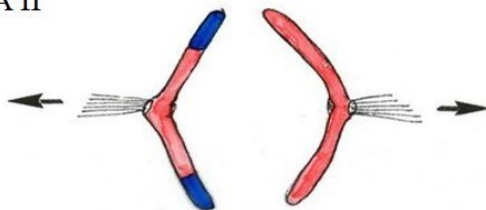
METAFAZA II



kinetohorni mikrotubuli sestrinskih kromatida
orijentirani su prema suprotnim polovima

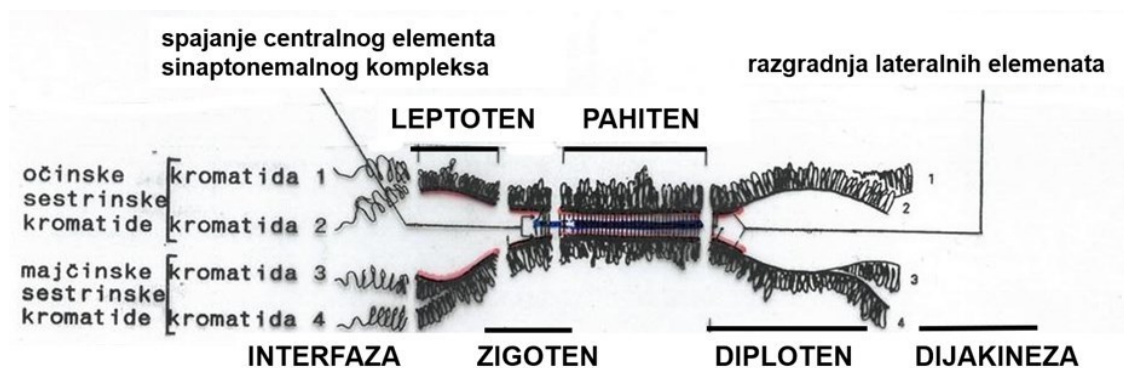
ANAFaza II

ODVAJANJE SESTRINSKIH KINETOHORA



Slika 38. Rekombinacija se odvija u profazi I mejoze kada dolazi do izmjene dijelova nesestrinskih kromatida homolognih kromosoma. U anafazi I dolazi do odvajanja homolognih kromosoma, a u anafazi II se odvajaju sestrinske kromatide (autor: Vera Cesar).

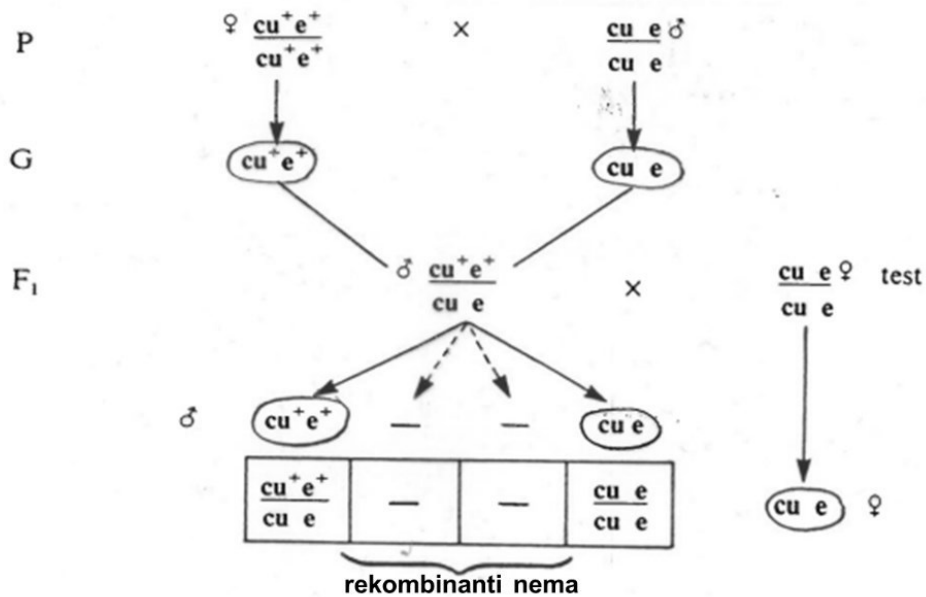
Rekombinacija se može dogoditi bilo gdje na kromosomu, a odvija se uvijek na kratkim homolognim sekvencama koje su identične u obama homolognim kromosomima (često palindromske), koje se nazivaju motivi. Endonukleaze prepoznaju takve motive, vežu se za njih i cijepaju fosfodiesterske veze na šećer-fosfat okosnici i na taj način stvaraju „ljepljive“ krajeve, odnosno jedan lanac slobodno „visi“ iznad drugog. Na tim mjestima dolazi do stvaranja vodikovih veza između dvaju ljepljivih krajeva nesestrinskih kromatida, odnosno do rekombinacije.



Slika 39. Formiranje i razgradnja sinaptonemalnog kompleksa u profazi I mejoze pomoću lateralnih elemenata, transverzalnih filamenata i centralnog elementa. U pahitenu dolazi do rekombinacije i u diplotenu do razgradnje sinaptonemalnog kompleksa. (autor: Vera Cesar).

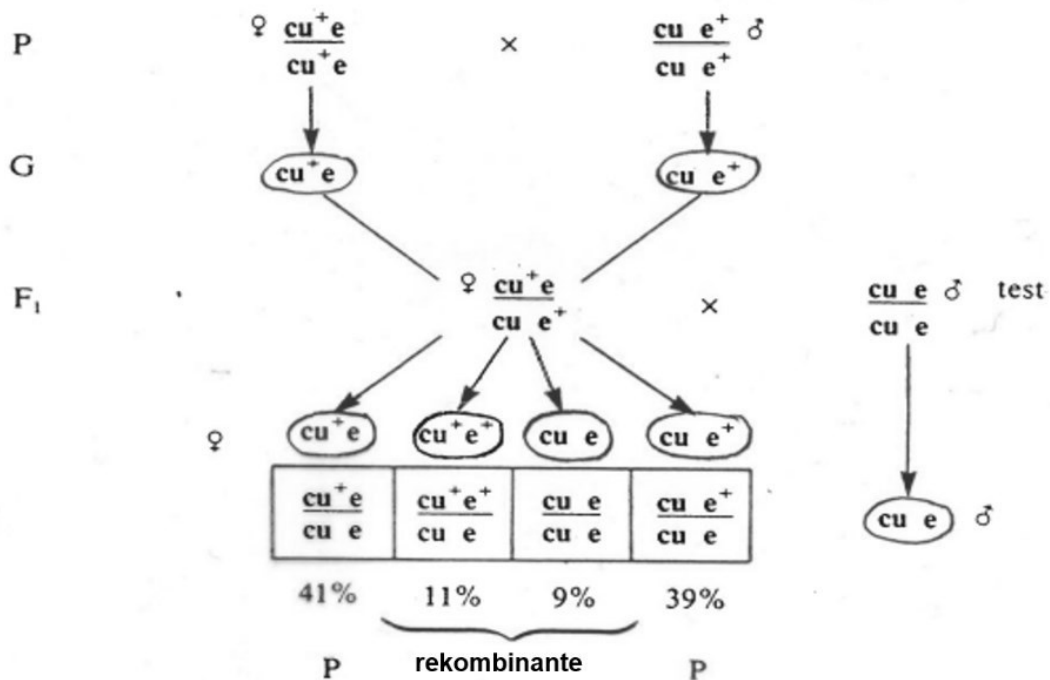
Učestalost rekombinacije ovisi o udaljenosti između dvaju gena. Što su geni bliže, veća je vjerojatnost da će ostati zajedno nego geni koji se nalaze na suprotnim krajevima kromosoma. Učestalost rekombinacije je stalna i na temelju učestalosti rekombinacija između dvaju gena može se odrediti njihova relativna međusobna udaljenost. Geni koji su vrlo udaljeni na istom kromosomu ponašaju se poput nevezanih gena. Udaljenost gena na pojedinom kromosomu izražava se jedinicama koje se nazivaju centiMorgani (cM), a 1 cM odgovara udjelu *crossing-overa* od 1 % u jednoj generaciji. S obzirom na to da se radi o udaljenosti između različitih genskih lokusa, ne radi se o pravoj fizičkoj vrijednosti jer broj parova baza između dvaju gena varira. Vrijednost 0 cM između dvaju gena označava da su geni vezani i da između njih ne dolazi do *crossing-overa*.

Rekombinacija je dobro istražena kod vinske mušice. Kod mužjaka vinske mušice ne dolazi do rekombinacije i ona se javlja isključivo kod ženki, što znatno olakšava njezino proučavanje. Učestalost rekombinacije proučava se na vezanim genima, pa ćemo se vratiti na primjer nasljeđivanja boje tijela i oblika krila (Slika 40).



Slika 40. Kod nasljeđivanja vezanih gena ako sve jedinke u potomstvu imaju jedan od roditeljskih fenotipova, to znači da nije došlo do rekombinacije; cu – oblik krila, e – boja zatka.

U slučaju kada smo dobili jedinke s jednim od roditeljskih fenotipova, to znači da nije došlo do rekombinacije. No ako u potomstvu zabilježimo i kombinacije fenotipova koje nisu bile prisutne kod roditeljskih jedinki, takve jedinke su rekombinante (Slika 41).

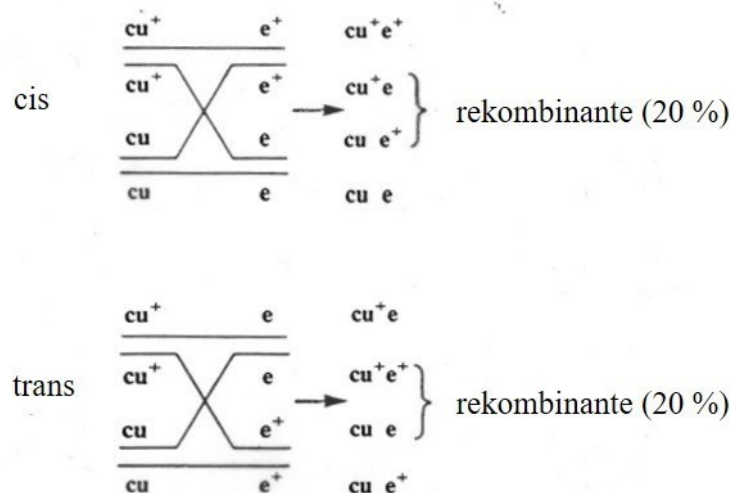


Slika 41. Ako kod nasljeđivanja vezanih gena u potomstvu imamo nove kombinacije fenotipova koje nisu bile prisutne kod roditeljskih jedinki, takve jedinke su rekombinante.

U primjeru vidimo da je 80 % jedinki roditeljskog fenotipa (P) i 20 % rekombinantnih potomaka. To znači da je tijekom mejoze došlo do *crossing-overa* i da su, osim dvaju tipova roditeljskih gameta, nastala i dva tipa rekombinantnih gameta. Pri svakoj mejozi kod koje je došlo do *crossing-overa* polovica će gameta biti roditeljske, a polovica rekombinante. To znači da je udio *crossing-overa* uvijek dvostruko veći od broja rekombinanti u potomstvu. U primjeru iz Slike 41 vidi se 20 % rekombinantnih jedinki, što odgovara vrijednosti od 40 % *crossing-overa*.

Što su neki geni međusobno bliže na molekuli DNA, to je vjerojatnost da će se između tih dvaju gena dogoditi *crossing-over* manja jer između njih postoji manje sekvenci DNA koje su neophodne za inicijaciju *crossing-overa*. S obzirom na to da učestalost rekombinacije ovisi o broju sekvenci potrebnih za inicijaciju rekombinacije između pojedinih gena, cM ne moraju uvijek imati istu metričku vrijednost. Naime, između nekih gena može biti veći broj takvih sekvenci, pa će samim time i udaljenost u cM biti veća, a isti broj nukleotida, gdje je prisutan manji broj sekvenci koje iniciraju rekombinaciju, može imati manju vrijednost u cM. U primjeru iz Slike 41 udaljenost između gena za oblik krila i boju zatka je 40 cM s obzirom na to da je u 40 % mejoza došlo do *crossing-overa*.

Kada proučavamo vezane gene za neka dva svojstva ako su na istom kromosomu oba gena dominantna, takav položaj nazivamo sparivanje, *coupling* ili cis položaj. Ako je jedan od gena dominantan, a drugi recesivan, tada su geni u trans položaju (Slika 42).

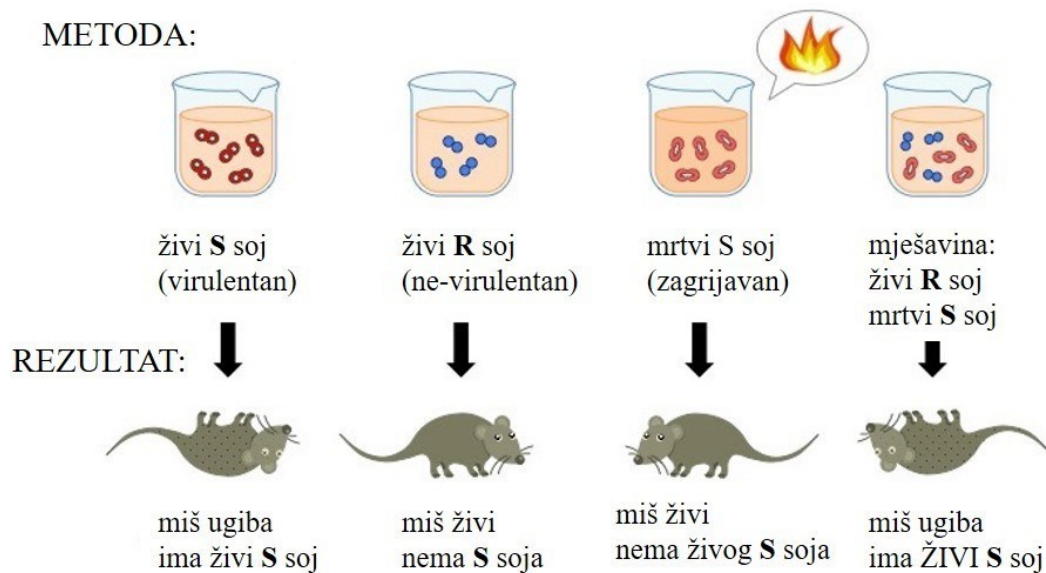


Slika 42. Ako su na istom kromosomu oba gena dominantna, takav položaj nazivamo sparivanje, *coupling* ili cis položaj. Ako je jedan od gena dominantan, a drugi recesivan, tada su geni u trans položaju.

Kod ljudi 1,3 cM odgovara otprilike vrijednosti od milijun parova baza. Udaljenost između gena koristi se kod izrade genskih mapa koje se mogu koristiti u istraživanjima, primjerice u medicini kako bi se odredio položaj gena odgovornih za pojavu različitih bolesti. Prilikom izrade genskih mapa koriste se različiti genski markeri (koji mogu biti geni, SNP (*single nucleotide polymorphism* – mjesta u genomu na kojima se razlikuje jedna baza) ili dr.), koji nam omogućavaju utvrđivanje povezanosti između genotipa i fenotipa s obzirom na to da iz sekvenci nekoga gena ne možemo automatski zaključiti i njegovu ulogu. U tom je kontekstu cilj projekta humanoga genoma bio identifikacija različitih gena i njihovih funkcija, pa se zna da kod ljudi postoji između 20 000 i 25 000 gena, od kojih se za mnoge ne zna koja im je uloga.

Mehanizmi prijenosa gena mikroorganizama: konjugacija, transformacija, transdukcija

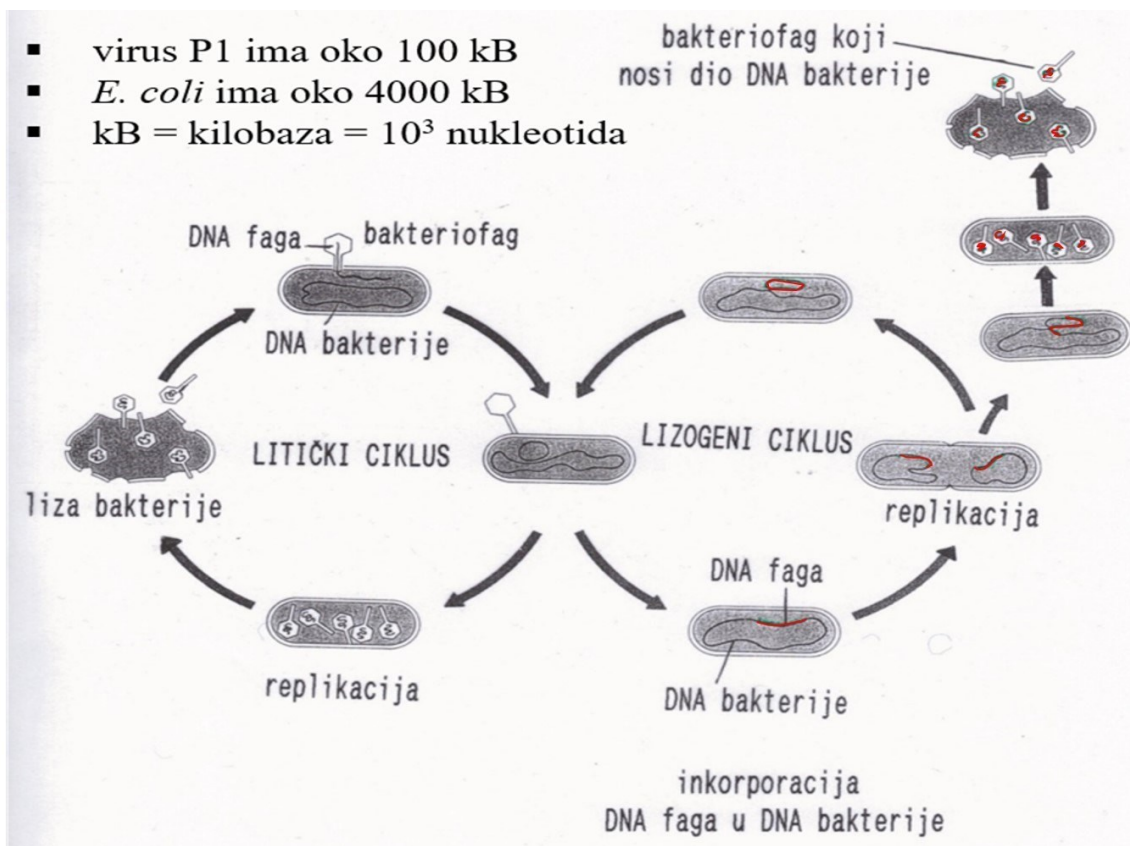
Protociti imaju samo jednu kružnu molekulu DNA (neki RNA) i nemaju homologni set kromosoma, što onemogućuje proces rekombinacije kakav poznajemo kod eucita. No istraživanja su pokazala da unatoč nedostatku homologa kod mikroorganizama dolazi do promjena u genomu, što je najprije proučavao Griffith, a potom su se tim problemom bavili Avery, MacLeod i McCarty, koji su proučavali djelovanje dvaju sojeva bakterija na miševе (Slika 43).



Slika 43. Pokusi koji dokazuju proces transformacije bakterijske DNA. U prvom slučaju ako se mišu ubrizga virulentni soj bakterije, miš umire. U drugom slučaju se mišu ubrizga nevirulentni soj i miš živi. U trećem slučaju se mišu ubrizga termički tretiran virulentni soj (mrtve stanice) i miš ostaje živ. U četvrtom slučaju se mišu ubrizga mješavina živih stanica nevirulentnog i mrtvih stanica virulentnog soja te miš umire. Ovaj nam pokus potvrđuje da je u živim stanicama nevirulentnog soja došlo do promjene genoma i da je nevirulentni soj postao virulentni (izvor: web 625).

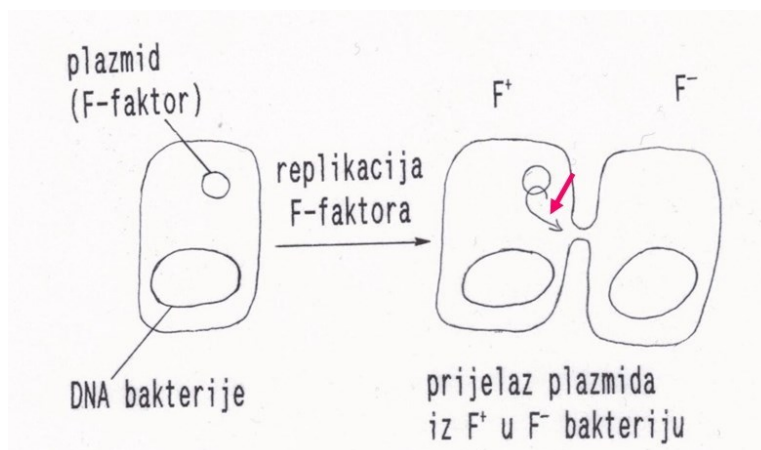
Bakterija *E. coli* je najistraživanija bakterija kada je u pitanju prijenos i izmjena DNA molekule. Kako bi moglo doći do rekombinacije, potrebno je da u stanici postoji još jedna molekula DNA koja će imati gene za ista svojstva na određenim lokusima. To znači da stanica treba primiti dio ili cijeli genom iz druge stanice. Ako bakterijska stanica primi dio genoma iz druge bakterije, takvu stanicu nazivamo merozigota te je ona djelomično diploidna i takva je pojava česta. Ovaj se proces može odvijati na tri različita načina: a) transformacija, b) transdukcija i c) bakterijska konjugacija. Transformacija se odvija kada iz razorene donorske bakterije komadići DNA ulaze u recipijent, vežu se uz homologne gene i formiraju merozigotu, koja se dijelom ponaša kao diploid te postoji mogućnost rekombinacije. Oko 2 % DNA *E. coli* je porijeklom iz drugih bakterija, što čini velik broj gena.

Transdukcija se odvija pomoću virusnog vektora, koji je kod *E. coli* bakteriofag P1. Bakteriofag nema gene za kodiranje proteina važnih za replikaciju i koristi bakteriju za potrebe vlastita razmnožavanja (Slika 44). Bakteriofag P1 se pomoću svojih „nožica“ prihvaća za stanicu *E. coli* i u nju ubacuje svoju DNA. Bakteriofag P1 ima dva ciklusa: u litičkom se ciklusu replicira u bakterijskoj stanici i nakon toga dolazi do raspada (lize) bakterijske stanice i izlaska DNA virusa (jer se brže replicira od bakterijske DNA). U lizogenom ciklusu dolazi do inkorporiranja DNA faga u bakterijsku DNA. To se odvija tako što virusni omotač obavije bakterijsku DNA i prenese ju u sljedeću bakteriju. Takva bakterija normalno funkcionira i dalje se replicira. Pri replikaciji takve bakterije replicira se i virusna DNA koja se prenosi iz generacije u generaciju. Takva se virusna DNA može ponovno izdvojiti iz bakterijske DNA i bakterija prelazi u litički ciklus. U tom se procesu zajedno s virusnom DNA može prenijeti i dio bakterijske DNA, pa će nova bakterija, koja bude zaražena, primiti i dio genoma druge bakterije i postati merozigota.



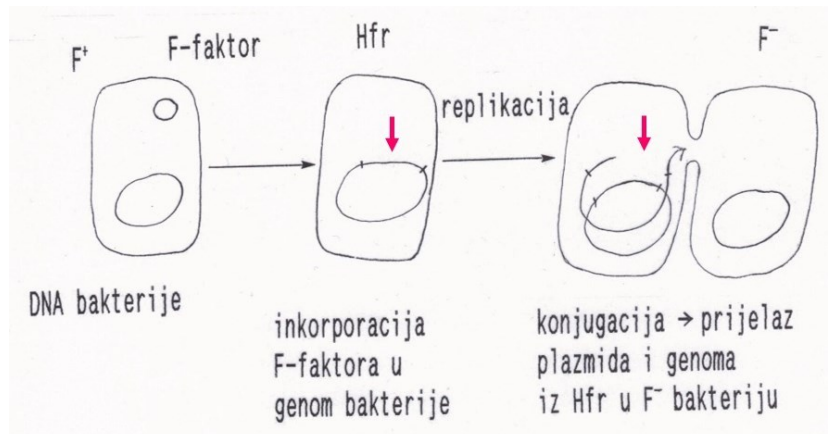
Slika 44. Transdukcija se kod bakterija sastoji od litičkog i lizogenog ciklusa. U litičkom ciklusu dokazi do infekcije bakterijske stanice i umnažanja virusa, koji nakon toga uzrokuju lizu (razgradnju) bakterijske stanice i napadaju druge bakterijske stanice. U lizogenom ciklusu se virusna DNA ugradi u bakterijsku DNA te se pri replikaciji bakterijske DNA replicira i virusna DNA, koja se u nekom trenutku može izdvojiti iz bakterijske DNA i prijeći u litički ciklus (autor: Vera Cesar).

Bakterijska konjugacija je proces kod kojeg dolazi do prijenosa genetičkog materijala između dviju bakterijskih stanica dok su povezane citoplazmatskim mostićem. Neki sojevi bakterija u citoplazmi imaju F^+ faktor (*fertility factor*) kao samostalnu molekula DNA koja omogućava razmjenu DNA (dijela ili cijele) između donora i recipijenta. Takvi se sojevi označavaju kao F^+ , a sojevi u kojima F faktor nije prisutan označavaju se F^- . Proces u kojem F^+ faktor iz jedne bakterijske stanice prelazi u F^- bakterijsku stanicu naziva se F-dukcija i takva stanica postaje F^+ (Slika 45).



Slika 45. F-dukcija je proces prijenosa plazmida s F faktorom iz F^+ bakterije u F^- bakteriju koja postaje F^+ (autor: Vera Cesar).

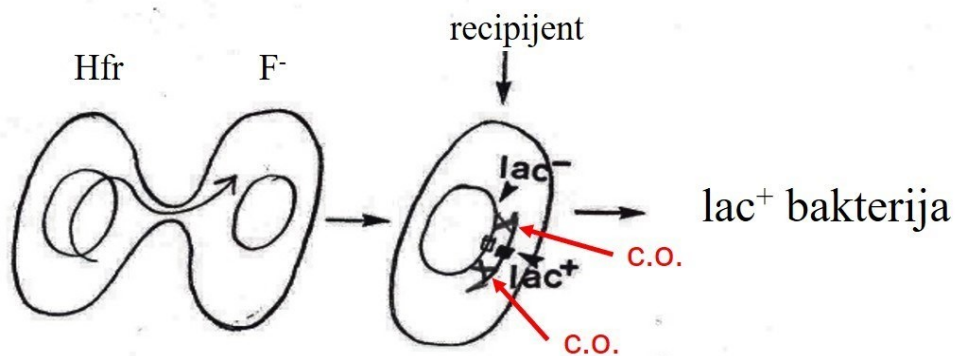
Ako je F^+ faktor inkorporiran u bakterijsku DNA, takve bakterije nazivamo Hfr bakterije (*high frequency recombination*; Slika 46). Takve bakterije su „agresivne“ prema F^- bakterijama, „lijepe“ se za njih, formiraju transmembranske pore i citoplazmatski mostić kojim dolazi do prijenosa DNA iz donora (F^+) u recipijent (F^-). Koliki će dio DNA biti prenesen, ovisi o trajanju konjugacije. Najčešće je to 1/3, no ponekad se prenese i cijela molekula DNA.



Slika 46. Bakterije kod kojih dolazi do inkorporiranja plazmida s F faktorom u bakterijsku DNA nazivaju se Hfr bakterije (*High frequency recombination*). Nakon replikacije DNA Hfr bakterije, koja se „lijepi“ za F^- bakteriju i formira citoplazmatski mostić, dolazi do prijelaza DNA (koja se sastoji od genoma i F^+ faktora) iz stanice donora (Hfr) u stanicu recipijenta (F^-) (autor: Vera Cesar).

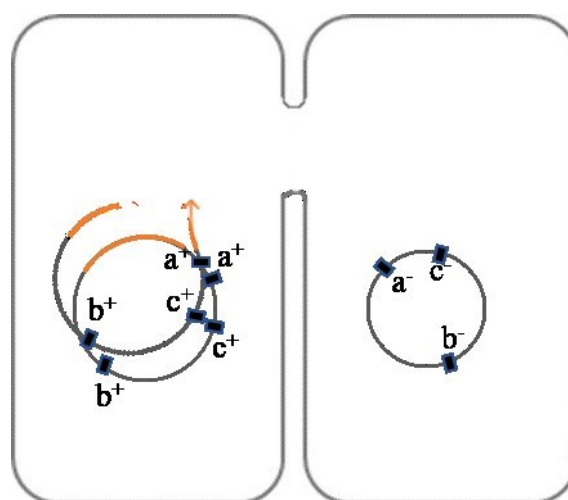
U slučajevima kada stanica recipijent u svojoj DNA sadrži dio genoma donora, takva stanica postaje djelomičan diploid i naziva se merozigota (Slika 47). Na tom području može doći do

izmjene dijelova DNA bakterije i DNA koji je prešao iz stanice donora. Da bi se to moglo dogoditi, potrebna su dva *crossing-overa* (Slika 47).



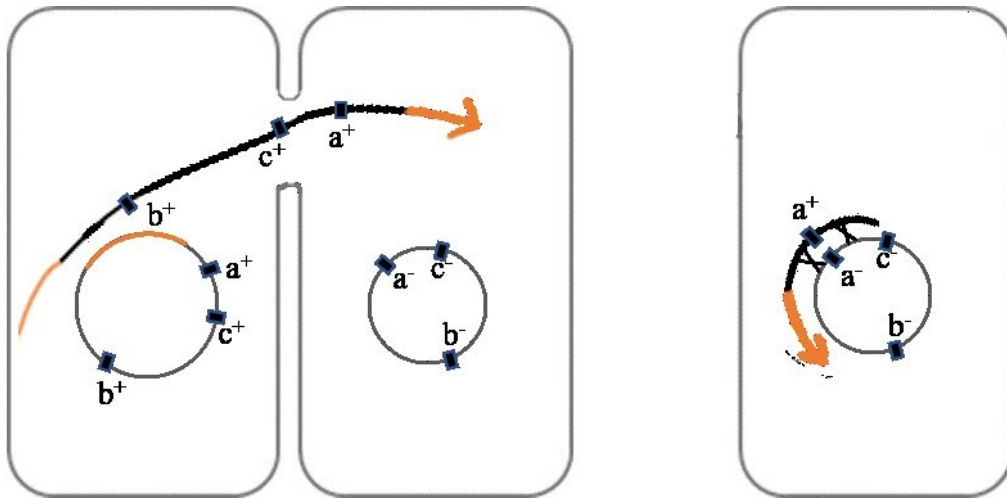
Slika 47. Nastanak merozigote u stanici recipijentu koja ima mutirani gen za sintezu proteina potrebnih za razgradnju laktoze lac^- . Nakon dva *crossing-overa* s genom iz stanice donora, koja ima funkcionalni gen za sintezu proteina potrebnih za razgradnju laktoze, stanica recipijent postaje lac^+ (autor: Vera Cesar).

Konjugacija se, kao jedan od mehanizama prijenosa DNA kod bakterija, može provoditi u kontroliranim eksperimentalnim uvjetima s ciljem kartiranja genoma bakterije, odnosno određivanja redoslijeda gena, kao i njihove međusobne udaljenosti. Kartiranje se provodi na način da se u određenim vremenskim razmacima prekida konjugacija (protresanjem medija s bakterijama dolazi do fizičkog prekida citoplazmatskih mostića) nakon čega se proučavaju rezultati rekombinacije. Za primjer ćemo pratiti rekombinaciju između Hfr bakterije, koja je divlji tip za gene a^+ , b^+ i c^+ i F^- bakterije, koja je mutanta za te iste gene a^- , b^- i c^- (Slika 48).



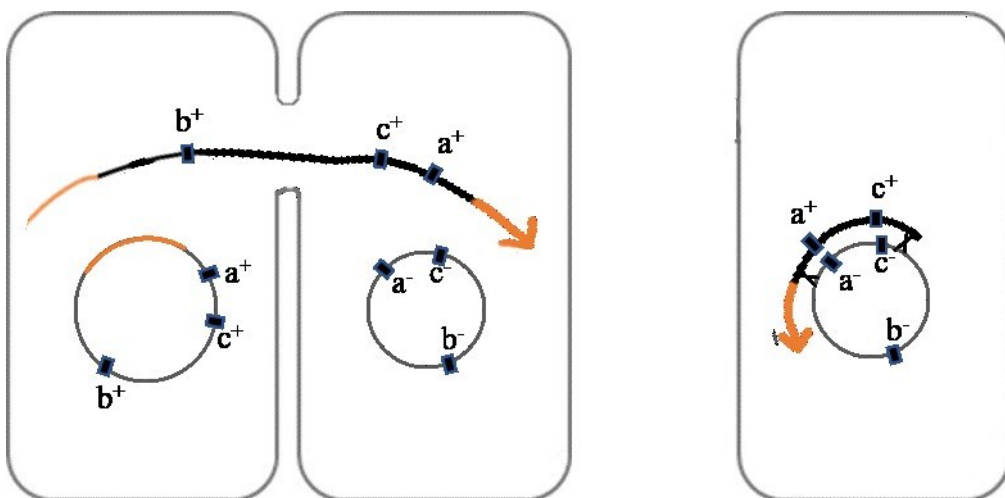
Slika 48. DNA Hfr bakterije se nakon replikacije otvara i preko citoplazmatskog mostića može prijeći u recipijent (F^- bakteriju).

Prvi put je konjugacija prekinuta nakon pet minuta i F^- bakterija je nakon rekombinacije imala genom $a^+ b^- c^-$ (Slika 49).



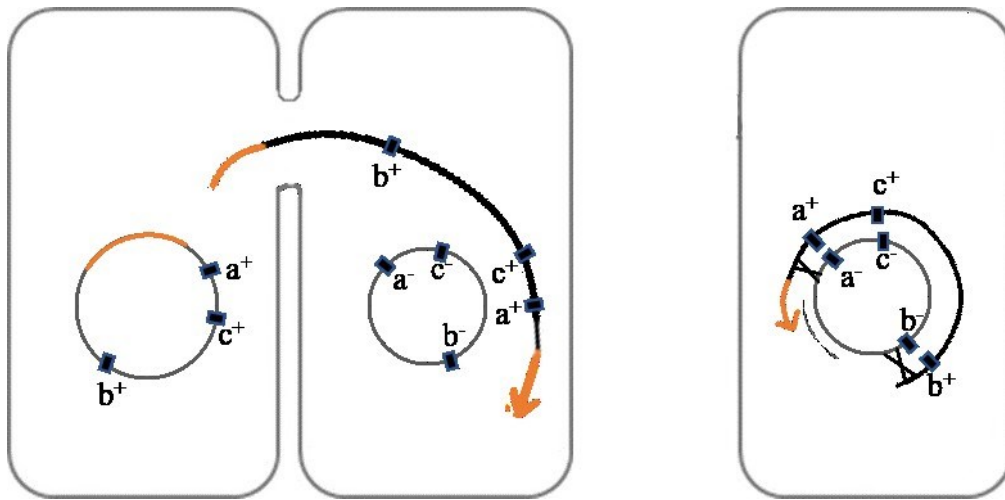
Slika 49. Konjugacija je prekinuta nakon pet minuta. F^- bakterija nakon rekombinacije ima genom $a^+ b^- c^-$.

Drugi put je konjugacija prekinuta nakon 10 minuta i F^- bakterija je imala genom $a^+ b^- c^+$. Iz ovog rezultata možemo zaključiti da se gen c^+ nalazi poslije gena a^+ i da je redoslijed gena $a^+ c^+ b^-$ (Slika 50).



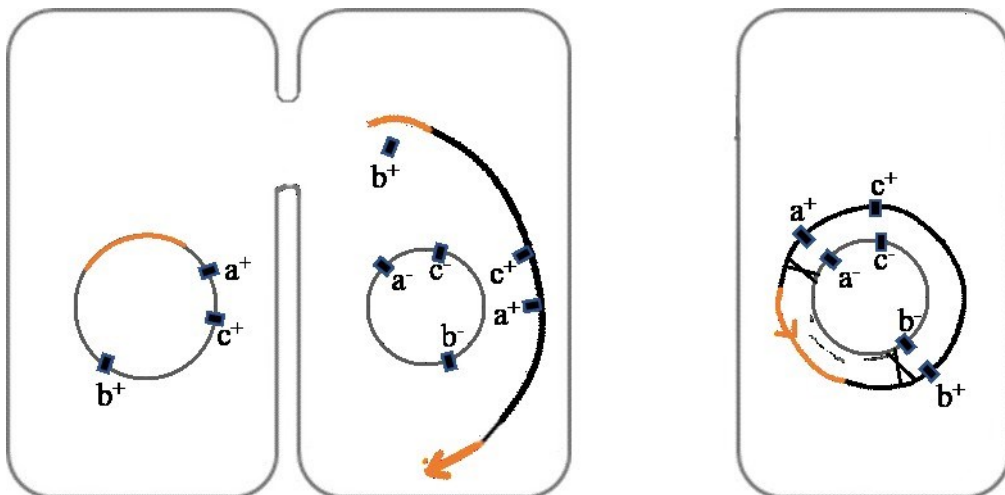
Slika 50. Konjugacija je prekinuta nakon 10 minuta i nakon 15 minuta. F^- bakterija nakon rekombinacije u obama slučajevima ima genom $a^+ c^+ b^-$.

Sljedeći je put konjugacija prekinuta nakon 15 minuta i rezultat je bio isti kao i nakon 10 minuta ($a^+ c^+ b^-$), što nam govori da je gen b^- više udaljen od gena c^+ nego što su međusobno udaljeni geni a^+ i c^+ .



Slika 51. Konjugacija je prekinuta nakon 20 minuta. F^- bakterija nakon rekombinacije ima genom $a^+ c^+ b^-$, no i dalje je F^- .

Nakon sljedeće konjugacije, koja je prekinuta nakon 20 minuta, F^- bakterija imala je genom $a^+ c^+ b^+$, no i dalje je bila F^- jer nije prešao cijeli F faktor (Slika 51). Tek je nakon neprekinute konjugacije došlo do prijenosa cijelog F faktora i bakterija je postala F^+ (Slika 52).



Slika 52. Nakon neprekinute konjugacije došlo je do prijenosa cijelog genoma, uključujući cijeli F faktor, i bakterija je postala F^+ .

Mutageni i mutacije. Mutacije *sensu stricto*: insercija, delecija, *frame-shift*

Ponekad može doći do promjena na DNA molekulama. Te promjene mogu biti makrolezije, odnosno promjene strukture kromosoma (dodavanje ili gubitak dijela kromosoma i samim time promjene broja nukleotida) i točkaste mutacije kod kojih dolazi do promjene jedne ili nekoliko baza. Do promjena dolazi kada u stanici zakažu mehanizmi popravka DNA (primjerice u slučajevima kada ima previše promjena). Promjene koje postaju trajne nazivaju se **mutacije**. Promjene koje se dogode na somatskim stanicama u jednom organizmu mogu se proširiti replikacijom. Ako do promjena dođe u germinativnim stanicama, takve su mutacije generativne i prenose se na sljedeću generaciju. Mutacije su često bezopasne, ali mogu mijenjati fenotip jedinki. Točkaste se mutacije još nazivaju i mutacije *sensu stricto*, odnosno mutacije u užem smislu. One uključuju bazne supstitucije (kada dolazi do zamjene jedne baze drugom bazom), delecije (gubitak baza) i insercije (adicije, odnosno dodavanje baza).

Posljedice bazne supstitucije očituju se u promjeni kôda za sintezu aminokiselina u genima (svaka je aminokiselina određena kôdom od triju baza; Tablica 7). Takve promjene mogu dovesti do sinteze iste aminokiseline i takvu promjenu nazivamo istoznačna mutacija (*synonymous* ili *same sense*). Ako dolazi do sinteze druge aminokiseline, imamo mutaciju s promijenjenim značenjem (*missense*) i ako umjesto sinteze aminokiseline dolazi do zaustavljanja sinteze aminokiselina, takvu mutaciju nazivamo besmislena (*nonsense*) mutacija. Kod istoznačnih mutacija promjena dušične baze ne uzrokuje promjenu aminokiseline (AK) i molekula zadržava isto značenje. Kod mutacije s promjenom značenja promjena dušične baze uzrokuje promijenjenu AK, a kod besmislene mutacije AK prelazi u STOP kodon.

Tablica 7. Genetički kôdovi koji određuju sintezu aminokiselina

		drugo slovo				treće slovo
		U	C	A	G	
prvo slovo	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	

Bazne supstitucije mogu biti **tranzicija**, zamjena jedne purinske baze drugom purinskom bazom, odnosno pirimidinske baze pirimidinskom, ili **transverzija** kod koje dolazi do promjene purinske baze u pirimidinsku bazu i obratno.

Primjeri baznih supstitucija:

original DNA 3' → 5' GATGATGAT

RNA 5' → 3' CUACUACUA

polipeptid Leu Leu Leu

mutacija DNA 3' → 5' GACGATGAT

RNA 5' → 3' CUGCUACUA

polipeptid Leu Leu Leu

tranzicija (T → C)

istoznačna mutacija

mutacija DNA 3' --> 5' GAAGATGAT	transverzija (T → A)
RNA 5' --> 3' CUUCUACUA	
polipeptid Leu Leu Leu	istoznačna mutacija
mutacija DNA 3' --> 5' TATGATGAT	transverzija (G → T)
RNA 5' --> 3' AUACUACUA	
polipeptid Ile Leu Leu	mutacija s promjenom značenja
mutacija DNA 3' --> 5' GATATTGAT	tranzicija (G → A) i transverzija (A → T)
RNA 5' --> 3' CUAUAACUA	
polipeptid Leu STOP	besmislena mutacija

Insercije i delecije za posljedicu mogu imati **pomak okvira čitanja** (ako promjena broja baza nije višekratnik broja tri), odnosno *frame-shift* mutaciju. Ako dođe do insercije ili delecije triju baza (ili višekratnika broja tri), dolazi do umetanja ili gubitka aminokiselina jer se genetički kôd sastoji od triju baza.

Delecija: original GAT GAT GAT → GAT GAT GAT GAG ATG AT

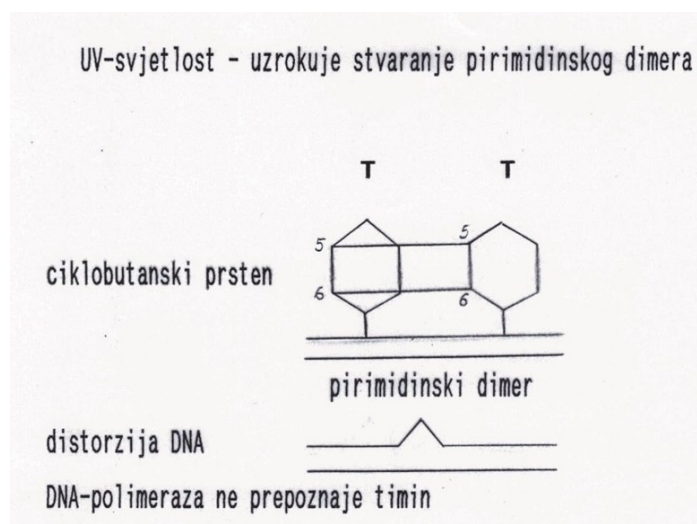
Insercija: original GAT GAT GAT → GAT TGAT GAT GAT TGA TGA T

U fiziološkim uvjetima može doći do spontanog oštećenja DNA i ona su relativno česta, stoga su se tijekom evolucije razvili mehanizmi za popravak takvih oštećenja te se takve promjene uklanjaju i ne predstavljaju mutacije. No ako je promjena više nego što ih stanica može popraviti, nastaju trajne promjene koje postaju mutacije. Oštećenja DNA mogu biti i inducirana te je promjena koja nastaje posljedica djelovanja različitih agensa koje nazivamo mutagenima. Važno je naglasiti da nisu svi mutageni istovremeno i kancerogeni (iako dio mutagena ima i kancerogeno djelovanje). Mutageni mogu uzrokovati depurinaciju koja najčešće nastaje pucanjem N-glikozidne veze i javlja se učestalošću 5 – 10 000 puta tijekom 24 sata u svakoj stanici. Deaminacija, odnosno gubitak *amino skupine*, javlja se dosta rjeđe, nekoliko stotina puta tijekom 24 sata u svakoj stanici. Kod deaminacije adenin prelazi u hipoksantin koji se sparuje s citozinom, a gvanin prelazi u ksantin koji se ne sparuje s drugim bazama. Vrlo učestala promjena u stanicama je deaminacija citozina u uracil (Slika 53).



uracil

Najčešći mutageni agensi su nitritna kiselina, alkilirajući agensi, interkalirajući agensi, UV zračenje i ionizirajuće zračenje. Nitritna kiselina povećava učestalost deaminacije baza koja prelazi kapacitet mehanizma popravka i stoga uzrokuje mutacije. Alkilirajući agensi uzrokuju promjene purina i pirimidina tako što im dodaju alkilne skupine i omogućavaju formiranje kovalentnih veza između antiparalelnih lanaca molekule DNA, što onemogućava njihovo razdvajanje, odnosno replikaciju i transkripciju (helikaze razdvajaju vodikove veze, no ne mogu razdvojiti kovalentne veze). Interkalirajući agensi su tvari planarne strukture, čija građa podsjeća na dušične baze i zbog toga se ubacuju između parova baza te onemogućuju pravilno čitanje baza, što za posljedicu može imati deleciju ili inserciju baza. Etidijum bromid i akridin-oranž su boje koje se zbog svojstva vezivanja na DNA molekulu često koriste u laboratorijima, a i jaki su mutageni. UV zračenje uzrokuje stvaranje pirimidinskih dimera i distorziju oblika DNA (Slika 54). U timinu dolazi do pucanja dvostruke veze između 5 i 6 C-atoma, što uzrokuje kovalentno povezivanje dvaju susjednih timina koji formiraju ciklobutanski prsten. DNA polimeraza ne prepoznaje takav izmijenjeni timin i tu se polimerizacija zaustavlja. Ionizirajuće zračenje (X, γ, kozmičko) može uzrokovati sve vrste oštećenja i dovodi do cijepanja fosfodiesterskih veza, a najčešće su mutacije jednolančani i dvolančani lomovi.



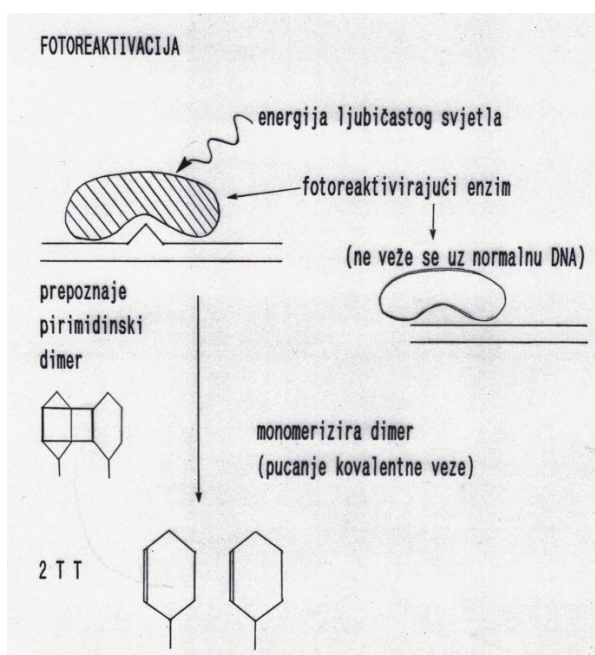
Slika 54. Pod utjecajem UV zračenja puca dvostruka veza između atoma C5 i C6 te se dva susjedna timina međusobno povezuju kovalentnom vezom i formiraju ciklobutanski prsten (autor: Vera Cesar).

Neke od točkastih mutacija mogu uzrokovati bolesti. Primjeri kod čovjeka su cistična fibroza kod koje je promjena uzrokovana mutacijom na genu smještenom na dugom kraku 7. kromosoma (najčešće delecijom triju nukleotida, no može biti uzrokovana i besmislenom mutacijom). Kod ljudi je poznato oko 2000 različitih promjena na genu odgovornom za ovu bolest (od čega su najbrojnije mutacije kod kojih je došlo do delecije dijela gena). Sve navedene mutacije su recesivne i bolest se javlja isključivo kod recesivnih homozigota. Bolest uzrokuje poremećaje u proizvodnji sluzi u žlijezdama s vanjskim izlučivanjem i očituje se promjenama u probavnom i dišnom sustavu zbog kojih je životni vijek oboljelih skraćen. Srpasta anemija, bolest crvenih krvnih stanica, nastaje kao posljedica supstitucije glutaminske kiseline u valin.

Mehanizmi popravka DNA

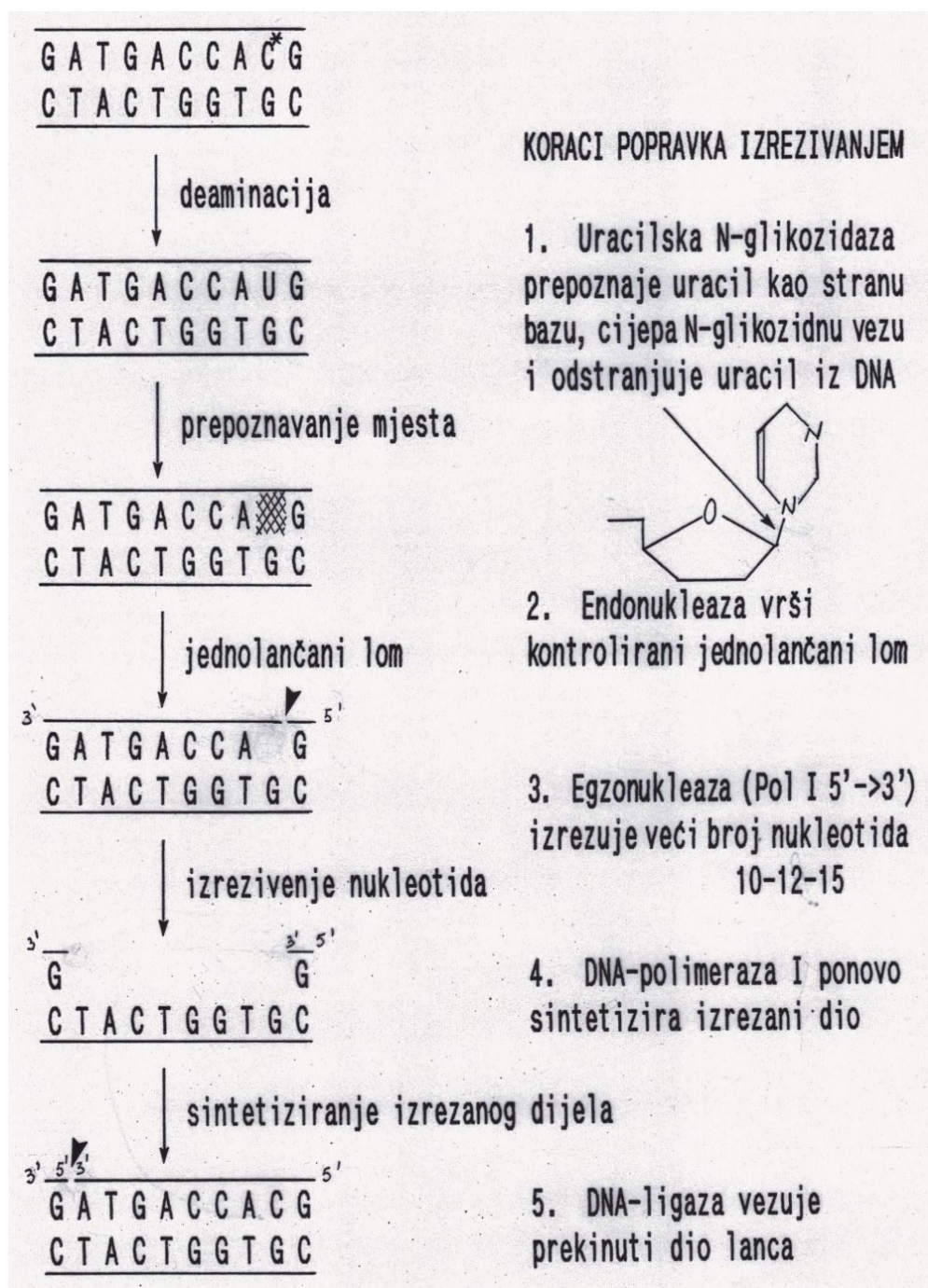
Prilikom replikacije ili pod utjecajem raznih agenasa može doći do pogrešaka u redoslijedu nukleotida u molekuli DNA. No kako bi se takve pogreške spriječile i ispravile, postoje tri glavna načina popravka DNA molekule: 1) fotoreaktivacija, 2) popravak izrezivanjem i 3) rekombinacijski popravak.

Procesom fotoreaktivacije energija ljubičastog svjetla aktivira fotoreaktivirajući enzim koji prepoznaje pirimidinski dimer, veže se na njega i monomerizira ga, odnosno uzrokuje pucanje kovalentne veze (Slika 55).



Slika 55. Energija ljubičastog svjetla aktivira fotoreaktivirajući enzim koji prepoznaje pirimidinski dimer, veže se na njega i monomerizira ga (autor: Vera Cesar).

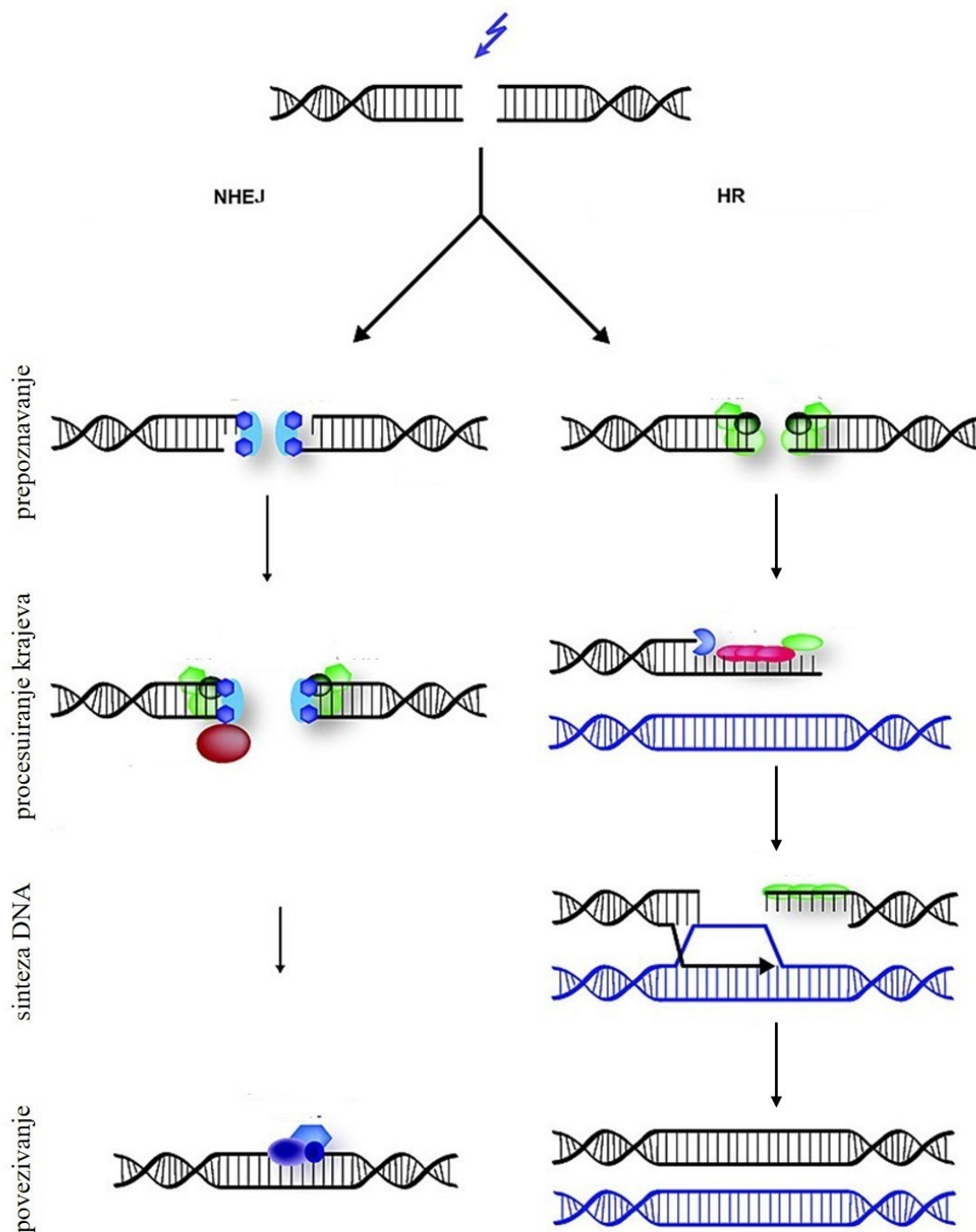
Popravak izrezivanjem (ekscizijom) sastoji se od pet koraka (Slika 56). U prvom koraku uracilska N-glikozidaza prepoznaje uracil kao stranu bazu, cijepa N-glikozidnu vezu i odstranjuje uracil iz DNA molekule. U sljedećem koraku endonukleaza kontrolirano provodi jednolančani lom, a u trećoj fazi egzonukleaza izrezuje veći broj nukleotida (5' → 3'; 10-12-15). U četvrtom koraku DNA-polimeraza I ponovno sintetizira izrezani dio, a u zadnjoj fazi DNA-ligaza vezuje prekinuti dio lanca.



Slika 56. Popravak izrezivanjem počinje djelovanjem uracilske N-glikozidaze koja prepoznaje uracil kao stranu bazu, cijepa N-glikozidnu vezu i odstranjuje uracil iz DNA molekule. Potom endonukleaza kontrolirano provodi jednolančani lom, a nakon toga egzonukleaza izrezuje veći broj nukleotida (5' → 3'; 10-12-15). Zatim DNA-polimeraza I ponovno sintetizira izrezani dio i DNA-ligaza vezuje prekinuti dio lanca (autor: Vera Cesar).

Kod dvolančanoga kromosomskog loma može doći do homolognoga rekombinacijskog popravka kod kojeg drugi homologni kromosom služi kao kalup za replikaciju te se izgubljeni dio DNA na taj način nadopuni (Slika 57). U nekim slučajevima može doći do nehomolognog

spajanja krajeva (*non-homologous end joining*, NHEJ) kod kojeg se dio DNA trajno gubi (Slika 57).



Slika 57. Popravak dvolančanoga kromosomskog loma. Nehomologno spajanje krajeva (*non-homologous end joining*, NHEJ) i homologna rekombinacija (HR) kod sisavaca tijekom dvolančanog loma DNA (preuzeto i prilagođeno iz Lans i sur., 2012).

Ekstranuklearno (citoplazmatsko) nasljeđivanje

Istraživanja su pokazala da se nasljeđivanje pojedinih svojstava ne odvija po Mendelovim zakonima. Kod nekih je biljaka primijećeno da se određena svojstva nasljeđuju isključivo preko ženske biljke. To svojstvo je kasnije objašnjeno kao nasljeđivanje koje se odvija izvan jezgre, odnosno citoplazmatsko nasljeđivanje. Ono uključuje prijenos DNA molekula u organelima kao što su kloroplasti i mitohondriji. Ovisno o skupini, kod biljaka imamo vrste kod kojih se organeli nasljeđuju od ženske biljke (najčešći slučaj), kod nekih se nasljeđuju od muške biljke, a kod nekih podjednako od jedne i druge. Mitohondriji se najvećim dijelom nasljeđuju od ženskog roditelja, a broj mitohondrija u stanici varira od 10 do 10 000.

Ne-Mendelsko nasljeđivanje možemo podijeliti u tri skupine:

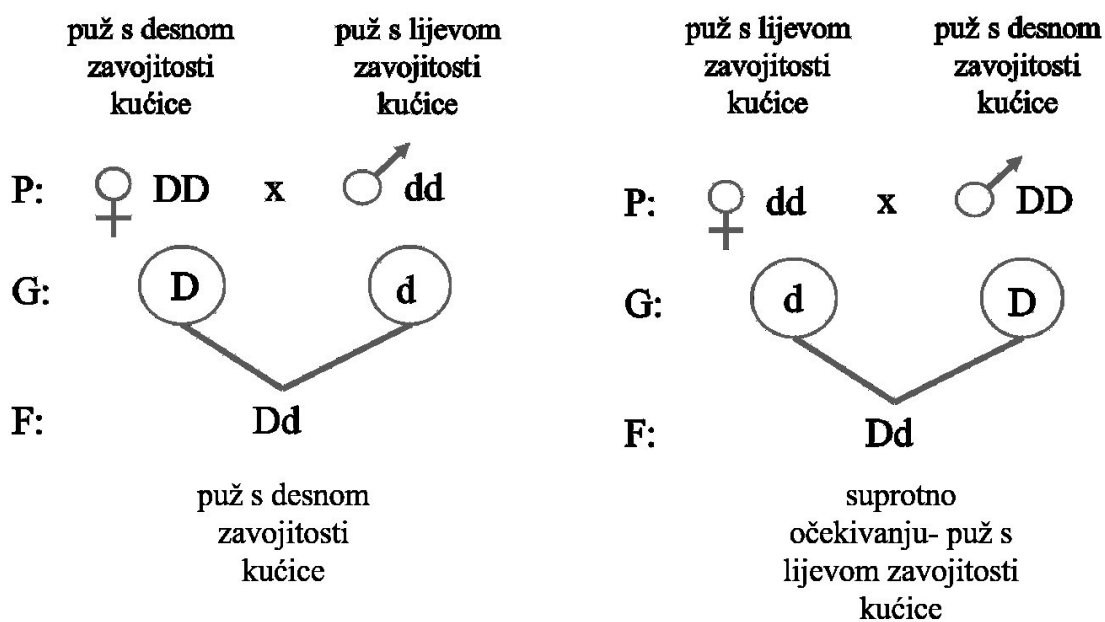
- 1) nasljeđivanje vezano uza stanične strukture (mRNA, proteini)
- 2) nasljeđivanje uzrokovano unutarstaničnim parazitima, simbiontima ili virusima
- 3) nasljeđivanje putem organela koji imaju vlastitu DNA molekulu (mitohondriji i kloroplasti).

Citoplazmatsko je nasljeđivanje prvi put opisano kod vrsta *Mirabilis jalapa* (noćurak) i pelargonije (*Pelargonium zonale*). Na prijelazu u 20. stoljeće je njemački botaničar Carl Correns proučavao tri različita oblika noćurka – biljke sa zelenim listovima, biljke s bijelim listovima i biljke s obama tipovima listova. U svojim je križanjima uočio da nasljeđivanje boje listova ne prati Mendelovo pravilo, nego boja listova ovisi o boji listova ženske biljke, a slično je istraživao i Baur kod biljke *Pelargonium zonale*. Kasnije je objašnjeno kako boja listova ovisi o kloroplastima koji se nasljeđuju iz jajne stanice.

Kod životinja jajna stanica ima veliku količinu citoplazme, a kod spermija je ta količina zanemariva. Stoga se stanične molekule (primjerice mRNA transkripti) nasljeđuju od majke i to predstavlja majčinski učinak. Jedan takav primjer je zavojitost kućice kod puža barnjaka (*Peregriana peregra*) kod kojeg je desna zavojitost dominantna i određena je genom D (Slika 58). Unatoč tomu, ako je ženska jedinka imala lijevu zavojitost kućice, i potomci će također imati lijevu zavojitost kućice bez obzira na genotip same jedinke (Slika 59). Naime, zavojitost se kućice formira pri prvoj diobi zigote, a smjer je određen po majčinu genotipu i djelovanje dominantnoga gena D vidjet će se tek u drugoj generaciji.



Slika 58. Zavojitost kućice kod puža barnjaka (*Peregriana peregra*).



Slika 59. Nasljeđivanje zavojitosti kod puža barnjaka (*Peregriana peregra*): a) križanjem ženke desne zavojitosti u potomstvu javlja se desna zavojitost, sukladno očekivanju; b) križanjem ženke lijeve zavojitosti će potomstvo u prvoj generaciji također imati lijevu zavojitost, što je suprotno očekivanjima, a nastaje kao posljedica majčinskog učinka.

Kod nekih organizama u citoplazmi mogu biti prisutni endosimbionti ili endoparaziti koji se preko majčine citoplazme dalje prenose na potomstvo. Kod vinske mušice primjeri takvog tipa nasljeđivanja su osjetljivost na CO₂ i promjena omjera spolova u potomstvu (pri temperaturi od 21 °C ili manje razvijaju se većinom jedinke ženskog spola).

Još jedan primjer takvog djelovanja su kappa-čestice kod papučice (*Paramecium aurelia*). Sonneborn je 1938. godine primijetio postojanje papučica „ubojica“ i „osjetljivih“ papučica. Miješanjem ovih dvaju sojeva papučica u zajedničkom mediju sve „osjetljive“ papučice vrlo brzo ugibaju. Utvrđeno je da papučice „ubojice“ u citoplazmi sadrže tzv. „kappa“-čestice koje su zapravo gram-negativne bakterije. Kappa-čestice proizvode protein paramecin koji ubija „osjetljive“ papučice, no nema utjecaja na preživljavanje papučica „ubojica“. Fenotip papučica ovisi i o genima u jezgri. Da bi kappa-čestice bile prisutne u citoplazmi, jedinka mora imati dominantni gen K, koji omogućava replikaciju kappa-čestica, a kod homozigotnih kk jedinki kappa-čestice nisu prisutne. Papučice se mogu razmnožavati aseksualno (binarnom diobom) ili procesom konjugacije kod kojeg dolazi do izmjene genetičkog materijala između dviju jedinki putem citoplazmatskog mostića. Ako konjugacija traje kratko i ne dođe do razmjene citoplazme konjugacijom „osjetljive“ papučice i papučice „ubojice“, nastaju dva tipa klonova; iz papučice „ubojice“ nastaju stanice koje imaju gen K (Kk) i kappa-čestice u citoplazmi. Iz „osjetljive“ papučice nastaju jedinke koje također imaju gen K (Kk), ali nemaju prisutne kappa-čestice i dalje su „osjetljive“. Ako tijekom konjugacije dolazi i do razmjene citoplazme, doći će do prijenosa kappa-čestica u „osjetljivu“ papučicu koja će tada također postati „ubojica“.

Regulacija genske ekspresije

Sve stanice u tijelu nekoga višestaničnog organizma imaju isti genetički materijal. No stanice istog organizma ne izgledaju sve jednako niti imaju istu funkciju, a to ovisi o ekspresiji gena i aktivni su samo oni geni na kojima se odvija transkripcija.

Ako bi se transkripcija odvijala na svim genima istovremeno, stanice ne bi mogle funkcionirati. Kako bi se osigurao pravilni razvoj i funkcioniranje višestaničnog organizma, ekspresija je gena regulirana različitim mehanizmima koji kontroliraju transkripciju. Transkripcija se odvija pomoću RNA polimeraze koja najprije prepoznaje mjesto početka transkripcije, odnosno promotora. Promotore dijelimo na jake i slabe. Jaki promotori su oni kod kojih se transkripcija gena odvija u gotovo svim uvjetima i geni pod kontrolom jakih promotora su gotovo uvijek aktivni. Za razliku od jakih promotora, geni koji su pod utjecajem slabih promotora se većinom ne prepisuju i njihova je transkripcija regulirana pomoću različitih mehanizama koji omogućavaju njezin početak. Ako se radi o jakom promotoru, RNA polimeraza prepoznaje određene sekvence nukleotida na definiranim mjestima u odnosu na početak transkripcije. Ako se pak radi o slabom promotoru koji nije usklađen s σ faktorom RNA polimeraze, da bi došlo do početka transkripcije, potrebna je pomoć aktivatora.

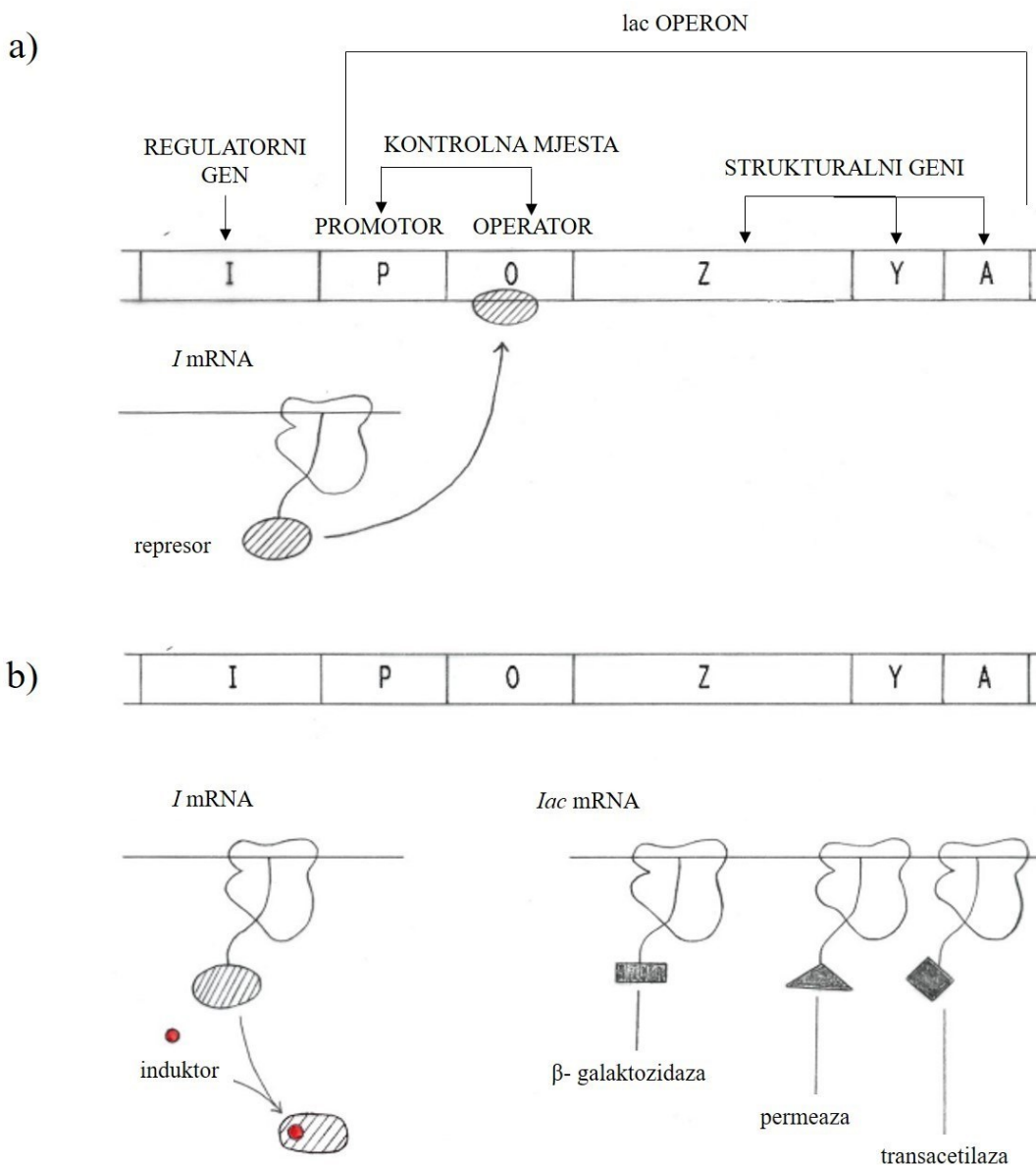
Kod eucita je molekula DNA omotana oko histonskih proteina i zajedno s njima tvori kromatin. Ovisno o epigenetičkim modifikacijama i stupnju kompaktnosti kromatina, takvi geni mogu biti neaktivni („ušutkani“, *silenced*) i promjenom epigenetičkih biljega na histonskim proteinima (npr. promjena iz metiliranog u acetilirani oblik, fosforilacija i sl.) se kromatin „otvara“, a DNA segment koji sadrži informaciju o genu postaje „dostupan“ i može se transkribirati. Stupanj kondenzacije kromatina općenito je važan u regulaciji i koordinaciji transkripcijske aktivnosti velikog broja gena: heterokromatin se tako vezuje uz utišavanje transkripcijske aktivnosti gena, a transkripcijski aktivni geni karakteristični su za eukromatin. Kod eucita je regulacija gena vrlo kompleksan proces i, između ostaloga, ovisi i o transkripcijskim faktorima koji će omogućiti vezanje RNA polimeraze i transkripciju.

Kod protocita je najbolje proučena regulacija genske ekspresije putem operona. Operon je genetički materijal koji se sastoji od promotora, operatora, jednog ili više regulatornih gena i strukturalnih gena koji se transkribiraju zajedno s jednog promotora, a čiji su produkti funkcionalno povezani. Promotor je dio DNA molekule na koji se veže RNA polimeraza i koji inicira transkripciju. Operator je regulatorni dio koji kontrolira pristup RNA polimeraze promotoru. Ako je represor vezan na operator, onemogućuje vezanje RNA polimeraze za promotor i samim time sprečava početak transkripcije. Represori su alosterički proteini, što

znači da mogu mijenjati svoj oblik, odnosno da imaju više od jedne stabilne konformacije, od čega jedna konformacija ima mogućnost vezanja za DNA, a druga nema. Operoni omogućuju regulaciju genske ekspresije u ovisnosti o okolišnim uvjetima. Primjerice, lac operon kod bakterije *E. coli* je aktivan kada je u okolišu prisutna laktoza i omogućuje bakteriji da ju iskoristi kao izvor energije. Ako u stanici nije prisutna laktoza, represor je vezan za operator i operon nije aktivan (Slika 60a). Ako je laktoza prisutna, induktor (odnosno laktoza) se veže na represor koji mijenja svoju konformaciju i oslobađa pristup RNA polimerazi da se veže za promotor te započinje transkripciju i proizvodnju enzima za razgradnju laktoze (Slika 60b).

U organizmima često produkti nekoga metaboličkog procesa sudjeluju i u regulaciji toga istog procesa (sustav povratne sprege; ako nekog produkta ima dovoljno, on će sudjelovati u inhibiciji njegove sinteze i obrnuto, ako nedostaje, omogućit će se njegova sinteza). Regulacija genske aktivnosti može biti pozitivna i negativna. Aktivnost RNA polimeraze, koja je regulirana represorima, nazivamo negativnom regulacijom genske aktivnosti, a može biti inducibilna i represibilna. Pozitivna regulacija genske aktivnosti odvija se uz prisutnost aktivatora.

Lac operon je primjer **inducibilne negativne** regulacije genske aktivnosti. Kod lac operona u normalnom stanju je za operator vezan represor i gen nije aktivan. Unosom laktoze u stanicu (koja ima ulogu induktora) ona se veže za represor koji mijenja oblik, oslobađa mjesto na operatoru i dolazi do vezanja RNA polimeraze i aktivacije gena (Slika 61a). Lac operon se sastoji od triju gena: Lac Z, Lac Y i Lac A i nakon što je proizvedena laktaza dolazi do razgradnje dostupne laktoze. Kada laktoza više nije vezana za represor (odnosno kada više nije prisutna u stanici), represor mijenja oblik i ponovno se veže na operator i zaustavlja proces transkripcije gena za laktazu.

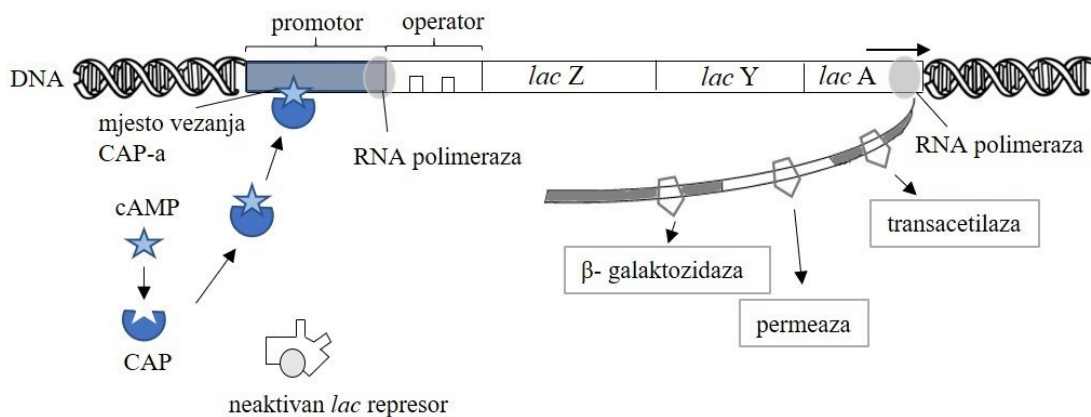


Slika 60. Regulacija genske ekspresije putem lac operona kod bakterije *E. coli*: a) kada u stanici nije prisutna laktoza, represor je vezan za operator i onemogućuje vezanje RNA polimeraze na promotor, b) ako je prisutna laktoza, ona se veže za represor i oslobađa mjesto na DNA molekuli omogućujući RNA polimerazi da se veže za promotor i operon je aktivan (autor: Vera Cesar).

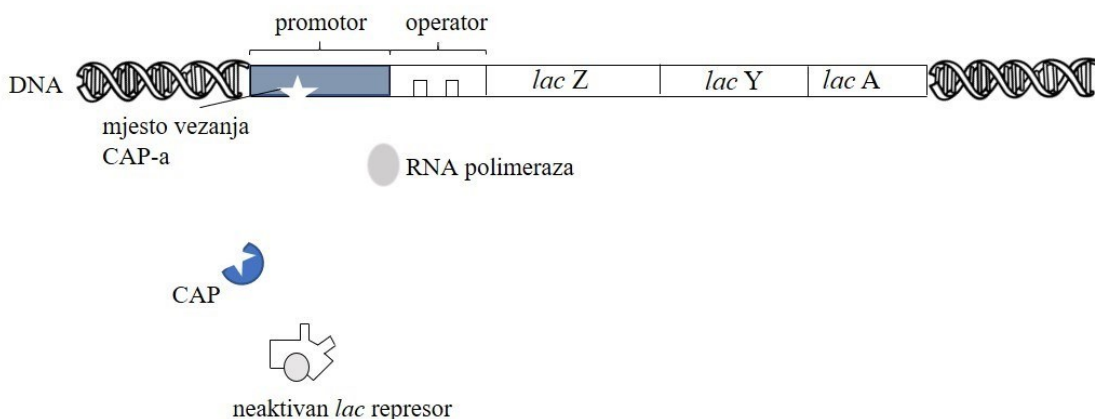
Promotor lac operona je slabi promotor i njegova je aktivnost dvostruko regulirana. Osim negativnom kontrolom genske aktivnosti kontroliran je i aktivacijom, odnosno pozitivnom kontrolom genske aktivnosti. Prvi stupanj regulacije lac operona ovisi o prisutnosti glukoze s obzirom na to da je glukoza dostupniji izvor energije naspram laktoze. Naime, da bi se laktoza mogla iskoristiti, najprije se mora razgraditi na galaktozu i glukozu, što zahtijeva potrošnju energije. Kada je glukoza prisutna u stanici, osigurava sintezu ATP-a u stanicama putem

glikolize i ciklusa limunske kiseline (Slika 61b). No kada glukoza nije prisutna u stanici, AMP prelazi u cikličku formu i koncentracija cAMP-a je obrnuto proporcionalna koncentraciji glukoze. Ovo je primjer pozitivne genske regulacije kod koje signalna molekula stvara kompleks koji dolazi u interakciju s DNA molekulom i aktivator povećava afinitet RNA polimeraze za promotor. Budući da lac operon ima slabi promotor, potreban mu je aktivator da bi ga σ faktor RNA polimeraze prepoznao. Aktivator je CAP (*catabolic activation protein*) koji se veže za promotor jedino ako je spojen s cAMP-om. Da bi lac operon bio aktivan, moraju biti zadovoljena dva uvjeta: da u stanici nije prisutna glukoza i da je prisutna laktoza. Ako jedan od ovih uvjeta nije zadovoljen, lac operon neće biti aktivan.

a) Prisutna je laktoza, nije prisutna glukoza (cAMP razina je visoka)



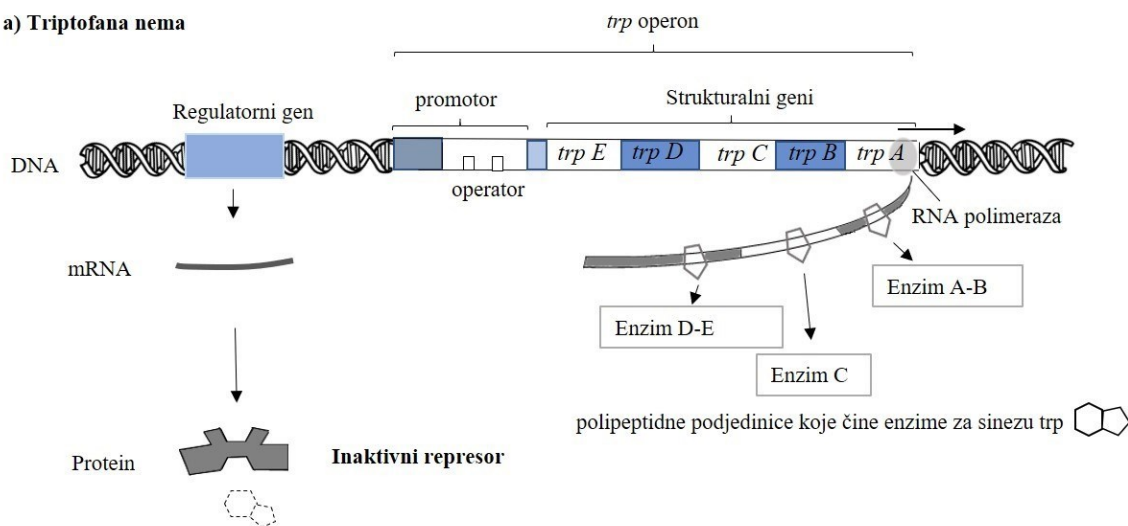
b) Prisutna je laktoza, prisutna je glukoza (cAMP razina je niska)



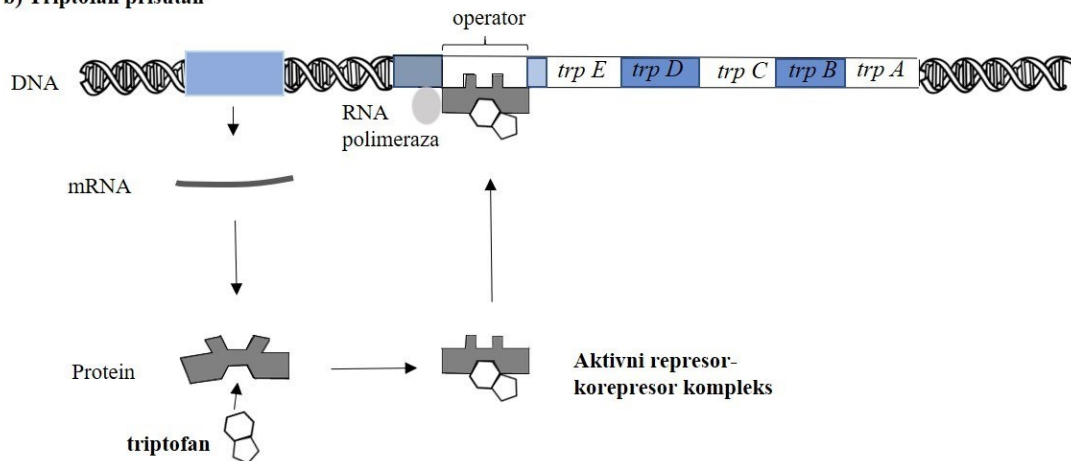
Slika 61. Regulacija lac operona: a) u slučaju kada u stanici ima laktoze i nema glukoze prisutna je visoka razina cAMP-a i lac operon je aktivan, b) ako je u stanici prisutna glukoza, cAMP nije vezan za CAP, a CAP nije vezan za promotor i lac operon nije aktivan (bez obzira na prisutnost laktoze).

U sintezi triptofana kod *E. coli* sudjeluje pet enzima, čiji se geni nalaze jedan do drugoga (*trp E*, *trp D*, *trp C*, *trp B*, *trp A*; Slika 62). Sinteza triptofana je u normalnim uvjetima aktivna i odvija se neprestano dokle god ne dođe do zasićenja (Slika 62a). Kada triptofana ima dovoljno, on se veže za represor i ima ulogu korepresora (Slika 62b). Kompleks represor – korepresor veže se na operator, sprečava vezanje δ faktora RNA polimeraze za DNA i transkripcija je onemogućena. Ovaj način genske regulacije je primjer **represibilne negativne** regulacije genske aktivnosti.

a) Triptofana nema



b) Triptofan prisutan



Slika 62. Regulacija *trp* operona: a) u slučaju kada u stanici nema triptofana, operon je aktivan i u stanici se odvija sinteza triptofana, b) ako je u stanici prisutan triptofan, veže se za represor s kojim tvori represor – korepresor kompleks, veže se na operator i operon nije aktivan.

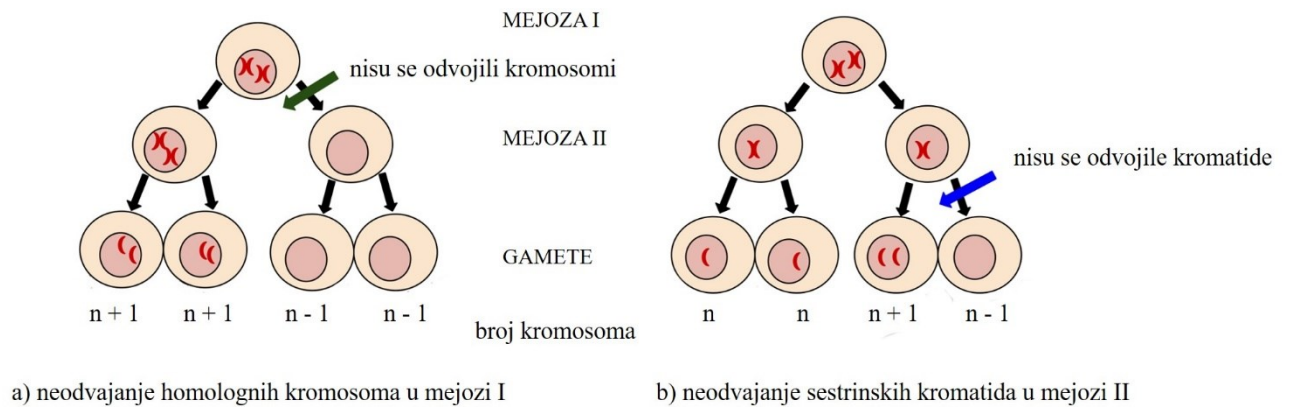
Promjene broja kromosoma: aneuploidije, euploidije

Citogenetika se bavi istraživanjem strukture i funkcije kromosoma s naglaskom na promjene u kariotipu, a uključuje diobu, fizikalna svojstva, ulogu u nasljeđivanju i genetičke poremećaje. Citogenetika kombinira aspekte biologije stanice, molekularne biologije i genetike s ciljem što boljeg razumijevanja uloge kromosoma u razvoju i funkcioniranju pojedinog organizma. Ona uključuje analize kromosoma na razini pojedinih stanica primjenom raznih metoda poput izrade kariograma, fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH) i drugih. Primjena tih metoda omogućava vizualiziranje i analizu kromosoma kako bi se mogle utvrditi strukturne promjene (npr. velike delecije, inverzije, translokacije) i promjene broja kromosoma. Humana se citogenetika bavi promjenama u humanom kariotipu i njezin je najveći značaj istraživanje različitih bolesti kod čovjeka uzrokovanih djelovanjem gena.

Općenito, promjene broja kromosoma mogu se podijeliti u dvije skupine – **aneuploidije** i **euploidije**. Aneuploidije se odnose na promjene broja pojedinih kromosoma u stanici, a poliploidije obuhvaćaju promjene ukupnog broja kromosoma (umjesto normalnoga diploidnog broja kromosoma $2n$, stanica može imati n , $3n$, $4n$ itd.).

Aneuploidije nastaju kao posljedica abnormalnog broja kromosoma. Za razliku od normalnih diploidnih stanica kod kojih je svaki kromosom prisutan u dvjema kopijama, kod aneuploidije nedostaje jedan ili nekoliko kromosoma ili ih ima u suvišku. Aneuploidija uzrokuje neravnotežu kromosoma koja za posljedicu ima abnormalni fenotip. Do aneuploidije dolazi zbog nerazdvajanja kromosoma (u anafazi I mejoze) ili kromatida (u anafazi II mejoze ili anafazi mitoze) (Slika 63).

Organizam koji ima jedan kromosom viška ($2n + 1$) naziva se trisomik, dvostruki trisomik ima dva različita kromosoma viška ($2n + 1 + 1$), tetrasomik ima dva ista kromosoma viška ($2n + 2$; nije isto što i dvostruki trisomik iako imaju isti broj kromosoma), monosomik ima jedan kromosom manje ($2n - 1$), a nulisomiku nedostaje jedan par kromosoma ($2n - 2$).

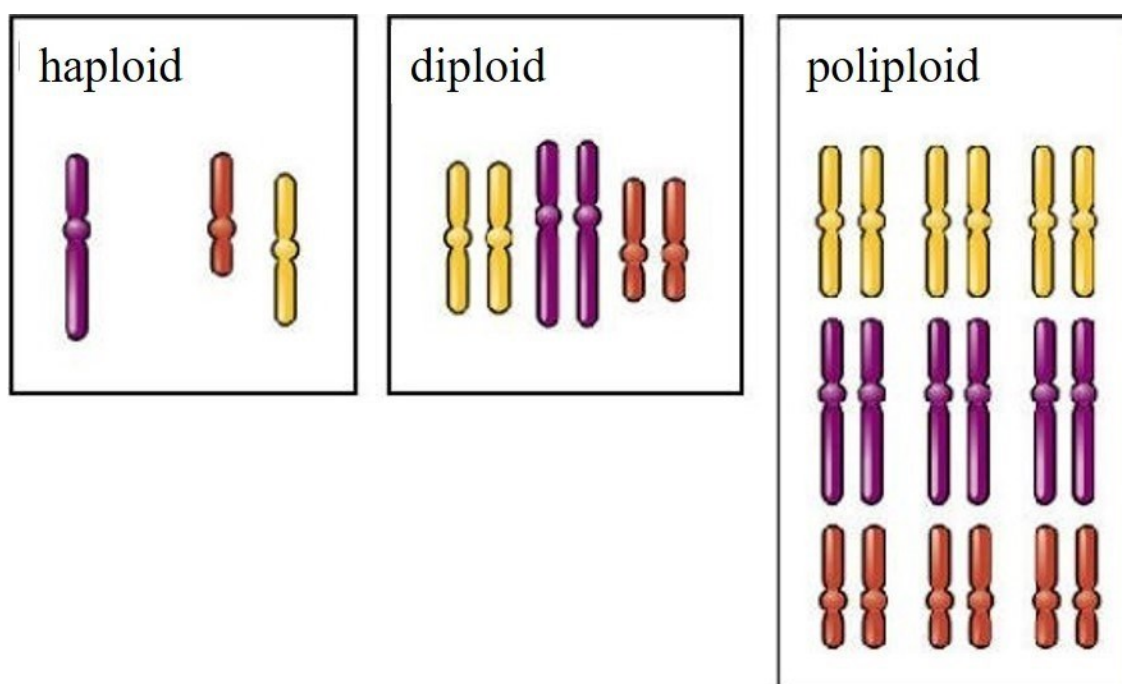


Slika 63. Nastanak aneuploidnih organizama tijekom mejoze: a) do aneuploidije je došlo u mejozi I, b) do aneuploidije je došlo u mejozi II. (preuzeto i prilagođeno iz web 6).

Aneuploidije su kod ljudi dobro proučene i nedostatak kromosoma kod ljudi je većinom letalan. Od poremećaja broja spolnih kromosoma treba spomenuti Turnerov sindrom, $2n = 45, X0$, kod kojeg osoba ima samo jedan spolni kromosom X, a drugi spolni kromosom nedostaje (u potpunosti ili dijelom). Ovo je najčešći poremećaj spolnih kromosoma kod žena, a neki od simptoma su širok vrat ili labavi nabori kože na vratu, nizak rast, širok prsni koš sa široko razmaknutim bradavicama, srčane malformacije, poremećaj razvoja jajnika i neplodnost. Klinefelterov sindrom se javlja kod osoba muškog fenotipa koje imaju dvije kopije kromosoma X i jednu kopiju kromosoma Y ($2n = 47, XXY$). Dječaci s ovim simptomom su često visoka rasta s dugim udovima i mogu imati smanjene i čvrste testise i ginekomastiju (povećanje grudi). Kod nekih se osoba Klinefelterov sindrom otkriva tek prilikom obrade neplodnosti. Rjeđe se javljaju sindrom $2n = 47, XYY$, sindrom $48, 2n = 48, XXXY$ i sindrom $49, 2n = 49, XXXXY$. Od duplikacija autosoma najčešća je trisomija 21. kromosoma ili Downov sindrom, koji uzrokuje poremećaje u mentalnom i fizičkom razvoju. Najčešće je prisutna mišićna hipotonija, širok vrat, kosi položaj očnih otvora, spljošten profil lica, malene i okruglaste uške i sl., a kako odrastaju, zaostajanje u razvoju postaje vidljivije (primjerice nizak rast i nizak kvocijent inteligencije).

Prisutne su još trisomija 22. kromosoma, trisomija 18. kromosoma ili Edwardsov sindrom te trisomija 13. ili Patauov sindrom.

Euploidije su promjene broja setova kromosoma i stanica umjesto normalnoga diploidnog broja kromosoma $2n$ ima ili samo jedan set kromosoma (n) i haploidna je (npr. gamete su haploidne) ili ima veći broj setova kromosoma ($3n$ – triploid, $4n$ – tetraploid, $5n$ – pentaploid itd.; Slika 64). Organizmi s jednim setom kromosoma nazivaju se **monoploidi**, a oni s više od dvaju setova su **poliploidi**. Kod euploidija je važno naglasiti da sve stanice u organizmu (osim gameta) imaju jednak broj setova kromosoma.



Slika 64. Broj setova kromosoma kod haploidnoga, diploidnog i poliploidnog organizma ($n = 3$; preuzeto i prilagođeno iz web 7).

U prirodi je poliploidija uglavnom vezana uz biljno carstvo i prisutna je kod 30 – 80 % cvjetnica. Često ju nalazimo kod predstavnika porodica Poaceae, Solanaceae, Fabaceae, Brassicaceae itd. Neki od primjera su krumpir *Solanum tuberosum*, $4n = 48$; *Triticum* spp. $x = 7$, $2n$, $4n$, $6n$; *Chrysanthemum* sp. $x = 9$, $2n$, $4n$, $6n$, $8n$, $10n$ itd. gdje je x monoploidni broj kromosoma u organizmu prije nastanka poliploida.

Kod golosjemenjača su većinom prisutni tetraploidi, a *Sequoia sempervirens*, $2n = 6x = 66$, jedini je heksaploid kod četinjača. Većina mahovina i gotovo sve papratnjače su također

poliploidi. Kod papratnjače *Ophioglossum reticulatum* ukupan broj kromosoma može biti i preko 1000.

Do poliploidije može doći duplikacijom cijeloga genoma tijekom mejoze ili mitoze. U mejozi se udvostručavanje često odvija zbog nefunkcionalnoga diobenog vretena i dolazi do oplodnje nereduciranih gameta. Do poliploidije mitozom može doći ako se nakon oplodnje dogodi duplikacija genoma bez diobe same stanice, pa će organizam koji se razvija imati dvostruko veći broj kromosoma. Udvostručavanje u somatskim stanicama može biti spontano ili potaknuto nekim fizikalnim (primjerice temperaturom) ili kemijskim čimbenicima (primjerice kolhicinom). Kolhicin se prije često koristio kako bi se izazvalo udvostručavanje kromosoma. On sprečava stvaranje diobenog vretena i stanice nakon diobe imaju dvostruki broj kromosoma. Takve biljke obično sporije rastu i cvjetaju te imaju veći udio vode, a osim toga se bolje prilagođavaju na nove okolišne uvjete.

Oba tipa kod kojih je poliploidni organizam nastao duplikacijom genoma naziva se autopoliploidija. Primjeri autopolipolida su žabnjak *Ranunculus ficaria*, $4n = 32$, $5n = 40$, $6n = 48$, zumbul *Hyacinthus orientalis*, $3n = 24$, $4n = 32$, jabuka *Malus pumila*, $3n = 51$, krumpir ($4n$), kikiriki ($4n$) itd.

Drugi način postanka poliploida je hibridizacija. Do hibridizacije dolazi ako se križaju dvije različite vrste čije potomstvo sadrži genom obaju roditelja. Ovakav način postanka poliploida naziva se alopoliploidija. Kod neparnih poliploida potomstvo je najčešće sterilno jer se razvijaju nebalansirane gamete zbog nemogućnosti stvaranja kromosomskih tetrada. Kod takvih je biljaka razmnožavanje vegetativno (primjerice banana, $3n = 33$). Međutim ako kod hibridne jedinke dođe do duplikacije cijeloga genoma, takva jedinka može postati fertilna. Najčešće dolazi do hibridizacije križanjem srodnih diploidnih ili poliploidnih vrsta, pa je velik broj takvih hibrida od iznimnog značaja za ljudsku upotrebu. Primjerice, duhan *Nicotiana tabacum*, $4n = 48$, nastao je križanjem vrsta *N. sylvestris* i *N. tomentosiformis*. Najvažnija poljoprivredna kultura pšenica nastala je križanjem triju biljnih vrsta (Slika 65). Kava *Coffea arabica* je jedini poliploid iz ovog roda, a nastala je prirodnom hibridizacijom vrsta *C. canephora* i *C. eugenioides* ($4n = 44$).

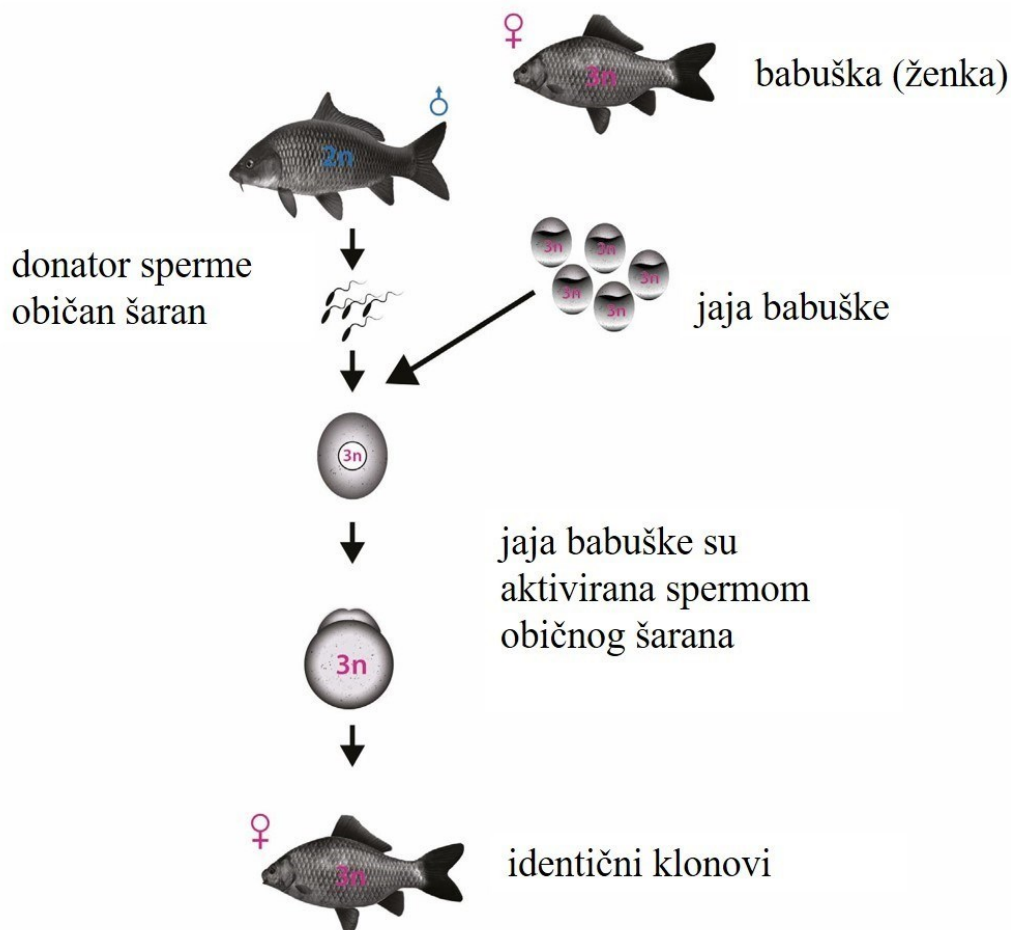
Osim prirodnih procesa hibridizacije kod biljaka se danas primjenjuje i somatska hibridizacija, čija je velika prednost da za razliku od klasične hibridizacije, koja je moguća samo kod blisko srodnih vrsta, ovaj način hibridizacije omogućava zaobilazanje taksonomske barijere. To znači da se mogu dobiti hibridi različitih biljnih vrsta poput križanja rajčice i krumpira (engl. *pomato*). Somatska se hibridizacija provodi fuzijom izluliranih protoplasta. Protoplasti su stanice koje nastaju uklanjanjem stanične stijenke. Do hibridizacije dolazi pomoću elektro ili kemijske stimulacije, pri čemu dolazi do spajanja protoplasta, a takva se stanica naziva heterokarion (stanica koja sadrži dvije ili više genetički različite jezgre) i iz nje se najčešće najprije razvija kalus (kultura nediferenciranih biljnih stanica), a potom i cijela biljka. Somatska hibridizacija može se provoditi kako bi se razvile vrste rezistentne na neke bolesti (primjerice rajčica rezistentna na virus mozaika duhana (TMV)), otporne na različite ekološke čimbenike (kao što su smrzavanje ili prisutnost većih količina soli u tlu) i zbog poboljšanja kvalitete određenih kultura (primjerice povećanje sadržaja nikotina i smanjenje eručne kiseline). Nažalost, somatska hibridizacija nije uvijek uspješna i ponekad je izazov dobiti fertilne biljke s vijabilnim sjemenjem.

Euploidija je vrlo rijetka kod gljiva, a prisutna je i kod životinja. Euploidija je kod životinja mnogo rjeđa nego kod biljaka i većina je životinja diploidna. Poliploidija kod životinja vrlo često rezultira stvaranjem neplodnog i/ili nevijabilnog potomstva, a kod nekih poliploidnih životinja prisutan je partenogenetski način razmnožavanja. Poliploidija kod životinja često uzrokuje gensku neravnotežu te je narušen spolno-determinirajući kromosomski mehanizam (ako postoji), a on je ključan za razvoj fertilnog potomstva. U rijetkim slučajevima poliploidne životinje mogu biti fertilne.

Poliploidija je prisutna kod nekih vrsta beskralježnjaka, riba, vodozemaca i gmazova, a kod ljudi je letalna i oko 5 % spontanih pobačaja posljedica je triploidije i tetraploidije. Kod beskralježnjaka je poliploidija prisutna kod nekih predstavnika Turbellaria i Oligochaeta koji su dvospolci. Kod Crustacea je zabilježena kod vrste *Pontoporeia affinis*, koja se spolno razmnožava i glacijalni je relik, te kod vrsta *Artemia salina* i *Trichonicus* spp. koje se nesporno razmnožavaju. Kod Nematomorpha je poliploidija zabilježena kod vrste *Parascaris equorum* (2n, 4n), a kod porodice Melaniidae iz skupine Mollusca ženke su heksaploidi. Kod kukaca je poznato stotinjak vrsta koje su poliploidi (primjerice Tettigoniidae, Psychodidae, Curculionidae...) i kod njih je često prisutna partenogeneza.

Kod recentnih je kralježnjaka poliploidija prisutna većinom kod nižih kralježnjaka (Tablica 8). Jedan od značajnijih primjera je babuška *Carassius auratus gibelio*, vrsta koja je autohtona u

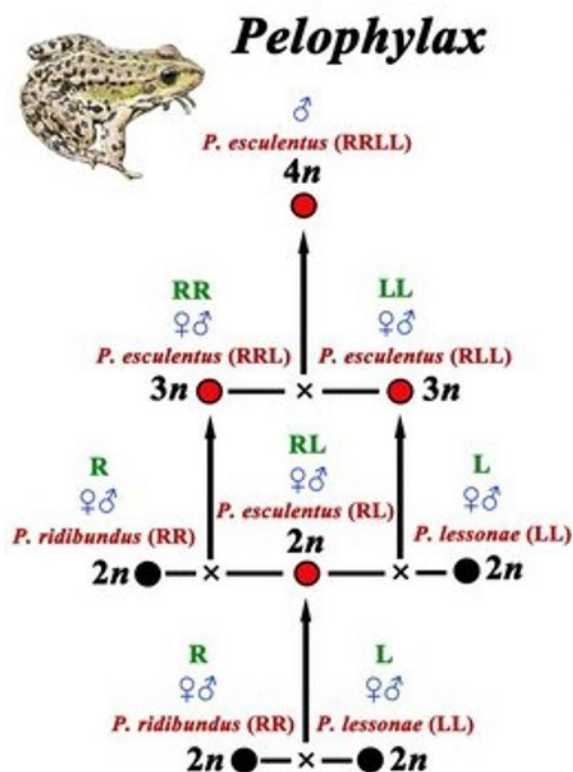
Aziji, no danas je vrlo raširena po Europi i invazivna je vrsta. U Aziji je većina jedinki ove vrste diploidna, ali postoje i triploidne i tetraploidne jedinke, dok u Europi nalazimo većinom triploidne ženke. Kod triploidnih jedinki postoje dva načina razmnožavanja – ginogenezom i spolno. Ginogeneza je poseban način razmnožavanja kod kojeg se jaja razvijaju mitozom (ne dolazi do redukcije broja kromosoma) i iz takvih se neoplođenih jajnih stanica razvijaju nove jedinke. Kod ginogeneze ne dolazi do spajanja spermija s jajnom stanicom (odnosno ne dolazi do oplodnje), no spermij je ipak neophodan za razmnožavanje (Slika 67); spermij aktivira razvoj neoplođenih jaja. S obzirom na to da ne dolazi do oplodnje, i sperma mužjaka drugih vrsta šaranki također može potaknuti razvoj jaja, pa je upravo ovakav način razmnožavanja jedan od glavnih razloga uspješnosti babuške u naseljavanju novih područja i potiskivanju autohtonih vrsta.



Slika 67. Ginogeneza babuške. Jedinke se razvijaju iz neoplođenih triploidnih jaja za čiji su razvoj potrebni spermiji različitih vrsta šaranki.

Kod uzgoja nekih alohtonih ribljih vrsta (primjerice neke kulture kalifornijske pastrve) se umjetnim putem proizvode sterilni triploidi kako takve vrste ne bi predstavljale prijetnju za lokalnu faunu.

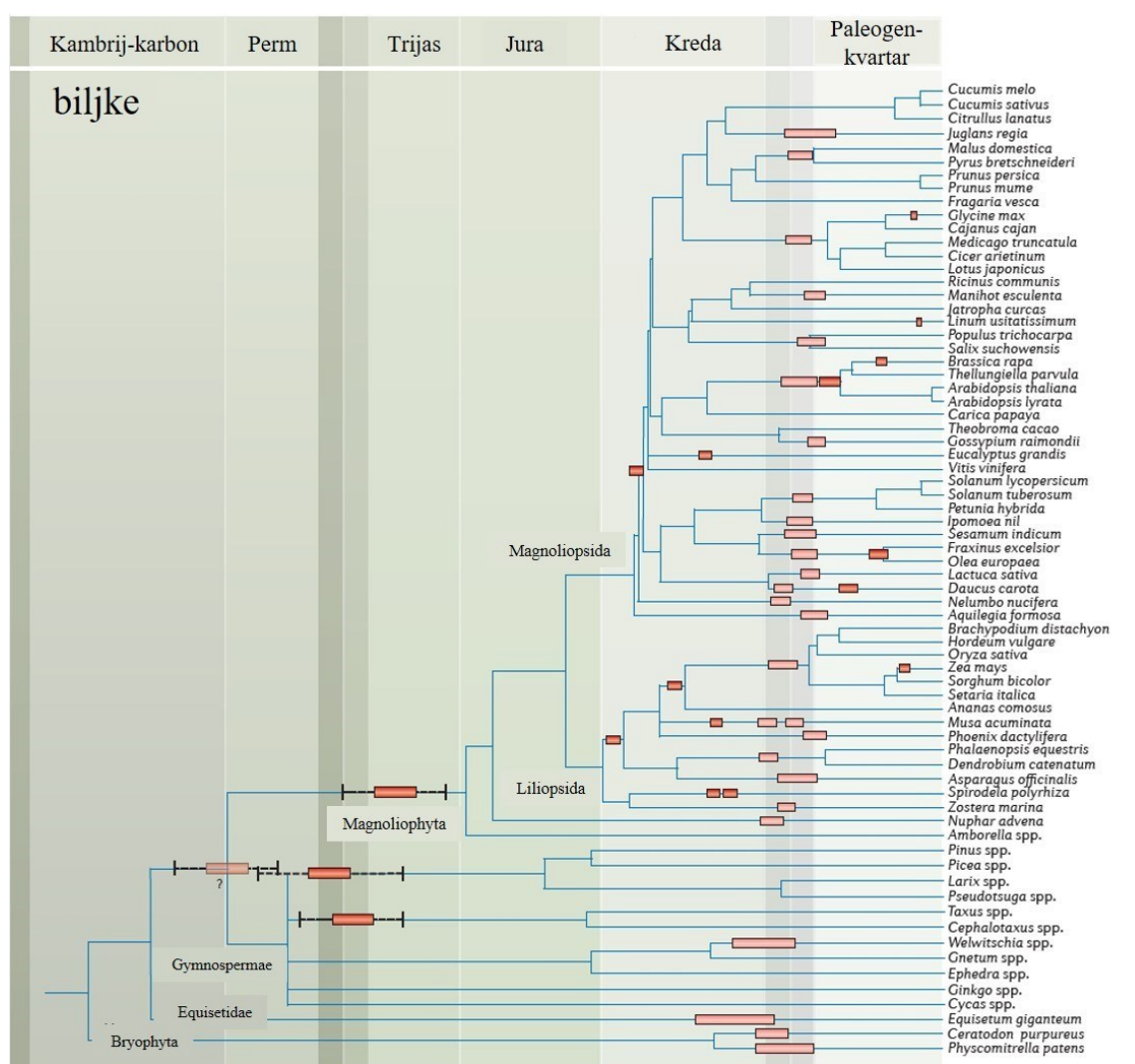
Kod vodozemaca iz reda Anura (bezrepci) postoje poliploidne vrste kao što su *Ceratophrys dorsata* i *C. ornata* (8n), a kod zelene jestive žabe *Pelophylax* kl. *esculentus* prisutni su triploidi i tetraploidi (Slika 68).



Slika 68. Predloženi načini nastanka poliploida kod zelenih žaba *Pelophylax* kl. *esculentus*. Zelena slova označavaju genom ishodišne diploidne vrste (po latinskom nazivu vrste) koji se prenosi u iduću generaciju (preuzeto iz Litvinchuk i sur., 2016).

Kod predstavnika reda Caudata (repaši) su kod vrsta *Ambystoma jeffersonianum*, *A. tigrinum*, *A. texanum* i *A. laterale* prisutne populacije triploidnih ženki koje se razmnožavaju ginogenezom. Među gmazovima je poliploidija prisutna kod nekih predstavnika Gekkonidae, Teiidae, Agamidae i sl. kod kojih postoje triploidne populacije koje se razmnožavaju partenogenetski. Kod sisavaca postoje prijevori oko vrste *Tympanoctomys barrerae* ($2n = 4n$ (?) = 102; 1999. i 2017.). Neki smatraju da je ova vrsta tetraploid, a drugi negiraju tu hipotezu i trenutno nema koncenzusa je li vrsta poliploid ili ne.

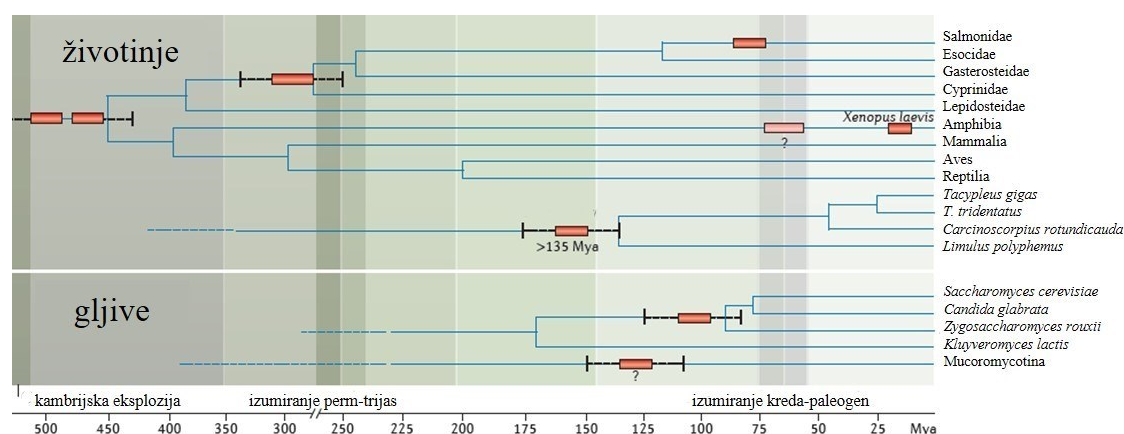
Poliploidija igra izuzetno važnu ulogu u procesu evolucije. Ona može pospješiti proces specijacije (nastanka novih vrsta) tako što stvara izolacijsku barijeru među jedinkama jer se jedinke nastale hibridizacijom ne mogu razmnožavati s nijednom od ishodišnih vrsta. Poliploidne jedinke imaju dodatne kopije gena koje mogu dovesti do promjene u njihovoj ekspresiji i mogu povećati varijacije u fenotipu. Ti geni također mogu omogućiti bolje prilagođavanje promjenama u okolišu i samim time bolje preživljavanje poliploidnih jedinki. Osim toga poliploidija može znatno ubrzati evolucijske promjene jer omogućava reorganizaciju cijelog genoma.



Slika 69. Filogenetsko stablo biljaka s označenim događajima poliploidizacije (crveni kvadratići; preuzeto i prilagođeno iz de Peer i sur., 2017).

Kod nekih organizama dolazi do procesa „diploidizacije“, odnosno do postupne promjene od poliploidnog do diploidnog načina funkcioniranja stanica (Slika 69). Taj se proces odvija diferencijacijom duplih gena i kromosoma, koji preuzimaju nove funkcije, te inaktivacijom. Tijekom evolucije se često događala duplikacija genoma koja je za posljedicu imala nastanak i razvoj novih skupina.

U ranoj se evoluciji kralježnjaka (Slika 70) duplikacija genoma dogodila u dvama navratima i imala je velik značaj za razvoj novih skupina. Kod nekih porodica riba su ishodišni oblici tetraploidi, kao što je to primjerice kod porodice Salmonidae.



Slika 70. Filogenetsko stablo životinja i gljiva s označenim događajima poliploidizacije (crveni kvadratići; preuzeto i prilagođeno iz de Peer i sur., 2017).

U nekim slučajevima može doći do poliploidije koja je lokalizirana na određeni organ ili tkivo (primjerice u jetri), što se dešava kod različitih karcinoma i drugih patoloških stanja.

Tablica 8. Broj poliploidnih vrsta kod različitih skupina životinja (preuzeto i prevedeno iz Otto, 2007)

Tip razmnožavanja	kukci	ribe	vodozemci	gmazovi	ptice	sisavci	ukupno
partenogeneza	89	9	3	15	0	0	106
spolno	2	23	26	1	0	1*	54
?	0	18	1	0	0	0	19

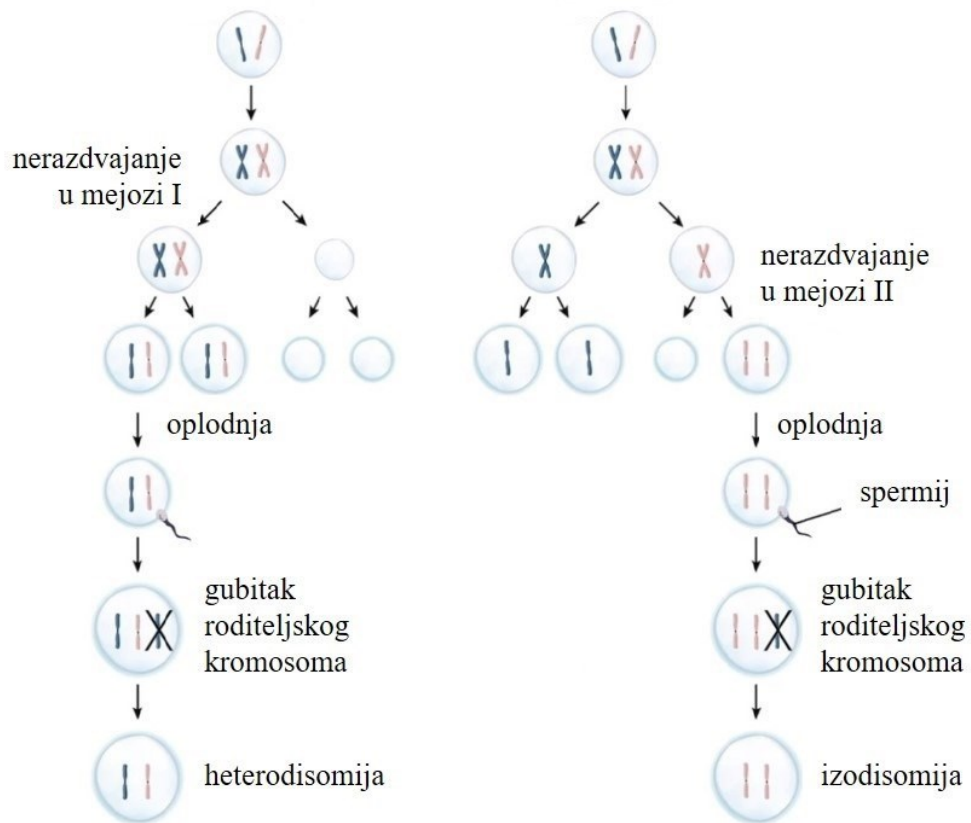
Poliploidija može imati značajne posljedice na sav živi svijet. Kratkoročno, poliploidi se razlikuju po veličini stanica (poliploidne stanice su veće od diploidnih), veličini organizama (kod biljaka, a kod nekih se životinja kompenzira broj stanica, pa nema znatne razlike u

veličini). Kod poliploida može biti narušena stabilnost genoma i ekspresije gena, što može trenutno djelovati na fenotip i prilagodbu jedinki. S druge strane, dugoročno gledano, poliploidija može biti važna za evoluciju novih razvojnih linija, pogotovo jer su poliploidne biljke češće u područjima smanjene kompeticije i u izoliranim područjima te lakše podnose promjene ekoloških uvjeta, primjerice nakon povlačenja glečera. Poliploidija ima i izuzetno važan ekonomski i socijalni značaj jer su mnoge poljoprivredne kulture poliploidi.

Genomski utisak (*Genomic imprinting*)

Za većinu gena u našim kromosomima nije važno jesmo li ih naslijedili od majke ili od oca. No postoji 30-ak gena kod kojih to ima vrlo važnu ulogu. Naime, neki geni mogu biti metilirani, odnosno inaktivirani jer metilacija inhibira transkripciju gena. Spermij i jajna stanica nose kromosome koji imaju različiti *imprinting*, odnosno neki geni koji su od majke, odnosno od oca su metilirani („utisnuti, utišani“) i nisu aktivni. Takvi geni imaju monoalelsku ekspresiju. Iako je za ove gene važno jesu li nasljeđeni od oca ili majke, oni nisu spolno vezani geni jer se nalaze na autosomima. S obzirom na to da ekspresija ovih gena ovisi isključivo o jednom alelu, važno je je li taj gen funkcionalan ili ne kod onog roditelja kod koga taj gen nije metiliran. Tako postoje neki poremećaji povezani s ovim epigenetskim fenomenom. Najpoznatiji su Prader-Willijev sindrom (PWS) i Angelmanov sindrom (AMS), od čega su oba povezana s regijama na 15. kromosomu. Kod majke je PWS gen metiliran i ako otac ima nefunkcionalan gen za PWS, dijete će imati Prader-Willijev sindrom. Simptomi uključuju hiperfagiju i pretilost, smanjene intelektualne sposobnosti, hipotoniju, nepotpun spolni razvoj i sl. Angelmanov se sindrom javlja ako majka ima nefunkcionalan gen UBE3A (također na 15. kromosomu) s obzirom na to da je kod oca ovaj gen metiliran. Simptomi su mentalna retardacija, nekontroliran smijeh, epileptički napadi i dr.

Oba ova poremećaja mogu nastati i kao posljedica uniparentalne disomije, odnosno ako su naslijeđena oba alela od jednog roditelja (Slika 71). Uniparentalna disomija može nastati kao posljedica nerazdvajanja kromosoma u mejozi 1 i tada osoba nasljeđuje par homolognih kromosoma od jednog roditelja (heterodisomija) ili kao posljedica nerazdvajanja kromatida u mejozi 2 gdje osoba nasljeđuje dvije identične kopije od jednog roditelja (izodisomija).



Slika 71. Uniparentalna disomija može nastati uslijed nerazdvajanja kromosoma u mejozi 1 i osoba nasljeđuje par homolognih kromosoma od jednog roditelja (heterodisomija) ili uslijed nerazdvajanja kromatida u mejozi 2 gdje osoba nasljeđuje dvije identične kopije od jednog roditelja (izodisomija).

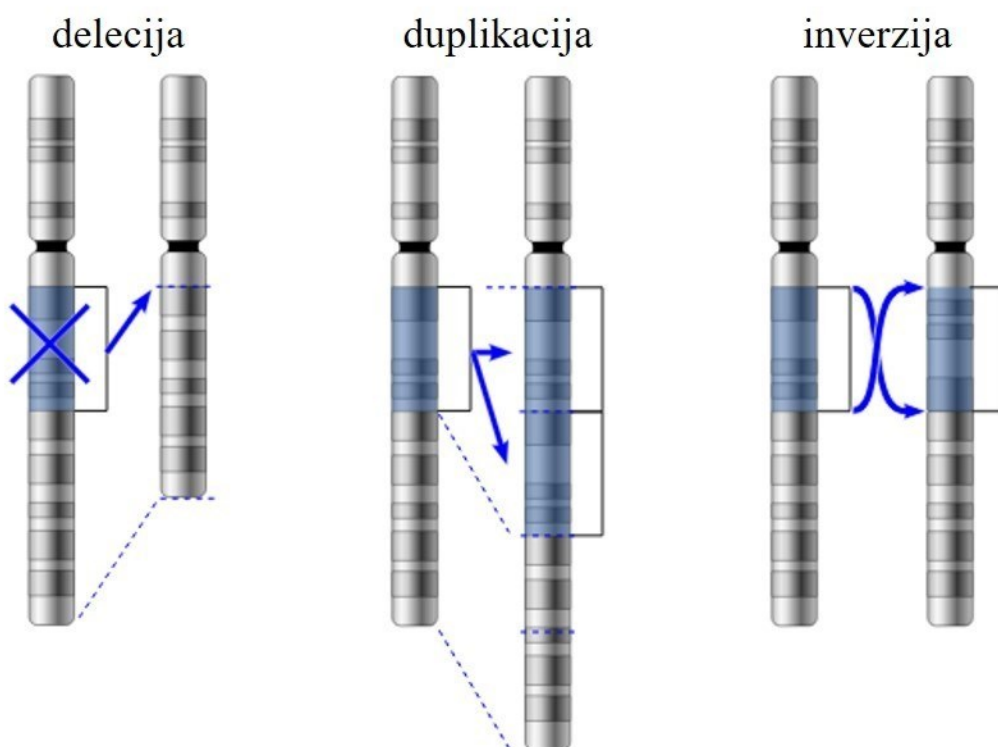
Kvantitativne i kvalitativne promjene strukture kromosoma: duplikacija, delecija, translokacija, inverzija – promjene strukture kromosma (kromosomske aberacije)

Na kromosomima ponekad može doći do loma dijela kromosoma. Ako do loma dođe prije S-faze, lom se replicira i govorimo o kromosomskom lomu (Slika 72a). No ako do loma dođe nakon replikacije, tada govorimo o kromatidnom lomu (Slika 72b). Takve se pogreške često događaju tijekom rekombinacije te može doći do sparivanja nehomolognih kromosoma i krivog sparivanja neseestrinskih kromatida.



Slika 72. a) kromosomski se lom događa prije udvostručenja kromatida i replicira se, b) kromatidni se lom događa nakon replikacije i za posljedicu ima lom samo jedne kromatide.

Posljedice loma kromosoma mogu biti duplikacije, odnosno da je pojedini segment prisutan više od dvaju puta u diploidnom organizmu, i delecije kod kojih dolazi do gubitka kromosomskog segmenta (Slika 73).

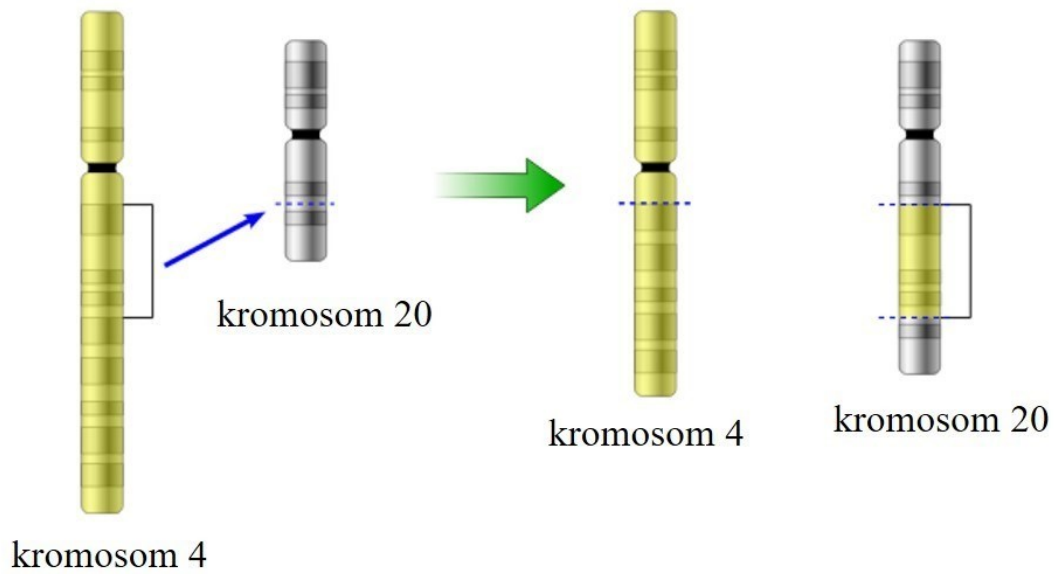


Slika 73. Promjene na jednom kromosomu: delecija – gubitak dijela DNA; duplikacija – udvostručenje dijela DNA; inverzija – rotacija dijela DNA za 180° (preuzeto i prilagođeno iz web 9).

Dvostruki lom dijela segmenta za posljedicu može imati pojavu inverzije, odnosno promjene u redoslijedu gena koja nastaje nakon rotacije segmenta za 180° i ponovnog spajanja. Nositelji inverzija su potpuno zdrave osobe, no problemi se mogu javiti kod rekombinacije i spajanja homologa, što može uzrokovati smanjeni fertilitet. Inverzija može biti paracentrična (kada ne uključuje centromer) ili pericentrična (uključuje i centromer).

Translokacija se javlja kada dolazi do premještanja dijelova s jednog nehomolognog kromosoma na drugi i tada je takva translokacija jednosmjerna (insercija, umetanje; Slika 74) ili ako dolazi do izmjene dijelova nehomolognih kromosoma, tada govorimo o recipročnoj translokaciji (Slika 75). Translokacija vrlo često za posljedicu može imati nastanak tumora. Jedan od čestih primjera recipročne translokacije kod čovjeka je izmjena dijelova kromosoma 8 i 14. Na kromosomu 8 nalazi se onkogen koji je pod utjecajem slabih promotora i kao takav nije aktivan. No premještanjem ovoga gena na kromosom 14 on dolazi pod utjecaj jakih promotora koji potiču transkripciju navedenoga gena i uzrokuju nekontroliran rast stanica, što može dovesti do Burkittova limfoma ili akutne limfoblastične leukemije.

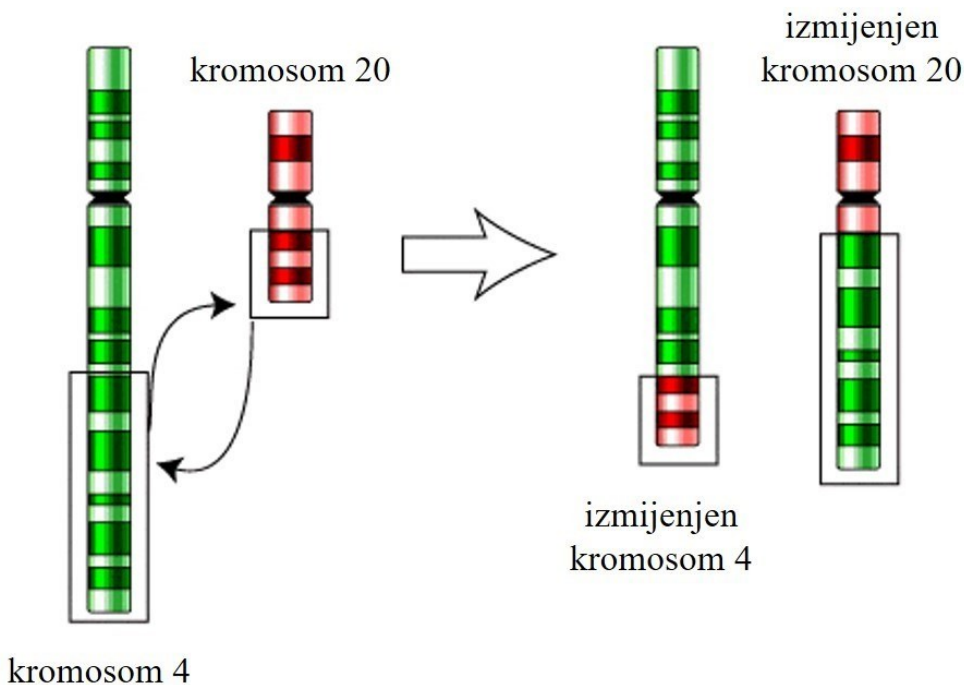
INSERCIJA



Slika 74. Insercija je jednosmjerna translokacija kod koje dolazi po premještanja dijela kromosoma na drugi nehomologni kromosom (preuzeto i prilagođeno iz web 9).

PRIJE TRANSLOKACIJE

POSLIJE TRANSLOKACIJE



Slika 75. U recipročnoj translokaciji dolazi do izmjene dijelova nehomolognih kromosoma (preuzeto i prilagođeno iz web 9).

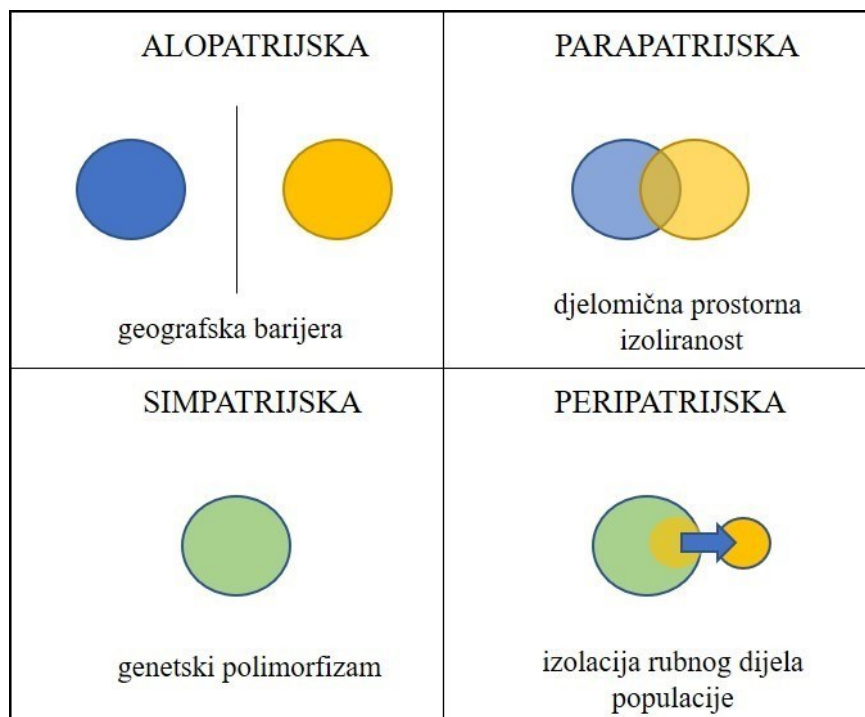
Kod čovjeka su neke od posljedica kromosomskih lomova delecija kraćeg kraka 5. kromosoma (*Cri-du-chat* sindrom, sindrom mačjeg plača), delecija segmenta kromosoma X – Duchenne mišićna distrofija, delecija segmenta kromosoma 13 – retinoblastoma, delecija segmenta kromosoma 11 – Wilmsov tumor.

Populacijska genetika: kvalitativni i kvantitativni geni, ravnoteža i frekvencija gena

Populacija se definira kao skupina jedinki iste vrste koja naseljava određeni prostor i koje se mogu međusobno razmnožavati dajući plodno potomstvo. Jedinke jedne populacije nisu identične, nego se obično razlikuju u pojedinim svojstvima. Upravo su te pojedinačne razlike ono što pokreće promjene u prostoru i vremenu, a dugoročno gledano utječu na proces evolucije. Istraživanje gena na razini populacija intenziviralo se sredinom 20. stoljeća kada su Ronald A. Fisher, Sewall Wright i J. B. S. Haldane istraživali različite aspekte gena u populacijama. Fischer se bavio statistikom i istraživanjima humane genetike, Wright je proučavao genetiku sisavaca i razvojnu genetiku, Haldane se posvetio matematičkim modelima i sva se trojica smatraju utemeljiteljima populacijske genetike.

Populacijska se genetika bavi proučavanjem genetičke strukture populacije, to jest učestalosti pojedinih alela i genotipova u populaciji. Ona proučava i evoluciju s genetičkog stanovišta te istražuje genetičke varijacije između jedinki (odnosno prati procese mikroevolucije). Preduvjet za promjene učestalosti nekog alela u populaciji je polimorfizam, odnosno prisutnost više od jednog alela u populaciji. Brojni geni su u populaciji prisutni velikim brojem alela, no ako je njihova učestalost manja od 5 %, njihova se prisutnost ne smatra polimorfizmom.

Za istraživanje su mikroevolucije od velikog značaja tipovi specijacije (načini nastanka novih vrsta; Slika 76). Alopatrijska specijacija je najčešća i odvija se u populacijama kod kojih je došlo do fizičke odvojenosti zbog neke geografske barijere (primjerice planine, rijeke i sl.). Kod simpatrijske evolucije ne dolazi do fizičke odvojenosti dijela populacije, nego se ona temelji na nekom ekološkom parametru kao što je primjerice odabir određene hrane. Mnogo rjeđe dolazi po parapatrijske (kada se dio populacije prostorno izolira i iako postoji protok gena, s vremenom dolazi i do reproduktivne izolacije) i peripatrijske specijacije (kod koje dolazi do fizičke odvojenosti rubnog dijela populacije).



Slika 76. Tipovi specijacije: kod alopatrijske specijacije nove vrste nastaju geografskom izolacijom; kod parapatrijske izolacije dolazi do djelomične prostorne izoliranosti koja s vremenom prelazi i u reproduktivnu izoliranost; simpatrijska se specijacija temelji na ekološkoj izolaciji dijela populacije, a kod peripatrijske se izolira rubni dio populacije.

Kada evoluciju proučavamo na najnižoj razini, možemo reći da je to promjena sastava gena pojedine vrste u vremenu, a populacijska genetika ovdje ima izuzetno važnu ulogu. Proučavanje učestalosti gena u populaciji može se istraživati empirijski tako da se mjeri i kvantificira genetička varijabilnost u populacijama. Terenskim istraživanjima možemo zabilježiti učestalost pojedinih fenotipova u populaciji, a istraživanja DNA baziraju se na sekvenciranju pojedinih gena. Kako bismo mogli pratiti promjene gena na najnižoj razini, danas su razvijene brojne metode koje istražuju učestalost neutralnih mutacija; RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) je jednostavna metoda koja se zasniva na amplifikaciji različitih dijelova genoma pomoću kratkih, nasumično odabranih početnica i može se koristiti za utvrđivanje razlika između jedinki, populacija ili vrsta, no nije jako pouzdana; AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) je vrlo pouzdana metoda kojom se amplificiraju određeni fragmenti i utvrđuje prisutnost polimorfizama; mikrosateliti su jednostavne ponavljajuće sekvence koje su vrlo polimorfne i pomoću broja tih ponavljajućih sekvenci mogu se utvrditi razlike između jedinki i SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) koja utvrđuje razlike u pojedinim bazama kod različitih jedinki. Populacijska genetika objašnjava varijabilnost u populaciji uz pomoć matematičkih modela i proučava djelovanje sila koje utječu na promjene učestalosti alela (genetički drift, prirodnu

selekciju, protok gena i sl.). Populacijska genetika istražuje varijabilnost u prirodnim populacijama i procese koji ju kontroliraju. Proučava načine na koje geografija i kretanje djeluju na strukturu populacija, koje su populacijske sile odgovorne za diferencijaciju i proces specijacije populacija te kakvi su utjecaji pojedinih čimbenika na genetičku raznolikost. Varijabilnost gena može biti uzrokovana mutacijama i upravo su mutacije glavni izvor novih alela u populaciji. Kod diploidnih organizama važnu ulogu u varijabilnosti ima proces rekombinacije (*crossing-overa*) i nasumičan raspored alela u mejozi, a važna je i neravnoteža vezanosti gena (*linkage disequilibrium*, LD) zbog koje dolazi do smanjenja utjecaja nasumičnog rasporeda alela. Naime, kod vezanih gena dolazi do neravnoteže jer se vezani geni ne nasljeđuju nasumično. I oplodnja je važna jer dolazi do nasumičnog spajanja gameta.

Utjecaj Mendelove segregacije na učestalost alela i genotipova u populaciji objasnili su neovisno Godfrey H. Hardy i Wilhelm Weinberg po kojima je i nazvana Hardy-Weinbergova (H-W) ravnoteža. Za populacije koje se nalaze u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži vrijedi nekoliko pravila:

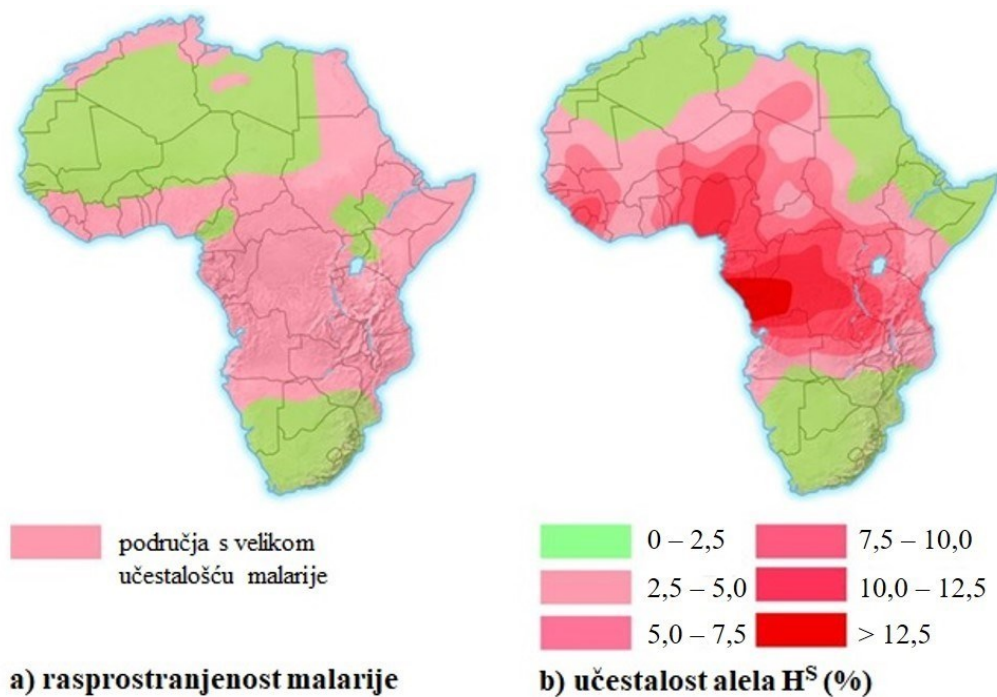
1. Učestalost autosomalnih alela je stalna (učestalost pojedinih alela mijenja se djelovanjem vanjskih čimbenika kao što su primjerice migracije ili genetički drift).
2. Genotipska učestalost u populaciji je predvidljiva.
3. Ravnoteža je neutralna (ako dođe do narušavanja ravnoteže, ona se ponovno uspostavlja u jednoj generaciji).

Da bi neka populacija bila u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, moraju biti zadovoljeni određeni uvjeti. Parenje u populaciji mora biti nasumično, odnosno sve jedinke moraju imati jednaku šansu za parenje i prijenos gena. Ako postoji pozitivna ili negativna selekcija pojedinog fenotipa, tada dolazi do promjena učestalosti alela za jedno genetičko svojstvo. Kod pozitivnog odabira, kao i kod *inbreedinga* (parenja u srodstvu) dolazi do povećanja homozigotnosti u populaciji, a negativna selekcija i *outbreeding* (parenje s jedinkama iz druge populacije) uzrokovat će povećanje heterozigotnosti. Takve će promjene djelovati na učestalost genotipova, ali ne i na učestalost alela.

Kod nekih je organizama *inbreeding* uobičajena pojava, a kod nekih je prisutna i samooplodnja. Kod ljudi međutim parenje u srodstvu može imati dosta negativnih posljedica na jedinke. U prosjeku svaka osoba ima četiri letalna alela prisutna u svojim genima, ali zato što su u heterozigotnom obliku, takvi geni ne dolaze do izražaja. No parenje u srodstvu stvara veliku vjerojatnost da će neki od tih alela biti u homozigotnom obliku i takva se jednika neće moći razviti. Neki geni mogu biti slični, ali imati različito porijeklo i takvi se geni nazivaju alozigotni,

a autozigotni su oni geni koji imaju isto porijeklo. *Inbreeding* se izražava koeficijentom F. Da bi populacija bila u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, mora biti dovoljno velika jer u manjim populacijama može doći do genetičkog drifta, koji za posljedicu ima smanjenje varijabilnosti i specijaciju. Genetički drift može nastati kao posljedica „uskog grla“ (*bottleneck effect*), pri čemu nakon neke katastrofe dolazi do preživljavanja malog broja jedinki iz originalne populacije ili „učinkom osnivača“ (*founder effect*) gdje se nova populacija uspostavlja iz malog broja jedinki iz ishodišne populacije. Za razliku od prirodne selekcije kod koje preživljavaju jedinke najbolje prilagođene određenim uvjetima okoliša, genetički drift je nasumičan i ne znači da će nužno preživjeti „najbolje“ jedinke.

Sljedeći uvjet koji populacija mora zadovoljavati je da u populaciji nema migracija ni mutacija, odnosno da nema protoka gena (*gene flow*; nema dodavanja ni gubitaka alela). Također u populaciji ne smije biti prisutna prirodna selekcija koja može uzrokovati širenje nekog alela ako je svojstvo pozitivno, odnosno nestanak alela ako se radi o nekome negativnom svojstvu za određenu populaciju. U populaciji treba biti prisutan uravnoteženi polimorfizam. Jedan od takvih primjera je prisutnost srpaste anemije, koja istovremeno znači i otpornost na malariju. Ovaj poremećaj u građi eritrocita izuzetno je rijedak u područjima u kojima malarija nije raširena, no s druge je strane alel za srpastu anemiju vrlo raširen u područjima gdje je prisutna i malarija (Slika 77).



Slika 77. a) područja u Africi s velikom učestalošću malarije (crvena područja), b) učestalost alela H^S koji u homozigotnom stanju uzrokuje srpastu anemiju podudara se s područjima gdje je prisutna malarija jer su heterozigoti u velikoj prednosti naspram zdravih homozigota zato što su otporni na malariju (izvor: Balancing, 2011).

Ako u populaciji postoje mala odstupanja od idealnih uvjeta, Hardy-Weinbergova ravnoteža će biti prisutna i nakon nekog poremećaja će se u jednoj generaciji uspostaviti nova učestalost alela. Hardy-Weinbergova ravnoteža izražava se pomoću formule:

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

gdje p^2 označava učestalost dominantnoga genotipa (AA), $2pq$ je učestalost heterozigota (Aa), a q^2 je učestalost recesivnog homozigota (aa). Kod Hardy-Weinbergove ravnoteže moramo razlikovati učestalost fenotipa, učestalost genotipova, kao i učestalost alela u populaciji. Proučimo to na konkretnom primjeru: (Slika 78):

FENOTIP			
GENOTIP	AA	Aa	aa
broj jedinki (ukupno 500)	320	160	20
učestalost genotipova	$p^2 = \frac{320}{500} = 0,64$	$2pq = \frac{160}{500} = 0,32$	$q^2 = \frac{20}{500} = 0,04$
broj alela u populaciji (ukupno 1000)	$\downarrow \times 2$ 640 A	$\swarrow \quad \searrow$ 160 A 160 a	$\downarrow \times 2$ 40 a
učestalost alela	$P = \frac{800}{1000} = 0,8$	$q = \frac{200}{1000} = 0,2$	

Slika 78. Primjena Hardy-Weinbergove ravnoteže na izračunavanje učestalosti genotipova, fenotipova i alela u populaciji biljke zijevalice.

U prirodi su populacije rijetko u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži, a to možemo provjeriti primjenom chi-kvadrat testa (χ^2) tako što ćemo usporediti očekivane učestalosti sa zabilježenim. Broj stupnjeva slobode ćemo odrediti tako što ćemo od broja fenotipova oduzeti broj alela (d.

f. = br. fenotipova – br. alela). Ako je razlika veća od očekivane, to nam govori da populacija nije u ravnoteži i da je narušena.

Primjena populacijske genetike najraširenija je upravo na ljudskoj populaciji gdje se intenzivno proučavaju brojne teme. Evolucija, antropologija, različite bolesti, otpornost na UV zračenje, visina, prisutnost enzima laktaze, forenzika i sl. samo su neke od istraživanih tema. U evoluciji se provode istraživanja ljudske „rase“, genetske varijacije, mitohondrijska „Eva“, Y-kromosom „Adam“, kao i odnos neandertalaca i modernog čovjeka. Antropologija je u vrlo bliskoj vezi s populacijskom genetikom, a neka od pitanja koja proučava je otpornost pojedinih populacija na visinsku bolest, istraživanje tuberkuloze u Peruu prije dolaska europskih naroda, *inbreeding* na našim otocima itd. Populacijska genetika istražuje pojavu i učestalost recesivnih letalnih mutacija kod čovjeka, kao i mnoge bolesti. Upravo je istraživanje različitih nasljednih bolesti izuzetno važno i danas se velik broj istraživanja bavi ovim pitanjima. Fenilketonurija, cistična fibroza i srpasta anemija su primjeri recesivnih autosomalnih bolesti. Huntingtonova bolest, miotonička distrofija, hiperkolesterolemija i neurofibromatoza su primjeri bolesti uzrokovanih autosomalnim dominantnim genima. Hemofilija i Duchennova mišićna distrofija su bolesti uzrokovane recesivnim alelima na X-kromosomu, a Rettov je sindrom primjer bolesti uzrokovane dominantnim alelom na X-kromosomu.

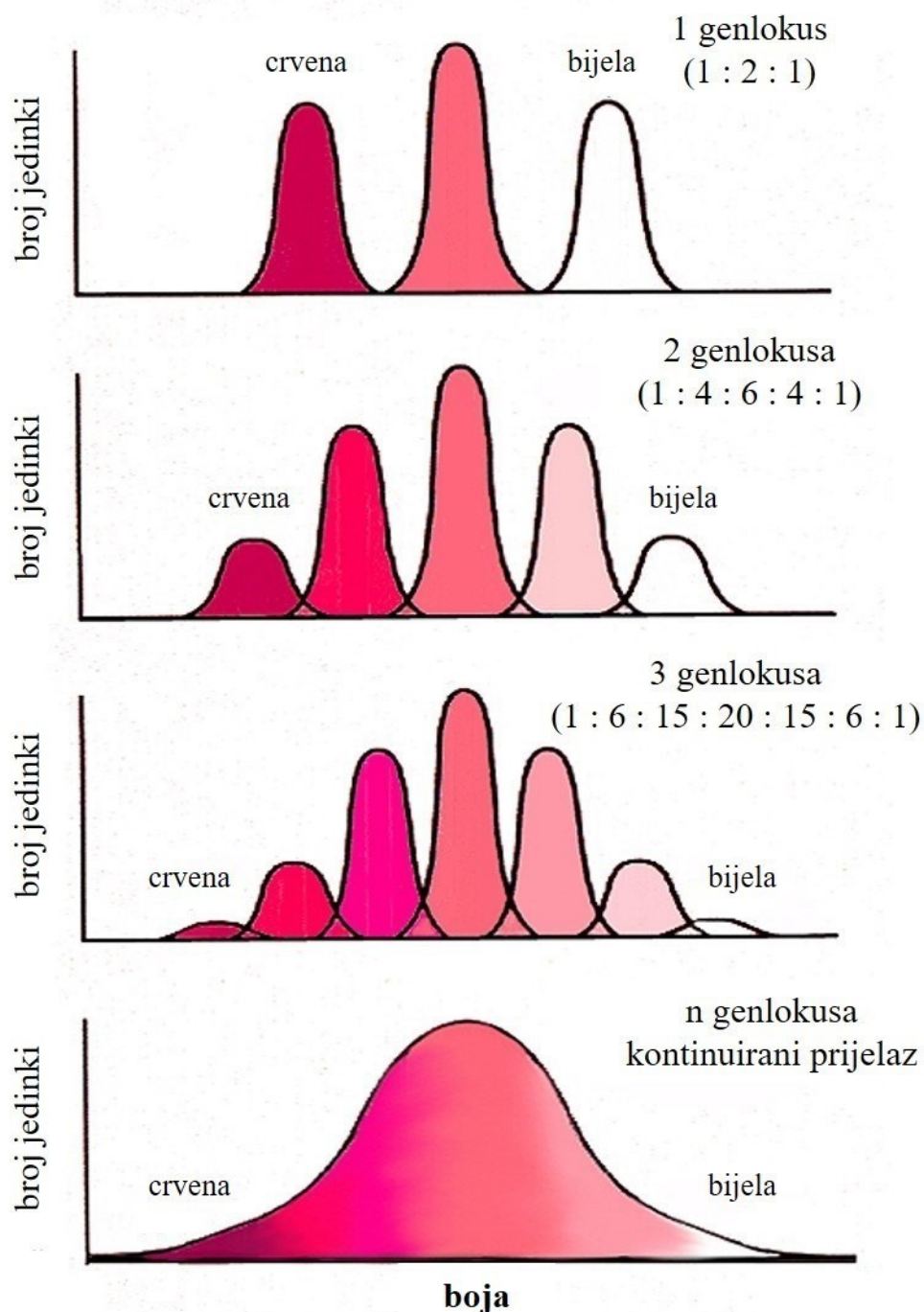
Jedno od prvih značajnijih istraživanja evolucije na razini populacije provedeno je u Velikoj Britaniji krajem 19. i početkom 20. stoljeća gdje je praćena učestalost melanističnih jedinki brezovoga grbca (*Biston betularia*). Prva melanistična jedinka zabilježena je u 19. stoljeću, a već pred kraj 19. stoljeća je u Engleskoj većina populacije bila melanistična. Do promjene učestalosti oboljenja jedinki došlo je zbog povećana zagađenja zraka kao posljedica industrijske revolucije. Naime, kora drveća je u urbanim sredinama poprimila tamniju boju te su tamnije jedinke bile bolje kamuflirane i samim su time imale veće šanse za preživljavanje. Smanjenjem emisija ispušnih plinova iz industrije i uvođenjem sustava za pročišćavanje zraka sredinom 20. stoljeća opet dolazi do promjena u populaciji i polako se povećava broj svijetlih jedinki.

Noviji primjer izuzetno brze evolucije izoliranih populacija istraživao je na našim otocima Pod Mrčaru i Pod Kopište u lastovskom arhipelagu. Ova su dva otoka poslužila kao prirodni laboratorij gdje je 1971. godine prebačeno pet odraslih parova primorske gušterice (*Podarcis siculus*) s otoka Pod Kopište na otok Pod Mrčaru gdje je prirodno obitavala samo krška gušterica (*P. melisellensis*). Nakon više od 30 godina znanstvenici su se vratili na oba otoka kako bi istražili što se u međuvremenu događalo s guštericama. Primijećeno je da je na obama otocima prisutna isključivo primorska gušterica, no „nova“ populacija na otoku Pod Mrčaru se značajno

razlikovala od ishodišne populacije. Razlike su zabilježene u veličini i obliku glave te jačini ugriza, a uočene su i nove strukture u probavnom traktu. Otkriveno je da je uzrok ovih morfoloških i anatomskih promjena različit način prehrane. „Originalna“ populacija se većinom hrani mobilnim plijenom (kukcima), a kod „nove“ populacije s čak dvije trećine dominira biljna hrana. Zabilježene promjene vidljive su i na razini gena, što potvrđuje da se radi o nasljednim mutacijama, a ne samo o fenotipskoj plastičnosti.

Populacijska genetika ima važne primjene i u svakodnevnom životu od kultiviranja raznih biljaka (primjerice *Brassica oleracea* – kupus, kelj, brokula, cvjetača i sl.) do uzgoja različitih pasmina pasa.

Pojedina svojstva kod jedinki mogu biti određena na različite načine i dijelimo ih na kvalitativna i kvantitativna svojstva. Kvalitativna su svojstva određena djelovanjem jednog ili malog broja gena. Svojstva s diskontinuiranom varijabilnošću lako se mogu svrstati u fenotipske kategorije (dominantno-recesivni ili kodominantni odnosi među genima; primjerice zeleno i žuto sjeme kod graška) i proučava ih klasična Mendelova genetika. Takva svojstva većinom nisu pod utjecajem okolišnih čimbenika. Za razliku od njih, poligenska svojstva, koja su kvantitativne prirode, određena su većim brojem gena i pokazuju kontinuiranu varijabilnost, primjerice prirast težine tijela, visina stabljike (Slika 79) i sl. Takva svojstva mogu biti od ekonomskog značaja za čovjeka (primjerice u poljoprivedi), a često su podložna i jakom utjecaju okoline.

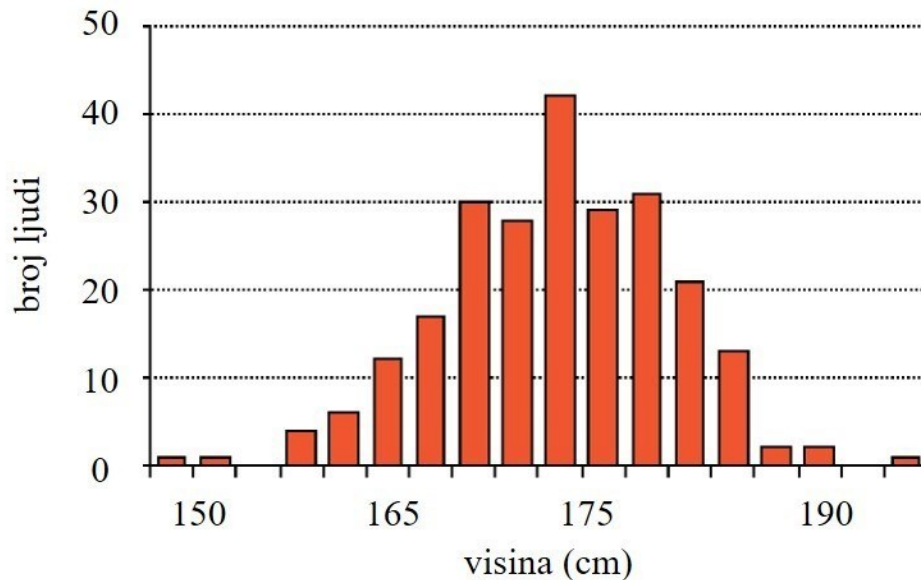


Slika 79. Prisutnost različitih fenotipskih klasa kod kodominantnih alela u ovisnosti o broju gena koji reguliraju određeno svojstvo. Ako je svojstvo regulirano samo jednim genom, u populaciji će biti prisutna tri fenotipa u omjeru 1 : 2 : 1. Kod svojstva određenog djelovanjem dvaju gena omjer fenotipskih klasa će biti 1 : 4 : 6 : 4 : 1, a trima genima 1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1. Ako je neko svojstvo poligeno (ovisi o velikom broju gena), u populaciji će biti prisutan kontinuirani prijelaz fenotipa i neće biti izražene pojedine fenotipske klase (preuzeto i prilagođeno iz Atherly 1998).

Kvantitativna svojstva mogu se istraživati na način da se sve istraživane jedinke iz populacije rasporede u odgovarajuće kategorije (klase) i da se rezultati prikažu grafički (Slika 80). Ako

svojstvo prati normalnu distribuciju, rezultati će odgovarati Gaussovoj krivulji. Pri procjeni varijabilnosti nekoga kvantitativnog svojstva može se izračunati srednja vrijednost po sljedećoj formuli:

$$\bar{X} = \frac{\sum(f \cdot X)}{\sum f} \quad f = \text{broj jedinki u pojedinoj klasi, } X = \text{vrijednost pojedine klase}$$



Slika 80. Visina ljudi je poligeno svojstvo i često se prikazuje dijagramom u kojem su jedinke s određenom visinom raspoređene u klase.

Osim srednje vrijednosti računa se i standardna devijacija koja nam pokazuje stupanj raspršenosti podataka, a računa se po formuli:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X - \bar{X})^2}{(\sum f) - 1}}$$

Kod svakog istraživanja kod kojeg se mjeri samo jedan dio populacije (odabrani uzorak) naši rezultati nikad neće biti savršeno točni. No kako bismo što preciznije mogli interpretirati naše podatke, koristimo srednju pogrešku srednje vrijednosti koja se računa po formuli:

$$S = \frac{SD}{\sqrt{\sum f}}$$

Kako bi se dobiveni rezultati mogli smatrati valjanima, srednja vrijednost ne smije biti manja od trostruke srednje pogreške.

Literatura

Amorim C. E. G., Gao Z., Baker Z., Diesel J. F., Simons Y. B., Haque I. S., Pickrell J., Przeworski M. (2017) The population genetics of human disease: The case of recessive, lethal mutations. PLOS Genetics 13: e1006915. doi: [10.1371/journal.pgen.1006915](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006915).

Atherly A. G. (1998) The Science of genetics. 1st edition. Brooks Cole.

Bachtrog D., Mank J. E., Peichel C. L., Kirkpatrick M., Otto S. P., Ashman T.-L., Hahn M. W., Kitano J., Mayrose I., Ming R., Perrin N., Ross L., Valenzuela N., Vamosi J. C., Consortium T. T. of S. (2014) Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It? PLOS Biology, 12: e1001899. doi: [10.1371/journal.pbio.1001899](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001899).

Balancing (2011) Balancing selection and heterozygote advantage. Biology Forums Gallery, <https://biology-forums.com/index.php?action=gallery;sa=view;id=696>.

Bertioli D. J. (2019) The origin and evolution of a favorite fruit. Nature Genetics, 51: 372–373.

Betts J. G., Young K. A., Wise J. A., Johnson E., Poe B., Kruse D. H., Korol O., Johnson J. E., Womble M., DeSaix P. (2013) Anatomy and Physiology. OpenStax, Houston, Texas, <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/1-introduction>.

Blaussen.com staff (2014) [Medical gallery of Blaussen Medical 2014](https://www.blaussen.com/medical-gallery/). WikiJournal of Medicine, 1 (2). doi:[10.15347/wjm/2014.010](https://doi.org/10.15347/wjm/2014.010).

Chial H. (2008) Rare Genetic Disorders: Learning About Genetic Disease Through Gene Mapping, SNPs, and Microarray Data. Nature Education 1(1), 192.

Chikhirzhina E., Starkova T., Beljajev A., Polyanichko A., Tomilin A. (2020) Functional Diversity of Non-Histone Chromosomal Protein HmgB1. International Journal of Molecular Sciences 21, 7948. doi: [10.3390/ijms21217948](https://doi.org/10.3390/ijms21217948).

Choate J. D. (2018) Chapter 3 – ABO and Rh Blood Groups. In: Clinical Principles of Transfusion Medicine, str. 15–24. Maitta R.W., Ur. Elsevier. doi: [10.1016/B978-0-323-54458-0.00003-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-54458-0.00003-9).

Comai L. (2005) The advantages and disadvantages of being polyploid. Nature Reviews Genetics 6, 836–846. doi: [10.1038/nrg1711](https://doi.org/10.1038/nrg1711).

Cornell B. (2016) DNA Experiments (mrežna stranica) <http://ib.bioninja.com.au>.

Darlington C. (1953) Polyploidy in Animals. Nature 171, 191–194. doi: [10.1038/171191a0](https://doi.org/10.1038/171191a0).

Feldman M., Levy A. A. (2005) Allopolyploidy-a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenetic and Genome Research* 109: 250–258. doi: [10.1159/000082407](https://doi.org/10.1159/000082407).

Feldman M., Levy A. A. (2005) Evolution and origin of bread wheat. *The Plant Cell* 34: 2549–2567. doi: [10.1093/plcell/koac130](https://doi.org/10.1093/plcell/koac130).

Fowler S., Roush R., Wise J. (2013) *Concepts of Biology*, Open stax, Houston, Texas, <https://openstax.org/books/concepts-biology/pages/1-introduction>.

Freeman G., Lundelius J. W. (1982) The developmental genetics of dextrality and sinistrality in the gastropod *Lymnaea peregra*. *Wilehm Roux's Archives of Developmental Biology* 191, 69–83. doi: [10.1007/BF00848443](https://doi.org/10.1007/BF00848443).

Green P. (2010) The ‘Royal Disease’. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 8, 2214–2215. doi: [10.1111/j.1538-7836.2010.03999.x](https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2010.03999.x).

Herrel A., Huyghe K., Vanhooydonck B., Backeljau T., Breugelmans K., Grbac I., Van Damme R., Irschick D. J. (2008) Rapid large-scale evolutionary divergence in morphology and performance associated with exploitation of a different dietary resource. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 4792–4795. doi: [10.1073/pnas.0711998105](https://doi.org/10.1073/pnas.0711998105).

Inoue J., Mitsuya K., Maegawa S., Kugoh H., Kadota M., Okamura D., Shinohara T., Nishihara S., Takehara S., Yamauchi K., Schulz T. C., Oshimura M. (2001) Construction of 700 human/mouse A9 monochromosomal hybrids and analysis of imprinted genes on human chromosome 6. *Journal of Human Genetics* 46, 137–145. doi: [10.1007/s100380170101](https://doi.org/10.1007/s100380170101).

Lans H., Marteijn J. A., Vermeulen W. (2012) ATP-dependent chromatin remodeling in the DNA-damage response. *Epigenetics & chromatin* 5, 4. doi: [10.1186/1756-8935-5-4](https://doi.org/10.1186/1756-8935-5-4).

Litvinchuk S., Borkin L., Skorinov D., Pasyukova R., Rozanov Y. (2016) Natural polyploidy in amphibians. *Vestnik of Saint-Petersburg State University, Biology* 77–86. doi: [10.21638/11701/spbu03.2016.314](https://doi.org/10.21638/11701/spbu03.2016.314).

Liu F., Si H., Wang C., Sun G., Zhou E., Chen C., Ma C. (2016) Molecular evolution of Wcor15 gene enhanced our understanding of the origin of A, B and D genomes in *Triticum aestivum*. *Scientific Reports* 6, 31706. doi: [10.1038/srep31706](https://doi.org/10.1038/srep31706).

Lu M., Shuai L., Sangaiah A. K., Zhou Y., Pan Z., Zuo Y. (2018) Nucleosome positioning with fractal entropy increment of diversity in telemedicine. *IEEE Access* 6, 33451-33459. doi: 10.1109/ACCESS.2017.2779850.

Mable B. K. (2003) Breaking down taxonomic barriers in polyploidy research. *Trends in Plant Science* 8, 582–590. doi: [10.1016/j.tplants.2003.10.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2003.10.006).

Madlung A. (2013) Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. *Heredity* 110, 99–104. doi: [10.1038/hdy.2012.79](https://doi.org/10.1038/hdy.2012.79).

O'Doherty A. M., MacHugh D. E., Spillane C., Magee D. A. (2015) Genomic imprinting effects on complex traits in domesticated animal species. *Frontiers in Genetics* 6, 156 doi: [10.3389/fgene.2015.00156](https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00156).

Ogbonnaya F. C., Abdalla O., Mujeeb-Kazi A., Kazi A. G., Xu S. S., Gosman N., Lagudah E. S., Bonnett D., Sorrells M. E., Tsujimoto H. (2013) Synthetic hexaploids: Harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. *Plant Breeding Reviews* 37, 35–122. doi: [10.1002/9781118497869.ch2](https://doi.org/10.1002/9781118497869.ch2).

Otto S. P., Whitton J. (2000) Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics* 34, 401–437. doi: [10.1146/annurev.genet.34.1.401](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.401).

Otto S. P. (2007) The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell* 131, 452–462. doi: [/10.1016/j.cell.2007.10.022](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.022).

Stansfield W. D. (1991) *Schaum's outline of theory and problems of genetics*. Third Edition. McGraw-Hill Companies.

Tamarin R. H. (2004) *Principles of Genetics*. 7th Edition. McGraw-Hill Companies.

Van de Peer Y., Mizrachi E., Marchal K. (2017). The evolutionary significance of polyploidy. *Nature Reviews Genetics* 18, 411–424. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.26>.

Wolf J. B., Wade M. J. (2009) What are maternal effects (and what are they not)?, *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 364, 1107–1115. doi: [10.1098/rstb.2008.0238](https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0238).

Wolfe K. H. (2001) Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nature Reviews Genetics* 2, 333–341. doi: [10.1038/35072009](https://doi.org/10.1038/35072009).

Zergollern i suradnici (1994) *Humana genetika (odabrana poglavlja)*. Medicinska naklada Zagreb.

Mrežni izvori:

Web 1 www.genome.gov

Web 2 https://en.wikipedia.org/wiki/Blood_type#/media/File:ABO_blood_type.svg

Web 3 https://www.mun.ca/biology/scarr/Barr_Bodies.html

Web 4 <http://www.cas.miamioh.edu/~wilsonkg/gene07/chap15/humanped.htm>

Web 5 <https://old-ib.bioninja.com.au/higher-level/topic-7-nucleic-acids/71-dna-structure-and-replic/dna-experiments.html>

Web

6 https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0e/Nondisjunction_Diagrams.svg/2560px-Nondisjunction_Diagrams.svg.png

Web 7 <https://uvmgg.fandom.com/wiki/Diploid>

Web 8 <https://www.slideshare.net/slideshow/polyploidy-229557490/229557490#23>

Web 9 https://wiki2.org/en/File:Chromosomes_mutations-en.svg

Web 10 <https://www.genetika.biol.pmf.hr/>