



Biologia molekularna z genetyką

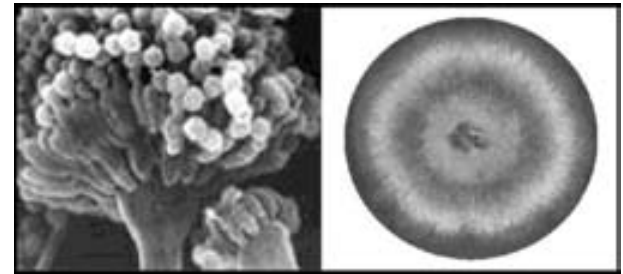
P. Golik i M. Koper

Konwersatorium 1: Analiza genetyczna eukariontów – *Aspergillus nidulans*

Makrokierunek: Bioinformatyka i Biologia Systemów; 2016

Opracowano na podstawie materiałów dydaktycznych Instytutu Genetyki i Biotechnologii UW dla kursu Genetyki D na Wydz. Biologii.

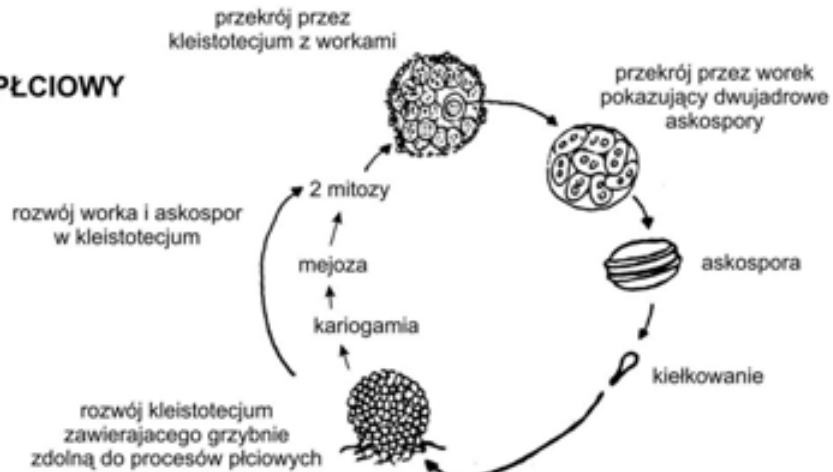
Aspergillus nidulans:



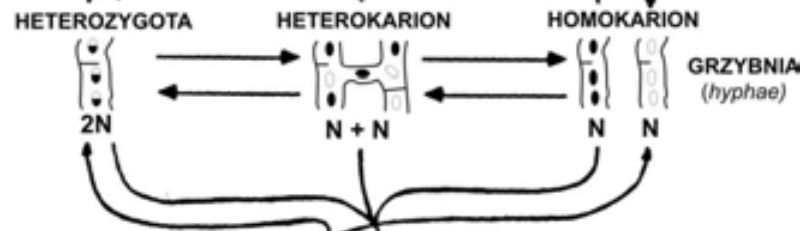
- **Grzyb nitkowaty**
- **Komórczak**
- **Organizm haploidalny: $1n$ chromosomów**
- **Genom: ok. 31 Mbp., 8 chromosomów**
- **Dobry model dla grzybów wykorzystywanych w biotechnologii i patogenów**
- **Model do badań biologii komórki i badań rozwojowych**

CYKL ŻYCIOWY *Aspergillus nidulans*

CYKL PŁCIOWY



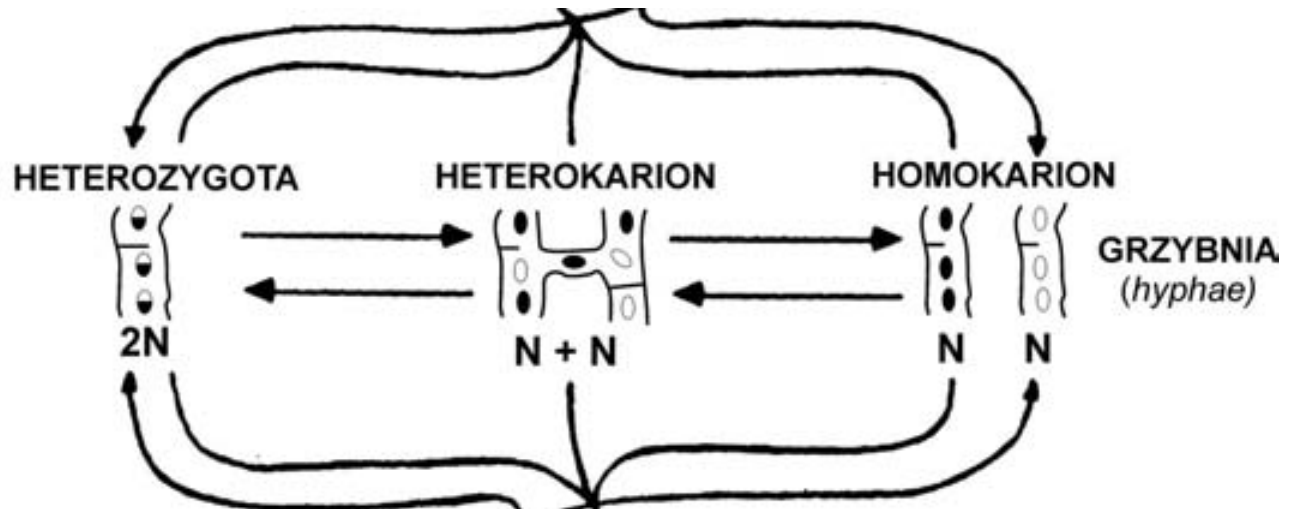
CYKL PARA-SEKSUALNY



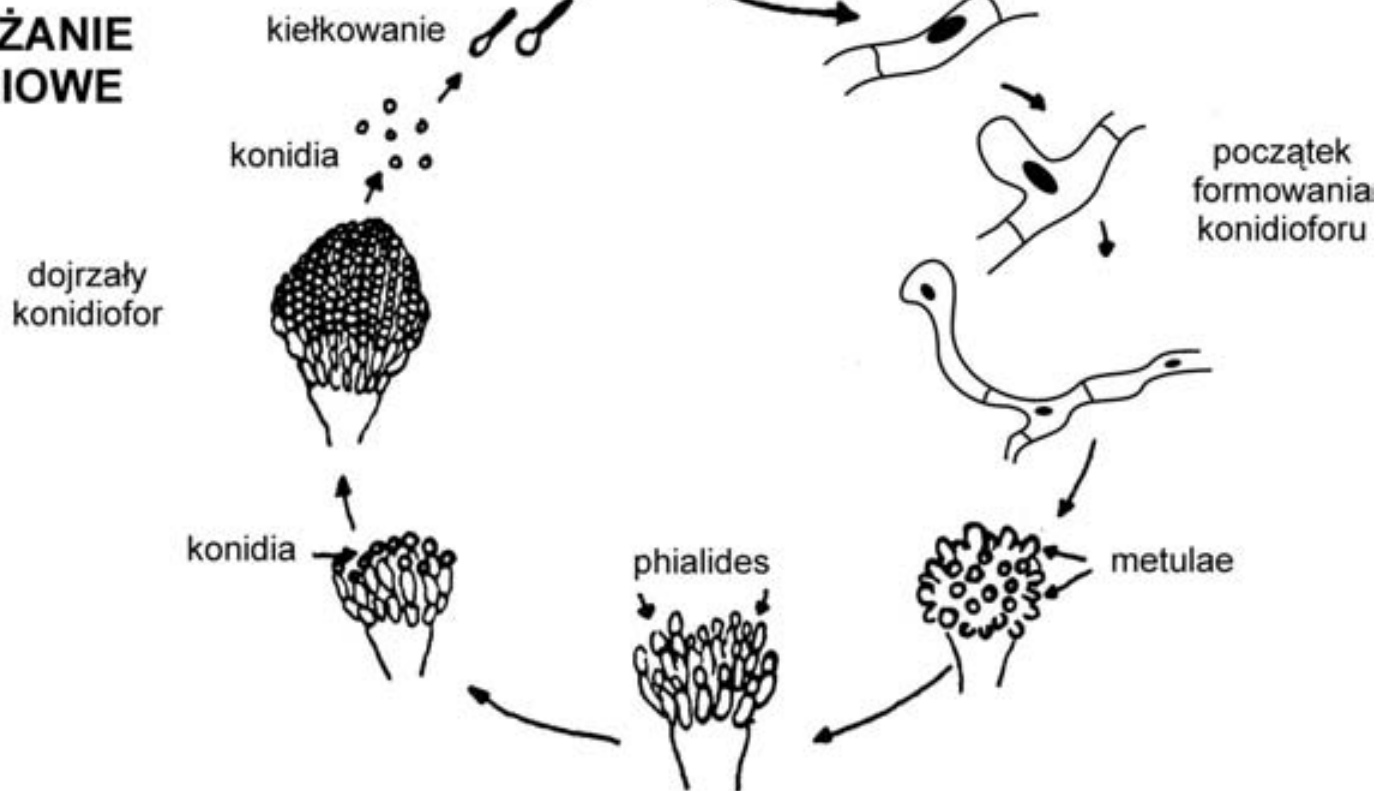
ROZMNAŻANIE BEZPŁCIOWE



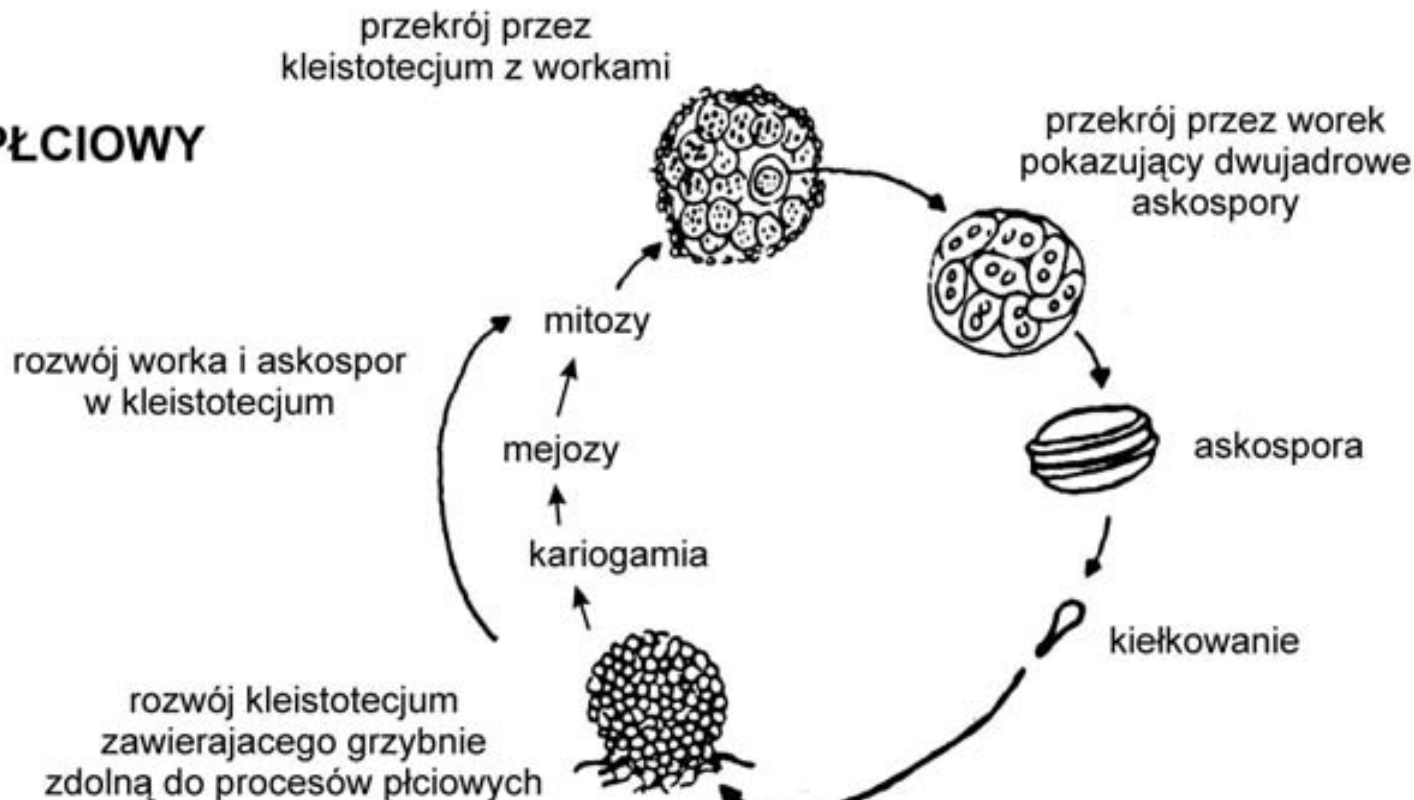
**CYKL
PARA-
SEKSUALNY**



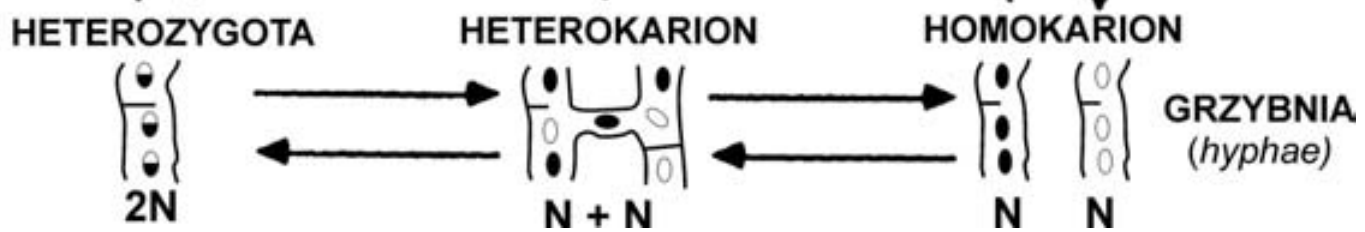
**ROZMNAŻANIE
BEZPŁCIOWE**



CYKL PŁCIOWY

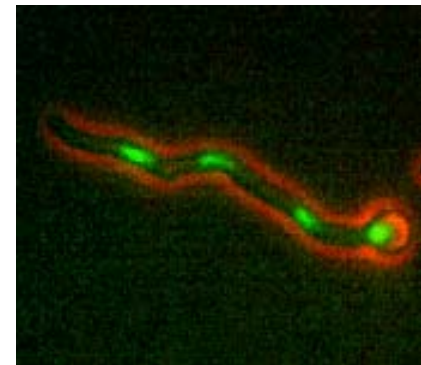


CYKL PARA-SEKSUALNY



Haploidalny organizm modelowy (1n)

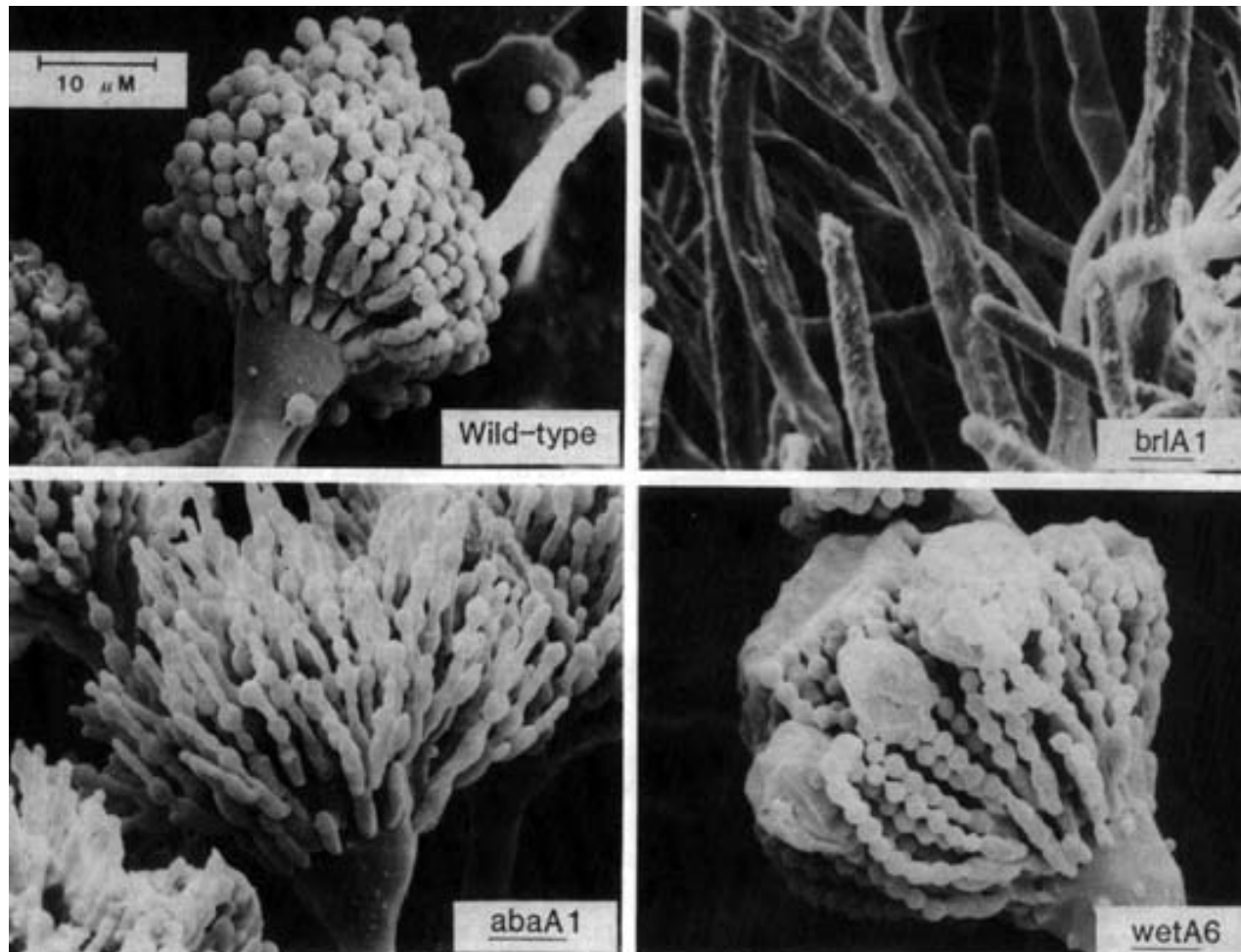
Aspergillus nidulans



**Kiełkujące konidium
wyrażające w jądrze GFP**

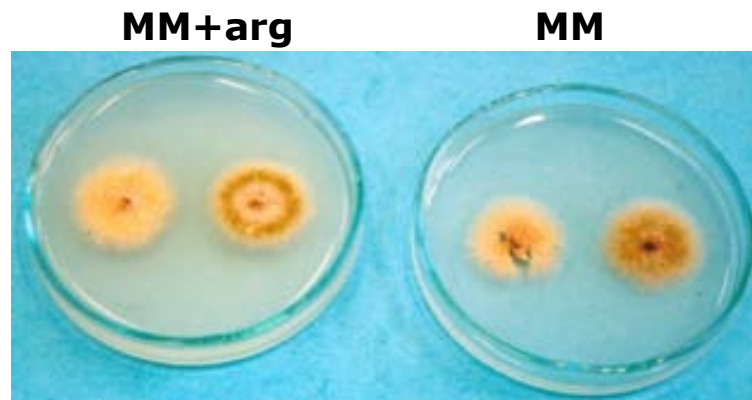
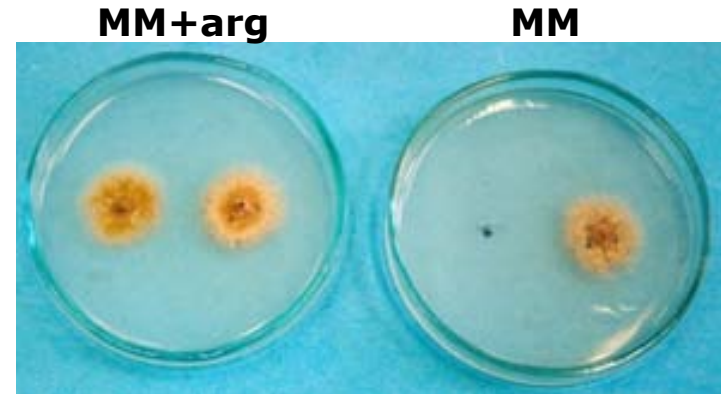
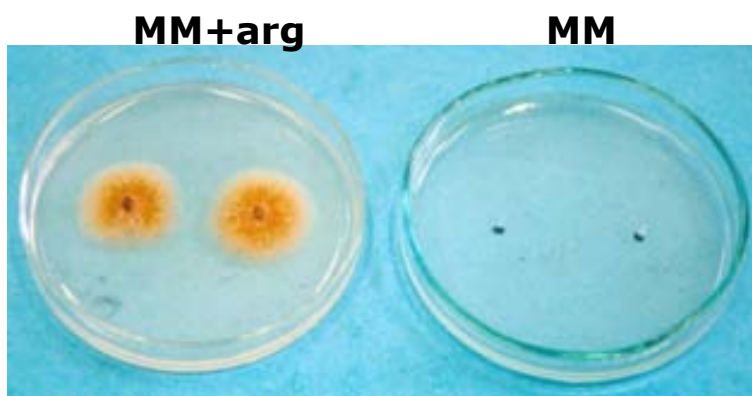
Requena *et al.* Molecular Microbiology 2001;42

Mutanty rozwojowe *Aspergillus nidulans*



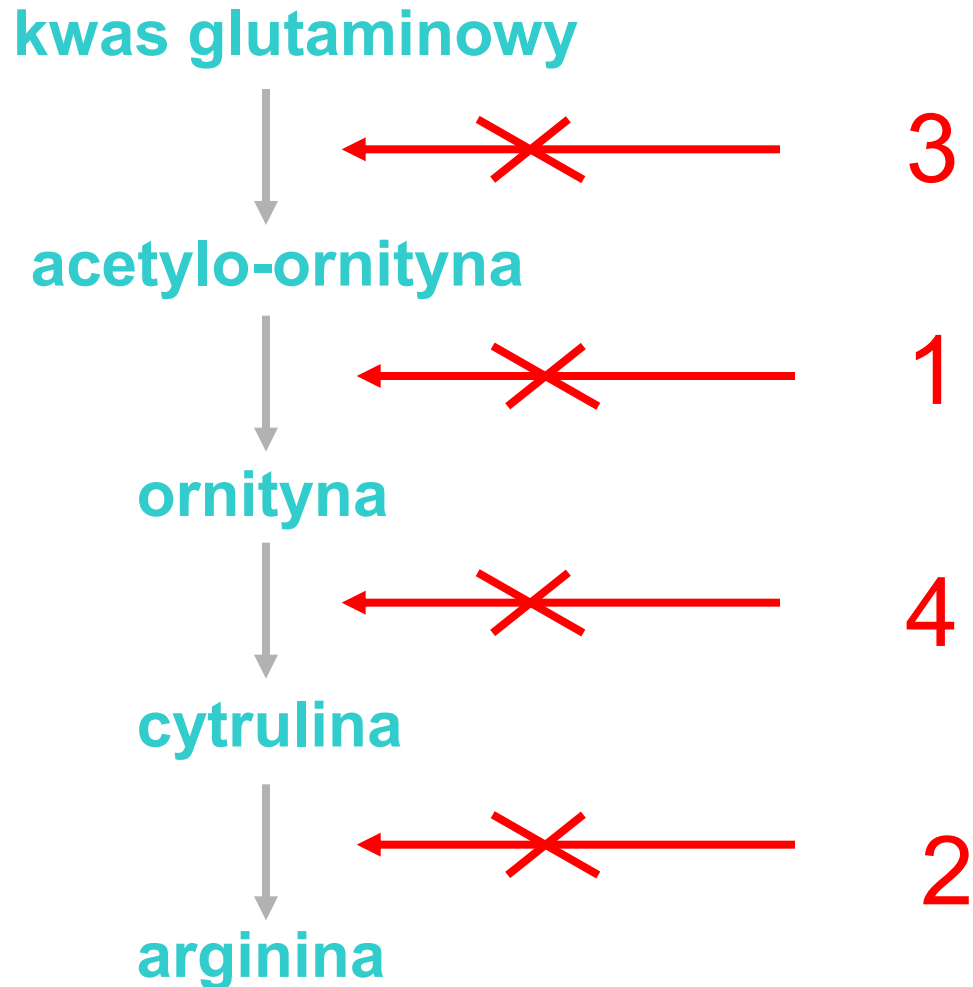
Test na komplementację

Analiza heterokarionów: określenie liczby grup komplementacyjnych czyli w ilu genach zaszły mutacje.
(dla mutacji recesywnych)



Analiza szlaków biochemicznych

SZLAK BIOSYNTETY ARGININY



Zadanie 1

Wyzolowano 4 mutanty pokarmowe *A. nidulans*, wymagające do wzrostu związku Z. Mutanty te komplementowały ze sobą. Mutanty testowano na podłożach zawierających związki P, R, S i T, będące prekursorami związku Z. Na związku R nie rósł żaden z mutantów. Na związku S nie rósł tylko mutant 1. Mutant 4 nie rósł na związkach P i R. Mutant 2 gromadził związek R. Mutant 3 rósł tylko na związku S.

- a) Jeżeli działa tu pojedynczy szlak przemian, jaka jest kolejność jego etapów i gdzie są zablokowane poszczególne mutanty?
- b) Jaka część askospor powstałych w wyniku skrzyżowania mutantów 1 i 2 wyrośnie na pożywce minimalnej bez uzupełnień?

Analiza krzyżówki *Aspergillus nidulans*

Test na mieszańcowość klejstotecjów

klejstotecjum
selfowe



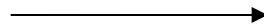
Klejstotecja
mieszańcowa

klejstotecjum
selfowe

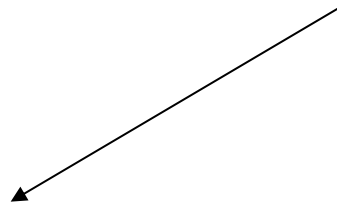
Krzyżówka *A. nidulans*



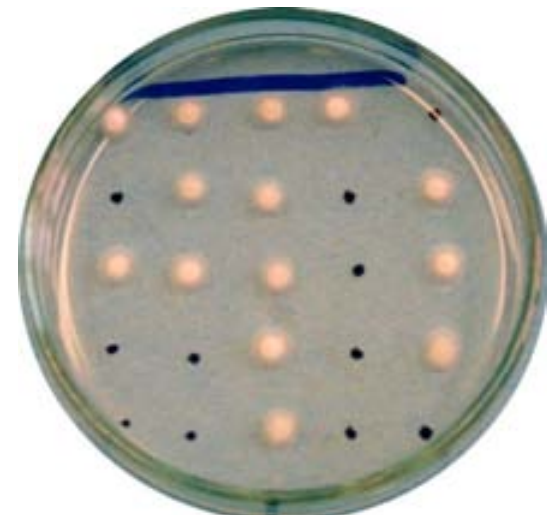
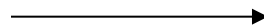
test mieszańcowości klejstotecjów



poj. kolonie z askospor



szalka wzorcowa



testy wzrostowe replik

Krzyżówka 3-punktowa *A. nidulans* *proA7 x pabaA9, yA2*

Pro + +	758	Układ rodzicielski
+ paba y	753	
+ + +	96	Po c-o między pro - paba
pro paba y	92	
pro + y	131	Po c-o między paba - y
+ paba +	138	
pro paba +	15	Po podwójnym c-o
+ + y	17	

Krzyżówka 3-punktowa *A. nidulans* *proA7 x pabaA9, yA2*

pro A7 *paba A9* +

+ + *y A2*

Odległości między genami:

proA – *pabaA* 11 j. m.

paba A – *yA* 15 j.m.

Zadanie 2

Skrzyżowano 2 mutanty o żółtej i białej barwie konidii. Spośród 1000 potomnych kolonii, 499 miało konidia białe, 249 konidia żółte a pozostałe zielone. Zinterpretuj otrzymany wynik.

Zadanie 3

U *A. nidulans* odległość między genami *his* i *bi* wynosi 40 cM (j. m.). Gen *paba* jest z nimi nie **sprzężony**. Wykonano **krzyżówkę *his, bi* x *paba***. Jaka **część** potomstwa **wyrośnie na pożywkach**:

- a) MM + *paba*
- b) MM + *bi*
- c) MM + *paba* + *bi*
- d) MM

Zadanie 4

Skrzyżowano dwa szczepy *A. nidulans*:
pro, ad x y. Otrzymano następujące klasy
askospor:

pro ad + 500
+ + y 500
pro ad y 20
+ + + 20

pro + y 5
+ ad + 5
pro + + 25
+ ad y 25

Czy geny są sprzężone? Jeśli tak, podaj ich
ułożenie i odległości między nimi.

Zadanie 5

Wykonano krzyżówkę *A. nidulans*: *ad1; phen x ad2; thi*. Geny *ad1* i *ad2* leżą w odległości 20 j. m. od siebie, pozostałe geny nie są z nimi sprzężone. Jaka część potomstwa wyrośnie na pożywce minimalnej uzupełnionej fenyloalaniną?