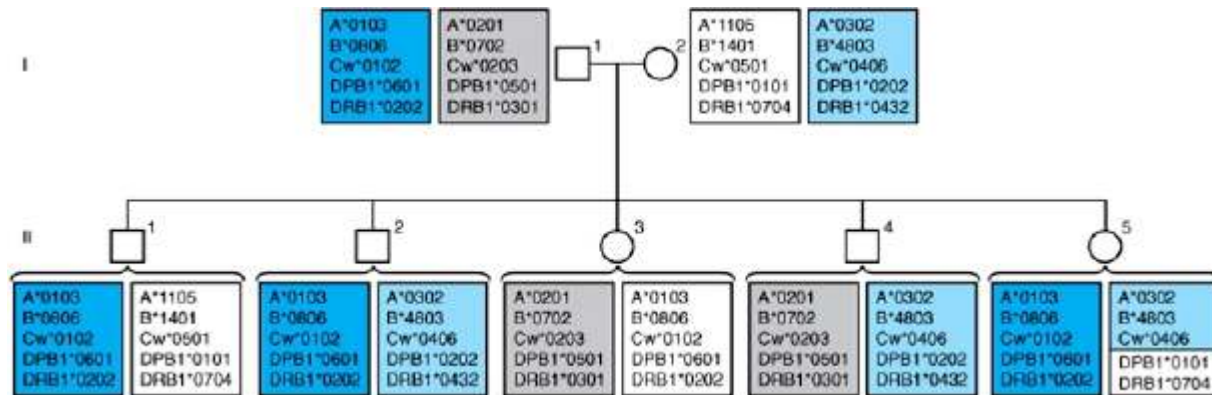


Tema 28. LIGAMIENTO II

LIGAMIENTO EN LA ESPECIE HUMANA

- * Marcadores polimórficos para el estudio del ligamiento.
- * Haplotipo familiar y cambio de fase de ligamiento.





¿QUÉ SON LOS LOCI MARCADORES?

Los loci marcadores son lugares en el genoma en los que hay secuencias variables que "marcan" puntos de referencia en el genoma.

Son consideradas como alelos, que en la mayoría de los casos no se transcriben a productos génicos.

Se utilizan como señales, a semejanza de las que marcan los kilómetros en nuestras carreteras, permitiendo que nos orientemos en las largas moléculas de ADN de los cromosomas. **Su posición concreta está catalogada en bases de datos** muy completas correspondientes a todos y cada uno de los segmentos cromosómicos, por pequeños que éstos sean.

Actualmente disponemos de técnicas de genética molecular capaces de determinar el genotipo completo de cualquier persona respecto a millones de Loci marcadores, localizados en todos los cromosomas, con los que se llevan a cabo estudios de ligamiento.

LOCI MARCADORES PARA ESTUDIOS DE LIGAMIENTO

- * **RFLP** (polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción): Se observan transferidos a membranas, hibridándolos con sondas radioactivas o fluorescentes.
- * **VNTR** (número variable de repeticiones en serie=tandem). **Minisatélites**: repeticiones de 14-500 p.b. Tienen varios miles de p.b. de longitud total.
- * **STRP** (polimorfismos cortos de repetición en tandem). **Microsatélites**: regiones en las que se repiten en serie secuencias de 1-13 p.b. Llegan a medir hasta unos miles de p.b. de longitud total.
- * **SNP** (polimorfismos de un sólo nucleótido): Los más numerosos de todos.
- * **CNP** (polimorfismo del número de copias): De segmentos de 200 p.b. a 2Mb, identificados por hibridación genómica comparativa.

Polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

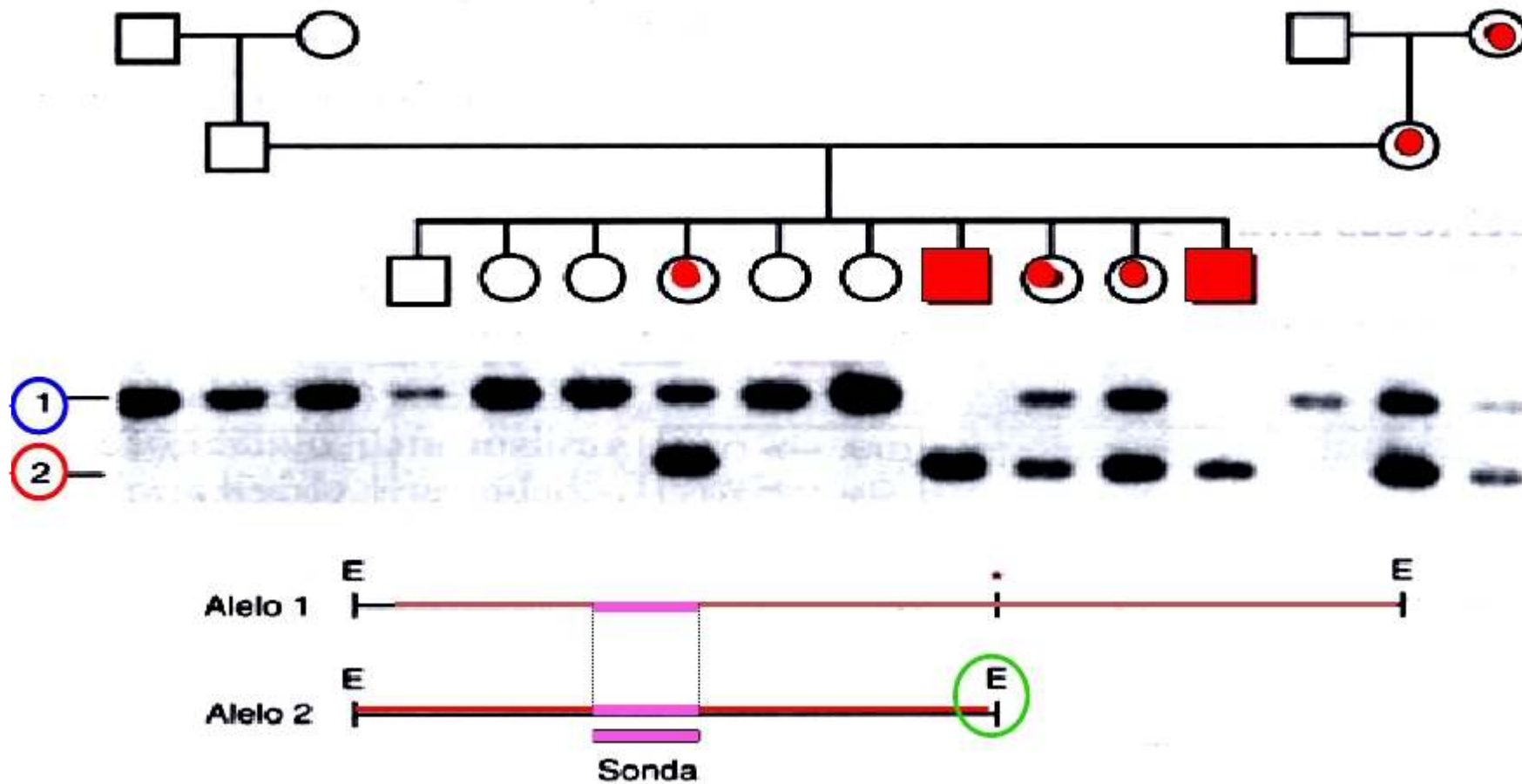
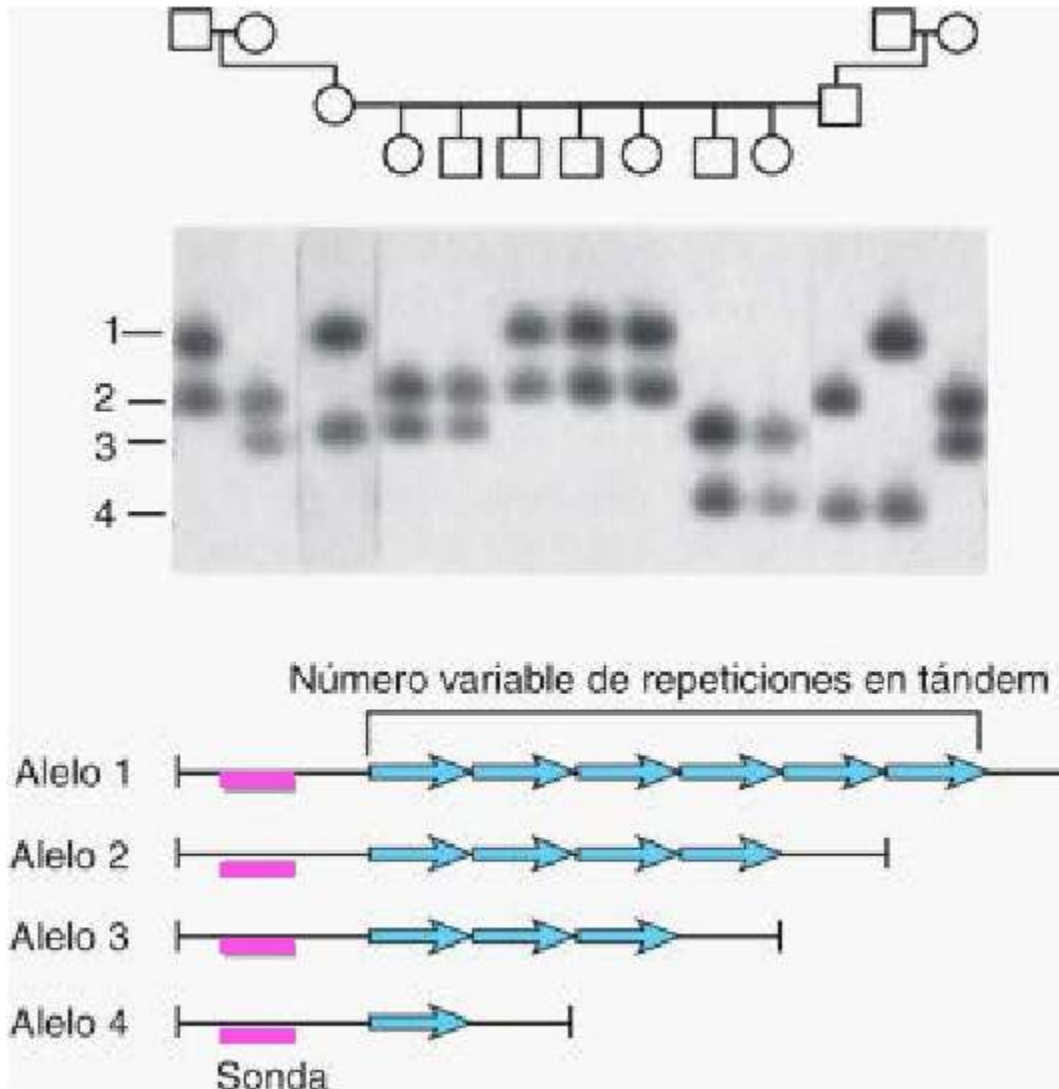


Fig.6-4 Thompson 2004: La sonda hibrida con una secuencia presente en los dos alelos. Los alelos 1 y 2 se distinguen porque la mutación del alelo 2 ha generado en él un nuevo sitio **E** que es reconocido por la enzima de restricción **EcoR1**.

Minisatélites (VNTR)



En esta familia hay 4 alelos y cada uno tiene un número distinto de copias en tándem, (representadas en la figura por flechas azules del mismo tamaño).

Se digiere el ADN con una enzima de restricción específica de los extremos de los 4 alelos.

Se hibridan los fragmentos con una **sonda única**, que reconoce a una secuencia situada fuera de las copias.

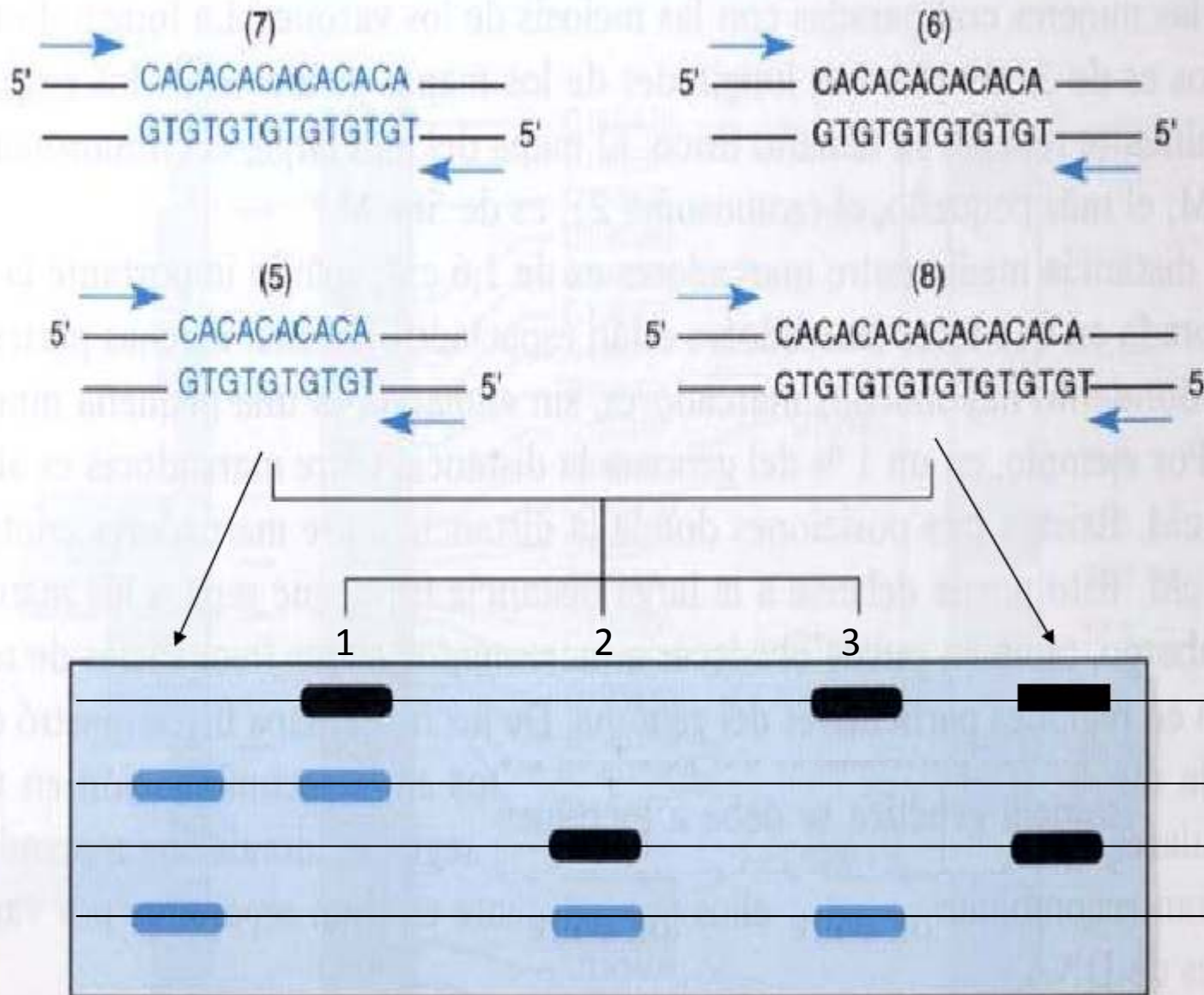
Los alelos se separan por una transferencia Southern.

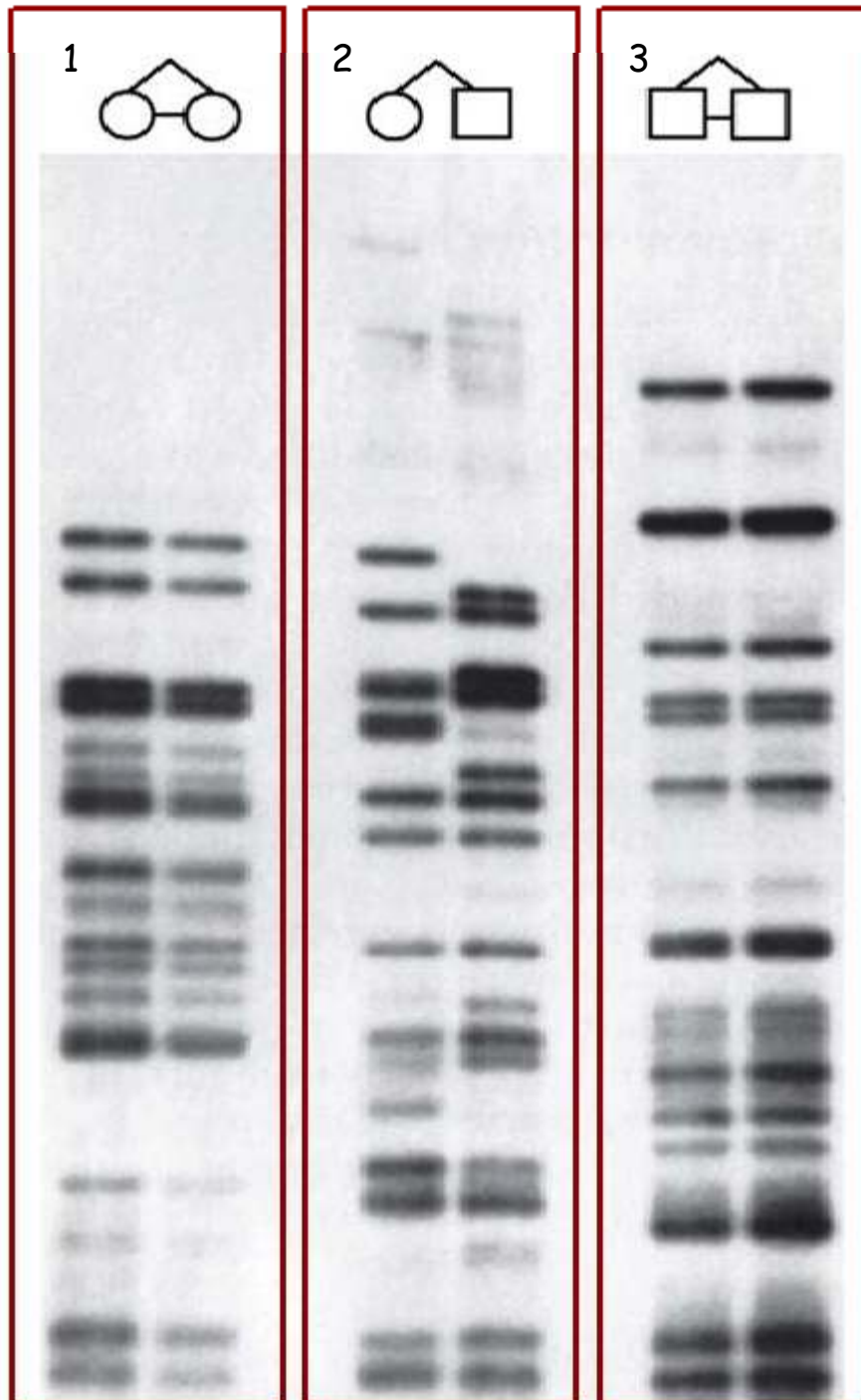
Fig. 9-5 Thompson 7ma Ed.

Microsatélites (STRP)

Más variables que los minisatélites, lo que les hace más útiles para el análisis de ligamiento.

En este caso los alelos tienen la secuencia CA repetida entre 5 y 8 veces. En esta familia todos son heterocigotos.





POLIMORFISMOS Y HUELLA GENÉTICA

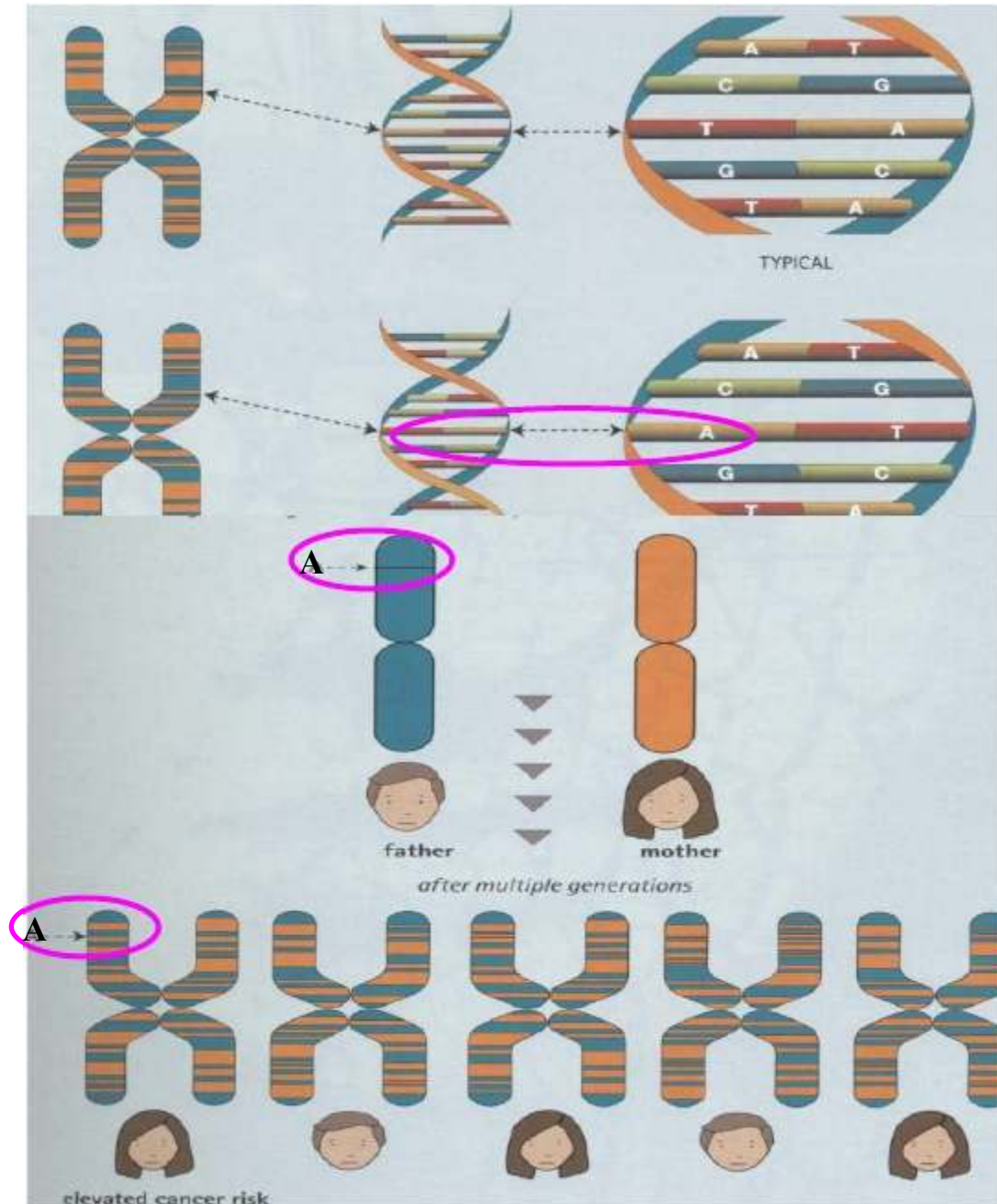
Utilización de polimorfismos del ADN para determinar la huella genética:

Sólo los gemelos monocigóticos (1 y 3) coinciden en su perfil de marcadores con distinto número de repeticiones en serie.

Esta figura (9-6 Thompson 7ma Ed.) se refiere a minisatélites.

Perfiles que utilizan una docena de microsatélites determinan -con margen de error extremadamente bajo- si dos muestras de ADN pertenecen o no a la misma persona.

Polimorfismos de un nucleótido (SNP)



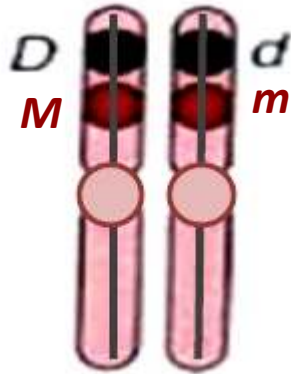
Son los más abundantes
(más de 15 millones).

Se heredan sin cambios de
una a otra generación.

HAPLOTIPOS Y FASES DE LIGAMIENTO

Haplotipo es un grupo de alelos que están muy cerca en el mismo cromosoma y que generalmente se heredan juntos (porque están ligados).

Por definición, se dice que están en fase CIS (o en acoplamiento) los alelos situados en el mismo cromosoma y en fase TRANS (o en repulsión) los que están en distinto cromosoma del par de homólogos.



D está en el mismo cromosoma que M y d en el mismo que m:

DM/dm

DM y dm están ligados en fase CIS (o en acoplamiento)

Es lo mismo que decir que:

Dm y dM están ligados en fase TRANS (o en repulsión)

HAPLOTIPOS Y FASES DE LIGAMIENTO

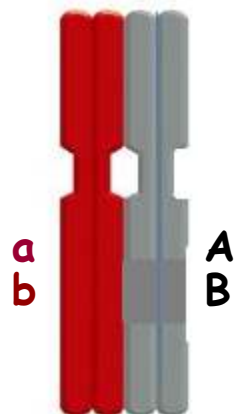
La fase del haplotipo de los progenitores se mantiene en la mayoría de sus gametos

Por lo que:

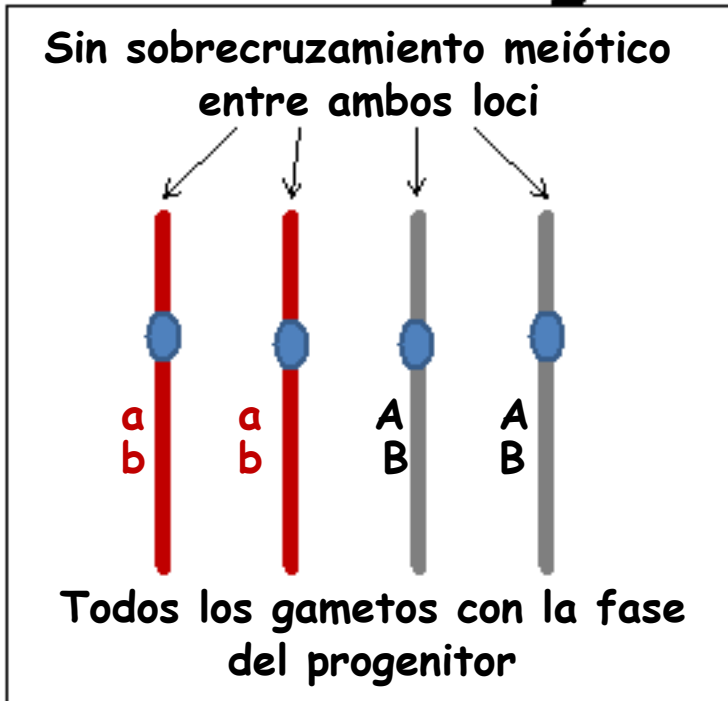
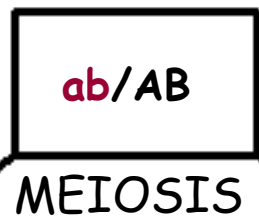
Lo más frecuente es que los descendientes tengan la misma fase que sus progenitores

¿Porqué la fase más frecuente en los descendientes es la de sus progenitores?

Parental doble heterocigoto **AaBb**: En principio podría ser **aB/Ab** o **ab/AB**



En este ejemplo **a** está en CIS con **b** y **A** en CIS con **B**:

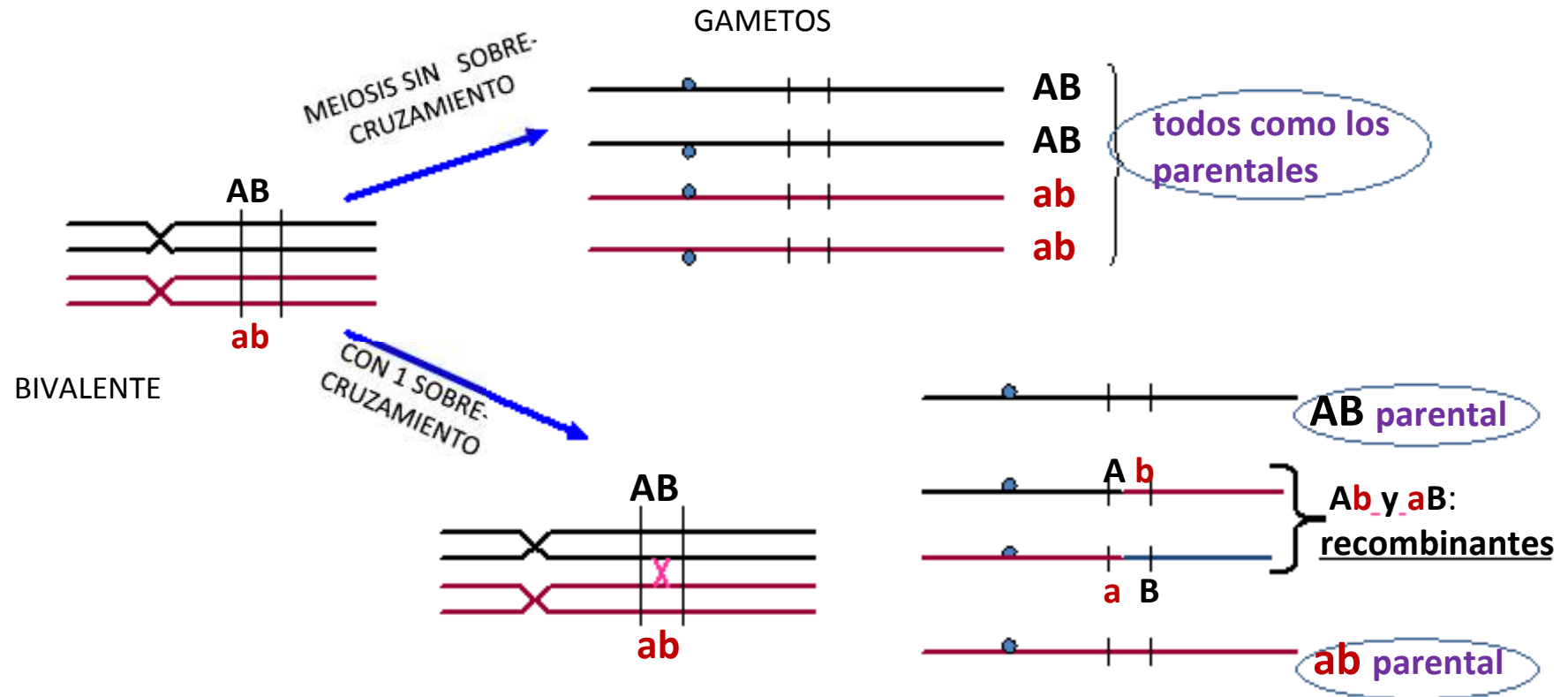


Con sobrecruzamiento meiótico entre ambos loci

Sólo cambia la fase de la mitad de los gametos que provienen de bivalentes con sobrecruzamiento, ya que de las 4 cromátidas del bivalente sólo dos "juegan" en cada sobrecruzamiento, recombinando sus alelos.

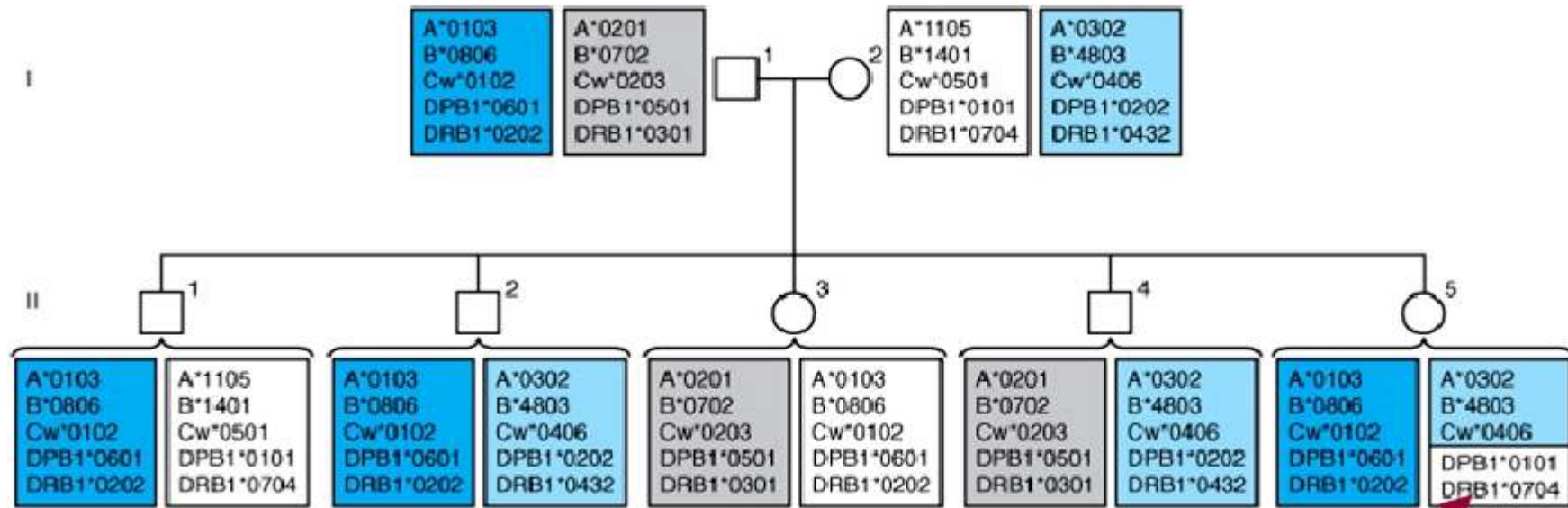
La fase más frecuente en los hijos es la de sus padres porque:

Es la de todos los gametos de bivalentes sin sobrecruzamiento y la de la mitad de los gametos de bivalentes en los que se dio un sobrecruzamiento:



En este ejemplo las combinaciones alélicas parentales son AB y ab (AB/ab). La mayoría de los gametos serán AB y ab. Sólo los gametos procedentes de las cromátidas recombinantes tendrán las combinaciones alélicas nuevas: Ab y aB.

Herencia de haplotipos familiares: ejemplo del antígeno leucocitario humano HLA



En general los haplotipos HLA se transmiten como unidades, debido a que sus alelos están ligados.

En esta familia sólo II-5 ha recibido un **haplotipo recombinante** de los dos de su madre, con cambio de la fase de ligamiento de parte de sus alelos (Fig. 9-9 Thompson 2008).

La fracción de recombinación Θ de los alelos de este haplotipo es la frecuencia con la que cambian de fase al pasar de una a otra generación.

IMPORTANCIA DEL LIGAMIENTO

Actualmente seguimos sin conocer cuáles son y dónde están muchos de los genes que causan enfermedades.

Identificar a los genes que más influyen en las enfermedades humanas es el primer paso para poder clonarlos, lo que permite secuenciarlos y analizar los productos génicos normales y patológicos. Conocer los productos génicos involucrados en cada enfermedad es fundamental para comprender las claves moleculares de ésta.

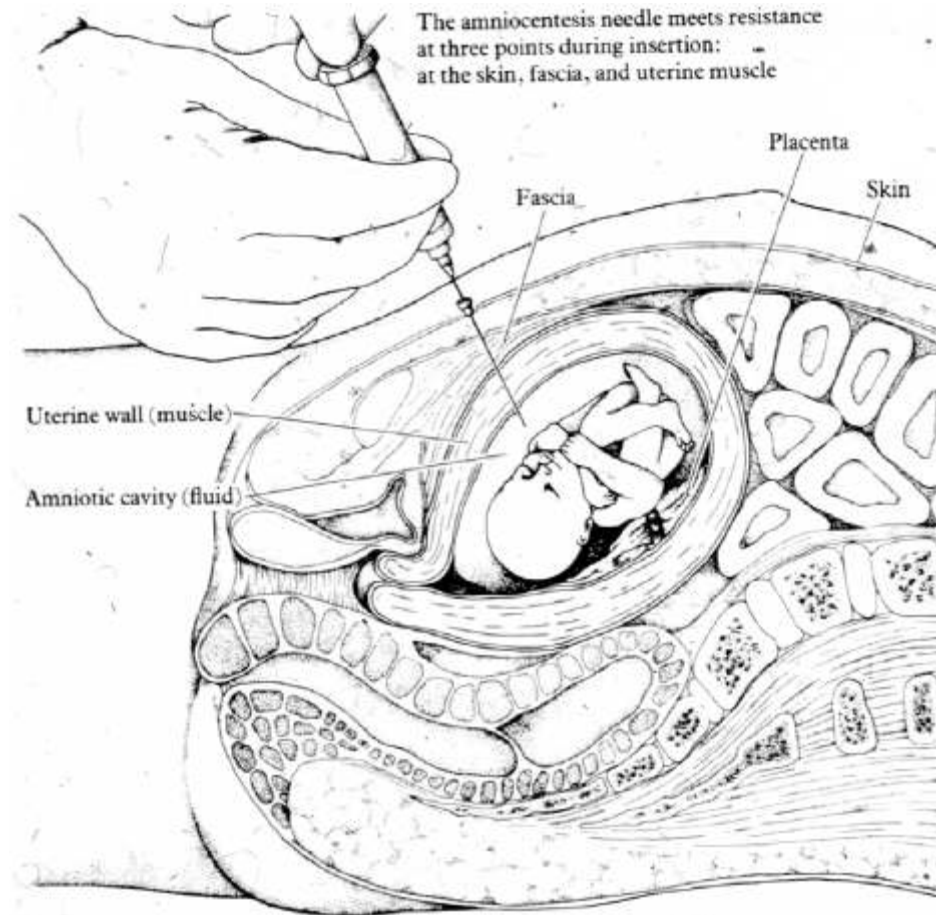
Localizar a los alelos anómalos responsables de enfermedades hace posible el diagnóstico, pronóstico y mejor tratamiento de los pacientes.

LIGAMIENTO PARA DIAGNOSTICAR ENFERMEDADES

El diagnóstico pre-sintomático trata de averiguar si una persona tiene un genotipo que hará que enferme en el futuro.

El diagnóstico prenatal se realiza antes del nacimiento.

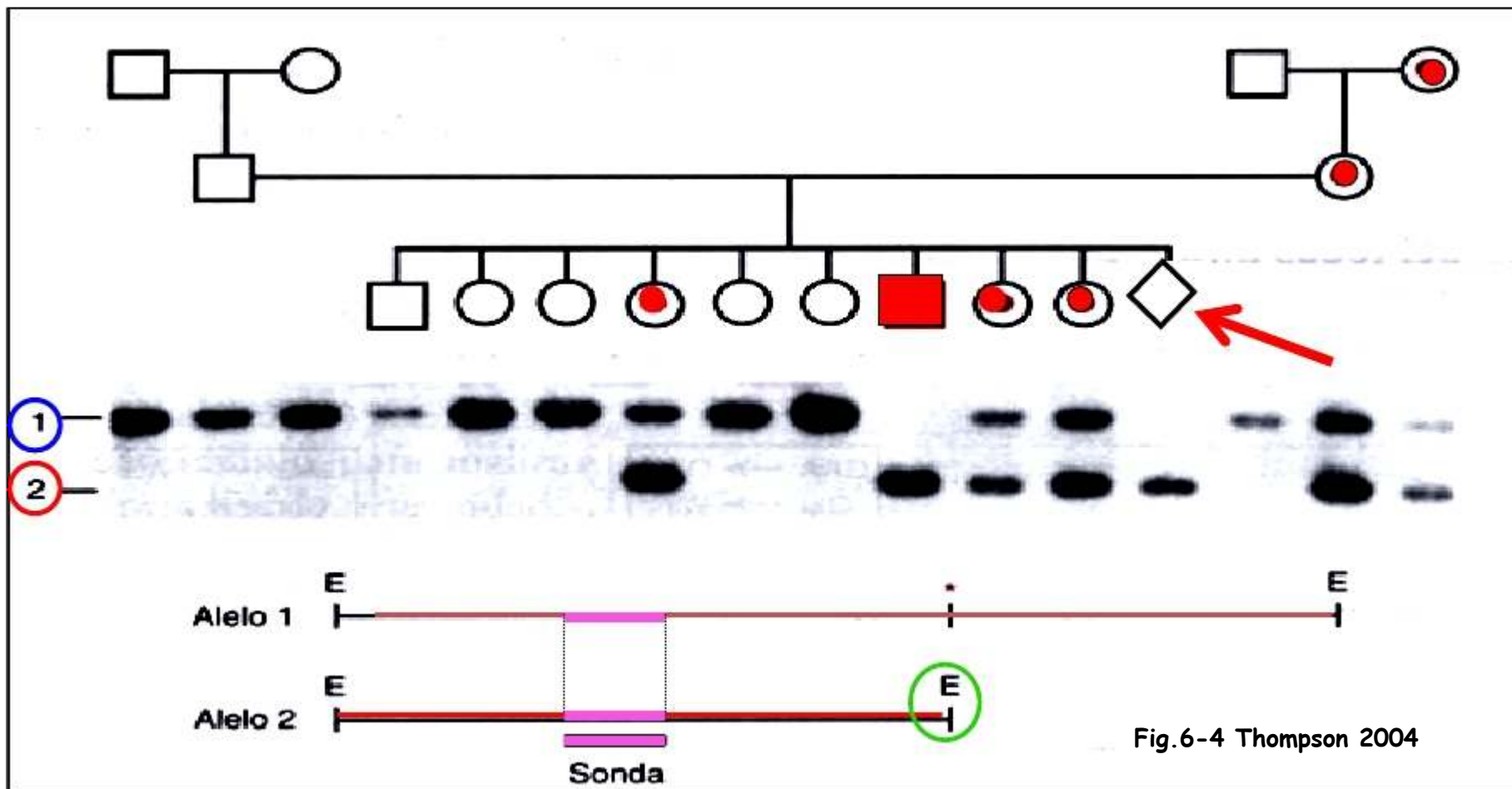
Diagnóstico prenatal: amniocentesis



Hacia la semana 17 se extraen 10-20ml de líquido amniótico bajo control ecográfico.

Las células del líquido amniótico, de origen fetal, se cultivan para hacer con ellas estudios citogenéticos, bioquímicos y moleculares, como la **determinación de marcadores polimórficos para estudios de ligamiento**.

MARCADORES PARA DIAGNÓSTICO PRENATAL PROBABLE POR LIGAMIENTO



En este árbol, el alelo 2 del marcador está ligado a la mutación que produce una enfermedad (con herencia recesiva ligada al X). Si sabemos que el probandus será un varón que tiene el alelo 2 (cariotipo 46 XY y alelo 2 determinados por amniocentesis)

¿Es más probable que el probandus sea enfermo o sano?

LIGAMIENTO PARA DIAGNOSTICAR ENFERMEDADES

El **diagnóstico** al que se llega por el ligamiento es indirecto, ya que se basa en análisis estadísticos.

En herencia monogénica, el ligamiento se utiliza para **calcular la probabilidad de que una persona haya heredado o no el alelo que causa la enfermedad. Para ello es imprescindible conocer la fase de ligamiento de dicho alelo con uno o más marcadores polimórficos en su familia (PROGENITOR INFORMATIVO).**

En herencia multifactorial el ligamiento se utiliza en **estudios de asociación** de series de numerosos enfermos y controles sanos, como veremos al final del curso.

