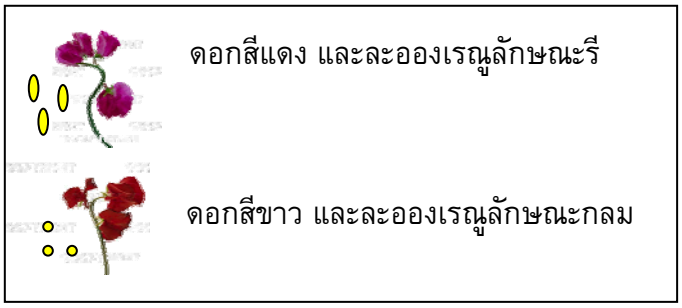
บทที่ 5
ลิงเกจกับครอสซิงโอเวอร์
(Linkage and Crossing Over)

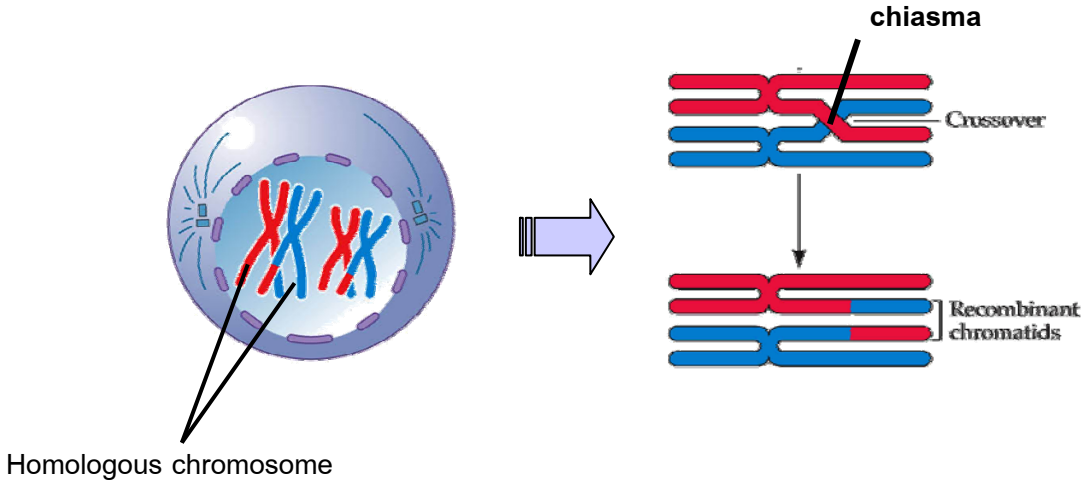
5.1 การค้นพบสภาพลิงเกจ

ในปี ค.ศ. 1905 พุนเนตต์ (Punnett) และเบตสัน (Bateson) ทำการทดลองผสมพันธุ์พืชตระกูลถั่ว สายพันธุ์ sweet pea โดยสังเกตลักษณะสีดอก และลักษณะละอองเรณู ซึ่งทำการผสมพันธุ์ระหว่างต้นที่มีดอกสีแดง และละอองเรณูลักษณะรี ซึ่งเป็นลักษณะเด่น และต้นที่มีดอกสีขาว และละอองเรณูลักษณะกลม ซึ่งเป็นลักษณะด้อย พบว่ารุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด มีลักษณะดอกสีแดง และละอองเรณูลักษณะรี แต่เมื่อนำรุ่นลูกผสม F_1 มาผสมกัน พบว่าลูกผสมรุ่น F_2 มีอัตราส่วน ต้นที่มีดอกสีแดง และละอองเรณูลักษณะรี : ดอกสีแดง และละอองเรณูลักษณะกลม : ลักษณะดอกสีขาว และละอองเรณูลักษณะรี : ดอกสีขาว และละอองเรณูลักษณะกลม เท่ากับ 23.3 : 1 : 1 : 6.8 ตามลำดับ (รูปที่ 5.1) แทนที่จะมีอัตราส่วน 9 : 3 : 3 : 1 ตามกฎของเมนเดล ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากยีนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีดอก และลักษณะละอองเรณู น่าจะอยู่บนโครโมโซมเดียวกัน ทำให้หลังจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ยีนทั้งสองจึงไม่แยกออกจากกัน เพื่อรวมตัวใหม่อย่างอิสระ ดังนั้นพุนเนตต์ และเบตสันจึงเรียกยีนที่อยู่ติดกันในโครโมโซมเดียวกันว่า ลิงค์ยีน (linked gene) และเมื่อยีนดังกล่าวเข้าสู่กระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส จะส่งผลให้ยีนทั้ง 2 ยีน มีแนวโน้มเคลื่อนย้ายไปด้วยกันเกือบตลอดเวลา ซึ่งเรียกสภาพการณ์เช่นนี้ว่า ลิงเกจ (linkage) นอกจากนี้ผลการศึกษาลิงเกจในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นทั้งพืช และสัตว์ พบว่ากลุ่มลิงเกจมีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนคู่โครโมโซม เช่น คนมีโครโมโซม 23 คู่ จึงมีลิงเกจ 23 กลุ่มด้วย

ถึงแม้ว่ายีนที่เป็นลิงเกจกันจะเคลื่อนย้ายไปด้วยกันตลอดเวลา แต่ก็ไม่ถาวรเสมอไป เนื่องจากยีนที่เป็นลิงเกจมีโอกาสแยกออกจากกันได้บ้าง ถ้าเกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ (รูปที่ 5.2) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่พบได้ในกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส โดยเกิดจากการไขว้กันระหว่างโครมาทิดของโฮโมโลกัสโครโมโซมที่มาเข้าคู่แนบชิดกัน ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างชิ้นส่วนโครมาทิดของโฮโมโลกัสโครโมโซม ส่งผลให้โครมาทิดของโฮ



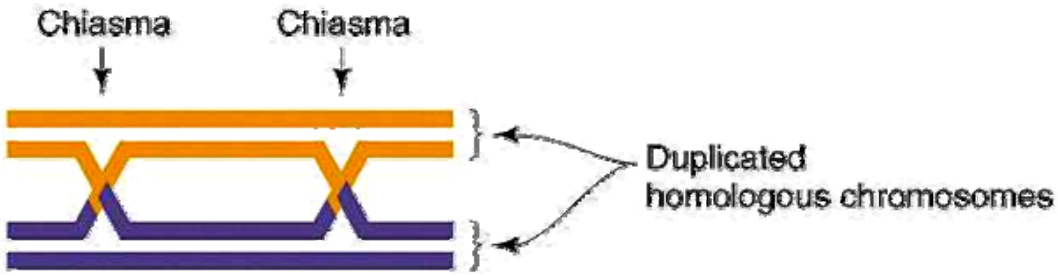
รูปที่ 5.1 การทดลองผสมพันธุ์ต้นถั่วสายพันธุ์ sweet pea ระหว่างต้นที่มีดอกสีแดง และละอองเรณูลักษณะรี ซึ่งเป็นลักษณะเด่น และต้นที่มีดอกสีขาว และละอองเรณูลักษณะกลม ซึ่งเป็นลักษณะด้อย



รูปที่ 5.2 ปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ ซึ่งเป็นการแลกเปลี่ยนระหว่างชิ้นส่วนโครมาทิดของโฮโมโลกัสโครโมโซม

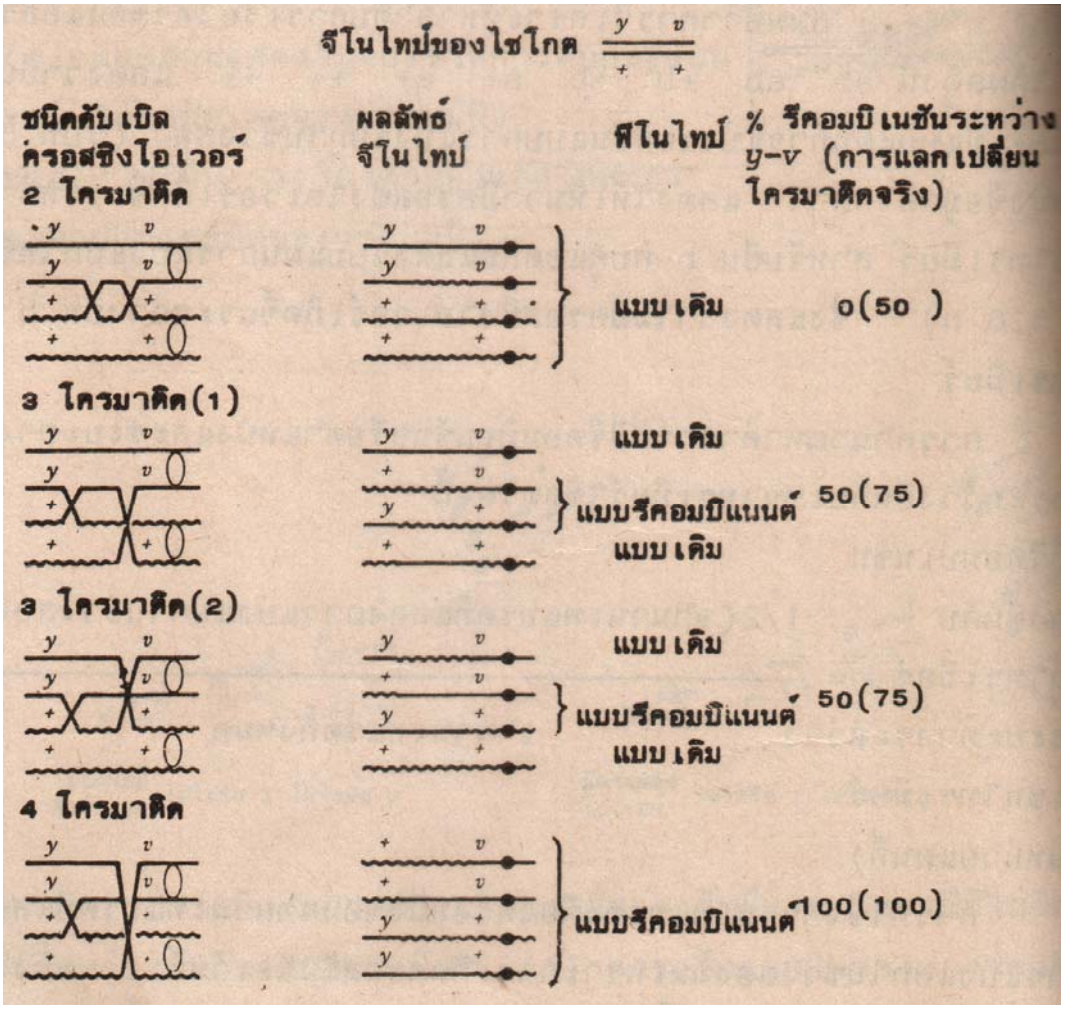
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

นอกจากนี้ปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ อาจเกิดขึ้นที่ตำแหน่งต่างๆ ในโครโมโซมคู่ใดคู่หนึ่ง และอาจเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ที่ 2 ตำแหน่งพร้อมๆกันได้ ซึ่งเรียกว่า ดับเบิลครอส ซิ่งโอเวอร์ (double crossing over) (รูปที่ 5.3) การเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์สามารถเกิดได้กับโครมาทิดใดของโฮโมโลกัสโครโมโซมก็ได้ (รูปที่ 5.4)



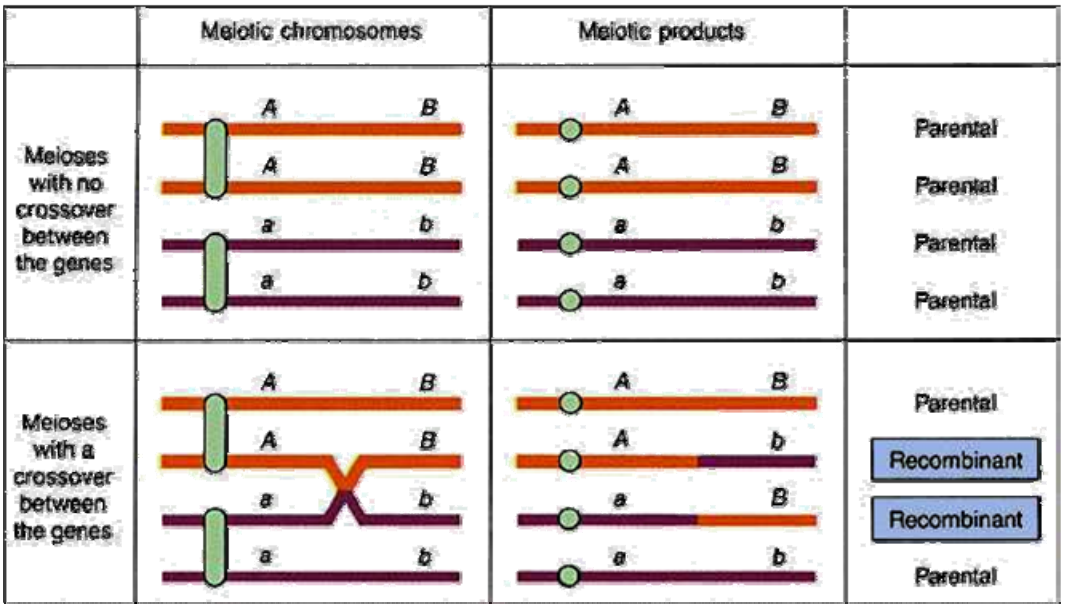
รูปที่ 5.3 ปรากฏการณ์ดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ ซึ่งเป็นการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ที่ 2 ตำแหน่งพร้อมๆกัน

(แหล่งที่มา:http://nitro.biosci.arizona.edu/courses/EEB3202005/Lecture09/lecture09.html)



รูปที่ 5.4 การเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างโครมาทิดแบบต่าง ๆของโฮโมโลกัสโครโมโซม (แหล่งที่มา: วิสุทธิ์ ใบไม้, 2538)

ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ถ้าไม่เกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ จะส่งผลให้เซลล์สืบพันธุ์ที่เกิดขึ้นทั้งหมด มีสารพันธุกรรมเหมือนเดิม เรียก พาเรนทัล (parental) แต่ถ้าเกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส จะส่งผลให้โครมาทิดของเซลล์สืบพันธุ์บางเซลล์มีสารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เรียกว่า รีคอมบิแนนท์ (recombinant) แต่ถ้าโครมาทิดใดไม่ได้เกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่ง โอเวอร์ ก็จะมีสารพันธุกรรมเหมือนเดิมในเซลล์สืบพันธุ์ (รูปที่ 5.5)

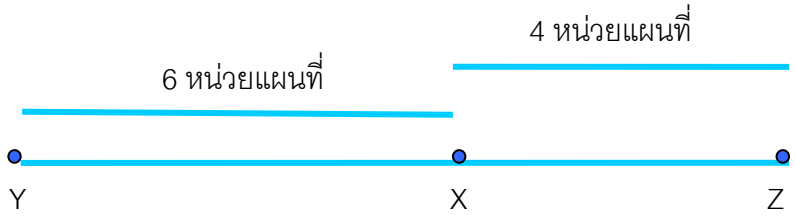


รูปที่ 5.5 เซลล์สืบพันธุ์ที่ได้หลังจากกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส
(ก) ไม่เกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส
(ข) เกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

เอ. เอส. สเทอร์เทแวนต์ (A. H. Sturteveant) พบว่ายีนต่างๆ ในโครโมโซมเดียวกันแสดงความถี่ของการเกิดยีนรีคอมบิเนชั่นต่างกัน ดังนั้นสเทอร์เทแวนต์มีแนวคิดว่ายีนรีคอมบิเนชั่นเป็นผลมาจากการเกิดครอสซิงโอเวอร์ และโอกาสเกิดยีนรีคอมบิเนชั่นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระยะทางระหว่างยีนในโครโมโซมเดียวกัน ดังนั้นการเกิดรีคอมบิเนชั่นระหว่างยีนที่อยู่ใกล้กันจึงมีโอกาสน้อยกว่ารีคอมบิเนชั่นระหว่างยีนที่อยู่ห่างกันออกไป

ความถี่ของการเกิดยีนรีคอมบิเนชั่น หรือความถี่ของการเกิดครอสซิงโอเวอร์ระหว่างยีน 2 ยีน มีความหมายแสดงถึงระยะทางระหว่างยีนทั้งสอง คือ ความถี่ยีนรีคอมบิเนชั่น หรือครอสซิงโอเวอร์ระหว่างยีน 2 ยีน 1% = 1 หน่วยแผนที่ (map unit)

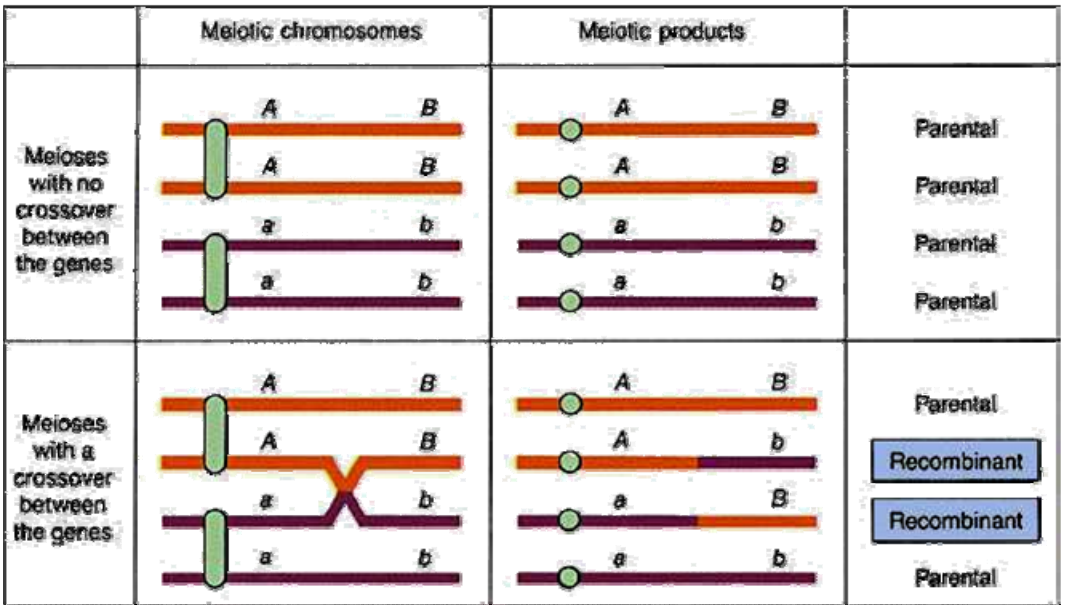
<u>สมมติ</u>ให้ยีน X, Y และ Z อยู่ในโครโมโซมเดียวกัน เมื่อทดลองผสมพันธุ์ระหว่างยีน X กับยีน Y, ยีน X กับยีน Z และยีน Y กับยีน Z พบความถี่ยีนรีคอมบิเนชั่นของยีนแต่ละคู่เท่ากับ 6%, 4% และ 10% ตามลำดับ (รูปที่ 5.6)



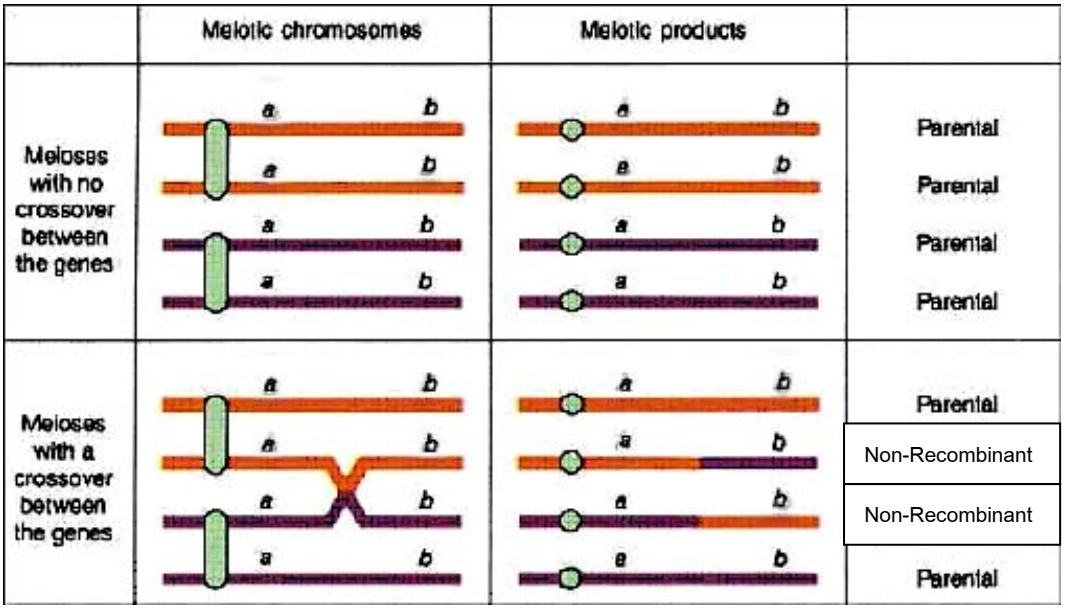
รูปที่ 5.6 ระยะทางระหว่างยีน X ยีน Y และยีน Z

หลักการเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ยีนรีคอมบิเนชั่นกับระยะทางระหว่างยีน สามารถนำไปคาดเดาผลที่เกิดจากการผสมระหว่างยีนที่ทราบตำแหน่ง และระยะทางที่แน่นอนแล้ว เช่น ยีน A และ B อยู่ในโครโมโซมเดียวกัน และห่างกันประมาณ 10 หน่วยแผนที่ ดังนั้นถ้าหากทำการผสมพันธุ์สิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ AB/ab × ab/ab ก็อาจคาดคะเนเซลล์สืบพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากสิ่งมีชีวิตทั้งสองได้ เช่น สิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ AB/ab น่าจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่มีจีโนไทป์ AB และ ab (รูปที่ 5.7 ก)

แต่เมื่อทำการทดลองกลับพบว่าเซลล์สืบพันธุ์อาจมีจีโนไทป์เป็น Ab และ aB ได้อีกด้วย ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างยีนในปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ ทำให้เซลล์สืบพันธุ์มียีนที่เปลี่ยนแปลงไป เรียกยีนที่เกิดลักษณะนี้ว่า พวกรีคอมบิแนนต์ (recombinant) (รูปที่ 5.7 ข) และเรียกองค์ประกอบของยีนในเซลล์สืบพันธุ์ที่เหมือนเดิม ซึ่งไม่มีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างยีนนี้ว่า นอนรีคอมบิแนนท์ (non-recombinant) หรือพาเรนทัล ในขณะที่สิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ ab/ab เมื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์จะมีเฉพาะจีโนไทป์ ab เท่านั้น ถึงแม้ว่าจะเกิดปรากฏการณ์ครอสซิ่งโอเวอร์ (รูปที่ 5.8)



รูปที่ 5.7 กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ AB/ab
(ก) แบบไม่เกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์ (ข) แบบเกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 5.8 กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ ab/ab
(ก) แบบไม่เกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์ (ข) แบบเกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์
(ดัดแปลงจากแหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

5.2 วิธีหาตำแหน่ง และระยะทางระหว่างยีน

5.2.1 การวิเคราะห์หาตำแหน่งยีนในพวกดิพลอยด์

แมลงหวี่มีจำนวนโครโมโซม 4 คู่ สำหรับในการทดลองนี้ใช้ยีนด้อย 3 ยีน ที่อยู่ในโครโมโซม X ซึ่งเป็นยีนเป้าหมาย โดยกำหนดให้ ยีนควบคุมลักษณะรอยหยักของปีก (ct) ยีนควบคุมลักษณะลำตัวสีเหลือง (y) และยีนควบคุมลักษณะตาขรุขระ (ec) ส่วนโครโมโซม X อีกแท่งเป็นยีนควบคุมลักษณะปกติ (+) จากนั้นทำการทดลองผสมแมลงหวี่ตัวเมียลักษณะปกติ ซึ่งมีจีโนไทป์ y ec ct กับแมลงหวี่ตัวผู้ที่มีลักษณะด้อยทั้งสามยีน ซึ่งมีจีโนไทป์ y ec ct จะได้ลูก-
+ + +
ผสมรุ่น F_1 (ตารางที่ 5.1) การผสมทดสอบแบบนี้ เรียกว่า การผสมทดสอบสามจุด (three-point test cross)

จากการทดลองพบว่า ความถี่ยีนรีคอมบิเนชันทั้งหมดระหว่างยีน Y กับ ec = 5.0 + 0.35 = 5.35% เทียบได้กับระยะทางระหว่างยีนทั้งสองในโครโมโซมประมาณ 5.35 หน่วยแผนที่ ในขณะที่ยีน ec กับ ct = 19.96 + 0.35 = 20.31% เทียบได้กับระยะทางระหว่างยีนทั้งสองในโครโมโซมประมาณ 20.31 หน่วยแผนที่ สรุปแผนที่ของยีนทั้วสามในโครโมโซม X เป็นดังนี้

ดังนั้นโอกาสการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างยีน Y และยีน ec = 0.0535 และระหว่างยีน ec และยีน ct = 0.2031 นอกจากนี้ยีนทั้งสามยังมีโอกาสเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ได้ ดังนั้นความน่าจะของการเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ของทั้ง 3 ยีน คือ 0.0535 × 0.2031= 0.01087

หมายเหตุ ที่เป็นผลคูณเนื่องจากโอกาสเกิดเหตุการณ์ทั้งสองเหตุการณ์นั้นเป็นอิสระต่อกัน ถ้ามีการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งหนึ่ง จะมีผลไปรบกวนบริเวณข้างเคียง ทำให้บริเวณข้างเคียงมีโอกาสเกิดครอสซิ่งโอเวอร์น้อยลงกว่าที่ควรจะเป็น เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า อินเทอร์เฟเรนซ์ (interference) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

สัมประสิทธิ์ของโคอินซิเดนซ์ = $\frac{\text{ความถี่ของดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ที่เกิดขึ้นจริง}}{\text{ความถี่ของดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ที่คาดว่าจะเกิดขึ้น}}$

อินเทอร์เฟเรนซ์ = 1 - สัมประสิทธิ์ของโคอินซิเดนซ์

ตารางที่ 5.1 ผลการผสมพันธุ์แมลงหวี่ระหว่างตัวเมีย $\frac{y\ ec\ ct}{+\ +\ +}$ กับตัวผู้ $\frac{y\ ec\ ct}{}$

และข้อมูลเกี่ยวกับลิงเกจ และรีคอมบิเนชั่นรวมทั้งดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์

(แหล่งที่มา: วิสุทธิ์ ใบไม้, 2538)

ฟีโนไทป์	จีโนไทป์ ตัวผู้	จีโนไทป์ ตัวเมีย	จำนวน	
ตัวสีเหลือง ตาขรุขระ ปีกหยัก	y ec ct	$\frac{y\ ec\ ct}{y\ ec\ ct}$	1071	$\frac{2151}{2880} = 74.69\ \%$
ปกติ	+ + +	$\frac{+\ +\ +}{y\ ec\ ct}$	1080	(พวกนอนรีคอมบิแนนต์)
ตัวสีเหลือง	y + +	$\frac{y\ +\ +}{y\ ec\ ct}$	78	$\frac{144}{2880} = 5.00\ \%$
ตาขรุขระ ปีกหยัก	+ ec ct	$\frac{+\ ec\ ct}{y\ ec\ ct}$	66	(พวกรีคอมบิแนนต์ระหว่าง y และ ec)
ตัวสีเหลือง ตาขรุขระ	y ec +	$\frac{y\ ec\ +}{y\ ec\ ct}$	282	$\frac{575}{2880} = 19.96\ \%$
ปีกหยัก	+ + ct	$\frac{+\ +\ ct}{y\ ec\ ct}$	293	(พวกรีคอมบิแนนต์ระหว่าง ec และ ct)
ตัวสีเหลือง ปีกหยัก	y + ct	$\frac{y\ +\ ct}{y\ ec\ ct}$	4	$\frac{10}{2880} = 0.35\ \%$
ตาขรุขระ	+ ec +	$\frac{+\ ec\ +}{y\ ec\ ct}$	6	(พวกที่เกิดจากดับเบิลครอส-โอเวอร)
			2880	

จากการทดลองนี้พบว่า

สัมประสิทธิ์ของโคอินซิเดนซ์ = $\frac{\text{ความถี่ของดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ที่เกิดขึ้นจริง}}{\text{ความถี่ของดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ที่คาดว่าจะเกิดขึ้น}}$

= 0.0035 / 0.01087

= 0.322

อินเทอร์เฟเรนซ์ = 1 – สัมประสิทธิ์ของโคอินซิเดนซ์

= 1 – 0.322

= 0.678 หรือ 67.8 %

ค่าอินเทอร์เฟเรนซ์มาก แสดงว่าตำแหน่งยีนที่กำลังพิจารณานั้น อยู่ใกล้กันมาก และการที่ยีนอยู่ใกล้กันมาก ทำให้โอกาสเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ลดลง หรืออาจไม่เกิดเลย ในทางตรงกันข้าม ถ้ายีนอยู่ห่างกันมาก โอกาสเกิดดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์จะเพิ่มมากขึ้น

5.2.2 การวิเคราะห์หาตำแหน่งยีนในพวกแฮพลอยด์

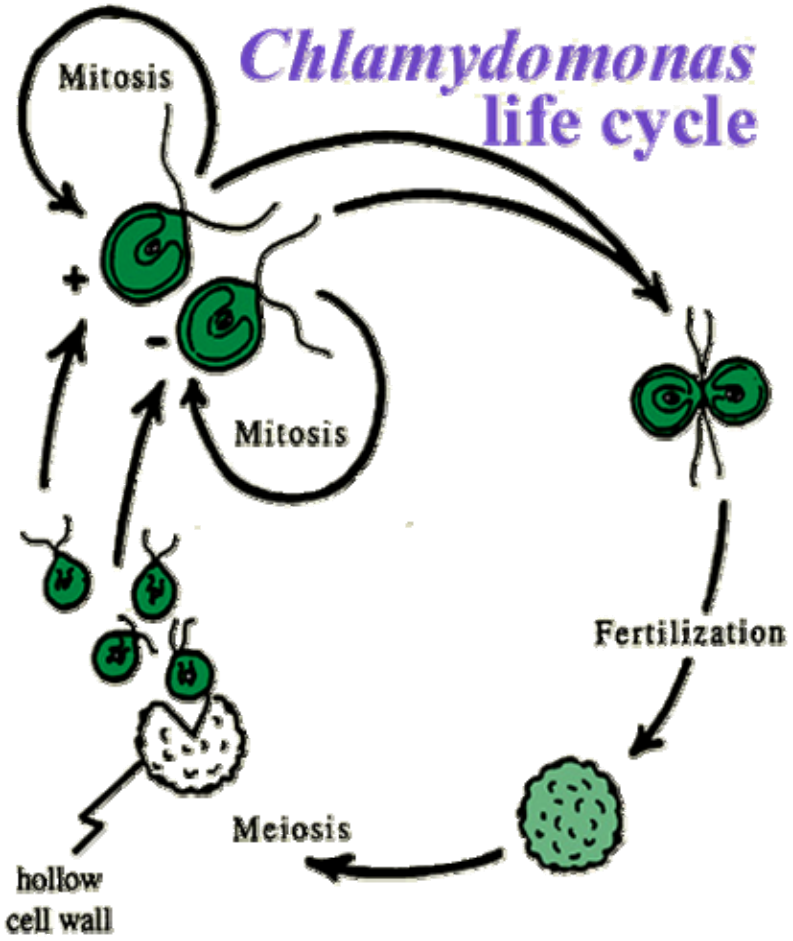
การวิเคราะห์หาตำแหน่งยีน และระยะทางระหว่างยีนในโครโมโซมเดียวกันในยูคาริโอตที่มีช่วงแฮพลอยด์ยาวนาน จะต้องรอให้สปอร์เจริญเป็นตัวใหม่ก่อน จึงจะทราบลักษณะฟีโนไทป์ และเมื่อทราบลักษณะฟีโนไทป์จะส่งผลให้ทราบองค์ประกอบของจีโนไทป์ว่ายีนดังกล่าวเป็นยีนเด่น หรือยีนด้อย เนื่องจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้เป็นพวกแฮพ-พลอยด์ เช่น

- คลามิโดโมแนส (*Chlamydomonas*) ผลการผสมพันธุ์สามารถนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างยีน a และยีน b ได้ว่าอยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน หรืออยู่บนโครโมโซมเดียวกัน

- ราขนมปัง (*Neurospora crassa*) ผลการผสมพันธุ์สามารถบ่งชี้ได้ว่ามีกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้นหรือไม่ ในระหว่างกระบวนการไมโอซิส I นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์หาตำแหน่ง และระยะทางระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์ หรือระหว่างยีนต่างๆ ในโครโมโซมเดียวกันได้อีกด้วย

คลามิโดโมแนส (Chlamydomonas)

เป็นแฮพลอยด์ชนิดหนึ่ง เมื่อมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จะได้ไซโกต จากนั้นจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ทำให้ได้เซลล์ที่เกิดขึ้นจำนวน 4 เซลล์ แต่ละเซลล์เป็นแฮพลอยด์ (n) จึงเรียกเซลล์ที่อยู่ในระยะนี้ว่า เทแทรด (tetrad) ซึ่งเป็นระยะที่เป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์แบบเทแทรด (tetrad analysis) (รูปที่ 5.9) เนื่องจากผลการผสมคลามิโดโมแนสพันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) สามารถนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ ระหว่างยีน a และยีน b ได้ว่าอยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน หรืออยู่บนโครโมโซมเดียวกัน



รูปที่ 5.9 วงจรชีวิตของคลามิโดโมแนส
(แหล่งที่มา: http://bio.rutgers.edu/~gb101/lab6_protists/r6a3eframes.html)

- ถ้ายีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน

ตัวอย่าง ผสมพันธุ์คลามิโดโมแนส พันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) ได้จำนวนเทแทรดทั้งหมด 100 เทแทรด ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (ตารางที่ 5.2)

- กลุ่มที่ 1 พาเรนทัลไดไทป์ (parental ditype, PD): เทแทรดที่มีจีโนไทป์เหมือน จีโนไทป์ของพ่อ และแม่ เช่น ab , ++

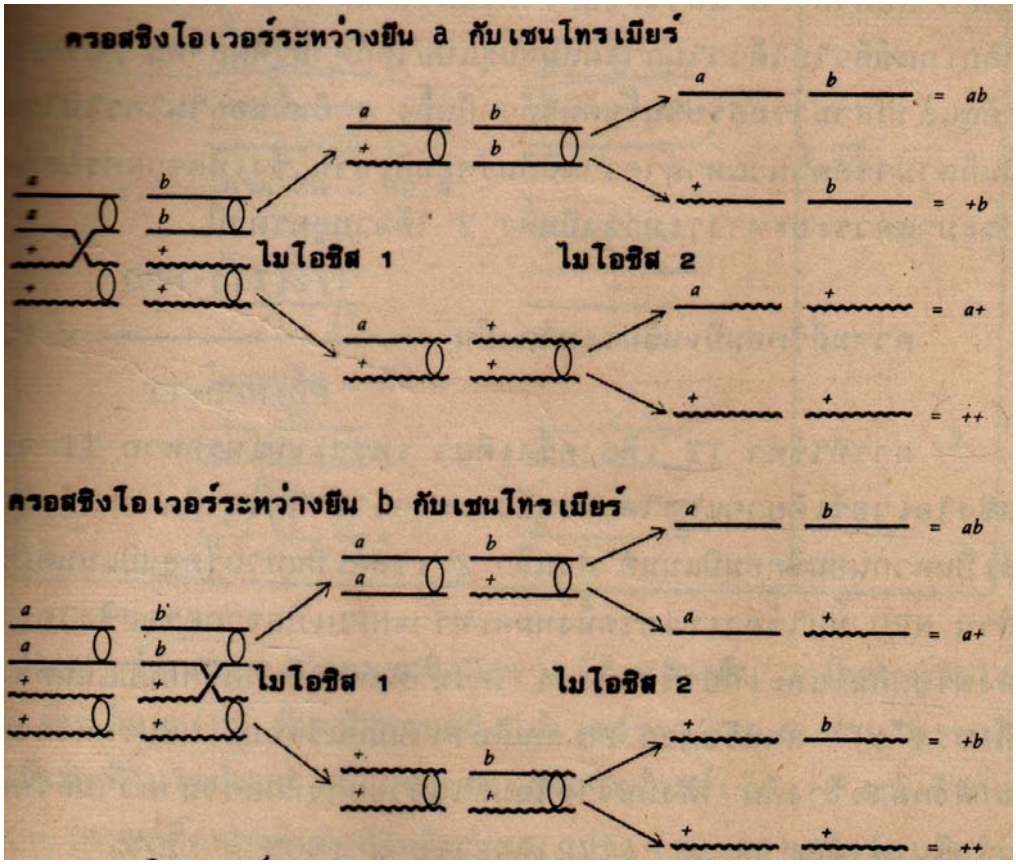
- กลุ่มที่ 2 นอนพาเรนทัลไดไทป์ (Nonparental ditype, NPD): เทแทรดที่มีจีโนไทป์ไม่หมือนจีโนไทป์ของพ่อ และแม่เลย เช่น a+, +b

- กลุ่มที่ 3 เททระไทป์ (Tetratype, TT): เทแทรดที่มีจีโนไทป์เหมือนจีโนไทป์ของพ่อและแม่ อย่างละ 1 เซลล์ และไม่เหมือนพ่อ และแม่อีก 2 เซลล์ เช่น ab, ++, a+ และ +b

ตารางที่ 5.2 ผลการผสมพันธุ์คลามิโดโมแนส พันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) ได้จำนวนเทแทรดทั้งหมด 100 เทแทรด ในกรณีที่ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน

F_1	กลุ่ม 1 (PD)	กลุ่ม 2 (NPD)	กลุ่ม 3 (TT)
	ab	a+	ab
	ab	a+	a+
	++	+b	+b
	++	+b	++
total	45	46	9

ผลการผสมพันธุ์คลามิโดโมแนส พันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) ถ้ายีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน พบว่าเมื่อเปรียบเทียบพาเรนทัลไดไทป์ (PD) และนอนพาเรนทัลไดไทป์ (NPD) พบว่ามีอัตราส่วน 1 : 1 แสดงว่ายีน a และยีน b ในกระบวนการไมโอซิสเกิดขึ้นอย่างอิสระซึ่งกัน และกัน จึงทำให้ได้เซลล์ 4 เซลล์ ในเทแทรดมีจีโนไทป์ต่างๆกัน คือ ab, ++, a+ และ +b นอกจากนี้ยังทำให้ทราบว่ายีนทั้งสอง (ยีน a และยีน b) แยกตัว เพื่อผสมกันใหม่อย่างอิสระ ซึ่งหมายความว่า ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมคู่ต่างกัน ไม่ได้เป็นลิงเกจซึ่งกันและกัน สำหรับเททระไทป์ (TT) มีจีโนไทป์เหมือนจีโนไทป์ของพ่อ และแม่ อย่างละ 1 เซลล์ และไม่เหมือนพ่อและแม่อีก 2 เซลล์ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเกิดกระบวนการครอสซิ่ง



รูปที่ 5.10 การเกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างยีน a หรือยีน b กับเซนโทรเมียร์ของเททระไทป์ (TT) ในกรณีที่ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมต่างคู่กัน
(แหล่งที่มา: วิสุทธิ์ ใบไม้, 2538)

- ถ้ายีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน

การผสมพันธุ์คลามิโดโมแนส พันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) ได้จำนวนเทแทรดทั้งหมด 100 เทแทรด ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (ถ้ายีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน) (ตารางที่ 5.3)

ตารางที่ 5.3 ผลการผสมพันธุ์คลามิโดโมแนส พันธุ์มิวแทนต์ (ab) กับพันธุ์ปกติ (++) ได้จำนวนเทแทรดทั้งหมด 100 เทแทรด ในกรณีที่ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน

F_1	กลุ่ม 1 (PD)	กลุ่ม 2 (NPD)	กลุ่ม 3 (TT)
	ab	a+	ab
	ab	a+	a+
	++	+b	+b
	++	+b	++
total	52	6	42

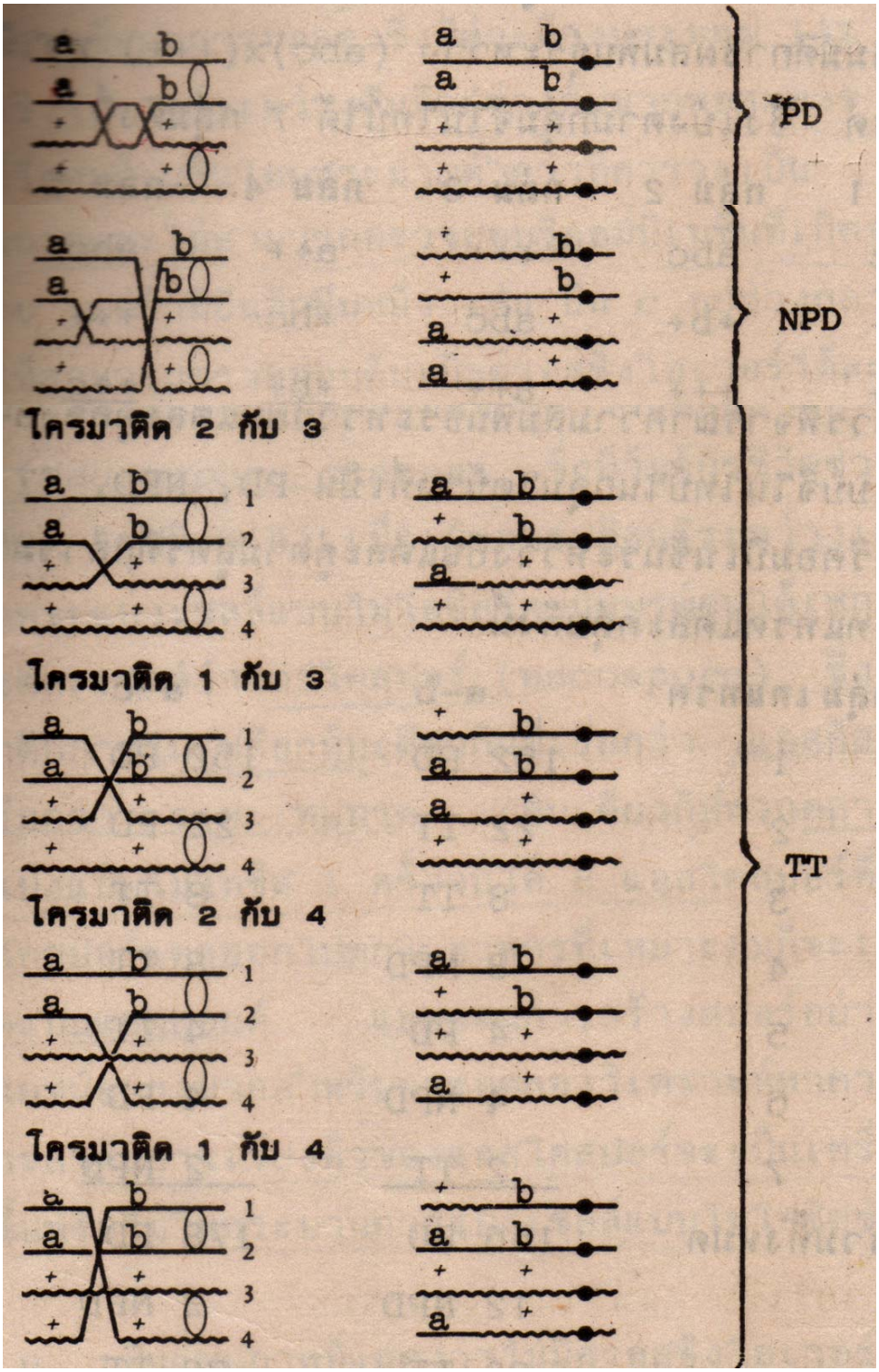
ในกรณีที่ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน และอยู่ห่างกันพอสมควร จะมีโอกาสเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ได้บ้าง (รูปที่ 5.11)

- พาเรนทัลไดไทป์ (PD): ไม่มีการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ หรือถ้าเกิดจะเป็นดับเบิลครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างยีน a กับยีน b ของโครมาทิดสองสาย

- นอนพาเรนทัลไดไทป์ (NPD): มีการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์เดี่ยวๆ 2 แห่งพร้อมกัน โดยที่ทั้ง 4 โครมาทิดเกี่ยวข้องกันด้วย แต่เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นได้ยาก นอกจากนี้ถ้ายีน a และยีน b อยู่ใกล้กันมาก โอกาสการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ยิ่งลดลงหรืออาจไม่เกิด ดังนั้นเทแทรดที่เป็นนอนพาเรนทัลไดไทป์มีจำนวนน้อย

- เททระไทป์ (TT): เกิดจากครอสซิ่งโอเวอร์เดี่ยวๆ แห่งใดแห่งหนึ่งระหว่าง 2 โครมาทิด ทำให้เกิดเซลล์ 2 เซลล์เป็นนอนรีคอมบิแนนท์ และอีก 2 เซลล์เป็นรีคอมบิแนนท์

<u>หมายเหตุ</u> การมีเทแทรดที่เป็น PD > NPD สามารถกำหนดได้ว่ายีนทั้งสองอยู่ในโครโมโซมเดียวกัน และสามารถคำนวณหาค่าความถี่ยีนรีคอมบิเนชัน ซึ่งเกิดจากการครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างยีนทั้งสองได้ด้วย



รูปที่ 5.11 โอกาสเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ในกรณีที่ยีน a และยีน b อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน (แหล่งที่มา: วิสุทธิ์ ใบไม้, 2538)

$$\text{ความถี่ยีนรีคอมบิเนชันระหว่างยีน (RF)} = \frac{\frac{1}{2}(TT) + NPD}{PD + NPD + TT}$$

$$\text{ความถี่ยีนรีคอมบิเนชันระหว่างยีน a และยีน b} = \frac{\frac{1}{2}(42) + 6}{52 + 6 + 42} = 27\%$$

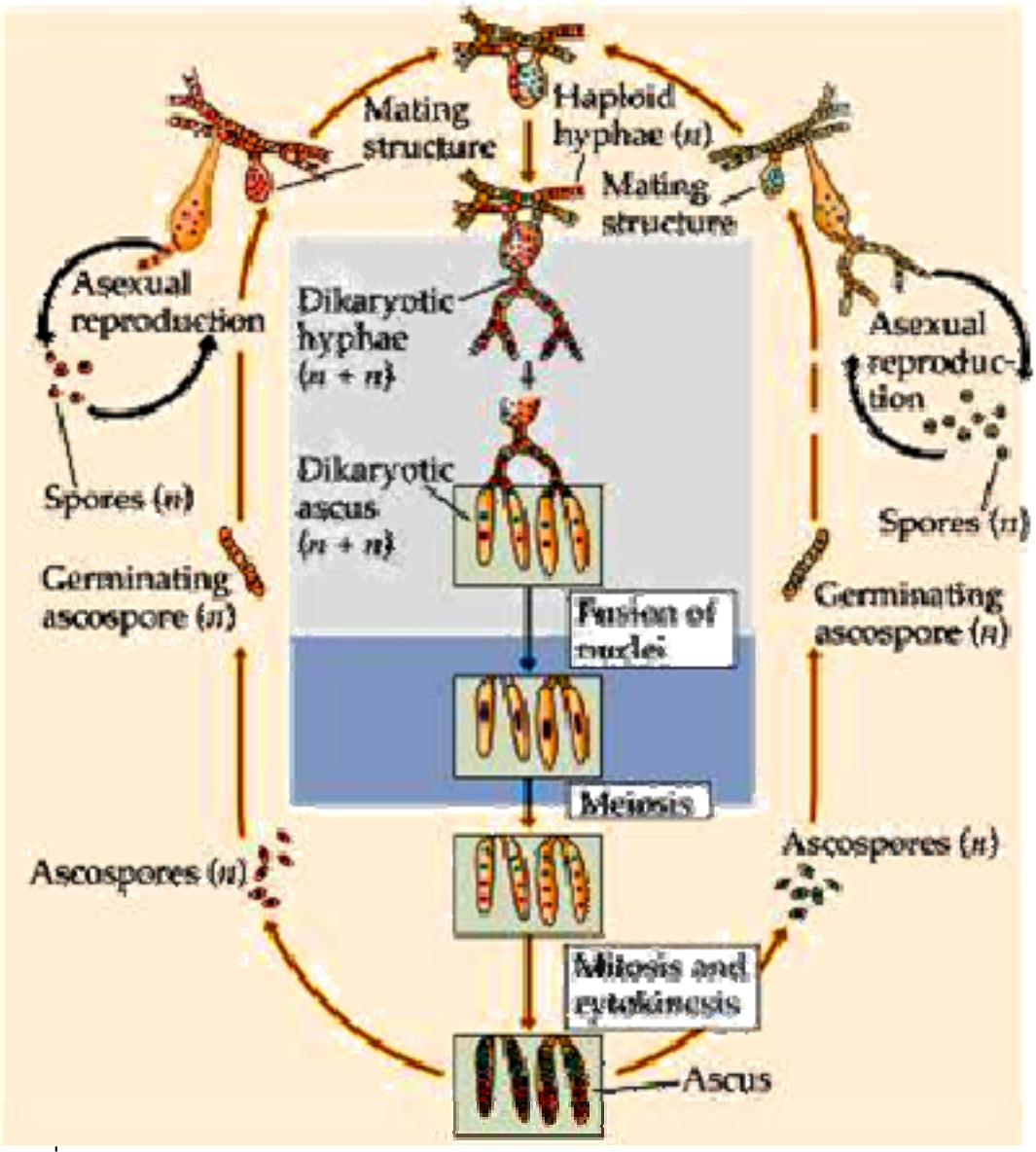
ดังนั้นระยะทางระหว่างยีน a และยีน b คือ 27 หน่วยแผนที่

ราขนมปัง (*Neurospora crassa*)

เมื่อเกิดการปฏิสนธิต่างเพศกันแล้ว ไซโกตจะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจนได้เซลล์แฮพลอยด์ 4 เซลล์ เรียกเซลล์แต่ละเซลล์ว่าแอสโคสปอร์ (ascospore) ซึ่งเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบตามลำดับในเปลือกหุ้มเดียวกันที่เรียกว่า แอสคัส (ascus) ส่วนระยะที่มี 4 สปอร์นี้เรียกว่า ระยะเทแทรด (เหมือนกับคลามิโดโมแนส) จากนั้นแต่ละสปอร์จะแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส 1 ครั้งจนได้สปอร์ 8 แอสโคสปอร์ และเมื่อแอสโคสปอร์แตกออกไปตกในอาหารที่เหมาะสมก็จะเจริญเป็นต้นราใหม่ซึ่งเป็นช่วงชีวิตแบบแฮพลอยด์ (รูปที่ 5.12) ข้อดีของการสร้างสปอร์อย่างมีระเบียบของราชนิดนี้ คือ สามารถบ่งชี้ได้ว่าเกิดกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์ขึ้นระหว่างกระบวนการไมโอซิส I หรือไม่ (รูปที่ 5.13)

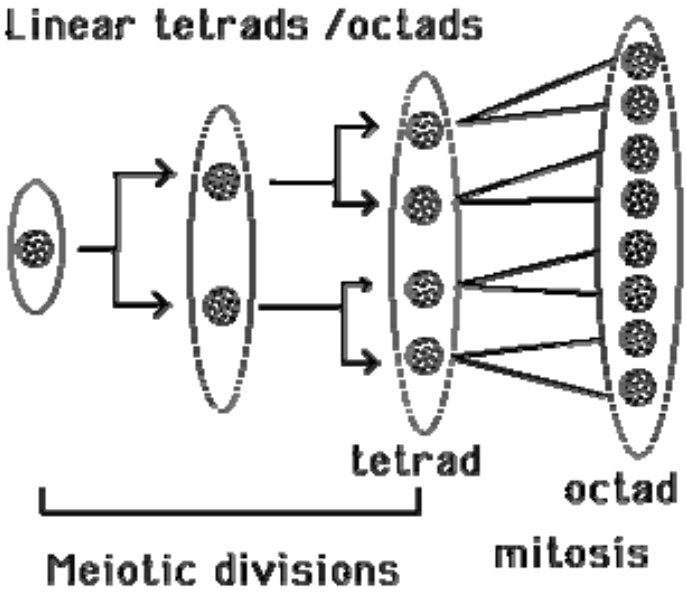
กรณี<u>ไม่มี</u>กระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้นในกระบวนการไมโอซิส I จะพบว่าหลังจากจบกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส สปอร์ทุกตัวจะเรียงตัวอย่างมีระเบียบ ไม่มีการสลับตำแหน่ง (รูปที่ 5.14) ข้อสังเกตยีน A และยีน a แยกไปอยู่คนละเซลล์ หลังกระบวนการไมโอซิส I

กรณี<u>มี</u>กระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้นในกระบวนการไมโอซิส I จะพบว่าหลังจากจบกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส สปอร์จะเรียงตัวสลับตำแหน่งกัน (รูปที่ 5.15) ข้อสังเกต ยีน A & ยีน a แยกไปอยู่คนละเซลล์ หลังกระบวนการไมโอซิส II



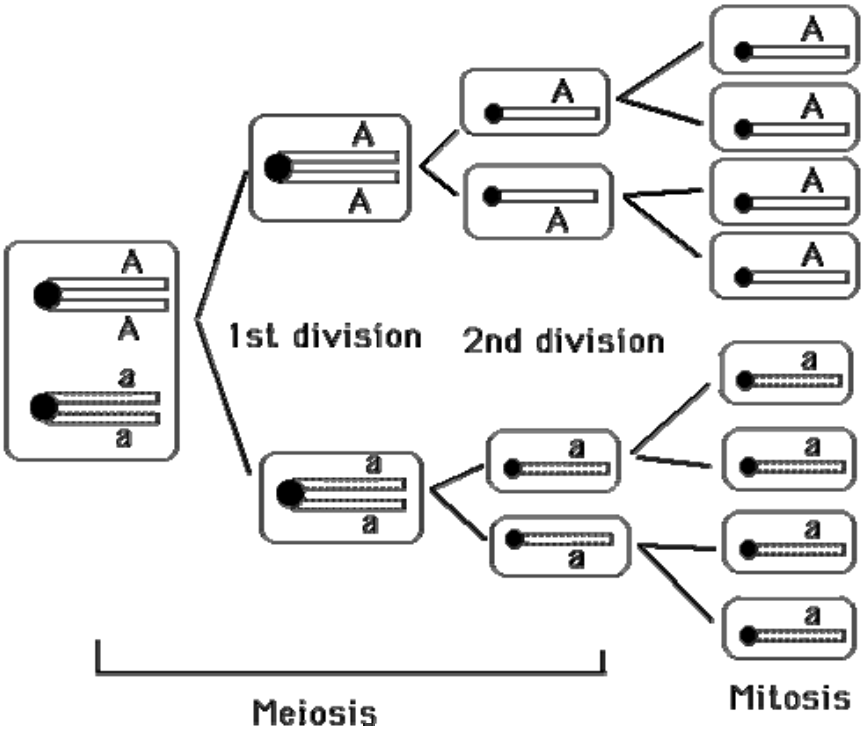
รูปที่ 5.12 วงจรชีวิตของราขนมปัง

(แหล่งที่มา: http://bio.rutgers.edu/~gb101/lab6_protists/r6a3eframes.html)



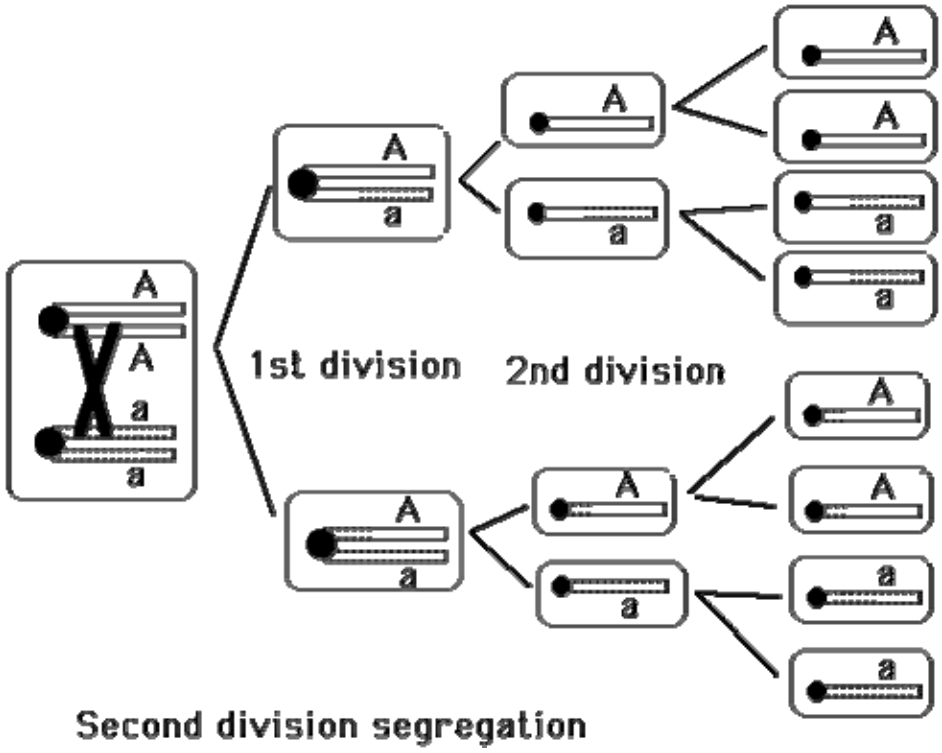
รูปที่ 5.13 การสร้างสปอร์อย่างมีระเบียบของราขนมปัง

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 5.14 กรณี<u>ไม่มี</u>กระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้นในกระบวนการไมโอซิส I

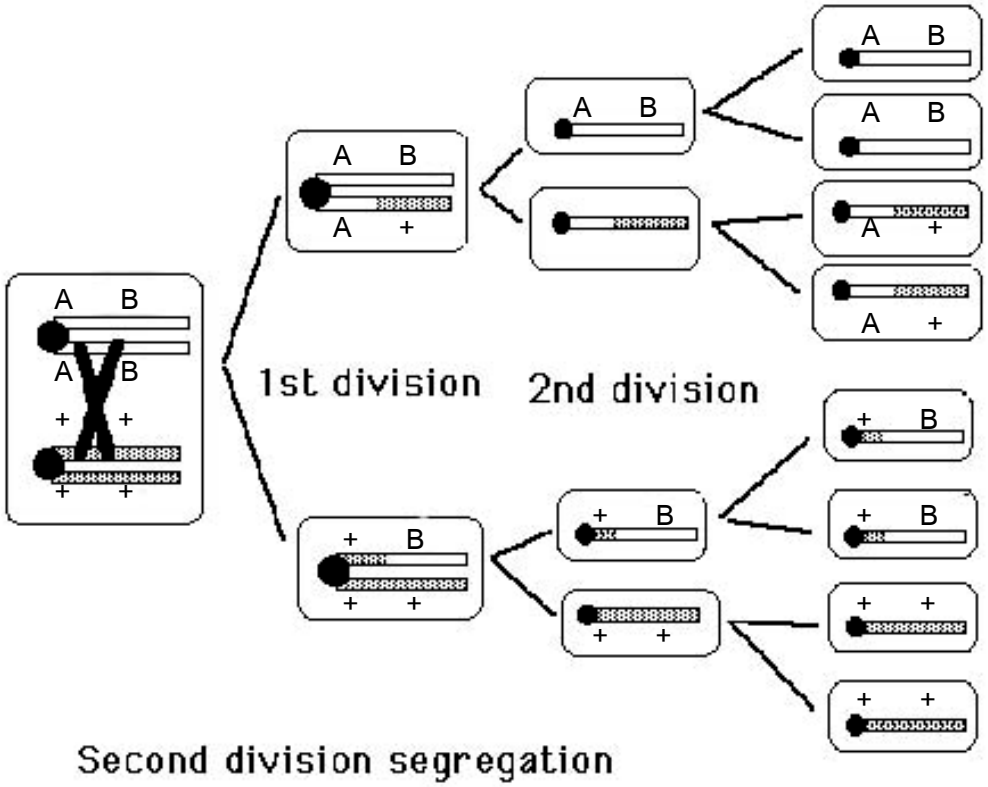
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 5.15 กรณีมีกระบวนการครอสซิ่งโอเวอร์เกิดขึ้นในกระบวนการไมโอซิส I
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

สมบัติการสร้างสปอร์ของรามักจะเหมาะกับการวิเคราะห์หาตำแหน่ง และระยะทางระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์ หรือระหว่างยีนต่างๆ ในโครโมโซมเดียวกัน

ตัวอย่างเช่น การผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ 2 ชนิดของราขนมปัง คือ (ab) × (++) พบว่ามีการเรียงตัวของแอสโคสปอร์เป็นแบบ ab, ab, +b, +b, a +, a+, ++ และ ++ แสดงว่ายีน a กับคู่แอลลีล + มีแบบแผนการแบ่งแยกยีนในช่วงสอง (ไมโอซิส II) หรือเรียกว่ามีการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ระหว่างยีน a กับเซนโทรเมียร์ แต่ไม่มีการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ยีน b กับเซนโทรเมียร์ (รูปที่ 5.16)



รูปที่ 5.16 แบบแผนการแบ่งแยกยีนในช่วงในช่วงสอง
(ดัดแปลงจากแหล่งที่มาจาก: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

การคำนวณหาความถี่รีคอมบิเนชั่นหรือตำแหน่ง และ ระยะทางระหว่างยีนหรือระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์ ซึ่งใช้สูตรดังนี้

ความถี่รีคอมบิเนชั่นระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์หรือ (ระยะทางระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์) = $\frac{\text{½ (จำนวนเทแทรดที่แสดงการแบ่งแยกในช่วงสอง)}}{\text{จำนวนเทแทรดทั้งหมด}} \times 100\%$

ตัวอย่าง การผสมระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ (a)× (+) ได้เทแทรดที่มีแบบแผนการแบ่งแยกในช่วงสองจำนวน 16 เทแทรด ในจำนวนเทแทรดทั้งหมด 100 เทแทรด

$$\text{ความถี่รีคอมบิเนชั่นระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์หรือ (ระยะทางระหว่างยีนกับเซนโทรเมียร์)} = \frac{\text{½ (จำนวนเทแทรดที่แสดงการแบ่งแยกในช่วงสอง)}}{\text{จำนวนเทแทรดทั้งหมด}} \times 100\%$$

$$= \frac{\text{½ (16)}}{100} \times 100\%$$

$$= 8\%$$

ดังนั้นยีน a อยู่ห่างจากเซนโทรเมียร์เป็นระยะทางประมาณ 8 หน่วยแผนที่

แบบฝึกหัดท้ายบท

1. ลิงเกจ คืออะไร และถ้าหากมียีนสองยีนเป็นลิงเกจกันเมื่อผ่านกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจะเกิดอะไรขึ้น

2. ในราขนมปัง การจัดลำดับของแอสโคสปอร์แบบต่างๆดังต่อไปนี้ แบบใดที่แสดงการแบ่งแยกในช่วงแรก และแบบใดที่แสดงการแบ่งแยกในช่วงสอง

ก. + + c c + + c c ข. c c + + + + c c

ค. c c c c + + + + ง. + + c c c c + +