

Шифр _____



Задание 1 (9 баллов). У некоторого растения, образующего обоеполые цветки, наблюдается 4 разных срока цветения: раннее цветение, ранне-среднее, средне-среднее и позднее цветение. Между ранним цветением и ранне-средним есть перекрытие сроков цветения, между ранне-средним и средне-средним тоже, как и между средне-средним и поздним. Вы отобрали для экспериментов 5 разных растений: с поздним цветением (далее растение 1), с средне-средним (растение 2 и растение 3), с ранне-средним (растение 4) и с ранним цветением (растение 5). При самоопылении растения 5 в потомстве обнаружили только раннецветущие особи. При самоопылении растения 4 три четверти потомства были с ранне-средним цветением, остальные – раннецветущие. При скрещивании растений 2 и 3 в потомстве первого поколения все растения были средне-среднецветущими, но в потомстве второго поколения (при условии случайных скрещиваний среди особей первого поколения) помимо средне-среднецветущих были обнаружены раннецветущие растения. При самоопылении растения 1 в потомстве было два фенотипа: среднецветущий и ранне-среднецветущий.

А) Объясните, как наследуется признак времени цветения. Пропишите генотипы пяти растений, упомянутых в задании. Пропишите все описанные в задании скрещивания.

Б) Какое расщепление во втором поколении вы ожидаете получить после того, как перенесли пыльцу растения 4 на цветки растения 1 при условии полностью случайных естественных скрещиваний среди потомков первого поколения? Обратите внимание, что скрещивания растений с неперекрывающимися сроками цветения невозможны в естественных условиях, а урожайность всех растений одинакова и не зависит от генотипа.

Задание 2 (10 баллов). Основным фактором, влияющим на определение пола у птиц, является «доза» гена DMRT1 (далее ген D), находящегося на Z-хромосоме. Для доказательства этого утверждения учёные провели процедуру геномного редактирования (с целью «сломать» работающий аллель гена) выделенных из организма птицы в культуру диплоидных предшественников половых клеток. Далее эти отредактированные предшественники были «подсажены» птице, у которой заблокировали развитие собственных половых клеток. После скрещивания такой «отредактированной» птицы с «обычной» было получено потомство с разнообразными генотипами по гену D.

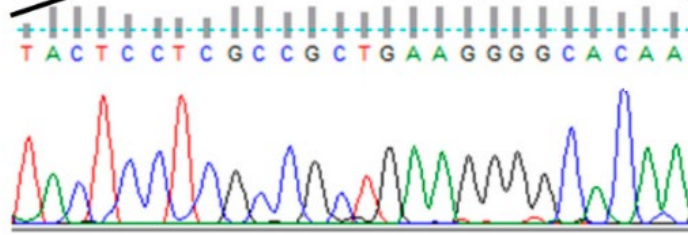
А) Какого пола была птица-донор предшественников половых клеток для редактирования? Отвечайте, исходя из того, что генотипы потомства по гену D должны быть максимально разнообразны. Ответ поясните. Какие генотипы были бы в потомстве, если бы донором половых клеток была птица другого пола?

Б) В ходе процедуры геномного редактирования были получены разные варианты мутаций, не все из которых приводили к изменениям в белке. На схеме показаны последовательности нормального аллеля и двух мутантных. Одна из мутаций не привела ни к каким изменениям в белке. Используя таблицу генетического кода, определите нормальную аминокислотную последовательность, соответствующую приведённому ниже участку нуклеотидной последовательности. Также определите последовательность мутантного белка.

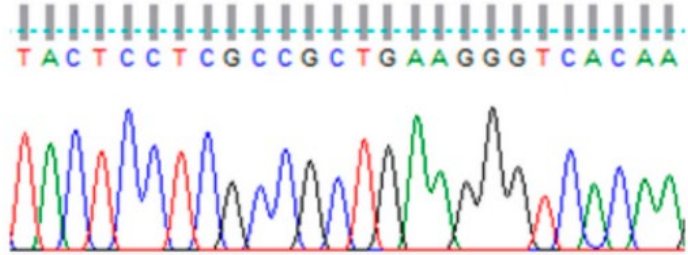
Шифр _____



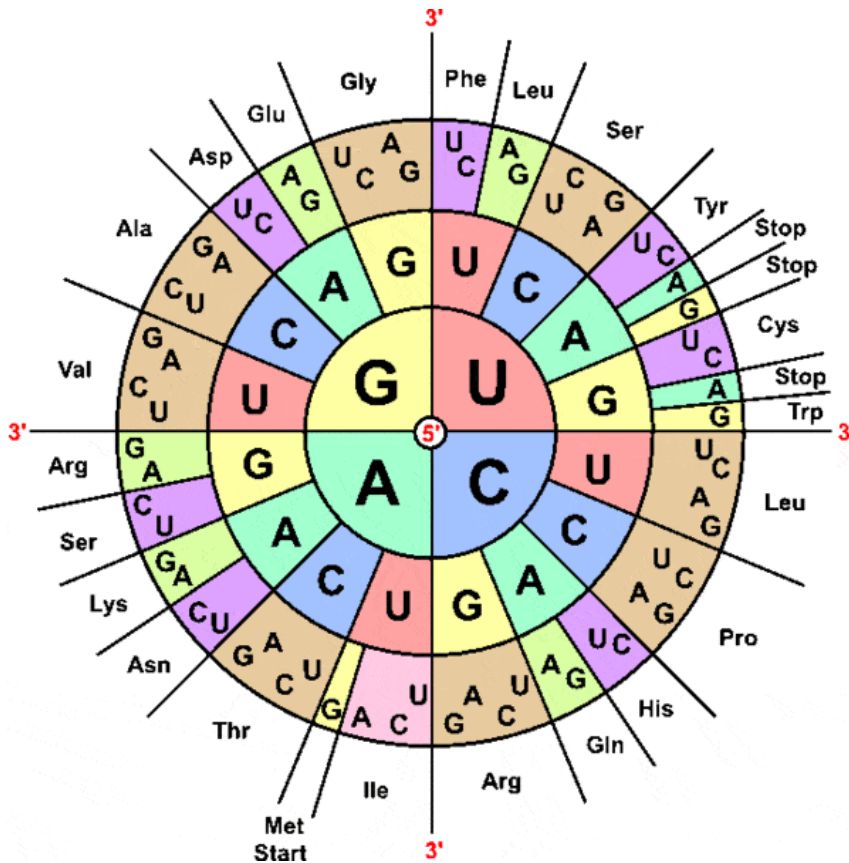
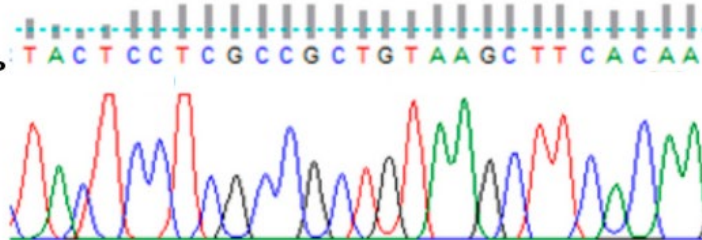
Нормальная последовательность



Синонимичная последовательность



«Сломанный» аллель



В) В результате дополнительных экспериментов было выяснено, что, помимо гена DMRT1, на определение пола влияют гены биосинтеза эстрадиола. При полном отсутствии определённого

Шифр _____



фермента биосинтеза эстрадиола (кодируется аутомным геном E) самки с нормальным кариотипом становятся самцами. Однако, при полном отсутствии продукта гена DMRT1, биосинтез эстрадиола никак не влияет на пол. Исходя из этой информации, определите пол всех особей из таблицы.

Генотип	Пол
eeZ ^{D+} Z ^{D+}	
EeZ ^{D+} Z ^{D-}	
eeZ ^{D+} Z ^{D-}	
EeZ ^{D+} W	
eeZ ^{D+} W	
eeZ ^{D-} W	

Г) Какое соотношение полов вы ожидаете получить в потомстве от скрещивания особей EeZ^{D+}Z^{D+} и EeZ^{D+}W? Ответ поясните.

Задание 3 (13 баллов). Ген A у определённой диатомовой водоросли отвечает за синтез белка, контролирующего клеточный цикл. Если этот белок присутствует в достаточном количестве, то диатомея демонстрирует быстро делящийся фенотип, в обратном случае проявляется медленно делящийся фенотип. По гену A в популяции встречается два аллеля: A1 отвечает за синтез функционального белка клеточного цикла, A2 – за синтез нефункционального белка. Какой аллель доминирует в гетерозиготе, зависит от генотипа по гену B, ответственного за деградацию белка клеточного цикла. При генотипе B₋ наблюдается высокая скорость деградации и в гетерозиготе доминирует аллель A2, при генотипе bb – скорость деградации низкая и в гетерозиготе доминирует аллель A1.

Аналогично гену B на фенотип гетерозиготы по A влияет ген D, кодирующий регуляторный белок, не дающий продукту гена A нормально работать. По отдельности генотипы B₋ и D₋ влияют только на фенотип гетерозиготы по A. Но совместный генотип B₋D₋ меняет также и ожидаемый генотип гомозиготы по A1. Кроме того, в системе работает ещё и ген E, ответственный за деградацию регуляторного белка – продукта гена D. По гену E наблюдается полное доминирование (деградация доминирует над её отсутствием). Все гены наследуются независимо. Диатомеи обладают диплоидным жизненным циклом с зиготической редукцией.

А) Исходя из условия задачи, напишите, какой фенотип (медленно или быстро делящийся) соответствует каждому из следующих генотипов?

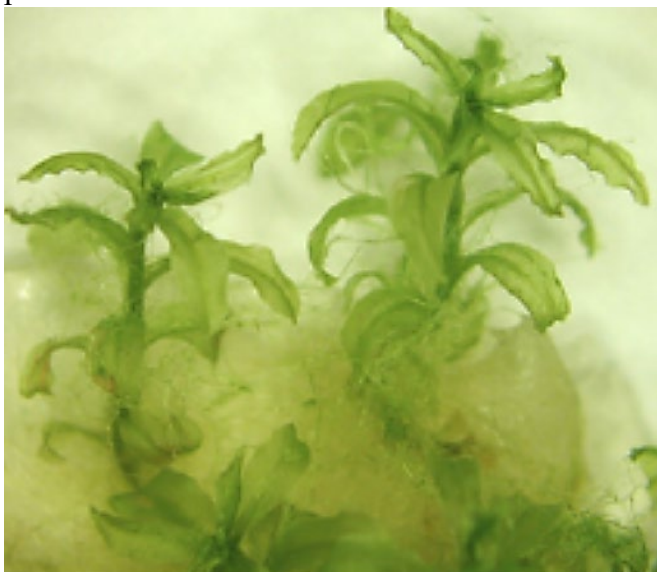
Генотип	Фенотип
A1A1B ₋ ddee	
A1A1B ₋ D ₋ E ₋	
A1A1bbD ₋ ee	
A1A2B ₋ ddee	
A1A2B ₋ D ₋ E ₋	
A1A2bbD ₋ ee	

Б) Напишите, какое расщепление по фенотипу вы ожидаете получить от следующих скрещиваний: 1) A1A1BdDdEe с такой же по генотипу особью; 2) A1A1BdDdEe с A1A2BdDdEe; 3) A1A2BdDdEe с такой же по генотипу особью? Во всех случаях решение поясните.

Шифр _____



Задание 4 (8 баллов). Мох *Physcomitrella patens*, гаметофоры которого представлены на фото ниже, является одним из модельных объектов в исследованиях по генетике растений.



Одними из первых описанных мутантов этого мха были особи с увеличенным количеством гаметофоров. Была получена серия штаммов, проявляющих такой фенотип. Далее с помощью метода слияния протопластов получали гибриды и исследовали их фенотип. Результаты этого исследования показаны в таблице.

Штаммы, использованные для получения гибрида	Фенотип гибрида
OVE-130 и OVE-100	Нормальный
OVE-200 и OVE-78	Нормальный
OVE-200 и OVE-100	Нормальный
OVE-201 и OVE-78	Много гаметофоров
OVE-201 и OVE-79	Нормальный
OVE-201 и OVE-100	Нормальный
OVE-201 и OVE-102	Много гаметофоров
OVE-201 и OVE-202	Нормальный
OVE-201 и OVE-134	Нормальный
OVE-300 и OVE-100	Много гаметофоров
OVE-302 и OVE-100	Много гаметофоров

- А) Можно ли по таблице сделать вывод, что мутации у нескольких изученных штаммов произошли в одном гене? Если да, то какие это мутации? Поясните свой ответ.
- Б) Каковы будут фенотипы гибридов, полученных в результате слияния протопластов штаммов OVE-130 и OVE-302, а также штаммов OVE-134 и OVE-102?
- В) Какое расщепление по фенотипу вы ожидаете получить от скрещивания в естественной среде мутантов OVE-300 и OVE-201? Ответ поясните.
- Г) Какое расщепление по фенотипу вы ожидаете получить среди потомков мейотического деления тетраплоида, полученного путём слияния двух гибридов: от штаммов OVE-100 и OVE-200 и от штаммов OVE-130 и OVE-300? Ответ поясните.

Задание 5 (8 баллов). Бактериофаг P1, способный инфицировать кишечную палочку, является одним из классических фагов, используемых в экспериментах по трансдукции. Геном фага представляет собой линейную двуцепочечную ДНК, которая при попадании в бактерию

Шифр _____



циклизуется и существует в хозяйской клетке в виде внехромосомного элемента наследственности. Вам удалось получить геномную ДНК фага в виде линейной двуцепочечной молекулы ДНК. Вы произвели расщепление этой ДНК на фрагменты с помощью ферментов рестрикции PstI, HindIII и BglII. Результаты обработки отдельными рестриктазами, а также их попарными смесями указаны в таблице. Размеры фрагментов указаны в тысячах пар нуклеотидов.

Рестриктаза или их смесь	PstI	HindIII	BglII	PstI+HindIII	PstI+BglII	HindIII+BglII
Размеры фрагментов, т.п.н.	23,2 71,8	32,3 62,7	7,8 8,9 17 26,3 35	23,2 32,3 39,5	1,6 7,8 8,9 15,4 26,3 35	2,7 7,8 8,9 17 26,3 32,3

А) Постройте карту рестрикции фаговой ДНК с учётом того, что фрагмент размером 26,3 не соседствует с фрагментом размером 2,7.

Б) С помощью фага P1 проводили эксперимент по трансдукции кишечной палочки. В качестве донорного штамма использовали прототрофную бактерию, устойчивую к стрептомицину. В качестве реципиента использовали ауксотрофный штамм (в отличие от прототрофного, неспособный сам синтезировать пурины и аргинин), не обладающий устойчивостью к стрептомицину. После отбора трансдуктантов оказалось, что среди трансдуктантов, способных синтезировать пурины, около 20 процентов также были устойчивы к стрептомицину, но не было ни одного трансдуктанта, способного синтезировать аргинин. Какие среды использовали для последовательного анализа трансдуктантов?

В) Чем можно объяснить отсутствие прототрофов по аргинину среди прототрофов по пуринам?

Задание 6 (12 баллов). У некоего тетрагетерозиготного растения ген А сцеплен с геном В в транс-положении, а с геном D – в цис-положении. Ген А совместно с геном Е, находящимся на другой хромосоме, определяет размер плода. Эти гены взаимодействуют по типу кумулятивной полимерии. Двухаллельный ген В, по которому наблюдается полное доминирование, отвечает за цвет плода (окрашенный/неокрашенный). А ген С взаимодействует с геном В по типу рецессивного эпистаза.

А) Сколько фенотипов в потомстве можно ожидать при самоопылении описанного растения?

Б) Сколько типов гамет может образовывать описанное растение, если не учитывать ген Е вообще? Считая, что расстояние между генами А и В равно 8 сМ, между генами А и С – 14 сМ, между генами В и С – 6 сМ, рассчитайте вероятности образования всех указанных вами типов гамет в процентах.

В) Какое расщепление вы получите в анализирующем скрещивании тетрагетерозиготного растения? Вероятности получения конкретного фенотипа указывайте в процентах.

Г) Какое будет расщепление по фенотипу от самоопыления тетрагетерозиготного растения? Вероятности получения конкретного фенотипа указывайте в процентах.

Задание 7 (9 баллов). Пепельный батат *Ipomoea batatas* является одной из основных сельскохозяйственных культур Вварденфелла. Фитопатогенная бактерия *Cinisa pestis* является опасным вредителем, сокращающим урожайность батата. На плантации Дрена растет диплоидный сорт пепельного батата, устойчивый к данной бактерии. Устойчивость обеспечивается геном, отвечающим за синтез специфического антибиотического соединения, дефектный аллель приводит

Шифр _____



к потере устойчивости, при этом гетерозиготные растения выживают в два раза чаще, чем гомозиготы по дефектному аллелю.

На плантации посеяли 10000 семян, полученных от равновесной популяции батата. На следующий год был собран урожай с 9420 растений, при этом 1215 растений были заражены, но живы. Чему будет равняться частота мутантного аллеля среди проросших семян? Бактерия может заражать только растения, несущие хотя бы один дефектный аллель.

Задание 8 (9 баллов). Для увеличения урожайности или получения новых свойств у сельхозкультур применяется скрещивание близкородственных видов, в результате чего получается стерильный гибрид, содержащий два разных гаплоидных набора хромосом. Для восстановления фертильности производится полиплоидизация, чтобы клетки содержали два диплоидных набора хромосом и снова могли нормально вступать в мейоз.

Селекционеры с плантации Дрена намерены скрестить пепельный батат *Igneglossum edulis* с сахаристым пузырником *Bulla dulcis*, произрастающим на материке. Ген устойчивости к бактерии *Cinis pestis* есть только у батата, при этом каждый рецессивный аллель отвечает за 15% падение выживаемости растения в условиях наличия патогена в почве и рост урожайности на 0,2 кг/м². У пузырника есть дуаллельный ген урожайности, каждый доминантный аллель которого приводит к росту урожайности на 0,4 кг/м², но устойчивость к фитопатогену при этом падает на 20%. Базовая урожайность рецессивной гомозиготы обоих видов на незараженных почвах составляет 0,3 кг/м². Определите оптимальный генотип гибридного растения, при котором урожайность в кг/м² на зараженных фитопатогенной бактерией почвах будет максимальна. Будет ли гибридный сорт экономически выгоднее обычного пепельного батата? Напишите последовательность действий по выведению данного сорта.

Задание 9 (11 баллов).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей – процесс поиска наиболее вероятных соответствий между одинаковыми по порядку позициями в разных последовательностях. Для оценки относительного расстояния между последовательностями и правдоподобности выравнивания используется подсчет очков: при совпадении нуклеотидов прибавляется фиксированное значение, при несовпадении или пропуске – отнимается. Чем вернее выравнивание и чем меньше различаются последовательности, тем больше сумма очков.

Пусть за совпадение начисляется +5 очков, за несовпадение отнимается -3 очка, а за пропуск -5. Тогда при выравнивании последовательностей АТТ и АГТ наиболее вероятное выравнивание имеет вид:

А	Т	Т
А	Г	Т
+5	-3	+5

Общая сумма очков составит +7.

В случае множественного выравнивания (когда более 2 последовательностей) удобнее воспользоваться методом выравнивания относительно профиля выравнивания. Профиль выравнивания – таблица, в которой указаны частоты встречаемости конкретного нуклеотида или пропуска для каждой позиции отдельно. Например:

Шифр _____

**Выравнивание:**

A	C	C	C	T
A	T	G	-	A
A	-	G	-	G
A	T	C	-	C
A	T	G	-	C
A	T	C	-	A

Профиль:

Частоты/ Позиция	1	2	3	4	5
A	1	0	0	0	0.33
T	0	0.66	0	0	0.17
G	0	0	0.5	0	0.17
C	0	0.17	0.5	0.17	0.33
-	0	0.17	0	0.83	0

Теперь, при выравнивании новой последовательности относительно данного профиля, для каждой позиции счет находится как сумма произведений очков, начисляемых за нуклеотид или пропуск в данной позиции, на частоты этих нуклеотидов или пропусков в данной позиции. Например, если в позиции 2 к существующему профилю необходимо выровнять нуклеотид С, подсчет выглядит следующим образом: (за совпадение нуклеотидов +5, за несовпадение -3, за пропуск -5).

$$s = (-3 \times 0) + (-3 \times 0.66) + (-3 \times 0) + (+5 \times 0.17) + (-5 \times 0.17) = -1.98$$

Пусть у вас имеется 3 нуклеотидных последовательности:

- 1: AATGC
- 2: ATTAGC
- 3: ATTCCC

- А) Какое количество попарных выравниваний можно сделать в данном случае?
- Б) Какие последовательности при выравнивании дают наибольший счет при условии, что за совпадение нуклеотидов +5, за несовпадение -3, за пропуск -5?
- В) Постройте для попарного выравнивания с наибольшим счетом профиль выравнивания.
- Г) Выровняйте оставшуюся последовательность относительно профиля выравнивания. Какой суммарный счет был получен в данном выравнивании? Запишите итоговое выравнивание.

Шифр _____



Задание 10 (11 баллов). Опосредованные лигированием методы ПЦР (ligation-mediated PCR = LM PCR) – это современные методы ПЦР, широко используемые для генотипирования и установления филогенетических связей между микроорганизмами. Благодаря лигированию специальных адаптерных последовательностей ДНК к «липким» концам после рестрикции, методы LM PCR позволяют амплифицировать любые фрагменты геномной ДНК, образовавшиеся после рестрикции, независимо от их последовательности, так как праймеры для ПЦР комплементарны адаптерным последовательностям. Общий смысл методов LM PCR изображён на рисунке 1.

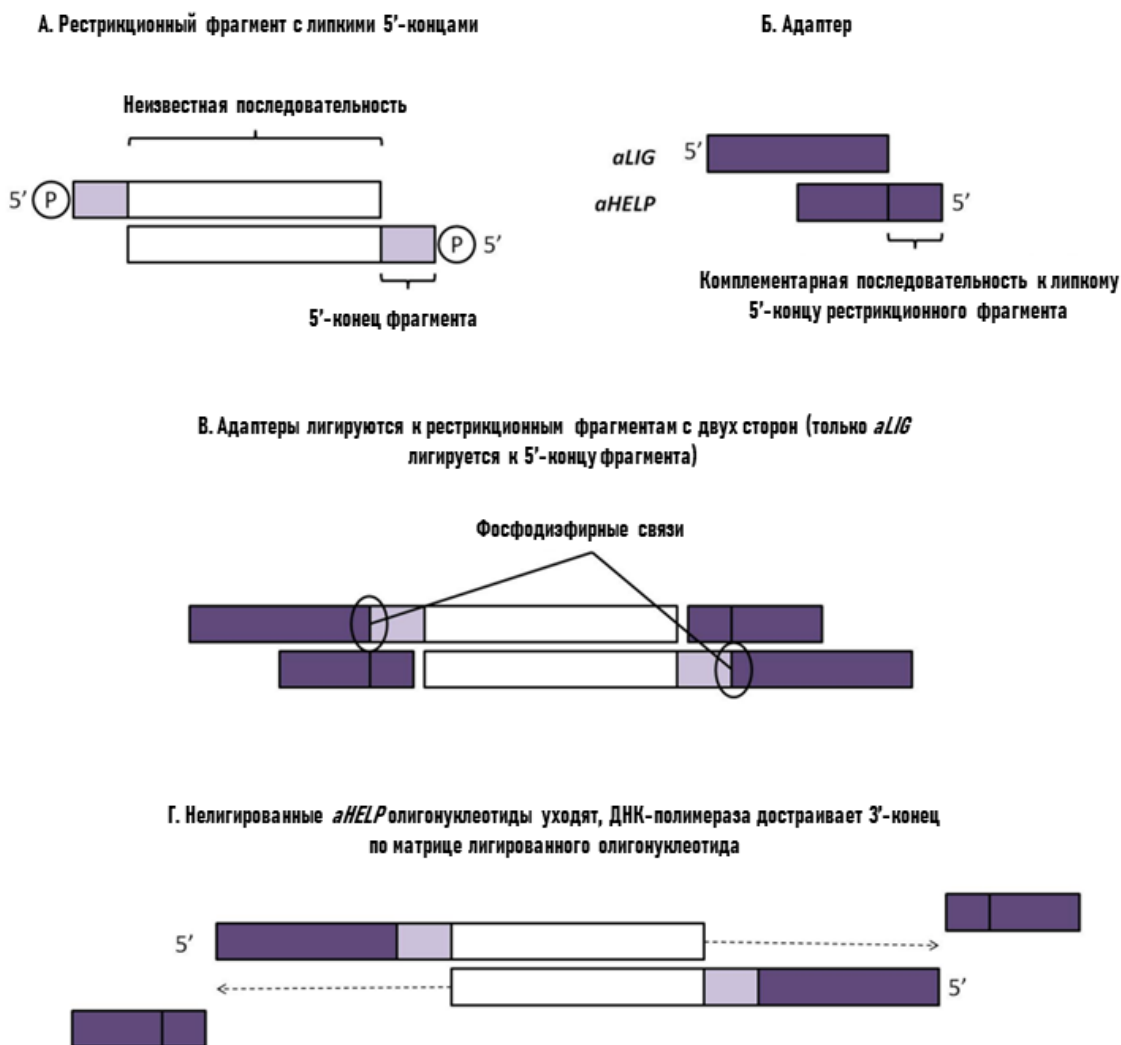


Рисунок 1. Общий план опосредованных лигированием ПЦР-методов

- А) Какие химические особенности могут обеспечить отсутствие лигирования последовательностей *aHELP*?
- Б) Опосредованные лигированием методы ПЦР позволяют идентифицировать микроорганизмы вплоть до штамма, а также выявляют довольно редкие полиморфизмы. Однако, при постановке таких экспериментов обязательно нужен контрольный образец очищенной геномной ДНК штамма, с которым идёт сравнение. Почему такой контрольный образец необходим для LM PCR методов?
- В) Основные трудности в LM PCR возникают из-за того, что рестрикции подвергается геномная ДНК микроорганизма, в результате чего возникает очень большое число фрагментов, которые на электрофореze могут быть неотделимы друг от друга. Для того, чтобы можно было идентифицировать отдельные фрагменты, их число нужно сократить. В методе AFLP (amplified

Шифр _____



fragment length polymorphism) с целью сокращения числа амплифицируемых фрагментов используют специальные праймеры, состоящие из комплементарной адаптеру части и присоединённого к 3'-концу праймера дополнительного нуклеотида, как показано на рисунке 2.

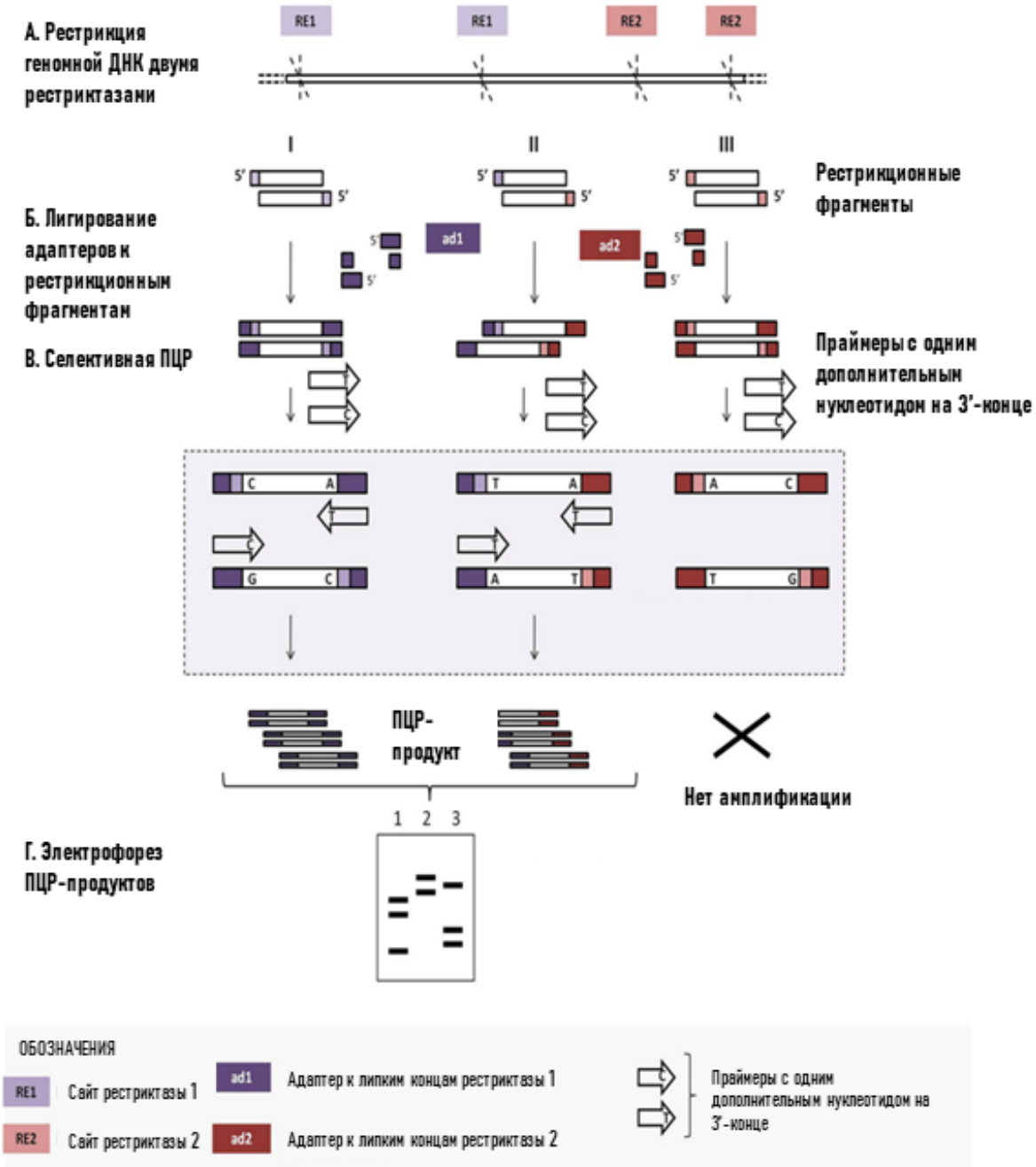


Рисунок 2. Суть AFLP метода

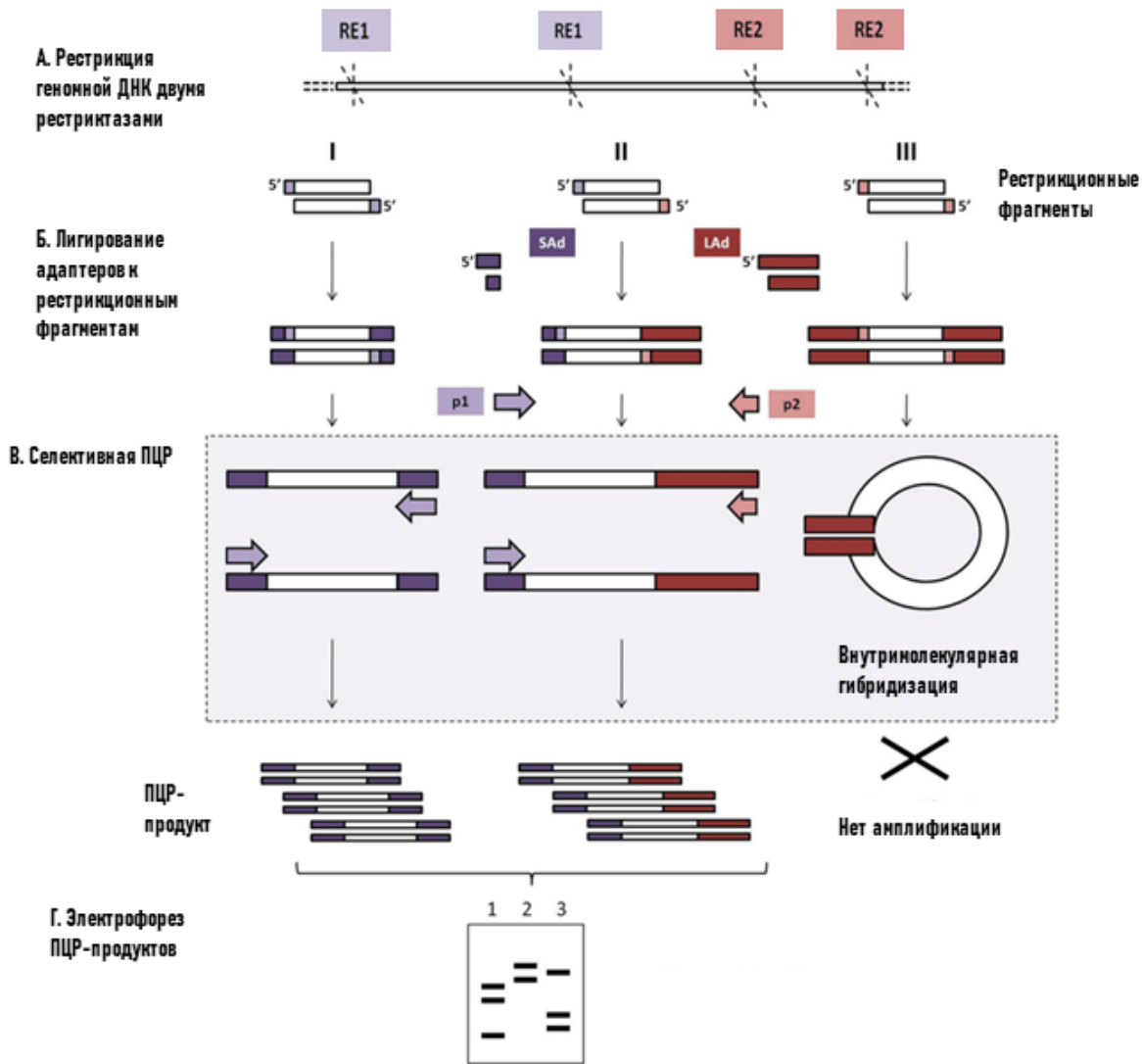
Если использовать прямой и обратный праймеры, к 3'-концам которых присоединено по одному дополнительному нуклеотиду, во сколько раз удастся уменьшить число амплифицируемых рестриционных фрагментов при условии равной встречаемости всех нуклеотидов в геноме?

Г) Что нужно сделать, если необходимо сократить число амплифицируемых фрагментов ещё в большее число раз?

Шифр _____



Д) Другой метод из группы LM PCR называется ADSRRS (amplification of DNA fragments surrounding rare restriction sites). В данном методе обычно используют две рестриктазы, сайты узнавания которых различаются по частоте встречаемости в геноме. Затем к «липким» концам, образованным одной рестриктазой, лигируют длинные адаптерные фрагменты ДНК, а к «липким» концам от другой рестриктазы – короткие адаптеры, как показано на рисунке 3.



ОБОЗНАЧЕНИЯ

RE1	Сайт рестриктазы 1	SAd	Адаптер к липким концам рестриктазы 1		Праймер к адаптеру SAd
RE2	Сайт рестриктазы 2	LAd	Адаптер к липким концам рестриктазы 2		Праймер к адаптеру LAd

Рисунок 3. Суть ADSRRS метода

Молекулы ДНК, с обоих концов которых «пришиты» одинаковые длинные адаптеры, не вступают в ПЦР. К «липким» концам от часто режущей или от редко режущей рестриктазы лигируют длинные адаптеры и почему?

Е) Может ли явление, похожее на то, что происходит с «дважды длинноадаптерными» фрагментами, происходить с «дважды короткоадаптерными молекулами»? Поясните свой ответ. Можно ли регулировать это явление, изменяя концентрации каких-то компонентов ПЦР-смеси?