

Дорогие ребята!

Поздравляем вас с участием в заключительном теоретическом этапе Московской олимпиады школьников по генетике! Отвечая на вопросы и выполняя задания, не спешите, так как ответы не всегда очевидны и требуют применения не только биологических знаний, но и общей эрудиции, логики и творческого подхода. Успеха Вам в работе!

Максимальное количество баллов: 100

Время на выполнение работы: 3 часа 55 минут.

Задание 1. Парамутаген (15 баллов).

Вариант эпигенетического взаимодействия аллелей генов - парамутации - был открыт на кукурузе. *Парамутаген* – это аллель гена, который в гетерозиготном состоянии изменяет экспрессию другого аллеля того же гена, называемого парамутирующим, без изменения последовательности нуклеотидов. Когда парамутирующий ген изменяет свою экспрессию под действием парамутагена, он приобретает парамутагенные свойства. Зачастую аллель, подвергшийся парамутации, может вернуться к исходному уровню экспрессии только через несколько поколений.

У кукурузы известно несколько парамутирующих локусов. **Локус *b1*** отвечает за окраску узла и влагалища листа стебля, он не экспрессируется в цветке и плодах. Он имеет аллель-парамутаген B' , парамутирующий аллель $B-I$ и нуль-аллель b ; в гомозиготном состоянии они определяют тёмно-красную, светло-красную и зелёную окраску соответственно. Когда в гетерозиготе встречаются аллели $B'/B-I$, аллель $B-I$ меняет экспрессию, становясь аллелью B'^* , развивается светлая окраска листьев и стебля; поэтому генотип гетерозиготы в таком случае записывают как B'/B'^* .

1.1. Изучите фрагмент генеалогического дерева растений кукурузы, на которых указаны фенотипы родительских особей и их потомков по локусу *b1*. Заполните ячейки I–VI на генеалогическом дереве обозначениями фенотипов. Если для скрещивания нужно вписать несколько фенотипов, то напишите их через запятую или слеш. Если в потомстве получается несколько фенотипических групп, то укажите коэффициенты расщепления перед фенотипами, фенотипы запишите через разделитель-двоеточие.

листья и пыльники, расщепление по признаку окраски пыльников? Ответ аргументируйте, приведя схемы упомянутых скрещиваний (9 баллов).

Задание 2. Окраска мышей (8 баллов).

Для анализа наследования цвета мышей Вы решили провести две цепочки скрещиваний. В первой цепочке Вы скрестили серую самку и белого самца из чистых линий, и в потомстве все детеныши оказались чёрного цвета. Скрестив их между собой, во втором поколении вы наблюдали расщепление 3:1 у самок и 4:3:1 у самцов.

Во второй цепочке Вы решили скрестить белую самку и серого самца из чистых линий и получили черных самок и белых самцов. Во втором поколении обнаружилось расщепление 4:3:1 и у самцов, и у самок.

2.1. Как наследуется признак? Напишите генотипы родительских особей и генотипы потомков F1 для каждого скрещивания (4 балла). Ответ поясните.

В экспедиции Вы обнаружили изолированную популяцию мышей того же вида, у которых не было найдено белой окраски. Вы скрестили между собой двух черных мышей из этой популяции и в потомстве получили 2 серых и 5 чёрных мышей.

2.2. С какой вероятностью отдельно взятых черных мышонок из потомства будет гетерозиготным? (2 балла)

2.3. С какой вероятностью Вы бы получили в потомстве 3 серых и 4 черных мышей? (2 балла)

Задание 3. Генетический конструкт (10 баллов).

Для изучения транскрипции в эмбрионах дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) ученые встроили в геном дрозофилы генетическую конструкцию, которая содержала репортерный ген бетагалактозидазы (LacZ) под контролем энхансера и промотора гена *hunchback* (ген, активный в ходе эмбриогенеза дрозофилы). Кроме того, с 5'-конца от рамки считывания LacZ (по кодирующей цепи) конструкция содержала в транскрибируемой части 24 MS2-повтора. С MS2-повторами связывается белок MCP, который ученые слили с зеленым флуоресцентным белком и экспрессировали в эмбрионе дрозофилы. На начальных циклах дробления дрозофилы ядра делятся синхронно, что позволило ученым засекают время от момента наступления анафазы 13 деления до момента появления зеленой флуоресцентной точки в ядре. Такое время составило, в среднем, 5,4 минуты. Ученые повторили эксперимент, но на этот раз встроили массив из 24 MS2-повторов с 3'-конца от рамки считывания LacZ (по кодирующей цепи), в транскрибируемой части гена. Аналогично измеренное время появления флуоресцентной точки в ядрах на этот раз, в среднем, составило 7,6 минут. Расстояние между точками интеграции массива MS2-повторов в двух вариантах репортерной конструкции составляет 3355 пар нуклеотидов (п.н.). Проанализируйте условия эксперимента и ответьте на вопросы.

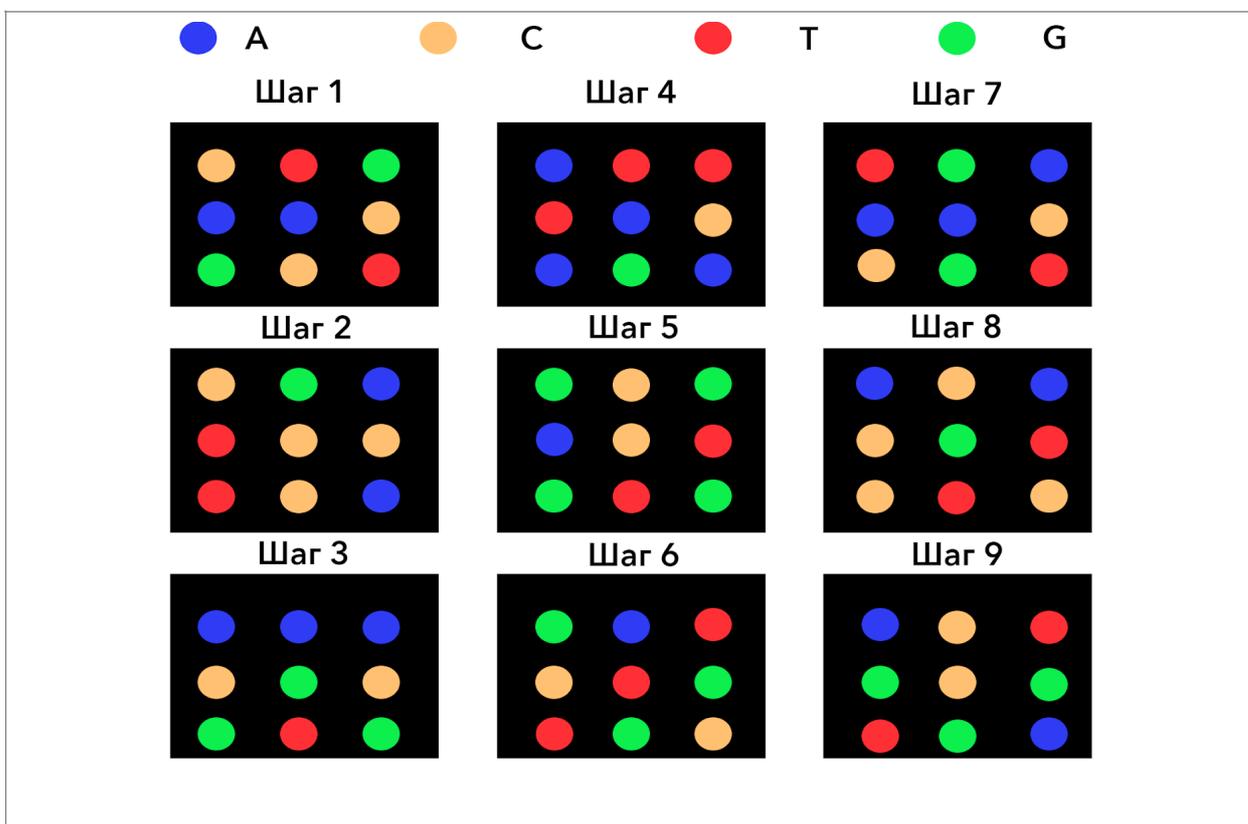
3.1. В каком направлении (по кодирующей цепи ДНК) идет транскрипция: от 5'-конца к 3'-концу, или наоборот? Ответ поясните (2 балла).

3.2. В эксперименте использовался репортерный ген LacZ, исходная последовательность которого была взята из лактозного оперона в геноме кишечной палочки (*Escherichia coli*). Можно ли было использовать в эксперименте не промотор гена *hunchback*, а промотор лактозного оперона кишечной палочки? Ответ поясните (4 балла).

3.3. Рассчитайте среднюю скорость транскрипции репортерного гена в эксперименте. Ответ дайте в нуклеотидах в секунду с точностью до целых. Приведите расчеты (4 балла).

Задание 4. Секвенатор (8 баллов).

В лаборатории сломался секвенатор! Вместо того, чтобы выдавать последовательности нуклеотидов он выгружает на жесткий диск огромное количество высококачественных изображений процесса секвенирования. Ваш научный руководитель очень хочет как можно скорее получить от вас результаты секвенирования, поэтому вы решили вручную записать последовательности, используя фотографии. На изображении представлены последовательные снимки работы секвенатора второго поколения. Секвенирование происходит путём детекции цвета флуоресценции во время синтеза цепи ДНК, которая комплементарна изучаемой цепи. При этом цветными кружками показаны различные кластеры последовательностей (каждый кластер представляет из себя более миллиона копий одной исходной последовательности). Положение кластеров не меняется на каждом шаге секвенирования. Цвет кластера обозначает цвет флуорофора присоединившегося нуклеотида на каждом конкретном шаге!



4.1. Какое количество нуклеотидных последовательностей можно получить, обработав полученные данные? Ответ поясните (2 балла).

4.2. Зная, что для секвенирования использовался универсальный праймер TruSeq3 для одноконцевых прочтений: 5'-GCTATGAC-3'. Напишите итоговую последовательность, которая получилась в результате прочтения (вместе с праймером) верхнего левого кластера. Учитывайте, что секвенатор выдает в результате работы нуклеотидные последовательности ДНК, которые были загружены в него в качестве библиотеки. Последовательность запишите от 5' к 3' (3 балла).

4.3. Представим, что вероятность ошибки при прочтении каждой конкретной позиции составляет 5%. Рассчитайте, какое количество нуклеотидов, в среднем, будет ошибочным (праймер не учитывайте!). Ответ округлите до целых (1 балл).

4.4. Ален множество раз секвенировал данные последовательности и поэтому точно знает её нуклеотидный состав. Выровняв последовательности, вы обнаружили 11 ошибок! Считая, что вероятность ошибки составляет 5%, рассчитайте вероятность получить результат с 11 ошибками (из всех прочитанных последовательностей). Ответ округлите до десятитысячных (2 балла).

Задание 5. Конъюгация прокариот (8 баллов).

Для оценки положения генов на хромосоме бактерий вы решили использовать метод прерывания конъюгации, при котором передача гена от штамма-донора (Hfr) к штамму-акцептору (F⁻) прерывается изменением условий культивации. В качестве донора вы взяли штамм прототроф с чувствительностью к стрептомицину, а акцептора - *araA ilvH leuA rpsL* мутанта (не способен использовать арабинозу как источник углерода, ауксотроф по одновременно изолейцину и валину, ауксотроф по лейцину, устойчив к стрептомицину). Из эксперимента по прерыванию конъюгации вы установили, что ген *araA* входит в клетку-реципиента последний, не считая ген *rpsL* (устойчивость к стрептомицину), который вовсе не передается реципиенту. Рекомбинантные дочерние клетки Ara⁺ Str^r высевали на среду, содержащую вместо глюкозы арабинозу, лейцин, изолейцин и валин, а также стрептомицин. Все 370 полученных клонов проверили на наличие маркеров *leuA* и *ilvH* и получили следующие результаты:

Фенотип	Количество клонов
Ara ⁺ Ilv ⁺ Leu ⁺	358
Ara ⁺ Ilv ⁺ Leu ⁻	0
Ara ⁺ Ilv ⁻ Leu ⁺	5
Ara ⁺ Ilv ⁻ Leu ⁻	7

5.1. Какой состав сред стоит использовать для выращивания клонов, чтобы отобрать указанные в таблице клоны? (2 балла)

5.2. Определите порядок генов на хромосоме исследуемой бактерии и генетическое расстояние между ними в единицах рекомбинации (% рекомбинантных клонов от общего числа клонов) Ответ поясните (6 баллов).

Задание 6. Всё про рис (15 баллов).

Рис посевной (*Oryza sativa*) восприимчив к грибному патогену *Magnaporthe grisea*, который вызывает пирикулярриоз - поражение побегов, приводящее к серьёзным потерям урожая. Скрининг устойчивых к патогену сортов риса позволил выявить три несцепленных друг с другом локуса - *Pi1*, *Piz-5*, *Pita*. Для всех трёх локусов известно по два аллеля, причём доминантные аллели возникли локально и недавно, пределы регионов выращивания соответствующих сортов они не покинули. Так как не было найдено сортовой линии, которая обладала бы доминантными мутациями во всех трёх локусах одновременно, для селекционной работы были выбраны три линии растений, каждая из которых гомозиготна по одному из трёх локусов (таблица 1).

Таблица 1. Используемые в задаче сорта риса, их генотип и место происхождения.

Название сортовой линии	Генотип	Происхождение
BNL1	<i>Pi1/Pi1</i>	Индия
BNL3	<i>Piz-5/Piz-5</i>	Индия
KC7, OPK1, AL18	<i>Pita/Pita</i>	Япония

Рис выращивают по всему миру в течение долгого времени, длительная изоляция привела к межсортовой несовместимости растений индийских и японских сортов. Выявлено пять двуаллельных локусов, отвечающих за мужскую стерильность, - *Sa*, *Sb*, *Sc*, *Sd*, *Se* - и один трёхаллельный локус *S5*, вызывающий женскую стерильность у гибридов индийских и японских сортов. Мужская стерильность наследуется по принципу полимерии; у индийских сортов эти локусы представлены аллелью *Si*, а у японских - *Sj*. Количество жизнеспособной пыльцы снижается при увеличении гетерозиготности растения по этим локусам; пентагетерозигота *Si/Sj* является стерильным по мужской сфере растением. В таблице 2 обобщена информация о локусах, связанных со стерильностью у риса. Женская стерильность возникает, если в растении сочетаются индийская аллель *Si* и японская аллель *Sj*. Японская аллель *Sn* является нейтральной, она не приводит к стерильности растения.

Таблица 2. Локусы, связанные со стерильностью риса.

Название локуса	Аллели и условия стерильности
Мужская стерильность	
<i>Sa</i>	Для каждого локуса известно два аллеля. Индийские сорта несут аллель <i>Si</i> , а японские - <i>Sj</i> . Если растения гетерозиготны по локусу <i>Si/Sj</i> , то мужская фертильность снижается. Чем выше степень гетерозиготности по этим локусам, тем выше стерильность.
<i>Sb</i>	
<i>Sc</i>	
<i>Sd</i>	
<i>Se</i>	
Женская стерильность	
<i>S5</i>	Три аллеля - <i>Si</i> (индийская аллель), <i>Sj</i> (японская аллель), <i>Sn</i> (японская аллель). Индийские сорта гомозиготны <i>Si/Si</i> , среди японских есть гетерозиготы <i>Sj/Sn</i> . Растение не формирует яйцеклетку, если у него генотип <i>Si/Sj</i> .

Исследователям необходимо получить гибрид японских и индийских сортов риса, обладающих повышенной устойчивостью к прикуляриозу, то есть гомозиготных по всем трём генам устойчивости к патогену. Учитывая феномен стерильности гибридов между индийскими и японскими сортами, исследователи подобрали японские сорта, которые были получены в результате предварительного скрещивания с индийскими сортами. Для используемых в этой работе сортовых линий в результате анализа полиморфизма по молекулярным маркерам были установлены генотипы по локусам стерильности. Данные приведены в таблице 3.

Таблица 3. Генотип сортовых линий по локусам стерильности.

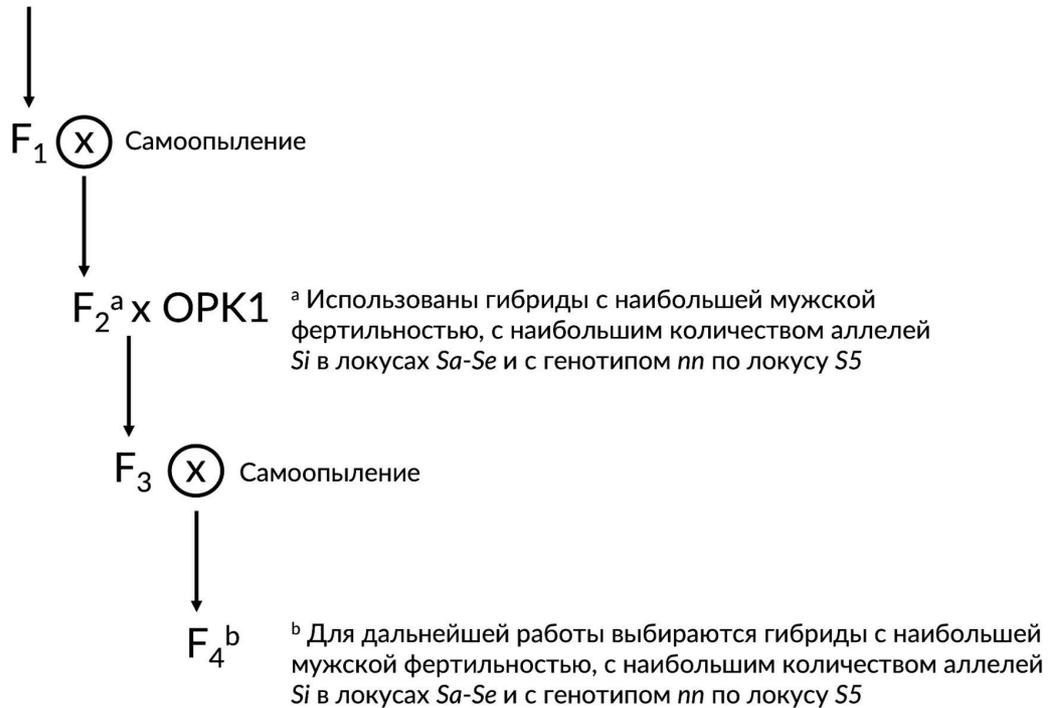
Сортовая линия	Генотип по локусу					
	<i>Sa</i>	<i>Sb</i>	<i>Sc</i>	<i>Sd</i>	<i>Se</i>	<i>S5</i>
BNL1, BNL3	Sai/Sai	Sbi/Sbi	Sci/Sci	Sdi/Sdi	Sei/Sei	S5i/S5i
KC7	Sai/Sai	Sbj/Sbj	Scj/Scj	Sdj/Sdj	Sei/Sei	S5n/S5n
OPK1	Sai/Sai	Sbj/Sbj	Scj/Scj	Sdi/Sdi	Sej/Sej	S5j/S5j
AL18	Saj/Saj	Sbi/Sbi	Sci/Sci	Sdj/Sdj	Sej/Sej	S5j/S5j

6.1. Используя индийские сорта BNL1 и BNL3, выведите гибриды, которые обладали бы повышенной устойчивостью к грибному патогену. Сколько вариантов схем скрещивания Вы можете предложить? Для каждого варианта выведения устойчивых гибридов определите теоретическое количество гибридов в последнем скрещивании среди 3 760 отобранных растений, которые будут обладать повышенной устойчивостью и не дают расщепления по этому признаку при самоопылении. Какой вариант выведения устойчивых гибридов даст больший выход требуемого растительного материала? Аргументируйте Ваш ответ схемами скрещиваний (5 баллов).

6.2. Далее нужно получить растения риса от скрещивания японских сортов, которые при гибридизации с индийскими растениями, полученными Вами в предыдущей части, дадут не только сверхустойчивые к грибу, но и максимально возможно фертильные гибриды.

С этой целью была произведена следующая схема скрещиваний японских сортов:

P: KC7 x AL18



Вспомните, что мужская стерильность определяется гетерозиготностью по пяти локусам Sa-Se.

Ответьте на вопросы по этой схеме скрещивания, аргументируя Ваши ответы (10 баллов).

Поколение	Вопрос задачи
F ₁	1. Какая доля генотипов обладает наибольшей мужской фертильностью? ^b
F ₂	2. Какая доля генотипов обладает наибольшей мужской фертильностью? ^b
F ₂	3. Какая доля генотипов обладает наибольшим количеством аллелей <i>Si</i> в локусах мужской стерильности? ^b
F ₂	4. Запишите генотип, который использован для скрещивания с растением линии ОРК1
F ₃	5. Какая доля генотипов обладает наибольшей мужской фертильностью? ^b
F ₄	6. Какая доля генотипов обладает наибольшей мужской фертильностью? ^b
F ₄	7. Запишите генотип, который нужно использовать для скрещивания с гибридом индийского сорта, который Вы получили в задании 1
F ₄	8. Вычислите долю генотипа, который нужно использовать для скрещивания с гибридом индийского сорта, который Вы получили в задании 1

^b В случае отсутствия расщепления впишите цифру 1

Задание 7. Слоны и бивни (15 баллов).

Отсутствие бивней у африканских слонов – моногенный доминантный признак, который наследуется Х-сцеплено и проявляется только у самок, поскольку у самцов является эмбриональной леталью. Таким образом, в норме аллель безбивневости удаляется из популяции естественным отбором. Браконьеры охотятся на слонов с бивнями (не различая самцов и самок), однако игнорируют самок без бивней, тем самым создавая искусственный отбор в пользу аллели безбивневости. С 70-х по 90-е годы в Мозамбике в заповеднике Горонгоса за одно слоновье поколение доля взрослых безбивневых самок выросла с 19% до 52% (в это время в Мозамбике шла гражданская война и об охране слонов не заботились). С 90х годов браконьерство пошло на спад, и к 2018 году доля молодых самок слонов без бивней снизилась до 32% (считайте их дочками предыдущего поколения, в котором 52% слоних без бивней и внучками первого поколения, в котором 19% слоних без бивней).

7.1. Какая часть слонят-самок в 2018 году ожидалась без бивней, с учетом только законов наследования и естественного отбора? Ответ запишите в процентах, округлив до целых (2 балла).

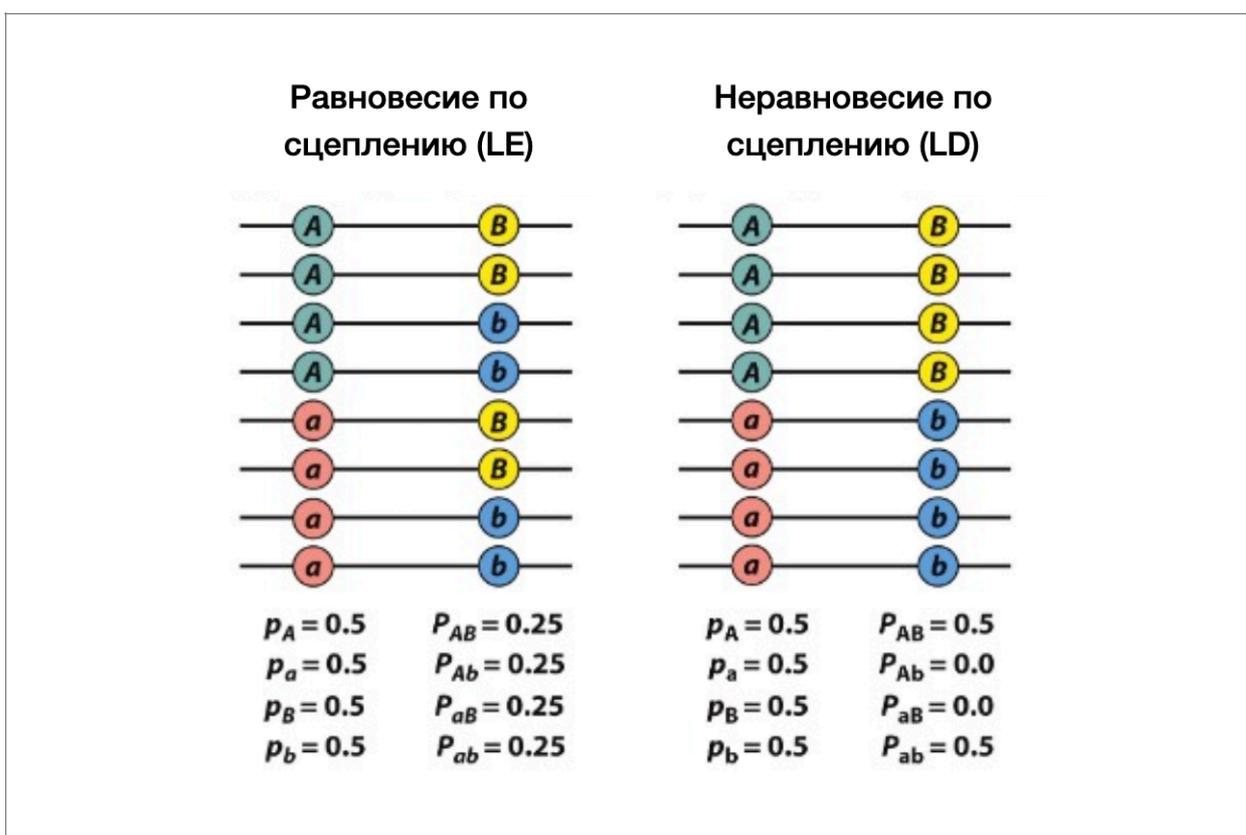
7.2. Какое соотношение полов ожидалось среди слонят в 2018 году, с учетом только законов наследования и естественного отбора? Зиготическую частоту самцов и самок считайте одинаковой. Ответ запишите в процентах, округлив до целых (4 балла).

7.3. Чем объясняется довольно высокая (19%) доля слоних без бивней в Горонгосе в 70-х годах? Какой была в этом момент популяционная частота мутантной аллели безбивневости? Ответ запишите в процентах, округлив до целых (4 балла).

7.4. Какова была вероятность дожить до конца периода активного браконьерства для нормальной самки с бивнями, родившейся в 70-х годах? Аналогичную вероятность для самки без бивней считайте за 100%. Ответ запишите в процентах, округлив до целых (3 балла) (5 баллов).

Задание 8. Неравновесие по сцеплению (15 баллов).

Неравновесие по сцеплению (*Linkage disequilibrium*) – популяционное явление, которое заключается в том, что некоторые варианты генотипов в популяции имеют тенденцию проявляться чаще, чем этого можно было ожидать при независимом наследовании (рис. 1).



При полном равновесии частота встречаемости гаплотипа АВ в популяции равна произведению частоты встречаемости гаплотипа А и гаплотипа В. Иными словами:

$$P_{AB} = P_A \cdot P_B$$

Для количественной характеристики неравновесия по сцеплению вводят специальный коэффициент – D (disequilibrium coefficient), который численно равен:

$$D_{AB} = P_{AB} - P_A \cdot P_B$$

Величина D сильно зависит от частот составляющих её аллелей. Так, например, если частоты аллелей (А и В) равны 0.1 и 0.1, и они полностью ассоциированы, то значение D будет равно:

$$D = 0.1 - 0.01 = 0.09$$

Поэтому мера D не может быть использована для идеальной характеристики популяции.

Одним из вариантов меры неравновесия по сцеплению (LD) является коэффициент корреляции между частотами генотипов и аллелей.

Формула для коэффициента LD:

$$r^2 = \frac{(p_{AB} - p_A \cdot p_B)^2}{p_A \cdot (1 - p_A) \cdot p_B \cdot (1 - p_B)}$$

Вы получили частоты аллелей в 4-х локусах в геноме человека.

Генотип (Локус 1 Локус 2 Локус 3 Локус 4)	Количество людей
A C C T	17
T G G A	14
A C C A	3
A C G A	3
T C G A	2
A G G T	1

8.1. Попарно рассчитайте коэффициент r^2 для локусов 1,2; 1,3 и 1,4. В качестве референса выбирайте наиболее часто встречающийся нуклеотид в позиции (9 баллов).

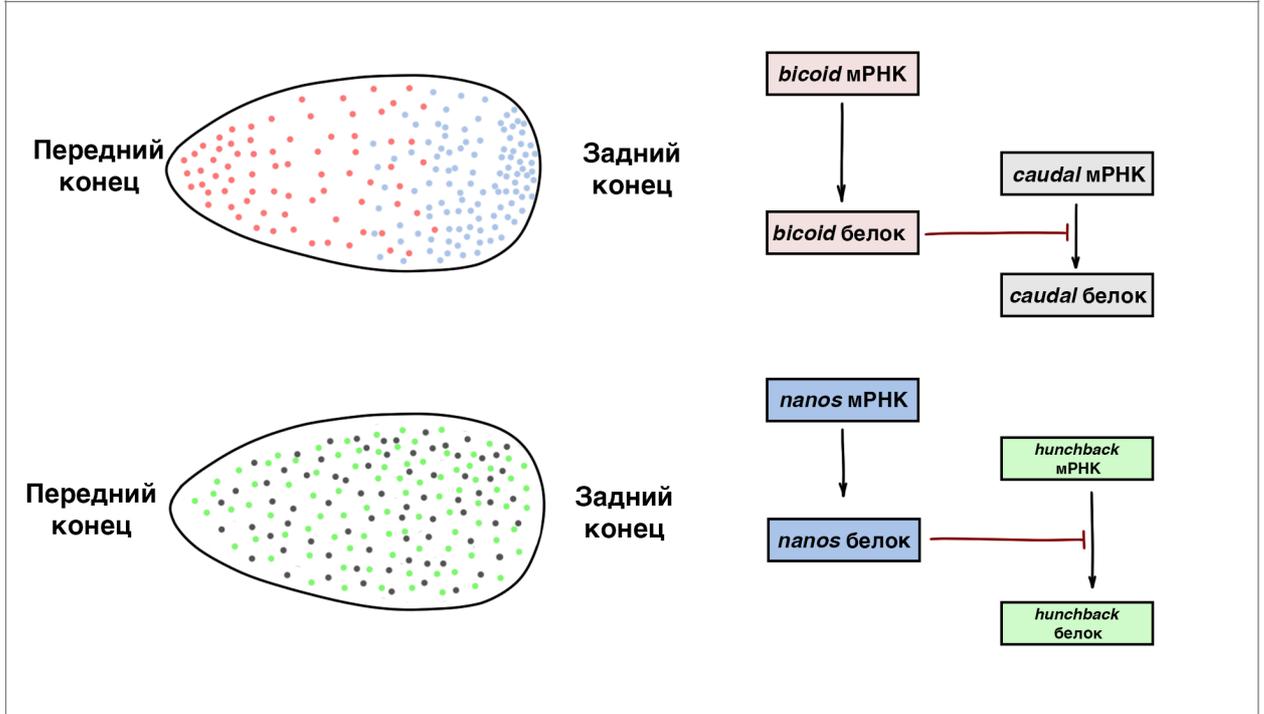
8.2. Предположите в какой последовательности располагаются локусы. Ответ поясните (2 балла).

8.3. Предположите за счет каких эволюционных факторов между двумя генами может возникать неравновесие по сцеплению? Для каждого фактора поясните свой ответ. Укажите два фактора (4 балла)

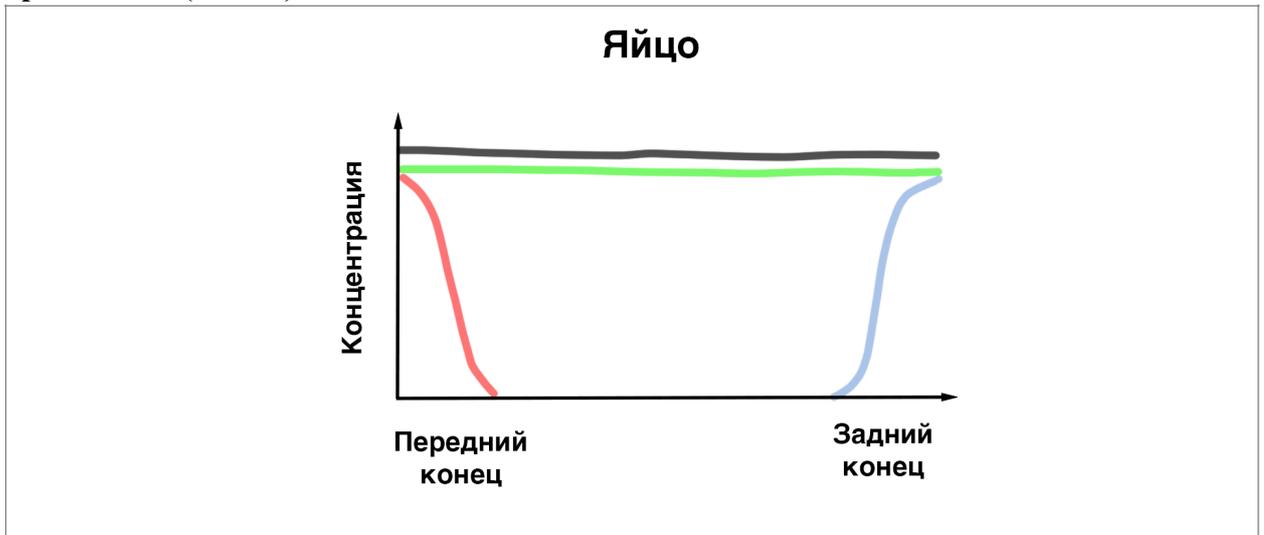
Задание 9. Развитие плодовой мушки (6 баллов).

Большинство животных имеют ярко выраженную полярность. Так, например, выделяют головной и хвостовой конец тела, спинную и брюшную сторону.

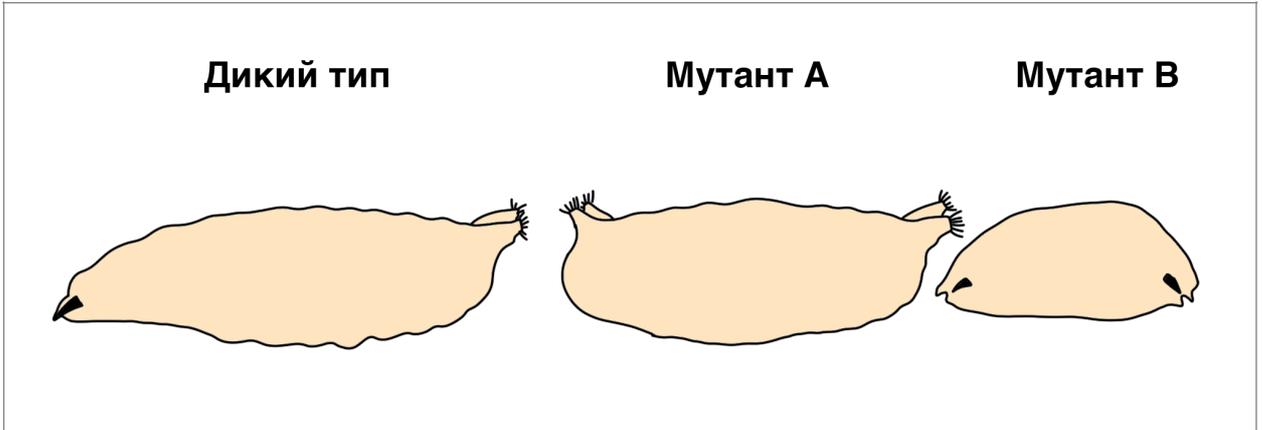
На рисунке показано схематично расположение мРНК двух генов *bicoid*, *nanos*, *hunchback* и *caudal* которые будут образовывать одноименные белки. На схеме регуляции показано, как эти белки взаимодействуют.



5.1. Если известно расположение мРНК генов в яйце, предположите (нарисуйте график), как будет выглядеть градиент *caudal* и *hunchback* в момент начала дробления? (1 балл)



5.2. На рисунках изображена личинка дрозофилы, которая развивается нормально (дикий тип), а также мутанты с потерей функции по генам (*bicoid* и *nanos*). Предположите, какие мутации произошли в каждом мутантном организме (2 балла).



5.3. Дрозофила является сегментированным животным. Ген *hunchback* запускает другие гены развития, которые разделяют развивающийся зародыш на большее число сегментов. Известно, что ген А активируется только при высокой концентрации *hunchback* (выше 10 нмоль/л). Ген В активируется при средней концентрации *hunchback* (ниже 10 нмоль/л, но выше 5 нмоль/л), а ген С запускается при низкой концентрации *hunchback* (ниже 5 нмоль/л). На схеме показана схема взаиморегуляции генов. На графике показано распределение белка *hunchback* в цитоплазме дробящейся яйцеклетки. Предположите, как будет выглядеть распределение белков А, В, С на стадии позднего эмбриона (нарисуйте график аналогичный первому заданию) (3 балла).

