

Задание 1 (20 баллов)

Автотетраплоиды – это организмы, имеющие четвёрки гомологичных хромосом (вместо пар, как это есть у диплоидов). Гаметы у тетраплоидов диплоидные. Предположим, что существует популяция тетраплоидных растений, где ген А представлен двумя аллелями: А с частотой p и а с частотой q . Из каких соображений можно вывести закон Харди-Вайнберга для тетраплоидов? Сколько генотипов и с какими частотами можно будет обнаружить в равновесной популяции, если $q=1/2$?

Решение:

Основная идея закона Харди-Вайнберга состоит в том, что аллели присутствующие в популяции сочетаются в генотипах независимо (в математическом смысле этого слова). Частоты каждого из генотипов можно получить по формуле Бернулли или возведя в четвёртую степень сумму $(p+q)$. Получаются следующие частоты:

AAAA — частота p^4

AAAa — частота $4p^3q$

AAaa — частота $6p^2q^2$

Aaaa — частота $4pq^3$

aaaa — частота q^4

Если $q=1/2$, то $p=1-q=1/2$. Подставив частоты аллелей в формулу выше получим:

AAAA — частота $1/16$

AAAa — частота $1/4$

AAaa — частота $3/8$

Aaaa — частота $1/4$

aaaa — частота $1/16$

Задание 2 (25 баллов)

У бактерии в синтезе веществ X и Y, необходимых для нормального роста, промежуточными продуктами являются вещества P, Q, R, S, T и U, причём эти метаболические пути контролируются как минимум семью генами, по каждому из которых получены мутантные штаммы (№1 - №7). Эти мутанты не растут на минимальной среде, но растут при добавлении в среду веществ X и Y. Рост некоторых мутантов также можно восстановить, добавляя в среду одно из веществ Q, R, S, T или U, при этом бактерии могут в больших количествах накапливать один из промежуточных продуктов. Результаты представлены в таблице:

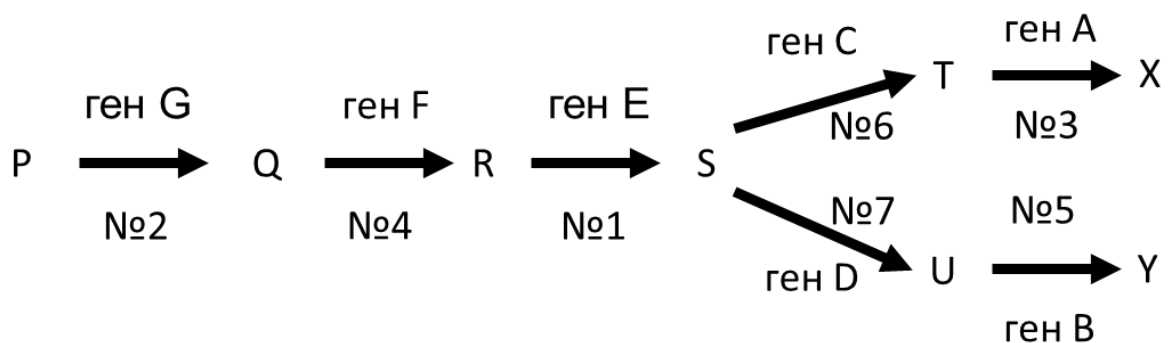
Мутант	Накапливает вещество	Рост восстанавливается при добавлении в среду вещества
№ 1	не накапливает	S
№ 2	P	Q, R, S
№ 3	T	X
№ 4	Q	R, S
№ 5	U	Y
№ 6	не накапливает	T, X
№ 7	не накапливает	U, Y

Основываясь на этих данных, нарисуйте путь биосинтеза веществ X и Y. Обозначьте гены. В каких генах у штаммов №1 - №7 произошли мутации? Почему в этом эксперименте не накапливаются вещества R и S?

Решение:

Последовательность превращений проще всего установить, опираясь на то, какие вещества восстанавливают рост. У мутантов 3 и 5 рост восстанавливается только веществами X и Y соответственно. Видимо, повреждены гены, которые отвечают за последние стадии синтеза X и Y. Обозначим эти гены, соответственно, A и B. При поломке генов часто накапливаются вещества, которые служат субстратом для фермента, кодируемого геном. Здесь это, соответственно, вещества T и U. Далее, рост

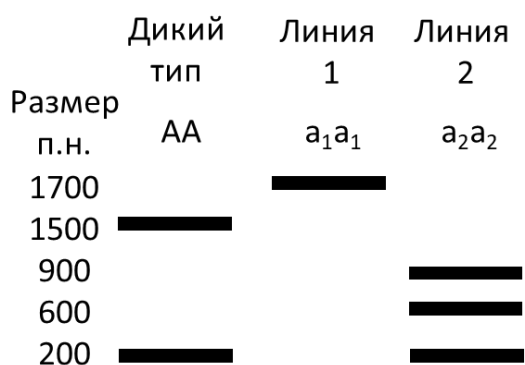
мутанта 6 восстанавливается веществами T, X — это предпоследняя стадия биосинтеза X (обозначим ген C), а у мутанта 7 рост восстанавливают U, Y — это предпоследняя стадия биосинтеза Y (ген D). Рост остальных мутантов веществами X и Y в отдельности не восстанавливается, значит эти мутации блокируют синтез сразу обоих веществ и начало пути общее. Рост мутанта 1 восстанавливается веществом S, значит здесь нарушена последняя стадия в общей части пути (ген E). Предыдущая стадия нарушена у мутанта 4 (ген F), рост которого восстанавливают вещества S и R, а самой первой является стадия, нарушенная у мутанта 2 (ген G). Гены и номера мутантов обозначены на схеме ниже.



Накопление веществ P и Q обусловлено нарушением первой и второй стадии биохимического пути. Вещество S не накапливается потому, что является предшественником для двух метаболических путей: когда не работает один — оно расходуется в другой. Таким же образом можно объяснить и отсутствие накопления вещества R — оно тоже может быть предшественником для двух путей, но по генам второго метаболического пути у нас нет мутантов. Также это вещество может распадаться самостоятельно или представлять собой что-то, что не накапливается в клетке.

Задание 3 (30 баллов)

Заводчик привёз кроликов, взятых из двух одинаковых по фенотипу линий (линия 1 и линия 2), имеющих разное происхождение. У обеих линий кроликов был пятнистый окрас, который определялся мутацией в одном и том же гене А. Кролики свободно скрещивались и в первом поколении имели одинаковый пятнистый (рецессивный, мутантный) окрас. Однако во втором поколении появилось несколько кроликов с окраской дикого типа. Ранее при генотипировании линий применяли ПЦР-ПДРФ-анализ (ПЦР с последующей рестрикцией ПЦР-продукта) с использованием рестриктазы HindIII. Кролики дикого типа также были генотипированы этим методом. Результаты представлены на рисунке. Объясните появление кроликов с окраской дикого типа, если популяция была изолированной. Изобразите результаты генотипирования всех возможных особей в полученной популяции (подпишите размеры получаемых фрагментов).



Решение:

Метод ПЦР-ПДРФ предполагает амплификацию фрагмента ДНК с последующим разрезанием его рестриктазами. Размер полученных фрагментов анализируется с помощью электрофореза. Метод позволяет обнаруживать нуклеотидные замены, если они попадают на сайты рестрикции.

Аллель дикого типа даёт два фрагмента — значит амплифицируемый фрагмент имеет один сайт рестрикции. Аллель a_1 даёт один фрагмент, значит однонуклеотидная замена привела к исчезновению сайта рестрикции, аллель a_2 даёт три фрагмента, значит однонуклеотидная замена приводит к появлению нового сайта рестрикции по сравнению с диким типом.

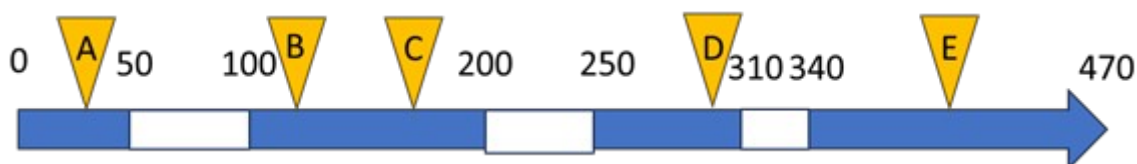
Особи дикого типа появляются только в потомстве гетерозигот, но не у чистых линий. Это не получится объяснить мутацией, т.к. мутации редки, а

также должны были происходить у чистых линий тоже. Наиболее очевидный вариант — рекомбинация (кроссинговер) между двумя мутантными аллелями с появлением аллеля дикого типа. Такой кроссинговер должен произойти внутри гена, на участке между точками, где произошли мутации. При этом должен был появиться ещё один рецессивный аллель, который остался незамеченным — он содержит две точечные мутации относительно дикого типа и имеет один сайт рестрикции, но другой, чем у дикого типа (назовём этот аллель a_3). Размеры фрагментов для этого аллеля однозначно установить нельзя — это будет 900 и 800 п.н. или 1100 и 600 п.н. — в зависимости от взаимного расположения сайтов рестрикции. Этот аллель тоже будет в популяции.

Другой допустимый (но менее вероятный вариант) вариант — конверсия гена (тоже засчитывался как верный). Это результат того, что точка кроссинговера попала в область, где различаются последовательности двух аллелей. В процессе конверсии последовательность одной хромосомы восстанавливается по второй хромосоме. Надо обратить внимание, что конверсия связана именно с кроссинговером и происходит в мейозе.

Если считать, что скрещивания случайны — в популяции могут появиться всего возможны 10 генотипов (однако гомозиготы по аллелю дикого типа и по “новому” аллелю будут очень редкими). На электрофореграмме после ПЦР-ПДРФ-анализа будут сочетаться наборы фрагментов от обоих присутствующих в генотипе аллелей. В результате конверсии аллель a_3 не образуется одновременно с аллелем дикого типа (если так, то генотипов будет 6, без a_3), но может образоваться самостоятельно и остаться незамеченным (тогда генотипов будет 10).

Задание 4. (25 баллов)



На схеме изображен эукариотический ген с координатами стыков экзонов и интронов (цифры). Треугольниками отмечены сайты для гибридизации праймеров А, В, С, D и Е, но направление праймеров неизвестно. Вы смешали все пять праймеров и поставили мультиплексную ПЦР с кДНК. На электрофореграмме вы получили пять фрагментов длиной 50, 70, 90, 200 и 240 п.н. Определите направления праймеров.

Решение:

Фрагменты в ПЦР могут быть получены только, если праймеры направлены друг на друга. ПЦР с кДНК означает, что выделили РНК и провели обратную транскрипцию, поэтому интроны исключены из последовательности. Исходя из количества полученных фрагментов можно сделать вывод, что праймеры А и Е направлены навстречу друг другу, а из трех оставшихся (В, С и D) два направлены в одну сторону, а один — в другую. Иначе не может получиться 5 ПЦР-продуктов. Определить направления далее можно методом исключения, опираясь на размеры получаемых продуктов. Очевидно, что самый большой продукт в 240 п.н. может быть получен только с праймеров А и Е.

А	В	С	Д	Е
→	→	←	→	←

$$AC = 90$$

$$AE = 240$$

$$BC = 50$$

$$BE = 200$$

$$DE = 70$$