

### Задание 1 (25 баллов)

Высокие растения со светлыми листьями скрестили с низкорослыми растениями, имеющими темные листья. В первом поколении (F<sub>1</sub>) были получены растения высокого роста и темными листьями. Во втором поколении (F<sub>2</sub>) доля растений низкого роста и светлыми листьями составила 1/256, при этом доля растений высокого роста и светлыми листьями была в 15 раз больше, так же, как и доля низкорослых растений с темными листьями. Остальные растения F<sub>2</sub> имели высокий рост и темные листья. В возвратном скрещивании растений первого поколения с низкорослыми темнолиственными растениями было получено расщепление на высокие и низкие растения в соотношении 3:1. Объясните результаты.

#### Решение:

При анализе признаков по-отдельности, получается, что оба признака дают расщепление 15:1. Значит, каждый признак контролируется двумя генами, взаимодействующими по типу некумулятивной полимерии.

AABVccdd — Высокие растения со светлыми листьями

aabbCCDD — Низкорослые растения, имеющие темные листья.

В F<sub>1</sub> - AaBbCcDd - высокого роста и темными листьями

В F<sub>2</sub> — расщепление:

**225** — Высокие с темными листьями (81A\_B\_C\_D\_ + 27A\_B\_C\_dd + 27A\_B\_ccD\_ + 27A\_bbC\_D\_ + 27aaB\_C\_D\_ + 9A\_bbC\_dd + 9A\_bbccD\_ + 9aaB\_C\_dd + 9aaB\_ccD\_):

**15** — Высокие со светлыми листьями (9A\_B\_ccdd + 3A\_bbccdd + 3aaB\_ccdd):

**15** — Низкорослые, с темными листьями (9aabbC\_D\_ + 3aabbC\_dd + 3aabbccD\_):

**1** — Низкорослые, со светлыми листьями (aabbccdd)

Должна быть схема для каждого признака отдельно или совместно для обоих с указанием всех классов генотипов.

AaBbCcDd скрещивают с aabbCCDD и получают анализирующее скрещивание по генам А и В. соотношение 3 (AaBb+Aabb+aaBb):1 aabb. Здесь допускается показать расщепление без генов С и D.

## Задание 2 (25 баллов)

У одного из лесных грызунов есть рецессивная сцепленная с X-хромосомой мутация, которая вызывает деформацию ушей. В лес, где живет популяция грызунов из 400 особей (в популяции равное количество самок и самцов, все дикого типа) выпустили 200 самцов с деформированными ушами. Предполагается, что у этих грызунов особи из разных поколений не скрещиваются между собой.

Какие частоты аллелей установятся в этой популяции? Сколько поколений потребуется для установления равновесия и какими при этом станут частоты генотипов у самок и самцов? Если известны частоты генотипов в данном поколении — как найти частоты генотипов самцов и самок в следующем поколении?

### Решение:

Обозначим  $p$  — частота  $A$ ,  $q$  — частота  $a$ . В исходной популяции 200 самок дикого типа, значит для самок  $p=1$ ;  $q=0$ . 200 самцов дикого типа и 200 самцов с мутацией дают нам для самцов  $p=0,5$ ;  $q=0,5$ . Мы не можем всё сложить и брать полученные частоты, т.к. самцов больше, чем самок и каждый самец оставит в среднем меньше потомства чем самка. Очевидно, что соотношение числа самцов и самок здесь вообще не играет роли:  $2/3$  своих X-хромосом следующее поколение получит от самок и  $1/3$  X-хромосом получит от самцов, т.е. можно считать, будто самок и самцов поровну. **Частоты аллелей станут равны  $p=1 \cdot 2/3 + 1/2 \cdot 1/3 = 5/6$  (или 0,833);  $q=0 \cdot 2/3 + 1/2 \cdot 1/3 = 1/6$  (или 0,167) и эти частоты сохранятся до наступления равновесия** (т.к. в дальнейшем самки и самцы будут оставлять равное число потомства). Соответственно, **при наступлении равновесия частоты генотипов будут соответствовать формуле Харди-Вайнберга:  $p^2(X^A X^A) = 25/36$  (или 0,694),  $2pq(X^A X^a) = 10/36$  (или 0,278)  $q^2(X^a X^a) = 1/36$  (или 0,028) у самок и  $p(X^A Y) = 5/6$  (или 0,833),  $q(X^a Y) = 1/6$  (или 0,167).** Однако сразу не очевидно, когда наступит это равновесие.

Поскольку самцы получают X-хромосому только от самок, частоты аллелей у самцов в следующем поколении равны соответствующим частотам у самок в предыдущем:

$$p(\text{♂})_{n+1} = p(\text{♀})_n$$

$$q(\text{♂})_{n+1} = q(\text{♀})_n$$

Здесь у самцов два генотипа с частотами  $p$  и  $q$ .

Самки получают одну X-хромосому от матери, а вторую от отца, поэтому частоты аллелей будут:

$$p(\text{♀})_{n+1} = p(\text{♀})_n / 2 + p(\text{♂})_n / 2$$

$$q(\text{♀})_{n+1} = q(\text{♀})_n / 2 + q(\text{♂})_n / 2$$

Однако частоты генотипов по Харди-Вайнбергу считать здесь нельзя, т.к. у самцов и самок разные частоты аллелей. Частоты генотипов будут такими:

$$(X^A X^A)_{n+1} = p(\text{♀})_n * p(\text{♂})_n$$

$$(X^a X^a)_{n+1} = q(\text{♀})_n * q(\text{♂})_n$$

$$(X^A X^a)_{n+1} = p(\text{♀})_n * q(\text{♂})_n + q(\text{♀})_n * p(\text{♂})_n$$

По формулам выше можно понять, что равновесию может предшествовать только равновесие, т. е. равновесие будет устанавливаться бесконечно долго и формально не настанет. Достаточно, например, посчитать несколько поколений, чтобы понять, что, например, частота  $q$  у самцов колеблется вокруг равновесного значения. Однако, колебания уменьшаются из поколения в поколение и понятно, что в реальной популяции эти колебания рано или поздно станут ничтожны и популяцию можно считать равновесной. Здесь в качестве верного ответа принимается любая обоснованная оценка.

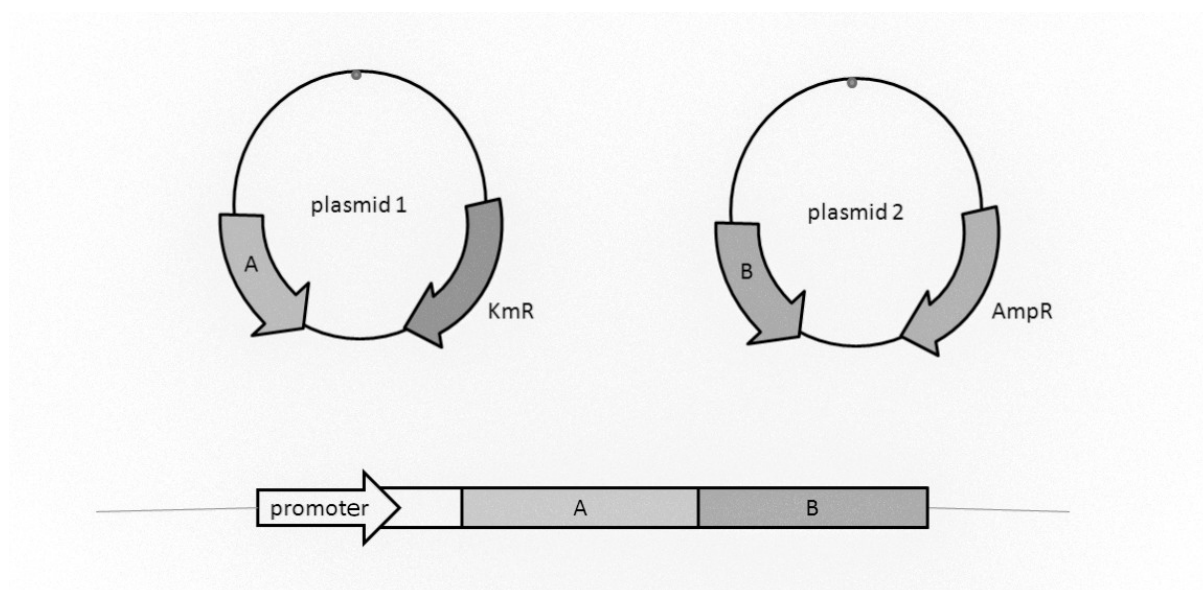
Другие варианты формулы Харди-Вайнберга (когда частоты для самок и самцов даны вместе, в одной формуле) тоже принимаются, если всё корректно с точки зрения математики.

### Задание 3 (25 баллов)

В опероне бактериальной клетки есть два гена А и В. Оба гена участвуют в катаболизме арабинозы. В лаборатории был получен мутантный штамм бактерий, не способный использовать арабинозу в качестве источника углеводов. Какая мутация могла произойти в опероне? Предложите варианты.

В лаборатории получены две плазмиды для трансформации, несущие в себе функциональные гены А (plasmid 1) и В (plasmid 2) под контролем постоянно работающих промоторов. В качестве селективных маркеров плазмиды несут в себе гены устойчивости к антибиотикам: plasmid 1 – к ампициллину (AmpR), plasmid 2 – канамицину (KmR). Известно, что плазмиды совместимы между собой. Как с помощью этих плазмид можно установить, где произошла мутация в опероне? Можно ли восстановить способность штамма использовать арабинозу в качестве источника углеводов? Что следует добавлять в среду для выращивания трансформированных штаммов?

На рисунке представлен оперон с промотором (promoter) и генами А и В.



### Решение:

Мутации возможны в промоторе и в самих генах А и/или В. Опероны негативно регулируются с помощью репрессоров, поэтому возможна и мутация в гене репрессора (он не входит в оперон, но управляет его работой), приводящая к тому, что репрессор всегда связан с последовательностью вблизи промотора и блокирует его работу даже в присутствии арабинозы.

Можно трансформировать клетки одной из конструкций или обеими одновременно, чтобы увидеть в каких условиях восстанавливается функция оперона и усваивается арабиноза. При трансформации только плазмидой “plasmid 1” — в гене А, при трансформации только “plasmid 2” — в гене В, если необходима трансформация двумя плазмидами сразу — повреждены оба гена (например, за счёт делеции), промотор или ген репрессора.

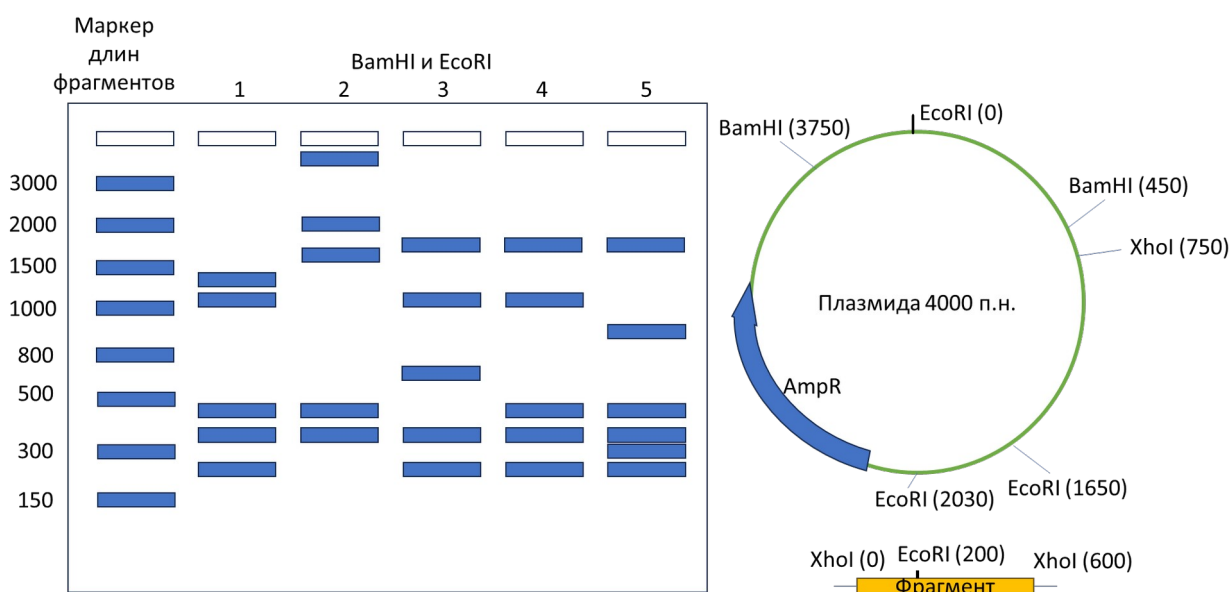
Для выращивания штаммов необходимо использовать среду с арабинозой и необходимым антибиотиком (или сразу двумя антибиотиками, если плазмид две).

Можно поддерживать трансформированные штаммы, выращивая их на средах с соответствующими антибиотиками — тогда они не смогут потерять плазмиды.

#### Задание 4 (25 баллов)

На рисунке слева представлена электрофореграмма результатов рестрикции пяти образцов ДНК по сайтам BamHI и EcoRI. На первой дорожке нанесен маркер длин фрагментов. Определите размеры продуктов рестрикции, используя маркер. Укажите, на какой дорожке находится плазмида (рисунок справа), обработанная рестриктазами BamHI и EcoRI одновременно. Как изменится электрофореграмма, если встроить фрагмент размером 600 нуклеотидов (правый нижний рисунок) по сайту XhoI? В ответе укажите размеры продуктов рестрикции в п.н.

На схемах плазмиды и фрагмента отмечены координаты сайтов рестрикции в п.н.



#### Решение:

Размеры продуктов рестрикции можно определить, посчитав расстояние между координатами сайтов рестрикции только двух рестриктаз BamHI и EcoRI. Размеры фрагментов в порядке возрастания: 250, 380, 450, 1200, 1720.

Для того, чтобы выбрать правильную дорожку, на которой изображены эти фрагменты необходимо соотнести вычисленные размеры продуктов с тем, где они будут располагаться на электрофореграмме относительно маркера длин фрагментов. Дорожку 1 и 2 можно исключить, т.к. размеры их фрагментов в сумме либо меньше, либо гораздо больше 4000 п.н. (размер всей плазмиды). На дорожке 5 представлено шесть фрагментов, вместо пяти, поэтому ее тоже можно исключить. На дорожке 3 представлен фрагмент,

размер которого составляет примерно 700 п.н. Таких продуктов при расчете получено не было, значит на этой дорожке представлена не та плазмида. Остается дорожка №4, выбираем её.

Во второй части задания нужно было показать как будет выглядеть обработанная рестриктазами плазмида, содержащая вставку размером 600 нуклеотидов. Фрагмент встроили через сайт рестрикции XhoI. Сам фрагмент содержит сайт рестрикции EcoRI. Это значит, что после обработки рестриктазами BamHI и EcoRI у такой плазмиды образуется 6 фрагментов. При этом нужно понимать, что фрагмент может встроиться в плазмиду в двух возможных направлениях и от этого будут зависеть результаты рестрикции:

- 1) 250, 380, 450, 500, 1300, 1720
- 2) 250, 380, 450, 700, 1100, 1720