

Московская олимпиада школьников по генетике, 16.02.2025. Заключительный этап. Теоретический тур. 10 класс

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!

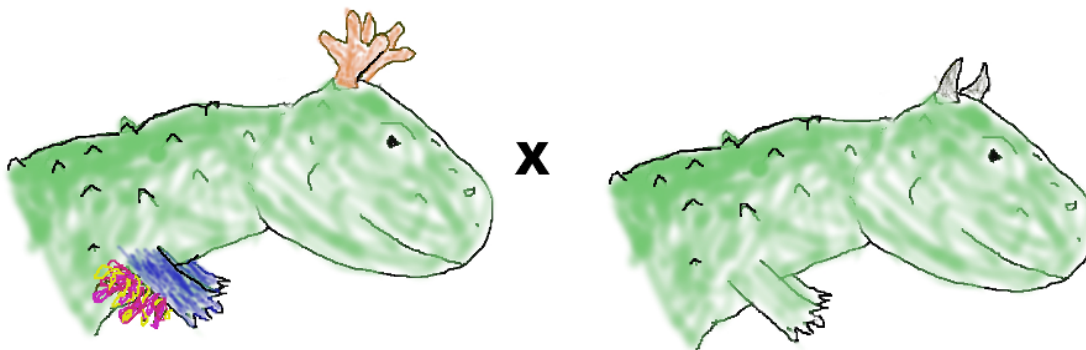
Максимальное количество баллов: 76

Время на выполнение работы: 3 часа 55 минут.

Задание 1. Красивые динозавры (10 баллов)

В настоящее время считается, что, поскольку расчетная дата возникновения ZW-половых хромосом более древняя, чем время существования общего предка современных птиц, ZW-система определения пола была, помимо птиц, характерна также и для динозавров. Таким образом, у динозавров могло быть несколько типов наследования: аутосомное, Z-сцепленное, W-сцепленное и аутосомное, ограниченное полом.

Самец карнотавра (вид динозавра) с синими передними лапками, покрытыми перьями, и ветвистыми рогами скрестился с самкой, у которой были обычные зеленые лапки без перьев и простые рога (см. рисунок; наследование всех признаков считайте моногенным).



От этого скрещивания родилось 9 самцов и 8 самок. У всех карнотаврят-самцов перьев на лапках не было, а у всех карнотаврят-самок перья были. Синие лапки и ветвистые рога были у 3 самцов и 1 самки, синие лапки и простые рога – у 3 самцов и 1 самки, зеленые лапки и ветвистые рога – у 1 самца и 3 самок, зеленые лапки и простые рога – тоже у 1 самца и 3 самок.

Известно, что в популяции карнотауров, к которой принадлежат анализируемые самец и самка, доля самцов с ветвистыми рогами выше, чем доля самок с ветвистыми

рогами; доля самцов с синими лапками выше, чем доля самок с синими лапками; а доля самцов с перьями на лапках ниже, чем доля самок с перьями.

1.1. Как, вероятно, наследуются наличие перьев, цвет лапок и форма рогов? Какие генотипы карнотавров-родителей? (5 баллов) Ответ поясните.

Решение:

Крисс-кросс наследование перьев на лапках показывает, что этот признак наследуется Z-сцепленно рецессивно – самец с перьями был рецессивной гомозиготой Z^aZ^a , а самка – доминантной гемизиготой Z^AW (1 балл). Ветвистые рога были у половины потомства - 4 самцов из 8 и 4 самок из 8, что указывает либо на аутосомно-доминантное, либо на Z-сцепленное доминантное наследование и скрещивание гетерозиготы с рецессивной гомозиготой (1 балл). Однако в случае аутосомного наследования в популяции доли самцов и самок с ветвистыми рогами были бы одинаковы, значит ветвистость рогов доминантна и Z-сцеплена (1 балл). Расщепление по цвету лапок указывает на скрещивание двух гетерозигот, при этом синий цвет лапок у 6 самцов из 8, но всего у 2 самок из 8, что указывает на ограниченное полом аутосомное наследование, когда проявление признака у гетерозиготы зависит от пола особи (1 балл). Таким образом, если обозначить А- отсутствие перьев, а – наличие перьев, В – ветвистые рога, b – простые рога, c^1 – синие лапки, c^2 – зеленые, то генотип самца будет $Z^{aB} Z^{ab} c^1c^2$, а генотип самки $Z^{Ab} W c^1c^2$ (1 балл).

1.2. Каким мог бы быть фенотип потомков в этом скрещивании, если бы фенотип самки был бы обусловлен W-сцепленным эпистатическим геном, отменяющим проявление генов, отвечающих за «украшение самцов» (перья, ветвистые рога, синие лапки)? Механизмы наследования признаков и генотип карнотавра-отца используйте те же, что в первой части задачи (5 баллов).

Решение:

Следует отметить, что в случае W-сцепленного эпистатического гена все самки в потомстве были бы одинаковы и похожи на свою мать – без перьев, с простыми рогами и зелеными лапками (1 балл). Разнообразие фенотипа могло быть только у детенышей-самцов (1 балл).

Перьев у потомков-самцов могло не быть из-за материнской аллели Z^A , как и в первой части задачи. С другой стороны, в этом случае у самки мог быть рецессивная аллель а, подавленная эпистазом. Тогда у всех самцов перья были бы (они гомозиготы Z^aZ^a) (1 балл).

Аналогичным образом, по форме рогов у самцов может сохраниться расщепление 1 к 1, а может единообразие (все с ветвистыми рогами), если у матери будет подавленная эпистазом аллель Z^B (1 балл).

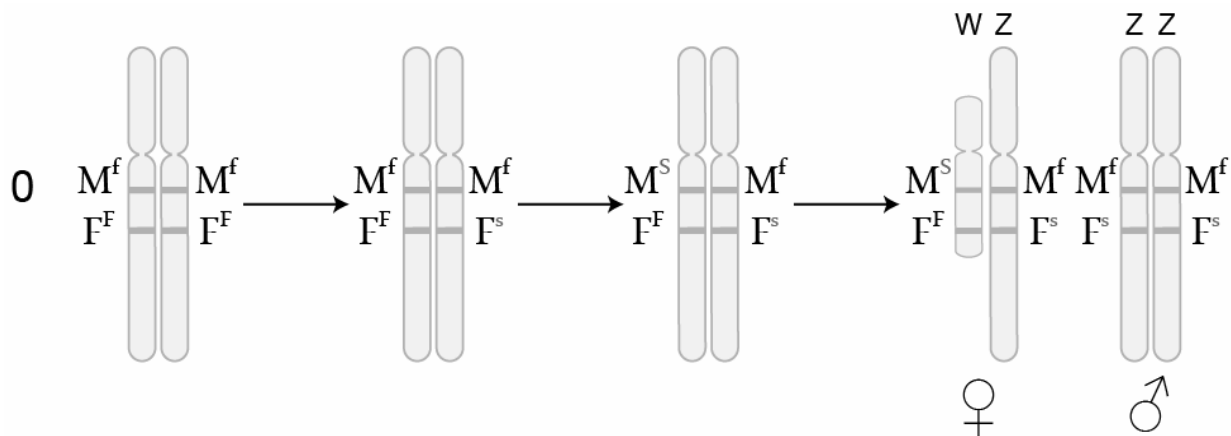
Цвет лапок у самцов в этом случае мог наследоваться тремя вариантами: расщепление 1 к 1 если мать зеленолапая гомозигота c^2c^2 , расщепление 3 к 1, если мать гетерозигота, и единообразие (все с синими лапами), если мать – замаскированная эпистазом синелапая гомозигота c^1c^1 (1 балл).

Задание 2. Определение пола у растений (10 баллов)

У некоторых высших растений встречается многодомность – явление, при котором в популяции присутствуют как однополые, так и обоеполые цветки. Эволюционно такие системы возникают из гермафродитной и могут являться переходными этапами на пути к двудомности.

ТИП МНОГОДОМНОСТИ	ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ ПОЛЫ
Андродиэция	♂ + ♀
Гинодиэция	♀ + ♀
Триоэция (трехдомность)	♂ + ♀ + ♀

Существует модель Чарльзвортса, которая описывает возможные эволюционные пути возникновения разных систем пола:



M и F - локусы мужской и женской фертильности. Индексы F/f и S/s - доминантные / рецессивные аллели фертильности и стерильности соответственно.

Эта модель подразумевает последовательное возникновение 2 мутантных аллелей, ответственных за определенный тип стерильности. Впоследствии на аутосомных хромосомах формируется участок, в котором не происходит рекомбинация. Это приводит к формированию устойчивых комбинаций аллелей и формированию половых хромосом.

2.1. Изучите 4 схемы эволюционных событий согласно модели Чарльзвортса и заполните таблицу с системами пола. Считайте, что на отдельно взятом растении могут быть цветки только одного типа (мужские, женские, обоеполые или бесполое). Заполненную таблицу перенесите в бланк ответов (6 балла).

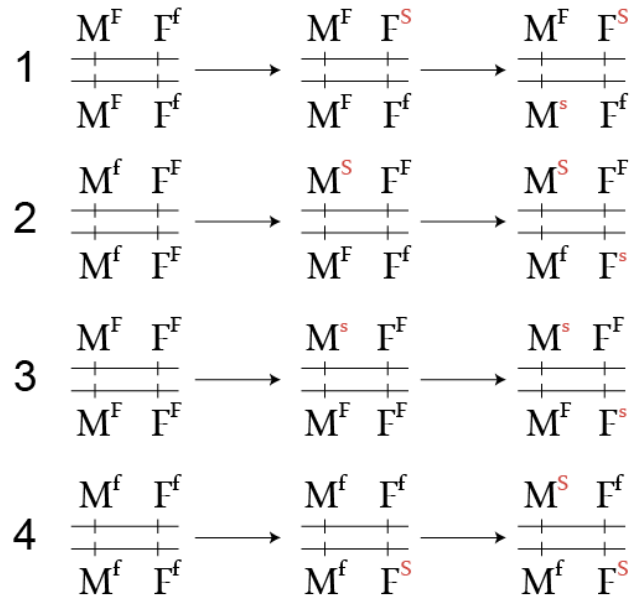


СХЕМА	ПОСЛЕ 1 МУТАЦИИ	ПОСЛЕ 2 МУТАЦИИ	ХРОМОСОМЫ ¹
0(пример)	Гинодиэция	Трехдомность	ZW
1			
2			
3			
4			

Хромосомы¹ – какая система пола будет получена после дифференциации половых хромосом – XY / ZW / нет (если на основе данных мутаций нельзя получить систему с двудомностью)

Решение (6 баллов, по 0.5 балла за каждую верную клетку в таблице):

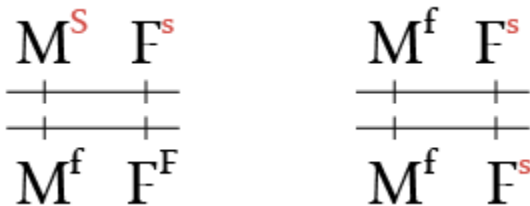
СХЕМА	ПОСЛЕ 1	ПОСЛЕ 2 МУТАЦИИ	ХРОМОСОМЫ ¹
0(пример)	Гинодиэция	Трехдомность	XY
1	Андродиэция	Трехдомность	XY
2	Гинодиэция	Трехдомность	ZW
3	Гинодиэция	Трехдомность	НЕТ
4	Андродиэция	Трехдомность	НЕТ

2.2. У *Земляники виргинской* половые хромосомы сформировались относительно недавно по эволюционным меркам, поэтому между локусами M и F все еще возможна рекомбинация при мейозе. Формирование половых хромосом этого растения происходило по механизму описанному в примере (0).

Мужское и женское растение земляники скрестили и получили следующее расщепление в потомстве: 47% бесполоых, 47% обоеполых, 3% женских, 3% мужских. Установите генотипы родителей и расстояние между локусами M и F (3 балла)

Решение:

Генотипы родителей (0.5 балл, по 0.25 за верный генотип)

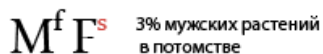
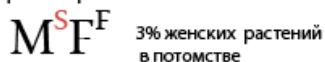


Гаметы (1.5 балла, по 0.5 за каждую верную гамету)

некросоверные



кросоверные



Расстояние между генами 6 сМ (1 балла)

2.3. Какое соотношение полов стоит ожидать, во втором поколении от этого скрещивания? Считайте, что обоеполые особи формируют в 2 раза меньше гамет каждого типа по сравнению с однополыми. В расчетах округляйте до десяти тысячных долей. Ответ дайте в процентах, округлите до сотых (1 балл).

Решение:

66,7% обоеполых: 5,46% женских : 27,65% мужских : 0,19% бесполоых

Задание 3. Альтернативный сплайсинг (5 баллов)

На схеме представлена часть последовательности кодирующей цепи ДНК гена X, включающая 3-й экзон, 3-й интрон и 4-й экзон данного гена. В клетках можно обнаружить 2 изоформы белка, кодируемого данным геном. Их фрагменты их последовательностей также приведены на схеме.

```
5' конец 3 экзона
|
| ATCTGAATAG AAGCCCAAAC TCTACTATAA TAATCGTGAT GATCGTATAA
| 0          10          20          30          40
|
| АСТСТТТААГ СГАААТГСТА АГАСАСГССА ААГГАТСААГ ТААТТСААСС
| 50          60          70          80          90
|
| GCCTACGTTG TACTCGTCCG CGCCGACGGA GCTACCGGTG CCAGTTTCTG
| 100         110         120         130         140
|
| AACGCGCCGC AATACCCTGC CTTGT
| 150         160         170
|
| 3' конец 4 экзона
|
Изоформа 1
RRQRTISERAAIPCLESKIK
Изоформа 2
RRQRTNLNRSPNSTIIIVMIESKIK
```

3.1. Определите границы 3 и 4 экзонов (в ответе укажите номер последнего или первого нуклеотида входящего в состав экзона) и длину 3 интрона (1.5 балла).

Решение (1.5 балла по 0.5 балла за каждый верный элемент):

3'-конец 3 экзона: 44

5'-конец 4 экзона: 145

Длина интрона: 100

3.2 Какой нуклеотид находится на 3'-конце 2-экзона? (0.5 балла)

Решение (0.5 балла по 0.5 балла за каждый верный элемент): А

3.3. Выберите ДНК зонд, который позволит обнаружить мРНК, кодирующую Изоформу 1 (0,5 балл)

1. 5' ААСТСТАСТАТААТА 3'
2. 5' GAACGCGCCGCAАТА 3'
3. 5' ТАТТGCGGCGCGTTC 3'
4. 5' ТАТТАТАGТАGAGTT 3'

Решение:

3 (0.5 балла)

3.4. Соотнесите мутации в кодирующей последовательности с полученными изменениями в структуре белка. Перенесите соотнесение в бланк ответов (2,5 балла).

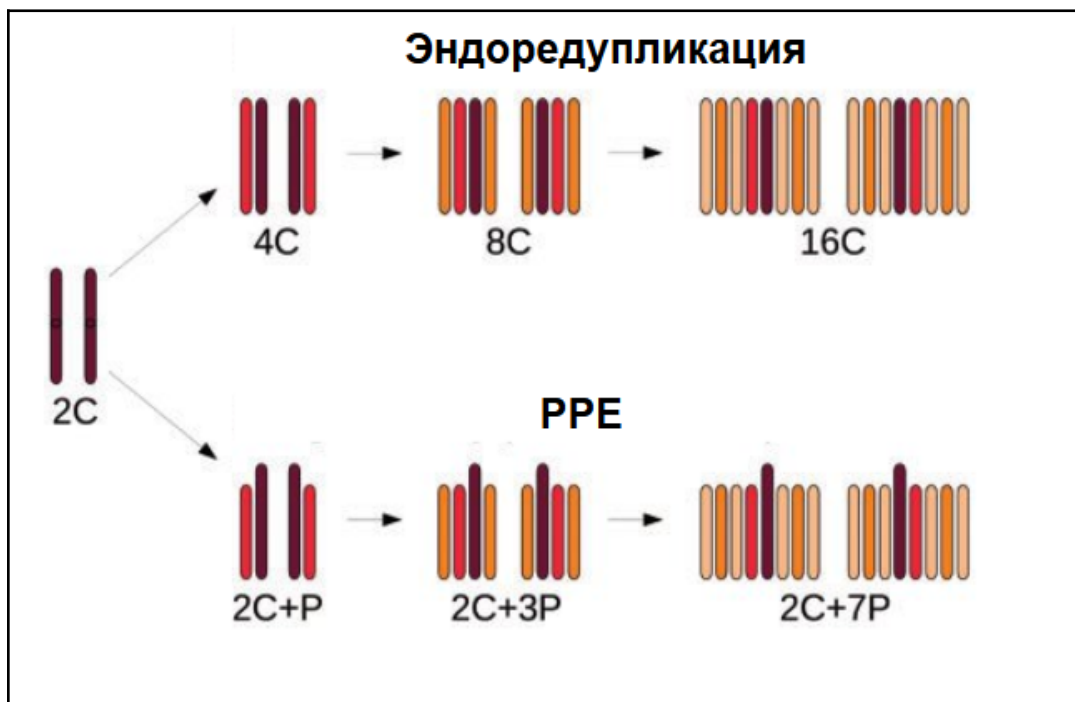
МУТАЦИИ	ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКЕ
1. 144G→T	A. Нет изменений
2. 45G→T	B. Замена аминокислоты
3. 150G→T	C. Остановка трансляции
4. 38G→T	D. Удлинение изоформы 1 на 4 аминокислоты
5. 169G→T	E. Укорочение изоформы 2 на 3 аминокислоты

Решение (2.5 балла по 0.5 балла за каждое верное соответствие):

1- D, 2- E, 3- C, 4- A, 5- B

Задание 4. Репликация в растениях (10 баллов)

У многих видов растений дифференцировка соматических клеток сопровождается эндоредупликацией - процессом, в ходе которого клетки проходят один или несколько циклов репликации ДНК без митоза, в результате чего образуются ядра с количеством ДНК, кратным $2C$ ($4C$, $8C$, $16C$...). У некоторых орхидей наблюдается альтернативный процесс – непропорциональное увеличение содержания ядерной ДНК (PPE - progressively partial replication), когда последовательные циклы эндоредупликации приводят к количеству ДНК $2C+P$, $2C+3P$, $2C+7P$... где P – содержание ДНК в том фрагменте $2C$, который непосредственно реплицируется. В случае растений с процессом PPE, клетки, вступившие в него далее уже не могут редуплицировать свой геном по “классическому пути”.

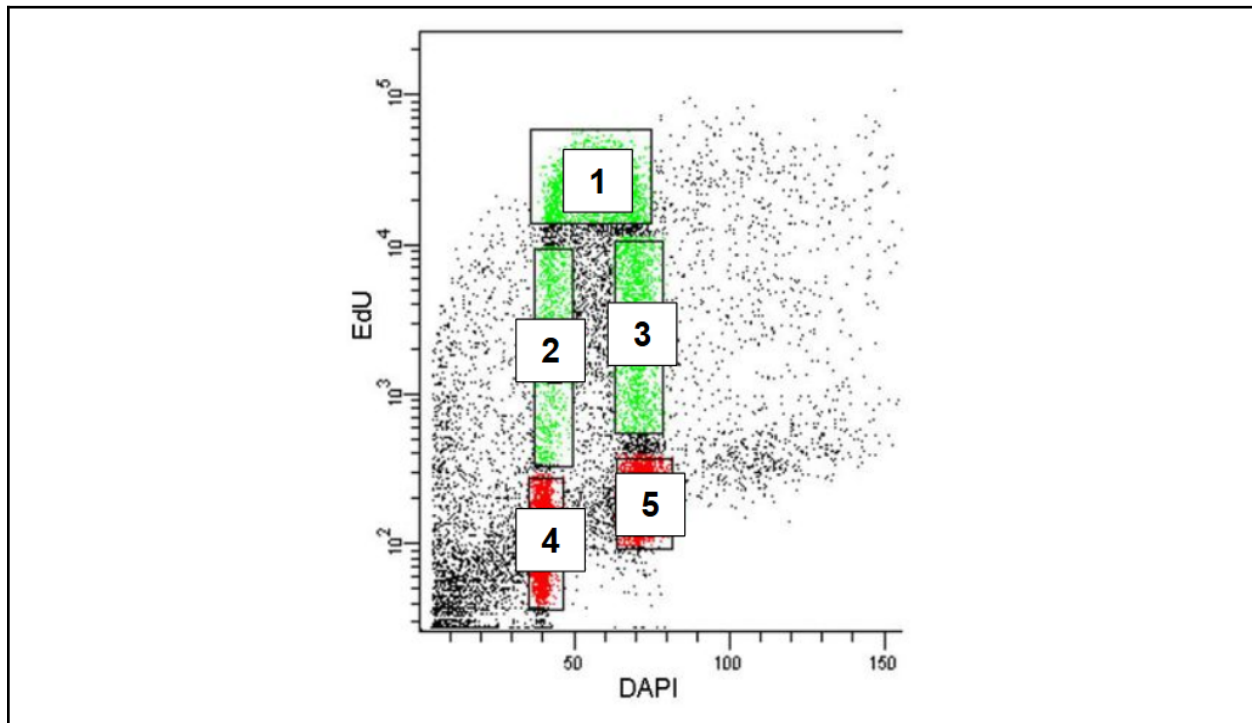


4.1. Для изучения этого процесса вы решили воспользоваться классическим цитофлуориметрическим методом оценки репликации в клетках. Для этого клетки кратковременно инкубируются с красителем EdU, который встраивается в активно растущую цепь ДНК, и затем окрашиваются красителем DAPI, который связывается с двухцепочечной ДНК. Окрашенные клетки затем сортируются на проточном цитофлуориметре и для каждой клетки оценивается флуоресценция обоих красителей. Внимательно изучив полученное распределение клеток по интенсивности окраски красителями, установите соответствие между стадией клеточного цикла (А-Д) и отмеченной фракцией клеток (1–5). Ответ поясните (4 балла).

Фазы клеточного цикла:

А	G1-фаза
Б	Ранняя S-фаза
В	Средняя S-фаза
Г	Поздняя S-фаза/Начало G2
Д	G2-фаза

Распределение клеток по интенсивности окраски красителями в эксперименте по проточной цитофлуориметрии:

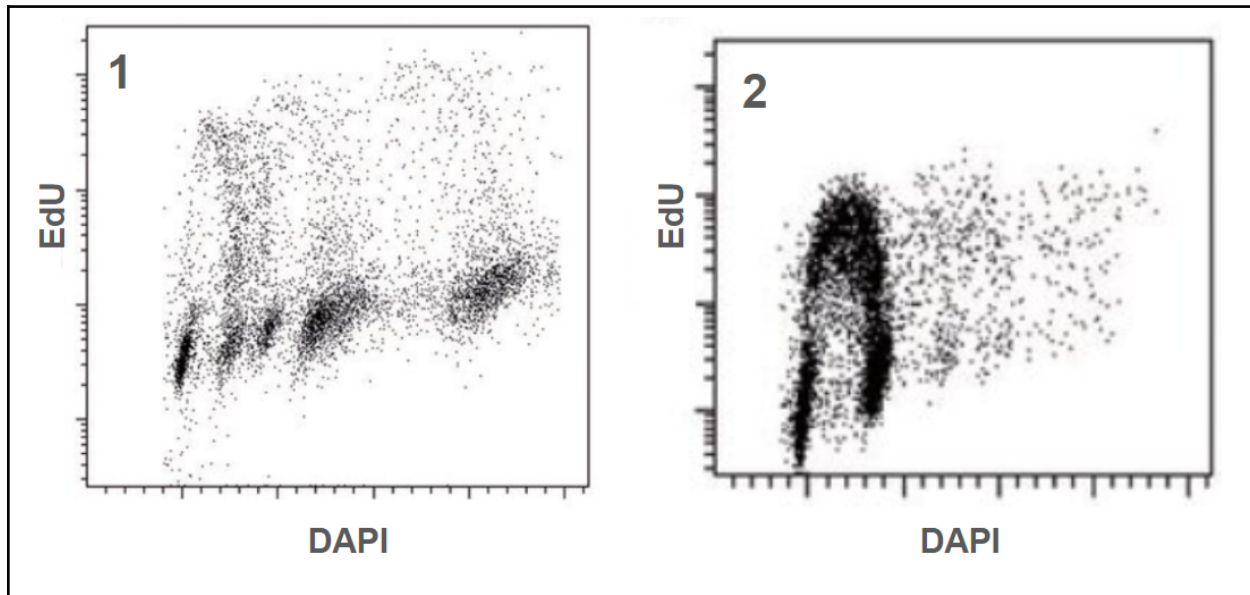


Решение:

А - 4; Б - 2; В - 1; Г - 3; Д - 5 (по 0.5 балла за верное соответствие)

DAPI отображает суммарное количество дцДНК в клетке (**0.5 балла**) в то время, как EdU - интенсивность процесса репликации (**0.5 балла**). Таким образом до S-фазы нет сигнала EdU и низкий сигнал DAPI, однако в ходе S-фазы DAPI растет, в то время как сигнал EdU достигает своего пика в средней S-фазе, когда наибольшее количество репликативных вилок движутся по ДНК (**0.5 балла за любое верное пояснение, параболической формы**).

4.2. Разобравшись в ожидаемой картине эксперимента цитофлюориметрии вы решили провести его с дифференцирующимися клетками орхидеи *L. discolor* и ячменя *H. vulgare*. Полученные результаты, к сожалению, пришли к вам неподписанными. Установите соответствие между образцом и графиком, который был получен из него, а также ответьте на вопрос, какой максимальной ploидности достигают клетки в его составе (в формате $C+P$) (5 баллов).



Решение

1 - орхидея (*L. discolor*), 2 - ячмень (*H. vulgare*) (по 1 баллу за верное соответствие)

Максимальная ploидность (1) - $2C + 7P$ (1 балл)

Максимальная ploидность (2) - $4C$ (засчитывать и $8C$) (2 балла)

4.3. Наконец, вы решили оценить продолжительность каждой из основных стадий клеточного цикла в клетках ячменя (*H. vulgare*). Считая, что время удвоения клеток в культуре составляет 20 часов, вы далее провели сортировку клеток по фазам клеточного цикла и получили следующее соотношение:

G1-фаза: 37.3%

S-фаза: 57.1%

G2-фаза: 5.2%

Оцените по данной информации продолжительность S-фазы в культуре клеток ячменя (в часах, округляя до сотых). (1 балл)

Решение:

$20 \cdot 0.571 = 11.42$ ч (1 балл)

Задание 5. Изолированные популяции (5 баллов)

Существуют две изолированные равновесные популяции, одна бесконечного размера (далее популяция 1), вторая состоит из 10 000 особей (далее популяция 2). Считайте, что соотношение полов в них всегда 1:1. Некоторый ген существует в виде двух аллелей, А и В, в начале в обеих популяциях частоты двух аллелей равны и составляют 0.5. По непонятным причинам, во второй популяции 50% всех особей с генотипом АА погибло перед размножением.

5.1. Определите новую частоту аллелей А и В в популяции 2. Округлите до 4 знака после запятой (2 балла)

Решение:

Умерло $0.5 * 0.5^2 * 10000 = 1250$.

Осталось $10000 - 1250 = 8750$

Частота аллеля А = $(1250 * 2 + 0.5^2 * 2 * 10000) / (8750 * 2) = 0.4286$ (1 балл)

Частота аллеля В = $1 - 0.4286 = 0.5714$ (1 балл)

5.2. После смерти гомозигот в популяции 2 в нее мигрировали гетерозиготы из популяции 1, пока суммарное число особей в популяции 2 не достигло 10000. Сколько особей мигрировало из популяции 1 в популяцию 2? Определите новую частоту аллелей А и В в популяции 2. Округлите до 4 знака после запятой (2 балла)

Примечание: т. к. популяция 1 бесконечно большая, миграция любого числа особей из нее никак не повлияет на ее равновесие.

Решение:

Умерло 1250 гомозигот, мигрировало 1250 гетерозигот.

Частота А = $(1250 * 2 + 5000 * 1 + 1250 * 1) / (10000 * 2) = 0.4375$ (1 балл)

Частота В = $1 - 0.4375 = 0.5625$ (1 балл)

5.3. После этого особи во второй популяции вступили в половое размножение, дав ровно 10000 потомков, и умерли. Их потомки пройдут через ту же последовательность событий- смерть 50% гомозигот АА, миграция гетерозигот из популяции 1 в популяцию 2 до достижения 10000 особей, половое размножение, которое оставит 10000 потомков и так далее. Как будет меняться частота аллеля А за каждый описанный «цикл»? К какому значению придет частота аллеля А по результату множества циклов? (1 балл)

Решение:

Частота аллеля А уменьшается (0.5 балла)

В итоге частота аллеля А станет равной нулю (0.5 балла)

Задание 6. Рост меристем (10 баллов)

Все органы, которые мы наблюдаем у взрослых растений, — развитые корни, стебель, листья, цветы — формируются в ходе дальнейшей жизни растения из меристем. Клетки меристемы способны дифференцироваться в клетки любых тканей растения (то есть они плюрипотентны).

Развитие новых органов из меристем запускают растительные гормоны ауксины, стимулирующие рост побегов, деление и дифференциацию клеток.

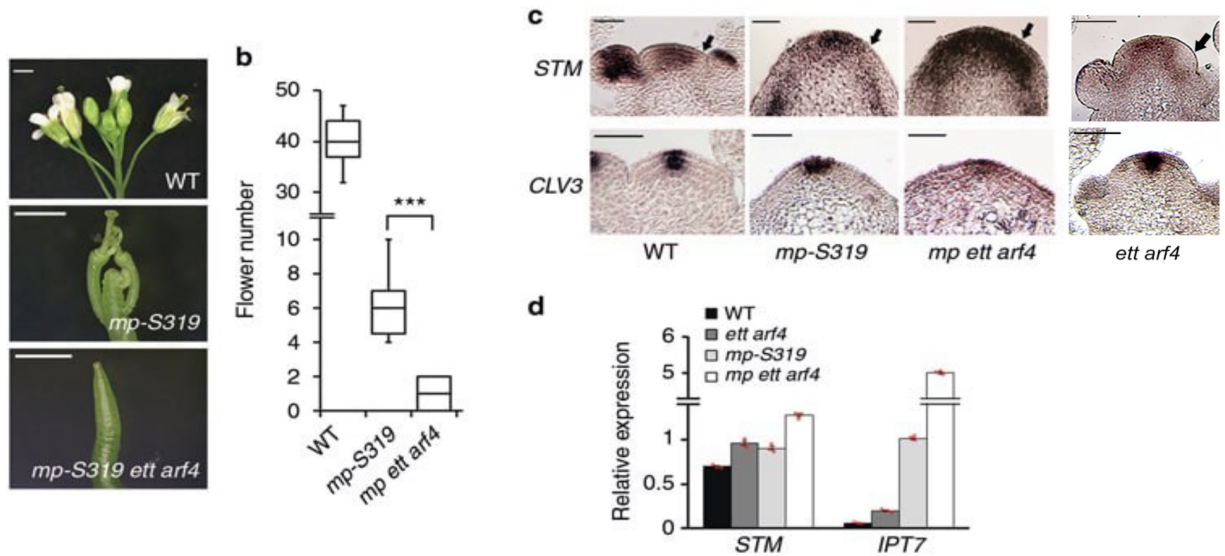
Белки группы ARFs (auxin response factors — «факторы ответа на ауксин») управляют в клетках меристем экспрессией генов, отвечающих за дифференциацию клеток и развитие из них новых тканей и органов. ARFs делятся на три класса: А, В и С; факторы транскрипции из класса А стимулируют транскрипцию, факторы из классов В и С — напротив, подавляют.

В число ARFs класса В входят факторы транскрипции **ETT** и **ARF4**, высокие концентрации которых обнаруживаются в примордиях — зачатках новых листьев или почек на конусе нарастания побега. К классу А относится, в частности, фактор транскрипции **MONOPTEROS (MP)**, известный способностью активировать гены, отвечающие за формирование цветка.

Ранее уже было выяснено, что важную роль в регуляции развития органов растения из меристем играют факторы транскрипции **SHOOT MERISTEMLESS (STM)**. Он является фактором плюрипотентности, то есть отвечает за то, чтобы стволовые клетки меристем оставались в том же состоянии и не развивались в специализированные клетки других типов. Кодированный геном STM транскрипционный фактор стимулирует экспрессию гена **IPT7**, продукт которого, фермент АТФ/АДФ-изопентенилтрансфераза 7 запускает биосинтез цитокининов — гормонов, стимулирующих деление клетки. Соотношение между цитокининами и ауксинами определяет процесс деления клеток и их дифференциации.

Для исследования роли регуляторных генов и их взаимодействия была проведена серия экспериментов.

I. В качестве модельного растения был взят *Arabidopsis thaliana*. Ученые использовали растения без каких-либо генетических изменений (дикий тип WT), а также три варианта генетически модифицированных рецессивов: с гипоморфным (снижающим уровень выработки кодируемого белка) аллелем гена, кодирующего синтез MP (**mp-S319**), с подавленным синтезом ETT и ARF4 (**ett arf4**), и с комбинацией обеих генетических модификаций (**mp ett arf4**).



a — формирование цветков у дикого типа (WT) и мутантов *mp-S319* и *mp ett arf4* *b* — количество цветков, формирующихся у растений указанных типов. *c* — экспрессия ключевых генов-факторов плюрипотентности в меристемах репродуктивного примордия растений указанных типов (метод гибридизации *in situ*); *d* — уровень экспрессии *STM* и *IPT7* у растений указанных типов.

6.1. Опишите фенотипы дикого типа и мутантов, как мутации повлияли на экспрессию *STM* и *IPT7*? Какой вывод можно сделать о влиянии *MP*, *ETT* и *ARF4*? (5 баллов)

Решение:

У растений дикого типа цветки развивались нормальным образом (1 балл), у растений с аллелью *mp-S319* получались недоразвитые зачатки бутонов (1 балл), а у носителей обеих генетических модификаций побег не начинал формировать цветки вообще (1 балл). При этом уровни *STM* и *IPT7* в этом ряду повышаются (мутации повышают экспрессию *STM* и *IPT7*). Поэтому факторы транскрипции *MP*, *ETT* и *ARF4* подавляют *STM* (1 балл). Можно сделать вывод, что *ETT* и *ARF4*, как и *MP*, влияют на развитие новых органов растения из различных меристем (1 балл).

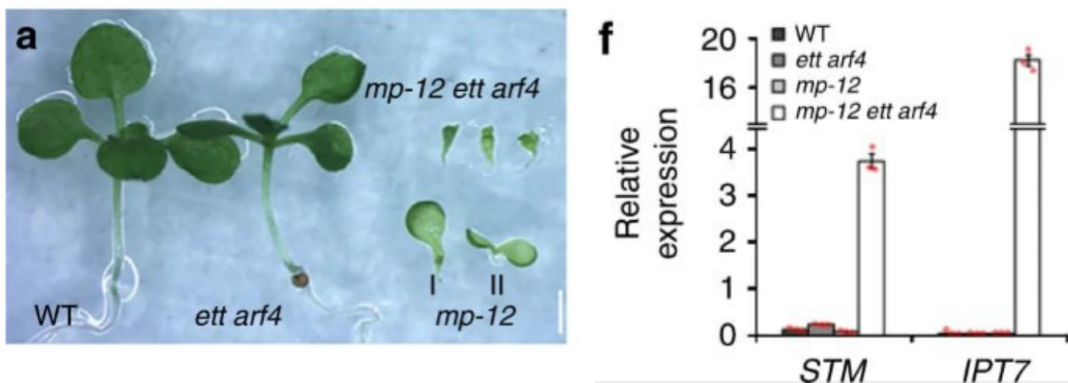
II. У мутанта *mp ett arf4* выявлено расширение экспрессии *STM* в зарождающихся репродуктивных зачатках. *CLAVATA3 (CLV3)* - маркер стволовых клеток апикальной меристемы побега. Как и в диком типе (WT) *STM* был подавлен на боковых сторонах верхушки побега у мутантов *mp-S319* и *ett arf4*. Слегка повышенная экспрессия *STM* также была обнаружена с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией (qRT-PCR) во всех соцветиях *mp-S319 ett arf4*.

6.2. Связано ли расширение области экспрессии STM с увеличением размера пула стволовых клеток? (2 балла)

Решение:

Нет, расширение области экспрессии STM не сопровождается увеличением размера пула стволовых клеток, экспрессирующих CLV3. (черное пятно не увеличилось относительно дикого типа) (2 балла)

III. Чтобы выяснить, действуют ли ETT и ARF4 параллельно с MP, были созданы тройные мутанты между нулевым мутантом *mp-12* и *ett arf4* (*mp-12 ett arf4*).



a Фенотипы 10-дневных проростков дикого типа (*WT*), *ett arf4*, *mp-12* нулевого мутанта и *mp-12 ett arf4*. f Относительная экспрессия *STM* и мишени *STM* *IPT7* в 10-дневных проростках.

6.3. Какой вывод можно сделать о связи путей влияние на STM MP и ETT и ARF4, ответ обоснуйте? (3 балла)

Решение:

ETT и ARF4 действуют по пути, параллельному MP (1 балл). Так как только у двойных мутантов очень высокая экспрессия STM и IPT7, значит это независимые пути (1 балл). Двойные мутанты по фенотипу сильно отличаются от одиночных мутантов, что подтверждает параллельное подавление STM (1 балл).

Задание 7. Правильные пчелы (10 баллов)

Ученые решили изучить генетическое разнообразие пчел и определить, с каким количеством трутней спаривается пчеломатка. Для этого они ловили рядом с ульем пчел и определяли их пол и генотип по двум STR-локусам А и В (молекулярные маркеры, у каждого существует несколько различных аллелей). К сожалению, сама пчеломатка и ее «мужья» не попались, только 80 рабочих пчел и 3 молодых трутня, генотипы которых указаны в таблице ниже. Числа в таблице означают количество пойманных пчел с конкретным генотипом.

Генотипы рабочих пчел				Генотипы трутней
<i>A1A3 B1B2</i> - 5	<i>A1A3 B1B3</i> - 6	<i>A1A3 B2B4</i> - 3	<i>A1A3 B3B4</i> - 7	
<i>A1A5 B1B2</i> - 4	<i>A1A5 B1B3</i> - 6	<i>A1A5 B2B4</i> - 5	<i>A1A5 B3B4</i> - 4	<i>A3 B1</i> - 1
<i>A2A3 B1B5</i> - 3	<i>A2A3 B4B5</i> - 3	<i>A2A5 B1B5</i> - 4	<i>A2A5 B4B5</i> - 5	<i>A3 B4</i> - 1
<i>A3A4 B1B1</i> - 8	<i>A3A4 B1B4</i> - 6	<i>A4A5 B1B1</i> - 5	<i>A4A5 B1B4</i> - 6	<i>A5 B1</i> - 1

7.1. Какой генотип пчеломатки (2 балла)?

Решение:

Трутни получают из неоплодотворенных яйцеклеток пчеломатки, поэтому объединение их генотипов позволяет узнать генотип пчеломатки (1 балл). Таким образом, ее генотип *A3A5 B1B4* (1 балл).

7.2. Каково минимальное количество ее «мужей»-трутней (3 балла)?

Решение:

Пчеломатка дает по двум локусам 4 разных комбинации аллелей в гаметах (1 балл). 16 комбинаций генотипов рабочих пчел указывает на наличие 4 трутней разных генотипов (1 балл), которые сочетаются с 4 материнскими вариантами гамет (1 балл).

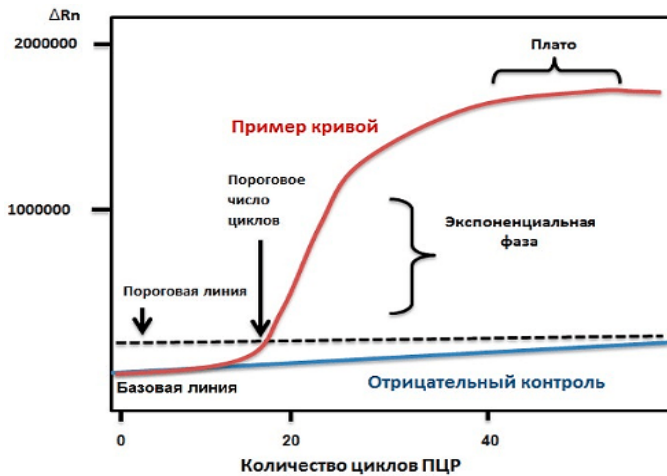
7.3. Укажите генотипы этих трутней (5 баллов).

Решение:

Чтобы восстановить генотипы трутней, надо убрать материнские аллели из генотипов рабочих пчел (1 балл). Если это сделать, то получится 4 генотипа трутней (по 1 баллу за каждый): *A1 B2, A1 B3, A2 B5, A4 B1*.

Задание 8. Развитие сердца (10 баллов)

Развитие сердца — сложный и очень многоуровневый процесс, который регулируется целым каскадом генов. В эксперименте изучалась экспрессия набора генов: *Gata4*, *Tbx5*, *Nkx2*, *Smarcd3* в развитии сердечных целомов и сердца. Для этого использовался метод ПЦР в реальном времени*.

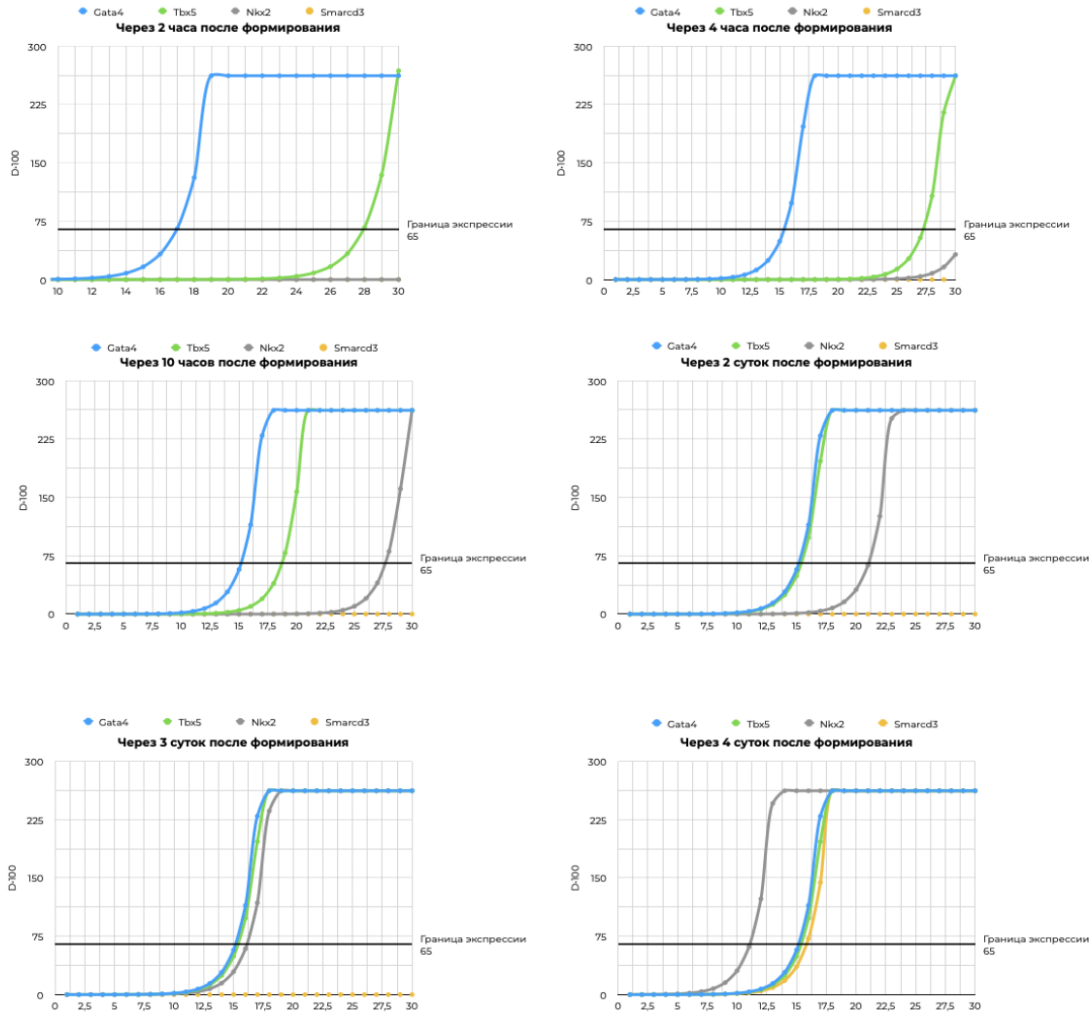


*ПЦР в реальном времени основана на измерении интенсивности сигнала флуоресцентного красителя во время амплификации.

Значение флуоресцентного сигнала в каждом образце измеряется на каждом цикле амплификации. Интенсивность сигнала пропорциональна количеству накопленного продукта ПЦР. В методе используются специфичные праймеры. Размер получаемого в результате амплификации фрагмента обычно не превышает 200 пар нуклеотидов. Для расчета начального числа копий матрицы необходимо определить тот этап реакции,

когда амплификация находится в экспоненциальной фазе и при этом в компоненты реакции находятся в достаточном количестве. Один из подходов к анализу результатов называется «пороговый метод», когда для каждого образца определяют значение порогового цикла реакции C_t , *threshold cycle*, как точки пересечения графика накопления продукта и пороговой линии.

Используя ПЦР в реальном времени, были получены следующие графики (время на графиках обозначает время после формирования сердечных целомов):



8.1. Известно, что изучаемые гены регулируют работу друг друга. Исходя из результатов поясните, каким образом гены Gata4 и Tbx5 влияют на экспрессию Nkx2? (2 балла)

Решение:

Гены Gata4 и Tbx5 при увеличении своей экспрессии увеличивают экспрессию гена Nkx2 (по 1 баллу за каждое верное утверждение).

8.2. Как Smad3 влияет на экспрессию гена Nkx2? Ответ поясните (3 балла).

Решение:

По результатам ЦПР в реальном времени видно, что ген Nkx2 достигает базальной экспрессии на 3 сутки после закладки сердечных целомов (1 балл). Но как только начинает экспрессироваться Smad3 ген Nkx2 начинает еще больше экспрессироваться (1 балл), значит ген Smad3 является энхансером экспрессии (1 балл).

8.3. Ген Nkx2 играет важную роль в дифференцировке клеток сердечных островков в миокард. Для правильного развития концентрация продукта гена должна достигнуть определенного уровня в определенное время. Считая, что экспрессия гена Nkx2 увеличивается линейно со временем, выведите формулу, по которой можно рассчитать цикл ПЦР, после которого будет достигнута пороговая концентрация в клетке*. Ответ должен содержать формулу, в которой количество циклов ПЦР выражено в виде функции от концентрации и других переменных (5 баллов).

**Оптическая плотность связана с концентрацией по закону Бугера-Ламберта-Бера:*

$$D = \epsilon c l$$

D - оптическая плотность

ε - коэффициент молярной экстинкции (показывает, как вещество взаимодействует со светом)

c - молярная концентрация вещества

l - длина оптического пути (толщина слоя, через который проходит свет)

Решение:

Концентрация фрагментов ДНК в среде увеличивается с каждым раундом ПЦР в 2 раза (1 балл ИЛИ верно отражено в формуле).

Пусть начальная концентрация ДНК нужного гена равна C_0 , тогда справедливо записать:

По закону Бугера-Ламберта-Бера (4 балла за верный вывод формулы):

$$D = \epsilon c l$$

$$(c_0 + k \cdot t) \cdot 2^y \cdot \epsilon \cdot l = 0,65$$

$$(c_0 + k \cdot t) \cdot 2^y = 0,65/\epsilon \cdot l$$

$$2^y = \frac{0,65/\epsilon \cdot l}{c_0 + kt}$$

$$y = \log_2 \left(\frac{0,65/\epsilon \cdot l}{c_0 + kt} \right)$$

Можно использовать любые переменные, обязательно наличие последней строки в выводе формулы, где количество циклов (y) показано в явном виде. За верный вывод без функции в явном виде выставляется 2 балла.

Задание 9. Сборка генома (6 баллов)

В вашу лабораторию поступили результаты секвенирования геномной ДНК бактерии *Buchnera aphidicola*, который, как заверяют ваши коллеги-микробиологи, принадлежит абсолютно новому штамму. Вы решили проверить их утверждение и провели сборку генома *de novo*, собрав последовательности прочтений в последовательности контигов - участков секвенированных ДНК, полученных в результате объединения пересекающихся прочтений без пропусков. Таблица выдачи программы-сборщика с информацией о полученных контигах представлена в таблице ниже:

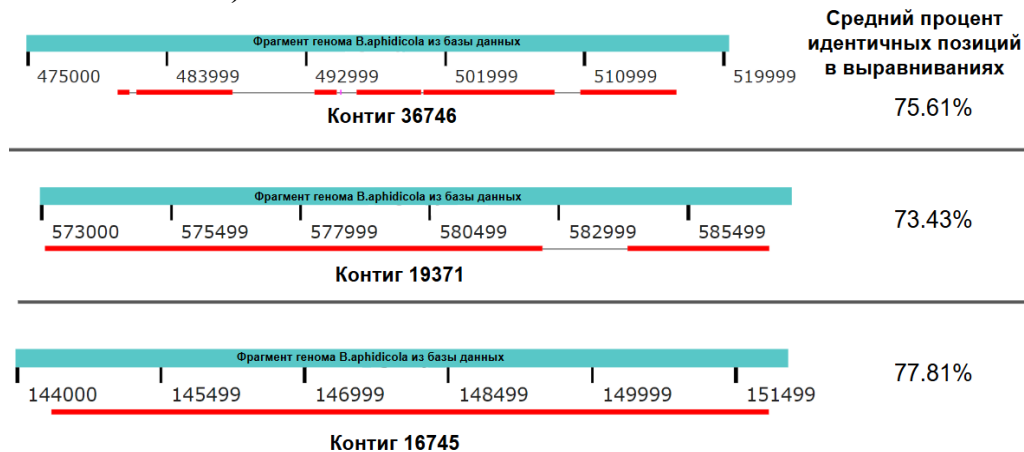
Таблица 1: Полученные в результате сборки контиги, ранжированные по уменьшению их длины		
Длина контигов (нт)	Количество	Средняя длина контига в группе
36746	1	36746
19371	1	19371
16745	1	16745
16057	1	16057
16036	1	16036
10000 - 15000	10	12598
5000 - 10000	35	6946
1000 - 5000	62	2628
100-1000	47	346
1 - 100	151	26
1	59	1

9.1. Для описания качества сборки используется показатель N50 - длина такого контига, что длина его и всех более длинных контигов составляет >50% от общей длины сборки. Оцените среднее значение N50 для вашей сборки генома *Buchnera aphidicola*. (3 балла)

Решение:

Суммарная длина сборки рассчитывается из таблицы суммированием произведений кол-ва контигов на их среднюю длину. Она составляет 657228 нт (**1 балл если посчитана сумма, но дальше ошибка**). Если суммировать только контиги длины > 10000 то получится 230935, однако если включить в сумму еще контиги 5000-10000, то их суммарная длина составит 474045. Таким образом контиг N50 лежит в интервале 5000-10000 и его средняя длина 6946 нт (**2 балла за верный ответ без объяснения, 3 балла за верный ответ и правильное объяснение**).

9.2. Далее вы решили оценить качество своей сборки, сравнив последовательность генома *Buchnera aphidicola* из базы данных NCBI с тремя самыми длинными контигами вашей сборки. Для этого вы провели BLAST последовательности каждого контига на геном из базы данных. Результаты ваших запросов BLAST представлены на рисунке ниже (более толстыми полосами показаны участки контигов, успешно выровненные на геном):



Исходя из полученных результатов, предположите, какие мутационные процессы привели к возникновению различий между вашими контигами и образцом из базы данных? Аргументируйте свой ответ для каждого контига (3 балла).

Решение:

- **инсерции/делеции (0.5 балла)** - можно заметить “разрывы” между выровненными на референс участками контигов 36746 и 19371 (**0.5 балла**). Делеция также происходила и в контиге 16745 - суммарная длина выравнивания составляет $151499 - 144000 = 7499$, а это значительно меньше суммарной длины контига, значит

выровнялся только его фрагмент (примерно половина). **(1 балл за указание делеции в третьем контиге)**

- замены **(0.5 балла)** - так как процент совпадения позиций в выравнивании не 100, то можно заключить, что даже в не-делетированных участках происходили замены **(0.5 балла)**.