

6–8 декабря 2024

**МЕЖДУНАРОДНАЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ
УНИВЕРСИАДА**

Письменный тур

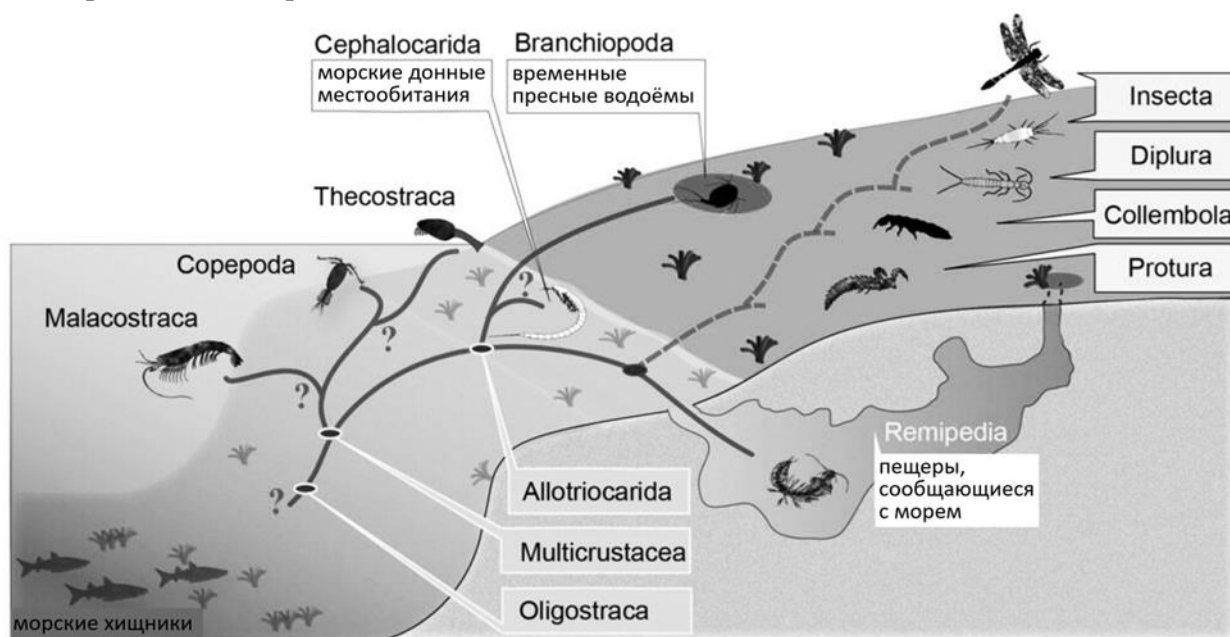
Не открывайте задания до сигнала

Время выполнения — 180 минут

Сумма баллов — 84

Часть I. Тестовые задания с несколькими правильными ответами (36 баллов)

1. Современная систематика основывается на представлениях о родственных связях организмов, которые можно изобразить в виде филогенетических деревьев. Таксоном (единицей в систематике) может быть только монофилетическая группа, то есть такая, которая объединяет всех потомков общего предка (фактически, это одна ветвь дерева целиком). Перед вами филогенетическое дерево ракообразных и насекомых (шестиногих), в котором современные группы наложены на их типичные естественные местообитания, а линии предков – на те среды, в которых, по версии авторов, обитали предковые виды. Ветви дерева, ведущие к ракообразным, показаны сплошными линиями, к шестиногим – пунктирными. Длины ветвей условные. Для каждого утверждения ниже укажите, является оно верным или неверным.



- А. Remipedia – ближайшие родственники насекомых (Insecta) среди ракообразных;
- Б. Шестиногие (Protura + Collembola + Diplura + Insecta) являются монофилетической группой;
- В. Ракообразные (Malacostraca + Copepoda + Thecostraca + Cephalocarida + Branchiopoda + Remipedia) являются монофилетической группой;
- Г. По версии авторов, последний общий предок насекомых и жаброногих (Branchiopoda) обитал в пресных водоёмах;
- Д. Европейский омар (представитель Malacostraca) приходится более близким родственником циклопу (Copepoda), чем морскому жёлудю (Thecostraca);
- Е. Среди современных ракообразных в морских пещерах встречаются ремипедии.

2. Известно, что гороховая тля (*Acyrtosiphon pisum*) кормится на различных бобовых растениях. В свою очередь тлей может заражать наездник *Aphidius ervi*. Самки наездника откладывают яйца в живых тлей, а вылупившиеся из яиц личинки поедают хозяина изнутри, после убивают, выходят из него и окукливаются. Взрослые наездники ведут свободный образ жизни. У тли *A. pisum* есть внутриклеточный сожитель – бактерия *Hamiltonella defensa*. Тли, несущие *H. defensa*, справляются с личинкой *A. ervi* и остаются живы после заражения в 80% случаев, тогда как тли, не несущие бактерию, только в 6%. Установлено, что токсины, действующие на *A. ervi*, закодированы не в геноме *H. defensa*, а в геноме вируса APSE (*A. pisum* secondary endosymbiont), поражающего бактерию *H. defensa*. Когда вирус находится в лизогенном состоянии, то есть встроен в геном бактериальной клетки, он позволяет всей системе в составе *A. pisum*, *H. defensa* и APSE бороться с *A. ervi*. Стоит отметить, что бактерии, заражённые APSE, в отсутствие наездника проигрывают конкуренцию незаражённым

бактериям того же вида, а тли, несущие заражённых бактерий, проигрывают тлям, несущим незараженных бактерий.

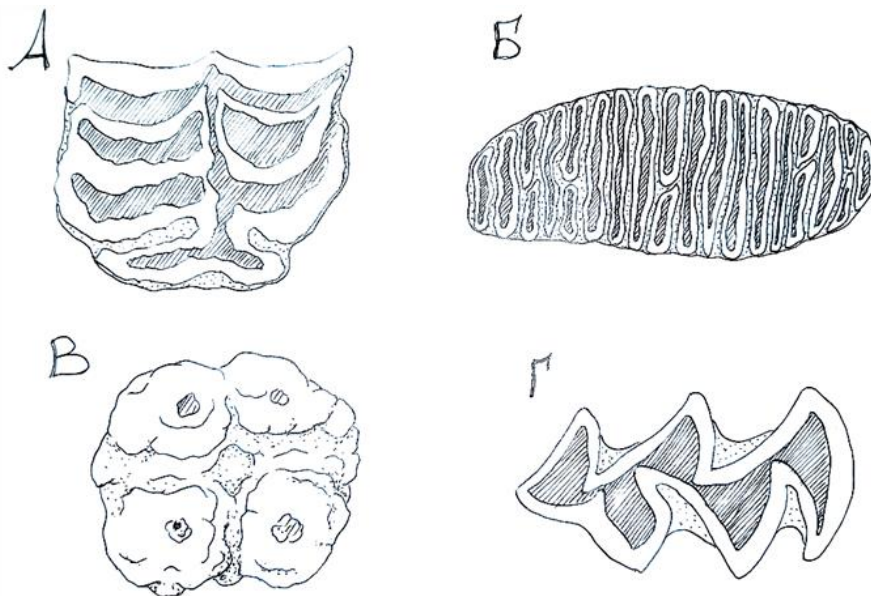
В рамках эксперимента учёные синтезировали токсины, закодированные в геноме APSE, и опрыскивали бобовые растения на поле жидкостью, содержащей эти вещества. Обработку продолжали в течение двух месяцев, после чего перестали. В течение всего эксперимента на поле присутствовало некоторое число особей *A. ervi*. Для каждого утверждения ниже укажите, является оно верным или неверным.

- А. Наездник *A. ervi* – паразитоид тли;
- Б. Всю систему отношений *A. pisum*, *A. ervi*, *H. defensa* можно назвать симбиозом в широком смысле;
- В. Содержание вируса APSE для *H. defensa* и тлей не вызывает увеличения расхода ресурсов хозяев по сравнению с отсутствием сожителя;
- Г. При повышении на полях численности *A. ervi*, вероятно, увеличится урожай гороха;
- Д. Во время опрыскивания препаратом в рамках описанного эксперимента на поле вырастет доля тлей, несущих *H. defensa* и APSE;
- Е. После завершения опрыскивания популяция тлей, вероятно, будет более восприимчива к воздействию наездников, чем до начала эксперимента.

3. В окрестностях биологического факультета МГУ не каждый год, но довольно регулярно остаются зимовать (по 1-2 особи) представители перелётных в норме видов птиц: чёрных дроздов (*Turdus merula*) и зарянок (*Erithacus rubecula*). И на протяжении всей зимы их можно встретить как по одиночке в кустах и на газонах вокруг биофака, так и в стайках синиц, прикормленных студентами и сотрудниками, у кормушек во внутреннем дворе факультета. Как вы думаете, какие из перечисленных ниже ситуаций могут негативно отразиться на успешности зимовки дроздов и зарянок (вплоть до их гибели)?

- А. Студенты и сотрудники погрязли в сдаче зачётной сессии и годовых отчётов и перестали подсыпать семечки и хлеб в кормушки;
- Б. Из-за аварии теплосетей все тепловые магистрали, проходящие по территории кампуса у биофака, оказались отключены, горячая вода по ним в здания не подаётся;
- В. В связи с глобальным потеплением климата в Москве выдалась абсолютно бесснежная зима, снеговой покров так и не установился;
- Г. Работники «Жилищника» с осени выгребли со всех газонов и из-под всех кустов абсолютно всю опавшую листву, оставив только идеально чистые газоны и голую почву;
- Д. Несмотря на глобальное потепление (а может быть, и именно из-за него) в Москве ударили аномальные морозы, и в течение пары дней ночные температуры держались на уровне -25 - -30 градусов;
- Е. В расположенном через дорогу от биофака Ботаническом саду МГУ случилось нашествие мышей, для борьбы с ними на территорию ботсада были запущены несколько десятков кошек.

4. На рисунке приведены жевательные поверхности (взаимодействующие с пищей) верхних моляров (коренных зубов) четырёх разных млекопитающих. Верхняя сторона каждого изображения – щёчная, прилегающая к щеке, нижняя – лингвальная, прилегающая к языку. Правый край – передний, левый – задний. Белым показана эмаль, штриховкой – дентин, точечкой – зубной цемент. Масштаб не соблюден, в реальности эти зубы очень разного размера. Внимательно рассмотрите рисунок и, исходя из него, укажите для каждого утверждения ниже, является оно верным или неверным.

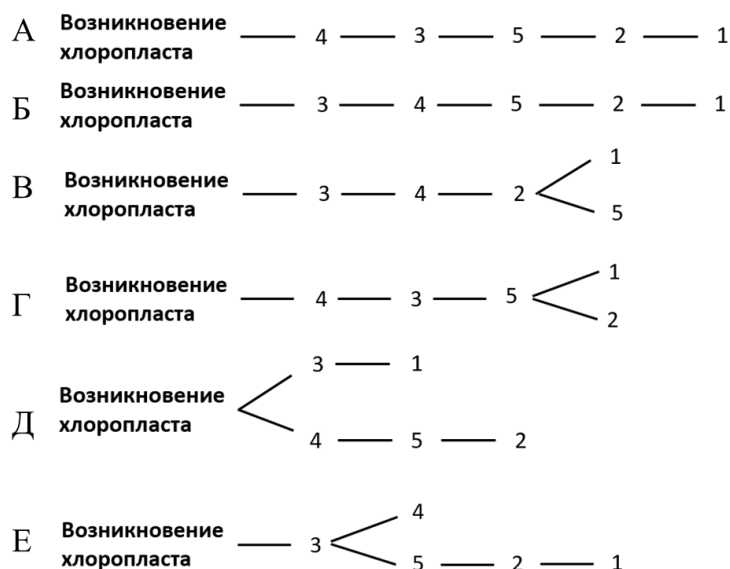


- А. В питании всех этих животных преобладает грубая растительная пища, их всех можно смело угощать морковкой и зелёными побегами;
- Б. Для каждого из этих животных свойственен свой тип питания, одним и тем же их кормить нельзя;
- В. В зубной системе всех этих животных присутствуют клыки;
- Г. Несмотря на название «коренные зубы» хотя бы один из этих зубов может быть полностью лишён корней;
- Д. Животное, чей зуб обозначен буквой В, может питаться животной пищей, в т.ч. и падалью;
- Е. Все зубы на рисунке принадлежат животным из одного отряда млекопитающих.

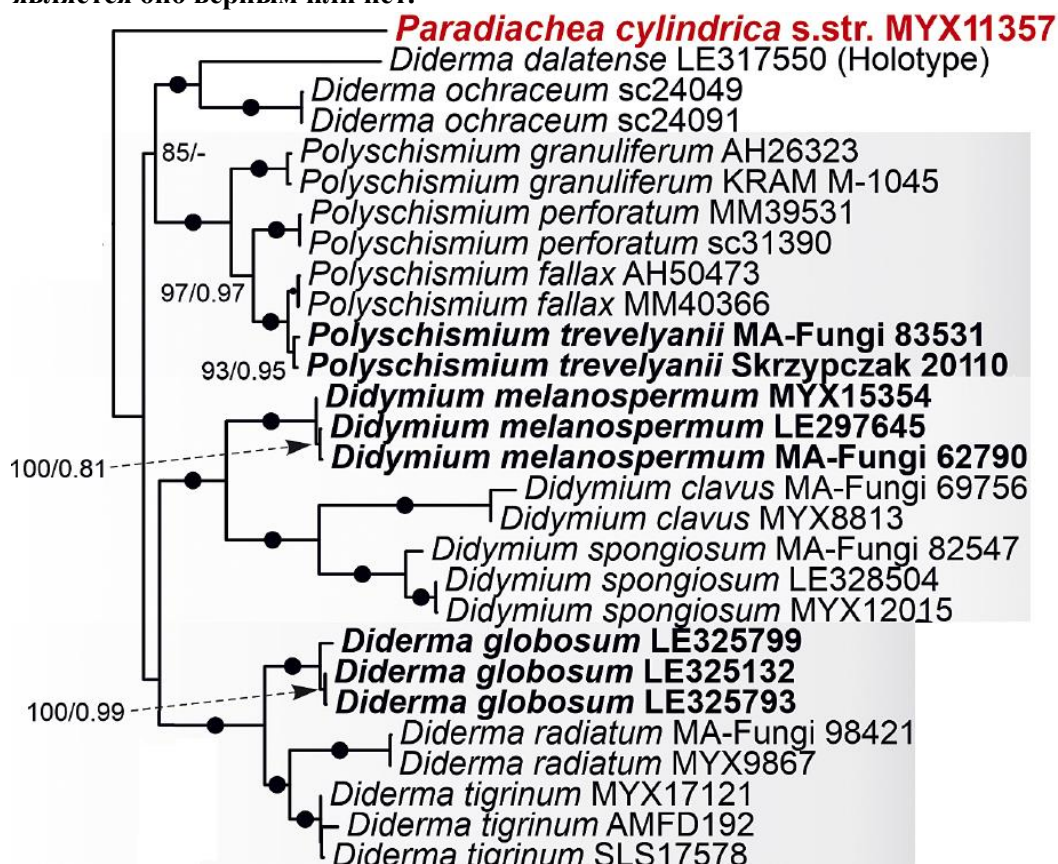
5. Хлоропласты – уникальные органеллы, которые участвуют в процессе фотосинтеза. Считается, что первые из них возникли около 1,1 млрд лет назад. У разных групп фотосинтезирующих организмов хлоропласты претерпевали значительные изменения и модификации. Однако, к сожалению, до нас дошли далеко не все представители. Основываясь на строении хлоропластов (1-5), выберите возможные пути их эволюции (А-Е).

- 1) Пятимембранные хлоропласты, ламеллы трехтилакоидные, опоясывающая ламелла имеется.
- 2) Четырехмембранные хлоропласты, ламеллы трехтилакоидные, опоясывающая ламелла имеется; наружная мембрана хлоропласта переходит в хлоропластную эндоплазматическую сеть и связана с наружной мембраной ядра.
- 3) Двухмембранные хлоропласты, тилакоиды располагаются по-отдельности.
- 4) Двухмембранные хлоропласты, тилакоиды располагаются по-отдельности, между мембранами находится муреиновая оболочка.
- 5) Четырехмембранный хлоропласт, ламеллы двух- или трех тилакоидные, опоясывающей ламеллы нет, между второй и третьей мембраной хлоропласта находится нуклеоморф.

Варианты путей эволюции показаны ниже (А-Е). Для каждого укажите, является он верным (возможным) или нет.



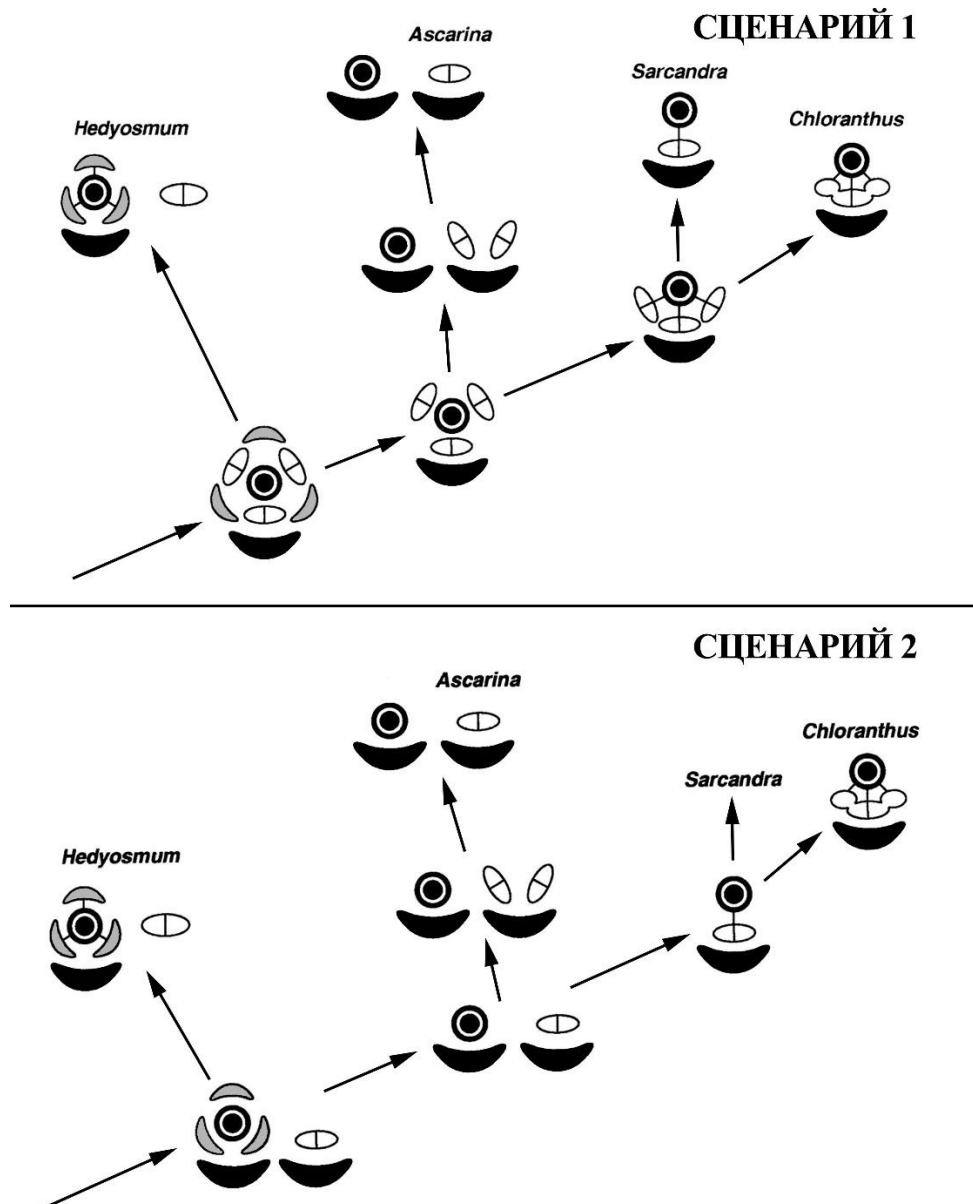
6. Перед Вами филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия, на основании объединения данных частичных последовательностей трех генов. Для получения данных о доверительных значениях, был проведен Байесовский (первое значение) и сверхбыстрый бутстреп (второе значение) анализы. Ветви со стопроцентной поддержкой обоими методами отмечены черными точками. Ветви с поддержкой менее 0,8 не показаны или отмечены прочерком. Типовые виды рода отмечены жирным курсивом. Рассмотрите это филогенетическое дерево и укажите для каждого утверждения ниже, является оно верным или нет.



- А. Род *Diderma* в классическом понимании является полифилетичным таксоном;
- Б. Поскольку *Didymium melanospermum* представляет собой комплексный вид, образцы LE 297645 и MA-Fungi 62790 можно описать в качестве нового вида;

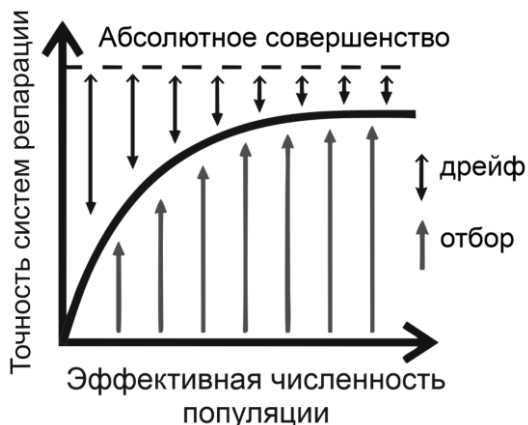
- В. Можно предполагать, что *Paradiachea cylindrica* обладает наибольшим набором апоморфных признаков;
- Г. Полученные данные о представителях рода *Didymium* дают основание предполагать, что этот таксон является монофилетическим;
- Д. Есть основания предполагать, что *Diderma delatense* и *D. ochraceum* являются близкими к роду *Polyschismium*;
- Е. Полученные данные достаточны, чтобы перенести *Diderma delatense* и *D. ochraceum* в род *Polyschismium* и предложить новые номенклатурные комбинации: *Polyschismium delatense* и *Polyschismium ochraceum*.

7. Хлорантовые (Chloranthaceae) – семейство цветковых растений, представители которого в ископаемом состоянии известны с раннего мела и отличаются сильно редуцированными цветками. В современном объеме семейство насчитывает четыре рода и около 70 видов. У хлорантуса (*Chloranthus*) цветки расположены на соцветии в пазухах кроющих чешуй, двуполые, без околоцветника, имеют три тычинки с тычиночными нитями, прикрепленными к одногнездной завязи. На рисунке ниже изображены два возможных сценария эволюции цветка в семействе Chloranthaceae. Сценарий 1 демонстрирует происхождение цветков современных хлорантовых от исходно обоеполого цветка, а сценарий 2 от разнополых цветков общего предка. Изучив особенности данных сценариев, можно утверждать, что:



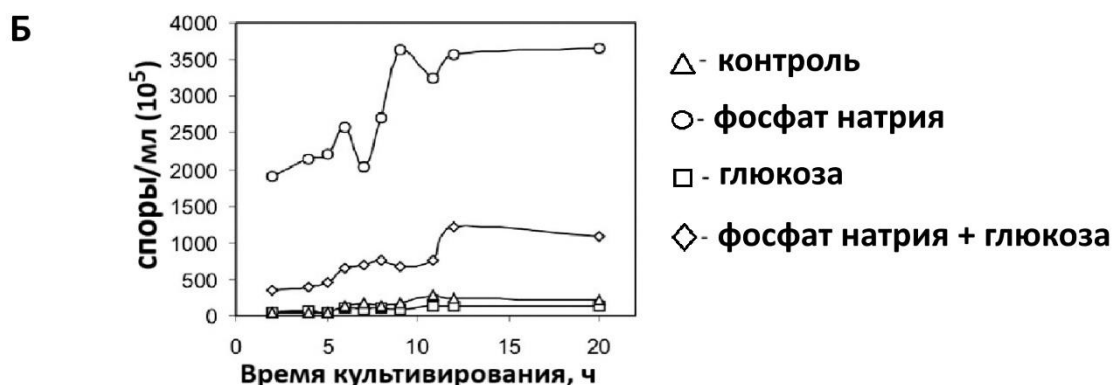
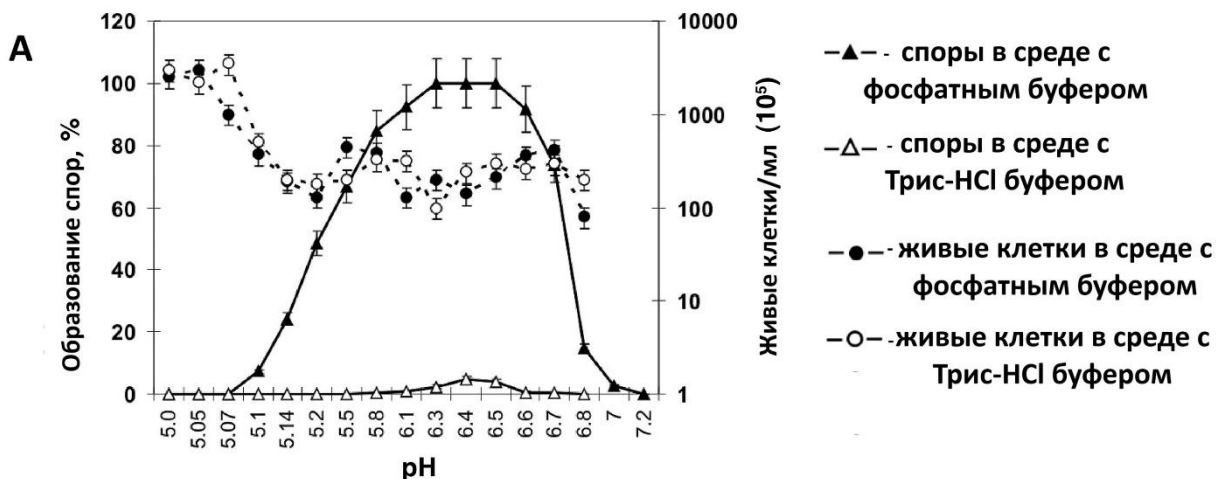
- А. Согласно обоим сценариям ближайший общий предок *Sarcandra*, *Ascarina* и *Chloranthus* имел простой околоцветник;
- Б. Цветок современного *Hedyosmum* относительно исходного общего для семейства предка претерпел больше морфологических изменений в сценарии 1, чем в сценарии 2;
- В. Согласно обоим сценариям цветок общего предка *Sarcandra* и *Chloranthus* имел одну или несколько тычинок, прикрепленных к завязи;
- Г. Согласно сценарию 1 в эволюционной линии, ведущей к *Ascarina*, происходила редукция числа тычинок, тогда как в сценарии 2 все предки *Ascarina* имели мужские цветки с одной тычинкой;
- Д. Среди современных хлорантовых обоеполюе цветки встречаются только у представителей рода *Chloranthus*;
- Е. В мужских цветках современных представителей рода *Hedyosmum* отсутствует не только околоцветник, но и кроющая чешуя цветка.

8. Естественный отбор не всегда может бесконечно улучшать признаки организмов. Считается, что на каком-то этапе этому мешает случайный генетический дрейф: даже если дальнейшее усовершенствование какого-либо признака могло бы дать небольшое селективное преимущество, это преимущество становится настолько малым, что дрейф нивелирует его своим случайным воздействием. Предел отбора, вызванный дрейфом («drift barrier»), описывает ту границу в совершенствовании функции, за которой случайность начинает доминировать над естественным отбором, препятствуя закреплению полезных или удалению вредных аллелей. Например, этот принцип применим к точности систем репликации и репарации: их улучшение становится неэффективным, когда преимущество от меньшего количества ошибок больше не превышает ограничения, вызванные дрейфом. Данная идея проиллюстрирована на рисунке ниже. Выберите утверждения, следующие из описанной гипотезы (отметьте их верными, остальные – неверными):



- А. Можно ожидать, что в больших популяциях темп мутагенеза должен быть ниже, чем в маленьких популяциях;
- Б. В популяциях с половым размножением уровень мутагенеза выше, чем в таких же по размеру бесполой популяциях, так как рекомбинация снижает связь мутаторного аллеля (увеличивающего частоту мутаций в геноме) с вызываемыми им вредными мутациями, снижая эффективность отбора против него;
- В. В больших популяциях с высокой частотой мутаций генетический дрейф в большей степени способствует возникновению полезных мутаций, чем вредных;
- Г. При сильном дисбалансе в соотношении полов снижается эффективная численность популяции, что может привести к снижению частоты мутаций;
- Д. Постоянное совершенствование работы систем репликации и репарации обязательно приводит к тому, что темп мутагенеза снижается до нуля, так как большинство мутаций вредны;
- Е. Отбор направлен на поддержание высокого уровня мутагенеза, так как в будущем мутации могут послужить источником генетического разнообразия необходимого для адаптации к новым условиям.

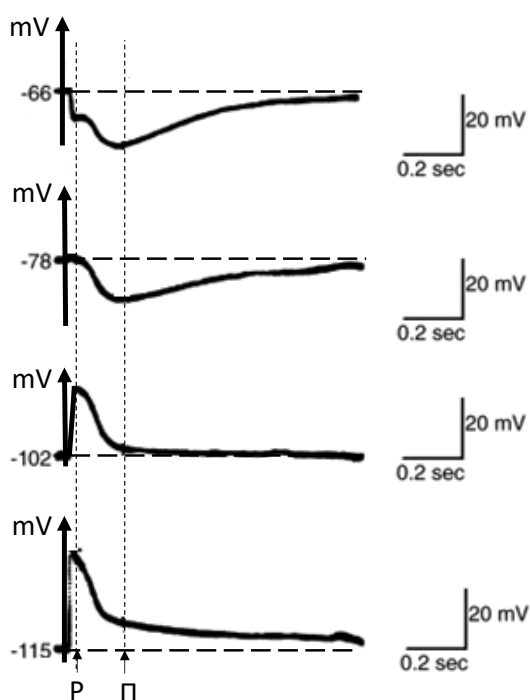
9. Образование спор – распространенный способ пережить неблагоприятные условия среди грамположительных бактерий. Для изучения зависимости интенсивности спорообразования бактерии *Clostridium perfringens* от различных веществ, дикий штамм бактерии, выделенный из кишечника пациента, культивировали в жидкой модифицированной среде Дункана-Стронга (пептон, дрожжевой экстракт, тиогликолят натрия, гидрофосфат натрия, раффиноза). В первом эксперименте (график А) рН питательной среды предварительно подводили фосфатным или Трис-НСI буфером, во втором эксперименте (график Б) *C. perfringens* культивировали в 4 вариантах среды, приготовленных с использованием Трис-НСI буфера (рН 6.0): контроль, с глюкозой, с фосфатом натрия, со смесью глюкозы и фосфата натрия. Внимательно изучите графики и укажите для каждого утверждения, является оно верным или нет:



- А. Наличие фосфатов в среде стимулирует бинарное деление *C. perfringens*;
- Б. Уровень рН является основным сигналом для спорообразования *C. perfringens*;
- В. Глюкоза оказывает синергетическое действие с фосфатом на спорообразование *C. perfringens*;
- Г. Катаболитная репрессия, проявляющаяся при добавлении в питательную среду глюкозы, приводит к ингибированию спорообразования *C. perfringens*;
- Д. Вероятно, выявленные в исследовании зависимости нельзя экстраполировать на процесс образования спор у бактерий рода *Streptomyces* в связи с иным механизмом спорообразования;
- Е. Спорообразование некоторых энтеробактерий (*Enterobacteriales*), выделенных из кишечника человека, будет зависеть от тех же факторов, что и спорообразование бактерии *C. perfringens*.

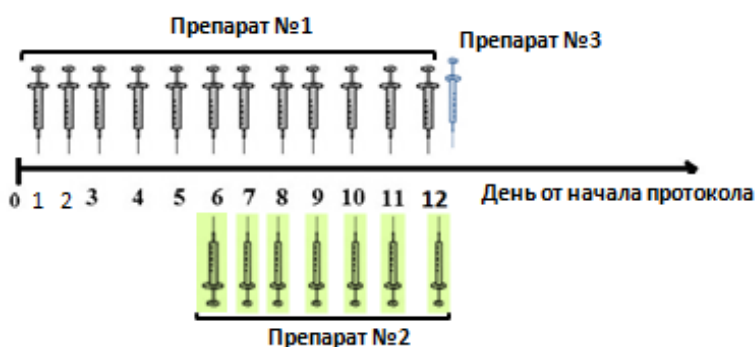
10. Гамма-аминомасляная кислота – один из основных тормозных нейромедиаторов в ЦНС зрелого головного мозга млекопитающих. Обычно выделяют три класса рецепторов ГАМК: ионотропные ГАМК-А и ГАМК-С рецепторы (каналы этих рецепторов селективны к хлорид-ионам) и метаботропные ГАМК-В рецепторы (при активации этих рецепторов через цепочку вторичных посредников происходит открытие калиевых каналов). Исследователи изучали ГАМКергический синапс между нейронами X и Y ($X \rightarrow Y$). Известно, что на

постсинаптической мембране присутствуют ГАМК-В и ГАМК-С рецепторы. После активации нейрона X на постсинаптической мембране нейрона Y возникают два разных ионных тока, при этом один появляется с некоторым запозданием по отношению к другому. Возникновение каждого из токов связано с активацией того или иного типа рецептора (ГАМК-В или ГАМК-С). Вызванные этими токами изменения мембранного потенциала будем называть фазами (ранней и поздней) постсинаптического ответа. Потенциал покоя постсинаптической мембраны нейрона Y составляет -66 мВ. В ходе исследования путем введения постоянного гиперполяризующего тока в нейрон Y достигалась гиперполяризация мембраны до значений мембранного потенциала -78 мВ, -102 мВ, -115 мВ, как показано на графиках. Буквами Р и П показаны моменты времени, соответствующие пиковому току ранней и поздней фазы постсинаптического ответа соответственно. На этом фоне активировали нейрон X и регистрировали ответ нейрона Y. Проанализируйте, как в зависимости от исходного значения мембранного потенциала на постсинаптической мембране Y (-66 мВ, -78 мВ, -102 мВ или -115 мВ) изменяется каждая из фаз постсинаптического ответа, и определите, являются ли приведенные ниже суждения верными или неверными. Обозначения на графиках: mV – милливольты, sec – секунды.



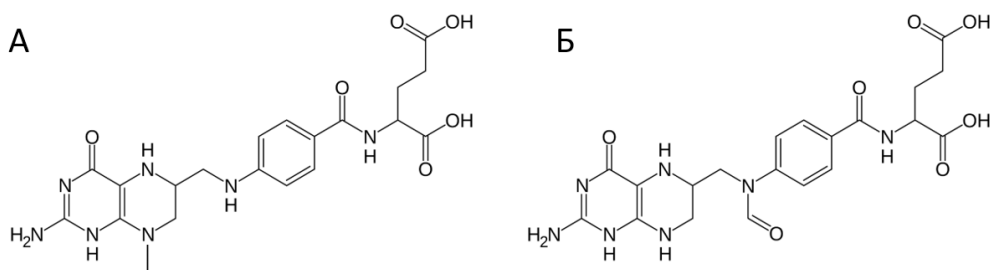
- А. Ранняя фаза постсинаптического ответа возникает в результате активации ГАМК-В рецепторов, а поздняя фаза – в результате активации ГАМК-С рецепторов;
- Б. При мембранном потенциале -78 мВ нет ранней фазы ответа, т.к. при этом значении мембранного потенциала не достигается критический уровень деполяризации, необходимый для открытия ионных каналов;
- В. При мембранном потенциале -115 мВ нет поздней фазы ответа, т.к. это значение мембранного потенциала соответствует равновесному потенциалу для ионов калия;
- Г. В условиях данного эксперимента концентрация хлорид-ионов во внеклеточной среде выше, чем в цитоплазме;
- Д. В условиях данного эксперимента концентрации вне и внутри клетки для ионов калия отличаются в меньшее число раз, чем для хлорид-ионов;
- Е. При мембранном потенциале -115 мВ в рамках постсинаптического ответа на нейроне Y сначала возникает выходящий ток хлорид-анионов, далее с некоторым запозданием – выходящий ток ионов калия.

11. В ряде случаев бесплодие связано с тем, что у женщины по той или иной причине не происходит овуляции. В такой ситуации в рамках вспомогательных репродуктивных технологий овуляция может быть индуцирована путем введения тех или иных препаратов по определенному протоколу. Ниже приведена упрощенная схема одного из таких протоколов. На этой схеме показано, в какие дни следует вводить препараты №1-3, являющиеся синтетическими аналогами или антагонистами гормонов. Целью введения препаратов по предложенной схеме является стимулирование созревания фолликулов с последующей индукцией овуляции с помощью введения препарата №3. Через некоторое время после введения препарата №3 проводят забор яйцеклеток, искусственную инсеминацию и далее перенос эмбрионов в матку.



- А. В качестве препарата №1 целесообразно вводить аналог лютеинизирующего гормона;
- Б. В качестве препарата №2 целесообразно вводить аналоги прогестерона для подготовки матки к имплантации эмбриона;
- В. В качестве препарата №3 целесообразно вводить аналог хорионического гонадотропина человека;
- Г. Перед введением препарата №3 следует оценить уровень лютеинизирующего гормона в крови или моче для определения оптимального времени для индукции овуляции;
- Д. В случае эффективности предложенного протокола перенос эмбрионов в матку можно планировать на 15-й день протокола;
- Е. В качестве препарата №2 целесообразно использовать антагонисты гонадолиберина (гонадотропин-рилизинг-гормона).

12. На рисунке представлены две формы одного из коферментов. Для каждого утверждения выберите, является оно верным или неверным:

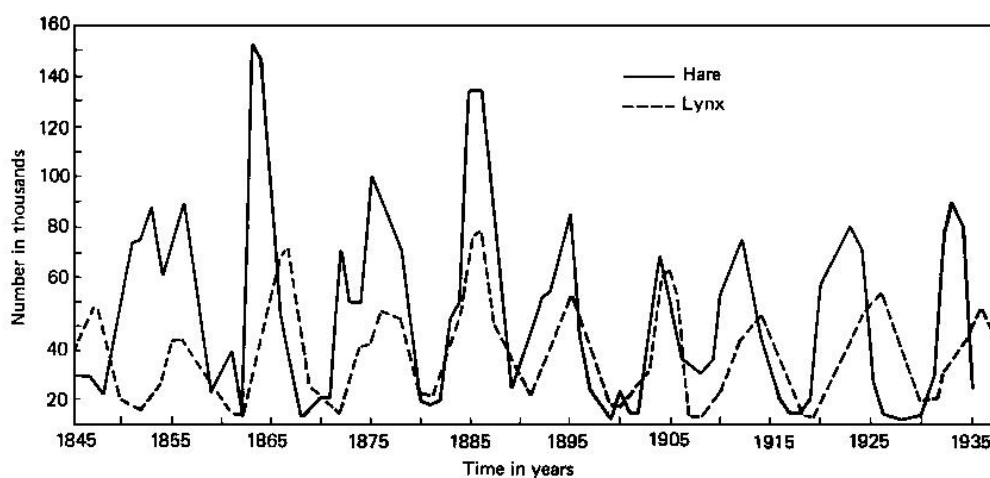


- А. Молекулярная масса формы кофермента Б составляет 473,44 кДа;
- Б. Для превращения 1 моль формы кофермента Б в форму А требуется окислить 4 моль НАДФН;
- В. Субстратом реакции, катализируемой метионил-тРНК формилтрансферазой, служит форма кофермента А;
- Г. S-аденозилметионин (SAM) способен переносить одноуглеродный фрагмент в той же степени окисления, что и форма кофермента Б;
- Д. В биосинтезе данного кофермента используется глутамат;
- Е. Дефицит данного кофермента (суммы его форм) может привести к мегалобластной анемии — состоянию, при котором эритроциты в крови заменяются небольшим количеством аномально больших эритроцитов, известных как макроциты — которая вызывается недостаточностью синтеза дезокситимидинмонофосфата.

Часть II. Задачи с развернутым ответом

Задача 1 (12 баллов)

В 1937 году в издательстве университета Торонто вышла книга канадского зоолога Дональда МакЛулича, посвящённая многолетней динамике численности американского зайца-беляка в Канаде (D.A. MacLulich, *Fluctuations in the Numbers of the Varying Hare (*Lepus americanus*)*). И одно из положений этого исследования, с соответствующей иллюстрацией, с тех пор широко разошлось по самым разным статьям и учебникам экологии: это классическое сопряжение численности хищника и жертвы, в работе МакЛулича – показанная на большом временном интервале корреляция числа заготавливаемых охотниками компании Гудзонова залива шкурок зайца и шкурок рыси (см. рисунок, сплошная линия – количество шкурок зайцев, пунктир – количество шкурок рысей, по оси ординат – число шкурок в тысячах штук). Дональд МакЛулич прочно вошёл в историю экологии, как человек, выявивший существование примерно 9-летних циклов численности зайца и связанных с ними циклических изменений численности рысей (где пик численности рыси отстаёт, в среднем, на 1-2 года от пика численности зайца).



Выявленная в работе МакЛулича закономерность порождает ряд вопросов.

1.1 Почему пик численности рыси не совпадает с пиком численности зайца, а отстаёт на 1-2 года?

1.2 Какие факторы, кроме снижения числа зайцев, могут вызывать такие резкие падения численности рысей?

1.3 На графике видно, что крайне высокие пики численности зайцев в районе 1865 и 1885 годов не повлекли за собой такие же крайне высокие пики численности рысей, численность рысей в эти года не превышала средне-максимальных значений. Почему? Что может ограничивать максимальную численность рыси при обилии добычи?

1.4 В начале XXI века появились работы, показавшие, что динамика численности зайцев на меньших территориях (не вся Канада, а по отдельности Британская Колумбия, Юкон и Северо-Западные территории) имеет совсем другой характер: где-то это не 9-летние циклы, а 3-4-летние; циклы на разных территориях не синхронизируются друг с другом (например, одновременно наблюдаются пиковые значения на Юконе и спад в Британской Колумбии); в каких-то конкретных местах циклика может вообще нарушаться и т.д. Какие **БИОТИЧЕСКИЕ** факторы могут нарушать стройную и красивую картинку пиков заячьей численности?

1.5 Сменим географию и временной масштаб. Не Канада, но Россия, Калужская область, маленький заповедник «Калужские засеки», 12 тысяч га. Не 90 лет наблюдений, а всего чуть больше 20, с 2001 по 2024. Сходная пара видов: европейский заяц беляк (*Lepus timidus*) и евразийская рысь (*Lynx lynx*). Численность зайца на этой территории колеблется в больших пределах (более, чем на порядок между минимумом и максимумом), а вот колебания численности рысей не превышают нескольких **ОСОБЕЙ** (максимум – 10-11 особей в заповеднике, минимум – 7-8) и не связаны напрямую с численностью зайца. Чем можно объяснить такое расхождение с классической схемой из работы МакЛулича?

Задача 2 (12 баллов)

Картирование с помощью нуклеазы S1 позволяет устанавливать положение точек начала и терминации транскрипции, а также локализовать экзоны и интроны в гене. Для этого из клеток выделяют РНК, после чего гибридизуют ее с молекулой ДНК (зондом), содержащей исследуемый ген (или хотя бы часть исследуемого гена). После гибридизации образец обрабатывают нуклеазой S1, которая расщепляет одноцепочечные участки РНК и ДНК, но не гидролизует участки, входящие в состав двойных спиралей. Гибридизацию проводят при температуре, превышающей температуру плавления дуплекса ДНК-ДНК, но ниже температуры плавления дуплекса ДНК-РНК. Для понижения температуры плавления двойных спиралей (во избежание деградации РНК) реакцию проводят в присутствии формамида. Далее продукты гибридизации обрабатываются нуклеазой S1. Продукты реакции анализируют электрофорезом в денатурирующих условиях. Для проявки результатов электрофореза используется автордиография (ДНК-зонд содержит радиоактивный фосфор).

Ниже описаны результаты применения описанной методики для картирования транскрипта определенного раннего гена аденовируса 2 человека (Ad2). Для проведения гибридизации в качестве зондов использовался ряд рестрикционных фрагментов генома Ad2. Исходным фрагментом (самым крупным из используемых фрагментов, содержащим в себе все остальные) был фрагмент размером 3000 пар нуклеотидов (п.н.), ограниченный двумя сайтами BamHI («В-В фрагмент»). Вначале исследователи обработали данный фрагмент несколькими рестриктазами для построения рестрикционной карты. В таблице ниже показаны определенные путем электрофоретического анализа размеры продуктов обработки В-В фрагмента используемыми рестриктазами.

Обработка (рестриктазы)	Размер продуктов, п.н.
KpnI	150, 300, 2550
EcoRI	450, 1000, 1550
HindIII	350, 800, 1850
KpnI + EcoRI	150, 300, 1000, 1250
KpnI + HindIII	150, 300, 350, 500, 1700
EcoRI + HindIII	350, 400, 450, 800, 1000

Вопрос 2.1. Постройте в листе ответов рестрикционную карту фрагмента В-В: отметьте на шаблоне карты положение сайтов рестрикции и подпишите расстояния между ними (в п.н.). Для однозначности, положение одного из сайтов KpnI уже указано на карте.

Далее исследователи получили набор радиоактивно меченных рестрикционных фрагментов и использовали их в качестве зондов при гибридизации с последующей обработкой нуклеазой S1. Каждый из фрагментов был мечен равномерно (при репликации аденовирусов в клетках в среду добавлялся радиоактивный фосфат). В таблице ниже перечислены размеры выявляемых в результате автордиографии мажорных (основных, наиболее ярких) полос при использовании указанных зондов. Название зонда вида «Н_800» обозначает, что данный зонд представлял собой продукт обработки исходного фрагмента В-В рестриктазой HindIII и имел размер 800 п.н. Название вида «Н_Е_400» обозначает, что данный зонд представлял собой продукт обработки исходного фрагмента В-В рестриктазами HindIII и EcoRI и имел размер 400 п.н.

Зонд	Выявляемые на автордиограмме основные полосы, п.н.
В-В_3000	350, 400, 750
Е_450	100
Н_350	250
Е_1000	150, 650
Н_Е_400	200
Н_800	150

Известно, что изучаемый ген целиком содержался во фрагменте В-В, и что с данного гена в условиях эксперимента образуется только один транскрипт. При интерпретации результатов эксперимента считайте, что основная масса молекул мРНК в клетках представляет собой полностью сплайсированные молекулы.

Ответьте на вопросы ниже в листе ответов:

Вопрос 2.2. Сколько интронов в исследуемом гене? Укажите только число интронов.

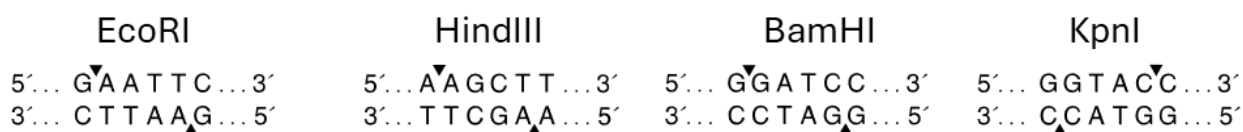
Вопрос 2.3. Отметьте на карте в листе ответов положения сайтов рестрикции (перенесите их из ответа на вопрос 2.1, но без указания расстояния между сайтами рестрикции). Отметьте на карте в листе ответов границы экзонов. Используйте букву «е», чтобы отметить положение границы экзона. Принимая левый конец фрагмента В-В за начало координат (0) отметьте координаты границ экзонов (подпишите координаты под отметками «е», в парах нуклеотидов). Выделите положение экзонов на карте прямоугольником с легкой штриховкой (см. образец в листе ответов).

Вопрос 2.4. Запишите размер каждого интрона исследуемого гена (в п.н.); пояснения не требуются.

Затем исследователи получили еще четыре зонда, которые не были мечены равномерно, но содержали метку только на одном из концов. Эти зонды были получены на основе продуктов обработки фрагмента В-В рестриктазами HindIII или EcoRI (фрагменты В-Н или В-Е). Описание процедуры получения зондов описано в таблице ниже.

Название зонда	Исходный фрагмент	Модификация
A	В-Н, размером 800 п.н.	Обработка фосфатазой, затем обработка полинуклеотид-5'-киназой с использованием АТФ, содержащего изотоп ³² P в γ-положении. Далее обработка рестриктазой KpnI. В качестве зонда использовался продукт обработки, имеющий размер 500 п.н.
B	В-Н, размером 800 п.н.	Обработка фрагментом Кленова с использованием дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, содержащих изотоп ³² P в α-положении. Далее обработка рестриктазой KpnI. В качестве зонда использовался продукт обработки, имеющий размер 500 п.н.
C	В-Е, размером 450 п.н.	Обработка фосфатазой, затем обработка полинуклеотид-5'-киназой с использованием АТФ, содержащего изотоп ³² P в γ-положении. Далее обработка рестриктазой KpnI. В качестве зонда использовался продукт обработки, имеющий размер 300 п.н.
D	В-Е, размером 450 п.н.	Обработка фрагментом Кленова с использованием дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, содержащих изотоп ³² P в α-положении. Далее обработка рестриктазой KpnI. В качестве зонда использовался продукт обработки, имеющий размер 300 п.н.

Ниже приведены последовательности сайтов рестрикции и места разрезания цепей ДНК в них:



Размеры выявляемых при автордиографии мажорных полос при использовании описанных зондов приведены в таблице ниже.

Зонд	Выявляемые на автордиограмме основные полосы, п.н.
A	Отсутствует
B	150
C	100
D	Отсутствует

Вопрос 2.5. На карте из [вопроса 2.3](#) отметьте звездочкой (*) точку начала транскрипции, а также крестиком (X) положение точки терминации транскрипции. Подпишите координаты этих точек (в парах нуклеотидов).

Задача 3 (12 баллов)

Моногенные заболевания человека представляют интересный пример популяционного равновесия между мутационным процессом и естественным отбором. Для гаплоидных организмов равновесная частота мутантной аллели рассчитывается по формуле $q = \mu/s$, где q – равновесная частота мутантной аллели, μ – частота этой мутации (скорость мутагенеза), s – снижение приспособленности мутантного организма (коэффициент отбора), все числа находятся в диапазоне от 0 до 1. Модель исходит из допущения, что обратных мутаций нет, элиминация мутации идет только за счет отбора. Для диплоидных организмов расчет модифицируется, в зависимости от того, как снижается приспособленность гомо- и гетерозигот по мутации.

3.1. Джон Холдейн впервые рассчитал параметр μ для мутации X-сцепленной гемофилии А. Определите и Вы этот параметр, исходя из того, что отбор идет у гемизиготных по мутации мужчин, которые в случае гемофилии имеют в 10 раз меньше потомков, чем обычные мужчины. При этом гемофилия встречается у одного мужчины из 5 тысяч.

В дальнейших расчетах для человека используйте следующие значения: число генов в геноме – 20 тысяч, частота точковой мутации – 10^{-8} на пару нуклеотидов на поколение.

3.2. Оцените частоту рецессивной точковой мутации в популяции человека, снижающей приспособленность гомозигот на 10% ($s = 0,1$). Считайте, что эта мутация никак не влияет на приспособленность гетерозигот.

3.3. Если предположить, что для половины генов человека возможны летальные мутации, а в одном таком гене к летальности могут приводить в среднем 100 разных точковых мутаций, оцените для среднего потенциально летального гена человека популяционную частоту рецессивных летальных мутаций. Считайте, что одна летальная мутация никак не влияет на приспособленность гетерозиготы, однако сочетание в гетерозиготе двух разных летальных мутаций по одному гену летально.

3.4. Сколько разных генов будут гетерозиготны по летальным мутациям у среднего человека?

Задача 4 (12 баллов)



Прививка – это соединение побегов одного растения (привой) со стеблем или корнем другого растения (подвой). Прививка является искусственным процессом, но в природе можно найти примеры срастания стволов деревьев при их длительном контакте друг с другом. На *рисунке 1* показан результат срастания стеблей двух буков. Известно, что для соединения стволов нужно, чтобы пробка повредилась в результате трения.

4.1. До какой внутренней живой ткани ствола должны стереться стебли в результате длительного соприкосновения, чтобы с наибольшей вероятностью произошло их успешное срастание? Внесите в лист ответов название ткани.

Рисунок 1. Срастание стеблей буков.

Для исследования этапов соединения стеблей после прививки был проведён следующий эксперимент. Проростки модельного растения резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*) разрезали на две части в гипокотиле, а затем снова соединили методом прививки (*рисунком 2*). Контрольную группу резуховидок Таля представляли неразрезанные и непривитые растения. Резуховидки росли в течение 7 дней в закрытых чашках Петри на питательной среде без гормонов и без сахарозы, при постоянном освещении и высокой влажности воздуха. Измерение интенсивности транспорта веществ между привоем и подвоем осуществляли нанесением на листья или на корни диацетат карбоксифлуоресцеина (CFDA). Он свободно проходит через оболочку клетки; попадая в протопласт, CFDA декаброксيليруется и образует флуоресцирующее соединение, локализацию которого можно визуализировать на конфокальном флуоресцентном микроскопе.

На *рисунке 2* показан график зависимости интенсивности флуоресценции в верхней части подвоя от времени после прививки. CFDA в этом случае наносили на листья в момент времени 0. Для подтверждения показанных результатов поставили ещё один эксперимент. В нём привой-трансформант *A. thaliana* с конструкцией, содержащей ген GFP под контролем промотора SUC2 (pSUC2::GFP), прививали на подвой дикого типа и измеряли флуоресценцию в верхней части подвоя относительно непривитых и неразрезанных растений pSUC2::GFP. Ген SUC2 кодирует транспортёр сахарозы, конститутивно экспрессируемый в клетках-спутницах. Белок GFP свободно проходит через плазмодесмы.

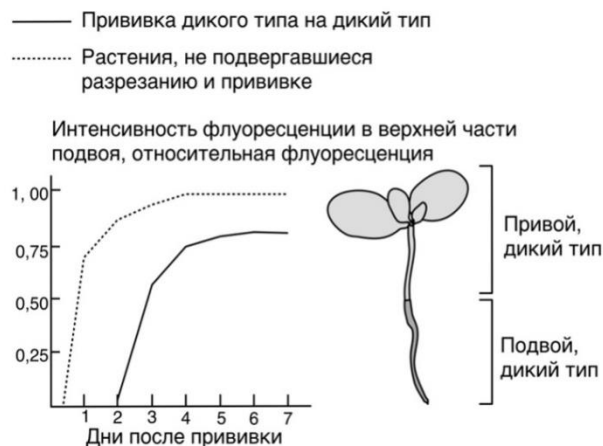


Рисунок 2. Зависимость флуоресценции в верхней части подвоя от времени после прививки при нанесении CFDA на листья.

4.2. Нарисуйте график зависимости средней интенсивности флуоресценции белка GFP в верхней части подвоя от времени при соединении привоя рSUC2::GFP с подвоем дикого типа. Значения флуоресценции на графике в листе ответов должны быть предложены относительно неразрезанных и непривитых растений рSUC2::GFP. Считайте чувствительность регистрации флуоресценции в опыте с CFDA и GFP одинаковой. Поясните одним-двумя предложениями, почему нарисованный Вами график имеет такую форму.

Для привитых друг на друга растений резуховидки дикого типа из предыдущего эксперимента в течение 10 дней измеряли экспрессию гена глутамат дегидрогеназы (*GDH1*), которая регулируется уровнем сахарозы. Фермент *GDH1* катализирует реакцию образования глутамата и участвует в метаболическом пути ассимиляции азота (рисунок 3).

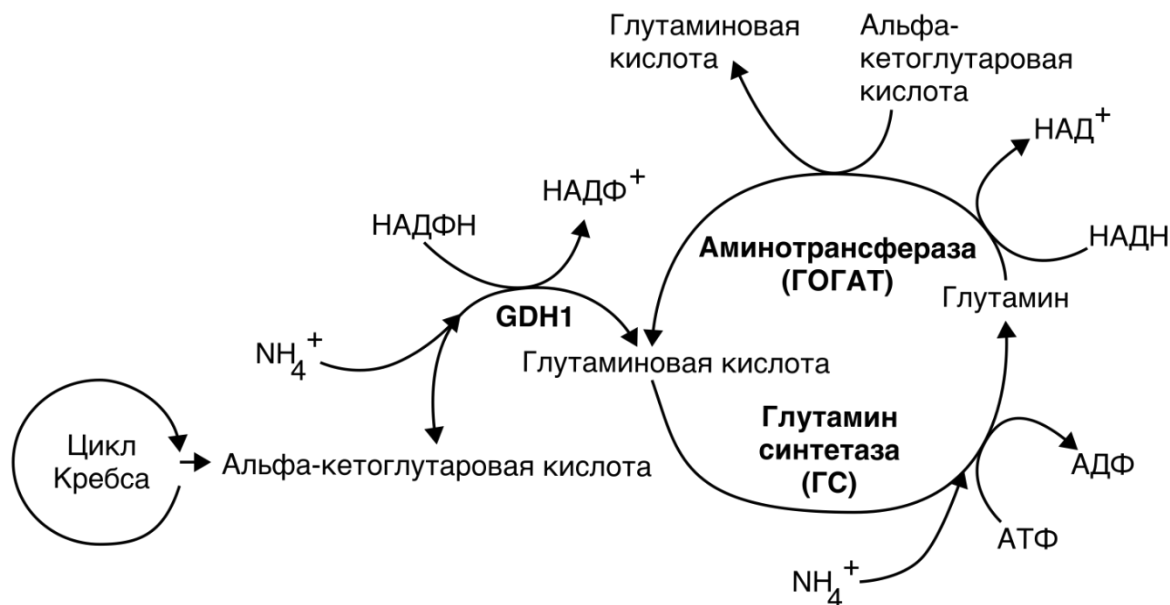


Рисунок 3. Роль фермента *GDH1* в метаболическом пути ассимиляции азота.

В присутствии сахарозы экспрессия *GDH1* снижается в течение 1 часа. Результаты измерения количества мРНК *GDH1* в участках гипокотыля привоя и подвоя рядом с местом прививки показаны на рисунке 4.

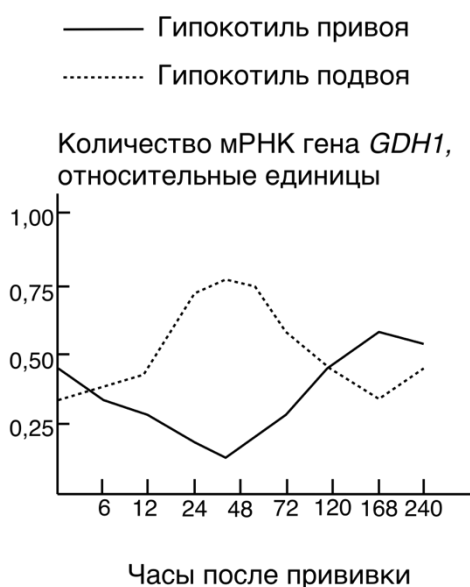


Рисунок 4. Зависимость количества мРНК гена *GDH1* от времени после прививки в привое и подвое.

4.3. Как изменится концентрация сахарозы в клетках привоя на промежутке времени 48-72 часа? Запишите одно предложение в листе ответов.

4.4. Выдвиньте гипотезу, с формированием какой ткани в месте соединения стеблей связано резкое изменение активности гена *GDH1* в привое на промежутке 48-72 часа? Напишите в листе ответов название ткани.

Фермент GDH1 локализуется в митохондриях, в то время как ферменты ГС-ГОГАТ системы работают в пластидах. Накопление сахарозы стимулирует пути её катаболизма. Глутамат, образовавшийся в пластидах, свободно проходит в цитоплазму и попадает в митохондрии.

4.5. Предположите, в какую сторону смещается равновесие реакции, катализируемой GDH1, при недостатке сахарозы в гетеротрофной клетке растения? Запишите одно предложение. Аргументируйте свой ответ ещё одним предложением, указав, какой источник углеродных скелетов при голодании по сахарозе сможет использовать митохондрия гетеротрофной клетки резуховидки.

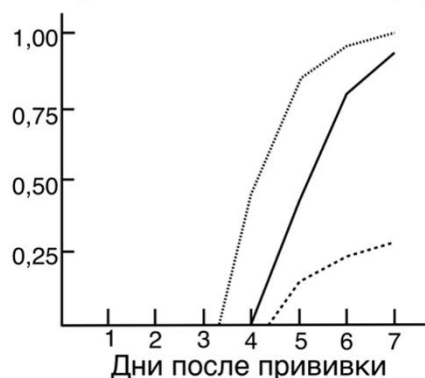
Активность ферментов метаболизма крахмала изменяется в течение 2 часов из-за изменения концентрации сахарозы – повышение содержания дисахарида стимулирует синтез полисахарида и снижает скорость его разрушения. В листе ответов Вам предлагается изображение соединённых методом прививки проростков *A. thaliana*. Прямоугольниками отмечены участки проростков, в которых измерялась экспрессия гена *GDH1* и определялось содержание крахмала.

4.6. Закрасьте штрихом в листе ответов прямоугольник(-и) химерного организма, в котором(-ых) клетки кортекса и сердцевины будут накапливать избыточное количество крахмала по сравнению с теми же участками не использованных для прививки растений спустя 48-72 часа после прививки.

Для исследования интенсивности потока веществ от подвоя к привою CFDA наносили на корни и измеряли интенсивность флуоресценции в нижней части привоя (рисунок 5). Транскрипционный фактор XND1 является негативным регулятором развития трахеальных элементов. Он экспрессируется в клетках прокамбия, каллуса и перицикла. XND1 блокирует дифференциацию трахеальных элементов и приводит к формированию паренхимных клеток. На рисунке 5 также отображено изменение интенсивности флуоресценции мутанта *xnd1* на подвое дикого типа и привою, конститутивно экспрессирующего XND1 под промотором 35S (35S::XND1), соединённого с подвоем дикого типа.

- Прививка дикого типа на дикий тип
- Привою 35S::XND1, подвоем дикого типа
- Привою *xnd1*, подвоем дикого типа

Интенсивность флуоресценции в нижней части привоя, относительная флуоресценция



С целью подтвердить полученные результаты привитые hypocotили дикого типа на подвое дикого типа помещали в условия сухого воздуха и определяли процент увядания привитых проростков на 3-й день эксперимента. Для этого воздух в чашках Петри осушали, а питательную среду оставляли влажной. В течение 10 часов измеряли процент увядших растений.

Рисунок 5. Зависимость интенсивности флуоресценции в нижней части привоя от времени начала эксперимента.

4.7. Предположите, будет ли наблюдаться увядание растений на 3 день после начала эксперимента для прививки дикого типа на диком типе? Выберите верный вариант в листе ответов.

А) Большая часть проростков сохранит тургорное давление тканей и не завянет.

Б) Будет наблюдаться увядание у бóльшей части проростков.

4.8. В листе ответов предложены фотографии срезов корневой шейки в нижней части привоя на 7 дней после прививки на подвой дикого типа и некоторого трансформанта (35S::XND1 или *xnd1*). Подпишите в листе ответов генотип привоя над правой фотографией. Масштабная шкала на фотографиях обозначает 30 мкм.

Черновик

