

18-я МЕЖДУНАРОДНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЛИМПИАДА
15 – 22 июля 2007 года

International Biology Olympiad



Saskatoon Canada 2007

**ПРАКТИЧЕСКИЙ ЭКЗАМЕН 4
ГЕНЕТИКА**

Перед началом экзамена наблюдатель покажет вам красную и зеленую карточки для проверки наличия у вас цветовой слепоты. Если вы не увидите различия между двумя карточками, поднимите руку и вам будет оказана помощь.

ЗАДАНИЕ А.	Определение последовательности кДНК	23 балла
ЗАДАНИЕ В.	Генетика окраски меха у собак	16 баллов
ЗАДАНИЕ С.	Генетический контроль окраски и формы семян фасоли	20 баллов

Предоставляемое время: 90 минут

ВПИШИТЕ ВСЕ ОТВЕТЫ В РАБОТУ.

ВПИШИТЕ ВАШ ЧЕТЫРЕХЗНАЧНЫЙ КОД УЧАСТНИКА В КЛЕТКУ НИЖЕ И В ВЕРХНЕЙ ЧАСТИ КАЖДОЙ СТРАНИЦЫ РАБОТЫ

Код участника:	
----------------	--

Задание А. Определение последовательности сДНК (23 балла)

Цель: Изолировать плазмидную ДНК, содержащую интересующую Вас кДНК и определить ее последовательность.

Введение:

Для сверхэкспрессии гена, в котором вы заинтересованы, у животных или растений необходимо вначале изолировать его в форме кДНК. Когда это сделано, для того, чтобы амплифицировать эту ДНК, ее проклонировали в pBluescript SK плазмидном векторе, который затем использовали для трансформации бактериальных клеток. Сейчас вам необходимо выделить плазмиду и определить последовательность введенной в нее кДНК.

Материалы	Количество
➤ Бактериальная культура	4 мл
➤ Центрифужные пробирки объемом 1.5 мл	4
➤ Штатив микроцентрифуги	1
➤ Микропипетка Р1000	1
➤ Коробочка с наконечниками для пипетки 200-1000 μ л	1
➤ Буфер GET (пробирка 1,5 мл)	0,5 мл
➤ 10% Додоцил сульфат натрия (пробирка 1,5 мл)	0,5 мл
➤ 2 N NaOH (пробирка 1,5 мл)	0,5 мл
➤ 3 M калия 5 M ацетата (KOAс, пробирка 1,5 мл)	0,5 мл
➤ 95% Этанол (Пластиковая пробирка Фалькон)	3 мл
➤ Дистиллированная вода (Пластиковая пробирка Фалькон)	3 мл
➤ Таймер	1
➤ Метки для пробирок	2
➤ Маркер	1
➤ Красная карточка	1
➤ Пакет для мусора (наконечников и пробирок)	1
➤ Доступ к микроцентрифуге	
➤ Доступ к смесителю (вортексу)	

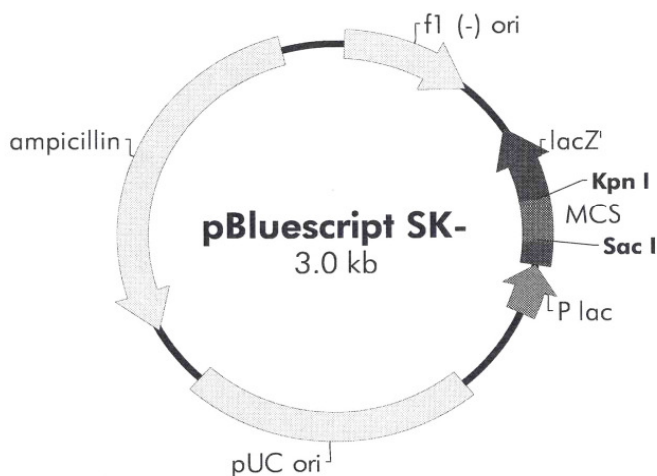
Примечание: Перед началом этого задания убедитесь, что у вас есть все материалы перечисленные выше. Если что-либо отсутствует, поднимите КРАСНУЮ карточку для того, чтобы позвать ассистента лаборатории.

Ход работы

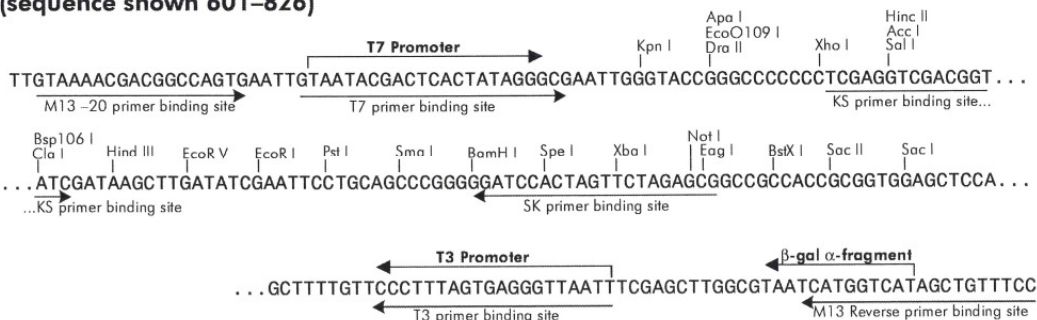
1. Внесите пипеткой аликвоты по 1,5 мл бактериальной культуры в две 1,5 мл пробирки для микроцентрифуги.
2. Отцентрифугируйте пробирки в микроцентрифуге в течение 1 минуты – убедитесь, что ротор центрифуги **УРАВНОВЕШЕН**.
3. Полностью удалите из каждой пробирки питательную среду, слив ее в пробирку.
4. Добавьте к клеточному осадку в каждой пробирке по 100 μ л буфера GET (глюкоза-ЭДТА-трис) с pH 7,9. Не закрывая пробирок, энергично смешайте их в смесителе для ресуспендирования осадка и оставьте при комнатной температуре на 5 минут.
5. Приготовьте в отдельной пробирке для микроцентрифуги объемом 1,5 мл раствор с конечной концентрацией 1% додецилсульфата натрия (SDS) и 0,2 N NaOH в воде в конечном объеме 1 мл.
6. Добавьте к каждой пробирке из пункта 4 по 200 μ л этой свежеприготовленной смеси из 1% додецилсульфата натрия (SDS) и 0,2 N NaOH, закройте пробирки и переверните 4-5 раз.
7. Проинкубируйте пробирки при комнатной температуре в течение 3 минут.
8. Добавьте к каждой пробирке по 150 μ л 5M KOAc (3 M калия и 5 M ацетата), закройте пробирки и встряхните коротко в руке для смешивания.
9. Проинкубируйте пробирки при комнатной температуре в течение 3 минут.
10. Отцентрифугируйте пробирки в течение 3 минут при полной скорости микроцентрифуги – **помните о сбалансировании ротора**.
11. Пометьте 2 чистые пробирки для микроцентрифуги вашим четырехзначным кодом участника.
12. Внесите пипеткой супернатант из каждой центрифужной пробирки в отдельную чистую пробирку. Выбросьте **начальную** пробирку, содержащую сейчас белый осадок – это бактериальная хромосомная ДНК.
13. Прибавьте 800 μ л 95% этанола к каждой пробирке. Закройте пробирки, смешайте энергично рукой в течение 10 секунд и оставьте на столе на 10 минут.

14. Отцентрифугируйте пробирки в течение 5 минут при полной скорости микроцентрифуги.
15. Слейте супернатант из каждой пробирки, закройте пробирки и **поднимите вашу красную карточку**.
16. Ассистент лаборатории проверит вашу пробирку с осадком (10 баллов за белый осадок).
17. Ассистент лаборатории предоставит вам последовательность вашей плазмидной и кДНК. кДНК была секвенирована от T₃ промотора.
18. Сверьте вашу последовательность нуклеотидов, начиная с нуклеотида 21, с последовательностью pBluescript вектора (см. рисунок внизу), и дайте ответы на вопросы на странице 5.

КАРТА ПЛАЗМИДЫ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПОЛИЛИНКЕРА САЙТА МНОЖЕСТВЕННОГО КЛОНИРОВАНИЯ (MCS) ДЛЯ pBLUESCRIPT



pBluescript SK (+/-) Multiple Cloning Site Region (sequence shown 601-826)



Вопросы (10 баллов)

1. Рестриктазой, по сайту которой вы клонировали ваш фрагмент ДНК, является рестриктаза _____.

ПРИМЕЧАНИЕ: Первая буква названия фермента находится на карте рестрикции над первым нуклеотидом последовательности, которую узнает эта рестриктаза. (5 баллов).

2. Перечислите 20 первых нуклеотидов вашего фрагмента ДНК, не включая последовательность сайта рестрикции. (2 балла)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
нуклеотид																					

3. Найдите стартовый кодон. Используя предоставленную таблицу генетического кода на странице 6 и начиная со стартового кодона, проведите трансляцию первых 21 нуклеотидов в соответствующие им аминокислоты. (4 балла)

Стартовый
кодон

Амино-кислота																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
нуклеотид																					

4. (a) Если бы нуклеотид в положении 13 мутировал в 'А', какой была бы соответствующая аминокислота? (1 балл)

- (b). Если бы нуклеотид в положении 14 мутировал в 'А', какой была бы соответствующая аминокислота? (1 балл)

ТАБЛИЦА ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

Эта таблица показывает 64 кодона и аминокислоту, которую кодирует каждый кодон.

Направление от 5' к 3'.

		Второе основание			
		U	C	A	G
Первое основание	U	UUU (Phe/F) Фенилаланин	UCU (Ser/S) Серин	UAU (Tyr/Y) Тирозин	UGU (Cys/C) Цистеин
		UUC (Phe/F) Фенилаланин	UCC (Ser/S) Серин	UAC (Tyr/Y) Тирозин	UGC (Cys/C) Цистеин
		UUA (Leu/L) Лейцин	UCA (Ser/S) Серин	UAA Ochre (<i>Stop</i>)	UGA Opal (<i>Stop</i>)
		UUG (Leu/L) Лейцин	UCG (Ser/S) Серин	UAG Amber (<i>Stop</i>)	UGG (Trp/W) Триптофан
	C	CUU (Leu/L) Лейцин	CCU (Pro/P) Пролин	CAU (His/H) Гистидин	CGU (Arg/R) Аргинин
		CUC (Leu/L) Лейцин	CCC (Pro/P) Пролин	CAC (His/H) Гистидин	CGC (Arg/R) Аргинин
		CUA (Leu/L) Лейцин	CCA (Pro/P) Пролин	CAA (Gln/Q) Гистидин	CGA (Arg/R) Аргинин
		CUG (Leu/L) Лейцин	CCG (Pro/P) Пролин	CAG (Gln/Q) Гистидин	CGG (Arg/R) Аргинин
	A	AUU (Ile/I) Изолейцин	ACU (Thr/T) Треонин	AAU (Asn/N) Аспарагин	AGU (Ser/S) Серин
		AUC (Ile/I) Изолейцин	ACC (Thr/T) Треонин	AAC (Asn/N) Аспарагин	AGC (Ser/S) Серин
		AUA (Ile/I) Изолейцин	ACA (Thr/T) Треонин	AAA (Lys/K) Лизин	AGA (Arg/R) Аргинин
		AUG (Met/M) Метионин	ACG (Thr/T) Треонин	AAG (Lys/K) Лизин	AGG (Arg/R) Аргинин
	G	GUU (Val/V) Валин	GCU (Ala/A) Аланин	GAU (Asp/D) Аспараг. к-та	GGU (Gly/G) Глицин
		GUC (Val/V) Валин	GCC (Ala/A) Аланин	GAC (Asp/D) Аспараг. к-та	GGC (Gly/G) Глицин
		GUA (Val/V) Валин	GCA (Ala/A) Аланин	GAA (Glu/E) Глутам. к-та	GGA (Gly/G) Глицин
		GUG (Val/V) Валин	GCG (Ala/A) Аланин	GAG (Glu/E) Глутам. к-та	GGG (Gly/G) Глицин

Задание В. Генетика окраски меха у собак (16 баллов)**Материалы**

_____ цветные фотографии четырех потомков собаки.

Ход работы

1. Рассмотрите _____ цветные _____ фотографии _____ четырех _____ собак. **Отношения** _____ **доминантности** в случае окраски меха слева направо представлены ниже

_____ **K** — сплошной черный; **k** — стержень волоса меняет окраску (агути)

_____ **E** — дикий тип; **e** — красный

_____ **MM** — белый; **Mm** — меланж (смесь белого волоса с окрашенными _____
_____ волосами);

_____ **mm** — окрашенный

_____ **a^w** — стержень волоса меняет окраску 3 раза; **a^y** — собольевый (красный
_____ волос с черным концом);

_____ **a^t** — черный и желто-коричневый; **a** — черный

2. **Генотипы** собак, показанных на цветных фотографиях, представлены ниже

_____ Шотландская овчарка _____ = k/k, _____ E/E, _____ a/a, _____ M/m

_____ Австралийская овчарка _____ = k/k, _____ E/E, _____ a^t/a^t, _____ M/m

_____ Немецкая овчарка _____ = k/k, _____ E/E, _____ a/a, _____ m/m

_____ Тервурен (Tervuren) _____ = k/k, _____ E/E, _____ a^y/a^y, _____ m/m

3. Используя собак, показанных на цветных фотографиях, определите **ВСЕ**
_____ возможные генотипы и фенотипы щенков от спариваний, перечисленных в
_____ таблице на странице 8.

_____ (2 балла за каждый генотип и 2 балла за каждый фенотип, всего 16 баллов)

4. Впишите ваши ответы в соответствующую колонку нижеследующей таблицы:

Спаривание	Генотип	Фенотип
Шетландская овчарка х Австралийская овчарка		
Шетландская овчарка х Немецкая овчарка		
Немецкая овчарка х Тервурен		
Тервурен х Австралийская овчарка		

Задание С. Генетический контроль окраски кожуры и формы семян у фасоли (20 баллов)**Материал**

- 1 пластиковый пакет с плоскими красными семенами фасоли родительского поколения (**ПАКЕТ НЕ ОТКРЫВАТЬ**)
- 1 пластиковый пакет с круглыми красными семенами фасоли родительского поколения (**ПАКЕТ НЕ ОТКРЫВАТЬ**)
- 1 пластиковый пакет, содержащий семена F_1 (плоские желтые) от скрещивания между родительскими растениями (**ПАКЕТ НЕ ОТКРЫВАТЬ**)
- 1 пластиковый пакет с F_2 семенами, представляющих 250 растений F_2 . (**ЭТОТ ПАКЕТ НУЖНО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТА**)

Чтобы облегчить вам ответы на вопросы ниже, заполните следующую таблицу:

Поколение	Форма семян (круглая или плоская)	Цвет кожуры семян (желтый или красный)
Родитель 1		
Родитель 2		
F_1 от скрещивания между этими двумя родителями		

Дайте ответы на следующие вопросы.

1. Контролируется ли окраска кожицы семян (обведите кружком правильный ответ)
 - (i) одним геном
 - (ii) более чем одним геном?

(1 балл)

2. а) Красный цвет окраски кожуры (обведите кружком правильный ответ)
 - (i) является доминантным
 - (ii) наследуется по принципу неполного доминирования
 - (iii) является рецессивным

(1 балл)

b) Круглая форма семян (обведите кружком правильный ответ)

- (i) является доминантной
- (ii) наследуется по принципу неполного доминирования
- (iii) является рецессивной

(1 балл)

3. (a) В ваших образцах семян F_2 представлены четыре фенотипа. Распределите семена на фенотипические классы и внесите количество особей каждого фенотипа в представленную ниже таблицу. (2 балла)

Фенотип (окраска семян/форма семян)	Количество семян (= количество растений F_2)
круглые, красные	
плоские, красные	
круглые, желтые	
плоские, желтые	
Общее количество	

Используйте данные распределение в F_2 для ответа на следующие вопросы:

4. (a) Сколько генов могут контролировать форму семян, исходя из Ваших данных? _____ (1 балл)

- (b) Сколько круглых и сколько плоских семян вы ожидали бы в популяции этого размера?

КРУГЛЫЕ _____ ПЛОСКИЕ _____ (2 балла)

- (c) Существует ли значимое различие между этим распределением и наблюдаемым (обведите правильный ответ)?

ДА **НЕТ** (1 балл)

Чему равна вероятность? (3 балла)

5. (a) Сколько генов контролируют окраску кожуры семян? _____ (1 балл)
- (b) Сколько красных и сколько желтых семян фасоли вы ожидали бы в популяции этого размера?

КРАСНЫЕ _____ ЖЕЛТЫЕ _____ (3 балла)

- (c) Существует ли значимое различие между этим распределением и наблюдаемым (обведите правильный ответ)?

ДА **НЕТ** (1 балл)

Чему равна вероятность? (3 балла)

Распределение хи-квадрат (χ^2)

df	Вероятность										
	0.95	0.90	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
1	0.004	0.02	0.06	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.10	0.21	0.45	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	0.35	0.58	1.01	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27
4	0.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.47

- КОНЕЦ -

**ПРОВЕРЬТЕ, ВПИСАЛИ ЛИ ВЫ ВАШ ЧЕТЫРЕХЗНАЧНЫЙ КОД
УЧАСТНИКА В ВЕРХНЕЙ ЧАСТИ КАЖДОЙ СТРАНИЦЫ**