

Место для баллов:

Код:

Республиканская олимпиада школьников 2009

### КАБИНЕТ 3. Генетика и цитология (33 балла).

#### Часть 1. Генетика (18 баллов).

#### ЗАДАНИЕ 1 (12 баллов). Идентификация *trp* мутаций бактерии *Pseudomonas mendocina*

#### Материалы и оборудование

1. Пробирки с культуральной жидкостью.	3
2. Чистые пробирки.	3
3. Пробирка с реактивом Эрлиха.	1
4. Пробирка с раствором индола.	1
5. Пробирка с раствором антранилата.	1
6. Пробирка с водой.	1
7. Пипетка на 1 мл.	15
8. Лист белой бумаги.	1
9. Емкость для использованных пипеток.	1
10. Салфетки.	1

В качестве объектов генетических экспериментов Вам предложены бактерии *Pseudomonas mendocina*.

На схеме представлен путь синтеза триптофана у бактерий, указаны некоторые его промежуточные продукты и гены (*trp 2*, *trp 4*, *trp 5*), отвечающие за синтез ферментов этого пути:



Мутации в генах *trp* приводят к накоплению промежуточных продуктов синтеза триптофана в культуральной жидкости. Два продукта этого биосинтетического пути – антранилат и индол - можно выявить в культуральной жидкости соответствующих мутантов по цветным реакциям с реактивом Эрлиха.

1.1. (3 балла). Проведите контрольный эксперимент. Для этого внесите специальной пипеткой по 0,5 мл реактива Эрлиха в контрольные пробирки со стандартными растворами антранилата, индола и в пробирку с водой. Зарегистрируйте изменение окраски, сделайте запись об этом в таблице 1 при помощи условных обозначений.

Таблица 1

Вещество	Окраска после добавления реактива Эрлиха
Вода	
Антранилат	
Индол	
Условные обозначения:	Ж – желтый.
	К – красный (малиновый).
	Н – изменений не произошло.

1.2. (3 балла). Пользуясь схемой на стр. 1, определите, какие вещества будут накапливаться в культуральной жидкости в процессе роста мутантов в среде? Заполните таблицу 2 при помощи условных обозначений.

Таблица 2

Мутация	Накапливаемое вещество
trp 2	
trp 4	
trp 5	
Условные обозначения:	А – антранилат;
	И – индол;
	О – антранилата или индола нет

**1.3. (3 балла).** Проведем эксперимент с культуральной жидкостью 3-х штаммов мутантных бактерий  $trpX^-$ ,  $trpY^-$  и  $trpZ^-$ , дефектных по пути синтеза триптофана. Наша задача – идентифицировать эти мутанты.

Для этого мутантные бактерии вырастили в жидкой среде, затем клетки удаляли путем центрифугирования, а надосадочную жидкость предоставили Вам для идентификации мутантов.

Протестируйте каждую из 3 проб культуральной жидкости мутантов на присутствие в ней промежуточных продуктов триптофанового пути и полученные данные используйте для идентификации  $trpX^-$ ,  $trpY^-$  и  $trpZ^-$  мутаций.

Вам даны 3 пробирки с культуральной жидкостью мутантных бактерий  $trpX^-$ ,  $trpY^-$  и  $trpZ^-$  бактерий *Pseudomonas mendocina*. Из каждой пробирки перенесите пипеткой по 1 мл культуральной жидкости в чистые пробирки для проведения теста на накопление веществ.

Для каждой пробы используйте новую пипетку!

В каждую пробирку с 1 мл жидкости добавьте специальной пипеткой по 0,5 мл реактива Эрлиха и зарегистрируйте изменение окраски, результаты внесите в таблицу в листе ответов, используя условные обозначения.

Определите, какое вещество накапливается в культуральной жидкости каждого мутанта, сделайте запись при помощи условных знаков в таблице 3.

Таблица 3

№	Мутант	Окраска после добавления реактива Эрлиха	Накапливаемое вещество
I	<i>trpX</i> <sup>-</sup>		
II	<i>trpY</i> <sup>-</sup>		
III	<i>trpZ</i> <sup>-</sup>		
Ж – желтый;		А – антранилат;	
К – красный;		И – индол;	
Н – изменений не произошло		О – антранилата или индола нет	

1.4. (3 балла). Идентифицируйте *trpX*<sup>-</sup>, *trpY*<sup>-</sup> и *trpZ*<sup>-</sup> мутации. Найдите соответствие между обозначениями мутаций *trp1*, *trp2* и *trp3* на схеме триптофанового пути и *trpX*<sup>-</sup>, *trpY*<sup>-</sup> и *trpZ*<sup>-</sup> мутантами. Результаты впишите в таблицу 4.

Таблица 4

Ген	Мутация
<i>trpX</i> <sup>-</sup>	
<i>trpY</i> <sup>-</sup>	
<i>trpZ</i> <sup>-</sup>	

**ЗАДАНИЕ 2 (2 балла).** Решите задачу. При скрещивании высоких растений томатов с грушевидной формой плода с низкими растениями с шаровидными плодами в первом поколении получены высокие растения с шаровидной формой плода. В F2 получено: 2800 растений высоких с шаровидными плодами; 540 - высоких с грушевидными плодами; 500 - низких с шаровидными плодами; 160 - низких с грушевидными плодами.

На каком расстоянии находятся гены, определяющие эти признаки?	Ответ: 40 морганид.
--	---------------------

**ЗАДАНИЕ 3 (5 баллов).** Решите задачи по молекулярной генетике. Фрагмент белка имеет следующий аминокислотный состав:

**Phe-Pro-Trp-Ser-Ala**

Была получена серия мутантов гена, кодирующего этот полипептид, причем в каждом случае произошла только одна мутация.

**3.1. (4 балла).** Пользуясь таблицей генетического кода (см. последнюю страницу) определите характер каждой мутации.

Мутант	Вставка нуклеотида	Выпадение нуклеотида	Транзиция	Трансверсия
<b>Phe-Pro-</b>	-	-	Г→А	-
<b>Phe-Pro-Gly-Val</b>	-	У	-	-
<b>Phe-Pro-Trp-Ser-Ala</b>	-	-	-	У→Г
<b>Phe-Pro-Trp</b>	У	-	-	-

3.2. (1 балл). Молекула РНК, кодирующая первые две аминокислоты, имеет следующую последовательность:

Phe - Pro  
УУУ ЦЦУ

Какова нуклеотидная последовательность молекулы РНК, кодирующая не мутантный полипептид?	УУУЦЦУУГГАГУГЦУ
--	-----------------

## Часть 2. Цитология (80 баллов)

**ЗАДАНИЕ 4. (8 баллов).** Приготовление препаратов политенных хромосом мотыля *Chironomus sp.* для анализа методом световой микроскопии.

**Материалы и оборудование:** живые личинки мотыля *Chironomus sp.*, капельница с 45 % уксусной кислотой, капельница с 1 % раствором ацетоорсеина в 45 % уксусной кислоте, предметные стекла, покровные стекла, препаровальные иглы, фильтровальная бумага, пинцет, спиртовка, спички, исследовательский микроскоп.

Световая микроскопия – основной метод клеточной биологии, позволяющий с помощью светового микроскопа визуально, с высокой степенью точности изучить морфологию объекта, локализовать его отдельные детали и получить сведения о химизме той или иной части клетки, оценить метаболические свойства и выяснить ее строение на макромалекулярном уровне.

Политенные хромосомы – гигантские хромосомы животных и растений, осуществляющие синтез ДНК и РНК и образующиеся путем многократной репликации генетического материала в интерфазе. Политенные хромосомы никогда не участвуют в митозе и являются примером соматической полиплоидизации тканей. Соматическая полиплоидизация встречается на терминальных участках развития клеток и тканей и большей частью характерна для специализированных, дифференцированных клеток. Главным результатом соматической полиплоидии является увеличение размера клеток и тем самым увеличение их продуктивности.

Политенные хромосомы используются для построения цитологических карт хромосом, обнаружения хромосомных перестроек. Сравнение цитологических карт политенных хромосом позволяет определять видовую принадлежность живых организмов, позволяет изучить процессы микроэволюции и видообразования.

### Ход работы

1. Выложить пинцетом личинку на предметное стекло и удерживая одной препаровальной иглой за середину тела, отделить второй препаровальной иглой головную часть личинки (рисунок 1). При аккуратном выполнении этой операции передняя часть кишечника вместе со слюнными железами

остается прикрепленной к головной части личинки. Слюнные железы имеют вид мелких прозрачных беловатых телец овальной формы (рисунок 2).

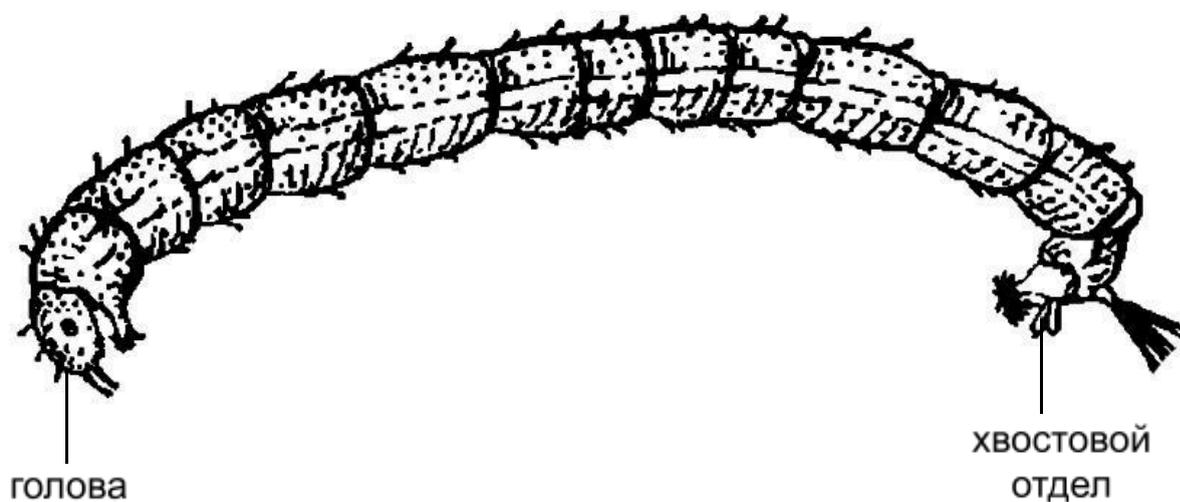


Рис. 1 – Внешний вид личинки *Chironomus sp.*

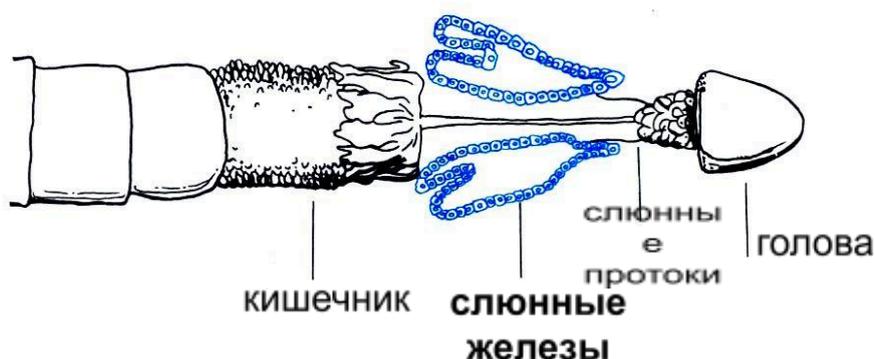


Рис. 2 – Расположение внутренних органов в головном отделе личинки *Chironomus sp.*

2. Остатки личинки убрать со стекла фильтровальной бумагой.
3. Нанести на слюнные железы несколько капель ацетоорсеина, и держа препарат в руке, подогреть над пламенем спиртовки 3-5 мин. Окрасить железы необходимо до однородного темно-красного цвета. **Внимание!** Не перегревайте препарат! Не допускается вскипания красителя! Нужную степень нагревания можно контролировать при прикосновении предметного стекла к руке: стекло не должно обжигать руку. Если краситель испариться, его нужно добавить еще раз.

4. Отмыть слюнные железы от остатков высохшего красителя, добавив несколько капель 45 % раствора уксусной кислоты и промокнув предметное стекло фильтровальной бумагой.
5. На готовый препарат нанести каплю 45 % раствора уксусной кислоты и накрыть покровным стеклом. Аккуратно надавить на покровное стекло чистым концом спички без бокового смещения, добиваясь полного и равномерного распределения клеток в один слой.
6. Найти в клетках слюнных желез политенные хромосомы.  
После того, как окончите работу поднимите руку и попросите, чтобы к Вам подошел преподаватель и оценил качество выполнения препарата.

Оценка за качество препарата \_\_\_\_\_ 8 баллов \_\_\_\_\_.

**ЗАДАНИЕ 5 (7 баллов).**

**5.1. (5 баллов).** Зарисуйте политенную хромосому, указав на рисунке диски, междисковые пространства и пуфы.

**5.2. (1 балл).** Вставьте в предложение пропущенный термин в виде его цифрового обозначения.

«Пуфы политенных хромосом представляют собой участки \_\_\_\_\_ 1 \_\_\_\_\_ хроматина».

1. конденсированного;
2. деконденсированного.

**5.3. (1 балл). Найдите правильный ответ и внесите его в квадрат.**

<b>В</b>
----------

- А. Расположение дисков на политенных хромосомах не постоянно у конкретного вида и зависит от органа и возраста животного  
 В. Диски политенных хромосом имеют хромомерное строение  
 С. В дисках политенных хромосом синтезируется РНК

Таблица генетического кода

		ВТОРАЯ БУКВА				
		У	Ц	А	Г	
П Е Р В А Я Б У К В А	У	УУУ Phe	УЦУ Ser	УАУ Tyr	УГУ Cys	У
		УУЦ Phe	УЦЦ Ser	УАЦ Tyr	УГЦ Cys	Ц
		УУА Leu	УЦА Ser	УАА Stop	УГА Stop	А
		УУГ Leu	УЦГ Ser	УАГ Stop	УГГ Trp	Г
	Ц	ЦУУ Leu	ЦЦУ Pro	ЦАУ His	ЦГУ Arg	У
		ЦУЦ Leu	ЦЦЦ Pro	ЦАЦ His	ЦГЦ Arg	Ц
		ЦУА Leu	ЦЦА Pro	ЦАА Gln	ЦГА Arg	А
		ЦУГ Leu	ЦЦГ Pro	ЦАГ Gln	ЦГГ Arg	Г
	А	АУУ Ile	АЦУ Thr	ААУ Asp	АГУ Ser	У
		АУЦ Ile	АЦЦ Thr	ААЦ Asp	АГЦ Ser	Ц
		АУА Ile	АЦА Thr	ААА Lys	АГА Arg	А
		АУГ Met	АЦГ Thr	ААГ Lys	АГГ Arg	Г
	Г	ГУУ Val	ГЦУ Ala	ГАУ Asp	ГГУ Gly	У
		ГУЦ Val	ГЦЦ Ala	ГАЦ Asp	ГГЦ Gly	Ц
		ГУА Val	ГЦА Ala	ГАА Glu	ГГА Gly	А
		ГУГ Val	ГЦГ Ala	ГАГ Glu	ГГГ Gly	Г