

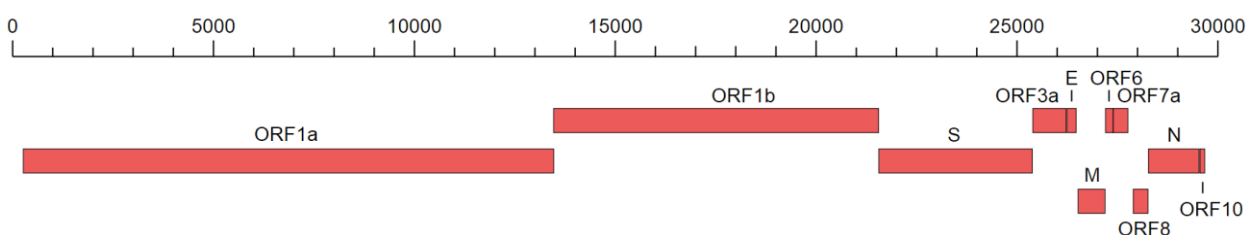
**Задания практического тура заключительного этапа XXXVIII
Всероссийской олимпиады школьников по биологии.**

2021-22 уч. год. 11 класс

БИОИНФОРМАТИКА. Максимум 50 баллов

За последние два с небольшим года коронавирус SARS-CoV-2 привлек к себе значительное внимание исследователей, разместивших миллионы его последовательностей в биоинформатических базах данных. (NB: в базах данных последовательности РНК приводятся с тиминном вместо урацила для единообразия с последовательностями ДНК). Задание практического тура посвящено применению биоинформатических методов анализа SARS-CoV-2 и вакцин против него.

1. На рисунке ниже показана схема организации генома SARS-CoV-2 (ORF – открытая рамка считывания, соответствует кодирующей последовательности):



Откройте файл Wuhan.doc и скопируйте из него последовательность исходного Уханьского вируса целиком с заголовком (это называется «последовательность в FASTA-формате») во вкладку браузера с инструментом ORF Finder. Чтобы выделить последовательность целиком, можно использовать сочетание клавиш Ctrl-A, чтобы скопировать – Ctrl-C, чтобы вставить – Ctrl-V.

Очистите окно ввода используя кнопку Clear. Затем укажите в настройках (см. рис. ниже):
стартовый кодон ATG (выбрав «atg» в строке «ORF can begin with:»),
поиск по всем рамкам считывания (выбрав «1, 2, and 3» в строке «Search for ORFs in reading frame»)
минимальную длину рамки 100 кодонов (наберите «100» в строке «Only return ORFs that are at least").

- ORFs can begin with:
- Search for ORFs in reading frame on the strand.
- Only return ORFs that are at least codons long.
- Use the [genetic code](#).

Вставьте последовательность генома исходного коронавируса (Wuhan.doc) и нажмите кнопку «Submit», в новой вкладке откроется результат поиска. Запишите найденные координаты генов *ORF1a*, *ORF1b*, *S*, *M*, и *N* на Листе ответов.

При распознавании генов ориентируйтесь на приведенную выше схему организации генома, инструмент выдает рамки считывания не по порядку!

На самом деле у коронавируса SARS-CoV-2 при трансляции происходит запрограммированный сдвиг рибосомы (13468 нуклеотид участвует в двух кодонах),

поэтому рибосома не доходит до стоп-кодона *ORF1a* и начинает трансляцию раньше рамки *ORF1b*. Таким образом на основе двух рамок считывания образуется единый белок ORF1, который затем разрезается протеазами на несколько частей.

Рассчитайте длину белка ORF1 (в аминокислотах) на основе найденных Вами координат *ORF1a* и *ORF1b*. Укажите на Листе ответов размер белков:

S (белок «шипов», взаимодействующий с рецепторами клетки-мишени),

M (главный мембранный белок сложного капсида) и

N (белок нуклеокапсида).

Скопируйте аминокислотные последовательности белков S, M и N в пустой файл Proteins.doc (для аминокислот используются однобуквенные обозначения) из вкладки результатов ORF Finder, **файл Вам понадобится в дальнейшем.**

2. Рекомбинантные вакцины от коронавируса как правило используют для иммунизации антигены S-белка. Откройте файл Gam_COVID_Vac.doc, содержащий последовательность аденовирусного вектора (первого компонента вакцины Спутник V). Найдите последовательность S-белка с помощью ORF Finder (**важно: настройки ORF Finder нужно изменить по сравнению с первым поиском** – выбрать минимальную длину рамки считывания 1000 вместо 100 и обратную нить вместо прямой (выбрать «reverse» вместо «direct» в строке «Strand»).

Найденная Вами последовательность S-белка окажется на несколько аминокислот короче, чем рассчитанная для Wuhan.doc, поскольку реальная трансляция S-белка начинается не с первого метионинового кодона последовательности, в остальном последовательности идентичны. Найдите настоящую длину S-белка с помощью инструмента Pairwise Align Protein. Для этого в верхнее окно вставьте последовательность S-белка исходного коронавируса, в нижнее окно – последовательность, найденную в вакцине. **Перед вставкой оставьте у последовательностей, найденных ORF Finder, заголовок, но удалите последний символ – звездочку, означающую стоп-кодон.** Запишите результаты на листе ответов.

3. Иммунный ответ после аденовирусной вакцины проходит через несколько определенных стадий. Пациент был вакцинирован аденовирусной вакциной, затем заразился и выздоровел. Расположите события А - К по порядку от наиболее ранних к наиболее поздним. **Обратите внимание, некоторые стадии лишние.**

А – нейтрализация SARS-CoV-2 антителами, убийство зараженных вирусом клеток цитотоксическими лимфоцитами

Б – синтез лимфоцитами огромного количества провоспалительных цитокинов

В – появление в организме наивных лимфоцитов, специфичных к антигенам коронавируса

Г – гибель клеток-мишеней, зараженных рекомбинантным аденовирусом

Д – попадание в организм коронавируса SARS-CoV-2

Е – внутримышечное введение рекомбинантного аденовируса (вакцины)

Ж – размножение лимфоцитов, специфичных к антигенам S-белка, появление антиген-специфических клеток памяти

З – перенос антигенов из мышечной ткани в лимфоузел

И – синтез S-белка в зараженных рекомбинантным аденовирусом клетках

К – репликация рекомбинантного аденовируса в организме

4. В ходе эволюции вирусы постепенно накапливают мутации, на которые может действовать естественный отбор. Откройте файл Delta.doc, содержащий геномную последовательность штамма «дельта» SARS-CoV-2. Найдите с помощью ORF Finder (**не забудьте выставить верные настройки**) в его геноме последовательность, кодирующую S-белок (обратите внимание, геном более короткий и поэтому координаты генов в нём немного отличаются). Откройте в браузере инструмент Ident and Sim, вставьте в окно две последовательности в FASTA-формате S-белка штамма дельта и Уханьского вируса (**последовательности белков исходного вируса Вы сохраняли во временном файле, считайте что они уже выравнены**). Сравните эти последовательности, нажав кнопку «Submit». Не меняйте никаких настроек инструмента. На сколько аминокислот различаются S-белки этих вирусов? Повторите сравнение для белков N и M. Запишите результаты (% идентичности белков и число различающихся аминокислот) на Листе ответов. Сохраните последовательности S, N и M белков в файл Proteins.doc.

Откройте файл Omicron.doc, содержащий геномную последовательность штамма «омикрон» SARS-CoV-2. Сравните его S, N и M белки с белками исходного штамма. Для S-белка сначала используйте инструмент Pairwise Align Protein, поскольку кроме ряда замен в этом белке есть две «выпадающие» аминокислоты, поэтому Ident and Sim сразу не сработает. **Не меняйте никаких настроек инструмента**. Не закрывайте вкладку результатов ORF Finder, они понадобятся в задании 5.

Запишите % идентичности и число различий аминокислот каждого белка на Листе ответов. Какой из рассмотренных Вами белков наименее консервативен? Чем это можно объяснить?

5. Приобретенный иммунитет распознает отдельные высокоиммуногенные участки вирусных белков – эпитопы. Какие именно эпитопы окажутся важны для искоренения вируса, зависит от генотипа локуса MHC, отвечающего за представление фрагментов вирусных белков Т-лимфоцитам. Ниже приведены последовательности шести распространенных Т-клеточных эпитопов SARS-CoV-2, часто вызывающих иммунный ответ.

Найдите с помощью сочетания клавиш Ctrl-F последовательности эпитопов 1-6 в белках S, M и N в штамме омикрон. Запишите на Листе ответов, какому белку соответствует каждый из эпитопов. Напишите, есть ли эти эпитопы в изученных Вами вирусах, используя символ «С» для вакцины «Спутник V», символ «Δ» для варианта «дельта» и символ «W» для исходного Уханьского варианта.

Последовательности эпитопов (**можно копировать из pdf-файла заданий**):

- 1) LLNKHIDAY
- 2) CVADYSVLY
- 3) FAYANRNRF
- 4) LPQGFSAL
- 5) SPRWYFYYL
- 6) LPQGFSAL

Не забудьте закрыть лишние окна и вкладки браузера, удалите временные файлы!

Желаем Вам удачи!

Шифр _____ Сумма баллов _____

ЛИСТ ОТВЕТОВ БИОИНФОРМАТИКА

1. Укажите координаты генов SARS-CoV-2 и размер его белков (11 баллов)

Рамка	5`-координата	3`-координата	Белок	Длина белка (а.к.)
<i>ORF1a</i>			ORF1	
<i>ORF1b</i>				
<i>S</i>			S	
<i>M</i>			M	
<i>N</i>			N	

2. Охарактеризуйте выравнивание двух S-белков (5 баллов)

Вопрос	Настоящая длина S-белка	С какого Met кодона начинается синтез S-белка	Вставка или потеря аминокислоты обозначена символом
Ответ			

3. Расположите в правильном порядке стадии при вакцинации (8 баллов)

Порядок	1	2	3	4	5	6	7	8
Стадия								

4. Сравните белки разных вариантов коронавируса (14 баллов)

Белок	Штамм дельта		Штамм омикрон	
	% идентичности	Число замен	% идентичности	Число замен
S				
M				
N				

Наименее консервативен белок ____, поскольку _____

5. Соотнесите эпитопы SARS-CoV-2 и их белки (12 баллов)

Эпитоп исходного вируса	1	2	3	4	5	6
Белок вируса						
Где еще есть эпитоп (C, Δ, W)						

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ЖИВОТНЫХ

Оборудование:

1. Микроскоп
2. Шестилуночный планшет – 2 шт
3. Препаровальная игла
4. Пипетка Пастера
5. Карандаши
6. Стекла с лункой
7. Листы с заданиями
8. Лист ответов

Материалы:

1. Фиксированные эмбрионы

В этом задании Вам предлагается изучить особенности эмбрионального развития хордового животного. Для этих целей используют метод визуальных наблюдений и экспериментального воздействия. В рамках практического тура в нашем кабинете Вам предлагается воспользоваться этим методом и вспомогательной информацией для описания развития имеющегося объекта.

Для того, чтобы выполнить задание, при помощи пипетки Пастера поместите зародыш на стекло с лункой в небольшом объеме жидкости и рассмотрите его под малым увеличением микроскопа. Воспользуйтесь препаровальной иглой, чтобы повернуть объект, когда будете его изучать. Избегайте высыхания объекта, так как это может привести к его деформации. После того, как закончите изучать объект, верните его в ту лунку планшета, где он находился в начале. Будьте осторожны и избегайте попадания жидкости на объектив и другие части микроскопа (за некорректное обращение с микроскопом могут быть сняты баллы).

I. Изучение морфологического строения развивающегося объекта. (32 балла)

Примерное время, затрачиваемое на выполнение задания - 25 минут.

Задание 1. Изучите содержимое лунок планшета 1 и ответьте на вопросы. Ответы внесите в лист ответов.

Задание 1.1 К какой систематической группе в типе Хордовые относятся представленные объекты? (1 балл)

Задание 1.2 Соотнесите имеющиеся у Вас объекты с соответствующими стадиями развития (даны в избытке) (10 баллов):

А – оплодотворение/зигота (0 - 45 минут после оплодотворения (mpf))

Б – гастрюляция (240 - 490 минут после оплодотворения (mpf))

В – дробление (45 – 135 минут после оплодотворения (mpf))

Г – органогенез (24 часа после оплодотворения (hpf) и далее)

Д – нейруляция (490 – 660 минут после оплодотворения (mpf))

Е – ранняя бластула (135 - 180 минут после оплодотворения (mpf))

Ж – средняя бластула (180 – 220 минут после оплодотворения (mpf))

З – поздняя бластула (220-240 минут после оплодотворения (mpf))

Задание 2.

Задание 2.1. Рассмотрите и зарисуйте зародыш, находящийся на наиболее продвинутой стадии, выберите из предложенных в таблице структур/органов те, что различимы у данного объекта, и отметьте их на сделанном Вами рисунке цифрами (1-7) (14 баллов).

1	2	3	4	5	6	7
Сердце	Глаз	Хорда	Сомиты	Слуховой пузырек	Желточный мешок	Меланоциты

Задание 2.2. Соотнесите отмеченные Вами на рисунке цифрами структуры/органы с источником происхождения (А-Ж) (даны в избытке) (7 баллов).

А	Б	В	Г	Д	Е	Ж
Нейроэктодерма	Покровная эктодерма	Осевая мезодерма	Промежуточная мезодерма	Боковая пластинка мезодермы	Энтодерма	Нервный гребень

II. Исследование роли сигнальных каскадов в развитии. (18 баллов)

Примерное время, затрачиваемое на выполнение задания - 20 минут.

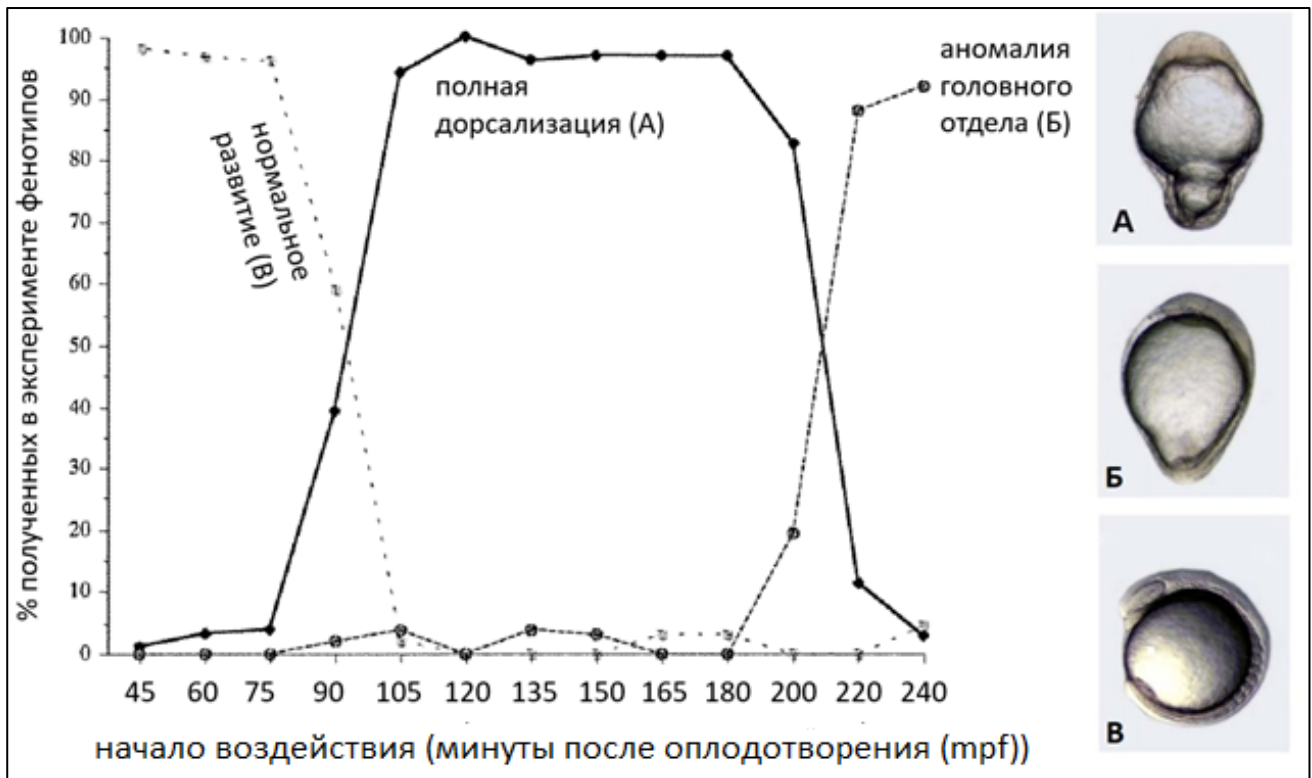
Соли лития применяются при лечении различных патологий психики, в частности биполярного расстройства. При этом основными мишенями для иона Li^+ являются киназа гликогенсинтазы (GSK3) и инозитолфосфатаза (IMPase). Несмотря на то, что лечение с использованием препаратов на основе солей лития эффективно, высокие концентрации этих соединений обладают выраженной эмбриотоксичностью. Для изучения подобных нежелательных эффектов и механизма их развития часто используют зародыши Хордовых животных.

Вам предлагается поразмышлять над результатами эксперимента. В лунке 6 планшета 2 находится зародыш, который подвергли воздействию 0,3М LiCl в течение 10 минут, после чего отмыли и культивировали в чистой воде до стадии 24 часов после оплодотворения. В лунке 5 планшета 2 находится зародыш из группы контроля.

Рассмотрите эмбрионы из экспериментальной и контрольной группы и ответьте на вопросы:

Задание 1. На дифференцировку какого зародышевого листка оказал воздействие LiCl? (2 балла)

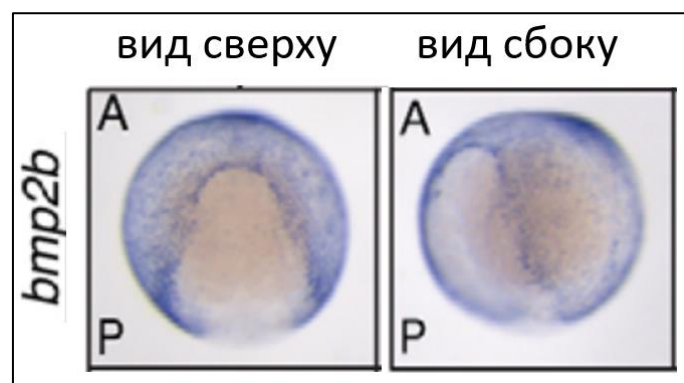
Задание 2. Рассмотрите диаграмму зависимости развития двух вариантов аномалий от момента начала воздействия LiCl на зародыши.



Задание 2.1. Какая аномалия развилась у эмбрионов из вашего эксперимента и в чем именно она проявилась? (4 балла)

Задание 2.2. Предположите, на какой стадии развития находились предоставленные Вам эмбрионы во время воздействия на них LiCl. (2 балла)

3. Известно, что в развитии зародышей важную роль играют градиенты различных молекул. В частности, при определении дорсовентральной оси зародыша ключевыми являются такие эволюционно консервативные факторы-антагонисты, как BMP и WNT, равно как и активирование или ингибирование соответствующих сигнальных каскадов. Исследователи из Института исследования рака в Лондоне изучали участие сигнального каскада BMP в формировании границ нейроэктодермы. Для этого проводили анализ эмбрионов после *in situ* гибридизации (метод мечения РНК). На иллюстрации ниже представлен паттерн экспрессии гена *bmp2b* в зародыше (синий цвет соответствует области активной экспрессии гена).



Используя имеющуюся у Вас информацию ответьте на вопросы:

Задание 3.1. На какой сигнальный каскад, из указанных выше, воздействует LiCl? (2 балла)

Задание 3.2. К активации или ингибированию этого каскада приводит воздействие LiCl? (2 балла)

Задание 3.3. Выберите верное(ые) утверждение(я) (6 баллов):

- 1 – Механизм развития эмбриотоксических эффектов при воздействии LiCl связан с активацией GSK3, приводящей к ингибированию сигнального каскада WNT;
- 2 – Развитие разных вариантов аномалий после начала воздействия ионов Li⁺ на эмбрионы объясняется тем, что на более ранних стадиях клетки всего зародыша еще обладают компетенцией к восприятию дорсализующего или вентрализирующего сигнала, в это время как на более поздних стадия судьба клеток детерминирована;
- 3 – При воздействии ионов Li⁺ на эмбрионы на стадии 64 бластомеров происходит нарушение соотношения BMP и WNT, приводящее к 100% возникновению дополнительных организаторов (зародышевых щитков) и дорсализации зародыша;
- 4 – При воздействии LiCl происходит расширение области экспрессии *bmp*;
- 5 – Для человека прием препаратов на основе лития на поздних сроках беременности (20 неделя и далее) не будет приводить к серьезным аномалиям развития эмбриона;

Шифр _____

Итого: _____ баллов

ЛИСТ ОТВЕТОВ
на задания практического тура заключительного этапа XXXVIII
Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2021-22 уч. год. 11 класс

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ЖИВОТНЫХ

I. Изучение морфологического строения развивающегося объекта.

Задание 1.1 _____

Задание 1.2

Лунка 1	Лунка 2	Лунка 3	Лунка 4	Лунка 5

Задание 2.1.

Задание 2.2.

Структура	1	2	3	4	5	6	7
Происхождение (буква)							

II. Исследование роли сигнальных каскадов в развитии.

Задание 1. _____

Задание 2.1. _____

Задание 2.2. _____

Задание 3.1. _____

Задание 3.2. _____

Задание 3.3.

	1	2	3	4	5
Верно					
Не верно					

Задания
практического тура заключительного этапа
XXXVIII Всероссийской олимпиады школьников по биологии
2021-22 уч. год. 11 класс

БИОХИМИЯ (максимум 50 баллов)
Сначала внимательно прочтите все задания!

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИПАЗЫ В ПРЕПАРАТЕ ФЕРМЕНТА

Для определения активности липазы в препарате фермента, выделенного и частично очищенного из поджелудочной железы голого землекопа, исследователи приготовили эмульсию, растворив 10 г нейтрального жира (триацилглицерида) в 1000 мл 0,1% водного раствора дезоксихолата натрия. К 500 мл этой эмульсии добавили 250 мкл полученного препарата липазы (добавленным объемом можно пренебречь) и инкубировали смесь при 25°C. Через 5 мин (Проба 1) и через 10 мин (Проба 2) из инкубационной смеси были отобраны аликвоты, в которых реакция была остановлена нагреванием. Для расчета активности фермента Вам необходимо определить концентрацию белка в исходном препарате липазы биуретовым методом и оттитровать образовавшуюся в процессе реакции кислоту в Пробе 1 и в Пробе 2.

Реактивы и оборудование. 96-луночный планшет. Стандартный раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА) с концентрацией 10 мг/мл и препарат липазы (фермент, **Ф**) в Эррендорфах в фиолетовом штативе. Аликвоты инкубационной смеси из пробы 1 (**П1**) и из пробы 2 (**П2**), биуретовый реактив (**Биурет**) и дистиллированная вода (**H₂O**) в пробирках в белом штативе. Бюретка с раствором 5 мМ NaOH, капельница с раствором фенолфталеина, 4 колбы для титрования, промывалка с водой, автоматические пипетки на 200 мкл и 1 мл и наконечниками к ним в чашке Петри.

Задание 1 (15 баллов). Заполните все пустые клетки в Таблице 1 в ЛИСТЕ ОТВЕТОВ. Объем пробы белка (БСА и липазы) в лунке перед добавлением биуретового реактива должен составлять **50 мкл**.

Номера лунок	A1, B1	A2, B2	A3, B3	A4, B4	A5, B5	A6, B6	A7, B7	A8, B8
БСА, мкг	0	100	200	300	400	500		
БСА, мкл								
Вода, мкл								
Липаза (Ф), мкл							25	50
Биуретовый реактив, мкл	200	200	200	200	200	200	200	200

В соответствии с Таблицей составьте пробы в лунках 96-луночного планшета. В лунки A1-A6 и B1-B6 вносится раствор БСА, в лунки A7, B7 и A8, B8 – раствор липазы (Ф). Специального перемешивания растворов в лунках не требуется, перемешивание происходит при добавлении 200 мкл биуретового реактива. После завершения Задания 1 поднимите руку и передайте Ваш 96-луночный планшет дежурному по лаборатории, который измерит оптическую плотность при 540 нм, а Вам выдаст распечатку с результатами измерения.

Задание 2 (15 баллов). По полученным результатам на выданном Вам ЛИСТЕ ОТВЕТОВ постройте калибровочный график зависимости оптической плотности от содержания белка в лунке планшета (для графика возьмите средние значения для двух повторов) и определите концентрацию белка в препарате фермента в мг/мл.

Задание 3 (10 баллов). Для определения активности липазы в 2 колбы для титрования внесите по 1 мл Пробы 1 (П1), а в две другие – по 1 мл Пробы 2 (П2). В каждую колбу добавьте примерно по 20 мл воды и 2-3 капли раствора фенолфталеина. Оттитруйте их **5 мМ** раствором **NaOH**. В Таблице 2 в **ЛИСТЕ ОТВЕТОВ** укажите, сколько миллилитров раствора NaOH пошло на титрование. Исходя из объема щелочи, затраченной на титрование (среднее для двух проб, с точностью до 1 знака после запятой), рассчитайте **концентрацию кислоты**, образовавшейся при гидролизе липида. Результаты внесите в **Таблицу 2 в ЛИСТЕ ОТВЕТОВ** (результат округлите до 1 знака после запятой).

Таблица №2

№ пробы	Объем раствора NaOH, мл	Среднее значение, мл	Концентрация кислоты, мМ
Проба 1			
Проба 1			
Проба 2			
Проба 2			

Задание 4 (5 баллов). Исходя из полученных результатов (при измерении концентрации белка и при титровании образовавшейся кислоты), рассчитайте активность липазы в препарате фермента в мкмольх нейтрального жира/мин на 1 мг белка.

Задание 5 (5 баллов). Навеску используемого в данной работе нейтрального жира массой 1,21 г подвергли полному щелочному гидролизу, прокипятив её в 100 мл 100 мМ NaOH (с обратным холодильником). После завершения гидролиза определили титрованием концентрацию непрореагировавшего NaOH, которая составила 55 мМ. Рассчитайте молекулярную массу данного жира.

Все ответы из Задания перенесите в ЛИСТЫ ОТВЕТОВ.

Все расчеты делайте в ЛИСТАХ ОТВЕТОВ.

Закончив работу, листы Задания и ЛИСТЫ ОТВЕТОВ (не забудьте написать Ваш шифр!) сдайте преподавателю, который примет Вашу работу.

ПРОВЕРЯЕТСЯ ТОЛЬКО ЛИСТ ОТВЕТОВ!

ЧЕРНОВИКИ НЕ ОЦЕНИВАЮТСЯ!!!

ЛИСТ ОТВЕТОВ-1
11 класс. БИОХИМИЯ

Задание 1. Таблица №1 (5 баллов)

Номера лунок	A1, B1	A2, B2	A3, B3	A4, B4	A5, B5	A6, B6	A7, B7	A8, B8
БСА, мкг	0	100	200	300	400	500		
БСА, мкл								
Вода, мкл								
Липаза (Ф), мкл							25	50
Биуретовый реактив, мкл	200	200	200	200	200	200	200	200

Распечатка с ридера (10 баллов) _____

Задание 3. Таблица №2 (10 баллов)

№ пробы	Объем раствора NaOH, мл	Среднее значение, мл	Концентрация кислоты, мМ
Проба 1			
Проба 1			
Проба 2			
Проба 2			

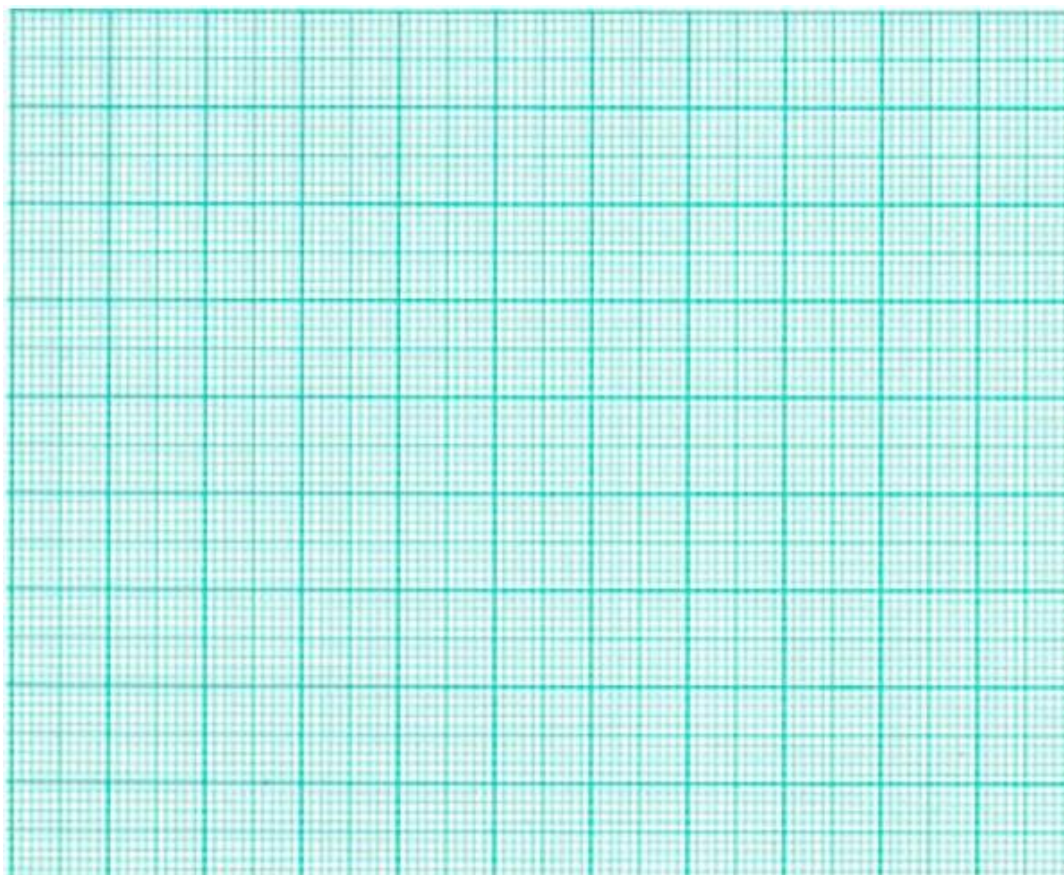
Задание 4. Активность липазы в препарате фермента равна _____ мкмоль нейтрального жира/мин на 1 мг белка (5 баллов).

Задание 5. Молекулярная масса нейтрального жира равна _____ (5 баллов).

МЕСТО ДЛЯ РАСЧЕТОВ

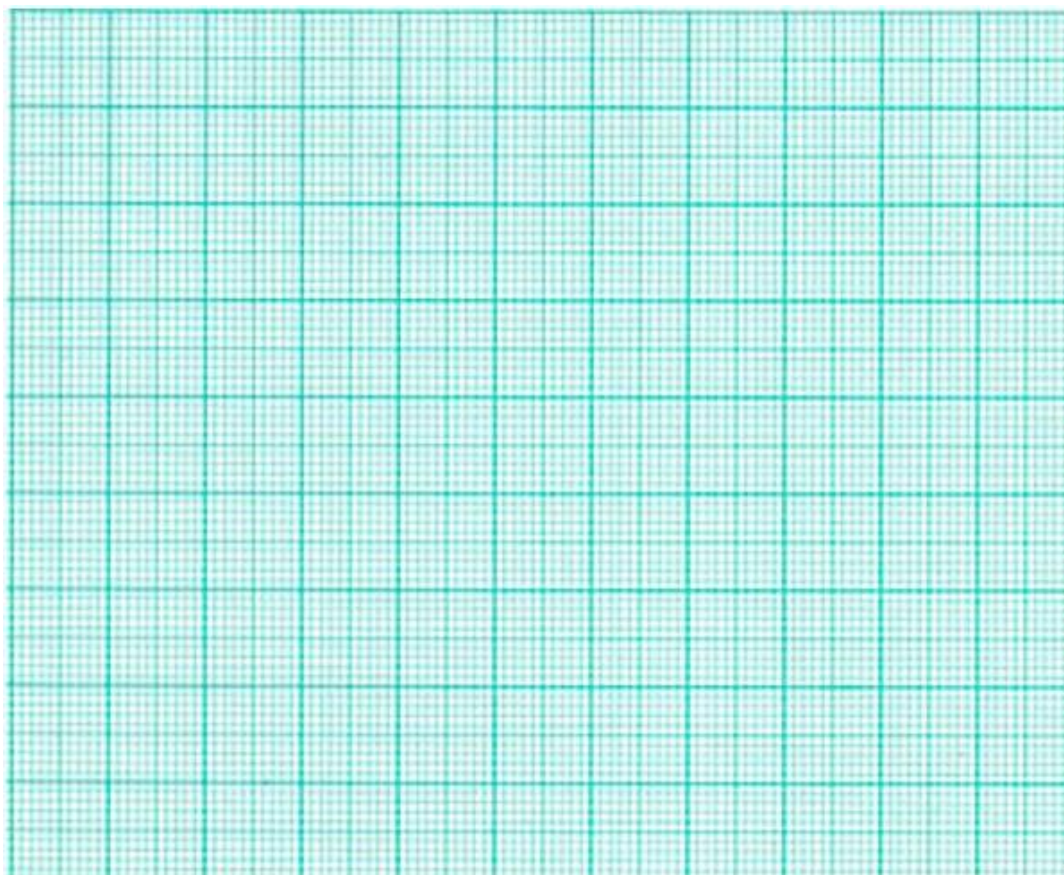
ЛИСТ ОТВЕТОВ-2а
11 класс, БИОХИМИЯ**Задание 2. Результаты измерения оптической плотности при 540 нм (15 баллов)**

Номера лунок	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
Оптическая плотность	0,059	0,134	0,212	0,284	0,362	0,438	0,192	0,329
Номера лунок	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
Оптическая плотность	0,061	0,136	0,208	0,286	0,358	0,432	0,194	0,323

Калибровочный график зависимости оптической плотности от содержания белка в пробе (10 баллов)**Концентрация белка в препарате фермента составляет _____ мг/мл (5 баллов)****МЕСТО ДЛЯ РАСЧЕТОВ**

ЛИСТ ОТВЕТОВ-26
11 класс, БИОХИМИЯ**Задание 2. Результаты измерения оптической плотности при 540 нм**

Номера лунок	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
Оптическая плотность	0,059	0,134	0,212	0,284	0,362	0,438	0,227	0,387
Номера лунок	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
Оптическая плотность	0,061	0,136	0,208	0,286	0,358	0,432	0,223	0,393

Калибровочный график зависимости оптической плотности от содержания белка в пробе (10 баллов)**Концентрация белка в препарате фермента составляет _____ мг/мл (5 баллов)****МЕСТО ДЛЯ РАСЧЕТОВ**

Задания практического тура заключительного этапа XXXVIII Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2021-22 уч. год. 11 класс

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Оборудование: спиртовой экстракт листьев петрушки (*Petroselinum crispum*), штатив с четырьмя пробирками, пипетки Пастера, сухой порошок NaOH, 0,1н HCl, ёмкость с уайт-спиритом, ёмкость с этиловым спиртом, ёмкость с водой, маркер по стеклу.

Часть I. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПИГМЕНТОВ ЗЕЛЕННОГО ЛИСТА

Задание 1. (11 баллов)

1. У Вас в штативе находятся 4 пробирки. В одной из пробирок 5-6 мл спиртовой вытяжки листьев петрушки. Обозначьте эту пробирку номером 1. Пронумеруйте остальные пробирки номерами 2, 3, 4.
2. Из пробирки №1 чистой пипеткой Пастера отберите в пустую пробирку №2 2 мл спиртовой вытяжки. Долейте в пробирку №2 2 мл уайт-спирита и добавьте 1-2 капли воды. Тщательно перемешайте содержимое пробирки. Дайте содержимому пробирки отстояться. Внимательно изучите получившиеся слои. Как Вы думаете, какой растворитель находится в верхнем слое, а какой в нижнем? Какие группы пигментов содержатся в каждом из слоёв? Выберите пигменты из списка (список может быть избыточным): **А.** Хлорофиллы; **Б.** Каротины; **В.** Ксантофиллы. Ответы занесите в таблицу 1 в листе ответов.
3. Из пробирки №2 чистой пипеткой Пастера аккуратно отберите верхний слой, поместите его в пустую пробирку №3. Добавьте в нее 1,5-2 мл этилового спирта и 1-2 капли воды. После этого добавьте в ту же пробирку NaOH на кончике шпателя. Тщательно перемешайте содержимое пробирки. По окончании перемешивания дайте содержимому пробирки отстояться. Внимательно изучите получившиеся слои. Как Вы думаете, какой растворитель находится в верхнем слое, а какой в нижнем? Какие группы пигментов содержатся в каждом из слоёв? Выберите пигменты из списка (список может быть избыточным): **А.** Окрашенный продукт реакции хлорофиллов со щёлочью; **Б.** Каротины; **В.** Ксантофиллы. Ответы на занесите в таблицу 1 в листе ответов. В течение практического тура к Вам подойдет проверяющий и оценит выполнение Вами экспериментальной части.

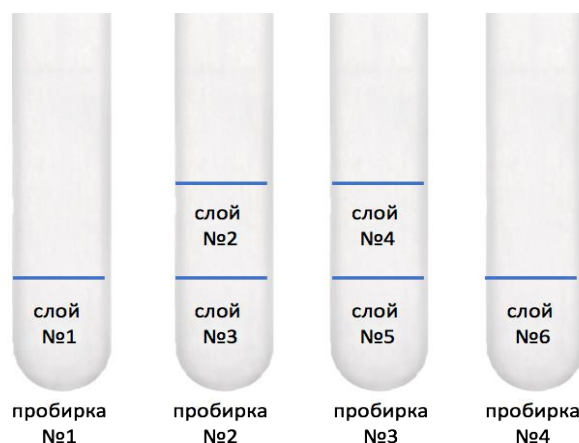
Таблица 1. Пигментный состав слоёв в пробирках 2 и 3 (см. в листе ответов)

4. Из пробирки №1 пипеткой Пастера отберите 2 мл спиртовой вытяжки пигментов в пустую пробирку №4. Долейте в пробирку №4 0,5-1 мл 0,1н HCl. Внимательно рассмотрите получившийся раствор. Подумайте, какие изменения произошли под действием кислоты.

Задание 2. (12 баллов)

После выполнения задания 1 у Вас в штативе оказалось 4 пробирки с разнообразным содержимым (см. рис.1). В пробирках 1 и 4 только один слой жидкости, а в пробирках 2 и 3 по два слоя.

Рисунок 1. Нумерация слоёв во всех пробирках после выполнения задания 1.



На практикуме по физиологии растений студенты проводили такой же эксперимент. Они записали спектры поглощения слоёв из некоторых пробирок. Соотнесите каждый спектр поглощения со слоем жидкости, из которого он был получен. Имейте в виду, что студенты забыли записать спектр поглощения продукта взаимодействия хлорофилла со щелочью. Все спектры получены из разных пробирок. Также известно, что спектр 1 соответствует одному из слоев из пробирки 2. Свои ответы занесите в таблицу 2 в листе ответов.

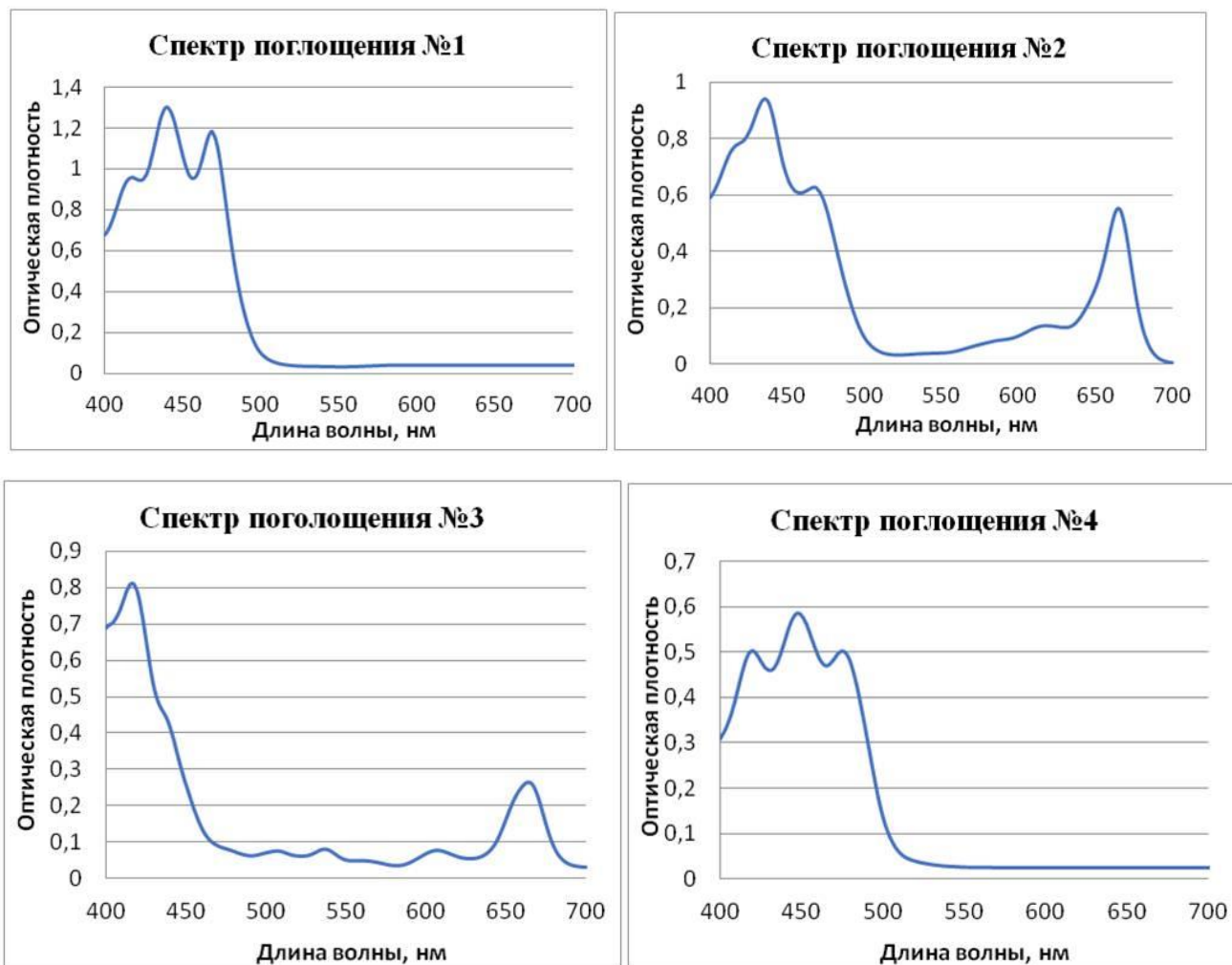


Таблица 2. Спектры поглощения слоев в пробирках (см. в листе ответов)

Часть II. АККЛИМАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К УСЛОВИЯМ ОСВЕЩЕНИЯ

Свет для растений является одним из важнейших абиотических факторов среды. Фотосинтетический аппарат растений способен быстро и эффективно менять свою структуру и функционирование при изменении интенсивности света или его спектрального состава. Светособирающие комплексы играют важную роль в быстрой акклимации. Известно, что хлорофилл *b* ассоциирован только со светособирающими комплексами (ССК, они же ЛНС) и не содержится во внутренних антеннах и на коровых белках фотосистем. Согласно ряду исследований, количество функционирующих светособирающих комплексов ССК II (ЛНСII) прямо пропорционально количеству хлорофилла *b*. Взаимные превращения хлорофилла *a* и *b* называют циклом хлорофилла (рисунок 2).

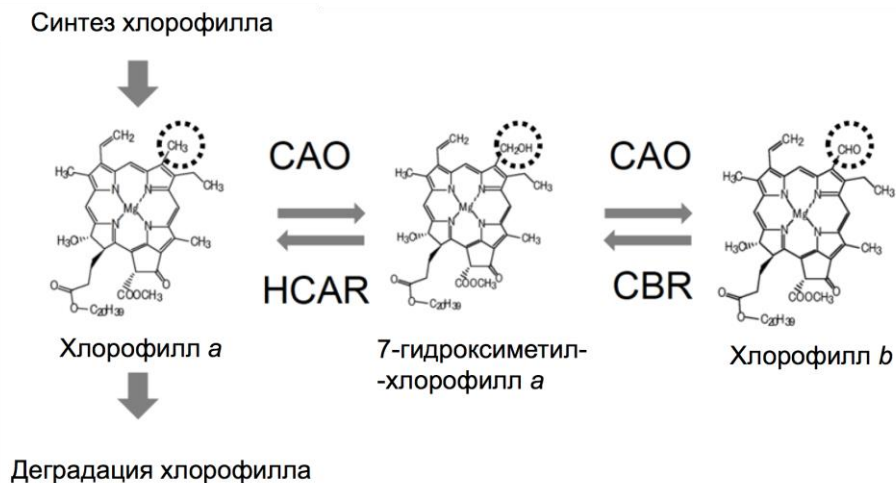


Рисунок 2. Цикл хлорофилла. CAO – оксигеназа хлорофилла *a*, CBR – хлорофилл *b*-редуктаза, HCAR – гидроксиметилхлорофилл-редуктаза.

Задание 3. (4 балла)

Ниже в таблице 3 приведены результаты определения содержания хлорофиллов *a* и *b* у *Veronica montana* L. в центральном Уэльсе, занимающей различные местообитания, контрастные по условиям освещения – от открытых песчаных дюн до тенистых лесных долин. В столбце R : FR дано соотношение красных (680 нм) и дальних красных квантов (730 нм) солнечного излучения для каждой из точек сбора материала.

Таблица 3. Зависимость отношения хлорофиллов *a* и *b* (Chl *a* : Chl *b*) от спектрального состава света (R : FR) в различных местообитаниях

Номер местообитания	R : FR	Chl <i>a</i> : Chl <i>b</i>
1	1,04	1,80
2	1,04	1,63
3	0,76	1,35
4	0,67	1,01
5	0,39	0,80

Изучите таблицу 3. На основе приведенных данных и Ваших знаний выберите верные(ое) утверждения(е). Ответ внесите в лист ответов.

1. Чем выше отношение R:FR, тем больше затенение, создаваемое растениями более верхних ярусов.
2. Более высокая доля хлорофилла *b* соответствует растениям, обитающим в условиях затенения.
3. Местообитания 4 и 5 относятся к открытым пространствам.
4. Фоторецепторы фитохромы способны передавать сигнал об изменении соотношения красного и дальнего красного света.
5. За рецепцию красного и дальнего красного света отвечают фоторецепторы криптохромы.

Задание 4. (12 баллов)

Студенты на практикуме определяли содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях двух растений *Veronica montana* L., которые росли в разных условиях освещения - одно на открытом месте, а другое в лесу. Для этого они взяли образцы листьев, взвесили их, растерли в 80% ацетоне с добавлением CaCO₃ для предотвращения феофитинизации хлорофилла и отфильтровали. Объем отфильтрованного раствора довели до 10 мл 80%-ным ацетоном. Далее они определили оптическую плотность раствора (D) при 646 и 663 нм, при этом используя 80%-ный ацетон для калибровки спектрофотометра.

1. (6 баллов) Используя формулу Лихтенталера для определения концентрации хлорофиллов *a* и *b* в 80%-ном ацетоне и данные о массах исходных образцов листьев, рассчитайте концентрации хлорофиллов *a* и *b* для каждого из растений, а также отношение концентрации хлорофилла *a* к концентрации хлорофилла *b* (*a/b*). Заполните таблицу 4 в листе ответов. **Все вычисления округляйте до 3 знака после запятой. При расчете отношения используйте данные, внесенные Вами в таблицу.**

Формула Лихтенталера для 80%-ного ацетона

$$C_a = 12,21 \times D_{663} - 2,81 \times D_{646}$$

$$C_b = 20,13 \times D_{646} - 5,03 \times D_{663},$$

где C - концентрации соответствующих пигментов в растворе, используемом для определения оптической плотности (мг/л). D - оптическая плотность при указанных длинах волн.

Таблица 4. Расчет содержания хлорофиллов *a* и *b* в образцах из листьев двух растений *Veronica montana* L., обитавших в разных условиях освещения (см. в листе ответов)

2. (2 балла) Определите, какое из растений росло на открытой местности, а какое - в лесу. Ответы внесите в лист ответов.

3. (4 балла) Какие адаптивные преимущества дает изменение отношения хлорофиллов *a* и *b* при изменении условий освещения? Дайте максимально подробное объяснение. Ответ внесите в лист ответов.

Задание 5. (5 баллов)

Рассмотрите результаты эксперимента, представленные на диаграмме ниже. Ws wt – дикий тип арабидопсиса (экотип Wassilevskaya), *phyA-5* – рецессивный мутант арабидопсиса по фитохрому А, *phyB-10* – рецессивный мутант арабидопсиса по фитохрому В. Отдельные листья 6-недельных растений затеняли на 6 дней, создавая определенную интенсивность света, после чего листья собирали и проводили определение содержания суммы хлорофиллов *a* и *b* в них. Под разными буквами (a – d) обозначены выборки, продемонстрировавшие статистически значимые различия.

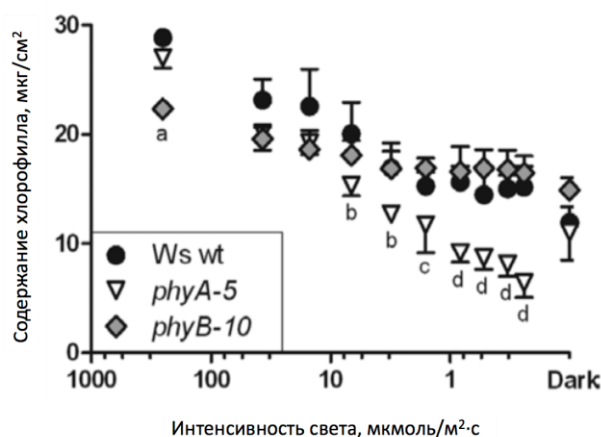


Рисунок 3. Зависимость содержания хлорофилла от интенсивности света.

Выберите верное(ые) утверждение(я). Ответ внесите в лист ответов.

- 1) Количество хлорофилла у арабидопсиса в условиях данного эксперимента не зависит от интенсивности освещения.
- 2) Количество хлорофилла регулируется фитохромом В при низких, а фитохромом А при высоких значениях интенсивности света.
- 3) Количество хлорофилла регулируется только фитохромом А при всех значениях интенсивности света.
- 4) Количество хлорофилла регулируется только фитохромом В при всех значениях интенсивности света.
- 5) Количество хлорофилла регулируется фитохромом А при низких значениях интенсивности света.

Задание 6. (6 баллов)

Далее в эксперименте, описанном в задании 5, провели анализ экспрессии генов, участвующих в регуляции содержания хлорофиллов (синтез/деградация/превращения хлорофиллов). Перед Вами тепловая карта отношения уровня экспрессии генов у мутанта по фитохромому А к уровню экспрессии генов у растения дикого типа. Гены перечислены по вертикали. По горизонтали указано количество дней, в течение которых растения были затенены. Справа на иллюстрации цветовая шкала: синий указывает, что отношение уровней экспрессии низкое, красный - что отношение уровней экспрессии высокое. Выберите верные утверждения.

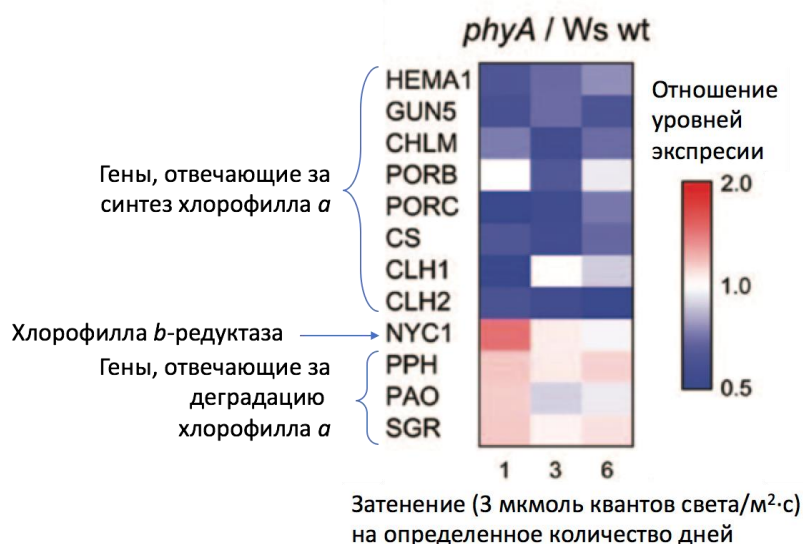


Рисунок 4. Тепловая карта отношения уровня экспрессии генов у мутанта по фитохромому А к уровню экспрессии генов у растения дикого типа.

Выберите верные(ое) утверждения(е). Ответ внесите в лист ответов.

- 1) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения ингибирует превращение хлорофилла *b* в хлорофилл *a*.
- 2) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения стимулирует накопление только хлорофилла *b*.
- 3) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения стимулирует деградацию хлорофилла *a*.
- 4) Фитохром А в начале 6-дневного периода слабого освещения ингибирует синтез хлорофилла *a*.
- 5) Фитохром А в конце 6-дневного периода слабого освещения перестает ингибировать превращение хлорофилла *b* в хлорофилл *a*.

ЛИСТ ОТВЕТОВ
на задания практического тура заключительного этапа XXXVIII
Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2021-22 уч. год. 11 класс

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Задание 1 (11 баллов)

Таблица 1. Пигментный состав слоёв в пробирках №2 и №3

	Пробирка №2 (буквенный шифр группы пигментов)	Растворитель	Пробирка №3 (буквенный шифр группы пигментов)	Растворитель
Верхний слой				
Нижний слой				

Оценка выполнения эксперимента (3 балла): _____

Задание 2 (12 баллов)

Таблица 2. Спектры поглощения слоев в пробирках

Спектр №1	Спектр №2	Спектр №3	Спектр №4
Слой № _____	Слой № _____	Слой № _____	Слой № _____

Задание 3 (4 балла)

Номер(а) верного(ых) утверждения(ий): _____

Задание 4 (12 баллов)

- 1. Таблица 4.** Расчет содержания хлорофиллов *a* и *b* в образцах из листьев двух растений *Veronica montana* L., обитавших в разных условиях освещения (6 баллов)

	Растение 1	Растение 2
D_{646}	0,381	0,380
D_{663}	0,807	0,558
концентрация хлорофилла <i>a</i> , C_a , мг/л		
концентрация хлорофилла <i>b</i> , C_b , мг/л		
<i>a/b</i>		

2. Определите, какое из растений росло на открытой местности, а какое - в лесу. (2 балла)

Местообитание растения 1 _____

Местообитание растения 2 _____

3. Какие адаптивные преимущества дает изменение отношения хлорофиллов *a* и *b* при изменении условий освещения? (4 балла)

Задание 5 (5 баллов)

Номер(а) верного(ых) утверждения(ий): _____

Задание 6 (6 баллов)

Номер(а) верного(ых) утверждения(ий): _____