

**Олимпиадные задания третьего этапа республиканской олимпиады
по учебному предмету «Биология» в 2018-2019 учебном году**

Второй практический тур X-X1 классы

**КАБИНЕТ № 1 ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ
(25 баллов)**

Продолжительность выполнения задания - 1 час 30 минут

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ (12,5 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются: лист хлорофитума, Экстракт, портативный фонарик (может быть один на одного или нескольких человек), капилляр, ножницы, простой карандаш, линейка, пинцет, фильтровальная бумага, фольга, чашка Петри, шприц, пробирка стеклянная, пипетка Пастера, лист черной бумаги, этанол, петролейный эфир, вода.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Задания нужно выполнять начиная с первого. В течение первого задания будет 20-ти минутный перерыв, во время которого необходимо выполнить задание №2.

Все оборудование после выполнения заданий должно быть оставлено в исходном состоянии.

Задание 1 (3 балла).

С помощью ножниц разрежьте лист хлорофитума на 20-24 квадратных кусочка размером, примерно, 5x5 мм.

Снимите с 2-х шприцев поршни и отложите их в сторону. Поместите 10-12 кусочков листьев в один шприц, а остальные - в другой шприц.

Далее, закрыв пальцем отверстие, на которое одевается игла, налейте в первый шприц с помощью пипетки Пастера 8-10 мл воды. Поместите аккуратно поршень в шприц, стараясь не вылить из него воду. Установите шприц в вертикальном положении (отверстием, на которое одевается игла, вверх) и задвиньте поршень, вытеснив из него весь воздух (вода вытекать не должна!). Далее большим пальцем левой руки плотно закройте отверстие шприца для иглы и правой рукой аккуратно отведите поршень вниз. Удерживайте шприц в данном положении, примерно, 30 секунд. После этого отпустите большой палец левой руки, чтобы в шприц вошел воздух и вновь задвиньте поршень в шприц, стараясь не выливать из него воду. Повторите данную манипуляцию 3 раза.

Процедуру проводите над разложенной салфеткой и старайтесь не разбрызгивать капли по всему столу.

В конце процедуры отведите поршень вниз, встряхните шприц так чтобы все кусочки листа находились в воде, а не прилипали к внутренним стенкам и поставьте шприц вертикально на основание его поршня на самое освещенное место на вашем столе. Большая часть кусочков листа должна опуститься на дно шприца. Если опустилась меньшая часть из них или только половина, то всю процедуру с отведением поршня при закрытом отверстии для иглы следует повторить.

Проделайте такие же действия со вторым шприцем.

Далее оберните второй шприц фольгой таким образом, чтобы полностью закрыть кусочки листьев и поставьте его таким же образом рядом с первым шприцем.

Через 20 минут снимите фольгу со второго шприца и сравните состояние кусочков листа в первом и во втором шприце.

Сделайте выводы, исходя из результатов проведенного эксперимента, и ответьте лаконично на вопросы ниже, вписав их в таблицу.

А. Какие изменения произошли с кусочками листьев в первом шприце и почему?

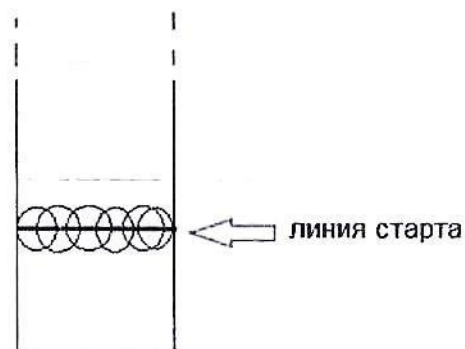
Б. Почему во втором шприце таких изменений не произошло?

В. Напишите уравнение реакции химического процесса, в результате которого произошли особые события в клетках кусочков листьев хлорофитума, которые находились в первом шприце и с ними произошли видимые изменения.

А	
Б	
В	

Задание 2 (4 балла). Разделение и анализ пигментов листа методом бумажной хроматографии.

С помощью ножниц вырежьте из фильтровальной бумаги полоску шириной 1 см и длиной, соответствующей высоте пробирки, подписанной как «Петролейный эфир», а также не превышающей внутренний диаметр чашки Петри. На одном из концов полоски нарисуйте карандашом горизонтальную стартовую линию на расстоянии 1,5 см от края.



Опустите стеклянный капилляр в Экстракт,

набрав в него небольшое количество вытяжки пигментов. Нанесите на стартовую линию Экстракт путем точечных прикосаний капилляра к бумаге с шагом в 2-3 мм по всей длине линии старта (см. рисунок).

Старайтесь не допускать образования слишком больших пятен пигментов.

Бумагу подсушите на воздухе и повторите процедуру 4-5 раз.

Фильтровальную бумагу с нанесенными на нее пигментами подсушите и **быстро поместите в пробирку**, подписанную «Петролейный эфир».

Плотно закройте пробирку крышкой! Нижний конец бумаги должен касаться элюента, а стартовая линия с нанесенными на нее пигментами должна быть выше него.

Внимание! Открывать надолго пробирку с петролейным эфиром нельзя!

После того как элюент поднялся на 5-7 см и произошло разделение пигментов необходимо **очень быстро** с помощью пинцета достать хроматографическую бумагу, отметить на ней линию финиша и быстро положить в чашку Петри. **Пробирку и чашку Петри быстро закрыть!** Чашку Петри положить на прозрачный файл с вложенным в него листом белой бумаги. Далее необходимо внимательно рассмотреть разделившиеся

пигменты и, прикладывая линейку к стеклу чашки Петри, рассчитать для каждого из пигментов значение R_f .

Заполните таблицу ниже.

По окончании работы попросить дежурного преподавателя прикрепить хроматографическую бумагу с пятнами пигментов к работе.

№ пятна	Цвет пятна	Название пигмента	Значение R_f	Место прикрепления хроматографической бумаги с пятнами пигментов
1				
2				
3				
4				
Оценка преподавателя за качество проведенного разделения пигментов. (Max = 1 балл)				

Задание 3 (5,5 балла).

Налейте с помощью пипетки Пастера 1,5 мл Экстракта в стеклянную пробирку. Промойте пипетку Пастера в воде и прилейте к экстракту 2,5 мл этанола, встряхните пробирку. Экстракт должен быть ярко-зеленого цвета. Поместите сразу за пробиркой с экстрактом лист плотной черной бумаги. Пробирку и лист бумаги одновременно вы должны удерживать левой рукой. Проще это делать, держа пробирку сверху большим и указательным пальцами, а лист бумаги - между удерживаемой пробиркой и остальными тремя пальцами. Далее правой рукой подведите включенный портативный фонарик непосредственно к самой пробирке с экстрактом. Держите пробирку с листом бумаги на весу перед своими глазами, а свет фонарика направляйте справа на экстракт таким образом, **чтобы вы смогли в отраженном свете увидеть изменение цвета экстракта!** Для лучшего рассмотрения наблюдаемого явления фонарик можно двигать вверх-вниз вдоль самой пробирки, а также двигать всю систему в руках вправо и влево.

Сделайте выводы, исходя из результатов проведенного эксперимента, и ответьте на вопросы ниже, вписав их в таблицу.

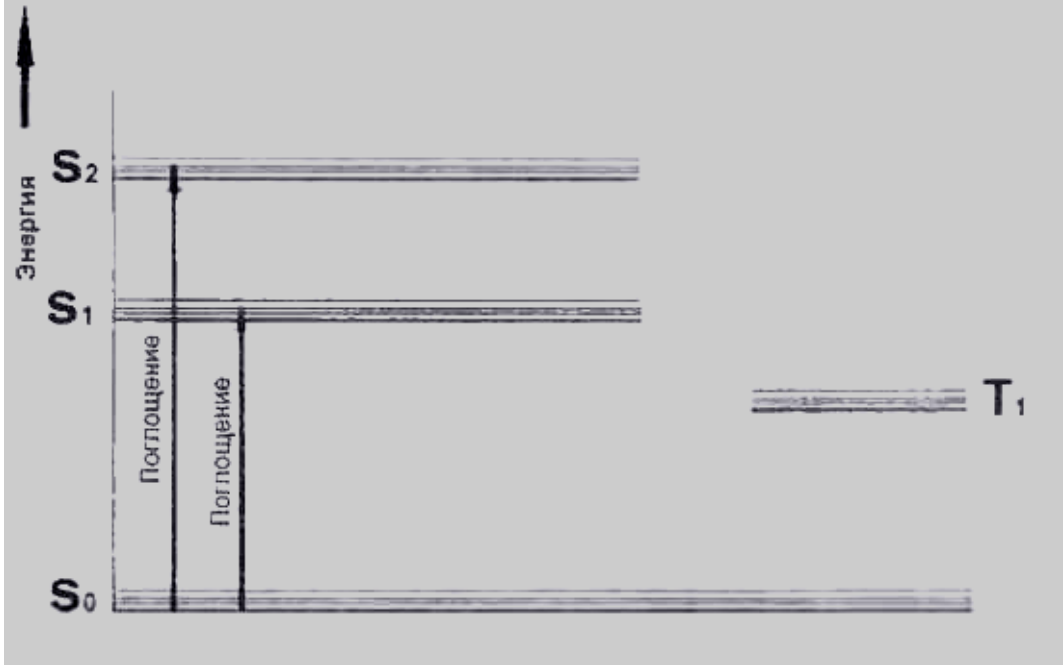
А. Какой цвет приобрел экстракт в отраженном свете?

Б. Как называется наблюдаемое вами явление?

В. Нарисуйте стрелками на рисунке, который приведен ниже, возможные варианты электронных переходов при снятии электронного возбуждения молекулы

пигмента после поглощения квантов света, включая электронный переход при наблюдаемом вами явлении.

Г. Наблюдаемое вами явление в клетках растений в норме происходит постоянно на определенном фоновом уровне. Каким образом будет изменяться данный показатель в стрессовых условиях, например, при избыточном освещении?

А (0,5 балла)	
Б (1балл)	
В(3балла)	 <p>The diagram illustrates energy levels for a pigment. The vertical axis is labeled 'Энергия' (Energy) with an upward-pointing arrow. Three energy levels are marked on the left: S_0 at the bottom, S_1 in the middle, and S_2 at the top. Two vertical arrows labeled 'Поглощение' (Absorption) indicate transitions from S_0 to S_1 and from S_0 to S_2. On the right side, there is a set of energy levels labeled T_1.</p>
Г (1балл)	

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ (12,5 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются линейки и доступны для работы напольные весы.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Выполните отжимания от стены или от стола правой рукой (или левой, если вы левша), а левой ощупайте мышцы своей правой верхней конечности и груди во время этого упражнения.

Ответьте в таблице на вопросы:



Вопрос	Ответ
<p>Определите основные мышцы верхней конечности и груди, которые участвуют в отжимании как показано на рисунке?</p>	
<p>Какая мышца выполняет максимальную работу по перемещению тела в нижней точке?</p>	<ul style="list-style-type: none"> •
<p>Какая мышца выполняет максимальную работу по перемещению тела, приближаясь к верхней точке?</p>	
<p>Какую работу совершает человек при одном отжимании от пола, если он перемещает 70% своего веса (используйте свой вес, напр. 50 кг) на высоту своего плеча см?</p>	
<p>Сколько грамм жира израсходу-ется в организме на одно отжима-ние от пола, если КПД этой работы равен 20%? Справка: Энергетическая ценность жира 9,3 ккал/г (37 кДж/г)</p>	
<p>Зарисуйте схематично, как Вы определили длину своего плеча от акромиального до локтевого отростка</p>	

КАБИНЕТ № 2 БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ
(25 баллов)

Продолжительность выполнения задания - 1 час 30 минут

БИОХИМИЯ (12,5 баллов)

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются:

Лист А-4 с напечатанной таблицей, вложенный в прозрачный файл.

Штатив с 12 подписанными пробирками, содержащие по 1 мл различных растворов.

Пластиковая пипетка для каждой пробирки.

8 зубочисток для перемешивания.

Салфетки.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Все оборудование после выполнения заданий должно быть оставлено в исходном состоянии.

Задание 1 (на выполнение отводится 15 минут) 3 балла

В таблице приведены физико-химические свойства 4 белков, которые относятся к их четвертичной структуре (если таковая имеется). На основании приведенных данных (при условии, что α и β субъединицы гемоглобина имеют одинаковую массу), заполните таблицу для ответов, вписав только буквенное обозначение белка. (0,3 балла за каждое правильное соответствие)

Белок	Четвертичная структура	Молекулярная масса, кДа	pI
А. α -Интерферон	Мономер (α_1)	19,0	8,4
В. Гемоглобин	Гетеротетрамер ($\alpha_2\beta_2$)	64,5	7,0
С. Сывороточный альбумин человека	Мономер (α_1)	66,4	4,7
Д. Гексокиназа млекопитающих	Гомодимер (α_2)	100,0	5,25

Условие	Белок
---------	-------

1. При рН окружающей среды равной 7,0 отрицательно заряженным будет белок:	
2. При рН окружающей среды равной 7,0 положительно заряженным будет белок:	
3. При проведении гель-фильтрации в нативных условиях первым с колонки выйдет белок:	
4. При проведении гель-фильтрации в нативных условиях последним с колонки выйдет белок:	
5. При проведении гель-фильтрации в денатурирующих условиях (в присутствии 8 М мочевины) первым с колонки выйдет белок:	
6. При проведении гель-фильтрации в денатурирующих условиях (в присутствии 8 М мочевины) последним с колонки выйдет белок:	
7. При проведении нативного электрофореза в ПААГ (полиакриамидном геле) ниже всех в геле будет располагаться белок:	
8. При проведении нативного электрофореза в ПААГ (полиакриамидном геле) выше всех в геле будет располагаться белок:	
9. При проведении SDS-электрофореза в ПААГ (полиакриамидном геле) ниже всех в геле будет располагаться белок:	
10. При проведении SDS-электрофореза в ПААГ (полиакриамидном геле) выше всех в геле будет располагаться белок:	

Задание 2 (на выполнение отводится 10 минут) 1,5 балла

Помимо 20 стандартных протеиногенных аминокислот в живых организмах обнаружено более 200 других, которые в основном являются либо их производными, либо промежуточными метаболитами. И хоть большинству из них не отведена такая важная роль как построение молекулы белка, тем не менее, выполняют значимые функции. Часть из них придает белкам или другим соединениям новые свойства, другая часть сама становится новыми биологически/физиологически активными соединениями.

Заполните таблицу для ответов, подобрав правильное соответствие аминокислоты и ее роли (в таблицу для ответов впишите только буквенное обозначение). (0,15 балла за каждое правильное соответствие)

Аминокислота (производное)	Выполняемая роль
1. 3,3',5-Трийодтиронин	А. входит в структуру коллагена
2. β-Аланин	В. входит в состав конъюгатов желчных кислот
3. N-Формилметионин	С. входит в состав клеточной стенки бактерий
4. γ-Карбоксиглутамат	Д. входит в структуру активной гликоген фосфорилазы а
5. 4-Гидроксипролин	Е. входит в структуру гистонов
6. Селеноцистеин	Ф. входит в структуру тироглобулина
7. Фосфосерин	Г. составная часть пантотеновой к-ты и СоА
8. D-Аланин	Н. начальная аминокислота при биосинтезе белка у бактерий
9. Таурин	И. входит в структуру глутатионпероксидазы

Таблица для ответов (впишите только буквенное обозначение)

Аминокислота	Выполняемая роль
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Задание 3 (на выполнение отводится 20 минут) 8 баллов

Дважды лауреат Мобилевской премии профессор Лайнус Колинг решил изучить самый распространенный марсианский белок - марсеин, обладающий уникальными свойствами (рI белка равно 9, обусловленное высоким содержанием аргинина (до 40 %), молекулярная масса равна 33 кДа, несет гексагистиридиновый хвост на N-конце молекулы). Для этих целей белок был проэкспрессирован в земных лабораторных условиях в клетках растения рода Marsilea. Но, что бы изучить свойства и структуру целевого белка, его необходимо получить в чистом виде. Поэтому исследователем была проведена очистка марсеина от примесных соединений (нуклеиновых кислот, углеводных компонентов, низкомолекулярных соединений и солей, а так же других белков), присутствующих в источнике выделения. Схема очистки приведена в следующей таблице, и включала 4 этапа.

Этап очистки	Хроматографический профиль
1. На первом этапе было проведено обессоливание (удаление солей и низкомолекулярных соединений с целью снижения ионной силы раствора) полученного образца на колонке с сефадексом G-25. Были получены 2 фракции (1А и 1Б): одна содержала низкомолекулярные соединения, другая — высокомолекулярные. Профиль данной хроматографии представлен на рисунке 1.	<p>Рисунок 1 – Результаты хроматографии на сефадексе G-25</p>

2. На следующем этапе были разделены марсеин (и примесные белки) с другими нейтральными соединениями от нуклеиновых кислот на колонке с анионообменным сорбентом ДЕАЕ-целлюлозой при рН 7,4. Были получены 2 фракции (2А и 2Б): фракция проскока (не связавшаяся с сорбентом) и фракция элюции, одна содержала в основном нуклеиновые кислоты, другая - часть белков и нейтральные соединения. Профиль данной хроматографии представлен на рисунке 2.

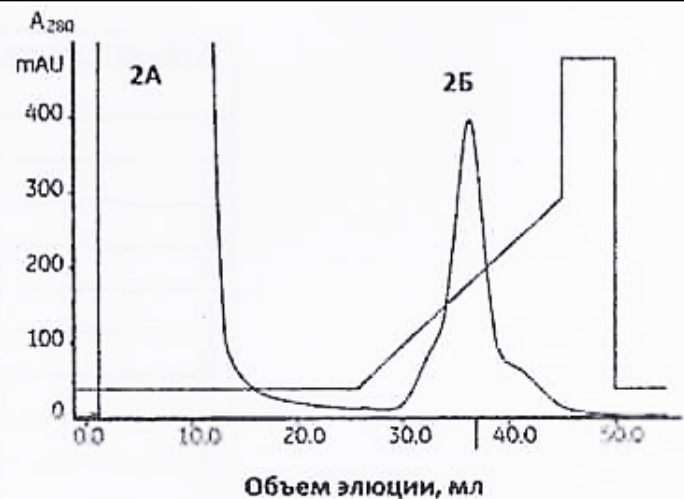


Рисунок 2 – Результаты анионообменной хроматографии на ДЕАЕ-целлюлозе.

3. На третьем этапе было проведено разделение оставшихся белков (в том числе и целевого) от очень высокомолекулярных (100010000 кДа) нейтральных соединений, в частности от молекул крахмала. Для этих целей была проведена гель-фильтрационная хроматография на сефадексе G-100. Были получены 2 фракции (3А и 3Б): одна содержала более низкомолекулярные соединения, другая - более высокомолекулярные. Профиль данной хроматографии представлен на рисунке 3.

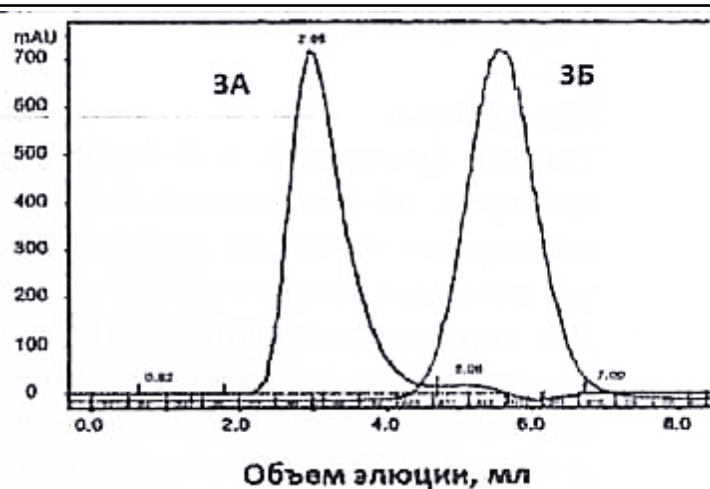


Рисунок 3 – Результаты хроматографии на сефадексе G-100

4. На заключительном этапе работы была проведена очистка целевого белка от примесных методом аффинной хроматографии на колонке с Ni-сефарозой. Данный сорбент высоко специфичен к связыванию остатков гистидина, особенно собранных в гексагистидиновый хвост (His6). Были получены 2 фракции (4А и 4Б): фракция проскока и элюции, одна содержала целевой белок марсеин, другая - оставшиеся примесные белки. Профиль данной хроматографии представлен на рисунке 4.

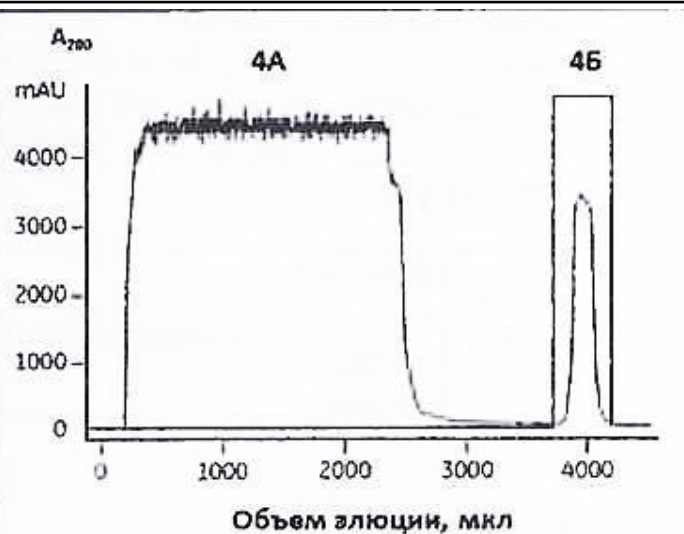


Рисунок 4 – Результаты хроматографии на Ni-сефарозе

Однако ассистент профессора Роберт Пори перепутал фракции А и Б на каждом этапе, оставленные для дальнейшего электрофоретического изучения. В связи с этим профессору Колингу пришлось обратиться к известному биохимическому детективу Ш. Фолмсу. Ему удалось определить, где находится соответствующая схеме выделения фракция, используя следующие имеющиеся в лаборатории реагенты: раствор нитрата серебра, дифениламина, раствор Люголя и реагент Сакагучи. Для него это было элементарно! А для вас?

Ход работы:

Так как фракции А и Б были перепутаны между собой на каждом этапе, пробирки, их содержащие были условно обозначены как X и Y. Например, для первого этапа они промаркированы как 1X и 1Y, для второго 2X и 2Y, и так далее для каждого этапа.

Для определения принадлежности фракции к А или Б, из пробирок 1X и 1Y перенесите по 1-2 капли раствора в соответствующие ячейки таблицы для капельных реакций. Аналогично по 1-2 капли из пробирок 2X и 2Y, 3X и 3Y и 4X и 4Y. Далее, в первый ряд к каплям 1А и 1Б внесите по 1-2 капли раствора нитрата серебра, во второй ряд - 1 -2 капли раствора дифениламина, реагента, специфично взаимодействующим с рибозой и дезоксирибозой с окрашиванием в синий цвет, в третий ряд столько же раствора Люголя, и в четвертый по 1-2 капли реагента Сакагучи, реагента на гуаниновую группировку остатка аргинина, дающее малиновое окрашивание.

На основании полученных “цветных” результатов впишите в таблицу ответов какое из условных обозначений X или Y соответствует фракции А или Б на каждом этапе очистки.

Помимо этого, в колонку “Фракция с целевым белком” таблицы для ответов впишите обозначение фракции (А или Б), которая содержит белок марсеин на каждом этапе очистки и дайте краткое объяснение сделанному выбору. Таблица для ответов (за каждую правильно заполненную свободную ячейку 0,5 балла)

Этап очистки	Фракция с целевым белком	Краткое объяснение	Фракции А соответствует пробирка с обозначением	Фракции Б соответствует пробирка с обозначением
1				
2				

3				
4				

МИКРОБИОЛОГИЯ (12,5 баллов)

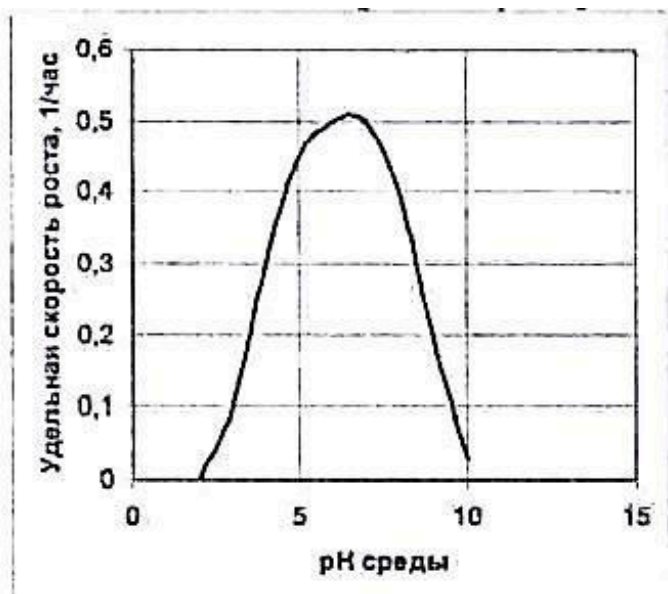
Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе имеются:

1. Линейка. 2. Карандаш и ластик. 3. Ручка. 4. Калькулятор. 5. Таблица Менделеева.

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Задание 1. (5 баллов)

На рисунках представлены кривые зависимости скорости роста микроорганизма от величины различных факторов (рН, концентрация соли NaCl, концентрация субстрата).



1.1. (1 балл) Определите оптимальное значение рН среды для культивирования.

1.2. (1 балл) Определите оптимальную для культивирования микроорганизмов концентрацию глюкозы ($C_6H_{12}O_6$) в моль/л.

1.3. (1 балл) Определите оптимальную для культивирования микроорганизмов концентрацию NaCl в г/л.

1.4. (2 балла) Выберите из списка среды, которые пригодны для культивирования данного микроорганизма, если известно, что он не способен усваивать атмосферный азот.

Среда Виноградского (%): глюкоза — 2,0; K_2HPO_4 - 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,05; NaCl - 0,02; $CaCO_3$ - 2,0; $FeSO_4$ - 0,0001; pH 7,0-7,2.

Среда Гаузе (%): крахмал растворимый - 2,0; KNO_3 — 0,1; K_2HPO_4 - 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,05; NaCl - 0,05; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,0008; pH 7,2-7,4.

Среда Эшби (%): маннит - 1,2; K_2HPO_4 - 0,02; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,02; NaCl - 15; K_2SO_4 - 0,01; $CaCO_3$ - 0,5; pH 7,0-7,2.

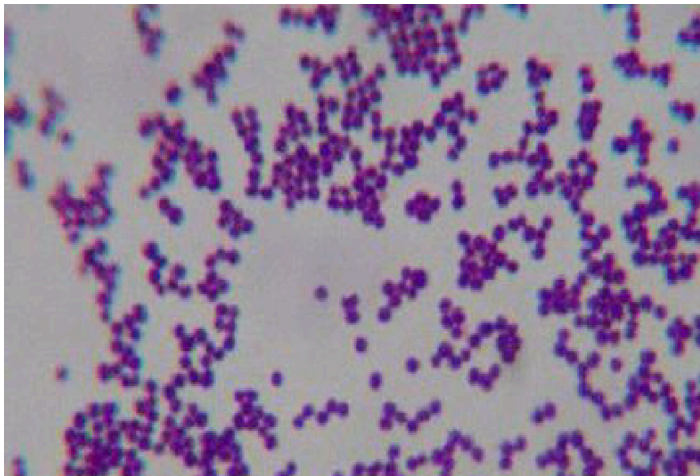
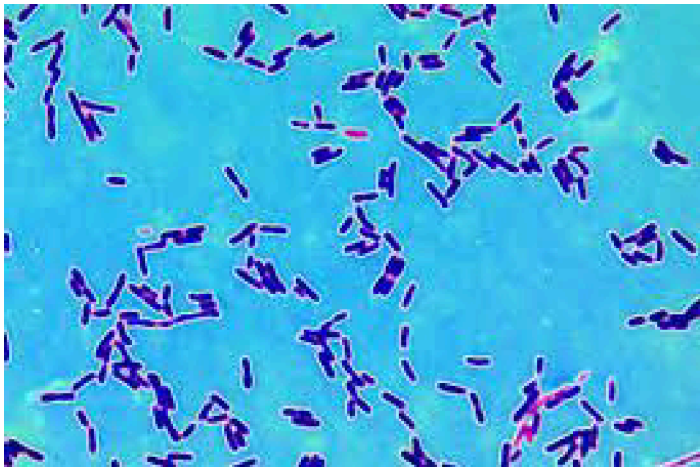
Глюкозо-солевая среда (%): глюкоза — 1,2; Na_2HPO_4 - 0,6; KH_2PO_4 - 0,3; NaCl - 10; NH_4Cl - 0,1; pH 5,2-5,6.

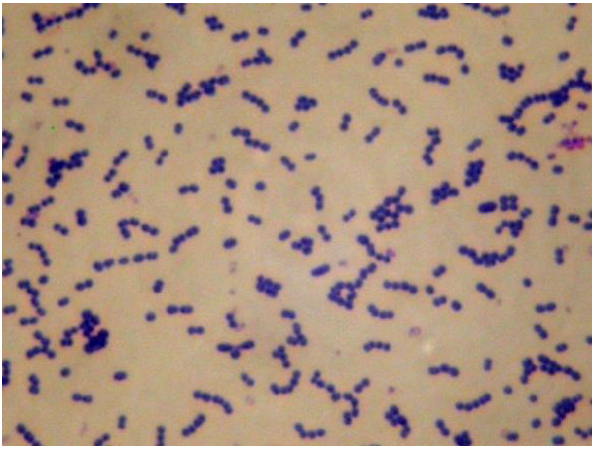
Среда E-8 (%): сахароза - 1,1; NaCl - 15; $MgO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,16; KH_2PO_4 - 0,07; $(NH_4)_2HPO_4$ - 1,5; pH 6,0.

Среда Нахимовской (%): сахароза - 2,0; K_2HPO_4 - 0,02; $MgSO_4$ - 0,02; NaCl - 15; K_2SO_4 - 0,01; $CaCO_3$ - 0,5; pH 7,0-7,2.

Задание 2. (5 баллов)

Из коровьего молока были выделены три штамма микроорганизмов. В таблице 1 представлены микрофотографии окрашенных мазков клеток, а также физиолого-биохимическая характеристика каждого из штаммов.

№ штам-ма	Микрофотография – морфология клеток	Характеристика
1		<p>Грамположительные. Эндоспор не образуют. Неподвижные, капсул не имеют. Способны расти при температуре 10-40 °С, в присутствии NaCl до 4 %.</p> <p>Сбраживают лактозу и некоторые другие сахара с образованием молочной кислоты. Не растут при pH 9,6. Каталазо- и оксидазоотрицательные. Растут в присутствии 40 % желчи.</p>
2		<p>Грамположительные. Спор не образуют. Факультативные анаэробы. Единственным продуктом брожения является молочная кислота. Сбраживают лактозу и целлобиозу, но не способны к ферментации сахарозы, трегалозы, галактозы, мальтозы.</p> <p>Каталазоотрицательные. Оптимальный температурный диапазон составляет 42-46 °С.</p>

3		<p>Грамположительные, неподвижные, неспорообразующие. Факультативные анаэробы. Метаболизм бродильного типа - в процессе сбраживания сахаров продуктом является лактат (гомоферментативное молочнокислое брожение). Способны расти при температуре 15-45 °С, в присутствии NaCl до 2 %. Не растут при pH 9,6. Сбраживают лактозу, фруктозу, глюкозу, сахарозу с образованием молочной кислоты.</p>
---	--	---

2.1. (3 балла) Используя таблицу 2, выясните, к какому виду относится каждый из штаммов.

Штамм 1: _____

Штамм 2: _____

Штамм 3: _____

Таблица 2 - Основные свойства молочнокислых бактерий.

Назва-ние Бакте-рий	Фор-ма кле-ток	Нали-чие ката-лазы	Способ-ность к образова-нию кислоты из		Отно-шение к кисло-роду	Рост при pH 9,6	Спо-соб-ность расти в прису-тствии 40 % желчи	Способ-ность расти при темпе-ратуре (°C)			Спо-соб-ность расти в прису-тствии NaCl (%)		Тип мо-лоч-но-кис-лого бро-жения *
			саха-розы	лак-тозы				10	37	45	4	65	
Enterocooccus durans	кокки	-	-	+	Факультативные анаэробы	+	+	+	+	+	+	+	1
Enterocooccus hirae	кокки	-	+	+	Факультативные анаэробы	+	+	+	+	+	+	+	1
Lactocooccus lactis	кокки	-		+	Факультативные анаэробы	-	+	+	+	-	+	-	1

Lacto-bacillus Bulgaricus	палочки	-	-	+	Факультативные анаэробы			-	+	+			1
Lacto-bacillus acidophilus	палочки	-	+	+	Факультативные анаэробы			-	+	+	-	-	1
Leuconostoc cremoris	кокки	-	-	+	Факультативные анаэробы			+	+	-			2
Streptococcus thermophilus	кокки	-	+	+	Факультативные анаэробы	-	-	-	+	+		-	1
Streptococcus salivarius	кокки	-	+	-	Факультативные анаэробы	-	-	-	+	+		-	1

*типы молочнокислого брожения: 1 - гомоферментативное; 2 - гетероферментативное; пустые клетки - данные отсутствуют или различаются для штаммов внутри вида.

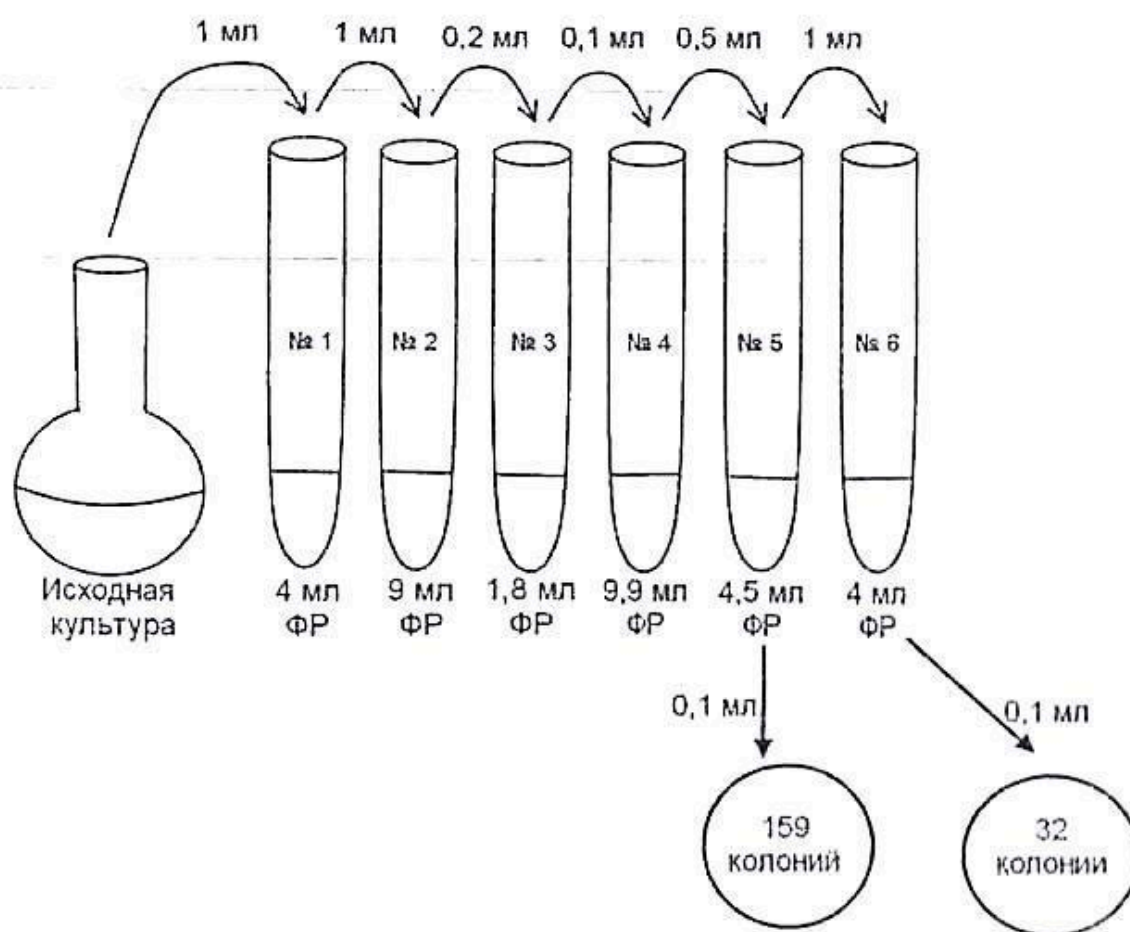
Задание 2.2. (2 балла) Используя таблицу 3, выясните, какие кисломолочные продукты вы можете приготовить, используя данные микроорганизмы в качестве закваски. Отметьте нужные продукты в первом столбце таблицы 3 *Состав заквасок для получения кисломолочных продуктов.*

Возможность приготовления	Продукт	Состав закваски
	Айран	Streptococcus thermophilus и Lactobacillus bulgaricus
	Ацидофилин	Lactobacillus acidophilus, Streptococcus salivarius и Lactobacillus bulgaricus
	Йогурт	Streptococcus thermophilus и Lactobacillus bulgaricus
	Кисломолочное масло	Lactococcus lactis, Streptococcus cremoris и Leuconostoc cremoris
	Простокваша	Lactococcus lactis
	Ряженка	Lactobacillus bulgaricus
	Сметана	Streptococcus thermophilus, Enterococcus durans и Enterococcus hirae
	Творог,	Lactococcus lactis (или Lactobacillus bulgaricus) и

Задание 3. (2,5 балла) На рисунке представлена схема эксперимента по определению титра клеток в культуре бактерий *E. coli*.

Первым этапом является приготовление разведений клеточной суспензии. Для этого в пробирки разливается физиологический раствор (ФР). Объемы ФР указаны под пробирками. Затем в пробирку № 1 добавляется определенный объем клеточной суспензии из исходной культуры. Объем клеточной суспензии указан сверху над стрелкой. В пробирку № 2 вносится разведенная суспензия из пробирки № 1 и т.д.

Второй этап - высеив клеточной суспензии на специальную среду в чашках Петри. Каждая бактериальная клетка дает на поверхности среды 1 колонию. Соответственно, количество колоний на чашке равно количеству клеток, которые были в высеваемом объеме суспензии.



Задание 3.1. (1,5 балла) Сколько (в среднем) бактериальных клеток содержал 1 мл исходной культуры?

Задание 3.2. (1 балл) Сколько колоний вырастет на чашке Петри при высеиве 0,1 мл из пробирки № 4.

КАБИНЕТ № 3 КЛЕТОЧНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ (25 баллов)

Продолжительность выполнения задания -1 час 30 минут

Перед выполнением заданий убедитесь, что на Вашем рабочем столе присутствуют все позиции из перечня «Материалы и оборудование».

Если что-то из перечисленного отсутствует, немедленно поднимите руку и позовите дежурного преподавателя!

Материалы и оборудование

Чашки Петри

1 Модель соотношения фенотипических классов в F ₂ от скрещивания <u>Белая 1 x Белая 2</u>	образец №1
2 Модель соотношения фенотипических классов в F ₂ от скрещивания <u>Белая 1 x Белая 3</u>	образец №2
3 Модель соотношения фенотипических классов в F ₂ от скрещивания <u>Белая 1 x Черная 2</u>	образец №3
4 Наблюдаемый результат расщепления в F ₂ от скрещивания <u>Белая 2 x Черная 1</u>	образец №4
5 Модель соотношения фенотипических классов в анализирующем скрещивании гибридов F ₁ от скрещивания родительской пары <u>Белая 2 x Черная 1</u>	образец №5
6 Модель соотношения фенотипических классов в F ₂ от скрещивания <u>Белая 2 x Черная 2</u>	образец №6
Прозрачный файл со вставленным белым листом бумаги	1 шт.

Задание 1 (7.0 баллов)

КАРИОТИПИРОВАНИЕ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ PHASEOLUS VULGARIS L. СОРТА «Clujana» МЕТОДОМ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Изучение кариотипов растений (числа, формы и размеров хромосом) широко используется при проведении научных исследований в различных областях биологии и, в частности, в эволюционных исследованиях. Данные о кариотипах различных таксонов имеют важное значение при установлении филогенетических связей между различными систематическими группами, выяснении их возможного происхождения и направлений эволюции, диагностике морфологически сходных видов.

Для хромосомного анализа используются интенсивно делящиеся клетки (меристематические ткани, эндосперм, микроспороциты и пыльцевые зерна), взятые у растений, находящихся в оптимальных условиях развития. Для изучения хромосом на стадии митоза используется меристематическая ткань молодых быстро растущих корней, стеблевая меристема конусов нарастания почек или меристема зачатков листьев.

Задание 1.1 (3,0 балла)

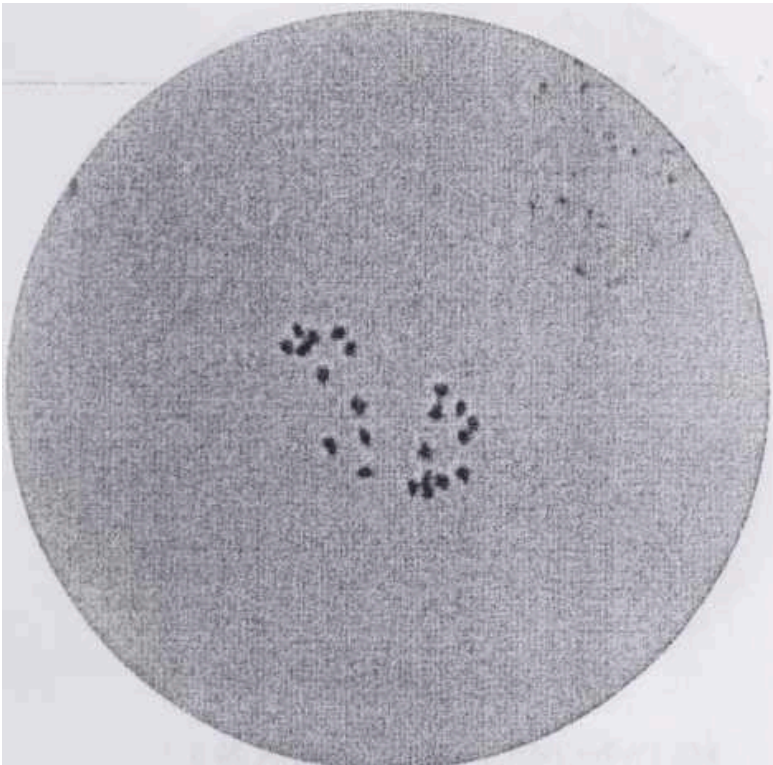
Вами были пророщены семена фасоли *Phaseolus vulgaris* L сорта «Clujana». Корни проростков растений были зафиксированы в смеси абсолютного этанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1 и окрашены методом Фельгена. После этого были приготовлены методом раздавливания постоянные препараты клеток корневой меристемы для анализа методом световой микроскопии.

Вами были найдены и сфотографированы три неразрушенные клетки, которые на момент фиксации находились на стадии метафазы, с хорошо спирализованными, неперекрывающимися и имеющими хороший разброс хромосомами. Эти микрофотографии представлены ниже под названиями:

- ✓ метафазная пластинка № 1;
- ✓ метафазная пластинка № 2;
- ✓ метафазная пластинка № 3.

Проанализируйте полученные микрофотографии и определите, КАКОЕ КОЛИЧЕСТВО ХРОМОСОМ СОДЕРЖИТСЯ В КЛЕТКАХ ДАННОГО СОРТА ФАСОЛИ. СВОЙ ОТВЕТ УКАЖИТЕ В ТАБЛИЦЕ 1.

УКАЖИТЕ ТАКЖЕ В ТАБЛИЦЕ 1, КАКОВ ДИПЛОИДНЫЙ И ГАПЛОИДНЫЙ НАБОР ХРОМОСОМ У ДАННОГО СОРТА РАСТЕНИЙ.

МЕТАФАЗНАЯ ПЛАСТИНКА № 1	
-----------------------------	---

МЕТАФАЗНАЯ
ПЛАСТИНКА № 2



МЕТАФАЗНАЯ
ПЛАСТИНКА № 3

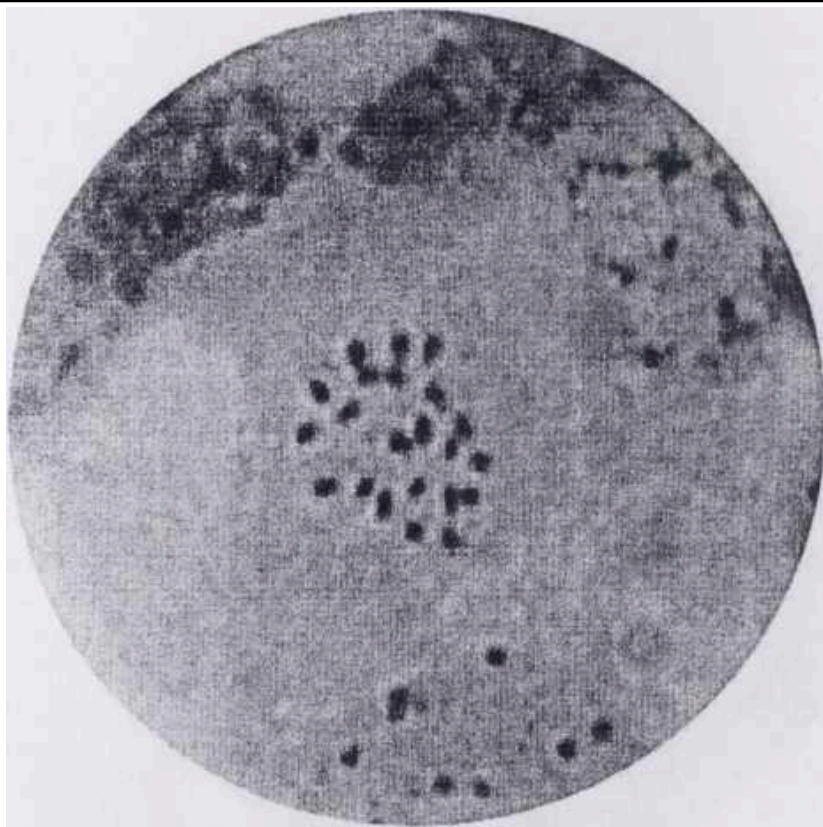


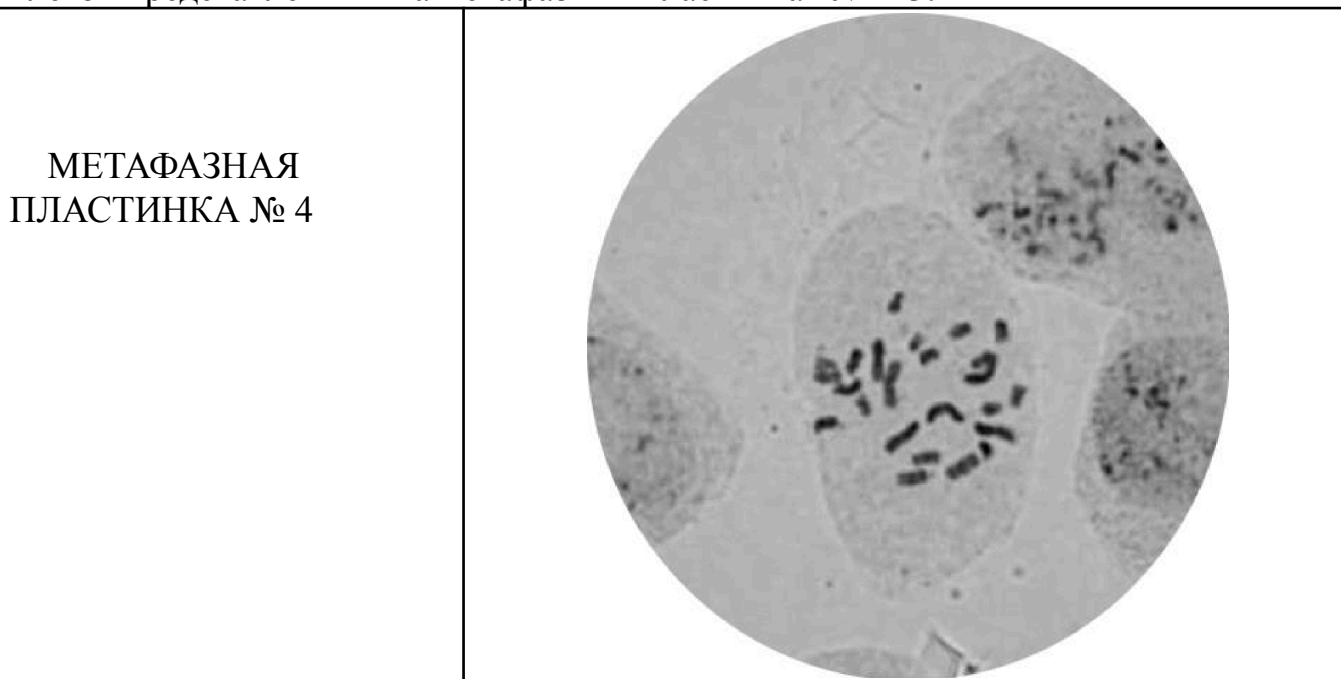
Таблица 1

Количество хромосом в проанализированных клетках	Количество хромосом в диплоидном наборе	Количество хромосом в гаплоидном наборе

Задание 1.2 (4,0 балла)

Задание 1.2.1 (2,0 балла)

Продолжив изучение полученных цитологических препаратов Вы наткнулись на клетку, которая была не похожа на увиденные ранее (см. изображение метафазная пластинка №4). Подсчитав количество хромосом Вы отметили, что в ней оно иное, чем у клеток представленных на метафазных пластинках № 1-3.



УКАЖИТЕ В ТАБЛИЦЕ 2, КАКОЕ КОЛИЧЕСТВО ХРОМОСОМ УДАЛОСЬ ОБНАРУЖИТЬ НА МЕТАФАЗНОЙ ПЛАСТИНКЕ № 4.

Таблица 2.

Количество хромосом в метафазной пластинке №4	
---	--

Задание 1.2.2 (2,0 балла)

Вы решили выяснить причину такого несоответствия между мстафазными пластинками № 1-3 и метафазной пластинкой № 4 и продолжили поиск на своих препаратах других клеток этого сорта фасоли, находящихся на стадии метафазы. В результате были обнаружены еще несколько клеток с количеством хромосом, как и в метафазных пластинках № 1-3, а также одна клетка с количеством хромосом, как и у метафазной пластинки № 4. УКАЖИТЕ ПРИЧИНУ ОТЛИЧИЯ в количестве хромосом, наблюдаемых при анализе метафазной пластинки № 4, выберите правильный ответ из предложенных ниже:

- А) политения;
- Б) В-хромосомы;
- В) эндомитоз;
- Г) эуплоидия;
- Д) автополиплоидия.

1.2.2.: _____

Задание 2 (8,0 баллов)

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА «ОКРАСКА СЕМЯН» У РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ PHASEOLUS VULGARIS L.

Старшеклассник Василий на протяжении нескольких лет занимается изучением

генетического контроля развития окраски семян у растений фасоли *Phaseolus vulgaris* L. В своей работе Василий изучает характер наследования черной, красной и белой окраски семян. А поскольку учебник С.Г. Инге-Вечтомова «Генетика с основами селекции» вот уже несколько лет как является любимой книгой Василия, то на первом этапе Василий убедился в генетической «чистоте» исходных родительских форм, выбранных им для последующего анализа. При выполнении этого этапа Василий периодически сталкивался с интересными расщеплениями, которые позволили ему предположить, что выбранный им для анализа признак является сложным, а дальнейшая работа будет весьма интересной. К этому моменту Василий уже знал, что с южные признаки лучше всего анализировать, опираясь на данные циклических скрещиваний (это такой тип скрещиваний, в котором каждая фенотипическая форма скрещивается со всеми другими фенотипическими формами с последующим анализом гибридов первого и второго поколения) и поэтому решил систематизировать все свои результаты, оформив их в виде таблицы 4 (именно такие таблицы используют для представления результатов циклических скрещиваний).

Задание 2.1 (3 балла).

Проанализируйте количество семян и фенотипы представленные в образцах 1-6. Для удобства при подсчете семена из каждого образца желательно перенести на файл, а после подсчета обязательно вернуть в соответствующую тару! Полученные результаты занесите в таблицу 3. При заполнении таблицы используйте следующие обозначения фенотипа семян: красный, белый, черный. В тех случаях, где это возможно, определите тип неаллельного взаимодействия генов (если определить невозможно - поставьте прочерк «—»), пустые ячейки оцениваться не будут!).

Таблица 3.

Номер образца	Наблюдаемое соотношение фенотипических классов (указать число семян каждого класса)	Предполагаемый тип взаимодействия
Образец № 1		
Образец № 2		
Образец № 3		
Образец № 4		
Образец № 5		

						1 красная
Красная						F ₁ :красные F ₂ : красные

Ответьте на следующие вопросы:

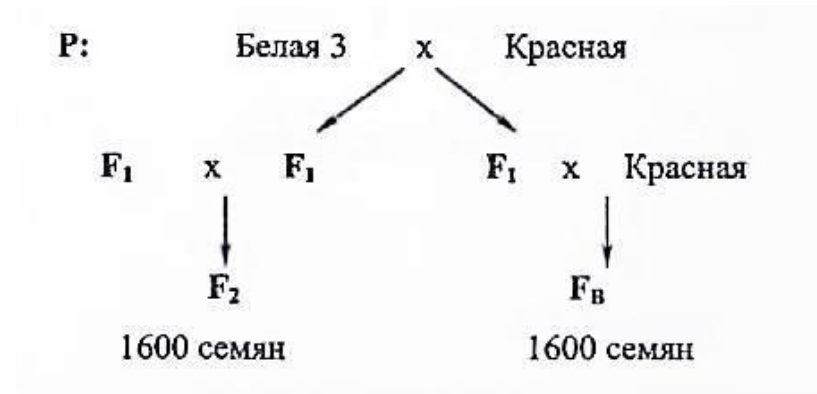
Сколько генов контролируют анализируемый Василием признак окраски семян:

Какая должна быть у Василия нулевая гипотеза о соотношении фенотипических классов для образца №4:

Задание 2.3 (3 балла).

Несмотря на Ваши уверенные ответы и неоценимую помощь в установлении генотипов анализируемых родительских линий, Василий все еще никак не может закончить свою работу. Ему осталось совсем немного: проанализировать F₂ от скрещивания Белая 3 x Красная и результаты возвратного скрещивания F₁ с красносемянным родителем (схема опыта № 2).

Возьметесь ли Вы спрогнозировать ожидаемые результаты этих скрещиваний?



Ответьте на следующие вопросы:

Определите ожидаемое количество семян каждого фенотипического класса среди 1600 потомков F₂ от скрещивания Белая 3 x Красная:

Определите ожидаемое количество семян каждого фенотипического класса среди 1600 потомков возвратного скрещивания:

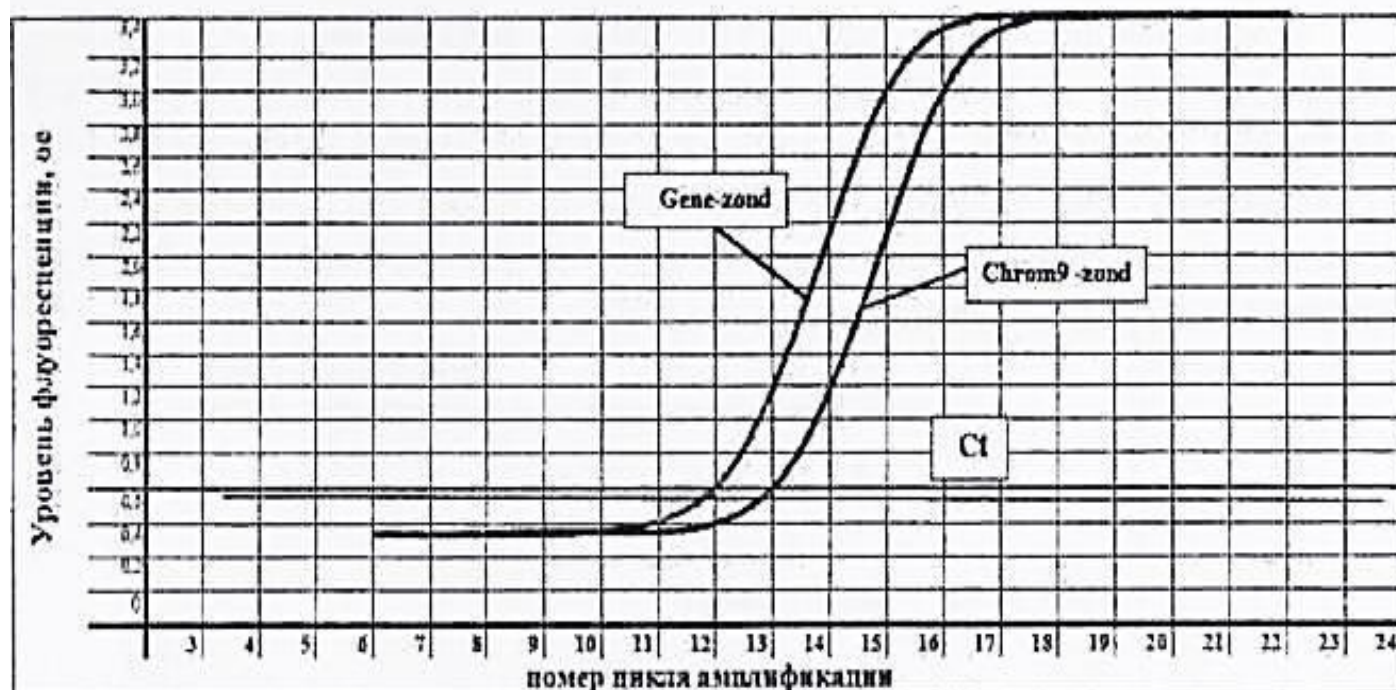
Задание 3 (7,0 баллов)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛА ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНЫХ КОПИЙ ГЕНА А В ГЕНОМЕ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ PHASEOLUS VULGARIS L.

Школьник Василий устал заниматься только классической генетикой: сезонность работы, растущие площади под посевы, осуществление самого посева, опыления, сбора урожая, его хранение и анализ (четыре мешка семян до сих пор лежат под кроватью и ждут своего часа), а также резко возросшее нежелание родственников и друзей пять дней в неделю есть блюда из фасоли различных цветов... Все это явно говорило о том, что пора осваивать новые, современные методы анализа и выводить работу на новый уровень. Поэтому, отбросив страхи перед новым и неизведанным, наш Василий обратился к аспиранту Васе с предложением провести совместную работу в молекулярнобиологической лаборатории.

Задание 3.1 (2,0 балла). Анализ числа копий гена А в геноме *Phaseolus vulgaris* L. методом количественной ПЦР

Для установления числа копий гена А (гена, ответственного за формирование окраски семян) в геноме анализируемых линий фасоли, Васи использовали метод ПЦР с детекцией сигнала в реальном времени по протоколу Taq-Man. Для постановки ПЦР Васи использовали праймеры ко второму экзону гена А и дополнительный высокоспецифичный зонд к амплифицируемой последовательности - Gene-zond). В качестве референсного маркера они использовали уникальный центромерный регион на хромосоме 9, специфичность реакции контролировали с использованием зонда Chrom9-zond. Число копий этого участка Васи сравнивали с числом копий исследуемого гена А, (zond Gene). Кривые, соответствующие скорости накопления продуктов амплификации изучаемых регионов представлены на рисунке ниже. В качестве матрицы при реакции амплификации использовали препараты общей (тотальной) ДНК, выделенной из одной клетки.

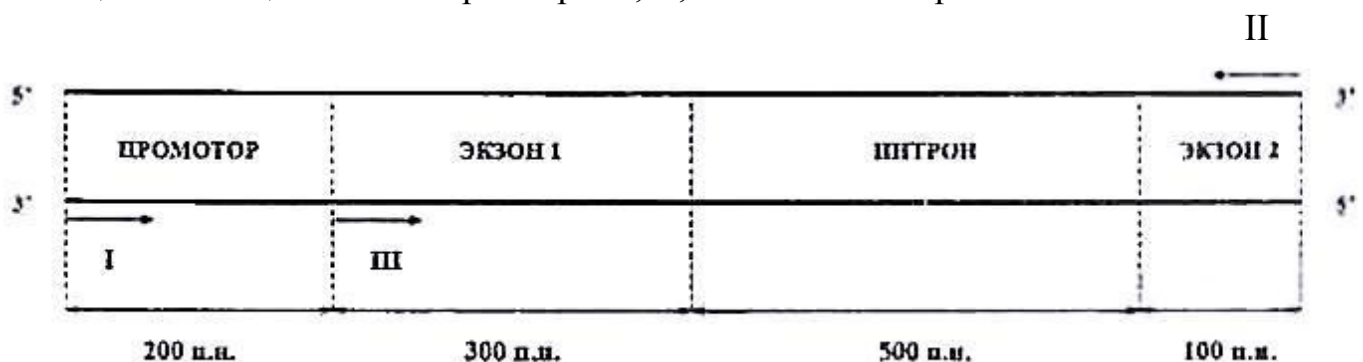


Проанализируйте представленные данные, и помогите Васям определить число копий изучаемого гена А в геноме фасоли. Укажите число копий гена А на диплоидный набор хромосом (число копий гена А в одной соматической клетке).

Ответ: _____

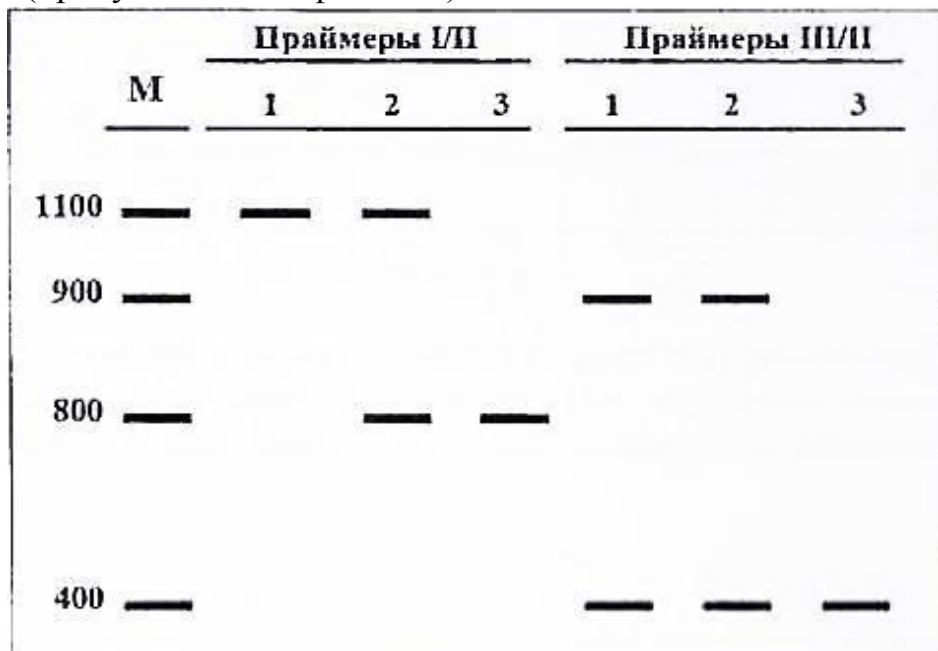
Задание 3.2 (1,5 балла). Установление генотипа фасоли по гену А методом ПЦР

На следующем этапе работы Васи определили нуклеотидную последовательность функциональной копии изучаемого гена А. Для выявления в геноме фасоли сочетаний аллелей этого гена методом ПЦР, были созданы праймеры, специфично связывающиеся с различными участками ДНК. На представленном ниже рисунке схематично изображен фрагмент ДНК длиной 1100 п.н., соответствующий доминантному аллелю гена А. Ориентация и позиции отжига праймеров I, II, III показаны стрелками.



Школьник Василий и аспирант Вася выделили тотальную (общую) ДНК из трех различных по происхождению растений фасоли, формирующих белые семена (Белая 1, Белая 2 и F₁ от этого скрещивания). Полученные препараты ДНК они использовали в качестве матрицы для ПЦР с парами праймеров I/II или III/II.

Образовавшиеся в результате ПЦР фрагменты ДНК разделяли электрофорезом в агарозном геле. Результаты электрофоретического разделения схематично изображены на рисунке ниже. Цифрам 1, 2 и 3 соответствуют три образца фасоли, взятые для анализа; М - маркер молекулярного веса, цифры слева соответствуют размерам анализируемых фрагментов ДНК (продуктов амплификации).



Взглянув на электрофореграмму школьник Василий осознал, что скрещивание фасоли

- «это были цветочки, а ягодки вот они» - светящиеся в ультрафиолете продукты ПЦР. Помогите Василию разобраться с результатами эксперимента.

Проанализируйте электрофореграмму и внесите в таблицу 5 предполагаемый генотип растений фасоли.

Таблица 5. Генотип растений 1,2 и 3, установленный с помощью метода ПЦР

Номер образца на электрофореграмме	Генотип по гену А
1	
2	
3	

Задание 3.3 (3.5 балла). Выявление изменения структуры гена А.

Еще раз внимательно посмотрите на результаты электрофоретического разделения продуктов амплификации гена А. Соотнесите наблюдаемые результаты с данными, полученными при выполнении задания 2 «ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКА «ОКРАСКА СЕМЯН» У РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ PHASEOLUS VULGARIS L. и задания 3.1 Анализ числа копий гена А в геноме Phaseolus vulgaris L. методом количественной ППР.

Постарайтесь найти ответы на следующие вопросы.

Используя предложенные пары праймеров, какие изменения в структуре гена А Вы можете идентифицировать?

Какие из этих изменений могут повлиять на функционирование гена А и его продукта?

Какие изменения наиболее вероятны? Объясните появление фрагментов ДНК длиной в 800 п.п. и 400 п.п. при амплификации гена А.

Свой ответ внесите в таблицу 6.

Таблица 6. Анализ продуктов, полученных при амплификации гена А.

Длина выявляемого фрагмента ДНК, п.п.	Причина появления и возможные фенотипические проявления функционирования гена А

800	
400	

Для одной диплоидной клетки фасоли укажите максимально возможное число экспрессируемых копий гена А: _____

Поясните свой ответ: _____

