

Задания практического тура регионального этапа 41-й Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2024-25 уч. год. 11 класс

БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Внук бабы Нюры Петя решил сделать школьный проект по исследованию формирования семян пшеницы в стрессовых условиях. Для этого он воспользовался возможностями Всемирной паутины и нашёл статью, в которой исследуется способность LEA-белков к формированию устойчивости в условиях осмотического стресса. LEA-белки (Late Embryogenesis Abundant, или белки позднего эмбриогенеза) были впервые обнаружены в хлопчатнике и пшенице. Они интенсивно синтезируются во время развития семян, составляя до 4% от всех клеточных белков. Их экспрессия связана с приобретением устойчивости к обезвоживанию семян и пыльцы, а также индуцируется холодом.

Задание 1. Как Вы думаете, какой из растительных гормонов может индуцировать экспрессию *LEA*-генов? Ответ внесите в Лист ответов.

Из статьи Петя узнал, что основным предполагаемым механизмом действия LEA-белков заключается в предохранении разнообразных белков растительной клетки от нарушения их нативной структуры. Из другой статьи Петя выудил следующую схему:

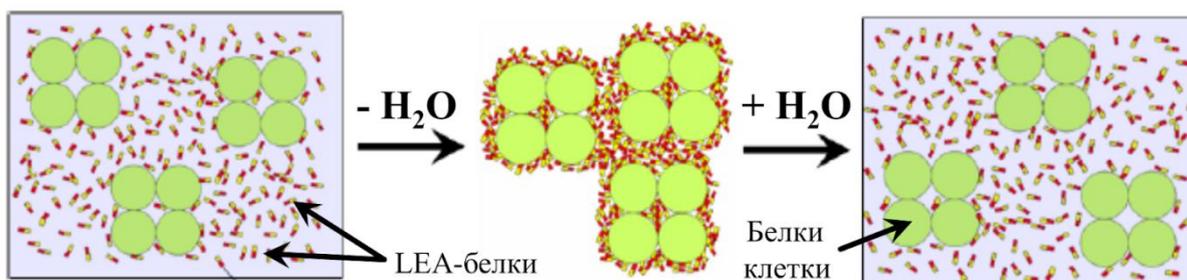


Рис. 1. Предполагаемый механизм функционирования LEA-белков (по Furuki & Sakurai, 2016).

Посмотрев на данную схему, Петя сделал следующий вывод: при взаимодействии LEA-белков с другими белками клетки между ними сохраняется тонкая прослойка воды.

Задание 2. Как Вы думаете, корректный ли вывод по данной схеме сделал Петя? Ответ запишите в лист ответов.

Чтобы подтвердить или опровергнуть свою гипотезу, он прочитал в учебнике о водном потенциале клетки, который состоит из нескольких составляющих.

Задание 3. Выберите верное(-ые) утверждение(-я) о составляющих водного потенциала. Обведите буквы, соответствующие верным утверждениям, в Листе ответов. Учтите, что количество молекул LEA-белков в клетке не меняется. Все значения потенциалов взяты по модулю. При потере клеткой воды, как это продемонстрировано на рис. 1, происходят следующие события:

- А) матричный потенциал увеличивается;
- Б) матричный потенциал не меняется;
- В) матричный потенциал уменьшается;
- Г) потенциал давления (гидростатический) увеличивается;
- Д) потенциал давления (гидростатический) не меняется;
- Е) потенциал давления (гидростатический) уменьшается;

- Ж) гравитационный потенциал увеличивается;
- З) гравитационный потенциал не меняется;
- И) гравитационный потенциал уменьшается.

При дальнейшем поиске статей Петя понял, что LEA-белки помимо того, что предотвращают повреждение самих структур белков клетки, ещё и не позволяют “слипаться” белкам друг с другом. В статье описывался следующий эксперимент: при температуре 43°C в условиях *in vitro* исследовали кинетику агрегации очищенной цитратсинтазы (ЦС) в присутствии или в отсутствие LEA-белков или Белка Теплового Шока (БТШ) p26. В эксперименте LEA-белки группы 1 имели растительное происхождение, а LEA-белки группы 3 и БТШ p26 имели животное происхождение.

Термическую агрегацию цитратсинтазы (ЦС) с течением времени регистрировали по увеличению рассеяния света (в условных единицах “au”) с помощью спектрофотометра. Результаты этого эксперимента показаны на рисунке 2.

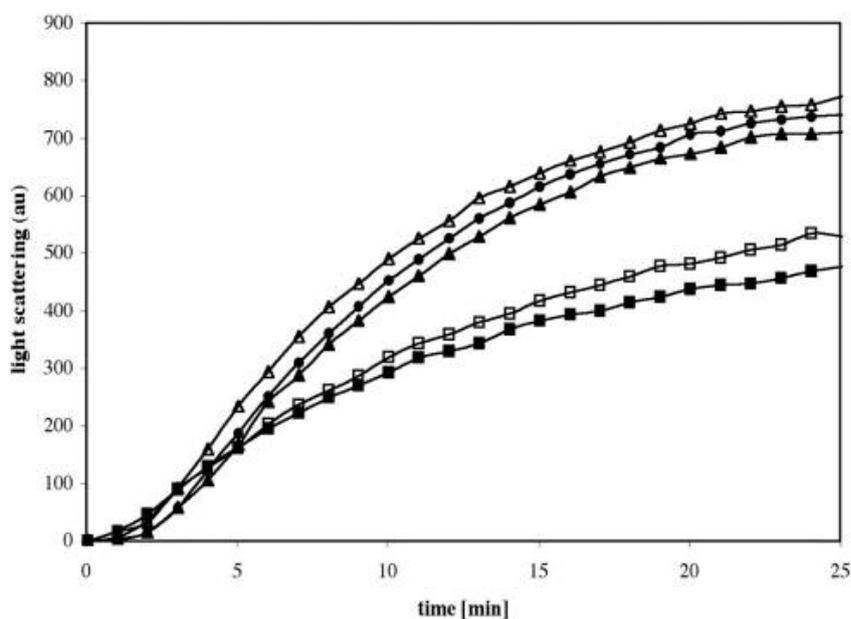


Рис. 2. Кинетика агрегации цитратсинтазы (ЦС) в присутствии или в отсутствие LEA-белков и БТШ p26. Пояснения к символам: ● - ЦС отдельно, Δ - ЦС в присутствии LEA-белков 1 группы в концентрации 1 мкМ, ▲ - ЦС в присутствии LEA-белков 3 группы в концентрации 1 мкМ, □ - ЦС в присутствии БТШ p26 в концентрации 75 нМ, ■ - ЦС в присутствии БТШ p26 в концентрации 150 нМ. Все отличия в средних значениях на графиках считать достоверными (по Goyal et al., 2005).

Проанализировав данный график (рис.2), Петя пришёл к выводам, представленным ниже.

Задание 4. Выберите верное(-ые) утверждение(-я). Обведите буквы, соответствующие верным утверждениям, в Листе ответов.

- А) В данном опыте было показано слабое влияние LEA-белков на изменение степени агрегации ЦС в сравнении с БТШ p26.
- Б) Белок БТШ p26 в опыте эффективнее снижает степень агрегации ЦС в сравнении с LEA-белками поскольку LEA-белки использовали в меньших концентрациях.
- В) Увеличение концентрации БТШ p26 приводит к снижению степени агрегации ЦС.
- Г) LEA-белки 1 группы в опыте не столь эффективно снижают степень агрегации ЦС, чем LEA-белки группы 3, поскольку в опыте использовалась ЦС, выделенная из животных.

Петя решил узнать, какие ещё факторы влияют на защиту клетки от осмотического стресса. Оказалось, что в этой же статье есть информация о действии LEA-белков в присутствии трегалозы.

Задание 5. Выберите верные утверждения о трегалозе. Обведите буквы, соответствующие верным утверждениям, в Листе ответов.

- А) Трегалоза - это моносахарид.
- Б) Трегалоза - это дисахарид.
- В) Трегалоза - это полифруктан.
- Г) Трегалоза - это редуцирующий сахар.
- Д) Трегалоза - это невосстанавливающий сахар.
- Е) В трегалозе присутствует(-ют) α -1,1-гликозидная связь.
- Ж) В трегалозе присутствует(-ют) α -1,2-гликозидная связь.
- З) В трегалозе присутствует(-ют) α -1,6-гликозидная связь.

В следующем эксперименте исследовали кинетику агрегации очищенной цитратсинтазы (ЦС) в присутствии или в отсутствие LEA-белков групп 1 и 3 и/или трегалозы. В остальном дизайн эксперимента полностью повторял предыдущий. Результаты этого эксперимента показаны на рисунке 3.

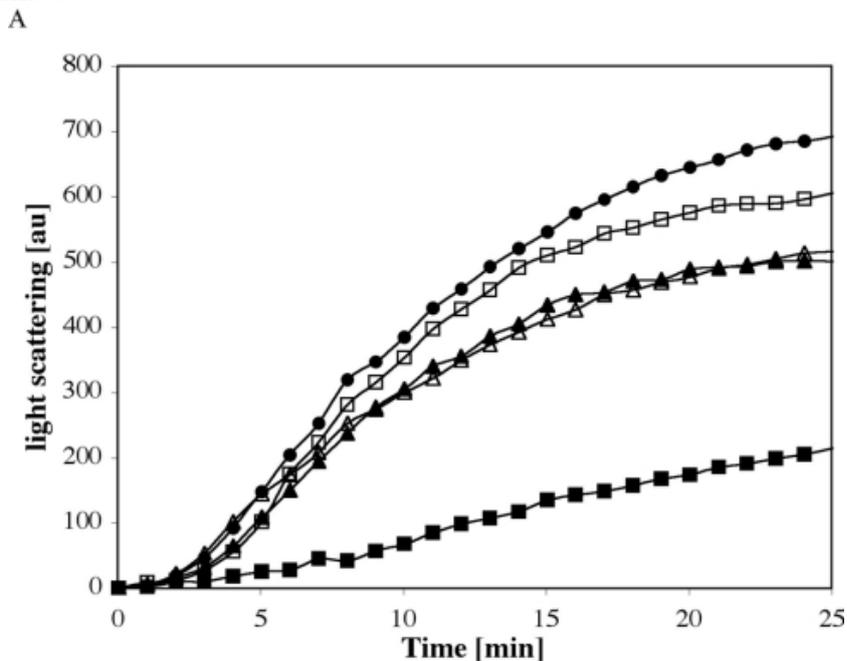


Рис. 3. Кинетика агрегации цитратсинтазы в присутствии или в отсутствие LEA-белков и/или трегалозы. ● - ЦС отдельно, □ - ЦС в присутствии 100 мМ трегалозы, ■ - ЦС в присутствии 400 мМ трегалозы, △ - ЦС в присутствии 1 мкМ LEA-белков 1 группы и 100 мМ трегалозы, ▲ - ЦС в присутствии 1 мкМ LEA-белков 3 группы и 100 мМ трегалозы. Все отличия в средних значениях на графиках считать достоверными.

Проанализировав данные, полученные из графиков на рисунках 2 и 3, а также используя свои общие знания, Петя суммировал всю полученную информацию и изложил её в выводах в конце своего проекта.

Задание 6. Выберите верное(-ые) утверждение(-я). Обведите буквы, соответствующие верным утверждениям, в Листе ответов.

- А) Увеличение концентрации трегалозы приводит к снижению степени агрегации ЦС.
- Б) Для снижения степени агрегации ЦС в условиях эксперимента достаточно трегалозы в высоких концентрациях.

В) В отсутствие трегалозы LEA-белки 1 группы не способны снижать степень агрегации ЦС.

Г) LEA-белки 3 группы снижают степень агрегации только в присутствии трегалозы.

Задание 7. Петя решил посчитать, какой осмотический потенциал создавали 400 мМ трегалозы в этом эксперименте, если объём конечного раствора составлял 1,5 мл. В справочнике Петя нашёл следующую информацию: молярная масса остатка глюкозы в составе крахмала - 162 г/моль, молярная масса фруктозы в составе инулина - 162 г/моль, универсальная газовая постоянная 8,3 Дж/(моль×К). Примите, что 0°C = 273 К. **Ответ дайте по модулю в кПа с точностью до второго знака после запятой.**

Специалисты из Научно-Исследовательского Института, которые курировали проекты школьников, предложили Пете определить молекулярную массу одного из белков БТШ, недавно полученного ими в высокоочищенном виде. Для этой цели Петя использовал электрофорез в полиакриламидном геле (ЭФ в ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия и гель-фильтрацию на колонке с пористым носителем Sephacryl S-300. После проведения электрофореза и окрашивания геля Петя получил следующую картинку:

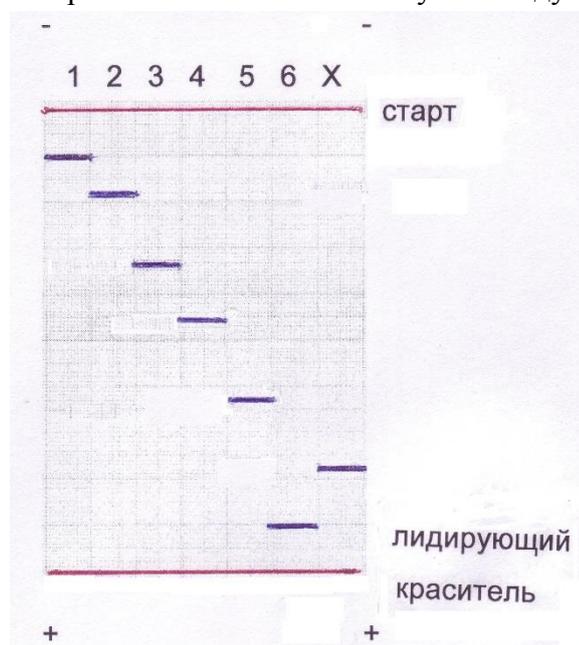


Рис. 4. Электрофореграмма белков-стандартов молекулярной массы и белка БТШ (X). В качестве стандартов Петя использовал белки со следующими молекулярными массами:

1 – 120 кДа;

2 – 96 кДа;

3 – 64 кДа;

4 – 45 кДа,

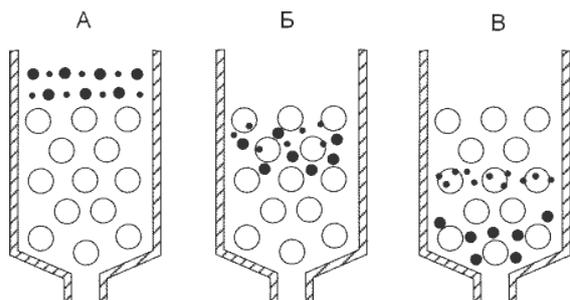
5 – 28 кДа;

6 – 14 кДа.

Линии вверху и внизу геля показывают положение старта и положение полосы лидирующего красителя (бромфенолового синего) соответственно.

Задание 8. Определите относительную подвижность белков-стандартов и белка X (параметр R_f – отношение расстояния, «пройденного» белком, к расстоянию, «пройденному» лидирующим красителем, с точностью до двух знаков после запятой) и внесите полученные значения в Лист ответов.

Задание 9. Постройте в Листе ответов график зависимости относительной подвижности (R_f) белков-стандартов от логарифма их молекулярной массы и найдите по нему молекулярную массу белка X (БТШ).



При гель-фильтрации на колонках с пористым носителем работает принцип анти-сита: крупные молекулы, которые не «входят» в поры геля, движутся быстрее тех молекул, которые могут в эти поры «заходить», поэтому объём элюции (V_e , объём раствора, с которым выходит пик белка) белков с большей молекулярной массой меньше объёма элюции белков с меньшей молекулярной массой. Для определения молекулярной массы неизвестного белка измеряют общий объём

колонки (V_t), свободный объем колонки (V_o), с которым выходят очень крупные молекулы, например, голубой декстран (ГД), и объемы элюции V_e белков-стандартов молекулярных масс и неизвестного белка (X). После этого рассчитывают для всех этих белков коэффициент доступности K_{av} по формуле:

$$K_{av} = (V_e - V_o) / (V_t - V_o),$$

и строят график зависимости K_{av} от логарифма молекулярной массы для белков-стандартов, по которому находят молекулярную массу неизвестного белка.

Проведя гель-фильтрацию тех же самых белков-стандартов и белка X на колонке, V_t которой составляет **80 мл**, Петя получил показанный ниже профиль элюции:

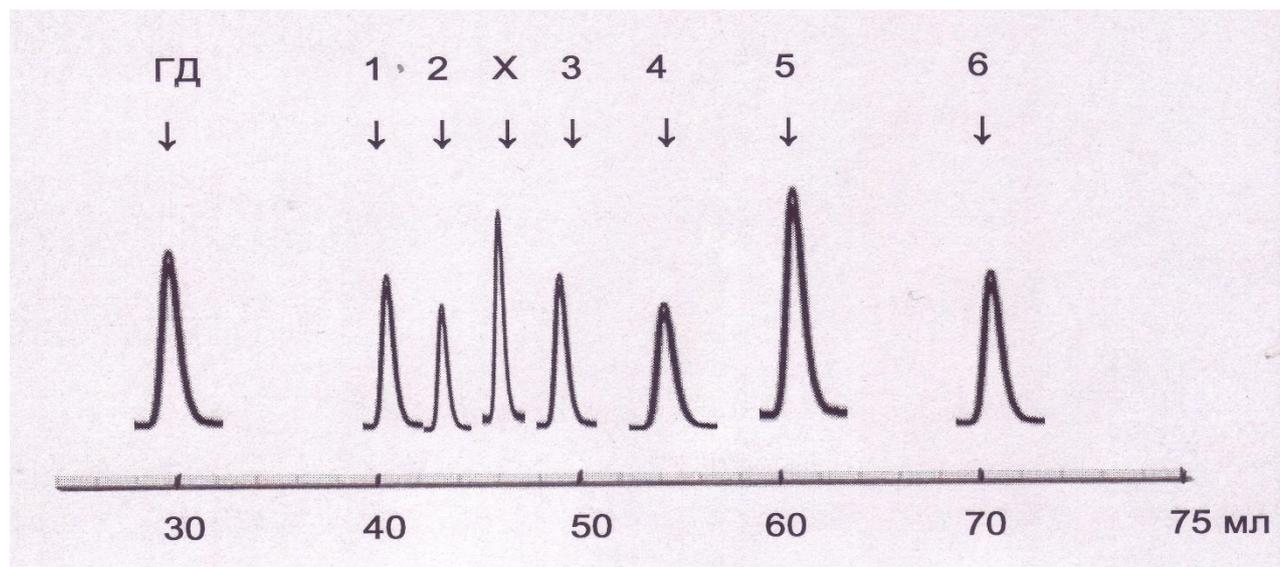


Рис. 5. Профиль элюции белков с колонки при гель-фильтрации. По оси абсцисс отложены объемы, с которыми выходят пики голубого декстрана (ГД, V_o) и используемых при гель-фильтрации белков (V_e).

Задание 10. Рассчитайте коэффициенты K_{av} для белков-стандартов и белка X (БТШ) с **точностью до двух знаков после запятой** и внесите полученные значения в Лист ответов.

Задание 11. Постройте в Листе ответов график зависимости коэффициентов K_{av} для белков-стандартов от логарифма их молекулярной массы и найдите по нему молекулярную массу белка X (БТШ).

Задание 12. Запишите в Листе ответов значения молекулярной массы белка БТШ, измеренное двумя разными способами, с **точность до одного знака после запятой**.

Задание 13. Какой вывод мог сделать Петя о белке БТШ на основании полученных им значений его молекулярной массы? Белок БТШ ...

**Не забудьте внести все ответы в Лист ответов!!!
Проверяется и оценивается только Лист ответов!!!
УДАЧИ!!!**

Шифр _____

Итого _____ баллов

ЛИСТ ОТВЕТОВ

на задания практического тура регионального этапа 41-й Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2024-25 уч. год. 11 класс
БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Задание 1 (1 балл) _____

Задание 2 (обведите нужное) (1 балл). ДА / НЕТ

Задание 3 (обведите нужное) (3 балла). А Б В Г Д Е Ж З И

Задание 4 (обведите нужное) (2 балла). А Б В Г

Задание 5 (обведите нужное) (3 балла). А Б В Г Д Е Ж З

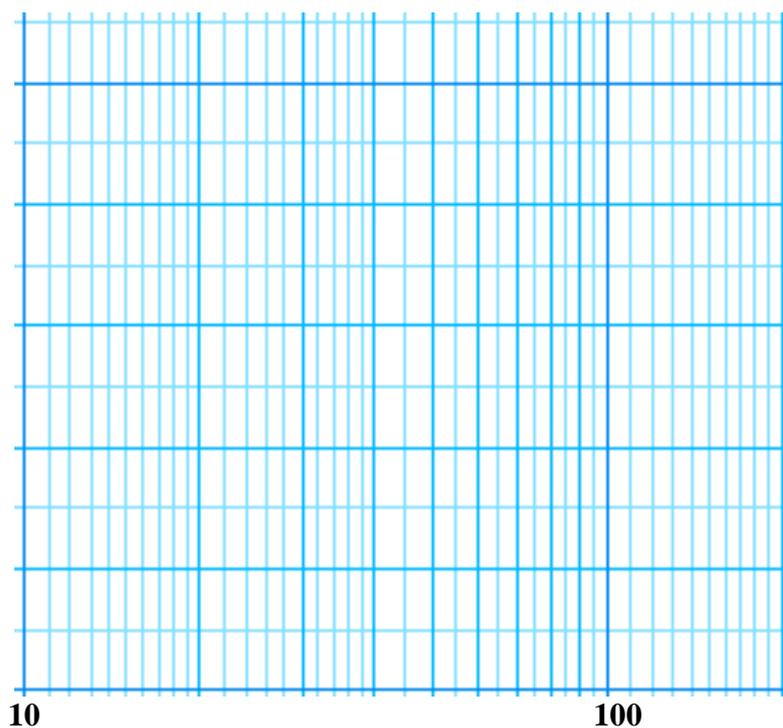
Задание 6 (обведите нужное) (3 балла). А Б В Г

Задание 7 (6 баллов) _____ кПа

Задание 8. (3,5 балла, по 0,5 балла за ячейку)

Белок	1	2	3	4	5	6	X
R _f							

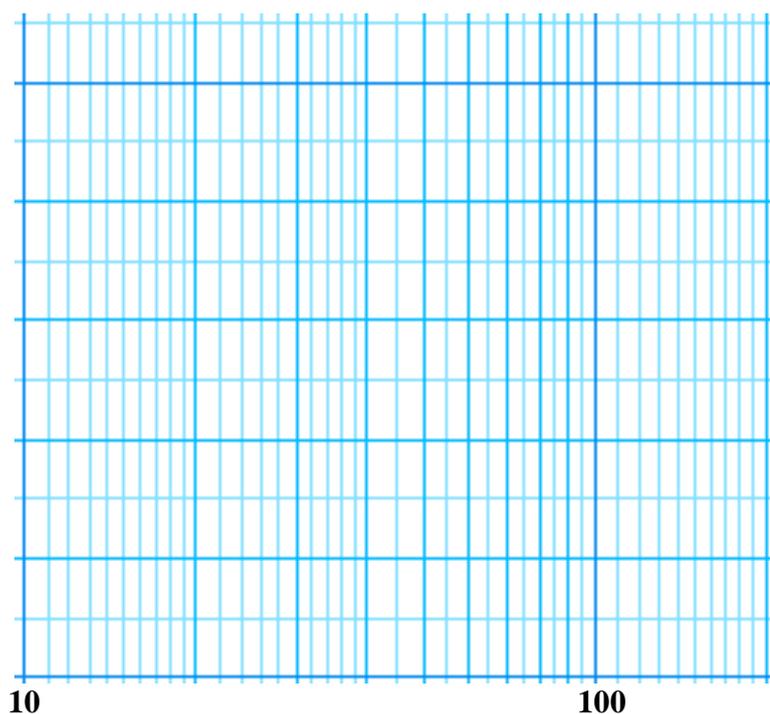
Задание 9. (5 баллов) График зависимости относительной подвижности (R_f) белков-стандартов от логарифма их молекулярной массы. **Обратите внимание, что ось абсцисс логарифмическая!**



Задание 10. (3,5 балла, по 0,5 балла за ячейку)

Белок	1	2	3	4	5	6	X
K_{av}							

Задание 11. (5 баллов) График зависимости коэффициента K_{av} белков-стандартов от логарифма их молекулярной массы. **Обратите внимание, что ось абсцисс логарифмическая!**



Задание 12. (1 балл, по 0,5 балла за ячейку)

Метод определения молекулярной массы белка	Мол. масса белка X (БТШ), кДа
ЭФ в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия	
Гель-фильтрация	

Задание 13. (3 балла) Какой вывод мог сделать Петя о белке БТШ на основании полученных им значений его молекулярной массы? Белок БТШ ...
