

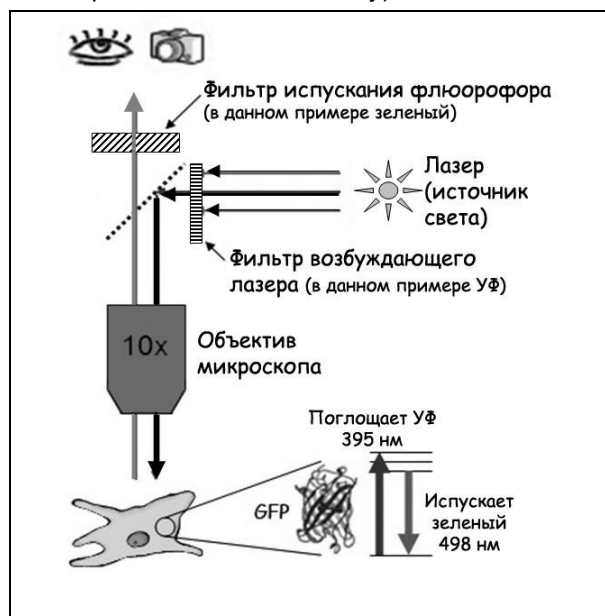
1. Клеточное лазер-шоу (35 баллов)

С изобретения первого микроскопа в XVI началось развитие цитологии – науки о клетках. И до сих пор микроскоп остается важнейшим инструментом в работе любого клеточного биолога. В основе работы светового микроскопа лежит отражение и поглощение препаратом световых волн. Однако большинство клеток слабо окрашены и практически прозрачны, поэтому для их визуализации стали использоваться различные красители (гематоксилин Эрлиха окрашивает ядра, эозин – цитоплазму).

В современной микроскопии широкое распространение получили **флуоресцентные микроскопы**. В качестве красителя в них используются флуорофоры – особые вещества, способные поглощать кванты света определенной длины волны и переводить электроны в возбужденное состояние, а затем испускать свет, но большей длины волны.

Соответственно, для каждого красителя используется **возбуждающий лазер** с длиной волны близкой к его спектру поглощения, а для получения изображения в микроскоп ставят специальный **фильтр**, пропускающий свет только определенных длин волн – близких к спектру испускания данного красителя.

Красители связываются с определенными структурами клетки и позволяют их визуализировать с большим разрешением.



Вопрос 1. Можно ли использовать два красителя с близким спектром и поглощения, и испускания на одном препарате? (Имеется в виду, что спектр поглощения красителя 1 близок к таковому красителя 2, то же и для спектров испускания - сравниваем красители 1 и 2). Если да, то в каком случае мы можем это сделать (для чего)?

Вопрос 2. Можно ли использовать красители с близкими спектрами поглощения, но разными испускания, и почему? Если да, то как мы можем это сделать?

Вопрос 3. Можно ли использовать красители с разными спектрами поглощения, но похожими – испускания? Почему? Если да, то как мы можем это сделать?

В таблице ниже представлены характеристики распространенных флуоресцентных красителей:

Название	Макс. поглощение, нм	Макс. испускание, нм	Что окрашивает
DAPI	358 (ультрафиолет)	461 (синий)	ДНК
Nile Red (Нил Красный)	554 (зелёный)	638 (красный)	Липофильный, т.е. клеточные мембраны, липидные капли
PI (пропидий иодид)	535 (зелёный)	615 (красный)	ДНК
Mitoracker Red	581 (жёлтый)	644 (красный)	Митохондрии

Также в флуоресцентной микроскопии активно используется зелёный флуоресцентный белок **GFP (Green Fluorescent Protein)** с максимумами поглощения/испускания 395 / 498 нм соответственно.

С помощью методов биотехнологии этот белок «пришивают» к антителам. Процедура «пришивания» сложная, поэтому используют один вид такого гибридного белка: GFP «пришит» к антителу, которое курица вырабатывает на белки кролика (Куриное антитело анти-кролик с GFP). А для обнаружения в клетке нужного ученым вещества X используют кроличьи антитела к веществу X. Таким образом, кроличье антитело связывается с веществом X, а уже с ним (с кроличьим антителом анти-X) в свою очередь связывается куриное антитело анти-кролик с GFP. Флуоресценция GFP позволяет увидеть локализацию вещества X в клетке.

Вопрос 4. Какой биологическое взаимодействие лежит в основе иммунофлуоресцентной микроскопии?

Вопрос 5. На микроскопе установлены лазеры, испускающие свет с длиной волны: 360, 400, 460, 550, 600, 610 и 630 нм, а также фильтры света, проходящего от флуорофоров, пропускающие длины волн 400-460, 500±10, >600, 640±5 нм.

Помогите ученому подобрать лазеры и фильтры, наиболее подходящие для каждого красителя, заполнив таблицу в бланке ответов.

Вопрос 6. У цитолога-исследователя есть весь набор кроличьих антител, представленный в таблице ниже. (Кроличий анти-тубулин связывается с тубулином, анти-целлюлоза – с целлюлозой и т.д., GFP анти-тубулин означает добавление куриного антитела анти-кролик с GFP, как описано выше). Также у него есть все красители из предыдущей таблицы.

Он приготовил препараты различных организмов и окрасил их соответствующими красителями. Какие клеточные/неклеточные структуры он увидит на каждом из препаратов? Ответьте, заполнив все ячейки таблицы в бланке ответов. Если на данном препарате данный краситель или антитело не выявит ничего, ставьте прочерк.

Цитолог-исследователь получил вещество X, предположительно обладающее генотоксическим эффектом (способностью химических веществ повреждать генетический материал) против раковых клеток, а также способное поглощать / испускать свет на 405 / 470 нм. Помогите ученому составить план эксперимента, чтобы проверить свою гипотезу, а также дополнительно визуализировать как можно больше клеточных структур на одном препарате с помощью красителей.

Вопрос 7. В какой части клетки, вероятнее всего, будет накапливаться вещество X?

Вопрос 8. Какой лазер/фильтр надо использовать для детекции вещества X?

Вопрос 9. Имеется возможность сделать три препарата глиобластомы, в которых дополнительно к веществу X использовано по два красителя (на каждом препарате). Внесите в таблицу, какие красители нужно добавить, чтобы визуализировать как можно больше структур. Заполните остальные строки таблицы.

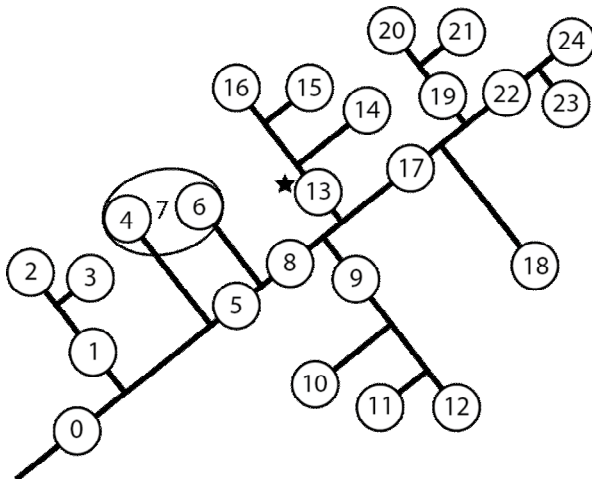
(Каждый лазер/фильтр делает отдельное изображение, лазеры/фильтры можно включать только по одному за раз, но в любой комбинации. Один препарат можно поочередно освещать лазерами на разных длинах волн и ставить разные фильтры).

2. Филогенетические деревья и не только (40 баллов)

Задание 1.

На схеме представлена часть филогенетического древа хордовых (включает рыб, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих). Определите таксоны, обозначенные цифрами на дереве. На дереве есть примеры парафилии (параллелизма) и монофилии (дивергенции). Укажите цифры таксонов, которые можно объединить в подобные группы.

0 – это челюстноротые, звездочкой обозначен класс, к которому относится человек, а 24 – птицы.



Таксоны			
Акулы	Рептилии	Лопастеперые	Чешуйчатые
Скаты	Костные рыбы	Ящерицы	Млекопитающие
Амфибии	Змеи	Бесхвостые	Хрящевые рыбы
Архозавры	Лучеперые	Сумчатые	Черепahi
Плацентарные	Яйцекладущие	Четвероногие	Двойкодышащие
Безногие	Птицы	Хвостатые	Крокодилы

Задание 2.

Раньше родство между видами определяли по сходству и различию морфологических признаков, теперь наряду с ними используют молекулярные методы: исследуют различия в последовательностях белков и нуклеиновых кислот.

У вас есть последовательность аминокислот некоего белка для пяти видов. Вам нужно построить филогенетическое дерево для этих видов (аналогичное древу из задания 1) и подписать на ветвях сколько изменений произошло после дивергенции от общего предка. Притом вид E является внешней группой (объясните, что это значит). Обязательно поясните ход своего решения.

Вид	Аминокислотная последовательность									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	тир	асн	вал	гли	мет	ала	асп	сер	трп	лиз
B	тир	асн	трп	арг	мет	иле	фен	сер	трп	лиз
C	тир	гли	вал	арг	мет	иле	фен	сер	трп	лиз
D	гln	асн	трп	фен	мет	ала	цис	сер	трп	ала
E	гln	асп	вал	гли	лей	гис	фен	цис	трп	лиз

Задание 2.

В гене, кодирующем исходный белок, произошла мутация. Была выделена мРНК мутантного гена. Но, к сожалению, в пробирку с ней случайно попала РНКаза. В итоге получили несколько неперекрывающихся фрагментов гена:

- (1) ГАУУГГГА, (2) ГГГАУЦ, (3) УАААУГ, (4) ААГЦЦАГГУ.

Известно, что с данной мРНК образуется нефункциональный белок.

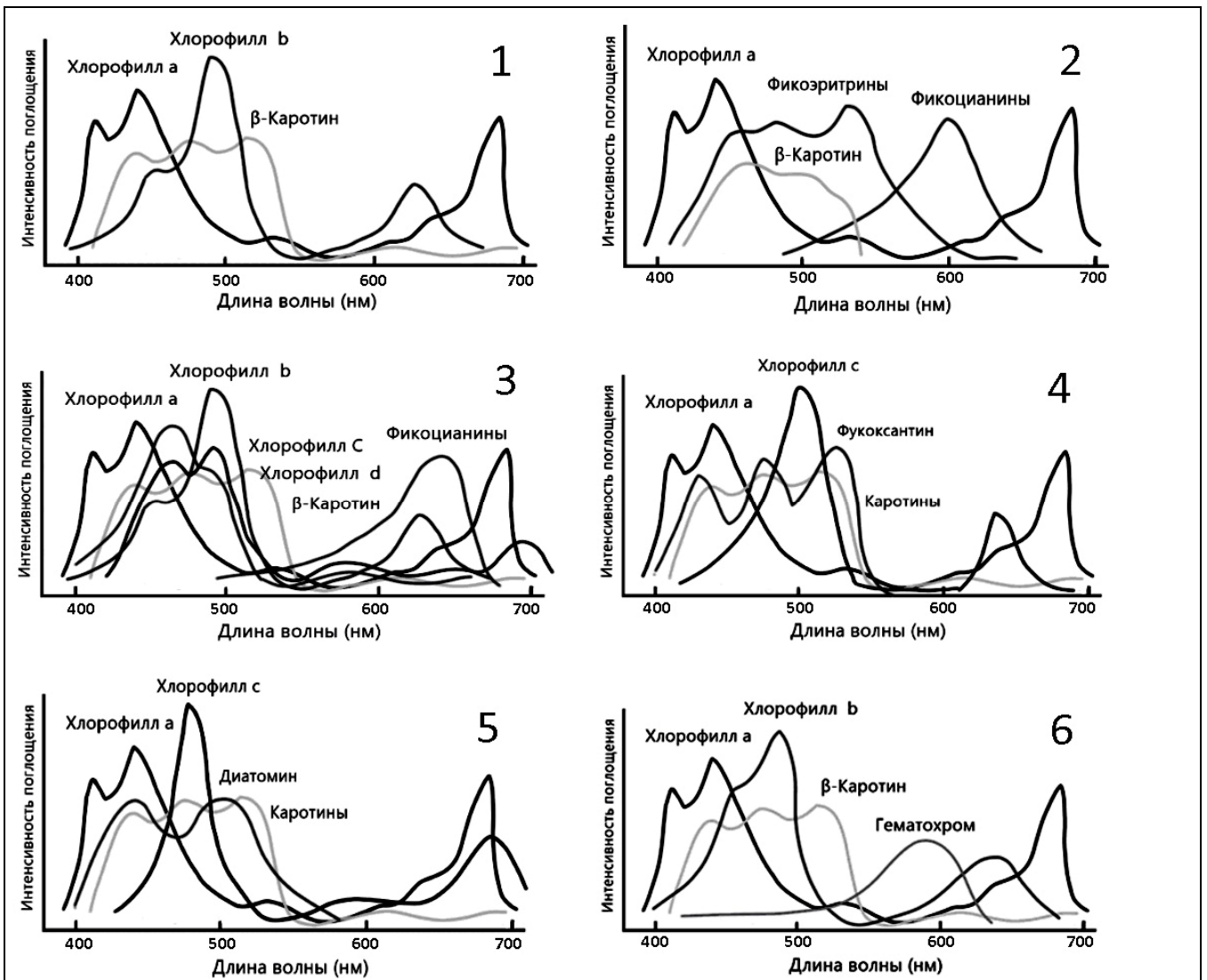
Определите последовательность мутантной мРНК. Запишите ее в таблицу. Используйте данные, полученные вами в задании 1, и таблицу генетического кода. Под таблицей в бланке ответов поясните ход решения (что вы делали и в какой последовательности).

Запишите также последовательность мРНК **нормального** гена. Покажите место мутации стрелкой в таблице, запишите словами, что произошло. Объясните, почему мутантный белок потерял свою функцию. Объясните, могут ли данные, полученные по мутантной РНК, помочь в установлении структуры нормального белка.

Генетический код (обратная таблица)			
Звездочка означает любой из четырех нуклеотидов.			
Ала	ГЦ*	Лей	УУА, УУГ, ЦУ*
Арг	ЦГ*, АГА, АГГ	Лиз	ААА, ААГ
Асн	ААУ, ААЦ	Фен	УУУ, УУЦ
Асп	ГАУ, ГУЦ	Про	ЦЦ*
Цис	УГУ, УГЦ	Сер	УЦ*, АГУ, АГЦ
Гли	ЦАА, ЦАГ	Тре	АЦ*
Глу	ГАА, ГАГ	Трп	УГГ
Гли	ГГ*	Тир	УАУ, УАЦ
Гис	ЦАУ, ЦУЦ	Вал	ГУ*
Иле	АУУ, АУЦ, АУА		
Мет	АУГ	СТОП	УАА, УАГ, УГА

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Аминок-та (из задания 1)										
Нормальная мРНК										
Мутантная мРНК										
Мутантный белок										

Рис. 1. Наборы пигментов к задаче 4, вопрос 1.



4. Красные приливы (31 балл)

Отдыхая на побережье Охотского моря, молодой ученый Стас Леонтьев заметил необычное явление: в один из дней морская вода вместо привычного синего цвета стала ярко-красной. У берегов водоема наблюдалось странное поведение птиц, гибель рыб и морских млекопитающих. Спустя время эпидемия распространилась среди людей, проявляясь у заболевших в виде ухудшения кратковременной памяти, дезориентации в пространстве, периодических судорог.

Стас решил понять, как взаимосвязаны эти события. Для этого он отобрал несколько проб воды и привез их в лабораторию для дальнейшего анализа. Стас предположил, что токсин находится в одном из видов водорослей, населяющих водоем.

После серии экспериментов ученый получил графики, отражающие интенсивность поглощения света от длины волны, по которым можно определить состав пигментов в хлоропластах организмов и их окраску.

Вопрос 1. Для каждой группы водорослей найдите на рис.1 характерный для нее набор пигментов.

Группы водорослей:

Зеленые (Chlorophyta) Эвгленовые (Euglenophyta)	Цианобактерии (Cyanobacteria) Диатомовые (Bacillariophyceae)	Красные (Rhodophyta) Бурые (Fucales)
--	---	---

Вопрос 2.

Из графиков видно, что пики поглощения света для хлорофилла находятся в синей (450 нм) и красной (700 нм) областях спектра. Так как свет из зеленой части спектра не поглощается, а отражается, то хлорофилл имеет зеленый цвет.

Какой цвет будет иметь фикоцианин? Фукоксантин? Для ответа на вопрос используйте таблицу с длинами волн видимого света.

Цвет	Диапазон длин волн	Цвет	Диапазон длин волн
Красный	760-620 нм	Голубой	500-480 нм
Оранжевый	620-590 нм	Синий	480-450 нм
Желтый	590-560 нм	Фиолетовый	450-400 нм
Зеленый	560-500 нм		

Вопрос 3.

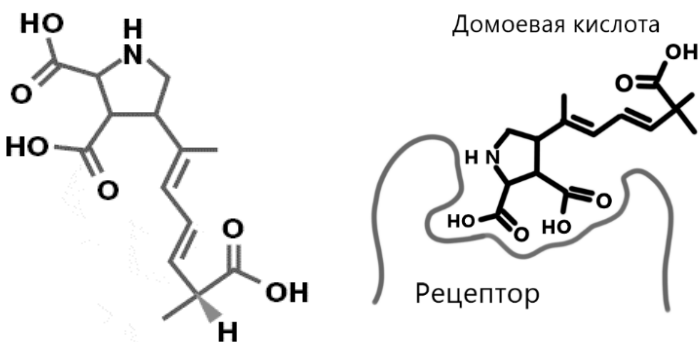
Стасу требуется определить, какой именно вид водорослей выделяет токсин. Изначально им было взято три пробы. В первой пробе содержится вид 1, 2, 3, 4. Во второй пробе вид 1, 2, 3, 4, 5. В третьей пробе 2, 3, 4, 6. Вода из каждой пробы оказалась токсичной для лабораторных рыб.

Ученый подобрал яды, способные убивать определенные виды водорослей. Действие яда можно определить только по изменению окраски пробы.

Известно, что виды 1, 2, 3 в живом состоянии окрашивают воду в зеленый цвет, а виды 4, 5, 6 в красно-бурый. При этом красно-бурый маскирует зеленый (то есть, если в пробе присутствуют живые виды 2,3,4, то она будет окрашена в красно-бурый). Если водоросли погибли, считать их бесцветными.

При действии яда А первая и вторая проба меняют цвет на зеленый, третья остается красно-бурой. При действии яда В вместе с ядом А третья проба обесцвечивается. Добавление только яда В не вызывает изменения окраски ни одной из проб, и каждая проба остается токсичной для рыб.

Какие виды гибнут от действия яда А, яда В? Какой вид выделяет токсин? Объясните свое решение.



Вопрос 4.

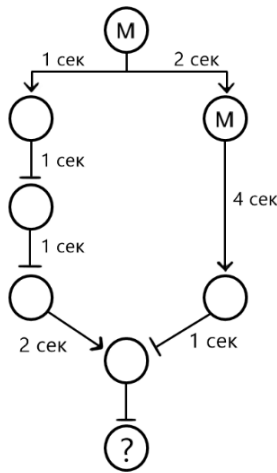
Ученому удалось выделить токсическое вещество. Им оказалась домоевая кислота – сильный нейротоксин. Рецепторы нейронов ошибочно принимают ее за молекулу одного из нейромедиаторов, открывают ионные каналы и запускают потенциал действия.

Даны структурные формулы некоторых нейромедиаторов и подписан процесс, который они вызывают в нейроне.

Определите нейромедиатор, агонистом которого является домоевая кислота (агонист означает, что молекула маскируется под нейромедиатор и вызывает тот же эффект). Какие особенности в строении молекулы позволяют это определить?

Нейромедиаторы:

<p>I – ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) – тормозной медиатор</p> <chem>NC(CCC)C(=O)O</chem>	<p>II – глутамат – возбуждающий медиатор</p> <chem>NC(CCC(=O)O)C(=O)O</chem>	<p>III – серотонин – тормозной медиатор</p> <chem>NC(Cc1c[nH]c2cc(O)ccc12)</chem>
<p>IV – дофамин – возбуждающий медиатор</p> <chem>NC(Cc1ccc(O)c(O)c1)</chem>	<p>V – аденозин – тормозной медиатор</p> <chem>NC1=NC=NC2=C1N=CN2[C@@H]3O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H]3O</chem>	<p>VI – ацетилхолин – возбуждающий медиатор</p> <chem>CC(=O)OCC[N+](C)(C)C</chem>



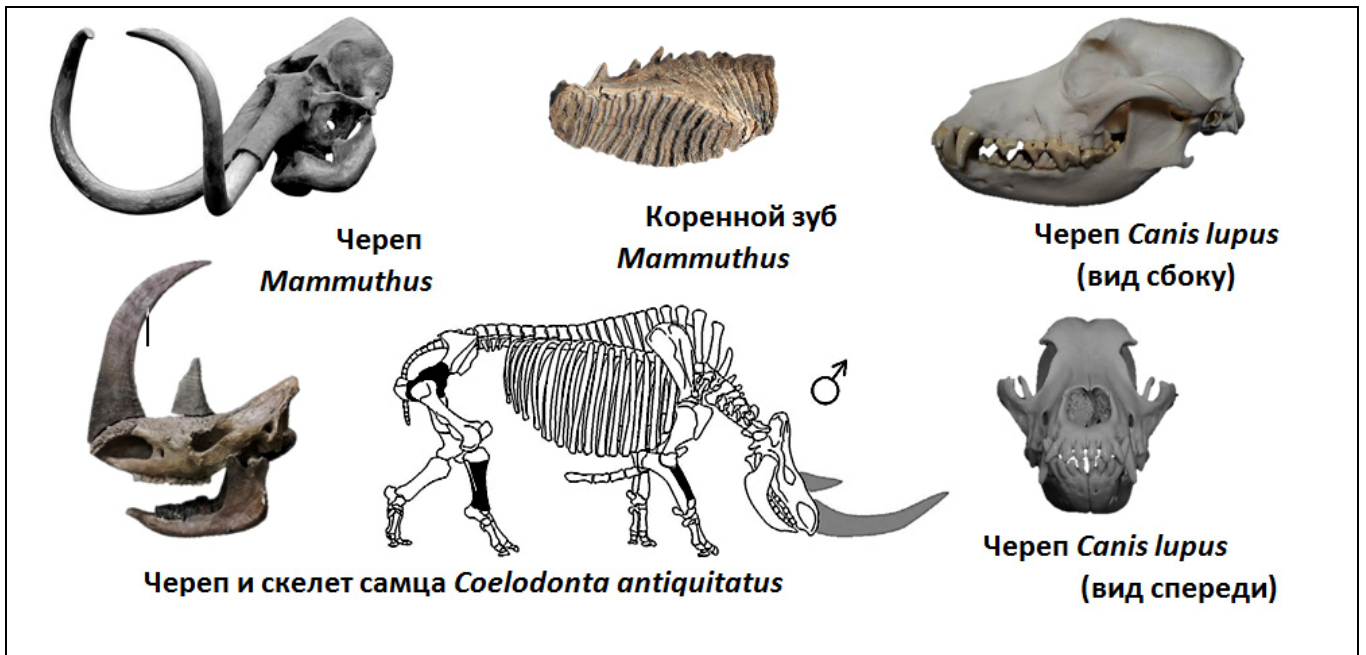
Вопрос 5.

На рисунке приведена схема передачи сигналов между нервными клетками. Острой стрелкой обозначается возбуждение следующей клетки, плоской чертой – торможение. Рядом со стрелками подписано время, которое требуется для передачи сигнала от одного нейрона к другому. Буква «М» внутри тел некоторых нейронов означает, что эта клетка синтезирует медиатор, агонистом которого является домоевая кислота. При действии домоевой кислоты на такие клетки они передают сигнал в два раза быстрее.

Определите, каким будет эффект (возбуждение / торможение) конечного нейрона в норме и при добавлении домоевой кислоты. Считать, что клетка реагирует на первый приходящий сигнал. Приведите ход рассуждений в бланке ответов.

5. Мамонтовая фауна (30 баллов)

Млекопитающие, жившие на территории Северной Евразии в позднем плейстоцене (100 – 10 тыс. лет назад), получили название “Мамонтовой фауны”. Среди них были как плотоядные, так и растительноядные животные, приспособленные к суровым условиям жизни в холодной тундростепи. Яркими представителями мамонтовой фауны Сибири были мамонт (*Mammuthus*), шерстистый носорог (*Coelodonta antiquitatus*) и обыкновенный волк (*Canis lupus*).



Задание 1. Назовите еще трех животных, относящихся к мамонтовой фауне.

Задание 2. Рассмотрите изображения черепов и элементов скелета трех млекопитающих, определите отряд и семейство, к которым они принадлежат. Запишите их зубные формулы. Заполните таблицу в бланке ответов.

Задание 3. Ответьте на вопросы.

А) Какой можно сделать вывод о питании мамонта (*Mammuthus*) по его характерной жевательной поверхности коренных зубов?

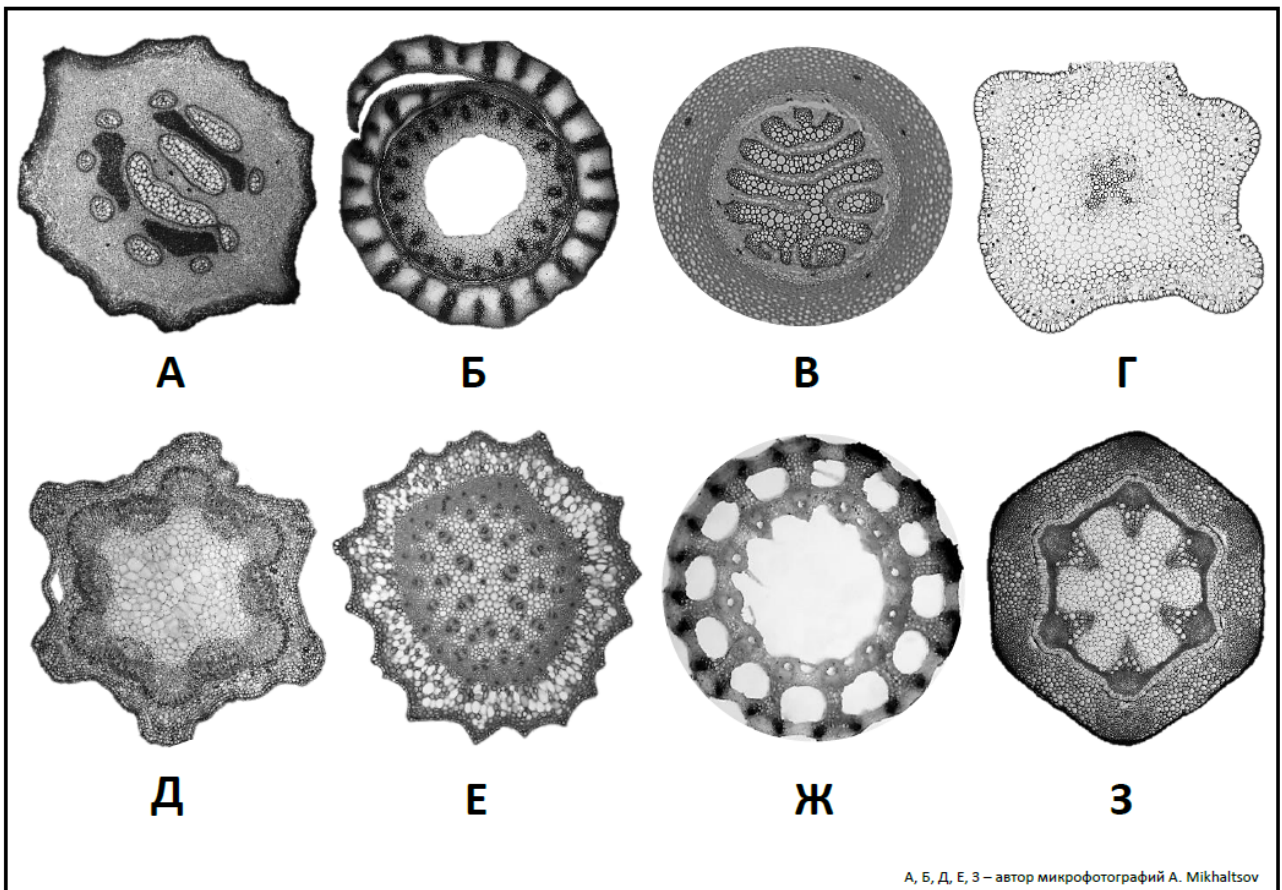
Б) Видоизменениями чего являются бивни и хобот мамонта (*Mammuthus*)?

В) Для чего, вероятно, служили рога у шерстистого носорога (*Coelodonta antiquitatus*)? Почему у обнаруженных в обычном грунте ископаемых черепов этих животных их характерные два рога практически всегда отсутствуют?

6. Срезы (16 баллов)

Внимательно рассмотрите поперечные срезы стеблей взрослых растений (А-З). Соотнесите их со схематическими изображениями типов центрального проводящего цилиндра (стели), и определите отделы, к которым принадлежат растения. Заполните таблицу в бланке ответов.

Схемы типов стели:



А, Б, Д, Е, З – автор микрофотографий А. Mikhaltsov

Отделы (даны избыточно):

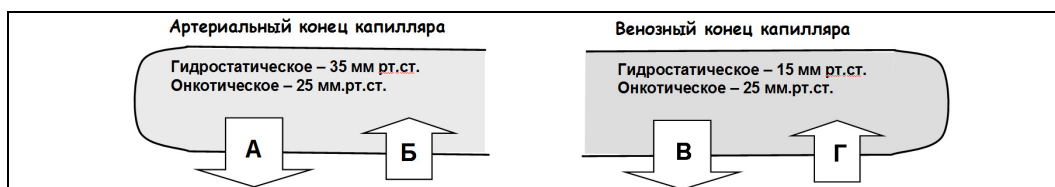
Мховидные	Плауновидные	Покрытосеменные (двудольные)
Папоротниковидные	Хвощевидные	Покрытосеменные (однодольные)
Псилотовые		

7. Откуда жидкость в тканях? (20 баллов)

Обмен жидкостью через капиллярную стенку происходит путем фильтрации и абсорбции.

Фильтрация — процесс выхода жидкости из капилляра в межклеточное пространство, а **абсорбция** — обратное поступление жидкости из межклеточного пространства в капилляр. Эти два процесса регулируются с помощью **гидростатического** и **онкотического** давления плазмы крови и тканевой жидкости.

Постоянство **онкотического** давления обеспечивается белками плазмы крови. В норме количество белков постоянно и поддерживает онкотическое давление на уровне 25 мм.рт.ст. **Гидростатическое давление** при движении крови постоянно снижается от артериального конца капилляра (примерно 35 мм.рт.ст.) к венозному концу (15 мм.рт.ст.). Эта разница давлений и обеспечивает движение воды из капилляра в ткань или, наоборот, из ткани в капилляры.



Вопрос 1. Определите на схеме в бланке, какими стрелками обозначено действие гидростатического и онкотического давлений. Нарисуйте сами стрелку, показывающую направление движения воды.

Вопрос 2. Давайте примем для расчетов, что разница давлений в 43 мм.рт.ст. обеспечивает фильтрацию воды через стенки всех капилляров со скоростью 1 мл в секунду и зависимость линейна. Также будем считать, что капилляр состоит только из артериального и венозного концов в равных соотношениях. Рассчитайте, сколько литров воды в сутки фильтруется в артериальном и венозном концах.

Вопрос 3. При длительном голодании человек испытывает недостаточное поступление белка в кровь. Онкотическое давление снизилось до 15 мм.рт.ст. Опишите, что будет происходить на артериальном и венозном конце капилляра. К каким последствиям для организма это приведет?

Вопрос 4. При значительной потере воды (диарея, неукротимая рвота) онкотическое давление повысилось до значений 35 мм.рт.ст. Опишите, что будет происходить на артериальном и венозном конце капилляра. К каким последствиям для организма это приведет?

Желаем успехов в выполнении заданий!