

Время выполнения заданий — 180 минут.

Максимальное количество баллов — 100.

Пишите разборчиво. Ответ пишите на странице с номером, соответствующим номеру вопроса. Если используете дополнительный лист, обязательно напишите об этом на основном листе ответа. Если не знаете ответа, ставьте прочерк. Черновики не оцениваются.

Задание №1 (12 баллов). Эксперимент.

Внимательно прочитайте текст задания. Найдите ошибки, допущенные при постановке эксперимента. Перечислите их и объясните, почему вы считаете, что это ошибки. Для каждой ошибки объясните, как нужно было действовать, чтобы получить достоверный ответ на поставленный Мариной вопрос.

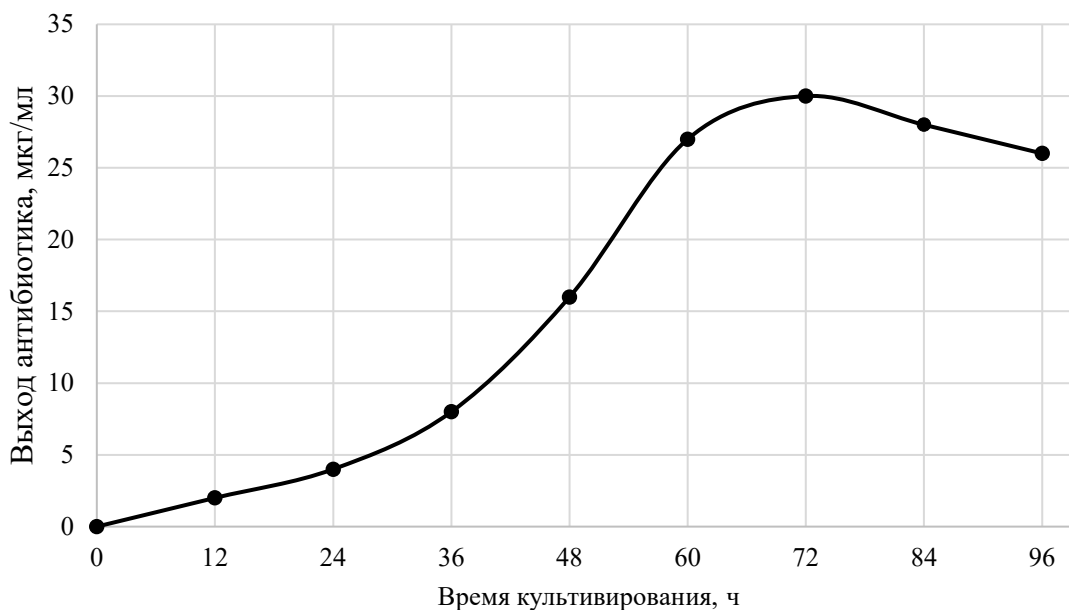
Девочка Марина решила выяснить, существует ли зависимость между заболеваемостью COVID-19 и группой крови. Для этого она опросила всех ребят 9 и 10 классов, а также всех учителей школы. Каждому участнику было задано два вопроса: «Какая у Вас группа крови?», «Болели ли Вы COVID-19?». По результатам опроса оказалось, что больше всего заболевших имели I группу крови. Марина сделала вывод, что люди с I группой крови наиболее подвержены COVID-19.

Задание №2 (11 баллов). Расчетная задача. Пишите подробное решение и поясняйте ваши действия.

Огромная группа микроорганизмов, принадлежащая к плесневым грибам, образует более 2500 видов антибиотических веществ, некоторые из которых применялись и применяются в медицине, получив всемирное признание в качестве лекарств от различных инфекционных заболеваний. Первым веществом, названным антибиотиком и применявшимся для спасения жизней от бактериальных инфекций, традиционно считают открытый в 1929 г Александром Флемингом пенициллин. Десять лет спустя открытием Флеминга заинтересовались Эрнст Чейн и Говард Флори, которым удалось впервые выделить и очистить пенициллин, что вызвало широкий научный и коммерческий интерес к производству этого препарата. В СССР изучать пенициллин начала Зинаида Виссарионовна Ермольева, под чьим руководством был получен очищенный пенициллин крустозин, спасший жизни многим солдатам во время Великой Отечественной Войны.

Структура пенициллина, как и пути его биосинтеза, были открыты намного позже. Основная проблема, с которой независимо столкнулись советские, английские и американские биотехнологи, заключалась в низком выходе пенициллина. На рисунке представлена динамика накопления бензилпенициллина (а именно эта молекула в ряду антибиотиков была открыта первой) его основным продуцентом – грибом *Penicillium chrysogenum*. На горизонтальной оси отложено время культивирования, а на вертикальной – концентрация антибиотика в 1 мл культуральной жидкости, в которой развивается продуцент. В промышленности антибиотик всегда получали в момент максимума его образования.

Динамика накопления бензилпенициллина продуцентом
Penicillium chrysogenum



За единицу активности бензилпенициллина принято минимальное количество препарата, способное задерживать рост золотистого стафилококка в 50 мл питательной среды. Для лечения одного пациента от стафилококковой инфекции требовалось количество антибиотика, обладающее активностью в 50 000 000 ед. Для очищенного Чейном и Флори бензилпенициллина было показано, что его активность составляет 1667 ед./мг препарата. Посчитайте, какой объем культуральной жидкости требовался до оптимизации промышленного получения бензилпенициллина для лечения одного пациента от стафилококковой инфекции?

Задание № 3 (14 баллов). Расчетная задача. Пишите подробное решение и поясняйте Ваши действия.

Неудивительно, что цветочек аленький настолько редок. Окраску цветка у него определяет единственный ген с двумя аллелями. У гомозиготы A_1A_1 лепестки белые, у гомозигот A_2A_2 – алые, у гетерозигот A_1A_2 они тоже алые, но при опылении пылью с генотипом A_1 белеют. Это однолетнее растение за сезон образует всего один цветок, в завязи которого лишь одна семяпочка. Первое же попавшее на рыльце пыльцевое зерно опыляет эту семяпочку. Жизнеспособность, пыльцевая продуктивность и сроки цветения от генотипа не зависят.

В первый год на поле высеяли семена, из которых $3/4$ составляли гомозиготы A_1A_1 , а $1/4$ – гетерозиготы A_1A_2 . Растениям дали свободно переопылиться, осенью их семена попали в почву и весной второго года проросли. Каким будет соотношение по окраске цветков во второй год к концу сезона цветения, когда все растения уже будут опылены?

Ответ (в процентах) запишите, округлив до первого знака после запятой.

Задание №4 (15 баллов). Анализ текста. Внимательно прочитайте текст, затем приступайте к выполнению заданий.

Эпигенетика – это раздел молекулярной биологии, который изучает наследуемые изменения экспрессии генов, не затрагивающие нуклеотидную последовательность ДНК. Само открытие такой возможности произвело революцию в понимании феномена наследственности, изменив парадигму, гласящую, что любое наследуемое изменение имеет своей причиной изменение набора нуклеотидов в ДНК. Сейчас это одна из самых интересных и быстро развивающихся областей молекулярной биологии.

Довольно быстро выяснилось, что большинство изменений наследуются недолго - в двух-трех поколениях. Однако уже известно немало примеров наследования в 5, 10 и даже большем числе поколений. Феномен обнаружен у всех эукариот: дрожжей, растений, дрозофилы, мышей и у человека. Конечно, наиболее эмоционально воспринимаются данные, полученные для человека. Кто еще недавно мог бы представить, что диета матери может влиять на появление диабета у детей! И это только верхушка айсберга!

Ключ к пониманию феномена кроется в двух процессах: метилировании ДНК и модификациях гистонов. Многие остатки цитозина в ДНК метилированы по пятому положению, причем метилируются они только в составе динуклеотидов CG. Метилировано до 60% всех CG динуклеотидов человека. Оказалось, что метилирование ДНК подавляет экспрессию генов! И этот механизм очень эффективен. Например, метилирование промотора (участка, который связывает РНК-полимеразу) приводит к прекращению синтеза мРНК. Интересно, что динуклеотиды CG очень часто сгруппированы как раз в промоторных областях, образуя «CG -островки». Это позволяет регулировать экспрессию генов. Метилирование обратимо: оно осуществляется ферментами метилтрансферазами, а удаление метильных групп осуществляют деметилазы. Поэтому таким образом можно включать и выключать гены.

Но как эти ферменты узнают, какой именно участок ДНК они должны метилировать? Здесь подключается второй слой регуляции. Известно, что ДНК наматывается на т.н. гистоновые белки: восемь молекул гистонов образуют похожую на мячик структуру, на которую наматывается примерно полтора оборота ДНК. Таких «мячиков» в ядре сотни тысяч, и вместе с намотанной на них ДНК они похожи на бусы на нитке (рис.1).

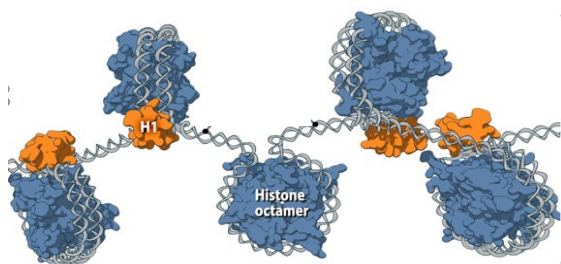


Рисунок 1. ДНК наматывается на структуру, образованную 8 белками, которые называются «гистоны». Получается похоже на бусы на нитке. Концевые участки гистонов не прилегают плотно к «бусине». (по <https://www.mechanobio.info/genome-regulation/what-are-nucleosomes>).

У каждой молекулы гистона есть концевой участок, который неплотно прилегает к «бусине», и его аминокислоты могут быть модифицированы: метилированы, ацетилированы или фосфорилированы. Модификации осуществляют специальные ферменты, и делают они это в ответ как на внутренние сигналы, так и на внешние факторы. Например, доказано, что особенности диеты, а также курение влияют на набор модификаций гистонов (а те, в свою очередь – на метилирование ДНК). В результате гистоны несут рисунок модификаций, отражающий текущие регуляторные процессы. Такой рисунок получил название «гистонового кода»: с модифицированными участками гистонов связываются различные регуляторные белки, которые могут запускать или прекращать синтез мРНК.

Рассмотрим один из этих механизмов чуть подробнее. Метилтрансфераза DNMT3A/B состоит из трех сегментов (доменов): собственно метилтрансферазного домена MTase, который и осуществляет метилирование ДНК, и двух регуляторных доменов: ADD и PWWP. В обычном состоянии домен ADD связан с доменом MTase и ингибирует его активность: метилирования ДНК не происходит. Но если этот домен «видит» неметилированный лизин в 4 положении гистона H3, то он связывается с ним, в результате высвобождая домен MTase, который осуществляет метилирование ДНК (рис.2А). Если этот остаток лизина метилирован, то связывания и активации DNMT3A/B не происходит, и ДНК остается неметилированной (рис. 2Б). На отдельных участках ДНК в дополнение к описанному механизму домен PWWP узнает еще один маркер – метилированный лизин в 36 положении гистона H3. Это дает еще один участок связывания DNMT3A/B в дополнение к связыванию ADD-домена и поэтому обеспечивает более прочное соединение фермента с ДНК и гистонами и усиливает метилирование ДНК (рис. 2В). PWWP и ADD домены могут связываться с гистонами H3 в любой последовательности: на эффективность посадки фермента это не влияет (рис. 2В).

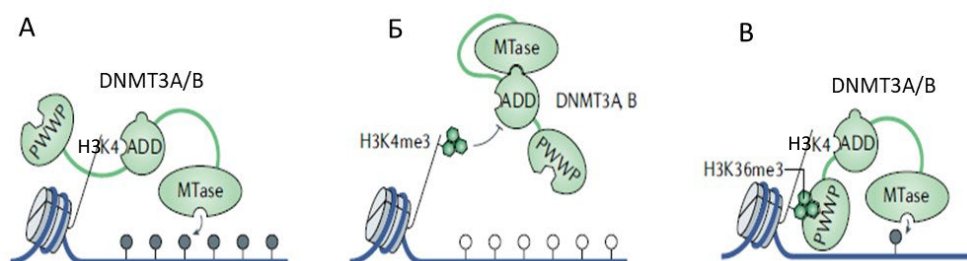


Рисунок 2. Темная нить – ДНК, серый диск – гистоновый комплекс («бусина»). Темными кружками показаны метилированные остатки цитозина, белыми – неметилированные. В соответствии со стандартной номенклатурой: H3 – гистоновый белок третьего типа. K – лизин, me3 – метилированный по трем положениям лизин. А,Б,В – три варианта взаимодействия метилтрансферазы DNMT3A/B с гистонами и ДНК, подробнее см. текст. (По <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0159-6> с изменениями)

Рисунок метилирования ДНК наследуется в ряду клеточных делений. Это происходит благодаря тому, что при репликации ДНК метилтрансферазы используют матричную цепь как образец и наносят метильные группы в аналогичные участки вновь синтезированной цепи. Но оказалось, что рисунок метилирования ДНК может наследоваться через

поколения! В ходе гаметогенеза и раннего эмбрионального развития происходит глобальное деметилирование генома, однако позже рисунок метилирования в основном восстанавливается, хотя именно на этих этапах в него могут быть внесены изменения.

С возрастом точность метилирования снижается, что приводит к дерегуляции многих генов и может служить причиной возникновения ряда болезней.

С метилированием тесно связан феномен генного импринтинга (от imprint – запечатление): у некоторых генов всегда метилирован отцовский аллель, а материнский – нет (возможна и обратная ситуация). Поэтому транскрипция мРНК происходит только с одного - неметилированного - аллеля. Таких генов у человека известно около 100. Нарушение их функций вызывает ряд наследственных заболеваний.

Исследование механизмов эпигенетической регуляции захватывающе само по себе, а, кроме того, оно позволяет найти такие подходы к лечению и профилактике заболеваний, которые еще недавно никто не мог даже вообразить. Это область, в которой новое поколение ученых и практиков сможет сделать много удивительных открытий.

Для ответа на задания ниже используйте материал прочитанного текста. В каждом задании содержится не менее одного верного утверждения. Вам нужно выбрать все верные утверждения (или неверные – в зависимости от формулировки вопроса). Запишите их в таблицу в бланке ответов.

1. Выберите верную (верные) последовательности.

А. PWWP-домен узнает неметилированный H3K4 – ADD-домен узнает метилированный H3K4 – ADD-домен изменяет конформацию – высвобождается домен MTase – DNMT3A/B метилирует ДНК – синтез мРНК ингибируется

Б. ADD-домен узнает неметилированный H3K4 – ADD-домен изменяет конформацию – высвобождается домен MTase – DNMT3A/B метилирует ДНК – синтез мРНК ингибируется

В. PWWP-домен узнает метилированный H3K36 – ADD-домен узнает неметилированный H3K4 – ADD-домен изменяет конформацию – высвобождается домен MTase – DNMT3A/B метилирует ДНК – синтез мРНК ингибируется

Г. ADD-домен узнает неметилированный H3K4 – ADD-домен изменяет конформацию – высвобождается домен MTase – DNMT3A/B метилирует ДНК – синтез мРНК активируется

2. Выберите верные (верное) утверждения.

А. Метилирование ДНК активирует экспрессию генов.

Б. Метилирование гистонов всегда ингибирует метилирование ДНК.

В. Факторы внешней среды могут вызывать изменение числа метилированных нуклеотидов в ДНК.

Г. Остатки цитозина в ДНК метилируются по 5 положению в составе динуклеотидов CG

Д. В процессе старения рисунок метилирования ДНК нарушается, и это не приводит к существенным негативным последствиям.

3. Как Вы думаете, почему метилирование ДНК – обратимый процесс?

- А. Это позволяет использовать меньше ферментов, чем если бы метилирование было необратимым.
- Б. Это дает возможность регулировать экспрессию генов в ответ на меняющиеся условия среды и потребности организма.
- В. Это дает шанс исправить ошибочное метилирование.
- Г. Это позволяет сделать наследование модификаций более надежным.

4. Выберите неверные (неверное) утверждения.

- А. Промоторы активно транскрибирующихся генов метилированы
- Б. Метилтрансфераза DNMT3A/B узнает как метилированный, так и неметилированный лизин.
- В. Можно предполагать, что тканеспецифичная экспрессия генов достигается в том числе за счет метилирования промоторных участков генов.
- Г. Можно предполагать, что, зная рисунок метилирования ДНК у конкретного человека, можно диагностировать некоторые болезни, в том числе на ранней стадии.

5. Как Вы думаете, по сравнению с обычным геном мутации в гене, подверженном импринтингу:

- А. Будут проявляться с большей вероятностью
- Б. Будут проявляться с меньшей вероятностью.
- В. Вероятность проявления мутаций в генах, подверженных и не подверженных импринтингу одинакова.

Особенность заданий № 5- №7 - наличие большого числа решений. Помните, что чем больше разумных вариантов ответа вы приведете, тем более высокой будет оценка. ВАЖНО: учитываются только верные ответы; за неверные гипотезы оценка не снижается!

Задание №5 (16 баллов). Известно, что в некоторых растениях, иногда в отдельных органах или тканях, содержание ионов определенных металлов существенно выше, чем в почве, на которой эти растения растут. Каким может быть приспособительное значение этого явления?

Задание № 6 (16 баллов).

Представим, что все бактерии вдруг исчезли на всей планете. Какие последствия можно ожидать?

Задание №7 (16 баллов).

Рак – это заболевание, при котором происходит неконтролируемое размножение клеток. Неконтролируемое размножение начинается из-за возникновения мутаций в ДНК. Поэтому кажется очевидным, что чем больше клеток в организме и чем дольше живет организм, тем выше вероятность возникновения рака. Однако на практике это не так. Например, у человека клеток в 1000 раз больше, чем у мыши, а продолжительность жизни выше примерно в 30 раз. Для каждой конкретной клетки это дает в $\sim 10^7$ раз более высокий риск перерождения в раковую. Но на самом деле вероятность развития рака у человека и мыши примерно одинакова. При этом интересно, что в пределах вида положительная корреляция действительно существует: например, у небольших пород собак вероятность возникновения рака ниже, чем у крупных. Однако при сравнении разных видов эта зависимость теряется, что продемонстрировано для десятков видов млекопитающих. Этот парадокс имеет огромную практическую значимость и интенсивно исследуется молекулярными биологами во всем мире. Как Вы думаете, чем можно его объяснить: почему у разных видов нет зависимости между числом клеток и частотой возникновения рака? Почему у разных видов нет зависимости между продолжительностью жизни и частотой возникновения рака?