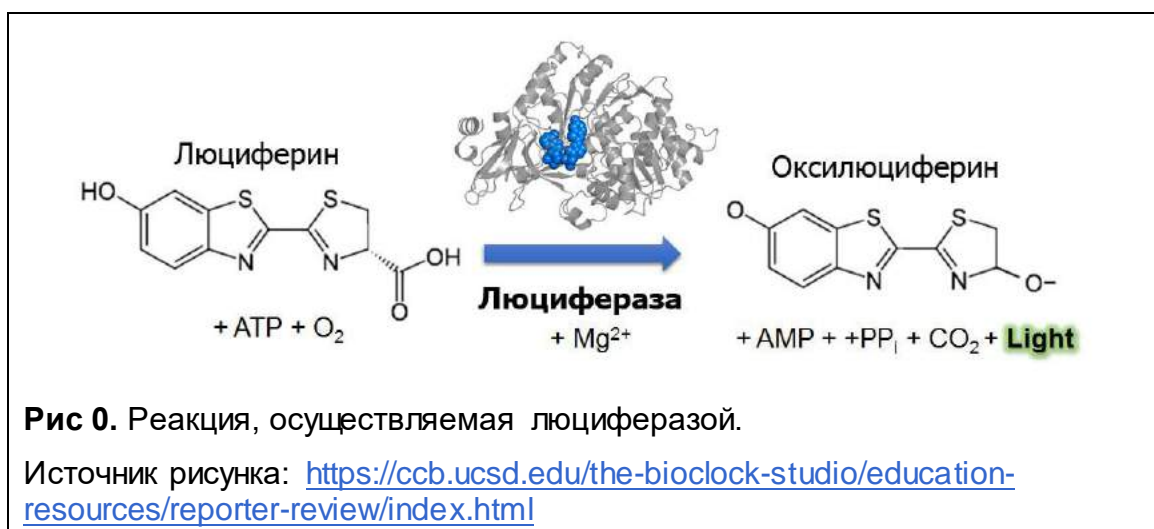


11 класс

1. Определитель Стрекающих (32 балла). [Ответ в задании для 7-8 класса.](#)
2. Группы крови (34 балла) [Ответ в задании для 10 класса.](#)
3. Люцифераза (32 балла)

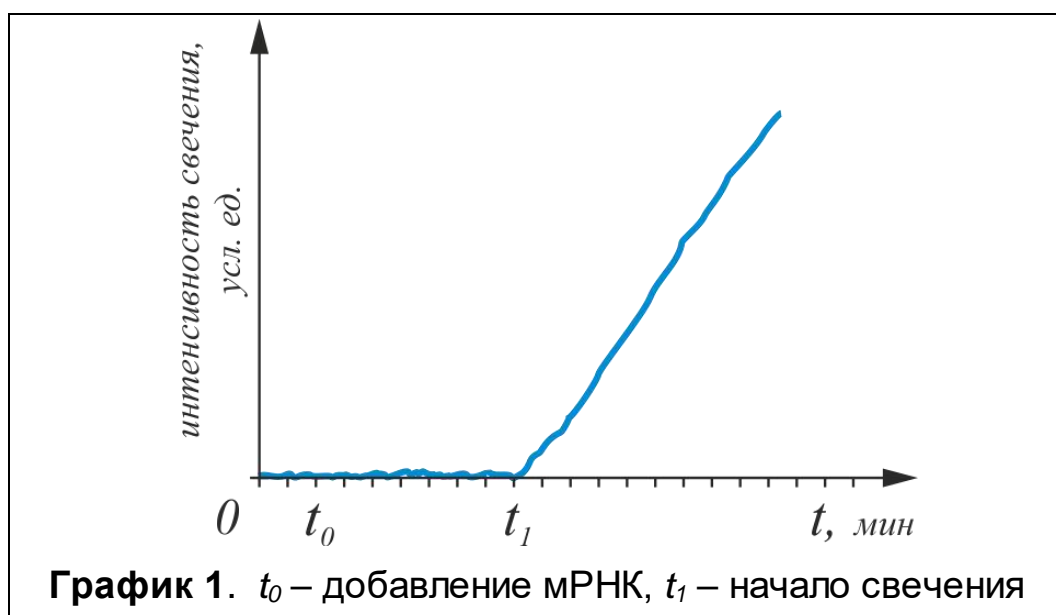
Фермент **люцифераза** уже давно зарекомендовал себя в качестве мощного инструмента исследования биологических систем. Люцифераза окисляет свой субстрат, люциферин, кислородом воздуха в присутствии ионов Mg^{2+} и АТФ. В ходе этого процесса генерируется квант света с определенной длиной волны, и именно этим пользуются светляки, чтобы светиться в темноте (см. Рис. 0).



Аспирант Федор Пробиркин исследовал биосинтез люциферазы светляка, состоящей из 550 аминокислот. Помогите ему интерпретировать результаты экспериментов.

Эксперимент 1.

В клеточный лизат он добавлял люциферин и мРНК, кодирующую люциферазу. Зависимость интенсивности свечения от времени представлена на графике 1.



Почему интенсивность свечения начинает расти не сразу, а только спустя какое-то время?

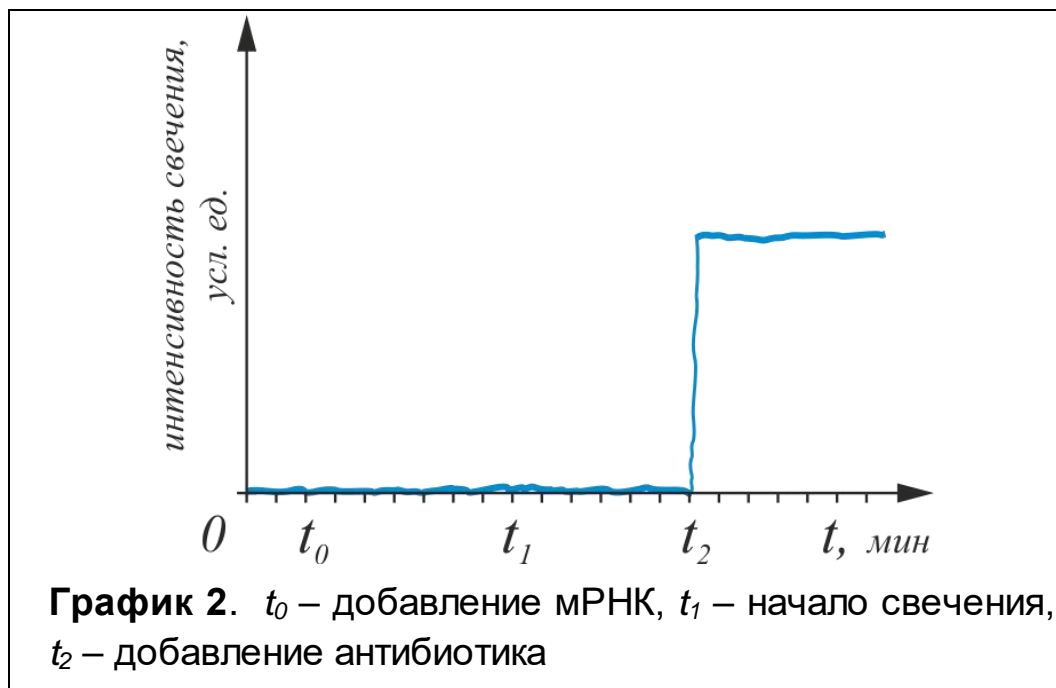
Оцените нижнюю границу скорости, с которой движется рибосома по матрице во время синтеза белка (в нуклеотидах в минуту).

Как вы думаете, почему мы можем оценить только нижнюю границу скорости? (Подсказка - какие процессы предшествуют стадии элонгации?).

Далее Федор с помощью двух экспериментов решил выяснить, сворачивается ли люцифераза непосредственно во время синтеза на рибосоме или же только после завершения синтеза.

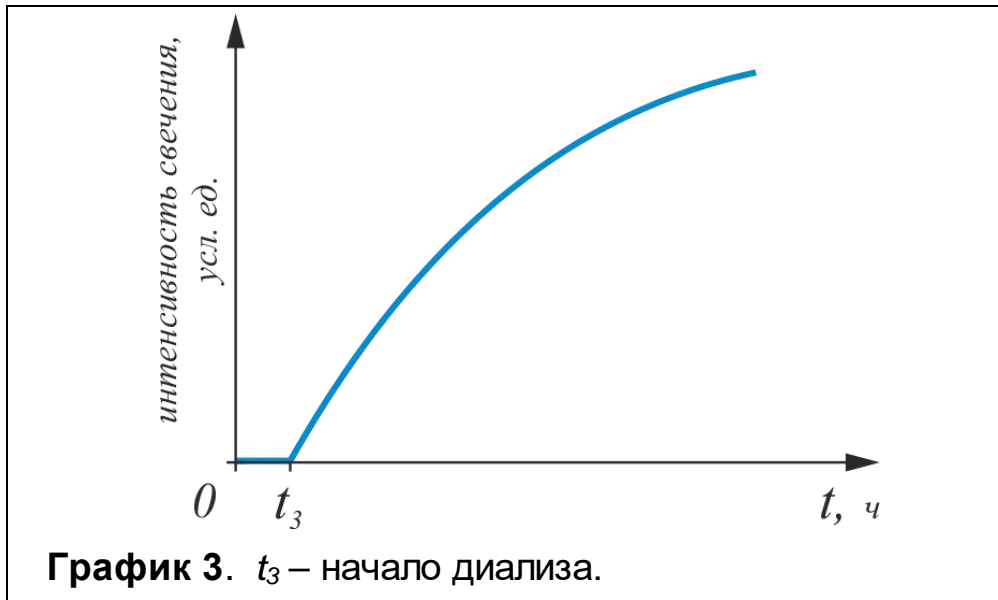
Эксперимент 2

Во втором эксперименте он добавлял мРНК люциферазы, заканчивающуюся последним кодирующим аминокислоту кодоном, в клеточный лизат с люциферином (график 2). В пробирке свечения не наблюдалось. После чего в систему добавляли антибиотик, вызывающий принудительное высвобождение белка из рибосомы. Спустя несколько секунд после добавления антибиотика наблюдалось резкое увеличение свечения в пробе.



Эксперимент 3

Для оценки времени фолдинга белка экспериментатор добавлял к препарату люциферазы денатурирующие агенты, чтобы разрушить третичную структуру фермента. После чего удалял денатурирующие агенты путем диализа, попутно оценивая эффективность восстановления ферментативной активности по интенсивности свечения пробы (рис 3).



Предположите, какие химические вещества мог использовать экспериментатор в качестве денатурирующих агентов.

Исходя из результатов этих двух экспериментов предположите, когда происходит фолдинг люциферазы: только после выхода белка из рибосомы или уже идет во время синтеза? Проинтерпретируйте результаты эксперимента 2 в соответствии с вашим ответом. (Подсказка: во время синтеза белка его С-конец находится в рибосоме, из-за чего фермент не может проявить свою активность).

ОТВЕТ на задание «Люцифераза»

Эксперимент 1.

<p>1. Почему интенсивность свечения начинает расти не сразу, а только спустя какое-то время?</p>	<p>Свечение в образце возникает вследствие работы люциферазы. Для того, чтобы рибосомы в бесклеточной системе смогли синтезировать полноразмерный (трансляция) и активный фермент (фолдинг), нужно некоторое время.</p>
<p>2. Оцените нижнюю границу скорости, с которой движется рибосома по матрице во время синтеза белка (в нуклеотидах в минуту). Приведите расчеты.</p>	<p>Время t_1 соответствует времени синтеза первого полноразмерного белка люциферазы. Значит, оценку скорости трансляции мы можем получить, разделив количество кодирующих нуклеотидов на время синтеза.</p> <p>Кодирующих нуклеотидов в матрице в 3 раза больше, чем аминокислот в белке, а именно $550 \cdot 3 = 1650$ н.</p> <p>Время, затраченное системой на синтез, равно $t_1 - t_0$. Разделив количество нуклеотидов на затраченное время, получим оценку скорости трансляции: $1650 \text{ н.} / (t_1 - t_0)$</p>
<p>3. Как вы думаете, почему мы можем оценить только нижнюю границу скорости? (Подсказка - какие процессы предшествуют стадии элонгации?).</p>	<p>Элонгация – не единственная стадия синтеза белка. Элонгации также предшествует инициация, в ходе которой рибосома связывается с мРНК и устанавливает нужную рамку считывания, на это распознавание и позиционирование тоже уходит время.</p> <p>А значит, используя временной промежуток $t_1 - t_0$, мы переоцениваем время, затраченное на элонгацию, и на самом деле рибосома присоединяет аминокислоты к растущему пептиду быстрее, чем в нашей оценке.</p>

Эксперименты 2 и 3.

<p>4. Какие химические вещества мог использовать экспериментатор в качестве денатурирующих агентов?</p>	<p>В лабораторной практике для денатурации белка часто используют низкомолекулярные амфотерные или гидрофобные соединения, например, спирты, фенол, мочевины или гуанидинхлорид. Они нарушают третичную структуру белка за счет разрушения их гидрофобного ядра.</p> <p>Для денатурации также можно использовать повышение или понижение концентрации соли в</p>
---	--

	<p>растворе, для этого обычно используют сульфат аммония.</p> <p>Так же за правильные ответы принимались детергенты, тиоловые соединения, кислоты и щелочи, соли тяжелых металлов (хотя их и не применяют в диализе, но это уже тонкости, которые школьники знать не обязаны).</p>
<p>5. Когда происходит фолдинг люциферазы: только после выхода белка из рибосомы или уже идет во время синтеза?</p> <p>Проинтерпретируйте результаты эксперимента 2 в соответствии с вашим ответом.</p>	<p>Любые логичные рассуждения о скорости фолдинга исходя из представленных данных, от чего он зависит.</p> <p>За правильные ответы принимались как рассуждения взятые из описания статьи Спирина об этом эксперименте, как доказательстве котрансляционного фолдинга:</p> <p><i>Фермент люцифераза после денатурации при диализе восстанавливает свою активность весьма долго (эксперимент 3). В то же время он оказывается активным сразу после освобождения с рибосомы (видно из 2 эксперимента после добавления антибиотика). Это означает, что фолдинг произошел во время трансляции.</i></p> <p>Так и самостоятельные рассуждения такого рода: Вряд ли последняя аминокислота играет решающую роль в фолдинге, и, если бы фермент принимал нужную конформацию еще до выхода из рибосомы, минимальное свечение бы наблюдалось еще до окончания синтеза, но это не так, следовательно, фолдинг происходит после выхода из рибосомы (пары секунд, которые прошли после добавления антибиотика, вполне хватило для фолдинга).</p> <p>Длительное время фолдинга при диализе может быть связано с медленной скоростью ухода денатурирующего агента.</p>

Комментарии по результатам проверки.

По пункту 1. Не упоминался фолдинг, хотя вся дальнейшая задача идет на расчет времени фолдинга. Особенно у тех, у кого получилось, что фолдинг будет проходить после трансляции. Мы считаем это важным, так как надо понимать, что между моментом синтеза и моментом начала ферментативной активности может проходить значительное время.

По пункту 2. Не отнимали время $t_0 = 2$ минутам. Считали не нуклеотиды в минуту, а аминокислоты в минуту.

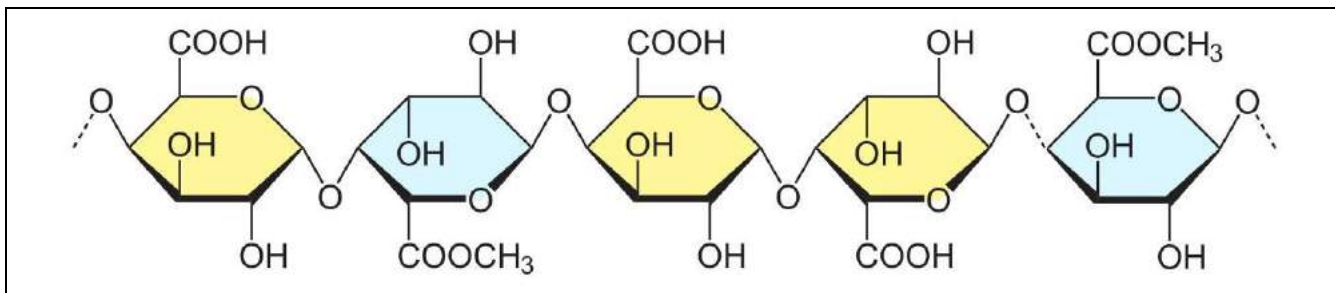
По пункту 4. Просто перечисляли какие-то вещества. Почему именно они? Хотелось бы услышать рассуждение и ваше понимание причин, а не умение найти в интернете название денатурирующих агентов для диализа.

По пункту 5. Нужны были рассуждения именно на основании приведенных данных, а не из общих знаний. То есть в ответе вы должны были апеллировать к экспериментам 2 и 3 (или 1 и 2).

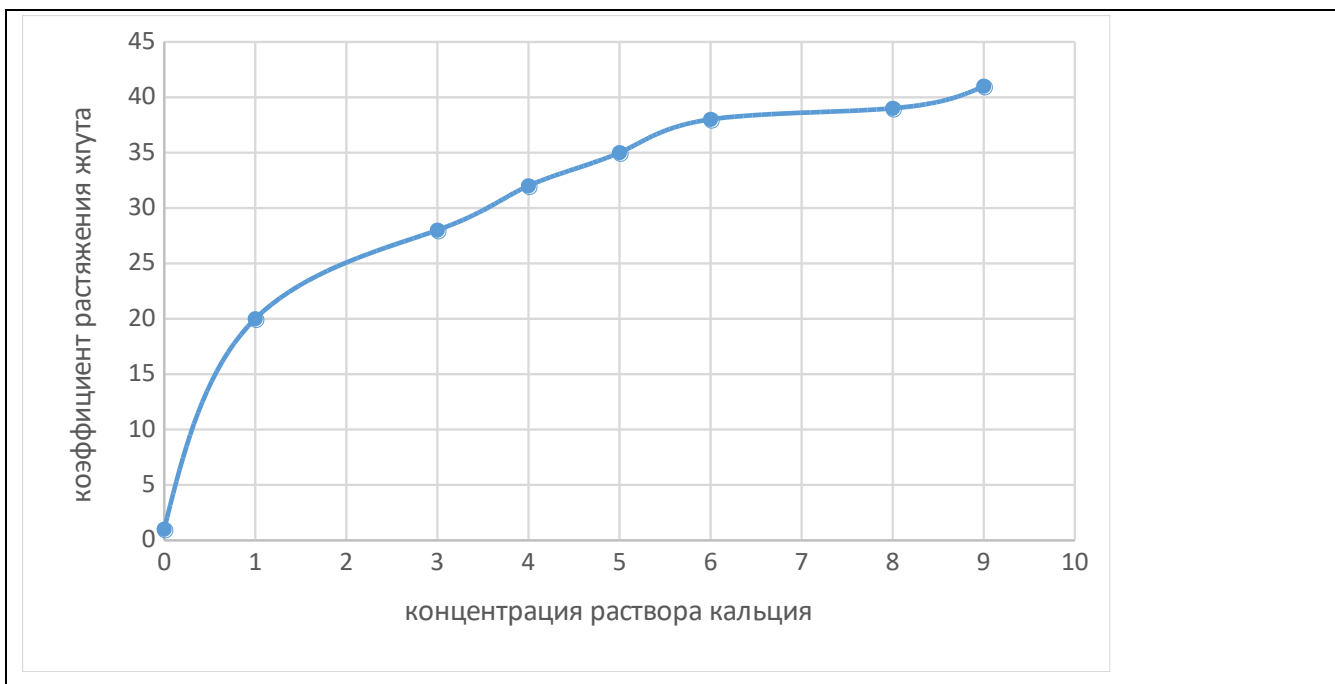
Некоторые нашли объяснения данного эксперимента Спирина А.С. «СВОРАЧИВАНИЕ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ СВЕТЛЯЧКОВОЙ ЛЮЦИФЕРАЗЫ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ С-КОНЦОМ». Молодцы, что не боитесь искать ответы в серьезных источниках, но желательно в таких случаях приводить ссылки (это сделал только один участник).

4. Полисахарид (26 баллов)

Из растительных тканей были выделены углеводы, формула которых показана на рисунке.



Из полученного вещества изготовили гибкий жгут (путем протягивания полученной субстанции через отверстие). Серию таких жгутов обрабатывали растворами с разной концентрацией ионов Ca^{2+} . Затем исследовали на динамометре коэффициенты растяжения жгутов (чем больше коэффициент растяжения, тем хуже жгут растягивается). Полученные результаты представлены на графике.



Ответьте на следующие вопросы:

1. Где в клетке растений встречаются полисахариды с приведенной формулой, как они называются и какую функцию выполняют в клетке?
2. Исходя из экспериментальных данных и представленной формулы предположите, как кальций взаимодействует с полисахаридом и какую роль при этом выполняет.
3. Объясните, почему график имеет такую форму.
4. С помощью каких химических модификаций этого углевода можно препятствовать связыванию кальция с ним?

ОТВЕТ на задание «Полисахарид»

1. Где в клетке растений встречаются полисахариды с приведенной формулой, как они называются и какую функцию выполняют в клетке?

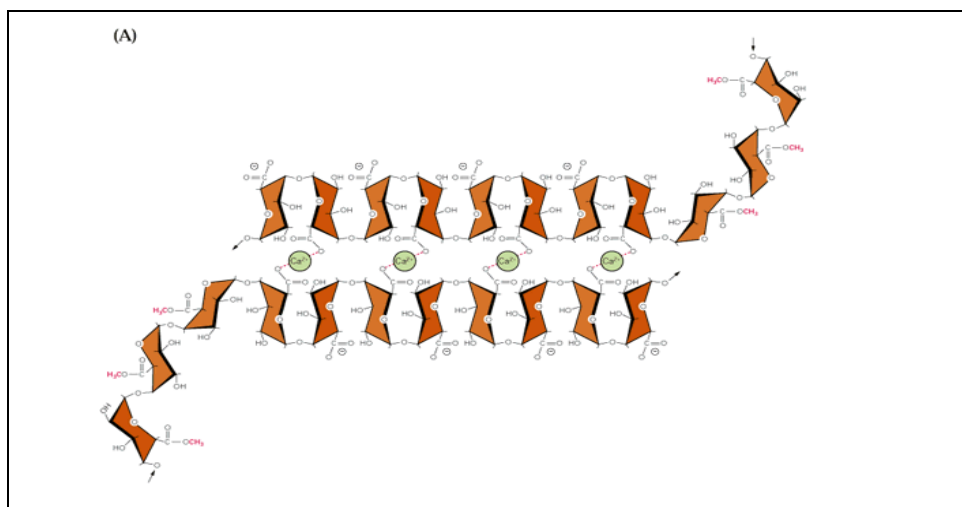
Ответ

Представленные полисахариды называются **пектины** и встречаются в первичной **клеточной стенке** (а также в **межклеточном веществе** растительных тканей). Они выполняют прежде всего **механическую функцию**: поддерживают форму клеточной стенки и придают механическую прочность тканям растений. Обладая способностью к гелеобразованию, они играют важную роль в поддержании **водного и солевого баланса** между клеткой и межклеточным пространством

2. Исходя из экспериментальных данных и представленной формулы предположите, как кальций взаимодействует с полисахаридом и какую роль при этом выполняет.

Ответ

В условиях pH клеточной стенки карбоксилы полисахаридов диссоциируют на протон и отрицательно заряженный кислотный остаток. Кальций **электростатически** взаимодействует с **отрицательно заряженными кислотными остатками** в составе полимеров. Причем **один ион кальция** (заряд 2+) способен связаться сразу с **двумя кислотными остатками** (заряд 1-) в соседних цепях полимеров (как на рисунке). Таким образом, кальций **скрепляет тяжи полимеров друг с другом**, усиливая механическую прочность материала.



3. Объясните, почему график имеет такую форму.

Ответ

Представленный график имеет типичную форму кривой кинетики Михаэлиса-Ментен для ферментативной реакции (кривая с насыщением).

Чем больше ионов кальция захвачено молекулами, тем крепче они держатся друг за друга и тем **сложнее растянуть** жгут. Но **сайтов связывания** для кальция в материале **ограниченное количество**, поэтому механическая прочность полимера возрастает с увеличением концентрации кальция не бесконечно, в какой-то момент ионов кальция становится больше, чем сайтов связывания, и **дальнейшее добавление кальция не приводит к увеличению механической прочности**.

4. С помощью каких химических модификаций этого углевода можно препятствовать связыванию кальция с ним?

Ответ

Полимер связывает кальций за счет своих карбоксиллов, поэтому для уменьшения способности связывать кальций стоит в первую очередь **модифицировать** эти **карбоксиллы с устранением их отрицательного заряда**. Само условие подсказывает нам оптимальное решение. На рисунке, помимо карбоксиллов, мы видим эфиры карбоксиллов, которые к связыванию кальция не способны. Соответственно, **образование сложных эфиров** с карбоксиллами полимеров будет препятствовать связыванию ими кальция. Именно таким образом и поступает растительная клетка - регулируя степень этерифицированности карбоксиллов, определяет жесткость собственной клеточной стенки.

Максимальные суммы баллов

Максимальная сумма баллов 7-8 класс:

Задание	1. Формула цветка	2. Определитель стрекающих	3. Экологические взаимодействия	Σ
Макс. балл	35	32	32	99

Максимальная сумма баллов 9 класс:

Задание	1. Формула цветка	2. Определитель стрекающих	3. Экологические взаимодействия	4. Перестановка органов	Σ
Макс. балл	21	32	32	21	106

Максимальная сумма баллов 10 класс:

Задание	1. Формула цветка	2. Определитель стрекающих	3. Перестановка органов	4. Группы крови	Σ
Макс. балл	21	32	21	34	108

Максимальная сумма баллов 11 класс:

Задание	1. Определитель стрекающих	2. Группы крови	3. Люцифераза	4. Полисахарид	Σ
Макс. балл	32	34	32	26	124