



Пироговская олимпиада для школьников по биологии.

Отборочный этап 2024-2025 г.г.

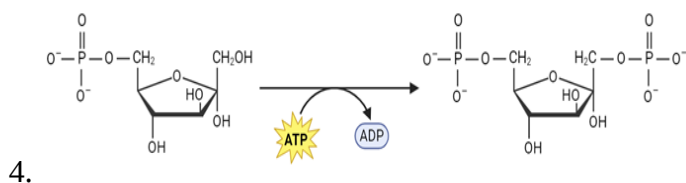
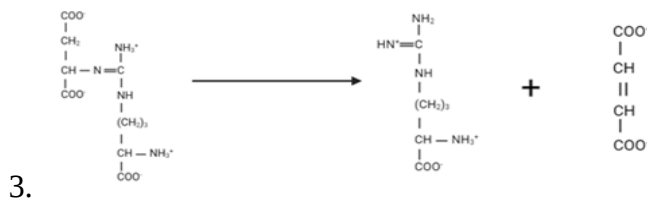
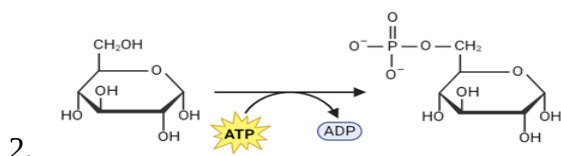
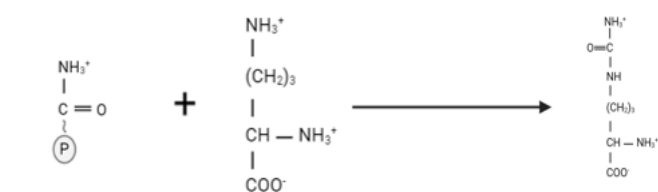
11 класс. Вариант 1

ЧАСТЬ 1 (10 вопросов, каждый по 2 балла). Выбрать от 1 до 4 ответов.

Задания данной части направлены на определение кругозора участников олимпиады. Также в отборочном этапе они позволят участникам набрать необходимые баллы, так как в заочном туре учащиеся не ограничены в источниках информации.

Вопрос 1 (Биохимия)

К анаплеротическим реакциям относят



Ответ: 3.

Вопрос 2 (Инфекционные болезни и паразитология)

Выберите из предложенных паразитических форм животных организмы, у которых отсутствует пищеварительная, кровеносная и дыхательная системы, при этом имеется раздельнополость:

1. *Gordius aquaticus*
2. *Rhabdias bufonis*
3. *Acanthocephalus lucii*
4. *Echinorhynchus salmonis*

Ответ: 3, 4.





Вопрос 3 (Зоология)

Какое из представленных животных является наиболее близким родственником человека?

1. Малайский шерстокрыл
2. Трубказуб
3. Енот-полоскун
4. Обыкновенная белка

Ответ: 1.

Вопрос 4 (Микробиология и биотехнология)

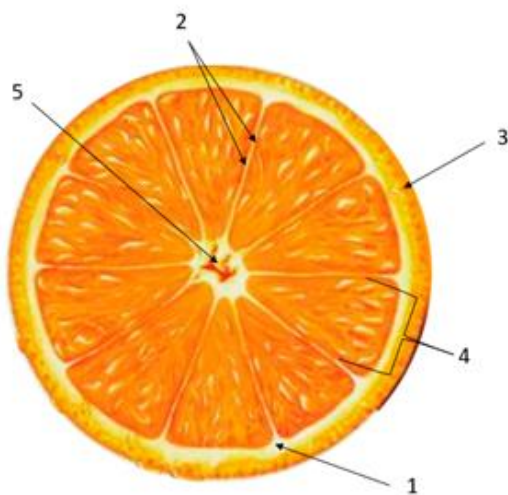
Большинство штаммов-продуцентов антибиотиков относятся к

1. актиномицетам
2. грибам
3. археям
4. цианобактериям

Ответ: 1

Вопрос 5 (Ботаника и микология)

Мезокарпий обозначен цифрой



1. 1
2. 2
3. 3
4. 4

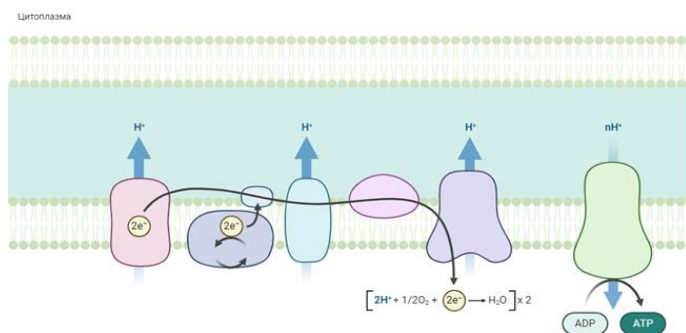
Ответ: 1.





Вопрос 6 (Цитология)

Изображённый процесс происходит на мембране



1. тилакоида
2. хлоропласта
3. митохондрии
4. ядра

Ответ: 3.

Вопрос 7 (Анатомия и физиология человека)

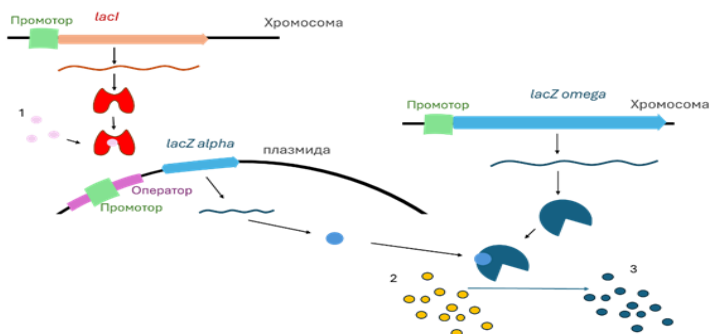
Выберите верные утверждения о ренин-ангиотензин-альдостероновой системе:

1. в системе имеются ферменты, которые относят к классу гидролаз
2. ангиотензин I напрямую влияет на секрецию альдостерона
3. ренин способствует превращению ангиотензина I в ангиотензин II
4. система способствует увеличению кровяного давления

Ответ: 1, 4.

Вопрос 8 (Генетика и селекция)

На схеме работы лактозного оперона у клетки трансформанта плазмидой pBluescript при бело-голубом скрининге цифрами 1 и 2 отмечены:



1. Бетта-галактозидаза
2. Лактоза
3. ИПТГ
4. Соединение Xgal

Ответ: 3, 4.





Вопрос 9 (Эмбриология. Рост и развитие)

Развитие у эмбриона человека нервной трубки; начало развития головного и спинного мозга происходит на:

1. Третьей неделе беременности
2. Четвертой неделе беременности
3. Пятой неделе беременности
4. Седьмой неделе беременности

Ответ: 1.

Вопрос 10 (Эволюция и экология)

Какой из следующих факторов НЕ способствует поддержанию генетического разнообразия в популяции?

1. Мутации
2. Иммиграция новых особей
3. Инбридинг (близкородственное скрещивание)
4. Половой отбор

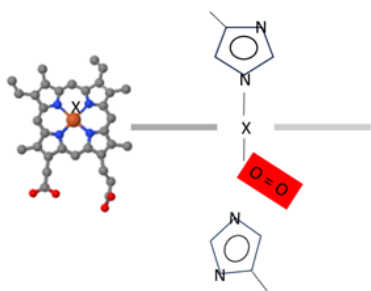
Ответ: 3.

ЧАСТЬ 2 (8 вопросов, каждый 5 баллов) Сопоставление объектов и явлений.

Задания данной части направлены на проверку умения работать с графическим и иллюстративным материалом, а также на оценку способности интегрировать кругозор в структуру логического мышления.

Вопрос 1 (Биохимия)

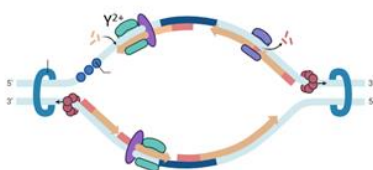
В организме человека содержатся различные металлы, которые играют важную роль в процессах жизнедеятельности. На рисунках даны схемы превращений, в которых участвуют металлы X и Y соответственно. Подумайте о каких металлах идёт речь и соотнесите их характеристики и функции с соответствующим рисунком.



Является донором электронов за счет изменения степени окисления

Кофактор в белках, вовлеченных в транспорт кислорода

В транспорте этого металла участвует белок трансферрин



Необходим для проведения полимеразной цепной реакции

Стабилизирует трифосфат в нуклеотидах

Недостаток в организме приводит к судорогам





Вопрос 2 (Инфекционные болезни и паразитологии)

Разделите паразитов на две группы по типу питания: гематофагов и гистофагов.



Лейшмания

Малярийный плазмодий

Человеческая вошь



Печёночная двуустка

Трихинелла

Демодекс

Вопрос 3 (Зоология)

Разделите указанных ниже представителей разных классов рыб между двумя независимыми группами.



Гигантская акула

Обыкновенный воббегонг

Европейская химера



Илистый прыгун

Голубой сомик – анциструс

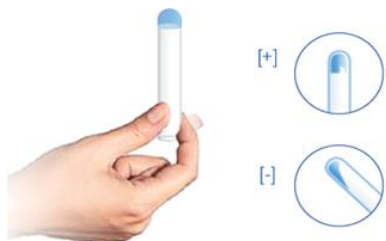
Полосатый платидорас





Вопрос 4 (Микробиология и биотехнология)

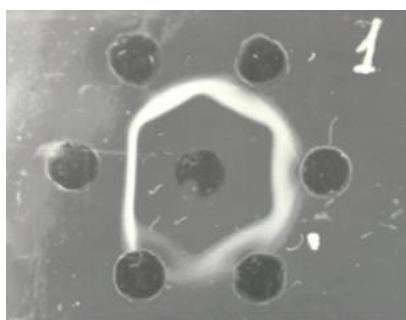
Для распознавания бактерий или продуктов их жизнедеятельности используют различные методы. На рисунках представлены схемы или результаты использования этих методов. Определите, что это за методы и соотнесите утверждения к соответствующему рисунку.



Проводится тест на апирогенность

В некоторых вариациях этот метод можно использовать для количественного определения бактериального эндотоксина

Используют лизат клеток из животных группы Хелицеровые



Присутствие избытка или недостатка антигена или антител приводит к формированию растворимого комплекса, поэтому для прохождения реакции нужны оптимальные количества антигена и антитела

Реакцию проводят в агарозном геле

Антитела используют для обнаружения растворимого антигена

Вопрос 5 (Ботаника и микология)

Перед вами представители различных отделов водорослей. Определите отделы и соотнесите рисунок с соответствующими признаками отдела.



Хлоропласты произошли в результате вторичного симбиоза

Среди пигментов – фукоксантин

Присутствует хлорофилл c1



Хлоропласты произошли в результате первичного симбиоза

Среди пигментов – фикобилины

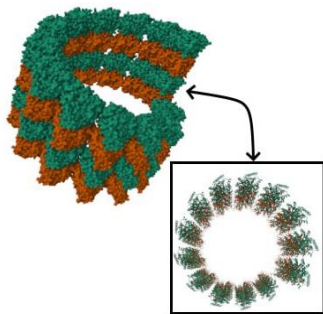
Запасной углевод – багрянковый крахмал





Вопрос 6 (Цитология)

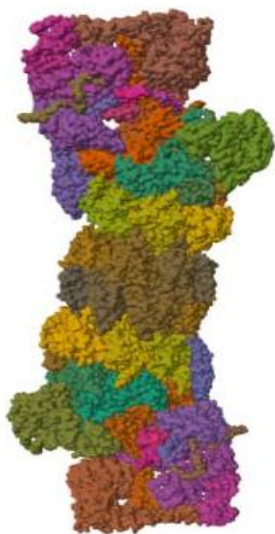
Сопоставьте предложенные ниже свойства и характеристики с изображениями.



Стабилизация структуры и полимеризация, связывание с другими белковыми структурами опосредованы белками MAP в нефосфорилированной форме

Структурно представляет собой полимер, составленный из димеров родственных белков. Других белков в составе не имеет

Совместно с белками кинезинами и динеинами составляют АТФ-зависимую транспортную систему клетки



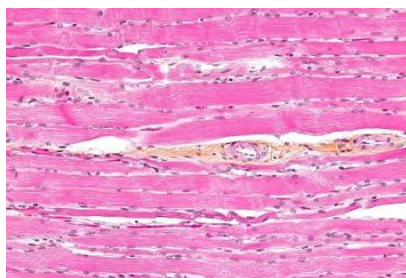
Объект на изображении способен в некоторых условиях (например, при наличии аномально высокого положительного заряда, как в случае белка миеллина MBP) к убиквитин-НЕзависимому протеолизу

Посредством элиминации циклинов участвует в регуляции прогрессии клеточного цикла

Под действием γ -IFN возможен переход конститутивного варианта к так называемому "иммунному", содержащему в субъединице 20S набор изменённых каталитических субъединиц и участвующему в подготовке антигенов для антиген-презентирующего комплекса

Вопрос 7 (Анатомия и физиология человека)

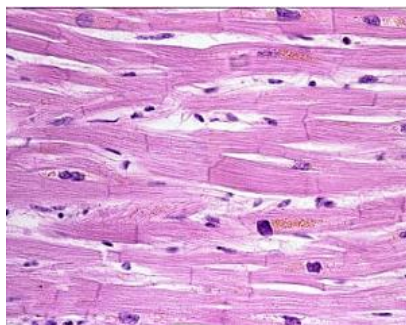
Сопоставьте представленные на микрофотографиях клетки с нижеперечисленными свойствами.



Хондриом представлен в виде митохондриального ретикулума

Характерны фиброзные сухожилия на каждом конце

Скорость проведения возбуждения 10-14 м/с



Характерно расположение т-трубочек в районе z-дисков в контакте с одной терминальной цистерной

Скорость проведения возбуждения 0,5-3,5 м/с

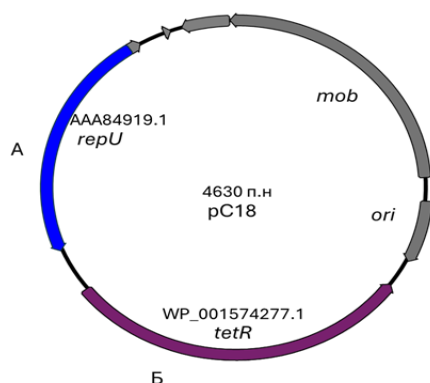
В плазмолемме содержатся потенциал-зависимые K^+ каналы





Вопрос 8 (Генетика и селекция)

Ниже приведено схематическое изображение природной плазмиды pC18, с выделенными нуклеотидными последовательностями и закодированными белками (номера над генами).



Выберите соответствующие утверждения для генов, выделенных синим (А) и фиолетовым (Б) цветами.

А	Иницирует репликацию Регулирует количество плазмид в клетке Связывается с плазмидой в точке ori
Б	Выводит вещество из клетки Обуславливает устойчивость к тетрациклину Ген, кодирующий белок эффлюксной помпы, транспортёра семейства MFS

ЧАСТЬ 3. (4 вопроса, каждый по 10 баллов).

Участнику даётся текст с информацией, необходимые графики и рисунки, справочные материалы. По предоставленной информации и основываясь на собственных знаниях, участник отвечает на пять последовательных вопросов, **каждый вопрос оценивается в 2 балла**. Задания данной части направлены на проверку навыков аналитического и логического мышления в смежных областях биологии, так как биохимия, биофизика, биоинформатика, радиобиология, биоинженерия, нанобиотехнология, биомеханика и математика.

Вопрос 1 (Биохимия)

*Ante mare undae — причина
непреренно предшествует следствию,
а целое складывается из частей.*

У пациента А. диагностирована аденома гипофиза, у пациента Б. наблюдается клиническая картина сахарного диабета. У пациента А. найдена при секвенировании мутация chr14:95117675T>C, у пациента Б. – chr7:44184772G>T. Обе мутации гетерозиготные.

1. Определите гены, в которых найдены мутации. Ответ дайте в формате официальных генных символов.





2. Приведите запись мутаций в формате HGVS для MANE транскриптов данных генов для сборки hg38, а также соответствующие аминокислотные замены.
3. Приведите запись аминокислотных замен в формате HGVS для белков вышеуказанных транскриптов данных генов.
4. Найдите частоту мутантных аллелей в популяционной базе gnomADv4.1.0.
5. Классифицируйте патогенность мутаций по категориям ACMG-AMP 2015 года.

Ответ:

1. Ответ: DICER1, GCK.

(1 балл за каждый верный ответ. Принципиальный момент в заданиях 1-5: первая мутация дана в hg38, вторая – в hg19, сборка намеренно не указана. Однако основание однозначно определяет сборку генома (т.е., буква характерна только для этой сборки) и участники должны определить это сами для получения верных ответов).

2. NM_177438.3:c.1456A>G, NM_000162.5:c.1361C>A

(1 балл за каждый верный ответ. Принципиальный момент в задании 2: GCK – это ген минус-стренда, поэтому для него не G>T, а C>A в транскриптомной записи).

3. NP_803187.1:p.(Lys486Glu) (сокращенно NP_803187.1:p.(K486E))

NP_000153.1:p.(Ala454Glu) (сокращенно NP_000153.1:p.(A454E))

(1 балл за каждый верный ответ).

4. 0 (такого варианта в базе нет), $6.211 \cdot 10^{-7}$. **(1 балл за каждый верный ответ).**

5. Пример пояснения ниже. Можно давать другие ссылки.

Вариант не описан ранее, не встречается в базе данных популяционных частот gnomAD. Вариант расположен в консервативной позиции. Компьютерные алгоритмы предсказывают патогенный эффект варианта на белок. По совокупности сведений, найденный вариант расценивается как вариант с неопределённой клинической значимостью.

Выявленный вариант был ранее описан как патогенный (PMID:17204055, 14517956). Вариант имеет низкую частоту в базе данных популяционных частот gnomAD. Вариант расположен в консервативной позиции. Компьютерные алгоритмы предсказывают патогенный эффект варианта на белок. Вариант аннотирован как вероятно патогенный в базе данных ClinVar. По совокупности сведений, найденный вариант расценивается как патогенный.

(1 балл за каждую верную классификацию с объяснением. Без пояснения ответ не засчитывается).

Вопрос 2 (Биотехнология)

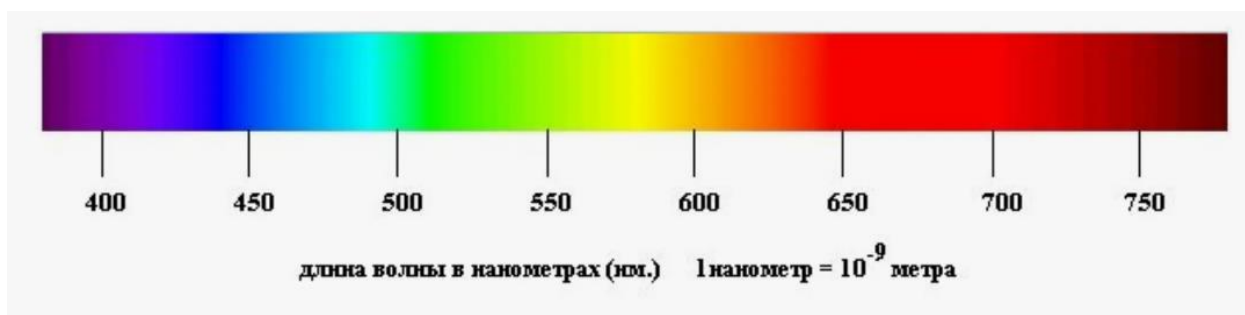
*Гори, гори, моя звезда
Звезда любви приветная!
Ты у меня одна заветная,
Другой не будет никогда*

Люминесценция как природное явление (фосфоресценция некоторых насекомых, гниющего дерева, минералов) известна человечеству очень давно. Люминесценция – это



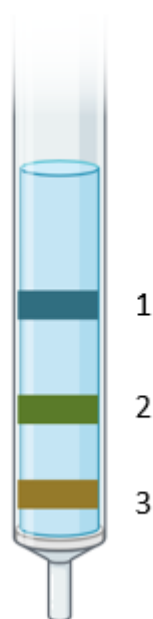


свечение некоторых веществ, называемых люминофорами. Свечение люминофоров возникает под действием различных видов энергии: например, видимого и невидимого света – фотолюминесценция. Одни люминофоры – способны светиться только в момент воздействия того или иного вида энергии, а после прекращения такого воздействия мгновенно прекращают свечение. Такой вид люминесценции носит название флуоресценция. Люминофор в таком случае называют флуорохромом. Каждый флуорохром представляет собой трансформатор энергии, который поглощает коротковолновую световую энергию (свет возбуждения) и преобразует её в длинноволновую световую энергию (свет излучения), испускаемую флуорохромом. Флуорохром под действием, например, ультрафиолета начинает испускать свет определённой длины волны. Классическим примером флуорохрома является изотиоцианат флуоресцеина (ФИТЦ). Максимум поглощения ФИТЦ составляет 490 нм, а максимум излучения 550 нм. Для того чтобы использовать метод флуоресценции, например, для обнаружения возбудителей заболеваний или биомолекул в мазках биологического материала, необходимо соединить (конъюгировать) флуорохром со специфическими антителами против этого возбудителя, обработать конъюгатом мазок биологического материала и используя люминесцентный микроскоп проанализировать полученный результат. Метод световой микроскопии с использованием конъюгата флуорохрома и антител (флуоресцирующих антител) называется иммунофлуоресценцией.



Одним из важных этапов применения иммунофлуоресценции для получения достоверных результатов является соединение антител и флуорохрома. При получении флуоресцирующих антител часто в качестве флуорохрома используют ФИТЦ. После конъюгации антител с ФИТЦ необходимо отделить меченый конъюгат от свободного флуорохрома, так как препарат флуоресцентных антител не должен содержать свободный флуорохром. Оптимальный способ очистки меченных иммуноглобулинов от свободного флуорохрома – метод гель-фильтрации на сорбенте сефадекс G-50. Разделение при гель-фильтрации основывается на том, что сорбент (в данном случае сефадекс), состоит из «шариков», имеющих поры с определенным размером. В зависимости от разделяемых молекул значение диаметра может изменяться. В эти поры могут проходить только молекулы с диаметром меньше, чем поры, и, соответственно, они дольше остаются на колонке. Таким образом этот метод позволяет разделять соединения с большой молекулярной массой от низкомолекулярных соединений. Для разделения используют колонки, заполненные гелем сефадекса G-50. На столбик геля сефадекса наслаивают раствор меченого конъюгата. При прохождении через колонку конъюгат разделяется на несколько фракций: иммуноглобулины, ковалентно связавшиеся с флуорохромом, свободный флуорохром и низкомолекулярные примеси.





Хроматографическая колонка для очистки флуоресцентных антител.

1. Определите в какой фракции (1, 2, 3) находится свободный флуорохром, конъюгат, примеси. Объясните вашу точку зрения.
2. Приготовленный препарат флуоресцирующих антител должен быть стандартизован. Одним из параметров, характеризующим конъюгат является соотношение флуорохрома и иммуноглобулина. Оно вычисляется по следующей формуле:

$$\frac{Kp}{b} = \frac{2.87A_{495}}{A_{280} - (0.35A_{495})},$$

где Kp – количество молекул ФИТЦ, b – количество молекул белка. A_{495} – поглощение при длине волны 495, A_{280} – поглощение при длине волны 280 нм.

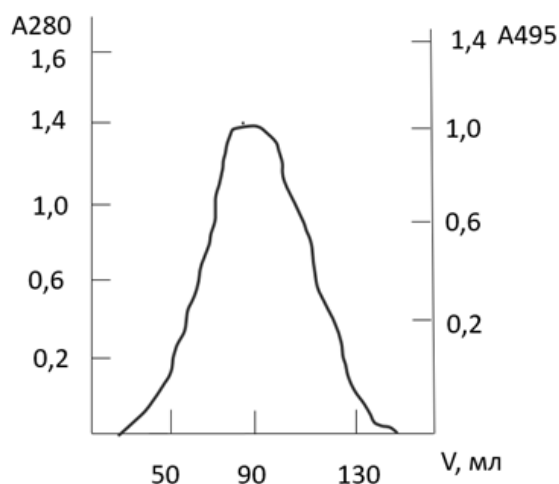
Определите в каком диапазоне может находиться отношение Kp/b , если оптимальное соотношение A_{495}/A_{280} находится в диапазоне от 0,5 до 1,5. Укажите ответ округляя значение до целого числа.

3. Концентрацию белка в препарате определяют по формуле:

$$C \text{ (mg/ml)} = \frac{A_{280} - (0.35A_{495})}{1.4}$$

Определите концентрацию очищенных флуоресцирующих антител, округляя до сотых.

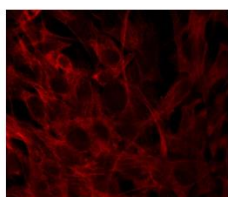




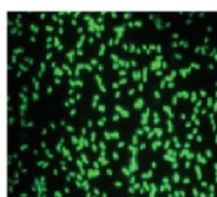
Хроматограмма очищенных флуоресцентных антител.

4. Определите молярное соотношение красителя к иммуноглобулинам в препарате флуоресцирующих антител, если ФИТЦ брали в количестве 2 мг, антител - 100 мг, а конъюгация прошла на 80%. Сделайте вывод о возможности применения данного конъюгата для иммунофлуоресценции.

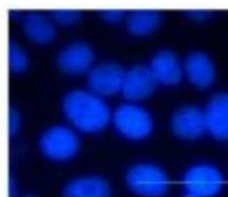
5. Определите для получения каких из представленных изображений были использованы антитела, конъюгированные ФИТЦ. Ответ обоснуйте.



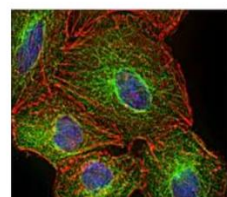
1



2



3



4

Справочные данные: молекулярная масса ФИТЦ 389 г/моль, примесей – 70 г/моль, иммуноглобулинов – 150000 г/моль.

Ответ:

1. 1 – примеси, 2 – флуорохром, 3 – флуоресцирующие антитела. Соединения с меньшей молекулярной массой больше задерживаются на колонке, с большей (в данном случае антитела) быстрее выходят с колонки. (1 балл – за правильное соответствие, 1 балл – за объяснение).

2. Преобразуем уравнение до вида:

$$\frac{Kp}{6} = \frac{2.87A_{495}}{A_{495} \left(\frac{A_{280}}{A_{495}} - 0.35 \right)}$$





$$\frac{Kp}{б} = \frac{2.87}{\left(\frac{A_{280}}{A_{495}} - 0,35\right)}$$

Подставляя известное соотношение $\frac{A_{280}}{A_{495}}$, получаем округляя до целых $2 < Kp/б < 9$.

(2 балла – за правильный расчет без математических ошибок).

3. По хроматограмме обнаруживаем, что $A_{280} = 1,4$ $A_{495} = 1,0$ Концентрация белка: $(1,4 - 0,35 \cdot 1)/1,4 = 0,75$ мг/мл **(2 балла – за правильный расчет без математических ошибок)**

4. Количество моль ФИТЦ = $2 \text{ мг} / 389 \text{ (г/моль)} = 5 \cdot 10^{-6}$ моль

Количество моль антител = $100 \text{ мг} / 150000 \text{ (г/моль)} = 6,67 \cdot 10^{-7}$ моль

$Kp/б$ с учетом 80 % степенью конъюгации: $0,8 \cdot 5 \cdot 10^{-6} \text{ моль} / 6,67 \cdot 10^{-7} \text{ моль} = 6$.

Препарат можно использовать для иммунофлуоресценции, так как соотношение $Kp/б$ входит в диапазон от 2 до 9, полученный в п. 2. **(1 балл – за правильный расчет без математических ошибок, 1 балл – за правильный вывод о применимости препарата в анализе).**

5. Изображения 2 и 4. Так как максимум излучения ФИТЦ составляет 518 нм, что находится в зеленой части спектра. **(2 балла за правильный выбор и объяснение).**

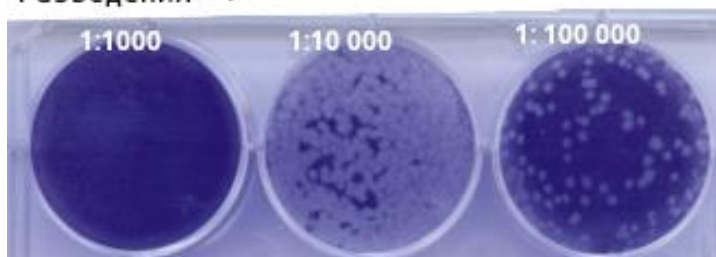
Вопрос 3 (Вирусология)

*"Государь спросил: – Где же ваш мелкоскоп,
с которым вы могли произвести это удивление?
А Левша ответил: – Мы люди бедные и по бедности
своей мелкоскопа не имеем,
а у нас так глаз пристрелявши."*

Н. С. Лесков. Левша

Определение титра pfu

Разведения ->



МОИ и pfu

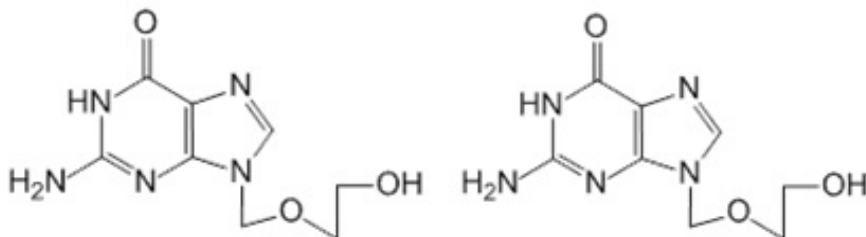
Перед вами, как перед исследователем-вирусологом, стоит задача провести эксперимент, связанный с заражением клеточной культуры неким вирусом. При этом, в соответствии с условиями эксперимента, не менее чем в 95% всех клеток, задействованных в эксперименте, должна развиваться продуктивная инфекция. Имеются ранее полученные данные, указывающие, что у используемого препарата вируса соотношение числа вирусных геномов к бляшкообразующим единицам (ВГ/pfu) = 200 к 1.





1А. Какой биологический смысл имеют pfu и как определить соответствующий титр? Почему вышеупомянутое соотношение (ВГ/pfu) отличается от единицы и о чем говорят высокие его значения?

1Б. Посчитайте, вероятность достижения продуктивной инфекции 95% клеток при множественности инфекции (MOI) 200 ВГ на клетку? При решении можно использовать адаптированную формулу Пуассона: $P(k) = \frac{e^{-m} m^k}{k!}$, где k - желаемое количество вирусных частиц (геномов) в любой отдельно взятой клетке, а в качестве m можно взять MOI.



Поговорим о специфических противовирусных препаратах.

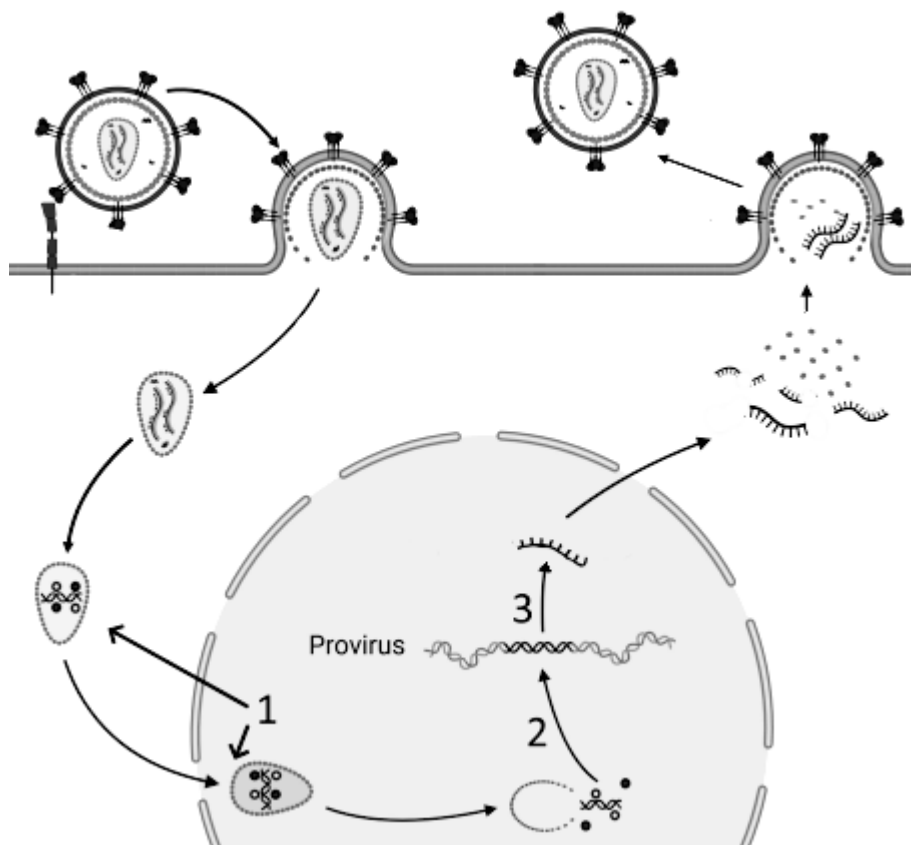
2А. Один из ранних высокоселективных препаратов, причем сравнительно малотоксичный, - ацикловир, применяемый при различных герпетических инфекциях (и некоторых других), особенно, вызываемых вирусами герпеса I и II типа. Это также один из первых одобренных FDA (1981 г.) противовирусных препаратов - синтетических аналогов нуклеозидов. Препарат используют при цитомегаловирусной инфекции (род вирусов из подсемейства бетагерпесвирусов), однако в этом случае его эффективность невысока и этому есть объективная причина. Назовите эту причину. Чем определяется высокая селективность препарата? Какие процессы нарушает ацикловир при репликации чувствительных к нему вирусов?

2Б. Какова частая причина приобретения устойчивости герпесвирусов к данному препарату, насколько выражена проблема?

Рассмотрим жизненные циклы некоторых известных вирусов (семейств).

Все слышали о ретровирусах, к которым, в том числе, относится печально известный вирус иммунодефицита человека (HIV). Ответьте на некоторые вопросы, связанные со стратегией репликации данных вирусов.





3А. Посмотрите на схему стандартного жизненного цикла ретровирусов. Опишите события и задействованные ферменты на стадиях, отмеченных цифрами 1, 2, 3. Какие из этих ферментов синтезируются "на месте", а какие попадают в клетку в составе вирионов? В чем основная разница в процессах экспрессии вирусных генов и репликации геномной РНК между ретровирусами и ортомиксовирусами?

3Б. В чем различие между геномной РНК вирионов и ДНК провирусов с точки зрения последовательности и структурных регионов (не типа нуклеиновой кислоты)? Покажите схематично структуру.





Рассмотрим некоторые аспекты, связанные с одними из крупнейших вирусных патогенов, поражающих как млекопитающих и птиц, так и насекомых - поксвирусами на примере вируса натуральной оспы (Variolavirus, Smallpoxvirus), возможно ответственного за наибольшее количество человеческих смертей среди всех возбудителей вирусных инфекций.

4А. Высокая патогенность вируса натуральной оспы отчасти связана с некоторыми особенностями строения его вирионов, определяемыми используемой поксвирусами стратегией репликации. Поясните, чем необычна используемая ими стратегия репликации по сравнению с таковыми у других ДНК-содержащих вирусов? Какие структурные особенности должны быть у вирионов для осуществления такой стратегии?

4Б. В строении генома поксвирусов также имеется некоторая особенность, в том числе, определяющая возможный механизм репликации вирусной ДНК. Объясните, о какой особенности идёт речь и какой механизм репликации вирусных геномов в настоящее время предполагается основным.

Поговорим о современных противовирусных вакцинах. Один из примеров, который у всех перед глазами, - вакцинация против коронавируса SARS-CoV-2, ставшего причиной пандемии разразившейся в 2020 г.

5А. Рассмотрим 2 из вакцин против SARS-CoV-2, производимых в РФ: цельновирионная вакцина КовиВак и рекомбинантные векторные вакцины серии "Спутник". В чем разница по антигенному составу в данных вакцинах? Какой антиген коронавируса считается наиболее активным с точки зрения формирования иммунитета / вызывает формирование вируснейтрализующих антител?

5Б. Как известно, вакцины серии "Спутник" созданы путём внедрения элементов вириона в вирион аденовируса. Каким образом при этом предупреждается аденовирусная инфекция у пациента? Многие люди на протяжении жизни не раз сталкивались с аденовирусами, т.к. они - одни из частых возбудителей ОРВИ. Очевидно, что у них должны быть антитела против аденовируса. Могут ли такие антитела помешать работе противокоронавирусной вакцины? Если полагаете, что это так - объясните, а также укажите, решается ли эта проблема в случае вакцин "Спутник".

Ответ:

1А. Количество (титр) pfu (бляшкообразующих единиц) — это мера инфекционных единиц вируса в препарате, дающих продуктивную инфекцию и бляшки на клеточной культуре. Титр в pfu определяют путём серийных разведений до такого уровня, когда возможно статистически достоверно подсчитать количество отдельных бляшек; после этого титр рассчитывают умножением количества бляшек на соответствующее разведение. Соотношение ВГ/pfu отличное от 1 может указывать на наличие дефектных вирусных частиц, неспособных самостоятельно вызывать продуктивную инфекцию, а высокое его значение свидетельствует о низкой инфекционной активности препарата. **1 балл**

1Б. При расчёте количество вируса будем выражать не через отдельные вирионы/вирусные геномы, а в pfu ($\text{MOI } 200 \text{ ВГ/кл} = 1 \text{ pfu/кл}$ по условию). Для того, чтобы в клетке развилась продуктивная инфекция в идеале достаточно 1 pfu (исходя из определения pfu). Вероятность заражения 95% клеток хотя бы 1 pfu соответствует 95% вероятности заражения каждой отдельно взятой клетки минимум 1 pfu. Эту вероятность ($P(1)$) мы





должны определить вычтя из единицы вероятность того, что в клетку не попадёт ни одного целого рfu ($P(0)$) (так как вероятность попадания ненулевого числа рfu в клетку представляет собой сумму бесконечного числа вероятностей для попадания разных количеств рfu $P(1) + P(2) + \dots P(n)$). Итак: $P(0) = 1 / 2.72 * 1 / 1 = \sim 0.368$, а $P(1) = \sim 63\%$. Таким образом при использовании данного вирусного препарата с MOI 200 ВГ/кл будет заражено не более 63% клеток. **1 балл**

2А. Ацикловир малоэффективен против цитомегаловируса (CMV), из-за отсутствия у последнего собственной тимидинкиназы, необходимой для активации препарата. В клетках, инфицированных чувствительными вирусами, ацикловир фосфорилируется именно вирусной тимидинкиназой, к которой проявляет высокую аффинность, до монофосфата, и далее до трифосфата - клеточными ферментами. Ацикловир трифосфат встраивается в цепь вирусной ДНК вместо ДЕЗОКСИГУАНОЗИНА, что приводит к обрыву цепи из-за отсутствия у ацикловира 3' гидроксила и, соответственно, к нарушению репликации вируса. **1 балл**

2Б. Основная причина устойчивости герпесвирусов — мутации в гене тимидинкиназы, а также в вирусной ДНК-полимеразе, и такая устойчивость встречается у 0,1–0,7% здоровых и до 4–7% пациентов с ослабленным иммунитетом. **1 балл**

3А. 1 - обратная транскрипция вирусной РНК с используемой РНК-зависимой-ДНК-полимеразы. Данный фермент содержится в вирионе. В результате получается полная ДНК копия вирусной геномной РНК, фланкированная LTR. 2 - Интеграция в клеточный геном. Вирусная ДНК, ретровирусная интеграза и отдельные вирусные и клеточные белки образуют вирусный преинтеграционный комплекс, который импортируется в ядро клетки. Непосредственная интеграция катализируется интегразой. Фермент также приходит вместе с вирионами. 3 - Транскрипция с полноразмерной несплайсированной вирусной РНК с матрицы провирус, которая в последствии может пройти процессинг и быть использована для синтеза вирусных белков, либо направиться в сборку вирусного потомства. Фермент - клеточная РНК-полимераза II. Разница с ортомиксовирусами состоит в том, что у последних нет стадии ДНК-генома и все акты транскрипции происходят с матрицы РНК-генома вирусов. С которого синтезируются позитивно-нитевые полноразмерные копии вирусных геномных РНК сегментов и мРНК, первый служат матрицей для синтеза негативно-нитевых геномных РНК ортомиксовирусов. Соответственно, ортомиксовирусы вынуждены на всех стадиях полагаться на собственные ферменты. **1 балл**

3Б. Разница заключается в строение концевых регионов генома. В вирионных геномных РНК присутствуют на 5' конце концевой R регион, уникальный U5 регион и короткий PBS (сайт связывания праймера), необходимый для инициации обратной транскрипции, а на 3' конце - полиуриновый тракт (PPT), U3 регион и концевой R - аналогичный 5'-концевому. У ДНК-генома ретровирусов в составе преинтеграционного комплекса структура концевых регионов меняется - неизменными остаются сайт связывания праймера и полиуриновый тракт, но на концах оказываются одинаковые LTR - длинные концевые повторы, составленные из U3-R-U5 регионов:

U5-R-PBS-белок-кодирующие-участки-PPT-R-U3 - РНК-геном

U3-R-U5-PBS-белок-кодирующие-участки-PPT-U3-R-U5 - ДНК-геном

1 балл





4А. Необычность стратегии репликации (по сравнению с другими ДНК-содержащими вирусами) заключается в том, что все этапы, вплоть до выхода из клетки, проходят в цитоплазме. Вирион содержит все необходимое для транскрипции ранних продуктов, в том числе, ДНК-зависимую РНК-полимеразу, ферменты для процессинга, кэпирования и полиаденилирования вирусных мРНК, топоизомеразу и пр. (это и есть структурные особенности вириона) Первичная транскрипция происходит после лишения вириона внешних оболочек под действием клеточных факторов. Ранние продукты обеспечивают освобождение нуклеопротеиновых комплексов с последующей репликацией геномной ДНК вируса посредством синтезированной среди ранних продуктов вирусной ДНК-полимеразой. Далее с ДНК-копий синтезируются промежуточные белки (транскрипция их мРНК активируется некоторыми из ранних белков), которые, в том числе, направляют синтез поздних продуктов, которые уже, в основном, используются для сборки вирионов.

1 балл

4Б. Особенность строения генома в том, что это дцДНК с ковалентно замкнутыми концами цепей, с образованием шпилек. Кодированные области генома фланкированы инвертированными повторами, на концах которых находятся вышеупомянутые шпильки. В настоящее время основной считается модель репликации геномной ДНК этих вирусов на основе самопраймирования, подразумевающая никирование одной из цепей в районе концевых повторов с образованием концевой 3'-ОН, что позволяет ДНК-полимеразе досинтезировать цепь до конца освободившейся в результате никирования другой цепи, после чего синтезируемая цепь, имеющая палиндромные повторы на конце может свернуться в шпильку и служить праймером для синтеза новой цепи. В результате образуется конкатемер из двух идентичных вирусных геномов, которые должны быть отделены друг от друга особой вирусной эндонуклеазой (Holliday junction endonuclease).

1 балл

5А. Если первая вакцина (цельновирионная) изготавливается из целых патогенных SARS-CoV-2 вирионов, которые были химически инактивированы и не могут вызывать инфекцию, то вакцины серии "Спутник" - векторные, в них ген, кодирующий поверхностный белок S коронавируса, отвечающий за взаимодействие с рецепторами клетки, помещён в геном рекомбинантного аденовируса, неспособного размножаться в клетках хозяина по причине изъятия из его генома критически важных для продуктивной инфекции генов. В первом случае иммунный ответ будет формироваться на все поверхностные (и, до некоторой степени, внутренние) белки и гликопротеины вириона, во втором - только на S белок, однако он как раз и является основным антигеном, на который в организме формируются вируснейтрализующие антитела. **1 балл**

5Б. Иммунные реакции против аденовирусов теоретически могут нарушать формированию целевого иммунитета, препятствуя проникновению рекомбинантных аденовирусов в клетки хозяина, где должен синтезировать S-белок коронавируса. В случае основной (двухкомпонентной) вакцины серии "Спутник" - ам-КОВИД-Вак (Спутник V) эту проблему попробовали решить использованием разных серотипов аденовируса для двух компонентов вакцины. **1 балл**





Вопрос 4 (Эмбриология)

«Мозг человека, возможно, наиболее организованный образец материи в солнечной системе и определённо самый интересный орган во всем животном царстве, предположительно именно он делает Ното разумным.»

М. Дж. Ф. Барреси

1. Рассматривая представленный рисунок 1, вспомните и напишите, из какого отдела нервной трубки развивается три первичных мозговых пузыря.

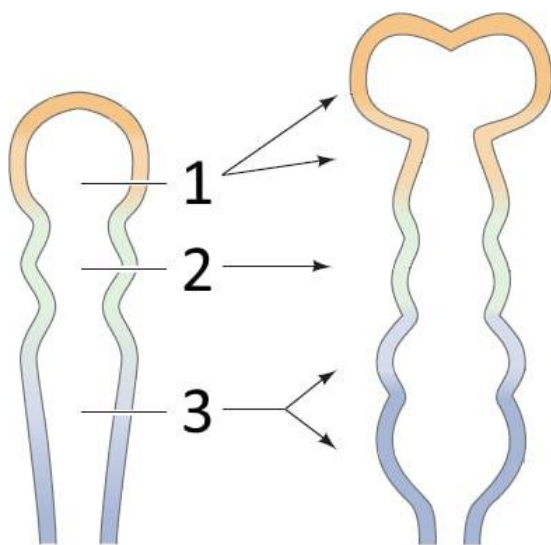


Рисунок 1.

Данные пузыри называются: передний мозг, средний мозг и задний мозг. Напишите все структуры, которые развиваются из пузыря под номером 3 на рисунке.

2. Известно, что нервная трубка поляризована вдоль дорсально-вентральной оси. Полярность определяют морфогенные сигналы, поступающие из окружения. Предположите, обращая внимание на рисунок, из какой области исходит сигнал, определяющий вентральный паттерн трубки и дорсальный.

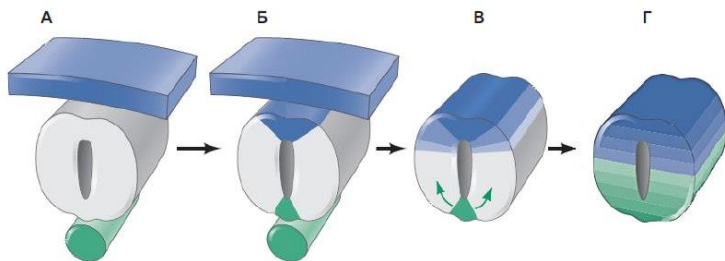


Рисунок 2.

3. Приведите названия сигнальных молекул, индуцируемых от указанных вами ранее структур, влияющих на полярность.

4. Обращая внимание на рисунок 2, сделайте предположение о механизме дифференцировки клеток нервной трубки.





Однако, существуют различия между механизмами формирования нервной трубки в переднем и заднем отделах развивающегося эмбриона. Укажите какими процессами определяются данные различия.

5. Известно, что в передних областях нервной трубки путь развития клеток, которые станут головным и большей частью спинным мозгом, предопределён в эпибласте. Клетки задних областей зарождаются как бипотенциальные. Приведите название данных клеток и укажите в какие два типа клеток они могут дифференцироваться.

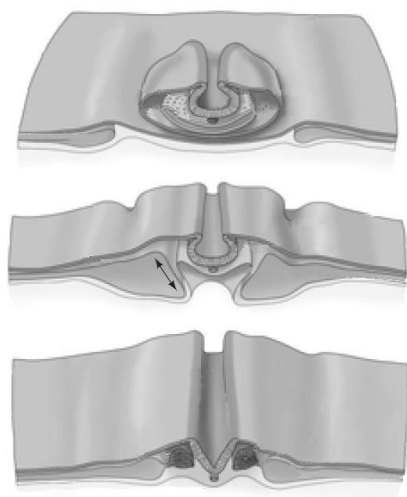


Рисунок 3.

Ответ:

1. *передний отдел (1 балл).

*из заднего мозга развивается в ходе эмбриогенеза: мозжечок, мост и продолговатый мозг. (1 балл. Все три структуры должны быть прописаны).

2. *вентральный паттерн диктуется хордой (1 балл).

*дорсальную сторону индуцирует лежащий сверху эпидермис (1 балл).

3. *хорда индуцирует белок Shh (Sonic hedgehog) (1 балл).

*клетки эпидермиса выделяют белки супер семейства - $TGF\beta$. К ответу также принимаются указания белков: BMP4 BMP7, дорсалин и активин (1 балл).

4. *нейроны приобретают индивидуальность благодаря градиенту, создаваемому концентрациями белков семейства Shh и семейства $TGF\beta$ в разных клетках. Именно данный градиент определяет какие транскрипционные факторы будут активироваться в ядрах клеток. (1 балл).

*Различия определяются первичной и вторичной нейруляцией. (1 балл).

5) *Нейромезодермальные клетки (1 балл).

*клетки превращаются в: клетки нейрального типа и клетки сомитов. (1 балл).





11 класс. Вариант 2

ЧАСТЬ 1 (10 вопросов, каждый по 2 балла). Выбрать от 1 до 4 ответов.

Задания данной части направлены на определение кругозора участников олимпиады. Также в отборочном этапе они позволят участникам набрать необходимые баллы, так как в заочном туре учащиеся не ограничены в источниках информации.

Вопрос 1 (Биохимия)

К анаплеротическим реакциям относят

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

Ответ: 1.

Вопрос 2 (Инфекционные болезни и паразитология)

Выберите из предложенных паразитических форм животных организмы, у которых отсутствует выделительная, кровеносная и дыхательная системы, при этом имеется раздельнополость:

1. *Gordius aquaticus*
2. *Rhabdias bufonis*
3. *Acanthocephalus lucii*
4. *Gordius fulgur*

Ответ: 1, 4.





Вопрос 3 (Зоология)

Какое из нижеперечисленных животных использует фильтрацию как способ питания?

1. Гигантский козодой
2. Гигантская акула
3. Морской ёж
4. Скот-шипохвост

Ответ: 2.

Вопрос 4 (Микробиология и биотехнология)

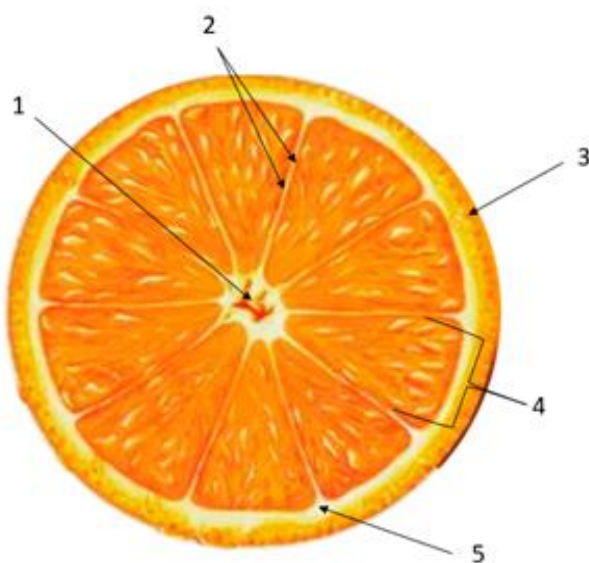
К механизмам, обеспечивающим устойчивость бактерий к антибиотикам НЕ относят

1. ускоренное выведение антибиотика из клетки
2. разрушение антибиотика ферментами эндоплазматического ретикулума
3. специфическое изменение структур, являющихся мишенью антибиотика
4. нарушение поступления антибиотика в клетку

Ответ: 2.

Вопрос 5 (Ботаника и микология)

Флаведо обозначен цифрой



1. 1
2. 2
3. 3
4. 4

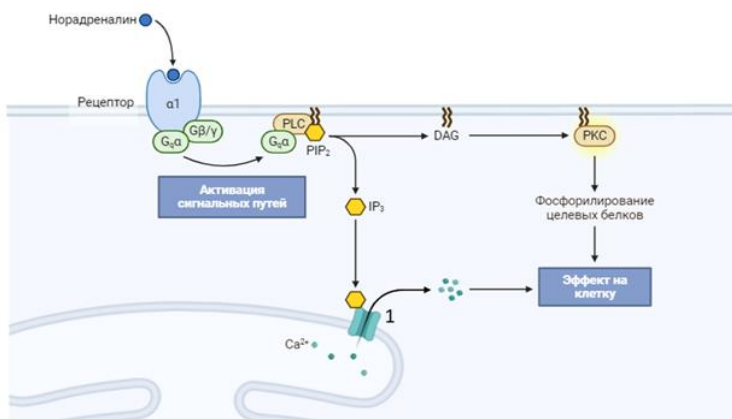
Ответ: 3.





Вопрос 6 (Цитология)

Изображённая на рисунке структура 1 является



1. Транспортёром
2. Насосом
3. Котранспортёром
4. Каналом

Ответ: 4.

Вопрос 7 (Анатомия и физиология человека)

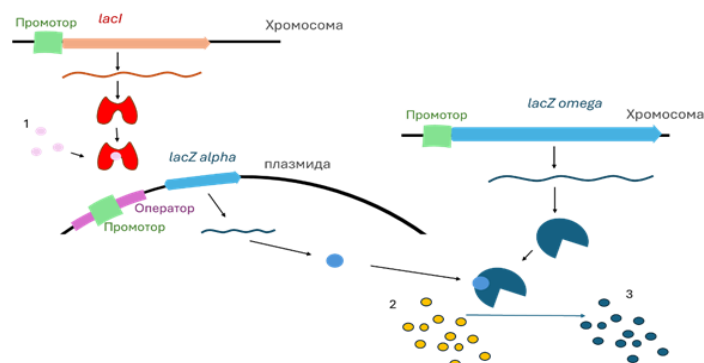
Выберите верные утверждения о ренин-ангиотензин-альдостероновой системе:

1. система способствует задержанию ионов Na и воды
2. ангиотензиноген – белок, содержащий 10 аминокислот
3. ангиотензин-превращающий фермент синтезируется в легких и почках
4. ангиотензин II ускоряет синтез ренина

Ответ: 1, 3.

Вопрос 8 (Генетика и селекция)

На схеме работы лактозного оперона у клетки трансформанта плазмидой pBluescript при бело-голубом скрининге цифрами 1 и 3 отмечены:



1. Соединение Xgal
2. Лактоза
3. ИПТГ
4. Гидролизованное соединение среды

Ответ: 3, 4.





Вопрос 9 (Эмбриология. Рост и развитие)

Начало формирования сердца, кровеносных сосудов, крови у эмбриона человека происходит на:

1. Третьей неделе беременности
2. Четвёртой неделе беременности
3. Пятой неделе беременности
4. Седьмой неделе беременности

Ответ: 2.

Вопрос 10 (Эволюция и экология)

Какое из следующих утверждений о правилах экологии и трофических цепях является правильным?

1. В любой экосистеме энергия полностью переходит от одного трофического уровня к другому
2. Продуценты являются источником энергии для всех трофических уровней
3. Консументы первого порядка питаются как растениями, так и животными
4. Редуценты обеспечивают восстановление биомассы продуцентов

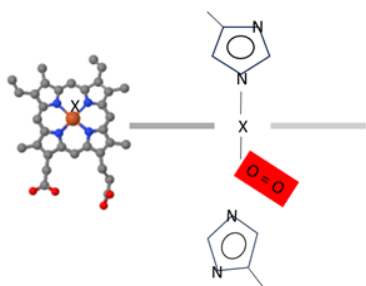
Ответ: 2.

ЧАСТЬ 2 (8 вопросов, каждый 5 баллов) Сопоставление объектов и явлений.

Задания данной части направлены на проверку умения работать с графическим и иллюстративным материалом, а также на оценку способности интегрировать кругозор в структуру логического мышления.

Вопрос 1 (Биохимия)

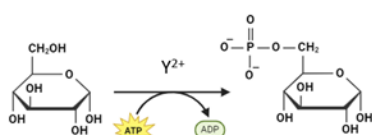
В организме человека содержатся различные металлы, которые играют важную роль в процессах жизнедеятельности. На рисунках даны схемы превращений, в которых участвуют металлы X и Y соответственно. Подумайте о каких металлах идёт речь и соотнесите их характеристики и функции с соответствующим рисунком.



Входит в состав кластеров в комплексе I дыхательной цепи

Запасы этого металла хранятся в комплексе с белком ферритином

Входит в состав протетической группы белка, который является аллостерическим



Является кофактором ДНК-полимеразы

Входит в состав пигмента, участвующего в фотосинтезе

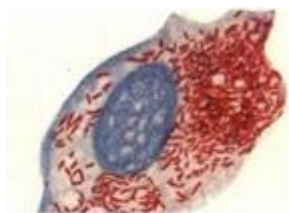
Принимает участие, как кофактор, в реакциях фосфорилирования белков





Вопрос 2 (Инфекционные болезни и паразитология)

Разделите паразитов по локализации в организме хозяина на внутриклеточных и внеклеточных.



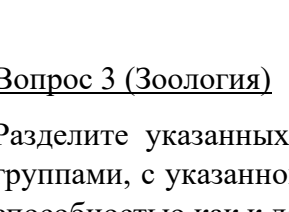
Токсоплазма



Плазмодий



Лямблия



Трихомонада



Власоглав

Эхинококк

Вопрос 3 (Зоология)

Разделите указанных ниже представителей разных классов рыб между независимыми группами, с указанной характеристикой. Одна группа - гермафродиты, другая - обладают способностью как к лёгочному, так и к жаберному дыханию.



Рыба-клоун *Amphiprion ocellaris*

Воинственный батизавр

Морской юнкер



Рогозуб

Бурый протоптер

Американский чешуйчатник





Вопрос 4 (Микробиология и биотехнология)

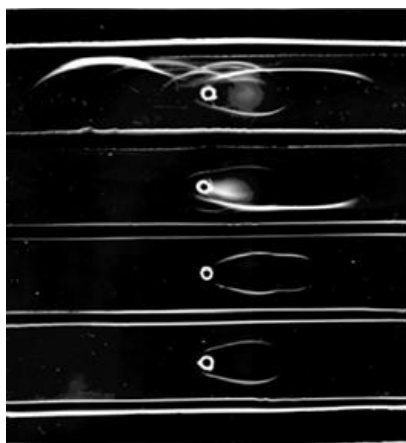
Для распознавания бактерий или продуктов их жизнедеятельности используют различные методы. На рисунках представлены результаты использования этих методов. Определите, что это за методы и соотнесите утверждения к соответствующему рисунку.



Антитела можно использовать для обнаружения антигена, находящегося на поверхности клетки

Чувствительность этого метода выше, чем у другого

В вариации этого метода могут быть использованы частицы латекса



Для прохождения реакции нужны оптимальные количества антигена и антитела

Необходимо проведение электрофореза

Происходит реакция преципитация в геле

Вопрос 5 (Ботаника и микология)

Перед вами представители различных отделов водорослей. Определите отделы и соотнесите рисунок с соответствующими признаками отдела.



Хлоропласты произошли в результате вторичного симбиоза

Характерны трубчатые кристы у митохондрий

Запасной углевод – хризоламиарин



Хлоропласты произошли в результате первичного симбиоза

Характерны пластинчатые кристы у митохондрий

Запасной углевод – крахмал

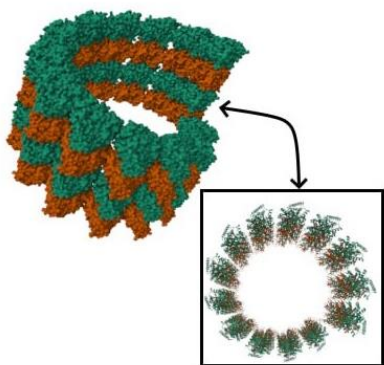




Вопрос 6 (Цитология)

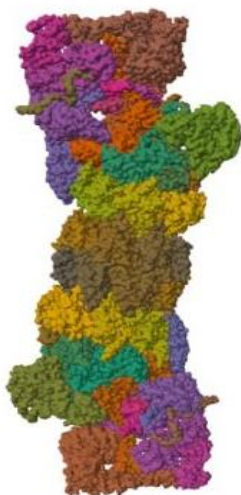
Сопоставьте предложенные ниже свойства и характеристики с изображениями.

Полимеризация носит колебательный характер с переходами между, так называемыми, фазами "катастрофы" и "спасения"



Составлены 13 цепями протофиламентов, состоящих из димеров основного белка, соединенных полярно, α -мономер одного димера с β -мономером другого, что придает полярность всей конструкции (имеется +конец, к которому обращены α -мономеры и -конец)

Участвуют в формировании "полярности" клеток, например, нервных, где обеспечивают ориентацию аксонов (в них они находятся во взаимодействии с белком тау, ориентируясь плюс-концами от тела клетки) и дендритов (связаны с белком MAP-2 и располагаются в обоих направлениях)



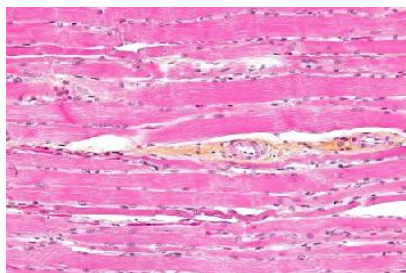
В функциональном состоянии содержит 2 типа субъединиц: каталитические 20S и регуляторные 19S субъединицы

Каталитические субъединицы демонстрируют химотрипсин-, трипсин- и каспазо-подобную активности

Участвует в процессинге некоторых белков (NF- κ B, ДНК/РНК-связывающий ядерно-цитоплазматический YB-1) путем ограниченного протеолиза

Вопрос 7 (Анатомия и физиология человека)

Сопоставьте представленные на микрофотографиях клетки с нижеперечисленными свойствами.

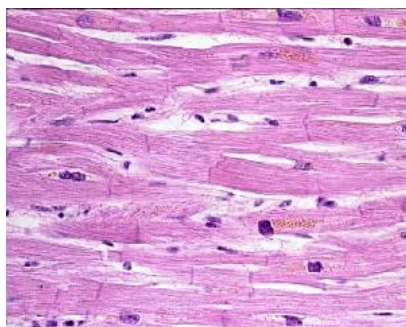


Ход волокон может прерываться промежуточными сухожильными перемычками

Белок десмин локализуется в районе z-дисков, под клеточной мембраной и в районе примыкания нервных и сухожильных волокон

Формирование зрелых клеток зависит от продукции их предшественниками белка myomerger, а также белка myomaker фибробластов





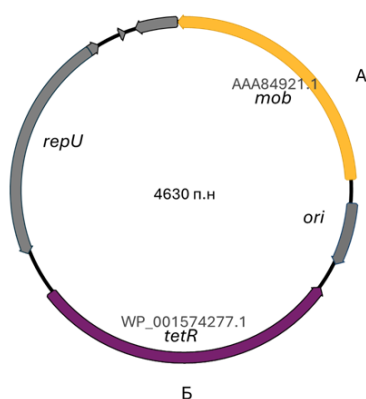
Имеют наибольшую плотность митохондрий в сравнении не только с клетками на другой фотографии, но и по сравнению со всеми тканями организма

Ткань состоит из двух типов волокон, одни обеспечивают ритмичность, другие последовательность сокращения

Характерен рефлекс Бейнбриджа и рефлекс Парина

Вопрос 8 (Генетика и селекция)

Ниже приведено схематическое изображение природной плазмиды pC18, с выделенными нуклеотидными последовательностями и закодированными белками (номера над генами).



Выберите соответствующие утверждения для последовательностей, выделенных жёлтым (А) и фиолетовым (Б) цветами.

А	Ген, кодирующий релаксазу Связывается с плазмидой в точке <i>ori</i> Участвует в передаче плазмиды при конъюгации
Б	Выводит вещество из клетки Обуславливает устойчивость к тетрациклину Ген, кодирующий белок эффлюксной помпы, транспортера семейства MFS

ЧАСТЬ 3. (4 вопроса, каждый по 10 баллов).

Участнику даётся текст с информацией, необходимые графики и рисунки, справочные материалы. По предоставленной информации и основываясь на собственных знаниях, участник отвечает на пять последовательных вопросов, **каждый вопрос оценивается в 2 балла**. Задания данной части направлены на проверку навыков аналитического и логического мышления в смежных областях биологии, так как биохимия, биофизика, биоинформатика, радиобиология, биоинженерия, нанобиотехнология, биомеханика и математика.





Вопрос 1 (Биохимия)

*Ante mare undae — причина
непрерывно предшествует следствию,
а целое складывается из частей.*

У пациентки А. наблюдается низкий рост, увеличение лобных бугров, абсцесс 4го зуба верхней челюсти справа, у пациента Б. наблюдается клиническая картина сахарного диабета. У пациентки А. найдена при секвенировании мутация chrX:22115094C>T, у пациента Б. – chr11:17395927C>T (согласно Genome Reference Consortium). Обе мутации гетерозиготные.

1. Определите гены, в которых найдены мутации. Ответ дайте в формате официальных генных символов.
2. Приведите запись мутаций в формате HGVS для MANE транскриптов данных генов для сборки hg38.
3. Приведите запись аминокислотных замен в формате HGVS для белков вышеуказанных транскриптов данных генов.
4. Найдите частоту мутантных аллелей в популяционной базе gnomAD v4.1.0.
5. Классифицируйте патогенность мутаций по категориям ACMG-AMP 2015 года.

Ответ:

1. PHEX, ABCC8

1 балл за каждый верный ответ. Принципиальный момент в заданиях 1-5: первая мутация дана в hg19, вторая – в hg38, сборка намеренно не указана. Однако основание однозначно определяет сборку генома (т.е., буква характерна только для этой сборки) и участники должны определить это сами для получения верных ответов.

2. NM_000444.6:c.871C>T, NM_000352.6:c.4123G>A

1 балл за каждый верный ответ. Принципиальный момент в задании 2: GSK – это ген минус-стренда, поэтому для него не C>T, а G>A в транскриптомной записи.

3. NP_000435.3:p.(Arg291Ter) (сокращенно NP_000435.3:p.(R291*))

NP_000343.2:p.(Gly1375Arg) (сокращенно NP_000343.2:p.(G1375R))

1 балл за каждый верный ответ.

4. 0, 0.000003167. **1 балл за каждый верный ответ.**

5. Пример пояснения ниже. Можно давать другие ссылки,

Выявленный вариант был ранее многократно описан как патогенный (PMID:9768674, 9199930, 9106524, 9097956). Вариант не имеет частот в базе данных популяционных частот gnomAD. Вариант расположен в умеренно консервативной позиции. Вариант с большой вероятностью приводит к потере функции соответствующей копии гена. Вариант аннотирован как патогенный в базе данных ClinVar. По совокупности сведений, найденный вариант расценивается как патогенный.

Выявленный вариант был ранее описан как патогенный (PMID: 20685672). Вариант встречается в популяционной базе данных gnomAD в гетерозиготном состоянии с частотой





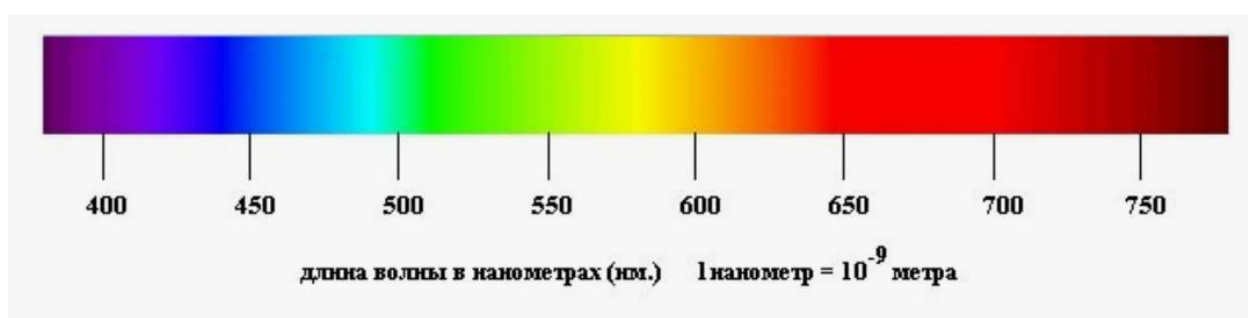
0.000003167. Вариант расположен в консервативной позиции и вероятно приводит к потере функции соответствующей копии гена. Компьютерный алгоритм предсказания влияния нуклеотидных вариантов на функцию сайтов сплайсинга SpliceAI характеризует данный вариант как вероятно патогенный. По совокупности сведений, найденный вариант расценивается как вероятно патогенный.

Если принимать за главный критерий описание в литературе, то вариант можно оценить как патогенный, это тоже допустимый ответ. **1 балл за каждую верную классификацию с объяснением. Без пояснения ответ не засчитывается**

Вопрос 2 (Биотехнология)

*Гори, гори, моя звезда
Звезда любви приветная!
Ты у меня одна заветная,
Другой не будет никогда*

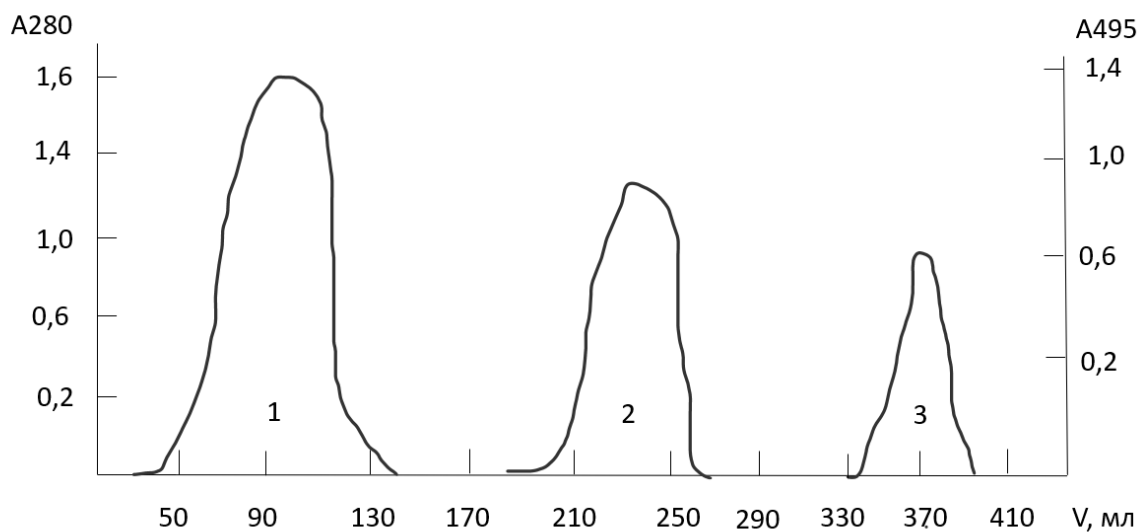
Люминесценция как природное явление (фосфоресценция некоторых насекомых, гниющего дерева, минералов) известна человечеству очень давно. Люминесценция – это свечение некоторых веществ, называемых люминофорами. Свечение люминофоров возникает под действием различных видов энергии: например, видимого и невидимого света – фотолюминесценция. Одни люминофоры – способны светиться только в момент воздействия того или иного вида энергии, а после прекращения такого воздействия мгновенно прекращают свечение. Такой вид люминесценции носит название флуоресценция. Люминофор в таком случае называют флуорохромом. Каждый флуорохром представляет собой трансформатор энергии, который поглощает коротковолновую световую энергию (свет возбуждения) и преобразует её в длинноволновую световую энергию (свет излучения), испускаемую флуорохромом. Флуорохром под действием, например, ультрафиолета начинает испускать свет определённой длины волны. Классическим примером флуорохрома является изотиоционат флуоресцеина (ФИТЦ). Максимум поглощения ФИТЦ составляет 490 нм, а максимум излучения 518 нм. Для того чтобы использовать метод флуоресценции, например, для обнаружения возбудителей заболеваний или биомолекул в мазках биологического материала, необходимо соединить (конъюгировать) флуорохром со специфическими антителами против этого возбудителя, обработать конъюгатом мазок биологического материала и используя люминесцентный микроскоп, позволяющий с помощью светофильтра выделить из всего спектра видимого света сине-фиолетовую часть, которая возбуждает флуорохром (или конъюгат флуорохрома с антителами) с преобразованием свечения в другую часть спектра. После чего исследователь анализирует полученный результат. Метод световой микроскопии с использованием конъюгата флуорохрома и антител (флуоресцирующих антител) называется иммунофлуоресценцией.





Видимая часть спектра.

Одним из важных этапов применения иммунофлуоресценции для получения достоверных результатов является соединение (конъюгация) антител и флуорохрома. При получении флуоресцирующих антител часто в качестве флуорохрома используют ФИТЦ. После конъюгации антител с ФИТЦ необходимо отделить меченый конъюгат от свободного флуорохрома, так как препарат флуоресцентных антител не должен содержать свободный флуорохром. Оптимальный способ очистки меченных иммуноглобулинов от свободного флуорохрома – метод гель-фильтрации на сорбенте сефадекс G-50. Разделение при гель-фильтрации основывается на том, что сорбент (в данном случае сефадекс), состоит из «шариков», имеющих поры с определенным размером. В зависимости от разделяемых молекул значение диаметра может изменяться. В эти поры могут проходить только молекулы с диаметром меньше, чем поры, и соответственно они дольше остаются на колонке. Таким образом этот метод позволяет разделять соединения с большой молекулярной массой от низкомолекулярных соединений. Для разделения используют колонки, заполненные гелем сефадекса G-50. На столбик геля сефадекса наслаивают раствор меченого конъюгата. При прохождении через колонку конъюгат разделяется на несколько фракций: иммуноглобулины, ковалентно связавшиеся с флуорохромом, свободный флуорохром и низкомолекулярные примеси.



Хроматограмма очистки флуоресцирующих антител от примесей и свободного флуорохрома.

1. Определите в какой фракции находится свободный флуорохром, в какой конъюгат, в каких примеси. Объясните вашу точку зрения.
2. Приготовленный препарат флуоресцирующих антител должен быть стандартизован. Одним из параметров, характеризующим конъюгат является соотношение флуорохрома и иммуноглобулина. Оно вычисляется по следующей формуле:

$$\frac{Kp}{b} = \frac{2.87A_{495}}{A_{280} - (0.35A_{495})},$$

где Kp – количество молекул ФИТЦ, b – количество молекул белка. A_{495} – поглощение при длине волны 495, A_{280} – поглощение при длине волны 280 нм.





Определите в каком диапазоне может находиться отношение Кр/б, если оптимальное соотношение A_{495}/A_{280} находится в диапазоне от 0,5 до 1,5. Укажите ответ округляя значения до целого числа.

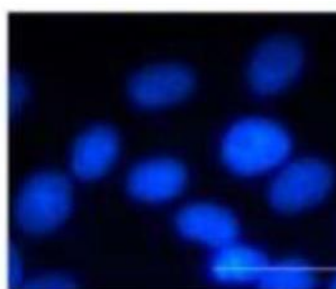
3. Концентрацию белка в препарате определяют по формуле:

$$C \text{ (mg/ml)} = \frac{A_{280} - (0.35A_{495})}{1.4}$$

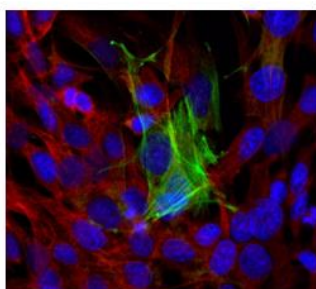
Определите концентрацию очищенных флуоресцирующих антител, округляя до сотых.

4. Определите молярное соотношение красителя к иммуноглобулинам в препарате флуоресцирующих антител, если ФИТЦ брали в количестве 3 мг, антител - 100 мг, а конъюгация прошла на 60%. Сделайте вывод о возможности применения данного конъюгата для иммунофлуоресценции.

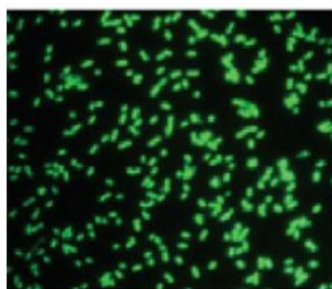
5. Определите для получения каких из представленных изображений были использованы антитела, конъюгированные ФИТЦ. Ответ обоснуйте.



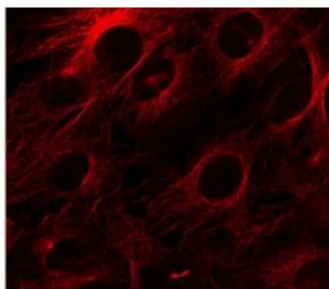
1



2



3



4

Справочные данные: молекулярная масса ФИТЦ 389 г/моль, примесей – 70 г/моль, иммуноглобулинов – 150000 г/моль.

Ответ:

1. 1 – флуоресцирующие антитела, 2 – флуорохром, 3 – примеси, Соединения с меньшей молекулярной массой больше задерживаются на колонке, с большей (в данном случае антитела) быстрее выходят с колонки. (1 балл – за правильное соответствие, 1 балл – за объяснение)

2. Преобразуем уравнение до вида:





$$\frac{Kp}{б} = \frac{2.87 A_{495}}{A_{495} \left(\frac{A_{280}}{A_{495}} - 0,35 \right)}$$

$$\frac{Kp}{б} = \frac{2.87}{\left(\frac{A_{280}}{A_{495}} - 0,35 \right)}$$

Подставляя известное соотношение $\frac{A_{280}}{A_{495}}$, получаем округляя до целых $2 < Kp/б < 9$

(2 балла – за правильный расчет без математических ошибок)

3. По хроматограмме (фракция 1) обнаруживаем, что $A_{280} = 1,6$; $A_{495} = 1,4$ Концентрация белка: $(1,6 - 0,35 \cdot 1,4) / 1,4 = 0,79$ мг/мл

(2 балла – за правильный расчет без математических ошибок)

4. Количество моль ФИТЦ = $3 \text{ мг} / 389 \text{ (г/моль)} = 7,7 \cdot 10^{-6}$ моль

Количество моль антител = $100 \text{ мг} / 150000 \text{ (г/моль)} = 6,67 \cdot 10^{-7}$ моль

$Kp/б$ с учетом 60 % степенью конъюгации: $0,6 \cdot 7,7 \cdot 10^{-6} \text{ моль} / 6,67 \cdot 10^{-7} \text{ моль} = 6,9$.

Препарат можно использовать для иммунофлуоресценции, так как соотношение $Kp/б$ входит в диапазон от 2 до 9, полученный в п. 2

(1 балл – за правильный расчет без математических ошибок, 1 балл – за правильный вывод о применимости препарата в анализе)

5. 2 и 3. Так как максимум излучения ФИТЦ составляет 518 нм, что находится в зеленой части спектра. **(2 балла за правильный выбор и объяснение)**

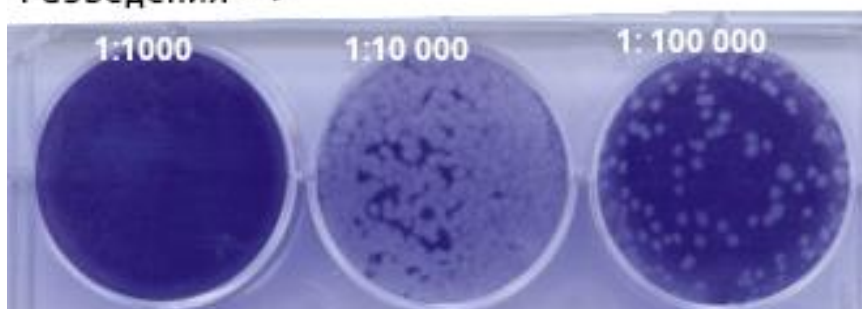
Вопрос 3 (Вирусология)

*"Государь спросил: – Где же ваш мелкоскоп, с которым вы могли произвести это удивление?
А Левша ответил: – Мы люди бедные и по бедности своей мелкоскопа не имеем, а у нас так глаз пристрелявши."*

Н. С. Лесков. Левша

Определение титра pfu

Разведения ->



МОИ и pfu

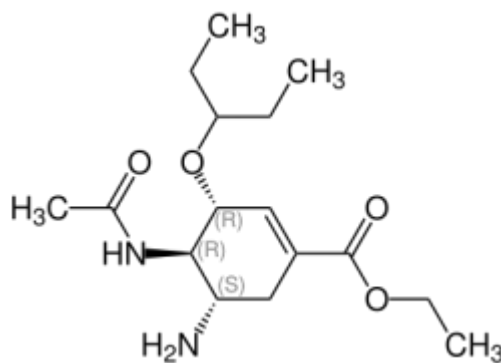




Перед вами, как перед исследователем-вирусологом, стоит задача провести эксперимент, связанный с заражением клеточной культуры неким вирусом. При этом, в соответствии с условиями эксперимента, не менее чем в 95% всех клеток, задействованных в эксперименте, должна развиваться продуктивная инфекция. Имеются ранее полученные данные, указывающие, что у используемого препарата вируса соотношение числа вирусных геномов к бляшкообразующим единицам (ВГ/пфу) = 200 к 1.

1А. Вышеупомянутый титр рfu - один из способов количественной характеристики препаратов вируса. Существуют и другие, например, гемагглютинирующий титр (ТГА). Объясните, в чем качественное отличие этих подходов в отношении данных, которые можно получить с их помощью?

1Б. Какая множественность инфекции (МОИ) в эксперименте позволяет ожидать заражение не менее 80% клеток? При решении можно использовать адаптированную формулу Пуассона: $P(k) \sim \frac{e^{-m} m^k}{k!}$, где k - желаемое количество вирусных частиц (геномов) в любой отдельно взятой клетке, а в качестве m можно взять МОИ



Существует немного специфических противовирусных препаратов, позволяющих бороться с инфекцией вирусом гриппа А и В. Среди таких препаратов - осельтамивир.

2А. Опишите природу действующего вещества и механизм, обеспечивающий противовирусную активность препарата.

2Б. Ранее при лечении гриппа использовали также препараты - производные адамантана (римантадин, амантадин). В чем разница у этих препаратов с осельтамивиром по принципу действия мишени и стадии инфекции? Почему они в основном вышли из употребления. Имеет ли место фактор, вызвавший отказ от них в случае осельтамивира?

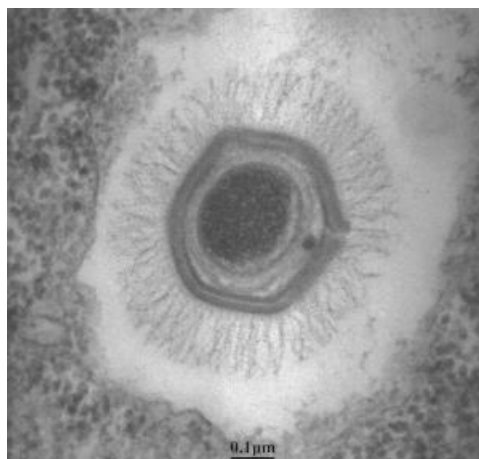




Рассмотрим жизненные циклы некоторых известных вирусов (семейств), а именно получивших в последнее время широкую известность коронавирусов. Попробуйте ответить на предложенные вопросы.

3А. Спектр хозяев, а также тканеспецифичность вирусов в общем и коронавирусов в частности (в том числе и SARS-CoV-2, вызвавшего недавнюю пандемию CoVID-19) в большей мере определяется специфичностью поверхностных белков вирусов в отношении клеточных рецепторов. Укажите основной клеточный рецептор для вариантов SARS-CoV-2. Известно, что этот рецептор активно экспрессируется в самых разных органах и тканях человека, однако, если для SARS-CoV-2 характерно поражение, к примеру, тканей сердечно-сосудистой и дыхательной систем, то некоторые другие ткани остаются преимущественно незатронутыми, несмотря на наличие специфического рецептора на поверхности их клеток. В чем может быть причина?

3Б. Для коронавирусов, и, в частности, для SARS-CoV, характерна некоторая особенность в формировании оболочки при сборке вирионов, отличающая их от большинства других оболочечных вирусов. Укажите эту особенность. Как осуществляется выход готовых вирионов из клетки?

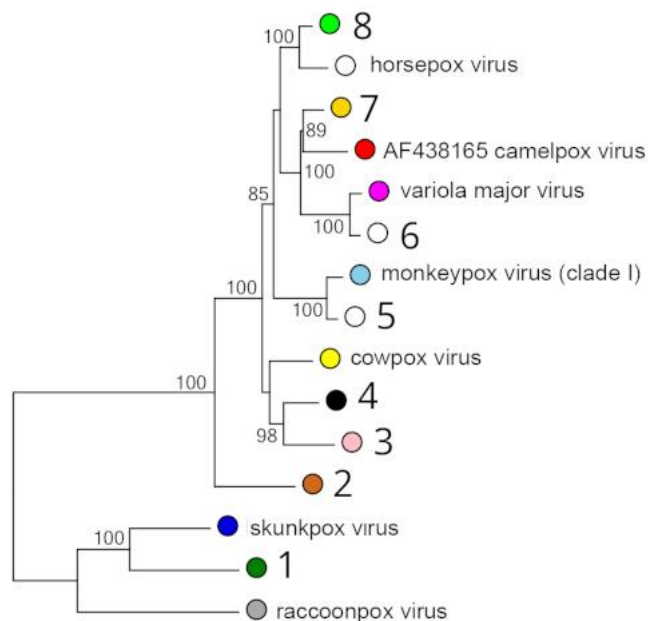


Сравнительно недавно, в 90х гг 20 века были открыты вирусы ещё более крупные, чем поксвирусы. Отнесённых к группе гигантских вирусов мимивирусов и ряд других семейств объединяют наличие двухцепочечного ДНК-генома длиной более 200 000 пар оснований (у мимивирусов - 1.2 млн.) и крупные размеры - не менее 0.2 мкм (у мимивирусов - около 0.5). Рассмотрим некоторые особенности мимивирусов.

4А. Одной из ярких отличительных особенностей у этих (а также других семейств гигантских вирусов) является набор генов, содержащихся в их геномах. Укажите, в чем уникальность генома и генного репертуара этих вирусов.

4Б. Другие особенности, которую сложно обнаружить у каких-либо еще вирусов, связаны с явлением сверхпаразитизма и опосредованного горизонтального переноса генов. Опишите их.





Итак, имеется заболевание, вызываемое ДНК-содержащим вирусом и долгое время бывшее бичом человечества, ставшее, по некоторым данным, причиной гибели едва ли не наибольшего числа людей среди вирусных инфекций. В настоящее время оно считается ликвидированным. Классическим можно назвать использование вакцинации для его ликвидации.

5А. Ставшими классическими подходы одного из основателей метода, помогли бороться со вспышками заболевания в 18 веке. Однако в ликвидации заболевания ключевую роль сыграл другой вирус. Назовите и охарактеризуйте данный вирус. Какой тип вакцин был использован? Какие манипуляции (инактивация, аттенуация и пр.) требовались для приготовления безопасной вакцины.

5Б. Каково происхождение вируса, использующегося для вакцины в настоящее время? Расположите его на филогенетическом дереве рода (в ответе укажите номер позиции).

Ответ:

1А. Титр бляшкообразующих единиц (рфу) используется для характеристики инфекционной активности конкретного препарата вируса, отражая количество активных вирусных частиц, способных вызывать продуктивную инфекцию. Гемагглютинирующий титр (ТГА) оценивает способность вируса агглютинировать эритроциты и в большей степени характеризует препарат с точки зрения общего количества вирионов, не учитывая, например, пустые и дефективные вирионы, что не годится для оценки инфекционной активности. **1 балл**

1Б. При вычислении необходимой MOI используем формулу с количественными показателями выраженными в рфу для удобства расчётов (200 ВГ = 1 рфу по условию). Вероятность попадания минимум одной бляшкообразующей единицы в каждую отдельную клетку (P) - необходимое условие для продуктивной инфекции - лучше считать через вероятность P(0) попадания 0 рфу как $1 - P(0)$ (так как вероятность для минимум 1 равна сумме вероятностей $P(1) + P(2) + \dots + P(n)$). Итак, $P = 1 - P(0) = 1 - e^{(-m)} * m^0 / 0!$. Для определения искомой MOI для заражения минимум 80% клеток запишем неравенство:

$$1 - e^{(-m)} * m^0 / 0! \geq 0.8$$





$$1 - e^{(-m)} \geq 0.8$$

$$e^{(-m)} \geq 0.2$$

Из неравенства следует, что $m \geq -\ln(0.2)$, т.е. MOI должно быть не менее 1.61 pfu/кл. или $1.61 \cdot 200 = 322$ ВГ/кл. **1 балл**

2А. По своей природе осельтамивир фосфат - синтетический аналог клеточных рецепторов на основе сиаловых кислот, используемых вирусами гриппа. Гидролиз осельтамивира в организме пациента приводит к переходу его в активную форму - осельтамивир карбоксилат. Последний связывает и ингибирует поверхностный белок вируса гриппа нейраминидазу, конкурируя с поверхностными сиаловыми кислотами клетки. Нейраминидаза по ферментативной активности - сиалидаза, т.е. расщепляет сиаловые кислоты. Данное действие необходимо вирусу для выхода из клетки хозяина, т.к. в этом процессе другой поверхностный вирусный белок - гемагглютинин, в процессе сборки вирионов интегрирующийся в участки клеточной мембраны, через которые проходит почкование новособранных вирионов, оказывается связан с поверхностными клеточными сиаловыми рецепторами. При отсутствии функции нейраминидазы в отношении этих связей, вирус остаётся иммобилизованным на поверхности клетки и не может эффективно инфицировать последующие клетки, а кроме того, могут образовываться крупные агрегаты вирионов, связанные гемагглютинином через остатки сиаловых кислот, не удалённые с гемагглютининов нейраминидазой. **1 балл**

2Б. Препараты - производные адамантана являются неспецифическими ингибиторами репродукции некоторых вирусов, в т.ч. вирусов гриппа, подавляя её раннюю стадию. Препараты блокируют М2-ионный канал, повышая рН содержимого эндосомы и блокируя слияние вирусной оболочки с мембраной эндосомы, предотвращая, таким образом, проникновение генетического материала вируса в цитоплазму. Таким образом в отличие от ингибитора нейраминидазы осельтамивира, препятствующего освобождению вирусного потомства, производные адамантана не позволяют инфицировать клетку, т.е. действуют на более ранней стадии. Препараты на основе адамантана в основном вышли из употребления из-за развития устойчивости у многих штаммов вируса гриппа А. Явление антигенного дрейфа у вирусов гриппа приводит иногда к возникновению штаммов, устойчивых к осельтамивиру, так что этот фактор имеет место и в случае данного препарата, хотя частота её встречаемости варьирует от 0.3% - 4% до 18% по некоторым данным. **1 балл**

3А. Основным рецептором для разных вариантов SARS-CoV, в том числе и особенно для SARS-CoV-2, является мембранный белок - ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2). Причиной того, что, несмотря на активную экспрессию ACE2 в разных тканях, SARS-CoV-2 поражает не все из них, является то, что интернализация вируса обеспечивается не только взаимодействием с рецептором. Так, интернализация вируса, обеспечиваемая белком S связывающимся с рецептором, требует предварительного расщепления С-концевого участка ACE2 клеточными протеазами, такими как TMPRSS2. Однако процесс расщепления может блокироваться в присутствии транспортера аминокислот B(0)AT1 (SLC6A19). Распространение последнего в тканях не всегда совпадает с ACE2 и, по некоторым, это может влиять уровень поражения коронавирусами отдельных тканей. **1 балл**

3Б. Такой особенностью является формирование оболочки в промежуточном между эндоплазматическим ретикуломом и аппаратом Гольджи компартменте ERGIC, выполняющим транспортные функции. У большинства оболочечных вирусов оболочка





приобретается из модифицированной клеточной мембраны в процессе почкования вирусов. Однако коронавирусы почкуются из мембран ERGIC, внутри которого происходит объединение вирусных РНК с белком нуклеокапсида N в спиральные рибонуклеопротеиновые комплексы, взаимодействие с другими белками вириона (например, гидрофобный оболочечный M белок). После почкования из мембран ERGIC вирионы выводятся из клетки в вакуолях путём экзоцитоза. **1 балл**

4А. Состоящий из 1,2 млн пар оснований кольцевой геном мимивирусов содержит по разным оценкам более 900 генов. Причём он, как и в случае некоторых других гигантских вирусов, включает гены, которые обычно встречаются только у клеточных организмов, например, кодирующие белки репарации ДНК, а также множество (намного больше, чем у любых других вирусов) белков участвующие в трансляции (аминоацил-тРНК-синтетазы, различные факторы трансляции), различные транспортные РНК. Интересной особенностью является наличие "генов-сирот", не имеющих известных аналогов в других организмах. Кроме того, в их генах имеются интроны. **1 балл**

4Б. Достаточно удивительно то, что у этих вирусов есть собственные паразиты - так называемые вирофаги. Хотя, очевидно, вирофаги не размножаются внутри вирионов, однако они сопутствуют, поражают тех же хозяев и пользуются виросомами гигантских вирусов в собственных целях, подавляя их размножение. При этом выживаемость общего хозяина повышается. Встречаются вирофаги интегрированные в геном гигантских вирусов. Необычный вариант горизонтального переноса генов в случае гигантских мимивирусов обусловлен наличием у них мобильных генетических элементов, так называемых трансповионов (мобильные генетические элементы встречаются и у других гигантских вирусов). Последние имеют несколько кодируемых генов в геноме длиной 7000 пар оснований и способны перемещаться между геномами мимивирусов и вирофагов. **1 балл**

5А. Если изначально для вакцинации использовали вирус коровьей оспы, то более поздние вакцины, были созданы на основе другого вируса - вирус осповакцины. Он не способен вызывать опасное заболевание у человека, но формирует эффективный иммунитет против вируса натуральной оспы. Поэтому вирус осповакцины использовался для создания живых противооспенных вакцин и аттенуация, и тем более, инаktivация не требовались. **1 балл**

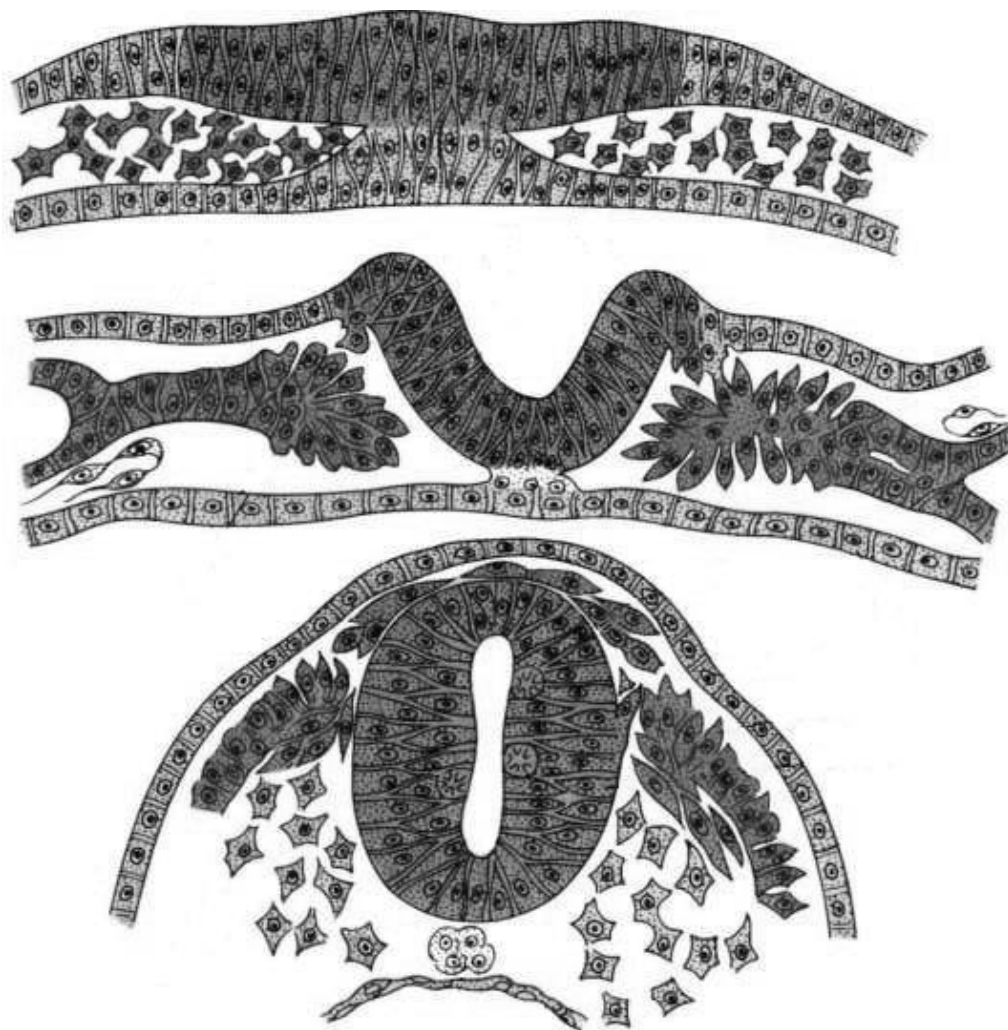
5Б. То, как в лабораториях и в практике вакцинации появился вирус осповакцины - не до конца изученных вопрос и его точное происхождение выясняется. Ранее предполагалось, что данный вирус является гибридом вируса натуральной оспы с каким-то иным. В настоящее время имеются данные о более чем 97% сходстве с вирусом оспы лошадей (по данным секвенирования). На филогенетическом древе - номер 8. **1 балл**

Вопрос 4 (Эмбриология)

*«Подобно энтомогу, ищущему ярко окрашенных бабочек,
Моё внимание приковано к саду серой материи,
К клеткам тонких и элегантных форм,
Мистическим бабочкам души»
Сантьяго Рамон-и-Кахаль,
основоположник нейробиологии.*

Внимательно рассмотрите рисунок, сделайте вывод о том какой процесс изображён на нем.



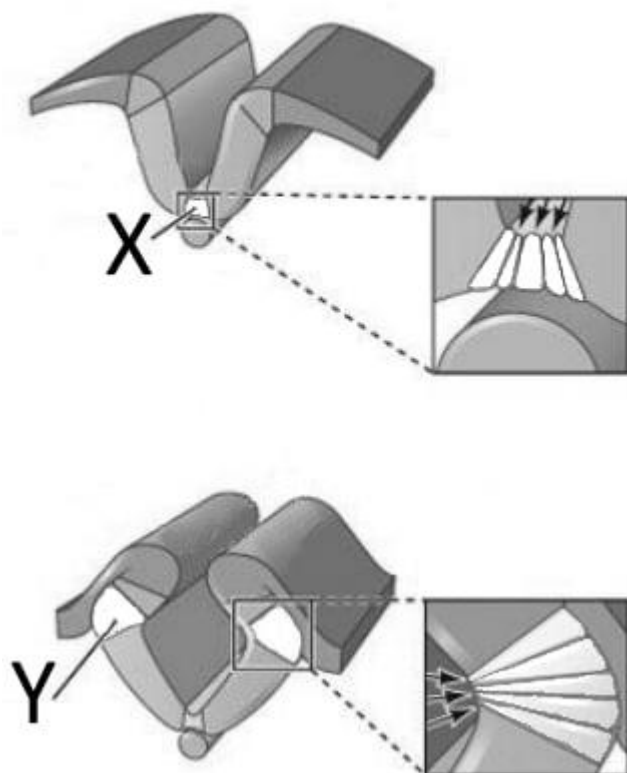


1. Известно, что нервная трубка начинает формироваться на третьей неделе эмбриогенеза. Важным этапом является погружение нервной пластинки в развивающийся зародыш и формирование нервной трубки. Укажите из клеток какого зародышевого листка формируется нервная система и как называется данный процесс.

2. Известно, что для клеток нервной пластинки характерна экспрессия определённых транскрипционных факторов, инициирующих программу дифференцировки и влияющих на тканеспецифичность. Данные транскрипционные факторы позволяют клеткам стать клетками нервной системы, однако, они проявляют ингибирующее действие на другую группу клеток эмбриона, а именно, подавляют пролиферацию клеток по BMP - пути. Приведите название данного семейства транскрипционных факторов. Укажите какой процесс они ингибируют.

3. На рисунке указана первичная стадия формирования нервной трубки у куриного эмбриона. Какие элементы обозначены X и Y на данной схеме? Рассматривая более детально форму клеток указанных структур (клиновидная или форма усечённой пирамиды), предположите, как форма может быть связана с функцией данных структур?





4. У человека существует около пяти (на данный момент открыто) сайтов смыкания нервной трубки. Современной медицине известны болезни, связанные с дефектами смыкания нервной трубки. Если рассматривать один из случаев, когда нервная трубка не смыкается в области позвоночного столба, например, в задней части, то нейропор остаётся открытым.

Напишите название данного заболевания у новорожденных.

Какой питательный элемент часто назначают беременным женщинам в целях профилактики дефектов развития нервной трубки плода, который чаще всего влияет эпигенетически?

5. В норме нервная трубка образует цилиндр. Следующим важным этапом нормального развития является его отделение от клеток эктодермы и погружение внутрь. Известно, что клетки поверхностной эктодермы продуцируют белок E-кадгерин, а клетки нервной трубки - N-кадгерин. Какой физико-химический процесс нарушается в данном случае и способствует отделению клеток цилиндра от клеток эктодермы?

Предположите, что будет, если клетки поверхностной эктодермы заставить синтезировать N-кадгерин. Это можно сделать путём инъекции мРНК N-кадгерина в один из бластомеров.

Ответ:

1. Эктодерма (1 балл); нейруляция (1 балл).
2. Семейство Sox (1 балл); ингибируют формирование эпидермиса из клеток эктодермы (1 балл)
3. X - медиальная шарнирная точка, Y - дорсально-латеральная шарнирная точка. (1 балл)





Данная форма клеток позволяет осуществлять процесс (акт) изгибания ровной нервной пластинки **(1 балл)**.

4. Spina bifida (грыжа спинного мозга) **(1 балл)**

Фолат (или фолиевая кислота), может быть ответ - цинк, однако, эпигенетический эффект несёт именно фолат. **(1 балл)**.

5. Клеточная адгезия (или адгезия) **(1 балл)**.

Отделение нервной трубки будет затруднено, в следствие большей клеточной адгезии между двумя пластами клеток. **(1 балл)**.

