

Кейс №7. «Спасение свиней» (11 класс)



11-й класс

# Спасение свиней

Снижение рисков и убытков от репродуктивно-респираторного синдрома свиней за счёт своевременной диагностики



## Описание проблемной ситуации

Репродуктивно-респираторный синдром свиней (англ. — Porcine reproductive and respiratory syndrome; «синее ухо», эпизоотический поздний аборт свиней, РРСС) — контагиозная болезнь, характеризующаяся массовыми абортами свиноматок, рождением нежизнеспособных поросят и сопровождающаяся поражением дыхательной системы.

К возбудителю РРСС восприимчивы свиньи всех возрастов и пород. Однако нарушение репродуктивной функции наблюдают только у супоросных свиней, а респираторное заболевание — во всех возрастных группах.

Источником возбудителя инфекции служат больные и переболевшие свиньи, выделяющие вирус с носовой слизью, фекалиями, мочой и спермой. Вирус РРСС длительно персистирует в организме свиней.

Факторами передачи возбудителя РРСС служат инфицированные корма, вода, воздух, навоз, транспорт, спецодежда, грызуны, обитающие на ферме, и другие объекты внешней среды. При определенных условиях мясо больных свиней может быть фактором передачи возбудителя инфекции.

Специфического лечения нет. Учитывая, что возбудитель РРСС обуславливает в организме иммунодефицитное состояние, больных животных лечат симптоматически для предотвращения осложнений и вторичной инфекции. Для уменьшения неонатальной смертности выпаивают растворы электролитов, глюкозу, молозиво.

Как обсуждалось на Международном симпозиуме «Геномика животных для здоровья животных» 2010 года, глубокие фенотипы необходимы для идентификации генов и путей,

ответственных за генетический контроль реакций на инфекцию, вызванную вирусом РРСС.

Недавно был идентифицирован основной QTL на хромосоме 4 *Sus scrofa* (SSC4) с номером 139136697–140420778, который обуславливает 15,7% генетической дисперсии реакции хозяина у молодняка свиней на экспериментальную вирусную инфекцию РРСС, измеряемую по сывороточной виремии от 0 до 21 дня после заражения и прибавке в весе.

Гены-кандидаты в данном районе представляют семейство гуанилатсвязывающих белков (GBP).

Можно предположить, что варианты данных генов будут ассоциированы с разной вирусной нагрузкой у поросят, пребывающих в одинаковых условиях свиноводника.

### Материалы для изучения

[Статья 1](#) | [Статья 2](#) | [Статья 3](#) | [Статья 4](#)



## 1 задание

Для исследования влияния генотипа животного на скорость развития инфекции важно уметь оценивать вирусную нагрузку (концентрация вируса в крови).

Опишите методы, с помощью которых можно оценить вирусную нагрузку.

Сравните их достоинства и недостатки.

Какие требования необходимо выполнить для запуска лаборатории, в которой можно проводить такие исследования?



## 2

### задание

Зайдите [в базу данных](#). Введите в поисковое окно запрос на ген GBPI. Проставьте галочки для просмотра данного гена у человека и свиньи. Нажмите на кнопку View в левом верхнем углу.

Проанализируйте информацию по экспрессии данного гена в разных клетках человека и свиньи.

Посмотрите метаболический путь для [данного белка](#).

Найдите белок на карте и опишите его функцию.

Есть ли белки со сходными последовательностью или функциями?



## 3

### задание

Найдите последовательности гена GBPI свиньи.

Для оценки влияния мутаций в данном гене на вирусную нагрузку использовали две тест-системы.

Найдите, в какой части гена располагаются данные мутации (нужно указать интрон/экзон), какую функциональную нагрузку несут (есть замена аминокислоты или нет)?

Как сделать эту тест-систему более надёжной?

Какие шаги нужно предпринять для её сертификации?



Кейс №8. «Клеточная линия HeLa» (11 класс)



11-й класс

# Клеточная линия HeLa

Сбор и поддержание банка чистых клеточных культур сельскохозяйственных животных



## Описание проблемной ситуации

В современном мире научных биологических исследований клеточные культуры *in vitro* (лат. «в пробирке») представляют собой один из наиболее ценных и универсальных инструментов. Клеточные культуры, состоящие из изолированных клеток, выращиваются и поддерживаются в искусственных условиях вне организма с использованием специализированных сред и условий.

Они применяются для изучения биологических процессов, разработки и тестирования различных лекарств, новых методов терапии, исследования болезней, эволюции развития тканей, фундаментальных исследований в области генетики, иммунологии, фармакологии и многих других аспектов биологии и медицины.

Методы исследования с использованием клеточных культур предоставляют современным учёным уникальную возможность изучать различные биологические процессы в контролируемых условиях, что, в свою очередь, обеспечивает возможность получения более точных и надёжных результатов. Этот фактор сделал клеточные культуры неотъемлемой частью современных и научных исследований.

Несмотря на то, что история клеточных культур насчитывает несколько десятилетий, интерес и значимость этой области науки только усиливаются.

Клеточные линии играют ключевую роль в понимании молекулярно-генетических процессов у эукариот.

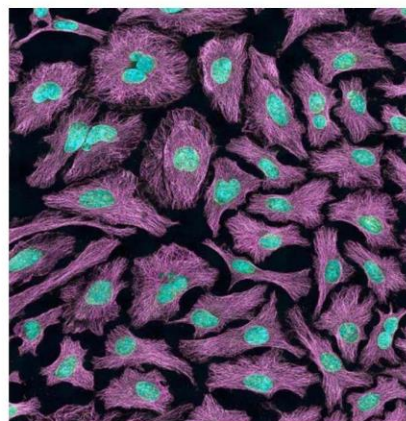
Однако одной из серьезных проблем, с которой сталкиваются исследователи, является контаминация клеточных культур. Наиболее громкой является проблема заражения мирового банка клеточных культур линией HeLa.

Клеточная линия HeLa получила своё название от имени Хенриетты Лакс, женщины, у которой был взят образец рако-

выхлесток в 1951 году. Эта линия клеток была первой успешной линией человеческих клеток, выведенных в культуру, после чего она стала ключевым инструментом для научных исследований.

Через некоторое время было обнаружено, что HeLa обладает способностью к контаминации других клеточных культур, что может приводить к серьёзным искажениям результатов исследований.

Данная проблема стала всё более актуальной с увеличением числа исследований и распространением HeLa клеток по всему миру.



## 1 задание

Для лаборатории, работающей с клеточными культурами сельскохозяйственных животных, необходимо разработать рутинный метод определения наличия контаминации клеточной линией HeLa.

- Метод должен иметь определённую чувствительность. Для ваших целей наличие 1 клетки HeLa на 1000 клеток культуры критично, то есть необходима чувствительность метода, позволяющая определить наличие 1 клетки HeLa на 1000 клеток образца.

- Также метод должен быть недорогим, так как у большинства лабораторий ограничен бюджет. Стоимость вашего анализа не должна превышать 3000 рублей за тестирование одного образца.

## 2

### задание

Вы обнаружили, что результаты экспериментов с редкой клеточной культурой трахеи быка далеки от ожидаемых и не воспроизводятся от постановки к постановке, как раньше.

Применив метод анализа из Задания 1, вы выяснили, что ваша уникальная линия была контаминирована клетками HeLa. Так как эти клетки были в банке вашей лаборатории в единственном экземпляре, а доставка новой ампулы от производителя будет стоять около €1000, культуру необходимо спасать.

Опишите протокол разделения двух клеточных культур, в данном случае NBL-4 и HeLa.

Бюджет на спасение культуры не должен превышать стоимости новой ампулы от производителя (в данном случае 100 000 рублей).



## 3

### задание

Одним из методов идентификации и подтверждения однородности клеточной культуры является STR анализ (от англ. "Short tandem repeat"), в основе которого лежит определение числа tandemных повторов ДНК в определённых локусах, уникальных для каждого животного и человека, это даже используют в криминалистике и установлении родства.

В таблице приведён результат STR анализа для 3-х клеточных линий, которые, вероятно, контаминировали вашу культуру.

Какая из них HeLa?

Сможете ли вы идентифицировать остальные культуры?



# Бактериальное удобрение

Нехватка фосфора в почве — один из факторов, ограничивающих возможности агропромышленности

## Описание проблемной ситуации

Фосфор (P) является одним из важнейших элементов, необходимых для развития растений; он составляет около 0,2% от сухого веса растения. Фосфор уступает только азоту среди минеральных питательных веществ, наиболее часто ограничивающих рост сельскохозяйственных культур. Он играет важную роль практически во всех основных метаболических процессах растений, включая фотосинтез и дыхание растений, передачу и консервирование энергии, молекулярный биосинтез и трансдукцию сигналов, а также фиксацию азота у бобовых.

В среднем содержание фосфора в почве составляет около 0,05% (по массе), однако только 0,1% этого фосфора доступно для использования растениями.

В сельском хозяйстве проблема дефицита доступного фосфора в почве решается путём регулярного внесения минеральных удобрений. Однако только 10-15% вносимых фосфорных удобрений ассимилируется растениями, а большая часть их переходит в труднодоступную форму для растений или вымывается с грунтовыми водами.

Наиболее выгодным и экологически безопасным приёмом повышения подвижности фосфора в почве и его доступности растениям является микробиологическая фосфатмобилизация — применение бактериальных препаратов, усиливающих мобилизацию фосфора из труднодоступных соединений почвы в легкодоступные.

К почвенным бактериям, которые, как сообщалось, мобилизуют малодоступный фосфор посредством солюбилизации и минерализации, относятся *Pseudomonas spp.*, *Agrobacterium spp.* и *Bacillus circulans*. Другие солюбилизующие фосфор и минерализующие бактерии включают различные штаммы *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia* и другие.

Основные механизмы, используемые почвенными микроорганизмами превращения фосфора в доступные формы, включают:

1. Высвобождение комплексообразующих или минералрастворяющих соединений, например: анионы органических кислот, сидерофоры, протоны, гидроксильные ионы.
2. Высвобождение внеклеточных ферментов (биохимическая фосфатминерализация).
3. Высвобождение фосфора во время деградации субстрата (биологическая фосфатминерализация).

Микроорганизмы играют важную роль во всех трёх основных компонентах фосфорного цикла почвы.

Также большинство видов фосфатмобилизующих бактерий благотворно влияет на рост и развитие растения. Это происходит в силу нескольких причин: выделение микроорганизмами витаминов и фитогормонов, продукция ими антибиотиков, ингибирующих развитие патогенов; перевод минеральных элементов в доступную для растений форму.

Биотехнология мобилизации фосфора микроорганизмами предоставляет отличную возможность для разработки экологического фосфорного биоудобрения, которое будет использоваться в качестве дополнения к химическим удобрениям или как альтернатива химии.

Материалы для изучения

[Статья 1](#) | [Статья 2](#) | [Статья 3](#) | [Статья 4](#)

# 1

## задание

Ваша задача — оценить количество фосфатомобилизирующих бактерий в почве.

Рассмотрите возможные методы для проведения такого анализа.

Опишите плюсы и минусы.

Какие ещё параметры надо оценить, чтобы определить нехватку фосфора?



# 2

## задание

Исследователи отобрали несколько штаммов фосфатомобилизирующих бактерий и оценили их способность растворять фосфаты. Для этого бактерии выращивали в жидкой среде с нерастворимым фосфатом кальция в течение 3-х суток, затем бактерии осаждали центрифугированием, а к надосадочной жидкости добавляли молибденовокислый аммоний.

Ортофосфат-ионы в присутствии избытка молибдата в кислой среде образуют фосфорномолибденовую гетерополиоксису (ФМК). ФМК восстанавливали хлоридом олова до «фосфорномолибденовой сини», обладающей интенсивной окраской, что является основой высокочувствительного фотометрического метода определения фосфора.

Оптическая плотность полученного раствора пропорциональна концентрации фосфора в исходном растворе.

Результаты измерения [приведены в таблице](#) в виде оптической плотности раствора при длине волны 650 нм. Для оценки количества растворённого фосфата использовали данные калибровочного титрования, для чего готовили растворы с известной концентрацией фосфат-ионов ( $K_2HPO_4$ ) и проводили измерения параллельно с исследуемыми образцами.

Постройте калибровочную прямую и проведите расчёты количества растворённого фосфата в каждом образце бактерий.

Сделайте вывод о наиболее перспективной бактерии, которую можно использовать в качестве биоудобрения.

Как ещё можно оценить их фосфатомобилизирующую активность?

Какие ещё эксперименты нужно провести, чтобы выбрать один из штаммов?





**3**

**задание**

Распишите последовательность шагов, которые вам нужно предпринять для запуска производства биоудобрения на основе выделенной бактерии.

Какие ресурсы вам понадобятся?

Составьте дорожную карту запуска такого производства.



# Режим питания

## Снижение рисков пищевой безопасности за счёт использования растительных белков

### Описание проблемной ситуации

Постоянный и быстрый рост населения планеты создаёт риски с обеспечением достаточным количеством качественной пищи всего человечества. В настоящее время на Земле от двух до трёх миллиардов людей страдает от недостатка пищи, ещё примерно 1 миллиард не может позволить себе здоровое питание.

Возможности экстенсивного сельского хозяйства, расширяющегося за счёт увеличения площади используемых земель, практически исчерпаны. Поэтому поиск новых способов получения полноценных продуктов питания приобрёл особенно важное значение. При этом самое большое экологическое воздействие оказывает животноводство: выращивание свиней и крупного рогатого скота является одним из основных источников тепличных газов (в первую очередь метана и CO<sub>2</sub>), способствующих глобальному потеплению.

Одним из возможных решений является замена животных белков (по крайней мере, частично) растительными.

Однако существует важная проблема использования растительных белков, связанная с недостатком в их составе так называемых незаменимых аминокислот, то есть аминокислот, которые мы синтезировать не можем и должны полностью получать их с пищей. Например, белки злаков и кукурузы содержат лишь половину от необходимого количества лизина, а также дефицитны по треонину, изолейцину и валину.

В белках бобовых наблюдается сильный недостаток серосодержащих аминокислот метионина и цистеина. Поэтому все официальные рекомендации по питанию, например, отечественного Роспотребнадзора или Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), рекомендуют, чтобы в составе диеты человека животные

белки составляли не менее 50-55%. Ещё один недостаток состоит в более низкой усвояемости растительных белков: обычно она составляет 62-80% против 92-100% у животных белков. Получается, что для замены животных белков растительными в первую очередь необходим подбор такой комбинации белков из растительных источников, которая бы обладала максимально сбалансированным аминокислотным составом и была бездефицитная по незаменимым аминокислотам.

Однако у использования альтернативных источников белка есть и свои слабые стороны. Одна из них - усвояемость. Известно, что растительные и особенно грибные белки расщепляются в ЖКТ человека значительно хуже, чем животные.

Усвояемость животных белков обычно находится в диапазоне 92-100%, растительных — 62-80%, а белков грибов — всего лишь 25-45%.

Поэтому растительный и грибной белки, даже если они будут иметь сбалансированный аминокислотный состав, не смогут считаться хорошим источником белков.

К сожалению, проблема недостатка пищевых продуктов — проблема не только научно-техническая, но и социальная. Поэтому ещё одним большим вызовом сегодня для человечества является проблема избыточной массы тела, ожирения и связанного с ними повышенного риска развития многих социально значимых заболеваний, например, сахарного диабета или сердечно-сосудистых заболеваний. Потенциально многие из этих заболеваний сильно ухудшают качество жизни, могут приводить

## Описание проблемной ситуации

к инвалидности, повышают риск смерти. Одна из причин этих проблем — избыточное потребление людьми сахара, который есть не только [в сладостях](#).

Например, житель России в среднем каждый день потребляет, по данным Роспотребнадзора, 107 г сахара при рекомендованном потреблении не более 25 г. Получается, что мы потребляем в среднем в 4 раза сахара больше, чем необходимо.

Одним из возможных решений этой проблемы являются сахарозаменители (подсластители), в первую очередь так называемые некалорийные, то есть имеющие нулевую или почти нулевую калорийность. Лишь немногие из таких подсластителей имеют [натуральное происхождение](#). Их использование в целом гораздо безопаснее для здоровья человека, чем у синтетических подсластителей.

Наиболее известны из натуральных гликозиды стевии, или стевियोзид. Он в 200 раз слаще обычного сахара и безопасен в применении. Кроме того, у некоторых растений были обнаружены так называемые сладкие белки.

Это особые белки, способные проявлять сладкий вкус в чрезвычайно низких концентрациях. Некоторые из сладких белков в 2000-3000 раз слаще сахара. Одновременно с этим, являясь белками, эти биомолекулы обладают невысокой калорийностью, что делает их весьма перспективными для использования в качестве подсластителей.



## 1 задание

Подбор комбинации растительных источников для балансировки аминокислотного состава белков и уменьшения дефицита незаменимых аминокислот.

Предложите комбинацию из белков растительного происхождения, которая бы в максимальной степени приблизилась по составу незаменимых аминокислот к эталонному белку, состав которого рекомендован ВОЗ ([дополнительный файл 1](#)). Вам необходимо подобрать состав смеси растительных белков не более чем из трёх отдельных компонентов, которая бы в наименьшей степени отличалась по аминокислотному составу от эталонного белка ВОЗ.

Для оценки степени сбалансированности аминокислотного состава конкретных белков и тестируемых смесей руководством вам рекомендовано использовать аминокислотный СКОР ([дополнительный файл 2](#)).

Также используйте информацию об аминокислотном составе коммерчески доступных белковых продуктов из растительного сырья ([дополнительный файл 3](#)), растительных белков, богатых фенилаланином ([дополнительный файл 4](#)), и продуктов из бобовых растений ([дополнительный файл 5](#)).

Важно отметить, что в последнем случае содержание аминокислот указано в расчёте не на содержание белка, а на содержание азота, определённого по Кьельдалю.

Достаточно ли вам будет предоставленной информации? Следует ли вам найти дополнительную информацию для выполнения поставленной задачи?

Обратите также внимание, что при оценке сбалансированности аминокислотного состава смесей растительных белков следует учитывать более низкую усвояемость растительных белков в сравнении с животными.

Итогом решения поставленной задачи должен быть состав смеси не более чем из трёх растительных белковых продуктов, который будет в наибольшей степени сходен с эталонным белком ВОЗ.

Какие ещё есть смеси из растительных компонентов, направленные на решение этой проблемы?



## 2 задание

Сравнительный анализ способов повышения усвояемости белков из немясных источников.

В этом задании вам нужно предложить способ повысить усвояемость белковой смеси, используемой на предприятии.

Предприятие использует в полуфабрикатах в качестве основы или вспомогательной добавки смесь белка семян злаков и грибного белкового порошка.

Эта смесь имеет аминокислотный состав с небольшим дефицитом незаменимых аминокислот, но переваривается и усваивается заметно хуже животных белков. Поэтому при эквивалентной по массе замене белков мяса в полуфабрикатах на растительно-грибную смесь количество усваиваемого белка уменьшается, отчего продукты получаются недостаточно питательными.

Существует несколько принципиально разных подходов повышения перевариваемости плохо усвояемых белков. Часть из этих подходов относится к обычной технологии пищевого производства, другие — к области биотехнологии за счёт использования живых организмов или продуктов биологического происхождения.

Проанализируйте существующее положение дел. Могут ли какие-то из указанных подходов использоваться совместно?

Предложите возможные способы повышения усвояемости белков, подходящие для смеси белка семян злаков и грибного белкового порошка, с особым вниманием к биотехнологическим способам или использованию продуктов биологического происхождения, укажите их сравнительные достоинства, недостатки и возможности коммерческого использования.

Оцените, достаточно ли предложенных вами подходов для повышения усвояемости смеси белка семян злаков и грибного белкового порошка до уровня усвояемости животных белков.

Или это невозможно, если не изменять аминокислотную последовательность растительных и грибных белков?



## 3 задание

Выбор вида сладкого белка для [биотехнологического производства](#).

Несмотря на привлекательность с точки зрения пищевой технологии, растительные [сладкие белки](#) имеют достаточно слабое распространение среди различных видов растений.

Используя научные публикации и базы данных по [биомолекулам](#), выявите максимально возможное количество конкретных сладких белков.

Ваш анализ будет достаточно полным, если вам удастся выявить не менее шести растительных сладких белков.

Проанализируйте структуру и свойства выявленных белков, включая их размер, число субъединиц, изоэлектрическую точку. Насколько похожи эти белки друг на друга по своим свойствам?

Можно ли проанализировать сходство их аминокислотной последовательности и пространственной структуры?

Сладкие белки обычно обнаруживаются в плодах некоторых растений. Однако выделение их оттуда традиционными методами является дорогостоящим и не приводит к получению достаточных количеств для широкого коммерческого использования.

Гораздо более перспективным считается их получение биотехнологическими методами, а именно путём экспрессии в клетках микроорганизмов.

На какие критерии, по вашему мнению, следует обращать внимание при выборе белков для продукции в качестве рекомбинантных?

Выберите из обнаруженных вами сладких белков два вида белков, наиболее перспективных и подходящих для биотехнологического синтеза в микроорганизмах. Обоснуйте свой выбор.

