

**ЗАДАНИЯ**  
**практического тура регионального этапа Всероссийской**  
**олимпиады школьников по биологии. 2023-24 уч. год. 11 класс**

**БИОХИМИЯ**

**Исследование метаболизма микроорганизмов при выращивании в анаэробных условиях.**

В анаэробных условиях микроорганизмы для получения энергии в виде АТФ осуществляют неполное окисление глюкозы, называемые брожением. Наиболее часто основным продуктом брожения является молочная кислота. Встречается два вида молочнокислого брожения. При гомоферментном брожении у лактобактерий, как и при гликолизе у животных, образуется только молочная кислота ( $1 \text{ глюкоза} \rightarrow 2 \text{ лактата} + 2 \text{ АТФ}$ ). При гетероферментном брожении у бифидобактерий, частично совпадающем с пентозофосфатным путём, образуется молочная и уксусная кислоты ( $2 \text{ глюкозы} \rightarrow 2 \text{ лактата} + 3 \text{ ацетата} + 1 \text{ АТФ}$ ). В **Листе ответов** напишите структурные формулы указанных выше веществ.

В две колбы поместили по 200 мл среды, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии глюкозу в концентрации **63 г/л**. В одну колбу посеяли культуру *Bifidobacterium bifidum* (Культура 1), в другую - *Lactobacillus bulgaricus* (Культура 2). После выращивания в анаэробных условиях биомассу бактерий отделили от среды и получили культуральную среду. Её разбавили в **20 раз** и отобрали аликвоты разбавленной культуральной среды в две пробирки (пробирки **X1** и **X2** соответственно).

**Реактивы и оборудование для титрования:** **5 мМ** раствор NaOH в бюретке, раствор фенолфталеина (в капельнице), пипетки, колбы для титрования, дистиллированная вода (в промывалке).

**Ход работы.** Для измерения концентрации кислоты в разбавленных культуральных средах, из пробирок (**X1** и **X2**) надо отобрать по **1 мл** раствора в 2 чистые пустые колбы для титрования, добавить в колбы примерно 20-25 мл дистиллированной воды (из промывалки), 1-2 капли фенолфталеина и оттитровать **5 мМ** раствором NaOH. Исходя из объема щелочи, затраченной на титрование (среднее для двух проб), рассчитайте концентрацию кислоты в пробирках **X1** и **X2** и концентрацию кислоты в каждой из неразведенных культуральных сред. Все результаты занесите в **Таблицу 1** в **Листе ответов** с точностью до одного знака после запятой.

В культуральных средах определили содержание оставшейся глюкозы. Для этого приготовили стандартный ряд концентраций глюкозы и провели реакцию с динитросалициловой кислотой с растворами стандартного ряда и образцами неразведенных культуральных сред и измерили оптическую плотность при 470 нм. Результаты измерения оптической плотности приведены в **Таблице 2** в **Листе ответов**.

По результатам реакции с растворами стандартного ряда постройте на миллиметровой бумаге в **Листе ответов** калибровочный график зависимости оптической плотности от количества глюкозы в пробах и заполните все пустые клетки в **Таблице 2** (с точностью до одного знака после запятой). Вычислите концентрацию (в мМ) и общее количество глюкозы (в миллимолях), оставшейся в культуральных средах. Все результаты внесите в **Таблицу 3** в **Листе ответов** с точностью до одного знака после запятой.

Считая, что получение энергии у в анаэробных условиях происходит только за счёт окисления глюкозы до кислоты, а оставшаяся потребленная глюкоза расходуется в реакциях пластического обмена, рассчитайте, сколько потребленной глюкозы (в миллимолях) было использовано каждым видом бактерий в реакциях энергетического и пластического обмена? Ответы запишите в **Таблицу 4** в **Листе ответов** с точностью до одного знака после запятой.

Шифр \_\_\_\_\_

ИТОГО \_\_\_\_\_

**11 класс. БИОХИМИЯ****ЛИСТ ОТВЕТОВ****Структурные формулы веществ (11 баллов)**

Глюкоза (4 балла)	Лактат (2 балла)	Ацетат (1 балл)	АТФ (4 балла)

**Таблица 1. (14 баллов)**

	Количество щелочи, затраченное на титрование, мл (8 баллов)	Среднее количество щелочи, затраченное на титрование, мл (2 балла)	Концентрация кислоты в пробирках X1 и X2, мМ (2 балла)	Концентрация кислоты в неразведенных культуральных средах 1 и 2, мМ (2 балла)
<b>X1</b>				
<b>X2</b>				

**Таблица 2. (10 баллов)**

№ пробирки	Концентрация глюкозы, мг/мл	Объем внесенного раствора, мл	Объем добавленной воды, мл	Оптическая плотность, A <sub>470</sub>	мг глюкозы в пробе	Средняя концентрация глюкозы в неразведенных культуральных средах 1 и 2, мг/мл
1	0	1,0	0	0		
2	2,0	1,0	0	0,14		
3	4,0	1,0	0	0,25		
4	6,0	1,0	0	0,40		
5	8,0	1,0	0	0,51		
6	10,0	1,0	0	0,65		
7	X1	0,1	0,9	0,49		
8	X1	0,1	0,9	0,50		
9	X2	0,1	0,9	0,32		
10	X2	0,1	0,9	0,31		

График зависимости оптической плотности от количества глюкозы в пробах (7 баллов)

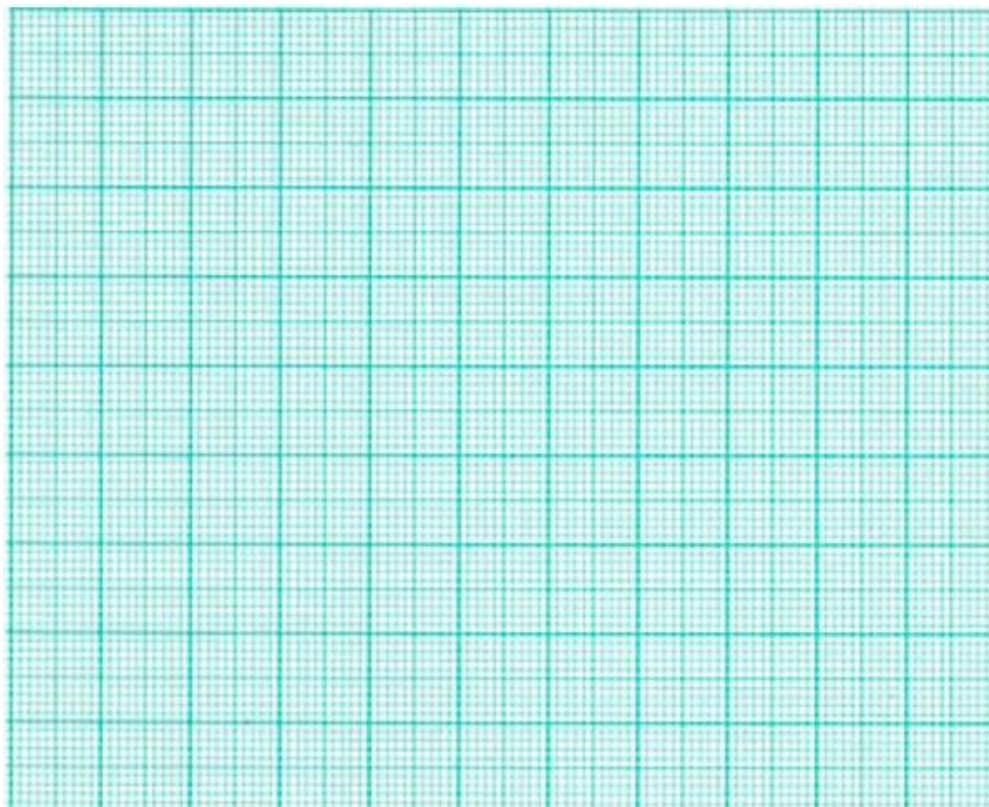


Таблица 3. (4 балла)

Среда	Концентрация глюкозы в культуральной среде, мМ	Количество глюкозы, оставшейся в культуральной среде, ммоль
1		
2		

Таблица 4. (4 балла)

Среда	Количество потребленной глюкозы, использованной в энергетическом обмене, ммоль	Количество потребленной глюкозы, использованной в пластическом обмене, ммоль
1		
2		

Место для расчетов

**ЗАДАНИЯ**  
**практического тура регионального этапа Всероссийской**  
**олимпиады школьников по биологии. 2023-24 уч. год. 11 класс**

**ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ**

Миодистрофия Дюшенна – редкое заболевание, встречающееся у мальчиков с частотой примерно 1 на 10000. Оно связано с нарушением работы гена *DMD*, кодирующего белок дистрофин и приводит к прогрессирующей с возрастом дегенерации мышц. Ген *DMD* является самым большим геном человеческого генома, занимая более 2,2 миллионов пар нуклеотидов, его основная мышечная форма имеет мРНК, состоящую из 79 экзонов, размером 13992 нуклеотида, из них кодирующая часть приходится на 238 – 11295 нуклеотиды. Однако существует еще около 20 других изоформ мРНК *DMD*, имеющих другие наборы экзонов. Белок дистрофин входит в состав комплекса DAPC, соединяющего актиновые филаменты и плазматическую мембрану.

**1. Рассчитайте числовые значения и заполните таблицу на Листе ответов.**

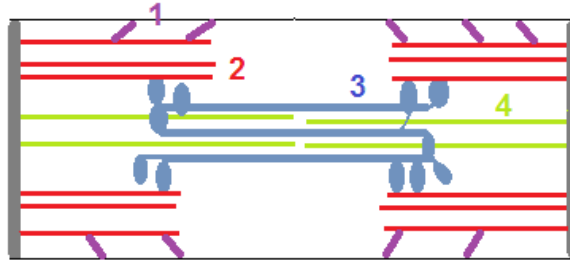
- А) размер основной мышечной формы белка дистрофина, в аминокислотах;
- Б) молекулярная масса основной мышечной формы белка дистрофина, в кДа (среднюю массу аминокислоты в составе дистрофина считайте 116 Да);
- В) доля, приходящаяся на экзоны в гене *DMD*, в процентах, округлив до десятых долей;
- Г) средняя длина экзона в гене *DMD*, в нуклеотидах;
- Д) средняя длина интрона в гене *DMD*, в килобазах (тысячах нуклеотидов), округлив до целых;
- Е) время, затрачиваемое РНК-полимеразой на транскрипцию гена *DMD*, в часах, округлив до целых (скорость транскрипции примерно равна 50 нуклеотидов в секунду);
- Ж) популяционная частота патологических мутаций в гене *DMD*, в процентах, округлив до сотых долей.

**2. Отметьте на Листе Ответов знаком «Х», верны (В) или неверны (Н) следующие утверждения.**

- А) Ген *DMD* по размеру превосходит геномы многих микроорганизмов.
- Б) У гена *DMD* 79 интронов.
- В) Ген *DMD* подвергается альтернативному сплайсингу.
- Г) Доля кодирующих последовательностей в гене *DMD* выше, чем в среднем в геноме человека.
- Д) Большинство мутаций, приводящих к миодистрофии Дюшенна, наследуются от матери.
- Е) Ген *DMD* находится на X-хромосоме.
- Ж) Девочки никогда не страдают миодистрофией Дюшенна.
- З) Приводящие к миодистрофии Дюшенна мутации наследуются как рецессивные.

**3. Рассмотрите рисунок и выберите соответствия на Листе ответов.**

Найдите на схематичном рисунке саркомера ниже местонахождение белков актина, миозина, дистрофина и титина (самый большой белок нашего организма, соединяет Z-диск и M-линию), запишите соответствующие цифры на **Листе ответов**.



4. Миодистрофия Дюшенна вызывается утратой экзонов в середине мРНК и последующему сдвигу рамки считывания, что приводит к невозможности синтезировать полноразмерный дистрофин. Однако если после утраты экзона рамка считывания сохранится, образуется более короткий, но почти полноценный белок, что приводит к миодистрофии Беккера, гораздо менее тяжелому заболеванию. Рассмотрите последовательности экзонов с 46-го по 52-й гена *DMD* (в Приложении) и выберите на Листе Ответов, какое заболевание будет в случае делеции только этого экзона, либо комбинации из пары экзонов. Последовательности интронов записаны строчными буквами, последовательности экзонов – заглавными буквами, с разбивкой на кодоны.

5. Экзон-интронные границы имеют определенные короткие консервативные последовательности, которые почти всегда одинаковы. Рассмотрите последовательности приведенных 7 экзонов и примыкающих к ним частей интронов, запишите на **Листе ответов** последовательности консервативных (всегда одинаковых) нуклеотидов, характерные для экзон-интронных границ.

6. Лечения миодистрофии Дюшенна в настоящее время не существует, однако существуют экспериментальные подходы, которые в будущем могут оказаться плодотворными. Первый подход предполагает доставку в мышечные волокна трансгенной конструкции, кодирующей полноразмерный либо укороченный вариант дистрофина. Второй подход направлен на возвращение к нормальной рамке считывания *DMD* с помощью обусловленного лекарством пропуска еще одного экзона. Также проводятся попытки скомпенсировать эффекты потери дистрофина с помощью регуляции работы других генов и белков. **Отметьте на Листе ответов знаком «X», верны (В) или неверны (Н) следующие утверждения.**

А) Белок утрофин имеет последовательность, на 80% идентичную дистрофину. Запуск работы гена утрофина в мышцах представляет интерес для лечения дистрофии Дюшенна.

Б) Аналоги олигонуклеотидов, комплементарные *DMD*, содержащие вместо дезоксирибозы соединение морфолин, используют для управляемого пропуска экзонов.

В) Для доставки в клетки полноразмерного гена *DMD* подходят любые стандартные вирусные векторы.

Г) Если у пациента утрачены экзоны 48-50, пропуск экзона 51 позволит мРНК гена *DMD* вернуть рамку считывания.

Д) Высокоспецифическая ДНКаза Cas9 может разрушать мутантную аллель гена *DMD*, тем самым позволяя аллели дикого типа нормально работать.

Е) Генотерапия укороченными вариантами гена *DMD* с меньшим количеством экзонов позволит лечить не только миодистрофию Дюшенна, но и миодистрофию Беккера.

Ж) Низкая эффективность доставки генноинженерных конструкций в мышечные волокна сильно ограничивает генотерапию миодистрофии Дюшенна.

**ПРИЛОЖЕНИЕ. Экзоны с 46-го по 52-й гена *DMD*, включая 10 фланкирующих  
нуклеотидов из состава интронов**

**46** ctttctccag G CTA GAA GAA CAA AAG AAT ATC TTG TCA GAA TTT CAA AGA GAT  
TTA AAT GAA TTT GTT TTA TGG TTG GAG GAA GCA GAT AAC ATT GCT AGT ATC  
CCA CTT GAA CCT GGA AAA GAG CAG CAA CTA AAA GAA AAG CTT GAG CAA GTC  
AAG gtaattttat

**47** tctgtttcag TTA CTG GTG GAA GAG TTG CCC CTG CGC CAG GGA A TT CTC AAA CAA  
TTA AAT GAA ACT GGA GGA CCC GTG CTT GTA AGT GCT CCC ATA AGC CCA GAA  
GAG CAA GAT AAA CTT GAA AAT AAG CTC AAG CAG ACA AAT CTC CAG TGG ATA  
AAG gttagacatt

**48** ttcctttcag GTT TCC AGA GCT TTA CCT GAG AAA CAA GGA GAA ATT GAA GCT CAA  
ATA AAA GAC CTT GGG CAG CTT GAA AAA AAG CTT GAA GAC CTT GAA GAG CAG  
TTA AAT CAT CTG CTG CTG TGG TTA TCT CCT ATT AGG AAT CAG TTG GAA ATT  
TAT AAC CAA CCA AAC CAA GAA GGA CCA TTT GAC GTT AAG gtagggaact

**49** ttttccccag GAA ACT GAA ATA GCA GTT CAA GCT AAA CAA CCG GAT GTG GAA  
GAG ATT TTG TCT AAA GGG CAG CAT TTG TAC AAG GAA AAA CCA GCC ACT CAG  
CCA GTG AAG gtaatgaagc

**50** tctgttaaag AGG AAG TTA GAA GAT CTG AGC TCT GAG TGG AAG GCG GTA AAC CGT  
TTA CTT CAA GAG CTG AGG GCA AAG CAG CCT GAC CTA GCT CCT GGA CTG ACC  
ACT ATT GGA GCC T gtaagtatac

**51** aatatttttag CT CCT ACT CAG ACT GTT ACT CTG GTG ACA CAA CCT GTG GTT ACT  
AAG GAA ACT GCC ATC TCC AAA CTA GAA ATG CCA TCT TCC TTG ATG TTG GAG  
GTA CCT GCT CTG GCA GAT TTC AAC CGG GCT TGG ACA GAA CTT ACC GAC TGG  
CTT TCT CTG CTT GAT CAA GTT ATA AAA TCA CAG AGG GTG ATG GTG GGT GAC  
CTT GAG GAT ATC AAC GAG ATG ATC ATC AAG CAG AAG gtatgagaaa

**52** gttcttacag GCA ACA ATG CAG GAT TTG GAA CAG AGG CGT CCC CAG TTG GAA GAA  
CTC ATT ACC GCT GCC CAA AAT TTG AAA AAC AAG ACC AGC AAT CAA GAG GCT  
AGA ACA ATC ATT ACG GAT CGA A gtaagttttt

ИТОГО \_\_\_\_\_

# ЛИСТ ОТВЕТОВ

- | А (аминокислоты) | Б (кДА) | В (%) | Г (нуклеотиды) | Д (килобазы) | Е (ч) | Ж (%) |
|------------------|---------|-------|----------------|--------------|-------|-------|
|                  |         |       |                |              |       |       |

- [illegible]

- |       |           |        |       |
|-------|-----------|--------|-------|
| Актин | Дистрофин | Миозин | Титин |
|       |           |        |       |

- |                   |    |    |    |    |    |    |    |         |         |
|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|---------|---------|
| Выпадающий экзон  | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | 51 | 52 | 46 и 47 | 50 и 51 |
| Дистрофия Дюшенна |    |    |    |    |    |    |    |         |         |
| Дистрофия Беккера |    |    |    |    |    |    |    |         |         |

- мРНК    5' - интрон    экзон    интрон -3'

- [illegible]

**ЗАДАНИЯ**  
**практического тура регионального этапа Всероссийской**  
**олимпиады школьников по биологии. 2023-24 уч. год. 11 класс**

**ФИЗИОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ.**

**Оборудование:** штатив с 4 пробирками, мерные пипетки Пастера, ёмкости с водой и 0,8М раствором сахарозы, корнеплод моркови (*Daucus carota* L.), 2 клубня картофеля (*Solanum tuberosum* L.), пустой стакан, канцелярский нож и разделочная доска, перманентный маркер, линейка, препаровальная игла, калькулятор.

**Внимание:** работа состоит из двух частей. Начинайте с части I, пока будет идти инкубация, выполняйте часть II.

**Ход работы:**

- I. Осмотические явления в тканях клубня картофеля и корнеплода моркови**
1. Приготовьте серию пробирок с растворами сахарозы следующих концентраций: 0 М, 0,2 М, 0,4 М, 0,8 М. Для приготовления используйте стоковый раствор 0,8 М сахарозы и воду, а также пипетки Пастера. Конечный объем должен быть равен **8 мл** в каждой пробирке. Внесите в таблицу 1 в **Листе ответов** объемы воды и 0,8 М сахарозы, использованные для приготовления растворов.
  2. Возьмите один клубень картофеля и при помощи канцелярского ножа нарежьте тонкие полоски длиной 3 см, в сечении квадратные, сторона квадрата – не более 2 мм (примерно). Для изготовления полосок отрежьте пласт клубня толщиной примерно 2 мм (пласт должен быть равномерным по толщине!), и его при помощи линейки нарежьте на полоски шириной 2 мм и длиной 3 см. Второй клубень не используйте – он пригодится Вам при выполнении **части II**!
  3. Возьмите корнеплод моркови и при помощи канцелярского ножа нарежьте тонкие полоски из зоны флоэмы длиной 3 см, в сечении квадратные, сторона квадрата – не более 2 мм (примерно). Для изготовления полосок вырежьте цилиндр длиной 3 см из корнеплода, от зоны флоэмы отрежьте пласт толщиной примерно 2 мм (пласт должен быть равномерным по толщине!), и при помощи линейки нарежьте его на полоски шириной 2 мм и длиной 3 см.
  4. Опустите полоски картофеля и моркови в подготовленные пробирки с растворами. В каждой пробирке должно быть по 2 полоски каждого вида. **Засеките 20 минут** (Пока идет инкубация, выполняйте **часть II**).
  5. По истечении 20 минут извлеките при помощи препаровальной иглы полоски из всех пробирок и измерьте их длину линейкой. Результаты занесите в таблицу 2 в **Листе ответов**.
  6. Внесите в лист ответов изотонические концентрации для картофеля и моркови. Приведите формулу для расчета осмотического давления и сам расчет. **Аккуратно используйте единицы измерения, ответ дайте в МПа и округлите до двух знаков после запятой.**  $R = 8,31$  Дж/моль\*К,  $T = 298$  К. Ответ запишите в **Листе ответов**.
  7. Представьте себе, что Вы сделали эксперимент, описанный в пп.1 – 5, не только с зоной флоэмы корнеплода моркови, но и с зоной ксилемы в виде отдельных полосок. Выберите верное (верные) утверждение/я относительно результатов подобного эксперимента. Ответ впишите в **Лист ответов**.
    - а) Длина полосок при всех концентрациях изменится одинаково, так как значения осмотического давления цитозоля проводящих элементов ксилемы и флоэмы равны.
    - б) Длина полосок ксилемы при всех концентрациях почти не изменится, а флоэмные полоски при высоких концентрациях сожмутся. Это объясняется высокой степенью лигнификации ксилемных элементов и отсутствием протопласта в проводящих элементах ксилемы.



- в) Длина полосок флоэмы при всех концентрациях не изменится, а ксилемные полоски при высоких концентрациях сожмутся. Это связано с тем, что основное количество питательных веществ у моркови содержится во флоэме, и они не вносят вклад в осмотическое давление.
- г) Направление тока воды в проводящих элементах ксилемы определяется преимущественно гидростатическим давлением, тогда как в проводящих элементах флоэмы вклад также вносит осмотическое давление. Это объясняет различия в длине полосок ксилемы и флоэмы при разных концентрациях.

## **II. Морфологические и анатомические особенности клубня картофеля**

**Задание 1.** Перед Вами лежит клубень картофеля. Внимательно осмотрите его. Зарисуйте внешнее морфологическое строение картофеля в **Листе ответов**. Выберите из предложенного Вам списка и обозначьте на рисунке все структуры, которые можно обнаружить на клубне.

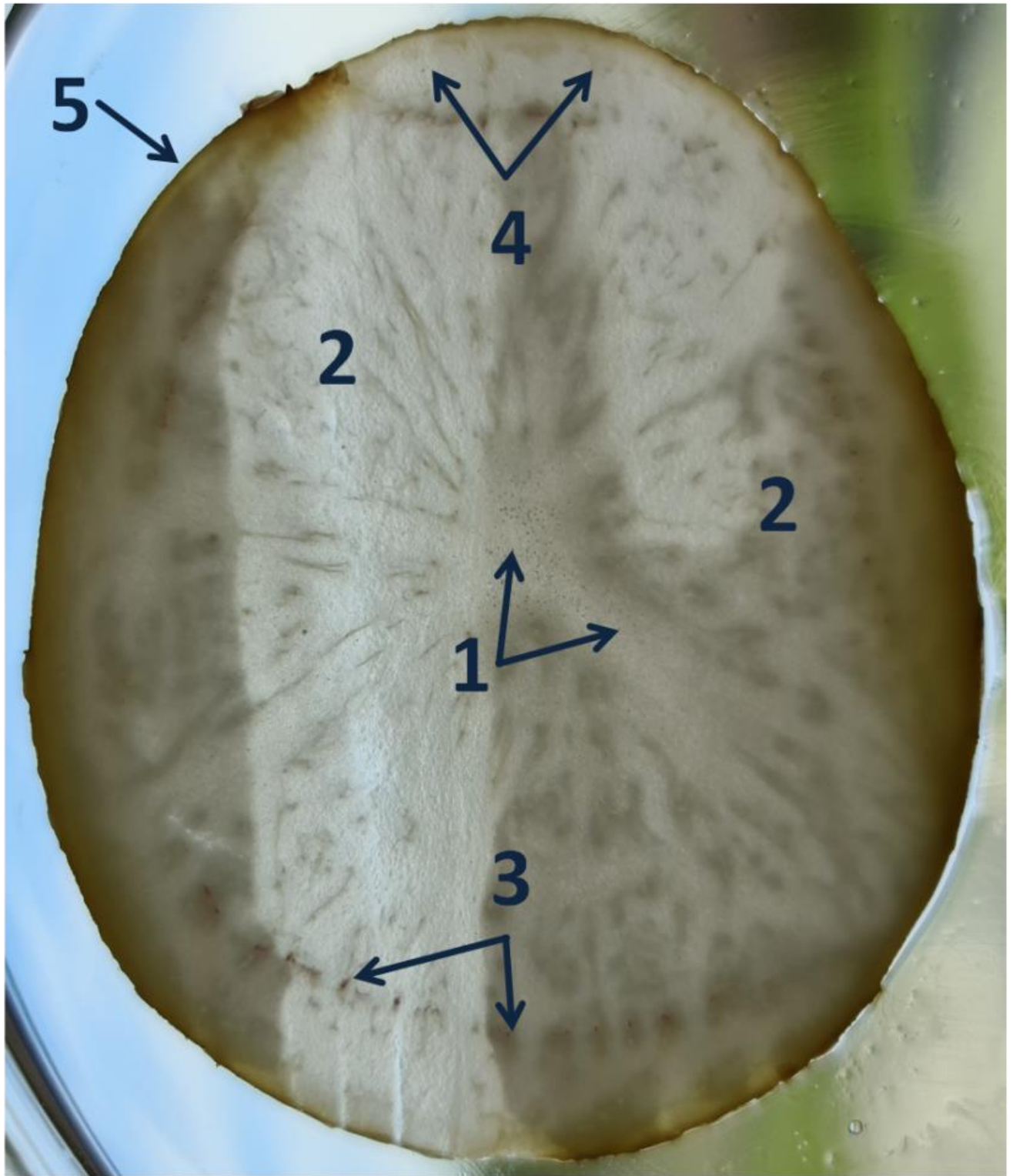
**Список структур:** 1. Местоположение верхушечной почки; 2. Чечевички; 3. Листовой след; 4. Боковая почка; 5. Место вхождения столона; 6. Листовой рубец; 7. Лист.

**Задание 2.** Внимательно рассмотрите рисунок в **Приложении**. Данный срез был окрашен флороглюцином. Выберите из предложенного Вам списка тканей и структур те, которые можно соотнести со структурами, обозначенными на рисунке цифрами. **Список тканей и структур:** 1. Эпидерма; 2. Ксилема; 3. Перимедуллярная зона сердцевины; 4. Перидерма; 5. Камбий; 6. Медуллярная зона сердцевины; 7. Кортикальная паренхима; 8. Первичный паренхимный луч. Ответы занесите в **Лист ответов**: напротив цифр впишите названия тканей и структур из списка.

**Задание 3.** Выберите верное (верные) утверждение/я относительно морфологических особенностей корневища и клубня побегового происхождения. Ответ впишите в **Лист ответов**.

- а) на корневище можно обнаружить верхушечную почку, а на клубне нет;
- б) на корневище нельзя обнаружить листовые рубцы, а на клубне можно;
- в) и корневище, и клубень могут быть как подземными органами, так и надземными;
- г) корневище – это многолетний орган, а клубень может быть как однолетним, так и многолетним.

**ПРИЛОЖЕНИЕ. Анатомическое строение картофеля.**



Шифр \_\_\_\_\_

ИТОГО \_\_\_\_\_

**11 класс. ФИЗИОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ****ФИЗИОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ РАСТЕНИЙ****I. Осмотические явления в тканях клубня картофеля и корнеплода моркови****Таблица 1. Создание серии разведений (6 баллов)**

	0М	0,2М	0,4М	0,8М
Объём воды, мл				
Объём раствора сахарозы (0,8М), мл				

**Таблица 2. Измерение длины полосок**

		Исходная длина полосок, мм				Длина полосок после эксперимента, мм			
		0М	0,2М	0,4М	0,8М	0М	0,2М	0,4М	0,8М
Картофель	№ 1								
	№ 2								
Среднее									
Морковь	№ 1								
	№ 2								
Среднее									

**Задание 3. Если изотонической концентрации в ряду разведений нет, укажите ближайшую из имеющегося ряда.**

**А. Изотоническая концентрация для полосок картофеля (2 балла)** \_\_\_\_\_

**Б. Изотоническая концентрация для полосок моркови (2 балла)** \_\_\_\_\_

**В. Формула осмотического давления (4 балла)** \_\_\_\_\_

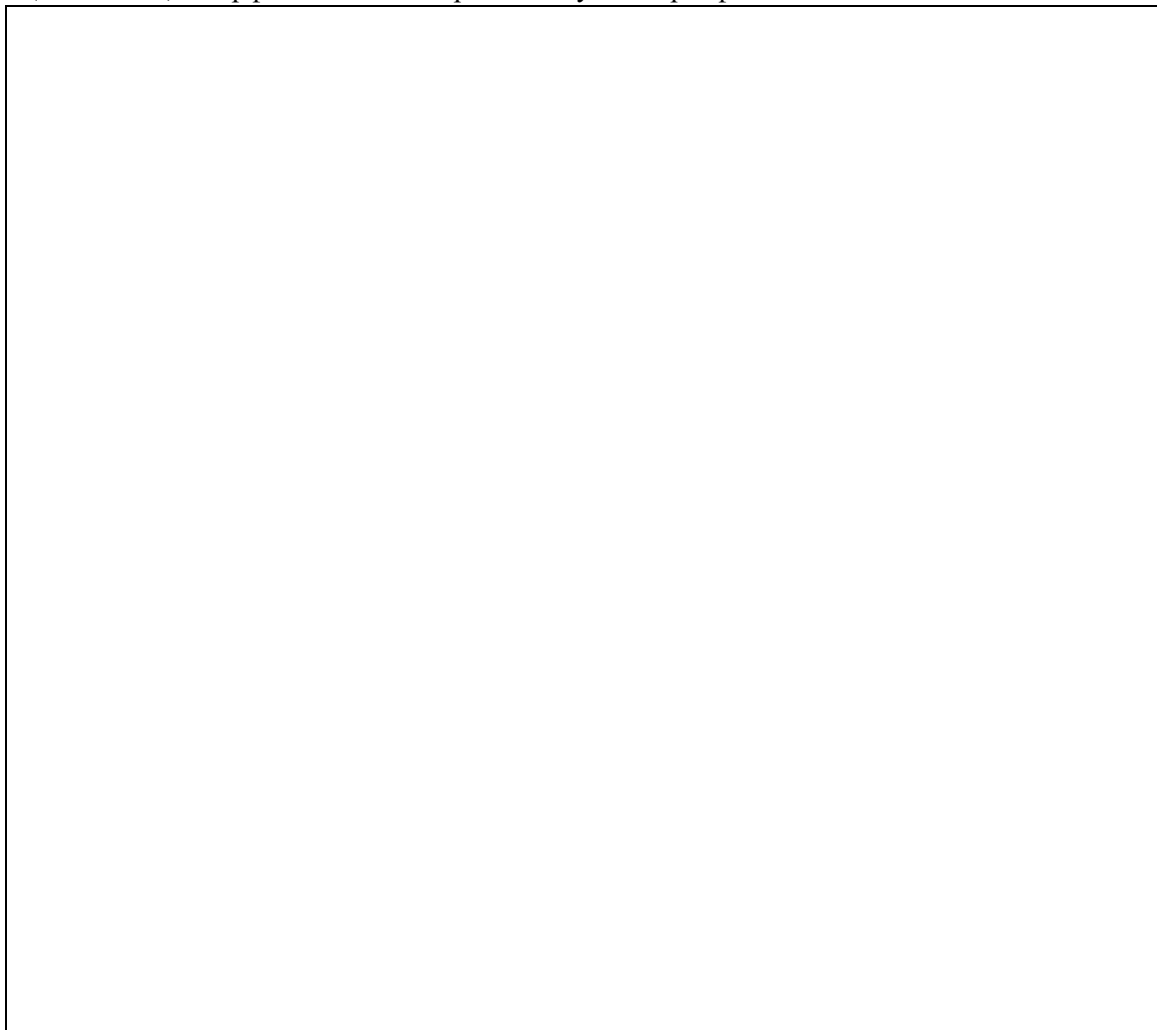
**Г. Расчёт осмотического давления для картофеля (5 баллов):**

Д. Расчёт осмотического давления для моркови (5 баллов):

Задание 4 (3 балла). Ответ на тестовое задание: \_\_\_\_\_

## II. Морфологические и анатомические особенности клубня картофеля

Задание 1 (10 баллов). Морфологическое строение клубня картофеля



Задание 2 (10 баллов). Анатомические особенности клубня картофеля. Впишите названия тканей и структур из списка данного Вам в бланке заданий.

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

Задание 3 (3 балла). Ответ на тестовое задание: \_\_\_\_\_