

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ТУРА И КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ОТВЕТОВ

11 КЛАСС

БИОХИМИЯ

Работа в лаборатории «Биохимия» занимает 45 минут; максимальная оценка – 20 баллов. Задание включает в себя две части – «определение биологических молекул в молоке» и «изучение работы ферментов». Рекомендуемое время для выполнения каждой части – 20 – 25 минут. Из оборудования и реактивов в лаборатории на каждого участника требуется:

1. 4 чистые пробирки;
2. 2-3 чистые пипетки на 1 – 2 мл;
3. Резиновая груша или насадка на пипетки;
4. Газовая горелка (на 1 – 2 участников) или водяная баня (1 – 2 на лабораторию);
5. Молоко (5 – 6 мл);
6. Экстракт картофеля (1 – 2 мл);
7. 6% раствор NaOH;
8. 2,5 % раствор CuSO_4 или раствор Бенедикта, но подписать его рекомендуется как CuSO_4 ;
9. Раствор Люголя;
10. Концентрированная азотная кислота;
11. 5 % раствор перекиси водорода.

Картофельный экстракт рекомендуется приготовить следующим образом: клубень картофеля (примерно 30 г) измельчают, к полученному пюре прибавляют воду или 50 мМ Трис-Cl/ К-фосфатный буфер, pH 6 – 7 (из расчета 100 мл на 30 г растительной ткани), тщательно перемешивают 1 – 2 мин. Гомогенат центрифугируют 5 мин при 10 000 g, используют полученный супернатант. При отсутствии необходимого оборудования, экстракт можно заменить гомогенатом, профильтрованным через марлю (4-6 слоев).

Задание 1. Обнаружение биологических молекул в молоке.

Участникам предлагается провести качественные реакции для определения присутствия тех или иных молекул в исследуемом образце. 4 чистые пробирки рекомендуется пронумеровать заранее или предложить это сделать самим участникам в начале работы (для этого им необходимо предоставить маркер, химический карандаш, наклейки или др.). Для проведения реакции Троммера и ксантопротеиновой реакции требуется нагревание. В том случае, если в лаборатории используются водяные бани, каждому участнику следует оставить на своей пробирке еще и инициалы и отдать ее преподавателю, чтобы не перепутать пробы. Забирают пробирки с инкубации через 1 – 2 мин под контролем преподавателя.

После проведения всех качественных реакции, участник должен позвать преподавателя, чтобы тот проверил его работу. Преподаватель ставит в графе «отметка преподавателя» знак «+» напротив соответствующей реакции, если определение прошло успешно (фиолетовое окрашивание в пробе 1, оранжево-красный осадок в пробе 2, нет изменений в пробе 3, желтый осадок в пробе 4) и знак «-», если нет.

За каждую ячейку таблицы ставится 0,5 балла, Максимальное количество баллов за строку - 2. Образец заполнения таблицы и рекомендуемые баллы за различные ответы представлены ниже:

	Реакция	Искомое вещество	Механизм реакции	Присутствие вещества (+/-)	Отметка преподавателя
1	Добавьте 2 мл NaOH и 1 – 2 капли CuSO ₄	углевод – 0 баллов; сахар – 0,25 балла; редуцирующие сахара - 0,5 балла, или глюкоза – 0,5 балла; или лактоза – 0,5 балла.	Окисление альдегидной группы CuO; обязательно уравнение реакции (0,5).	+ (0,5)	+ (0,5)
2	Добавьте 2 мл NaOH и 1 – 2 капли CuSO ₄ ; нагрейте раствор	пептид – 0,5 балла; или белок – 0,5 балла.	Образование комплекса с медью в щелочной среде; желательный рисунок комплекса (0,5).	+ (0,5)	+(0,5)
3	Добавьте 1 – 2 капли раствора Люголя	крахмал – 0 баллов. Гликоген – 0,5 балла. Если написано – ненасыщенные жирные кислоты – баллы не снимаются, но и не добавляются.	Образование комплекса с полисахаридной цепью (0,5).	- (0,5)	+(0,5)
4	Добавьте 1 – 2 капли HNO ₃ , нагрейте раствор	Белок – 0,25 балла; ароматические аминокислоты – 0,5 балла	Нитрование ароматических колец; обязательно уравнение реакции с остатком фенилаланина или тирозина (0,5).	+ (0,5)	+(0,5)

Белый цвет молока объясняется рассеянием света жировыми каплями, присутствующими в молоке.

Задание 2. Изучение работы ферментов.

Рекомендуемые ответы представлены ниже:

2.1. Запишите уравнение реакции: $2\text{H}_2\text{O}_2 = \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (0,5 балла); $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{A} = \text{AH}_2 + \text{O}_2$ (0,5 балла); вместо А можно записать аскорбат и/или глутатион. (1)

2.2. Какой (какие) фермент(ы) катализируют эту (эти) реакцию (-ии): каталаза (0,5 балла); пероксидаза (0,5 балла). (1)

2.3. Какие функции выполняют эти ферменты в живых клетках: защита от активных форм кислорода (0,75 балла); если упомянута пероксидаза, то, как минимум, одна из функций пероксидаз - участие в обмене аминокислот, окислении жиров, фотодыхании и др. (0,25 балла). (1)

2.4. К суспензии клеток некоторого прокариотического организма добавили несколько капель перекиси водорода, однако выделения газа не наблюдали. Какой вывод можно сделать о метаболизме этого организма: этот микроорганизм – анаэроб.(1)

2.5. 3 г проростков злака измельчили и смешали с 10 мл воды, после чего взвесь процедили через марлю, отцентрифугировали, осадок отбросили, а супернатант собрали. К 1 мл супернатанта был добавлен перекись водорода. За первые 30 секунд реакции выделилось 2 мл газа. Рассчитайте активность фермента, осуществляющего исследуемую реакцию, в проростке злака:

2 мл газа соответствуют 0,09 ммоль кислорода (1 балл). За минуту выделяется 0,18 ммоль кислорода. Активность фермента в экстракте – 0,18 ммоль продукта/мин*мл (1 балл). В 1 мл экстракта содержится такое же количество фермента, что и в 0,3 г растительной ткани. Следовательно, удельная активность фермента составляет 0,6 ммоль/мин*г ткани (1 балл). (3)

2.6. На рисунке изображен проросток злака. Из разных частей проростка (1 – 3) были приготовлены экстракты, после чего была определена активность исследуемого фермента в каждой из этих фракций. Расположите фракции в порядке возрастания активности фермента: (4)

2<3<1 по 1 баллу за правильную позицию; 1 балл за объяснение.

Наибольшая активность наблюдается в листе и coleoptile, так как там интенсивно протекают и процессы дыхания, и фотосинтез. Наименьшая активность наблюдается в эндосперме, так как там наименее интенсивно протекают окислительные процессы.

АНАТОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ

Критерии оценки:

1. Методика и техника работы с микроскопом и приготовления среза (макс. 5 баллов)
2. Техника исполнения и грамотность рисунка (макс. 7 баллов)
3. Определение исследуемого органа растения (макс. 2 балла)
4. Определение систематического положения изучаемого растения (макс. 2 балла)
5. Обоснование ответов (макс. 4 баллов)

МИКРОБИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Задание 1. Микробиология (макс. 10 баллов)

Из продуктов можно взять кефир, простоквашу, ацидофилин, простоквашу Мечникова...

п.10. Можно увидеть морфотипы: бактерии: кокки, диплококки, стрептококки, палочки, цепочки из палочек; эукариоты: дрожжевые почкующиеся клетки. У некоторых бактерий в клетках могут быть видны гранулы запасного вещества (волютина). На препаратах также видны похожие на «пенку», неправильные образования – скоагулировавший белок молока (казеин), на фоне которого четко видны клетки.

п.11. Можно написать реакции молочнокислого и спиртового брожения, указать, что бывает гомо- и гетероферментативное молочнокислое брожение.

п.12. Простокваша Мечникова, курунга, айран, тан, кумыс, иогурт, сметана...

Значение для человека: нормализация кишечной микрофлоры. Витамины. Вспомнить теорию старения И.И. Мечникова.

Смысл сквашивания: снижение рН среды и из-за этого прекращение жизнедеятельности микроорганизмов, например, гнилостных.

Задание 2. Решения генетических задач (макс. 10 баллов)

1А) 1.1 Асн Глу Сер Глу Мет Асп Цис Ала

1.2 Ала Арг Гли Арг Гли Ала Лиз Про

1Б) Последовательность 1.2, потому что в ней преобладают пару ГЦ, которые имеют более высокую температуру плавления (важна для термофила), потому что удерживаются тремя водородными связями по сравнению с двумя водородными связями в паре АТ

1В) Последовательность 1.2, потому что она кодирует белок, богатый положительно заряженными аминокислотами аргинином и лизином, которые хорошо связываются с отрицательно заряженным сахарофосфатным остовом ДНК.

1Г) Последовательность 1.1, потому что она кодирует белок, богатый отрицательно заряженными аминокислотами – аспарагиновой и глутаминовой кислотами, которые меняют заряд в кислой среде, что может вызвать изменение конформации белка и тем самым активировать его.

2А) Донором будет второй штамм, потому что он несёт доминантные гены прототрофности по лейцину и треонину, и доминантный же ген устойчивости к азиду. Чтобы увидеть изменение фенотипа, надо перенести доминантные гены в штамм с рецессивными генами (реципиент – первый штамм).

2Б) Бактериофаг Р1 иногда может ошибаться и упаковывать в свой капсид часть ДНК из генома хозяина. После заражения таким фагом бактерия-реципиент получает эту ДНК с генами, доставшимися от штамма-донора. Кроме того, Р1 – умеренный фаг, поэтому он как правило не убивает сразу заражённую клетку.

2В) Размер капсида фага, рассчитанного примерно на 93 т.п.н, слишком мал, чтобы туда поместился фрагмент ДНК из генома штамма-донора, содержащий все три маркерных гена сразу, помещается только фрагмент от *leu* до *thr*.

2Г) Ген *azi* и *leu* располагаются рядом, потому что получившие прототрофность по лейцину часто (в 50%) получают и устойчивость к азиду. Ген *thr* далеко от них, причём ген *azi* дальше от него, чем ген *leu*, потому что прототрофность по треонину не сочетается с устойчивостью к азиду.

Гены расположены так: *azi leu* _____ *thr* или зеркально симметрично

2Д) Расстояние между генами *leu* и *thr* (2 минуты), которые умещаются вместе в капсил фага Р1, в 50 раз меньше, чем полный размер генома (100 минут), значит и геном кишечной палочки приблизительно в 50 раз больше, чем геном фага Р1, то есть примерно 4,65 миллионов пар нуклеотидов.