

Место для баллов:

Код:

### КАБИНЕТ № 3. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

(30 баллов)

Продолжительность выполнения задания – 90 минут

#### Введение



Аспиранта Васю пригласили в засекреченную лабораторию, в которой лучшие умы научного сообщества объединились для борьбы с особо опасным существом, угрожающим и наносящим колоссальный экономический ущерб не только на территории Республики Беларусь, но и всего мира – тлей. Это насекомое обладает устойчивостью к инсектицидам, и теперь сельскохозяйственный урожай в страшной опасности! Помогите Васе с постановкой и интерпретацией результатов экспериментов, чтобы его не лишили зарплаты, а жители нашей страны смогли наслаждаться продуктами местного производства по доступным ценам.

#### Блок 1

Изучив множество литературных данных, аспирант Вася нашёл информацию о гене *CYP6CY3*, который предположительно отвечает за один из механизмов формирования устойчивости тлей к инсектицидам класса неоникотиноидов.

Для начала необходимо поставить эксперимент на выживаемость тлей, с полулетальной концентрацией инсектицида. Длительность эксперимента – от нескольких часов до суток, цель – отобрать тлей, выживших после питания на растении, обработанном инсектицидом. В вашем распоряжении всё, что есть в лаборатории. Выберите всё необходимое для успешного проведения эксперимента, и обоснуйте свой выбор.

<p><b>А</b> свекла в цветочном горшке</p> 	<p><b>Б</b> лабораторный журнал</p> 	<p><b>В</b> фильтровальная бумага</p> 	<p><b>Г</b> термостат лабораторный</p> 	<p><b>Д</b> микроманипулятор</p> 
<p><b>Е</b> инсектицид класса неоникотиноидов</p> 	<p><b>Ж</b> набор для выделения ДНК</p> 	<p><b>З</b> листья свеклы</p> 	<p><b>И</b> дистиллированная вода</p> 	<p><b>К</b> амплификатор</p> 
<p><b>Л</b> спирт, 96%</p> 	<p><b>М</b> стерильная чашка петри</p> 	<p><b>Н</b> лабораторный дозатор</p> 	<p><b>О</b> лабораторный стакан</p> 	<p><b>П</b> микроскоп</p> 

1. Обоснуйте свой выбор по тем пунктам, которые вы выбрали: (0,2 балла за каждый верный ответ (обведите букву в кружок)).

+0,3балла за корректное обоснование выбранного)

<b>А</b>	
<b>Б</b>	
<b>В</b>	
<b>Г</b>	
<b>Д</b>	
<b>Е</b>	
<b>Ж</b>	

Четвертый этап республиканской олимпиады по учебному предмету «Биология»  
2020/2021 учебный год

<b>З</b>	
<b>И</b>	
<b>К</b>	
<b>Л</b>	
<b>М</b>	
<b>Н</b>	
<b>О</b>	
<b>П</b>	

2. Чего не хватает и почему? 1 балл (не более 4 вариантов)

**Блок 2**

В результате первого эксперимента из 12 тлей выжила половина. Из погибших и выживших особей была выделена РНК, затем получена кДНК. Итоговые образцы амплифицировали при помощи ПЦР.

Аспирант Вася решил выяснить, обусловлена ли устойчивость тлей активной экспрессией анализируемого гена.

См. ниже результаты амплификации.

1. Назовите тип полимеразной цепной реакции, результаты которой приведены ниже. Дайте его краткую характеристику. 0,5 балла

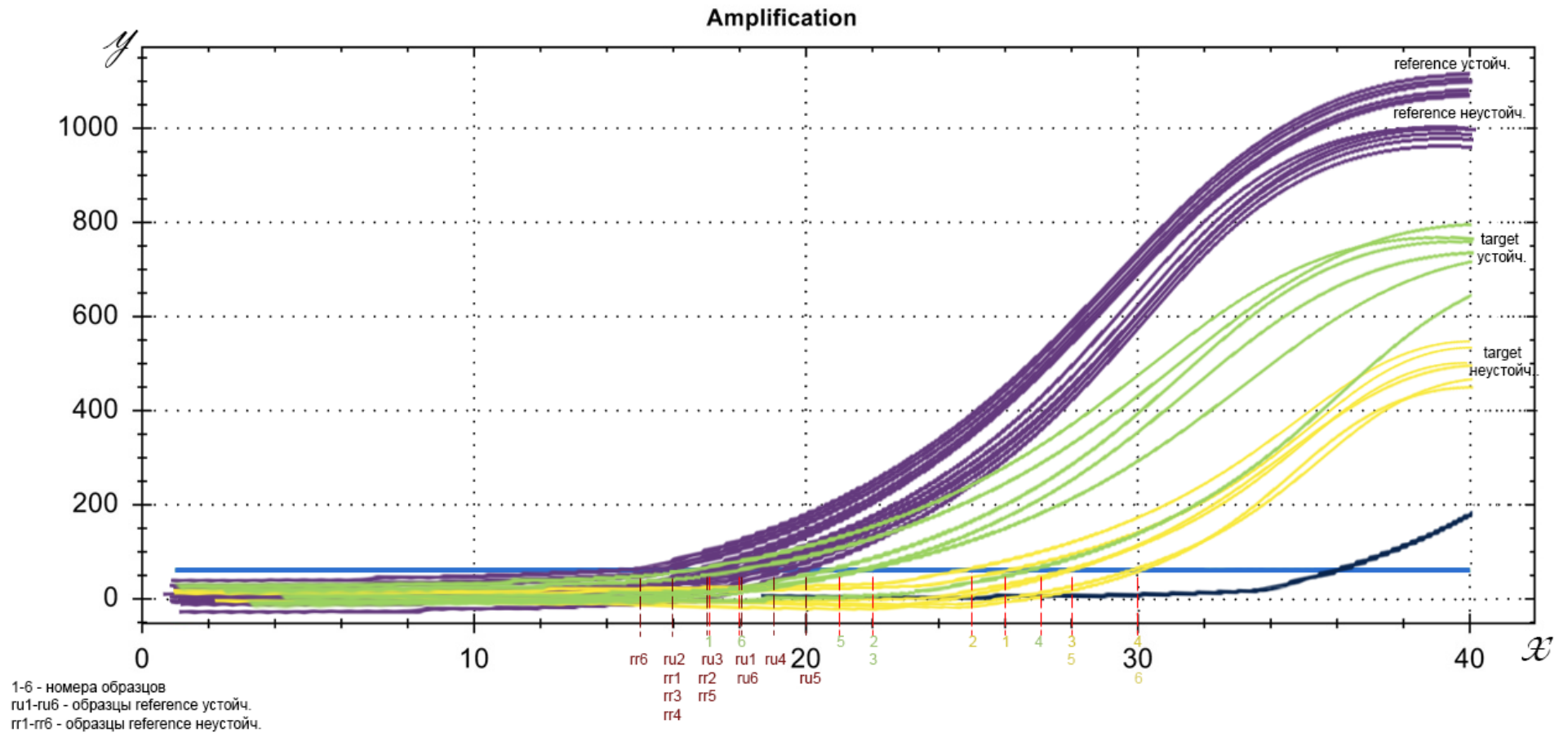
2. Что отображают оси? 0,5 балла

Ось x:

Ось y:

3. Был ли использован контроль? Если да, какого он цвета (фиолетовый, зеленый, желтый, голубой, синий, красный) и что демонстрирует? 0,5 балла

Результаты амплификации:



4. Рассчитайте, используя  $2^{\Delta C_T}$  метод, экспрессию генов CYP6CY3 у погибших и устойчивых тлей. 4 балла (1 балл за каждый правильно заполненный столбец)

Неустойчивые	$C_T$ CYP6CY3	$C_T$ reference	Формула для вычислений	Итоговое значение экспрессии
1				
2				
3				
4				
5				
6				
Устойчивые				
1				
2				
3				
4				
5				
6				

5. Исходя из результатов расчетов дайте ответ, в каком образце наблюдается самый высокий уровень экспрессии. Обоснуйте свой выбор. 2 балла

6. Что обозначает голубая линия на графике? 0,5 балла

7. Во сколько раз отличается уровень экспрессии генов СУР6СУ3 между устойчивыми и неустойчивыми тлями? Используйте средние значения для расчетов. Ответ запишите в виде целого числа. 2 балла



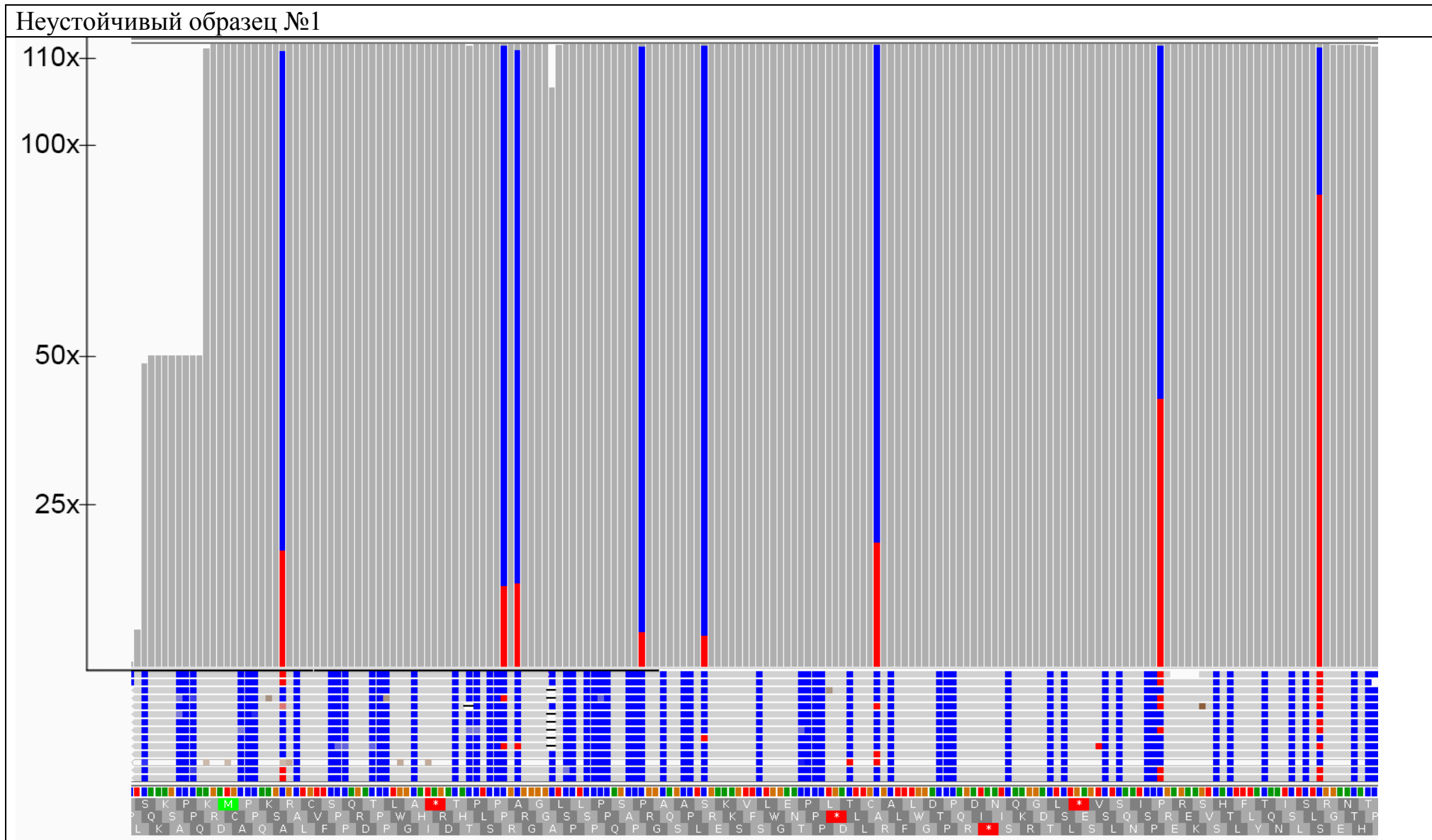
### Блок 3

Неудовлетворенный до конца полученными данными, аспирант Вася провел полногеномное секвенирование. Количество секвенированных нуклеотидов составило 1,5Гб (размер генома тли составил приблизительно 300Мб). Аспирант изучил результаты и провел анализ покрытия гена CYP6CY3 прочтениями, чтобы установить количество копий генов CYP6CY3 у тлей.

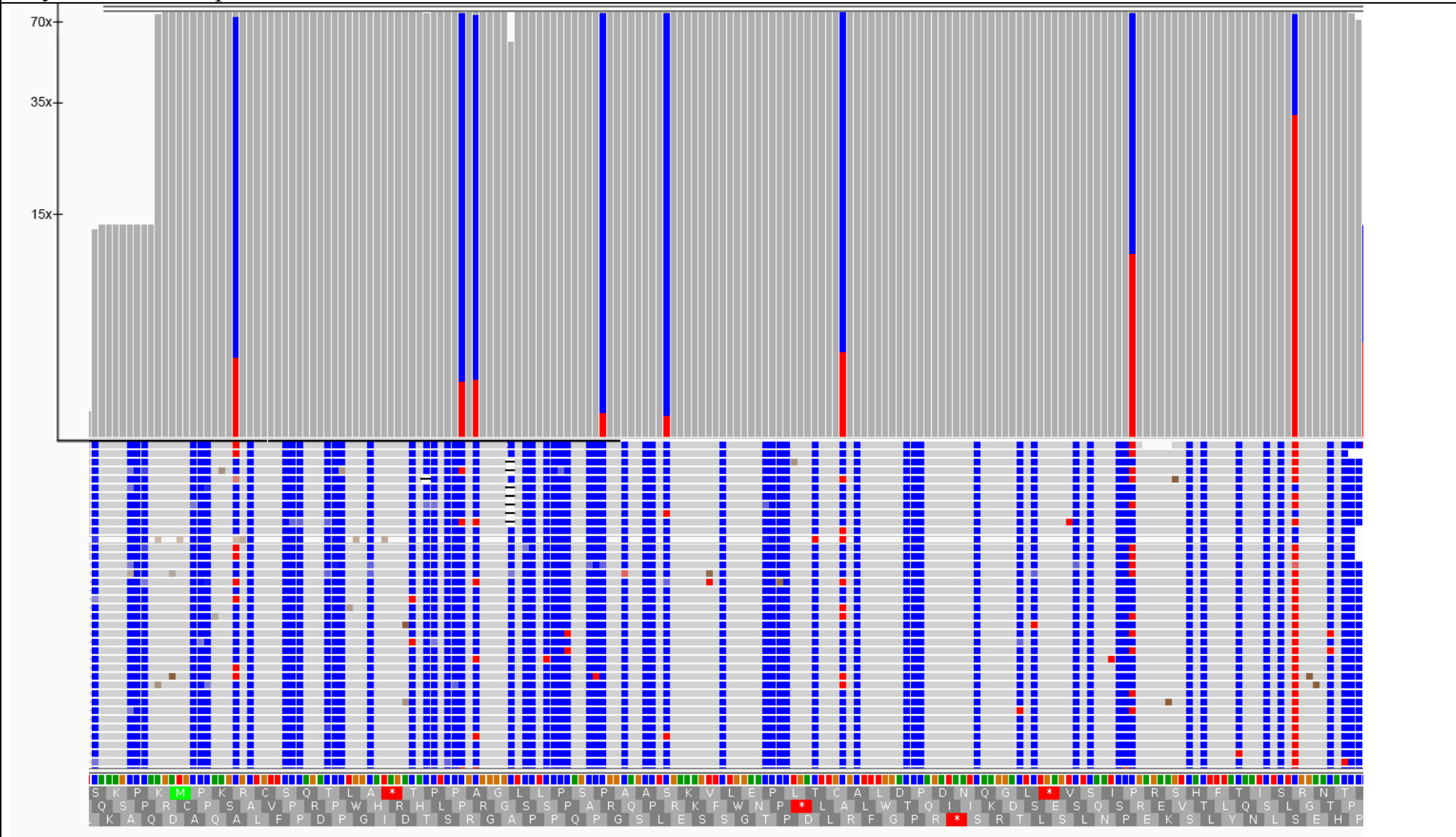
1. Какие из полученных в блоке 2 данных послужили основанием для проведения дополнительного исследования? 1 балл

2. Перед вами гистограммы покрытия. Исходя из полученной информации, заполните таблицу. 2 балла

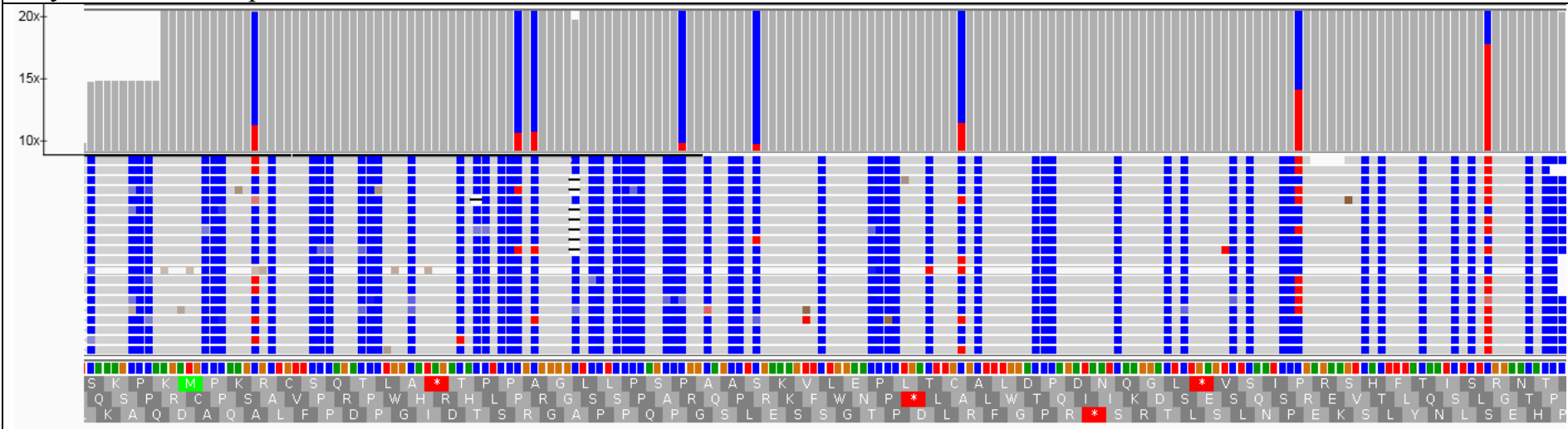
	Неустойчивые						Устойчивые					
Номер образца	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Количество генов CYP6CY3												



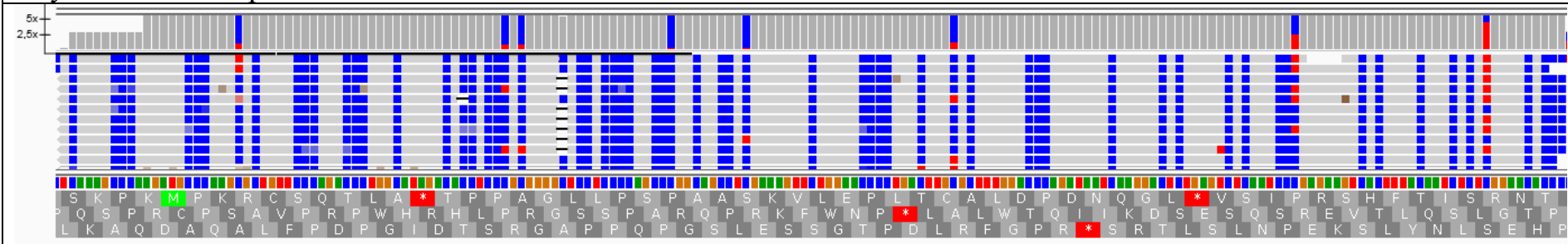
Неустойчивый образец №2



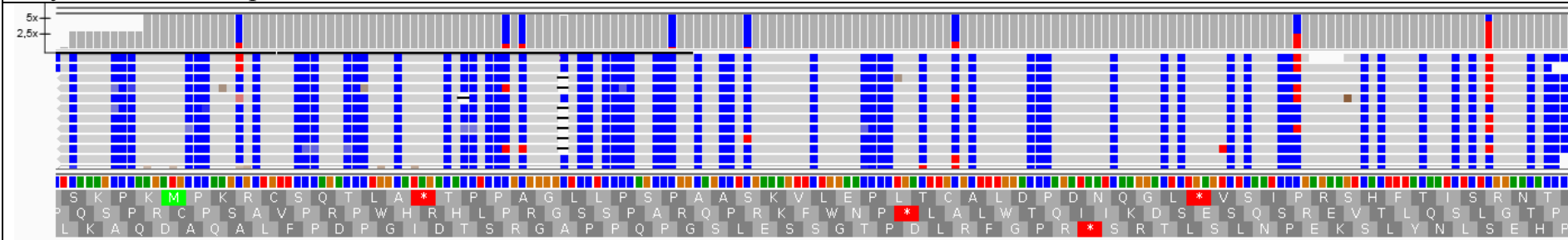
### Неустойчивый образец №3



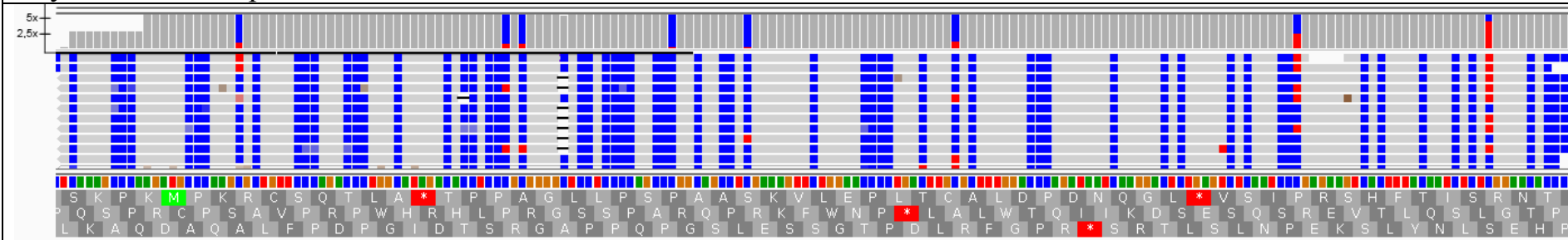
### Неустойчивый образец №4



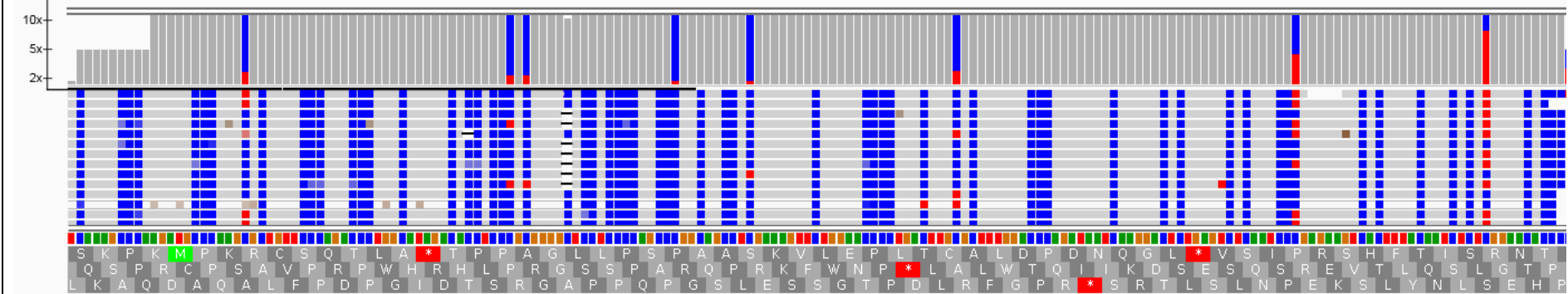
Неустойчивый образец №5

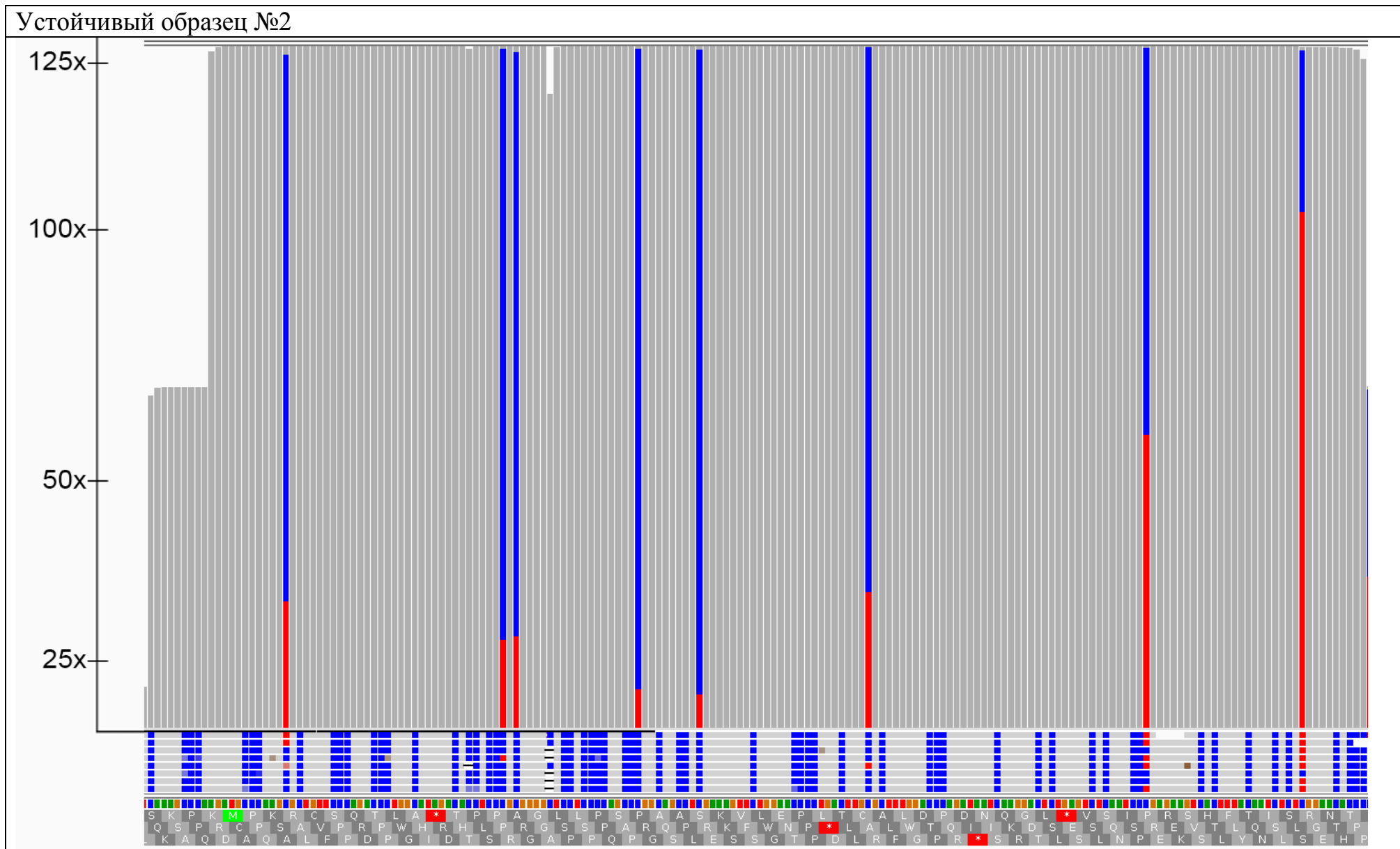


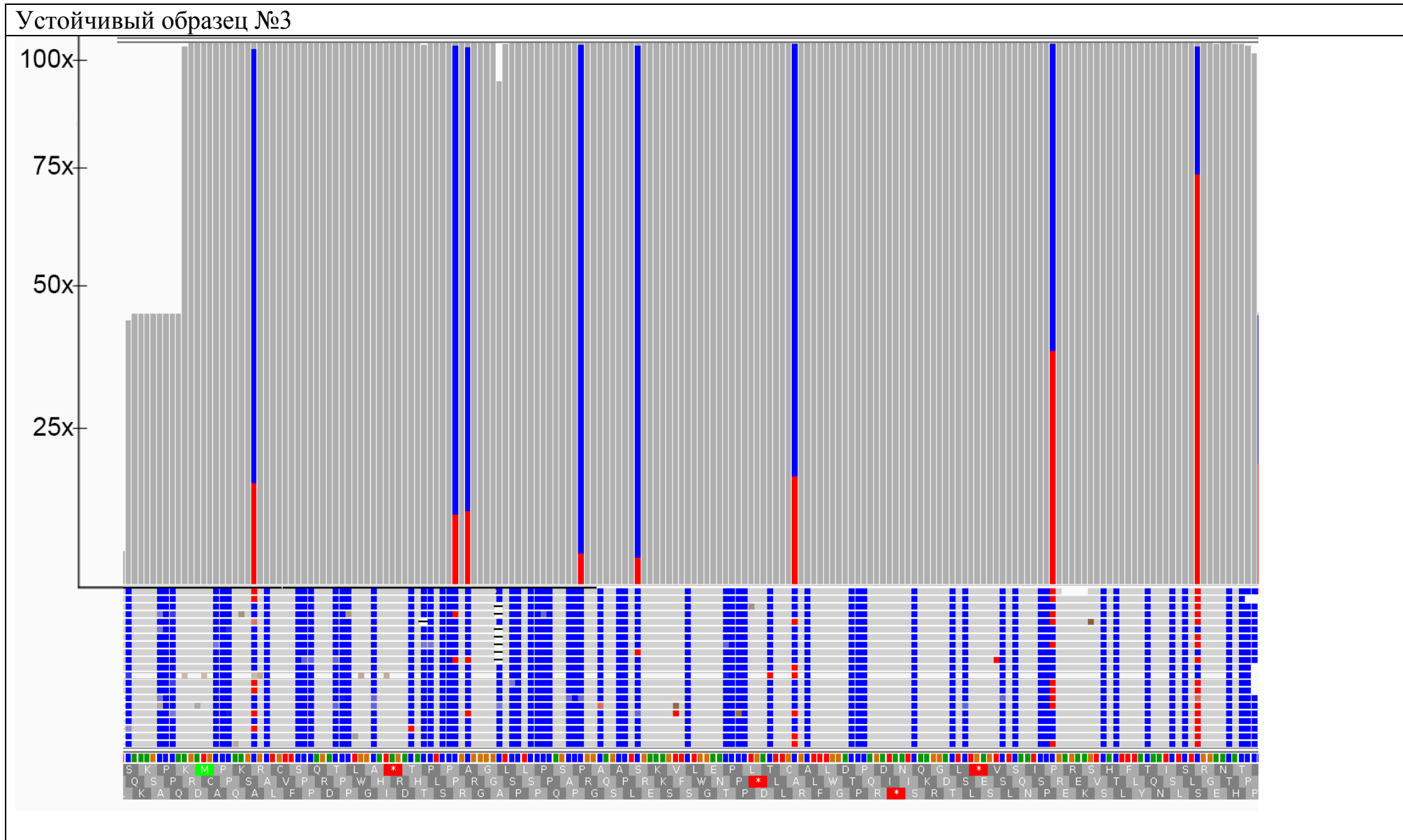
Неустойчивый образец №6



Устойчивый образец №1

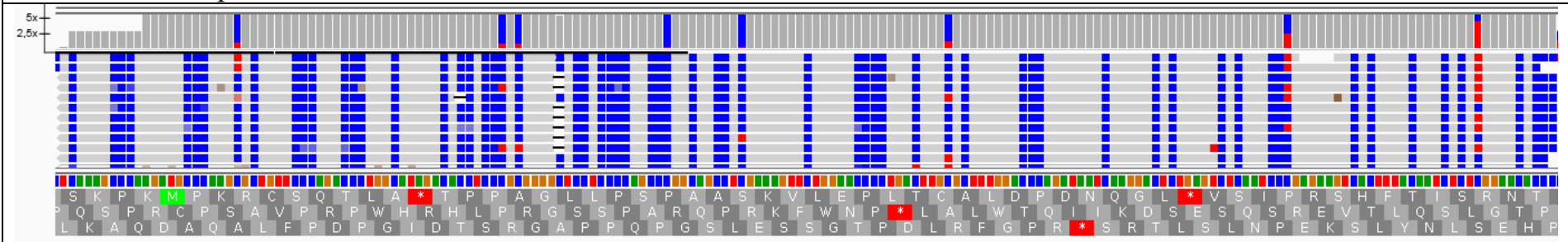


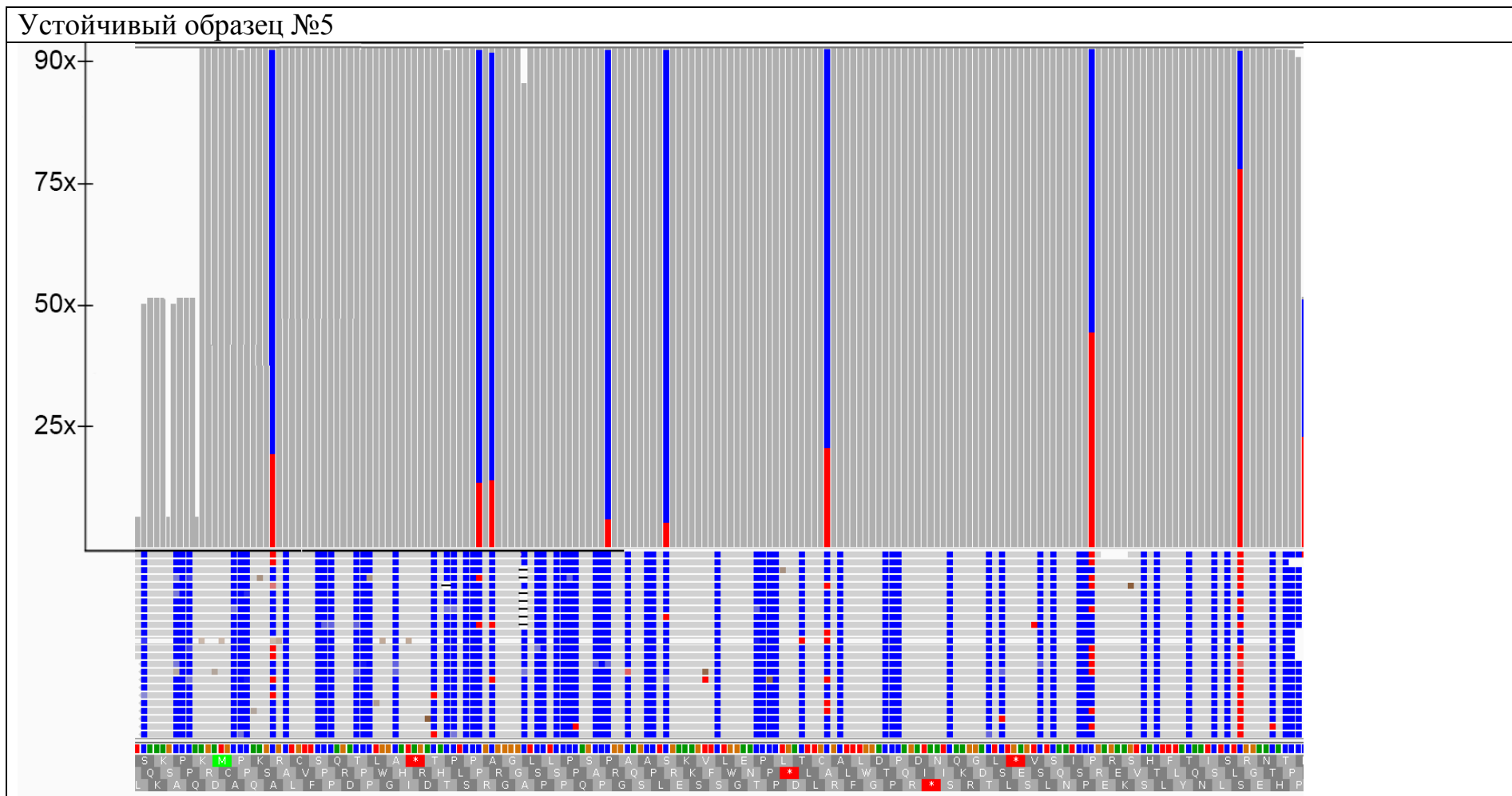


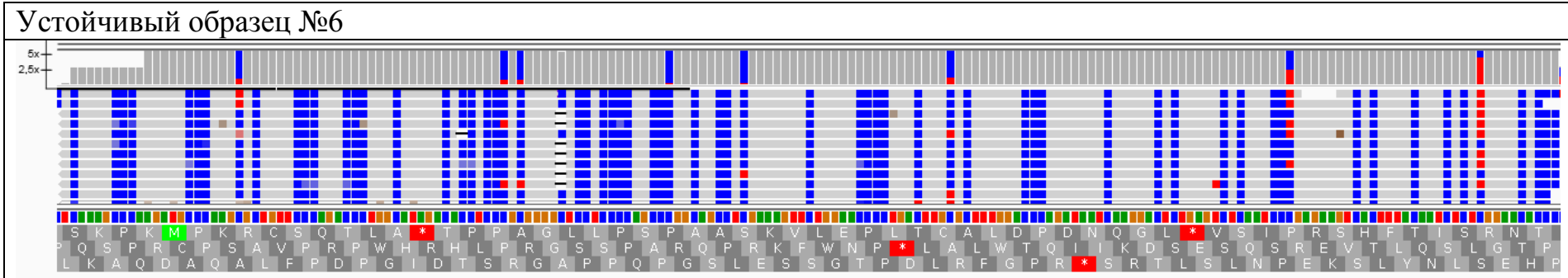




Устойчивый образец №4







3. Если необходимо, проведите расчеты. Какие из устойчивых тлей выжили благодаря количеству генов *CYP6CY3*, а не из-за более активной экспрессии? Обоснуйте свой ответ. 2 балла

### Блок 4

Все еще недовольный, аспирант Вася изучил дополнительную литературу и нашел информацию о мутации в молекуле мишени – одной из субъединиц никотинацетилхолинового рецептора, благодаря которой тля может приобретать устойчивость к неоникотиноидам.

Перед вами выравнивание нуклеотидных последовательностей участка, в котором локализована искомая мутация. Данный участок представляет собой часть белок-кодирующей последовательности:

1. 1-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGATGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
2. 2-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
3. 3-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
4. 4-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAT
5. 5-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAT
6. 6-unresistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAT
7. 1-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
8. 2-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
9. 3-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
10. 4-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGTGGACAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC
11. 5-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGGTTGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAT
12. 6-resistant	TGCAGTTCAGCCATTCCGCTGTTGCCATCATAACTGTTCTCGTGTGGCACCGTCAATTATTTACGAGCGGTCAAAAAAGATGGTGCATTGCAAGTAAAAAAGCCGTAC

		Second base					
		U	C	A	G		
First base	U	UUU } фенилаланин UUC } UUA } лейцин UUG }	UCU } серин UCC } UCA } UCG }	UAU } тирозин UAC } UAA } стоп-кодон UAG } стоп-кодон	UGU } цистеин UGC } UGA } стоп-кодон UGG } триптофан	Third base	U
	C	CUU } лейцин CUC } CUA } CUG }	CCU } пролин CCC } CCA } CCG }	CAU } гистидин CAC } CAA } глутамин CAG }	CGU } аргинин CGC } CGA } CGG }		C
	A	AUU } изолейцин AUC } AUA } AUG } метионин старт-кодон	ACU } треонин ACC } ACA } ACG }	AAU } аспарагин AAC } AAA } лизин AAG }	AGU } серин AGC } AGA } аргинин AGG }		A
	G	GUU } валин GUC } GUA } GUG }	GCU } аланин GCC } GCA } GCG }	GAU } аспарагиновая кислота GAC } GAA } глутаминовая кислота GAG }	GGU } глицин GGC } GGA } GGG }		G

1. В каких образцах есть интересующая нас мутация? 0,5 балла

2. Напишите полную классификацию мутации. 1 балл

3. Опишите механизм возникновения мутации. 1 балл

4. Какая смена аминокислот наблюдается при этой мутации? Как изменились физико-химические свойства аминокислоты в данном положении? Как это повлияет на взаимодействие с лигандом? 3 балла

5. Как изменяются физико-химические свойства молекулы? 1 балл

6. Предположите локализацию трансмембранного домена на данном участке выравнивания, при его наличии (с какого по какой нуклеотид). Как вы определили, что это он? 2 балла

### Выводы

В результате проведенного исследования было установлено, что для данного таксона насекомых характерны различные механизмы приобретения устойчивости к неоникотиноидам: высокая экспрессия гена, количество копий гена, наличие определенной мутации.

1. Заполните таблицу информацией о конкретном механизме формирования устойчивости, установленном в ходе экспериментов: 0,25 балла за каждый правильный ответ

Образец устойчивой тли	Механизм формирования устойчивости
1	
2	
3	
4	
5	
6	