

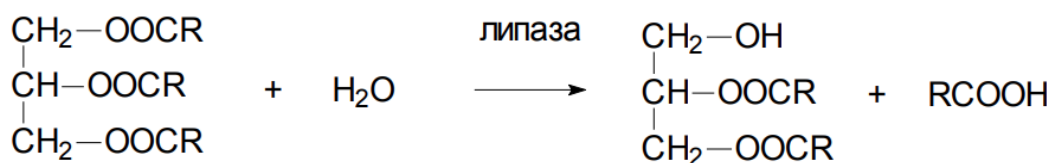
**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

10 класс

1 вариант

Задача 1.

Гидролитический фермент липаза широко распространён в тканях животных и растений. Особенно много его содержится в поджелудочной железе, тканях мышц, семенах различных растений; также в значительном количестве его образуют плесневые грибы и некоторые бактерии. Липаза катализирует реакцию расщепления жиров на глицерин и жирные кислоты, которая начинается обычно с отщепления остатка жирной кислоты в первом положении:



Полученные при этом жирные кислоты можно нейтрализовать щёлочью. По количеству щёлочи, пошедшей на титрование свободных жирных кислот, образующихся за определённый промежуток времени, судят об активности липазы. Активность фермента обычно определяют по скорости убыли субстрата или по скорости накопления продуктов реакции. За единицу активности фермента принят катал (кат), равный количеству фермента, которое катализирует превращение 1 моля субстрата за 1 с. Более широко употребляется международная единица активности ферментов. Активность в международных единицах соответствует количеству субстрата в микромолях, превращённого за 1 мин.: $1\text{E} = 1\text{ мкмоль/мин.}$

1) Для определения активности гидролитического фермента липазы, выделенного из *Candida lipolytica*, взяли 100 мл пастеризованного молока.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

На титрование образовавшихся в ходе гидролиза жирных кислот в 10 мл пробы, отобранной через 2 мин., было затрачено 0,1 мл 0,01 М раствора NaOH.

Определите активность фермента (мкмоль/мин), используя формулу:

$$A = \frac{n_{\text{п}} \times V_{\text{п}}}{V_{\text{а}} \times t}$$

A – активность фермента, мкмоль/мин

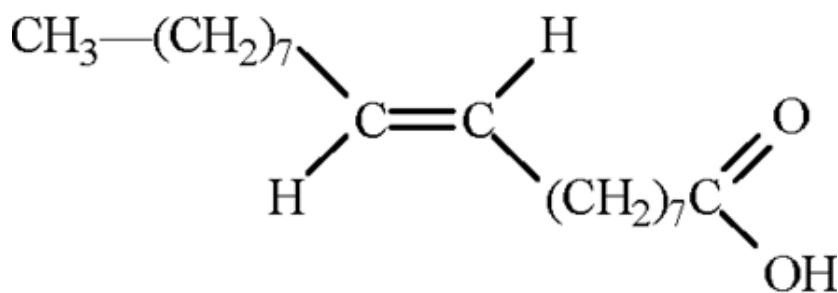
$n_{\text{п}}$ – количество продукта, мкмоль

$V_{\text{п}}$ – объём субстрата, взятого на анализ, мл

$V_{\text{а}}$ – объём реакционной смеси, взятой на титрование, мл

t – время эксперимента, мин.

2) за какое время (мин.) данный фермент переработает 10 л олеиновой кислоты, если её плотность составляет 895 кг/м³, а структурная формула олеиновой кислоты представлена на рисунке? Ответ дайте в виде целого числа.



Решение:

1. Из условий известно: объём субстрата, взятого на анализ,
мл - $V_{\text{п}} = 100$ мл

объём реакционной смеси, взятой на титрование, мл - $V_{\text{а}} = 10$ мл

время эксперимента, мин $t = 2$ мин

$n_{\text{п}}$ – количество продукта, мкмоль – найдем по закону эквивалентов,
зная результаты титрования: $n_{\text{п}} = n_{\text{т}}$

$n_{\text{п}} = C_{\text{т}} \cdot V_{\text{т}} = 0,1 \text{ М} \cdot 0,01 \text{ л} = 0,001 \text{ моль} = 1 \text{ ммоль} = 1000 \text{ мкмоль}$

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

Тогда активность фермента, мкмоль/мин - $A = (1000 \text{ мкмоль} * 10 \text{ мл}) / (100 \text{ мл} * 2 \text{ мин}) =$
 $= 50 \text{ мкмоль/мин}$

Ответ: 50 мкмоль/мин

2. Решение:

Молярная масса олеиновой кислоты (считаем по структурной формуле из условия) = 282,47 г/моль

Плотность олеиновой кислоты (из условия) = 895 кг/м³ = 895 г/л

Масса олеиновой кислоты $m_{ок} = \rho_{ок} * V_{ок} = 895 \text{ г/л} * 10 \text{ л} = 8950 \text{ г}$

Количество олеиновой кислоты $n_{ок} = m_{ок} / M_{ок} = 8950 \text{ г} / 282,47 \text{ г/моль} =$
31,685 моль

Тогда время переработки = $n_{ок} / A = 31685 \text{ мкмоль} / 50 \text{ мкмоль/мин} =$
633,7 мин = **11 ч**

Ответ: 11 ч

Критерии оценивания:

10 – 1) правильный ответ

10 – 2) правильный ответ

20 – оба ответа правильные

Задача 2.

В 1999 году с использованием методов генной инженерии впервые были получены трансгенные флуоресцентные рыбки данио рерио (*Danio rerio*). Трансгенные данио отличаются от своей исходной формы окраской тела.

В их ДНК встроены фрагменты ДНК медузы (*Aequorea Victoria*) и красного коралла (*Discosoma*). Данио с фрагментом ДНК медузы (ген GFP) имеют зелёный цвет, с ДНК коралла (ген RFP) — красный, а рыбки, в генотипе

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

которых присутствуют оба фрагмента, — желтые. Благодаря наличию этих чужеродных белков рыбки ярко светятся в ультрафиолетовом свете.

Данные флуоресцентные рыбки вскоре стали популярными среди аквариумистов и были запатентованы как GloFish – «светящиеся рыбки». Помимо декоративных целей данные рыбки могут использоваться в генной инженерии в качестве модели для анализа генетических механизмов заболеваний крови человека и разработки методов их терапии, а также для моделирования процессов канцерогенеза.

Данио рерио – неприхотливые рыбки семейства карповых, имеют вытянутое, торпедообразное тело ярко-розовой окраски со светлыми горизонтальными полосками от головы до хвостового плавника. Данио занимают преимущественно верхнюю треть аквариума. Они активны, шустры и интересны в поведении. Рекомендуется держать их стайкой от 5 рыбок. Объём аквариума для флуоресцентных данио может быть от 30 литров на стайку. Подходящие параметры воды для них: температура +20...+25°C, жёсткость до 15 °dGH, pH 6 – 7.

Одной из научных групп, занимающихся моделированием процессов канцерогенеза, необходимо вырастить стаю рыбок данио рерио для своих экспериментов. Перед заселением рыбок в аквариум они проверили жёсткость воды с использованием набора, который показывает значение в миллионных долях (ppm). Значение жёсткости воды составило 350 ppm.

Нормы жёсткости в РФ:

Категория жёсткости воды	ppm (мг/л)
Мягкая вода	0 – 100
Вода средней жёсткости	100 – 500
Жёсткая вода	> 500

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

1) Определите, к какой категории жёсткости относится данная вода, учитывая, что 1°dGH равен 17,831 ppm. Подходит ли она для выращивания рыбок данио рерио? Ответ обоснуйте.

2) Если жёсткость воды не позволяет выращивать в них рыбок предложите меры, которые позволят добиться оптимального значения жёсткости воды для выращивания рыбок Данио рерио. В ответе предложите не менее двух методов, хотя бы один из них должен подразумевать проведение химической реакции (напишите полное уравнение этой реакции). Укажите как минимум одно достоинство и один недостаток для каждого метода.

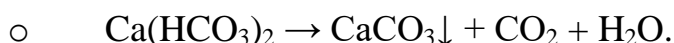
3) Какой минимальный объём воды необходимо взять для содержания 50 особей (приведите расчёт)? Подходят ли предложенные Вами методы для обработки такого объёма воды? Ответ обоснуйте.

Решение:

1) переводим жесткость воды в ppm: $350/17,831 = 19,629$ ppm, что соответствует воде средней жесткости и выше необходимого предела. Такая вода не подходит для выращивания рыбок Данио рерио

2) Для снижения жесткости воды можно использовать: термоумягчение (устранение временной жесткости), реагентное умягчение, катионирование, обратный осмос, электродиализ, дистилляция.

- **Термоумягчение.** Основан на кипячении воды, в результате термически нестойкие гидрокарбонаты кальция и магния разлагаются с образованием накипи:



Недостаток - Кипячение устраняет только временную (карбонатную) жёсткость

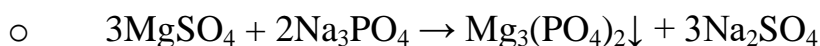
Преимущество - Находит применение в быту - доступный

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

- **Реагентное умягчение.** Метод основан на добавлении в воду кальцинированной соды Na_2CO_3 или гашёной извести $\text{Ca}(\text{OH})_2$. При этом соли кальция и магния переходят в нерастворимые соединения и, как следствие, выпадают в осадок. Например, добавление гашёной извести приводит к переводу солей кальция в нерастворимый карбонат:



- Лучшим реагентом для устранения общей жесткости воды является ортофосфат натрия Na_3PO_4 , входящий в состав большинства препаратов бытового и промышленного назначения:



- Ортофосфаты кальция и магния очень плохо растворимы в воде, поэтому легко отделяются механическим фильтрованием. Этот метод

Недостаток - оправдан при относительно больших расходах воды, поскольку связан с решением ряда специфических проблем: фильтрации осадка, точной дозировки реагента.

Преимущество - доступный

- **Катионирование.** Метод основан на использовании ионообменной гранулированной загрузки (чаще всего ионообменные смолы). Такая загрузка при контакте с водой поглощает катионы солей жёсткости (кальций и магний, железо и марганец). Взамен, в зависимости от ионной формы, отдаёт ионы натрия или водорода. Эти методы соответственно называются Na-катионирование и H-катионирование.

- При правильно подобранной ионообменной загрузке жёсткость воды снижается при одноступенчатом натрий-катионировании до 0,05-0,1 °Ж, при двухступенчатом — до 0,01 °Ж.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

○ В промышленности с помощью ионообменных фильтров заменяют ионы кальция и магния на ионы натрия и калия, получая мягкую воду.

Недостаток – относятся невозможность глубокого обессоливания, необходимость регулярной регенерации и замены смолы, применение небезопасных химреактивов.

Преимущество - эффективность

● **Обратный осмос.** Метод основан на прохождении воды через полупроницаемые мембраны (как правило, полиамидные). Вместе с солями жёсткости удаляется и большинство других солей. **Эффективность** очистки может достигать 99,9 %.

○ Различают нанофильтрацию (условный диаметр отверстий мембраны равен единицам нанометров) и пикофильтрацию (условный диаметр отверстий мембраны равен единицам пикометров).

○ В качестве **недостатков** данного метода следует отметить:

▪ - необходимость предварительной подготовки воды, подаваемой на обратноосмотическую мембрану;

▪ - относительно высокая стоимость 1 л получаемой воды (дорогое оборудование, дорогие мембраны);

▪ - низкую минерализацию получаемой воды (особенно при пикофильтрации). Вода становится практически дистиллированной.

▪ - для эффективной фильтрации требуется создавать высокое давление.

● **Электродиализ.** Основан на удалении из воды солей под действием электрического поля. Удаление ионов растворенных веществ происходит за счёт специальных мембран. Так же, как и при использовании

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

технологии обратного осмоса, происходит удаление и других солей, помимо ионов жёсткости.

Преимущества очистки воды методом электродиализа

Опреснение и деминерализация воды электродиализом имеет следующие преимущества:

1. Длительный срок службы установок. Электродиализаторы воды не имеют движущихся частей, что существенно увеличивает надежность установок. Срок службы мембран для электродиализа составляет 5-10 лет.

2. Минимальные потери воды. В циркуляционных аппаратах растворы солей поступают на повторный электродиализ. Возможно многократное повторение циклов очистки до достижения требуемого содержания солей. Основная доля потерь воды при электродиализе приходится на предварительную подготовку.

3. Низкая энергоёмкость. Расходы электроэнергии на очистку 1 литра воды составляют всего 1-2 Вт.

4. Минимальные требования к качеству исходной воды. Для очистки воды по методу электродиализа достаточно фильтрации от твердых частиц и соединений, разрушающих мембрану.

5. Возможность фильтровать сильно загрязненную воду. Электродиализ широко используется для очистки промышленных стоков, в том числе для фильтрации от радиоактивных веществ.

6. Отсутствие реагентов. Для электродиализа не нужны химические реактивы, оказывающие негативное влияние на окружающую среду.

Внедрение установок электродиализа позволяет существенно снизить капитальные и текущие расходы на фильтрацию воды. Экономия достигается отсутствием затрат на реагенты, последующую нейтрализацию, снижением затрат на техническое обслуживание.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

Недостаток – стоимость, невозможность очистки незаряженных веществ.

- **Дистиляция:** Полностью очистить воду от солей жёсткости можно *дистилляцией*.

Воду выпаривают в специальных аппаратах, получившийся пар охлаждают, в результате чего он конденсируется, чистая вода стекает в приемную емкость.

Недостатки: высокое энергопотребление, необходимость регулярно очищать первичный резервуар от накипи, высокий расход воды для охлаждения

Преимущества: доступно

3) Необходимый объем воды – на 5 рыбок – 30 л воды. На 1 рыбку = 30 л/5 = 6 л. Тогда на 50 рыбок – **300 л**.

Критерии оценивания:

3 – предложено не менее 2-х методов устранения жесткости воды

3 – приведено правильное уравнение реакции для одного из них

5 – получено правильное значение

5 – обоснованно использование предложенных методов для обработки такого объема воды

6 – проведен расчет, правильно пересчитана жесткость воды и определена её категория жесткости

8 – Указаны по 1 достоинству и 1 недостатку приведенных методов – по 2 балла за каждое, всего на 2 метода

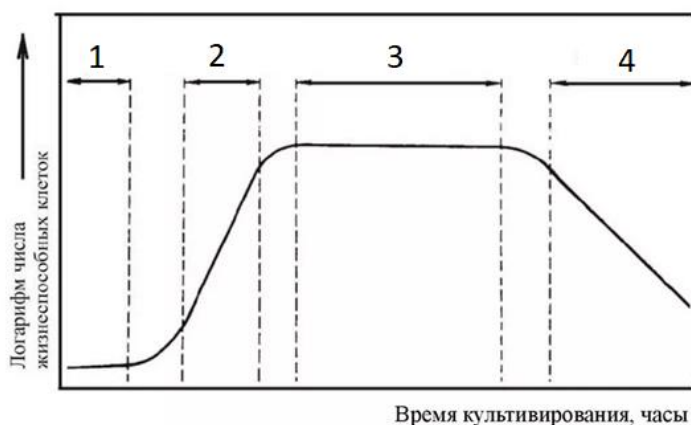
**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

Задача 3.

В 1951 году из раковой опухоли шейки матки пациентки по имени Генриетта Лакс была получена линия клеток HeLa. Чем удивительны эти клетки? Обычно число деления соматических клеток ограничено пределом Хейфлика: каждый раз при делении клетки происходит сокращение размера теломер (участков ДНК на концах хромосом), поэтому примерно после 50 делений клетка «умирает». Но только не клетки HeLa. Они не имеют предела деления и фактически являются «бессмертными».

Как и многие другие раковые клетки, HeLa продуцирует фермент теломеразу, который наращивает теломеры, но делает это с очень высокой скоростью. Стало понятно, что появилась «вечная» клеточная линия, которая адекватно имитирует сущность человеческого организма. А использование однородной клеточной линии в различных экспериментах позволило считать их достоверными и воспроизводимыми в других лабораториях. Клетки HeLa используются для исследования рака, СПИДа, воздействия радиации и в других опытах. А ещё именно благодаря HeLa удалось создать эффективную вакцину от полиомиелита.

1) На рисунке представлена типичная кривая деления обычных соматических клеток. Нарисуйте, как примерно будет выглядеть кривая роста

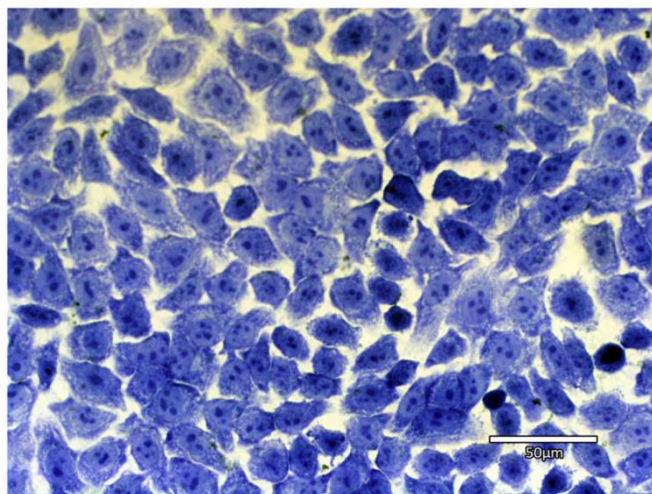


клеток HeLa в тех же координатах (зависимость логарифма числа

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

жизнеспособных клеток от времени культивирования, часы). Какая будет наблюдаться зависимость количества клеток от времени? Ответ объясните.

- 2) На рисунке представлена микрофотография клеток линии HeLa.



Определите средний размер одной клетки в мкм на основании трёх измерений, считая, что клетка условно круглая. Определите плотность клеток в поле зрения по картинке (число клеток/мм²). Ответы округлите до целого.

- 3) Рассчитайте, какую площадь в мм² займёт популяция из 1000 клеток линии HeLa через 24 ч, 1 нед., 1 мес. (4 нед.), зная, что их время удвоения составляет 16,2 ч, и допуская, что клетки имеют неограниченный запас питательных веществ и неограниченное пространство для деления. Ответ округлите до целых.

Для расчёта используйте формулу:

$$N_T = N_0 \times 2^{T/t_2}$$

где N_T – число клеток, выросших за время T ;

N_0 – исходное число клеток в популяции;

T – Продолжительность роста клеток, ч;

t_2 – время удвоения, ч.

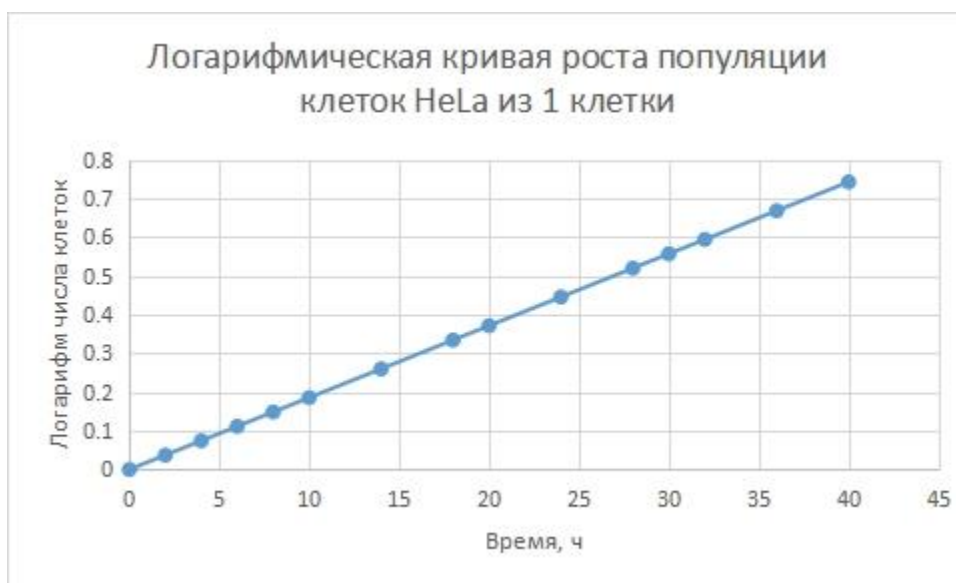
**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

4) Рассчитайте, сколько клеток линии HeLa потребуется, чтобы занять всю поверхность чашки Петри диаметром 35 мм.? За какое количество недель популяция из 1000 клеток займёт её? Ответ округлите до целого в большую сторону.

5)

Решение:

1) За счет того, что клетки бессмертные и делятся неограниченное число раз, их количество будет постоянно расти. Будет наблюдаться следующая зависимость:



2) Средний размер одной клетки – от 20 до 30 мкм.

Среднее число клеток в поле зрения 150-170, площадь поля зрения порядка 0,07 мм²

Плотность клеток в поле зрения = **2200-2300 кл/мм²** (допустимы значения в пределах **2000-2500** клеток)

3) Площадь популяции через 24 ч – 1,3 мм² = 1 мм²

Через 1 неделю (168 ч) = 602 мм² (допустим диапазон от 400 до 800 мм²)

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

Через месяц (4 недели = 672 ч) = $1,4 \cdot 10^{12}$ мм² = 10^{12} мм² (допустим диапазон от 10^{12} до $5 \cdot 10^{12}$ мм²)

4) Площадь чашки Петри диаметром 35 мм = 962 мм². Это больше площади, которую занимает популяция из 1000 клеток за 1 неделю.

Считаем на 2 недели (336 ч) = $1,75 \cdot 10^9$ клеток, площадь = 796 048 мм²

Так как ответ надо дать в неделях округлив в большую сторону, то правильный ответ – **2 недели**

Число клеток на площади чашки Петри диаметром 35 мм = плотность клеток в поле зрения * площадь = $2200 \cdot 962 = 2,12 \cdot 10^6 = 2 \cdot 10^6$ (допустимы значения от 10^6 до $5 \cdot 10^6$ клеток)

Критерии оценивания:

5 – 1) дан правильный ответ

5 – 2) правильно определен средний размер одной клетки

5 – 2) правильно определена плотность клеток в поле зрения

5 – 3) за каждый правильный ответ

5 – 4) за каждый правильный ответ

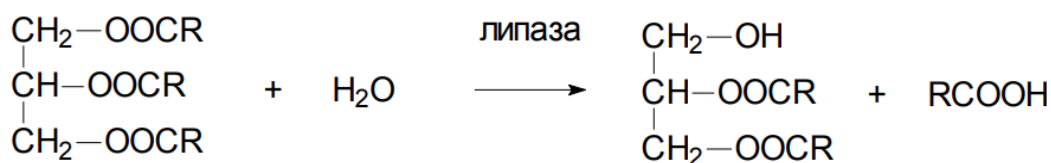
10 – 1) Правильно нарисован схематичный график

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

Вариант 2

Задача 1.

Гидролитический фермент липаза широко распространён в тканях животных и растений. Особенно много его содержится в поджелудочной железе, тканях мышц, семенах различных растений; также в значительных количествах его образуют плесневые грибы и некоторые бактерии. Липаза катализирует реакцию расщепления жиров на глицерин и жирные кислоты, которая начинается обычно с отщепления остатка жирной кислоты в первом положении:



Полученные при этом жирные кислоты можно нейтрализовать щёлочью. По количеству щёлочи, пошедшей на титрование свободных жирных кислот, образующихся за определённый промежуток времени, судят об активности липазы. Активность фермента обычно определяют по скорости убыли субстрата или по скорости накопления продуктов реакции. За единицу активности фермента принят катал (кат), равный количеству фермента, которое катализирует превращение 1 моля субстрата за 1 с. Более широко употребляется международная единица активности ферментов. Активность в международных единицах соответствует количеству субстрата в микромолях, превращённого за 1 мин.: 1Е = 1 мкмоль/мин.

Для определения активности гидролитического фермента липазы, выделенного из *Candida lipolytica*, взяли 240 мл пастеризованного молока. На

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

титрование образовавшихся в ходе гидролиза жирных кислот в 16 мл пробы, отобранной через 10 мин., было затрачено 0,2 мл 0,01 М раствора NaOH.

1) Определите активность фермента (мкмоль/мин), используя формулу:

$$A = \frac{n_{\text{п}} \times V_{\text{п}}}{V_{\text{а}} \times t}$$

A – активность фермента, мкмоль/мин;

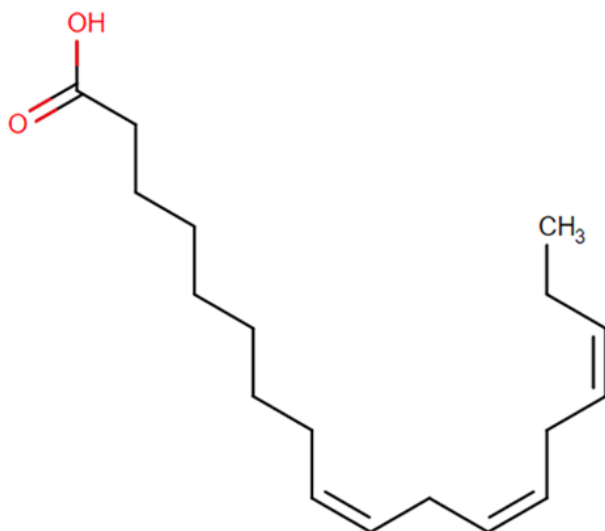
$N_{\text{п}}$ – количество продукта, мкмоль;

$V_{\text{п}}$ – объем субстрата, взятого на анализ, мл;

$V_{\text{а}}$ – объем реакционной смеси, взятой на титрование, мл;

t – время эксперимента, мин.

2) За какое время (мин.) данный фермент переработает 10 л линоленовой кислоты, если её плотность составляет 914 кг/м³, а структурная формула кислоты представлена на рисунке? Ответ дайте в виде целого числа.



Решение:

1. Из условий известно: объем субстрата, взятого на анализ, мл - $V_{\text{п}}$
= 240 мл

объем реакционной смеси, взятой на титрование, мл - $V_{\text{а}} = 16$ мл

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

время эксперимента, мин $t = 10$ мин

$n_{\text{П}}$ – количество продукта, мкмоль – найдем по закону эквивалентов, зная результаты титрования: $n_{\text{П}} = n_{\text{T}}$

$$n_{\text{П}} = C_{\text{T}} * V_{\text{T}} = 0,1 \text{ М} * 0,02 \text{ л} = 0,002 \text{ моль} = 2 \text{ ммоль} = 2000 \text{ мкмоль}$$

$$\begin{aligned} \text{Тогда активность фермента, мкмоль/мин} - A &= (2000 \text{ мкмоль} * 16 \\ \text{мл}) / (240 \text{ мл} * 10 \text{ мин}) &= \\ &= 13,3 \text{ мкмоль/мин} = 13 \text{ мкмоль/мин} \end{aligned}$$

Ответ: 13 мкмоль/мин

2. Молярная масса линоленовой кислоты (считаем по структурной формуле из условия) = 278,43 г/моль

$$\text{Плотность линоленовой кислоты (из условия)} = 914 \text{ кг/м}^3 = 914 \text{ г/л}$$

$$\text{Масса линоленовой кислоты } m_{\text{ЛК}} = \rho_{\text{ЛК}} * V_{\text{ЛК}} = 914 \text{ г/л} * 10 \text{ л} = 9140 \text{ г}$$

$$\begin{aligned} \text{Количество линоленовой кислоты } n_{\text{ЛК}} &= m_{\text{ЛК}} / M_{\text{ЛК}} = 9140 \text{ г} / 278,43 \text{ г/моль} \\ &= 32,827 \text{ моль} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Тогда время переработки} &= n_{\text{ЛК}} / A = 32827 \text{ мкмоль} / 13 \text{ мкмоль/мин} = 2 \\ 525 \text{ мин} &= 42 \text{ ч} \end{aligned}$$

Ответ: 42 ч

Критерии оценивания:

10 – 1) правильный ответ

10 – 2) правильный ответ

20 – оба ответа правильные

Задача 2.

В 1999 году с использованием методов генной инженерии впервые были получены трансгенные флуоресцентные рыбки данио рерио (*Danio rerio*). Трансгенные данио отличаются от своей исходной формы окраской тела.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

В их ДНК встроены фрагменты ДНК медузы (*Aequorea Victoria*) и красного коралла (*Discosoma*). Данио с фрагментом ДНК медузы (ген GFP) имеют зелёный цвет, с ДНК коралла (ген RFP) – красный, а рыбки, в генотипе которых присутствуют оба фрагмента – желтые. Благодаря наличию этих чужеродных белков рыбки ярко светятся в ультрафиолетовом свете.

Данные флуоресцентные рыбки вскоре стали популярными среди аквариумистов и были запатентованы как GloFish – «светящиеся рыбки». Помимо декоративных целей данные рыбки могут использоваться в генной инженерии в качестве модели для анализа генетических механизмов заболеваний крови человека и разработки методов их терапии, а также для моделирования процессов канцерогенеза.

Данио рерио – неприхотливые рыбки семейства карповых, имеют вытянутое, торпедообразное тело ярко-розовой окраски со светлыми горизонтальными полосками от головы до хвостового плавника. Данио занимают преимущественно верхнюю треть аквариума. Они активны, шустры и интересны в поведении. Рекомендуется держать их стайкой от 7 рыбок. Объём аквариума для флуоресцентных данио может быть от 30 литров на стайку. Подходящие параметры воды для них: температура +20...+25 °С, жёсткость до 15 °dGH, pH 6 – 7.

Одной из научных групп, занимающихся моделированием процессов канцерогенеза, необходимо вырастить стаю рыбок данио рерио для своих экспериментов. Перед заселением рыбок в аквариум они проверили жёсткость воды с использованием набора, который показывает значение в миллионных долях (ppm). Значение жёсткости воды составило 452 ppm.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

Нормы жёсткости в РФ: категория жёсткости воды	ppm (мг/л)
Мягкая вода	0 – 100
Вода средней жёсткости	100 – 500
Жёсткая вода	> 500

1) Определите, к какой категории жёсткости относится данная вода, учитывая, что 1°dGH равен 17,831 ppm. Подходит ли она для выращивания рыбок данио рерио? Ответ обоснуйте.

2) Если жёсткость воды не позволяет выращивать в ней рыбок предложите меры, которые позволят добиться оптимального значения жёсткости воды для выращивания рыбок данио рерио. В ответе предложите не менее двух методов, хотя бы один из них должен подразумевать проведение химической реакции (напишите полное уравнение этой реакции). Укажите как минимум одно достоинство и один недостаток для каждого метода.

3) Какой минимальный объём воды необходимо взять для содержания 50 особей (приведите расчёт)? Ответ округлите до целых. Подходят ли предложенные Вами методы для обработки такого объёма воды? Ответ обоснуйте.

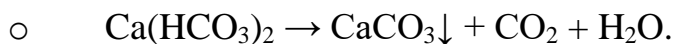
Решение:

1. Переводим жесткость воды в ppm: $452/17,831 = 25,349$ ppm, что соответствует воде средней жесткости и выше необходимого предела. Такая вода не подходит для выращивания рыбок Данио рерио

2. Для снижения жесткости воды можно использовать: термоумягчение (устранение временной жесткости), реагентное умягчение, катионирование, обратный осмос, электродиализ, дистилляция.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

- Термоумягчение. Основан на кипячении воды, в результате термически нестойкие гидрокарбонаты кальция и магния разлагаются с образованием накипи:



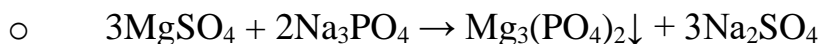
Недостаток - Кипячение устраняет только временную (карбонатную) жёсткость

Преимущество - Находит применение в быту - доступный

- Реагентное умягчение. Метод основан на добавлении в воду кальцинированной соды Na_2CO_3 или гашёной извести $\text{Ca}(\text{OH})_2$. При этом соли кальция и магния переходят в нерастворимые соединения и, как следствие, выпадают в осадок. Например, добавление гашёной извести приводит к переводу солей кальция в нерастворимый карбонат:



- Лучшим реагентом для устранения общей жесткости воды является ортофосфат натрия Na_3PO_4 , входящий в состав большинства препаратов бытового и промышленного назначения:



- Ортофосфаты кальция и магния очень плохо растворимы в воде, поэтому легко отделяются механическим фильтрованием. Этот метод

Недостаток - оправдан при относительно больших расходах воды, поскольку связан с решением ряда специфических проблем: фильтрации осадка, точной дозировки реагента.

Преимущество - доступный

- Катионирование. Метод основан на использовании ионообменной гранулированной загрузки (чаще всего ионообменные смолы). Такая загрузка при контакте с водой поглощает катионы солей жёсткости (кальций и магний,

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

железо и марганец). Взамен, в зависимости от ионной формы, отдаёт ионы натрия или водорода. Эти методы соответственно называются Na-катионирование и H-катионирование.

○ При правильно подобранной ионообменной загрузке жёсткость воды снижается при одноступенчатом натрий-катионировании до 0,05-0,1 °Ж, при двухступенчатом — до 0,01 °Ж.

○ В промышленности с помощью ионообменных фильтров заменяют ионы кальция и магния на ионы натрия и калия, получая мягкую воду.

Недостаток – относятся невозможность глубокого обессоливания, необходимость регулярной регенерации и замены смолы, применение небезопасных химреактивов.

Преимущество - эффективность

● Обратный осмос. Метод основан на прохождении воды через полупроницаемые мембраны (как правило, полиамидные). Вместе с солями жёсткости удаляется и большинство других солей. Эффективность очистки может достигать 99,9 %.

○ Различают нанофильтрацию (условный диаметр отверстий мембраны равен единицам нанометров) и пикофильтрацию (условный диаметр отверстий мембраны равен единицам пикометров).

○ В качестве недостатков данного метода следует отметить:

▪ необходимость предварительной подготовки воды, подаваемой на обратноосмотическую мембрану;

▪ относительно высокая стоимость 1 л получаемой воды (дорогое оборудование, дорогие мембраны);

▪ низкую минерализацию получаемой воды (особенно при пикофильтрации). Вода становится практически дистиллированной.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

- для эффективной фильтрации требуется создавать высокое давление.

- **Электродиализ.** Основан на удалении из воды солей под действием электрического поля. Удаление ионов растворенных веществ происходит за счёт специальных мембран. Так же, как и при использовании технологии обратного осмоса, происходит удаление и других солей, помимо ионов жёсткости.

Преимущества очистки воды методом электродиализа

Опреснение и деминерализация воды электродиализом имеет следующие преимущества:

1. Длительный срок службы установок. Электродиализаторы воды не имеют движущихся частей, что существенно увеличивает надежность установок. Срок службы мембран для электродиализа составляет 5-10 лет.

2. Минимальные потери воды. В циркуляционных аппаратах растворы солей поступают на повторный электродиализ. Возможно многократное повторение циклов очистки до достижения требуемого содержания солей. Основная доля потерь воды при электродиализе приходится на предварительную подготовку.

3. Низкая энергоёмкость. Расходы электроэнергии на очистку 1 литра воды составляют всего 1-2 Вт.

4. Минимальные требования к качеству исходной воды. Для очистки воды по методу электродиализа достаточно фильтрации от твердых частиц и соединений, разрушающих мембрану.

5. Возможность фильтровать сильно загрязненную воду. Электродиализ широко используется для очистки промышленных стоков, в том числе для фильтрации от радиоактивных веществ.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

6. Отсутствие реагентов. Для электродиализа не нужны химические реактивы, оказывающие негативное влияние на окружающую среду.

Внедрение установок электродиализа позволяет существенно снизить капитальные и текущие расходы на фильтрацию воды. Экономия достигается отсутствием затрат на реагенты, последующую нейтрализацию, снижением затрат на техническое обслуживание.

Недостаток – стоимость, невозможность очистки незаряженных веществ.

- Дистилляция: Полностью очистить воду от солей жёсткости можно *дистилляцией*.

Воду выпаривают в специальных аппаратах, получившийся пар охлаждают, в результате чего он конденсируется, чистая вода стекает в приемную емкость.

Недостатки: высокое энергопотребление, необходимость регулярно очищать первичный резервуар от накипи, высокий расход воды для охлаждения

Преимущества: доступно

3) Необходимый объем воды – на 7 рыбок – 30 л воды. На 1 рыбку = 30 л/7 = 4,286 л. Тогда на 50 рыбок – 214,3 л.

Критерии оценивания:

3 – предложено не менее 2-х методов устранения жесткости воды

3 – приведено правильное уравнение реакции для одного из них

5 – получено правильное значение

5 – обоснованно использование предложенных методов для обработки такого объема воды

6 – проведен расчет, правильно пересчитана жесткость воды и определена её категория жесткости

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

8 – Указаны по 1 достоинству и 1 недостатку приведенных методов – по 2 балла за каждое, всего на 2 метода

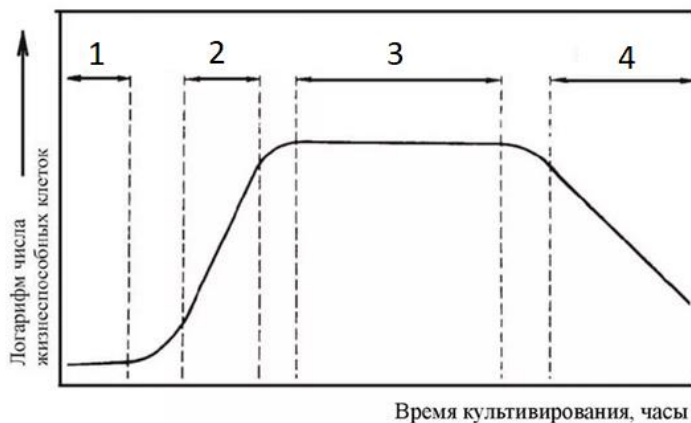
Задача 3.

В 1951 году из раковой опухоли шейки матки пациентки по имени Генриетта Лакс была получена линия клеток HeLa. Чем удивительны эти клетки? Обычно число деления соматических клеток ограничено пределом Хейфлика: каждый раз при делении клетки происходит сокращение размера теломер (участков ДНК на концах хромосом), поэтому примерно после 50 делений клетка «умирает». Но только не клетки HeLa. Они не имеют предела деления и фактически являются «бессмертными».

Как и многие другие раковые клетки, HeLa продуцирует фермент теломеразу, который наращивает теломеры, но делает это с очень высокой скоростью. Стало понятно, что появилась «вечная» клеточная линия, которая адекватно имитирует сущность человеческого организма. А использование однородной клеточной линии в различных экспериментах позволило считать их достоверными и воспроизводимыми в других лабораториях. Клетки HeLa используются для исследования рака, СПИДа, воздействия радиации и в других опытах. А ещё именно благодаря HeLa удалось создать эффективную вакцину от полиомиелита.

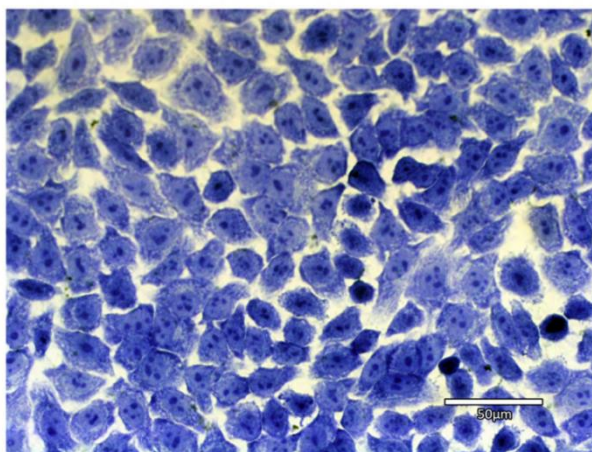
**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

1) На рисунке представлена типичная кривая деления обычных соматических клеток. Нарисуйте, как примерно будет выглядеть кривая роста



клеток HeLa в тех же координатах (зависимость логарифма числа жизнеспособных клеток от времени культивирования, часы). Какая будет наблюдаться зависимость количества клеток от времени? Ответ объясните.

2) На рисунке представлена микрофотография клеток линии HeLa.



Определите средний размер одной клетки в мкм на основании трёх измерений, считая, что клетка условно круглая. Определите плотность клеток в поле зрения по картинке (число клеток/мм²). Ответы округлите до целого.

3) Рассчитайте, какую площадь в мм² займёт популяция из 1000 клеток линии HeLa через 24 ч, 1 нед., 1 мес. (4 нед.), зная, что их время удвоения составляет 16,2 ч, и допуская, что клетки имеют неограниченный

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи

запас питательных веществ и неограниченное пространство для деления.

Ответ округлите до целых.

Для расчёта используйте формулу:

$$N_T = N_0 \times 2^{T/t_2},$$

где N_T – число клеток, выросших за время T ;

N_0 – исходное число клеток в популяции;

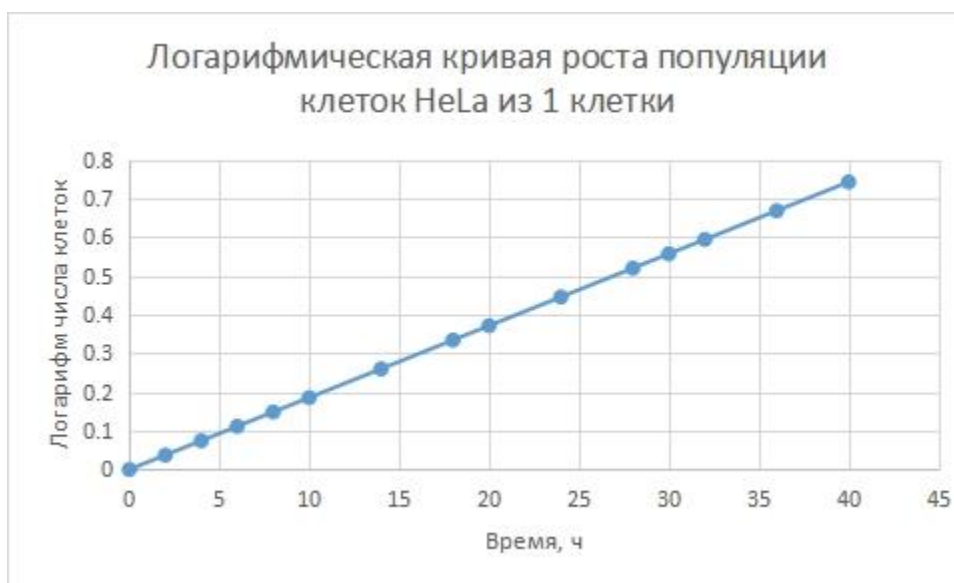
T – продолжительность роста клеток, ч;

t_2 – время удвоения, ч.

4) Рассчитайте, сколько клеток линии HeLa потребуется, чтобы занять всю поверхность чашки Петри диаметром 52 мм. За какое количество недель популяция из 1000 клеток займёт её? Ответ округлите до целого в большую сторону.

Решение:

1. За счет того, что клетки бессмертные и делятся неограниченное число раз, их количество будет постоянно расти. Будет наблюдаться следующая зависимость:



2. **Средний размер** одной клетки – **от 20 до 30 мкм.**

Москва
2020/2021 уч. г.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Заключительный этап
Биотехнологический профиль
Междисциплинарные задачи**

среднее число клеток в поле зрения 150-170, площадь поля зрения порядка $0,07 \text{ мм}^2$

плотность клеток в поле зрения = **2200-2300 кл/мм²** (допустимы значения в пределах **2000-2500** клеток)

3. Площадь популяции через **24 ч** – $1,3 \text{ мм}^2 = 1 \text{ мм}^2$

Через **1 неделю** (168 ч) = **602 мм²** (допустим диапазон от **400 до 800 мм²**)

Через **месяц** (4 недели = 672 ч) = $1,4 \cdot 10^{12} \text{ мм}^2 = 10^{12} \text{ мм}^2$ (допустим диапазон от 10^{12} до $5 \cdot 10^{12} \text{ мм}^2$)

4. Площадь чашки Петри диаметром 52 мм = $2\,123 \text{ мм}^2$. Это больше площади, которую занимает популяция из 1000 клеток за 1 неделю.

Считаем на 2 недели (336 ч) = $1,75 \cdot 10^9$ клеток, площадь = $796\,048 \text{ мм}^2$

Так как ответ надо дать в неделях округлив в большую сторону, то правильный ответ – **2 недели**

Число клеток на площади чашки Петри диаметром 52 мм = плотность клеток в поле зрения * площадь = $2200 \cdot 2123 = 4,67 \cdot 10^6 = 5 \cdot 10^9$ (допустимы значения от $3 \cdot 10^6$ до $8 \cdot 10^6$ клеток)

Критерии оценивания:

5 – 1) дан правильный ответ

5 – 2) правильно определен средний размер одной клетки

5 – 2) правильно определена плотность клеток в поле зрения

5 – 3) за каждый правильный ответ

5 – 4) за каждый правильный ответ

10 – 1) Правильно нарисован схематичный график