

Фамилия _____
Имя _____
Регион _____
Шифр _____

Шифр _____
Рабочее место _____
Итого: _____

ЗАДАНИЯ

практического тура заключительного этапа XXVIII Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2011-2012 уч. год. 11 класс

БИОХИМИЯ

Задание 1. Определение изоэлектрической точки казеина. (9,5 баллов)
(Рекомендуемое время – 25 минут)

Оборудование, реактивы и материалы:

1. Шесть пробирок;
2. Три пипетки на 1-2 мл;
3. Стакан с водой на 50 мл;
4. Раствор уксусной кислоты, 0,16 М;
5. 0,1% раствор казеина, приготовленный на 0,1 М растворе ацетата натрия;
6. Калькулятор с логарифмическими функциями.

Заряд белка в растворе определяется диссоциацией кислотных и основных групп аминокислот, и, следовательно, зависит от рН раствора. Значение рН, при котором суммарный заряд белка равен нулю, называется изоэлектрической точкой белка - pI . Многие растворимые белки агрегируют в своей изоэлектрической точке, раствор мутнеет, и, как правило, выпадает осадок белка в виде белых хлопьев. Вам предстоит приготовить буферные растворы с различным значением рН и определить, при каком рН происходит выпадение в осадок белка казеина.

Приготовьте растворы, как указано в таблице. Тщательно перемешайте содержимое пробирок. Пока происходит агрегация и преципитация белка (10-15 минут), произведите соответствующие расчеты и заполните таблицу. При расчетах округляйте результат до третьего знака после запятой. (6 баллов)

Номер пробирки	Объем уксусной кислоты, мл	Объем воды, мл	Объем раствора казеина, мл	Концентрация уксусной кислоты, моль/л	Концентрация ацетата натрия, моль/л	рН раствора
1	2,0	-	0,2			
2	1,5	0,5				
3	1,0	1,0				
4	0,5	1,5				
5	0,2	1,8				
6	0,05	1,95				

Расчет значения рН ацетатного буфера проводится по формуле:

$$pH = 4,74 + \lg\left(\frac{[\text{ацетата натрия}]}{[\text{уксусной кислоты}]}\right), \text{ где}$$

[ацетата натрия] – концентрация ацетата натрия в пробе

[уксусной кислоты] – концентрация уксусной кислоты в пробе

Техника работы: _____ (2,5 балла)

Изоэлектрическая точка белка: _____ (1 балл)

Задание 2. Определение молекулярной массы казеина. (5 баллов)
(Рекомендуемое время – 15 минут)

Оборудование, реактивы и материалы:

1. Рисунок геля с результатами электрофореза казеина и белков-стандартов молекулярных масс;
2. Миллиметровая бумага;
3. Калькулятор с логарифмическими функциями;
4. Линейка.

Одним из наиболее распространенных способов определения молекулярной массы белка является анализ результатов SDS-электрофореза (электрофореза в присутствии ионного детергента - додецилсульфата натрия). Белок обрабатывают раствором додецилсульфата натрия, после чего проводят электрофоретическое разделение смеси в полиакриламидном геле. Известно, что относительная подвижность белка (подвижность белка по отношению к подвижности низкомолекулярного лидирующего красителя) линейно зависит от логарифма его молекулярной массы.

2.1. Используя фотографию результатов электрофореза белков-стандартов молекулярных масс, постройте график зависимости относительной подвижности белков от десятичного логарифма их молекулярной массы. Для этого заполните таблицу. (2 балла)

Белок	Десятичный логарифм молекулярной массы, выраженной в кДа	Относительная подвижность (отношение длины пробега белка к длине пробега лидирующего красителя)
14,4 кДа		
21,5 кДа		
31 кДа		
45 кДа		
66 кДа		
116 кДа		
Казеин		

2.2. Пользуясь данными таблицы, постройте на миллиметровой бумаге график зависимости относительной подвижности белков от логарифма их молекулярной массы. **(2 балла)**

2.3. Используя полученный график, определите молекулярную массу казеина.

Молекулярная масса казеина _____ **(1 балл)**

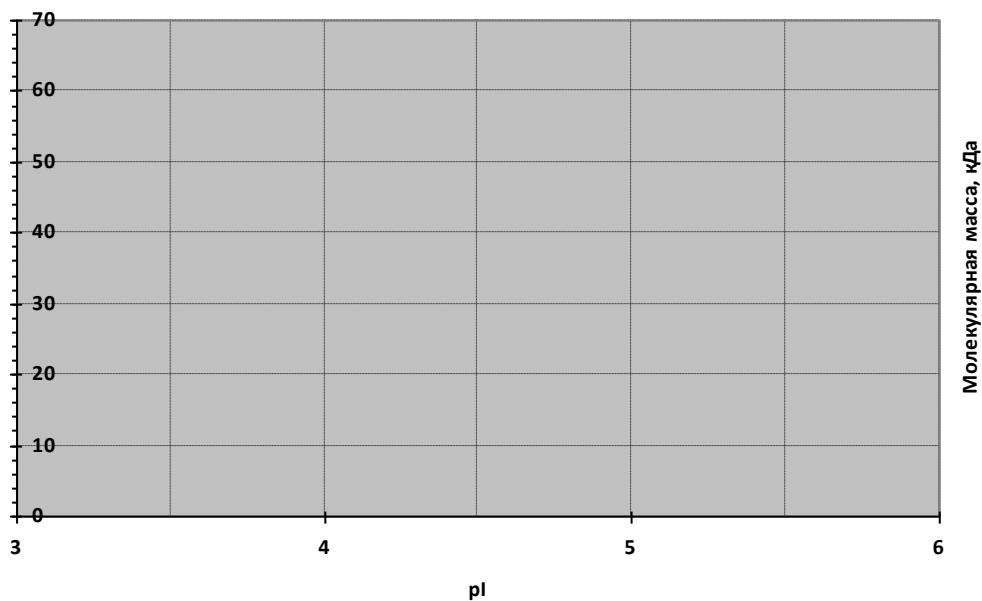
Задание 3. Анализ результатов двумерного гель-электрофореза.
(3,5 балла)

(Рекомендуемое время – 5 минут)

Двумерный гель-электрофорез сочетает в себе изоэлектрофокусирование и SDS-электрофорез и позволяет произвести разделение смеси большого количества белков по их изоэлектрическим точкам и молекулярной массе.

Перед вами рисунок, изображающий результат двумерного гель-электрофореза казеина.

Результат двумерного гель-электрофореза казеина



3.1. Отметьте точкой, где будет расположен казеин на этом геле. **(1 балл)**.

3.2. Казеин представляет собой фосфопротеин. Раствор казеина обработали специфической фосфатазой, после чего провели двумерный гель-электрофорез. Отметьте крестиком предполагаемое Вами новое положение казеина. **(2 балла)**.

3.3. Фосфатаза осуществляет реакцию: _____
(0,5 балла).

Задание 4. Эволюция белков. (2 балла).

(Рекомендуемое время – 5 минут)

Казеин молока представляет из себя смесь фосфопротеинов: альфа-казеина, бета-казеина и минорного гамма-казеина, образующегося в результате

протеолиза бета-казеина протеазами молока. На основании исследования аминокислотного состава и химических свойств казеинов, ученые смогли сделать некоторые предположения о происхождении этого белка.

4.1. (0,5 балла). Казеин содержит 11% пролина от общего числа аминокислотных остатков, а у некоторых форм – до 17%. Из этого можно заключить, что:

- А. В его вторичной структуре преобладают альфа-спирали
- Б. В его вторичной структуре мало или нет альфа-спиралей
- В. В его вторичной структуре преобладают бета-структуры
- Г. В его вторичной структуре мало или нет бета-структур

Вариант	А	Б	В	Г
Ответ				

4.2. (0,5 балла). У новорожденных в желудочном соке имеется ренин, отщепляющий от казеина гликопептид, с образованием пара-казеина, способного к полимеризации. Это – первый этап створаживания молока. На основании этого наблюдения, а также сведений о его вторичной структуре, ученые предположили, что казеин может быть родственником:

- А. Протромбину
- Б. Тромбину
- В. Фибриногену
- Г. Фибрину

Вариант	А	Б	В	Г
Ответ				

4.3. (1 балл). Соотнесите пары генов, кодирующие указанные белки, и определите, являются ли они ортологами или паралогами, или же указанные белки являются продуктами одного гена:

- А. Альфа-казеин коровьего молока и бета-казеин коровьего молока
- Б. Бета-казеин коровьего молока и бета-казеин человеческого молока
- В. Бета-казеин коровьего молока и гамма-казеин коровьего молока
- Г. Бета-казеин коровьего молока и белок, выбранный вами в задании 4.2

	Впишите нужные буквы (А, Б, В, Г)
Ортологи	
Паралоги	
Белки являются продуктами одного гена	