

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа XXXI Всероссийской
олимпиады школьников по биологии. 2014-15 уч. год. 11 класс

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

Синаптическая передача – центральное явление в функционировании нервной системы, включает в себя целый каскад событий, запускаемый деполяризацией на пресинаптическом окончании, приводящих к возникновению локального постсинаптического потенциала (ПСП) на постсинаптической клетке. В случае химической передачи сигнала ключевым событием является экзоцитоз везикул с медиатором, запускаемый повышением концентрации кальция в цитозоле пресинапса. В этом задании Вам предстоит изучить некоторые из этих процессов.

Задание 1. Изменение внутриклеточной концентрации кальция. (7 баллов)

Кальций – важнейший вторичный посредник, участвующий в экзоцитозе, мышечном сокращении, апоптозе и многих других процессах. Для внутриклеточной регистрации концентрации кальция используются различные методы. Ранее популярным был пэтч-кламп с кальций-чувствительным электродом, однако, в последнее время, его вытеснили кальций-чувствительные флуоресцентные зонды, к которым относятся производные ВАРТА, флуоресцина и родамина, а также пептидные сенсоры (GCaMP). Вашему вниманию предлагаются 6 фильмов, в которых происходила электрическая стимуляция возбудимых клеток, предварительно загруженных производным флуоресцина – Fluo-5F.

Видеофайл 1a. Культура нейронов гиппокампа мыши.

Видеофайл 1b. Культура нейронов гиппокампа мыши после нанесения раствора нифедипина (избирательный блокатор Са-каналов L-типа).

Видеофайл 1c. Кардиомиоцит мыши. Электрическая стимуляция.

Видеофайл 1d. Кардиомиоцит мыши после нанесения раствора нифедипина (избирательный блокатор Са-каналов L-типа). Электрическая стимуляция.

Видеофайл 1e. Кардиомиоцит мыши без электрической стимуляции.

Видеофайл 1f. Три кардиомиоцита мыши.

Просмотрите видеофайлы **1a – 1d** и ответьте на вопросы **1.2 – 1.4**.

1.1. Какие белки участвуют в увеличении концентрации кальция в цитозоле нервной клетки? (1,6 балла)

А. Кальциевые каналы плазматической мембраны.

Б. Кальциевые каналы эндоплазматического ретикулума.

В. Кальциевый насос плазматической мембраны.

Г. Кальциевый насос эндоплазматического ретикулума.

Д. Кальциевый насос мембраны митохондрии.

Е. Натрий/кальциевый антипортер плазматической мембраны.

Ж. Натрий/кальциевый антипортер эндоплазматического ретикулума.

З. Натрий/кальциевый антипортер мембраны митохондрии.

1.2. Какие белки участвуют в понижении концентрации кальция в цитозоле нервной клетки? (1,6 балла)

- А. Кальциевые каналы плазматической мембраны.
- Б. Кальциевые каналы эндоплазматического ретикулума.
- В. Кальциевый насос плазматической мембраны.
- Г. Кальциевый насос эндоплазматического ретикулума.
- Д. Кальциевый насос мембраны митохондрии.
- Е. Натрий/кальциевый антипортер плазматической мембраны.
- Ж. Натрий/кальциевый антипортер эндоплазматического ретикулума.
- З. Натрий/кальциевый антипортер мембраны митохондрии.

1.3. Для приведенных экспериментов (1а – 1ф) к суспензии клеток был добавлен ацетометоксиэфир Fluo-5F (Fluo-5F AM, см Приложение). Клетки инкубировали с ним в течение 30 минут, после чего их промыли раствором Рингера и микроскопировали. В приложении Вам предлагается формула Fluo-5F и Fluo-5F AM. Эфирные связи в цитозоле могут быть расщеплены эстеразами. Какие из приведенных относительно этого эксперимента утверждений являются верными? (1,2 балла)

- А. Мембрана клеток проницаема для Fluo-5F.
- Б. Интенсивность флуоресцентного сигнала в клетке в покое зависит только от концентрации кальция в цитозоле.
- В. Интенсивность флуоресцентного сигнала в клетке в покое в основном зависит от активности эстераз.
- Г. Fluo-5F преимущественно накапливается в эндоплазматическом ретикулуме.
- Д. Если бы к клеткам был добавлен хелатор кальция ВАРТА AM, который не флуоресцирует в видимой области спектра, то интенсивность флуоресцентного сигнала была бы ниже.
- Е. Если бы не проводили отмывку, то в эксперименте была бы высокая интенсивность флуоресценции вне клеток.

1.4. Какие выводы можно сделать, исходя из результатов этого эксперимента? (1,6 балла)

- А. В нейронах присутствуют Ca-каналы L-типа.
- Б. В нейронах отсутствуют Ca-каналы L-типа.
- В. В кардиомиоцитах присутствуют Ca-каналы L-типа.
- Г. В кардиомиоцитах отсутствуют Ca-каналы L-типа.
- Д. В нейронах присутствуют Ca-каналы, отличные от L-типа.
- Е. В нейронах отсутствуют Ca-каналы, отличные от L-типа.
- Ж. В кардиомиоцитах присутствуют Ca-каналы, отличные от L-типа.
- З. В кардиомиоцитах отсутствуют Ca-каналы, отличные от L-типа.

1.5. Просмотрите видеофайла 1е и 1ф. Какие выводы можно сделать исходя из этих наблюдений? (1 балл)

- А. Кардиомиоциты способны самостоятельно генерировать потенциалы действия.
- Б. Кардиомиоциты в культуре способны формировать синапсы.
- В. Только небольшой участок мембраны/цитоплазмы способен генерировать локальные кальциевые волны.
- Г. Наблюдаемые вами локальные кальциевые волны обладают всеми свойствами потенциала действия.
- Д. В данном эксперименте анализировали клеточную суспензию кардиомиоцитов.

Задание 2. Изучение экзоцитоза синаптических везикул. (8 баллов)

Синаптобревин – трансмембранный везикулярный белок. В этом эксперименте клетки гиппокампа мыши, растущие в культуре, трансфецировали плазмидой, содержащей ген синаптобревина, конъюгированного с флуорином (pHluogin) – pH-чувствительным флуоресцентным белком. При pH 5,5 и ниже флуорин не флуоресцирует, а при pH 6 и выше – начинает интенсивно флуоресцировать в зеленой области спектра. Первичная структура синаптобревина приведена на рисунке ниже:



2.1. Какие утверждения о синаптобревин-флуорине верны? (1,2 балла)

А. Если конъюгировать флуорин с N-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция будет расти.

Б. Если конъюгировать флуорин с N-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция будет уменьшаться.

В. Если конъюгировать флуорин с N-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция не изменится.

Г. Если конъюгировать флуорин с C-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция будет расти.

Д. Если конъюгировать флуорин с C-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция будет уменьшаться.

Е. Если конъюгировать флуорин с C-концом синаптобревина, то при экзоцитозе флуоресценция не изменится.

В видеофайле 2 содержится запись эксперимента, в котором клетки, описанные выше, подвергались электрической стимуляции. После этого в клеткам был добавлен хлорид аммония. В финальной части эксперимента добавлялся MES-буфер (pH-5.0).

2.2. Какие из приведенных относительно этого эксперимента утверждений являются верными? (0,8 балла)

А. Электрическая стимуляция приводит к слиянию незначительной доли синаптических везикул.

Б. Компенсаторный эндоцитоз осуществляется в течение 100 – 200 мсек.

В. Хлорид аммония стимулирует экзоцитоз синаптических везикул.

Г. MES-буфер стимулирует компенсаторный эндоцитоз.

2.3. Как изменилась бы интенсивность флуоресценции в эксперименте, если бы к клеткам добавили 300 мМ раствор хлорида калия? Ответ поясните. (2 балла)

2.4. На рисунке 2.4. в листе ответов изображена интенсивность флуоресценции отдельного взятого региона в ходе эксперимента. Отметьте на графике суммарную флуоресценцию всего синаптобревина в клетке (СС), поверхностного пула синаптобревина (ПС) и внутриклеточного синаптобревина (ВС). (2 балла).

2.5. Изобразите, как бы выглядел график интенсивности флуоресценции, если бы схожий эксперимент проходил в бескальциевом растворе. (2 балла)

Задание 3. Разнообразие строения синапсов. (5 баллов)

На рисунке 2 (см. Приложение) изображены электронные микрофотографии препаратов гиппокампа и сердца, содержащие синапсы.

3.1. На каких картинках изображены синапсы кардиомиоцита? (0,8 балла)

3.2. По каким характерным признакам синапсов кардиомиоцитов вы это определили? (1,4 балла)

- А. Более широкая синаптическая щель в химическом синапсе.
- Б. Варикозные расширения пресинаптической мембраны.
- В. Наличие везикул.
- Г. Уплотнение постсинаптической мембраны.
- Д. Большая площадь контакта в электрическом синапсе.
- Е. Наличие астроцитов.
- Ж. Наличие сквозных межклеточных каналов, окруженных мембраной (синцития)

3.3. С какими свойствами кардиомиоцита связаны данные особенности их синапсов? (1,8 балла)

- А. Ca^{2+} для активации сократительного аппарата выделяется только из саркоплазматического ретикулума.
- Б. Потенциал действия приводит к деполяризации мембраны саркоплазматического ретикулума и к выходу из него Ca^{2+}
- В. Т-трубочки развиты слабо, поэтому дигидропиридиновые рецепторы расположены в основном в саркоплазматическом ретикулуме.
- Г. В нейроне электромеханическое сопряжение быстро нарушается при удалении Ca^{2+} из наружной среды, а в сердечной сравнительно устойчиво к такому воздействию.
- Д. В кардиомиоцитах основной мишенью Ca^{2+} является белок кальмодулин.
- Е. Скорость передачи возбуждения с нерва на кардиомиоцит ниже.
- Ж. Длительность нахождения медиатора в щели больше.
- З. Передача осуществляется через рецепторы канального типа.
- И. Для осуществления эффекта аксон может иннервировать не все кардиомиоциты.

3.4. Какие белки можно обнаружить в классическом электрическом синапсе кардиомиоцита? (1 балл)

- А. Синаптобrevин.
- Б. Коннексин.
- В. Никотиновый холинорецептор.
- Г. Переносчик глутамата.
- Д. Клатрин.

Желаем удачи!!!