

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. Раннее 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 АМ, 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)

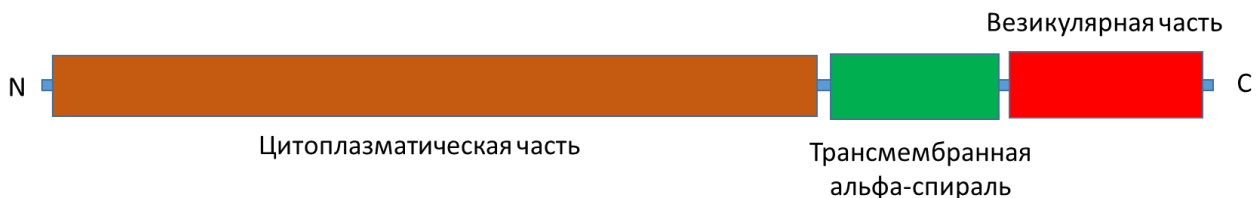
- А. В нейронах присутствуют Са-каналы L-типа.
- Б. В нейронах отсутствуют Са-каналы L-типа.
- В. В кардиомиоцитах присутствуют Са-каналы L-типа.
- Г. В кардиомиоцитах отсутствуют Са-каналы L-типа.
- Д. В нейронах присутствуют Са-каналы, отличные от L-типа.
- Е. В нейронах отсутствуют Са-каналы, отличные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

Синаптобrevин – трансмембранный везикулярный белок. В этом эксперименте клетки гиппокампа мыши, растущие в культуре, трансфецировали плазмидой, содержащей ген синаптобrevина, конъюгированного с флуорином (pHluorin) – 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 синаптобrevина приведена на рисунке ниже:



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

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

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

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

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

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

Е. Если конъюгировать флуорин с C-концом синаптобrevина, 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 mM раствор хлорида калия? Ответ поясните. (2 балла)

2.4. На рисунке 2.4. в листе ответов изображена интенсивность флуоресценции отдельно взятого региона в ходе эксперимента. Отметьте на графике суммарную флуоресценцию всего синаптобrevина в клетке (СС), поверхностного пула синаптобrevина (ПС) и внутриклеточного синаптобrevина (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!!!