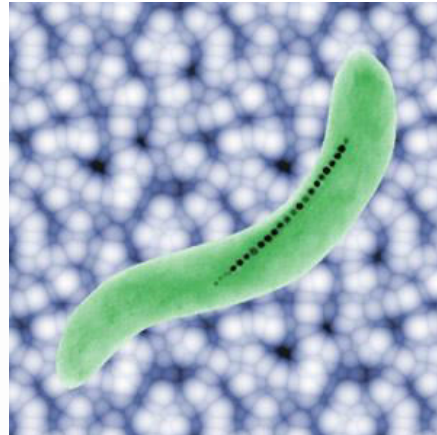


### Задача 1. Магнетобактерии (Никельшпарг Э.И.) (10 баллов)



На рисунке показан очень необычный микроорганизм. Это магнетобактерия рода *Magnetospirillum*.

Внутри бактерии находятся округлые нанокристаллы, покрытые липидной оболочкой.

1. Как вы думаете, из чего состоят эти кристаллы (1 балл)? Может ли это соединение существовать в природе (1 балл)? Какое свойство определило название бактерий (1 балл)? Из чего теоретически могут состоять подобные нанокристаллы (1 балл)? Встречаются ли они у представителей царства животных (1 балл)?
2. Где живут эти бактерии и зачем им это свойство (3 балла)?
3. Пофантазируйте, как можно использовать эти кристаллы в промышленности, технике, в научных исследованиях (2 балла).

#### Ответ

- a) Внутри бактерии находятся *кристаллы магнетита*  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  диаметром 30-120 нм, покрытые липидной оболочкой.
- b) Магнетит – широко распространённый в природе минерал чёрного цвета, который образует рудные залежи.
- c) Магнетит обладает сильными ферромагнитными свойствами. Благодаря кристаллам магнетита, бактерии обладают *магнитотаксисом*, т.е. могут ориентироваться в магнитном поле. Именно это свойство определило название бактерий. Следует заметить, что использовать понятие *таксиса* в данном случае нужно с оговоркой, так как бактерии ориентируются по магнитному полю пассивно, причем как живые, так и мертвые.
- d) Если магнитотаксис – это основное свойство бактерий, то, теоретически, нанокристаллы могут состоять из любого соединения с магнитными свойствами. Например, из грейгита ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ), феррита кобальта ( $\text{CoO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) и многих других.
- e) Биогенный магнетит встречается у представителей царства животных. Первый организм, в котором были обнаружены кристаллы магнетита, — это хитон (морской моллюск класса *Polyplacophora*). Моллюски семейства *Chitonidae* откладывают в зубцах радулы лепидокрокит ( $\text{Fe}^{3+}\text{OOH}$ ) и франколит ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3\text{F}$ ). Существуют данные, что кристаллы магнетита найдены у насекомых, птиц и некоторых млекопитающих, однако роль магнетита как сенсора магнитного поля у животных требует дальнейших исследований.

*Литература:*

1. Трусов Л.А. Бактерии знают толк в магнитных наночастицах ([http://www.nanometer.ru/2007/12/21/magnetizm\\_5467.html](http://www.nanometer.ru/2007/12/21/magnetizm_5467.html))
2. Киршвник Дж. Биогенный магнетит и магниторецепция. Новое о биомagnetизме. Т.2 – М.: Мир, 1989. – 525 с.  
(<http://booksshare.net/index.php?id1=4&category=biol&author=kirshvnik-dj&book=1989&page=31>)
3. Никельшпарг Э. Нобель vs. Шнобель, или механизмы магниторецепции/ Биомолекула.ру, 2014 (<http://biomolecula.ru/content/1484>)
4. Белов К.П. Загадки магнетита/ Соросовский образовательный журнал, Т. 6, №4, 2000 (<http://www.valtar.ru/Magnets3/magnets1.htm> или <http://www.valtar.ru/Magnets3/magnets1.pdf>)

2. Это водные донные бактерии, обитающие как в пресных водоемах, так и в морях. Они предпочитают жить в условиях низкого содержания кислорода, т.е. являются микроаэрофилами. С помощью кристаллов магнетита они располагаются по силовым линиям магнитного поля. Так как силовые линии магнитного поля Земли расположены под углом, бактерии все время идут ко дну, где меньше кислорода и больше пищи. Причем, в северном полушарии они плывут на север, а в южном – на юг.

*Литература:*

Громов Б.В. Поведение бактерий/ Соросовский образовательный журнал №6, 1997  
([http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9706\\_028.pdf](http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9706_028.pdf))

3. Магнетосомы обладают рядом полезных свойств: малый размер (30-120 нм), одномерная структура, высокая коэрцитивная сила (2600 А/м), покрыты липидной оболочкой, их производство экологично и не имеет побочных токсичных продуктов. Благодаря наличию липидной оболочки, магнетосомы можно функционализировать, т.е. пришивать к ним определенные соединения (антитела, лиганды к определенным рецепторам, ферменты, ДНК и т.д.). Всё это определяет их потенциальные возможности при использовании в различных областях.

Несколько примеров использования магнетосом из литературы:

- Очистка сточных вод от тяжелых металлов;
- Использование в электронике в качестве одномерных магнитных наноструктур и нанопроводов;
- Использование в качестве одномерных темплатов – матриц для формирования более сложных наноструктур. Они могут являться темплатами сами по себе, а могут присоединять другие молекулы, например, ДНК;
- Создание новых магнитных материалов;
- Транспортировка микрообъектов. Уже сейчас магнетобактерии научились использовать для перемещения бусин диаметром 3 мкм на небольшие расстояния со скоростью 7 мкм/с;
- Адресная доставка лекарственных препаратов;
- Магнитное разделение клеток крови (например, макрофагов, которые фагоцитируют магнитные наночастицы);
- Создание контрастных соединений для получения изображений МРТ;
- Лечение опухоли путем гипертермии;
- Трансформация микроорганизмов, т.е. способ введения чужеродной ДНК путем обстрела клеток комплексом [Магнетосома+ДНК].

*Литература:*

1. Трусов Л.А. Золотые нанопроводочки из ДНК-оригами/ Нанометр.ру, 2011 ([http://www.nanometer.ru/2011/03/01/dnk\\_256517.html](http://www.nanometer.ru/2011/03/01/dnk_256517.html))
2. Словарь нанотехнологических терминов (<http://thesaurus.rusnano.com/wiki/article23635>)

3. Jiayin Yuan et al. One-dimensional magnetic inorganic–organic hybrid nanomaterials/ *Polymer*, V. 51, 18, P. 4015–4036, 2010

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238611000604X>)

4. Lei Yan et al. Magnetotactic bacteria, magnetosomes and their application/ *Microbiological Research*, V. 167, 9, P. 512–523, 2012

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450131200047X>)

- f) Внутри бактерии находятся *кристаллы магнетита*  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  диаметром 30-120 нм, покрытые липидной оболочкой.
- g) Магнетит – широко распространённый в природе минерал чёрного цвета, который образует рудные залежи.
- h) Магнетит обладает сильными ферромагнитными свойствами. Благодаря кристаллам магнетита, бактерии обладают *магнитотаксисом*, т.е. могут ориентироваться в магнитном поле. Именно это свойство определило название бактерий. Следует заметить, что использовать понятие *таксиса* в данном случае нужно с оговоркой, так как бактерии ориентируются по магнитному полю пассивно, причем как живые, так и мертвые.
- i) Если магнитотаксис – это основное свойство бактерий, то, теоретически, нанокристаллы могут состоять из любого соединения с магнитными свойствами. Например, из греггита ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ), феррита кобальта ( $\text{CoO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) и многих других.
- j) Биогенный магнетит встречается у представителей царства животных. Первый организм, в котором были обнаружены кристаллы магнетита, — это хитон (морской моллюск класса *Polyplacophora*). Моллюски семейства *Chitonidae* откладывают в зубах радулы лепидокрокит ( $\text{Fe}^{3+}\text{OOH}$ ) и франколит ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3\text{F}$ ). Существуют данные, что кристаллы магнетита найдены у насекомых, птиц и некоторых млекопитающих, однако роль магнетита как сенсора магнитного поля у животных требует дальнейших исследований.

#### Литература:

- 5. Трусов Л.А. Бактерии знают толк в магнитных наночастицах ([http://www.nanometer.ru/2007/12/21/magnetizm\\_5467.html](http://www.nanometer.ru/2007/12/21/magnetizm_5467.html))
- 6. Киршвник Дж. Биогенный магнетит и магниторецепция. Новое о биомagnetизме. Т.2 – М.: Мир, 1989. – 525 с.  
(<http://booksshare.net/index.php?id1=4&category=biol&author=kirshvnik-dj&book=1989&page=31>)
- 7. Никельшпарг Э. Нобель vs. Шнобель, или механизмы магниторецепции/ Биомолекула.ру, 2014 (<http://biomolecula.ru/content/1484>)
- 8. Белов К.П. Загадки магнетита/ Соросовский образовательный журнал, Т. 6, №4, 2000 (<http://www.valtar.ru/Magnets3/magnets1.htm> или <http://www.valtar.ru/Magnets3/magnets1.pdf>)

2. Это водные донные бактерии, обитающие как в пресных водоемах, так и в морях. Они предпочитают жить в условиях низкого содержания кислорода, т.е. являются микроаэрофилами. С помощью кристаллов магнетита они располагаются по силовым линиям магнитного поля. Так как силовые линии магнитного поля Земли расположены под углом, бактерии все время идут ко дну, где меньше кислорода и больше пищи. Причем, в северном полушарии они плывут на север, а в южном – на юг.

#### Литература:

Громов Б.В. Поведение бактерий/ Соросовский образовательный журнал №6, 1997  
([http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9706\\_028.pdf](http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9706_028.pdf))

3. Магнетосомы обладают рядом полезных свойств: малый размер (30-120 нм), одномерная структура, высокая коэрцитивная сила (2600 А/м), покрыты липидной оболочкой, их производство экологично и не имеет побочных токсичных продуктов. Благодаря наличию липидной оболочки, магнетосомы можно функционализировать, т.е. пришивать к ним

определенные соединения (антитела, лиганды к определенным рецепторам, ферменты, ДНК и т.д.). Всё это определяет их потенциальные возможности при использовании в различных областях.

Несколько примеров использования магнетосом из литературы:

- Очистка сточных вод от тяжелых металлов;
- Использование в электронике в качестве одномерных магнитных наноструктур и нанопроводов;
- Использование в качестве одномерных темплатов – матриц для формирования более сложных наноструктур. Они могут являться темплатами сами по себе, а могут присоединять другие молекулы, например, ДНК;
- Создание новых магнитных материалов;
- Транспортировка микрообъектов. Уже сейчас магнетобактерии научились использовать для перемещения бусин диаметром 3 мкм на небольшие расстояния со скоростью 7 мкм/с;
- Адресная доставка лекарственных препаратов;
- Магнитное разделение клеток крови (например, макрофагов, которые фагоцитируют магнитные наночастицы);
- Создание контрастных соединений для получения изображений МРТ;
- Лечение опухоли путем гипертермии;
- Трансформация микроорганизмов, т.е. способ введения чужеродной ДНК путем обстрела клеток комплексом [Магнетосома+ДНК].

*Литература:*

1. Трусов Л.А. Золотые нанопроводочки из ДНК-оригами/ Нанометр.ру, 2011 ([http://www.nanometer.ru/2011/03/01/dnk\\_256517.html](http://www.nanometer.ru/2011/03/01/dnk_256517.html))
2. Словарь нанотехнологических терминов (<http://thesaurus.rusnano.com/wiki/article23635>)
3. Jiayin Yuan et al. One-dimensional magnetic inorganic–organic hybrid nanomaterials/ Polymer, V. 51, 18, P. 4015–4036, 2010 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003238611000604X>)
4. Lei Yan et al. Magnetotactic bacteria, magnetosomes and their application/ Microbiological Research, V. 167, 9, P. 512-523, 2012 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094450131200047X>)

## **Задача 2. Пигменты или наноструктуры? (Байжуманов А.А.) (5 баллов)**

Наноструктуры, созданные природой, служат источником вдохновения для нанобиотехнологов. В последние годы при изучении оперения птиц и крыльев бабочек было обнаружено, что их окраска у некоторых видов может определяться как пигментами (меланином и липохромами), так и особой структурой пера или крыла. Так, например, меланин ответственен за желтый, коричневый, черный и красно бурый цвета, а липохром – за красный, зеленый, синий и другие яркие цвета. Было обнаружено, что поверхность крыла бабочки состоит из чешуек, в основе которых лежат наноразмерные структуры. Поскольку у структуры крыла и воздуха коэффициент преломления различен, то при попадании на крыло солнечного света возникают различные световые явления, такие, как рефракция и интерференция. Также похожие процессы ответственны за окраску хвоста, например, у павлина, перья которого имеют особую наноструктуру из меланина и кератина. Кроме окраски, наночастицы играют большую роль для придания твердости биологическим материалам, например, костям, зубам или панцирю.

### **Вопросы:**

- 1) Известно, что, например, цвет пера фламинго определяется их рационом. Как Вы думаете, будет ли изменение в питании павлинов влиять на окраску их хвостовых перьев? Обоснуйте свое мнение. **(1 балл)**
- 2) Невооруженный человеческий глаз не может различить на расстоянии более 25 см структуры с размером меньше 0,05 мм. Как Вы думаете, можно ли “на глаз” определить при сравнении двух зеленых перьев, отвечают ли за их окраску пигменты или наноструктуры? Если Вы думаете, что возможно их отличить невооруженным взглядом, то предложите, как? **(1 балл)**
- 3) Ученые научились создавать структуры, похожие на наноструктуры чешуек крыльев бабочек. Как Вы думаете, в каких областях это умение найдет в будущем свое применение? Приведите примеры. **(2 балла)**
- 4) Как Вы думаете, что объединяет с точки зрения строения такие биоструктуры, как: зуб, кость и панцирь? **(1 балл)**

### **Ответы:**

- 1) Розовый цвет пера фламинго определяется тем, что они поедают рачков определенного вида, хитин которых содержит каротиноиды (липохромы). У павлина цвет хвостовых перьев определяется не пигментами, а особой микроструктурой, которая скорее всего не зависит от его рациона питания.
- 2) Это можно сделать и невооруженным взглядом, так как у тех перьев цвет которых определяется в основном не пигментом, а микроструктурой - наблюдается такое явление как интерференция. Таким образом, при изменении угла зрения – вы увидите и изменение в окраске пера. Так же известно, что те перья – чей зеленый цвет определяется липохромами – теряют окраску при хранении на солнце, а также при воздействии спирта.
- 3) Это может помочь для создания оптических волноводов, оптических разветвителей и прочих составных блоков фотонных интегральных схем. Это может помочь при создании новых «цветных» тканей и бумаги без красителей. Подобные микроструктуры ученые планируют использовать для защиты банкнот, ценных бумаг и банковских карт от подделки. Для создания нового типа мониторов и принтеров.
- 4) Это наиболее крепкие из материалов биологического происхождения. Объединяет их то, что их прочность определяется твердыми наночастицами минералов «склеенными» мягкой белковой матрицей.

### Задача 3. Миниатюризация в природе (Байжуманов А.А.) (8 баллов)

Если Вы читали сказку про Карика и Валю, то помните, что они выпили волшебный эликсир и превратились в маленьких человечков. На стрекозе они отправились изучать микромир. В развитие нанобиотехнологий большой вклад вносит изучение живых существ, которые образовались в ходе эволюции, приведшей к миниатюризации. В настоящее время особое внимание приковано к изучению миниатюрных насекомых, чей размер тела составляет от 140 до 1000 мкм. В процессе эволюции этой группы насекомых появились виды, размер особей которых меньше размера их крупных сородичей в 2000 раз.

#### Вопросы:

- 1) Выскажите свои предположения, какие изменения в их морфологии дали им возможность стать такими маленькими (**4 балла**)? Как это может помочь для дальнейшего развития микроробототехники (**1 балл**)?
- 2) Как вы думаете, какие ограничения существуют для их дальнейшей миниатюризации? (**3 балла**)

#### Ответы:

- 1) А) Процесс миниатюризации насекомых проходит несколькими путями, путем редукции и модификации. Редукция органов наблюдается при изменении образа жизни, например переходе к паразитическому образу жизни. Это можно сравнить с тем, что изобретенный микроробот будет выполнять ограниченный набор функций, то есть будет узкоспециализированным. Было обнаружено, что уменьшение размеров не приводит к сильному упрощению строения у большинства микронасекомых. Несмотря на миниатюризацию большинство органов сохраняют их план строения. Так в работе доктора биологических наук Полилова А.А. было показано, что «у микронасекомых в целом системы органов, эффективность которых определяется площадью поверхности (метаболические системы) или скоростью диффузии (ткани внутренней среды и трахейная система), возрастающими при уменьшении размеров тела, меняются изометрически или уменьшают свой относительный объем при уменьшении размеров тела». Органы кроветворения и дыхания подверглись наиболее сильному упрощению, за счет того, что при маленьких размерах не нужен разветвлённый транспорт по доставке кислорода и питательных веществ. При уменьшении размеров тела у насекомых сократилось число оформленных элементов экзоскелета, упростился эндоскелет. Миниатюризация приводит к тому, что ЦНС в целом и мозг в частности демонстрируют значительное непропорциональное увеличение объема при уменьшении размеров тела. Сходные процессы наблюдаются в половой системе. У некоторых насекомых нейроны лишены ядер.  
В) Подобные миниатюрные насекомые могут служить примером, для создания наномашин. Например, многочисленные реснитчатые выросты, позволяющие парить в воздухе, могут служить примером для создания летающих нанороботов. Внешний скелет микронасекомых может служить прототипом каркаса наноробота. Исследование структуры и функционирования безъядерных нейронов поможет в создании механического аналога нейрона. В целом, эти наблюдения будут важны в будущем для создания полифункциональных микророботов способных к саморепродукции. Если роботам не нужно будет саморепродуцироваться, то для их компьютерного мозга будет отведено еще больше места.
- 2) При изучении микронасекомых было обнаружено, что фактором, лимитирующим уменьшение их размеров тела является объем ЦНС, который, в свою очередь,

лимитирован консервативностью строения и ультраструктуры, числом и размером нейронов, а также минимальным диаметром отростков. Для свободноживущих насекомых: их уменьшение ограничено размером яйца, то есть соответственно объемом половой системы. Таким образом, можно сделать вывод, что для микророботов основным лимитирующим фактором будет размер компьютерного мозга.

#### **Задача 4. Стой, кто идет! (Браже Н.А.) (11 баллов)**

Школьники Маша и Миша пришли на экскурсию в нейрофизиологическую лабораторию и были крайне удивлены, узнав, что сотрудники лаборатории изучают устройство и работу какого-то барьера в мозге и что для этого они используют сложные конструкции золотых наночастиц со светящимися молекулами – флуоресцентными зондами – и не просто на ком-то, а на мышах с болезнью Альцгеймера. Маша тут же забеспокоилась: “А у нас в мозге есть этот барьер? Он не мешает нервным клеткам работать? Мы из-за него не заболеем?” Заведующий лабораторией стал увлеченно рассказывать ребятам про то, что именно благодаря этому удивительному барьеру мозг сохраняет здоровье, получает только необходимые вещества и не страдает от действия токсических веществ, которые могут попасть в кровь. “Обязательно займемся изучением этого барьера”, - решили ребята по пути домой. И тут они вспомнили, что так и не спросили, как же этот барьер называется, как он устроен и зачем ученым нужны были наноконструкции из золота и флуоресцентных зондов. Чтобы помочь ребятам разобраться, ответьте на следующие **вопросы**:

1. О каком барьере идет речь? Как он устроен (перечислите клетки, образующие его, и опишите их функцию) и какие вещества пропускает в нервную ткань, а какие нет? **(1,5 балла)**
2. Какие свойства таинственного барьера сотрудники лаборатории исследовали при помощи наноконструкций **(1,5 балла)**? Какие еще методы можно использовать для изучения структуры и функции упомянутого барьера **(2 балла)**?
3. Почему для исследования проницаемости барьера ученые использовали мышей с болезнью Альцгеймера? **(2 балла)**
4. Какие заболевания могут привести к нарушениям в работе барьера и к каким последствиям это может привести? **(2 балла)**
5. Пофантазируйте и предложите способ замены участков поврежденного барьера. **(2 балла)**

#### **Ответы:**

1. Речь идет о гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ). Его образуют эндотелиальные клетки, отростки (так называемые “ножки”) астроцитов и перициты. ГЭБ является высокоселективным “фильтром” в мозге. Его задача – пропускать в мозг только нужные питательные вещества, некоторые пептиды и кислород, не пропуская иммунные факторы, токсические вещества, большинство видов бактерий и продукты их жизнедеятельности, многие лекарственные препараты и антитела и др. При этом через ГЭБ из мозга выводятся продукты жизнедеятельности мозга и CO<sub>2</sub>. Существуют некоторые сигнальные низкомолекулярные молекулы, которые проходят через ГЭБ в обе стороны. Ярким примером является оксид азота (II), который является внутриклеточной сигнальной молекулой в нервной ткани, регулятором пролиферации и специализации клеток-предшественников глии и нейронов, а также регулятором диаметра кровеносных сосудов.
2. При помощи наноконструкций сотрудники лаборатории исследовали проницаемость ГЭБ. Для изучения структуры и проницаемости ГЭБ в норме можно еще использовать радиоактивно меченные вещества, проникающие через ГЭБ при его нормальном состоянии или при патологии. В случае патологически увеличенной проницаемости ГЭБ используют флуоресцентно-меченные молекулы, которые в норме не проникают через барьер.
3. Ученые использовали мышей с болезнью Альцгеймера, потому что при этой патологии нарушается структура ГЭБ и он становится проницаем для большего количества веществ, чем в норме. Ученые предполагают, что при этой болезни нарушается структура ножек астроцитов, обхватывающих капилляр, что приводит к их повышенной проницаемости к микрообъектам.
4. Также структура и функционирование ГЭБ нарушены при бактериальном менингите, болезни Лайма (боррелиозе), сифилисе, некоторых видах рака мозга, тяжелых видах эпилепсии,



рассеянном склерозе, ВИЧ-индуцированных энцефалитах. В случае каждой из перечисленных болезней нарушаются разные клеточные компоненты ГЭБ, приводя к увеличению проницаемости барьера, в том числе, к бактериям и вирусам. Любое поражение ГЭБ опасно тем, что нервные клетки будут подвергаться действию токсических веществ, попавших в кровь. Кроме того, резко увеличивается вероятность развития бактериальных и вирусных инфекций мозга, которые плохо поддаются лечению и имеют тяжелые осложнения.

5. Принимается любой обоснованный ответ с описанным механизмом предполагаемого восстановления ГЭБ. Например: активация в зоне поражения деления и дифференциации предшественников астроцитов, которые образуют “ножки” вокруг капилляров, индукция синтеза белков плотных контактов в эндотелиальных клетках и эритроцитов (для восстановления плотных контактов между эндотелиальными клетками и астроцитами).

### **Задача 5. “Наногербициды” (Браже Н.А.) (12 баллов)**

Представьте, что ученые изобрели уникальный селективный гербицидный препарат, основанный на наночастицах золота и серебра или углеродных нанотрубках. Предварительные испытания в теплицах показали, что внесение наноструктур в воду для полива приводит к их преимущественному накоплению в сорняках и в меньшей степени – в культурных растениях, что вызывает засыхание первых и не влияет на рост вторых. Несмотря на положительный результат, использовать пестицид на полях нельзя до проведения дополнительных исследований.

#### **Вопросы:**

1. Предположите возможный механизм губительного действия наноструктур на сорняки на фоне сравнительно небольшого действия на культурные растения. **(2 балла)**
2. Какие еще экологические исследования необходимо провести, чтобы можно было сделать вывод о возможности использования нового препарата для борьбы с сорняками на полях? **(2 балла)**
3. Какие исследования необходимо провести, чтобы установить пригодность культурных растений для использования людьми в пищевой промышленности или животноводстве после применения “наногербицида” **(2 балла)**? В каких случаях растения будут пригодны в пищу **(1 балл)**?
4. Перечислите общие требования к подобному “наногербициду”, чтобы его можно было использовать в сельском хозяйстве. **(2 балла)**
5. Предположите и обоснуйте, какой из типов наноструктур может оказать наиболее губительное действие на сорняки и наиболее неблагоприятное действие на культурные растения, делая их непригодными к использованию? **(1 балл)**
6. А как на самом деле в сельском хозяйстве делают культурные растения нечувствительными к гербицидам, убивающим сорняки? **(2 балла)**

#### **Ответ**

1. В данном случае можно предположить, что поскольку сорняки засыхали, то наноструктуры накапливались в их проводящей системе, останавливая нормальное поглощение воды из почвы. По всей видимости, меньшая уязвимость культурных растений по сравнению с сорняками заключается в том, что сорняки больше и быстрее всасывают воду из почвы, что и приводит к повышенному накоплению наноструктур в их тканях. В качестве правильных считались любые другие ответы, в которых описывался предполагаемый механизм усиленного накопления наногербицида в сорных растениях.
2. Необходимо исследовать распределение и количество наноструктур в почве, оценить их возможное проникновение в грунтовые воды, а также возможность и последствия поедания растений-сорняков и культурных растений животными.
3. Необходимо определить, в каких частях растений накопились (если накопились) наноструктуры. Если они отсутствуют в тех частях растений, которые употребляются в пищу (например, в плодах, зернах, съедобных стеблях, корнеплодах и т.п.), то употреблять в пищу их можно. Хотя, учитывая внесение “наногербицидов” в почву при поливе, можно предположить, что овощи-корнеплоды использовать в пищу будет нельзя.
4. Основные требования: отсутствие накопления в почве и грунтовых водах, возможность удалить поврежденные сорняки с поля, чтобы препятствовать распространению наноструктур и их поедание дикими животными; отсутствие накопления в органах культурных растений, которые употребляются в пищу, отсутствие негативного влияния наногербицида на биохимические процессы в клетках культурного растения.
5. Возможно, что в данной ситуации наибольшим повреждающим действием будут обладать наноструктуры с отростками и шипами, позволяющие наноструктурами проникать в

проводящие ткани и накапливаться там. Возможно, что наибольшим токсическим действием будут обладать гидрофобные нанотрубки, обладающие высокой адгезионной способностью к любым мембранам и, в том числе, клеточным стенкам растений.

6. Один из способов достичь нечувствительности культурного растения к гербициду является генная модификация растения, изменяющая биохимические процессы в цитоплазме его клеток и, таким образом, делающая растение нечувствительным к гербицидам, которые разрушают или нарушают работы важных белков-ферментов в диких сорных растениях.

### **Задача 6. Нанороботы в организме (Байжуманов А.А.) (6 баллов)**

Представьте, что в недалеком будущем нанороботы уже будут активно использоваться как в медицине, так и в обеспечении закона. Людям, уличенным в агрессивном поведении или склонным к депрессии, будут имплантировать нанороботов серии АХ, функция которых заключается в наблюдении за уровнем вещества ВА. В норме эти нанороботы серии АХ будут накапливать вещество ВА в определенных создаваемых ими микродепо. При снижении концентрации вещества ВА ниже порогового уровня нанороботы будут высвобождать эти вещества из микродепо. Нанороботы серии ІХ будут следить за уровнем глюкозы и инсулина у людей с диагнозом инсулин-зависимый диабет. В их функцию будет входить поддержание уровня глюкозы и инсулина у пациентов на нормальном уровне.

#### **Вопросы:**

1. Какое реальное вещество, вырабатываемое в организме, мы зашифровали под аббревиатурой ВА. Ответ поясните. **(1 балл)**
2. Как Вы думаете, чем может быть вызвано повышение уровня вещества ВА, если наноробот серии АХ сломался и работает только наноробот серии ІХ? **(3 балла)**
3. Без каких продуктов в диете невозможна работа наноробота серии АХ? **(2 балла)**

#### **Ответы:**

1. Под названием ВА скрывается биогенный амин серотонин. Серотонин является нейромедиатором, известно, что сниженный уровень серотонина часто наблюдается при депрессиях, у животных чей отбор шел в сторону наиболее агрессивных особей – уровень серотонина ниже, чем у их обычных сородичей. Введение экзогенного серотонина – снижает агрессивность.
2. Для того чтобы в мозге синтезировался серотонин, необходима аминокислота триптофан, триптофан должен проникнуть через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ), а это возможно в случае когда повышается уровень глюкозы, в ответ на это повышается уровень инсулина, который дает «команду» другим аминокислотам, кроме триптофана, идти в ткани для синтеза белков. Таким образом, в крови становится больше концентрация триптофана и конкуренция между ним и другими аминокислотами снижается, в итоге больше триптофана проникает через ГЭБ и больше серотонина синтезируется. Таким образом, когда наноробот серии АХ сломан, то частично на себя его работу может взять наноробот серии ІХ, повышая концентрацию инсулина.
3. Для того, чтобы синтезировался серотонин, необходима аминокислота триптофан, так как серотонин является продуктом последовательного гидроксирования триптофана. Триптофан является незаменимой аминокислотой, его необходимо получать вместе с пищей. Высокое содержание триптофана в сырах, рыбе, орехах и т.д.

### **Задача 7. А что было вчера? (Пирутин С.) (10 баллов)**

Поведенческие эксперименты имеют важное значение в изучении физиологии центральной нервной системы (ЦНС), и особенно в исследованиях формирования памяти и обучения. В поведенческом эксперименте в результате однократного обучения у цыплят формировался устойчивый рефлекс отказа склевывать горькую бусинку, окрашенную другим цветом по сравнению с обычными бусинками. В ходе такого эксперимента формируется долговременная память, сохраняющаяся в течении нескольких дней, при этом цыплята почти в 100% пропускают горькую бусинку и склевывают остальные.

#### **Вопросы:**

1. Какие меж-и внутриклеточные процессы в нервных клетках отвечают за формирование памяти (**2 балла**)? Что такое кратковременная и долговременная памяти и чем отличаются условия, необходимые для их формирования (**0,5 балла**)?
2. Какое поведение цыплят ожидается в указанных выше условиях, если им ввести ингибитор синтеза белка непосредственно перед первым обучением (**1 балл**)?
3. Каким будет поведение цыплят через сутки после проведения первого обучающего эксперимента с горькими бусинками (**0,5 балла**)? Каким будет поведение цыплят, если после первого успешного обучения избегать горькие бусинки цыплятам ввести ингибитор синтеза белка непосредственно перед вторым обучением (**1 балл**)?
4. С точки зрения современных представлений о молекулярных механизмах памяти кратко объясните действие ингибитора синтеза белка на результат экспериментов (1 балл). Какие возможны побочные действия от приема ингибитора (**1 балл**)?
5. В каких жизненных ситуациях психологам и врачам требуется помочь пациенту забыть пережитые впечатления и полученный опыт (**1 балл**)?
6. При помощи каких методов можно на мозге животного в условиях *in vivo* исследовать активацию синапсов и формирование памяти (**1 балл**)? Какие генно-инженерные и нанобиотехнологические подходы при этом используются (**1 балл**)?

#### **Ответы:**

1. Межклеточные процессы – это синаптическая передача и формирование новых синапсов, изменение морфологии нейрональных отростков и образование и сохранение новых сетей синаптически связанных между собой нейронов, процессы регуляции локального кислородоснабжения активирующейся области мозга. Внутриклеточные процессы: на самых начальных этапах – это активация ряда мембранных белков (каналов, обменников, рецепторов, АТФаз), изменение мембранного потенциала и генерация потенциалов действия на аксоне, изменение ионного состава цитоплазмы и изменение активности многих ферментов. В следующие часы при сильном обучающем стимуле происходят транскрипция и трансляция, необходимые для синтеза новых цитоплазматических и мембранных белков, используемых для формирования и закрепления образованных синапсов.
2. Долговременная память на условия у животных не сохраняется, они склевывают горькие бусинки как будто видя их в первый раз.
3. В отсутствие ингибитор синтеза белка формируется долговременная память, сохраняющаяся в течении нескольких дней, цыплята почти в 100% пропускают горькую бусинку и склевывают остальные. Если ингибитор ввести цыплятам непосредственно перед вторым аналогичным обучением, то они теряют уже сформированную после первого обучения долговременную память реагирования на указанные выше условия и она не формируется после второго обучения.
4. По современным представлениям, новизна ситуации при обучении вызывает экспрессию определенных генов в нейронах и синтез белков, необходимых для поддержания синапсов, и некоторых неспецифических белков, которые поступая в синапсы, активируют их, в результате чего активные нейроны формируют каскады долговременной памяти. Ингибиторы нарушают

этот процесс. По существующим современным данным происходит периодическая перезапись существующей памяти при возникновении сходной с запомненной ситуации с учетом новизны. В связи с этим ингибитор, введенный цыплятам непосредственно перед вторым обучением, способствует возникновению полной амнезии у них на эту ситуацию.

5. Психиатрам известно, что жертвы катастроф, преступлений или участники военных действий часто сталкиваются с посттравматическим стрессовым расстройством: они слишком хорошо помнят пережитое. И когда, к примеру, при одном запахе дыма от костра у человека встают перед глазами картины пожара или догорающие обломки на месте взрыва заложенной под дорогу мины – эта та память, которая скорее мешает. В соответствии с теорией консолидации памяти, негативная информация хранилась в кратковременной памяти и медленно, в течении часов или даже суток, переходила в долговременную форму. Далее при вызывании с помощью отдельных элементов запомненной ситуации происходит ее вспоминание и перезапись (реконсолидация). Этот процесс и надо нарушить и скорректировать без действия вредных для организма химических веществ. Для этого пользуются ретроактивная интерференция (постановка другой задачи или ситуации для испытуемого) в процессе перезаписи памяти. Здесь и можно корректировать ситуацию.

6. Один из неинвазивных методов – метод ядерной магнитной томографии. Другой крайне распространенный метод – это флуоресцентная (двухфотонная или конфокальная) микроскопия с использованием разнообразных мутантных мышей с вызванными отклонениями в синаптической передаче. В последнее время активно развивается оптогенетика, позволяющая ввести и экспрессировать в нейронах гены, кодирующие белки плазматической мембраны (рецепторы, каналы и т.д.) активирующиеся или ингибирующиеся при действии света определенной длины волны.

## Задача 8. Мыши, крысы, свиньи и биомедицинские исследования (Браже Н.А.) (13 баллов)

В биомедицинских исследованиях используются самые разнообразные объекты, начиная от бактерий и одноклеточных водорослей и заканчивая млекопитающими и, в том числе, высшими приматами. У каждого объекта есть свои преимущества и недостатки, при этом полученные результаты очень редко можно использовать в широких областях биологии и медицины, а как правило, можно применять только в определенных сферах дальнейших исследований или практических медицинских приложениях. То, насколько широко можно будет использовать полученные данные, зависит от универсальности исследуемой структуры/процесса, области применения результатов и назначения изобретения.

### Вопросы:

1. Какими принципами должен руководствоваться исследователь при выборе объекта для проведения следующих экспериментов: (а) для выявления базовых фундаментальных основ внутриклеточных процессов (**1 балл**); (б) для исследования действия нового лекарственного препарата на некий внутриклеточный процесс (**1 балл**); (в) для изучения приспособления живых организмов к экстремальным условиям (**1 балл**).
2. Почему в экспериментах по исследованию функций белков и генов с использованием генной инженерии часто используют беспозвоночных (например, мух *Drosophila*, круглых червей *C. elegans*) (**1 балл**)? Почему в генно-инженерных экспериментах на млекопитающих используют мышей, а не крыс (**1 балл**)?
3. Кто такие мини-свиньи, зачем они были выведены и почему их часто используют в экспериментах по изучению биохимических процессов (с переносом полученных данных на человека) и в экспериментах—тестах на действие лекарственных препаратов? (**2 балла**)
4. Вы хотите поставить эксперименты (а) по исследованию межклеточных взаимодействий в сети нейронов, активирующихся при синаптической передаче в ходе обучения (**2 балла**), (б) при тестировании антимикробного действия серебряных наноструктур (**2 балла**), (в) для проверки токсичности новых лекарственных препаратов, конъюгированных с наночастицами серебра или золота (например, для направленной доставки антиракового препарата в клетки) (**2 балла**). В Вашем распоряжении есть следующие объекты: бактерии, нематоды, пиявки, мыши, крысы, мини-свиньи, культуры клеток. Какие Вы выберете объекты для каждого исследования? Ответ поясните. Количество баллов зависит от обоснованности ответа и количества примеров.

### Ответы:

1. а. При выборе объекта исследования для любого эксперимента следует оценить, насколько универсальным, можно сказать, фундаментальным характером обладает исследуемое свойство клетки? Если изучаемый процесс или клеточная структура в эволюции возникли давно и мало менялись в разных эволюционных группах, то можно использовать наиболее удобный в данных экспериментальных условиях объект. Например, беспозвоночное животное, а не млекопитающее, клеточные культуры или изолированные клетки, а не препарат перфузированного органа или ткани. Так, многие фундаментальные открытия в нейрофизиологии (особенности синаптической передачи, механизм торможения, распространение нервных импульсов в сети нейронов, роль глиальных клеток в функционировании нервной системы) были сделаны на нервной системе медицинских пиявок и некоторых насекомых, например, пчел. Впоследствии было показано, что сходные механизмы лежат в основе работы нейрональных сетей в ЦНС у высших животных.

б. В этом случае необходимо выбрать объект исследования, у которого процесс, подверженный воздействию лекарственного препарата, будет наиболее близок к тому, который протекает в органах человека, для лечения которых и создается лекарство.

в. В этом случае надо использовать организмы, живущие в интересующих или подобных им экстремальных условиях, а в качестве контроля следует использовать организмы наиболее близкой эволюционной группы, но живущей в “нормальных”, неэкстремальных условиях.

2. В любых экспериментах, связанных с направленной модификацией генов для получения нужного признака, следует разводить несколько поколений – для закрепления нового признака. Мухи *Drosophila* и круглые черви *C. elegans* быстро размножаются и поэтому легко получить несколько потомств, изучить наследование нового признака и исследовать роль этого признака/процесса в жизнедеятельности организма. Генетически-модифицированных мышей используют значительно чаще, чем крыс, потому что мыши быстрее размножаются (поэтому можно быстрее получить новую линию генетически-модифицированных животных) и, кроме того, процесс генетической модификации мышей обходится дешевле, чем у крыс.

3. Мини-свиньи – это специально выведенная порода свиней, которые обладают значительно меньшими размерами, чем их “обычные” собратья. Они были выведены специально для медико-биологических экспериментов в 1980 г. и с тех пор используются во многих лабораториях. Кроме того, некоторые люди держат их дома в качестве питомцев. Наиболее активно мини-свиней используют в токсикологии, фармакологии (для исследования действия токсических веществ и их предельно допустимых доз, для тестирования новых лекарственных препаратов), в исследовании процессов старения и в трансплантологии. Такое применение мини-свиней связано с тем, что многие биохимические процессы в организме человека и свиней очень похожи, значительно ближе друг к другу, чем, например, у человека и широко используемых в биологии крыс и мышей.

4. а. В этом случае необходимо использовать животных, способных к обучению, то есть мышей, крыс или мини-свиней. Однако технически легче поставить эксперимент по обучению на мышах или крысах, а не свиньях, поэтому разумнее будет использовать именно грызунов.

б. Исходя из самого вопроса ясно, что речь идет о бактериях. Используя их и оценивая выживаемость бактерий при действии исследуемого препарата наночастиц, можно оценить эффективность антимикробного действия препарата. Конечно, можно использовать мышей или крыс с бактериальной инфекцией, вводя наночастицы в пораженный бактериями орган и оценивая терапевтическое действие препарата.

в. На начальной стадии исследования лучше и удобнее всего использовать культуру клеток. В последствие можно переходить к экспериментам на животных.



### Задача 9. Смертельная наноконструкция (Юсипович А.И.) (8 баллов)



Постепенно, но достаточно неуклонно нанотехнологии проникают в сферу здравоохранения. И хотя до применения нанороботов или наномашин для ремонта клеток еще очень далеко, нанотехнологии уже используются в таких областях медицины, как доставка лекарств к отдельным органам и тканям, тканевая инженерия, онкология и др. В настоящее время активно развиваются молекулярные конструкции, предназначенные для направленной доставки лекарств к определенным клеткам или их частям. Наиболее успешно такие конструкции можно использовать для уничтожения клеток злокачественных опухолей в организме, причем направленная доставка к опухолевым клеткам значительно увеличивает эффективность препарата, снижая его эффективную концентрацию и уменьшая побочные эффекты. Обычно такая конструкция состоит из нескольких модулей, выполняющих определенные задачи.

#### Вопросы:

Предложите вариант конструкции, предназначенной для направленного уничтожения опухолевых клеток. Для этого определите необходимое количество модулей и опишите назначение и функцию каждого модуля (**4 балла**). Опишите возможное устройство и механизмы действия модулей наноконструкции, необходимые для распознавания опухолевых клеток и проникновения в определенный клеточный компартмент для наиболее эффективного подавления жизнедеятельности клеток (**4 балла**).

#### Ответ

Для достижения максимального количества баллов участнику необходимо развернуто упомянуть следующие пункты и сделать краткое описание каждого модуля.

1. Предполагается, что конструкция содержит от 2 до 4 модулей, отвечающие за различные этапы проникновения конструкции в определенную органеллу клетки (ядро).
2. Должен быть описан модуль, отвечающий за проникновение конструкции в клетки определенного типа, или приведен вариант доставки конструкции к этим клеткам. Например, модуль связывается с уникальным рецептором на поверхности клетки и, внутри эндосомы

проникает внутрь клетки. Возможен вариант пассивного транспорта, но тогда должен быть описан механизм доставки конструкций к клетке, например, внесение конструкций внутрь опухоли во время пункции. Дополнительные баллы за упоминание модуля предназначенного для проникновения конструкции из эндосомы (аппарата Гольджи) в цитоплазму.

3. Должен быть описан модуль, предназначенный для уничтожения клетки, в его состав может входить фотосенсибилизатор, радиоизотоп, ДНК и др. Дополнительные баллы за соображения о защите этого модуля от преждевременного срабатывания вне своей мишени.
4. Должно быть указана необходимость проникновения такой конструкции в ядро, как наиболее уязвимой части клетки, либо в ответе должна быть обозначена позиция о том какую часть клетки считать наиболее уязвимой. Для модуля, отвечающего за проникновение в ядро должны быть описан механизм проникновения конструкции внутрь ядра. Упомянуто, что проникновение должно осуществляться посредством активного транспорта (пассивный менее желателен) через ядерную пору при помощи специально последовательности аминокислот в составе модуля – сигнала ядерной локализации, состоящего из нескольких молекул положительно заряженных аминокислот, аргинина и лизина.

## Борьба с наномашинной: Вирус Эбола (17 баллов)



Непрекращающаяся эпидемия болезни, вызываемой вирусом Эбола (ВЭ)\*, сейчас считается одной из главных мировых угроз. «Наномашина» этого вируса устроена довольно просто, но вызывает тяжелую и часто смертельную болезнь, от которой пока нет официальных вакцин и лекарств.

\* Род *Ebolavirus* из семейства *филовирюсов* делится на пять видов, человека поражают только 4 из них; нынешняя эпидемия вызвана одним из этих четырех – вирусом Эбола (вирусом Эбола Заир).

### Общие вопросы.

**1.** *Каков жизненный цикл ВЭ в природе? Каким образом он попадает к людям? Может ли штамм, вызвавший текущую эпидемию, будучи завезенным в нашу страну, «обосноваться» и вызывать повторные вспышки уже после полного окончания текущей эпидемии? (1,5 балла)*

Тяжесть протекания болезни и высокая смертность для человека создают впечатление, что Природа специально «выводила» максимально опасный для людей вирус.

**2.** *Так ли это? Объясните, откуда в природе берутся новые высокосмертельные для человека вирусы? Как вы думаете, повышается или понижается смертность ВЭ в ходе текущей эпидемии? Будущие вспышки ВЭ будут более или менее смертельными для человека? (2 балла)*

Анализ геномов Эболавирусов показывает, что человечество живет с ними рядом в течение как минимум тысячелетий, однако об этих вирусах стало известно лишь в 70-х годах прошлого века.

**3.** *Угрожали ли раньше Эболавирусы человечеству отдельными вспышками или эпидемиями? Участились ли за последние полвека вспышки Эболавирусов? Действительно ли повысилась связанная с ними опасность? Связано ли это с эволюцией вирусов? Поясните. (2,5 балла)*

### Диагностика.

Для борьбы с эпидемией важно уметь быстро выявлять и изолировать заболевших. На начальном этапе симптомы (лихорадка, головная боль) могут напоминать симптомы распространенных, но значительно менее опасных заболеваний.

**4.** *Вкратце перечислите, каковы основные «наноследы» присутствия ВЭ в организме? Как они выявляются? (1 балл)*

### Против наномашинны.

Чтобы понять какие уязвимые места есть в «наномашине» вируса, надо узнать, как она устроена и как работает.

5. Вкратце опишите, как устроен вирус Эбола и каковы основные стадии его жизненного цикла при попадании вовнутрь организма. Какие основные мишени (и на какой стадии жизненного цикла) для атаки вируса можно выделить? Поясните, на какой стадии жизненного цикла они уязвимы. (2 балла)

Несмотря на огромные потенциальные возможности нанотехнологий, на текущий момент при экспериментальном лечении больных ВЭ людей в качестве действующих веществ широко используются лишь несколько типов нанообъектов: **РНК** и **белки**.

6. Приведите примеры таких лекарств. Поясните, как они работают, если их принципы действия были «подсмотренные» у природы. Какие нанообъекты могут быть использованы для доставки к цели этих лекарств? (3 балла)

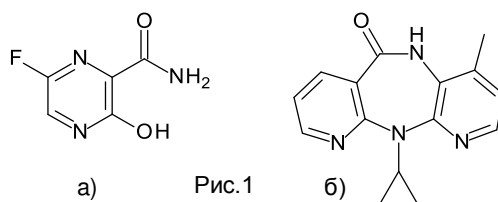
7. Как вы оцениваете эффективность предложенного в Нигерии нового экспериментального метода борьбы с ВЭ при помощи препарата **Nano Silver**? (1 балл)

В странах Африки, где бушует эпидемия, на черном рынке пользуется спросом кровь переболевших ВЭ людей.

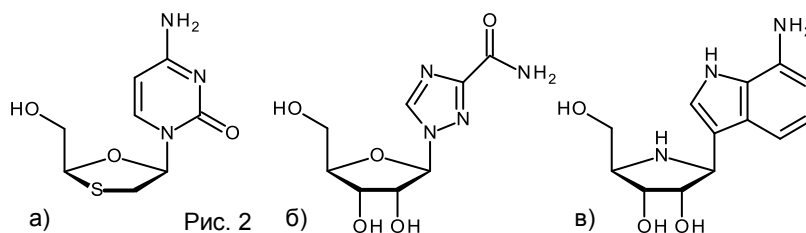
8. Может ли такая кровь использоваться для лечения ВЭ? Вкратце опишите, чем может быть опасно переливание такой крови. (1 балл)

Заманчиво, если бы для лечения ВЭ подошли какие-нибудь из многочисленных противовирусных препаратов, которые уже широко используются в медицинской практике.

9. Какое из двух лекарств – фавипиравир (рис. 1а, действует против вируса гриппа) или невиртапин (рис. 1б, против ВИЧ) – вы бы в первую очередь проверили на активность против вируса Эбола? Почему? (1 балл)



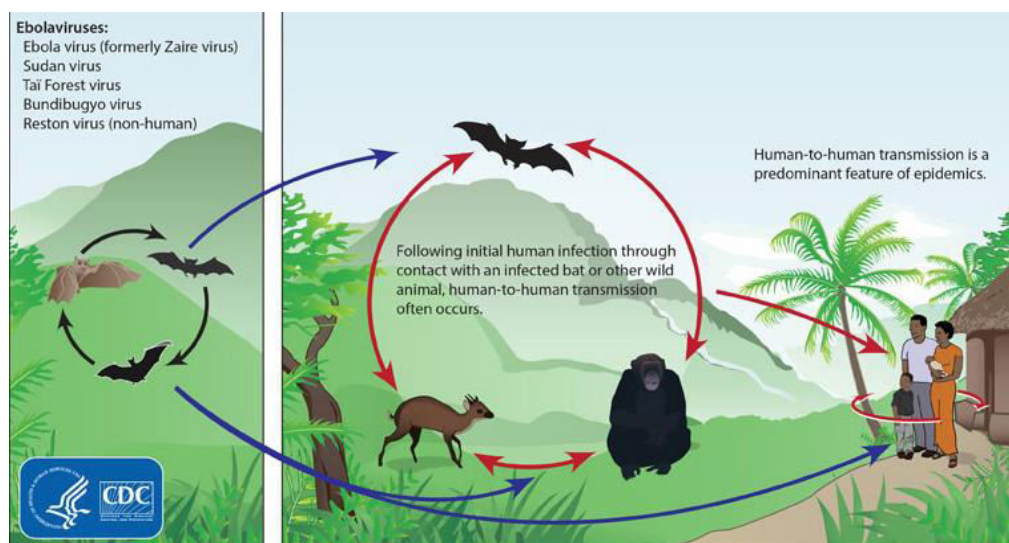
На рисунке 2 изображено несколько химических соединений, проявляющих активность против ВЭ в живой клетке:



10. Основываясь на структурах этих лекарств, предположите, что они могут «поломать» в жизненном цикле вируса. (2 балла)

## Ответ.

1. Каков жизненный цикл ВЭ в природе? Каким образом он попадает к людям? Может ли штамм, вызвавший текущую эпидемию, будучи завезенным в нашу страну, «обосноваться» и вызывать повторные вспышки уже после полного окончания текущей эпидемии? (1,5 балла)



Природный резервуар ВЭ – зоонозный, что означает, что вирус приобретает человеком от животных. Полагают, что естественными хозяевами вируса Эбола являются проживающие в тропических дождевых лесах питающиеся фруктами летучие мыши семейства Pteropodidae, среди которых постоянно циркулирует вирус. Время от времени от летучих мышей могут заразиться другие животные, включая человека, среди которых может вспыхнуть эпидемия. ВЭ попадает в популяцию человека в результате тесного контакта с кровью, выделениями, органами или иными жидкостями организма инфицированных животных, например шимпанзе, горилл, фруктовых летучих мышей, обезьян, лесных антилоп и дикобразов, обнаруженных мертвыми или больными. После этого вирус начинает передаваться среди людей.

В перерывах между вспышками среди людей вирус полностью отсутствует. Следовательно, чтобы обосноваться в другом месте после полного окончания текущей эпидемии, вирусу необходимо создать новый зоонозный резервуар. Это маловероятно, поскольку, необходима цепочка маловероятных событий:

а) чтобы вирус был к нам завезен и не был своевременно локализован (этому препятствует существенно более высокий уровень медицины по сравнению с Африкой);

в) чтобы завезенный вирус (пока вспышку не ликвидировали) успел передаться от человека к животным;

г) чтобы вирус начал передаваться между животными, и вспышка среди них не была скоротечной;

д) чтобы для вируса нашелся подходящий новый хозяин, в популяции которого вирус сможет длительно существовать (лучше всего могут подойти летучие мыши).

Поскольку, очевидно, летучие мыши редко контактируют напрямую с людьми или с домашними животными (оставаясь при этом живыми), вероятность передачи к ним вируса от больного человека непосредственно или, например, через заболевших от человека домашних животных крайне мала. Также эту возможность уменьшает наша холодная зима, во время которой летучие мыши неактивны.

*2. Тяжесть протекания болезни и высокая смертность для человека создают впечатление, что Природа специально «выводила» максимально опасный для людей вирус. Так ли это? Объясните, откуда в природе берутся новые высокосмертельные для человека вирусы? Как вы думаете, повышается или понижается смертность ВЭ в ходе текущей эпидемии? Будущие вспышки ВЭ будут более или менее смертельными для человека? (2 балла)*

Природа **не создает** вирусы, «специально» опасные для людей. Новые опасные вирусы попадают к человеку, как правило, от животных. Вирусы длительно эволюционируют в своем естественном резервуаре вместе со своими хозяевами, ведя борьбу с их иммунной системой. При этом естественный отбор идет так, что вирус тренируется «обходить» иммунную систему хозяина, а хозяин - бороться с новыми «уловками» вируса. Такая система обычно находится в равновесии (не побеждает ни вирус, ни хозяин): для тех же летучих мышей ВЭ не только не является смертельным, но и протекает бессимптомно. При случайном попадании вируса к человеку может оказаться, что вирус научился слишком хорошо «обходить» иммунную систему старого хозяина, поэтому иммунная система человека, впервые столкнувшись с новым вирусом, слишком легко побеждается.

В ходе эпидемии смертность вируса **снижается**: вирус эволюционно более «заинтересован» в своем распространении (увеличение числа носителей), а не в быстрой гибели хозяина или в его тяжелой болезни. Таким образом, в ходе естественного отбора на протяжении эпидемии будут шире распространяться те вирусы, мутации которых способствуют «пощаде» хозяина. Но важно отметить, что после окончания эпидемии среди людей «получающийся» менее смертельный для человека штамм ВЭ, скорее всего, из природы исчезнет (см. п.1). Новые вспышки ВЭ вызываются «дикими» штаммами, поэтому они могут случайным образом оказаться как более, так и или менее смертельными для человека. Однако если в местах распространения ВЭ им переболеет существенная доля населения, то смертность последующих вспышек может существенно понизиться из-за появившегося иммунитета и прошедшего отбора на устойчивость к ВЭ.

**3. Анализ геномов Эболавирусов показывает, что человечество живет с ними рядом в течение как минимум тысячелетий, однако об этих вирусах стало известно лишь в 70-х годах прошлого века.**

*Угрожали ли раньше Эболавирусы человечеству отдельными вспышками или эпидемиями? Участились ли за последние полвека вспышки Эболавирусов? Действительно ли повысилась связанная с ними опасность? Связано ли это с эволюцией вирусов? Поясните. (2,5 балла)*

Очевидно, что вспышки Эболавирусов случались и до обнаружения этих вирусов. Однако труднодоступность мест резервуара, незаразность вируса до появления симптомов, быстрое и тяжелое течение болезни, малая плотность населения – все это не давало большинству таких вспышек широко распространиться и перерасти в эпидемию, они быстро локально угасали. Несмотря на это, Эболавирусам, возможно, уже удавалось вызвать эпидемию в Европе и раньше. Как пример – пришедшая в 429 году до н. э. из Африки Афинская чума, сопровождавшаяся схожими с геморрагической лихорадкой симптомами (отмечалась икота – редка при других болезнях, но распространенный симптом при эпидемии ВЭ).

Сейчас, благодаря глобализации, во-первых, появились большие города, человеческие контакты стали более интенсивными, во-вторых, благодаря авиации «сократились» расстояния: за меньший срок вирус теперь может преодолеть гораздо большие расстояния. В-третьих, повысилась плотность населения и за пределами городов, человек стал чаще соприкасаться с дикими животными. Джунгли вырубали, на их месте появились сады, куда переселились дикие животные, в том числе являющиеся носителями ВЭ летучие мыши, что повысило вероятность контакта человека с больными животными.

Поэтому частота вспышек ВЭ повышается, равно как увеличилась связанная с ними опасность (вирус стал чаще попадать к людям и получил возможность быстрее среди них распространяться, в то время как уровень медицины в подверженных опасности регионах адекватно не улучшился).

**4. Диагностика.** Для борьбы с эпидемией важно уметь быстро выявлять и изолировать заболевших. На начальном этапе симптомы (лихорадка, головная боль) могут напоминать симптомы распространенных, но значительно менее опасных заболеваний.

*Вкратце перечислите, каковы основные «наноследы» присутствия ВЭ в организме? Как они выявляются? (1 балл)*

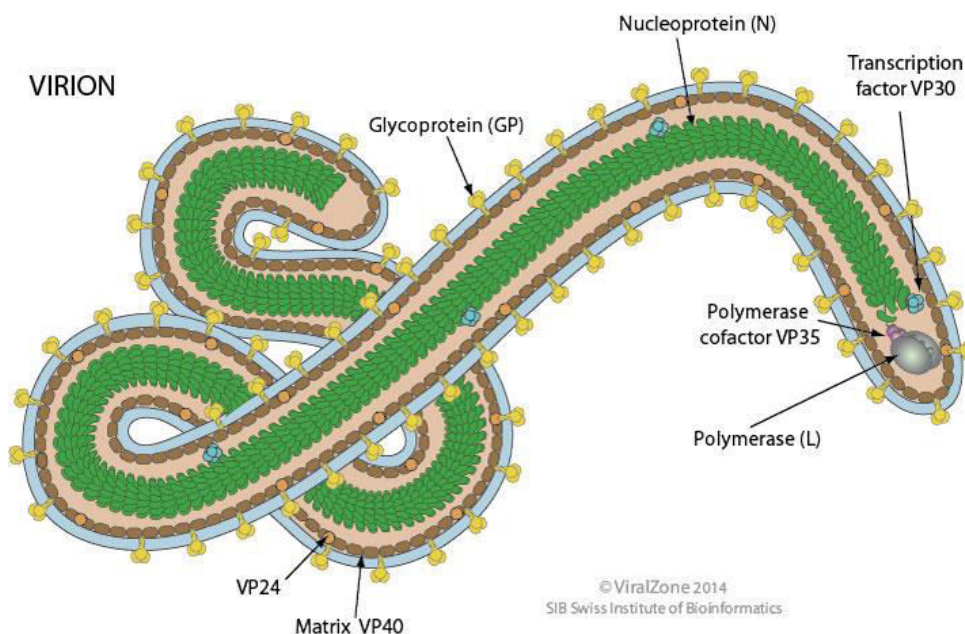
При заражении ВЭ, в организме появляются обычные для вирусов «наноследы»: генетический материал вируса (РНК), белки вируса, вирионы, антитела, вырабатываемые человеком в ответ на вирус. Поскольку эти «наноследы» являются специфическими для

каждого конкретного вируса, то их обнаружение используется для точной диагностики. Так, для подтверждения того, что симптомы вызваны именно вирусом Эбола, согласно ВОЗ могут проводиться следующие анализы:

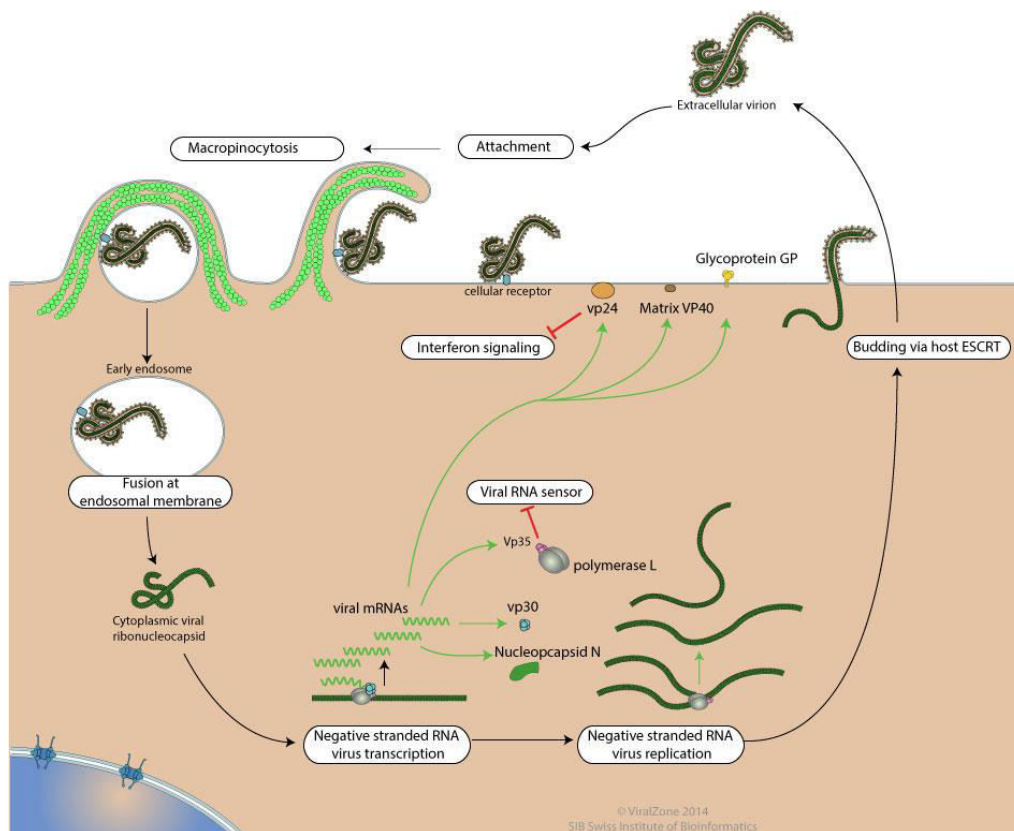
- энзим-связывающий иммуносорбентный анализ с захватом антител (ELISA, ИФА) выявление анти-Ebola-IgM;
- тесты на выявление антигенов;
- реакция сывороточной нейтрализации (методы постановки серологических реакций (РНГА, РСК, РН));
- полимеразная цепная реакция с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР, поиск РНК вируса);
- электронная микроскопия – визуальный поиск вирионов в клетках (слюна, кровь, другие биологические жидкости);
- изоляция вируса в клеточных культурах.

**5. Против наномашин.** Чтобы понять какие уязвимые места есть в «наномашине» вируса, надо узнать, как она устроена и как работает.

*Вкратце опишите, как устроен вирус Эбола и каковы основные стадии его жизненного цикла при попадании вовнутрь организма. Какие основные мишени (и на какой стадии жизненного цикла) для атаки вируса можно выделить? Поясните, на какой стадии жизненного цикла они уязвимы. (2 балла)*







Как и другим вирусам, ВЭ необходимо проникнуть в клетку, где с использованием рибосом и строительного материала в клетки, а также своих ферментов, произвести необходимые «нанозапчасти» для сборки новых вирионов (белки, ферменты, новый генетический материал).

Жизненный цикл вируса начинается с закрепления на поверхностных рецепторах клетки, что вызывает его проникновение внутрь путем макропиноцитоза с последующим освобождением материалов вируса от капсида внутри клетки. РНК-зависимая РНК-полимераза читает (-)РНК вируса и транскрибирует гены в матричные РНК, которые затем транслируются с помощью рибосом клетки в необходимые вирусу белки. Когда белков капсида вируса становится много, полимеразы начинают репликацию генома. Для этого на основе (-)РНК полимеразы делает (+)РНК, по которой и производятся копии (-)РНК генома для новых вирионов. Вирионы начинают самосборку возле мембраны, и отпочковываются от клетки вместе с частями ее мембраны.

Наиболее очевидные основные мишени:

а) **До проникновения вируса в клетку.** Связывание вируса с клеткой определяется поверхностным **гликопротеином**. Поэтому до того, как вирус успеет связаться с рецепторами клетки, эти белки являются хорошей мишенью. Если, например, с ними свяжутся антитела или синтетические «фальшивые» рецепторы, то вирус не сможет проникнуть в клетку.

б) После проникновения вируса в клетку становятся уязвимыми его внутренние жизненно важные «нанозапчасти» – генетический материал и ферменты. Основные мишени – **РНК** и **полимераза** (см. п. 9 и 10).

6. Несмотря на огромные потенциальные возможности нанотехнологий, на текущий момент при экспериментальном лечении больных ВЭ людей в качестве действующих веществ широко используются лишь несколько типов нанообъектов: **РНК** и **белки**.

*Приведите примеры таких лекарств. Поясните, как они работают, если их принципы действия были «подсмотренные» у природы. Какие нанообъекты могут быть использованы для доставки к цели этих лекарств? (3 балла)*

Белки интерфероны (см. Википедия: [Интерферон](#)).

Использование готовых антител (чаще всего к гликопротеину ВЭ, см. п. 5):

– **ZMapp™** (США) - представляет собой смесь трех гуманизированных (т.е. рекомбинантных, содержащих элементы иммуноглобулина человека для уменьшения иммунного ответа при введении человеку антител, изначально полученных у животных) моноклональных антител, полученных по гибридомной технологии (антитела с13С6 , с2G4 и с4G7 к гликопротеину ВЭ).

– Антитела как переболевших ВЭ людей (см. ниже про донорскую кровь), так и антитела животных (выделяют из сыворотки крови иммунизированных животных).

Заставить организм вырабатывать антитела:

– Вакцина **VSV-EBOV**, Канада: рекомбинантная вакцина на основе вируса везикулярного стоматита (встроен ген гликопротеина Эболы, чтобы спровоцировать иммунный ответ на него).

– Вакцина **cAd3-ZEBOV** (the NIAID/GSK Ebola vaccine): рекомбинантная вакцина на основе аденовируса шимпанзе (встроены гены гликопротеина Эбола-Заир и Эбола-Судан).

РНК-интерференция (см. Википедия: [Малые интерферирующие РНК](#) и [РНК-интерференция](#)):

– **ТКМ-Ebola** – препарат способен «выключать» синтез трех из семи белков Эболавируса – полимеразы, мембранно-ассоциированный белка VP24 и кофактора полимеразы VP35. Доставка – патентованные липидные наночастицы везикулы.

Антисмысловая терапия (см. Википедия: [Антисмысловая терапия](#)) с использованием коротких комплементарных одноцепочечных РНК (а также и их аналогов, прочнее связывающихся с мишенью, например на основе <https://ru.wikipedia.org/wiki/Морфолино>).

РНК в свободном виде плохо подходят для доставки в зараженные клетки через кровотоки, поэтому, для их доставки широко используются наночастицы (дендримеры, везикулы,

липиды, капсиды вирусов), поверхность которых часто дополнительно маскируют от иммунной системы, например, полиэтиленгликолем (ПЭГ).

*7. Как вы оцениваете эффективность предложенного в Нигерии нового экспериментального метода борьбы с ВЭ при помощи препарата Nano Silver? (1 балл)*

Наночастицы серебра (действительно обладающие антибактериальными свойствами), как правило, не обладают большой селективностью при взаимодействии с возможным материалом вируса, т.е. «не различают» похожие биоматериалы живой клетки и вируса (белки, РНК). Поэтому, несмотря на то, что наночастицы серебра, вполне могли бы реагировать с белками вируса (например, с остатками цистеина из-за большого сродства серебра к сере), они точно так же могут реагировать и с белками организма. Если бы препараты наносеребра действительно могли бы эффективно подавлять вирусы в живом организме, то мы бы уже об этом давно знали на примере других менее экзотических и более изученных вирусов. Поэтому, для эффективного лечения ВЭ необходимы те препараты, действие которых действительно может быть избирательно направлено на вирусные мишени – именно над их созданием и испытанием сейчас работает мировая наука и нанотехнологии.

*8. В странах Африки, где бушует эпидемия, на черном рынке пользуется спросом кровь переболевших ВЭ людей. Может ли такая кровь использоваться для лечения ВЭ? Вкратце опишите, чем может быть опасно переливание такой крови. (1 балл)*

Такая кровь может быть использована, поскольку она содержит антитела к ВЭ.

Опасности, которые могут возникнуть при переливании «контрабандной» крови:

- несовместимость по группам крови и резус-фактору;
- недостаточная стерилизацией аппаратуры для переливания;
- наличие у донора других вирусов помимо Эболы (ВИЧ, гепатит и т.д.);
- индивидуальная несовместимость донора и реципиента.

Конечно, переливать кровь целиком необязательно: можно выделить плазму, или еще лучше, только фракцию иммуноглобулинов. Стоит отметить, что такой метод лечения действительно уже применялся (правда, в комплексе с другими экспериментальными методами) при лечении ВЭ.

*9. Заманчиво, если бы для лечения ВЭ подошли какие-нибудь из многочисленных противовирусных препаратов, которые уже широко используются в медицинской практике.*

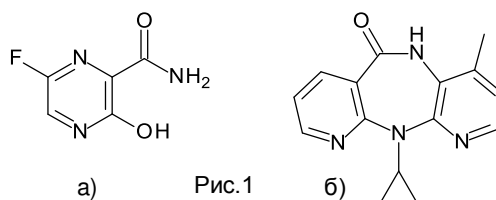


Рис.1

Какое из двух лекарств – фавипиравир (рис. 1а, действует против вируса гриппа) или невирапин (рис. 1б, против ВИЧ) – вы бы в первую очередь проверили на активность против вируса Эбола? Почему? (1 балл)

Для ответа на вопрос необходимо сравнить все эти вирусы.

Вирусы Эбола и гриппа относятся к одному классу классификации вирусов по Балтимору (вирусы, содержащие одноцепочечную (-)РНК) т.е. имеют одинаковый тип нуклеиновой кислоты и одинаковый способ ее репликации в клетке хозяина (и, соответственно, относительно близкие полимеразы). В то время как вирус ВИЧ относится к другому классу вирусов – содержащих одноцепочечную (+)РНК, реплицирующихся через стадию ДНК; его клеточный цикл значительно отличается.

Поэтому, если ничего не знать о принципе действия этих лекарств, в первую очередь необходимо проверить **фавипиравир**. И действительно, фавипиравир подавляет РНК-зависимую РНК-полимеразу обоих вирусов. В то время как невирапин подавляет отсутствующую у ВЭ обратную транскриптазу (необходима для синтеза ДНК цепочки на основе РНК вируса).

10. На рисунке 2 изображено несколько химических соединений, проявляющих активность против ВЭ в живой клетке:

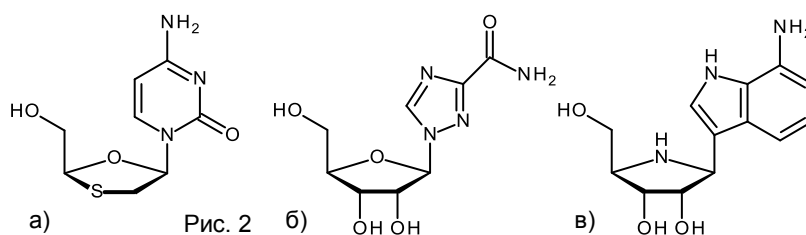


Рис. 2

Основываясь на структурах этих лекарств, предположите, что они могут «поломать» в жизненном цикле вируса. (2 балла)

Все приведенные структуры довольно похожи на нуклеозиды. После фосфорилирования в клетке они станут похожи на нуклеотиды, и логично предположить, что, раз они подавляют вирус, то, скорее всего наиболее вероятной мишенью для них является полимеразы вируса, которая, «обманываясь», пытается включить эти молекулы (после фосфорилирования в клетке) в состав растущей цепи РНК. Однако все три молекулы содержат структурные отличия от нуклеозидов, которые не дадут им вести себя *в точности* как нуклеозиды, что может вызывать

при процессах транскрипции и репликации различные ошибки и поломки в РНК, которая строится полимеразой (п. 5).

(а) не содержит 3'-ОН группы, к которой можно было бы присоединить следующий нуклеотид. Разрабатывался как прерыватель цепочки ДНК вирусов (аналог дезоксицитидина). Вероятно, также может обмануть РНК полимеразу ВЭ как аналог цитидина.

(б) может подхватываться РНК-полимеразой вируса и встраиваться в растущую цепь РНК. Поскольку молекула не соответствует конкретному нуклеозиду (отдаленно напоминает и аденозин, и гуанозин), то при встраивании таких молекул в РНК, и последующем считывании будут происходить ошибки. Если таких ошибок будет достаточно много, генетический материал и белки собираемых вирионов окажутся необратимо поврежденными.

(в) останавливает построение РНК цепочки через пару нуклеотидов, вероятно, вследствие «закручивания» нити РНК от нестандартной формы и химических свойств такого аналога аденозина.