



**Задание 1.1 (10,5 баллов)**

Компонент	Исходная концентрация	Конечная концентрация	1x[19мкл]	4x
Turbo Buf	10x	1x	<b>2</b>	<b>8</b>
Fwd	10 mM	0.5 mM	<b>1</b>	<b>4</b>
Rev	10 mM	0.5 mM	<b>1</b>	<b>4</b>
Mg <sup>2+</sup>	50 mM	2.5 mM	<b>1</b>	<b>4</b>
dNTPs	2mM	0.2 mM	<b>2</b>	<b>8</b>
mQ	-	-	<b>11,5</b>	<b>46</b>
Тaq-полимераза	5 ед/мкл	2,5 ед на реакцию	<b>0,5</b>	<b>2</b>

**Задание 1.2 (10 баллов)**

Компонент	Функции
Turbo Buf	<b>Создает необходимые условия для работы Таq-полимеразы (рН, ионная сила)</b>
Fwd	<b>Выступают в роли затравки для ДНК полимеразы, с помощью которой она может связаться с матрицей и к 3'-концу которой будет присоединять новые нуклеотиды</b>
Rev	
Mg <sup>2+</sup>	<b>Необходимы в каталитическом центре ДНК полимеразы для ее работы</b>
dNTPs	<b>Мономеры для построения новых цепей ДНК</b>



Тақ-полимераза	Осуществляет синтез новых цепей ДНК
----------------	-------------------------------------

**Задание 1.3 (6 баллов)**

- 1) Эта температура будет зависеть от длины и последовательности праймеров, чем длиннее праймеры и выше содержание G/C-нуклеотидов - тем выше будет необходимая температура отжига.
- 2) Эта температура будет зависеть от температурного оптимума работы используемого фермента.
- 3) Это время будет зависеть от длины амплифицируемого фрагмента и скорости работы фермента.

**Задание 1.4 (2 балла)**

Эта реакция позволяет говорить о чистоте всех используемых реагентов. Если мы увидим в этой реакции фрагменты той же длины, что и в реакции с образцом - это будет говорить о том, что какой-то из реагентов загрязнен матрицей и результаты аналитической ПЦР нельзя считать достоверными. Если мы не увидим никаких фрагментов, значит, ПЦР в этой пробирке не прошла и все реагенты чистые.

**Задание 1.5 (2 балла)**

Эта реакция позволяет подтвердить прохождение ПЦР. Если в этой реакции появился продукт, значит, ПЦР прошла верно. Если фрагментов не появилось - ПЦР не прошла.

**Задание 1.6 (5 баллов)**

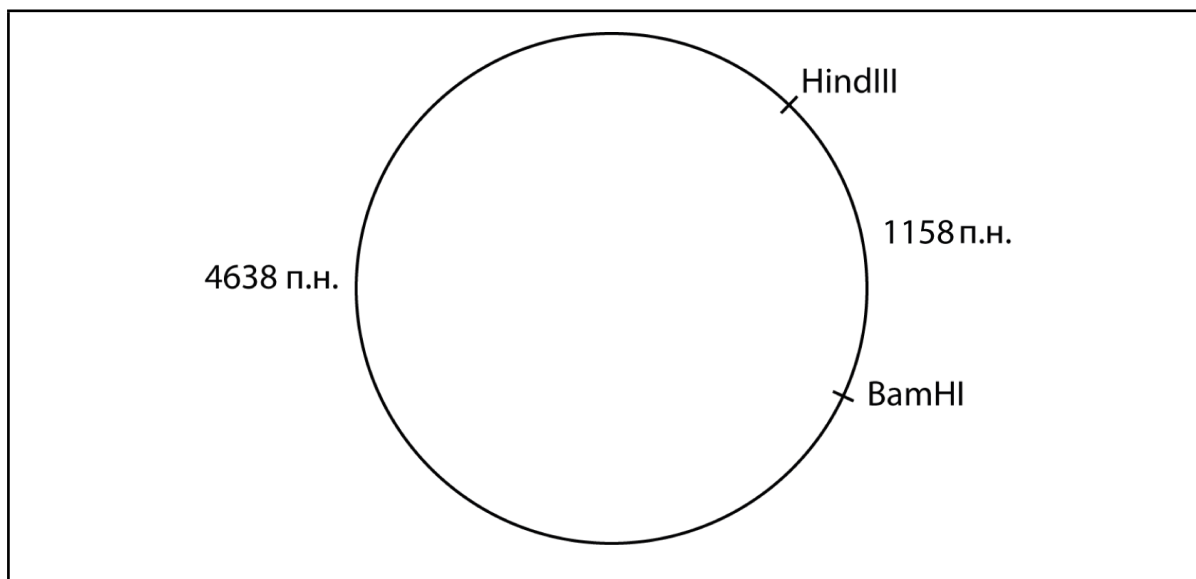
Длина ПЦР продукта в реакции с пустым вектором составляет 100 нуклеотидов, что указано на схеме вектора. Однако в процессе клонирования вставки в вектор длина этого участка изменится.

Вставка клонируется в вектор через сайты рестрикции HindIII и BamHI. В процессе клонирования разрезаются оба сайта рестрикции HindIII поэтому клонирование будет идти через сайт BamHI и дальний от него сайт HindIII. Расстояние между этими сайтами составляет 69 нуклеотидов, поэтому ПЦР фрагмент уменьшится на 69 н.



Но в то же время на место этих 69 нуклеотидов встраивается вставка длиной 1158 нуклеотидов. Поэтому итоговая длина ПЦР продукта составит  $100-69+1158=1189$  п.н.

**Задание 2.1 (2 балла)**



**Задание 2.2 (3 балла)**

Вектор pTagBFP-C		Плазмида pTagBFP-actin	
Rest 1	Rest 2	Rest 1	Rest 2
<b>HindIII</b>	<b>BamHI</b>	<b>HindIII</b>	<b>BamHI</b>

При рестрикции пустого вектора этими рестриктазами (2) мы получим фрагменты 4638 п.н, 31 и 38 нуклеотидов (будет практически не различим при электрофорезе, поэтому увидим только 1 фрагмент), а при рестрикции плазмиды (3) со вставкой мы получим фрагменты 1158 и 4638. Отличить плазмиду со вставкой можно будет по наличию фрагмента длиной 1189.

**Задание 2.3 (2 балла)**

Компонент	Исходная концентрация	Конечная концентрация	1x[20мкл]
Buf	10x	1x	<b>2</b>



Rest 1	-	-	2
Rest 2	-	-	2
mQ	-	-	9
Плазмида	10 нг/мкл	50 нг на реакцию	5

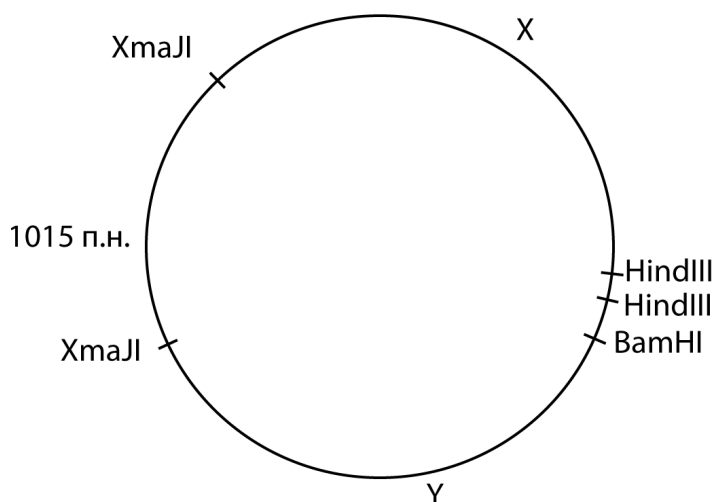
**Задание 2.4 (3 балла)**

**Рестриктазы — часть сложной системы рестрикции-модификации, используемой бактериальными клетками для регуляции содержания и активности ДНК в клетке, благодаря расщеплению чужеродной ДНК (например, ДНК бактериофагов)**

**Задание 2.5 (8 баллов)**

**Тот факт, что при расщеплении плазмиды рестриктазами HindIII и XmaJI получается 4 фрагмента, говорит о том, что XmaJI узнает в плазмиде два сайта рестрикции.**

**Наличие фрагмента 1015 п.н. и при расщеплении HindIII/XmaJI и при BamHI/XmaJI позволяет сделать вывод, что этот фрагмент образуется благодаря действию только рестриктазы XmaJI, а значит расстояние между сайтами этой рестриктазы равно 1015. Таким образом, мы получим следующую карту:**



**Предположим, что участок Y - входит в фрагмент длиной 2436 указанный в задаче. Тогда рассчитаем длину участка X  $4707-2436-1015-38 = 1225$ . И тогда при рестрикции BamHI/XmaJI мы получим три фрагмента с длинами 2463/1015/1294 - это**





Количество буфера в мкл	4	4	4		4	4	4
----------------------------	---	---	---	--	---	---	---

**3.2 (2 балла)**

От катода к аноду

**3.3 (3 балла)**

Нуклеиновые кислоты имеют равномерно распределенный заряд, благодаря входящим в их состав остаткам фосфорной кислоты. Поэтому скорость движения НК в электрическом поле будет одинаковой, однако при помещении в плотную среду (гель) их скорость будет снижаться пропорционально возникающей силе трения: чем длиннее молекула, тем больше сила трения и тем медленнее движется молекула

**3.4 (4 балла)**

С изменением плотности геля будет изменяться скорость движения НК в нем. Более плотные гели обычно выбирают для разделения коротких фрагментов, а менее плотные для длинных.

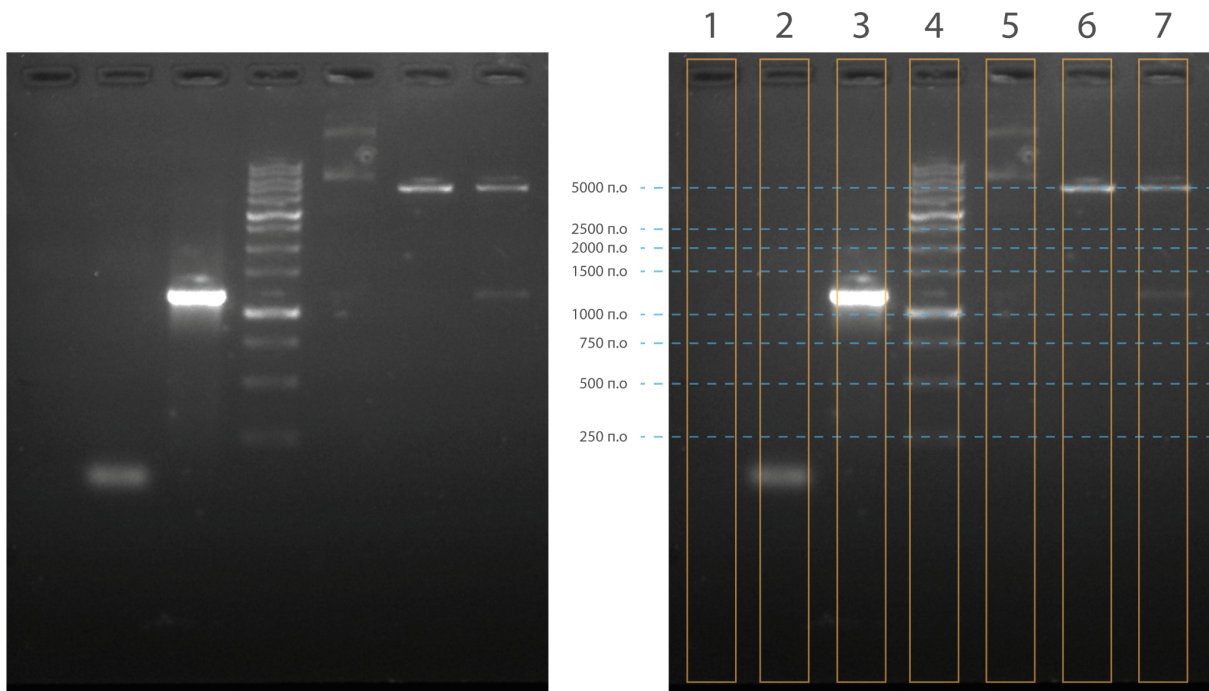
**3.5 (3 балла)**

Благодаря наличию в бромистом этидии плоских ароматических циклов он может встраиваться в молекулу ДНК между парами оснований взаимодействуя с их пи-электронными облаками.

Московская олимпиада школьников по генетике, 04.04.2021.  
Заключительный этап. Практический тур.  
10-11 классы



3.6 (30 баллов)



**В первой лунке находится отрицательный контроль ПЦР, полос быть не должно**

**Во второй лунке находится положительный контроль ПЦР, одна полоса ниже 250 п.н**

**В третьей лунке целевая ПЦР, одна полоса между 1000 и 1500 п.н**

**В четвертой лунке Маркер**

**В 5 лунке не резанная плазмида - 3 полосы выше 5000**

**В 6 лунке резанный вектор - видимая 1 полоса между 4000-5000**

**В 7 лунке резанная плазмида - две полосы между 4000-5000 и между 1000 и 1500 п.н**

Задание	Комментарии по выставлению баллов	Максимальный балл
1.1	По 1,5 балла за каждую правильную строку, если в строке правильное только одно значение - 1 балл	10,5
1.2	По 2 балла за каждую верную функцию	10
1.3	По 2 балла за каждое правильное объяснение	6
1.4	1 балл за объяснение, зачем нужен этот контроль, и 1 балл за объяснения, что означает наличие/отсутствии фрагментов	2
1.5	1 балл за объяснение, зачем нужен этот контроль, и 1 балл за объяснения, что означает наличие/отсутствии фрагментов	2
1.6	2 балла за вырезание 69 нуклеотидов при клонировании, 2 балла за вставку 1158 нуклеотидов, 1 балл за правильный подсчет	5
2.1	2 балла за верную карту, за карту без длин - 0,5 балла	2
2.2	1 балл за верно выбранные пары BamHI/HindIII, 2 балла за объяснение того какие получатся после рестрикции	3
2.3	По 1 баллу за каждый правильный расчет	2
2.4	2 балла за защитную функцию, 1 балл за систему рестрикции-модификации	3
2.5	1) 2 балла за вывод о двух сайтах XmaII 2) 1 балла за расстояние между сайтами XmaII 3) 3 балла за верную карту и 2 балла за объяснение того как карта была получена	8
2.6	Полный балл за общее объяснение $4^n$ , или за объяснение исходя из длины сайта рестрикции в диапазоне 4-6 нуклеотидов	3
3.1	0,25 за каждое верное	1,5
3.2	от катода к аноду - 2 балла	2
3.3	1 балл за равномерный заряд, 1 балл за трение о гель (протискивание тоже зачет), 1 балл за закономерность (длинные медленнее, короткие быстрее)	3
3.4	2 балла за изменение скорости, и 2 балла за применение плотности геля	4
3.5	2 балла за встраивание/интеркаляцию. 1 балл за пи-облака	3
3.6	6 баллов за сам электрофорез: лунки нанесены верно, нанесен маркер в 4 положениях. 12 баллов за ПЦР: 4 балла за каждую верную лунку, при условии что продукты ПЦР есть хотя бы одной. 12 баллов за рестрикцию: 4 балла за каждую верную лунку.	30
		100