



Задание 1.1 (10,5 баллов)

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

Задание 1.2 (10 баллов)

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



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)

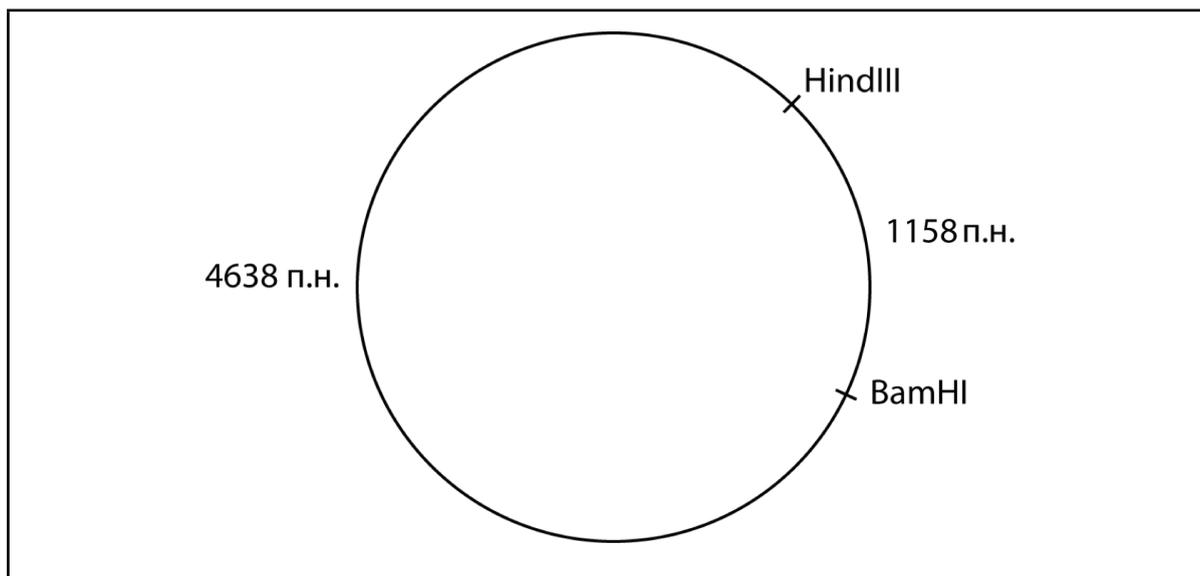
Длина ПЦР продукта в реакции с пустым вектором составляет 100 нуклеотидов, что указано на схеме вектора. Однако в процессе клонирования вставки в вектор длина этого участка изменится.

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
HindIII	BamHI	HindIII	BamHI

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	2



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

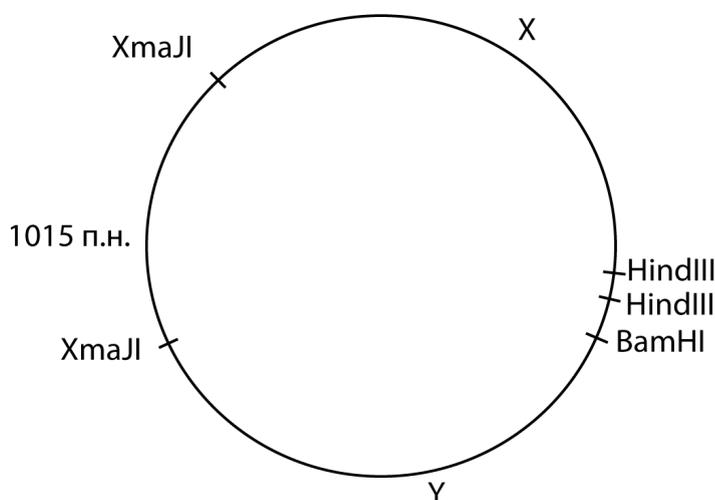
Задание 2.4 (3 балла)

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.

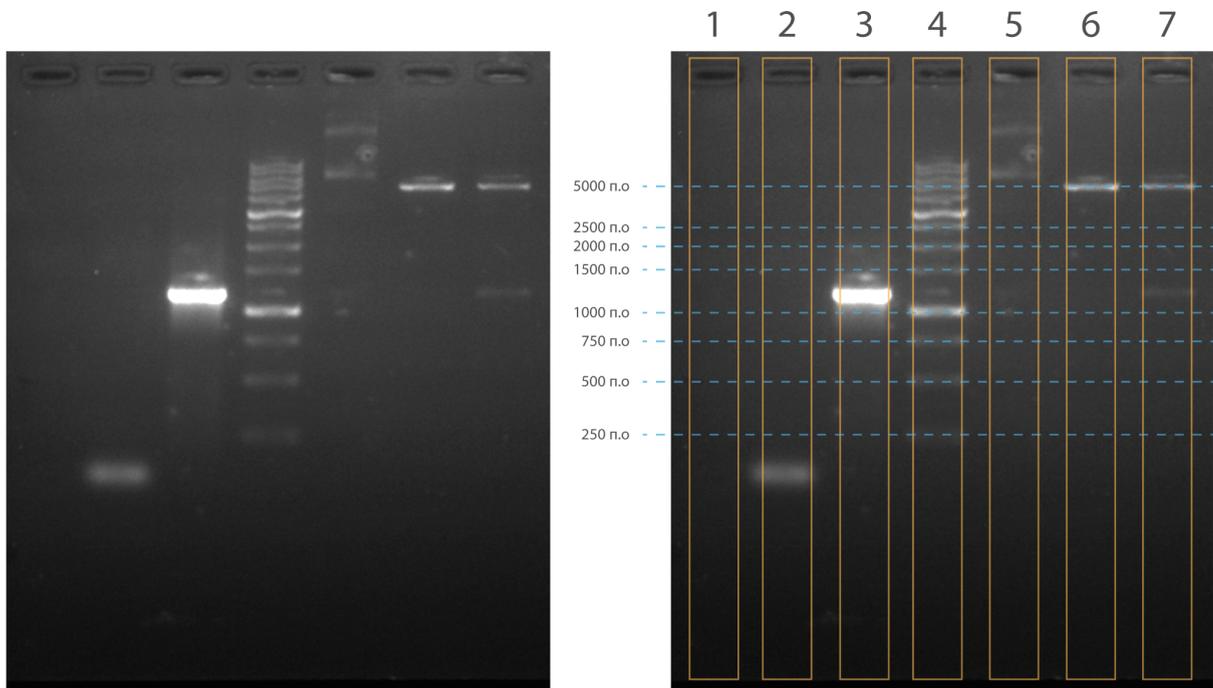
3.5 (3 балла)

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