

§4 Заключительный этап: командная часть

4.1 Командные задания (9 класс)

Финальный этап олимпиады был посвящен работе с аквапонными установками. В ходе проведения финального тура участники были разделены на команды по 3-4 человека. Финальные командные задания включали как расчетные и теоретические задачи, так и практическую работу с аквапонными системами (описание систем приводится после расчетно-теоретических задач). Работа команд и выполнение заданий оценивалась исходя из составленных критериев.

Максимальное количество баллов- **115**

Помимо выполнения заданий участникам проводились теоретические лекции, на которых рассматривались основные вопросы по проектированию, бюджетированию, созданию и балансированию аквапонных установок.

В ходе практической работы оценивалось ведение журнала отслеживания основных параметров системы (Ph, электропроводность, Red/Ox потенциал, температура, концентрация растворенного кислорода, концентрация аммиака, концентрация нитратов и нитритов), интерпретация полученных результатов и принятие решения для восстановления оптимального состояния системы.

Часть параметров отслеживалась при помощи электронных датчиков (Ph, температура, растворенный кислород, электропроводность и Red/Ox потенциал)

Отдельно командам были доступны химические тесты для измерения Ph, концентрации аммиака, нитратов, нитритов и растворенного кислорода.

За практическую часть и ведение журнала команда могла получить до **3 баллов за каждый день работы**.

Отдельно проводилась оценка работы команд (максимум- **10 баллов**)

При выполнении заданий участникам разрешалось пользоваться доступной литературой и электронными источниками в сети Интернет.

4.1.1 Расчетные и теоретические задания

Задача 4.1.1.1. Основные параметры аквапонных систем

Условие:

Вашей команде поступил заказ разработать систему замкнутого цикла для ОАО “РосРыба”, которое планирует объединиться с агрохолдингом “Олимпийские луга”, находящимся в непосредственной территориальной близости.

РосРыба занимается выращиванием форели, а агрохолдинг выращивает салатную зелень. Объединение предприятий позволит производить оба продукта, и овощи и рыбу на одних производственных площадях, экономя природные ресурсы с внедрением современных аквапонных технологий.

На первом этапе проработки проекта вашей команде требуется изготовить тестовый образец, который будет расположен в выставочном центре Олимпийского парка. Эта модель должна совмещать все необходимые компоненты аквапонных систем: аквакультура, бактерии, растения, фильтры.

На этапе проектировки ваша команда первым делом решила провести мозговой штурм и коллективно решить:

Задание:

- а. Какие основные инженерные блоки (модули) будут входить в ваш а. тестовый образец?

- b. Какие живые организмы будут представлены в ваших системах?
 c. Какие физические и химические параметры системы вы хотели бы отслеживать?

Критерии оценки:

Оценка выполнения командой задания проводится методом сложения баллов за упоминание ключевых компонентов/организмов/факторов (дополнительно команда могла получить баллы за включение в решение дополнительных важных компонентов, не упомянутых в таблицах):

Задание а		Максимальное кол-во баллов
Компоненты	Аквариум	1
	Гидропонный модуль	1
	Фильтр физический	1
	Фильтр биологический	1
	Система фитингов	1
	Помпы	1
	Аэраторы в аквариумном блоке	1
	Распылитель на гидропонном модуле	1
	Холодильник	1
	Освещение	1
	Дополнительно	2

Задание b	Организм	Максимальное кол-во баллов
Организмы	Рыба	1
	Растения (салат)	1
	Водяные растения в фильтре	1
	Моллюски	1
	Доп. Фильтраты	1
	Организмы с рыбы (Водоросли)	1
	Бактерии	1
	Дополнительно	2

Задание c	Показатели	Максимальное кол-во баллов
Показатели	Температура	1
	Ph	1
	NO ₂ /NO ₃	1
	NH ₃ /NH ₄	1
	CO ₂	1
	O ₂	1
	Жесткость	1
	Fe	1
	Электропроводность	1
	Дополнительно	2

Задача 4.1.1.2. Схема аквапонной системы

Условие:

Проведя предварительный мозговой штурм, вы определились с составом и отслеживаемыми физико-химическим параметрами системы. Теперь вам необходимо начертить схему проектируемой тестовой системы.

Задание:

а. Расположите на схеме и отметьте все используемые инженерные модули и блоки. Обоснуйте выбранное размещение основных компонентов.

б. Нанесите на схему основные процессы, которые происходят в конкретных блоках, и к изменению каких параметров они могут приводить.

Критерии оценки:

Оценка выполнения командой задания проводится методом сложения баллов за упоминание ключевых компонентов/процессов (дополнительно команда могла получить баллы за включение в решение дополнительных важных компонентов и процессов, не упомянутых в таблицах):

Задание а		Максимальное кол-во баллов
Схема системы	Система трехуровневая	1
	Гидропонный блок сверху	1
	Аквариум посередине	1
	Биофильтр снизу	1
	Биофильтр трехзонный (фильтраты, водные растения, бактерии)	1
	Предусмотрена система охлаждения	1
	Помпа размещена- забор из биофильтра	1
	Помпа от холодильника	1
	Аэраторы в аквариуме	1
	Аэраторы в биофильтре	1
	Датчики	1
	Оптимальность расстановки датчиков	1
	Охлаждение выведено в отдельный контур для усиления циркуляции воды в аквариумном блоке	1
	Размещение входа и выхода перелива в разных сторонах	1
Дополнительно	2	

Задание б	Компонент- Процесс	Максимальное кол-во
-----------	--------------------	---------------------

		баллов
Процессы в блоках	Аквариум - потребление O ₂	1
	Аквариум- выделение NH ₃	1
	Аквариум- выделение CO ₂	1
	Биофильтр- потребление O ₂	1
	Биофильтр- NH ₃ -> NO ₂ /NO ₃	1
	Биофильтр- потребление CO ₂	1
	Биофильтр- выработка O ₂	1
	Биофильтр- Переработка органики	1
	Гидропоника - потребление NO ₃	1
	Гидропоника- испарение H ₂ O	1
	Дополнительно	2

Задача 4.1.1.3. Расчет параметров системы

Условие:

Заказчик согласовал с вами следующие размеры модулей:

Аквариум (в*г*ш, мм): 300*435*588

Гидропонный блок (в*г*ш, мм): 200*435*588

Биофильтр (в*г*ш, мм): 200*435*588

При этом, вы договорились, и решили, что заполните в таком случае водой (по высоте) гидропонный модуль- на 110мм, аквариум на 260, а биофильтр лишь на 105 мм.

Задание:

- Рассчитайте посадочную численность малька форели и удельную ихтиомассу посадки, если известно, что:
- Масса малька форели – 7-10 гр.
- Длина малька форели - 6 см
- Плотность посадки при интенсивном ведении хозяйства- ~80 кг/м³
- Товарный вес форели- 200-400гр
- Товарная длина форели – 25 см
- Выбраковка особей в результате гибели и отставания в развитии не больше 4% популяции/год
- Время выращивания 3,5 года
- Температура воды в системе- 12,5С,
- Товарная длина форели – 20-30 см
- удельную ихтиомассу посадки рассчитывается по формуле

$$D = \frac{P}{0,001[W - P]}$$

где, D - удельная ихтиомасса, кг/л; P- ихтиомасса, кг; W - объём воды, л.

При решении промежуточные значения (проценты, метры, кг, литр и т.д.) и удельную ихтиомассу посадки округляйте до тысячного знака, а количество особей до целых.

1. Рассчитайте выделяемое количество аммиака через три с половиной года работы системы всей товарной форелью в сутки в ваших системах.

2. Рассчитайте необходимое количество салата*¹, производимого агрохолдингом “Олимпийские Луга”, который может переработать выделяемый аммиак, если 15 т. салата за сутки потребляет 22 кг азота.

Критерии оценки:

Оценка выполнения задания проводилась с учетом всех промежуточных результатов и самого хода решения

Задание 1.3	Баллы
Объем воды- 121л	1
32 товарные рыбы весом 300гр.	1
Начальное количество- 37 рыб	1
Ихтиомасса посадки 2,6кг/МЗ	1
2,9 гр. NH ₃ в сутки (9,68кг)	1
Потребление азота 0,4 грамма на куст	1
2,38 гр. Азота	1
6 кустов	1
Ход решения	1

Решение:

- Рассчитаем объем воды в системе.
- $(2,6+1,1+1,05) * 4,35 * 5,88 = 121,5 \text{ дм}^3 = 121,495 \text{ л}$
- Количество рыбы при плотности посадки 80 кг/м³ для 121,495л составляет 9,72 кг рыбы. При весе 300 гр это 32 рыбы
- Выбраковка составляет: с 1 по 3 год - 4% и 2% за половину года
- Количество рыбы от начальной посадки составляет: 1год- 96%; 2год- 92,16%; 3год- 88,47% и 3,5год - 86,7%. Таким образом, начальная посадка была объемом 37 особей.
- Удельную ихтиомассу посадки рассчитываем по формуле: $37 * 0,0085 / 0,001(121 - 19 * 0,0085) = 2,6 \text{ кг/МЗ}$
- Для расчета выделяемого количества аммиака через три с половиной года работы системы всей товарной форелью в сутки системах необходимо воспользоваться следующим графиком:

¹ * Кочанный салат сорт "Олимпик" среднего срока созревания (35 дней). Розетка листьев полупрямостоячая, высотой 26 см, диаметром 28 см. Лист среднего размера, обратнотреугольной формы, зеленый, слабопузырчатый, слабоволнистый по краю, с мелкими надрезами в верхушечной части. Кочан закрытый, плоскоокруглый, средней плотности. Масса кочана — 275 г. Консистенция ткани листьев хрустящая. Вкус отличный. Урожайность — 4 кг/кв.м.

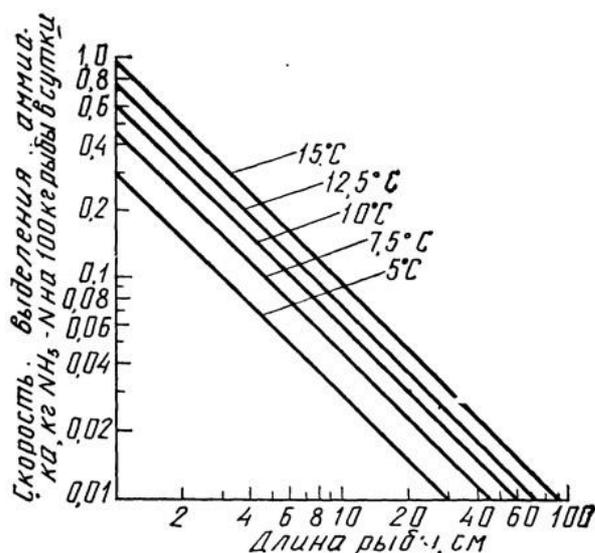


Рис. 13.63. Выделение аммиака форелью в зависимости от ее длины и температуры (Spence, 1973)

При 12,5С и размере 25 см- 0,03кг Nh₃/ 100кг рыбы. Таким образом, 9,68 кг рыбы будет выделять 2,9 гр. в сутки

Из исходных данных получаем, что 15 тонн салата = 54545 кустов

Таким образом, потребление азота составляет 0,4 грамма на куст.

В системе через 3,5 года после запуска будет накапливаться 2,9 гр. аммиака (NH₃) в сутки, что соответствует 2,38 гр. атомарного азота.

Таким образом, для потребления такого количества азота необходимо 6 кустов салата.

После завершения теоретических заданий 1 и 2 участникам были представлены для ознакомления и начала работы аквапонные системы и заданы дополнительные вопросы, которые не были обязательными, но за ответы, на которые команды могли получить дополнительные баллы (максимальное количество баллов за вопрос- 2)

Дополнительные задания:

- Укажите критические недостатки предложенных аквапонных систем
- Предложите решение по улучшению установок
- Предложите подход для измерения и регулирования жесткости воды в системе.

Описание аквапонных систем:

Аквапонная система представляет собой трехуровневую конструкцию, состоящую из гидропонного модуля для растений (расположен сверху), аквариума для рыбы (расположен посередине) и модуля биофильтра (расположен снизу). Фотография системы приведена ниже.

Модуль биофильтра разделен на 3 отсека для раздельного размещения бактерий, водных растений и биологических фильтратов.

Для создания и поддержания постоянного водяного потока в системе в биофильтре установлены помпа, которая обеспечивает подачу воды в аквариумный блок и гидропонный модуль предварительно проходя через внешний фильтр. Соотношение потоков в аквариумный и гидропонный блок регулируется при помощи шаровых кранов. Излишки воды в гидропонном модуле сливаются в аквариумный блок, а из аквариума вода сливается в биофильтр в отсек с бактериями.

Гидропонный модуль заполнен листовым салатом. В аквариуме размещена форель. Поскольку для нормального существования форели необходимо поддержание низкой температуры (10-12С), к каждой системе подключена холодильная установка со

встроенным насосом. Контур охлажденной воды проходит только через аквариум для повышения эффективности охлаждения и создания дополнительной циркуляции в системе.

Для отслеживания параметров в системе установлены электронные датчики для измерения:

- pH
- Редокс-потенциала
- Концентрации растворённого кислорода
- Электропроводности
- Температуры
- Скорости потока

Показания с датчиков снимаются при помощи подключенных ноутбуков.

Каждой команде для работы в финале была предоставлена отдельная аквапонная система.



Задача 4.1.1.4 (максимум- 10 баллов)

Условие:

Разработайте систему автоматизации отслеживания и поддержания «нормальных» параметров, предложенных аквапонных систем.

Задание должно быть выполнено в виде текста или блок-схемы описывающего алгоритм работы.

Дополнительная информация:

- Измеряемые значения: Все имеющиеся электронные датчики + датчик концентрации Аммиака в воде.

- Контроллер может подключать и отключать любые электронные приборы в системе (помпы, лампы, холодильник, подогрев).
- Для решения задачи вы можете использовать перестальтические насосы, точность дозировки - 1 градус поворота двигателя перестальтического насоса.
- Рекомендуется определить диапазоны измеряемых показателей, далее система должна возвращать параметры в нужный диапазон.

Задача 4.1.1.5. Экономические расчеты проекта (максимум- 10 баллов)

Условие:

Для реализации полномасштабного промышленного проекта по выращиванию рыбы Вам необходимо составить упрощенный бизнес-план для достижения точки работы предприятия «в ноль» по зарплатам.

Вводные данные:

- Налоги и отчисления с ЗП не учитываются т.к. строительство фермы планируется в особой экономической зоне.
- На вашей ферме будут работать 5 человек, средняя ЗП которых составит 70т.р./месяц. Налоги не учитываются.
- средняя стоимость аквапонной фермы составляет 500 т.р./метр кубический - необходимый объем требуется рассчитать, рекомендовать. Предполагается, что в эту стоимость входят все необходимые компоненты системы. Однако Вам необходимо их перечислить.
- Стоимость мальков рыбы - 5000р за 100 мальков карпа.
- Овощи стоят 1 рубль за одно семя любых овощей.
- Стоимость корма для рыбы 500р. за 10кг. Считаем, что рыба потребляет корм в размере 2% от ее веса в день.
- Будем считать, что рыба растет по 250 гр в квартал.
- Товарный вес рыбы составляет 700 гр.

4.2 Командные задания (10-11 класс)

Финальные задания 10 – 11 классов были посвящены работе по проведению трансформации компетентных клеток.

В ходе работы участники были разделены на команды по 3-4 человека.

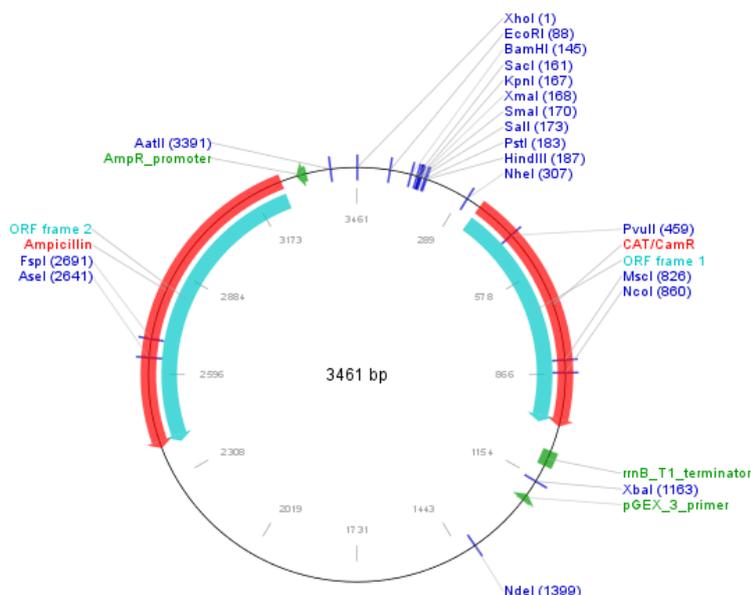
Финальный этап состоял из теоретических и экспериментальных заданий.

При выполнении заданий участникам разрешалось пользоваться доступной литературой и электронными источниками в сети Интернет.

Задание 4.2.1 (16 баллов)

Условие:

Вам дана плаزمида pQE30 (Qiagen)



- Укажите ее основные структурные элементы и распишите, для чего они нужны (5 баллов)
- Напишите последовательности праймеров, необходимых для амплификации каждого гена, и для каждой пары праймеров определите температуру отжига при проведении полимеразной цепной реакции. (3 балла)
- Выберите любые сайты рестрикции, но чтобы при клонировании фрагмента в плазмиду не была нарушена рамка считывания. (3 балла)
- Предположите, какими методами можно определить, что фрагмент встроился в плазмиду. (5 баллов)

Ответ:

Основные структурные элементы pQE30 и их функции.

- PT5 – это промотор, с которым связывается ДНК-зависимая-РНК-полимераза.
- lacO – оператор, с которым связывается белок репрессор, блокирующий экспрессию гена.
- RBS – это нуклеотидная последовательность Шарно-Дальгарно

- MCS (multiplycodingsites) – это полилинкер, который содержит в себе несколько сайтов узнавания эндонуклеаз рестрикции.
- ColE1 – точка начал репликации.
- Ampicillin – это ген, кодирующий белок, дающий устойчивость бактериальным клеткам к ампициллину (антибиотику).

Праймеры для каждого гена (последовательности + температура отжига).

- Праймеры для амплификации последовательности GFP (зелёный белок):
5'-GGATCCGAGAGCGACGAGAGCGG-3' - это форвард-праймер; температура отжига – 60 градусов Цельсия
И
5'-AAGCTTTCATTCTTACCGGCATCTG-3' – это реверс-праймер; температура отжига –60 градусов Цельсия.
- Праймеры для амплификации последовательности RFP (красный белок):
5'-GGATCCATGAGCGAGCTGATCAAGG-3' – это форвард-праймер; температура отжига –60 градусов Цельсия
И
5'-AAGCTTTCATCTGTGCCCCAGTTTGC-3' – это реверс-праймер; температура отжига –58 градусов Цельсия.

Жирным выделены сайты узнавания эндонуклеаз рестрикции

Предположите, какими методами можно определить, что фрагмент встроился в плазмиду.

Существует два основных метода: анализ модифицированной плазмиды с помощью электрофореза в агарозном геле и трансформация модифицированной плазмидой компетентных клеток. Электрофоретическая подвижность модифицированной плазмиды будет отличаться от электрофоретической подвижности интактной плазмиды. При выращивании трансформированных клеток модифицированной плазмидой (в случае флуоресцентных белков) колонии будут окрашены в соответствующие цвета.

Задание 4.2.2. Постановка электрофореза ДНК (50 баллов)

Условие:

В вашей лаборатории были перепутаны пробирки с плазмидами. По счастливому стечению обстоятельств, все плазмиды имеют разный вес. Проведите идентификацию плазмид в предлагаемых вам 6 пробирках при помощи электрофореза в агарозном геле. Известно, что в лаборатории и были следующие вектора:
pGFPdest, pUC19, pRFP, pGFPdestlin, pUC19 lin, pRFPlin, pGFP

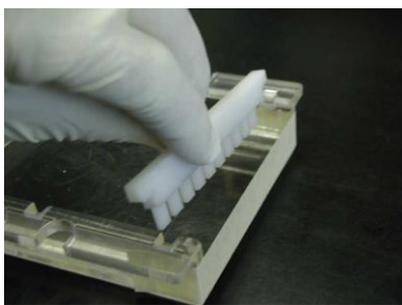
Для правильного проведения электрофореза вы можете воспользоваться предложенной методичкой:

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В АГАРОЗНОМ ГЕЛЕ

Меры предосторожности:

**все операции осуществляются только в
ЗАЩИТНЫХ ПЕРЧАТКАХ и ЗАЩИТНЫХ ОЧКАХ!**

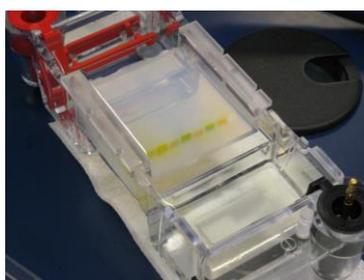
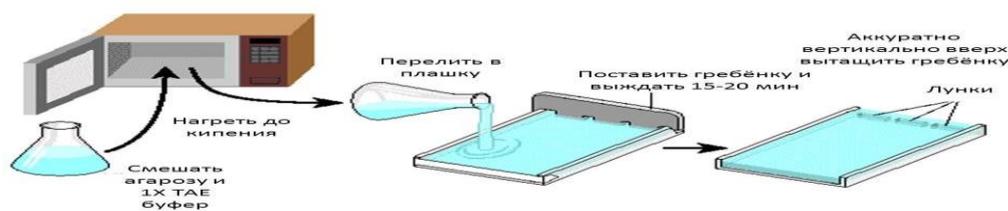
- Приготовьте плашку и установите над плашкой гребёнку для заливки агарозного геля так, чтобы между зубцами гребёнки и плашкой был зазор в 1-2 мм



- Приготовьте 1 литр однократного Трис-ацетатного буфера (1xTAE, состав 40 mM Трис-ацетат, pH 7,8-8,0; 1 mM ЭДТА), используя 50-кратный концентрат
- Приготовьте суспензию агарозы в 1xTAE буфере. Концентрацию агарозы необходимо выбрать исходя из длины разделяемых фрагментов ДНК, руководствуясь следующей таблицей:

Длина разделяемых фрагментов ДНК	Концентрация агарозы, %
300-3000 п. о.2,0 50-1500 п. о.	1,5
400-6000 п. о.	1,2
500-10000 п. о.	1,0
800-10000 п. о.	0,7
1000-20000 п. о.	0,5

- Нагрейте суспензию в микроволновке или водяной бане, избегая вспенивания, и инкубируйте до полного растворения агарозы.
- Залейте раствор расплавленной агарозы в подготовленную плашку и дождитесь полного застывания геля (10-15 мин при комнатной температуре)
- Аккуратно вытащите гребёнку вертикально вверх, придерживая пальцами за плашку



- Поместите в центр системы горизонтального фореза плашку с гелем и залейте в камеру свежеприготовленный 1X TAE буфер так, чтобы гель был покрыт слоем буфера на 1,0-2,0 мм

- **Приготовление проб:**
 - разбавьте исходный раствор плазмиды водой до конечной концентрации 50 мкг/мл,
 - приготовьте раствор плазмиды в 1х буфере для нанесения с концентрацией 25 нг/мкл, используя ранее приготовленный водный раствор плазмиды, концентрированный буфер для нанесения и воду.
- **Приготовления пробы маркера длин:**
 - приготовьте раствор маркера в 1х буфере для нанесения с концентрацией 50 нг/мкл, используя водный раствор маркера, концентрированный буфер для нанесения и воду.
- Нанесите в лунки агарозного геля по 5 мкл приготовленных проб плазмиды и маркера, наслаивание образцов проводите под буфер.



- Закройте крышку камеры для горизонтального фореа, соединив контакты + к +, - к -.
- Включите прибор и установите напряжение не более 10 V/см (10 V на каждый см длины между электродами)
- Контролируйте прохождение фореа по продвижению красителей,
- Для остановки фореа отключите ток на приборе, только после этого откройте крышку камеры, извлеките гель
- Разместите гель в камере прибора для гель-документирования и визуализируйте ДНК в УФ свете (**ОБЯЗАТЕЛЬНО НАЛИЧИЕ ЗАЩИТНЫХ ОЧКОВ**).

Критерии оценки:

- Приготовьте плашку и установите над плашкой гребёнку для заливки агарозного геля так, чтобы между зубцами гребёнки и плашкой был зазор в 1-2 мм
правильность сборки (**3 балла**)
- Приготовьте 1 литр однократного Трис-ацетатного буфера (1хТАЕ, состав 40 mM Трис-ацетат, pH 7,8-8,0; 1 mM ЭДТА), используя 50-кратный концентрат:
 - правильность расчета объемов (**5 баллов**)
 - правильность использования мерной посуды (**4 балла**)
- Приготовьте суспензию агарозы в 1хТАЕ буфере:
 - выбор концентрации агарозы (**2 балла**)
 - правильность расчета объема 1хТАЕ (**5 баллов**)
 - правильность использования мерной посуды (**3 балла**)
- Нагрейте суспензию в микроволновке или водяной бане, избегая вспенивания, и

инкубируйте до полного растворения агарозы.

- корректность мониторинга растворения агарозы **(2 балла)**

- Охладите агарозу до 50°C, залейте раствор расплавленной агарозы в приготовленную плашку и дождитесь полного застывания геля
- заливка агарозы в плашку **(3 балла)**
- Аккуратно вытащите гребёнку вертикально вверх, придерживая пальцами за плашку
-цельность лунок **(2 балла)**
- Поместите в центр системы горизонтального фореа плашку с гелем и залейте в камеру свежеприготовленный 1X TAE буфер так, чтобы гель был покрыт слоем буфера на 1,0-2,0 мм
-правильность ориентации плашки с гелем в буфере **(3 балла)**
- Разбавьте исходный раствор плазмиды водой до конечной концентрации 50 мкг/мл:
- правильность расчета объемов растворов **(5 баллов)**
- правильность использования автоматической пипетки для отбора каждой аликвоты **(2 балла)**
- Приготовьте раствор маркера и плазмиды в 1x буфере для нанесения с концентрацией 50 нг/мкл, используя ранее приготовленный водный раствор плазмиды, концентрированный буфер для нанесения и воду:
- правильность расчета объемов растворов **(5 баллов)**
- Правильность нанесения проб **(5 баллов)**
- Правильность подключения прибора **(1 балл)**

Задание 4.2.3. Трансформация компетентных клеток.

Постановка электрофореза ДНК (50 баллов)

Условие:

Проведите трансформацию клеток при помощи плазмид pUC19, pRFP и pGFP с последующей инкубацией на чашках Петри в подготовленной питательной среде с антибиотиком.

Для правильного проведения электрофореза вы можете воспользоваться предложенной методичкой:

Трансформация клеток

Меры предосторожности:

Все операции осуществляются только в
ЗАЩИТНЫХ ПЕРЧАТКАХ и в **ЛАМИНАРНОМ ШКАФУ!**

- Поместите на лед пробирки с компетентными клетками до полного размораживания содержимого из расчета одна пробирка на трансформацию. Аккуратно перемешайте суспензию клеток легким встряхиванием.
- Добавьте в пробирку с клетками 1 мкл раствора ДНК. Аккуратно перемешайте содержимое легким встряхиванием.
- Инкубируйте пробирки во льду в течение 20-30 мин.

- Перенесите пробирки в водяную баню (42°C) на 30-45 сек.
- Быстро перенесите пробирки из водяной бани в лед и инкубируйте в течение 3-5 мин.
- Добавьте не менее 3-х объемов предварительно подогретой до 37-42°C среды SOB, перемешайте содержимое и инкубируйте при 37°C в течение 40-60 мин в качалке при перемешивании (225-250 об/мин).
- Высейте содержимое пробирок на чашки Петри с LB-агаром.
- Используя стерильный шпатель, равномерно распределите трансформированные клетки по поверхности агара. Дайте чашкам Петри полностью высохнуть в полуоткрытом состоянии.



- Поместите чашки Петри в суховоздушный термостат и инкубируйте в течении 14-16 ч при 37°C.
- Извлеките чашки из термостата и оставьте на столе при комнатной температуре на 3-4 ч.
- После этого чашки перенести в холодильник (2-8°C) для хранения.

Критерии оценки:

- Поместите на лед пробирки с компетентными клетками до полного размораживания
- размораживание компетентных клеток на льду **(1 балл)**
- Добавьте в пробирку с клетками 1 мкл раствора ДНК. Аккуратно перемешайте содержимое легким встряхиванием
- правильность добавления 1 мкл раствора ДНК **(1 балл)**
- стерильность выполняемых действий **(6 баллов)**
- Инкубируйте пробирки во льду в течение 20-30 мин.
-фиксация времени инкубации **(1 балл)**
-корректность условий инкубации **(1 балл)**
- Перенесите пробирки в водяную баню (42°C) на 30-45 сек
- фиксация времени **(1 балл)**
- Быстро перенесите пробирки из водяной бани в лед и инкубируйте в течение 3-5 мин. Соблюдение протокола **(1 балл)**
- Добавьте не менее 3-х объемов предварительно подогретой до 37-42°C среды SOB, перемешайте содержимое и инкубируйте при 37°C в течение 40-60 мин в качалке при перемешивании (225-250 об/мин)
- подогретость среды SOB **(1 балл)**
- правильность расчёта добавленного объёма подогретой среды **(3 балла)**

- фиксация времени инкубирования клеток **(1 балл)**
- стерильность выполняемых действий **(6 баллов)**
- Высейте содержимое пробирок на чашки Петри с LB-агаром.
 - правильность посева среды на чашки Петри **(3 балла)**
 - стерильность выполняемых действий **(6 баллов)**
- Используя стерильный шпатель, равномерно распределите трансформированные клетки по поверхности агара. Дайте чашкам Петри полностью высохнуть в полуоткрытом состоянии.
 - правильность выполняемых действий **(4 балла)**
 - стерильность выполняемых действий **(6 баллов)**
- Поместите чашки Петри в суховоздушный термостат и инкубируйте в течение 14-16 ч при 37°C (протокол) **(1 балл)**
- Наличие моноклонов на чашках красного, синего и зелёного цветов
 - красный **(2 балла)**
 - синий **(2 балла)**
 - зелёный **(2 балла)**
 - контроль (отсутствие моноклонов на чашке) **(1 балл)**

Задание 4.2.4.

Условие:

По результатам проведенной работы и полученным результатам подготовьте в качестве отчета презентацию и защитите ее перед экспертами. **(6 баллов)**

Критерии оценки выполнения задания:

- Качество слайдов: оригинальность дизайна, наглядность и информативность – **2 балла**
- Выдержанность структуры презентации – **1 балл**
- Правильность сделанных выводов – **3 балла**