

Задачи второго этапа. Геномное ре- дактирование. 10-11 класс

3.1. Блок заданий 1

Задача 3.1.1. (1 балл)

Лаборант-исследователь подготовил реакционную смесь для полимеразной цепной реакции (ПЦР), добавил в пробирку следующие компоненты:

- Двухкратный буфер для ПЦР (с Mg^{2+})
- ДНК-матрица
- Прямой праймер

Затем лаборант отвлекся на смс-сообщение, а когда вернулся к протоколу, задумался, каких компонентов не хватает в реакционной смеси.

Определите, какие компоненты нужно добавить в реакционную смесь

1. дезоксигуанозинтрифосфат
2. РНК-матрица
3. РНК-зависимая ДНК-полимераза
4. дезокситимидинтрифосфат
5. дезоксиаденозинтрифосфат
6. дезоксицитидинтрифосфат
7. ДНК-зависимая РНК-полимераза
8. ДНК-зависимая ДНК-полимераза
9. обратный праймер
10. дезоксиуридинтрифосфат

Рекомендуемая литература

1. Рекомендации по постановке ПЦР <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/Evrogen-PCR-recommendation.pdf>
2. 12 методов в картинках: полимеразная цепная реакция <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>

Пояснения к ответу

Необходимо выбрать компоненты, которые являются субстратами ДНК-полимеразы и принимают участие в репликации ДНК.

Ответ: 1, 4, 5, 6, 8.

Задача 3.1.2. (4 балла)

Приведенный ниже отрывок текста посвящен использованию метода редактирования генома CRISPR-Cas9 [1, 2].

Выберите корректные по смыслу варианты из выпадающего списка. В некоторых местах возможно несколько правильных вариантов, выберите любой из них.

Метод редактирования генома, использующий систему CRISPR/Cas9, может быть использован для (анализа родословной / исключения заранее выбранных генов / разработки штаммов бактерий, устойчивых к любым антибиотикам / создания новых видов животных / увеличения продуктивности экосистем). Молекулярный процесс редактирования гена включает несколько стадий. На первой происходит связывание комплекса белка-нуклеазы Cas9 и направляющей РНК с (антипараллельной / антисмысловой / идентичной / коллинеарной / комплементарной) целевой областью ДНК. Далее (белок / фермент / нуклеаза / рестриктаза / протеаза) Cas9 осуществляет (разрезание / расщепление / диссоциацию / стабилизацию / сопоставление) нуклеотидной последовательности ДНК в области непосредственного взаимодействия РНК-ДНК с образованием двуцепочечного разрыва. На последнем этапе ферменты (репарации / репликации / ретардации / лигирования / рестрикции) ДНК восстанавливают образующийся разрыв с формированием мутаций в виде делеций или инсерций.

Рекомендуемая литература

1. Редактирование генома с CRISPR/Cas9 <https://postnauka.ru/faq/59807>
2. Статья в Википедии о CRISPR <https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>
3. Статья о возможностях редактирования генома https://chr.dk.ru/sci/ot_bezobidnoi_kartoshki_do_biologicheskogo_oruzhiya

Пояснения к ответу

В некоторых случаях возможно несколько правильных ответов.

Ответ: исключения заранее выбранных генов; комплементарной; белок, фермент, нуклеаза; разрезание; расщепление; репарации.

Задача 3.1.3. (5 баллов)

Смесь для проведения ПЦР состоит из нескольких компонентов. Перед началом эксперимента часто нужно сначала приготовить рабочий раствор. Обычно в

лаборатории имеются стоковые (исходные) растворы компонентов, необходимых для проведения ПЦР.

Даны концентрации стоковых растворов

- ДНК-полимераза, 1.5 ед/мкл
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, 10 мМ каждого
- прямой праймер, 6 мкМ
- обратный праймер, 3.75 мкМ
- матрица ДНК, 50 нг/мкл
- хлорид магния, 30 мМ
- Tween 20, 1.25%
- Трис рН 8.5, 0.3 М
- хлорид калия, 0.25 М

Определите, какой объем стоковых растворов и воды следует добавить в реакционную смесь, если известно, что конечный объем реакционной смеси 25 мкл.

Сопоставьте компоненты реакционной смеси и их финальные концентрации и объем данного компонента, который следует добавить в реакционную смесь для достижения заданной концентрации.

- | | |
|---|---------------------------|
| 1. вода деионизованная | а. 4 мкл |
| 2. ДНК-полимераза, 0.03 ед/мкл | б. 3.75 мкл |
| 3. нуклеозидтрифосфаты, 0.4 мМ
каждого | в. 2.0 мкл
г. 1.25 мкл |
| 4. прямой праймер, 300 нМ | д. 1.0 мкл |
| 5. обратный праймер, 300 нМ | е. 3 мкл |
| 6. матрица ДНК, 4.5 нг/мкл | ж. 0.5 мкл |
| 7. хлорид магния, 3 мМ | з. 2.5 мкл |
| 8. Tween 20, 0.15% | и. 2.25 мкл |
| 9. Трис рН 8.5, 45 мМ | л. 4.75 мкл |
| 10. хлорид калия, 40 мМ | |

Пояснения к ответу

Следует вычислить разведение стокового раствора до финальной концентрации, определить объем добавляемого стокового раствора, соотнести объем и компонент.

Ответ: 1 - л, 2 - ж, 3 - д, 4 - г, 5 - в, 6 - и, 7 - з, 8 - е, 9 - б, 10 - а.

Задача 3.1.4. (5 баллов)

Данный текст сравнивает методы селекции и генной инженерии.

Выберите корректные по смыслу варианты. В некоторых местах возможно несколько правильных вариантов, выберите любой из них.

Метод селекции основан на (гибридизации / получении / разнообразии / скрещивании / элиминировании) особей с интересными для исследователя признаками и дальнейшем (изучении / размножении / отборе / элиминировании) полученных потомков. На следующем этапе обычно требуется повысить (гетерозиготность / гомозиготность / единообразие / продуктивность / разнообразие) полученных форм. Для этого у растений широко используют (вегетативное размножение / обработку колхицином / отбор наиболее приспособленных форм / самоопыление / эффект гетерозиса), а у животных (аутбридинг / возвратное скрещивание / инбридинг / отбор наиболее приспособленных форм / партеногенез). Таким образом, селекция позволяет оперировать исключительно генофондом (вида / одной популяции / организма / особи / человека). В отличие от селекции, методы генетической инженерии позволяют переносить гены между (ДНК разных видов / митохондриями и ядром / организмами разных видов / разными клетками / ядром и цитоплазмой). Считается, что генетическая инженерия появилась благодаря открытию в 1971 году (генетического кода / строения генома эукариот / структуры ДНК / ферментов-рестриктаз / универсальности генетического кода). При помощи генетической инженерии были созданы генно-модифицированные (породы пчел / сорта арбузов без косточек / устойчивые к сорнякам сорта сои / флуоресцентные аквариумные рыбки / штаммы сибирской язвы).

Пояснения к ответу

В некоторых случаях возможно несколько правильных ответов.

Ответ: гибридизации, скрещивании; гомозиготность, единообразие; самоопыление; инбридинг; вида; организмами разных видов; ферментов-рестриктаз; флуоресцентные аквариумные рыбки.

Задача 3.1.5. (2 балла)

Полимеразная цепная реакция является исключительно важным современным методом молекулярной биологии. Принцип метода изложен в работах [1], [2]. В честь дня рождения Томаса Ханта Моргана лаборант решил получить ПЦР-продукт гена white длиной 152 пары нуклеотидов. Ген white кодирует транспортер прекурсоров пигментов глаза дрозофилы, мутация в нем приводит к формирования белых глаз [3, 4]. Последовательность данного гена в базе данных Gene Bank имеет идентификатор X02974.2 [5]

Для амплификации участка ДНК методом ПЦР требуется заказать прямой и обратный праймер [6]. Последовательность праймеров принято записывать от 5'-конца к 3'-концу.

Определите последовательность обратного праймера длиной 16 нуклеотидов, если в качестве прямого праймера был использован следующий олигонуклеотид 5'-СТСГСААСГГААААСС-3'.

Введите последовательность обратного праймера латинскими буквами, без знаков 5'-, 3'-, и пробелов.

Рекомендуемая литература

1. Рекомендации по постановке ПЦР <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/Evrogen-PCR-recommendation.pdf>
2. 12 методов в картинках: полимеразная цепная реакция <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>
3. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. - 1999. - V. 1419. - P. 173-185
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273699000644?via%3Dihub>
4. Статья о мутации white в Википедии [https://ru.wikipedia.org/wiki/White_\(%D0%BC%D1%83%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F\)](https://ru.wikipedia.org/wiki/White_(%D0%BC%D1%83%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F))
5. Интерфейс для поиска <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>
6. Статья о праймерах в английской Википедии. Внимательно изучите иллюстрацию [https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_\(molecular_biology\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_(molecular_biology))

Пояснения к ответу

Для решения задачи следует воспользоваться интерфейсом NCBI (ссылка 5).

Ответ: GGCTGTTGСТААТАТТ.

Задача 3.1.6. (4 балла)

Искусственные плазмиды активно используют в генетической инженерии в качестве векторов, в которые клонируют гены, кодирующие белки, представляющие интерес для исследований. Для работы с плазмидами существует несколько программ для ПК, например, бесплатная SnapGene Viewer [1]. Молекулярные биологи активно используют плазмиду pBluescript для отбора успешно трансформированных клонов [2]. Карту этой плазмиды для работы в программе SnapGene Viewer можно скачать по ссылке [3].

Для решения задач в области генетической инженерии широко используют эндонуклеазы рестрикции - ферменты, позволяющие "разрезать" двуцепочечную ДНК [4]. Рестриктазы позволяют "вырезать" гены из одного источника и далее клонировать полученные последовательности в различные векторы, в том числе, плазмидные. Информация о специфичности эндонуклеаз рестрикции, а также сайты рестрикции имеется в программе SnapGene Viewer.

Используя программу SnapGene Viewer (или аналогичную) [1], карту плазмиды pBluescript [3], соотнесите эндонуклеазы рестрикции (PvuII, BstBAI, RsaI, EcoICRI, SspI) и фрагменты, которые будут получены при их действии на данную плазмиду.

- | | |
|---------------------|---------------------------|
| 1. PvuII + BstBAI | а. 130 + 448 + 510 + 1873 |
| 2. RsaI + EcoICRI | б. 302 + 448 + 2211 |
| 3. SspI + RsaI | в. 530 + 2431 |
| 4. PvuII + SspI | г. 130 + 324 + 636 + 1871 |
| 5. EcoICRI + BstBAI | д. 102 + 1090 + 1769 |

Рекомендуемая литература

1. Программа SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/ При установке рекомендуем выбрать Sibenzyme верхней строчкой поставщика эндонуклеаз рестрикции.
2. Информация о плазмиде pBluescript <https://en.wikipedia.org/wiki/PBluescript>
3. Ссылка для скачивания файла pBluescript II SK (+) для работы в программе SnapGene Viewer [https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK\(+\)/](https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK(+)/)
4. Статья о рестриктазах в Википедии https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BD%D0%B4%D0%BE%D0%BD%D1%83%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D0%B0%D0%B7%D1%8B_%D1%80%D0%B5%D1%81%D1%82%D1%80%D0%B8%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%B8

Пояснения к ответу

Следует определить сайты рестрикции, длины фрагментов ДНК, получающихся в результате рестрикции, соотнести длины фрагментов и комбинации рестриктаз.

Ответ: 1 - б, 2 - д, 3 - г, 4 - а, 5 - в.

3.2. Блок заданий 2

Задача 3.2.1. Определение массы фрагмента ДНК (1 балл)

В результате разрезания плазмиды pBR322 (длина 4361 п.н.) рестриктазой AccBSII образовались два фрагмента длиной 2560 п.н. и 1801 п.н.

Определите массу фрагмента длиной 1801 п.н., если известно, что масса исходной плазмиды составляла 1000 нг.

Ответ округлите до целого числа.

Пояснения к ответу

Следует соотнести длину фрагмента и массу исходной плазмиды.

Ответ: 413.

Задача 3.2.2. Определение массы фрагмента ДНК (2 балла)

В результате разрезания плазмиды pBluescript (длина 2961 п.н.) рестриктазой SspI образовались два фрагмента.

Для работы с плазмидами существует несколько программ для ПК, например, бесплатная SnapGene Viewer [1].

Карту плазмиды pBluescript для работы в программе SnapGene Viewer можно скачать по ссылке [2].

Определите массу более длинного фрагмента плазмиды pBluescript, образовавшегося после рестрикции SspI, если известно, что масса исходной плазмиды составляла 2018 нг.

Ответ округлите до целого числа.

Рекомендуемая литература

1. Ссылка для скачивания программы SnapGene Viewer https://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/
2. Ссылка для скачивания файла pBluescript II SK (+) для работы в программе SnapGene Viewer [https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK\(+\)/](https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK(+)/)

Пояснения к ответу

Следует определить сайты рестрикции, длины фрагментов ДНК, получающихся в результате рестрикции, соотнести длину фрагментов и массу исходной плазмиды.

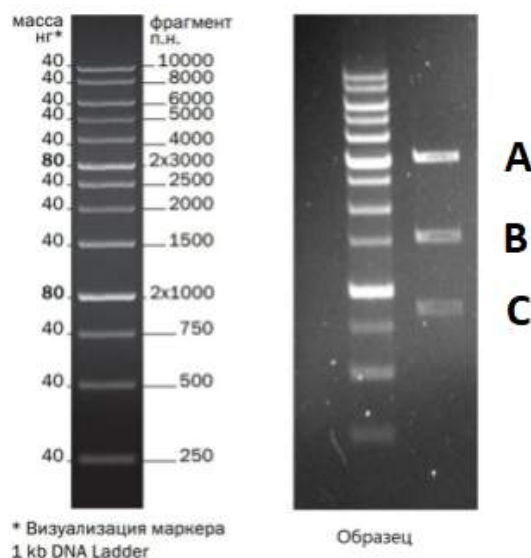
Ответ: 1929.

Задача 3.2.3. Электрофорез ДНК (2 балла)

Для визуализации ДНК-фрагментов а также их разделения в зависимости от длины использует гель-электрофорез [1].

Для определения длины полученных ДНК фрагментов используются коммерческие растворы ДНК, которые содержат фрагменты ДНК молекул строго определенных длин. Такие растворы называется «маркерами длин ДНК-фрагментов» («DNA ladder», «линейка», «маркеры ДНК») [2].

На иллюстрации приведена фотография геля, на который был нанесен маркер ДНК (слева) и образец ДНК (справа), и расшифровка длин ДНК фрагментов маркера.



Необходимо определить примерную длину каждого из трех фрагментов ДНК. Соотнесите фрагменты и их длину в п. н.

- | | |
|---------------|-------------------|
| 1. Фрагмент С | а. 3000-4000 п.н. |
| 2. Фрагмент В | б. 750-1000 п.н. |
| 3. Фрагмент А | в. 1500-2000 п.н. |

Рекомендуемая литература

1. Подробнее о методе https://en.wikipedia.org/wiki/Gel_electrophoresis_of_nucleic_acids
2. Статья о маркерах молекулярной массы https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular-weight_size_marker

Пояснения к ответу

Следует соотнести длины полученных фрагментов ДНК и длины фрагментов ДНК маркера.

Ответ: 1 - б, 2 - в, 3 - а.

Задача 3.2.4. Секвенирование по Сэнгеру (4 балла)

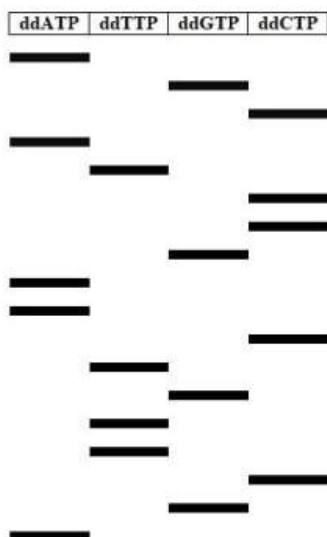
Секвенирование позволяет «побуквенно» прочитать нуклеотидную последовательность ДНК. Наиболее распространенный метод секвенирования, который используется в рутинной лабораторной практике, был изобретен Фредериком Сэнгером [1, 2, 3]. Данный метод также называется методом терминирующих оснований.

Ключевым моментом является использование дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ddNTPs), которые не имеют 3'-ОН группы для образования связи со следующей фосфатной группой. Поэтому в результате включения подобного дигидроксинуклеотида синтез комплементарной цепи ДНК терминируется. При проведении анализа

для каждого образца ДНК готовится 4 реакционных смеси, которые содержат смесь четырех dNTP, ДНК-полимеразу и один из терминирующих ddNTP.

Результаты реакции визуализируют с помощью гель-электрофореза и по набору полос восстанавливают исходную последовательность.

"Прочитать" результаты гель-электрофореза и определить последовательность нуклеотидов в анализируемом образце ДНК.



Ответ привести в виде последовательности нуклеотидов, в направлении от 5'- к 3'-концу, латинскими буквами, без обозначений 3'-, 5'-, пробелов, например: ТАТТСТА

Рекомендуемая литература

1. Статья о секвенировании по Сэнгеру в википедии https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4_%D0%A1%D1%8D%D0%BD%D0%B3%D0%B5%D1%80%D0%B0
2. Видеоуроки о секвенировании по Сэнгеру на Степике <https://stepik.org/lesson/13696/step/7?unit=3835>
3. Статья о методе Сэнгера на сайте "Биомолекула" <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-sekvenirovanie-nukleinovykh-kislot>

Пояснения к ответу

Следует прочитать последовательность, начиная с нижней части геля (на рисунке).

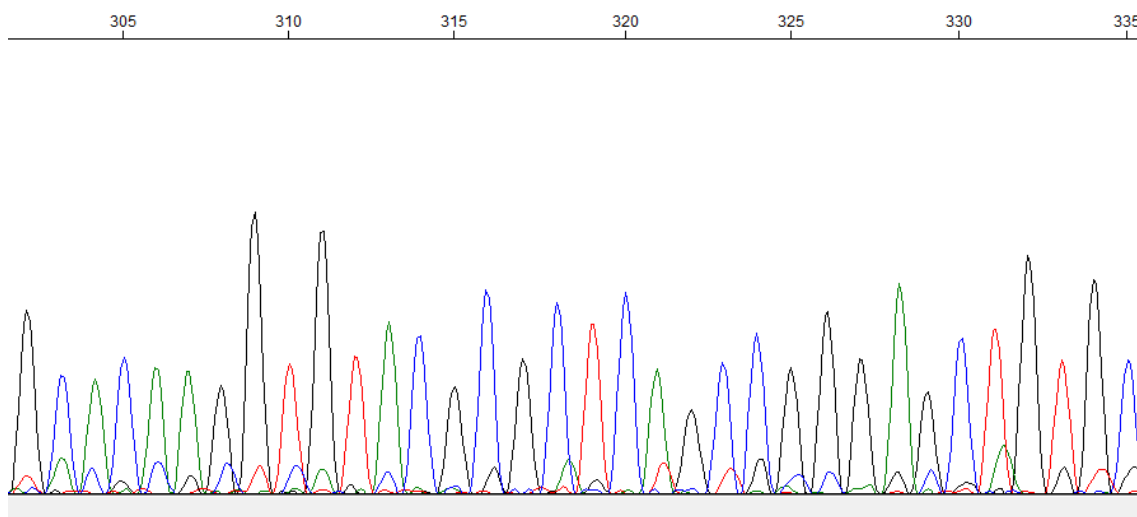
Ответ: AGCTTGTCAAGCCTACGA.

Задача 3.2.5. Определение последовательности ДНК по секвеннограмме (3 балла)

Современный вариант исполнения метода Сэнгера [1, 2] предполагает использование автоматических капиллярных ДНК-анализаторов, которые определяют наличие флуоресцентно-меченых мономеров-терминаторов в составе продуктов реакции. Затем с помощью программного обеспечения прибора устанавливают соответствия между длиной продуктов и положением конкретного нуклеотида. В итоге получается «секвеннограмма», аналогичной той, что представлена на рисунке:

Разные цвета обозначают положения различных нуклеотидов (четыре цвета – четыре нуклеотида):

1. Зеленая линия – положения А
2. Красная линия – положения Т
3. Черная линия – положения G
4. Синяя линия – положения С



Определите последовательность и с помощью сервиса Blast [3] определите, какому гену она принадлежит. Ответ должен содержать краткое обозначение гена в виде трех латинских букв и одной цифры без пробела, без дефиса или других знаков препинания (формат XYZ9)

Рекомендуемая литература

1. Биомолекула: 12 методов в картинках <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-sekvenirovanie-nukleinovyx-kislot>
2. Видеолекция на степике о методе Сэнгера <https://stepik.org/lesson/13696/step/7?unit=3835>
3. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, выбрать Nucleotide BLAST, ввести полученную последовательность нуклеотидов в желтое поле, нажать кнопку Blast.

Пояснения к ответу

Следует соотнести цвета «пиков» секвенограммы с положениями терминирующих дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, определить ген при помощи сервиса Blast.

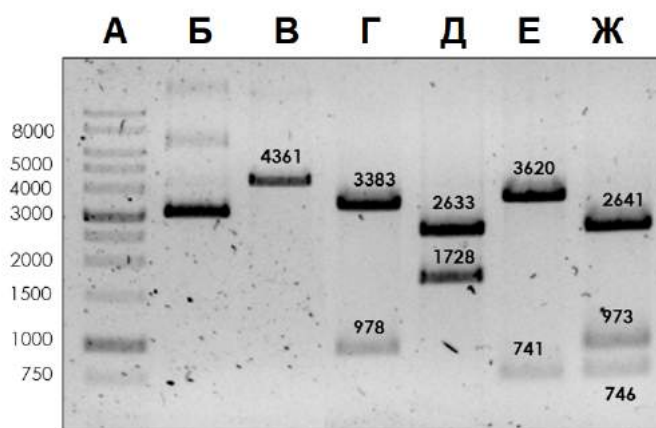
Ответ: IRF7.

Задача 3.2.6. Продукты рестрикции плазмидной ДНК (4 балла)

Искусственные плазмиды активно используют в генетической инженерии в качестве векторов, в которые клонируют гены, кодирующие белки, представляющие интерес для исследований. Для работы с плазмидами существует несколько программ для ПК, например, бесплатная SnapGene Viewer [1]. Плазмиду pBR322 активно использовали в 1980-е годы. Карту этой плазмиды для работы в программе SnapGene Viewer можно скачать по ссылке [2].

Для решения задач в области генетической инженерии широко используют эндонуклеазы рестрикции - ферменты, позволяющие "разрезать" двуцепочечную ДНК. Рестриктазы позволяют "вырезать" гены из одного источника и далее клонировать полученные последовательности в различные векторы, в том числе, плазмидные. Информация о специфичности эндонуклеаз рестрикции, а также сайты рестрикции плазмид имеются в программе SnapGene Viewer.

Используя программу SnapGene Viewer (или аналогичную) [1], карту плазмиды pBR322 [2], соотнесите эндонуклеазы рестрикции (EcoRI, NruI и PstI) и фрагменты, которые будут получены при их действии на данную плазмиду. Фотография геля с продуктами рестрикции приведена на рисунке. Числа около фрагментов на дорожках В-Ж соответствуют расчетным длинам продуктов рестрикции.



1. А
2. Б
3. В
4. Г
5. Д

- 6. Е
- 7. Ж
- а. pBR322
- б. Маркер молекулярной массы ДНК
- в. pBR322 + PstI + EcoRI
- г. pBR322 + PstI + NruI
- д. pBR322 + EcoRI + NruI
- е. pBR322 + PstI + NruI + EcoRI
- ж. pBR322 + PstI

Рекомендуемая литература

1. Программа SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/ При установке рекомендуем выбрать Sibenzyme верхней строчкой поставщика эндонуклеаз рестрикции.
2. Ссылка для скачивания файла pBR322 для работы в программе SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBR322/

Пояснения к ответу

Следует определить сайты рестрикции, длины фрагментов ДНК, получающихся в результате рестрикции, соотнести длины фрагментов и комбинации рестриктаз.

Ответ: 1 - б, 2 - а, 3 - ж, 4 - д, 5 - г, 6 - в, 7 - е.

Задача 3.2.7. (4 балла)

Данный текст посвящен методу ПЦР.

Выберите варианты ответа, максимально соответствующие по смыслу.

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) необходимо, в первую очередь, выбрать участок (антигена / гена / генетического кода / молекулы / рибосомы) и сконструировать (азотистые основания / молекулы / нуклеотиды / олигонуклеотиды / праймеры), комплементарные участкам выбранного гена. Праймеры обычно выбирают длиной около (2 / 12 / 20 / 200 / 2000) (азотистых оснований / нуклеотидов / олигонуклеотидов / пар нуклеотидов / пар олигонуклеотидов). Положение праймеров задаёт (длину / массу / пространство / температуру плавления / ширину) конечного продукта. Затем нужно подготовить матрицу ДНК. Далее в пробирке смешивают все необходимые компоненты: ДНК-матрицу, праймеры, реакционный буфер, содержащий (ионы калия / ионы кальция / ионы магния / ионы натрия), (дезоксинуклеозидтрифосфаты / дезокситрифосфаты / нуклеозидтрифосфаты / трифосфаты), фермент ДНК-зависимую ДНК-полимеразу. На приборе, который называется (амплификатор / термостат / хроматограф / центрифуга) задают протокол ПЦР, который обычно состоит из (10-15 / 15-25 / 30-40 / 40-60 / 60-80) циклов, каждый из которых содержит последовательно стадии (денатурации / отжига

праймеров / плавления / поглощения / ренатурации / репликации / терминации / элонгации), (денатурации / достройки / плавления / отжига праймеров / удлинения / элонгации) и (денатурации / комплементации / поглощения / ориентации / отжига праймеров / элонгации).

Рекомендуемая литература

1. Рекомендации по постановке ПЦР <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/Evrogen-PCR-recommendation.pdf>
2. 12 методов в картинках: полимеразная цепная реакция <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>

Пояснения к ответу

В некоторых случаях возможно несколько правильных ответов.

Ответ: гена; праймеры, олигонуклеотиды; 20; нуклеотидов; длину; ионы магния; дезоксирибонуклеозидтрифосфаты; амплификатор; 30-40; денатурации, плавления; отжига праймеров; элонгации.

3.3. Блок заданий 3

Задача 3.3.1. Электрофорез нуклеиновых кислот (2 балла)

Нуклеиновые кислоты отличаются по электрофоретической подвижности.

Определите подвижность различных видов нуклеиновых кислот в геле, начиная с наименее (сверху) и заканчивая наиболее подвижной (снизу).

1. 5.8S рибосомная РНК
2. 18S рибосомная РНК
3. транспортная РНК
4. геномная ДНК
5. 28S рибосомная РНК
6. 5S рибосомная РНК

Пояснения к ответу

Необходимо упорядочить приведенные формы нуклеиновых кислот по их длине.

Ответ: 1, 6, 3, 4, 2, 5.

Задача 3.3.2. Приготовление разведений растворов (2 балла)

Концентрацию компонентов в растворе обозначают различными способами. Широко используют количественные характеристики, например, г/л, моль/л (М), % и

другие [1]. Например, при приготовлении растворов для нанесения образцов на гель, или при расчете компонентов смеси для ПЦР часто используют кратные растворы (2x, 4x, 5x, 10x). Например, для приготовления 100 мл однократного раствора (1x), нужно взять 50 мл двукратного раствора (2x) и добавить 50 мл воды или другого раствора.

Сколько шестикратного (6x) буферного раствора для нанесения пробы на гель необходимо добавить в 25 мкл реакционной смеси для достижения в реакционной смеси однократной (1x) концентрации буферного раствора? Ответ введите в виде натурального целого числа без "мкл".

Рекомендуемая литература

1. Статья в википедии о концентрации смеси https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BD%D1%86%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_%D1%81%D0%BC%D0%B5%D1%81%D0%B8

Пояснения к ответу

Необходимо определить объем 6x буферного раствора, который следует добавить до достижения 1x концентрации.

Ответ: 5.

Задача 3.3.3. Продукты рестрикции плазмидной ДНК (3 балла)

Искусственные плазмиды активно используют в генетической инженерии в качестве векторов, в которые клонируют гены, кодирующие белки, представляющие интерес для исследований. Для работы с плазмидами существует несколько программ для ПК, например, бесплатная SnapGene Viewer [1]. Плазмиду pBluescript активно использовали в 1980-е годы. Карту этой плазмиды для работы в программе SnapGene Viewer можно скачать по ссылке [2].

Для решения задач в области генетической инженерии широко используют эндонуклеазы рестрикции - ферменты, позволяющие "разрезать" двуцепочечную ДНК. Рестриктазы позволяют "вырезать" гены из одного источника и далее клонировать полученные последовательности в различные векторы, в том числе, плазмидные. Информация о специфичности эндонуклеаз рестрикции, а также сайты рестрикции плазмид имеются в программе SnapGene Viewer.

Используя программу SnapGene Viewer (или аналогичную) [1], карту плазмиды pBluescript [2], соотнесите длины фрагментов плазмидной ДНК, которые будут получены при действии рестриктаз Acc16I, BstBAI, HindII, PvuII, SspI и ZrmI с пробирками, которые содержат реакционные смеси с разными рестриктазами.

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1. Acc16I + HindII | 4. ZrmI + PvuII |
| 2. HindII + SspI | 5. PvuII + BstBAI |
| 3. SspI + ZrmI | 6. BstBAI + Acc16I |

- | | |
|--------------------|-------------------|
| а. 302, 448, 2211 | г. 130, 324, 2507 |
| б. 448, 964, 1549 | д. 130, 657, 2174 |
| в. 197, 1172, 1592 | е. 252, 920, 1789 |

Рекомендуемая литература

1. Программа SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/ При установке рекомендуем выбрать Sibenzyme верхней строчкой поставщика эндонуклеаз рестрикции.
2. Ссылка для скачивания файла плазмиды pBluescript [https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK\(+\)/](https://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBluescript_II_SK(+)/)

Пояснения к ответу

Следует определить сайты рестрикции, длины фрагментов ДНК, получающихся в результате рестрикции, соотнести длины фрагментов и комбинации рестриктаз.

Ответ: 1 - в, 2 - д, 3 - г, 4 - б, 5 - а, 6 - е.

Задача 3.3.4. Определение концентрации компонентов в смеси (2 балла)

Для постановки секвенирующей реакции Сэнгера с флуоресцентно мечеными дезоксинуклеозидтрифосфатами часто используют продукт, наработанный в ПЦР и один из праймеров - прямой или обратный. Перед началом эксперимента необходимо приготовить рабочий раствор. Лаборант приготовил реакционную смесь из стоковых (исходных) растворы компонентов.

Концентрации стоковых растворов

- прямой праймер, 6 мкМ
- хлорид магния, 0,1 М
- Трис рН 8.5, 1 М
- хлорид калия, 1 М
- матрица ДНК, 50 пМ

Определите конечную концентрацию компонентов в реакционной смеси, если известно, что к реакционной смеси добавили 5 мкл 10-кратного раствора смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов с флуоресцентно мечеными дезоксинуклеозидтрифосфатами.

Сопоставьте компоненты реакционной смеси, добавленный объем (слева) и их финальные концентрации (справа).

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| 1. прямой праймер, 6 мкМ | 3. Трис рН 8.5, 1 М |
| 2. хлорид магния, 0,1 М | 4. хлорид калия, 1 М |

- | | |
|-----------------------|----------|
| 5. матрица ДНК, 50 пМ | в. 1 пМ |
| а. 0.15 мкМ | г. 40 мМ |
| б. 2 мМ | д. 50 мМ |

Пояснения к ответу

Следует вычислить финальную концентрацию каждого компонента исходя из стоковой концентрации и добавленного объема. Соотнести компонент и конечную концентрацию.

Ответ: 1 - а, 2 - в, 3 - б, 4 - д, 5 - г.

Задача 3.3.5. Определение массы фрагмента ДНК (3 балла)

В результате разрезания плазмиды pBR322 рестриктазами HindII и BstBAI образовалось несколько фрагментов.

Для работы с плазмидами существует несколько программ для ПК, например, бесплатная SnapGene Viewer [1].

Карту плазмиды pBR322 для работы в программе SnapGene Viewer можно скачать по ссылке [2].

Определите массу самого длинного фрагмента плазмиды pBR322, образовавшегося после гидролиза рестриктазами HindII и BstBAI, если известно, что масса исходной плазмиды составляла 2019 нг.

Ответ округлите до целого числа.

Рекомендуемая литература

1. Ссылка для скачивания программы SnapGene Viewer https://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/
2. Ссылка для скачивания файла pBR322 для работы в программе SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/resources/plasmid_files/basic_cloning_vectors/pBR322/

Пояснения к ответу

Следует определить сайты рестрикции, длины фрагментов ДНК, получающихся в результате рестрикции, соотнести длину фрагмента и массу исходной плазмиды.

Ответ: 778.

Задача 3.3.6. Поиск PAM (4 балла)

Механизм действия системы редактирования CRISPR/Cas9 включает несколько этапов:

1. поиск и узнавание последовательности РАМ (от англ. protospacer adjacent motif — мотив, смежный с протоспейсером)
2. формирование дуплекса между направляющей РНК и целевым участком ДНК
3. разрезание цепи ДНК нуклеазой Cas9 с образованием двуцепочечного разрыва
4. репарация ДНК по механизму гомологичной рекомбинации или негомологичного соединения концов

Найдите в выбранном участке гена все возможные варианты последовательности РАМ. Представлена кодирующая цепь:

5'-GTCGCCAGCCGAGCCACATCGCTCAGACACCATGGGAAGTGA-3'

Выберите корректные последовательности РАМ из предложенных ниже.

1. CCA
2. GAG
3. CGG
4. GGG
5. GCC
6. TGG
7. CTC

Рекомендуемая литература

1. Статья в Википедии о методе CRISPR-Cas <https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>
2. НЕМУДРЫЙ А.А., ВАЛЕТДИНОВА К.Р., МЕДВЕДЕВ С.П., ЗАКИЯН С.М. СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМОВ TALEN И CRISPR/CAS - ИНСТРУМЕНТЫ ОТКРЫТИЙ // Acta Naturae. - 2014. - Т. 6. - С. 20. <https://yadi.sk/i/0epvvqFx2SrMoQ>

Пояснения к ответу

Следует определить последовательности РАМ, содержащиеся в приведенной и комплементарной ей цепи ДНК (выделены жирным).

Ответ: 3, 4, 6.

Задача 3.3.7. Анализ секвенограмм (4 балла)

Результаты секвенирования ДНК по методу Сэнгера (с использованием флуоресцентно меченых ддНТФ) могут быть представлены в виде "секвенограммы результата разделения фрагментов ДНК капиллярным электрофорезом. Для анализа этих файлов можно использовать бесплатные программы, рекомендованные производителем оборудования [1], а также универсальные программы, например SnapGene Viewer [2].

Используя программу для анализа результатов секвенирования, определите ген человека, последовательность которого была амплифицирована при помощи ПЦР и далее в реакции Сэнгера. Ответ представьте в виде трехбуквенного идентификатора соответствующего гена, используйте латинские буквы.

Рекомендуемая литература

1. Бесплатная программа Chromas
<http://www.technelysium.com.au/Chromas265Setup.exe>
2. SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/
3. Ссылка для скачивания файла с секвенограммой с Яндекс-диска <https://yadi.sk/d/9k0Zj1CHS2zVKw>

Пояснения к ответу

Необходимо определить последовательность нуклеотидов в секвенограмме. При помощи сервиса Blast определить соответствующий ген.

Ответ: Sry.

Задача 3.3.8. Дизайн праймеров (4 балла)

Полимеразная цепная реакция является исключительно важным современным методом молекулярной биологии. Принцип метода изложен в работах [1], [2]. Для амплификации участка ДНК методом ПЦР требуется заказать прямой и обратный праймер [3].

Ген PAX6 относят к семейству генов PAX [4], которые кодируют тканеспецифичные факторы транскрипции. Мутации в данном гене приводят к нарушениям строения органов зрения. Ортолог (гомолог) данного гена у дрозофилы называется eyless. Последовательность данного гена в базе данных GeneBank имеет идентификатор NG_008679.1 [5]

Последовательность праймеров принято записывать от 5'-конца к 3'-концу. Определите последовательность прямого праймера длиной 20 нуклеотидов, если в качестве обратного праймера был использован следующий олигонуклеотид 5'- CCTAGGCCGCGAGAGGGCT-3', и известно, что длина ПЦР-фрагмента равна 210 пар нуклеотидов.

Введите последовательность прямого праймера латинскими буквами, без знаков 5'-, 3'-, и пробелов.

Рекомендуемая литература

1. Рекомендации по постановке ПЦР <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/Evrogen-PCR-recommendation.pdf>
2. 12 методов в картинках: полимеразная цепная реакция <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>

3. Статья о праймерах в английской Википедии. Внимательно изучите иллюстрацию [https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_\(molecular_biology\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_(molecular_biology))
4. Статья о генах PAX в Википедии https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D1%8B_Pax
5. Интерфейс для поиска <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>

Пояснения к ответу

Необходимо открыть последовательность гена в базе NCBI, найти последовательность, соответствующую обратному, вычислить последовательность, соответствующую прямому праймеру.

Ответ: GAGCTCGGAAGGGCCTAGT.

Задача 3.3.9. Методы инженерной биологии (6 баллов)

Генетическая инженерия позволяет выделять гены из одних организмов и вводить их в геном других организмов, получая при этом в результате рекомбинантные ДНК и трансгенные организмы. Методы генной инженерии [2] и редактирования генома [3] сегодня широко используются в синтетической биологии.

Выберите наиболее корректные варианты пропущенных фраз в тексте.

Методы генетической инженерии широко используют различные (белки / гены / молекулы / ферменты / фрагменты) метаболизма ДНК. Среди прочих особенно следует отметить эндонуклеазы рестрикции, которые были открыты в начале 1970х годов. Данные ферменты используются (бактериями / бактериофагами / вирусами / грибами / растениями / эукариотами) для защиты от чужеродной ДНК. Система рестрикции-модификации распознает молекулы ДНК, которые неметилированы, и вносит в них (двухцепочечный разрыв / делецию / изменения / одноцепочечный разрыв / сайт рестрикции). Если молекула ДНК содержит метилированные нуклеотиды только в одной цепи, ферменты системы (амплификации / деметилирования / модификации / репарации / рестрикции) метилируют ее по второй цепи. Таким образом, клетка хозяина разрушает чужеродную ДНК и сохраняет свою. Открытие эндонуклеаз рестрикции привело к развитию методов генной инженерии.

Сходным образом клетки (архей и бактерий / всех живых организмов / грибов и животных / прокариот и эукариот / растений и животных / растений и грибов) используют повторяющиеся последовательности, разделенные уникальными последовательностями, заимствованными из (гомологичных последовательностей ДНК / окружающей среды / фрагментов собственного генома / чужеродной ДНК). Такие короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами, называют CRISPR (от англ. - clustered regularly interspaced short palindromic repeats). Для практического применения данной системы требуется также специальный белок Cas9, который вносит двухцепочечный разрыв в (гена / ДНК / РНК / эндонуклеазы) в области формирования гетеродуплекса с (ДНК / РНК), синтезированной на матрице CRISPR. Таким образом, две природные системы защиты клеток от чужеродной ДНК широко используются в генетической инженерии для переноса генов между организмами и в методе редактирования генома для коррекции имеющихся последовательностей ДНК.

Рекомендуемая литература

1. Генетическая инженерия <https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-gennaia-inzheneriia-chast-i-istoricheskai>
2. "Синтетическая биология" Статья в журнале "Наука из первых рук" <https://scfh.ru/papers/sinteticheskaya-biologiya/>
3. CRISPR <https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>

Пояснения к ответу

В некоторых случаях возможно несколько правильных ответов.

Ответ: ферменты; бактериями; двуцепочечный разрыв; модификации; архей и бактерий; чужеродной ДНК; ДНК; РНК.

3.4. Блок заданий 4

Задача 3.4.1. Поиск PAM (6 баллов)

Механизм действия системы редактирования CRISPR/Cas9 включает несколько этапов:

1. поиск и узнавание последовательности PAM (от англ. protospacer adjacent motif — мотив, смежный с протоспейсером)
2. формирование дуплекса между направляющей РНК и целевым участком ДНК
3. разрезание цепи ДНК нуклеазой Cas9 с образованием двуцепочечного разрыва
4. репарация ДНК по механизму гомологичной рекомбинации или негомолгичного соединения концов

Найдите в выбранном участке гена все возможные варианты последовательности PAM. Представлена кодирующая цепь:

5'-AAGTTGTCTGATTTTAAAACACTGATGCAGCTGGCCTCA-3'

Выберите корректные последовательности PAM из предложенных ниже.

1. 5'-TGA
2. 5'-TGG
3. 5'-GTC
4. 5'-GGG
5. 5'-AGG
6. 5'-CCG
7. 5'-CGG

Рекомендуемая литература

1. Статья в Википедии о методе CRISPR-Cas <https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>
2. НЕМУДРЫЙ А.А., ВАЛЕТДИНОВА К.Р., МЕДВЕДЕВ С.П., ЗАКИЯН С.М. СИСТЕМЫ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМОВ TALEN И CRISPR/CAS - ИНСТРУМЕНТЫ ОТКРЫТИЙ // Acta Naturae. - 2014. - Т. 6. - С. 20. <https://yadi.sk/i/0epvvqFx2SrMoQ>
3. Статья на сайте Addgene <https://www.addgene.org/crispr/guide/>

Пояснения к ответу

Необходимо выбрать последовательности РАМ, встречающиеся в представленной и комплементарной цепи ДНК.

Ответ: 2, 5.

Задача 3.4.2. Анализ секвенограмм (6 баллов)

Результаты секвенирования ДНК по методу Сэнгера (с использованием флуоресцентно меченых ддНТФ) могут быть представлены в виде "секвенограммы результата разделения фрагментов ДНК капиллярным электрофорезом. Для анализа этих файлов можно использовать бесплатные программы, рекомендованные производителем оборудования [1], а также универсальные программы, например SnapGene Viewer [2].

Используя программу для анализа результатов секвенирования, определите ген человека, последовательность которого была амплифицирована при помощи ПЦР и далее в реакции Сэнгера. Ответ представьте в виде четырех символов, соответствующих краткому обозначению гена, используйте латинские буквы (при необходимости, цифры).

Рекомендуемая литература

1. Бесплатная программа Chromas
<http://www.technelysium.com.au/Chromas265Setup.exe>
2. SnapGene Viewer http://www.snapgene.com/products/snapgene_viewer/
3. Ссылка для скачивания файла с секвенограммой с Яндекс-диска <https://yadi.sk/d/9k0Zj1CHS2zVKw>

Пояснения к ответу

Необходимо определить последовательность нуклеотидов ДНК из секвенограммы и далее определить идентификатор гена, используя базу данных NCBI.

Ответ: FMR1.

Задача 3.4.3. Дизайн праймеров (6 баллов)

Полимеразная цепная реакция является исключительно важным современным методом молекулярной биологии. Принцип метода изложен в работах [1], [2]. Для амплификации участка ДНК методом ПЦР требуется заказать прямой и обратный праймер [3].

Ген SRY кодирует фактор транскрипции, который входит в семейство ДНК-связывающих белков HMG. Белок, кодируемый данным геном называют фактором развития семенников, данный белок определяет пол у мужчин. Мутации в данном гене приводят к формированию женских гениталий у лиц с генотипом XY (синдром Свайера) [5]. Транслокация данного участка Y-хромосомы на X-хромосому приводит к мужскому фенотипу у лиц XX. Последовательность гена SRY человека в базе данных GeneBank имеет идентификатор NG_011751.1 [6]

Последовательность праймеров принято записывать от 5'-конца к 3'-концу. Определите последовательность обратного праймера длиной 18 нуклеотидов, использованного для амплификации фрагмента гена SRY человека, если в качестве прямого праймера был использован следующий олигонуклеотид 5'- TGACATAAAAGGTCAATG-3', и известно, что длина ПЦР-фрагмента равна 218 пар нуклеотидов.

Введите последовательность прямого праймера латинскими буквами, без знаков 5'-, 3'-, и пробелов.

Рекомендуемая литература

1. Рекомендации по постановке ПЦР <http://evrogen.ru/kit-user-manuals/Evrogen-PCR-recommendation.pdf>
2. 12 методов в картинках: полимеразная цепная реакция <https://biomolecula.ru/articles/metody-v-kartinkakh-polimeraznaia-tsepnaia-reaktsiia>
3. Статья о праймерах в английской Википедии. Внимательно изучите иллюстрацию [https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_\(molecular_biology\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Primer_(molecular_biology))
4. Статья о гене SRY в Википедии <https://ru.wikipedia.org/wiki/SRY>
5. Синдром Свайера в Википедии https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D1%80%D0%BE%D0%BC_%D0%A1%D0%B2%D0%B0%D0%B9%D0%B5%D1%80%D0%B0
6. Интерфейс для поиска <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>

Пояснения к ответу

Необходимо открыть последовательность гена в базе NCBI, найти последовательность, соответствующую прямому праймеру, вычислить последовательность, соответствующую обратному праймеру.

Ответ: ATGAAACTTGCATTTTCGC.

Задача 3.4.4. Ферменты метаболизма нуклеиновых кислот (6 баллов)

Ферменты метаболизма ДНК используют в генетической инженерии для получения двуцепочечных молекул ДНК из одноцепочечных, а также для синтеза ДНК на матрице РНК.

Выберите наиболее корректные варианты пропущенных фраз в тексте.

К ферментам матричного синтеза нуклеиновых кислот относят ДНК-зависимые ДНК-полимеразы: это ДНК-полимераза I из *E. coli*, ее фрагмент, так называемый (фрагмент синоним / фрагмент Кленова / фрагмент Оказаки / фрагмент 67 кДа), ДНК-полимеразу фага T4, Таq-полимеразу (из (Таq-зонда / Таq-фрагмента / *Thermus aquaticus* / *Thermos* / *Thermo Scientific Fisher*)). Все эти ферменты в присутствии ионов (натрия / калия / кальция / магния / железа) осуществляют синтез ДНК, комплементарной матричной цепи ДНК и для функционирования требуют наличия затравки (праймера) со свободным (2' / 3' / 4' / 5')-ОН-концом, комплементарного (соответствующей / матричной / синтезируемой / участку) ДНК. Фермент, синтезирующий ДНК на матрице РНК, называют РНК-зависимой ДНК-полимеразой, или (интегразой / ревертазой / обратной транскриптазой / ДНКазой / РНКазой / ДНК-РНКазой). Так же, как и обычные ДНК-полимеразы, РНК-зависимые ДНК-полимеразы функционируют только при наличии (матричной РНК / праймера / завтрака / затравки / олиго-ДНК), комплементарной РНК-матрице. Эти ферменты находят применение в синтезе двуцепочечных ДНК, комплементарных мРНК, так называемых (кРНК / мДНК / рРНК / кДНК / дРНК). Процесс синтеза ДНК на матрице мРНК играет важную роль в биотехнологии, для экспрессии определенных генов, в частности, в бактериальных клетках.

Рекомендуемая литература

1. Генетическая инженерия <https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-gennaia-inzheneriia-chast-i-istoricheskaia>
2. "Синтетическая биология" Статья в журнале "Наука из первых рук" <https://scfh.ru/papers/sinteticheskaya-biologiya/>
3. CRISPR <https://ru.wikipedia.org/wiki/CRISPR>

Пояснения к ответу

В некоторых случаях возможно несколько правильных ответов.

Ответ: фрагмент Кленова; *Thermus aquaticus*; магния; 3'; матричной; ревертазой, обратной транскриптазой; праймера, затравки; кДНК.

Задача 3.4.5. Закономерности полимеразной цепной реакции (6 баллов)

Для успешной специфичной наработки фрагмента ДНК в ходе ПЦР важны все компоненты реакционной смеси. В литературе подробно описаны принципы подбора

праймеров, закономерности специфичности ПЦР, а также многие другие особенности [1, 2, 3].

Выберите корректные суждения о полимеразной цепной реакции ДНК на матрице мРНК играет важную роль в биотехнологии, для экспрессии определенных генов, в частности, в бактериальных клетках.

1. увеличение концентрации ионов Mg^{2+} приводит к снижению специфичности ПЦР
2. ДНК-полимераза может использовать АТФ в качестве субстрата при синтезе дочерней цепи
3. для увеличения специфичности ПЦР в пробирки иногда добавляют минеральное масло
4. проведение более 50 циклов ПЦР невозможно, так как снижается процессивность ДНК-полимеразы и/или заканчиваются субстраты ДНК-полимеразы
5. ДНК-полимераза добавляет нуклеотиды к 5'-концу прямого праймера
6. укорочение праймера приводит к снижению температуры отжига
7. стандартная Taq-полимераза эффективно амплифицирует протяженных фрагменты ДНК длиной более 10 тысяч пар нуклеотидов
8. увеличение длины праймера приводит к повышению специфичности ПЦР
9. отсутствие спаривания на 5'-конце праймера не приводит к значительному снижению уровня наработки продукта ПЦР

Рекомендуемая литература

1. Стратегия подбора праймеров http://www.rfbr.ru/rffi/ru/books/o_1781847
2. Стратегия подбора праймеров http://www.rfbr.ru/rffi/ru/books/o_1781847
3. ПЦР <https://cyberpedia.su/2x6e17.html>

Ответ: 1, 4, 6, 8, 9.

Задачи второго этапа. Агробиотехнологии. 9 класс

4.1. Блок заданий 1

Задача 4.1.1. (4 балла)

Вам предлагается дополнить существующую аквапонную систему, состоящую из гидропонного, аквакультурного и бактериального фильтрационного модуля дополнительной ёмкостью с:

- Нитчатými водорослями;
- Высшими водными растениями (роголистник, рдест кучерявый, телорез, водокрас лягушачий).

Для успешной интеграции вам надо просчитать оптимальную последовательность подключения исходя из потока и перехода воды из одного модуля в следующий.

Из предложенных вариантов выберите один или несколько подходящих вариантов последовательности подключения модулей. Отсчет начинается с Гидропонного блока. После последнего блока вода поступает вновь в первый-гидропонный.

Подключаемый модуль заполнен только нитчатými водорослями

В ответах используются следующие индексы для обозначения модулей:

1. Гидропонный
 2. Аквакультурный
 3. Растительноводный (дополнительный модуль)
 4. Бактериальный фильтрационный
- а. 1-2-4-3
б. 1-4-2-3
в. 1-2-3-4
г. 1-4-3-2
д. 1-3-2-4
е. 1-3-4-2

Ответ: д.

Задача 4.1.2. (4 балла)

Вам предлагается дополнить существующую аквапонную систему, состоящую из гидропонного, аквакультурного и бактериального фильтрационного модуля дополнительной ёмкостью с:

- Нитчатými водорослями;
- Высшими водными растениями (роголистник, рдест кучерявый, телорез, водокрас лягушачий).

Для успешной интеграции вам надо просчитать оптимальную последовательность подключения исходя из потока и перехода воды из одного модуля в следующий.

Из предложенных вариантов выберите один или несколько подходящих вариантов последовательности подключения модулей. Отсчет начинается с Гидропонного блока. После последнего блока вода поступает вновь в первый-гидропонный.

Подключаемый модуль заполнен только высшими водными растениями

В ответах используются следующие индексы для обозначения модулей:

1. Гидропонный
 2. Аквакультурный
 3. Растительноводный (дополнительный модуль)
 4. Бактериальный фильтрационный
- а. 1-2-4-3
 - б. 1-3-2-4
 - в. 1-2-3-4
 - г. 1-4-2-3
 - д. 1-3-4-2
 - е. 1-4-3-2

Пояснения к ответу

Восстановим последовательность циркулирования воды в аквапонной установке. Из гидропонного модуля вода попадает в аквакультурный, далее из аквакультурного в блок механической и бактериальной фильтрации и возвращается обратно в гидропонный. Это стандартная схема циркулирования воды в аквапонной установке.

Восстановим функции блоков. Гидропонный модуль «забирает» из системы нитраты, которые используются растениями. Аквакультурный модуль – модуль получения основной биопродукции животного происхождения. Именно сюда происходит выделение катаболитов, в т.ч. продуктов белкового обмена (в д.сд. аммиак). Бактериальный фильтр преобразует продукты аммиак в нитриты и нитраты.

Каковы условия функционирования каждого из модулей.

1. Непрерывность циркуляции воды в системе;
2. Освещение (прежде всего для гидропонного блока). При этом, длительность светового дня определяется требованиям выращиваемой культуры, но не 24

часа в сутки. Т.е., для нормальной физиологии растений должен чередоваться световой день и световая ночь. Цикличность в чередовании светового дня и ночи определяет периодичность работы фотосинтезирующей системы растений. Поскольку, у автотрофных организмов, получение энергии для синтетического обмена зависит от освещенности, скорость синтетических реакции с участием соединений азота в растениях так же зависит от продолжительности светового дня. Нитраты могут накапливаться в растениях не только от избытка этих соединений в растворе, но и в следствие недостаточной освещённости растений, т.к. при низком уровне световой энергии процессы синтеза в клетках растений затормаживаются.

3. Концентрация нитратов в системе влияет на способность бактерий бактериального фильтра трансформировать аммиак в нитриты и далее в нитраты;
4. Повышение концентрации соединений азота в системе для аквакультуры, может быть вызвано «насыщением» потребления нитратов растениями, снижением анаболической активности растений при стабильном выделении катаболитов гидробионтами.
5. Т.к. в условиях задачи про влияние молибдена и фосфора на азотный обмен в организме растений не говорится, концентрациями этих веществ в системе пренебрегаем.

Рассмотрим как оптимально встроить в аквапонную систему модуль с нитчатými водорослями.

Данный модуль может быть использован в противофазе светового дня после гидропонного модуля, для стабилизации суточной концентрации соединений азота в системе.

Использовать водорослевый модуль как биопродуктивный крайне сложно, однако, он может служить дополнительным источником питания для растительноядных рыб. Следовательно, установка этого модуля перед аквакультурным снизит вероятность распространения водорослей в системе за счёт поедания водорослей при случайном забросе через систему рециркуляции воды.

Исходя из вышесказанного, последовательность подключения модулей аквапонной системы с водорослевым фильтром будет выглядеть так: гидропонный модуль, водорослевый фильтр, аквакультурный модуль, модуль механической и бактериальной фильтрации и далее, гидропонный модуль. Цикл замкнулся.

Теперь рассмотрим как оптимально встроить в аквапонную систему модуль с высшими водными растениями.

Данный модуль может быть так же использован в противофазе светового дня после гидропонного модуля, для стабилизации суточной концентрации соединений азота в системе или как дополнительный модуль стабилизации при резком увеличении концентрации форм азота в системе.

Место подключения такое же как у водорослевого фильтра, однако второй вариант - подключения после механического и бактериального фильтра, перед гидропонным модулем.

Ответ: а, б.

Задача 4.1.3. (3 балла)

Какой порядок светового дня при использовании модуля с водными растениями в проектируемой установке можно считать оптимальным с точки зрения азотного обмена?

1. Любой, т.к. от чередования светового дня не зависит способность растений гидропонного модуля наращивать биомассу
2. Попеременно: световой день для гидропонного модуля и световая ночь для дополнительного модуля фильтрации, либо световой день для дополнительного модуля фильтрации и световая ночь для гидропонного модуля
3. Одновременно для гидропонного модуля и дополнительного модуля фильтрации в соответствии с суточным ритмом освещённости

Пояснения к ответу

Оптимальной настройкой светового дня будет попеременно либо световой день для гидропонного модуля и световая ночь для дополнительного модуля фильтрации, либо световой день для дополнительного модуля фильтрации и световая ночь для гидропонного модуля. Этот ответ верный, поскольку в данном случае актуален не прирост биомассы, а азотный обмен в аквапонной системе.

Ответ: 2.

Задача 4.1.4. (5 баллов)

Выберите из перечисленных вариантов задачи, выполняемые дополнительным модулем в системе.

Состав дополнительного модуля считаем смешанным.

1. Выращивание корма для водных гидробионтов
2. Снижение вероятности развития одноклеточных водорослей в систем
3. Увеличение ёмкости системы по биопродуктивным гидробионтам
4. Увеличение объёма бактериального фильтра
5. Увеличение эффективности снижения нитратов в воде системы
6. Сохранение оптимальных параметров воды по растворённому кислороду за счёт противофазы светового дня в блоках биопродукции и дополнительном модуле
7. Может быть использован для выращивания растительоядных креветок
8. Увеличение общего водного объёма системы

Ответ: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.

Задача 4.1.5. (3 балла)

Выберите факторы, связанные с применением предложенного дополнительного модуля для аквапонной системы

Состав дополнительного модуля считаем смешанным.

1. Уменьшает количество питательных веществ в растворе для гидропонного биопродуктивного модуля
2. Увеличивается вероятность распространения водорослей по всей системе
3. Работает только при наличии светового дня

Ответ: 1, 2, 3.

Задача 4.1.6. (8 баллов)

Подберите оптимальный видовой состав дополнительного модуля, выбрав растения из списка.

Модуль будет устанавливаться в аквапонную систему, специализирующуюся на выращивании карпа Кой и салатной зелени

Температура воды при выращивании карпа не должна превышать 24°C

1. Ряска
2. Валиснерия гигантская
3. Роголистник обыкновенный
4. Риччия плавучая
5. Нитчатка обыкновенная
6. Элодея канадская
7. Водяной мох
8. Телорез
9. Водокрас лягушачий
10. Рдестр кучерявый

Пояснения к ответу

При ответе на вопрос нужно разобрать взаимодействие и оптимальные условия для жизни и развития: растений гидропонного модуля, аквакультуры (в данном случае это Карпы кой) и растений растительно-фильтрационного модуля.

Сопоставление будем проводить по параметрам азотного обмена и по дополнительным питательным веществам из растительно-водного модуля для животных аквакультурного модуля.

Так же важно учитывать параметр температуры среды. В задании сказано, что температура среды не должны превышать 24°C. Так же обратим внимание на требования инженерной системы к нормальному функционированию.

Из представленного списка растений, можно выделить две группы: растения плавающие на поверхности воды (ряска, водокрас лягушачий, риччия плавающая и телорез) и прикреплённые к грунту (роголистник, элодея канадская, рдестр кучерявый, водяной мох, валиснерия гигантская и нитчатка обыкновенная). Последняя может свободно развиваться и как свободноплавающая, но склонна к образованию прикреплённых колоний.

По требованиям к температурному режиму мы можем сразу исключить риччию плавающую и валиснерию гигантскую. Карп может выдержат температуру в достаточно широком диапазоне (15-30°C), но рост салатной зелени не позволяет повышать температуру, удерживая её в диапазоне 20-22°C. Такая температура не является оптимальной для Риччии плавающей (22-26°C) и погранична для Валиснерии (снижение ниже 20°C не желательно). Можем отказаться от применения этих видов растений.

Водяной мох (или, иное название ручьевого мох) – холодноводное аквариумного растение. Выдерживает т-ру до 28°C, но с понижением температуры в зимний период до нуля. Без сезонных колебаний температуры данное растение гибнет. Следовательно, в условиях аквапонной системы применение данного растения не эффективно. К тому же, в условиях УЗВ (установки замкнутого водоснабжения) водяной мох, обитающий в природе в условиях быстрой проточной воды ручьёв и малых рек, будет заметно угнетение данного вида растений. В целом, использование данного вида растений для растительно-водного модуля не желательно.

Ряска. Применение рясок в данной системе имеет инженерные ограничения для применения. Мелкие растения, перемещающиеся с током воды по системе рециркуляции способны забивать патрубки и механические фильтры, приводя к аварийным состояниям и уменьшая срок эксплуатации механических фильтров. Применение данной группы растений не желательно.

Водокрас лягушачий хорошо себя чувствует при температуре 20-28°C. Однако, оптимальным является как - раз заявленный диапазон 20-24°C.

Телорез обыкновенный – растение, в определённый период жизни (цветение) пребывающее на поверхности воды, но прикрепляющееся корнями к субстрату. Не прихотливое к температурному режиму и нормально произрастает в заданных температурных условиях.

Телорез и водокрас могут быть применены в данном модуле.

Рдестр кучерявый – растение распространено в не тропической зоне, достаточно лабильно по отношению к температуре, прекрасно себя чувствует в означенных выше условиях. Может расти как в прикреплённом, так и плавающем состоянии. Применение в системе возможно.

Элодея канадская не прихотливое растение с её скоростью роста может поспорить только рдестр. При разрастании и при отсутствии света является сильным конкурентом гидробионтов за кислород. К тому же, при повреждении стеблей Элодеи, в воду выделяется сок, который может быть токсичен для мальков рыб. Как следствие, от данного растения легче отказаться.

Роголистник – обладает способностью эффективно поглощать нитраты из системы, снижает жёсткость воды. Не прихотлив к условиям произрастания. Оптимален для данного модуля системы.

Нитчатка. В д. сл. возможно применение в системе, т.к. она является дополнительным источником питания для растительноядных рыб.

Т.о., в смешанном растительно-водном блоке аквапонной системы для данных условия остаются: рдерстр, роголистник, телорез, водокрас, нитчатка.

Ответ: 3, 5, 8, 9, 10.

Задача 4.1.7. (5 баллов)

Какие действия со сбалансированной аквапонной системой могут приводить к нарушению установившегося равновесия:

1. Замена 1/2 объёма воды на отстоявшуюся мягкую
2. Частичная замена биопродукции гидропонного модуля на рассаду тех же видов с увеличением количества растений
3. Частичная подмена воды (до 1/10 объёма) на отстоявшуюся мягкую
4. Замена 1/2 объёма воды на жёсткую хлорированную воду из под крана
5. Подключение новых модулей к аквапонной системе
6. Полная замена гидропонных растений на другие виды
7. Частичная замена гидробионтов одного вида на молодь гидробионтов другого вида при различных требованиях к системе жизнеобеспечения и равных пищевых предпочтениях
8. Частичная замена гидробионтов одного вида на молодь другого вида при равных требованиях по системе жизнеобеспечения и различных пищевых предпочтениях
9. Частичная замена гидробионтов одного вида на молодь того же вида при смешанном возрастном составе аквакультуры
10. Увеличение количества гидробионтов одного вида

Пояснения к ответу

Ключевой момент – стабильность аквапонной системы в целом. Резкое изменение параметров среды или дополнительная манипуляция с элементами системы приводит к нарушению динамического равновесия всей системы. Чем сильнее вносимые изменения или чем больше манипуляций с системой за единицу времени, тем выше вероятность её разбалансировки.

Какие параметры в системе мы можем контролировать?

- Формы азота в системе (соотношение аммиака, нитритов и нитратов в стабильной системе есть величина постоянная¹)
- Жёсткость (общая и кальциевая) так же является величиной постоянной
- Концентрация кислорода и углекислого газа в системе
- Скорость течения воды в УЗВ
- Видовой состав гидробионтов и количество задаваемого корма

¹В данном случае под термином «постоянная величина» имеется в виду среднее значение с небольшим доверительным интервалом значений, определяющий динамическое равновесие в системе.

- Возрастной состав гидробионтов

Смена 1/2 объёма воды в системе на отстоявшуюся мягкую приводит к резкому изменению этих параметров (в 2 раза). Тот же эффект (резкое изменение значений), плюс негативное влияние хлора на биоту системы даёт замена 1/2 объёма воды в системе на жёсткую хлорированную воду.

При частичной подмене воды в 1/10 объёма изменения не будут превышать возможность быстрого восстановления параметров системы. Именно этот приём используется в аквариумистике и может быть применён для аквапоники.

Увеличение количества гидробионтов одного вида приводит к дефициту кислорода, увеличению концентрации углекислого газа и аммиака в системе. Это приведёт к изменению соотношения видового состава в бактериальном фильтре. Система выйдет из состояния динамического равновесия.

Последовательный отлов из системы товарной продукции при содержании разновозрастной группы одного вида возможна. Важно только контролировать потребление корма и скорость обмена веществ в разновозрастной популяции с окружающей средой так, что бы изменения при отлове товарной продукции и запуске молоди в систему были минимальны.

В случае замещения особей одного вида на тоже количество особей другого вида, требующих сходные условия существования, но отличающихся по типу питания формирует условия разведения смешанной аквакультуры. Этот приём используется для увеличения эффективности системы выращивания без увеличения объёма системы.

Обратная ситуация, когда требования к содержанию и разведению у видов различно, а пищевые рационы одинаковы, мы увидим пищевую конкуренцию, плюс невозможность содержания при одних условиях среды. В данном случае система не может существовать.

Полная замена гидропонных растений на растения другого вида смещает динамическое равновесие соединений азота в системе.

Если же из гидропонного модуля производится отъём товарной продукции с заменой на более молодые растения того же вида с увеличением численности растений (занимают меньше площадь, хуже развита корневая система), мы приходим к варианту аквапонной системы с конвейерным способом выращивания зеленных культур. Изменения в системе не приведут к её дестабилизации.

При сохранении численности растений гидропонного модуля и частичной замене товарной продукции на более молодые растения, у нас может изменяться динамическое равновесие соединений азота в системе. На разных стадиях роста и развития у растений различные требования к потреблению веществ из среды. Не учитывая этот фактор можно сильно сместить равновесие в системе, приводя к её дестабилизации.

Подключение новых модулей к аквапонной системе приводит к изменению объёма и, как следствие всех концентрационных постоянных.

Ответ: 1, 4, 5, 6, 7, 10.

Задача 4.1.8. (4 балла)

Что из перечисленных функций (процессов) осуществляется или относится к бактериям в аквапонной системе?

1. Не требуют освещения для жизнедеятельности
2. Поглощают нитриты и нитраты, удаляя их из воды
3. Не выводят нитраты из системы
4. Требуют увеличения поверхности для эффективной работы фильтра
5. Требуют кислород для дыхания
6. Требуют освещения для жизнедеятельности
7. Фильтрация 24 часа в сутки
8. Преобразовывают аммиак в нитриты и, далее, в нитраты
9. Предоставляют поверхность для колоний бактерий
10. Выделяют кислород при фотосинтезе

Пояснения к ответу

Нитрифицирующие бактерии играют ключевую роль в азотном цикле и в аквапонных установках переводят выделяемый рыбами аммиак в нитраты и нитриты

Бактерии существуют в бескислородной среде (в природе - в почве) и работают 24 часа в сутки вне зависимости от освещения.

Одним из ключевых параметров эффективности превращение аммиака в нитраты и нитриты является объем популяции бактерий, которые закрепляются в био-фильтре аквапонной системы. В связи с этим, им необходима поверхность для закрепления. В аквариумистике используют специальный наполнитель.

Ответ: 1, 3, 4, 5, 7, 8.

Задача 4.1.9. (4 балла)

Что из перечисленных функций (процессов) осуществляется или относится к растениям в аквапонной системе?

1. Предоставляют поверхность для колоний бактерий
2. Поглощают нитриты и нитраты, удаляя их из воды
3. Требуют кислород для дыхания
4. Фильтрация 24 часа в сутки
5. Не выводят нитраты из системы
6. Преобразовывают аммиак в нитриты и, далее, в нитраты
7. Выделяют кислород при фотосинтезе
8. Не требуют освещения для жизнедеятельности
9. Требуют увеличения поверхности для эффективной работы фильтра

10. Требуют освещения для жизнедеятельности

Пояснения к ответу

Выделение кислорода в процессе жизнедеятельности растений дает жизнь всем организмам на нашей планете, которым требуется кислород. Процесс фотосинтеза, в результате которого происходит выделение кислорода может проходить в растениях только в условиях доступности света. В темное время суток растения, как и многие другие живые организмы потребляют кислород в процессе дыхания.

Еще одной отличительной особенностью растений является возможность синтеза аминокислот из неорганических соединений. Для этого им необходим азот, который они получают при поглощении нитратов и нитритов с помощью азот-фиксирующих бактерий.

Ответ: 1, 2, 3, 7, 10.

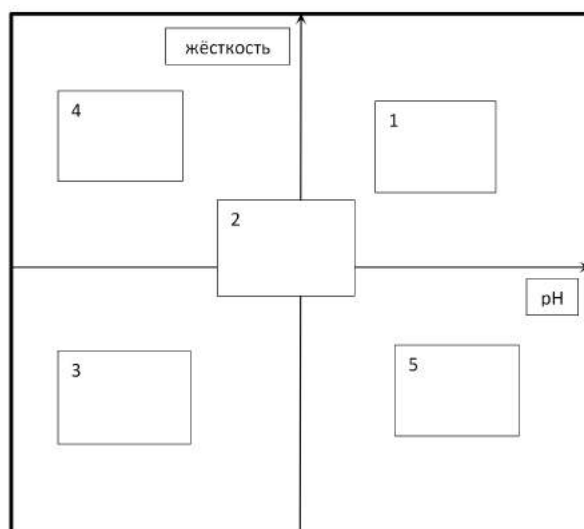
Задача 4.1.10. (4 балла)

Для оптимального поддержания жизнедеятельности гидробионтов в модельной системе требуется поддерживать временную жёсткость воды в пределах 8-12 ммоль/л. У вас есть в наличии:

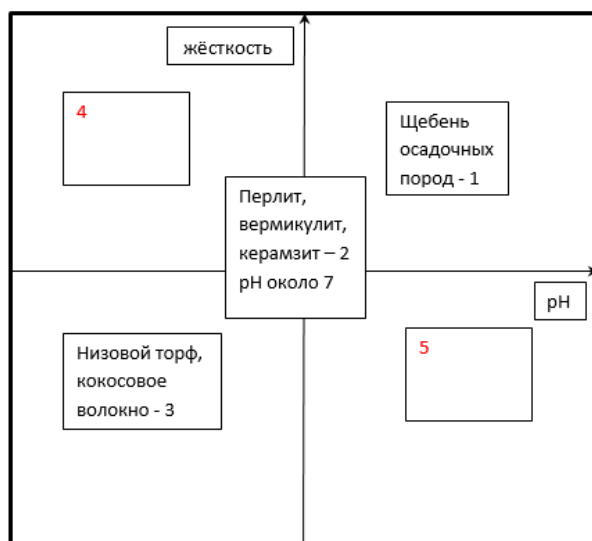
1. Низовой торф
2. Кокосовое волокно
3. Керамзит
4. Вермикулит
5. Щебень осадочных пород.
6. Перлит

Общая жёсткость воды, используемая для запуска системы – до 1.5 ммоль/л.

В какие участки на предложенном графике следует разместить предложенные субстраты по соотношению оказываемого влияния на жесткости воды и Ph?



Пояснения к ответу



Для решения данной задачи нужно узнать химические свойства субстратов в воде.

Органические субстраты, такие как низовой торф и кокосовое волокно смещают pH и уменьшают жёсткость воды.

Керамзит, вермикулит и перлит являются нейтральными субстратами по отношению к жёсткости и значению pH

Щебень осадочных пород увеличивает жёсткость и смещает значение pH в щелочную область.

Ответ: Низовой торф - 3; Кокосовое волокно - 3; Керамзит - 2; Вермикулит - 2; Щебень осадочных пород - 1; Перлит - 2.

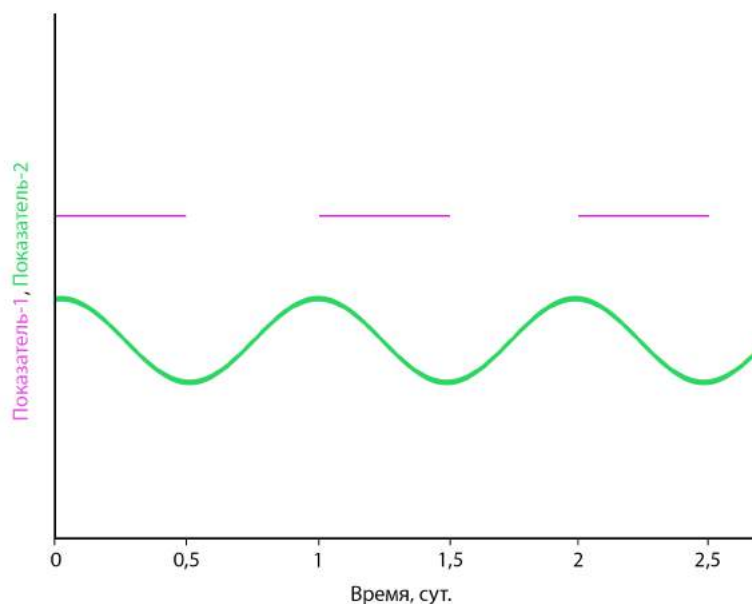
4.2. Блок заданий 2

Задача 4.2.1. (4 балла)

На рисунке приведено 2 графика, отражающие изменение некоторых параметров в аквапонной системе во времени.

По оси X приведено время в сутках, по оси Y- значения двух параметров (каждый параметр приведен в своих единицах измерения).

Из приведенных вариантов выберете пару параметров, изменения которых могут носить такой характер.



* Действительные значения параметров для решения задания не принципиальны. Важен характер изменения.

Что представлено на графике фиолетовым цветом (Показатель-1)?

1. Интенсивность работы плунжерной системы насоса подачи воды в аквакультурный модуль
2. Изменение редокс - потенциала в воде в результате кормления рыб в аквакультурном модуле
3. Освещённость гидропонного модуля
4. Активность фотосинтетической системы 2 в течение суток
5. Активность фотосинтетической системы 1 в течение суток

Пояснения к ответу

Работа плунжерного насоса сопровождается обратно-поступательным движением и чередованием заполнения рабочего объёма жидкостью с выталкиванием жидкости из цилиндра. Если линия 1 отображает работу плунжерного насоса, то линия 2 отображает синусоидальное изменение скорости течения в УЗВ. Однако, плунжерные насосы не находят применение в системе циркуляции воды УЗВ, т.к. циркуляция воды в системе должна имитировать равномерный ток воды в естественных водоёмах без колебаний скорости потока и других пульсаций.

Изменение редокс-потенциала в результате кормления рыб. Предположим, что это так. Тогда, согласно линии 1, окислительно-восстановительный потенциал среды меняется мгновенно от некоторой постоянной величины до нуля и обратно, что противоречит смыслу данного показателя.

Активность фотосинтетической системы в течение времени может меняться в зависимости от освещённости и накопленной системой энергии, однако, мгновенное изменение скорости ферментативных реакций представляется невероятным.

Освещённость гидропонного модуля может изменяться как плавно, так и рез-

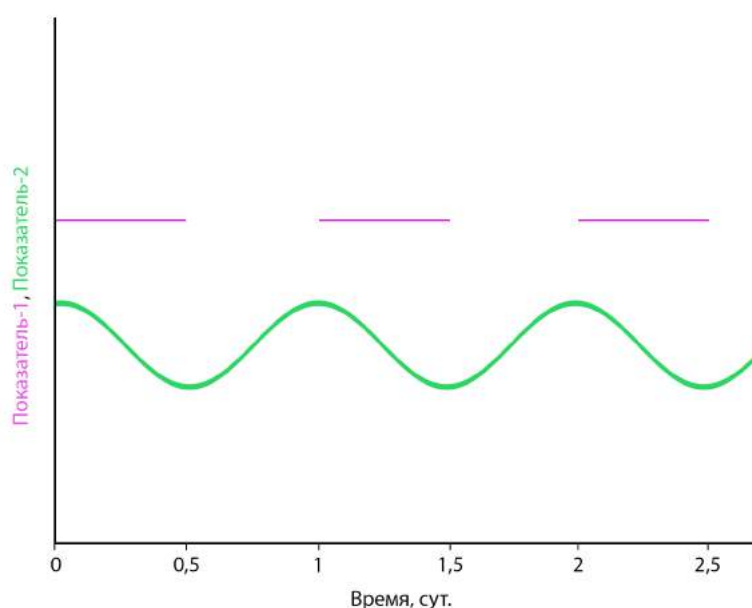
ко, в зависимости от способа отключения осветительных приборов. Данный случай (линия 1) характерен для выключения системы освещения по таймеру.

Ответ: 3.

Задача 4.2.2. (4 балла)

На рисунке приведено 2 графика, отражающие изменение некоторых параметров в акварионной системе во времени.

По оси X приведено время в сутках, по оси Y – значения двух параметров (каждый параметр приведен в своих единицах измерения). Из приведенных вариантов выберите пару параметров, изменения которых могут носить такой характер.



* Действительные значения параметров для решения задания не принципиальны. Важен характер изменения.

Что представлено на графике зеленым цветом (Показатель-2)?

1. Изменение концентрации углекислого газа в воде в течение суток
2. Изменение концентрации общего азота в системе в течение суток
3. Динамика популяции коловраток в системе
4. Изменение концентрации кислорода в воде в течение суток
5. Изменение суточной активности фермента каталазы в клетках гидробионтов

Пояснения к ответу

Из графика видно, что экстремумы линии 2 совпадают с моментами включения (максимум) и выключения (минимум) освещения акварионной системы.

Как будет изменяться в течении суток концентрация кислорода в воде? Если линия 2 – изменение концентрации кислорода в воде, то, во время светового дня концен-

трация кислорода в воде должна снижаться, а во время световой ночи концентрация кислорода должна увеличиваться. Подобное изменение концентрации кислорода в зависимости от времени суток ничем не обосновано.

Отмечу, что, т.к. в условиях задачи не сказано о работе аэратора или оксигенатора аквапонной системы, способных сохранять концентрацию кислорода в воде на постоянной уровне в течение суток, считаем, что аквапонная система работает без принудительного насыщения кислородом.

Изменение суточной активности фермента каталазы в клетках гидробионтов, как и в любых живых клетках не должно носить суточной периодичности, т.к. данный фермент защищает клетки организма от разрушения под действием перекисного окисления веществ. Титр каталазы в клетках и тканях изменяется в случае интенсификации процессов перекисного окисления липидов, снижении антиоксидантной активности (снижение концентрации витаминов А, С, Е в клетках). Корреляцию между освещённостью и каталазной активностью можно предположить только в ситуации УФ или гамма-облучения организма, однако зависимость будет носить не суточный характер.

Изменение концентрации общего азота в системе в течение суток представляется возможным при переизбытке азота в системе и отсутствии компенсации поступающего азота растениями гидропонного модуля, но давайте продолжим анализировать предлагаемые варианты. . .

Динамика популяции коловраток в системе от времени суток – несколько надуманный, абсурдный вариант ответа. Сезонные изменения численности в популяции или изменения численности популяции в зависимости от концентрации отравляющих веществ в системе можно было бы рассмотреть, но суточные колебания в данном случае не соответствуют реальности.

Наиболее достоверным из перечисленных ответов для линии 2 будет изменение концентрации углекислого газа в воде в зависимости от освещённости.

Т.к., по условию задачи, достоверным должен быть один ответ, принимаем за верный именно этот вариант ответа.

Ответ: 1.

Задача 4.2.3. (6 баллов)

Аквапонная установка используется для проведения исследования активности фотосинтеза в условиях изменения влажности, концентрации CO_2 в воздухе и интенсивности освещенности. Активность фотосинтеза проверяется измерением потребляемого CO_2 .

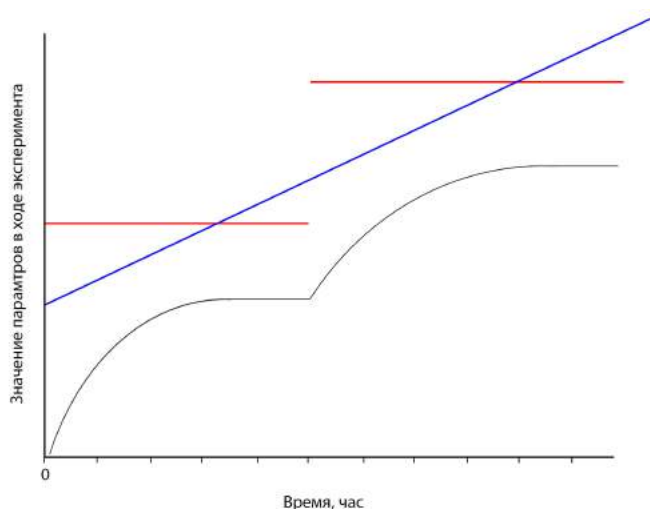
В рамках одного эксперимента производится изменение только двух из трех упомянутых выше параметров.

На рисунке приведено наложение трех графиков, полученных в ходе эксперимента. По оси X приведено время эксперимента. По оси Y - значения одного исследуемого (поглощение CO_2) и двух изменяемых параметров (влажность + интенсивность освещения ; или интенсивность освещения + изменение концентрации CO_2 ; или влажность + изменение концентрации CO_2). Каждый параметр приведен в своих единицах измерения.

Для проведения эксперимента в системе установлено следующее оборудование:

- Баллон с углекислым газом и система плавного повышения его концентрации в установке.
- Лампы освещения с плавной автоматической регулировкой интенсивности от 50 до $900 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$.
- Система увлажнения. Увлажнение осуществляется дискретно (не плавное, а резкое изменение параметра).

Продумайте, как связаны между собой углекислотное насыщение фотосинтеза, освещённость, влажность и концентрация углекислого газа в воздухе, и выберите верное утверждение описывающее поведение параметров на графике.



1. Ведущую роль в усилении фотосинтеза при увеличении концентрации углекислого газа играет влажность почвы. При постоянной влажности почвы обогащение газовой смеси углекислым газом не влияет на кривую поглощения углекислого газа в процессе фотосинтеза.
2. Потребление углекислого газа изменяется в результате превышения порогового значения его концентрации для фотосинтетической системы 2. Как следствие, фотосинтетические системы получают возможность более эффективно потреблять воду.
3. Рост эффективности работы фотосинтетических систем в результате повышения влажности почвы возможен только при увеличении интенсивности освещённости, что не указано на представленном графике.
4. Потребление углекислого газа не может изменяться после достижения предела углекислотного насыщения фотосинтеза, т.к., в состоянии насыщения субстратом, ферменты просто не успевают перерабатывать излишки веществ, поступающих в систему

Пояснения к ответу

Чтение графика нам позволяет сделать вывод о том, что изменение параметра 2 (линия 2) происходит однократно, практически в 2 раза по отношению к начальному значению параметра;

Кривая изменения параметра 1 (линия 1) в точке мгновенного изменения параметра 2 (линия 2) имеет точку перегиба. Дальнейшая кривая повторяет полностью своё поведение до точки перегиба;

Кривая 3 на всём протяжении графика возрастает линейно.

Поскольку для линии 1 и линии 2 точка мгновенного изменения параметра совпадает, а линия 3 не изменяется за всё время регистрации, закономерно допустить корреляцию значений параметра 1 и параметра 2.

Известно, что при постоянной влажности кривая поглощения углекислого газа в процессе фотосинтеза достигает своего насыщения вне зависимости от увеличения концентрации углекислого газа в воздухе.

В то же время, при изменении влажности, способность поглощать углекислый газ вновь возрастает. Этому варианту ответа соответствует поведение кривых на представленном графике. (вариант ответа 1)

Однако, давайте рассмотрим остальные варианты ответов...

Предположим, что параметр 1 достигает порогового значения для параметра 3, при котором происходит «более эффективное потребление воды фотосинтетической системой» – параметр 2. Для того, что бы рассматривать этот ответ как правильный, необходимо увидеть график изменения освещённости и определить так называемую «точку компенсации», так же зависимость от температуры среды. Поскольку данные параметры в задаче не указаны, информации для подтверждения данного ответа не достаточно.

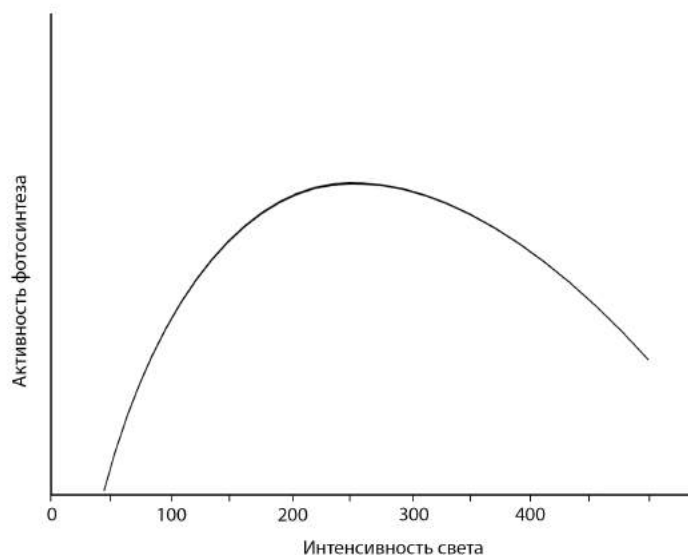
Точно так же не может быть рассмотрен следующий ответ. Рост эффективности работы фотосинтетических систем (поглощение большего количества углекислого газа) в результате повышения влажности почвы возможен только при увеличении интенсивности освещённости, что не указано на представленном графике.

Ответ 4 - Параметр 3 не может в принципе изменяться после достижения предела углекислотного насыщения фотосинтеза, т.к., в состоянии насыщения субстратом, ферменты просто не успевают перерабатывать излишки веществ, поступающих в систему. Содержит допущение о не достоверности представленного варианта изменения графика, однако, в случае анализа информации из сети, становится понятным его необоснованность.

Ответ: 1.

Задача 4.2.4. (4 балла)

На графике изображена зависимость интенсивности фотосинтеза от интенсивности падающего на растение света.



Ось x – интенсивность света $\text{Вт}\cdot\text{м}^{-2}$

Ось y – интенсивность работы фотосинтетической системы растения

С чем может быть связана такая форма графика?

1. Увеличение освещённости выше определённого значения приводит к нарушению процесса биосинтеза ферментов фотосинтетической системы и угнетению системы фотосинтеза
2. Увеличение освещённости выше определённого значения приводит к фрагментарному некрозу листовой пластинки, что, в свою очередь, снижает интенсивность фотосинтеза
3. Увеличение освещённости выше определённого значения приводит к снижению работы системы фотосинтеза по механизму обратной связи (много продуктов фотосинтеза угнетает сам фотосинтез из-за превышения процесса синтеза над процессом транспорта в организме растения)
4. Увеличение освещённости выше определённого значения приводит к компенсаторным механизмам усиления пигментации поверхности листовой пластинки и к изменению проницаемости кутикулы, что, в свою очередь, снижает интенсивность работы фотосинтетических систем, сохраняя общий выход продуктов фотосинтеза оптимальным

Пояснения к ответу

Зависимость скорости фотосинтеза от интенсивности света имеет форму логарифмической кривой. Прямая зависимость скорости процесса от притока энергии наблюдается только при низкой интенсивности света.

При высоких значениях светового потока или превышении времени освещённости наблюдается фотодеструкция хлорофилла. Если растение не имеет компенсаторного эволюционного механизма (как растения, обитающие за полярным кругом, подвергающиеся высокой освещённости в течении полярного дня).

В принципе, фотосинтез начинается при очень слабом освещении. Впервые это было показано на установке искусственного освещения. Света керосиновой лампы

оказалось достаточно для начала фотосинтеза и образования крахмала в растительных клетках.

У многих светолюбивых растений максимальная (100%) интенсивность фотосинтеза наблюдается при освещённости, достигающей половины от полной солнечной, которая, таким образом, является насыщающей.

Дальнейшее возрастание освещённости не увеличивает фотосинтез, а затем и снижает его. Чрезмерно высокое освещение резко нарушает процесс биосинтеза пигментов (редукция пигментного аппарата) и фотосинтетические реакции.

Так же избыточная освещённость вызывает образование активных форм кислорода, которые превышают компенсаторные антиокислительные механизмы клеток растений. В результате происходит дегградация хлорофилла.

Ответ: 1.

4.3. Блок заданий 3

Задача 4.3.1. (8 баллов)

Вам необходимо спроектировать аквапонную установку для выращивания редиса сорта «Суперред».

Известно, что этому сорту (гибриду первого поколения) требуется 22 дня для достижения товарного размера и качества от посева. (<http://www.ponics.ru/2009/04/agrotrip3/>)

Аквапонная система должна быть спроектирована для одновременной работы 22 гидропонных стеллажей, рассчитанных на выращивание редиса в кассетах на 64 посадочных места в каждой. При этом, на один гидропонный стеллаж умещается 72 кассеты редиса.

В системе должен быть реализован конвейерный метод получения товарной продукции – по одному стеллажу товарной продукции в неделю.

Дополнительно известно:

- Каждая посадочная кассета редиса требует внесения 1.5 г рыбьего корма для обеспечения минеральными веществами для роста и развития.
- Используемая в системе рыба может потреблять корма, в количестве 3% в день от своей биомассы.

Какой объём воды должен быть в аквапонной установке, если на один кг рыбы необходимо 10 литров воды?

Ответ округлите сотен литров.

В ходе решения округление осуществляйте до 0.001

Решение

1. рассчитаем количество кассет в гидропонном модуле:
 $22 \text{ стеллажа} \cdot 72 \text{ кассеты} = 1584 \text{ кассеты}$ всего в гидропонном модуле;

2. Рассчитаем, сколько надо вносить корма для того, чтобы обеспечить растения азотом в нужном количестве: $1584 \text{ кассеты} \cdot 0.0015 \text{ кг корма на одну кассету} = 2.376 \text{ кг корма в день}$;
3. Рассчитаем массу рыбы, которая сможет потребить вносимый корм: 2.376 кг это 3% от массы рыбы, сл-но: $2.376 \cdot 100/3 = 79.2 \text{ кг}$
4. Рассчитаем объем воды в системе, при расчете 10 л на кг рыбы: $(79.2 \cdot 10) \text{ л} = 792$, примерно равно 800 л .

Ответ: 800.

Задача 4.3.2. (8 баллов)

Используя промежуточные расчеты и условия из прошлой задачи, рассчитайте потребление азота (мг) одним корнеплодом в день.

Дополнительно известно, что:

- Содержание белка в рыбьем корме составляет 48%
- Средний молекулярный вес аминокислотного остатка (в составе белка) составляет 110 г/моль
- В среднем (при расчете всех возможных остатков), в аминокислотном остатке содержится 1.5 атома азота
- Считаем, что белок в корме - единственный источник азота в системе.

В процессе решения промежуточные значения округляйте до сотых.

В ходе решения массу рассчитывайте в граммах.

Ответ (в миллиграммах) округлите до десятых.

Пояснения к ответу

1. Используя расчеты прошлой задачи рассчитаем количество растений в модуле: $1584 \text{ кассеты} \cdot 64 \text{ посадочных места} = 101376 \text{ корнеплодов}$ в гидропонном модуле всего
2. зная состав корма и его массу определим массу чистого белка: $2.376 \text{ кг корма в сутки} \cdot 48\% \text{ белка}/100\% = 1.14048 \text{ кг белка в сутки}$ (1140.48 г)
3. Теперь рассчитаем массу азота в белке и его количество на 1 корнеплод:
 Соержжание азота в белке= $1.5 \cdot 14/110 = 0.19$ (19.09%)
 $1140.48 \cdot 0.19 = 216.69\text{г}$ азота в сутки на все корнеплоды (217.72 - если считаем через 19.09%)
 $0.2166912/101376 = 2.137 \text{ мг азота на 1 корнеплод}$ (или 2.1476 при расчете через 19.09)

Ответ: 2.1.

Задача 4.3.3. (6 баллов)

Одним из важнейших компонентов аквапонной системы является биофильтр, в котором происходит превращение вырабатываемого рыбами ядовитого аммиака в нитраты и нитриты, которые потом потребляются растениями в гидропонном модуле.

Для правильной работы системы необходимо соблюсти баланс рыбы, частоты кормления, бактерий и растений.

В биофильтре бактерии закрепляются и размножаются на специальном наполнителе, в качестве которого может применяться гравий, специальная керамика и некоторые другие виды.

При выборе наполнителя наиболее важным параметром является площадь его поверхности (специфическая площадь поверхности, specific surface area, удельная площадь поверхности), которая измеряется в m^2/m^3 .

Расположите предложенные варианты наполнителя в порядке возрастания этого параметра:

1. Пластиковый наполнитель биофильтра (Bio Ball)
2. Речной камень (диаметр - 25 мм)
3. Крупный песок (диаметр - 3 мм)
4. Гравий (диаметр - 15 м)
5. Керамический пористый наполнитель

Пояснения к ответу

Для решения задания необходимо воспользоваться поиском в интернете.

Так, в условии было дано название одно из наполнителей - Bio Ball. Перейдя на один из сайтов мы сможем найти, что его специфическая площадь поверхности составляет $350-800 m^2/m^3$. Там же есть сравнение с керамическим наполнителем, площадь которого составляет $1200-3000 m^2/m^3$.

Природные наполнители (песок, гравий и камень) имеют меньшую площадь. И исходя из логических рассуждений, учитывая плотность, размер и шероховатость поверхности песчинки, камня и гравия, можно понять, что по возрастанию их можно выстроить как камень > гравий > песок.

Ответ: 2, 4, 1, 3, 5.

Задача 4.3.4. (8 баллов)

Для вашей проектируемой системы, с учетом приведенных ранее данных и ваших произведенных расчетов, рассчитайте, сколько надо использовать наполнителя для биофильтра в системе, если известно, что планируется использовать наполнитель с площадью поверхности $1400 m^2/m^3$.

Для обеспечения оптимального азотного баланса в системе (в расчете на общий объем воды) рекомендуется использовать $0.245 M^2/l$ наполнителя.

Ответ приведите в литрах и округлите до целых.

Решение

Мы знаем, что объем системы должен составлять 800 л.

При этом, наполнителя должно быть (тут имеется в виду именно площадь, на которой смогут закрепляться бактерии):

$$800 \text{ л} \cdot 0.245 \text{ м}^2 = 196 \text{ м}^2$$

Для расчета объема этого наполнителя надо использовать его удельную площадь: $196/1400 = 0.14 \text{ м}^2$ или 140 л.

Ответ: 140.

4.4. Блок заданий 4

Задача 4.4.1. (8 баллов)

При наблюдении за Аквапонной системой в течении недели выявлены следующая динамика факторов:

- Увеличение мутности (от прозрачной воды до воды с опалесценцией). При частичной замене воды опалесценция снижается.
- Увеличение концентрации иона аммония. При частичной замене воды падения концентрации иона аммония не наблюдается.
- Значение рН в воде изменяется с 7.05 до 8.5. При частичной замене воды изменение рН с 8.5 не происходит
- При увеличении температуры воды в системе с 10°C до 25°C опалесценция исчезает. Без замены части воды значение рН опускается до 7.05. снижается концентрация иона аммония.

Выберите из предлагаемых ответов все, объясняющие данную ситуацию.

1. Аммиак при значении рН = 8.5 может находиться как в виде ионов, так и в виде растворённого в воде газа
2. При частичной дегазации буферная ёмкость системы аммоний-аммиак падает, что приводит к изменению значения рН
3. Частичная замена воды приводит к изменению равновесия между концентрациями растворённого иона аммония и газообразного
4. Аммоний и аммиак образуют буферную систему, стабилизирующую рН при частичной замене воды
5. При повышении температуры воды усиливается метаболическая активность бактерий биофильтра
6. Увеличение температуры приводит к снижению растворимости газов и частичному удалению аммиака из раствора

Пояснения к ответу

В данной задаче важно отметить, в условии, нормальное насыщение кислородом системы. Как следствие, ответы, объясняющие поведение рыб через аварийное состояние системы контроля насыщения кислородом или аварийного состояния оксигенатора будут не верны по условию задачи.

Отравление рыб некачественным кормом сопровождается угнетенным состоянием, рыбы располагаются у дна, либо наблюдается вздутие брюшка. Но рыба не захватывает воздух с поверхности воды.

Такое поведение характерно для рыб, страдающих бранхиомикозом – грибковым поражением сосудов жабр, однако такой ответ не предусмотрен.

Сходное поведение проявляется у рыб в случае блокировки газообмена между средой и кровью капилляров жабр за счёт нитрит-иона.

Ответ: 1, 2, 3, 4, 5, 6.

Задача 4.4.2. (5 баллов)

Рыбы в аквариумном блоке аквапонной системы часто всплывают на поверхность, заглатывают воздух.

Поведение рыб не спокойное: рыба «плещется», жаберные крышки приподнимаются чрезмерно, частота движений жаберных крышек выше нормальной.

При этом, в системе работает оксигенатор и концентрация кислорода в воде оптимальна для данного вида. Повышение концентрации кислорода до предельной равновесной не приводит к изменению поведения рыбы.

Выберите все варианты, которые могут объяснить подобное поведение.

1. Такое поведение может быть вызвано стрессом из-за недавней пересадкой в новый аквариум с другими параметрами воды
2. Нитриты в воде блокируют поступление кислорода в организм рыб
3. Наблюдаемое явление могло быть спровоцировано резкой сменой периодичности светового режима и резким выключением света
4. Данное поведение характерно для отравления рыб некачественным кормом
5. Концентрация кислорода в воде не достаточна. Сломан оксигенатор
6. Подобное поведение рыб может быть связано с повышенным значением Рн воды
7. Концентрация кислорода в воде не достаточна. Сломан датчик растворённого в воде кислорода

Ответ: 2, 6.

Задача 4.4.3. (5 баллов)

Выберите из ответов все варианты компенсации данного эффекта (из предыдущего задания).

1. Отдать корм на проверку токсичности. На время проверки перейти на кормление другим кормом
2. Осуществить полную замену воды минуя стадию водоподготовки (спасать рыбу надо скорее)
3. Оптимизировать световой режим
4. Повысить концентрацию хлорида натрия до 0.3 промилле
5. Починить оксигенатор

Пояснения к ответу

Починка оксигенатора не соответствует условиям задачи. Если кислорода необходимо и достаточно, значит оксигенатор либо не нужен, либо справляется с поставленной задачей.

Частичная замена воды может снизить эффект блокировки нитрит-ионом, но, более уместным будет увеличение концентрации хлорида натрия до 0.3 промилле. Такая концентрация не оказывает влияние на рыб и допустима для гидропонных установок.

Ответ: 4.

Задачи второго этапа. Агробиотехнологии. 10-11 класс

5.1. Блок заданий 1

Задача 5.1.1. (8 баллов)

Вам предложен следующий список питательных сред, которые в дальнейшем могут быть использованы для определения микробиологического состава биофильтра пресноводной системы:

1. МПА (мясопептонный агар)
2. Среда Эшби
3. Раствор Люголя
4. Бифидум-среда
5. Среда Сабуро
6. Картофеле-глюкозный бульон
7. Среда Чапека-Докса

Определите неорганический состав предложенных сред.

- а. Вода
- б. $NaNO_3$
- в. $MgSO_4$
- г. $Fe_2(SO_4)_3$
- д. KCl
- е. K_2HPO_4/KH_2PO_4
- ж. $KMnO_4$
- з. KI
- и. $NaCl$
- к. K_2SO_3
- л. $CaCO_3$

	Вода	$NaNO_3$	$MgSO_4$	$Fe_2(SO_4)_3$	KCl	$K_2HPO_4/$ KH_2PO_4
МПА (мясопептонный агар)	+					
Среда Эшби	+		+			+
Раствор Люголя	+					
Бифидум-среда	+					
Среда Сабуро	+					
Картофеле-глюкозный бульон	+					
Среда Чапека-Докса	+	+	+	+	+	+

	$KMnO_4$	KI	$NaCl$	K_2SO_3	$CaCO_3$
МПА (мясопептонный агар)			+		
Среда Эшби			+	+	+
Раствор Люголя		+			
Бифидум-среда					
Среда Сабуро					
Картофеле-глюкозный бульон					
Среда Чапека-Докса					

Пояснения к ответу

МПА или мясопептонный агар. Ищем состав среды в интернете. Например, Вам была дана ссылка на сайт himedialabs, на этом сайте приведён состав данной среды:

- пептический перевар животной ткани
- настой говядины
- натрия хлорид
- агар-агар

Дальше смотрим на неорганические вещества в таблице и отмечаем нужные. Получается, что в состав МПА из неорганических соединений входит $NaCl$ и, конечно же, вода.

Следующая среда Эшби. Снова ищем состав в литературе (например, <http://www.rcm.kz/ru/sw>):

- вода дистиллированная
- сахароза или маннит
- калий фосфорнокислый однозамещенный (K_2HPO_4)
- сульфат магния ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- хлорид натрия ($NaCl$)
- сульфит калия (K_2SO_3)
- карбонат кальция ($CaCO_3$)

Выбираем из этого списка неорганические соединения и отмечаем в таблице: вода, K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $NaCl$, K_2SO_3 , $CaCO_3$.

Дальше дан раствор Люголя. Он представляет собой раствор йода в водном растворе иодида калия. Следовательно, отмечаем в таблице воду и KI .

Следующая среда - бифидум-среда. находим состав:

- Панкреатический гидролизат казеина
- Дрожжевой экстракт
- α -D-лактоза
- D-глюкоза
- Цистеина гидрохлорид
- Натрий хлористый
- Магний сернокислый
- Кислота аскорбиновая
- Натрий уксуснокислый
- Агар микробиологический

Из приведённых в таблице неорганических веществ отмечаем $NaCl$, $MgSO_4$ и воду

Дальше идёт среда Сабуро, снова ищем состав:

- вода водопроводная
- глюкоза
- пептон
- агар

Видим, что из неорганических веществ в состав входит только вода, отмечаем в таблице.

Следующий - картофеле-глюкозный бульон. В его состав с сайта himedialabs входят:

- картофельный настой
- глюкоза
- бенгальский розовый
- агар-агар

То есть из неорганических веществ отмечаем только воду.

И последняя среда - Среда Чапека-Докса. Её состав также есть на сайте himedialabs:

- сахароза
- натрия нитрат
- калия гидрофосфат
- магния сульфат
- калия хлорид
- железа сульфат

- агар-агар

Теперь отмечаем в таблице только неорганические вещества: снова в первую очередь вода, $NaNO_3$, K_2HPO_4 , $MgSO_4$, KCl , $Fe_2(SO_4)_3$.

Задача 5.1.2. (6 баллов)

Вам предложен следующий список питательных сред, которые в дальнейшем могут быть использованы для определения микробиологического состава биофильтра пресноводной системы:

1. МПА (мясопептонный агар)
2. Среда Эшби
3. Раствор Люголя
4. Бифидум-среда
5. Среда Сабуро
6. Картофеле-глюкозный бульон
7. Среда Чапека-Докса

Определите органический состав предложенных сред.

- а. Сахароза
- б. Агар
- в. Глюкоза
- г. Бенгальский розовый
- д. Настой паслена клубненосного
- е. Пептонный бульон
- ж. Гидролизат казеина
- з. Томатный сок
- и. Дрожжевой экстракт

	Сахароза	Агар	Глюкоза	Бенгальский розовый	Настой паслена клубненосного
МПА (мясопептонный агар)		+			
Среда Эшби	+				
Раствор Люголя					
Бифидум-среда			+		
Среда Сабуро		+/-	+		
Картофеле-глюкозный бульон		+	+	+	+
Среда Чапека-Докса	+				

	Пептонный бульон	Гидролизат казеина	Томатный сок	Дрожжевой экстракт
МПА (мясопептонный агар)	+			
Среда Эшби				
Раствор Люголя				
Бифидум-среда	+/-	+/-	+	+
Среда Сабуро	+	+		
Картофеле-глюкозный бульон				
Среда Чапека-Докса				

Пояснения к ответу

Задание аналогично первому, только нужно определить органический состав тех же самых сред. Полный состав для всех сред мы уже с вами выписали, поэтому давайте просто выберем, какие компоненты являются органическими.

Для МПА (мясопептонного агара) отмечаем агар, пептонный бульон и мясной перевар.

Для среды Эшби - сахарозу.

Раствор Люголя встречается в двух видах - в виде водного раствора и в виде раствора в глицерине. В таблице есть глицерин, поэтому отмечаем его.

В Бифидум-среде из органических компонентов, приведённых в таблице, присутствуют глюкоза, дрожжевой экстракт, гидролизат казеина.

В среде Сабуро есть пептонный бульон, агар, глюкоза.

В Картофеле-глюкозном бульоне - агар, глюкоза, бенгальский розовый, настой паслена клубненосного (аналог картофельного настоя).

И в последней среде Чапека-Докса из органических компонентов присутствует только сахароза.

Задача 5.1.3. (2 балла)

Вам предложен следующий список питательных сред, которые в дальнейшем могут быть использованы для определения микробиологического состава биофильтра пресноводной системы:

1. МПА (мясопептонный агар)
2. Среда Эшби
3. Раствор Люголя
4. Бифидум-среда
5. Среда Сабуро
6. Картофеле-глюкозный бульон
7. Среда Чапека-Докса

Определите органический состав предложенных сред.

- а. Твин-80
- б. Глицерин
- в. Мясной перевар
- г. Маннит

	Твин-80	Глицерин	Мясной перевар	Маннит
МПА (мясопептонный агар)			+	+
Среда Эшби				
Раствор Люголя		+		
Бифидум-среда	+			
Среда Сабуро				
Картофеле-глюкозный бульон				
Среда Чапека-Докса				

Задача 5.1.4. (2 балла)

Какой компонент предложенных среды обеспечивает иммобилизацию выращиваемой культуры?

1. Минеральные соли
2. Дрожжевой экстракт
3. Вода
4. Сахароза
5. Агар

Пояснения к ответу

Для решения этой задачи давайте разберём, какие функции выполняют все перечисленные компоненты.

Сахароза служит источником углерода для производства аминокислот культивируемыми микроорганизмами.

Дрожжевой экстракт нужен, как источник азотистых питательных веществ, углерода, серы, витаминов группы В и микроэлементов, необходимых для роста микроорганизмов.

Минеральные соли необходимы как источник важных элементов, например, азота.

Вода - просто растворитель.

А Агар нужен как раз для иммобилизации выращиваемой культуры.

Ответ: 5.

Задача 5.1.5. (6 баллов)

Вам предложен следующий список питательных сред:

1. МПА (мясопептонный агар)
2. Среда Эшби
3. Раствор Люголя
4. Бифидум-среда
5. Среда Сабуро
6. Картофеле-глюкозный бульон
7. Среда Чапека-Докса

Определите, какое действие оказывают среды на *Rhodotorula glutinis*?

- а. Стимулирующее
- б. Угнетающее
- в. Нейтральное

Пояснения к ответу

Организм *Rhodotorula glutinis* представляет собой розовые дрожжи и принадлежит к царству Грибов.

Из литературы известно, что раствор Люголя оказывает бактерицидное действие и действует также на патогенные грибы и дрожжи. Следовательно, раствор Люголя оказывает угнетающее действие на данный организм.

Среда для культивирования *Rhodotorula glutinis* должна содержать источники азота, углерода, минеральные соли. Все перечисленные среды, за исключением Бифидум-среды оказывают стимулирующее действие. Бифидум-среда - нейтральное.

Ответ: а - 1, 2, 5, 6, 7; б - 3; в - 4.

5.2. Блок заданий 2

Задача 5.2.1. (6 баллов)

Вам предстоит поработать с бактериями для проведения качественно- количественного учета микрофлоры почвы и дальнейшего подбора оптимальных условий активности нитрифицирующих. В связи с этим, вам необходимо разработать протокол исследования и определить ход выполнения работы, начиная с подготовки образца.

Расставьте приведенные ниже лабораторные процедуры в правильном хронологическом порядке.

При планировании эксперимента вам необходимо руководствоваться следующими правилами и рекомендациями:

http://mibio.ru/docs/110/mr_fts4022_metodi_mikrobiologicheskogo_kontrolya_pochvi.pdf

<http://window.edu.ru/resource/215/69215/files/bioprakt.pdf>

<http://biologo.ru/10909/10909.pdf>

1. Посеять образцы на среды
2. Маркировать чашки Петри
3. Разлить среды по чашкам Петри
4. Растереть до пастообразного состояния
5. Сделать навеску почвы
6. Оставить образцы для адсорбции при комнатной температуре
7. Перенести в стерильную ступку
8. Нанести маркером на дно чашки Петри сектора
9. Подсчитать количество колоний
10. Добавить стерильной воды
11. Приготовить ряд 10-кратных разведений
12. Дать суспензии отстояться
13. Распределить инокулянт по питательной среде
14. Поместить образцы в термостат
15. Перевернуть чашки Петри

Пояснения к ответу

Сначала нужно получить собственно сам образец и полностью подготовить его для эксперимента. Затем нужно подготовить материалы для проведения эксперимента, в нашем случае чашки Петри, а затем уже провести само исследование.

Поэтому давайте расставим процедуры в правильном порядке:

- Сделать навеску почвы
- Перенести в стерильную ступку
- Добавить стерильной воды
- Растереть до пастообразного состояния
- Дать суспензии отстояться
- Приготовить ряд 10-кратных разведений
- Маркировать чашки Петри
- Разлить среды по чашкам Петри
- Посеять образцы на среды
- Распределить инокулянт по питательной среде
- Оставить образцы для адсорбции при комнатной температуре
- Перевернуть чашки Петри
- Поместить образцы в термостат

- Нанести маркером на дно чашки Петри сектора
- Подсчитать количество колоний

Ответ: 5, 7, 10, 4, 12, 11, 2, 3, 1, 13, 6, 15, 14, 8, 9.

Задача 5.2.2. (6 баллов)

Проведя литературный поиск, вы поняли, что для оптимального рассеивания бактерий вам понадобится внести в среду раствор гидроортофосфата калия.

Определите, сколько грамм сухого гидроортофосфата калия нужно добавить к 127 г водного раствора соли 12% концентрации для ее увеличения до 44%. При проведении расчетов полученные значения округлять до второго знака после запятой.

Ответ округлите, используя стандартные правила округления, и введите как целое число.

Решение

Давайте распишем, что нам дано:

массовая доля 1 = 12%,

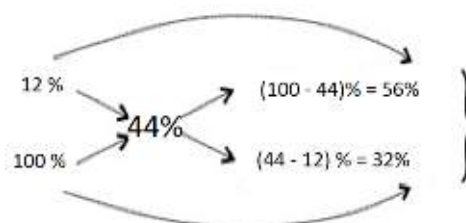
$m_1 = 127$ г,

массовая доля 3 = 44%.

К раствору добавляют сухой гидроортофосфат, это значит, что его массовую долю можно считать 100%. Значит массовая доля 2 = 100%. Необходимо найти m_2 .

Дальше задачу можно решать двумя способами: с применением правила креста, либо методом пропорций.

Сначала разберём вариант решения с применением правила креста (нарисовать на доске крест из массовых долей):



По этому правилу (массовая доля 2 - массовая доля 3) относится к (массовая доля 3 - массовая доля 1) как масса 1 к массе 2

Получаем $56/32 = 127/m_2$

Следовательно $m_2 = 127 \cdot 32/56 = 72.57 = 73$ г

Теперь давайте решим эту же задачу методом пропорций:

$m_3 = m_1 + m_2 = 127 + x$.

Исходя из определения массовой доли вещества, процентная концентрация раствора показывает, сколько граммов растворенного вещества находится в 100 г рас-

твора, то есть

100 г 12% раствора - это 12 г вещества

Значит 127 г 12% раствора - это $127 \cdot 12/100 = 15.24$ г вещества

Для второго раствора составляем аналогичную пропорцию:

100 г 100% раствора – 100 г вещества

x г 100% раствора – x г вещества,

Следовательно, $127 + x$ г нового раствора содержит $15.24 + x$ г растворенного вещества.

Теперь, зная концентрацию нового раствора, можно определить x , то есть массу сухого добавленного вещества.

$127 + x$ г раствора – $15.24 + x$ г вещества,

100 г раствора – 44 г вещества,

Получаем, что

$$(127 + x) \cdot 44 = (15.24 + x) \cdot 100$$

$$5588 + 44x = 1524 + 100x$$

$$x = (5588 - 1524)/56 = 73 \text{ г}$$

Ответ: 73.

Задача 5.2.3. (6 баллов)

Через некоторое время после рассеивания клеток, вы решили, сколько бактерий содержится в колониях, с которыми вы работаете. Для этого вы используете камеру Горяева. Среднее количество клеток микроорганизмов в малом квадрате камеры Горяева составляет 5 клеток. Определите количество микроорганизмов в 1 мл суспензии во втором десятикратном разведении.

Методические указания:

Для расчетов используйте стандартные подходы, описанные в статье Государственной фармакопеи Российской Федерации - ОФС.1.7.2.0008.15

В ходе решения промежуточные значения не округляйте.

Общую информацию о камерах Горяева можно найти по следующим ссылкам:

<http://cldtest.ru/hdbk/chamber>

<https://opticalmarket.com.ua/kamera-gorjaeva-prakticheskoe-primenenie.html>

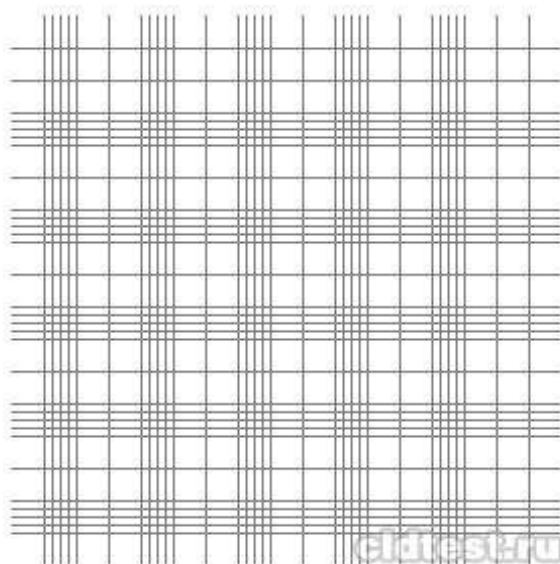
https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B0%D0%BC%D0%B5%D1%80%D0%B0_%D0%93%D0%BE%D1%80%D1%8F%D0%B5%D0%B2%D0%B0

Решение

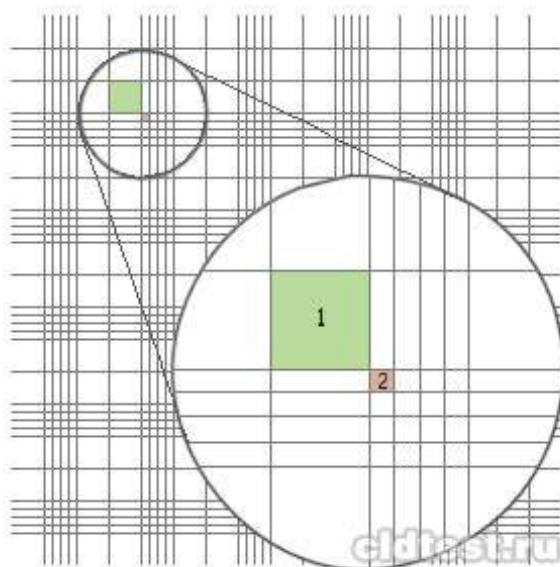
Давайте сначала разберём, что из себя представляет камера Горяева:

Это оптическое устройство для подсчета клеток в заданном объеме жидкости. Она состоит из толстого предметного стекла, имеющего прямоугольное углубление с нанесенной микроскопической сеткой и тонкого покровного стекла.

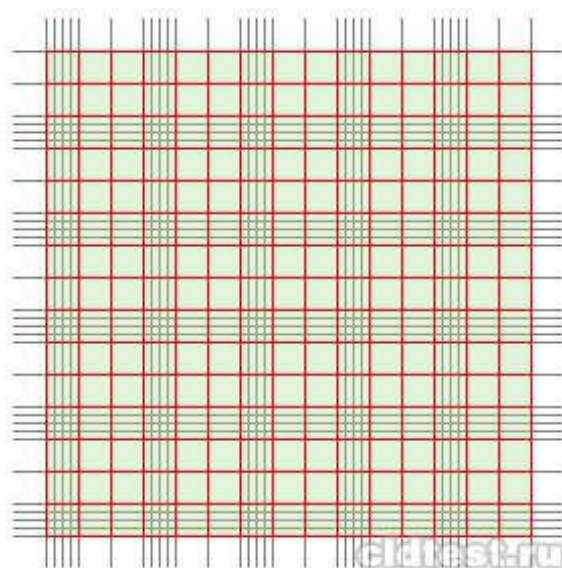
Сетка камеры Горяева состоит из 225 больших квадратов, из которых 25 разделены на 16 малых квадратов.



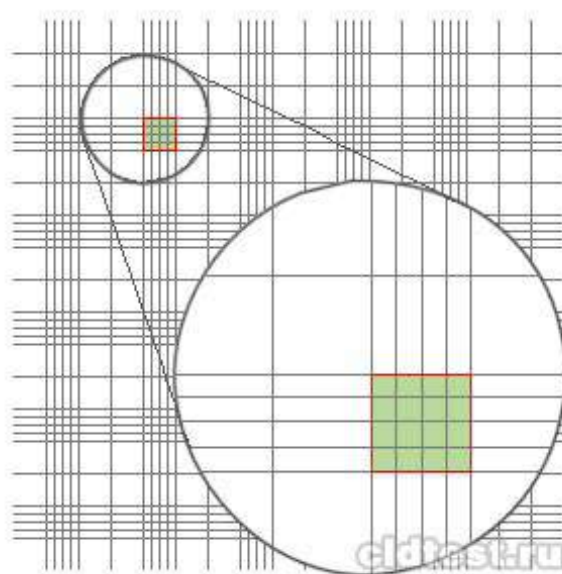
Сетка камеры Горяева



Большой (1) и малый (2) квадраты сетки камеры Горяева



225 больших квадратов сетки камеры Горяева



Большой квадрат камеры Горяева разделенный на 16 малых квадратов

Технические характеристики камеры Горяева:

Размеры малого квадрата камеры Горяева 0.05×0.05 мм

Размеры большого квадрата камеры Горяева 0.2×0.2 мм

Глубина камеры 0.1 мм

Объем жидкости под 1 малым квадратом 0.00025 мм^3 (мкл) = $1/4000 \text{ мм}^3$ (мкл)

Объем жидкости под 1 большим квадратом 0.004 мм^3 (мкл) = $1/250 \text{ мм}^3$ (мкл)

Объем камеры Горяева 0.9 мм^3 (мкл)

Теперь давайте решим нашу задачу:

Из ОФС берем формулу:

$$x = (a/20) \cdot N \cdot k \cdot b$$

где a – число клеток в 20 квадратах;

$N = 225$ – число больших квадратов в камере Горяева;

k – коэффициент, равный величине, обратной объему камеры Горяева
($v = 0.9 \text{ мм}^3 = 0.9 \cdot 10^{-3} \text{ мл}$);

b – разведение исходной взвеси микроорганизма.

В условии указано «во втором десятикратном разведении», значит, $b = 10^{-2}$

Ищем стандартную малую клетку Горяева – в каждой большой клетке содержится 16 маленьких. Всего расчет ведется по 20 большим клеткам.

Тогда

$$= 5 \cdot 16 \cdot 20 = 1600 \text{ шт}$$

$$x = (1600/20) \cdot 225 \cdot (1/0.9 \cdot 10^{-3}) \cdot 0.01 = 199984 \text{ шт}$$

Ответ: 199984 (+16).

5.3. Блок заданий 3

Задача 5.3.1. (8 баллов)

В задании представлен текст об элементах круговорота азота в природе. Вставьте недостающие слова из предложенных.

Автотрофные, азот, азота, азотфиксация, амилаза, аммонификация, ассимиляция, водород, водорода, второй, выделяется, гетеротрофные, гниение, две, денитрификация, закись азота, кислород, кислорода, неорганические, нитрификация, окисление, окись азота, органические, первой, поглощается, разложение, сахараза, CO_2 , третьей, три

Атмосферный воздух на 78% состоит из азота. Организмы и большинство зеленых растений нуждаются в различных химических формах азота. Благодаря процессам жизнедеятельности растений, водорослей и бактерий, осуществляется так называемый азотный цикл. Процессы, из которых складывается сложный круговорот азота - это ассимиляция, аммонификация, нитрификация, денитрификация, азотфиксация, разложение, выщелачивание, вынос, выпадение с осадками и т.д. Органические вещества, попадающие в почвы и воды подвергаются разложению, в ходе которого образуется аммиак. Под действием микроорганизмов проходит ряд дальнейших реакций и процессов. Процесс превращения аммиака в нитрат называется _____¹. Он проходит в _____² стадии. Возбудителями _____³ стадии являются бактерии рода *Nitrobacter*. Они осуществляют превращение _____⁴ до _____⁵. Возбудителями _____⁶ стадии являются бактерии рода *Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus* и *Nitrospira*. Они окисляют _____⁷ до _____⁸. В ходе всех преобразований активно _____⁹ энергия. Процесс превращения нитратов в газообразные оксиды и молекулярный азот называется _____¹⁰. Этот

процесс происходят в среде, лишенной _____¹¹. Т.е. процесс является анаэробным. В процессе преобразования исходного вещества (нитрат) в конечное (газообразный азот) последовательно появляются три промежуточных продукта: _____¹² > _____¹³ > _____¹⁴. Нитрификация производится _____¹⁵ бактериями. Это означает, что они получают углерод, необходимый для роста, из _____¹⁶ веществ. Денитрифицирующие бактерии являются _____¹⁷, т.е. получают углерод из _____¹⁸ веществ, таких как _____¹⁹.

Пояснения к ответу

Первое пропущенное слово - нитрификация. Из учебной литературы известно, что нитрификация проходит в две стадии: Первая стадия описывается следующими реакциями:

1. $NH_3 + O_2 + НАДН_2 \rightarrow NH_2OH + H_2O + НАД+$
2. $NH_2OH + H_2O \rightarrow HNO_2 + 4H + +4e-$
3. $1/2O_2 + 2H + +2e- \rightarrow H_2O$

В результате в ходе первой стадии аммиак окисляется до нитрита. Осуществляют данный процесс нитрозные бактерии.

Вторая стадия:



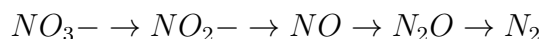
В результате которой нитрит окисляется до нитрата. Превращение второй стадии осуществляется нитратными бактериями.

На основании этого можно вставить пропущенные слова в следующий абзац:

“Он проходит в две стадии. Возбудителями второй стадии являются бактерии рода Nitrobacter. Они осуществляют превращение нитрита до нитрата. Возбудителями первой стадии являются бактерии рода Nitrosomonas, Nitrosocystis, Nitrosolobus и Nitrosospira. Они окисляют аммиак до нитрита. В ходе всех преобразований активно выделяется энергия.”

Теперь переходим к следующему, описанному в тексте процессу: “Процесс превращения нитратов в газообразные оксиды и молекулярный азот называется денитрификация.”

Из учебной литературы известно, что денитрификация протекает в несколько стадий:



Также известно, что восстановление нитратов является анаэробным дыханием, “Этот процесс происходит в среде, лишенной кислорода, то есть анаэробной.”

Опираясь на эту информацию, можем заполнить недостающие слова в следующем абзаце: “В процессе преобразования исходного вещества (нитрат) в конечное (газообразный азот) последовательно появляются три промежуточных продукта: нитрит, окись азота (NO) и закись азота (N₂O).”

Изучив более подробно информацию об о бактериях, которые участвуют в нитрификации и денитрификации, дополняем последнюю часть текста:

“Нитрификация производится автотрофными бактериями. Это означает, что они получают углерод, необходимый для роста, из неорганических веществ, таких как 2.

Денитрифицирующие бактерии являются гетеротрофными, то есть получают углерод из органических веществ, таких как сахароза.”

Ответ: 1. нитрификация / нитрификацией; 2. две; 3. второй; 4. нитрита; 5. нитрата; 6. первой; 7. аммиак; 8. нитрита; 9. выделяется; 10. денитрификация / денитрификацией; 11. кислорода / кислород; 12. нитрит; 13. окись азота; 14. закись азота; 15. автотрофными; 16. неорганических; 17. гетеротрофными; 18. органических; 19. Сахароза.

Задача 5.3.2. (8 баллов)

Во втором задании вам предстоит проанализировать результаты эксперимента по определению микрофлоры почвы.

Для работы вам предлагается таблица, в которую внесены найденные организмы и их количество в исследуемом образце:

Количество микроорганизмов (общее микробное число) контрольном образце.

Время, сут	Количество м/о в 1 г почвы				
	M. luteus	Bacillus thuringiensis	N. europaea	N. vulgaris	Pseudomonas putida
1	$8,52 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	$1,77 \cdot 10^6$	$7,4 \cdot 10^4$	$6,30 \cdot 10^5$
7	$8,12 \cdot 10^5$	$7,3 \cdot 10^5$	$3,54 \cdot 10^6$	$10,3 \cdot 10^4$	$4,41 \cdot 10^5$
14	$7,72 \cdot 10^5$	$13,4 \cdot 10^5$	$7,08 \cdot 10^6$	$16,7 \cdot 10^4$	$3,09 \cdot 10^5$

Высевы осуществлялись на питательные среды:

- МПА (мясопептонный агар);
- среда Чапека;
- крахмал-казеиновая среда.

Известно, что в одной из проб на 7 сутки присутствует положительная реакция на цинк-йод-крахмал в кислой среде. На наличие каких микроорганизмов (из представленных в таблице) это указывает?

В ответ занесите количество клеток этих микроорганизмов на 21 день эксперимента, если известно, что динамика изменения их количества останется той же.

Решение

Раствор цинк-йод-крахмал используется для обнаружения азотистой кислоты. Следовательно, положительная реакция в кислой среде говорит о наличии микро-

организмов, которые образуют азотистую кислоту. К таким бактериям относятся нитрифицирующие бактерии первой стадии.

Из приведённых в таблице микроорганизмов только *N. Eucoraea* относится к нитрифицирующим бактериям и как раз окисляет нитраты до нитритов.

Из таблицы видно, что каждые 7 дней количество микроорганизмов удваивается. Значит, на 21 дней мы получим $7.08 \cdot 10^6 \cdot 2 = 14160000$ шт.

Ответ: 14160000.

Задача 5.3.3. (7 баллов)

Изучите методы определения активности денитрификации и азотфиксации в почве и выполните следующие задания.

Перечислите все газы, которые присутствуют в конечной реакционной смеси при проведении эксперимента по определению активности денитрификации с использованием ацетилена. Ответ запишите формулами.

Формулы расположите в алфавитном порядке и в порядке увеличения индексов. Приоритет дается цифрам перед буквами (пример: H_2 , H_2O , HCl , $NOPO_3$, $NaCl...$).

Пояснения к ответу

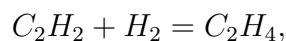
Суммарное уравнение денитрификации выглядит следующим образом:



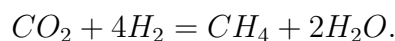
Из него мы получаем газы N_2 и CO_2 .

Теперь давайте разберём ацетиленовый метод. Принцип метода заключается в том, что при добавлении в систему ацетилена позволяет фиксировать количество образовавшейся закиси азота (N_2O). Накопление N_2O прекращается, когда заканчиваются нитраты и нитриты. в то же время появляется этилен.

Уравнение восстановления ацетилена:

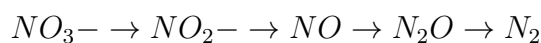


В системе может протекать также реакция:



Получаем ещё газы C_2H_2 , CH_4 и C_2H_4

Поэтапная денитрификация выглядит так:



Закись азота не полностью превращается в азот.

Ответ: C_2H_2 C_2H_4 CH_4 CO_2 H_2 N_2 N_2O .

Задача 5.3.4. (4 балла)

При каком содержании ацетилена полученная в эксперименте активность денитрификации будет более точной:

- 0.5%
- 5%
- 10%
- 15%

Примечание: подразумевается именно содержание ацетилена в добавляемой к исследуемому образцу газовой смеси.

Пояснения к ответу

Известно, что большая концентрация ацетилена оказывает большее тормозящее действие на утилизацию микроорганизмами N_2O . Это даёт возможность достоверно фиксировать максимум образовавшегося NO в процессе денитрификации. Соответственно, правильный ответ 15%, а при 0.5% результат будет менее достоверным, потому что микроорганизмов будут активнее превращать N_2O .

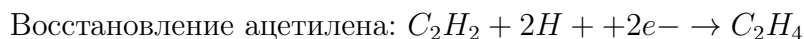
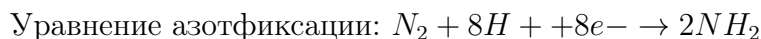
Ответ: 4.

Задача 5.3.5. (8 баллов)

При измерении активности азотфиксации аналогичным методом (с использованием ацетилена) с помощью калибровочной кривой рассчитали, что конечные количества ацетилена и этилена равны 0.15 мМ и 0.95 мМ, соответственно. Определите коэффициент активности азотфиксации в данной пробе (ответ округлите до десятых).

Решение

Ацетиленовый метод определения активности азотфиксации основан на способности нитрогеназы восстанавливать не только азот до аммиака, но и ацетилен до этилена. Давайте распишем все реакции процесса.



Мы знаем, что конечные концентрации ацетилена и этилена равны 0.15 мМ и 0.95 мМ соответственно. Превращение ацетилена в этилен идёт 1:1.

Коэффициент активности нитрогеназы в процессе превращения ацетилена в этилен считается по формуле:

$$\text{Кол-во образовавшегося этилена/кол-во оставшегося ацетилена} = 0.95/0.15 = 6.3$$

Коэффициент перевода этилена в аммиак равен 3. Поэтому величину, полученную для ацетилена мы делим на 3. $6.3/3 = 2.1$

Ответ: 2.1.

5.4. Блок заданий 4

Задача 5.4.1. (4 балла)

Из открытых источников найдите самый главный ферментативный комплекс азотфиксирующих бактерий, который обуславливает их функцию.

В качестве ответа введите русское название этого комплекса.

Пояснения к ответу

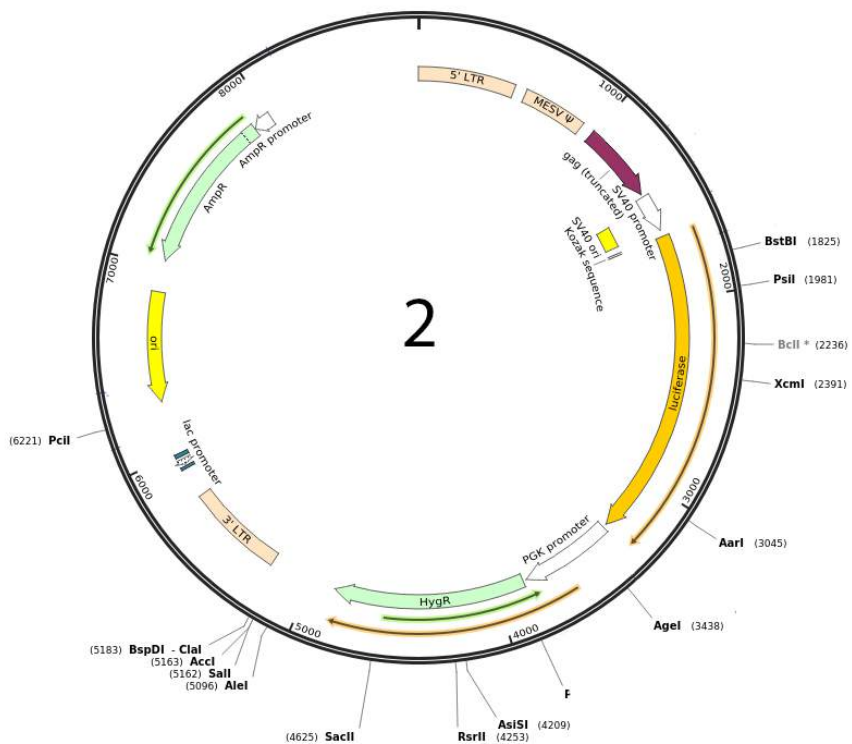
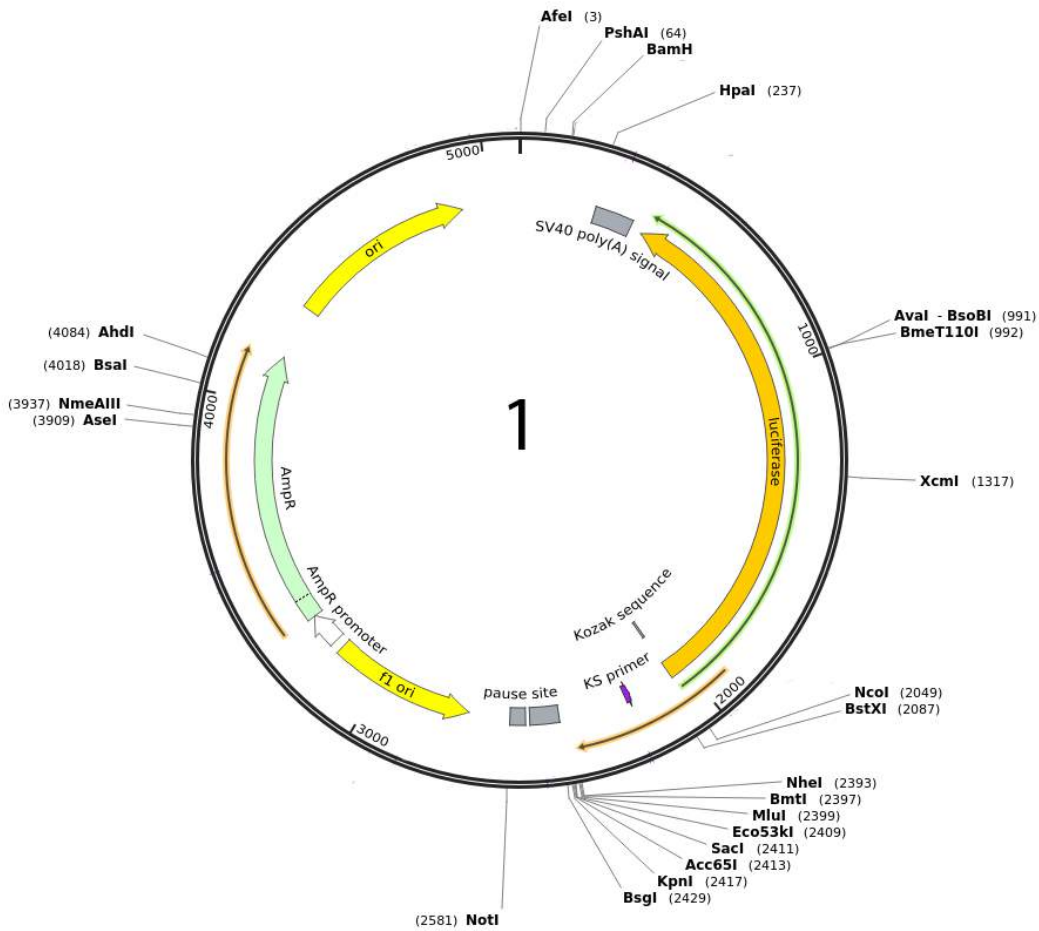
Известно, что главная функция азотфиксирующих бактерий - это фиксация атмосферного азота и его превращение в аммиак. В литературе можно легко найти, что эта функция осуществляется нитрогеназой, которая как раз является не единичным ферментом, а целым ферментативным комплексом. Комплекс нитрогеназы состоит из двух ферментов: самой нитрогеназы и гидрогеназы. Это полностью соответствует условию задачи, следовательно, верный ответ - нитрогеназа.

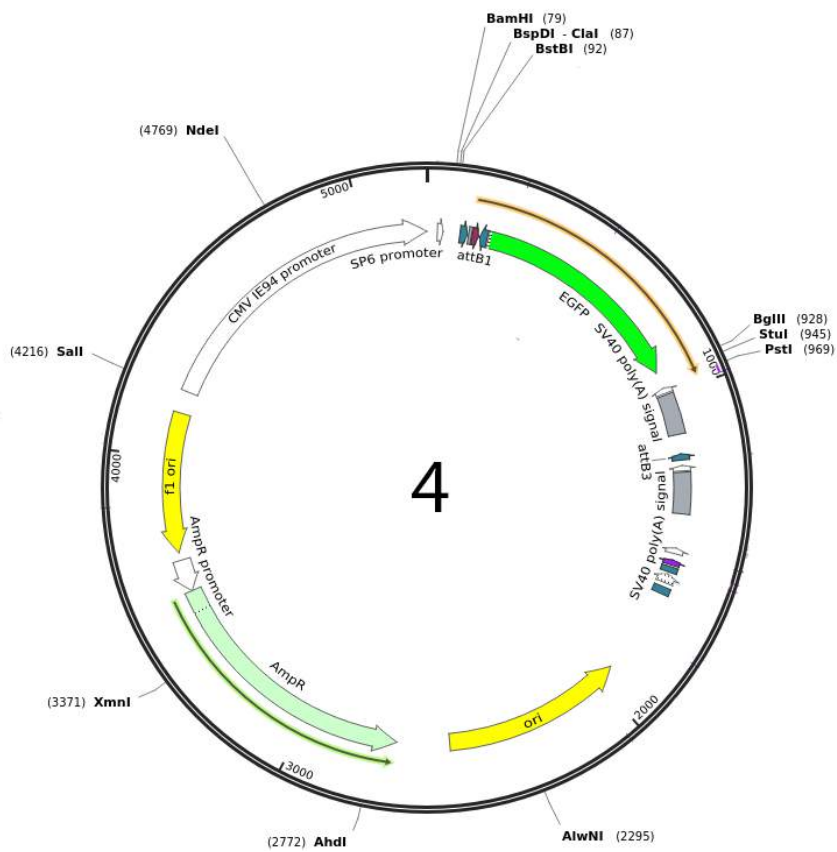
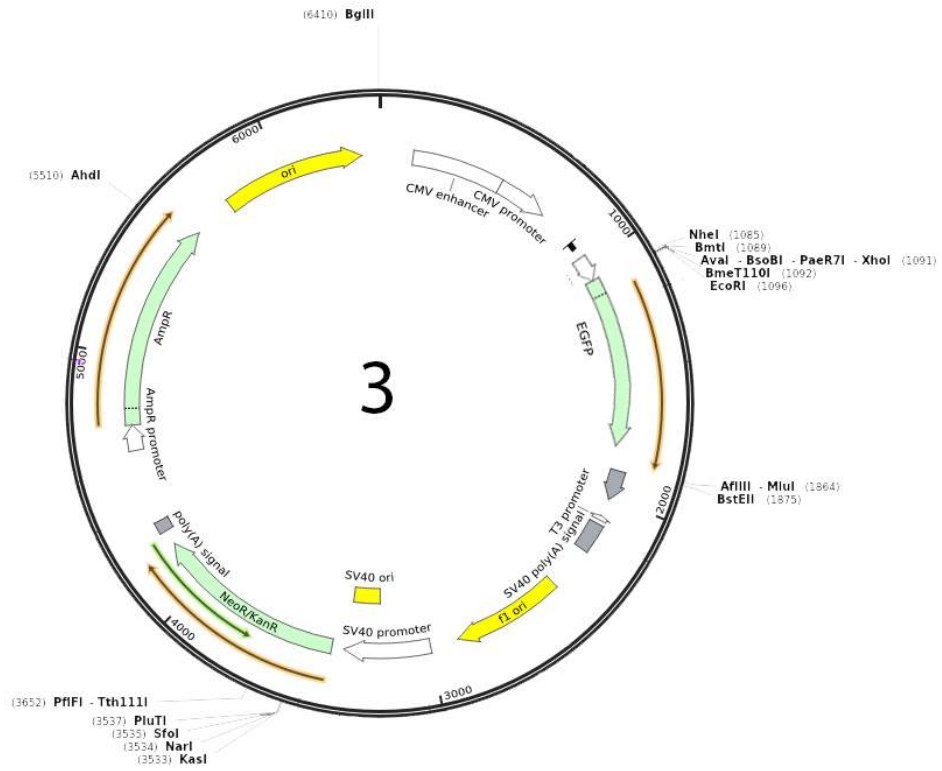
Ответ: Нитрогеназа.

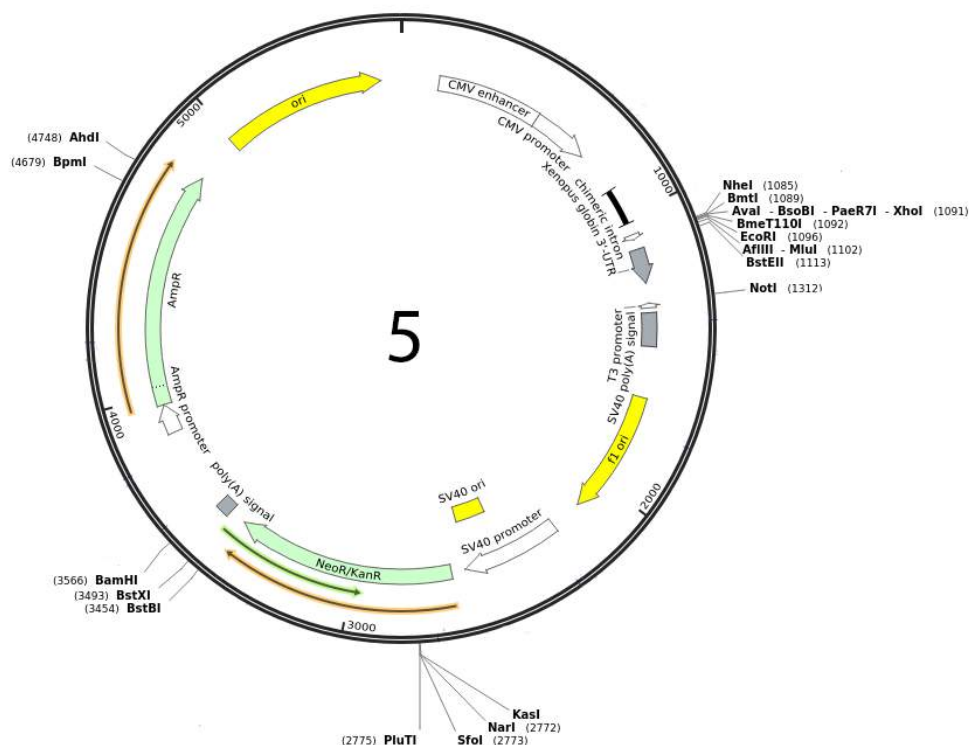
Задача 5.4.2. (10 баллов)

Из приведённых на рисунке плазмид выберите ту, которая удовлетворяет требованиям вашего эксперимента:

1. Вставка изучаемого гена в плазмиду будет проводиться с помощью рестрикции.
2. Вы будете клонировать плазмиду в клетках *E.coli*. а затем проверять активность гена в эукариотических клетках, соответственно, плаزمида должна содержать элементы, позволяющие отобрать клетки, получившие плазмиду, в обоих случаях.
3. Репортёрный ген, входящий в состав плазмиды, позволяет сделать точный количественный анализ и провести отбор клеток по нему на сортере.







1. 1
2. 2
3. 3
4. 4
5. 5

Пояснения к ответу

Давайте разберёмся с условиями задачи поочерёдно. Начнём со второго условия: Вы будете клонировать плазмиду в клетках *E. coli*, а затем проверять активность гена в эукариотических клетках, соответственно, плаزمида должна содержать элементы, позволяющие отобрать клетки, получившие плазмиду, в обоих случаях. После трансформации клеток плазмидой нужно отобрать только те клетки, которые получили эту плазмиду. Для отбора клеток в среду добавляется антибиотик, а сама плазмида должна содержать ген устойчивости к этому антибиотику. Для отбора бактериальных и эукариотических клеток используются разные антибиотика, соответственно, нужная нам плазмида должна содержать 2 разных гена устойчивости. Из предложенных вам плазмид плазмиды 1 и 4 содержат только один ген устойчивости *Amp^R* — устойчивость к ампицилину, который подходит только для отбора бактериальных клеток. Значит нам эти плазмиды не подходят.

Первое условие звучит так: вставка изучаемого гена в плазмиду будет проводиться с помощью рестрикции. Это значит, что плазмиды должны содержать сайты рестрикции и эти сайты должны располагаться рядом с репортёрным геном. Теперь давайте снова посмотрим на плазмиды. Все они содержат сайты рестрикции.

Прежде чем разберёмся с положением сайтов в плазмиде давайте проверим выполнение третьего условия: репортёрный ген, входящий в состав плазмиды, позволяет сделать точный количественный анализ и провести отбор клеток по нему на сортере. К репортёрным генам относятся гены флуоресцентных и люминесцентных белков. При этом точный количественный анализ с отбором на сортере позволяют сделать только флуоресцентные белки. Смотрим на оставшиеся плазмиды: 2,3,5. Плазмида 2 - содержит ген люциферазы, плазмида 3 - ген EGFP, плазмида 5 не содержит репортёрных генов. Люцифераза катализирует окисление люциферина, что приводит к испусканию света. Этот процесс называется люминесценцией и сделать точный количественный анализ с отбором люминесцирующих клеток на сортере не позволяет. EGFP - ген, кодирующий зелёный флуоресцентный белок. Значит, нам подходит одна плазмида под номером 3. Для нашего эксперимента, необходимо вставить изучаемый ген из генома азотфиксирующих бактерий перед репортёрным геном. Проверяем наличие сайтов рестрикции в плазмиде 3 сразу перед геном EGFP, они есть.

Ответ: 3.

Задача 5.4.3. (7 баллов)

Комплекс фермента из Задания 14 кодируется целым кластером генов.

Вы будете изучать один ген, входящий в состав этого кластера.

Для выделения изучаемого гена из генома *Rhizobium mesoamericanum* будет использован метод ПЦР (полимеразной цепной реакции).

Для работы вам предлагается нуклеотидная последовательность начала и конца гена:

5'ATGTCCACACCGATGATTTTCGCTTGAGAGCCTGGCCAGCAGGACATCCT
TGGATCAATTGCTGGCGACCTCGAAATCCGGTGGTTGCACATCCTCATCCTG
CGGCGCCTCCACAAATCCGGACGACTTCGACCAGGCCAT

.....

GCGCCAAGATCGGGGAGTGCCCTAGGAATCAGCTCATGGAGGCTGGAGTC
CGAGCAACGGACGCTTATGG

СТАТГАСТАСАТСГАГАСССГАТСССГССССТТАСГССССГАТТТГГ
GGTCSGAACCGCTAGCGGGGACGGCGTGA 3'

Изучив правила дизайна и написания праймеров для ПЦР, приведите одну из возможных последовательностей прямого праймера, удовлетворяющие следующим условиям:

1. Ваша пара праймеров позволит реплицировать всю последовательность гена.
2. Максимальная разница температур между прямым и обратным праймерами должна составлять не более 2°C
3. Длина праймеров должна быть между 15 и 22 нуклеотидами
4. Температура плавления праймеров должна лежать в интервале 58 – 68°C
5. Для расчета температур плавления вам не надо пользоваться какими-либо программами или сервисами! Примените простейшую формулу

Решение

Для начала давайте разберём, что называется прямым праймером. Прямой праймер - это праймер к началу гена. Начало определяем по 5' концу. Он комплементарен обратной цепи, соответственно, последовательность прямого праймера будет идентична началу прямой цепи гена. Вернёмся к последовательности и к условиям: нам нужно амплифицировать весь ген целиком, значит начало праймера должно совпадать с началом гена, то есть начинаться с 5'ATGT

Простейшая формула для расчёта температуры плавления выглядит так:

$$T_{\text{плавления}} = 4 \cdot n(\text{GCпар}) + 2 \cdot n(\text{ATпар})$$

При этом у нас есть условие, что длина праймера должна быть в диапазоне 15-22 нуклеотида, а температура плавления лежит в интервале $58 - 68^{\circ}\text{C}$. Давайте запишем сначала все возможные прямые праймеры, удовлетворяющие данным условиям. Помните, что все праймеры записываются от 5' конца к 3' концу.

$$\text{ATGTCCACACCGATGATTTTC} (58^{\circ}\text{C}, 20 \text{ нуклеотидов}) T = 4 \cdot 9 + 2 \cdot 11 = 58$$

$$\text{ATGTCCACACCGATGATTTTCG} (62^{\circ}\text{C}, 21 \text{ нуклеотид}) T = 4 \cdot 10 + 2 \cdot 11 = 62$$

$$\text{ATGTCCACACCGATGATTTTCGC} (66^{\circ}\text{C}, 22 \text{ нуклеотида}) T = 4 \cdot 11 + 2 \cdot 11 = 66$$

Это все возможные праймеры, короче быть не могут, т.к. нарушим условие про температуру не ниже 58°C , а длиннее нарушится условие про 22 нуклеотида.

Остаётся проверить выполнение условия про разницу температуры между прямым и обратным праймером. Поэтому давайте перейдём пока к следующему заданию, а потом вернёмся к ответу на это.

Ответ: ATGTCCACACCGATGATTTTCG?C?.

Задача 5.4.4. (7 баллов)

Приведите последовательность одного из возможных обратных праймеров, удовлетворяющие условиям Здания 3.

Пояснения к ответу

Обратный праймер должен быть комплементарен прямой цепи самого конца гена, вот этой части GGTCCGAACCGCTAGCGGGACGGCGTGA 3'

Записывается праймер от 5' к 3'. Поэтому составляем комплементарную последовательность заданному фрагменту и начинаем записывать с конца. По той же формуле, что и в предыдущем задании, вычисляем температуру плавления. Получаем вот эти праймеры:

$$\text{TCACGCCGTCCCCGCTA} (58, 16 \text{ нуклеотидов}) T = 4 \cdot 12 + 2 \cdot 5 = 58$$

$$\text{TCACGCCGTCCCCGCTAC} (62, 17 \text{ нуклеотидов}) T = 4 \cdot 13 + 2 \cdot 5 = 62$$

$$\text{TCACGCCGTCCCCGCTACC} (66, 18 \text{ нуклеотидов}) T = 4 \cdot 14 + 2 \cdot 5 = 66$$

Короче праймеры не получатся, иначе нарушится условие про минимальную температуру в 58 градусов, а длиннее нельзя, т.к. температура превысит 68 градусов

Теперь давайте проверим праймеры из задания 16 и 17 на выполнение условия про максимальную разницу в температуре между ними 2 градуса. Видим, что у нас с вами получилось 3 возможные пары праймеров. В ответ вы могли записать по одному любому праймеру из тех, что мы перечислили.

Ответ: TCACGCCGTCCCCGCTAC?C?.