

Kolo: Celoštátne

Kategória: A

Teoreticko-praktická časť

Autorské riešenie

**Obidve praktické úlohy sú pripravené na 90 minút, na test odporúčame 90 minút .
Max. počet bodov za test je 90 a za každú praktickú úlohu je max. počet 45 bodov.
Úspešný riešiteľ musí mať nad 50 % bodov.**

Praktická úloha č. 1.

Autor: Mgr. Filip Červenák

Recenzia: Bc. Jaroslav Ferenc

Téma : Molekulárna biológia

1. Ktorý enzým si vyberiete na štiepenie vzoriek, ak si môžete vybrať pre obe vzorky iba jeden zo štvorice BamHI, EcoRI, HindIII a XhoI, a zároveň chcete vždy pozorovať viac ako 1 fragment? Pri svojom rozhodovaní berte do úvahy informácie z plazmidových máp na druhej strane.

Uvedeným kritériám zodpovedá iba enzým Hind III

Správna odpoveď: 2 body

2. Koľko a akých veľkých fragmentov očakávate po štiepení v prípade, že štiepíte plazmid pBIO1, resp. pBIO2?

Fragmenty pBIO1: 358, 465, 7186 bp

celkový počet: 3

Fragmenty pBIO2: 747, 887, 2193, 5105 bp

celkový počet: 4

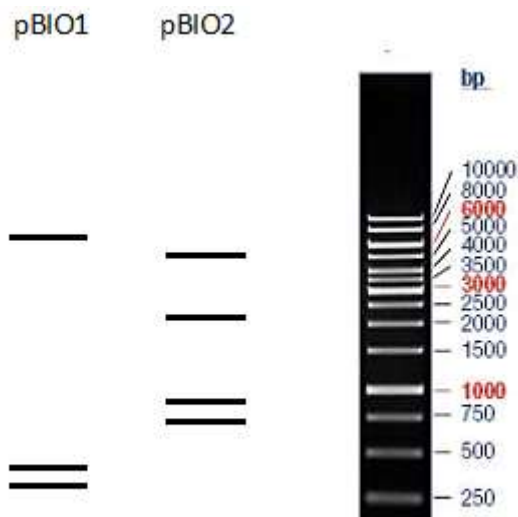
Každá správna odpoveď 2 body, spolu 8 bodov

3. Enzýmy používané na štiepenie plazmidov sú vo väčšine prípadov izolované z rôznych druhov baktérií. Takmer všetky vykazujú najvyššiu enzýmovú aktivitu pri 37°C. Prečo?

Pretože sú väčšinou izolované z baktérií, ktorých optimálna teplota pre metabolizmus a enzýmovú aktivitu je odvodená od teploty tela teplotkrvných organizmov. Tá je vo väčšine prípadov 37°C.

Správna odpoveď: 2body

4. Na obrázku je schematicky znázornený ukazovateľ molekulovej hmotnosti, ktorý sme použili v našom experimente. Je tvorený fragmentmi DNA definovanej veľkosti, ktoré sa počas elektroforetického delenia rozmiestnia od najväčšieho po najmenší. Zakreslite pod názvy jednotlivých plazmidov, kde očakávate, že sa budú nachádzať fragmenty DNA, získané ich štiepením.



Fragmenty sú znázornené v obrázku.

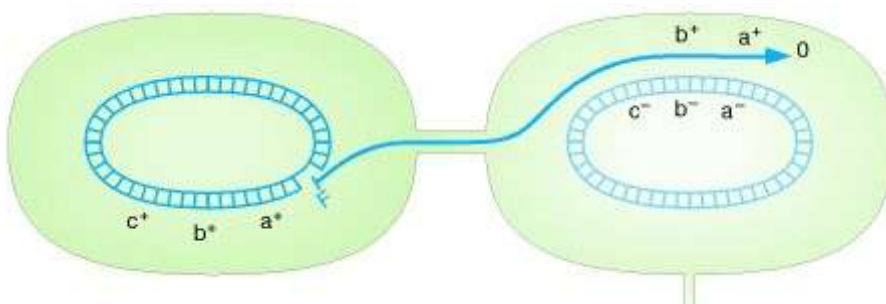
Každý správne určený band 1 bod, spolu 7 bodov

5. Ak by ste elektroforézu nechali zapnutú výrazne dlhšie ako je predpísané, akú zmenu pozorovania, popísaného v predošlej úlohe, by ste mohli očakávať?

Mohli by sme očakávať, že najkratšie fragmenty prejdú celým gélom a vyplávajú do tlmivého roztoku. Následkom toho by sme na odfotenom obrázku tieto fragmenty nevideli.

Správna odpoveď: 2 body

6. Niektoré plazmidy je možné použiť na konštrukciu genetických máp. V procese bakteriálnej konjugácie sú za pomoci plazmidu v niektorých prípadoch gény kopírované a prenášané z jednej bunky do druhej spôsobom ilustrovaným na obrázku. Väčšinou sa však bunkám nepodarí preniesť všetky gény, ale iba úsek DNA, obsahujúci niekoľko susediacich génov.

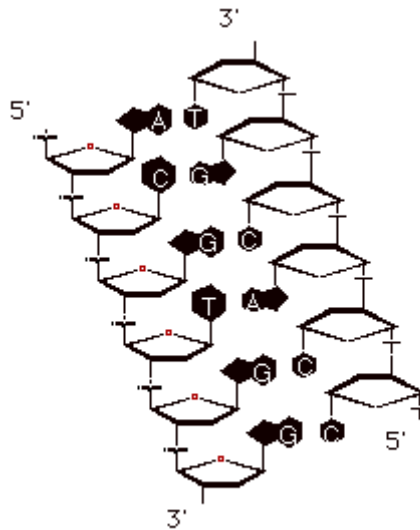


Analýzou takýchto prenesených úsekov ste identifikovali poradie génov, obsiahnutých v týchto úsekoch a následne sa pokúšate určiť poradie všetkých uvedených génov. Aké bude ich poradie, ak sa vám podarilo experimentálne získať nasledovné úseky?

Poradie: MYSKOLACI, alebo iné poradie, vyplývajúce z kruhovej podstaty molekuly

Správna odpoveď: 2 body

7. Každé vlákno DNA má 2 konce. Jeden je označovaný ako 5', druhý ako 3'. Zároveň platí, že dve komplementárne vlákna sú k sebe vždy opačne otočené (jedno je 5'→3', druhé 3'→5', pozri obrázok).



Navyše, vieme, že štiepiace enzýmy štiepia iba palindromatické sekvencie (tj. také, ktoré je možné prečítať v smere 5' → 3' na oboch vláknoch DNA rovnako). Do vyznačených polí doplňte komplementárne sekvencie a zakrúžkujte, ktorá z uvedených sekvencií je palindromatická. Pozn.: ako vyplýva z obrázka, v dvojvlákne DNA sa adenín (A) páruje s tymínom (T) a guanín (G) s cytozínom (C).

- i. 5' ATTTTA 3'
3' TAAAAT 5'
- ii. 5' TGCCGT 3'
3' ACGGCA 5'
- iii. 5' TGATCA 3'
3' ACTAGT 5'
- iv. 5' ACCCGT 3'
3' TGGGCA 5'

Každá správne doplnená sekvencia 1 bod, správne zakrúžkovaná odpoveď 2 body, spolu 6 bodov

8. Plazmidy patria medzi najpoužívanejšie nástroje na vnášanie génov, pochádzajúcich z jedného organizmu, do iného organizmu. Aby tento systém fungoval, je potrebné (podobne ako v našom experimente) štiepiť kruhovú molekulu plazmidu štiepiacim enzýmom a následne do vzniknutej medzery vložiť požadovaný úsek DNA. Plazmid a vložená DNA sú na záver pevne spojené iným enzýmom. V súčasnosti sú plazmidy upravované tak, že väčšina štiepiacich enzýmov (na rozdiel od nášho experimentu) štiepi plazmid iba v jednom mieste. Prečo?

Pretože keby poštiepili plazmid na viacerých miestach, bolo by veľmi nepravdepodobné, že sa za pomoci enzýmu jednotlivé fragmenty spolu s vnášanou DNA pospájajú a vytvoria opäť funkčný plazmid, ktorý by bolo možné vniesť do buniek.

Správna odpoveď: 2 body

9. V bunkách mikroorganizmov sa okrem plazmidov nachádza aj ďalšia DNA, ktorá je základom pre vznik chromozómu. Napíšte aspoň 3 rozdiely medzi eukaryotickými chromozómami a plazmidmi.

Eukaryotické chromozómy sú omnoho väčšie molekuly, sú lineárne, nachádzajú sa väčšinou v menšom počte kópií, ich replikácia je striktne daná bunkovým cyklom

Každý správne uvedený rozdiel 1 bod, spolu 2 body

10. Plazmidy prechádzajú z jednej bunky do druhej v procese konjugácie, ktorý je riadený génmi nachádzajúcimi sa na plazmide, aj na chromozómoch. Existujú však aj častice, obsahujúce DNA, ktoré prenikajú do buniek samostatne a sú schopné dramaticky ovplyvňovať ich metabolizmus. Ako sa tieto častice nazývajú? Uveďte jeden príklad.

Vírusy, viroidy, fágy, bakteriofágy

Správne uvedený príklad: 2 body

11. Výsledok experimentu

Vzorka A obsahovala plazmid pBIO1

Vzorka B obsahovala plazmid pBIO2

Jeden správne identifikovaný plazmid 5 bodov, spolu 10 bodov

Spolu maximálne 45 bodov

Praktická úloha č.2.

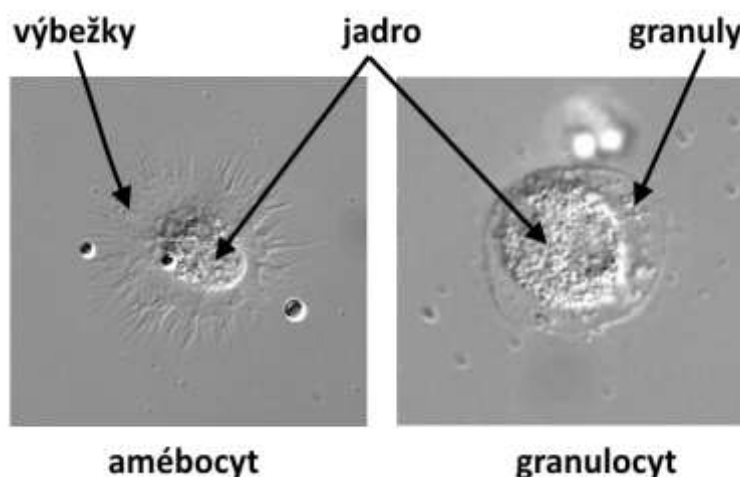
Autor: Bc. Jaroslav Ferenc

Recenzia: Mgr. Tomáš Augustín

Téma: Imunológia – nešpecifická imunita

Nákres

Zakreslite jeden améboecyt a jeden granulocyt. Popíšte pozorovateľné štruktúry.



Ak obrázok obsahuje štruktúru, ktorú nie je možné pozorovať, odpočítať 1b. Ak sú vymenené popisy buniek, odpočítať 2b. Ak je zlý popis niektorej štruktúry, odpočítať 1 b. Obrázok musí byť dostatočne veľký, nakreslený ceruzkou s uvedeným zväčšením (okulár x objektív) a popisom pozorovaných štruktúr. Ak náčrt nespĺňa niektorú z predchádzajúcich podmienok, odpočítať 1 b za každú. Minimálne 0 bodov za úlohu.

Maximálne za náčrt.....10 bodov

1. Na základe popisu buniek v úvode úlohy rozhodnite, ktorý typ imunitných buniek dáždovky má najvyššiu fagocytickú aktivitu a vysvetlite svoju odpoveď.

Améby (2 b), pretože vytvárajú výbežky (1 b), ktoré umožňujú pohltiť (internalizovať) patogény (2b)

spolu za úlohu.....5 bodov

2. Vysvetlite, ako môže život *Eisenia fetida* v rozkladajúcom sa organickom materiáli súvisieť s pozorovaním, že táto dáždovka má širší repertoár imunitných mechanizmov ako príbuzné druhy žijúce v pôde.

Hnijúca organická hmota obsahuje viac mikroorganizmov ako pôda (2b), to znamená aj zvýšené riziko infekcie (2b).

spolu za úlohu.....4 body

Predstavte si, že sa vám podarilo indentifikovať tri proteíny (nazvime ich CCF, SP a FET) v celómovej tekutine *E. fetida*, o ktorých viete, že sú spoločne potrebné pre zabíjanie baktérií. Na základe vašich predchádzajúcich výsledkov ste zostavili hypotézu, podľa ktorej slúži proteín CCF na rozoznávanie látok charakteristických pre baktérie. Ak sa na CCF naviaže takáto látka (napr. lipopoly-sacharidy – LPS), CCF spustí vylúčenie proteínu SP z celómocytov. SP potom aktivuje proteín FET, ktorý je toxický pre baktérie.

3. Aby ste otestovali svoju hypotézu, urobili ste niekoľko experimentov, v prvom z nich ste použili celómovú tekutinu získanú z dáždoviek odberom pomocou injekčnej striekačky. Túto celómovú tekutinu ste rôzne ošetrili (napr. odstránením buniek, či pridaním LPS). Konkrétne varianty experimentu sú popísané v tabuľke. Následne ste vo vzorkách sledovali prítomnosť proteínov CCF, SP a FET. Označte v tabuľke, či v daných vzorkách očakávate (+) prítomnosť spomenutých proteínov, alebo nie (–), ak platí uvedená hypotéza.

	CCF	SP	FET
celómová tekutina, z ktorej boli odstránené bunky, bez prídavku LPS.	+	-	+
celómová tekutina s bunkami, s prídavkom látky, ktorá spôsobuje rozpad buniek. Bez prídavku LPS	+	+	+
celómová tekutina, z ktorej boli odstránené bunky, s prídavkom LPS	+	-	+
celómová tekutiny s bunkami a prídavkom LPS. Bunky boli odstránené 30 minút po pridaní LPS	+	+	+

Každá správna odpoveď 0,5 b

Spolu za úlohu.....6 bodov

4. V druhom experimente ste sa rozhodli purifikovať proteíny CCF, SP a FET. Preto ste gény, ktoré ich kódujú, exprimovali v kultúre hmyzích buniek a z nich izolovali jednotlivé proteíny. Následne ste testovali, ktoré z nich sú samostatne, alebo v kombinácii toxické pre baktérie *Escherichia coli*. Jednotlivé proteíny alebo ich kombinácie ste najskôr inkubovali 30 minút pri 18 °C v pufrí so zložením zodpovedajúcim celómovej tekutine a následne ste k nim pridali suspenziu baktérií. Po ďalšej inkubácii (2 hodiny) ste baktérie centrifugovali, premyli vodou a vysiali na Petriho misky so živným médiom. Nasledujúci deň ste vyhodnotili prežívanie na základe počtu vzniknutých kolónií (pozri graf v zadaní). Označte pre každé z nasledujúcich tvrdení, či ho získané dáta podporujú (+) alebo nie (-).

Proteín CCF slúži na rozoznávanie patogénov.	-
Žiadny zo študovaných proteínov nie je samostatne toxický pre <i>E. coli</i> .	+
Na zabitie buniek <i>E. coli</i> postačuje kombinácia proteínov SP a FET.	+
SP aktivuje FET tak, že s ním vytvára komplex.	-
SP aktivuje FET tak, že ho štiepi a mení z neaktívneho proenzýmu na aktívny enzým.	-
Ak k zmesi proteínov SP a FET pridáme proteín CCF, zvýši sa toxicita tejto zmesi pre baktérie.	-
Samotný proteín FET nie je pre <i>E. coli</i> toxický preto, že táto baktéria bežne neinfikuje dážďovky.	-
Výsledky experimentu nie sú v rozpore s hypotézou uvedenou v úlohe 3.	+

Každá správna odpoveď 1 b

Spolu za úlohu.....8 bodov

5. Označte (+) tie vlastnosti, ktoré by podľa vás mali mať molekuly použiteľné ako PAMP. Vlastnosti, ktoré nie sú vhodné pre PAMPs označte (-).

sú esenciálne pre prežitie patogénu	+
sú evolučne konzervované a vyskytujú sa u širšej skupiny patogénov	+
sú vysoko variabilné a charakteristické pre konkrétne patogény	-
sú produkované patogénom a aj jeho hostiteľom	-
sú produkované v neskorom štádiu infekcie patogénom	-
sú produkované výlučne hostiteľom vtedy, keď nie je infikovaný	-

Každá správna odpoveď 1 b

spolu za úlohu.....6 bodov

6. Okrem imunitných buniek a molekúl sú organizmy chránené voči infekcii aj prirodzenými bariérami, ktoré poskytujú tzv. pasívnu ochranu nezávisle na prítomnosti infekcie. U človeka medzi takéto bariéry patria koža a sliznice. Napíšte aspoň tri mechanizmy, ktorými tieto bariéry bránia infekcii. **mechanická bariéra (koža), produkcia sekrétov s obsahom antibakteriálnych látok (kožný maz, slzy, sliny, žalúdočná kyselina...), odstraňovanie cudzích častíc riasinkovým epitelom (pľúca), prirodzené spoločenstvá mikroorganizmov, ktoré chránia voči infekcii, ...**

Každá správna odpoveď 1b, uznané budú aj iné správne odpovede

spolu za úlohu.....3 body

7. Vo svojom preparáte ste si iste všimli aj zhľuky celómocytov. Napíšte, ako môže byť schopnosť týchto buniek vytvárať zhľuky využité pri obrane proti mnohobunkovým parazitom (napríklad hlístovcom). **Aj keď tieto parazity nie je možné fagocytovať, môžu byť zneškodnené imunitnými bunkami, ktoré sa okolo nich zhľuknú a vylúčia toxické látky**

spolu za úlohu.....3body

CELKOM 45 BODOV

Literatúra:

Campbell, N. A., Reece, J. B. (2006). Biologie. 1. vyd. Brno. Computer press
Sadava, D., Hillis, D., Heller, C., Berenbaum, M. (2011). Life – The Science of Biology. 9. vyd. Sunderland. Sinauer Associates
MacPherson, G., Austyn, J. (2012). Exploring immunology: concepts and evidence. 1. vyd. John Wiley & Sons.
Bilej, M., Procházková, P., Šilerová, M., Josková, R. (2010). Earthworm immunity. In: Invertebrate Immunity (pp. 66-79). Springer US.

Test

	A	B	C	D	E	Body
1.	x			x		2
2.	x					2
3.			x			2
4.		x				2
5.				x		2
6.			x			3
7.				x		2
8.	x		x			3
9.	x					2
10.		x	x			3
11.		x	x			2
12.	I.B,C; II.A					3
13.	x				x	2
14.	x			x		2
15.	I.1; II. A,B,D					4
16.	A 5	B 3, 6	C 5			4
17.				x		2
18.	x			x		2
19.			x	x		2
20.			x			2
21.	x					2
22.	x	x	x	x		2
23.	stratégia oboch samčekov je rovnako úspešná, keďže obaja a vychovejú po 12 mláďat					2
24.	I.B, II.D					2
25.	Ide o maternálny efekt na potomstvo. Fenotypový prejav matky sa prenáša na potomstvo cez produkty génovej expzie prítomné vo vajíčku. Preto ak je matka heterozygotná v danom znaku, bude aj potomstvo niesť takýto fenotypový prejav.					2
26.	Rozdielny mRNA splicing (zostrih) u jednotlivých kvasiniek.					2
27.	V tomto prípade ide o väzbu génov. Gény sú na rovnakom chromozóme v tak tesnej blízkosti, že počas meiotického delenia, takmer nedochádza k tvorbe rekombinantných gamét. Výsledkom je, že ešte aj v F2 generácií sa v genotype stále vyskytujú len génové páry gamét rodičov, a teda AB, ab.					2
28.	x					2
29.		x				2
30.	I. – A, II. – A, III. – B, IV. – B, V - C					2,5
31.	x			x		2
32.	x			x		2
33.		x				1,5
34.	I. 62,5 II. 76,9					3
35.	a) 450; b) A, B, C,					2
36.	I. 1000 II. Nenáhodný odchyt prvej vzorky; zvieratá ktoré sa už raz chytili môžu byť obozretnejšie; preferenčne sa môžu chytať menej pohyblivé zvieratá atď..					2
37.		x	x			2
38.		x	x			1
39.			x	x		2
40.	x					2
Spolu						90

Autori: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD., Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD., Mgr. Tomáš Augustín, Mgr. Katarína Juríková, Bc. Jaroslav Ferenc, Lukáš Janošík, Mgr. Filip Červenák, Mgr. Lucia Zeiselová, Silvia Hnáťová
Recenzia: prof. RNDr. Peter Fedor, PhD., Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD.
Test zostavil: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Praktická úloha č. 1.

Autor: Mgr. Filip Červenák

Recenzia: Bc. Jaroslav Ferenc

Praktická úloha č.2.

Autor: Bc. Jaroslav Ferenc

Recenzia: Mgr. Tomáš Augustín

Redakčná úprava: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Slovenská komisia Biologickej olympiády

Vydal: IUVENTA Slovenský inštitút mládeže, Bratislava 2016