

Pokyny k organizácii a opravovaniu teoretického testu

Študenti majú na vypracovanie testu k dispozícii **90 minút** čistého času - ak je potrebné vydať nejaké organizačné pokyny, je tak nevyhnutné spraviť mimo tohto času, pred začatím písania testu. Celkový počet bodov v teste je 90.

Študenti musia mať k dispozícii kalkulačku, použitie kalkulačky na telefóne nie je možné.

Študenti vyznačujú správne odpovede do odpovedového hárku - pri opravovaní a sčítavaní bodov berie komisia do úvahy **iba odpovedový hárok**. Odpovede alebo poznámky zapísané priamo do testu sa v žiadnom prípade nezohľadňujú.

Pri vyhodnocovaní otázok s voľnou odpoveďou (napr. výpočty) sa body udeľujú iba za odpoveď identickú s autorským riešením, pretože jednotky a zaokrúhlenie je uvedené v zadaní. Za nesprávne zaokrúhlené výsledky alebo výsledky v nesprávne zvolených jednotkách sa udelí 0 bodov - ak nie je v autorskom riešení v bodovej tabuľke uvedené ináč. Výnimkou je situácia, keď študent uvedie numericky správnu odpoveď v inom tvare (napr. exponenciálnom) - v tom prípade dostáva plný počet bodov.

Pri vyhodnocovaní otázok s vyznačovaním správnej odpovede ("X") alebo otázok, pri ktorých sa ku každej možnosti priraduje jedna odpoveď sa postupuje nasledovne:

Pre každú otázku samostatne:

1. Celkový počet bodov za otázku sa vydolí počtom správnych odpovedí v otázke, a tak sa získa hodnota **B**: bodové ohodnotenie za jednu správnu odpoveď.
2. Za každú **správne označenú** odpoveď sa pripočíta **B** bodov.
3. Za každú **nesprávne označenú** odpoveď sa odčíta **B** bodov.
4. Celkovo za jednu otázku nemôže byť menej ako 0 bodov.

Príklad 1: V otázke 41 by bolo päť možností (A-E), z toho tri správne (A, B, C), a za otázku by boli 3 body. Hodnota **B** je teda $3/3 = 1$ bod.

- Študent, ktorý označí odpovede A, B, C by mal 3 body.
- Študent, ktorý označí A, B, by mal 2 body.
- Študent, ktorý označí odpovede A, D by mal +1 bod za A, -1 bod za D, teda 0 bodov.
- Študent, ktorý označí A, B, D by mal +1 bod za A aj za B, -1 bod za D, teda 1 bod.
- Študent, ktorý označí A, D, E by mal +1 bod za A, -1 bod za D aj za E, ale keďže body nemôžu byť záporné, mal by za túto otázku 0 bodov.

Pokyny k organizácii a opravovaniu praktických úloh

Študenti musia mať na vypracovanie každej praktickej úlohy k dispozícii **90 minút** čistého času - ak je potrebné vydať nejaké organizačné pokyny, je tak nevyhnutné spraviť mimo tohto času, pred začatím práce na praktickej úlohe. Celkový počet bodov za každú praktickú úlohu je **45**.

Študenti musia mať k dispozícii pomôcky uvedené v každej praktickej úlohe. Tieto pomôcky je potrebné zabezpečiť v dostatočnom predstihu pred kolom. Tiež je potrebné preštudovať si pokyny (ak sú uvedené v autorskom riešení praktickej úlohy) o tom, ako úlohu pripraviť.

Študenti vyznačujú správne odpovede priamo do zadania praktickej úlohy. Hodnotenie každej praktickej úlohy je detailne popísané v autorskom riešení (viď nižšie).

Záverečné pokyny

Úspešný riešiteľ musí mať celkovo nad 50 % bodov. V prípade rovnosti bodov rozhoduje počet bodov za test.

Autorské riešenia

Praktická úloha č. 1

Téma: Molekulárna biológia – vlastnosti proteínov

Autorské riešenie

Pred začiatkom úlohy je študentom vysvetlená manipulácia s mikropipetou a nanášanie vzoriek na PAGE gél, vrátane vysvetlenia základov princípu PAGE elektroforézy. Študenti sú poučení o používaní OOP (rukavice, plášť) a bezpečnosti pri práci s chemikáliami.

1. úloha:

Výsledky praktickej práce študentov vyhodnocujeme z dvoch hľadísk – efektivita izolácie proteínov a efektivita nanášania na gél.

- Objem odovzdanej vzorky (má byť ~75 µl):
 - **50 – 100 µl: 4 body**
 - **25 – 49 µl alebo 100 – 125: 2 body**
 - **iné množstvo: 0 bodov**
- Efektivita proteínovej extrakcie (vyhodnotená ako signál na samostatne nanesenom géli, 25 µl zo vzorky každého študenta). Ak bola vzorka <25 µl: na gél nanesený poskytnutý objem, vyhodnotené pomerne voči zodpovedajúcej frakcii objemu kontrolnej vzorky.
 - >80% voči kontrolnej vzorke: **10 bodov**
 - 50 – 80% voči kontrolnej vzorke: **6 bodov**
 - 30 - 50% voči kontrolnej vzorke: **3 body**

- iné: **0 bodov**
- Efektivita nanášania na gél – vyhodnotená ako percento zo signálu z kontrolného, samostatne naneseného gélu:
 - >80% voči kontrolnej vzorke: **10 bodov**
 - 50 – 80% voči kontrolnej vzorke: **6 bodov**
 - 30 - 50% voči kontrolnej vzorke: **3 body**
 - iné: **0 bodov**

Spolu za 1. úlohu: 24 bodov

2. úloha: Označte, akú úlohu majú jednotlivé kroky v protokole a použité chemikálie

- a) dodecylsulfát sodný (SDS) **1 bod** (za ktorýkoľvek z týchto dvoch názvov)
- b) ~~A 1 bod~~ opravené - chyba v AR, zlá formulácia - žiadna odpoveď nie je správna, všetci študenti dostali 1 bod
- c) A **2 body**

3. úloha: Vyhodnotenie výsledkov SDS-PAGE experimentu.

- a) C **2 body**
- b) C **2 body**
- c) B **1 bod**

4. úloha: Western blotting

- a) E **1 bod**
- b) F **2 body**
- c) A, D **2 body**

5. úloha: Purifikácia proteínu pomocou afinitnej chromatografie

- a) 1F 2I 3D 4H 5A 6J **3 body** (maximum z: 0,5 bod za každé správne priradenie alebo čiastkové body za správne podsekvencie na nesprávnom mieste)
- b) B, C **2 body**

6. úloha: Testovanie väzobných vlastností proteínu Gbp2

- a) B **2 body**

Spolu za praktickú úlohu: 45 bodov

Praktická úloha č. 2

Téma: VÝVOJ LIEKU NA MALÁRIU

Úloha 1 (2 body)

- a) Napíšte identifikačný kód (Accession) tohto proteínu. **(Q08210 ; 1 bod)**
- b) Aká je dĺžka tohto proteínu (počet aminokyselín)? **(569 ; 1 bod)**

Úloha 2 (5 bodov)

- 2.1 Koľko dvojitých väzieb uhlík-uhlík obsahuje oxidovaný produkt katalytickej reakcie tohto enzýmu? **(jednu; 1 bod)**
- 2.2 Aká molekula je kofaktorom tohto enzýmu? **(FMN(3-)/FMN ; 1 bod)**
- 2.3 V ktorej časti bunky je lokalizovaný tento enzým? **(1 bod)**

b) membrána mitochondrie

- 2.4 Bola zistená štruktúra tohto proteínu? Ak áno, akou metódou? **(áno, X-ray/röntgen/predikované/AlphaFold ; 1 + 1 bod)**

Úloha 3 (3 body)

Zamyslite sa, ako môže inhibícia tohto enzýmu prispieť k liečbe malárie a vyberte

- a) **DHODH zabezpečuje tvorbu pyrimidínových báz, jeho inhibícia by negatívne ovplyvnila replikáciu a transkripciu genómu parazita.**

Úloha 4 (8 bodov)

- I. Aký je rozdiel v dĺžke (počte aminokyselín) ľudského proteínu a proteínu z *P. falciparum*? **(174 aa ; 1 bod)**
- II. Odpovedzte na nasledujúce otázky:
 - a) Ktorý koniec proteínu parazita (N alebo C) by mohlo potenciálne liečivo selektívne rozpoznať? **(N koniec ; 1 bod)**
 - b) Na ktorom úseku (okrem koncového) je v sekvencií ľudského enzýmu pravdepodobne rozsiahla delécia (pozor, udávajte pozíciu vzhľadom na celý alignment (zarovnanie), NIE na niektorú zo sekvencií, napr. na *P. falciparum*)? **(377 - 420 ; 2 body)**
 - c) Aký je najdlhší konzervovaný úsek (jeho sekvencia) medzi týmito dvomi sekvenciami? **(NVSSPNT ; 2 body)**
 - d) Prečo algoritmus označuje aminokyseliny V - valín, L - leucín a I - izoleucín ako podobné? Prečo tak označuje aminokyseliny D - aspartát a E - glutamát? **(obe skupiny aminokyselín majú navzájom podobnú štruktúru, V, L, I sú nepolárne, D, E sú kyslé ; 1 + 1 bod)**

Úloha 5 (10 bodov)

- I. Napíšte názvy troch vybratých druhov a ku každému Accession kód sekvencie, ktorú ste zvolili.
(*P. vivax* A0A0J9S9Q0, *P. malariae* A0A1D3SN71, *P. ovale* A0A1C3KUL5 ; (0,5 + 0,5)*3 body)
- **Pridelený plný počet bodov, ak boli uvedené aj poddruhy**
- II. Importujte vybraté FASTA sekvencie do BioEditu rovnako ako v predchádzajúcich úlohách, vyberte opäť pozitívom *Ctrl* + klik sekvencie vybratých druhov a druhu *P. falciparum*, ktorú ste už používali, neoznačujte však ľudskú sekvenciu. Urobte zarovnanie (alignment) rovnako ako v predchádzajúcej úlohe a vypracujte nasledujúce podúlohy:
- a) Napíšte pozíciu troch najdlhších konzervovaných oblastí naprieč všetkými sekvenciami (pozor, udávajte pozíciu vzhľadom na celý alignment (zarovnanie), NIE na niektorú zo sekvencií, napr. na *P. falciparum*) .
(561-583 , 380 - 399 , 265 - 278 ; 2*3 body)
- b) Sekvencia ktorého druhu je najmenej deletovaná v porovnaní s ostatnými?
(*P. malariae* ; 1 bod)

Úloha 6 (4 správne = 4 body, 3 správne = 2 body, 2 správne = 1 bod, 1 alebo 0 = 0 bodov)

Pridajte k sekvenciám aj sekvenciu ľudského enzýmu, urobte zarovnanie (alignment) všetkých sekvencií. Rozhodnite o pravdivosti nasledujúcich tvrdení:

- a) Dva z troch úsekov sekvencie, ktoré boli konzervované (z predchádzajúcej úlohy) naprieč rôznymi druhmi *Plasmodium*, sa zhodujú s daným úsekom ľudskej sekvencie.
- b) **Najväčšiu podobnosť (pozor, podobnosť, NIE zhodu) spomedzi v predchádzajúcej úlohe vybratých úsekov s daným úsekom ľudskej sekvencie vykazuje najkratší z úsekov. P**
- c) **Čím je sledovaný úsek sekvencie, na ktorú nie je vyvíjaný selekčný tlak, dlhší, tým vyššia je teoretická pravdepodobnosť, že sa bude medzi rôznymi druhmi líšiť.**
- d) Najvýhodnejšie je pri výbere lieku cieľiť na najkratší z vybratých konzervovaných úsekov proteínu.

Úloha 7 (4 body)

7.1 Tento nástroj vytvára modely na základe podobnosti so štruktúrami v databáze. Akou metódou bola získaná štruktúra, na základe ktorej bol vytvorený model, ktorý pokrýva našu sekvenciu najlepšie? **(1 bod)**

- a) X-ray kryštalografia
b) počítačové modelovanie
c) kryoelektrónová mikroskopia
d) cirkulárny dichroizmus

7.2 Model vám ponúka množstvo možností, veľmi dôležité je vedieť, ako veľmi si je nástroj istý svojím modelom. Aká aminokyselina a s akou pravdepodobnosťou (spoľahlivosťou) je podľa modelu 1 na pozícii 151? **(leucín, 89 % ; 0,5 + 0,5 bodu)**

7.3 Na ktorej pozícii je podľa modelu 2 cysteín (C, Cys), ktorý interaguje s produktom (substrátom) enzymatickej reakcie DHODH? (1 bod)

- a) 175
- b) 276**
- c) 321
- d) 512

7.4 Z akého organizmu pochádza templát pre model, ktorý pokrýva najmenšiu časť našej sekvencie? (*Neisseria meningitidis* ; 1 bod)

Úloha 8 (3 body)

- a) Beta-barrel
- b) Alfa-helix
- c) Beta-otočku a alfa-helix**

Úloha 9 (6 bodov)

Aká je molekulová hmotnosť tretieho, pre vás zatiaľ neznámeho ligandu?

(316,23 g/mol ; 1 bod)

9.1 Čo a prečo by pravdepodobne spôsobila zámena fenyľalanínu za alanín na pozícii 188 v sekvencii enzýmu? (2 body)

- a) došlo by k porušeniu π -interakcie ligandu s proteínom, pretože alanín nemá aromatický bočný reťazec**
- b) k zmene interakcie by pravdepodobne nedošlo, pretože alanín a fenyľalanín sú si štruktúrne veľmi podobné
- c) pravdepodobne by táto zámena zapríčinila posilnenie interakcie ligandu s proteínom, pretože bočný reťazec alanínu je schopný tvoriť s aromatickým jadrom ligandu kovalentnú väzbu

9.2 Aký atóm ligandu interaguje vodíkovými väzbami s arginínom?(1 bod)

- a) kyslík
- b) vodík
- c) dusík**
- d) síra

9.3 Mala by väčší efekt na interakciu ligandu s proteínom zámena valínu za leucín na pozícii 172 alebo cysteínu za glutamát na pozícii 175? Prečo?

(C->E, iná povaha aminokyseliny, E nedokáže formovať väzbu ; 1 + 1 bod)

- **Pridelenie čiastkových bodov - ak boli alignmenty zostavené tak, že bola správna jedna z hraníc, pridelená polovica bodov**

Spolu za praktickú úlohu: 45 bodov

Test CK A – autorské riešenie

otázka		A	B	C	D	E	body	
1	I.		X				2	
	II.	3,2 - 3,6						2
2				X			2	
3		X	X		X		3	
4	I.	B, A, E, C, D						2
	II.	A, C, E, B, D						2
5		X		X	X	X	2	
6		IV	III	I	II		2	
7		X		X			2	
8				X	X		2	
9		X		X	X		3	
10			X				2	
11		X			X		2	
12			X	X			2	
13		X	X				2	
14			X		X	X	3	
15			X	X	X		3	
16.	I.	X					2	
	II.	3	13	11	12	9	2,5	
17			X		X		2	
18						X	2	

otázka		A	B	C	D	E	body	
19		X			X		2	
20						X	2	
21		X			X		2	
22				X			2	
23			X	X			2	
24				X			2	
25		3	1	2			3	
26					X		1,5	
27		0; NV						2
28		X		X			2	
29			X				2	
30		4	1	2	5	3	2,5	
31				X	X		2	
32			X	X	X		1,5	
33		X			X		2	
34		X					1	
35				X	X	X	1,5	
36		X	X		X		3	
37			X	X	X		1,5	
38				X	X		2	
39			X				2	
40						X	2	
Spolu							90	

Zdroje

Praktická úloha č. 1:

Obrázky připravené v programe Biorender www.biorender.com

Praktická úloha č. 2:

Použité obrázky z webstránok uvedených v zadaní a programu BioEdit.

Test: použitá literatúra (vrátane zdrojov obrázkov)

Reece, J. B., Urry, L. A., & Cain, M. L. (2017). Campbell biology. Pearson.

Nieto FR, Cobos EJ, Tejada MÁ, Sánchez-Fernández C, González-Cano R, Cendán CM. Tetrodotoxin (TTX) as a therapeutic agent for pain. *Mar Drugs*. 2012 Feb;10(2):281-305. doi: 10.3390/md10020281.

https://en.wikipedia.org/wiki/File:Tetrodotoxin_AP.png

<https://www.med.muni.cz/patfyz/tmbg/Proteomika%20II.pdf>

Finardi A, Massari LF, Visintin R. Anaphase Bridges: Not All Natural Fibers Are Healthy. *Genes (Basel)*. 2020 Aug 7;11(8):902. doi: 10.3390/genes11080902.

Gómez-Ocampo G, Cascales J, Medina-Fraga AL, Ploschuk EL, Mantese AI, Crocco CD, Matsusaka D, Sánchez DH, Botto JF. Transcriptomic and physiological shade avoidance responses in potato (*Solanum tuberosum*) plants. *Physiol Plant*. 2023 Jul-Aug;175(4):e13991. doi: 10.1111/ppl.13991.

Kameoka H, Kyojuka J. Spatial regulation of strigolactone function. *J Exp Bot*. 2018 Apr 23;69(9):2255-2264. doi: 10.1093/jxb/erx434.

Brownlee C. Plant physiology: Anatomy of a plant action potential. *Curr Biol*. 2022 Oct 10;32(19):R1000-R1002. doi: 10.1016/j.cub.2022.08.024.

https://live.staticflickr.com/4393/36198194954_2e950cf76c_b.jpg

Taylor CR, Schmidt-Nielsen K, Raab JL. Scaling of energetic cost of running to body size in mammals. *Am J Physiol*. 1970 Oct;219(4):1104-7. doi: 10.1152/ajplegacy.1970.219.4.1104.

Silva, M., Brown, J. H., & Downing, J. A. (1997). Differences in Population Density and Energy Use between Birds and Mammals: A Macroecological Perspective. *Journal of Animal Ecology*, 66(3), 327–340. <https://doi.org/10.2307/5979>

Vila-Farré, M., Rozanski, A., Ivanković, M., Cleland, J., Brand, J. N., Thalen, F., ... & Rink, J. C. (2023). Evolutionary dynamics of whole-body regeneration across planarian flatworms. *Nature Ecology & Evolution*, 1-17.

Praktická úloha č. 1

Autorka: Mgr. Katarína Juríková, PhD.

Recenzia: Tomáš Kompiš

Praktická úloha č. 2

Autor: Matúš Grieš

Recenzia: Mgr. Katarína Juríková, PhD.

Test

Autori: Anna Dukesová, Mgr. Zuzana Dzirbíková, PhD., Mgr. Jaroslav Ferenc, PhD., Matúš Grieš, MUDr. Ján Hunák, Mgr. Katarína Juríková, PhD., Mgr. Veronika Kučminová, Tomáš Kompiš, Mgr. Oliver Pitoňak, Matúš Pukanec

Recenzia: Mgr. Jaroslav Ferenc, PhD.

Test zostavila: Mgr. Katarína Juríková, PhD.

Redakčná úprava: Mgr. Katarína Juríková, PhD., Mgr. Jaroslav Ferenc, PhD.

Slovenská komisia Biologickej olympiády

Vydal: NIVAM Národný inštitút vzdelávania a mládeže, Bratislava 2024