

Číslo súťažiaceho:

Biologická olympiáda

Ročník: 60.

Školský rok: 2025/2026

Kolo: Krajské

Kategória: A

Teoreticko-praktická časť

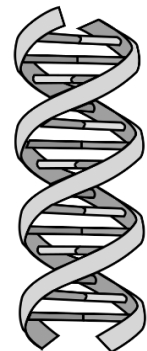
Praktická úloha č. 2 (60 minút, 40 bodov)

Téma: Bunková biológia – izolácia DNA z banánu

Pomôcky: permanentný popisovač (fixka), sklenená tyčinka/lyžička, špajdľa, 1x čistá kadička, 1x čistá skúmavka, Petriho miska, lievik, filtračný papier, stojan s držiakom na lievik, banán, plastové uzatvárateľné vrečko, kadička s označením "Alkohol", kadička s označením "H₂O", kadička s označením "NaCl", kadička s označením "Saponát"

Pred začiatkom úlohy si skontrolujte, či máte na stole prítomné všetky pomôcky. Ak by ste v priebehu úlohy potrebovali niektorú z pomôcok doplniť, prihláste sa a vypýtajte si ich od súťažnej komisie. Nebudú vám strhávané žiadne body. Odpovede vyplňajte priamo do zadania.

Všetky živé organizmy, vrátane ľudí, ale napríklad aj banánov, si prenášajú informácie z jednej generácie na druhú pomocou rovnakého základného materiálu – DNA. DNA obsahuje všetky inštrukcie potrebné na fungovanie, vývin a reprodukciu organizmu. Obsahuje informáciu pre syntézu všetkých proteínov a funkčných RNA molekúl (ako sú tRNA a rRNA); regulačnú informáciu (promótor, enhancer), ktorá určuje, kedy, kde a s akou intenzitou sa majú jednotlivé gény zapínať alebo vypínať; štruktúrnu informáciu (centroméry, teloméry) pre správnu organizáciu, replikáciu a distribúciu chromozómov počas bunkového delenia; ale aj iné nekódujúce sekvencie, ktorých funkcia stále nie je dostatočne vysvetlená.



V tejto praktickej úlohe si vyskúšate DNA izolovať. Množstvo DNA v jednej bunke je príliš malé na to, aby sme ju mohli pozorovať voľným okom. Keďže sa však nachádza v každejlivej bunke, v celom organizme je jej dohromady veľké množstvo. Naším modelovým organizmom bude banán, ktorý je vďaka svojej genetickej výbave ideálnym zdrojom pre získanie dobre pozorovateľného výťažku DNA.

Príprava lyzačného roztoku:

Na extrakciu DNA z buniek banánu si najskôr musíme pripraviť lyzačný roztok:

1. Do čistej kadičky prelejte približne 50 ml vody z kadičky označenej H₂O.
2. Pridajte celý objem saponátu z kadičky označenej Saponát.
3. Pridajte celé množstvo kuchynskej soli z kadičky NaCl.
4. Zmes jemne premiešajte pomocou sklenenej tyčinky/lyžičky, aby sa soľ rozpustila. Vyhnite sa ale silnému peneniu, ktoré je spôsobené pridaným saponátom.

Číslo súťažiaceho:

Mechanická dezintegrácia a lýza:

Po príprave lyzačného roztoku môžeme pokračovať so získaním DNA z banánu:

1. Celý kúsok banánu, ktorý máte nachystaný na stole, vložte do uzatvárateľného plastového vrecúška.
2. Vrecúško uzavrite tak, aby v ňom ostalo čo najmenej vzduchu.
3. Banán dôkladne rozmliaždite na hladkú kašu (približne 2 minúty).
4. Do vrečka s rozmliaždeným banánom pridajte celý objem lyzačného roztoku.
5. Vrečko opatrne uzavrite (opäť vytlačte čo najviac vzduchu) a jemne premiešajte obsah približne 5 minút.

Filtrácia:

1. Zostrojte filtračnú aparatúru tak, aby tekutina z lieviku odtekala do kadičky, v ktorej ste vytvárali lyzačný roztok (nemusí byť čistá).
2. Do lievika vložte správne poskladaný filtračný papier. Aby ste zabezpečili jeho príľnavosť k stene, nechajte ním pretiecť menšie množstvo vody.
3. Zbernú kadičku vylejte a očistite vodou vo výlevke. Následne ju znovu umiestnite pod filtračný lievik.
4. Roztok z vrečka prefiltrujte cez filtračný systém. Filtrácia môže prebiehať pomaly, preto vyčkajte aspoň 5 – 10 minút. Pre ďalšie účely nepotrebujete získať čo najviac filtrátu a vystačí vám len pár mililitrov.
5. Prelejte filtrát do čistej skúmavky (maximálne do polovice) a označte ju svojím číslom súťažiaceho.

Precipitácia DNA:

1. K filtrátu opatrne pridajte roztok z kadičky označenej *Alkohol*. Nechajte ho stekať po stene skúmavky, aby sa vytvorili dve oddelené fázy (alkohol navrchu, filtrát dole). Nalejte dostatočné množstvo, aby sa vytvoril stĺpec vysoký aspoň 2 centimetre.
2. Zmes nechajte stáť 10 minút bez miešania. Na rozhraní medzi filtrátom a alkoholom sa postupne začnú objavovať vlákna – DNA banánu.
3. Vezmite špajdľu a pokúste sa vytiahnuť aspoň kúsok vzniknutej DNA. Umiestnite ju do Petriho misky a označte ju viditeľne vašim číslom súťažiaceho. Stále pracujte tak, aby sa jednotlivé fázy nezmiešali.

Úloha 1: Po skončení súťaže budú vyhodnotené vaše filtráty a získaná DNA. Nechajte preto vaše výtázky odložené na stole, kde ich nájde komisia.

Úloha 2: V nasledujúcich podúlohách zakrúžkujte, aké vlastnosti mala DNA, ktorú sa vám podarilo vyizolovať:

I. Vznikajúca DNA mala farbu:

- A. bielu až priehľadnú

Číslo súťažiaceho:

- B. žltú až zelenú
- C. hnedú
- A. čiernu

II. Vlákna, ktoré vznikali:

- A. vyplávali okamžite k hladine
- B. udržiavali sa na rozhraní fáz
- C. klesli okamžite ku dnu
- D. rozpráchli sa všetkými smermi

III. Štruktúra produktu po 10 minútach bola:

- A. hrudkovitá
- B. slizká, gélovitá
- C. kryštalická
- D. penovitá

Pokračujte v riešení nadväzujúcich teoretických úloh:

Úloha 3: Kde všade v bunkách (rastlinných aj živočíšnych) sa bežne nachádza DNA?

- A. Voľne v cytoplazme
- B. V jadre
- C. V mitochondriách
- D. V chloroplastoch

Úloha 4: Okrem DNA sa v bunke môže nachádzať aj RNA. Doplňte do tabuľky nižšie všeobecné charakteristiky DNA a RNA.

Nukleová kyselina	DNA	RNA
Typ sacharidu		
Dusíkaté bázy	A, G, C, __	A, G, C, __
Zvyčajný počet vlákien		
Stabilita bežnej formy (vyššia/nížšia)		
Typ väzby medzi nukleotidmi v rámci jedného vlákna		

Úloha 5: Ktoré z nasledujúcich charakteristík DNA sú typické pre eukaryotické organizmy, ale nie pre prokaryotické?

- A. Prítomnosť intrónov v kódujúcich sekvenciách génov.
- B. Genóm je primárne organizovaný ako jediná, kruhová (cirkulárna) molekula DNA.
- C. Replikácia DNA prebieha na viacerých miestach (ori) súčasne.
- D. Transkripcia a translácia prebiehajú časovo aj priestorovo oddelene.

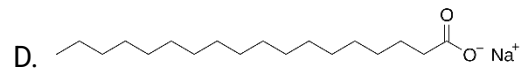
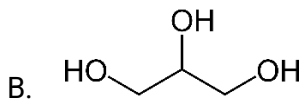
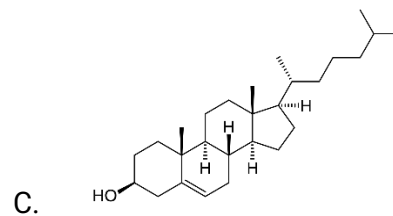
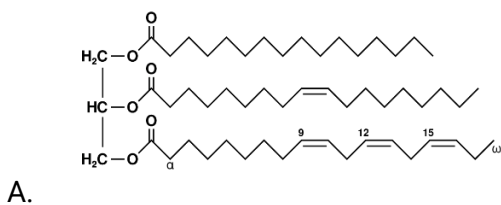
Číslo súťažiaceho:

Banán bol pre náš experiment výborným modelovým organizmom. Má veľmi mäkké pletivo s relatívne nízkym obsahom lignínu. Vďaka tomu bolo mechanické rozdrvenie banánu na kašu jednoduché a rýchle, čo nám umožnilo narušenie bunkových stien a uvoľnenie obsahu buniek v krátkom čase. Navyše, bunky moderných banánov sú triploidné, a teda majú viac DNA v každej bunke oproti divokým typom.

Úloha 6: Označte, ktoré z daných tvrdení sú pravdivé o komerčných triploidných banánoch.

- A. K triploidii došlo splynutím haploidnej gaméty s diploidnou, ktorá vznikla buď náhodne, alebo zámerné.
- B. Mitóza u triploidných buniek prebieha bezproblémovo.
- C. Meióza u triploidných buniek prebieha bezproblémovo.
- D. Triploidné banány produkujú životaschopné semená a môžu sa rozmnožovať vegetatívne aj generatívne.

Úloha 7: Saponát v lyzačnej zmesi slúžil ako detergent, ktorým sme rozrušili membrány a uvoľnili DNA do roztoku. Ktorá z molekúl na obrázkoch nižšie by bola schopná rozrušiť bunkové membrány?



Úloha 8: Kuchynská soľ, ktorú sme takisto pridávali do lyzačného roztoku, dodávala kladne nabité Na^+ ióny. Tie neutralizujú záporný náboj DNA, čím umožňujú jej zhlukovanie. Ktorá časť DNA nesie záporný náboj, ktorý sme neutralizovali?

Úloha 9: V rámci štúdie novo vyšľachtenej odrody banánu výskumná skupina vyizolovala z buniek čistú DNA. Zaujímalo ich, či si tieto banány zachovali gén *RGX2*. V prvom kroku cieľový úsek DNA, obsahujúci tento gén, amplifikovali (namnožili). Následne ho separovali (oddělili) na základe molekulovej veľkosti a izolovali pomocou gélovej elektroforézy.

I. Ktorá molekulárna metóda je vhodná na amplifikáciu cieľového úseku DNA?

- A. Ligácia
- B. CRISPR
- C. Western blot
- D. PCR

Číslo súťažiaceho:

Takto amplifikovaný a vyizolovaný úsek DNA sekvenovali, aby overili, či obsahuje gén záujmu. Zistili, že sa v géne nachádza jednobodová substitučná mutácia. Táto mutácia vedie k tomu, že namiesto proteínu veľkého 154 aminokyselín vzniká proteín veľký 184 aminokyselín.

II. Na ktorom nukleotide od 5' konca kódujúcej sekvencie došlo pravdepodobne k mutácii?

- A. 1
- B. 154
- C. 461
- D. 464

III. Na kódujúcom vlákne došlo na tejto pozícii k zámene adenínu za guanín. Akú dusíkatú bázu obsahuje mRNA transkript tohto mutovaného génu na zodpovedajúcej pozícii?

- A. A
- B. G
- C. C
- D. T

KONIEC PRAKTICKEJ ÚLOHY

Po skončení krajského kola Vás radi privítame v spoločnej diskusii o úlohách na platforme Discord, na serveri "Biologická olympiáda". Link nájdete v autorských riešeniach.