# KURS

# „ BIOLOGIA POD KLUCZ"

## BIOTECHNOLOGIA I INŻYNIERIA GENETYCZNA

*Prezentacja jest chroniona prawnie przed kopiowaniem bez pisemnej zgody autora i stanowi „utwór" i w myśl Ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (Dz. U. z 1994 r., Nr 24, poz. 83 z późn. zm.).*

# ZADANIE 1.

**Zadanie 1.**

Przykładem organizmów modyfikowanych genetycznie (GMO) są transgeniczne bakterie Escherichia coli, wytwarzające ludzką insulinę. Do genomu tych bakterii wprowadzony został fragment DNA, tzw. cDNA (ang. *complementary* DNA), syntezowany na matrycy mRNA wyizolowanego z komórek trzustki, będącego matrycą do wytwarzania insuliny.

**Zadanie 1.1. (0-1)**

**Wyjaśnij, dlaczego do genomu modyfikowanych bakterii nie wprowadza się odcinka DNA z genem ludzkiej insuliny, tylko cDNA wytworzone na podstawie mRNA transkrybowanego z tego genu.**

**1 p. – za poprawne wyjaśnienie, odnoszące się do braku intronów w cDNA i niemożności ich usuwania w komórkach bakterii lub braku mechanizmów ich wycinania.**

- cDNA wytworzone na bazie mRNA nie zawiera intronów, których bakterie nie potrafią usuwać.
- Bakterie nie mają możliwości obróbki potranskrypcyjnej, dlatego w wyniku wprowadzenia DNA z genem ludzkiej insuliny do ich genomu powstałoby białko, które różniłoby się od insuliny.

# ZADANIE 1.




**Zadanie 1.2. (0-1)**

**Uzasadnij prawdziwość stwierdzenia: „Każdy organizm transgeniczny jest GMO, ale nie każdy GMO to organizm transgeniczny".**

**1 p. – za poprawne uzasadnienie, z którego wynika, że nie wszystkie modyfikacje genetyczne polegają na wprowadzeniu obcego genu.**

- Określenie GMO obejmuje nie tylko organizmy transgeniczne, czyli posiadające materiał genetyczny innego organizmu, ale obejmuje również organizmy ze zmodyfikowanym własnym genomem.
- Nie wszystkie organizmy GMO są transgeniczne, ponieważ nie u wszystkich modyfikacja genetyczna polega na wprowadzeniu obcego genu – niektóre GMO powstają w wyniku modyfikacji ich własnych genów.

# ZADANIE 2.

**Zadanie 2. (0-1)**

Pod koniec XX wieku zaczęto stosować badania DNA dla potrzeb sądownictwa. Gdy w próbce jest zbyt mało DNA jądrowego, lub gdy jest on mocno zniszczony, bierze się pod uwagę DNA mitochondrialny — mtDNA, który występuje w komórkach w większej liczbie kopii niż jądrowy. Zygota człowieka otrzymuje ok. 100 tys. cząsteczek mtDNA, które znajdowały się w mitochondriach oocytu. Mitochondria obecne w plemniku, zawierające po ok. 100 kopii mtDNA, po zapłodnieniu degenerują wraz z ich zawartością, w wyniku niepoznanego dotąd dobrze mechanizmu.

**Na podstawie przedstawionych informacji wyjaśnij, dlaczego mtDNA, w przeciwieństwie do DNA jądrowego, nie może być wykorzystywany do ustalania ojcostwa.**

**1 p. – za poprawne wyjaśnienie, odnoszące się do dziedziczenia mtDNA w linii matecznej lub dziedziczenia po ojcu tylko DNA jądrowego.**

- mtDNA dziedziczy się tylko w linii matecznej, a mtDNA z plemników degeneruje po zapłodnieniu.
- W zygocie po zapłodnieniu pozostaje tylko mtDNA z oocytu, a mtDNA z plemników degeneruje po zapłodnieniu i dlatego nie może być wykorzystane do ustalenia ojcostwa.
- mtDNA w plemnikach degeneruje wraz z zawartością mitochondriów i nie jest przekazywane potomstwu, dlatego nie może być wykorzystane do ustalenia ojcostwa.
- Ponieważ plemnik przekazuje wyłącznie geny jądrowe.

# ZADANIE 3.

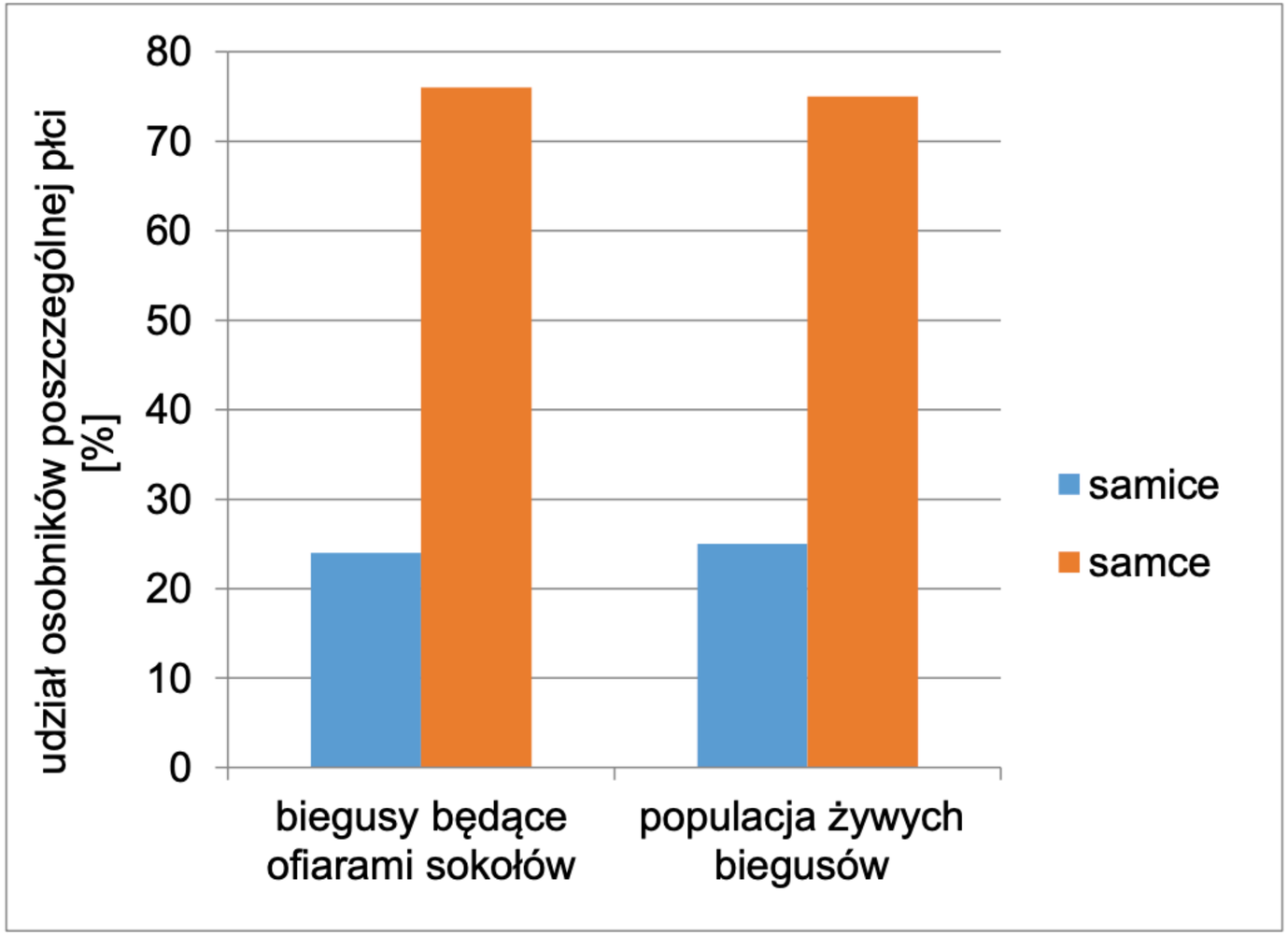
**Zadanie 3.**

Populacje biegusów alaskańskich w północnej części zasięgu geograficznego gatunku mają nietypowy stosunek liczebności samców i samic wynoszący 3:1, zamiast typowego – 1:1. Postawiono następującą hipotezę: „Mały udział samic w populacjach biegusów jest spowodowany tym, że częściej padają one ofiarą sokołów wędrownych”.

W celu weryfikacji tej hipotezy zebrano pióra po biegusach upolowanych przez sokoły, a następnie wyizolowano z nich DNA i przeprowadzono PCR w celu amplifikacji fragmentów genów *CHD*, zlokalizowanych na chromosomach płci Z i W (odpowiednio: *CHD-Z* i *CHD-W*). Samice biegusów są heterogametyczne (ZW), a samce – homogametyczne (ZZ).

Rejony niekodujące w genach *CHD-Z* i *CHD-W* mają różną długość, co powoduje, że produkty amplifikacji rejonów niekodujących genów *CHD-Z* i *CHD-W* także różnią się długością. Elektroforetyczne rozdzielenie produktów PCR pozwoliło określić płeć ptaków, z których pochodziły zebrane pióra.

# ZADANIE 3.

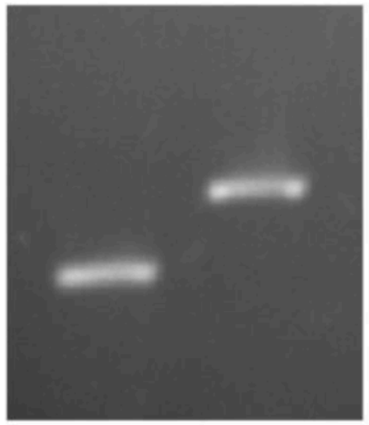

udział osobników poszczególnej płci [%]
80
70
60
50
40
30
20
10
0
biegusy będące ofiarami sokołów
populacja żywych biegusów
samice
samce

# ZADANIE 3.

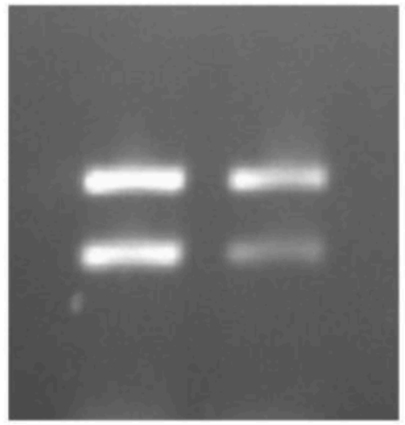
**Zadanie 3.1. (0-1)**

**Który obraz żelu agarozowego odpowiada prawidłowemu wynikowi elektroforetycznego rozdzielenia powielonych fragmentów genów *CHD-Z* i *CHD-W* u samca (♂) i samicy (♀)? Zaznacz właściwą odpowiedź spośród podanych.**

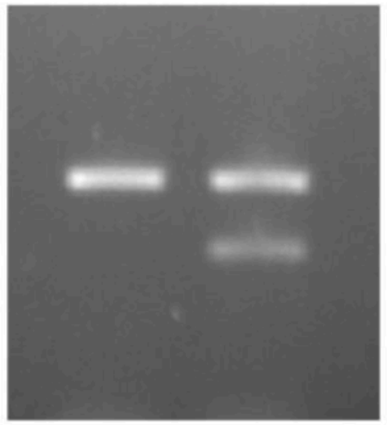
**A.**



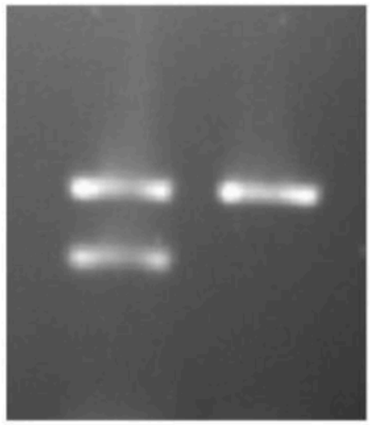

**B.**




**C.**




**D.**



# ZADANIE 3.




**Zadanie 3.2. (0-2)**

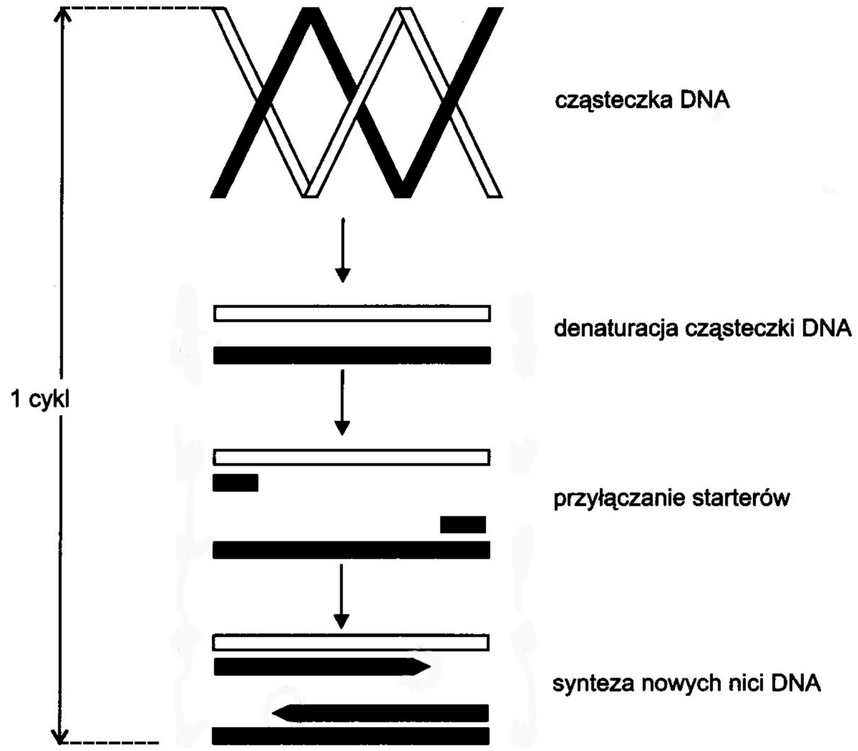
**Oceń, czy poniższe stwierdzenia dotyczące techniki PCR są prawdziwe. Zaznacz P, jeśli stwierdzenie jest prawdziwe, albo F – jeśli jest fałszywe.**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **1.** | Do powielenia fragmentów genów techniką PCR należy użyć m.in. termostabilnej polimerazy DNA oraz czterech różnych deoksyrybonukleotydów. | **P** | **F** |
| **2.** | Technika PCR umożliwia powielenie wybranych fragmentów genomowego DNA dzięki użyciu specyficznych starterów. | **P** | **F** |
| **3.** | Rozdzielenie podwójnej helisy DNA podczas stosowania techniki PCR zachodzi dzięki ligazom DNA. | **P** | **F** |

# ZADANIE 4.

**Zadanie 4.**

Na schemacie przedstawiono etapy jednego cyklu łańcuchowej reakcji polimerazy – PCR, który zachodzi w termocyklerach w zmiennej temperaturze – od 40°C do 95°C. W tej metodzie wykorzystuje się polimerazę Taq wyizolowaną z bakterii *Thermus aquaticus*, która żyje w gorących źródłach.



# ZADANIE 4.

## Zadanie 4.1. (0-1)

**Podaj, ile cząsteczek DNA znajdzie się w mieszaninie reakcyjnej po 5. cyklach PCR, jeżeli matrycę stanowi 1 cząsteczka DNA.**

32

## Zadanie 4.2. (0-1)

**Zaznacz wśród A–D cząsteczkę DNA z poprawnie oznaczonymi końcami obu macierzystych nici.**



# ZADANIE 4.

**Zadanie 4.3. (0-1)**

**Wykaż, że polimeraza DNA zastosowana w metodzie PCR musi pochodzić z bakterii *Thermus aquaticus*, a nie może to być polimeraza DNA ludzka.**

**1 p. – za poprawne wykazanie, odnoszące się do działania wysokiej temperatury podczas PCR oraz braku denaturacji w przypadku polimerazy bakteryjnej i denaturacji w przypadku polimerazy ludzkiej**

- W metodzie PCR panują wysokie temperatury, więc ludzka polimeraza DNA ulegałby denaturacji i straciłaby swoją aktywność. Polimeraza wyizolowana z bakterii T. *aquaticus* nie ulega denaturacji w wysokiej temperaturze i może pełnić swoją funkcję.

# MODYFIKACJE METODY PCR

**Zadanie ponadprogramowe - tylko na podstawie pracy z tekstem źródłowym.**
**Określ i uzasadnij czy metoda PCR jest przydatna:**

1. **w diagnostyce zespołu Downa**

**1 p. – za określenie, że metoda PCR jest przydatna i poprawne uzasadnienie, odnoszące się do mutacji chromosomowej liczbowej wywołującej zespół Downa, która jest wykrywana metodą QF-PCR.**

- PCR znajduje zastosowania w diagnostyce zespołu Downa, ponieważ ta choroba jest uwarunkowana obecnością dodatkowego 21. chromosomu, a metoda **QF-PCR** opierająca się na wykorzystaniu, jako markerów, sekwencji krótkich powtórzeń tandemowych (STR), znakowanych fluorescencyjnie znalazła zastosowanie w diagnostyce prenatalnej do oceny ilości kopii chromosomu 21.

2. **w diagnostyce mukowiscydozy.**

**1 p. – za określenie, że metoda PCR jest przydatna w diagnostyce mukowiscydozy i poprawne uzasadnienie, odnoszące się do wykrycia mutacji genowej wywołującej mukowiscydozę.**

- PCR znajduje zastosowanie w diagnostyce mukowiscydozy, ponieważ ta choroba jest uwarunkowana mutacją genową, a w metodzie **PCR-ASA** można wykryć taką mutację poprzez skonstruowanie odpowiednich starterów, umożliwiających wykrywanie alleli prawidłowych jak i zmutowanych, tak aby produkty reakcji różniły się między sobą.

# ZADANIE 4.

**Zadanie 4.5. (0-1)**

**Zaznacz poprawne dokończenie zdania.**

Jednym z substratów w łańcuchowej reakcji polimerazy jest

A. replikaza.

B. cytydynotrifosforan (CTP).

C. adenozynodifosforan (ADP).

**D. deoksyguanidynotrifosforan (dGTP).**

# ZADANIE 5.

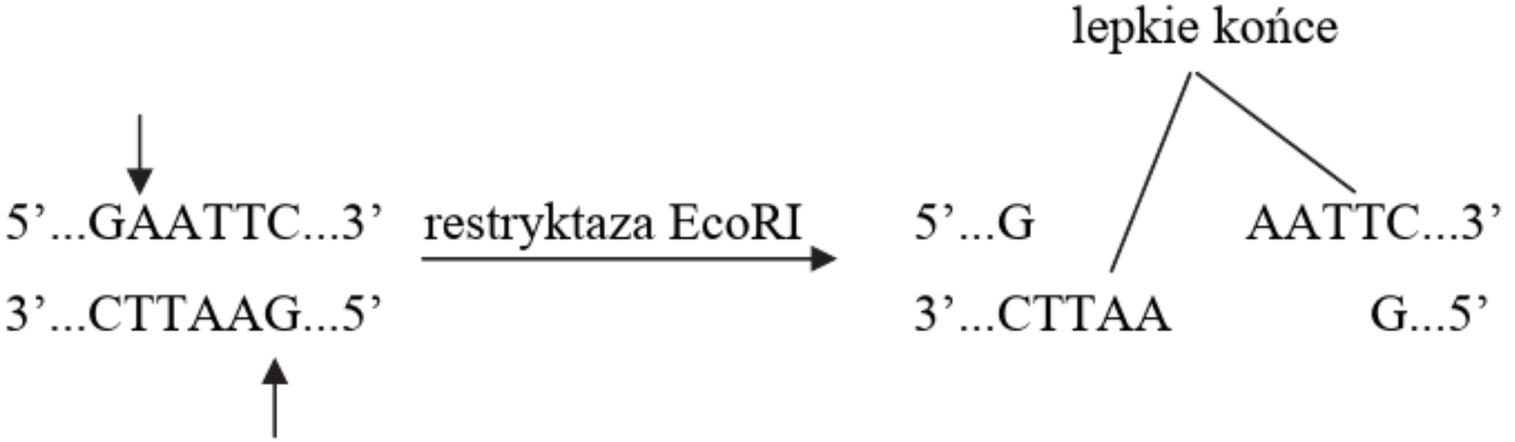


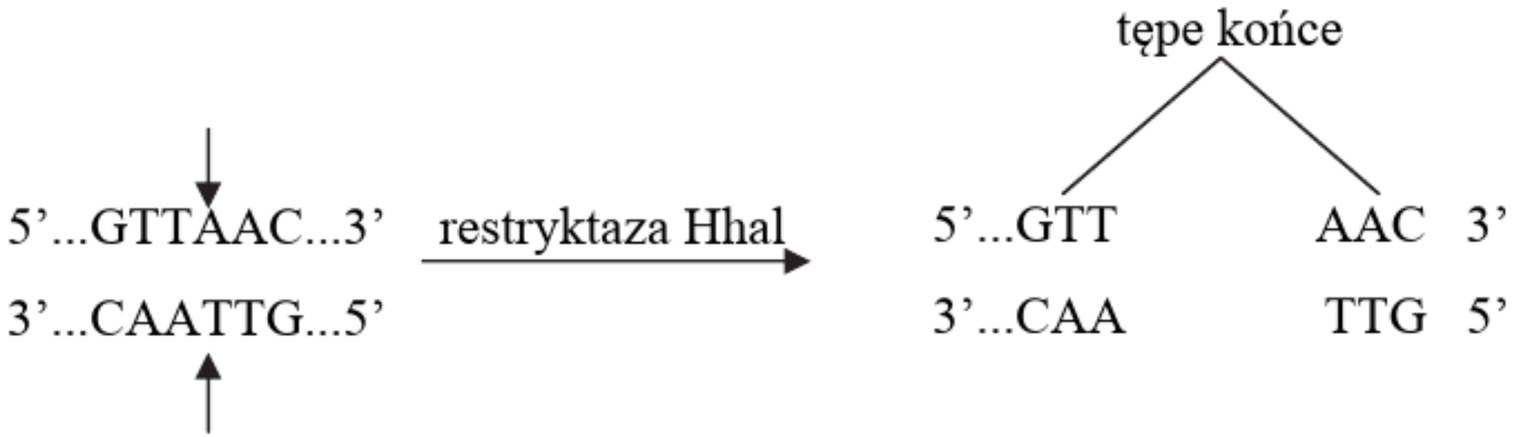

**Zadanie 5.**

Biotechnologia obejmuje działania z wykorzystaniem organizmów żywych lub ich składników, prowadzące do wytworzenia użytecznych produktów. Biotechnologia tradycyjna stosuje naturalne enzymy lub organizmy niezawierające obcego materiału genetycznego, a nowoczesna – organizmy zmodyfikowane genetycznie oraz wytwarzane przez nie białka, w tym – enzymatyczne. Rozszerzenie zakresu potencjalnych zastosowań biotechnologii nowoczesnej umożliwił rozwój inżynierii genetycznej, czyli kierunkowe manipulacje genami prowadzące do uzyskania określonych celów. W tworzeniu zrekombinowanego DNA wykorzystuje się głównie bakteryjne enzymy restrykcyjne, a także inne enzymy, np. ligazy, polimerazy.

Na poniższych schematach przedstawiono dwa przykłady sześcionukleotydowych sekwencji palindromowych w DNA, rozpoznawanych i przecinanych przez dwa enzymy restrykcyjne (strzałkami wskazano miejsce działania enzymu).

# ZADANIE 5.


lepkie końce
5’...GAATTC...3’
3’...CTTAAG...5’
restryktaza EcoRI
5’...G
AATTC...3’
3’...CTTAA
G...5’


tępe końce
5’...GTTAAC...3’
3’...CAATTG...5’
restryktaza HhaI
5’...GTT
AAC 3’
3’...CAA
TTG 5’

# ZADANIE 5.

**Zadanie 5.1. (0-1)**

**Na podstawie schematu podaj, czym charakteryzuje się sekwencja palindromowa nukleotydów w DNA.**

- Sekwencja palindromowa charakteryzuje się tym, że w krótkim fragmencie cząsteczki DNA sekwencja nukleotydów czytana np. w kierunku 5’→ 3’ jest identyczna w każdej z nici DNA.
- Sekwencja palindromowa oznacza taką sekwencję jednej nici DNA, dla której sekwencja komplementarna jest identyczna, jeżeli obie sekwencje czytane są z uwzględnieniem polarności nici (czytane są np. od końca 5' do 3').
- Sekwencja palindromowa charakteryzuje się tym, że sekwencja nukleotydów w jednej nici DNA jest taka sama, jak sekwencja w drugiej nici odczytywana wspak.

# ZADANIE 5.

**Zadanie 5.2. (0-2)**

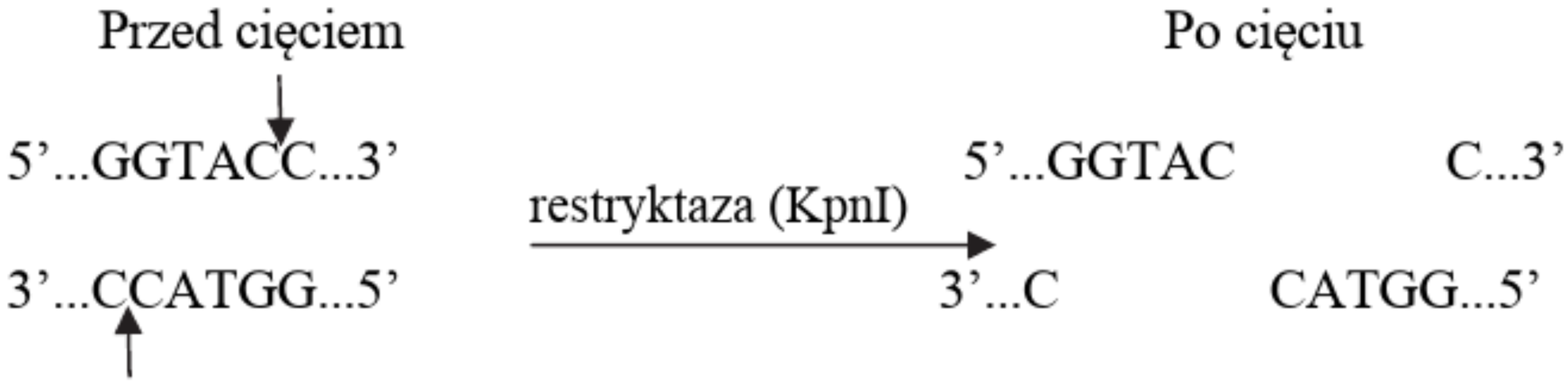
**Na podstawie analizy schematów oceń prawdziwość poniższych stwierdzeń, dotyczących działania enzymów restrykcyjnych. Zaznacz P, jeśli stwierdzenie jest prawdziwe, albo F – jeśli jest fałszywe.**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **1.** | Określony enzym restrykcyjny rozpoznaje specyficzną sekwencję nukleotydową i tnie ją również w specyficzny dla siebie sposób (symetryczny lub asymetryczny). | **P** | **F** |
| **2.** | Jeżeli restryktazy tną cząsteczki DNA symetrycznie, wtedy produkt ma wystające, jednoniciowe lepkie końce, jeśli tną DNA asymetrycznie – wtedy końce są tępe. | **P** | **F** |
| **3.** | Lepkie końce umożliwiają przyłączanie do nich (tak samo wytworzonych) komplementarnych fragmentów DNA pochodzących z innych źródeł. | **P** | **F** |

# ZADANIE 5.

**Zadanie 5.3. (0-1)**

**Korzystając z przedstawionych schematów, zapisz dwuniciową sekwencję nukleotydową DNA przed cięciem przez enzym i po cięciu, jeżeli restryktaza (KpnI) rozpoznaje sekwencję 5'...GGTACC...3' z miejscem cięcia pomiędzy cząsteczkami cytozyny.**



# ZADANIE 5.




**Zadanie 5.4. (0-1)**

**Uzupełnij tabelę – wpisz odpowiednie informacje dotyczące uzyskiwania wymienionych produktów spożywczych metodą biotechnologii tradycyjnej.**

| | | Stosowane mikroorganizmy | Zachodzące procesy |
|---|---|---|---|
| **1.** | jogurt, kiszone ogórki | **bakterie mlekowe** | **fermentacja mlekowa** |
| **2.** | chleb, piwo | **drożdże** | **fermentacja alkoholowa** |

# ZADANIE 6.

**Zadanie 6. (0-1)**

Celem modyfikacji prowadzonych na roślinach użytkowych jest uzyskanie dzięki nim jak największych korzyści, np. ekonomicznych. Niektóre nowo wytworzone odmiany roślin transgenicznych są już odporne na niekorzystne warunki środowiska, np. mróz czy wysokie temperatury, susza czy zasolenie gleby, które do tej pory stanowiły dla zwykłych roślin czynniki ograniczające. Wytworzono też rośliny potrafiące akumulować pierwiastki metali ciężkich z gleby, co daje możliwość ich usuwania ze środowiska.

**Wybierz jedną z podanych w tekście cech roślin transgenicznych i określ, jakie korzyści dla gospodarki człowieka może przynieść uprawa roślin mających tę cechę.**

**1 pkt – za podanie poprawnego argumentu uwzględniającego rodzaj modyfikacji rośliny i skutek uprawy dla gospodarki człowieka**

- Na terenach suchych i pustynnych będzie można uprawiać odporne na takie warunki środowiska co pozwoli na wyżywienie głodujących ludzi/pozwoli na wzrost gospodarczy tych krajów.
- Odporność roślin transgenicznych na niekorzystne warunki środowiska umożliwia ich uprawę terenach, na których nie można uprawiać odmian naturalnych, dzięki czemu takie rejony mogą się rozwijać rolniczo / gospodarczo.
- Na terenach skażonych metalami ciężkimi zastosowanie takich roślin, które akumulują te pierwiastki pozwoli na oczyszczenie / rekultywację / remediację / przywrócenie wcześniejszych wartości użytkowych gleb.
- Odporność na wysokie / niskie temperatury / suszę / zasolenie gleby umożliwia uprawy roślin na obszarach, gdzie nie było to do tej pory możliwe.

# ZADANIE 7.

**Zadanie 7. (0-1)**

**Uporządkuj etapy procesu prowadzącego do otrzymania transgenicznej kukurydzy wytwarzającej prowitaminę A. Wpisz w tabelę numery 2-6.**

| Etapy procesu | Numer etapu |
|---|---|
| Gen kodujący prowitaminę A wstawiono do plazmidu bakterii. | 3 |
| Plazmid przecięto enzymami restrykcyjnymi. | 2 |
| Z komórki bakterii *Agrobacterium tumefaciens* wyizolowano plazmid. | 1 |
| Wyhodowano kukurydzę, która syntetyzuje prowitaminę A. | 6 |
| Zmodyfikowany plazmid wprowadzono do komórki bakterii. | 4 |
| Zainfekowano tkanki kukurydzy transgenicznymi bakteriami. | 5 |

# ZADANIE 8.

**Zadanie 8.**

Rozwiązaniem alternatywnym dla chemicznych środków owadobójczych mogą być preparaty biologiczne wytworzone na bazie grzybów owadobójczych, np. należących do owadomorkowców (*Entomophtorales*). W biopreparatach grzybowych (mykoinsektycydach) znajdują się zarodniki grzybów, z których rozwijają się strzępki infekcyjne. Wewnątrz ciała owadów grzyb wytwarza ciała strzępkowe tworzące tzw. blastospory, swobodnie krążące w hemolimfie, z których rozwijają się strzępki zasiedlające tkanki żywiciela. Rozrost grzybni oraz toksyczne metabolity przez nią wytwarzane powodują śmierć owadów. Na tym etapie infekcji grzyb produkuje duże ilości zarodników, które drogą kontaktową mogą przedostać się na powierzchnię oskórka innych owadów.

Niektóre gatunki grzybów stosowane w biologicznym zwalczaniu szkodników modyfikuje się genetycznie: wprowadza się do ich genomu dodatkowe kopie ich własnego genu warunkującego wytwarzanie chitynazy, co skutkuje efektywniejszym uśmiercaniem owadów.

# ZADANIE 8.

**Zadanie 8.1. (0-1)**

**Wyjaśnij, dlaczego wprowadzenie dodatkowych kopii genu chitynazy skutkuje efektywniejszym uśmiercaniem owadów.**

**1 pkt – za prawidłowe wyjaśnienie, uwzględniające wytwarzanie przez grzyby większej ilości chitynazy trawiącej szkielet zewnętrzny owada, co ułatwia infekcję owada.**

- Te enzymy wytwarzane są w większej ilości, dzięki czemu grzyb może szybciej pokonać twardą barierę w postaci chitynowego pancerza, co umożliwia rozwój grzyba wewnątrz ciała owada i szybsze doprowadzenie do jego śmierci.
- Dzięki opisanej modyfikacji genetycznej komórki grzybów wytwarzają więcej chitynaz, które trawią składniki oskórka owadów, co usprawnia kiełkowanie strzępek infekcyjnych grzyba do wnętrza ciała owada.
- Większa ilość wytwarzanej chitynazy ułatwia strawienie szkieletu zewnętrznego owada, dzięki czemu grzyb łatwiej przedostaje się do ciała owada, ostatecznie powodując jego śmierć.

# ZADANIE 8.

**Zadanie 8.2. (0-2)**

**Podaj po jednym argumencie za tym, że stosowanie preparatów zawierających zarodniki genetycznie modyfikowanych grzybów owadobójczych do walki z owadami:**

**1. może być korzystne <u>dla środowiska</u>.**

- Takie preparaty są bardzo skuteczne, dzięki czemu możliwe staje się ograniczenie stosowania chemicznych form ochrony roślin, przyczyniających się do zanieczyszczenia środowiska.
- Dzięki temu środowisko nie będzie w tak dużym stopniu zanieczyszczone środkami chemicznymi używanymi do zwalczania owadów.

**2. może stwarzać zagrożenie <u>dla środowiska</u>.**

- Takie działanie może przyczynić się do śmierci owadów niebędących szkodnikami (w tym – owadów pożytecznych w uprawach rolnych).
- Istnieje ryzyko, że nastąpi wśród grzybów niekontrolowane rozprzestrzenianie się genu kodującego chitynazę wskutek krzyżowania się genetycznie modyfikowanych grzybów z naturalnie występującymi szczepami.

# ZADANIE 9.

**Zadanie 9. (0-1)**

**Zaznacz <u>wszystkie</u> te zestawy, w którym wszystkie produkty zostały uzyskane bez zastosowania technik współczesnej inżynierii genetycznej.**

1. **<u>Pszenica durum, tetraploidalna odmiana zboża, z której wytwarza się mąkę do produkcji makaronów oraz kaszy kuskus.</u>**

2. Enzym podpuszczka stosowany do produkcji sera typu mozzarella, produkowany przez grzyby z gatunku *Aspergillus niger* ze zrekombinowanego genu proteazy cielęcej.

3. **<u>Czysty szczep drożdży winiarskich z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* używany do produkcji tradycyjnego szampana.</u>**

4. **<u>Odmiana banana Cavendish, która stanowi prawie 50% światowej produkcji bananów, główna odmiana dostępna obecnie w polskich sklepach. Owoce tej odmiany nie mają nasion, w przeciwieństwie do odmiany dzikiej, i powstają na drodze partenokarpii.</u>**

5. Pasza z ziaren kukurydzy Bt, odpornej na niektóre owady dzięki temu, że wytwarza w zielonych tkankach bakteryjne białko toksyczne dla owadów.

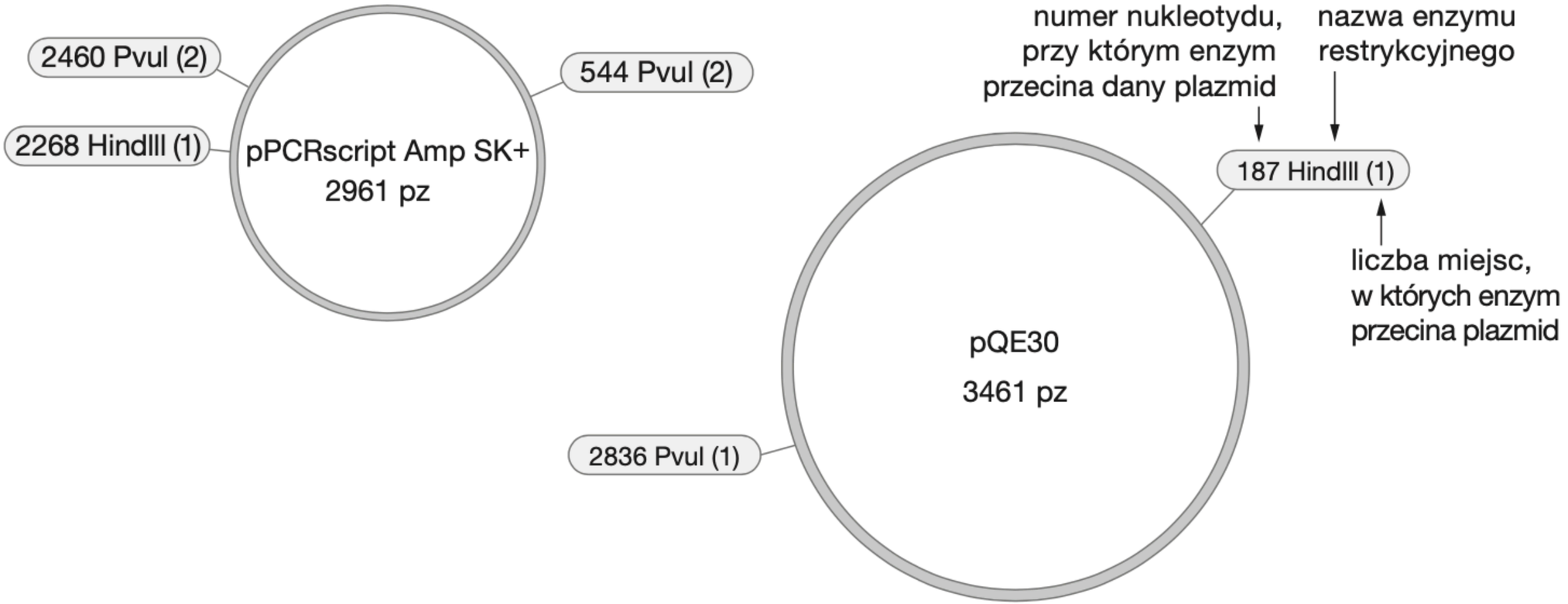
# ZADANIE 10.

**Zadanie 10.**

Enzymy restrykcyjne rozpoznają określone sekwencje nukleotydowe w DNA i przecinają obie jego nici w obrębie tych sekwencji. Wykorzystując tę właściwość enzymów restrykcyjnych, wykonuje się tzw. analizę restrykcyjną, dzięki której możliwe jest m.in. odróżnienie od siebie różnych wektorów stosowanych w biotechnologii. Analizę restrykcyjną wykonuje się w dwóch etapach, którymi są: przecinanie badanego DNA enzymami restrykcyjnymi oraz elektroforetyczne rozdzielanie uzyskanych fragmentów DNA.

Na poniższych schematach przedstawiono dwa wektory stosowane w biotechnologii: pPCRscript (o wielkości 2961 par zasad) oraz pQE30 (o wielkości 3461 par zasad). Nazwami enzymów restrykcyjnych oznaczono miejsca rozpoznawane i przecinane przez enzymy: HindIII oraz PvuI. Oba wektory mają gen warunkujący oporność na antybiotyk – ampicylinę. Szczep bakteryjny, do którego wprowadza się takie wektory, jest wrażliwy na ampicylinę.

# ZADANIE 10.


2460 PvuI (2)
544 PvuI (2)
2268 HindIII (1)
pPCRscript Amp SK+
2961 pz
numer nukleotydu, przy którym enzym przecina dany plazmid
nazwa enzymu restrykcyjnego
187 HindIII (1)
liczba miejsc, w których enzym przecina plazmid
pQE30
3461 pz
2836 PvuI (1)

# ZADANIE 10.




**Zadanie 10.1. (0-1)**

**Określ, w jakim celu w wektorach wykorzystywanych w biotechnologii znajduje się gen warunkujący oporność na antybiotyk.**

**1 p. – za poprawne określenie, uwzględniające selekcję bakterii zawierających wektor.**

- Bakterie zawierające taki wektor będą oporne na antybiotyk, co umożliwia selekcję tylko tych bakterii, które pobrały wektor.

# ZADANIE 10.

**Zadanie 10.2. (0-1)**

**Wybierz i zaznacz rysunek żelu agarozowego odpowiadający prawidłowemu wynikowi elektroforetycznego rozdzielenia fragmentów DNA powstałych w wyniku przecięcia enzymami restrykcyjnymi obu wektorów.**

