

Gyakorlati feladatok nemzetközi biológiaversenyekre



2015.

Szerző:

Bán Sándor

TÁMOP-3.1.3-10/2-2010-0003

Tartalomjegyzék:

I. Növénytan.....	5
II. Molekuláris genetika és sejtbiológia.....	19
III. Etológia és evolúció.....	24
IV. Rendszertan és kladisztika.....	27
V. Növénytan 2.....	34
VI. Állattan.....	37
VII. Enzimkinetika.....	50
VIII. Ökológia.....	58
IX. Növényyszervezettan és kladisztika.....	75
X. Funkcionális állatanatómia.....	86
XI. Szénhidrátok biokémiája.....	95
XII. Molekuláris biológia és mikrobiológia.....	99

I. NÖVÉNYTAN

Ez a feladat két-két részfeladatból áll:

1) Fotoszintézis vizsgálata

- A) A fotoszintézishez szükséges fény hullámhossztartományának meghatározása
- B) A CO_2 fotoszintézisre gyakorolt hatásának vizsgálata

2) Invazív növény ökológiai modellezése

- A) Allelopátia hatásának vizsgálata
- B) Az invazív növény felszíni irtásának hatás vizsgálata

1) A fotoszintézis vizsgálata

A) Színes üvegház tervezése (30 pont)

Az üvegházak sok helyen olyan nagy számban találhatók meg városokban is, hogy városképi jelentőségűvé vált kinézetük. A tervezők éppen ezért igyekeznek különböző formájú és színű üvegházakat tervezni, hogy a kiskert tulajdonosok a házuk és környékük forma- és színvilágú terméket választhassanak.

Az ÜHH Kft, egy fém- és üvegipari vállalkozás vezetői is azon gondolkodnak, hogy ilyen formatervezett színes termékekkel bővítsék kínálatukat. Ebben a feladatrészen olyan kísérleteket és számításokat kell végeznie, amelyek segítséget nyújthatnak a vállalkozónak abban, hogy a rendelkezésére álló borítófóliák közül kiválaszthassa azokat a színűeket, amelyek nem akadályozzák lényegesen a fotoszintézis folyamatát. A cél érdekében modellkísérleteket végzünk.

A felhasznált modellnövény medvehagyma lesz, az üvegházakat pedig üvegpoharakkal helyettesítjük majd. Az üvegpoharak anyaga megegyezik az üvegház anyagával. A rendelkezésre álló borító fóliákkal előre befedtük az üvegpoharakat. Ezekbe a poharakba majd NaHCO_3 -oldatot töltünk és behelyezzük a leveleket, amelyek a megfelelő előkezelés hatására az oldat aljára süllyednek. A fotoszintetikus rátát a keletkező oxigén miatt felemelkedő levelek emelkedési idejével egyenesen arányosnak tekintjük.

1.A.1. Írja fel az ANSWER SHEET-re a fotoszintézis teljes egyenletét koenzimek nélkül, figyelembe véve, hogy a bruttó folyamat során 1 mol főtermék szintézise közben 12 mol NADP^+ vesz részt a folyamatban. (2 pont)

1.A.2. Az alábbiak közül melyik kijelentés magyarázza azt, hogy a legtöbb levél a víz felszínén úszik? Tegyen pipát az ANSWER SHEET megfelelő rubrikájába! (2 pont)

- A) A sejtek citoplazmája kisebb sűrűségű a víznél.
- B) A növényi sejtfal anyagok szilárdságát biztosító anyagok könnyebbek a víznél.
- C) A növényi levelek gázcserenyílásainak zárósejtjei nagy mennyiségű levegőt tartalmaznak.
- D) A levél szivacsos parenchimájában található járatok levegővel teltek.
- E) A levél-epidermisz kutikulája nem oldódik vízben.

Most elkezdheti a kísérletet. Az előkészítés kb. 15 percet, egy-egy mérés pedig 10-15 percet vesz igénybe. Ügyeljen a helyes időbeosztásra, hogy a többi feladatra is maradjon ideje!

A mérést az alábbi utasítások alapján végezze!

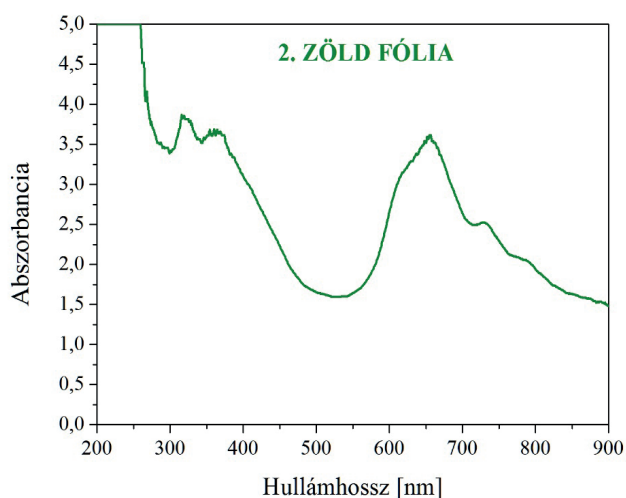
Az 1)-10) pontokat a SÖTÉTSZOBÁBAN kell végeznie, ahová a teremfelügyelő kíséri majd! Ha el akarja kezdeni a mérést, kézfelemeléssel jelezze és várja meg türelmesen a teremfelügyelő megérkezését!

- 1) Öntsön a Petri-csészébe kb. félig NaHCO_3 -oldatot!
- 2) Töltsön ki mindegyik főzőpohárba kb. 30 mL NaHCO_3 -oldatot!
- 3) Vágjon ki fém dugófúróval 4x5 korongot a medvehagyma leveléből, majd a hurkapálcák segítségével helyezze azokat a Petri csészébe!
- 4) Szintén a hurkapálcák segítségével helyezzen egyszerre 5 levélkorongot a fecskendőbe, majd tegye vissza a dugattyút és szívjon fel kb. 5-6 mL folyadékot a Petri-csészéből!
- 5) Légtelenítse a fecskendőt!
- 6) Fogja bal kezébe a fecskendőt úgy, hogy a hüvelykujja a fecskendő nyílásánál, a dugattyúnál lévő „szárnyak” pedig a mutató- és középső ujjánál vannak.
- 7) Óvatos, de határozott mozdulattal húzza meg a dugattyút többször, egészen addig, amíg a levélkorongok lesüllyednek a folyadék alá. Ha szükséges, közben légtelenítse a dugattyút!
- 8) A dugattyút húzza ki és öntse a korongokat az egyik főzőpohárba!
- 9) Fedje le a főzőpoharat alufóliával és tegye a papírdobozba, majd tegye rá a papírdoboz tetejét!
- 10) Ismételje a 4)-9) lépéseket még háromszor, így az összes főzőpohár a levélkorongokkal együtt a papírdobozba kerül!
- 11) Vigye a stoppert és a papírdobozt napfényes helyre (ablakpárkány vagy udvar)!
- 12) Helyezze ki a napra főzőpoharakat, és mérje meg az egyes korongok mennyi idő alatt jönnek fel a folyadék felszínére!

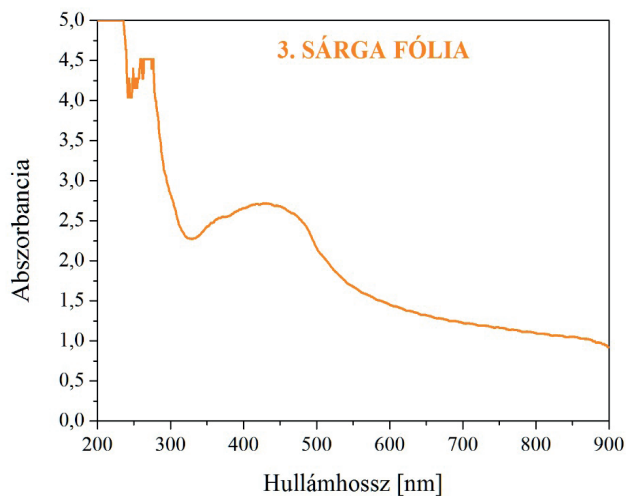
1.A.3. Jegyezze fel az eredményt az ANSWER SHEET táblázatába, és számítsa ki a megfelelő statisztikai adatokat (20 pont)!

1.A.4. Adja meg az adatok alapján, hogy a szintelen mellett melyik fólia legalkalmasabb az üvegház borítására! Tegyen pipát a megfelelő helyre az ANSWER SHEET-en! (2 pont)

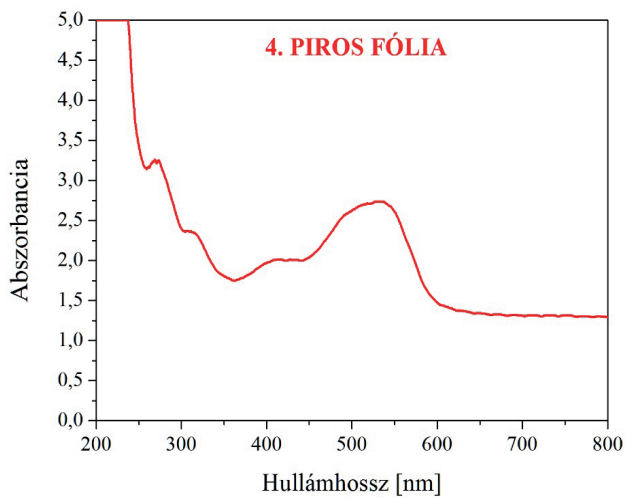
A vállalkozó egy fizikust is bevont a mérésekbe, aki felvette az egyes fóliák abszorpció spektrumát. Az eredmény az alábbiakban látható:



1. ábra: A zöld fólia abszorbanciaspektruma a közepes UV-től a közeli infra tartományig



2. ábra: A sárga fólia abszorbanciaspektruma a közepes UV-től a közeli infra tartományig



3. ábra: A piros fólia abszorbanciaspektruma a közepes UV-től a közeli infra tartományig

1.A.5. Adja meg az ANSWER SHEET-en, hogy az egyes fóliák melyik közös hullámhossz intervallumban mutatnak jelentős elnyelést és melyik a rájuk jellemző saját elnyelési hullámhossz tartomány! (4 pont)

B) Fotoszintézis vizsgálata különböző CO₂ koncentrációk esetén (20 pont)

Bevezetés

Ezekben a kísérletekben két növény (A és B) egy-egy levelét vizsgáltuk. Az A és B növény teljesen azonos körülmények között nőtt fel. A kísérletben a fényintenzitást, a hőmérsékletet és az O₂ koncentrációt állandó értéken tartottuk (1200 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 25 °C, 21%), és azt vizsgáltuk, hogy CO₂ asszimilációs ráta hogyan függ a külső CO₂ koncentrációtól. Az eredmények a következő oldalon vannak táblázatba foglalva:

CO ₂ koncentráció ($\mu\text{l l}^{-1}$)	Fotoszintetikus CO ₂ asszimilációs ráta ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	
	A növény	B növény
20	0.5	-4
40	11	-1
60	19	2.5
80	28	5.5
100	33	9
180	41	18
300	44	27
400	44	32
600	44	40
800	44	44
1000	44	45.5

1.B.1. Az Answer Sheet-en, a Graph 1 nevű miliméterpapíron (az ANSWER SHEET végén találja!) ábrázolja grafikonon az A és B növény asszimilációs rátáját a szén-dioxid koncentráció függvényében! Az X tengely skálája 0 $\mu\text{l l}^{-1}$ -től 1000 $\mu\text{l l}^{-1}$ -ig tartson! (5 pont)

Az előbb elkészített Graph 1 grafikon alapján válaszoljon a következő kérdésekre az Answer Sheet-en!

1.B.2 Jelölje az Answer Sheet megfelelő rubrikájában pipával (✓), hogy az A és B növények közül melyik C₃-as, melyik C₄-es növény. (2 pont)

1.B.3. Mekkora az A növény és B növény fotoszintetikus CO₂ asszimilációs rátája 200 $\mu\text{l l}^{-1}$ CO₂ koncentráció mellett? (3 pont)

1.B.4. Az Answer Sheet-en, a Graph 2 nevű miliméterpapíron ábrázolja grafikonon a B növény asszimilációs rátáját a szén-dioxid koncentráció függvényében! Az X tengely skálája itt 0 $\mu\text{l l}^{-1}$ -től csak 100 $\mu\text{l l}^{-1}$ -ig tartson! (4 pont)

1.B.5. Az előbbieken rajzolt Graph 2 grafikon alapján mi a B növény CO_2 kompenzációs pontja? Írja be az értéket az Answer Sheet-re! (2 pont)

1.B.6. A Graph 2 grafikonon látható adatokhoz viszonyítva, ha a hőmérsékletet 35 °C-ra növelnénk, és az O_2 koncentrációt 21%-on tartanánk, akkor a kompenzációs pont növekedne, csökkenne, vagy nem változna? Jelölje a helyes válasz(ok)at pipával (✓) az Answer Sheet-en! (2 pont)

1.B.7. A Graph 2 grafikonon látható adatokhoz viszonyítva, ha a hőmérsékletet 25 °C-on hagynánk, és az O_2 koncentrációt 2%-ra csökkentenénk, akkor a kompenzációs pont növekedne, csökkenne, vagy nem változna? Jelölje a helyes válasz(ok)at pipával (✓) az Answer Sheet-en! (2 pont)

2) Invazív növény ökológiai modellezése

A) Allelopátia hatásának vizsgálata (15 pont)

Egy behurcolt, invazív gyomnövény természetben kifejtett hatását vizsgálták ökológusok. A vizsgálatok során arra a következtetésre jutottak, hogy az invazív hatásért elsősorban a gyomnövény allelopátiás hatása a felelős.

2.A.1. Jelölje az ANSWER SHEET-en, hogy az allelopátia milyen kölcsönhatásnak (+,0,-) számít a benne részt vevő fajoknak! (2 pont)

A kutatók hipotézisük helyességének igazolására különböző mennyiségű aktív szénrel kezelték azokat a talajokat, amelyekben az invazív gyomnövények nőttek. Az allelopátiáért felelős anyagot a talajokból kimosták a kezelés után és egy előhívó reagenssel lila terméket adó színreakciót végeztek a kapott oldattal. A sztöchiometrikusan zajló színreakció eredményeképpen keletkező terméket 537 nm hullámhosszon spektrofotometriásan vizsgálták. Az eredmény alább látható:

Aktív szén mennyiség (g/kg talaj)	A kezelt talajoldatok abszorpciója
5,0	1,197
10,0	0,987
15,0	,802
20,0	0,632
30,0	0,622
40,0	0,626

2.A.2. Ábrázolja a Graph 3 milliméterpapíron a kezeléshez használt aktív széntartalom függvényében a reakcióba vitt oldatok abszorbanciáját! (5 pont)

2.A.3. Tegyük fel, hogy nagyobb területű kísérletet akarunk végezni a gyomnövény visszaszorítása érdekében. Adja meg az ANSWER SHEET-en, hogy a grafikon elemzése alapján hány kg aktív szénre van szükség, ha a kezelni kívánt talaj átlagos sűrűsége 1 234 g/L, a kezelni kívánt terület nagysága 1 hektár és a talajba 30 cm mélyen kívánjuk beforgatni az aktív szenet. (8 pont)

B) Az invazív növény felszíni irtásának hatásvizsgálata

Az előző feladatrészen vizsgált gyomnövényt újabb kísérletekbe vonták be. Kiválasztottak az inváziós területről 6 őshonos kétszikű növényt valamint 2 féle fűvet és magot vettek róluk, illetve az invazív gyom rhizómájából is mintát gyűjtöttek. A kísérleteket nagyméretű virágcserepekben végezték. A kísérlet során 4 féle cserepet használtak fel háromféle kezelés hatásának vizsgálatára. Egy-egy kísérletsorozat során azonos egyedekről vett magvakat illetve rhizómákat használtak. Összesen 10 sorozatmérést végeztek 40 cserépben.

- A K jelű kontroll-cserepekben semmilyen kezelést nem alkalmaztak.
- A C jelű cserepekben aktív szén kezelést használtak a gyomnövény visszaszorítására.
- A V jelű cserepekben a gyomnövényt rendszeresen (2 hetente) metszték.
- A VC jelű cserepekben az előző kezeléseket (C és V) párhuzamosan alkalmazták.

Az egyes kezelések hatását az alapján vizsgálták, hogy mekkora a cserepekről begyűjtött őshonos növények biomasszájának száraztömege.

Az asztalán 8 alufóliás csomagot talál. Minden csomagban a fenti kísérletekből származó szárított növényi részek találhatók. Az alufólián felírtuk, hogy mekkora a csomagolóanyag (alufólia) tömege. A piros feliratú csomagokban a kétszikű, a zöld feliratúakban az egyszikű (fűfélék) mintái vannak.

A CSOMAGOKAT A MÉRÉS SORÁN NEM KELL KIBONTANIA!!!

2.B.1. Első feladata, hogy mérje meg az egyes csomagok tömegét táramérleg segítségével és állapítsa meg a bennük lévő minták száraztömegét. Eredményeit az ANSWER SHEET-en tüntesse fel! (16 pont)

A kétszikű növényekre vonatkozó további 9 mérési eredményt az alábbi táblázatban találja (g-ban kifejezve). Ezek alapján azt kell majd eldöntenie, hogy a kétféle (C és V) kezelés eredményei additívek-e.

Sorozat	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
K	3,42	3,75	3,65	4,02	3,28	4,12	3,19	4,08	3,67
C	3,76	4,12	4,01	4,42	3,60	4,53	3,51	4,48	4,03
V	4,27	4,68	4,56	5,02	4,10	5,15	3,98	5,10	4,58
VC	4,41	4,83	4,70	5,18	4,23	5,31	4,11	5,26	4,73

2.B.2. Töltse ki a megfelelő táblázatot az ANSWER SHEET-en! (4 pont)

2.B.3. Adja meg az összehasonlítani kívánt adatokat az ANSWER SHEET-en! (4 pont)

2.B.4. Adja meg a t-értéket! (8 pont)

2.B.5. Adja meg, hogy 95%-os szignifikanciaszinten a kezelések additívnek bizonyultak-e! (3 pont)

ANSWER SHEET

I. NÖVÉNYTAN

1) Fotoszintézis vizsgálata

A) A fotoszintézishez szükséges fény hullámhossztartományának meghatározása

1.A.1.

Egyenlet:

--

1.A.2.

A	B	C	D	E

1.A.3.

Fólia színe	Színtelen	Piros	Zöld	Sárga
1. korong				
2. korong				
3. korong				
4. korong				
5. korong				
Átlag				
Medián				
Szórás				

1.A.4.

piros	zöld	sárga

1.A.5.

Hullámhossztartományok:

közös	piros	zöld	sárga

B) A CO₂ fotoszintézisre gyakorolt hatásának vizsgálata

1.B.1.

Graph 1 (végén)

1.B.2.

	C3	C4
A		
B		

1.B.3.

	A	B
Fotoszintetikus CO ₂ asszimilációs ráta		

1.B.4.

Graph 2 (végén)

1.B.5.

Válasz: _____

1.B.6.

Növekszik	Csökken	Nem változik

1.B.7.

Növekszik	Csökken	Nem változik

2) Invazív növény ökológiai modellezése

A) Allelopátia hatásának vizsgálata

2.A.1.

INVAZÍV	ŐSHONOS

2.A.2.

Graph 3 (végén)

2.A.3.

_____ kg

B) Az invazív növény felszíni irtásának hatás vizsgálata

2.B.1.

MINTÁK SORSZÁMA (1-4): ____ (pl. K1, V1, C1... esetén **1**)

A mért növényi tömegek (g-ban; 3 értékes jeggyel), a beírás előtt vonja le az alufólia tömegét!

FŰ				Kétszikűek			
K	C	V	VC	K	C	V	VC

2.B.2.

	K	C-K	V-K	VC-K
Átlag				
Szórás				

2.B.3.

	Külön kezelések összeadott hatása	Együttes kezelés bruttó hatása
Átlag		

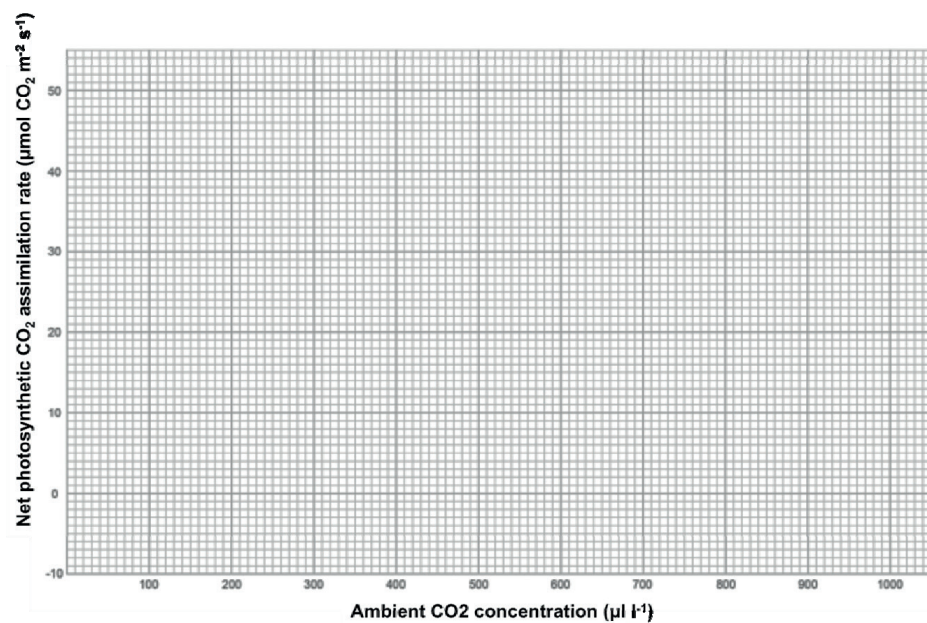
2.B.4.

t-érték: _____

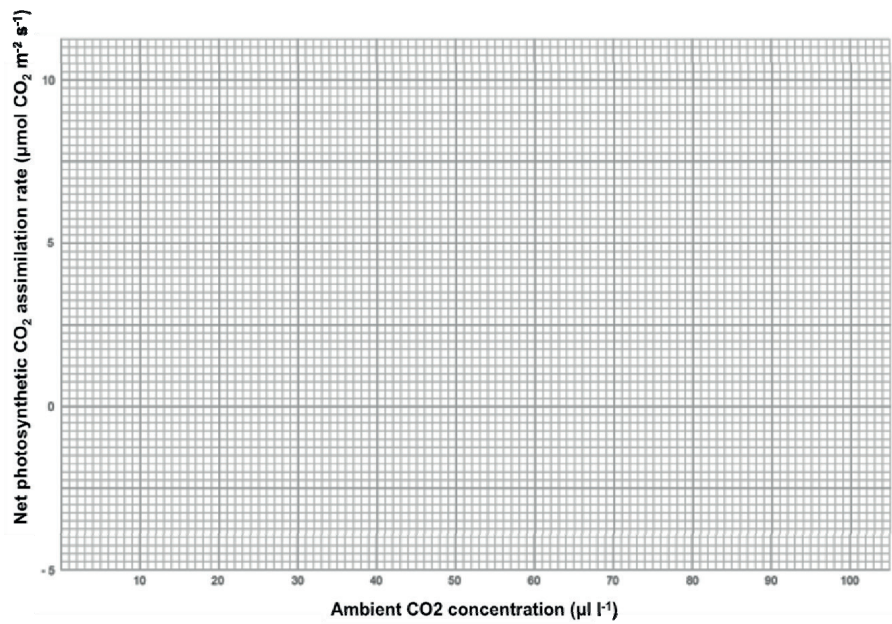
2.B.5.

A kezelések hatása: additív nem additív
(jelölje aláhúzással a megfelelőt)

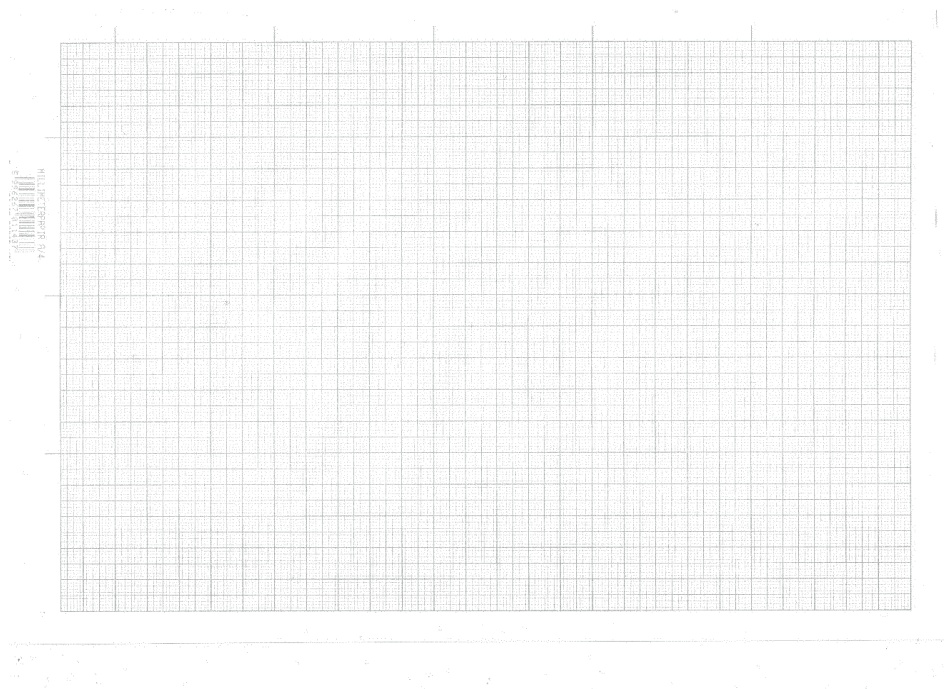
Graph 1



Graph 2



Graph 3 – (minden feliratot is el kell készítenie!!!)



II. MOLEKULÁRIS GENETIKA ÉS SEJTBOLÓGIA

Ez a feladat három részfeladatból áll:

- 1) Plazmid hasítása Pst I restrikciós enzimmel
- 2) Emberi szövetek vizsgálata
- 3) Plazmid restrikciós térképének vizsgálata

1) Plazmid hasítása Pst1 restrikciós endonuklázzal (30 pont)

Ebben a feladatban egy ismeretlen plazmidot kell vizsgálnia. A vizsgálat során Pst1 restrikciós enzimmel kell hasítania a kapott plazmidot, és a kapott hasítási termékeket gélelektroforézissel kell szétválasztania.

A kapott szivacsban 2 PCR csövet talál. Az 'E' feliratú tartóban lévő cső enzimet és hasítási puffert, míg a 'P' feliratú tartóban lévő cső plazmidot tartalmaz.

1) Töltsön 11,5 μL -t a plazmid oldatából az enzimhez. Amikor áttöltötte, a pipetta segítségével óvatosan keverje össze a két oldatot!

2) Szóljon a teremfelügyelőnek, akivel az inkubátorszekrénybe helyezik a szivacsot az emésztés elvégzéséhez szükséges időre (35 perc)!

3) Az inkubációs idő lejártá után töltsön a fermentumhoz 12 μL futtató festéket és újból keverje össze!

4) Az így keletkezett oldatból töltsön 11-11 μL -t a bal, illetve jobb oldalról számított 3. vagy 4. zsebekbe az előre feltöltött elektroforézis berendezésben található gélbe! Ezután szerelje össze az elektroforézis berendezést, majd szóljon a teremfelügyelőnek! (7 pont)

JEL: _____ Aláírás: _____

5) Szóljon a teremfelügyelőnek, aki elindítja a futtatást (35 perc)! Akkor is szóljon a teremfelügyelőnek, amikor lejárt a futtatás (8 pont)!

JEL: _____ Aláírás: _____

6) Az idő lejártával helyezze el géljét a kapott futtató kádban! (5 pont)

JEL: _____ Aláírás: _____

7) 10 pontot kaphat majd az előhívott gélre.

2) Emberi szövetek vizsgálata (32 pont)

Ebben a feladatban a közösen kapott 8 metszetet kell használnia (1-8. számozásúak). Mindig kizárólag azt a metszetet vigye el, amelyiket éppen nézegeti. Legyen előzékeny az esetleges ütközések esetén!

A Petri-csészében található 8 metszet a következő szervek valamelyikéből készülhetett:

A) Gl. sublingualis nyálmirigy	B) Nyirokcsomó
C) Máj	D) ILYEN NINCS
E) Vékonybél	F) kisagy
G) Vastagbél	H) hipofízis hátsó lebenye
I) Verejtékmirigy a bőrben	J) tüdő
K) Artéria és véna	L) vese
M) Hasnyálmirigy	N) mellékvese
O) Csontszövet	P) pajzsmirigy

A fenti szövetek/szervek egy-egy lényeges tulajdonsága:

I. Több belépő ere van, mint kilépő.	V. Emésztőnedvet termel.	IX. Működési egységei a nefronok.
II. Alapanyagcserét növelő hormont termel.	VI. Fala rugalmas vagy tágulékony.	X. Sejtközzötti állománya koncentrikus lamellákból áll.
III. Langerhans szigetek vannak benne.	VII. A mozgás-koordinációért felelős.	XI. Kortizont termel.
IV. A gázcserében fontos.	VIII. Lebénykékből áll.	XII. Felületnövelő képletek (mikrobolyhok) találhatók benne.

A metszetek megfigyelése után töltse ki a megfelelő táblázatot!

Sorszám	Szövet/szerv betűjele	Funkció (római szám)
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		

3) Egy plazmid restrikciós térképének meghatározása (38 pont)

Ebben a feladatban a pTB542 mesterséges plazmid restrikciós térképének elkészítése a feladat.

A DNS darabok méretének meghatározására gélelektroforézist használunk. A zsebeiktől mért távolság meghatározása a gélekpről vonalzó segítségével történik. A loading dye (jelzőfesték) a maximális elérhető távolságra vándorol, ezért a többi fragment méretét ehhez viszonyítjuk. A megtett úthosszat természetesen a zsebeiktől mérjük.

Egy adott fragment retenciós faktora a fragment vándorlási úthosszának és a loading dye vándorlási úthosszának a hányadosa (azaz 1-nél mindig kisebb szám):

$$R_f = \text{fragment úthossz} / \text{loading dye úthossz}.$$

Az egyes fragmentek pontos méretének megállapításához size markert (ladder) használunk, amely ismert méretű DNS-fragmenteket tartalmaz.

A vizsgált plazmidról annyit tudunk, hogy EcoRI enzimmel egy hasítóhelye, HindIII enzimmel két hasítóhelye van. Háromféle emésztést végeztünk a plazmidon: külön EcoRI-gyel, külön HindIII-mal és a két enzimmel együtt. Feladata, hogy a fenti információk és a plazmid képe alapján:

- 1) Töltse ki az 1. táblázatot (a size marker darabok az 1. zsebben voltak)!
- 2) Ábrázolja mm-papíron a size markerek méretének a tízes alapú logaritmusát az R_f függvényében!
- 3) Mérje meg a 2-4. zsebekben lévő fragmentek úthosszait, és az előző pont grafikonjáról olvassa le a fragmentek méretét, és ez alapján töltse ki a 2. táblázatot!
- 4) Rajzolja fel a plazmid képét (egy kört) olyan módon, hogy vázlatosan jelzi
 - a. a restrikciós hasítóhelyeket és
 - b. az egyes fragmentek méretét.

Megoldás:

Loading dye úthossz: _____ cm (legalsó csík minden zsebnél!)

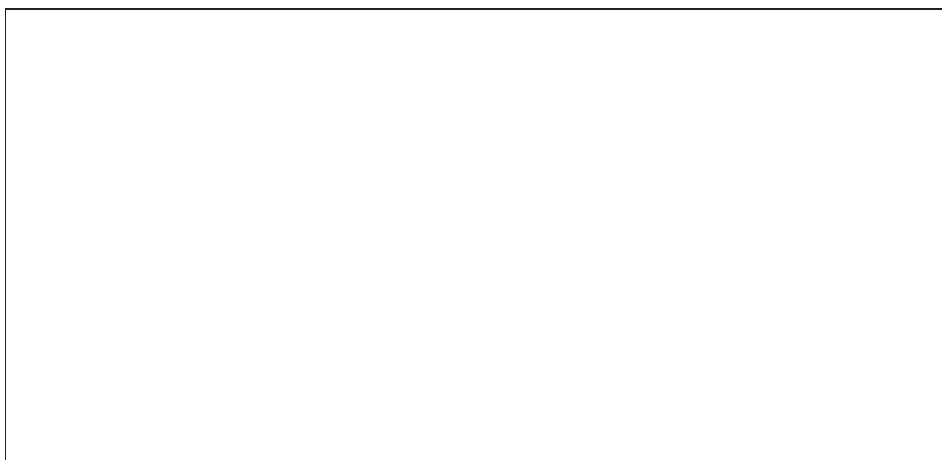
Size marker mérete (bázispár = bp)	lg (bp)	Size marker úthossz (cm)	Size marker R_f
100			
250			
500			
1000			
1500			

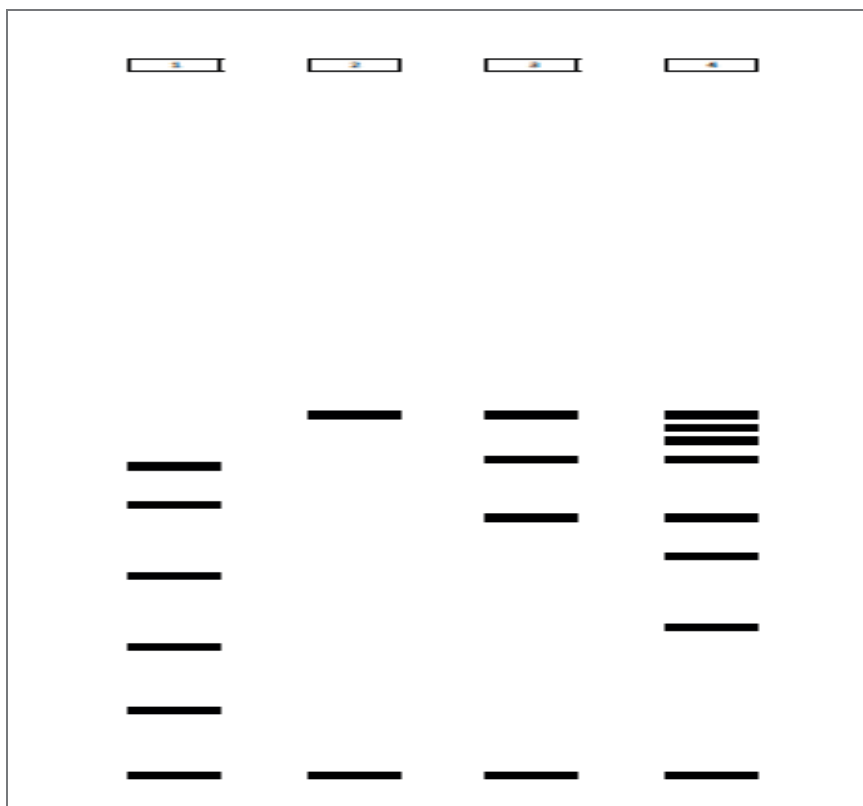
1. táblázat

Fragment mérete (2. zseb) (bázispár = bp)	lg (bp)	fragment úthossz (cm)	fragment R_f
Fragment mérete (3. zseb) (bázispár = bp)	lg (bp)	fragment úthossz (cm)	fragment R_f
Fragment mérete (4. zseb) (bázispár = bp)	lg (bp)	fragment úthossz (cm)	fragment R_f

2. táblázat

A plazmid térképe (rajzolja fel!):





A gélelektroforézis képe

III. ETOLÓGIA ÉS EVOLÚCIÓ

Ez a feladat három részfeladatból áll:

- 1) Állati viselkedések vizsgálata
- 2) Tüskés pikó evolúciójának vizsgálata
- 3) Madárhang evolúciójának vizsgálata

1) Állati viselkedések vizsgálata (35 pont)

Ebben a feladatban állati viselkedéseket kell vizsgálnia videofelvételek segítségével.

Az 1-5. sorszámú videofelvételeken egy madár tanulási viselkedésének vizsgálatakor készült felvételeket láthat. Nézze meg a felvételeket, majd válaszoljon a következő kérdésekre!

1. Milyen viselkedéstípust vizsgáltak (tanult/öröklött és pontos megnevezés) (5 pont)

2. A felvételek a kísérletsorozat különböző stádiumaiban készülhettek. Állítsa sorrendbe a videofelvételeket és írja fel sorrendben a sorszámukat. Kezdje a legelsővel és haladjon a legutolsó felé! (15 pont)

3. A 6. felvételen egy csimpánzkolónia viselkedését tanulmányozhatja. Nézze meg a felvételt, ha kell többször is, és jegyezze fel azokat az időpontokat (időintervallumok kezdő és záró időpontját), amelyekben a következő típusú viselkedések előfordulnak (a táblázatokban mindenütt több hely van, mint amennyi szükséges)! (15 pont)

Étel megosztása:

Kezdő	Záró	Kezdő	Záró	Kezdő	Záró

Agresszív viselkedés:

Kezdő	Záró	Kezdő	Záró	Kezdő	Záró

Szülői gondoskodás:

Kezdő	Záró	Kezdő	Záró	Kezdő	Záró

2) Tüskéspikó fossziliák vizsgálata (45 pont)

Kattintson a <http://media.hhmi.org/biointeractive/vlabs/stickleback/index.html> weboldalra, majd az ott található leírást használva

- gyakorolja be a különféle fossziliák felismerését (Tutorial2: Score a fossil fish)
- végezze el a 2. gyakorlatot (Experiment2: Analyze fossil fish)

Mutassa be a teremfelügyelőnek a kapott eredményeket (Layer 2 és Layer 5), és jegyezze fel az alábbi táblázatba is! **A teremfelügyelő aláírása nélkül eredményei érvénytelenek! (42 pont)**

Aláírás: _____

(darab)	Complete	Reduced	Absent
Layer 2			
Layer 5			

Az alábbiak közül melyek lehetnek a tüskés pikó csontvázában bekövetkezett evolúciós folyamatok okai? Tegyen pipát a megfelelő hely(ek)re a táblázatban!

- A) Szexuális szelekció
- B) Az utódok könnyebb világra hozatala
- C) Ragadozók elől gyorsabb menekülés
- D) Agresszív viselkedés
- E) Faji identitás megváltozása

A	B	C	D	E

3) Pintyek énekhangjának populációgenetikai vizsgálata (20 pont)

Ebben a feladatban a kutatók által megfigyelt nagy létszámú, izolált tengeri pintypopuláció énekhangjára vonatkozó genetikai adatokat kell elemeznie.

A megfigyelt hím pintyek énekhangja lehet magas vagy mély illetve gyakran ismétlődő vagy ritka. Mindkét tulajdonságot egyetlen gén 2 allélja határozza meg. A magas hang és a gyakori ismétlődés domináns tulajdonság. A meghatározott allélgyakoriságok a következők:

Magas	Mély	Gyakori	Ritka
70%	30%	40%	60%

A kutatók a két tulajdonság kombinációját egyszerre vizsgálva a következő fenotípusgyakoriságokat kapták:

	Magas	Mély
Gyakori	1409	147
Ritka	799	81

Állapítsa meg, hogy megfelel-e a fenti eredmény annak a hipotézisnek, hogy a két gén egymástól függetlenül öröklődik!

A várt gyakoriságok (4 értékes jegy pontossággal):

	Magas	Mély
Gyakori		
Ritka		

A khi-négyzet érték: _____

95%-os szignifikanciaszinten a nullhipotézist:
elvetjük/nem vetjük el (húzza alá a megfelelőt!)

A fenti adatok alapján a két gén mindegyikére igaz, hogy: (jelölje pipával a táblázatban a megfelelő válasz(oka)t!)

- A) Biztosan X-kromoszómához kötve öröklődik.
- B) Lehet, hogy X-kromoszómához kötve öröklődik.
- C) Biztosan Y-kromoszómához kötve öröklődik.
- D) Biztosan nem Y-kromoszómához kötve öröklődik.
- E) Lehet, hogy X-kromoszómához kötve öröklődik.

A	B	C	D	E

IV. RENDSZERTAN ÉS KLADISZTIKA

Ez a feladat két részfeladatból áll:

1) **Bogarak határozása**

2) **Növényi kladisztika**

1) **Bogarak határozása (50 pont)**

Ebben a feladatban a kapott 7 rovarfajt (A-G) kell meghatározni a mellékelt ábrák, leírások és a határozókulcs segítségével.

A kapott fajok a következők lehetnek:

1. *Anoxia orientalis*
2. *Dorcus parallelepipedus*
3. *Abax parallelepipedus/ ater*
4. *Calosoma inquisitor*
5. *Platycerus cribratus*
6. *Anomala vitis*
7. *Carabus violaceus*
8. *Pentodon idiota*

A határozókulcs a következő oldalon található!

A kapott fajok sorszámát írja be az alábbi táblázatba!

A	
B	
C	
D	
E	
F	
G	
nem volt	

Bogárhathározás (zárójelben: ábraszám: képszám)

1.
 - a. A 3. csípők nagyok (115:1), a potroh 1. haslemezét egészen átjárják úgy, hogy ebből oldalt látható egy kis rész. Az 1-3. haslemez összenőtt, csak finom varrat van a szelvények között. A csápok vékonyak, fonál vagy sörté alakúak.....2.
 - b. A 3. csípők nem ilyenek. A csápok gyengébben vagy erősen térdesek (115:17 a, b, c).....4.
2.
 - a. Fekete, a szárnyfedők fényesek (♂) vagy fénytelenek (♀). Előtora harántos négyszögű, a tövén kétoldalt 2-2 mély hosszanti barázdával. ***Abax parallelepipedus***
 - b. Az előtoron nincs 2-2 mély hosszanti barázda.....3.
3.
 - a. A rágók felülete ráncolt, 2. csápíz rövid, alig hosszabb, mint széles. Felül rézbarna vagy fekete, alul zöld vagy zöldeskék. ***Calosoma inquisitor***
 - b. A rágók felülete nem ráncos, a 2. csápíz hosszabb, mint széles. Az előtor a háta felé keskenyedik. ***Carabus violaceus***
4.
 - a. A csáp tőize hosszú a többi ízhez képest, az utolsó 3-4 íz lemezszerűen megnyúlt, ezek merevek, nem terpeszthetők legyezőszerűen. (134:1-6)5.
 - b. A csáp tőize nem feltűnően hosszú a többi ízhez képest, lemezei legyezőszerűen terpeszthetők és összecuszkathatók. 6 haslemeze jól látható.6.
5.
 - a. Szeme kerek, a pofák elöl nem osztják ketté. Színe fémes..... ***Platycerus cribratus***
 - b. Szemét elöl a pofák kettéosztják. Nem fémes színű..... ***Dorcus parallelepipedus***
6.
 - a. A 3. lábak karmai egyformák. Lábai erőteljesek. A fején egy bütyök van. ***Pentodon idiota***
 - b. A 3. lában karmai mélyen hasítottak vagy tövüknél fogazottak vagy nem egyenlő hosszúak.7.
7.
 - a. Felülete selymesfényű. Az előtor keskeny oldalszegélye sárga. ***Anomala vitis***
 - b. Az előtoron kétoldalt 2-2 tükrőfolt van. Szárnyfedőin a szőrökből álló foltok hosszanti sorokba rendeződtek. ***Anoxia orientalis***

2) Növényi kladisztika (50 pont)

Az alábbiakban 6 növényfaj (A-F) 10 tulajdonságának tulajdonság-értékeit láthatja.

Tulajd. Faj	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1
B	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1
C	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1
D	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1
E	1	0	0	2	1	0	0	0	1	0
F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A. Rész: A kitöltött 1. Adattáblázat segítségével válaszoljon a következő kérdésekre!

2.A.1. Jelölje pipával a Válaszlapon, melyik tulajdonságok adnak információt a törzsfajlódásról?

2.A.2. Jelölje pipával a Válaszlapon, melyek a polimorf tulajdonságok (több mint két típusa van)!

2.A.3. Használja a következő megadott képleteket, hogy kiszámolja adott számú (n db) faj esetén a lehetséges törzsfák számát!

A lehetséges gyökértelen törzsfák száma = $(2n-5)!/2^{n-3}(n-3)!$

A lehetséges gyökeres törzsfák száma = $(2n-3)!/2^{n-2}(n-2)!$

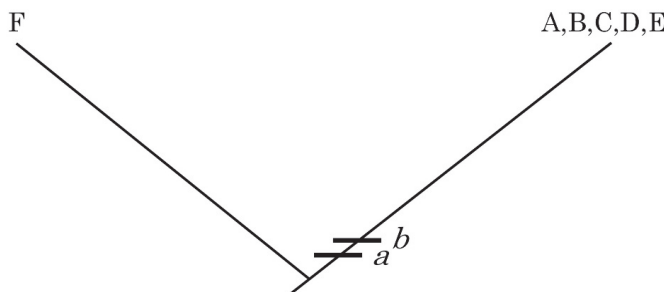
Írja be a válaszlapon az erre az esetre kiszámolt adatokat!

A '!' szimbólum a faktoriális jelenti.

B. Rész: Az örökletes tulajdonságok (kladisztika) vizsgálata alkalmas arra, hogy evolúciós törzsfákat készítsünk a vizsgált fajokból. Feltételezzük, hogy az F fajnál megtalálható jegyek pleziomorfak. A tulajdonság-értékek megváltozása apomorfnek tekinthető. Így az 1 és 2 kódú tulajdonság-értékek ilyen ősből származtatott típusok. Az analízis során minden tulajdonság azonos jelentőségűnek vesszünk. A törzsfa elkészítése lépésről-lépésre történik. Helyezze a megfelelő tulajdonságok sorszámaikat és a fajok jelét a törzsfára minden lépésnél!

2.B.1. Az első törzsfán (Tree 1) elkülöníthetjük az A, B, C, D és E közelebbi rokon fajokat a távolabbi F fajtól. Ehhez két tulajdonságot használhatunk fel, amiben az A, B, C, D és E fajok mindegyike eltér az F fajtól.

Azonosítsa ezt a két tulajdonságot (*a* és *b*), amit az 1. törzsfán (Tree 1) lát, majd írja be őket a **Válaszlapra** (Answer Sheet)!

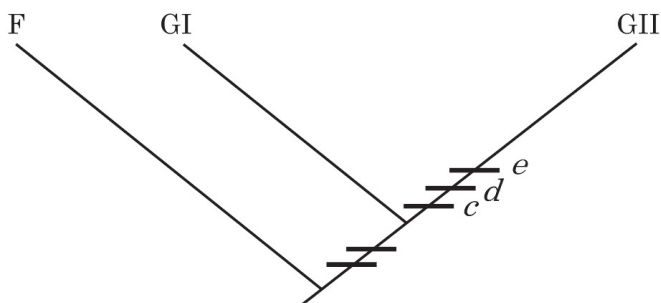


Tree 1

2.B.2. A módszerrel lépésről-lépésre eljutunk majd a teljes törzsfához ebből az elkészült kezdeti törzsfából kiindulva, ami a rokoni kapcsolatokat alapjait mutatja. Az analízis során a többi kialakult típust vizsgálva egyre kevesebb faj kerül az egyes csoportokba. Kevesebb/egy fajt tudunk mindig elválasztani egy nagyobb csoporttól egy adott tulajdonság megváltozása alapján.

A következő lépésben az öt faj ágát válasszuk szét két alcsoportba (GI és GII) 3 synapomorf tulajdonság alapján.

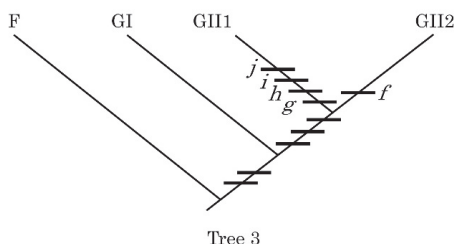
Azonosítsa a 2. törzsfa segítségével (Tree 2) a két alcsoportba, a GI-be és a GII-be tartozó fajokat betűjelét, valamint a 3 tulajdonság sorszámaikat (*c*, *d* és *e*), és írja ezeket a **Válaszlapra**! Az ág tulajdonságtípusának kódját is adja meg zárójelben a tulajdonság sorszáma mögött, ha az elágazásnál mindkét ágban új tulajdonságtípus jött létre.



Tree 2

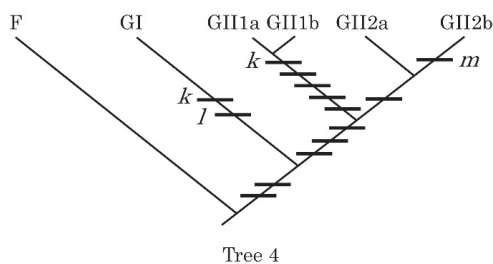
2.B.3. A GII csoport tovább bontható két kevesebb fajt tartalmazó ágra (GII1 és GII2) 4 és 1 közös (shared derived) tulajdonság alapján.

Azonosítsa GII1 és GII2 csoportok tagjait, majd írja a Válaszlap **Q3.3.** pontjához a megfelelő tulajdonságok sorszámát (*f-j* betűk jelzik a 3. törzsfá (Tree 3) ábráján). Az ág tulajdonságtípusának kódját is adja meg zárójelben a tulajdonság sorszáma mögött, ha az elágazásnál mindkét ágba új tulajdonságtípus jött létre.



2.B.4. A törzsfakészítés utolsó lépésében mindegyik singly derived tulajdonságot el kell helyezni a törzsfán és a többi legvalószínűbb (parsimoniás) elven betenni. Két tulajdonság ilyen egyedi (single derived) (*l* and *m*) és csak egy tulajdonság (*k*) marad ki, ami kérdéses.

Sorold fel a rendszertani (taxon) neveket mind az öt fajra a teljesen feloldott 4 számú törzsfán, és add meg a tulajdonságokat, amelyek megfelelnek a *k*, *l* és *m*-nek, a VÁLASZLAPON. Az ág tulajdonságtípusának kódját is adja meg zárójelben a tulajdonság sorszáma mögött, ha az elágazásnál mindkét ágba új tulajdonságtípus jött létre.



C. Rész: Használja az elkészült törzsfát a következő kérdések megválaszolásához!

2.C.1. Mennyi a száma a tulajdonságváltozásoknak a legvalószínűbb (parsimoniás) törzsfán?

2.C.2. A konzisztencia index(CI) a tulajdonságtípus változások minimális száma, amelyek a legegyszerűbb (parsimoniás) törzsfához kellenek (minden tulajdonságtípus csak egyszer változik) osztva a valós változások számával az adott törzsfán. Mekkora a 4 számú törzsfá konzisztencia indexe?

2.C.3. Mekkora a genusok maximális száma a végső törzsfán, ha a C és D közös genusba tartoznak?

2.C.4. Hány monofiletikus csoport található a végső törzsfában?

Válaszlap a megoldásokkal

A. Rész (12 pont)

2.A.1. (3 pont)

Tulajdonság sorszáma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		√	√	√	√	√	√	√		√

2.A.2. (3 pont)

Tulajdonság sorszáma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		√		√			√			

2.A.3. (3 pont x 2 = 6 pont)

Gyökértelen törzsfák száma: <u>105</u>
Gyökeres törzsfák száma: <u>945</u>

B. Rész (26 pont) A tulajdonságértéket is adja meg, ha az adott tulajdonság polimorf, azaz kettőnél több értéke is megfigyelhető (pl.: 7(2)).

2.B.1. (3 pont)

	Tulajdonság sorszáma
Tulajdonság <i>a</i>	1
Tulajdonság <i>b</i>	9

2.B.2. (8 pont). A tulajdonság sorszáma és a megfelelő taxon (faj) betűjele is 1-1 pontot ér.

	Tulajdonság sorszáma		A taxon (faj) betűjele(i)
Tulajdonság <i>c</i>	4(1)	GI	E
Tulajdonság <i>d</i>	8	GII	A, B, C, D
Tulajdonság <i>e</i>	10		

2.B.3. (9 pont)

	Tulajdonság sorszáma		A taxon (faj) betűjele(i)
Tulajdonság <i>f</i>	7(1)	GII1	A, B
Tulajdonság <i>g</i>	2(2)	GII2	C, D
Tulajdonság <i>h</i>	3		
Tulajdonság <i>i</i>	6		
Tulajdonság <i>j</i>	7(2)		

2.B.4. (6 pont)

	Tulajdonság sorszáma		A taxon (faj) betűjele
Tulajdonság <i>k</i>	5	GI	E
Tulajdonság <i>l</i>	4(2)	GII1a	A (0,5 pont)
Tulajdonság <i>m</i>	2(1)	GII1b	B (0,5 pont)
		GII2a	C (0,5 pont)
		GII2b	D (0,5 pont)

C. Rész (12 pont)**2.C.1.** (3 pont)

14 lépés

2.C.2. (3 pont)

CI = 13/14

2.C.3. (3 pont)

4

2.C.4. (3 pont)

5

V. NÖVÉNYTAN 2.

Ebben a tesztben a következő feladatokat kell megoldania:

- 1) Fotoszintézis vizsgálata algatenyészet segítségével
- 2) Gázcserevázások vizsgálata
- 3) Termékek vizsgálata

1) Fotoszintézis vizsgálata algatenyészet segítségével

Ebben a feladatban egy fotoszintetizáló egysejtű élőlény működésének fényerősségtől való függését vizsgálják majd. A kapott algatenyészet sejtjeit először immobilizálni kell, majd az így kapott gyöngyök segítségével egy erős lámpa fénye mellett vizsgáljuk a fotoszintézis mértékét a fényforrástól való távolság függvényében. Ebben a kísérletben a szóródástól eltekintünk és feltételezzük, hogy a fényerősség fordítottan arányos a fényforrástól való távolsággal. Az algák a vízben található hidrogén-karbonát-ionokat hasznosítják szénforrásként. A hidrogén-karbonát-ionok fogyása az oldatban pH-változást okoz, amelyet indikátoroldat segítségével tesztünk láthatóvá.

Amiket tennie kell:

1. Az asztalán üveg főzőpohárban található 10mL algatenyészetet öntse a műanyag főzőpohárban található nátrium-alginát oldathoz.
2. Keverje össze (homogenizálja) óvatosan az oldatot szélesztő pálcával vagy a közösen használandó vortex segítségével, ügyelve arra, hogy ne löttessen ki az oldat.
3. Szívja fel a fecskendőbe az elegyet majd óvatosan és egyenletesen csepegtesse azt a CaCl_2 feliratú főzőpohárba, amelyben 2%-os kalcium-klorid-oldat van. A kalcium-ionok az alginátot kicsapják, így gömb alakú gyöngyök keletkeznek. Kb. 60-70 gömböt készítsen!
4. 15 perc várakozás után öntse le a „waste” feliratú edénybe a gyöngyök felett található oldatot, majd desztillált vízzel óvatosan öblítse át a gyöngyöket!
5. Tegyen a kiskanállal 10-10 gyöngyöt a hat db fehérkupakos kiscsőbe, és öntsön rájuk kb. félig, de pontosan egyforma mennyiségű színes oldatot.
6. Helyezze a csöveket 1, 2, 4, 6, 8 és 10 csempényi távolságra a fényforrástól.
7. Kapcsolja be a lámpát és 45 percig engedje zajlani a fotoszintézist!
8. A folyamat végén a közösen használt összehasonlító oldat segítségével állapítsa meg az oldatok pH-ját, és jegyezze fel az alábbi táblázatba (1 csempe 15 cm hosszúságú).

1.1. (12 pont)

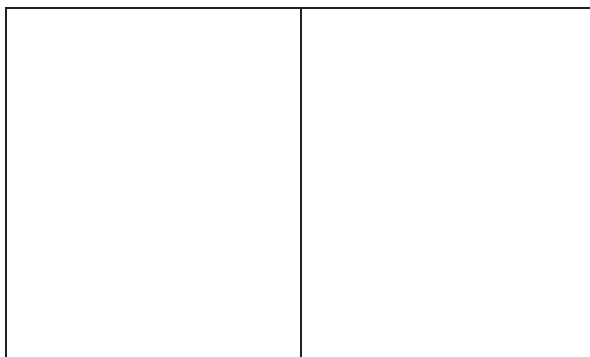
Távolság (d; m)	$1/d^2$	pH

1.2. Ábrázolja a távolság négyzetének reciprokának függvényében a pH-t a kapott milliméter papírra! (6 pont)

2) Gázcsere nyílások vizsgálata

1.3. A kapott levél mindkét felszínéről készítsen körömlakk levonatot! Tegye mikroszkópba és vizsgálja 100X nagyítás mellett. Rajzolja le a látottakat és jelölje a rajzon a következő sejt típusokat betűkkel:

- A. átlagos bőrszöveti sejt (lenyomata)
- B. gázcsere nyílás zárósejt (lenyomata)
- C. melléksejt (lenyomata)



1.4. Az alábbi ábrán egy növény, két különböző körülmények között tartott leveléből származó gázcsere nyílások képeit láthatja. Jelölje a megfelelő betűjelek **bekarikázásával**, hogy melyik képet milyen levélkezelés után kaphattuk! **Javítás nem lehetséges!**



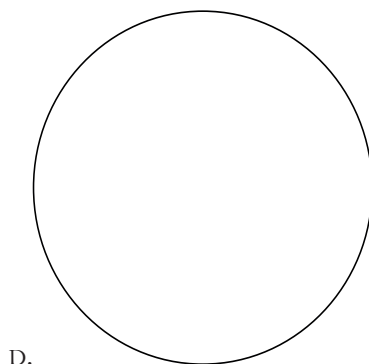
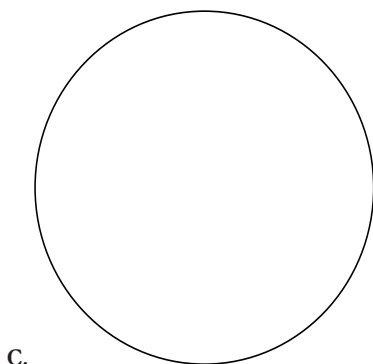
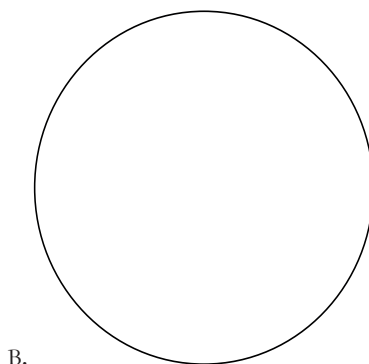
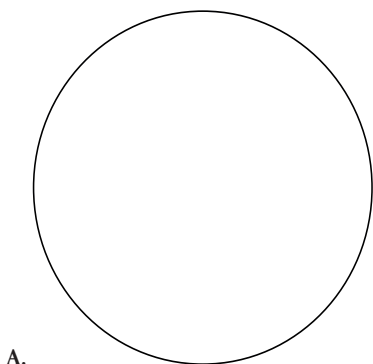
„A” - kép	„B” - kép
A. Desztillált vízbe tettük B. Savas közegbe tettük C. (normál) C3-as növényt megvilágítottunk nappali fényvel E. Tömény cukor-oldatba tettük F. CAM növényt napra tettük G. C4 növényt magas CO ₂ -tartalmú légtérbe helyeztünk.	A. Desztillált vízbe tettük B. Savas közegbe tettük C. (normál) C3-as növényt megvilágítottunk nappali fényvel D. Száraz helyre tettük E. Tömény cukor-oldatba tettük F. CAM növényt napra tettük G. C4 növényt magas CO ₂ -tartalmú légtérbe helyeztünk.

3) Termékek vizsgálata

1.5. Készítsen a Petri csészékben kapott termésekről **KERESZTMETSZETI** (a kocsány meghosszabbítására merőleges síkú) képet **ceruzával!** (Egy mintát eleve elmentszve kapott, ezt már nem kell szétvágnia ☺). A rajzon ügyeljen arra, hogy azoknak a részeknek a részleteit is megfelelő színnel tüntesse fel, amelyeket nem sikerült elmentsenie! Az ábra betűjelölései a tartódobozon láthatónak feleljenek meg.

Színezz be színes ceruzával a rajzot a következő módon:

- **Piros:** termő (magház) falából származó rész.
- **Kék:** magkezdemény burkából származó rész.
- **Zöld:** a magkezdemény többi részéből származó rész.
- **Sárga:** a termő (magház) borszövetéből származó rész.
- **Barna:** NEM a viráglevelekből származó rész.



VI. ÁLLATTAN

Ebben a tesztben a következő feladatokat kell megoldania:

- 1) *Drosophila* fenotípusok meghatározása
- 2) A *Drosophila* egyedfejlődése
- 3) Nyolc póntaxon filogenetikai fájának meghatározása

Eszközök és anyagok:

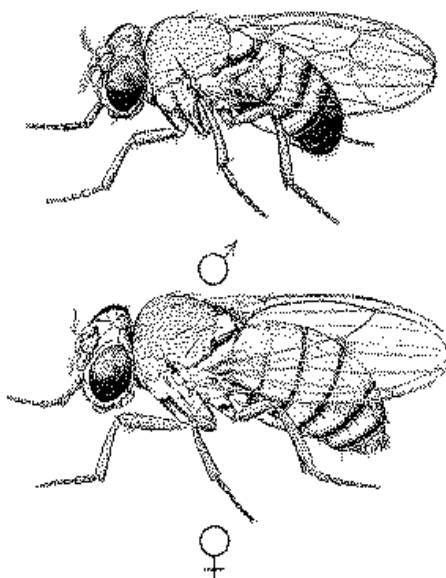
Sztereomikroszkóp

Fénymikroszkóp

5 üvegcsőben *Drosophila* tenyészetek (1-5 sorszámmal ellátva)

színes lap átlátszó fóliában az ecetmuslicák fenotipizálásához

5 db metszet a *Drosophila* egyedfejlődéséről (közösén kell használni!)



1. ábra

1) *Drosophila* fenotípusok meghatározása

Ebben a gyakorlatban egy, a genetikai kutatásokban fontos modell-organizmus, a *Drosophila melanogaster* mutációit kell megállapítania. A *Drosophila melanogaster* kistermetű, a *Diptera* közé tartozó légy, amely a holometabolák közé tartozik. Mind lárvái, mind a felnőtt egyedek rothadó gyümölcsön élnek, és a jelen lévő gombákat és baktériumokat fogyasztják. A csoport evolúciója talán a trópusi Afrikából indult ki. A XX. század első évtizedében megkezdődött kutatásában az áttörés akkor történt, amikor Morgan megkezdte munkáját a fajjal. Fő érvként jött szóba mellette könnyű tarthatósága, rövid generációs ideje, testének, különösen testfelszínének morfológiai értelemben vett tagoltsága, azaz a morfológiai markerek gazdagsága; mindezen sajátságok alapján Morgan számára korán világossá vált, hogy a genetikai kutatásokra kiemelkedően alkalmas organizmussal van dolga. A *Drosophila* hamarosan a genetika legalaposabban elemzett organizmusává vált. Morgan 1933-ban, első olyan kutatóként, aki nem volt végzett orvos, megkapta az orvosi Nobel-díjat, elsősorban a kromoszomális szexdetermináció és a rekombináció elveinek tisztázásáért. Laboratóriumában, a híres Légyszobában, minden idők egyik leggyümölcsözőbb tudományos műhelyében vele dolgoztak – hogy csak a leghíresebbeket említsük – Calvin Bridges (nondiszjunkció, a kromoszómaelmélet végleges bizonyítása), Alfred Sturtevant (genetikai térképezés alapjai), és a később szintén Nobel-díjas (1946) H.J. Muller, aki a Röntgen-sugár mutagén hatását felfedezte, és elsőként kiaknáztta, megmutatva, hogy mesterségesen is lehet mutációkat előidézni. A *Drosophila*-kutatást szinte a kezdetektől kitüntetett figyelem kísérte, és alig volt olyan alapvető biológiai kérdés, amelynek analízisében ne lett volna szerepe, legyen az biokémiai, viselkedési, vagy evolúciós indíttatású. Az információ, és a törzsek, klónok cseréje hagyományosan kiváló a *Drosophila*-kutatók között, így a *Drosophila melanogaster* az idők folyamán különlegesen jól megalapozott genetikai rendszerré vált. A *Drosophila*-n végezhető genetikai kísérletek kifinomultsága páratlan, ez adja a rendszer igazi erejét.

A *Drosophila melanogaster* 4 kromoszómapárral bír, három autoszóma-, és egy nemi kromoszómapárral (az egyéb *Drosophila*-knál a diploid kromoszómaszám, $2n$, 6-12-ig terjed). Hagyományosan a metacentrikus X az 1. kromoszóma, mellette 2 nagy metacentrikus kromoszóma (a 2. és a 3.), és 1 kis akrocentrikus kromoszómája van (4.). Az XX egyedek nőstények, az XY egyedek hímek. Az Y-kromoszómán nincsenek vitális génfunkciók, azaz az Y-kromoszómát nélkülöző hím egyed is él, és morfológiailag normális, de terméketlen az Y-kromoszóma fertilitási génjeinek hiányában. Rekombinációs térképezéssel a géneket lineáris kapcsoltsági csoportokba lehetett rendezni.

Több olyan specializált sejttypus van, amely kromoszómáit replikálja ugyan, de nem megy át mitózison („endomitózis”). Az eredmény óriás-, vagy politén kromoszómák létrejötte, amelyek tulajdonképpen interfázisos DNS, és a hozzájuk kapcsolódó fehérjék kötegei.

A gyakorlat

Először különböző fenotípusú ecetmuslicákat kell vizsgálnia és meghatározni a pontos fenotípusukat. Az ecetmuslicák legtöbb ismert mutációja a szemükre, a testükre, illetve a szárnyukra hat. A következőkben ezek közül ismertetünk néhányat. A leggyakoribb típusok jellemző képeit az asztalon található, átlátszó irattartóban lévő kép mutatja.

Szem	E1. bar	téglalap alakú szem
	E2. eyeless	csökevényes, pici szem
	E3. white	fehér szem
	E4. mini white	narancs színű szem
	E5. vermilion	fényes pirosas, narancs színű szem
	E6. sepia	barna színű szem
test	B1. yellow	sárga testszín
	B2. ebony	fekete testszín
	B3. tubby	rövid, zömök test
szárny	W1. vestigial	csökevényes szárny
	W2. serrate	rojtos végű szárny
	W3. curly	kunkori szárny
	W4. Dichaete	szétálló szárnyak

1.1. Az 1. sorszámú üvegcsőben a vad típusú muslicák, míg a 2-5. sorszámúakban mutáns törzsek találhatók. Feladata, hogy a vad típussal történő összehasonlítás alapján megállapítsa, hogy az egyes tenyészetek milyen mutációkat tartalmaznak. Jegyezze fel az alábbi táblázatba a megfelelő mutációk jelzéseit (pl. „B7.”)! Vegye figyelembe, hogy egy muslica akár többféle mutációt is hordozhat egyszerre. Ügyeljen a vattadugóra, hogy az mindvégig biztonsággal az üvegben maradjon! (15 pont)

üvegcső sorszáma	szem-mutációk	test-mutációk	szárny-mutációk
2			
3			
4			
5			

Három gén lokalizációját felderíteni kívánó genetikai vizsgálatban ecetmuslicákat vizsgáltak. A vizsgált gének két allélosak és domináns-recesszív módon öröklődnek, valamint mindegyikre igaz, hogy recesszív mutációik egyedül felelősek egy-egy morfológiai bélyeg kialakulásáért. A genetikusok a következő jelöléseket használták:

kunkori szárny: cy vad típus: +
 bar szem: b vad típus: +
 fekete test: e vad típus: +

Először mindig birecesszív egyedeket kereszteztek vad típusúakkal, majd az F1 nemzedéket újra birecesszív egyedekkel keresztezték. A keresztezések során a következő eredményeket kapták:

Szülői nemzedék	bar szem-fekete test (b/b e/e) X vad típus (+/+ +/+)
F1 X birecesszív	bar szem-fekete test: 223 vad típus: 228 bar szem - vad típusú test: 27 vad típusú szem – fekete test: 24

1.2.a. Igaz-hamis állítás. (1 pont)

Írja a kódkockába a T (igaz) vagy F (hamis) betűt az alapján, hogy az alábbi állítás igaz vagy hamis!

A bar szem és a fekete test génje kapcsolatos öröklődik.	
--	--

1.2.b. Adja meg a két gén közötti rekombinációs gyakoriságot százalékban kifejezve! (egész százalékokra kerekítsen!) (2 pont)

1.2.c. Adja meg az F1 egyedek genotípusát a fenti jelölésekkel! (2 pont)

Szülői nemzedék	kunkori szárny - fekete test (cy/cy e/e) X vad típus (+/+ +/+)
F1 X birecesszív	kunkori szárny - fekete test: 185 vad típus: 191 kunkori szárny - vad típusú test: 14 vad típusú szárny – fekete test: 10

1.3.a. Igaz-hamis állítás (1 pont)

Írja a kódkockába a T (igaz) vagy F (hamis) betűt az alapján, hogy az alábbi állítás igaz vagy hamis!

A kunkori szárny és a fekete test mutációk génjei külön kromoszómán helyezkednek el.	
--	--

1.3.b. Adja meg a két gén közötti térképtávolságot cM-ben kifejezve! (egész számra kerekítsen!) (2 pont)

1.3.c. Adja meg kunkori szárnyú – vad típusú testű egyedek genotípusát a fenti jelölésekkel! (2 pont)

Szülői nemzedék	kunkori szárny – bar szem (cy/cy b/b) X vad típus (+/+ +/+)
F1 X birecesszív	kunkori szárny – bar szem: 259 vad típus: 248 kunkori szárny - vad típusú szem: 41 vad típusú szárny – bar szem: 47

1.4.a. Igaz-hamis állítás (1 pont)

Írja a kódkockába a T (igaz) vagy F (hamis) betűt az alapján, hogy az alábbi állítás igaz vagy hamis!

A kunkori szárny és a bar szem mutációk génjei valószínűleg azonos kromoszómán helyezkednek el.	
---	--

1.4.b. Adja meg a két gén közötti térképtávolságot cM-ben kifejezve! (egész számra kerekítsen!) (2 pont)

1.4.c. Adja meg kunkori szárnyú – bar szemű egyedek genotípusát a fenti jelölésekkel! (2 pont)

1.5. Rajzolja fel, hogyan helyezkedik el a három vizsgált gén a muslica kromoszómáin vagy kromoszómáján! A géneket a recesszív allélok jeleivel jelölje, és tüntesse fel a térképtávolságokat is, amennyiben ez releváns! (5 pont)

A fenti három génnel trihibrid keresztezést is végeztek olyan módon, hogy szülői nemzedékként vad típusú egyedeket kereszteztek bar szemű – fekete testű – kunkori szárnyú egyedekkel. Az F1 nemzedéket azután továbbkeresztették trirecesszív egyedekkel. A keresztezés eredményét az alábbi táblázat mutatja (szárny – test – szem sorrendben):

vad típus	862
kunkori – fekete – bar	828
vad – fekete – bar	51
kunkori – vad – vad	59
vad – vad – bar	102
kunkori – fekete – vad	88
vad – fekete – vad	6
kunkori – vad – bar	4

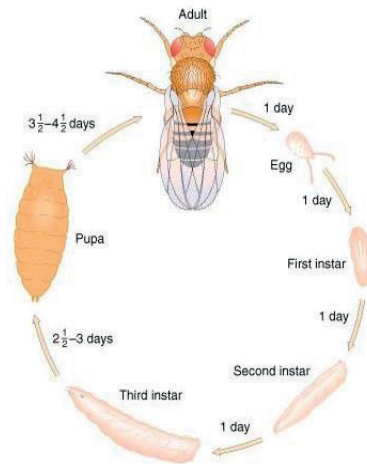
1.6.a. Melyik két mutáció génjei közti távolság értékét kell módosítanunk a fenti adatok alapján? Tegyen pipát a megfelelő helyre! (2 pont)

kunkori-fekete	
fekete-bar	
kunkori-bar	

1.6.b. Hány cM a módosított térképtávolság? (3 pont)

2) A *Drosophila* egyedfejlődése

A legyek fejlődése



2. ábra: Az ecetmuslica életciklusa

A rendkívül struktúrált petét (lásd Fejlődésbiológia I. és II.) a *Drosophila* a táptalaj felszínére, vagy kissé a táptalajba fúrva rakják le. Az apró, fehér lárvák kibújása 25°C-on 1 napot vesz igénybe. Kibújásuk után beássák magukat a médiumba, és élesztővel táplálkoznak. A lárvák sejteinek döntő többsége politén, a lárvá belsejében meghatározott helyeken 2n kromoszómaszámú sejtekből álló sejtsomagok, imaginális diszkuszok vannak, ezek sejtjei (és az ún. hisztoblasztok) alakítják ki a felnőtt egyed testtájainak döntő részét. Három lárvastádium van, amelyeket vedlések választanak el; a lárvák felfoghatók „zabálógépekként”, amelyeknek elsődleges funkciója a leendő felnőtt egyed felépítő sejtek elődjeinek fenntartása. Egy hétnyi fejlődés után a lárvák elérik teljes méretüket, kimásznak a tenyészedény oldalára, vagy a szűrőpapírra, és bebábozódnak. A bábban (pupa) lezajlik a metamorfózis, a lárvális szövetek döntő része feloldódik, az imaginális diszkuszokból és a potroh kialakulásához szükséges hisztoblasztokból kialakul az imágó (a metamorfózisnak ezt a drasztikus formáját szokás „katasztrofális” jelzővel ellátni). A felnőtt egyedek rendkívül hasonlóak, fontos morfológiai jegyeiket (összetett szem, háti szőrök, potroh morfológiája, stb) áttekintjük a gyakorlaton.

A *Drosophila* zigótájának sejtmagi osztódását eleinte nem követi a sejtek kettéválása, hanem csak sejtsomagok keletkeznek a mitózis során. Ezek kezdetben a tojás alakú sejt közepében helyezkednek el, majd pedig marginális helyzetbe vándorolnak. A citokinézis ekkor következik be, így alakul ki a hólyagcsíra, amelynek további fejlődésével jön létre az embrió.

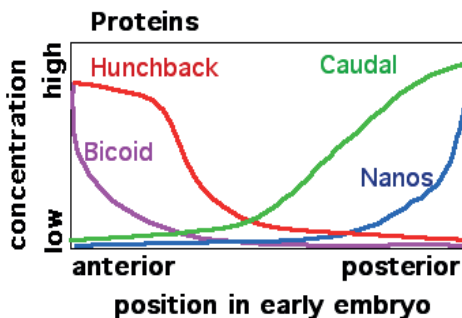
A *Drosophila* egyedfejlődésében (mint minden szövetes élőlény esetén) kulcsfontosságú, hogy minden sejt tudja magáról, hogy pontosan hol helyezkedik el, mert ez a tény determinálja a sejt utódainak sorsát, azaz, hogy mely szervek, testrészeket fejlődnek ki belőlük a későbbiek során. A pontos lokalizációt minden sejt a bennük található differenciálódást befolyásoló fehérjék koncentrációja alapján határozza meg. E fehérjék befolyásolják a transzkripciót és így az egyes sejtekben eltérő génexpressziós mintázat juthat érvényre.

A *Drosophila* embrió genetikai boncolását in situ hibridizációval szokás végezni. E módszer célja, hogy a megfelelő életkorú embrióban meghatározzuk az elsődleges géntermékek, azaz a mRNS-ek eloszlását. Ha ismerjük a géneket, akkor a róluk képződő mRNS-ekhez gyártott kromogén fehérjéhez kapcsolt komplementer szakaszok szintetizálhatók. E molekulákat megfelelő módszerekkel (többszöri mosás és érzékenyítés után) bejuttatva az embrióba, azok hibridizálnak a mRNS-ekkel és a hozzájuk kapcsolt kromogén enzimek egy szintelen vegyületet színessé tesznek azokon a helyeken, ahol a kérdéses mRNS-ek feldúsultak. Az embriónak így mindig az a része lesz színes, ahol a vizsgált mRNS koncentrációja magas és a színerősség egyenesen arányos lesz a mRNS koncentrációval. Ezzel a módszerrel számos, a differenciálódást jelentősen befolyásoló elsődleges géntermék eloszlását határozták meg.

1.7. (15 pont) Feladata, hogy a társaival közösen használt és a teremfelügyelőtől kérhető metszeteken található, in situ hibridizációval kezelt embriókat lerajzolja 40X vagy 100X össznagyítású mikroszkópos vizsgálat alapján! Egyszínű sátrózással jelezze a festékek színének megjelenését! Elegendő egyetlen embriót rajzolni metszetenként!

engrailed	
knirps	
hunchback	
hairy	
giant	

Az alábbi 3. ábra négy, az embriogenezis térfolyamataiban szerepet játszó fehérje relatív koncentrációit mutatja az embrió anterior-posterior tengelye mentén. Tanulmányozza az ábrát, majd oldja meg a következő oldal feladatait!



3. ábra

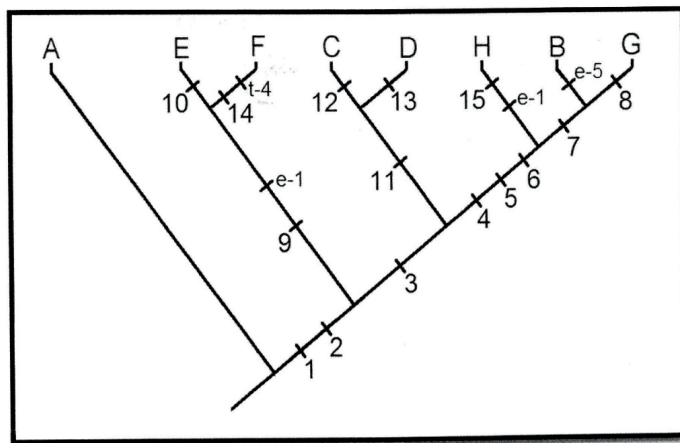
1.8. Igaz-hamis állítások. Tegyen pipát az állítások melletti megfelelő oszlopba (I=igaz; F=Hamis)

Állítás	F	T
A bicoid fehérje gátolja az embrió posterior oldalán a nanos fehérje szintézisét.		
Valószínűbb, hogy a caudal fehérje szintézise áll a nanos irányítása alatt és nem fordítva.		
A hunchback fehérje koncentrációja az anterior oldalon a nanos gátlása alatt áll.		
A bicoid fehérje mRNS-e valószínűleg korai maternális eredetű.		
Nincsenek olyan régiók az embrióban, ahol mind a négy fehérje azonos koncentrációban van jelen.		
Az in situ hibridizáció előkészítő szakasza során lehet hőkezelést alkalmazni, mert az nem befolyásolja a módszer eredményességét.		
Az in situ hibridizációval a fenti 4 fehérje eloszlása biztonsággal megállapítható.		

3) Nyolc póktaxon filogenetikai fájának meghatározása

Az alábbi adattáblázat (Data Matrix) hipotetikus póktaxonokat (A-tól H-ig), és a hozzájuk tartozó karaktereket (a-tól t-ig) tartalmazza. A táblázat alapján az A taxon alkotja a külsoportot (outgroup), a többi 7 taxon (B-H) a belcsoportokat (ingroup). A '0' karakterállapot (Character state) az ősi (pleziomorf), a többi ('1-6') karakterállapot a származtatott (apomorf) karakterállapot. A '-' a karakter hiányát jelenti. Szinapomorfiák (közös származtatott karakter) segítségével rekonstruálhatjuk a kladogramot (törzsfát). Minden változás (sorszámok) egy-egy evolúciós lépést jelöl (pl.: e-5, t-4). A 4. ábrán látható a leginkább parszimón törzsfá, amelyen a karakterek változása is ábrázolva van. A sorszámok (1-től 15-ig) 15 lépést (evolúciós változást) jelölnek a fán.

Taxonok	Karakter													
	a	b	c	d	e	f	g	h	m	n	o	p	s	t
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
B	1	1	0	1	5	0	0	1	1	1	0	0	2	-
C	1	1	0	1	6	0	0	0	0	0	0	0	2	-
D	1	1	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	2	-
E	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3
F	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	4
G	1	1	0	1	4	0	0	1	1	1	0	0	2	-
H	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	2	-



4. ábra

1.9. Írja be az ANSWER SHEET-en az evolúciós változásoknak (1-15) megfelelő karakter kódját, és a karakterállapotát (pl. e-1). (18 pont)

1.10. A kladogram (4. ábra) alapján válaszoljon a következő kérdésekre!

1.10.1. Összesen hány lépés található a kladogramon? (2 pont)

1.10.2. Az e-1 karakteren kívül melyik karakter homoplázia (nem homológia)?

1.10.3. A következő taxonok közül melyik a {C, D} taxon testvércsoportja (sister group)?

(A) {E, F} (B) {H, B, G} (C) {F} (D) {H} (E) {B, G}

1.10.4. Tegyen 'X'-et az ANSWER SHEET-en található táblázat 'Igaz' oszlopába, ha az adott sorhoz tartozó karakter az evolúció során **HAMARABB** jelent meg, mint az m-1 karakter a kladogram alapján, egyébként az 'X'-et a 'Hamis' oszlopba tegye!

Karakter
s-1
s-2
a-1
g-1
d-1

1.10.5. Az ANSWER SHEET-en található táblázat második oszlopába jelezze, hogy az alábbi taxonok milyen csoportot alkotnak: Írjon 'I' –et a polifiletikus csoportokhoz, 'II'-t a parafiletikus csoportokhoz, 'III'-at a monofiletikus csoportokhoz.

Taxon
{H}
{B, C, G, H}
{C, D, E, F}
{B, G, H}
{B, E, G}

ANSWER SHEET

1.9. (1,2 pont minden celláért, összesen 18 pont)

1	2	3	4	5

6	7	8	9	10

11	12	13	14	15

1.10.1. (2 pont)

1.10.2. (2 pont)

1.10.3. (2 pont)

1.10.4. (0,4 pont minden helyes válaszáért, összesen 2 pont)

Karakter	Igaz	Hamis
s-1		
s-2		
a-1		
g-1		
d-1		

1.10.5. (1 pont minden celláért, összesen 5 pont)

Taxon	Csoport
{H}	
{B, C, G, H}	
{C, D, E, F}	
{B, G, H}	
{B, E, G}	

VII. Enzimkinetika

Ebben a tesztben a következő feladatokat kell megoldania:

1) Burgonya peroxidáz enzim kinetikai jellemzőinek vizsgálata

2) Csírázó lucernanövények vizsgálata

1) Burgonya peroxidáz enzim kinetikai jellemzőinek vizsgálata

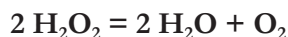
Anyagok és eszközök a tanulói asztalon:

- jégtartó edény jéggel
- jeges burgonyakivonat főzőpohárban
- kémcsőállvány kémcsövekkel
- 2 mL-es osztott pipetta
- 10 mL-es mérőhenger
- desztillált víz
- parafilmlemez lezárt kémcső, benne 30%-os hidrogénperoxid
- nehezített szűrőpapír korongok
- milliméter papír
- ceruza
- vonalzó
- stopperóra vagy másodperc mutató óra
- csipesz
- sárga műanyag szélesztőpálca

közösen használható (a felügyelő tanártól lehet kérni):

- 1000 µL-es automata pipetta hegyekkel

Ebben a gyakorlatban a burgonyában lévő peroxidáz enzim kinetikai jellemzőit kell megmérnie és kiszámítani. A peroxidáz enzimek a sejtek legfontosabb védőenzimeik az oxidatív stressz ellenében. Feladatuk, hogy a peroxid gyököket elbontsák a következő egyenlet szerint:



A gyakorlat során a burgonyából nyert peroxidáz enzim katalitikus jellemzőit ($v_{\max}$ és K_m) határozza majd meg.

A szervezetben működő biokatalizátorokat nevezik enzimeknek (ami görögül „élesztőből származó”-t jelent. A régebben szinonimaként használt fermentum szó ugyanazt jelenti latinul.

Csaknem minden a sejtben végbemenő reakciót enzimek katalizálnak. Az enzimek zöme fehérje, de egyes (ribo)nukleinsavak is rendelkeznek enzimaktivitással. Ez utóbbiakat **ribozimeknek** (ribonukleinsav-enzimeknek) nevezzük. Ribozimek mesterségesen, kísérleti

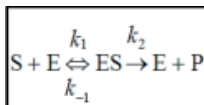
úton is előállíthatók, de a természetben is előfordulnak, s olyan alapvetően fontos reakciókat katalizálnak, mint pl. az RNS-ek vágása ("splicing"), valamint újabb eredmények szerint a fehérjeszintézis során a peptidkötés létrejöttét.

A termodinamika törvényei természetesen az enzimek által katalizált reakciókra is érvényesek:

- az enzimek termodinamikailag *előnyös* reakciók végbemenetelét segítik elő az által, hogy az **aktiválási energiát csökkentik**.
- Az enzimek által katalizált reakciók egyensúlyi állandója azonos a nem katalizált reakció egyensúlyi állandójával, azaz az enzimek nem változtatják meg az egyensúlyi helyzetét, csak meggyorsítják annak beálltát. A biológiai rendszerekben azért van szükség enzimekre, mert az élethez szükséges reakciók egyébként nem következnének be elég gyorsan.
- A szervesetlen katalizátorokkal ellentétben az enzimek enyhe körülmények között, tehát vizes közegben, pH 7 körül, általában 20-40°C-on lehetővé teszik a reakciók végbemenetelét.
- Rendkívül hatékonyak: $10^6 - 10^{16}$ -szorosra fokozzák a reakciók sebességét!

Az enzimek működését aktivitásnak nevezzük. Az aktivitás pontos és törvényes (SI) egysége a kat, azaz katalitikus aktivitás, ami egy másodperc alatt végbemenő 1 mol-nyi szubsztrát átalakítását jelenti ($\text{kat}[\text{mol}^{-1}]$). A klinikai kémiai gyakorlatban a nem hivatalos (nem SI), de nemzetközileg elfogadott nemzetközi egység U (unit) a használatos aktivitást jelző. Az U meghatározása nemzetközileg standardizált és egy literre vonatkoztatott (U/L) egység minden enzim esetében.

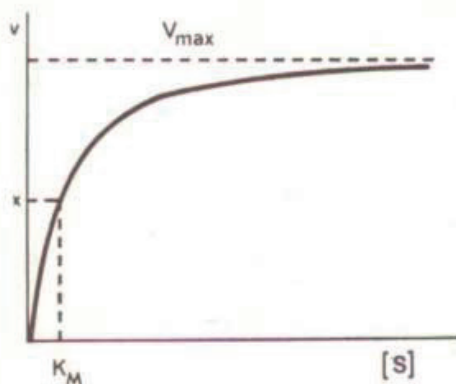
Michelis-Menten kinetika



A **katalitikus hatékonyság** mellett az enzimek fontos jellemzője a **specifitás**. Minden enzim csak egy bizonyos típusú reakció végbemenetelét és csak bizonyos vegyületek átalakulását serkenti. Azokat a vegyületeket, amelyek a katalizált reakció során megváltoznak **szubsztrátoknak (S)** nevezzük, a keletkező vegyületek a **termékek (produktumok, P)**. Az enzim specifitása lehet abszolút vagy részleges. Míg az első esetben az enzim egyetlen szubsztráttal reagál, a részleges specifitást mutató enzimek több, szerkezetileg hasonló vegyület átalakítását katalizálják.

Az enzimek "jóságát" az **enzimkinetika** segítségével tudjuk jellemezni. Mint minden kinetika, az enzimkinetika is a reakció időbeli lefolyását írja le. Annyiban különbözik a kémiai kinetikától, hogy csak bizonyos reakció-feltételek mellett érvényes és olyan állandókat vezet be, amelyek az enzimreakciók jellemzésére különösen alkalmasak. Az első általánosan elfogadott leírás Michaelis és Menten nevéhez fűződik, ezért beszélünk **Michaelis-Menten kinetikáról**, ill. ennek feltételeiről. A legegyszerűbb enzimreakciónál az enzimenk csak egy katalitikus helye van, s az enzim egyetlen szubsztrát terméké váló átalakulását katalizálja. Ha

a reakció során az **enzimkoncentráció állandó**, akkor az **enzimreakció sebessége a szubsztrát koncentrációjától függ**: $V = f[S]$. Ha az enzimreakció sebességét a szubsztrát-koncentráció függvényében meghatározzuk és az eredményeket a koordináta-rendszerben ábrázoljuk, akkor egy hiperbolát kapunk. Azaz kezdetben a reakció sebessége a szubsztrátkoncentrációval arányosan nő, majd ez a növekedés lelassul, és nagyon magas (végtelen) szubsztrátkoncentrációnál aszimptotikusan tart egy maximum értékhez, amit $V_{\max}$ -nak nevezünk. A szubsztrát koncentrációját koncentráció-egységekben, tehát [M]-ban (μM , mM) mérjük, a V reakciósebességet [mMól keletkezett termék/min/mól enzim]-ben adjuk meg, vagy ha nem ismerjük az enzim molekulatömegét, akkor mg enzimre vagy fehérjére vonatkoztatjuk.



1. ábra: A reakciósebesség (v) változása a $[S]$ szubsztrátkoncentráció függvényében

Mit jelent a görbének az ilyen fajta lefutása szavakban megfogalmazva? Ha a szubsztrát koncentrációja nagyon magas, akkor minden enzim molekula

Mit jelent a görbének az ilyen fajta lefutása szavakban megfogalmazva? Ha a szubsztrát koncentrációja nagyon magas, akkor minden enzim molekula enzim-szubsztrát komplex formájában lesz jelen, hiszen amint a termék ledisszociál az enzimről, a szubsztrát azonnal hozzákötődik. Ebben az esetben a reakció eléri a lehetséges **maximális sebességet, a $V_{\max}$ -ot**. A maximális sebesség egy adott enzimkoncentrációnál az átalakulás sebességi állandójától, a k_{cat} **katalitikus állandótól függ**. A k_{cat} -ot átalakítási számnak is nevezik, mert megmondja, hogy időegység alatt egy enzim molekula hány molekula szubsztrátot alakít át terméké.

Általában ilyen végtelenül magas szubsztrátkoncentrációt nem érünk el. A Michaelis-Menten kinetika olyan körülmények között érvényes, amikor a szubsztrát az enzimhez képest feleslegben van jelen (sokkal több a szubsztrát mint az enzim), de nem végtelen feleslegben. Természetesen, ha sokáig várnánk, akkor az enzim a szubsztrát nagy részét átalakítaná, tehát a S -koncentráció alacsonnyá válhatna. De nem ezt tesszük, hanem a reakció ún. **kezdeti sebességét V -t** (szokták V_0 -nak vagy V_i -nek is nevezni, utalva ezzel a kezdeti, „iniciális” voltára) mérjük abban az időintervallumban, amikor a reakció kezdetén a S -koncentráció még csak olyan kevésbé csökkent, hogy a csökkenés a S teljes koncentrációjához képest elhanyagolhatóan kicsi. Ilyen körülmények között a reakcióelegybe bémért szubsztrát teljes koncentrációját azonosnak tekinthetjük a szabad szubsztrát koncentrációjával.

Még egy fontos feltételnek kell az enzimkinetikai mérések során teljesülnie: A reakció sebességét a dinamikus egyensúly (**steady-state**) állapotában kell mérnünk. Ebben az

állapotban időegység alatt ugyanannyi enzim-szubsztrát komplex keletkezik, mint amennyi lebomlik, más szóval: az ES-komplex koncentrációja időben állandó. Ez akkor van így, ha a teljes enzimreakció sebesség meghatározó lépése az ES-komplex szabad enzimmé és terméké váló átalakulása és a szubsztrát az enzimhez képest nagy feleslegben van. Ekkor érvényes: $V = k_{\text{cat}} [\text{ES}]$. Mivel az enzim-szubsztrát komplex koncentráció nehezen lenne mérhető, az egyenletet a kiadott anyagban bemutatott módon matematikailag átalakítjuk, hogy jól meghatározható állandókat, ill. független változót tartalmazzon. A fent felsorolt feltételek mellett az átalakítás korrekt és jogos. Az átalakítás után látjuk, hogy az enzimreakció sebessége V két állandótól, a V_{max} -tól és a K_M -tól, valamint a szubsztrát teljes koncentrációjától $[S]$ -től függ az alábbi módon:

$$V = V_{\text{max}} \cdot \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

A V_{max} jelentését már megbeszéltük. A K_M az ún. **Michaelis-Menten állandó**, ami formálisan annak a szubsztrát-koncentrációnak felel meg, amelynél a reakció sebessége a V_{max} felével egyenlő. A K_M -et az egyenlet levezetésekor a kinetikai állandókkal definiáltuk:

$$K_M = \frac{k_2 + k_{\text{cat}}}{k_1}$$

Ha a reakcióban a katalitikus állandó k_{cat} sokkal kisebb, mint az ES-komplex visszaalakulásának a sebességi állandója k_2 , akkor $K_M = k_2 / k_1 = K_D$. Szóban: ebben az esetben a Michaelis-Menten állandó közel egyenlő lesz az ES-komplex disszociációs állandójával. Minél kisebb a disszociációs állandó annál kisebb a K_M és annál nagyobb az enzimreakció sebessége. „**Jó**” enzim: **alacsony K_M** (persze nem ez az egyetlen kritérium!). Ha a szubsztrát-koncentráció sokkal nagyobb a K_M értékénél, akkor $V \approx k_{\text{cat}}$. Ez általában nem így van, inkább a K_M szokott nagyobb lenni. Az enzim „jóását” ekkor a k_{cat} / K_M -érték jellemzi, aminek a határértéke a k_1 , az ES-komplex keletkezésének sebességi állandója. Ezzel az értékkel akkor lesz egyenlő a k_{cat} / K_M , ha az ES-komplex szabad enzimmé és szabad szubsztrátté váló visszaalakulásának sebessége nagyon alacsony, tehát $k_2 \ll k_1$, úgyhogy k_2 elhanyagolható. Mivel a k_1 nem lehet nagyobb, mint a diffúzió sebessége, a k_{cat} / K_M sem haladhatja meg ezt az értéket, tehát

$$k_{\text{cat}} / K_M \leq 10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

A gyakorlat során nehezített szűrőpapírkorongokat használunk majd a peroxidáz enzim által katalizált reakció sebességének meghatározásához. A korongokat enzimoldatba mártva majd különböző koncentrációjú hidrogén-peroxid oldatba helyezve a keletkező oxigén előbb-utóbb felemeli a korongokat. A keletkező gáz miatt feltételezzük a mérés során, hogy a korongok felemelkedéséhez szükséges idő fordítottan arányos a reakciósebességgel.

A gyakorlat során a következőket kell tennie:

1. Készítsen hígítási sorozatot az üres kémcsövekbe az alábbiak alapján:
 - a. A parafilmrel lezárt kémcsőben 20 mL 30 v%-os hidrogén-peroxid oldatot talál.
 - b. Osztott pipetta és a közösen használható automata pipetta valamint a mérőhenger segítségével készítse el a következő koncentrációjú oldatokat kb. 15 ml mennyiségben:

15 v%; 7,5 v%; 3,75 v%; 2 v%; 1 v%; 0,5 v%; 0,25 v%; 0,1 v%

Ügyeljen arra, hogy az oldatok homogén eloszlásban tartalmazzák a hidrogén-peroxidot!

Ügyeljen arra is, hogy a folyadékszintek egyformák legyenek a kémcsövekben!

2. Mártson egy szűrőpapírkorongot csipesz segítségével az enzimoldatba, és hagyja ott addig, amíg az megszívja magát a folyadékkal!
3. Ezután dobja a korongot a megfelelő hidrogén peroxid oldatba, és indítsa el a stoppert!
4. Várjon addig, amíg a korongok feljönnek a felszínre, és olvassa le az eltelt időt.
5. Jegyezze fel az alábbi táblázatba az eredményeket!
6. Ismételje meg a teljes mérést még egyszer, de a hígítási sorozatnak csak az utolsó három tagját kell újra elkészítenie!

1.1. Töltse ki a táblázatot! (16 pont)

[H ₂ O ₂] (v%)	1/[H ₂ O ₂]	1. mérés	2. mérés	Átlag idő

1.2. A kapott milliméter papíron ábrázolja az eltelt időt a szubsztrát-koncentráció reciprokának függvényében! (12 pont)

1.3. Jelölje be a grafikonon a megfelelő pontokat a $v_{\max}$ és a K_m leolvasásához és adja meg az értékeket a felhasznált mértékegységek segítségével! (22 pont)

$V_{\max}$	
K_m	

2) Csírázó lucernanövények vizsgálata

Az elsődleges gyökér hosszát meghatározó gén vizsgálata

A lucerna elsődleges gyökerének hosszát a kutatások alapján egyetlen gén befolyásolja. Az érintett gén domináns-recesszív öröklésmentet mutat. A vad típusú, eredeti allél domináns, míg ennek mutációja recesszív. A gén domináns allélja mind homozigóta, mind heterozigóta formában normál gyökérhosszt eredményez, míg a recesszív homozigóta egyedek elsődleges gyökere sokkal rövidebb, így a növények életképessége is jóval kisebb a normál genotípusú egyedekhez képest. A kutatók megállapították a két allél bázissorrendjét, amelyből kiderült, hogy mindössze egyetlen bázisnyi különbség van köztük. A mutáns recesszív allél tartalmaz egy BamHI restrikciós hasítóhelyet, míg a bázissorrend-különbség miatt ez a hasítóhely nem létezik a vad típusú, domináns allélban.

Ez a különbség lehetőséget ad arra, hogy gélelektroforézis segítségével tanulmányozzuk az egyes egyedek genotípusát. A genotípus meghatározás (genotipizálás) első lépése, hogy a vizsgált növény DNS-t tisztítanak, majd a gént felszaporítják PCR módszerrel. Az így keletkezett DNS tartalmú oldatot BamHI restrikciós enzimmel kezelik, majd az enzimreakció lezajlása után a terméket gélelektroforézisnek vetik alá.

Feladata, hogy három, bevizsgálásra szánt növény („A”, „B”, „C”) genotípusát megállapítsa a fenti eljárás segítségével. A gyakorlat elvégzése során a következő lépéseket kövesse.

- A PCR-rel felszaporított DNS-minták a megfelelő jelzésű tartóban lévő PCR csövekben vannak.
- A másik szivacsban találja a BamHI hasítóenzimeket liofilizált formában PCR-csőben (fehér tartóban), szinten a megfelelő betűjelekkel.
- A sötétkék folyadékot tartalmazó cső a loading dye, erre csak a gél feltöltésekor lesz szüksége.

I) Ezt a lépést mindhárom DNS-mintával („A”, „B”, „C”) külön-külön el kell végeznie! Természetesen minden mintához új pipettahegyet használjon! A 2-20 µL-es mikropipetta segítségével töltsön 20 µL-t a megfelelő jelzésű, enzimet tartalmazó PCR-csőbe. Ha bemérte a teljes mennyiségű DNS-oldatot, akkor kb. 10-12 µL-re állítva a pipettát, a beméréshez használt hegygel 3-4 alkalommal szívassa fel-le az oldatot, a megfelelő elkeveredés végett. Ez a lépés akkor teljes, ha az oldat színe mindenütt egyenletesen kék.

II) Ha elkészült, jelölje meg valamilyen egyéni jellel a PCR-csöveket tartalmazó szivacsot, majd szóljon a teremfelügyelőnek! Tegyük a mintákat a 37 fokos termosztátszekrénybe 45 percre. Az időre saját magának kell figyelnie. *(A túl sokáig benttartott DNS elbomlik.)*

2.1. TEREMFELÜGYELŐ: _____

2.2. Az elektroforézishez 20 mL, 1,2 vegyes %-os (1,2 g/100 cm³ oldat) agaróz-oldatot kell készítenie. Hány mg agarózra van ehhez szükség?

_____ mg

Készítse elő a géltálcát a gél öntéséhez: Tegye fel a tálca oldalára a szilikongumikat és helyezze megfelelő helyre a fésűt is! Ha elkészült, szóljon a teremfelügyelőnek!

2.3. TEREMFELÜGYELŐ: _____

A gél a teremfelügyelő segítségével öntik ki. Tegye a géltálcát a gél megszilárdulásáig olyan helyre, ahol nem mozog. Ez azért szükséges, hogy a gél felülete egyenletesen vízszintes legyen.

III) Az inkubációs idő leteltével szóljon a teremfelügyelőnek, aki segít visszaszerezni a megemésztett mintákat a termosztat szekrényből.

2.4. TEREMFELÜGYELŐ: _____

IV) A PCR-csövek tartalmához adjon 2-2 μ L loading dye-t. Kb. 10-12 μ L-re állítva a pipettát, a beméréshez használt hegygel 3-4 alkalommal szívassa fel-le az oldatot, a megfelelő elkeveredés végett. *Természetesen minden mintához új pipettabegyet használjon!*

V) Óvatosan vegye ld. a fésűt a gélből és vegye le a szilikongumikat a géltálca szeléről!

VI) Tegye be a géltálcát a megfelelő irányultsággal az elektroforézis berendezésbe, majd a teremfelügyelő segítségével kérve töltsse fel pufferrel a kádat!

2.5. TEREMFELÜGYELŐ: _____

Most következik az emésztett DNS-minták feltöltése a gél zsebeibe. Ehhez először állítsa úgy az elektroforézis berendezést, hogy a zsebek az asztal Ön felőli széle felé mutassanak.

VII) A mikropipetta segítségével a baloldali második zsebtől kezdve töltsön az emésztett DNS-mintákból a betűrendnek megfelelő sorrendben (A,B,C) 14-14 μ L-t!

VIII) Helyezze fel a berendezés tetejét es csatlakoztassa az elektródokat! Ha elkészült, szóljon a teremfelügyelőnek, aki elindítja az elektroforézist, amely 40 percig fog zajlani!

2.6. TEREMFELÜGYELŐ: _____

Ha vége az elektroforézisnek, akkor a teremfelügyelő lekapcsolja az áramforrást.

IX) Ezután vegye le a berendezés tetejét, es óvatosan vegye ki a géltálcát, majd a gél csúsztassa a festéket tartalmazó festőtálba.

X) Pontosan 5 perc múlva öntse vissza az üres főzőpohárba a festék oldatot!

XI) Öntsön kb. 5-10mL etanol oldatot (E jelű kémcső) a gélre, majd kb. 15-20 másodperc után öntse le a folyadékot a lefolyóba!

XII) Ezután 3 egymást követő alkalommal a spriccflaskából öntsön desztillált vizet a gél felszínére, de minden egyes alkalommal öntse le a folyadékot a lefolyóba.

XIII) Fedje le a gél és várjon kb. 15 percig, amikor a csíkok látszani kezdenek.

2.7. Rajzolja le a gélrt úgy, hogy a téglalap aljára rajzolja a zsebeket. Igyekezzen többé-kevésbé méretarányos rajzot készíteni!

A gél rajzának helye:

Az előhívott gélrt be kell adnia a gyakorlat végén, ezért a festőtálca oldalára írja rá a monogramját!

VIII. Ökológia

Ez a feladat két részfeladatból áll:

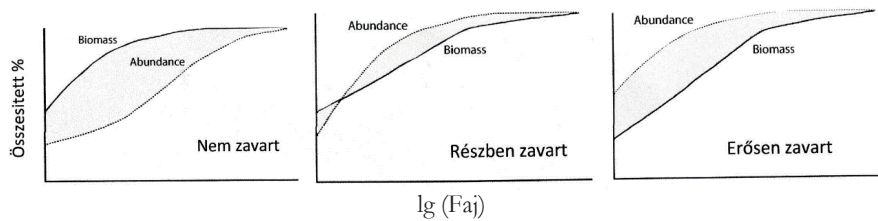
- 1) Egyedszám-gyakoriság rangsor diagramok, ABC görbék és a társulások szerkezete
- 2) Alzheimer kór kezelésére szánt szer vizsgálata

1) Egyedszám-gyakoriság rangsor diagramok, ABC görbék és a társulások szerkezete

Bevezetés

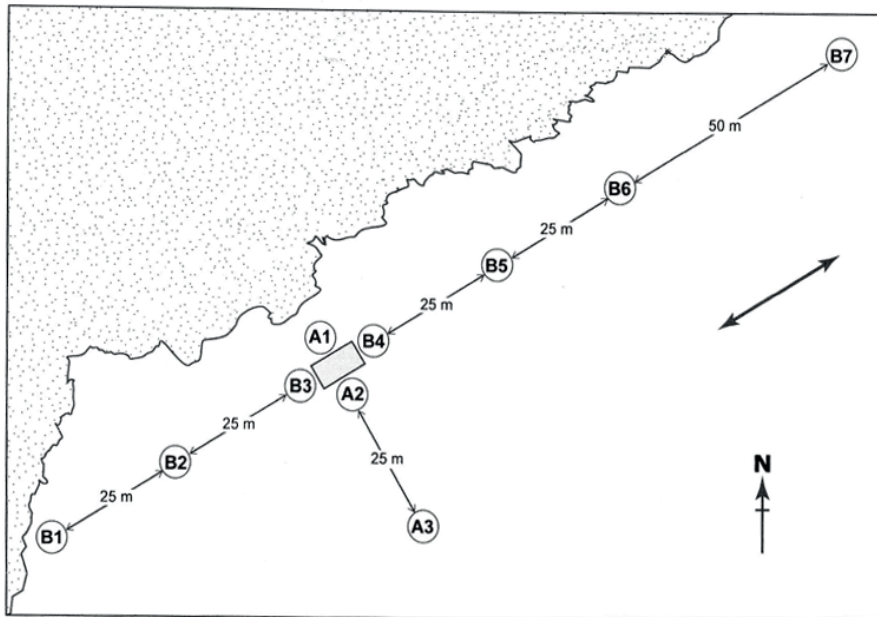
Az életközösségekben bekövetkező változások számos grafikontípussal tehetők láthatóvá. Az egyedszám-gyakoriság-rangsor (rank-abundance) diagramok vagy más néven Whittaker-diagramok segítségével az ökológusok az életközösségben előforduló fajok eloszlását teszik láthatóvá, ami fontos a sokféleség (biodiverzitás) nyomonkövetésében. Az ilyen diagramokon az előfordulási gyakoriságuk alapján az egyes fajok sorszámozást kapnak, amelyeket az X tengelyen ábrázolunk. A legnagyobb egyedszámú faj 1-es, a következő 2-es sorszámozást kap és így tovább. Az Y tengelyen a fajok egyedszámát logaritmikus skálán ábrázoljuk, azaz a gyakoriság logaritmusát vesszük. A görbe alakja értelemszerűen utalhat arra („DOMINANCE”), hogy egy-két domináns faj uralja az életközösséget vagy arra („EVENNESS”), hogy a fajok előfordulási gyakorisága egyenletes az életközösségen belül.

Az ABC (Abundance-Biomass Comparison) módszert Warwick (1986) javasolta arra, hogy az iszaplakó gerinctelen állatok közösségeinek zavarását monitorozhassa, vagyis figyelemmel kísérhesse. Az ABC görbék egyébként az r-K stratégiával is összefüggést mutatnak. Az alábbi ábrák jól mutatják, hogy a gyakorisági (abundance) és a biomassa (biomass) görbék egymáshoz viszonyított helyzete jól jelzi az életközösséget érő zavarás fokát.



1. ábra

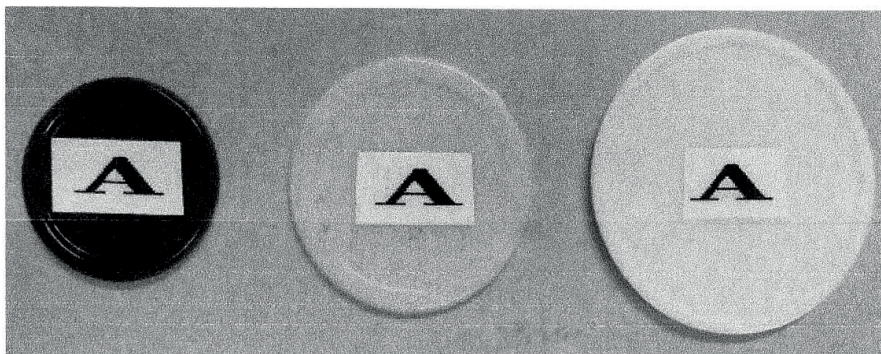
1.1. (32 pont) Egy EIA-nak nevezett vizsgálatban (environmental impact assessment) egy tengerszéli lazacfarm zavaró hatását vizsgálták az ott élő iszaplakó életközösségre. A vizsgálat során az ábrán látható módon két ún. metszeti felvételt készítettek, azaz mintákat vettek az A1-A3 vonalon és az erre közel merőleges B1-B7 vonalon. A mintavételi helyeket betű-szám kombinációk jelölik.



□ , a lazacfarmon úszó ketrecek helye; ↔ , tengeri áramlások iránya.

Ön most ebbe az EIA vizsgálatba kapcsolódik be. A feladata, hogy elemezze az iszapban található fajok egyedeit. Kapott két zacskót, amelyben két életközösség (Community 1 és 2) egyedszámait találhatók. Ezeket a mintákat kell összegezni és a képzeletbeli főnöke által korábban elkészített mintákról (Community 3 és 4) szóló táblázatokhoz hasonló formában megjeleníteni az adatokat. Ezek az adatok „A” jelű táblázatban (A táblázat) találhatóak meg. Az adatok a „B” jelű táblázatban (B táblázat) felsorolt fajokra vonatkoznak (A-Q). Ugyanebben a „B” táblázatban az egyes fajok egyetlen egyedére eső átlagos biomassa tömegeket is megtalálja.

Az egyes fajok gyakorisági adatait a két életközösségre (Community1 és 2) vonatkozóan a zacskókban található különböző méretű és színű korongok jelzik. Pl.: az alábbi fotó az A faj 61 db egyedét jelenti:



1 egyed

10 egyed

50 egyed

1.1.1. Határozza meg az 1. életközösség (Community 1) fajainak egyedszám-gyakoriságát a megfelelő zacskó alapján, és rögzítse az adatokat az **ANSWER SHEET 1. táblázatában** (Table 1)!

1.1.2. Töltse ki a táblázat hiányzó mezőit (2 tizedes jegy pontossággal) az összesített adatok mindig az összes előző összeadásával jönnek létre! Az Ig 10-es alapú logaritmust jelöl, ami a számológép log gombjával számolható.

1.1.3. Ismételje meg az előző folyamatot a 2. életközösség zacskójára is (Community 2.)!

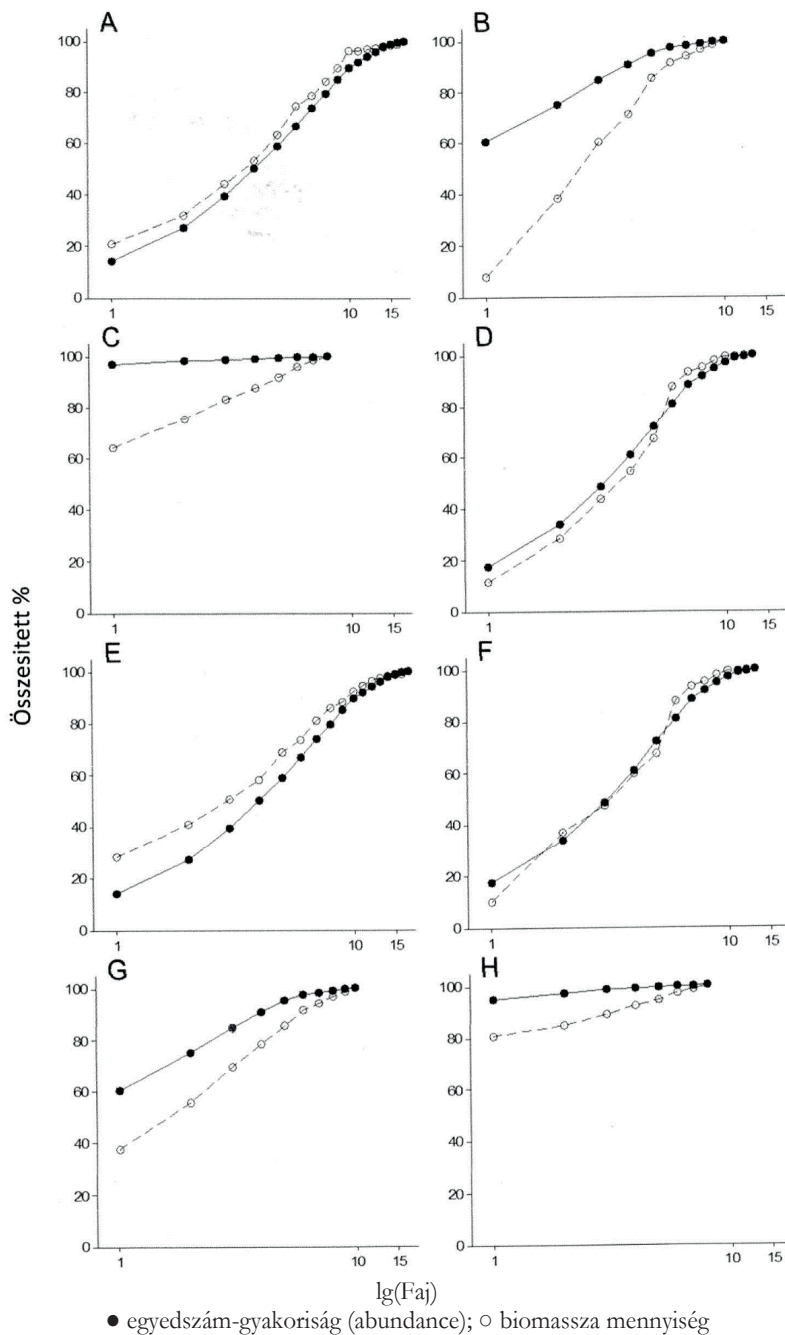
1.2. (3 pont x 4 = 12 pont) Az 1. és 2. frissen kitöltött és a 3. és 4. a feladatlap végén megkapott adatok alapján készítse el az egyedszám-gyakoriság rangsor (rank abundance) diagramokat mind a 4 életközösségre az **ANSWER SHEET** megfelelő lapjain (Graph 1-4)!

Jelölje a helyes válaszokat pipával (✓), a helyteleneket X-szel (x)!

1.2.1. (1 pont x 5 = 5 pont) A kevésbé egyenletes (LOW EVENNESS) eloszlásokra igaz:

- a. kezdetben meredek csökkenést mutató grafikon utalhat rá.
- b. a Community 1-re igaz.
- c. a Community 2-re igaz.
- d. a Community 3-ra igaz.
- e. a Community 4-re igaz.

1.2.2. (2,5 pont x 4 = 10 pont) Írja be az alábbiak közül a leginkább megfelelő ABC görbe betűjelét (A-H) mind a 4 életközösséghez (Community 1 to 4) az **ANSWER SHEET**-en az adatok alapján!



1.2.3. (1,5 pont x 4 = 6 pont) Az előző feladat megoldása alapján állítsa a zavaró hatás csökkenő sorrendjébe a 4 életközösséget az életközösségek sorszámának beírásával (Community 1-4) az **ANSWER SHEET**-en.

1.2.4. 1 pont x 10 = 10 pont) Egy figyelmetlen hallgató összekeverte az A1-A3 és a B1-B7 helyekről származó minták feliratait. Döntse el és írja be az ANSWER SHEET-re, hogy melyik életközösség melyik mintavételi hely(ek)ről származhatott, némelyik akár többről is. A mintavételi helyek jeleit (A1-A3; B1-B7) tüntesse fel!

1.2.5. (2,5 pont) A 17 faj közül (A – Q) melyik lehet kagyló?

1.2.6. (2,5 pont) A 17 faj közül (A – Q) melyik lehet leginkább a szerves anyag feldúsulásának indikátorélőlénye?

Community 3					
Faj	Egyedszám- gyakoriság	Sorrend	lg (egyedszám- gyakoriság)	Összesített relatív egyedszám (%)	Összesített relatív biomassza (%)
D	200	1	2,30	14,31	29,30
C	180	2	2,26	27,18	41,03
L	175	3	2,24	39,70	50,76
N	150	4	2,18	50,43	58,34
P	120	5	2,08	59,01	68,65
B	112	6	2,05	67,02	73,74
M	98	7	1,99	74,03	81,17
Q	80	8	1,90	79,76	86,02
O	75	9	1,88	85,12	88,29
E	62	10	1,79	89,56	92,36
F	35	11	1,54	92,06	94,40
H	30	12	1,48	94,21	96,45
A	28	13	1,45	96,21	97,44
G	25	14	1,40	98,00	98,45
J	15	15	1,18	99,07	98,48
I	8	16	0,90	99,64	98,99
K	5	17	0,70	100,00	100,00
Összesen	1398				

A. táblázat: Community 3 adatai

Community 4					
Faj	Egyedszám- gyakoriság	Sorrend	lg (egyedszám- gyakoriság)	Összesített relatív egyedszám (%)	Összesített relatív biomassza (%)
J	320	1	2,51	60,49	7,83
G	78	2	1,89	75,24	38,37
B	50	3	1,70	84,69	60,39
A	32	4	1,51	90,74	71,35
F	25	5	1,40	95,46	85,42
I	10	6	1,00	97,35	91,53
N	5	7	0,70	98,30	93,98
H	4	8	0,60	99,05	96,62
E	3	9	0,48	99,62	98,53
M	2	10	0,30	100,00	100,00
Összesen	529				

A. táblázat: Community 4 adatai

Faj	Egyedek biomassza tömege (g)	Faj	Egyedek biomassza tömege (g)
A	0,70	J	0,05
B	0,90	K	4,00
C	1,40	L	1,10
D	2,80	M	1,50
E	1,30	N	1,00
F	1,15	O	0,60
G	0,80	P	1,70
H	1,35	Q	1,20
I	1,25		

B. táblázat: Az A – Q fajokra vonatkozó egyedenkénti biomassza tömegek

ANSWER SHEET

1.1. (16 pont x 2 = 32 pont)

1. táblázat (Community 1) és 2. táblázat (Community 2)

1.2. (3 pont x 4 = 12 pont)

1-4 grafikon

1.2.1. (1 pont x 5 = 5 pont)

a	b	c	d	e

1.2.2. (2,5 pont x 4 = 10 pont)

1	2	3	4

1.2.3. (1,5 pont x 4 = 6 pont)

Erősen zavart → nem zavart			

1.2.4. (1 pont x 10 = 10 pont)

1	2	3	4

1.2.5. és 1.2.6. (2,5 pont x 2 = 5 pont)

1.2.5.	1.2.6.

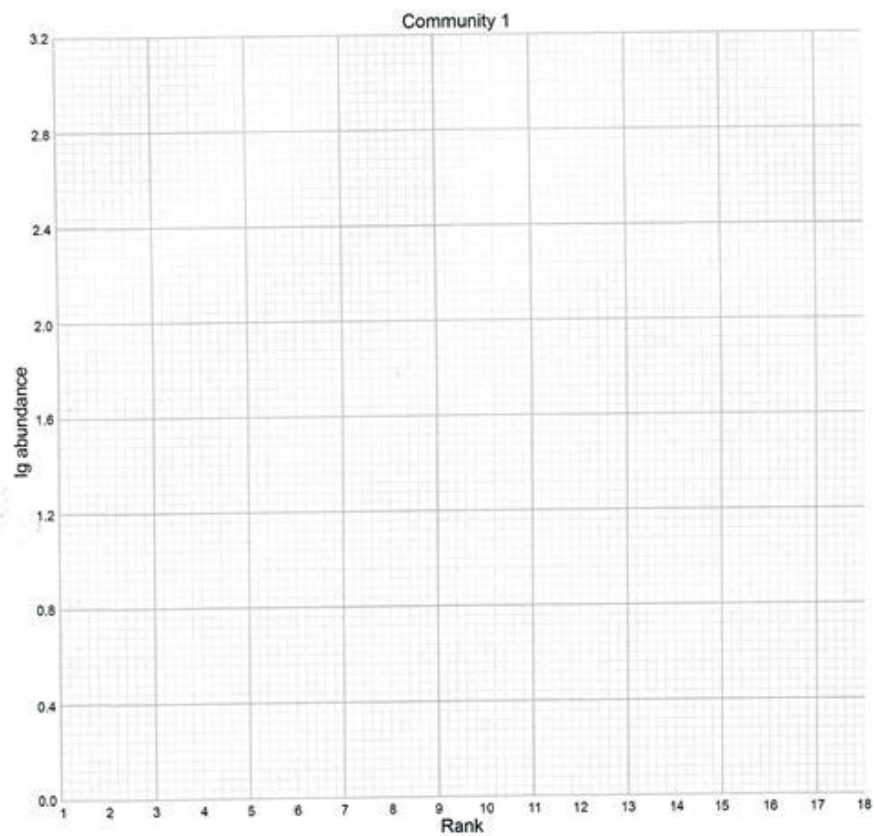
Faj	Egyedszám gyakoriság	Sorrend	lg (egyedszám gyakoriság)	Relatív egyedszám gyakoriság (%)	Összesített relatív gyakoriság (%)	Egyedi biomassza tömeg	A faj teljes biomassza tömege	Biomassza (%)	Összesített relatív biomassza (%)
		1							
		2							
		3							
		4							
		5							
		6							
		7							
		8							
		9							
		10							
		11							
		12							
		13							
		14							
		15							
		16							
		17							
Összesen									

1. táblázat: Community 1 (16 pont)

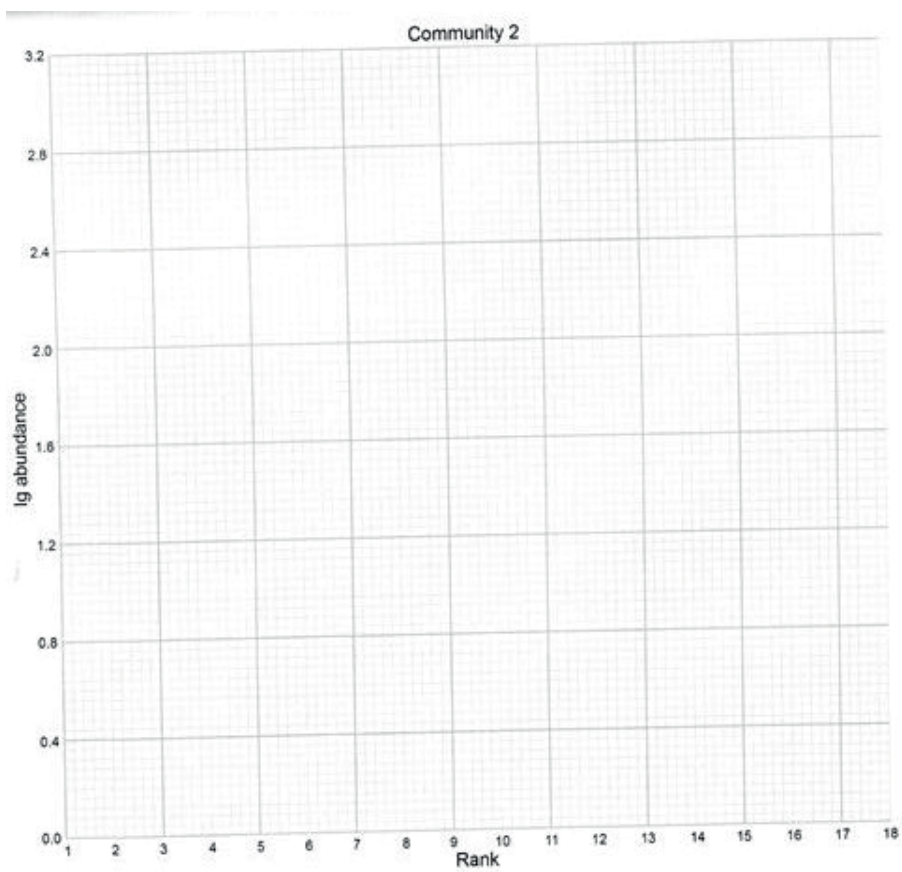
Faj	Egyedszám gyakoriság	Sorrend	Ig (egyedszám gyakoriság)	Relatív egyedszám gyakoriság (%)	Összesített relatív gyakoriság (%)	Egyedi biomassza tömeg	A faj teljes biomassza tömege	Biomassza (%)	Összesített relatív biomassza (%)
		1							
		2							
		3							
		4							
		5							
		6							
		7							
		8							
		9							
		10							
		11							
		12							
		13							
		14							
		15							
		16							
		17							
Összesen									

2. táblázat: Community 2 (16 pont)

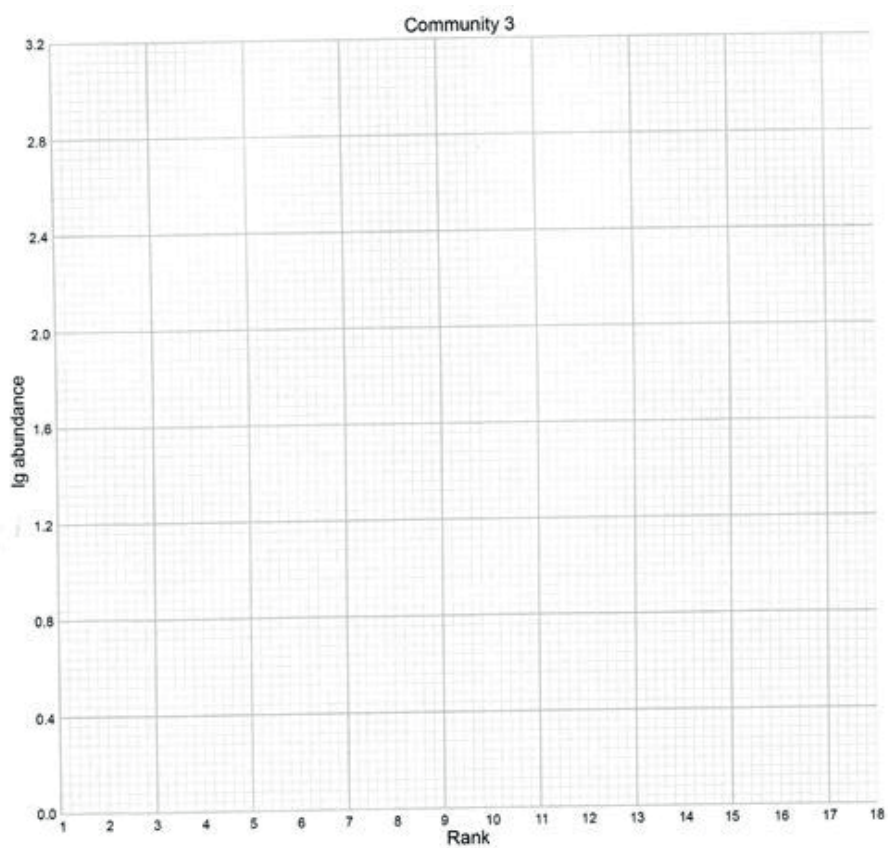
Grafikon 1 (3 pont):



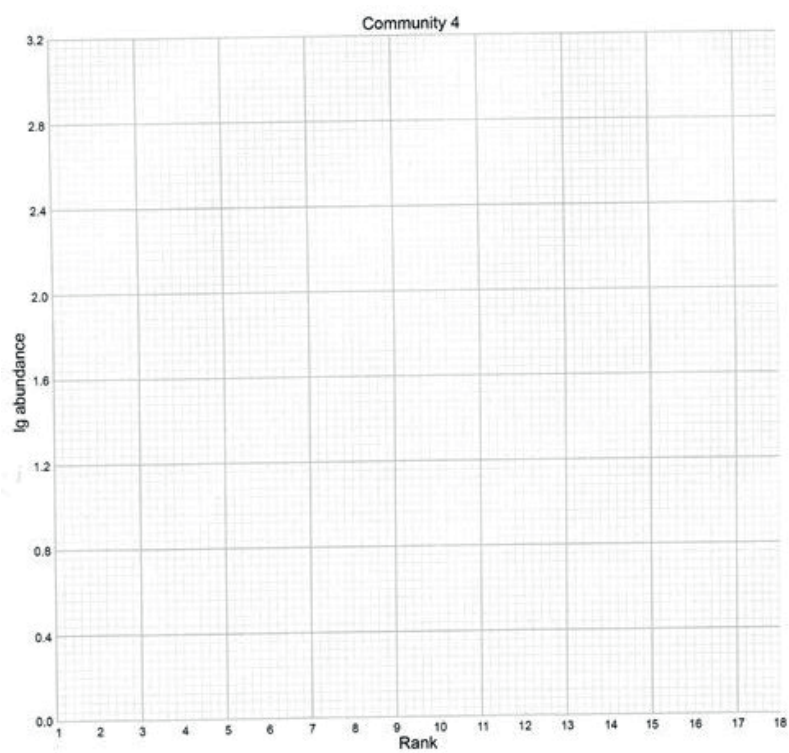
Grafikon 2 (3 pont):



Grafikon 3 (3 pont):



Grafikon 4 (3 pont):



2) Alzheimer kór kezelésére szánt szer vizsgálata

Az Alzheimer-kór súlyos idegrendszeri betegség, melynek velejárója a memóriazavar. A kutatók Alzheimer-kóros egér állatmodelleken alkalmazott új gyógyszereket tesztelnek, melyek hatékonyságát memóriatesztekkel vizsgálják. Erre alkalmas memóriateszt az ún. Morris-Water-Maze Test.

A Morris-Water-Maze Test lényegét az interneten elérhető videón tudják megnézni:

<http://www.jove.com/video/2920/morris-water-maze-test-for-learning-memory-deficits-alzheimers>

A feladatban adott 10 kezeletlen beteg (kontroll) és 10 egy új gyógyszerrel kezelt egér. Az egereket letesztelték és a kapott adatokat a táblázatban olvashatjátok. A táblázatban a mért úthossz cm-ben tüntettük fel.

kontroll	kezelt
675	324
598	397
645	281
609	245
551	352
596	368
612	293
733	231
710	413
628	420

Ezekből az adatokból állapítsa meg, hogy a két csoport szignifikánsan különbözik-e. A kapott eredményből vonjatok következtetést az új gyógyszer hatékonyságáról.

A t-próba két minta eloszlásának és átlagának együttes figyelembevételével mutatja meg, hogy bizonyos valószínűséggel két véletlenül kiválasztott minta adatai egybevágó-e. Végezze el az „A” és „B” minták összehasonlítását kétmintás t-próbával a következő útmutatás alapján!

2.1. Adja meg, hogy ebben a vizsgálatban melyik a nullhipotézis! Karikázza be a megfelelő betűt! Javítás nem lehetséges!

A) A két minta egyformának tekinthető.

B) A két minta különbözőnek tekinthető.

2.2. Adja meg a szabadsági fokok számát ebben a vizsgálatban, figyelembe véve a két külön minta összes elemszámát!

df= _____

2.3. Számítsa ki a t-értéket a következő képlet segítségével! A t-értéket négy értékes jegyre adja meg!

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Ahol: $\bar{x}_1$ és $\bar{x}_2$ a két minta önálló átlaga; s_1 és s_2 a két minta önálló szórása; n_1 és n_2 a két minta elemszáma.

t=_____

A kapott t-értéket hasonlítsa össze a következő táblázat megfelelő értékével! Ennek kiválasztásához vegye figyelembe a korábban megállapított szabadsági fokhoz legközelebb eső szabadsági fok értéket és azt, hogy döntésünket 5%-os maximális tévedési valószínűséggel szeretnénk meghozni.

Táblázatbeli t-érték: _____

df	0,50	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01
1	1,000	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657
2	0,816	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925
3	0,765	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841
4	0,741	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604
5	0,727	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032
6	0,718	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707
7	0,711	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499
8	0,706	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355
9	0,703	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250
10	0,700	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169
11	0,697	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106
12	0,695	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055
13	0,694	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012
14	0,692	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977
15	0,691	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947
16	0,690	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921
17	0,689	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898
18	0,688	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878
19	0,688	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861
20	0,687	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845
21	0,686	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831
22	0,686	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819
23	0,685	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807
24	0,685	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797
25	0,684	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787
26	0,684	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779
27	0,684	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771
28	0,683	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763
29	0,683	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756
30	0,683	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750
40	0,681	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704
60	0,679	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660
120	0,677	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617
∞	0,674	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576

Ha a számított t -érték nagyobb, mint a táblázatbeli t -érték, akkor a nullhipotézist az adott tévedési valószínűség mellett elvetjük, ellenkező esetben pedig megtartjuk.

Húzza alá a megfelelő kifejezést!

*A két minta a t -próba alapján **különbözik** / **nem különbözik**.*

IX. Növénysszervezetten és kladisztika

Ez a feladat két részfeladatból áll:

- A) Növénysszervezetten (50 pont)
- B) Kladisztika (50 pont)

A) A tulipán szervezettana

Ebben a feladatban a tulipán makroszkópos és mikroszkópos felépítését tanulmányozzuk.

1.A.1. Melyik rendszertani csoportokba tartozik a tulipán? Írja a helyes válasz(ok) betűjelét/betűjeleit a vonalra (1 pont)!

- A. Kétszikűek törzse
- B. Nyitvatermők törzse
- C. Liliomfélék családja
- D. Hagymások nemzetsége
- E. Zárvatermők osztálya

Megoldás: _____

1.A.2. Mely növényi szerv(csoport) módosulása a tulipán hagymája? Írja a helyes válasz(ok) betűjelét/betűjeleit a vonalra (1 pont)!

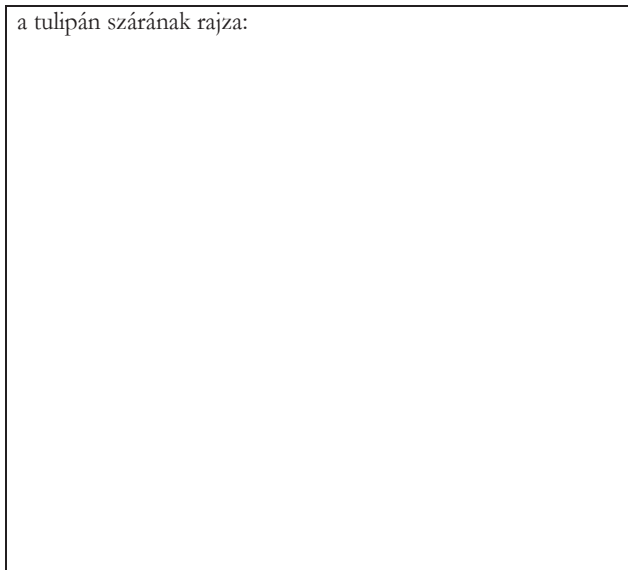
- A. Virágkezdemény
- B. Megvastagodott szár
- C. Tápanyag raktározó gyökér
- D. Tápanyag raktározó hajtás
- E. Talajban található óriásrügy

Megoldás: _____

1.A.3. A szár mikroszkópos vizsgálata (18 pont):

1. Készítsen vékony keresztmetszetet a kapott tulipán szárából!
2. Pasteur pipetta segítségével töltsön a TK jelű Eppendorf csőből kb. 1,5 mL-t egy óraüvegre!
3. Áztassa a szárát kb. 1-2 percig, majd egy másik óraüvegen mossa át csapvízzel (műanyag főzőpohár)!
4. Az elkészült és megfestett metszetet tegye tárgylemezre, majd cseppentsen rá 1 csepp csapvizet és fedje le fedőlemezzel!
5. Írja fel marker tollal a tárgylemez szélére kódját (pl. D3) és a feladat számát (1.A.3.)!
NE FELEJTSE EL, HOGY AZ ÖSSZES METSZETET BE KELL ADNIA A GYAKORLAT VÉGÉN!
6. Vizsgálja az elkészült metszetet előbb 40X-es, majd 100X-os nagyítás mellett, majd rajzolja le ceruzával az alábbi téglalapba egy jellemző részletét (amely minden fontos részletet tartalmaz).
7. A felismert és lerajzolt részteket az alábbi betűkkel jelezze a rajzon:
 - A. Epidermisz
 - B. Farész
 - C. Hancsrész
 - D. Nyalábkörűli szklerenchima
 - E. Alapszövet
 - F. Hípodermisz
 - G. Gázcserenyílás zárósejt

a tulipán szárának rajza:



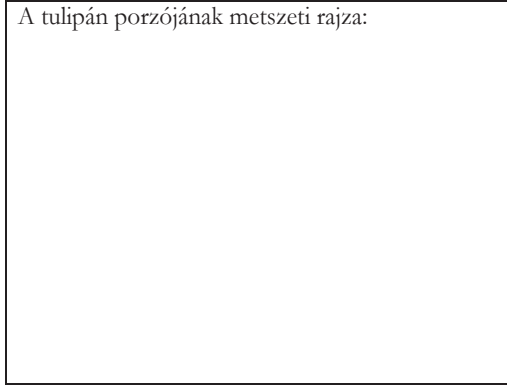
A fentiek közül melyik betűvel jelzett részletben figyelhetők meg elsősorban kloroplasztiszok?

Megoldás: _____

1.A.4. A portok vizsgálata (10 pont)

1. Készítsen vékony keresztmetszetet a tulipán portokjából!
2. Helyezze a metszetet tárgylemezre, majd cseppentsen rá 1 csepp csapvizet és fedje le fedőlemezzel!
3. Írja fel marker tollal a tárgylemez szélére kódját (pl. D3) és a feladat számát (1.A.4.)!
NE FELEJTSE EL, HOGY AZ ÖSSZES METSZETET BE KELL ADNIA A GYAKORLAT VÉGÉN!
4. Vizsgálja az elkészült metszetet előbb 40X-es, majd 100X-os nagyítás mellett, majd rajzolja le ceruzával az alábbi téglalapba egy jellemző részletét (amely minden fontos részletet tartalmaz).
5. A felismert és lerajzolt részleteket az alábbi betűkkel jelezze a rajzon:
 - A. Virágporszem anyasejtek
 - B. Tapetum
 - C. Keményítőtartalmú rostos réteg
 - D. Virágporszem anyasejtek és pollenek
 - E. Szállítószövet

A tulipán porzójának metszeti rajza:



1.A.5. Körömlakk levonatok készítése lomblevelekről (10 pont)

1. Kenje be színtelen körömlakkal a tulipán lomblevelének szárhoz közelebb eső felszínét, majd várja meg, amíg megszárad!
2. Húzza le csipesszel a megszáradt körömlakk réteget, majd helyezze tárgylemezre!
3. cseppentsen rá 1 csepp csapvizet, és fedje le fedőlemezzel!
4. Írja fel marker tollal a tárgylemez szélére kódját (pl. D3) és a feladat számát (1.A.5.)!
NE FELEJTSE EL, HOGY AZ ÖSSZES METSZETET BE KELL ADNIA A GYAKORLAT VÉGÉN!
5. Vizsgálja az elkészült metszetet előbb 40X-es, majd 100X-os nagyítás mellett, majd rajzolja le ceruzával az alábbi téglalapba egy jellemző részletét (amely minden fontos részletet tartalmaz).
6. A felismert és lerajzolt részteket az alábbi betűkkel jelezze a rajzon:
 - A. Epidermisz normál bőrszöveti sejtjeinek lenyomata
 - B. Gázcserenyílás zárósejtek lenyomata

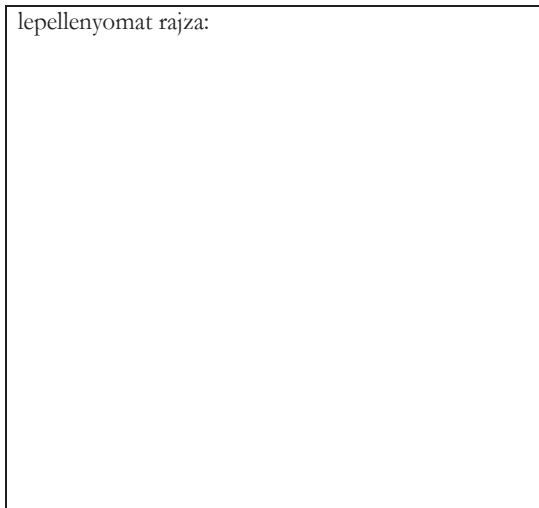
levéllenymat rajza:



1.A.6. Körömlakk levonatok készítése lepellevelekről (10pont)

1. Kenje be színtelen körömlakkal a tulipán lepellevelének szárhoz közelebb eső felszínét, majd várja meg, amíg megszárad!
2. Húzza le csipesszel a megszáradt körömlakk réteget, majd helyezze tárgylemezre!
3. Cseppentsen rá 1 csepp csapvizet és fedje le fedőlemezzel!
4. Írja fel marker tollal a tárgylemez szélére kódját (pl. D3) és a feladat számát (1.A.6.)!
NE FELEJTSE EL, HOGY AZ ÖSSZES METSZETET BE KELL ADNIA A GYAKORLAT VÉGÉN!
5. Vizsgálja az elkészült metszetet előbb 40X-es, majd 100X-os nagyítás mellett, majd rajzolja le ceruzával az alábbi téglalapba egy jellemző részletét (amely minden fontos részletet tartalmaz).
6. A felismert és lerajzolt részleteket az alábbi betűkkel jelezze a rajzon:
A. Epidermisz normál bőrszöveti sejtjeinek lenyomata
B. Gázcserenyílás zárósejtek lenyomata

lepellenyomat rajza:



Ismételje meg az eljárást a lepellevél belső, ivarlevek felé eső felszínével is!
Írja a megfelelő relációjelet az alábbi cellába!

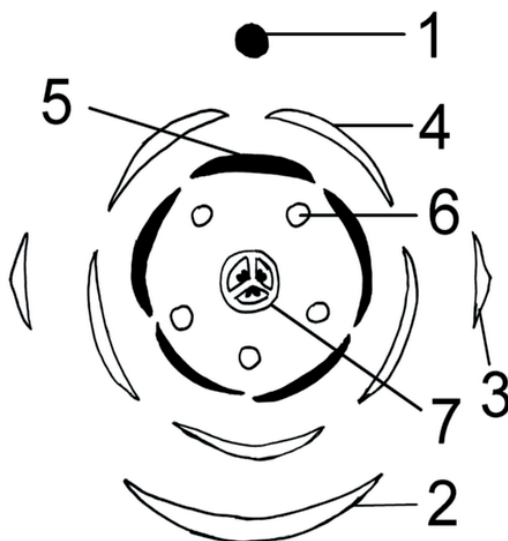
Belső felszínen lévő gázcserenyílások terület egységre eső száma		Külső felszínen lévő gázcserenyílások terület egységre eső száma
--	--	--

VÉGE ENNEK A FELADATRÉSZNÉK!

B) Kladisztika virágszerkezet alapján

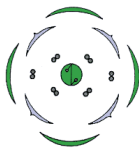
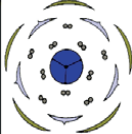
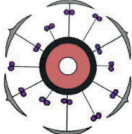
1.B.1. Ebben a feladatban virágdiagramok alapján kell virágokat összehasonlítani!

Írjon 1-est azokba a cellákba, ahol az adott jelleg megtalálható és hagyja üresen azokat a cellákat, amelyeknél nem található meg! (25 pont)



Jelölések a virágdiagramon:

- 1) A virágot tartó tengely
- 2)-3) Murvalevelek
- 4) Csészelevelek
- 5) Sziromlevelek
- 6) Porzók
- 7) Termő (a magok elhelyezkedése is kivethető)

	A-faj	B-faj	C-faj	D-faj	E-faj
Karakter					
Porzócső					
Lepellevelek					
6 porzó					
Kétszikű					
Radiális szimmetria					
Spirális levélállás					
Három, összenőtt termőlevél					
Forrt szirmú					
Két, összenőtt termőlevél					
Ősi típusú magház					

Filogenetikai kapcsolatok megállapítása UPGMA módszerrel.

Az UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) módszer a legegyszerűbb a filogenetikai kapcsolatok megállapítására azzal a feltételezéssel, hogy két taxon közötti különbségek száma egyenesen arányos elválásuk relatív korával (az idővel, ami elválásuk óta eltelt). Ebben a módszerben minden iteráció során a legkisebb távolságra lévő két csoportot magasabb szintű cluster-ré egyesítjük, és így haladunk tovább lépésről lépésre. Illusztrációképpen az "A", "B", "C" és "D" taxonok közti különbségeket az alábbi ábra szemlélteti.

	A			
A	0			
B	6	0		
C	7	8	0	
D	8	9	4	0

Iteration 1: A legkevesebb különbség a C és D taxonok között van, amiket ezért egyetlen cluster-ré egyesítünk. Az új cluster (C;D) relatív kora a köztük lévő távolság fele, ebben az esetben 2 lesz.

Most egy új, immár kisebb mátrixot rajzolunk. Az új távolság-mátrixban a cluster (C;D) és egyéb taxonok távolságát a cluster rész-taxonjai és a vizsgált taxon közti távolság átlagaként adjuk meg. A (C;D) clustert a továbbiakban önálló taxonként kezeljük függetlenül az előzményektől. Ebben a levezetésben $d(X,Y)$ az X és Y taxonok közti különbségek számát (köztük lévő távolságot) jelenti. Így például $d(A,(C;D))$ -t úgy adhatjuk meg, hogy a $d(A,C)$ -t és a $d(A,D)$ -t átlagoljuk.

	A		
A	0		
B	6	0	
(C,D)	7.5	8.5	0

Iteration 2: A következő lépésben az A és B taxonok közti különbségek a legkisebbek, ezért ezeket vonjuk össze. A cluster relatív kora 3 lesz.

Az új mátrixot pedig a fentiek alapján szerkesztjük meg. A $d((A,B),(C,D))$ távolság a $d(A,(C;D))$ és a $d(B,(C;D))$ távolságok átlagaként adódik.

	(A,B)	
(A,B)	0	
(C,D)	8	0

Iteration 3: Utolsó lépésként létrehozuk az ((A,B),(C,D)) clustert, aminek relatív kora 4 lesz.

1.B.2. Az alábbi, 2. sz. táblázat alapján készítse el a hat egyedre/taxonra vonatkozó távolságmátrixot. Mindig azt a számot kell beírni, ahány *character*-nél a *character state*-ek különböznek (az egyikben jelen van, a másiktól hiányzik). (7,5 pont)

Character	I	II	III	IV	V	VI
1	-	-	-	1	-	-
2	-	-	-	-	1	-
3	-	-	-	1	-	-
4	-	-	1	-	-	1
5	-	-	-	1	-	-
6	1	-	1	-	1	1
7	1	-	1	-	1	1
8	1	-	1	-	-	1
9	-	1	-	-	-	-
10	-	-	1	-	-	1
11	-	1	-	-	-	-
12	1	-	-	-	1	-
13	-	-	-	1	-	-
14	-	-	-	1	-	-
15	-	1	-	-	1	-
16	1	1	1	-	1	1
17	-	1	1	1	-	1
18	1	-	1	1	1	1
19	-	1	-	-	-	-
20	1	-	-	-	1	-

Species	I	II	III	IV	V	VI
I	0.00					
II		0.00				
III			0.00			
IV				0.00		
V					0.00	
VI						0.00

1.B.3. Állapítsa meg a hat növényi taxon filogenetikai kapcsolatát a kapott character-state matrix alapján, a szükséges iterációkat a fenti leírás alapján elvégezve. A fajokra római számokkal (I-VI) hivatkozzon, a clusterek megjelölésére pedig a fent bemutatott többszörös zárójeles módszert alkalmazza. (12 pont).

Iteration 1 (1 + 1 + 2.5 = 4.5 pont)

	0.00				
		0.00			
			0.00		
				0.00	
					0.00

Age of newly formed cluster

Iteration 2 (1 + 1 + 1.5 = 3.5 pont)

	0.00				
		0.00			
			0.00		
				0.00	

Age of newly formed cluster

Iteration 3 (1 + 1 + 0.75 = 2.75 pont)

	0.00				
		0.00			
			0.00		

Age of newly formed cluster

Iteration 4 (1.25 pont)

	0.00	
		0.00

Age of newly formed cluster

1.B.4. A kapott eredmények alapján rajzolja fel a relatív korokat (az ágak mellett számmal jelölve) is tartalmazó dendrogramot (filogenetikai fát). A törzsfától jobbra az összevont relatív korokat is tüntesse fel egy számegeyenesen az egyes elágazási pontokhoz! (5,5 pont).

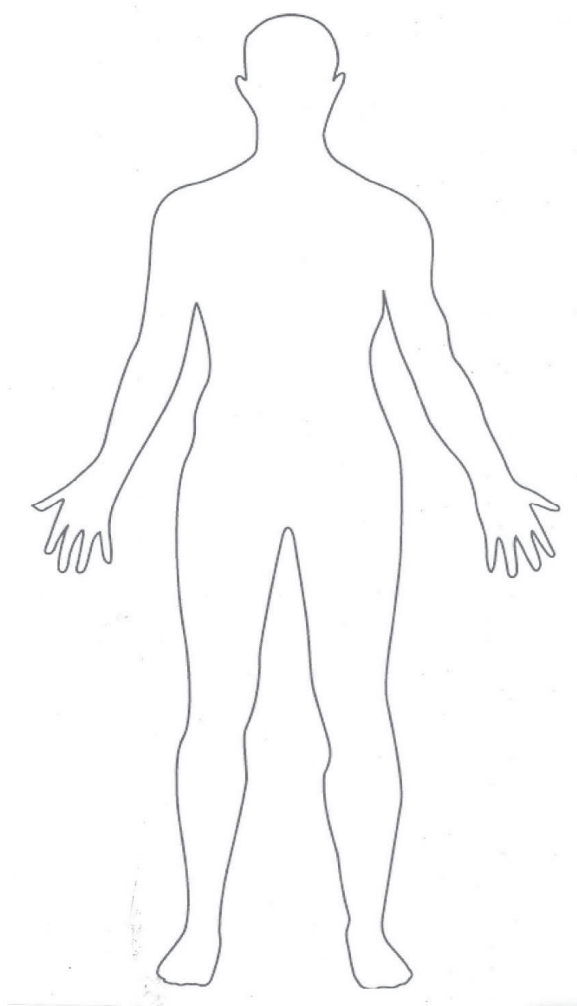
X. Funkcionális állatanatómia

Ez a feladat négy részfeladatból áll:

- A) Vese vizsgálata
- B) Rovarok szerveinek vizsgálata
- C) Humán metszetek vizsgálata
- D) Madárláb működésének vizsgálata

A) Vese vizsgálata (30 pont)

2.A.1. Az alábbi előlnézeti rajzon jelölje be a vesék, a húgyvezetékek, a húgyhólyag és a húgycső helyzetét kék színű tollal! Ugyanezen az ábrán jelölje a vastagbél helyzetét ceruzával és a máj helyzetét piros színű tollal! (6 pont)



2.A.2. Hasítson fel egy vesét hosszában a felszínével párhuzamos, középső sík mentén! A félbevágott vesén jelölje gombostűkkel a következő képleteket! (14 pont)

Nagy fehér fejű tű – húgyvezeték kilépési helye

Nagy piros fejű tű – kéregállomány piramis nélküli területen

Kis piros fejű tű – vese szemölcs (papilla)

Kis fekete fejű tű – egy vesekehely piramisra illeszkedő pontja

Kis kék fejű tű – egy vesetestecske lehetséges helye

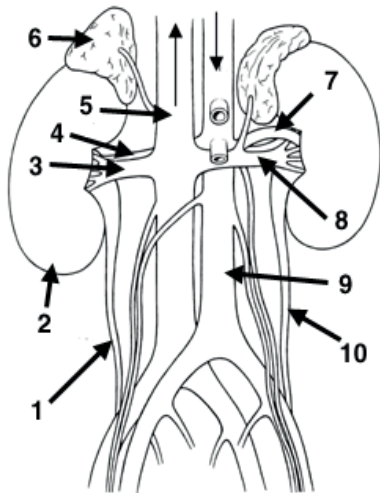
Kis sárga fejű tű – egy Henle kacs visszahajlási pontjának lehetséges helye

Kis zöld fejű tű – vesemedence

Ha elkészült, akkor jelentkezzen a felügyelőnél, hogy fényképet készíthessen a preparátumról!

E feladatrészre pont csak akkor szerezhető, ha a fénykép is elkészült!

2.A.3. Adja meg az alábbi ábrán a számok által jelölt képletek nevét!



1.		6.	
2.		7.	
3.		8.	
4.		9.	
5.		10.	

2.A.4. A következő két oldalon található négy szövettani ábra a vizelet kiválasztás egy-egy szakaszára utal. Feladata, hogy ezek és az alább felsorolt anyagok felhasználásával töltsse ki az alábbi táblázatot!

Anyagok:

1. Glükóz vizes oldata
2. Karbamid vizes oldata
3. Vérplazmafehérjék vizes oldata
4. Penicillingyógyszer vizes oldata
5. Kalcium-hidrogén-foszfát vizes oldata
6. Nátrium-klorid vizes oldata

Az egyes anyagok jelenlétét vagy távollétét +/- jelekkel adja meg. A feladat megoldásakor egy, megfázása miatt penicillinnel kezelt, de minden egyéb szempontból egészséges ember éhgyomri adatait használjuk!

A folyadékok mellé azokat a képeket társítsa, amelyek jellegzetes képleteiben azok előfordulhatnak! Vegye figyelembe, hogy az egyik sorba két szövettani kép is illik!

Folyadék	Kép(ek) sorszáma	Anyagok					
		1.	2.	3.	4.	5.	6.
Vérplazma							
Vizelet							
Szűrlet							

2.A.5. Insulinhiány esetén melyik anyag koncentrációja változik meg és melyik testfolyadék(ok)ban milyen irányban? *(jelölje X-el! Nem javíthat!!!):*

1.	2.	3.	4.	5.	6.
----	----	----	----	----	----

Az alábbi táblázatban nem feltétlenül kell minden sorba írnia!

TESTFOLYADÉK	VÁLTOZÁS IRÁNYA (NÖ/CSÖKKEN)

2.A.6. Melyik anyag(ok) visszaszívása vagy kiválasztása kötődik csupán egyetlen szakaszhoz és melyik ez a szakasz? *(jelölje X-el! Nem javíthat!!!):*

1.	2.	3.	4.	5.	6.
----	----	----	----	----	----

Szakasz: _____

2.A.7. Melyik anyag(ok)ban van olyan részecske, amelynek visszaszívását a mellékvese kéregállományában termelődő hormon serkenti?

Kémcső (jelölje X-el! Nem javíthat!!!):

1.	2.	3.	4.	5.	6.
----	----	----	----	----	----

A hormon neve: _____

2.A.8. Melyik anyag(ok)ban van olyan részecske, amelynek visszaszívását a hipotalamuszban termelődő neuroszekréta serkenti?

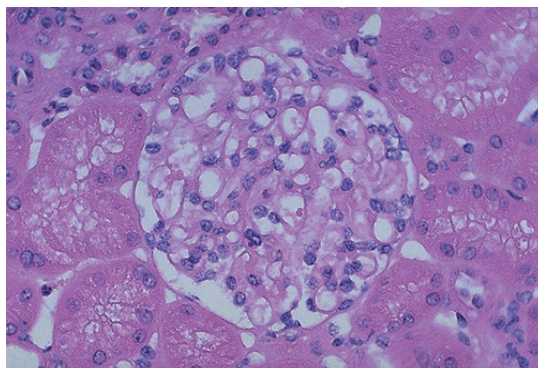
Kémcső (jelölje X-el! Nem javíthat!!!):

1.	2.	3.	4.	5.	6.
----	----	----	----	----	----

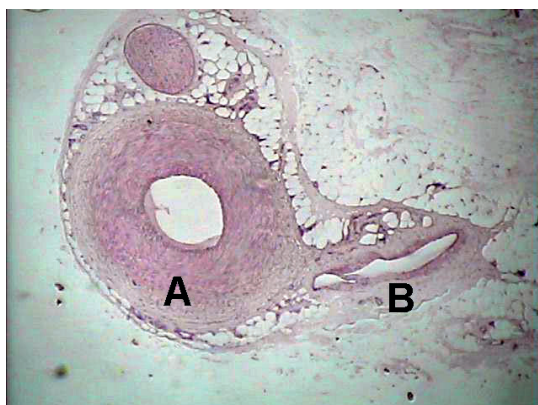
Neuroszekréta: _____

Szöveti ábrák:

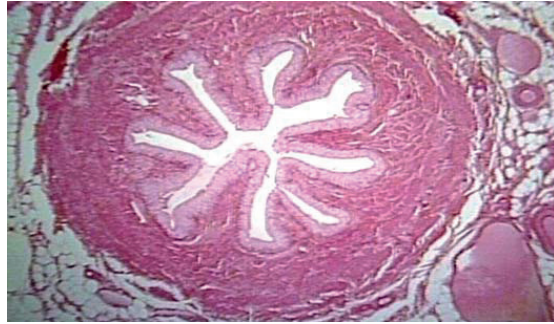
I.



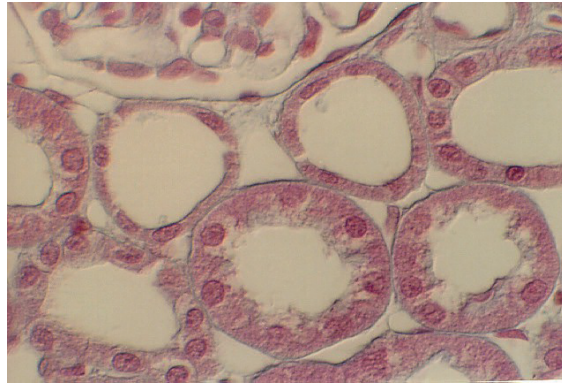
II.



III:



IV.



B) Rovarak szerveinek vizsgálata (20 pont)

2.B.1. A műanyag szivacson 9 rovar található, betűkkel megjelölve. Feladata, hogy az alábbi lehetőségek és sztereomikroszkóp segítségével töltsd ki a táblázatot!

Funkció:

- A. Hatékony kommunikáció feromonok segítségével
- B. Utódok elhelyezése gazdaszervezetben
- C. Növényi eredetű nektár felszívása
- D. Párzás vizuális kommunikációval való elősegítése
- E. Nem nektár típusú folyékony táplálék felvétele
- F. Növényi eredetű táplálék felaprózása

Anatómiai képlet neve:

- A. Gyöngysor szerű csáp
- B. Rágó szájszerv
- C. Szipóka
- D. Fésűs csáp
- E. Tojócső
- F. Pödörnyelv

Állat betűjele	Képlet betűjele	Funkció betűjele

2.B.2. Rajzolja le az 'A' jelű állat szájszervének és a 'C' jelű állat csápjának egy jellegzetes részletét!

--	--

Szájszerv – 'A'

Csáp-részlet – 'C'

C) Humán szövettani metszetek vizsgálata (20 pont)

2.C.1. Az asztalon – közös használatban – 8 db mikroszkópos metszetet talál. Feladata, hogy az alábbi lehetőségek és mikroszkóp segítségével töltsse ki a táblázatot!

Lehetséges metszetek nevei:

I. lazarusos kötőszövet	XXVI. méhlepény
II. üvegporc	XXVII. here
III. harántcsíkolt izom	XXVIII. mellékhere
IV. szívizom	XXIX. agykéreg
V. artéria	XXX. kisagy
VI. véna	XXXI. gerincvelő
VII. tüdő	XXXII. vegetatív dúc
VIII. vér	XXXIII. tenyér bőr
IX. lép	XXXIV. hajas fejbőr
X. pajzsmirigy	XXXV. retina
XI. csecsemőmirigy	XXXVI. tejmirigy
XII. nyelv	XXXVII. egyrétegű laphám emberi szájüregből (kaparéék)
XIII. fog	XXXVIII. hengerhám epehólyag
XIV. fültőmirigy	XXXIX. csillós hám - légcső
XV. nyelőcső	XL. emberi bőr - verejtékmirigyekkel
XVI. gyomor fundus	XLI. hajas fejbőr hosszmetset a szőrről
XVII. vékonybél - patkóbél	XLII. magzat fejlődő körmos ujjvége
XVIII. vastagbél	XLIII. rugalmas rostos porc - malacfül
XIX. hasnyálmirigy	XLIV. porcos csontképződés - ízületből
XX. máj	XLV. tömör csontállomány
XXI. feregnyúlvány	XLVI. harántcsíkolt izom - festett
XXII. vese	XLVII. harántcsíkolt izom - ember
XXIII. mellékvese	XLVIII. simaizom ember
XXIV. petefészek	XLIX. tömörtrostos ínszövet
XXV. anyaméh	L. zsírszövet – fehér

Lehetséges funkciók (egy-egy metsethez több funkció is tartozhat):

- A. Szimpatikus hatás átkapcsolódása
- B. Hormontermelés
- C. Emésztőnedvtermelés
- D. Hőmérsékletszabályozás
- E. Limfociták érése zajlik itt
- F. Érzékelés
- G. Vérkeringés fenntartása
- H. Vörösvérsejtek lebontása
- I. Ivarsejt termelés
- J. Limfociták érési helye
- K. Emésztés és felszívás
- L. Emésztőnedv vezetése
- M. Mozgáskoordináció
- N. Légzési felszín

Metszet betűjele	Neve (római szám)	Funkció betűjele

2.C.2. Rajzolja le az 'A' és a 'C' jelű metszet egy jellegzetes részletét, 100x nagyítású kép alapján! Nevezzen meg a rajzon egy-egy jellemző sejtípust!

'A'	'C'

D) Madárláb vizsgálata (30 pont)

2.D.1. A kapott csirkelábat tartsa olyan módon, hogy a hátsó ujj az asztal Ön felőli szélé felé álljon. Az Ön felé mutató egyetlen ujj kapja a 4. sorszámot, míg a maradék három balról jobbra haladva rendre az 1., 2. és 3. sorszámot.

Szorítsa a lábat a bonctálhoz úgy, hogy a talpa egészen lenyomódik. Mérje meg ekkor mindegyik ujj hosszát a tolómérő segítségével! Mérje meg a karmok hosszát is!

Mérési eredményeit az alábbi táblázatban rögzítse!

Ujj sorszáma	Ujjhossz	Karom hossza
1.		
2.		
3.		
4.		

2.D.2. Inak preparálása

Preparálja ki a lábujjakat mozgató inakat legalább a felső csont közelében és a talp tájékán is! A preparálást olyan módon végezze, hogy az az inak működőképességét ne befolyásolja jelentős mértékben! Vegye figyelembe, hogy az első három ujjat felül ugyanaz az ín mozgatja, míg egy ettől eltérő felelős a hátsó ujj mozgatásáért! A talptájékon a három ujjhoz vezető inakat külön is ki kell preparálnia!

Ha elkészült, akkor szóljon a felügyelőnek, aki videóra veszi, ahogyan a következő mozgásokat az ín meghúzásával képes előidézni:

1. Három első ujj egyszerre mozgatása
2. A hátsó ujj mozgatása
3. Legalább egy elülső ujj a többiekétől független mozgatása

XI. Szénhidrátok biokémiája

Ez a feladat két részfeladatból áll:

- A) Cukrok vékonyréteg kromatográfiás elemzése
- B) Cellobiáz enzim kinetikai jellemzőinek vizsgálata

A) Cukrok vékonyréteg kromatográfiás elemzése (30 pont)

A különböző cukrok jól elválaszthatók vékonyréteg kromatográfiás elemzéssel. Ebben a feladatban a méz legfontosabb cukorkomponensét kell vizsgálnia. A száradási és futtatási idő alatt elkezdheti a másik feladatot is.

Vigyázzon a hőlégfúvóval, mert súlyos égési sérülést okozhat!

A zöld szivacsban található Eppendorf csövek a következő mintákat tartalmazzák:

G – Glükóz
S – Szacharóz
M – Maltóz
F- Fruktóz
X - Méz

Az 'ELUENS' feliratú cső bórsavoldat és acetonitril 3:7 arányú elegye.

1. Töltsön az „ELUENS” feliratú csőből Pasteur pipetta segítségével 1-1 mL-t minden csőbe, majd lezárás után jól rázza össze azokat!
2. KÉZFELTARTÁSSAL JELEZZE A TEREMFELÜGYELŐNEK, HA EDDIG ELJUTOTT! A teremfelügyelő ekkor a termo-csészébe forró vizet tölt.
3. Helyezze a szivacsot az Eppendorf csövekkel együtt a forró víz tetejére, és kb. 5 percig hagyja ott az oldódás elősegítése miatt.
4. Amíg az oldódás megtörténik, húzzon az alumínium hátú vékonyrétegre egy egyenes vonalat (STARTVONAL) ceruzával a lap rövidebb oldalával párhuzamosan, a végétől kb. 1 cm-re. Ne nyomja rá a ceruzát, mert az lekaparja a vékonyréteget!
5. 5 perc elteltével vegye ki a szivacsot egy papírtörőre és újból rázza össze az oldatokat!
6. Pipettahegyek segítségével a STARTVONAL fölé vigyen fel minden cukoroldatból 2-3 mm átmérőjű foltokat. Minden mintához új pipettaegyet használjon!
7. Az így előkészített lapokat száradás céljából tegye a közös helyszínre elhelyezett melegítő lapra néhány percig, amíg a foltok megszáradnak.
8. A látható száradás után várjon még 5 percet, mielőtt továbbhalad.
9. A futtató főzőpohárba öntsön annyi ELUENS oldatot, amennyi még nem érné el a startvonalat, majd helyezze a főzőpohárba a VRK-lapot. Fedje le a főzőpoharat egy papírtörővel a párolgás elkerülése végett.
10. A futtatást addig folytassa amíg az eluens eléri a lap vége előtti 1 cm-t. Ekkor vegye ki a lapot a futtató edényből. Jelölje be a papíron szabad kézzel ceruzával az oldószerfrontot!
11. Fogja meg egy csipeszbe a VRK lapot és a fehér felszínre fújjon forró levegőt a hőlégfúvó gép II-es erősségre állításával.

Vigyázzon a hőlégfúvóval, mert súlyos égési sérülést okozhat!

Az így előhívott VRK-n mérje meg a barna foltok legalsó pontjainak a startvonalától való távolságát és jegyezze fel a kapott adatokat!

Számítsa ki a retenciósfaktort (R_f) az egyes cukrokra és a méz hatóanyagára vonatkoztatva!

$$R_f = \frac{\text{cukorfolt alsó pontjának távolsága a startvonalától}}{\text{oldószerfront távolsága a startvonalától}}$$

Az oldószerfront távolsága a START-vonaltól: _____ cm

Anyagok	Távolság a startvonalától	R_f
Glükóz		
Szacharóz		
Maltóz		
Fruktóz		
Méz		

A kromatogram alapján a méz legjellemzőbb szénhidrátja: _____

A gyakorlat végén a teremfelügyelőnek be kell adni a kromatogramot is!

B) Cellobiáz enzim kinetikai jellemzőinek vizsgálata

Ebben a feladatban egy assay-kitet használva kell megállapítani a cellobiáz enzim kinetikai jellemzőit (V_{max} és K_m értékek). Az assay lényege, hogy egy p-nitrofenol-glukopiranoz molekulát a cellobiáz enzim szubsztrátként hasít és a felszabaduló p-nitrofenol (pNP) spektrofotometriásan mérhető 410 nm-en.

A p-nitrofenolból különböző hígításokat készítve a következő kalibrációs adatokhoz jutunk (mindegyik mérés 1 mL-es térfogatban történt – ez a későbbi koncentráció számításnál fontos adat!)

Standard	Amount of <i>p</i> -Nitrophenol (nmol)	Absorbance at 410 nm
S1	0	0.00
S2	12.5	0.21
S3	25	0.42
S4	50	0.82
S5	100	1.65

3.B.1. Készítsen milliméterpapírra kalibrációs görbét a fenti adatok alapján!

A következőkben elkészít egy szubsztrát hígítási sort.

1. Feliratozzon hat Eppendorf csövet a következő feliratokkal: S0, S1, S2, S3, S4, S5!
2. Az S0-s kémcsőbe a B jelű csőből töltsön 1000 μ L puffert!
3. A többi csőbe az alábbi táblázat alapján töltsön a 1,5 mM koncentrációjú szubsztrát oldatból (S) illetve a pufferből (B):

	szubsztrát (S)	puffer (B)
S1	1000 μ L	0
S2	800 μ L	200 μ L
S3	600 μ L	400 μ L
S4	400 μ L	600 μ L
S5	200 μ L	800 μ L

4. Ha elkészült a szubsztrátos koncentrációs sorral, akkor adjon a csövek tartalmához 500 μ L enzimet az E jelű csőből (mindegyikhez), és hagyjon 6 percnyi inkubációs időt mindegyik csőnek!
5. Az inkubáció ideje alatt feliratozza a küvetákat S0-tól S6-ig és töltsön mindegyikbe 500-500 μ L STOP oldatot.
6. Ha letelt a 6 perc, akkor adjon az enzimreakciós csövekből 500-500 μ L-t a STOP oldatot már tartalmazó küveták tartalmához és parafilm segítségével rázza össze a küveták tartalmát.
7. Ha eljutott eddig, akkor szóljon a teremfelügyelőnek, aki segít megmérni az oldatok abszorbanciáját!

3.B.2. A mérési adatait a következő táblázatban rögzítse és a kalibrációs egyenesről olvassa le a megfelelő nitrofenol anyagmennyiség értékeket is (ezt jelölje is a 3.B.1. grafikonon) és írja be a kapott anyagmennyiségeket és koncentrációkat az alábbi táblázatba:

	A (410nm)	amount of p-nitrophenol	concentration of pNP
S1			
S2			
S3			
S4			
S5			
S0			

3.B.3. A fenti nitrofenol **koncentráció adatokat** ábrázolja a szubsztrát koncentráció függvényében milliméterpapíron!

3.B.4. Készítse el a Lineweaver Burk linearizációs egyenest is egy újabb milliméterpapíron!

Adja meg az enzim V_{max} értékét és a K_m -et (mennyiség és mértékegység):

V_{max} : _____

K_m : _____

XII. Molekuláris biológia és mikrobiológia

Ez a feladat két részfeladatból áll:

- A) A metilénkék indikátor hatásának vizsgálata élesztősejtek redoxi folyamataira
- B) Epigenetikai tényezők hatásának vizsgálata *Arabidopsis thaliana* virágképzésére

A) A metilénkék indikátor hatásának vizsgálata élesztősejtek redoxi folyamataira (60 pont)

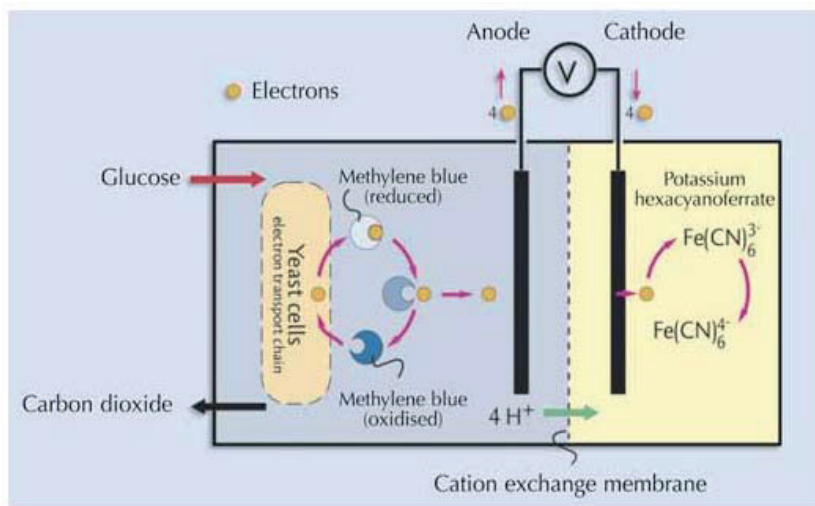
A metilénkék széles körben elterjedt festék, amelyet mikroszkópos preparátumok valamint makromolekulák festése mellett redoxi indikátorként is használnak. Mivel alacsony koncentrációban ez az anyag nem toxikus, ezért a baktérium- és élesztősejtek képesek anélkül felvenni, hogy bennük jelentőskárosodást okozna. Redoxi sajátossága és jó diffúziós képessége miatt azonban ismert az a tulajdonsága is, hogy megfelelő koncentrációban képes beleavatkozni a sejtekben zajló redoxi folyamatokba – onnan képes elektront „megcsapolni”. Közismert például, hogy a glükóztól képes elektront felvenni, amii így glükonsavvá alakul. Ebben a gyakorlatban azt próbáljuk felderíteni, hogy képes lehet-e erre a mitokondriumban zajló oxidatív foszforiláció (terminális oxidáció) folyamatában szereplő valamely anyaggal szemben is. Valójában a metilénkék nem jut be a mitokondriumba, de ha sikerülne igazolni lehetséges hatását, akkor a molekula apró módosításával el lehetne érni, hogy hatékony rövidzárat képezzen a terminális oxidációban, így lehetséges kiindulópontul szolgálhatna gyógyszerek fejlesztéséhez is.

TABLE 5.1 Standard Redox Potentials of Selected Half-Reactions

Electrode equation	$E'_0(\text{V})$
Succinate + $\text{CO}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \alpha\text{-ketoglutarate} + \text{H}_2\text{O}$	−0.670
Acetate + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ acetaldehyde	−0.580
$2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \text{H}_2$	−0.421
$\alpha\text{-Ketoglutarate} + \text{CO}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ isocitrate	−0.380
Cystine + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons 2$ cysteine	−0.340
$\text{NAD}^+ + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \text{NADH} + \text{H}^+$	−0.320
$\text{NADP}^+ + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \text{NADPH} + \text{H}^+$	−0.324
Acetaldehyde + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ ethanol	−0.197
Pyruvate + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ lactate	−0.185
Oxaloacetate + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ malate	−0.166
$\text{FAD} + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \text{FADH}_2$ (in flavoproteins)	+0.031
Fumarate + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ succinate	+0.031
Ubiquinone + $2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons$ ubiquinol	+0.045
$2 \text{ cytochrome } b_{(\text{ox})} + 2 e^- \rightleftharpoons 2 \text{ cytochrome } b_{(\text{red})}$	+0.070
$2 \text{ cytochrome } c_{(\text{ox})} + 2 e^- \rightleftharpoons 2 \text{ cytochrome } c_{(\text{red})}$	+0.254
$2 \text{ cytochrome } a_{3(\text{ox})} + 2 e^- \rightleftharpoons 2 \text{ cytochrome } a_{3(\text{red})}$	+0.385
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 e^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$	+0.816

A gyakorlat célja annak megállapítása, hogy az oxidatív foszforiláció mely ágensével lehet képes reakcióba lépni a metilénkék. Erre a célra egy bioüzemanyag cellát használunk majd, aminek működtetésével meg lehet mérni a metilénkék redoxpotenciálját.

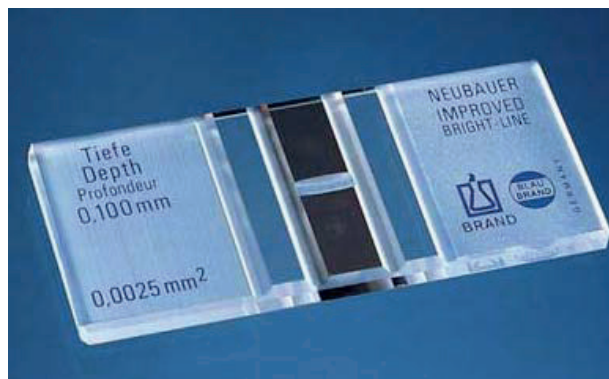
A galváncella ezúttal is két elektródból áll majd: az egyik elektródon a metilénkék elektront ad le (anód), a másikon a $K_3[Fe(CN)_6]$ vesz fel elektront (katód). Ennek megfelelően a metilénkék elektródja – töltésű, míg a katód a + töltésű elektród. A galváncellát az tartja „életben”, hogy az oxidált metilénkék molekulák képesek belépni az élesztősejtekbe, ahol a fentebb már említett glükózoxidáció során redukálódnak, így amíg az élesztősejtek életben vannak, addig a galváncella nem merül ki.



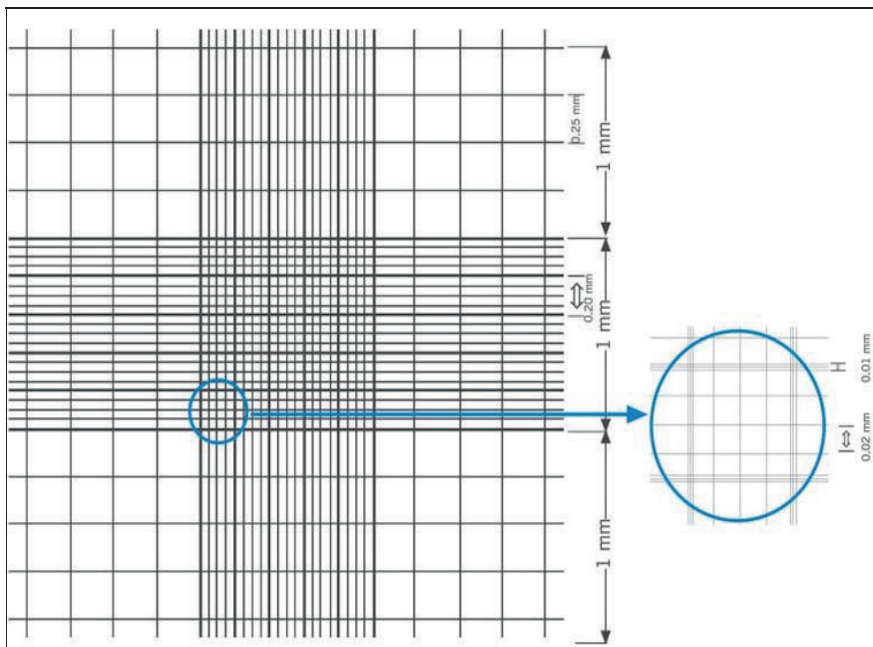
Feladata ennek az élő galváncellának az összeállítása és az elektromotoros erejének megmérése lesz. A kálium-ferriicianid/ferrocianid rendszer ismert elektródpotenciálja (+436 mV) alapján a metilénkék rendszer redoxpotenciálja kiszámítható, így megíjósolhat az is, hogy hol képes beavatkozni a terminális oxidációba.

4.A.1. Élesztősejtek számlálása

Az élesztősejtek száma alapvetően meghatározza majd a folyamatot. A kiadott Y jelű Eppendorf csőben az Ön által később készítendő élesztő szuszpenzió 15X-ös hígítása található. Feladata, hogy a Neubauer kamra segítségével megállapítsa a kapott szuszpenzió és így az Ön által is használt szuszpenzió sejttségát.



1. Vegye ki a Neubauer kamrát a dobozából!
2. Helyezzen rá fedőlemez úgy, hogy a vágatok által kijelölt középső régió egyik felét teljesen lefedje!
3. Pasteur pipetta segítségével juttasson annyi élesztő szuszpenziót a vágatokba, amennyit a vágatok „kényelmesen” felszívnak magukba. Ekkor a számolókamra is megtelik folyadékkal.



4. 100X-os nagyítás mellett keresse meg a bevonalkázott részt a mikroszkóp segítségével és az 1/50 mm oldalhosszúságú 16 négyzetben számolja meg a sejteket! Írja fel a kapott eredményeket!

Az átlagot a standard hiba megadásával (mean +/-) számítsa ki:

Az eredeti, hígítatlan alapoldat sejtszáma: átlag: _____/mL +/- SE: _____ /mL

4.A.2. A galváncella összeállítása:

Az anód összeállításakor a következő lépéseket kövesse:

1. Töltsön egy 25 mL-es főzőpohárba 10 mL foszfát puffert (PB) mérőhengerrel!
2. Mérjen ki a kapott porélesztőből 0,50 g-ot ebbe az oldatba a mérleg segítségével!
3. Tegye át a főzőpoharat a mágneses keverőre és helyezze bele a keverőbabát!
4. Kevertesse az oldatot, amíg az látszólag homogénné nem válik (kb. 5 perc)
5. Töltsön a keverés közben az oldathoz 10 mL glükóz-oldatot (G) és kevertesse a szuszpenziót 25 percig.
6. Ekkor öntsön az elegyhez 5 mL metilénkék oldatot, majd 1 percig kevertesse.
7. Az így előkészített oldatot öntse az egyik elektródkamrába (szénelektóddal).

A katód összeállítása

1. Öntsön 25 mL sárga színű $K_3[Fe(CN)_6]$ oldatot a másik elektródkamrába.

A galváncella összeállítása – elektromotoros erő mérése

1. Tegye a két cellát egymás mellé úgy, hogy a grafitelektródok egymással párhuzamosan, a lehető legtávolabb helyezkedjenek el egymástól.
2. A diafragma előállítása úgy történik, hogy a kapott szűrőpapír csík egyik felét HCl-oldatba, míg a másik felét NaCl-oldatba mártjuk. A két folyadéknak a papír közepén találkoznia kell!
3. A NaCl-oldatos felét az élesztős, kék színű oldatba, míg a sósavas felét a sárga színű, ferrocianidos oldatba kell lógatni.
4. A két grafitelektródhoz csatlakoztassuk a vezetékkel szerelt krokodil csipeszeket! A kék színű oldatot tartalmazó anód elektródhoz a fekete színűt, míg a másikhoz (sárga színű oldat) a piros színű vezetéket csatlakoztassuk.
5. A multimétert egyelőre ne kapcsoljuk be, de csatlakoztassuk a vezetékeket a megfelelő helyekre a vezetékek banándugós felével: a piros vezetéket a középső lyukba, míg a feketét a bal oldaliba kell dugni.
6. HA IDÁIG ELKÉSZÜLT, AKKOR SZÓLJON A TEREMFELÜGYELŐNEK, AKI ELLENŐRZI AZ ÖSSZEÁLLÍTÁST:

Aláírás: _____

7. Most már megmérheti az elektromotoros erőt (2 V-os méréshatáron): _____ mV
8. Ebből a metilénkék rendszer redoxpotenciálja: _____ mV.

Ennek megfelelően, az első táblázat adatai alapján az oxidatív foszforiláció következő két anyaga közötti elektronátadást lenne képes szétcsatolni a metilénkék:

_____ és _____

B) Epigenetikai tényezők hatásának vizsgálata *Arabidopsis thaliana* virágképzésére (40 pont)

Az *Arabidopsis* növény széles körben elterjedt genetikai kutatási objektum, így a *Drosophila*-hoz hasonlóan számos mutánsa ismert. Ebben a feladatban egy olyan mutánt vizsgálunk, amelynek a virágképzése károsodott.

A kutatók megállapították azt is, hogy melyik az a gén, amelynek működésváltozása okozza ezt a fajta virágzás-késést. Amikor azonban megszekvenálták a vad típust és a mutáns változatot, akkor meglepve tapasztalták, hogy a kétféle változatban a 'gyanús' gén szekvenciája megegyezik. A kutatók ezért azt gyanítják, hogy nem a bázissorrend, hanem egy epigenetikai hatás okozza a mutáns fenotípus megjelenését.

A kísérlet nagy lépései a következők:

- A. Felszaporították a vizsgált gént PCR-al mindkét típusból. Ebből készült egy kontroll kivonat, amelynek a vad típusú változatát Ön is megkapta (C-jelű Eppendorf cső).
 - B. A vad típusból származó és a mutáns felszaporított gént külön-külön ezután meghasították egy olyan restrikciós enzimmel (McrBC), amely csak metilált szekvenciárszleteket képes hasítani. Azt is tudjuk, hogy ebben a génben ennek az enzimnek egyetlen hasítóhelye van, amelynek a szekvenciáját ismerjük, így a hasítással keletkező két részlethez tartozó primereket is.
 - C. Ezután a W vad típust és az M mutáns típusú gént is két-két külön részre szedték (összesen tehát négy PCR-csőbe). Mind a vad, mind a mutáns típust kétféle PCR kezelésnek vetették alá. Az egyiknél az eredeti gén két végéhez készült primereket használtak (simple primer - 1P), a másik esetben a hasítás után keletkező két kis darabhoz tartozó primereket használtak (double primer - 2P), azaz ebben az utóbbi esetben egyszerre mindkét hasítási termék képes felszaporodni. Így négyféle DNS-rendszer keletkezett, amelyeket logikusan W1P, W2P és M1P illetve M2P nevekkal illetünk.
 - D. Az Ön feladata, hogy az McrBC enzim hasítási termékei közül a kisebbikben egyetlen hasító hellyel rendelkező, metilációra nem érzékeny restrikciós enzimmel (PstI – fast digest) végezzen hasítást a fenti csövek közül háromban és ellenőrizze a termékeket gélelektroforézissel!
1. A C1P jelű Eppendorf csőben található kontroll génszakaszhoz adjon 10 µL puffer oldatot a B jelű Epp csőből!
 2. A W1P, W2P és M1P jelű csövekben található DNS-hez az E jelű Epp csőből adjon 10-10 µL PstI enzimdátot és inkubálja szobahőmérsékleten 20 percig őket!
 3. A hasítás befejeztével a C1P, W1P, W2P és M1P jelű csövek tartalmához mérjen 5-5 µL loading dye-t!
 4. A kiöntött gélre a következő sorrendben (balról jobbra) vigyen fel 12 µL-nyit a következő csövekből: C1P; W1P; W2P; M1P és az LA jelűből (amiben egy 1000bp-os size ladder van) 5 µL-t!
 5. Rakja össze az elfo készüléket és szóljon a felügyelőnek aki elindítja a berendezést. Az elektroforézis időtartama 30 perc!
 6. Ha lejárt az idő, akkor szóljon a teremfelügyelőnek aki az elkészült géljének a képét megmutatja Önnek!
 7. A következő oldalon található cellába rajzolja is be a kapott képet közel méretarányosan!



A gélek alapján be (írja: BE) vagy kikapcsolt (írja: KI) állapotban van-e a vizsgált gén a mutáns (nem virágzó) növényekben? Írja a választ a vonalra! (5 pont, de csak gélek alapján)

A gélek alapján a vizsgált gén metilációja serkenti (+) vagy gátolja a virágképzést az *Arabidopsis*-ban? Írja a választ a vonalra! (5 pont, de csak gélek alapján)

Jegyzetek

Jegyzetek

Impresszum:

Kiadja: Termosz Laboratórium

TÁMOP-3.1.3-10/2-2010-0003 pályázati forrásból

Drótposta: laborvezeto@termosz.net

Honlap: www.termosz.net

Felelős kiadó: Bán Sándor

Szerkesztő: Koncz Balázs, Icon Repro Kft.

Terjedelem: 108 oldal

Kereskedelmi forgalomba nem hozható.

2015. április