

PRILOG 1. LABORATORIJSKI RAD (IZOLACIJA DNK IZ VOĆA)

GRUPA 1 – Izolacija DNK iz banane

Teorijski uvod

Izolacija DNK predstavlja jednu od osnovnih metoda molekularne biologije i genetičkog inženjstva. Tokom laboratorijskog postupka DNK se izdvaja iz ćelija pomoću različitih hemijskih reagensa i postaje vidljiva u obliku bijelih vlaknastih niti.

Zadatak grupe

Izvedite laboratorijsku izolaciju DNK iz banane prema datom protokolu i analizirajte ulogu reagensa u procesu izdvajanja DNK.

ŠEMA IZOLACIJE DNK IZ VOĆA (BANANE)

1 Priprema uzorka Oguljenu trećinu banane staviti u plastičnu vrećicu sa zatvaračem, dodati 1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode i pažljivo zgnječiti sadržaj vrećice dok ne nastane ujednačena kašasta masa.  1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode	2 Priprema ekstrakcione smjese U laboratorijskoj čaši pomiješati: • 2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta za posude • 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) kuhinjske soli • 3 mjerne kašičice (15 ml) destilovane vode. Smjesu miješati lagano 3 do 4 minute.  2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) soli 3 mjerne kašičice (15 ml) vode	3 Miješanje uzorka sa ekstrakcionom smjesom U pripremljenu smjesu dodati 3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječene banane iz vrećice i ponovo miješati 3 do 4 minute kako bi se omogućilo otapanje ćelijskih membrana.  3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječene banane	4 Filtriranje Dobivenu smjesu pažljivo procijediti kroz gazu u drugu laboratorijsku čašu, pritom ukloniti veće čestice i nečistoće. Filtrat ostaviti da miruje 5 minuta. 	
5 Dodavanje enzima U filtrat dodati nekoliko kapi enzimске otopine (soka od ananasa) i lagano promiješati da proteaze počnu razgrađivati proteine vezane za DNK.  nekoliko kapi enzimске otopine (soka od ananasa)	6 Dodavanje hladnog etanola Filtrat prebaciti u epruvetu ili manju čašu, zatim pažljivo, uz zid epruvete, doliti hladni etanol (prethodno rashlađen u frižideru) u omjeru 1:1 u odnosu na volumen filtrata, pazеći da se slojevi ne pomiješaju.  1 dio filtrata + 1 dio etanola (hladan) (omjer 1:1)	7 Pojava DNK Na granici između vodenog sloja i etanola treba se pojaviti bijela, vlaknasta masa – izolovana DNK.  etanol (gornji sloj) DNK (bijela, vlaknasta masa na granici) vodena faza (donji sloj)	8 Izvlačenje DNK Pomoću staklenog štapića pažljivo namotati i izvući bijele nakupine koje su se formirale na granici između vodene i alkoholne faze. 	9 Zadatak Nacrtati čašu sa istaloženom tvari u alkoholnoj fazi i na crtežu jasno označiti: – alkoholnu fazu (gornji sloj) – istaloženu tvar (gornji sloj) – vodenu fazu (donji sloj).  alkoholna faza (gornji sloj) istaložena tvar (DNK) vodena faza (donji sloj)
POTREBAN MATERIJAL I REAGENS  1/3 banane plastična vrećica sa zatvaračem laboratorijska čaša epruveta ili manja čaša mjerne kašike i kašičice deterdžent za posude kuhinjska so sok od ananasa etanol (hladan) etanol ohladi u frižideru				

Istraživačka pitanja (odgovore pisati u svesku)

1. Koja je uloga deterdženta u procesu izolacije DNK?
2. Zašto se koristi kuhinjska so?

3. Koju funkciju ima hladni etanol?
4. Kako izgleda izdvojena DNK?
5. Kako se izolacija DNK koristi u savremenoj biologiji?

GRUPA 2 – Izolacija DNK iz jagode

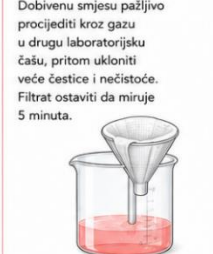
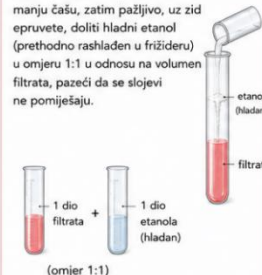
Teorijski uvod

Savremena biologija koristi različite metode izdvajanja i analize DNK u genetičkom inženjerstvu, medicini i biotehnologiji. Biljne ćelije predstavljaju pogodan materijal za laboratorijsku izolaciju DNK.

Zadatak grupe

Izvedite laboratorijsku izolaciju DNK iz jagode i analizirajte uspješnost izdvajanja DNK iz biljnih ćelija.

ŠEMA IZOLACIJE DNK IZ JAGODE

1 Priprema uzorka 5–6 zrelih jagoda isprati, oslone peteljke i staviti u plastičnu vrećicu sa zatvaračem. Dodati 1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode i pažljivo zgnječiti sadržaj vrećice dok ne nastane ujednačena kašasta masa.  1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode	2 Priprema ekstrakcione smjese U laboratorijskoj čaši pomiješati: • 2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta za posude • 1/2 mjerne kašike (≈ 2,5 g) kuhinjske soli • 3 mjerne kašičice (15 ml) destilovane vode. Smjesu miješati lagano 3 do 4 minute.  2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) soli 3 mjerne kašičice (15 ml) vode	3 Miješanje uzorka sa ekstrakcionom smjesom U pripremljenu smjesu dodati 3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječenih jagoda iz vrećice i ponovo miješati 3 do 4 minute kako bi se omogućilo otapanje ćelijskih membrana.  3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječenih jagoda	4 Filtriranje Dobivenu smjesu pažljivo procijediti kroz gazu u drugu laboratorijsku čašu, pritom ukloniti veće čestice i nečistoće. Filtrat ostaviti da miruje 5 minuta. 	
5 Dodavanje enzima U filtrat dodati nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa) i lagano promiješati da proteaze počnu razgrađivati proteine vezane za DNK.  nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa)	6 Dodavanje hladnog etanola Filtrat prebaciti u epruvetu ili manju čašu, zatim pažljivo, uz zid epruvete, doliti hladni etanol (prethodno rashlađen u frižideru) u omjeru 1:1 u odnosu na volumen filtrata, paziti da se slojevi ne pomiješaju.  1 dio filtrata + 1 dio etanola (hladan) (omjer 1:1)	7 Pojava DNK Na granici između vodenog sloja i etanola treba se pojaviti bijela, vlaknasta masa – izolovana DNK.  etanol (gornji sloj) DNK (bijela, vlaknasta masa na granici) vodena faza (donji sloj)	8 Izvlačenje DNK Pomoću staklenog štapića pažljivo namotati i izvući bijele nakupine koje su se formirale na granici između vodene i alkoholne faze. 	9 Zadatak Nacrtati čašu sa istaloženom tvari u alkoholnoj fazi i na crtežu jasno označiti: – alkoholnu fazu (gornji sloj) – istaloženu tvar (DNK) – vodenu fazu (donji sloj).  alkoholna faza (gornji sloj) istaložena tvar (DNK) vodena faza (donji sloj).
POTREBAN MATERIJAL I REAGENSI  5–6 zrelih jagoda plastična vrećica sa zatvaračem laboratorijska čaša epruveta ili manja čaša mjerne kašike i kašičice deterdžent za posude kuhinjska so sok od ananasa etanol (hladan) etanol colati u frižideru				

Istraživačka pitanja (odgovore pisati u svesku)

1. Zašto je DNK iz jagode često lakše uočiti?
2. Koju ulogu imaju deterdžent, so i enzimi?

3. Zašto DNK postaje vidljiva nakon dodavanja etanola?
4. Kako izgleda izdvojena DNK?
5. Kako izolacija DNK doprinosi razvoju biologije i medicine?

GRUPA 3 – Izolacija DNK iz grožđa

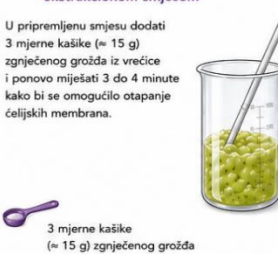
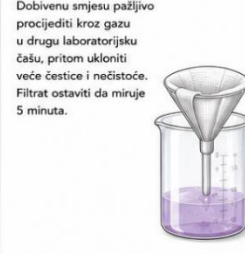
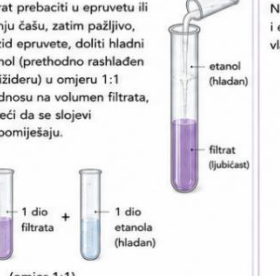
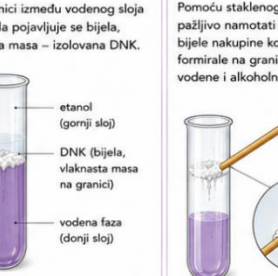
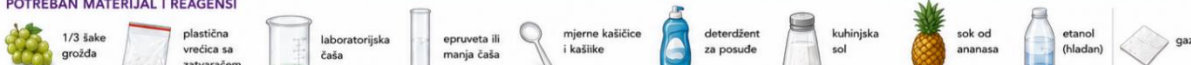
Teorijski uvod

Izolacija DNK omogućava proučavanje genetičkog materijala i predstavlja osnovu savremenih metoda molekularne biologije, genetike i biotehnologije.

Zadatak grupe

Izvedite laboratorijsku izolaciju DNK iz grožđa i analizirajte uspješnost izdvajanja DNK iz biljnih ćelija.

ŠEMA ISOLACIJE DNK IZ GROŽĐA

1 Priprema uzorka Oprati 1/3 šake grožđa, ukloniti peteljke i staviti u plastičnu vrećicu sa zatvaračem. Dodati 1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode i pažljivo zgnječiti sadržaj vrećice dok ne nastane ujednačena kašasta masa.  1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode	2 Priprema ekstrakcione smjese U laboratorijskoj čaši pomiješati: • 2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta za posude • 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) kuhinjske soli • 3 mjerne kašičice (15 ml) destilovane vode. Smjesu lagano miješati 3 do 4 minute.  2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) soli 3 mjerne kašičice (15 ml) vode	3 Miješanje uzorka sa ekstrakcionom smjesom U pripremljenu smjesu dodati 3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječenog grožđa iz vrećice i ponovo miješati 3 do 4 minute kako bi se omogućilo otapanje ćelijskih membrana.  3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječenog grožđa	4 Filtriranje Dobivenu smjesu pažljivo procijediti kroz gazu u drugu laboratorijsku čašu, pritom ukloniti veće čestice i nečistoće. Filtrat ostaviti da miruje 5 minuta. 	
5 Dodavanje enzima U filtrat dodati nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa) i lagano promiješati da proteaze počnu razgrađivati proteine vezane za DNK.  nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa)	6 Dodavanje hladnog etanola Filtrat prebaciti u epruvetu ili manju čašu, zatim pažljivo, uz zid epruvete, doliti hladni etanol (prethodno rashlađen u frižideru) u omjeru 1:1 u odnosu na volumen filtrata, pazeći da se slojevi ne pomiješaju.  1 dio filtrata + 1 dio etanola (hladan) (omjer 1:1)	7 Pojava DNK Na granici između vodenog sloja i etanola pojavljuje se bijela, vlakasta masa – izolovana DNK.  etanol (gornji sloj) DNK (bijela, vlaknasta masa na granici) vodena faza (donji sloj)	8 Izvlačenje DNK Pomoću staklenog štapića pažljivo namotati i izvući bijele nakupine koje su se formirale na granici između vodene i alkoholne faze. 	9 Zadatak Nacrtati čašu sa istaloženom tvari u alkoholnoj fazi i na crtežu jasno označiti: – alkoholnu fazu (gornji sloj) – istaloženu tvar (DNK) – vodenu fazu (donji sloj).  alkoholna faza (gornji sloj) istaložena tvar (DNK) vodena faza (donji sloj).
POTREBAN MATERIJAL I REAGENSI  1/3 šake grožđa plastična vrećica sa zatvaračem laboratorijska čaša epruveta ili manja čaša mjerne kašičice i kašike deterdžent za posude kuhinjska sol sok od ananasa etanol (hladan) gaza				

Istraživačka pitanja (odgovore pisati u svesku)

1. Kako izgleda izdvojena DNK iz grožđa?
2. Koju ulogu imaju reagensi tokom izolacije DNK?
3. Zašto se koristi hladni etanol?

4. Kako građa biljnih ćelija utiče na izolaciju DNK?
5. Kako se izolacija DNK koristi u genetičkom inženjerstvu?

GRUPA 4 – Izolacija DNK iz jabuke

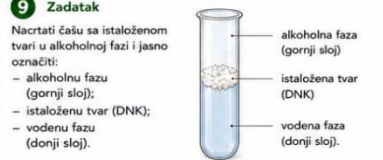
Teorijski uvod

Laboratorijska izolacija DNK omogućava vizualizaciju genetičkog materijala i razumijevanje savremenih metoda molekularne biologije i genetičkog inženjerstva.

Zadatak grupe

Izvedite laboratorijsku izolaciju DNK iz jabuke i analizirajte uspješnost izdvajanja DNK iz biljnih ćelija.

ŠEMA IZOLACIJE DNK IZ JABUKE

1 Priprema uzorka Oguljenu trećinu jabuke narezati na manje komade i staviti u plastičnu vrećicu sa zatvaračem. Dodati 1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode i pažljivo zgnječiti sadržaj vrećice dok ne nastane ujednačena kašasta masa.  1–2 mjerne kašike (5–10 ml) destilovane vode	2 Priprema ekstrakcione smjese U laboratorijskoj čaši pomiješati: • 2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta za posude • 1/2 mjerne kašike (≈ 2,5 g) kuhinjske soli • 3 mjerne kašičice (15 ml) destilovane vode. Smjesu lagano miješati 3 do 4 minute.  2 mjerne kašičice (10 ml) deterdženta 1/2 mjerne kašičice (≈ 2,5 g) soli 3 mjerne kašičice (15 ml) vode	3 Miješanje uzorka sa ekstrakcionom smjesom U pripremljenu smjesu dodati 3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječene jabuke iz vrećice i ponovo miješati 3 do 4 minute kako bi se omogućilo otapanje ćelijskih membrana.  3 mjerne kašike (≈ 15 g) zgnječene jabuke
4 Filtriranje Dobivenu smjesu pažljivo procijediti kroz gazu u drugu laboratorijsku čašu, pritom ukloniti veće čestice i nečistoće. Filtrat ostaviti da miruje 5 minuta. 	5 Dodavanje enzima U filtrat dodati nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa) i lagano promiješati da proteaze počnu razgrađivati proteine vezane za DNK.  nekoliko kapi enzimske otopine (soka od ananasa)	6 Dodavanje hladnog etanola Filtrat prebaciti u epruvetu ili manju čašu, zatim pažljivo, uz zid epruvete, doliti hladni etanol (prethodno rashlađen u frižideru) u omjeru 1:1 u odnosu na volumen filtrata, pazeci da se slojevi ne pomiješaju.  1 dio filtrata + 1 dio etanola (hladan) (omjer 1:1)
7 Pojava DNK Na granici između vodene sloja i etanola pojavljuje se bijela, vlaknasta masa – izolovana DNK.  etanol (gornji sloj) DNK (bijela, vlaknasta masa na granici) vodena faza (donji sloj)	8 Izvlačenje DNK Pomoću staklenog štapića pažljivo namotati i izvući bijele nakupine DNK koje su se formirale na granici između vodene i alkoholne faze. 	9 Zadatak Nacrtati čašu sa istaloženom tvari u alkoholnoj fazi i jasno označiti: – alkoholnu fazu (gornji sloj); – istaloženu tvar (DNK); – vodenu fazu (donji sloj). 
POTREBAN MATERIJAL I REAGENSI  1/3 jabuke plastična vrećica sa zatvaračem laboratorijska čaša epruveta ili manja čaša mjerne kašike i kašičice deterdžent za posude kuhinjska sol sok od ananasa etanol (hladan) gaza		

Istraživačka pitanja (odgovore pisati u svesku)

1. Kako izgleda izdvojena DNK iz jabuke?
2. Koju ulogu imaju deterdžent, so i etanol?
3. Zašto se DNK izdvaja u alkoholnoj fazi?
4. Koji faktori utiču na uspješnost izolacije DNK?

5. Kako se izolacija DNK koristi u savremenoj biologiji?
6. **PRILOG 2. Genetičko inženjerstvo i biotehnologija u svakodnevnom životu**
7. **GRUPA 1 – Genetski modificirani usjevi (GMO)**



- 8.
9. **Teorijski uvod**
10. GMO biljke su biljke kojima su geni namjerno promijenjeni u laboratoriji. Najpoznatiji primjeri su GMO kukuruz i soja.
11. Naučnici dodaju gene koji čine biljke otpornijima na insekte, bolesti i sušu. Zahvaljujući tome, poljoprivrednici mogu proizvesti više hrane i koristiti manje pesticida, što je korisno za prirodu.
12. GMO biljke se koriste u mnogim državama širom svijeta i mogu biti hranjivije i kvalitetnije od običnih biljaka.
13. Ipak, postoje i rasprave o sigurnosti GMO hrane, pa se provode brojna testiranja. Ovi usjevi pokazuju kako genetika može pomoći u rješavanju problema gladi, ali i otvaraju pitanja o dugoročnim posljedicama.
14. **Zadatak grupe:**
15. Zamislite da ste tim naučnika koji istražuje kako se pomoću genetike mogu poboljšati biljke koje ljudi koriste za ishranu. Vaš zadatak je da objasnite šta su GMO biljke, zašto se koriste i da razmislite o prednostima i mogućim rizicima.
16. **Istraživačka pitanja**
17. 1. Koje osobine naučnici dodaju GMO biljkama i zašto?
18. 2. Kako GMO biljke pomažu poljoprivredi i zaštititi okoliša?
19. 3. Da li je u redu koristiti GMO biljke u ishrani ljudi? Obrazložite svoje mišljenje.
20. **Zaključak**
21. Na kraju, napišite jednu rečenicu koja izražava stav vaše grupe:
22. „Smatramo da je korištenje GMO biljaka jeste / nije dobra ideja, jer...”
- 23.

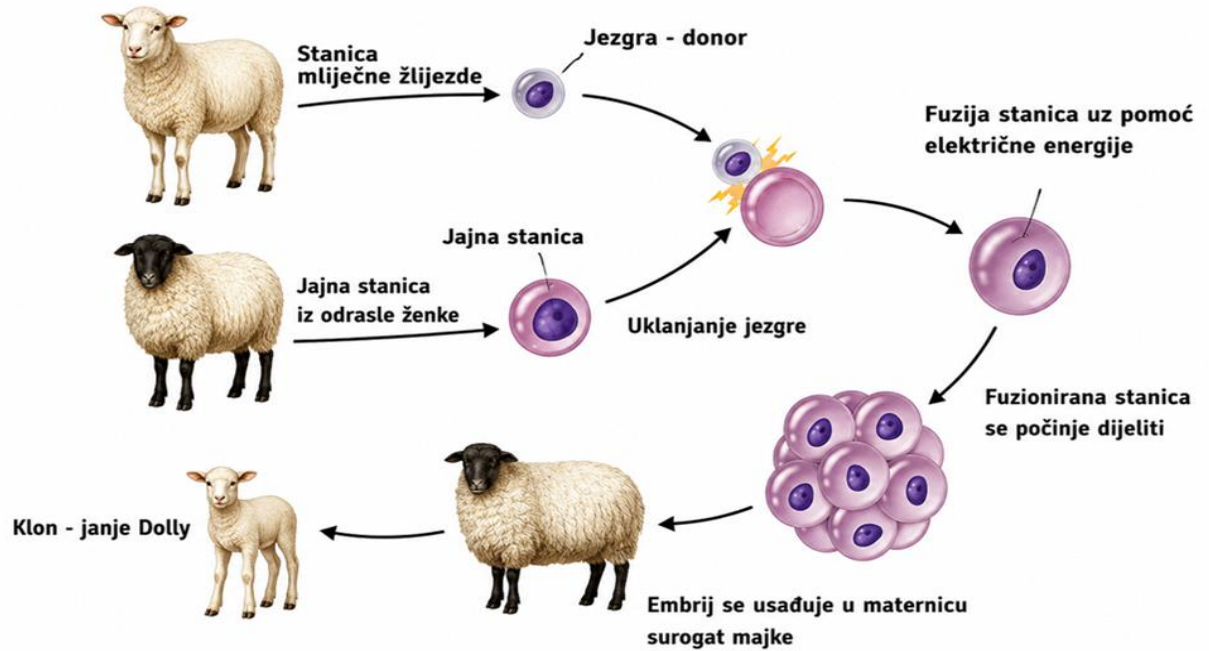
24. **GRUPA 2 – Kloniranje ovce Dolly**



25.

26. Teorijski uvod

27. Dolly je rođena 1996. godine u Škotskoj i bila je prvi sisar kloniran iz tjelesne (somatske) ćelije odrasle ovce. Naučnici su uzeli ćeliju iz vimena jedne ovce, uklonili njeno jedro i prenijeli ga u jajnu ćeliju druge ovce iz koje je prethodno uklonjeno jedro.
28. Nakon što je ćelija počela da se dijeli, embrion je usađen u treću ovcu koja je rodila Dolly — genetsku kopiju prve ovce.
29. Ovaj postupak pokazao je da je moguće stvoriti živo biće iz ćelije odraslog organizma, što je otvorilo nova pitanja o kloniranju, medicini i etici.
30. **Zadatak grupe:**
31. Zamislite da ste tim naučnika koji istražuje kako je nastala ovca Dolly — prva životinja klonirana iz ćelije odrasle jedinke. Vaš zadatak je da objasnite kako je izvedeno kloniranje, zašto je Dolly važna za nauku i koje se etičke dileme mogu pojaviti.



32.

33. Istraživačka pitanja

34. Kako je Dolly nastala — koje su tri ovce bile uključene u postupak kloniranja?

35. Zašto je Dolly važna za nauku i šta je njen primjer pokazao?

36. Da li je kloniranje životinja etički prihvatljivo? Obrazloži svoje mišljenje.

37. Zaključak

38. Na kraju, napišite jednu rečenicu koja izražava stav vaše grupe:

39. „Smatramo da kloniranje životinja jeste / nije dobra ideja, jer...”

40.

41. GRUPA 3 – Kloniranje pande



42.

43. Teorijski uvod

44. Velike pande su ugrožena vrsta — u prirodi ih ima vrlo malo. Naučnici u Kini i Japanu pokušavaju da ih sačuvaju pomoću kloniranja.

45. U eksperimentima koriste DNK odraslih pandi, a jajne ćelije i surogat-majke dolaze od srodne vrste — crne medvjedice.

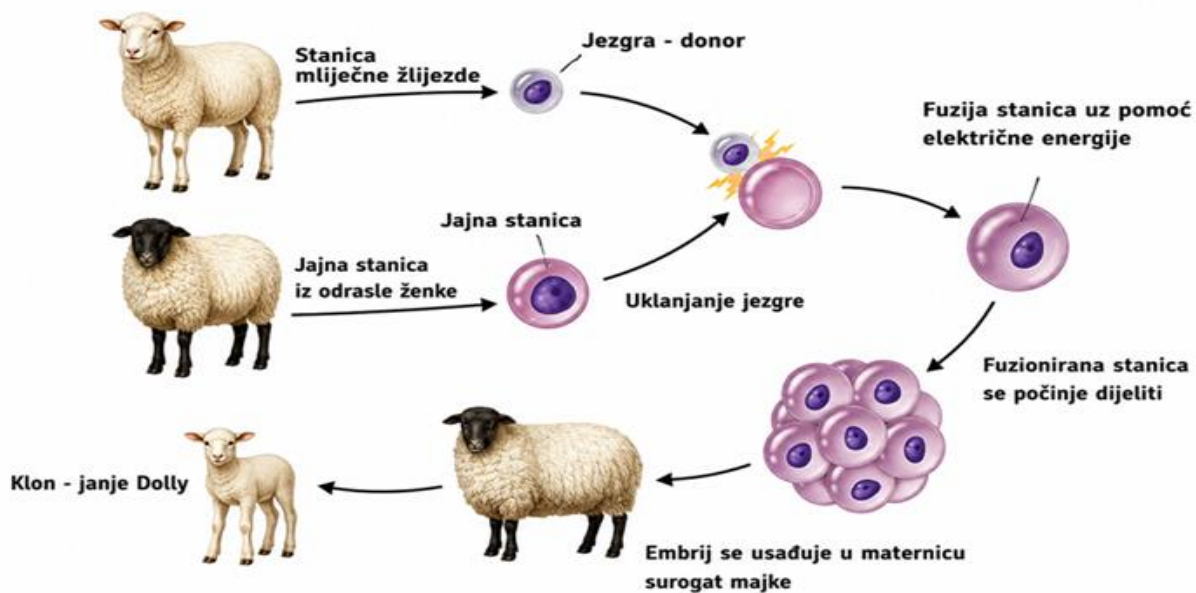
46. Iako do sada nijedna klonirana panda nije preživjela do kraja razvoja, ovi pokušaji pokazuju koliko je biotehnologija napredovala.

47. Ali, postavlja se pitanje: da li je u redu klonirati životinje da bismo ih spasili od izumiranja?

48. Zadatak grupe:

49. Zamislite da ste tim naučnika koji istražuje kako bi se ugrožena vrsta poput pande mogla sačuvati pomoću kloniranja.

50. U radu ćete koristiti sliku kloniranja ovce Dolly kao primjer postupka koji se pokušava primijeniti i kod kloniranja pande.



51.

52. Istraživačka pitanja

53. Zašto naučnici pokušavaju klonirati pandu i koje se biotehnološke metode koriste u tom procesu?
54. Koja životinja se koristi kao surogat majka i zašto baš ona?
55. Da li je etički opravdano klonirati ugrožene vrste? Obrazložite svoje mišljenje.
56. **Zaključak**
57. Na kraju, napišite jednu rečenicu koja izražava stav vaše grupe:
58. „Smatramo da kloniranje pande jeste / nije dobra ideja, jer...”
- 59.

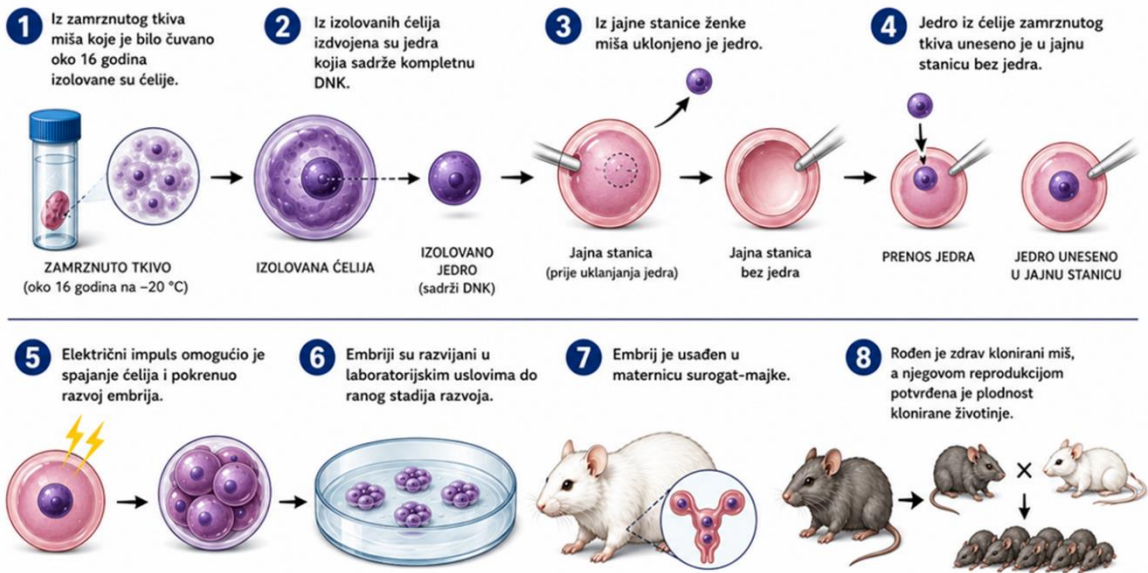
- 60.
- 61.

62. GRUPA 4 – Kloniranje mamuta



- 63.
- 64.
65. **Teorijski uvod**
66. Mamut je životinja slična slonu, koja je živjela u ledenom dobu. Danas je izumrla, ali naučnici su pronašli njene ostatke u ledu — kost, dlaku, pa čak i komadiće kože. U tim ostacima nalazi se DNK, nasljedni materijal koji određuje kako neko živo biće izgleda i funkcioniše.
67. Zahvaljujući genetičkom inženjeringu, postoji ideja da se mamut može „oživjeti” — stvoriti novi mamut pomoću naučnih metoda.
68. Pogledajte sliku kloniranja miša iz zamrznutog tkiva.
69. **Zadatak grupe:**
70. Zamislite da ste tim naučnika koji želi da „vrati u život” vunastog mamuta — životinju koja je izumrla prije hiljade godina. Vaš zadatak je da osmislite kako bi to bilo moguće koristeći znanje o genima i savremenoj nauci.
71. **Razmislite:** ako je moguće klonirati miša iz zamrznutih ćelija, da li bi to bilo moguće i sa mamutom?

KAKO JE MIŠ KLONIRAN IZ ZAMRZNUTOG TKIVA



LITERATURA

Wakayama, T., Ohta, H., Hikichi, T., Mizutani, E., Iwaki, T., Kanagawa, O., & Wakayama, S. (2008). Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with freeze-dried somatic cell nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(45), 17318–17322. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806166105>

Napomena: Postupak prikazan na slici zasnovan je na istraživanju japanskih naučnika koji su prvi uspjeli dobiti zdrave i plodne mišve iz zamrznutog tkiva.

72.

73. **Istraživačka pitanja**

74. Gdje se može pronaći DNK mamuta i kako se koristi u naučnim postupcima?

75. Koja životinja bi mogla poslužiti kao surogat majka za embrij mamuta i zašto?

76. Da li je etički opravdano vraćati izumrle vrste? Obrazloži svoje mišljenje.

77. **Zaključak**

78. Na kraju, napišite jednu rečenicu koja izražava stav vaše grupe:

79. „Smatramo da kloniranje mamuta jeste / nije dobra ideja, jer...”