

## Dwieść winę na podstawie jednego pocałunku

[ BAP\_ 1086402.doc ]



### I Spis treści

II	Objaśnienia	Strona 1
III	Materiały	Strona 2
IV	Czasochłonność	Strona 2
V	Przygotowanie doświadczenia	Strona 3
VI	Prace laboratoryjne	Strona 4
VII	Informacje szczegółowe	Strona 4

VIII Materiały do kopiowania dla uczniów od strony 5

### II Objąśnienia

Zestaw „Medycyna sądowa w laboratorium biologicznym“ [*Forensics in the Biology Laboratory*] stworzono, by w nowatorski sposób przekazywać naukową wiedzę z zakresu tradycyjnej biologii laboratoryjnej, budząc przy tym zainteresowanie uczniów i wspierając ich myślenie i proces uczenia się. W zestawie uczniowie otrzymują materiał dowodowy z miejsca przestępstwa oraz podstawowe informacje związane z przedmiotową tematyką. Sami są odpowiedzialni za

CONATEX-DIDACTIC Pomoce Naukowe Sp. z o.o. - ul. Powstańców Śląskich 103/1, 01-355 Warszawa  
Dział Obsługi Klienta: tel.: 22 228 88 51, faks: 22 228 88 52

Internet: [www.conatex.pl](http://www.conatex.pl) – e-mail: [biuro@conatex.pl](mailto:biuro@conatex.pl)

Wszelkie prawa zastrzeżone. Powielanie i rozpowszechnianie części lub całości tej publikacji bez wyraźnej pisemnej zgody Conatex-Didactic Pomoce Naukowe Sp. z o.o. jest zabronione.

tworzenie koncepcji i wykonanie doświadczeń, przy pomocy których doprowadzą do „wyjaśnienia” okoliczności popełnienia przestępstwa.

Ponadto ćwiczenie niejako w naturalny sposób wymusza na uczniach pracę w grupach oraz dzielenie się ze sobą wiedzą fachową i pomysłami w celu ustalenia najlepszego sposobu postępowania skutkującego wyjaśnieniem zbrodni. Pomaga to uczniom pracować we współpracy z innymi i motywuje ich do wykorzystywania indywidualnej wiedzy dla dobra zespołu. Od wszystkich uczniów oczekuje się aktywnego uczestnictwa w procesie podejmowania decyzji i raportowania danych i wyników prac.

Celem doświadczenia jest zapoznanie uczniów z aktywnością enzymu o nazwie amylaza, podstawowego enzymu trawiennego w ludzkiej ślinie.

### III Materiały

Niniejszy zestaw zawiera materiały na osiem stanowisk dla uczniów.  
Elementami zestawu są:

- 1 butelka agaru skrobiowego „Melt-N-Pour”, 500 ml
- 24 szalki Petriego
- 1 butelka płynu Lugola, 30 ml
- 50 chłonnych wacików
- 8 kopert
- 8 wykałaczek
- 8 słomek
- 8 tekturowych kubków
- 32 zamykane woreczki
- Etykiety
- 1 materiały dla nauczyciela
- 1 materiały dla uczniów jako arkusze do kopiowania

*Elementy potrzebne, których nie ma w zestawie:*

- Marker laboratoryjny
- Woda destylowana
- Wodny roztwór wybielacza o stężeniu 10% (lub inny płyn dezynfekujący)

**Zasady BHP:** Zawsze należy przestrzegać rygorystycznych zasad bezpieczeństwa pracy w laboratoriach. Część prac laboratoryjnych wymaga użycia wrzących płynów. Uwaga na oparzenia! Każdy przedmiot, który ma kontakt z ludzką śliną, należy przed wrzuceniem do kosza na śmieci zdezynfekować roztworem wybielacza.

### IV Czasochłonność

Całość zadania można wykonać podczas 55-minutowej jednostki lekcyjnej, o ile wcześniej przygotuje się płytki i materiał dowodowy zgodnie z opisem w rozdziale „Przygotowanie doświadczenia”.

## V Przygotowanie doświadczenia

1. Rozlewanie agaru na szalki: Odkręć zakrętkę butelki z agarem skrobiowym i podgrzewaj butelkę we wrzącej wodzie w garnku, zlewce lub mikrofalówce, aż do zupełnego rozpuszczenia agaru. Jeśli używasz mikrofalówki, zwróć uwagę, by agar nie wykypiał. Weź podgrzany agar przez ściereczkę lub specjalną rękawicę kuchenną do gorących naczyń i wylej na szalki Petriego. Pozostaw przykrywkę na wpół otwartą, by wilgoć mogła swobodnie uchodzić podczas chłodzenia i wysychania. Szalki są gotowe do użycia po całkowitym zestaleniu agaru. Gotowe szalki, które nie są przeznaczone do natychmiastowego wykorzystania, można również przechowywać do tygodnia w lodówce.
2. Przygotowanie próbek z materiałem dowodowym: Każde stanowisko dla uczniów powinno być wyposażone w jeden zestaw materiałów dowodowych z miejsca przestępstwa, czyli wykałaczkę, kopertę, słomkę i tekturowy kubek. Każdy dowód musi być zapakowany pojedynczo w szczelnie zamknięty woreczek, by ślina nie przeniosła się na inny materiał dowodowy. Zwilż wybrane przedmioty próbką śliny (np. poliz kilka kopert lub kubek, nagryź lub possij słomkę i wykałaczkę). **Jeśli pominiesz ten krok, materiał dowodowy nie zareaguje pozytywnie podczas testu.** Wkładając każdy materiał dowodowy do osobnego woreczka, naklejaj jednocześnie etykietę na woreczek i sporządź listę z informacją, w jaki sposób spreparowałeś dany materiał dowodowy. Może się na przykład zdarzyć, że jeden zespół będzie testował kopertę A-1, wykałaczkę B-3 i słomkę C-2. Jeśli naniósłś ślinę tylko na koperty A-1, A-3 i A-7, pozostałe zaś pozostawiłeś czyste, będziesz potrzebować listy, by wspomóc swą pamięć w chwili, gdy będziesz chciał porównać wyniki pracy uczniów.
3. Rozcieńcz płyn Lugola z wodą destylowaną w proporcji 1:10, mieszając 30 ml płynu Lugola z 270 ml wody. Uzyskasz w ten sposób podstawowy roztwór roboczy.
4. Przedyskutuj z uczniami temat związany z amylazą i próbą jodową zgodnie z opisem zawartym w rozdziale „Informacje szczegółowe“, by zapoznać uczniów z enzymem i jego aktywnością.

**Uwaga:** Niniejsze ćwiczenia stworzono, by zachęcić uczniów do myślenia i kreatywności oraz by odejść od typowych „doświadczeń wykonywanych ściśle według zadanego przepisu“. Informacje szczegółowe zawarte w niniejszym podręczniku mają przekazać podstawową wiedzę, której uczniowie potrzebują w celu efektywnego wykonania doświadczenia. Przed etapem teoretycznego wprowadzenia sam podejmij decyzję, ile i jaką część lub części informacji pragniesz przekazać swoim uczniom. Ewentualnie możesz włączyć w tok zajęć inne zasoby, które będą dla uczniów okazją do skonfrontowania własnej wiedzy lub zlecić uczniom pozyskanie dodatkowych informacji w toku poszukiwań w bibliotece lub Internecie. Być może zdecydujesz, by na początku nie pokazywać uczniom fragmentu opisującego „Metody“, by zespoły mogły najpierw przeczytać opis przypadku, zapoznać się z dostępnym wyposażeniem i materiałami i samodzielnie stworzyć swe własne metody. Jeśli tak będzie, z pewnością będziesz chodził po sali i wspierał uczniów w procesie generowania metod. Zwróć przy tym szczególną uwagę, czy i w jaki sposób uczniowie zdecydują o sporządzeniu i wykonaniu kontroli pozytywnych i negatywnych.

## VI Prace laboratoryjne

1. Jeśli ten sam materiał dowodowy będzie później wykorzystywany do oznaczania DNA, należy zwrócić uwagę uczniom, by nie przecierali wacikiem całej powierzchni materiału. W laboratorium kryminalistycznym bada się wyłącznie mały segment dostępnej powierzchni pod kątem aktywności amylazy, a większą część próbki pozostawia się na potrzeby trudniejszej i niezbędnej izolacji DNA.
2. W wielu przypadkach wyniki uzyskuje się po inkubacji trwającej około 10 minut. Czas ten może być różny w zależności od stopnia rozcieńczenia próbki. Im dłuższy jest czas inkubacji, tym wyraźniej widoczne są wyniki. Ponadto aktywność amylazy wzrasta w temperaturze inkubacji wynoszącej 37°C.
3. W ramach dobrej naukowej praktyki powinno się jednocześnie wykonywać kontrolę pozytywną lub test próbki, których wynik jest znany i niezmienny. Kontrolę pozytywną wykonuje się zwykle w każdym doświadczeniu, by upewnić się, że odczynniki działają w sposób zadowalający. Ludzka ślina, pobrana chłonnym wacikiem lub papierową chusteczką od dowolnego ucznia, doskonale nadaje się jako kontrola pozytywna na potrzeby naszego doświadczenia. Wyniki uzyskane dzięki czystej ludzkiej ślinie są bezpośrednio widoczne po dokonaniu rozmazu na płytce wskaźnikowej.
4. Możesz zaoszczędzić cenny czas na lekcji, wcześniej przygotowując i topiąc agar i wstawiając go do czasu rozlania na szalki do podgrzanej kąpieli wodnej. Uczniowie mogą rozlać agar na własne szalki na początku jednostki lekcyjnej i mają jeszcze wystarczająco dużo czasu, by wykonać doświadczenia i zaprotokołować ich wyniki. Opcjonalnie możesz również wcześniej rozlać agar na szalki i wstawić je do lodówki do dnia, w którym będą wykorzystane na lekcji.
5. Jeśli otwierasz kopertę nad parą, zwróć uwagę, by ślady śliny nie uległy nadmiernemu ogrzaniu. Amylaza jest enzymem stosunkowo odpornym na działanie wysokich temperatur, ale zbyt długie rozgrzanie może zaburzyć jej aktywność lub doprowadzić do denaturacji, gdy próbka jest zbyt długo poddawana działaniu pary.

## VII Informacje szczegółowe

Enzymy stanowią unikatową grupę białek, ponieważ są w stanie przyspieszyć lub katalizować inne reakcje, nie zmieniając przy tym swej własnej struktury i „nie wyczerpując się”. Enzymy odgrywają ważną rolę w wielu obszarach funkcjonalnych naszego ciała, począwszy od trawienia pożywienia aż po tworzenie kopii DNA za każdym razem, gdy dochodzi do podziału naszych komórek. Niniejszy zestaw koncentruje się przede wszystkim na aktywności amylazy, najważniejszego enzymu trawiennego zawartego w ludzkiej ślinie. Amylaza katalizuje rozkład skrobi (z długich łańcuchów polimerów glukozy) na krótsze dwucukry, dokonując hydrolizy wiązań chemicznych pomiędzy cząsteczkami. Amylaza jest enzymem niemalże uniwersalnym, występującym jako nośnik u wielu gatunków wykorzystujących skrobię do pozyskiwania energii (np. fasola, pszenica, muchy i ssaki).

Ludzie posiadają dwa rodzaje amylazy. Jedna jest wytwarzana w trzustce, druga zaś w gruczołach ślinowych. Obecność amylazy w ślinie wydaje się być stosunkowo nowym zjawiskiem w rozwoju ewolucyjnym, bowiem wiele innych zwierząt wytwarza amylazę wyłącznie w trzustce. Naukowcy z laboratoriów kryminalistycznych wykorzystują fakt, że ślina zawiera amylazę, by stwierdzić, czy ślina jest obecna na materiale dowodowym lub czy pozostawiła na nim ślad. Ślady śliny znalezione na miejscu przestępstwa są niezwykle pomocne dla naukowców z laboratoriów kryminalistycznych, bowiem tkanka nabłonkowa w ustach złuszcza się i można potem wyodrębnić jej komórki w ślinie. Tym samym ślina może być źródłem DNA, przy pomocy którego można zidentyfikować sprawcę.

Można łatwo oznaczyć aktywność amylazy. Większość analiz zmierzających do wykrycia obecności amylazy polega na prostej reakcji, w której jod wchodzi w reakcję ze skrobią, wywołując granatowe zabarwienie. Ponieważ amylaza rozkłada skrobię, a jod nie wchodzi w reakcję z rozłożoną skrobią, w obecności amylazy roztwór nie zabarwia się na granatowo. Takie reakcje można przeprowadzić w probówce, na płytce z podłożem agarowym zawierającym skrobię lub wszędzie tam, gdzie obecna jest skrobia.

skrobia + jod → niebieskie zabarwienie  
skrobia (polisacharyd) + amylaza → dwucukry  
dwucukry + jod → roztwór bezbarwny lub zabarwienie żółte

W naszym przypadku na miejscu przestępstwa zabezpieczono szereg materiałów dowodowych. Uczniowie muszą stwierdzić, czy niektóre z tych materiałów zawierają ślinę lub ślady śliny. Jeśli tak jest, wówczas dany materiał dowodowy jest niezwykle cenny, gdyż zawiera komórki z DNA, dzięki którym można zidentyfikować osoby zamieszane w popełnienie przestępstwa. Nauczyciel prosi uczniów, by na podstawie próby jodowej stwierdzili, które z przedmiotów opłaca się poddać późniejszej procedurze polegającej na izolacji DNA. Jak zwykle, uczniowie mają przedyskutować swoje plany badawcze w obrębie grupy, by znaleźć optymalny sposób postępowania i rozsądnie podzielić pracę.

## **VIII Materiały do kopiowania dla uczniów (z odpowiedziami na wybrane pytania)**

### **Opis przypadku**

Na miejscu przestępstwa zabezpieczono pewną ilość potencjalnych materiałów dowodowych: kubek, wykałaczkę, słomkę i zamkniętą kopertę. Wydział odpowiedzialny za zabezpieczenie śladów zleca naszemu laboratorium analizę tych przedmiotów pod kątem obecności śliny, którą należy wykazać na podstawie aktywności amylazy, nim materiał dowodowy zostanie poddany analizie DNA.

### **Materiał**

Każdy zespół potrzebuje następujących materiałów:

4 dowody zebrane na miejscu popełnienia przestępstwa  
słomka  
kubek  
wykałaczka  
koperta

CONATEX-DIDACTIC Pomoce Naukowe Sp. z o.o. - ul. Powstańców Śląskich 103/1, 01-355 Warszawa  
Dział Obsługi Klienta: tel.: 22 228 88 51, faks: 22 228 88 52

Internet: [www.conatex.pl](http://www.conatex.pl) – e-mail: [biuro@conatex.pl](mailto:biuro@conatex.pl)

Wszelkie prawa zastrzeżone. Powielanie i rozpowszechnianie części lub całości tej publikacji bez wyraźnej pisemnej zgody Conatex-Didactic Pomoce Naukowe Sp. z o.o. jest zabronione.

3 szalki z podłożem agarowym  
6 chłonnych wacików  
30 ml płynu Lugola  
Marker laboratoryjny  
Woda  
Materiały dla uczniów

## Metody

Twój zespół posiada cztery materiały dowodowe pochodzące z miejsca przestępstwa. Wybierz trzy spośród nich, by poddać je testowi. Wypełnij polecenia z poniższej instrukcji, badając wybrane materiały dowodowe.

1. Sięgnij po płytkę z podłożem agarowym. Podziel powierzchnię płytki markerem laboratoryjnym na trzy pola. Opisz jedno polem znakiem (+), jedno znakiem (-), a jedno literą D (jako dowód). Pole (+) służy jako kontrola pozytywna (pokazuje, że odczynniki działają prawidłowo), pole (-) ukazuje kontrolę negatywną (pokazuje, że płytka nie jest skażona). Na pole D nanosi się próbkę.
2. Sięgnij po materiał dowodowy, który pragniesz analizować. Unikaj sytuacji, w których twój materiał dowodowy miałby kontakt z innymi materiałami dowodowymi lub innymi potencjalnymi źródłami śliny. Unikanie skażeń stanowi lwią część pracy naukowca w laboratorium kryminalistycznym.
3. W celu dalszych przygotowań zwilż wacik lub tupfer niewielką ilością wody. Wata nie powinna całkowicie przesiąknąć wodą, dlatego też jej nadmiar należy odcisnąć, przyciskając wacik do ścianki naczynia z wodą. Przesuń lekko wacik po polu (-) płytki wskaźnikowej.
4. Potrzyj kilkakrotnie jedną stroną pałeczki kosmetycznej po powierzchni materiału dowodowego w miejscu, w którym podejrzewasz ślad śliny.
5. Przesuń lekko tą samą stroną pałeczki po polu D płytki wskaźnikowej. Wykonując rozmaz, zaznacz jego obszar, by mieć pewność, czy w tym właśnie miejscu rzeczywiście zajdzie reakcja.
6. Nowym patyczkiem zbierz trochę ludzkiej śliny i zaaplikuj ją na pole (+) na płytce.
7. Płytkę poddaje się inkubacji w temperaturze pokojowej lub w temperaturze 37°C co najmniej przez 10 minut. Czas ten umożliwia amylazie rozłożenie skrobi znajdującej się na szalce Petriego.
8. Splucz płytkę płynem Lugola. Zwróć uwagę na pojawiające się zmiany barwy.

## Analiza i ocena danych

1. Napisz raport do przedłożenia wydziałowi ds. zabezpieczania śladów z informacją, który materiał dowodowy z największą dozą prawdopodobieństwa zawiera resztki śliny, a tym samym ślady DNA. Dołącz opis metody, która

pozwoła na pozyskanie danych, oraz wywnioskowane przez siebie informacje o stężeniu śliny obecnej na określonym przedmiocie.

2. Jaki wynik zaobserwowano w polu (-) płytki wskaźnikowej? Czy był to wynik, którego oczekiwano? Dlaczego ważne było przeprowadzenie tej analizy?

*Pole (-) nie powinno wykazywać żadnej aktywności amylazy, tzn. pole powinno być zabarwione na jednolity niebieski kolor tak, jak by to było w przypadku niespreparowanej płytki. Można było oczekiwać takiego wyniku, bowiem na pałeczce nie znajdowały się żadne substancje zawierające amylazę, gdy wykonywano rozmaz w polu (-). Ta analiza była ważna, ponieważ potwierdza, że patyczek nie zawierał amylazy nim wszedł w kontakt z materiałem dowodowym.*

3. Jaki wynik zaobserwowano w polu (+) płytki wskaźnikowej? Czy był to wynik, którego oczekiwano? Dlaczego ważne było przeprowadzenie tej analizy?

*Pole (+) powinno wykazywać aktywność amylazy, tzn. na niebieskiej płytce wskaźnikowej powinien być widoczny żółty obszar. Można było oczekiwać takiego wyniku, bowiem jako kontroli pozytywnej użyto ludzkiej śliny, czyli bogatego źródła amylazy. Test wyklucza wątpliwość, która pojawiłaby się, gdyby żaden z materiałów dowodowych nie wykazywał aktywności amylazy. Gdy pole (+) wyraźnie wskazuje na aktywność amylazy, można być pewnym, że płytki z agarem skrobiowym i płyn Lugola działają bez zarzutu i na testowanych materiałach dowodowych rzeczywiście nie stwierdzono aktywności amylazy.*