به نام خدا

سوالات آزمون **بیوشیمی** دوره تابستانه بیست و یکمین المپیاد زیست شناسی ایران

زمان آزمون: ۱۸۰ دقیقه　　مجموع نمره: ۳۲ نمره　　شماره آزمون :۱

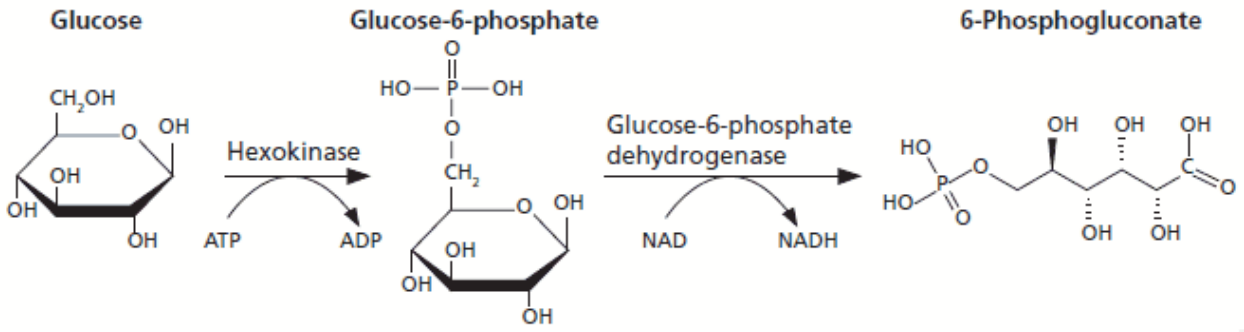
تاریخ آزمون: ۲۱ شهریورماه ۱۳۹۷　　ساعت شروع آزمون: ۸:۰۰ صبح　　درصد: ۵,۵ درصد نمره نهایی

استفاده از ماشین حساب مجاز می‌باشد　　تعداد سوالات: ۱۱

---

۱- برای بررسی میزان گلوکز خون یک نمونه، دو محقق از دو روش متفاوت استفاده کردند.

محقق اول: طبق واکنش زیر عمل کرد.




محقق دوم: طبق واکنش زیر عمل کرد.

$$\beta\text{-D-Glc} + O_2 \xrightarrow{\text{Glucose Oxidase}} \text{D-Gluconolactone} + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{محصول رنگی}$$

محقق اول میزان قند خون را ۱۵۰ mg/dL و محقق دوم ۱۰۵ mg/dL گزارش کرده است.

الف) علت اختلاف نتیجه این دو محقق چیست؟ (۱ نمره)

ب) برای رفع اختلاف دو نتیجه چه راهکاری پیشنهاد می‌کنید؟ (۲ نمره)

---

۲- دو دانشجو برای سنجش فعالیت آنزیم ALP (آلکالین فسفاتاز) به صورت زیر عمل کرده‌اند.

دانشجو اول: ۲۰ µl از استوک آنزیم با غلظت ۰/۰۱ g/ml را در ۹۸۰ µl کوکتل اضافه کرد.

دانشجو دوم: ۴۰ µl از استوک آنزیم با غلظت ۰/۰۱ g/ml را در ۹۶۰ µl کوکتل اضافه کرد.

هر دو دانشجو بعد از ۲ دقیقه میزان جذب را در طول موج ۴۰۵ nm اندازه‌گیری کردند. (تغییرات جذب در طی ۲ دقیقه انجام واکنش خطی است)

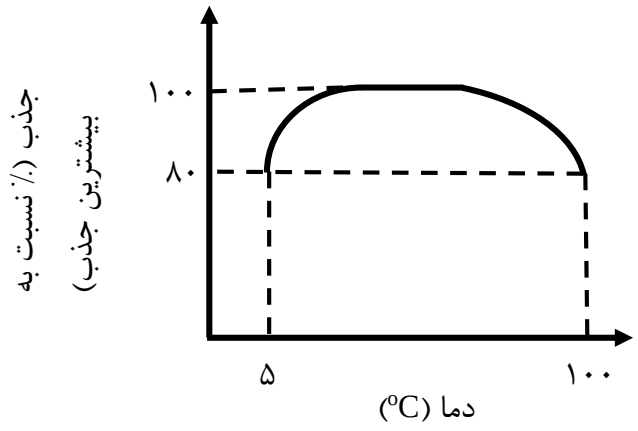
$\varepsilon$ (PNPO)= 10 $mM^{-1}.cm^{-1}$

درستی یا نادرستی هر یک از گزاره‌های زیر را با **ذکر دلیل** مشخص کنید (۲ نمره).

- میزان فعالیت ویژه بدست آمده برای هر دو دانشجو یکسان است.
- میزان فعالیت کل محاسبه شده برای دانشجو اول نصف دانشجو دوم است.
- میزان فعالیت در حجم سنجش برای دانشجو دوم بیشتر از دانشجو اول است.
- میزان $K_{cat}$ بدست آمده برای هر دو دانشجو متفاوت است.

---

۳- شخصی در یک آزمایش فرضی، برای بدست آوردن میزان فعالیت آنزیم α-آمیلاز، کوکتل (۹۰۰ µl نشاسته + ۱۰۰ µl محیط کشت حاوی کلون‌های یک باکتری) در دماهای مختلف تهیه کرد و با روش طیف سنجی نوری و با استفاده از DNS به عنوان عامل کروموفور، نمودار زیر را رسم کرد. (این یک آزمایش فرضی است)




ادعای فرد این است که آنزیمی پیدا کرده است که در همه دماها فعالیت دارد.

طبق قانون $Q_{10}$ (به ازای هر ۱۰ درجه سانتی‌گراد سرعت واکنش دوبرابر می‌شود) ادعای این فرد درست نمی‌باشد.

علت چیست و راهکار حل این مشکل چیست؟ (۳ نمره)

۴- دو مهار کننده برای آنزیم X وجود دارد، اما هیچ اطلاعی از برگشت پذیر یا برگشت ناپذیری و همچنین نوع مهار آن‌ها در دست نیست. دانشجویی به منظور پی بردن به این موارد چندین آزمایش طراحی کرد و انجام داد. مراحل انجام هر یک از آزمایش‌ها به قرار زیر می‌باشد:

الف) آنزیم $I_A + X$ ← دیالیز ← اضافه کردن مقدار زیاد سوبسترا ← میزان فعالیت ۸۰ درصد

ب) آنزیم X ← دیالیز ← اضافه کردن مقدار زیاد سوبسترا ← میزان فعالیت ۸۰ درصد

ج) آنزیم $I_B + X$ ← دیالیز ← اضافه کردن مقدار زیاد سوبسترا ← میزان فعالیت ۲۰ درصد

د) آنزیم $I_A + X$ ← اضافه کردن مقدار زیاد سوبسترا ← میزان فعالیت ۴۰ درصد

ه) آنزیم $I_B + X$ ← اضافه کردن مقدار زیاد سوبسترا ← میزان فعالیت ۲۰ درصد

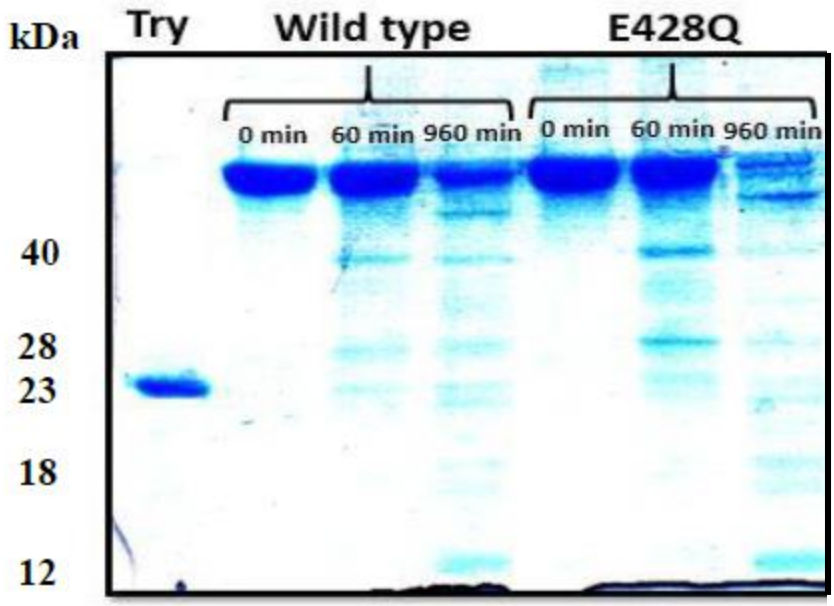
توجه:

- به منظور اطمینان از فعالیت آنزیم، در ابتدا میزان فعالیت آنزیم در حضور سوبسترا و بدون استفاده از مهار کننده اندازه‌گیری شد و به عنوان ۱۰۰ درصد فعالیت در نظر گرفته شد.
- دیالیز روشی است که در آن از یک غشای نیمه تراوا استفاده می‌شود که بسته به اندازه منافذ امکان عبور مواد را فراهم می‌کند.

با توجه به آزمایش‌هایی که توسط این دانشجو انجام شده است. نوع مهار و برگشت پذیر یا ناپذیر بودن هر یک از مهار کننده ها را با ذکر دلیل شرح دهید (۲ نمره).

---

۵- شخصی در یک پروتئین به کمک روش Quick change PCR جهش نقطه‌ای ایجاد کرده است. سپس پروتئین طبیعی و جهش‌یافته (با غلظت یکسان) را درمعرض آنزیم تریپسین قرار داده است (در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های مختلف). محصول نهایی پروتئولیز را روی ژل SDS-PAGE الکتروفروز کرده و عکس ژل زیر بدست آمده است.



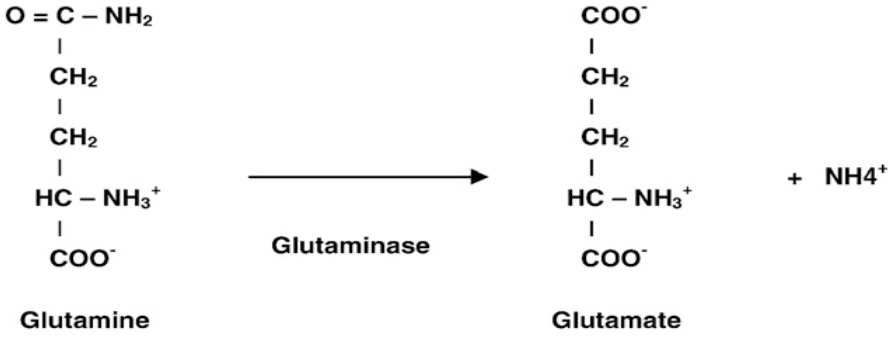

الف) این شخص چه مواردی را می‌تواند از این ژل نتیجه‌گیری کند (۲ نمره).

ب) با توجه به شکل بالا درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را با ذکر دلیل مشخص کنید. (۲ نمره).

- در طیف فلورسانس پروتئین جهش یافته red shift دیده می‌شود.
- میزان جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر برای پروتئین طبیعی بیشتر است.
- میزان نشر فلورسانس در پروتئین طبیعی در طول موج کوتاه تر و انرژی بیشتر می‌باشد.
- طیف CD پروتئین طبیعی منفی تر می‌باشد.

---

۶- یکی از مکانیسم‌هایی که باعث غیرفعال شدن آنزیم می‌شود، حذف آمین در اسیدآمینه‌های Gln و Asn می‌باشد که به اسیدآمینه‌های با بار منفی Glu و Asp تبدیل می‌شوند. واکنش زیر تبدیل Gln به Glu را نشان می‌دهد.



دو آزمایش طراحی کنید که از طریق آن‌ها بتوان دآمینه شدن این اسیدآمینه‌ها در پروتئین را تشخیص داد (۳ نمره).

---

۷- در سنجش فعالیت آنزیم اکسیدازی محصول نهایی رادیکال هیدروکسیل می‌باشد که در حضور شناساگر، واکنش رنگی می‌دهد. در این سنجش لازم است اسیدآسکوربیک پیش از افزودن آنزیم به مخلوط واکنش اضافه گردد.

دو دانشجو برای انجام این سنجش به شکل زیر اقدام کردند.

دانشجو اول: پس از افزودن اسیدآسکوربیک، مخلوط واکنش را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری کرد و سپس سنجش را انجام داد.

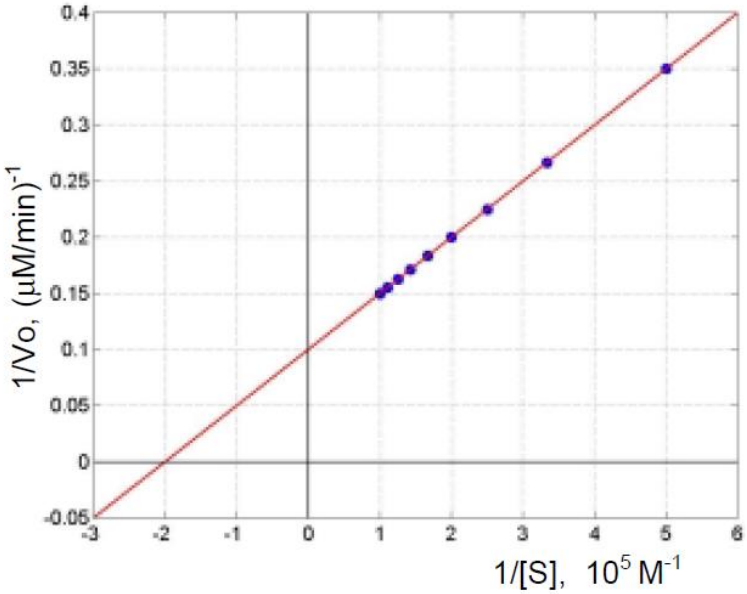
دانشجو دوم: پس از افزودن اسیدآسکوربیک، مخلوط واکنش را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری کرد و سپس سنجش را انجام داد.

علت اضافه کردن اسید آسکوربیک پیش از افزودن آنزیم را شرح دهید؟ (۱ نمره)

میزان فعالیت محاسبه شده توسط دانشجو دوم کمتر از دانشجو اول می‌باشد. علت را شرح دهید (۱ نمره).

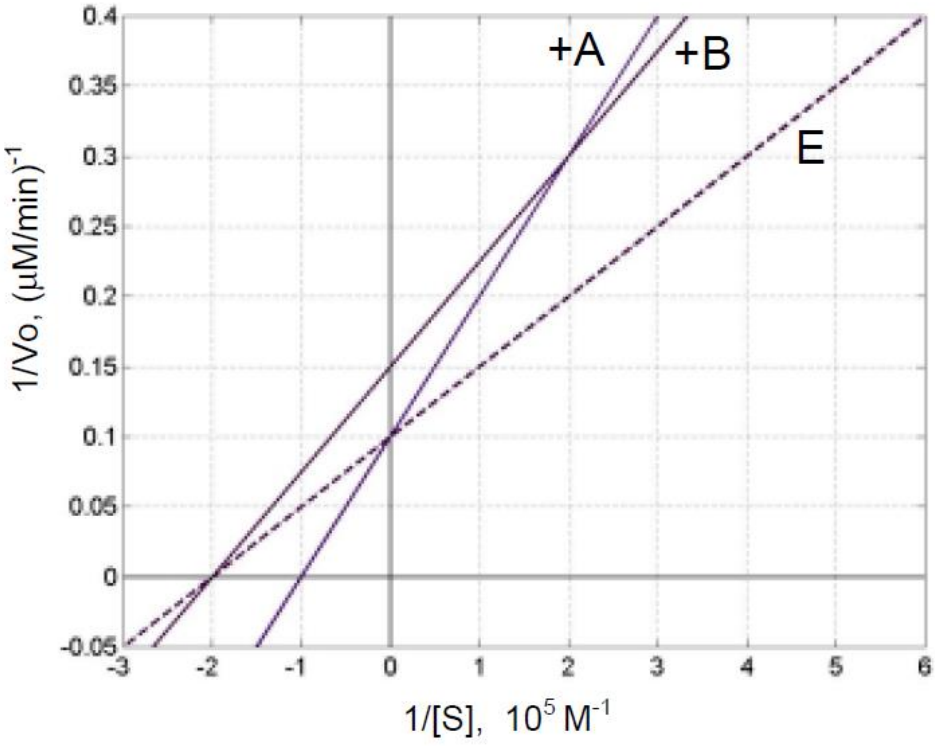
---

۸- سینتیک آنزیم به عنوان تابعی از غلظت سوبسترا در غیاب مهارکننده محاسبه شده و نمودار لاین‌ویوربرک آن رسم شد. غلظت آنزیم uM ۱ می‌باشد.




الف) میزان $K_m$، $V_{max}$ و $K_{cat}$ را محاسبه کنید (۱ نمره).

مهار آنزیم در حضور دو مهار کننده A و B با غلظت مشخص ۱۰ mM به صورت جداگانه آورده شده است.




ب) نوع مهار را در هر مورد مشخص کنید (۰/۵ نمره).

ج) کدام یک از مهارکننده‌ها در غلظت بالا و کدام یک در غلظت پایین سوبسترا موثرتر است. دلیل خود را شرح دهید (۲ نمره).

د) از اطلاعات فوق مقدار $K_i$ را برای هر یک از مهارکننده‌ها حساب کنید (۰/۵ نمره).

ه) به صورت شماتیک نمودار سینتیک آنزیم ($V_o$ علیه غلظت $S_o$) در حضور هر دو مهارکننده رسم کنید (۱ نمره).

---

۹- ساختار اول پلی‌پپتیدی که از مراحل زیر حاصل می‌شود را بدست آورید: (۳ نمره) (توجه: اطلاعات مورد نیاز در مورد جایگاه برش آنزیم‌ها در انتهای سوالات آورده شده است)

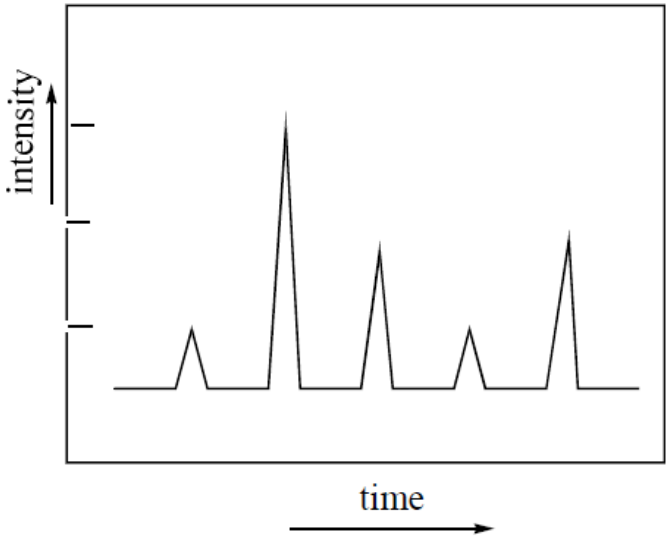
- پس از هیدرولیز اسیدی ترکیب زیر حاصل می‌شود:

Arg, Asp, 2Cys, Gly, Ile, Lue, Lys, Met, Phe, Pro, Ser

- پس از یک دوره تجزیه ادمن Leu و Ser حاصل می‌شود.
- پس از تیمار با کربوکسی‌پپتیداز A (اگزوپپتیداز)، Asp حاصل می‌شود.
- طی تیمار با DTT و یدواستیک اسید و سپس هضم با تریپسین (دی‌پپتیدی متشکل از Arg و Ser)، (دی‌پپتیدی متشکل از Asp و Met)، (هگزاپپتیدی متشکل از Cys و Gly و Ile و Leu و Phe و Pro)، (دی‌پپتیدی متشکل از Lys و Cys ) ایجاد می‌شود.
- طی تیمار با DTT و ۲-برمواتیل‌آمین و سپس هضم با تریپسین (دی پپتیدی متشکل از Arg و Ser)، (دی‌پپتیدی متشکل از Asp و Met)، (اسیدآمینه Cys آزاد)، (اسیدآمینه Lys آزاد)، (تری‌پپتید متشکل از Cys و Gly و Leu)، (تری‌پپتید متشکل از Ile و Phe و Pro ) حاصل می‌شود. (۲-برمواتیل‌آمین با گذاشتن بار مثبت بر Cys آن را نسبت به هضم تریپسینی حساس می‌کند.)
- کموتریپسین تاثیر بر پلی‌پپتید ندارد. (کموتریپسین قادر به هیدرولیز باند پپتیدی مشترک بین انتهای C اسیدآمینه‌های آروماتیک و اسیدآمینه Pro نمی‌باشد.)
- هضم پپسینی این پلی‌پپتید (نانوپپتیدی متشکل از Arg و Asp و 2Cys و Gly و Leu و Lys و Met و Ser)، (تری‌پپتیدی متشکل از Ile و Phe و Pro) ایجاد می‌کند.

---

۱۰- نمودار زیر از دستگاه آنالیز کننده اسیدآمینه، در pH ۵/۵ با استفاده از ستون دارای بار منفی و هیدروفوب حاصل شده است. کدام یک از توالی‌های پلی‌پپتیدی زیر با نمودار مطابقت بیشتری دارد. (توجه: ترتیب توالی درست را انتخاب کنید، ترتیب خروج از ستون مد نظر نمی‌باشد.) (۲ نمره) (توجه: اطلاعات مورد نیاز در مورد جایگاه برش آنزیم‌ها در انتهای سوالات آورده شده است) (نمره منفی: یک چهارم نمره سوال)




A) His Ser Ala Glu Asp Ser Ser Ala Asp

B) Arg Phe Lys Lys Phe Asp Lys Glu Glu

C) Ser Arg Asp Phe Arg His Phe Ser Ser

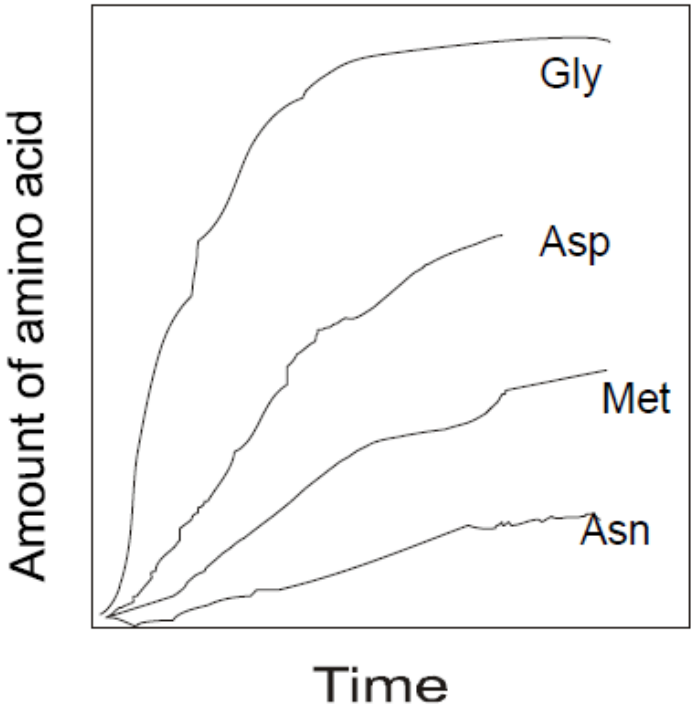
D) His Arg His Phe Ser Arg Ser Lys Arg

E) Ile Val Ala Ile Lys Lys Ala Gly Arg

---

۱۱- شرح آنالیز یک الیگو پپتید آورده شده است، توالی آن را تشخیص دهید (۳ نمره). (توجه: اطلاعات مورد نیاز در مورد جایگاه برش آنزیم‌ها در انتهای سوالات آورده شده است)

- بعد از هیدرولیز اسیدی ترکیب زیر حاصل شد:
  Asn, Asp, 2Glu, Gly, 2Met, Phe, 2Pro, Lys
- هضم با کربوکسی‌پپتیداز (اگزوپپتیداز) نمودار زیر را می‌دهد.




- آنالیز سنگر Glu را تشخیص می‌دهد.
- تیمار با سیانوژن بروماید ۳ قطعه (دی‌پپتید، دی‌پپتید، هپتاپپتید) می‌دهد که آنالیز سنگر برای این سه قطعه Glu، Pro و Asp را تشخیص می‌دهد.
- برش الیگوپپتید با تریپسین دو قطعه (پنتاپپتید، هگزاپپتید) می‌دهد که آنالیز سنگر برای هر دو قطعه Glu را تشخیص می‌دهد.
- برش با کموتریپسین دو قطعه (پنتاپپتید، هگزاپپتید) می‌دهد که آنالیز سنگر این دو قطعه Glu و Lys را تشخیص می‌دهد.

اطلاعات مورد نیاز در مورد جایگاه برش آنزیم و ترکیب شیمیایی:

| نام آنزیم | جایگاه برش |
|---|---|
| تریپسین | Arg, Lys (C) |
| کموتریپسین | Phe, Trp, Tyr (C) |
| پپسین | Phe, Trp, Tyr (N) |
| ترکیب شیمیایی | جایگاه برش |
| سیانوژن بروماید | Met (C) |