



امتحانات انتخاب تیم ایران در المپیاد جهانی
زیست شناسی 2020

آزمون بیوشیمی

مدت آزمون

150 دقیقه

تاریخ برگزاری

11 خرداد 1399

نکات خاص آزمون

نمره هر بخش:

بخش 1: 30 درصد آزمون

بخش 2: 40 درصد آزمون

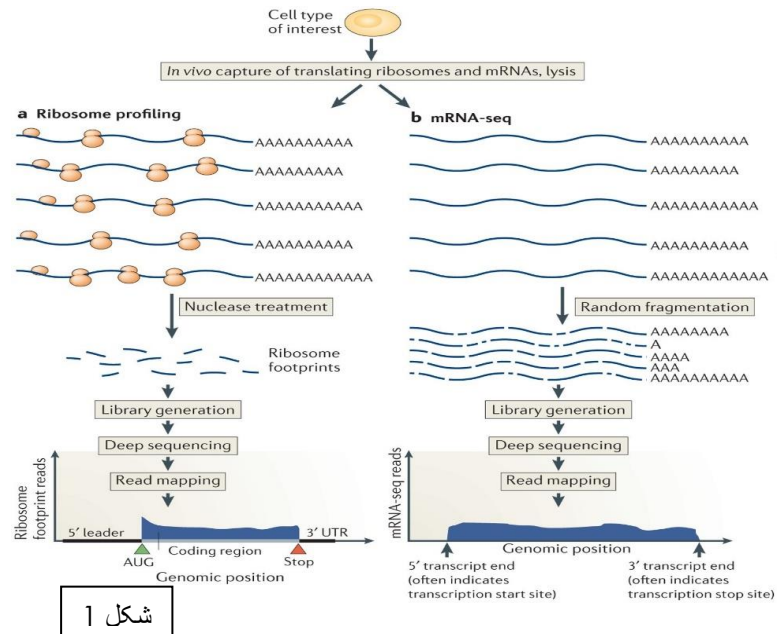
بخش 3: 30 درصد آزمون

نمره درون هر بخش بر اساس نمره جلوی سوال تقسیم می شود.
نمره منفی تنها در سوالات صحیح و غلط و به اندازه نمره سوال
هر گزاره در سوالات صحیح و غلط نمره جداگانه خود را دارد

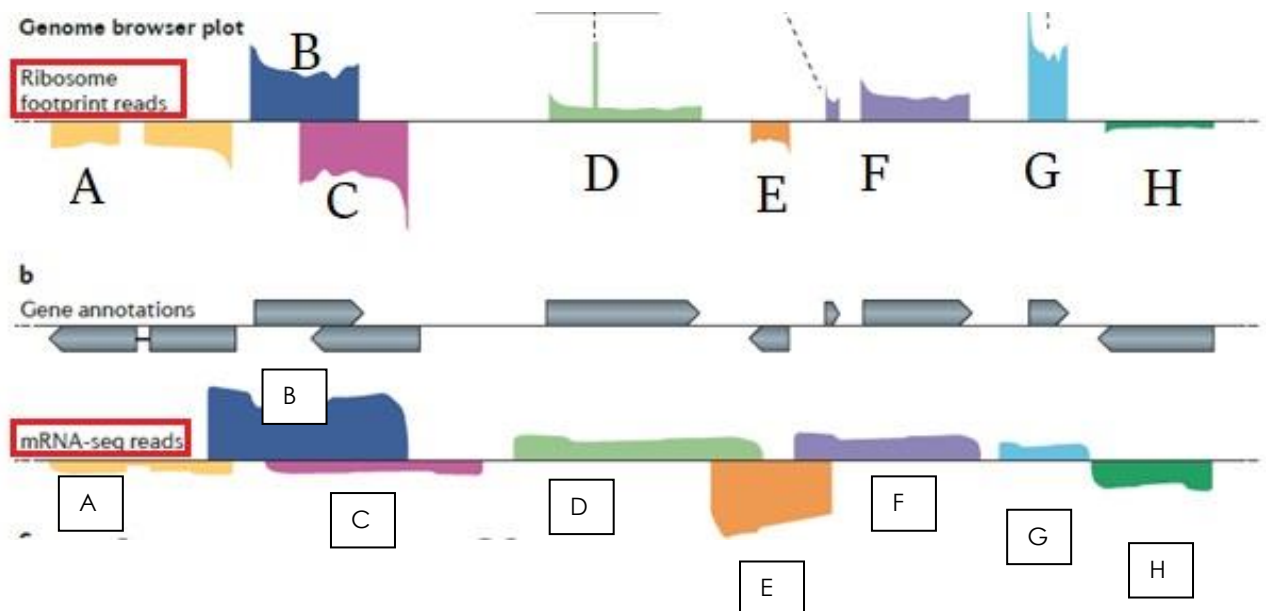
در این کادر چیزی ننویسید	تصحیح اول	تصحیح دوم	تجدید نظر

کد دانش پژوه (در این بخش چیزی ننویسید): []

- در روش mRNA-seq، کل mRNAهای سلول در یک لحظه‌ی خاص توالی‌یابی می‌شوند و بنابراین میزان کمی بیان RNAهای مختلف مشخص می‌شود. (شکل 1)
- در روش Ribosome Profiling، در یک لحظه‌ی خاص، با ترکیباتی مانند فرمالدهید ریبوزوم‌هایی که در حال ترجمه بودند fix می‌شوند و حرکت آن‌ها روی mRNA متوقف می‌شود. سپس سلول‌ها را لیز می‌کنند و در محتویات را در معرض نوکلئازها قرار می‌دهند. قسمت‌هایی از mRNA که ریبوزوم به آن‌ها متصل است هیدرولیز نمی‌شوند و بقیه‌ی قسمت‌های mRNA تجزیه می‌شوند. سپس قسمت‌های هیدرولیز نشده‌ی mRNA توالی‌یابی می‌شوند. (شکل 1) (5 نمره)

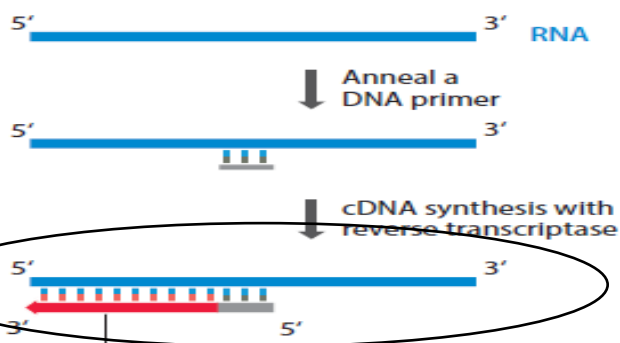


در شکل زیر، نتیجه‌ی Ribosome Profiling و mRNA-seq را برای چندین ژن مختلف مشاهده می‌کنید. با توجه به شکل زیر، درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را تعیین کنید.



	الف) تراکم ریبوزوم روی mRNA های B و C تقریباً برابر است.
	ب) سرعت شروع ترجمه در ژن G و C از همه بیشتر است.
	ج) فراوانی mRNA B و C تفاوت معناداری با یکدیگر ندارد.
	د) در لحظه‌ای که Ribosome Profiling انجام شده است، ترجمه‌ی mRNA ژن D در یکی از نقاط وسط mRNA اش با سرعت بیشتری نسبت به بقیه‌ی قسمت‌های mRNA اش انجام می‌شده.
	ه) ناحیه‌ی UTR ژن H از ناحیه‌ی UTR ژن E طویل تر است (تعداد نوکلئوتید بیشتری دارد).

2) در شکل مقابل، دو مرحله‌ی اول روش Rapid Amplification of cDNA Ends را مشاهده می‌کنید که ابتدا پرایمری برای توالی ای در یک انتهای mRNA ساخته می‌شود.

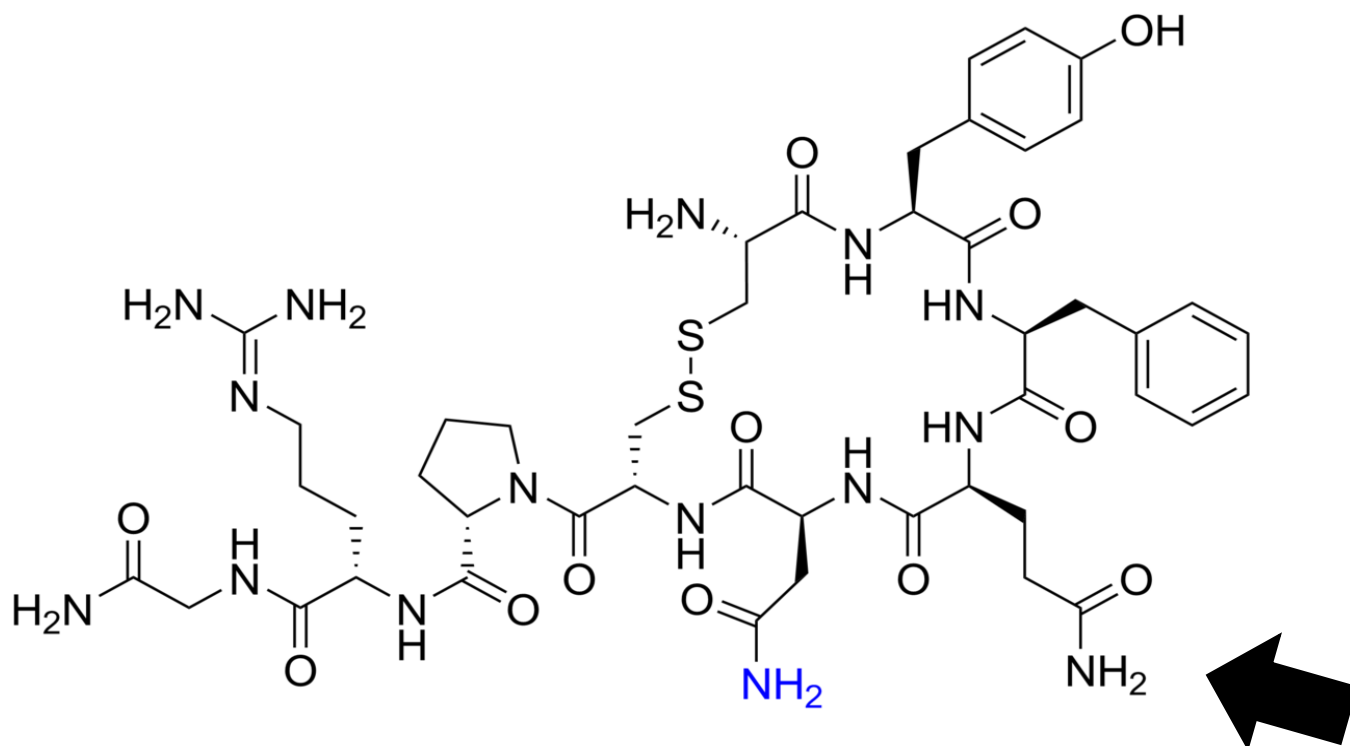


الف) به نظر شما با وجود حضور روش‌هایی مانند RT-PCR، چه نیازی به توسعه‌ی چنین تکنیک PCR ای می‌باشد؟ (3 نمره)

ب) همانطور که در شکل مشاهده می‌کنید، در تصویر مقابل مراحل کامل چرخه‌ی PCR نشان داده نشده است: رشته‌ی پایینی دئوکسی ریبونوکلئوتیدی و رشته‌ی بالای هنوز ریبو نوکلئوتیدی است. از آنجایی که توالی انتهای mRNA را نمی‌دانیم و در نتیجه نمی‌توانیم برای آن پرایمر بسازیم. چگونه می‌توان مراحل PCR را پس از دناتوره کردن نوکلئیک اسیدی که دور آن خط کشیده شده ادامه داد؟ (3 نمره)

3) آنتی دیورتیک هورمون (ADH) یا وازوپرسین یک هورمون نوروپپتیدی است. این هورمون به صورت طبیعی در هیپوتالاموس تولید می‌شود و از هیپوفیز پسین آزاد می‌شود. با توجه به ساختار این نوروهورمون در شکل زیر، صحیح یا غلط بودن گزاره‌های زیر را مشخص کنید. (5 نمره)

الف) آخرین آمینواسید ترجمه‌شده‌ی این هورمون، گلیسین (Glycine, Gly) است.	
ب) mRNA بالغی که از ترجمه‌ی آن، این پلی‌پپتید سنتز می‌شود، 10 کدون دارد.	
ج) زنجیره‌ی جانبی آمینواسید مشخص شده در شکل، متعلق به آمینواسید آسپاراژین (Asp/Asparagine) است.	
د) احتمال حفظ شکل 3 بعدی این هورمون در محیط کاهنده (Reductive) بیشتر از محیط اکسند (Oxidative) است.	
ه) آمینواسیدها از قسمت کربوکسیل خود به tRNA ای که آنها را حمل می‌کند متصل می‌شوند.	

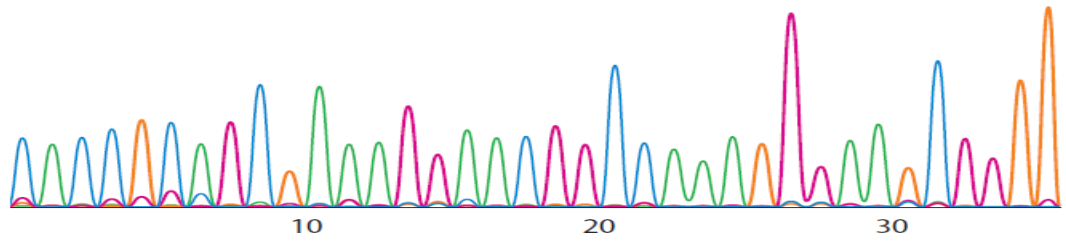


4) 3 جمعیت وجود دارد. از جمعیت 2 و 3 به جمعیت 1 مهاجرت صورت می‌گیرد، به طوری که تعداد افرادی که از جمعیت 2 مهاجرت می‌کنند، برابر است با تعداد افراد مهاجرت کرده از جمعیت 3 به توان 2. تعداد افرادی که از جمعیت 2 مهاجرت کرده‌بودند، چقدر است؟ فراوانی الل مغلوب، پس از مهاجرت، 0.4 است. (6 نمره)

جمعیت	تعداد الل غالب	تعداد الل مغلوب
1	96	104
2	700	300
3	512	128

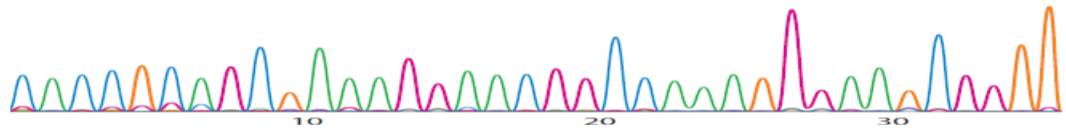
5) پس از انجام Sanger-Sequencing روی یک توالی خاص، نتیجه‌ی زیر به دست آمد

C A C C G C A T C G A A A T T A A C T T C C A A A G T T A A G C T T G G

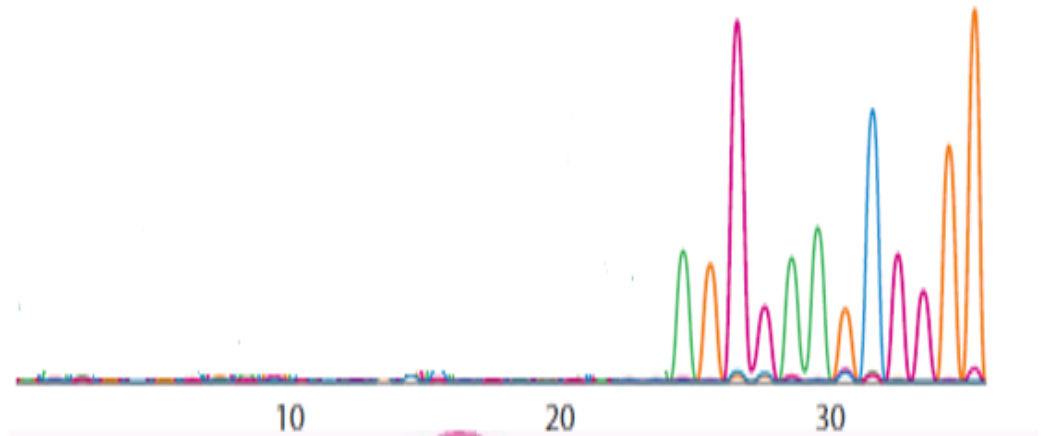


تعدادی افراد دیگر، همین توالی خاص را توالی‌یابی کردند اما در انجام توالی‌یابی خطا کردند و نتایج به دست آمده‌ی آن‌ها با نتیجه‌ی فوق یکسان بود. با توجه به نتایجی که در شکل زیر مشاهده می‌کنید

A

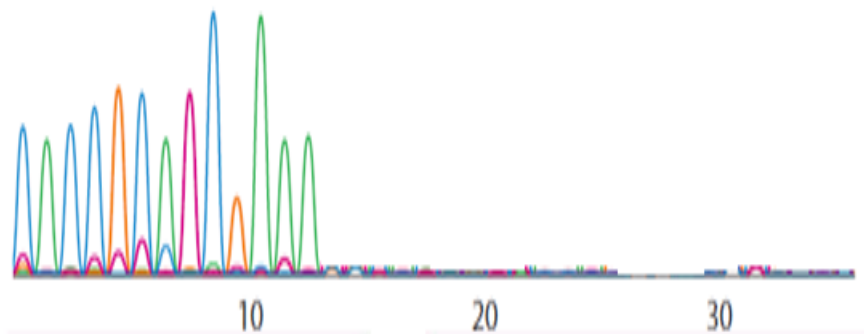


B



C A C C G C A T C G A A A

C



دو علت احتمالی برای نتیجه‌ی پیش‌آمده در شکل A ، دو علت احتمالی برای نتیجه‌ی پیش‌آمده‌ی شکل B و دو علت احتمالی برای نتیجه‌ی پیش‌آمده‌ی شکل C ذکر کنید. (راهنمایی: برای مثال علت‌های احتمالی می‌توانند مربوط به غلظت سوبستراهای موجود در ظروف، یا نوع پلیمر از استفاده شده باشند) (نام پلیمر از نیازی نیست و ذکر ویژگی‌های آن کافی است.)) (6 نمره)

شکل	علت
A	1.
	2.
B	1.
	2.
C	1.
	2.

هو العالم

باشگاه دانش پژوهان جوان

امتحان روش های مطالعه پروتئین ها و ترمودینامیک

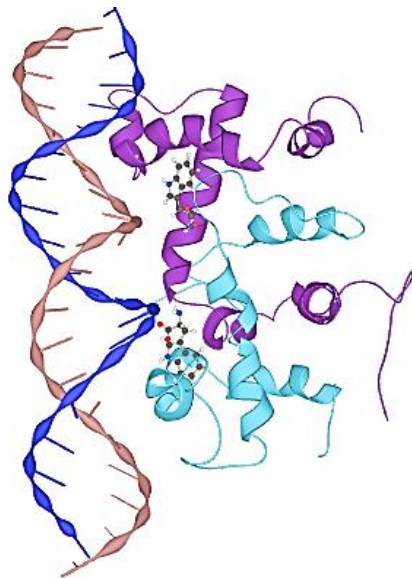
مدرس: فرحان دیستانی

خرداد 1399

توجه: هر پاسخ نادرست 1- نمره منفی دارد.

زمان امتحان: 90 دقیقه

1- بسیاری از پروتئین های متصل شونده به DNA از موتیف مارپیچ - دور - مارپیچ (HTH) و یا انگشت روی (zinc finger) بهره می گیرند. دو فاکتور رونویسی متصل شونده به DNA به نام GAL4 و Trp-repressor در شکل زیر نشان داده شده است. GAL4 در *S.cerevisiae* باعث بیان ژن های تولید گالاکتوز می شود و Trp-repressor در *E.coli* در حضور تریپتوفان، به اوپران متصل شده و مانع از رونویسی می شود. مورد موتیف های ساختاری این دو، گزاره های صحیح یا غلط را مشخص کنید. (4 نمره)



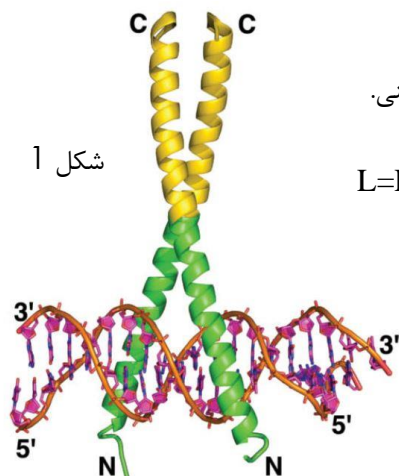
Trp-repressor



GAL4

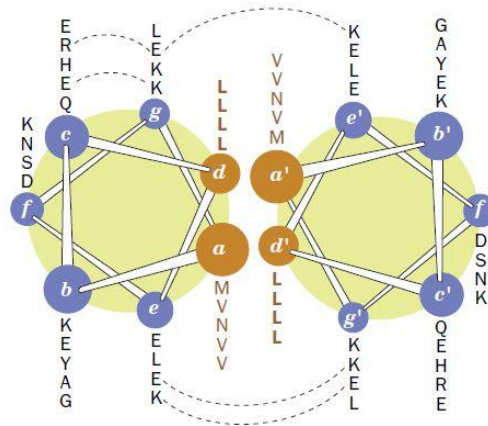
غلط	صحیح	گزاره ها
		الف) دور (turn) باعث قرارگیری عمود بر هم دو مارپیچ آلفا می شود و به توالی مشخصی از DNA متصل می شود.
		ب) در مورد این دو، در هر جایگاه اتصال یک مارپیچ آلفا وارد شکاف بزرگ DNA می شود.
		ج) با روش NMR میتوان به وجود موتیف انگشت روی در GAL4 پی برد چراکه دارای Zn متصل شونده به مارپیچ آلفا است و دارای پیچ مضاعف (Coiled coil) نیز می باشد.
		د) در هر دو مورد، آمینواسید لوسین با ایجاد پیوندهای هیدروژنی و واندروالسی به ایجاد اتصال با DNA کمک می کند.

2- بعضی از فاکتورهای رونویسی دارای موتیف زیپ لوسین (Leucine Zipper) هستند. مطالعات کریستالوگرافی X-ray روی پروتئین GCN4 مخمر که توسط Peter Kim انجام گرفت، نشان داد که این موتیف دارای دو مارپیچ آلفا است که هر مارپیچ آن دارای چند بخش آمینواسیدی می‌باشد. در بخشی از آن، در هر 7 آمینواسید یک Leu تکرار شده و در بخش دیگری از آن آمینواسیدهای R و K مشاهده شده است (شکل 3). باتوجه به شکل‌های 1، 2 و 3 درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را مشخص کنید. (4 نمره)



شکل 1

شکل 2: مقطع عرضی موتیف از سمت آمینی.
خط چین‌ها اتصالات واندروالسی هستند.
L=Leu – K=Lys – E=Glu – R=Arg



شکل 3

Yeast GCN4 PESSDPAALKRARNTEAARRSRARKLQRMKQLLEDKVEELL SKNYHLENEVARLKKLVGER

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) تکرارهای Leu در سمت آمینی با ایجاد پیوندهای هیدروفوبیک باعث پایداری موتیف می‌شود.
		ب) موتیف Leucine Zipper به توالی پالیندرومیک (تقارن دو طرفی) روی DNA متصل می‌شود.
		ج) جایگاه‌های اتصال به DNA باید حاوی تعداد زیادی از آمینواسیدهای R و K باشد تا بتواند به نوکلئوتیدها متصل شود.
		د) پیوندهای R و K با E با ایجاد فشردگی مضاعف (Coiled coil) باعث پایداری موتیف می‌شود.

3- Choose correct sentence(s) about **Thermodynamics of Proteins**. (6 points)

	True	False
a) Unfolded proteins have smaller molar volume than folded proteins in vitro, and hence proteins denature at high pressure.		
b) Smaller individual proteins are easier to fold and are less prone to aggregation, thus improving the overall fitness of the organism.		
c) The hydrophobic core of proteins is highly conserved, and mutations in the core can quickly disrupt the protein structure and stability.		
d) There is a positive correlation between melting point (T_M) and stability of protein.		

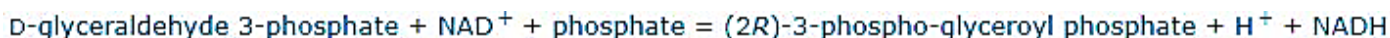
4- به منظور محاسبه DG یک پروتئین در حالت عادی، آن را در غلظت‌های مختلف ماده دنا توره کننده مانند اوره قرار می‌دهند. نمودار DG علیه غلظت دنا توره کننده، یک نمودار خطی است که با ادامه نمودار تا محور عرضی می‌توان DG پروتئین تاخورده (DG(H₂O)) را محاسبه کرد که در حقیقت نشان‌دهنده میزان پایداری پروتئین است. معادله خط آن به قرار زیر است:

$$DG = DG(H_2O) - m[urea]$$

شرایطی را در نظر بگیرید که دو پروتئین دارای DG(H₂O) یکسان و m متفاوت باشند. گزاره‌های درست و نادرست را مشخص نمایید. (7 نمره)

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) این دو پروتئین دارای خاصیت تعاونی (cooperativity) متفاوت برای اوره می‌باشند.
		ب) در غلظت برابر اوره، پروتئین دارای m بزرگتر، در تست ANS prob دارای پیک بزرگتری است.
		ج) با افزایش لیگاند، ظرفیت گرمایی برای هر دو به یک میزان کاسته می‌شود.
		د) اگر به جای اوره از یک ماده سرفکتانت مانند SDS استفاده بشود، نمودار مشابه با آزمایش با اوره مشاهده می‌شود.

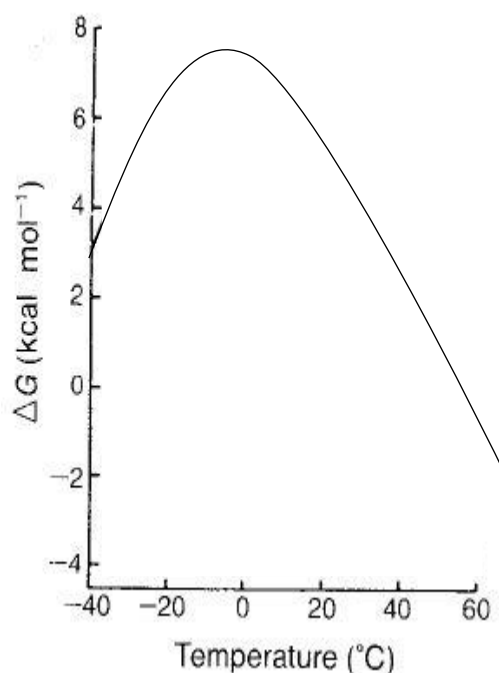
5- آنزیم گلیسرآلدئید 3- فسفات دهیدروژناز دو واکنش/اکسید/سیون و فسفریلاسیون را درون جایگاه فعال خود به انجام می‌رساند. با توجه به این که اگر این دو واکنش خارج از آنزیم و جداگانه، انجام شوند به ترتیب دارای انرژی آزاد استاندارد 50- و 50 کیلوژول بر مول هستند. چگونه می‌توان انجام این دو را در آنزیم توجیه کرد؟ معادله واکنش آنزیم در زیر نوشته شده است. گزینه صحیح را انتخاب کنید. (6 نمره)



- (a) آنزیم هر دو مرحله را همزمان انجام می‌دهد تا انرژی آزاد شده از یکی، مرحله دیگری را فعال کند.
 (b) در جایگاه فعال، حدواسط تیواستری توسط باقی مانده هیستیدین ایجاد می‌شود تا دو واکنش به هم متصل شوند.
 (c) در جایگاه فعال، آمینو اسیدهای باردار برای القای واکنش وجود دارد.
 (d) زمانی که اکسیداسیون به پایان رسید، جایگاه فعال اجازه خروج NADH را نمی‌دهد تا NAD⁺ جدید باعث جدا شدن سوبسترا از جایگاه فعال نشود.

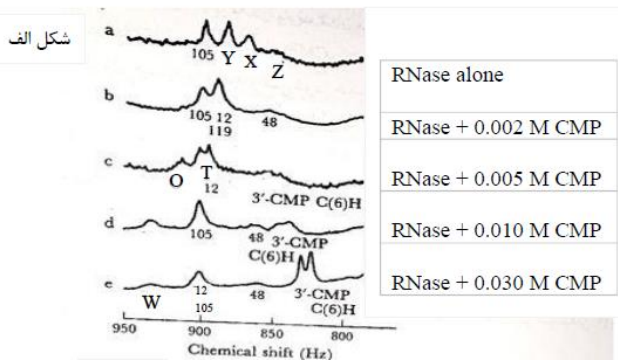
الف) a و b ب) b و c ج) b د) c و d ه) c

6- می‌دانیم که ΔG تابعی از دما است. با توجه به قوانین ترمودینامیک درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را که در مورد میزان ΔG کانفورماسیون غیرطبیعی شدن پروتئین برحسب دما هستند را مشخص نمایید. (6 نمره)

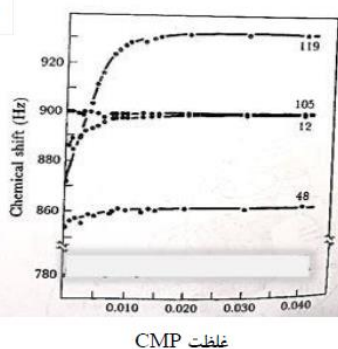


غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) راس نمودار نشانگر $DS = 0$ است.
		ب) در قسمت راست نمودار DS و DH مثبت هستند.
		ج) در قسمت چپ نمودار، به صورت گرماگیر کانفورماسیون پروتئین تغییر می‌کند.
		د) در جایی که $DG = 0$ نقطه melting point یا T_M پروتئین قرار دارد و از این نقطه به بعد پروتئین به صورت برگشت ناپذیر غیر طبیعی می‌شود.

7- برای مطالعه این که کدام آمینواسیدها در جایگاه فعال آنزیم ریبونوکلئاز A با سوبسترا پیوند می‌دهند، تست NMR در غلظت‌های مختلف سیتیدین مونوفسفات (CMP) انجام شد. شکل الف پیک هیستیدین‌های واقع در جایگاه فعال آنزیم را در غلظت‌های مختلف CMP نشان می‌دهد و شکل ب، میزان تغییر شیمیایی آمینواسیدها بر حسب غلظت CMP را نمایان می‌کند. نشان دهید که هر کدام از پیک‌های مشخص شده نشانگر هیستیدین شماره چند آنزیم هستند؟ (10 نمره)



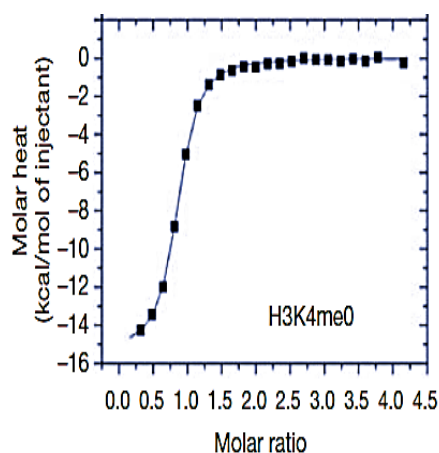
شکل ب



با علامت ضربدر (X) شماره آمینواسید پیک را مشخص کنید. همچنین احتمال دارد که پیک دو آمینواسید همپوشانی داشته باشد.

	His-12	His-48	His-105	His -119
X				
Y				
Z				
W				
O				
T				

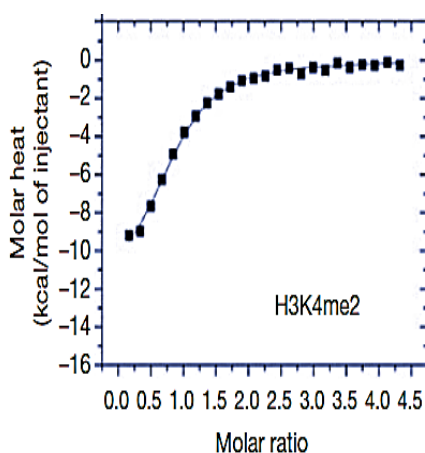
8- دومین ADD آنزیم DNA متیل ترانسفراز نوع A تحت اثر میزان متیلاسیون لایزین شماره 4 هیستون شماره 3 در نوکلئوزوم، میزان عملکرد این آنزیم را تغییر می‌دهد. Otani و همکارانش دومین ADD را تحت غلظت‌های مختلف سه حالت متیلاسیون هیستون شماره 3 قرار دادند تا مشخص کنند که در کدام حالت، عملکرد آنزیم بیشتر است. در شکل زیر نتایج تست کالریمتری هم دما (ITC) برای H3K4me0 (بدون متیل)، H3K4me2 (2 متیل) و H3K4me3 (3 متیل) نشان داده شده است. گزاره‌های درست و نادرست را مشخص نمایید. (6 نمره)



$$\Delta H = -15.2 \pm 0.1 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta S = -22.3 \pm 0.5 \text{ cal/mol}$$

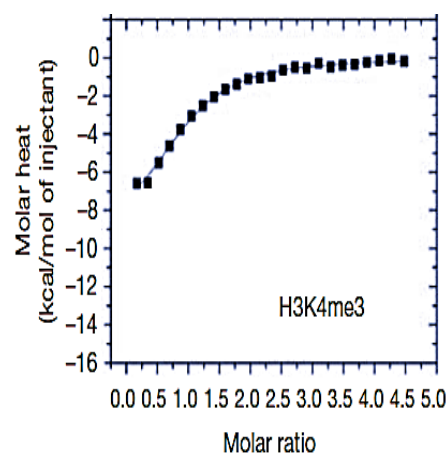
$$K_D = 0.57 \pm 0.05 \mu\text{M}$$



$$\Delta H = -12.1 \pm 0.3 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta S = -15.9 \pm 1.1 \text{ cal/mol}$$

$$K_D = 4.02 \pm 0.3 \mu\text{M}$$



$$\Delta H = -9.80 \pm 0.02 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta S = -9.21 \pm 0.04 \text{ cal/mol}$$

$$K_D = 6.76 \pm 0.14 \mu\text{M}$$

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) پیوند میان H3K4 غیر متیله و دومین ADD دارای کمترین ثابت اتصال (K_D) و بیشترین پایداری است.
		ب) در جزایر CpG، اختلاف آنتالپی پیوند حدودا 15.2- کیلوکالری بر مول می‌باشد.
		ج) پیوندی پایدار است که DS بزرگتری داشته باشد.
		د) آنزیم مناطقی از کروماتین را متیله می‌کند که H3K4 در نوکلئوزوم متیله باشد.

9- یکی از روش‌های کنترل اپی ژنتیکی بیان ژن، متیلاسیون DNA توسط آنزیم DNA متیل ترانسفراز نوع A است. این آنزیم کربن 5 سیتوزین را در توالی CpG (یعنی: سیتوزین، پیوند فسفودی‌استر، گوانین) متیله می‌کند و این گونه ژن خاموش می‌شود. سوال دانشمندان این بود که آیا متیلاسیون در هر توالی CpG باعث خاموشی ژن می‌شود. بنابراین توالی‌های کروموزم‌ها را در طی تکامل بررسی کردند و به نتایج شکل زیر رسیدند. همچنین، متوجه شدند که فواصل میان CpG‌ها برای کارکرد آنزیم بسیار مهم است؛ بطوریکه متیلاسیون بیشتر در نواحی خارج ژنی که با ژن‌های نقش‌پذیر (Imprinted genes) مرتبط هستند (ناحیه‌های با متیلاسیون افتراقی) رخ می‌دهد و آنزیم توانایی کمی در متیلاسیون نواحی پروموتور ژن‌های حیاتی دارد. گزاره‌های درست یا نادرست را مشخص کنید. (6 نمره)

CCCGGCTCCGGGCGGGAAGAGCCGCTCAACGGCAGGGCCCATCCGGGA
GAGGCCAGCGCCCGCGCTCCAGGCCAGGCCCGCGCTCCCGCTG
GGCTGCTCCCTCCGGCCCTGACCGCCCTCTGCTACTTGGAGCGCTTC
CTCAGCCCTTCTCCACCCCGCGCGCCAGCCCTCCCGCGCGCAGCGTGGG
ATCTCGCCCAATAAAGGAGAAAGGCGCGCGGCCGCTACCGCGCCAGGTG
GTGGGCGAGACCCAGCTCAACCCCTCTCCAGCGCGCAAGGCCCGCGGCC
ACAGCTGCTGGCTGCAGTCAGAAAGCTAGCGCGAGACAAGGAAGGGCGC
CTTGACTCCACTTTTGTCCGTTTCAAGCTTCTGCTCAGTGGTGGTGG
AATGCGAGCGCGCTCTTAAATCGATGGCGCTAGGAGTCCATGAATAACG
GTACAGGCTTCCGCGAGCGATGCCCGCGCCCTCAGCCCGCTCCCGCT
CGGGGATGCCCAACCCCTCGTGGCGCTCCCGCGCTCCCGCGCGCGCG
CGCTCGGGCTGCGCTGGCTCTTCCAGCGCGGCCATGGCGCGACTCGAGC
TGCACTGGTTGAGCAGCGGATCCCGAGCTTCCCGCACTTCCCCACCCCA
GCCTGGTATTAGGTGCGCGACAGGCCCGCCCTCGTGGCGCCCGACCT
GCGGGCCTACGATGGGAGCGCGTGGCCCGCGACCTCGGGCGGGCGGG
CGGGAAACCTCGTCTTTCCCGCCCGGGCCCTGCCCTCCTTCGCGCCCG
CGTCAACAGGCTGCTCTGGTCCAGGACATCTCGCCCGTCTCTGAAG
ACCCCGCTCCTTCCCGCGCGCATCGGCTCTGGCGCGACACCTGAAG
GCGAACCACGGGGCGCGATCGACTACATCGAGCGAGTGCCAGTGGC
CGCATCTAGGCGCTTCCCTCTCGCGCGCGCGAGGGCAGCACTGGGCG
TCTGCGCGCTCTGCTTGGGGGAGGGCTTGGGGTCTTCAGGGGGCGCG
GGAAGCGCGCTGCTTGGGTCCCGCGGGAAGGTTGTGAGATTGAGCCC
CGAACCCCGCGCGCTGTGCAAGCGCTTCCCGCGAGGTTCCCGGTCCC
AGCCAGGACAGGCGTACAGTGGCGGTCAGTTGGTCTTCCCTGGAG
TGCCCAAGCTGAATCCAGGGCCAGCTGCCCTTGTCTTGTCTCTTCT
GCGAGCTGGTATTGAGCGCTGCCAGGCCAGGCCCTTCCCTGGTGAAGA
TCAAGGATGCCCAACCGAGGGAAGGAGCCTGGAGGCTCCCGGAGAGC
CCAAGAGGTGGCCAGGGAGAACAGAGTGTCTTCTGGCGCTCTTGGCTCTC
CTAGGCTGTGACAGCCACTCCCTGGACACTGCCCTGAGGAAGCGCCAG
CTCTTGGTGGAGCCACAACACTGCCAGAGCTCCCTTCTCACCTCTGAG
GAAGCCCTCCCTGACCTCTTCCAGGCGCGGGCAGGGTTTCCCTGAGCGT
CCCCCAACCATCAAGCTCAGGCCACCTCGAGAGACTCCCTTTTATGACA
GAAGCCCTGGTGCAGAGCTGCCCTTGTGAGAGTAAGCTGAGGCCCTGTGAGT
TTCTACAGCCAGTTACAGATGGGCTGCTCAGCTCAGAGAGAGGGGTGG
TGACTCCCTAGGAACACAGCTAAGAGTGGTCCCTTAAAGAGACAGAC
CCAGTCTGCACTCTGACCTGGAAGCAGCTCGGGTAGGTGATGGGTAAAC
ATTCTCTAAATGGTGAATGTCTAGTGGCTTTTCACTGGAGGCAACAGG
TACCCCTTGGCACCGCAACCTTGGCCCTGGGATTCCTATGTCTCGCG
AGTCACTCCTGTCACTTACCCTGACAGGCTAGACTCCCGAGGCTTTCCT
TTTGGCCCTCCTTGGCCAGGAGCTTGGAGTGGGCTGCTGTCTCATCCG
AAAGCGGGGAAGTGGCAGGCCCACTCTGTGGGCTCTTATTCCCTGG
AGTAAGGGAAGTGAAGGCTGGGCTGGCCAGAGGAAGGGCAGGCGCCAG
GCCACCGTGGCCACTCTCCCGAGTTCTTAAAGGCTTCCAGGCGGTGTC
AAGTGGAGCTGTGTGGTTACAGTGGCTTGGAGCTCAGAGAGGTGAG
ACATAGGCTGGGCTCACACAGCCAGGTAACAGCAAGGTGGGTTGGAGTC

CCCGGCTCCGGGCGGGAAGAGCCGCTCAACGGCAGGGCCCATCCGGGA
GAGGCCAGCGCCCGCGCTCCAGGCCAGGCCCGCGCTCCCGCTG
GGCTGCTCCCTCCGGCCCTGACCGCCCTCTGCTACTTGGAGCGCTTC
CTCAGCCCTTCTCCACCCCGCGCGCCAGCCCTCCCGCGCGCAGGTGGG
ATCTCGCCCAATAAAGGAGAAAGGCGCGGCCGCTACCGCGCGCAGGTG
GTGGGCGAGACCCAGCTCAACCCCTCTCCAGCGCGCAAGGCCCGCGGCC
ACAGCTGCTCGCTCGAGTCAGAAAGCTACCGCGAGACAAGGAAGGGCGC
CTTGACTCCACTTTTGTCCGGTTCGAAGCTTCTGCTCAGTGGTGGTGG
AATGGAGGGGCTCTTAAATCGATCGCGCTAGGAGTCCATGAATAACG
GTACAGGCTTCCCGCGAGCGGATCCCGAGCTTCCCGCACTTCCCCACCCCA
CGGGGATGCCCAACCCCTCGTGGCGCTCCCGCGCTCCCGCGCGCGCG
CGCTCGGGCTGCGCTGGCTCTTCCAGCGCGGCCATGGCGCGACTCGAGC
TGCACTGGTTGAGCGCGGATCCCGAGCTTCCCGCACTTCCCCACCCCA
GGCGTGGTATTAGGTGCGCGACAGGCCCGCCCTCGTGGCGCCCGACCT
CGGGCCTACGAGTGGGAGCGCGTGGCCCGGACCTCCGGGCGGGCGGGG
CGGGAAACCTCGTCTTTCCCGCCCGGGCCCTGCGCTCCTTCCCGCCCG
CGTCAACAGGCTGTCTTGGGTCAGGGACATCTCCCGCGCTCTGAAG
ACCCCGCTCTTCCCGCGCGCATCGGCTCCTCGCGCGACACTGTGAAG
GCGAACCAAGGGGCGCGCATCGACTACATCGCGAGGAGTCCAGTGGCG
CGCATCTAGGCGCTTCCCTCTCGCGCGCGCGAGGCCAGCACTGGGCG
TCTGCGCGCTCTGCTTGGGGGAGGGCTTGGGGTCTTCAGGGGGCGCG
GGAAGCGCGCTGCTTGGGTCCCGCGGGAAGGTTGTGAGATTGAGCCC
CGAACCCCGCGCGCTGTGCAAGCGCTTCCCGCGAGGTTCCCGGTCCC
AGCCAGGACAGGCGTACAGTGGCGGTCAGTTGGTCTTCCCTGGAG
TGCCCAAGCTGAATCCAGGGCCAGCTGCCCTTGTCTTGTCTCTTCT
GCGAGCTGGTATTGAGCGCTGCCAGGCCAGGCCCTTCCCTGGTGAAGA
TCAAGGATGCCCAACCGAGGGAAGGAGGCTTGGAGCTCCCGGGAGAGC
CCAAGAGGTGGCCAGGGAGAACAGAGTGTCTTCTGGCGCTCTTGGCTCTC
CTAGGCTGTGACAGCCACTCCCTGGACACTGCCCTGAGGAAGCGCCAG
CTCTTGGTGGAGCCACAACACTGCCAGAGCTCCCTTCTCACCTCTGAG
GAAGCCCTCCCTGACCTCTTCCAGGCGCGGGCAGGGTTTCCCTGAGCGT
CCCCCAACCATCAAGCTCAGGCCACCTCGAGAGACTCCCTTTTATGACA
GAAGCCCTGGTGCAGAGCTGCCCTTGTGAGAGTAAGCTGAGGCCCTGTGAGT
TTCTACAGCCAGTTACAGATGGGCTGCTCAGCTCAGAGAGAGGGGTGG
TGACTCCCTAGGAACACAGCTAAGAGTGGTCCCTTAAAGAGACAGAC
CCAGTCTGCACTCTGACCTGGAAGCAGCTCGGGTAGGTGATGGGTAAAC
ATTCTCTAAATGGTGAATGTCTAGTGGCTTTTCACTGGAGGCAACAGG
TACCCCTTGGCACCGCAACCTTGGCCCTGGGATTCCTATGTCTCGCG
AGTCACTCCTGTCACTTACCCTGACAGGCTAGACTCCCGAGGCTTTCCT
TTTGGCCCTCCTTGGCCAGGAGCTTGGAGTGGGCTGCTGTCTCATCCG
AAAGCGGGGAAGTGGCAGGCCCACTCTGTGGGCTCTTATTCCCTGG
AGTAAGGGAAGTGAAGGCTGGGCTGGCCAGAGGAAGGGCAGGCGCCAG
GCCACCGTGGCCACTCTCCCGAGTTCTTAAAGGCTTCCAGGCGGTGTC
AAGTGGAGCTGTGTGGTTACAGTGGCTTGGAGCTCAGAGAGGTGAG
ACATAGGCTGGGCTCACACAGCCAGGTAACAGCAAGGTGGGTTGGAGTC

1- پراکندگی CpG در کروموزوم 3 انسانی

2- پراکندگی GpC در کروموزوم 3 انسانی

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) در طی تکامل، 5 – متیل سیتوزین دچار جهش دآمینوسیون شده و به تیمین تبدیل شده است.
		ب) در NMR کربن 5 سیتوزین پس از ایجاد پیوند، تغییر شیمیایی و زمان برانگیختگی هسته، هر دو، افزایش می‌یابند.
		ج) با وجود متیله شدن سیتوزین، پیوند هیدروژنی آن با باز رشته مقابل حفظ می‌شود.
		د) میزان CpG در DNA نوروپورا/کراسا بیشتر از سلول انسانی است.

10- با تحلیل ویژگی‌های عمومی حالت مولتن گلوبول پروتئین گزاره‌های صحیح یا غلط را نشان دهید. (6 نمره)

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) اختلاف ظرفیت گرمایی (DC _P) حالت مولتن گلوبول نسبت به حالت غیر طبیعی شده بیشتر از DC _P حالت طبیعی پروتئین نسبت به حالت غیر طبیعی است.
		ب) ترتیب میزان هایدروفوبیسیته (آگریزی) حالات پروتئین به این صورت است: حالت غیر طبیعی < حالت مولتن گلوبول < حالت طبیعی
		ج) مولتن گلوبول ساختار دوم و سوم مشابه با حالت طبیعی پروتئین دارد اما عملکرد زیستی ندارد.
		د) T _M و فشردگی کمتری نسبت به حالت طبیعی دارد.
		ه) در تست NMR یک آمینواسید آرژنین که در مرکز پروتئینی قرار گرفته، حالت مولتن گلوبول تغییر شیمیایی بیشتری برای این آمینواسید نسبت به حالت طبیعی پروتئین نشان می‌دهد.

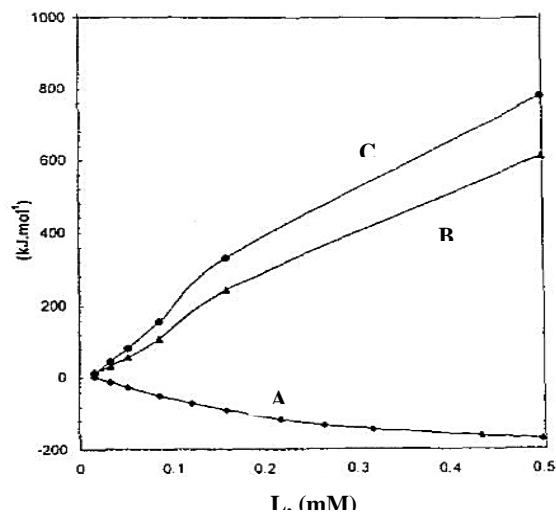
11- در مورد تاخوردگی پروتئین گزاره‌های صحیح و غلط را انتخاب کنید. (5 نمره)

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) به دلیل تغییر سیس به ترانس پرولین در تبدیل حالت غیر طبیعی به حالت مولتن گلوبول زمان زیادی سپری می‌شود.
		ب) برهمکنش‌های آگریز نیروی محرکه اصلی تاشدن پروتئین‌ها می‌باشد.
		ج) با قرار دادن سه حالت طبیعی، غیر طبیعی و مولتن گلوبول در اولتراسانتریفیوژ ترتیب ضریب ته‌نشینی به این صورت است: مولتن گلوبول < طبیعی < غیر طبیعی
		د) در روش ANS prob پیک حالت تاخورده از پیک حالت غیر طبیعی کردن با سرما بیشتر است.

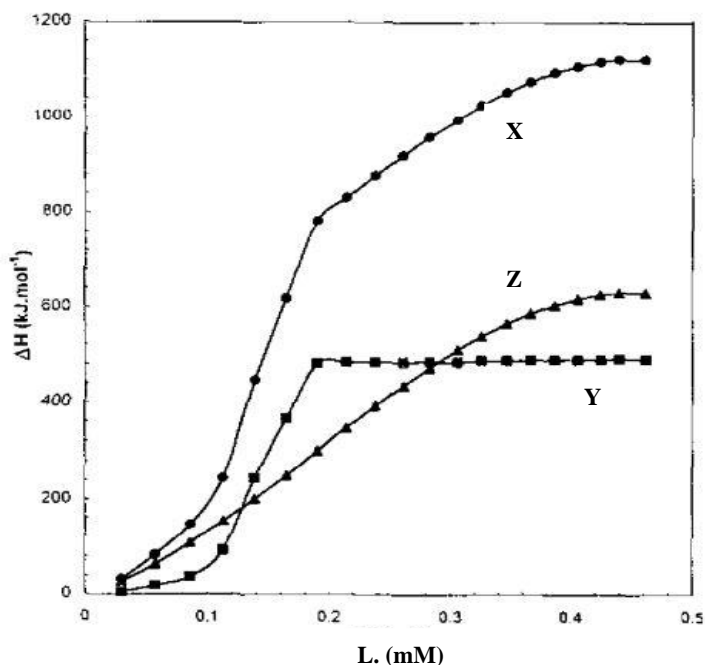
12- یکی از کاربردهای کار با دستگاه کالریمتری تیتراسیون هم‌دما (ITC) محاسبه DH غیرطبیعی شدن پروتئین در اثر افزایش غلظت لیگاند است. به نظر شما ممکن است که دستگاه چه DH های دیگری را تشخیص دهد که برای محقق خطا محسوب می‌شوند و باید با روش‌هایی قبل از انجام آزمایش این DH ها را از DH کلی دستگاه کم کند؟ آن(ها) را با علامت (X) مشخص کنید. (6 نمره)

	الف) ΔH رقیق شدن لیگاند
	ب) ΔH تغییر کشش سطحی محلول
	ج) ΔH پیوند پروتئین با لیگاند
	د) ΔH رقیق شدن پروتئین

- 13-** The serum albumin proteins are among the most highly studied and applied in Human serum albumin (HSA) comprises 585 amino acids with a molecular weight of 66,500 Daltons. The principal function of HSA is to contribute to colloidal osmotic blood pressure and to many transport and regulatory processes. This protein binds a wide variety of substrates, ranging from metals such as calcium, zinc and copper to fatty acids, amino acids, hormones, and an impressive spectrum of therapeutic drugs. Some of the anti-cancer drugs (like Palladium and Platin) interact with DNA and denature it. However, proteins like HSA can decrease their biological function. 2,2'-bipyridineglycinato palladium (II) chloride is a new complex, which is synthesized for anti-cancer purposes. In the present investigation, the interaction of 2,2'-bipyridineglycinato palladium (II) chloride with HSA has been studied by, isothermal titration microcalorimetry technique. The most important results about binding of Palladium complex and HSA has been shown here. Indicate the true and false sentence(s). (10 points)



1. The variation of molar Gibbs free energy (A), enthalpy (B) and TDS (C) of binding 2,2'-bipyridineglycinato palladium (II) chloride on HSA as a function of total concentration of ligand at pH = 7 and 27 °C



2. Molar enthalpies of interaction between human serum albumin and 2,2'-bipyridineglycinato palladium (II) chloride as a function of total concentration of ligand at pH = 7.0 and 27 °C:

	True	False
a) It is concluded that the structural change of proteins must be considered as a side effect of anti-cancer drugs.		
b) The large positive enthalpy and entropic values observed for the ligand-protein complex suggest that the interactions between the two molecules, under conditions of pH = 7.0 and temperatures of 27 °C, are dominated by electrostatic rather than hydrophobic forces.		
c) This interaction does not cause the HSA unfolding but decreases its function by changing Hill coefficient.		
d) Y is DH of unfolding, Z is DH of binding and X is total DH.		
e) The Hill coefficient for this binding is bigger than one.		

14- فرمول بسته C_9H_8O با اطلاعات a: H 4 تک شاخه با 3.4 δ و b: H 4 تک شاخه با 7.3 δ موجود است.

فرمول باز آن را در کادر زیر بکشید. (این سوال نمره منفی ندارد؛ تنها به پاسخ کامل درست، نمره تعلق میگیرد – 10 نمره)

پاسخ:

15- در مورد اتصال لیگاند به پروتئین گزاره‌های درست و نادرست را مشخص کنید. (4 نمره)

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) ضریب هیل میوگلوبین برای اکسیژن بیشتر از 1 است.
		ب) منفی‌ترین DH اتصال پروتئین با لیگاند سرفکتانت مانند STS، مربوط به حالت مولتن گلوبول پروتئین است.
		ج) STS، در غلظت‌های برابر با SDS باعث ناپایداری بیشتری در ساختار پروتئین می‌شود.
		د) اتصال لیگاند با پروتئین گرماده است.

16- Tensiometry روشی است که بوسیله آن میزان تغییرات کشش سطحی محلول در حضور پروتئین ثبت می‌شود. یکی از نمودارهای ثبتي دستگاه، نمودار کشش سطحی بر حسب زمان می‌باشد. در این باره درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را مشخص کنید. (5 نمره)

غلط	صحیح	گزاره‌ها
		الف) نمودار کشش سطحی آب خالص در بالاترین نقطه قرار دارد و پس از مدتی پایین می‌آید.
		ب) بدون حضور لیگاند، در غلظت‌های پایین پروتئین پس از مدتی نمودار به سمت بالا گرایش می‌یابد.
		ج) نمودار حالت مولتن گلوبول نسبت به حالت طبیعی پروتئین با شیب بیشتری به سمت پایین گرایش می‌یابد.
		د) برای محاسبه میزان غلظت مورد نیاز پروتئین برای تجمع و رسوب (aggregation) می‌توان از این روش استفاده کرد.

سوال امتیازی - این سوال نمره منفی ندارد.

17- در پژوهشی اثر غلظت‌های مختلف گلوکز بر پروتئین سرم آلبومین انسانی (HSA) بررسی شد. نخستین بار بیوشیمیست فرانسوی به نام Louis Maillard واکنش گلیکاسیون پروتئین‌های غیر آنزیمی را تشریح کرد. در پژوهش مذکور از دو تکنیک بیوفیزیکی برای مطالعه تغییرات تاختوردگی (folding) پروتئین HSA در حضور گلوکز استفاده شد تا اثرات گلیکاسیون بررسی شود.

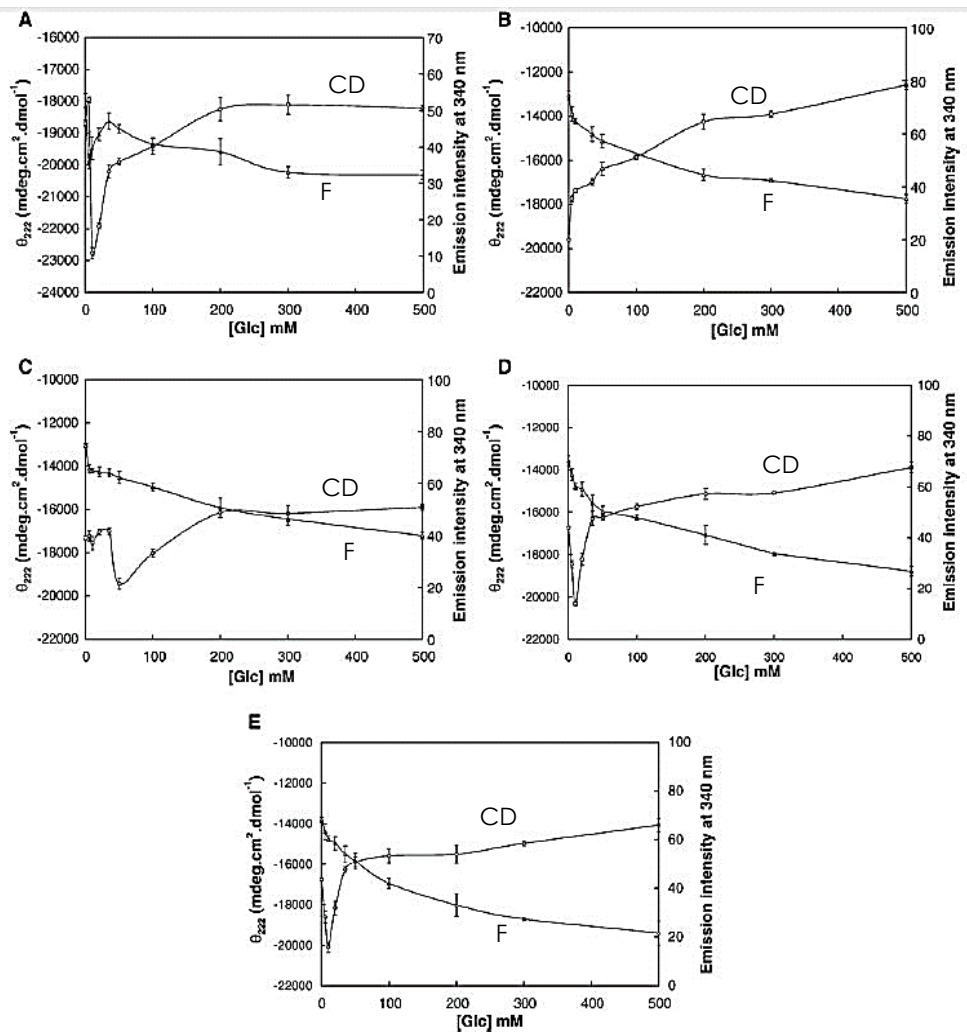
تکنیک طیف‌سنجی دو رنگنمایی دورانی (CD): در این تکنیک نور پلاریزه راستگرد و چپگرد به نمونه تابیده شده و پس از بازتاب، میزان تغییر زاویه نور محاسبه می‌گردد. اگر نور قطبیده چپگرد بیشتر جذب شود، منحنی CD در ناحیه مثبت تشکیل می‌شود و در صورتی که نور راستگرد بیشتر جذب شود، منحنی CD در ناحیه منفی ثبت می‌شود. بدیهی است که تغییرات ساختاری ماکرومولکول باعث تغییر زاویه نور شده و قابل ثبت توسط دستگاه است. از نور فرابنفش دور (فرکانس بیشتر) برای تعیین ساختاری ساختمان دوم استفاده می‌شود و از فرابنفش نزدیک (فرکانس کمتر) برای مطالعه ساختمان سوم پروتئین استفاده می‌شود.

تکنیک طیف‌سنجی فلورسانس: پروتئین‌ها توسط آمینواسیدهای تریپتوفان، تیروزین و فنیل آلانین دارای فلورسنت ذاتی هستند. با این تکنیک می‌توان میزان شدت فلورسانس پروتئین را بررسی کرد. اگر تریپتوفان به سمت فضای قطبی حرکت کند، میزان انتشار فلورسانس توسط آن کاهش می‌یابد.

در این پژوهش که A. Moosavi-Movahedi و همکاران (2007) کار کرده‌اند، برای تعیین اثر گلوکز زیاد در خون به روی پروتئین سرم آلبومین انسانی، پروتئین را تحت انکوباسیون غلظت‌های مختلف گلوکز در طی زمان قرار دادند و نتایج توسط دو تکنیک گفته شده، ثبت شدند. شکل 1 تغییرات ساختاری پروتئین را به صورت نمودار نشان می‌دهد و شکل 2 این تغییرات را به صورت کمی بیان می‌کند.

➤ شکل 1:

محور چپ نمودار نتایج CD را در نور با طول موج 222 نانومتر نشان می‌دهد (فرابنفش دور است و نتایج در ناحیه منفی ثبت شده‌اند). محور راست نمودار نتایج شدت فلورسانس در 340 نانومتر. A: 7 روز ، B: 14 روز ، C: 21 روز ، D: 28 روز ، E: 35 روز انکوباسیون پروتئین با گلوکز



شکل 2: مقایسه درصد ساختار دوم HSA غیر قنددار (non-glycated) و HSA قنددار (glycated) در روزهای مختلف

روزها	HSA without Glc		HAS with 10 mM Glc		HAS with 500 mM Glc	
	a-helix	Random coil	a-helix	Random coil	a-helix	Random coil
7 days incubation	62.29	30.33	73.08	22.29	61.79	30.59
14 days incubation	65.45	27.86	58.68	32.68	43.82	42.90
21 days incubation	57.86	33.57	61.28	31.00	54.65	35.54
28 days incubation	59.86	32.17	67.86	26.27	48.71	39.65
35 days incubation	58.68	32.99	66.20	27.46	49.95	38.86

اصطلاح Random coil به معنای کانفورماسیون تصادفی پروتئین است.

برایند کلی نتایج به دست آمده را در نظر گرفته و سپس تحلیل کنید که قند دار شدن آلبومین (HSA) چه تغییرات ساختاری و ترمودینامیکی از نظر پایداری پروتئین ایجاد می‌کند؟ تحلیل کنید که آیا پروتئین تاخوردتر شده یا واسرشته شده است؟ آیا بیماران دیابتی در خطر تغییرات عملکردی و ساختاری پروتئین‌های مهمی مانند آلبومین در خون هستند؟ پاسخ خود را در زیر بنویسید. (10 نمره)

پایان بخش 2

حضرت علی (ع): دانش در کنار عمل است، پس هر کس بداند عمل می‌کند و علم، عمل را فرامی‌خواند، پس اگر اجابت کرد (علم) بماند و گرنه کوچ کند و برود.

موفق باشید؛ ارادت مند؛ خرداد 1399

کد دانش پژوه (در این بخش چیزی ننویسید): []

بخش 3

1- pH محلول های زیر را به دست آورید. (5 نمره)

الف) $0.01M \text{ HCl}$

ب) $10^{-7} M \text{ HNO}_3$

ج) $10^{-5} M \text{ HOAC}$

د) $10^{-4} M \text{ NaCN}$

ه) $10^{-3} M \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4$

$$pK_{a_{\text{HOAC}}} = 4.75$$

$$pK_{a_{\text{HCN}}} = 9.3$$

$$pK_{a(1,2)}_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4} = 2, 4$$

الف	
ب	
ج	
د	
ه	

2- pH مخلوط های زیر را به دست آورید. (4.5 نمره)

الف) محلول حاصل از اختلاط $40ml \text{ } 10^{-2}M \text{ NaOH}$ و $50ml \text{ } 10^{-2}M \text{ HCl}$

ب) محلول حاصل از احتلاط $70ml \text{ } 10^{-2}M \text{ NH}_3$ و $50ml \text{ } 10^{-2}M \text{ HCl}$

ج) محلول حاصل از اختلاط $980ml \text{ H}_2\text{O}$ و $10ml \text{ } 0.1M \text{ NaF}$ و $10ml \text{ } 0.1M \text{ HF}$

$$pK_{b_{\text{NH}_3}} = 4.75$$

$$pK_{a_{\text{HF}}} = 3.2$$

الف	
ب	
ج	

3- نقطه ایزوالکتریک به pH ای گفته می شود که در آن جمع بارگونه های حل شده صفر می شود. pH ایزوالکتریک را برای ترکیب H_3B^+ با دو رقم اعشار حساب کنید. (3.5 نمره)

$$pK_{a(1,2,3)}_{\text{H}_3\text{B}^+} = 1, 1.5, 2$$

4- مشخص کنید که آیا برای هر کدام از محلول های زیر ممکن است که $C_{0_{acid}} = [H^+]_{equilibrium}$ باشد. اگر جواب مثبت است. در چه غلظت اولیه ای از اسید ممکن است؟ (6 نمره)

الف) $HOAC$ $pKa = 4.75$
 ب) H_2SO_4 $pKa_1 =$ قوی $pKa_2 = 1.92$
 ج) H_4Y $pKa(1, 2, 3, 4) = 2, 2.4, 5, 7$

محلول	-/+	غلظت
الف		
ب		
ج		

موفق باشید!
 مقیمی

کد دانش پژوه (در این بخش چیزی ننویسید): []