



امتحانات دوره تابستان المپیاد زیست
شناسی 1399

آزمون ویروس شناسی

مدت آزمون

90 دقیقه

تاریخ برگزاری

11 آبان 1399

ساعت برگزاری

14:00 – 15:30

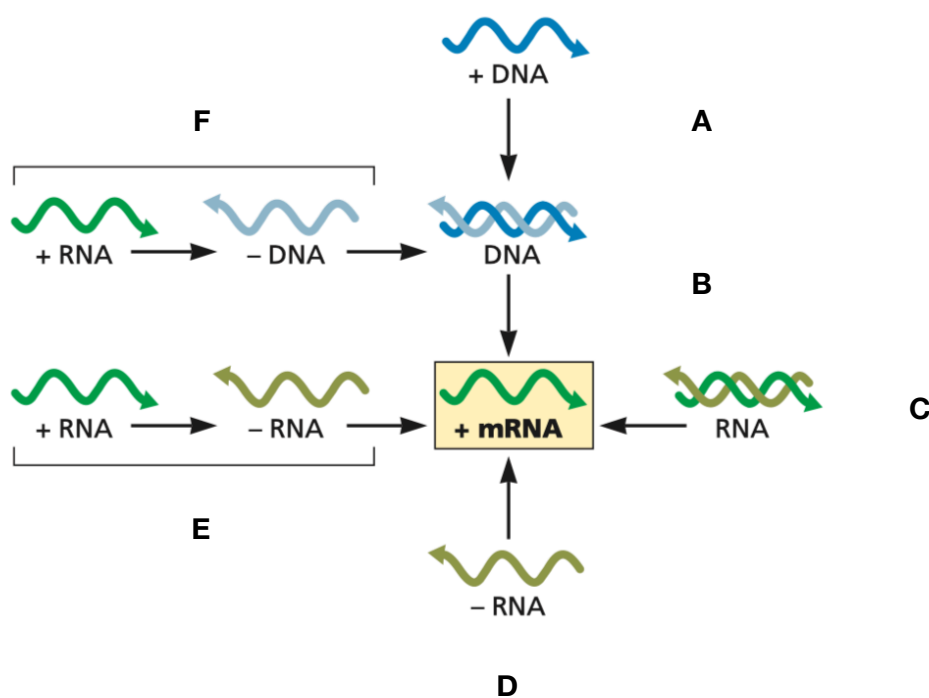
نکات خاص آزمون

بارم هر سوال جلوی آن نوشته شده است.
نمره منفی در صورت وجود در هر سوال مشخص شده است.
فضای مناسب برای پاسخ در هر سوال قرار داده شده است.

در این کادر چیزی ننویسید	تصحیح اول	تصحیح دوم	تجدید نظر

سوال ۱:

در تقسیم‌بندی کلی، ویروس‌ها را با توجه به نوع ماده ژنتیکی در گروه‌های متفاوت قرار می‌دهیم. این گروه‌ها در تصویر زیر نشان داده شده است.



الف) مشخص کنید هر کدام از خانواده‌های ویروسی متعلق به کدام گروه است. (هر کدام ۲ نمره، ۱ نمره منفی)

- | | |
|----------------------|---------------------|
| <input type="text"/> | I. Orthomyxoviridae |
| <input type="text"/> | II. Coronaviridae |
| <input type="text"/> | III. Polyomaviridae |
| <input type="text"/> | IV. Reoviridae |
| <input type="text"/> | V. Herpesviridae |
| <input type="text"/> | VI. circoviridae |
| <input type="text"/> | VII. Retroviridae |

برای بررسی چند ویروس (W-Z) در این گروه‌ها چند آزمایش طراحی و اجرا کردیم. پس از زمان کافی برای هر آزمایش آلوده شدن سلول میزبان را با + نشان دادیم.

Z	Y	X	W	
+	—	—	+	ژنوم ویروس تخلیص شده، و به داخل سلول میزبان انتقال داده شد.
—	—	+	+	سلول میزبان را با ویروس آلوده کردیم، عصاره هسته سلول را استخراج کردیم. آنزیم RNAase افزوده و RNA موجود در نمونه را تجزیه کردیم. محلول حاصل را به محیط سلول میزبان دیگری اضافه کردیم.
—	—	+	+	سلول میزبان را با ویروس آلوده کردیم، عصاره هسته سلول را استخراج کردیم. آنزیم DNAase افزوده و DNA موجود در نمونه را تجزیه کردیم. محلول حاصل را به محیط سلول میزبان دیگری اضافه کردیم.

ب) درستی یا نادرستی گزاره‌های زیر را مشخص کنید. (هر کدام ۲ نمره، ۱ نمره منفی)

۱. ویروس W می‌تواند متعلق به گروه C باشد.
۲. ویروس X می‌تواند متعلق به گروه F باشد.
۳. ویروس Y می‌تواند متعلق به گروه C باشد.
۴. ویروس Y می‌تواند متعلق به گروه D باشد.
۵. ویروس Z می‌تواند متعلق به گروه B باشد.
۶. ویروس W احتمالاً در کپسید خود آنزیم DNA dependant DNA polymerase دارد.
۷. ویروس X احتمالاً در کپسید خود آنزیم پروتئاز دارد.
۸. ویروس X احتمالاً در کپسید خود آنزیم RNA dependant DNA polymerase دارد.
۹. ویروس Y احتمالاً در کپسید خود آنزیم RNA dependant RNA polymerase دارد.
۱۰. ویروس Z احتمالاً در کپسید خود آنزیم RNA dependant RNA polymerase دارد.

سوال ۲:

برای بررسی کمی تیترو ویروس آزمایش‌های زیر را انجام دادیم.

آزمایش Plaque assay

با بررسی محلول stock متوجه شدیم غلظت ویروس $10^8 \text{ particles} \cdot \text{ml}^{-1}$ است. 0.1 ml از این محلول را برداشته و به 0.9 ml بافر که در لوله اول بود منتقل کردیم. سپس 0.1 ml از این محلول را برداشته و به 0.9 ml بافر که در ظرف دوم بود منتقل کردیم و... پلیت کشت‌شده از باکتری را با همه محتوای این لوله‌ها مخلوط و تیمار کردیم. بر پلیت آلوده شده با محتوای لوله ششم ۳۴ پلاک مشاهده شد.

الف) غلظت ویروس stock را در واحد PFU/mL محاسبه کنید. (۳ نمره)

ب) نسبت $\text{Particle}/\text{PFU}$ را برای این ویروس محاسبه کنید. (۱ نمره)

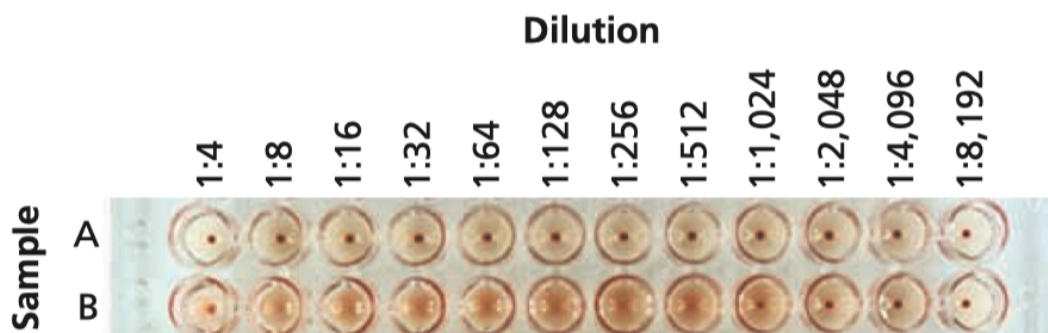
آزمایش End-point

از stock بخش قبل سوال، 0.01 mL برداشته و به 0.99 mL بافر در ردیف اول پلیت منتقل کردیم. سپس 0.1 mL از این خانه‌های این ردیف را برداشته و هر کدام به 0.9 mL بافر که در خانه‌های ردیف دوم بود منتقل کردیم (در همان ستون) و... پس از انجام تلقیح، با محتوای ردیف چهارم ۸۰٪ (هشتاد درصد) و با محتوای ردیف پنجم ۳۵٪ (سی‌وپنج درصد) mortality مشاهده کردیم.

ج) معیار LD_{50} را برای این ویروس محاسبه کنید. (۳ نمره)

آزمایش Hemagglutination

برای بررسی ویروس دیگری از این آزمایش استفاده کردیم. و نتیجه به این شکل حاصل شد. (ردیف A گروه کنترل)



د) چرا در غلظت‌های بالای ویروس لخته تشکیل نشده است (پاسخ کوتاه یک جمله‌ای)؟ (۳ نمره)

سوال ۳:

Monolayers of the African green monkey kidney cell line BSC40 were infected with 0.5-ml portions of 10-fold serial dilutions of wild-type vaccinia virus or the temperature-sensitive vaccinia mutant, ts56, as indicated. Infected monolayers were overlaid with semisolid medium and incubated at 31°C or 40°C, the permissive (good) and nonpermissive (bad) temperatures for ts56, in the presence of 45 μ M isatin- β -thiosemicarbazone (IBT) or in the absence of drug as indicated, for 1 week. Overlays were removed, and monolayers were stained with crystal violet. ts56 carries a single base missense mutation in the vaccinia gene G2R. ts56 is slightly defective at 31°C; it forms smaller than wild-type plaques and is IBT resistant, forming plaques both in the presence and absence of drug, a phenotype intermediate between the wild-type IBT-sensitive phenotype and the null G2R mutant. Based on this assay, determine the True and False sentences. (Each statement 2 points, 1 negative point)



I	Wild-type vaccinia virus forms plaques at both 31°C and 40°C; however, plaque formation is inhibited by IBT, however, Spontaneous IBT-resistant mutants in the wild-type virus stock are revealed as plaques forming at 10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ , and 10 ⁻⁵ dilutions in the presence of IBT	
II	ts56 is not only temperature sensitive, forming plaques at 31°C but not at 40°C in the absence of IBT.	
III	G2R gene is responsible for tolerating the high temperature.	
IV	G2R is an essential gene that when completely inactivated makes virus dependent on IBT.	
V	Wild-type, temperature-sensitive plaques present in the ts56 stock are revealed as plaques growing on the 10 ⁻³ plate at 40°C	

سوال ۴:

همانطور که می‌دانید فرایند تصادفی برخورد ذرات ویروس و سلول میزبان از توزیع پوآزون پیروی می‌کند؛ که تابع توزیع احتمال آن به این شکل است. با $MOI = m$ ، احتمال دریافت k ذره ویروس توسط سلول میزبان برابر است با:

$$P(k) = \frac{e^{-m} m^k}{k!}$$

الف) در آزمایشی با $MOI = 10$ و 10^7 سلول میزبان، چند سلول هیچ ویروسی دریافت نمی‌کنند؟ (۳)

(نمره)

ب) با فرض کینتیک one-hit برای عفونت ویروس، و $MOI = 2$ چند درصد از سلول‌ها عفونی می‌شوند؟ (۳ نمره)

ج) با فرض کینتیک two-hit برای عفونت ویروس، برای عفونی کردن ۹۵٪ (نودوپنج درصد) سلول‌ها،

MOI چند $PFU/cell$ مورد نیاز است؟ (تقریبی تا دو رقم اعشار) (۴ نمره)

سوال ۵:

Bar-on et al. described their own interpretation from what we can learn from the mutation rate of the virus in a simple way. Imagine we have a virus named SARS-CoV3 with the information as follows:

Measured mutation rate: $\sim 10^{-5} \text{ nt}^{-1} \text{ cycle}^{-1}$

Eclipse period: $\sim 16 \text{ hours}$

Genome length: $\sim 10^3 \text{ kb}$

Burst size: $\sim 5 \cdot 10^3 \text{ virions}$

Concentration of RNA counts in throat: $\sim 10^6 \text{ RNAs} \cdot \text{swab}^{-1}$

A. Estimate how many times every site is mutated in each sample of throat swab. (2 points)

B. Estimate the evolution rate. (2 points)

C. Estimate maximum reproduction rate. (2 points)

D. Estimate genetic variability (number of mutated bases to all bases) in a single cycle between parent and the progeny. (2 points)

سوال ۶:

مطالعات ژنتیک جمعیت در جمعیت‌های ویروسی از اهمیت زیادی برخوردار است. چرا که نه تنها به علت ویژگی‌هایی نظیر اندازه موثر جمعیت بسیار بزرگ، طول نسل کوتاه و نرخ بالای تغییرات ژنتیکی مدل‌های بسیار مفید برای بررسی ژنتیک تکاملی بوده، بلکه نتایج این مطالعات می‌تواند در درمان عفونت‌های ویروسی مورد استفاده قرار گیرد. هرچند نرخ بالای جهش در ویروس‌ها توانایی سازگاری سریع به به آنان می‌دهد، نباید فراموش کرد که درصد بسیاری از جهش‌ها کشنده یا مضر است. برای بررسی اثر نرخ جهش بر روی جمعیت ویروس، یک مدل ساده را بررسی می‌کنیم:

در این مدل فرض بر این است که همه جهش‌ها کشنده‌اند. بنابراین تنها ژنوتیپ نوع وحشی ویروس قادر به تولیدمثل است ($Fitness = 1$). تعداد جهش در طول ژنوم از توزیع پوآزون پیروی می‌کند. با تعداد جهش میانگین u در ژنوم در بین دو نسل، احتمال وقوع n جهش در ژنوم برابر است با:

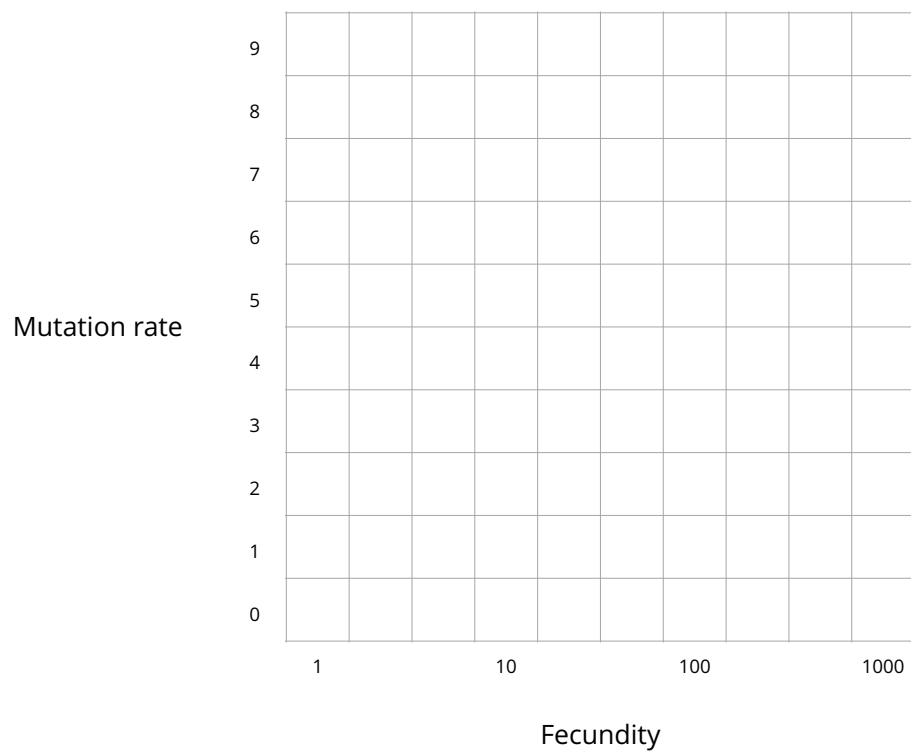
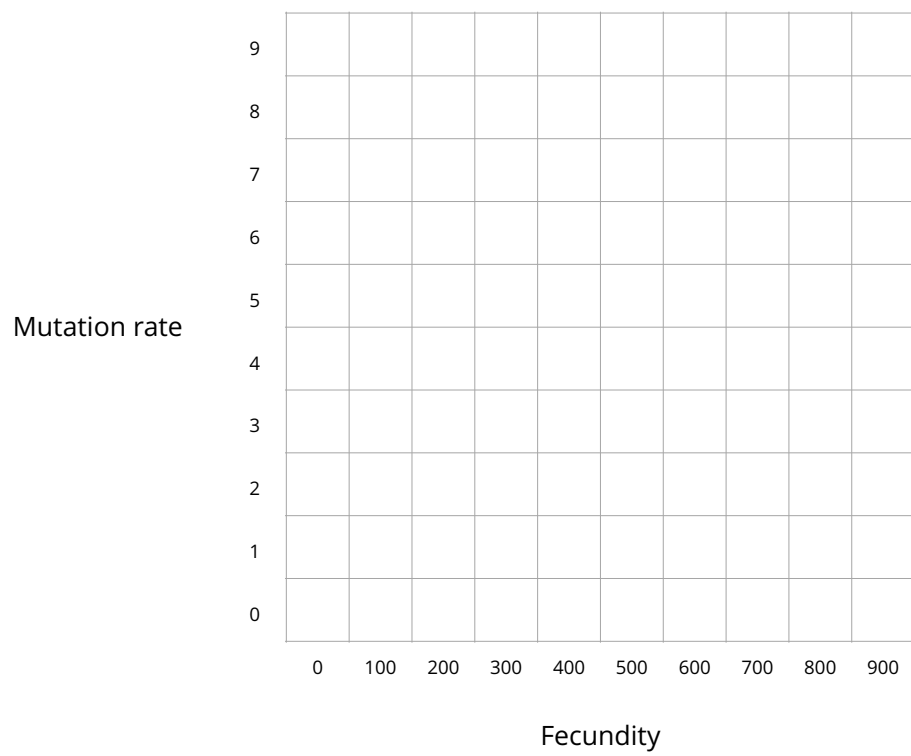
$$P(n) = \frac{e^{-u} u^n}{n!}$$

الف) میانگین fitness در جمعیت را محاسبه کنید. (۳ نمره)

ب) اگر پارامتر b را به عنوان fecundity ویروس (تعداد زاده حاصل از یک ویروس) تعریف کنیم. حداقل مقدار b که جمعیت ویروس در آن منقرض نمی‌شود را محاسبه کنید (بر حسب u). (۳ نمره)

ج) جمعیت ویروسی با $b = 10^3$, $u = 3$ وجود دارد. با تجویز یک ماده شیمیایی و دو برابر شدن نرخ جهش، آیا جمعیت ویروس به سمت انقراض می‌رود؟ (۲ نمره)

د) در نمودارهای زیر محور افقی b و محور عمودی u است. هر جمعیت ویروس را می‌توان با توجه به این دو مقدار به عنوان یک نقطه روی نمودار نشان داد. بر روی این دو نمودار (نمودار اول در مقیاس خطی و دوم در مقیاس لگاریتمی)، نواحی مربوط به بقا و انقراض را مشخص کنید (یعنی اگر جمعیت ویروسی در آن ناحیه قرار داشته باشد، منقرض می‌شود یا خیر). (هر کدام ۵ نمره)

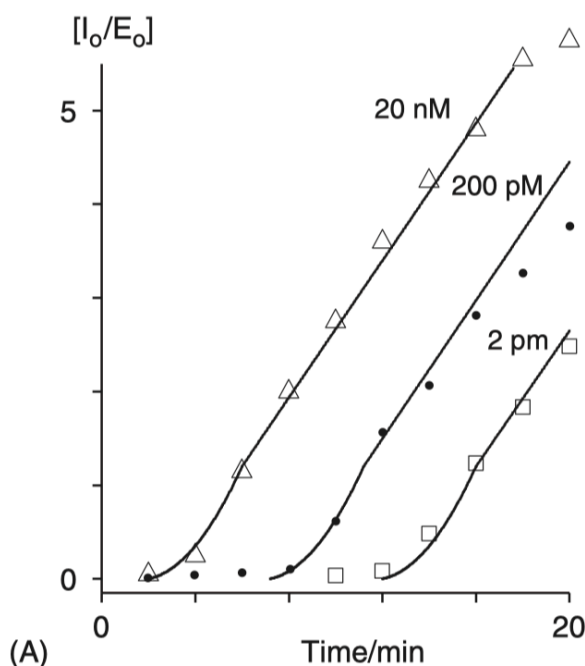


سوال ۷:

بسیاری از باکترافاژها متعلق به خانواده Leviviridae و دارای ژنوم (+) ssRNA هستند. کشف رپلیکاز منحصر به فرد ویروسی از اعضای این خانواده در دهه ۱۹۶۰ میلادی شروع تحقیقات بر این آنزیم را به همراه داشت. همچنین با ایجاد امکان بررسی تغییرات ژنتیکی گونه‌های مختلف RNA با توالی‌های متنوع، از اولین تحقیقات عملی در زمینه تکامل آزمایشگاهی و تئوری ژنتیکی تکامل را آغاز کرد.

آنزیم QB replicase استخراج شده از یک گونه ویروس که در این مطالعات به کار رفته، به طور اختصاصی به ssRNA الگو (ژنوم ویروس) متصل می‌شود (چراکه محیط فعالیت آن پر از mRNA های میزبان است و همانندسازی آنها برای ویروس هزینه‌بر و مضر است). همچنین این آنزیم فقط به RNA تک رشته‌ای متصل می‌شود و تا قبل از پایان همانندسازی از آن جدا نمی‌شود.

ژنوم تخلیص شده یک سویه ویروس در غلظت‌های مختلف (اعداد روی هر خط نمودار) آماده شد و با غلظت ثابت ۲۰۰ نانومولار آنزیم رپلیکاز تیمار شد. نتیجه (مقدار RNA نسبت به آنزیم) در نمودار زیر در طی زمان نشان داده شده‌است. در این واکنش دو تا فاز exponential (نمایی) و خطی قابل تشخیص است.



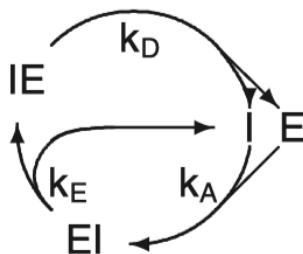
الف) در فاز نمایی کدام عامل به فراوانی در محیط وجود دارد؟ (۲ نمره)

ب) در فاز خطی کدام عامل به فراوانی در محیط وجود دارد؟ (۲ نمره)

TABLE 3.1 Symbols and parameters used for kinetic studies of RNA replication

	Units
Concentrations	
$[^iI]$	Concentration of free single-stranded RNA of type i
$[^iEI]$	Concentration of active replication complex
$[^iIE]$	Concentration of inactive replication complex
$[E]$	Concentration of free enzyme
$[^iE_c]$	Total concentration of template strands of type i complexed to enzyme
$[E_o]$	Total concentration of enzyme, bound or free
$[^iI_o]$	Total concentration of template strands of type i
$\Sigma_i[^iI_o]$	Total concentration of RNA
$[^{ij}II]$	Concentration of double strands (homoduplex) of type i
$[^{ij}II]$	Concentration of double strands between plus strand of type i and minus strand of type j (heteroduplex)
Rate constants	
ik_A	Association rate constant for binding of replicase to RNA of type i
ik_E	Rate constant for synthesizing and releasing a replica from a replication complex of type i
ik_D	Dissociation rate of inactive replication complex
$^{ij}k_{ds}$	Rate constant for double strand formation between plus strand of type i and minus strand of type j

برای مدل سازی کینتیک این آنزیم، مدل زیر را ارائه کردیم.



$$\frac{d[EI]}{dt} = k_A [E][I] - k_E [EI]$$

$$\frac{d[IE]}{dt} = k_E [EI] - k_D [IE]$$

$$\frac{d[E_c]}{dt} = k_A [E][I] - k_D [IE] = -\frac{d[E]}{dt}$$

$$\frac{d[I]}{dt} = k_E [EI] + k_D [IE] - k_A [E][I]$$

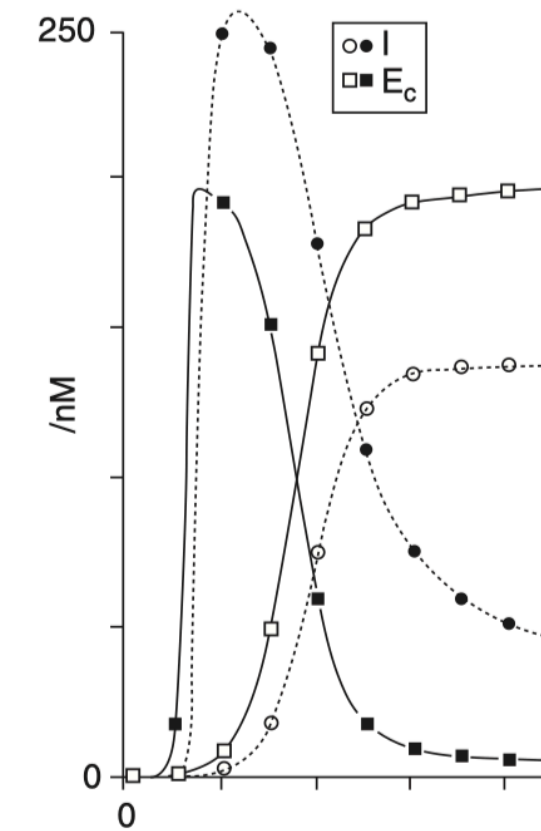
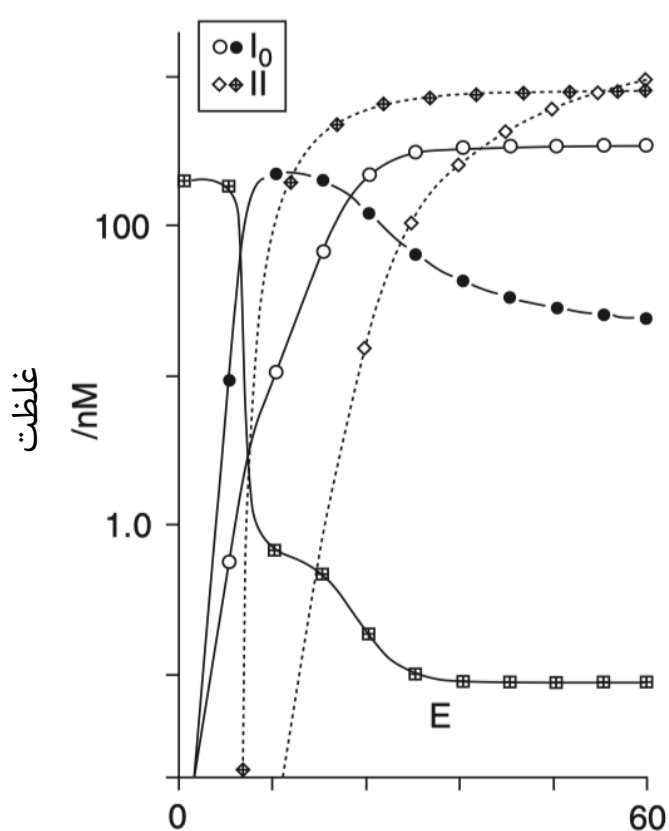
ج) در پیش‌فرض‌های این مدل در مورد توالی ژنوم چه فرضی شده است (برای اینکه مدل کارآمد باشد)؟ (۴ نمره)

د) واحد ثابت k_A را به دست آورید. (۲ نمره)

ه) واحد ثابت k_E را به دست آورید. (۲ نمره)

و) نرخ رشد در فاز خطی به غلظت کدام عامل وابسته است؟ (۳ نمره)

در صورت وجود بیش از یک نوع RNA در محیط آزمایش، نوعی رقابت بر سر منابع محدود (آنزیم رپلیکاز) صورت می‌گیرد. تغییرات نسبت انواع مختلف RNA ها به ثابت‌های اتصال و جدا شدن از آنزیم وابسته است. در یک آزمایش دو نوع RNA با غلظت برابر به محیط اضافه شد و با غلظت ثابت آنزیم تیمار شد. در این نمودارها غلظت چند ماده در طی زمان (۶۰ دقیقه) بررسی شد. علائم توپر مربوط به RNA نوع A و علائم توخالی مربوط به RNA نوع B است.



زمان

ز) در فاز نمایی مزیت انتخابی به کدام ثابت بستگی دارد؟ این رابطه مستقیم است یا معکوس؟ (۵ نمره)

ح) در فاز خطی مزیت انتخابی به کدام ثابت بستگی دارد و ؟ این رابطه مستقیم است یا معکوس؟ (۵ نمره)

ط) مقدار ثابت k_A را برای RNA نوع A با نوع B مقایسه کنید. (۵ نمره)

ک) مقدار ثابت k_D را برای RNA نوع A با نوع B مقایسه کنید. (۵ نمره)