.

به نام خدا

دفترچه سوالات بیوشیمی

تعداد سوالات: ۱۹

زمان:100دقیقه

به ازای هر سوال تستی شامل سوالات ۳، ۵، ۹ و ۱۸، ۰/۲۵ نمره منفی لحاظ می شود.

جمع کل نمرات: ۴۷

تابستان ۱۴۰۰

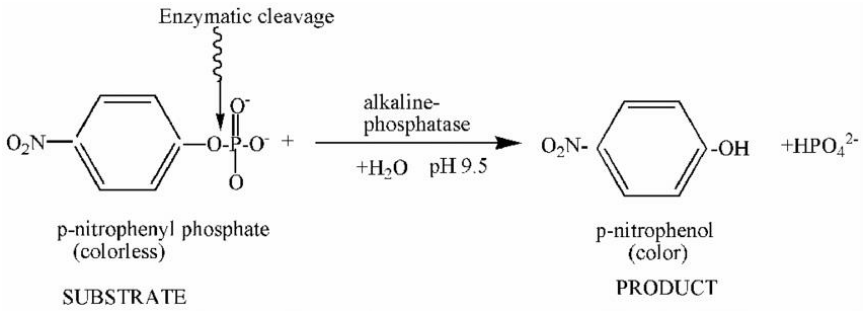
.

۱. واکنش آنزیمی زیر را در نظر بگیرید؛ پس از اضافه کردن آنزیم به میزان ۲۰ μg به محلول حاوی سوبسترا جذب از عدد ۰/۱۸۵ به ۰/۸۶۰در زمان ۹۰ ثانیه در یک محلول با حجم ۵ ml افزایش یافت. اگر میزان ε گروه کروموفور واکنش آنزیمی را $18000\ M^{-1}cm^{-1}$ در نظر بگیریم و همچنین طول مسیر نیز ۰/۰۵ dm باشد؛ (۳نمره)

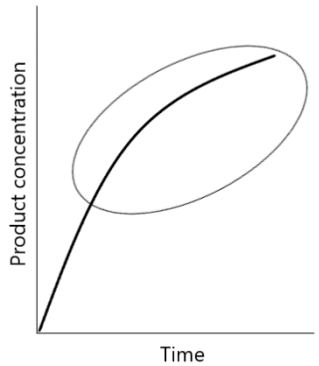
I- مقدار فعالیت آنزیمی را بر حسب واحد بین المللی (IU) تعیین کنید.

II- فعالیت آنزیمی به دست آمده را به صورت فعالیت ویژه بنویسید.

(پاسخ نهایی را به صورت یک عدد در پاسخ نامه وارد کنید)



۲. در زیر دلایلی برای خارج شدن از حالت خطی progressive curve (قسمت مشخص شده) آمده است. گزینه های صحیح(ص) و غلط (غ) را در پاسخنامه مشخص کنید.(۲,۵ نمره)



الف- کاهش سطح سوبسترا

ب- مهار پروداکتی

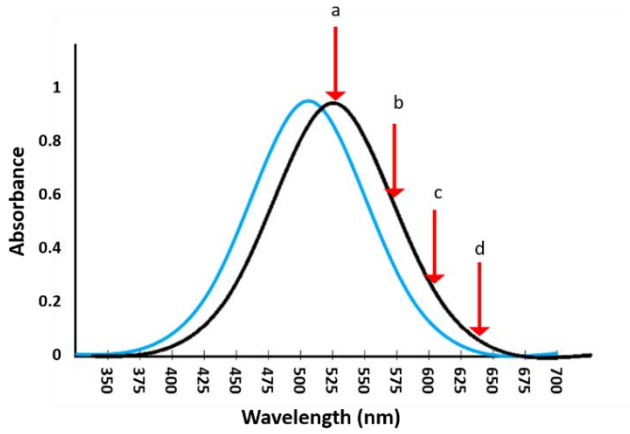
ج- غیرفعال شدن آنزیم

د- کاهش دما

ه- ورود مهار کننده به محیط

.

۳. محققی می‌خواهد فعالیت آنزیم مورد نظر خود را اندازه گیری کند. اما طیف جذبی سوبسترا و پروداکت همپوشانی بالایی دارند. او می‌خواهد طول موجی را برای اندازه گیری تغییرات پروداکت انتخاب کند. شما کدام گزینه(ها) را به عنوان بهترین انتخاب پیشنهاد می‌کنید؟ از بین گزینه‌های تعیین شده در نمودار، انتخاب کنید. (منحنی آبی مربوط به طیف سوبسترا و مشکی مربوط به پروداکت است.) (۱نمره)



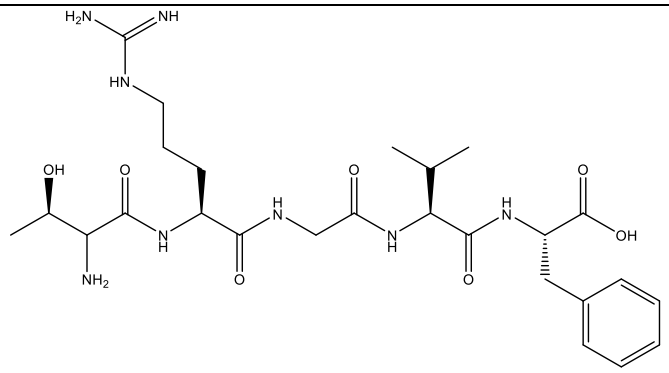
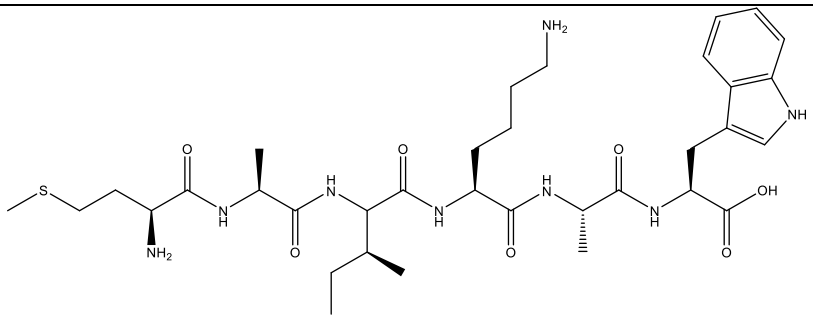
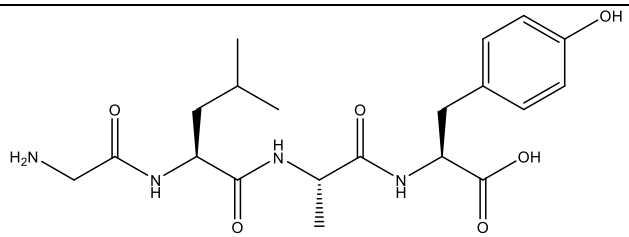
۴. یک پپتید تحت برش با دو پروتئاز تریپسین و کیموتریپسین قرار گرفته است. محصولات نهایی حاصل از برش هر کدام از این پروتئازها به تفکیک مشخص شده است (هیدروژن‌های متصل به کربن نمایش داده نشدند).(۴ نمره)

I- بر اساس پپتیدهای برش یافته، توالی اولیه پپتید (قبل از برش) را با نمایش تک حرفی آمینواسیدها در پاسخ نامه بنویسید.

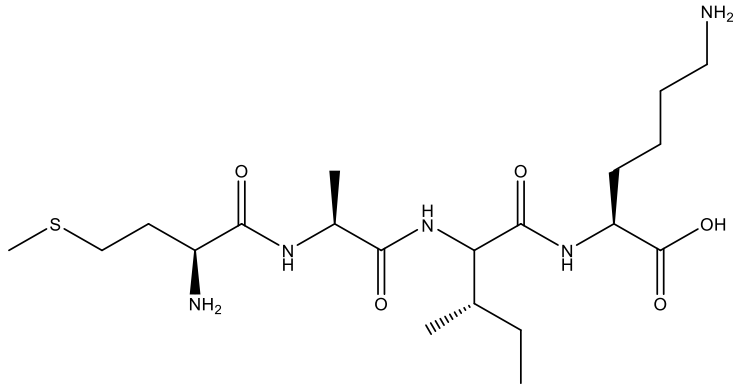
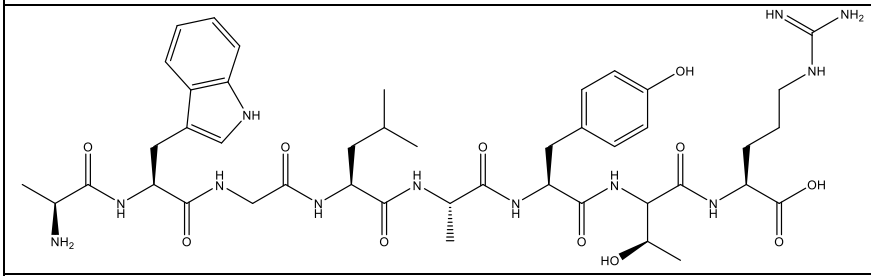
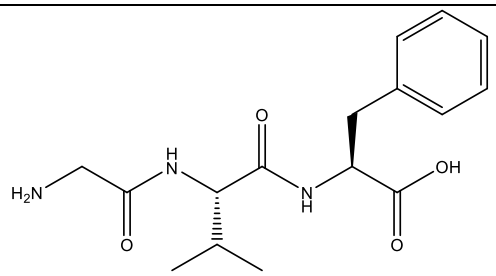
II- در مورد قطعات حاصل از کیموتریپسین مشخص کنید در هر برش (به ترتیب برش اول و دوم از سمت N ترمینال) ابتدا کدام قطعه پپتیدی از آنزیم جدا می‌شود؟ (قطعات را از بین محصولات نهایی که آورده شده است انتخاب نمایید و بر اساس حروف نامگذاری شده در ستون اول جدول (A,B,C) در پاسخ نامه وارد کنید.)

III- در توالی پپتیدی که در پاسخنامه آورده شده است، دو پیوند پپتیدی اول و دوم از سمت N-ترمینال را مشخص کنید. از ناحیه کدام پیوندها (بین صفحه پپتیدی اول و دوم) قابلیت چرخش وجود دارد؟ نام این زوایا را در شکل مشخص کنید.

.

کیموتریپسین (**Chymotrypsin**)	
	**A**
	**B**
	**C**

.

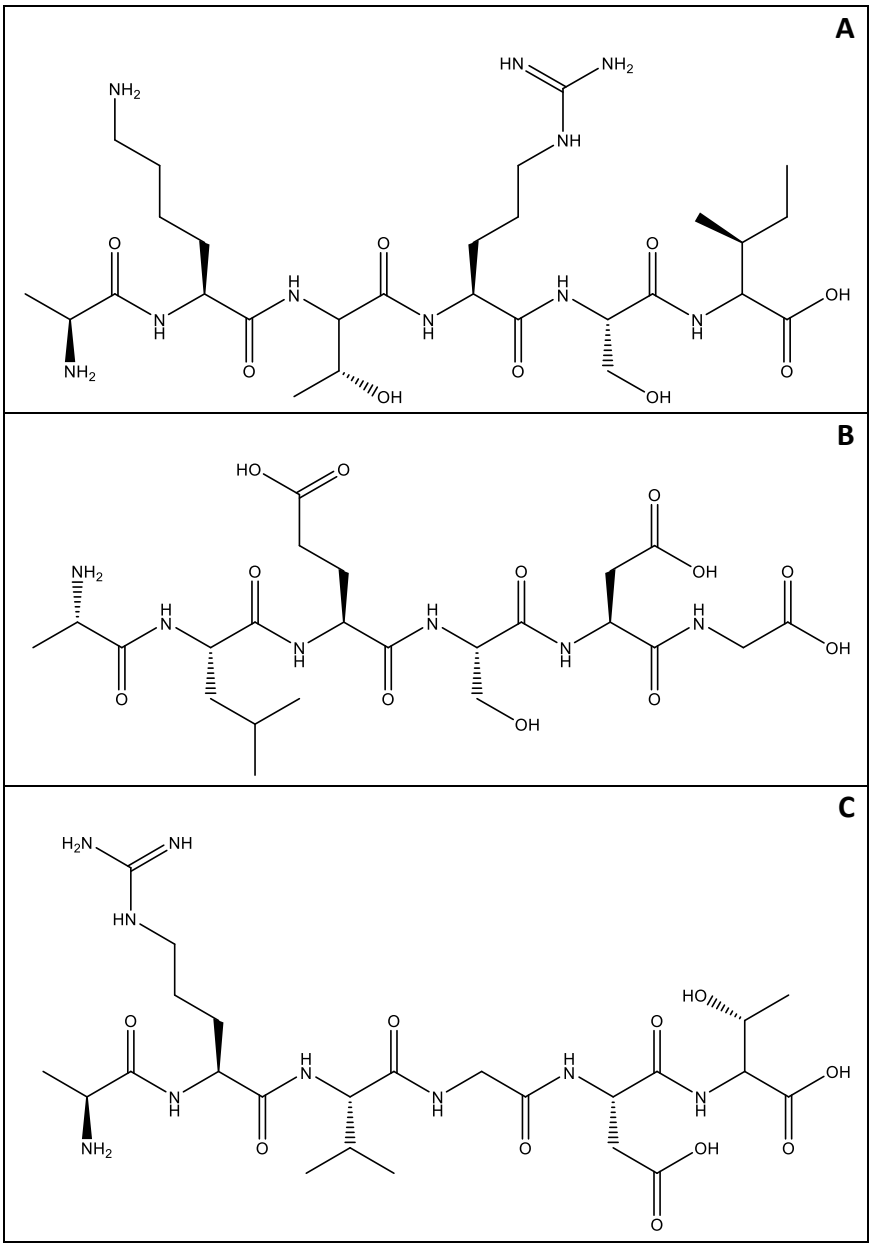
تریپسین (Trypsin)	
	A
	B
	C

۵. سه پپتید (که توالی آن ها در جدول زیر آمده است) به دو دانش آموز سپرده شده تا آن ها را با استفاده از روش IEF (Isoelectric Focusing) جداسازی کنند. در این روش شیب پایداری از pH در ژلی که در آن نمونه‌ها بارگذاری می‌شوند، ایجاد می‌شود. سپس این ژل تحت میدان الکتریکی قرار می‌گیرد، در نتیجه نمونه‌ها تا رسیدن به pH برابر با pI خود در طول ژل حرکت می کنند.

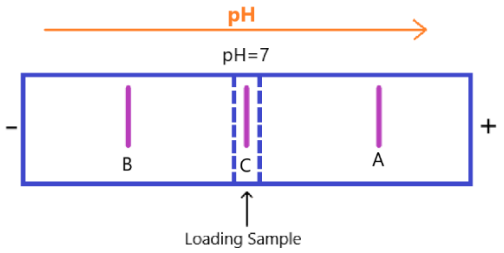
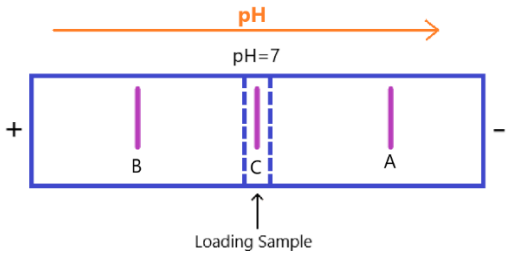
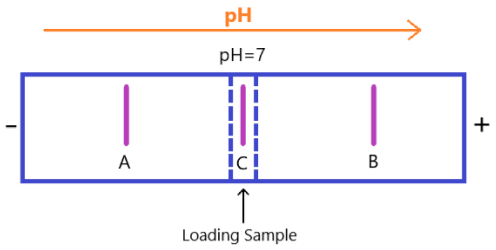
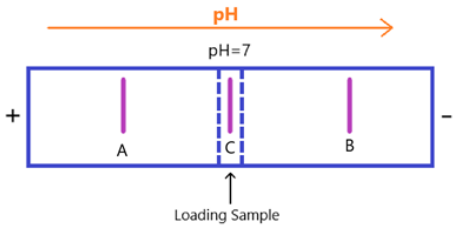
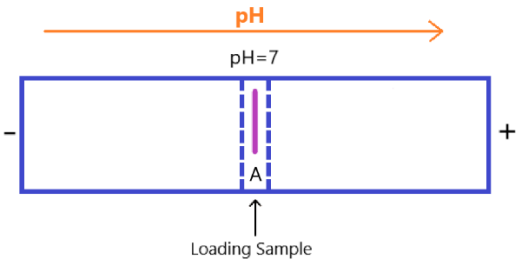
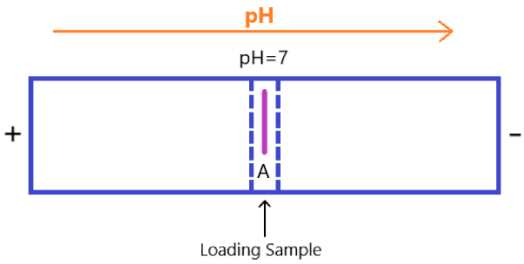
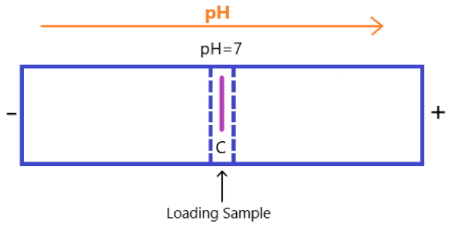
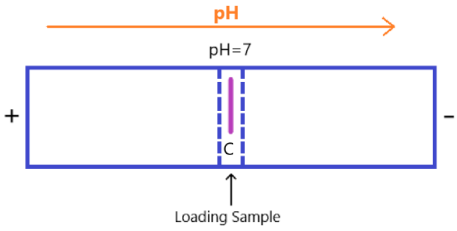
علی‌رغم یکسان بودن پپتیدها، دانش آموزان پس از رنگ آمیزی ژل نتایج متفاوتی را دیدند. پس از بررسی مشخص شد دانش آموز اول قطب میدان الکتریکی مثبت را در سمت pH کمتر و قطب منفی را در سمت pH بیشتر قرار داده است و دانش آموز دوم بر عکس؛ قطب مثبت را مجاور pH بیشتر و قطب منفی را مجاور pH کمتر ژل قرار داده است.

.

به ترتیب برای نفر اول و دوم محتمل ترین نتیجه کدام گزینه می‌تواند باشد؟ (۲نمره)



.

نفر دوم	نفر اول
الف 	الف 
ب 	ب 
ج 	ج 
د 	د 

.

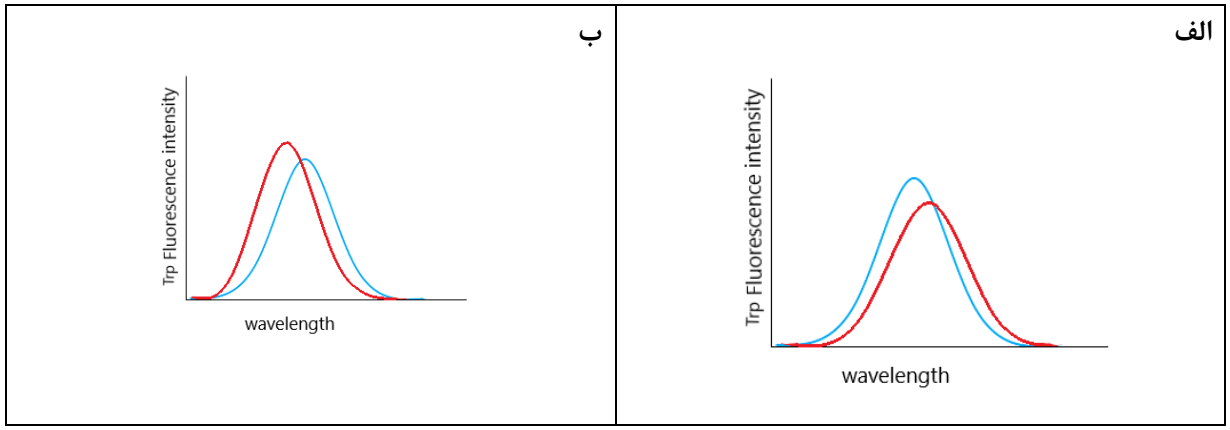
۶. محققی برای بررسی تمایل آنزیم به سوبسترا با انجام چند واکنش در غلظت های مولار سوبسترا نمودار لاینویوربرگ را رسم کرده و به معادله خطی زیر رسیده است، موارد زیر را محاسبه و اعداد به دست آمده را در پاسخ نامه وارد کنید؛ (۴نمره)

$$y = 0/0239x + 0/0019$$

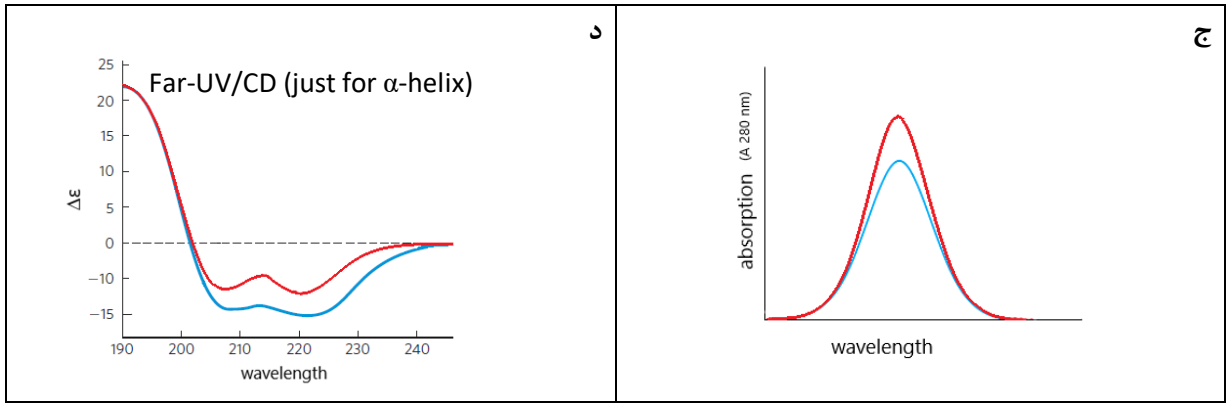
I – محاسبه K_m

II- این محقق در غلظت ۲۰ M سوبسترا، در حضور غلظت های متفاوت یک نوع مهارکننده رقابتی نمودار dose-response را رسم کرده و IC50 را ۱۰ M به دست آورده است. مطلوب است محاسبه K_i مهار کننده.

۷. پژوهشگری بر روی یک پروتئین معمول گلوبولار کار می کند. او یک جهش در این پروتئین ایجاد کرده است. او از مجموعه ای از روش‌های اسپکتروسکوپی برای مقایسه تاخوردگی (folding) پروتئین جهش یافته با نوع wild type (نوع طبیعی جهش نیافته) استفاده کرده است (منحنی‌های جهش یافته به رنگ قرمز و نوع طبیعی به رنگ آبی مشخص شده اند). او متوجه شده است که جهش ایجاد شده تاخوردگی پروتئین را دچار مشکل کرده است. کدام یک از نتایج زیر انتظار می‌رود؟ (گزینه های صحیح(ص) و غلط (غ) را در پاسخنامه مشخص کنید.) (۲نمره)



.

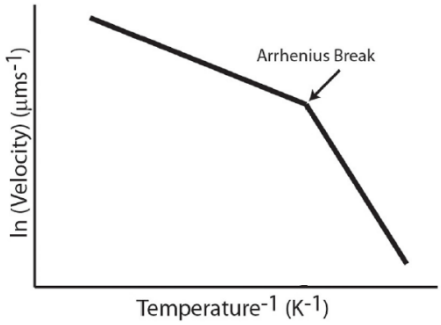


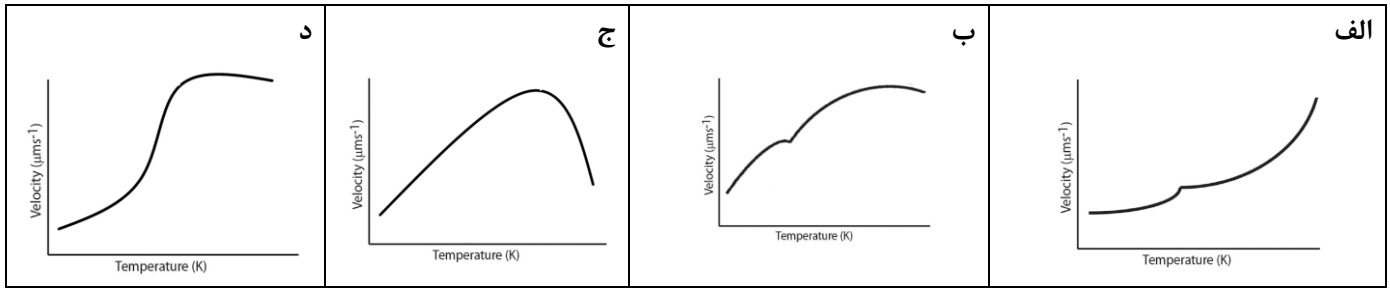
۸. (٤نمره)

I- فردی انرژی فعال سازی برای انجام واکنش آنزیمی خود را به دست آورده است. اگر میزان این انرژی 12 kJ/mol باشد، با ثابت آرنیوس 10^{12} s^{-1}، مطلوب است در دمای ۳۰۰ K محاسبه کنید چند مول سوبسترا در ۵ ثانیه تولید می شود؟ (R=8/314 J/mol)

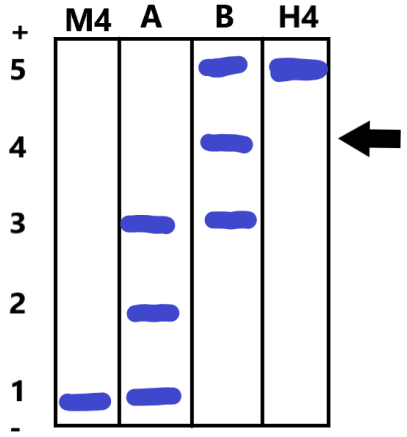
II- اگر این آنزیم که group specificity دارد، برای واکنش با سوبسترایی دیگر به ۲۰۰ kJ/mol انرژی فعال سازی نیاز داشته باشد، اگر در دمای ۳۰۰ K سرعت واکنش در غلظت اشباع سوبسترا ۱ Ms^{-1} باشد، سرعت ماکسیمم با ۲۰ K افزایش دما، چقدر می شود؟

۹. برای به دست آوردن انرژی فعال سازی یک motor protein که قابلیت هیدرولیز ATP را دارد، با افزایش دما تغییرات سرعت حرکت آن را به دست آورده و نمودار آرنیوس را رسم کرده‌اند. همان طور که مشاهده می‌کنید، این نمودار در دمای مشخصی دچار شکست شده است. کدام یک از گزینه های زیر می‌تواند نمودار تغییرات خطی سرعت به روی دما را نشان دهد؟ (۱نمره)





۱۰. شکل زیر مربوط به ژل الکتروفورز لاکتات دهیدروژناز دو نوع بافت مختلف است. تترامرهای استاندارد M4 و H4 نیز در کنار عصاره های بافتی مشاهده می شوند. در پوزیشن ۴ کدام یک از ایزوآنزیم‌ها (MnHn) قرار دارد؟(۰,۵ نمره)



۱۱. صحیح (ص)یا غلط بودن (غ) گزاره های زیر را در پاسخ نامه قید کنید.(۶نمره)

الف- اگر بازه های مختلف pH را در نظر بگیریم، یک پروتئین در pI خود کمترین انحلال پذیری را دارد.

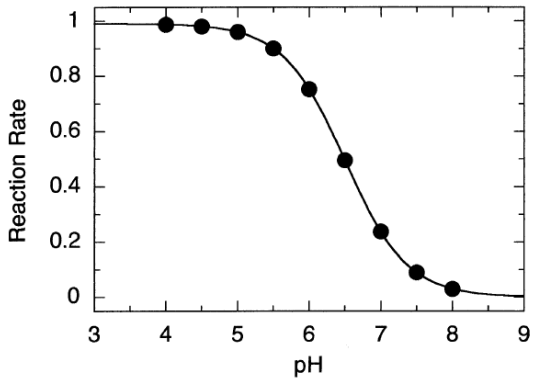
ب- این پتانسیل وجود دارد که با جهش زایی (mutation) در نقطه ای از جایگاه فعال یک آنزیم، کلاس آن را تغییر داد.

ج- برای یافتن ارجحیت سوبسترایی یک آنزیم، بهترین گزینه مقایسه پارامتر کارایی کاتالایتیک است.

د- اگر زیرواحدهای یک آنزیم الیگومر دارای جایگاه‌های فعال با واکنش‌های متفاوت باشند، معمولا موقعیت سه بعدی آن‌ها دور از هم قرار می‌گیرد.

ه- پروتئین های حاوی هیستیدین میتوانند دارای قدرت بافری موثر در PHنزدیک خنثی باشند.

.



و- نمودار زیر که اثر pH بر سرعت واکنش یک آنزیم را نشان می‌دهد، مربوط به گروهی با نقش کاتالیز باز عمومی در جایگاه فعال آنزیم است.

ز- در مطالعه آنزیم‌ها بهتر است از بافری استفاده شود که pKa آن در دمای محیط نزدیک به pH اپتیمم آنزیم باشد.

ح- هرچه وزن مولکولی بافر بیشتر باشد، تغییر pKa آن به ازای هر درجه تغییر دما بزرگتر است.

ط- اتصال آلفا-لاکتالبومین باعث تغییر اختصاصیت آنزیم N-استیل-لاکتوزامین‌سنتاز می‌شود.

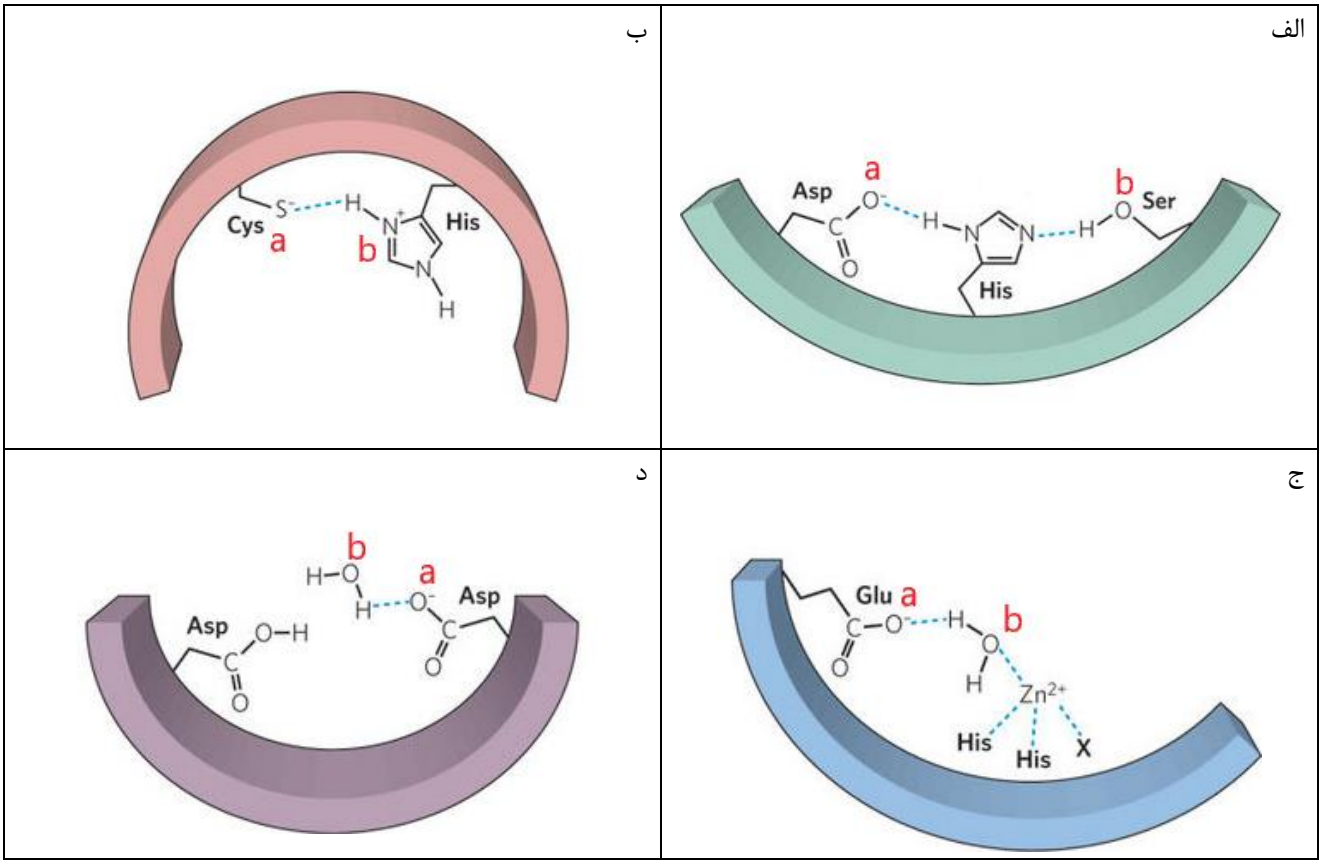
ی- در طول مراحل خالص سازی یک آنزیم، فعالیت کل کاهش می‌یابد.

ک- گروه پروستتیک آنزیم دی-هیدرولیپوئیل استیل-ترانسفراز FAD است.

ل- تریپتوفان سنتاز مشابه کمپلکس پیروات دهیدروژناز از کنار هم قرار گیری آنزیم‌های مختلف تشکیل می‌شود.

۱۲. شکل زیر شماتیکی از بخش اصلی جایگاه فعال مربوط به چهار نوع پروتئاز متفاوت است. تعیین کنید در هر یک از جایگاه های فعال کدام اتم با حمله نوکلئوفیلی به گروه کربونیل پیوند پپتیدی، واکنش را آغاز می کند؟(۲نمره)

.



۱۳. هیستیدین در شکل الف در سوال قبل، از چه طریقی خاصیت نوکلئوفیلی را در گروه آغازگر مکانیسم آنزیمی ایجاد می کند؟ (گزینه های صحیح(ص) و غلط (غ) را در پاسخنامه مشخص کنید.) (۲نمره)

الف- کاتالیز اسید عمومی

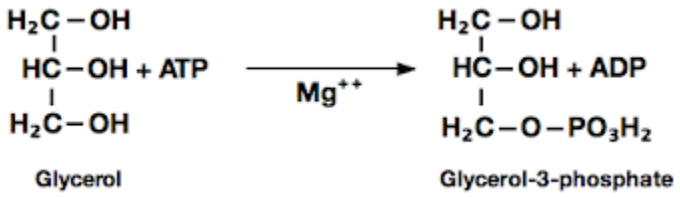
ب- کاتالیز باز عمومی

ج- گیرنده پروتون

د- دهنده پروتون

.

۱۴. شماره کلاس آنزیمی و نام سیستماتیک آنزیم مربوط به واکنش زیر را در پاسخنامه وارد کنید.(۱,۵ نمره)



۱۵. فردی برای تعیین غلظت نمونه خود در سه تکرار متوالی خوانش جذب انجام داده، جذب‌های خوانده شده توسط دستگاه به صورت زیر می‌باشند. مطلوب است: (۴نمره)

	OD
تکرار اول	۰/۴۱
تکرار دوم	۰/۴۸
تکرار سوم	۰/۴۵
شاهد (بلانک)	۰/۱

I-CV% را محاسبه و پاسخ نهایی را در پاسخنامه وارد کنید

II-گزینه های صحیح(ص) و غلط (غ) را با توجه به دانش خود در پاسخنامه مشخص کنید:

الف- ایجاد حباب در کووت می تواند within-day CV% را افزایش دهد.

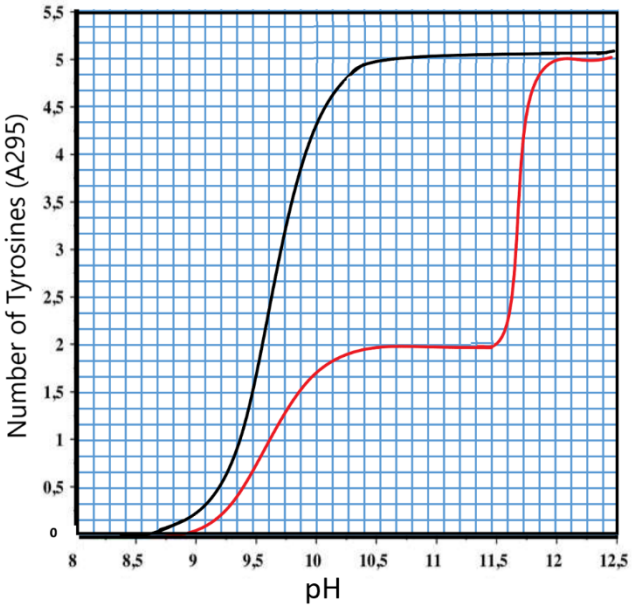
ب- اگر برای یک سری سنجش، بلانک مربوطه دو بار اندازه‌گیری شود و سیگنال آن تغییر کند، SD و CV% تغییر نمی کند.

ج- تغییر ماهیت و واکنش پذیری معرف بردفورد در طول زمان، within-day CV% را افزایش می دهد.

د- استفاده از کووت های متفاوت برای بلانک و نمونه پتانسیل این را دارد که within-day CV% و between-day را افزایش دهد.

ه- با CV% صحت سنجی یک تست انجام می شود.

۱۶. با نمودارهای رایج تیتراسیون آمینواسیدها آشنایی دارید. نوعی دیگر از نمودارهای تیتراسیون وجود دارند که در آن ها تغییرات جذب گروه کروموفور یونیزه شونده یک پروتئین به ازای تغییرات pH گزارش می شود. نمودار زیر مربوط به دو نوع پروتئین است که هر کدام محتوی ۵ تایروزین هستند. مطلوب است: (۲٫۵ نمره)

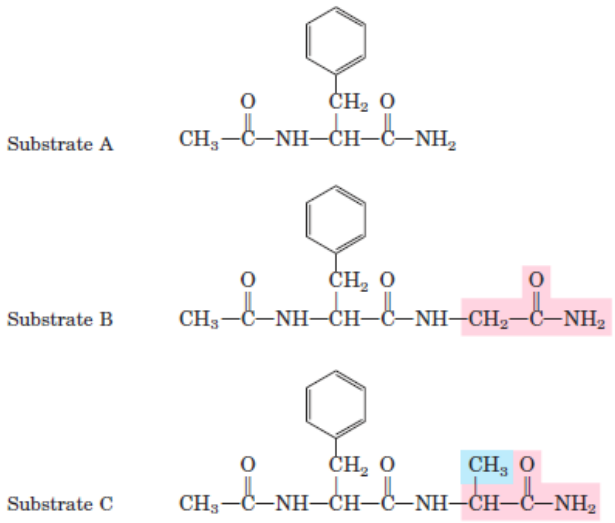


I- نقاط مربوط به pKa تیتراسیون تایروزین‌های هر کدام از پروتئین‌ها را در نمودارهای پاسخنامه مشخص کنید و نیز اعداد مربوطه را بنویسید.

II- این دو پروتئین در چند تایروزین از نظر موقعیت در ساختار با یکدیگر تشابه دارند؟ (عدد را در پاسخنامه وارد کنید)

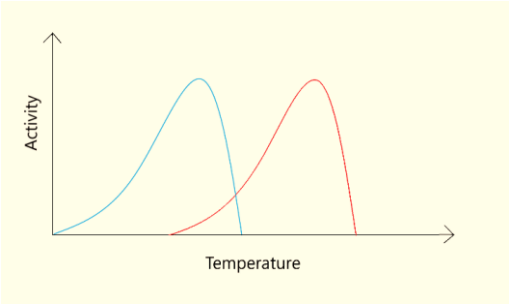
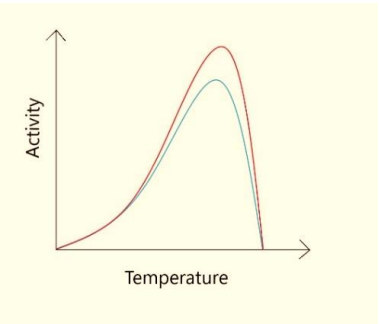
۱۷. شکل زیر مربوط به سه نوع سوبسترای سنتزی کیموتریپسین است که گروه‌های شیمیایی اضافه شده به هر کدام از این سوبستراها (A به B به C) سایه دار هستند. همان طور که در جدول نشان داده شده است، برهمکنش بین آنزیم و این گروه های عاملی اضافه شده دارای حداقل اثر بر روی Km بوده ولی اثر مثبت قابل توجهی بر روی kcat و kcat/Km دارد. این نتایج نشان می‌دهند اختصاصیت عمل آنزیم و در نتیجه پیشروی واکنش، حداقل در مورد این آنزیم بیشتر از طریق ..... صورت می‌گیرد. (۱نمره)

.

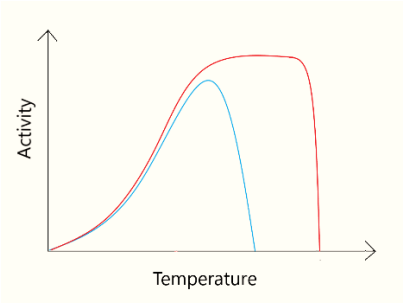
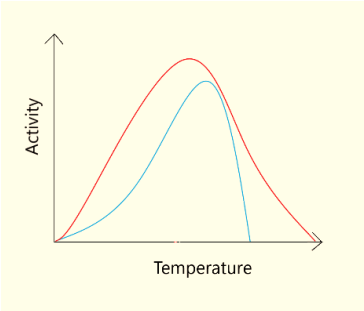


k_{cat} (s^{-1})	K_m (mM)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
0.06	31	2
0.14	15	10
2.8	25	114

۱۸. کدام نمودار نمایش صحیحی از فعالیت یک آنزیم ترموفیل در مقایسه با یک آنزیم مزوفیل می تواند باشد؟ (منحنی های آبی نماینده مزوفیل و قرمز مربوط به ترموفیل است.) (۱نمره)

 الف	ب 

.

ج 	د 

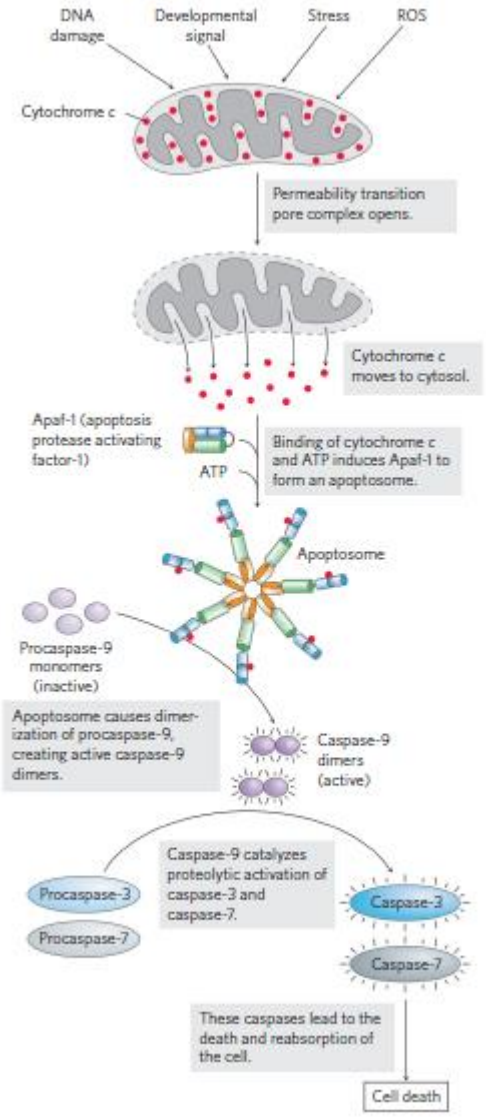
۱۹. آپوپتوز مسیر داخلی نوعی مرگ برنامه ریزی شده سلول است که مراحل آن در شکل مقابل آمده است. Apaf-1 پروتئین آداپتور این مسیر است. پژوهشگران برای مطالعه تشکیل آن در شرایط لوله آزمایش و سلول از روشی استفاده کرده اند که با کنار هم قرار گیری مولکول های Apaf-1 و تشکیل آپوپتوزوم، سیگنال نور تولید می‌شود. واحد سنجش نور RLU/sec است. در این روش از آنزیم لوسیفراز که در حضور لوسیفرین و ATP (به عنوان سوبسترا) نور تولید می کند، استفاده شده است. این آنزیم را با روش های مهندسی پروتئین به دو بخش تقسیم می کنند و هر قطعه را به پروتئین مورد نظر (برای بررسی برهمکنش‌هایش) متصل می کنند. که در اینجا قطعات لوسیفراز به N ترمینال Apaf-1 متصل شده است، به نحوی که وقتی پروتئین های مورد نظر کنار هم قرار می گیرند، قطعات لوسیفراز همدیگر را کامل کرده و می توانند در حضور سوبسترا نور تولید کنند. به این سنسور، سنسور برپایه لوسیفراز قطعه ای Apaf-1 می گویند.

DEVD و zVAD دو مهار کننده عمومی برای کاسپازها هستند. NS3694 مهار کننده مسیر داخلی آپوپتوز است و حلال آن DMSO است.

نتایج زیر (شکل ۱ تا ۳) مربوط به چند آزمایش است، آن ها را بررسی کرده و به سوالات زیر پاسخ دهید؛ (۳نمره)

محققی بر روی تشکیل آپوپتوزوم (با استفاده از سنسور گفته شده)، در شرایط سلولی کار می کند (بدون اضافه کردن سایتوکروم *c* و dATP خارجی). او نور حاصل از فعالیت لوسیفرازی را ۴۸ ساعت پس از انتقال سازه ها به سلول ها و پس از لیز کردن سلول ها سنجش می کند. برای اینکه بداند آپوپتوزوم ها درون سلول تشکیل شده اند یا پس از لیز غشاهای سلولی، می‌خواهد از ماده NS3694 استفاده کند.

.



I- محقق NS3694 را در کدام مرحله از آزمایش باید اضافه کند؟ (در غلظت موثره)

الف- درست قبل از انتقال سازه های سنسور به محیط کشت سلول

ب- پس از گذشت ۴۸ ساعت از انتقال سازه ها به محیط کشت سلول

ج- به بافر لیز اضافه شود

د- پس از لیز و قبل از سنجش فعالیت به محلول واکنش اضافه شود.

II- اگر نتایج آزمایش گفته شده در سوال **I**، شکل ۴ باشد، کدام حالت درست است؟ (WT همان نوع بدون جهش سنسور است. جهش K160R در Apaf-1 از تشکیل آپوپتوزوم به طور نسبی جلوگیری می کند. Pc مخفف pcDNA در واقع وکتور فاقد سازه سنسور است.)

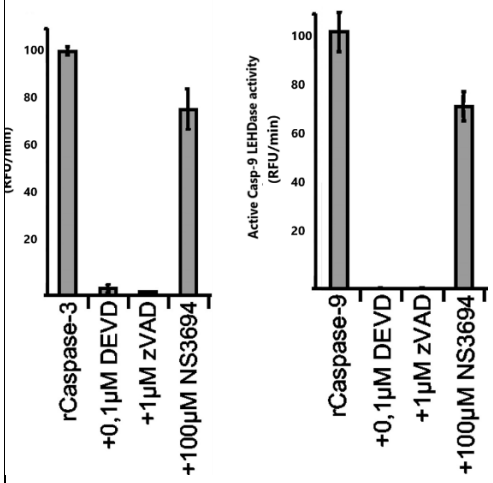
الف- آپوپتوزوم‌ها درون سلول تشکیل می شوند

ب- آپوپتوزوم‌ها پس از لیز سلول تشکیل می شوند

(صفحات بعد)

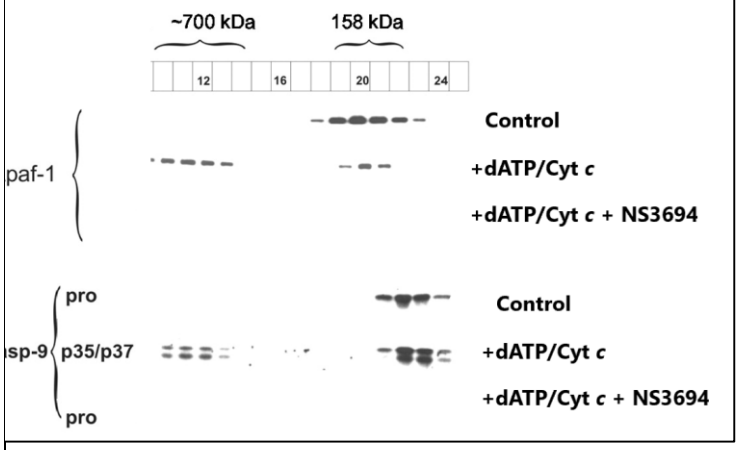
.

۱



فعالیت کاسپاز-۹ و کاسپاز-۳ خالص شده و فعال در شرایط لوله آزمایش در حضور و عدم حضور مواد ذکر شده در زیر ستونهای دوم تا چهارم سنجیده شده است.

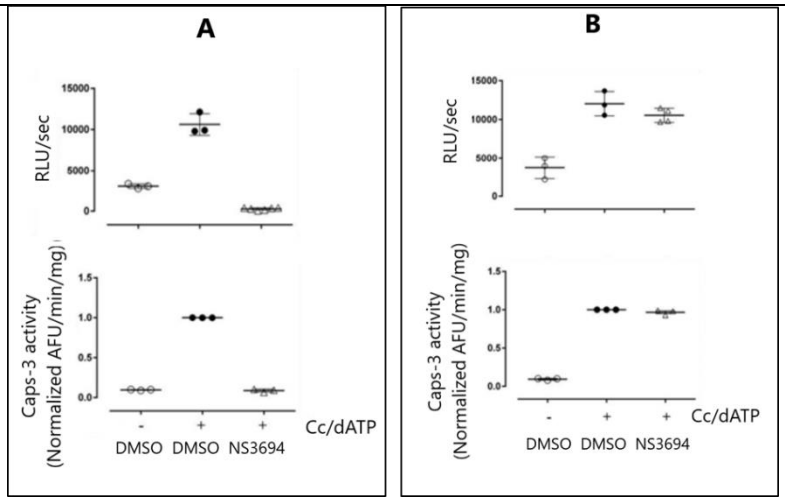
۲



در حضور و عدم حضور **NS3694**، تشکیل آپوپتوزوم با استفاده از ژل فیلتراسیون بررسی شده است.

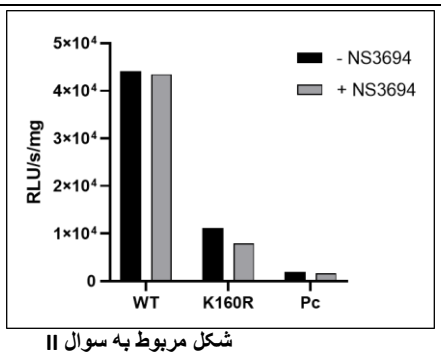
۳

.



در اینجا برای سنجش تشکیل آپوپتوزوم و فعالیت آن، از سازه های سنسور Apaf-1 در لوله آزمایش استفاده شده است. برای نتایج A، ابتدا NS3694 به محتویات اضافه شده، درنهایت Cyt c و dATP افزوده شده است. در شکل B برعکس؛ ابتدا Cyt c و dATP حضور داشته و پس از انکوباسیون در نهایت NS3694 اضافه شده است.

4



شکل مربوط به سوال II