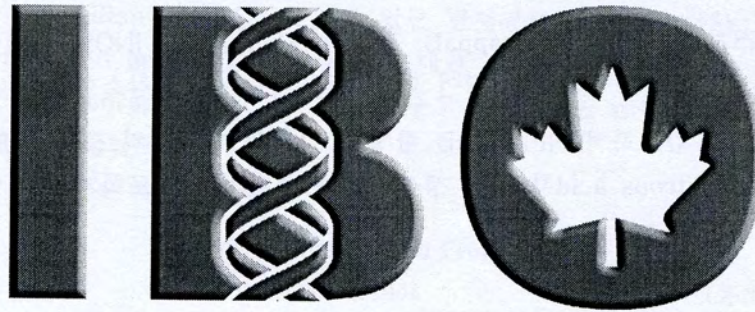


18th INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD

JULY 15 - 22, 2007

International Biology Olympiad



Saskatoon Canada 2007

실험 평가 4

유전학

- | | | |
|-------|---------------------------------|-----|
| 과제 A: | cDNA의 염기서열 확정 | 23점 |
| 과제 B: | 문제 삭제 | |
| 과제 C: | 콩에서 종자의 껍질 색깔과 종자의 모양에 관한 유전 조절 | 20점 |

실험 시간 : 90분

모든 답은 이 시험지에 직접 적어 넣으시오

아래의 빈칸과 모든 문제지의 상단에 4자리로 된 학생번호를 적으시오.

학생 번호	
-------	--

과제 A. cDNA의 염기 서열의 확정 (23점)

목적 : 관심이 있는 cDNA를 가지고 있는 플라스미드를 분리하고 cDNA의 염기서열을 결정한다.

서론

관심이 있는 유전자를 식물이나 동물에서 과량발현 시키기 위하여 우선 관심이 있는 유전자를 cDNA의 형태로 분리해야 한다. 이 과정은 DNA의 양을 증폭시키고 이를 pBluescript SK 플라스미드에 클론 시켜 나중에 박테리아를 형질전환 시키는데 이용하게 된다. 당신은 플라스미드를 간단하게 분리해야 하고 관심이 있는 cDNA의 염기서열을 확정하는 실험을 수행해야 한다.

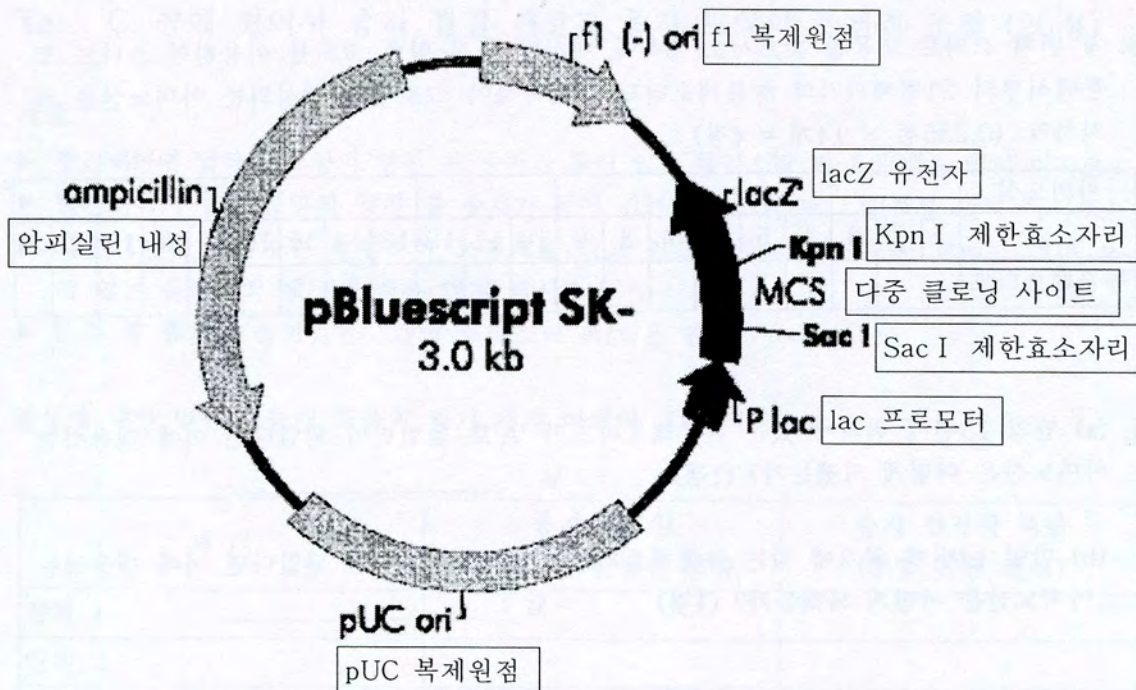
재료	양
▶ 배양된 박테리아 세포 4mL	4mL
▶ 1.5mL 마이크로 센트리퓨즈 튜브 5개	5
▶ 마이크로 센트리퓨즈 시험관 뚜껑 1개	1
▶ P1000 마이크로 피펫 1개	1
▶ 200-1000 마이크로 피펫 팁 1 박스	1
▶ 1.5mL 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 있는 GET 완충용액 0.5mL	0.5mL
▶ 1.5mL 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 있는 10% SDS 수용액 0.5mL	0.5mL
▶ 1.5mL 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 있는 2N NaOH 수용액	0.5mL
▶ 1.5mL 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 있는 5M KOAc 0.5mL	0.5mL
▶ 팔콘 원심분리 튜브에 있는 95% 에탄올 3mL	3mL
▶ 팔콘 원심분리 튜브에 있는 증류수 3mL	3mL
▶ 시계 1개	1
▶ 튜브에 붙이는 라벨지 2개	2
▶ 표시용 펜 1개	1
▶ 빨간 카드 1개	1
▶ 마이크로 센트리퓨즈 튜브와 팁을 버리는 쓰레기통 혹은 봉지 1개	1
▶ 마이크로 센트리 퓨즈를 사용할 수 있음	
▶ 볼텍스 믹서를 사용할 수 있음	

주의 : 실험을 수행하기 전에 위에 적힌 모든 실험 재료가 있는지 확인하고 만일 문제가 있으면 빨간 카드를 들어서 실험 조교를 부르시오.

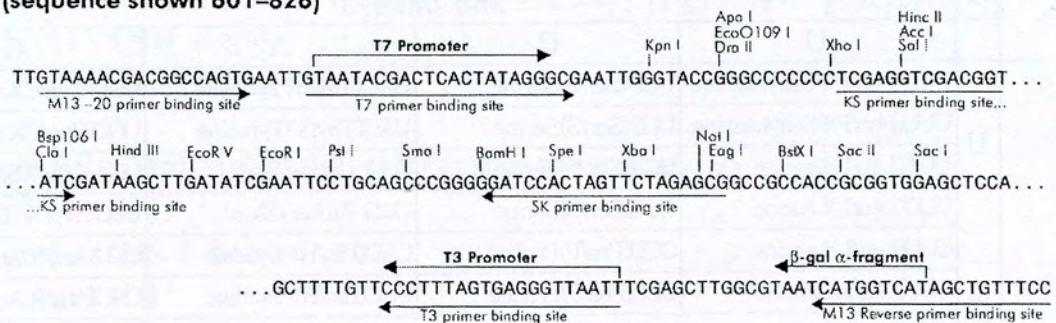
실험 과정

1. 2개의 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 박테리아 배양액을 각각 1.5mL씩 넣는다.
2. 실험대에 있는 마이크로센트리퓨즈에 튜브를 넣고 1분간 원심분리 한다. - 원심분리기 의 로터에 튜브를 양쪽으로 넣어 밸런스를 맞추어라.
3. 각각의 튜브에서 하루 동안 배양에 사용된 배양액을 완전히 제거한다.
4. 박테리아가 남아 있는 각각의 튜브에 pH가 7.9로 조정된 GET 완충용액을 100 μ L씩 넣는다. 뚜껑을 덮지 말고 볼텍스 믹서에서 박테리아 침전물이 전부 재현탁 될 때까지 믹스하고 실온에서 5분간 그대로 둔다.
5. 새로운 1.5mL 센트리퓨즈 튜브에 최종 농도가 1% SDS, 0.2N NaOH로 맞추어진 혼합용액을 1mL 만든다.
6. 4번의 각 튜브에 5번에서 만들어진 신선한 용액(1% SDS, 0.2N NaOH) 200 μ L씩을 넣고 뚜껑을 덮은 후 4~5번 튜브를 뒤집어서 혼합시킨다.
7. 실온에 3분간 그대로 둔다.
8. 각각의 튜브에 150 μ L의 5M KOAc를 150 μ L씩 넣고 뚜껑을 덮은 후 손으로 몇 번 흔 들어서 혼합한다.
9. 실온에 3분간 그대로 둔다.
10. 마이크로 센트리퓨즈에서 3분간 원심분리 한다. - 최대 속도로 원심분리하고 - 원심 분리 로터의 발란스를 꼭 확인하라.
11. 2개의 새로운 마이크로 센트리퓨즈 튜브에 라벨지를 붙이고 4자리의 학생번호를 적 어라.
12. 새로운 튜브에 10번에서 원심 분리한 튜브의 상층액을 조심스럽게 옮긴다. 하얀 침전 물이 있는 원래의 튜브를 버린다. - 하얀 침전물은 세균의 염색체 DNA이다.
13. 각각의 튜브에 800 μ L의 95% 에탄올을 첨가한다. 뚜껑을 덮고 약 10초 동안 손으로 세게 흔든 후 10분간 상온의 실험대에 그대로 둔다.
14. 각각의 튜브를 5분간 최대속도로 마이크로 센트리퓨즈에서 원심분리 한다.
15. 각각의 튜브에 있는 상층액을 조심스럽게 부어 버리고 뚜껑을 덮은 후 빨간 카드를 들어라.
16. 실험조교가 튜브에 있는 침전물을 체크할 것이다(흰 침전물이 있으면 10점).
17. 이제 실험조교가 당신의 플라스미드와 cDNA의 염기서열의 일부를 제공할 것이다. 이 cDNA는 T₃ 프로모터로부터 염기서열이 표시되어 있다.
18. 21번째부터 시작하는 당신의 염기서열과 pBluescript 벡터의 염기서열을 비교해서 분석하고 5쪽에 있는 질문에 답하시오.

pBluescript의 플라스미드 지도와 다중 클로닝 사이트(multiple cloning site)의 염기서열



pBluescript SK (+/-) Multiple Cloning Site Region pBluescript SK 다중제한효소자리
(sequence shown 601-826)



질문 (13점)

- 당신의 DNA 조각을 삽입한 제한 효소 자리는 _____ 이다.
주의 : 효소이름의 첫 자가 있는 자리가 제한효소가 인식하는 염기서열의 첫 자리이다.
(5점)
- 당신의 DNA 조각의 처음부터 20번째까지의 염기서열을 표시하시오(제한효소 자리는 포함하지 않는다). (2점)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
뉴클레오티드																				

3. 첫 번째 스타트 코돈을 찾으시오. 6쪽에 제시된 유전 암호 코드를 이용하여 스타트 코돈에서부터 21번째까지의 뉴클레오티드를 해독하여 그로부터 생성되는 아미노산을 표시하라. (0.285점 × 14개 = 4점)

아미노산																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
뉴클레오티드																					

4. (a) 만일 13번째 위치에 있는 뉴클레오티드가 'A'로 돌연변이 되었다면 이에 대응하는 아미노산은 어떻게 되겠는가? (1점) 답 : _____

- (b) 만일 14번째 위치에 있는 뉴클레오티드가 'A'로 돌연변이 되었다면 이에 대응하는 아미노산은 어떻게 되겠는가? (1점) 답 : _____

유전 암호 코드표

* 이 표는 64개의 코돈을 보여주며 각각의 코돈이 코드 하는 아미노산을 나타내고 있으며 염기서열의 방향은 5' 에서 3' 방향이다.

		2nd base			
		U	C	A	G
1st base	U	UUU(Phe/F)Phenylalanine	UCU(Ser/S)Serine	UAU(Thy/Y)Tyrosine	UGU(Cys/C)Cysteine
		UUC(Phe/F)Phenylalanine	UCC(Ser/S)Serine	UAC(Thy/Y)Tyrosine	UGC(Cys/C)Cysteine
		UUA(Leu/L)Leucine	UCA(Ser/S)Serine	UAA Ochre(Stop)	UGA Opal (Stop)
		UUG(Leu/L)Leucine	UCG(Ser/S)Serine	UAG Amber(Stop)	UGG(Trp/W)Tryptophan
	C	CUU(Leu/L)Leucine	CCU(Pro/P)Proline	CAU(His/H)Histidine	CGU(Arg/R)Arginine
		CUC(Leu/L)Leucine	CCC(Pro/P)Proline	CAC(His/H)Histidine	CGC(Arg/R)Arginine
		CUA(Leu/L)Leucine	CCA(Pro/P)Proline	CAA(Gln/Q)Glutamine	CGA(Arg/R)Arginine
		CUG(Leu/L)Leucine	CCG(Pro/P)Proline	CAG(Gln/Q)Glutamine	CGG(Arg/R)Arginine
	A	AUU(Ile/I)Isoleucine	ACU(Thr/T)Threonine	AAU(Asn/N)Asparagine	AGU(Ser/S)Serine
		AUC(Ile/I)Isoleucine	ACC(Thr/T)Threonine	AAC(Asn/N)Asparagine	AGC(Ser/S)Serine
		AUA(Ile/I)Isoleucine	ACA(Thr/T)Threonine	AAA(Lys/K)Lysine	AGA(Arg/R)Arginine
		AUG(Met/M)Methionine	ACG(Thr/T)Threonine	AAG(Lys/K)Lysine	AGG(Arg/R)Arginine
	G	GUU(Val/V)Valine	GCU(Ala/A)Alanine	GAU(Asp/D)Aspartic acid	GGU(Gly/G)Glycine
		GUC(Val/V)Valine	GCC(Ala/A)Alanine	GAC(Asp/D)Aspartic acid	GGC(Gly/G)Glycine
		GUA(Val/V)Valine	GCA(Ala/A)Alanine	GAA(Glu/E)Glutamic acid	GGA(Gly/G)Glycine
		GUG(Val/V)Valine	GCG(Ala/A)Alanine	GAG(Glu/E)Glutamic acid	GGG(Gly/G)Glycine

Task B. 삭제되었음.

Task C. 콩에 있어서 종자 껍질 색깔과 종자 모양의 유전적 조절 (20점)

재료

- ▶ 빨간색이며 납작한 모양의 양친 콩 종자가 들어 있는 플라스틱 백 1개(백을 열지 마시오.)
- ▶ 빨간색이며 둥근 모양의 양친 콩 종자가 들어 있는 플라스틱 백 1개(백을 열지 마시오.)
- ▶ 자손 1세대 F_1 종자는 평평하며 노란색을 띄고 있으며 위의 양친형을 교배한 것이 들어 있는 플라스틱 백 1개(백을 열지 마시오.)
- ▶ F_2 의 콩 종자가 들어있는 1개의 플라스틱 백(백을 열 수 있다)

질문에 대한 답을 얻는데 도움이 되기 위해 아래의 표를 채워보자.

세 대	종자의 모양 (둥글거나 납작한 모양)	종자 껍질의 색깔 (노랑 혹은 빨강)
양친 1		
양친 2		
그 양친을 교배해서 얻은 F_1		

다음 질문에 답하십시오.

1. 종자껍질의 색깔은 몇 개의 유전자에 의해 조절되나? (1점) (1개에 동그라미 치시오)

- (i) 1개의 유전자
- (ii) 1개 이상의 유전자

2. a) 빨간색의 종자 껍질 색깔은 (1점) (1개에 동그라미 치시오)

- (i) 우성
- (ii) 부분 우성
- (iii) 열성

b) 종자의 모양이 둥근 것은 (1점) (1개에 동그라미 치시오)

- (i) 우성
- (ii) 부분 우성
- (iii) 열성

3. (a) F_2 종자 표본에는 4가지의 표현형이 있다. 종자들을 표현형에 따라서 분류하고 각 표현형의 숫자를 아래 표의 중간에 적어 넣으시오. (2점)

표현형 (종자 겉질 색깔/종자 모양)	종자의 수 (= F_2 식물체의 수)
둥글고 빨간색	
납작하고 빨간색	
둥글고 노란색	
납작하고 노란색	
총 개수	

위의 F_2 세대에 대한 자료를 토대로 아래 질문에 답하시오.

4. (a) 당신의 자료로부터 종자의 모양에는 몇 개의 유전자가 관여할 것으로 예상하는가? (1점)

(b) 이러한 숫자의 집단으로부터 몇 개의 둥근 종자와 몇 개의 평평한 종자를 기대할 수 있는가? (2점)

둥근 모양 _____ 납작한 모양 _____

(c) 이러한 분리비는 관찰된 결과와 비교하여 의미 있는 차이가 있는가? (1개에 동그라미 치시오.) (1점)

있다.

없다.

그리고 그 확률은 ? (3점)

5. (a) 당신의 자료로부터 종자의 겉질 색깔에는 몇 개의 유전자가 관여할 것으로 예상되는가? (1점)

(b) 이 크기의 집단에서는 몇 개의 빨간색 콩과 몇 개의 노란색 콩이 기대되는가? (3점)

빨간색 _____ 노란색 _____

(c) 이러한 분리비는 관찰된 결과와 의미있는 차이가 있는가? (1점) (1개에 동그라미 치시오.)

있다.

없다.

그리고 그 확률은? (3점)

χ^2 분포표

	Probability(확률)										
Df (자유도)	0.95	0.90	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
1	0.004	0.02	0.06	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.10	0.21	0.45	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	0.35	0.58	1.01	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27
4	0.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.47

-끝-

당신은 4자리로 된 학생 번호를 모든 시험 용지 상단에 기록하였는가?

과제 A. 환형동물 해부 (26점)

목표: 해양환형동물과 육상 환형 동물에서 핵심적인 특징들의 위치를 찾아낸다.

재료:

- ▶ 환형동물1이 담긴 해부접시(청색 스티커로 표지됨)
- ▶ 환형동물2가 담긴 해부접시(노랑색 스티커로 표지됨)
- ▶ 해부가위 1개
- ▶ 편셋 1개
- ▶ 해부용 메스(칼) 1개
- ▶ 스티로폼판 위에 놓인 강철핀 20개
- ▶ 해부접시 안의 스티로폼판 위에 놓인 칼라핀 14개(붉은 오렌지색 2개, 청색2개, 노랑2개, 검정2개, 흰색2개, 핑크색2개, 녹색2개)
- ▶ 1회용 장갑 1쌍
- ▶ 해부현미경과 외부조명등 1개(1세트)
- ▶ 표본카드 2개(청색 스티커로 표지된 것 1개, 노랑색으로 표지된 것 1개)
- ▶ 표본을 축축하게 유지하기 위해 사용되는 물병
- ▶ 필통에 있는 15cm 자

주의사항: 해부를 시작하기 전에, 위에 나열된 재료가 모두 있는지 확인한다. 재료 중에 없는 것이 있으면 손을 들어 실험조교에게 알린다.

실험과정

1. 두 표본카드에 자기 번호와 이름을 적은 다음 옆에 놓는다. 여러분은 해부를 마치자마자 이 카드들에 반드시 사인을 한다.
2. 양손에 장갑을 끼고 표본을 덮고 있는 젖은 종이타올을 들어낸다.
실험하는 내내, 물통의 물로 자신이 해부하는 표본과 해부하면서 떼어낸 부분들을 축축하게 적신다. 이렇게 해야 해부생물의 몸 부분들이 건조해지지 않는다.
3. 각 동물의 외부 특징들의 차이점들에 주목한다. 즉, 환형동물1에서 각각 기관의 역할을 하는 구조들의 수 증가와 여러가지 기능을 담당하는 부속지(multifunctional appendages)들의 존재에 주목한다.
4. 환형동물1의 몸 중앙에서부터 옆다리 하나를 통째로 떼어낸다. 이 동물에서 옆다리들은 다리기능과 아가미기능을 한다. 동물학자들은 옆다리들의 세부 특징들을 가지고 환형동물에 속하는 종들의 차이를 구분한다. 각각의 옆다리는 배쪽 부분은 신경족(neuropodium)이라고 하고 둘로 갈라진 등쪽 부분은 등다리(motopodium)라고 한다. 각각의 등다리는 키틴질로 된 딱딱한 가지다리(족자;足刺;aciculum)에 의해 지지된다. 등다리와 신경족 각각에서 등쪽 돌기와 배쪽 돌기가 뻗어 나온다. 강모(剛毛;setae)들이 옆다리 너머로 확장된다.
5. 떼어낸 옆다리를 환형동물1이 담긴 해부접시의 한 구석에 제공된 핀으로 고정한다. 종