

Student Code: _____

20th INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD

12th – 19th July, 2009

Tsukuba, JAPAN



(실험 시험 3)

(유전학)

(총 98 점)

(실험 시간 : 90 분)

Dear Participants (참가 학생들에게),

- 이 문제는 다음 5 과제를 포함합니다
 - 과제 1: 돌연변이 파리의 표현형 관찰 (9 points ; 9 점)
 - 과제 2: 흰색 눈 돌연변이의 유전 (35 points: 33 점)
 - 과제 3: 눈 색소의 분리 (18 points: 18 점)
 - 과제 4: 크로마토그래피 해석 (14 points : 14 점)
 - 과제 5: White (흰색 눈) 단백질의 분석 (24 points: 24 점)
- (반드시 답안지에 결과와 답을 적으시오. 시험지에 적은 답은 평가에 반영되지 않습니다.)
- 각 과제를 위해 필요한 시약과 기구가 모두 준비되었는지 확인하고, 빠진 것이 있으면 손을 들어주세요.
- 시험이 끝난 후 답안지와 시험지를 봉투에 넣으면, 감독관이 이 봉투를 회수합니다.
- 이번 실험은 많은 시간을 요합니다. 계획을 잘 세워 5 과제를 빠르게 끝낼 수 있도록 하십시오.

행운이 있기를 바랍니다.

과제 1 (9 점)
(돌연변이 초파리의 표현형 관찰)

(재료 및 기구)

1. 살아 있는 초파리가 들어 있는 (1)-(4)로 표기된 페트리 접시
2. 스탠드형 루페 (확대경)

(수량)

- 1 세트
1 개

Introduction

초파리는 유전학 연구에 흔히 사용되는 재료이다. 페트리 접시(1)에는 야생형 초파리가 들어있고 (2)-(4)의 각 페트리 접시는 다른 돌연변이형 초파리가 들어 있다. 확대경을 이용하여 조심스럽게 초파리를 관찰하되, 페트리 접시의 뚜껑을 열지 말라. 관찰을 위해 루페(확대경)의 높이와 각도를 조절하라.

Q.1.1. (9 points)

Q.1.1. (9 points) 각 돌연변이체는 야생형과 어떤 형질에서 차이가 있는가?
아래 목록에서 돌연변이체의 표현형질을 고르시오.

- | | | | |
|-----------|----------|----------|-----------|
| A. 눈 색 | B. 눈 모양 | C. 날개 모양 | D. 강모 길이 |
| E. 더듬이 모양 | F. 강모 모양 | G. 다리 모양 | H. 주둥이 모양 |
| I. 몸 색 | J. 배 길이 | | |

과제 2 (33 점) (흰색 눈 돌연변이의 유전)

(재료 및 기구)

	(수량)
1. (5a)와 (5b), (6a)와 (6b), 그리고 (7)로 표시된 마취된 초파리가 들어 있는 1.5 ml 튜브	1 세트
2. 빈 페트리 접시	5 개
3. 흰색 마분지 (관찰을 쉽게 하기 위해 페트리 접시 밑에 놓을 것)	1
4. 핀셋	2 개
5. 스탠드형 루페 (확대경) (과제 1 에서 사용한 것)	1 개
6. 1.5 ml 튜브 뚜껑	1 개

Introduction

야생형 초파리(WT)는 붉은 색 눈을 가지지만, 돌연변이 초파리(*w*)는 흰색 눈을 가진다. *w*는 열성 돌연변이이고 X 염색체상에 위치한다. (5a)와 (5b) 또는 (6a)와 (6b)의 각 튜브는 두 개의 서로 다른 교배로부터 얻어진 수컷 또는 암컷 초파리를 각각 포함한다. 튜브(7)은 또 다른 교배에서 얻어진 암, 수 모두의 초파리를 포함한다. 초파리는 뒤쪽 등배의 패턴에 의해 성을 구별할 수 있는데, 균등하게 검은 것이 수컷이다.



Female (암컷)



Male (수컷)

Q.2.1. (8 점) 튜브(5a)와 (5b)의 초파리를 각각 다른 페트리 접시로 옮긴 다음, 확대경을 이용하여 관찰하라. 성과 눈색을 조사하고, 답안지의 표에 초파리의 수를 0 을 포함하여 숫자로 적으라.

Q.2.2. (8 점) 튜브(6a)와 (6b)의 초파리를 각각 다른 페트리 접시로 옮긴 다음, 확대경을 이용하여 관찰하라. 성과 눈색을 조사하고, 답안지의 표에 초파리의 수를 0 을 포함하여 숫자로 적으라.

Q.2.3. (8 점) 튜브(7)의 초파리를 페트리 접시로 옮긴 다음, 확대경을 이용하여 관찰하라. 성과 눈색을 조사하고, 답안지의 표에 초파리의 수를 0 을 포함하여 숫자로 적으라.

Q.2.6. (9 점) 다음 중 어떤 교배가 튜브 (5a)와 (5b), (6a)와 (6b)와 (7) 초파리를 생성하는가? 가능한 모든 경우를 고르라.

- A. 동형의 붉은 색 눈 암컷과 반접합성의 붉은 색 눈 수컷
- B. 동형의 흰색 눈 암컷과 반접합성의 흰색 눈 수컷
- C. 동형의 붉은 색 눈 암컷과 반접합성의 흰색 눈 수컷
- D. 동형의 흰색 눈 암컷과 반접합성의 붉은 색 눈 수컷
- E. 이형의 암컷과 반접합성의 붉은 색 눈 수컷
- F. 이형의 암컷과 반접합성의 흰색 눈 수컷

과제 3 (18 점) 눈 색소의 분리

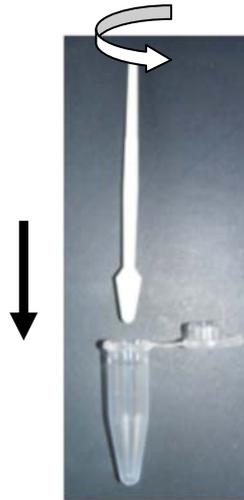
과제 2 에서 사용된 재료와 기구와 더불어 이번 과제에서는 아래의 재료와 기구를 사용하게 된다.

1. 눈 색소 추출 용액이 담겨 있는 (8)과 (9)로 표시된 1.5 ml 튜브.	1 세트 (1 여분세트)
2.(10)과 (11)으로 표시된 비어 있는 1.5 ml 튜브	1 세트 (1 여분세트)
3. 15 ml 튜브에 담겨 있는 미니 절구 공이	2 개(여분 1)
4. 원심분리기	1
5. 마이크로 피펫 (P20)	1
6. 피펫 팁 (P200 과 P20 용)	1 팩
7. 비어 있는 1.5ml 튜브 (뚜껑에 아무 번호도 적혀 있지 않음)	2 (여분 2)
8. 셀룰로오스/플라스틱 판	1 (여분 1)
9. 마이크로 피펫 (P2)	1
10. 피펫 팁 (P2)	1 팩
11. 용매가 담겨진 50ml 튜브	1
12. 50 ml 튜브 꽃이	1

1. 과제 2 에서 분류된 붉은 색 눈 초파리 5 마리와 흰색 눈 초파리 5 마리 (암컷이나 수컷 이든 관계 없음)를 골라 핀셋 두 개를 이용하여 몸통으로부터 머리를 분리하라.
*초파리의 눈과 배가 부서지지 않도록 주의하라.

2. 핀셋을 이용하여 붉은 색 눈 초파리의 머리를 튜브(8)에, 흰색 눈 초파리의 머리를 튜브(9)에, 붉은 색 눈 초파리의 몸통을 튜브 (10)에, 흰색 눈 초파리의 몸통을 튜브 (11)에 넣어라. 튜브 (10)과 (11)은 과제 5 에서 사용될 것이다.

3. (8)과 (9)의 각 튜브에 미니 절구공이를 넣고 손을 이용하여 공이를 돌리면서 바닥까지 눌러 초파리 머리를 간다. 다른 시료에는 새 미니 절구공이를 사용하라.



4. 튜브 (8)과 (9)를 14,000rpm 으로 3 분 동안 원심분리하라 (이 실험 마지막 부분, 18-19 쪽에 있는 원심분리기 사용법을 참조하라. 만약 도움이 필요하다면 실험 감독관에게 물어보라)

5. 튜브 (8)과 (9)의 상층액 5 μ l 를 각각 새로운 튜브로 옮겨라.

6. 셀룰로오스/플라스틱 판을 보라. 셀룰로오스/플라스틱 판의 짧은 쪽이 상단과 하단이며, 광택이 없는 쪽이 셀룰로오스 표면이며, 이 면을 실험에 사용하라. 셀룰로오스 표면의 상단에 연필로 여러분의 학생 코드를 적으라.

7. 먼저, 붉은 색 눈 초파리의 머리 추출물 1 μ l 를 취하여 셀룰로오스 판의 바닥에서 2cm, 왼쪽에서 1/3 되는 지점에 피펫 끝을 거의 닿을 듯이 하여 가볍게 점을 찍으라(spotting). 연필이나 마커 펜으로 선을 긋지 말라. 이것은 셀룰로오스 코팅에 흠집을 내게 한다.

8. 그런 다음, 흰색 눈 초파리의 머리 추출물 1 μ l 를 취하여 셀룰로오스 판의 바닥에서 2cm, 오른쪽에서 1/3 되는 지점에 피펫 끝을 거의 닿을 듯이 하여 가볍게 점을 찍으라.

9. 스팟(점)이 마르면, 셀룰로오스 판의 하단이 용매에 닿도록 50ml 튜브에 넣고 뚜껑을 단단히 닫는다. 스팟(점)은 용매에 닿지 않도록 주의하라. 용매의 증발이 일어나지 않도록 뚜껑을 빨리 열고 닫는다.

1.

10. 용매의 전개가 시작되도록 튜브를 튜브꽂이에 똑바로 꽂아 둔다. 용매가 이동하는 동안 과제 4 와 5 를 계속 수행하고, 나중에 이 과제로 돌아 온다. 과제를 계속하기 전에 아래의

11 을 읽으라.

11. 용매 전선이 튜브의 눈금 30ml 에 도달하면 판을 튜브에서 꺼내어 페이퍼 타월 위에 올려 놓아 마르도록 하고, 튜브의 뚜껑은 닫는다. 일단 셀룰로오스 판이 마르면 손을 들라. (실험 조교가 여러분의 셀룰로오스 판을 걷어 가서 평가할 것이다)(**18 점**).

과제 4 (14 점)

크로마토그래피 해석

초파리의 겹눈과 관련된 일부 눈의 색소는 우리 눈에 보이지 않지만 자외선 아래에서는 볼 수 있다. 그림 1 은 눈의 색소가 크로마토그래피로 분리되어 자외선 아래에서 관찰된 예를 보여준다. 시료는 WT (야생형 눈)와 *w*(흰색 눈)뿐만 아니라 *se* (세피아 눈= 암갈색 눈), *bw* (갈색 눈)과 *cn* (주홍색 눈)을 포함한다.

초파리의 눈 색소 생산은 오모크롬 경로와 테리딘 경로라는 두 가지 경로로 이루어 진다. 만약 이 두 가지 경로에서 생성된 모든 색소가 겹눈으로 정상적으로 전달 된다면 야생형 눈색이 형성된다. 만약 오모크롬 경로와 테리딘 경로 모두가 결여되면 흰색 눈이 된다. 이 두 가지 경로에 관련된 색소와 중간 화합물 중에서, 오직 테리딘 경로의 색소와 중간 화합물이 이 크로마토그래피 실험에서 분리될 수 있다.

크로마토그래피가 진행되는 동안 각 색소의 이동은 화합물의 화학적 성질, 용매에 대한 화합물의 용해성, 용매의 이동거리에 의해 결정된다. 주어진 색소의 이동 거리는 크로마토그래피의 전개 시간에 의존하지만 Rf 값은 각 색소마다 일정하며, 다음의 공식에 의해 계산된다.

$$R_f = \frac{\text{출발선에서 스팟 (점)의 중심까지의 거리}}{\text{출발선에서 용매 전선까지의 거리}}$$

표 1 은 초파리 겹눈으로부터 분리된 각 색소의 자외선 램프 아래에서의 색과 Rf 값을 요약한 것이다.

(초파리 겹눈에서 테리딘 색소의 성질)

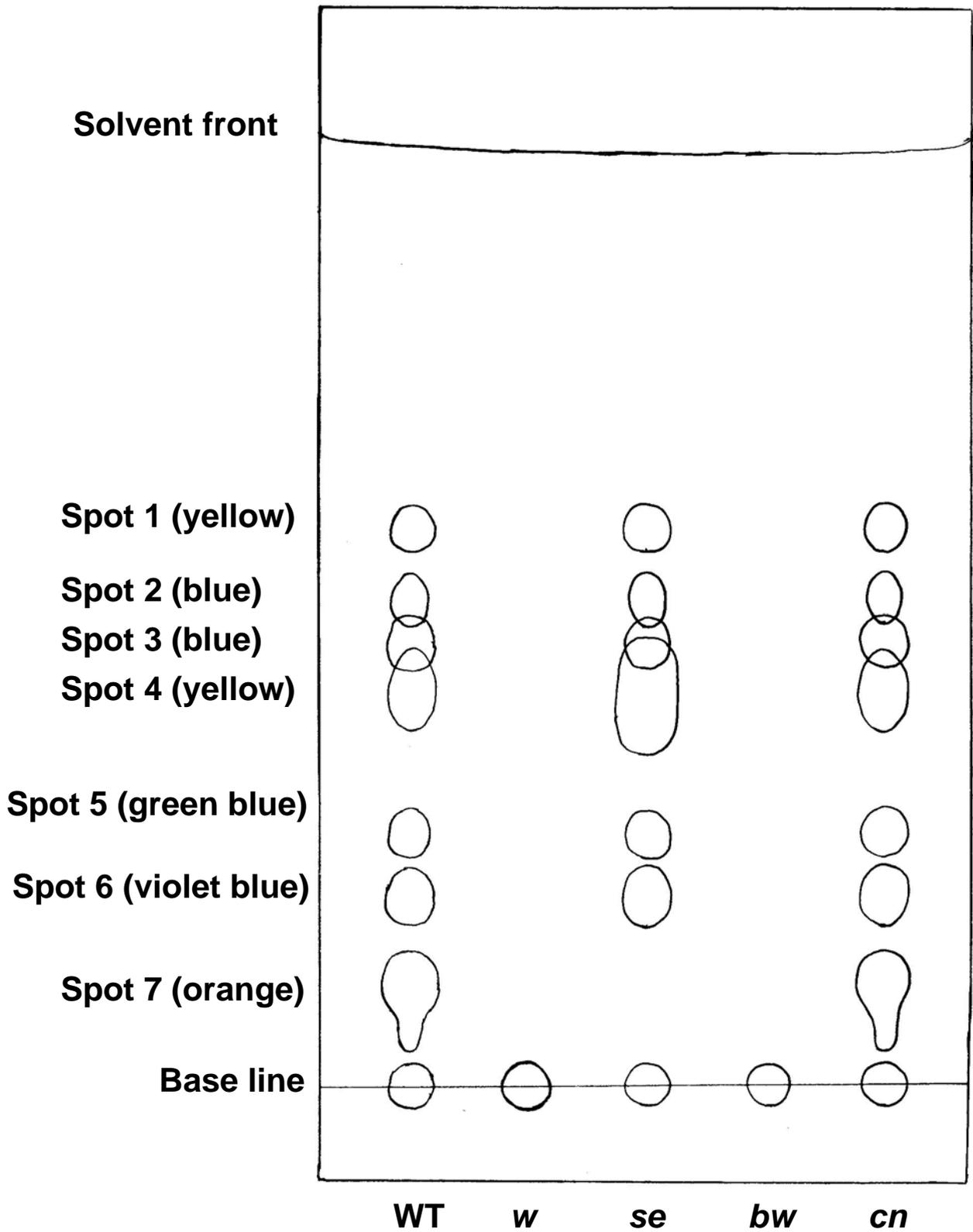
Code	이름	UV 램프 하에서의 색	Rf 값
A	2-아미노-4-히드록시테리딘	푸른색	0.57
B	바이오테린	푸른색	0.61
C	드로소테린	오렌지색	0.21
D	세피아테린	노란색	0.52
E	이소젠토테린	노란색	0.69
F	젠토테린	녹청색	0.38
G	이소세피아테린	자청색	0.25

Q.4.1 (5 점) 그림 1 의 크로마토그래피에서 분리된 각 스팟(점)에 해당되는 색소를 표 1 에서 골라 표 1 의 코드로 답하라. 돌연변이체의 테리딘 눈 색소의 조성은 야생형의 조성과는 어떻게 다른가? 그림 1 의 크로마토그래피로부터 스팟 (점)을 참조하여 대략적인 색소의 양을 추정하라. 야생형에 비해서 색소의 양이 매우 많으면 “++”로 적으라. 야생형과 색소의 양이 비슷하면 “+”로, 색소가 존재하지 않으면 “-”로 적으라.

Q.4.2 (9 점) 눈색과 그림 1 에서 주어진 크로마토그래피의 결과를 토대로 다음의 어느 이상이 *se*(세피아눈=암갈색 눈), *bw*(갈색 눈) 또는 *cn* (주홍색 눈)을 가지는가? 각각에 대해 아래의 알파벳 중 하나를 골라라.

A. 오모크롬 색소가 없어야 한다.

- B. 모든 테리딘 색소는 없지만 오모크롬 색소는 존재한다.
- C. 테리딘 및 오모크롬 색소 모두 존재하지 않는다.
- D. 테리딘 색소의 구성성분이 야생형과 다르다.



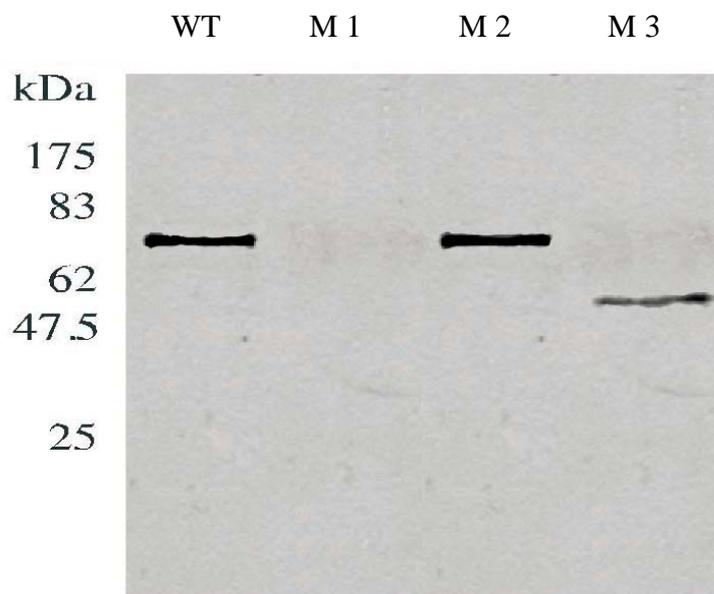
(그림 1. 야생형과 돌연변이 초파리 눈 색소의 크로마토그래피)

Task 5 (24 points)
(흰색 눈) 단백질의 분석

(재료 및 기구)	(수량)
1. 1.5ml 튜브 A: 단백질 추출 완충액	1
2. 1.5ml 튜브 [이 중 2 개는 과제 3 의 (10)과 (11) 2 개]	4
3. 15ml 튜브에 담겨 있는 미니 절구공이	2 (여분 1)
4. 미리 만들어진 젤을 포함하는 전기영동 장치	1
5. 마이크로피펫 (P200)	1
6. 마이크로피펫 (P20)	1
7. 피펫 팁 (P200 및 P20)	1 팩
8. 1.5ml 튜브 꽃이	1
9. 1.5ml 튜브 C: 단백질 전기영동 마커	1

1. 과제 3 에서 준비된 튜브 (10) (붉은 눈 색 초파리의 몸)와 튜브 (11) (흰색 눈 색 초파리의 몸) 각각에 단백질 추출 완충액(튜브 A)을 50 μ l 씩 넣는다. 미니 절구공이를 이용하여 초파리 몸통을 분쇄하라. 야생형 시료와 돌연변이 시료 마다 각기 다른 미니 절구공이를 사용하라.
2. 튜브 (10)과 (11)을 14,000rpm 으로 3 분간 원심분리한 다음 상층액을 새로운 1.5 ml 튜브로 옮겨라. (이 실험 마지막 부분, 18-19 쪽에 있는 ‘원심분리기 사용법’을 참조하라. 만약 도움이 필요하면 실험 감독관에게 물어보라)
3. 실험 조교가 젤을 미리 준비해 놓았기 때문에 곧 바로 사용할 수 있다. 젤 판의 가운데에 있는 시료 홈에 각 5 μ l 의 시료를 왼쪽부터 오른쪽 순으로, 분자 크기 마커, 붉은 눈과 흰색 눈의 순서로 넣는다. 시료 넣기가 끝나면 감독관에게 손을 들라. 실험 조교가 전기영동 장치를 시작 시킬 것이다.
4. 5분 후 손을 들어 실험 조교를 불러라. 실험 조교가 전기영동 장치의 아래의 젤 부분을 모아서 평가를 위해 젤 사진을 찍을 것이다 (18점). 실험 조교와 같이 카메라의 전기영동 젤 사진을 확인하라.

M1, M2 와 M3 파리는 눈 색소 유전자가 서로 다른 돌연변이주이다. 이 돌연변이 파리의 단백질을 SDS 폴리아크릴아마이드 겔로 분리한 다음 단백질을 나일론 필터로 옮겨 이 *흰색* (*white*) 유전자에 의해 암호화되는 단백질을 특이적으로 인식하는 항체를 탐침으로 이용하여 탐색한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.



Q.5.1. (3 점) 다음 중 눈 색 유전자의 어느 결함이 M1, M2 와 M3 전기영동 결과를 야기하는가? 해당되는 것을 A, B, C 에서 고르라.

- A. *white* 유전자의 mRNA 개시 자리가 결실되어 이 유전자가 발현되지 않는다.
- B. 정지 코돈 돌연변이가 White 단백질의 암호화 부위에서 일어났다. 그 결과 20 kDa 에 상응하는 카르복시 말단 (C -terminal) 펩티드 서열의 번역이 일어나지

않았다.

C. 비록 정상 White 단백질이 합성되었지만, 오토크롬 색소의 합성에 관련된 유전자에 결함이 있다.

Q.5.1. (3 점) M1, M2 와 M3 와 같은 동일한 표현형을 유발할 눈 색소 유전자의 또 다른 결함을 A, B, C 에서 고르라.

- A. *white* 유전자의 암호화 서열이 염색체 전좌에 의해 다른 유전자의 암호화 서열과 융합되었다. 그 결과 항체에 반응하는 부위는 유지하지만 분자량이 약 30% 적은 융합 단백질을 암호화하는 새로운 서열이 생성되었다.
- B. *white* 유전자의 단백질 암호화 부위에 한 염기의 치환이 일어나 한 아미노산을 암호화하는 서열이 다른 아미노산을 암호화하는 서열로 바뀌어 졌다. 그러나 변경된 단백질의 항체 면역 반응성은 손실 되지 않았다.
- C. *white* 유전자 모두를 포함하는 염색체 부위에 큰 결실이 있다.

(원심 분리기 사용법)

(필요하면 감독관에게 도움을 청하라)

1. 조작판(그림 1-1)의 오른쪽 위에 있는 OPEN 버튼을 눌러라.
2. 로터는 플라스틱 덮개로 덮여 있다 (그림 2-3). 덮개를 제거하기 위해서 한 손으로 덮개를 잡고 다른 손으로는 가운데의 검은 나사(4)를 시계 반대 방향(왼쪽)으로 돌려 푼다.
3. 로터에는 24 개의 구멍이 있다 (그림 3). 균형을 맞추기 위해 시료 튜브를 대칭으로 넣는다.
4. 로터 덮개의 나사(4)를 시계 방향(오른쪽)으로 돌려 로터 덮개를 조인다.
5. 원심분리기의 뚜껑을 단단히 닫는다. 완전히 닫히면 ‘삐’하는 소리가 난다.
6. 원심분리기의 속도(14,000 rpm)와 시간 (3 분)은 이미 맞추어져 있다. DISP/CE 버튼을 눌러 표시창의 (5)와 (7)에서 숫자를 확인하고, START 버튼 (8)을 눌러 원심분리기를 시작하라.
7. 원심분리가 끝나면 뚜껑(2)은 자동적으로 풀린다. 다음에 뚜껑(2)을 완전히 열고., 한 손으로 로터 덮개를 잡은 상태에서 나사 (4)를 시계 반대 방향 (왼쪽)으로 돌려 로터 덮개를 제거한다.
8. 침전물이 흔들리지 않도록 시료 튜브를 조심스럽게 로터에서 꺼낸다. 튜브 끝이(스탠드)에 튜브를 꽂아 둔다.
9. 로터 덮개(3)를 제자리에 올려 놓고 나사(4)를 조이고, 원심분리기의 뚜껑(2)을 닫는다.

