

Student Code: _____

20th INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD

12th – 19th July, 2009

Tsukuba, JAPAN



PRACTICAL TEST 4

CELL PHYSIOLOGY

Total Points: 91

Duration: 90 minutes

Dear Participants,

- 본 시험에서는 다음 두 과제가 제시되었다.
Task 1: 세포주기에 관한 연구 (61 점)
Task 2: 단세포 조류의 운동 기작에 관한 연구 (30 점)
- 답지에 여러분의 결과와 답을 쓰시오. 질문지에 쓰인 답은 평가하지 않습니다.
- 각 과제에 나열되어 있는 모든 재료와 기구를 받았는지 확인하십시오. 만약 이들 항목 중 어느 하나가 없다면, 손을 드십시오.

시험이 끝나면 답지와 질문지를 봉투에 넣으시오. 감독관이 봉투를 회수할 것입니다.

Good Luck!!

과제 1 (61 점)

세포주기에 관한 연구

서론

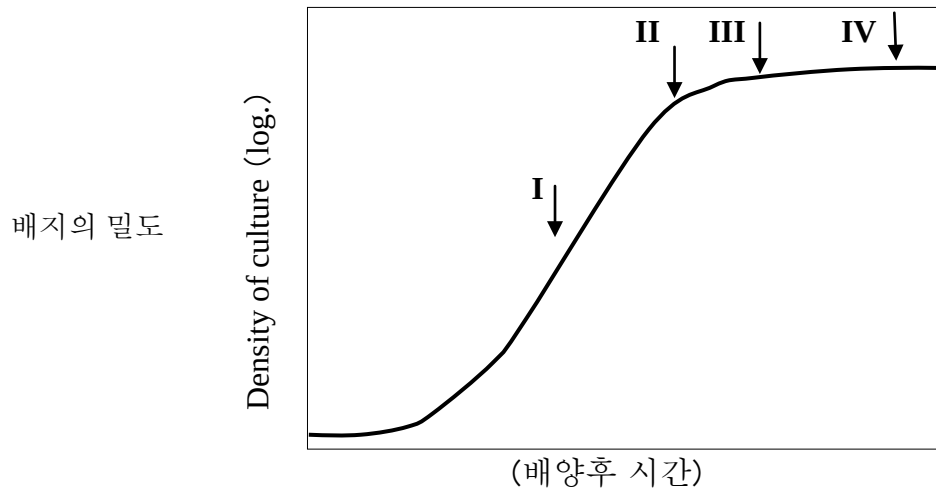
많은 단세포생물에서, 유전자복제와 분열은 세포체가 성장함에 따라 조절된 방법으로 일어난다. 세포들이 덜 좋거나 스트레스를 받는 환경조건에서 자랄 때, 종종 다른 교배형 사이에 세포 접합을 통해 유전자 교환이 일어난다. 이러한 현상은 생명에 필수적이며 세포의 내적 및 외적 조건에 의해 조절된다. 현재까지 우리는 여러 모델생물에서 돌연변이를 연구함으로써 이러한 기작을 밝히려고 시도해왔다. 예를 들면, 분열효모(*Schizosaccharomyces pombe*)에서 돌연변이의 연구는 아주 중요한 정보를 제공해왔다. 야생형 *S. pombe* 은 반복된 세포 신장 후 대칭적 세포분열에 의해 증식한다. 한편, 기아와 같은 스트레스 조건에서, 세포는 세포주기의 적절한 단계에서 억제된 성장을 하며, 스트레스환경을 극복하기 위해 세포접합을 통한 포자형성이 유도된다. 다음 과제는 *S. pombe* 를 이용한 세포증식의 관찰을 포함한다.

재료 및 장비	양
1. 야생형 균주의 고정 배양; a	1
2. 야생형 균주의 고정 배양; b	1
3. 야생형 균주의 고정 배양; c	1
4. 야생형 균주의 고정 배양; d	1
5. 마이크로튜브 스탠스	1
6. 현미경	1
7. 일회용 세포 계수기	1
8. 계수기	1
9. 1.5ml 마이크로튜브	3
10. 유리슬라이드 박스	1
11. 커버슬립 박스	1
12. 마이크로파이펫 P-20 (용량 2-20 μ L)	1
13. 마이크로파이펫 팁이 담긴 박스	1
14. 25°C 에서 배양한 야생형 균주의 고정배양;	1
15. 36°C 에서 배양한 야생형 균주의 고정배양	1
16. 25°C 에서 배양한 <i>cdc25</i> 돌연변이균주의 고정배양	1
17. 36°C 에서 배양한 <i>cdc25</i> 고정배양	1
18. Calcofluor 와 DAPI 로 염색한 세포의 사진	1

파트 A

25°C 에서 배양한 *S. pombe* 야생형 반수체 (n=1) 의 성장 곡선을 아래에 제시하였다. 화살표로 표시된 시점에서 배양배지의 샘플링을 수행하였다. 실험대의 배양배지 a, b, c, d 는 특정 배양 시기 I, II, III 또는 IV 에 채취한 배양균 중 한 샘플에 해당한다(a, b, c, d 가 각각 I, II, III, IV 에 해당하지 않는다). 현미경으로 각각의 배지를 관찰하고 다음 질문에 답하시오. 관찰 직전에 마이크로튜브를 잘 흔드시오.

(*S. pombe* 의 성장곡선)



Q.1.A.1. (2 x 2 points)

샘플 a 의 세포와 샘플 b 의 세포를 비교하고 다음 질문에 답하시오.

- 1 세포들이 더 둥근 샘플은 어느 것인가?.
- 2 세포질분열을 수행하는 세포의 집단이 더 높은 것은 어느 샘플인가? 세포질분열은 격벽 형성의 시작부터 딸세포의 분리까지 이르는 세포주기의 한 부분으로 정의된다.

Q.1.A.2. (6 points)

Q.1.A.2. (6 점)

아래 지시와 같이 세포계수기를 사용해서 샘플 a 에서 1ml 배양배지당 세포의 수를 측정하시오. 나누어 지지 않은 딸세포는 하나의 세포로 센다. 답을 답지에 쓰시오. 각 학생은 하나의 세포 계수기를 받지만 각 계수기에는 두 개의 계수 챔버가 있다. 여러분은 이 계수기로 두 번 측정할 수 있다.

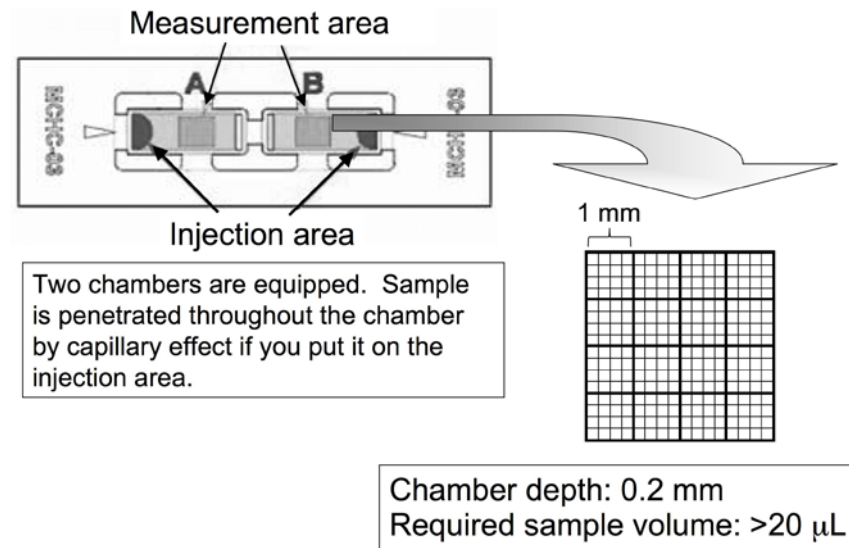


그림 설명
측정 영역
주입 영역

두 챔버가 장치되어 있다. 샘플을 주입영역에 놓으면 모세관효과에 의해 챔버로 스며들게 된다.

챔버의 깊이: 0.2mm, 샘플의 양은 20 μL 이상 필요.

Q.1.A.3. (5 points)

샘플 a에서 배양배지에서 세포질분열을 수행하는 세포의 백분율을 측정하시오. 무작위로 여러 개의 형미경 상을 선택하여 총 100 개 이상의 세포 수를 세어야 한다. 답지에 세포질분열을 수행하는 세포의 백분율과 세포의 총수를 모두 쓰시오

Q.1.A.4. (4 points)

세포질분열의 시작부터 딸세포의 분리까지 25 분이 걸린다면, 지수적 생장기에 있는 세포가 세포주기를 한번 완성하는데 필요한 시간을 추정하시오. 답지에 계산식과 답을 모두 적으시오

Q.1.A.5. (3 points)

세포배지 c에 세포에는 무엇이 적용되는가?

- A (왕성한 생장)
- B (포자 형성)
- C (접합)
- D (대부분의 세포가 죽음)
- E (감수분열 수행 중)

Q.1.A.6. (8 points)

어떤 배양배지(I, II, III, IV)가 a, b, c, d에 각각 해당 하는가?

파트 B

야생형과 *cdc25* 돌연변이 균주 모두 25°C 에서 지수적 성장 후 4 시간동안 36°C 에서 배양하였다.

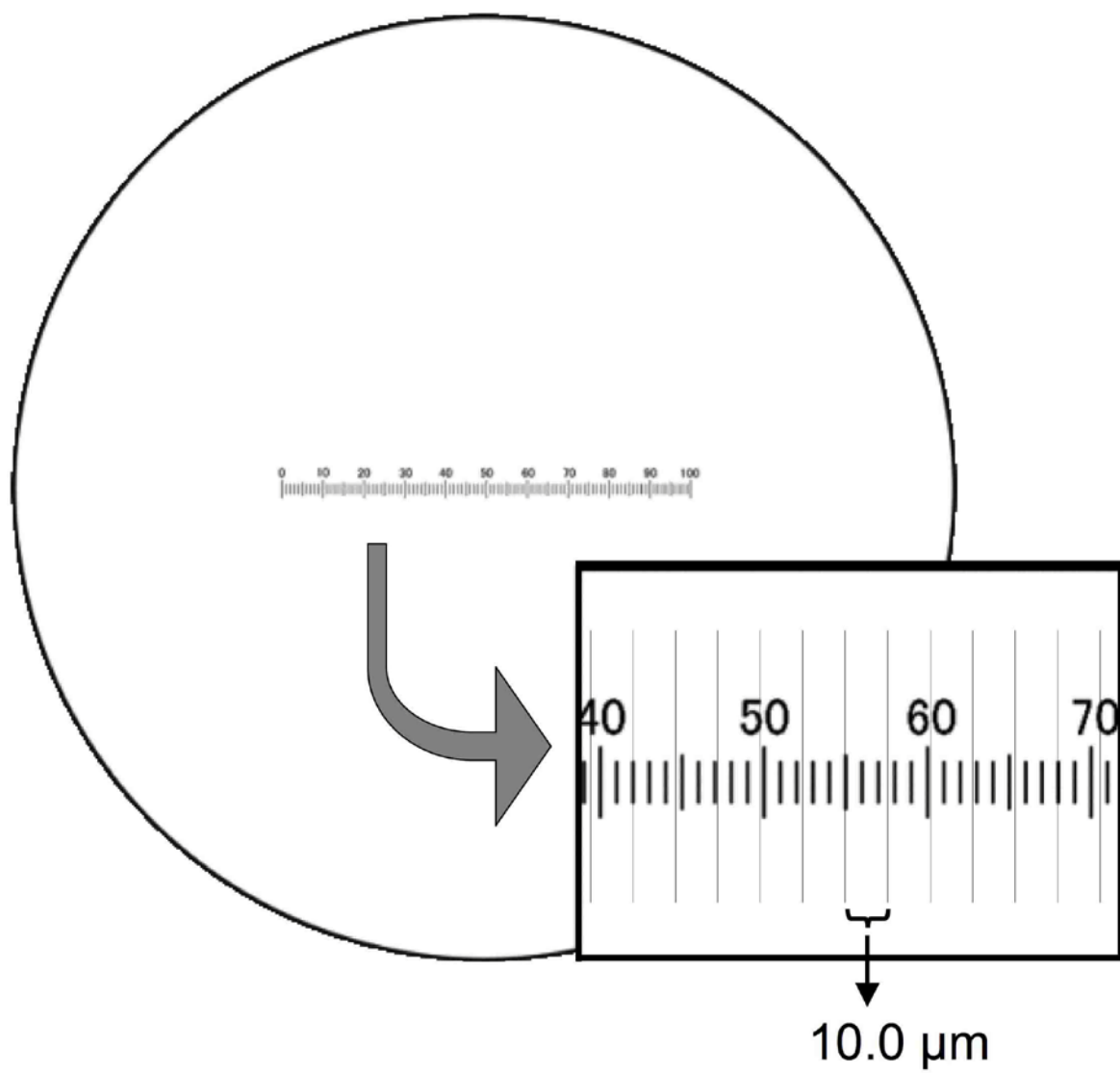
Q.1.B.1.(3 points)

배지 W25, W36, M25, M36 의 표현형을 관찰함으로써 어떤 결론을 얻을 수 있는가?

	조건	대부분의 <i>cdc25</i> 돌연변이세포는	야생형세포는
A	25°C	세포질분열을 하지 않는다	세포질분열을 한다.
B	25°C	세포질분열을 한다	세포질분열을 하지 않는다
C	36°C	세포질분열을 하지 않는다	세포질분열을 한다
D	36°C	세포질분열을 한다	세포질분열을 하지 않는다
E	25°C and 36°C	돌연변이와 야생형 세포사이에 세포질분열에는 중요한 차이가 없다	

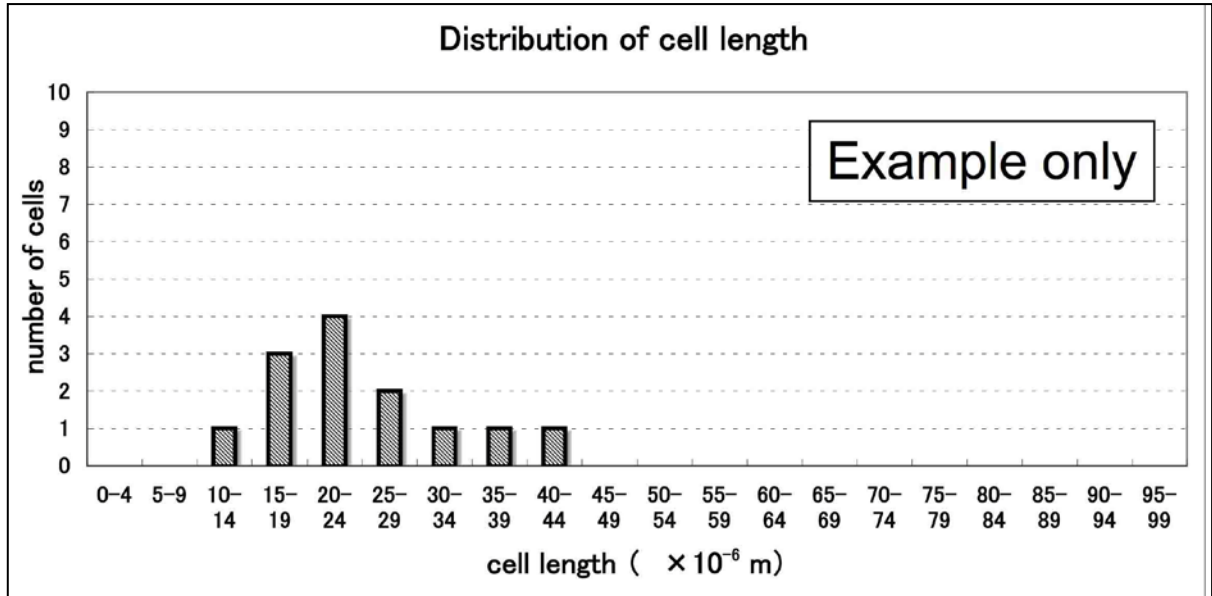
Q.1.B.2.(4 points)

세포의 길이를 측정하기 위해서 현미경의 접안렌즈에 마이크로미터를 장치하였다. 접안마이크로미터의 눈금을 결정하기 위해서 재물대마이크로미터라고 하는 두번째 마이크로미터를 현미경의 재물대에 놓는다. 재물대마이크로미터에서 인접한 두 선사이의 거리는 10.0 μ m 이다. 양쪽의 마이크로미터에서 선을 맞추에 의해 우리는 접안마이크로미터의 두 인접 선사이의 거리를 결정할 수 있다. 아래 보여진 그림을 이용하여 두 소수점자리까지 μ m 로 이 거리를 결정하시오.



Q.1.B.3.(12 points)

M36의 배양배지에서 무작위로 선택한 10개 이상의 세포의 세로방향의 길이를 측정하십시오. 아래에 제시한 예에 따라 답지에 여러분의 결과를 그래프로 나타내시오. 여러분의 접안 마이크로미터의 단위는 $4\mu\text{m}$ 이다. 길이의 단위를 나타내는 것을 잊지 마시오.



Q.1.B.4.(2 points)

각 배양균의 관찰을 통해서 어떤 결론을 얻을 수 있는가? *cdc25* 세포는 야생형세포보다 () .

- A 25°C 와 36°C 모두 에서 더 길다
- B 36°C 에서는 더 길지만 25°C 에서는 그렇지 않다.
- C 25°C 에서는 더 길지만 36°C 에서는 그렇지 않다.
- D 25°C 와 36°C 모두에서 야생형과 *cdc25* 세포사이에 세포길이에 중요한 차이는 없다

파트 C

다음실험은 야생형세포와 5가지의 돌연변이균주 (A-E)를 사용하여 수행하였다. 이들 돌연변이 균주는 야생형 균주와 마찬가지로 25°C 에서 성장하지만 36°C 에서는 성장할 수 없다. 25°C 에서 지수적 성장을 하는 모든 세포는 화학적 고정 이전에 추가로 4 시간 동안 36°C 에서 배양하였다. 고정된 세포는 형광현미경을 사용해서 관찰하기 위해 Calcofluor (격벽을 염색) 와 DAPI (DNA 를 염색)로 염색하였다

Q.1.C.1.(10 points)

다음은 36°C 에서 배양한 돌연변이의 표현형에 대하여 기술한 것이다. 돌연변이주(A-E) 각각에 해당하는 기술을 구분하십시오.

1. 세포질분열은 세포주기의 진행과 관계없이 반복된다.
2. 세포주기는 진행하지만 세포질분열은 시작하지 않았다
3. 세포주기는 간기에 멈추어 있다.

4. 핵분열이 심각하게 결여되어 있다
5. 세포질분열의 완성이 억제되었다

과제 2 (30 점)

단세포 조류의 운동성 기작에 대한 연구

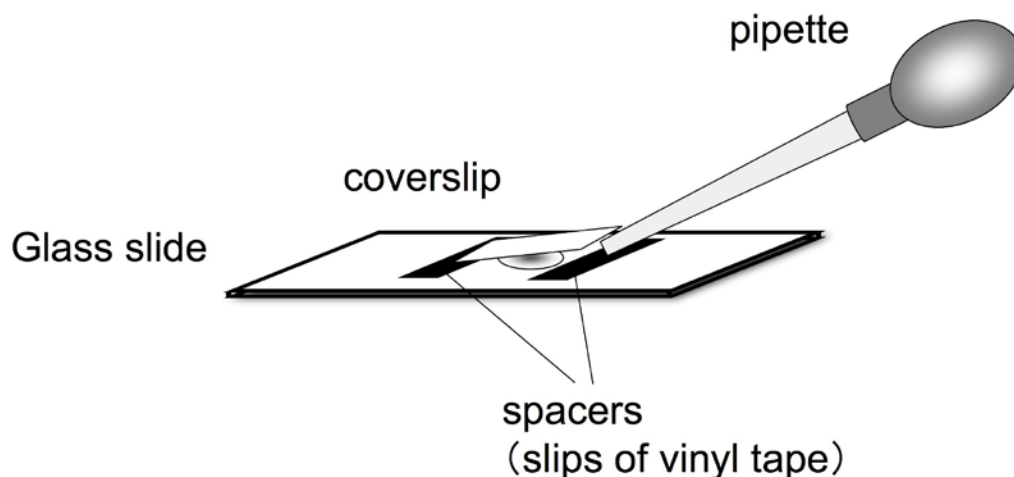
(서론)

일부 단세포 조류와 다세포 조류의 접합자는 활발하게 헤엄친다. 이러한 행동은 생장과 유성생식에 적절한 환경조건으로 이동하는데 중요하다. 단세포 녹조류인 *Chlamydomonas reinhardtii* 은 편모운동을 이용해서 헤엄친다. 어떤 자극에 접할 때 편모는 주로 떨어지며 어떤 경우에는 세포주기의 특정 시기에 세포체로 흡수된다. 이 과제는 *C. reinhardtii* 에서 편모 운동의 기계적 작용과 편모 재생을 다룬다.

재료 및 기구	양
1. <i>C. reinhardtii</i> 야생형세포 (wt)	1
2. <i>C. reinhardtii</i> <i>oda1</i> 돌연변이 (oda)	1
3. <i>C. reinhardtii</i> pf17 돌연변이 (pf)	1
4. 현미경	1
5. 유리 슬라이드 박스	1
6. 유리 커버슬립 박스	1
7. 초산용액 (A)	1
8. 중성용액 (N)	1
9. 일회용 파이펫 (1 ml)	10
10. 1.5 밀리 마이크로튜브	5
11. 비닐테이프	1
12. 가위	1

(주의)

C. reinhardtii 편모는 유리슬라이드에 달라 붙는다. 결과적으로 세포의 수영능력이 방해된다. 따라서 유리슬라이드에서 이동하지 않는 세포는 세포운동 관찰에서 제외되어야 한다. 관찰을 위해서 아래 지시대로 챔버를 만들도록 한다. 유리슬라이드에 비닐테이프조각을 평행하게 붙이고 파이펫으로 샘플을 놓은 후 비닐테이프위에 커버슬립을 마운트한다. 이 챔버는 세포가 수영할 수 있는 공간을 제공한다.



Part A

야생형세포 (wt)와 *pf17* 돌연변이세포 (pf)를 현미경적으로 비교하시오. 이 돌연변이는 정상적인 모양과 세포구조를 갖지만 세포의 편모에 방사축 머리의 한 성분이 부족하다.

Q.2.A.1. (6 points)

야생형 세포와 비교할 때, *pf17* 돌연변이 세포는:

- A 같은 방법으로 헤엄친다.
- B 더 느리게 헤엄친다
- C 더 빠르게 헤엄친다
- D 전혀 헤엄치지 않는다

Q.2.A.2. (2 points)

방사축 머리의 기능에 대하여 어떤 결론을 얻을 수 있는가?

- A 편모 운동에 필수적이다.
- B 편모 운동에 어떤 효과도 없다.
- C 편모 운동을 억제한다.
- D 편모운동을 조절한다.

Part B

야생형 (wt)과 *oda1* 돌연변이형 (od) 을 현미경적으로 비교하시오. 이 돌연변이는 편모에 디네인이 부족한 반면, 모양과 그 밖의 세포구조는 정상이다.

Q.2.B.1. (6 points)

야생형세포에 비해 *oda1* 돌연변이 세포는 :

- A 같은 방법으로 헤엄친다
- B 더 느리고 부드럽게 헤엄친다
- C 더 느리고 급격하게 헤엄친다
- D 더 빠르고 부드럽게 헤엄친다
- E 더 빠르고 급격하게 헤엄친다

Q.2.B.2. (4 points)

Oda1 돌연변이에서 잃어버린 디네인의 기능에 관하여 어떤 결론을 얻을 수 있는가?

- A 편모운동에 필수적이다.
- B 편모운동에 어떤 영향도 없다.
- C 편모 운동을 증가시킨다.
- D 편모운동을 조절한다.

Part C

다음은 초산의 편모에 대한 영향의 연구이다.

- (i) 20 개의 세포에서 편모를 갖는 야생형 세포의 퍼센트(A)를 측정한다.
- (ii) 일회용 파이펫으로 1.5ml 마이크로튜브에 (i)에서 선택한 배양돌연변이주 중에서 약 1ml 를 옮기고 초산용액 한방울을 넣는다.
- (iii) 30 초 후 중성용액 한 방울을 넣는다.
- (iv) 처리 후 20 개의 세포 중 편모를 갖는 세포의 백분율 (B)을 측정한다.

Q.2.C.1.((4 points x 2)=8 points)

처리전(A)과 처리후 (B) 샘플에서 편모를 갖는 세포의 퍼센트를 계산하시오.

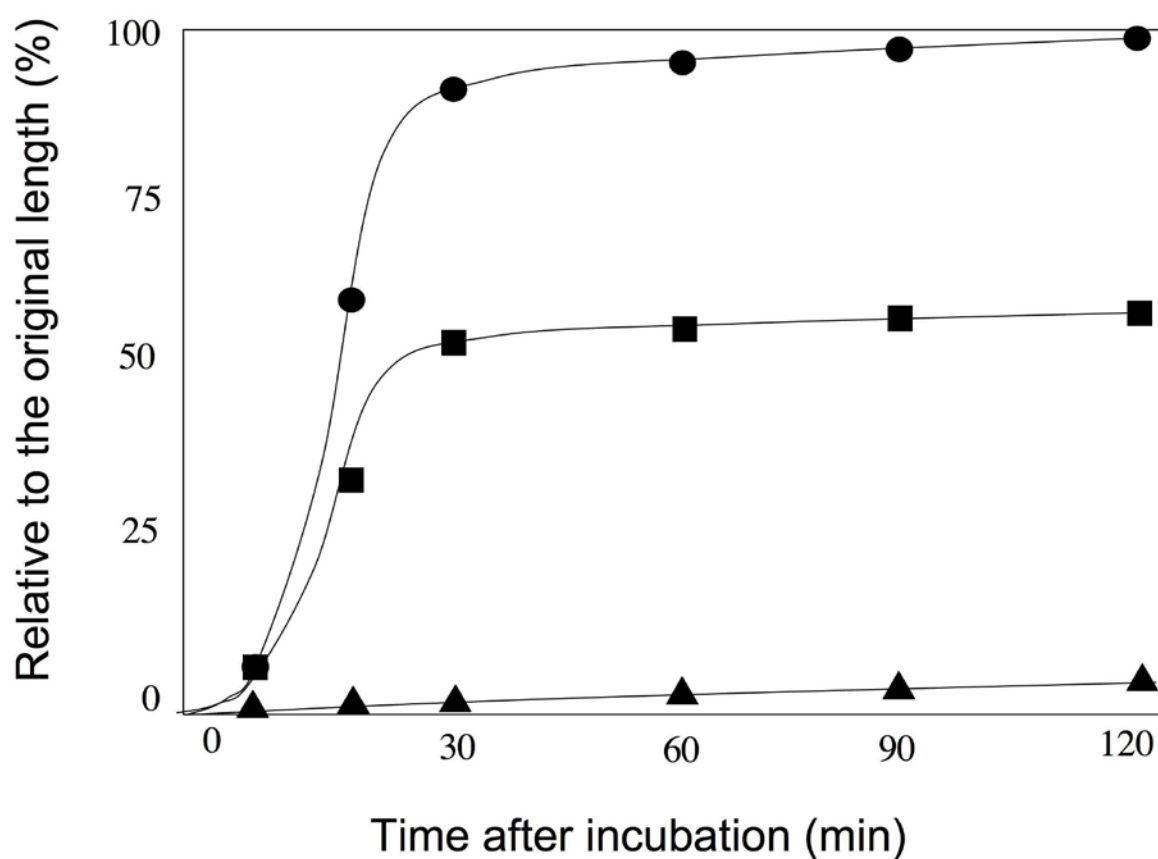
파트 D

편모가 제거된 야생형 세포를 다른 조건(i, ii or iii)하에서 배양하였다. 다음 그래프는 다른 시점에서 원래 길이에 대한 편모 길이의 상대적 비율을 나타낸다.

(i) 대조구 (억제자없이 배양) (●)

(ii) 단백질 합성의 억제자인 cycloheximide 와 함께 배양 (■)

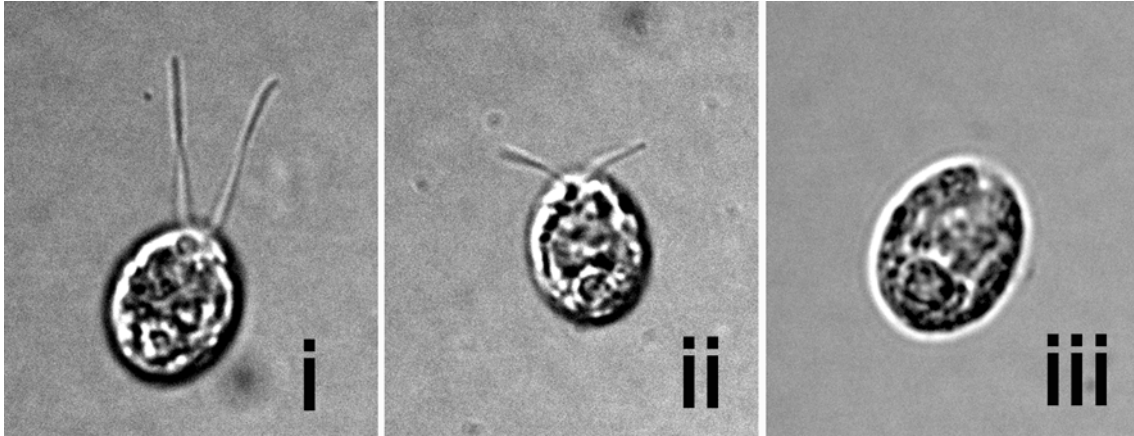
(iii) 미세소관 형성의 억제자인 colchicine 과 함께 배양 (▲)



X 축: 원래 길이에 대한 상대 비율 (%)

Y 축: 배양후 시간 (분)

또한, 120 분 동안 배양 후의 세포 사진은 다음과 같다.



Q.2.D.1.(4 points)

다음 중 Cycloheximide 와 함께 배양한 세포의 결과의 관찰을 지지하는 서술은?
 답지의 적절한 박스에 x 를 넣으시오.

- 1 재생 편모에 포함된 모든 단백질은 새롭게 합성되었다.
- 2 재생편모는 디네인이 없기 때문에 어떤 운동성도 보이지 않는다.
- 3 단백질의 새로운 합성은 편모의 완전한 재생에 필수적이다.
- 4 단백질의 새로운 합성은 편모의 기저체의 형성에 필수적이다.

Q.2.D.2.(2 points)

Cochicine 과 함께 배양한 세포의 관찰을 기초하여, 편모의 재생을 위해서 필요한 것은 무엇인가?

- A 튜불린의 중합
- B 액틴의 중합
- C 케라틴의 중합
- D 튜불린의 탈중합
- E 액틴의 탈중합
- F 케라틴의 탈중합