Country(국가명):

Student Code(학생번호):

23rd INTERNATIONAL BIOLOGY OLYMPIAD

8th - 15th July, 2012

SINGAPORE



PRACTICAL TEST 2 MICROBIOLOGY & BIOCHEMISTRY

미생물학 및 생화학

Total points: 100 (총점: 100 점)

Duration: 90 minutes (시간: 90 분)

Dear Participants (학생 여러분)

- In this test, you have been given the following two tasks:
 이 문제에서 여러분은 다음 두 가지 실험을 합니다.
 - Task 1:Bacteriophage: an effective agent in the killing of bacteria. (50 points)Part A:Effects of Phage and antibiotics on the killing of antibiotic-resistant *E. coli* (31 points)Part B:Phage titre and multiplicity of infection (19 points)
 - 실험 1: 박테리오파지(파지): 효과적인 세균 사멸 인자 (50점)

A: 파지와 항생제가 항생제 저항성 대장균의 사멸에 미치는 효과 (31점)

B: 파지 입자수 적정(phage titer) 과 감염배수(multiplicity of infection) (19점)

Task 2:Titration of an amino acid.(50 points)

- 실험 2: 아미노산 적정 (50점)
- Use the <u>Answer Sheet</u>, which is provided separately, to answer all the questions. 별도로 제공한 **답안지**를 이용해서 모든 문제에 답하시오.
- The answers written in the Question Paper will <u>NOT</u> be evaluated. 문제지에 쓴 답은 **채점하지 않습니다**.
- Write your answers legibly in ink. 펜으로 읽기 쉽게 정자로 답을 쓰시오.
- Please make sure that you have received all the materials and equipment listed for each task.
 각 과제에서 목록으로 제시한 실험 재료와 기구가 실험대 위에 모두 놓여 있는지 확인하시오.
- If any of these items are missing, please raise your hand immediately.
 이 목록 중에서 어느 하나라도 없는 경우에는 즉시 손을 드시오.
- Stop answering and put down your pen IMMEDIATELY when the bell rings.
 종료를 알리는 종이 울리면 즉시 답하기를 멈추고 펜을 책상 위에 내려 놓으시오.
- At the end of the test, place the Answer Sheets and Question paper in the envelope provided. Our Assistants will collect the envelope from you.
 시험이 끝난 후에 답안지와 문제지를 제공한 봉투 안에 넣으시오. 조교가 봉투를 수거할 것입니다.

Have fun and Good Luck! 🙂

행운을 빕니다!

Materials and equipment 재료와 기구:

For Task I: Bacteriophage: an effective agent in the killing of bacteria

실험 1: 박테리오파지: 효과적인 세균 사멸 인자

Materials and equipment 재료와 기구	Quantity 수량	Unit 단위
micropipette tips 10μl (마이크로파이펫 팁 10μl)	1	box
micropipette tips 200μl (마이크로파이펫 팁 200μl)	1	box
micropipette tips 1000μl (마이크로파이펫 팁 1000μl)	1	box
micropipette 1 - 10µl (마이크로파이펫 1 - 10µl)	1	piece
micropipette 2 - 20µl (마이크로파이펫 2 - 20µl)	1	piece
micropipette 20 - 200µl (마이크로파이펫 20 - 200µl)	1	piece
micropipette 100 - 1000μl (마이크로파이펫 100 - 1000μl)	1	piece
microfuge tube rack (마이크로튜브 꽂이)	1	piece
cuvette rack (큐벳 꽂이)	1	piece
Stock <i>E. coli</i> culture (1 × 10 ⁷ cells/ml) in LB broth 대장균 배양 원액(1 × 10 ⁷ cells/ml)	1	tube
LB broth (in a 50 ml Falcon tube) [LB 배지 (50 ml 팔콘튜브)]	1	tube
sterile deionized water in a microfuge tube (마이크로튜브에 든 멸균 증류수)	1	tube
ampicillin stock (1 mg/ml) dissolved in deionized water 증류수에 녹인 암피실린 원액 (1 mg/ml)	1	tube
bacteriophage stock (10 ⁸ pfu/ml) in deionized water 증류수에 담긴 박테리오파지 원액 (10 ⁸ 플라크형성입자수/ml)	1	tube
cuvettes (in a beaker) 큐벳 (비이커 안에 들어 있음)	4	piece
Stopwatch (스톱워치)	1	piece
floating rack (labelled with your country code) 물에 뜨는 마이크로튜브 꽂이(국가 코드가 적혀 있음)	1	piece

IBO2012 SINGAPORE

MICROBIOLOGY & BIOCHEMISTRY

PRACTICAL TEST 2

water-bath 37 ℃ (there is one assigned for your usage) 37 ℃ 수조 (사용할 수 있는 수조를 하나 지정해 줄 것임)	1	set
UV-VIS Spectrophotometer (there is one assigned for your usage) 자외선-가시광선 분광광도계 (사용할 수 있는 기구를 하나 지정 해 줄 것임)	1	set
photographs of <i>E. coli</i> plates (A to H) 대장균 배양접시 사진 (A~H)	1	set

For Task II: Titration of an amino acid

실험 🛚 : 아미노산의 적정

Materials and equipment 재료 및 기구		Unit
		단위
25 ml burette (25 ml 뷰렛)	1	piece
25 ml pipette (25 ml 파이펫)	1	piece
100 ml beakers (100 ml 비이커)	3	piece
magnetic stirring bar (교반기용 자석)	1	piece
magnetic stirrer (자석 교반기)	1	set
pH meter with electrode (pH 측정기와 전극)	1	set
pipette bulb (파이펫 벌브)	1	piece
Kimwipe papers (킴와이프 휴지)	1	box
retort stand with clamps (클램프 달린 스탠드)	1	set
0.3024 M standardized NaOH solution (0.3024 M NaOH 표준용액)	100	ml
Amino acid Z solution of unknown concentration 농도를 모르는 아미노산 용액 Z	80	ml

Task I (50 points) 실험 1 (50 점) Bacteriophage: an effective agent in the killing of bacteria 박테리오파지: 효과적인 세균 사멸 인자

<u>Part A</u>. Effects of Phage and antibiotics on the killing of antibiotic-resistant *E. coli* (31 points) 파지와 항생제가 항생제 저항성 대장균의 사멸에 미치는 효과

Introduction 서론

The bacteriophage is a virus that kills bacteria cells. Certain bacteriophages can kill bacteria cells by lysis. The bacteriophage is now recognized as an effective agent in the killing of pathogenic bacteria. This provides a good alternative to antibiotics in our combat against disease-causing bacteria that might be resistant to traditional antibiotics. You are required to design a simple experiment, with proper controls, to examine the killing efficiency of phage of an ampicillin-resistant *E. coli*. Answer the following questions **in the Answer Sheet** and follow the instructions given below.

박테리오파지는 세균을 사멸시키는 바이러스다. 일부 박테리오파지는 세균을 용해(용균)하여 사멸시킬 수 있다. 따라서 박테리오파지는 병원성 세균을 사멸시키는 데 효과적인 인자로 알려져 있다. 이러한 파지의 성질을 이용하면 파지를 항생제 대신 사용하여, 전통적인 항생제에 저항성을 갖는 병원성 세균을 제거할 수도 있다. 이 문제를 푸는 과정에서 여러분은 적절한 대조군을 설정한 다음, 암피실린-저항성 대장균을 사멸시키는 파지의 효율을 측정하는 실험을 고안하게 될 것이다. 다음 질문에 대한 답을 **답안지에** 쓰고 아래 주어진 설명을 따라 하시오.

- Q1.1 (<u>1 point</u>) To dilute the *E. coli* culture from 1 × 10⁷ cells/ml to 2 × 10⁵ cells/ml, what would be the dilution factor needed? 대장균 배양액을 1 × 10⁷ cells/ml 에서 2 × 10⁵ cells/ml 로 희석하려면 몇 배로 희석해야 하는가?
- Q1.2 (<u>1 point</u>) For 1 ml of *E coli* culture at a cell density of 2 × 10⁵ cells/ml, the final concentration of ampicillin used should be 10 μg/ml. What would be the volume of ampicillin stock (1mg/ml) used?
 밀도가 2 × 10⁵ cells/ml 인 대장균 배양액 1 ml 를 만들 때, 암피실린을 포함시키려고 한다.
 암피실린의 최종농도를 10 μg/ml 로 맞추려면 암피실린 원액(1mg/ml) 을 얼마나 넣어야 하는가?

- Q1.3 (1 point)For 1 ml of *E coli* culture at a cell density of 2 × 10⁵ cells/ml, final titre of phage
used should be 10⁶ pfu/ml. What would be the volume of phage stock (10⁸pfu/ml) used?
밀도가 2 × 10⁵ cells/ml 인 대장균 배양액 1 ml 를 만들 때, 파지를 포함시키고자 한다. 파지의
최종 농도를 10⁶ 플라크형성입자수/ml 로 맞추려면 파지 원액(10⁸ 플라크형성입자수 /ml) 을
얼마나 넣어야 할까?
- Q1.4 (1 point \times 15 = 15 points) With the above calculated dilution factors, fill in the table <u>in the</u> <u>Answer Sheet</u> with your experimental plan. One example is already given for Tube 1 in the table provided. All units are in µl. Carry out your proposed experiment by incubating the four tubes (placed in the labelled floating rack) for 40 minutes (stop watch provided) in the 37 °C water bath assigned to you. Hand over the floating rack to the technician at the water bath.

After incubation, transfer your samples to the cuvettes labelled 1 to 4. In order to observe the killing of bacteria cells, measure the absorbance at 595 nm wavelength. Bring your samples to the spectrophotometer that is allocated for your use and hand over your samples to the technician. You are to record your own readings as the samples are measured. 위에서 계산한 희석율을 이용하여, 각자 실험 계획을 세우고 이에 따라 **답안지의** 표를 채우시오. 답안지 표의 튜브 1 에 한가지 조건의 예를 제시하였다. 모든 단위는 µl 이다. 여러분에게 할당된 37 ℃ 수조에서 40 분 (스톱워치 제공) 동안 4 개의 마이크로튜브를 배양하여 설계한 실험을 수행한다. 마이크로튜브를 물에 뜨는 튜브꽂이에 꽂은 다음, 수조를 담당하는 조교에게 전달한다. 배양이 끝나면 각각의 시료를 1~4 번으로 미리 표기해둔 분광광도계 측정용 큐벳에 옮긴다.

세균 세포의 사멸을 관찰하기 위해, 595 nm 파장의 흡광도를 측정한다. 시료를 지정된 분광광도계로 가지고 가서 조교에게 전달한다. 측정된 시료의 흡광도를 각자 기록한다.

Q1.5 (0.75 × 2 + 1.5 points × 6 = 10.5 points) Fill in the absorbance reading at 595 nm of the different tubes of reactions in the table provided <u>in the Answer Sheet</u>. Taking 1 absorbance unit of the *E. coli* cells at 595 nm to be equivalent to 1 × 10⁷ cells/ml, what are the cell densities of the *E. coli* in the respective reaction tubes? <u>**답안지에**</u> 제시된 표에 각 시료의 595 nm 흡광도를 기록하시오. 대장균 세포는 농도가 1 × 10⁷ cells/ml 일 때 595 nm 에서 흡광도 1 단위를 보인다. 이를 고려할 때, 각 반응 튜브에 포함되어 있는 대장균 세포의 농도는 얼마인가?

- **Q1.6** (0.5 points \times 5 = 2.5 points) Which of the following reason(s) are correct? Indicate correct answer(s) with a tick (\checkmark) and incorrect answer(s) with a cross (\times).
 - a. Due to the ampicillin resistance, the bacteria cell wall prevented easy penetration of the antibiotics, but allowed the phages to enter the *E. coli* cells to cause lysis.
 - b. The ampicillin resistance in the *E. coli* did not prevent the ability of the phage to adsorp onto the bacteria cells.
 - c. The bacteriophage likely has a lytic life cycle of around 20 to 30 mins and hence lysis of the *E. coli* was observable during the short experiment.
 - d. The temperature of 37 °C was not the correct temperature for ampicillin to kill the *E. coli* cells.
 - e. The phages competed with the *E. coli* for the nutrients in the LB broth and the bacteria cells lysed due to insufficient nutrients.

다음 중 옳은 것은? 옳은 진술에는 ✓표시를 하고, 틀린 진술에는 x 표시를 하시요.

- a. 암피실린 저항성으로 인하여, 세균의 세포벽은 항생제가 쉽게 투과하지 못하도록 막아주었지만, 파지는 대장균의 세포벽을 뚫고 세포 안으로 쉽게 들어갈 수 있어서 대장균이 파괴되었다.
- b. 대장균의 암피실린 저항성은 세균 세포에 파지가 부착되는 것을 억제하지 못하였다.
- c. 박테리오파지가 번식해서 대장균을 파괴하는 데 걸리는 시간(life cycle)은 20~30 분 정도이므로 짧은 실험 시간 내에 대장균의 사멸을 관찰할 수 있었다.
- d. 실험 온도 37 ℃ 는 암피실린이 대장균을 사멸시키기에 적당한 온도가 아니었다.
- e. 파지는 대장균과 LB 배지의 영양물질을 경쟁적으로 사용하였기 때문에, 세균 세포는 영양물질이 부족하여 사멸하였다.

Part B. Phage titre and multiplicity of infection (19 points) 파지 농도(역가) 적정 및 감염배수 결정 (19 점)

The Table below shows the legends for photographs of *E. coli* lawns that are untreated and infected with bacteriophages. The *E. coli* culture used had a starting cell density of 0.5×10^4 cells/ml. 0.5 ml of phage was used to infect the *E. coli* cells. Serial dilutions of the phage culture were made as indicated and used for infection. (The photographs labelled A to H will be provided as part of materials for the lab task).

아래 표는 박테리오파지를 처리한 대장균과 처리하지 않은 대장균의 배양 사진에 대한 설명이다. 처음 접종에 사용한 대장균은 0.5 × 10⁴ cells/ml 이다. 이 대장균에 0.5 ml 의 파지 희석 용액을

처리하였다. 파지 용액은 다음 그림에 표기된 바와 같이 연속 희석하여 세균을 감염시켰다. (A~H로 표기된 사진은 실험 재료와 함께 제공될 것이다.)

A = 10 ⁻⁶ dilution	B = 10 ⁻⁵ dilution
A = 10 ⁻⁶ 희석	B = 10 ⁻⁵ 희석
C = 10 ⁻⁴ dilution	D = 10 ⁻³ dilution
C = 10 ⁻⁴ 희석	D = 10 ⁻³ 희석
E = 10 ⁻² dilution	F = 10 ⁻¹ dilution
E = 10 ⁻² 희석	F = 10 ⁻¹ 희석
G = neat phage G = 파지만 접종	H = <i>E. coli</i> lawn uninfected by phage H = 파지를 접종 않은 대장균 배양 접시

Q1.7 (2 points × 4 = 8 points) Based on the number of plaques observed in the photos, calculate the number of plaques that would be observed if the original undiluted phage culture were used.

이 사진에 나타난 플라크의 수를 바탕으로, 희석하지 않은 파지 원액을 사용하였을 때 나타날

수 있는 플라크의 숫자를 계산하시오.

Q1.8 (3 points) To estimate the titre of a phage culture, serial dilutions as shown in the photos (A to H) are normally performed. Based on the number of plaques shown, indicate with a tick (✓) which is the best dilution to confirm the phage titre.

파지 용액의 농도(역가)를 계산하기 위해 사진(A~H)에 나타난 것과 같이 파지 용액을

연속적으로 희석하여 세균에 감염시켰다. 배양접시에 나타난 플라크의 숫자를 보고 판단할 때, 파지의 농도(역가)를 계산하는 데 가장 적절한 희석률에 ✓ 표시를 하시오.

- **Q1.9** (4 points × 2 = 8 points) Using the information given and your answers above, determine:
 - a. the plaque forming units per milliliter (pfu/ml) of the phage culture used.
 - b. the multiplicity of infection (defined as the ratio of phages to *E. coli*), at the best dilution determined in Q1.8.

주어진 정보와 위의 답을 이용하여 다음을 계산하시오.

- a. 사용된 파지 용액의 플라크형성입자수(plaque forming units/ml)
- b. 위의 문제 Q1.8 에서 결정한 최적 희석농도에서의 감염배수(multiplicity of infection,

대장균 세포수에 대한 감염 파지의 개수)

Task II (50 points) 실험 II (50 점)

Titration of an Amino Acid 아미노산의 적정

Introduction 서론

Amino acids are organic molecules possessing both carboxyl and amino groups. Table 1 shows the 20 amino acids that cells use to build their thousands of proteins. The majority of the standard amino acids are diprotic molecules since they have two dissociable protons: one on the amino group and the other on the carboxyl group. There is no dissociable proton in the R. 아미노산은 카르복실기와 아미노기를 둘 다 지니는 유기 분자이다. 표 1 은 세포가 많은 단백질을 합성하는 데 사용하는 20 개의 아미노산 구조를 보여준다. 표준 아미노산은 대부분 양성자가 해리될 수 있는 두 개의 작용기를 지닌다: 그 하나는 아미노기이고 다른 하나는 카르복실기다. 이 실험에 사용된 아미노산에는 해리 가능한 양성자를 지니는 R 기가 포함되어 있지 않다.

Recall: For an acid HA, the acid dissociation constant for the equilibrium of HA \implies H⁺ + A⁻ is K_a. K_a = [H⁺][A⁻] / [HA]

More often, the strength of acids is expressed in terms of the pK_a of the acid:

$$pK_a = - \log K_a$$

참고: 특정한 산(HA)이 평형 상태에 도달하였을 때(HA → H⁺ + A⁻), 해리상수는 K_a 로 다음과 같이 표기한다.

Ka = [H⁺][A⁻] / [HA] 또한 산성도는 보통 해당 산의 pKa 로 표현하며 pKa 는 다음과 같이 정의한다. pKa = − log Ka

In the titration of such a diprotic amino acid, the titration will thus occur in two steps as the more acidic carboxyl group (lower pK_{a1}) and the less acidic amino group (pK_{a2}) successively lose their protons.

이처럼 두 개의 양성자가 떨어져 나올 수 있는 아미노산을 적정할 때, 산성도가 더 높은 카르복실기 (더 낮은 pK_{a1}) 에서 먼저 양성자가 해리되고 다음에 산성도가 낮은 아미노기(pK_{a2})에서 양성자가 떨어져 나온다.

In addition, the pH at which the net charge on the molecule is zero is called the isoelectric point (pl) of the molecule, a useful constant in characterizing and purifying molecules. Using a titration curve, the pl can be empirically determined as the inflection point between the pK_a 's of the anionic and cationic forms.

또한 특정 분자의 순전하가 0 이 되는 pH 를 그 분자의 등전점(isoelectric point, pl)이라 하며, 등전점은 분자의 특성을 분석하거나 순수분리할 때 유용하게 이용된다. 적정곡선을 이용하여, 등전점은 실험적으로 결정될 수 있는데, 이는 두 작용기의 pKa 사이에 위치하는 변곡점을 찾으면 되기 때문이다.

The apparent pK_a values for the two dissociation steps may be extrapolated from the midpoints of each step. This can be shown by the Henderson-Hasselbach equation:

$$pH = pK_a + log \{ [A^-] / [HA] \}$$

The pK_{a1} (pK_a for the carboxyl acid group) is where half the acid group has been titrated. Therefore the equation becomes:

$pH = pK_a$

Similarly, the pK_{a2} (pK_a for the amino group) can be determined. In this experiment, you will titrate an unknown amino acid and determine its pl, pK_{a1} and pK_{a2} .

두 번에 걸쳐 해리되는 분자에서 겉보기 pKa 값은 각각의 해리 단계의 중앙점으로 유추할 수 있다.

이는 헨더슨-하셀바흐 방정식으로 나타낼 수 있다.

$$pH = pK_a + \log \{ [A^-] / [HA] \}$$

pKa1 (카르복실기의 pKa)은 카르복실기의 절반에서 양성자가 해리된 상태로 존재하는 순간의

pH 이다. 따라서 절반이 해리된 상태의 pH 는 다음과 같은 식으로 나타낼 수 있다.

 $pH = pK_a$

이와 같은 방식으로 pKa2 (아미노기의 pKa)도 결정할 수 있다.

이 실험에서, 여러분은 미지의 아미노산 Z 를 적정할 것이며, 이를 통해 이 아미노산의 pl, pK_{a1}, pK_{a2}를 결정할 것이다.

Procedure (방법)

- Fill the burette with the standardized NaOH solution. Record the exact concentration of this standardized NaOH solution <u>in the Answer Sheet</u>.
 뷰렛을 표준 NaOH 용액으로 채우시오. <u>답안지에</u>이표준 NaOH 용액의 정확한 농도를 기록하시오.
- Pipette 25 ml of the unknown amino acid solution Z into a clean 100 ml beaker.
 25 ml 의 아미노산 용액 Z 를 깨끗한 100 ml 비이커에 파이펫으로 옮기시요.
- Carefully place the pH probe and a magnetic stirring bar into the amino acid solution, so that the probe is far enough into the solution, but not touching the stirring bar or beaker. Clamp and adjust the pH probe such that the stirring bar will not hit the probe while stirring. DO NOT TOUCH THE CALIBRATION. pH 전극을 조심스럽게 비이커에 넣고 교반기용 자석을 아미노산 용액에 넣는다. 이 때 pH 전극이 용액에 충분히 잠기도록 하되. 자석이나 비이커에 닿지 않도록 주의한다. 전극의 위치를

잘 조절해서 자석이 용액을 저으면서 전극을 건드리지 않도록 한다. Cal(Calibration) 단추는

건드리지 않는다 (스티커로 가려져 있음)

4. Titration 1

Rinse the pH probe with deionized water. Dry the probe gently with a piece of Kimwipe paper. Determine the pH of the amino acid solution Z before the addition of NaOH. Next, titrate the amino acid solution with the NaOH from the burette. Add approximately 1.00 ml of the NaOH to the amino acid at a time. Record the exact volume dispensed and the pH of the solution after every 1.00 ml interval **in the Answer Sheet**. Continue until approximately 25 ml of NaOH has been added.

적정 1

pH 전극을 증류수로 헹군다. 전극을 킴와이프로 부드럽게 닦아 물기를 없앤다. NaOH 를 첨가하기 전, 아미노산 용액 Z 의 pH 를 측정하고 기록한다. 뷰렛에 넣은 NaOH 로 아미노산 용액을 적정한다. 한 번에 대략 1.00ml 의 NaOH 를 첨가한다. 1.00 ml 를 첨가할 때마다 첨가한 NaOH 의 정확한 부피와 용액의 pH 를 **답안지에** 기록한다. NaOH 를 25 ml 정도 첨가할 때까지 계속한다.

5. <u>Repeat the titration (Titration 2)</u>

Rinse the pH probe with deionized water. Dry the probe gently with a piece of Kimwipe paper. Refill the burette with the standardized NaOH solution and repeat steps 2 – 4. 반복 적정 (적정 2)

증류수로 pH 전극을 헹군다. 전극을 킴와이프로 부드럽게 닦아 물기를 없앤다. 뷰렛을 NaOH 표준 용액으로 채우고 위의 2~4 단계를 반복한다.

Q2.1 (3 points × 3 = 9 points) Table 1 shows the chemical structures of the twenty standard amino acids. Draw structures to show the complete dissociation of glycine, proline and asparagine.

표 1 은 20 개 아미노산의 화학 구조를 나타낸다. 글리신(glycine), 프롤린(proline),

아스파라진(asparagine)이 양성자와 결합한 상태에서 완전히 해리되는 과정까지의 변화 과정을 구조식으로 나타내시오.

- Q2.2(3 points × 2 = 6 points)For both titrations, record the volume of NaOH (ml) added during
the titration and the observed pH value for the unknown amino acid.
두 번 적정하는 과정에서, 적정 시작과 적정 중에 첨가한 NaOH 의 부피(ml)와 미지의
아미노산 용액의 관찰 pH 값을 기록하시오.
- Q2.3 <u>(5 points × 2 = 10 points)</u> Using your data, plot the graphs of each titration run (pH versus Vol. of NaOH (ml)) in Graphs 1 and 2 provided <u>in the Answer Sheet</u>. 데이터를 이용하여 각각의 적정 곡선[NaOH(ml) 부피에 대한 pH]을 <u>답안지에</u> 제공된 그래프 1과 2 에 그리시오.

- Q2.4(2 points × 2 = 4 points)From your titration curves, find the pl and label it on each graph.
Q2.4.1 (2 points)Q2.4.1 (2 points)What is the mean pl?적정곡선으로부터 pl 값을 찾고 각각의 그래프에 표기하시오.
평균 pl 값을 구하시오.
- Q2.5 <u>(4 points × 2 = 8 points)</u> Find and label the pK_{a1} and pK_{a2} on each graph. Q2.5.1 (2 points × 2 = 4 points) What is the mean pK_{a1} and pK_{a2}? 각각의 그래프에 pK_{a1}와 pK_{a2}를 찾아 표기하시오.

평균 pK_{a1}와 pK_{a2}값을 각각 구하시오.

Q2.6 (5 points) 0.9210 g of the unknown amino acid Z was dissolved in 80 ml of deionized water. Determine the molecular weight of the unknown amino acid Z. Note: In order to start with a fully protonated amino acid, HCl solution has been added. This is equivalent to 3.2 ml of the NaOH solution. To determine the actual number of moles of NaOH needed to reach the isoelectric point (pl), subtract 3.2 ml from the volume of NaOH used to reach the first end point.

0.9210 g 의 아미노산 Z 를 증류수 80 ml 에 녹였다. 미지의 아미노산 Z 의 분자량을

결정하시오. 주의: 완전히 양성자와 결합한 아미노산에서 적정을 시작하기 위해 HCI 용액을

첨가하였다. 이는 NaOH 용액 3.2 ml 에 해당된다. 등전점(pl)를 구하는 데 필요한 실제 NaOH

- 몰 수를 결정하기 위해서는 첫 번째 적정 지점에 도달하는 데 사용된 NaOH의 부피에서 3.2 ml 을 빼준다.
- Q2.7 (2 points) Based on Table 2, identify amino acid Z.
 - a. glycine
 - b. proline
 - c. asparagine
 - d. tyrosine
 - e. tryptophan
 - 표 2 의 결과를 바탕으로 볼 때 아미노산 Z 는 다음 중 어느 것일까?
 - a. 글리신
 - b. 프롤린
 - c. 아스파라진
 - d. 티로신
 - e. 트립토판



Table 2. Molecular weights of amino acids 표 2. 아미노산의 분자량

Amino acid 아미노산	MW (g/mole) 분자량(g/mole)
Glycine 글리신	75
Proline 프롤린	115
Asparagine 아스파라진	132
Tyrosine 티로신	181
Tryptophan 트립토판	204

⁻ END OF PAPER 끝 -