

2008 年第十九屆國際生物奧林匹亞競賽

-- 實驗試題(3)

中華民國生物奧林匹亞競賽代表團

實驗三：生物化學與細胞學(續)

試題一

Part A： β -lactam 酶的活性與抑制研究 (35 分)

【資料分析與計算】

問題 1.A.2 (6 分)

I. 計算 2.5 ml 酵素反應體積下，試管 1 至 6 號中抑制劑 [I] 的濃度 (單位：mM)。將答案填在答案卷表 1.A.2. 中

II. 由於吸光值是水解盤尼西林 G 後的值，在此要進行 v_i/v_0 的計算。

v_0 是無抑制劑下盤尼西林 G 被 β -lactam 酶水解的值。

v_i 是有抑制劑下盤尼西林 G 被 β -lactam 酶水解的值。

注意：試管 1 的條件下 $v_i = v_0$ 。

將上述數值，單位：小數點後兩位，填在答案卷表 1.A.2. 中

Test tube (試管)	Absorbance (吸光值)
1	
2	
3	
4	
5	
6	

問題 1.A.3 (5 分)

將 v_i/v_0 對 [I] 的值進行繪圖。繪圖紙會附在答案卷上。

【抑制劑 IC_{50} 值與 K_i 值的測定】

問題 1.A.4 (3 分)

利用內插法將 IC_{50} 值自圖形中求出。將正確答案，數值要達小數點後兩位，填入答案卷 Q. 1.A.4. 的方格中。

$$IC_{50} = \text{_____ mM}$$

問題 1.A.5 (3 分)

利用下列公式計算 K_i 值

$$IC_{50} = K_i \left[1 + \frac{[S]}{K_m} \right]$$

K_m 是 β -lactam 酶的馬歇-馬坦常數 (Michaelis-Menten constant)，[S] 為酵素混合液中受質 (盤尼西林 G) 的起始濃度。本實驗中， β -lactam 酶對盤尼西林 G 的 K_m 值為 0.05 mM。將正確答案，數值要達小數點後兩位，填入答案卷 Q. 1.A.5. 的方格中。

$$K_i = \text{_____ mM}$$

Part B：有關 β -lactam 酶的表現與抗性 (4 分)

利用液態培養液培養抗盤尼西林細菌時， β -lactam 酶會被釋放到培養基中。培養基的上清液將會出現 β -lactam 酶的活性。利用液態培養液方法培養疑似抗盤尼西林生物 P, Q, R 與 S (organisms P, Q, R and S) 時，分別取 20 μ l 的培養液進行 β -lactam 酶活性測定，他們在 465 nm 下的吸光值分別記錄於下表中。

上述四種生物的盤尼西林 G 抗生素盤 (disc) 擴散分析，敘述如下：

1. 每種生物分別接種在溫的生長培養基中，倒入無菌的培養皿裡，待溫度降低後，培養基會凝固。
2. 盤型濾紙片先浸泡在不同濃度的盤尼西林 G 中，之後分別置於上述步驟 1 中培養基表面。
3. 培養皿將持續進行培養，並讓盤尼西林擴散，此時生物仍持續生長。
4. 培養的生物如果對盤尼西林是敏感的，生物將無法生長，此時在抗生素盤周圍會出現透明環。

你將會獲得分別標有 I - VI 的六張照片：

第一張(I) 為對照組，你看到的將是在無盤尼西林 G 添加情況下，生物將長

第二張(II) 也是對照組，培養基中沒有添加生物。

第三張到第六張，顯示四種生物分別在含有不同濃度的盤尼西林 G 盤，2.5, 5, 7.5,

10 與 12.5 下生物生長的狀況。

問題 1.B.1 (4 分)

觀察上述照片後，分別將正確的生物名稱填入照片 III 到 VI 的表中。將正確答案填入答案卷的表 1.B.1。

表 1.B.1.

Plate (照片)	Organism (生物)
III	
IV	
V	
VI	

Part C：殺蟲劑的 K_i 值對細菌生長的影響 (4 分)

四種殺蟲劑 P1 到 P4 為酵素 E 的可逆抑制劑，對於細菌 B 的生長是必須的。他們的 K_i 分別表示在下表。四種殺蟲劑分別施用在四個不同的地理區域 R1 到 R4。四種殺蟲劑的殘留量表示也分別表示在下表中。

Region (地理區域)	R1	R2	R3	R4
Pesticide (殺蟲劑)	P1	P2	P3	P4
K_i for the enzyme E (酵素E的 K_i)	1 nM	5 nM	0.45 μ M	0.55 μ M
Residual concentration (殘留量)	60 nM	100 pM	30 nM	5.5 μ M

問題 1.C.1 (4 分)

判斷細菌 B 能或不能在上述四種地區生長，並在答案卷中表 1.C.1. 的正確位置打鉤(✓)。

表 1.C.1.

Region (地理區域)	R1	R2	R3	R4
Bacterium B grows (細菌 B 能在該地區生長)				
Bacterium B does not grow (細菌 B 不能在該地區生長)				

實驗四：動物解剖及生理學

總分：49 分

總操作時間：60 分鐘

試題一**Part A：研究果蠅的嗅覺反應的實驗設計 (7 分)**

現在你有 Part A 試卷，要在 10 分鐘內回答此問題，時間到鈴響時收答案卷，然後才會給你其他部分的試卷

【說明】

昆蟲嗅覺很強，例如雄蛾可以偵測到極低濃度的費洛蒙以找到雌蛾，不同嗅覺的感受會伴隨不同的行為，此可由昆蟲藉由氣味來選擇食物獲得證實。氣味刺激造成的反應可分三類(1)吸引 (2)驅除 (3)中性(既不吸引也不驅除)

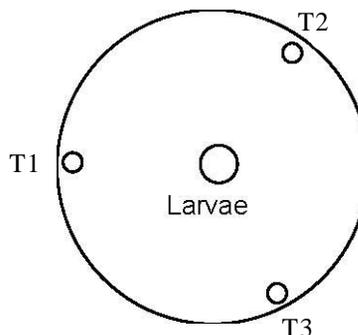
昆蟲如果蠅的成蟲或幼蟲皆可用來

進行氣味分辨的行為測試，所以可設計實驗來測試果蠅幼蟲在培養皿上對不同化學藥劑的反應。

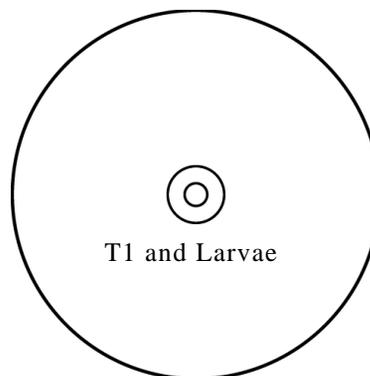
問題 1.A.1 (3 分)

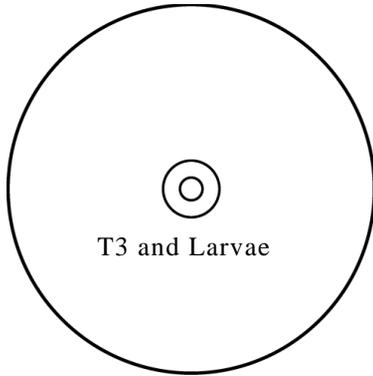
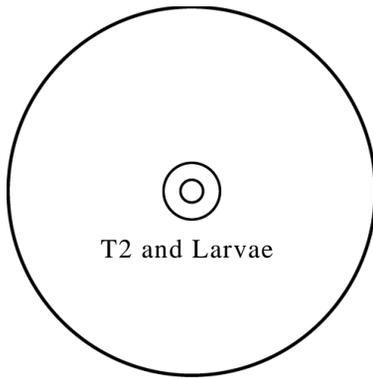
假如你想知道果蠅幼蟲對三種化學藥劑 T1, T2 和 T3 的反應，下列有五種可能的實驗設計。

實驗設計 I：三種化學藥劑 (T1, T2, T3) 放於培養皿周邊，彼此等距離，如圖所示。將幼蟲(Larvae)放於中央。

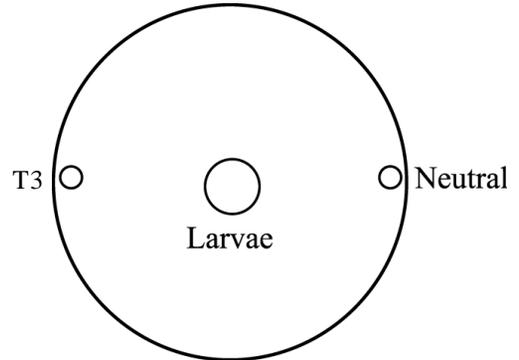
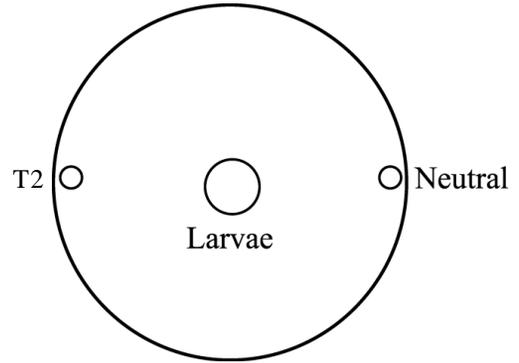
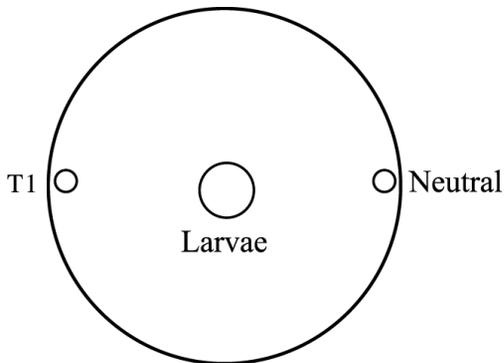


實驗設計 II：將幼蟲 (Larvae) 與任一種化學藥劑放於培養皿中央，以三種培養皿分別進行三種化學藥劑 (T1, T2, T3) 的測試。

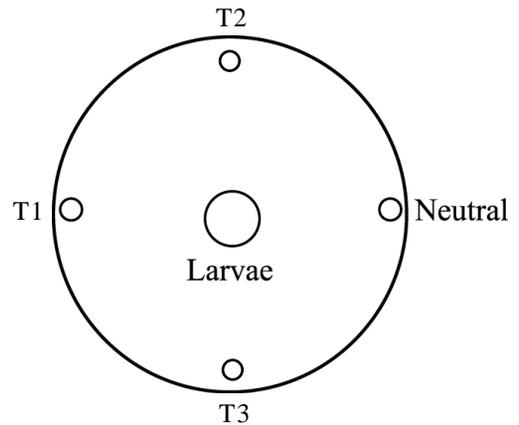




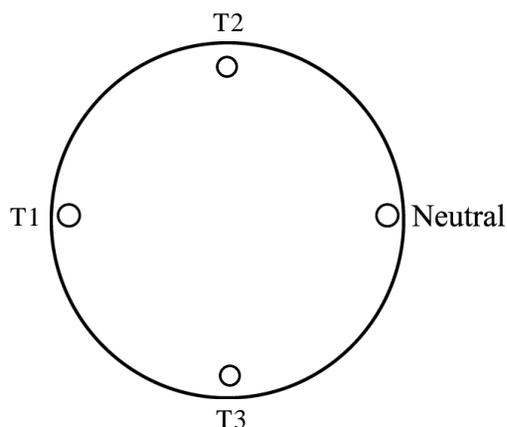
實驗設計 III: 將其中一種化學藥劑與一種無氣味藥劑(中性 Neutral)分別置於培養皿兩側, 將幼蟲 (Larvae) 置於中央進行測試, 另以同法測試其它兩種藥劑。



實驗設計 IV: 將三種化學藥劑與中性藥劑同時置於培養皿周圍, 彼此等距。將幼蟲置於中央進行測試。



實驗設計 V: 將三種化學藥劑與幼蟲置於培養皿周圍, 彼此等距, 進行測試。



選擇最適當的實驗設計在其旁打(✓)

Design I	
Design II	
Design III	
Design IV	
Design V	

注意：除非此題(Q. 1.A.1.)答對，下一題(Q. 1.A.2.)才會計分

問題 1.A.2 (4 分)

根據你所選擇的實驗設計，判斷下列各項敘述之真偽。

在答案紙上勾選(✓)適當的選項

STATEMENT	TRUE	FALSE
I. 此設計允許幼蟲同時具有2或2種以上化學藥劑的選擇，故有分辨的功效。		

STATEMENT	TRUE	FALSE
II. 藉由用中性藥劑同時與任一種測試藥劑同時存在的測試，可清楚的分辨出吸引與驅除的藥劑為何。		
III. 藉由一個簡單的試驗即可完成所有化學藥劑的測試，且可避免實驗間的變異。		
IV. 此設計是藉由一種藥劑的存在能加強昆蟲對其它藥劑的反應，故而能更清楚的分辨出藥物刺激所具有的吸引與驅除本質。		
V. 此實驗無任何氣味的混合，故可獲得較可信的結果。		
VI. 在單一培養皿內，所有的藥劑可以與相同的控制組進行比對。		
VII. 對於氣味效果微弱的藥劑，此實驗仍可有效分辨其功能。		
VIII. 幼蟲不受任何限制可向任何方向擴散。		

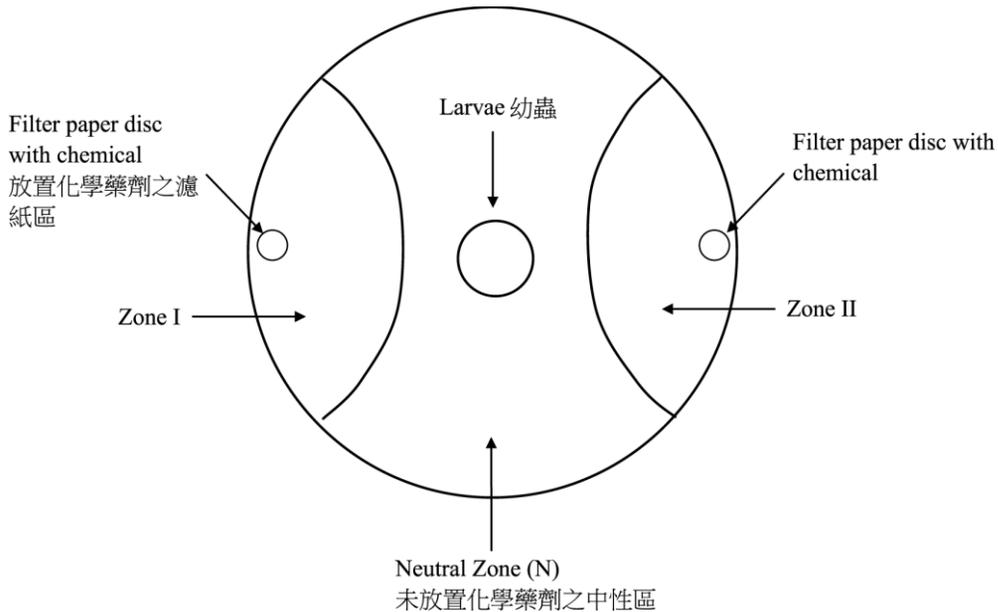
Part B：研究果蠅幼蟲嗅覺及趨光反應（18 分）

本部分限 35 分鐘內完成

Larval plate test 幼蟲培養皿測試

【設計】

利用 5 個實驗進行果蠅幼蟲對化學與光的刺激，四種化學藥劑 A，B，C，及 D 用於測試，其中 D 為中性藥劑，A，B，C 可能為吸引、驅除、或中性藥劑。實驗設計如下圖：



【方法】

實驗選用三齡幼蟲，此幼蟲是利用 15% 的蔗糖溶液沖洗 6 天的果蠅培養基以取得，將浮在蔗糖溶液的幼蟲洗淨後利用。這些實驗是在含有 1% 洋菜膠的培養皿上進行。

每一實驗，在培養皿水平中軸兩側分別置放含有不同藥劑的濾紙，將 30-40 隻幼蟲置於培養皿的中央後，記錄它們 5 分鐘內的活動，進行 5 種這樣的實驗，此實驗的歷程及結果可由提供的記錄影片獲得，實驗 1、2、4 是在固定的光源下進行的，實驗 3、5 則在培養皿一半覆蓋黑紙，一半透光的環境下進行。

問題 1.B.1 (10 分) 影片觀賞

1. 操作電腦，在檔案 1 處按兩下，觀察影片中幼蟲活動。
2. 影片原長 5 分鐘，壓縮成 2.5 分鐘，如有必要，你可用快轉鈕前後快轉選擇所需。
3. 實驗結束，計算 Zone I (N_{ZI}) 及 Zone II (N_{ZII}) 的幼蟲數目
4. 將你的記錄寫在答案紙的 **Table 1.B.1**。
5. 針對檔案 2 到 5 重覆 1 到 4 的步驟。

表 1.B.1.

實驗	ZI 的化學藥劑	ZI 的幼蟲數目(N_{ZI})	ZII 的化學藥劑	ZII 的幼蟲數目(N_{ZII})	$\frac{N_{ZI}}{N_{ZI} + N_{ZII}}$	$\frac{N_{ZII}}{N_{ZI} + N_{ZII}}$
1	B		C			
2	A		B			
3	A(in dark)		B			
4	B		D			
5	B		C			

問題 1.B.2 (3 分)

試問 ABC 三種化學藥劑的特性為何？於答案紙勾選(✓)適合的答案。

化學物質	吸引	驅除	中性反應	無法決定
A				
B				
C				

問題 1.B.3 (5 分)

根據你的觀察，判斷下列敘述何者為真，何者為錯，並在答案紙上勾選(✓)。

- 幼蟲在有氣味吸引的情況下比在黑暗情況下，顯現出更強的正向反應(朝刺激方向移動)
- 光對幼蟲的驅除效果比具有驅除效應的化學藥劑更強。
- 幼蟲所顯示的正趨光性比具有吸引力的化學藥劑所產生的正向移動效果更強。
- 在光照下，幼蟲不顯示趨化性。
- 驅除性藥劑對幼蟲的影響較黑暗的影響強。

	True	False
a		
b		
c		
d		
e		

Part C: 研究果蠅幼蟲嗅覺的適應(11 分)

用同一味道對嗅覺系統持續刺激，會造成適應現象，又稱為去敏感化。此結果使幼蟲對已適應氣味失去反應。有人利用果蠅幼蟲進行嗅覺適應的研究，她選擇下列的藥劑：

- Ethyl acetate 乙基乙酸
- Pentyl acetate 戊基乙酸
- Hexyl acetate 己基乙酸
- Heptyl acetate 庚基乙酸

刺激前的實驗：在每一實驗(除實驗 1 外)，果蠅幼蟲於實驗前，先放置於含 40 microlitres 的上述藥劑之一的培養皿上，進行 25 分鐘前置刺激。將幼蟲取出後，再用與原來相同或不同的化學藥劑進行測試，其實驗流程與 Task 1 的 Part B 相同。

前置刺激實驗所得資料列於下表：

實驗	前置刺激	測試的化學藥劑							
		A		B		C		D	
		乙基 乙酸	*	戊基 乙酸	*	己基 乙酸	*	庚基 乙酸	*
		N _{ZI}	N _{ZII}						
1	無								
2	乙基乙酸								
3	戊基乙酸								
4	己基乙酸								
5	庚基乙酸								

N_{ZI} 和 N_{ZII} 分別代表 Zone I 及 Zone II 幼蟲數

*在所有實驗的 Zone II 中含有一種中性藥劑

此表所列的資料是平均反應，實際數字的變異是此平均數值的上下 10%

問題 1.C.1 (5 分)

根據下列公式計算每一實驗的反應指數(RI)

$$RI = \frac{N_{ZI} - N_{ZII}}{N_{ZI} + N_{ZII}} \times 100$$

將反應指數填於答案紙的 **Table 1.C.1.**

表 1.C.1.

實驗	前置刺激	測試的化學藥劑			
		A	B	C	D
		乙基乙酸	戊基乙酸	己基乙酸	庚基乙酸
		R1	R1	R1	R1
1	無				
2	乙基乙酸				
3	戊基乙酸				
4	己基乙酸				
5	庚基乙酸				

問題 1.C.2 (2 分)

幼蟲對那一種藥劑最具適應性？於答案紙上勾選(✓)正確選項。

乙基乙酸	
戊基乙酸	
己基乙酸	
庚基乙酸	

問題 1.C.3 (2 分)

幼蟲對那一種藥劑最不具適應性？在答案紙上勾選(✓)正確選項。

乙基乙酸	
戊基乙酸	
己基乙酸	
庚基乙酸	

問題 1.C.4 (2 分)

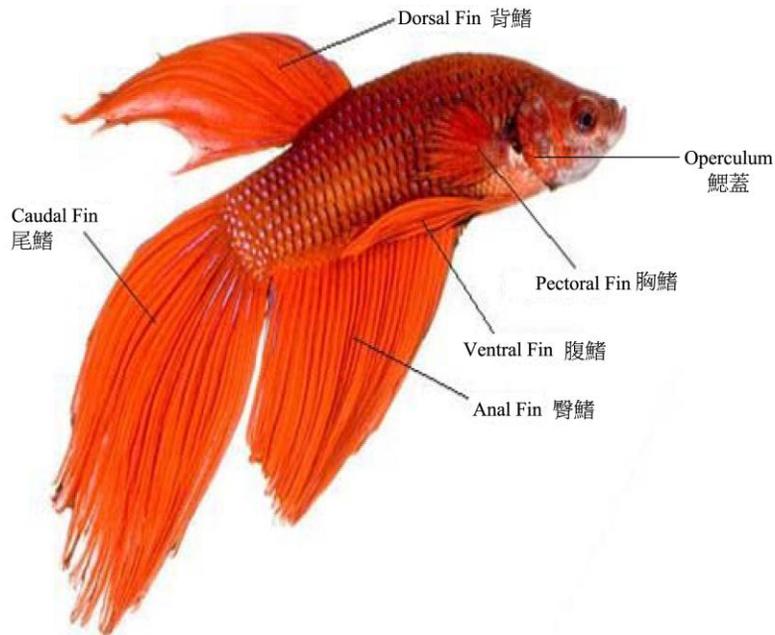
於那一實驗可發現幼蟲對藥劑敏感性產生反轉。在答案紙上勾選(✓)正確選項。

實驗	A	B	C	D
1				
2				
3				
4				
5				

試題二

近量餘 15 分鐘內完成

暹羅鬥魚是水族箱中最常見的淡水魚，此種魚在不同的刺激下有不同的反應：



此處提供你有關一隻雄性暹羅鬥魚的實驗影片。

問題 2.1 (11 分)

操作電腦，利用檔案 6 來觀察暹羅鬥魚於置放鏡子前與置放鏡子後的行為。

觀察影片後，於表中以 '+' 表示魚曾經出現的行為，以 '-' 表示魚未曾出現的行為

行為		置放鏡子前	置放鏡子後
7	體表顯示垂直條紋		
8	鰓蓋展示(鰓蓋開張)		
9	體色變淡或變白		
10	側面展示*		
11	吞嚥空氣		

行為		置放鏡子前	置放鏡子後
1	擺動胸鰭		
2	魚體及尾鰭快速左右變向前進(呈z形)		
3	體表顯示平行條紋		
4	啄咬水族箱基部		
5	體色變亮而鮮艷		
6	背鰭、尾鰭、及臀鰭豎立		

* 側面展示是魚將其體側顯示於刺激之來源，此時尾鰭及背鰭擴張且魚體快速擺動

問題 2.2 (11 分)

水族箱內，置放鏡子前與置放鏡子後，魚行為的改變是由下列何者原因所造成：

- 一個明顯的領域空間的增加，使魚現在需要防禦。
- 魚對於牠認為在領域中出現的個體，表

現出的求偶行為。

- c. 魚對於牠認為在領域中出現的個體，為維繫原有的優勢所表現的行為。
- d. 魚遇到鏡子時所表現出的驚嚇反應。
- 在答案紙上的 **Q. 2.2.** 勾選(✓)正確選項。

a	
b	
c	
d	

問題 2.3 (1 分)

動物所表現出的不同行為皆有利弊，例如魚擴展它的鰓蓋來顯示牠的體能時，其嚴重的限制魚氣體交換的能力，在你觀察期間，這隻實驗魚表現這種行為或不表現這種行為的理由為何？

- a. 在沒有任何展示時，魚總是維持正常的鰓蓋運動，使牠的身體獲得足夠的氧以維持最佳的身體狀態，而與同種其他個體的存在無關。

- b. 當魚面對一個同類的對手時，其表現出鰓蓋擴張行為以顯示牠能容忍缺氧的能耐，以表示牠優於對方。
- c. 鰓蓋展示是一種個耗能行為，故於大多數時不會採用，但本種雄魚在同種雌性個體出現時會展示此種行為，因為牠由與雌性個體所獲得的潛在繁殖好處遠大於其在行為展示上的能量耗費。
- d. 鰓蓋展示很可能只受到非生物環境因子的影響，例如水的溶氧程度。是以魚在充氣十足的環境裡將總是展示此種行為以顯示它的領域及其優勢地位。

在答案紙上的 **Q. 2.3.** 勾選(✓)正確選項

a	
b	
c	
d	

(完)

轉載自：中華民國生物奧林匹亞委員會網站 National Biology Olympiad, Taiwan, R.O.C

<http://www.ibo.nsysu.edu.tw/>