



Š i f r a k a n d i d a t a :

--

Državni izpitni center



JESENSKI ROK

BIOTEHNOLOGIJA

Izpitna pola 2

Petek, 31. avgust 2007 / 120 minut

Dovoljeno dodatno gradivo in pripomočki:

Kandidat prinese s seboj nalivno pero ali kemični svinčnik, svinčnik HB ali B, radirko, šilček, ravnilo z milimetrskim merilom in računalno. Kandidat dobi ocenjevalna obrazca.

SPLOŠNA MATURA

NAVODILA KANDIDATU

Pazljivo preberite ta navodila. Ne izpuščajte ničesar.

Ne obračajte strani in ne začenjajte reševati nalog, dokler vam nadzorni učitelj tega ne dovoli.

Prilepite kodo oziroma vpišite svojo šifro (v okvirček desno zgoraj na tej strani in na ocenjevalna obrazca).

Odgovore vpisujte v izpitno polo z nalivnim peresom ali kemičnim svinčnikom.

Rešitev nalog v izpitni poli ni dovoljeno zapisovati z navadnim svinčnikom.

Izpitna pola vsebuje v delu A šest in v delu B tri naloge.

Izberite **štiri** naloge v delu A in **dve** v delu B izpitne pole.

Izbrane naloge označite s križcem v tabeli na tej strani.

Če izbrane naloge ne bodo označene, bo ocenjevalec ocenil prve štiri naloge v delu A oziroma prvi dve nalogi v delu B.

	Del A						Del B		
Naloga	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	I.	II.	III.
Oznaka									

Zaupajte vase in v svoje sposobnosti.

Želimo vam veliko uspeha.

Ta pola ima 24 strani, od tega 3 prazne.

Del A izpitne pole

I. Kristalizacija

Ob koncu bioprocesa dobimo raztopino, v kateri je naš produkt. Treba ga je še obdelati, da ga dobimo v čimbolj čisti obliki. Ena od separacijskih tehnik, ki jih uporabljajo v ta namen, je kristalizacija. Kristali, ki nastanejo, so čistejši od raztopine, v kateri so nastali. So oblika snovi, ki je primerna za skladiščenje, transport in uporabo. Kristalizacijo vodimo tako, da dobimo velike in čimbolj enakomerne kristale. Majhne kristale je težje spirati in lažje se sprimejo v velike gmote. Uporabljamo lahko tri tipe kristalizatorjev: kristalizatorje z uparjanjem, kristalizatorje z ohlajanjem in vakuumske adiabatske kristalizatorje.

1. Kristalizatorje z ohlajanjem uporabljamo za kristalizacijo snovi, ki:

(1 točka)

- A jim topnost s padajočo temperaturo matične raztopine pada,
- B jim topnost s padajočo temperaturo matične raztopine raste,
- C se jim topnost s padajočo temperaturo matične raztopine ne spreminja,
- D se jim topnost z rastočo temperaturo matične raztopine ne spreminja.

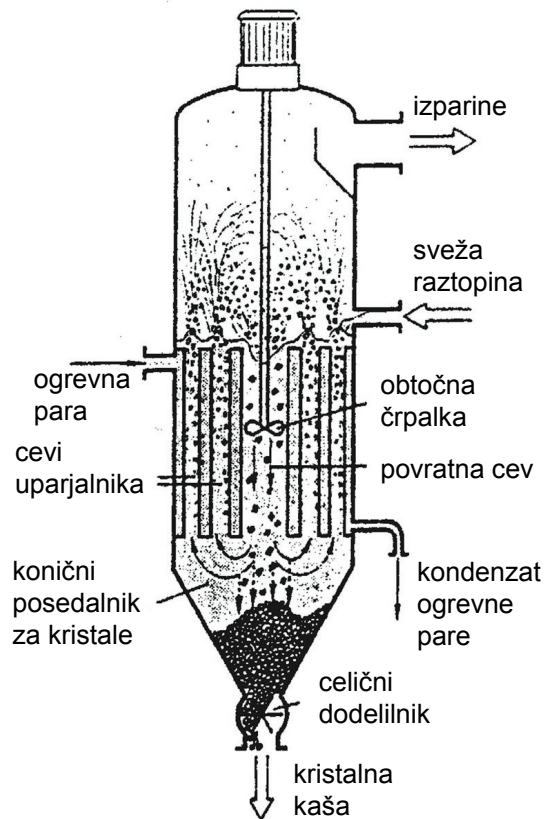
2. Vakuumski adiabatski kristalizatorji matično raztopino prenasičijo tako, da jo:

(1 točka)

- A segrejejo in vodijo v komoro z zvišanim pritiskom,
- B ohladijo in vodijo v komoro z zvišanim pritiskom,
- C segrejejo in vodijo v komoro z znižanim pritiskom,
- D ohladijo in vodijo v komoro z znižanim pritiskom.

3. Na sliki je uparjalni kristalizator z notranjim ogrevanjem. Med delovanjem se koncentracija snovi, ki tvori kristale, manjša. Razloži, kako dosežejo, da je matična raztopina ves čas delovanja kristalizatorja prenasočena.

(1 točka)



4. Za spiranje kristalov po kristalizaciji uporabijo:

(1 točka)

- A raztopino, v kateri se kristali ne topijo,
- B raztopino, v kateri se kristali topijo,
- C raztopino, iz katere so kristali nastali,
- D uparjeno raztopino.

5. V enostavnih kristalizatorjih z ohlajanjem v matični raztopini visijo trakovi ali plošče. Razloži, zakaj.

(1 točka)

II. Proizvodnja mlečne kisline

Začetki tehnološke proizvodnje mlečne kisline segajo v konec 19. stoletja. Svetovna poraba mlečne kisline je 30 000 ton na leto. Večji del je porabi živilska industrija kot dodatek pijačam, esencam, sirupom in marmeladam ter kot dodatek pri konzerviranju sadja in rib. Uporabljajo jo še v zdravstvu, usnjarski in tekstilni industriji ter v proizvodnji plastičnih mas.

1. Na rast mlečnokislinskih bakterij vpliva temperatura. Glede na optimalno temperaturo so lahko mezofilne ali termofilne. Optimalna temperatura termofilnih mlečnokislinskih bakterij je:

(1 točka)

- A od 0 °C do 20 °C,
- B od 20 °C do 40 °C,
- C od 40 °C do 60 °C,
- D od 60 °C do 80 °C.

2. Glede na količino glavnega in stranskih končnih proizvodov fermentacije delimo mlečnokislinske bakterije na homofermentativne in heterofermentativne. Definirajte homofermentativne mlečnokislinske bakterije.

(1 točka)

3. Vse mlečnokislinske bakterije potrebujejo za normalno rast hranilne snovi, ki so vir C, N, P, vitaminov, rastnih snovi in mineralov. Za sintezo katerih snovi potrebujejo bakterije N in P?

(1 točka)

4. Za izolacijo mlečne kisline iz fermentacijske brozge bi izbrali:

(1 točka)

- A ekstrakcijo,
- B destilacijo,
- C uparjanje,
- D filtracijo.

5. Med naštetimi izberite in označite rod mlečnokislinskih bakterij.

(1 točka)

- A *Penicillium*.
- B *Saccharomyces*.
- C *Lactobacillus*.
- D *Escherichia*.

III. Merjenje temperature

V bioreaktorjih merijo temperaturo z vtičnimi termometri. Termometre delijo glede na princip delovanja (merjenja).

1. Dopolnite razpredelnico!

(2 točki)

VRSTA TERMOMETRA	PRINCIP MERJENJA
Ekspanzijski termometri	
	S spremembo temperature se spreminja upornost kovine ali druge uporovne snovi.
Kvarčni frekvenčni termometer	

2. Za merjenje temperature v bioreaktorju največ uporabljajo platinaste uporovne termometre. Ti termometri imajo lastnosti, ki naj bi jih imel idealen biotehnološki senzor. Naštejte tri lastnosti idealnega biotehnološkega senzora.

(1 točka)

3. Izberite in označite temperaturno območje, v katerem mora imeti termometer čimbolj linearen odziv, da bo uporaben v biotehnološkem procesu.

(1 točka)

- A Od $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- B Od $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+70\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- C Od $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+80\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- D Od $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4. Zakaj lahko metabolna aktivnost delovnih mikroorganizmov vpliva na temperaturo okolja, v katerem živijo?

(1 točka)

IV. PCR

PCR (Polymerase Chain Reaction) je molekularna metoda, s katero pomnožimo majhno količino DNK. Za to potrebujemo PCR napravo, v kateri kontrolirano spreminjamo temperaturo od 50 °C do 95 °C. Vse reakcije potekajo v mikroepipruvetki, kamor dodamo:

- DNK,
- dATP, dTTP, dCTP, dGTP,
- *Taq* polimerazo,
- oligonukleotidne začetnike (primerje),
- pufer.

1. Razložite, kaj se zgodi v prvi stopnji, ko zgoraj navedene sestavine segrejemo na 95 °C?

(1 točka)

2. Kakšna je vloga dATP, dTTP, dCTP, dGTP?

(1 točka)

3. Kakšna je vloga oligonukleotidnih začetnikov?

(1 točka)

4. Kaj je *Taq* polimeraza in kakšna je njena vloga pri PCR?

(1 točka)

5. Iz katerih organizmov so jo izolirali?

(1 točka)

V. Prokarionti

1. V katero kraljestvo uvrščamo prokarionte?

(1 točka)

2. Navedite latinski imeni rodu in vrste dveh predstavnikov prokariontov!

(1 točka)

3. V citoplazmi prokariontov so organeli, ki zavzemajo 25 % volumna celice in porabijo 90 % celične energije. Od njih je odvisno delovanje celice, saj so odgovorni za izdelavo prek 1000 encimov, ki so potrebni za vse procese v celici. Kako se ti organeli imenujejo?

(1 točka)

4. Nekateri prokarionti so odporni na delovanje določenih antibiotikov. Kje nosijo zapis za odpornost?

(1 točka)

5. V slabih pogojih (pomanjkanje hrane, sprememba temperature ...) nekateri prokarionti aktivirajo prek 200 genov in tvorijo posebne tvorbe, ki jim omogočajo preživetje. Kako te tvorbe imenujemo?

(1 točka)

VI. Redčenje biološkega vzorca

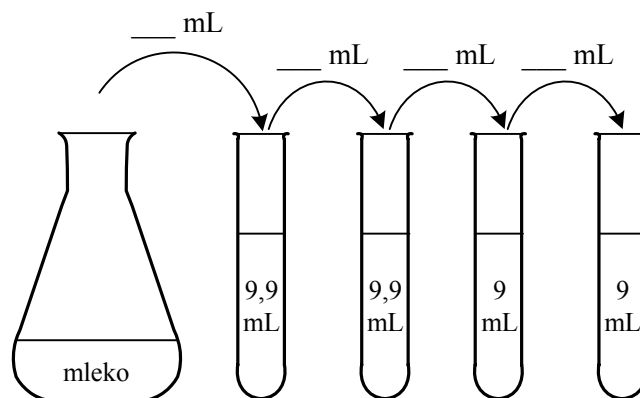
Prisotnost mikroorganizmov v mleku bi radi preverili z nacepljanjem vzorca na trdno gojišče. Pred tem je priporočljivo vzorec razredčiti.

1. Zakaj je treba vzorec mleka pred mikrobiološko analizo redčiti?

(1 točka)

2. Redčiti je treba 1 000 000-krat. Na spodnji shemi je prikazana serija epruвет, v katerih boste redčili. Količina raztopine, v kateri redčite, je označena na epruветi. V okvirčke na shemi vpišite, koliko vzorca boste prenesli v prvo in potem v vsako naslednjo epruветo, da bo na koncu vzorec redčen 1 000 000-krat.

(2 točki)



3. Iz zadnje epruветe ste na trdno gojišče prenesli 1 mL razredčine. Koliko celic mikroorganizmov je bilo najverjetneje v začetnem vzorcu mleka, če je na gojišču zraslo 20 kolonij bakterij?

(1 točka)

4. Razložite, zakaj je treba začetni vzorec mleka za mikrobiološke analize odvzeti sterilno.

(1 točka)

PRAZNA STRAN

Del B izpitne pole

PROBLEMSKE NALOGE

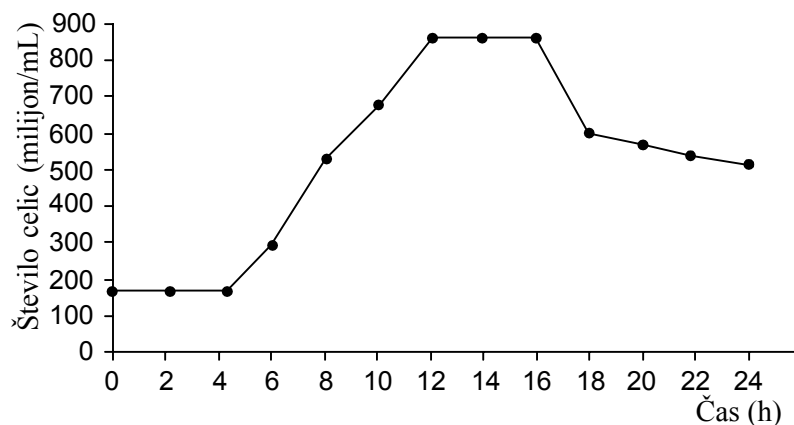
I. Gojenje kvasovk za proizvodnjo SCP (Single Cell Proteins) v sirotki

Delovni mikroorganizem *Kluyveromyces fragilis* je kvasovka. Substrat za gojenje biomase je sirotka, ki ostane pri proizvodnji sira. Bioprocen je šaržen in aeroben. Sirotko pred uporabo za substrat pasteurizirajo tako, da jo trikrat zaporedoma segrejejo na 70 °C za 45 minut in ohladijo na 1 °C. Med procesom substrat prepahavajo s steriliziranim zrakom. Merijo raztopljeni kisik, temperaturo in pH. Vsaki dve uri jemljejo vzorce in ugotavljajo število celic.

Povprečen generacijski čas kvasovk v tem bioprocenu je 3 ure. Če je v substratu dovolj hranilnih snovi, se kvasovke razmnožujejo z brstenjem. Če je hranilnih snovi malo, začnejo kvasovke tvoriti askospore. V 46 urah po začetku odmiranja se število celic biokulture zmanjša za 55 %.

Tabela 1: Odvisnost števila celic biokulture (milijon/mL) od časa potekanja bioprocesa (h)

Čas	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Število celic	175	175	175	300	525	680	850	850	850	600	575	550	525



Slika 1: Spreminjanje števila celic biokulture med potekom bioprocesa

1. Na sliki 1 jasno označite faze rasti delovne kulture in jih poimenujte.

(2 točki)

2. Napišite, v kateri fazi so kvasovke tvorile brste in v kateri fazi askospore.

(2 točki)

3. Razložite, zakaj je treba vpihavati zrak med gojenjem kvasovk.

(1 točka)

4. Preden so sirotko uporabili kot substrat, so jo trikrat segreli in ohladili. Razložite, zakaj.

(1 točka)

5. Definirajte generacijski čas.

(1 točka)

6. Osnovni vir ogljika za biokulturo, ki raste v sirotki, je:

(1 točka)

7. Po koliko urah bi morali ustaviti bioproces, če bi hoteli dobiti največje število živih celic?

(1 točka)

8. S katerim merilnikom bi lahko merili pH »on line« v bioreaktorju?

(1 točka)

II. Anemija srpastih celic

Anemija srpastih celic je napaka v sintezi hemoglobina, ki nastane zaradi točkaste mutacije. Mutacija sodi med avtosomno recesivne dedne bolezni. Pri človeku najdemo 5 različnih tipov hemoglobina. Tip A (H^A) je značilen za odrasle ljudi, tip F za zarodke in novorojenčke, tipi S (H^S), C in G pa so patološki. Tip S nastopa v eritrocitih ljudi, obolelih za anemijo srpastih celic. Hemoglobin S je slabo topen v vodi in se združuje v lepljive nitke, ki preoblikujejo rdeče krvničke. Krvničke hitro propadajo, kar lahko privede do smrti bolnika.

Na skici je aminokislinsko zaporedje dela molekule hemoglobina tipa A in S:

1 2 3 4 5 6 7 8
Tip A: Val – His – Leu – Thr – Pro – Glu – Glu – Lys

Tip S: Val – His – Leu – Thr – Pro – Val – Glu – Lys

1. Utemeljite, zakaj je anemija srpastih celic dedna.

(1 točka)

2. Na katerem mestu v hemoglobinu nastane mutacija?

(1 točka)

3. Glutaminsko kislino v hemoglobinu kodira kodon GAA. Kateri nukleotid v kodonu se zamenja in kateri ga nadomesti, da nastane anemija srpastih celic? Pomagajte si s tabelo genskega koda.

(1 točka)

	U	C	A	G
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG } Trp
C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	UUU } UCC } Pro UCA } UCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CCG }
A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }
G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }

4. Kakšen je ustrezen kodogen za glutaminsko kislino?

(1 točka)

5. Kako imenujemo metodo, s katero neposredno dokažejo to mutacijo?

(1 točka)

6. Kakšna je vloga avtoradiografije pri tej metodi?

(1 točka)

7. Katera metoda se uporablja, kadar je količina krvi premajhna in iz nje ne moremo izolirati dovolj velike količine DNK?

(1 točka)

8. Kaj pomeni, da je organizem heterozigoten za to bolezen?

(1 točka)

9. Na koliko načinov je lahko zapisan hemoglobin tipa A na mRNK, če vemo, da je glutaminska kislina zapisana le na en način? Upoštevajte tudi start in stop kodone.

(1 točka)

10. Kaj pomeni, da je bolezen avtosomno recesivna?

(1 točka)

III. Mikropropagacija

Obiskali ste prijatelja Janeza, ki se ukvarja s mikropropagacijo in z vzgojo brezvirusnih sadik hmelja. Nekaj ur pred vašim prihodom je presadil brezvirusne sadike v sterilni substrat in jih prenesel v rastlinjak na aklimatizacijo. V sosednjem rastlinjaku ima nekaj običajnih potaknjencev hmelja. Ker bi vas rad spravil v zadrego, vam prinese sadiko, vzgojeno iz potaknjenca, in sadiko, vzgojeno z mikropropagacijo. Preden pred vas postavi oba lončka, vam dá v roko le lista obeh rastlin, lupo, mikroskop in pribor za mikroskopiranje.

1. Kako boste določili, kateri list pripada potaknjencu in kateri rastlini, vzgojeni z mikropropagacijo? Navedite tri lastnosti, ki vam bodo pomagale pri določanju.

(2 točki)

2. Matične rastline so bile okužene s hmeljevim latentnim virusom (HLV) in z virusom hmeljevega mozaika (AMV), sadike pa so zdrave. Kako je Janez to dosegel? Postopek opišite.

(2 točki)

3. Kako je preveril in se prepričal, da so njegove rastlinice brez obeh omenjenih virusov?

(1 točka)

4. Ali to pomeni, da ni v sadikah nobenih drugih virusov? Razložite svoj odgovor.

(2 točki)

5. Ali lahko virusne okužbe rastlin odkrivamo z dokazovanjem prisotnih protiteles na določen virus v celičnem soku okužene rastline? Utemeljite.

(2 točki)

6. Navedite tri ukrepe, s katerimi prilagodimo rastline, vzgojene z mikropropagacijo, na naravno okolje.

(1 točka)

PRAZNA STRAN

PRAZNA STRAN