



Š i f r a k a n d i d a t a :

--

**Državni izpitni center**



M 0 9 2 4 4 1 1 2

JESENSKI IZPITNI ROK

# **BIOTEHNOLOGIJA**

## **Izpitna pola 2**

- A) Strukturirane naloge
- B) Problemske naloge

**Četrtek, 27. avgust 2009 / 120 minut**

*Dovoljeno gradivo in pripomočki:*

*Kandidat prinese nalivno pero ali kemični svinčnik, svinčnik HB ali B, radirko, šilček, računalno in ravnilo z milimetrskim merilom.*

*Kandidat dobi ocenjevalni obrazec.*

**SPLOŠNA MATURA**

### NAVODILA KANDIDATU

**Pazljivo preberite ta navodila.**

**Ne odpirajte izpitne pole in ne začenjajte reševati nalog, dokler vam nadzorni učitelj tega ne dovoli.**

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

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

Izpitna pola vsebuje 6 strukturiranih nalog v delu A, od katerih izberite 4, in 3 naloge v delu B, od katerih izberite 2. Število točk, ki jih lahko dosežete, je 40, od tega 20 v delu A in 20 v delu B. Vsaka naloga v delu A je vredna 5 točk, v delu B pa 10 točk.

**V preglednici z "x" zaznamujte, katere naloge naj ocenjevalec oceni.** Če tega ne boste storili, bo ocenil prve štiri naloge, ki ste jih reševali v delu A, in prvi dve nalogi, ki ste ju reševali v delu B.

Del A					
I	II	III	IV	V	VI

Del B		
I	II	III

Rešitve, ki jih pišete z nalivnim peresom ali s kemičnim svinčnikom, vpisujte **v izpitno polo** v za to predvideni prostor. Pišite čitljivo. Če se zmotite, napisano prečrtajte in rešitev zapišite na novo. Nečitljivi zapisi in nejasni popravki bodo ocenjeni z nič (0) točkami.

Zaupajte vase in v svoje zmožnosti. Želimo vam veliko uspeha.

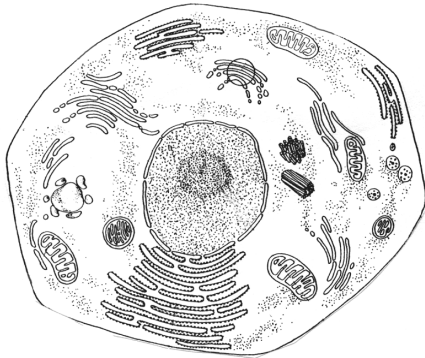
*Ta pola ima 24 strani, od tega 4 prazne.*



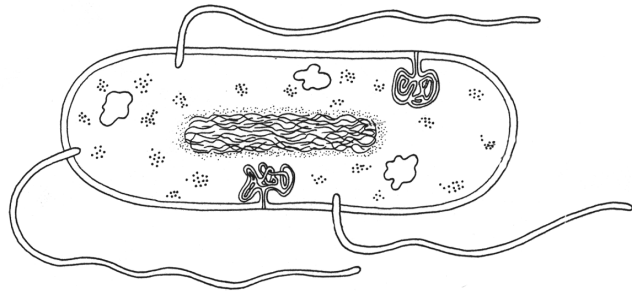
## **A) Strukturirane naloge**

## I. Celica

Slika prikazuje celici.



Slika a



Slika b

1. Kateri organizacijski tip celice prikazuje slika a in katerega slika b?

(1 točka)

Slika a: \_\_\_\_\_

Slika b: \_\_\_\_\_

2. Navedite tri bistvene razlike med obema tipoma celic.

(1 točka)

---



---

3. Na sliki označite, kje v celici a in kje v celici b so ribosomi, in opišite njihovo nalogo.

(2 točki)

---

4. Prikazani celici se razlikujeta v velikosti. Katera trditev, ki opredeljuje povprečno velikost celic, drži?

(1 točka)

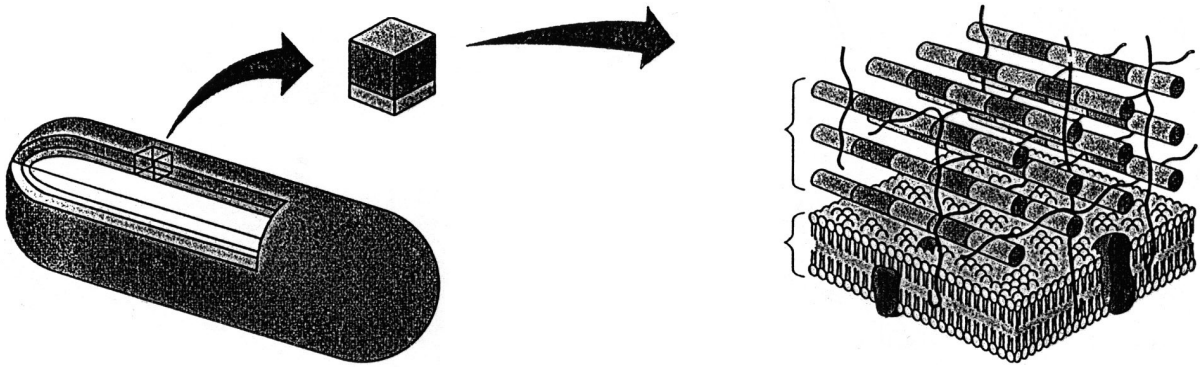
- A Celica a je približno 10-krat manjša od celice b.
- B Celica a je približno 1000-krat večja od celice b.
- C Celica a je približno 100-krat večja od celice b.
- D Celica a je približno 100-krat manjša od celice b.

**Prazna stran**

**OBRNITE LIST.**

## II. Celična stena bakterij

Sliki prikazujeta bakterijsko celico in prečni prerez njene stene ter celične membrane.



Slika A

Slika B

1. V katero skupino glede na barvanje po Gramu lahko uvrstimo prikazano bakterijo in kakšne barve bodo po barvanju takšne bakterije?

(1 točka)

---

2. Na sliki B označite celično membrano in celično steno.

(1 točka)

3. Penicilin je antibiotik, s katerim lahko uničimo takšne bakterije. Pojasnite mehanizem delovanja penicilina.

(1 točka)

---



---

4. Odmrle bakterijske celice se pri barvanju po Gramu obarvajo rožnato. Razložite, zakaj.

*(1 točka)*

---

---

5. Barvanje po Gramu je ena od stopenj v identifikaciji bakterij. Navedite še tri značilnosti bakterij, ki jih lahko upoštevamo pri identifikaciji.

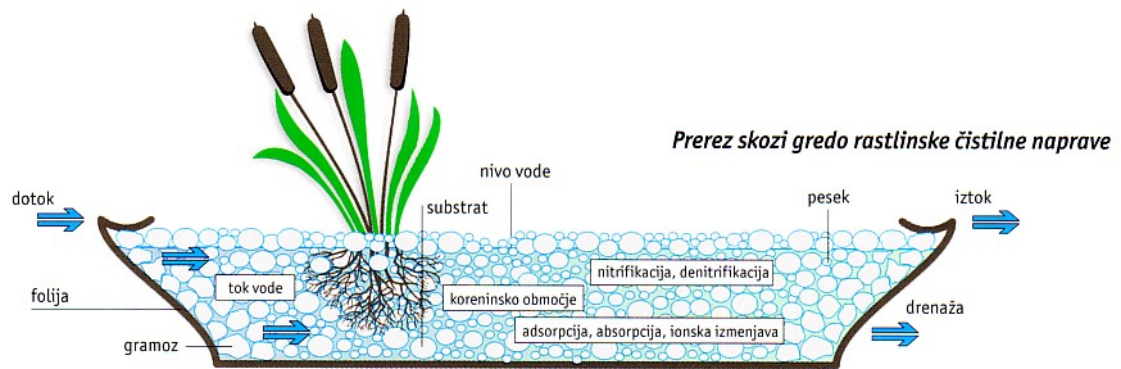
*(1 točka)*

---

---

### III. Rastlinska čistilna naprava

Skica prikazuje rastlinsko čistilno napravo (RČN).



1. Poimenujte tri primarne proizvajalce v RČN.

(1 točka)

---

2. Kakšna je vloga primarnih proizvajalcev v RČN?

(1 točka)

---



---

3. Na skici označite in poimenujte območje, kjer najintenzivneje poteka biološko odstranjevanje odpadnih snovi.

(1 točka)

---



4. Navedite primer odpadne vode, kjer čiščenje z RČN ni primerno. Razložite, zakaj.

*(1 točka)*

---

---

5. Za postavitev RČN večinoma ne izberejo vodoravnega zemljišča. Zakaj?

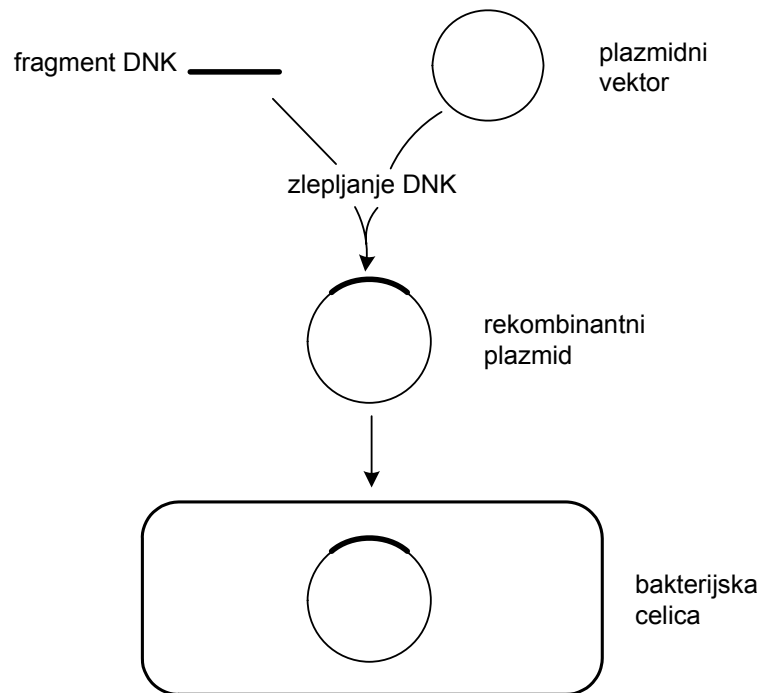
*(1 točka)*

---

---

#### IV. Vnos genov v bakterije

Slika prikazuje eno od metod vnosa genov v bakterije.



1. V katerem obdobju razvoja biotehnologije so prvič uspešno izvedli vnos gena v bakterijo?

(1 točka)

---

2. Navedite dve pomembni odkritji, ki sta omogočila uspešen vnos genov.

(1 točka)

---

3. Kako imenujemo celično strukturo, s pomočjo katere najpogosteje vnašamo dele DNK v bakterijsko celico? Kateri biopolimer sestavlja to strukturo?

(2 točki)

---

4. Zakaj v gensko spremenjenih bakterijah ne moremo proizvajati faktorjev za strjevanje krvi?

(1 točka)

---

**Prazna stran**

**OBRNITE LIST.**

## V. Pridobivanje vankomicina

V farmacevtski tovarni pridobivajo antibiotik vankomicin. V bioreaktorju poteka bioproces, katerega najpomembnejši del je sinteza vankomicina. Biokultura sintetizira antibiotik, ki je v substratu. Po končanem bioprocesu je treba antibiotik izolirati iz substrata, ga očistiti in pripraviti za prodajo. Separacijski ali ločevalni procesi za izolacijo vankomicina si sledijo:

- mikrofiltracija, s katero odstranijo izčrpani micelij;
- adsorpcija na adsorpcijsko smolo in spiranje (eluiranje);
- koncentriranje eluata;
- razbarvanje z aktivnim ogljem (dobijo razbarvani retentat, ki vsebuje vankomicin);
- kromatografija (dobijo glavno in stranske frakcije);
- koncentriranje glavne in stranskih frakcij in depirogenizacija;
- razbarvanje z aktivnim ogljem;
- liofilizacija raztopine vankomicina.

1. Mikrofiltracija je mehanski separacijski proces, pri katerem dobimo retentat in permeat. Z mikrofiltracijo ločimo in odstranimo biokulturo iz spremenjenega substrata. Retentat je:

*(1 točka)*

- A raztopina, ki prehaja skozi membrano;
- B snov, ki ostane na membrani;
- C zmes, ki jo ločujemo;
- D reagent, ki ga dodajamo.

2. Pri razbarvanju uporabljajo zmleto aktivno oglje, ki ga zmešajo z raztopino, pustijo nekaj časa v njej in ga nato odstranijo s filtracijo. Raztopina je po odstranitvi aktivnega oglja manj obarvana. Proces, ki je potekal v raztopini po dodatku zmletega aktivnega oglja, je:

*(1 točka)*

---

3. Za izolacijo vankomicina uporabljajo porazdelitveno kolonsko kromatografijo. Stacionarna faza je silikagel, ki ga po opravljenem ločevanju regenerirajo in ponovno uporabijo. Kolonska kromatografija se imenuje tako, ker:

(1 točka)

---

4. Liofilizacija je postopek, s katerim raztopino sušijo pri:

- A nizkem pritisku in visoki temperaturi,
- B visokem pritisku in visoki temperaturi,
- C nizkem pritisku in nizki temperaturi,
- D visokem pritisku in nizki temperaturi.

(1 točka)

5. Razložite, zakaj je za biokulturo v naravnem okolju koristno, da sintetiziran antibiotik izloča v substrat in ga ne zadrži v celicah.

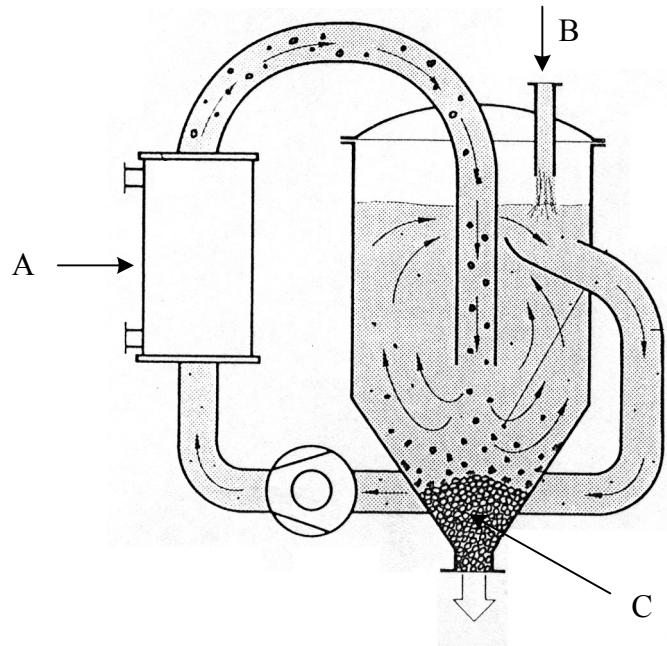
(1 točka)

---

---

## VI. Kristalizator

Na sliki je obtočni hladilni kristalizator.



1. Kaj pomenijo naslednje oznake na sliki?

(1 točka)

A: \_\_\_\_\_

B: \_\_\_\_\_

C: \_\_\_\_\_

2. Razložite princip izločanja kristalov v hladilnem kristalizatorju.

(2 točki)

---



---

3. Katera sila omogoča usedanje večjih kristalov na dno kristalizatorja?

*(1 točka)*

---

---

4. Navedite primer uporabe hladilnega kristalizatorja v biotehnologiji.

*(1 točka)*

---

## **B) Problemske naloge**



## I. Terapevtska beljakovina interlevkin-3

Oddelek za znanost in razvoj v tovarni Biomed d. o. o. zaradi povečanih potreb v medicini razvija nove ekspresijske sisteme za proizvodnjo terapevtskih beljakovin, med katerimi je posvetil največjo pozornost interlevkinu-3 velikosti 20–40 kDa. Kot odgovorni raziskovalec ste se naloge lotili z uporabo in primerjavo obstoječih ekspresijskih sistemov, da bi ugotovili najbolj primeren sistem za masovno proizvodnjo interlevkina-3. V tabeli so eksperimentalni podatki, ki ste jih pridobili:

Gostiteljski sistem	Količina interlevkina-3 (i. e.) *	Velikost in značilnosti beljakovine
<i>B. licheniformis</i>	300	15 kDa; neglikoziliran
<i>E. coli</i>	500	20 kDa; z dodanim peptidom
Humane celice	2	20–40 kDa; glikoziliran
<i>K. lactis</i> (kvasovke)	20	20–100 kDa; glikoziliran
<i>S. cerevisiae</i> (kvasovke)	20	20–100 kDa; glikoziliran

\* (i. e.) – internacionalne enote (mera za količino učinkovine)

1. Kateri gostiteljski sistem daje največje količine interlevkina-3?

(1 točka)

---

2. Če je interlevkin-3 funkcionalen v neglikozilirani obliki in ne sme imeti dodanega peptida zaradi morebitnih negativnih učinkov na imunski sistem, kateri gostiteljski sistem je najboljši? Zakaj?

(2 točki)

---



---

3. Če je interlevkin-3 funkcionalen samo v pravilni glikozilirani obliki, kateri gostiteljski sistem je najboljši in zakaj?

(2 točki)

---



---

4. Opišite enega od možnih postopkov vnosa gena za interlevkin-3 v *E. coli*.

(2 točki)

---

---

---

5. Kako preverimo uspešnost vnosa rekombinantne DNK v *E. coli*?

(1 točka)

---

---

6. Po sintezi interlevkin-3 ostane v celici. Za izolacijo interlevkina-3 iz celice sta potrebna najmanj dva postopka. Katera?

(2 točki)

---

---

---

## II. Proizvodnja citronske kisline

Letna svetovna proizvodnja citronske kisline je 350.000 ton. Citronsko kislino proizvajajo z bioprocesi, v katerih je biokultura plesen *Aspergillus niger*. Za plesni rodu *Aspergillus* je citronska kislina primarni metabolit. Kot osnovni vir ogljika v substratu potrebuje biokultura disaharide. Za sintezo citronske kislinske je značilno, da v substratu s pH 7 nastajata hkrati dva metabolita, citronska in oksalna kislina. V substratu s pH, nižjim od 7, nastaja samo citronska kislina, v substratu s pH, višjim od 7, pa nastaja samo oksalna kislina.

V industrijski proizvodnji je substrat melasa (pesna ali trsna) ali raztopina sladkorjev (glukoza, fruktoza, saharoza). Na melasi poteka površinska fermentacija. V raztopini sladkorjev je fermentacija submerzna. Hitrost tvorbe citronske kisline je odvisna od koncentracije sladkorja v substratu in od navzočnosti N in P, zelo pomembna je količina kovinskih ionov (Mn, Fe, Cu, Zn). Po končani fermentaciji ločijo micelijsko maso biokulture od substrata. Oksalat oborijo z apnom in ga izločijo s filtracijo. Ostane raztopina, ki vsebuje citronsko kislino in primesi. Primesi odstranijo z obarjanjem in filtracijo in očistijo z adsorpcijo z aktivnim ogljem ter z ionskimi izmenjevalci. Očiščeno raztopino citronske kisline uparjajo in kristalizirajo.

1. Kateri separacijski postopek lahko uporabijo za ločevanje biokulture od melase?

(1 točka)

---

2. Naštejte snovi, brez katerih celica ne more preživeti, zato jih sintetizira. Za njihovo sintezo pa sta nujno potrebna tudi N in P.

(1 točka)

---

3. Katere za celični metabolizem nujno potrebne snovi lahko vsebujejo tudi kovinske ione?

(1 točka)

---

4. Razložite, kaj je adsorpcija.

(1 točka)

---

---

5. Aktivno oglje uporabijo v postopku adsorpcije, ker:

*(1 točka)*

- A ga lahko v substrat vmešajo v velikih kosih;
- B ima primerno temperaturo in barvo;
- C lahko tvori močne kemijske vezi s snovjo na površini;
- D je porozno in ima veliko površino.

6. Napišite dva parametra, ki sta nujno potrebna za spremljanje proizvodnje citronske kisline.

*(1 točka)*

---

7. Raztopino pred kristalizacijo uparjajo. Razložite, kako dosežejo, da uparjanje poteka pri nizki temperaturi.

*(1 točka)*

---

8. Kristali začenjajo nastajati, ko je raztopina prenasičena. Razložite, kdaj je raztopina prenasičena.

*(1 točka)*

---

9. Opišite razliko med emerzno in submerzno fermentacijo oziroma emerznim in submerznim gojenjem biokulture.

*(1 točka)*

---

---

10. Navedite tri primere uporabe citronske kisline.

*(1 točka)*

---

---

### III. Mikrobiološka neoporečnost vode

Raziskovalci so želeli preveriti, ali je voda iz vaškega vodnjaka, ki jo prebivalci uporabljajo za pitje, mikrobiološko primerna ali ne. Sterilno odvzeti vzorec vode iz vodnjaka so najprej serijsko redčili do razredčitve  $10^{-6}$ , nato pa so po 1 ml posamezne razredčine s pipeto prenesli v petrijevke z ustrežno oznako in jih prelili s tekočim agarnim gojiščem s temperaturo  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po inkubiranju na  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  so se na gojišču razvile kolonije mikroorganizmov, ki so jih prešteli in izračunali skupno število mikroorganizmov v prvotnem vzorcu.

1. Zakaj je treba vzorec vode iz vodnjaka odvzeti pod sterilnimi pogoji?

*(1 točka)*

---

---

2. S čim je s stališča preživetja mikroorganizmov najprimerneje redčiti prvotni vzorec vode iz vodnjaka?

*(1 točka)*

---

3. Zakaj je serijsko redčenje vzorca vode sploh potrebno?

*(1 točka)*

---

---

4. Na gojišču so se po inkubaciji razvile kolonije mikroorganizmov. Kaj je kolonija mikroorganizmov in iz koliko začetnih celic se razvije?

*(2 točki)*

---

5. Da bi izračunali skupno število mikroorganizmov v prvotnem vzorcu vode, so raziskovalci izbrali petrijevko, na kateri se je razvilo od 50 do 300 kolonij. Zakaj petrijevke s številom kolonij, manjšim od 50, niso najbolj primerne za štetje? Zakaj niso primerne niti petrijevke z več kakor 300 kolonijami?

(2 točki)

---

---

---

6. Raziskovalci so našeli 55 kolonij na petrijevki z oznako  $10^{-2}$ . Izračunajte skupno število mikroorganizmov v 1 ml prvotnega vzorca vode pri 37 °C.

(1 točka)

---

---

7. Zakonsko določena meja za skupno število mikroorganizmov, ki je še sprejemljivo za pitno vodo, je (izraženo v številu kolonij, ki bi se razvile, če bi nacepljali nerazredčen vzorec) 20 kolonij/ml vzorca. Je voda iz vodnjaka torej primerna za pitje ali ne? Utemeljite.

(2 točki)

---

---

**Prazna stran**

**Prazna stran**