

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה בתאריך: 10.2.19 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 1:

1.1 נתונים:

$$X_2=20_{g/l}, \mu=0.25_{/hr}, Y_{x/s} = 0.5_{g(x)/g(s)}, q_p = 0.09_{g(p)/g(x)hr}, F_0=200_{l/hr}, S_1=0$$

1.1.1 מאזן מסה של התאים בפרמנטור: $dx/dt = F_0X_0 + \mu XV - F_1X$

$$\text{במצב עמיד: } dx/dt=0, X_0=0, F_0=F_1, \mu=D=F_0/V$$

1.1.2 חישוב נפח הנוזל בפרמנטור במצב עמיד:

$$V = F_0/D = 200_{l/hr} / 0.25_{/hr} = 1,000_{liter}$$

1.2 ריכוז הגלוקוז במצע המוזן לפרמנטור במצב עמיד:

$$Y_{x/s} = X_2/(S_0-S_1) \rightarrow S_0 = X_2/Y_{x/s} + S_1 = 20_{g(x)/l} / 0.5_{g(x)/g(s)} = 40_{g(s)/l}$$

1.3 ריכוז ההורמון בפרמנטור במצב עמיד:

$$P = Y_{p/x} \cdot X$$

$$Y_{p/x} = q_p/\mu = 0.09_{g(p)/g(x)hr} / 0.25_{/hr} = 0.36_{g(p)/g(x)}$$

$$P = 0.36_{g(p)/g(x)} \cdot 20_{g(x)/l} = 7.2_{g(p)/l}$$

1.4 מצע ההזנה בריכוז גלוקוז נמוך פי 2:

1.4.1 כן. ריכוז החיידקים יהיה נמוך פי 2 ולכן גם ריכוז ההורמון יהיה נמוך פי 2.

1.4.2 לא, $D = \mu$, והוא נקבע על ידי קצב ההזנה והנפח.

שאלה מספר 2:

2.1 קצב הגידול הספציפי של הפטרייה:

$$\mu = \ln(9.54/0.43)/10 = 0.31_{/hr}$$

2.2.1 ניצולת התוצר על התאים:

$$Y_{p/x} = \Delta P/\Delta X = \frac{0.65-0}{10.72-0.2} = 0.062_{g(p)/g(x)}$$

2.2.2 קצב הייצור הסגולי:

$$q_p = Y_{p/x} \cdot \mu = 0.0192_{g(p)/g(x)hr}$$

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה בתאריך: 10.2.19 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

2.3 קצב הייצור הנפחי (פרודוקטיביות) של התהליך:

$$\Delta P / \Delta t = \frac{0.65}{16+6} = 0.0295_{g(p)/l \cdot hr}$$

2.4 החלפת מקור הפחמן בטעות מגלוקוז לגלקטוז:

2.4.1 לפי המודל של ז'אקו ומונו, ולגבי גלקטוז – K_s גדול יותר (אפיניות קטנה יותר), μ_{max} קטן יותר ולכן μ קטן יותר.

2.4.2 אם μ קטן יותר, הרי X אחרי 16 שעות נמוך יותר.

שאלה מספר 3

3.1 מקדם קצב התמותה (k) של הספורות בטמפ' של $121^\circ C$:

נתונים: $t=10_{min}$, $N_t/N_0=10^{-12}$, $V=20,000_{ml}$, $N_0=7 \cdot 10^4_{spores/ml}$

$$\ln(N_t/N_0)/t = -k \rightarrow k = 2.763_{/min}$$

3.2 הסתברות לזיהום לאחר 10 דקות עיקור (מספר ספורות לפרמנטציה):

$$N_t \cdot V = N_0(N_t/N_0) \cdot V = 0.0014_{spores / fermentation}$$

3.3 זמן העיקור הנדרש לעיקור פרמנטור עם אותו המצע בנפח 1000 ליטר, באותה טמפ', כך שהסתברות לזיהום

תהיה אחת לכל 500 פרמנטציות:

$$N_t = \frac{1}{500 \cdot 1000l} = 2 \cdot 10^{-6}_{cells/l}, \quad N_t/N_0 = 2 \cdot 10^{-6} / 7 \cdot 10^7 = 2.85 \cdot 10^{-14}$$

$$\ln(N_t/N_0)/-k = t = 11.288_{min}$$

3.4 משוואת ארהניוס להסבר השפעת מקדם התמותה (k):

$$k = A \cdot e^{-E/R \cdot T}$$

3.4.1 טמפ' עיקור תשונה ל $115^\circ C$:

לגבי חומר נתון (E נתון), k משתנה רק עם T^0 . במקרה זה T^0 קטן ולכן גם k קטן.

3.4.2 זמן העיקור ישונה 5 דקות:

K לא תלוי בזמן העיקור. (להיפך – ככל שא עולה, הטמפ' גדולה יותר, זמן העיקור יורד לשם קבלת רמת עיקור רצויה)

שאלה מספר 4

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה, מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה תאריך: 10/2/19

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),

מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה בתאריך: 10.2.19 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום

המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

4.1 חמשת היסודות העיקריים המהווים אבני בנין של התא הם פחמן, חמצן, חנקן, מימן וזרחן.

4.2 לבדיקת ההשפעה של חומצה אמינית ספציפית על האנזים יש להשתמש במצע ב שהוא מצע מוגדר. הרכבו הכימי של מצע זה ידוע ולכן ניתן בכל פעם להוסיף אליו חומצה אמינית אחרת ולבדוק את השפעתה על האנזים. מצע א הוא מצע מורכב ולכן עלול ממילא להכיל את חומצות האמינו מבלי ידיעתנו.

4.3 עיקור באוטוקלב נעשה בחום רטוב והוא מבוסס על העלאת הלחץ ל- 2 אטמוספירות על מנת להעלות את טמפ' הרתיחה של מים ל- 121.6°C . משך התהליך 20 דקות.

4.4 שיטת העיקור באוטוקלב לא מתאימה לעיקור מרכיבים רגישים לחום למשל ויטמינים. תמיסות של מרכיבים אלו יש לעקר בעזרת סינון תת מיקרוני, באמצעות פילטר המכיל חורים בקוטר 0.45 מיקרון להרחקת החיידקים מהתסנין.

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: **אביב תשע"ט**, שהתקיימה בתאריך: **10.2.19** בעריכת: **ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום**
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 5

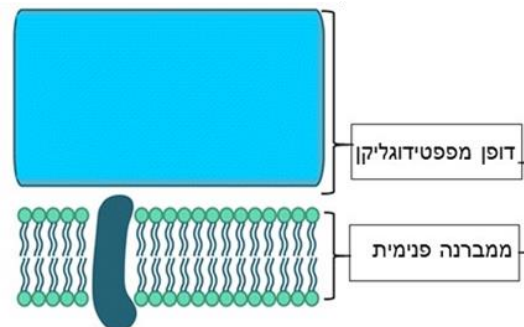
5.1.1 פניצילין פועל בשלב הגידול הלוגריתמי ע"י עיכוב האנזים טרנספפטידאז האחראי על יצירת הקשרים הצולבים בפפטידוגליקן, כתוצאה מכך הדופן נחלשת. בנוסף הקומפלקס של פניצילין הקשור לאנזים מזרז שחרור אוטוליזינים בכמות מוגברת, המפרקים קשרים קיימים בדופן והתא עובר ליזיס.

5.1.2 פניצילין הוא בקטריצידי כלומר קוטל את החיידקים ולא מעכב אותם. למעשה התאים מתים תוך כדי פירוקם ולכן פניצילין הוא בקטריוליטי.

5.2 עמידות לפניצילין מתבטאת בייצור אנזים פניצילינאז שהוא β לקטמאז. אנזים זה מבקע את טבעת ה- β -lactam שבמבנה הפניצילין לתוצר פירוק, חומצה פניצילואית, שהוא חסר תכונות אנטיביוטיות.

5.3 שיטה לקביעת פעילות אנטיביוטיקה היא שיטת הדיפוזיה באגר. בשיטה זו החומר האנטיביוטי הנבדק נמצא בדיסקית עשויה נייר. מניחים את הדיסקית על צלחת שבה נזרעה כמות גדולה של חיידקים רגישים ומדגירים. החומר עובר בדיפוזיה לאגר. במידה והחומר פוגע בחיידק, לא תהיה גדילה סביב הדיסקית. שיטה אחרת שניתן לכתוב בתשובה: שיטת המיחול במבחנה לקביעת MIC.

5.4 החיידקים הנצבעים בכחול הם גרם חיובי. שכבות המעטפת שלהם:



פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה בתאריך: 10.2.19 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 6

6.1 בשלב האקספוננציאלי (לוגריתמי) כל החיידקים מתחלקים בקצב מקסימלי ביחס לתנאי הגידול ולכן מספרם עולה לאורך זמן. התרבות החיידקים היא בחלוקה בינארית המביאה להכפלת כמותם. בשלב זה מתרחש גידול מאוזן כלומר עלייה הדרגתית שוות קצב בכל מרכיבי התא.

6.2 לחישוב זמן דור נבחר 2 נקודות בתוך השלב הלוגריתמי:

$$t_1=3 \text{ hr}, N_1=0.45 \text{ gr/L}$$

$$t_2=7 \text{ hr}, N_2=3.08 \text{ gr/L}$$

$$T=(7-3) \cdot \log 2 / \log (3.08/0.45)=1.44 \text{ hr}$$

6.3 הזמן בין 8-10 שעות הוא שלב העמידה (סטציונרי). בשלב זה קצב החלוקה מואט עקב חוסר בנוטריינטים, הידלדלות החמצן והצטברות חומרי פסולת. מתחילה גם תמותה. לכן בשלב זה יש איזון בין מספר החיידקים החיים למספר המתים.

6.4 שתי שיטות עקיפות נוספות למעקב אחר גידול חיידקים:

קביעת משקל יבש: בשיטה זו קובעים את המשקל היבש של מרכיבי התא בנפח קבוע של תרבית. לשם כך לוקחים דגימה מתרבית החיידקים, מסרזים, מסלקים את הנוזל העליון, מייבשים את המשקע ושוקלים. 1 מ"ג הוא המשקל של $5 \cdot 10^9$ חיידקים.

קביעת ריכוז מרכיב תוך תאי: בשיטה זו קובעים בתרבית החיידקים את הריכוז של אחד ממרכיבי התא למשל חנקן או חלבון. פרמטר זה מתורגם לריכוז חיידקים באמצעות עקומת כיול (שתבטא את הקשר בין ריכוז המרכיב התאי לבין ריכוז החיידקים).

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),
מועד: אביב תשע"ט, שהתקיימה בתאריך: 10.2.19 בעריכת: ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אודו בראודה

שאלה מספר 7

7.1 נתונים:

$$X_0 = 1.55_{g(x)/l}, \mu = 0.5_{/hr}, t = 16_{hr}, X_f = 14.1_{g(x)/l},$$

$$C^* = 0.21_{mmolO_2/L}, C_L = 0.1C^*, Y_{x/O_2} = 1.6_{g(x)/g(o_2)}$$

$$OUR = \frac{\mu \cdot X}{Y_{x/o_2}} : \text{קצב צריכת חמצן}$$

7.1.1 קצב צריכת החמצן בתחילת הפרמנטציה:

$$OUR(0) = \frac{0.5 \cdot 1.55}{1.6} \cdot (1000_{mmol}/32_{g(O_2)}) = 15.137_{mmole\ o_2 / l \cdot hr}$$

7.1.2 קצב צריכת החמצן בסיום הפרמנטציה:

$$OUR(16) = \frac{0.5 \cdot 14.1}{1.6} \cdot (1000_{mmol}/32_{g(O_2)}) = 137.7_{mmole\ o_2 / l \cdot hr}$$

7.2 חישוב קבוע מעבר החמצן ($k_L a$):

$$OUR(16) = OTR = k_L a (C^* - C_L) : \text{קצב התמוססות}$$

$$K_L a = \frac{137.7}{0.9 \cdot 0.21} = 728.5/hr$$

7.3 שני גורמים המשפיעים על קבוע מעבר החמצן בהפעלת הפרמנטור:

$k_L a$ מושפע ביחס ישיר על ידי קצב הערבול (סל"ד) וביחס הפוך על ידי הצמיגות.

שאלה מספר 8:

8.1 ארבעה פרמטרים הנבדקים במהלך הפרמנטציה: טמפ', pH, C_L (חמצן מומס), קצף.

טמפ' pH בכדי לוודא שהם בתחום האופטימלי לגידול ולייצור.

C_L בכדי לוודא שלא יורד מתחת לריכוז הקריטי, שאז יקטן קצב הגידול (הייצור).

קצף מקטין את $k_L a$, ובעקבותיו את קצב המעבר מגז לנוזל (OTR) ומוביל להגבלה בחמצן מומס.

* ניתן להשתמש גם בערבול (סל"ד) שמשפיע על $k_L a$ וגם בקצב אוורור שמשפיע על חמצן מומס.

8.2 סוג ריאקטור נבחר: ריאקטור צינורי חלול עקב הרצון לקבל ריכוז גבוה בנפח קטן.

8.3 ביוראטקור מסוג מעלית אויר מחולק לאיזור שבו מסופק האויר ע"י הרוטומטר וליאור שאליו נשפך הנוזל (המצע)

שעולה עקב הזרמת האויר וכך מתקבל ערבוב וערבול ללא מנוע וללא בוחשים.

פתרון מוצע לבחינת מה"ט – הנדסה ביוטכנולוגית ומיקרוביולוגיה (שאלון 92421),

מועד: **אביב תשע"ט**, שהתקיימה בתאריך: **10.2.19** בעריכת: **ד"ר מיה קדמי, ד"ר ניסים סמואלוב, מר יואב מרום**
המכללה הטכנולוגית להנדסאים אורט בראודה

שאלה מספר 9

9.1 חיידק מזן A יכול להעביר תכונות לחיידק מזן B מכיוון שהוא מסוג Hfr, כלומר בכרומוזום של חיידק זה משולב חלקיק F. חלקיק זה מכיל גנים המאפשרים מעבר מקטע DNA לחיידק מקבל באמצעות שערית מין בקוניוגציה.

9.2.1 התכונות שזן A יכול להעביר הן יצירת ליזין וארגינין, יכולת ניצול לקטוז, רגישות לקנמיצין.

9.2.2 חלקיק F הוא אפיזום כלומר פלסמיד שיכול להימצא חופשי בציטופלסמה (בחיידקי F⁺) או משולב בכרומוזום (בחיידקי Hfr).

9.3 תהליכי רקומבינציה נוספים בחיידקים:

טרנספורמציה: במהלך טרנספורמציה עובר DNA מחיידק לחיידק ללא מגע בין החיידק התורם למקבל. תחילה מפיקים DNA מחיידקים תורמים ולאחר מכן מוסיפים אותו לתרחיף של חיידקים מקבלים. החיידקים המקבלים צריכים להיות במצב פיזיולוגי מתאים שנקרא תאים כשירים. לאחר תקופת הדגרה מתאימה זורעים את התערובת על מצעים סלקטיבים מתאימים לברירת רקומביננטים מבין החיידקים המקבלים.

טרנסדוקציה: במהלך טרנסדוקציה מקטע DNA מועבר מהחיידק התורם למקבל באמצעות פאג'. במהלך הניסוי מכינים תחילה פאג'ים טרנסדוקטיבים על ידי הדבקת חיידקים מהגזע התורם בפאג'ים מתאימים. הפאג'ים מתרבים, הורסים את דפנות תאי החיידקים ומשתחררים מתוכם. רוב הפאג'ים המשתחררים הם נורמליים ומקצתם טרנסדוקטיבים ונושאים מקטע מכרומוזום התורם. בשלב הבא מערבבים את תרחיף הפאג'ים הנ"ל עם תרחיף של חיידקים מקבלים. זו תערובת הטרנסדוקציה. לאחר מכן זורעים דגימה מתערובת זו על צלחות המכילות מצע מתאים לברירת רקומביננטים.

שאלה מספר 10

10.1.1 תא זה נקרא נבג / ספורה.

10.1.2 נבגים נוצרים עקב הרעה בתנאי סביבה הנובעים ממחסור בנוטריינטים כמו חוסר במקורות פחמן חנקן וזרחן, או כתוצאה משינויים אחרים בתנאי סביבה הגורמים למצב של סטרס.

10.2 הבדלים בהרכב הכימי בין נבג לתא וגטטיבי: תכולת המים בנבג היא נמוכה 10-25% בהשוואה לתא וגטטיבי המכיל 80-90%. הנבג מכיל חלבוני תשמורת SAP's וכן מלח סידן של חומצה דיפיקולינית, שאינם נמצאים בתא וגטטיבי.

10.3 הנבג יכול להפוך בחזרה לתא וגטטיבי כאשר נוצרים שוב תנאים שמאפשרים את הגידול. תהליך זה נקרא נביטה והוא מתרחש בשלושה שלבים: אקטיבציה, נביטה וצמיחת הנבט. יש חיידקים בהם הנביטה מתרחשת באופן ספונטני למשל במצע עשיר. בעוד שבאחרים דרוש "הלם" כלשהו המפעיל את התהליך (למשל הלם חום).