

Β' Τεύχος

7ο Κεφάλαιο

2ο ΘΕΜΑ

56. Από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα είχαν αρχίσει προσπάθειες από τους επιστήμονες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur, στο Παρίσι, υπήρξε από τους πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση, αρχικά, των διάφορων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξής τους στο εργαστήριο. Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή πολλών προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων σε ευρεία κλίμακα, με τη χρήση των βιοαντιδραστήρων.

α. Να εξηγήσετε ποια χαρακτηριστικά παρουσιάζει μία συνεχής καλλιέργεια που πραγματοποιείται σε βιοαντιδραστήρα (μονάδες 6).

β. Να περιγράψετε τη διαδικασία με την οποία παραλαμβάνουμε τα τελικά προϊόντα μιας καλλιέργειας από έναν βιοαντιδραστήρα (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. Σήμερα οι μικροοργανισμοί, οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα, μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες. Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O_2) που αφορούν την καλλιέργεια. Για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. Η καλλιέργεια στην οποία οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά υλικά ενώ ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα ονομάζεται συνεχής καλλιέργεια.

β. (Με τον όρο ζύμωση εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιοσδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες). Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται βιομάζα είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά. Αρχικά, πραγματοποιείται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων. Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις (οπότε ακολουθεί καθαρισμός από τις προσμείξεις και στη συνέχεια συσκευασία του προϊόντος και διάθεση στην αγορά).

81. Τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* είναι γνωστά για τα πολλαπλά οφέλη τους στην υγεία του ανθρώπου. Διατίθενται στα φαρμακεία ως προβιοτικά, καθώς αποτελούν μέλη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας της στοματικής κοιλότητας και του γαστρεντερικού συστήματος, αλλά χρησιμοποιούνται ευρέως και στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων.

α. Να γράψετε το εύρος των τιμών του pH στο οποίο αναπτύσσονται οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί (μονάδες 3) και να εξηγήσετε αν αυτές οι τιμές είναι οι κατάλληλες για την ανάπτυξη της πλειοψηφίας των μικροοργανισμών (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε σε ποια κατηγορία μικροοργανισμών ανήκουν τα βακτήρια του γένους αυτού με βάση το είδος της τροφής που χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα, με δεδομένο ότι στον πεπτικό σωλήνα τρέφονται με τους υδατάνθρακες που προσφέρονται από την τροφή μας (μονάδες 4). Να αναφέρετε την πιθανή ευνοϊκή θερμοκρασία για την ανάπτυξή τους (μονάδες 2).

Μονάδες 12

α. Το pH επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus*, αναπτύσσονται σε pH 4-5 σε αντίθεση με τους περισσότερους μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε pH 6-9. Συνεπώς, δεν είναι το κατάλληλο pH για την πλειοψηφία των μικροοργανισμών.

β. Οι μικροοργανισμοί του είδους αυτού είναι ετερότροφοι γιατί η πηγή άνθρακα για τη διατροφή τους είναι οι οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες που προσλαμβάνουμε από τη τροφή μας και όχι το CO₂ της ατμόσφαιρας (όπως είναι για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς). Η ευνοϊκή θερμοκρασία για την ανάπτυξη τους είναι πιθανότατα οι 37°C, δηλαδή η φυσιολογική θερμοκρασία του σώματος μας, καθώς αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να συμβιώνουν με τον άνθρωπο.

85. Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου. Οι εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας συνεισφέρουν σε διάφορους τομείς όπως είναι η Ιατρική, η γεωργία, η κτηνοτροφία, η βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος.

α. Να αναφέρετε τρεις βασικούς στόχους της Ιατρικής, στους οποίους έχει συμβάλει η Βιοτεχνολογία (μονάδες 3), και να αναφέρετε τα είδη των εμβολίων νέας γενιάς που αναπτύχθηκαν με τη συμβολή της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 3).

β. Να γράψετε ποιες γνώσεις οδήγησαν στην ανάπτυξη της γονιδιακής θεραπείας (μονάδες 2), ποιος είναι, γενικά, ο στόχος από την εφαρμογή της (μονάδες 2) και ποιες άλλες δύο σημαντικές εφαρμογές της βιοτεχνολογίας έχουν συνεισφέρει στον τομέα της θεραπείας ασθενειών του ανθρώπου (μονάδες 2).

Μονάδες 12

α. Οι τρεις βασικοί στόχοι της Ιατρικής, στους οποίους έχει συμβάλει η Βιοτεχνολογία είναι η έγκαιρη διάγνωση, η πρόληψη και η αποτελεσματική θεραπεία μιας ασθένειας. Τα είδη εμβολίων νέας γενιάς που αναπτύχθηκαν με τη συμβολή της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA είναι τα εμβόλια υπομονάδες, τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς και εμβόλια γυμνού DNA. (Εναλλακτικά mRNA εμβόλια που αναπτύχθηκαν πρόσφατα για την covid - 19).

β. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με τις μεθόδους της παραδοσιακής Γενετικής (γενεαλογικά δένδρα) οδήγησε στον εντοπισμό της θέσης στα χρωμοσώματα (χαρτογράφηση) πολλών μεταλλαγμένων γονιδίων, που προκαλούν τις αντίστοιχες ασθένειες. Επι-

πλέον ορισμένα μεταλλαγμένα γονίδια κλωνοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν με τα φυσιολογικά αλληλόμορφα τους, για να εξακριβωθεί το είδος των μεταλλάξεων. Οι γνώσεις αυτές έδωσαν τη δυνατότητα ανάπτυξης της γονιδιακής θεραπείας που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

Η γονιδιακή θεραπεία έχει, γενικά, ως στόχο να «διορθώσει» τη γενετική βλάβη εισάγοντας στους ασθενείς φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου. Στον τομέα της θεραπείας ασθενειών η βιοτεχνολογία έχει συμβάλει μέσω της παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών (είτε μέσω διαγονιδιακών ζώων, είτε μέσω βακτηρίων) και μέσω της παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων, τα οποία εκτός από ανοσοδιαγνωστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως θεραπευτικά όπως στη θεραπεία του καρκίνου (Εναλλακτικά: συμβολή της βιοτεχνολογίας στην παραγωγή αντιβιοτικών).

102. Για την παραγωγή αντιβιοτικών από μικροοργανισμούς συνήθως χρησιμοποιούνται καλλιέργειες μικροβίων ευρείας κλίμακας σε βιοαντιδραστήρες και υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες. Σε μια τέτοια καλλιέργεια τα αντιβιοτικά συντίθενται στα πλαίσια του μεταβολισμού των μικροβίων και εκκρίνονται στο περιβάλλον θρεπτικό υλικό.

α. Να υποδείξετε σε ποια συνήθως φάση μια τέτοιας καλλιέργειας μικροβίων αναμένεται να γίνεται η παραγωγή μιας ουσίας, που δρα ως αντιβιοτικό (μονάδες 2). Να αναφέρετε τις μεθόδους με τις οποίες μπορεί να γίνει η απομόνωση της ουσίας-αντιβιοτικό από την μικροβιακή καλλιέργεια (μονάδες 4).

β. Συνήθως μια καλλιέργεια που παράγει το αντιβιοτικό σε ευρεία κλίμακα, μετατρέπεται από κλειστή σε συνεχή. Να εξηγήσετε γιατί κρίνεται σκόπιμο να γίνει αυτή η μετατροπή (μονάδα 1), αναφέροντας τις διαφορές ανάμεσα στις φάσεις που περνά μια κλειστή και μια συνεχής καλλιέργεια (μονάδες 3). Να υποδείξετε με ποιους τρόπους μπορούμε να επιτύχουμε την μετατροπή μιας καλλιέργειας μικροοργανισμών ευρείας κλίμακας από κλειστή σε συνεχή (μονάδες 3).

Μονάδες 13

α. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξής τους. Για την απομόνωση του αντιβιοτικού από το υλικό που παραλαμβάνεται από τον βιοαντιδραστήρα χρειάζεται να γίνει αρχικά πρώτα διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα των μικροβίων (βιομάζα). Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Στη συνέχεια πραγματοποιείται παραλαβή του προϊόντος από τα υγρά ή τα στερεά συστατικά με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων και τελικά αξιοποιούνται αφού ακολουθήσει καθαρισμός τους, δηλαδή μόνο όταν πλέον δεν φέρουν προσμίξεις.

β. Εφόσον η επιθυμητή ουσία- αντιβιοτικό παράγεται κατά την εκθετική ή την στατική φάση μιας καλλιέργειας, κρίνεται σκόπιμο να διατηρείται η καλλιέργειά μας όσο το δυνατόν περισσότερο σε αυτά τα στάδια. Έτσι μετατρέπουμε την κλειστή καλλιέργεια, όπου παρατηρούνται οι φάσεις λανθάνουσα, εκθετική, στατική και θανάτου σε συνεχή, όπου διατηρούνται μόνο η λανθάνουσα και η εκθετική φάση. Αυτή η μετατροπή μπορεί να γίνει αν οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά και ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.

104. Για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθεύεται από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται μια σειρά θρεπτικών συστατικών. Σ' αυτά περιλαμβάνονται ο άνθρακας, το άζωτο, διάφορα μεταλλικά ιόντα και το νερό.

α. Να περιγράψετε τη δομή ενός νουκλεοτιδίου και ενός αμινοξέος (μονάδες 4). Να εξηγήσετε, με βάση τη δομή που περιγράψατε, το φαινόμενο όπου σε θρεπτικό υλικό που περιείχε μόνο τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρονται στην εκφώνηση, δεν αναπτύχθηκαν μικροοργανισμοί (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε πώς επιβιώνουν ορισμένα βακτήρια όταν στο θρεπτικό τους υλικό υπάρχει απουσία αμινοξέων (μονάδες 6).

Μονάδες 13

α. Το μόριο των αμινοξέων αποτελείται από δύο τμήματα, ένα σταθερό και ένα μεταβλητό. Το σταθερό αποτελείται από ένα άτομο υδρογόνου, μια αμινομάδα και μια καρβοξυλομάδα, ενωμένα σε ένα κοινό άτομο άνθρακα, ενώ το μεταβλητό αποτελείται από την πλευρική ομάδα (η οποία μπορεί να περιλαμβάνει και θείο). Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη ή ριβόζη, ενωμένη με μία φωσφορική ομάδα και μία αζωτούχο βάση. Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μία από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T), ενώ στα νουκλεοτίδια του RNA αντί για θυμίνη υπάρχει ουρακίλη (U). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1' άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5' άνθρακα.

Για τη σύνθεση των νουκλεοτιδίων και των αμινοξέων απαιτούνται τα εξής χημικά στοιχεία: άνθρακας, άζωτο, υδρογόνο, οξυγόνο αλλά και θείο που περιλαμβάνεται στα αμινοξέα (όπως για παράδειγμα σε εκείνα της ινσουλίνης), καθώς και ο φώσφορος που περιλαμβάνεται στα νουκλεοτίδια (εναλλακτικά στα φωσφολιπίδια των μεμβρανών του κυττάρου). Συμπερασματικά, τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρονται δεν επαρκούν για τη σύνθεση των απαραίτητων βιομορίων για την επιβίωση των μικροοργανισμών και γι' αυτό και δεν αναπτύχθηκαν στο συγκεκριμένο θρεπτικό μέσο.

β. Στο γονιδίωμα των προκαρυωτικών οργανισμών τα γονίδια των ενζύμων που παίρνουν μέρος σε μια μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης ή η βιοσύνθεση διάφορων αμινοξέων, οργανώνονται σε οπερόνια, δηλαδή σε ομάδες που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους. Επομένως τα βακτήρια διαθέτουν οπερόνια που εκφράζουν τα κατάλληλα ένζυμα σύνθεσης των αμινοξέων που χρειάζονται. Έτσι μπορούν και αναπτύσσονται σε θρεπτικό υλικό ακόμη και απουσία αμινοξέων.

113. Αναμφίβολα, η παγκόσμια χρήση των αντιβιοτικών για την καταπολέμηση των μικροβίων έχει βελτιώσει σημαντικά την υγεία των ανθρώπων και έχει σώσει εκατομμύρια ανθρώπινες ζωές. Σήμερα ορισμένα από αυτά παράγονται βιοτεχνολογικά σε βιοαντιδραστήρες.

α. Να εξηγήσετε την δράση των αντιβιοτικών (μονάδες 3) και να αναφέρετε τις κυριότερες πηγές παραγωγής αντιβιοτικών με φυσικό τρόπο (μονάδες 3).

β. Να αναφέρετε πώς η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της παραγωγής αντιβιοτικών (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες που θανατώνουν παθογόνους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Παράγονται κυρίως από μικροοργανισμούς (μύκητες και βακτήρια -δευτερευόντως και από κάποια φυτά) ως προϊόντα του μεταβολισμού τους. Η πλειονότητα των πιο σημαντικών αντιβιοτικών έχουν απομονωθεί από το βακτήριο του εδάφους του γένους *Streptomyces*.

β. Η αποτελεσματική θεραπεία μιας ασθένειας προϋποθέτει την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών και του γενετικού υπόβαθρου της, προκειμένου να εφαρμοστεί η κατάλληλη θεραπεία, είτε με φαρμακευτική αγωγή, είτε ακόμη και με «γενετική διόρθωση» της βλάβης. Η

τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA άρχισε πρόσφατα να εφαρμόζεται στα πλαίσια της παραγωγής αντιβιοτικών με στόχο:

1. Την κλωνοποίηση όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα απαραίτητα για τη βιοσύνθεση ενός αντιβιοτικού,
 2. Την ανάπτυξη αντιβιοτικών με ισχυρότερη δράση εναντίον ορισμένων μικροβίων και με λιγότερες παρενέργειες,
 3. Την κατασκευή γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών με στόχο τη μεγαλύτερη απόδοση στην παραγωγή αντιβιοτικών.
-

117. Γνωρίζουμε ότι οι μικροοργανισμοί έχουν τεράστια δυναμική πολλαπλασιασμού και εξάπλωσης στον πλανήτη μας. Μπορεί να συναντήσει κανείς μικροοργανισμούς μέσα σε οργανισμούς ξενιστές (όπου ζουν παροδικά ή μόνιμα) ή και ελεύθερους στο περιβάλλον, ακόμη και σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως πολύ υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες, ακραίες τιμές pH, ακόμη και σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου.

α. Να εξηγήσετε από ποιους παράγοντες καθορίζεται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών (μονάδες 6).

β. Να περιγράψετε πως επηρεάζει το O₂ την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και να αναφέρετε τις κατηγορίες στις οποίες κατατάσσονται οι μικροοργανισμοί, σε σχέση με τις απαιτήσεις τους σε οξυγόνο, προκειμένου να αναπτυχθούν (μονάδες 3), δίνοντας από ένα παράδειγμα μικροοργανισμού ανά κατηγορία (μονάδες 3).

Μονάδες 12

α. Ο ρυθμός ανάπτυξης (αύξησης) του πληθυσμού των μικροοργανισμών, δηλαδή ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά τους, καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού των κυττάρων τους (t_d). Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χρόνο διπλασιασμού χαρακτηριστικό του εκάστοτε μικροβιακού είδους. Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι: η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το O₂ και η θερμοκρασία.

β. Η παρουσία O₂ μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί, διακρίνονται με βάση τις απαιτήσεις τους σε οξυγόνο στις παρακάτω, κυρίως, κατηγορίες :

1. Μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξή τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O₂ (υποχρεωτικά αερόβιοι), όπως τα βακτήρια του γένους *Mycobacterium*.
 2. Μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοποιηχανία, που αναπτύσσονται παρουσία O₂ με ταχύτερο ρυθμό από ότι απουσία O₂ (προαιρετικά αερόβιοι).
 3. Μικροοργανισμοί, όπως βακτήρια του γένους *Clostridium*, για τους οποίους το O₂ είναι τοξικό (υποχρεωτικά αναερόβιοι).
-

