

Vejledende opgavesæt 2

---

# Bioteknologi A

---

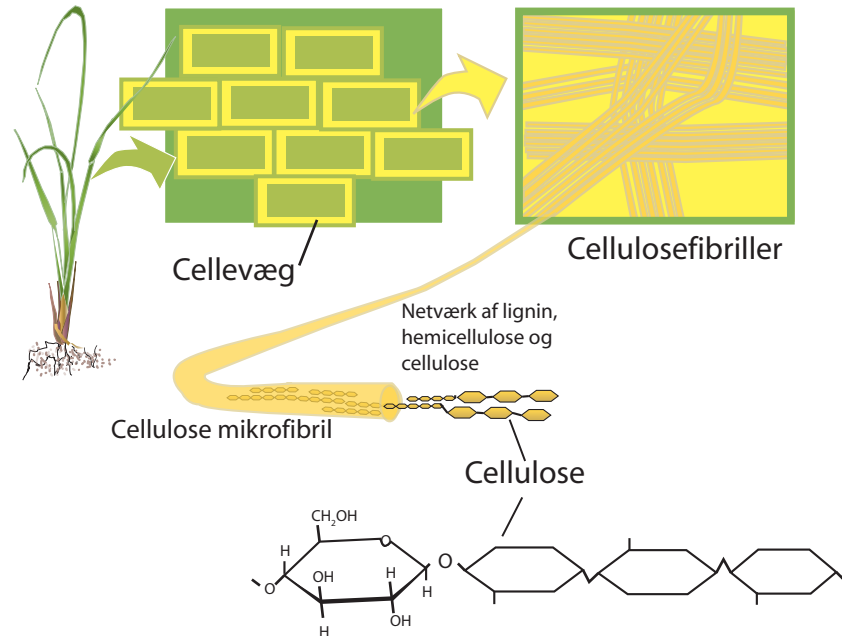
Gymnasiale uddannelser

5 timers skriftlig prøve



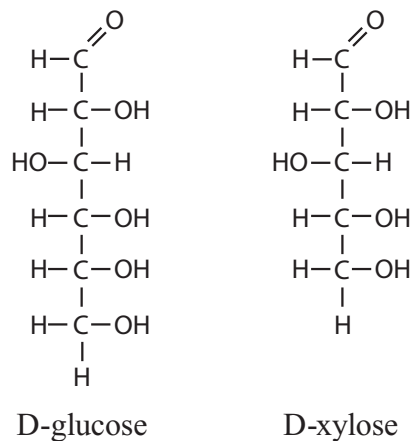
## Opgave 1. Bioethanol

Fremstilling af 2. generations bioethanol foregår ofte ud fra halm. Halm består hovedsagligt af cellulose, lignin og hemicellulose. Se figur 1.



Figur 1.  
Opbygningen af halm.

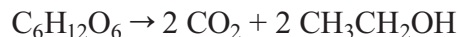
Halmen forbehandles normalt ved høj temperatur og tryk. Derved frigives cellulose og hemicellulose. Cellulosen og hemicellulosen kan derefter nedbrydes enzymatisk. Cellulose nedbrydes til glucose, mens hemicellulose hovedsagligt nedbrydes til xylose, se figur 2.



Figur 2.  
Strukturformler for D-glucose og D-xylose

1. Redegør for hvilken form for stereoisomeri, der er i D-glucose og D-xylose.

*Saccharomyse cerevisiae* (almindelig bagegær) anvendes ofte til fermentering. Gærcellerne omsætter den frigtivne glucose til ethanol:

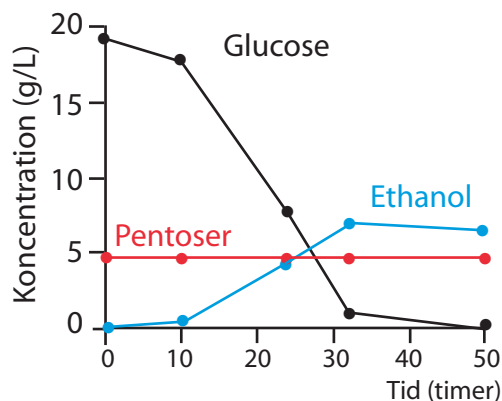


2. Beregn, hvor meget ethanol der kan dannes ved omsætning af 10 g glucose.

Fermenteringen kan foregå under følgende vækstforhold

- Temperatur 30 °C
  - Ingen omrøring
  - Tilsætning af 0,1 M citrat puffer med pH = 5
  - Tilsætning af 0,5 g gærekstrakt /L
3. Vælg et af ovenstående vækstforhold og forklar dets betydning for ethanolproduktion.

En ulempe ved *Saccharomyse cerevisiae* er, at den ikke kan omsætte pentoser som xylose. *Figur 3* viser data fra et fermenteringseksperiment med *Saccharomyse cerevisiae*.

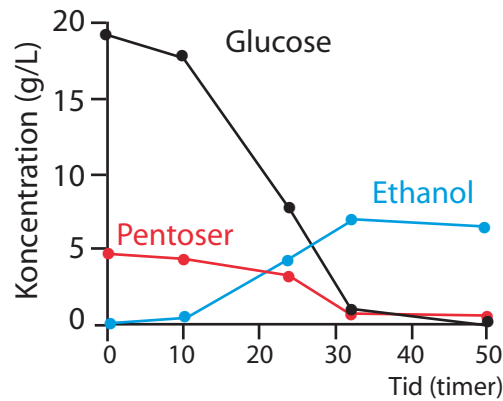


*Figur 3.*  
*Fermentering med Saccharomyces cerevisia (bagegær).*

Xylose kan imidlertid omsættes af mange termofile bakterier.

4. Skitser et eksperiment, der kan benyttes til at undersøge forskellige bakteriers evne til at omsætte xylose.

Ulempen ved mange af de bakterier, der kan omsætte xylose, er, at de ikke danner ethanol. Man er på jagt efter mikroorganismer, der kan omsætte flere carbohydrater fra halmen og samtidig danne ethanol. I et eksperiment har man undersøgt, om mugsvampen *Mucor indicus* har denne egenskab. *Figur 4* viser data fra fermenteringseksperimentet med denne svamp.



*Figur 4.*  
*Fermentering med Mucor indicus.*

5. Analyser *figur 3* og *4*, og vurder *Mucor indicus* anvendelighed til bioethanolproduktion.

Koncentrationen af monosaccharider i en opløsning kan bestemmes spektrofotometrisk. Monosaccharider kan reducere 3,5-dinitrosalicylat til en farvet forbindelse, der absorberer lys ved 540 nm. I et eksperiment fik man følgende resultater:

Koncentration af monosaccharider (mM)	Absorbans
0	0
1,11	0,091
2,22	0,189
3,33	0,293
4,44	0,409
5,56	0,505

*Figur 5.*  
*Målingerne angiver sammenhørende værdier af koncentrationen af monosaccharider og absorbansen. Bølgelængde 540 nm. Kuvettebredde 1 cm.*

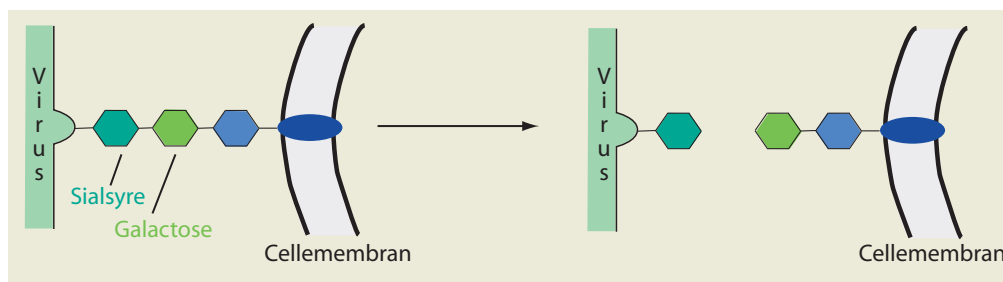
I en prøve med ukendt koncentration af monosaccharider blev absorbansen målt til 0,345.

6. Bestem koncentrationen af monosaccharider i prøven.

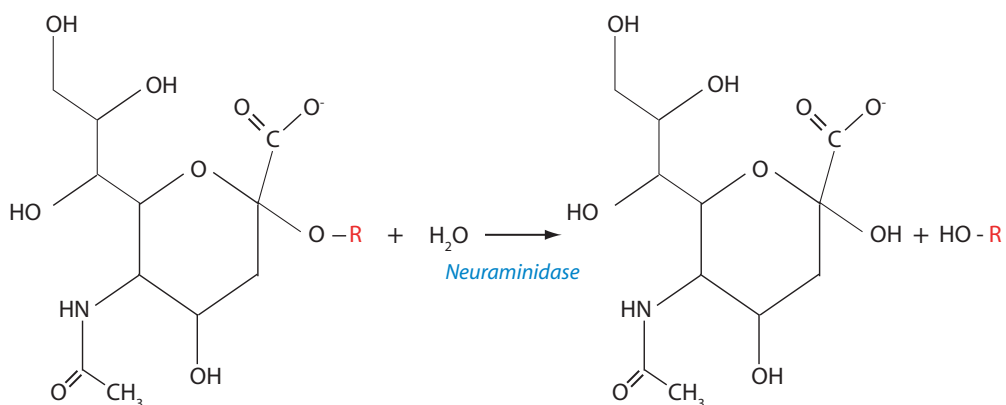
## Opgave 2. Tamiflu

Ved en virusinfektion spredes vira fra celle til celle. En virus forlader værtscellen ved at spalte sig fri fra værtscellens membran. Det sker vha. enzymet neuraminidase.

Neuraminidase spaltes sialsyre fra cellemembranens glycoproteiner, hvorved viruspartiklen frigøres, se *figur 1a*. Der findes flere typer af neuraminidaser, N1 – N5, og disse benyttes til at inddele influenzavira i undergrupper.



a)



b)

*Figur 1.*

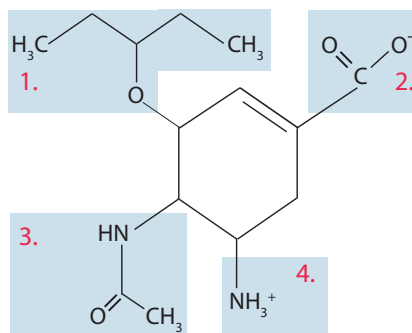
a) Neuraminidases fraspaltning af sialsyre fra glycoproteiner i værtscellens membran.

b) Reaktionskema for fraspaltning af sialsyren N-acetylneuraminsyre.

1. Angiv reaktionstypen for enzymreaktionen i *figur 1b*.
2. Angiv, hvilken enzymklasse neuraminidase tilhører.

Lægemidlet Tamiflu benyttes til at bekæmpe virusinfektioner især i begyndelsen af sygdomsforløbet. Efter at præparatet er optaget i kroppen, spaltes det til det aktive stof GS4071. GS4071 hæmmer neuraminidase, og derved hæmmes viruspartiklernes evne til at spredes til nye celler i kroppen.

Figur 2 viser strukturformel for GS4071. På figuren er markeret fire områder af molekylet. Hvert område kan karakteriseres i forhold til følgende; ladning, polaritet og frie elektronpar.

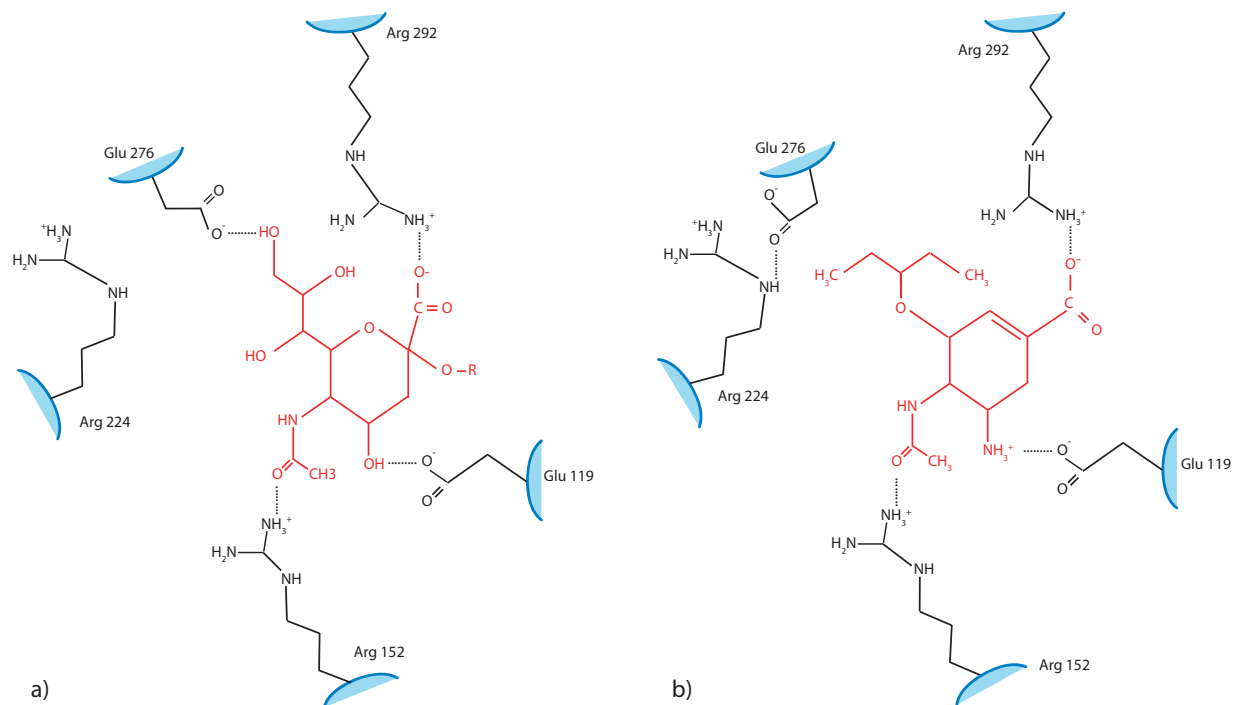


Figur 2.  
Molekylstruktur for GS4071 med 4 markerede områder.

3. Udfyld nedenstående skema på vedlagte bilag. Marker med kryds i skemaet, hvilke områder der opfylder de nævnte egenskaber.

	Området indeholder negativt ladet gruppe	Området indeholder positivt ladet gruppe	Området indeholder frie elektronpar	Området er upolært	Området er polært
Område 1					
Område 2					
Område 3					
Område 4					

GS4071 er en kompetitiv inhibitor af neuraminidase. Det bindes til enzymets aktive område, se *figur 3a* og *b*.



*Figur 3.*

*a) Sialsyres og b) GS4071s binding til aminosyrer i neuraminidasens aktive område.*

De to molekyler er angivet med rødt. Kun et mindre antal aminosyrer er vist på figuren.

4. Redegør for, hvorfor GS4071 kan virke som inhibitor på neuraminidase. Inddrag *figur 3a* og *b*.

I 1997 identificerede man hos en thailandsk pige en stamme af fugleinfluenzavirus (H5N1), som var resistent overfor Tamiflu. Efterfølgende sekvensering af virus-RNA viste, at den pågældende virus ved mutation havde fået skiftet aminosyre nr. 274 i enzymets aktive område ud, så der optrådte tyrosin i stedet for histidin. Histidin 274 er ikke vist i *figur 3*.

5. Giv en mulig forklaring på, hvilken mutation der er opstået hos denne virusstamme, og på hvordan en sådan mutation kan medføre resistens overfor Tamiflu.

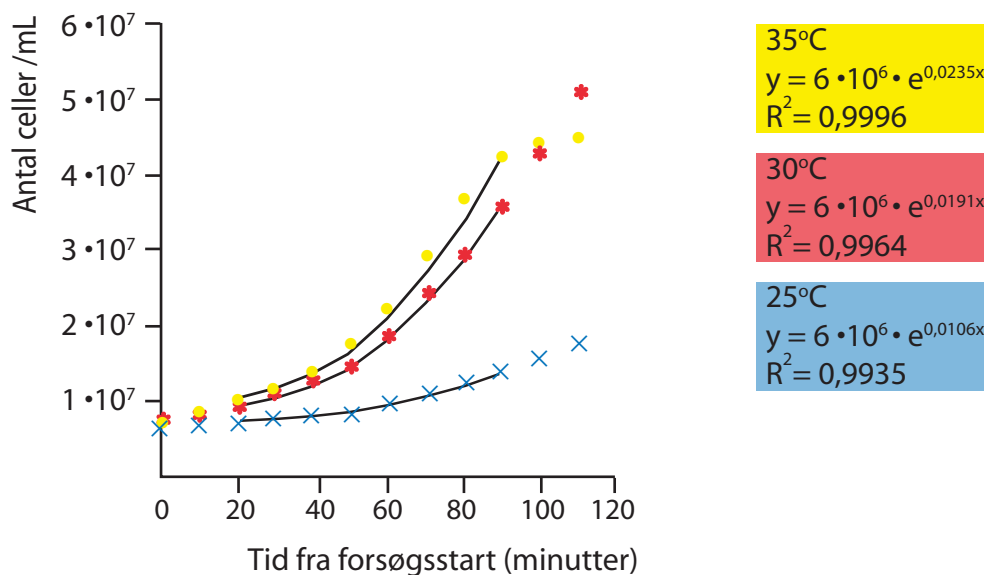


### Opgave 3. *Vækstforsøg med bakteriekulturer*

For at kunne udnytte mikroorganismer til fermentering må man kunne styre deres vækst. Man kan ved laboratorieforsøg undersøge, hvordan en bakteriekulturs vækst afhænger af forskellige vækstfaktorer, som fx temperatur og surhedsgrad.

Den marine bakterie *Vibrio natriagens* forekommer hyppigt i mudder på tidevandsflader, hvor saltholdigheden varierer. Bakterien er heterotrof og kan både udføre respiration og gæring. *Vibrio natriagens* er karakteriseret ved meget høj vækstrate ved gode vækstbetingelser. Det skyldes først og fremmest, at bakterien har et stort antal gener for ribosomalt RNA. Disse gener har samtidig promotorer, som er lette at aktivere.

Et vækstforsøg med *Vibrio natriagens* blev udført ved tre forskellige temperaturer. Forsøget blev udført i kolber med 1,00 L flydende næringsmedie. Mediet, Lysogeny Broth (LB)-medium indeholdt trypton<sup>1</sup>, gærekstrakt og havsalt. Indholdsstofferne blev opløst i demineraliseret vand til et totalt volumen på 1,00 L. Mediets pH blev justeret til 8,1, hvorefter det blev autoklaveret. Resultaterne af vækstforsøget ses i *figur 1*.



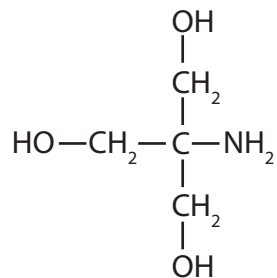
*Figur 1.*

*Vækst af Vibrio natriagens ved forskellige temperaturer. Tendenskurverne er beregnede for tidsintervallet 20 til 80 minutter.*

1. Gør rede for en metode til bestemmelse af antallet af bakterier i et vækstforsøg som ovennævnte.
2. Beregn ud fra tendenskurverne i *figur 1* bakteriekulturens fordoblingstid ved hver temperatur.  
Forklar resultaterne.

<sup>1</sup> Trypton er proteinet casein fordøjet med enzymet trypsin.

Næringsmediets pH blev ved forsøgets start justeret til 8,1 med pufferen TRIS (2-amin-2-(hydroxymethyl)propan-1,3-diol).



Figur 2.  
Strukturformel for TRIS,  $pK_B$  5,9 ved 25° C.

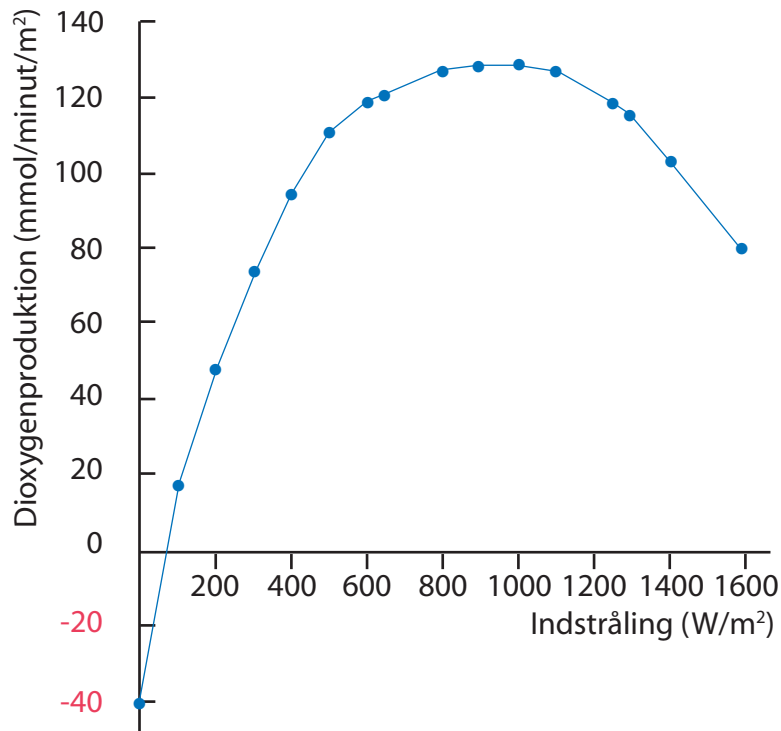
3. Angiv strukturen af den korresponderende syre til TRIS.

Ved vækstforsøget blev der tilsat 10,0 mL 0,00100 M TRIS til næringsmediet, og der blev i løbet af forsøget produceret  $3,24 \cdot 10^{-7}$  mol oxonium i en af kolberne.

4. Beregn mediets pH-værdi ved forsøgets afslutning i den pågældende kolbe.
5. Forklar, hvordan bakteriers aktivitet kan føre til produktion af oxonium.
6. Forklar, hvordan det kan påvirke resultaterne, hvis der ikke tilsættes en puffer til mediet i det omtalte vækstforsøg.

## Opgave 4. *Planter i bioteknologisk sammenhæng*

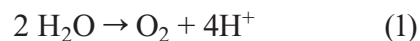
Planters evne til at udnytte lysenergi er grundlæggende for livet på jorden. Både i produktions- og syntesesammenhæng har forskerne fokus på planter. Planters fotosyntese opdeles i en lysproces og en mørkeproces. Den proces, hvor lysenergien omsættes til kemisk energi i planters fotosyntese, kan blive af betydning for fremtidens energiproduktion. Man er blandt andet opmærksom på muligheden for at få planter til at producere dihydrogen.



Figur 1.  
Dioxygenproduktionen som funktion af lysindstråling.

1. Redegør for planters produktion af dioxygen. Inddrag *figur 1*.

I forbindelse med fotosyntesens lysproces dannes dioxygen og hydroner. Processen kan beskrives ved følgende ikke-afstemte reaktionsskema:



Ved processen frigøres desuden elektroner, som videreføres i fotosystemerne. Hvis der dannes flere reaktive elektroner ved lysprocessen, end fotosystemerne kan videreføre, reagerer disse elektroner straks med hydroner ved hjælp af et enzym, så der dannes dihydrogen:



Hydrogenase inaktiveres normalt af den dannede dioxygen (1), men hvis man ved en bioteknologisk metode kan påvirke enzymet, så det ikke inaktiveres af dioxygen, har man mulighed for at få planterne til at producere dihydrogen i større mængder (2). Den udvundne dihydrogen kan reagere med dioxygen og danne vand, hvorved der frigøres energi.

I et eksperiment med en hydrogenase undersøgte man sammenhængen mellem enzymets substratkoncentration og reaktionshastighed. Resultaterne af eksperimentet ses i *figur 2*.

Substratkoncentration [S] (mM)	Reaktionshastighed (V) (mM/min)
0	0
1	10
2	20
3	27
4	34
5	38
8	44
10	46
15	48

*Figur 2.*  
*En hydrogenases reaktionshastighed ved forskellige substratkoncentrationer.*

2. Afbild resultaterne fra eksperimentet og argumenter for, at en Michaelis-Menten kinetik kan beskrive data.
3. Bestem  $V_{\max}$  og  $K_m$ .
4. Vurder, hvilke perspektiver der tegner sig, hvis man fx ved hjælp af gensplejsning kan modificere hydrogenasen, så dannelse af dihydrogen ikke standses af dioxygen.

**Kilder:**

## Opgave 1:

Rosgaard, Lisa m.fl. "Fra halm til alkohol", *Aktuel Naturvidenskab*, 3, 2005.

Thomsen, Mette Hedegaard og Jacobsen, Jasper Neergaard. "Fermentering af lignocellulose (træstof) til ethanol (sprit) og andre værdifulde produkter." *Dansk Kemi* 87, nr. 3, 2006

## Opgave 2:

Houen, Anders m.fl. "Fugleinfluenza A (H5N1) – en pandemisk trussel?" *Dansk kemi*, 87, #8 2006

## Opgave 4:

<http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/dismukes.pdf> og [www.nfa.fys.dk](http://www.nfa.fys.dk).

Alle internetsider pr. 1.04.2010









# Bilag 1

Navn:
Klasse:
Skole:

	Området indeholder negativt ladet gruppe	Området indeholder positivt ladet gruppe	Området indeholder frie elektronpar	Området er upolært	Området er polært
Område 1					
Område 2					
Område 3					
Område 4					