

הנדסה ביוטכנולוגית

הוראות לנבחן

א. משך הבחינה: ארבע שעות.

ב. מבנה השאלון ומפתח ההערכה: בשאלון זה שני פרקים.

נקודות	60	פרק ראשון
נקודות	40	פרק שני
נקודות	100	סה"כ

ג. חומר עזר מותר לשימוש: כל חומר עזר.

ד. הוראות מיוחדות: בתשובה על שאלת חישוב, עליך להציג את שלבי הפתרון בפירוט ולהסבירם בקצרה. קבלת מרב הנקודות מותנית במילוי דרישה זו.

בשאלון זה 7 עמודים.

ההנחיות בשאלון זה מנוסחות בלשון זכר, אך מכוונות הן לנבחנות והן לנבחנים.

בהצלחה!

המשך מעבר לדף

השאלות

פרק ראשון (60 נקודות)

ענה על שלוש מבין השאלות 1-5 (לכל שאלה – 20 נקודות).

שאלה 1

במפעל ביוטכנולוגי מגדלים שמרים בפרמנטציה מנתית, בפרמנטור בעל נפח מצע של 100 ליטר.

המצע לגידול השמרים מורכב מתמיסת סוכרוז כמקור פחמן ומתמיסת מלחים.

נפח תמיסת הסוכרוז הוא 50 ליטר.

תמיסת הסוכרוז מכילה זיהום של חיידקים בריכוז של $2.1 \times 10^7 \frac{\text{cells}}{\text{liter}}$

נפח תמיסת המלחים הוא 50 ליטר.

תמיסת המלחים מכילה זיהום של חיידקים בריכוז של $3.9 \times 10^7 \frac{\text{cells}}{\text{liter}}$

בתמיסת הסוכרוז ובתמיסת המלחים, החיידק המזהם הוא אותו חיידק, וקצב הגידול שלו הוא $0.15 \frac{1}{\text{hr}}$

המצע עובר עיקור בטמפרטורה של 130°C

העיקור מפחית במידה משמעותית את כמות החיידק המזהם, אך לא מאפס אותה.

לאחר העיקור, הפרמנטור נזרע ב־ 36 גרם שמרים (ניתן להניח שנפח המזרע זניח).

מיד לאחר הזריעה מתחילים השמרים בגידול לוגריתמי.

קצב הגידול של השמרים הוא $0.3 \frac{1}{\text{hr}}$, והגידול מסתיים כאשר ריכוז השמרים בפרמנטור מגיע ל־ $18 \frac{\text{gr}}{\text{liter}}$.

מבחינת תנאי הזיהום, פרמנטציה במפעל זה נחשבת תקינה אם בסוף הגידול מספר החיידקים בפרמנטור, כלומר ב־ 100 ליטר מצע, אינו עולה על 100 חיידקים.

(6 נק') א. כמה שעות תימשך הפרמנטציה?

(7 נק') ב. חשב את הריכוז המקסימלי של תאי חיידקים שצריך להיות בפרמנטור בתחילת תהליך הגידול (אחרי העיקור), כדי שבסוף תהליך הגידול הפרמנטציה תיחשב תקינה. רשום את תשובתך ביחידות של $\frac{\text{bacteria cells}}{\text{liter}}$.

(7 נק') ג. קבוע התמותה של החיידקים המזהמים בטמפרטורת העיקור הוא $K_d = 1.6 \frac{1}{\text{min}}$.

כמה זמן (בדקות) צריך לעקר את המצע, כדי שבסוף הפרמנטציה, ריכוז החיידק המזהם יהיה $0.062 \frac{\text{cells}}{\text{liter}}$?

שאלה 2

במפעל ביוטכנולוגי מגדלים חיידקים רקומביננטיים בפרמנטציה רציפה המוגבלת על-ידי גליצרוול כמקור פחמן.

קצב הגידול של חיידקים אלו הוא $0.75 \frac{1}{hr}$

ריכוז החיידקים הוא $3 \frac{gr\ cells}{liter}$

קבוע מונו הוא $0.052 \frac{gr}{liter}$

נתוני התהליך הרציף במצב עמיד:

נפח הפרמנטור הוא 140 ליטר

נפח המצע הוא 120 ליטר

ריכוז הגליצרוול בהזנה הוא $15 \frac{gr}{liter}$

ריכוז הגליצרוול בפרמנטור הוא $0.07 \frac{gr}{liter}$

ספיקת ההזנה היא $90 \frac{liter}{hr}$

(5 נק') א. חשב את ניצולת החיידקים על גליצרוול, ביחידות $\frac{gr\ cells}{gr\ glycerol}$.

(5 נק') ב. חשב את קצב הגידול המקסימלי של החיידקים בתנאי הגידול הנתונים, ביחידות $\frac{1}{hr}$.

(10 נק') ג. מהנדס הוריד את ספיקת ההזנה ל- $80 \frac{liter}{hr}$.

1. חשב את ריכוז הגליצרוול בפרמנטור לאחר השינוי, ביחידות $\frac{gr}{liter}$.

2. חשב את נפח המצע המינימלי שצריך להיות בפרמנטור כדי שהתאים לא יישטפו.

שאלה 3

פרמנטציה מנתית לגידול חיידקים מתבצעת בפרמנטור שנפחו 2,000 ליטר. החיידק גדל במצע דל על גליצרול כמקור פחמן, אמוניום סולפט כמקור חנקן ותמיסת מינרלים בכמות הנדרשת לגידול.

זמן הדור של החיידק במצע זה הוא 2.5 שעות.

הפרמנטציה מתחילה לאחר זריעת הפרמנטור. נפח המזרע 100 ליטר, וריכוזו $10 \frac{\text{gr cells}}{\text{liter}}$. מיד לאחר הוספת המזרע מתחיל החיידק בגידול לוגריתמי אשר נמשך 15 שעות.

ניתן להניח כי במהלך הפרמנטציה מקור הפחמן נצרך עד תומו.

הפרמנטור מקבל אספקה של 100% חמצן בספיקה של $F_{O_2} = 360,000 \frac{\text{liter } O_2}{\text{hr}}$ בזמן סיום הגידול, מסיסות החמצן במצע היא 6%.

(6 נק') א. חשב את ריכוז התאים בסוף הפרמנטציה, ביחידות $\frac{\text{gr cells}}{\text{liter}}$.

(7 נק') ב. נתון: $\frac{n}{v} = 0.0496 \frac{\text{mol } O_2}{\text{lit } O_2}$. המר את היחידות של ספיקת החמצן ל- $\frac{\text{gr } O_2}{\text{hr}}$.

2. חשב את קצב צריכת החמצן (OUR) בסוף הפרמנטציה, ביחידות $\frac{\text{gr } O_2}{\text{liter} \times \text{hr}}$.

(7 נק') ג. חשב את ניצולת התאים על החמצן, $Y_{X/O}$, ביחידות $\frac{\text{gr X}}{\text{gr } O_2}$.

שאלה 4

הפטרייה *penicillium chrysogenum* משמשת לייצור פניצילין. במפעל תרופות גידלו את הפטרייה בפרמנטור שנפחו 200,000 ליטר בטמפרטורה של 30°C.

הפטרייה גדלה בקצב גידול של $0.01 \frac{1}{\text{hr}}$.

הניצולת שלה על חמצן היא $0.52 \frac{\text{gr cells}}{\text{gr } O_2}$.

ריכוז החמצן המינימלי האפשרי הוא 12% מרוויה.

קצב מעבר החמצן המקסימלי בפרמנטור הוא $48.57 \frac{\text{mmole } O_2}{\text{liter} \times \text{hr}}$.

קצב סילוק החום המקסימלי הוא $1.3 \times 10^6 \frac{\text{kcal}}{\text{hr}}$.

קבוע קוני הוא $120 \frac{\text{cal}}{\text{mmole } O_2}$.

ריכוז החמצן המומס ברוויה בטמפרטורה של 30°C הוא $0.23 \frac{\text{mmole } O_2}{\text{liter}}$.

(5 נק') א. חשב את קבוע מעבר החמצן המקסימלי, ביחידות $\frac{1}{\text{hr}}$.

(5 נק') ב. חשב את ריכוז התאים המתקבל כאשר קצב מעבר החמצן הוא מקסימלי, ביחידות $\frac{\text{gr cells}}{\text{liter}}$.

(5 נק') ג. חשב את קצב ייצור החום המקסימלי של התרבית, ביחידות $\frac{\text{kcal}}{\text{hr}}$.

(5 נק') ד. האם הגורם המגביל במערכת זו הוא החמצן או קצב סילוק החום? נמק את תשובתך.

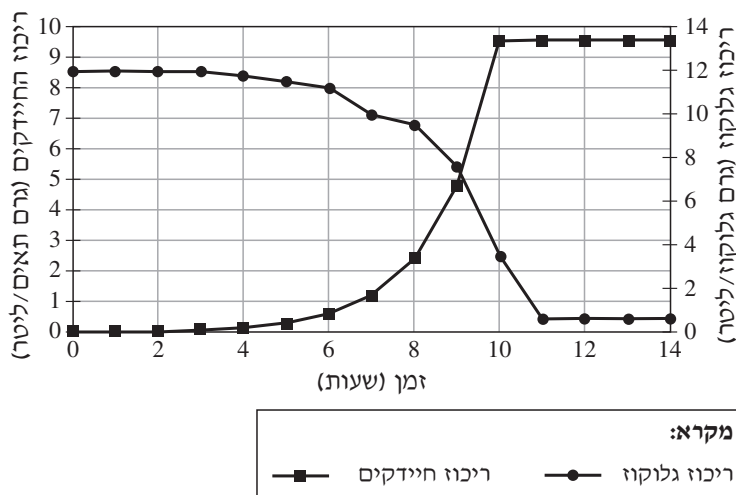
שאלה 5

חוקרים ביצעו פרמנטציה מנתית של חיידקי *E. coli* לצורך ייצור של חלבון רקומביננטי המופרש מתאי החיידקים בשלב הגידול הלוגריתמי.

משך הגידול היה 14 שעות, במצע שנפחו 30 ליטר. המצע הכיל גלוקוז כמקור פחמן.

לפניך טבלה וגרף המציגים את ריכוז החיידקים וריכוז הגלוקוז כתלות בזמן, במהלך תהליך הגידול.

זמן (שעות)	ריכוז חיידקים (גרם תאים/ליטר)	ריכוז גלוקוז (גרם גלוקוז/ליטר)
0	0.037	12
1	0.037	12
2	0.037	12
3	0.075	12
4	0.15	11.79
5	0.3	11.5
6	0.6	11.23
7	1.2	10
8	2.4	9.54
9	4.8	7.62
10	9.6	3.47
11	9.6	0.6
12	9.6	0.6
13	9.6	0.6
14	9.6	0.6



איור לשאלה 5

- א. (נק') חשב את קצב הגידול הסגולי של החיידקים בשלב הגידול הלוגריתמי, ביחידות $\frac{1}{hr}$.
- ב. (נק') חשב את קצב הצריכה הסגולי (q_s) של הגלוקוז ביחידות $\frac{gr \text{ glucose}}{gr \text{ cells} \times hr}$.
- ג. (נק') נתון כי ריכוז החלבון הרקומביננטי לאחר 8 שעות פרמנטציה הוא $0.0786 \frac{gr \text{ protein}}{liter}$. חשב את הניצולת של ייצור החלבון, ביחידות $\frac{gr \text{ protein}}{gr \text{ cells}}$.
- ד. (נק') חשב את כמות החלבון בסוף הפרמנטציה, ביחידות $gr \text{ protein}$.

פרק שני (40 נקודות)

ענה על ארבע מבין השאלות 6-11 (לכל שאלה – 10 נקודות).

שאלה 6

בתעשיית הביוטכנולוגיה משתמשים בתרבית תאי CHO לייצור נוגדנים מונוקלונליים, המשמשים כתרופות, חיסונים ועוד. התאים מפרישים את הנוגדן המבוקש אל מצע הגידול. לצורך הפקת הנוגדן, יש להפריד את התאים ממצע הגידול.

- (5 נק') א. ציין שתי שיטות להפרדת תאים ממצע הגידול. רשום את העיקרון שעליו מבוססת כל שיטה.
(5 נק') ב. תאר בקצרה כל אחד משלבי ההפרדה והניקוי בתהליך ניקוי של נוגדנים מונוקלונליים מתרבית תאים.

שאלה 7

- (4 נק') א. הסבר מהי אנרגיית תחזוקה, וציין שלושה תהליכים בתא אשר צורכים אנרגיית תחזוקה.
(6 נק') ב. בפרמנטציה של שמרים, בקצב גידול של $0.7 \frac{1}{\text{hr}}$ מתקבלת ניצולת (Y_s) של $0.3 \frac{\text{gr cells}}{\text{gr substrate}}$.

נתון כי מקדם קצב התחזוקה הוא $1.67 \frac{\text{gr substrate}}{\text{gr cells} \times \text{hr}}$.

חשב את הניצולת המקסימלית (Y_T) ביחידות $\frac{\text{gr cells}}{\text{gr substrate}}$.

שאלה 8

חברה ביוטכנולוגית מעוניינת לייצר את החלבון קולגן לצורך מחקר. ניתן לייצר קולגן רקומביננטי בחיידקי *E.coli* או בתרבית של תאים אנימליים.

- (5 נק') א. ציין שני הבדלים מבחינת תנאי הגידול בין החיידקים ובין התאים.
(5 נק') ב. ציין יתרון אחד לייצור החלבון בחיידק, ויתרון אחד לייצורו בתאים אנימליים.

שאלה 9

נדרש לתכנן מערכת פרמנטציה לייצור של חומצה גלוטמית באמצעות החיידק *Corynebacterium glutamicum*. ידוע כי ייצור אופטימלי של החומצה באמצעות החיידק מתקבל בתנאים אלה:
ריכוז החמצן במצע ברוויה 40% לפחות; ה-pH של המצע – 6.0; וטמפרטורת הגידול – 37°C.

- (7 נק') א. פרט את מערכות הבקרה הדרושות לייצור, ואת חלקי הפרמנטור הנדרשים למערכות אלו, וכן את תפקידו של כל אחד מרכיבי המערכת.
(3 נק') ב. צייר סכמה של מערכת הפרמנטציה, וציין בה את השמות של הרכיבים שציינת בסעיף א'.

שאלה 10

פרמנטור המכיל מצע בנפח של 2 ליטרים מכיל ספורות בריכוז $5 \times 10^5 \frac{\text{spores}}{\text{ml}}$. המצע עובר עיקור בטמפרטורה של 121°C למשך 8 דקות.

לאחר העיקור בתנאים אלה התקבלה רמת סטריליות של 27.63.

(5 נק') א. חשב את הסיכוי לזיהום (N_f) של הפרמנטור לאחר העיקור, ביחידות של מספר ספורות.

(5 נק') ב. מהו מקדם התמותה (K) של הספורות בטמפרטורה של 121°C ?

שאלה 11

בריאקטור שנפחו 20 ליטר ריכוז החיידקים ההתחלתי הוא $0.02 \frac{\text{gr X}}{\text{liter}}$. הריאקטור מכיל מצע שבו לקטוז משמש כמקור

פחמן, וריכוזו במצע $60 \frac{\text{gr S}}{\text{liter}}$. ניצולת התאים על לקטוז היא $0.4 \frac{\text{gr X}}{\text{gr S}}$.

ידוע כי קצב הנשימה הסגולי הוא $1.6 \frac{\text{gr O}_2}{\text{gr X} \cdot \text{hr}}$ ושניצולת החמצן על התאים היא $Y_{o/x} = 25 \frac{\text{gr O}_2}{\text{gr X}}$.

(4 נק') א. חשב את קצב הגידול של החיידקים, ביחידות $\frac{1}{\text{hr}}$.

(6 נק') ב. חשב לאחר כמה שעות ריכוז הלקטוז יהיה קטן פי 10 מריכוזו ההתחלתי.

בהצלחה!