

.....
Imię i nazwisko uczestnika VII KB

VII EDYCJA KONKURSU BIOTECHNOLOGICZNEGO ZADANIA NA I ETAP

WAŻNE INFORMACJE

1. Wydrukuj dwustronnie treść zadań i w nagłówku nad numerem każdego zadania umieść imię i nazwisko
2. Do kartki/kartek z treścią każdego zadania dołącz kartkę/kartki w formacie A4 z odpowiedzią.
3. Każda kartka zawierająca odpowiedź/rozwiązanie musi mieć na górze umieszczone imię i nazwisko uczestnika konkursu. Jeśli kartek z odpowiedzią na pojedyncze zadanie jest więcej niż jedna, to powinny być również ponumerowane. Zaznacz wyraźnie na które pytanie odpowiadasz.
4. Odpowiedzi mogą być napisane odręcznie (prosimy o czytelne pismo) lub wydrukowane (forma preferowana). Muszą być samodzielnie sformułowane. Procedura Kopiuj/Wklej jest niedopuszczalna. Pod każdym zadaniem podano przykładowe źródła wiedzy, zachęcamy jednak do szerszych poszukiwań.
5. Przesyłanie rozwiązań zadań:
 - a) W formie elektronicznej - w formacie pdf na adres: konkurs.biotechnologiczny@pw.edu.pl
 - b) W formie papierowej - uporządkuj kartki (zadanie 1 + odpowiedź, zadanie 2 + odpowiedź, itd.) – prosimy, abyś zrobił(a) to tak, aby każde zadanie wraz z odpowiedzią było oddzielną całością (bardzo ułatwi nam to sprawdzanie). Włóż do koperty i wyślij pocztą na adres:

**Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej
ul. Noakowskiego 3
00-664 Warszawa
Z dopiskiem: KONKURS BIOTECHNOLOGICZNY**

Termin nadsyłania odpowiedzi (w obu formach): do **26.01.2024 r.** Liczy się data stempla pocztowego.

Nie zapomnij zarejestrować się najpóźniej do 26.01.2024 r. za pomocą formularza zgłoszeniowego VII edycji, dostępnego na stronie Konkursu:

<https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=nCJQO3jNiEWbz5e3Yp4vD6RBLYIdu6BFlgQPnjQnK15URTcxSFlaV0RaWk9FVzAxT0FUMlo2UU41US4u>

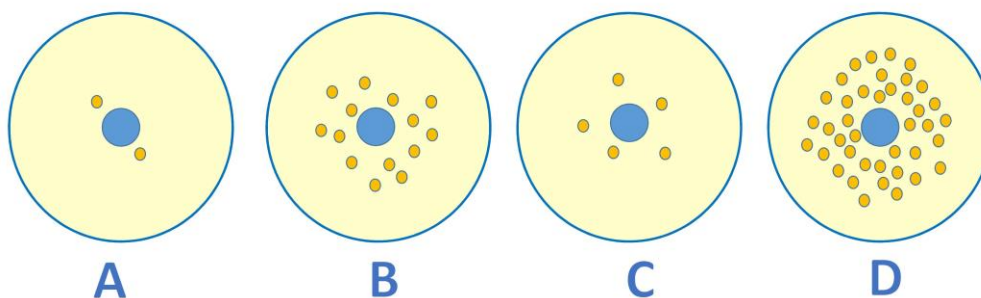
*Życzymy dobrej zabawy przy rozwiązywaniu zadań
i sukcesu!!!*

*Komitet Organizacyjny
VII Konkursu Biotechnologicznego*

ZADANIE 1 (10 pkt)

Test Amesa (test mutacji powrotnych u bakterii) jest metodą diagnostyczną pozwalającą wykryć czy badany związek chemiczny wywołuje mutację. Do przeprowadzenia testu wykorzystuje się szczepy bakteryjne *Salmonella typhimurium* LT2, które posiadają m.in. mutacje punktowe w operonie histydyny, co skutkuje blokowaniem syntezy tego niezbędnego do życia bakterii aminokwasu. W konsekwencji, bakterie te nie mogą rozwijać się na podłożu mikrobiologicznym, które nie zawiera egzogenego źródła histydyny.

Test Amesa polega na inkubowaniu pozbawionych zdolności wytwarzania histydyny bakterii *S. typhimurium* na podłożu mikrobiologicznym zawierającym histydyne w ilości śladowej, pozwalającej na odbycie jedynie kilku podziałów komórkowych. Następnie na szalki nakłada się krążki bibułowe zanurzone w: (A) w wodzie; (B) w roztworze znanego mutagenu; (C) w roztworze badanej substancji o nieznannej mutagenności; (D) w roztworze badanej substancji, ale po dodaniu do niej homogenatu z wątroby szczura (frakcja S9). Zamieszczony poniżej rysunek pokazuje cztery płytki Petriego po wykonaniu testu Amesa. Płytki inkubuje się 48 h w temp. 37°C, po czym wyznacza się liczbę rewertantów, czyli liczbę wyrosłych na szalce kolonii bakterii.



Legenda:

- Krążek bibułowy nasączony: wodą (A); znanym mutagenem (B); roztworem badanej substancji (C); roztworem badanej substancji po dodaniu homogenatu z wątroby szczura (D)
- Kolonie bakteryjne - rewertanty

Pytania:

- Jaki jest cel zastosowania krążka bibuły nasączonego wodą? (2 pkt)
- Dlaczego przeprowadzono doświadczenie z użyciem znanego mutagenu? (1 pkt)
- Jak zinterpretujesz pokazane na rysunku wyniki eksperymentów, w których testowano mutagenność badanego związku chemicznego? (3 pkt)
- Jak sądzisz, który ze składników homogenatu z wątroby szczura jest odpowiedzialny za efekt widoczny na rysunku D? Dlaczego? (4 pkt)

Przykładowe źródło wiedzy:

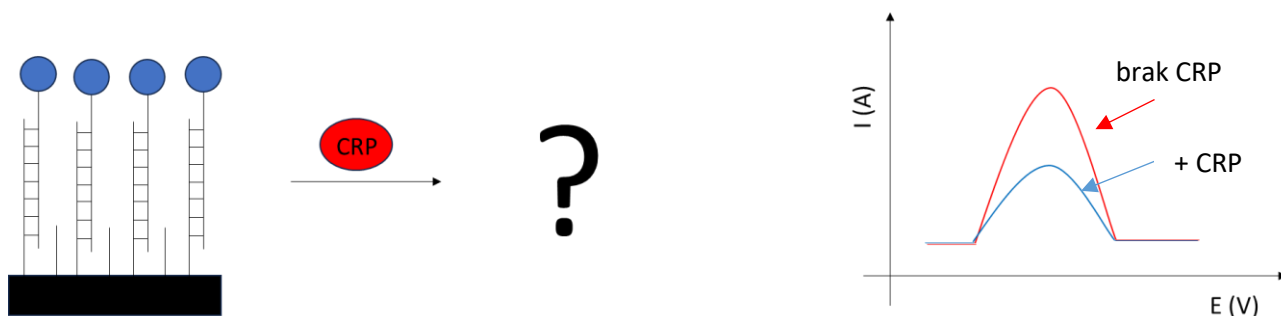
<https://microbiologyinfo.com/ames-test/>

ZADANIE 2 (10 pkt)

Choroby układu krążenia według statystyk uznawane są za najczęstszą przyczynę zgonów na całym świecie, która wynosi niemal 18 mln rocznie. Konieczne jest zatem opracowywanie nowych metod diagnostycznych, które umożliwiłyby wykrycie stanu chorobowego na wczesnym stadium rozwoju w celu jego ograniczenia przez zastosowanie odpowiedniej terapii. W ostatnich latach doszło do wzrostu badań dotyczących zastosowania biosensorów jako narzędzi diagnostycznych i użycia ich do wykrywania określonych markerów chorób serca m.in. białek. Przykładem jest zastosowanie aptasensorów (biosensorów zawierających warstwy receptorowe w postaci aptamerów) do wykrywania biomarkera – białka C-reaktywnego. Aptamery to krótkie, jednoniciowe sekwencje DNA lub RNA, które na skutek oddziaływania z określonym analitem zmieniają swoją konformację (ułożenie) przestrzenną. Aptasensory do detekcji wiązania białka z warstwą receptorową mogą być powiązane z różnymi technikami detekcji, w tym technikami elektrochemicznymi.

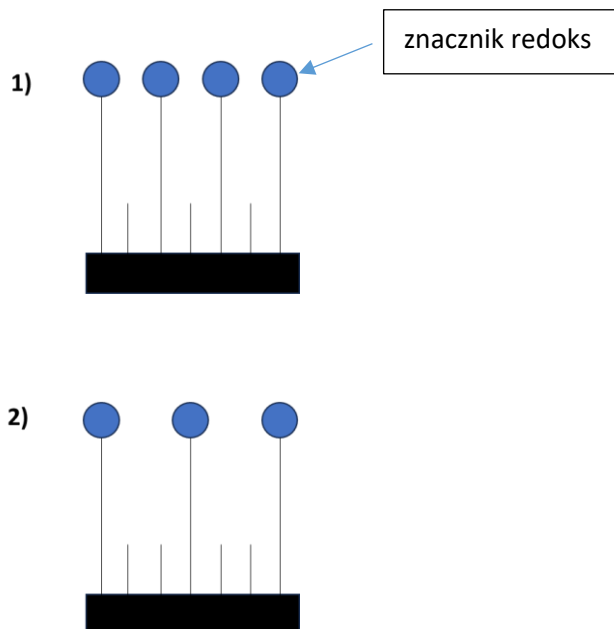
Pytania:

- A. Opracowany został aptasensor, w którym warstwę receptorową stanowiły oligonukleotydy jednoniciowego DNA (ssDNA) unieruchomione na powierzchni elektrody dyskowej. Sekwencje ssDNA oddziaływały z komplementarnymi sekwencjami aptamerów DNA, które były dodatkowo znakowane znacznikiem redoks, tworząc tzw. „duplekсы ssDNA – aptamer”. Należy podkreślić, że sekwencja znakowana wykazuje powinowactwo do cząsteczki białka C-reaktywnego, przez co oddziałuje z nim silniej niż z sekwencją nukleotydową. Z kolei znacznik redoks był źródłem sygnału mierzonego podczas analizy. Na podstawie poniższego schematu oraz wykresu odpowiedzi prądowej (zależność prądu (I) (A) od potencjału (V)) wskazującej na zmniejszenie odpowiedzi prądowej aptasensora po inkubacji elektrody z białkiem CRP, narysuj schematycznie dalszy mechanizm działania warstwy receptorowej służącej do wykrywania białka CRP i wyjaśnij pisemnie, dlaczego zaobserwowano zmniejszenie odpowiedzi prądowej po inkubacji elektrod z białkiem CRP (4 pkt).

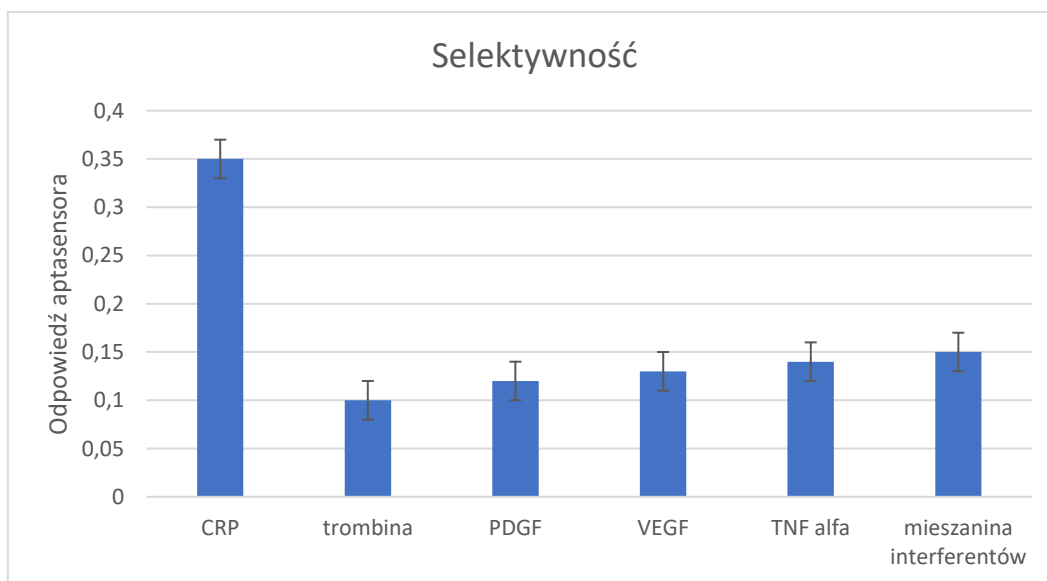


- B. Istotnym parametrem działania aptasensora jest gęstość upakowania sekwencji aptamerowych na powierzchni przetwornika np. elektrody. Jako student biotechnologii i przyszły inżynier dostałeś za zadanie dostosowanie gęstości upakowania warstwy aptamerowej w biosensorze do wykrycia białka CRP, którego masa molowa wynosi około 23 kDa. W tym przypadku wykorzystywany jest układ, w którym aptamer specyficzny

wobec białka CRP jest unieruchomiony na powierzchni elektrody i jest znakowany znacznikiem redoks. **Która z zaproponowanych gęstości upakowania warstwy receptorowej (1 czy 2) jest korzystniejsza z punktu widzenia działania warstwy receptorowej służącej wykrywaniu białka CRP i dlaczego? Odpowiedź uzasadnij w kilku zdaniach (3 pkt.)**



C. Do oceny użyteczności aptasensora konieczne jest przeprowadzenie badań selektywności. Polegają one na porównaniu odpowiedzi aptasensora na określony analit oraz odpowiedzi w obecności cząsteczek tzw. interferentów. **Na podstawie poniższego wykresu określ, czy aptasensor jest selektywny na białko CRP? Odpowiedź uzasadnij. Dlaczego badania selektywności są tak istotnym zagadnieniem analizowanym w trakcie konstrukcji aptasensora? (3 pkt)**



Przykładowe źródło wiedzy:

<https://ksiegarnia.pwn.pl/Sensory-chemiczne-i-biosensory,923681106,p.html>

ZADANIE 3 (10 pkt)

Kwas rybonukleinowy (RNA) pod względem chemicznym różni się od kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) jedynie brakiem atomu tlenu przy węglu 2' cukru (deoksyryboza zamiast rybozy) oraz obecnością grupy metylowej w jednej z zasad azotowych (w DNA występuje tymina zamiast uracylu). Jednak podczas gdy główną rolą DNA jest przechowywanie informacji genetycznej, RNA pełni w komórce liczne funkcje. Jedną z nich jest oczywiście, zgodnie z centralnym dogmatem biologii, tłumaczenie sekwencji nukleotydów w DNA na kolejność aminokwasów w białku za pośrednictwem informacyjnego RNA (**mRNA**). W tym procesie biorą udział również niekodujące RNA, takie jak transportujący RNA (**tRNA**) i rybosomowy (**rRNA**), a szereg innych niekodujących RNA, jak małe jądrowe RNA (**snRNA**), małe jąderkowe RNA (**snoRNA**), rybonukleaza P (**RNase P**) i rybonukleaza MRP (**RNase RNP**) są zaangażowane w dojrzewanie różnych rodzajów RNA.

Ponadto RNA pełni również funkcje regulatorowe. Wśród nich można wyróżnić takie niekodujące RNA jak mikro RNA (**miRNA**), małe interferujące RNA (**siRNA**), RNA reagujące z PIWI (**piRNA**) i inne.

Tegoroczną nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny otrzymali biochemiczka Katalin Karikó i immunolog Drew Weissman za odkrycie umożliwiające opracowanie skutecznej szczepionki mRNA na COVID-19.

Pytania:

- A. W 2-3 zdaniach wyjaśnij funkcje każdego z wymienionych wyżej, wyróżnionych grubą czcionką, rodzajów RNA (2 pkt)**
- B. Co oznacza termin „ekspresja genów”? Objasnij procesy, które składają się na ekspresję genów (3 pkt)**
- C. Wymień co najmniej 2 przyczyny, dla których opracowanie efektywnych leków RNA stanowi duże wyzwanie (1 pkt)**
- D. Wyjaśnij na czym polegało odkrycie tegorocznych Noblistów i co było przełomem w badaniach, które doprowadziły do opracowania szczepionki na COVID-19 (4 pkt)**

Przykładowe źródła wiedzy:

<https://www.nature.com/scitable/topicpage/rna-functions-352/>

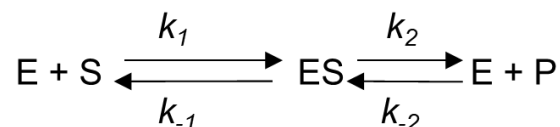
<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/press-release/>

Sahin, U., Karikó, K. & Türeci, Ö. mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discov* **13**, 759–780 (2014). <https://doi.org/10.1038/nrd4278>

ZADANIE 4 (10 pkt)

Kinetyka enzymatyczna to gałąź enzymologii zajmująca się badaniem szybkości reakcji katalizowanych przez enzymy. Najważniejszymi czynnikami wpływającymi na szybkość reakcji są: stężenie enzymu, stężenie ligandów (substratów, produktów, aktywatorów, inhibitorów), pH, siła jonowa, temperatura.

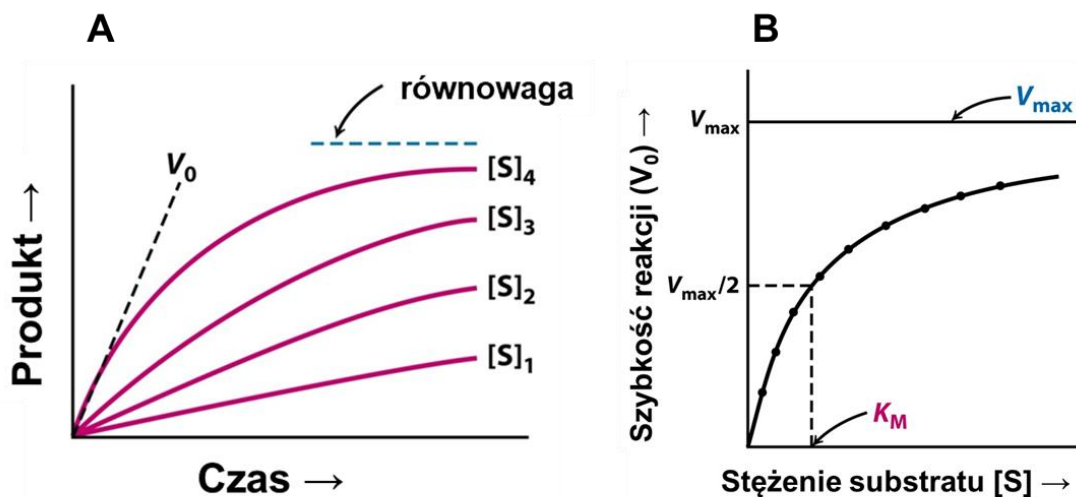
Przebieg reakcji enzymatycznej można ogólnie zapisać:



Gdzie: E – enzym, S – substrat, ES – kompleks enzymu z substratem, P – produkt, k_1 , k_{-1} , k_2 , k_{-2} – stałe szybkości poszczególnych etapów reakcji

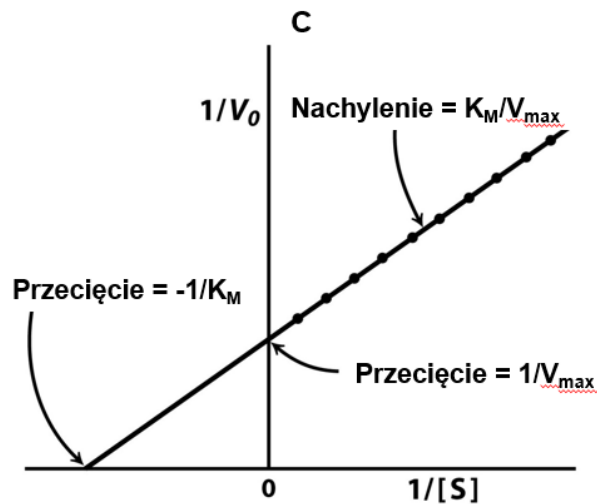
Korzystając z modelu Michaelisa-Menten można wyliczyć parametry kinetyczne enzymu, takie jak aktywność enzymu, stała Michaelisa K_M , szybkość maksymalna V_{max} , stała katalityczna k_{cat} czy wartość k_{cat}/K_M . Równanie Michaelisa-Menten dotyczy kinetyki stanu stacjonarnego i wiąże ono szybkość katalizy ze stężeniem substratu i enzymu oraz szybkościami poszczególnych etapów reakcji – jest równaniem krzywej przedstawionej na wykresie B:

$$V_0 = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_M}$$



Na wykresie A pokazano zależność przebiegu reakcji enzymatycznej od czasu. Reakcję prowadzono w czterech mieszaninach reakcyjnych różniących się tylko stężeniem dodanego substratu (najniższe to $[S]_1$, a najwyższe $[S]_4$). Nachylenia prostoliniowych odcinków krzywych wyznaczają szybkość początkową reakcji (V_0). Rysunek jest przykładowy, zazwyczaj badając kinetykę enzymatyczną stosuje się więcej stężeń substratu (patrz wykres B).

Wykres B przedstawia zależność początkowej szybkości reakcji V_0 od stężenia substratu $[S]$. Wykres ten można przedstawić w postaci podwójnie odwrotnościowej, czyli tzw. wykresu Lineweavera-Burka (wykres C), który jest linią prostą. Z równania prostej można wyznaczyć takie parametry kinetyczne jak stała K_M oraz szybkość maksymalna V_{max} . Znając całkowite stężenie enzymu ($[E]_T$) dodanego do reakcji można również obliczyć stałą katalityczną k_{cat} ze wzoru: $k_{cat} = V_{max}/[E]_T$, która jest wyrażona w jednostkach sekunda⁻¹ (s⁻¹).



Pytania:

- Podaj cztery najważniejsze założenia modelu Michaelisa-Menten i zgodnie z nimi skoryguj zapis przebiegu reakcji podany na początku (2 pkt)
- Wyjaśnij co obrazują wartości K_M , k_{cat} oraz k_{cat}/K_M i po co się je wyznacza? (2 pkt)
- Porównujesz dwa enzymy E1 i E2, które „przerabiają” ten sam substrat. Wyznaczono K_M dla obu i uzyskano wartości: dla E1 $K_M = 10 \mu\text{M}$, a dla E2 $K_M = 15 \text{ mM}$. Który enzym ma większe powinowactwo do badanego substratu? (1 pkt)
- Objaśnij teoretycznie, posilkując się powyższymi wykresami oraz stosując odpowiednie równania matematyczne, w jaki sposób wyznacysz wartości V_0 oraz wartości K_M i V_{max} (5 pkt)

Przykładowe źródła wiedzy:

<https://pl.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/environmental-impacts-on-enzyme-function/a/basics-of-enzyme-kinetics-graphs>

<https://pl.khanacademy.org/test-prep/mcat/biomolecules/enzyme-kinetics/v/steady-states-and-the-michaelis-menten-equation>

ZADANIE 5 (10 pkt)

Przyszłość surowców dla przemysłu chemicznego otrzymywanych z ropy naftowej i węgla kamiennego stoi pod znakiem zapytania. Zgromadzonego w skorupie ziemskiej węgla i jego związków prędkiej czy później zabraknie i jako źródła energii i jako surowca do produkcji organicznych związków chemicznych. Nie wyobrażamy sobie jednak rezygnacji z tworzyw sztucznych, syntetycznych barwników, związków powierzchniowo czynnych, pestycydów, aktywnych substancji do produkcji leków i kosmetyków. Dlatego chemicy i biotechnolodzy przenoszą swoją uwagę na surowce pochodzenia naturalnego wytwarzane przez organizmy żywe. Największe zainteresowanie budzą polocukry, białka, lipidy oraz związki biologicznie czynne. Źródłem niektórych takich związków może być opisana poniżej roślina.

Pytania:

A. Przeczytaj uważnie opis i podaj nazwę rośliny - polską i systematyczną (1 pkt)

Pochodzi prawdopodobnie z Półwyspu Somalijskiego w Afryce. Przeniesiona przez ludzi na wszystkie kontynenty, rośnie lub jest uprawiana wszędzie, gdzie klimat tropikalny, podzwrotnikowy i umiarkowanie ciepły umożliwia jej rozwój. Zależnie od warunków klimatycznych, może być czterometrowym drzewkiem, krzewem, byliną tracącą część naziemną w zimniejszej porze roku, rośliną jednoroczną lub rośliną doniczkową. Status rośliny ozdobnej zawdzięcza dużym dłoniasto klapowanym liściom w kolorze zielonym, czerwonym lub ciemnopurpurowym. Ma opinię rośliny chroniącej ogród przed nornicami i turkuciem podjadkiem. Jest rośliną jednopienną, kwiaty żeńskie znajdują się w górnej części kwiatostanu, męskie - w dolnej. Owocami są trójkomorowe kolczaste torebki; każda komora torebki zawiera jedno, owalne, błyszczące, wielobarwne nasiono o długości do 2 cm.

B. Poniżej zamieszczono, w przypadkowej kolejności, krótkie informacje dotyczące trzech związków pozyskiwanych z opisanej w punkcie „A” rośliny. Uporządkuj te informacje umieszczając je w tabelce tak, żeby każdy wiersz tabelki stanowił opis właściwości jednej substancji; dodaj nazwy zwyczajowe (4 pkt)

Z liści, łodyg i nasion tej rośliny można pozyskać co najmniej trzy bardzo interesujące związki należące do trzech różnych **grup naturalnych związków organicznych**; są to:

- a) Alkaloid,
- b) Tłuszcz,
- c) Białko.

Nazwa związku

- d) Toksoalbumina.
- e) 4-Metoksy-1-metylo-2-okso-1,2-dihydropirydyno-3-karbonitryl,
- f) Tri[(R)-12-hydroksy-(Z)-9-oktadecenoilo]glicerol,

Opis struktury/ budowy chemicznej

- g) Mieszanina triacylogliceroli; główny składnik - glicerol zestryfikowany trzema resztami kwasu (R)-12-hydroksy-(Z)-9-oktadecenowego,
- h) Białko o strukturze czwartorzędowej; łańcuch „A” N-glikozydaza RNA złożona z 267 aminokwasów, łańcuch „B” lektyna złożona z 262 aminokwasów; oba łańcuchy połączone wiązaniem disiarczkowym.

- i) Pochodna dihydropirydyny podstawiona czterema różnymi podstawnikami.

Właściwości fizykochemiczne związków

- j) Dobrze rozpuszczalny w wodzie, ogrzany powyżej 80 °C ulega denaturacji, pozostawiony na powietrzu rozkłada się w ciągu kilku dni (degradacja wiązania disiarczkowego); w obu przypadkach traci swoje niebezpieczne właściwości.
- k) W temperaturze pokojowej ciekły, miesza się bez ograniczeń z innymi olejami oraz rozpuszczalnikami organicznymi, w tym z etanolem (jako jedyny olej naturalny), nieco rozpuszczalny w wodzie ($<0,1\text{g}/100\text{cm}^3$), gęstość = $0,95\text{g}/\text{cm}^3$
- l) W temperaturze pokojowej biały proszek o temperaturze topnienia 201,5 °C; rozpuszczalny w wodzie

Aktywność biologiczna

- m) Po spożyciu ulega przemianom pod wpływem lipaz trzustkowych, pojawiają się produkty drażniące nabłonek jelita cienkiego. Ceniony emolient stosowany zewnętrznie na skórę i włosy.
- n) Hamuje syntezę białka w rybosomach; bardzo silna trucizna, zgon może spowodować dawka 1 – 20 mg na 1 kg masy ciała (tyle toksyny zawierają zazwyczaj 2 – 3 nasiona)
- o) Toksyczny związek powodujący wymioty, konwulsje, spadek ciśnienia krwi, w większych dawkach może spowodować zgon. Naturalny insektycyd.

Zastosowanie

- p) Lekarstwo na zaparcia, surowiec kosmetyczny, olej maszynowy, surowiec dla przemysłu chemicznego
- q) Badania w kierunku zastosowania praktycznego jako insektycydu oraz jako leku przeciwnowotworowego
- r) W XX w. potencjalny surowiec do produkcji broni biologicznej (oficjalnie nigdy nie została użyta); prowadzone są badania nad zastosowaniem w terapiach przeciwnowotworowych.

Grupa naturalnych związków org.	Nazwa zwyczajowa	Nazwa systematyczna	Opis budowy	Właściwości fizykochemiczne	Aktywność biologiczna	Zastosowanie

Można wypełnić tabelę wpisując tylko odpowiednie litery a), b), c)...; brakujące informacje, niezawarte w treści zadania, są do znalezienia w zalecanych źródłach wiedzy.

C. Na półce w laboratorium stoją jednakowe buteleczki z próbkami różnych olejów roślinnych. Etykiety na próbce oleju rycynowego i rzepakowego, niezbyt starannie przyklejone, odpadły.

Zaproponuj prosty sposób na zidentyfikowanie obu próbek aby je właściwie oznaczyć (2 pkt)

- D. Narysuj wzory chemiczne (strukturalne) reszt acylowych występujących w przewodzie w oleju rycynowym i w oleju z oliwek (sprawdź jaka reszta acylowa dominuje w oleju z oliwek) (1 pkt)
- E. Napisz równania enzymatycznej hydrolizy oleju rycynowego i oleju z oliwek (1 pkt)
- F. Dlaczego skonsumowanie łyżki oliwy lub oleju rzepakowego na ogół nie powoduje żadnej reakcji organizmu a łyżki oleju rycynowego - wręcz przeciwnie. Jaki związek jest odpowiedzialny za taką reakcję organizmu? (1 pkt)

Przykładowe źródła wiedzy:

1. Kołodziejczyk A. *Naturalne związki organiczne*, WN PWN Warszawa, **2013**
2. Kula J., Thuat Bui Quang, *Olej rycynowy – chemia i zastosowanie*, *Przemysł Chemiczny*, 77/11, 403, **1998**

ZADANIE 6 (10 pkt)

Uzupełnieniem wykładów, ćwiczeń i laboratoriów objętych programem studiów są praktyki. Praktyka w fabryce kosmetyków wydaje się samą przyjemnością.

W ramach przygotowania do praktyki przypominasz sobie, że „kosmetykiem jest każda substancja przeznaczona do kontaktu z zewnętrznymi częściami ciała ludzkiego, jej wyłącznym celem jest utrzymywanie ciała w czystości, czasowa zmiana wyglądu, ochrona, utrzymywanie w dobrej kondycji lub korygowanie zapachu. Kosmetyki nie leczą, nie wiążą się na stałe z powierzchnią skóry. Wyjątkiem są trwale farby do włosów ale włosy są martwymi przydatkami skóry”.

Dostajesz gotową recepturę zawierającą listę składników, ilości, sposób wykonania, podstawowe właściwości fizykochemiczne produktu i zabierasz się do pracy. Masz zrobić 50 gramów kolorowej masy kosmetycznej.

Błyszczak do ust

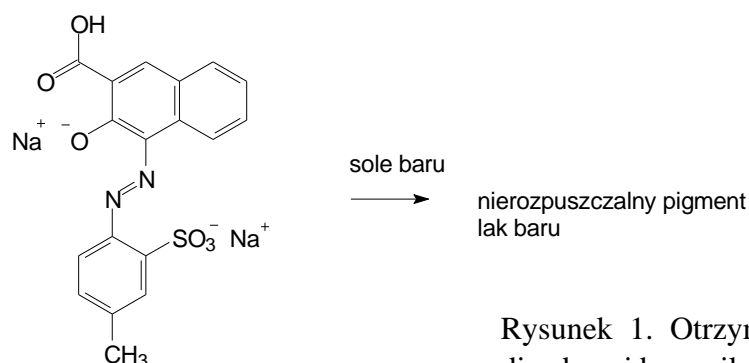
Składnik (INCI)*	Rola w recepturze	%
<i>Ricinus communis</i>	Podstawowy rozpuszczalnik	47,75
Diocetyl Sebacate	Ciekły ester – dodatkowy rozpuszczalnik	10,00
<i>Simondsia chinensis</i>	Ciekły wosk (olej Jojoba), emolient	5,00
<i>Copernicia Cerifera</i>	Stały wosk roślinny (Carnauba), emolient, zagęstnik	5,00
Cera Alba (Bees Wax)	Stały wosk (pszczeli), emolient, zagęstnik	2,00
Vitamine E	Przeciwutleniacz	0,04
CI 77891	Pigment biały – ditlenek tytanu**	10,00
CI 15850 Ba Lake	Pigment czerwony**	10,00
Mica CI 77891	Pigment perłowy - mika pokryta warstewką TiO ₂ **	10,00
Konserwant		0,01
Słodzik		0,1
Zapach		0,1
		Σ = 100

*INCI International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

**Pigmenty są nierozpuszczalnymi w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych cząstkami o średnicach 200-500 nm tworzącymi w medium, w którym są stosowane, zawiesinę. Nieuzbrojone oko ludzkie odbiera taką zawiesinę jako barwną masę, nie dostrzega indywidualnych cząstek.

Odmierzasz, odważasz - wszystkie liczby z receptury dzielisz przez dwa – mieszasz, podgrzewasz i zastanawiasz się:

Co to jest CI 15850 Ba Lake? Szukasz w internecie i katalogach: CI 15850; sól disodowa kwasu 2-[(3-karboksy-2-oksydonaftalen-1-ylo)diazenylo]-5-metylobenzenosulfonowego - syntetyczny barwnik (z grupy barwników azowych) czerwony, bardzo dobrze rozpuszczalny w wodzie, reaguje z solami baru i tworzy nową sól baru, absolutnie nierozpuszczalny syntetyczny czerwony pigment zwany lakiem. „CI + pięć cyfr” to numery z Color Index pozwalające zidentyfikować wszystkie substancje barwne używane w przemyśle, w laboratoriach itd.



Rysunek 1. Otrzymywanie laku baru z soli disodowej barwnika diazowego CI 15850

Pytania:

- A. Dlaczego w kosmetykach kolorowych substancjami barwnymi są pigmenty a nie barwniki? (2 pkt) *
- B. Co to jest *diocetyl sebacate* (nazwa INCI)? Przeczytaj artykuł „Olej rycynowy – chemia i zastosowanie” i zaproponuj sposób syntezy tego estru (2 pkt)
- C. Dlaczego w recepturze podstawę stanowi niejadalny olej rycynowy a nie któryś z olejów spożywczych? Na wszelki wypadek bierzesz próbkę oleju z oliwek, który też jest dostępny w laboratorium, i usiłujesz zawiesić w nim ditlenek tytanu – nie wychodzi, ciecz wyraźnie nie zwilża powierzchni cząstek pigmentu. Próbujesz powtórzyć eksperyment z olejem rycynowym – jakoś daje się to zrobić. Wyjaśnij dlaczego tak się dzieje (2 pkt)
- D. A teraz niespodzianka, właściwości gotowego produktu wcale nie zgadzają się z wzorcem – inna lepkość, inny odcień. Kierownicze laboratorium podobają się jednak właściwości twojej masy i prosi o powtórzenie w 2 x większej skali. Robisz głupią minę. W tym momencie z pomocą przychodzi doświadczona techniczka, która pracowała cały czas obok ciebie: puka palcem w cylinder miarowy i pipetę, które zostały użyte do odmierzenia surowców ciekłych i mówi po cichu: w recepturze są podane procenty wagowe.
Zrób teraz niezbędne obliczenia, żeby poznać dokładny skład swojego „wynalazku” i przedstawić kierownicze nową recepturę zgodnie z obowiązującymi zasadami (4 pkt)

Dodatkowe informacje:

Gęstość oleju rycynowego $0,95 \text{ g/cm}^3$

Gęstość sebacynianu dioktylu $0,9 \text{ g/cm}^3$

Gęstość oleju Jojoba $0,83 \text{ g/cm}^3$

*Wskazówka

Najbardziej zewnętrzna warstwa skóry - to warstwa rogowa naskórka; jest ona zbudowana z białka – keratyny. To samo białko jest podstawowym materiałem budulcowym włosów ludzkich i sierści zwierząt.

Jeśli ktoś z czytających to zadanie farbował kiedykolwiek wełnianą włóczkę domowym sposobem, to wie, że włóczkę należy umieścić w garnku, zakupiony barwnik do wełny rozpuścić w wodzie, roztworem zalać całkowicie zawartość garnka i podgrzać. Wszystkie operacje należy wykonać w rękawiczkach foliowych lub podobnych.

Przykładowe źródła wiedzy:

Kołodziejczyk A. *Naturalne związki organiczne*, WN PWN Warszawa, 2013

Kula J., Thuat Bui Quang, *Olej rycynowy – chemia i zastosowanie, Przemysł Chemiczny*, 77/11 (1998), 403

ZADANIE 7 (5 pkt)

Terapia fagowa jest jedną z przyszłościowych metod leczenia infekcji bakteryjnych, w których bakterie wykształciły antybiotykooporność.

Wprowadzanie bakteriofagów do organizmu gospodarza odbywa się przez podanie preparatu w formie płynnej. Przykładem jednego z częściej używanych fagów jest infekujący bakterie *Escherichia coli* bakteriofag T4, który wiąże się z receptorami na powierzchni ściany komórkowej bakterii i wszczepia swój materiał genetyczny do komórki gospodarza. Natychmiast po infekcji dochodzi do ekspresji genu *imm*, którego produktem jest białko *Imm* wbudowywane w błonę wewnętrzną bakterii. Następnie materiał genetyczny bakteriofaga włączany jest do genomu bakteryjnego i wraz z nim replikowany do momentu, w którym powstanie wystarczająca ilość bakteriofagów, by doprowadzić do lizy komórki bakteryjnej. Wraz ze zniszczeniem ściany komórkowej bakterii uwalniane jest około 100 nowopowstałych bakteriofagów.

Pytania:

- A. **Wymień 2 elementy genomu bakteryjnego, które są odpowiedzialne za jego lekkooporność. Czy mogą być one przekazywane innym komórkom? Odpowiedź uzasadnij (1 pkt)**
- B. **Wyjaśnij, dlaczego nie jest możliwe zakażenie komórki bakteryjnej więcej niż jednym bakteriofagiem T4? (2 pkt)**
- C. **Krótko opisz mechanizm wiązania bakteriofaga z komórką bakteryjną (zwróć uwagę na biorące udział w tym procesie białka, receptory i elementy ściany komórkowej bakterii) (2 pkt)**

Przykładowe źródła wiedzy:

<https://biotechnologia.pl/biotechnologia/terapia-fagowa-za-i-przeciw,16090?month=9&year=2025>

ZADANIE 8 (15 pkt)

Cukrzyca jest jedną z groźnych chorób cywilizacyjnych w XXI wieku. W 2017 roku chorowało na nią ponad 425 milionów osób na świecie. Jest to w głównej mierze skutkiem obecnego stylu życia, na który składają się mała aktywność fizyczna oraz nadmierne spożywanie wysokokalorycznych posiłków. Prowadzi to do nadwagi/otyłości, która z kolei drastycznie zwiększa ryzyko zachorowania na cukrzycę typu II. Tematyka tego zadania jest ściśle związana z tą chorobą, sposobami jej leczenia oraz przemysłem farmaceutycznym.

Pytania:

A. Cukrzycę można podzielić na dwa typy: I oraz II. W terapii pacjenta kluczowe jest rozpoznanie typu oraz dogłębne zrozumienie związanych z nim zmian metabolicznych.

- W kilku zdaniach opisz różnice w etiologii oraz patofizjologii obu typów cukrzycy (1 pkt)
- Poniższa tabelka zawiera informacje o obecności glukozy, insuliny i ciał ketonowych u pacjentów chorych na oba typy cukrzycy. Uzupełnij ją zaznaczając czy stężenie tych związków jest podwyższone, obniżone czy w normie (1,5 pkt)

			Glukoza	Insulina	Ciała ketonowe
TYP I	STĘŻENIE ZWIĄZKU	We krwi		BARDZO OBNIŻONE (~BRAK)	
		W moczu			
TYP II		We krwi			
		W moczu			

B. Jednym z charakterystycznych objawów cukrzycy jest oddech o zapachu acetonu. Fakt ten wynika z tego, że komórki organizmu, mimo obecności glukozy we krwi, nie są w stanie wykorzystać jej jako źródła energii. Rozpoczynają z tego powodu rozkład tłuszczów, co (w sytuacji niedoboru glukozy w komórce) prowadzi do powstawania ciał ketonowych (m.in. właśnie acetonu). Stan taki nazwano kwasicą ketonową (ketoza cukrzycowa).

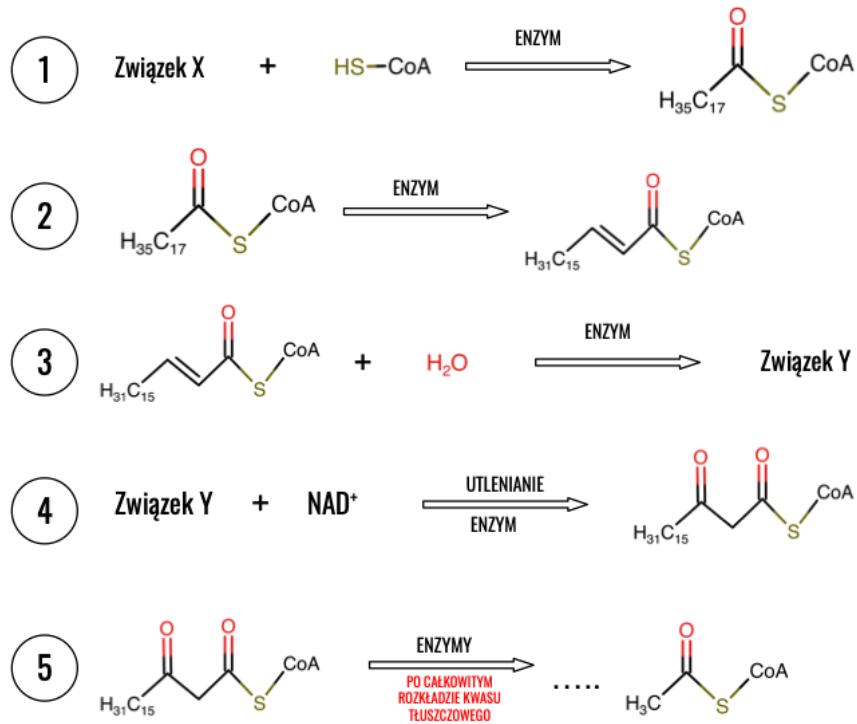
Uzupełnij poniższe schematy, które przedstawiają 3 etapy szlaku katabolizmu tristearoiloglicerolu prowadzącego do powstania acetonu. Podpisz kolejne etapy tego szlaku. Pamiętaj o uwzględnieniu nazw enzymów katalizujących reakcje oraz o stechiometrii każdej z reakcji (4,5 pkt)

Etap I:



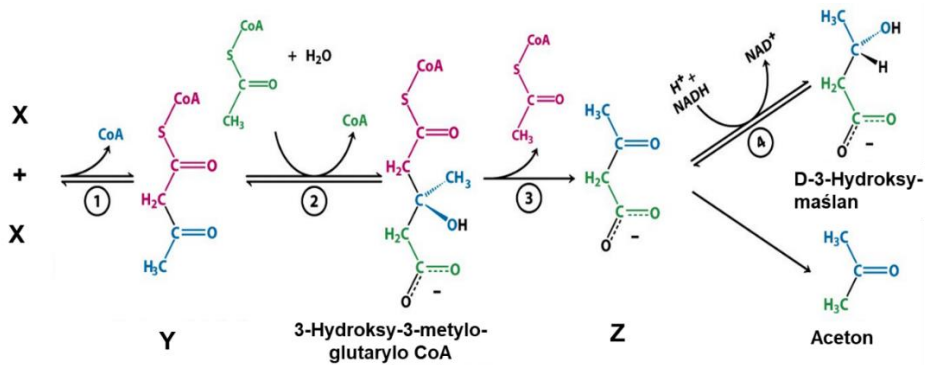
Etap II:

Narysuj związki X, Y. Podaj nazwę końcowego produktu tego etapu (produkt reakcji 5).



Etap III:

Podaj nazwy (systematyczne) związków X, Y, Z oraz nazwy enzymów 1 – 4 katalizujących poniższe reakcje biochemiczne.



C. Terapia cukrzycy

W terapii cukrzycy typu I i II stosuje się całą gamę różnych środków leczniczych – zarówno różnych rodzajów insuliny, jak i środków nieinsulinowych.

- a) **Opisz 3 wybrane typy nieinsulinowych leków przeciwcukrzycowych ze względu na ich mechanizm działania. Uwzględnij krótki opis tego, w jaki sposób pomagają pacjentom chorym na cukrzycę (2 pkt)**
- b) **Opisz 3 typy preparatów insulinowych używanych w terapii cukrzycy. Podziel je ze względu na czas działania w organizmie. Podaj nazwę przykładowej insuliny z danego typu oraz porównaj jej strukturę aminokwasową ze strukturą insuliny ludzkiej (2 pkt)**

D. Modyfikacja bakterii do produkcji insuliny

- a) **Przedstaw i opisz (w punktach) proces genetycznej modyfikacji bakterii *Escherichia coli*, w wyniku której powstaną bakterie syntezujące ludzką insulinę. Zacznij od momentu pozyskania genu insuliny, a zakończ na uzyskaniu szczepu gotowego do syntezy produktu (1,5 pkt)**
- b) **Uzupelnij poniższą tabelę, zaznaczając czy dany produkt zalicza się do GMO, czy nie. (0,5 pkt)**

	Insulina ludzka rekombinowana	Analog insuliny	Bakterie <i>Escherichia coli</i>	Pacjent, po użyciu insuliny Glargine
GMO?				

E. Produkcja insuliny w przemyśle

Niezwykle istotnym aspektem biotechnologii jest jej powiązanie z przemysłem. Każdy biotechnolog powinien zdawać sobie sprawę z tego, że dziedzina ta obejmuje nie tylko pracę w laboratorium, ale również inżynierię procesową, która umożliwia wykorzystanie technik biotechnologicznych na szeroką skalę do np. produkcji leków, albo w naszym przypadku – insuliny.

Bioton, nasz tegoroczny sponsor, jest polską firmą, która zajmuje się właśnie tym – produkcją insuliny ludzkiej oraz jej analogów na skalę przemysłową oraz dostarczaniu tych preparatów w postaci gotowych leków do pacjentów. Wykorzystując techniki z zakresu biotechnologii oraz łącząc je z inżynierią procesową są w stanie syntezować leki insulinowe (i nie tylko), które pomagają cukrzykom na całym świecie.

Ponieważ aspekt inżynierii procesowej jest kluczowy w biotechnologii, dobrze będzie się z nim zapoznać.

- a) **Czym jest *upstream processing* oraz *downstream processing*? Napisz na jakie etapy dzieli się najczęściej *downstream processing*. (1,5 pkt)**
- b) **Co oznacza akronim API? Napisz czym jest API w procesie produkcji insuliny (0,5 pkt)**

Źródła wiedzy:

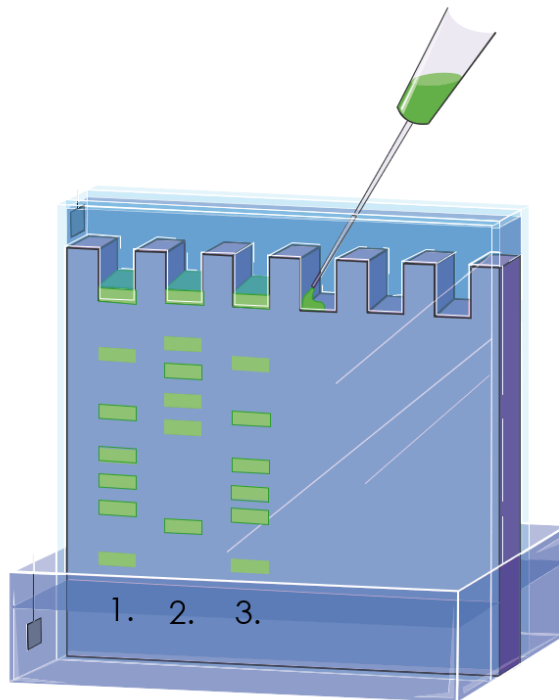
1. Ratledge C., Kristiansen B., *Podstawy biotechnologii*, WN PWN, Warszawa 2013
2. Campbell N. i in., *Biologia Campbella*, Dom wydawniczy Rebis, Poznań 2016
3. Berg J., Stryer L., Tymoczko J., Gatto G., *Biochemia*, WN PWN, Warszawa 2021
4. Babiker A., Al. Dubayee M., Anti-diabetic medications: How to make a choice?." *Sudanese journal of paediatrics* vol. 17,2 (2017): 11-20 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5845451/> [dostęp: 06.11.2023r]
5. <https://bioton.com/produkcja/>

ZADANIE 9 (10 pkt)

Wyobraź sobie, że jesteś technikiem policyjnym. 24 listopada 2023 na warszawskiej Pradze w zamkniętym mieszkaniu znalezione zostaje ciało mężczyzny. Trudno określić wiek, ponieważ denat został postrzelony w skroń. Przy jego prawej ręce leży pistolet. Na rękojeści znajdują się tylko i wyłącznie odciski palców jednej osoby. Dodatkowo na białym kołnierzyku ofiary widać delikatny ślad szminki pozostawiony przez usta. Twojej uwadze nie umyka, że po zaschniętej krwi i po otworach w ciele denata przemieszczają się małe owady. Detektyw określa, że śmiertelny strzał został oddany z bliskiej odległości. Wiele wskazuje na to, że było to samobójstwo...

Pytania:

- A. Czy broń jest w stanie "zapamiętać" DNA ofiary? W jaki sposób materiał genetyczny może trafić do wnętrza lufy? (2 pkt)**
- B. Na podstawie zamieszczonego rysunku przedstawiającego elektroforezę DNA, wykonaną w celu uzyskania profili genetycznych, określ, czy ofiara zginęła w wyniku samobójczego strzału w skroń bronią znaną na miejscu zdarzenia. Odpowiedź uzasadnij. Opisz jakie właściwości związków chemicznych wykorzystuje technika elektroforezy (2 pkt)**
- C. Jak nazywa się dziedzina kryminalistyki, która może być pomocna przy analizie śladów ust na kołnierzyku ofiary? Przedstaw po jednej wadzie i zalecie tej metody identyfikacji (1 pkt)**
- D. W oparciu o podany opis insekta i klucz (patrz źródła) zidentyfikuj gatunek owada. Oszacuj, ile wynosi PMI (łac. post-mortem interval) oraz podaj, co określa ten wskaźnik. Kiedy do określania czasu zgonu w entomologii sądowej stosuje się metodę rozwojową, a kiedy sukcesywną? Krótko je opisz własnymi słowami. Uzasadnij, użycie której metody jest wskazane w opisanej sytuacji? (5 pkt)**



1. Rękojeść pistoletu
2. wewnątrz lufy pistoletu
3. włos denata

Źródła wiedzy:

1. Opinia zagranicznego eksperta nt. wyglądu owadów znalezionych przy denacie: “Adult stages of the insect were found at the scene of death with the following characteristics: stem-vein bare above; non-metallic, dark thorax; lower calypter with hairs above; three pairs of acrostichal bristles on postsutural area; abdomen shining blue with weak microtrichosity; upper and lower calypters predominantly black; facial ridges, mouth edge, and anterior part of genal dilation dark; basicosta black; postgena and lower part of genal dilation with orange hairs”
2. Klucz: http://www.eafe.org/Members_area_files/Szpila_key_blowflies_imago.pdf
3. Courts C, Madea B, Schyma C. Persistence of biological traces in gun barrels--an approach to an experimental model. Int J Legal Med. 2012 May;126(3):391-7. doi: 10.1007/s00414-011-0655-5
4. <https://biotechnologia.pl/biotechnologia/entomologia-sadowa-czyli-jak-owady-pomagaja-policji,21753> [dostęp: 01.09.2023]

ZADANIE 10 (10 pkt)

Początki XXI wieku upłynęły pod znakiem prób przeniesienia do wnętrza komórki reakcji, które do tej pory były prowadzone w probówce. Rozwój medycyny sprawił jednak, że potrzebna stała się innowacja w monitorowaniu leków i biomolekuł wewnątrz komórki. Związki używane do oddziaływania na organizmy są właściwie od samego początku nowoczesnej chemii syntetyzowane, lecz z użyciem niekiedy wysoce toksycznych rozpuszczalników. Zespół Carolyn Bertozzi, zdobywczyni Nagrody Nobla z 2022 roku w dziedzinie chemii, wprowadził do chemii nowy termin – chemia bioortogonalna. Reakcja należąca do reakcji chemii bioortogonalnej musi spełniać szereg kryteriów – założeń chemii bioortogonalnej.

Pytania:

A. Wymień i wyjaśnij w kilku słowach 5 głównych założeń chemii bioortogonalnej jakie musi spełniać reakcja, aby została uznana za bioortogonalną (2 pkt)

Połączenia w reakcjach bioortogonalnych muszą być stabilne, należało więc zaproponować reakcję umożliwiającą zastosowanie w chemii bioortogonalnej. Carolyn Bertozzi zmodyfikowała reakcję Staudingera wraz z użyciem znacznika fluorescencyjnego, aby możliwe było przedstawienie jej przebiegu wewnątrz komórki.

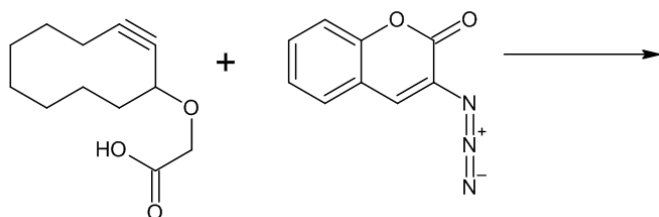
B. Przedstaw schemat zaproponowanej modyfikacji reakcji Staudingera. Czym różnią się te dwie reakcje? (1 pkt)

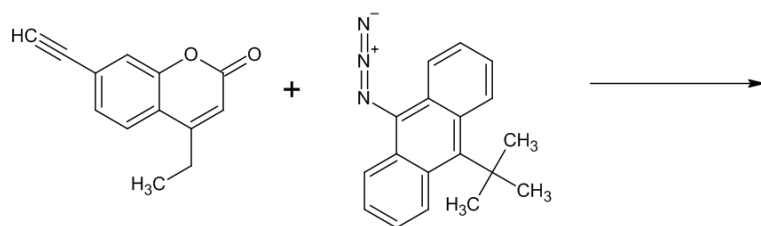
C. Zaproponuj przynajmniej 3 inne reakcje, możliwe do użycia w reakcjach chemii bioortogonalnej (1,5 pkt)

D. Wymień trzy przykłady związków wykorzystywanych jako znaczniki w chemii bioortogonalnej (1,5 pkt)

Reakcje, które są najbardziej znane chemii bioortogonalnej należą do cykloaddycji. Jedną z takich reakcji jest zaproponowana w 1976 roku przez R. Huisgena 1,3-dipolarna addycja azydków do alkinów, przebiegająca z utworzeniem pochodnej triazolu. Przyszłość pokaże możliwości zastosowania tej reakcji w chemii bioortogonalnej.

E. Narysuj produkty poniższych reakcji oraz zapisz nad strzałką warunki (katalizatory, rozpuszczalniki, temperatura itp.) w jakich może być prowadzona reakcja. Zastosuj w każdej z poniższych reakcji różne warunki (2 pkt)





Powyzsze reakcje nie mogą być zastosowane w chemii bioortogonalnej ze względu na użycie warunków reakcji niespełniających jej założeń. Na potrzeby chemii bioortogonalnej zaproponowano inny mechanizm prowadzenia cykloaddycji w warunkach odpowiadających powyższym założeniom.

F. Opracowana metoda cykloaddycji wykorzystuje reakcję pierścieni cykloheptynowych lub cyklooktynowych. Reakcja ta, co ciekawe, nie wymaga stosowania żadnych szczególnych warunków - należy po prostu mieszać reagenty bez potrzeby użycia katalizatora czy ogrzewania mieszaniny. Jak myślisz, jaka jest siła napędowa tej reakcji? Opisz, z czego wynika ich możliwość zastosowania w reakcjach bioortogonalnych. Zapisz reakcję cyklooktynu oraz 2-azydopropanu (2 pkt)

Źródła wiedzy:

1. Latos K., *Chemia bioortogonalna – użyteczne narzędzie badania procesów wewnątrzkomórkowych*, *Wiadomości Chemiczne*, 2022, **76**, 1-2, DOI: 10.53584/wiadchem.2022.1.5
2. Miszczak K., *Chemia bioortogonalna – nowa perspektywa dla chemii organicznej*, *Wiadomości Chemiczne*, 2018, **72**, 9-10