

BIOMÉRNÖKI MŰVELETEK ÉS FOLYAMATOK

Környezetmérnök MSc hallgatók számára

2 + 0 + 0 óra, 2 kredit
írásbeli vizsga

Előadók: Pécs Miklós, Németh Áron



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Tananyag

Felkészülés: érdemes/célszerű előadásra járni

Diasorok (folyamatosan frissül):

http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgaz/BIM_Kornyezetmernok/

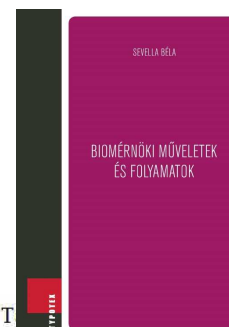
Digitális jegyzet: Biomérnöki műveletek és folyamatok

<http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgaz/BIM/BIM00%20Digit%c3%a1lis%20jegyzet/>

Ez képernyőn többet nyújt, mint a kinyomtatott .pdf, videók, animációk, interaktív diagramok vannak benne.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány T



Nem kell az egész tankönyvet megtanulni!

BSC-N NEM KELL TUDNI AZ ALÁBB KIJELELT ALFEJEZETEKET

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS. A BIOMÉRNÖK ÉS A BIOTECHNOLÓGIA

1.1. A biotechnológia vázlatos története

1.2. A biotechnológiai eljárások jellemzői

2. ENZIMMÉRNÖKI ALAPISMERETEK

2.1. Az enzimek működésének alapjai

2.2. Az enzimek tulajdonságai, nevezéktanuk

2.3. Egyszerű enzimes reakciók kinetikai leírása

2.4. Enzimmoduláció, bevezetés, áttekintés

2.5. Többszubsztrátos reakciók

2.6. Egyéb hatások az enzimek aktivitására

2.7. Heterogén fázisú enzimes reakciók viselkedése

a 2.52 EGYENLETTŐL KEZDVE A KINETIKA NEM KELL.

2.8. Az enzimek alkalmazási területei és néhány enzimtechnológiai alapfogalom

2.9. Allosztérikus enzimek

2.10. Transzportfolyamatok kinetikája

Tartalomjegyzék-részletes-KörnyMSc.doc



TARTALOMJEGYZÉK

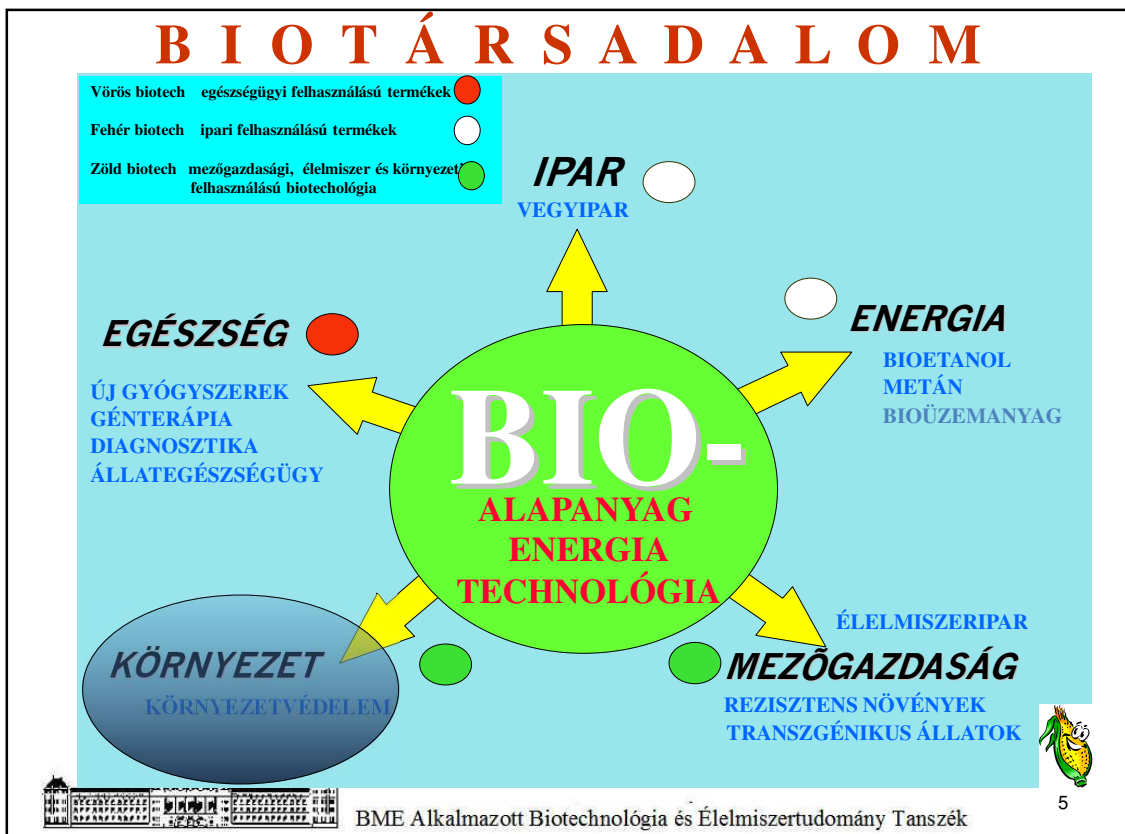
1. Enzimmérnöki ismeretek (Pécs Miklós)

- az enzimműködés alapjai
- enzimkinetika
- enziminhibíció
- rögzített enzimek

2. Fermentációs ismeretek (Németh Áron)

- mikrobaszaporodás leírása
- fermentációs technikák
- levegőztetés
- sterilizálás





ENZIMEK

1833: Payen és Persoz: csírázó árpa szerepe a keményítő hidrolízisben - dextrinek, cukrok

Memoir sur la diastase, les principaux produits de ses reactions, et leurs applications aux art industrielles, *Annales de Chimie et de Physique*, 1833, 2me Serie 53, 73-92

1835: Berzelius – diasztáz hidrolízis KATALÍZIS

1853-1857: N-tartalmú szerves (szervezetlen) anyag, illetve élő szervezet (alacsonyrendű növény vagy „infusorium”) (pl. alkoholos fermentáció)

1858 Traube feltételezi, hogy a fermentációt fermentumok végzik (Pasteur hatása)

De: első vállalat (1874) Hansen's Laboratory: rennin

1878 Kühne: $\epsilon \nu \zeta \upsilon \mu \eta$ = élesztőben

1897 Buchner: sejtmentes erjesztés, megállapítja, hogy nem kell az egész sejt, hanem erjesztő enzimek hatnak.



A fehérjék speciális csoportjai és biológiai funkcióik

- Regulátor fehérjék
- Transzport fehérjék
- Védőfehérjék
- Toxinok
- Tartalék fehérjék
- Kontraktil fehérjék
- Szerkezeti fehérjék

ENZIMEK → REAKCIÓ KATALÍZIS

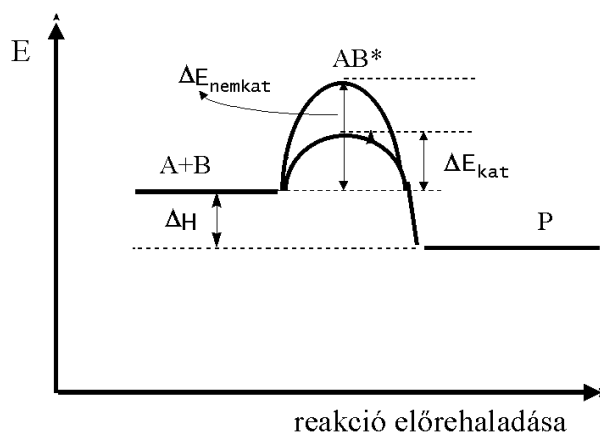


A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

1930-as évek: Eyring :
A reakció során létrejön egy magasabb energiájú átmeneti állapot - aktiválási energia kell:

$$k_r = \frac{kT}{h} e^{\frac{\Delta S^*}{R}} \cdot e^{-\frac{\Delta H^*}{RT}} \approx \text{konst} \cdot e^{-\frac{\Delta E^*}{RT}}$$

T - abszolút hőmérséklet (Kelvin fok)
k - Boltzmann állandó (1,37.10⁻²³ J°K)
h - Planck állandó (6,62.10⁻³⁴ Js)



Ezt csökkentik a katalizátorok - a katalizált reakció sebessége nagyobb, de az egyensúlyt nem befolyásolja.



Egyszerű és enzimes katalízis összehasonlítása

Reakció	Katalizátor	Aktiválási energia kJ/mol	k_{rel} 25 °C
$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$	-	75	1
	I^-	56,5	$2,1 \cdot 10^3$
	kataláz	26,8	$3,5 \cdot 10^8$
Kazein + nH_2O $\rightarrow (n+1)$ peptid	H^+	86	1
	tripszin	50	$2,1 \cdot 10^6$
Szacharóz + $H_2O \rightarrow$ glükóz + fruktóz	H^+	107	1
	invertáz	46	$5,6 \cdot 10^{10}$
Linolénsav + $O_2 \rightarrow$ linolénsavperoxid	-	150-270	1
	Cu^{2+}	30-50	$\sim 10^2$
	lipoxigenáz	16,7	$\sim 10^7$



Enzimes reakciók

A reakció általános leírása: kialakul egy átmenti komplex:



Szubsztrát (S): a reakcióban átalakuló molekula.

Termék (P): a reakcióban keletkező molekula.

Kötőhely: az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik.

Aktív hely/aktív centrum: az átalakításért felelős régió.

(A kettő nem feltétlenül azonos)

Az enzimmolekulán további kötőhelyek is létezhetnek (aktivátor-, inhibitor-, koszubsztrátkötő helyek).



Enzim-szubsztrát kötődés

Szubsztrát kötőhely: zsák, zseb - csak egy kis felület a protein molekulán!

A két molekula felülete közötti kölcsönhatások:

ionpár, hidrogén híd, van der Waals (hidrofób) = másodlagos kölcsönhatások

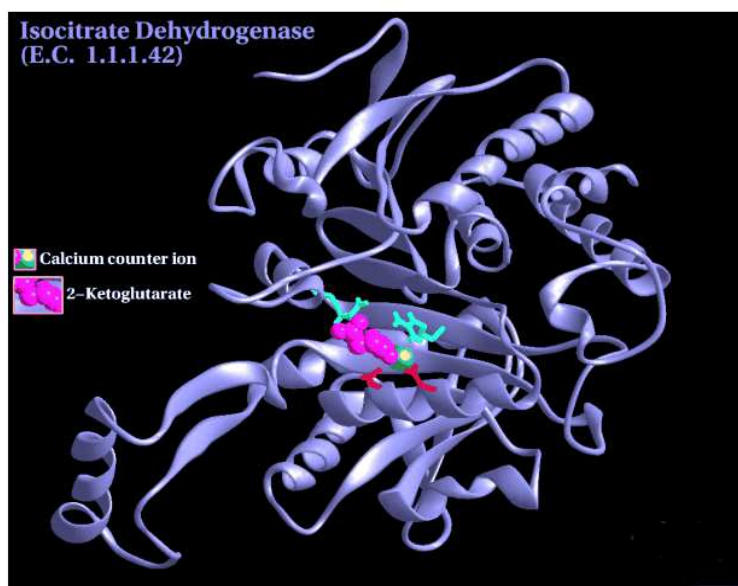
Az enzimkatalízis általános esetei azonosak a kémiaival:

1. sav-bázis (modern elmélete: Linus Pauling 1946)
2. kovalens katalízis (Haldane 1930)
3. fémion katalízis



Aktív centrum

Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a fehérje molekulán

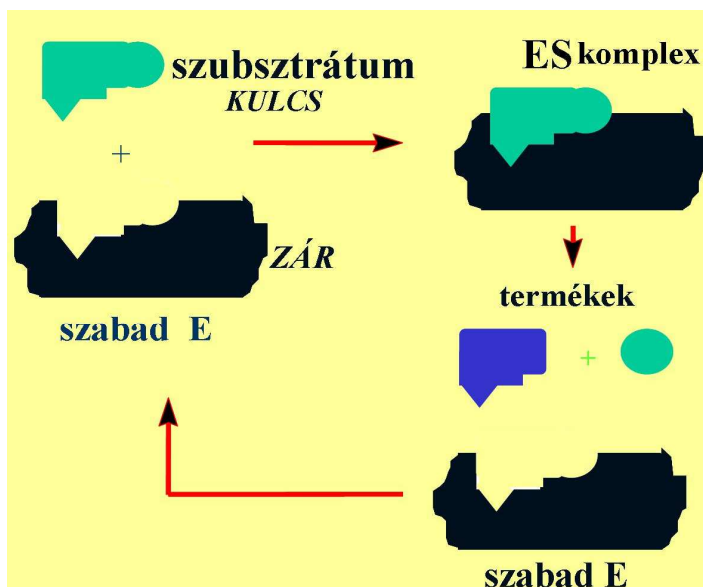


Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

Hermann Emil Fischer
(1852-1919, a 2. Nobel
díjas)

Az enzimek szelektivitá-
sa a felületek illeszke-
désén alapul.

Sima
enzimes
reakció

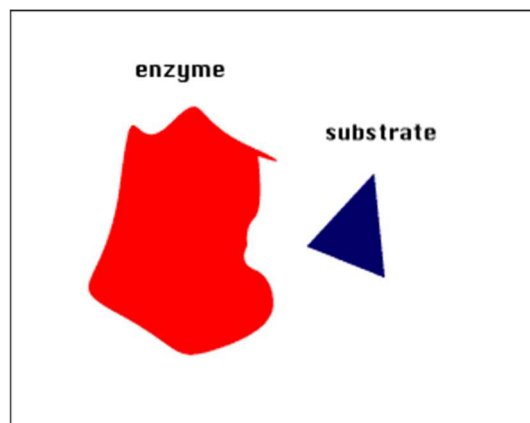


BME A

13

Az enzimkatalízisnél fellépő hatások

Indukált illeszkedés (Koshland, 1958): ha a szubsztrát kellő közelségben megközelíti az enzim molekulát (proximitás), akkor a fehérje szerkezete megváltozik, hozzáigazodik a szubsztráthoz („ráharap”).



http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced_fit/index.html



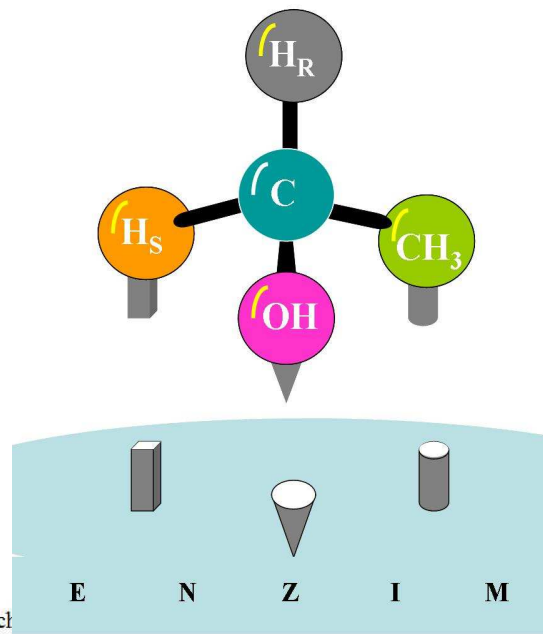
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Orientációs effektus

Hárompontos illeszkedés „three-point attachment”: a szubsztrát molekula több funkciós csoportja is kötést alakít ki az enzim felszínével, így pontosan pozícionálódik – nincs forgás.

Csak az egyik optikai izomer kapcsolódik – ez az enzimek sztereospecifitásának az alapja.

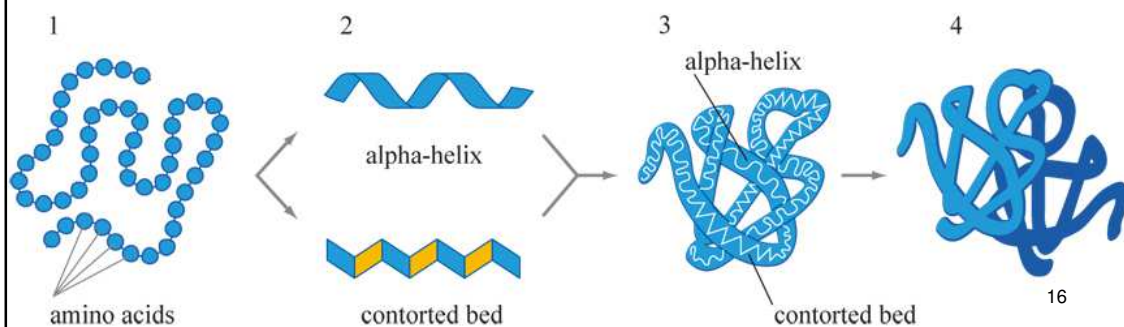


BME Alkalmazott Biotechn

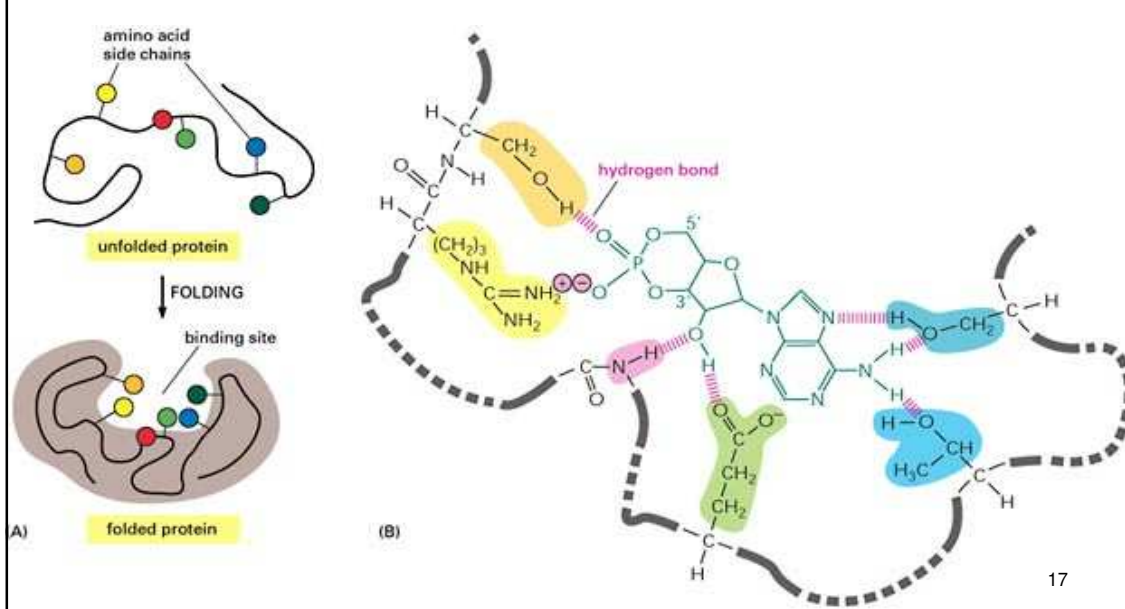
Hogyan alakul ki az aktív felület?

Az összecsavarodott fehérjelánc(ok) alakítják ki a térbeli (3D) szerkezetet (harmadlagos, negyedleges szerkezet). Az aminosavak oldalláncai lehetnek:

- apolárisak (alkil csoportok)
- polárisak (-OH, -SH csoport)
- ionosak (-NH₂, -COOH csoportok)



Aktív centrum kialakulása



Az enzimek tulajdonságai

Csak termodinamikailag lehetséges reakciókat gyorsítanak,
 $\Delta G < 0$

Minden enzimes reakció reverzibilis, egyensúlyra vezet
de: a konverzió eltolható, pl. a termék elvételével

A fehérjék denaturálhatóak: t, pH, ionerősség (kisózás), oldószerek

Specifikusak: szubsztrát-specifitás

csoport-specifitás

sztereo-specifitás

régió-specifitás

reakció-specifitás



Az enzimes katalízis előnyei

Nagyobb reakciósebesség: akár 10^6 - 10^{12} x gyorsabb

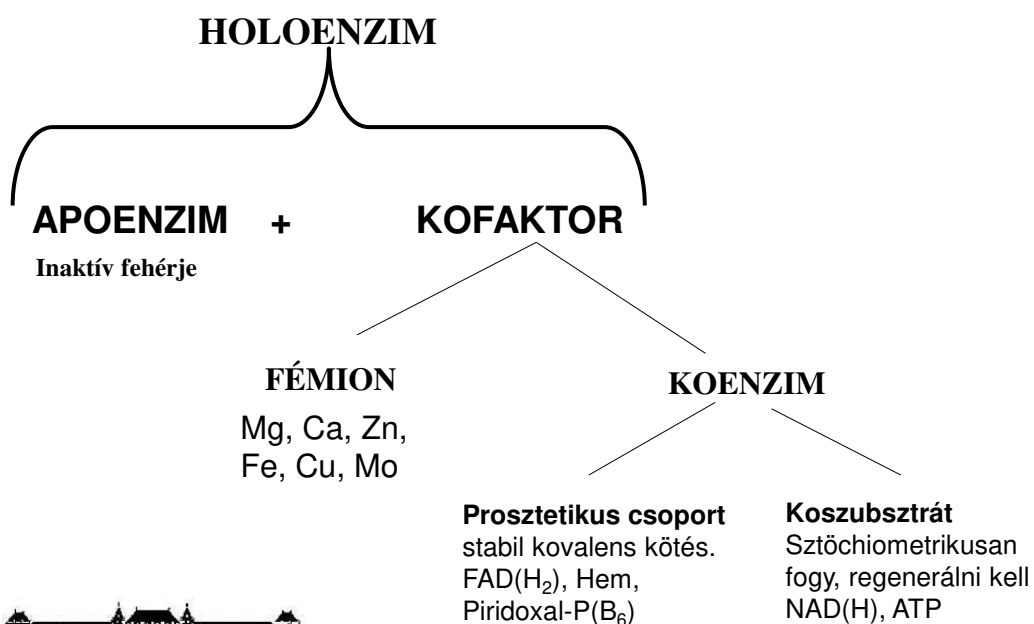
Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)

Nagyobb specifitás(ok), mint a kémiában

Regulálhatóság



További reakciópartnerek

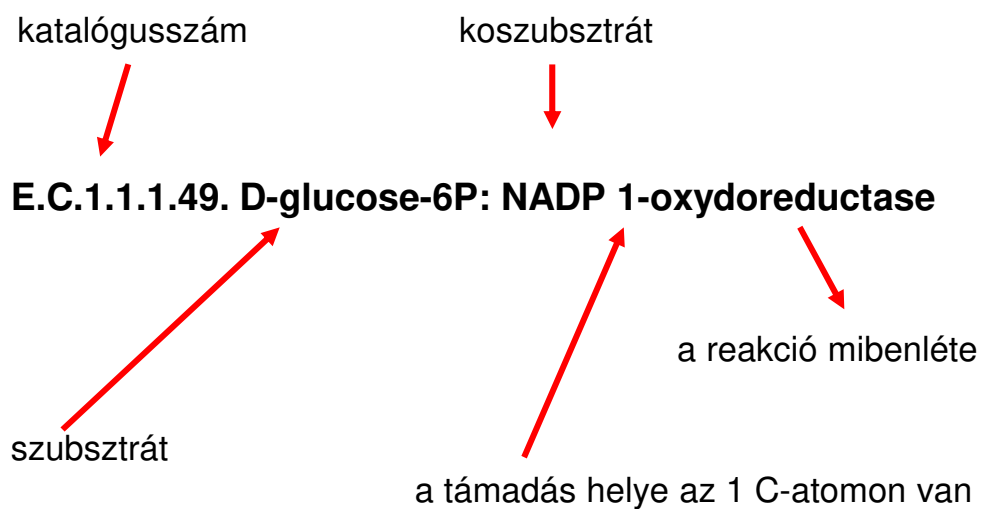


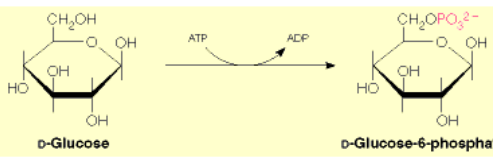
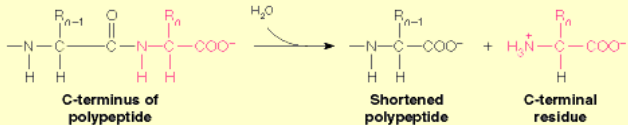
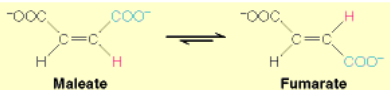
Enzimek elnevezése

1. Szubsztrát szerint: $\text{urea} + \text{víz} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$
urea → **ureáz** S-név + áz
2. Szubsztrát és reakció után: $\text{EtOH} \longrightarrow \text{AcO} \longrightarrow \text{AcOH}$
EtOH → **alkohol-dehidrogenáz**
(S-név)+reakciónév+ áz
3. Triviális nevek:
pepszin, tripszin, rennin mind fehérjebontók + -in
4. IUB, IUPAC, IUBMB 1964, 1972, 1978 Enzyme Commission
szisztematikus névadás



Enzim nevezéktan



Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD ⁺)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{H} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <p style="text-align: center;">Ethanol Acetaldehyde</p>
2. Transferases	Hexokinase (EC 2.7.1.2) (phosphorylation)	 <p style="text-align: center;">D-Glucose D-Glucose-6-phosphate</p>
3. Hydrolases	Carboxypeptidase A (EC 3.4.17.1) (peptide bond cleavage)	 <p style="text-align: center;">C-terminus of polypeptide Shortened polypeptide C-terminal residue</p>
4. Lyases	Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) (decarboxylation)	$\text{^-OOC-C(=O)-CH}_3 + \text{H}^+ \longrightarrow \text{CO}_2 + \text{H-C(=O)-CH}_3$ <p style="text-align: center;">Pyruvate Acetaldehyde</p>
5. Isomerases	Maleate isomerase (EC 5.2.1.1) (cis-trans isomerization)	 <p style="text-align: center;">Maleate Fumarate</p>
6. Ligases	Pyruvate carboxylase (EC 6.4.1.1) (carboxylation)	$\text{^-OOC-C(=O)-CH}_3 + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP}} \text{^-OOC-C(=O)-CH}_2\text{-COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ <p style="text-align: center;">Pyruvate Oxaloacetate</p>