

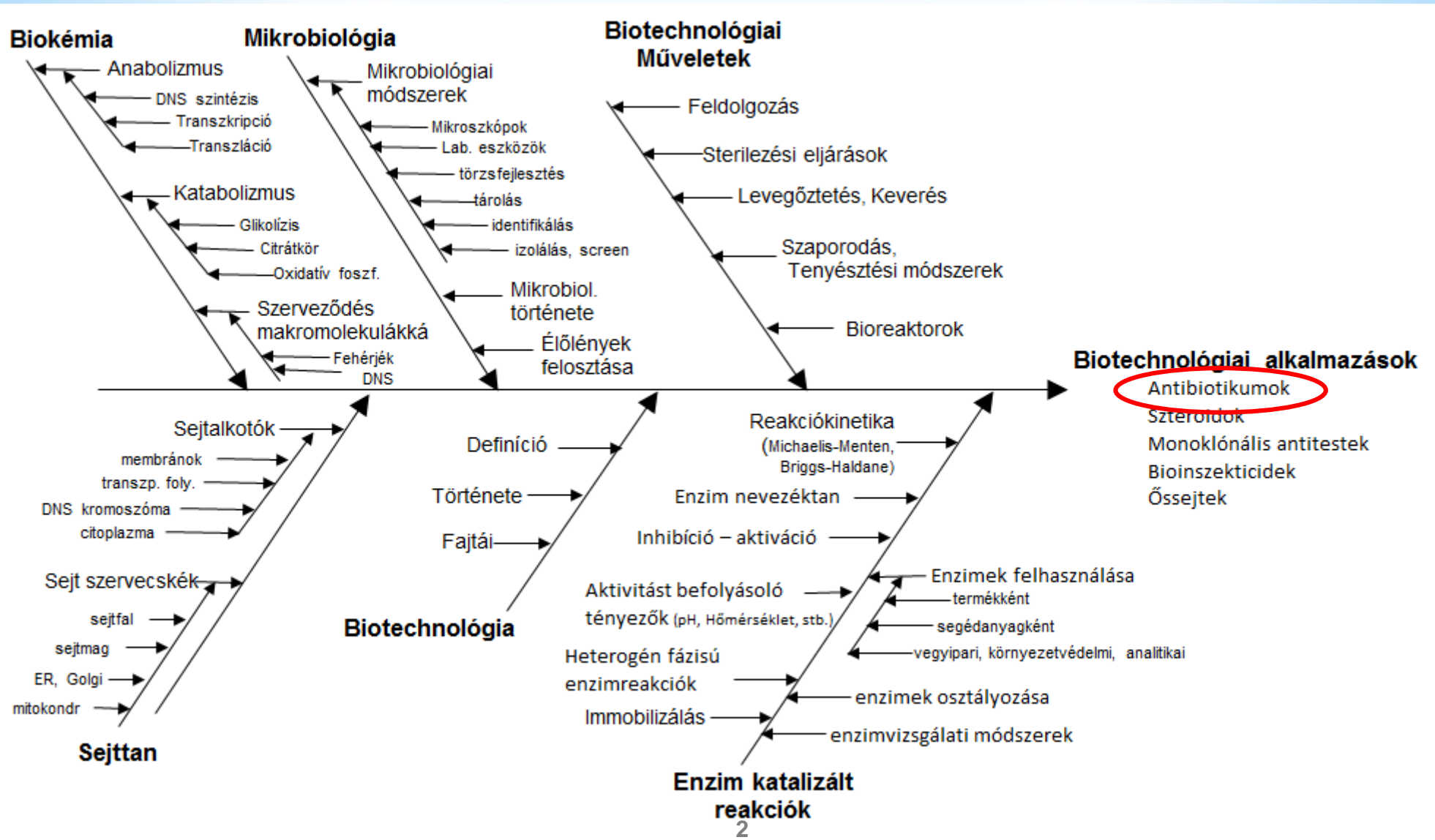
# BIOLÓGIA és BIOTECHNOLÓGIA

**BMEVEMBM 301**

**Előadó: Ballagi András - címzetes egyetemi tanár, BME**  
**- Technológiai igazgató, Diagon Kft.**

**6/6. rész**

# Itt járunk:



# Antibiotikumok

Az antibiotikumok szelektíven toxikusak. Az eukarióta sejtek alkotóira és molekuláira nem hatnak, így azokat nem befolyásolják.

A prokariótákon sokféle hatás létezik. Egyes antibiotikumok a

a sejtfalat támadják,	a transzkripció enzimeit v. faktorait
a sejt membránt,	a DNS replikáció enzimeit,
a bakteriális riboszómákat,	a bakteriális anyagcsere enzimeket.

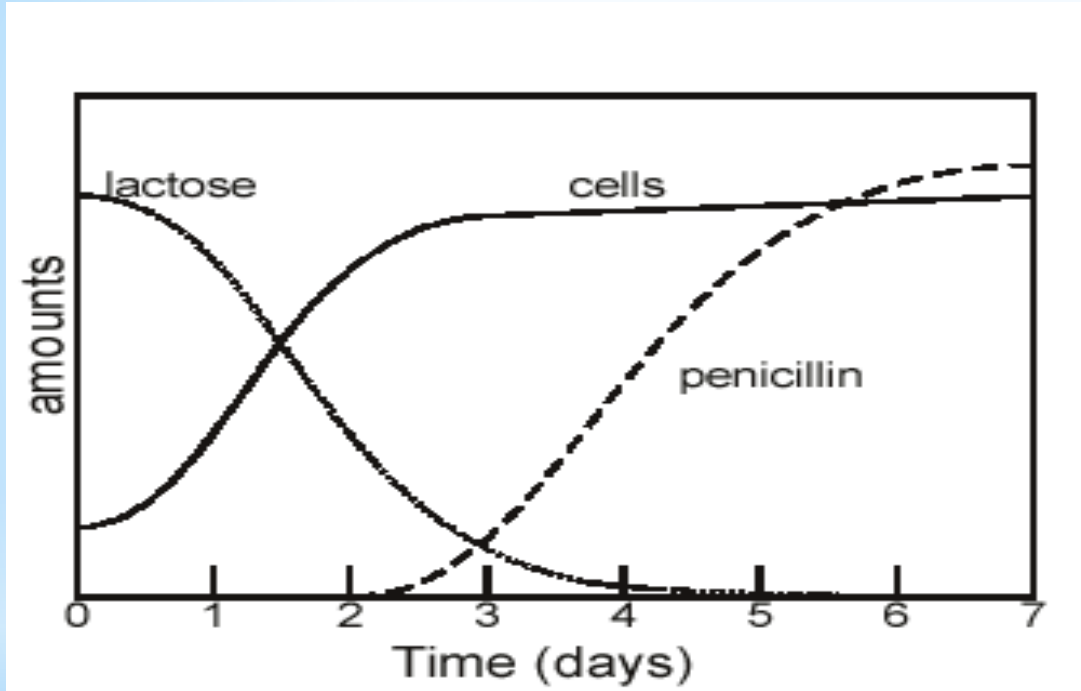
Pl. penicillin, ampicillin, amoxycillin, methycillin

Inhibálja a peptidoglikán sejtfal szintézisét végző enzimet. Ezáltal sejt lízist idéz elő. (*Baktericid*, azaz baktériumölő hatás)

Szűk spektruma van, főleg „Gram+” -okra hat, „Gram-” baktériumokon csekély a hatás.

# Penicillin termelés

A penicillint a *Penicillium chrysogenum* fonalas gomba termeli. A termeléshez laktóz, egyéb cukrok és nitrogénforrás kell.



A penicillin termelés kezdetben 1 mg/liter volt, manapság 50 g/liter is lehet.

Törzsfejlesztési módszerekkel további növelés a cél és a COG csökkentése.

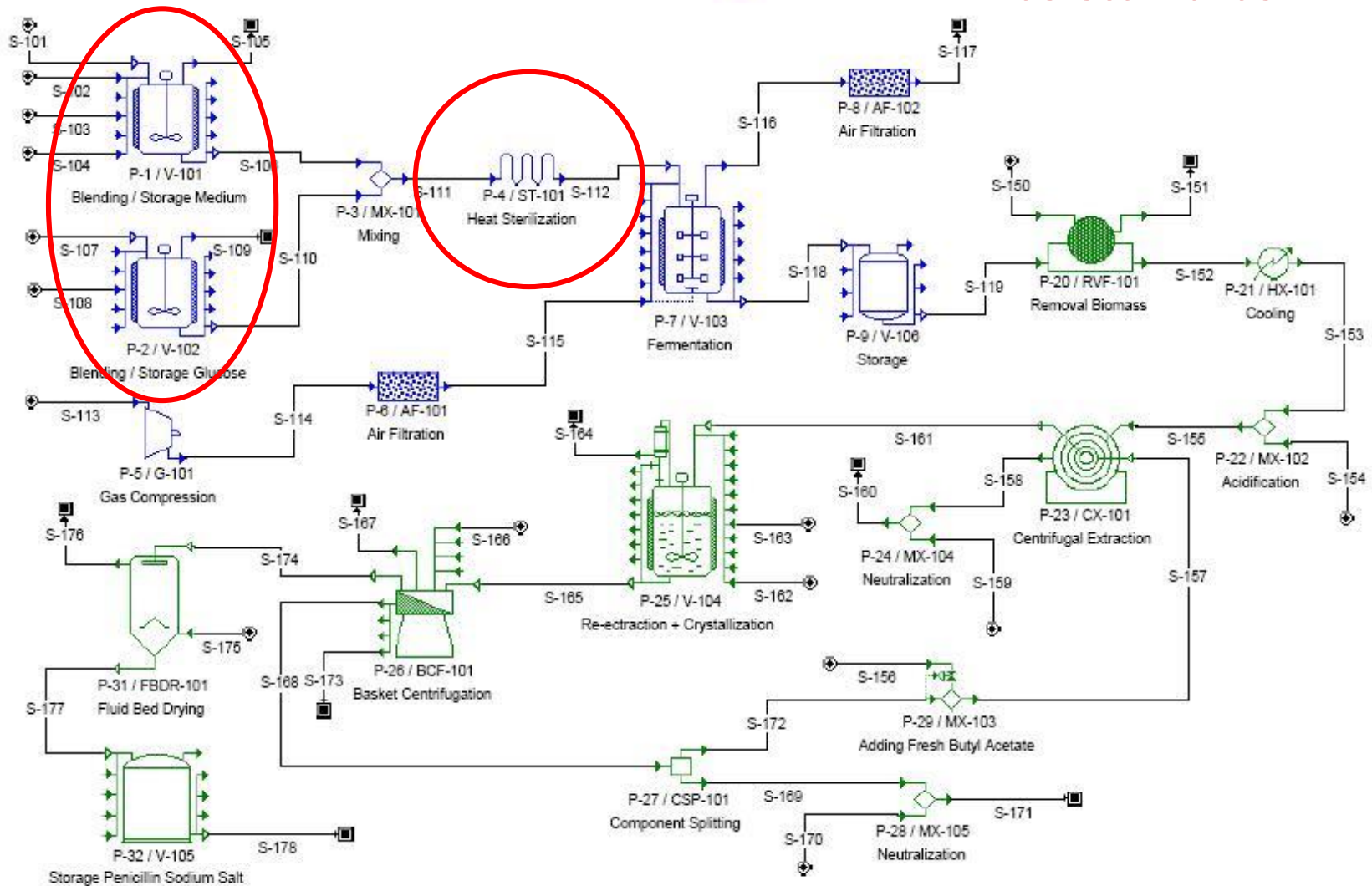
4

Akárcsak a többi antibiotikum, ez is szekunder metabolit. A termelésnek két fázisa van. Az elsőben a biomassza keletkezik, antibiotikum termelés nincs. A másodikban többszörös tápanyag limitáció mellett, a stationer fázisban termelődik.

A termelés Kevert Tank Reaktorban (STR fermenter) történik fed-batch eljárás keretében, amely elnyújtja a stationer fázist, növelve a termelés idejét.

# A penicillin termelés folyamatábrája

## Tápanyagkészítés és sterilizálás





**A tápoldat szénforrásként és nitrogénforrásként kukorica lekvárt tartalmaz, valamint tiszta glukózt.**

**A szervesetlen sók: magnézium szulfát, kálium foszfát, nátrium nitrát és nyomelemek. Ezek esszenciálisak a gomba anyagcseréjéhez.**

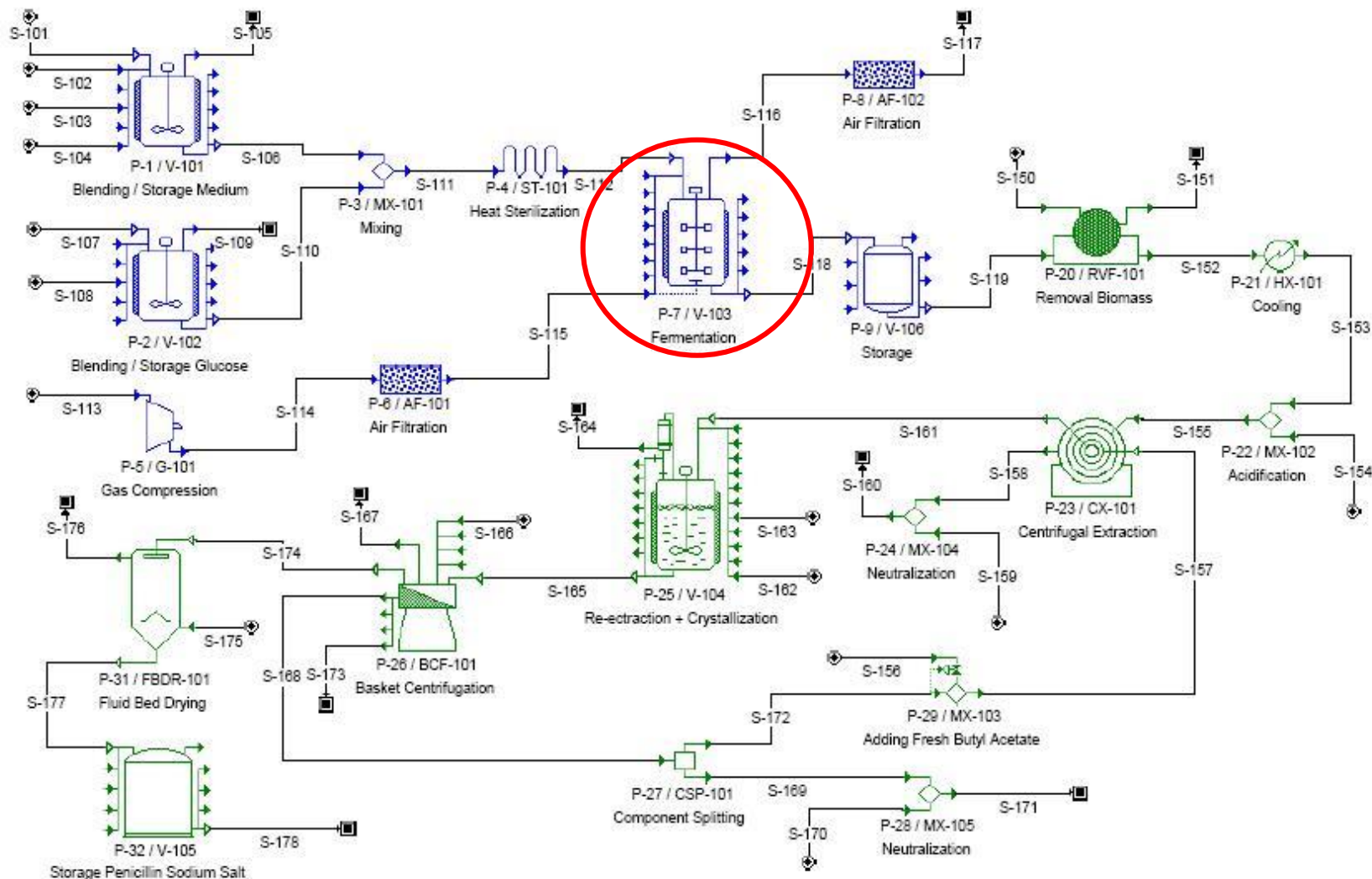


**A tápoldatot magas hőmérsékleten és nyomáson sterilezik, pl. 1,2 bar, 121oC. Magas hőmérséklet és rövid idő használatos, hogy az érzékeny komponensek degradációját meg lehessen akadályozni.**



# A penicillin termelés folyamatábrája

## Tenyésztés



# A termelő gomba tenyésztése

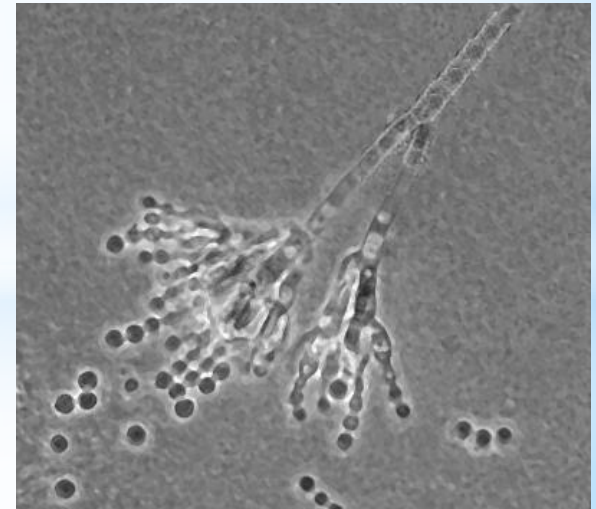
A tenyésztés során a glukózt lassan adagolva táplálják be, mert a magas cukorkoncentráció csökkenti a penicillin termelést.

Tipikus tenyésztési paraméterek:

Hőmérséklet 20-24°C, pH 6.0 és 6.5 között.

Prekurzor adagolása – pl. penicillinG esetében fenilecetsav.

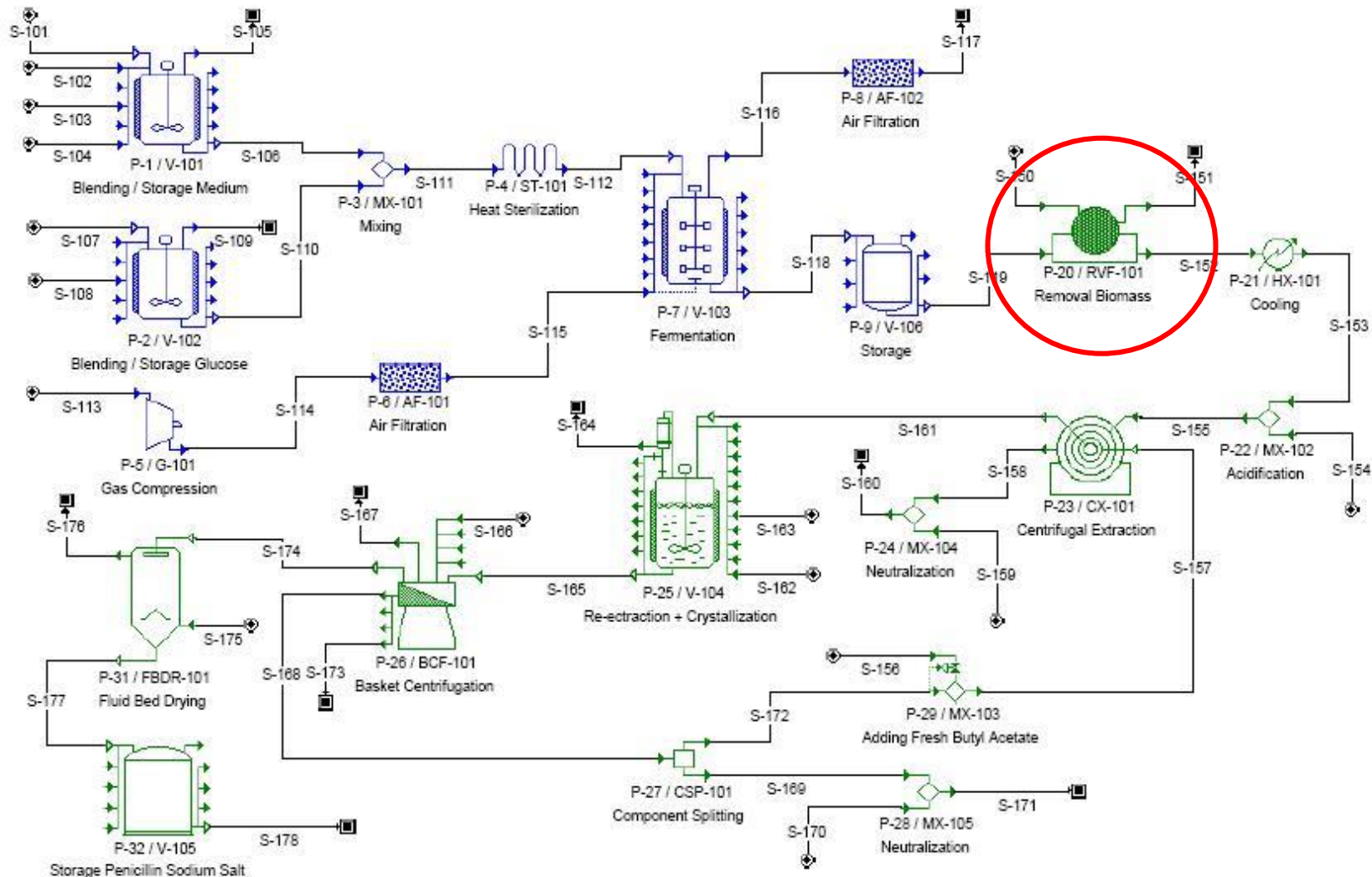
Erős keverés kell a homogén viszonyok eléréséhez.





# A penicillin termelés folyamatábrája

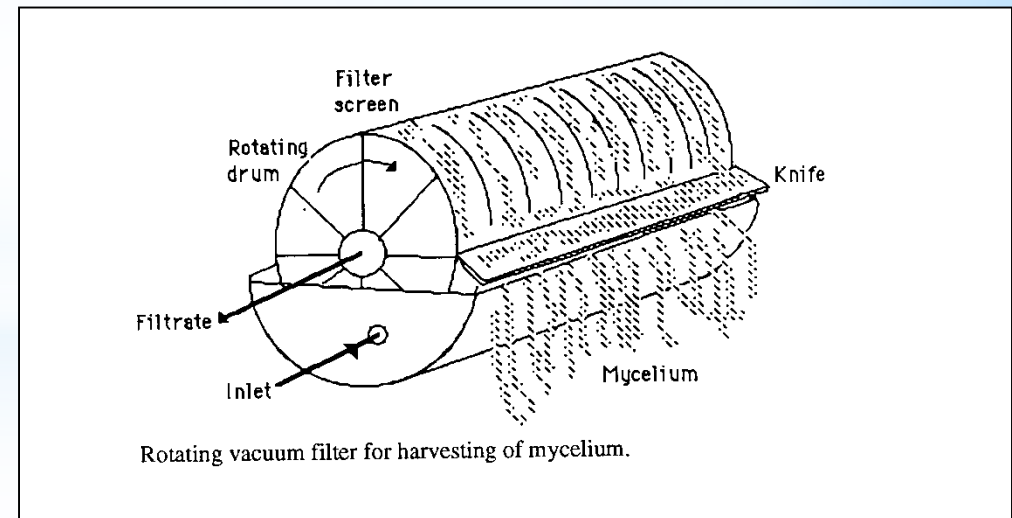
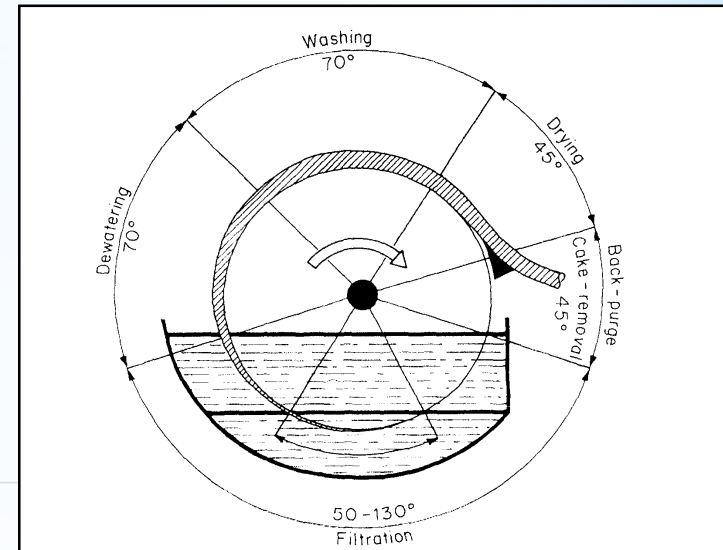
## Sejtelválasztás



# Sejtelválasztás

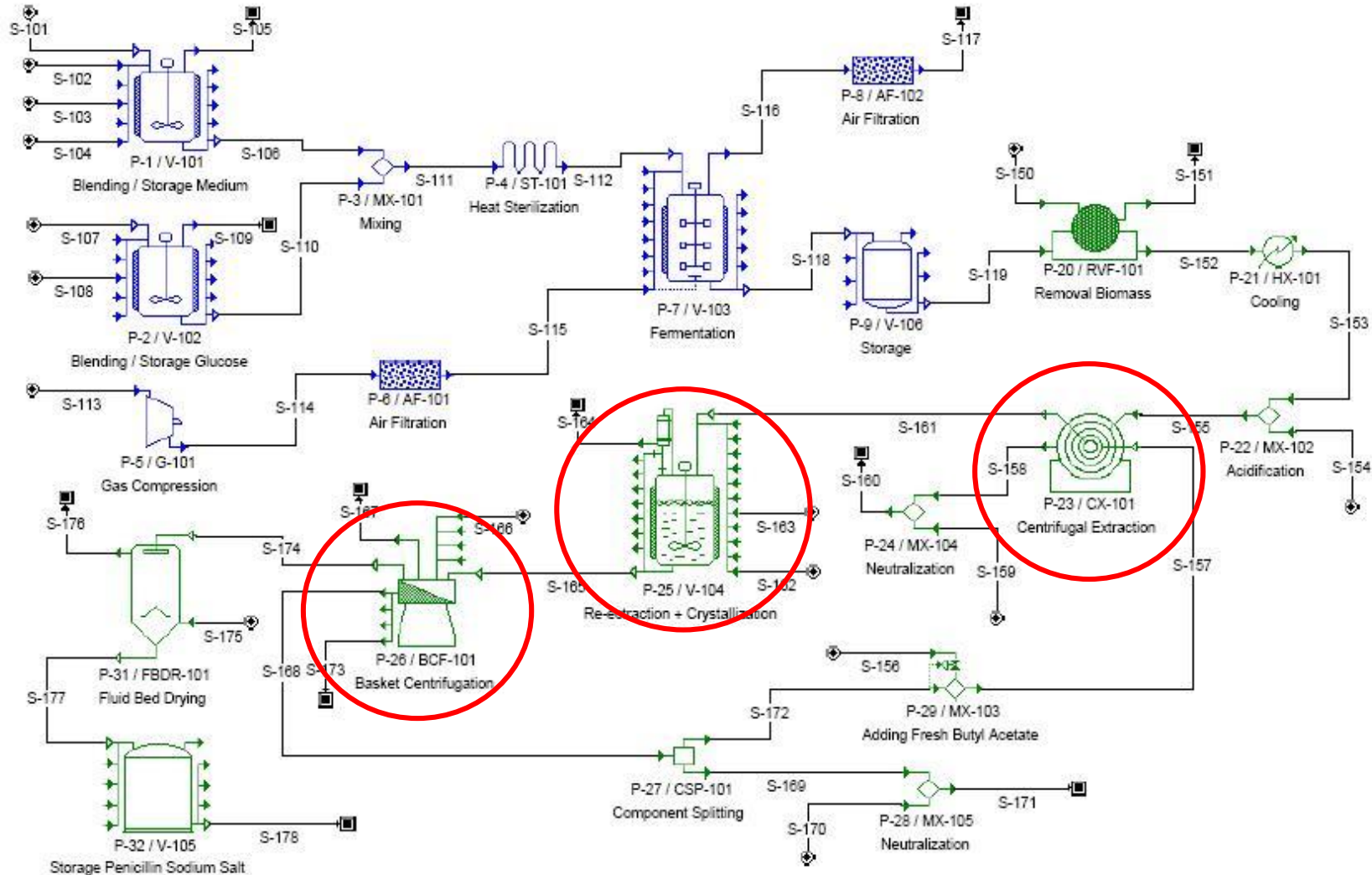
A szűrés elválasztja a gomba micéliumot a felülúszótól, ami a terméket tartalmazza. Forgódobos vákuumszűrőt alkalmaznak folyamatos üzemmódban.

Nem-oxidáló savat pl. foszforsavat alkalmaznak a penicillin aktivitásának megőrzésére. A pH 6 és 6,5 között kell legyen.



# A penicillin termelés folyamatábrája

**Extrakció,  
kristályosítás**





# Penicillin extrakció

A penicillin oldhatóságát amil-acetát v. butil-acetát adagolással növelik. Majd extrahálják kloroformmal, végül éterrel.

A szennyeződések rendre a másik fázisban maradnak. A tiszta penicillin már nagyon nagy koncentrációban van az éterben, így nátriumbikarbonát adagolás után kikristályosítható nátrium só formájában.

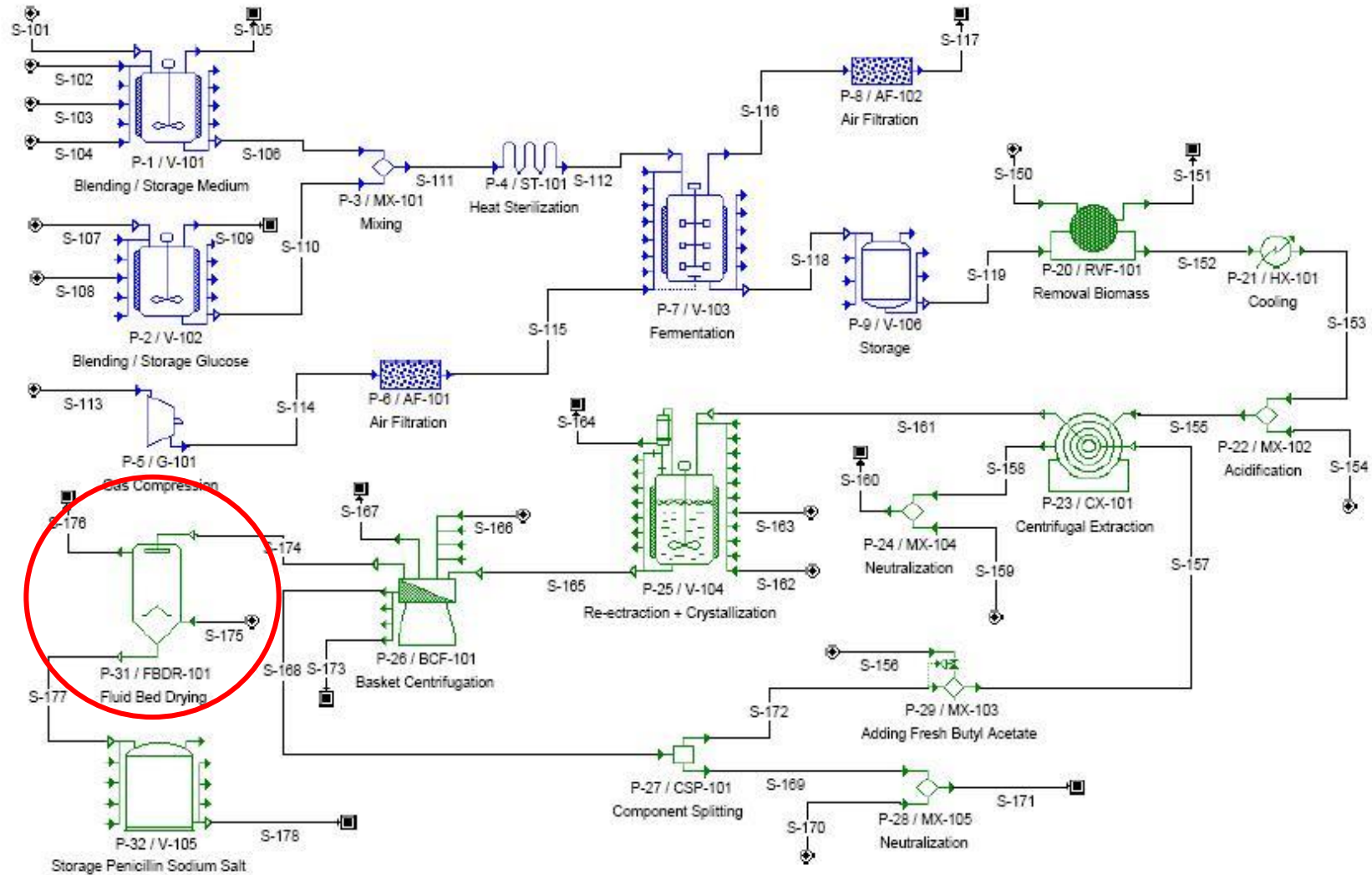
A szilárd fázis eltávolítása kosaras centrifugában történik.





# A penicillin termelés folyamatábrája

## Szárítás

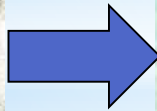


# Penicillin szárítás

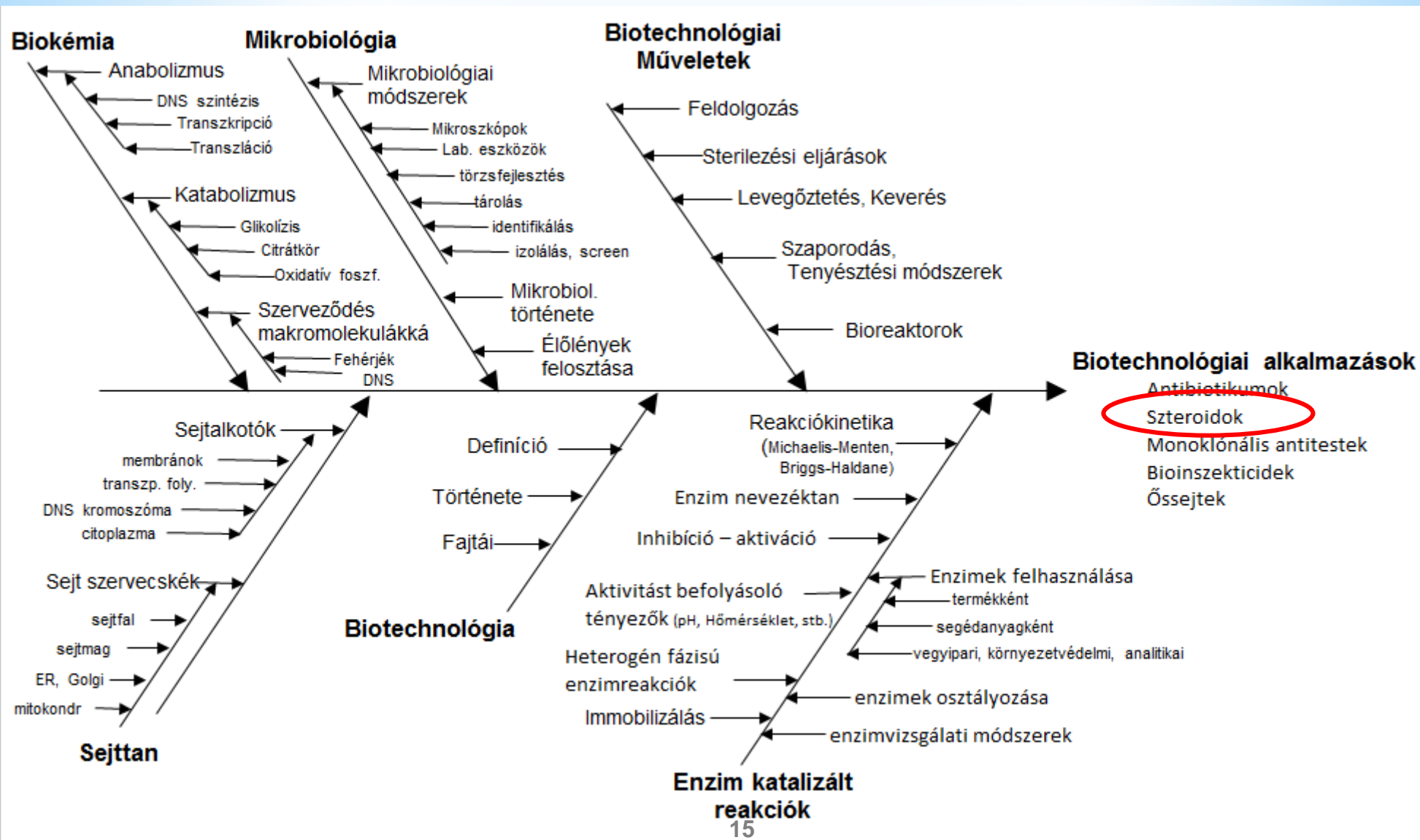
**Eltávolítja a maradék nedvességet a jobb eltarthatóság érdekében.**

**A fluidágyas szárítóban forró gázt áramoltatnak a vákuum készülék aljától, ahol a penicillin por található.**

**A nedvesség távozik és egy sokkal szárazabb állapot jön létre.**

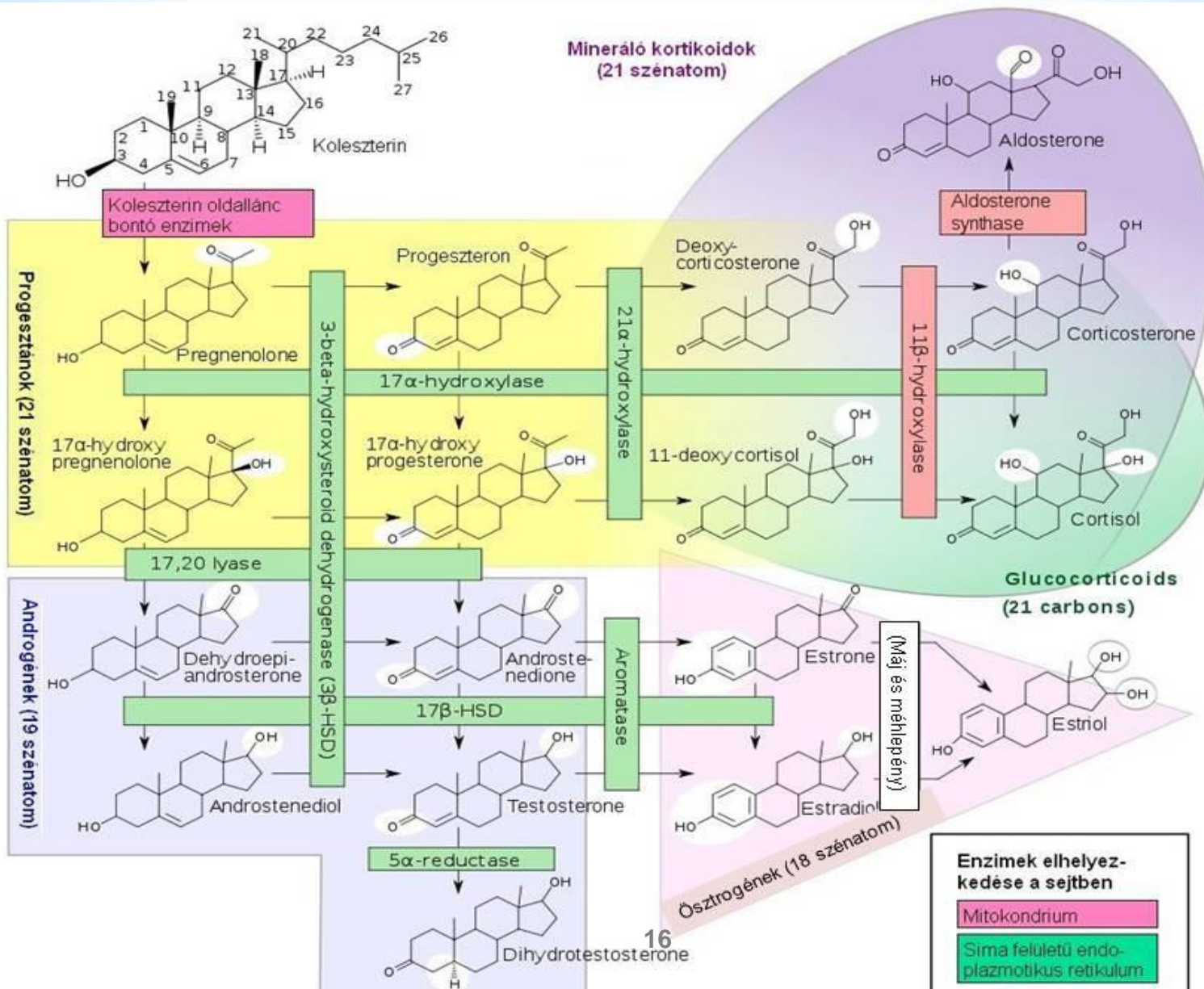


# Itt járunk:





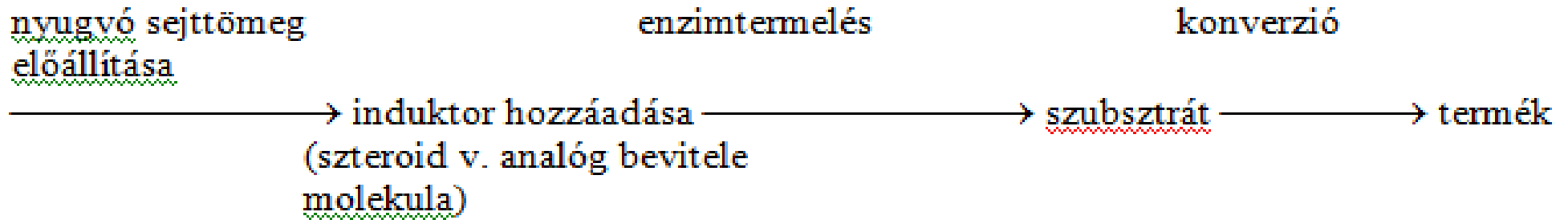
# Szteroidok „családfája” az emberi szervezetben





# Szteroid konverziók

A szteránvázis vegyületek előállítása soklépéses, hosszadalmas folyamat. Egy-egy lépésben csak egy kis szerkezeti részt változtatnak meg, (sztereo)szelektív átalakításokra van szükség. Érdeemes megpróbálni enzimesen. Az iparban kémiai és biológiai lépések váltogatják egymást.



**Minden konverziós lépéshez külön törzset kell keresni**

**A szükséges enzimeket nem izolálják, hanem nyugvósejtes tenyészetben használják.**

# Technológiai lépések I.

1. Oltás

2. Sejtszaporítás a törzs igényeinek megfelelő tápoldaton.

3. A sejtek elszaporodása és a táptalaj részleges kimerülése után a konverzióhoz szükséges enzimet indukálják - induktor anyagot adagolnak: pl. szteroid szubsztrát, naftol származék.

Az indukció hatékonyságát enzimaktivitás méréssel lehet ellenőrizni. 10-24 óra



## Technológiai lépések II.

### 4. A szteroid szubsztrát adagolása

Komoly problémát jelent, hogy a szteroidok rosszul oldódnak vízben, ezért azokat különböző technikákkal viszik be a fermentlébe:

A szubsztrátot felveszik oldószerben (pl.: etanol, mert az nem károsítja a tenyészetet), és lassan a fermentorba engedik. A szteroid kikristályosodik a vizes fázisban

vagy:

Olajokkal, tenzidekkel és detergenssekkel megolvasztják a szteroidot (sterilezik), és az olvadt anyag apró cseppekre diszpergálható (emulzió képzés). Lehűtve az apró cseppekből apró szemcsék/kristályok lesznek, nagy fajlagos felülettel.

vagy:

A ciklodextrinek alkalmasak apoláris jellegű molekulák befogadására, így a szteroidokkal is zárványvegyületet képeznek (reverzibilis folyamat). A szabad és kötött molekulák kémiai egyensúlyban vannak.

## Technológiai lépések III.

A mikroba az oldatból felveszi a szubsztrátot, átalakítja, és leadja a terméket. A termék is rosszul oldódó szteroid, koncentrációja gyorsan eléri az oldhatósági határt, és ez is kikristályosodik a fermentléből.

- Kristályfermentáció

### 5. Feldolgozás

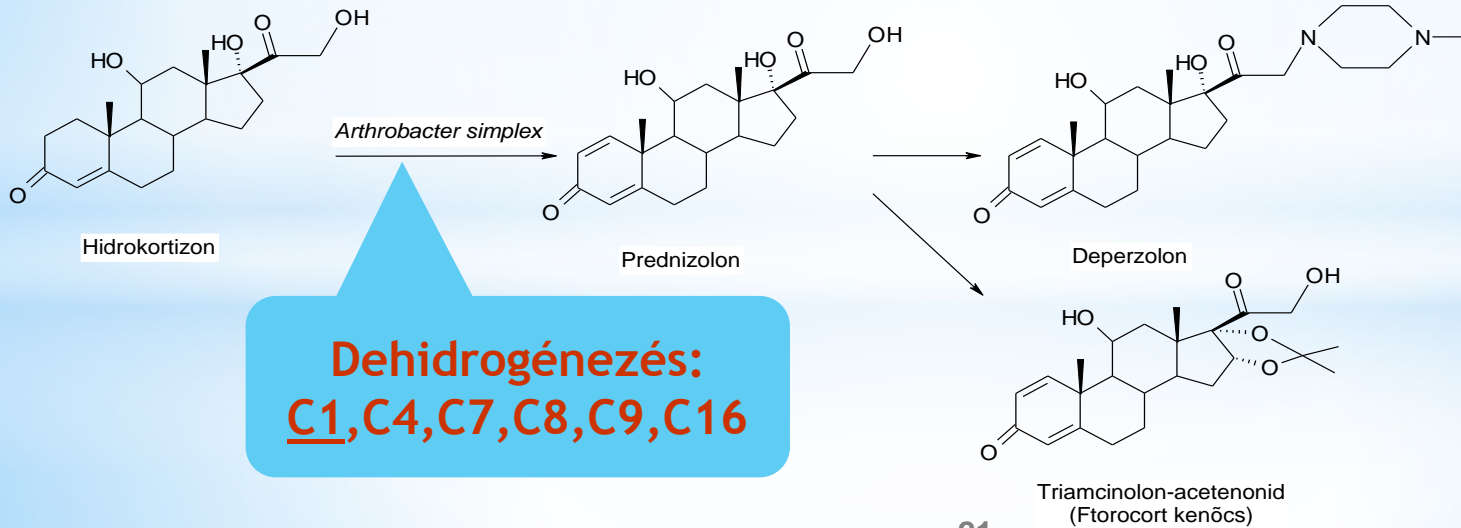
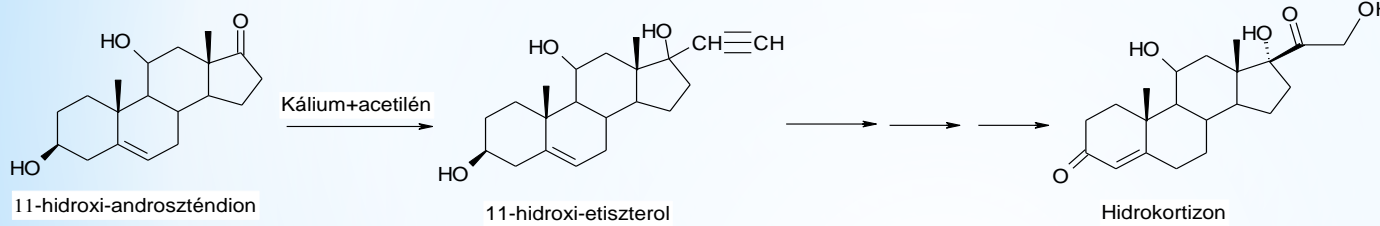
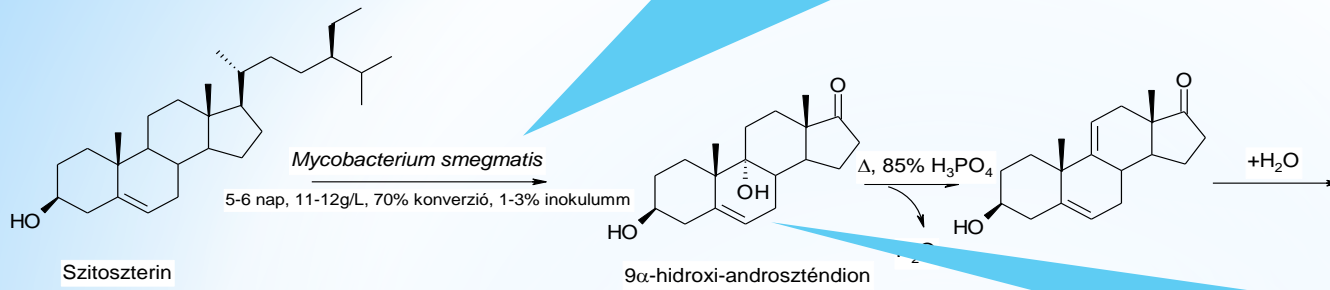
A szteroid egy része oldott, a másik része szilárd fázisban van, ilyenkor rendszerint teljes/totál extrakciót végeznek erősen apoláris oldószerrel (pl. diklór-metán), amely minden apoláris anyagot kiold.

Az oldószer lehajtása után vegyes anyag marad vissza (pl. maradék szubsztrát, termék és melléktermékek együtt).

A következő lépésben olyan oldószert alkalmaznak, mely szelektíven old ki egy komponenst = ez a szelektív-, vagy differenciál-extrakció.



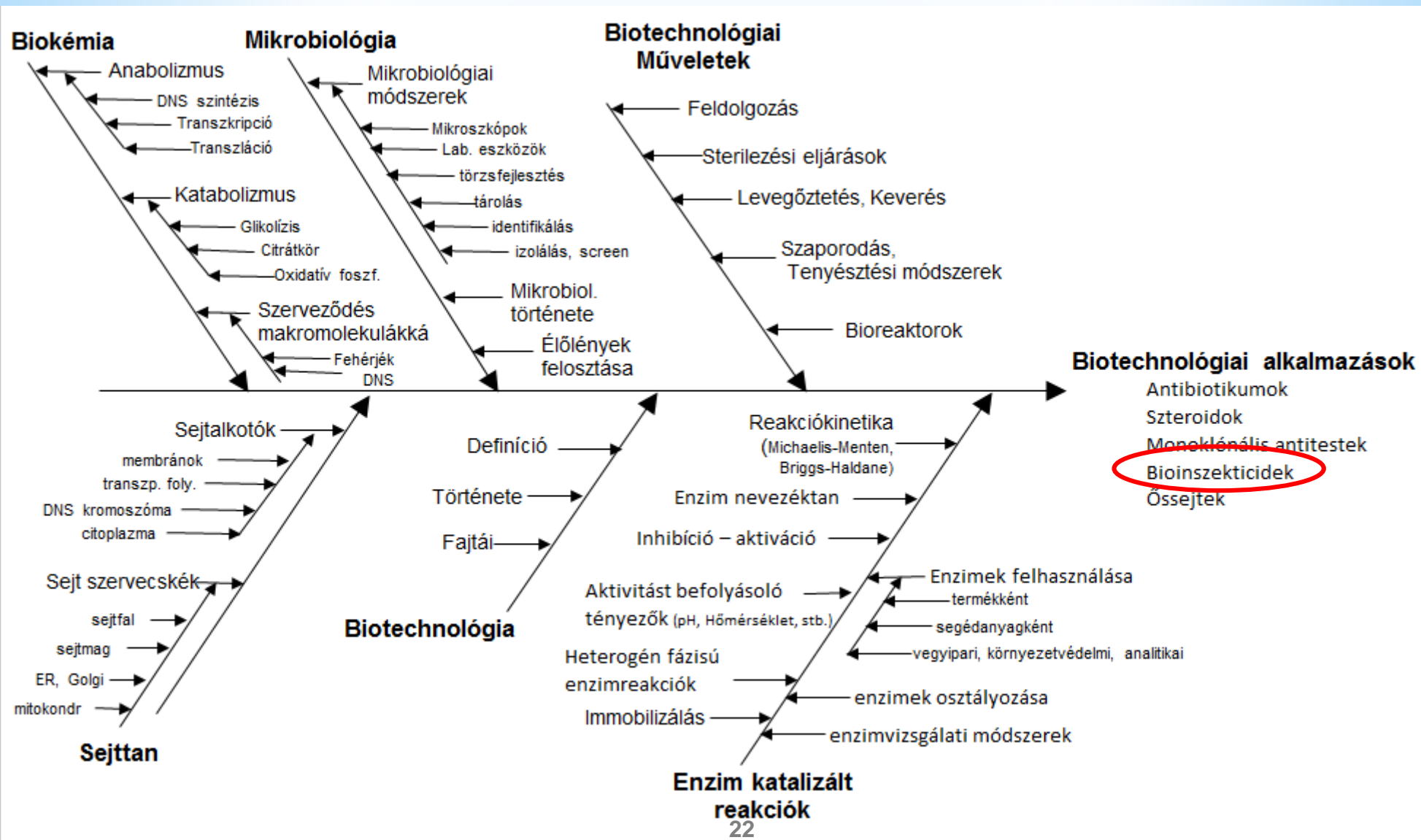
**C-forrás: glicerín**  
**E-forrás: oldallánc**



**Dehidrogénezés:**  
**C1, C4, C7, C8, C9, C16**

**Kinyerés:**  
 1) teljes extr (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)  
 2) szel. extr. (diizopropil-éter)

# Itt járunk:



# Biológiai rovarirtás – Inszekticid termelés

Felfedezése:

1901 Ishiwata Shigetane

Izolálása, leírása:

1911 Ernst Berliner

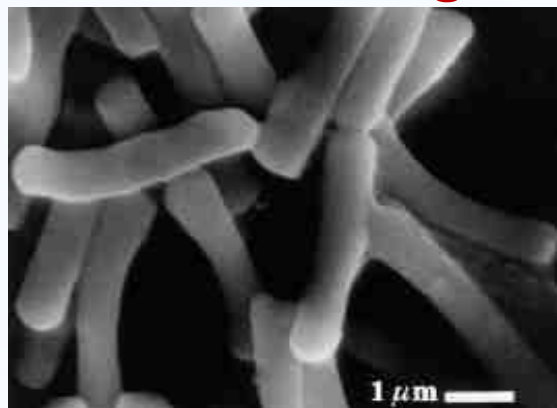
Termelésbe állítása 1958

Spórázáskor kristályos

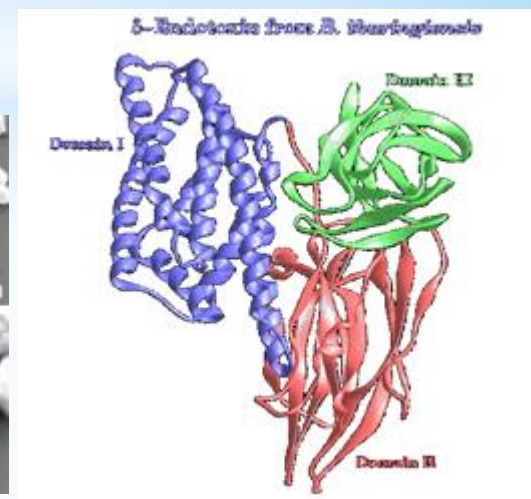
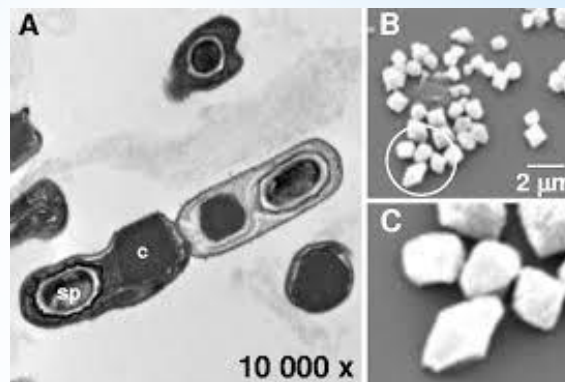
$\delta$ -endotoxint termel

(Ez a Cry protein, amelyet a cry gén kódol, plazmidon helyezkedik el.)

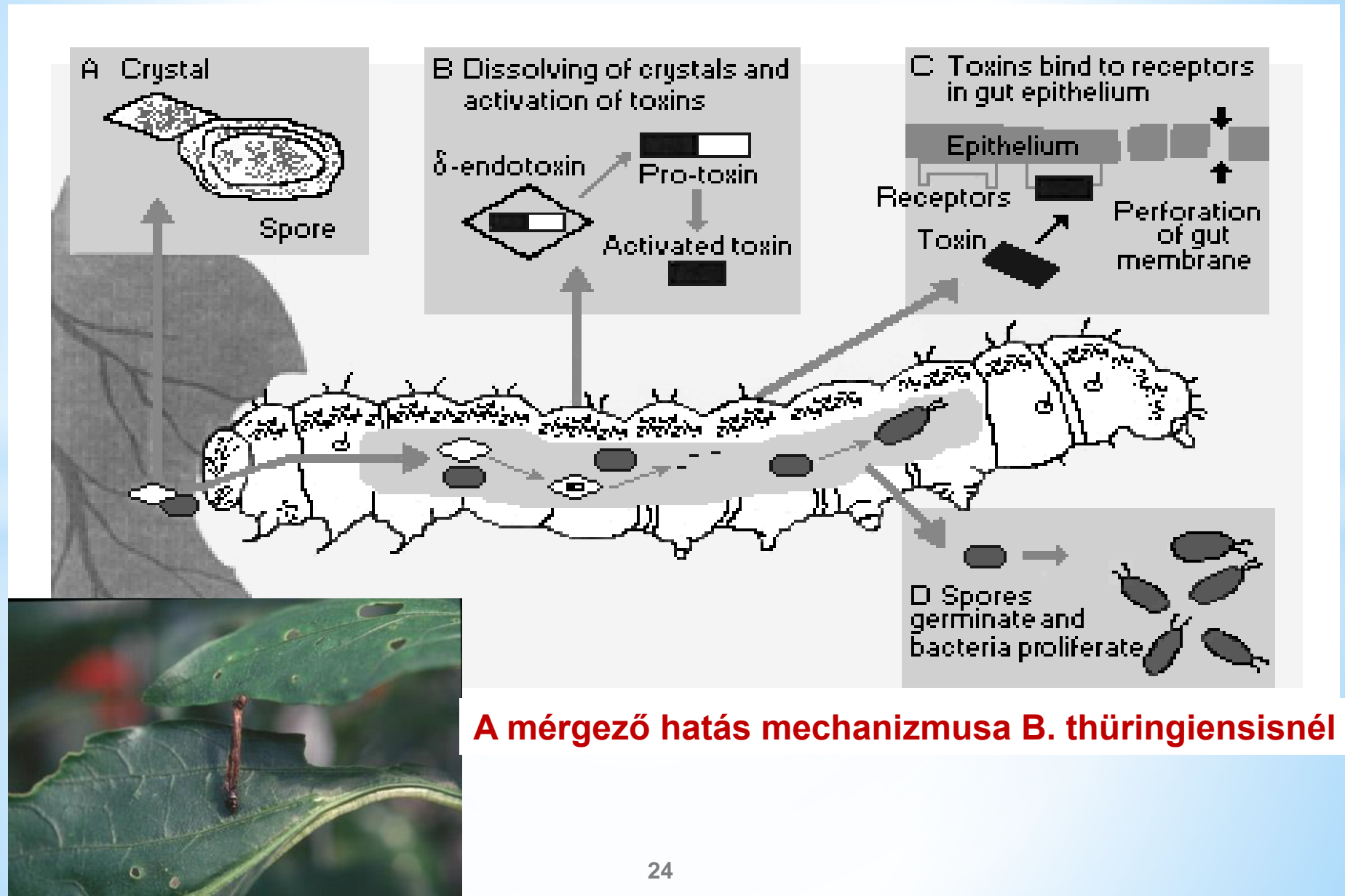
***Bacillus thuringiensis*: Spórázik és...**



**... Endotoxint termel**



# Hatásmechanizmus – *B. thuringiensis*





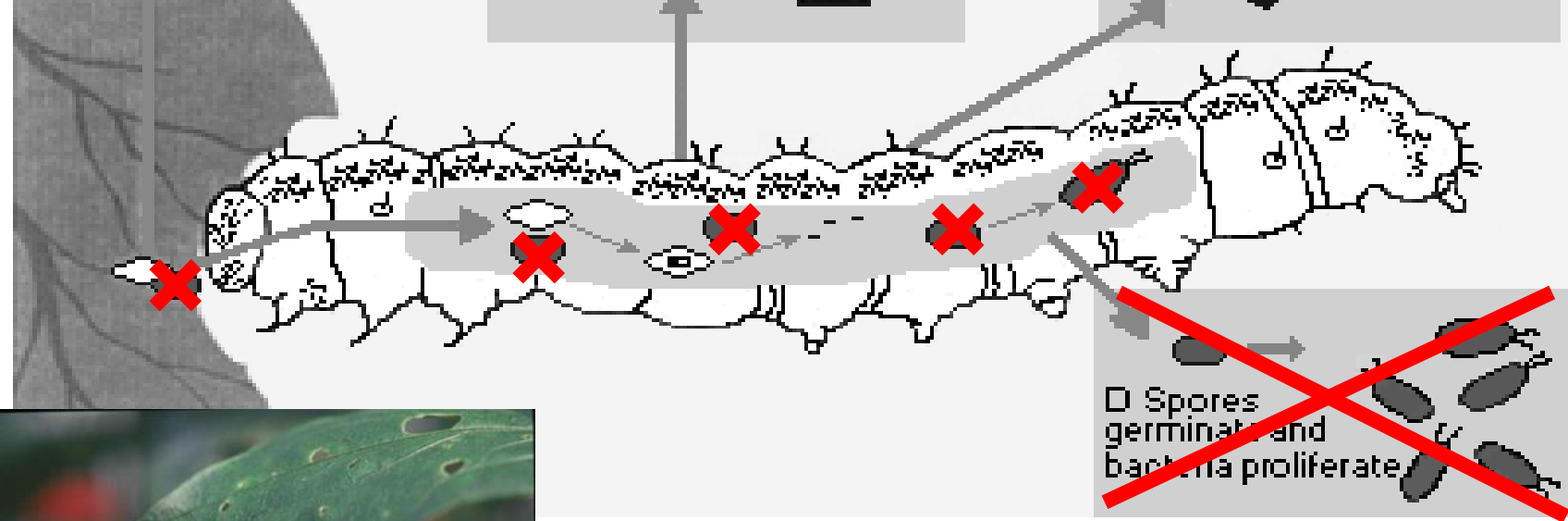
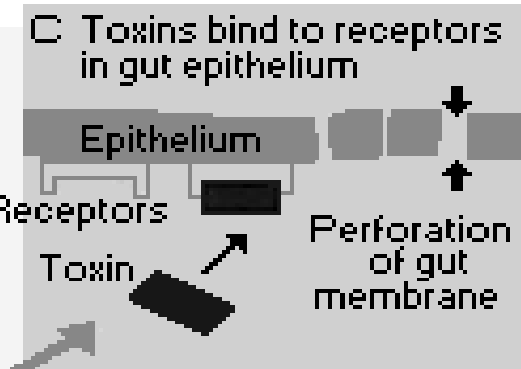
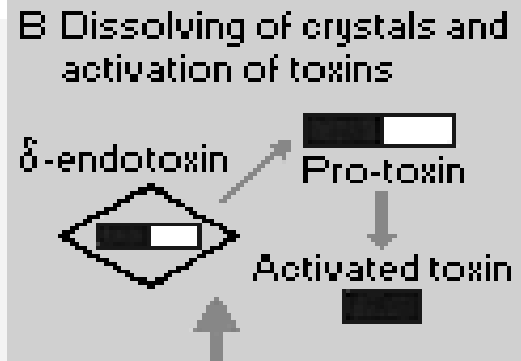
# Hatásmechanizmus – GMO növény



Bt corn



Bt Cotton



Mechanism of toxicity of Bt

# Hatásosság

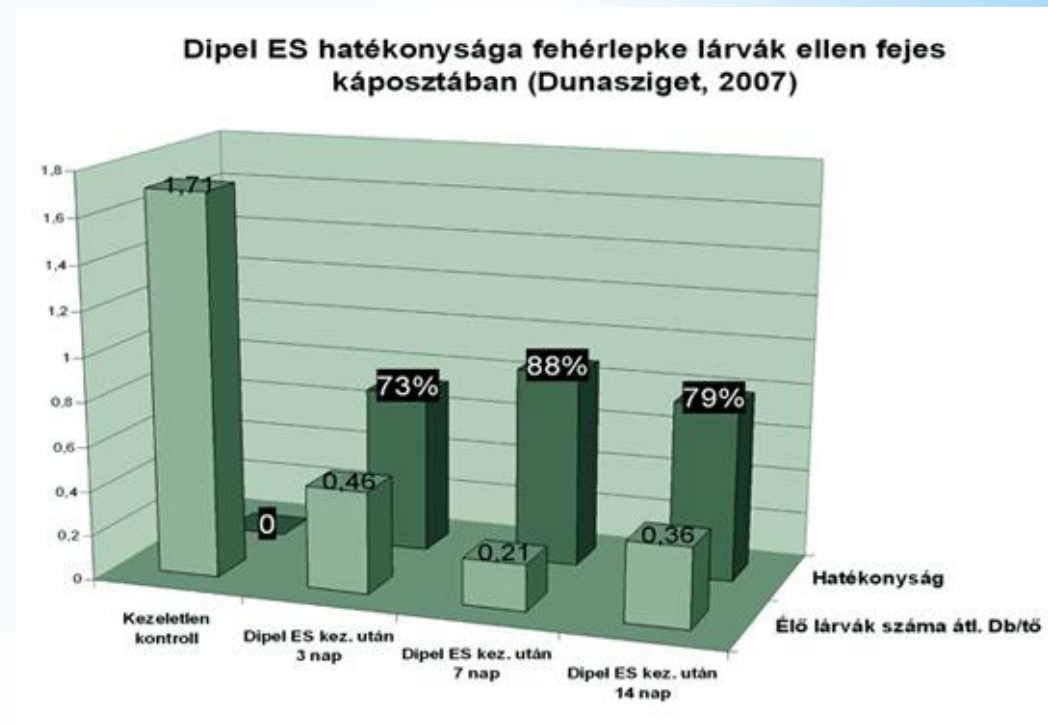
## 1. *Bacillus thuringiensis* kurstaki.

A BT kurstaki törzs csak a lepkehernyók ellen hatékony toxinokat állít elő. A legnagyobb hatékonysággal (90% fölött) a lombfogyasztó szövőlepke hernyók (pl. gyapjaslepke, amerikai fehér medvelepke, káposztalepke hernyó) ellen működik.

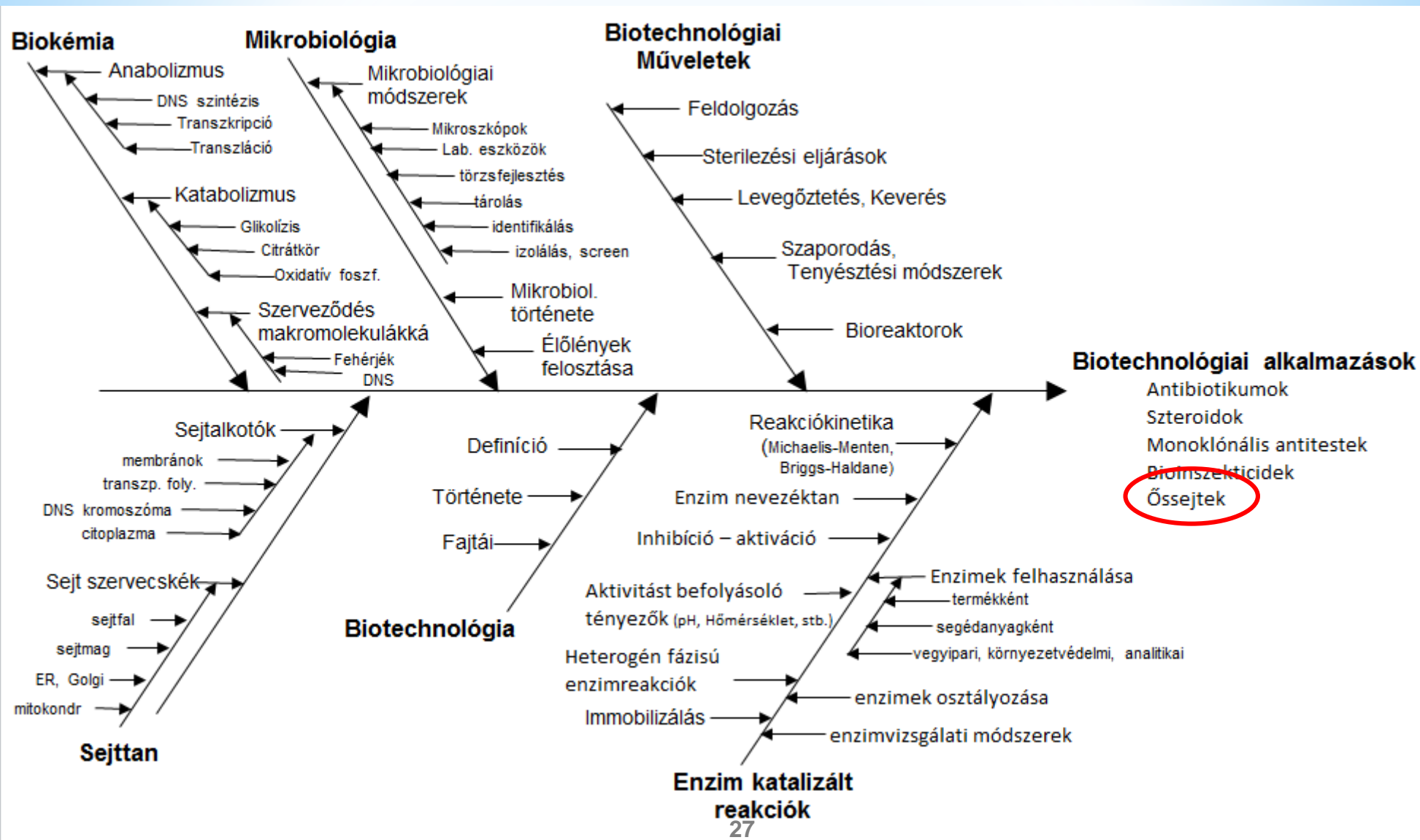
## 2. *Bacillus thuringiensis* tenebrionis.

A BT tenebrionis toxinok csak a levélbogarak, és ormányosbogarak lárváira hatnak. (burgonyabogár, szőlő levélsodró stb.)

3. *Bacillus thuringiensis* israelensis. közegészségügyi kártevő mentesítésben, a szúnyoglárvák elleni biológiai védekezésre használják.



# Itt járunk:



# Őssejtek

**Az őssejtek az összes többsejtű élőlényben megtalálható sejtek. Különlegességük, hogy sejtosztódással képesek a szervezet speciális funkciót ellátó testi sejtjeivé differenciálódni.**

**- A fejlődő embrióban az őssejtek az összes specializált magzati szövetté képesek átalakulni.**

**- A  felnőttszervezetben az őssejtek és az előd-(progenitor) sejtek a test javító mechanizmusaként szolgálnak, a specializált sejteket felfrissítve...**

**... ugyanakkor a folyamatosan megújuló szerveknek – mint a vér, bőr vagy az emésztőrendszer szövetei – normális megújulásában is közreműködnek.**





# Őssejtek

## Potenciáljuk:

Totipotens őssejtek: a megtermékenyített petesejtet és az első néhány osztódáskor létrejött sejteket (szedercsíra) tekintjük, melyek minden embrionális és extraembrionális szövetet (pl. placenta), szervet képesek létrehozni

Multipotens: már valamilyen differenciálódási irányba elkötelezettek, egy adott szövetcsoport többféle differenciálódott sejttypusát képesek létrehozni

Pluripotens őssejtek: extraembrionális szövet létrehozására már nem képesek, viszont mindhárom csíralemez sejtjeinek létrehozására még igen, sőt ivarképzésre is alkalmasak.

Unipotens őssejtek: csak egy fajta specifikus felnőtt sejtet.

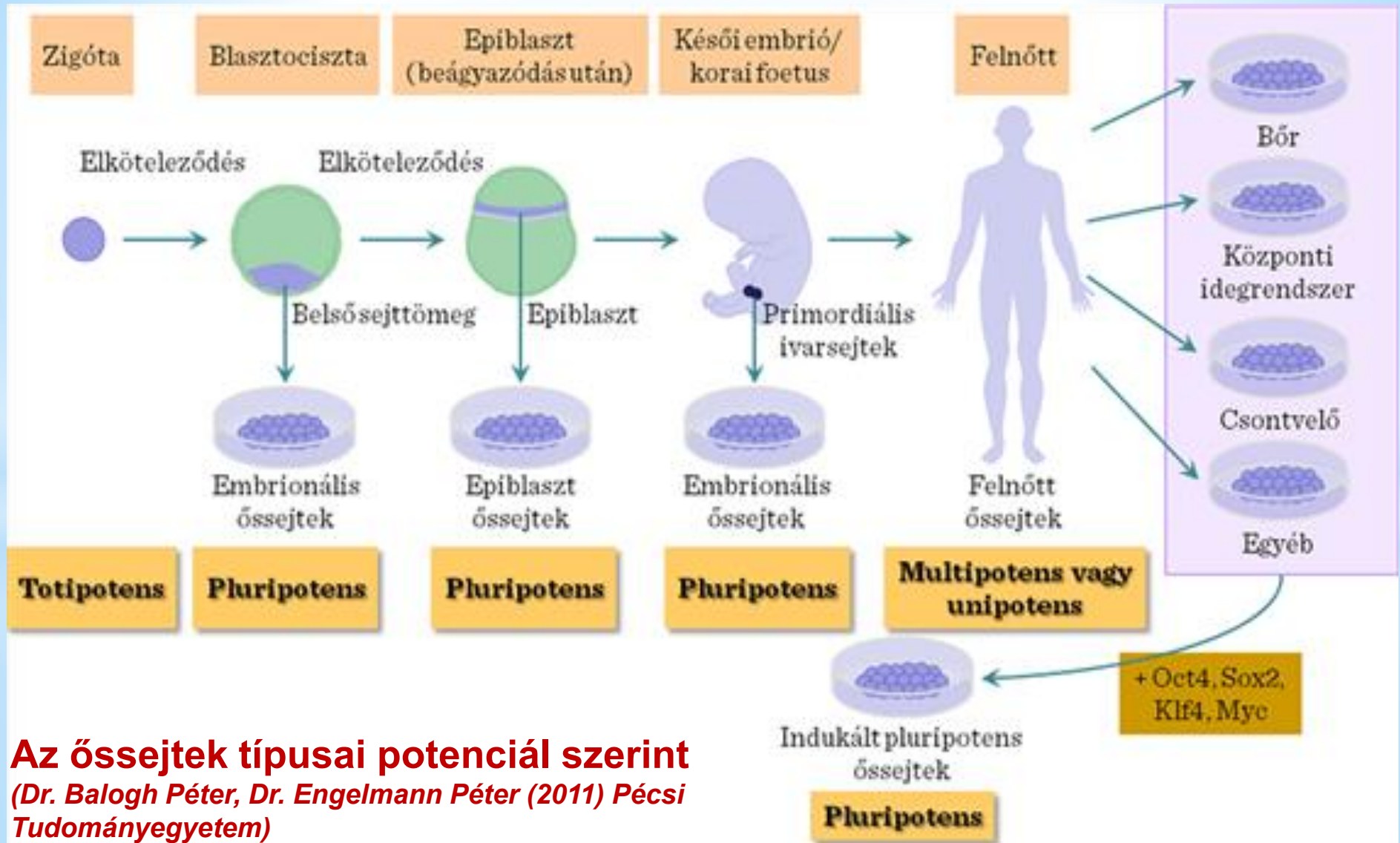
## Típusaik:

Felnőtt szöveti őssejtek (multi- vagy unipotens)

Embrionális őssejtek (pluripotens)

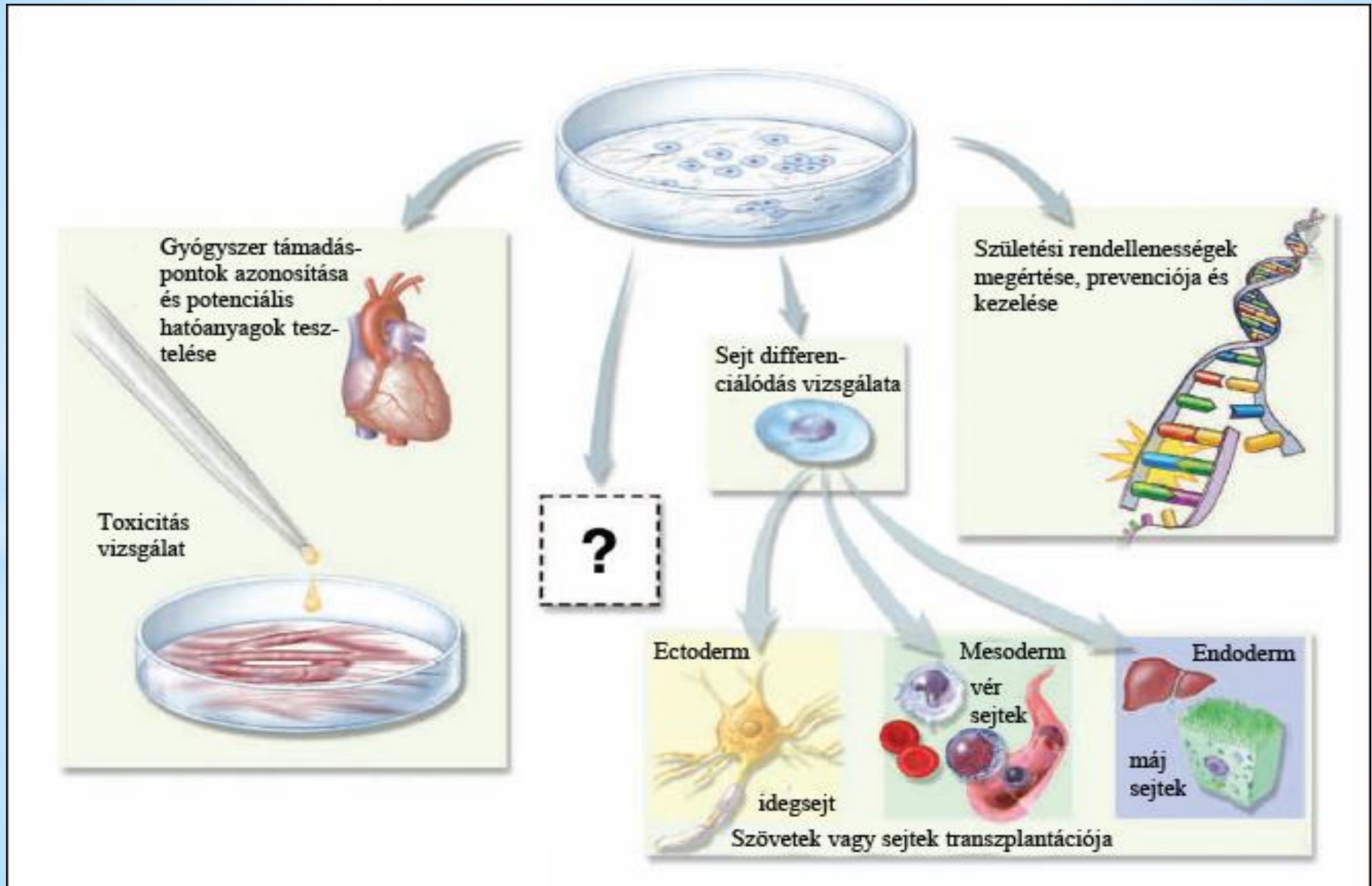
Indukált pluriopotens őssejtek felnőtt szomatikus sejtekből visszaprogramozva (iPSC)

# Őssejtek



**Az őssejtek típusai potenciál szerint**  
(Dr. Balogh Péter, Dr. Engelmann Péter (2011) Pécsi Tudományegyetem)

# Őssejtek felhasználásának területei



**Köszönöm a figyelmet, és eredményes tanulást a 2. ZH-ra!**