

BIOMÉRNÖKI MŰVELETEK ÉS FOLYAMATOK

Környezetmérnök MSc hallgatók számára
2 + 0 + 0 óra, 2 kredit
írásbeli vizsga

Előadók: Pécs Miklós, Németh Áron



TARTALOMJEGYZÉK

1. Enzimmérnöki ismeretek (Pécs Miklós)
 - az enzimműködés alapjai
 - enzimkinetika
 - enziminhibíció
 - rögzített enzimek
2. Fermentációs ismeretek (Németh Áron)
 - mikrobaszaporodás leírása
 - fermentációs technikák
 - levegőztetés
 - sterilizálás



Tananyag

Felkészülés: érdemes/célszerű előadásra járni

Diasorok (folyamatosan frissül):

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

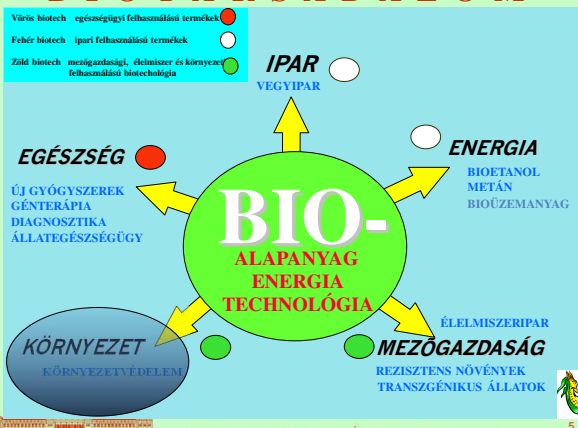
Digitális jegyzet: Biomérnöki műveletek és folyamatok

<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.



BIOTÁRSADALOM



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. Heteronén 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



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 arts industriels, *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: ε ν ζ υ μ η = élesztőben

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



A fehérjék speciális csoportjai és biológiai funkcióik

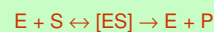
- Regulátor fehérjék
- Transzport fehérjék
- Védőfehérjék
- Toxinok
- Tartalék fehérjék
- Kontraktil fehérjék
- Szerkezeti fehérjék

ENZIMEK → REAKCIÓ KATALÍZIS



Enzimes reakciók

A reakció általános leírása: kialakul egy átmeneti 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).



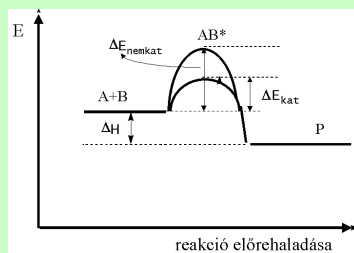
A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

1930-as évek: Eyring :

A reakció során létrejön egy magasabb energiájú átmeneti állapot - aktiválási energia kell:

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

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



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



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



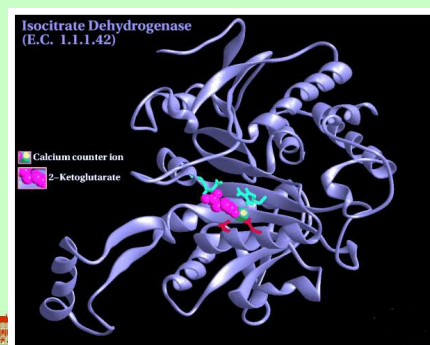
Egyszerű és enzimes katalízis összehasonlítása

Reakció	Katalizátor	Aktiválási energia kJ/mol	k _{rel} 25 °C
H ₂ O ₂ → H ₂ O + 1/2O ₂	-	75	1
	I ⁻¹	56,5	2,1.10 ³
	kataláz	26,8	3,5.10 ⁸
Kazein + nH ₂ O → (n+1)peptid	H ⁺	86	1
	tripszin	50	2,1.10 ⁶
Szacharóz + H ₂ O → glükóz + fruktóz	H ⁺	107	1
	invertáz	46	5,6.10 ¹⁰
Linolénsav + O ₂ → linolénsavperoxid	-	150-270	1
	Cu ²⁺	30-50	~10 ²
	lipoxigenáz	16,7	~10 ⁷



Aktív centrum

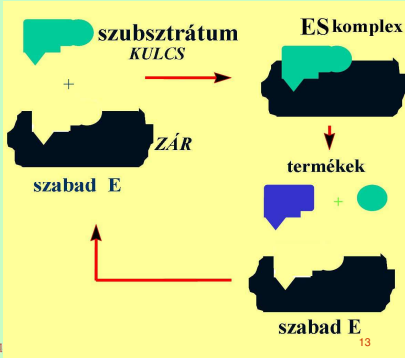
Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a fehérje molekulán



Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

Hermann Emil Fischer (1852-1919, a 2. Nobel díjas)
Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.

Sima enzimreakció

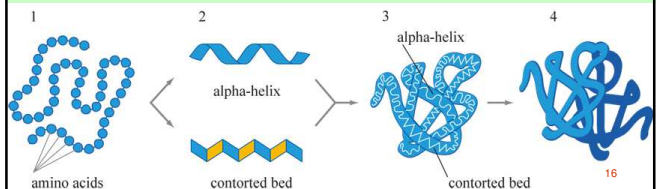


BME AI 13

Hogyan alakul ki az aktív felület?

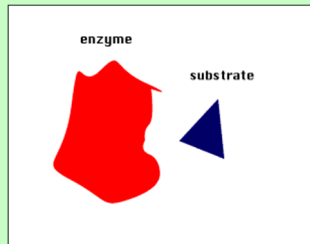
Az összecsavarodott fehérjelánc(ok) alakítják ki a térbeli (3D) szerkezetet (harmadlagos, negyedleges szerkezet). Az aminosavak oldalláncai lehetnek:

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



Az enzimkatalízisnél fellépő hatások

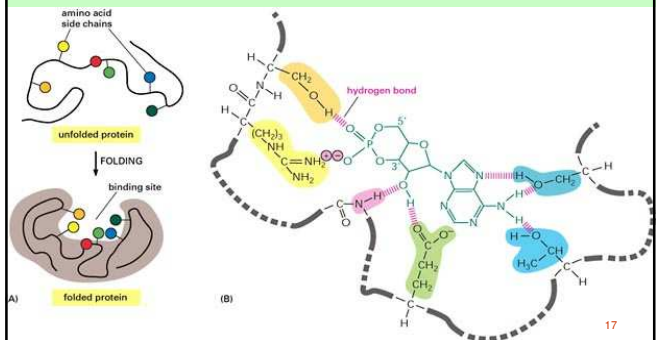
Indukált illeszkedés (Koshland, 1958): ha a szubsztrát kellő közelségben megközelíti az enzim molekulát (proximitás), akkor a fehérje szerkezete megváltozik, hozzáigazodik a szubsztráthoz („ráharap”).



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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 14

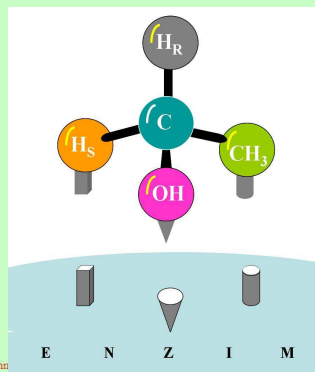
Aktív centrum kialakulása



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 Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az enzimek tulajdonságai

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

Minden enzimreakció 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
régio-specifitás
reakció-specifitás

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

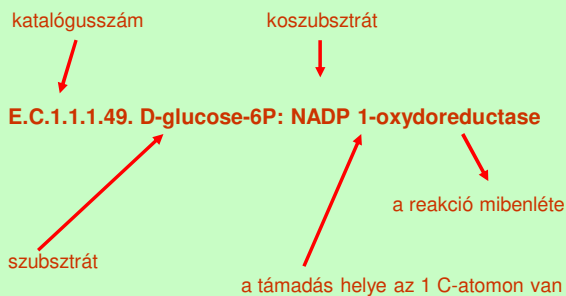
18

Az enzimes katalízis előnyei

- Nagyobb reakciósebesség: akár 10^6 - 10^{12} x gyorsabb
- Enyhébb reakciókörülmények (hőmérséklet, pH)
- Nagyobb specificitás(ok), mint a kémiában
- Regulálhatóság



Enzim nevezéktan



További reakciópartnerek

HOLOENZIM

APOENZIM
Inaktív fehérje

KOFAKTOR

FÉMION
Mg, Ca, Zn,
Fe, Cu, Mo

KOENZIM

Prosztetikus csoport
stabil kovalens kötés.
FAD(H₂), Hem,
Piridoxal-P(B₆)

Kosubsztrát
Sztöchiometrikan
fogy, regenerálni kell
NAD(H), ATP



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

Enzimek elnevezése

1. Szubsztrát szerint: $\text{urea} + \text{víz} \rightleftharpoons \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$
→ **ureáz** **S-név + áz**
2. Szubsztrát és reakció után: $\text{EtOH} \rightarrow \text{AcO} \rightarrow \text{AcOH}$
→ **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

