

VEBI BIOMÉRŐKI MŰVELETEK

Műszaki menedzser BSc hallgatók számára
 3 + 1 + 0 óra, részvizsga

Előadó: dr. Pécs Miklós egyetemi docens
 Elérhetőség: F épület, FE lépcsőház földszint 1
 (463-) 40-31
pecs@eik.bme.hu

Írásos segédanyag található a:
<http://oktatas.ch.bme.hu>
 /oktatas /konyvek /mezgaz /vebimanager
 címen




1

KÖVETELMÉNYEK

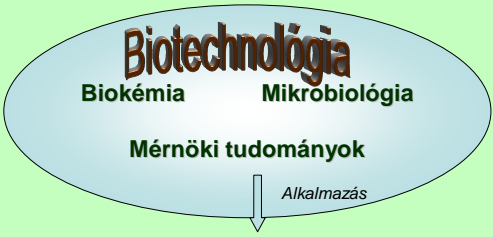
ÍRÁSBELI RÉSZVIZSGA

amelyet a vegyipari műveletek részvizsgával együtt kell megírni.
 A végső jegy három részjegy átlagolásával alakul ki:


- Vegyipari műveletek számítási ZH
- Vegyipari műveletek vizsga ZH
- Biomérnöki műveletek vizsga ZH



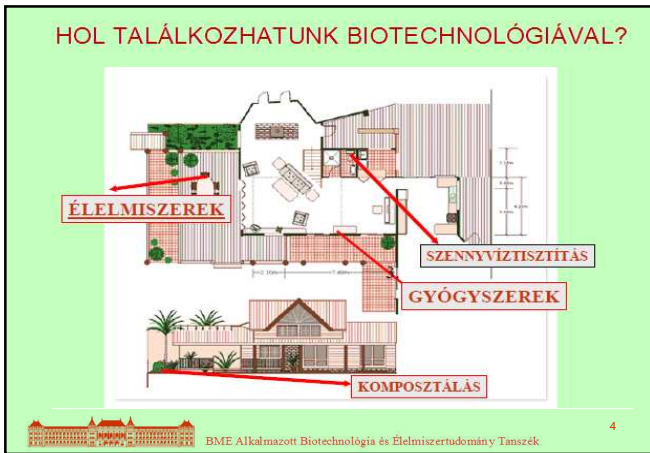
2



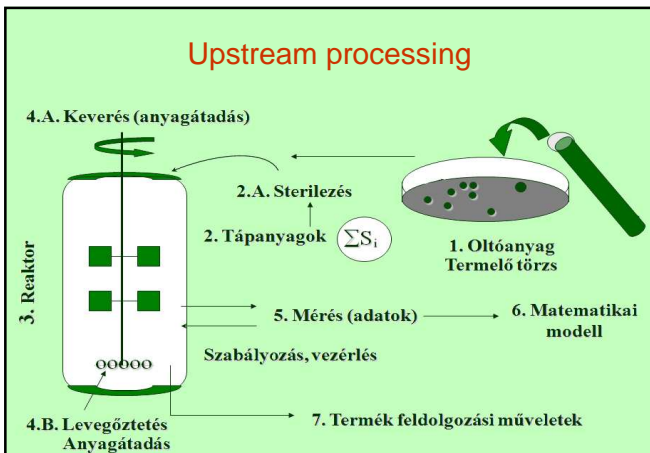
A biotechnológia a természettudományok és a műszaki tudományok integrálását jelenti, annak érdekében, hogy organizmusokat, sejteket, vagy azok részeit, illetve molekula analógjait alkalmazzuk a termelésben vagy szolgáltatásban (EFB, 1988).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék







DOWNSTREAM PROCESSING

1. Sejtek elválasztása → szilárd-folyadék elválasztás
(1/b Sejtfeltárás: csak akkor, ha a termék intracelluláris)
2. Koncentráció lépés(ek) → a nagyobb mennyiségben jelen lévő szennyezéseket (elsősorban a vizet) választjuk el.
3. Tisztítás → a termék és a szennyező anyagok elválasztása
4. Vég tisztítás (polishing) → a terméket a kereskedelmi forgalomba hozás előírásainak megfelelő tisztaságig tisztítják.



BIOTECHNOLÓGIAI FOLYAMATOK KINETIKÁJA

Kinetika: a folyamatok időbeli lefolyását, azaz sebességét leíró tudomány (lásd: fizika).

A biotechnológiában:

1. Enzimkinetika → az enzimek által katalizált kémiai reakciók sebességével, a befolyásoló tényezőkkel foglalkozik.
2. A mikrobák szaporodását leíró kinetika → a sejtek szaporodását leíró törvényszerűségek.
3. Termékképződési kinetika → azt vizsgálja, hogy egy sejtenyészet milyen sebességgel termel egy számunkra fontos biokémiai anyagot, terméket.

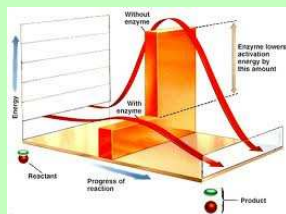


ENZIMKINETIKA

Enzimek = biokatalizátorok

Katalizátor:

- az aktiválási energia csökkentésével meggyorsítja kémiai reakciót.
- Csak termodinamikailag lehetséges reakciót gyorsít
- Az egyensúlyt nem befolyásolja
- Kis mennyiségben is hatékony, mert a reakció után változatlan formába visszaalakul



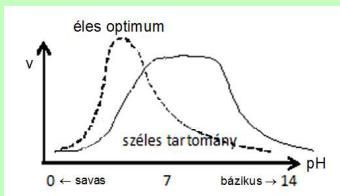
Anyaguk: fehérje, bonyolult szerkezet (harmad-, negyedleges)



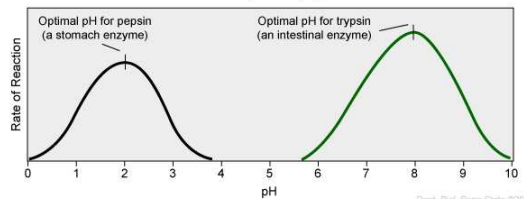
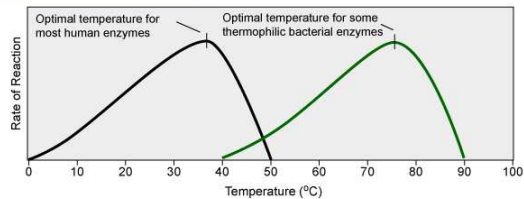
A pH hatása az enzimaktivitásra

Az aktív centrumban a felületi töltésmintázat komplementer a szubsztrátéval. A pH-változás hatására ez megváltozik – az enzim rosszabbul köti a szubsztrátot – lassul a reakció. Szélsőséges pH-nál (erősen savas vagy lúgos közegben) tönkremegy (denaturálódik) a fehérje, nulla a reakciósebesség.

Van egy optimális pH érték/tartomány.



Optimal Temperature and pH



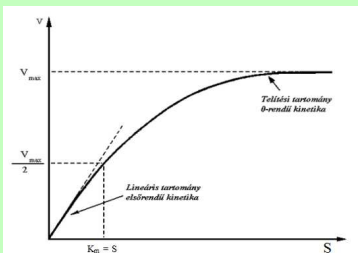
A szubsztrátkoncentráció hatása

Ha több a szubsztrát → nagyobb valószínűséggel találkoznak az enzimmal → több alakul át → nagyobb reakciósebesség.

De van ennek egy felső határa → telítés

$$v = \frac{V_{max} (S)}{K_m + (S)}$$

Michaelis-Menten egyenlet

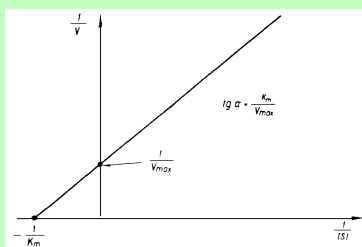


A szubsztrátkoncentráció hatása

A hiperbolikus függvényt nehéz kezelni, ezért lineárizálják (Lineweaver-Burk ábrázolás)

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{v_{max}}$$

A tengelymetszetekből és a meredekségből a paraméterek kiszámíthatók.

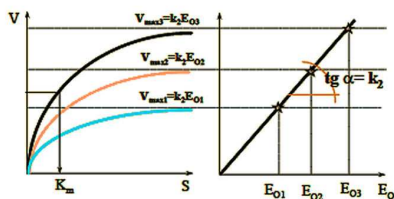


Enzim koncentráció hatása

Lineáris kapcsolat → nx több enzim → nx nagyobb v_{max}

Ha nagy szubsztrátkoncentrációnál mérjük a reakciósebességet, akkor a maximális reakciósebesség (v_{max}) arányos lesz az enzimkoncentrációval:

$$V = V_{max} = k_2 (E)_t$$



ENZIMMODULÁTOROK

Az enzim reakció sebességét befolyásoló kémiai anyagok.

Lehetnek:

Inhibitorok: reakciósebességet csökkentő, gátló anyagok

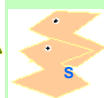
Aktivátorok: reakciósebességet növelő anyagok

Az inhibitorok hatásmechanizmusa eltérő lehet:



← nem kompetitív inhibitor (az enzim felületén máshol kötődik)

← kompetitív inhibitor (a szubsztrát helyére kötődik)



Kompetitív inhibitorok

Ezek a molekulák szerkezetükben hasonlítanak a szubsztráthoz, és képesek annak helyére bekötődni.

Ezt a vegyületcsoportot **kompetitív inhibitoroknak** nevezzük, mivel az I és S egymással verseng az enzim aktív centrumához történő kapcsolódásban. Ezen belül lehet:

Alternatív szubsztrát: az enzim reakció végbemegey, alternatív termék keletkezik

Valódi (dead end) inhibitor: a szubsztráthoz hasonló szerkezetű molekula, ami bekötődik az enzim aktív centrumába, de a reakció nem játszódik le. Lehet: - reverzibilis, - irreverzibilis

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
22

Kompetitív inhibitorok

Competitive Inhibition

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
23

Kompetitív inhibitorok

A gyógyszerek nagy része kompetitív inhibitoroként hat:

<chem>Nc1ccc(cc1)C(=O)O</chem>	<chem>Nc1ccc(cc1)S(=O)(=O)NR</chem>	<chem>CC(N)C(=O)O</chem>	<chem>C1CCNC1=O</chem>
p-amino- benzoesav	szulfonamid	alanin	cikloszerin
(metabolit)	(gyógyszer)	(metabolit)	(gyógyszer)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
24

A kompetitív inhibíció kinetikája

A sebesség megadásánál figyelembe kell venni az inhibitor koncentrációt (I) és az inhibíciós állandót (K_i) is.

$$v_i = \frac{v_{max}(S)}{K_M \left[\frac{K_I + (I)}{K_I} \right] + (S)}$$

V_{max} értéke nem változik, a K_m növekszik

25

A kompetitív inhibíció kinetikája

A Lineweaver-Burk féle linearizált ábrázolásban az egyenes egyenlete:

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{v_{max}} \left[\frac{K_I + (I)}{K_I} \right] \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{v_{max}}$$

$1/V_{max}$ értéke nem változik (közös metszéspont), az $1/K_m$ csökken

26

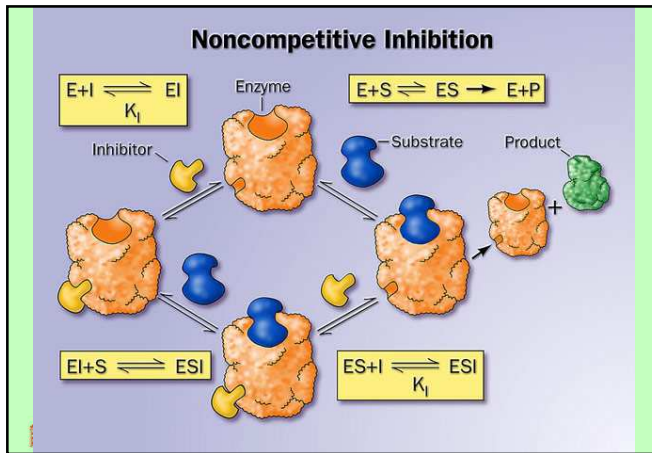
Nem-kompetitív inhibíció

Az inhibitor molekula nem hasonlít a szubsztrátra, és nem az aktív centrumba kötődik. Az enzim felületén valahol máshol kapcsolódik, de ezzel nem befolyásolja a szubsztrát bekötődését. Létrejöhethet ESI hármass komplex is.

A második lépést, a termék kialakulását és kilépését gátolja. Megváltoztatja a fehérjemolekula-láncok térszerkezetét → megváltozik az aktív centrum szerkezete → a szubsztrát nem tud elreagálni → a reakció lelassul vagy leáll.

„Mérgezi” az enzimet, mintha kevesebb enzim lenne jelen.

27



A nem-kompetitív inhibíció kinetikája

A sebesség megadásánál itt is be kell építeni az inhibitor koncentrációt (I) és az inhibíciós állandót (K_i) is.

$$v_i = \frac{\left[\frac{K_i}{K_i + I} \right] v_{max}(S)}{K_M + (S)}$$

v_{max} értéke az inhibitor koncentráció növelésével csökken, a K_m nem változik

The graph shows the relationship between reaction velocity v_i and substrate concentration S . Two curves are plotted: one for no inhibition ($i=0$) and one for noncompetitive inhibition ($i>0$). The maximum velocity v_{max} is lower in the presence of the inhibitor, while the Michaelis constant K_m remains unchanged.

29

A Lineweaver-Burk féle linearizált ábrázolásban az egyenes egyenlete:

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{\left[\frac{K_i}{K_i + I} \right] v_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{\left[\frac{K_i}{K_i + I} \right] v_{max}}$$

The Lineweaver-Burk plot shows the linearized relationship between $1/v_i$ and $1/S$. Two lines are plotted for $i=0$ and $i>0$. Both lines intersect at a common point on the x-axis, which is $-1/K_m$. The y-intercept increases as the inhibitor concentration increases.

A $-1/K_m$ értéke nem változik (közös metszéspont), az $1/v_{max}$ növekszik

30
