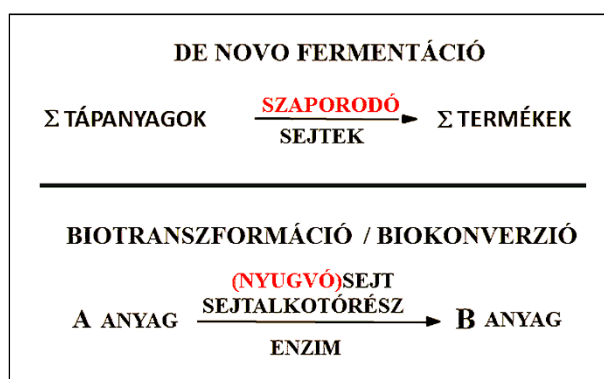


1. BEVEZETÉS

Biotermék technológia? Mi is ez a tárgy? Mivel foglalkozik? A cím szerint a biotermékek (=biotechnológiai úton előállított termékek) gyártástechnológiájával foglalkozik. Tehát technológiai tárgy.

Először is, mi az a biotechnológiai út? Sokféle definíció született rá, de egyre tágítani kellett a lefedett kört. Végül is egy eléggé általános és sokféleképpen értelmezhető meghatározás született: Sejt és molekuláris szintű folyamatok alkalmazása problémák megoldására vagy termékek előállítására. Technológiai szempontból ezt leszűkíthetjük annyira, hogy olyan technológia, amelyben mikroorganizmusokat, szöveti sejteket, vagy azok valamely alkotórészét (pl. enzimek) használunk fel. Ez jól illeszkedik a Biomérnöki műveleteknél használt felosztáshoz:

Ha ez már megvan, akkor nézzük, milyenek azok a **biotermékek**. Ezeket is többféle-

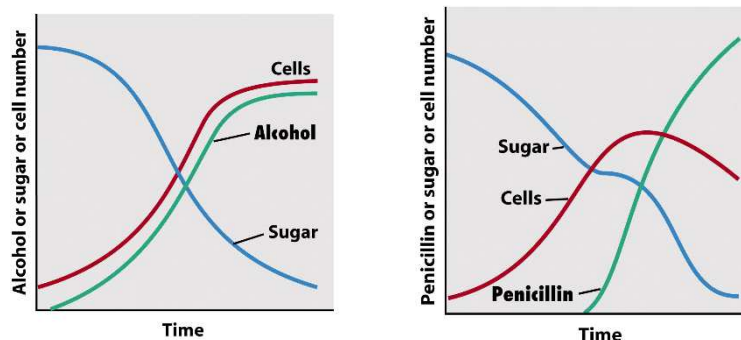


1. ábra Biotechnológiai gyártási technológiák

képpen csoportosíthatjuk. Képződésük, bioszintézisük szerint lehetnek:

- Sejtek, sejtömeg: pékélesztő, egysejt-fehérje, starter kultúrák
- Primer metabolitok: etanol, szerves savak, aminosavak, nukleotidok
- Szekunder metabolitok: antibiotikumok, növényi hormonok, pigmentek, alkaloidok
- Polimer sejtalkotók: enzimek, poliszacharidok, nukleinsavak
- Rekombináns fehérjék: hormonok, ellenanyagok, enzimek

A képződés módja sok tekintetben meghatározza a technológiát:



2. ábra Primer és szekunder metabolit fermentációk lefutása

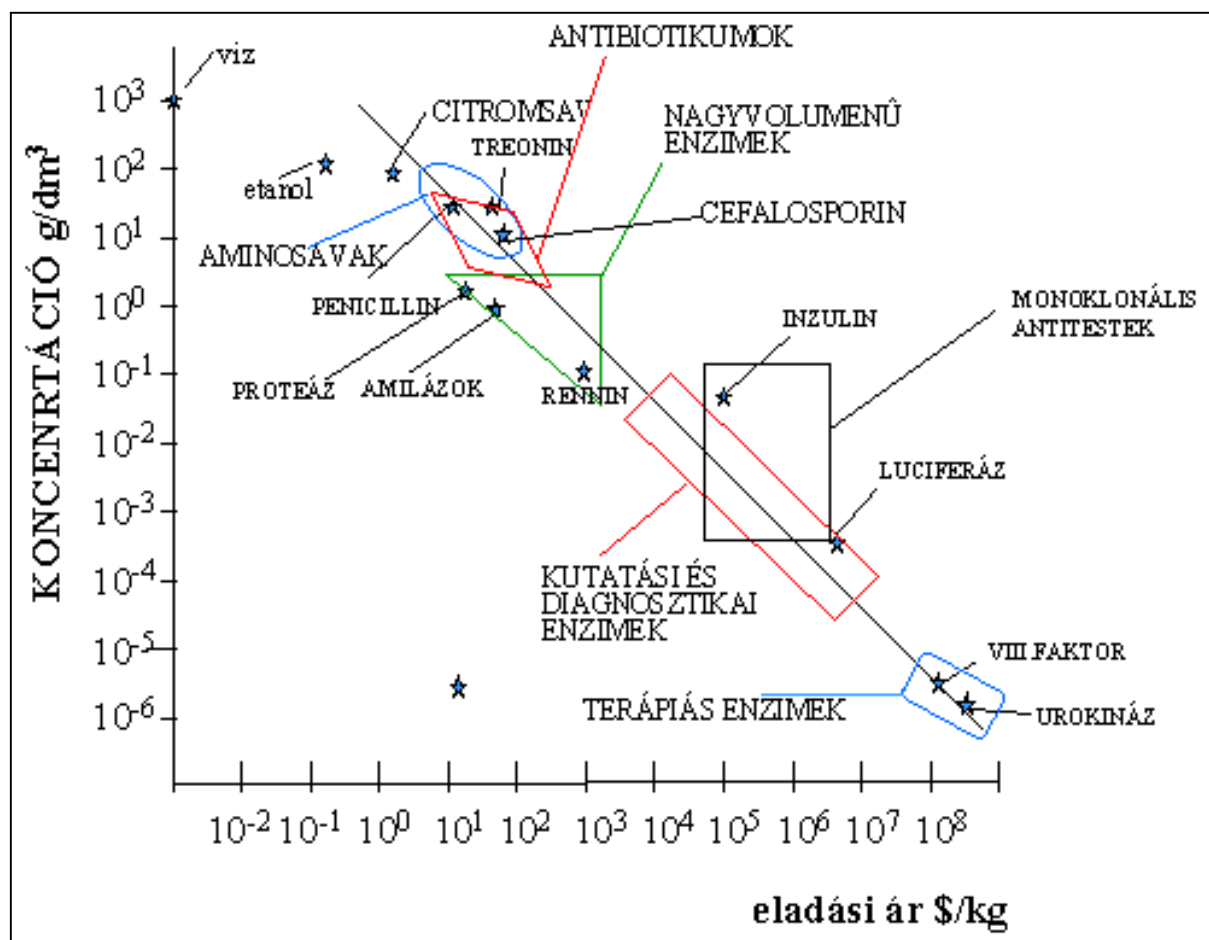
Különbséget tehetünk az egyes termékek között a gyártási volumen szerint:

- Nagy tömegben előállított (bulk) anyagok: élelmiszeripari, vegyipari alapanyagok, a fehér és a zöld biotechnológia termékei. Jellemzői:
 - versenypiac, kis haszon

- az innováció a költségek lefaragására irányul
- Finomvegyszerek, új gyógyszerek, diagnosztikumok, kis mennyiségben termelik, de magas áron. Elsősorban a piros biotechnológia termékei.
 - innovatív termékek,
 - kisebb mennyiség
 - nagyobb profit

A termelés léptéke meghatározza a technológiában használható műveleteket és berendezéseket. Pl. elektrodialízist vagy vizes kétfázisú extrakciót még nem lehet tonna/órás kapacitással alkalmazni.

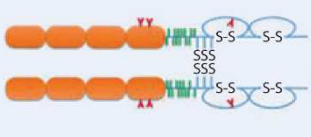
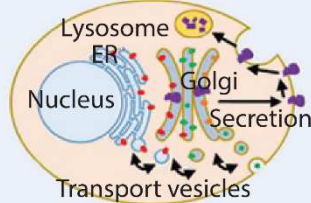


A biotechnológiai termékekre is érvényes a termelési volumen és az ár közötti fordított arányosság. Ezt az összefüggést logaritmikus ábrázolásban vizsgálva közelítőleg egyenest kapunk.



3. ábra A termelés és az ár kapcsolata biotechnológiai termékeknél

Mit nézünk meg az egyes termék(csoport)oknál? Nem elsősorban a szűken vett technológiát (táptalaj, hőmérséklet, pH, idő, fordulatszám, hígítási sebesség), hanem a teljes folyamatot, a termék tulajdonságait, a termelő törzseket, a fermentációt (upstream), és a feldolgozást (downstream processing). Ezzel a sorrenddel követjük a technológia kifejlesztésének menetét (4. ábra).

A termék felhasználása, funkciói általában a legelső alfejezethez, a termék leírásához tartoznak. Ha viszont a termék továbbfejlesztéséről lesz szó, újabb módosítások újabb alkalmazásokat tesznek lehetővé, akkor ez az adott fejezet végére kerül.

Protein		<p>Molecule design</p> <p>N-linked glycan recognition sequence</p> <p>C-terminal peptide</p> <p>Polysialylation acceptor</p> <p>Linker sequence</p>
Cells		<p>Host selection</p> <p>Strain engineering</p> <p>Glycosyltransferases</p> <p>Glycosidases</p>
Upstream		<p>Growth conditions</p> <p>Temperature, pH, CO₂, NH₄</p> <p>Additives</p> <p>Inhibitors</p> <p>Precursors</p>
Downstream		<p>Chromatography</p> <p>Anion exchange</p> <p>Hydrophobic interaction</p> <p>Hydroxyapatite</p>

4. ábra A fermentációs technológia fejlesztés fázisai

1.1.1. A céltermék molekula alapos megismerése.

Szerkezetét, fizikai, kémiai tulajdonságait mind ismerni kell, nehogy a fejlesztés egy későbbi fázisában derüljön ki egy összeférhetlenség vagy bomlékonyság. Sok paramétert érdemes mérésrel ellenőrizni, nem mindig lehet a szakirodalomra támaszkodni.

Adalék: például a tejsav forráspontjára a legtöbb táblázatban 112 °C-ot találunk. Az csak egy kis lábjegyzetből derül ki, hogy ez 14 Hgmm-en mért adat, valójában atmoszférikus nyomáson ez 218 °C.

Termékünk pontos ismerete különösen fontos a rekombináns fehérjéknél. Nem lehet megúszni a hosszadalmas és drága vizsgálatokat:

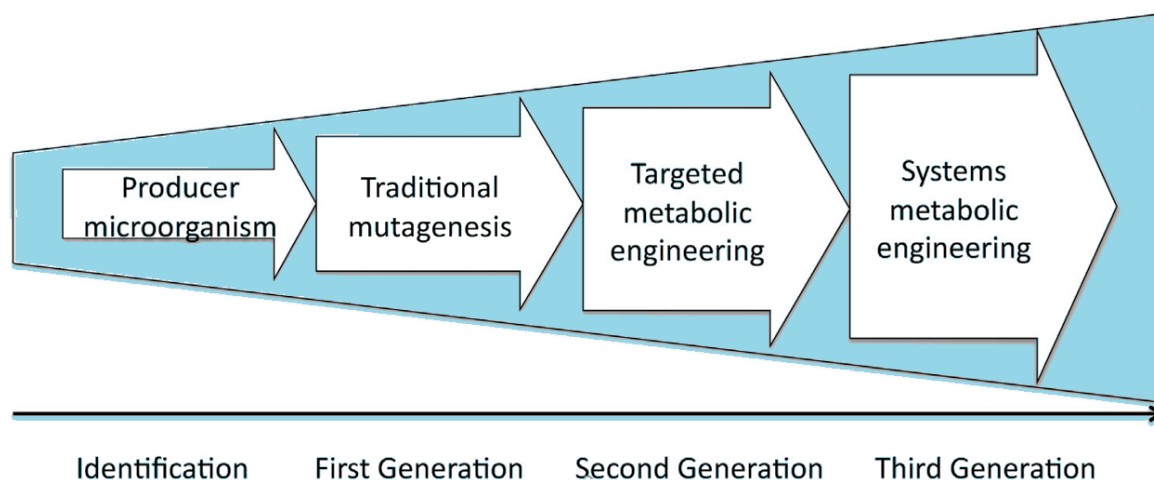
- Az aminosav sorrend elemzés (MS – MS)
- A glikozilációs mintázat elemzése (MS – MS), izoformák előfordulása
- A másodlagos/harmadlagos szerkezet felderítése (legalább a diszulfid hidak), (Röntgen-kristallográfia)
- Domén-szerkezet, természetes érési/aktiválási útvonal
- Aktiváló/inaktiváló hatások, bomlékonyság

Ide tartozik még a megfelelő érzékenységű analitika kidolgozása a fő és melléktermékekre. Ezzel elkerülhetjük az olyan kellemetlen meglepetést, hogy már a tisztítás optimalizálása után derül ki, hogy a termékünk nem egységes, hanem több komponensből áll.

1.1.2. A megfelelő termelő szervezet kiválasztása/létrehozása.

A természetben élő mikrobák a legritkább esetben termelnek olyan mennyiségű terméket, hogy az azonnal üzemíthető legyen. Ezzel együtt az első lépés a törzs keresése, a screening. Természetből, illetve törzsgyűjteményekből összeszedett törzseket sorozatban vizsgálunk abból a szempontból, hogy képesek-e – ha kis mértékben is – az általunk kívánt termelésre, átalakításra. Ez történetileg is a legelső módszer (~100 éves) a törzsmunkában, az így kiválasztott törzseket majdnem mindig tovább fejlesztik, de a törzsiszolálás ma is hasznos kutatómunka.

Adalék: az italcsomagolásban nagyon előnyös a PET palack használata: átlátszó, inert, nyomásálló (ezért szénsavas italokat is lehet benne tárolni). Ugyanakkor éppen az inertsege miatt a természetben nem bomlik le, évszázadokig szennyezi a környezetet. Japán kutatók sziszifuszi screening munkával végül találtak egy mikroorganizmust, amely képes a PET anyagát bontani. Azonosították az enzimet, el is nevezték PETáz-nak. Ez egy lassan növekvő mikroba kis aktivitású enzime, de ez jó alap, amin el lehet indulni, a további törzsjavítási lépésekkel valószínűleg megoldható lesz a PETáz nagybani termelése.



5. ábra A törzsfeljesztési módszerek fejlődése

A kiválasztott törzs genetikai továbbfejlesztésének első generációja az indukált mutáció + szelekció volt (~70-80 éve alkalmazzák). Az anyagcsereutak térképének ismeretében egyes reakciólépések és szabályozási mechanizmusok eliminálásával törekednek a célvegyület túltermelésére. Ez a technika elvesz a genetikai tulajdonságokból, nem ad hozzá új elemeket. Auxotróf és rezisztens mutánsok izolálásával éri el a megnövekedett termékképzést.

A második generációt (~50 éve) szokták génmanipulációnak nevezni, a létrejött élőlény GMO (genetikailag manipulált organizmus). Eszköze a rekombináns DNS technika, a kiválasztott gazdaszervezetbe vektorok segítségével viszik be az idegen fehérjék termeléséhez és annak szabályozásához szükséges géneket.

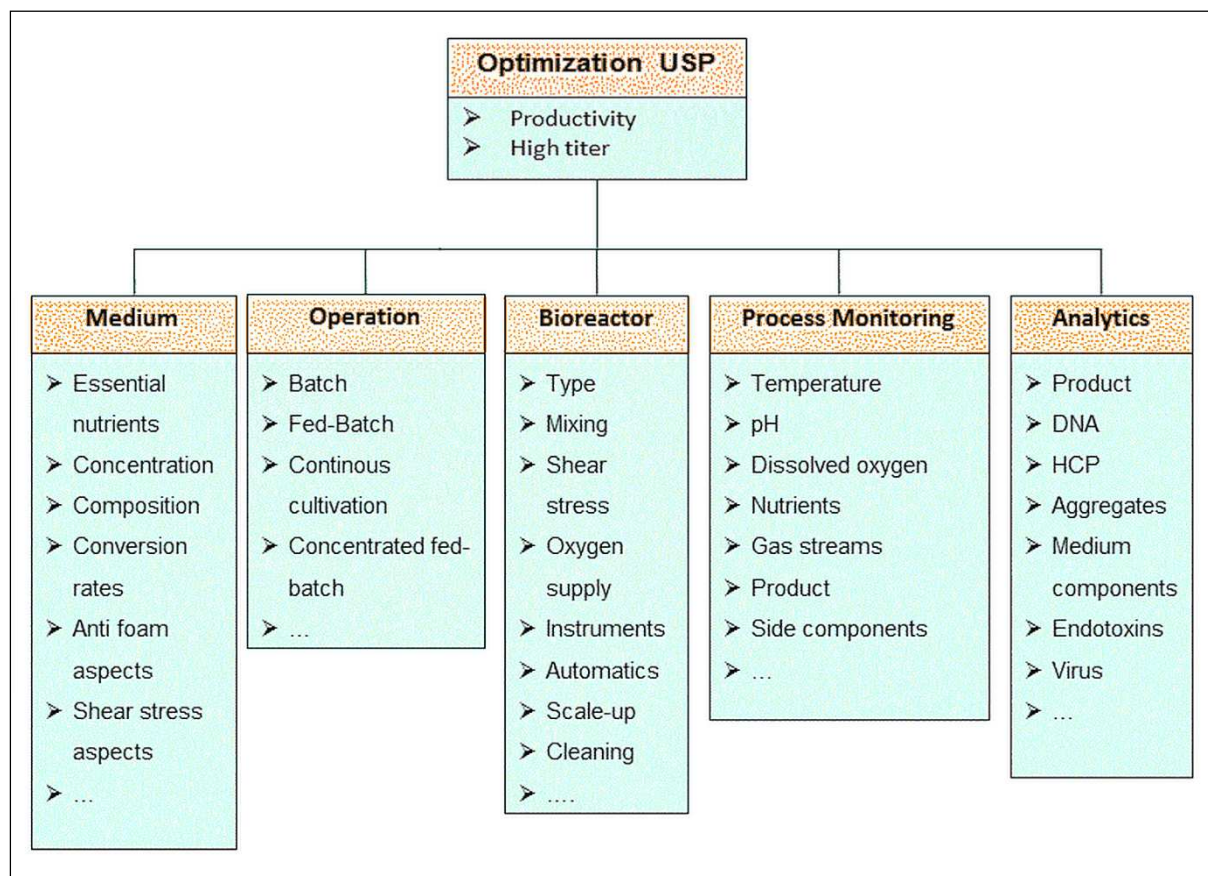
Harmadik generációnak tekintik a rendszerszintű biokémiai vizsgálatot/beavatkozást. Felderítik és átalakítják az érintett anyagcsere-folyamatok fluxusát, azonosítják és megszüntetik a szűk keresztmetszeteket („-omikák”: metabolomika, genomika, proteomika).

1.1.3. Upstream optimalálás

A harmadik szakaszban a kialakított nagy termelőképességű törzshöz ki kell dolgozni a megfelelő fermentációs technikát. Ennek tárgyalása során nem elsősorban az optimális technológiai paraméterek (T, pH, t, V, stb.) bemagolásáról szól, hanem olyan általános elvek bemutatásáról, amelyek segítenek eligazodni új, még nem ismert technológiák esetében is.

Példa: ha az optimális pH a kérdés, akkor jó becslés az élesztők és fonalas gombák esetén az 5-6 közötti érték. Baktériumoknál nem hibázunk nagyot, ha 6,5 – 7,5 közötti értéket adunk meg. Érdemes megjegyezni a kivételeket: a tejsavbaktériumok lesavanyítják a fermentlevet akár 4,5-re is, de itt már saját magukat is gátolják – célszerű ezeknél is a pH-t ennél magasabb értéken szabályozni.

A fermentációs folyamat két célfüggvénye a végső (vágási) termékkoncentráció és a produktivitás (termék/idő.térfogat). A kettő gyakran ellentmondásba kerül egymással. A szakaszos fermentációval, különösen a rátáplálással nagy termékkoncentráció érhető el, de alacsony a produktivitás. A folytonos fermentáció viszont kisebb koncentrációt eredményez, de jóval nagyobb a produktivitás.



6. ábra Az upstream optimálás részfeladatai

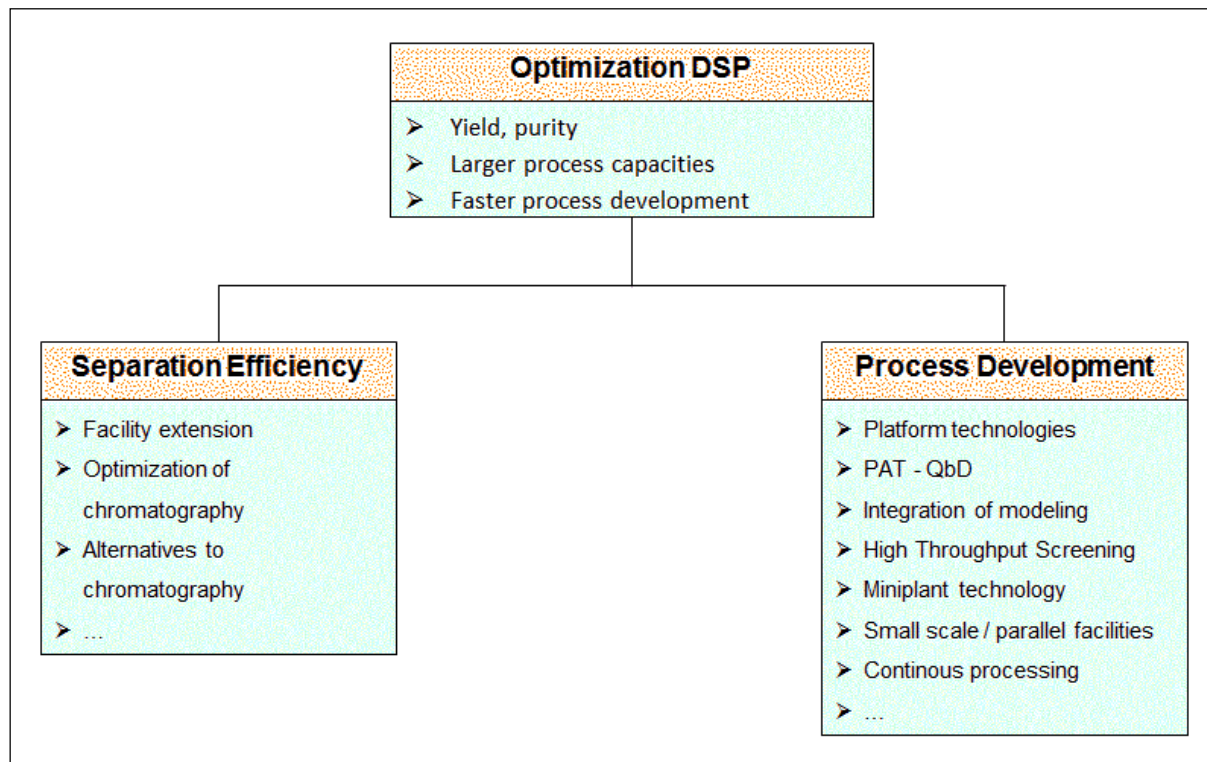
1.1.4. Downstream optimálás

A fermentációs technológia fejlesztésétől nem választható el élesen a negyedik fázis, a termékizolálás (downstream processing) optimálása.

A termékizolálás egy művelet sor, aminek során a kívánt anyag egyre nagyobb tisztaságú lesz, végül megfelel a felhasználó, a piac igényeinek. A műveleteknek nincs köbevésített sorrendje, de az esetek nagy részében a következő sorrendet alkalmazzák:

1. Szilárd-folyadék elválasztás: a fermentálé folyadékfázisától különítik el a sejtömeget, és/vagy a táptalaj szilárd szemcséit, esetleg a kikristályosodott terméket.
- (1/b) Sejtfeltárás. Erre a műveletre csak akkor van szükség, ha a kívánt anyag a sejteken belül található (intracelluláris). Ekkor a sejtek falát és membránját el kell roncsolni ahhoz, hogy a termék molekulák kiszabaduljanak, oldatba kerüljenek.
2. Koncentráció/capturing: a legnagyobb mennyiségű idegen anyagokat, azaz elsősorban a vizet távolítják el, általában fázisváltással. Fehérjéknél ez affinkromatográfiával történik.

3. Tisztítás: a termék és a mellette lévő szennyező anyagok fokozatos elválasztása
4. Végtisztítás: a terméket a kereskedelmi forgalomba hozás előírásainak megfelelő tisztaságig tisztítják.

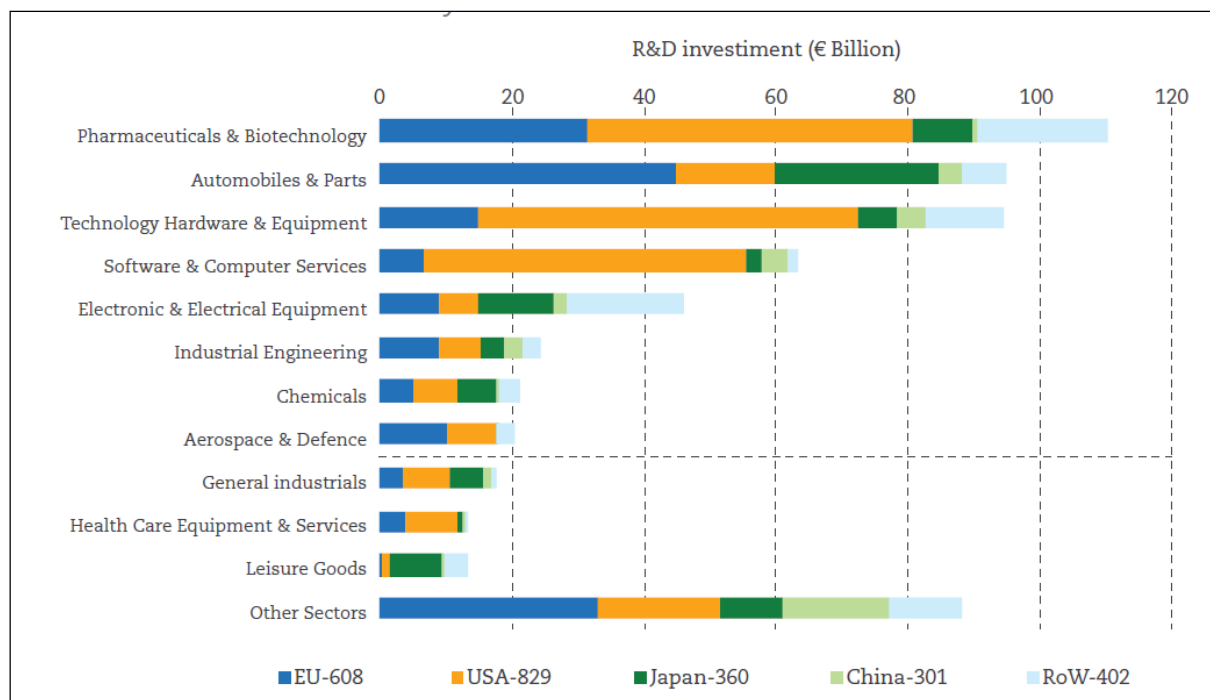


7. ábra A downstream optimalálás részterületei

A termékizolálás műveleteivel a „Biológiai iparok elválasztási műveletei” tárgy foglalkozik részletesen.

1.2. Gazdasági háttér

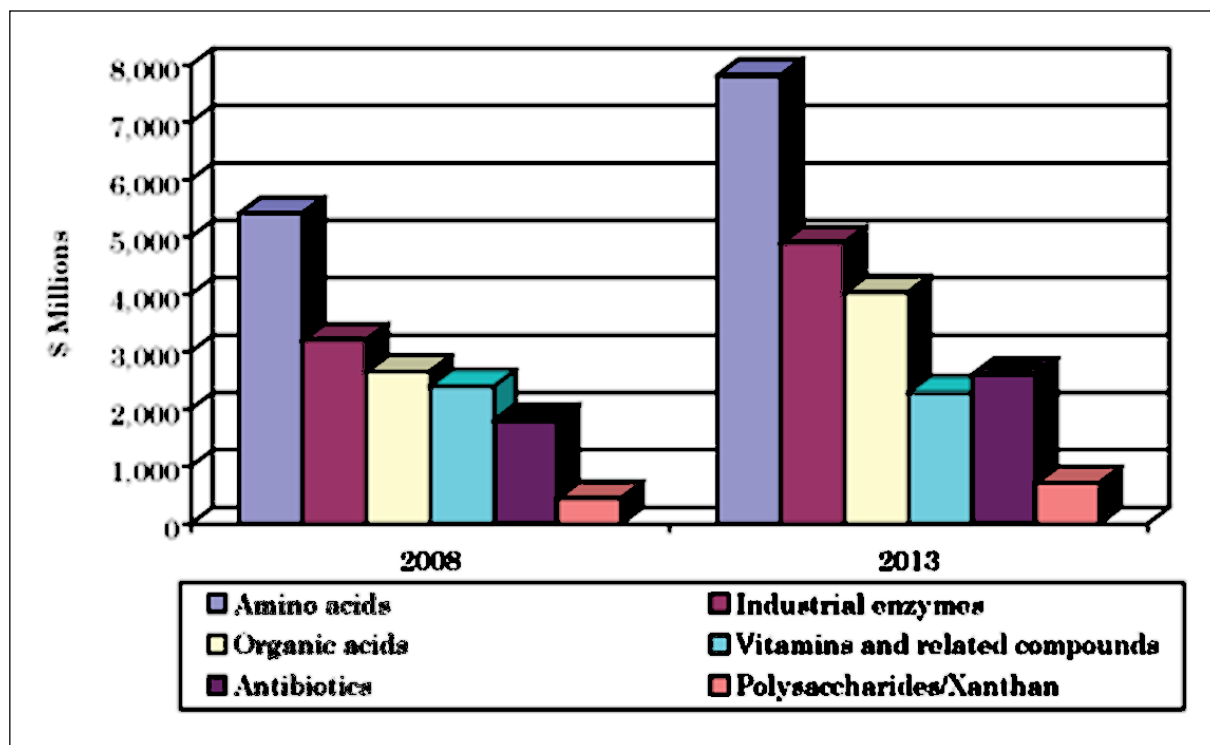
A következőkben azt vizsgáljuk, hogy gazdaságilag mennyire jövedelmező a biotechnológia termékeinek gyártásával foglalkozni. A gazdasági terület jövőjének fontos mérőszáma, hogy mennyi pénzt fordítanak kutatás-fejlesztésre. Tehát nem a termelő kapacitások bővítésére új beruházásokkal, hanem innovációra. Az ábrán látható, hogy a gyógyszer- és biotechnológiai iparban a legnagyobbak a ráfordítások, meghaladják az autóipar és az IT technológia fejlesztésére szánt összeget is.



8. ábra K+F beruházások a különböző iparágakban

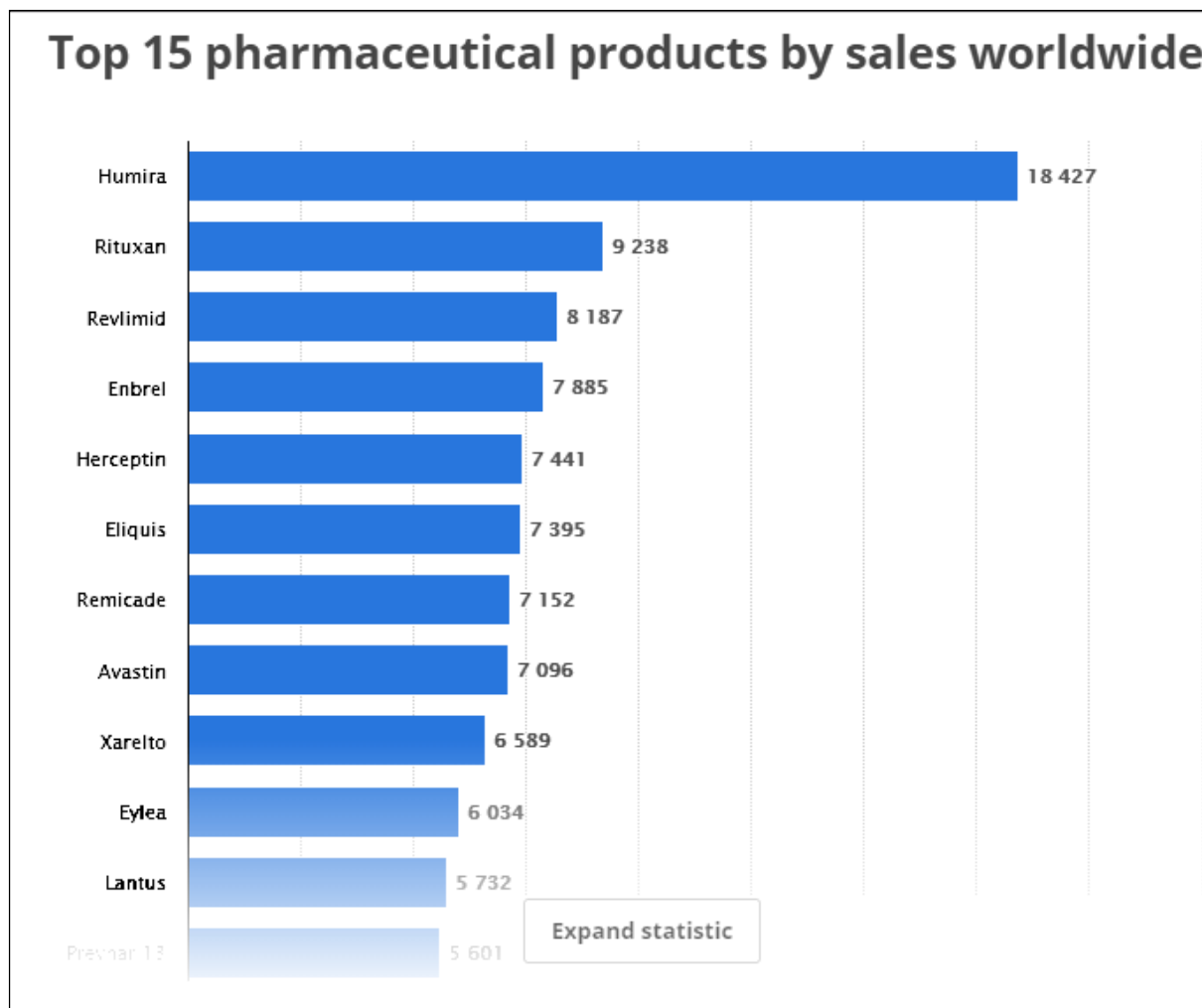
Gazdasági téren érdemes megkülönböztetni az olcsó tömegtermékeket (bulk products) és az innovatív, szabadalommal védett, nagy hasznot hozó termékeket.

A bulk termékek piacán erős verseny van, a profitráták alacsonyak. Ezzel együtt a piac évről évre bővül. A termék önköltségében döntő tényező a tápoldat költsége, elsősorban a szénforrás. Ennek ára az egész világon közel állandó, de az ázsiai országok olcsó munkaereje is érvényesül a versenyképességben



9. ábra A bulk termékek piacának növekedése

A 9. ábrán látható, hogy minden kategóriában nőtt a termelés, kivéve a vitaminokat. Ez utóbbi csökkenés arra vezethető vissza, hogy a kétezres évek első évtizedében tetőzött a „vitaminőrület”, az a trend, hogy az egészség szempontjából előnyös, ha az emberek a normál vitamin szükségletük többszörösét viszik be naponta. Ez azóta elmúlt, mint minden divat, a vitamin igény és ezzel a termelés normalizálódott.

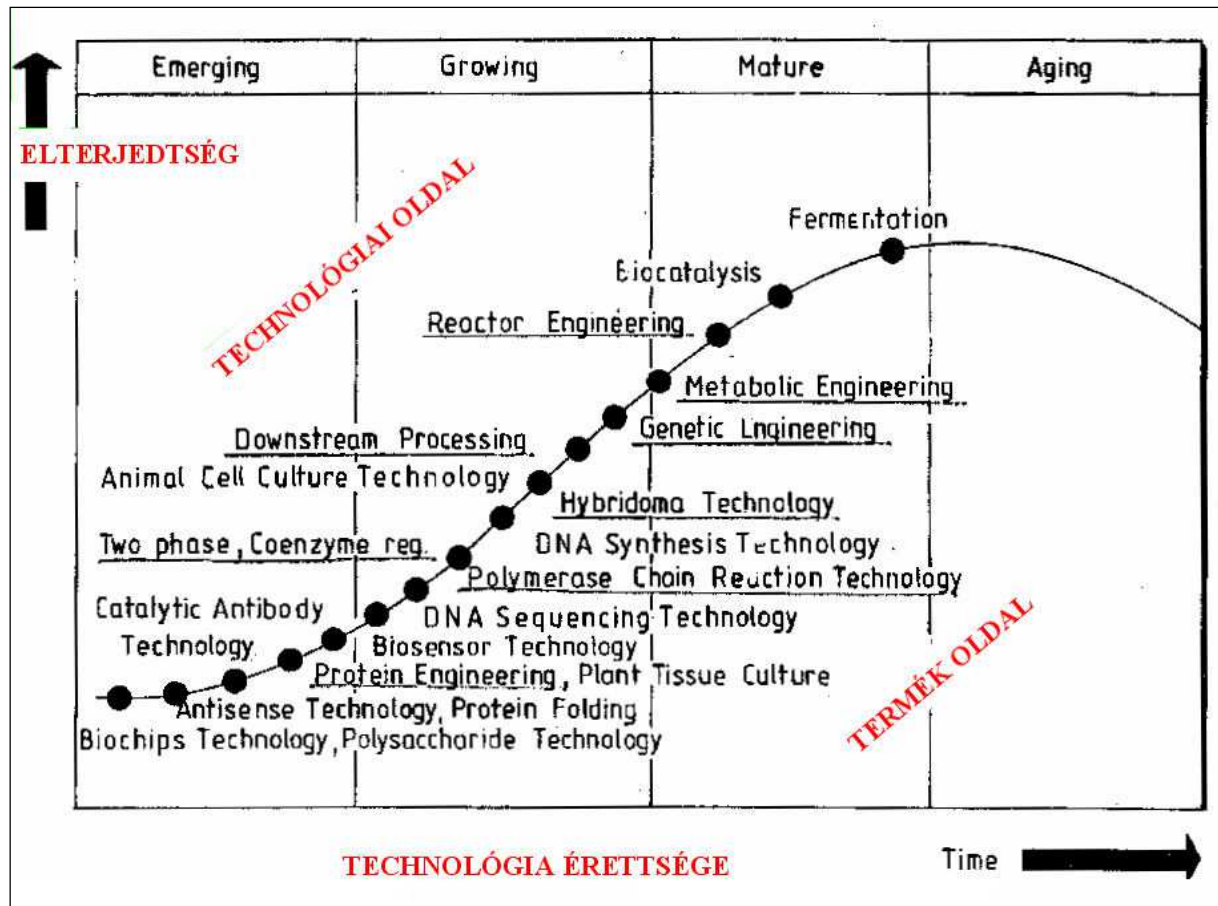


10. ábra A gyógyszeripar legnagyobb árbevételű termékei

Az igazi blockbuster-ek, az óriási bevételt és profitot hozó termékek a gyógyszerek, azon belül a biotechnológiai úton gyártott gyógyszerek, még szűkebben a monoklonális antitestek.

A top10-be csak két kis molekulájú anyag fért be, az Eliquis és a Xarelto, ezek véralvadásgátló szerek. A Lantus hosszú hatásidejű módosított inzulin, a többi gyógyszer monoklonális antitest.

A termékek bemutatásánál azt is figyelembe kell venni, hogy az adott anyag, vagy technológia életciklusának melyik szakaszában van. Erre a területre is jellemző, hogy minden újdonság idővel érett és elterjedt megoldás lesz, ami azután fokozatosan elavul, és átadja a helyét újabb, előnyösebb fejlesztéseknek.



11. ábra A biotechnológia részterületeinek életciklus-görbéje