

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: érdekes/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 Tanszék



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 enzimreakciók kinetikai leírása

2.4. Enzimmoduláció, bevezetés, áttekintés

2.5. Többszubsztrátos reakciók

2.6. Egyéb hatások az enzimek aktivitására

2.7. Heteronán fázisú enzimreakciók 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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

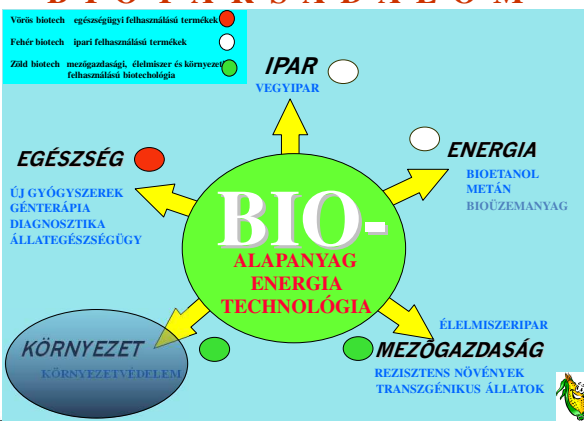
TARTALOMJEGYZÉK

1. Enzimmérnöki ismeretek (Pécs Miklós)
 - az enzimműködés alapjai
 - enzimkinetika
 - enzimhibíció
 - rögzített enzimek

2. Fermentációs ismeretek (Németh Áron)
 - mikrobaszaporodás leírása
 - fermentációs technikák
 - levegőztetés
 - sterilizálás



BIOTÁRSADALOM



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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

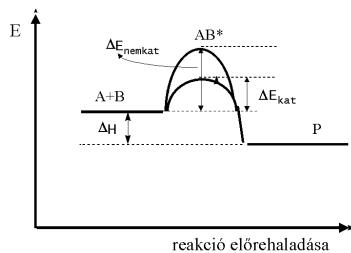
7

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Egyszerű és enzim 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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

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

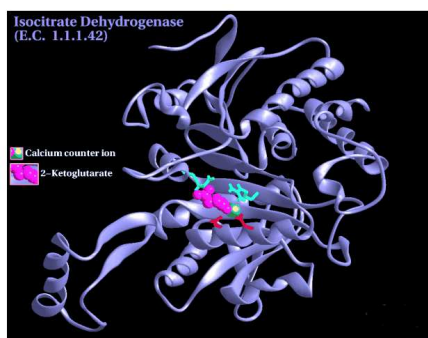
Az enzimkatalízis általános esetei azonosak a kémiaival:

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



Aktív centrum

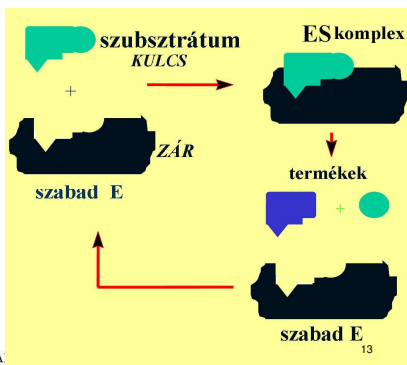
Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a fehérje molekulán



Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

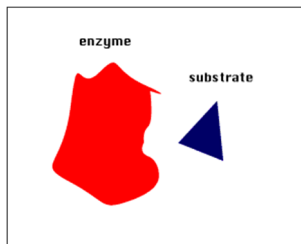
Hermann Emil Fischer (1852-1919, a 2. Nobel díjas)
 Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.

Sima enzimreakció



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/~molvisua/ABLE/induced_fit/index.html



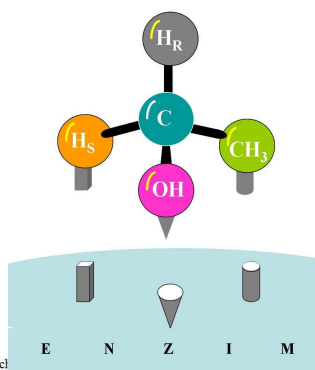
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Orientációs effektus

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

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

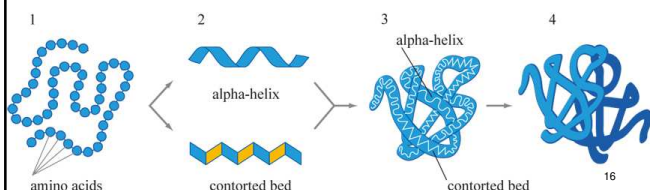


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

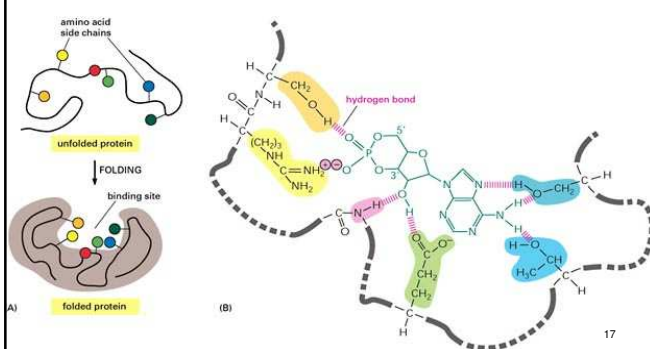
Hogyan alakul ki az aktív felület?

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 enzim 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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

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)

Koszubsztrát

Sztöchiometrikusan
fogy, regenerálni kell
NAD(H), ATP



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

Enzim nevezéktan

katalógusszám

↓

koszubsztrát

↓

E.C.1.1.1.49. D-glucose-6P: NADP 1-oxydoreductase

szubsztrát

↗

a reakció mibenléte

↘

a támadás helye az 1 C-atomon van

↗

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

Class	Example (reaction type)	Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) (oxidation with NAD ⁺)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \xrightarrow{\text{NAD}^+} \text{CH}_3\text{CHO} + \text{NADH} + \text{H}^+$ <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)	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{CHO} + \text{CO}_2$ <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)	$\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{COO}^- + \text{CO}_2 \xrightarrow{\text{ATP}} \text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\text{C}(=\text{O})\text{COO}^- + \text{ADP} + \text{P}_i$ <p style="text-align: center;">Pyruvate Oxaloacetate</p>
