

ENZIMEK ALKALMAZÁSAI

Ipar: amilázok, proteázok, izomerázok, penicillin aciláz,
konverziók (pl. az eddigi előadásokban felsoroltak)
Piac: ~2000 MUSD/év

Analitika, diagnosztikumok: glükóz-oxidáz, alkohol dehid-
rogenáz, koleszterin oxidáz, ... stb

Medicina: proteázok, lipáz, aszparagináz, sztreptokináz,
heparináz, ... stb
Piac: ~3000 MUSD/év

Kutatás/génmanipuláció: restrikciós endonukleázok, reverz
transzkriptáz, DNS-ligáz, DNS polimeráz,



Enzimtechnikai alapfogalmak

Szakaszos reaktorok: a betáplálás és az elvétel időben elkülö-
nül egymástól.

Folytonos reaktorok: a betáplálás és az elvétel egyidejűleg fo-
lyik.

Ezek kombinálhatók valamelyik komponens recirkulációjával
illetve visszatartásával.

Konverzió:
$$\frac{\text{átalakult mólok száma}}{\text{kiindulási mólok száma}} \quad X_s = \frac{n_{s0} - n_s}{n_{s0}}$$

Szakaszos reaktorban a konverzió a reakció előre haladásá-
val növekszik, míg el nem éri az egyensúlyt (=egyensúlyi kon-
verzió)



Enzimtechnikai alapfogalmak

Hozam: $\frac{\text{szintetizált mólok száma}}{\text{kiindulási mólok száma}} \quad \eta_p = \frac{n_p - n_{p0}}{n_{s0}} \left(\frac{\nu_s}{\nu_p} \right)$

Ahol: n_p – a termék mólszáma a reakció végén

n_{p0} – a termék mólszáma a reakció elején

n_{s0} – a szubsztrát mólszáma a reakció elején

ν_s – a szubsztrát sztöchiometriai együtthatója (hány molekula vesz részt a reakcióban)

ν_p – a termék sztöchiometriai együtthatója (hány molekula képződik a reakcióban).



Enzimtechnikai alapfogalmak

Szelektivitás: $\frac{\text{szintetizált (céltermék) mólok száma}}{\text{konvertált mólok száma}}$

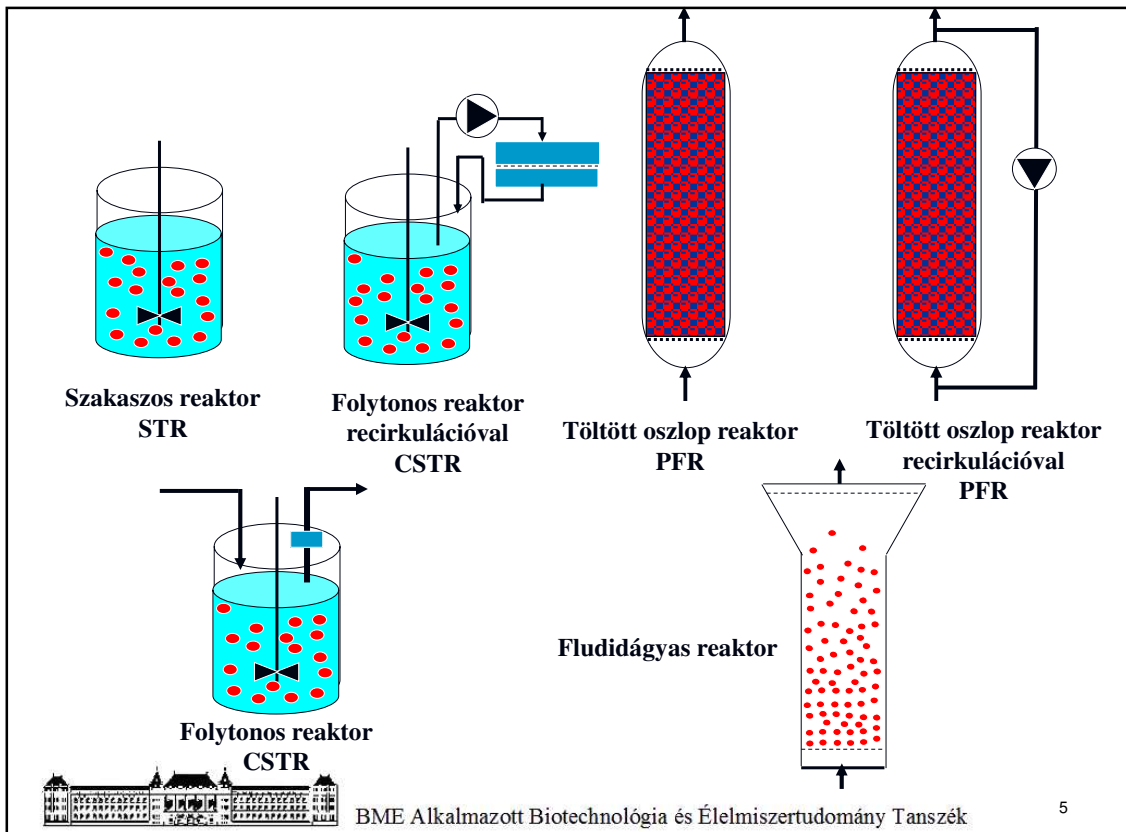
$$\sigma_p = \frac{n_p - n_{p0}}{n_{s0} - n_s} \left(\frac{\nu_s}{\nu_p} \right)$$

Ennek értéke akkor közelít az egyhez, ha nem keletkeznek melléktermékek.

A definiált jellemzők közötti összefüggés:

$$\eta_p = \sigma_p \cdot X_s$$





5

Ipari technológiák rögzített enzimekkel

Aminoaciláz	D,L-aminosavak reszolválása
Glükóz izomeráz	Glükóz → fruktóz konverzió
Penicillin amidáz	Penicillin oldallánc csere
β -galaktozidáz	Tejcukor hidrolízise
Lipáz	Trigliceridek hidrolízise és átészterezése
Termolizin	Aszpartám gyártás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

MEGOSZLÁS IPARÁGAK SZERINT

Élelmiszeripar (ebből keményítőipar	45% 11%)
Detergens ipar	34%
Textilipar	11%
Bőripar	9%
Papír	1,2%



IPARI ENZIMEK PIACA

Néhány multi uralja:
 NOVO Nordisk (DK)
 DSM-Gist (NL)
 IBIS
 Genencor (USA)
 Rhone Poulenc (F)
 Solvay Enzym
 Miles Chemicals (USA)

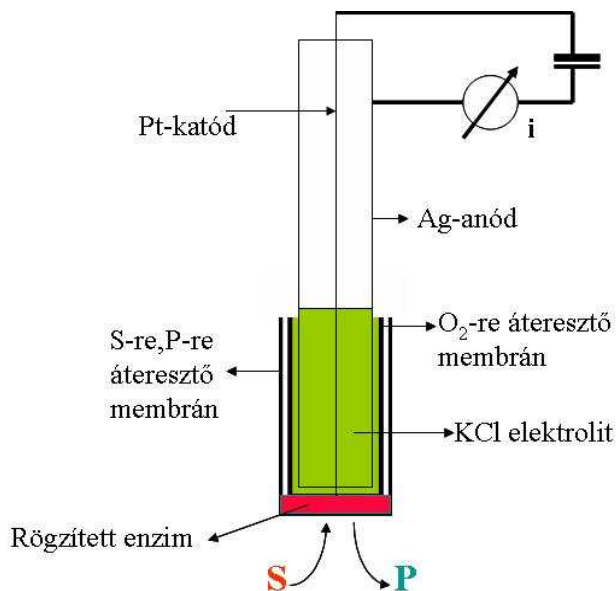
USA 40 %
 Európa 35 %
 Japán 24 %

Enzim	Érték (piac %)
Bacillus proteázok	45
Glükamilázok	13
Bacillus amilázok	5
Glükóz izomerázok	6
Rennin (mikrobiális)	10
Amilázok (penész)	4
Pektinázok	3
Proteázok (penész)	2
Egyéb	12



Enzimelektrodok: amperometria

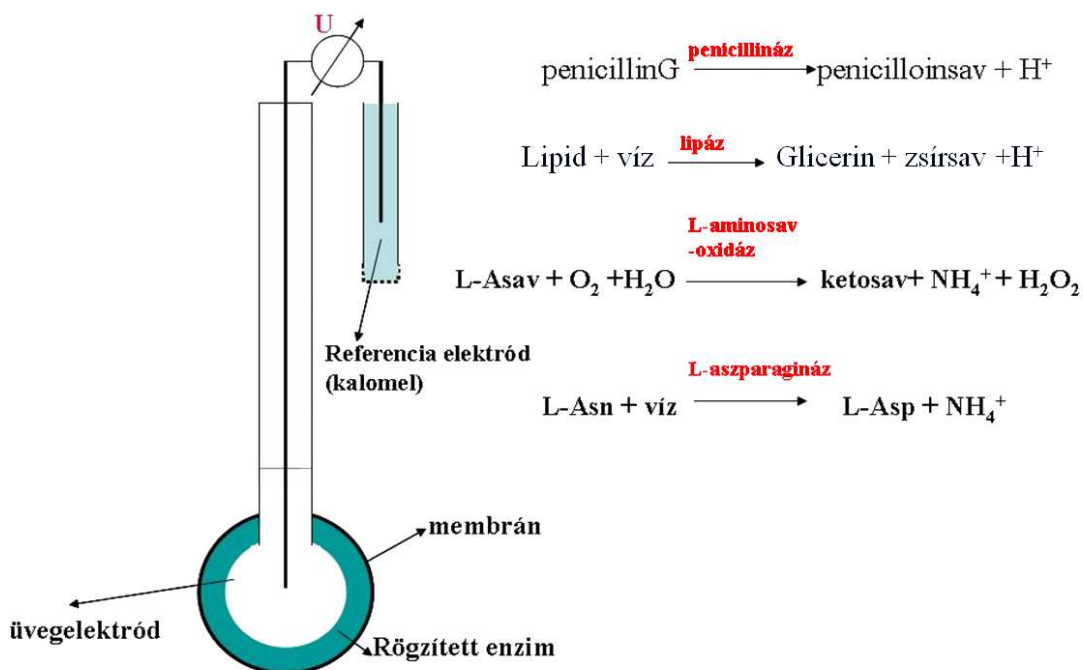
Ez voltaképpen egy oldott oxigén mérő elektród, amelyre a membránok közé glükóz-oxidázt és katalázt rögzítettek. A két enzim által termelt oxigént méri amperometriásan az elektróda.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

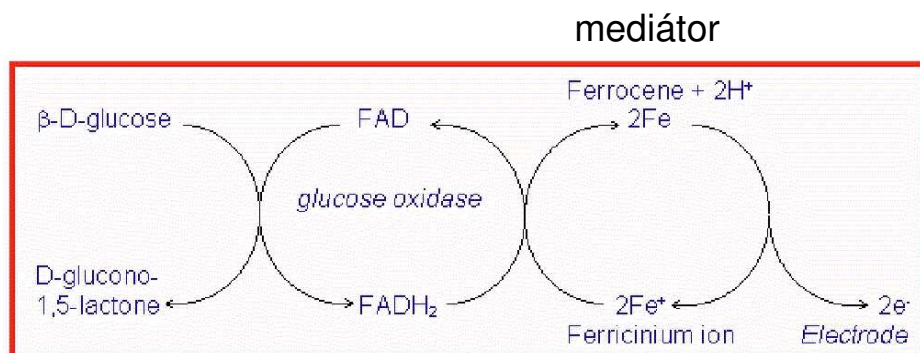
9

Enzimelektrodok: potenciometria

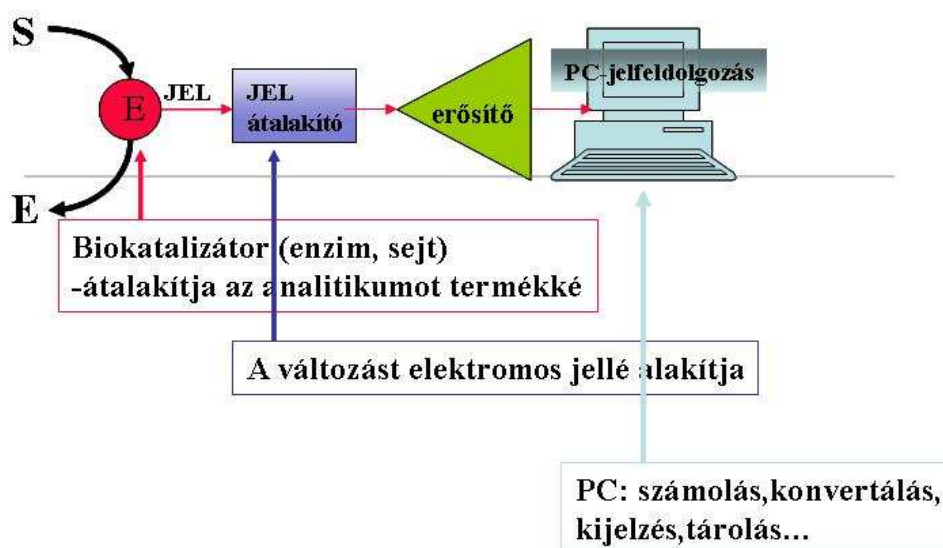


Enzimelektrodok: elektronátadás

Ha az enzim reakció során elektronátmenet történik (NAD-, FAD-mediált reakciók), az elektronátadás közvetlenül mérhető jellé alakítható:



BIOSZENZOR



Enzimek felhasználása **analitikai** céllal

Ez esetben nem az enzim aktivitását mérjük meg, hanem egy vegyület koncentrációját igyekszünk meghatározni.

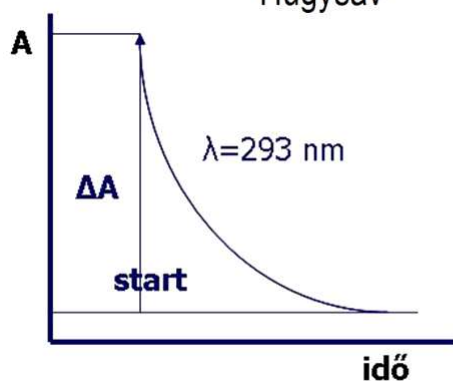
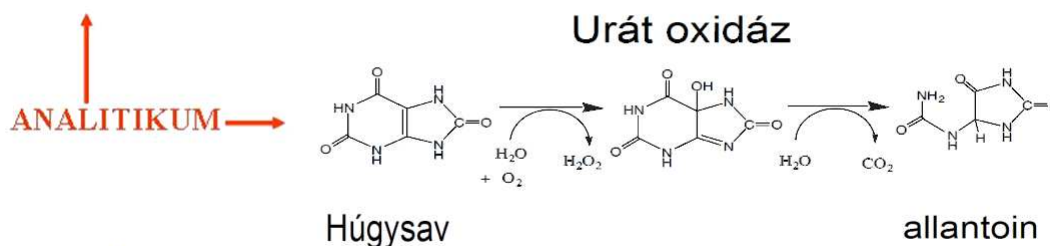
1. S meghatározása
2. I meghatározása
3. Marker (pl. immun assay-kben)

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Cél lehet: diagnosztika, biokémia



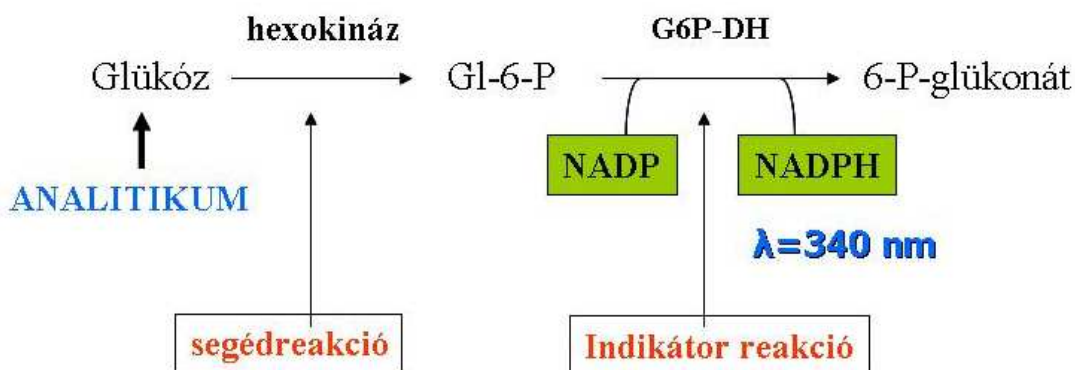
S-meghatározás, reakció végpontig



A reakció követése:
 abszorbancia, vagy pH
 méréssel

S-meghatározás segédreakcióval

Ha S vagy P nem észlelhetők, egy segédreakcióval mérhetővé tehetjük. Pl.:

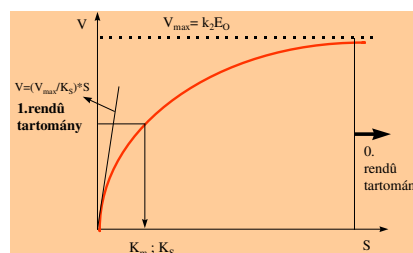
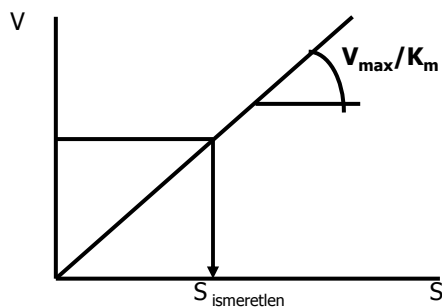


S mérés kinetikai vizsgálattal

A M-M görbe kezdeti, lineáris szakaszán a reakciósebesség egyenesen arányos S koncentrációjával.

Ha $S \ll K_m \rightarrow V \sim V_{\max}/K_m \cdot S$

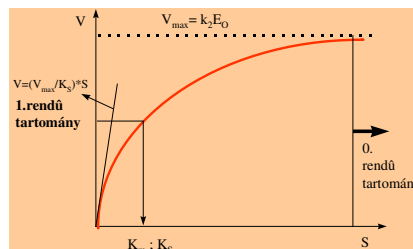
$\swarrow -dS/dt$
 $\searrow dP/dt$



S mérés kinetikai vizsgálattal

A M-M görbe telítési, vízszintes szakaszán a reakciósebesség egyenlő v_{max} -al.

Ha $S \gg K_m \rightarrow V \sim V_{max} = k_2 E_0$



S így nem mérhető, de inhibitorok vagy aktivátorok meghatározhatók:

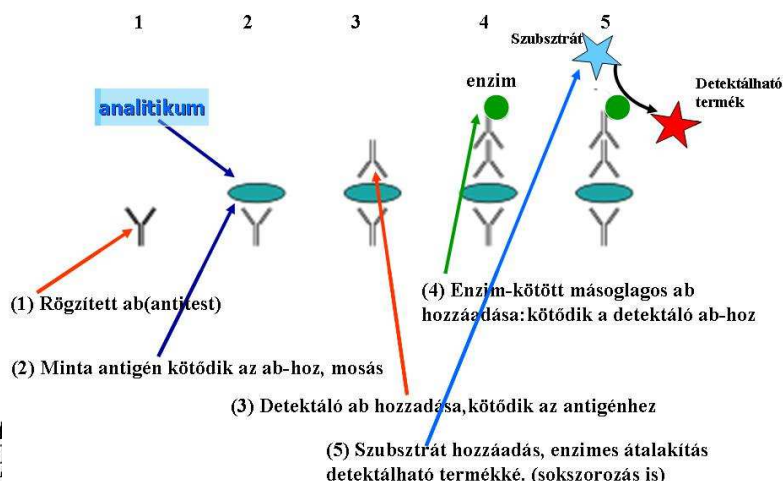
- Heparin → trombin
- Inszekticidok → acetilkolinészteráz



Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Az immunreakciók önmagukban láthatatlanok, egy észlelhető enzim reakció hozzákapcsolásával teszik mérhetővé.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay: Sandwich ELISA



Követelmények az analitikai enzimekkel szemben

- Specifitás (ne legyen mellékreakció más S-sel)
- Tisztaság
- Stabilitás
- Kinetikai tulajdonságok
- pH optimum
- Oldhatóság (ne csapódjon ki)
- Ár

