

ENZIMEK ALKALMAZÁSAI

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

Analitika, diagnosztikumok: glükóz-oxidáz, alkohol dehidrogenáz, koleszterin oxidáz, ... stb

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Enzimtechnikai alapfogalmak

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

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

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

A definiált jellemzők közötti összefüggés:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

Enzimtechnikai alapfogalmak

Szakaszos reaktorok: a betáplálás és az elvétel időben elkülönül egymástól.

Folytonos reaktorok: a betáplálás és az elvétel egyidejűleg folyik.

Ezek kombinálhatók valamelyik komponens recirkulációjával illetve visszatartásával.

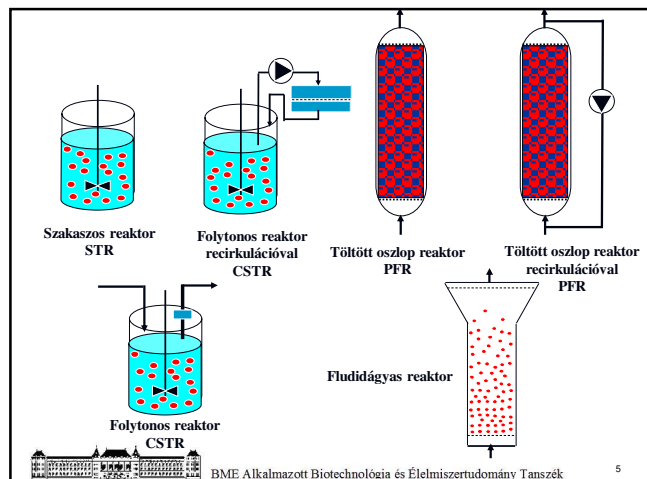
Konverzió: $\frac{\text{átalakult mólok száma}}{\text{kiindulási mólok száma}} \quad X_s = \frac{n_{s0} - n_s}{n_{s0}}$

Szakaszos reaktorban a konverzió a reakció előre haladásával növekszik, míg el nem éri az egyensúlyt (=egyensúlyi konverzió)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

Enzimtechnikai alapfogalmak

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

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
 v_s – a szubsztrát sztöchiometriai együtthatója (hány molekula vesz részt a reakcióban)
 v_p – a termék sztöchiometriai együtthatója (hány molekula képződik a reakcióban).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Ipari technológiák rögzített enzimekkel

Aminoaciláz	D,L-aminosavak resolválása
Glükóz izomeráz	Glükóz → fruktóz konverzió
Penicillin amidáz	Penicillin oldallánc csere
β -galaktózidáz	Tejcurkor hidrolízise
Lipáz	Trigliceridek hidrolízise és átészterezése
Termolizín	Aszpartám gyártás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

MEGOSZLÁS IPARÁGAK SZERINT

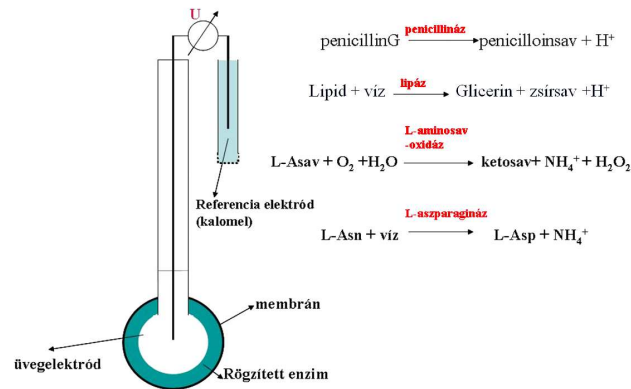
Élelmiszeripar (ebből keményítőipar)	45%	11%
Detergens ipar	34%	
Textilipar	11%	
Bőripar	9%	
Papír	1,2%	



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Enzimelektrodok: potenciometria



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

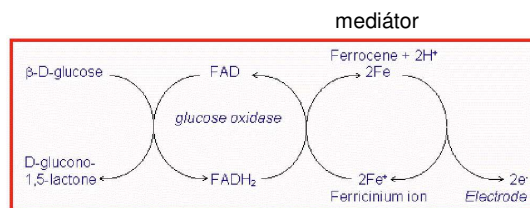


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Enzimelektrodok: elektronátadás

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

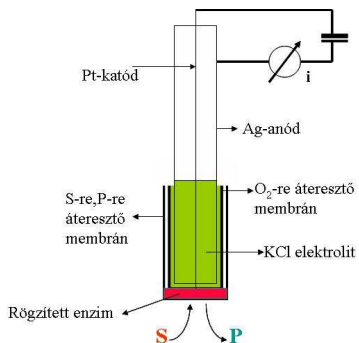


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

Enzimelektrodok: amperometria

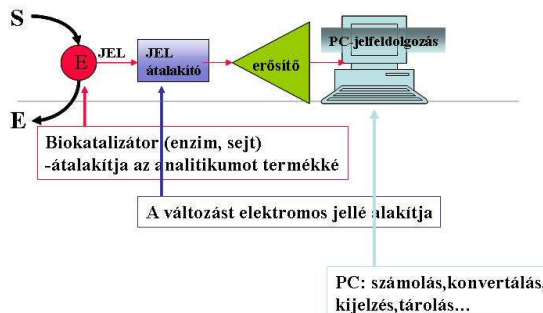
Ez voltaképpen egy oldott oxigén mérő elektrod, amelyre a membránok közé glükóz-oxidázt és katalázt rögzítettek. A két enzim által termelt oxigént méri amperometriásan az elektróda.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

BIOSZENZOR



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

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)

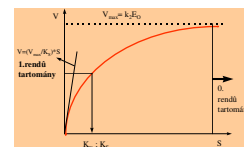
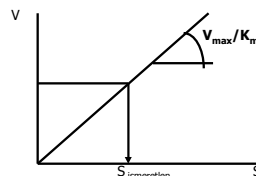
Cél lehet: diagnosztika, biokémia



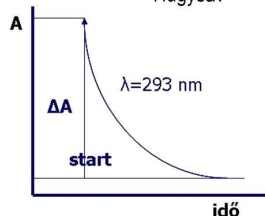
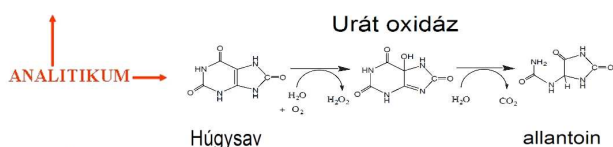
S mérés kinetikai vizsgálattal

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

$$\text{Ha } S \ll K_m \rightarrow V \sim V_{\max}/K_m \cdot S \begin{cases} -dS/dt \\ dP/dt \end{cases}$$



S-meghatározás, reakció végpontig



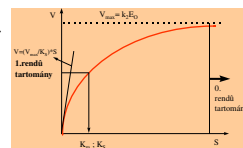
A reakció követése: abszorbancia, vagy pH méréssel



S mérés kinetikai vizsgálattal

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

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



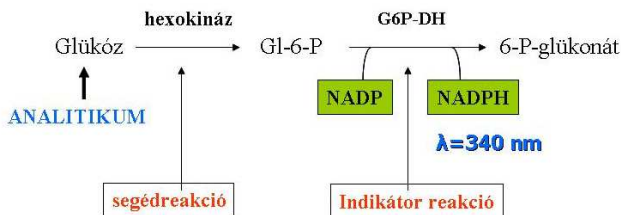
S így nem mérhető, de inhibitorok vagy aktivátorok meghatározhatók:

- Heparin → trombin
- Inszekticidok → acetilcolinészteráz



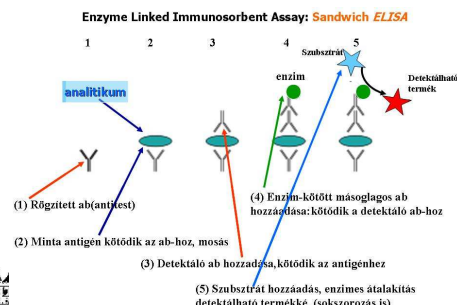
S-meghatározás segédreakcióval

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



Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

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



Követelmények az analitikai enzimekkel szemben

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

