

2. Aminosavak - treonin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az aminosavak felhasználása

nátrium-glutamát → ízfokozó (Delikát, Vegeta)

lizin, metionin, treonin, triptofán →

takarmány- és élelmiszerkiegészítő

aszparaginsav és fenilalanin →

aszpartám édesítőszer gyártásához

cisztein és triptofán → antioxidáns

(gyümölcslé, tejpor)

tápszerek, infúziós oldatok,

gyógyszerek

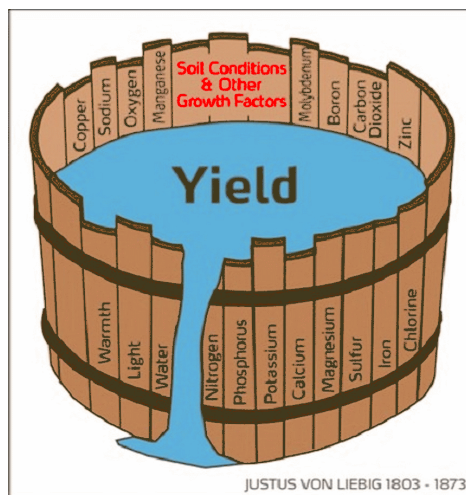


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Liebig minimumtvörvénye

Justus von Liebig (1873): ha egyetlen tápanyagkomponensből is hiány van, a növények növekedése korlátozott, még akkor is, ha az összes többi tápanyag megfelelő mennyiségben jelen van. A növények növekedése akkor fokozódik, ha a hiányos tápanyagot hozzáadjuk.

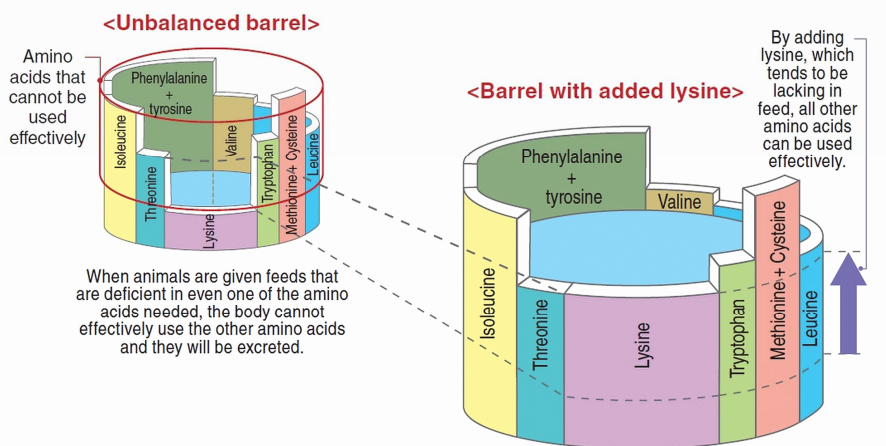


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Táp(lálék)kiegészítés

Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

Táp(lálék)kiegészítés

A növényi eredetű (gabona) takarmány nem teljes értékű fehérje – esszenciális aminosavakból kevés van benne. A hasznosulást mindig a legkisebb mennyiségben jelenlévő szabja meg (limitáló szubsztrát).

A teljes értékű fehérje (halliszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle →

a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.



Aminosavak előállítása

Fehérje-hidrolizátumokból: cisztein, leucin, aszparaginsav, tirozin, glutaminsav

Kémiai szintézissel: metionin, glicin, alanin, triptofán
(reszolválás szükséges)

Biotechnológiai úton:

- Direkt fermentációval: vad törzs, auxotróf és regulátor-mutáns változatait használják pl: glutaminsav, lizin
- Prekurzor adagolással: + olyan vegyület, amelyet a sejt beépít a termék molekulába
- Enzimes, sejtes biotranszformációval: egyetlen biokémiai lépés



Az aminosavgyártás története

- 1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)
- 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzsszel (Kinoshita, Japán)
- 1981: a világon összesen 365.000 t aminosavat állítottak elő
- 1998: évi 1,5 millió tonna = 1,7 milliárd USD
A 17 nagy gyártó cégből 13 japán tulajdonú.
- 2006-2007: az Ajinomoto a piac 60%-át uralja
az utolsó pénzügyi évben nettó eladás 10^{10} USD
23 országban 121 gyár 30000 munkahely
Magyarországon is: Evonik (Degussa), Kaba, 40.000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

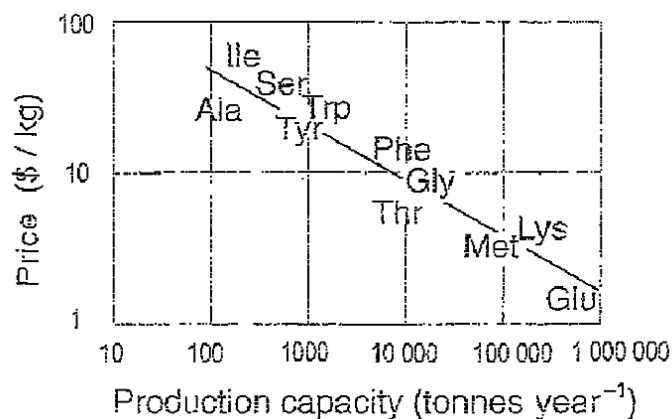
Mennyiség t/év	Aminosav	Alkalmazott eljárás	Felhasználás
1.000.000	L-Glutaminsav	Fermentáció	Ízfokozó
350.000	L-Lizin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
350.000	D,L-Metionin	Kémiai szintézis	Tak.kiegészítő
75.000	L-Treonin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
10.000	L-Asparaginsav	Enzimes konverzió	Aszpartám
10.000	L-Fenilalanin	Fermentáció	Aszpartám
10.000	Glicin	Kémiai szintézis	Tápl.kiegészítő, édesítőszer
3.000	L-Cisztein	Cisztin-redukció	Tápl.kiegészítő, gyógyászat
1.000	L-Arginin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Leucin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Valin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
300	L-Triptofán	Nyugvősejtes konverzió	Gyógyszergyártás
300	L-Izoleucin	Fermentáció	Gyógyszergyártás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

Itt is érvényes a mennyiség-ár kapcsolat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering

A primer metabolitok előállításánál a génállományt úgy változtatják meg, hogy:

1. A bioszintézis út elágazásait lezárják, ezáltal minden anyag a céltermék irányába áramlik (auxotróf mutánsok)
2. A terméket továbbalakító reakciólépéseket eliminálják (auxotróf mutánsok).

Ha ezek létfontosságú molekulák előállítását érintik, akkor leaky (szivárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

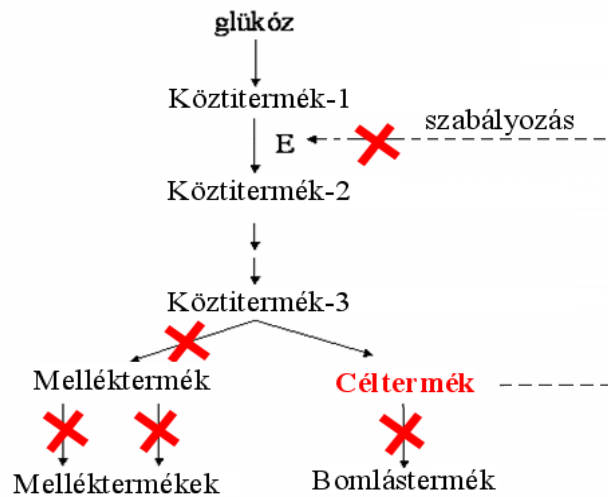
3. Felfüggesztik a túltermelést megakadályozó mechanizmusokat (antimetabolit rezisztens mutánsok)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

Ipari mutáns törzsek jellemzői

AS	Törzs	Genetikai jellemzők	Kihoz (g/l)	C-forrás
Arg	<i>Brevibacterium flavum</i>	Gua ^r , Ta ^r	35 25	Glükóz Ecetsav
Glu	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Vad törzs	>100	Glükóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>		98	Ecetsav
	<i>Arthobacter paraffineus</i>		82	n-paraffin
Lys	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Hom ^r , Leu ^r , AEC ^r	39	Glükóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>	AEC ^r	57	Szacharóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>	Hom ^{leaky} , Thr ^r	75	Ecetsav
Trp	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Phe ^r , Tyr ^r , 5MTrp ^r , 6FTrp ^r	12	Glükóz



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

Tipikus fermentációs technológia

A fermentáció:

Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m³)

Rátáplálásos technológia

pH szabályozás (lúg, karbamid, ammónia)

Steril körülmények

Fágok elleni védekezés

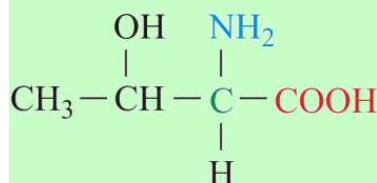
AS feldolgozás jellemző műveletei: izoelektromos ponton történő kicsapás, ioncserés kromatográfia, elektrodialízis, szerves oldószeres extrakció



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA



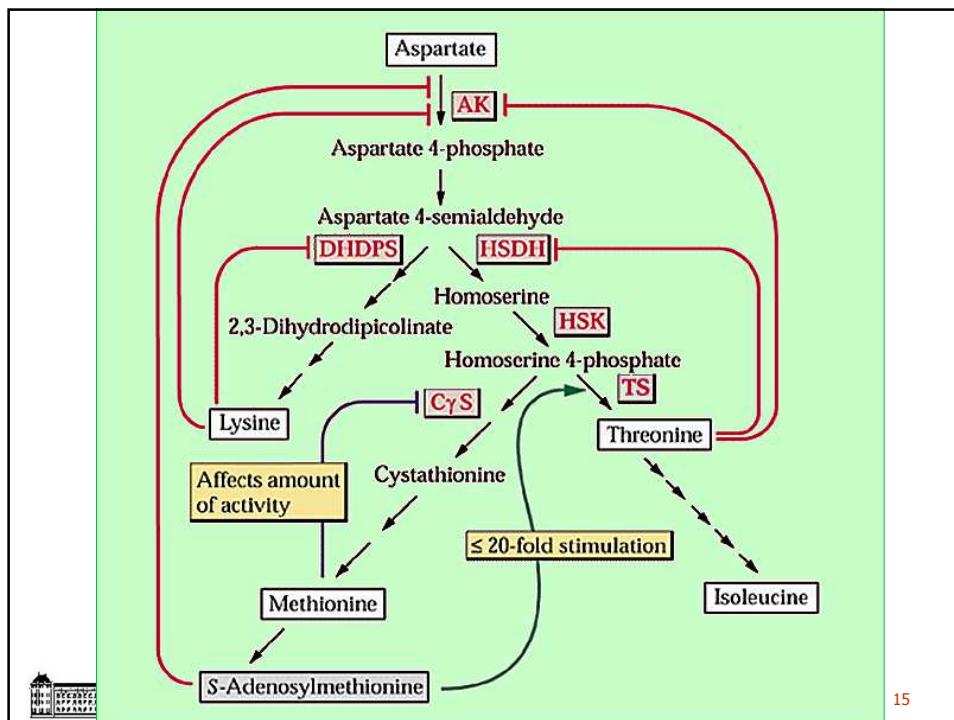
Felhasználása: takarmány kiegészítő. Esszenciális aminosav, a kukoricában nagyon kevés van (csíra: 0,38%, szójadara: 1,81%). A megfelelő: 0,75% → érdemes komplettálni. A harmadik legnagyobb mennyiségben fermentált aminosav, ~80.000 t/év. Az ár erősen ingadozik 2-7 USD/kg között.

Törzs: *E. coli*, erős genetikai manipulációval



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14



TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

A modern anyagcsere-mérnökség is hasonlóan dolgozik, mint a klasszikus:

- meg kell akadályozni az anyagáramot Lys és Met irányába
- meg kell akadályozni a továbbalakulást:
 - Ile irányába (leaky mutáns, ~1% enzimaktivitás maradt)
 - megszüntetni a Thr-dehidrogenáz termelést (→ Gly)
- hibás szabályozású mutánsokat keresnek antimetabolit-rezisztenciával (α -amino- β -hidroxivaleriánsav, AHV)



TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Emellett:

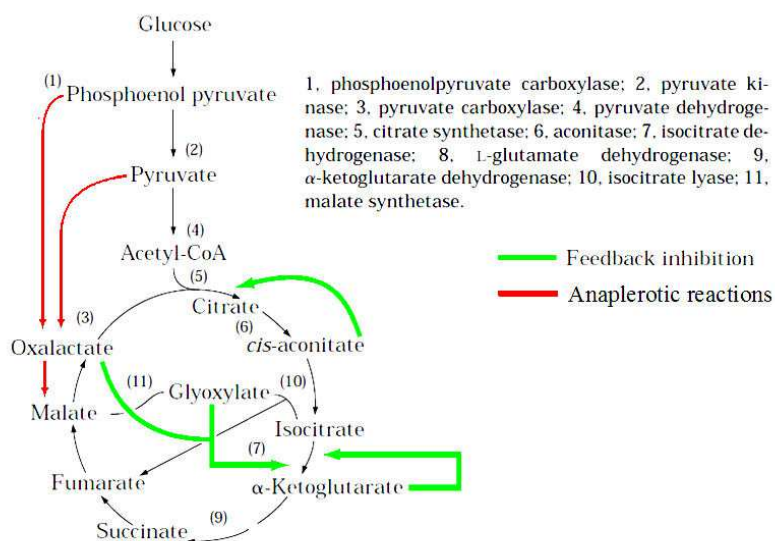
- a treonin út utolsó három enzimét (thrABC operon) pluszban plazmiddal viszik be, sok kópiában.
- fokozzák az aminosav transzportot kifelé a sejtből, és gyengítik befelé
- Az anaplerotikus reakció (PEP-karboxiláz) szabályozását (Asp) megszüntetni
- a fordított anaplerotikus lépést (oxálacetát → PEP + CO₂), (külön enzim, külön génje van) is ki kell ejteni



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

Anaplerotikus reakciók



18

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Fermentáció:

Az optimális biotin szint itt is alapvető (adásával háromszorosára nőtt a Thr termelés).

Igen jó keverés-levegőztetés szükséges, mert az *E. coli* érzékeny az aerob-anaerob váltásokra → ne legyen holt tér

Rátáplálásos és félfolytonos-rátáplálásos technikák.

Termék: ~65 g/l (laborban: ~100 g/l) hozam: ~0,48

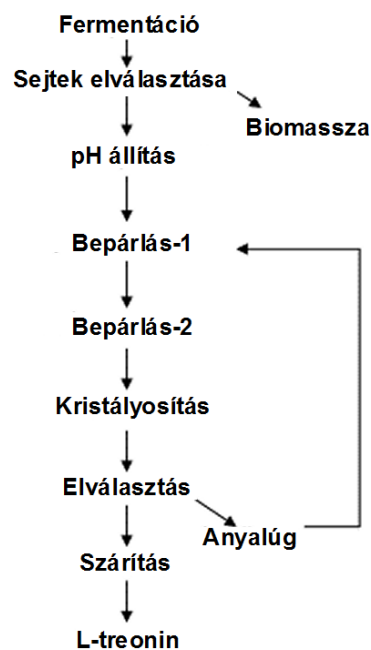


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Feldolgozás: nem bomlékony anyag, bepárlással koncentrálnálható



BME Alkalmazott Biotechnol