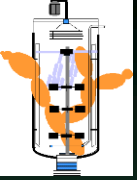
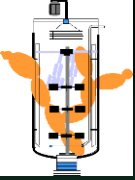


Vegyes kultúrák, mikrobiális kölsönhatások



Struktúra nélküli modellek (Monod-n túl)

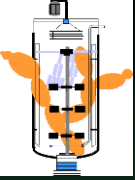
B hatása A-ra	A hatása B-re	PÉLDA	leírása	elnevezése
INDIREKT KÖLCSÖNHATÁSOK				
0	0	<i>Sterptococcus</i> joghurt <i>Lactobacillus</i>	Nincs kölcsönhatás	NEUTRALIZMUS
-	-	Kizárás $\mu_A > \mu_B$ crossover	Negatív hatás a tápanyagok elvételével	KOMPETÍCIÓ
-	-	ÁTTÉTELES HATÁS, NINCS FIZIKAI KAPCSOLAT		
-	0	Antibiotikum termelés (inhibíció,antibiózis) <i>Thiobacillus thiooxidans</i> S-ből kénsavat oxidál, ami csökkenti a víz pH-ját és így egy sor más mikrobát távoltart. Oxigéntermelés algák által halálos lehet obligát anaerobokra	Toxin/inhibitor termelésével okozott kölcsönös negatív hatás	ANTAGONIZMUS
-	0	Antibiotikum termelés (inhibíció,antibiózis) <i>Thiobacillus thiooxidans</i> S-ből kénsavat oxidál, ami csökkenti a víz pH-ját és így egy sor más mikrobát távoltart. Oxigéntermelés algák által halálos lehet obligát anaerobokra	Toxin/inhibitor termelésével okozott negatív hatás	AMENZALIZMUS
-	+		Negatív hatás lízist okozó ágens termelésével, pozitív hatás a biomassza szolubilizálásával	ECCRINOLÍZIS
+	0	kénbaktérium(aerob) $H_2S \rightleftharpoons SO_4^{2-}$ <i>Desulfovibrio</i> (anaerob) <i>S.cer.</i> $\xrightarrow{+}$ <i>Proteus vulgaris</i> 0 $\xrightarrow{+}$ (niacin)	Stimuláló anyag termelése(+) Inhibitor eltávolítása(+) Kommenzalizmus egy egyoldalú viszony, anikor az egyik populáció úgy módosítja az élőhelyet, hogy az a másiknak kedvező.	KOMMENZALIZMUS
+	+		I. KOMMENZALIZMUS A és B egyidejű jelenléte nem kell	PROTOKOOPERÁCIÓ
+	+	ALGA $CO_2 \rightarrow O_2 + CH$ Baktérium $CH+O_2 \rightarrow CO_2$	I. KOMMENZALIZMUS A és B egyidejű jelenléte kell	MUTUALIZMUS



DIREKT KÖLCSÖNHATÁSOK

B hatása A-ra	A hatása B-re	példa	leírása	elnevezése
-	+	Baktérium protozoa	B A-val táplálkozik	PREDÁCIÓ
-	+	Baktérium mikrofág	A parazita behatol a gazda (A) testébe és annak bioanyagaival táplálkozik	PARAZITIZMUS endo- ekto-
+	+ (ESETLEG 0)	Alga + protozoa Kérődző + bacik	A és B fizikai kontaktusban együtt nővekednek	SZIMBIÓZIS
+	-		Térért való küzdelem	CROWDING

KÖZVETLEN FIZIKAI KAPCSOLAT A KÉT SPECIESZ KÖZÖTT



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

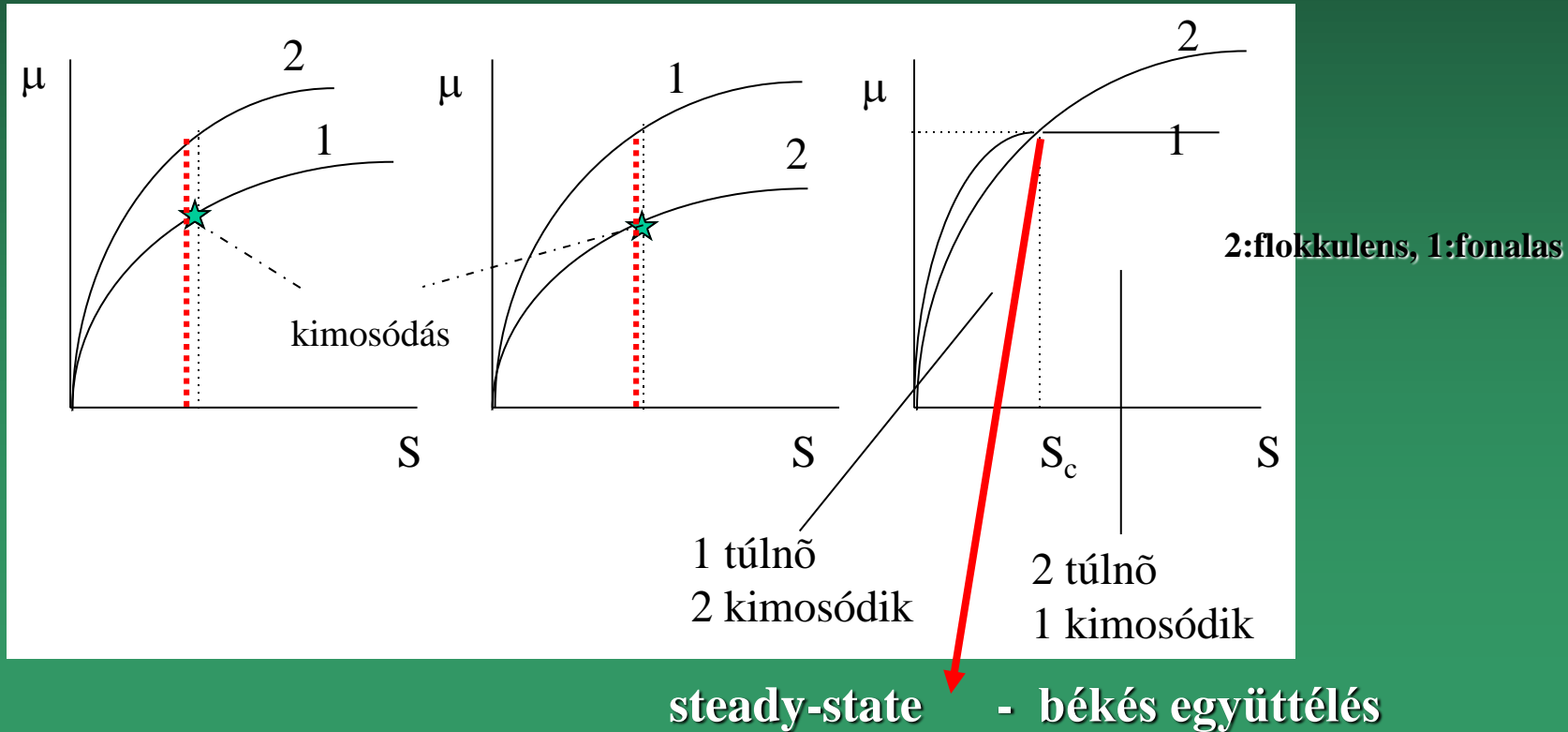
kevert tenyészetek

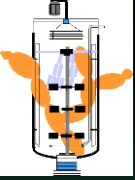
Vito Volterra - zárt rendszerben élő két speciesz versengésének modellje

kemosztát

$$\frac{dx_1}{dt} = -Dx_1 + \mu_1(S)x_1$$

$$\frac{dx_2}{dt} = -Dx_2 + \mu(S)x_2$$



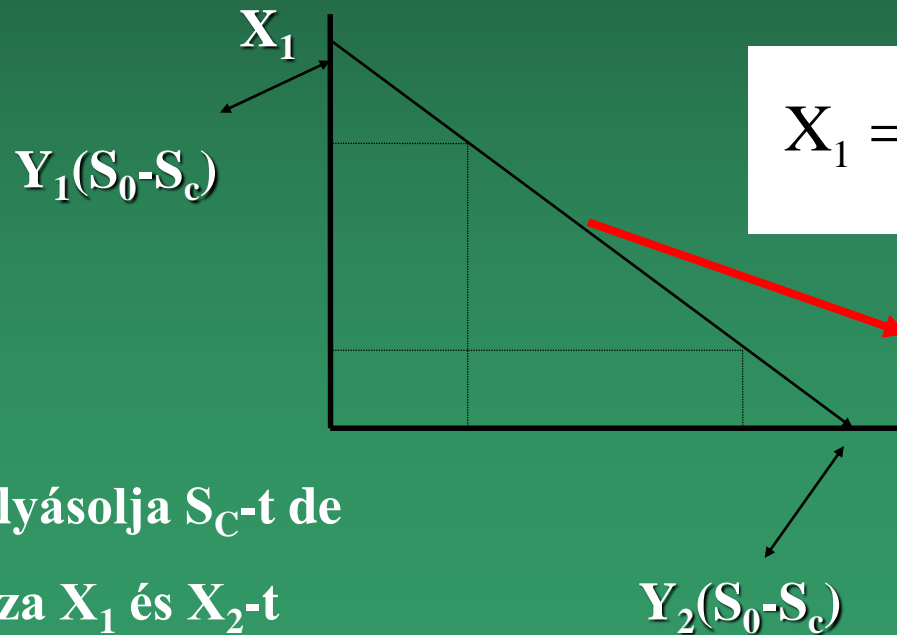


Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{1}{Y_1} \mu_1 X_1 - \frac{1}{Y_2} \mu_2 X_2$$

ha $D = D_c = \mu_1(S_c) = \mu_2(S_c)$, akkor

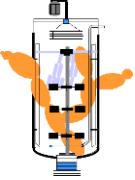
$$D_c(S_0 - S_c) - \frac{1}{Y_1} \mu_1 X_1 - \frac{1}{Y_2} \mu_2 X_2 = 0 \rightarrow S_0 - S_c = \frac{X_1}{Y_1} + \frac{X_2}{Y_2}$$



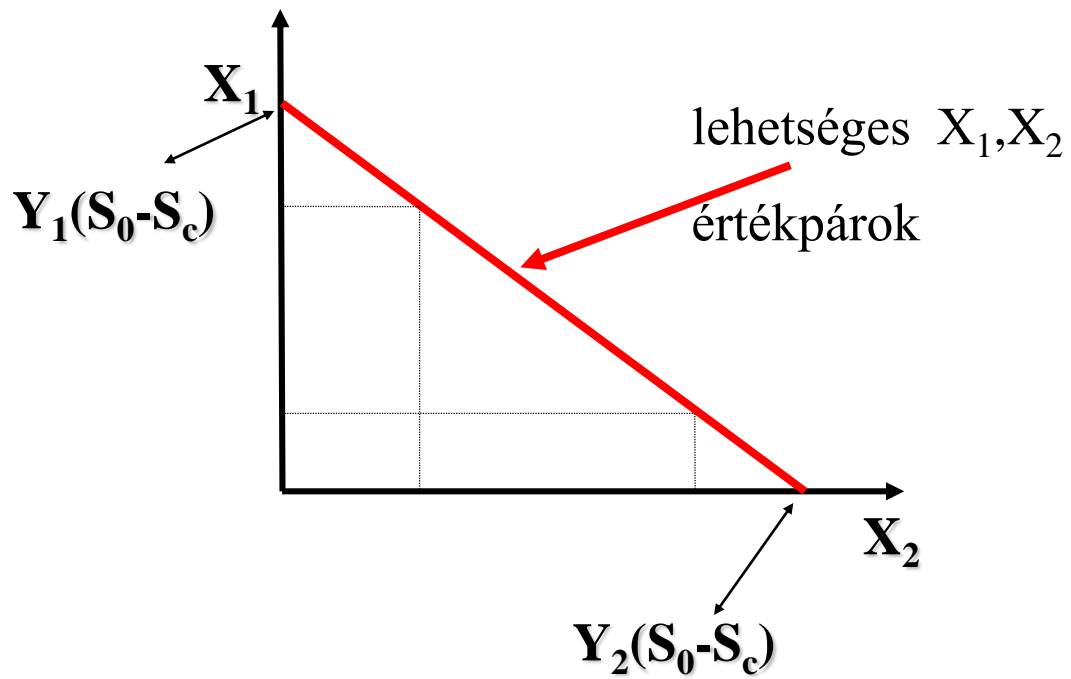
$$X_1 = Y_1(S_0 - S_c) - \frac{Y_1}{Y_2} X_2$$

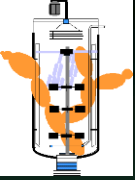
lehetséges X_1, X_2 cc. párok

S_0 nem befolyásolja S_c -t de meghatározza X_1 és X_2 -t



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások





Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

Ha a MONOD-modell érvényes

$$\mu_{1m} \frac{S_c}{K_{S1} + S_c} = \mu_{2m} \frac{S_c}{K_{S2} + S_c}$$

$$\mu_{1m} S_c (K_{S2} + S_c) = \mu_{2m} S_c (K_{S1} + S_c) \quad / : S_c$$

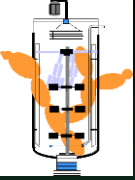
$$S_c = \frac{\mu_{1m} K_{S2} - \mu_{2m} K_{S1}}{\mu_{2m} - \mu_{1m}} \quad \text{és} \quad D_c = \frac{\mu_{1m} K_{S2} - \mu_{2m} K_{S1}}{K_{S2} - K_{S1}}$$

szelekció kemosztátban:

fertőzés

revertánsok

direkt, irányított szelekció



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

Zsákmány (préda) - ragadozó kölcsönhatások (predáció)

**A természetben a predáció a táplálékláncban,
a szén/energiaforrás transzferben jelentős.**

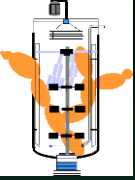
természetes ökológiai rendszerek fenntartása,

a gyorsan növekedő specieszek által a táplálék források kimerítésének megakadályozása

Mesterséges rendszer: eleveniszapos biológiai szennyvíztisztítás

**protozoák táplálkoznak az egyszerűbb
szubsztrátokat lebontani képes baktériumokkal.**

A természetes és a mesterséges öko-rendszerekre jellemző, hogy állandósult állapot ritkán alakul ki, ehelyett inkább visszatérő ciklusosság (oszcilláció)



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

VOLTERRA - LOTKA modell

n_1 – zsákmány: elsőrendű kinetika
prey

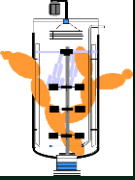
n_2 - ragadozó predator
növekedése függ az
„ütközések” számától és
hatásosságától

$$\frac{dn_1}{dt} = an_1 - \gamma \cdot n_1 n_2$$

effektív hozam

$$\frac{dn_2}{dt} = -bn_2 + \varepsilon \cdot \gamma \cdot n_1 n_2$$

Fajlagos halálozási sebesség (!?)



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

nemtriviális steady/state

$$an_1 = \gamma \cdot n_1 n_2 \quad \longrightarrow \quad n_{2s} = \frac{a}{\gamma}$$

$$\varepsilon \cdot \gamma n_1 n_2 = bn_2 \quad \longrightarrow \quad n_{1s} = \frac{b}{\varepsilon \cdot \gamma}$$

Vezessünk be normált változókat

$$y_1 = \frac{n_1}{n_{1s}} \quad y_2 = \frac{n_2}{n_{2s}} \quad n_1 = y_1 n_{1s} \quad n_2 = y_2 n_{2s}$$

$$\frac{dn_1}{dt} = n_{1s} \frac{dy_1}{dt} \quad \frac{dn_2}{dt} = n_{2s} \frac{dy_2}{dt}$$

$$\frac{dy_1}{dt} = \frac{1}{n_{1s}} \frac{dn_1}{dt}$$

$$\frac{dn_1}{dt} = an_1 - \gamma \cdot n_1 n_2 \quad / : n_{1s}$$

$$\frac{dn_2}{dt} = -bn_2 + \varepsilon \cdot \gamma \cdot n_1 n_2$$

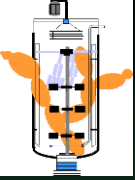
Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

$$\frac{dy_1}{dt} = \frac{1}{n_{1s}} \frac{dn_1}{dt} = a \frac{n_1}{n_{1s}} - \gamma \cdot \frac{n_1}{n_{1s}} n_2 \quad n_2 = n_{2s} y_2 = \frac{ay_2}{\gamma}$$

$$\frac{dn_1}{dt} = ay_1 - \gamma \cdot y_1 \frac{ay_2}{\gamma} = ay_1(1 - y_2)$$

$$\frac{dy_1}{dt} = \frac{1}{n_{1s}} \frac{dn_1}{dt} = a(1 - y_2)y_1$$

$$\frac{dy_2}{dt} = -b(1 - y_1)y_2$$



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

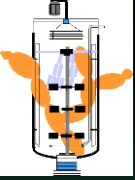
$$\left(\frac{dy_1}{dt} = a(1 - y_2)y_1 \quad \text{;} \quad \frac{dy_2}{dt} = -b(1 - y_1)y_2 \right) \cdot \frac{a(1 - y_2)}{y_2}$$

$$\frac{a}{y_2} \frac{dy_2}{dt} - a \frac{dy_2}{dt} + \frac{b}{y_1} \frac{dy_1}{dt} - b \frac{dy_1}{dt} = 0$$

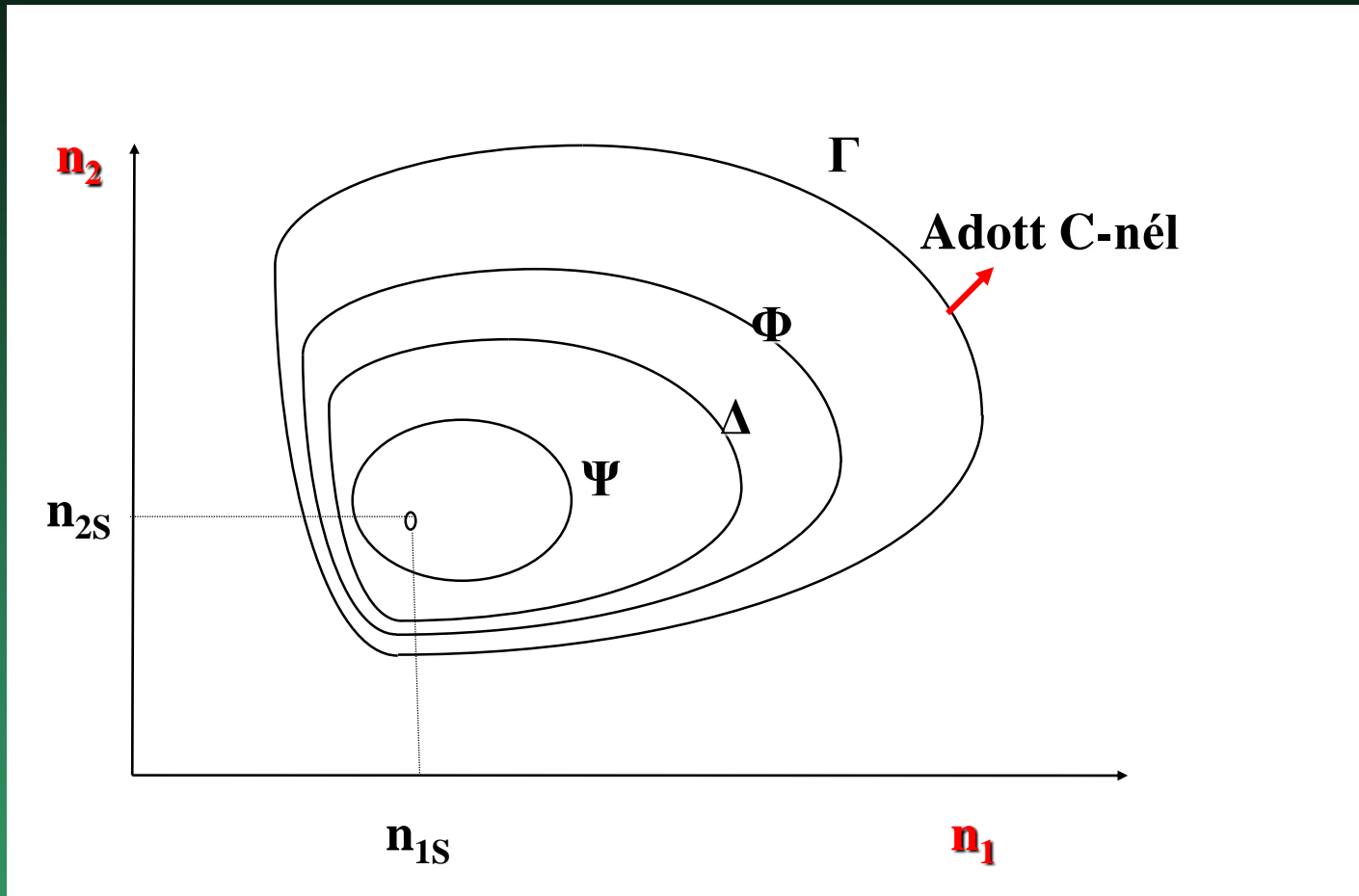
megoldás

$$a \cdot \ln y_2 - a \cdot y_2 + b \cdot \ln y_1 - b \cdot y_1 = C$$

$$\left(\frac{y_1}{e^{y_1}} \right)^b \left(\frac{y_2}{e^{y_2}} \right)^a = e^C$$

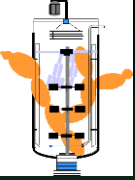


Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

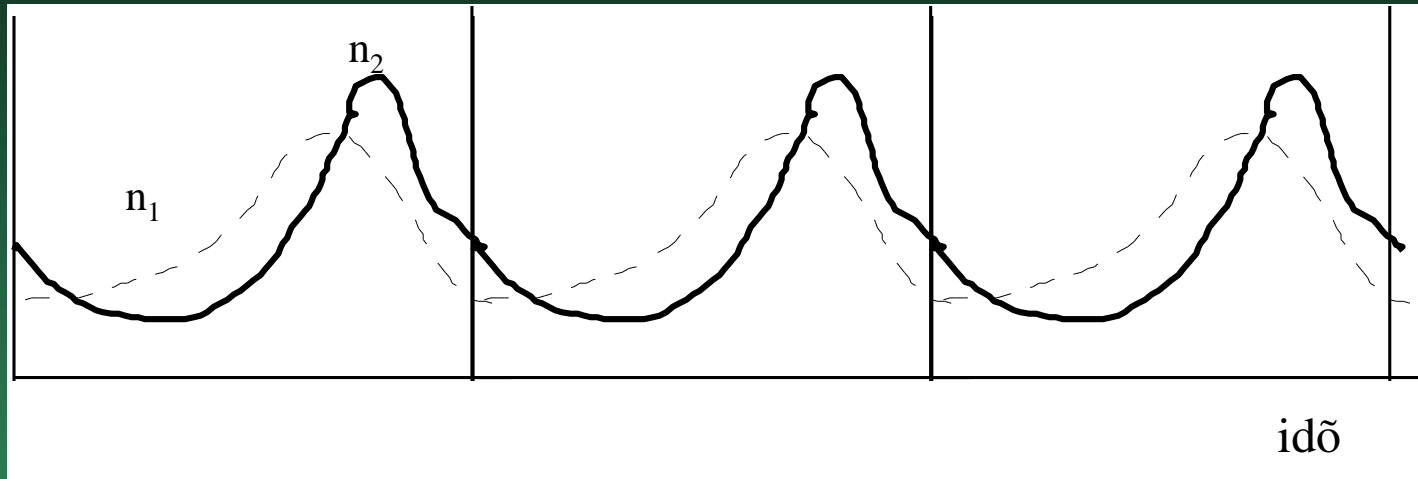


Trajektóriák a fázissíkon

lágú oszcilláció

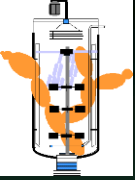


Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások



Időbeli változások

lágú oszcilláció



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

$$\frac{dy_1}{dt} = a(1 - y_2)y_1$$

$$\frac{1}{y_1} \frac{dy_1}{dt} = a(1 - y_2)$$

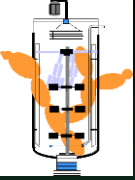
$$\ln \frac{y_1(T)}{y_1(0)} = aT - a \int_0^T y_2(t) dt$$

miel a periódus határon $y_1(T) = y_1(0)$, azaz mivel $\ln 1 = 0$

$$1 = \frac{1}{T} \int_0^T y_2(t) dt \quad \text{illetve visszatérve a dimenziós változókra} \quad \frac{1}{T} \int_0^T n_2(t) dt = n_{2s}$$

$$y_2 = \frac{n_2}{n_{2s}}$$

Integrációs átlag = steady state



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

Öljük meg! Mérgezzük mindkét specieszt (róka, nyúl + vadász)

$$-\sigma_1 n_1$$

$$\frac{dn_1}{dt} = an_1 - \gamma \cdot n_1 n_2$$

$$-\sigma_2 n_2$$

$$\frac{dn_2}{dt} = -bn_2 + \varepsilon \cdot \gamma \cdot n_1 n_2$$

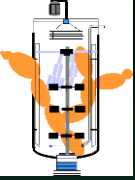
Módosul a steady state

$$n_{1s} = \frac{b + \sigma_2}{\varepsilon \cdot \gamma}$$

$$n_{2s} = \frac{a - \sigma_1}{\gamma}$$

10.dia

n_2 miért pusztul, n_1 nő exp végtelenbe...



Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások

Egy realisabb modell: **MONOD**, kemosztát

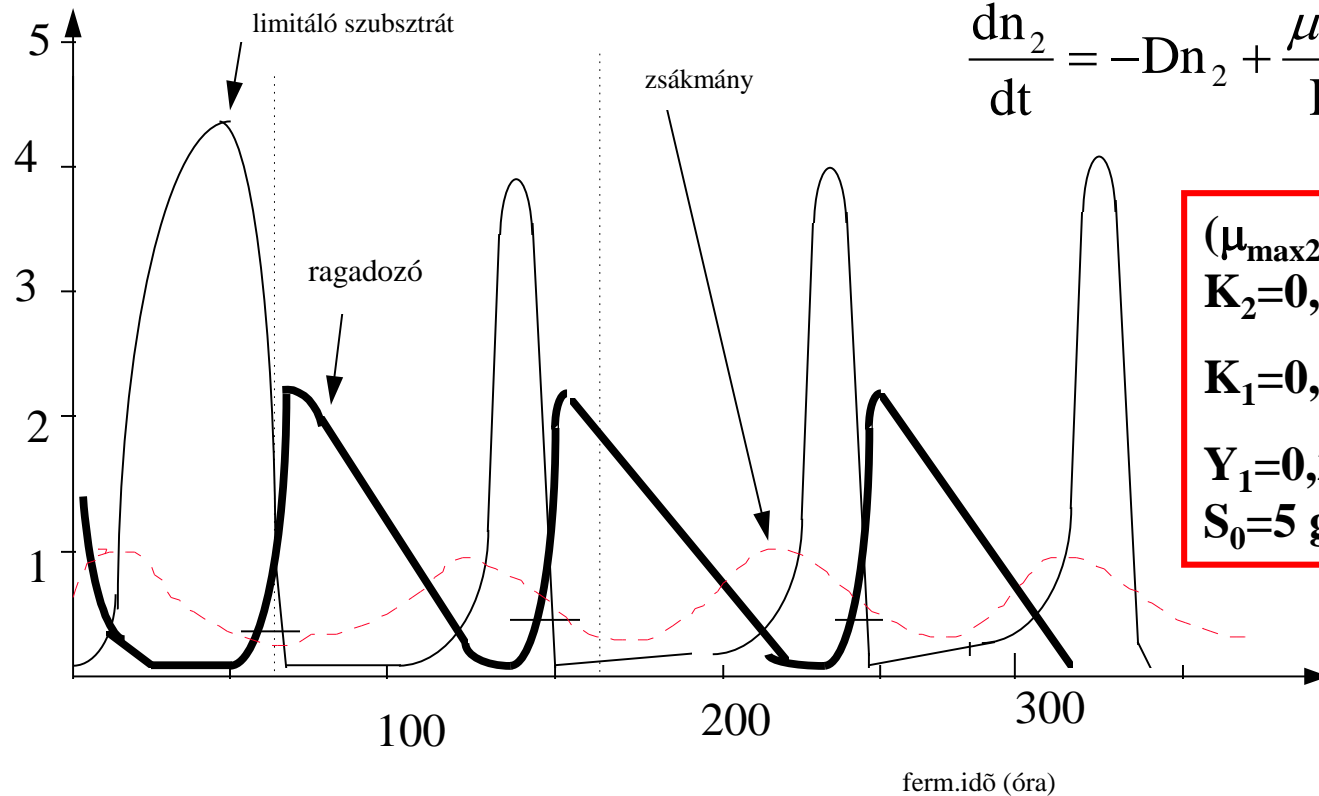
Dictyostelium discoideum

E. coli

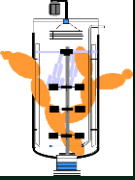
$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{1}{Y_1} \frac{\mu_{1\max} S n_1}{K_1 + S}$$

$$\frac{dn_1}{dt} = -Dn_1 + \frac{\mu_{1\max} S n_1}{K_1 + S} - \frac{1}{Y_2} \frac{\mu_{2\max} n_1 n_2}{K_2 + n_1}$$

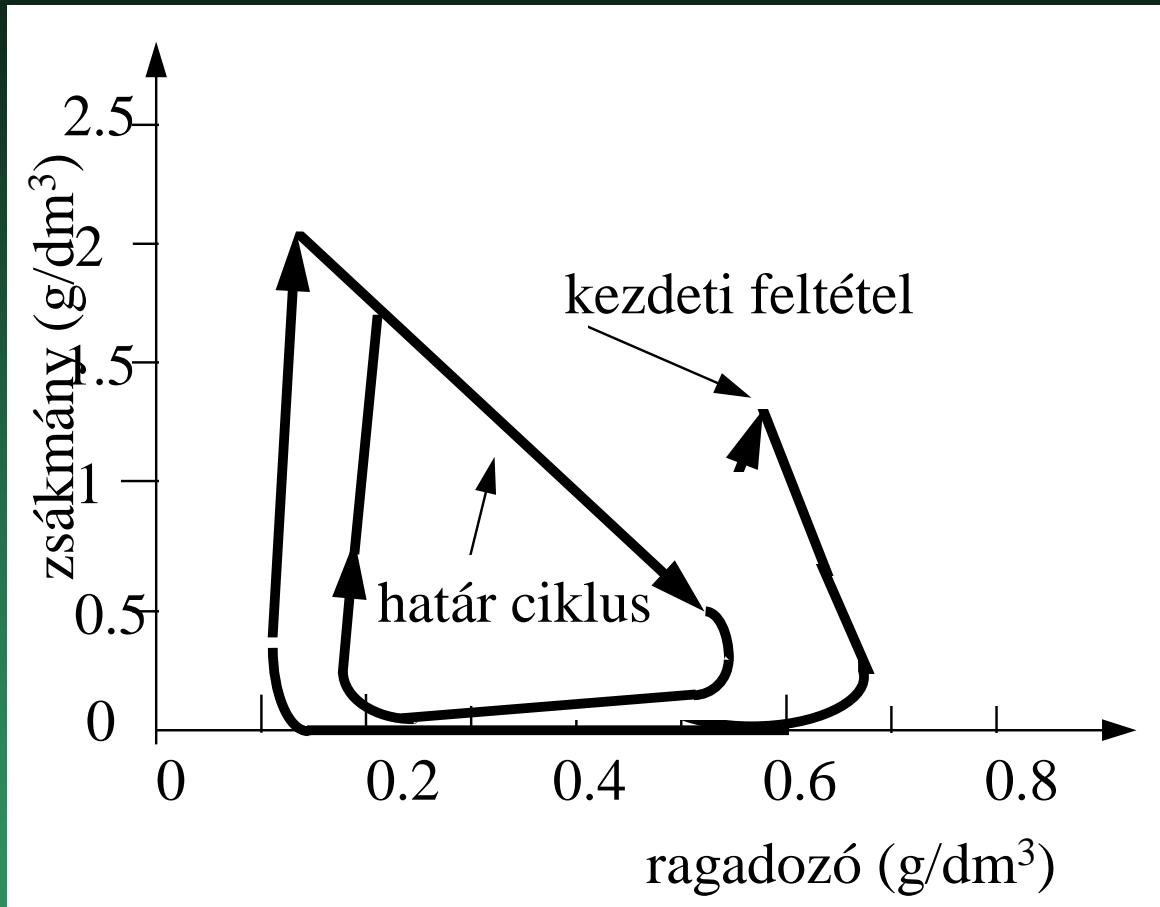
$$\frac{dn_2}{dt} = -Dn_2 + \frac{\mu_{2\max} n_1 n_2}{K_2 + n_1}$$



$(\mu_{\max 2} = 0,1 \text{ h}^{-1} \quad \mu_{\max 1} = 0,5 \text{ h}^{-1}$
 $K_2 = 0,25 \text{ g/dm}^3$
 $K_1 = 0,1 \text{ g/dm}^3$
 $Y_1 = 0,25 \quad Y_2 = 0,5 \quad D = 0,05 \text{ h}^{-1}$
 $S_0 = 5 \text{ g/dm}^3)$

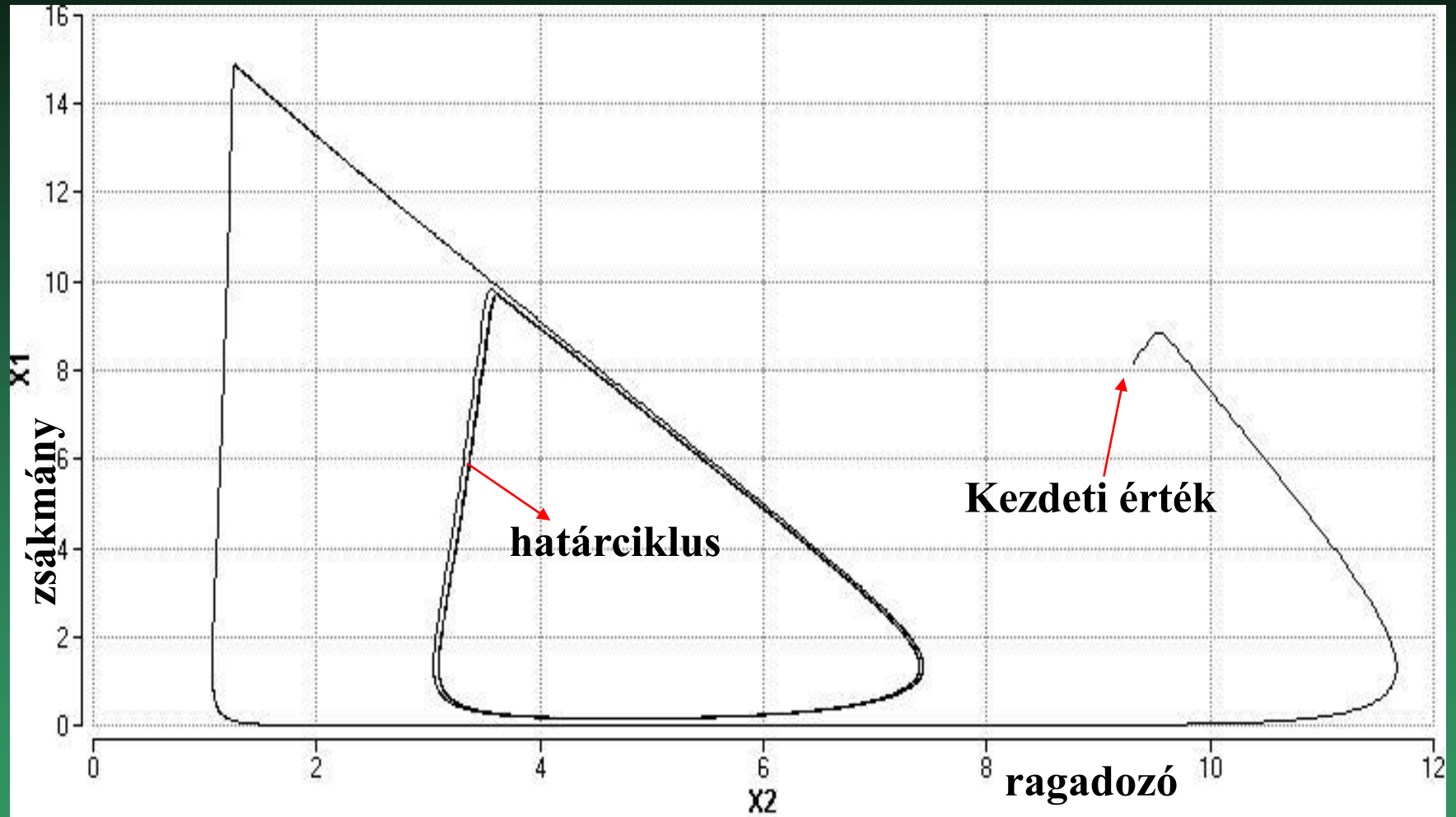


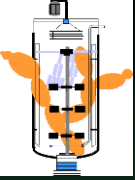
Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások



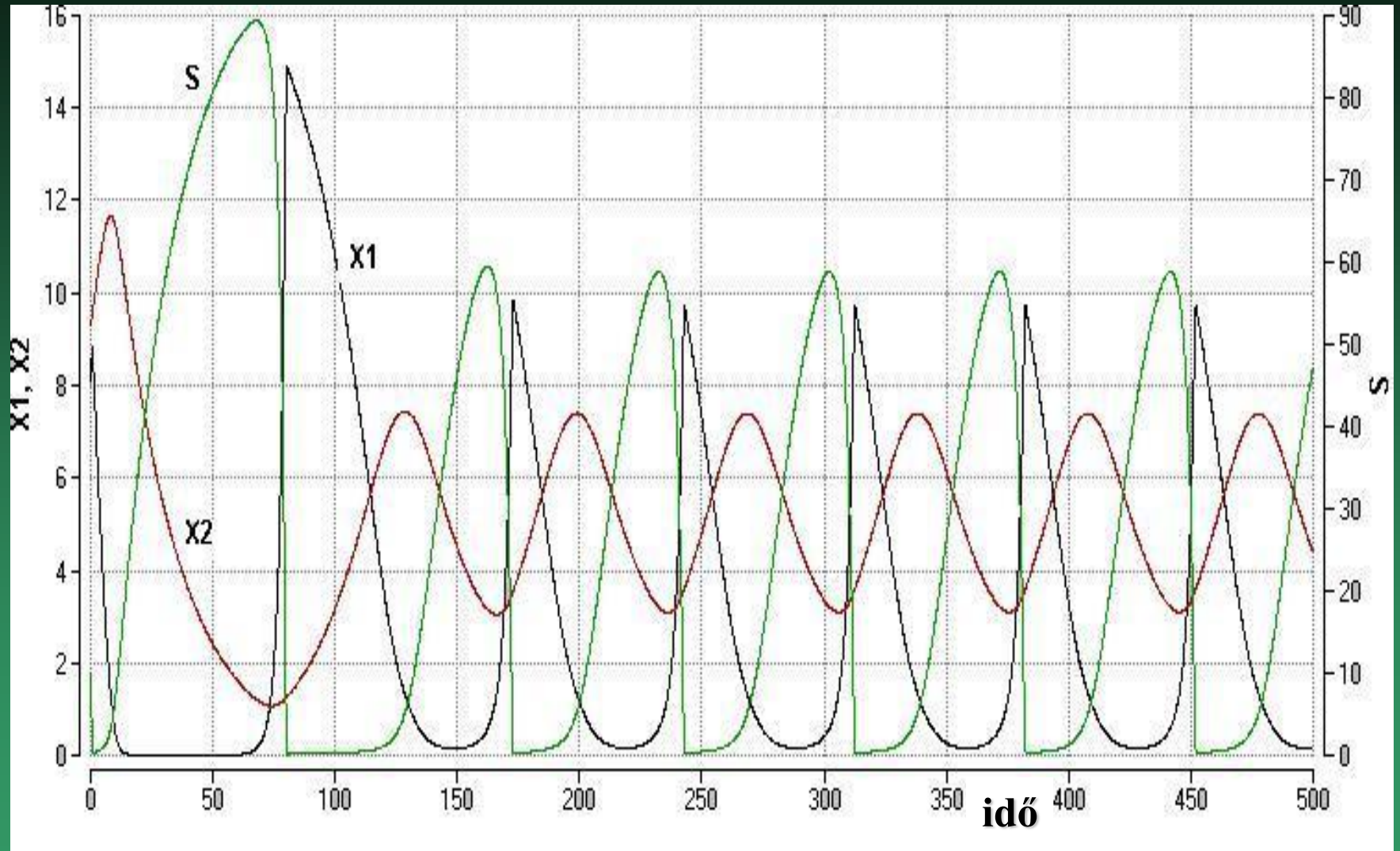
Kemény oszcilláció

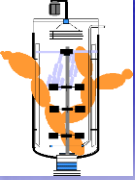
Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások





Vegyes kultúrák, mikrobiális kölcsönhatások





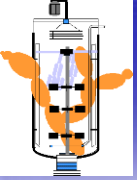
Plazmid tartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

BIOREAKT
2009_MSc

Genetikailag manipulált mikroorganizmusok (GMO) idegen-fehérje termelésének egyik esete a nagyszámú, idegen gént hordozó plazmid “tevékenység”, e sejtek nagyszámú “hátizsákot” cipelnek magukkal, ezért lassabban növekednek mint a plazmidot nem tartalmazó sejtek, illetve a tápanyagokra (a limitáló szubsztrátra) vonatkozó hozamok is kisebbek a plazmidtartalmú sejtek esetén.

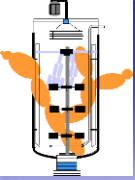
	plazmid mentes	plazmidot tartalmazó
ATP szükséglet	$97 \cdot 10^{-16}$ mol/sejt	$163 \cdot 10^{-16}$ mol/sejt
Y_{ATP}	$10,3 \cdot 10^{13}$ db sejt/mol 29 g/mol	$6,1 \cdot 10^{13}$ db sejt/mol 26 g/mol

Érthető ezért a **plazmidvesztés nullánál nagyobb valószínűsége**, illetve, hogy egy vegyes populációban - amelyben tehát plazmidos és plazmidmentes sejtek együtt fordulnak elő – a **plazmid mentes sejtek túlnövik a plazmidtartalmú sejteket**.



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

1. Szegregációs instabilitás
2. Strukturális plazmid instabilitás
3. Gazdasejt mutációk
4. Növekedési sebességek különbözőség



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

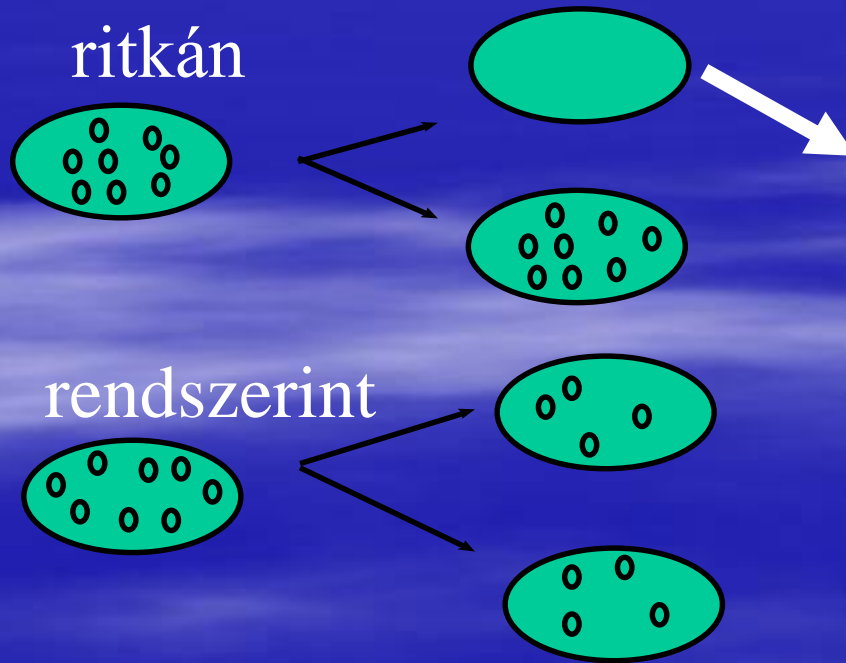
1. Szegregációs instabilitás

LCN (low copy number), < 20 kópia/sejt

speciális mechanizmus biztosítja a plazmidoknak a replikáció utáni egyenletes megoszlását a leánysejtekben. (*par* locus [partition] a plazmidon)

HCN (high copy number), > 20 kópia/sejt

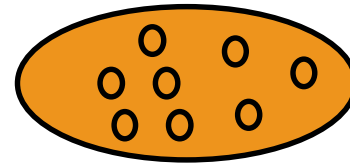
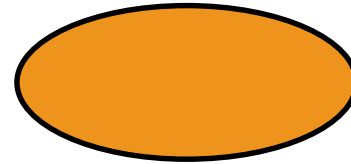
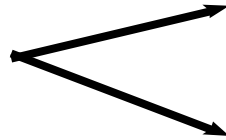
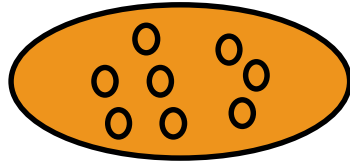
plazmidok megoszlása az anya és leánysejtek között véletlenszerű binomiális eloszlást követ:



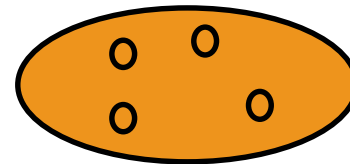
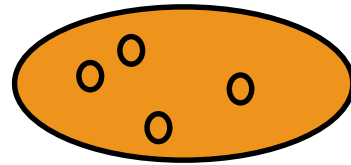
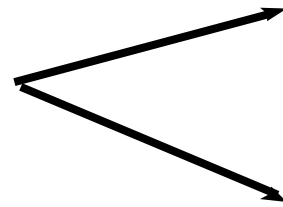
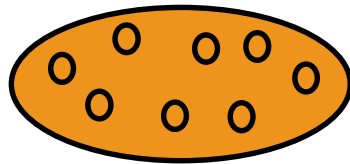
$$P(0) = 2 \cdot \left(\frac{1}{2}\right)^c = 2^{(1-c)}$$

C = plazmid replikációs egységek száma

ritkán

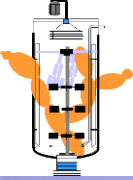


rendszerint



Anyasejtek

leánysejtek



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

Példa

40 plazmid egységet tartalmazó sejt.

Annak a valószínűsége, hogy osztódáskor plazmidmentes sejt jön létre,

$$P = 2^{-(1-40)} = 1.8 \cdot 10^{-12}.$$

40 plazmidnyi DNS fele *dimer*, ötöde pedig *tetramer*

$$M + D + T = 40$$

$D = \frac{1}{2}(40) = 20$ monomer pl. -ekvivalens azaz 10 dimer

$T = \frac{1}{5}(40) = 8$ monomer pl. -ekvivalens azaz 2 tetramer

$M = 40 - 20 - 8 = 12$ ténylegesen monomer plazmid

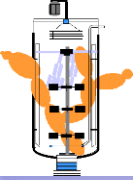
együtt replikálódó egységek száma $12 + 10 + 2 = 24$.

$$P = 2^{-(1-24)} = 1.2 \cdot 10^{-7},$$

Sejtek felében 10 kópia, másik felében 70 (az átlag 40!)

$$P = 0.5 \cdot P(0)_{10} + 0.5 \cdot P(0)_{70} = 0.5 \cdot 2^{-(1-10)} + 0.5 \cdot 2^{-(1-70)} = 9.8 \cdot 10^{-4} + 8.5 \cdot 10^{-22} \approx 9.8 \cdot 10^{-4}.$$

Az alacsonyabb kópiaszámú sejtek határozzák meg a plazmidszegregáció gyakoriságát!

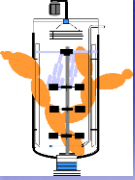


Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

2. Strukturális plazmid instabilitás.

Sejten belüli rekombináció: plazmidon kódolt markerek, például az antibiotikum rezisztencia génje integrálódik a gazdasejt kromoszomális DNS-ébe, ugyanakkor plazmidon történő mutáció miatt a fehérjetermelés képessége megszűnhet. —→ A marker megvan, azt hisszük, hogy – pl. antibiotikum adagolással - a szelekciós nyomás fenntartásával csak a plazmidhordozók fognak szaporodni, pedig mivel a fehérjét nem termelő sejtek megszabadultak a metabolikus “hátizsáktól”, nagyobb fajlagos növekedési sebességük miatt éppen az ilyen rekombinánsok fognak felhalmozódni a tenyészetben.

A sejten belüli rekombináció, és a plazmid mutáció együtt de külön-külön is az idegen fehérjét nem termelők feldúsulásához vezethet.

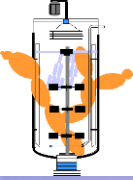


Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

3. Gazdasejt mutációk - fehérjetermelés képességének a megszűnése. Ha például a fehérjeszintézis a *Lac* promoterhez kötött, és a *Lac* promoter mutációt szenved úgy, hogy a sejt nem rendelkezik ezután *laktóz permeázzal*, akkor a sejt nem lesz képes az induktor laktóz felvételére és nem lesz képes a fehérjetermelés beindítására.

4. Túlnövés: a gyorsabban szaporodó, idegen fehérjét nem termelő sejteknek a fajlagos **növekedési sebességek különbözőségéből** eredő túlnövése.

(Ez az előző háromnak is mindig következménye.)



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

Plazmidstabilitás befolyásolása

Molekuláris biológiai módszerekkel.

*plazmid kópiaszám (50 felett általában stabil, *E.coli*nál a legjobb eredmények 25-250 nagyságú kópiaszám esetén).

*promoter erősségének fokozása (a fehérjetermelés nagyságát meghatározó másik tényező)

Leggyakrabban az IPTG-vel (izo-propil- β -D-tiogalaktózid) indukálható *Lac promotert*, illetve a hőmérséklet emeléssel (30-ról 42 °C-ra) indukálható λ pL *promotert* alkalmaznak.

És...

*szelekciós nyomás fenntartása: antibiotikum adagolás a plazmidtartalmú sejtek szaporodásának fenntartására

Nem alkalmazható nagy léptékben: antibiotikum rezisztencia = antibiotikum lebontása (állandóan kellene adagolni a drága antibiotikumot).

- többlépcsős kemosztát és kétfázisú szakaszos fermentációs technika.

előbbi: különböző V->különböző D->különböző μ

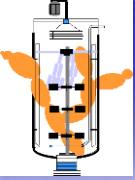
utóbbi: λ pL promoter esetén a *E.coli*-t 30 °C-on tenyésztjük (esetleg antibiotikum jelenlétében) az exponenciális fázis végéig, a hanyatló fázis közepéig, majd megemeljük a hőmérsékletet 42 °C-ra. Ekkor a szaporodás gyakorlatilag leáll (lelassul) és a fehérjetermelés elindul.

*Kromoszómáról létfontosságú gén plazmidra → csak a plazmidosok életképesek.

*Kisebb plazmidok stabilabbak, együttreplikálódók számának csökkentése

*runaway replikációs plazmidok: 1/sejt →növekedés →indukció a plazmidreplikációra
akár 800db/sejt →indukció a fehérjetermelésre.

*



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

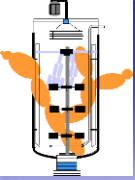
LÉPTÉK HATÁSA

- INOKULÁLÁSI SOR:
1. FERDE AGAROS TENYÉSZET
 2. 300 ml RÁZOTT LOMBIK
 3. 10-12 l LABORFERMENTOR
 4. 300-3000 l KISÉRL. ÜZEM
 5. 50,000-100,000 l TERMELŐ ÜZEM

INOKULUM legyen 3% -----100% $100/3 = 33$ szoros növekedés

$$2^n = 33 \rightarrow n = 5 \text{ generáció}$$

Azaz minimális követelmény $5*5 = 25$ generáció! stabilitása



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

Kinetikai viselkedés

Annak a valószínűsége, hogy a plazmidhordozó sejtekből (X+) plazmidmentes jön létre: p.

N_0 db sejtből $N_0(1-p)$ plazmidos és $N_0(p)$ plazmidmentes sejt születik.

Az plazmidos sejtek száma a konszekutív generációk során:

$$\begin{array}{l} \text{1.generáció} \quad N_0 + N_0(1-p) = 2 N_0 - N_0 p = N_0(2-p) \\ \quad \quad \quad \text{anya} \quad \quad \text{leány} \end{array}$$

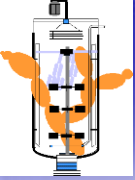
$$\text{2.generáció} \quad N_0(2-p) + N_0(2-p)(1-p) = N_0(2-p)^2$$

$$\text{3.generáció} \quad N_0(2-p)^2 + N_0(2-p)^2(1-p) = N_0(2-p)^3$$

·
·

$$\text{n.generáció} \quad = N_0(2-p)^n$$

De: a plazmidmentesek is szaporodnak (sőt), bonyolult rekurzív formula!



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

IMANAKA és AIBA (1981)

Feltétel: az X arányos N-nel!

+

$$\frac{dX^+}{dt} = (1-p)\mu^+ X^+$$

1.

Megoldható, ha μ és p állandó

-

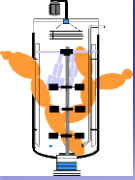
$$\frac{dX^-}{dt} = p\mu^+ X^+ + \mu^- X^-$$

2.

$$X^+ = X_0^+ \exp[(1-p)\mu^+ t]$$

$$\frac{dX^-}{dt} - \mu^- X^- = p\mu^+ X_0^+ \exp[(1-p)\mu^+ t]$$

(1. Versengő specieszek esetét!!!)



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

$$\frac{dX^-}{dt} - \mu^- X^- - p\mu^+ X_0^+ \exp[(1-p)\mu^+ t] = 0$$

!

$$y' + ay + B(t) = 0$$

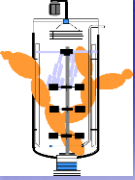
$$y = Ce^{-at} + \frac{A}{a+B} e^{at}$$

Elsőrendű lineáris diffrgnyenlet
általános megoldása

$$\text{ha } B(t) = Ae^{at}$$

$$X^- = \frac{p\mu^+ X_0^+}{(1-p)\mu^+ - \mu^-} \left\{ \exp[(1-p)\mu^+ t] - \exp(\mu^- t) \right\} + X_0^- \exp(\mu^- t)$$

Ez a jó!!!



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

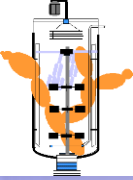
$$X^+ = X_0^+ \exp[(1-p)\mu^+ t]$$

$$X^- = \frac{p\mu^+ X_0^+}{(1-p)\mu^+ - \mu^-} \left\{ \exp[(1-p)\mu^+ t] - \exp(\mu^- t) \right\} + X_0^- \exp(\mu^- t)$$

Bevezetés, definíció:

$$f = \frac{X^+}{X^+ + X^-} = \frac{X^+}{X}$$

$$f = \frac{\exp[(1-p)\mu^+ t]}{\exp[(1-p)\mu^+ t] + \frac{p\mu^+}{(1-p)\mu^+ - \mu^-} \left\{ \exp[(1-p)\mu^+ t] - \exp(\mu^- t) \right\} + \frac{X_0^-}{X_0^+} \exp(\mu^- t)}$$



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

tenyésztés során keletkezett generációk száma $n = \mu^+ t / \ln 2$
plazmidhordozó sejtek metabolikus megterhelését mérő jelzőszám

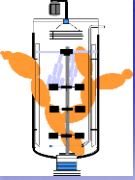
$$\alpha = \mu^- / \mu^+$$

$$f = \frac{X^+}{X^+ + X^-} = \frac{X^+}{X}$$

$$f = \frac{1 - \alpha - p}{1 - \alpha - p \left(2^{-n(1 - \alpha - p)} \right)}$$

*a generációk számának,
a plazmidvesztés valószínűségének,
a metabolikus megterhelésnek*

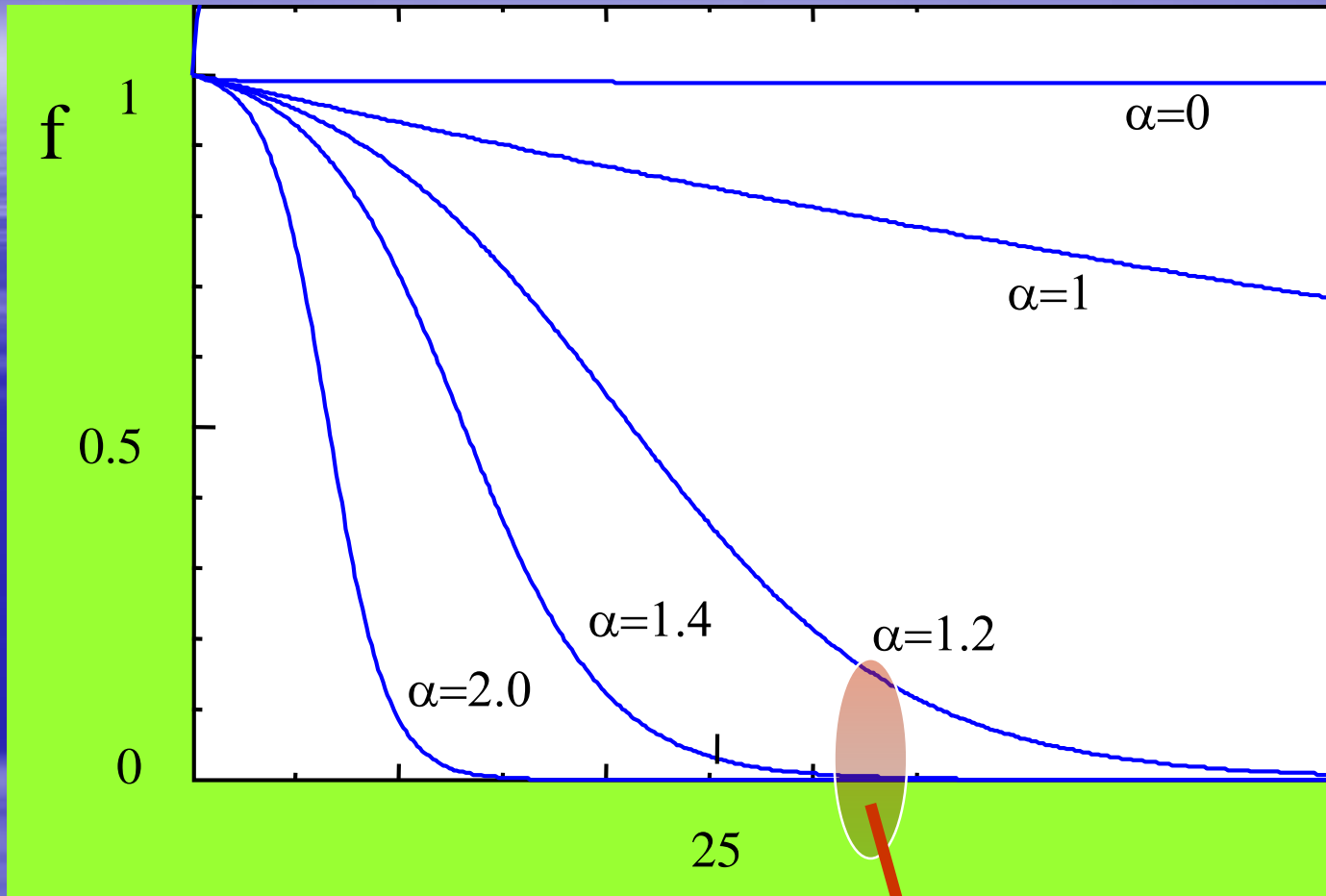
a függvényében mutatja a plazmidhordozó sejtarány alakulását a tenyésztési idő (generációk) változásában.



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

$$\alpha = \mu^- / \mu^+$$

$$p = 0,01$$

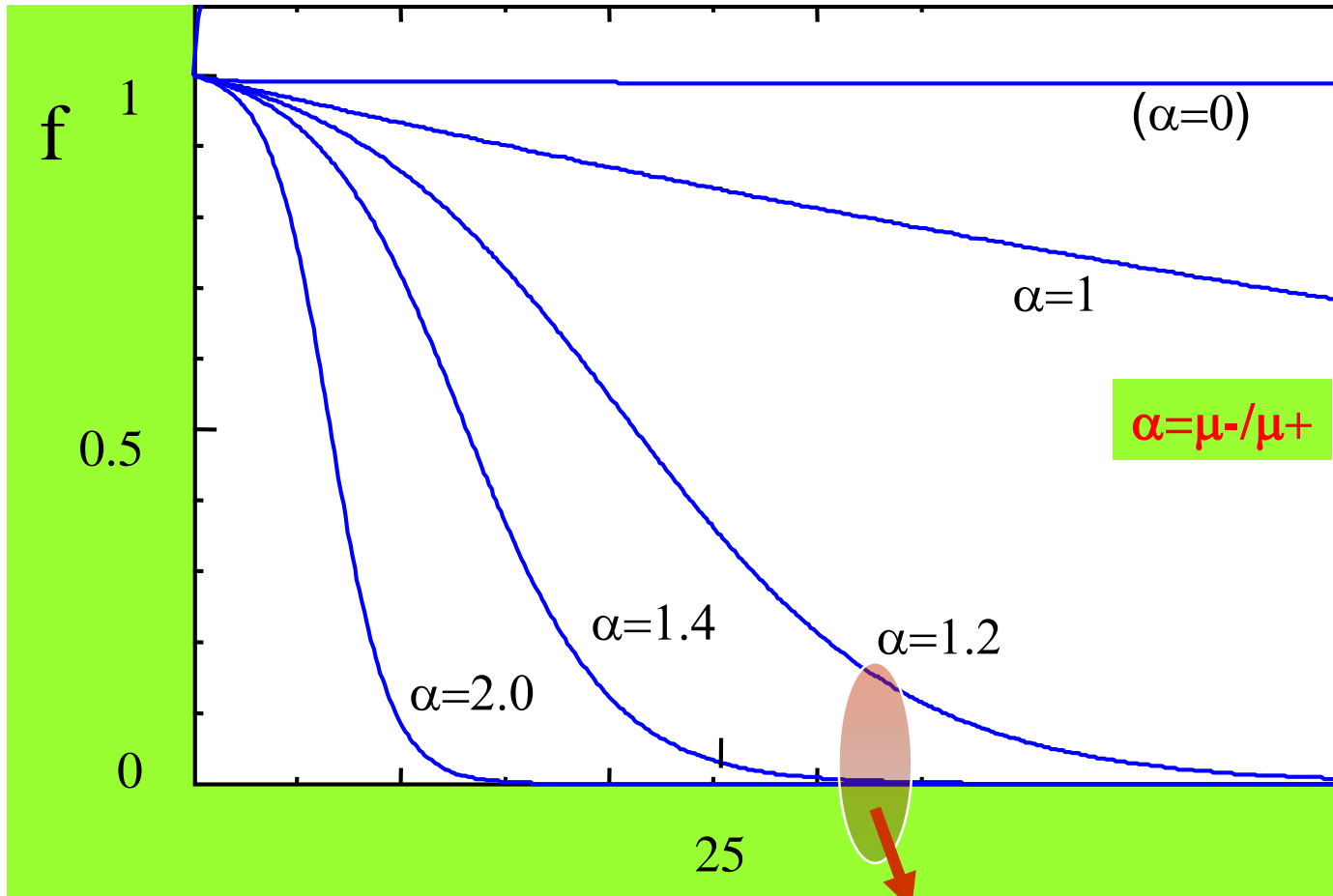


Plazmidhordozók hányada a generációk számának függvényében

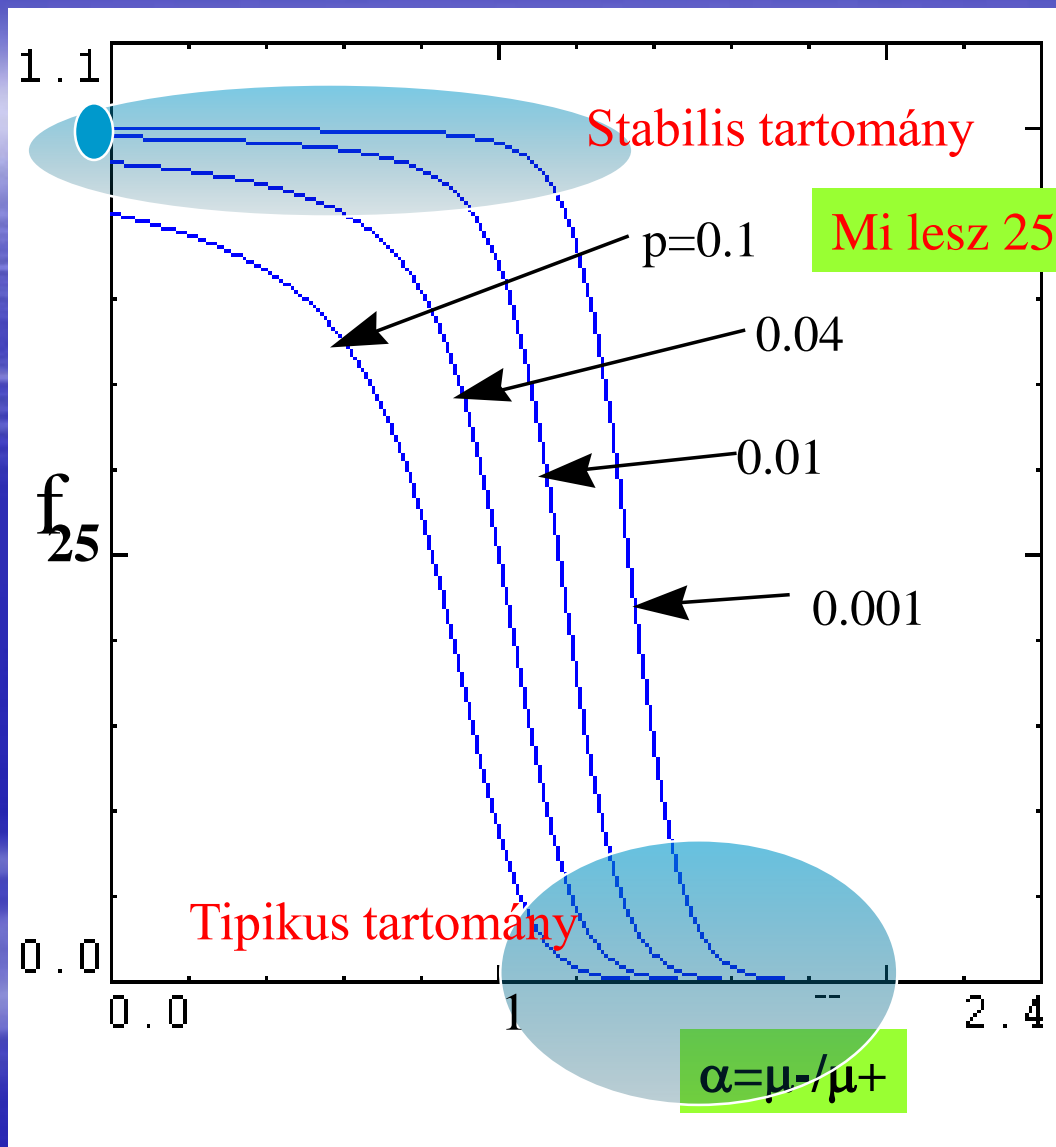
$$f = \frac{1 - \alpha - p}{1 - \alpha - p \left(2^{-n(1 - \alpha - p)} \right)}$$

33 gen. alatt eltűnnek a + sejtek!

$p=0,01$



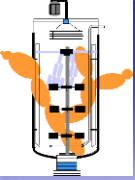
33 gen. alatt eltűnnek a + sejtek!



0

1,1

Plazmidos sejtek hányadának változása az α függvényében



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

KEMOSZTÁT

$$\frac{dX^+}{dt} = -DX^+ + (1-p)\mu^+ X^+ \quad *$$

$$\frac{dX^-}{dt} = -DX^- + p\mu^+ X^+ + \mu^- X^- \quad **$$

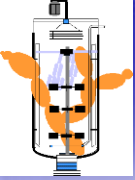
$$\frac{dX}{dt} = \frac{dX^+}{dt} + \frac{dX^-}{dt} = (\mu^+ X^+ + \mu^- X^-) - D(X^+ + X^-) \quad \text{A p-s tag kiesett!}$$

Állandósult állapotban

$$\mu^+ X^+ + \mu^- X^- = D(X^+ + X^-)$$

$$\alpha = \mu^- / \mu^+$$

$$\mu^+ (X^+ + \alpha X^-) = D(X^+ + X^-)$$



Plazmidtartalmú mikrobák tenyésztése és kinetikája

$$\mu^+ (X^+ + \alpha X^-) = D (X^+ + X^-)$$

Ha $\alpha=1$ nincs metabolikus megterhelés (csalás a +sejtek javára)

$$\mu^+ = D \longrightarrow * \text{ és } **$$

$$X^+ = X_0^+ \exp(-pDt),$$

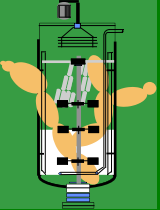
Csökken !!!

$$X^- = X_0^- + X_0^+ (1 - \exp(-pDt))$$

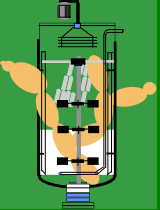
Nő!!!

A megfigyelés kezdete

Ha $\alpha \neq 1$ * , ** , *** \longrightarrow Szimultán differenciál egyenletek számítógéppel Megoldhatók.



Gomba növekedés



Gombanövekedés kinetikája (Streptomyceták hasonlóan!)

Szubmerz fonalas növekedés - mint baktériumok, Monod kinetika.....

Felületi kétdimenziós növekedés

Pellet növekedés

Felületi kétdimenziós növekedés



penészes kenyér



képpenészes sajt



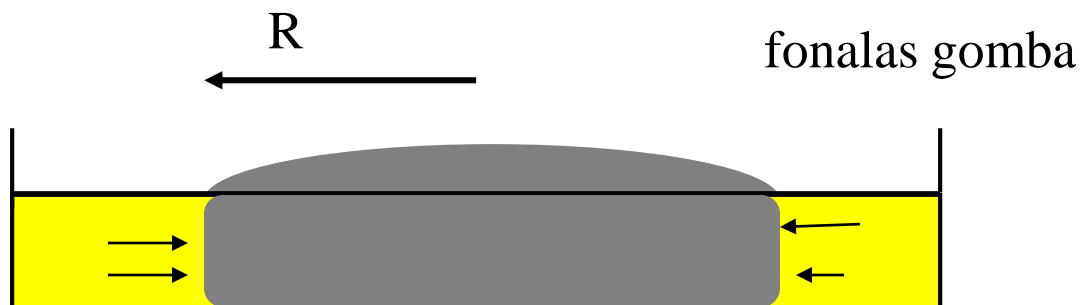
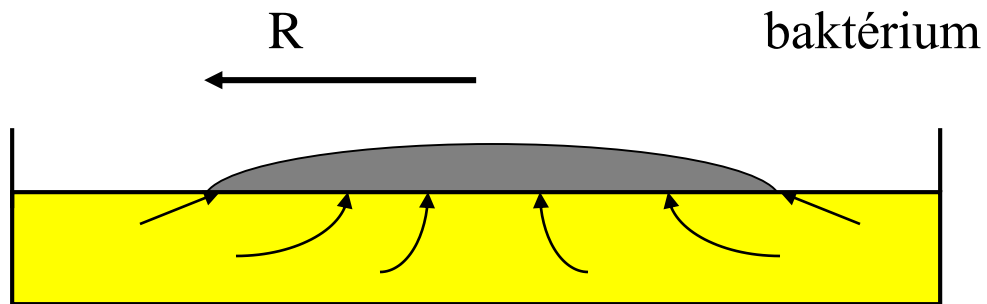
penésztelepek Petri csészén

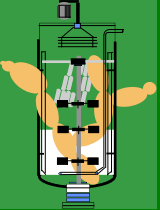


penészes növényi részek

Telepsugár növekedési sebessége gyakran állandó

$$\frac{dr}{dt} = k$$





Kör alakú telep állandó vastagsággal(magasság):

$$X = r^2 \pi \cdot h \cdot \rho$$

Telep sűrűsége

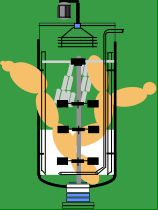
Telep magassága

$$\frac{dX}{dt} = 2\pi r h \rho \frac{dr}{dt}$$

$$\frac{dr}{dt} = k$$

$$r = \left(\frac{X}{\pi h \rho} \right)^{1/2}$$

$$\frac{dX}{dt} = 2\pi h k \rho \left(\frac{X}{\pi h \rho} \right)^{1/2}$$



$$\frac{dX}{dt} = 2\pi h k \rho \left(\frac{X}{\pi h \rho} \right)^{1/2}$$

integráljuk $X = (\lambda t + X_0^{1/2})^2$ ahol $\lambda = k(\pi h \rho)^{1/2}$

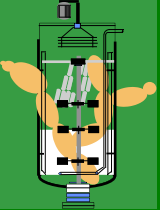
A telep tömege négyzetesen nő az időben, míg a sugár lineárisan

Pellet növekedés: hasonlóan.....

$$X = \frac{4}{3} r^3 \pi \cdot \rho$$

$$X = \left(\frac{\lambda}{3} + X_0^{1/3} \right)^3$$

A pellet tömege köbösen nő az időben. Kísérletesen igazolt *A.nidulans*-ra. De...



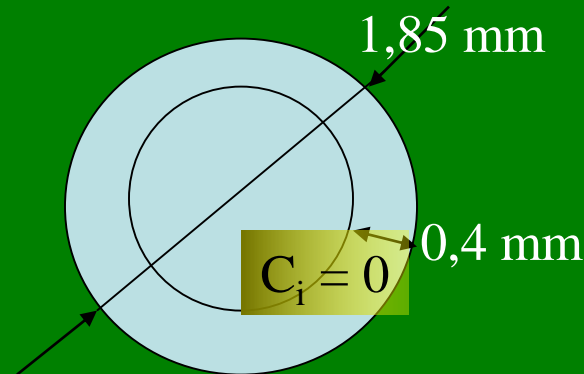
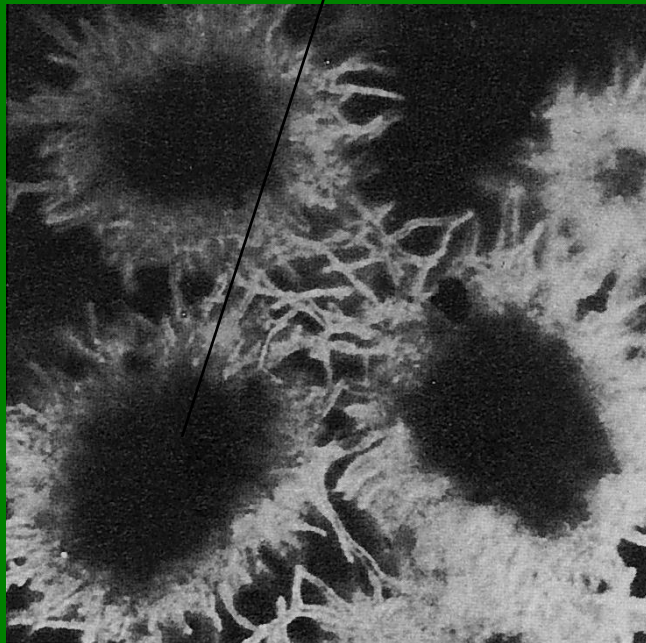
Kritikus sugár oxigéntranszfer kritikussá válik.

Penicillium chrysogenum 0,1 mm,

A. Nidulans 2,5 mm

Phanerochete chrysogenum

autolízis



Pellet *Penicillium chrysogenum*