

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: érdemes/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 enzim reakciók kinetikai leírása

2.4. Enzimmoduláció, bevezetés, áttekintés

2.5. Többsubstrátos reakciók

2.6. Egyéb hatások az enzimek aktivitására

2.7. Heteronén fázisú enzim reakciók viselkedése

a 2.52 EGYENLETTŐL KEZDVE A KINETIKA NEM KELL.

2.8. Az enzimek alkalmazási területei és néhány enzimtechnológiai

alapotalom

2.9. Allosztérikus enzimek

2.10. Transzportfolyamatok kinetikája

Tartalomjegyzék-részletes-KörnyMSc.doc



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

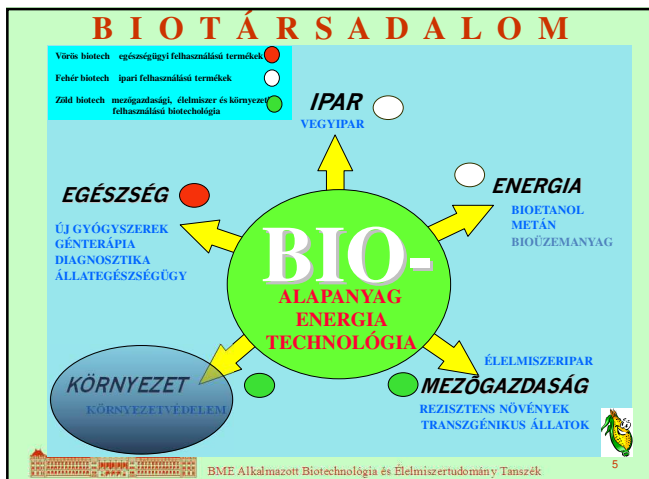
TARTALOMJEGYZÉK

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

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4



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 art industrielles, 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.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

A fehérjék speciális csoportjai és biológiai funkcióik

- Regulátor fehérjék
- Transzport fehérjék
- Védőfehérjék
- Toxinok
- Tartalék fehérjék
- Kontraktil fehérjék
- Szerkezeti fehérjék

ENZIMEK → REAKCIÓ KATALÍZIS



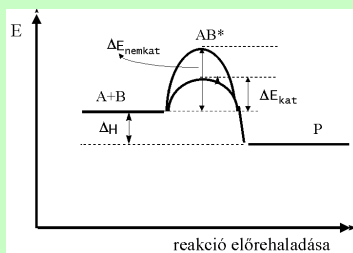
A KATALÍZIS TERMODINAMIKÁJA

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.



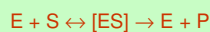
Egyszerű és enzim katalízis összehasonlítása

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



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 enzim molekulán 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

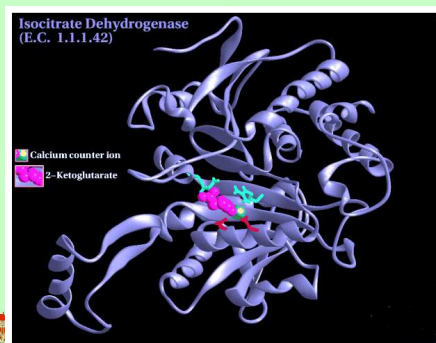
Az enzimkatalízis általános esetei azonosak a kémiaival:

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



Aktív centrum

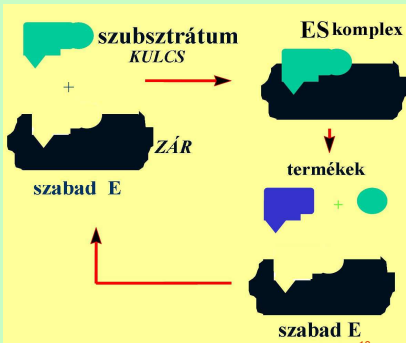
Szubsztrát kötőhely: csak egy kis felület a fehérje molekulán



Enzim-szubsztrát kötődés: kulcs-zár modell

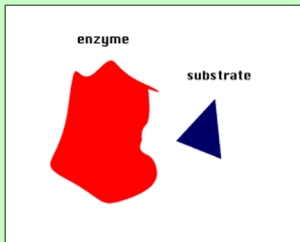
Hermann Emil Fischer (1852-1919, a 2. Nobel díjas)
 Az enzimek szelektivitása a felületek illeszkedésén alapul.

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”).

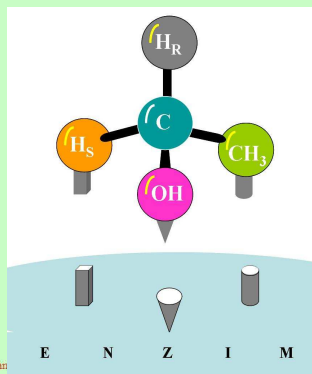


http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/ABLE/induced_fit/index.html

Orientációs effektus

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

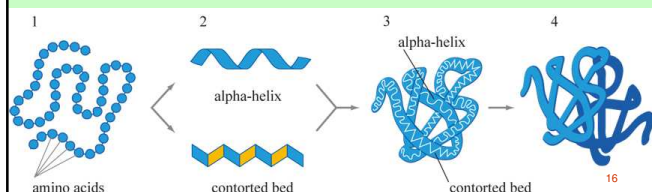
Csak az egyik optikai izomer kapcsolódik – ez az enzimek sztereospecifitásának az alapja.



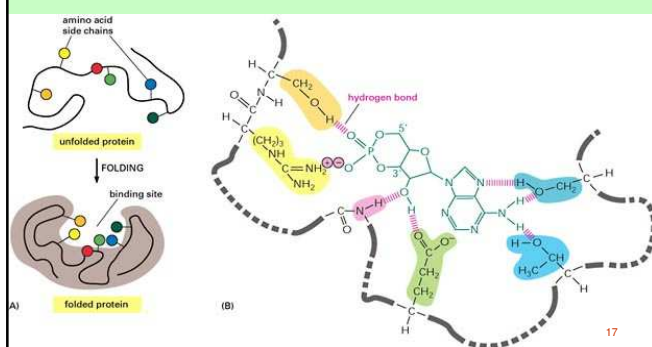
Hogyan alakul ki az aktív felület?

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 specifikitás(ok), mint a kémiában

Regulálhatóság



További reakciópartnerek

HOLOENZIM

APOENZIM +

Inaktív fehérje

KOFAKTOR

FÉMION

Mg, Ca, Zn,
Fe, Cu, Mo

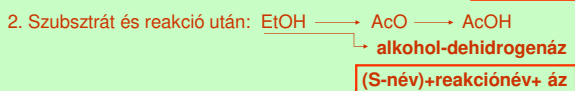
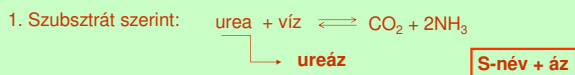
KOENZIM

Prosztetikus csoport
 stabil kovalens kötés.
 FAD(H₂), Hem,
 Piridoxal-P(B₆)

Koszubsztrát
 Sztoichiometrikusan
 fogy, regenerálni kell
 NAD(H), ATP



Enzimek elnevezése



3. Triviális nevek:
 pepszin, tripszin, rennin mind fehérjebontók + -in

4. IUB, IUPAC, IUBMB 1964, 1972, 1978 Enzyme Commission
 szisztematikus névadás



Enzim nevezéktan

katalógusszám

↓

E.C.1.1.1.49.

koszubsztrát

↓

D-glucose-6P:

szubsztrát

↗


NADP:

1-oxydoreductase

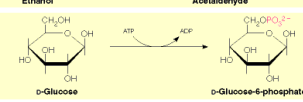
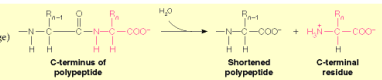
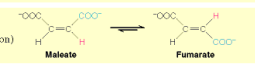
↘

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>
