

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

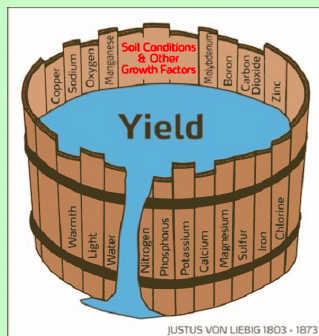


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Liebig minimumtörvénye

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:

<Unbalanced barrel>
 Amino acids that cannot be used effectively
 Phenylalanine + tyrosine, Valine, Tryptophan, Methionine + Cysteine, Leucine, Isoleucine, Threonine, Lysine, Alanine, Glycine, Aspartic acid, Glutamic acid
 When animals are given feeds that are deficient in even one of the amino acids needed, the body cannot effectively use the other amino acids and they will be excreted.

<Barrel with added lysine>
 By adding lysine, which tends to be lacking in feed, all other amino acids can be used effectively.
 Isoleucine, Threonine, Lysine, Tryptophan, Methionine + Cysteine, Leucine, Phenylalanine + tyrosine, Valine

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 (hallszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle → a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 5

Aminosavak előállítása

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

Kémiai szintézissel: metionin, glicin, alanin, triptofán (rezolválás 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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 6

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering

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

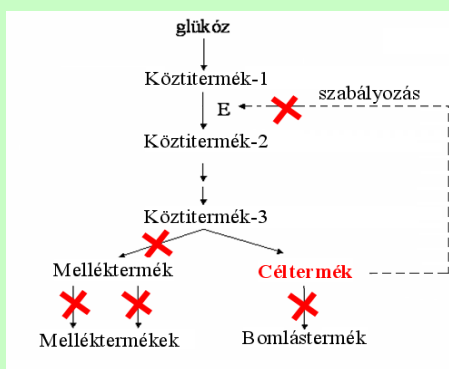
1. A bioszintézis út elágazásait lezárják, ezáltal minden anyag a céltermék irányába áramlik (auxotróf mutánsok)
2. A terméket továbbalakító reakciólépéseket eliminálják (auxotróf mutánsok).

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

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



Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



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 |



Tipikus fermentációs technológia

A fermentáció:

Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m³)

Rátáplálásos technológia

pH szabályozás (lúg, karbamid, ammónia)

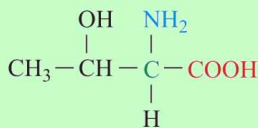
Steril körülmények

Fágok elleni védekezés

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



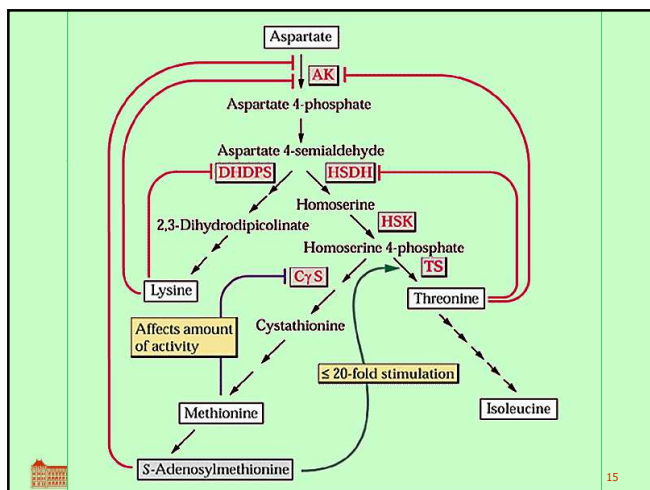
TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA



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





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-hidroxi-valeriánsav, AHV)



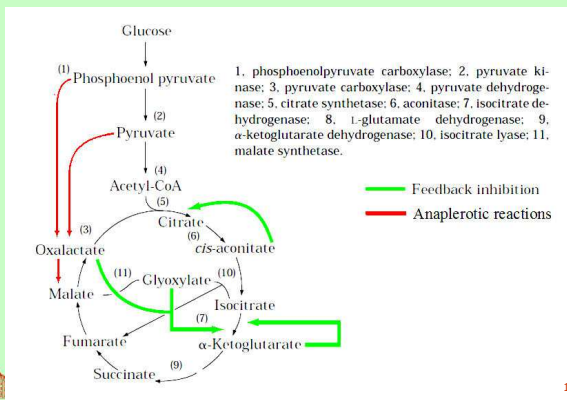
TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Emellett:

- a treonin út utolsó három enzimét (thrABC operon) pluszban plazmiddal viszik be, sok kópiában.
- fokozzák az aminosav transzportot kifelé a sejtől, 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



Anaplerotikus reakciók



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.

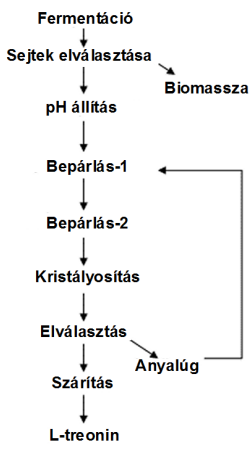
Termék: ~65 g/l (laborban: ~100 g/l) hozam: ~0,48



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 19


TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Feldolgozás: nem bomlékony anyag, bepárlással koncentrálnálható



```

    graph TD
      A[Fermentáció] --> B[Sejtek elválasztása]
      B --> C[pH állítás]
      C --> D[Bepárlás-1]
      D --> E[Bepárlás-2]
      E --> F[Kristályosítás]
      F --> G[Elválasztás]
      G --> H[Szárítás]
      H --> I[L-treonin]
      B --> J[Biomassza]
      G --> K[Anyalúg]
  
```



BME Alkalmazott Biotechnológ
