

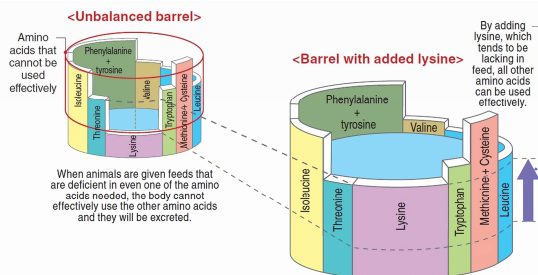
## 2. Aminosavak - treonin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## Táp(lálék)kiegészítés

Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## Az aminosavak felhasználása

- nátrium-glutamát → ízfokozó (Delikat, 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

## 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.

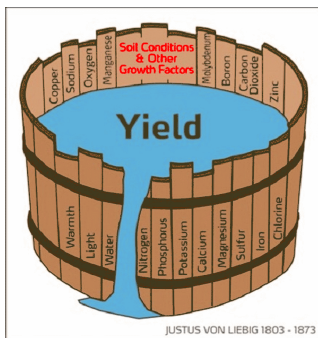


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## Liebig minimumtvénye

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

## 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
  - Prekursor adagolással: + olyan vegyület, amelyet a sejt beépít a termék molekulába
  - Enzimes, sejtes biotranszformációval: egyetlen biokémiai lépés



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

### Az aminosavgyártás története

1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)  
 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzssel (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<sup>10</sup> USD  
 23 országban 121 gyár 30000 munkahely  
 Magyarországon is: Evonik (Degussa), Kaba, 40.000 t/év

### 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).

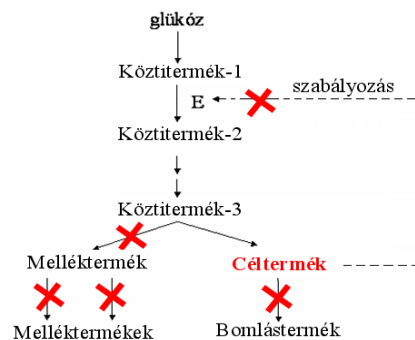
Ha ezek létfontosságú molekulák előállítását érintik, akkor leaky (szivárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

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

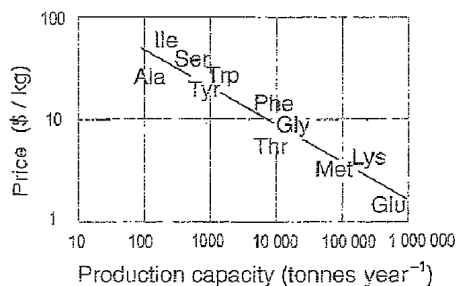
### Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

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, gyógyszer
1.000	L-Arginin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Leucin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Valin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
300	L-Triptofán	Nyugvoéjtes konverzió	Gyógyszergyártás
300	L-Izoleucin	Fermentáció	Gyógyszergyártás

### Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



### Itt is érvényes a mennyiség-ár kapcsolat



### Ipari mutáns törzsek jellemzői

AS	Törzs	Genetikai jellemzők	Kihoz (g/l)	C-forrás		
Arg	<i>Brevibacterium flavum</i>	Gua <sup>r</sup> , Ta <sup>r</sup>	35	Glükóz		
			25	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 <sup>r</sup> , Leu <sup>r</sup> , AEC <sup>r</sup>	39	Glükóz		
			<i>Brevibacterium flavum</i>	AEC <sup>r</sup>	57	Szacharóz
				Hom <sup>leaky</sup> , Thr <sup>r</sup>	75	Ecetsav
Trp	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Phe <sup>r</sup> , Tyr <sup>r</sup> , 5MTrp <sup>r</sup> , 6FTrp <sup>r</sup>	12	Glükóz		

## Tipikus fermentációs technológia

A fermentáció:

Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m<sup>3</sup>)

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

## TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

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

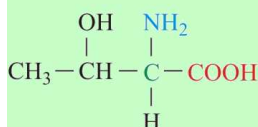
- meg kell akadályozni az anyagáramot Lys és Met irányába
- meg kell akadályozni a továbbalakulást:
  - Ile irányába (leaky mutáns, ~1% enzimaktivitás maradt)
  - megszüntetni a Thr-dehidrogenáz termelést (→ Gly)
- hibás szabályozású mutánsokat keresnek antimetabolit-rezisztenciával (α-amino-β-hidroxi-valeriánsav,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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

## 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

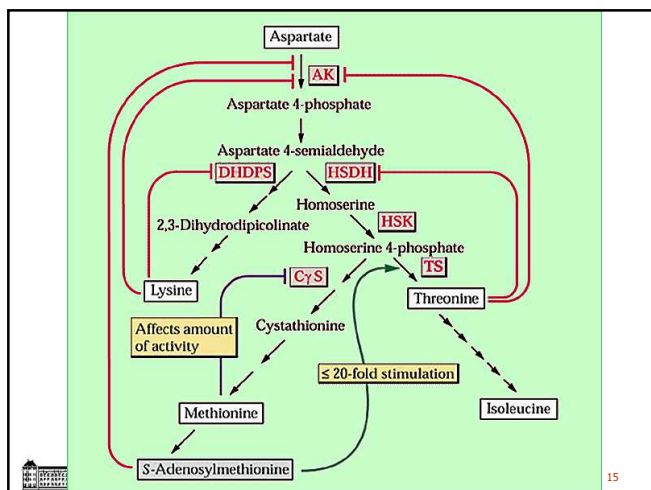
Emellett:

- 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 (oxalacetát → PEP + CO<sub>2</sub>), (külön enzim, külön génje van) is ki kell ejteni



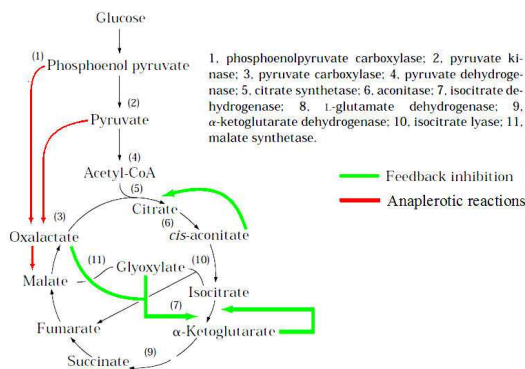
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17



15

## 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

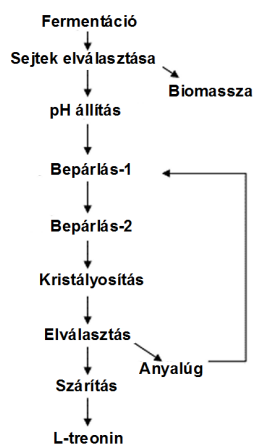


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

## TREONIN ELŐÁLLÍTÁSA

Feldolgozás: nem bomlékony anyag, bepárlással koncentrálnálható



BME Alkalmazott Biotechnol