

BIOREAKTOROK és a MÉRNÖKI GYAKORLAT

Aláírásért:

- 2018.03.06. röpZH (BSc-ből)
- hallgatói ea (esettanulmány, cikk)
(benne javasolt vizsgakérdés!)
- Szűrőpróba katalógus

Labor: 1 hetes: 3 szimuláció 1 félüzemi ferm. 1 gyárlát.

Hétfő	Oktatási hét	Tárgy	Témavezető	Gyakorlat			
2018.02.05	1						
2018.02.12	2						
2018.02.19	3	Ipari Mikrobi	NÁ	BacTrc kalibráció 2-esével+ ismeretlen analízis			
2018.02.26	4	Bioreaktorok 1	KB+VA+NB+NÁ	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturM0del2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel+RG			
2018.03.05	5	Bioreaktorok 2	KB+VA+NB+NÁ	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturM0del2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel+RG			
2018.03.12	6				03.15-18 4napos szünet		
2018.03.19	7	Bioreaktorok 3	KB+VA+NB+NÁ	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturM0del2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel+RG			
2017.03.26	8				FIBOK2018+Nagypéntek		
2017.04.02			TAVASZI SZÜNET		Húsvét H		
2017.04.09	9				Kolozsváriak		
2017.04.16	10	Ipari Mikrobi	VA		Kolozsváriak+Vegyesnapok		
2017.04.23	11				MŰKKI		
2017.04.30	12	Bioreaktorok 4	KB+VA+NB+NÁ	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturM0del2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel+RG			
2017.05.07	13	Bioreaktorok 5	KB+VA+NB+NÁ	H:K:Sz:Cs:P=StrukturModel1:StrukturM0del2:BiorModel:KomplexFerm:Élesztőmodel+RG			
2017.05.14	14						
2018.05.21	Póthét				H:Pünkösöd, péntek:vizsga		

Záróvizsga + Előadás témák

BIOREAKTOROK ES A MERNOKI GYAKORLAT

Vizsga- és ZV-tételek, 2012 júniustól

Enzimes összefoglalás és allo-enzimek

1. A MM és BH enzimkinetika összehasonlítása (alapok, V-S görbe doszkussziója, kinetikai állandók értelmezése és grafikus meghatározása)
2. A négy reverzibilis lineáris ihibició mechanizmusa, pH és hőmérséklet hatása az enzimaktivitásra. Reverzibilis MM kinetika.

Új anyag

3. Rögzített enzimek kinetikájának alapjai
4. Enzimek aktivitás kontrollja: allosztérikus enzimek. Allo kinetika, ihibició, aktiválás.
5. Hill egyenlet, MWC és KNF modellek.
6. Transzportfolyamatok kinetikája

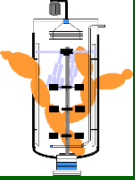
Fermentációs összefoglalás

7. Mikrobák tápanyagigénye. A növekedés, szubsztrátfogyás és termékképződés alap összefüggései (növekedési görbe, μ , Y, tápanyagok hasznosulása, termékképződési kinetika. Metabolikus kvóciensek)
8. Az oxigénigény és a levegőztetés alapösszefüggései

Új anyag

9. Fermentációs rendszerek matematikai modellezésének általános elvei. Fizikai, biológiai elvek. Modellek csoportosítása
10. Általános strukturális modell. Williams modell. (vagyilagosan)
11. Monascus α -galaktizidáz termelésének strukturális modelljének felépítése
12. [Öregedés modell]
13. A péklesztő energia és anyagcsere modellje
14. Plazmid tartalmú mikrobák kinetikája
15. Vegyes kulturák: általános és versengés
16. Vegyes kulturák: általános és predáció
17. Általánosított logisztikus egyenlet felhasználása kinetikai segédmodellként
18. Reaktorteknikai alapfogalmak: CSTR, PFR alapvető tulajdonságai. Tartózkodási idő eloszlások. Diszperziós modell.
19. [Növekedés és termékképződés ideális reaktorokban]
20. PFR és PB reaktorok Példák a felhasználásra. Előnyök, hátrányok.
21. Bioreaktorok tervezése (csövek, szelepek, tartályok)
22. Berendezések sterilizációja és tisztítása (CIP)
23. Közüzemek a biotechnológiai üzemekben (gőz, levegő, víz, HVAC)
24. Biológiai biztonság legfontosabb kérdései
25. Biotechnológiai folyamatok mérése és szabályozása (mérések csoportosítása) (T, habszint, DO, RQ, Biomassza mérése)
24. Szűrőelemek felhasználása a biotechnológiai folyamatokban
25. [GMP- Validálás]
26. Élesztőfermentáció szabályozása (fed batch, Crabtree effektus, megoldás)

No	hét	Téma
1	6	Biosafety, containment
2	6	CIP, SIP
3	7	Gyógyszeripari víztisztítás
4	7	Közművek (gőz, víz levegő)
5	8	Fűtés, hűtés HVAC
6	8	Szűrőelemek a biotechnológiában
7	9	Raceway pondok/nyitott medencék
8	9	Aerob keverős reaktorok vs szilárd fázisú reaktorok
9	10	Air lift reaktorok
10	10	Enzimes reaktorok
11	11	Biofolyamatok mérése és szabályozása
12	11	Bioszenzorok
13	12	Bioreaktor tervezés, méretezés
14	12	Mikrobioreaktorok és mérésük
15	13	Léptknövelés
16	13	Cső Tartály Szelep
17	14	Biotech hulladékkezelés
18	14	GMP validálás
19	14	Eldobható reaktorok



ENZIMES ÖSSZEFOGLALÓ



mol/dm³!!!!

MIÉRT NEM MÉRHETŐ?

Egy **egység** az az enzim mennyiség, amely 1 μmol szubsztrátot alakít át vagy 1 μmol terméket képez 1 perc alatt *adott reakció körülmények között*.

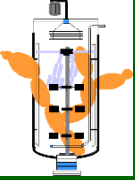
SI rendszerben: 1 Katal: 1 mol szubsztrátot alakít át 1 s alatt.

hatalmas enzim mennyiség nKat = 10⁻⁹ Kat

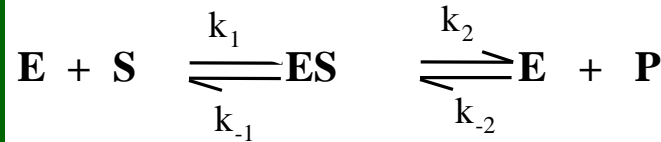
1 Kat = 6*10⁷ U, 1U = 1.6*10⁻⁸ Kat, 1U = 1/60 μKat

E/uf **E/mg** → fajlagos aktivitás

Michaelis és Menten



Michaelis-Menten kinetika



feltételezések: * $k_{-2} = 0$

*első lépés gyorsan egyensúlyra jut= **RAPID EKVILIBRIUM**

*stabil ES komplex, EP komplex elhanyagolható

*egy aktiv centrum, egy szubsztrát
aktivitás helyett cc használható

$S \gg E_0$ vagyis $E_0 / S \ll 1$

$$k_1 S E = k_{-1} (ES)$$

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{S \cdot E}{(ES)}$$

a „minket érdeklő” reakciósebesség:

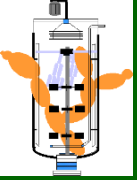
$$V = \frac{dP}{dt} = k_2 (ES)$$

az (ES) disszociációs
állandója

$$E + (ES) = E_0$$

anyagmérleg

összük el ezt a kettőt egymással



Michaelis-Menten kinetika

$$V = \frac{dP}{dt} = k_2(ES)$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2(ES)}{E + (ES)}$$

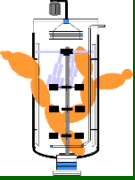
$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{S \cdot E}{(ES)}$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2 \frac{S}{K_s} E}{E + \frac{S}{K_s} E}$$

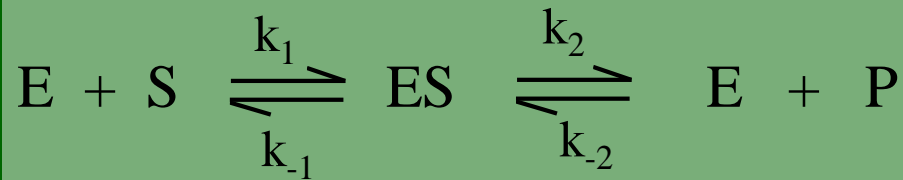
Rendezzük át!

$$\frac{V}{k_2 E_0} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s}} = \frac{S}{K_s + S}$$

$$V_{\max} = k_2 E_0$$



BRIGGS-HALDANE KINETIKA



$$\frac{dS}{dt} = -k_1ES + k_{-1}(ES)$$

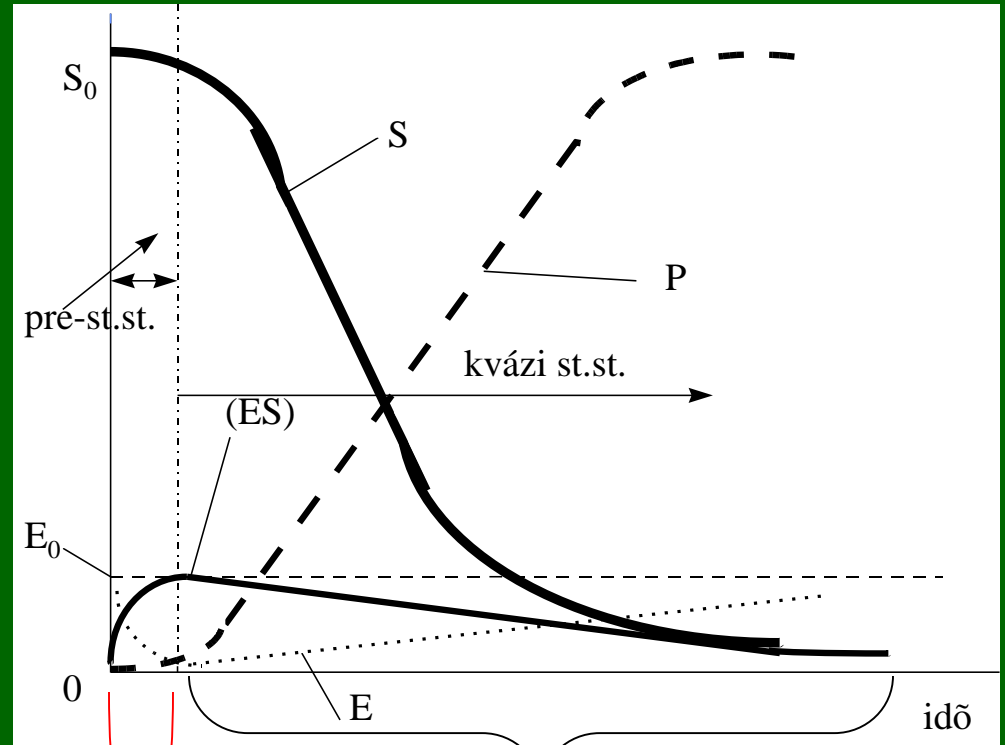
$$\frac{d(ES)}{dt} = k_1ES - k_{-1}(ES) - k_2(ES)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2(ES)$$

steady state

$$d(ES)/dt = 0$$

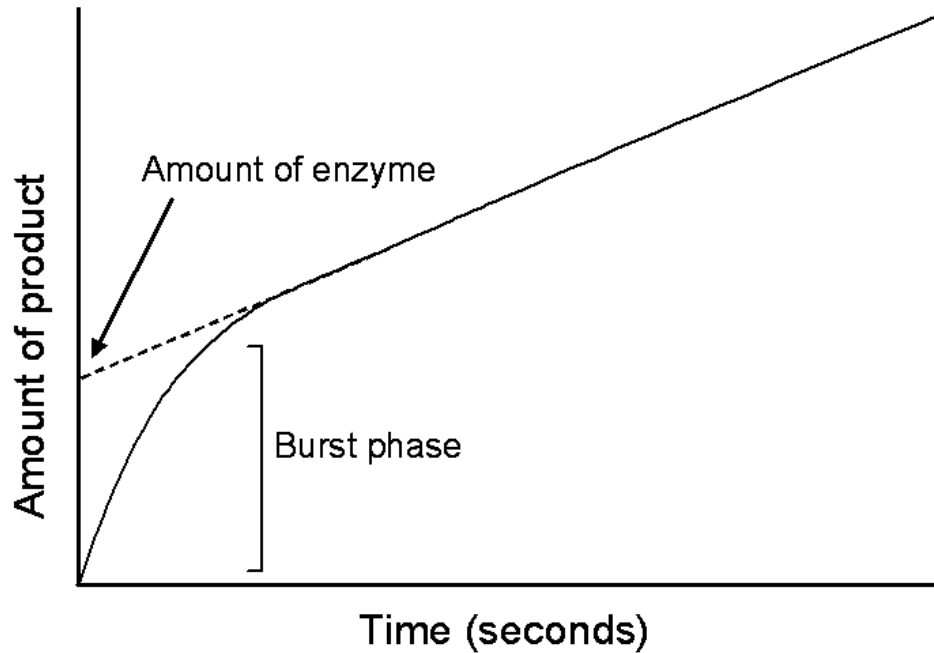
$$S \gg E_0$$

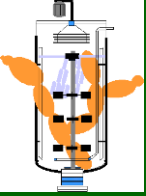


NAGYON RÖVID IDŐ

HOSSZÚ IDŐ

PRE-STEADY STATE





BRIGGS-HALDANE KINETIKA

$$\frac{d(\text{ES})}{dt} = k_1 \text{ES} - k_{-1}(\text{ES}) - k_2(\text{ES}) = 0$$

$$k_1 \text{ES} = (k_{-1} + k_2)(\text{ES})$$

$$(\text{ES}) = \frac{k_1 \text{ES}}{(k_{-1} + k_2)}$$

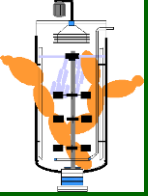
$$\text{E} + (\text{ES}) = \text{E}_0$$

$$(\text{ES}) = \frac{\text{E} \cdot \text{S}}{K_m}$$

$$\frac{V}{\text{E}_0} = \frac{k_2(\text{ES})}{\text{E} + (\text{ES})} \quad / k_2$$

$K_m = (k_{-1} + k_2) / k_1$
Michaelis állandó

$$V = \frac{k_2 \text{E}_0 \text{S}}{K_m + \text{S}} = V_{\text{max}} \frac{\text{S}}{K_m + \text{S}}$$



DISZKUSSIÓ

Michaelis -Menten

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

Briggs-Haldane

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_m + S}$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_{-1}}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} = K_s + \frac{k_2}{k_1}$$

ha $\text{num}(k_1) \gg \text{num}(k_2) \rightarrow$ a két konst. azonos!

DISZKUSSZIÓ

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

$$V_{\max} = k_2 E_0$$

$$K_m / V_{\max} = \text{specfi(ci)tás idő}$$

$$V = (V_{\max} / K_s) * S$$

1. rendű
tartomány

$$S \ll K_s$$

derékszögű hiperbola

Ha $S \gg K_s$

0.
rendű
tartomány

látszólagos elsőrendű sebességi állandó

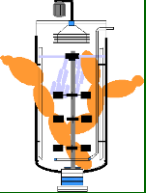
$K_m ; K_s$

S

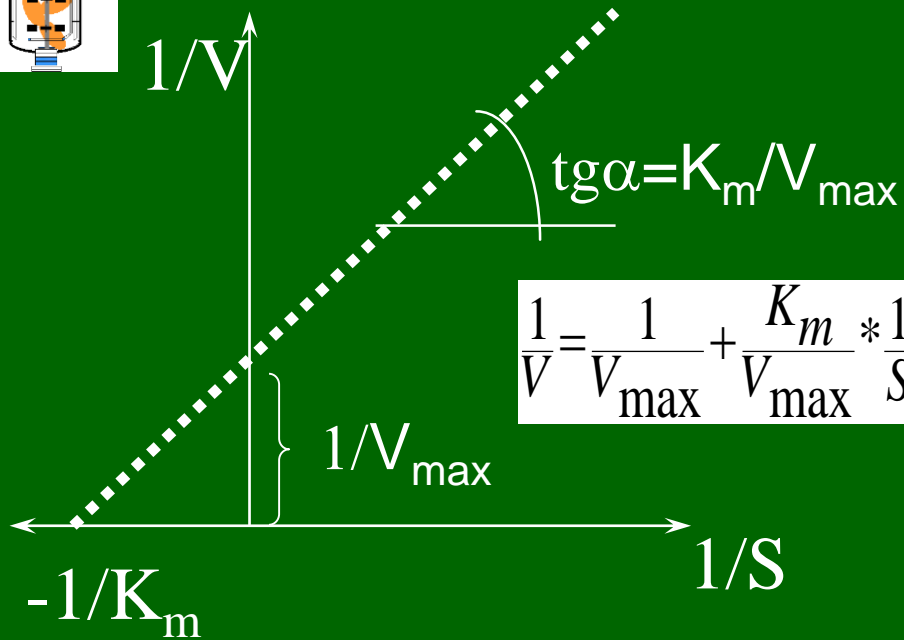
$$V \approx \frac{k_2}{K_s} E_0 S = k' E_0 S$$

katalitikus effektivitás = specfi(ci)tás állandó

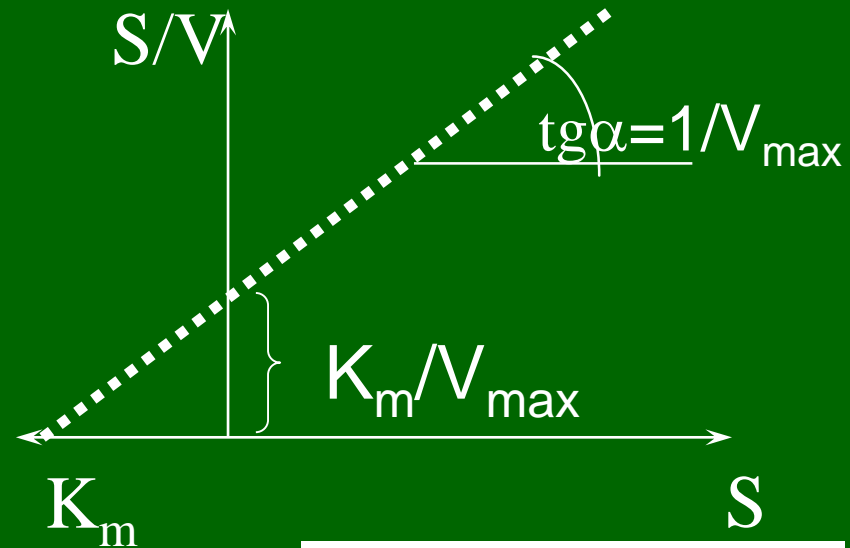




L-B, H-L, E-H ábrázolások

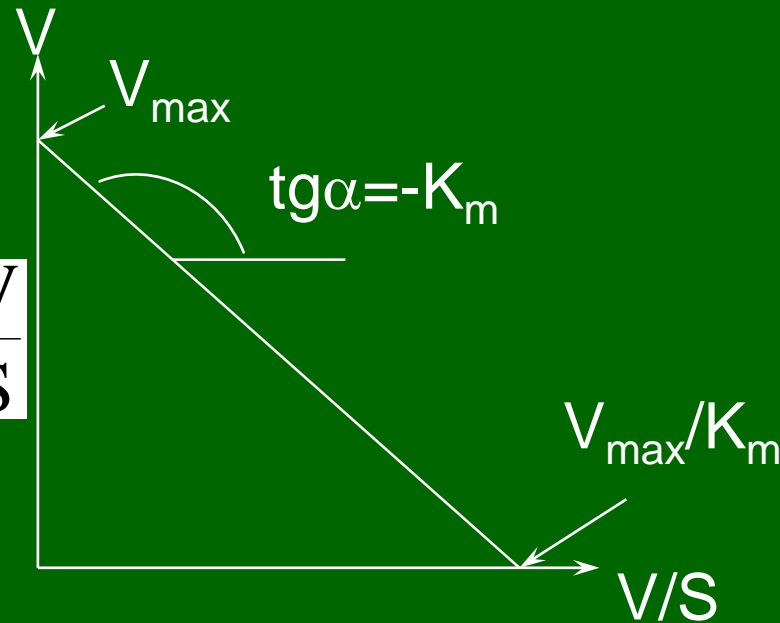


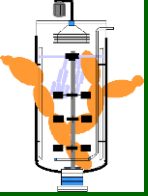
$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} * \frac{1}{S}$$



$$\frac{S}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}} * S$$

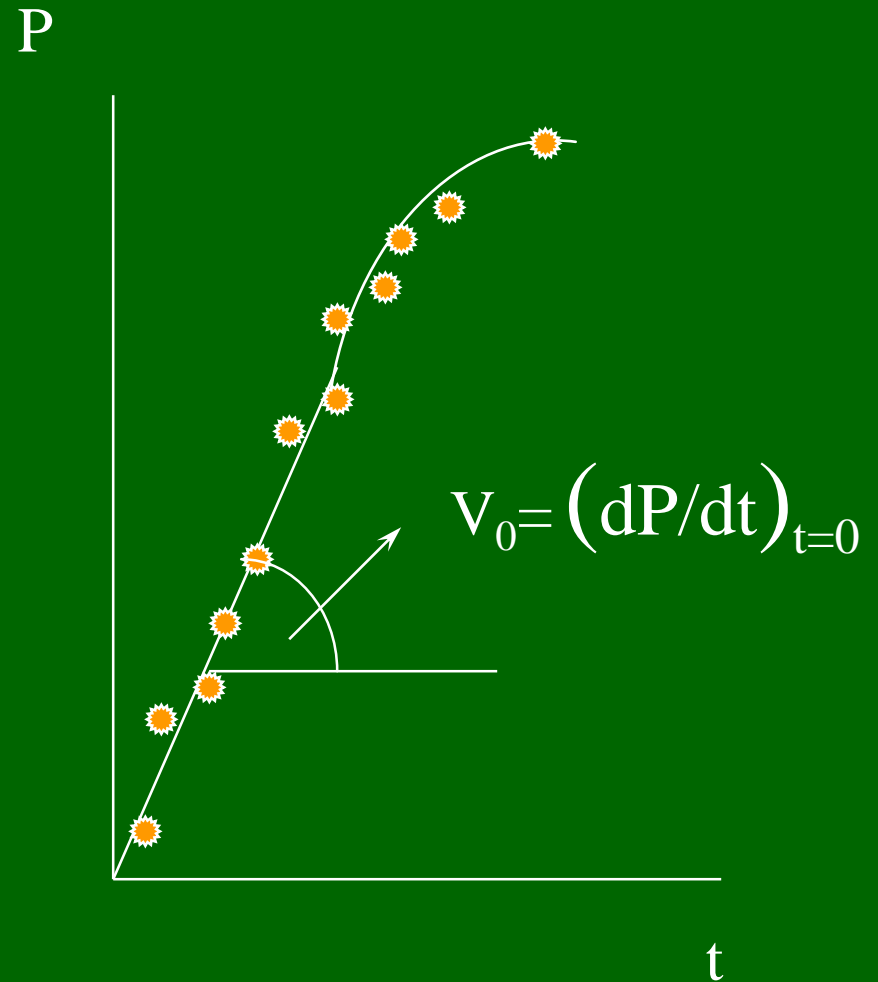
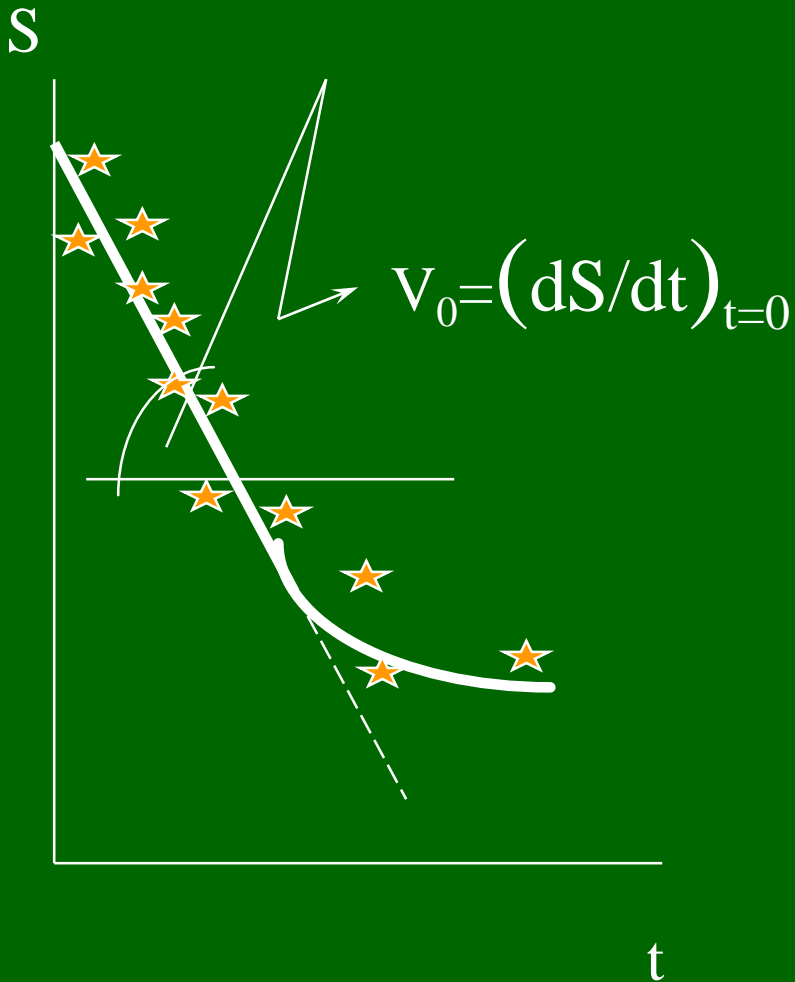
$$V = V_{\max} - K_m \frac{V}{S}$$

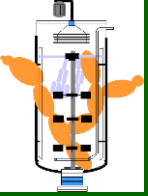




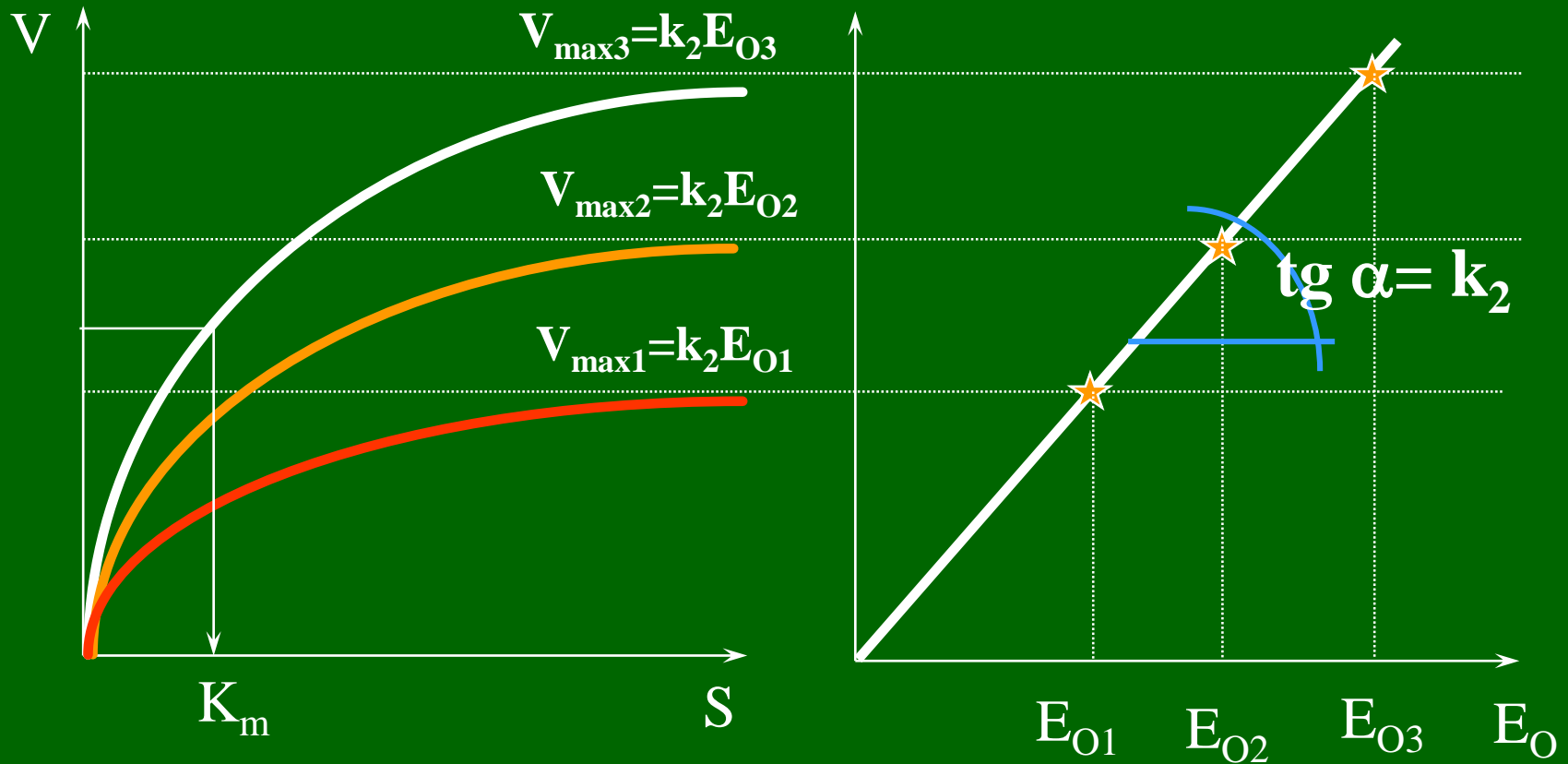
V_0 értelmezése

A M-M és B-H egyenletekben
 V kezdeti reakciósebességet jelent!!!

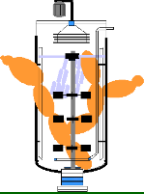




A k_2 meghatározása és V_{\max} E_0 -függése



A kinetikai paraméterek értelmezése 1



V_{\max}

IUBMB: nem max, hanem limit!!!

HATÁRSEBESSÉG

NEM ENZIMTULAJDONSÁG

$$V_{\max} = k_2 \cdot E_0$$

= **AKTIVITÁS**

k_2 [s^{-1}]

ENZIMTULAJDONSÁG = turnover number, váltásszám

Kiterjesztés minden enzimre és minden kinetikára

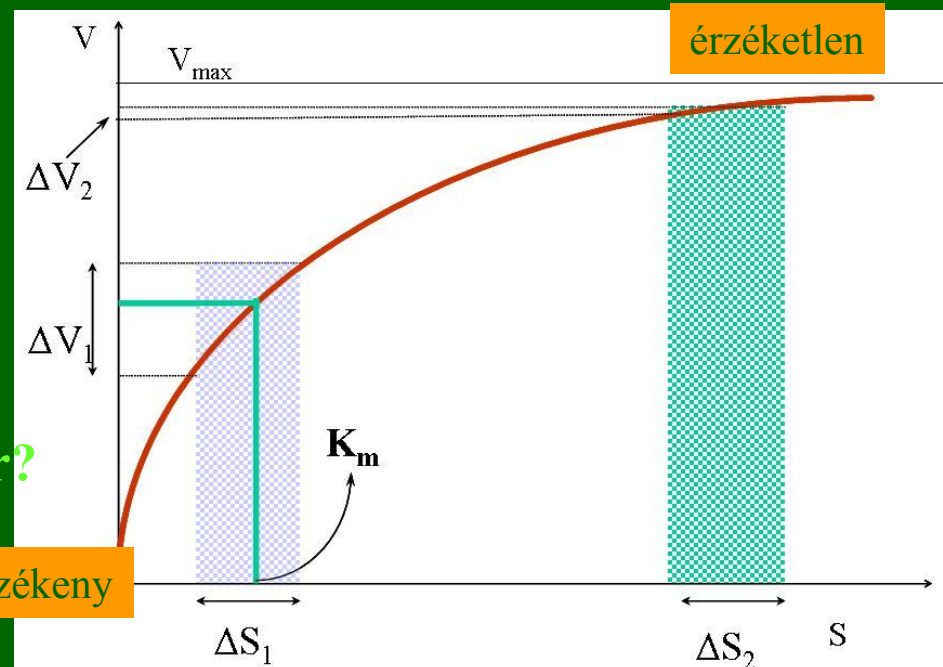
$$V_{\max} = k_{\text{cat}} \cdot E_0$$

k_{cat} : [s^{-1}]

Egy enzim molekula átalakítási frekvenciája
S-telítés esetén

K_m , K_S

- Közelítőleg az S az élő sejtben
- az enzim affinitása
- A = B ???
- Változott a K_S Inhibitor? Aktivátor?
- Enzimanalitika $S \gg K_S$



Túl érzékeny

A kinetikai paraméterek értelmezése 2

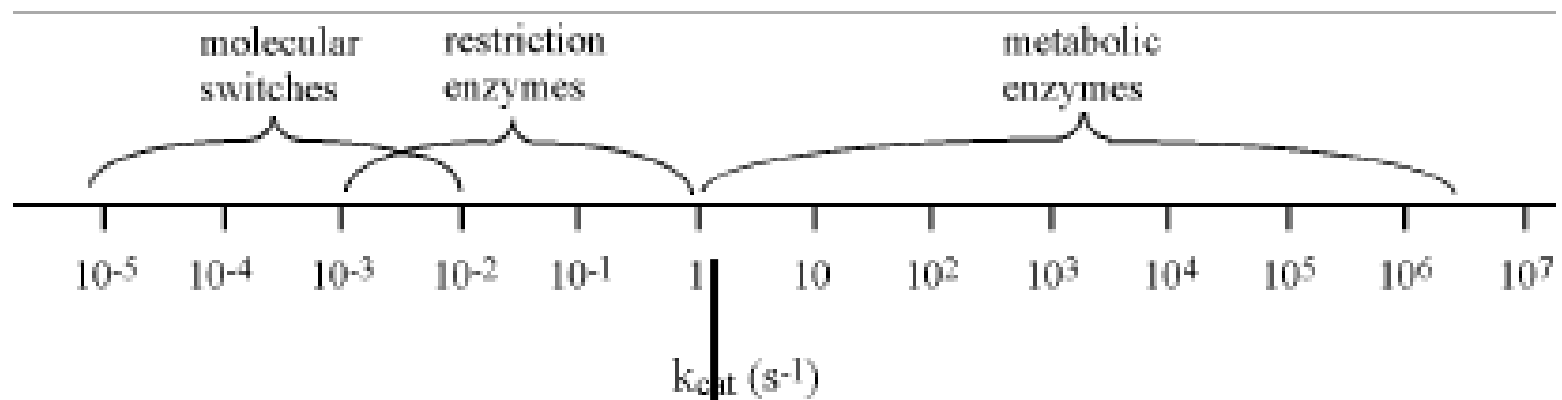
E 13-1. THE VALUES OF K_M , k_{cat} , AND k_{cat}/K_M FOR SOME ENZYMES AND SUBSTRATES

Enzyme	Substrate	K_M (M)	k_{cat} (s ⁻¹)	k_{cat}/K_M (M ⁻¹ s ⁻¹)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	9.5×10^{-5}	1.4×10^4	1.5×10^8
Carbonic anhydrase	CO ₂	1.2×10^{-2}	1.0×10^6	8.3×10^7
	HCO ₃ ⁻	2.6×10^{-2}	4.0×10^5	1.5×10^7
Catalase	H ₂ O ₂	2.5×10^{-2}	1.0×10^7	4.0×10^8
Chymotrypsin	<i>N</i> -Acetylglycine ethyl ester	4.4×10^{-1}	5.1×10^{-2}	1.2×10^{-1}
	<i>N</i> -Acetylvaline ethyl ester	8.8×10^{-2}	1.7×10^{-1}	1.9
	<i>N</i> -Acetyltyrosine ethyl ester	6.6×10^{-4}	1.9×10^2	2.9×10^5
Fumarase	Fumarate	5.0×10^{-6}	8.0×10^2	1.6×10^8
	Malate	2.5×10^{-5}	9.0×10^2	3.6×10^7
Urease	Urea	2.5×10^{-2}	1.0×10^4	4.0×10^5

katalitikus effektivitás= specfi(ci)tás állandó

$$\frac{k_{cat}}{K_m} = 10^7 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1} = \frac{10^7 \text{ s}^{-1}}{1 \text{ M}} = \frac{1 \text{ s}^{-1}}{10^{-7} \text{ M}}$$

Legtöbb enzim e két szélső eset között



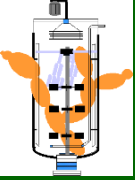
k_{cat} alsó határa metabolikus enzimeknél

Természetes enzimeknél: $>10^5$

Mesterséges e-nél (DNA-zyme, abzyme): $<10^3$

$<10^8-10^9 M^{-1}s^{-1}$

diffúziókontrollált bimolekuláris reakció



ENZIM MODULÁCIÓ

Effektorok hatása

INHIBITÓR

CSÖKKENTIK A
REAKCIÓSEBESÉGET

V_i

INHIBÍCIÓ FOKA

$$\epsilon_i = \frac{V_0 - V_i}{V_0}$$

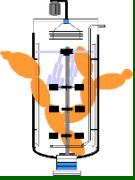
AKTIVÁTOR

NÖVELIK A REAKCIÓSEBESÉGET

V_a

AKTIVÁLÁS FOKA

$$\epsilon_a = \frac{V_a - V_0}{V_0}$$

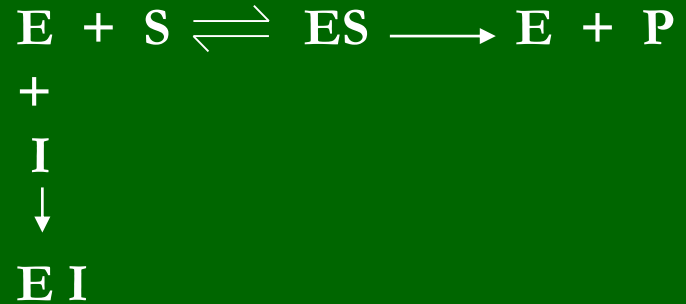


INHIBÍCIÓ

REVERZIBILIS

DINAMIKUS **EI** KOMPLEX

IRREVERZIBILIS

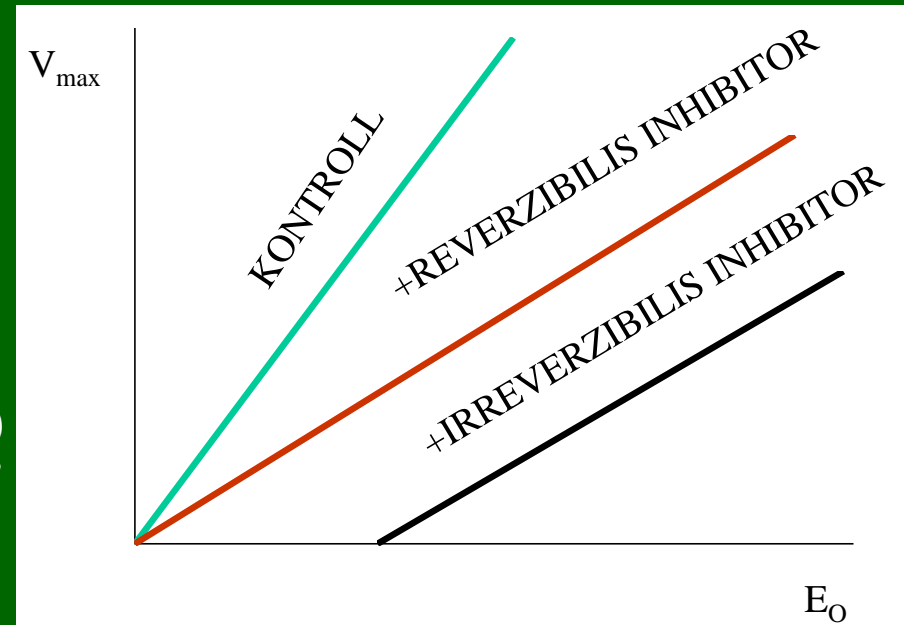


LINEÁRIS INHIBÍCIÓ

komplett k_p

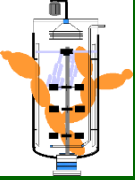
NEMLINEÁRIS INHIBÍCIÓ (HIPERBOLIKUS)

részleges βk_p „csökkent, maradék aktivitás”



DIXON
ábrázolás

1/V - I
ábrázolás



KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

VERSENGÉS S ÉS I KÖZÖTT AZ E AKTÍV HELYÉÉRT, VAGY.....

KÖLCSÖNÖS KIZÁRÁS

I

**szubsztrát analóg
alternatív szubsztrát
termék**

MODELLEK

1. MODELLEK: Klasszikus kompetitív inhibíció

Az **I** verseng **S**-sel ugyanazon aktív hely elfoglalásáért

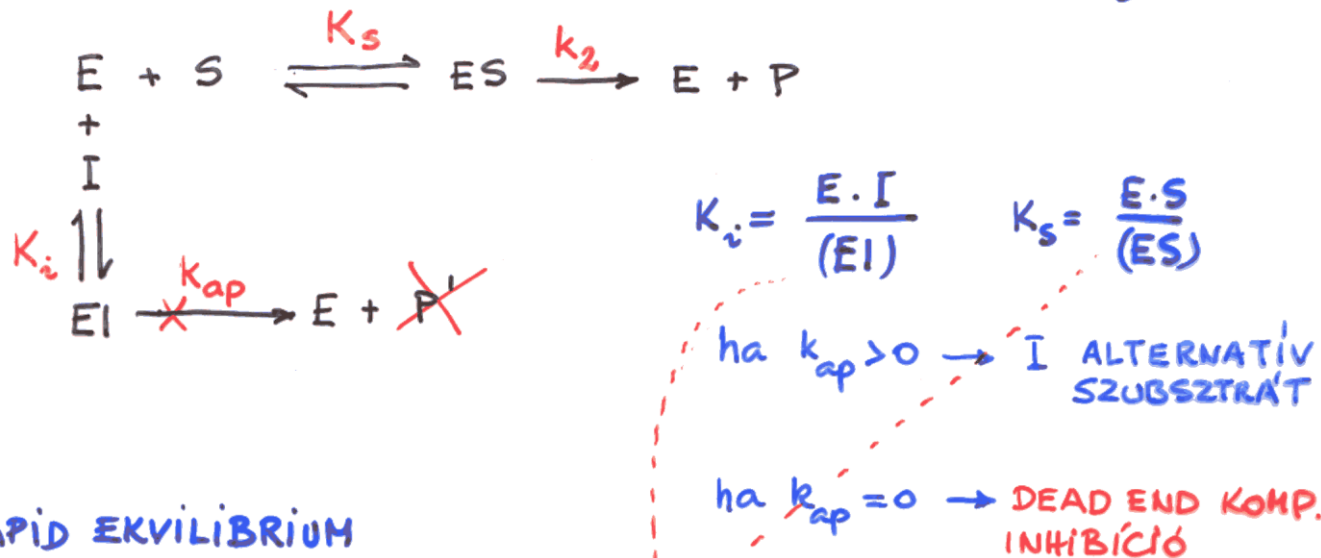
2.-3 MODELLEK: sztérikus GÁTLÁS

4. MODELLEK: átlapoló helyek esete :1 és 3 kötő hely képes az **i, a 2 és 4 kötő hely pedig az **S** megkötésére, de egymást kölcsönösen kizárják**

5. MODELLEK: **I kötődése az enzimhez konformáció változást okoz az enzimen és ez megakadályozza **S**-nek az aktív centrumhoz kötődését. Ilyen a végtermék gátlás (feed back inhibíció) is.**

1. KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 5.

KLASSZIKUS KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ KINETIKÁJA



① RAPID EKVILIBRIUM

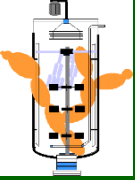
$$V = k_2 (ES)$$

$$\frac{V}{E_0} = \frac{k_2 (ES)}{E + (ES) + (EI)}$$

NIVEL $(ES) = \frac{S}{K_s} \cdot E$ és $(EI) = \frac{I}{K_i} \cdot E$

illetve $V_{max} = k_2 E_0$

$$\frac{V}{k_2 E_0} = \frac{V}{V_{max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i}}$$



1. KOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 6.

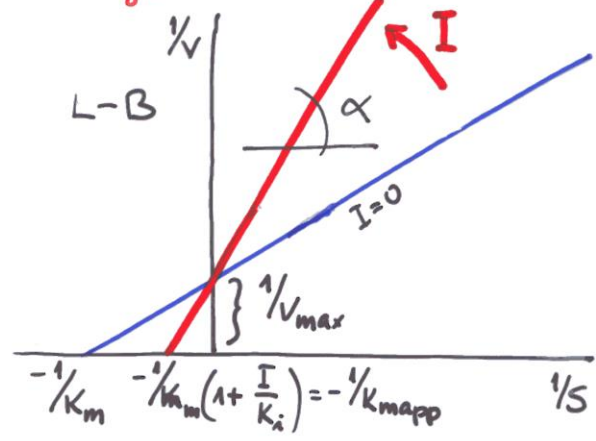
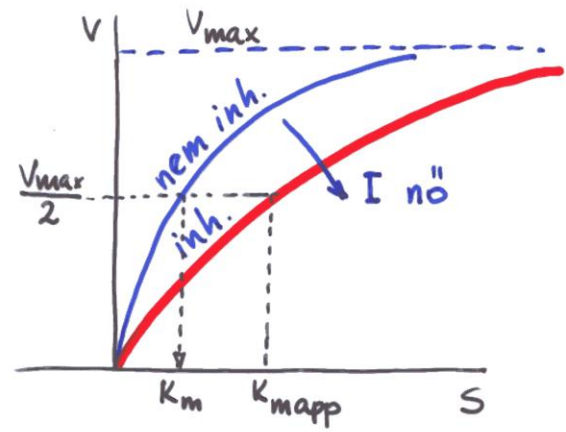
$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

ma!
 K_m

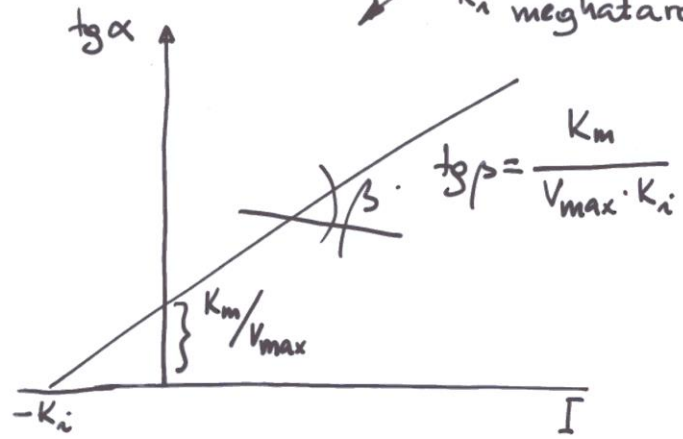
$$v = V_{max} \frac{S}{K_{sapp} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_s}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S}$$

K_{sapp} v. K_{mapp}
 láthatóság állandó



$\tan \alpha = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$
 K_i grafikus meghatározása



ANALÓGIÁK

k. termék inhibíció

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{P}{K_P} \right) + S}$$

kompetitív inhibíció

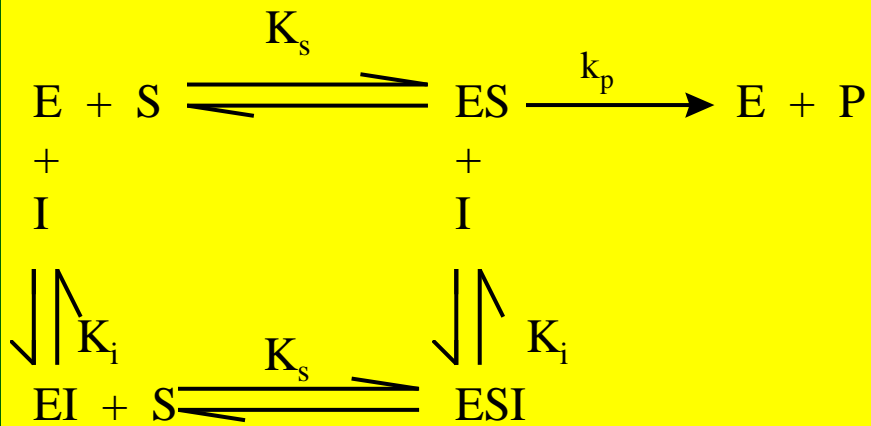
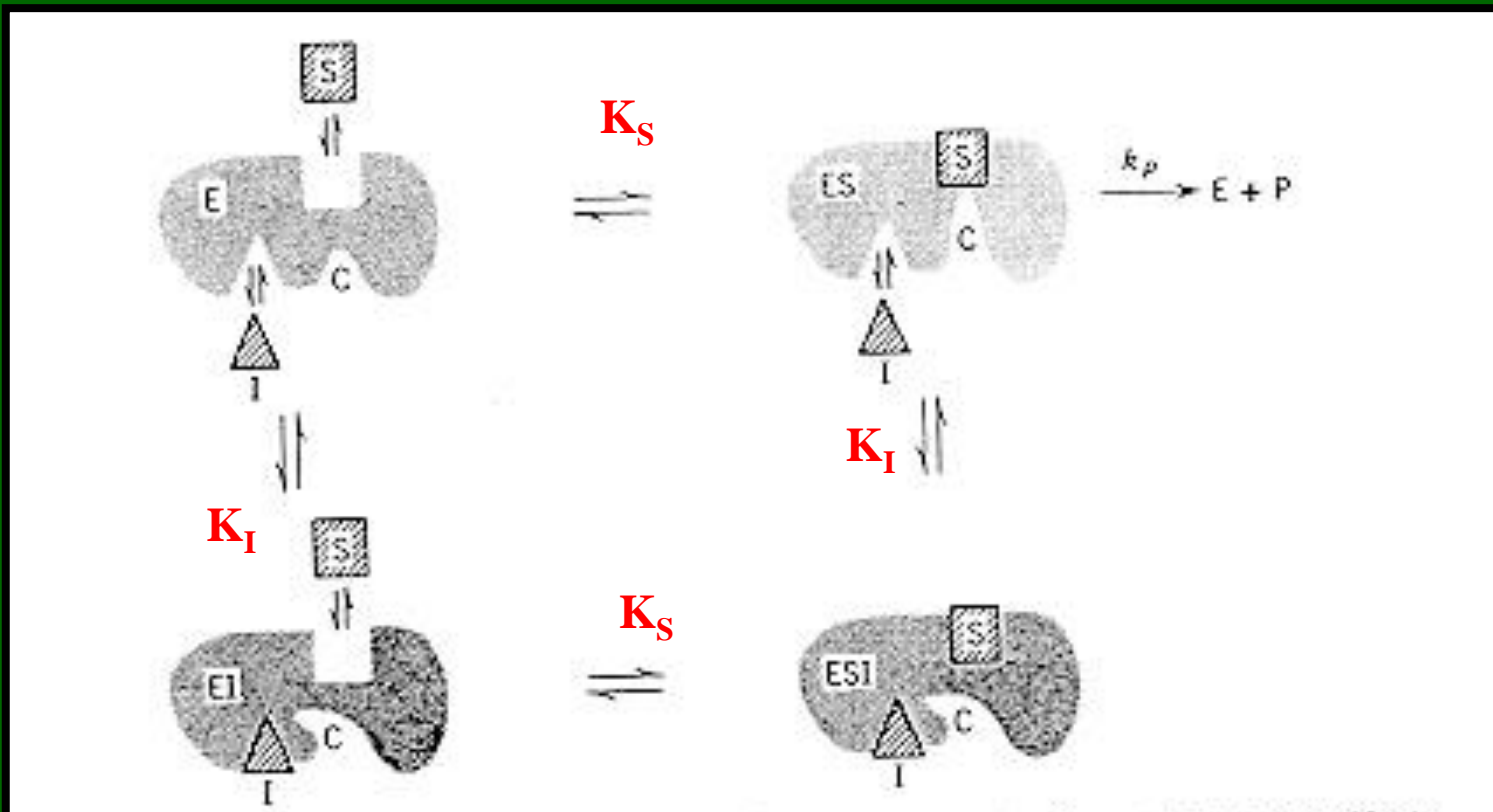
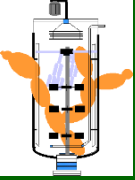
$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i} \right) + S}$$

alternatív v. versengő szubsztrátok

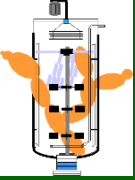
$$V_1 = V_{1\max} \frac{S_1}{K_s^1 \left(1 + \frac{S_2}{K_s^2} \right) + S_1}$$

$$V_2 = V_{2\max} \frac{S_2}{K_s^2 \left(1 + \frac{S_1}{K_s^1} \right) + S_2}$$

NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ



$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{ES}{E + ES + EI + ESI}$$



2. NEMKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ

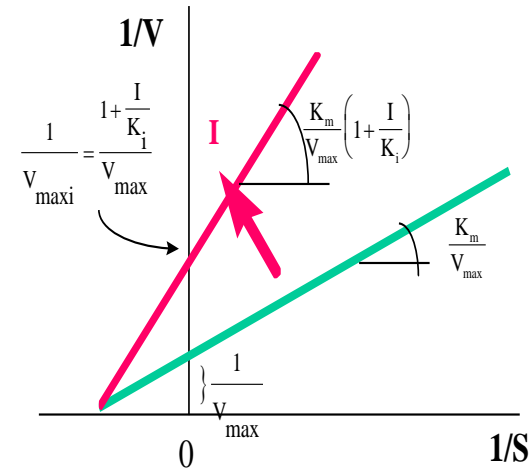
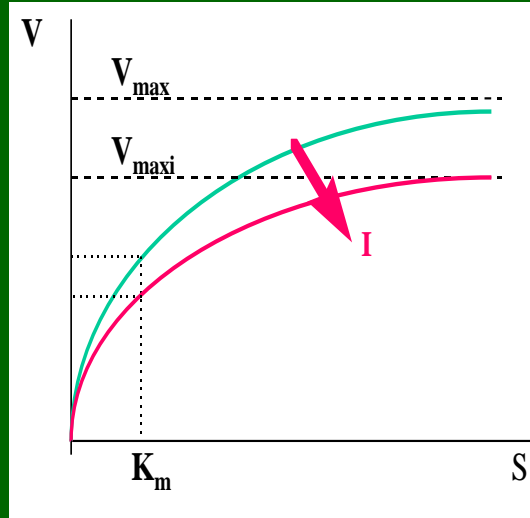
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{K_s K_i}}$$

vagy

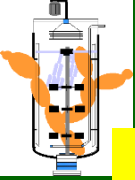
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}$$

illetve

$$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{K_s}{S} + 1}$$



AZ inhibitor a látszólagos V_{\max} értéket változtatja meg, K_s (illetve K_m) értékét nem befolyásolja.



3. UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 2

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{SI}{K_s K_i}}$$

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{I}{K_i} \right)}$$

mi változott?

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\left(\frac{K_s}{1 + \frac{I}{K_i}} \right) + S}$$

1.nemkomp.inh.

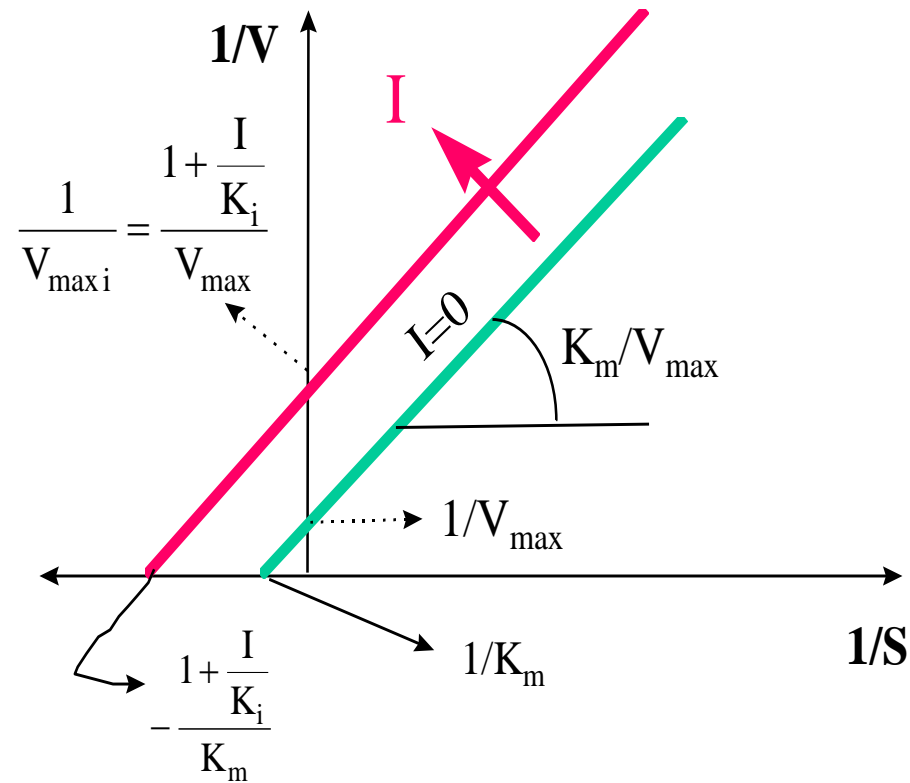
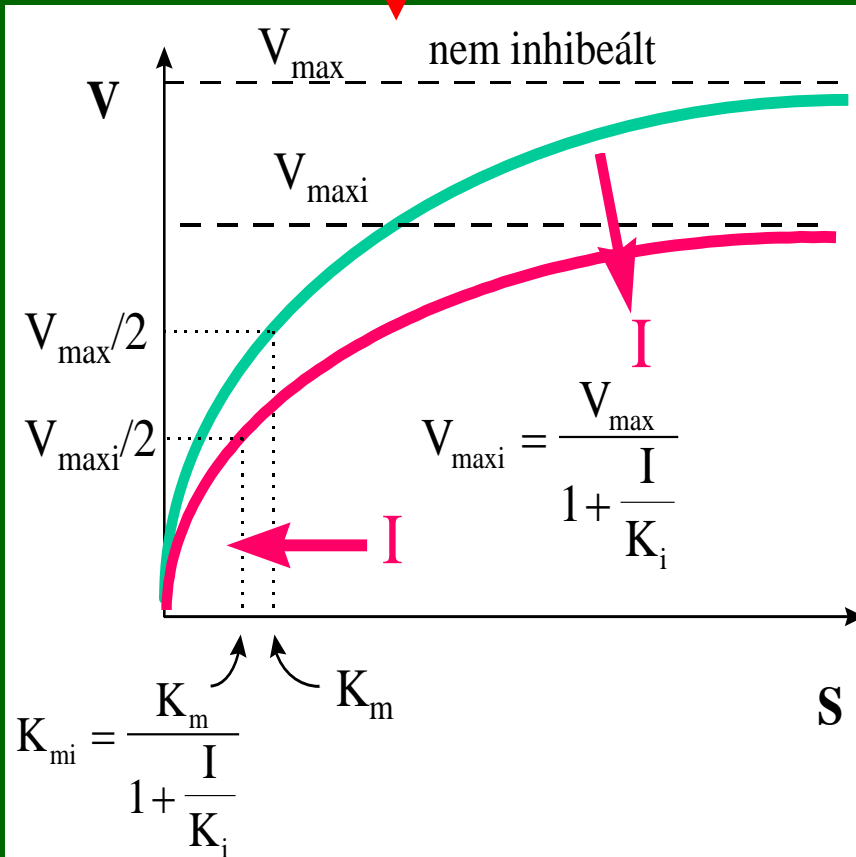
a komp fordítottja, K_s csökken

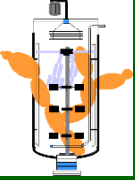
Egy unkompetitív **I** K_s és V_{\max} értékét ugyanolyan mértékben csökkenti

3. UNKOMPETITÍV INHIBÍCIÓ 3

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{I}{K_i}} \cdot \frac{S}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right) K_m + S}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)$$

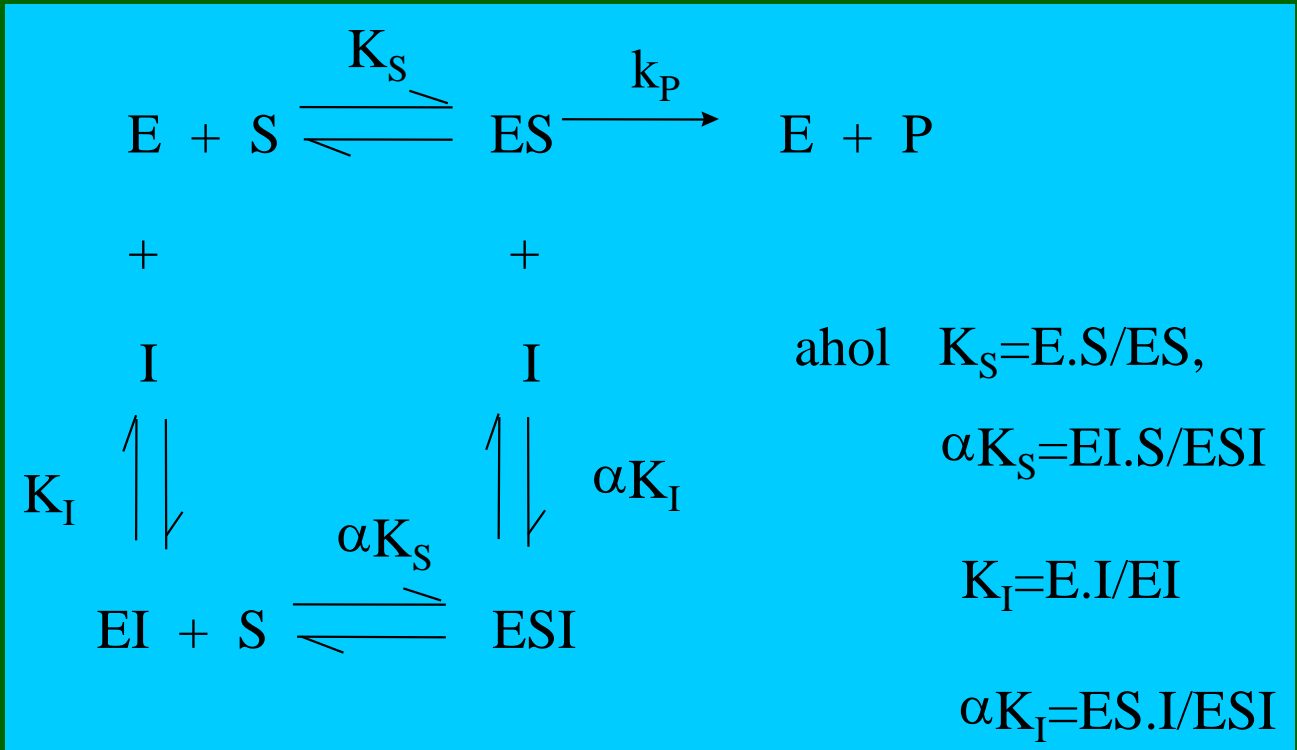




LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBÍCIÓ

1. nemkomp!!!

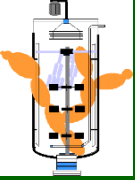
DE



I JELENLÉTE MÓDOSITJA S-NEK ES-RŐL TÖRTÉNŐ DISSZOCIÁCIÓJÁT

$$K_{eq} = \frac{1}{K_S(\alpha K_I)} = \frac{1}{K_I(\alpha K_S)}$$





LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBICIÓ 2

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s}}{1 + \frac{S}{K_s} + \frac{I}{K_i} + \frac{S \cdot I}{\alpha K_s K_i}}$$

vagy kissé átalakítva

L. NEMKOMP!!!

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{\alpha K_i}\right)}$$

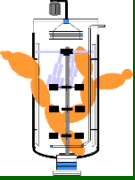
vagy

$$V = V_{\max} \frac{1}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_I}\right)} \cdot \frac{S}{K_s \cdot \frac{\left(1 + \frac{I}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{I}{\alpha K_I}\right)} + S}$$

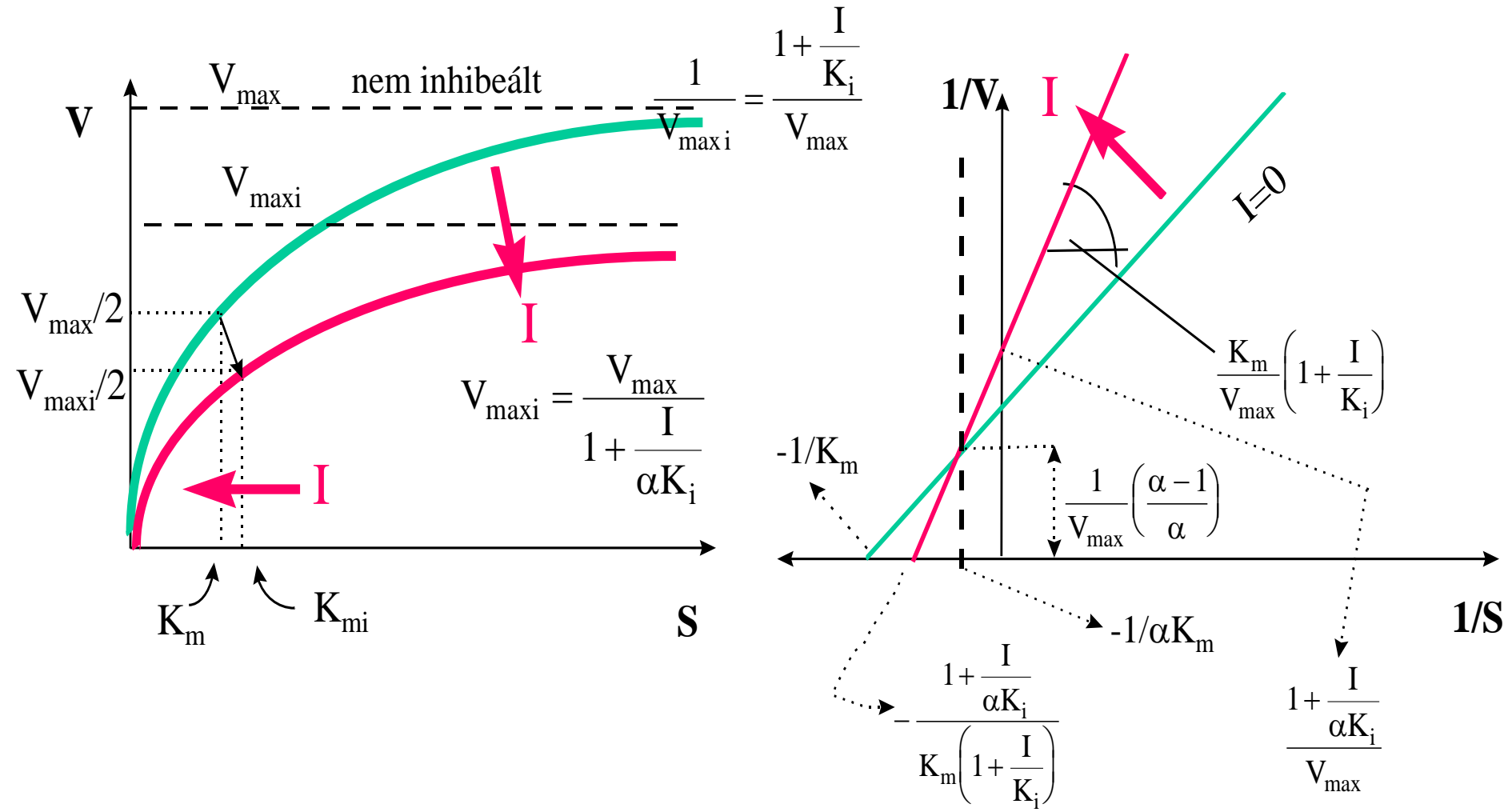
nemkomp

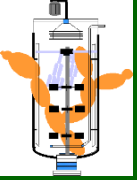
komp

unkomp



LINEÁRIS KEVERT TIP. INHIBÍCIÓ 3





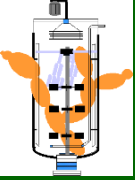
INHIBICIÓK ÖSSZEFOGLALÁSA

S és I kölcsönösen kizárják egymást az enzimről **KOMPETITIV**

S és I egymástól függetlenül kötődnek az enzimre **NEMKOMPETITIV**

mint előző, de az I megváltoztatja az enzim affinitását **KEVERT TIPUSÚ**

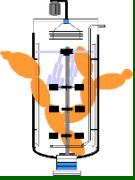
I csak a S után kötődik **UNKOMPETITIV**



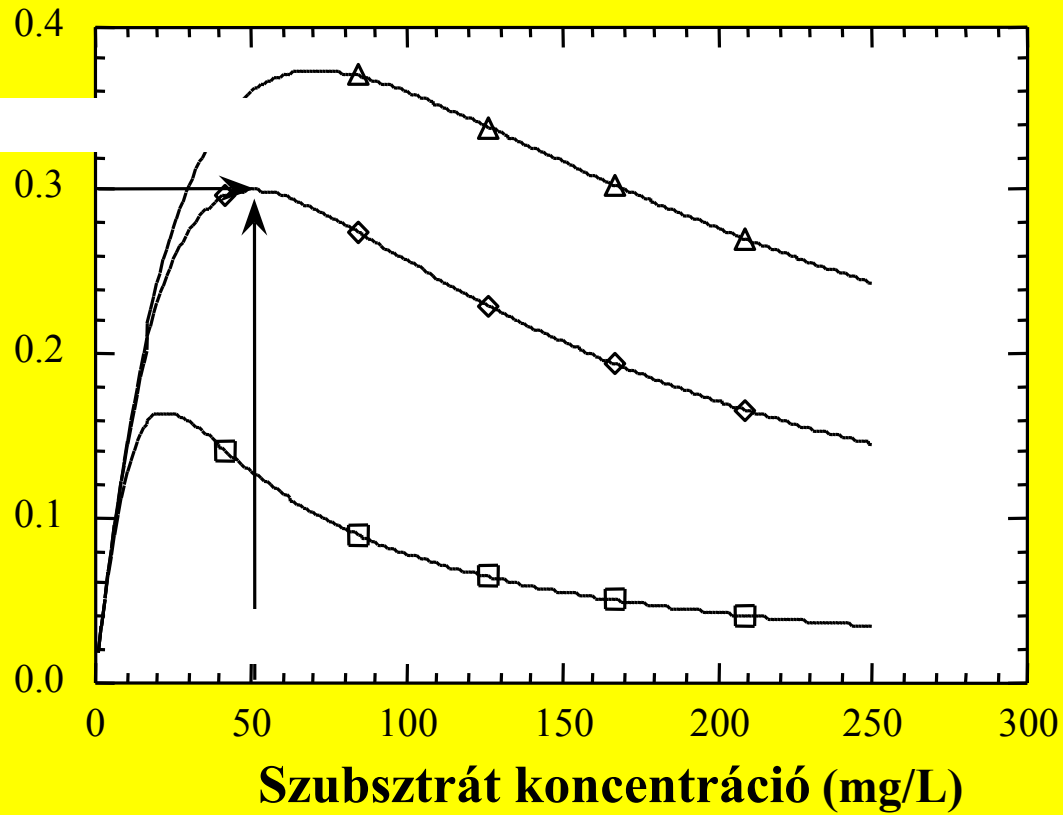
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ

- Nagy S koncentrációnál egy S molekula olyan kötőhelyhez is kapcsolódhat az enzimen, amely nem az aktív centrum része, az ilyen kötődés mintegy NEMKOMPETITIV (v. unkompetitiv) módon megakadályozza a normális S kötődést.
- Az enzim működéshez szükség lehet egy aktivátor molekulára. Ha ez kapcsolódni képes a szubsztráttal, sok S molekula "elvonja" az enzimtől az aktivátort, így csökkentve annak tényleges aktivitását.
- Két (vagy több) szubsztrátos reakciók esetén az egyik szubsztrát feleslege lekötheti a másik szubsztrát kötő helyeit, megakadályozva a szükséges második szubsztrát kapcsolódását, így megintcsak inaktív komplexek jönnek létre.
- Nagy S koncentráció aspecifikus módon is gátolhatja a reakciót, például az ionerősség megnövekedése miatt.

$$V = V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{a^* K_s}}$$



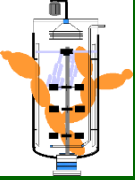
SZUBSZTRÁT INHIBÍCIÓ



—□— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=10$

—△— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=100$

—◇— $V_{\max}=0.9, K_s=50, K_i=50$



TÖBB SZUBSZTRÁTOS REAKCIÓK

MSc
2009

Két típus

A.) Termékképzéshez *egyszerre több különböző szubsztrát kell,*

hexokináz



foszforilezés

két termék

B.) A másik esetben a reakció keverékben egy enzim és több különböző, lényegében alternatív szubsztrát.

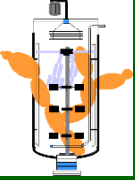
példák: a legtöbb biopolimer hidrolizáló enzim

amiláz, amilo-glikozidázok,

cellulázok

proteinázok.

Függetlenül attól, hogy ezekben az esetekben exo- vagy endo-enzimekről van-e szó, a reakció-keverékben *egyidejűleg több, különböző polimerizációs fokú szubsztrát van (lesz) jelen.*



EGYÉB HATÁSOK AZ ENZIMAKTIVITÁSRA

Ionerősség

pH

Hőmérséklet

Nyírás

Nyomás (hidrosztatikai)

Felületi feszültség

Kémiai szerek (alkohol, urea, H_2O_2 ...)

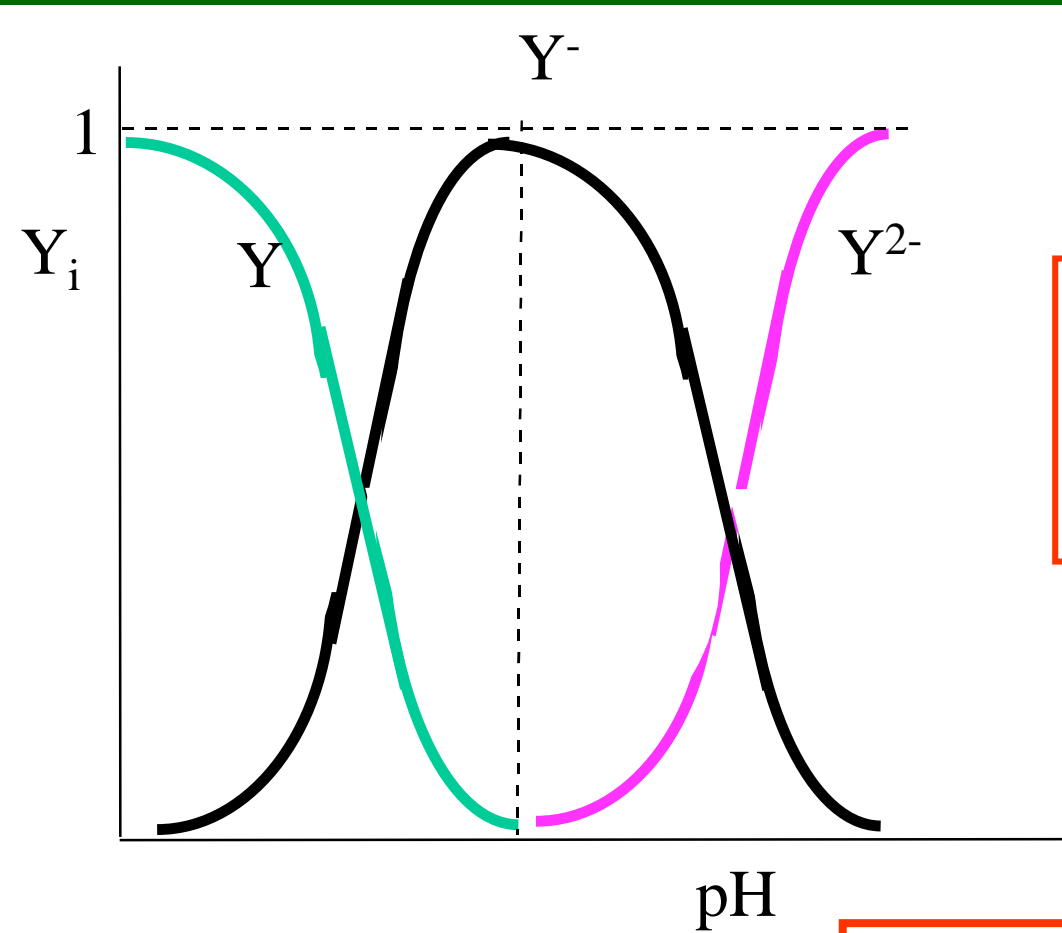
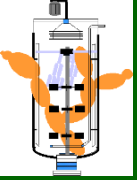
Fény, hang, ionizáló sugárzások

REVERZIBILIS

VÁLTOZÁSOK

IRREVERZIBILIS

pH hatása 2



$$Y^- = \frac{1}{1 + H^+ / K_1 + K_2 / H^+}$$

$Y =$

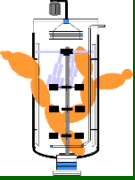
$Y^{2-} =$

$$H^+_{\text{optimum}} = \sqrt{K_1 K_2}$$

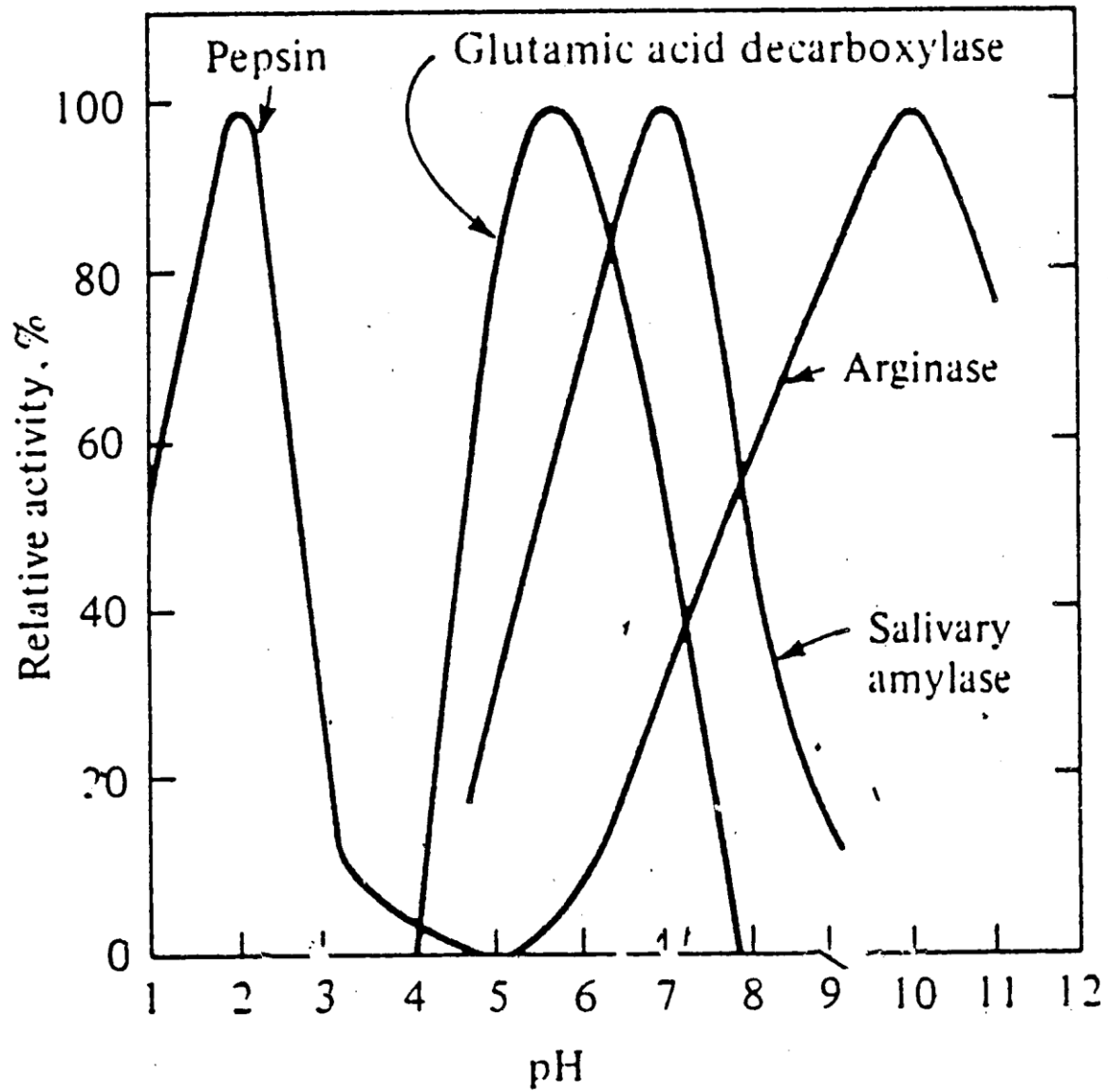
$$(pH)_{\text{optimum}} = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

!

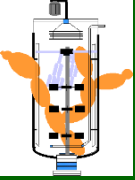
$$V_{\text{max}} = k_2 E_0 Y^- = k_2 E_0 \frac{1}{1 + H^+ / K_1 + K_2 / H^+}$$



pH hatása 2



Hőmérséklet hatása



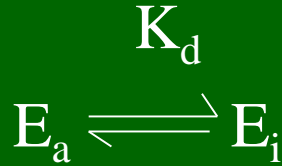
Kettős hatás

- Reakciósebesség nő

Csökken: denaturálódás

irreverzibilis

reverzibilis



$$\frac{E_i}{E_a} = K_d = \exp\left(\frac{-\Delta G_d}{RT}\right) = \exp\left(\frac{-\Delta H_d}{RT}\right) \exp\left(\frac{\Delta S_d}{R}\right)$$

Mivel $E_0 = E_a + E_i$

$$E_a = \frac{E_0}{1 + K_d} \quad \text{és} \quad V_{\max} = k_2(T)E_a$$

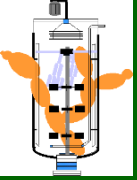
ahol

$$k_2(T) = \beta \left(\frac{k_B T}{h} \right) e^{\Delta S^*/R} \cdot e^{-E/RT}$$

$$V_{\max} = \frac{\alpha T e^{-E/RT}}{1 + e^{\Delta S^*/R} \cdot e^{-\Delta H_d/RT}}$$

$\alpha =$ kombináció ($\beta, k_B, h, E_0, \Delta S^*$)

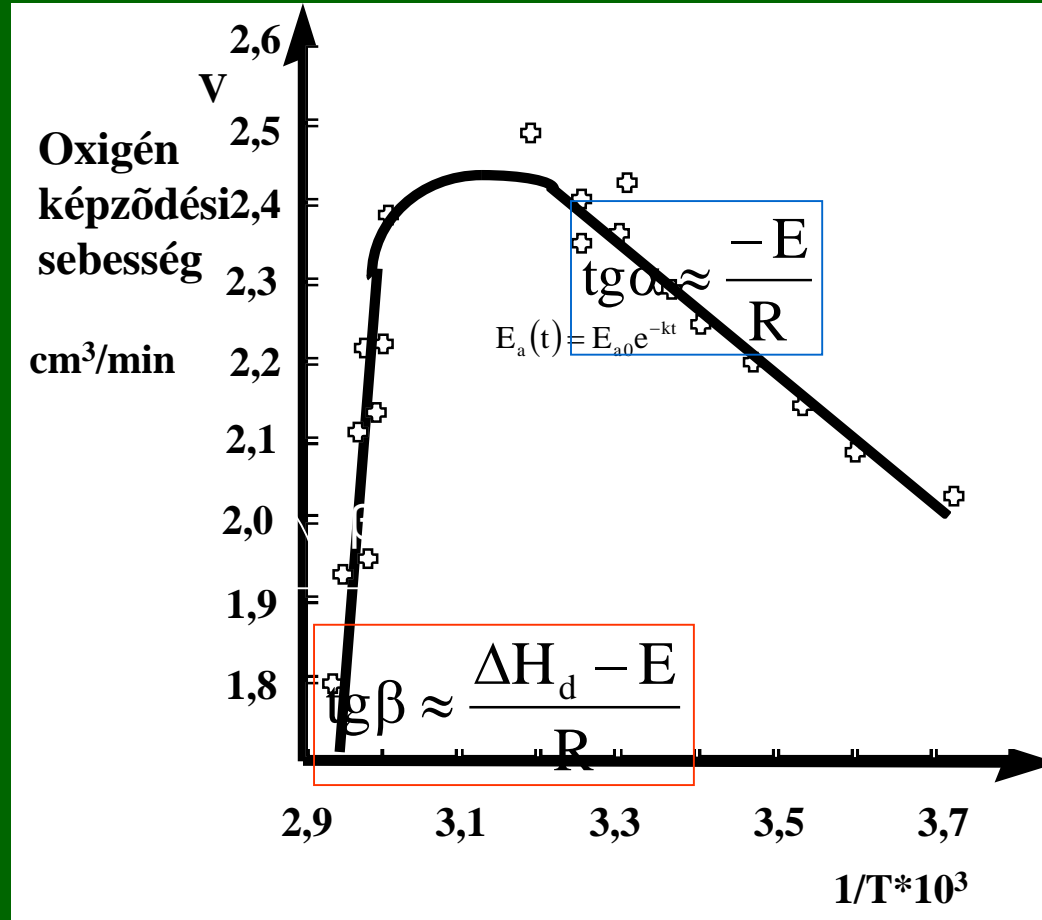
K_m is függ T-től!

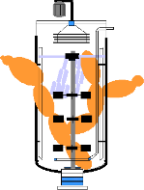


Hőmérséklet hatása

Időtől is függ!

$$\frac{dE_a}{dt} = -kE_a \longrightarrow E_a(t) = E_{a0}e^{-kt}$$



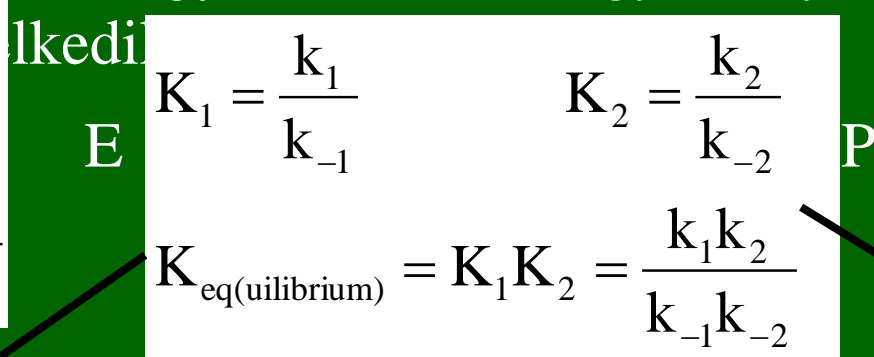


REVERZIBILIS REAKCIÓK 1

Sok enzim katalizálta reakció - főként a **biopolimer hidrolízisek** - nagymértékben a jobboldali irányba eltolt egyensúlyal rendelkeznek, \rightarrow gyakorlatilag k_{-2} valóban elhanyagolható.

De például a **glükóz** \rightleftharpoons **fruktóz** (glükóz izomeráz) gyakorlatban is egyensúlyi reakcióként

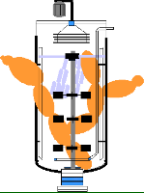
$$K_{ms} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$
$$K_{mp} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_{-2}}$$



$$V_{\text{maxs}} = k_2 E_o$$
$$V_{\text{maxp}} = k_{-1} E_o$$

$1/K_s$

K_p



REVERZIBILIS REAKCIÓK 2

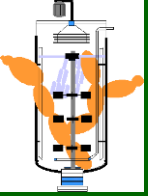
Végezzük el a következő osztásokat:

$$\frac{V_{\text{maxs}}}{K_{\text{ms}}} = \frac{k_1 k_2 E_o}{k_2 + k_{-1}} \quad \text{és} \quad \frac{V_{\text{maxp}}}{K_{\text{mp}}} = \frac{k_{-2} k_{-1} E_o}{k_2 + k_{-1}}$$

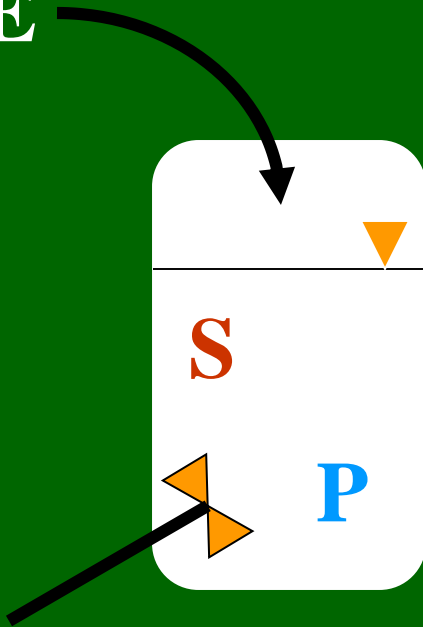
$$\frac{\frac{V_{\text{maxs}}}{K_{\text{ms}}}}{\frac{V_{\text{maxp}}}{K_{\text{mp}}}} = \frac{V_{\text{maxs}} K_{\text{mp}}}{V_{\text{maxp}} K_{\text{ms}}} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} k_{-2}} = K_{\text{eq}}$$

HALDANE összefüggés

REVERZIBILIS REAKCIÓK 3



E



MI TÖRTÉNIK?

?

$S \rightarrow P$ vagy $P \rightarrow S$

MITŐL FÜGG? K_{eq} , S, P értéke

$$V_{\text{netto}} = V_{\text{előre}} - V_{\text{vissza}} = k_2(\text{ES}) - k_{-2}(\text{EP})$$

$$V_{\text{netto}} = \frac{V_{\text{maxS}} \left(S - \frac{P}{K_{\text{eq}}} \right)}{K_{\text{ms}} \left(1 + \frac{P}{K_{\text{mp}}} \right) + S} = \frac{V_{\text{maxS}} \frac{S}{K_{\text{ms}}} - V_{\text{maxP}} \frac{P}{K_{\text{mp}}}}{1 + \frac{S}{K_{\text{ms}}} + \frac{P}{K_{\text{mp}}}}$$

$$\frac{k_s E_0 S - k_p E_0 P}{1 + \frac{S}{K_{\text{mS}}} + \frac{P}{K_{\text{mP}}}}$$

$$\frac{k_A E_0 a - k_P E_0 p}{1 + \frac{a}{K_{\text{mS}}} + \frac{p}{K_{\text{mP}}}}$$

MCA

Ahol: $k_s = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}$ és $k_p = \frac{k_{-1} k_{-2}}{k_{-1} + k_2}$

k_a