

TBME5004_BT FEHÉRJEBIOTECHNOLÓGIA

Heti óraszám: 2+0+1

Kredit pont: 2+1

Előfeltétel: -

Tantárgyfelelős: Dr. Emri Tamás, egyetemi docens, PhD, habil.

A tantárgy oktatója: Dr. Emri Tamás, Dr. Domonkos Dávid

Számonkérés formája: kollokvium – írásbeli, gyakorlati jegy

A tantárgy oktatásának célja, elsajátítandó (rész)kézségek és (rész)kompetenciák: A fehérjék előállításával és fejlesztésével (protein engineering) kapcsolatos ismertek bővítése és elmélyítése néhány, a terápiában, diagnosztikában és gyógyszerkémiában használt fehérje, illetve enzim példáján keresztül. A szakmai ismeretek bővítése révén a tárgy hozzájárul ahhoz, hogy a végzett hallgatók készségeik és képességeik birtokában innovatív tevékenységet folytathassanak, valamint elősegíti a Ph.D. tanulmányokra való felkészülésüket.

A tantárgy tematikája: Fehérjék szerkezete és foldingja; a fehérjék szerkezetének és funkciójának kapcsolata. Fehérjék előállítása – expresszió baktériumokban, élesztőkben és fonalas gombákban. Fehérjék előállítása növényekben és állati sejtekben. Site-specific modification, gene shuffling, directed evolution és más technikák felhasználása a fehérjék tulajdonságainak módosítására, javítására. Néhány példa a terápiában, diagnosztikában és gyógyszerkémiában használt fehérje és enzim előállítására és a fejlesztésükben elért eredményekre. Az enzimek immobilizálásának és szerves oldószeres fázisban történő alkalmazásának előnyei. Bioszenzorok.

A tantárgy tematikája heti bontásban:

- 1. Előadás** Bevezetés – Az enzimek és más fehérjék felhasználása az iparban és az egészségügyben; az enzimek ipari alkalmazásának előnyei és hátrányai, a mikrobiális eredetű enzimek előnyei; az enzimek és más fehérjék egészségügyi felhasználásának lehetőségei és korlátai
- 2. Előadás** Enzimológiai alapismeretek 1 – Az enzimek, mint katalizátorok; az enzimek működésének termodinamikai vonatkozásai; az enzimkinetikai alapismeretek, több szubsztrátos reakciók kinetikai jellemzése
- 3. Előadás** Enzimológiai alapismeretek 2 – Az enzimkatalizált reakciót befolyásoló tényezők; a pH hatása a kezdeti reakciósebességre és az enzimológiai paraméterekre, a hőmérséklet és az ionerősség hatása; reverzibilis és irreverzibilis gátlás; az allosztérikus enzimek működésének alapjai
- 4. Előadás** Enzimek ipari alkalmazásának problémái, enzimek immobilizálása, kofaktorok regenerálása, enzimekkel való munka szerves oldószeres fázisban, enzimaktivitás mérés az iparban
- 5. Előadás** Protein engineering – A *de novo* protein design; a rational design, lehetőségek, előnyök és hátrányok, példák rational design-ra; directed evolution, lehetőségek, előnyök és hátrányok, directed evolution technikák, phag és cell display technikák
- 6. Előadás** Heterológ expresszió – A *Pseudomonas fluorescens* rendszer és előnyei az *E. coli* platformmal szemben; Heterológ expresszió Gram pozitív baktériumokban – a *Staphylococcus carnosus* rendszer, fonalas gombák felhasználása heterológ expresszióra
- 7. Előadás** Mikrobiális enzimek előállítása – a szilárdfázisú és süllyesztett kultúrák előnyeinek és hátrányainak összevetése, az indukció, feed back represszió és karbon

represszió problematikája, a törzsnemesítés klasszikus és molekuláris biológiai módszerei, új ipari enzimek keresésének klasszikus és metagenomikai megközelítése

- 8. Előadás** Downstream processing – a fermentlé elválasztása a biomasszától, termék izolálása a fermentléből, illetve a biomasszából, a termék tisztításának lehetőségei, további tisztítási lépések („product polishing”) a csomagolás előtt
- 9. Előadás** Peptidázok – Peptidázok jellemzése és csoportosítása, peptidázok ipari előállításának lehetőségei, protein engineeringgel létrehozott peptidázok, paptidázok felhasználása az iparban
- 10. Előadás** Lipázok – Lipázok jellemzése és csoportosítása, lipázok ipari előállításának lehetőségei, lipázok tulajdonságainak módosítása protein engineering segítségével, lipázok alkalmazása az iparban – a szubsztrát oldhatóságának problémája, a lipázok felhasználásának fontosabb területei
- 11. Előadás** Amilázok – A keményítőbontó enzimek jellemzése és csoportosítása, amilolitikus enzimek előállítása, amilolitikus enzimek felhasználása az iparban, példák protein engineering-re, a keményítő alapú bioetanol gyártás, fruktóz előállításának és a trehalóz gyártásának enzimológiai vonatkozásai
- 12. Előadás** Növényi sejtfalbontó enzimek – cellulolitikus enzimek jellemzése, előállítása és felhasználása, cellulóz alapú bioetanol gyártás, pektinázok és hemicellulázok jellemzése, előállítása és felhasználása; a ligninbontó enzimek jellemzése és csoportosítása
- 13. Előadás** A diagnosztikában és a terápiában használt enzimek - A glükóz oxidáz, a galaktóz oxidáz és a koleszterol oxidáz jellemzése, előállítása és felhasználása, enzimes bioszenzorok működése
- 14. Előadás** Terápiás fehérjék - Példák terápiás enzimek előállítására és felhasználására (aszparagináz, DNáz, humán glükocerebroxidáz, hugysav hidroxiláz), emlőssejtes, rovarsejtes és növényi sejt kultúrán alapuló heterológ expresszió előnyeinek és hátrányainak áttekintése, humán terápiás fehérjék – inzulin és a Hepatitis B vírus vakcina előállítása
- 15. Előadás** konzultáció, a tétel és a tananyag megbeszélése, a vizsga menetének megbeszélése

A tárgyhoz kapcsolódó gyakorlat neve: TBMG5004_BT FEHÉRJEBIOTECHNOLÓGIA GYAKORLAT – tömbösítve kerül megtartásra

A gyakorlat tematikája:

Glükóz oxidáz előállítása 2 literes fermentorban. A fermentáció optimális paramétereinek jellemzése. A fermentáció nyomon követése. A fermentlé részleges tisztítása. (9 óra)

Glükóz kimutatására alkalmas egyszerű kit összeállítása az előállított és részlegesen megtisztított fermentlé segítségével, ismeretlen minták glükóz tartalmának meghatározása. (2 óra)

A glükóz oxidáz K_m és V_{max} értékének meghatározása. (2 óra)

Glükózoxidáz fermentációból származó microarray adatok közös elemzése és felhasználása a fermentáció optimalizálására és a törzs nemesítésére (2 óra)

Kötelező és ajánlott irodalom:

1. Walsh, G. (2002) Biotechnology and Biochemistry, Wiley-less Inc.
2. Cleland, J.L and Craik, C.S. (1996) Protein engineering: Principles and Practice, Wiley-less Inc.
3. Müller, K. and Arndt, K. (2007) Protein engineering protocols, Humana Press Inc.

4. Baneyx, F. (2004) Protein Expression Technologies: Current Status and Future Trends, Horizon Bioscience.