3-ДӘРІС

Инженерлік биотехнологиядағы метаболизм және биохимиялық процестер

Пән: CHE6281 – Инженерлік биотехнология. Дәріс түрі: теориялық. Ұзақтығы: 2 академиялық сағат.

Дәрістің мақсаты

Жасушадағы зат және энергия алмасуының заңдылықтарын, ферменттік катализді, көміртек ағынын, биосинтезді және метаболизмді инженерлік басқару тәсілдерін түсіндіру; биотехнологиялық процестердің өнімділігін бағалау дағдыларын қалыптастыру.

Күтілетін оқу нәтижелері

Катаболизм мен анаболизмнің байланысын түсіндіреді және мысалдар келтіреді.

Гликолиз, Кребс циклі және тыныс алу тізбегінің қызметін сипаттайды.

Ферменттік реакция жылдамдығына әсер ететін факторларды талдайды.

Субстрат, биомасса және өнім арасындағы материалдық балансты түсіндіреді.

Метаболикалық инженерияның өндірістік қолданылуын бағалайды.

Дәріс жоспары

Метаболизмнің мәні, катаболизм және анаболизм

АТФ және тотықсыздандырғыш эквиваленттер

Көмірсулар метаболизмі және энергия түзілуі

Ферменттер және ферменттік кинетика

Ақуыздар мен липидтердің алмасуы

Ферментация және өндірістік биосинтез

Метаболикалық инженерия, модельдеу және бақылау

Есептер, кейс және бақылау сұрақтары

1. Метаболизмнің ғылыми негіздері

Метаболизм – тірі жасушада жүретін, ферменттермен реттелетін химиялық реакциялардың өзара байланысқан жүйесі. Бұл реакциялар қоректік заттарды энергияға, жасушалық құрылымдарға және сыртқа шығарылатын метаболиттерге айналдырады. Биотехнологиялық өндірісте метаболизмді түсіну маңызды, себебі жасуша өсуі мен мақсатты өнімнің түзілуі бірдей қоректік ресурстарды пайдаланады.

1.1. Катаболизм

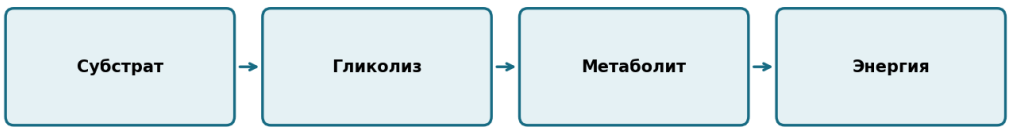
Катаболизм кезінде күрделі молекулалар қарапайым қосылыстарға ыдырайды. Көмірсулардың, майлардың және кейбір аминқышқылдарының ыдырауы барысында бөлінген бос энергия АТФ түрінде сақталуы немесе тотықсыздандырғыш коферменттерге берілуі мүмкін. Катаболизмнің барлық реакциялары тікелей АТФ түзбейді: олардың бір бөлігі аралық метаболиттерді немесе электрон тасымалдаушыларды қалыптастырады.

1.2. Анаболизм

Анаболизм – аминқышқылдарынан ақуыз, нуклеотидтерден нуклеин қышқылдары және қарапайым көміртек қосылыстарынан жасуша компоненттері түзілетін биосинтездік процестер жиынтығы. Анаболизмге энергия мен тотықсыздандырғыш күш қажет. Мысалы, май қышқылдарының биосинтезінде NADPH маңызды рөл атқарады.

1.3. Метаболикалық желінің тұтастығы

Катаболизм мен анаболизм жеке-жеке жұмыс істемейді. Гликолиздің аралық өнімдері аминқышқылдары мен басқа молекулалардың синтезіне жұмсалуы мүмкін. Мұндай байланыс амфиболикалық жолдар арқылы іске асады. Биотехнологиялық процесте қоректік заттың қанша бөлігі жасуша биомассасына, ал қанша бөлігі мақсатты өнімге кететінін ескеру қажет.



1-сурет. Метаболизмге қатысты технологиялық процестің жалпыланған схемасы.

2. Энергия метаболизмі: АТФ, NADH және NADPH

Аденозинтрифосфат (АТФ) жасушада энергияны тасымалдаудың әмбебап молекулаларының бірі. АТФ гидролизі: ATP + H_2O → ADP + Pi. Бұл реакцияның энергиясы белсенді тасымалдауға, макромолекулалар синтезіне және басқа энергия қажет ететін процестерге жұмсалуы мүмкін.

NAD^+/NADH жұбы көбіне катаболизмде электрондарды тасымалдауға қатысады; $NADP^+$/NADPH жұбы көбіне биосинтездік тотықсыздану реакцияларында маңызды. FAD/$FADH_2$ де электрондарды тасымалдайды. Олардың жасушадағы нақты қызметі ферментке және метаболикалық жолға байланысты.

2.1. Субстраттық және тотығу фосфорлануы

Субстраттық фосфорлану кезінде АТФ немесе ГТФ жоғары энергиялы аралық қосылыстың тікелей реакциясы нәтижесінде түзіледі. Тотығу фосфорлануы электрон тасымалдау тізбегімен және мембранадағы протондық градиентпен байланысты. Аэробты жасушаларда соңғы электрон акцепторы әдетте оттегі болады.

Өндірістік мағынасы: оттегі жеткіліксіз болғанда жасуша көміртек ағынын басқа өнімдерге бағыттауы мүмкін; бұл биомасса шығымына, органикалық қышқылдардың түзілуіне және культура ортасының pH көрсеткішіне әсер етеді.

3. Көмірсулар метаболизмі

3.1. Гликолиз

Гликолиз – глюкозаның пируватқа дейінгі ферменттік түрлену жолы. Ол цитозольде жүреді және көптеген организмдерге ортақ. Бір глюкоза молекуласынан екі пируват түзіліп, таза есеппен 2 АТФ және 2 NADH алынады (қалыпты гликолиз жолы үшін).

Жалпыланған теңдеу: глюкоза + 2 ADP + 2 Pi + 2 NAD^+ → 2 пируват + 2 ATP + 2 NADH + 2 H^+ + 2 H_2O.

Гликолиздің негізгі реттелетін кезеңдеріне гексокиназа, фосфофруктокиназа және пируваткиназа катализдейтін реакциялар жатады. Олардың белсенділігі жасушаның энергетикалық күйімен және метаболиттер концентрациясымен байланысты.

3.2. Пируваттың кейінгі тағдыры

Аэробты жағдайда көптеген эукариоттық жасушаларда пируват ацетил-КоА-ға айналып, трикарбон қышқылдары цикліне түседі. Оттегі шектеулі немесе белгілі ферментативтік режимде пируват лактатқа не этанолға бағытталуы мүмкін. Қандай өнім түзілетіні организмнің ферменттік жүйесіне тәуелді.

3.3. Кребс циклі

Трикарбон қышқылдары циклі (Кребс циклі) ацетил-КоА көміртегін тотықтырумен және электрон тасымалдаушыларды қалпына келтірумен байланысты. Бір ацетил-КоА-ның циклде тотығуынан әдетте 3 NADH, 1 $FADH_2$, 1 GTP (немесе ATP) және 2 CO_2 түзіледі. Циклдің аралық қосылыстары аминқышқылдары мен басқа метаболиттердің синтезіне де қатысады.

3.4. Пентозофосфаттық жол

Пентозофосфаттық жол NADPH және рибоза-5-фосфат түзуде маңызды. NADPH май қышқылдарының биосинтезіне және тотығу-тотықсыздану тепе-теңдігін қолдауға қажет; рибоза-5-фосфат нуклеотидтердің синтезінде пайдаланылады.

Метаболикалық жол	Негізгі қызметі	Өндірістік маңызы
Гликолиз	Глюкозаны пируватқа айналдыру, АТФ/NADH түзу	Көміртек ағыны мен өсу қарқыны
Кребс циклі	Ацетил-КоА тотығуы, NADH/$FADH_2$ түзу	Энергия және биосинтез прекурсорлары
Пентозофосфаттық жол	NADPH және пентозалар түзу	Биосинтез және жасушалық тұрақтылық
Ферментация	NAD^+ регенерациясы, соңғы өнімдер түзу	Органикалық қышқылдар және этанол өндірісі

4. Ферменттер және биохимиялық реакциялардың кинетикасы

Ферменттер – биологиялық катализаторлар. Олар реакцияның активтену энергиясын төмендетіп, реакция жылдамдығын арттырады, бірақ тепе-теңдік

орнын өзгертпейді. Ферменттің белсенді орталығы субстратпен ерекше байланысады; кейбір ферменттерге металл иондары немесе органикалық кофакторлар қажет.

4.1. Михаэлис–Ментен теңдеуі

Қарапайым бірсубстратты ферменттік реакция үшін бастапқы жылдамдықтың субстрат концентрациясына тәуелділігі: v = Vmax × [S] / (Km + [S]). Мұндағы v – бастапқы жылдамдық; Vmax – қанығу жағдайындағы шекті жылдамдық; [S] – субстрат концентрациясы; Km – жылдамдық Vmax/2 болғандағы субстрат концентрациясы. Бұл теңдеу барлық ферменттік жүйелерге бірдей қолданылмайды.

Субстрат аз болғанда оның концентрациясының өсуі жылдамдықты айқын арттыруы мүмкін. Субстрат жоғарылаған сайын ферменттің белсенді орталықтары қанығып, жылдамдық Vmax шамасына жақындайды.

4.2. Фермент белсенділігіне әсер ететін факторлар

Температура: белгілі диапазонда жылдамдықты арттыруы мүмкін, бірақ шамадан тыс қызу денатурацияға әкеледі.

pH: ферменттің иондалу күйіне, субстратпен байланысуына және тұрақтылығына әсер етеді.

Субстрат концентрациясы: қанығуға дейін реакция жылдамдығына ықпал етеді.

Ингибиторлар: бәсекелі, бәсекесіз және басқа механизмдермен белсенділікті төмендетуі мүмкін.

Кофакторлар: кейбір ферменттердің қалыпты жұмыс істеуі үшін қажет.

4.3. Өнеркәсіптік ферменттер

Амилазалар крахмал гидролизінде, протеазалар ақуыздарды ыдыратуда, липазалар липидтердің түрленуінде, целлюлазалар өсімдік биомассасын өңдеуде қолданылады. Өнеркәсіптік ферментті таңдағанда белсенділік, тұрақтылық, субстрат ерекшелігі, қайта пайдалану мүмкіндігі және өнім сапасына ықпалы бағаланады.

Иммобилизацияланған ферменттер тасымалдағышқа бекітіліп немесе арнайы матрицада ұсталып, кейбір технологияларда қайта пайдаланылуы

мүмкін. Бірақ иммобилизация массалық тасымалдау шектеулерін туғызуы ықтимал.

5. Ақуыздар, липидтер және азот алмасуы

Ақуыздар жасушаның құрылымдық элементтері мен ферменттерінің негізгі бөлігін құрайды. Аминқышқылдары синтезделуі, қоректік ортадан алынуы немесе ыдырауы мүмкін. Азот көзі жасушаның өсуіне және ақуыз өнімінің түзілуіне әсер етеді.

Липидтер мембраналардың құрылымына, энергия қорын сақтауға және сигналдық процестерге қатысады. Май қышқылдарының синтезі мен ыдырауы әртүрлі ферменттік жүйелер арқылы реттеледі. Микробтық майлар мен липидтік метаболиттер биожанармай және тағамдық ингредиенттер өндірісінде зерттеледі.

Көміртек пен азот көздерінің арақатынасы (C/N) кейбір микроорганизмдердің биомасса жинауына немесе белгілі метаболиттерді түзуіне әсер етеді. Оңтайлы арақатынас нақты организм мен өнімге тәуелді.

6. Ферментация және өндірістік биосинтез

Ферментация термині екі мағынада қолданылады: биохимиялық тұрғыда – органикалық молекулаларды соңғы электрон акцепторы ретінде пайдаланып, NAD^+ регенерациясын қамтамасыз ететін метаболизм; өндірістік тәжірибеде – микроорганизмдерді бақыланатын жағдайда өсіріп, өнім алу процесі. Бұл екі ұғымды ажырату маңызды.

6.1. Сүтқышқылды ферментация

Глюкозаның лактатқа айналуы кезінде гликолизде түзілген NADH қайтадан NAD^+ түріне өтеді. Гомоферментативтік сүтқышқылды бактерияларда бір глюкозадан негізінен екі лактат молекуласы түзіледі. Сүт қышқылы тағам өндірісінде және биополимерлерге арналған шикізат ретінде қолданылады.

6.2. Спирттік ферментация

Ашытқыларда пируват алдымен ацетальдегидке, кейін этанолға айналуы мүмкін. Бұл жол NAD^+ регенерациясын қамтамасыз етеді. Жалпы теңдеу: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ C_2H_5OH + 2\ CO_2$. Нақты өндірістік шығым жасуша өсуі мен жанама өнімдердің түзілуіне байланысты теориялық мөлшерден төмен болады.

6.3. Біріншілік және екіншілік метаболиттер

Біріншілік метаболиттер негізгі тіршілік процестерімен тікелей байланысты; мысалы, кейбір аминқышқылдары мен органикалық қышқылдар. Екіншілік метаболиттерге кейбір пигменттер, антибиотиктер және басқа биологиялық белсенді қосылыстар жатады. Бұл жіктеу абсолютті емес және организмге байланысты өзгеруі мүмкін.

Өнім	Биологиялық жүйе мысалы	Қолданылуы
Сүт қышқылы	Сүтқышқылды бактериялар	Тағам және химиялық өндіріс
Этанол	Ашытқылар	Биотехнологиялық және химиялық өндіріс
Лимон қышқылы	Aspergillus niger	Тағам және химия өнеркәсібі
Аминқышқылдары	Corynebacterium glutamicum	Тағамдық және жемдік қоспалар
Өнеркәсіптік ферменттер	Bacillus және басқа продуценттер	Тағам, тоқыма және басқа салалар

7. Метаболикалық инженерия және биопроцестерді оңтайландыру

Метаболикалық инженерия – мақсатты өнімнің түзілуін арттыру немесе жасушаның белгілі қасиетін өзгерту үшін метаболикалық жолдарды жүйелі талдау және қайта жобалау саласы. Ол биохимияны, молекулалық биологияны, генетиканы және математикалық модельдеуді біріктіреді.

Өндірісте мақсатты өнімнің аз түзілуі көміртек көзінің жанама жолдарға жұмсалуымен, прекурсор тапшылығымен, кофермент теңгерімінің бұзылуымен немесе өнімнің жасушаға кері әсерімен байланысты болуы мүмкін. Мұндай мәселелерді шешуде метаболикалық ағындарды бағалау және технологиялық параметрлерді бақылау маңызды.

7.1. Метаболикалық ағындарды талдау

Метаболикалық ағын – белгілі уақыт ішінде метаболикалық реакция арқылы өтетін зат мөлшері. Ағындарды талдау (flux analysis) көміртек пен энергияның жасушада қалай бөлінетінін түсіндіреді. Стехиометриялық модельдерде стационарлық күй үшін жиі $S \cdot v = 0$ қатынасы пайдаланылады: S –

стехиометриялық матрица, v – реакциялар ағындарының векторы. Бұл жуықтау метаболиттер концентрациясының уақыт бойынша айтарлықтай өзгермейтінін болжайды.

7.2. Биопроцестегі негізгі өлшенетін көрсеткіштер

Субстрат концентрациясы және оның жұмсалу жылдамдығы.

Биомасса концентрациясы және жасушалардың өсу жылдамдығы.

- Мақсатты өнімнің концентрациясы, шығымы және көлемдік өнімділігі.
- Еріген оттегі, pH, температура және газ алмасу көрсеткіштері.
- Жанама метаболиттер мен қоректік орта құрамының өзгеруі.

Өнім шығымы жиі $Y_{P/S} = \Delta P / \Delta S$ түрінде бағаланады, мұндағы ΔP – түзілген өнім массасы, ΔS – жұмсалған субстрат массасы. Өсуге қатысты шығым $Y_{X/S} = \Delta X / \Delta S$. Бұл шамаларды есептегенде бірдей уақыт аралығындағы өлшемдер және нақты жүйенің материалдық балансы қолданылуы тиіс.

7.3. Компьютерлік модельдеу және биоинформатика

Модельдеу метаболикалық желінің құрылымын, ықтимал шектеуші реакцияларды және өнім түзілуінің теориялық мүмкіндіктерін бағалауға көмектеседі. Геномдық деректер, ферменттердің қасиеттері және тәжірибелік өлшеулер біріктірілгенде модельдің түсіндіру қабілеті артады. Модель нәтижелері міндетті түрде тәжірибелік деректермен тексерілуі керек.

Микробиоманы зерттеу аралас микробтық қауымдастықтардағы зат алмасу байланыстарын түсіндіруге мүмкіндік береді. Экологиялық биотехнологияда бұл ақпарат қалдықтарды биологиялық өңдеу және ағын суларды тазарту процестерін талдау үшін пайдалы.

8. Инженерлік есептер және талдау

8.1. Өнім шығымын есептеу

Мысал: биопроцесте 80 г глюкоза жұмсалып, 24 г мақсатты органикалық қышқыл түзілді. Өнімнің субстратқа шаққандағы массалық шығымын есептеңіз.

Шешуі: $Y_{P/S} = 24 / 80 = 0{,}30$ г/г. Яғни жұмсалған әрбір грамм глюкозаға орташа 0,30 г мақсатты өнім сәйкес келеді. Бұл көрсеткіш теориялық максимуммен салыстырылса, қосымша метаболикалық шығындарды бағалауға болады.

8.2. Ферменттік жылдамдықты есептеу

Мысал: Vmax = 120 мкмоль/мин, Km = 2 ммоль/л, [S] = 2 ммоль/л. Реакцияның бастапқы жылдамдығын анықтаңыз.

Шешуі: v = 120 × 2 / (2 + 2) = 60 мкмоль/мин. Субстрат концентрациясы Km шамасына тең болғанда, жылдамдық Vmax-тың жартысына тең.

8.3. Өндірістік кейс

Кәсіпорында микроорганизм көмегімен органикалық қышқыл өндіріледі. Соңғы партияда субстраттың жұмсалуы жоғары болғанымен, мақсатты өнім концентрациясы төмендеді. Мұндай өзгеріс көміртек ағынының жанама өнімдерге ауысуынан, биомассаға жұмсалудың артуынан немесе технологиялық жағдайлардың өзгеруінен туындауы мүмкін. Талдау үшін субстрат, биомасса, өнім, жанама метаболиттер, pH және еріген оттегі деректерін салыстыру қажет.

Талқылау: қандай деректер метаболикалық ағынның өзгергенін көрсетеді? Жасушаның өсуі артса, мақсатты өнімнің шығымы міндетті түрде арта ма? Неліктен тек соңғы өнім концентрациясына сүйену жеткіліксіз?

9. Қазіргі зерттеу бағыттары

Қазіргі инженерлік биотехнологияда метаболикалық процестерді зерттеу үшін мультиомикалық тәсілдер қолданылады. Геномика организмнің генетикалық мүмкіндіктерін, транскриптомика гендердің экспрессиясын, протеомика ақуыздардың құрамын, ал метаболомика шағын молекулалы метаболиттерді сипаттайды. Осы деректерді біріктіру метаболизмнің өзгерістерін тереңірек түсіндіруге көмектеседі.

Наноматериалдар ферменттерді иммобилизациялау және биосенсорлар жасау бағыттарында зерттелуде. Экологиялық биотехнологияда микроорганизмдердің метаболикалық мүмкіндіктері ағын суларды тазарту, органикалық қалдықтарды өңдеу және қоршаған ортадағы зат айналымын талдау үшін пайдаланылады.

Бұл бағыттар өндірістік процестердің тиімділігіне ғана емес, ресурстарды үнемдеуге, энергия тұтынуын азайтуға және қоршаған ортаға әсерді төмендетуге де бағытталған.

Қорытынды

Метаболизм және биохимиялық процестер инженерлік биотехнологияның ғылыми негізін құрайды. Катаболизм жасушаны энергиямен және аралық метаболиттермен қамтамасыз етеді, ал анаболизм оларды биомасса мен биологиялық өнімдерге айналдырады. Ферменттердің қасиеттерін, энергия

алмасуын және көміртек ағынын түсіну биореакторлық процестерді жобалау мен басқаруда шешуші рөл атқарады.

Өнеркәсіптік биотехнологияда мақсатты өнімнің түзілуі жасушаның физиологиялық күйіне, қоректік ортаға, технологиялық режимге және метаболикалық желінің ұйымдасуына тәуелді. Сондықтан биохимиялық білімді инженерлік есептеулермен, өлшеу әдістерімен және математикалық модельдермен біріктіру қажет.

Бақылау сұрақтары

1. Метаболизм дегеніміз не және ол қандай негізгі бөліктерден тұрады?
2. Катаболизм мен анаболизм арасындағы байланыс қандай?
3. АТФ, NADH және NADPH молекулаларының қызметтері қалай ерекшеленеді?
4. Гликолиздің негізгі өнімдерін атаңыз.
5. Пируваттың аэробты және ферментациялық жағдайдағы тағдырын түсіндіріңіз.
6. Кребс циклі қандай биохимиялық қызмет атқарады?
7. Пентозофосфаттық жолдың биосинтездегі маңызы қандай?
8. Ферменттің белсенді орталығы дегеніміз не?
9. Михаэлис–Ментен теңдеуіндегі Km және Vmax нені білдіреді?
10. Температура мен pH фермент белсенділігіне қалай әсер етеді?
11. Біріншілік және екіншілік метаболиттерге мысал келтіріңіз.
12. Ферментация терминінің биохимиялық және өндірістік мағыналарын салыстырыңыз.
13. Метаболикалық инженерия қандай міндеттерді шешеді?
14. Метаболикалық ағындарды талдауда $S \cdot v = 0$ теңдеуі нені көрсетеді?
15. Өнімнің субстратқа шаққандағы шығымы қалай есептеледі?

Пайдалануға ұсынылатын әдебиеттер

16. Nelson D. L., Cox M. M. Lehninger Principles of Biochemistry. 8th ed. Macmillan Learning, 2021.
17. Berg J. M., Tymoczko J. L., Gatto G. J., Stryer L. Biochemistry. 9th ed. W. H. Freeman, 2019.
18. Doran P. M. Bioprocess Engineering Principles. 2nd ed. Academic Press, 2013.
19. Shuler M. L., Kargi F., DeLisa M. Bioprocess Engineering: Basic Concepts. 3rd ed. Pearson, 2017.

20. Инженерлік биотехнология пәніне берілген «Лекция 3» оқу материалы (негізгі тақырыптық құрылым).