

**Е. А. Павлова
Н. К. Удовенко
М. А. Мидукова**

**ПРОМЫШЛЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ
В УПАКОВОЧНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ**

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Часть 3

Текст лекций

**Санкт-Петербург
2026**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Санкт-Петербургский государственный университет
промышленных технологий и дизайна»
Высшая школа технологии и энергетики
Кафедра технологии целлюлозы и композиционных материалов

ПРОМЫШЛЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ В УПАКОВОЧНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Часть 3

Текст лекций для студентов очной формы обучения
по направлению подготовки
29.03.03 — Технология полиграфического
и упаковочного производства

Составители:
Е. А. Павлова
Н. К. Удовенко
М. А. Мидукова

Санкт-Петербург
2026

Утверждено
на заседании кафедры ТЦКМ
10.12.2025 г., протокол № 5

Рецензенты:
М. Л. Доморощенко, И. В. Антонов

Текст лекций соответствует программе и учебному плану дисциплины «Промышленная микробиология и биотехнология в упаковочном производстве» для студентов, обучающихся по направлению подготовки 29.03.03 «Технология полиграфического и упаковочного производства». Текст лекций является продолжением двух предыдущих частей. Издание предназначено для самостоятельной работы студентов.

Текст лекций предназначен для бакалавров очной формы обучения.

Утверждено Редакционно-издательским советом ВШТЭ СПбГУПТД
в качестве текстов лекций

Редактор и корректор М. Д. Баранова
Техн. редактор Д. А. Романова

Темплан 2025 г., поз. 5210

Подписано к печати 15.01.2026.	Формат 60x84/16.	Бумага тип № 1.
Печать офсетная.	Печ. л. 2,5.	Уч.-изд. л. 2,5.
Тираж 20 экз.	Изд. № 122.	Цена «С».
		Заказ №

Ризограф Высшей школы технологии и энергетики СПбГУПТД,
198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 4.

© ВШТЭ СПбГУПТД, 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИЮ	4
1.1. Введение.....	4
1.2. Этапы биотехнологического процесса	4
1.3. Сферы применения биотехнологии.....	5
2. СЫРЬЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ.....	10
2.1. Требования к сырью.....	10
2.2. Вода – как вид сырья	10
2.3. Источники углеродного питания.....	11
2.4. Источники азотного питания	12
2.5. Источники фосфорного питания	13
2.6. Макро- и микроэлементы	13
3. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ.....	13
3.1. Классификация питательных сред	13
3.2. Приготовление питательных сред	15
4. ПОЛУЧЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ....	15
4.1. Получение посевного материала из продуцентов, не образующих спор.....	15
5. ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАЦИИ.....	16
5.1. Упаривание	16
5.2. Фракционирование.....	17
6. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ	18
7. ФАЗЫ РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ СПОСОБЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.....	18
8. ПРИМЕНЕНИЕ СЕЛЕКЦИИ, ГЕННОЙ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ.....	20
8.1. Принципы селекции микроорганизмов	20
8.2. Получение, отбор и сохранение мутантов.....	21
8.3. Генетическая рекомбинация	23
8.4. Основы генной инженерии.....	24
8.5. Основы клеточной инженерии.....	26
8.6. Трансплантация эмбрионов	28
9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	30
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	31

1. ВВЕДЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИЮ

1.1. Введение

Биотехнологический процесс – это получение целевого продукта с помощью живых организмов или изолированных биологических структур.

Для осуществления биотехнологического процесса продукта необходимы три обязательных компонента:

1. Биологический агент.
2. Субстрат (питательная среда).
3. Технологический режим.

Только в этом случае, в результате биохимических реакций, из субстрата образуется целевой продукт.

В первой части мы рассматривали основные биологические агенты, применяемые в биотехнологии.

Во второй части конспекта лекций познакомились с химическим составом живой клетки, механизмом ферментного катализа, метаболическими путями и классификацией ферментов.

В третьей части конспекта лекций основное внимание будет уделено непосредственно технологическому режиму, то есть третьему компоненту биотехнологического процесса. Здесь будут рассмотрены способы приготовления субстратов на основе различных видов сырья, методы получения посевного материала и различные способы ферментации. Кроме того, вы познакомитесь с методами селекции промышленных биологических агентов и других живых организмов.

Методы селекции в настоящее время предполагают знания в области генной и клеточной инженерии. Поэтому данные темы также появлялись в конспекте лекций по данному курсу.

1.2. Этапы биотехнологического процесса

1. Подготовка биологического агента.
2. Подготовка питательной среды на основе выбранного сырья.
3. На оптимизированной питательной среде выращивание промышленного штамма культуры, производящей необходимый продукт, при необходимых условиях (температура и O_2) – этот процесс называется ферментацией.
4. Отделение биомассы от ферментированного раствора.
5. Выделение необходимого продукта из ферментированного раствора.
6. Очистка выделенного продукта.
7. Сушка и упаковка продукта.

Почти все процессы микробиологического синтеза укладываются в такую схему. Меняются только:

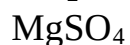
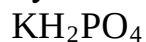
- 1) продуценты;
- 2) питательные среды;
- 3) условия ферментации.

Для примера: рассмотрим кратко микробиологический синтез пищевой лимонной кислоты, производство которой является многотоннажным.

Продуцентом лимонной кислоты является культура плесневого гриба *Aspergillus niger*. Усилиями селекционеров был получен высокоактивный штамм этого гриба, осуществляющий сверхсинтез лимонной кислоты и продуцирующий небольшое количество побочных кислот (щавелевой и глюконовой).

В качестве сырья используют свекловичную мелассу – отход сахарного производства, содержащую около 50 % сахаров C_5 - C_6 .

Но для полноценной жизнедеятельности гриба *Aspergillus niger* необходимы еще источники калия, азота, фосфора и микроэлементы (Mg, S, Zn) в легкоусвояемой форме. Такими формами являются соли:



Оптимальная кислотность среды $pH = 6,8$ (почти нейтральная, температура около 30°).

Культура аэробна, поэтому необходим постоянный доступ в аппарат для ферментации O_2 !

Необходимым условием ферментации является стерильность процесса. Это усложняет ситуацию, так как требует стерилизации среды и оборудования. В противном случае в ферментатор проникнут из воздуха дрожжи, которые начнут сами сбраживать питательную среду, или бактериальная микрофлора.

Aspergillus niger, потребляя сахара, помимо лимонной кислоты производит две побочные кислоты:

1. Глюконовую.
2. Щавелевую.

Поэтому по окончании ферментации биомассу отделяют от раствора (предварительно убив ее острым паром) и раствор подвергают химической обработке, позволяющей связать лимонную кислоту в цитрат кальция, который затем разлагают.

Очистка полученной лимонной кислоты осуществляется перекристаллизацией.

Очищенный продукт поступает на сушку и упаковку.

1.3. Сферы применения биотехнологии

I. Получение органических кислот

Из органических кислот микробиологическим синтезом получают:

Уксусную кислоту (пищевую);
Лимонную;
Молочную;
Винную;
Итаконовую;
Яблочную;
Фумаровую.

II. Получение заквасок для молочной промышленности

Для йогурта, например, используют смешанную микрофлору, но доминирует болгарская палочка *Lactobacillus bulgaricus*, сбраживаемая среда – глюкоза, галактоза и лактоза.

Для получения сыра используют молочнокислые бактерии *Streptococcus lactis* и другие.

III. Получение заменителей сахара

1. Вместо сахарозы используют фруктозу; на основе фруктозы создается новый класс подсластителей.

2. Использование искусственных подсластителей.

Например, из южноамериканского растения *Stevia rebaudiana* в клетку *E.coli* трансплантирован ген сладкого белка стевиозида.

Таким образом, с помощью генной инженерии, то есть путем совмещения микробного синтеза с химической трансформацией веществ, продуцируемых *E.coli*, получен ряд следующих эффективных подсластителей:

Цикламат;

Аспартам;

Стевиозид;

Тауматин – в 3000 раз слаще сахарозы;

Сахарин – в 300 раз слаще сахарозы;

Глицерин – в 100 раз слаще сахарозы;

Сорбит – 0,5 по сравнению с сахарозой;

Ксилит – 1,0 по сравнению с сахарозой;

Маннит – 0,7 по сравнению с сахарозой.

То есть мы получаем сладкие вещества белковой природы.

Из цветочного растения (в Судане) в *E.coli* был трансплантирован ген, ответственный за сверхсинтез белка тауматина, который в 3000 раз слаще сахарозы.

IV. Получение хлебопекарных, пивных дрожжей и продуктов дрожжевого брожения

Попадая в питательную среду, дрожжи размножаются с удивительной быстротой.

Закваска из дрожжей + питательная среда → биомасса дрожжей

1) Хлебопекарные: *Saccharomyces cerevisiae*

2) Пивные:

а) *Saccharomyces cerevisiae*;

б) *Saccharomyces carlsbergensis*.

Выбор штамма определяет свойства пива (окраску, аромат, крепость). Для упрощения технологии пивоварения с помощью генной инженерии получен штамм, способный перерабатывать крахмал непосредственно в этанол.

Например, в штамм *S. Cerevisiae* трансплантировали ген бактерии *Bacillus Subtilis*. Получен новый штамм, не требующий солодования ячменя.

Среди дрожжей обнаружены штаммы, уничтожающие другие микроорганизмы (киллеры). При скрещивании киллеров и промышленных штаммов получены пивные дрожжи, убивающие дикие дрожжи, то есть самостоятельно поддерживающие стерильность.

V. Получение пищевого белка

Здесь имеется в виду выращивание мицелия высших грибов в биореакторе. Трудности:

- 1) нужна питательная среда сложного состава (пектины, аминокислоты, витамины);
- 2) сложно придать продукту истинный грибной аромат.

Кроме этого, выращивают гриб – вешенку в пробирке; банка с пшеном – среда для выращивания.

VI. Получение кормовой биомассы

Дешевый источник углерода (отход) – гидролизат древесины или сульфитный щелок применяют в качестве питательной среды для получения кормовых дрожжей.

VII. Получение этанола

Схема спиртового брожения:

Источник углерода (углевод) + $\text{NH}_3 \rightarrow$ биомасса 5% + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (90%) + CO_2

Микроорганизм – *S. Cerevisiae* – выход 100 %;

Микроорганизм – *Zygomonas mobilis* – 95 %.

VIII. Получение аминокислот

- 1) белок природный $\rightarrow$ расщепление $\rightarrow$ аминокислоты;
- 2) химический синтез $\rightarrow$ смесь L и D форм трудноразделимы, нужны L-формы.

Бактерии р. *Brevibacterium*, р. *Micrococcus* и другие – осуществляется сверхсинтез аминокислот.

Бактерии + источник углерода $\rightarrow$ L-аминокислоты + биомасса.

Таким образом получают аминокислоты:

L-лизин;

L-треонин;

L-глутаминовая кислота.

Глутамат Na – вкусовая добавка в пищевые продукты.

IX. Получение органических растворителей (ацетона и бутанола)

Микроорганизмы – бактерии *Clostridium acetobutylicum* + источник углерода (крахмал $\rightarrow$ глюкоза) $\rightarrow$ брожение $\rightarrow$ 6 частей бутанола + 1 часть этанола + 3 части ацетона.

X. Получение ферментов

Специфика – стерильность

Источник углерода (кукурузная мука, крахмал, гидролизаты) + продуцент → биомасса + фермент в растворе (→очистка)

Ферменты:

α-Амилазы;

Протеазы;

Целлюлозы;

Липазы;

Лактазы и другие.

XI. Получение антибиотиков

Продуценты: грибы, актиномицеты, бактерии. источник углерода – углеводы.

Таблица 1

Антибиотик	Продуцент	Объект воздействия	Механизм воздействия
Пенициллин	<i>Penicillium</i> sp.	Грамположительные бактерии	Подавляет образование клеточной стенки
Эритромицин	<i>Streptomyces erythraeus</i>	Грамположительные бактерии	Подавляет функции рибосом
Тетрациклин	<i>S. aureotaciens</i>		Ингибирует связывание т-РНК с рибосомой

Антибиотики бывают:

- 1) антибактериальные;
- 2) противогрибковые;
- 3) противораковые.

XII. Биотрансформация органических соединений

Сорбит + продуцент → L сорбоза → аскорбиновая кислота;

Маннит → фруктоза;

Глюкоза + *Aspergillus niger* → глюконовая кислота;

Сорбит → фруктоза;

Малеиновая кислота → фумаровая кислота.

Кроме микробиологического синтеза, как такового, есть другие, близкие к нему области, это:

XIII. Бесклеточный синтез белка

В 1988 году академик Спирин предложил создать бесклеточную технологию. То есть использовать взамен живых клеток только необходимый набор клеточных компонентов.

Таким образом осуществили избирательный синтез продукта.

Например: рибосомы + аминокислоты + Т-РНК + АТФ → белок инсулин.

Преимущество:

- 1) синтез не зависит от ограничивающих факторов, действующих в клетке, и является полностью управляемым;
- 2) получается чистый продукт;
- 3) в объеме 10 мл можно получать:

Гормоны и антигены;

Антивирусные белки;

Белковые токсины;

Антитоксины и т. д.

XIV. Получение биотоплива и химикатов из возобновляемого сырья

Химический гидролиз древесины и отходов сельского хозяйства → продуцент → этанол + другие вещества.

XV. Биологическая очистка стоков

Стоки + продуцент → очищенные стоки.

XVI. Генная и клеточная инженерия

На основе генной и клеточной инженерии:

- 1) создают высокоурожайные, болезнестойкие сорта культивированных растений, что позволит исключить ядохимикаты;
- 2) изменяют потребительские свойства сельскохозяйственных продуктов.

Методом слияния протопластов можно переносить гены устойчивости к болезням, а также регенерация из протопластов целого растения. Трансплантация эмбрионов дает большие возможности:

- 1) увеличение потомства от выдающихся по продуктивности животных;
- 2) для получения химерных животных.

XVII. Гибридная техника

Это слияние соматических клеток животного и человека (например, человек + мышь). В результате слияния часть признаков утрачивается. А далее получение на их основе гибрида антител.

Например, опухолевые клетки человека + клетки селезенки иммунизированного животного → гибридома → продуцирующая антитела на опухоль.

XVIII. Получение медицинских препаратов и лекарственных веществ

1. Получение гормона инсулина.

В 1982 году в бактерии *Bacillus subtilis* введен ген инсулина человека. В результате получили рекомбинантные бактерии, продуцирующие инсулин человека (чистый).

До сих пор используют инсулин, полученный из поджелудочной железы коров и свиней, который может вызывать осложнения.

2. Получение вакцин.

Микроорганизм + ген → микроорганизм рекомбинантный → антиген (конкретный, получен против ящура, гепатита В, бешенства, гриппа).

3. Получение факторов иммунитета.

Микроорганизм + ген, ответственный за вырабатывание антител → рекомбинантный микроорганизм + антитела.

4. Получение интерферонов (защищают организм от вирусов, тормозят рост опухолей).

В 1980 году синтезирован человеческий α -интерферон.

E. coli + ген интерферона человека $\rightarrow$ рекомбинантный *E. coli* $\rightarrow$ α -интерферон.

XIX. Диагностические препараты

Зонды нуклеиновых кислот – для выявления генетических дефектов эмбрионов. На ранних стадиях клетки эмбриона изолируют из амниотической жидкости. Эти клетки размножают, выделяют из них ДНК и анализируют зондами ДНК (короткими и длинными) на присутствие генетических дефектов.

Зонды – короткие и длинные цепи нуклеиновых кислот, отвечающие за определенный признак. Их маркируют и применяют.

XX. Модификация растительных кормов

Создание кормов, богатых белком.

Растение + ген, отвечающий за синтез белка $\rightarrow$ растения, содержащие много белка.

2. СЫРЬЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ

2.1. Требования к сырью

1. Сырье должно быть углеродосодержащим.
2. Углерод в сырье должен быть в доступной для микроорганизмов форме.
3. Сырье должно быть доступным для использования и не очень дорогим.
4. Сырье не должно иметь вредных примесей.
5. Необходимо соответствие каждого вида сырья нормативным документам.

2.2. Вода – как вид сырья

Вода – по массе самый значительный вид сырья и самый дешевый. Например, на 1 т пекарских дрожжей расходуется 150–180 м³ воды. Качество воды может сильно влиять на качество целевого продукта (например, пива, вина).

Требования к качеству воды:

- 1) не более 100 микроорганизмов в 1 мл;
- 2) бесцветна;
- 3) без привкуса и запаха;
- 4) не должно быть осадка;
- 5) общая жесткость не более 7 (мг-экв)/л;
- 6) + ограничения по содержанию вредных примесей (Pb, As, F, Zn, Cu).

2.3. Источники углеродного питания

Углеводы – это хорошо усваиваемая форма углерода, поэтому наиболее часто используются в процессах ферментации.

Чаще всего используются следующие индивидуальные вещества: глюкоза $C_6H_{12}O_6$, сахароза $C_{12}H_{22}O_{11}$, лактоза $C_{12}H_{22}O_{11}$, крахмал $(CH_2O)_n$. Но дешевле использовать отходы различных производств, например:

Гидрол – отход крахмало-паточного производства. Представляет собой густой темный сироп с запахом. Содержит до 50 % углеводов, в основном глюкозу, а также органические кислоты.

Меласса – отход производства сахара (упаренная маточная жидкость после отделения кристаллов сахара). Имеет темно-коричневый цвет, содержит 40–55 % сахарозы, аминокислоты и витамины группы В. Меласса – это продукт сезонный. (При хранении могут быть потери в результате деятельности микроорганизмов).

Кукурузная мука – содержит 67–70 % крахмала, 10 % других углеводов, около 12 % белков.

Пшеничные отруби – отход мукомольного производства, используется в твердофазной ферментации. Содержит 16–20 % крахмала, 10–12 % белков, 10 % клетчатки, 3–4 % жиров.

Молочная сыворотка (творожная, подсырная). Содержит до 4,7 % лактозы, 0,5–1 % белков, жиры, органические кислоты. Недостаток – нестабильность при хранении, поэтому ее хранят либо в сгущенном, либо в сухом виде.

Свекловичный жом – отход сахарного производства, содержит пектины и целлюлозу – до 22 % и до 65 % «безэкстрактивных веществ», белки – до 9 %.

Гидролизаты древесины. Сама древесина является не очень «вкусным» сырьем для микроорганизмов, но после высокотемпературного кислотного гидролиза превращается в гидролизаты. Углеводы древесины (целлюлоза и гемицеллюлозы) гидролизуются до глюкозы и других сахаров. Содержание сахаров составляет 4–8 %.

Кроме древесины можно использовать для этих же целей целлюлозосодержащие отходы сельского хозяйства – солому, кукурузные кочерыжки, стебли хлопчатника и т. п.

Сульфитные щелока – отход целлюлозно-бумажного производства, продукт гидролиза гемицеллюлоз и лигнина, содержит до 4 % сахаров.

Гидролизаты торфа – отход кислотного гидролиза торфа, который содержит до 30 % сахаров, а также азот и фосфор в доступной для микроорганизмов форме.

Сок растений – содержит до 2 % сахаров.

Отходы спиртового производства (картофельная или зерновая барда) содержит до 2,9 % редуцирующих веществ.

Картофельный сок – содержит до 1 % углеводов (крахмала).

Неуглеводные источники углерода

1. Углеводороды жидкие – парафин с длиной цепи C_{10} – C_{27} . Используются в производстве кормовых дрожжей, лимонной кислоты, биопрепаратов деструкторов нефти.

2. Углеводородные газы – метан, этан, пропан, бутан. Могут применяться для получения кормового белка и некоторых продуктов переработки биомассы (в том числе феромонов).
3. Спирты:
 - а) этанол – используется для выращивания кормовых дрожжей, получения уксусной кислоты и других биопродуктов;
 - б) метиловый спирт – хотя и является ядом для человека, широко используется для культивирования многих видов микроорганизмов, особенно в производстве фармацевтических средств.
4. Уксусная кислота (синтетическая) – используется при получении аминокислот.
5. Жиры и масла – используются, в основном, как пеногасители для предотвращения пенообразования в процессе ферментации.
6. Экзотические углеродные субстраты:
 - а) гидролизный лигнин;
 - б) агаризованные среды (агар – полисахарид, выделенный из морских водорослей);
 - в) хитин – начинают использовать как источник углерода для питательных сред;
 - г) каменный уголь и сланцы – используют после термохимической обработки в качестве источника углерода.

2.4. Источники азотного питания

Часто для процесса ферментации в состав среды требуется включать источники органического азота – аминокислоты и белки. Сырьем могут быть различные натуральные продукты растительного и животного происхождения.

Рассмотрим наиболее распространенные из этих продуктов:

Кукурузный экстракт – отход крахмало-паточного производства, представляет собой упаренную жидкость от замачивания кукурузных зерен. В нем представлена смесь аминокислот, полипептидов и белков. Экстракт – это темная вязкая жидкость, содержащая до 8 % общего азота, фосфор, калий, магний, витамины группы В, ростовые вещества и биостимуляторы. То есть кукурузный экстракт представляет собой хорошую смесь различных источников питания. Чаще всего кукурузный экстракт используют при биосинтезе пенициллина.

Соевая мука получается при размалывании соевого зерна, а также соевого жмыха и шрота, образующихся при производстве соевого масла. В ней содержится до 45 % белка и 32 % углеводов, поэтому ее можно использовать и как источник углерода. Кроме этого, в составе соевой муки есть калий, кальций, магний и фосфор. Наличие фосфора делает соевую муку еще и источником фосфорного питания.

Недостаток соевых сред – сильная вспениваемость и наличие твердого осадка.

Мука семян хлопка содержит 41 % белка и до 29 % углеводов. Питательные среды на основе этой муки широко используются для получения антибиотиков.

Мука семян льна содержит 36 % белка и 38 % углеводов.

Арахисовая мука – 45 % белка, 23 % углеводов, 5 % жира.

Рыбная мука содержит до 65 % белков.

Кровяная мука является лидером по содержанию белка – до 80 %.

Мясокостная мука содержит до 50 % белков.

Сухое молоко (обезжиренное) содержит 34 % белка.

Продукты переработки животного сырья (содержат органический азот):

а) желатин;

б) белкозин.

Гидролизаты дрожжей – содержат до 52 % аминокислот.

Мясные и рыбные пептоны – это аналоги бульонов.

Источники неорганического азота:

- Сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
- Нитрат аммония NH_4NO_3 ;
- Карбамид;
- Аммиачная вода.

2.5. Источники фосфорного питания

1. Органические – кукурузный экстракт и соевая мука.
2. Неорганические – аммофос (смесь манго-, ди- и триаммонийфосфат), отдельно МАФ (моноаммонийфосфат) и ДАФ (диаммонийфосфат). Иногда применяют ортофосфорную кислоту, но это наиболее дорогой источник фосфора.

2.6. Макро- и микроэлементы

Используются в основном неорганические соли:

- Карбонат калия – K_2CO_3 ;
- Сульфат калия – K_2SO_4 ;
- Хлорид калия – KCl ;
- Сульфат магния – MgSO_4 , а также MnSO_4 , ZnSO_4 , CuSO_4 , FeSO_4 и другие растворимые соли.

3. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

3.1. Классификация питательных сред

Питательные среды для культивирования любого биологического объекта содержат большое количество компонентов. Основным считают тот, который является источником углерода и энергии. Такое вещество называют субстратом,

а все остальные – компонентами питания, без которых невозможна жизнь биологического агента.

Питательные среды условно делятся на две группы: *синтетические и комплексные*.

Синтетические среды представляют собой индивидуальные соединения с известным химическим составом, например, глюкоза, сахароза, крахмал и др. (т. е. очищенные от примесей).

Комплексные среды являются сложной смесью органических веществ, в которой известно содержание «главного» ингредиента. В них те же химические соединения, но не очищенные, а присутствующие в отходах пищевой промышленности и сельского хозяйства. Это, например, глюкоза, гидрол, сахароза в мелассе, аминокислоты в кукурузном экстракте или гидролизатах различного происхождения. У таких сред есть только два преимущества:

- а) низкая цена;
- б) наличие в их составе ростовых факторов, например, витаминов.

Но имеется и много недостатков:

- а) обсеменение жидких сред посторонней микрофлорой;
- б) наличие около 50 % воды, что увеличивает транспортные расходы;
- в) в сухом виде требуют специальной упаковки, так как гигроскопичны.

В биотехнологии питательная среда является не только объектом питания биологического объекта, но и средой обитания для него.

Потребности микроорганизмов в питании разнообразны и являются основой рецептуры сред.

Универсальных сред нет.

По составу среды могут быть *натуральными и синтетическими*.

Натуральные среды включают в себя продукты животного или растительного происхождения, сложные и непостоянные по составу.

Синтетические среды составляют из определенных химических соединений. Они более дороги и менее продуктивны. В них необходимо дополнительно вносить макро- и микроэлементы, а также витамины.

Питательными средами называют среды определенного состава, которые применяются для размножения микроорганизмов в лабораторных и промышленных условиях.

Классификация питательных сред по назначению:

1. Основные – применяются для выращивания многих микроорганизмов.
2. Элективные – обеспечивают развитие преимущественно микроорганизмов одной физиологической группы.
3. Диагностические – применяются для идентификации близкородственных видов микроорганизмов.

По консистенции среды могут быть:

- жидкими;
- полужидкими;
- твердыми;
- сыпучими.

3.2. Приготовление питательных сред

Жидкие питательные среды получают, растворяя в воде необходимый набор питательных веществ и микроэлементов.

Среды в твердом состоянии в форме плотных гелей используются еще со времен Р. Коха. На них можно выращивать микроорганизмы в виде колоний, представляющих собой потомство отдельно взятой клетки.

Полужидкие среды содержат гелеобразующее вещество, используются для изучения подвижности клеток.

Сыпучие среды – это измельченное и увлажненное сырье. Используются в пищевой промышленности для получения соевого соуса, водки, съедобных грибов (шампиньонов, вешенки, опят).

Этапы приготовления питательных сред:

1. Готовится раствор определенной концентрации источника углерода.
2. Добавляются источники азота, фосфора, макро- и микроэлементов (факторы роста).
3. Доводится рН среды до оптимального значения.
4. Производится стерилизация питательной среды.
5. Охлаждение до оптимальной температуры.

4. ПОЛУЧЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ

4.1. Получение посевного материала из продуцентов, не образующих спор

Посевным материалом (инокулянт) называют чистую культуру микроорганизма, которую получают путем ее последовательного пересева из пробирки в колбу, а затем в аппараты увеличивающегося объема до необходимого количества.

Сначала чистую культуру, которая является потомством одной материнской клетки, размножают в лаборатории, затем в цехе чистых культур, далее направляют на культивирование.

Таким образом, приготовление посевного материала состоит из следующих стадий:

1. Получение культуры микроорганизма в микробиологической лаборатории.
2. Выращивание микроорганизмов в малом посевном аппарате.
3. Выращивание микроорганизмов в большом посевном аппарате.
4. Накопление культуры микроорганизмов в малом ферментаторе.

Мы видим, что этот процесс многостадийный, трудозатратный и обычно применяется для культур, не образующих споры.

Если микроорганизм образует споры, то процесс начинается в споровом цехе. Далее споры проращивают и готовят к культивированию. Таким образом количество стадий уменьшается.

Некоторые предприятия не занимаются получением спор, а предпочитают их покупать за немалые деньги у других организаций.

5. ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ПРОДУКТОВ ФЕРМЕНТАЦИИ

5.1. Упаривание

Выделение и очистка продуктов ферментации.

На выходе из ферментатора обычно мы имеем суспензию, которая включает:

- биомассу клеток;
- неизрасходованный субстрат;
- продукты метаболизма;
- воду.

Эта смесь называется культуральной жидкостью.

Существует два основных метода получения товарного продукта из культуральной жидкости – это упаривание и фракционирование.

Упаривание – наиболее дешевый способ обработки, который подразумевает удаление воды и других летучих продуктов из культуральной жидкости. Оставшаяся после упаривания субстанция называется микробным концентратом и является товарным продуктом.

Микробный концентрат может выпускаться в разных модификациях: это может быть сироп, порошок, раствор и другие варианты, например, в смеси с наполнителем это могут быть таблетки.

В таком виде могут выпускаться ферменты, антибиотики, витамины, аминокислоты, бактериальные препараты и т. д.

Но метод упаривания имеет существенные недостатки:

1. Концентрат включает в себя все сухие вещества культуральной жидкости, например, в производстве антибиотиков культуральная жидкость содержит 17 % сухих веществ, а целевого продукта в них только 1,5 %. (Это очень мало, так как качество целевого продукта определяется концентрацией в нем основного вещества).
2. Среди примесей концентрата могут оказаться примеси, которые снижают качество целевого продукта или препятствуют его использованию.
3. Концентрат будет обеднен теми летучими продуктами, которые «ушли» при выпаривании и могли быть полезными. Это может также повлиять на качество целевого продукта.

Единственным преимуществом данного способа является его дешевизна. Поэтому, если мы хотим получить качественный целевой продукт, то нужно воспользоваться методом фракционирования.

5.2. Фракционирование

В этом слове заложен смысл данной операции – разделение на фракции (жидкую и твердую фазу). Твердой фазой является биомасса.

Способы фракционирования

1. Фильтрование (как правило, на барабанном фильтре).
2. Сепарирование – использование центробежных сепараторов.
3. Флокуляция с последующим осаждением и фильтрацией.

Если сравнивать эти три процесса, то недостатком фильтрации является большее количество остаточной воды в биомассе, а преимуществом – дешевизна.

Сепарирование – это энергоемкий процесс, но очень производительный и поддается регуляции. Биомасса после сепарирования содержит меньше жидкой фазы, чем при фильтровании, поэтому биомасса может сразу стать товарным продуктом.

Биомассу клеток выпускают в трех вариантах.

1. Живая культура – дрожжи, различные закваски, молочные бактерии и др.
2. Ослабленная биомасса – живые вакцины.
3. Инактивированная (убитая) биомасса – кормовой белок, белково-витаминный концентрат.

Биомассу могут промывать и опять подвергать фильтрации, могут сушить или сублимировать (если нужна живая, но сухая биомасса).

Если целевой продукт находится внутри клетки, то чаще всего проводят дезинтегрирование клеток (разрушение клеточных оболочек).

Это может быть механическое разрушение в дезинтеграторах, где биомасса продавливается под давлением через узкие щели, или разрушение клеточной стенки с помощью ферментов.

В любом случае после такой процедуры опять образуются две фазы: жидкая – внутриклеточные метаболиты и твердая – разрушенная клеточная стенка. Поэтому после дезинтегрирования опять следует фракционирование.

После фракционирования твердая фаза идет в отход, а из жидкой фазы извлекают целевой продукт различными способами.

Если целевой продукт находится в жидкой фазе культуральной жидкости, то существует масса способов для его выделения, как химических, так и физико-химических, например:

1. Если целевой продукт летучий, то, как правило, применяют перегонку с последующей конденсацией.
2. Для всех остальных случаев перед выделением целевого продукта необходима стадия концентрирования жидкой фазы, так как в ней много воды. Для этой цели проводят выпаривание, вымораживание, диализ, ультрафильтрацию, мембранные технологии и т. д.
3. После концентрирования возможно выделение целевого продукта любым известным способом, например: экстрагированием, сорбцией, осаждением, кристаллизацией, ионообменном и другими.

Таким образом, выделение и очистка продуктов ферментации является очень сложным многоступенчатым процессом, требующим больших энергетических затрат и аппаратурного оформления.

Затраты на выделение целевого продукта могут достигать до 70 % себестоимости. С увеличением объема производства эта цифра обычно уменьшается.

6. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

1. По отношению к кислороду:
 - Аэробные;
 - Анаэробные.
2. По состоянию питательной среды (по виду контакта биологического агента с питательной средой):
 - Поверхностные;
 - Глубинные:
 - а) биологический агент является твердой фазой в суспензии с питательной средой;
 - б) биологический агент иммобилизован (обездвижен) на твердом носителе.
3. По стерильности:
 - Условно стерильные;
 - Строго стерильные.
4. По способу действия:
 - Периодические;
 - Непрерывные;
 - Отъемно-доливные.
5. По фазности процесса:
 - Твердофазные;
 - Жидкофазные;
 - Газофазные.
6. По наличию или отсутствию перемешивания:
 - Динамические;
 - Статические.
7. По количеству ферментаторов:
 - Одностадийные;
 - Двустадийные;
 - Многостадийные.

7. ФАЗЫ РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ СПОСОБЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

При периодическом способе культивирования питательная среда не обновляется, а количество клеток увеличивается довольно быстро. Поэтому на протяжении процесса ферментации можно выделить 5 фаз развития микроорганизмов.

1. Лаг-фаза

В этой фазе развития микроорганизмы не размножаются, а приспосабливаются к условиям новой питательной среды.

Длительность этой фазы зависит от количества микроорганизмов и от состава предыдущей питательной среды, а также от активности ферментов данной культуры.

2. Фаза ускоренного роста

Микроорганизмы адаптировались и начали размножаться, сначала медленно, а затем все быстрее. Здесь скорость роста увеличивается, но с разным ускорением.

3. Фаза логарифмического роста

Здесь происходит активное размножение, причем с постоянной скоростью, пока микроорганизмам хватает питания и не накопились продукты жизнедеятельности. Как только эти факторы становятся препятствием к размножению, микроорганизмы переходят на следующую стадию развития.

4. Фаза замедленного роста

По уже перечисленным причинам, рост и размножение микроорганизмов замедляется, из-за нехватки питания и накопления вредных веществ некоторые клетки даже отмирают, но скорость размножения больше скорости отмирания.

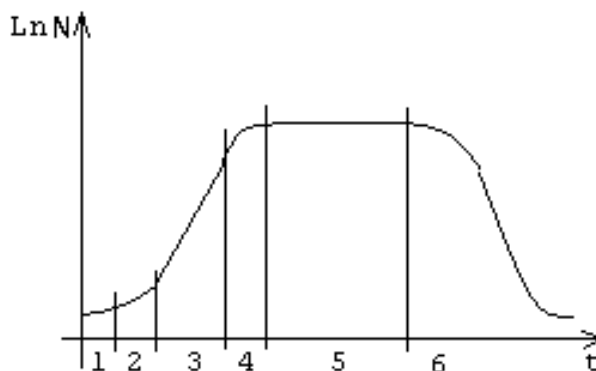
5. Стационарная фаза

На этом этапе количество живых клеток находится на одном уровне, так как скорость размножения равна скорости отмирания.

6. Фаза отмирания

На этой стадии скорость отмирания больше скорости размножения. Она наступает в тот период, когда микроорганизмы использовали все питательные вещества среды.

Все эти фазы развития можно отразить кривой $\ln N = f(\tau)$:



Ход кривой показывает, что при периодическом культивировании необходимо заканчивать процесс в конце третьей стадии или в самом начале четвертой, пока клетки не стали умирать.

Альтернативой может быть переход с этого момента на отъемно-доливное культивирование. Этот вариант предполагает отъем определенного объема культуральной жидкости с последующим добавлением такого же объема свежего субстрата. Это устранил те причины, которые приводят к отмиранию клеток.

Знание закономерностей развития популяции живых клеток позволяет оптимизировать технологический процесс.

8. ПРИМЕНЕНИЕ СЕЛЕКЦИИ, ГЕННОЙ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ

8.1. Принципы селекции микроорганизмов

Требования к промышленным штаммам-продуцентам:

- 1) высокая скорость роста или высокий выход целевого продукта при минимальном образовании побочных продуктов;
- 2) безвредность для людей и окружающей среды;
- 3) устойчивость к посторонней микрофлоре;
- 4) генетическая однородность и стабильность физиологических свойств.

В промышленности применяют три группы штаммов:

- I. Природные штаммы, улучшенные естественным или искусственным отбором.
- II. Штаммы, полученные в результате индуцированных мутаций.
- III. Штаммы, полученные методами генной и клеточной инженерии.

Большинство промышленных микроорганизмов являются результатом селекции, то есть целенаправленного получения клеток с новыми свойствами.

Принципы селекции микроорганизмов

Селекция микроорганизмов обычно решает одну из двух задач:

1. Существенно увеличить образование продукта, свойственного данному микробному виду.
2. Генетически запрограммировать биосинтез таких веществ, которые не свойственны данному виду.

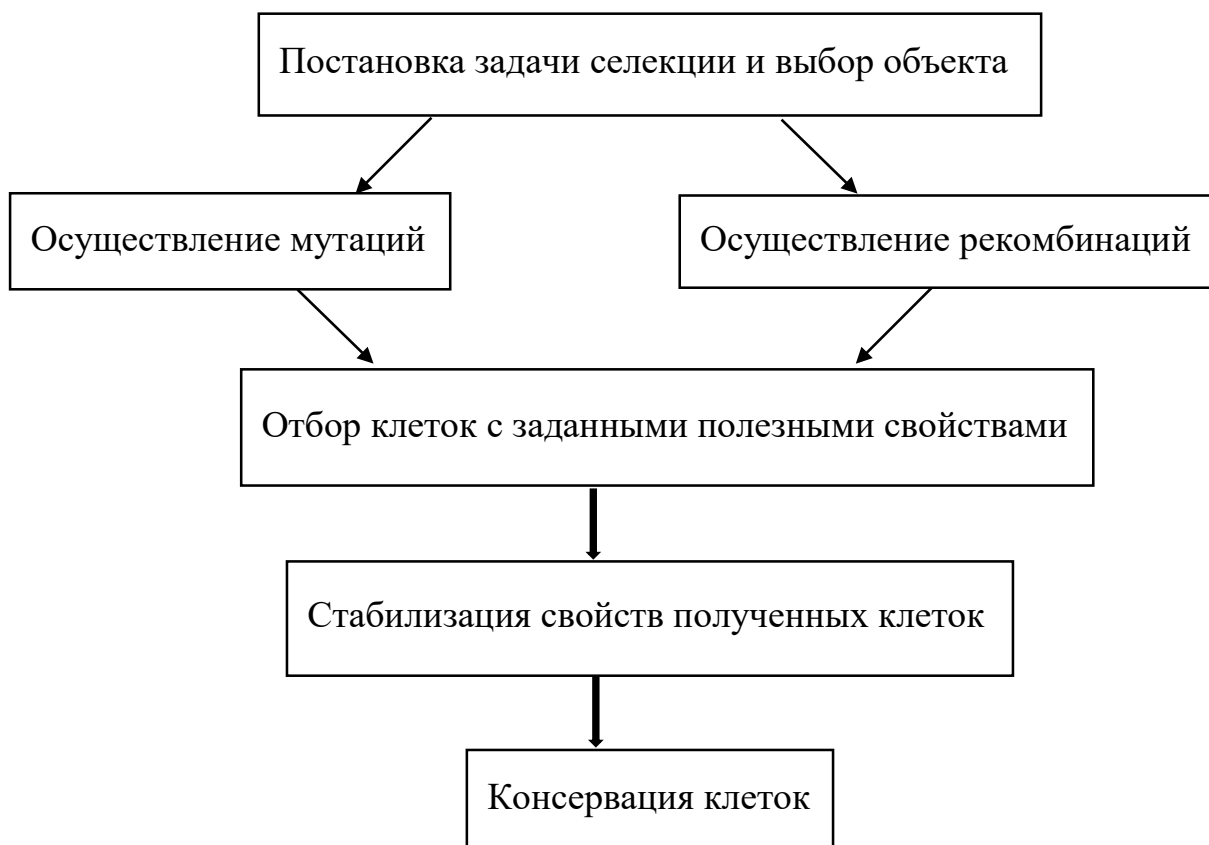
Эти задачи могут решаться двумя подходами:

- 1) либо путем коррекции генетической информации микробной клетки для исключения нежелательных свойств и усиления нужных признаков с помощью мутаций;
- 2) либо введением в клетку совершенно новой генетической информации с помощью рекомбинации.

Мутации – это стабильные (наследуемые) изменения генотипа (исходной ДНК), которые влияют на фенотип клетки (ее физиологические и морфологические признаки).

Рекомбинация – это образование нового генотипа (новой ДНК) из двух или более исходных молекул ДНК. При этом возможен обмен генетической информацией (новая ДНК состоит из фрагментов исходных ДНК, и объединение генетической информации (в клетке остаются и функционируют обе молекулы ДНК – своя и чужая)).

Этапы селекции микроорганизмов:



8.2. Получение, отбор и сохранение мутантов

До недавнего времени основным способом изменения свойств клетки были естественные (спонтанные) или искусственные (индуцированные) мутации с последующим отбором положительных мутантов.

Частота спонтанных мутаций составляет примерно 10^{-10} на каждый ген. В больших популяциях (10^{15} клеток) в каждом поколении появляется 10^5 мутантных клеток по каждому гену.

Такая мутационная изменчивость помогает микробным популяциям приспосабливаться к новым условиям жизни.

Однако выделить положительный мутант, возникший путем спонтанной мутации, – редкая удача! Поэтому в селекции микроорганизмов, как правило, применяют индуцированные мутации под действием физических или химических мутагенов.

К физическим факторам мутагенного воздействия относятся:

- Ультрафиолетовые лучи;
- Ионизирующее излучение;
- Корпускулярное излучение;
- Ультразвук.

Эти мутагенные факторы либо непосредственно повреждают молекулу ДНК, либо вызывают образование свободных радикалов, воздействующих на структуру ДНК.

Среди химических мутагенов существуют:

- а) вещества широкого спектра действия;
- б) вещества со специфическими свойствами, способные индуцировать не любые, а определенные целенаправленные мутации (например, сильные мутагены могут алкилировать аминокислоту цитозин, вызывая его замену тиминном).

Путем мутагенного воздействия достаточно легко получить множество мутантов, в том числе с положительными свойствами.

Главные трудности:

1. Выделение положительных мутантов.
2. Генетическое закрепление приобретенных свойств.

Эти задачи решаются в каждом конкретном случае по-своему. Например: многие мутанты-продуценты антибиотиков имеют повышенную устойчивость к «своему» антибиотику, соответственно, они выживают при высокой концентрации данного антибиотика в среде.

Полученные путем мутаций свойства, как правило, являются нестабильными.

Новый штамм часто подвергается реверсии, то есть обратному мутированию. «Ревертанты» бывают более жизнеспособны и вытесняют из популяции высокопродуктивные клетки мутанта. Поэтому новые свойства мутанта необходимо закрепить.

С этой целью:

- либо накапливают гены-модификаторы, которые постепенно приспособливают новые свойства мутанта к общему метаболизму клетки;
- либо отбирают двойных мутантов, что уменьшает вероятность реверсии.

Кроме сохранения активности, важно обеспечить жизнеспособность штамма при его хранении. Для этого используют различные приемы консервации.

Большинство промышленных микроорганизмов можно сохранить в активной форме в холодильнике при $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ в течение 1–2 месяцев.

При температуре ниже 0°C жизнеспособность клеток ухудшается. Массовая гибель микроорганизмов происходит при замораживании в диапазоне температур от -15°C до -35°C .

Но при температуре ниже -130°C достигается максимальная выживаемость микроорганизмов, в качестве хладагента обычно используют жидкий азот с $t = -196^{\circ}\text{C}$.

При низкотемпературном хранении в течение 3–5 лет выживаемость клеток составляет 40–70 %, а после 10–20-летнего хранения – 10–20 %.

Наряду с замораживанием для консервации клеток используют их обезвоживание и хранение под слоем минерального масла. Выживаемость клеток при таком способе хранения аналогична низкотемпературному режиму.

В настоящее время самый распространенный способ хранения микробных культур – лиофилизация. Она заключается в том, что вода при пониженном атмосферном давлении 200–500 мм рт. ст. испаряется из замороженного клеточного материала, превращаясь в пар, минуя жидкое состояние.

Обычно лиофилизацию микробных культур проводят в течение 1–2 часов при температуре от 45⁰С до 60⁰С. Большинство лиофилизированных клеток сохраняет жизнеспособность в течение 15–50 лет.

8.3. Генетическая рекомбинация

У эукариот в процессе оплодотворения объединяются наборы генов родительских организмов. Эти гены перекомбинируются (рекомбинируют) с образованием нового рекомбинантного набора генов (генотипа).

Изменения, возникшие в результате рекомбинации, являются основой селекции организмов, размножающихся половым путем.

У большинства микроорганизмов, имеющих промышленное значение, отсутствует способность к половому размножению.

Вместе с тем, в микромире имеется несколько естественных способов передачи генетической информации с образованием рекомбинантных организмов – это конъюгация, трансдукция, трансфекция, трансформация и перенос плазмид.

Конъюгация – это перенос ДНК по «мостику» (тонкой трубочке), образуемому между двумя бактериальными клетками. «Мостик» может существовать короткое время, за которое из одной клетки в другую успевает перейти лишь небольшая часть ДНК.

Трансдукция – внесение чужой ДНК в бактериальную клетку при помощи бактериофага.

Трансфекция – внесение в клетку «голой» фаговой ДНК.

Трансформация – проникновение чужеродной ДНК из питательной среды в бактериальную клетку, обладающую свойством компетентности.

Компетентные клетки, в отличие от обычных, имеют большие диффузионные поры в стенке, через которые могут проходить молекулы ДНК.

Свойство компетентности возникает в определенных условиях и лишь у некоторых клеток микробной популяции.

Перенос плазмид

Плазмиды в бактериальных клетках могут выходить в раствор и затем проникать в другие клетки.

Во многих случаях плазмиды включают гены, определяющие устойчивость клетки к тому или другому антибиотику, и другие свойства микроорганизмов.

После переноса ДНК любым из названных способов в клетке происходит рекомбинация, то есть обмен ДНК донора и реципиента.

Клетка-реципиент становится рекомбинантной.

Естественные способы генетической рекомбинации используются в генной инженерии для переноса генетического материала от одних клеток в другие и получения организмов с новыми полезными свойствами.

8.4. Основы генной инженерии

Генная инженерия значительно расширяет возможности селекции микроорганизмов, растений и животных.

Сущность генной инженерии – это целенаправленное конструирование рекомбинантных ДНК с последующим их введением в живой организм.

В ДНК клетки можно:

- 1) ввести целые серии новых, в том числе биологически отдаленных генов (например, ген человека в ДНК бактерии);
- 2) удалить гены;
- 3) изменить существующие гены;
- 4) повысить «дозу» гена (число копий гена) в клетке.

Таким образом, можно конструировать организмы с заданными свойствами.

Прикладная генная инженерия решает задачи получения клеток с полезными для человека свойствами, например:

- Способность синтезировать вещества, необходимые для медицины (диагностические препараты, вакцины, гормоны, антибиотики, инсулин, интерферон, белки крови и др.);
- Способность синтезировать пищевой и кормовой белок;
- Способность утилизировать ксенобиотики, продукты переработки нефти и другие загрязнители окружающей среды.

Ключевая операция генной инженерии – это введение в клетку новых генов (участка ДНК) таким образом, чтобы они воспроизводились в потомстве и действовали в клетке, то есть экспрессировались. Экспрессия гена означает протекание процессов репликации ДНК (удвоения), транскрипция (копирование на и-РНК) и трансляции (синтез белков на рибосомах).

Изолированный ген в большинстве случаев не имеет системы сигналов, обеспечивающих его экспрессию в клетке.

Кроме того, чужеродная ДНК, попав в микробную клетку, разлагается внутриклеточными ферментами.

Для преодоления этих проблем вводимый ген встраивается в вектор – циклическую молекулу ДНК, содержащую необходимые сигналы.

Такая рекомбинантная ДНК, состоящая из переносимых генов и вектора, после введения в клетку-реципиент способна к автономному существованию и при последующих делениях клетки.

Наиболее распространенными векторами являются плазмиды и фаги. Первые векторы были выделены из бактерий, в дальнейшем большинство векторов было получено с помощью генной инженерии.

Получение клеток с новым генотипом методом генной инженерии

Этот процесс включает следующие этапы:

1. Получение генов (фрагментов ДНК), которые требуется ввести в клетку-реципиент.
2. Включение этого фрагмента ДНК в вектор.
3. Введение рекомбинантной ДНК (вектор с фрагментом ДНК) в клетку.
4. Выделение из всей массы использованных клеток именно тех, в которые вошла рекомбинантная ДНК.

Получение генов

Чаще всего используют один из трех методов:

- Искусственный химический синтез по известной последовательности аминокислот (используется для небольших генов);
- Расщепление молекулы ДНК на небольшие фрагменты, содержащие один или несколько генов, с помощью специальных ферментов-рестриктаз;
- Биосинтез одноцепочечной ДНК по матрице информационной РНК с помощью фермента ревертазы, а затем синтез второй цепи молекулы ДНК на первоначально полученной одноцепочечной ДНК с помощью фермента ДНК-полимеразы. Этот метод удобен для выделения нужных генов из ДНК эукариотов с последующим их введением в клетки прокариот.

Включение генов в вектор

Кольцевую молекулу ДНК вектора разрезают с помощью ферментов рестриктаз так, чтобы не повредить сигнальную систему. Затем концы молекулы вектора и вводимого гена «сшивают» ферментом ДНК-лигазой.

Векторы прокариот получают от плазмид, фагов и их комбинаций.

Векторы для трансформации растений создают на основе бактериальных плазмид.

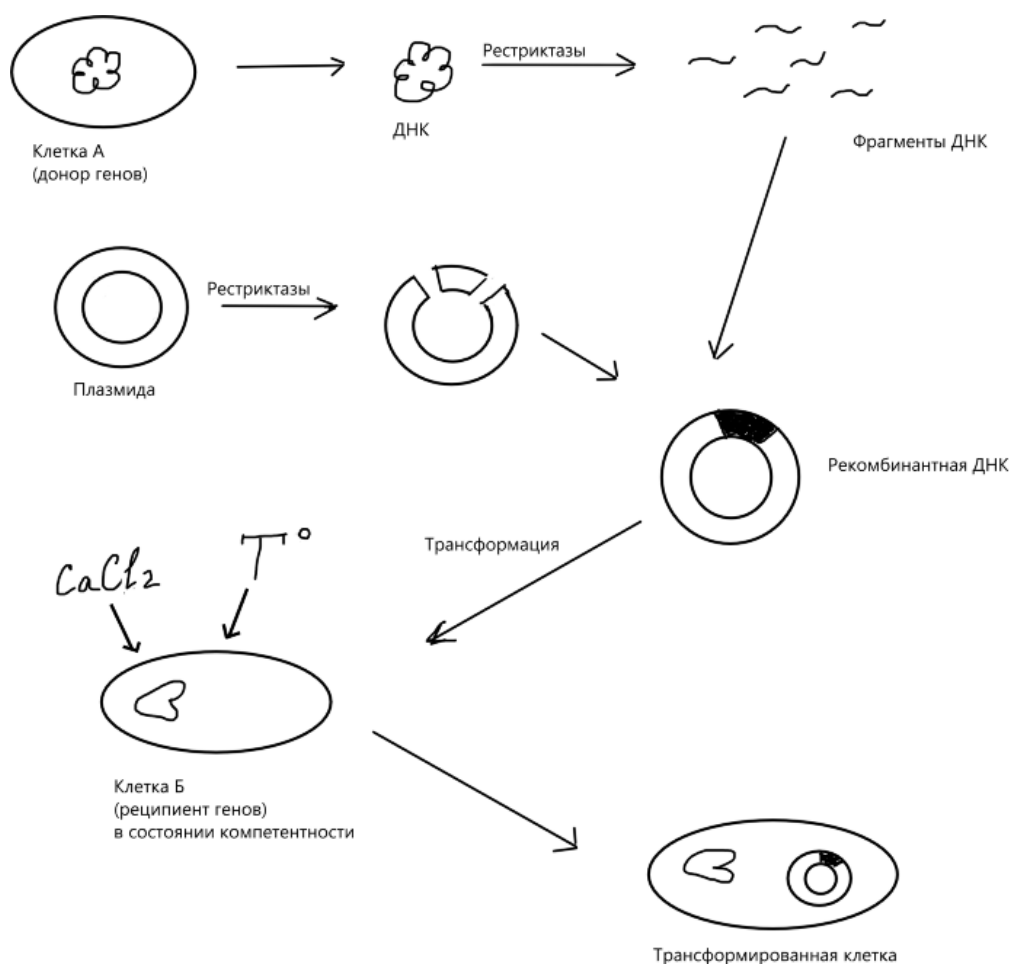
В клетки животных гены вносят при помощи векторов, полученных на основе вирусов. Например, на основе вируса осповакцины сконструирован вектор, в который включены гены гриппа, гепатита В, кори и малярии для индуцирования иммунитета человека против названных вирусов.

Введение рекомбинантной ДНК в клетку

Чаще всего используют трансформацию, трансфекцию и трансдукцию.

Для осуществления трансформации добиваются компетенции клеток, используя CaCl_2 и тепловой удар. Это воздействие широко применяется для введения рекомбинантной ДНК в растительные клетки. В клетки высших организмов ДНК вводят микроинъекцией.

Схема введения в клетку новых генов при использовании в качестве вектора бактериальной плазмиды:



Выделение трансформированных клеток

На этом этапе встречаются некоторые трудности:

Во-первых, частота трансформации очень мала (одна клетка на несколько тысяч или несколько десятков тысяч клеток).

Во-вторых, не все введенные векторы содержат внедряемые гены. Для отбора нужных клеток применяют селективные маркеры, например, гены устойчивости к антибиотикам, включенные в вектор.

8.5. Основы клеточной инженерии

Клеточная инженерия объединяет методы придания новых свойств растительным и животным организмам путем конструирования на клеточном уровне, включая изменение генотипа методами генной инженерии.

Клетки растений обладают удивительным свойством.

Из клетки, взятой из любой части растения, можно получить целое растение. Клетки животных таким свойством не обладают. Это позволяет, изменяя генотип клетки методами генной инженерии, получать растения с новыми заданными свойствами. Для введения в растительные клетки новых генов предварительно разрушают клеточную стенку ферментами, получая протопласт. Новые гены в составе векторов можно ввести в протопласты трансформацией. Другой прием – слияние протопластов разных клеток с

последующей рекомбинацией хромосом. Указанными приемами в растительные клетки можно внести генетическую информацию от любых других клеток, в частности, бактерий или животных. Это открывает широкие перспективы, например, по созданию растений, использующих атмосферный азот, путем объединения генетического материала растительных клеток и клеток азотфиксирующих бактерий.

Уже в настоящее время методом клеточной инженерии получено много новых сортов сельскохозяйственных растений, устойчивых к заболеваниям, гербицидам и другим отрицательным факторам.

Схема изменения свойств растения методом клеточной инженерии:

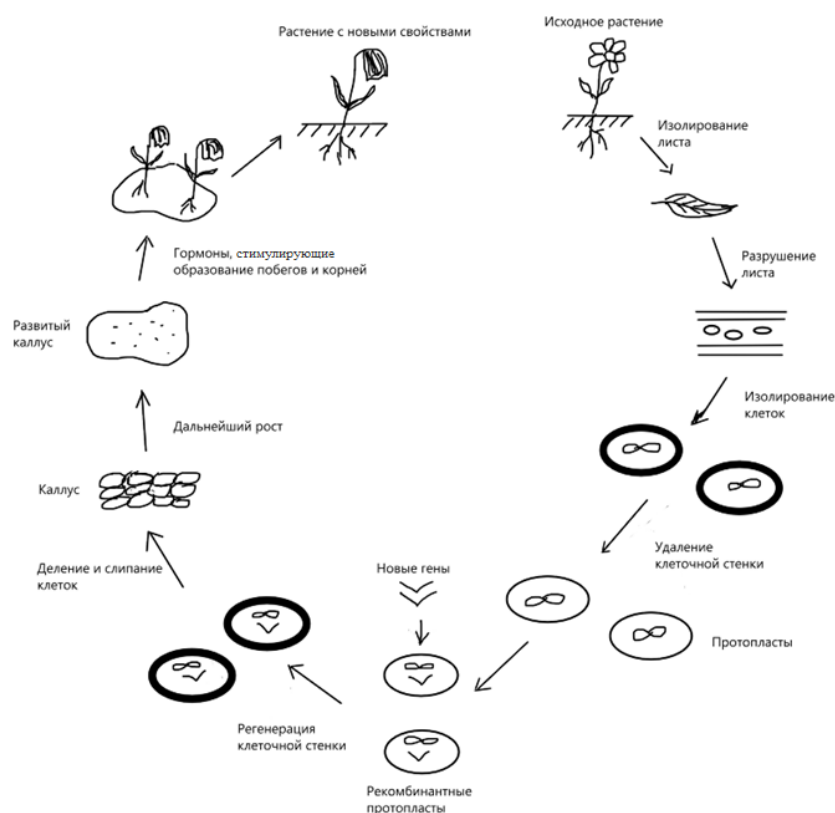
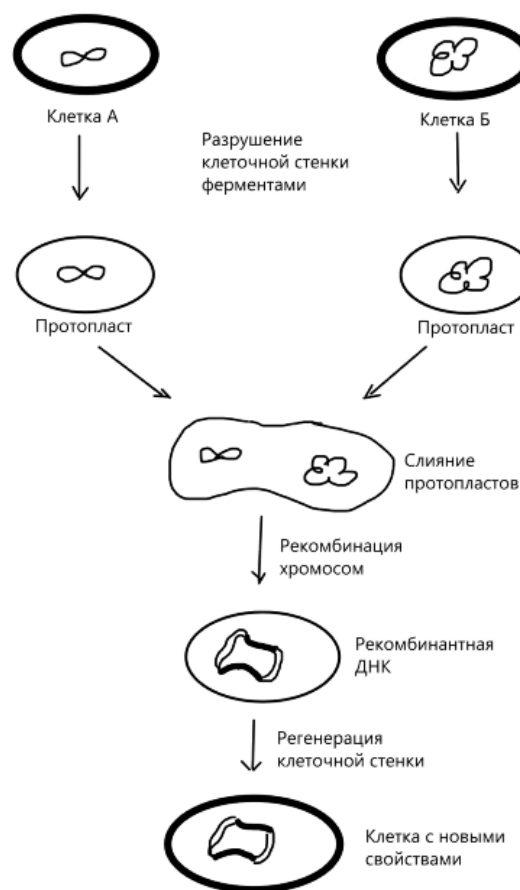


Схема получения рекомбинантной клетки путем слияния протопластов:



8.6. Трансплантация эмбрионов

Этот метод используется для:

- а) увеличения потомства от выдающихся по продуктивности животных;
- б) получения химерных животных;
- в) сохранения вымирающих животных.

Получение дополнительного потомства от высокопродуктивных животных. Этот процесс включает несколько стадий и фактически представляет собой ЭКО.

1. Гормональное индуцирование суперовуляции, которое приводит к образованию дополнительных яйцеклеток.
2. Извлечение яйцеклеток (оплодотворенных или неоплодотворенных) из материнского организма, кроме одной.
- 2.а. Оплодотворение клеток искусственно, если они не были оплодотворены в организме матери естественным или искусственным путем.
3. Имплантация эмбрионов в организме реципиентов или их хранение в жидком азоте до имплантации.

Результаты трансплантации эмбрионов

– Путем трансплантации эмбрионов от одной «выдающейся» коровы можно получить 6 телят в год, пересаживая ее эмбрионы в организмы обычных коров, то есть это фактически применение «суррогатного» материнства.

– Эмбрионы редких животных можно пересаживать другим, более распространенным животным для сохранения исчезающих видов диких животных. Такая работа ведется во всех зоопарках мира.

Классический пример: наличие лошади Пржевальского в каждом зоопарке, хотя последняя особь была выловлена из среды обитания в далеком 1927 году. Ее эмбрионы пересаживают кобылам и зебрам, так появляются на свет новые представители исчезнувших в природе животных.

– Смещение эмбриональных клеток разных животных позволяет получать химер, то есть животных, не существующих в природе. На сегодняшний день получено достаточно много химерных животных, например: лисец (лиса + песец) получен для изменения окраски меха на зверофермах. В природе они не скрещиваются, так как обитают в разных широтах.

Получена химера от козы и овцы, сочетающая в себе положительные качества обоих животных (мясо, молоко, шерсть).

Манипуляции с эмбрионами в рамках клеточной инженерии не ограничиваются животными. Эти технологии широко стали применяться в репродуктивной медицине, а также стала возможна коррекция ДНК эмбриона в период внутриутробного развития.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной (третьей) части конспекта лекций было уделено внимание биотехнологическому аспекту, то есть организации процесса для получения целевого продукта с помощью биологических агентов. Рассмотрены виды сырья, требования к нему, алгоритм приготовления питательной среды, подготовка посевного материала для ферментации, а также методы культивирования и способы выделения целевого продукта.

Кроме того, было уделено внимание методам селекции живых организмов с применением генной и клеточной инженерии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Виестур, У. Э. Биотехнология. Биологические агенты, технология, аппаратура / У. Э. Виестур, И. А. Шмите, А. В. Жилевич; под общ. ред. У. Э. Виестура. – Рига: Зинатне, 1987. – 263 с.
2. Бекер, М. Е. Биотехнология / М. Е. Бекер, Г.К. Лиепиньш, Е.П. Райпулис. – М.: Агропромиздат, 1990. – 334 с. – ISBN 5-10-001872-0.
3. Сазыкин, Ю. О. / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чакалева; под ред. А. В. Калининского. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 256 с. ISBN 978-5-7695-4040-0.
4. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии: учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 208 с. – ISBN 5-7695-1022-6.
5. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж Пастернак; пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с. – ISBN 5-03-003328-9.
6. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии: учебник для вузов / Ю. Б. Филиппович. – М.: Изд-во «Агар», 1999. – 512 с. – ISBN 5 -89218-046-8.
7. Кнорре, Д. Г. Биологическая химия: учебник для хим., биол. и мед. спец. вузов / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. – 2-е изд., переб. и доп. – М.: Высшая школа, 1998. – 479 с. – ISBN 5-06-003365-1.
8. Яценко-Хмелевский, А. А. Основы микробиологии: учеб. пособие / А. А. Яценко-Хмелевский, К. И. Кобак, С. Д. Цветкова. – Л.: ЛТА, 1985. – 120 с.
9. Колешко, О. И. Микробиология: учеб. пособие / О. И. Колешко. – Минск, Высшая школа, 1977. – 272 с.
10. Федорова, О. С. Основы биотехнологии: учебное пособие для студентов / О. С. Федорова. – Красноярск: СибГУ им. М.Ф. Решетнёва, 2022. – 100 с.
11. Загоскина, Н. В. Основа биотехнологии: учебник и практикум для СПО / Н. В. Загоскина, Л. В. Назаренко. – 4-е изд. – Москва: Юрайт, 2023. – 381с.