

Занятие семинарского типа № 1

ТЕМА ЗАНЯТИЯ: Биотехнология как наука и сфера производства.

УЧЕБНЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Понятие о биотехнологии, ее цель и задачи

В последние десятилетия мы стали свидетелями своеобразного бума, связанного с рождением и становлением современной биотехнологии. Речь идет о создании мобильной, высокоэффективной, компактной отрасли производства, базирующейся на самых последних достижениях биологической науки, прежде всего, на методах генетической и клеточной инженерии.

Рассмотрим некоторые трактовки термина «Биотехнология».

Биотехнология – это:

- ✓ производство с помощью живых существ или технология живого;
- ✓ преимущественно новые, промышленно важные пути биотрансформации разных веществ и живых организмов;
- ✓ наука о применении биологических процессов и систем в производстве;
- ✓ направление научно-технического прогресса, использующее биологические процессы и агенты для целенаправленного воздействия на природу, а также для промышленного получения полезных для человека продуктов, в том числе и лекарственных средств;
- ✓ объединение биохимической, микробиологической и инженерной наук с целью технологического использования микроорганизмов, культур клеток и тканей растений и животных, а также составных частей клеток.

В этой связи, биотехнология представляет собой область знаний, возникшую и оформившуюся на стыке микробиологии, молекулярной биологии, генетической инженерии, химической технологии и ряда других наук.

Зарождение биотехнологии обусловлено потребностями общества в новых, более доступных продуктах для народного хозяйства, в том числе медицины и ветеринарии, а также в принципиально новых технологиях их получения.

Как видно из приведенных определений термина «биотехнология», ее цель состоит в использовании микроорганизмов, животных и растительных клеток и тканей, составных частей клеток или индивидуальных ферментов для синтеза, деструкции или трансформации разных материалов для получения продуктов, ценных для человека.

Задачи биотехнологии:

- ✓ поддержание и активизация путей обмена клеток, ведущих к накоплению целевого продукта при заметном подавлении реакций у культивируемого организма, не связанных с его биосинтезом;
- ✓ получение клеток и их составных частей для направленного изменения сложных молекул;
- ✓ углубление и совершенствование знаний в области генетической инженерии, включая рекомбинантную ДНК (рДНК) биотехнологию, и клеточной инженерии, для получения важных результатов в области фундаментальных исследований и прикладных разработок;
- ✓ создание малоотходных и экологически безопасных биотехнологических производств;
- ✓ совершенствование и оптимизация аппаратного оснащения биотехнологических производств с целью обеспечения максимального выхода целевых продуктов;

✓ повышение технико-экономических показателей биотехнологических производств в сравнении с существующими параметрами.

Человек использовал биотехнологию на протяжении многих тысяч лет. Люди издавна занимались пивоварением, пекли хлеб, придумывали способы хранения и переработки продуктов с помощью ферментации (производство сыра, уксуса, соевого соуса и др.), научились изготавливать простейшие лекарственные средства и перерабатывать отходы разного происхождения. Однако, только разработка методов генетической инженерии, основанных на создании рДНК, привела к тому «биотехнологическому буму», свидетелями которого мы являемся.

Биотехнология как самостоятельная прикладная наука сформировалась в середине 50-х гг. XX в., когда человечество осознало необходимость первоочередного решения глобальных проблем (энергетической, экологической, продовольственной, ресурсной и др.) с принципиально новых позиций.

В настоящее время во многих странах мира развитию биотехнологии придается первостепенное значение в силу целого ряда преимуществ сравнении с традиционными технологиями. Биотехнологические процессы обладают низкой энергоемкостью, малоотходны, экологически чистые; предусматривают использование стандартного оборудования и реактивов, возможность их круглогодичной реализации, независимо от климатических, географических, природных и других условий, занимая при этом незначительные площади. Кроме того, такие процессы высокопроизводительны, для них характерен высокий уровень автоматизации и механизации. Они, как правило, реализуются при относительно низких температурах и атмосферном давлении.

2. Этапы становления биотехнологии

Правомерно отнести, возникновение современной биотехнологии, начавшей свое формирование на базе существующих отраслей микробиологического производства, к началу 50-х гг. XX в., а этап, предшествующий данному периоду, назвать ее предысторией, восходящей к древним цивилизациям. В этой связи III съезд Европейской ассоциации биотехнологов (Мюнхен, 1984 г.) принял предложение голландского ученого Е. Хаувинка о выделении 5 периодов (эр) в истории биотехнологии:

1. Допастеровский (до 1865 г.): хлебопечение, молочнокислое брожение, получение уксуса, сыра, открытие спирта.

2. Послепастеровский (1866–1940 гг.): получение бутанола, ацетона, анатоксинов, вакцин, сывороток и др., используя биосинтетическую способность микроорганизмов.

3. Антибиотиков (1941–1960 гг.): открытие антибиотиков, строения ДНК (1953 г.).

4. Управляемого биосинтеза (1961–1975 гг.): установлена способность микроорганизмов к сверхсинтезу биологически активных веществ (БАВ) – аминокислот, ферментов, витаминов и др.

5. Новой биотехнологии (после 1975 г.): базируется на современных достижениях генетической и клеточной инженерии.

Кроме того, в истории становления биотехнологии как науки и сферы производства условно можно выделить 4 периода:

Эмперический (доисторический) период. Самый продолжительный период, охватывающий примерно 8000 лет. Древние люди интуитивно использовали приемы и способы приготовления пива, хлеба и других продуктов. В течение нескольких тысячелетий известен уксус, издревле приготавливавшийся в домашних условиях, первая дистилляция вина осуществлена в XII в. и др. К данному периоду относится и получение кисломолочных продуктов, квашенной капусты и т.п.

Таким образом, народы исстари использовали на практике микробиологические процессы, ничего не зная о микроорганизмах. Такой же эмпиризм был свойственен и практике использования полезных свойств растений и животных.

Этиологический период (1856–1933 гг.). Данный период связан с выдающимися исследованиями Л. Пастера (1822–1895 гг.), являющегося основоположником научной микробиологии, вскрывшего микробную природу брожения, доказавшего возможность жизни в бескислородных условиях, опровергнувшего представления о самопроизвольном зарождении живых существ, создавшего научные основы вакцинопрофилактики и вакцинотерапии, предложившего новый метод стерилизации (пастеризацию).

Этот период знаменателен тем, что удалось доказать индивидуальную природу микроорганизмов и выделить их в виде чистых культур. Кроме того, каждый вид мог быть размножен на искусственных средах и использован для воспроизведения соответствующих процессов (бродильных, окислительных и др.). В данный период начато производство пищевых прессованных дрожжей, ацетона, бутанола, лимонной и молочной кислот. В этот период во Франции приступили к созданию биологических установок для очистки сточных вод.

Начало биотехнического периода относят к 1933 г. к публикации работы А. Клейвера и Л.Х.Ц. Перкина «Методы изучения обмена веществ у плесневых грибов», в которой были изложены основные технические приемы, подходы к оценке и интерпретации данных, полученных в результате глубинного культивирования микроскопических грибов. К этому периоду относится внедрение специализированного крупногабаритного герметизированного оборудования в биотехнологическое производство, в том числе и биореакторов (ферментеров).

Начало генотехнического периода относится к 1972 г., когда П. Бергу с сотр. удалось создать первую рДНК. Сущность данного периода состоит в выяснении механизмов функционирования и регуляции ДНК, выделении и изучении специфических ферментов (рестриктаз, лигаз и др.), являющихся инструментами генетической инженерии, что способствовало формированию строго научного подхода к разработке биотехнологических производств на основе достижений генетической инженерии. В качестве одного из достижений генотехнического периода следует отметить то, что уже в 1982 г. поступил в продажу первый человеческий инсулин, вырабатываемый кишечными палочками (*E. coli*), несущими в себе искусственно встроенную генетическую информацию о данном гормоне. В настоящее время производятся следующие генно-инженерные препараты: интерфероны, интерлейкины, соматотропин и т.п.

Кроме того, в настоящее время большое количество исследований реализуется на стыке генетической и клеточной инженерии (гибридная технология), что способствовало разработке технологии получения моноклональных антител, а это, в свою очередь, привело к революционным изменениям в области диагностики, профилактики и терапии многих заболеваний, в том числе и наследственных.

3. Объекты биотехнологии

3.1. Понятие о биосистеме

Одним из ключевых терминов биотехнологии является понятие о биологической системе. Обобщенные характеристики биосистемы могут быть сведены к трем основным признакам.

БИОСИСТЕМЫ

гетерогенные открытые системы, обменивающиеся веществами и энергией с окружающей средой
самоуправляемые, саморегулирующиеся, идактивные (способные к обмену информацией с окружающей средой для поддержа-

ния своей структуры и управления процессами метаболизма)
самовоспроизводящиеся (клетки, организмы)

По структуре биосистемы подразделяются на элементы (подсистемы), связанные между собой, характеризующиеся сложной организацией (атомы, молекулы, органеллы, клетки, организмы, популяции, сообщества).

Поведение биосистемы является совокупностью ее реакций в ответ на внешние воздействия, т.е. общей задачей управления системой живых организмов является сохранение ее энергетической основы при изменяющихся условиях внешней среды.

Все биосистемы подразделяются на пять иерархических уровней сложности:

1. одноклеточные организмы;
2. многоклеточные организмы;
3. популяции;
4. биогеоценоз;
5. биосфера.

Основой системного подхода к анализу структур биосистем является ее представление в виде двух компонентов – энергетического (метаболическая составляющая) и управляющего (генетическое и физиологическое управление).

Одной из основных функций метаболической системы является снабжение биосистем энергией. Структура биосистем поддерживается механизмами генетического управления. Получая от остальных систем энергию и информацию в виде продуктов обмена веществ (метаболитов), а в период формирования – в виде гормонов, генетическая система управляет процессом синтеза необходимых веществ и поддерживает жизнедеятельность остальных систем организма.

Несмотря на многообразие биосистем, отношения между их биологическими свойствами остаются инвариантными для всех организмов. В сложной системе возможности к адаптации гораздо больше, чем в простой, т.к. в ней эти функции обеспечиваются малым количеством механизмов. Однако, они более чувствительны к изменениям во внешней среде.

Для биосистем характерна качественная неоднородность, проявляющаяся в том, что в рамках одной и той же функциональной биосистемы системно и слаженно работают подсистемы с качественно различными адекватными управляющими сигналами (химическими, физическими, информационными).

Иерархичность биосистем проявляется в постепенном усложнении функции на одном уровне иерархии и скачкообразном переходе к качественно другой функции на следующем уровне иерархии, а также в специфическом построении разных биосистем, их анализа и управления в такой последовательности, что итоговая функция нижележащего уровня иерархии входит в качестве элемента в вышележащий уровень.

3.2. Характеристика основных объектов биотехнологии

В качестве биологических объектов или систем, применяющихся в биотехнологическом производстве, следует отметить одноклеточные организмы, животные и растительные клетки. Выбор данных биообъектов обусловлен следующими преимуществами:

1. клетки являются своеобразными «биофабриками», вырабатывающими в процессе жизнедеятельности разнообразные БАВ (белки, жиры, углеводы, витамины, аминокислоты, антибиотики, гормоны, антитела, антигены, ферменты, спирты и др.), ценные для человека, но малодоступные для получения «небиотехнологическими» способами из-за сложности технологии или экономической нецелесообразности, особенно в условиях крупномасштабного производства;

2. клетки очень быстро воспроизводятся. Так, бактериальная клетка делится через каждые 20–60 мин., дрожжевая – через каждые 1,5–2 ч, животная – через 24 ч, что позволяет за короткое время искусственно нарастить на доступных средах в промышленных масштабах большие количества биомассы микробных, животных или растительных клеток (в биореакторе емкостью 100 м³ можно вырастить 10¹⁶–10¹⁸ микробных клеток);

3. Биосинтез БАВ (белки, антибиотики, антигены, антитела и др.) более экономичен и технологически доступен в сравнении с их химическим синтезом;

4. возможность реализации биотехнологического процесса в промышленных масштабах, обусловленная наличием соответствующего оборудования, доступностью сырья, технологии его переработки и т.п.

Клетки животных и растений, а также микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности образуют продукты, характеризующиеся разнообразием физико-химических свойств и биологического действия.

Классификация продуктов жизнедеятельности одноклеточных организмов:

1. биомасса: биомассу бактерий или вирусов используют для получения живых или инактивированных вакцин, биомассу дрожжей – в качестве источника белка и т.п.;

2. макромолекулы: ферменты, токсины, антигены, антитела, пептидогликаны и т.п.;

3. первичные метаболиты – низкомолекулярные вещества (менее 1500 дальтон), необходимые для роста и развития клеток (аминокислоты, витамины, нуклеотиды, органические кислоты и др.);

4. вторичные метаболиты (идиолиты) – низкомолекулярные соединения, не требующиеся для роста и развития клеток (антибиотики, алкалоиды, токсины, гормоны).

В современной биотехнологии используют широкий спектр биообъектов, классификация которых очень сложна и лучше всего может быть проиллюстрирована на основе принципа их соразмерности (табл. 1).

При выборе биообъекта во всех случаях необходимо соблюдать принцип технологичности. В том случае, если в течение многочисленных циклов культивирования свойства биообъекта не сохраняются или претерпевают существенные изменения, то его следует признать нетехнологичным, т.е. неприемлемым для следующих после лабораторных исследований технологических разработок.

С развитием биотехнологии большое значение приобретают специализированные банки биообъектов, в частности коллекции микроорганизмов с изученными свойствами, а также криобанки клеток животных и растений, которые уже сейчас с помощью специальных методов могут быть с успехом использованы для конструирования новых, полезных организмов. Такие специализированные банки культур предназначены для сохранения ценного генофонда.

Коллекции культур играют важную роль в процедуре правовой защиты новых культур и в стандартизации биотехнологических процессов. В них осуществляется хранение, поддержание и обеспечение микроорганизмов штаммами, плазмидами, фагами, линиями клеток как для научных и прикладных исследований, так и для соответствующих производств. Коллекции культур, кроме основной задачи – обеспечения жизнеспособности и сохранения генетических свойств штаммов – содействуют развитию научных исследований в области таксономии, цитологии, физиологии, а также служат целям обучения. Они выполняют незаменимую функцию в качестве депозитариев патентуемых штаммов. Согласно международным правилам, патентоваться и депозитироваться могут не только эффективные продуценты, но и культуры, используемые в генетической инженерии.

Классификация биообъектов по принципу их соразмерности

Группа	Размер				
	10 м – 1 см	1 см – 1 мм	1 мм – 1 мкм	1 мкм – 1 нм	от 1 нм
I	Доноры: человек, лошадь, корова и др.	Гигантские водоросли – продуценты альгинатов	Клетки эукариот (культуры клеток, лейкоциты – продуценты интерферона и др.) Клетки низших эукариот (плесень, дрожжи) Клетки-химеры	Бактериофаги Вирусы	ДНК Ферменты Макромолекулы-носители
II	Макроорганизмы-биореакторы (мышь, куриный эмбрион и др.)	Каллусные культуры – продуценты панаксозидов, биотрансформанты	Биопродуценты (клетки прокариот) Биотрансформанты (гибридные клетки про- и эукариот)	Эпосомы	
III	Растения – бионакопители сапонинов, алкалоидов и т.д.	Культуры тканей (дерма)			
IV	Ядовитые растения и животные				

Большое внимание ученые уделяют целенаправленному созданию новых, не существующих в природе биообъектов. Так, следует отметить создание новых микроорганизмов, растений и животных с помощью методов генетической инженерии. Созданию новых биообъектов, безусловно, способствует совершенствование правовой охраны изобретений в области генетической инженерии и биотехнологии в целом. В настоящее время существуют методы, позволяющие получить искусственные клетки с помощью разных синтетических и биологических материалов (искусственная клеточная мембрана с заданной проницаемостью и поверхностными свойствами). Внутри таких клеток могут быть заключены: ферментные системы, клеточные экстракты, магнитные материалы, изотопы, антитела, антигены, гормоны и т.п. Применение искусственных клеток позволило достичь положительных результатов в производстве интерферонов, моноклональных антител, при создании иммуносорбентов и др.

Разрабатываются подходы к созданию искусственных ферментов и их аналогов, обладающих повышенной стабильностью и активностью. Так, осуществляется синтез полипептидов необходимой стереоконфигурации, поиск методов направленного мутагенеза для замены одной аминокислоты на другую в молекуле фермента, попытки построения неферментных каталитических моделей.

Перспективные группы биологических объектов:

✓ Рекомбинанты (организмы, полученные с помощью генетической инженерии). Процесс искусственного создания биообъекта состоит в изменении его генетической информации с целью исключения нежелательных и усиления необходимых свойств или

придания ему совершенно новых качеств. Наиболее целенаправленные изменения можно реализовать за счет рекомбинаций, перераспределяя гены или части генов, объединяя в одном организме генетическую информацию от двух и более особей. Кроме того, получение рекомбинантов можно осуществить путем слияния протопластов, путем переноса природных плазмид и т.п.

✓ Растительные и животные культуры клеток и тканей. Так, культуры клеток млекопитающих являются продуцентами интерферона, вирусных вакцин, моноклональных антител, поверхностных антигенов клеток человека, ангиогенных факторов и др.

✓ Термофильные микроорганизмы и ферменты. Ферменты термофильных микроорганизмов характеризуются высокой термостабильностью. Реализация биопроцессов в условиях высоких температур с помощью таких ферментов отличается следующими преимуществами: увеличивается скорость реакции и растворимость реагентов, а, следовательно, производительность процесса, снижается микробная контаминация среды.

✓ Анаэробные организмы. Анаэробные процессы привлекают внимание исследователей в связи с недостатком энергии и возможностью получения биогаза, т.к. в данном случае не требуется аэрация среды, биохимические процессы менее интенсивны, а также упрощается система теплоотвода, поэтому такие процессы рассматривают как энергосберегающие. Анаэробные микроорганизмы успешно используют для переработки отходов и сточных вод.

✓ Ассоциации микроорганизмов. К преимуществам смешанных культур в сравнении с монокультурами относятся: способность утилизировать сложные, неоднородные по составу субстраты, непригодные для монокультур, способность к минерализации сложных органических соединений, повышенная способность к биотрансформации органических соединений, повышенная устойчивость к токсинам и воздействию внешней среды, высокая продуктивность, возможность обмена генетической информацией между отдельными видами сообщества.

✓ Имобилизованные биообъекты – гармоничные системы, действие которых определяется правильным подбором трех составляющих: биообъекта, носителя и способа их связывания. На практике применяют следующие способы иммобилизации биообъектов: включение в структуру гелей, микрокапсул, волокон, липосом, адсорбцию на нерастворимых носителях, ковалентное связывание с носителем, самоагрегацию и др. К преимуществам иммобилизованных биообъектов относятся: высокая стабильность, возможность контроля за микроокружением агента, полного и быстрого отделения продуктов реакции, организации непрерывных процессов с многократным использованием биообъекта.

В этой связи, в биотехнологических процессах возможно использование ряда биообъектов, характеризующихся разными уровнями сложности биологической регуляции (клеточным, субклеточным, молекулярным). От особенностей конкретного биообъекта непосредственным образом зависит подход к созданию всей биотехнологической системы в целом. В результате фундаментальных биологических исследований углубляются и расширяются знания о природе и возможностях прикладного использования той или иной биосистемы в качестве активного начала биотехнологического процесса. Ассортимент биообъектов постоянно расширяется.

4. Стадии биотехнологического процесса

На рис. 1 представлена общая структура биотехнологического процесса:

Промышленный биотехнологический процесс включает три ключевые стадии:

1. Исходная обработка (предферментационная стадия) включает хранение и подготовку культуры продуцента (инокулята), получение и подготовку питательных сред, ферментационной аппаратуры, технологической и рециркулируемой воды, воздуха.

Поддержание и подготовка чистой культуры продуцента – важный момент предферментационной стадии, т.к. физиолого-биохимические характеристики и свойства продуцента определяют эффективность биотехнологического процесса в целом. В отделении

чистой культуры осуществляют хранение производственных штаммов, обеспечивают их реактивацию и наработку инокулята (посевого материала) в количествах, необходимых для начала процесса. При выращивании посевных доз инокулята применяют принцип масштабирования, т.е. осуществляют последовательное выращивание биомассы продуцента в колбах, бутылках и далее в серии последовательных ферментеров (биореакторов). Каждый последующий этап данного процесса отличается по объему от предыдущего, как правило, на порядок. Полученный инокулят по стерильной посевной линии направляется в аппарат, в котором реализуется ферментационная стадия.

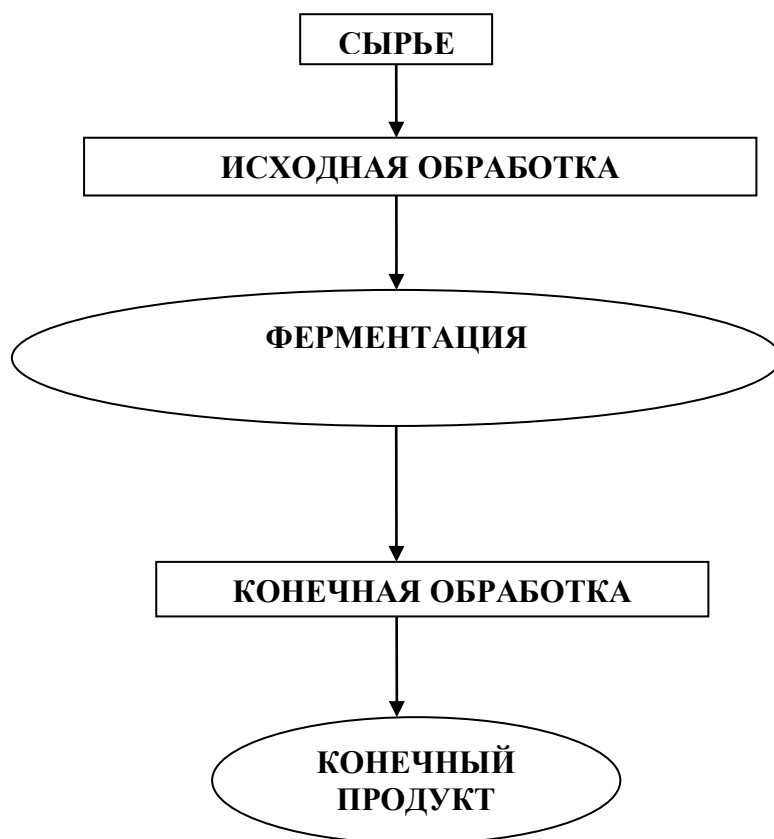


Рис. 1. Структура биотехнологического процесса

Приготовление питательных сред осуществляют в специальных реакторах, снабженных мешалками. Технология приготовления питательных сред усложняется, если в их состав входят нерастворимые компоненты. В различных биотехнологических процессах применяют разные по происхождению и количествам субстраты, поэтому процесс приготовления сред варьируется. Выбор способа дозирования компонентов питательных сред осуществляется индивидуально в каждом случае. В качестве дозирующего оборудования применяют весовые и объемные устройства, используемые в пищевом и химическом производствах. Транспорт веществ осуществляют с помощью насосов, ленточных и шнековых транспортеров. Сыпучие ингредиенты подают в ферментеры с помощью вакуумных насосов. Часто применяют принцип предварительных смесей, т.е. соли предварительно растворяют, и затем транспортируют по трубопроводам, дозируя их подачу по объему.

2. Ключевая стадия (стадия ферментации). В ходе ферментации происходит взаимодействие продуцента с субстратом и образование целевых продуктов (биомасс, экзо- и эндопродуктов). Данная стадия реализуется в биохимическом реакторе (ферментере). Она может быть организована разными способами в зависимости от особенностей продуцента, а также требований к типу и качеству конечного продукта. Ферментация может осуществ-

ляться в строго асептических условиях или без соблюдения условий асептики (незащищенная ферментация); на жидких или твердых средах; аэробно или анаэробно. Культивирование биообъектов может осуществляться в периодическом и проточном режимах, а также полунепрерывно с подпиткой субстрата. Обеспечение процесса ферментации с точки зрения инженерной реализации сводится к дозированному поступлению в ферментер потоков (инокулята, воздуха (или газовых смесей), питательных биогенов, пеногасителей) и отвода из него тепла, отработанного воздуха, культуральной жидкости, а также измерению и стабилизации основных параметров процесса на уровне, необходимом для оптимального развития продуцента и образования целевого продукта. В ходе ферментации образуются сложные смеси, содержащие клетки, внеклеточные метаболиты, остаточные концентрации исходного субстрата. При этом целевые продукты находятся в этой смеси в небольших концентрациях, а многие из них легко разрушаются, что накладывает существенные ограничения на выбор методов их выделения, очистки и сушки.

3. Конечная обработка (постферментационная стадия) обеспечивает получение готовой товарной формы продукта, обезвреживание отходов и побочных продуктов. Выбор методов выделения и очистки конечного продукта на данной стадии зависит от его локализации и природы. Наиболее трудоемко выделение продукта, накапливающегося внутриклеточно. Первым этапом постферментационной стадии является фракционирование культуральной жидкости и отделение взвешенной фазы (биомассы). Для увеличения сроков годности биотехнологических продуктов применяют их обезвоживание и стабилизацию. В зависимости от свойств продукта применяют разные способы сушки. В частности, сушка термостабильных продуктов осуществляется на подносах, ленточных конвейерах или в кипящем слое, а термолабильных продуктов – в вакуум-сушильных шкафах при пониженном давлении и температуре или в распылительных сушилках. К стабилизации свойств биотехнологических продуктов ведет добавление наполнителей. Так, для стабилизации ферментных препаратов используют глицерин и углеводы, препятствующие их денатурации, а также неорганические ионы кобальта, магния, натрия и др.

5. Связь биотехнологии с другими науками

Как уже отмечалось выше, биотехнология сформировалась на стыке многих наук, поэтому ее отличительной особенностью является трансдисциплинарность. Фундамент биотехнологии составили такие науки, как: микробиология, вирусология, физиология, биохимия, генетика, селекция, цитология, молекулярная биология, генетическая инженерия, клеточная инженерия, энзимология, иммунология, биофизика, экология, медицина, сельскохозяйственные науки, химия, физика, математика, кибернетика и др. В этой связи, можно выделить, по крайней мере, четыре направления, определивших развитие современной биотехнологии, – микробиология, инженерная энзимология, генетическая и клеточная инженерия.

Микробиология – наука о микроорганизмах.

К преимуществам промышленного культивирования микроорганизмов относятся: простота их организации, высокая скорость роста и размножения, большое разнообразие физиологических и биохимических свойств, способность развиваться в условиях непригодных для жизни других организмов, способность разлагать сложные органические соединения (белки, углеводы и т.п.), вещества, токсичные для человека и животных (метанол, сероводород и т.п.), ксенобиотики.

В настоящее время в основном микробиологические процессы в наибольшей степени развиты до уровня промышленного использования. Это крупнотоннажные производства микробной биомассы, аминокислот, антибиотиков и других ценных продуктов.

Второе направление биотехнологии – инженерная энзимология – отрасль биотехнологии, базирующаяся на использовании каталитических функций ферментов (или ферментных систем), находящихся в изолированном состоянии или в составе живых клеток, для получения соответствующих целевых продуктов.

В настоящее время на практике чаще всего используют иммобилизованные ферменты или целые клетки, благодаря чему стабилизируется и пролонгируется их каталитическая активность.

Иногда инженерную энзимологию отождествляют собственно с биотехнологией. В этом содержится большая доля истины, т.к. все реакции в клетках катализируются ферментами. Однако, термин «инженерная» привносит свою специфику, заключающуюся в акценте на создание конструкции, в данном случае – на конструировании биокатализаторов с заданными свойствами с последующим их использованием в биотехнологическом процессе.

Два других направления биотехнологии – генетическая и клеточная инженерии – самые молодые, но очень перспективные области биотехнологии.

Первое состоит в искусственном конструировании молекул ДНК, несущих всю генетическую информацию о данном организме, т.е. включающих в себе всю программу его роста и развития. В этой связи, открывается возможность направленного влияния на его наследственность и получения новых видов с полезными свойствами.

Генетическая инженерия – один из важнейших методов биотехнологии, предполагающий целенаправленное искусственное создание определенных комбинаций генетического материала, способных нормально функционировать в клетке, т.е. размножаться и контролировать синтез конечных продуктов.

Генетическая инженерия включает выделение из клеток отдельных генов или синтез генов вне клеток, направленную перестройку, копирование и размножение выделенных или синтезированных генов, их перенос и включение в подлежащий изменению геном, что позволяет добиться включения в клетки организма хозяина «чужеродных» генов и синтеза важных для человека соединений.

Развитие генетической инженерии стало возможным благодаря открытию: двух классов ферментов: рестриктаз, разрезающих молекулу ДНК в строго определенных участках и лигаз, сшивающих определенные участки молекул ДНК друг с другом, а также векторов, представляющих собой короткие кольцевые молекулы ДНК, самостоятельно размножающиеся в клетках бактерий. С помощью рестриктаз и лигаз в векторы встраивают необходимый ген, добываясь в последствие его включения в геном клетки хозяина.

Различают следующие виды генетической инженерии:

1. Генная инженерия связана с направленным использованием перестроек естественного генома, осуществляющихся в условиях *in vivo* и *in vitro*, для изменения генетических характеристик известных вирусов и клеток, т.е. с прямым манипулированием рДНК.

2. Геномная инженерия связана с направленной глубокой перестройкой генома прокариот, прокариот и эукариот, вплоть до создания новых видов, т.е. с переносом всего или большей части генетического материала от одной клетки к другой.

3. Хромосомная инженерия связана с переносом изолированных хромосом от клетки-донора одного организма в клетку-реципиент другого организма.

Клеточная инженерия базируется на культивировании клеток и тканей высших организмов (растений и животных).

Клеточная инженерия – метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции, основанный на использовании методов культуры клеток и тканей.

Выделяют два основных направления ее развития: использование клеток, переведенных в культуру, для синтеза ценных БАВ и для получения растений-регенератов.

Растительные клетки в культуре служат важным источником получения ценных природных БАВ, т.к. после перевода в культуру они сохраняют способность их синтезировать. Следует отметить, что в культуре клеток легче и проще проводить различные манипуляции. Так, используя индуцированный мутагенез или генно-инженерные манипуля-

ции, можно повысить продуктивность культуры клеток. Кроме того, проводить гибридизацию гораздо проще на уровне культуры клеток, чем на уровне целостного организма.

Клеточная инженерия позволяет конструировать клетки нового типа, комбинировать отдельные фрагменты клеток (ядра, митохондрии, пластиды, цитоплазму, хромосомы и др.), соединять клетки разных видов, относящихся не только к разным родам, семействам, но и царствам.

Клеточная инженерия широко используется в селекции растений. В частности, получены гибриды томата и картофеля, яблони и вишни и т.п. Регенерированные с помощью клеточной инженерии растения с измененной наследственностью позволяют создавать новые формы, сорта, обладающие ценными свойствами, устойчивые к неблагоприятным условиям окружающей среды, болезням и вредителям. Данный подход используется и для «спасения» сортов, пораженных вирусными заболеваниями.

6. Виды биотехнологий

К медицинской биотехнологии относят производственные процессы, завершающиеся созданием с помощью биообъектов лекарственных веществ или лекарственных средств: антибиотиков, витаминов, ферментов, аминокислот, органических кислот, микробных полисахаридов и др.

Иммунобиотехнология включает производство вакцин, иммуноглобулинов, иммуномодуляторов, иммуносупрессоров, моноклональных антител и т.п. На основе иммунобиотехнологических процессов создают профилактические и лекарственные средства, объединенные под эгидой медицинской биотехнологии.

Вместе с тем, биотехнологические процессы по целевым продуктам вышли далеко за рамки производства препаратов медицинского назначения. Так, большинство ферментов, аминокислот, витаминов и др. производятся не только для целей здравоохранения. В этой связи, вычленение иммунобиотехнологии в качестве самостоятельной научной субдисциплины является обоснованным, поэтому в данном случае технологические процессы четко ограничены использованием иммунной системы того или иного организма или ее отдельных компонентов (макрофаги, лимфоциты, иммуноглобулины и т.п.).

Достижения медицинской биотехнологии и иммунобиотехнологии позволяют говорить о биотехнологии лекарственных средств (фармацевтической биотехнологии). Действительно, если взять за основу анализа номенклатуру лекарственных средств Межведомственного экспертного совета, включающую 33 фармакотерапевтические группы лекарственных препаратов, то, как минимум треть из них производится с помощью современных биотехнологий. В дальнейшем данное направление исследований и разработок будет иметь тенденцию к неуклонному росту и развитию.

В ряде случаев только биотехнология позволяет решить те задачи, которые ставит перед современной фармацевтикой практическая медицина. К примеру, биотехнология открывает перед фармацевтической промышленностью возможность производить антибиотики, ряд незаменимых аминокислот, некоторые витамины, ферменты, гормоны и т.п.

В некоторых случаях биотехнология используется как этап в производстве лекарственного средства. В таких ситуациях биотехнологическая стадия, как правило, начинает технологический процесс. Например, получение биомассы путем культивирования клеток меристемы лекарственных растений при производстве диосгенина, аймалина и др.

В некоторых производствах биотехнологическая стадия выступает в качестве промежуточного этапа технологического процесса. Например, превращение сорбита в сорбозу с помощью уксуснокислых бактерий при получении аскорбиновой кислоты.

Кроме того, современные биотехнологии могут успешно конкурировать с тонким органическим синтезом, как на отдельных этапах производства лекарственного средства, так и в ряде случаев (синтез витамина В₁₂) в состоянии обеспечить всю последовательность сложных химических реакций, необходимых для превращения исходного предшественника (5,6-диметилбензимидазола) в конечный продукт (витамин В₁₂).

Микроорганизмы, обитающие в недрах Земли, используются в биогеотехнологии: при добыче, превращении и переработке природных полезных ископаемых, нефти и газа.

Биогеотехнология получения металлов основана на способности отдельных микроорганизмов переводить металлы в растворимые соединения (выщелачивание металлов из руд). Установлено, что микроорганизмы очень избирательны в отношении разных металлов, что находит свое отражение в практической деятельности. Так, практически невозможно механическое разделение сульфидов цинка и меди в медно-цинковых концентратах. После пирометаллургической обработки остается медно-цинковый сплав, для извлечения из которого составляющих компонентов необходимо использование дорогостоящей технологии. В то время, как установлено, что бактерии сначала окисляют цинк, переводя его в раствор, и только после этого окисляют медь. В связи с этим, если остановить процесс на стадии, когда цинк уже перешел в раствор, а медь еще находится в концентрате, то останется только разделить твердую и жидкую фазы, и из первой выплавить медь.

Промышленная переработка бедных руд с помощью биотехнологии основана на том, что в массив полезного ископаемого через систему специальных скважин нагнетается биологически активный раствор. После его насыщения ценным компонентом руды, содержащимся в очень малом количестве, раствор откачивают и подвергают обработке с целью выделения данного компонента.

Кроме того, методы биогеотехнологии широко используют для повышения нефтеотдачи нефтяных пластов, для окисления метана в угольных шахтах и т.п.

Биоэнерготехнология включает биотехнологические процессы, связанные с получением традиционных источников энергии – углеводов (глицерина, этанола и т.п.) и биогаза, образующегося в результате метанового сбраживания биомассы (навоз, солома, водоросли, отходы и т.п.). При этом биогаз представляет собой газовую смесь, главными компонентами которой являются: метан (65 %), углекислый газ (30 %), сероводород (1 %). В настоящее время в качестве топлива будущего рассматривают водород. В этой связи проблеме биотехнологического получения водорода, посвящено большое количество научно-исследовательских работ. В частности, предложено несколько вариантов биотехнологических систем получения водорода, включающих хемотрофные бактерии, цианобактерии, некоторые водоросли и простейшие, являющихся его продуцентами. Однако, пока ни одна из них неприемлема для широкомасштабного практического использования.

Кроме того, биоэнерготехнологии предстоит ответить на вопросы, связанные с созданием биотопливных элементов, способных превращать химическую энергию субстратов в другие виды энергии, главным образом, в электрическую энергию.

Экологическая биотехнология связана с использованием биологических методов борьбы с загрязнением окружающей среды – биологическая очистка сточных вод, газовых выбросов и биологическая утилизация и переработка твердых отходов. В настоящее время наиболее развитой областью экологической биотехнологии является биологическая очистка сточных вод разного происхождения (бытовых, технологических и др.).

Биологическая очистка вод – метод очистки сточных вод, основанный на способности живых организмов, главным образом, бактерий, к разрушению (минерализации) загрязнений органического происхождения. Различают аэробный и анаэробный способы биологической очистки сточных вод.

Космическая биотехнология совершает первые шаги в космосе, осваивая специфические неземные условия. Очевидно, что космос создает для биотехнологических процессов не только большие трудности, но и существенные преимущества, обусловленные, главным образом, невесомостью, значительно изменяющей течение физико-химических процессов, на которых базируются многие биотехнологии.

Невесомость создает особые условия, важные для реализации биотехнологических процессов:

- ✓ редуцирует конвекции, вызванные плавучестью, исключает седиментацию;
- ✓ делает силы поверхностного натяжения выше гравитационных сил;

✓ обеспечивает возможность протекания технологических процессов вне емкостей.

В земных условиях температурные различия между жидкостями после их смешивания быстро выравниваются за счет конвекционных перемещений, вызванных разными плотностями теплых и холодных слоев жидкости. В условиях невесомости этого не происходит, что важно при разделении систем, т.к. сохраняется гетерогенность фаз. Это качественно улучшает разрешающую способность методов разделения, повышает выход и чистоту получаемых продуктов.

Кроме того, невесомость способствует созданию благоприятных условий для кристаллизации белков, что важно для получения высококачественных белковых продуктов.

Другая из упомянутых особенностей космических условий состоит в отсутствии влияния стенок сосудов, емкостей и аппаратов на протекание биотехнологического процесса, что важно, поскольку исключаются возмущающие нормальное течение процесса пристеночные явления, изменяющие физико-химические свойства жидкости и оказывающие воздействие на поведение находящихся в ней компонентов. Кроме того, сами стенки, какими бы они не были нейтральными, являются источниками загрязнений и дополнительных электрических и химических сил, поэтому могут избирательно сорбировать вещества.

Условия невесомости более благоприятны при инкапсулировании клеток в полупроницаемые мембраны. Так, инкапсулированные клетки поджелудочной железы животных можно имплантировать в тело больных сахарным диабетом, где они могут продуцировать инсулин, а инкапсулированные клетки печени можно использовать для создания искусственных органов с целью очистки крови.

7. Природа и многообразие биотехнологических процессов

1. Классификация по уровню организации биотехнологического процесса:
 - ✓ макроуровень – уровень аппаратного оснащения биотехнологического процесса;
 - ✓ микроуровень: уровень, соответствующий биообъекту, применяющемуся в технологическом процессе.
2. Классификация по биообъекту:
 - 2.1. По типу биообъекта:
 - ✓ одноклеточные (монокультуры и ассоциации);
 - ✓ культуры клеток и тканей;
 - ✓ органеллы клеток;
 - ✓ ферменты.
 - II.2. По степени совершенства биообъекта:
 - ✓ стихийно возникающие биоценозы микроорганизмов;
 - ✓ чистые культуры;
 - ✓ мутанты;
 - ✓ иммобилизованные ферменты и клетки;
 - ✓ клеточные культуры многоклеточных организмов, генно-инженерные штаммы.
3. Классификация по типу лимитирующего технологического процесса:
 - ✓ деструкция;
 - ✓ биосинтез;
 - ✓ трансформация.
4. Классификация по масштабу производства:
 - ✓ крупномасштабные;
 - ✓ среднемасштабные;
 - ✓ мелкомасштабные.
5. Классификация по режиму культивирования:
 - ✓ периодические и непрерывные;
 - ✓ поверхностные и глубинные;
 - ✓ аэробные и анаэробные;
 - ✓ неасептические и асептические.

6. Классификация по истории возникновения и сложности:

- ✓ процессы переработки продуктов питания: хлебопечение, виноделие, пивоварение и др.;
- ✓ бродильные производства (неасептические условия): органические кислоты, растворители и др.;
- ✓ процессы с использованием специального оборудования для очистки сточных вод, утилизации отходов разного происхождения, обезвреживания газовых выбросов (неасептические условия);
- ✓ получение в промышленных условиях биомассы для кормовых и технических целей с помощью специализированного герметизированного оборудования (неасептические условия);
- ✓ получение биомассы с применением специализированного герметизированного оборудования (асептические условия);
- ✓ производство микробных метаболитов (антибиотиков, ферментов, органических кислот, полисахаридов, ферментов, витаминов и т.п.) с помощью сложного специализированного герметизированного оборудования для выделения и очистки целевого продукта (асептические условия);
- ✓ процессы с использованием иммобилизованных биообъектов (ферментов и клеток);
- ✓ биотрансформация органических веществ;
- ✓ процессы, основанные на применении культуры растительных и животных тканей;
- ✓ применение микробиологических процессов в нетрадиционных областях: выщелачивание металлов, удаление метана из атмосферы угольных шахт, обогащение руд, повышение нефтеотдачи пластов.

8. Перспективы развития биотехнологии

Изучение лекарственных средств является предметом многих дисциплин, среди которых основная роль принадлежит химии и фармакологии. Роль биотехнологии еще примерно 30 лет назад была ограничена разработкой антибиотиков и вакцин. Благодаря разработке технологии рДНК значение биотехнологии для изучения лекарственных средств возросло. В конце 1993 г. в США были доступны уже более 20 новых лекарственных средств, разработанных с помощью методов биотехнологии, общая стоимость которых составляла примерно 8 млрд. долл. Однако, эта значительная цифра составляет лишь небольшой процент от общего оборота капиталов, получаемых от продажи лекарственных средств. Ожидается, что вклад биотехнологии в ближайшие годы возрастет еще больше. В настоящее время клинические испытания проходят около 350 биотехнологических продуктов. Еще больше проектов находятся в стадии лабораторных разработок. Недавнее исследование направлений работы крупных американских фармацевтических компаний показало, что более 30 % исследовательских проектов базируется на биотехнологии.

Большая ценность современной биотехнологии заключается, главным образом, в возможности идентифицировать специфическую генетическую информацию, клонировать

и привести к экспрессии. Благодаря этому индивидуальные гены и продукты, которые эти гены кодируют, становятся доступными для исследования и использования. Иногда в качестве лекарственного средства может быть использован сам генетический продукт. Медико-биотехнологические исследования позволили достичь лучшего понимания патогенеза и фармакологии. В связи с этим при разработке улучшенных и новых лекарственных средств важно изучение эндогенных медиаторов (гормоны, факторы роста, нейромедиаторы и т.д.), их рецепторов и клеточных реакций, которые они осуществляют.

Первой важной разработкой стало создание технологии, позволяющей идентифицировать, изолировать или синтезировать и привести к экспрессии в клетке хозяина гены, кодирующие человеческие полипептидные гормоны. Первые рекомбинантные биопрепараты – инсулин и гормон роста, являются относительно простыми белками, которые могут производиться бактериями (*E. coli*). Другие белки, такие как эритропоэтин, человеческий хориогонадотропин и фолликулостимулирующий гормон имеют более сложное строение, поэтому при их продукции после синтеза белков следует еще несколько биохимических реакций (присоединения углеводородных боковых цепей и др.), способствующих достижению необходимой биологической активности белков. Вследствие того, что бактерии не в состоянии осуществлять комплексные биохимические реакции (гликозилирование и т.п.) для подготовки рДНК гликопротеинов должны использоваться клетки более высокоорганизованных организмов, например, клетки млекопитающих. В настоящее время разработано большое число «систем хозяев» (бактерии – дрожжи – клетки млекопитающих), благодаря чему возможна эффективная продукция большого числа разнообразных белков.

Некоторые лекарственные средства уже производятся с помощью биотехнологий: инсулин (хумулин), соматотропин (химатроп), интерферон (роферон, интрон А и др.), эпоэтин (апрекс, рекормон) и различные человеческие антитела, применяющиеся при лечении гормональных недостаточностей, тромбоза, воспалений и злокачественных новообразований. В настоящее время многие белки проходят клинические испытания на терапевтическую эффективность. Ожидается, что в ближайшие годы будет идентифицировано еще большее количество новых белков. Некоторые из них, безусловно, окажутся ценными лекарственными средствами.

Новым направлением получения биопрепаратов является мутагенез – синтез биологически активных белков с измененным действием. Белки часто представляют собой макромолекулы, разные участки которых выполняют собственные функции (связывание с другими белками, каталитическая активность). Участки одних белков часто могут быть встроены в другие, благодаря чему возникает новый продукт, объединяющий в себе ценные качества нескольких белков. Этот подход используется в инженерии антител. С его помощью осуществляются «гуманизация» моноклональных антител и приготовление иммунотоксинов. Однако, с использованием белков связаны не только большие ожидания, но и серьезные проблемы. При парентеральном применении белки быстро расщепляются протеазой в плазме и в печени. Оральное применение белков практически невозможно из-за расщепления в желудочно-кишечном тракте и отсутствия абсорбции, поэтому с терапевтическими целями белки должны применяться парентерально. Это приемлемо в ситуациях, когда существует угроза жизни. При хронических заболеваниях длительное парентеральное применение создает значительные неудобства для пациента. В этой связи проводятся исследования, направленные на поиск альтернативных лекарственных форм (назальный спрей, имплантаты и т.п.).

Другим способом решения данной проблемы является модификация белков и пептидов с тем, чтобы сделать возможным их оральное применение. Причем в данном случае изменяются физико-химические качества белка, а его физиологическая активность сохраняется. Модификация направлена на стабилизацию белка против протеолитического разложения и на улучшение транспорта через мембрану. Часто стараются применять лишь ту часть или те части белка, которые непосредственно взаимодействуют с «мишенью» в организме. При этом полученные биологически активные пептиды могут быть использованы

в качестве «ведущего состава» для синтеза орально активных и/или метаболически стабильных пептидов. Подобный подход реализован при разработке нейропептидов, производных кортикотропина (адренкортикотропный гормон).

Большое будущее принадлежит работам по расшифровке и пересадке генов азотфиксации. Известны микроорганизмы (клубеньковые бактерии), которые в симбиозе с некоторыми растениями способны усваивать атмосферный азот. В случае, если ввести такие гены в генетический аппарат других микроорганизмов и злаковых растений, то была бы снята проблема азотистых удобрений. Сейчас над данной проблемой трудятся коллективы многих НИИ.

Современная наука позволяет культивировать на искусственных средах не только микроорганизмы, но и клетки растений и животных. Из одной растительной клетки в определенных условиях можно выращивать целое растение, а также получать биомассу, содержащую все компоненты взрослого растительного организма.

Таким образом, биотехнология – это, в сущности, не что иное, как использование культур клеток бактерий, дрожжей, животных или растений, метаболизм и биосинтетические возможности которых обеспечивают выработку специфических веществ.

Согласно определению Европейской Федерации Биотехнологии, биотехнология, основанная на применении знаний и методов биологии, генетики и химической технологии, позволяет извлекать выгоду в технологических процессах из свойств микроорганизмов и клеточных культур. Она создает возможность получения с помощью легкодоступных и возобновляемых ресурсов тех веществ и соединений, которые важны для жизни и благополучия людей.

В промышленном масштабе биотехнология представляет собой биоиндустрию, включающую в себя, с одной стороны, отрасли, в которых биотехнологические методы могут с успехом заменить широко используемые в настоящее время традиционные методы, а с другой – отрасли, в которых биотехнология играет ведущую роль. Среди первых направлений следует отметить в области химического производства – синтез полимеров и сырья для текстильной промышленности, в области энергетики – получение метанола, этанола, биогаза, водорода, в области биометаллургии – извлечение металлов из руд. Вторая группа отраслей охватывает производство продовольственных продуктов – широкомасштабное производство белков, аминокислот, витаминов и др.; увеличение продуктивности сельского хозяйства – клонирование и селекция новых сортов растений с помощью тканевых и клеточных культур, производство биоинсектицидов и др.; фармацевтическую промышленность – производство вакцин, гормонов, интерферонов, антибиотиков и др.; защиту окружающей среды – биологическая очистка сточных вод, переработка отходов, производство соединений, поддающихся разложению микроорганизмами и т.п.