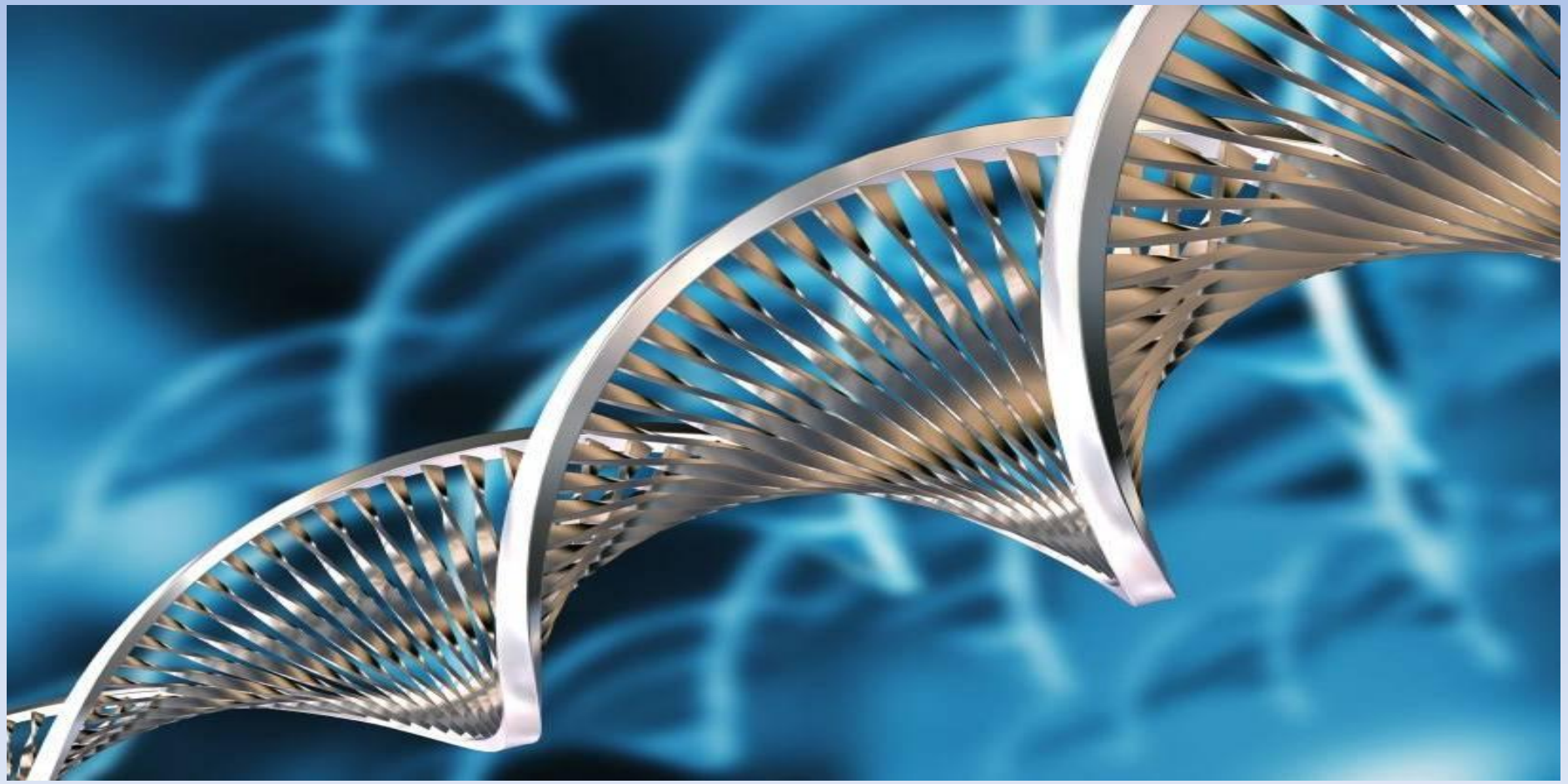
Презентация по Биотехнологии (с экспериментальной частью)

Учитель биологии и химии: Зухбая Русудан Валеряновна

“Проект это от души выполненный замысел (hearty purposeful act)” - William H. Kilpatrick

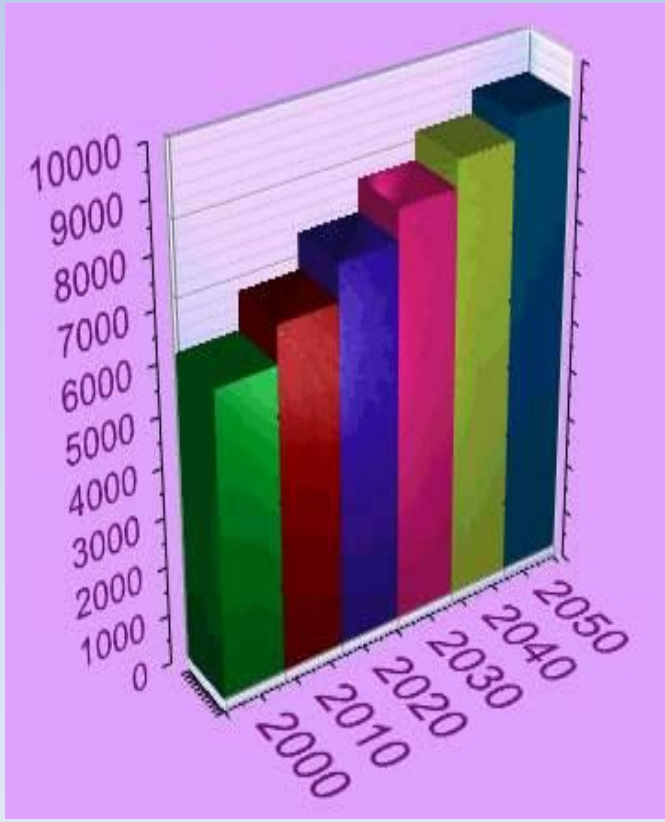
Биотехнология - свершения и надежды



В 2013 году население земли достигнет 7 миллиардов человек (а к 2050 году) по прогнозам 10 миллиардов.

Параллельно такого интенсивного роста населения средний годовой рост продуктов должен составить 2,7%. Следовательно, традиционных технологий будет не достаточно для удовлетворения растущих потребностей в ресурсах.

Мировой голод определяется как недостаток общей продуктивности, так и распределением пищевых продуктов на земле. Выше сказанное вынуждает человечество на поиски новых ресурсов и новых технологий. Не прогнозируемый рост населения планеты и, следовательно, продовольственные проблемы, массовая урбанизация, высокие темпы индустриализации, экологические проблемы – все эти предпосылки определили возникновение «новой» эры в биологии. Появились новые подходы к понимаю биотехнологических и трансформационных потенциалов живых систем. Это способствовало возникновению и развитию Биотехнологии.



Плесневые грибы - зло или добро. значение микроскопических грибов

Важнейшим компонентом в биотехнологической промышленности являются микроорганизмы. Человечество окружает удивительный микромир, обитателей, которых порой не рассмотреть без помощи микроскопа. Тем ни менее эти микроорганизмы способны заполнять собой пространство, выживать в космосе, “зимовать” миллионы лет в Арктике, менять окружающую среду под свои потребности. В последние годы обсуждается возможность использования плесневых грибов как первых колонизирующих организмов на других планетах.

Плесневые грибы, или как их еще называют микроскопические грибы - вездесущи, незаменимы, всеядные, мы сталкиваемся с ними постоянно, часто не замечаем их. При их уничтожении они отступают, но возвращаются и активизируются. Плесневые грибы практически неистребимы. Они выживают там, где нет других форм жизни. Человека окружает микологическая среда. В чистой комнате в каждом кубометре воздуха содержится до 500 спор грибов.

Однако грибы дали человеку продукты, без которых сложно сегодня представить нашу жизнь. Еще 6 000 лет назад процессы брожения в экстрактах зерен хлебных злаков были подлинным искусством. Грибок Sacharomyces cerevisiae использовался человеком для изготовления теста со времен неолита.

5 000 лет назад началось развитие виноделия. Сотернские вина Франции и венгерское “Токаи” – получают с помощью плесени Botrytis cinerea. Грибы селятся на ягодах, но при этом ягоды должны оставаться целыми, что бы мякоть не соприкасалась с воздухом. Завядшие под воздействием плесени виноградины содержат уже не сок, а концентрированный нектар.

Наряду с использование традиционных навыков, происходит и модернизация процесса спиртового брожения путем использования эффективных штаммов Sacharomyces cerevisiae, добавляя их к виноградному соку. С помощью плесени Penicillium roqueforti и Penicillium camamberti получают голубые сыры – французский “Рокфор”, “Дорблю”, итальянский “Горгонзола” и английский “Стилтон”. Гриб предварительно выращивают на хлебе, а затем им заражают сыры. В 1928 году на основе плесени Penicillium был получен первый антибиотик - пенициллин.

Что такое биотехнология

По определению европейской биотехнологической федерации: биотехнология – это такая интеграция естественных и инженерных наук, в результате которой используются клетки, клеточные структуры для получения качественно улучшенных дешевых продуктов. То есть основная проблема биотехнологии это производство продовольствия с помощью модернизированных традиционных или нетрадиционных способов.

Усовершенствования фармакологического обеспечения, оптимальная утилизация отходов и др. Нам необходимы разные природные вещества, которые образуются в клетках плесневых грибов, причем в больших количествах. Т.е необходимо производить их в промышленных масштабах. Но клетки имеют отличные от нас приоритеты. Они хотят точно регулировать свой метаболизм и сохранять энергию, производя только то в чем нуждаются. Задача биотехнологии индуцировать в клетках сверхсинтез целевых веществ.

Продукция Биотехнологической промышленности

Основы промышленной микробиологии были заложены еще Луи Пастером, проводившим исследования по спиртовому, масляному и молочному брожению. Важнейшим этапом были открытие Вайцманом ацетоно-бутаноло-этанолого брожения (период первой мировой войны), биосинтез пенициллина методом ферментации в 1940-годах и др.

Биотехнологические компании, входящие в рейтинг Nasdaq-100

Abgenix, Inc.	Amgen Inc.
Biogen, Inc.	Cephalon, Inc.
Chiron Corporation	Genzyme Corporation
Gilead Sciences, Inc.	Human Genome Sciences, Inc.
ICOS Corporation	IDEC Pharmaceuticals Corporation
ImClone Systems Incorporated	Immunex Corporation
Invitrogen Corporation	MedImmune, Inc
Millennium Pharmaceuticals, Inc.	Protein Design Labs, Inc.

Источник: FactSet Research Systems.

Масштабы мирового фармацевтического рынка

Масштабы мирового фармацевтического рынка

Объем мирового фармацевтического рынка в 2002 г.	402 млрд.$
Объем производства биотехнологических лекарственных средств в 2000 г.	16,5 млрд. $
Рост по сравнению с 1997 г.	+ 32%
Количество новых молекул на стадии разработки в 1999 г.	1200
Рост по сравнению с 1998 г.	+71%
Из них полученных биотехнологическим путем	600
Объем инвестиций фармакологической промышленности в исследования в области генома в 1992 г. в 1997 г.	 100 млн.$ 1 млрд. $
Объем инвестиций в исследования в области биоинформатики в 2002 г.	100 млрд. $
Объем инвестиций в разработку биочипов в 2002 г.	500 - 1000 млн. $
Доля НИОКР в бюджете фармакологических компаний в 2000 г.	20%

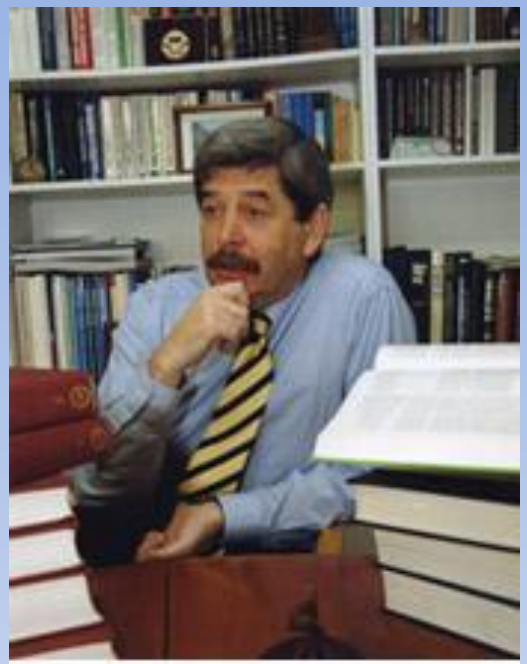
Источник: French Biotechnology Industry Association.

Биотехнологические риски

Возникает вопрос – если успехи биотехнологии настолько революционны и очевидны, то почему мы не видим изменений и это особо не отражается на нашей жизни. В действительности мы не замечаем этого воздействия напрямую, Пища не стала лучше и дешевле, медицина претерпела незначительные изменения, работодатели не проверяют наш геном на присутствие или отсутствие каких либо признаков и возможностей, дети не появляются на свет согласно собственному заказу. Либо Биотехнологическая революция не затрагивает эти сферы либо мы находимся в самом начале биотехнологического бума.

Более того, возникает обеспокоенность общества по поводу разных аспектов биотехнологии, которая направлена главным образом на сторону генной инженерии. Обнаружении чужеродных генов там, где им не следовало находиться вызывает бурную реакцию, приводит к неожиданному росту цен на сельскохозяйственную продукцию.

Опрос общественного мнения среди европейцев еще в 1999 году показал что они отрицательно относятся к генно - модифицированным продуктам питания однако, поддерживают применения этих технологий в медицинских целях, так и в очистки окружающей среды.



Скрябин К.Г.

По мнению академика Скрябина Константина Георгиевича, директора центра “Биоинженерия”, Россия как никакая другая страна нуждается в биоинжинерии в сельском хозяйстве, т.к. у нас плохие климатические условия и земли сильно заросли сорняками.

За последние 15 лет мониторинг во всем мире не обнаружил ни единого примера вредного воздействия ГМО. При этом мы ежегодно завозили десятки миллионов тон говядины, вскормленной на генно-инженерной сое, поскольку в мире другой уже нет. США, Латинская Америка, Китай, Индия, Франция, Германия подняли сельское хозяйство на ГМО культурах.

Нападки на биоинженерию не выдерживают научной критики. Отчасти страхи понятны. На заре автомобильной эры считалось что на скорости 30 км в час неизбежно случится сотрясение мозга. Так и люди сегодня питают страхи: что случится с организмом если привить новый ген? Между тем садовники столетиями этим и занимаются. Биотехнологии отличаются от традиционной селекции только скоростью изменений. Разве не замечательно если на генетическом уровне будет побеждена карликовость, которая благодаря этому уже становится редкостью? Раньше гормон роста человека с трудом собирали из гипофиза в морге, а теперь в нужных количествах получают в лаборатории методом биоинжинерии. Российский препарат уже проходит клинические испытания.

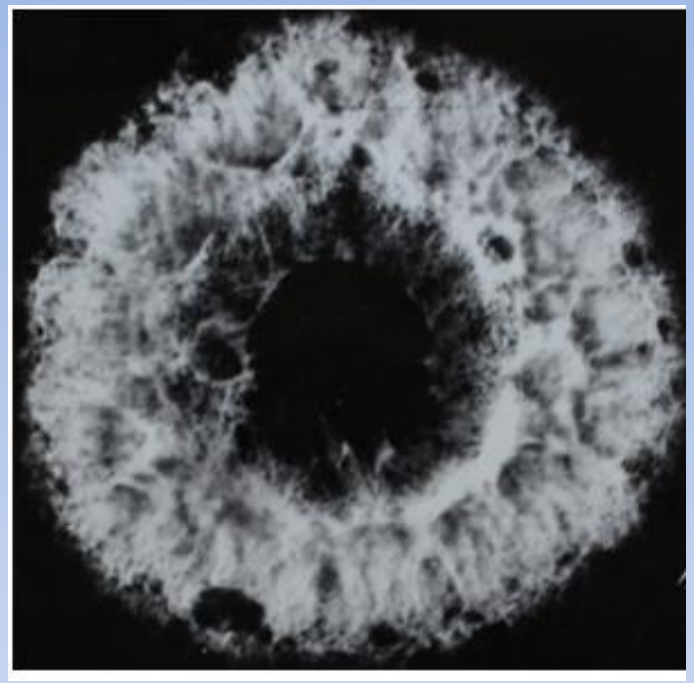
Если России отстанет и в генетической гонке, последствия будут тяжелее, чем в случае проигрыша в атомной или космической области. – Так считает академик Скрябин.

Экспериментальная часть

Эксперимент проводили в рамках мини проекта в лаборатории биологии и химии СОШ №1331.

Предмет исследования: На основании изучения литературы был использован штамм микроскопического гриба Mycelia Sterilia ИБР35219, класса Deuteromyceles из коллекции института микробиологии.

Гриб является непатогенным организмом и согласно литературным данным может быть продуцентом фенолоксидазы. Выбор данного микроорганизма был определен возможностью практической работы с ним в условиях школьной лаборатории. Микроорганизм имеет стерильный мицелий, что способствует сохранению чистой культуры и относительно прост для культивирования. Фермент фенолоксидаза относится к классу оксидоредуктаз и катализирует окисления фенольных соединений. Данный фермент является определяющим в ферментных процессов при производстве вина, чая, природных пищевых красителей. Используется так же для очистки загрязненных токсическими фенолами сточных вод различных производств, в процессе биоконверсии веществ для фармацевтической промышленности.



Содержание работы :
Поверхностно на агаризованной среде и глубинно в среде следующего состава (г/л):
Глюкоза – 30.
$(NH_4)_2S0_4$ – 5.
KH_2PO_4 – 10.
$MgS0_4 \times 7H_20$ – 2, 5.
Чайный экстракт – 100.
Агар-агар -20 – 150.

Чайный экстракт добавляли в питательную среду в качестве субстрата фенолоксидазы и изучали индуцирующее явление для образование фермента.

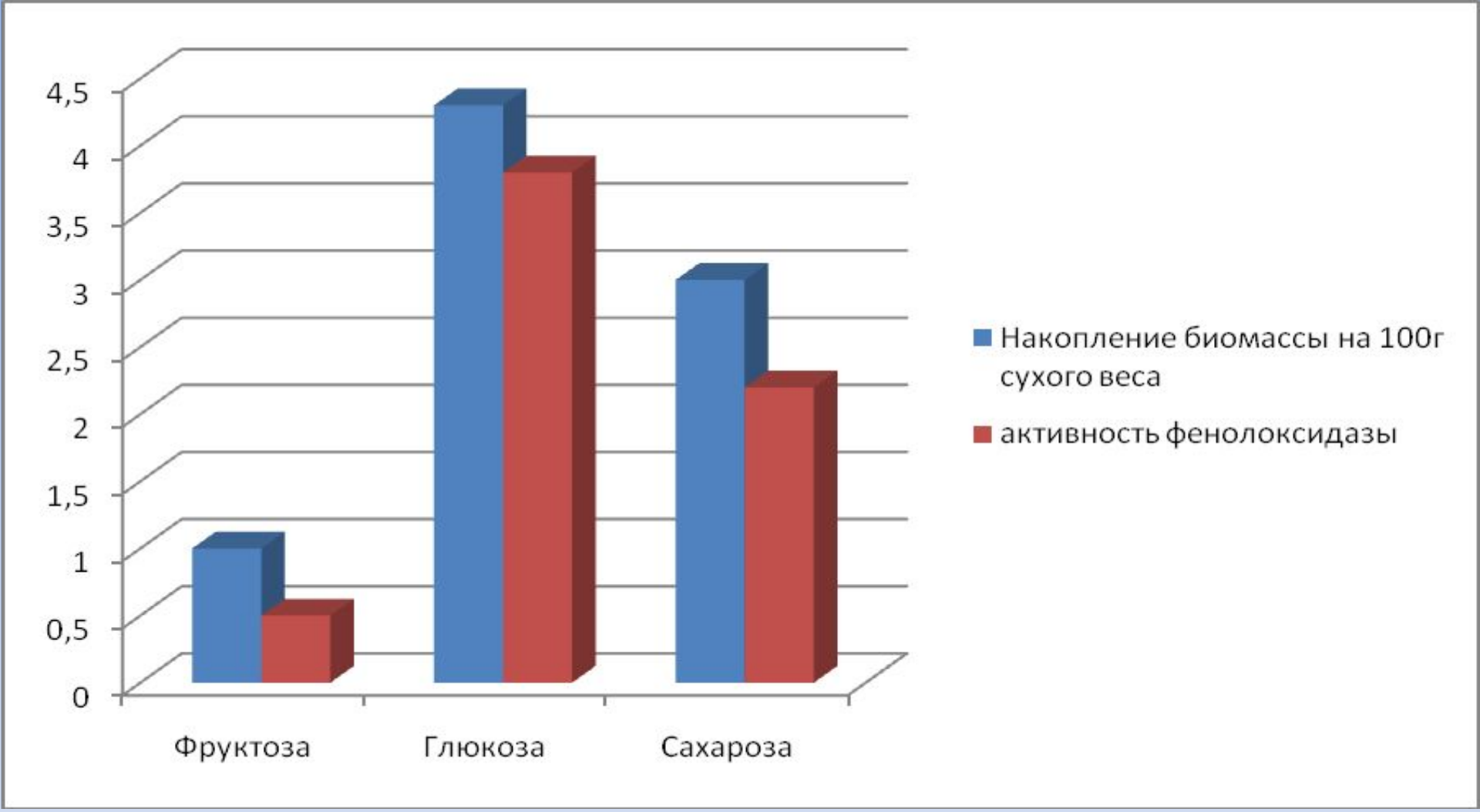
Работу по выращиванию гриба и качественные реакции на фенолоксидазу проводились в школе. Возможность стерилизации питательных сред любезно была предоставлена институтом микробиологии.

Посевы гриба производили на пламени спиртовки в вытяжном шкафу, предварительно простерилизованном УФ - лампой. Для засева использовали вегетативный мицелий.

В качестве субстратов фенолоксидазы для качественного определения активности использовали чайный экстракт и пирогаллол.

Для изучения питательных потребностей M. Sterilia ИБР 35219 были использованы различные источники углерода и азота. Наблюдали так же за влиянием концентрации водородных ионов в питательной среде и температуры культивирования на накопления биомассы и биосинтетическую активность микроорганизма.

Полученные результаты: При культивировании гриба в питательной среде в количестве 150 мл в качестве источника использовали разные углеводы: глюкозу, крахмал, сахарозу, фруктозу и мальтозу. Интенсивный рост был отмечен в средах с глюкозой или крахмалом. Качественный анализ фенолоксиадазной активности культуральныой жидкости так же показал, что лучшим источником является глюкоза. В присутствии сахарозы активность несколько ниже, а фруктоза не способствует росту и биосинтезу фенолоксидазы. (График №1.)



Чайный экстракт добавляли в питательную среду в качестве субстрата фенолоксидазы и изучали индуцирующее явление для образование фермента. График №1 зависимость роста и фенолоксидальной активности M. Sterlia ИБР 35219.

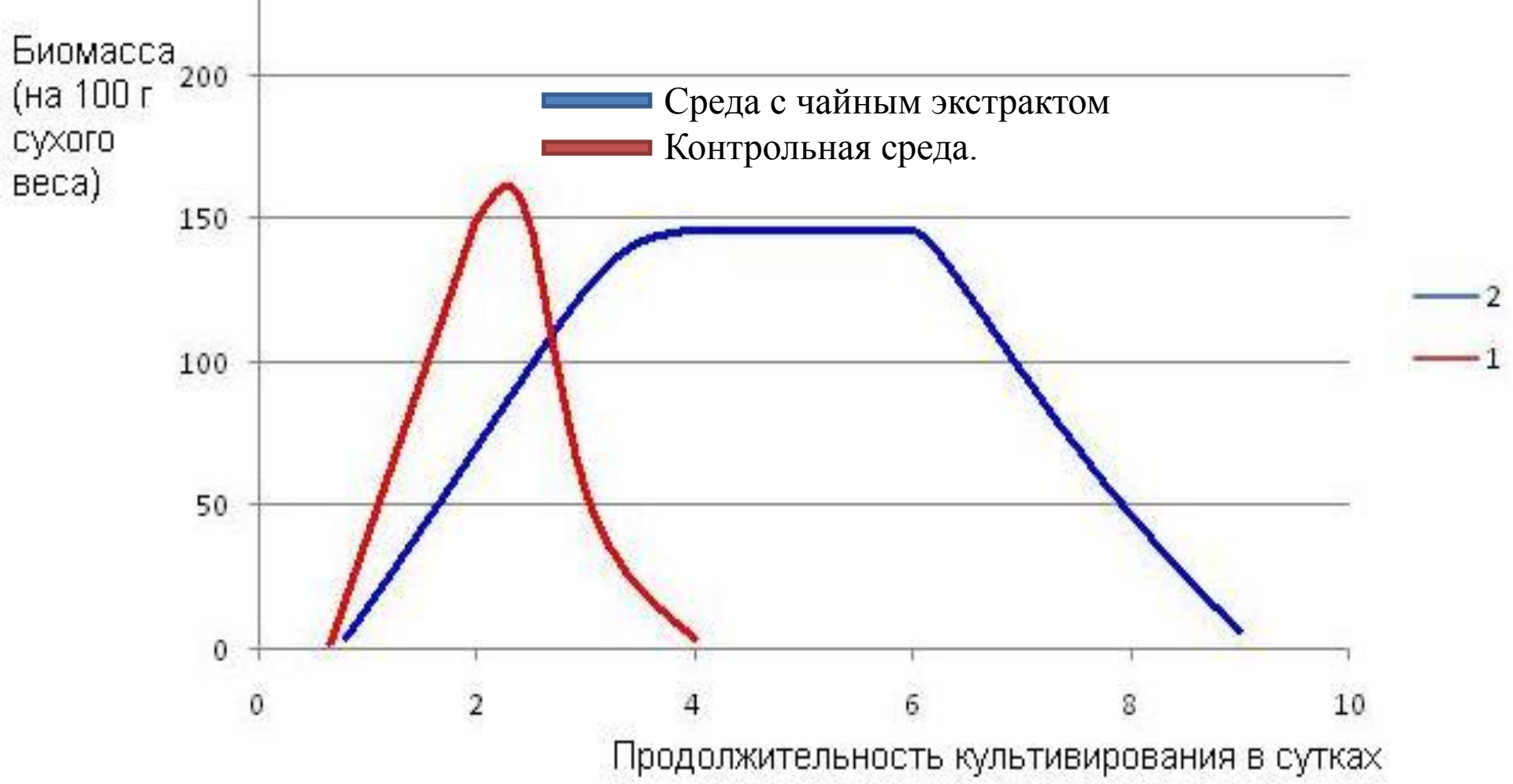
При введении в среду в качестве источника азота аммонийных солей $(NH_4)_2S0_4$ и $(NH_4)_2HP0_4$ активность фенолоксидазы была максимальна. При использовании дрожжевого экстракта (1-3%-го) или солей $KNO_3 NH_4Cl$ и $NaNO_3$ - активность и рост уменьшилась. Лучшим источником калия и фосфора является калий фосфорно-кислый однозамещенный.

Согласно данным литературы активность фенолоксидазы многих продуцентов возрастает в присутствии микроэлементов. Нами были использованы среды содержащие ионы MN 2+, CU 2+, FE 2+. Выраженное воздействие оказывают соли $CuS0_4 \cdot 5H_20$ и $FeSO_4 \cdot 7H_20$ в количествах 300 мг/л. Среды.

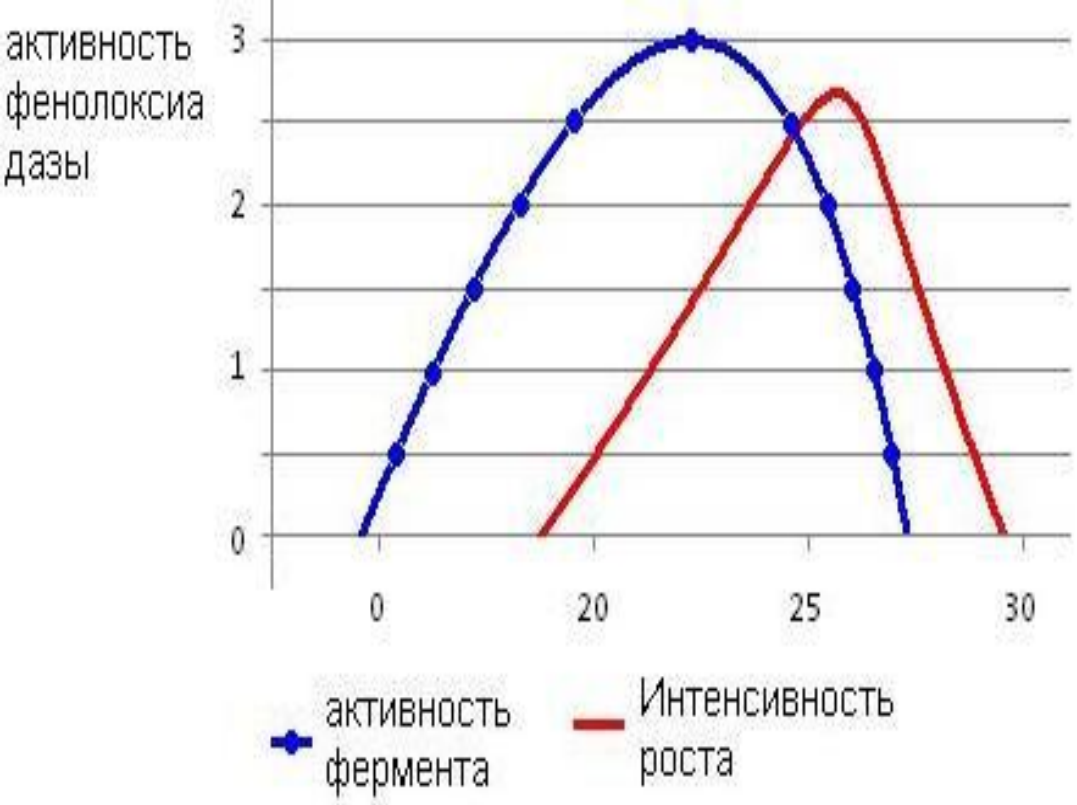
Чайный экстракт в питательной среде (%)

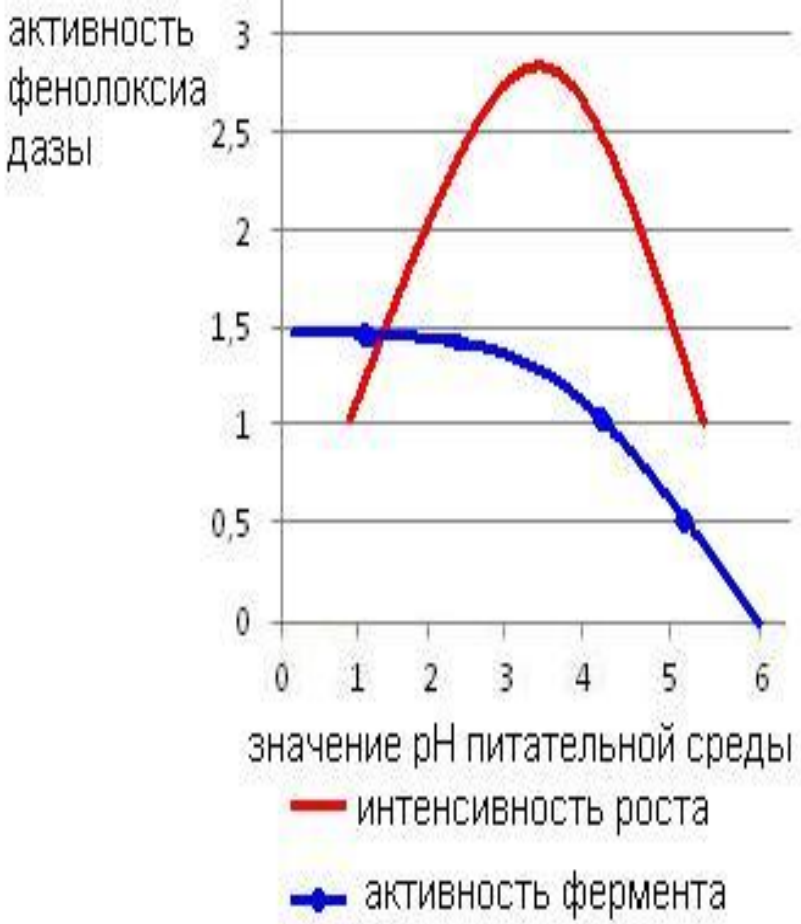
График №2 Зависимость фенолоксиодазной активности M Sterilia ИБР 35219 от чайного экстракта.

Наибольшее индуцирующее действие было обнаружено при внесении в питательную среду 3%-го чайного экстракта. Увеличение концентрации чайного экстракта сопровождалось уменьшением активности фенолоксидазы. В контрольной среде (без чайного экстракта) обнаруживалась незначительная ферментная активность. (График №2).



Исследовали динамику накопления биомассы при глубинном культивировании в течении 10 суток. Это дало возможность выявить следующие фазы роста: интенсивный рост гриба с образованием сферических скоплений мицелиальной биомассы – 2 суток, стационарная фаза – 4-6 суток и далее наблюдается автолизис (График №3). Максимум активности фермента был достигнут через 40-42 ч роста. Культивирование проходило в термостате в основном стационарно, так как в школьных условиях не удалось обеспечить режим перемешивания на качалке, как обычно происходит при ферментации.





С целью выявления pH и температурной толерантности культивирования производили при температуре 20-25 С и 25-30 С, и в диапазоне pH-2 - pH-6 Ферментная активность была максимальной при температуре 25-27С с и кислых значениях pH (график 4.) В таких же условиях наблюдался наилучший прирост биомассы. Можно заключить, что у данного штамма оптимальные значения температуры и концентрации водородных ионов для роста ферментации совпадают.

Заключение

Таким образом в результате ознакомления с литературой и проведенного эксперимента освоены методы работы с биологическим объектом, в частности с микроскопическими грибами. Это потребовало от меня приобрести некоторые навыки координирования в выполнение различных взаимосвязанных действий - получение колоний микроскопических грибов, выделение чистых культур, подбора оптимальных условий культивирования, определения ферментативной активности. Были подобраны основные источники питания, опробованы разные pH и температурные режимы.

Данная работа побудила меня белее подробно заинтересоваться вопросами прикладной биотехнологии, осмыслить принципы биоинжинерии. Считаю, что достижения в этой области и её развитие способны избавить человечество от многих проблем…

Список использованной литературы и информационных ресурсов.

1)Ш. Уолкер. Биотехнология без тайн. Москва, Эксмо, 2008.

2)Сазонов Н.Н. Введения в биотехнологию. Якутск. 2000.

3)Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды м. 1987.

4)Smith J (1997) Biotechnology, Cambridge University press (Third Edition).

5)Интернет энциклопедия Wikipedia.

6)Вебсайт wwwwww.www.mmawww.mma.www.mma.ru

7) Интернет журнал http://www.cbio.ru