

Принципы биотехнологии

**Общая характеристика
организмов – объектов
биотехнологии**

План лекции

- Понятие биотехнологического процесса
- Принципы биотехнологии
- Объекты биотехнологии
- Принципы подбора биотехнологических объектов

- **Основная цель биотехнологии - промышленное использование биологических процессов и агентов на основе получения высокоэффективных форм микроорганизмов, культур клеток и тканей растений и животных с заданными свойствами.**

- **Биотехнологический процесс** - включает ряд этапов: подготовку объекта, его культивирование, выделение, очистку, модификацию и использование продуктов.
- Биотехнологические процессы могут быть основаны на **периодическом или непрерывном культивировании.**

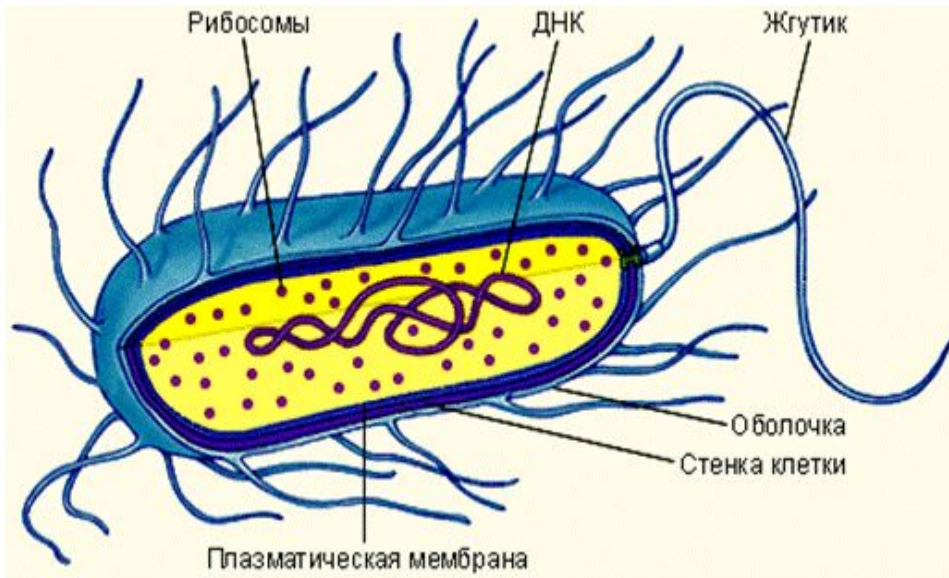
- **1. Принцип экономической обоснованности.** Биотехнология внедряется только в те производственные процессы, которые нельзя эффективно и с теми же затратами реализовать средствами традиционной технологии. Аминокислоту лизин можно легко синтезировать химическим путем, но это весьма трудоёмкая процедура, поэтому лизин получают путем микробиологического синтеза.

- **2. Принцип целесообразного уровня технологических разработок.**
- Масштаб производства продукта, степень его очистки, уровень автоматизации производства - все это должно прямо определяться соображениями экономической выгоды, сырьевыми и энергетическими ресурсами, уровнем спроса готового продукта. Для получения препаратов медицинского назначения, которые требуются в количестве нескольких сотен граммов в год, целесообразно использовать небольшие биореакторы, крупномасштабное производство здесь себя не оправдывает. В большинстве современных микробиологических производств стремятся к использованию чистых культур микроорганизмов и к полной стерильности оборудования, сред, воздуха, но в некоторых случаях, продукт, удовлетворяющий потребителя (например, биогаз), может быть получен и без чистых культур, растущих в условиях не стерильности.

- **3. Принцип научной обоснованности биотехнологического процесса.**
Научные знания позволяют заранее провести расчет параметров среды, конструкции биореактора и режима его работ.
- **4. Принцип удешевления производства** (максимальное снижение затрат). Как пример - использование в биотехнологических процессах энергии Солнца, естественных биореакторов - природных водоёмов - вместо рукотворных аппаратов, в частности, для получения биомассы одноклеточных водорослей.
- Изложенные принципы говорят о **двуединой задаче биотехнологии**: создание оптимальных условий для синтеза целевого продукта клетками биообъекта и в то же время вести производство в максимально экономическом режиме, при минимальных производственных затратах.

- В качестве биологических объектов биотехнологи чаще всего используют одноклеточные микроорганизмы, а также животные и растительные клетки
- К ним относятся не более 100 видов микроорганизмов: бактерии, грибы, дрожжи, водоросли, вирусы

Прокариоты. Бактерии



- Большинство прокариот – одноклеточные формы. Размеры клеток находятся в пределах 0,2 – 10 мкм. Формы клеток бактерий не отличаются большим разнообразием. Это чаще всего палочки разной длины, шаровидные клетки (кокки), а также извитые формы – вибрионы, спириллы и спирохеты. Клетки могут быть одиночными или объединяться в пары, короткие и длинные цепочки, образовывать пакеты.

- Важнейшие и самые характерные признаки, отличающие эукариотную клетку от прокариотной, - это строение генетического аппарата и способы его деления.
- Нуклеоид расположен в центральной зоне бактерий в виде двунитчатой ДНК (бактериальная хромосома), замкнутой в кольцо и плотно уложенной наподобие клубка.
- В отличие от эукариот ядро бактерий не имеет ядерной оболочки, ядрышка и основных белков (гистонов).
- Кроме нуклеоида, представленного одной хромосомой, в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности – плазмиды. Они представляют собой замкнутые кольца двунитчатой ДНК. Плазмиды несут гены, необязательные для клетки-хозяина, и придают бактериям дополнительные свойства, которые в определенных условиях окружающей среды обеспечивают их временные преимущества по сравнению с бесплазмидными бактериями. Плазида является одной из важных фигур в генной инженерной игре.
- Для большинства прокариот характерно бинарное поперечное деление, приводящее к образованию двух дочерних одинаковых клеток.

- Химическая основа клеточных стенок у живых организмов имеет различия.
- Клеточная стенка бактерий – прочная, упругая структура, придающая им определенную форму и сдерживающая высокое осмотическое давление в клетке. Она участвует в процессе деления клетки и транспорте метаболитов.
- Состав и строение клеточной стенки – важный систематический признак, по которому прокариоты подразделяют на следующие группы: грамположительные, грамотрицательные и не имеющие клеточной стенки (микоплазмы).
- В клеточной стенке (КС) грамположительных бактерий содержится небольшое количество полисахаридов, липидов и белков.

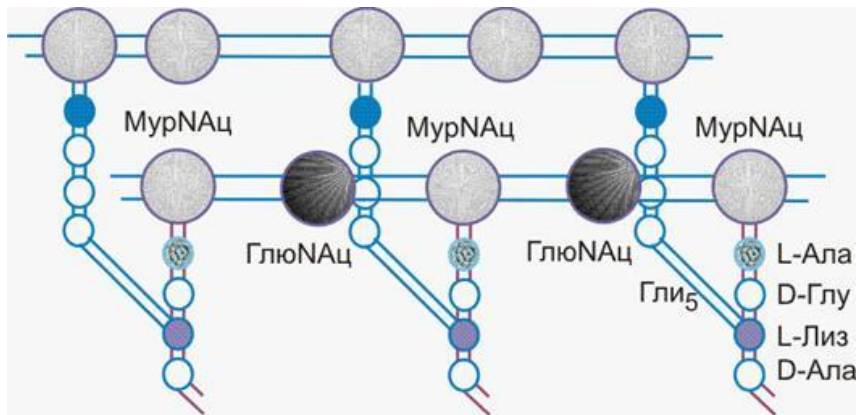
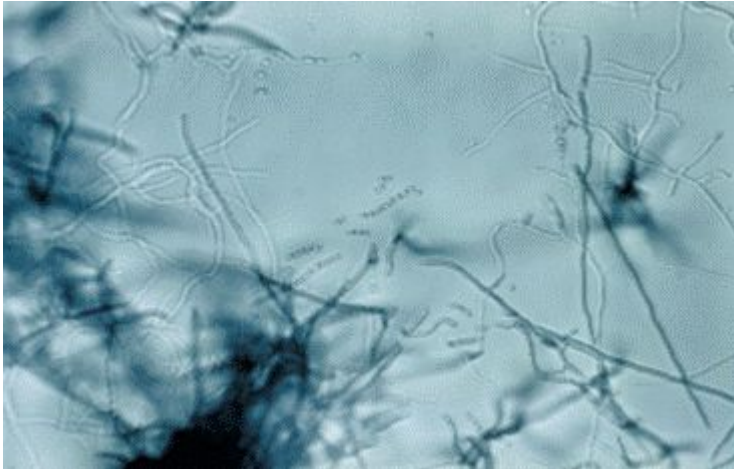


Схема строения пептидогликана

- Основную часть массы КС (40-90%) составляет пептидогликан (муреин), представляющий собой гетерополимер, который состоит из N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных β -(1,4)-связью. Пептидогликан ковалентно связан с тейхоевыми кислотами – полимерами на основе рибита или глицерина и остатка фосфорной кислоты.
- Пептидогликан представляет собой своеобразный каркас («муреиновый мешок»), основной чертой которого является наличие сети параллельных полисахаридных цепей, связанных многочисленными пептидными поперечными связями

- В клеточной стенке бактерий содержатся вещества, которые, с одной стороны, отсутствуют в КС животных и растений (пептидогликан), а с другой стороны – ее опорный каркас по структуре подобен целлюлозе, главному компоненту КС у высших растений.

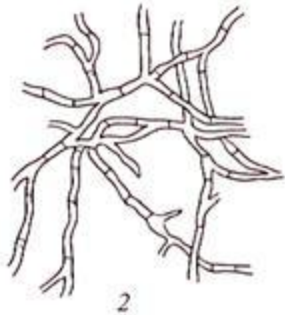
Актиномицеты



Обитают главным образом в почве, где участвуют в разложении органических соединений. Многие виды выделяют антибиотические вещества, которые используются для борьбы с бактериальными и вирусными заболеваниями человека, животных и растений.

- Актиномицеты являются грамположительными бактериями, не образующими спор. Однако, среди прокариот это единственные организмы, для которых характерен мицелиальный рост. Некоторые из актиномицетов развиваются исключительно в виде мицелия и размножаются путем образования одноклеточных спор, формирующихся по одной или цепочками на верхушках гиф.

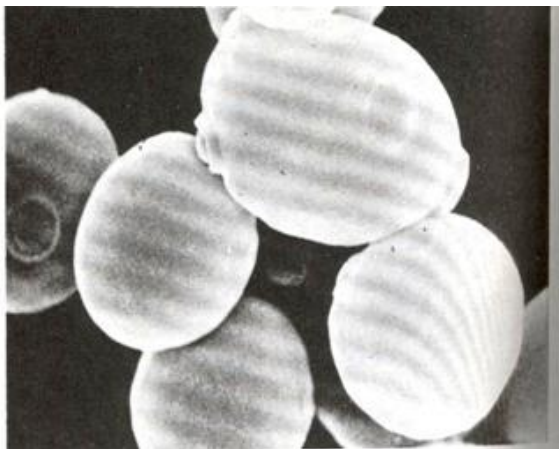
Эукариоты. Грибы



Отдельные участки мицелия грибов имеют специальные образования – спорангии, в которых формируются споры, служащие для сохранения или размножения вида. Способы размножения грибов разнообразны: вегетативное, бесполое и половое.

- Грибы – одноклеточные и мицелиальные гетеротрофные организмы. Их делят на макро- и микромицеты. Макромицеты образуют крупные плодовые тела, отсутствующие у микромицетов.
- Тело гриба (мицелий) представляет собой разветвленные длинные нити (гифы). У некоторых грибов нити гиф не имеют поперечных перегородок (септ) – низшие грибы. Для большинства характерны гифы с септами – высшие грибы

Дрожжи

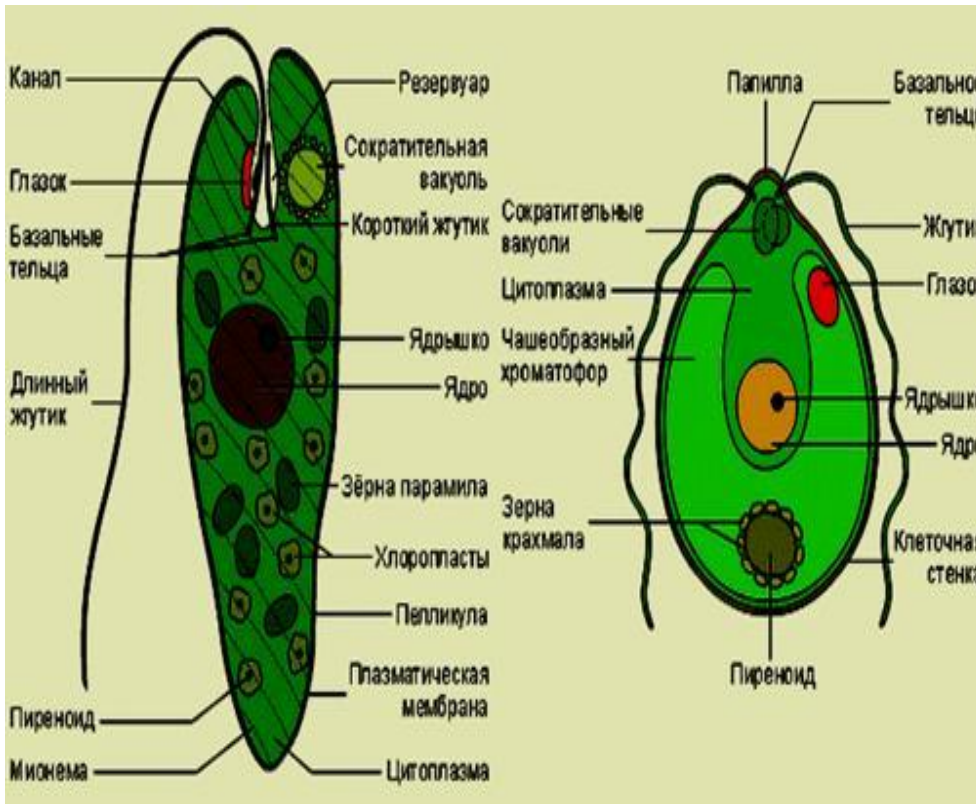


- Дрожжи – это одноклеточные грибы, утратившие способность к образованию истинного мицелия. Они имеют овальную форму клеток, диаметр которых 3-15 мкм (рис. 18). Клеточная стенка (КС) дрожжей составляет примерно 15 % массы клетки.

Дрожжи широко используют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, получении соков, кормового белка, питательных сред для выращивания бактерий и культур животных клеток.

Кроме того, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* представляют большой научный интерес. Они являются наиболее удобной моделью для исследования других эукариот, в т.ч. человека, поскольку многие гены, ответственные за регуляцию клеточного деления *S. cerevisiae*, сходны с таковыми у человека.

Эукариоты. Водоросли

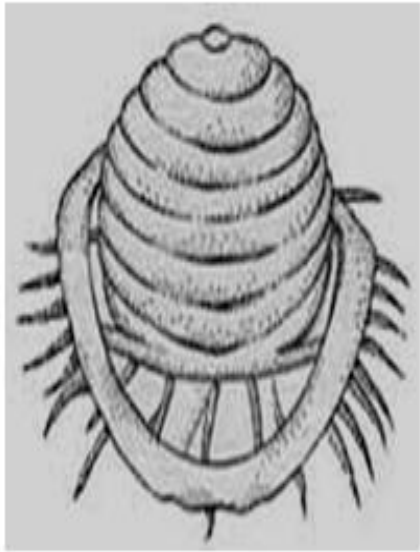


Водоросли – это автотрофные растения, в клетках которых присутствуют различные модификации хлорофилла и др. пигменты, обеспечивающие фотосинтез. Известны одноклеточные, нитчатые, колониальные формы, а также многоклеточные. Отличительной особенностью водорослей является отсутствие дифференциации их тела на ткани и органы. Их тело называется **слоевище** или **таллом**.

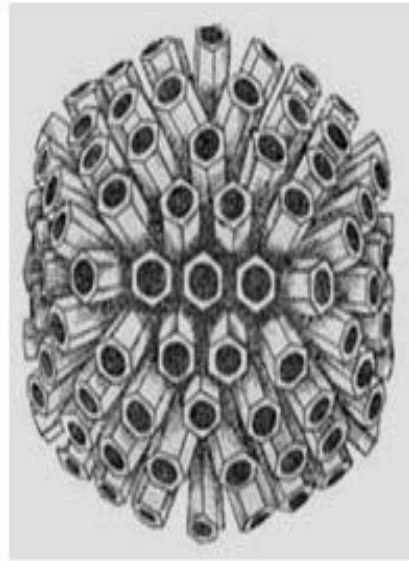
- В клетках водорослей имеются **хроматофоры (хлоропласты)** — органоиды, в которых протекает процесс фотосинтеза. В хроматофорах сосредоточены фотосинтезирующие пигменты: хлорофиллы а, b, с, d, каротиноиды (каротины и ксантофиллы), фикобилины (фикоцианин, фикоэритрин).
- В хроматофорах водорослей содержатся особые белковые тельца – пиреноиды, которые являются зоной синтеза и местом скопления запасных питательных веществ: крахмала, других полисахаридов, моносахаров, масла.
- Размножаются водоросли вегетативно (частями таллома, выводковыми почками), одноклеточные - делением клетки на 2 или 4, а многоклеточные – как бесполом, так и половым путем.
- В биотехнологической промышленности водоросли активно используются как эффективный источник белка. Белок водорослей пригоден не только для кормовых, но и пищевых целей.

Вирусы

- Вирусы – это группа ультрамикроскопических облигатных внутриклеточных паразитов, способных размножаться только в клетках живых организмов.
- Вирусы обладают рядом характерных особенностей:
 - - не имеют клеточного строения;
 - - не способны к росту и бинарному делению;
 - - не имеют собственных систем метаболизма;
 - - содержат нуклеиновые кислоты только одного типа – ДНК или РНК;
 - - используют рибосомы клетки-хозяина для синтеза собственных белков;
 - - не размножаются на искусственных питательных средах и могут существовать только в организме восприимчивого к ним хозяина.
- Вирусы существуют в двух формах: внеклеточной - в виде вириона и внутриклеточной, называемой репродуцирующимся вирусом.

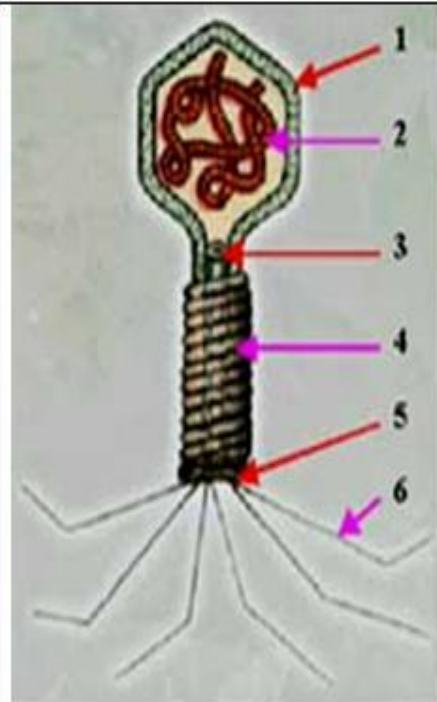
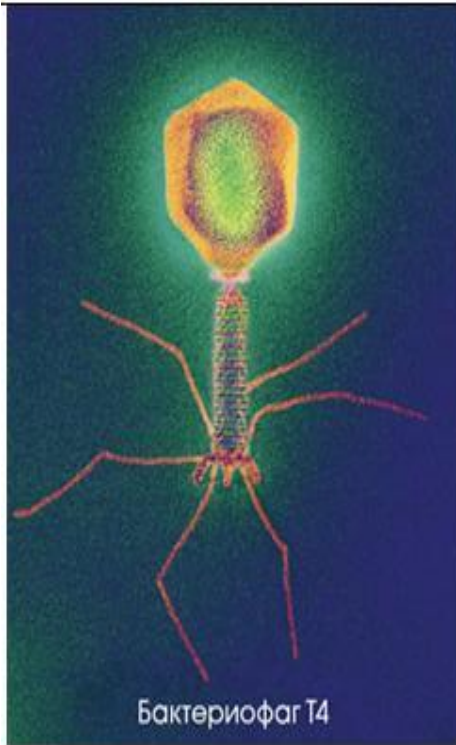


**Спиральный тип симметрии
у вируса гриппа**



**Кубический тип симметрии
у вируса герпеса**

- Вирусы разнообразны по форме и имеют сложное строение. Различают следующие формы вирусов: палочковидную, нитевидную, сферическую, кубовидную, булавовидную



Для многих вирусов бактерий (фагов) характерен сложный тип симметрии: головка фага имеет форму многогранника, хвостовой отросток – форму цилиндра.

Капсид и суперкапсид защищают вирионы от влияния окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие с клетками, определяют антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Принципы подбора биотехнологических объектов

- **Вид** – основная таксономическая единица, представляет собой совокупность особей одного генотипа, обладающих хорошо выраженным фенотипическим сходством. Вид подразделяют на подвиды, или варианты.
- **Штамм** – более узкое понятие, чем вид. Это культуры микроорганизмов одного и того же вида, выделенные из различных природных сред (почв, водоемов, организмов) или из одной и той же среды, но в разное время. Разные штаммы одного вида микроорганизмов могут различаться по некоторым признакам, например, чувствительности к антибиотикам, способности синтезировать некоторые продукты метаболизма и т.д., но эти различия меньше, чем видовые.
- **Клон** – совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.
- **Чистая культура** – совокупность (популяция) микроорганизмов, состоящая из особей одного вида.

Выделение микроорганизмов.

- Отбираются пробы из мест, где обитание того или иного продуцента наиболее вероятно. Например, углеводородокисляющие микроорганизмы встречаются в почве возле бензоколонок, а винные дрожжи – на винограде.
- Образцы проб вносят в жидкие питательные среды специального состава (элективные).
- В элективных средах путем варьирования различных факторов создаются избирательные условия для преимущественного развития определенного продуцента. Таким образом, получают **накопительные культуры микроорганизмов.**

Выделение чистых культур.

- Для этого используют плотные питательные среды, на которые засевают образцы проб из накопительных культур. Отдельные клетки микроорганизмов на плотных питательных средах образуют изолированные колонии, при их последующем пересеве получают чистые культуры продуцента.
- Другой путь подбора микроорганизмов – из имеющихся коллекций микроорганизмов, например, продуцентов антибиотиков чаще всего находят среди актиномицетов, а типичными продуцентами этанола являются дрожжи.

Главным критерием при отборе продуцентов является способность микробов синтезировать целевой продукт.

- Биотехнологическая промышленность предъявляет к продуцентам ряд требований:
- 1) микроорганизмы должны обладать высокой скоростью роста;
- 2) использовать для жизнедеятельности дешевые непищевые субстраты;
- 3) быть устойчивыми к заражению посторонней микрофлорой.
- Все это позволяет значительно снизить затраты на производство целевого продукта.

- Одноклеточные организмы, как правило, характеризуются более высокими скоростями синтетических процессов, чем высшие формы живого.
- Например, корова массой 500 кг в течение суток синтезирует около 0,5 кг белка.
- Такое же количество белка за одни сутки можно получить с помощью 5 г дрожжей. Однако высокие скорости роста характерны не для всех микроорганизмов.

- Особый интерес как биотехнологические объекты представляют фотосинтезирующие микроорганизмы. В своей жизнедеятельности они используют энергию света, синтезируют разнообразные вещества клеток в результате восстановления углекислоты, сопряженного с окислением воды (цианобактерии и эукариоты), способны к усвоению атмосферного азота (прокариоты), т.е. обходятся самыми дешевыми источниками энергии, углерода, восстановительных эквивалентов и азота.
- Фототрофные микроорганизмы перспективны как продуценты аммиака, водорода, белка и различных биопрепаратов.

- Другими привлекательными объектами для биотехнологии являются термофильные организмы, которые оптимально растут при высоких температурах (60-80°, 110° и выше), что затрудняет развитие посторонней микрофлоры.
- Среди термофилов существуют ценные продуценты спиртов, аминокислот, ферментов, молекулярного водорода.
- Применение термофилов позволяет снизить затраты на стерилизацию промышленного оборудования, а скорость роста и метаболическая активность у этих организмов в 1,5-2 раза выше, чем у мезофиллов.