

БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ.
ВСТУП ДО ФАХУ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

Миколаїв
МНАУ
2022

УДК 60
Б63

Авторський колектив:

О. І. Юлевич
С. І. Луговий
О. І. Каратєєва
Є. В. Баркарь

Друкується за рішенням Вченої ради Миколаївського національного аграрного університету від «28» червня 2022 р., протокол № 11.

Рецензенти:

- С. І. Ковтун — д-р с.-г. наук, професор, академік НААН, перший заступник директора Інституту розведення і генетики тварин ім. М. В. Зубця НААН;
- С. Г. Даниленко — д-р тех. наук, с.н.с., завідувач відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН;
- В. М. Балацький — д-р с.-г. наук, професор, завідувач лабораторії генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН.

Біотехнології та біоінженерія. Вступ до фаху : навчальний посібник /
Б63 О. І. Юлевич С. І. Луговий, О. І. Каратєєва, Є. В. Баркарь. Миколаїв : МНАУ, 2022. 285 с.
ISBN 978-617-7149-62-9

У навчальному посібнику наведено інформацію щодо історії розвитку біотехнології, її предмету, методів та завдань; надано уявлення про біооб'єкти та стадії біотехнологічного процесу, а також охарактеризовано напрямки застосування біотехнології у різних сферах: сільському господарстві, медицині, харчовій промисловості, енергетиці та охороні довкілля.

Посібник розрахований на абітурієнтів, студентів спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія, а також усіх, хто цікавиться однією з найдавніших і водночас однією з наймолодших наук і галузей промисловості.

УДК 60

© Миколаївський національний аграрний університет, 2022

© О. І. Юлевич, С. І. Луговий,
О. І. Каратєєва та ін., 2022

ISBN 978-617-7149-62-9

ЗМІСТ

Вступ.....	4
1. Історія розвитку біотехнології.....	7
2. Предмет, методи, завдання та напрями біотехнології.....	41
3. Біоб'єкти біотехнології та шляхи підвищення їх продуктивності.....	63
4. Стадії біотехнологічного процесу та його складові.....	96
5. Сільське господарство й біотехнологія.....	123
6. Біотехнологія та медицина.....	153
7. Біотехнології у харчовій промисловості.....	180
8. Біотехнологія і навколишнє середовище.....	206
9. Біотехнологія та отримання енергії.....	230
10. Нанобіотехнологія.....	255
Предметний покажчик.....	279
Список використаної та рекомендованої літератури.....	282

ВСТУП

На сучасному рівні розуміння, біотехнологія – це наука, що створює теоретичні передумови розробки схем і способів отримання практично цінних речовин і процесів на основі культивування цілих одноклітинних мікроорганізмів або вільно зростаючих клітин багатоклітинних організмів – рослин і тварин.

Наука є інтегральною – вона спирається на теорію і практику мікробіології, біохімії, молекулярної біології і генетики, фізіології і цитології. Вона використовує також прогресивні хімічні технології.

Біотехнологічні процеси відбуваються в штучно створених умовах, цілий рік і повсюдно. Це відрізняє їх від сільськогосподарської практики, де кліматичні, природні фактори суттєво обмежують можливості прогнозування та управління.

До недавнього часу біотехнологія включала тільки промислову мікробіологію, але сьогодні її можливості поповнилися технологією культури клітин рослин і тварин.

Новими напрямками біотехнології є генна інженерія, що дозволяє отримати продукти клонованих генів, і інженерна ензимологія – реалізує можливості практичного використання ферментів.

За допомогою біотехнології можуть бути отримані нові діагностичні засоби, вакцини та лікарські препарати. Біотехнологія може допомогти в збільшенні врожайності основних злакових культур, що особливо актуально у зв'язку із ростом чисельності населення Землі. У багатьох країнах, де великі обсяги біомаси не використовуються або використовуються не повністю, біотехнологія могла б запропонувати способи їх перетворення в цінні продукти, а також переробки з використанням біотехнологічних методів для виробництва різних видів біопалива. Крім того, за умови вірного планування та управління, біотехнологія може знайти застосування у регіонах як інструмент індустріалізації сільської місцевості для створення невеликих виробництв, що

забезпечить більш активне освоєння порожніх територій і буде вирішувати проблему зайнятості населення.

Особливістю розвитку біотехнології у XXI столітті є не тільки її прогрес як прикладної науки, вона все більш широко входить у повсякденне життя людини, і що ще більш істотно – забезпечуючи виняткові можливості для ефективного розвитку практично всіх галузей економіки, стає необхідною умовою сталого розвитку суспільства.

Широке проникнення біотехнологій в економіку світового господарства знайшло своє відображення і в тому, що сформувався новий термін для позначення глобальності даного процесу – «біоекономіка». Завдання переходу від традиційної економіки до економіки нового типу – біоекономіки, заснованої на інноваціях, що використовує можливості біотехнології у різних галузях виробництва, а також у повсякденному житті людини, вже оголошено стратегічною метою в багатьох країнах світу.

Високорозвинені країни з метою збереження конкурентних переваг, особливо у галузі відновлюваних технологій, сприяють сталому розвитку економіки на основі біоекономіки. Україні, як країні, яка прагне з мінімальними витратами увійти у новий технологічний уклад економіки і не відставати від світових тенденцій, слід ідентифікувати себе як державу, яка формує і розвиває біотехнології та біоекономіку.

Досягнення біотехнології приносять реальну користь народному господарству і людям, коли на їх основі відкриваються промислові виробництва, що створюють у значних кількостях практично цінні продукти, що і є основним завданням біотехнологів.

При підготовці цього посібника автори ставили перед собою мету розкрити основні уявлення про біотехнологію, її розділи, етапи розвитку і напрямки застосування, а також охарактеризувати досягнення біотехнології як науки і як галузі промисловості.

У результаті вивчення дисципліни «Вступ до фаху. Біотехнології та біоінженерія» здобувач вищої освіти повинен:

знати:

- предмет, цілі і завдання біотехнології;
- основні відкриття в області цитології, генетики, біохімії, молекулярної біології, які сприятимуть розвитку біотехнології;
- об'єкти біотехнології;
- області застосування генетично модифікованих рослин, тварин і мікроорганізмів;
- досягнення біотехнології у сфері медицини, харчової промисловості, сільського господарства і екології;
- основи техніки безпеки і організацію роботи в біотехнологічних лабораторіях;
- етичні проблеми біотехнології;

вміти:

- орієнтуватися в досягненнях біотехнології, включаючи їх практичне значення і правову забезпеченість;
- застосовувати теоретичні знання з біотехнології;
- оцінювати переваги і потенційні небезпеки нових біотехнологічних розробок;

володіти навичками:

- роботи з навчальною та науковою літературою в галузі біотехнології;
- пошуку інформації з проблем біотехнології;
- аналізу одержуваної інформації для застосування її в практичній діяльності.

1. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Біотехнологія як наука виникла на стику біологічних, хімічних і технічних наук. Наукою вона стала завдяки дослідженням і роботам французького вченого, основоположника сучасної мікробіології та імунології Луї Пастера (1822-1895).

У 1984 році на III з'їзді Європейської асоціації біотехнологів у Мюнхені голландським ученим Е. Хаувінком було запропоновано розподілити історію розвитку біотехнології на п'ять періодів.

1. Донастерівська ера (до 1865)

Цей період – найбільш тривалий, охоплює близько 8000 років, з яких більш ніж 6000 років – до нашої ери і біля 2000 років – наша ера. Стародавні народи того часу інтуїтивно використовували засоби і способи виготовлення хліба, пива та інших продуктів, що пов'язані з процесами бродіння, які в наш час ми відносимо до розряду біотехнологічних.

Досвід отримання ферментованих продуктів передавався людиною з покоління в покоління протягом тисячоліть, хоча про причини бродіння і про те, як воно здійснюється ще нічого не було відомо. Шумери – перші мешканці Месопотамії (на території сучасного Іраку), створили розвинену в ті часи цивілізацію. Вони випікали хліб з кислого тіста, володіли мистецтвом готувати пиво. Майже чотири тисячі років тому шумери Південної Месопотамії присвятили гімн Нінкасі, богині пива. Приблизно в той же час (близько 1800 р. до н.е.), а може бути, навіть за 300 років до цього, єгиптяни зображували процес пивоваріння на стінах гробниць (рис. 1).

У цьому їх наслідували асирійці і вавілоняни, які також мешкали в Месопотамії, і стародавні індуси. Упродовж кількох тисячоліть використовується оцет; перша дистиляція вина здійснена в XII ст., горілку із хлібних злаків одержували в XVI ст., шампанське відоме з XVII ст. У XIV ст. (орієнтовно 1235-1315 рр.) іспанцеві Раймунду Луллію вперше вдалося одержати майже абсолютний етанол перегонкою вина з негашеним вапном.



Рис. 1. Процес пивоваріння, зображений на стінках єгипетських гробниць

До того ж самого періоду належить одержання квашеної капусти, медових алкогольних напоїв, силосування кормів. Дуже давнім вважається застосування процесу ферментації для продовження терміну придатності молока, тобто отримання кисломолочних продуктів. Фахівці вважають, що це сталося за часів початку одомашнення тварин, приблизно 10-15 тис. років тому. Аборигени Мексики здавна завертали м'ясо перед варінням або смаженням в листя динного дерева. Під впливом протеолітичного ферменту папаїну м'ясо ставало більш м'яким.

Стихійна біотехнологія, яка зародилася тисячоліття тому, по-перше, продовжувала вдосконалюватися, а, по-друге, вона дала початок новим наукам і технологіям.

Англійський натураліст Роберт Гук (1635-1703) за допомогою удосконаленого ним мікроскопа спостерігав структуру рослин і ввів у наукову термінологію поняття «клітина» (рис. 2). Ці дослідження він описав у своїй науковій роботі «Мікрографії» у 1665 році.



Рис. 2. Англійський натураліст Роберт Гук

Потім Антоні ван Левенгук (1632-1723) – нідерландський натураліст, виготовивши лінзи з 150-300-кратним збільшенням, вперше спостерігав і замалював ряд найпростіших організмів, сперматозоїди, бактерії, еритроцити та їх рух у капілярах (рис. 3, 4).



Рис. 3. Нідерландський натураліст Антоні ван Левенгук

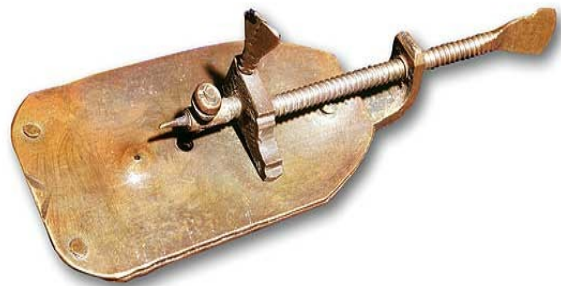


Рис. 4. Мікроскоп Антоні ван Левенгука

Він був першим, кому випала велика честь відкрити завісу в невідомий досі світ живих істот – мікроорганізмів, які відіграють величезну роль у природі і в житті людини, і, по суті, став одним із основоположників наукової мікроскопії. І хоча деякі дослідники і раніше висловлювали неясні здогади про існування якихось дрібних, не видимих неозброєним оком істот, винних у поширенні і виникненні заразних хвороб, але всі ці припущення так і залишалися лише припущеннями. Адже ніхто ніколи не бачив таких дрібних живих істот. У 1673 році Антоні ван Левенгук першим із людей побачив мікробів. Довгі години він розглядав під мікроскопом все, що траплялося на очі: шматочок м'яса, краплю дощової води, хвостик пуголка, очі мухи та інше. Яке ж було його здивування, коли в краплині води і багатьох інших рідинах він побачив безліч живих істот. Вони мали вигляд і паличок, і спіралей, і кульок. Іноді ці істоти мали химерні відростки або вії. Багато з них швидко рухалися (рис. 5).

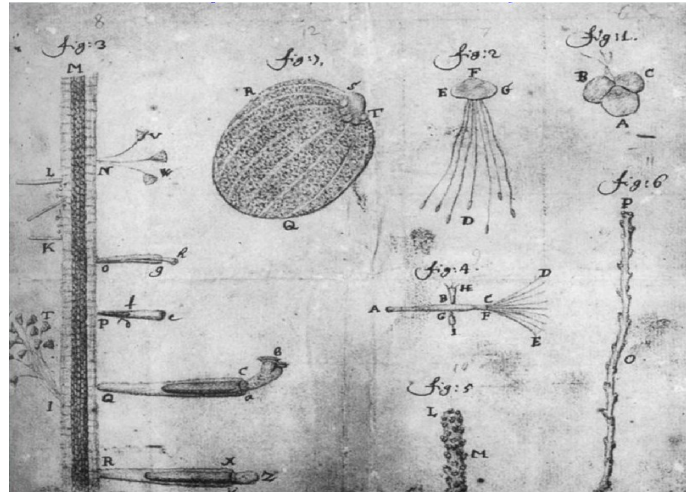


Рис. 5. Малюнки Антоні ван Левенгука

І все ж найголовнішим етапом у розвитку біотехнології є етап відкриття французьким дослідником Луї Пастером мікробної природи бродіння, можливість життя мікроорганізмів у безкисневих умовах і т. ін.

2. Післяпастерівський період (1866-1940 рр.)

Післяпастерівський період у розвитку біотехнології охоплює другу половину XIX ст. і першу третину XX ст. Він пов'язаний із видатними дослідженнями великого французького вченого Луї Пастера (1822-1895) – засновника наукової мікробіології й ряду мікробіологічних дисциплін (промислової, медичної, хімічної, санітарної мікробіології) (рис. 6).

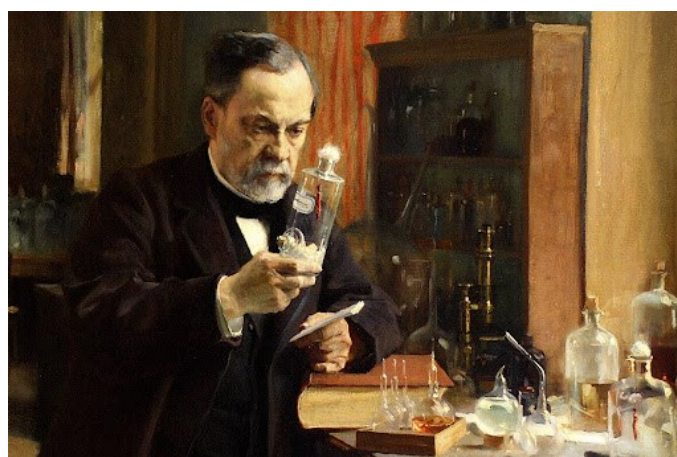


Рис. 6. Французький хімік Луї Пастер

Пастер експериментально спростував твердження про самозародження живих організмів, що існувало тоді, створив наукові основи

вакцинопрофілактики й вакцинотерапії, запропонував метод стерилізації, названий за його іменем «пастеризацією» і т. ін.

Явище бродіння зацікавило Пастера не випадково. Він ніколи не був кабінетним ученим, що відгороджується від вимог життя. Л. Пастер добре розумів, яку величезну роль в економічному житті Франції відігравало виноробство, яке цілком ґрунтується на явищах бродіння виноградного соку. У 1857 році Пастер зробив чудове відкриття. Він довів, що бродіння – не хімічний процес, як тоді вважали, а біологічне явище. Він довів, що бродіння є процес, тісно пов'язаний з життєдіяльністю дріжджових грибків, які живляться і розмножуються за рахунок рідини, що бродить. Після цього Пастер показав, що й для молочного бродіння також необхідна присутність особливого «організованого ферменту» (як у той час називали живі клітини мікробів), який розмножується в рідині, що бродить, і за допомогою якого можна викликати ферментацію в нових порціях рідини.

У цей же час Луї Пастер зробив ще одне важливе відкриття. Він встановив, що є організми, які можуть жити без кисню. Для деяких із них кисень не тільки не потрібен, а й отруйний. Такі організми називаються суворими анаеробами. Їхні представники – мікроби, що викликають маслянокисле бродіння. Розмноження таких мікробів спричиняє прогірклість вина та пива. Бродіння, таким чином, виявилось анаеробним процесом, «життям без кисню», тому що кисень на нього впливає негативно (ефект Пастера).

Луї Пастер охоче вивчав практичні проблеми. Коли французькі винороби звернулися до нього з проханням допомогти їм у розробці засобів та методів боротьби з хворобами вина, він у 1864 році приступив до вивчення цього питання. Результатом його досліджень стала монографія, де Пастер показав, що хвороби вина викликаються різними мікроорганізмами, причому кожна хвороба має особливого збудника. Для знищення шкідливих «організованих ферментів» він запропонував прогрівати вино до температури 50-60°C. Цей метод, який отримав назву пастеризації, знайшов широке застосування і в лабораторіях, і в харчовій промисловості.

Розгадка явищ бродіння, яка мала велике значення для французького виноробства, що зазнавало величезних збитків від «хвороб вина», відіграла виняткову роль і в розвитку біологічної науки, практики сільського господарства та промисловості. Глибоке пізнання природи бродіння дало можливість керувати процесом. Це дуже важливо для хлібопечення, виноробства, приготування багатьох харчових речовин.

Завдяки працям Луї Пастера наприкінці XIX в. були створені умови для подальшого розвитку прикладної (технічної) мікробіології, а також у значній мірі і біотехнології. Цей період (друга половина XIX – початок XX ст.) був знаменний тим, що вдалося довести індивідуальність мікробів і отримати їх в чистих культурах. Розвивалася технологія приготування поживних середовищ для культивування біологічних об'єктів. Кожен вид міг бути розмножений у певних середовищах і використаний з метою відтворення відповідних процесів (бродильних, окислювальних та ін.). У цей період було розпочато виготовлення пресованих харчових дріжджів, а також окремих продуктів обміну речовин – ацетону, бутанолу, лимонної і молочної кислот. Починався період великомасштабного виробництва корисної для людини продукції за допомогою мікроорганізмів.

Німецький біохімік Едуард Бюхнер уточнив, що бродіння викликається і безклітинним екстрактом, що містить ферменти, які здатні каталізувати хімічні реакції (рис. 7). У цей період почала зароджуватися *ензимологія* (наука про ферменти). Для вивчення і застосування ферментів потрібна була розробка і підбір спеціальних «м'яких» методів їх виділення і очищення. Почалося практичне застосування ферментних препаратів для підсолоджування ряду речовин, з'явилися препарати для дублення шкір і застосування в аналітичній хімії.

Використання чистих ферментів для переробки сировини послужило поштовхом до розвитку *зімології* (науки про бродіння).

Це стало основою розвитку в кінці XIX – початку XX ст. бродильного виробництва органічних розчинників (ацетону, етанолу, бутанолу,

ізопропанолу) та інших хімічних речовин, де використовувалися різноманітні види мікроорганізмів.



Рис. 7. Німецький біохімік Едуард Бюхнер

Велике значення мали роботи І. І. Мечникова (1845-1916 рр.) з вивчення мікробного антагонізму і практичного застосування його в медицині. І. І. Мечников народився в Україні, тривалий час працював в Одесі у Новоросійському університеті (нині Одеський національний університет імені І. І. Мечникова). У 1887 році Ілля Мечников покинув Росію і далі жив і працював у Франції. У 1909 році Ілля Мечников отримав Нобелівську премію за відкриття явища фагоцитозу (рис. 8).

У цей період були закладені наукові основи біологічного оброблення та знешкодження стоків. Очисні споруди, відомі з часів Стародавньої Індії і Римської імперії прийшли в занепад у середні століття, і з бурхливим розвитком промисловості на межі XIX-XX століть знову стали предметом пильних досліджень. Так, у 1865 році відбувся запуск системи каналізації у Лондоні, яка не тільки надійно відводила від столиці Великобританії стічні води по двох величезних тунелях, а й стала еталоном для сучасних каналізаційних систем великого міста і своєрідною пам'яткою Лондона, одним з семи чудес індустріального світу.



Рис. 8. Український, російський та французький біолог І. І. Мечников

У 70-80-ті роки XIX століття були закладені основи культивування рослинних клітин і тканин тварин. Після робіт Т. Шванна і Р. Вірхова, які назвали клітину елементарним організмом, виник інтерес до вивчення живих клітин, і почалися експерименти по збереженню життєздатності клітин і шматочків тканин в специфічних умовах і середовищах (рис. 9, 10).



Рис. 9. Німецький цитолог, гістолог і фізіолог, автор клітинної теорії Теодор Шванн

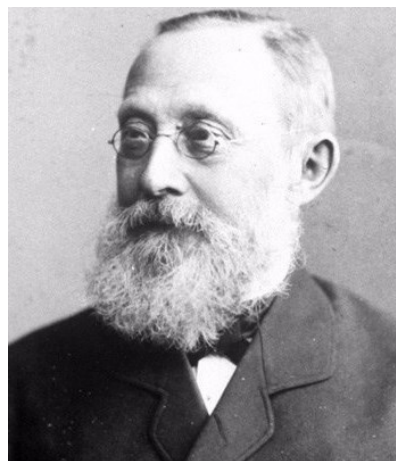


Рис. 10. Німецький лікар, патологоанатом, гістолог, фізіолог Рудольф Людвіг Карл Вірхов

В цей же час зроблено важливі відкриття в генетиці, що тільки народжувалася, і без якої була б немислима біотехнологія сучасного рівня. У 1865 р. австрійський монах Грегор Мендель ознайомив Брюнське суспільство

натуралістів зі своїми «Дослідами над рослинними гібридами», в яких він описав закони передачі спадковості (рис. 11).

У 1902 році біологи Уолтер Саттон і Теодор Бовері припустили, що передача спадковості пов'язана з матеріальними носіями — хромосомами (рис. 12, 13).

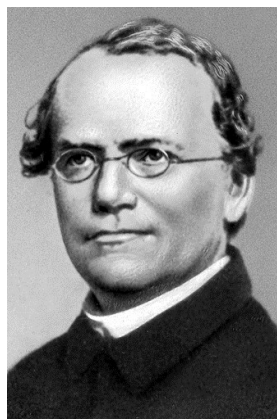


Рис. 11. Чесько-австрійський біолог-генетик Грегор Йоганн Мендель



Рис. 12. Американський цитолог Уолтер Саттон



Рис. 13. Німецький біолог, ембріолог Теодор Генріх Бовери

Вже тоді було відомо, що живий організм складається з клітин. Німецький патолог Рудольф Вірхов доповнює клітинну теорію принципом «кожна клітина — з клітини». А досліди ботаніка Готліба Хаберландта продемонстрували, що клітина може існувати в штучному середовищі і окремо від організму. Експерименти останнього привели до відкриття ролі вітамінів, мінеральних добавок і гормонів (рис. 14).



Рис. 14. Австрійський ботанік і фізіолог рослин Готліб Йоганн Фрідріх Хаберландт

Роком народження самого терміну «біотехнологія» прийнято вважати 1919 р., коли було опубліковано маніфест «Біотехнологія переробки м'яса, жирів і молока на великих сільськогосподарських фермах». Його автор – угорський агроекономіст, у той час – міністр продовольства Карл Ерекї (рис. 15).



Рис. 15. Угорський агроекономіст Карл Ерекї

Маніфест описував переробку сільськогосподарської сировини в інші харчові продукти за допомогою біологічних організмів. Ерекї передбачав нову епоху в історії людства, порівнюючи відкриття цього методу з найбільшими технологічними революціями минулого: появою виробничого господарства в епоху неоліту і металургії в бронзовому столітті.

Але до кінця 1920-х років під біотехнологією малося на увазі лише використання мікроорганізмів для ферментації.

3. Ера антибіотиків (1941-1960 рр.)

Одним із головних чинників, що вплинули на формування мікробіологічної промисловості, і, в цілому, біотехнології, було створення виробництва антибіотиків.

Історія відкриття антибіотиків, як і більшість інших відкриттів у науці, пов'язана як з кропіткою роботою дослідника, з його спостережливістю, так і з випадковими подіями, які супроводжують нас на кожному кроці. Древні казали: «випадок йде назустріч тому, хто йде». Так сталося і з Олександром Флемінгом (1881-1955), який відкрив спочатку лізоцим (антибактеріальний фермент, що

виробляється людським організмом) і потім, вперше виділив пеніцилін з цвілевих грибів *Penicillium notatum* – історично перший антибіотик (рис. 16).

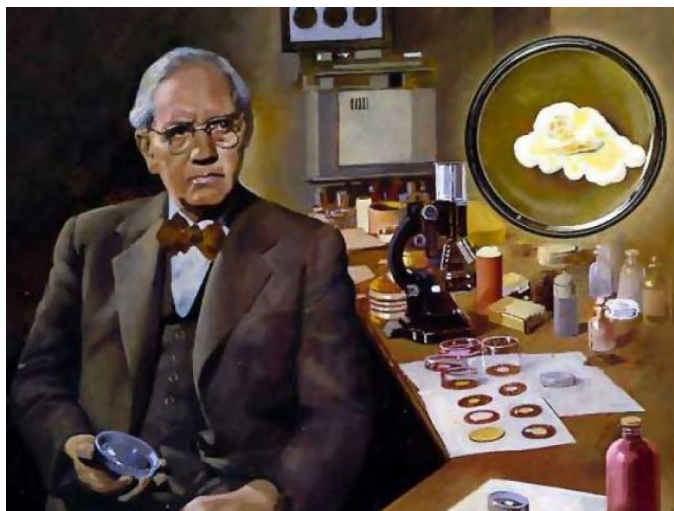


Рис. 16. Британський мікробіолог Олександр Флемінг

Найпарадоксальніше те, що цвіль і вбиті нею колонії мікробів неодноразово спостерігали і до Флемінга. Просто нікому не приходило в голову використовувати цей «бруд» у боротьбі з хворобами. Зазвичай вона з'являється на зіпсованих продуктах, тому на неї звикли дивитися як на щось шкідливе. Скутій забобонами традицій людині важко було навіть уявити, що цвіль можна прикласти до рани або ввести в організм хворого.

Але Флемінг недооцінив своє відкриття, вважаючи, що отримати ліки буде дуже важко. Його роботу продовжили Говард Флорі і Ернст Борис Чейн, які розробили методи очищення пеніциліну (рис. 17, 18).

Масове виробництво пеніциліну було налагоджено під час Другої світової війни. У 1945 році Флемінг, Флорі і Чейн були удостоєні Нобелівської премії в галузі фізіології і медицини.

Після того, як можливості даного препарату були оцінені по достоїнству, пеніцилін став невід'ємною частиною будь-якої методики лікування бактеріальних інфекцій. До середини століття відкрита Флемінгом речовина широко увійшла у виробництво фармацевтичних препаратів, розпочали здійснювати її штучний синтез, що допомогло справлятися з більшістю найдавніших захворювань, таких як сифіліс, гангрена і туберкульоз.



*Рис. 17. Британський біохімік
Ернст Борис Чейн*



*Рис. 18. Австралійський фармаколог
і патолог Говард Уолтер Флорі*

З початком Другої світової війни необхідність у цьому засобі назріла як ніколи. Не дивно, що у Радянському Союзі теж працювали над цим питанням.

У 1942 році професор Зінаїда Єрмольєва отримала пеніцилін із цвілі *Penicillium crustosum*, взятої зі стіни одного з бомбосховищ Москви (рис. 19).



Рис. 19. Радянський мікробіолог і епідеміолог З. В. Єрмольєва

У 1944 році Єрмольєва, після довгих спостережень і досліджень, вирішила випробувати свій препарат на поранених. Її пеніцилін став дивом для польових лікарів і рятівним шансом для багатьох поранених бійців. У тому ж році в СРСР було налагоджено виробництво пеніциліну.

Антибіотики – це не тільки пеніцилін, але і велика «сім'я» лікарських засобів. Деякі з його «родичів» були відкриті у воєнні роки. Так, у 1942 році Г. Ф. Гаузе отримав граміцидин, а у 1944-му – американець українського походження З. А. Ваксман виділив стрептоміцин. У 1945 р. Джузеппе Бротцу з Інституту гігієни в Кальарі (Сардинія) виділив з проби морської води цвіль *Cephalosporium acremonium*, що синтезує кілька антибіотиків; один з них, цефалоспорин С, виявився особливо ефективний проти стійких до пеніциліну грампозитивних бактерій.

Починаючи з середини 1960-х рр. у зв'язку із підвищеною складністю виділення ефективних антибіотиків і поширенням стійкості до найбільш широко застосовуваних сполук у великої кількості патогенних бактерій дослідники перейшли від пошуку нових антибіотиків до модифікації структури вже наявних. Вони прагнули підвищити ефективність антибіотиків, знайти захист від інактивації ферментами стійких бактерій і поліпшити фармакологічні властивості препаратів.

Вже у 1980 р. світове виробництво антибіотиків становило приблизно 25 тис. т, а у 2014 р. світовий обсяг продажів антибіотиків склав 566,8 тис. т.

1943 рік визнається роком становлення генетики бактерій, початковим періодом розвитку генетичної інженерії, коли британські дослідники С. Лурія та М. Дельбрюк у 1943 р. виявляють мутації бактерій (рис. 20, 21).



Рис. 20. Італійський і американський мікробіолог, вірусолог і генетик Сальвадор Едвард Лурія

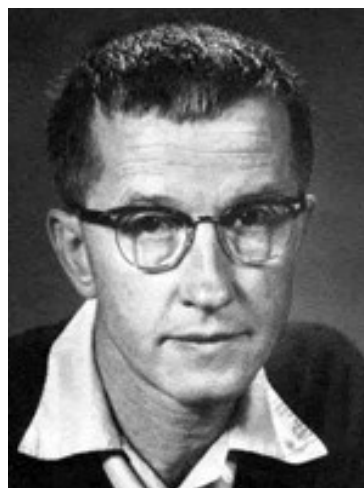


Рис. 21. Німецько-американський молекулярний біолог Макс Людвіг Хеннінг Дельбрюк

Розробку цього напрямку генетики було продовжено в фундаментальних працях американських учених О. Евері, М. Маккарті й К. Маклеода, які відкрили молекулу ДНК (ген) (рис. 22-24).



Рис. 22. Американський молекулярний біолог, імунолог, медик Освальд Теодор Евері



Рис. 23. Американський біолог Маклін Маккарті

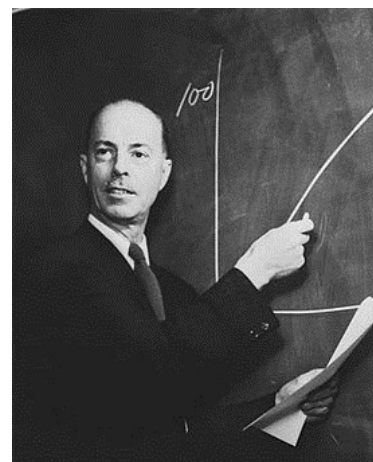


Рис. 24. Канадсько-американський генетик Колін Манро Маклеод

Визначення хімічної структури та просторової організації молекул ДНК стало одним із найяскравіших відкриттів ХХ століття. У 1953 р. Джеймс Уотсон і Френсіс Крик на підставі рентгеноструктурного аналізу кристалів ДНК, виконаного Розалінд Франклін, запропонували модель, відповідно до якої ДНК складається з двох полімерних ланцюгів, що утворюють форму подвійної спіралі (рис. 25, 26).

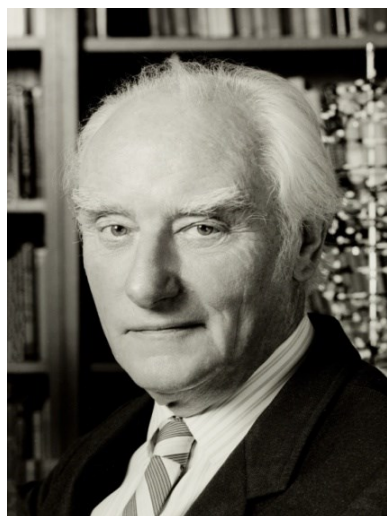


Рис. 25. Британський молекулярний біолог Френсіс Крик

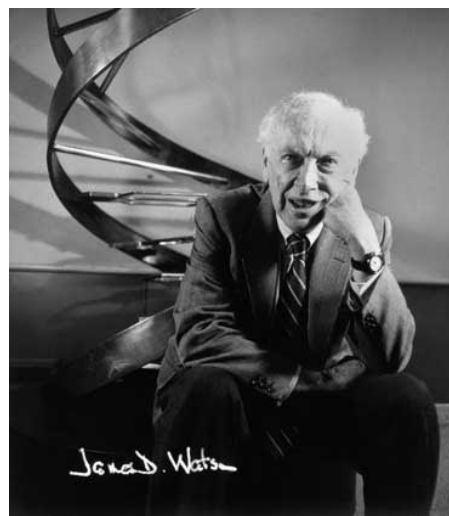


Рис. 26. Американський біолог Джеймс Дьюї Уотсон

ДНК була відкрита Іоганном Фрідріхом Мішером ще у 1869 році (рис. 27). Із залишків клітин, що містилися в гної, він виділив речовину, до складу якої входять азот і фосфор. Спочатку нова речовина отримала назву нуклеїн, а пізніше, коли Мішер визначив, що ця речовина володіє кислотними властивостями, речовина отримала назву нуклеїнова кислота.



Рис. 27. Швейцарський фізіолог, гістолог і біолог Іоганн Фрідріх Мішер

Біологічна функція нововідкритої речовини була неясна, і довгий час ДНК вважалася запасником фосфору в організмі. Більш того, навіть на початку ХХ століття багато біологів вважали, що ДНК не має ніякого відношення до передачі інформації, оскільки будова молекули, на їхню думку, була занадто одноманітною і не могла містити закодовану інформацію. З 1944 року, коли Роберт Фельген показав, що одним з компонентів хромосом є ДНК, виникло припущення про те, що ДНК виконує якусь функцію в спадковості.

Поступово було доведено, що саме ДНК, а не білки, як вважалося раніше, є носієм генетичної інформації. Один з перших вирішальних доказів забезпечили експерименти О. Евері, К. Маклеода і М. Маккарті (1944 р.) по трансформації бактерій. Їм вдалося довести, що за так звану «трансформацію набуття хвороботворних властивостей» нешкідливою культурою в результаті додавання до неї мертвих хвороботворних бактерій відповідає виділена з пневмококів ДНК.

Мало хто знає, що відкриття молекули ДНК відбулось також завдяки дослідженням науковця родом із Чернівців, талановитого біохіміка й публіциста Е. Чаргаффа, який сформулював так звані «правила Чаргаффа»,

згідно з якими в кожній молекулі ДНК дотримуються суворі співвідношення, що зв'язують між собою кількість азотистих основ різних типів (рис. 28).

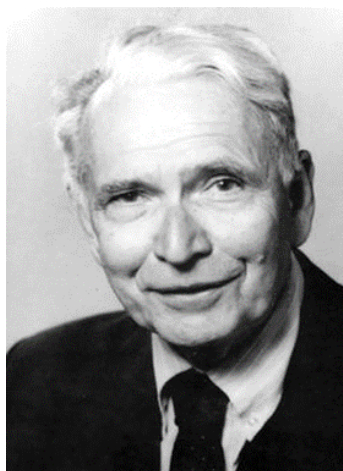


Рис. 28. Американський біохімік Ервін Чаргаффа

Саме він першим у світі ще у 1934 р. описав комплементарну структуру молекули ДНК, дослідив закономірності взаємозв'язку між пуриновими й піримідиновими основами в ній (відомі під назвою «правила Чаргаффа»), який поділився результатами своїх досліджень із ще молодими на той час американськими науковцями Д. Уотсоном і Ф. Криком, які ними скористалися. Існує думка, що відкриття Е. Чаргаффа в біохімії рівносильне відкриттю атома у фізиці. Він мав безліч інших відзнак і нагород, проте його діяльність так і не була оцінена належним чином.

Пізніше, запропонована Уотсоном і Криком модель будови ДНК була доведена. У 1958 р. молекула ДНК була вперше синтезована в лабораторії, а їх робота відзначена Нобелівською премією з фізіології та медицини у 1962 р. Ці відкриття заклали фундамент молекулярної біології та генної інженерії.

Англійський біохімік Ф. Сенгер (1953) виконав повний опис структури білка інсуліну; ним вперше в лабораторних умовах було синтезовано молекулу ДНК (1958).

Дуже важливим для цього періоду була розробка англійським біотехнологом Е. Кокінгом ферментативного методу виділення ізольованих протопластів із різних видів рослинних клітин (1960), на базі яких надалі стало можливим отримання соматичних гібридів нових генетичних форм рослин.

4. Ера керованого біосинтезу (1961 - 1975 рр.)

Теоретичні основи безперервного керованого культивування мікробів, які розробив у 50-х роках Жак Моно (1910-1976 рр.), стали спонукальним мотивом для розробки способів великомасштабного культивування клітин різного походження (рис. 29).

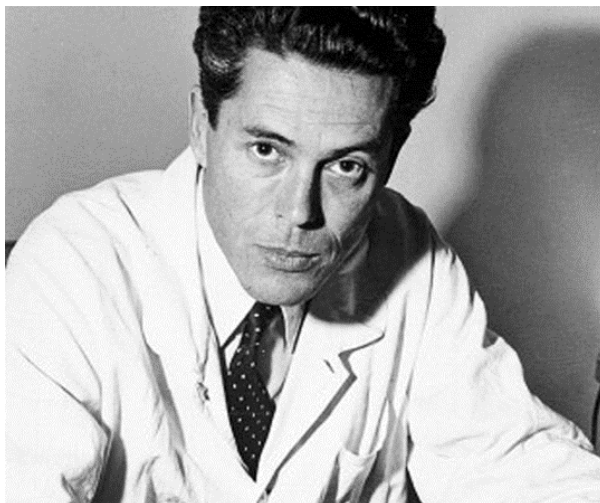


Рис. 29. Французький біохімік та мікробіолог Жак Люсьєн Моно

Були вирішені основні завдання конструювання, створення і впровадження в практику необхідного обладнання, у тому числі головного з них – біореакторів. Це обладнання використовують і в наш час (рис. 30).



Рис. 30. Біореактори (ферментери) – це обладнання для вирощування біологічних культур у контрольованих стабільних умовах

У 60-70-х роках ХХ століття розвивається «метаболічна інженерія» – отримання за допомогою мікроорганізмів амінокислот, бактеріальних полісахаридів, ферментів, білка одноклітинних. Мікробний синтез дозволив виключити такі недоліки хімічного синтезу амінокислот, як складність апаратури, що застосовується, багатостадійність процесу, утворення рацемічних форм амінокислот.

Важливим досягненням біотехнології у цей період стало отримання чистих ферментів, промислове використання іммобілізованих ферментів і клітин. Вперше за допомогою біотехнології було отримано біогаз, налагоджено виробництво бактеріальних полісахаридів.

Значного поширення набуло виробництво амінокислот в аеробних мікробіологічних процесах. В основному, це глутамат натрію, який є підсилювачем смаку, та лізин, який є харчовою добавкою.

У промислових масштабах використовується здатність мікроорганізмів перетворювати рослинну біомасу з низьким вмістом білка на харчові продукти з його високим вмістом.

У 1960-х роках деякі нафтові та хімічні компанії почали проводити дослідження з метою одержання білка, призначеного для додавання в їжу людям та тваринам, за допомогою одноклітинних організмів. Певною мірою це було пов'язано з нестачею білкової їжі у світі. У Німеччині в період Першої світової війни вирощували дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, які додавали до ковбаси та супів, що компенсувало близько 60% довоєнного імпорту харчових продуктів. Під час Другої світової війни здійснювали подібні процеси, але вже на основі харчових дріжджів *Candida arborea* та *Candida utilis*. Як субстрати використовували нафту, метан, метанол і крохмаль. Найбільш конкурентоспроможними виявилися процеси на основі метанолу та крохмалю. Переважна більшість отриманих продуктів призначалася для додавання до корму тваринам.

Освоєно виробництво амінокислот за допомогою мікробних мутантів (цей спосіб має найбільше значення серед можливих способів їх одержання).

Лідируюче становище у світі з виробництва продуктів мікробного синтезу займає на той час Японія.

У Радянському Союзі була створена мікробіологічна індустрія під керівництвом В. О. Бикова, вироблялося понад 1 млн т мікробного білка, що дозволяло випускати повноцінні збалансовані корми для вирощування птиці та худоби (рис. 31).



Рис. 31. Радянський вчений у галузі біотехнології рослин, біомедичної технології та створення фітопрепаратів Валерій Олексійович Биков

Отримання білкових речовин не є єдиним напрямом великотоннажної галузі біотехнології. Значну роль мають виробництва амінокислот кормового, харчового та медичного призначення, різноманітних ферментних препаратів для медицини та ветеринарії, біологічних добрив, засобів захисту рослин, вітамінів.

У цей період будуються перші заводи, де виробляють кормові дріжджі на гідролізатах деревини, сільськогосподарських відходах та на сульфідних луках (відходах целюлозно-паперового виробництва). На підприємствах впроваджується великогабаритне герметизоване обладнання, що забезпечило стерильність технологічного процесу як важливу умову мікробіологічного виробництва ацетону та бутанолу.

Суттєву роль у ці роки відіграло застосування клітин тварин і рослин. Після успішного використання для отримання вакцини вірусу поліомієліту, що

вирощується в культурі клітин ссавців, лінії культур клітин людини стали незамінними для виділення та культивування інших вірусів, виробництва антитіл, інтерферону, протипухлинних хіміопрепаратів. У цей період було запропоновано спосіб тривалого культивування рослинних тканин *in vitro* (у склі) за рахунок періодичного пересадження їх на свіже живильне середовище. Це відкриття дало новий поштовх у роботі з культурою тканин, який ознаменувався зростаючим числом нових об'єктів, успішно введених у культуру.

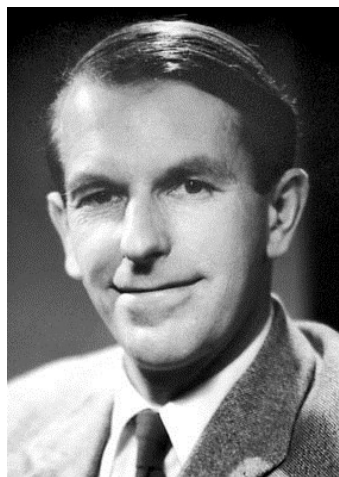
Наприкінці 60-х років іммобілізовані ферменти та клітини стали успішно застосовуватися не тільки для виробництва напівсинтетичних препаратів, а й для проведення нескладних біохімічних аналізів.

Мікробна біотехнологія пов'язана із геологічною мікробіологією. У зв'язку з цим виникла нова галузь біотехнології – *біогеотехнологія*.

Біогеотехнологія – це застосування біотехнологічних прийомів і методів до видобутку, збагачення та переробки руд, відділення та концентрування металів зі стічних вод як вторинної сировини, екстракції залишкових порцій нафти з родовищ, що вичерпуються. Біогеотехнологія ґрунтується на застосуванні змішаних культур мікроорганізмів (асоціацій). Методи біогеотехнології використовуються для отримання широкого кола цінних металів: Cu, U, Mn, Au, Ag, Pt, Zn, Ni, Sn, Cd та ін.

Завдяки роботам Ф. Сенгера щодо структури білків, які пізніше принесли йому славу та першу Нобелівську премію, а також П. Едмана, який разом зі своїм помічником Джеффри Беггом у 1967 році успішно розробив повністю автоматизований секвенсор білка, названий секвенатором, з'явилися прилади автоматичного визначення структури білків (рис. 32, 33).

Потім Сенгер довго займався вивченням молекул РНК. Його група отримала чимало цікавих результатів, але у 1970-х роках ці результати були затьмарені пізнішим його досягненням: винаходом методу читання ДНК, який за лічені роки змінив весь пейзаж молекулярної біології та генетики. Закономірно, що за це досягнення Сенгер був вдруге удостоєний Нобелівської премії.



*Рис. 32. Англійський біохімік
Фредерік Сенгер*



*Рис. 33. Шведський біохімік
Пер Віктор Едман*

У 1959 році Нобелівську премію отримали С. Очао та А. Корнберг, яким вдалося виділити білки, що «зшивають» або «склеюють» нуклеотиди в полімерні ланцюжки, синтезуючи тим самим макромолекули ДНК (рис. 34, 35). Один із таких ферментів був виділений з кишкової палички та названий ДНК-полімераза. Вона здійснює синтез ДНК на матриці ДНК. Таким чином вчені отримали у своє розпорядження ферменти, що зшивають і полімеризують ДНК, названі лігазами. У 1960-х роках швейцарський біохімік Вернер Арбер відкрив ферменти, що «розрізають» ДНК на маленькі шматочки (рис. 36). Вони отримали назву рестриктази.



*Рис. 34. Іспанський та американський біохімік
Северо Очоа де
Альборнос*



*Рис. 35. Американський
біохімік
Артур Корнберг*



*Рис. 36. Швейцарський
мікробіолог та генетик
Вернер Арбер*

Через десятиліття Герберт Бойєр встановив, що ці ферментативні «ножиці» розрізають ДНК лише у певних місцях. Отже, було знайдено «ножиці» та «клей» для ДНК.

Розшифровка генетичного коду, що асоціюється з дослідженнями М. Ніренберга, Х. Г. Корани і Р. Холлі, виконаними в 1966 році, також відноситься до розряду найбільших відкриттів у галузі молекулярної генетики, що дозволяють перейти від аналізу генів до аналізу білків та вивчення функціонування клітини як цілої взаємопов'язаної системи. Справді, знання нуклеотидної послідовності кодуючої ДНК дозволяє однозначно прогнозувати амінокислотну послідовність кодованого білка. Роберт Холлі, Хар Гобінд Корана та Маршалл Ніренберг синтезували ланцюги ДНК і РНК, і виявили триплети, що служать сигналом до початку та кінця біосинтезу специфічного білка. Їм вдалося встановити, що транспортна РНК має дві структури: первинну і вторинну, і навіть з'ясувати що вони собою представляють. Саме ця система забезпечує правильне розташування амінокислот у складі білка. У 1968 Корана разом з Холлі та Ніренбергом були удостоєні Нобелівської премії з фізіології та медицини «за розшифрування генетичного коду та його ролі в синтезі білка». У 1970 р. ученим вдалося синтезувати ДНК, а через кілька років – ген кишкової палички (рис. 37-39).

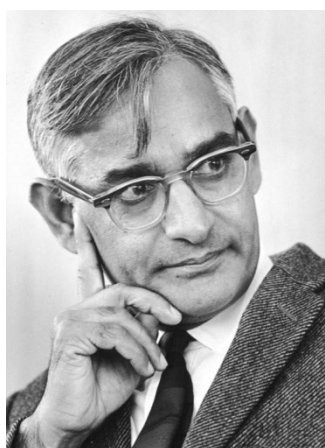


Рис. 37. Індійський та американський молекулярний біолог Хар Гобінд Корана



Рис. 38. Американський біохімік Роберт Вільям Холлі



Рис. 39. Американський біохімік і генетик Маршалл Уоррен Ніренберг

У травні 1970 р. на Міжнародному протираковому конгресі в Х'юстоні Г. Темін з Вісконсинського університету повідомив, що виділив новий фермент, що діє у «зворотному» напрямку, тобто інформація могла зчитуватися як з ДНК для синтезу РНК, так і навпаки. Тоді ж на симпозіумі з кількісної біології в Колд-Спрінг-Харбор з подібним повідомленням виступив Д. Балтімор з Массачусетського технологічного інституту. Новий фермент отримав назву «зворотна», або «реверсивна» транскриптаза (РТ), оскільки здійснює синтез нуклеїнової кислоти як би у зворотному напрямку. Радянський академік В. А. Енгельгардт запропонував називати РТ «ревертазою», що всім довелося до смаку. Через п'ять років Г. Теміну та Д. Балтимору разом з Р. Дюльбекко вручили Нобелівську премію за відкриття, що стосуються взаємодії між онкогенними вірусами та генетичним матеріалом клітини (рис. 40-42).



Рис. 40. Американський генетик
Хауард Мартін Темін



Рис. 41. Американський молекулярний біолог
Дейвід Балтимор

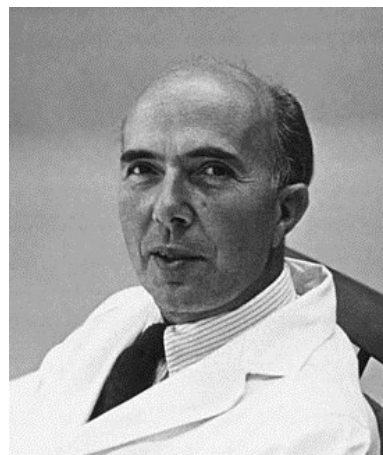


Рис. 42. Американський вірусолог
Ренато Дюльбекко

За допомогою РТ можна легко напрацьовувати окремі гени. Для цього більше не треба було шукати відповідну ділянку ДНК, «вирізати» її за допомогою спеціальних ферментів і т. ін. Все стало простіше і навпаки. Необхідно було просто стимулювати ген до роботи, внаслідок чого він «виробляв» велику кількість іРНК-копій, які відносно легко виділяються з клітини. А потім за допомогою РТ можна було зробити копію гена у вигляді

ДНК. Щоб не плутати цю зроблену людиною ДНК-копію зі звичайним геном клітинної ДНК, «копійний» ген стали позначати кДНК.

Природно, що без фундаментальної роботи зі встановлення структури ДНК, розшифрування генетичного коду було неможливим досягти сучасних результатів у галузі біотехнології. З'ясування механізмів функціонування та реплікації ДНК, виділення та вивчення специфічних ферментів призвело до формування суворого наукового підходу до розробки біотехнічних процесів на основі генно-інженерних маніпуляцій. Ці відкриття заклали фундамент молекулярної біології та генної інженерії.

5. Сучасний період розвитку біотехнології (1975 р. - до нашого часу)

Ще в 70-х роках з'явилися нові технології, які сьогодні називають «генетична інженерія». Їхня суть зводиться до наступного: у клітинах еукаріотів є хромосоми (розташовані в ядрі носії спадкової інформації, укладеної в ДНК), а у прокаріотів – ще й плазмід (позахромосомні носії ДНК). При діленні клітина успадковує як хромосомну, так і плазмідну ДНК, які можна виділити у різних пробірках. Плазмід слугує своєрідним транспортом для доставки в клітину будь-якого гена. Для цього треба розрізати плазмід та вставити в місце розрізу потрібний ген. Після цього плазмід вводить, наприклад, у клітину *E. coli* (кишкову паличку), яка в результаті містить потрібний ген і є ГМ-об'єкт.

У 1973 р. Герберт Бойер і Стенлі Коен зробили революційне відкриття у мікробіології: вони винайшли простий і ефективний метод відбору певних генів з організму та відтворення цього генетичного матеріалу практично у необмежених кількостях (рис. 43, 44).

Технологія рекомбінантної ДНК (скорочено рДНК) передбачає штучне з'єднання або рекомбінацію сегментів двох або більше різних молекул ДНК. Сполучені сегменти вставляють у бактерії або інший тип організму, після чого ці організми відтворюють рекомбінований генетичний матеріал.

Винахід Бойера та Коена визнано одним із найзначніших за останні 180 років. У 2018 р. Національним бюро економічних досліджень було розроблено

алгоритм для вимірювання значущості патенту з використанням текстового аналізу даних з патентних документів USPTO з 1840 по 2010 р. Зі списку 250 видатних патентів, виданих з 1840 р., патенти Бойєра і Коєна були класифіковані як такі, що справили найбільший вплив, трохи випередивши за показниками патент на телефон (А. Г. Белл), «в один клік» (Дж. П. Безос) та літак (О. Райт).



Рис. 43. Американський біохімік Герберт Бойєр

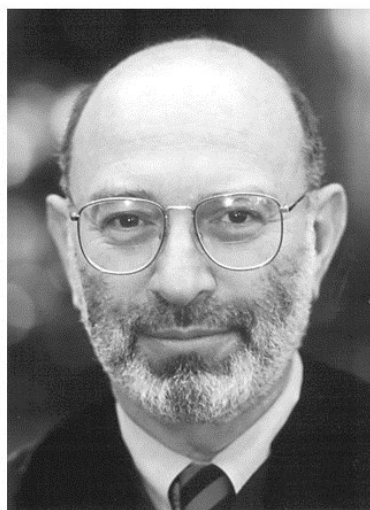


Рис. 44. Американський генетик Стенлі Норман Коєн

Подальший розвиток технології рекомбінантних ДНК призвів до створення великої кількості методик, що дозволяють виділяти, клонувати та використовувати гени для отримання білків із різними властивостями. Цей новий підхід вплинув на розвиток багатьох розділів біологічної науки.

У 1975-1978 рр. вчені оволоділи методами виділення з хромосомної та плазмідної ДНК будь-яких генів та дослідження їх структури. У 1977 р. на фірмі «Генентек» (США) було здійснено синтез людського соматотропного гормону (гормон росту) – соматотропіну – клітинами *E. coli*; у 1978 р. там же було отримано інсулін. На початку 80-х років також за допомогою цієї бактерії були виділені ендорфіни (ендогенні пептиди мозку з дією подібною до морфіну). У 1980 р. уперше синтезували інтерферон. Таким чином, розшифрування будови ДНК стало найважливішою подією генетичної інженерії.

Досягненням біотехнології є генетична трансформація, перенесення чужорідних донорських генів у клітини-реципієнти мікроорганізмів, рослин та тварин, отримання трансгенних організмів із новими чи посиленими властивостями та ознаками. У 1980 р. П. Бергу було вручено Нобелівську премію з хімії за синтез першої рекомбінантної молекули ДНК (рис. 45). Він розділив її з У. Гілбертом, який заявив: «Ми можемо отримати для медичних цілей або для комерційного застосування фактично будь-який білок, здатний впливати на важливі функції людського тіла» (рис. 46).



Рис. 45. Американський біохімік Пол Наїм Берг



Рис. 46. Американський біохімік, мікробіолог, фізик та молекулярний біолог Уолтер Гілберт

У 1983 р. було отримано першу генно-модифіковану рослину – тютюн, а з 1987 р. дозволено польові випробування генно-модифікованих (ГМ) рослин (томат і картопля). У 1984 р. було розроблено технологію застосування аналізу ДНК для ідентифікації людини, і з 1985 р. вона почала використовуватися у роботі правоохоронних органів.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – метод молекулярної біології, що дозволяє досягти значного збільшення малих концентрацій певних фрагментів нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) у біологічному матеріалі (пробі) була винайдена у 1983 році американським біохіміком Кері Муллісом (рис. 47).

У 1986 р. створено першу рекомбінантну вакцину для людини – вакцину проти гепатиту В. Роботи з рекомбінантними молекулами ДНК дозволили

створити бактеріальні штами-продуценти всіх типів інтерферонів, продуценти гормону росту людини та ряду тварин, проінсуліну людини тощо.

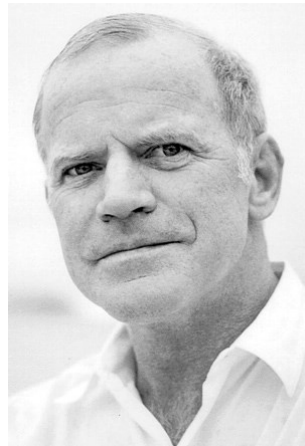


Рис. 47. Американський біохімік Кері Бенкс Мулліс

1989-го вдалося отримати першу мишу з нокаутованими (зруйнованими) генами. У 1990 році було відкрито РНК-інтерференцію. Введення невеликої дволанцюгової ділянки РНК викликає сайленсинг (пригнічення експресії) генів, які містять комплементарні цій РНК ділянки. Завдяки малим РНК, що регулюють експресію генів, вдалося створити гіпоалергенні томати, тютюн без нікотину, каву без кофеїну та багато іншого. Дволанцюгові молекули виявилися більш ефективними, ніж одностанцюгові (прості антисмислові РНК), механізм дії яких не відносять до інтерференції.

Не менш важливий напрямок, що сформувався в ці роки, – одержання гібридів, моноклональних антитіл, гібридів із протопластів та меристемних культур, трансплантація ембріонів. Інтенсивно розвивається напрямок іммобілізації ферментів та клітин на спеціальних носіях, що забезпечує їх багаторазове використання.

В 1995 р. секвенували перший геном вільноживучого прокаріота – *Haemophilus influenzae*. А класичну модель *E. coli* досеквенували через два роки, вже після прочитання значно більшої першої еукаріотичної ДНК (*Saccharomyces cerevisiae*, 16 хромосом, 1996). Стратегії, що були розроблені для секвенування дріжджової ДНК, стали основою інших великих проєктів, включаючи «Геном людини»

У 1997 р. світу стали відомі результати експерименту британського ембріолога Яна Уїлмута. Йому вдалося отримати клоновану вівцю Доллі. Доллі клонували з клітини, взятої з молочної залози 6-річної вівці породи Фін Дорсет, а також яйцеклітини шотландської чорноголової вівці. Клон отримав ім'я на честь співачки Доллі Партон (рис. 48).



Рис. 48. Вівця Доллі та британський ембріолог Ян Уїлмут, який входив до групи її творців

Доллі народилася 5 липня 1996 на шотландській фермі Драйден. Тільки коли на світ з'явилася овечка з характерними для породи Фін Дорсет мітками, вчені змогли сказати, що їхній експеримент удався. До нашого часу вже клоновано понад 20 видів тварин: коти, собаки, вовки, коні, свині, муфлони, корови, верблюди та ін. У 2020 році в США клонували коня Пржевальського, який знаходиться під загрозою зникнення. Це вселяє надію, що клонування можна буде використовувати для збереження природи.

У 2000 році журнал *Science* опублікував статтю про створення першої рослини з підвищеною харчовою цінністю – золотого рису. Цей рис створювався для ліквідації смертельно небезпечного дефіциту вітаміну А у населення бідних країн Азії та Африки. У ДНК звичайного рису для цих цілей ввели два чужорідні гени, які вдосконалюють синтез каротиноїдів. У цьому ж році розшифровано перший повний геном рослини *Arabidopsis thaliana*.

У 2002 році було встановлено структуру ДНК рису, таким чином рис став першою сільськогосподарською культурою, геном якої було розшифровано.

Перша ГМ домашня тварина *GloFish*, яка була спеціально виведена для виявлення забруднення води з'явилася на американському ринку у 2003 р. Риба світиться червоним світлом на чорному тлі завдяки додаванню гена біоломінесценції.

Проект «Геном людини» був реалізований у 2003 р. завдяки появі такої технології, як секвенування ДНК. Для завершення цього масштабного проєкту знадобилися мільярди доларів державного фінансування та дослідницькі можливості тисяч вчених. Проєкт стартував у 1990 р. й вже у 1994-1995 рр. опубліковано докладні генетичні та фізичні карти хромосом людини. Міжнародний консорціум із секвенування геному людини (2004 р.) опублікував науковий опис приблизно 20-25 тис. генів людини, зробивши їх доступними для вчених і тим самим дозволивши продовжувати подальші дослідження в галузі біології. Україну також було залучено до участі в Міжнародній програмі «Геном людини», за якою перед вітчизняними вченими було поставлено завдання розшифрувати гени 21-ї пари хромосом.

Клінічні дослідження рекомбінантної вакцини *Gardasil* від людських папіломавірусів високого онкогенного ризику успішно завершені в 2007 році.

У 2010 році співробітники Інституту Дж. Крейга Вентера (JCVI) створили першу повністю синтетичну генетичну бактерію, названу Синтією.

Технологія CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), що була відкрита у 2012 році структурним біологом, професором Дженніфер Дудною та її колегою Еммануель Шарпантьє, є біологічною системою для зміни ДНК (рис. 49, 50).

Генно-інженерний арсенал поповнився новими, зручними «ножицями», що точно настроюються, – CRISPR-Cas9. Ними можна розрізати обрані послідовності ДНК не тільки у пробірці, а й у живих клітинах, тобто редагувати геноми *in vivo*. За це відкриття Еммануель Шарпантьє та Дженніфер Дудна здобули Нобелівську премію з хімії за 2020 рік.



**Рис. 49. Американський біолог
Дженніфер Дудна**



**Рис. 50. Французький мікробіолог
та генетик
Еммануель Шарпантьє**

2012 року Європейська комісія вперше схвалила клінічне застосування генно-терапевтичних ліків на території ЄС.

У 2014 році за допомогою ZFN (система інженерних нуклеаз) модифікували Т-лімфоцити інфікованих ВІЛ, що знизило вірусне навантаження. Цього ж року було створено першу синтетичну еукаріотичну хромосому – хромосому III *Saccharomyces cerevisiae*.

У 2016-2017 роках були схвалені в Європі та американським регулятором FDA препарати для генної терапії В-клітинних лейкозів.

У 2018 році було отримано дозвіл на використання молекули з робочою назвою LUXTURNA (*Spark Therapeutics*) – перший препарат для боротьби з однією із форм спадкової дистрофії сітківки.

Слід зазначити, що вагомий внесок у розвиток біотехнології зробили вітчизняні вчені. Тут можемо згадати наукові здобутки відомого мікробіолога Д. Й. Іванівського, що пов'язані з використанням бактеріальних фільтрів для відкриття вірусів; праці засновника епідеміології Д. К. Заболотного, який розробив теорії інфекційних захворювань та імунітету, вперше застосував хімічні вакцини; роботи автора першого українського підручника з мікробіології В. Л. Омелянського, у яких було вивчено роль мікроорганізмів у кругообігу нітрогену в природі та в біодеградації гірських порід; наукову

діяльність визначного мікробіолога С. М. Виноградського, який досліджував процеси хемосинтезу, пов'язані з типом живлення сірко-, нітрифікувальних і залізобактерій, що має велике значення в утворенні залізних руд морського походження, в утриманні азоту, сірки в ґрунті, в очищенні стічних вод тощо (рис. 51-54).



Рис. 51. Мікробіолог, фізіолог рослин, засновник вірусології Дмитро Йосипович Іванівський



Рис. 52. Мікробіолог, епідеміолог Данило Кирилович Заболотний



Рис. 53. Мікробіолог Василь Леонідович Омелянський



Рис. 54. Мікробіолог, еколог та ґрунтознавець Сергій Миколайович Виноградський

І сьогодні успішно працюють у сфері біотехнологій представники української науки – академіки В. С. Підгорський, В. В. Моргун, В. П. Ширококов, Я. Б. Блюм, А. В. Єльська та ін. (рис. 55-59).



Рис. 55. Вчений-мікробіолог, спеціаліст у галузі мікробної біотехнології
Валентин Степанович Підгорський



Рис. 56. Науковець у галузі генетики та селекції рослин
Володимир Васильович Моргун



Рис. 57. Мікробіолог і вірусолог
Володимир Павлович Широбоков



Рис. 58. Вчений у галузі клітинної біології, геноміки та біотехнології рослин
Ярослав Борисович Блюм



Рис. 59. Вчений у галузі молекулярної біології та біосенсорики
Ганна Валентинівна Єльська

Біотехнологія отримала можливість відтворювати необхідні продукти в необмежених кількостях, використовуючи нові технології, що дозволяють переносити гени в мікробні клітини-продуценти або в організм ссавців (трансгенні тварини), синтезувати пептиди, створювати штучні вакцини – це основні біотехнологічні процеси, що реалізуються на рівні клітини або за

участю окремих клітинних структур. У промисловому масштабі подібна біотехнологія є біоіндустрією.

Наприклад, за оцінками *IBISWorld*, у 2020 р. вся біотехнологічна промисловість США налічувала приблизно 2200 компаній, 288 тис. співробітників та 108 млрд дол. річного доходу. Мільйони американців – і значно більше людей у всьому світі – отримали користь від доступу до продуктів рДНК. Рекомбінантні терапевтичні засоби призвели до більш безпечних та ефективних недоступних раніше методів лікування різних захворювань, включаючи діабет, дефіцит гормону росту, лейкемію, колоректальний рак, рак нирок та яєчників, а також такі спадкові захворювання, як муковісцидоз, синдром набутого імунodefіциту (СНІД), гепатит В, гепатит С та розсіяний склероз.

Розмір ринку біотехнологічної промисловості в цілому та рекомбінантних препаратів, зокрема, служать корисними індикаторами ринкового попиту та цінності таких методів лікування. Наприклад, станом на 2018 р. близько 8,2 млн американців хворіли на діабет. Багато хто з них користувався одним або декількома препаратами синтетичного інсуліну. У Північній Америці обсяг ринку людського інсуліну в 2018 р. становив 10,4 млрд дол., витрати на лікування раку – 150,8 млрд дол. Сучасні препарати на основі рДНК та білкові терапевтичні засоби, що використовуються у лікуванні раку, дозволяють покращити показники ремісії та знизити смертність, спричинену цим захворюванням.

Хоча, звісно, є певні побоювання неконтрольованого застосування досягнень молекулярної біотехнології на шкоду людині. Але ці проблеми обговорюються на міжнародних конференціях, створюються експертні комісії, у деяких країнах окремі питання біотехнології включаються до законодавчої бази. Занепокоєння громадськості з приводу створення різних організмів або продуктів методами генної інженерії призвело до розробки суворих правил, що регулюють дослідження в галузі рекомбінантних ДНК, та затвердження вимог, яким мають задовольняти біотехнологічні продукти, що надходять на ринок.

Від результатів молекулярної біотехнології людство має надію про можливість точної діагностики, профілактики та лікування безлічі інфекційних та генетичних захворювань; значне підвищення врожайності сільськогосподарських культур шляхом створення рослин, стійких до шкідників, грибкових та вірусних інфекцій та шкідливих впливів навколишнього середовища; створення мікроорганізмів, які продукують різні хімічні сполуки, антибіотики, полімери, амінокислоти, ферменти; створення порід сільськогосподарських тварин з покращеними успадкованими ознаками; переробки відходів, що забруднюють довкілля.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте місце та роль біотехнології як науки, її зв'язок з іншими науками.
2. Кого серед учених-дослідників можемо вважати засновниками біотехнології?
3. Які науки сформували теоретичне підґрунтя біотехнології?
4. Які основні періоди можна виділити у розвитку біотехнології?
5. Охарактеризуйте допастерівський етап у розвитку науки.
6. У чому полягає роль Пастера в розвитку прикладної мікробіології?
7. Які основні відкриття та розробки післяпастерівської ери у біотехнології?
8. Яке значення ери антибіотиків у розвитку та становленні біотехнології?
9. З іменами яких учених пов'язують відкриття антибіотиків?
10. Коли було започатковано промислове виробництво антибіотиків?
11. Перерахуйте основні відкриття «Ери керованого біосинтезу».
12. Коли і ким уперше було синтезовано молекулу ДНК?
13. На який період припадає виникнення сучасної біотехнології?
14. Якими є основні досягнення біотехнології на сучасному етапі?
15. Який внесок зробили українські учені в розвиток біотехнології?
16. Охарактеризуйте перспективи розвитку біотехнології в даний час?

2. ПРЕДМЕТ, МЕТОДИ, ЗАВДАННЯ ТА НАПРЯМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Біотехнологія (від грец. *bios* – життя, *techne* – мистецтво, майстерність та *logos* – слово, учення) являє собою наукову галузь, що досліджує можливості використання живих організмів та біологічних процесів у промисловому виробництві. Біотехнологія – наука про способи створення біологічно активних речовин на основі живих організмів (продуцентів) і використанні біологічних об'єктів та біологічних процесів у техніці і промисловому виробництві.

Біотехнологія належить до міждисциплінарних галузей. Вона виникла на основі біологічних, хімічних і технічних наук. Увібравши результати досліджень вищеназваних наук, біотехнологія стала символом розвитку суспільства.

За сучасним визначенням, «біотехнологія» – це сукупність промислових методів, які використовують живі організми, клітини, тканини, продукти їх метаболізму та біологічні процеси для виробництва цінних для народного господарства продуктів.

Біотехнологію відносять до пріоритетних наук, де можна прогнозувати більш швидкі та важливі досягнення для соціально-економічного прогресу суспільства. Це унікальна наука тому, що вона використовує саме живі організми та біологічні процеси, які пов'язані з практичними інтересами людини.

Біотехнологічні розробки забезпечують вагомий внесок у вирішення комплексних проблем у різних галузях народного господарства, охорони здоров'я, науки.

У біотехнології використовуються як *загальні, так і специфічні методи*.

До *специфічних* належать: глибинне культивування біооб'єктів у періодичному, напівбезперервному або безперервному режимах; вирощування клітин рослинних та тваринних тканин в особливих умовах. Наприклад, вирощування бактерій та грибів у спеціальних ферментерах для отримання

антибіотиків, ферментів, органічних кислот, деяких вітамінів; вирощування клітин людини для отримання білка інтерферону.

Інші методи, що використовуються в біотехнології, є *загальними* з методами мікробіології, біохімії, біоінженерії, органічної хімії та ін.

Особливо слід виділити методи клітинної та генної інженерії, коли в експериментальних умовах вдається створювати клітини зі свідомо відомими властивостями. Ці методи стали основою сучасної біотехнології.

Біотехнологія як наука може розглядатися у двох часових та сутнісних вимірах: традиційному, класичному та сучасному. У традиційному, класичному сенсі біотехнологію можна визначити як науку про методи та технології виробництва, транспортування, зберігання та переробки сільськогосподарської та іншої продукції з використанням звичайних (природних та селекційних) рослин, тварин та мікроорганізмів, у природних та штучних умовах.

Найновіша біотехнологія (біоінженерія) – це наука про генно-інженерні та клітинні методи та технології створення та використання генетично трансформованих (модифікованих) рослин, тварин та мікроорганізмів з метою інтенсифікації виробництва та отримання нових видів продуктів різного призначення.

Вищим досягненням новітньої біотехнології є генетична трансформація, перенесення чужорідних (природних чи штучно створених) донорських генів у клітини-реципієнти рослин, тварин та мікроорганізмів, отримання трансгенних організмів із новими чи посиленими властивостями та ознаками.

Мета біотехнологічних досліджень – підвищення ефективності виробництва та пошук біологічних систем, за допомогою яких можна отримати цільовий продукт. Тобто центральною проблемою біотехнології залишається інтенсифікація біологічних процесів як за рахунок підвищення потенціалу біологічних агентів та їх систем, так і за рахунок удосконалення обладнання, застосування біокаталізаторів (іммобілізованих ферментів та клітин) у медицині, харчовій промисловості, сільському господарстві, охороні та відновленні навколишнього середовища.

Біотехнологія дає можливість відтворювати необхідні продукти в необмежених кількостях, застосовуючи нові технології, що дозволяють переносити гени в клітини-продуценти або цілий організм (трансгенні тварини та рослини), синтезувати пептиди, створювати штучні вакцини.

Першочерговими **завданнями**, що стоять перед біотехнологією, є дослідження в галузі розробки та одержання:

- нових біологічно активних речовин та лікарських препаратів для медицини (інтерферонів, інсуліну, гормону росту людини, моноклональних антитіл і т. ін.), що підвищують якість життя людей і дозволяють здійснювати ранню діагностику та лікування тяжких захворювань — серцево-судинних, злоякісних, спадкових, інфекційних, у тому числі вірусних;
- мікробіологічних засобів захисту рослин від хвороб та шкідників;
- бактеріальних добрив та регуляторів росту рослин, підвищення родючості ґрунтів;
- нових, із заданими властивостями, високопродуктивних та стійких до несприятливих факторів зовнішнього середовища сортів та гібридів с.-г. рослин, отриманих методами генетичної та клітинної інженерії;
- цінних кормових добавок та біологічно активних речовин (кормового білка, амінокислот, ферментів, вітамінів, ветеринарних препаратів та ін.), необхідних для підвищення продуктивності тваринництва;
- нових методів біоінженерії для ефективної профілактики, діагностики та терапії основних хвороб сільськогосподарських тварин;
- нових технологій отримання господарсько-цінних продуктів для використання у харчовій, хімічній, мікробіологічній та інших галузях промисловості;
- технологій глибокої та ефективної переробки сільськогосподарських, промислових та побутових відходів;
- використання стічних вод та газоповітряних викидів для отримання біогазу та високоякісних добрив;
- виробництва дешевих та ефективних енергоносіїв (біопалива).

Основні напрямки розвитку біотехнології

Останнім часом на базі наукових галузей, з якими пов'язана біотехнологія, було сформовано цілий ряд окремих розвинених напрямів, розрахованих на більш конкретні результати наукових досліджень (рис. 60).

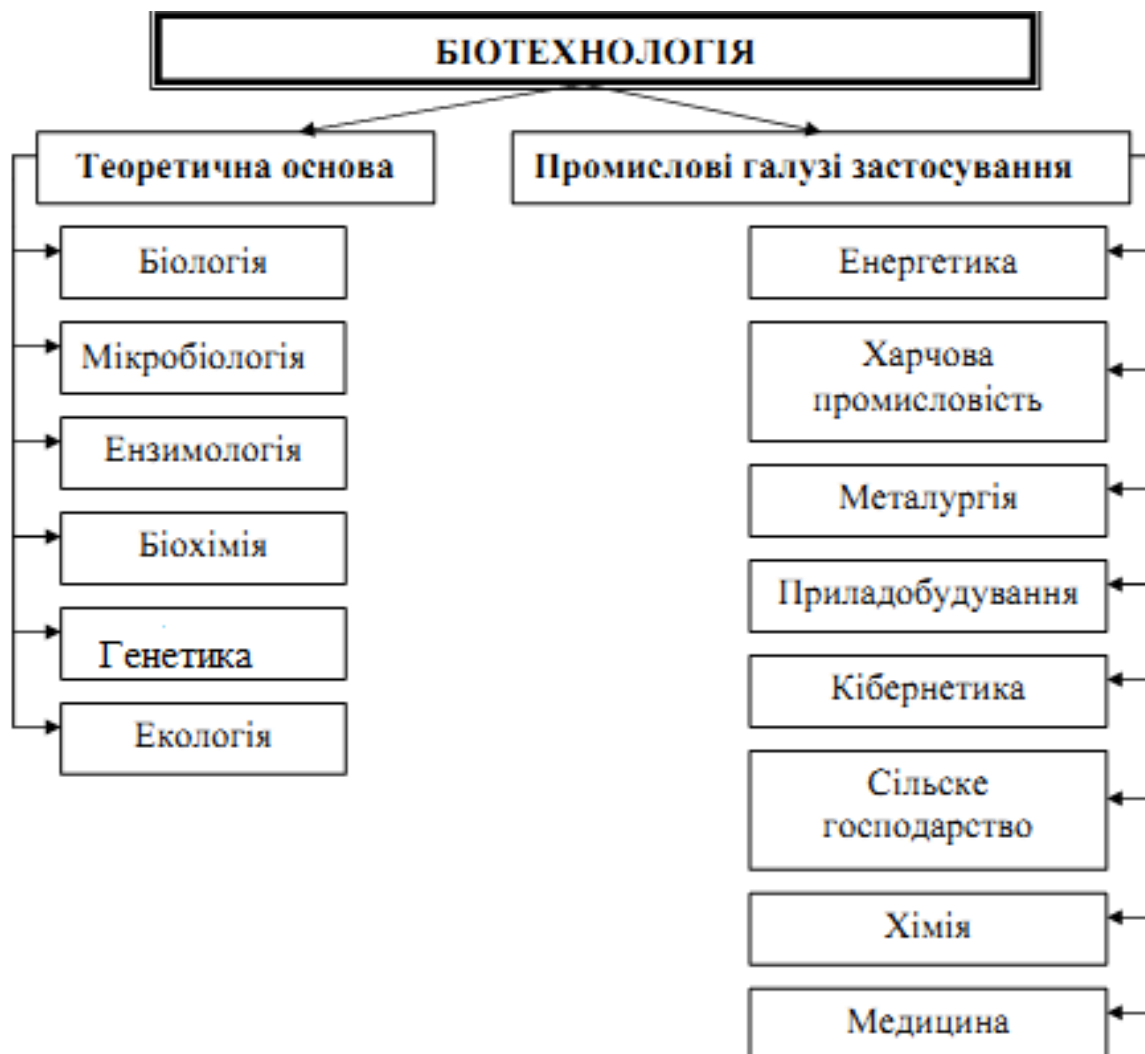


Рис. 60. Наукові галузі та напрями застосування біотехнології

Створені на основі теоретичного матеріалу багатьох наук біотехнологічні розробки позитивно впливають на подальший розвиток різних промислових галузей.

Біотехнологія здатна зробити вагомий внесок у комплексне вирішення проблем, що виникають у різних галузях промисловості й сільського господарства, охорони здоров'я та науки. Упровадження в господарську практику ефективних біотехнологічних процесів на основі екологічно

безпечних маловідходних технологій зазвичай дає високі економічні результати.

В наш час, загалом, біотехнологія розвивається за такими основними напрямками:

- біотехнологія та медицина (включаючи отримання лікарських препаратів, засобів діагностики та реактивів);
- біотехнологія харчових продуктів;
- біотехнологія у сільському господарстві (отримання засобів захисту рослин, стимуляторів урожайності, виведення високопродуктивних порід у тваринництві, ефективна вакцинація);
- біосинтез препаратів та продуктів для промислового та побутового використання;
- біотехнологія захисту та відновлення навколишнього середовища (вилуговування та концентрування металів, деградація токсичних відходів та збільшення видобутку викопної сировини);
- біоенергетика;
- біогеотехнологія.

Розширення сфер застосування біотехнології суттєво впливає на підвищення рівня життя людини. Найшвидше запровадження біотехнологічних процесів дає результати в медицині, але, на думку багатьох фахівців, основний економічний ефект буде отримано у сільському господарстві та хімічній промисловості. Мікрочипи, клітинні культури, моноклональні антитіла та білкова інженерія – це лише невелика частина сучасних біотехнологічних прийомів, що використовуються на різних стадіях розробки багатьох видів продукції.

Галузі застосування біотехнології представлені в таблиці 1.

У наш час розроблені способи отримання понад 1000 найменувань продуктів біотехнологічними способами.

Всі галузі, в яких може бути використана біотехнологія, перерахувати практично неможливо.

Галузі використання біотехнології

Галузь застосування	Приклади
Медицина, охорона здоров'я, фармакологія	Антибіотики, ферменти, амінокислоти, нуклеотиди, кровозамінники, алкалоїди, імунорегулятори, протиракові і противірусні препарати, нові вакцини, гормональні препарати (інсулін, гормон росту та ін.), моноклональні антитіла для діагностики і лікування, проби ДНК для діагностики і генотерапії, продукти дієтичного харчування
Отримання хімічних речовин	Етилен, пропілен, бутилен, окислені вуглеводні, органічні кислоти, терпени, феноли, акрилати, полімери, ферменти, продукти тонкого органічного синтезу, полісахариди
Тваринництво	Удосконалення кормових раціонів (виробництво білка, амінокислот, вітамінів, кормових антибіотиків, ферментів, заквасок для силосування), ветеринарних препаратів (антибіотики, вакцини і т. д.), гормонів росту, створення високопродуктивних порід, пересадка запліднених клітин, ембріонів, маніпуляції з чужорідними генами
Рослинництво	Біораціональні пестициди, бактеріальні добрива, гіббереліни, виробництво безвірусного садивного матеріалу, створення високопродуктивних гібридів, введення генів стійкості до хвороб, посухи, заморозків, засоленості ґрунтів
Рибне господарство	Кормовий білок, ферменти, антибіотики, створення генетично модифікованих порід з посиленням ростом, стійких до захворювань
Харчова промисловість	Білок, амінокислоти, замінники цукру (аспартам, глюкозофруктовий сироп), полісахариди, органічні кислоти, нуклеотиди, ліпіди, переробка харчових продуктів
Енергетика і видобуток корисних копалин	Спирти, біогаз, жирні кислоти, аліфатичні вуглеводні, водень, уран, інтенсифікація видобутку нафти, газу, вугілля, штучний фотосинтез, біометалургія, видобуток сірки
Важка промисловість	Поліпшення технічних характеристик каучуку, бетонних, цементних, гіпсових розчинів, моторних палив; антикорозійні присадки, мастила для прокату чорних і кольорових металів, технічний білок і ліпіди
Легка промисловість	Поліпшення технології переробки шкір, виробництво текстильної сировини, вовни, паперу, парфюмерно-косметичних виробів, отримання біополімерів, штучних шкіри та вовни і т. ін.
Біоелектроніка	Біосенсиори, біочипи
Космонавтика	Створення замкнутих систем життєзабезпечення в космосі

Екологія	Утилізація сільськогосподарських, промислових і побутових відходів, біодеградація важкорозкладних і токсичних речовин (пестицидів, гербіцидів, нафти), створення замкнутих технологічних циклів, виробництво нешкідливих пестицидів, легкоруйнівних полімерів
Наукові дослідження	Генно-інженерні та молекулярно-біологічні дослідження (ферменти рестрикції ДНК, ДНК- та РНК-полімерази, ДНК- та РНК-лігази, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди і т. ін.). Захист інтелектуальної власності.

Розуміння молекулярних основ біологічних процесів дає можливість значно скоротити витрати на розробку та підготовку виробництва певного продукту, а також підвищити його якість. Наприклад, сільськогосподарські біотехнологічні компанії, що створюють стійкі до комах сорти рослин, можуть вимірювати кількість захисного білка в клітинній культурі та не витрачати ресурси на вирощування самих рослин; фармакологічні компанії можуть використовувати клітинні культури та мікрочипи для перевірки безпеки та ефективності препаратів, а також для виявлення можливих побічних ефектів на ранніх стадіях одержання лікарських засобів.

Генетично модифіковані тварини, в організмах яких відбуваються процеси, що відображають фізіологію різних людських захворювань, забезпечують вчених цілком адекватними моделями для перевірки дії тієї чи іншої речовини на організм. Це також дозволяє компаніям виявляти найбільш безпечні та ефективні препарати на ранніх стадіях розробки.

Застосування біотехнологічних прийомів може підвищити прибутковість виробництва за рахунок скорочення процесу отримання продукту. Так, невеликий фрагмент ДНК, який використовується вченими дослідницької лабораторії для встановлення локалізації гена в геномі паразита рослини, згодом може виступити як компонент діагностичного набору, що виявляє наявність даного патогену, а моноклональні антитіла, синтезовані для ідентифікації терапевтичного білкового агента, надалі можна використовувати для виділення та очищення сполуки, що розшукується.

Все це свідчить про важливе значення біотехнології та широкі можливості її застосування в різних галузях народного господарства.

Найпріоритетніші напрями біотехнології:

1. Підвищення безпеки біотехнологічного виробництва для людини та навколишнього середовища. Потрібно створення таких робочих систем, які функціонуватимуть лише за строго контрольованих умов.

2. Зниження частки відходів виробничої діяльності. Відходами виробництва називаються його побічні продукти, які можуть використовуватися людиною чи іншими компонентами біосфери і застосування яких нерентабельне чи пов'язане з якимось ризиком. Такі відходи накопичуються у межах виробничих приміщень (територій) чи викидаються у довкілля.

3. Зниження енергетичних витрат на виробництво продукту, тобто використання енергозберігаючих технологій. Принципове вирішення цієї проблеми можливе насамперед за рахунок використання поновлюваних джерел енергії.

4. Створення багатокомпонентних рослинних систем. Якість сільськогосподарської продукції значно погіршується при застосуванні мінеральних добрив та отрутохімікатів, які завдають колосальної шкоди природним екосистемам. Подолати негативні наслідки хімізації сільськогосподарського виробництва можна у різний спосіб. Насамперед необхідно відмовитися від монокультур, тобто від використання обмеженого набору біотипів (сортів, порід, штамів). Недоліки монокультури виявили ще наприкінці XIX століття; вони очевидні. По-перше, у монокультурі зростають конкурентні відносини між організмами, що вирощуються; водночас монокультура надає лише односторонній вплив на конкуруючі організми (бур'яни). По-друге, відбувається вибіркове винесення елементів мінерального живлення, що веде до деградації ґрунтів. І нарешті, монокультура нестійка до патогенів та шкідників. Тож протягом XX ст. вона підтримувалася винятково за рахунок високої інтенсивності виробництва. Вочевидь, використання

монокультур інтенсивних сортів (порід, штамів) спрощує розробку технології виробництва. Наприклад, за допомогою високих технологій створені сорти рослин, стійкі до певного пестициду, який при вирощуванні саме цих сортів можна застосовувати у високих дозах. Однак, у цьому випадку виникає питання безпеки такої робочої системи для людини та довкілля. З іншого боку, рано чи пізно з'являться раси патогенів (шкідників), стійких до цього пестициду.

5. Розробка нових препаратів для медицини. В даний час ведуться активні дослідження в галузі медицини: створюються різні типи нових препаратів – цільові та індивідуальні.

До основних *розділів сучасної біотехнології* належить мікробна біотехнологія (промислова мікробіологія), інженерна ензимологія, генна інженерія та клітинна інженерія.

Розділ *мікробної біотехнології* є основним, бере свій початок із середини ХХ ст. і пов'язаний з ім'ям Луї Пастера, який довів, що представники мікросвіту розрізняються не тільки на вигляд, але і особливостям обміну речовин. Це стало основою розвитку мікробної біотехнології, що вивчає поширені у природі мікроорганізми з погляду використання в народному господарстві. Розвиток цього розділу біотехнології тісно пов'язаний із процесами виробництва різних харчових продуктів (вино, хліб, молочні продукти тощо). Технічна, чи промислова, мікробіологія вивчає мікроорганізми, що використовуються у виробничих процесах для отримання різних практично важливих речовин: харчових продуктів, етанолу, гліцерину, ацетону, органічних кислот та ін.

Інженерна ензимологія – наука, яка розробляє методи створення високоефективних ферментів для промислового використання. Ферменти є універсальними білками-каталізаторами, за допомогою яких здійснюються всі процеси живої клітини.

Інженерна ензимологія застосовує на практиці теоретичні основи таких наук, як біохімія, фізична хімія та ін., що вивчають структуру, властивості, функції та механізм дії ферментів. Зусиллями інженерної ензимології

вирішується низка важливих народногосподарських завдань: створення нових продуктів та поліпшення їхньої якості, використання нетрадиційних видів сировини, розробка безвідходних технологій. Дуже перспективним є застосування іммобілізованих (нерухомо закріплених на синтетичних полімерах, полісахаридах та інших носіях-матрицях) ферментів. Ферменти широко використовуються у харчових технологіях: беруть участь у формуванні смаку, аромату, консистенції продукту, сприяючи інтенсифікації та певній спрямованості технологічних процесів, модифікації компонентів харчових систем, стабілізації при зберіганні, забезпеченню біологічної безпеки.

Мета *генної інженерії*, як розділу біотехнології, полягає в спрямованому створенні організмів із заданими властивостями на підставі зміни (рекомбінації) їх генотипу. Основний споживач результатів цього розділу – охорона здоров'я. Це створення нових вакцин, одержання таких препаратів, як інтерферон та інсулін. Використовується генна інженерія у виробництві харчових продуктів, в основному за рахунок створення трансгенних рослин і тварин. За допомогою генної інженерії створено породи тварин, стійких до вірусних захворювань, а також тварин з корисними для людини ознаками. Успішний розвиток методів генної інженерії відкриває широкі можливості для створення нових цінних сортів сільськогосподарських рослин, стійких до різних захворювань та несприятливих факторів зовнішнього середовища. За допомогою генної інженерії можна збільшити вміст корисних речовин та вітамінів, надати рослинам лікувальних властивостей.

Об'єктом дослідження *клітинної інженерії* є культури клітин (вищих тварин чи рослинних організмів), отримані культивуванням у різних середовищах окремо виділених із організмів клітин, чи мікроорганізми, отримані методом генної інженерії.

Метод клітинної інженерії дозволяє значно прискорити селекційний процес під час виведення нових сортів хлібних злаків та інших цінних сільськогосподарських культур; одержувати гібриди, які не можуть бути

створені звичайним шляхом схрещування через бар'єр міжвидової несумісності.

Великих успіхів досягнуто клітинною інженерією в області імунології. Розроблено методи отримання особливих гібридних клітин, що виробляють індивідуальні або моноклональні антитіла. Це дозволило створити високочутливі засоби діагностики низки важких захворювань людини, тварин та рослин.

Основними напрямками біотехнології є медичний (фармацевтичний, імунний); сільськогосподарський (ветеринарія, рослинництво); промисловий (харчова, легка, хімічна промисловість, енергетика); екологічний (очищення стічних вод, переробка відходів та ін.).

Біотехнологічні основи високих технологій

Існує декілька типів біотехнологій: технології низького та високого рівня, екстенсивні та інтенсивні, безвідходні, безпечні, ресурсо- та енергозберігаючі, трудомісткі, наукомісткі, проривні. Сучасні біотехнології різних напрямів та різних рівнів нерозривно пов'язані між собою в єдину науково-виробничу систему.

Технології низького рівня – це технології традиційні, певною мірою застарілі. До них належать технології біологічної очистки стічних вод, отримання біопалива, деякі види мікробіологічного синтезу. Вони характеризуються низькою наукоємністю, тобто базуються на використанні робочих систем, отриманих методами традиційної селекції. Такі технології широко використовуються у традиційному сільськогосподарському виробництві, зокрема у рослинництві. Технології низького рівня з мінімальними витратами матеріальних ресурсів, енергії та людської праці називають *екстенсивними* (наприклад, підвищення родючості ґрунтів шляхом вивезення на поля гною та торфу, заорювання пожнивних залишків та/або сидератів – спеціально вирощених бобових рослин).

Найефективнішими є *інтенсивні технології низького рівня*, і в першу чергу, технології впровадження нових сортів рослин, порід тварин і штамів мікроорганізмів. Якість сортів (порід, штамів) визначається їх підвищеною продуктивністю при збільшенні витрат людської праці, сировинних та енергетичних ресурсів, дедалі активнішому впровадженні засобів механізації, автоматизації та хімізації.

Проривні, принципово нові технології можуть бути небезпечними для людини та навколишнього середовища, оскільки наслідки їх застосування непередбачувані. Впровадження проривних технологій, як правило, супроводжується появою нових видів продуктів та нових видів відходів. Будь-який новий харчовий чи промисловий продукт повинен проходити всебічну перевірку на алергенність, канцерогенність та мутагенність, на сумісність з іншими продуктами, на безпеку для довкілля тощо.

На основі проривних технологій створюються *біотехнології високого рівня* (або високі біотехнології). На противагу технологіям низького рівня високі біотехнології характеризуються високою наукоємністю, тобто використанням систем, отриманих найсучаснішими методами генетики, мікробіології, цитології, екології, молекулярної біології. Високі біотехнології також поділяють на екстенсивні та інтенсивні.

Екстенсивні високі біотехнології характеризуються відносно низькими витратами сировинних та енергетичних ресурсів. До технологій подібного типу відноситься більшість мікробіологічних виробництв, технологічних процесів з підготовки та переробки промислової сировини, а також частина виробництва на основі тканинно-клітинних культур. Ці технології частково інтенсифікуються з допомогою комп'ютеризації виробництва.

Інтенсивні високі біотехнології (на противагу екстенсивним) реалізуються із залученням фахівців найвищої кваліфікації, з використанням унікального обладнання та найсучасніших матеріалів. Ці біотехнології застосовують у медицині, а також для створення організмів із заздалегідь заданими властивостями. Слід зазначити, що інтенсифікація високих

технологій, на відміну інтенсифікації технологій низького рівня, полягає у підвищенні якості ресурсного та інформаційного забезпечення.

Технології різних рівнів нерозривно пов'язані між собою: з одного боку, високі технології базуються на технологіях низького рівня, для їх здійснення потрібний певний ресурсний, енергетичний та інформаційний фундамент, з іншого – досягнення високих технологій використовуються на нижчих рівнях біотехнологічних виробництв.

Високі технології є найбільшим досягненням людського розуму. Однак, за низкою параметрів вони не тільки не перевершують технології низького рівня, але навіть поступаються їм. Зокрема, високі технології вимагають все більших вкладень усіх видів ресурсів, вони не вирішують проблеми отримання екологічно чистої продукції, а саме біотехнологічне виробництво може становити загрозу для людини та довкілля.

Кольорова класифікація біотехнологій

Оскільки біотехнологія використовується в різних галузях промисловості і зачіпає багато сфер життя людини, загальнопоширеною та зручною у використанні є міжнародна класифікація біотехнологій за кольорами відповідно до об'єктів діяльності:

- **«червона» біотехнологія** – (медична біотехнологія, біофармацевтика), пов'язана із забезпеченням здоров'я людини та потенційною корекцією її геному, а також із виробництвом біофармацевтичних препаратів (протеїнів, ферментів, антитіл). Виробництво біотехнологічними методами діагностиків та лікарських препаратів з використанням технологій клітинної та генетичної інженерії.

Створені за допомогою методів генетичної інженерії генетично-модифіковані організми дозволяють отримати за допомогою *трансгенних тварин*: антитромбін III (проти генетичної стійкості до гепарину; продукують трансгенні кози та китайські хом'ячки); рекомбінантні фактори згортання крові (для лікування гемофілії; продукують вівці); α I-антитрипсин (лікування

емфіземи та фіброзу легень; продукують вівці та кози); лактоферин (компонент функціонального харчування, антимікробна дія; продукують кози).

За допомогою *трансгенних мікроорганізмів* одержують: інсулін, інтерферони, гормон росту.

Застосовують *трансгенні рослини*: томати з підвищеним вмістом антоціанів (розглядаються як перспективний засіб для профілактики ракових, серцево-судинних захворювань, діабету); салат-латук, в якому експресується поверхневий білок-антиген вірусу гепатиту В, так звана «істівна вакцина».

Клітинна терапія – комплекс терапевтичних підходів, що базується на трансплантації клітин у хворий організм з метою його лікування. Наприклад, терапія стовбуровими клітинами.

Генна терапія – лікування спадкових та набутих захворювань шляхом введення в соматичні клітини пацієнта генетичних елементів для відновлення або пригнічення функцій генів та надання клітинам заданих властивостей.

- **«зелена» біотехнологія** – використання біотехнологічних процесів та методів у лісовій, целюлозно-паперовій промисловості, а також у сільському господарстві та рибництві (сільськогосподарська біотехнологія, агробіотехнологія, також іноді включає екологічну біотехнологію, біоенергетику), спрямована на розробку та створення генетично модифікованих (ГМ) рослин, стійких до біотичних та абіотичних стресів, визначає сучасні методи ведення сільського та лісового господарства. Розробка біотехнологічних методів та препаратів для боротьби зі шкідниками та збудниками хвороб культурних рослин та свійських тварин, створення біодобрих, підвищення продуктивності рослин із використанням методів генетичної інженерії.

Зелена біотехнологія застосовується у сільському господарстві та продовольстві, але також інвестує в інші галузі. За допомогою зелених технологій дослідники сподіваються вирішити проблеми сільського господарства, забезпечуючи виробництво продуктів харчування, енергії та біоматеріалів, зберігаючи при цьому довкілля.

Зелена біотехнологія переважно спирається на знання, пов'язані з функціонуванням геному рослин. Сьогодні методи генної інженерії дозволяють переносити певні гени від одного виду рослин до іншого з метою цілеспрямовано підвищити стійкість рослин як до хвороб та шкідників, так і до гербіцидів.

У випадку біотехнології термін «зелений» не обов'язково означає екологічно чисту біотехнологію.

- **«біла» біотехнологія** – (промислова біотехнологія, біоінженерія, також іноді включає молекулярну та клітинну промислову біотехнологію), поєднує виробництво біопалива, біотехнології у хімічній та нафтопереробній промисловості. До неї входять виробництво продуктів, що раніше вироблялися хімічною промисловістю, індустриальне використання біотехнологічних процесів для виробництва спирту, вітамінів, амінокислот та ін. Вона об'єднує виробництво біопалива, біотехнології у харчовій, хімічній та нафтопереробній промисловості.

«Біла» біотехнологія включає заміщення традиційних промислових процесів на біокаталіз для отримання цінних продуктів, таких як фармацевтичні препарати, косметика, реактиви для так званого тонкого синтезу та молекулярної біології, харчові добавки. Передбачає створення біодеградованих (біорозкладних) полімерів і полімерів зі специфічними властивостями («розумні полімери» – синтетичні полімери, які подібно до живих систем здатні реагувати на зміну умов навколишнього середовища: світло, рН, температуру, іонну силу, електричні або магнітні поля; можуть використовуватися, наприклад, для цільової доставки лікарських засобів). Забезпечує виробництво палива з відновлюваних ресурсів або використання фотосинтезуючих мікроорганізмів (включаючи ГМО). Включає процеси одержання промислово корисних ферментів та мікроорганізмів.

- **«сіра» біотехнологія** – (класична ферментація і технології біопроцесів, технічна, промислова біотехнологія, також включає екологічну біотехнологію, пов'язана з природоохоронною діяльністю). «Сіра» біотехнологія займається

розробкою технологій та препаратів для захисту навколишнього середовища з використанням біологічних агентів та біологічних процесів. Включає процеси біоремедіації ґрунтів (процес використання бактерій та рослин для очищення ґрунтів від небезпечних та потенційно небезпечних речовин), очищення стоків та газоповітряних викидів, утилізації промислових відходів, деградації токсикантів.

- **«синя» біотехнологія** (аквабіотехнологія) – пов’язана з використанням морських організмів та сировинних ресурсів. «Синя» (морська) біотехнологія переважно орієнтована на ефективне застосування ресурсів Світового океану, морської біоти для отримання харчових, технічних, біологічно активних та лікарських речовин.

Морська біотехнологія – це вивчення та застосування молекулярних біотехнологічних методів стосовно морських (водних) організмів. Даний напрямок включає використання отриманих організмів та їх частин з метою збереження морських біологічних ресурсів, контролю поширення шкідливих організмів, створення палив, нових видів ліків та інгредієнтів для харчової промисловості.

Однією з найперспективніших морських біотехнологій є виробництво біопалива третього покоління – з використанням примітивних, здатних до фотосинтезу організмів (водоростей), а саме їх властивостей уловлювання сонячної енергії для перетворення діоксиду вуглецю в паливо. Іншими перевагами палива, що отримується з використанням «синіх» технологій, є низька собівартість, висока продуктивність та можливість використовувати поверхню світового океану.

Соціально-економічний ефект від реалізації цілеспрямованих заходів щодо розвитку морської біотехнології полягає у розробці нових функціональних продуктів харчування з високою харчовою цінністю (БАР та БАД); підвищення економічної ефективності та конкурентоспроможності рибної промисловості; покращення екології в районах рибного промислу за

рахунок застосування технологій отримання цінних препаратів із відходів переробки рибної промисловості.

- **«жовта» біотехнологія** (харчова біотехнологія) дозволила замінити традиційні хімічні методи виробництва харчових добавок мікробним синтезом, за допомогою якого отримують ароматизатори й посилювачі смаку (глутамат), замінники вуглеводів (сахарози), глюкозо-фруктозні сиропи, ферментні препарати для підвищення поживної цінності харчових продуктів, барвники, органічні кислоти (молочну, лимонну, яблучну, глюконову, ітаконову, фумарову), амінокислоти (лізин, аспарагінову кислоту), харчові консерванти (бензойну кислоту) та загусники, вітаміни тощо. Сьогодні тривають дослідження з використання біомаси одноклітинних організмів (БОО), мета яких – виготовлення харчових добавок (зокрема білка одноклітинних). Досить успішно розвивається виробництво грибних білків (мікро- та макроміцетів), білків рослинних організмів (водоростей, соєвих білків та ін.).

Найбільш успішними видаються два взаємопов'язані напрямки розвитку цієї галузі біотехнології: по-перше, на додаток до традиційних способів виробництва їжі можуть прийти біореактори, в яких зростатимуть клітини тварин і рослин або мікроорганізми. Справа в тому, що вихід продукції при використанні ферментерів або біореакторів може бути істотно вищим, ніж у сільському господарстві: процеси, що йдуть у них, набагато більш інтенсивні. Розвитку цього напрямку сприяє і все зростаюча конкуренція за існуючі земельні ресурси. По-друге, ця альтернативна традиційному сільському господарству технологія ставатиме все більш продуктивною завдяки використанню методів генетичної інженерії, які дозволяють отримати покращені лінії клітин та штами мікроорганізмів.

- **«коричнева» біотехнологія** (біотехнологія пустель та посушливих зон). Проведення фундаментальних та прикладних досліджень у галузі вивчення систем регуляції та управління адаптаційними процесами пустельних рослин, а також впливу зовнішніх факторів на процеси для розробки методів експрес-діагностики стійкості рослин.

Проведення наукових досліджень щодо вирощування пустельних посухота солестійких видів рослин, оптимізація умов культивування рослин *in vitro*. Прискорене розмноження перспективних видів культур стійких до посухи. Збереження цінного генетичного матеріалу *in vitro*. Одержання нового генетичного матеріалу на основі біологічних та хімічних методів.

Багато традиційних сільськогосподарських культур потребують великої кількості води. Протягом багатьох років ведеться пошук «нових» сортів цих культур, які краще адаптуються до умов пустелі. Розглядаються два різні підходи до цього пошуку. Один полягає у використанні унікальних властивостей місцевих рослин. Інший – у селекції чи генній інженерії традиційних культур для підвищення врожайності, стійкості до посухи чи хвороб. Третій підхід до використання рослин посушливих регіонів пов'язаний з тим, що вони виробляють унікальні хімічні сполуки, які дозволяють їм протистояти спеці, посусі та винищуванню. Сьогодні існують програми з виявлення та визначення характеристик таких сполук, що генеруються рослинами посушливих регіонів та відповідними мікробами, для того, щоб оцінити можливість їх використання для лікування раку та ВІЛ/СНІД.

- **«фіолетова» біотехнологія** (патенти, публікації, відкриття, права на інтелектуальну власність). Враховуючи потенціал розвитку біотехнології для довкілля та, зокрема, корисність цієї технології у сфері охорони здоров'я, боротьбі з епідеміями та епідеміологічними хворобами, у сфері боротьби з подоланням голоду у світі, патентна система повинна бути засобом для сприяння дослідженням та застосуванню таких процесів, відповідно до Рекомендацій ФАО (*Food and Agriculture Organization*, ФАО – організація ООН, основним завданням якої є боротьба з голодом).

У всьому світі налічується 1750 окремих генних банків, 130 з яких зберігають більше 10 000 зразків кожен, загальна кількість колекційних зразків, що зберігаються в генбанках світу досягла 7,4 мільйона. З яких 25-30% є оригінальними, інші ж являють собою дублетні (клоновані) зразки. Наприклад,

на сьогодні, в генбанках генетична різноманітність культури пшениці і рису представлена повністю.

- **«золота» біотехнологія** (нанобіотехнологія, біоінформатика).

Нанобіотехнологія – це розділ, присвячений вивченню впливу наночастинок на живі системи, а також розробці способів моделювання та практичного застосування біологічних наноструктур, наноявищ та нанопроцесів в експериментальній біології, медицині, екології, сільському господарстві та інших галузях економіки. Наноструктури – об’єкти, розміри яких перебувають у діапазоні 1-100 нм ($1 \text{ нм} = 1 \times 10^{-9} \text{ м}$). Напрями розвитку нанобіотехнологій полягають у моделюванні та відтворенні наноявищ та нанопроцесів біологічних систем у лабораторних та виробничих умовах; отриманні наночастинок та наноматеріалів за участю живих організмів; розробці методів та способів використання наноструктур та нанопроцесів для вторгнення в живий організм з метою його дослідження, діагностики стану та лікування (до наночасток можна приєднувати радіоактивні ізотопи, молекули лікарських засобів для діагностики та лікування ракових захворювань).

Біоінформатика – це галузь науки, що здійснює дослідження з біохімії, молекулярної біології та біотехнології за допомогою обчислювальної, комп’ютерної техніки. Біоінформатика – це шлях від гена до ліків чи біопрепарату через структуру макромолекули. Якщо є геном, його можна розмітити і знайти межі гена не за допомогою клонування окремих генів, а за допомогою певних комп’ютерних програм. Якщо є послідовність білка, можна перейти до просторової структури та функції. Якщо отримано нову послідовність від ДНК до білка, її можна порівняти з існуючими послідовностями в банках даних. Якщо існують гомологи – можна, з певним ступенем точності, передбачити структуру та функцію білка. Розроблено технологію поглибленого вивчення фактичного матеріалу, присвяченого раку та апоптозу (регульований процес програмованої клітинної загибелі) та створено автоматизований пошуковий інструмент (АПІ), який виконує рутинну роботу з аналізу великого масиву даних (публікацій). АПІ отримав назву

GeneWays. Пошукова система *GeneWays* не тільки шукає повні публікації, але й визначає взаємопов'язані ланцюжки з відомими з літератури співвідношеннями генів та білків, по суті, виявляючи нові дані та гіпотези у величезному масиві вже відомої інформації. Технологія текстової проходки дозволяє робити відкриття, які можна перевірити в лабораторіях. *GeneWays* включає різноманітні програмні модулі. Один з них шукає та завантажує публікації з Мережі, інший визначає, як вони пов'язані між собою, третій виявляє та виводить дані щодо генів та білків.

- **«чорна» біотехнологія** (біотероризм, біологічна зброя, біозлочини, протиурожайні дії). Можливість застосування біологічної зброї в терористичних цілях або в цілях ведення «прихованої біологічної війни» визначається унікальним поєднанням властивостей цього виду зброї, можливостями її застосування не лише проти людини, а й проти тварин та рослин, що становлять основу для одержання продуктів харчування людини.

Інтенсивний розвиток біотехнології, генетичної та клітинної інженерії протягом останніх десятиліть суттєво змінив погляди на можливість отримання нових видів біологічної зброї, що й зумовлює її особливу загрозу світовій стабільності, а може й існуванню людства. Стратегія використання біологічної зброї полягає в тому, що вона може бути застосована безпосередньо під час воєнних дій та терористами. Вона може бути використана як проти армії, так і цивільного населення.

Бактеріологічна зброя, заснована на застосуванні збудників особливо небезпечних інфекцій (чуми, сибірки, геморагічних лихоманок та ін.), була заборонена Конвенцією 1972 р. Учасниками її станом на липень 2020 р. стали 183 держави. Однак, Конвенція дозволяє здійснювати ефективний контроль тільки при проведенні робіт на оборонних або державних підприємствах, які фінансуються з державного бюджету, але не в комерційних структурах. Крім того, в ній не обумовлюється застосування біологічної зброї нового покоління (наприклад, генетичної).

Небезпека бактеріологічної війни існує й досі. В даний час можливе створення односпрямованої біологічної зброї, безпечної для агресора, наприклад, на основі «повільних» і «сплячих» вірусів з великими латентними періодами. Цілком імовірно використання модифікованих збудників широко поширених або особливо небезпечних інфекцій (утруднене впізнання, підвищена вірулентність, стійкість до антибіотиків тощо). На першому місці у списку потенційних агентів масового ураження стоїть віспа. Існують стратегічні запаси противіспених вакцин, антитіл та антивірусів, проте вони можуть виявитися недостатніми у разі епідемії.

Такий поділ біотехнології по кольорах є досить умовним, оскільки на практиці не завжди відображає специфіку її галузей. До того ж, існують біотехнологічні дослідження, що поєднують суміжні напрями. Класифікація, що використовується в різних країнах, також має свої особливості. Так, часто до «білої» біотехнології відносять лише промислову біотехнологію, яка використовує рекомбінантні продуценти, а класичні ферментаційні та інші біопроцеси – до «сірої» біотехнології. Тобто «сіра» та «біла» біотехнології не просто означають екологічну та промислову біотехнології відповідно, а робиться акцент на тому, що «біла» біотехнологія – це все, що базується на дослідженнях генів, а «сіра» – це все біотехнології, пов'язані з ферментами та класичними біопроцесами.

Іноді до «зеленої» біотехнології відносять екологічну біотехнологію та такі гілки біотехнології, як геомікробіологія, отримання біопалива, біодобрив. В галузі зеленої, сільськогосподарської біотехнології предметом діяльності може бути рослинництво, тваринництво, ветеринарія.

Відповідно до прийнятої класифікації біотехнологічних напрямів понад 60% світового виробництва належить до продукції «червоної» біотехнології (біофармацевтичні препарати та біомедицина), 12% – до «зеленої» (агрохарчова продукція), решта – біоматеріали промислового призначення («біла» біотехнологія).

Вплив біотехнології величезний, оскільки в галузі біологічних наук відзначається швидкий прогрес, а отримані результати не тільки впливають на ряд секторів промисловості, але й сприяють установленню більш тісного зв'язку між ними. Так, вважається, що успішні дослідження в галузі енергетики утилізації сільськогосподарських відходів мають вплинути як на енергетичний сектор, так і на економіку всього виробництва. Завдяки сучасним біотехнологіям у світі постійно зростає кількість нових продуктів і послуг у галузях фармацевтики, сільського господарства, харчових добавок, виробництва енергії, очищення стічних вод і навколишнього середовища та ін.

Контрольні питання

1. Вкажіть дисципліни, з якими пов'язана біотехнологія
2. Надайте сучасне визначення біотехнології.
3. Вкажіть основні цілі біотехнології.
4. Вкажіть основні завдання біотехнології.
5. Які напрями застосування біотехнологій у промисловому виробництві?
6. Яке значення мають біотехнологічні процеси для харчової промисловості?
7. Які переваги мають біотехнологічні процеси порівняно з традиційними промисловими технологіями?
8. Які види біотехнологічних процесів використовуються в агропромисловому комплексі?
9. Назвіть можливі недоліки біотехнологічних виробництв.
10. Чи можлива повна безпека біотехнологічних виробництв?
11. Що розуміють під поняттям «біотехнології низького та високого рівня»?
12. Що таке «проривні технології»?
13. Вкажіть основні розділи сучасної біотехнології
14. Яка існує міжнародна класифікація біотехнології за кольорами відповідно до об'єктів діяльності?

3. БІООБ'ЄКТИ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЇХ ПРОДУКТИВНОСТІ

У більшості випадків найбільш ефективною, стабільною та зручною формою для проведення біотехнологічних процесів є цілісні організми, внаслідок чого в біотехнології широко використовуються мікробіологічні процеси. Звичайно, це не виключає використання і вищих організмів (зокрема культур рослинних і тваринних клітин).

Жива клітина характеризується унікальною організаційною структурою, скорегованістю процесів, точністю результатів, економічністю та раціональністю, чим перевершує будь-який завод. Тому біотехнологія використовує мікро- та макроорганізми (біооб'єкти), які в процесі життєдіяльності виробляють природнім шляхом необхідні нам речовини – вітаміни, ферменти, амінокислоти, органічні кислоти, спирти, антибіотики.

Характер біологічної системи (мікроорганізми, клітинні лінії комах, рослин та ссавців, багатоклітинні організми) винятково важливі для біотехнологічного процесу. У багатьох випадках саме генетично модифікована біологічна одиниця, що самовідтворюється (мікроорганізм, вірус, рослина або тварина) є кінцевим комерційним продуктом.

Біооб'єкт – це специфічний обов'язковий елемент біотехнологічного виробництва. Ті з біооб'єктів, що завдяки власним функціям здійснюють біосинтез цільового продукту, називаються продуцентами. Біооб'єктами-*продуцентами* в біотехнології можуть бути як самі організми (рослини, тварини, мікроорганізми), так і їхні клітини, тканини, а також структурні компоненти: біомолекули, органели й продукти метаболізму.

Отже, біооб'єкти, які беруть участь у різного роду біотехнологічних процесах, перебувають на різних рівнях організації живої матерії. Сукупність біооб'єктів-продуцентів у такому контексті можна подати у вигляді структурної схеми (рис. 61).

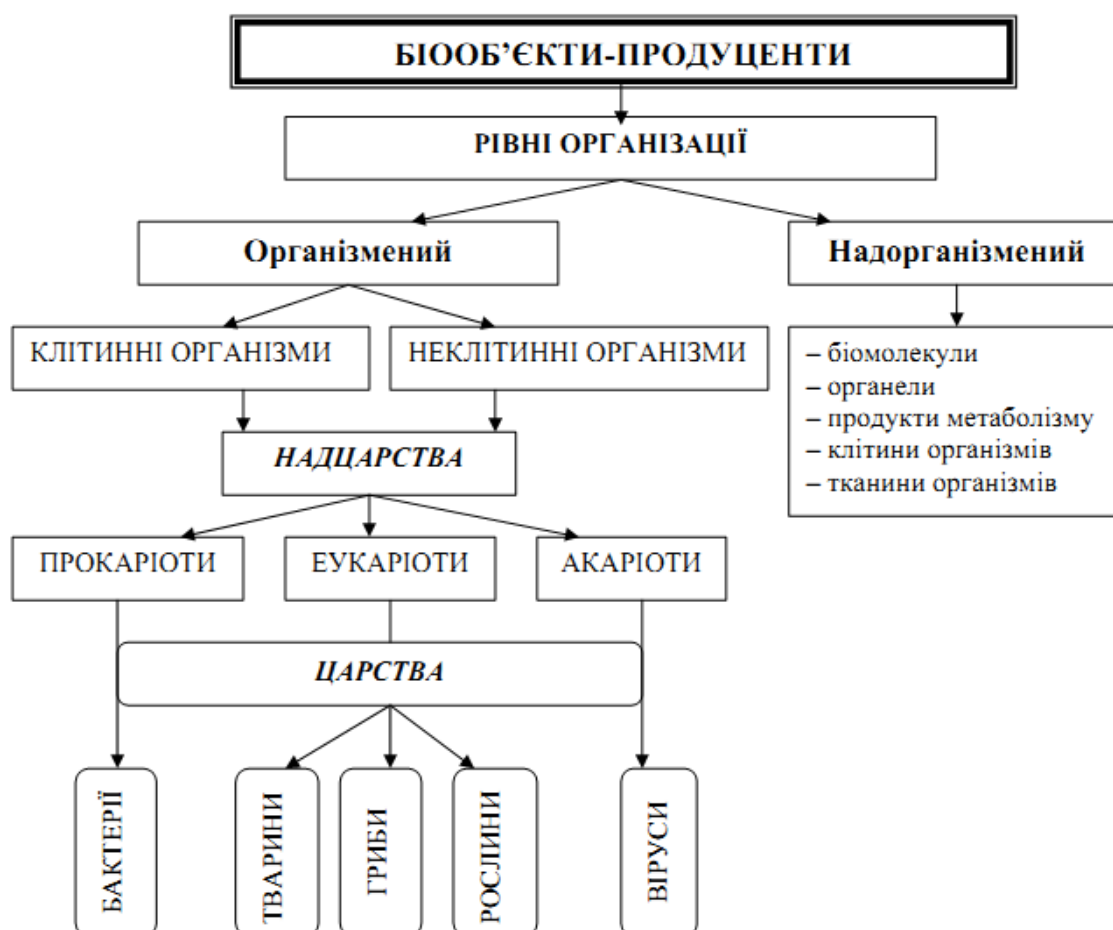


Рис. 61. Характеристика біооб'єктів-продуцентів за рівнями організації

У сучасному біотехнологічному виробництві серед відомих біооб'єктів домінують мікробні клітини прокаріотів та еукаріотів. Ці клітини здатні продукувати первинні (моно- й дисахариди, амінокислоти, азотисті основи, ферменти, коферменти, тощо) та вторинні метаболіти (антибіотики, алкалоїди, вітаміни, органічні кислоти та інші біологічно активні речовини). Їхня функція дуже важлива в складному ланцюзі біотехнологічного процесу.

Мікроорганізми як об'єкти біотехнології належать до трьох надцарств: без'ядерні (акаріоти), доядерні (прокаріоти), ядерні (еукаріоти), та п'яти царств: віруси, бактерії (еубактерії, ціанобактерії, архебактерії), рослини, тварини, гриби.

У біотехнологічних процесах найчастіше використовують бактерії, найпростіші, мікроскопічні водорості, гриби, віруси, бактеріофаги. Світ мікроорганізмів характеризується великою різноманітністю форм, яким

властиві малі розміри, що становлять від десятих часток до десятків, сотень мікрометрів. Більшість з них одноклітинні, але зустрічаються й багатоклітинні, у яких відсутня диференціація на органи й тканини. Природне середовище існування мікроорганізмів – це ґрунт, вода, повітря та організми людини, тварин, рослин.

Науці відомо понад 100 тисяч різних видів мікроорганізмів, але людина для своїх потреб використовує не більше 150 видів, до яких належать кілька тисяч *штамів* (штам – чисті культури мікроорганізмів одного і того ж виду, виділені з різних природних середовищ або з одного середовища, але у різний час. Штами одного виду мають однакові властивості, але відрізняються за окремими ознаками.). Провідна роль мікроорганізмів як об'єктів-продуцентів у біотехнології забезпечується завдяки таким властивостям:

- малі розміри (морфологічні особливості);
- активність (висока швидкість росту на живильних середовищах);
- простота генома;
- «гнучкість» обміну речовин;
- добра адаптаційна здатність до умов зовнішнього середовища.

У промисловій біотехнології застосовують 3 види *штамів*:

- 1) природні штами, покращені природним та штучним відбором (при виробництві мікробної біомаси);
- 2) штами, одержані в результаті індукованого мутагенезу;
- 3) генно-інженерні штами (мають найвищу генетичну нестабільність).

Промислові штами повинні задовольняти такі вимоги:

1. Нешкідливість для споживача та обслуговуючого персоналу.
2. Висока швидкість накопичення біомаси та цільового продукту (БАР) при економічному споживанні живильного середовища.
3. Спрямована біосинтетична активність при мінімальному утворенні побічних продуктів.
4. Генетичні однорідність та стабільність щодо субстратів та умов культивування.

5. Відсутність токсичних речовин у цільовому продукті та промислових стоках.

6. Стійкість до сторонньої мікрофлори.

7. Здатність рости на дешевих та доступних субстратах, відходах харчової та хімічної промисловості за високої щільності клітин.

Тільки за сукупністю цих та інших властивостей можна оцінити корисність та рентабельність продуцента. У багатьох біотехнологічних процесах використовується обмежена кількість мікроорганізмів, які класифікуються як *GRAS* («*generally recognized as safe*» зазвичай вважаються безпечними). До таких мікроорганізмів відносять в першу чергу кишкову паличку (*Escherichia coli*), сінну паличку (*Bacillus subtilis*) та пекарські дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*), а також бактерії *Bac. amyloliquefaciens*, інші види бацил та лактобацил, види *Streptomyces*. Сюди також відносять види грибів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* і дріжджів *Saccharomyces* та ін.

Мікробіологічна промисловість сьогодні використовує тисячі штамів із сотень видів мікроорганізмів, які первинно були виділені з природних джерел на підставі їх корисних властивостей, а потім (здебільшого) покращені за допомогою різних методів. У зв'язку з розширенням виробництва та асортименту продукції до мікробіологічної промисловості залучаються все нові і нові представники світу мікробів.

Бактерії біохімічно універсальні тому, що можуть засвоювати найрізноманітніші поживні речовини і навіть здатні вибирати найкращі органічні сполуки із суміші, тому можуть пристосовуватися до різноманітних умов існування. Наприклад, *Pseudomonas multivorans* як джерело вуглецю може використовувати 90 речовин, у тому числі вуглеводи та їх похідні, жирні кислоти, спирти, амінокислоти і навіть циклічні вуглеводні (фенол). Залежно від ставлення до O_2 бактерії прийнято розподіляти на облігатні (обов'язковий) аероби, факультативні (необов'язковий) анаероби, аеротолерантні анаероби. Більшість продуцентів у мікробній біотехнології є облігатними аеробами, тому культивування їх протікає при постійному припливі O_2 , деякі продуценти

ростуть за низького вмісту O_2 (2-10%), їх називають мікроаерофілами, а умови, в яких їх культивують, – мікроаеробними. До факультативних анаеробів належать деякі представники роду *Bacillus*, *Escherichia*, до аеротолерантних анаеробів – метаноутворюючі бактерії. Більшість бактерій культивують на складних органічних середовищах, що містять 20 факторів росту (вітаміни, амінокислоти, пурини, піримідини). Продуценти, які потребують факторів росту, називають ауксотрофами, штами, які не виявляють цієї потреби, – прототрофами. Молочнокислі бактерії можна зарахувати до ауксотрофів. Багато продуцентів можуть рости на синтетичних середовищах, що містять лише одну органічну речовину в якості джерела вуглецю. Деякі продуценти використовують як джерело енергії метан, метанол, метиловані аміни. У мікробній біотехнології широко використовується здатність низки бактерій здійснювати життєдіяльність внаслідок окислення молекулярного водню, сірководню, амонію, нітратів, солей двовалентного заліза та деяких інших неорганічних сполук. Для багатьох продуцентів характерний лабільний метаболізм, що виявляється у здатності використовувати велику кількість різних сполук вуглецю, азоту та інших елементів, а також перемикання з одного типу живлення на інший.

Особливе значення як продуценти мають *архебактерії*, давні представники прокаріотів. Вони живуть у середовищах з екстремальними умовами (високі концентрації неорганічних речовин, підвищені температури). Серед архебактерій великий інтерес для біотехнології становлять галобактерії. Вони ростуть у середовищі, що містить 20-30% NaCl (концентрований розчин, Мертве море), живуть на сухій солоній рибі, шкіряних виробах, мають білки, нормальне функціонування яких відбувається лише за високих концентрацій NaCl. Це палички, коки, квадрати, що містять фотоактивні пігменти бактеріородопсин та галородопсин. Галородопсин здатний перетворювати електромагнітну енергію світла на хімічну енергію. Якщо пурпурові бактерії *Halobacterium* іммобілізувати на носії, то при освітленні можна отримувати електрику та знесолювати морську воду.

У майбутньому припускають за допомогою таких мікроперетворювачів енергії забезпечувати електрикою окремі житла у країнах із високою сонячною радіацією.

Метаногенні бактерії широко вивчаються в біотехнології як спосіб отримання додаткової енергії з субстрату, що відновлюється. Біологічний метаногенез був відомий у Китаї ще у II столітті до н. е. Нині у Китаї працює понад 7 млн установок із виробництва біогазу. У 1911 році в м. Бірменгемі був побудований завод з анаеробного розкладання стічних вод. Газовий генератор перетворював метан на електрику, забезпечуючи життя цілого міста. Біомасу метаногенних бактерій можна застосовувати як концентрат вітаміну B₁₂ для сільськогосподарських тварин.

Сіркозалежні архебактерії та термоплазми також викликають великий інтерес у біотехнологів. Вони живуть у гарячих і кислих водоймах, вулканічних ущелинах. Енергію одержують за рахунок окислення H₂, S, Fe²⁺, сульфідів металів. Наприклад, *Thermoproteales* живуть при 108°C, (не нижче 80°C), є анаеробами, причому ферменти, синтезовані в їх клітинах, мають високу терморезистентність. Ферменти, які синтезуються термофілами, характеризуються підвищеною стійкістю до нагрівання, деяких окислювачів, детергентів, органічних розчинників та інших несприятливих факторів. Водночас, вони малоактивні за нормальних температур. Так, протеази одного з представників термофільних мікроорганізмів при 20°C у 100 разів менш активні, ніж при 75°C. Останнє є дуже важливою властивістю для деяких промислових виробництв. Наприклад, широке застосування у генетичній інженерії для здійснення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) знайшов фермент *Taq*-полімераза з термофільної бактерії *Thermus aquaticus*. Основна перевага термофільних анаеробних архебактерій полягає у наступному:

- 1) скорочення термінів культивування;
- 2) можливість обійтися без аерації;
- 3) зменшення ймовірності зараження.

Вивчення об'єктів біотехнології доцільно проводити з урахуванням таких характеристик:

- структура та розміщення спадкового матеріалу;
- можливості конструювання нових клітин і клітинних систем;
- особливості синтетичної активності організму в цілому;
- вимоги до живильного середовища й умов культивування.

Морфологічні особливості біопродуцентів

Прокаріоти – це доядерні одноклітинні організми, які не мають сформованого ядра, оскільки в них ядерний матеріал не відділений від цитоплазми ядерною оболонкою. Серед прокаріотичних організмів поширені мікроформи, до яких відносяться бактерії та ціанобактерії (синьо-зелені водорості). Незважаючи на малі розміри, досить просту будову спадкового матеріалу, обмежену кількість білкових молекул, ферментативних реакцій, прокаріоти своєю функціональною активністю не поступаються клітинам багатоклітинних еукаріотичних організмів, а тому становлять значний практичний інтерес для біотехнологів.

Структурними елементами прокаріотичної клітини, які відрізняють її від еукаріотичної, є клітинна стінка, що побудована з муреїну (пептидоглікану) або целюлози, прості й складні цитоплазматичні мембранні утворення (мезосоми, хроматофори, тилакоїди, хлоросоми, фікобілісоми, карбоксисоми, які виконують роль енергетичних центрів; аеросоми – газові вакуолі, магнітосоми), рибосоми 70S; різноманітні клітинні включення (глікоген, сірка, волютин, ліпідні краплі, гранульоза, полі- β -оксибутират та ін.); у таких клітинах немає мітохондрій, апарату Гольджі, ендоплазматичного ретикулуму, центріолей (рис 62). Прокаріотична клітина не має ядерної мембрани. Ядерним еквівалентом виступає нуклеоїд – кільцева замкнена молекула ДНК, яка міститься в ущільненому шарі цитоплазми.

Серед структур бактеріальної клітини розрізняють: основні (обов'язкові) та неосновні (необов'язкові) структури. Основні – це клітинна стінка,

цитоплазматична мембрана, цитоплазма з різними включеннями та нуклеоїд. Неосновні, які присутні не у всіх бактерій – джгутики, слизова капсула, пілі (фімбрії, ворсинки), фотосинтезуючі мембрани, мезосоми.

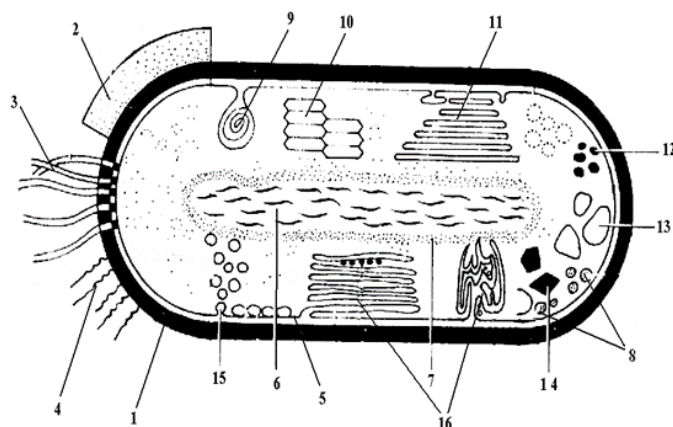


Рис. 62. Схема будови прокаріотичної (бактеріальної) клітини: 1 – клітинна стінка; 2 – слизова капсула; 3 – джгутики; 4 – фімбрії; 5 – цитоплазматична мембрана; 6 – нуклеоїд; 7 – рибосоми; 8 – жирові краплі; 9 – мезосома; 10 – аеросоми; 11 – ламелярні структури; 12 – полісахариди; 13 – включення сірки; 14 – поліфосфати; 15 – хроматофори; 16 – тилакоїди.

Еукаріотичні організми мають клітини зі сформованим ядром та високоорганізованими органелами (рис. 63, 64). До мікроорганізмів еукаріотів відносяться одноклітинні та багатоклітинні організми, зокрема найпростіші, гриби, водорості (крім синьо-зелених).

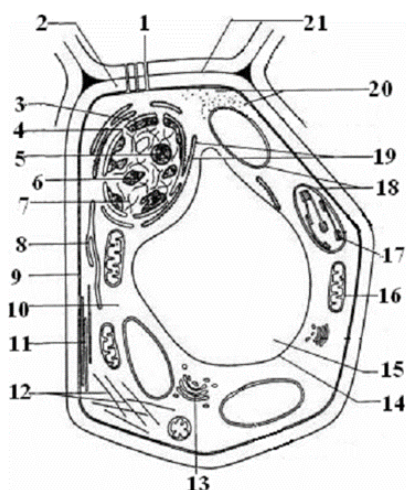


Рис. 63. Схема будови еукаріотичної (рослинної) клітини: 1 – плазмодесми; 2 – клітинна стінка; 3 – двомембранна ядерна оболонка; 4 – ядерна пора; 5 – ядерце; 6 – гетерохроматин; 7 – еухроматин; 8 – ендоплазматична сітка агранулярна; 9 – плазматична мембрана; 10 – цитоплазма; 11 – мікротрубочки; 12 – мікрофіламенти; 13 – комплекс Гольджі; 14 – тонопласт; 15 – вакуоля; 16 – мітохондрії; 17 – хлоропласт; 18 – двомембранна оболонка хлоропласта; 19 – ендоплазматична сітка гранулярна; 20 – рибосоми; 21 – серединна пластинка.

Об'єктами біотехнології серед еукаріотів можуть бути також макроорганізми, серед яких нижчі (водорості, лишайники) та вищі рослини (папоротеподібні, покритонасінні), багатоклітинні тварини (черв'яки), гриби-макроміцети (печериця, глива, опеньки та ін.).

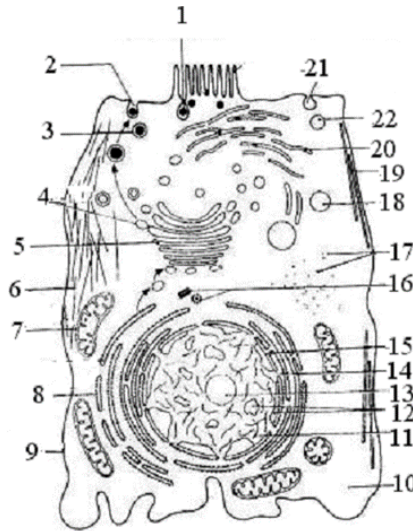


Рис. 64. Схема будови еукаріотичної (тваринної) клітини: 1 – секреторні мікроворсинки; 2 – екзоцитоз; 3 – гранула (секреторна бульбашка); 4, 5 – комплекс Гольджі; 6 – мікрофіламенти; 7 – мітохондрії; 8 – ендоплазматична сітка гранулярна; 9 – плазматична мембрана; 10 – цитоплазма; 11 – еухроматин; 12 – гетерохроматин; 13 – ядерце; 14 – ядерна пора; 15 – двомембранна ядерна оболонка; 16 – центріолі; 17 – рибосоми; 18 – лізосоми; 19 – мікротрубочки; 20 – ендоплазматична сітка агранулярна; 21, 22 – утворення бульбашки в піноцитозному процесі.

У прокаріотичній бактеріальній клітині хромосомна ДНК знаходиться безпосередньо в цитоплазмі, клітина оточена ригідною клітинною стінкою. У клітині немає субклітинних цитоплазматичних органел. В оптимальних умовах прокаріотична клітина може ділитися кожні 20 хв і таким чином давати життя понад 10 млрд клітин менше ніж за добу.

В еукаріотичній клітині є ядро, відокремлене від цитоплазми ядерною мембраною, хромосомна ДНК знаходиться в ядрі. У цитоплазмі містяться різні субклітинні органели: мембрани, що оточують ядро, мітохондрії, що утворюють лабіринт ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР), де синтезуються ліпіди та мембранні білки. Мембрани формують стопки сплоснених бульбашок, що становлять апарат Гольджі, який бере участь у синтезі та транспорті різних органічних молекул. Мембрани оточують лізосоми (субклітинні структури

діаметром 0,20-0,5 мкм), що містять гідролітичні ферменти, необхідні внутрішньоклітинного травлення. Мембрани, таким чином, захищають від дії цих ферментів білки та нуклеїнові кислоти самої клітини. Мембрани також оточують пероксисоми, що містять окисні ферменти, що виробляють і руйнують небезпечні високореакційні перекиси (пероксиди). Обмін між внутрішньоклітинними, оточеними мембранами структурами та позаклітинним середовищем відбувається за допомогою ендоцитозу.

До *акаріотичних організмів* або наноорганізмів відносяться неклітинні форми життя, тобто *віруси, бактеріофаги*. В основі їх структури – нуклеїнові кислоти (ДНК або РНК) та білки, які ковалентно не зв'язані між собою.

Віруси – найдрібніші мікроорганізми, які не мають клітинної будови, містять тільки один тип нуклеїнових кислот: або молекулу РНК – *рибовіруси* (відрізняються від *ретровірусів* тим, що ретровіруси мають РНК геном, який реплікують через ДНК як проміжну ланку. Ретровіруси залежать від ферменту зворотної транскриптази для здійснення зворотної транскрипції свого геному з РНК в ДНК), або молекулу ДНК – *дезоксивіруси* (мають приблизно 10^3 нуклеотидів або пар нуклеотидів). Віруси належать до облігатних паразитів. Вони характеризуються дуже малими розмірами (їх діаметр дорівнює 20-300 нм). Нуклеїнові кислоти у вірусах мають різні форми, це може бути одноланцюгова або лінійна молекула, дволанцюгова кільцева чи лінійна молекула, або окремі фрагменти молекули нуклеїнової кислоти (рис. 65).

Молекули нуклеїнових кислот містяться в білковій оболонці, яка має назву капсид. Віруси не здатні до росту й бінарного поділу. Позаклітинна форма вірусу називається віріоном. Розмноження вірусу (репродукція) – це чітко організований цикл, у якому відбувається синтез нових молекул білків, а також утворюється велика кількість копій вірусної ДНК (вірусних геномів), що зумовлює формування зрілих вірусних частинок. Саме після проникнення вірусів у клітини живого організму їх нуклеїнові кислоти швидко вбудовуються в ДНК клітини-хазяїна, примушуючи їх утворювати білки та нуклеїнові кислоти вірусних частинок, що пригнічує біосинтез здорових клітин.

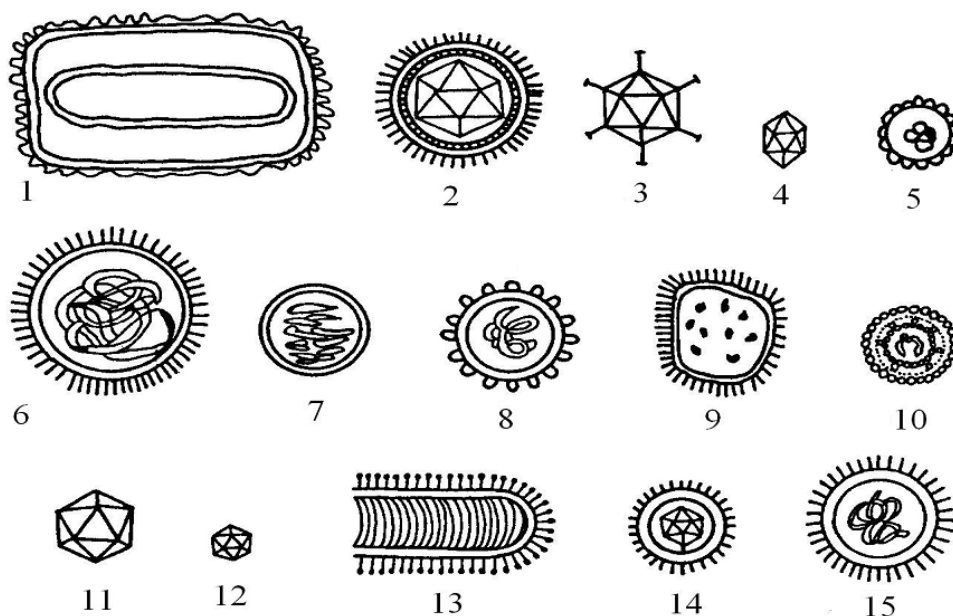


Рис. 65. Форми вірусів: 1 – вірус віспи; 2 – вірус герпесу; 3 – аденовірус; 4 – паповавірус; 5 – гепаднавірус; 6 – параміксовірус; 7 – вірус грипу; 8 – коронавірус; 9 – аренавірус; 10 – ретровірус; 11 – реовірус; 12 – пікорнавірус; 13 – вірус бешихи; 14 – тогавірус, флавівірус; 15 – буньявірус.

Віруси паразитують практично на всіх організмах – бактеріях, грибах, рослинах і тваринах. Понад 75% усіх інфекційних захворювань припадає саме на вірусні хвороби.

Особлива група вірусів паразитує на бактеріях. Їх називають *бактеріофагами* (рис. 66).

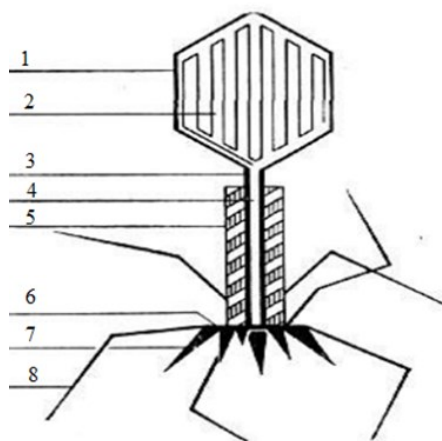


Рис. 66. Будова бактеріофага: 1 – головка фага, 2 – нуклеїнова кислота, 3 – стрижень, 4 – каналець, 5 – футляр, 6 – базальна пластинка, 7 – зубці, 8 – ниткоподібні відростки

Звичайно бактеріофаги мають багатогранну призматичну голівку й відросток (розміром 60-200 нм). Вони відносяться до дезоксивірусів, скільки в

середині голівки мають одну чи дві нитки ДНК. Із голівки бактеріофага ДНК переходить у клітину мікроорганізму.

Бактеріофаги використовують для діагностики, профілактики й лікування бактеріальних інфекцій: стафілококової, стрептококової, дизентерійної та ін. Механізм дії фагів характеризується явищем лізису, тобто порушення структури клітин бактерій.

Прокаріотичні організми, що використовуються в біотехнології

Бактерії (Eubacteria) – перші виявлені людиною живі мікроскопічні організми (їхній діаметр становить 0,2-10,0 мкм), що виникли приблизно 3,5 мільярдів років тому. Вони мають різну форму: кулясту (коки), паличкоподібну (бактерії, бацили), звивисту (вібріони, спірили, спірохети) (рис. 67).

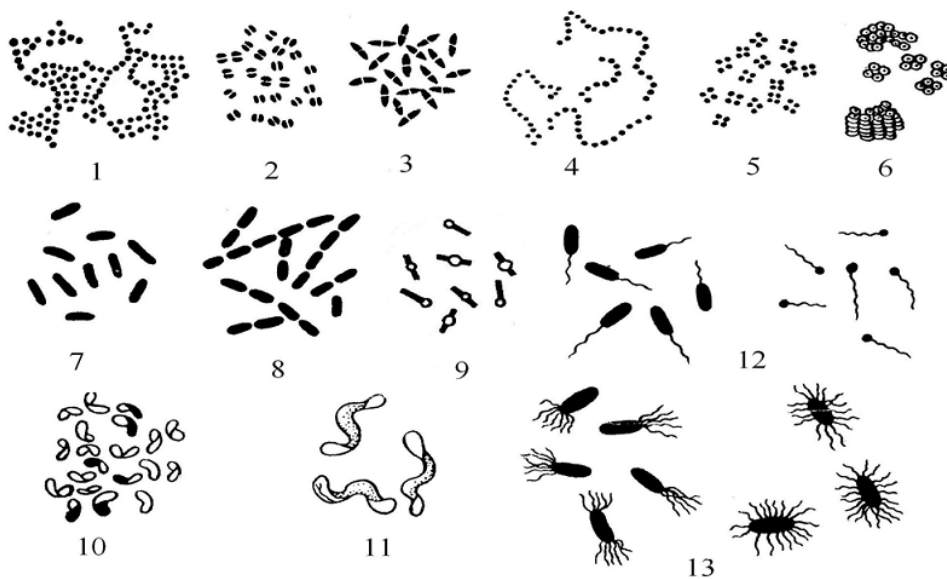


Рис. 67. Форми бактерій: 1 – коки; 2, 3 – диплококи; 4 – стрептококи; 5 – тетракоки; 6 – сарцини; 7 – палички; 8 – ланцюги паличок; 9 – бацили; 10 – вібріони; 11 – спірили; 12 – джгутикові форми; 13 – війкові форми

Бактерії мають не тільки ядерний еквівалент – нуклеоїд, але й додатковий периферійний ДНК-вмісний елемент – плазмиду – маленьку кільцеву структуру, що складається з кількох генів, здатних забезпечити кодування певних ферментів клітини. Плазмиду використовують у біотехнології як вектор (транспортний засіб) для перенесення генів у генно-інженерних технологіях.

Бактерії належать до так званих гетеротрофів, тобто живляться готовими органічними речовинами, розкладаючи їх на більш прості, одержують при цьому енергію для свого існування. Деякі з них використовують енергію, що утворюється внаслідок окиснення мінеральних речовин. Лише невелика група цих організмів (зелені та пурпурні сіркобактерії) мають у своєму складі бактеріохлорофіл і здатні синтезувати органічні речовини, поглинаючи сонячну енергію.

Одні групи бактерій – *аероби* – вимагають для свого існування обов'язкову наявність кисню, інші – *анаероби* – розвиваються без нього, причому кисень для них шкідливий. Є проміжні форми бактерій – факультативні аероби, які можуть розвиватися як при наявності, так і за відсутності кисню.

Бактерії, що живляться за рахунок мертвої органічної речовини, називаються *сапрофітами*, а ті, що існують за рахунок живих організмів – *паразитами*.

Бактерії забезпечують процеси азотфіксації, амоніфікації, нітрифікації, денітрифікації, бродіння, гниття тощо. Більшість бактерій – це корисні для людини й довкілля організми, але серед них чимало патогенних, які можуть викликати захворювання людей, тварин і рослин. До таких належать небезпечні інфекції: туберкульоз, холера, пневмонія, гонорея, дифтерія, сифіліс та ін. До речі, в біотехнологічних процесах можуть використовуватися не тільки корисні види бактерій (азотфіксувальні, молочнокислі, оцтовокислі, пропіонові, метанотвірні, кишкова й сінна палички), але й патогенні.

Архебактерії були відкриті недавно (у 70 роки минулого століття). Від інших видів бактерій їх відрізняє стійкість до екстремальних умов. Малі розміри бактерій не дозволяють їм накопичувати в собі резерв продуктів метаболізму, ферментів, тому за певних умов вони виділяють їх назовні. Завдяки мікробному синтезу бактерії продукують ферменти, гормони, вітаміни (С, В₂, В₁₂, провітамін А – β -каротин), антибіотики, кормовий білок на різних субстратах, біогаз та інші корисні для людини продукти.

Ціанобактерії, або синьо-зелені водорості (*Cyanea*) – це автотрофні прокаріоти, що посідають проміжну позицію між бактеріями та рослинами (рис. 68). Їх основним пігментом є хлорофіл а крім того вони також містять каротиноїди. У системі фототрофних мікроорганізмів вони відіграють особливу роль, оскільки здатні до фотосинтезу із виділенням кисню, на відміну від звичайних бактерій.

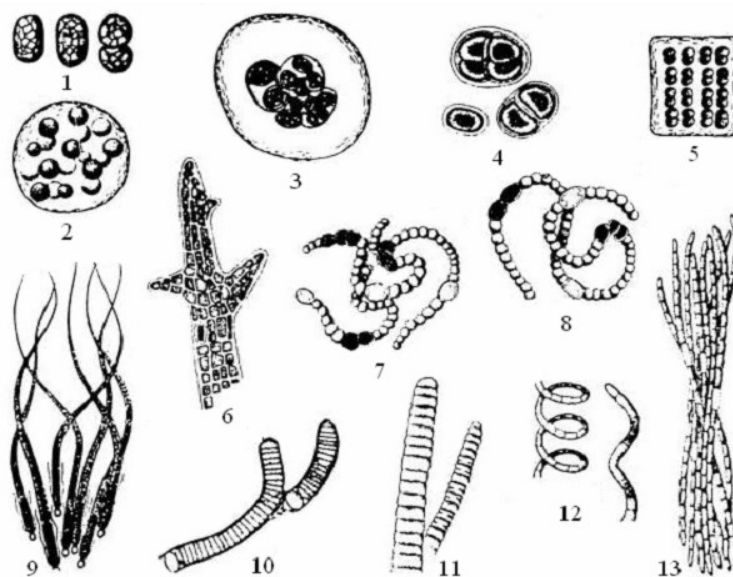


Рис. 68. Синьо-зелені водорості: 1 – *Synechococcus*; 2 – *Micrococcus*; 3 – *Gleocapsa*; 4 – *Chroococcus*; 5 – *Merismopedia*; 6 – *Stigonema*; 7 – *Nostoc*; 8 – *Anabena*; 9 – *Ribularia*; 10 – *Tolypothrix*; 11 – *Oscillatoria*; 12 – *Spirulina*; 13 – *Aphanizomenon*

Ціанобактерії використовують для виробництва біодобрив, так званих «зелених добрив», підсилювачів смаку, а також як джерело білка (наприклад, спіруліна) та ін.

Еукаріотичні організми, що використовуються в біотехнології

Гриби (Fungi) – це велика група еукаріотичних гетеротрофних безхлорофільних організмів. Вегетативне тіло грибів складається із системи розгалужених тонких ниток – гіфів, які утворюють грибницю (міцелій). За структурою міцелію гриби поділяють на вищі й нижчі. У вищих грибів міцелій багатоклітинний, а у нижчих – неклітинний, багатоядерний.

Гриби мають спільні риси як з рослинами, так і з тваринними організмами.

Наприклад, із тваринами їх поєднує наявність у клітинній стінці хітину, а також запасного вуглеводу глікогену, відсутність пластид, гетеротрофний спосіб живлення, потреба у вітамінах. Як і рослини, гриби здатні до необмеженого росту, мають такий самий характер живлення (шляхом всмоктування речовин), вони нерухомі, розмножуються спорами, мають вакуолі. У той же час лише грибам властива міцеліальна будова та, як наслідок, – абсорбційний спосіб харчування (осмотрофія). Для них відомі явища дикаріозису – роздільне знаходження двох ядер в одній клітині, що імітують диплоїдне ядро та здатні до одночасного поділу, а також і гетерокаріозису – знаходження різноякісних ядер в одній клітині. Гриби мають діаметр клітин у 3-5 разів більший, ніж бактерії, і більш стійкі до фагів.

До мікроскопічних грибів – мікроміцетів – відносяться дріжджі, цвілеві гриби (мукор, пеніцил, аспергіл та ін.). Макроскопічні гриби – макроміцети (зокрема базидіоміцети: глива, печериця, білий гриб, лисички та ін.) виступають продуцентами харчового білка. Дослідженнями останніх років було виявлено бактерицидну й протипухлинну активність вищих базидіоміцетів.

Дріжджі – вищі гриби, що втратили здатність утворювати міцелій і перетворилися в результаті на одноклітинні організми. Клітини дріжджів мають овальну, яйцеподібну та еліптичну форму, рідше зустрічаються циліндричні (паличкоподібні), грушоподібні та лимоноподібні дріжджі (рис. 69).

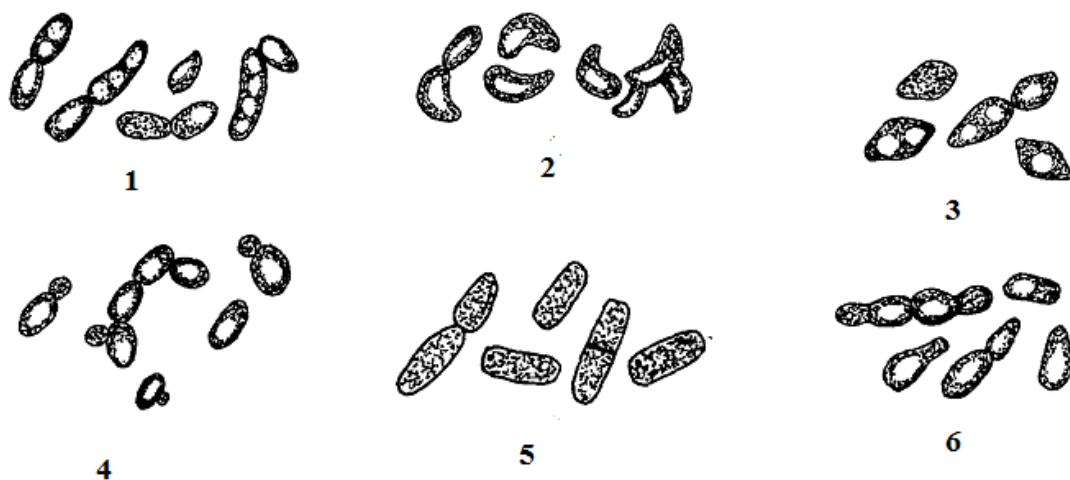


Рис. 69. Форма дріжджових клітин: 1 – стрілоподібна; 2 – серпоподібна; 3 – лимоноподібна; 4 – овальна, яйцеподібна; 5 – циліндрична; 6 – грушоподібна

Мікроскопічні гриби використовують як сировину для виробництва амілолітичних, ліполітичних ферментів, вітамінів (β -каротину, вітамінів групи В), харчового білка, антибіотиків. Це активні продуценти ферментів для виготовлення сирів, кисломолочної продукції. Наприклад, дріжджі широко застосовуються у виробництві етанолу, пива, вина, харчового та кормового білка.

Водорості (Algae) – це нижчі таломні рослини, первинним середовищем існування яких є вода. Здатні до фотосинтезу клітини водоростей, поглинаючи енергію видимого світла, перетворюють її в хімічну енергію фосфатних зв'язків високоенергетичної сполуки аденозинтрифосфату (АТФ). Унаслідок цього в них фіксуються такі речовини як карбон, нітроген, фосфор, котрі у свою чергу входять до складних молекул органічних сполук. Цей процес зумовлює накопичення біомаси цих організмів.

На основі водоростей виготовляють харчові добавки, кормовий білок, мікроелементи (йод, бром), ферменти, органічні кислоти, а також агар-агар – складний полісахарид, здатний до гелеутворення, який застосовують для ущільнення живильних середовищ у мікробіології. Водорості можуть бути джерелом отримання біомаси та біологічно активних речовин у системах життєзабезпечення космічних кораблів, їх можна використовувати для виробництва енергії (одержання гідрогену шляхом фотолізу води), а також як біофільтри в аеротенках для очищення стічної води тощо.

Лишайники (Lichenes) – це симбіотичні організми, у яких поєднуються гриб – гетеротрофний мікобіонт (переважно роду аскоміцетів, іноді базидіоміцетів) й автотрофний фікобіонт, зокрема водорості (частіше зелені, рідко ціанобактерії). Вони являють собою потенційні об'єкти-продуценти для біотехнології.

У біотехнології лишайники можна застосовувати для виробництва натуральних барвників, закріплювачів запахів у парфумах, як продукт харчування, – зокрема як джерело ліхенових кислот, що характеризуються бактерицидною активністю. Із тайгового лишайника виготовляють антисептичну речовину – уснінову кислоту.

Найпростіші (*Protozoa*) – це мікроскопічні одноклітинні тварини надцарства еукаріотів (*Eucariotae*), які проживають у воді, ґрунті або паразитують на тілі тварин.

Більшість найпростіших живе у водному середовищі (рис. 70).

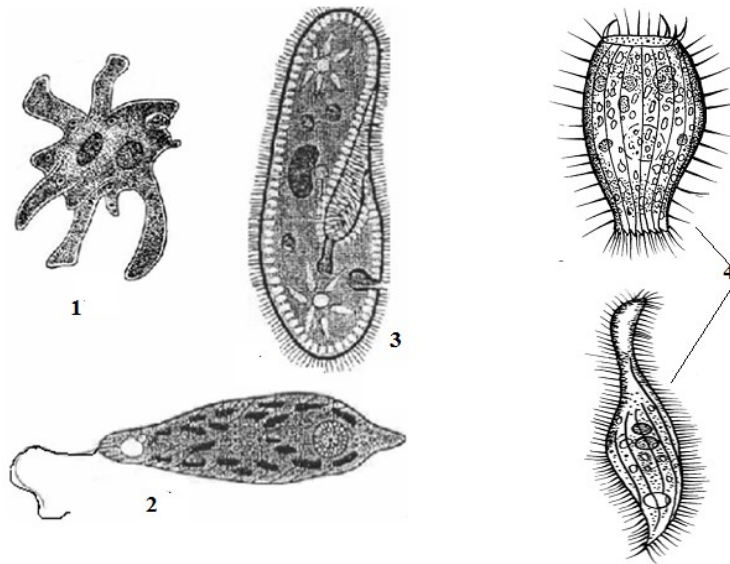


Рис. 70. **Найпростіші**: 1 – амеба; 2 – евглена зелена; 3 – інфузорія туфелька; 4 – війкові інфузорії

Найпростіші входять до складу ґрунтових біоценозів, активних мулів (зооглею), що набули поширення в процесах біологічного очищення водоймищ, стічних вод. В активному мулі найпростіші виконують функції підтримання певної кількості мікроорганізмів. Живлячись бактеріями та плаваючими речовинами, вони також сприяють освітленню води. Ці організми можна використовувати як тест-індикатори якості очищення стоків.

У сільськогосподарській біотехнології з метою вермикультивування ґрунтових субстратів використовують позитивні властивості *кільчастих черв'яків* (*Annelida*), здатних швидко нарощувати біомасу, продукувати біогумус, з якого потім виготовляють біогумат (витяжку з біогумусу, що містить комплекс біологічно активних речовин, зокрема фітогормонів). Одними з найбільш відомих представників є дощові черв'яки (рис. 71).

Дощовий черв'як (гнойовий) часто трапляється в купах гною чи компосту. Він переробляє органічну масу на високоефективне добриво (біогумус).

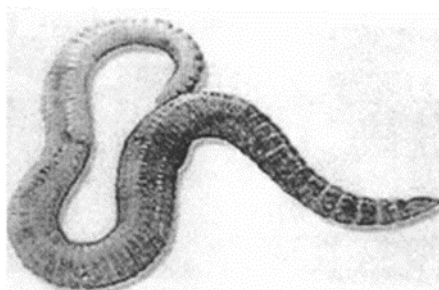


Рис. 71. Дощовий (червоний каліфорнійський) черв'як

Щоб поліпшити позитивні властивості таких організмів, учені вивели високопродуктивну породу, названу каліфорнійським черв'яком (*Eisenia foetida*).

Вищі рослини (Plantae). Вищі рослини від нижчих різняться наявністю органів (це корінь, стебло, лист) і розвинутих тканин. Як об'єкти біотехнології вищі рослини застосовуються в методах клітинної інженерії, для мікророзмноження рослин *in vitro*, мікрокультивування *in vitro*. У біотехнології використовують дуже важливу їхню здатність формувати цілий організм із однієї клітини. В основі цієї функції – явище *тотипотентності*, тобто властивість соматичних рослинних клітин повністю реалізувати власний генетичний потенціал розвитку.

Будь-який вид рослини за певних умов здатен утворювати недиференційовану масу клітин (*калус*), які подвоюються, особливо під впливом фітогормонів. Калусні клітини використовують у біотехнології для мікророзмноження рослин *in vitro*. Клітини рослин *in vitro* зберігають біосинтетичний потенціал і можуть виступати джерелом цінних продуктів клітинного метаболізму. З метою виготовлення сировини для лікарських засобів, барвників, ароматизаторів тощо, окрім одержання калусів із експлантів (тобто культури тканин, вирощеної поза організмом), можливе також культивування клітин деяких рослин у суспензійних культурах.

Важливими об'єктами біотехнології були визнані протопласти рослинних клітин (вони позбавлені клітинних стінок). Найчастіше в біотехнологічних процесах використовують представників покритонасінних.

Робота з біооб'єктами рослинного походження дозволяє одержувати трансгенні організми, покращувати якість і підвищувати продуктивність рослин за допомогою методів генної інженерії; виводити нові сорти й гібриди сільськогосподарських та інших рослин методами селекції, використовувати культури ізольованих рослинних тканин для мікророзмноження та оздоровлення посадкового матеріалу, виготовляти цінні речовини рослинного походження.

Клітинні культури людини й тварин (Animalia). Як біологічні системи використовують культуру тканин певного організму. Шматок тканини (людини, ссавця) обробляють протеолітичними ферментами (трипсином), що розщеплюють білки міжклітинного матеріалу. Клітини, що вивільнилися, поміщають у поживне середовище, що містить амінокислоти, антибіотики, вітаміни, солі, глюкозу, фактори росту. За цих умов (поділ клітин ссавців відбувається приблизно раз на добу) на стінці ємності з культурою утворюється клітинний моношар. Після цього клітини переносять у ємності зі свіжим поживним середовищем. Зазвичай вдається переносити (перевивати, субкультивувати) та підтримувати до 50-100 клітинних генерацій вихідної (первинної) клітинної культури, потім клітини починають втрачати здатність до поділу та гинуть.

Уведення диференційованих клітин у культуру й формування з них постійних клітинних ліній, які продукують фізіологічно активні сполуки, викликало певні труднощі. По-перше, спостерігалось припинення розмноження тваринних клітин на штучному живильному середовищі, причому вони втрачали здатність до синтезу специфічного продукту; по-друге, клітини набували властивість злоякісних, а протягом тривалого культивування піддавались каріотипічній та фенотипічній мінливості. У зв'язку з цим, на сьогодні маємо небагато прикладів успішного застосування клітинних культур з біотехнологічною метою. На даний час у промисловому масштабі використовуються лімфобласти людини, які продукують інтерферон; клітини-гібридами, що утворюють моноклональні антитіла; моношарові клітинні

культури різних тканин, що здатні репродукувати віруси. У біотехнології стійкі лінії використовують для великомасштабного виробництва вакцин та рекомбінантних білків, для розмноження вірусів та виявлення білків, що кодуються клонованими послідовностями ДНК (табл. 2).

Таблиця 2

Лікарська продукція, отримана за допомогою клітин людини і тварин

№ пп	Продуцент	Застосування в біотехнологічному виробництві	
	Вид	Лікарський засіб	Орган
1	Людина	Еритроцитарна маса для гемотрансфузії, лейкоцитарна маса	Кров
2	Кінь, осел, мул	Антистафілококова плазма, гетерологічні антитоксичні сироватки, протидифтерійна, протиправцева сироватки	Кров
3	Марал (ізюбр, плямистий олень)	Пантокрін	Панти
4	Корова, як	Інсулін Панкреотин Паратиреоїдин Тиреотропін Гіалуронідаза Румалон	Тканина підшлункової залози, паращитовидно ї залози, гіпофіза, сім'яників, хрящів
5	Баран	Нормальні еритроцити для постановки ІФА	Кров
6	Коза	Гетерологічна антисироватка до вірусу кліщового енцефаліту	Кров
7	Свиня	Пепсин Інсулін	Слизова шлунка
8	Кролик, новонароджене кроленя	Діагностичні сироватки Вакцина проти сказу	Кров Середовище для розмноження вірусу
9	Курка	Лізоцим Лецитин	Білкова фракція, жовток яєць
10	Змії	Антитоксичні сироватки (анти-ефа, анти-гюрза)	Антигени для імунізації
11	Бджоли	Бджолина отрута	Тканина черевних залоз
12	Скорпіони	Антитоксична сироватка	Отрута

Перспективним виявився напрям застосування клітинних культур для виготовлення цінних фізіологічно активних речовин: гормонів (статевих, росту, інсуліну); мукополісахаридів, колагену, кортикостероїдів, білків, ферментів, моноклональних антитіл, факторів росту, факторів згортання крові, гормоноподібних речовин. Наприклад, гібридами отримують шляхом злиття нормальних лімфоцитів та мієломних клітин. Ці клітини мають здатність до синтезу специфічних антитіл та до необмеженого росту в процесі культивування.

Останнім часом доволі успішно розвивається напрям застосування в біотехнології окремих частин тканин та органів людини, наприклад, шкіри для подальшого її вирощування в штучних умовах з наступною аутоотрансплантацією людині при лікуванні опіків. Перспективною виявилася технологія використання стовбурових клітин, що характеризуються поліпотентністю й можуть перетворюватися на будь-яку клітину організму; соматичних клітин та ізольованих клітини бластули в методах клонування й виведення трансгенних тварин тощо.

Удосконалення біооб'єктів методами мутагенезу, селекції, клітинної та генної інженерії

Ефективність біотехнологічного процесу, перш за все, залежить від біосинтетичних властивостей біооб'єктів-продуцентів. Якщо організм, виділений з природного середовища не буде вдосконалений, то виробничий процес утворення цільового продукту або економічно недоцільний, або технічно важко здійснити.

Зміна біооб'єкта, що сприятлива для його використання у виробництві, має передаватися спадково і, відповідно, викликатися мутацією. На біохімічному рівні *мутація* – зміна первинної структури ДНК у конкретній її ділянці, що, зрештою, призводить до зміни фенотипу біооб'єкта. Змінюється біосинтетична здатність біооб'єкта: змінюється або набір його ферментів, або активність деяких із них. Мутації можуть бути неконтрольованими

(спонтанними) та контрольованими (індукованими). Перші відбуваються із частотою 1×10^5 - 1×10^7 на одну генерацію для різних організмів; це означає, що не спрямовано змінюється одна клітина зі 10^6 клітин. Частота індукованих мутацій зростає у десятки-тисячі разів. Спонтанні мутації зустрічаються, зазвичай, досить рідко. Чинники, що викликають мутації, відносять до розряду фізичних, хімічних чи біологічних і зветься *мутагенами*. Мутагени за дією поділяють на два класи – прямої (на нуклеїнові кислоти) та непрямой, або опосередкованої дії (переважно – через первинні метаболіти, або білки). В якості фізичних мутагенів можуть бути підвищена або знижена температура, різноманітні випромінювання (ультрафіолетове, іонізуюче), ультразвук. При температурному впливі виникає так званий «температурний шок», що може призводити до істотних змін у різних клітинах – летальних та видимих мутацій.

Ультрафіолетові промені (УФП) мають більшу довжину хвиль, ніж іонізуючі випромінювання, і мають меншу енергією. УФП із довжиною хвилі 260 нм поглинаються ДНК, при цьому розриваються водневі зв'язки між комплементарними нитками. У клітинах, що мутували, УФП викликають в основному внутрішньогенні перебудови.

До хімічних мутагенів відносять: інгібітори синтезу нуклеїнових кислот (НК), аналоги азотистих основ, алкілюючі сполуки, окисники, відновники, вільні радикали, акридинові барвники, деякі антибіотики.

До біологічних мутагенів відносять віруси (фаги), живі вакцини, деякі біотоксини, що утворюються грибами, протозоа та гельмінтами. Так, зміни у хромосомах викликають цитомегаловірус, вірус простого герпесу, герпетиформний вірус, вірус Сендай, вірус саркоми Рауса та ін. З грибних токсинів-мутагенів – афлатоксин В.

Мутагени різних класів (фізичні, хімічні, біологічні) використовують у роботі з біооб'єктами. При цьому прагнуть отримати штами або з маркерними ознаками, важливими для розшифровки механізмів мутагенезу, або штами-суперпродуценти БАР, що істотно збільшують вихід кінцевого продукту порівняно з контролем.

При цілеспрямованому отриманні мутантів необхідний їх відбір, або селекція, значення якої винятково велике у виведенні різних порід тварин, багатьох сортів злакових, декоративних та інших рослин, в отриманні мікробів-суперпродуцентів БАР (ряду антибіотиків, амінокислот, вітамінів та інших речовин). Застосування селекційних методів дозволяє оцінити й спрямовано відібрати мутаційні лінії, необхідні для виробничого процесу отримання цільового продукту. Унаслідок селекційної роботи з мікрооб'єктами виникають модифіковані штами та клони мікроорганізмів.

Штамами називають різні чисті мікробні культури одного й того самого виду, виділені з різних джерел або навіть із одного джерела, але в різний час. Із штамів формуються види, однак властивості різних штамів не виходять за межі виду.

Клоном називають культуру мікроорганізмів, отриману із однієї клітини. Відібрані клони проходять перевірку (скринінг) та багатоступеневий відбір за необхідною ознакою (при цьому повторюють обробку мутагеном). Селекційний етап удосконалення біооб'єкта, як правило, тривалий і складний.

Для порівняння можна вказати на успіхи із селекцією мутантів пеніцилу, вихідний штам якого, виділений А. Флемінгом у 1940 р., продукував лише 50 одиниць антибіотика пеніциліну в 1 мл культуральної рідини. У 1951 р. шляхом розсіву природної популяції клітин, що вирости в глибинних умовах культивування *Penicillium chrysogenum*, було виділено штам *NQ 1951* з активністю 100 ОД/мл. Його колонія і стала родоначальницею всіх виробничих штамів у різних країнах світу. Використовуючи селекцію та комбіновану дію різними мутагенами (переважно – УФП та алкілюючі агенти), вже на початку 60-х років вдалося передати у виробництво штам, що утворює пеніцилін у кількості 5000 ОД і більше в 1 мл культуральної рідини. В даний час використовуються штами, які продукують десятки тисяч одиниць антибіотика в 1 мл середовища. Виробничі штами (стосовно біотехнологічного виробництва) з такою високою продуктивністю (це відноситься не тільки до пеніциліну, а й до інших цільових продуктів) вкрай нестабільні внаслідок того, що численні

штучні зміни в геномі клітин штаму самі по собі для життєздатності цих клітин позитивного значення не мають. Тому мутантні штами вимагають постійного контролю при зберіганні: популяцію клітин висіюють на тверде середовище та отримані з окремих колоній культури перевіряють на продуктивність, при цьому *ревертанти* – культури зі зниженою активністю, відкидають. Реверсія пояснюється зворотними спонтанними мутаціями, що ведуть до повернення ділянки геному (конкретного фрагмента ДНК) до його початкового стану.

При селекції застосовують методи виведення нових форм організмів, що відрізняються за властивостями від вихідних батьківських організмів. Стосовно мікробів сформувалося чотири підходи, що використовуються в селекційній роботі:

1. Відбір природних штамів, які мають цінні ознаки, що виявляються в конкретних умовах їх існування.

2. Штучний відбір клонів мікроорганізмів з корисними для людини ознаками, що виникли на основі природної мінливості батьківських форм. Такого відбору вдаються тоді, коли контрольована ознака біологічно малоцінна для мікроба і тому важко створити умови вирощування культури, в яких виділяти потрібні варіанти вдається відносно легко.

3. Ступінчаста селекція – ефективний метод штучного відбору форм із застосуванням мутагенів. За допомогою мутагенів збільшують мінливість тест-культур, серед останніх відбирають найбільш перспективні. Такий підхід, як правило, використовують багаторазово (ступінчасто), домагаючись суттєвого зростання контрольованого показника (активність, продуктивність та ін.). Потенційні можливості мутагенезу (з наступною селекцією) зумовлені залежністю біосинтезу цільового продукту від багатьох метаболічних процесів в організмі продуцента. Наприклад, підвищена активність організму, що утворює цільовий продукт, очікується, якщо мутація призвела до *дуплікації* (подвоєння) або *ампліфікації* (множення) структурних генів, включених у систему синтезу цільового продукту. Далі активність можна підвищити, якщо за рахунок різних типів мутацій будуть пригнічені функції репресорних генів,

що регулюють синтез цільового продукту. Підвищити активність продуцента можна, змінивши (за рахунок мутацій) систему транспорту попередників цільового продукту у клітину. Нарешті, іноді різке збільшення кількості цільового продукту негативно впливає на життєздатність власного продуцента (так званий *суїцидний ефект*). Підвищення резистентності продуцента до утвореної ним речовини часто необхідно для отримання, наприклад, суперпродуцентів антибіотиків.

Крім дуплікації та ампліфікації структурних генів мутації можуть мати характер *делеції* – «стирання», тобто, «випадання» частини генетичного матеріалу. Мутації можуть бути зумовлені *транспозицією* (вставкою ділянки хромосоми у нове місце) або *інверсією* (зміною порядку розташування генів у хромосомі). При цьому геном мутантного організму зазнає змін, що ведуть в одних випадках до втрати мутантом певної ознаки, а в інших – до появи нової. Чимале значення для біотехнологічного виробництва можуть мати і так звані «точкові» мутації. У цьому випадку зміни відбуваються в межах лише одного гена. Наприклад, випадання або вставка однієї або кількох основ. До «точкових» мутацій відносяться *трансверсія* (коли відбувається заміна пурину на піримідин) і *транзиція* (заміна одного пурину на інший пурин або одного піримідину на інший піримідин). Заміни в одній парі нуклеотидів (мінімальні заміни) при передачі генетичного коду на стадії трансляції ведуть до появи в білку, що кодується, замість однієї амінокислоти іншої. Це може різко змінити конформацію даного білка та, відповідно, його функціональну активність.

4. *Гібридизація* (процес отримання гібридів, в основі якого лежить об'єднання генетичного матеріалу різних клітин в одній клітині) – як метод виведення корисних форм мікроорганізмів. Тут є аналогія зі способом схрещування у вищих еукаріотів.

З усього викладеного випливає, що сучасний біооб'єкт, що використовується в біотехнологічній промисловості, – це суперпродуцент, який відрізняється від вихідного природного штаму не за одним, а, як правило, за декількома показниками. Зберігання таких штамів-суперпродуцентів є

серйозною самостійною проблемою. При всіх способах зберігання їх необхідно періодично пересіювати та перевіряти як на продуктивність, так і на інші важливі для виробництва властивості.

У разі застосування вищих рослин та тварин в якості біооб'єктів для отримання, наприклад, лікарських засобів можливості використання мутагенезу та селекції для їх удосконалення обмежені. Однак, у принципі мутагенез та селекція тут не виключені. Особливо це стосується рослин, що утворюють вторинні метаболіти, які використовуються як лікарські речовини.

Удосконалення біооб'єктів методами клітинної інженерії

Протягом багатьох років мутагенез та селекція успішно застосовувалися і широко застосовуватимуться при удосконаленні біооб'єктів надалі. Проте поступово було виявлено суттєві обмеження у досягненні цілей, що ставляться біотехнологами. І хоча головний шлях зняття таких обмежень пов'язаний із застосуванням методів генетичної інженерії, певні перспективи має і клітинна інженерія – обмін ділянками хромосом у прокаріотів або ділянками і навіть цілими хромосомами у еукаріотів. У результаті створюються неприродні біооб'єкти, серед яких можуть бути відібрані продуценти нових речовин або організми з цінними властивостями.

Клітинна інженерія – конструювання спеціальними методами клітин нового типу. Клітинна інженерія включає реконструкцію життєздатної клітини з окремих фрагментів різних клітин, об'єднання цілих клітин, що належать до різних видів (і навіть до різних царств – рослинам і тваринам), з утворенням клітини, що несе генетичний матеріал обох клітин, та інші операції. Клітинна інженерія використовується для рішення теоретичних проблем у біотехнології, для створення нових форм рослин і тварин, що володіють корисними ознаками.

Цей розділ біотехнології, що інтенсивно розвивається в наш час, обумовив появу зовсім нових нетрадиційних об'єктів – тканин і клітин вищих багатоклітинних організмів, тварин і рослин, що культивуються, а також мікроорганізмів, створюваних методами генетичної інженерії (рис. 72).

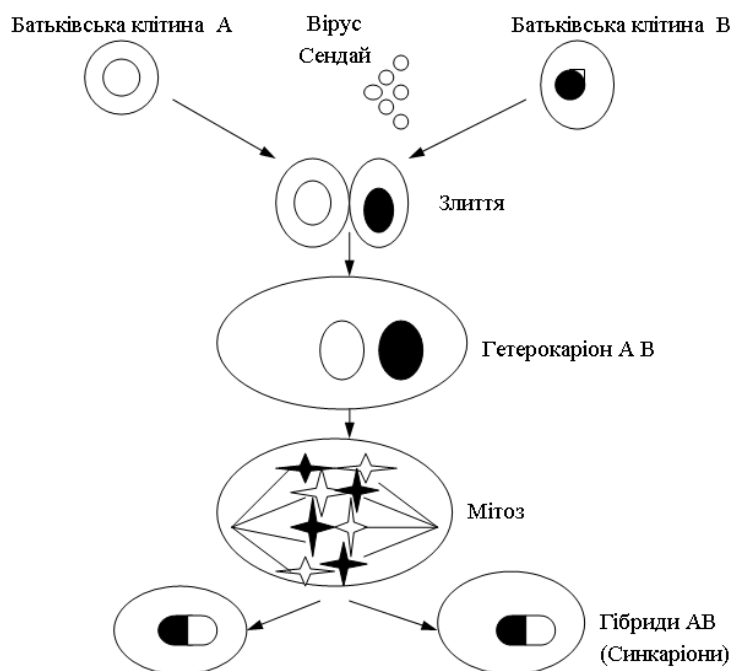


Рис. 72. Схема злиття двох одноядерних клітин А і В, що належать тваринам двох різних видів

Багатоядерні клітини (*полікаріони*), що утворилися внаслідок злиття клітин двох різних типів (А і В), можуть бути у трьох комбінаціях – АА, ВВ, АВ.

Полікаріони, що містять ядра лише одного клітинного типу (АА і ВВ), називаються *гомокаріонами*; полікаріони, до складу яких входять ядра обох батьківських типів (АВ), належать до *гетерокаріонів*. Злиття у гетерокаріонах ядер після злиття клітин обумовлює створення клітинного гібриду – *синкаріону*.

В останні роки дуже широко застосовують метод злиття *протопластів* (бактеріальні або рослинні клітини, повністю позбавлені клітинної стінки та оточені лише цитоплазматичною мембраною). Цей метод, очевидно, є універсальним способом уведення генетичної інформації в клітини різного походження. Простота методу робить його доступним для селекції промислово важливих продуцентів. Метод відкриває нові можливості для одержання міжвидових і міжродинних гібридів і схрещування фенотипічно віддалених форм живого. Отримано позитивні результати злиття бактеріальних, дріжджових і рослинних клітин, міжвидові й міжродинні гібриди дріжджів.

Вдалося одержати гібридні клітини в результаті злиття клітин організмів, що належать до різних царств: тваринного й рослинного (рис. 73).

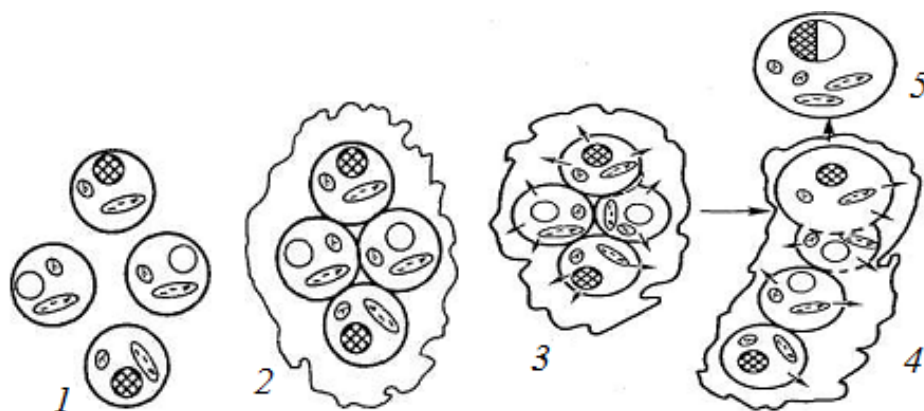


Рис. 73. Схема злиття протопластів:

1 – ізольовані протопласти; 2 – злипання протопластів в результаті дегідратації; 3 – утворення пар в мембрані протопласта; 4 – перетікання через пори внутрішньоклітинного матеріалу; 5 – гібридний протопласт

Нормальні клітини в природних умовах украй рідко зливаються одна з іншою. Виняток становить процес запліднення, а також процес плазмогамії у вищих грибів, коли однопідрні гаплоїдні клітини зливаються, утворюючи двоідрні (дикаріони) організми. Такі клітини розмножуються мітотично, залишаючись двоідрними, і в результаті утворюють добре відомі плодові тіла.

Процесу злиття перешкоджає клітинна стінка. Таким чином, перший етап роботи пов'язаний із видаленням клітинної стінки і отриманням *протопластів*. У прокаріотів – еубактерій та актиноміцетів – багатоклітинних бактерій, клітинна стінка складається з жорсткого полімеру пептидоглікану, що підтримує форму клітини та забезпечує захист цитоплазматичної мембрани від перепаду осмотичного тиску між зовнішнім середовищем та цитоплазмою. Пептидоглікан може бути розщеплений за допомогою ферментів, з яких найвідомішим є лізоцим.

Якщо біоб'єкт належить до мікроскопічних (цвілевих та дріжджових) грибів, то для отримання протопластів використовують, як правило, не лізоцим, а комплексний ферментний препарат, виділений із травного тракту виноградного равлика *Helix pomatia*.

Для видалення клітинної стінки при отриманні рослинних протопластів використовуються ферментні препарати трьох типів – целюлази, геміцелюлази та пектинази. Дія цих ферментів полягає у деструкції основних компонентів клітинної стінки, що забезпечують її механічну міцність. У рослинних клітин цими компонентами є целюлоза, геміцелюлоза та пектинові речовини, які знаходяться у клітинній стінці у різних співвідношеннях. Тому комбінації ферментних препаратів, їх кількісні співвідношення та час обробки повинні емпірично підбиратися для кожного конкретного випадку.

Однак, при ферментативному порушенні клітинної стінки важливим є збереження цілісності плазматичної мембрани протопласта, а це зумовлено різницею величини осмотичного тиску в клітині та в середовищі. За таких умов ферментативна обробка клітинної стінки для отримання протопластів проводиться у «гіпертонічному» середовищі з 20%-ним розчином сахарози або 10%-ним розчином NaCl залежно від особливостей біооб'єкта.

На другому, дуже складному і відповідальному, етапі відбувається злиття двох протопластів різного походження.

Для індукції злиття протопластів і клітин використовуються речовини різної природи: йони Ca^{2+} , поліетиленгліколь, лізолецитин, моноолеат гліцерину, вірус Сендай.

Перевага вірусу Сендай як агента, що сприяє злиттю клітин, полягає у повній відсутності цитотоксичного ефекту. Вірус перед застосуванням інактивують, опромінюючи ультрафіолетовою лампою протягом 5 хвилин, при цьому він втрачає здатність до розмноження, але зберігає можливість зливати клітини.

Протопласти – основний об'єкт, яким оперує клітинна інженерія, також використовуються і в генетичній інженерії. При цьому обмін молекулами та фрагментами молекул ДНК у протопластів досягається легше, ніж при трансформації клітин з їх складнішою оболонкою.

Перспективи клітинної інженерії полягають насамперед у тому, що з її допомогою можливе отримання міжвидових та міжродових гібридних культур

мікроорганізмів, а також гібридних клітин між віддаленими в еволюційному відношенні багатоклітинними організмами.

Методами клітинної інженерії було отримано біооб'єкти-продуценти багатьох гібридних β -лактамних антибіотиків, гібриди дріжджів, гібридами – продуценти моноклональних антитіл, організми-симбіонти (вищі рослини з азотфіксувальними ціанобактеріями).

Створення біооб'єктів методами генетичної інженерії

Генетична інженерія набагато конкретніша і точніша за клітинну за характеристикою використовуваних об'єктів і оперує, в основному, з різними за формою та розмірами фрагментами клітини. Мета прикладної генетичної інженерії полягає в конструюванні таких рекомбінантних молекул ДНК, які при впровадженні в генетичний апарат надавали б організму властивості, корисні для людини.

Генетичну інженерію можна представити як поєднання фрагментів ДНК природного та синтетичного походження або їх комбінацію *in vitro* з подальшим введенням отриманих рекомбінантних структур у живу клітину для того, щоб уведений фрагмент ДНК після включення його в хромосому або *реплікувався* (створював копії), або автономно *експресувався* (процес, при якому спадкова інформація генів використовується для синтезу функціонального продукту). Отже, генетичний матеріал, що вводиться, стає частиною геному клітини.

Для роботи необхідно мати:

- а) генетичний матеріал (клітину-господаря);
- б) транспортний пристрій – вектор, що переносить генетичний матеріал у клітину;
- в) набір специфічних ферментів – «інструментів» генної інженерії.

Принципи та методи генетичної інженерії відпрацьовані, насамперед, на мікроорганізмах; бактеріях – прокаріотах та дріжджах – еукаріотах.

Технологія рекомбінантних ДНК використовує такі методи:

- специфічне розщеплення ДНК рестриктазами, що прискорює виділення та маніпуляції з окремими генами;
- швидке секвенування (біохімічні методи встановлення послідовності нуклеотидних основ ДНК) всіх нуклеотидів в очищеному фрагменті ДНК, що дозволяє визначити межі гена та амінокислотну послідовність, що кодується ним;
- конструювання рекомбінантної ДНК;
- гібридизація нуклеїнових кислот, що дозволяє виявляти специфічні послідовності РНК або ДНК з більшою точністю та чутливістю, засновану на їх здатності зв'язувати комплементарні послідовності нуклеїнових кислот;
- клонування ДНК: ампліфікація *in vitro* за допомогою ланцюгової полімеразної реакції або введення фрагмента ДНК у бактеріальну клітину, яка після такої трансформації відтворює цей фрагмент у мільйонах копій;
- введення рекомбінантної ДНК у клітини чи організми.

Важливим етапом роботи є вибір вектора. Найчастіше їх конструюють на основі плазмід (за відсутності лізису клітини). Завдання вектора – донести обрану ДНК у клітину-реципієнт, вбудувати її в геном, дозволити ідентифікацію трансформованих клітин, забезпечити стабільну експресію введеного гена. Щоб забезпечити проникнення вектора з чужорідним геном у клітину мікроорганізму, залежно від її виду, проводять спеціальну обробку матеріалу солями літію або кальцію. Внаслідок цього в клітинній стінці формуються отвори невеликого діаметра, через які проникають молекули вектора.

Вбудовування гена у вектор (плазмиду) здійснюється за допомогою набору специфічних ферментів – рестриктаз. Ген утримується у векторі спочатку за рахунок водневих зв'язків між комплементарними кінцями молекули ДНК, а потім закріплюється за допомогою ферментів лігаз ковалентними зв'язками. Суспензія клітин мікроорганізму разом із вектором після інкубації засівається на ущільнене живильне середовище, а далі колонії,

що при цьому утворюються, переносяться на агаровий косяк. Отримані клони перевіряють за допомогою *генів-маркерів* (ген, що дозволяє розрізняти гібридні клітини для ефективної їх селекції) на вміст у їх клітинах вектора з геном, який відповідає за активність біосинтезу цільового продукту, а далі проводять відбір рекомбінантних продуцентів (рис. 74).

Маркерні гени можуть відповідати за стійкість до антибіотиків (канаміцину, тетрацикліну, неоміцину та ін.), гербіцидів (у рослин). Основний принцип роботи такого маркера – здатність трансформованих клітин рости на селективному поживному середовищі, з добавкою певних речовин, що інгібують ріст та поділ нетрансформованих, нормальних клітин. Або кодувати нейтральні для клітин білки, наявність яких у тканинах можна легко тестувати.

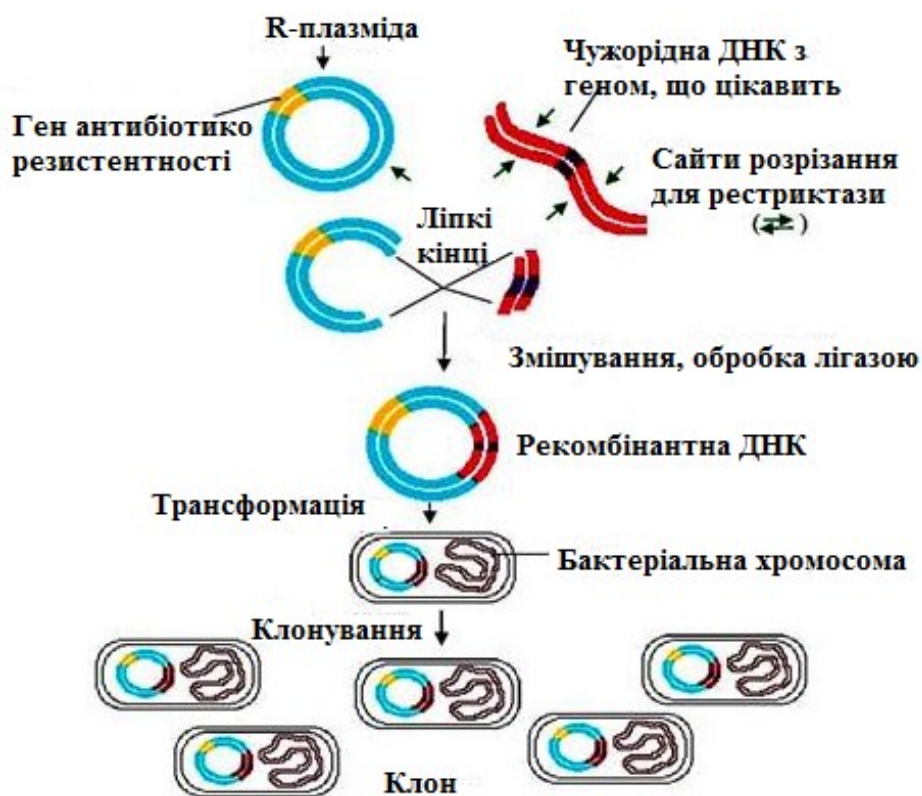


Рис. 74. Схема конструювання біооб'єктів методами генетичної інженерії

Найбільші практичні успіхи генетичної інженерії стосовно біотехнології лікарських засобів досягнуто нині у сфері створення штамів мікроорганізмів – продуцентів видоспецифічних для людини білків. Такі білки для мікробної клітини є чужорідними, а в організмі людини одні з них відіграють роль

біорегуляторів (білкові гормони), інші – факторів вродженого імунітету (інтерферони тощо).

Контрольні питання

1. Яку роль грає біооб'єкт у біотехнологічному виробництві? Що може бути використане в якості біооб'єкта в біотехнології?
2. Охарактеризуйте роль мікроорганізмів як об'єктів-продуцентів у біотехнології.
3. Яким чином характеризуються біооб'єкти-продуценти за рівнями організації?
4. У чому полягає різноманітність мікроорганізмів (вірусів, фагів, бактерій, водоростей, грибів, найпростіших)?
5. У яких природних середовищах живуть мікроорганізми?
6. Яким чином мікроорганізми (автотрофи, гетеротрофи) розрізняються за елементами живлення?
7. Вимоги до штамів мікроорганізмів, що використовуються в промисловості.
8. Вкажіть фактори, що впливають на ріст мікроорганізмів-продуцентів.
9. Як використовуються мікроорганізми у виробництві різних видів продукції широкого вжитку?
10. Які існують методи підвищення продуктивності біооб'єктів?
11. Які властивості біооб'єкта можна використовувати для його вдосконалення з метою створення ефективного та безпечного виробництва лікарських засобів?
12. Що означає репарація біооб'єкта для біотехнологічного виробництва лікарських засобів?
13. Як реалізуються мутагенез та селекція в отриманні більш продуктивних біооб'єктів?
14. Які види мутацій існують?
15. У чому полягає принципова відмінність методів клітинної інженерії від генної?

4. СТАДІЇ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ТА ЙОГО СКЛАДОВІ

Сучасне промислове виробництво продуктів біосинтезу є єдиною біотехнологічною системою, що складається з послідовних стадій та операцій, кількість та особливості яких залежать від виду продукції що виробляється та її товарної форми.

Біотехнологічний процес – це виробничий процес, у якому використовується життєдіяльність організмів або продукти їх метаболізму. У загальному вигляді будь-який біотехнологічний процес включає три основні стадії: *передферментаційну* – підготовчу (складається з двох процесів – підготовки поживного середовища і підготовки продуцента); *ферментаційну* – основну (культивування біооб'єкта) і *постферментаційну* – заключну (відділення, очищення та модифікація цільового продукту).

Основою сучасних біотехнологічних виробництв є мікробіологічний синтез. Об'єкти рослинного та тваринного походження знаходять менш широке використання, ніж мікроорганізми, внаслідок високих вимог до умов культивування (значне подорожчання виробничих процесів). Характерна особливість мікроорганізмів – їх здатність до надсинтезу, тобто надлишкового утворення деяких продуктів обміну речовин (багатьох амінокислот, нуклеотидів, вітамінів), які перевищують потреби мікробної клітини.

Реалізація біотехнологічного процесу здійснюється за наступною принциповою схемою (рис. 75).

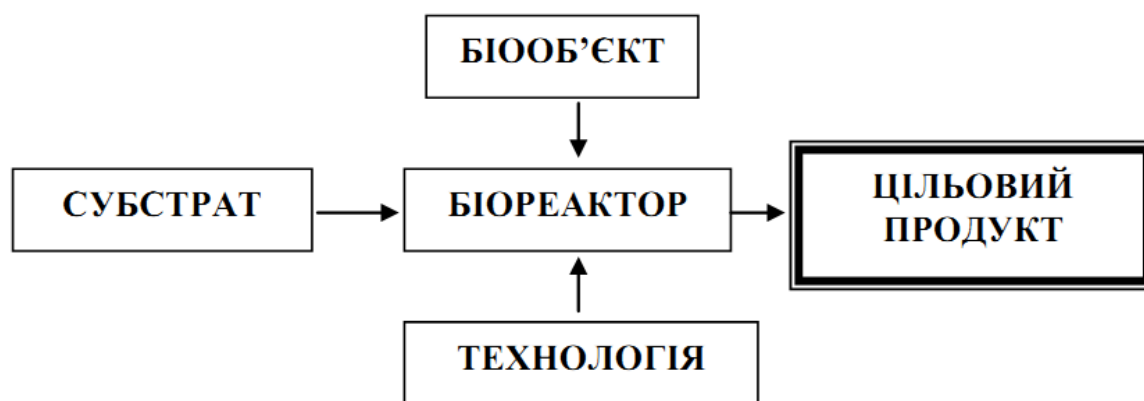


Рис. 75. Блок-схема біотехнологічного процесу

Реальні біотехнологічні виробництва можуть використовувати різні біооб'єкти-продуценти, сировину, передбачати різну кількість виробничих стадій, особливі технологічні режими. Тобто узагальнену типову схему біотехнологічного виробництва можливо уявити наступним чином (рис. 76).



Рис. 76. Узагальнена схема стадій біотехнологічного виробництва

Структура та особливості біотехнології можуть охоплювати окремі операції чи процес загалом. Удосконалення біотехнологічного процесу може призвести до створення нових структурних одиниць та ліквідації застарілих.

Визначальними чинниками у такому разі є:

- використовуваний біологічний агент (об'єкт);
- субстрат та його біохімічні та біофізичні характеристики;
- апаратурне оформлення, включаючи системи контролю та управління;
- технологічний режим чи спосіб реалізації;
- відповідність технологічних процесів, обладнання, приміщень, якості продукції та її пакування вимогам стандартів.

На *передферментаційній* стадії здійснюють зберігання та підготовку культури продуцента (інокулята), отримання та підготовку поживних субстратів і середовищ, ферментаційної апаратури, технологічної та рециркулюючої води і повітря.

Підтримання і підготовка *чистої культури* є дуже важливим моментом передферментаційної стадії, оскільки продуцент, його фізіолого-біохімічні характеристики і властивості визначають ефективність всього біотехнологічного процесу. У відділенні чистої культури здійснюють зберігання виробничих штамів і забезпечують їх реактивацію і напрацювання інокулята в кількостях, необхідних для початку процесу. При вирощуванні посівних доз інокулята застосовують принцип масштабування, тобто проводять послідовне нарощування біомаси продуцента в колбах, бутлях, далі в серії послідовних ферментерів. Кожен наступний етап даного процесу відрізняється за обсягом від попереднього зазвичай на порядок, тобто у 10 разів (рис. 77).

Приготування поживних середовищ здійснюється в спеціальних реакторах, обладнаних мішалками. Залежно від розчинності і сумісності компонентів середовищ можуть бути застосовані окремі реактори. Технологія приготування середовищ значно ускладнюється, якщо до їх складу входять нерозчинні компоненти.



Рис. 77. Масштабування культури продуцента у біотехнологічному виробництві

У різних біотехнологічних процесах застосовуються різні за походженням і кількістю субстрати, тому процес їх приготування варіює. Дозування живильних компонентів підбирається й здійснюється індивідуально на кожному виробництві відповідно до «Технологічного регламенту» конкретного процесу. В якості дозуючого обладнання при цьому застосовуються вагові і об'ємні пристрої, що використовуються в харчовій та хімічній промисловості. Транспорт речовин здійснюється насосами, стрічковими і шнековими транспортерами. Сипучі компоненти подають у ферментери за допомогою вакуумних насосів. Часто застосовують принцип попередніх сумішей, тобто солі попередньо розчиняють і потім транспортують по трубопроводах, дозуючи їх подачу за обсягом.

Основною, *ферментаційною*, стадією є власне біотехнологічна стадія (ферментація, біотрансформація, біокаталіз, метанове бродіння, біоокиснення, біокомпостування, біосорбція, біодеградація, бактеріальне вилуговування), на якій за використання того або іншого біологічного агента – об'єкта (мікроорганізмів, ізольованих клітин, тканин, ферментів чи клітинних органел),

виникає утворення цільового продукту за наступними технологічними процесами:

- *ферментація* – процес, який здійснюється шляхом культивування мікроорганізмів (виробництво кефіру, йогурту шляхом молочнокислого бродіння; виробництво спирту, пива – спиртовим бродінням; виробництво амінокислоти лізину, лимонної кислоти з меляси (відходів цукрового виробництва); виробництво кормового білка шляхом нарощування дріжджової біомаси);

- *біотрансформація* – процес перетворення хімічної структури речовини під впливом ферментативної активності клітин мікроорганізмів або готових ферментів. При цьому не виникає накопичення клітин мікроорганізмів, а здійснюється хімічна модифікація речовин субстрату шляхом додавання чи віднімання радикалів, гідроксильних іонів або дегідрування (виробництво стероїдних гормонів, алкалоїдів, антибіотиків);

- *біокаталіз* – хімічне перетворення речовини з використанням ферментів-біокаталізаторів (культивування грибів шляхом ферментативного руйнування целюлозовмісних рослинних відходів, використання біосенсорів);

- *метанове бродіння* – переробка органічних відходів за допомогою асоціації метаногенних мікроорганізмів в анаеробних умовах (виробництво біогазу з використанням органічних відходів);

- *біоокиснення* – утилізація речовин-забруднювачів за участю мікроорганізмів або асоціації мікроорганізмів в аеробних умовах (початкова аеробна стадія силосування, очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

- *біокомпостування* – це зниження кількості шкідливих органічних речовин у твердих відходах за допомогою асоціації мікроорганізмів (наприклад, мікробне очищення ґрунту від нафтових забруднень);

- *біосорбція* – поглинання шкідливих домішок із газів або рідин мікроорганізмами, які закріплені на спеціальних твердих носіях (наприклад, очищення стічних вод з використанням біофільтрів);

- *біодеградація* – руйнування шкідливих сполук під впливом мікроорганізмів-деструкторів (анаеробна стадія силосування, мікробне розкладання пестицидів);

- *бактеріальне вилугування* – процес переведення нерозчинних сполук металів за допомогою мікроорганізмів у розчинний вигляд (виділення металів із піритних руд).

Стадія ферментації є основною стадією в біотехнологічному процесі, оскільки в її ході відбувається взаємодія продуцента із субстратом і утворення цільових продуктів (біомас, ендо-та екзопродуктів). Ця стадія здійснюється в біохімічному реакторі (ферментері) і може бути організована залежно від особливостей продуцента, що використовується, і вимог до типу та якості кінцевого продукту різними способами (рис. 78).

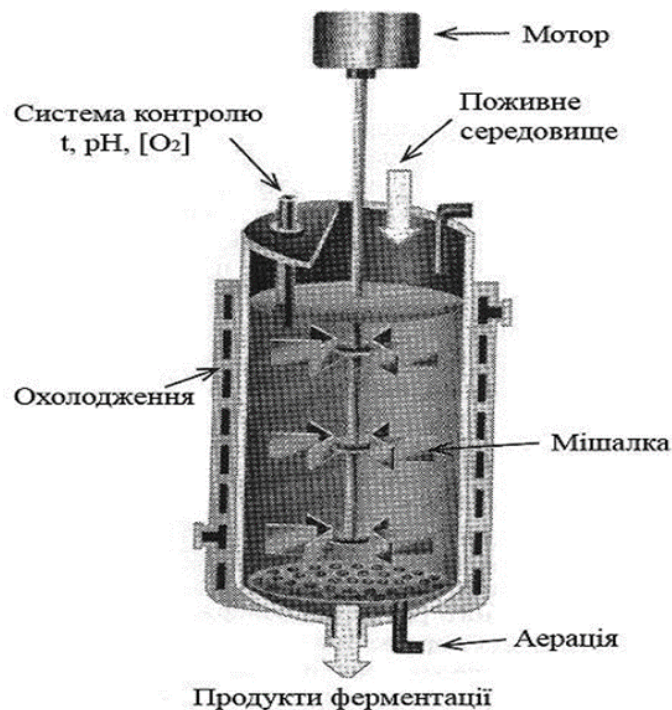


Рис. 78. Схема будови ферментера

Ферментація може проходити у суворо асептичних умовах і без дотримання правил стерильності (так звана «незахищена» ферментація); на рідких і на твердих середовищах; анаеробно і аеробно. Аеробна ферментація, в свою чергу, може протікати поверхово або глибинно (у всій товщі живильного середовища).

Культивування біологічних об'єктів може відбуватися в періодичному, напівбезперервному і проточному режимах. При періодичному способі культивування ферментер заповнюється вихідним живильним середовищем і інокулятом мікроорганізмів. Протягом певного періоду часу в апараті відбувається взаємодія мікроорганізмів і субстрату, що супроводжується утворенням в культурі продукту. В ході періодичної ферментації вирощувана культура проходить ряд послідовних стадій: лаг-фазу, експоненційну (log-фаза), стаціонарну (const-фаза), відмирання (рис. 79).

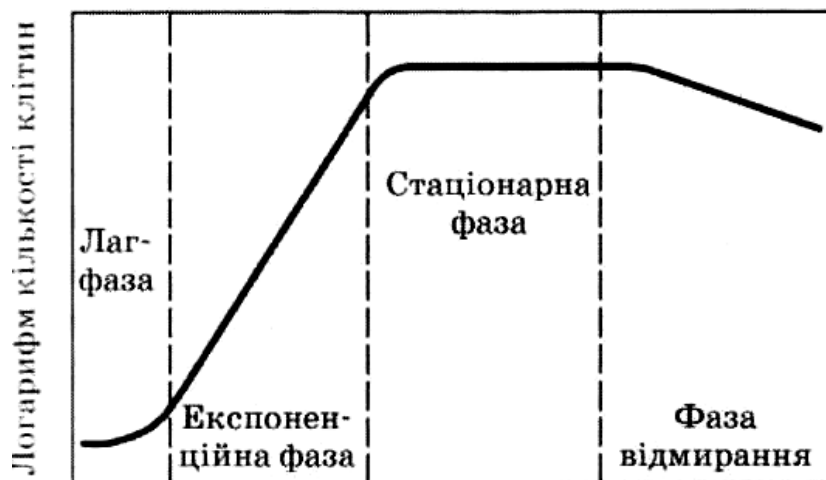


Рис. 79. Крива росту клітинної популяції

При цьому відбуваються суттєві зміни фізіологічного стану біооб'єкта, а також ряду параметрів середовища. *Цільові продукти* утворюються в експоненційну (первинні метаболіти – ферменти, амінокислоти, вітаміни) або стаціонарну (вторинні метаболіти – антибіотики) фазу, тому залежно від цілей біотехнологічного процесу в сучасних промислових процесах застосовують принцип диференційованих режимів культивування. В результаті цього створюються умови для максимальної продукції того чи іншого цільового продукту.

Лаг-фаза починається з моменту посіву клітин у свіже поживне середовище. У цей період клітини адаптуються до даних умов культивування. Тривалість лаг-фази залежить від передісторії інокуляту та його віку, а також від того, наскільки придатним для росту є дане середовище і умови культивування (рН, температура, концентрація розчиненого кисню).

Експоненційна фаза характеризується максимальною швидкістю поділу клітин. У цій фазі процеси росту проходять збалансовано (подвоєння біомаси супроводжується подвоєнням кількості білка, ДНК, РНК та ін.). Культура в експоненційній фазі складається зі «стандартних» клітин, але клітини періодичної культури зазнають змін, оскільки постійно змінюється середовище – зменшується концентрація субстрату, збільшується густина клітинної суспензії, накопичуються продукти обміну.

Стаціонарна фаза настає тоді, коли кількість клітин перестає збільшуватися, тобто характеризується рівновагою між клітинами, що утворюються, та клітинами, що гинуть. У стаціонарній фазі спостерігається максимальна біомаса і максимальна сумарна кількість клітин.

Фаза відмирання характеризується зниженням кількості живих клітин, система повністю вичерпується за субстратом або накопичення продуктів обміну є значним. Переважають процеси загибелі клітин і практично не спостерігається мітотичний поділ. Через початок *автолізу* (лізис клітин під дією своїх власних ферментів) зменшується і сумарна біомаса культури. Відзначаються морфологічні і фізіологічні зміни, з'являються інволюційні (незвичайні) форми клітин. Фаза відмирання протилежна експоненційній фазі.

Заклучна, *постферментаційна*, стадія забезпечує одержання готової товарної продукції і також, що не менш важливо, знешкодження відходів та побічних продуктів. Залежно від локалізації кінцевого продукту (клітина чи культуральна рідина) і його природи на постферментаційній стадії застосовують різну апаратуру і методи виділення і очищення. Найбільш працемістким є виділення продукту, що накопичується в клітинах.

Першим етапом постферментаційної стадії є фракціонування культуральної рідини і відділення зваженої фази – біомаси. Найбільш поширений для цих цілей метод – сепарація (відокремлення твердих частинок від рідини; розділення на складові частини рідких сумішей), що здійснюється в спеціальних апаратах – сепараторах, які працюють за різними схемами залежно від властивостей оброблюваної культуральної рідини. Основні проблеми

виникають при необхідності відділення дрібнозвішених часток з розміром 0,5-1,0 мкм і менше (бактеріальні клітини) і необхідності переробки великих об'ємів рідини (виробництво кормового білка, ряду амінокислот). Для підвищення ефективності процесу сепарації застосовують попередню спеціальну обробку культури – зміна рН, нагрівання, додавання хімічних агентів.

Залежно від властивостей біомаси та рідини, для їх поділу можуть бути використані різні методи:

- *відстоювання* – поділ під дією гравітаційних сил (зазвичай при очищенні стічних вод);

- *фільтрація* – пропускання суспензії через матеріал, що фільтрує, на якому затримуються частинки твердої фази – біомаса. Такий спосіб застосовують у виробництві антибіотиків, особливо у випадках, коли мікроорганізм-продуцент має міцеліальний характер;

- *сепарація, центрифугування* – поділ під дією відцентрових сил. Найчастіше використовують відділення дріжджів чи бактерій при виробництві кормової біомаси;

- *мікрофільтрація, ультрафільтрація* – пропускання суспензії через мембрани з дуже малим розміром пор, що забезпечує утримання клітин мікроорганізмів на мембрані та отримання чистого розчину. При ультрафільтрації відокремлюються як клітини, так і великі молекули розчинених речовин;

- *коагуляція* – додавання в суспензію реагентів, що сприяють утворенню та осадженню більших клітинних частинок та відокремленню їх від рідини методом відстоювання;

- *флотація* – захоплення мікроорганізмів бульбашками піни і виділення їх з пінної фракції.

Цільові продукти біосинтезу можуть бути позаклітинними та внутрішньоклітинними.

Для виділення внутрішньоклітинних продуктів спочатку необхідно зруйнувати оболонку клітин. Це можна здійснити дезінтеграцією клітин, зруйнувавши клітинну оболонку фізичними методами (подрібнення; шляхом заморожування і продавлювання; впливом ультразвуку; методом декомпресії – різкого скидання тиску), хімічними або біотехнологічними методами. Використовують також гідроліз (руйнування клітинних оболонок під дією хімічних реагентів та температури), ферментоліз (руйнування клітинних оболонок під дією ферментів при підвищеній температурі) або автоліз (різновид ферментолізу, коли використовують власні ферменти клітини).

Після проведення будь-якої з перерахованих вище операцій подальше виділення цільового продукту здійснюють методами, загальними для позаклітинних і внутрішньоклітинних продуктів. Основними з них є:

- *екстракція* – перехід цільового продукту з водної фази в органічну рідину (екстрагент), що не змішується з водою. Найбільш відоме виділення жироподібних речовин рідкими вуглеводнями (типу бензину). Застосовують і багато інших видів екстрагентів (хлороформ, ефір, бутилацетат). Іноді екстракцію здійснюють безпосередньо з біомаси мікроорганізмів;

- *осадження* – виділення цільового продукту шляхом додавання до рідини реагенту, що взаємодіє з розчиненим продуктом і переводить його у тверду фазу;

- *адсорбція* – переведення розчиненого в рідині продукту в тверду фазу шляхом його сорбції на спеціальних твердих носіях (сорбентах);

- *іонний обмін* – у тверду фазу переходять іони (катіони або аніони), а не молекула цільового продукту або домішки;

- *відгін, ректифікація* – виділення розчинених у культуральній рідині легкокиплячих продуктів, наприклад етилового спирту;

- *ультрафільтрація, нанофільтрація та зворотний осмос* – виділення високомолекулярних сполук (білків, поліпептидів, полінуклеотидів). Зворотний осмос та нанофільтрація дозволяють відокремлювати навіть невеликі за розміром молекули;

- *центрифугування, ультрацентрифугування* – виділення вірусів, клітинних органел, високомолекулярних сполук.

Очищення необхідне для отримання біопродуктів високого ступеня чистоти. Основною метою є видалення домішок, що досягається за допомогою екстракції, адсорбції, іонного обміну, ультрафільтрації, зворотного осмосу, ректифікації та ферментолізу. Крім перерахованих, використовують інші процеси, такі, як:

- *хроматографія* – процес, що нагадує адсорбцію. На твердому сорбенті збираються розчинені речовини, часто близькі за структурою (наприклад, суміші білків, нуклеотидів, цукрів, антибіотиків). При адсорбції вони десорбуються разом, а при хроматографії вони виділяються з сорбенту ніби по черзі, що дозволяє відокремити їх один від одного;

- *діаліз* – процес, в якому через напівпроникну плівку можуть проходити низькомолекулярні речовини, а високомолекулярні залишаються. Шляхом діалізу здійснюють очищення вакцин та ферментів від солей та низькомолекулярних розчинних домішок;

- *кристалізація* – процес, заснований на різній розчинності речовин при різних температурах. Повільне охолодження дозволяє формувати кристали з розчинів цільових продуктів, причому їх чистота зазвичай дуже висока. Можна навіть отримати ще чистіший продукт, якщо кристали розчинити у воді або розчиннику, а потім знову кристалізувати (тобто провести процес перекристалізації).

Концентрування продукту підвищує його вихід. Відомо, що після біотехнологічної стадії вміст продукту зазвичай становить приблизно 0,1-1%, після стадії відділення біомаси – 0,1-2%, після стадії виділення – 1-10%, після стадії очищення – 50-80% і, нарешті, після стадії концентрування – 90-100%.

На стадії концентрування застосовують такі процеси, як випарювання, сушіння, осадження, кристалізація, фільтрація, ультрафільтрація, гіперфільтрація або нанофільтрація, що забезпечують ніби віджимання розчинника з розчину.

Для збільшення термінів придатності біотехнологічних продуктів здійснюють їх додаткове зневоднення і стабілізацію. В залежності від властивостей продукту застосовують різні методи висушування. Сушіння термостабільних препаратів здійснюється на підносах, стрічковому конвеєрі, а також у киплячому шарі. Особливо чутливі до нагрівання препарати висушують в вакуумсушильних шафах при зниженому тиску і температурі та в розпилювальних сушарках.

Стабілізацію властивостей біотехнологічних продуктів забезпечує додавання в якості наповнювачів різних речовин. Для стабілізації, наприклад, кормового білка застосовують пшеничні висівки, кукурудзяне борошно, що мають додаткову поживну цінність. Для стабілізації ферментних препаратів використовують гліцерин і вуглеводи, які перешкоджають денатурації ферментів, а також неорганічні іони кобальту, магнію, антибіотики та ін.

Одержання готової форми продукту завершує біотехнологічне виробництво. Продукт набуває товарної форми за рахунок проведення процесів гранулювання (формування гранул з порошку або прямо з розчину), дражування, таблетування (формування драже, таблеток), розливу або фасування, ампулювання (затарювання в ампули).

Елементи біотехнологічного процесу

Основними елементами, що складають біотехнологічний процес, є: біологічний агент, субстрат, технологічне обладнання і продукт.

Біологічний агент є активним початком у біотехнологічних процесах і одним з найбільш важливих їх елементів.

Номенклатура біологічних агентів бурхливо розширюється, але до теперішнього часу найважливіше місце займає традиційний об'єкт – мікробна клітина. Мікробні клітини з різними хіміко-технологічними властивостями можуть бути виділені з природних джерел і далі за допомогою традиційних (селекція, відбір) і новітніх методів (клітинна і генетична інженерія) істотно модифіковані та покращені. При виборі біологічного агента і постановці його

на виробництво насамперед слід дотримуватися *принципу технологічності штамів*. Це означає, що мікробна клітина, популяція або спільнота особин повинні:

- зберігати свої основні фізіолого-біохімічні властивості в процесі тривалого ведення ферментації;
- промислові продуценти також повинні володіти стійкістю до мутаційних впливів, фагів, зараження сторонньою мікрофлорою (контамінації);
- характеризуватися нешкідливістю для людей і навколишнього середовища, не мати при вирощуванні побічних токсичних продуктів обміну і відходів;
- мати високі виходи продукту і прийнятні техніко-економічні показники.

У даний час багато промислових мікробних технологій базуються на використанні гетеротрофних організмів, а в майбутньому вирішальне місце серед продуцентів займуть автотрофні мікроорганізми, які не потребують для росту дефіцитних органічних середовищ, а також екстремофіли – організми, що розвиваються в екстремальних умовах середовища (термофільні, алка- і ацидофільні).

В останні роки розширюється застосування *змішаних мікробних культур* та їх природних асоціацій. У порівнянні з монокультурами, мікробні асоціації здатні асимілювати складні, неоднорідні за складом субстрати, мінералізують складні органічні сполуки, маючи підвищену здатність до біотрансформації, мають підвищену стійкість до впливу несприятливих факторів середовища і токсичних речовин, а також підвищену продуктивність і можливість обміну генетичною інформацією між окремими видами співтовариства. Основні області застосування змішаних культур – охорона навколишнього середовища, біодеградація і засвоєння складних субстратів.

Особлива група біологічних агентів в біотехнології – *ферменти*, так звані каталізатори біологічного походження. Ферменти знаходять все більше застосування в різних біотехнологічних процесах і галузях господарювання, але до 60-х років цей напрямок стримувався труднощами їх одержання, нестійкістю, високою вартістю. Як окрему галузь у створенні та використанні

нових біологічних агентів слід виділити *іммобілізовані ферменти* (прикріплені в активній формі до нерозчинної основи або включені в напівпроникну мембранну систему), які являють собою гармонійно функціонуючу систему, дія якої визначається правильним вибором фермента, носія і способу іммобілізації.

Перевага іммобілізованих ферментів порівняно з розчинними полягає в наступному:

- стабільність і підвищена активність;
- утримання в об'ємі реактора;
- можливість повного і швидкого відділення цільових продуктів;
- організація безперервних процесів ферментації з багаторазовим використанням біологічного агента.

Іммобілізовані ферменти відкривають нові можливості в створенні біологічних мікропристроїв для використання в аналітиці, перетворенні енергії та біоелектрокаталізі.

До нетрадиційних біологічних агентів біотехнології відносять рослинні і тваринні клітини і тканини, в тому числі гібридами, трансплантанти. Велика увага в даний час приділяється отриманню новітніх біологічних агентів – клітин трансгенних мікроорганізмів, рослин, тварин, що створені генно-інженерними методами.

Розроблено також нові методи, що дозволяють отримувати штучні клітини з використанням різних синтетичних і біологічних матеріалів (мембрани із заданими властивостями, ізотопи, магнітні матеріали, антитіла).

Розробляються підходи до конструювання ферментів із заданими властивостями, які мають підвищену реакційну активність і стабільність. В даний час реалізований синтез поліпептидів бажаної стереоконфігурації та ін.

Таким чином, у біотехнологічних процесах можливе використання різних біологічних агентів з різним рівнем організації – від клітинної до молекулярної.

Субстрати та середовища, що використовуються в біотехнології, досить різноманітні і їх спектр безперервно розширюється. Поживні середовища забезпечують життєздатність, ріст і розвиток відповідних продуцентів, а також

синтез цільового продукту з максимальною ефективністю. Вимоги до поживних середовищ в біотехнології нічим не відрізняються від вимог, що висуваються до поживних середовищ, які застосовуються в мікробіології для культивування тих чи інших мікроорганізмів. Для приготування поживних середовищ у біотехнології використовуються різноманітні субстрати, які повинні задовольняти певним критеріям: бути недефіцитними, дешевими, за можливістю легкодоступними.

До складу *середовищ* для біотехнологічних процесів входить речовина, яка є джерелом вуглецю та енергії, забезпечує нормальний розвиток та біосинтетичну активність об'єкта. Така речовина називається *субстратом*. Для культивування біотехнологічного об'єкта необхідні також мінеральні елементи і ростові фактори.

Поживні середовища для вирощування об'єктів біотехнології можуть бути невизначеного складу, тобто включати біогенні (рослинні, тваринні, мікробні) речовини – *натуральні середовища*, що являють собою складну суміш органічних речовин, де відомо, як правило, вміст «головного» інгредієнта, який впливає на ріст або біосинтетичну активність штама-продуцента. Це неочищені продукти харчової промисловості, сільського господарства, паперового виробництва та ін.

Застосовуються також середовища з чистих хімічних сполук визначеного складу, так звані *синтетичні середовища*. Синтетична сировина являє собою індивідуальні сполуки з точним хімічним складом, наприклад, глюкоза, цукор, крохмаль, етанол, вуглекислота, метан, парафін та ін. Це очищені продукти хімічної та харчової промисловості.

Середовища також можуть бути *напівсинтетичними* (до натурального субстрату додаються речовини відомої хімічної природи).

Найбільш поширеними є напівсинтетичні субстрати.

Природні сировинні матеріали

Джерелом природної сировини для біотехнологічних виробництв є сільське господарство та галузі лісівництва. Матеріали, що одержують у цих

галузях, являють собою сполуки різної хімічної складності і включають цукор, крохмаль, целюлозу, геміцелюлози і лігнін.

Рослинні джерела можуть розглядатися як практично невичерпні. Первинна продукція фотосинтезу (ріст рослин за рахунок використання сонячної енергії) на Землі забезпечує 2×10^{11} т речовини (біомаси) в рік у перерахунку на суху вагу. Найбільша частка біомаси (близько 44%) утворюється у вигляді деревини, продукція сільського господарства становить лише 6% первинної продукції, отриманої за рахунок фотосинтезу, хоча саме з цієї кількості виходить основна частина їжі для людей і тварин, а також багато необхідних матеріалів (наприклад, для текстильної і паперової промисловості).

Половину висушеної рослинної маси як сільськогосподарського, так і «лісового» походження становить один з найпоширеніших біополімерів – полісахарид целюлоза, який є цінним джерелом енергії та вуглецю. Майже не викликає сумніву, що целюлоза повинна розглядатися в якості основної поживної сировини для біотехнологічних процесів. Однак, необхідною умовою підготовки даного матеріалу до використання в якості біотехнологічної сировини є її гідроліз до простих водорозчинних цукрів (глюкози, целлобіози). Найбільші складнощі зустрічаються при спробах утилізації деревини, в якій целюлоза знаходиться в комплексі з геміцелюлозою і лігніном. Лігноцелюлозні комплекси характеризуються дуже високим ступенем стійкості до природних способів біодеградації. Саме ця властивість і зумовлює довговічність дерев і, природно, будівель з дерева. Лігноцелюлоза є найбільш поширеним і поновлюваним природним джерелом сировини, доступним людині практично у всіх країнах світу. Однак необхідно подолати значні технологічні труднощі, перш ніж виявиться економічно вигідним використання цієї енергетично багатой сировини. В наш час для того, щоб зробити її доступною для мікробіологічної деградації, необхідні досить дорогі і енергоємні процеси попередньої обробки.

Чиста целюлоза може бути досить легко зруйнована шляхом хімічного або ферментативного гідролізу до розчинних цукрів, які потім легко піддаються

ферментації (бродінню) мікроорганізмами з утворенням етанолу, бутанолу, ацетону, одноклітинного білка (*SCP*), метану та багатьох інших продуктів.

Істотне значення мають крохмальовмісні сільськогосподарські продукти, які включають різні злаки, такі як кукурудза, рис, пшениця; коренеплоди – картопля, солодка картопля і маніока. Деяким недоліком крохмалю є те, що до використання в якості поживного субстрату він, як правило, повинен бути розщеплений до моносахаридів або олігосахаридів шляхом ферментативного або хімічного гідролізу. Тим не менше, в наш час з певним успіхом розробляються перспективні біотехнологічні процеси, засновані на використанні даного полісахариду.

Поширеним джерелом вуглецю та енергії є компоненти нафти і газу. Найкращим субстратом з компонентів нафти є н-алкани (особливо рідкі) з числом вуглецевих атомів від 10 до 20. Їх можуть утилізувати більшість бактерій і дріжджів. Однак запаси і нафти, і газу зменшуються. Тому біотехнології орієнтуються на поновлювані джерела сировини.

Побічні продукти виробництва в якості біотехнологічної сировини

Одним із головних завдань біотехнології є максимальне використання величезних обсягів органічних відходів, які постійно утворюються у світовому виробництві. Біотехнологічна утилізація цих відходів, по-перше, забезпечить видалення джерел забруднення (наприклад, стічних вод), а по-друге, зумовить перетворення цих відходів у корисні цільові продукти. Продукти відходів відіграють важливу роль в економіці і впливають на стан навколишнього середовища. Так, багато побічних речовин харчової промисловості виявляються економічно малозначними і часто викидаються в магістральні водні системи, зумовлюючи потужне забруднення зовнішнього середовища. Тому здається досить привабливим розробити технології їх використання, в біотехнологічному виробництві, з отриманням подвійний вигоди.

Двома найбільш поширеними видами відходів, що застосовуються в біотехнологічних процесах в якості сировини для ферментації, є м'яса (чорна патока) і молочна сироватка.

Меляса являє собою побічний продукт виробництва цукру і містить до 50% цукрів. Меляса широко використовується як поживний субстрат для ферментаційних процесів для отримання антибіотиків, органічних кислот і комерційних дріжджів для хлібопечення.

Сироватка є побічним продуктом сироваріння. Її склад залежить від типу використовуваного молока і вироблюваного сиру. Розроблено способи добування з сироватки білків шляхом ультрафільтрації, осадження або виділення за допомогою іонного обміну. З таких білків можна отримувати білкові гідролізати, використовуючи для цього ферментери. Після видалення білків залишаються великі обсяги фільтратів з високими концентраціями лактози (5-50 г/л), мінеральних речовин, вітамінів, молочної кислоти і постає проблема подальшого їх використання. Якщо перетворити лактозу в молочну кислоту за участю молочнокислих бактерій, створюється джерело вуглецю, яке може зброджуватися дріжджами. Можливе і пряме зброджування лактози дріжджами *Kluyveromyces fragilis* або *Candida intermedia*. З сироватки отримують не тільки білкові продукти, але й, ферментацією, сировину для хімічної промисловості (наприклад, виробництва етанолу). Шляхом хімічного гідролізу лактози з подальшим видаленням глюкози з розчину за допомогою ферментації можна отримувати галактозу.

Відходи целюлозно-паперової промисловості. Волокнистий матеріал, що застосовується при виробництві паперу та інших продуктів, отримують як з деревини, так і з трав'янистих рослин після хімічного розщеплення лігніну. Однак цей процес супроводжується утворенням величезної кількості відходів. Ці рідкі відходи – добра сировина для ферментації завдяки високому вмісту в них вуглеводів. Їх ферментація в широких масштабах розпочата ще у 1909 р. У наш час традиційним методом видалення пентоз, гексоз і оцтової кислоти з таких відходів слугує їх ферментація за участю дріжджів. Крім цих традиційних методів можливо використовувати і нові процеси перетворення відходів у грибний білок.

Мінеральні елементи, що необхідні для росту біологічних агентів і входять до складу поживних середовищ, поділяються на макро- і мікроелементи. Серед макроелементів на першому місці стоїть азот, оскільки потреби в ньому у біологічних об'єктів на порядок перевищують потреби в інших елементах (фосфорі, калії і магнії). Азот зазвичай використовується мікроорганізмами у відновленій формі (сечовина, амоній або їх солі). Часто азот вводиться в комплексі з іншими макроелементами – фосфором, сіркою. Для цього в якості їх джерел використовують солі (сульфати або фосфати амонію). Мінеральні елементи необхідні для росту будь-якого біологічного агента, але їх концентрація в середовищі залежить від біології біоб'єкта і завдань біотехнологічного процесу. Так, концентрація макроелементів (K, Mg, P, S) зазвичай становить близько 10^{-3} - 10^{-4} М. Потреби в мікроелементах невеликі, і їх концентрація в середовищах істотно нижча – 10^{-6} - 10^{-8} М. Тому мікроелементи часто спеціально не вносять у середовище, оскільки їх домішки в основних солях і воді забезпечують потреби продуцентів.

Окремі продуценти в силу специфіки метаболізму або поживних потреб потребують для росту наявність у середовищі *ростових факторів* (окремих амінокислот, вітамінів та ін.) Крім чистих індивідуальних речовин такої природи, на практиці в якості ростових добавок часто використовують кукурудзяний або дріжджовий екстракт, картопляний сік, екстракт паростків ячменю, зернових відходів і відходи молочної промисловості. Стимулююча дія даних ростових факторів багато в чому залежить від індивідуальних властивостей продуцента, складу основного середовища, умов ферментації та ін. Додавання ростових факторів здатне збільшити вихід цільового продукту, наприклад ферментів, у десятки разів.

Традиційно склад живильного середовища, оптимального для біотехнологічного процесу, визначається методом тривалого емпіричного підбору, в ході якого на перших етапах визначається якісний і кількісний склад середовища. Було зроблено багато спроб обґрунтування складу середовищ з позицій фізіології і біохімії продуцента, але оскільки потреби в поживних

речовинах видо- і навіть штамоспецифічні, в кожному конкретному випадку доводиться підбирати оптимальний для певного продуцента склад середовища. В останні 20-25 років все ширше використовують математичний метод планування експериментів, математичне моделювання біотехнологічних процесів; це дозволяє обґрунтовано підходити до конструювання поживних середовищ, зробити їх економічними.

Для культивування різних біологічних об'єктів, у тому числі мікроорганізмів та культур клітин, залежно від поставлених завдань використовують різне *технологічне обладнання*. Це можуть бути гойдалки та ролери – при лабораторних дослідженнях, біореактори та ферментери – при промислових виробництвах.

Промислове вирощування клітин здійснюють у біореакторах або ферментерах. Їх поділяють на дві групи: за конструкцією та за принципом перемішування культуральної рідини.

У біореакторах, що належать до першої групи, перемішування клітин відбувається шляхом аерування повітрям (рис. 80). Це барботажний тип біореактора, при якому процес перемішування суспензії здійснюється пухирцями повітря, що піднімаються. У разі барботажних біореакторів зазвичай отримують хороші ростові характеристики для великої кількості клітинних культур. Однак складність підтримки суспензії в гомогенному стані при високих концентраціях біомаси клітин звужує їх застосування.

Декілька більших значень максимальної концентрації клітинної біомаси можна досягти при застосуванні ерліфтних біореакторів, у яких створюються циркуляційні потоки. В ерліфтних біореакторах перемішування суспензії здійснюється за рахунок застосування спеціальної конструкції, що створює градієнт щільності (як правило, це конструкція з внутрішнім циліндром).

Друга група біореакторів являє собою апарати із застосуванням механічних пристроїв, що перемішують.

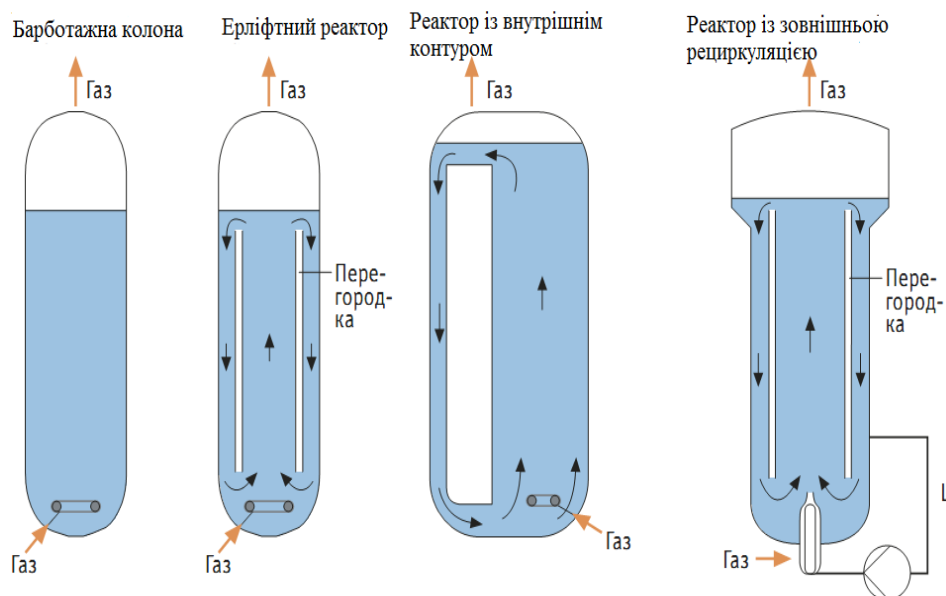


Рис. 80. Барботажні колони, ерліфтні реактори та реактори з внутрішнім контуром

Біореактори цього типу дозволяють вивчати клітинні популяції у широкому діапазоні концентрацій біомаси клітин. Разом з тим, стресовий вплив пристрою, що перемішує, на клітинну популяцію часто обмежує їх застосування (рис. 81).

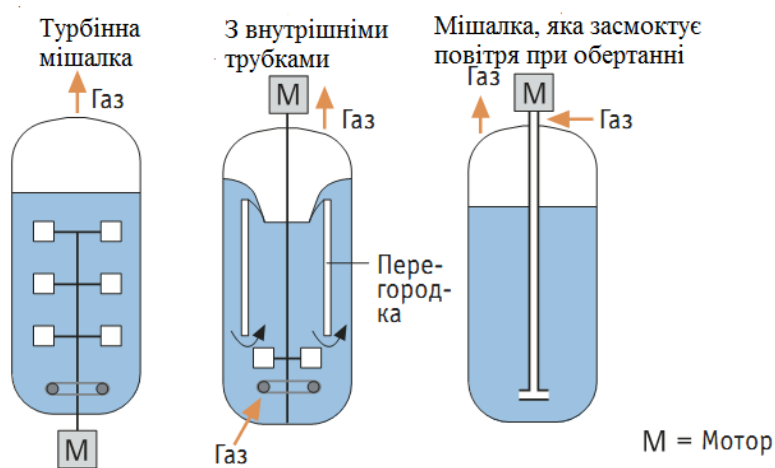


Рис. 81. Реактори з механічним перемішуванням

У сучасній промисловості найбільшого поширення набули реактори з перемішуванням, забезпечені системою контролю температури та інтенсивності аерації, вентиллями для відбору проб та стерильними елементами конструкції (труби тощо).

У процесах з багатоступінчастою ферментацією використовуються реактори з лопатевими мішалками, а в разі одноклітинних організмів – ерліфтні реактори або барботажні колони. При ферментації у великих обсягах значними виявляються енергетичні витрати забезпечення швидкого перемішування середовища культивування і відведення тепла задля збереження постійної температури. У масштабних виробництвах (наприклад, виробництві глютамінової кислоти, білків одноклітинних організмів або при очищенні стоків) використовують ерліфтні реактори об'ємом до 1500 м³, у яких аерація здійснюється за рахунок внутрішньої чи зовнішньої рециркуляції газу.

Контрольно-вимірювальна апаратура. Контроль умов культивування необхідний і в експериментальних установках для підбору оптимальних параметрів, і під час виробничого процесу. Зазвичай вимірюють такі характеристики: вага клітинної маси, температуру культуральної рідини, швидкість обертання і потужність перемішувальних пристроїв, вміст кисню і рН середовища. Часто у відпрацьованих газах аналізують вміст CO₂ (методом інфрачервоної спектроскопії) та O₂ (методом парамагнітного резонансу). За результатами всіх аналізів отримують повну картину технологічного процесу. Склад продукту та витрату субстрату визначають шляхом періодичного відбору проб без порушення стерильності системи. Через великі витрати на проведення ферментації та високі ціни на сировину, ведеться постійний пошук можливостей для зниження витрат.

Вирощування клітинних культур та мікроорганізмів у біореакторах можна проводити в режимах періодичного та проточного (безперервного) культивування.

Періодичне культивування – це аналог вирощування клітинних культур у колбах на качалці. Періодичну культуру можна розглядати як замкнуту систему, яка у своєму розвитку проходить чотири фази – початкову, експоненційну, стаціонарну та відмирання. Умови існування культури у всіх цих фазах різні.

Проточне (безперервне) культивування характеризується постійним додаванням у біореактор свіжого живильного середовища та постійним

відбором або суспензії (відкрите проточне культивування), або відпрацьованого середовища (закрите проточне культивування). Для організмів створюються постійні умови середовища. Проточне культивування конструктивно складніше, але піддається автоматичному регулюванню, оскільки пов'язане з уведенням у схему біореактора додаткових пристроїв (перистальтичних насосів, розділових пристроїв та ін.).

Серед *продуктів мікробіологічного синтезу* – величезна кількість різних біологічно активних сполук, в тому числі білкових і лікарських речовин, ферментів, а також енергоносії (біогаз, спирти) та мінеральні ресурси (метали), засоби для боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур (біоінсектициди) і біодобрива. У зв'язку з розвитком новітніх методів біотехнології (інженерної ензимології, клітинної та генної інженерії) спектр цільових продуктів безперервно доповнюється. Серед них все більше місце займають засоби діагностики та лікування (гібридами, моноклональні антитіла, вакцини та сироватки, гормони, модифіковані антибіотики).

Всі продукти, що отримують в біотехнології, можна розділити на дві групи:

1. Продукти основної біотехнології – великотоннажні виробництва з *невисоким ступенем очищення*:

- технічні ферментні препарати: протеази (для облагороджування деяких видів м'яса, обробки шкур); амілази (для часткового гідролізу крохмалю в крохмальвмісних видах харчової сировини, обробки борошна), пектиназа (для освітлення соків);
- харчові добавки або сировина для їх приготування (білок одноклітинних організмів);
- мікробіологічні засоби захисту рослин, часто являють собою висушену культуру мікроорганізмів, патогенних для комах-шкідників сільського господарства;
- метаболіти для використання в їжі і кормах: первинні метаболіти – амінокислоти, вітаміни, кислоти (лимонна кислота), спирти, розчинники; вторинні метаболіти – антибіотики для медицини та ветеринарії.

2. Продукти тонкої біотехнології – комплекс процесів і виробництв, орієнтований на отримання *високоочищених продуктів*:

- високоочищені ферментні препарати, що використовують у медицині в якості лікарських засобів, при обробці харчових продуктів, як аналітичні реагенти в клінічній лабораторній діагностиці та виробництві (при контролі за ходом технологічних процесів і якістю готової продукції хімічної технології та біотехнології);
- діючі основи лікарських засобів (інсулін та інші речовини гормональної дії).

Продукти, що отримують у процесах, заснованих на життєдіяльності мікроорганізмів розподіляються на три основні категорії:

1-а категорія – *біомаса*, яка є цільовим продуктом (білок одноклітинних) або використовується в якості біологічного агента (біометаногенез, бактеріальне вилуговування металів);

2-а категорія – *первинні метаболіти* – це низькомолекулярні сполуки, необхідні для росту мікроорганізмів в якості будівельних блоків макромолекул, коферментів (амінокислоти, вітаміни, органічні кислоти);

3-я категорія – *вторинні метаболіти* (ідіоліти) – це сполуки, що не потрібні для росту мікроорганізмів і не пов'язані з їх ростом (антибіотики, алкалоїди, гормони росту і токсини).

З метою додавання продуктам біотехнологічного виробництва специфічних властивостей, необхідних людині здійснюють їх *модифікацію* – перебудову отриманих сполук тваринного, рослинного або мікробного походження.

Модифікація – необхідний етап в отриманні ряду ферментів, гормонів, препаратів медичного призначення.

Розрізняють декілька видів модифікації:

- хімічна;
- біологічна;
- білкова.

Хімічна модифікація необхідна в тих випадках, коли біотехнологічний процес дає лише «заготовку» цільового продукту. Наприклад, у бичачого інсуліну «відстригають» амінокислотні залишки, після чого він стає ідентичним людському гормону. Антибіотик, що продукується мікробною культурою, шляхом хімічних перебудов може бути перетворений у різні медичні препарати. Пеніцилін *G*, утворений *Penicillium notatum*, модифікують з метою отримання ампіциліну, метициліну та інших напівсинтетичних пеніцилінів. Одержання нових, більш ефективних аналогів пеніциліну пов'язане зі зміною його бічного ланцюга при збереженні цілісності решти частини, так званого «ядра» антибіотика – 6-амінопеніциланової кислоти.

Генно-інженерні білки часто поряд з потрібними людині несуть баластні амінокислотні послідовності. Короткі пептиди (соматостатин та ін.) зазвичай отримують у складі химерних білків, що включають амінокислотну послідовність β -галактозидази *E. coli* або іншого бактеріального білка. Хімічна модифікація зводиться в цьому випадку до відщеплення зайвих амінокислотних послідовностей. Якщо продукт одержують у вигляді мультимера (спосіб захисту від внутрішньоклітинних протеаз), необхідно його подальше «нарізування» на функціонально активні мономери.

Біологічна модифікація. Сучасними методами тонкого органічного синтезу можна одержати *D*- і *L*-форми амінокислот у будь-яких кількостях, однак вони знаходяться у вигляді рацематів, тобто рівних за масою сумішей *L*- і *D*-амінокислот, молекули яких в *L*- і *D*-формі являють собою дзеркальне відображення одна одної. У хімічних реакціях ці ізомери не відрізняються один від одного. Але, як відомо, в організмі тварин (людей) використовується тільки *L*-амінокислота. Другий ізомер (*D*-амінокислота) не має біологічної активності і тому не може брати участі в біосинтезі білка. Білки ссавців побудовані виключно з одного типу амінокислот – *L*-форми. Присутність *D*-амінокислоти в готовому продукті завжди небажана не тільки через те, що вона є баластом, але й тому, що деякі амінокислоти мають токсичні властивості. Винятком є гліцин і

метіонін. Для першої не існують оптично активні ізомери, а у другій *D*- та *L*-форми засвоюються організмом людини і тварини однаково.

З існуючих методів розділення рацемічної суміші на *L*- і *D*-амінокислоти найбільш придатною є біологічна модифікація, що ґрунтується на використанні пліснявої аміноацилази. Як вихідну сировину використовують ацильовані *D*-, *L*-ізомери амінокислоти, одержані за допомогою хімічного синтезу, і впливають на них аміноацилазою. Фермент вибірково гідролізує тільки ацил-*L*-ізомер, відщеплюючи від нього об'ємну ацильну групу. В результаті утворюється відповідна *L*-амінокислота, яка має вищу розчинність, ніж ацил-*D*-ізомер, що залишився нерозщепленим у розчині. Ацил-*D*-амінокислота, що залишається, при підігріванні рацемізується, тобто знову переходить у суміш ацильованих *L*- і *D*-амінокислот і процес повторюється спочатку. Таким чином, єдиним продуктом залишається *L*-амінокислота.

Білкова модифікація або «молекулярна хірургія» використовувалася для зміни властивостей молекул ферментів. Білкова інженерія ферментів включає створення тривимірної графічної моделі очищеного ферменту, отриманої методом рентгеноструктурного аналізу.

Можна вважати, що зміни в структурі ферменту, що призводять до більшої стабільності при зміні, наприклад, рН і температури, зроблені за допомогою заміни ділянок гена, що кодує фермент, на молекулярному рівні.

Є два головних підходи для зміни функції ферментів.

Перший – мутагенез клонованого продукту: амінокислотні залишки в певному положенні в структурі ферменту можна замінити іншими придатними закодованими амінокислотними залишками. Змінений ген далі трансформується у відповідний організм «господаря», і проводиться мутантний фермент. Цей процес відомий як «мутагенез спрямованої ділянки».

Другий метод, що використовується, включає виділення природного ферменту і модифікацію його структури хімічними або ферментними методами, іноді цей метод називається хімічною мутацією. Недавній успішний приклад білкової інженерії – модифікація ферменту фосфоліпази, який був змінений для

того, щоб він міг працювати при більш високих концентраціях кислоти. Цей фермент широко використовується як емульгатор у харчовій промисловості.

Стабілізація продукту спрямована на збереження властивостей продукту в період його зберігання та використання споживачем (додавання наповнювачів, модифікація та ін.) включає фізико-хімічні впливи на продукт. Сушка підвищує стійкість продукту до зовнішніх впливів. Зневоднення ферментів забезпечує їх стійкість до нагрівання.

До стабілізації продуктів, у тому числі кормового мікробного білка, призводить додавання наповнювачів з грибного міцелію, пшеничних висівків, кукурудзяного борошна, які самі володіють поживною цінністю.

Контрольні питання

1. Перерахуйте основні стадії біотехнологічної схеми отримання продуктів мікробного синтезу.
2. Як визначити фізіологічні потреби мікроорганізмів у поживних речовинах?
3. Які методи застосовують для знезараження поживних середовищ у біотехнологічному виробництві?
4. Опишіть послідовність одержання посівного матеріалу для промислового виробництва продукту.
5. У чому полягає основне призначення ферментера?
6. Які параметри вимірюють під час здійснення біотехнологічного процесу?
7. Які методи застосовують для відокремлення біомаси клітин від культуральної рідини?
8. Що таке дезінтеграція, у яких випадках її здійснюють?
9. Які існують основні методи дезінтеграції клітин?
10. У чому відмінність сепарування від центрифугування?
11. Що таке модифікація кінцевого продукту, які види модифікації існують?

5. СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО Й БІОТЕХНОЛОГІЯ

Протягом всієї історії сільського господарства (близько 10 000 років) людина заради власної користі покращувала тварин і рослини. Спочатку селекцію базували на явищі природної генетичної мінливості, пізніше люди навчилися штучно створювати комбінаторну мінливість (при гібридизації), а в останні десятиріччя – і мутаційну (при мутагенезі). Принцип селекції завжди залишався незмінним – відбір цінних генотипів. Результат відомий – сучасні види капусти не схожі на своїх далеких предків, а качани кукурудзи сьогодні приблизно в 10 разів більші тих, що вирощувалися п'ять тисячоліть тому. На жаль, коефіцієнт корисної дії селекції дуже низький – з тисяч і десятків тисяч початкових рослин селекціонер виводить всього один-два сорти.

На початок XXI-го сторіччя у світі проживає близько 7 млрд чоловік. За прогнозами вчених, до 2050 року населення Землі може збільшитися до 10 мільярдів, зростає при цьому й потреба в продуктах харчування.

Частина біосфери, яку людина використовує для сільськогосподарського виробництва, має назву агросфера. В даний час агросфера вступила у очевидний конфлікт зі стабільністю біосфери. Ріллею зайнято 10% суші, сіножатями та пасовищами – ще 20%. У багатьох районах планети її ресурси вичерпані, і подальше збільшення частки агросфери неможливе.

Резервних площ для екстенсивного розвитку галузі практично немає, весь необхідний приріст продукції можливий лише за допомогою інтенсифікації виробництва. Розвиток сільськогосподарських технологій та поширення їх на всі континенти руйнує біорізноманіття. Сучасні сільськогосподарські технології призводять до руйнування ґрунту, забруднення води тощо.

За 100 останніх років ерозія та інші процеси, що спричиняють деградацію ґрунту, вивели з користування 27% (2 млрд га) сільськогосподарських угідь. Процес опустелювання охопив 19% (близько 30 млн км²) всієї суші планети і поширюється на нові території зі швидкістю 50 тис. км² на рік.

Із Землі зникли (або близькі до зникнення) до 25 тис. видів вищих рослин і більше 1 тис. видів хребетних. Вимерли тисячі унікальних порід свійських тварин. У очевидний глухий кут прийшли традиційні методи самої «Зеленої революції» – збільшення продуктивності агросистем за рахунок їх хімізації, шляхом внесення добрив та хімічних засобів захисту. У середньому, за підрахунками фахівців, щодня зникає 50 видів різних організмів, щотижня зникає приблизно дві породи тварин. Очікується, що вже в перше століття 3-го тисячоліття біосфера може втратити до 10-15% її видів. Викликаний антропогенним впливом темп вимирання перевищує все, що відомо з цього приводу з палеонтологічного літопису.

Найбільш небезпечна загальна ерозія генофонду планети, оскільки останній може існувати лише в умовах видової різноманітності, а все йде до його різкого та невідворотного збіднення. У той же час, якщо порівняти у глобальному масштабі відому інформацію про основні місця виникнення аграрних цивілізацій та дані про максимальну деградацію ґрунтів, стає очевидним, що за 10 тисячоліть існування сільського господарства всі технології використання земель практично вичерпали себе. Аграрні системи досягли не тільки своєї межі поширення, але й використання ґрунтів.

Для 3-4 тис. використовуваних людиною «культурних» рослин відомо близько 30 тис. видів патогенів: 25 тис. грибкових хвороб, 600 викликають черв'яки-нематоди, понад 200 – бактерії, понад 300 – віруси. У рису та пшениці відомі по 100 збудників хвороб, у кукурудзи – 60, у ячменю та сорго – по 50. Через них ще до збирання врожаю втрачається 10-15% зерна. Різні паразити, у тому числі комахи та бур'яни, доводять обсяг передзбиральних втрат уже до 25-40%. У світі через комах втрачається 14% урожаю, захворювань рослин, викликаних хробаками та грибами, – 12%, бур'янів – 9% та 10% знищуються гризунами. Передзбиральні втрати зернових становлять 1800 млн т, а після збирання, у процесі транспортування та зберігання, гинуть ще 5-25% урожаю. І виходить, що в розвинених країнах сумарні втрати досягають 40%, у країнах, що розвиваються, з цілком зрозумілих причин, вони перевищують 50% можливого врожаю.

Сьогодні на нашій Землі півмільярда людей голодують. Насамперед відчувається нестача продуктів-постачальників білків: м'яса, риби, яєць, молока та бобових (квасоля, горох, соя). Проблема ускладнюється тим, що населення земної кулі збільшується приблизно на 70 млн чол. щорічно. Для того щоб покрити лише додаткову потребу в 2 млн т білка, зумовлену приростом населення, слід би вирощувати багату білком сою на площі 40 млн га. Саме в регіонах, де гостро відчувається нестача білкових харчових продуктів, відзначаються і найвищі темпи збільшення населення при відсталому сільськогосподарському та промисловому виробництві. Щоб отримувати достатню кількість рослинного білка, що йде на утримання сільськогосподарських тварин, які забезпечують повноцінним тваринним білком, господарствам потрібні азотні добрива, що випускаються промисловістю. Розрахунок такий: для отримання 1 кг тваринного білка потрібно 5-10 кг рослинного. Отже, вже на даному етапі як би «зникає» («втрачається») частина білка. І це додатково до тих колосальних втрат продуктів, що мають своїми причинами «роботу» шкідників сільського господарства, неакуратність при збиранні, транспортуванні та зберіганні.

Спроби компенсувати ці втрати за рахунок іригації та хімізації дали певний позитивний ефект, але руйнівно вплинули на довкілля. Тому питання полягає в тому, чи боротися з глобальною зміною клімату, знищенням лісів і голодом або ж «співпрацювати» зі змінами навколишнього середовища, беручи на озброєння біотехнологію та генну інженерію, не задаючись питанням про еволюційні, екологічні та медико-біологічні наслідки широкого поширення генетично модифікованих організмів. Для вирішення проблеми існує ряд методів:

- «адаптивна селекція», пошук молекулярно-генетичних маркерів адаптації до конкретних умов вирощування;
- пошук донорів генних ансамблів – молекулярно-генетичні порівняння генофондів domestikованих та близькоспоріднених диких видів;
- використання «провокаційних фонів» для виявлення генних ансамблів, асоційованих з підвищеною стійкістю до несприятливих впливів середовищ;

- необхідність наявності вихідних, високоадаптованих до місцевих умов сортів та ін.

Багато фахівців вважають, що у XXI ст. чекає друга «Зелена революція» – ДНК-технологічна. Без цього не вдасться забезпечити людське існування всім, хто приходить у цей світ. Потрібні чималі зусилля як традиційної селекції, так і сучасної сільськогосподарської ДНК-технології для того, щоб добитися генетичного вдосконалення продовольчих рослин у темпі, який дозволив би до 2025 року задовольнити потреби 8,3 млрд осіб.

А розробка методів технології рекомбінантних ДНК та її застосування до програм розведення тварин може значно збільшити швидкість та розширити можливості їх селективного розведення.

Біотехнологія та тваринництво

З часів неоліту вже майже 11 000 років людина приручала собак, овець та кіз, близько 8 000 років – корів та свиней. Основним завданням тоді було приручення та збільшення чисельності цих тварин. Нині завдання тваринництва – дати людині високоякісні продукти харчування (м'ясо, молоко, яйця) та сировину для виготовлення одягу (вовна). За останні 30 років продуктивність збільшилася майже вдвічі й для м'ясних корів становить 300 кг на тварину на рік, а для молочних корів – 10 000 л молока на тварину на рік.

Ще з давніх-давен людина займалася схрещуванням видів і селекцією з метою зміни фенотипових ознак диких видів. У сучасному тваринництві поряд із класичними методами популяційної генетики та методів біометричного аналізу використовують такі біо- та генно-інженерні підходи, як штучне запліднення, запліднення *in vitro* (IVF), трансплантацію ембріонів (ТЕ) та побудову генетичних карт. Що стосується трансгенних і клонованих тварин – вони застосовуються в основному з дослідницькою метою, і, меншою мірою – в практичному тваринництві (рис. 82).

Штучне осіменіння. Перша згадка про штучне запліднення у собаківництві відноситься до 1729 р.

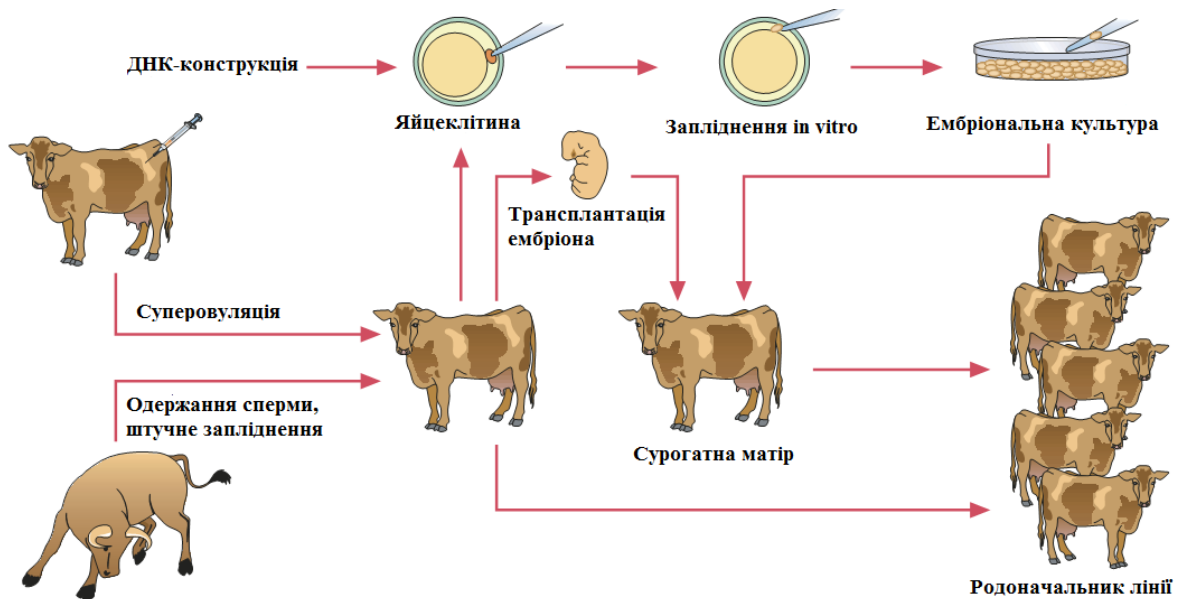


Рис. 82. Біотехнологічні методи розведення сільськогосподарських тварин

У 1942 р. у Німеччині з'явилася перша станція штучного запліднення великої рогатої худоби. Це відносно недорогий метод; насамперед проводять відбір чоловічих особин із найкращими якостями. З еякуляту одного бугая можна отримати 400 порцій сперми, у кожній по 20 млн сперматозоїдів. Суміш сперми з антифризними добавками глибоко охолоджують при -196°C і зберігають. Один донор сперми може замінити приблизно 1000 бугаїв. Запліднення жіночих особин розмороженою спермою здійснюється спеціалістом із запліднення безпосередньо на фермі. У розвинених країнах близько 90% молочних корів осіменяється штучним шляхом. У свиней штучному заплідненню підлягають близько 60% свиноматок.

Трансплантація ембріонів (ТЕ) та запліднення in vitro (IVF) використовується для підвищення темпів розмноження жіночих особин тварин з цінними ознаками. Метод трансплантації (перенесення) ембріонів полягає в тому, що за допомогою введення гормонів стимулюють суперовуляцію (призводить до дозрівання в яєчниках одразу декількох яйцеклітин та їх одночасної овуляції) у самок та здійснюють їх штучне запліднення. При цьому можна отримати до восьми ембріонів, придатних для пересадки; з них після пересадки в сурогатну матір розвивається в середньому чотири теляти.

Ця процедура дуже дорога, тому вона використовується тільки для тварин, які представляють особливий інтерес для сільського господарства.

Широко застосовується також *запліднення яйцеклітин поза жіночих статевих шляхів*: для цього використовують спеціальні методи культивування та зберігання отриманих таким чином ембріонів. У корів яйцеклітину вилучають шляхом безкровної операції, в інших тварин (овець та свиней) – при звичайному оперативному втручанні. Через 3-6 годин вже можна визначити стать ембріонів методом ПЛР. У корів запліднення *in vitro* широко використовується на практиці: відібрані за статтю ембріони надходять у продаж і можуть бути перенесені в сурогатну матір.

Генетичні карти. Класичні методи тваринництва зі схрещування та селекції засновані на генетиці. Селекціонери, застосовуючи методи математичної статистики, можуть оцінювати вплив на фенотип довкілля та генетичних особливостей. Для найважливіших сільськогосподарських і свійських тварин (коней, корів, свиней, овець, кіз, курей, собак і кішок) створено докладні генетичні карти, що побудовані на спостереженнях за успадкуванням зчеплених генів. На генетичній карті вказано місце розташування гена на конкретній хромосомі.

Геноми більшості домашніх тварин мають розмір близько 3 млрд пар основ і за складністю порівняні з геномом людини. У 2005 р. опубліковано послідовності геномів курки та коня. Для корови, свині, коня і кішки існують досить докладні карти зчеплення генів, що включають у якості маркерів тисячі мікросателітів і сотні функціональних генів для кожного виду. Завдяки цьому у селекціонерів є можливість методом ПЛР встановлювати зв'язки між генетичними та фенотиповими характеристиками тварин, яких розводять. Довгий час ведуться роботи з отримання генетичних карт домашніх тварин, передусім відповідальних за цінні для сільського господарства ознаки. Для моногенних ознак (обумовлених одним геном) успадкування можна простежити за допомогою ПЛР. Прикладом важливої моногенної ознаки є

стійкість до стресу у свиней, а також ознаки, зумовлені різними генами, що кодують білки молока у корів.

Трансгенні тварини. Першим прикладом перенесення чужорідних генів в організм тварини за допомогою технології рекомбінатних ДНК було вбудовування в геном миші гена гормону росту щура. Отримані під час такої маніпуляції нащадки миші були значно більшими, ніж їхні батьки (рис. 83).



Рис. 83. Схема отримання трансгенної миші с геном гормону росту щура

«Супермиша» привернула велику увагу громадськості, оскільки це була перша вдала спроба отримання трансгенної тварини, тобто, тварини, яка одержала новий генетичний матеріал штучним способом. Відбувалися тривалі дискусії щодо економічного потенціалу трансгенних сільськогосподарських тварин. Проте нині немає сумніву, що цей напрямок є перспективним і обіцяє великі вигоди всьому людству. У той же час – це одна з найбільш спірних областей сучасної біотехнології. Хоча не завжди досліди з отримання трансгенних тварин закінчувалися позитивним результатом, однак останніми роками цей напрямок успішно розвивається:

1) у сільському господарстві для підвищення стійкості тварин до різних захворювань, що призведе до збільшення кількості та покращення якості продуктів сільського господарства;

2) як джерело органів для трансплантації (внаслідок активності у них генів людини, органи таких тварин після трансплантації викликають менше шкідливих наслідків);

3) як живі біореактори для синтезу необхідних для людини білків;

4) для тестування вакцин та оцінки токсичності, канцерогенності та мутагенності різних речовин;

5) для наукових досліджень. Наприклад, для розшифрування функціонування певних генів у різних видів тварин.

З перерахованих вище напрямків найнезвичайнішим і комерційно перспективнішим вважається проєкт, що передбачає використання деяких лактуючих тварин, таких як корови, вівці, свині та кролики, для отримання в їх молоці білків людини або тварин, які можна потім виділяти і використовувати в якості фарм- і біопрепаратів.

Запропонований навіть новий термін «біофармінг» для позначення процесу отримання з молока свійських тварин аутентичних білків людини та фармацевтичних препаратів.

Використання молока доцільне тому, що воно утворюється в організмі тварини у великій кількості; його можна надоювати при потребі без шкоди для тварини. Використання таких трансгенних тварин дозволить вирішити ще одну причетну до цього проблему – проблему очищення лікувальних білків. Навіть якщо після очищення в препараті залишаться домішки – це будуть нетоксичні для людини білки молока.

Сьогодні найбільша частка експериментальних тварин, які виділяють трансгенні продукти у молоко – це миші. Ці тварини, з їхнім коротким періодом вирощування та вагітності – зручний об'єкт для аналізу експресії генної конструкції; на мишах відпрацьовують ті методики, які потім використовують для отримання промислових трансгенних тварин-біореакторів.

З використанням цієї моделі, на сьогодні отримано цілий ряд важливих з медичної точки зору білків людини; це, наприклад, антитрипсин, інтерферон, фактор згортання крові ІХ, сироватковий альбумін, трофобластин, урокіназа, деякі імуноглобуліни тощо. Щодо більш крупних трансгенних ссавців, які виділяють білкові продукти трансгенів у молоко, то на сьогодні список їх порівняно невеликий; кролі синтезують інтерлейкін та тканинний активатор плазміногену, вівці – антитрипсин та фактор згортання крові ІХ, кози – тканинний активатор плазміногену. Відсутність у цьому списку корів, найбільш перспективних продуцентів білків людини, пояснюється тим, що для отримання трансгенної корови потрібен відносно довгий час.

Трансгенні свині, вівці та корови в даний час вже отримані, хоча частота успіху – лише близько 1%, порівняно з 2-5% для мишей. Така низька ефективність стримує широке одержання та використання трансгенних тварин. Проте з яйцеклітинами риб ефективність досягає 70%. Це пов'язано з тим що, запліднення відбувається у зовнішньому середовищі. Таким чином, випадає кілька етапів, які необхідно проводити при роботі з ссавцями, зокрема, виділення яйцеклітин, запліднення їх, а потім уведення ембріонів у сурогатну матір (рис. 84).



Рис. 84. Звичайна та трансгенна версії лосося

Знання механізмів, що регулюють експресію гена у вищих тварин, є недостатніми і це обмежує можливості створення трансгенних тварин. Після

отримання їх необхідно переконатися в тому, що чужорідна ДНК стабільна і успадковується щонайменше деякими нащадками. Головним моментом є доказ того, що ген добре регулюється та функціонує в новому для нього організмі. Однак, створення трансгенних тварин з новими корисними властивостями – безперервний процес. У сучасному світі вже існують такі трансгенні тварини:

- у Великобританії за допомогою трансгенезу були виведені вівці, молоко яких містить у собі фактор, що сприяє згортанню крові;

- у трансгенних свиней, створених у США, було змінено обмін речовин за допомогою введення гена соматотропіну, що дозволило знизити жирність м'яса;

- американці також працюють над створенням корів, у молоці яких міститься людський альбумін, що використовується для підтримання нормального тиску крові;

- передбачається створення таких тварин, одні гени яких нокаутовані (зруйновані), інші – введені до складу їхнього геному;

- одержання трансгенних тварин, які синтезують модифіковане молоко. Передбачається, що таке молоко буде максимально наближене до складу материнського молока людини. У цьому напрямку проводиться робота з ембріональними стовбуровими клітинами;

- використання трансгенних тварин для одержання органів, що пересаджують людині. Відомо, що людство потребує донорських органів. Наразі генетики ведуть роботу над вирощуванням таких органів у тілі тварин. Наприклад, органи свиней цілком могли б підійти за своїм розміром та складом. Але вони будуть негайно відкинуті людською імунною системою. Щоб цього не відбувалося, створюються трансгенні свині, у яких вимкнено власні гени гістосумісності, а замість них запроваджено гени гістосумісності людини;

- клонування трансгенних тварин. Створення трансгенних тварин – трудомісткий процес. Згідно зі статистикою, на 100 ін'єктованих зигот вівці, 40 мишачих зигот і 1500 зигот корови припадає менше 50% особин, що

експресують трансгенний білок. При успішній спробі отримання трансгенної тварини зовсім необов'язково, що її нащадками буде успадкований трансген. Тому клонування тварини з необхідними генетичними параметрами є оптимальним виходом зі становища.

Існує, нарешті, ще й такий напрямок, як створення тварин – генетичних моделей спадкових захворювань людини. У випадку таких захворювань часто важко встановити конкретну причину захворювання, співвіднести знайдені у пацієнта генетичні дефекти з його діагнозом. В останні роки для вирішення цих питань все частіше використовують трансгенні моделі спадкових захворювань людини. Після того, як знайдено ген, імовірно відповідальний за дане захворювання, можна створити два типи модельних тварин: миші з функціональним трансгеном і миші, у яких втрачено функцію даного гена. Перший тип – це класичні трансгенні миші, в геном яких введено ген людини, відповідальний за конкретне захворювання. Якщо схильність до захворювання залежить від наявності в геномі однієї з алелей, то для перевірки цієї гіпотези створюються лінії трансгенних мишей, що несуть різні алелі даного гена. На цих моделях можна досліджувати вплив кількості копій гена та рівня його експресії на прояв захворювання, а також розробляти нові методи лікування. Другий тип модельних тварин – це миші, у яких вимкнено ген, аналогічний тому, який викликає дане захворювання у людини. На такій моделі досліджують конкретні функції генів, що особливо важливо для аналізу причин мультигенних захворювань.

Величезні перспективи використання трансгенних тварин очікуються у медицині. У сільському господарстві основною метою отримання трансгенних тварин є запровадження специфічних, економічно важливих ознак, які принесуть користь людині.

Ветеринарні препарати. Біопрепарати – засоби біологічного походження, що застосовуються в медицині та ветеринарії для діагностики, профілактики та лікування неінфекційних, інфекційних та паразитарних хвороб людини та тварин. Важливим напрямом біотехнології стала розробка біопрепаратів, їх

виробництво та застосування. Збудники інфекційних хвороб викликають захворювання всіх видів сільськогосподарських тварин та рослин. Якщо кількість хворих тварин буде зменшено чи хворобу ліквідовано, то зросте виробництво сільськогосподарської продукції. Крім того, біопрепарати необхідні також для домашніх та диких тварин.

Одним із видів біопрепаратів є вакцини. Їх виготовляють із застосуванням різних технологій та використовують для створення у тварин активного імунітету. В даний час розроблено вакцини проти багатьох інфекційних хвороб тварин. Зазвичай їх застосовують з профілактичною (вакцинопрофілактика) та рідше лікувальною (вакцинотерапія) цілями. Найбільш широко застосовується вакцинопрофілактика проти бактеріальних (сибірка, бруцельоз, бешиха свиней, сальмонельози та ін.) і вірусних (сказ, класична чума свиней, чума м'ясоїдних, ящур та ін.) хвороб.

Ведеться інтенсивна розробка вакцин проти інфекційних хвороб тварин із застосуванням генно-інженерних методів на основі мутантів та рекомбінантів збудників та ДНК-вакцин. Це ще раз підкреслює важливу роль біотехнології у боротьбі з інфекційними хворобами сільськогосподарських, домашніх та диких тварин.

Методи діагностики. Крім класичних вірусологічних, серологічних та імунологічних методів, нині застосовуються кілька нових, запропонованих біотехнологією, методів, а саме: імуноферментний аналіз (ІФА), полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та ін. Ці методи революціонізують багато аспектів аналізу та дають можливість проводити визначення *in situ* (вивчення процесу на тому самому місці, де він відбувається) без застосування складних процедур виділення аналізованої речовини. Крім того, вони легше піддаються автоматизації і швидше виконуються. Для успішного застосування методи мають бути швидкими, точними та надійними; простими у виконанні та дешевими; використовувати готові та стабільні реагенти; вимагати невеликих витрат праці; мати високу чутливість та специфічність.

Зазвичай ці вимоги дуже складно поєднати. Багато методів вже застосовуються або проходять випробування з метою виявлення збудників хвороб рослин і тварин, а також моніторингу фізіологічного стану тварин. Майже завжди вони були розроблені спочатку для використання в медицині, а потім дуже швидко знайшли застосування у ветеринарії. ІФА у комплексі з поліклональними та особливо МАт (моноклональні) антитілами широко використовується не лише для діагностики, але й для виявлення небажаних домішок у продуктах харчування. Метод зондів нуклеїнових кислот ґрунтується на принципі гібридизації комплементарних послідовностей ДНК або РНК, ПЛР – на ампліфікації ДНК. Використання цих методів діагностики дозволяє визначати інфекційні захворювання на дуже ранній стадії зараження, наприклад, шляхом аналізу фізіологічних рідин, що дає можливість виявляти хвору тварину ще до прояву клінічних ознак. Рання діагностика значно полегшує ліквідацію тієї чи іншої хвороби. Багато хвороб тварин можна легко контролювати за допомогою наборів певних біопрепаратів ветеринаром або навіть фермером. Широке застосування набори знаходять при визначенні статевих гормонів (таких як прогестерон, естрогенсульфат, тестостерон та ін.), гормону росту та антибіотиків у молоці та крові тварин. Нині випускаються сотні найменувань таких наборів.

Виробництво кормів. Для підвищення продуктивності тварин потрібен повноцінний корм. Велике значення для тваринництва має збагачення рослинних кормів мікробним білком. Для цього широко застосовують твердофазні процеси. Мікробіологічна промисловість випускає кормовий білок на основі різних мікроорганізмів – бактерій, грибів, дріжджів, водоростей. Багата білками біомаса одноклітинних організмів із високою ефективністю засвоюється сільськогосподарськими тваринами. Так, 1 т кормових дріжджів дозволяє отримати 0,4-0,6 т свинини, до 1,5 т м'яса птахів, 25-30 тис. яєць та заощадити 5-7 т зерна. Це має велике народногосподарське значення, оскільки 80% площ сільськогосподарських угідь у світі відводяться для вирощування корму худобі та птиці.

Одноклітинні організми характеризуються високим вмістом білка – від 40 до 80% і більше. Білок одноклітинних багатий на лізин, незамінну амінокислоту, що визначає його кормову цінність. Добавка біомаси одноклітинних до недостатніх за лізином рослинних кормів дозволяє наблизити їх амінокислотний склад до оптимального. Поживна цінність біомаси одноклітинних також може бути значно підвищена добавкою синтетичного метіоніну.

Виробництво кормового білка на основі одноклітинних – процес, що не вимагає посівних площ, не залежить від кліматичних та погодних умов. Він може бути здійснений у безперервному та автоматизованому режимі.

Біотехнології у рослинництві

Близько 11 000 років – з часів «революційного неоліту» – люди культивують рослини і намагаються підвищувати їхню врожайність різними способами. В результаті тривалої селекції виникли сучасні культурні рослини, які відрізняються від диких предків за кількістю біомаси, продуктивністю та кількістю насіння. Люди та домашні тварини годуються переважно цими культурними рослинами. Проте, вже сьогодні із 6,6 млрд людей на Землі майже третина не отримує повноцінного харчування. Якщо врахувати прогнозоване подвоєння населення Землі в наступні 50 років, стає очевидною необхідність збільшення кількості рослин, що вирощуються.

Близько сорока років тому стало можливим вирощувати тканини та клітини органів рослин (наприклад, коріння або листя) у вигляді культури тканин. Обробляючи такі культури фітогормонами можна отримати цілі рослини, здатні до відтворення. Культура рослинних клітин дозволяє порівняно швидко отримувати численні популяції в керованих та контрольованих умовах середовища на обмеженому просторі та ідентифікувати лінії рослин із підвищеною біологічною продуктивністю. Рослинні клітини можуть культивуватися як на рідких, так і на твердих середовищах. Прийоми, що використовуються при цьому, аналогічні культивуванню мікроорганізмів.

Культури рослинних клітин можуть бути використані для біотрансформації хімічних сполук та для ефективного синтезу біологічно активних сполук. Особливістю клітинних культур рослин є їх здатність до тотипотенції, – у певному середовищі та за певних умов можна регенерувати цілу рослину з однієї клітини. Таким чином, у будь-якій рослинній клітині закладена генетична інформація, необхідна для диференціювання клітин у процесі подвоєння. Цей феномен часто використовують при мікророзмноженні рослин. Ця технологія має істотні переваги, оскільки дозволяє швидко отримувати матеріал для розмноження рослин, що не містить збудників хвороб; цілий рік мати посадковий матеріал та підвищувати його однорідність; довго зберігати генетичний матеріал і створювати нові генотипи.

Культури рослинних клітин використовують:

- у фундаментальних дослідженнях;
- для виведення рослин із покращеними якостями;
- для отримання стійких до вірусів декоративних та садових рослин;
- для отримання трансгенних рослин;
- для збереження зникаючих рослин у вигляді здатних до регенерації культур клітин (зародкова плазма).

З культур рослинних клітин також можливе отримання достатньої кількості вторинних метаболітів.

За способом культивування розрізняють калусні та суспензійні культури.

Калусні культури. Відірвана від колективу собі подібних клітина рослини в пробірці зберігає «пам'ять» – генетичну інформацію, закладену батьками. Але спеціалізацію вона втрачає і утворює при розподілі щось аморфне, що нагадує формою морську губку – калус – це тканина, яка виникає не тільки в пробірці, але і в природних умовах при пораненні рослини. Калуси вирощують у чашках з агаром у вигляді поверхневих культур, після чого вони стають вихідним матеріалом для отримання культур недиференційованих тотипотентних рослинних клітин. З відносно молодих калусних культур шляхом обробки фітогормонами можна отримати нормальні повноцінні рослини.

Суспензійні культури. Подібно до мікроорганізмів і тваринних клітин, рослинні клітини можна вирощувати в рідкому стерильному поживному середовищі. Суспензійні культури рослинних клітин застосовують:

- 1) для швидкого скринінгу та відбору варіантів, що мають особливі властивості;
- 2) для отримання культур протопластів та трансгенних рослин;
- 3) для отримання вторинних метаболітів у біореакторах (рис. 85).



Рис. 85. Суспензійна культура для селекції

Суспензійні культури використовують також для отримання трансгенних рослин, в яких необхідні модифікації досягаються не схрещуванням і селекцією, а безпосереднім переносом генів.

Культури протопластів. Протопласти одержують із клітин тканин або культур шляхом м'якого гідролізу полісахаридних клітинних стінок целюлазами, геміцелюлазами та пектиназами в ізотонічному розчині. Злиття протопластів можна здійснювати хімічними методами чи під впливом електричного поля. В результаті відбувається рекомбінація генів у соматичних гібридах (рис. 86).



Рис. 86. Схема злиття протопластів

Генетична інженерія рослин. Дослідження у галузі генетичної інженерії рослин інтенсивно проводяться у багатьох лабораторіях. За допомогою генетичної інженерії ставиться завдання поліпшити ті чи інші наявні якості рослини не тільки за традиційної селекції, а й отримати рослини, здатні виробляти абсолютно нові сполуки, що використовуються у медицині, хімічному виробництві та інших галузях діяльності.

Цими сполуками можуть бути, наприклад, особливі жирні кислоти, корисні білки з високим вмістом незамінних амінокислот, модифіковані полісахариди, «істівні» вакцини, антитіла, інтерферони та інші «лікарські» білки, нові полімери, що не забруднюють довкілля, і багато інших. Використання трансгенних рослин дозволяє налагодити масштабне та дешеве виробництво таких речовин і тим самим зробити їх доступнішими для широкого споживання. На загальну думку, застосування методів клітинної та генетичної інженерії у сільському господарстві дозволить покращити властивості культурних рослин.

Основні шляхи розвитку генетики вищих рослин включають кілька напрямів:

- надання рослинам здатності синтезувати додаткові цінні продукти;
- підвищення фотосинтетичної ефективності рослин;
- надання рослинам діазотрофності;
- забезпечення стійкості до несприятливих факторів зовнішнього середовища.

Генетична інженерія рослин спрямовує здійснення трансгенною клітиною нових біохімічних реакцій шляхом запровадження чужорідних генів чи модифікацією генів клітини-господаря. Рослини є одним з найбільш привабливих об'єктів для генетичної інженерії. Маючи однакові шляхи синтезу основних біологічних сполук, рослини відрізняються різноманітністю своїх кінцевих продуктів: цукрів, ароматичних сполук, жирних кислот, стероїдних сполук та інших біологічно активних речовин. Рослини дають людству десятки тисяч природних продуктів, багато з яких становлять велику цінність для фармакології та промисловості.

Іноді такими продуцентами важливих лікарських речовин є унікальні тропічні та ендемічні рослини, недоступні для їхнього агротехнічного виробництва в помірних кліматичних зонах більшості розвинених країн світу. Виділення з таких рослин генів, що визначають спрямований синтез специфічних органічних сполук, та їх перенесення на підібрані відповідні об'єкти перетворюють ці рослини в нових продуцентів важливих біологічно активних речовин.

Створення рослин із покращеними лікувально-дієтичними властивостями допоможе покращити харчову цінність рослин. Раніше було практично неможливо за допомогою селекції вивести рослини з підвищеним вмістом вітамінів. Проте, з розвитком біохімії рослин стало зрозуміліше, які метаболічні шляхи є критичними для біосинтезу вітамінів. Наприклад, для синтезу β -каротину (провітаміну А) у рослинах необхідна фітоен-синтетаза. Ген фітоен-синтетази з нарцису було введено в рис і таким чином отримано «золотий рис», який може допомогти 2 млрд чол., які страждають від дефіциту вітаміну А, для них рис – основна їжа. Отримано трансгенні рослини ріпаку, що експресують ген фітоен-синтетази, в насінні якого значно підвищився вміст каротиноїдів. Показано експресію цього ж ферменту в бульбах картоплі, що призводило до підвищеного синтезу каротиноїдів та лютеїну.

Нещодавно отримані трансгенні рослини суниці із підвищеним синтезом L-аскорбінової кислоти. Створено рослини сої з підвищеним у п'ять разів вмістом вітаміну Е в насінні. Вже існує салат із збільшеним вмістом заліза, збагачена лізином кукурудза. Чекає на свій запуск у практику сорт сої з підвищеним вмістом ненасичених жирних кислот (омега-3, омега-6 та ін.), які не синтезуються в організмі людини, а потрапляють по харчових ланцюгах в основному через морепродукти з водоростей. Гени, що вбудовуються в геном соєвих бобів, було виділено з клітин водоростей. Розроблено в лабораторіях та інші різноманітні трансгенні форми рослин із покращеними лікувально-дієтичними властивостями.

Першими комерційний успіх отримали *рослини, стійкі до гербіцидів*, оскільки дозволили дуже успішно боротися з бур'янами. Найпоширенішими є трансгенні рослини, стійкі до гліфосату (Раундап) – найпопулярнішого гербіциду, що розкладається у ґрунті на нетоксичні складові і тому є безпечним для навколишнього середовища. Ген був виділений із гліфосат-стійкого штаму *E. coli*. Виведення рослин, стійких до шкідників та хвороб, допоможе різко скоротити застосування хімічних засобів захисту рослин та зменшити вартість культивування. Одними з перших у широку практику увійшли інсектицидні бавовна та кукурудза – так звані Bt-сорти, які були отримані введенням у них гена дельта-ендотоксину з *Bacillus thuringiensis*. Bt-білок високотоксичний для комах, але безпечний для інших видів тварин та людини. Він є протоксином, який розщеплюється у кишечнику личинок комах, утворюючи активований токсин. Активований токсин, у свою чергу, специфічно зв'язується з рецепторами в середній кишці комах, що призводить до лізису клітин кишкового епітелію. Цей ентомотоксин – смертельна отрута для низки комах (зокрема і колорадського жука), але у той самий час цілком безпечний для людини і тварин, оскільки в організмі ссавців немає ферментів його розщеплення і засвоєння. Взаємодія Bt-токсину з рецепторами комах суворо специфічна. У природі знайдено велику кількість штамів *B. thuringiensis*, чий токсин діють на певні види комах.

Раніше препарати бактерій *B. thuringiensis*, що містять Bt-білок, успішно застосовували для боротьби з комахами-шкідниками, хоча використання таких препаратів досить дороге і не завжди ефективне. Введення гена протоксину у рослини призвело до того, що Bt-рослини перестали поїдатися комахами. Цим шляхом була отримана трансгенна картопля, стійка до колорадського жука.

Стійкість до вірусів може мати виняткову важливість для підвищення сільськогосподарської продуктивності рослин. Наразі у різних країнах світу проводять польові випробування стійких до вірусів сортів батату (вірус *SPFMV*, *sweet potato feathery mottle virus*), кукурудзи (*MSV*, *maize streak virus*) та африканської маніюки (мозаїчний вірус). Розроблено також стійку до нематод (кореневих черв'яків) ГМ-картоплю.

Генно-інженерна біотехнологія рослин для фармакології робить свої перші успішні практичні кроки. Рослини є зручною, безпечною та економічно корисною альтернативою для отримання різних білків, вакцин та антитіл у порівнянні з системами експресії на основі мікроорганізмів, культур клітин тварин або трансгенних тварин.

За останні 25 років безліч цінних білків ефективно експресовані в рослинах. Це білки людської сироватки, регулятори росту, антитіла, вакцини, промислові ферменти, біополімери та реагенти для молекулярної біології. Слід відзначити перспективність отримання ГМ-рослин, що синтезують нові форми антимікробних пептидів.

Рослинні системи мають усі перспективи успішного використання для виробництва рекомбінантних білків у промисловому масштабі. Деякі білки, що синтезуються трансгенними рослинами, вже виробляються західними компаніями або будуть випущені на ринок у найближчі роки. Наприклад, авідин, трипсин і β -глюкуронідаза, що виділяються з трансгенної кукурудзи, виробляються фірмою *Sigma-Aldrich* (США). Підготовлені до промислового виробництва колаген, ліпаза, лактоферин, лізоцим, що синтезуються трансгенними рослинами.

Синтез субодиничних вакцин у трансгенних рослинах. Виявлено, що при експресії різних антигенів у рослинах зберігається їх структурна ідентичність та імуногенність. Антигени, що синтезуються рослинами, викликали імунну відповідь при введенні. Наприклад, HBs-антиген, синтезований рослинами картоплі, викликав у мишей сильнішу імунну відповідь, ніж дріжджовий. У даний час понад п'ятдесят різних антигенів були експресовані в ГМ-рослинах, для деяких з них показана імуногенність при оральному введенні. Інтенсивно розробляється концепція «їстівних вакцин» на основі трансгенних рослин, чії плоди, листя та насіння придатні в їжу. У разі успіху зникне потреба у дорогому очищенні антигенів, яка необхідна при створенні вакцин для парентерального введення. Антигени, що експресуються в рослинах, захищені рослинними клітинними стінками від протеолізу при проходженні травного

тракту і можуть бути легко доставлені до клітин слизової оболонки кишечника, відповідальних за мукозну систему імунітету.

Таким чином, безперервно розробляються нові види харчових і технічних рослин зі зміненими властивостями – з поліпшеним складом жирів, підвищеним вмістом білків і вітамінів, солодкі без цукру і накопичують менше шкідливих здоров'ю нітратів, з покращеними декоративними властивостями. Дослідні випробування проходять сотні порід дерев, у яких частина непотрібного людині лігніну замінена на корисну целюлозу. При цьому ростуть ГМ-деревя вдвічі швидше за звичайні.

Трансгенні рослини виробляють вакцини та ліки, очищують ґрунт від хімічного та радіоактивного забруднення, синтезують біодеградовані полімери для виробництва упаковки та білок павутини, з якого можна робити колготки та бронежилети підвищеної міцності.

Розповсюдження ГМ-рослин та біобезпека. З моменту публікації у 1983 р. перших робіт з отримання трансгенних рослин тютюну пройшло менше 40 років, але існуюча зараз кількість найрізноманітніших трансгенних рослин не піддається обліку. І, незважаючи на те, що шлях від лабораторного одержання трансгенної рослини до її комерційного застосування є досить довгим, нині у сільськогосподарському виробництві загальні площі біотехнологічних культур досягли вже 190,4 млн га (табл. 3). Дозволи на комерційне використання чекають сотні сортів десятків видів харчових та технічних рослин з найрізноманітнішими новими властивостями. Нові культури проходять тривалу всебічну ретельну перевірку щодо біобезпеки.

Необхідно відзначити, що деякі генно-модифіковані культури (наприклад, ГМ-соє) вже обігнали на захопленій площі свої «традиційні» аналоги.

За рейтингом властивостей комерціалізованих трансгенних рослин, складеним Міжнародною службою з використання агробіотехнології (ISAAA), протягом усього періоду культивування з 1996 до 2019 року перше місце займають гербіцидостійкі культури, потім ідуть Vt-культури, стійкі до комах-шкідників, за ними – комбіновані культури (обидві ці ознаки).

Глобальна площа біотехнологічних культур у 2019 р.

№	Країна	Площа (млн га)	Біотехнологічні культури
1	США	71,5	Кукурудза, соєві боби, бавовна, люцерна, ріпак, цукрові буряки, картопля, папайя, кабачки, яблука
2	Бразилія	52,8	Соєві боби, кукурудза, бавовна, цукрова тростина
3	Аргентина	24,0	Соя, кукурудза, бавовна, люцерна
4	Канада	12,5	Ріпак, соя, кукурудза, цукровий буряк, люцерна, картопля
5	Індія	11,9	Бавовна
6	Парагвай	4,1	Соя, кукурудза, бавовна
7	Китай	3,2	Бавовна, папайя
8	Південна Африка	2,7	Кукурудза, соя, бавовна
9	Пакистан	2,5	Бавовна
10	Болівія	1,4	Соєві боби,
11	Уругвай	1,2	Соєві боби, кукурудза
12	Філіппіни	0,9	Кукурудза
13	Австралія	0,6	Бавовна, ріпак, сафлор
14	М'янма	0,3	Бавовна
15	Судан	0,2	Бавовна
16	Мексика	0,2	Бавовна
17	Іспанія	0,1	Кукурудза
18	Колумбія	0,1	Кукурудза, бавовна
19	В'єтнам	0,1	Кукурудза
20	Гондурас	<0,1	Кукурудза
21	Чилі	<0,1	Кукурудза, ріпак
22	Малаві	<0,1	Бавовна
23	Португалія	<0,1	Кукурудза
24	Індонезія	<0,1	Солодка паличка
25	Бангладеш	<0,1	Баклажани/баклажани
26	Нігерія	<0,1	Бавовна
27	Есватині	<0,1	Бавовна
28	Ефіопія	<0,1	Бавовна
29	Коста-Ріка	<0,1	Бавовна, ананас
	Усього	190,4	

В останні роки з'явилися культури, що поєднують три ознаки. У 2019 р. усі стійкі до гербіцидів культури (соя, кукурудза, ріпак, бавовна, люцерна та ін.) сумарно займали 43%; Вт-культури –12%; комбіновані культури з двома або трьома ознаками – 45% площі (рис. 87).

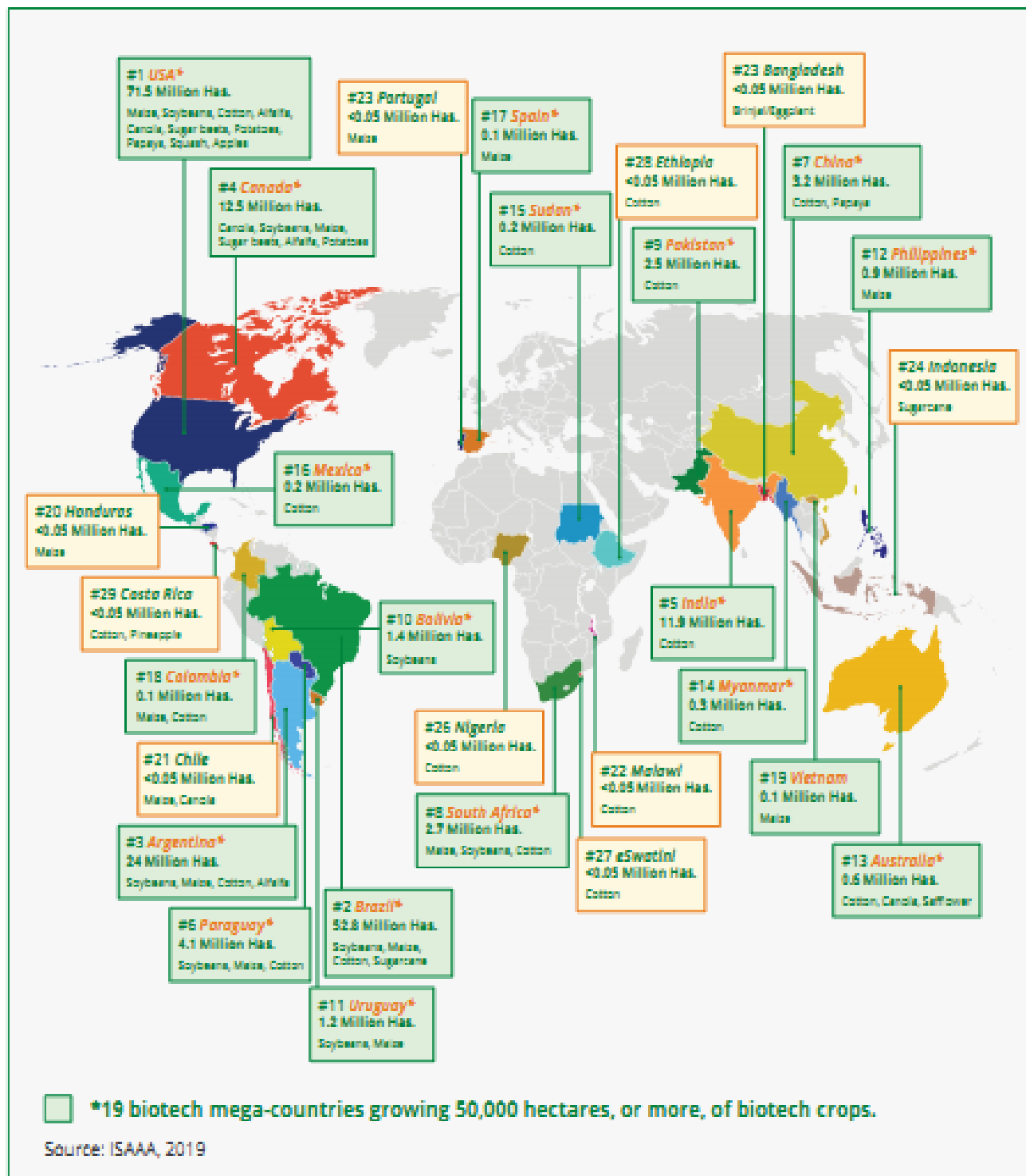


Рис. 87. Глобальна карта країн біотехнологічних культур у 2019 р.

У 2019 р. найбільш вивченими біотехнологічними культурами у 29 країнах були соя, кукурудза, бавовна та ріпак. Соя була провідною біотехнологічною культурою на 91,9 млн га, що займає 48% світової площі біотехнологічних посівів. За нею слідує кукурудза (60,9 млн га), бавовна (25,7 млн га) та ріпак (10,1 млн га). У 2019 році 79% бавовни, 74% сої, 31% кукурудзи та 27% ріпаку були біотехнологічними культурами.

Збільшується частка культивованих трансгенних рослин, стійких до вірусів, грибків, нематод та інших шкідників, холоду, жару, посухи або ті, що довго не псуються при зберіганні. Нові сорти здатні не тільки рости, але й приносити хороший урожай там, де старі сорти просто не могли вижити (надто холодно або тепло, або сухо). Наприклад, Північна Дакота, що раніше вважалася зовсім не придатною для вирощування соєвих бобів, нині вже стала одним із головних постачальників цієї культури у США.

Широке поширення сільськогосподарських трансгенних рослин пояснюється лише тим, що культивування дозволило фермерам різко підвищити врожаї, при цьому знизити закупівлі гербіцидів (засобів боротьби з бур'янами) та інсектицидів. Наприклад, проведені в Індії та Китаї дослідження показали, що використання Vt-бавовни дало можливість збільшити врожайність до 50 та 10% відповідно та скоротити використання інсектицидів в обох країнах до 50% та більше. Вирощування гербіцидостійких рослин вимагає у 2-4 рази менше обробок полів. Не випадково за роки використання трансгенних рослин продаж хімічних засобів захисту рослин неухильно знижується.

Трансгенні посадки продовжують розростатися у всьому світі. У середньому протягом року вони збільшуються на 10-15%. Хоча безперечним лідером у культивуванні трансгенних рослин, як і раніше, залишаються США, їхня частка неухильно зменшується, оскільки все більше країн починають використовувати ГМ сорти в сільському господарстві. У 2019 році площа біотехнологічних посівів у США склала 71,5 млн га, що становить 38% світової площі біотехнологічних рослин, при цьому середній рівень використання основних культур становить 94%: кукурудза (33,17 млн га), бавовна (5,31 млн

га), ріпак (800 тис. га), цукрові буряки (454,1 тис. га), люцерна (1,28 млн га), картопля (1780 га), близько 1000 гектарів папайї та гарбуза та 265 гектарів яблук.

Генетично модифіковані продукти стали одним із досягнень біології ХХ століття. Зростання споживання таких продуктів вважається одним із способів боротьби з голодом. Нині у багатьох країнах світу практично неможливо уникнути вживання генетично модифікованих рослин. Так, з великою ймовірністю можна сказати, що практично всі продукти, вироблені з використанням кукурудзяної, соєвої або бавовняної олії, містять генетично змінений матеріал.

Біобезпека трансгенних рослин залишається предметом гострих дискусій у суспільстві. Як і все важливо нове у нашому житті, трансгенні рослини неоднозначно сприймаються суспільством. Противники трансгенних рослин стверджують, що вирощування таких рослин може бути небезпечним як для людини, так і для навколишнього середовища. Більшість цих страхів, швидше за все, породжені недостатнім розумінням сутності трансгенних рослин і просто неприязню до всього нового. Але деякі аргументи проти ГМ-рослин заслуговують на докладний розгляд. Так, противники ГМ-рослин стверджують, що трансгенні рослини здатні негативно впливати на навколишнє середовище: через так зване «горизонтальне перенесення генів» у мікроорганізми; непередбачену дію на організми, що живуть в агроценозі або поруч (нецільова дія); витік трансгенів з пилком до диких родичів, що негативно впливає на біорізноманіття.

Щодо можливості перенесення ДНК з ГМ-рослин до мікроорганізмів, наука поки що таких фактів у природі не виявила. Якби це насправді відбувалося так швидко і просто, як вважають опоненти генної інженерії рослин, то за мільйони років еволюції гени всіх організмів цілком перемішалися би. Перевага білкових токсинів, що продукуються ГМ-рослинами, перед синтетичними пестицидами очевидна: великі та нестійкі молекули білків не накопичуються у природі – швидко розпадаються до

амінокислот; ще, вони специфічні, тобто, знищують лише певних шкідників (бактерії, гриби, комахи). На відміну від цього, маленькі молекули хімічних пестицидів майже не мають вибірконості, вражаючи все в зоні застосування, і через високу хімічну стабільність можуть проходити по харчових ланцюгах і накопичуватися на їх вершині. Яскравим прикладом є заборонений ДДТ, який після застосування по харчових ланцюгах потрапляє на стіл людини у концентрованому та незміненому вигляді. Неспроможними є і твердження, що перенесення будь-якого трансгену з пилом надасть дикому виду таку перевагу, що він витісняє всі інші. Дикі рослини, що широко використовуються селекціонерами для виведення нових сортів як донори потрібних ознак, не витісняють навколишні. Усі культурні рослини не витримують конкуренції з дикими, оскільки вони залежать від людини і здатні існувати лише з її допомогою. Поки що біорізноманіттю, насамперед, загрожує не заміна одного сорту (або навіть десяти сортів) на інший, а перетворення природних ландшафтів на сільськогосподарські. Навіть гіпотетична небезпека занесення трансгенів з пилом у дикі популяції споріднених видів, що запилюються, в даний час може бути знята отриманням трансгенних рослин з трансформованими хлоропластами (транспластомні рослини), пилок яких не містить трансгенів.

Біопестициди. Використання хімічних пестицидів викликало помітне збільшення рівня виробництва продуктів сільського господарства. Їхнє широке застосування призвело до того, що людина може в даний час виробляти більше продуктів з меншими витратами, ніж раніше. Проте споживачі все більше турбуються про якість продуктів та можливе збереження залишків пестицидів у готових харчових продуктах. Біотехнологи нині інтенсивно шукають заміну хімічних речовин, за допомогою яких можна було б боротися зі шкідниками та хворобами. Очевидним підходом є використання біологічних методів боротьби, що існують у природі. Відомо, що всі організми хворіють на характерні лише для них специфічні хвороби, а також мають хижаків, ворогів, які їх знищують. У цьому контексті біологічні методи боротьби пов'язані з використанням

мікроорганізмів, застосуванням їх у польових умовах для боротьби зі шкідниками та хворобами. Крім того, комахи-хижаки також можуть бути використані для цих цілей.

Найбільш успішним агентом біоконтролю вважається *Bacillus thuringiensis*, яка є спороутворюючою бактерією, що містить кристалічні білкові включення. Її білки дуже токсичні для комах-шкідників і специфічні у прояві їхньої активності. Вони вже понад 30 років широко використовуються проти комах, які мають у своєму циклі розмноження стадію гусениці. *B. thuringiensis* зазвичай застосовується у вигляді спор чи кристалічних включень, отриманих після її руйнування. В даний час ген, що кодує токсин, виділений та розшифрований. Токсин виробляється та застосовується у вигляді рекомбінантного білка. Ген може бути також включений у різні види рослин. Таким чином можна використовувати готові мікробні білки (біопестициди) або захищати рослини шляхом вбудовування гена, що кодує токсичний білок, який експресується в тканині рослини.

Мікроорганізми або продукти їх життєдіяльності, які можуть використовуватись як біологічні агенти при боротьбі з комахами-шкідниками, повинні відповідати наступним вимогам: діяти не гірше ніж хімічні пестициди; бути безпечними, мати низьку токсичність для інших видів тварин, які є мішенями; бути стабільними при зберіганні та дешевими за їх масового виробництва; застосовуватися за допомогою звичайної технології без значних змін методів, які зазвичай використовуються в сільському господарстві. Маючи зазначені вище характеристики, мікроорганізми знайдуть незмінний ринок збуту.

Біогербіциди. Гербіциди – хімічні препарати, призначені для боротьби з бур'янами, становлять близько 50% сумарного ринку хімікатів для сільського господарства. Їм властиві ті самі недоліки, як і пестицидам. Тому необхідність створення біогербіцидів очевидна. Їх можна отримати на основі мікроорганізмів-патогенів рослин, ферментів, а також напівпродуктів, які отримують біоконверсію. Для боротьби з окремими видами бур'янів, стійких до хімічних препаратів, застосовують специфічні та токсичні для них

мікроорганізми. Найчастіше використовують грибкові фітопатогени та фітотоксини. Для розширення сфери їх застосування необхідно отримання грибкових форм, більш стійких по відношенню до умов зовнішнього середовища, що змінюються. Бактеріальні фітопатогени, на відміну від грибкових, менш чутливі до факторів зовнішнього середовища, але й меншою мірою вражають рослини. Останні розробки у цьому напрямі обіцяють значні перспективи. Крім біопестицидів та біогербіцидів, для захисту рослин все ширше застосовують біологічні препарати для боротьби зі збудниками захворювань. Нині масштаби застосування різних препаратів боротьби з шкідниками і збудниками хвороб сільськогосподарських культур дедалі більше розширюються.

Біодобрива. Інтенсивне рослинництво збіднює ґрунт азотом, оскільки значна його частка щорічно виноситься з нього разом із урожаєм. З давніх часів для відновлення та поліпшення ґрунтів існує практика використання бобових рослин, здатних у симбіозі з азотфіксуючими мікроорганізмами поповнювати ґрунтові запаси азоту в результаті діазотрофності. Великий позитивний ефект від вирощування бобових спонукав вчених до вивчення цього процесу. Як тільки була з'ясована роль симбіотичних бактерій роду *Rhizobium* в азотфіксації, стали розробляти способи внесення цих мікроорганізмів у ґрунт та застосовувати для інокуляції насіння. Найбільш простий спосіб інокуляції заснований на використанні ґрунту після вирощування на ньому бобових рослин. В останні роки для вивчення біологічної азотфіксації стали застосовувати методи молекулярної біології та нові методи генетики. Виявлено плазмід, які несуть гени азотфіксації, що відносно легко передаються від одного штаму бактерії до іншого. Після цього з'явилися сподівання отримати методами клітинної і генетичної інженерії рослини, що здатні фіксувати атмосферний азот. Проте перенесення генів азотфіксації та його експресія – надзвичайно складне завдання.

Для покращення забезпечення сільськогосподарських культур фосфатами існує ефективний метод застосування фосфобактерину. Препарат одержують

на основі спор культури *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*. Ці бактерії перетворюють важко засвоювані мінеральні фосфати і фосфорорганічні сполуки (нуклеїнові кислоти, нуклеопротейди) у доступну для рослин форму. Слід зазначити, що фосфобактерин не замінює фосфорні добрива і не діє без них. Позитивний ефект від застосування фосфобактерину пов'язаний не тільки з доставкою засвоюваних фосфатів до рослин, але зумовлений також дією біологічно активних речовин (тіаміну, біотину, нікотинової та пантотенової кислот, вітаміну B₁₂ та ін.). Дані біологічно активні речовини, потрапляючи на поверхню насіння при інокуляції, а потім у тканини рослини, стимулюють фосфорне та азотне живлення, тобто сприятливо діють на розвиток рослин на перших етапах.

Тому найбільший внесок біотехнології в сільське господарство, на загальну думку, слід очікувати за рахунок покращення властивостей культурних рослин за використання нових методів клітинної та генетичної інженерії.

Контрольні питання

1. Які існують напрямки застосування біотехнологічних досліджень у тваринництві?
2. Вкажіть, які існують напрямки застосування трансгенних тварин.
3. Як отримують трансгенних тварин?
4. Що таке клонування?
5. Чим обґрунтована можливість використання молочної залози в трансгенних тварин для виробництва чужорідних протеїнів?
6. Які переваги мають трансгенні тварини в порівнянні з рекомбінантними мікроорганізмами й клітинними лініями ссавців в одержанні коштовних фармакологічних речовин?
7. Яким чином трансгенез може полегшити трансплантацію органів?
8. Вкажіть основні шляхи розвитку генетики вищих рослин.
9. Які існують напрямки застосування трансгенних рослин?

10. Що являють собою біодобрива?
11. Назвіть принципи застосування біопрепаратів в агропромисловій галузі.
12. Які екологічно безпечні способи захисту сільськогосподарських рослин є альтернативою пестицидам?
13. У чому полягає екологічна безпечність біопрепаратів та біодобрив?
14. На основі яких популяцій мікроорганізмів виготовляються біопрепарати?
15. Які перспективи використання біопрепаратів і біодобрив у практиці АПК?
16. Які існують екологічні переваги застосування біопрепаратів та біодобрив, на відміну від пестицидів?
17. Які біологічні способи збагачення ґрунту азотом використовуються в сільському господарстві?

6. БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА МЕДИЦИНА

В основі медичних біотехнологій лежать досягнення біології останньої чверті XX століття: розшифровка геному людини, відкриття молекулярних механізмів, що лежать в основі певних захворювань, формування уявлення про клітинні процеси як органічну цілісну систему і можливості модифікації клітинного матеріалу. Біомедичні технології потрібні для розвитку молекулярної медицини та використання її досягнень у клінічній практиці, у тому числі для попередження хвороб та реабілітації пацієнтів.

Досягнення у галузі фізико-хімічної біології та біотехнології заклали основи нової медицини. Сучасна біотехнологія революціонізує медичну науку. Вона створює технологічну платформу для відкриття та виробництва ліків, розробки нових видів та методів лікування, вакцин та діагностичних методів у медицині. Слід зазначити, що близько 90% усіх програм біотехнології належить до медицини та охорони здоров'я. Стрімко розвиваються нові методи діагностики захворювань, що важко діагностуються, і виявлення стійких до впливу антибіотиків мікроорганізмів. Незабаром найпоширеніші генетичні захворювання діагностуватимуться за допомогою тестів, створених з використанням біотехнологій.

Ведуться біотехнологічні розробки нових методів лікування на основі генної та клітинної терапії. Однією з областей, що найбільш активно розвиваються, на стику медицини та біотехнології є саме генна терапія.

Генна терапія – це перспективна біотехнологія, що використовує гени як ліки для лікування пацієнтів. Метою генної терапії є доставка в організм людини генетичних інструкцій та виробництво терапевтичних білків протягом тривалого періоду часу. При клітинній терапії старі та хворі клітини теоретично можуть бути замінені новими здоровими клітинами. Багато видів раку, а також генетичні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера та Паркінсона, є потенційними кандидатами на генну та клітинну терапію. Найкраща інтерпретація людського генетичного коду та розуміння того, як гени

регулюють біологічні процеси, дозволить зрозуміти, які зміни та помилки в генетичному коді можуть призводити до порушення молекулярних процесів та розвитку захворювань. Це, у свою чергу, призведе до розробки лікарських засобів, дія яких буде спрямована на усунення причин захворювання, а не лише на корекцію симптомів. Фармакологія вже отримала безліч раніше недоступних можливостей завдяки відкриттю нових генів та їх білкових продуктів, що веде до виникнення нового покоління ліків із високою вибірковістю дії та малою токсичністю.

Говорячи про медичну біотехнологію, не можна не відзначити її винятковий внесок у боротьбу зі старінням, що стало можливим завдяки відкриттям у молекулярній біології, розгадці структури ДНК, розшифровці геному людини та іншим успіхам у цій галузі. Розвиток генетичної інженерії дозволить суттєво поліпшити якість медичного обслуговування населення і вже на ембріональній стадії точно виявляти і в режимі, що щадить організм, усувати зачатки тих чи інших захворювань (генетичних, онкологічних, інфекційних).

Фармацевтична та біотехнологічна галузь посідає особливе місце у світовій економіці. Це високотехнологічна промисловість за обсягом абсолютних і відносних витрат на НДДКР (науково-дослідні та дослідно-конструкторські роботи – сукупність робіт, спрямованих на отримання нових знань та їхнє практичне застосування при створенні нового виробу або технології). Крім того, це одна з найбільш соціально значущих галузей, що забезпечує доступ пацієнтів до сучасних лікарських препаратів і підтримує стабільний розвиток системи охорони здоров'я.

У наш час фармацевтика та біотехнології – найбільший сегмент ринку охорони здоров'я. На нього припадає 70% та понад 1 трлн дол. У XXI столітті фармацевтичний ринок вступив у нову фазу свого розвитку. За прогнозом *Frost&Sullivan*, у період 2016-2025 років світовий ринок фармацевтики та біотехнологій зростатиме у середньому на 4,6%, а до 2025 року його обсяги становитимуть 1,7 трлн дол.

Біотехнологічні препарати (біопрепарати) – один із найбільш швидко зростаючих сегментів фармацевтичного ринку. На їхню частку припадає понад 20% всього обсягу продажів. Успіх цієї категорії препаратів зазвичай пов'язаний з їх більшою ефективністю проти хімічно синтезованих препаратів, і навіть з меншою кількістю побічних ефектів.

Завдяки широкому застосуванню біотехнологічних методів у фармацевтиці та медицині з'явилося нове поняття – «персоналізована медицина», коли лікування пацієнта здійснюється на основі його індивідуальних (у тому числі генетичних) особливостей, і навіть препарати, що використовуються в процесі лікування, виготовляються індивідуально для кожного конкретного пацієнта з урахуванням його стану.

Одним із найперспективніших напрямків є створення ліків на основі моноклональних антитіл. Серед п'яти препаратів із найбільшим обсягом продажів у світі – чотири є препаратами моноклональних антитіл. Загальний обсяг світового ринку таких ліків перевищує 70 млрд дол. Поява цих препаратів стала можливою, зокрема, завдяки застосуванню такого біотехнологічного методу, як гібридизація (штучне злиття) клітин.

Моноклональні антитіла – це спеціальні «захисні» білки, що продукуються клітинами імунної системи людини у відповідь на появу в крові будь-яких чужорідних агентів (званих антигенами): бактерій, вірусів, отрут та ін. Моноклональні антитіла мають незвичайну, унікальну специфічність, і кожне антитіло впізнає тільки свій антиген, зв'язується з ним і робить його безпечним для людини.

У сучасній медицині моноклональні антитіла широко використовують у діагностичних цілях. У даний час вони застосовуються також як високоефективні препарати для індивідуального лікування пацієнтів, які страждають на такі важкі захворювання, як рак, СНІД та ін.

Сьогодні медична біотехнологія посилено розвивається у всьому світі. У деяких країнах, наприклад Японії, біотехнологія оголошена «стратегічною

індустрією», а в інших, наприклад Ізраїлі, входить до наукових напрямів із зазначенням «національний пріоритет».

Види медичних біотехнологій:

- клітинна терапія – технологія, заснована на використанні стовбурових клітин або їх продуктів;
- генна терапія – технологія, що використовує методи генної інженерії у медичній практиці;
- генетична діагностика – технологія, що дозволяє визначити наявність спадкових захворювань, імовірність їх носійства; здійснювати передиктивну (прогнозує невідомі події у майбутньому) діагностику та визначати схильність до деяких захворювань; здійснювати генетично обґрунтований вибір засобів лікарської терапії;
- біоінформатика – дозволяє вивчати біологічні процеси *in silico* (за допомогою комп'ютерного моделювання);
- біофармакологія – вивчає фізіологічні ефекти, що здійснюються речовинами біологічного та біотехнологічного походження.

Клітинна терапія – це медичний напрямок, що ґрунтується на введенні в організм пацієнта препаратів, що містять живі клітини людини. У клітинній терапії застосовуються різноманітні види стовбурових клітин. Стовбурові клітини – це клітини-попередники спеціалізованих клітин в організмі, які можуть дати початок будь-якій тканині. Терапевтична ефективність стовбурових клітин обумовлена їх відновлювальним ефектом. На сьогодні клітинна терапія – один із найперспективніших підходів до лікування хвороб, які нещодавно вважалися невиліковними.

Стовбурові клітини можна отримати на ембріональній стадії, а також з дорослого організму. На ранньому етапі зародкового розвитку (стадія морули) всі стовбурові клітини організму, що беруть початок від заплідненої яйцеклітини, є тотипотентними, тобто мають здатність до диференціювання у різні типи клітин. Якщо на цій стадії морула ділиться навпіл, утворюються однайцеві (монозиготні) близнюки. Через чотири доби після запліднення з

морули, в результаті багаторазового клітинного поділу, формується бластоциста, що містить перші диференційовані клітини: вони диференціюються в різні типи клітин (мультипотентні), наприклад клітини крові або шкірних покривів. У зародка людини до восьмого тижня після запліднення більшість ембріональних стовбурових клітин уже диференційовані (рис. 88).



Рис. 88. Схема диференціації стовбурових клітин у процесі розвитку ембріона людини

Таким чином, ембріональні стовбурові клітини можна отримати:

- 1) з бластоцисти людини, якщо в результаті запліднення *in vitro* утворюється безліч бластоцист, з яких потрібна лише одна (або кілька);
- 2) з ембріональної тканини під час переривання вагітності;
- 3) з культури клітин, що розвинулися до стадії бластоцисти, отриманих в результаті перенесення диплоїдного клітинного ядра в яйцеклітину, власне ядро якої було попередньо видалено (клонування).

Ембріональні стовбурові клітини застосовуються при вивченні молекулярних механізмів розвитку організму та причин патологій, наприклад вроджених дефектів, онкологічних хвороб та інших. Інший приклад використання ембріональних стовбурових клітин – створення колекції клітинних культур різних ліній з метою вивчення дії нових лікарських засобів на тканини організму. Нарешті, третій перспективний напрямок – клітинна терапія хронічних захворювань: зокрема трансплантація клітин острівців підшлункової залози, отриманих зі стовбурових клітин, могла б допомогти дітям з діабетом I типу (рис. 89).



Рис. 89. Схеми терапевтичного клонування

Стовбурові клітини, хоча й у значно меншій кількості, можна отримувати з дорослого організму. Мультипотентні стовбурові клітини кісткового мозку короткий час перебувають у кров'яному руслі, потім вони диференціюються і дають початок усім лініям клітин крові.

Стовбурові клітини були виявлені і в інших тканинах дорослих тварин: наприклад стовбурові клітини нейронів (у віддаленій тканині мозку). В експериментах з тваринами було показано, що стовбурові клітини можуть зазнавати «передиференціювання», тобто при трансплантації з однієї тканини в іншу набувати нових властивостей, характерних для клітин тканини-реципієнта. Введення стовбурових клітин кісткового мозку пацієнтам, які перенесли інфаркт міокарда, покращує роботу серця.

У разі лейкемії також спостерігається позитивний ефект від терапії стовбуровими клітинами дорослого організму. Дуже велика перевага використання стовбурових клітин дорослого організму полягає в їх імуносумісності, оскільки донор реципієнта – та сама людина. Вони мають уроджені та набуті протягом життя генетичні дефекти. Однак, отримання стовбурових клітин дорослого – значно більше складне завдання, ніж отримання ембріональних стовбурових клітин.

Генна терапія – це лікування спадкових, та неспадкових (інфекційних, злоякісних та ін.) захворювань шляхом уведення генів у соматичні клітини пацієнтів з метою спрямованої зміни генних дефектів або надання клітинам нових властивостей. Генна терапія може працювати за декількома механізмами:

- заміна хвороботворного гена здоровою копією;
- «виключення» гена, що викликає хворобу;
- введення нового або модифікованого гена в організм, щоб допомогти у лікуванні хвороби.

Для введення у клітини нових генів застосовуються вектори – молекули ДНК, що використовують як «транспортний засіб» для штучного перенесення генетичної інформації.

Наприклад, віруси мають природну здатність доставляти генетичний матеріал у клітини і можуть використовуватися як вектори. Перш ніж використовувати вірус для перенесення терапевтичних генів у клітини, його модифікують, щоб усунути здатність викликати захворювання.

Використання технології CRISPR/Cas9 у генній терапії дозволяє точно змінювати ДНК клітин. Якщо поєднати CRISPR/Cas9 з доставкою за допомогою «векторів», це дозволить системно впливати на організм та змінювати геном великої кількості клітин.

Генна терапія може бути використана для модифікації клітин усередині (*in vivo*) або поза (*ex vivo*) організмом (рис. 90, 91).



Рис. 90. Генна терапія *in vivo*

Коли це робиться всередині тіла, лікар вводить ген, в ту його частину, яка має дефектні клітини.

Для модифікації клітин поза організмом кров, кістковий мозок або іншу тканину можна взяти у пацієнта, а конкретні типи клітин можна виділити у лабораторії. Новий ген вводиться у ці клітини. Клітини залишають для розмноження в лабораторії, а потім знову вводять пацієнту, де вони розмножуються далі і в кінцевому підсумку дають бажаний ефект. Замінені працюючі клітини вилікують людину, але це не завадить їхнім дітям успадковувати вихідний дефектний ген. Щоб гарантувати, що майбутні покоління сім'ї пацієнта не будуть мати генетичні захворювання, його статеві клітини повинні пройти генну терапію. Але через етичні питання зараз це віддалена перспектива.

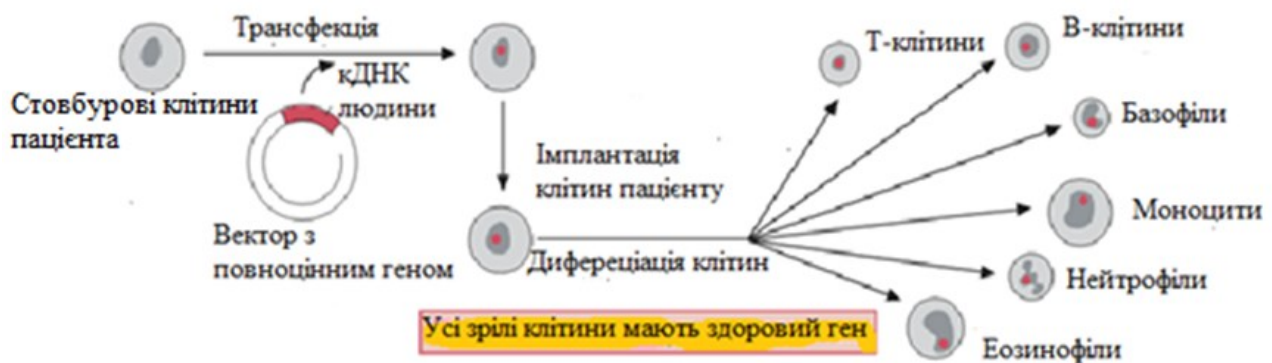


Рис. 91. Генна терапія *ex vivo* (на прикладі стовбурових клітин)

Генна терапія має певні ризики. Наприклад, якщо гени вбудовуються у невідповідному місці геному, вони можуть створити шкідливі мутації та ініціювати розвиток пухлини. До основних проблем також відносять імунну відповідь організму, вплив на роботу інших генів та вартість лікування.

Генетична діагностика – це метод обстеження організму, що дозволяє точно та швидко виявити віруси та інфекції, мутації генів, що викликають патологію, оцінити ризики спадкових та інших захворювань. Для управління здоров'ям необхідно мати ефективні та прості методи ранньої діагностики захворювань та визначення індивідуальної чутливості до терапевтичних

препаратів, а також факторів зовнішнього середовища. Найважливішою перевагою генетичної діагностики є мінімальний рівень медичного втручання, оскільки дослідження проводять *in vitro*. Метод успішно застосовують навіть для діагностики захворювань у ембріонів, а також у ослаблених та тяжкохворих пацієнтів (рис. 92).

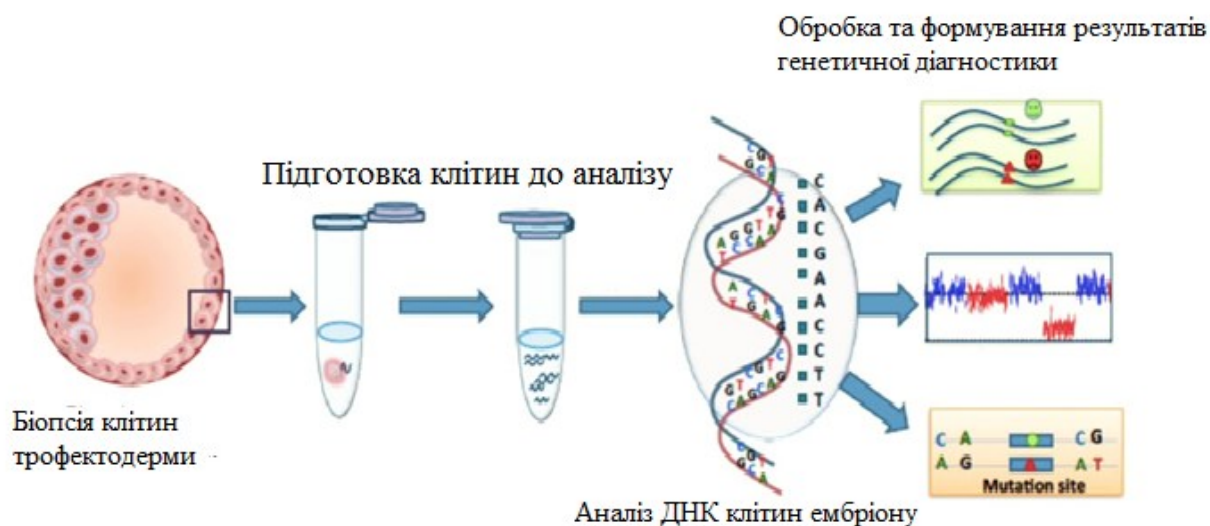


Рис. 92. Схема здійснення генетичної діагностики ембріона

Найпоширеніший матеріал для дослідження – кров із вени, проте можливе виділення ДНК/РНК з інших рідин та тканин: слини, слизової оболонки рота, навколоплідної рідини, волосся, нігтів тощо.

Розроблено методи ранньої діагностики пухлинних захворювань, заснованих на аналізі позаклітинної ДНК та РНК. Джерелом таких нуклеїнових кислот є клітини, що загинули, а також живі клітини.

У нормі їхня концентрація відносно низька, але значно зростає при стресі та розвитку патологічних процесів. При виникненні злоякісної пухлини в кровообіг потрапляють нуклеїнові кислоти, що виділяються раковими клітинами, і такі характерні циркулюючі РНК і ДНК можуть бути маркерами захворювання.

За допомогою сучасних технологій секвенування РНК та ДНК може бути створена платформа для діагностики та прогнозу онкологічних захворювань людини за допомогою сучасних пристроїв – біологічних мікрочипів,

мініатюрних приладів для паралельного аналізу специфічних біологічних макромолекул. Сучасні технології із застосуванням біологічних мікрочипів дозволяють швидко і ефективно ідентифікувати збудників ряду хвороб (туберкульозу, СНІДу, гепатитів В і С, сибірки, інфекцій новонароджених), фіксувати наявність певних біотоксинів, визначати хромосомні транслокації при лейкозах, індивідуальну чутливість до хвороб та до деяких типів терапії. Технології також можна використовувати для генетичної ідентифікації особи під час проведення судово-генетичних експертиз та формування баз даних ДНК.

Генетична діагностика – значний крок до персоналізованої медицини, вона дозволяє враховувати всі особливості конкретного пацієнта під час обстеження та терапії.

Біоінформатика головним чином охоплює зберігання і пошук даних, що збираються під час дослідження геномів, а також аналіз, обробку і співставлення цих даних. Біоінформатика також значною мірою використовується для створення терапевтичних агентів. У багатьох випадках розробка нових лікарських засобів неможлива без використання складних процедур біоінформатичного моделювання та обчислювальної техніки. Біоінформатика також є засобом для поширення, обміну та об'єднання наукових знань. Добре відомо, що виникнення та розвиток практично будь-якого патологічного процесу призводить до зрушення метаболічного гомеостазу в організмі, що може бути ідентифіковане за допомогою аналізу плазми крові. Проте ці зміни слабо реєструються і залишаються малопомітними, якщо відсутній адресний підхід. Одним із підходів інтегративного аналізу є моделі метаболізму в клітинах у масштабі геному (*GEMs, genome-scale metabolic models*). По суті, *GEMs*-моделі метаболізму в масштабі геному є платформою для аналізу й обґрунтування напрямів дослідження обміну речовин і його участі в підтримці клітинного гомеостазу, бо об'єднують в єдине ціле весь комплекс реакцій обміну, що протікають у кожній клітині, тканинах і організмі. При цьому кожна реакція пов'язана з

одним або більше ферментами і закодована специфічними генами (або групою генів), що дозволяє реєструвати прямі ген-білкові взаємодії. *GEMs*-моделі набули поширення у біомедичних програмах, включаючи прогнозування біомаркерів у мережах метаболізму.

Біофармакологія. Розробці сучасних біофармацевтичних препаратів передувало освоєння біотехнологічних методів, зокрема ферментації бактерій та грибів, що дозволило розвинути промислове виробництво низькомолекулярних лікарських засобів, наприклад, антибіотиків, інгібіторів, ферментів, імуносупресорів та ін.

Сьогодні фармацевтична біотехнологічна продукція представлена класичними продуктами: антибіотиками різного призначення (для лікування захворювань людини та тварин), харчовими добавками та преміксами, вітамінами, вакцинами та ферментами, а також продуктами «нової біотехнології», якими є генно-інженерні лікарські препарати, вакцини та діагностикуми нового покоління. Генно-інженерні лікарські препарати, що з'явилися на ринку в останні десятиліття, є природними біорегуляторами і біологічно активними речовинами, синтез яких для медичних цілей поза організмом неможливий або дуже складний. До таких препаратів відносяться інсулін, гормон росту, фактори зсідання крові, еритропоєтин, інтерлейкіни, фактори росту, ангіогенін, плазміноген, вакцини, моноклональні антитіла.

Найбільшим є виробництво генно-інженерного інсуліну, частка якого на світовому ринку продуктів сучасної біотехнологічної промисловості становить 18%. Лідерами продаж на ринку генно-інженерних медикаментів гормональної природи протягом останніх кількох років були препарати рекомбінантного еритропоєтину, різні модифікації якого застосовують при лікуванні анемії, серцево-судинних та онкологічних захворювань. Значну частку ринку генно-інженерних медикаментів становлять рекомбінантні альфа-, бета- та гамма-інтерферони, різні форми яких ефективні при лікуванні пухлинних захворювань, хвороб крові, вірусних інфекцій.

Біотехнологічні лікарські засоби – це лікарські препарати, призначені для профілактики, лікування чи діагностики *in vivo*, що розвивають не фармакологічну, а біологічну активність. Вони мають низку істотних відмінностей від хіміко-синтетичних лікарських засобів. Діюча речовина біотехнологічних препаратів має біологічне походження і є похідною від живих клітин, має складну гетерогенну молекулярну структуру. Вихідним субстратом служать клітини тваринного походження або мікроорганізми (бактерії типу *E.coli*, дріжджі тощо), використовуються їх клітинні та субклітинні структури. Істотною відмінністю біотехнологічних лікарських засобів є те, що у них використовується природна здатність до метаболізму. Для їх отримання застосовується ізоляція та зміна геномної ДНК вихідного продукту таким чином, що він отримує нову, неспецифічну для даного виду здатність до біосинтезу, яка використовується у лікарських засобах. Насамперед тут слід назвати створення генно-модифікованих організмів для отримання рекомбінантних терапевтичних протеїнів.

Антибіотики. Відкриття у 1928 р. Олександром Флемінгом того, що грибок, званий *Penicillium notatum*, може продукувати сполуку, що запобігає розмноженню ряду бактерій без помітного впливу на організм людини або тварин, зіграло величезну роль. Наступні численні дослідження у цьому напрямку змінили методи боротьби людини з інфекційними, насамперед, бактеріальними хворобами. Антибіотики почали інтенсивно використовуватися приблизно з 1945 р., після застосування пеніциліну. Нові антибіотики незабаром розширили спектр антимікробних препаратів і в даний час широко використовуються в медицині та ветеринарії. Вони можуть також використовуватися для боротьби з хворобами рослин, а також як інсектициди.

Антибіотики, що діють на низку мікроорганізмів, називаються антибіотиками широкого спектру. До них відносяться, наприклад, хлорамфенікол та тетрацикліни, які можуть діяти на такі неспоріднені групи мікроорганізмів, як рикетсії, хламідії та мікоплазми. На противагу їм стрептоміцин та пеніцилін мають вузький спектр дії, оскільки ефективні лише

проти деяких видів бактерій. Відомо близько 6000 антибіотиків, що продукуються грибами, стрептоміцетами, бактеріями. У медичній практиці використовують близько 100 видів антибіотиків. Більшість їх продукується актиноміцетами, зокрема, представниками роду *Streptomyces*.

В останні роки виникла проблема, пов'язана із підвищенням стійкості бактерій до антибіотиків. Застосування методів генетичної інженерії дозволило отримати нові штами-продуценти з високою продуктивністю, кращою стабільністю та дало можливість синтезувати нові антибіотики. Ці модифікації дозволили знизити собівартість антибіотиків. Нині у виробництві використовуються танкові реактори з перемішуванням, які працюють у аеробних циклічних умовах. Одним із шляхів отримання нових антибіотиків вважається їхня постсинтетична хімічна модифікація.

Практика показує, що пошук нових антибіотиків необхідно проводити постійно, оскільки бактерії дуже швидко набувають стійкості до них. Найбільш актуальними завданнями, що пов'язані з розробкою, виробництвом та застосуванням антибіотиків є:

- створення та розробка способів подолання антибіотикорезистентності мікробів;
- пошук природних та створення напівсинтетичних антибіотиків, ефективних у боротьбі зі стафілоковою, синьогнійною та іншими інфекціями;
- пошуки інших видів організмів-продуцентів антибіотиків;
- отримання нових антибіотиків шляхом спрямованого біосинтезу та підбору відповідних мутантів та рекомбінантів.

Стимулом до подальших досліджень є два основних фактори – велике значення антибіотиків у медицині та ветеринарії та низька вартість сировини, що йде на їх виготовлення. Ця галузь виробництва, на відміну від інших, не відчуває конкуренції з боку хімічного виробництва. Проте проблеми, зазначені вище, змушують вишукувати нові підходи боротьби з інфекційними хворобами. Одним із найбільш перспективних шляхів у боротьбі з деякими захворюваннями можна вважати створення та широке застосування

пробіотиків. Більшість пробіотиків, що використовуються в даний час, створена на основі бактерій роду *Bacillus*.

Ферменти. Ферменти дуже широко використовуються в біотехнології як інструменти для здійснення тонкого хімічного органічного синтезу, в легкій, харчовій та фармацевтичній промисловості, а також у генно-інженерних дослідженнях. Найчастіше отримання ферментів – це аеробний процес. Їх вигідніше отримувати мікробіологічним шляхом, ніж виділяти із рослинної чи тваринної сировини.

Як приклади використання ферментів у медицині можна навести такі: урокіназа, яка продукується культурою клітин, її використовують для руйнування тромбів; супероксиддисмутаза – синтезується бактеріями та застосовується для лікування ішемічної хвороби серця; стрептокіназа – синтезується бактеріями, здатна перетворювати плазміноген на плазмін і тому застосовується для руйнування тромбів.

Ферменти використовують для лікування спадкових захворювань (замість відсутніх ендогенних ферментів), видалення нежиттєздатних, денатурованих структур, клітинних та тканинних фрагментів, звільнення організму від токсичних речовин.

Новим напрямом у медицині є використання ферментних препаратів типу «контейнер», виготовлення яких стало можливим завдяки появі та вдосконаленню методів іммобілізації речовин. Ці препарати являють собою мікросфери з більш менш твердою і проникною оболонкою. Призначення цих лікарських засобів різне. Першим типом «штучних клітин» слід назвати мікрокапсули. Фермент, що знаходиться всередині оболонки, не контактує з рідинами та тканинами організму, не руйнується протеїназами, не пригнічується, не викликає імунної відповіді організму. Основна перевага мікрокапсул полягає в тому, що їх можна імплантувати у потрібне місце, наприклад, у безпосередній близькості від пухлини. При цьому мікрокапсула з відповідним вмістом перероблятиме метаболіти, необхідні для росту пухлинної тканини, і ця тканина не буде розвиватися.

Слід враховувати, що мікрокапсули, які вводяться в кров, можуть забивати кровоносні судини і викликати утворення тромбів. Однак ефективність мікрокапсул при використанні їх у вигляді колонок для діалізу в апараті «штучна нирка» безсумнівна, оскільки обсяг апаратів і відповідно кількість необхідних і дуже дорогих розчинів різко скорочується. Наприклад, для мікрокапсульованої «штучної нирки» потрібна колонка об'ємом всього 30 мл, яка працює майже в 100 разів швидше за звичайний апарат. Всередину мікрокапсули можуть бути включені магнітні частинки. У цьому випадку ззовні підводять магнітне поле та препарат утримують поблизу органу-мішені.

Зараз інтенсивно досліджуються властивості мікрокапсул, стінка яких складається з оболонок еритроцитів. Вміст еритроцитів видалається, а «тінь» заповнюється ферментом. Використовуються також оболонки інших клітин. Так, описані лікарські препарати, що включені в оболонки макрофагів. Останні мають тенденцію накопичуватися у вогнищах запалень, отже, можуть транспортувати туди як низько-, так і високомолекулярний лікарський препарат. Істотною позитивною властивістю «тіней» клітин в якості носіїв є їхня повна сумісність з організмом пацієнта, оскільки цей носій готують на основі клітин, виділених з крові пацієнта, і повертають їх йому з новим вмістом.

Відомо, що протеїнази, розщеплюючи денатуровані білки, сприяють очищенню ран, а отже, їх загоєнню. У цьому напрямку в клінічній практиці за допомогою іммобілізованих протеїназ зроблено багато. Як носії для іммобілізації протеолітичних ферментів застосовують волокнисті матеріали на основі целюлози, полівінілового спирту, солей альгінової кислоти, поліамідне та колагенове волокно. Готують нитки, в які при формуванні включають фермент і використовують їх як шовний матеріал. Порівняльний аналіз дії нативних та іммобілізованих протеїназ (в основному хімотрипсину, трипсину, колагенази) показав, що вже на 2-4-й день рана очищається від некротичних мас і принаймні вдвічі швидше настає загоєння. Переконливі результати отримані під час лікування трофічних виразок, променевих виразок шкіри.

Особливо ефективні іммобілізовані протеїнази при передопераційній підготовці та після пластичних операцій. Іммобілізовані протеолітичні ферменти з великим успіхом застосовуються в лікуванні гнійних захворювань легень та плеври.

Лікування раку пов'язане з використанням L-аспарагінази, яка позбавляє ракові клітини ресурсів необхідних для синтезу аспарагіну. Здорові клітини, на відміну від ракових (деяких типів), здатні до самостійного синтезу аспарагіну.

Гормони. Біотехнологія надає медицині нові шляхи одержання цінних гормональних препаратів. Особливо великі зрушення відбулися останніми роками у напрямі синтезу пептидних гормонів.

Раніше гормони отримували з органів та тканин тварин та людини (крові донорів, видалених при операціях органів, трупного матеріалу). Потрібно було багато матеріалу для одержання невеликої кількості продукту. Так, людський гормон росту (соматотропін) отримували з гіпофіза людини, кожен гіпофіз містить його трохи більше 4 мг. У той же час для лікування однієї дитини, яка страждає на карликовість, потрібно близько 7 мг соматотропіну на тиждень; курс лікування має тривати кілька років. Із застосуванням генно-інженерного штаму *E. coli* в даний час отримують до 100 мг гормону росту на 1 л середовища культивування. Відкриваються перспективи боротьби не лише з карликовістю, а й із низькорослістю – слабшим ступенем дефіциту соматотропіну. Соматотропін сприяє загоєнню ран та опіків, поряд з кальцитоніном (гормоном щитовидної залози) регулює обмін Ca^{2+} у кістковій тканині.

Інсулін, пептидний гормон острівців Лангерганса підшлункової залози, є основним засобом лікування при цукровому діабеті. Ця хвороба спричинена дефіцитом інсуліну та проявляється підвищенням рівня глюкози в крові.

Донедавна інсулін отримували з підшлункової залози ВРХ та свиней. Препарат відрізнявся від людського інсуліну 1-3 амінокислотними залишками, тому виникала загроза алергічних реакцій, особливо в дітей. Широкомасштабне терапевтичне застосування інсуліну стримувалося його високою вартістю та

обмеженістю ресурсів. Шляхом хімічної модифікації інсулін із тварин вдалося зробити майже невідмінним від людського, але це означало додаткове подорожчання продукту.

Компанія *EliLilly* з 1982 р. виробляє генно-інженерний інсулін на основі синтезу клітинами *E. coli* окремо А- та В-ланцюгів гена. Вартість продукту значно знизилася, отримуваний інсулін ідентичний людському.

В наш час майже весь інсулін виробляється за допомогою клітин *E. coli*, в які вбудований ген, що кодує інсулін людини (рис. 93).



Рис. 93. Схема отримання генно-інженерного інсуліну

Генетично змінені дріжджі останніми роками також застосовуються для виробництва інсуліну. Є підтвердження того, що інсулін у трансгенних рослинах можна отримати з меншими витратами, ніж у біореакторах. Наприклад, одна з канадських фірм повідомила, що вироблений ними у сояшнику інсулін дешевший більше, ніж на 25%. Нова технологія зменшить витрати на будівництво необхідних виробничих потужностей.

При лікуванні діабету використовується також технологія інкапсулювання: створення депо інсуліну шляхом імплантації мікрокапсул, що містять острівці Лангерганса, які синтезують у підшлунковій залозі інсулін. Одноразова імплантація мікрокапсули в організм хворого позбавляє пацієнта від щоденних ін'єкцій інсуліну оскільки він продукується протягом року.

Значним є внесок біотехнології і в промислове виробництво непептидних гормонів, насамперед стероїдів. Методи мікробіологічної трансформації дозволили різко скоротити кількість етапів хімічного синтезу кортизону, гормону надниркових залоз, що застосовується для лікування ревматоїдного артрити. При виробництві стероїдних гормонів широко використовують іммобілізовані мікробні клітини для синтезу преднізолону з гідрокортизону. Є розробки з одержання гормону щитовидної залози тироксину із мікроводоростей.

Інтерферони виділяються клітинами людини та тварин у відповідь на інфікування вірусами. Вони мають антивірусну активність. Передбачається, зокрема, що інтерферони перешкоджають проникненню вірусних частинок у клітину. Інтерферони стимулюють діяльність імунної системи та перешкоджають розмноженню клітин ракових пухлин. Усі аспекти дії інтерферонів є важливими з точки зору їх терапевтичного застосування.

До введення методів генетичної інженерії інтерферони отримували з донорської крові до 1 мкг неочищеного інтерферону з 1 л крові, тобто приблизно одну дозу для ін'єкції. В даний час інтерферони успішно отримують із застосуванням генно-інженерних штамів *E. coli*, дріжджів, культивованих клітин комах (*Drosophila*) та ссавців. Генно-інженерні інтерферони можуть бути очищені за допомогою моноклональних антитіл.

Інтерферони використовуються для лікування хвороб, що викликаються вірусами герпесу, сказу, гепатитів, а також для профілактики вірусних інфекцій. Інтерферони надають лікувальний вплив на організм хворих на рак грудей, шкіри, гортані, легенів, мозку, розсіяної мієломи та саркоми Капоці – два останні захворювання характерні для осіб, які страждають на набуті

імунодефіцити. Інтерферони корисні також під час лікування розсіяного склерозу.

Інтерлейкіни – порівняно короткі (близько 150 амінокислотних залишків) поліпептиди, що беруть участь в організації імунної відповіді. Інтерлейкіни – основні лікувальні засоби при імунних розладах, отримують шляхом клонування відповідних генів у клітинах *E. coli* або культивування лімфоцитів *in vitro*. Англійська компанія *Celltech Ltd* та японська *Sakyo Company* пропонують синтезований генно-інженерними бактеріями інтерлейкін для лікування низки пухлинних захворювань.

Одержувані біотехнологічним шляхом *фактори згортання крові*, особливо фактор VIII (за допомогою культивованих клітин ссавців) і фактор IX (за допомогою генно-інженерного штаму *E. coli*), необхідні для терапії форм гемофілії – спадкової хвороби, при якій кров втрачає здатність згортатися.

Вакцини. «Активна імунізація», тобто вакцинація, яка використовується людиною вже понад 200 років, є ефективним способом стимуляції імунної системи. У відповідь на введення вакцини, в організмі відбуваються такі процеси: активуються В-лімфоцити – продуценти антитіл; активуються Т-лімфоцити, які мають здатність знищувати чужорідний антиген; утворюються довгоживучі В- та Т-лімфоцити (клітини пам'яті), які швидко активізуються при наступній зустрічі з тим самим антигеном. Як вакцини можуть служити інактивовані або ослаблені (аттенуйовані) мікроорганізми, які не є вірулентними (отруйними), проте викликають імунну реакцію.

Імунну відповідь викликають не тільки цілі клітини, але й окремі клітинні компоненти, наприклад, полісахариди, а також токсичні білки (токсини). Для отримання аттенуйованих вірусів розроблено цілу низку спеціальних технологій. Протягом багатьох років вакцини застосовуються для профілактики таких захворювань людини, як кір, дифтерія, правець, кашлюк, туберкульоз, холера та поліомієліт. На жаль, є безліч захворювань, проти яких досі не отримано вакцин. До таких захворювань відносяться багато тропічних хвороб та СНІД. Крім того, знову стає актуальною профілактика деяких хвороб, які

вже вважалися переможеними, як, наприклад, туберкульоз. Значною мірою ризик захворювання на туберкульоз обумовлений появою нових штамів, що мають стійкість до антибіотиків.

Методи генетичної інженерії дозволяють одержувати нові високоефективні вакцини. Сучасні вакцини, отримані з використанням методів генетичної інженерії, містять, як правило, не цілі клітини збудника захворювання, а окремі його компоненти, наприклад, специфічні поверхневі білки. Гени вірулентного мікроорганізму, що відповідальні за синтез захисних антигенів, вбудовують у геном непатогенного мікроорганізму, що при культивуванні продукує і накопичує відповідний антиген. Прикладом цього підходу є створення рекомбінантної вакцини проти гепатиту В.

Іншим напрямком розвитку нового покоління вакцин є отримання аттенуйованих штамів. Наприклад, за такою технологією було створено новий штам *Vibrio cholerae* для імунізації проти холери. Методами генетичної інженерії вдалося отримати штам *V. cholerae*, який викликає повноцінну імунну відповідь, проте не є патогенним.

«Векторні» вакцини – ще одна нова стратегія імунізації. В якості вакцини при такому підході використовується вірусна ДНК, модифікована таким чином, що вона більше не чинить патогенної дії, проте викликає імунну відповідь. Для доставки вірусної ДНК у клітини обрано вірус коров'ячої віспи (*Vaccinia*). Геном цього вірусу добре вивчений, а сам вірус інфікує клітини з високою ефективністю та безпечний для людини. У геном *Vaccinia* можна вбудовувати різні вірусні антигени та спостерігати імунну відповідь.

Моноклональні антитіла (моноАТи). Антитіла – це білки, які забезпечують захисну функцію імунної системи. Вони циркулюють у крові та лімфі хребетних тварин. Антитіла мають здатність високоспецифічно зв'язуватися з антигеном, яким може бути чужорідний білок, токсин, полісахарид або ліпосахарид оболонки вірусу або патогенного мікроорганізму. Утворення специфічних антитіл починається при попаданні антигена в організм. Поліклональні антитіла – це суміш антитіл, утворених В-лімфоцитами

у відповідь на введення антигена. Різні антитіла дізнаються про різні частини молекули антигена (епітопи), тому препарат поліклональних антитіл завжди певною мірою гетерогенний. Зазвичай антитіла отримують зі збагаченої антитілами сироватки крові, яку одержують шляхом багаторазового введення антигена тваринам (кролику, вівці, козі, корові, коню). Імунізацію можна повторювати через 1-2 тижні і з великих тварин (коня, корови або кози) вдається отримувати значну кількість сироватки. Однак, антитіла, що отримані з тварин, розпізнаються імунною системою людини як чужорідні, тому при повторному введенні можливе виникнення імунної реакції. У медицині цю проблему вирішують частою зміною антитіл, отриманих із різних тварин. Альтернативою може бути використання антитіл, виділених із крові донорів.

На відміну від поліклональних антитіл, які є сумішшю різних антитіл, що продукуються В-лімфоцитами у відповідь на введення тварині антигена, препарати моноклональних антитіл гомогенні. Для їх отримання використовують гібридомну технологію, тобто створюють «безсмертну» лінію клітин за рахунок злиття В-лімфоцита з пухлинною клітиною імунної системи – мієломою, які продукують антитіла певної специфічності (рис. 94). Гібридна клітина, що створюється в результаті – гібридома – поєднує в собі здатність тривалого розмноження в культурі, як пухлинна клітина, зі здатністю біосинтезу моноклональних антитіл, як лімфоцитарна клітина. Моноклональні антитіла однорідні за своїми властивостями, володіють однаковою спорідненістю до антигена і зв'язуються з однією єдиною антигенною детермінантою.

МоноАТи можуть бути отримані на мишах, але, будучи введеними в організм людини, розпізнаються імунною системою, що часто призводить не тільки до їх руйнування без терапевтичного ефекту, але й викликає пошкодження нирок. Для вирішення цієї проблеми вчені використовують химерні (людина-миша) антитіла.

Гібридомна технологія дозволила вирішити проблему спрямованої доставки лікарських засобів клітинам і тканинам-мішеням.

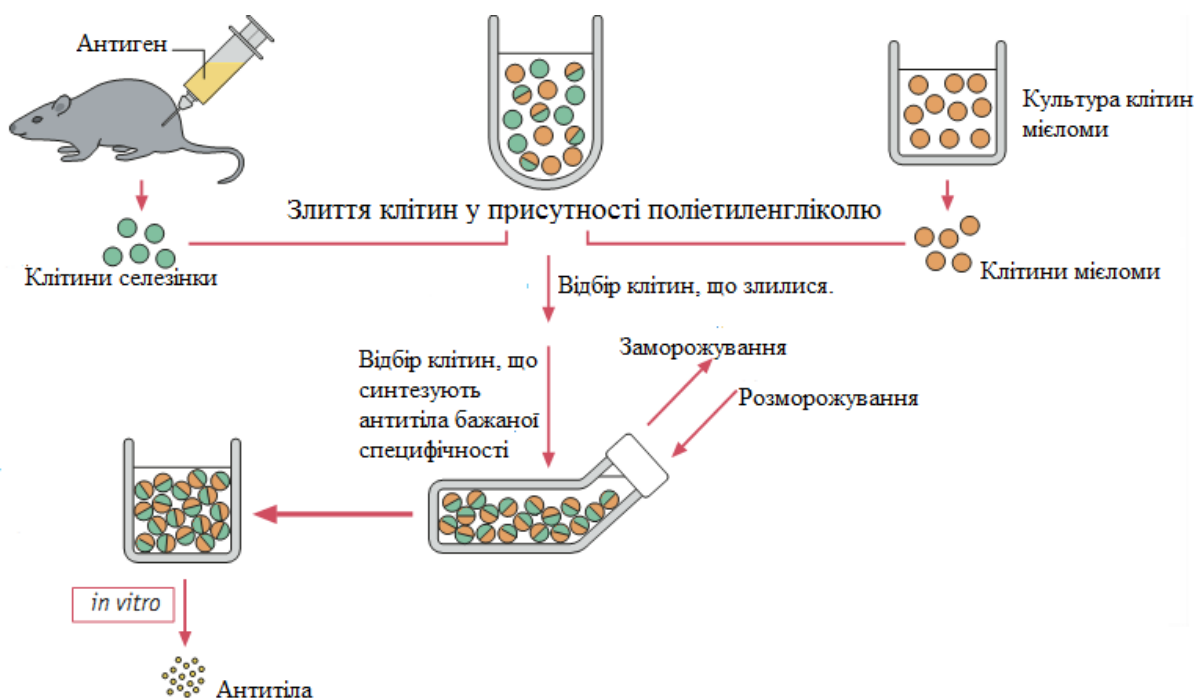


Рис. 94. Схема отримання моноклональних антитіл

Насамперед реалізація цих ідей була спрямована на лікування онкологічних хворих у зв'язку з тим, що саме в цій галузі традиційні хіміотерапевтичні та радіотерапевтичні засоби надають потужну шкідливу дію і на нормальні клітини. Інтенсивний розвиток гібридної технології надав можливість отримання великої кількості високоспецифічних моноАТів проти маркерних антигенів на поверхні клітин, для вибіркового руйнування популяцій клітин-мішеней. У наш час досягнуто значного прогресу у створенні фармакологічних агентів спрямованої дії – імунотоксинів, речовин рослинного або бактеріального походження з'єднаних з антитілом, що здійснюють токсичний вплив на пухлинну клітину, спрямований на конкретний її фрагмент.

Вітаміни. Вітамін В₂ (рибофлавін) отримав свою назву від цукру рибози, що входить до складу молекули вітаміну. Поширений у природі та у значних кількостях синтезується рослинами, дріжджами, грибами та бактеріями. Продуцентами вітаміну є бактерії (*Brevibacterium ammoniagenes*, *Micrococcus glutamaticus*), дріжджі (*Candida guilliermondii*, *C. flaveri*), мікроскопічні (*Ashbya gossypii*) та цвілеві гриби (*Aspergillus niger*). Промислове отримання рибофлавіну здійснюється хімічним, мікробіологічним чи комбінованим

методом: при цьому синтезована мікроорганізмами рибоза хімічно трансформується у вітамін В₂. Препарати рибофлавіну використовують у медицині для лікування низки захворювань. Для медичних цілей мікробіологічний рибофлавін одержують на основі гриба *Aspergillus*. В останні десятиліття бурхливо розвивається мікробіологічне виробництво вітаміну В₂ шляхом культивування мікроскопічного гриба *Eremothecium ashbyii*, яке успішно конкурує з його хімічним синтезом.

Вітамін В₁₂ – ціанкобаламін – це полімер складної будови, що є гематопоетичним і ростовим фактором для багатьох тварин та мікроорганізмів. Мікробіологічний синтез є єдиним способом отримання вітаміну. Здатність до синтезу даного вітаміну поширена серед прокаріотичних мікроорганізмів. Активно продукують вітамін В₁₂ *Propionibacterium*, а також *Pseudomonas* та змішані культури метаноутворюючих бактерій.

Ергостерин є вихідним продуктом виробництва вітаміну D₂. Вітамін D₂ (ергокальциферол) утворюється при опроміненні ультрафіолетом ергостерину, який у значних кількостях синтезують бурі водорості, дріжджі та плісняві гриби.

Для отримання кристалічного β-каротину, який є попередником для синтезу вітаміну А, у промисловому масштабі використовується нижчий гриб *Blakeslea trispora*, характерною особливістю якого є здатність до надсинтезу цільового продукту.

Біополімери (БП). Нині у медицині дедалі більше уваги приділяється полімерам біологічного походження. Це пояснюється їх різноманітністю, унікальністю властивостей, і навіть тим, що методи біотехнології, на відміну від традиційних хімічних, дозволяють отримувати екологічно чисті матеріали. Крім білків і нуклеїнових кислот, особливого розгляду заслуговують мікробні термопластичні полімери 3-оксинасичених жирних кислот. Ці БП володіють механофізичними властивостями, близькими до поліетилену та поліпропілену, а також рядом специфічних властивостей – біодеградованістю, сумісністю з тканинами людини та тварин, п'єзоелектричним ефектом та іншими корисними

властивостями. Вони успішно використовуються в медицині, зокрема, в хірургії (міцний хірургічний матеріал, що розсмоктується, елементи для остеосинтезу, судинної пластики, плівкові покриття ран і опікових поверхонь, одноразові вироби, у тому числі неткані матеріали), фармакології (пролонгація дії лікарських речовин). В останні роки ідентифіковані нові біополімери цього класу, що володіють термопластичністю та біодеградуемістю.

В даний час проводиться активний пошук нових продуцентів БП, оптимізуються умови їхньої ферментації, вивчаються властивості отриманих на їх основі матеріалів.

Біотехнологія прискорює виробництво та пошук нових препаратів, а також допомагає більш точно пояснити їхню дію в організмі людини та тварин. Вона помітно знижує вартість нових препаратів, що складається з вартості відкриття, розробки, масштабування, клінічного випробування препарату та оформлення документації, необхідної для його застосування.

Використання трансгенних рослин та тварин у медицині. В даний час багато біофармацевтичних препаратів виробляються методом генетичної інженерії в клітинах ссавців, рослин, бактеріях або класичним методом – мікробною ферментацією. Однак зі створенням трансгенних тварин стає можливим отримувати деякі білки людини, перспективні для фарміндустрії, включаючи тканинний активатор плазміногену, фактор зсідання крові і т.ін., у молочних залозах кількох видів тварин, таких як миші, кролики, вівці, корови та свині. У цих тварин необхідні препарати накопичуються у молоці.

У деяких людей, хворих на гемофілію, відсутній агент згортання крові, званий коагулюючим фактором IX. Було сконструйовано ген, що кодує цей білок, і успішно вбудований у геном овець. Цей ген експресується, хоч і незначною мірою, і успадковується потомством. У 2006 р. було отримано трансгенні свині шляхом вбудовування гена «жир-1». Ген був узятий від нематоди *Caenorhabditis elegans*. У 6 з 10 отриманих клонів свиней експресувалися високі рівні омега-3 жирних кислот, корисних для профілактики серцево-судинних захворювань.

Потенціал трансгенних тварин, які можуть секретувати різні комерційно важливі для медицини продукти, необмежений та буде реалізований у майбутньому. Основною перевагою даної системи є те, що синтез проводиться в організмі ссавців, це забезпечує посттрансляційну модифікацію складних білків людини, необхідну для прояву їхньої біологічної активності. Така модифікація може бути досягнута в бактеріальних системах. Поки що немає комерційного виробництва, робота у наш час проводиться у напрямку підвищення виходу цільових товарів. Процес експресії не завдає шкоди тварині, яка продовжує давати молоко як завжди. Немає сумніву, що цей шлях стане одним з основних при отриманні низки білків, необхідних людині. Як приклад можна навести деякі американські компанії, які можуть зараз виробляти гемоглобін людини в крові трансгенних тварин і на його основі готувати замінник крові людини, який може мати величезний попит. Щороку у світі здійснюється 70 млн переливань крові загальною вартістю 10 млрд доларів США. Такий кровозамінник буде вільним від багатьох патогенів людини таких, наприклад, як ВІЛ і буде виключено необхідність визначення групи крові перед його введенням, оскільки він не містить червоних клітин крові (еритроцитів). Однак потрібно провести додаткові дослідження, перш ніж дана технологія застосовуватиметься на практиці.

Важливим напрямком можна назвати використання трансгенних тварин у якості донорів органів та тканин, що необхідні для трансплантації. Майже чверті мільйона людей продовжено життя завдяки пересадці органів. За статистичними даними, нині в економічно розвинених країнах близько 150 000 осіб потребують пересадки донорських органів та тканин. Світова потреба у трансплантації може виявитися значно більшою. Порівняно з 1988 р. вона підвищилася вдвічі та продовжує щорічно збільшуватися на 15%. Одним із перспективних шляхів вирішення цієї проблеми вважають розробку методу пересадки людині органів та тканин від тварин (ксенотрансплантація). Природним було б вважати, що найближче до нас стоять людиноподібні мавпи, проте кількість тварин цього виду обмежена та їх важко розводити у неволі. Не останню роль відіграє етична сторона питання, пов'язана з необхідністю

вбивати їх з метою одержання органів, і, нарешті, неможливість повністю убезпечити реципієнта від інфекційних захворювань змушує шукати донора органів для людини серед тварин іншого виду. Як виявилось, такою твариною може стати свиня, яка має певну анатомічну та фізіологічну схожість із людиною. Деякі біотехнологічні компанії працюють над створенням свиней з геном гістосумісності людини. Передбачається, що ця технологія завоює величезний ринок. У даний час основним лімітуючим фактором є отримання великої кількості трансгенних тварин.

Одним із шляхів використання трансгенних рослин у медицині та ветеринарії є отримання вакцин. Для цього в рослину вбудовують гени, що кодують білки збудників інфекційних хвороб, що індукують вироблення антитіл, які їх нейтралізують. У даний час отримані генетично модифіковані картоплю, томати, соняшник, салат, тютюн, рис та інші рослини. Якщо майбутні клінічні випробування пройдуть успішно, то з'являться «їстівні» вакцини, які відіграватимуть важливу роль у боротьбі з інфекційними хворобами, особливо в країнах, що розвиваються. Їхня перевага полягає в тому, що трансгенні рослини можуть бути вирощені всюди із застосуванням порівняно дешевої технології. Виготовлені за їх допомогою вакцини дозволили б уникнути матеріально-технічних проблем, пов'язаних із транспортуванням вакцин на великі відстані та створенням холодового ланцюга, необхідного для більшості звичайних вакцин. І оскільки вони їстівні, вони не будуть потребувати шприців, які не тільки створюють додаткові матеріальні витрати, але також у разі їх контамінації можуть бути джерелом інфекцій. Однак виникає інша проблема, пов'язана з тим, що у шлунково-кишковому тракті антигени розщеплюються. Це ускладнює отримання бажаного ефекту.

Програми імунізації, засновані на використанні трансгенних рослин, найбільше обговорюються у країнах третього світу. Такі «їстівні вакцини» надходять в організм пероральним шляхом, тому особлива увага приділяється тому, яким чином вакцина проходить через шлунково-кишковий тракт і наскільки ефективною буде імунна відповідь клітин слизової оболонки. Використання

трансгенних рослин для імунізації можливо у майбутньому, однак поки що такий підхід викликає безліч питань, у тому числі щодо умов дозрівання, зберігання та переробки плодів трансгенних рослин, що несуть вакцину.

Контрольні питання

1. Назвіть основні напрями медичної біотехнології.
2. Який внесок робить біотехнологія у розвиток діагностики, лікування та профілактики хвороб?
3. Поясніть, чому для одержання білків людини застосовують еукаріотичні, а не прокаріотичні системи експресії.
4. Які види препаратів для лікування та профілактики можна отримати за допомогою біотехнології?
5. Що таке ДНК-вакцини? Які переваги вони мають порівняно з традиційними вакцинами?
6. Що таке моноклональні антитіла? Наведіть приклади застосування моноклональних антитіл у медицині.
7. Вкажіть перспективи застосування терапії генів у медицині.
8. Поясніть роль генної терапії у лікуванні неспадкових захворювань людини.
9. Які причини обмеженого застосування генної терапії у медицині?
10. Чи існує ймовірність забруднення генофонду людської популяції внаслідок застосування генної терапії?
11. Вкажіть напрямки виробництва й застосування антибіотиків.
12. Які основні відмінності антибіотиків від пробіотиків?
13. Які існують шляхи виробництва й застосування інсуліну?
14. Які існують шляхи виробництва й застосування інтерферону?
15. Які існують шляхи виробництва й застосування гормону росту?
16. Які існують шляхи застосування моноАТів у медицині?
17. Яким чином можливо застосувати ферменти у медицині?
18. З якою метою отримують трансгенних тварин та рослин у медицині?

7. БІОТЕХНОЛОГІЇ У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВOSTІ

За даними ФАО та ВОЗ кількість голодуючих у 2020 р. оцінюється в 720-811 млн людей. Якщо відштовхуватися від середнього значення цього показника (768 млн), то у 2020 р. від голоду страждали на 118 млн людей більше, ніж у 2019 р. – або на 161 млн, якщо брати за основу максимум його передбачуваної межі. У 2020 р. майже кожна третя людина у світі (2,37 млрд) не мала доступу до достатньої кількості продовольства; всього за один рік кількість таких людей збільшилася майже на 320 млн.

Щоб прогнати населення світу, яке, згідно з прогнозами, до 2050 р. досягне майже 10 млрд людей, сільське господарство має виробляти на 40-50% більше продуктів харчування, кормів та сировини для біопалива, ніж у 2012 р. Це дуже складне завдання, яке може чинити непосильний тиск на природні ресурси Землі.

Необхідний перехід до стійкішого сільського господарства та виробництва продуктів харчування. Центральне місце у цьому плані відводиться трьом пріоритетним завданням: захист природи; відновлення та реабілітація навколишнього середовища, а також стійке управління системами виробництва продуктів харчування.

Біотехнологія використовується для виготовлення продуктів уже протягом понад 8000 років. Наявністю на полицях магазинів та в холодильнику хліба, алкогольних напоїв, оцту, сиру, йогурту та багато іншого ми зобов'язані ферментам, що виробляються різними мікроорганізмами. Сучасна біотехнологія постійно впливає на харчову промисловість за допомогою створення нових продуктів, а також зниження собівартості та вдосконалення бактеріальних процесів, які з незапам'ятних часів використовуються у виробництві продуктів харчування.

Сучасні методи біотехнології дають можливість масового виробництва окремих харчових компонентів, наприклад, таких як харчові органічні та амінокислоти, які широко застосовуються при виробництві продуктів і напоїв.

Ці продукти мають середню ціну. Дорогі харчові компоненти, що виробляються в меншій кількості, це: білки високої чистоти та білки виняткового амінокислотного профілю, біологічно активні харчові добавки, замінники цукру, ароматизатори та ін.

Найближчим часом харчова промисловість знайде свій розвиток у збільшенні врожайності рослин, підвищенні продуктивності мікроорганізмів та тварин. Цього можна досягти за допомогою всіх способів (класична селекція, мутагенез, клітинна та генна інженерія) і без уніфікації збільшиться виробничий потенціал галузі, покращиться якість продуктів харчування, буде забезпечена їхня висока екологічна чистота. Значні зміни очікуються внаслідок впровадження генної інженерії у технологію виробництва харчових продуктів. Використання трансгенних високоврожайних, стійких до захворювань рослин, що швидко ростуть, мікроорганізмів і тварин може дати початок новим напрямкам галузі.

Сучасна біотехнологія тісно пов'язана з усіма галузями харчової промисловості, починаючи з якісного поліпшення організмів, які беруть участь у технологічних процесах, і закінчуючи якістю харчових продуктів. Очікується активне втручання біотехнології у процеси, пов'язані з бродінням. Харчові продукти (хліб, сир, кефір, йогурт), напої (вино, пиво, коньяк, бренді, віскі, sake, горілка), овочеві соління (отримані ферментативним шляхом) в результаті численних біохімічних реакцій перетворюються на легкозасвоювані харчові компоненти з високою стійкістю до мікробних забруднювачів. Якщо до цього додати і сучасні можливості, пов'язані з такими процесами, як культивування мікроорганізмів у гігантських реакторах (500-1000 м³), мембранну фільтрацію, виробничу сепарацію, селективну променеву обробку продуктів і сучасну, засновану на ферментних перетвореннях, біохімічну інженерію, стане ясно, що модернізація галузі, що продиктована часом, вже розпочата і все більше прискорює темпи.

Перетворення, що відбуваються у процесі виробництва харчових продуктів, являють собою природні біологічні процеси та протікають за

допомогою ферментів. З іншого боку, для прискорення чи удосконалення технологічних процесів у реакційне середовище штучно вводять ферменти.

Багато ферментативних процесів можна розглядати як місцеві, притаманні даній країні і навіть окремому регіону. Деякі з них розроблені на зорі історії людства. Найчастіше ці процеси застосовувалися без урахування ролі мікроорганізмів. Майстри контролювали та спрямовували активність неусвідомлено, часто емпіричними методами, проте, отримували високоякісний кінцевий продукт. Тільки порівняно недавно роль і природа мікроорганізмів у низці цих процесів була вивчена і виявилось, що деякі ферментативні процеси відносно прості, інші настільки складні, що для їхньої розшифровки потрібна участь фахівців різних напрямків. Деякі зі старих випробуваних біотехнологій, на яких тримається промисловість харчових продуктів, ретельно вивчаються з метою визначення можливості застосування сучасних методів біотехнології у виробництві традиційних продуктів харчування.

Молочні продукти. Технології отримання молочних продуктів, таких як кисле молоко, масло, сир та ін. прийшли до нас з глибокої давнини. У світі ферментовані молочні продукти становлять близько 10% всіх продуктів харчування, отриманих із застосуванням ферментації. Основна кількість молочних продуктів виробляється в зонах із великою кількістю лактуючих тварин. Європа – один із основних виробників таких продуктів. Наразі відомо, що ці процеси протікають за участю групи мікроорганізмів, які називаються молочнокислими бактеріями.

У минулому ферментації здійснювалися завдяки природним молочнокислим бактеріям, але потім було помічено, що якщо попередньо внести чисту стартову культуру відселекціонованих бактерій, то можна отримати найкращі результати. Необхідно відзначити, що технологія з використанням молочнокислих бактерій має ряд переваг завдяки наступним моментам:

- 1) молочнокислі бактерії пригнічують розмноження небажаних мікроорганізмів, тим самим консервуючи молоко;

2) вони дозволяють отримати з молока високоякісний за смаком та структурою молочний продукт;

3) ці бактерії позитивно впливають на здоров'я людини, перебуваючи в її кишечнику.

При зростанні та розмноженні в молоці молочнокислі бактерії розщеплюють лактозу до молочної кислоти. Однак можуть протікати інші реакції, що залежать від субстрату, типів добавок і способу ферментації. Це може призводити до утворення різних метаболітів, що надають різний смак, і забезпечують створення великої різноманітності молочних продуктів, таких як йогурт, сметана, пахта, сир тощо.

Сир. Однією з найрозвиненіших галузей харчової промисловості є виробництво сиру, що починається з відділення казеїну молока з його рідкої частини (сироватки). Розрізняють понад 900 різних типів сиру. Всі вони можуть бути виготовлені з молока шляхом суворого контролю ферментації, ретельної селекції потрібних мікроорганізмів та внесення різних добавок. До відкриття ролі сичуга, що містить хімозин (сичужний фермент), кочівники для зберігання та транспортування молока використовували шлунки овець. При цьому воно нагрівалося на сонці та скисало під дією бактерій. Додаткова дія ферментів шлункового соку призводила до зміни молока, воно поділялося на тверду частину та сироватку. Тверда частина потім висушувалася, солилася і могла довго зберігатися, що є прикладом ранньої розробки технології збереження продукту харчування.

Приблизно 100 років тому виробництво сиру досягло такого рівня та комерційних масштабів, що виробники перестали довіряти процесу спонтанного розмноження молочнокислих бактерій і почали застосовувати чисті бактеріальні культури. Розмаїття бактерій викликало значне розширення асортименту сирів. Смак, аромат та якість різних сортів сиру визначають такі фактори: різновид молока (козяче, коров'яче, овече), температура приготування сиру, наявність вторинної мікрофлори. Якщо первинна мікрофлора – молочнокислі бактерії, здійснюють формування сиру як продукту, то вторинна

мікрофлора (бактерії, гриби) надають аромат та властивості, що визначають специфічний смак сиру.

Для промислових цілей сичужний фермент отримують з організмів тварин (ягнят, телят, поросят) та з культур грибів. Виробництво природного сичужного ферменту у світовому масштабі складає більше 25 млн кг. Незважаючи на це, він є дефіцитним та лімітуючим компонентом у технології виробництва сиру. Внаслідок численних пошуків отримано протеолітичний фермент мікробного походження з аналогічною сичужному ферменту субстратною специфічністю. Цей фермент частково поповнив дефіцит сичужного ферменту. Інша значна біотехнологічна новизна полягає у клонуванні гена хімозину в одній з культур міцеліальних грибів. Це дозволило отримати абсолютний аналог сичужного ферменту. Однак, аналог хімозину, виділений з грибів, задовольняє потребу у цьому ферменті тільки на одну третину.

Мікробний фермент широко використовується у США та Франції – країнах з великими традиціями виробництва сиру. Протягом останнього десятиліття отримано генетично модифіковані мікроорганізми, які продукують хімозин, ідентичний хімозину тварин. Використовуючи цей метод, ряд промислових компаній виробляють чистий хімозин, який набув поширення у всьому світі.

Йогурт. Другою великою групою продуктів, що отримуються з молока, є йогурти. Вони мають великий попит у споживачів різних країн. У даний час відомо, що живі бактерії, що містяться в йогурті, можуть приносити велику користь людині, покращуючи перетравлення їжі та впливаючи на інші процеси.

З'явився новий вид препаратів, званий пробіотиками, вони розглядаються не лише з погляду продуктів харчування, але й як важливі для медицини.

Традиційно йогурт отримують з цільного молока, піддаючи його ферментації сумішшю культур *Lactobacillus bulgaricus* та *Streptococcus thermophilus*. Ацетальдегід, що створює характерний смак, продукується першою з них, друга перетворює лактозу на молочну кислоту, надаючи йогурту

специфічний смак. Обидві бактерії продукують позаклітинні полімери, які забезпечують певну в'язкість продукту. Інкубація протікає за 30-45°C. Заморожений йогурт користується великою популярністю як альтернатива морозиву.

Залежно від складу мікрофлори заквасок та способу приготування кисломолочні продукти поділяють на наступні групи:

- виготовлені за використання багатокомпонентних заквасок (кефір, кумис). Мікрофлора цієї групи продуктів складається з молочнокислих бактерій (одного або кількох видів), дріжджів та нерідко оцтовокислих бактерій. Дріжджі та оцтовокислі бактерії надають продуктам специфічного смаку і аромату. При виробництві кефіру застосовують природну симбіотичну закваску – гриби кефіру, що складаються з молочнокислих бактерій *Lactobacillus*, дріжджів *Saccharomyces kefir* і деяких видів стрептококів. Кумис отримують з кобилячого молока за допомогою молочнокислих бактерій (*Lactobacillus casei* та ін), стрептококів та дріжджів, що зброджують лактозу;

- виготовлені за використання мезофільних молочнокислих стрептококів (сир, сметана, кисляк звичайний). Основними представниками мікрофлори таких продуктів є молочнокислі стрептококи: *Streptococcus lactis*, *Streptococcus acetoinicus*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*;

- виготовлені із застосуванням термофільних молочнокислих бактерій (ряжанка, варенець, йогурт, кисляк Південний). Для приготування цих кисломолочних продуктів використовують суміш молочнокислих бактерій (10:1) *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus bulgaricus* (болгарська паличка).

- виготовлені із застосуванням термофільних та мезофільних молочнокислих бактерій (любительська сметана, сметана зі зниженим вмістом жиру). Основними представниками мікрофлори таких продуктів є мезофільні та термофільні молочнокислі стрептококи.

- виготовлені за використання ацидофільних бактерій та біфідобактерій: ацидофільне молоко, афідофілін, біфідопродукти – продукти лікувально-

профілактичного харчування. До складу мікрофлори цих продуктів входять: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* з додаванням закваски кефіру; *Bifidobacterium bifidum* та ін.

М'ясні продукти. Технологія виробництва багатьох сучасних м'ясопродуктів обов'язково включає молочнокисле бродіння. У сирокочених ковбасах і в розсолах для окостів, грудинки, корейки молочнокислі бактерії пригнічують ріст гнильних мікроорганізмів та беруть участь у формуванні смаку та аромату готового продукту. У м'ясопродукти, що вимагають бактеріальної ферментації, зазвичай додають закваску, що містить спеціально відібрані штами стрептококів, лактобацил і педіококів. З метою розм'якшення м'яса, полегшення його обробки широко застосовуються ферментні препарати протеолітичної дії. Для обробки м'язової тканини застосовують ферментні препарати тваринного, рослинного та мікробного походження. З ферментів тваринного походження високою активністю володіє фермент панкреатин, що отримують з підшлункової залози свині. Іноді його застосовують у суміші із ферментами трипсином, хімотрипсином, пепсином. Проте ферменти тваринного походження мають обмежені сировинні джерела.

Серед групи ферментів рослинного походження для обробки м'язової тканини використовують папаїн, фіцин, бромелаїн та інші. Наприклад, папаїн застосовують як розм'якшувач твердого м'яса. Він використовується при дозріванні м'яса, виготовленні напівфабрикатів, отриманні гідролізатів. Слід зазначити, що ці протеази також не можуть повністю задовольнити запити промисловості через дефіцит сировини їхнього отримання, малого виходу під час переробки рослин, а отже, високої вартості.

Протеїнази мікробного походження мають ряд переваг у порівнянні з іншими джерелами: необмеженість сировинної бази, відносно проста технологія отримання, невисока вартість та ін. Крім того, мікробні протеїнази, як правило, здатні до більш глибокої деструкції білків, а також мають широкий спектр дії на різні субстрати. Штучно внесені до сировини препарати протеаз

забезпечують ефект перетворення білкових структур. Процеси дозрівання м'яса під їх впливом протікають у 3-5 разів інтенсивніше і закінчуються у більш короткий термін. При цьому інтенсивність та глибина перетворень білкових структур залежить від дозування препаратів, фізико-хімічних умов, тривалості обробки. Ферментна обробка сировини надає м'ясу ніжну консистенцію, потрібні смак та аромат.

Хліб у різних його видах – основний продукт ферментації зернових, він був відомий ще з часів Римської Імперії. У Європі найбільш використовуваними видами зернових є пшениця та жито.

При приготуванні хліба борошно змішується з водою або молоком, сіллю, жиром, цукром та іншими інгредієнтами, а також із дріжджами *Saccharomyces cerevisiae*. У процесі ферментації завдяки утворенню CO₂ тісто піднімається і займає форму, в якій випікають хліб. У збільшенні об'єму тіста, зокрема пшеничного, велику роль відіграє еластичність білків клейковини. Структура хліба залежить від жирів, емульгуючих і окисляючих агентів, тоді як швидкість випікання (комерційно важливий показник) залежить головним чином від вмісту жирів. Ферменти дріжджів також відіграють важливу роль, наприклад, додавання амілази помітно впливає на якість хліба та тривалість його зберігання.

Біотехнологічні процеси в хлібопеченні пов'язані з використанням хлібопекарських дріжджів, інших заквасок, що зумовлюють бродіння, і навіть деяких ферментних препаратів. Для виробництва хліба переважно застосовують дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. Зазвичай їх вирощують у ферментерах періодичної дії на мелясі – відході цукрового виробництва. Рідше використовують дріжджі *Candida milleri*. При виробництві хліба ферментаційний процес здійснюється у пастоподібному середовищі (опара, тісто). Борошно містить ферменти (амілазу та протеазу), які забезпечують частковий гідроліз крохмалю та білків борошна, створюючи сприятливий субстрат для зростання дріжджів. У борошні також міститься багато молочнокислих бактерій, які створюють у тісті кисле середовище, сприяючи

зростанню дріжджів. Умови аерації в тісті погані, тому розвиток дріжджів обмежений, але молочнокислі бактерії за таких умов розмножуються досить інтенсивно. З метою інтенсифікації процесу бродіння в тісто можна додати цукрозу або солодовий екстракт. У дріжджах, вирощених на мелясі, багато інвертази. У біомасі дріжджів близько 50% білків, вільні амінокислоти та вітаміни (рибофлавін, піридоксин, тіамін, фолієва кислота та ін.), тобто дріжджі збагачують хліб цінними речовинами.

Сучасні досягнення генетики та генетичної інженерії дозволяють отримати *Saccharomyces cerevisiae* з підвищеною активністю, застосовувати різні модифіковані ферменти, що покращують смак та структуру продукту. Однак досі деякі компанії-виробники не наважуються використовувати їх для комерційних цілей.

У різних країнах світу використовуються найрізноманітніші технології хлібопечення (рис. 95).

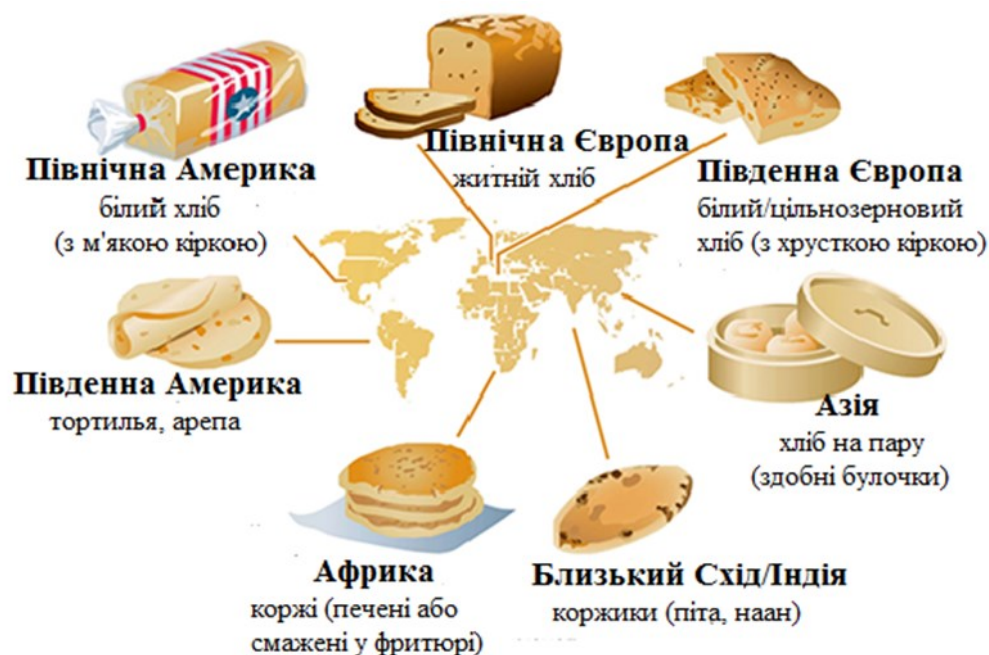


Рис. 95. Види хліба у різних регіонах світу

У Німеччині та США з житнього борошна випікають хліб «з кислинкою». Основа технології тут та сама, що і при випіканні хліба з пшеничного борошна, але при замісі житнього борошна та води додають опару, заквашену змішаною

культурою лактобацил. Кислота, що міститься в цій заквасці (опарі) і надає хлібу особливий смак.

В інших частинах Світу для отримання хліба з кислого тіста застосовують дріжджі *Candida milleri* та бактерію *Lactobacillus sanfrancisco* для стадії ферментації, а на індійському субконтиненті використовують *Streptococcus* та *Pediococcus* для ферментації борошна зернових та бобових.

Бродильні виробництва. Алкогольні напої отримують шляхом зброджування сировини, що містить цукор, в результаті чого утворюються спирт і вуглекислий газ. Першими напоями, отриманими на основі спиртового бродіння, були вино та пиво. До появи робіт Пастера наприкінці XIX століття про суть процесів, що відбуваються при бродінні, та їх механізмів було відомо дуже мало. Пастер показав, що бродіння здійснюється без доступу повітря живими клітинами дріжджів, при цьому цукор перетворюється на спирт та вуглекислий газ. Зброджування здійснюється дріжджами роду *Saccharomyces*. В одних випадках використовується природний цукор (наприклад, що міститься у винограді, з якого роблять вино), в інших – цукор отримують із крохмалю (наприклад, при переробці зернових культур у пивоварінні). Наявність вільних цукрів обов'язкова для спиртового бродіння за участю *Saccharomyces*, тому що ці види дріжджів не можуть гідролізувати полісахариди.

Пивоваріння. Вибір штаму пивних дріжджів є найважливішою умовою, що визначає властивості пива: його колір, смак та аромат, міцність.

У 1880 р. датський вчений Хансен виділив чисті культури дріжджів та використовував їх при виробництві пива. Використання індивідуальних штамів дріжджів у пивоварінні сьогодні стало нормою. *Saccharomyces carlsbergensis* – дріжджі глибинного бродіння, їх використовують у виробництві легкого пива. Беруться до уваги і смакові властивості пива, тобто утворення речовин, відповідальних за їх формування.

Для здійснення спиртового бродіння насамперед необхідно, щоб у пивоварній сировині утворився цукор. Традиційним джерелом потрібних для цього полісахаридів завжди був ячмінь, але як додаткові використовуються й

інші види сировини. Ячмінний солод та інші компоненти подрібнюють та змішують з водою при температурі до 67°C. У ході перемішування природні ферменти ячмінного солоду руйнують вуглеводи зерна. Пивне сусло після гідролізу крохмалю містить мальтозу, глюкозу, які зброджуються цукроміцетами, а також декстрини, які не використовуються пивними дріжджами. Отримане сусло відокремлюють від нерозчинних залишків. Додавши хміль, його кип'ятять у мідних казанах. У процесі кип'ятіння припиняється ферментативна активність, осаджуються білки із сусла та екстрагуються смакові компоненти хмелю. Для виробництва пива з певним вмістом алкоголю сусло після кип'ятіння доводять до потрібної густини. Питома густина сусла визначається вмістом екстрагованих цукрів, що підлягають зброджуванню. Потім сусло засівають штамами пивних дріжджів, які зброджують цукор до спирту і вуглекислого газу (в процесі бродіння дріжджова біомаса збільшується в п'ять разів). Ряд інших сполук, що надають пиву його особливий смак, утворюються у незначних кількостях. Серед них аміловий, ізоаміловий та фенілетиловий спирти, концентрація яких становить близько кількох міліграмів на 1 л, оцтова та масляна кислоти, а також ефіри. Через певний час бродіння закінчується, дріжджі відокремлюють від пива і витримують деякий час для дозрівання. Після фільтрації та інших необхідних процедур (пастеризації) пиво готове (рис. 96).

Для спрощення технології пивоваріння методами генної інженерії був отриманий штам пивних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* з внесеним до ДНК геном бактерії *Bacillus subtilis*, що детермінує β -глюконазу. Новий штам не вимагає попереднього солодування ячменю, тому що здатний зброджувати крохмаль. Оскільки найпопулярнішими є світлі сорти пива (з низьким вмістом вуглеводів), за допомогою методів генетичної інженерії дослідники намагаються створити пивні дріжджі, що здатні зброджувати декстрини.

Оскільки пиво високої якості можна отримати тільки за відсутності в розчині, що зброджується, сторонніх мікроорганізмів, проводяться дослідження в цьому напрямку.



Рис. 96. Схема здійснення процесу пивоваріння

Шляхом схрещування дріжджів, що мають агресивні властивості, з промисловими пивними дріжджами отримано штам пивних дріжджів, що вбивають дикі дріжджі. Селекціонери також намагаються отримати штам пивних дріжджів, що знищує бактеріальну мікрофлору. Удосконалити пивні дріжджі можна також за рахунок надання їм здатності до флокуляції (злипання) клітин наприкінці ферментації, що дозволяє видалити дріжджі з готового пива. Флокуляція залежить від складу середовища, умов культивування, але одночасно є генетично зумовленою властивістю, що контролюється генами.

Пивоваріння є дуже консервативною галуззю харчової промисловості. Проте, у галузі постійно впроваджуються нові технологічні прийоми, що дозволяють інтенсифікувати виробничі процеси. Серед них найбільший інтерес представляють безперервні процеси, наприклад, безперервне солодування, безперервне бродіння пивного сусла в спеціальних бродильних колонах з рециркуляцією пивних дріжджів при використанні штамів, що флокулюються. Трудомісткий та тривалий процес солодування зерна замінюють його обробкою комплексом ферментів мікробного походження, що здатні до оцукрювання сировини та ін.

Виноробство. Як показали археологічні розкопки, розвиток виноробства почався близько 5000 років тому. Необхідна умова будь-якого бродильного процесу – наявність цукру у сировині. Так, у виробництві вина використовується цукор виноградного соку. Майже все вино у світі роблять із винограду одного виду – *Vitis vinifera*. Сік цього винограду – чудова сировина для вина. Він багатий на поживні речовини, служить джерелом утворення приємних аромату і смаку, містить багато цукру; його природна кислотність пригнічує зростання небажаних мікроорганізмів.

Після завершення спиртового бродіння молоде вино зберігають в особливих умовах, щоб воно не зіпсувалося. Якщо вино не передбачається піддавати яблучно-молочнокислому бродінню, з нього видаляють дріжджі, щоб припинити бродіння. Потім його обробляють сірчаным газом, щоб придушити окисні процеси, що викликають його потемніння (рис. 97).



Рис. 97. Схема виробництва вина

Першосортні вина піддають витримці різного роду залежно від типу вина, а дешевші – розливають, як правило, у той же рік, коли вони були отримані. Труднощі при виготовленні дешевих вин зазвичай пов'язані з їхньою схильністю до вторинного, яблучно-молочнокислого бродіння, яке розвивається на час розливу. Якщо вино схильне до такого бродіння, його

штучно викликають до розливу або пригнічують. При виробництві першосортних червоних вин таке бродіння навіть бажане. Воно становить природну частину процесу, що відбувається при зберіганні. Цей тип бродіння здійснюється молочнокислими бактеріями, зокрема *Leuconostoc*, *Lactobacillus* та *Pediococcus*. Воно не йде за низьких значень рН; створивши такі умови, його можна придушити. У білих винах яблучно-молочнокисле бродіння проходить рідше, оскільки рН у них нижче. Для ініціації бродіння іноді замість бактерій використовують іммобілізовані ферменти.

Виноробство, на відміну від пивоваріння, до останнього часу було засновано на використанні місцевих дріжджів дикого типу. Єдина обробка, якій піддавали виноград до віджиму, – обкурювання сірчаным газом, щоб сік не темнів. Крім того, сірчаний газ пригнічує діяльність не винних дріжджів; це дозволяє винним дріжджам, які менш чутливі до нього, здійснювати бродіння без перешкод. У минулому саме за допомогою цих диких дріжджів і робили спиртове бродіння. У тих регіонах, де виноробством почали займатися нещодавно, широко застосовуються дріжджові закваски. Пов'язано це з тим, що бажана мікрофлора може бути відсутня, а інокуляція стандартною культурою дріжджів дозволяє отримувати вина з потрібними властивостями. Крім того, кількість сірчаного газу, що використовується, обмежена законодавчо і це спонукає застосовувати дріжджові культури-закваски. Використовуються дріжджі-сахароміцети: *Saccharomyces cerevisiae*, *S. oviformis*, *S. ellipsoideus*. Винороби не дуже покладаються на дріжджі дикого типу, якщо немає впевненості, що конкуренція з боку не винних дріжджів не пригнічена. Використання заквасок дає ряд переваг: скорочується лаг-період розмноження дріжджів, утворюється продукт із відомими властивостями, зменшується ймовірність появи небажаного смаку, оскільки у бродінні не беруть участь дикі не винні дріжджі.

Хересні винні дріжджі (*Saccharomyces oviformis*) здатні переокислювати спирт на продукти, що надають вину хересний букет, чутливі до концентрацій спирту вище 15%. Культивуючи вихідний штам дріжджів при поступовому

підвищенні концентрації спирту до 18%, вдалося виділити штам, який здатний до утворення хересу за цих умов. У майбутньому використання спеціально створених штамів буде дедалі більше розширюватися: це гарантує необхідні смакові якості вин. Змішані закваски дозволяють отримувати продукцію з повним букетом, що неможливо під час роботи з індивідуальними штамми.

Деякі спеціальні сорти вин, наприклад, сотерни, отримують за участю гриба *Botrytis cinerea*. Його розвиток на ягодах призводить до їх зневоднення та підвищення вмісту цукру, що і визначає солодкий смак вина. Зараження цим грибом має відбуватися лише перед збиранням винограду. Цікавим є й ще один процес, званий вуглекислотою мацерацією. Червоні вина, які мають дозріти до 15 листопада на час збору винограду, одержують особливим способом. Виноград не тиснуть, а поміщають повністю в бродильні чани, де тримають в атмосфері вуглекислого газу. Бродіння йде або безпосередньо в ягодах, в анаеробних умовах, або в соці, що виділяється внаслідок руйнування шкірки вуглекислим газом.

У виноробстві також використовуються ферментні препарати, зокрема пектолітичної дії. Застосування пектиназ збільшує швидкість фільтрації сусла, сприяє його освітленню та стабілізації. При цьому зростає вміст екстрактивних речовин, вітаміну С, флавоноїдів, які мають Р-вітамінну активність.

Подальші успіхи виноробства будуть визначатися використанням ефективніших штамів винних дріжджів та комерційних препаратів винних заквасок. Це дозволить отримувати вина найвищої якості. За допомогою клітинної та генної інженерії створюються високопродуктивні штами винних дріжджів, розробляють безперервні процеси зброджування соку з використанням іммобілізованих клітин.

Мікробіальний білок. Їжа має бути різноманітною і містити білки, жири, вуглеводи та вітаміни. Джерела енергії – жири та вуглеводи в певних межах взаємозамінні, причому їх можна замінити і білками, але білки не можна замінити нічим. Проблема харчування людей зрештою полягає у дефіциті білка. Там, де сьогодні люди голодують, не вистачає насамперед білка. Встановлено,

що щорічний дефіцит білка у світі, за найскромнішими підрахунками, оцінюється в 15 млн т. Найбільшу популярність як джерела білка набуло насіння олійних культур – сої, соняшника, арахісу та інших, що містять до 30% високоякісного білка. За вмістом деяких незамінних амінокислот він наближається до білка риби та курячих яєць і перекриває білок пшениці. Білок із сої широко використовується у багатьох країнах як цінний харчовий матеріал.

Збільшити кількість харчового білка можна і за рахунок мікробіологічного синтезу, який останніми роками привертає до себе особливу увагу. Мікроорганізми надзвичайно багаті на білок – він становить 70-80% їхньої ваги. Швидкість його синтезу величезна. Мікроорганізми приблизно у 10-100 тисяч разів швидше синтезують білок, ніж тварини. Наприклад: 400-кілограмова корова виробляє на день 400 г білка, а 400 кілограмів бактерій – 40 тис. т. Проте корова – унікальна істота. Вона здатна перетворювати траву на молоко, багате білком. Після десятиліть досліджень не було знайдено метода, який з такою високою ефективністю перетворює клітковину на білки. Корову можна назвати «живим самовідтворюваним, пересувним та їстівним біореактором».

Природно, для отримання 1 кг білка мікробіологічним синтезом за відповідною промисловою технологією знадобиться коштів менше, ніж для отримання 1 кг білка тварини. До того ж, технологічний процес набагато менш трудомісткий, ніж сільськогосподарське виробництво, не кажучи вже про виключення сезонних впливів погоди – заморозків, дощів, суховіїв, посух, освітленості, сонячної радіації тощо.

Застосовуючи звичайні технологічні лінії з виробництва синтетичних волокон, можна отримувати зі штучних білків довгі нитки, які після просочення їх формують речовинами, надання їм відповідного смаку, кольору і запаху можуть імітувати будь-який білковий продукт. У такий спосіб вже отримано штучне м'ясо (яловичина, свинина, м'ясо різних видів птахів), молоко, сири та інші продукти. Вони вже пройшли широку біологічну апробацію на тваринах і людях та вийшли з лабораторій на прилавки магазинів

США, Англії, Індії, країн Азії та Африки. Тільки в одній Англії їхнє виробництво досягає приблизно 1500 т на рік.

Для мікробного білка придумана спеціальна назва – білок одноклітинних організмів (БОО). Виробництво його пов'язане з великомасштабним вирощуванням певних мікроорганізмів, які збирають і переробляють у харчові продукти. В основі лежить технологія ферментації – галузь бродильної промисловості й виробництва антибіотиків. Вирощування мікробів у харчових цілях становить інтерес по двох причинах:

1. Вони ростуть набагато швидше, ніж рослини або тварини: час подвоєння їхньої чисельності вимірюється годинами. Це скорочує строки, потрібні для виробництва певної кількості їжі.

2. Залежно від вирощуваних мікроорганізмів, як субстрати можуть використовуватися різноманітні види сировини. Що стосується субстратів, то тут можна йти по двох головних напрямках: переробляти низькоякісні непридатні продукти або орієнтуватися на легкодоступні вуглеводи й одержувати за їхній рахунок мікробну біомасу, що містить високоякісний білок. І в тому, і в іншому випадку технологія ферментації відіграє ключову роль.

Державні установи, що контролюють якість харчових продуктів, вимагають, щоб виходу на ринок БОО передували випробування на безпеку нового продукту. Такі випробування завжди коштовні, і це стримує розвиток виробництва, зокрема виробництва продуктів на основі БОО, особливо призначених у їжу.

Єдиний офіційно дозволений вид білкової їжі мікробного походження – це мікопротеїн. Мікопротеїн – це харчовий продукт, що складається в основному з міцелію гриба. При його виробництві використовується штам *Fusarium graminearum*, виділений із ґрунту (рис. 98).

Спіруліна. Ефективним джерелом білка можуть бути водорості. Останнім часом особливу увагу приділяють новим нетрадиційним джерелам біологічно активних речовин, що використовуються як харчові добавки. Особливе місце

серед продуцентів таких речовин посідають міководорості і передусім *Spirulina platensis*, яка належить до ціанобактерій.

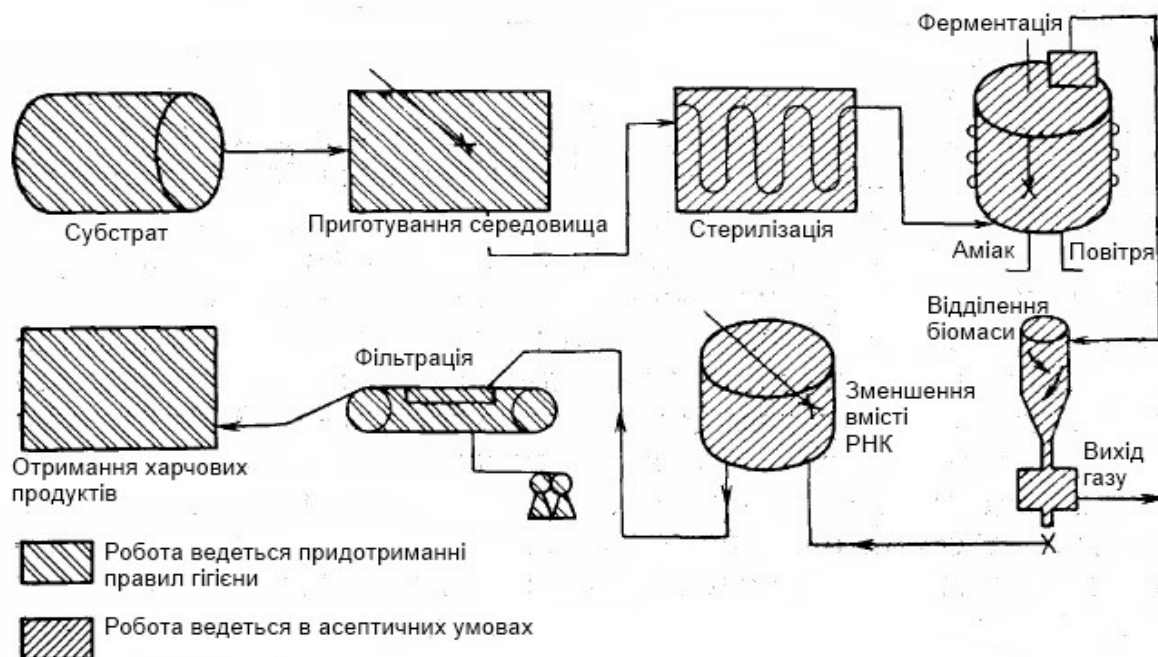


Рис. 98. Схематичне зображення виробництва мікропротеїну

Крім комплексу цінних біологічно активних сполук, спіруліна здатна синтезувати йодовмісні сполуки гормональної природи – тироксин, який швидко та ефективно засвоюється організмом людини. Тому спіруліна може бути використана як додаткове джерело легкозасвоюваного йоду.

Спіруліна містить до 70% високоякісного білка, представленого усіма незамінними амінокислотами, комплексом вітамінів, великою кількістю макро- і мікроелементів у біодоступній органічній формі. Засвоєння білка спіруліни становить 85-90%, що вище від значень молока. Спіруліна містить функціональні речовини – фікоціанін, полісахариди, глюкан сульфоліпіди, поліненасичені жирні кислоти. Біомаса спіруліни містить абсолютно всі речовини, які необхідні людині для нормальної життєдіяльності. Ряд особливих речовин – біопротекторів, біокоректорів і біостимуляторів – не трапляються більше в жодному продукті натурального походження. Це зумовлює феноменальні якості спіруліни як продукту харчування широкого спектру дії. Спіруліна – джерело майже всіх відомих натеper антиоксидантів (у тому числі

рідкого пігменту фікоцініну), які гальмують окисні процеси та протидіють росту ракових пухлин. Цілющі якості спіруліни, що є дієвим адаптогеном, значно підвищують імунізаційні функції організму, виконують функції «очисника організму», особливо для населення екологічно забруднених територій.

Спіруліну застосовують для підвищення працездатності і спроможності до опору організму різним інфекціям (у тому числі до вірусу грипу); для детоксикації організму і попередження передчасного старіння, особливо у людей, які проживають в екологічно несприятливих зонах; для нормалізації діяльності органів травлення. За даними американських спеціалістів, клінічні випробування показують, що ожиріння, нестача цинку, алкоголізм, маніакальна депресія, симптом старіння і шизофренія також можуть бути пов'язані з дефіцитом γ -ліноленової кислоти, основним джерелом якої є материнське молоко і спіруліна.

Хлорофіл спіруліни має будову і хімічний склад, близький до молекули гема крові. У сполученні з комплексом речовин, які містяться в спіруліні, він сприяє біосинтезу гемоглобіну, що дозволяє в короткий термін нормалізувати функцію кровотворних органів.

Сьогодні спіруліну використовують у виробництві хлібобулочних, кондитерських виробів, паст, йогуртів, фруктових соків, напоїв, сухих сніданків. «Спіруліна ЛТД» (Миколаїв) у своєму асортименті має близько 50 найменувань продукції, в тому числі нові біологічні добавки з живими культурами молочнокислих бактерій та біфідобактерій. ЗАТ «Біоспіруліна» (Київ) разом з Науково-дослідним інститутом харчування Міністерства охорони здоров'я України розробили рецептури біологічно активних комплексів з медом, стевією, йодом. Препарати спіруліни випускаються промисловістю. Лікарська і харчова – у вигляді пігулок і гранулах, а кормова – у вигляді порошку.

Технологія виробництва спіруліни (фактично аквакультури) включає: вирощування (фотосинтез) біомаси мікродорості в живильному розчині неорганічних солей з урахуванням солей мінеральних вод; забезпечення

освітлення і режиму термостатування культивованого живильного середовища для досягнення заданого складу; біореактори; склад культивованого середовища; сушіння і пакування.

Для виробництва спіруліни використовують землі негосподарського значення, які займають горизонтальні площі в зоні тривалого сонячного випромінювання з незначними хмарними днями. За наявності електропостачання для її культивування, площі придатні протягом 12 місяців. При цьому використовуються басейни для культивації з площею до 10 м². Мінеральні води як середовище для культивування (з додаванням 20% потрібних азотистих сполук), забезпечують клітини мінералами і вуглекислотою. Світло і тепло Сонця надають водоростям енергії. Виробництво водорості – екологічно чисте і безвідходне. Поглинається вуглекислий газ. Тому таке виробництво доречне навіть у національних парках. Можливе його поєднання з біотехнологією цінних порід риб у воді, що вже використовується водоростями.

Чай. У країнах Східної Азії, Африки та Латинської Америки безалкогольні ферментовані напої готують із чайних та кавових рослин. У східних країнах з незапам'ятних часів чай використовували як бадьорячий напій, проте технологія виробництва чаю була розроблена лише у XX ст. Різноманітність чайного продукту залежить від виду рослин та технології переробки листа. Відомі три технології приготування чаю – чорного, зеленого і жовтого, що знаходиться між ними за ступенем окиснення дубильних речовин. Готовий чай за ступенем ферментації поділяється на наступні категорії:

- неферментований чай, у якому ступінь окиснення дубильних речовин (катехінів) не перевищує 12%;
- слабоферментований чай, ступінь окислення дубильних речовин – до 12-30%;
- ферментований чай, ступінь окиснення дубильних речовин – не більше 35-40%.

Кожна категорія готової продукції за ступенем окиснення, в свою чергу, поділяється на дрібніші групи. Неферментований – це зелений чай. Для інактивації окисних ферментів сировину фіксують водяною парою та гарячим вологим повітрям. У результаті цього на наступних стадіях переробки у чайному листі не відбуваються процеси ферментативного окислення. Чай другої категорії – слабоферментований, піддається частковій ферментації; до нього відносяться: жовтий, оолонг (червоний) та чорний чай (рис. 99).



Рис. 99. Схема виробництва чаю різних сортів

Якщо під час виробництва зеленого чаю основним завданням є збереження катехінів у нативному стані, то під час виробництва ферментованого чорного чаю намагаються максимально окислити комплекс катехінів у чайному листі. Чорний чай, приготовлений за вказаною технологією, характеризується інтенсивним настоєм та специфічним ароматом. Для отримання чорного чаю свіжозібране листя піддають наступним технологічним операціям: зав'ялювання, скручування, ферментація та сушіння. Зав'ялювання є важливим технологічним етапом, при якому відбуваються

основні біохімічні зміни в чайному листі, що визначають смак та утворення ароматичних сполук під час процесу скручування та ферментації.

Під час скручування чайного листа пошкоджується структура та порушується цілісність клітини, в результаті забезпечується контакт окисних ферментів та їх субстратів. У чайному листі ферментація здійснюється за допомогою ендогенних ферментів. Цим виробництво чаю відрізняється від багатьох інших процесів харчової промисловості, де ферменти додають штучно. У технологічному циклі виробництва чаю ферментація є центральним процесом, від якого значною мірою залежить якість готової продукції.

Кава. Рослина, що була вперше знайдена в провінції Kefa в VI столітті пастухами з Абіссинії (Ефіопія), отримала назву, яка відповідає місцю відкриття – «кава».

Кава – один з найбільш уживаних напоїв у світі. Існує понад п'ятсот різних видів кави, проте комерційне значення мають два основних: Арабіка і Робуста.

Популярність цього напою пояснюється своїм незвичним, приємним ароматом, та неповторними смаковими якостями. Кава також славиться своїм тонізуючим впливом на організм. Але, щоб отримати приємний і корисний напій, треба пройти всі етапи обробки плодів кавового дерева, ключовими з яких є ферментаційна обробка та обсмажування. Під час ферментації плодів зерна всередині насичуються всіма необхідними органічними сполуками, які більшою мірою переходять з м'якоті плоду, а також зазнають перетворень початкові сполуки в самому зерні плоду. А процес обсмажування вже ферментованих зерен кави надає їм відповідного кольору і смаку завдяки перетворенню речовин за високих температур.

Раніше ферментаційну обробку проводили для того, щоб прискорити процес добування зерен із ягід кави. Але з часом виробники кави зрозуміли, що в результаті ферментації утворюються продукти розщеплення цукрів і діяльності мікроорганізмів, які підсилюють природні смакові та ароматичні характеристики та додають нові смакові відтінки. Ферментація змінює колір і

щільність зерна, забезпечує постійність смаку, та подовжує термін зберігання зерен.

Також, залежно від місця зростання, кліматичних умов та деяких інших факторів, мікроорганізми, що впливають на процес ферментації можуть відрізнятися, тому і умови, які потрібні мікроорганізмам для проведення ферментації, можуть відрізнятися певними параметрами, такими, як температура, рН, вміст кисню, кількість світла, вологість та інші. Таким чином виробники кави можуть регулювати життєдіяльність мікроорганізмів під час ферментації, тим самим частково змінювати хімічний склад зерен, що в подальшому вплине на органолептичні характеристики напою.

Ферментаційна обробка кавових зерен може проходити різними способами: суха або натуральна обробка (аеробна ферментація) та волога обробка зерен (анаеробна ферментація) (рис. 100).

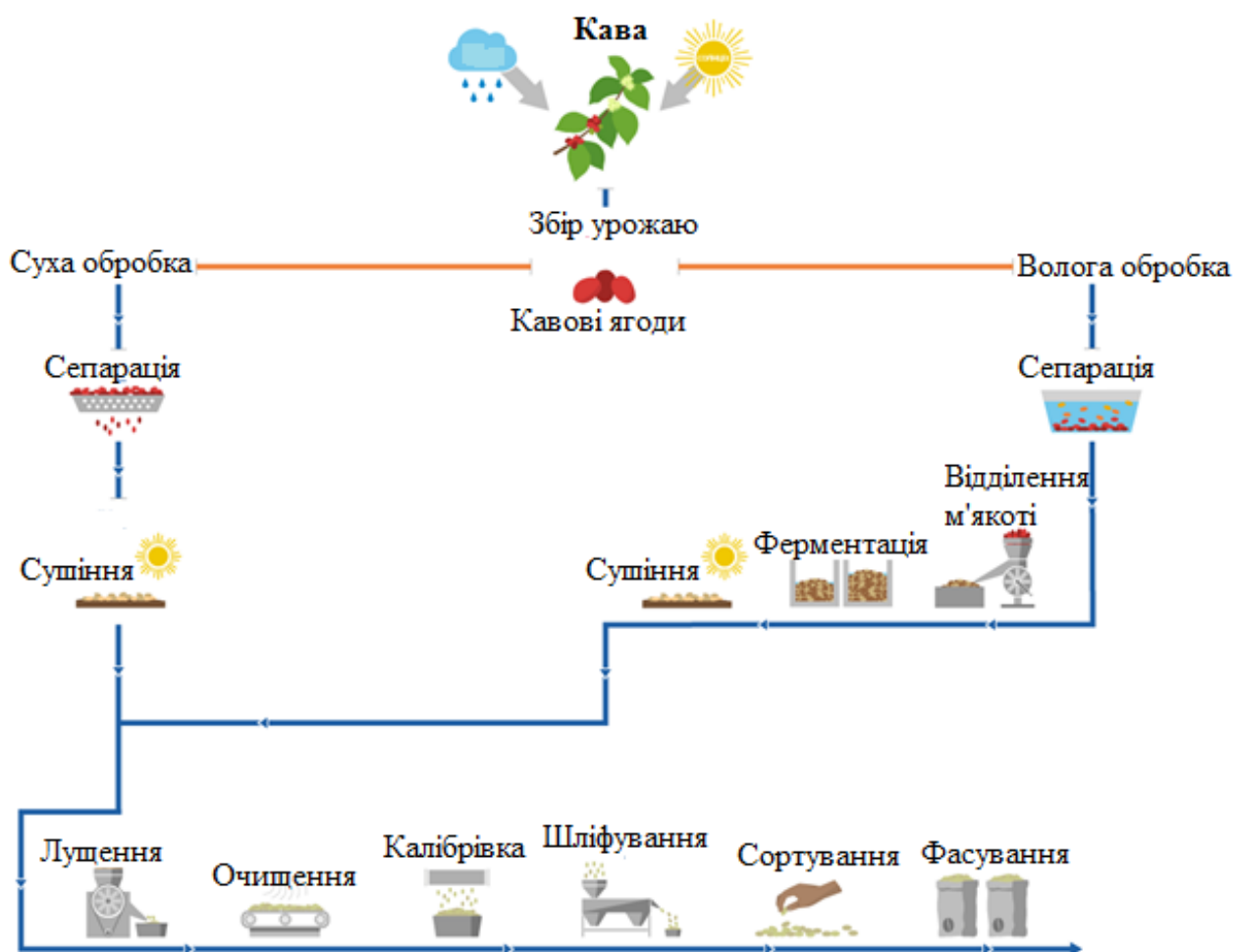


Рис. 100. Схема отримання кавових зерен сухим і вологим методами

Під час обробки після збору врожаю відбуваються два основних процеси: мікробна діяльність у зовнішньому середовищі і метаболізм всередині кавових зерен. У процесі ферментації задіяні такі мікроорганізми: молочнокислі бактерії, оцтовокислі бактерії, ентеробактерії, дріжджі та деякі інші представники.

Сухий метод обробки ягід кави – початковий. Цей спосіб дозволяє отримати особливий смаковий профіль з яскраво вираженими ферментативними нотами (фруктові, ягідні, а також їх похідні).

При натуральному методі обробки процес ферментації може починатися від самого збору ягід, тому що мікроорганізми всередині плоду мають всі потрібні для розвитку умови.

Аеробна ферментація відбувається під час натуральної обробки, коли ягоди кави сушаться після збору. Цей процес може тривати до 30 днів або поки рівень вологості в ягодах не опуститься до 11-12%. Аеробну ферментацію складно контролювати, тому що на її перебіг впливають зовнішні фактори: температура навколишнього середовища і вологість повітря. Керувати можна лише умовами сушки кави.

Метод вологої обробки зерен примітний тим, що в результаті отримують зерно, що містить тільки ті смако-ароматичні речовини, які воно набуло до моменту збору врожаю.

Головна особливість вологого методу полягає в тому, що шкірка, м'якоть і клейковина з кавової ягоди видаляються до етапу сушки кавових зерен.

Вітаміни, що містяться в сирій каві, у процесі обсмажування зерен порівняно стійко зберігаються й переходять у напій.

Кава являє собою корисний і тонізуючий напій, що позитивно впливає на центральну нервову систему та загалом на стан організму. Зерна кави містять велику кількість хімічних речовин, більшість з яких позитивно впливають на організм людини.

Замінники цукру. Вже давно фахівці намагаються знайти замінники цукру, які, не відрізняючись від нього за смаком, у той же час не служили б їжею

каріозним бактеріям, а також мали значно меншу калорійність (харчову цінність), завдяки чому не сприяли б збільшенню маси тіла. Хоча запропоновані раніше замінники – цикламат та сахарин – дуже солодкі, але все ж таки вони не мають смаку «справжнього цукру».

У 1957 р. дослідники ферментів виявили у бактерій новий фермент – глюкозоізомеразу, який перетворює виноградний цукор (глюкозу) у фруктозний (фруктозу). Фруктоза на 80% солодша, ніж буряковий цукор. Отже, варто «лише» за допомогою глюкозоізомераз перетворити глюкозу на фруктозу, щоб з'явилася можливість отримувати з крохмалю дуже солодкий цукор.

У 1966 р. японські вчені вперше успішно отримали фруктозний сироп із глюкози. Він був напрочуд солодким на смак і містив менше поживних речовин, ніж буряковий цукор, але був значно дорожчий. Тому дослідники наважилися іммобілізувати дорогу глюкозоізомеразу, що дозволило використовувати її багаторазово. Крім того, завдяки іммобілізації фермент став стійкішим. Таким чином, виробництво фруктозного сиропу було налагоджено. Сьогодні у світі за допомогою іммобілізованої глюкозоізомераз щороку одержують 5 млн т фруктозного сиропу, який застосовується, головним чином, для виробництва безалкогольних (освіжаючих) напоїв.

Останнім часом у фруктозного сиропу з'явився «біотехнологічний конкурент»: було відкрито нову солодку речовину, яка у 200 разів солодша, ніж цукор. Цей новий «цукор» є «міні-білком», молекула якого складається всього з двох амінокислотних залишків – будівельних «блоків» аспартату та фенілаланіну: речовина називається «аспартам». Обидві «несмачні» (несолодкі) амінокислоти – аспарагінова кислота і фенілаланін – продукуються бактеріями в біореакторах у величезних кількостях кожна окремо і лише потім за допомогою ферменту зв'язуються одна з одною у дволанковий ланцюг. Саме цей дволанковий ланцюг – молекула аспартаму – має солодкий смак. На відміну від сахарину або цикламатів, він має смак «справжнього» бурякового або очеретяного цукру. Виробництво аспартаму коштує дорожче, ніж фруктозний сироп. Але за допомогою генно-інженерних методів вдалося

змусити мікробів «видавати» аспартам відразу «в готовому вигляді» та виробляти його більш дешевим способом і достатньою кількістю Він, безумовно, перевершує за своїми якостями будь-яку іншу солодку речовину.

Пошуки нових речовин із солодким смаком продовжуються. Насамперед це необхідно для мільйонів хворих на цукровий діабет та людей із надмірною масою тіла.

Контрольні питання

1. Поясніть переваги використання молочнокислих бактерій у харчових технологіях.
2. Від чого залежать смак, аромат та якість різних сортів сиру?
3. Які існують способи отримання сичужного ферменту?
4. На які групи поділяють кисломолочні продукти залежно від складу мікрофлори заквасок та способу приготування?
5. Які види бактерій застосовують при виробництві сучасних м'ясопродуктів?
6. Які види дріжджів застосовують при виробництві хліба?
7. Які нові технологічні прийоми впроваджуються при виробництві пива?
8. Які біотехнологічні прийоми застосовують у виноробстві?
9. У чому полягають переваги отримання харчового білка за рахунок мікробіологічного синтезу?
10. Вкажіть які переваги надає вирощування і застосування спіруліни у харчовій промисловості та медицині?
11. Які біотехнологічні процеси застосовують при виробництві чаю та кави?
12. Які існують замінники цукру в наш час?

8. БІОТЕХНОЛОГІЯ І НАВКОЛИШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ

Суспільство в усьому світі йде шляхом збільшення урбанізації та підвищення індустріалізації. Громадська думка вимагає посилити охорону навколишнього середовища і вже зараз звернути більше уваги на покращення екології для майбутніх поколінь. Для досягнення цього в розвинених країнах прийнято низку законів, спрямованих на зменшення небезпеки рідких, твердих та газоподібних шкідливих відходів. Нині діяльність будь-якого підприємства оцінюється не лише за економічними критеріями. Все більшої питомої ваги у цій оцінці набуває екологічний аспект – ступінь шкідливого впливу виробництва на довкілля. Найчастіше питання екології стають визначальними під час вирішення долі підприємства. У більшості країн, що розвиваються, становище менш благополучне через нестачу фінансування. У зв'язку з цим неможливе будівництво споруд для очищення стічних вод, знищення твердих відходів. Часто відсутній персонал для обслуговування таких систем. Більш того, у багатьох країнах, що розвиваються, відсутня державна контролююча система, яка стежить за належним знищенням відходів. У цих країнах триває активний процес урбанізації та розвитку промисловості із супутнім забрудненням довкілля. З ростом економічного розвитку воно має тенденцію до збільшення. Вартість знищення відходів постійно збільшується і в даний час більша увага повинна приділятися ефективній їх утилізації, що включає вартість збору, зберігання та переробки або знищення. У зв'язку з цим зрозумілий великий інтерес до цієї проблеми громадськості та вчених, зусилля яких спрямовані на її вирішення.

Вирішення екологічних проблем неможливе без застосування новітніх біотехнологій для діагностики забруднення навколишнього середовища, очищення стічних вод, знешкодження небезпечних газових викидів, використання перспективних засобів утилізації твердих і рідких промислових відходів, підвищення ефективності методів біологічного відновлення забруднених ґрунтів. Важливим напрямком є також розробка екобіотехнологій,

спрямованих на виробництво біогазу та водню з органічних відходів, мікробіологічну деструкцію ксенобіотиків, застосування біоіндикації та біотестування в системі екологічного моніторингу.

Основні біотехнологічні методи, які можуть бути застосовані для оздоровлення та захисту навколишнього середовища, зокрема для забезпечення екологічно чистого виробництва на самих біотехнологічних підприємствах, представлені в таблиці 4.

Таблиця 4

**Біотехнологічні методи, що застосовують для захисту навколишнього
середовища**

Метод	Суть методу
Створення безвідходних технологічних процесів	Отримання з відходів корисних продуктів або знешкодження їх
Аеробне біологічне очищення стоків	У аеротенках спонтанна мікрофлора у присутності кисню утилізує органічні речовини стоків і накопичується біомаса – активний мул.
Анаеробне біологічне очищення стоків	У метантенках анаеробна мікрофлора утилізує органічні речовини, зокрема активного мулу, одержаного після аеробної обробки з утворенням біогазу (95% від переробленої органічної речовини)
Селективна утилізація індивідуальних хімічних сполук стоків	Спеціально адаптовані культури мікроорганізмів звичайно в іммобілізованому вигляді утилізували певні шкідливі речовини (фенол, кислоти та ін.)
Кероване компостування твердих відходів	При аерації твердих відходів прискорено відбувається мікробна деструкція частини компонентів субстрату з утворенням компосту
Детоксикація ґрунту від пестицидів та інших хімічних забруднень	Промиванням ґрунту і мікробіологічною обробкою промивних вод досягається утилізація шкідливих сполук, що накопичуються в ґрунті при хімізації сільськогосподарського виробництва
Біосорбція металів	У спеціальних біофільтрах мікроорганізми селективно сорбують зі стічних вод певні метали, зокрема радіоактивні
Діагностика ступеня забруднення середовища	За допомогою живих істот та ферментів контролюють присутність в середовищі певних забруднюючих речовин

Очищення стічних вод біологічними методами. Біологічне очищення є основою надзвичайно складного процесу перетворення брудної рідини – промислових чи побутових стічних вод – на чисту, екологічно безпечну, біологічно повноцінну воду.

Біохімічні (біологічні) методи очищення засновані на використанні життєдіяльності мікроорганізмів, які окислюють органічні речовини, що знаходяться в стічних водах у зваженому і розчиненому станах. Мікроорганізми здатні використовувати різноманітні речовини, що містяться в стічних водах, як джерело живлення в процесі життєдіяльності. Біологічним шляхом можуть оброблятися дуже багато складних і різноманітних органічних речовин. Переробці піддаються також деякі неорганічні сполуки – сірководень, аміак, нітрит та інші. Проте, в стічних водах присутні і такі речовини, які біологічним шляхом не окислюються або окислюються настільки повільно, що практично завершення процесу виявляється недосяжним. До групи таких речовин відносяться багато вуглеводнів, деякі складні ефіри, ряд «жорстких» синтетичних поверхнево-активних речовин, фарбники та інші речовини.

Як і будь-яка інша біотехнологія, біологічні методи очищення води ґрунтуються на використанні тих чи інших живих істот, їхніх комплексів. Співтовариство живих організмів, що населяють активний мул або біоплівку, називають біоценозом. Біоценоз активного мулу представлений в основному 12 видами мікроорганізмів і найпростіших. Біоценоз активних мулів складається з бактерій, найпростіших, цвілевих грибів, дріжджів, актиноміцет, личинок комах, рачків, водоростей та ін. Основне руйнування органічних забруднень у стоках здійснюється бактеріями. У 1 м³ мулу міститься $2 \cdot 10^{14}$ бактерій. У активному мулі вони знаходяться у вигляді скупчень, оточених слизовим шаром (зооглеї). Бактерії представлені такими типами, як *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus* та ін.

З біологічних способів розповсюджені такі: зрошування ґрунту стічними водами; очистка стічних вод у біологічних водоймищах; очистка у біофільтрах;

обробка активним мулом – очистка у аеротенках; анаеробне бродіння стічних вод (метантенки та анаеробні реактори різної конструкції).

Для біологічної очистки стічних вод застосовують два типи процесів: аеробні, в яких мікроорганізми використовують для окислення речовин кисень, і анаеробні, при яких мікроорганізми не мають доступу до вільного розчиненого кисню. У цих процесах як акцептор електронів мікроорганізми можуть використовувати вуглець органічних речовин. При виборі між аеробними та анаеробними процесами перевагу зазвичай віддають першим. Аеробні системи більш надійні, стабільно функціонують і, крім того, краще вивчені.

Загальні очисні споруди найширше використовують складну та високоефективну систему очищення, що складається з 3 стадій: 1) механічна, 2) біологічна та 3) доочищення (рис. 101).

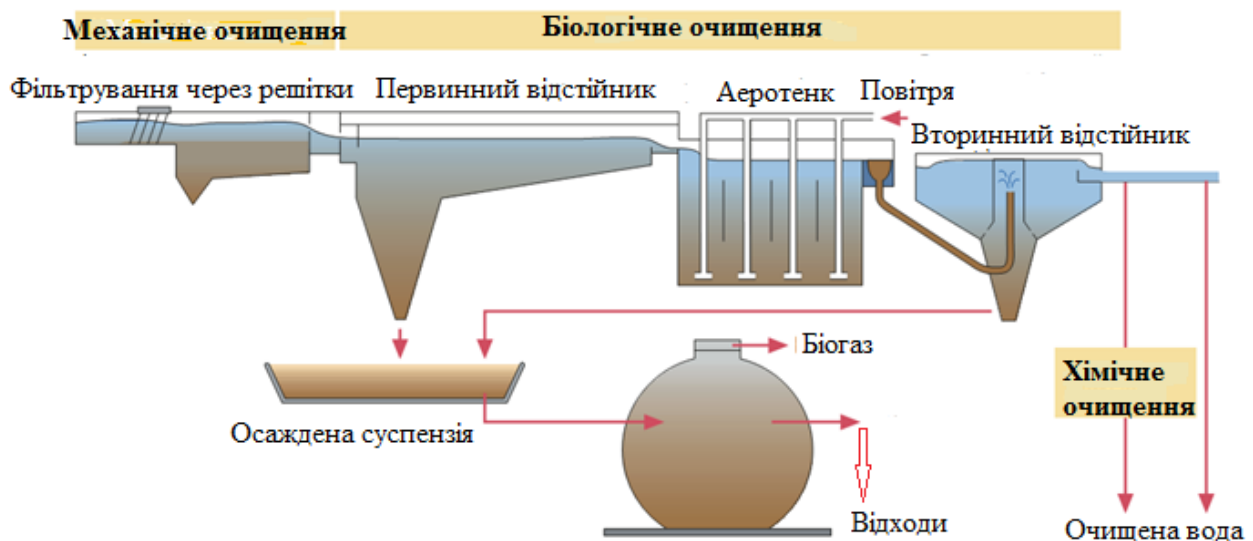


Рис. 101. Пристрій біологічної очисної споруди

На першій стадії видаляються грубі частки. У ході другої стадії маленькі частинки, що залишилися, і розчинні органічні речовини руйнуються окисленням мікроорганізмами у відкритому біореакторі, у якому відбувається сильна аерація. Завдяки активному перемішуванню забезпечується постійний контакт мікроорганізмів із субстратом та повітрям. Мікроорганізми розмножуються і утворюють біомасу, або відстій, який може бути видалений та

повернутий або пропущений через анаеробний біореактор для зменшення обсягу твердих речовин, зниження запахів та кількості патогенних мікроорганізмів. Надалі можна отримати біогаз для використання у вигляді палива. Однак цінність біогазу, отриманого в цьому процесі, невелика, оскільки він містить вуглекислий газ і сульфід водню.

Стічні води, забруднені органічними сполуками, можуть бути піддані анаеробному очищенню без попередньої обробки в аеробних умовах. У колонному реакторі бактерії ефективно прикріплюються до частинок мулу силами хіміко-біологічної спорідненості або поверхневого натягу при додаванні поверхнево-активних речовин (ПАР) або разом із частинками мулу сорбуються на носіях (рис. 102).

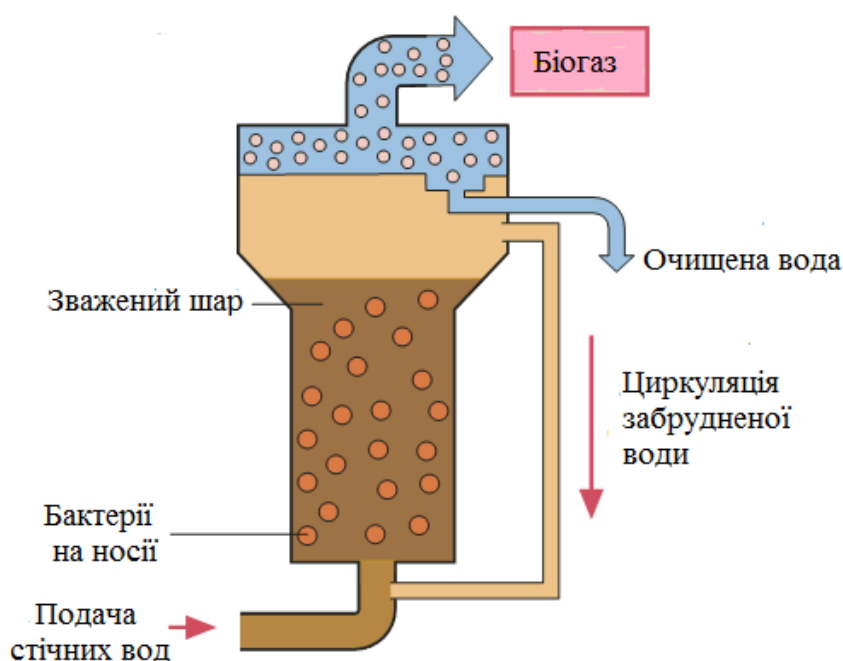


Рис. 102. Анаеробний реактор з нерухомим шаром мулу

В результаті осідання часточок у нижній частині реактора утворюється зона підвищеної щільності. Забруднені води надходять у реактор знизу вгору, а біогаз, що утворюється в процесі окислення, забезпечує перемішування реакційного середовища. У верхній частині реактора розташований газозуловлювач, в якому часточки, що сорбувалися на поверхні бульбашок газу відокремлюються, а потім знову надходять у реакційну суміш.

У багатьох випадках, наприклад, при обробці стічних вод цукрового, целюлозно-паперового та крохмального виробництв, у результаті анаеробної обробки кількість кисню, що необхідна для повного хімічного окислення проби забрудненої рідини, знижується на 95%. Процес характеризується інтенсивним синтезом CO_2 .

Нафтові забруднення води. Великі площі суші, океанів та інших відкритих водоймищ вже забруднені сполуками нафтового походження та токсичними речовинами. Понад 2 млн т нафтових продуктів потрапляє у моря щороку. Приблизно половина з них є відходами промисловості, які надійшли у стічні води та річки, а інші 50% – від нетанкерних перевезень і просочування нафти з дна морів і океанів. На відміну від інших забруднювачів, нафтові плями добре видно. Більшість масел має відносно низьку токсичність і в цьому плані є малонебезпечними для навколишнього середовища. Але вони перешкоджають проникненню кисню і представляють справжню катастрофу для птахів та інших тварин, життя яких пов'язане з водою.

В даний час існує кілька підходів до ліквідації нафтозабруднень водної поверхні. До них належать механічні засоби збору плаваючої нафти, сорбенти різного походження, хімічні емульгатори-детергенти, біологічні препарати на основі наявних мікроорганізмів-деструкторів. Проте, жоден із перелічених підходів не є універсальним і не позбавлений серйозних недоліків. Так, застосування будь-якого з цих підходів не дозволяє досягти 100% очищення від нафтозабруднення, а деякі хімічні агенти – детергенти і синтетичні сорбенти – токсичні, причому токсичність їх для гідробіонтів іноді вище, ніж токсичність самої нафти. Найбільш перспективним напрямом, з погляду більшості фахівців, є біохімічне руйнування нафти за допомогою мікроорганізмів-деструкторів. Однак природна швидкість мікробіологічного руйнування нафти у воді досить низька, процес вимагає тривалого часу, а також введення у воду додаткової кількості сполук азоту та фосфору, необхідних для утилізації вуглеводнів нафти. Крім того, немає універсальних мікроорганізмів, здатних утилізувати весь спектр вуглеводнів нафти. Лише застосування асоціацій мікроорганізмів

здатне вирішити цю проблему. Насправді часто застосовують поєднання чи послідовне використання кількох підходів. Відомо спільне застосування сорбентів та диспергаторів, для видалення яких потім використовують механічні засоби. Неможливість повної ліквідації забруднення механічними чи фізико-хімічними методами передбачає видалення залишків забруднення за допомогою мікробіологічного методу.

Біосорбція металів із стічних вод. Біологічні методи знаходять все ширше застосування для вилучення металів із природних, промислових та побутових стічних вод. Ці методи, на відміну від дорогих фізико-хімічних, характеризуються достатньою простотою та ефективністю. Зазвичай для цих цілей забруднені металами води збирають у відстійниках і ставках з повільною течією, у яких відбувається розвиток мікроорганізмів і водоростей. Ці організми накопичують розчинені метали внутрішньоклітинно або, виділяючи специфічні продукти обміну, переводять їх у нерозчинну форму та зумовлюють осадження. Багато мікроорганізмів здатні накопичувати метали у великих кількостях. Особливо високою концентруючою здатністю відрізняються мікроводорості. Біосорбцією можна з розбавлених розчинів вилучити 100% свинцю, ртуті, міді, нікелю, хрому, урану та 90% – золота, срібла, платини, селену (рис. 103).

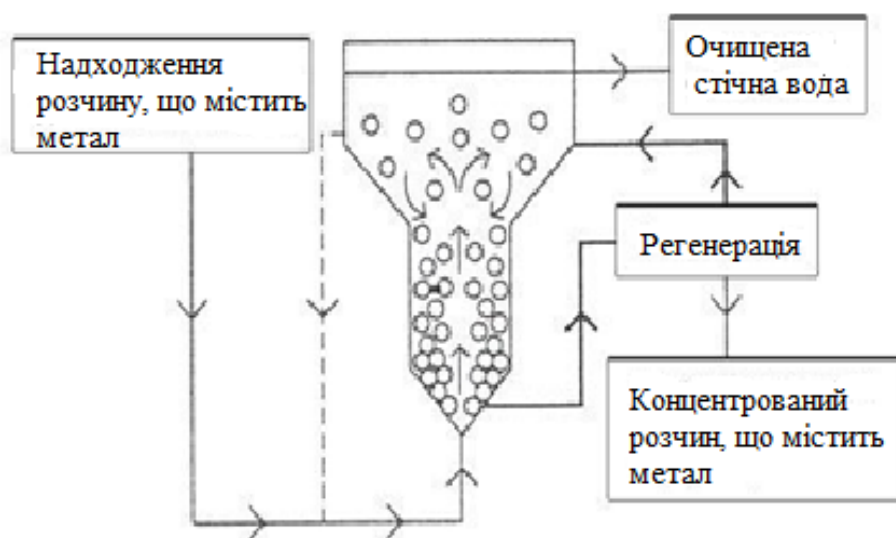


Рис. 103. Реактор із псевдозрідженим шаром іммобілізованих мікроорганізмів

Біосорбція використовується для вилучення цінних металів із розчинів та для очищення промислових стічних вод від металів. Активність і селективність процесів вилучення металів із розчинів визначається особливостями мікроорганізму, властивостями елементів, що сорбуються і фізико-хімічними факторами середовища.

Багато бактерій, дріжджі, гриби, водорості здатні акумулювати важкі метали в кількості, що в тисячі разів перевищує їх фізіологічні потреби. Вміст важких металів може сягати 10-20% і більше на одиницю сухої маси мікроорганізмів (табл. 5).

Таблиця 5

Мікроорганізми, що здатні сорбувати катіони різних металів

Мікроорганізми	Катіони металів
Автотрофні бактерії (<i>Thiobacillus sp.</i> , ціанобактерії)	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , UO_2^{2+} , Ag^+ , Au^{3+}
Водорості (<i>Chlorella sp.</i>)	Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , UO_2^{2+} , Mo
Гетеротрофні бактерії (<i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i>)	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , Ag^+ , Au^{3+} , Ni^{2+}
Актиноміцети (<i>Actinomyces sp.</i> , <i>Streptomyces sp.</i>)	Th , UO_2^{2+}
Дріжджі (<i>Candida sp.</i>)	Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}
Міцеліальні гриби (<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>)	Co^{2+} , Cr^{3+} , Mn^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ra^{2+} , Th

У процесі накопичення металу важливу роль відіграють стійкість мікроорганізмів до металу та адаптація їх до хімічного складу довкілля. Мікроорганізми, виділені з біогеохімічних провінцій з високим вмістом металів, більше накопичують ці метали і більш стійкі до їх високих концентрацій у середовищі.

Боротьба із забрудненням повітряного басейну. Проблема боротьби із забрудненням повітряного басейну в умовах зростаючої технологічної

діяльності людини набуває все більшої гостроти. У повітрі великих промислових міст міститься величезна кількість шкідливих речовин, у тому числі тих, що погано пахнуть, здатних навіть у незначних концентраціях викликати у людей почуття дискомфорту або загрожувати здоров'ю. При цьому концентрація багатьох з них перевищує допустимі рівні. Серед цих речовин – органічні (ароматичні та ненасичені вуглеводні, азот-, кисень-, сірко-, галогеновмісні та інші сполуки) та неорганічні речовини (сірчистий газ, сірковуглець, оксиди вуглецю, аміак, хлористий водень та ін.). Для очищення повітря застосовують різні методи – фізичні, хімічні та біологічні, проте рівень та масштаби їх застосування нині надзвичайно далекі від оптимальних. Останніми роками дедалі ширше починають застосовуватися біологічні методи. Вони засновані на здатності мікроорганізмів руйнувати в аеробних умовах широкий спектр речовин та сполук до кінцевих продуктів – CO_2 та H_2O .

Широко відома здатність мікроорганізмів метаболізувати аліфатичні, ароматичні, гетероциклічні, ациклічні та різні сполуки, що містять хлор. Мікроорганізми утилізують аміак, окислюють сірчистий газ, сірководень та диметилсульфоксид. Утворені сульфати утилізуються іншими видами мікроорганізмів. Є дані про ефективне окиснення аеробними карбоксидабактеріями моноокису вуглецю, що є одним з найбільш небезпечних забруднювачів повітряного басейну. Найбільш широким спектром катаболічних перетворень характеризуються ґрунтові мікроорганізми. Так, тільки представники роду *Pseudomonas* здатні використовувати як єдине джерело вуглецю, сірки або азоту понад 100 сполук – забруднювачів біосфери. Переважна кількість токсичних забруднювачів атмосфери може бути зруйнована монокультурами мікроорганізмів, але ефективнішим є застосування змішаних культур, які мають більший каталітичний потенціал і, отже, деструктуючу здатність. Для руйнування складних сполук, що важко утилізуються, у ряді випадків мікроорганізми доцільно адаптувати до таких субстратів перед їх використанням.

Для біологічного очищення повітря застосовують три типи установок: біофільтри, біоскрубери і біореактори з шаром, що омивається (рис. 104).

Показано можливість ефективного очищення повітряних викидів фармацевтичних виробництв на основі іммобілізованих мікроорганізмів.

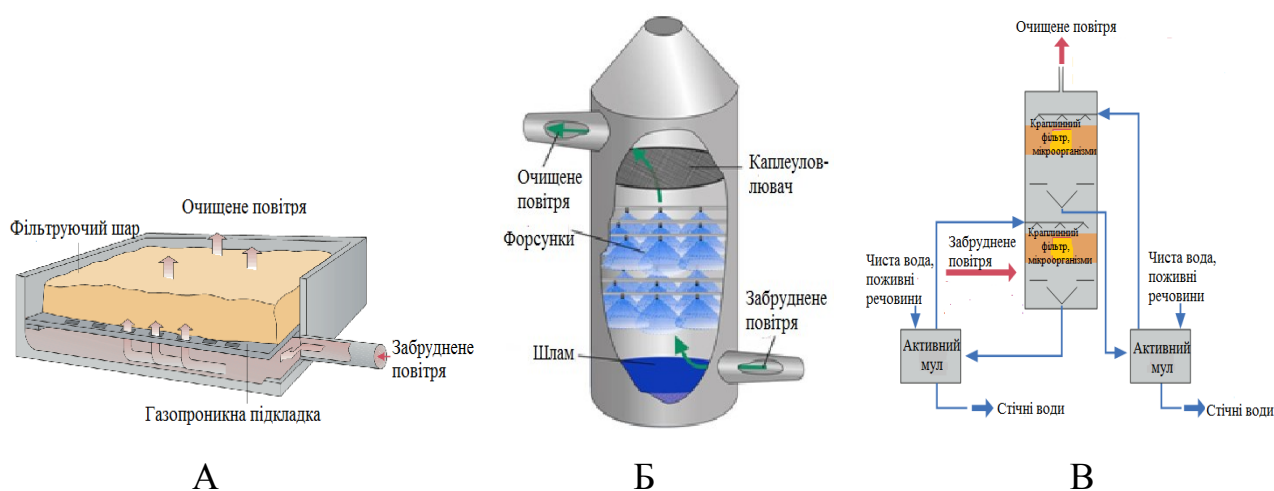


Рис. 104. Прилади, що застосовують для очищення повітря (А – плоский біофільтр; Б – біоскрubber; В – краплинний біофільтр)

Таким чином, в даний час у промислових масштабах застосовуються досить ефективні біологічні процеси для утилізації рідких відходів та очищення газоповітряних викидів. Існують реальні наукові засади для розробки та впровадження нових методів біоочищення. Великі можливості підвищення біосинтетичного потенціалу мікроорганізмів – деструкторів токсичних речовин є на озброєнні у мікробіологів і генетиків, які використовують для їх отримання методи традиційної селекції, і навіть новітні досягнення клітинної, генетичної інженерії та нанобіотехнології.

Утилізація твердих відходів

Технологія з використанням ґрунту. Кількість твердих відходів збільшується пропорційно до збільшення загальної кількості відходів сучасним урбанізованим суспільством. Частина цих відходів складається зі скла, пластмас і т. ін., проте більшістю є тверді органічні матеріали, такі як папір, відходи харчової промисловості та тваринницьких комплексів. У великих

урбанізованих суспільствах значна частина таких відходів створює складну проблему, яка успішно вирішується шляхом застосування дешевої технології з використанням ґрунту. За цією технологією тверді відходи розміщуються шарами. Щоденно відходи сортуються, органічні відходи складаються, пресуються та засипаються шаром ґрунту у величезні ємності. Дуже часто як ємності застосовують природні та штучні поглиблення: яри, кар'єри та ін. В даний час робляться спроби використовувати міцні герметичні ємності, які виключили б забруднення ґрунту і водних джерел. Для цього вони повинні бути повітро- та водонепроникними. Для виявлення забруднень підземних вод, водойм та навколишнього повітря необхідний їх регулярний моніторинг. Такі ємності можна розглядати як гігантський біореактор з виробництва корисного продукту – метану. Утворення метану спостерігається зазвичай через кілька місяців після створення конструкції та заповнення ємності. Воно має пік і помітно зменшується за кілька років.

У більшості розвинених країн така технологія зменшує кількість відходів та збільшує безпеку їх для навколишнього середовища. Вона не тільки забезпечує надійну утилізацію твердих відходів, але й дає змогу отримувати корисний продукт – біогаз. Мабуть, завдяки цьому вона використовуватиметься і в найближчому майбутньому.

Компостування. На початковій стадії біодеградації твердих відходів домінують аеробні процеси, в ході яких окислюються компоненти, що найбільше деградуються. Потім деструкції піддаються субстрати, що важко і повільно окислюються – лігнін, лігноцелюлози, меланіни, таніни та ін. Для їх руйнування застосовуються різні методи. Одним з таких методів є компостування, в процесі якого тверді органічні відходи перетворюються на стабільні, безпечні в санітарному відношенні гумусоподібні матеріали, які значно менші в об'ємі і можуть бути повернені у навколишнє середовище. Цей метод дуже ефективний, протікає при низькій вологості в тому випадку, якщо в якості субстрату використовуються органічні відходи, що розкладаються.

При компостуванні потрібні деякі види попередньої обробки сировини, такі як подрібнення різанням або розмелюванням. Основою хімічних реакцій процесу компостування є окиснення суміші органічних речовин киснем з утворенням CO_2 , води та органічних побічних продуктів. Достатня кількість повітря та постійне перемішування також є важливими для створення оптимальних умов гарного компостування. Після того як процес компостування закінчується, кінцевий продукт часто необхідно залишити на певний час для стабілізації.

Компостування, безперечно, одна з основних стратегій для утилізації твердих органічних відходів та повернення органічних речовин у природу. Для ширшого застосування компостування необхідні чотири основні умови:

1. Наявність відповідної інфраструктури;
2. Доступність необхідної кількості та якості субстратів;
3. Необхідний ринок збуту кінцевих товарів;
4. Процес має бути нешкідливим для оточуючих і вигідним економічно.

Європейські країни постійно збільшують частку відходів оброблених шляхом компостування. Відходи розбивають на 3 групи: одна – для рециклізації (скло, метали, пластмаса), інша – для деградації (залишки овочів, папір та інші органічні відходи) та третя – для решти матеріалів і небезпечних відходів.

Процес компостування за століття набув багато форм. Він значно дешевший, ніж, наприклад, закопування або спалювання. Але найважливіше те, що він безпечний, дозволяє звільнитися від токсичних речовин і потребує мінімуму фінансових впливів.

Біоремедіація – гілка біотехнології, що займається розробкою біологічних методів переведення токсичних відходів у нетоксичні. Забруднення (контамінація) ґрунту зазвичай виникає в результаті індустріальної діяльності людини та супроводжується накопиченням токсичних речовин у таких концентраціях, які можуть прямо чи опосередковано завдати шкоди людині та, в цілому, навколишньому середовищі.

Обов'язковим завданням біотехнології охорони навколишнього середовища від небезпечних відходів (контамінантів) має бути розробка систем, що включають біологічну каталітичну деградацію, детоксикацію або їх збирання.

Застосування біологічних агентів, головним чином мікроорганізмів, спрямоване на зниження активності хімічних речовин, які потрапляють у навколишнє середовище. Щодо контамінованих ділянок мають бути виконані три пункти: а) ідентифікувати вид забруднювача; б) оцінити природу та ступінь небезпеки; в) вибрати заходи для відновлення.

Основні принципи біоремедіації відносно прості: оптимізувати умови довкілля таким чином, щоб мікроорганізми могли здійснити біодеградацію повністю та швидко.

У разі контамінації ґрунту операції з очищення проводяться на місці (*in situ* обробка) або застосовується *off-site* процес:

1. Забезпечення росту мікробів *in situ* може бути досягнуто шляхом додавання поживних речовин. Коли існуюча популяція мікроорганізмів протягом тривалого періоду пристосувалася до специфічних забруднюючих сполук, розвивається субпопуляція з обмеженою вузькою здатністю деградації й утилізації шкідливих речовин. Проте, зростання цих конкретних мікроорганізмів буде обмежене за нестачі поживних речовин. Якщо додати деякі з них, наприклад азот і фосфор, відбувається значна стимуляція їх зростання і підвищення деградуючої здатності. Ця технологія нині знаходить широке застосування. Ґрунти, контаміновані речовинами, які раніше вважалися високотоксичними і неруйнівними промисловими забруднювачами, в даний час детоксикуються завдяки такому прийому (рис. 105).

2. Альтернативним підходом прямої добавки поживних речовин *in situ*, що стимулює ріст мікроорганізмів, є взяття мікробних зразків з місця забруднення, збагачення їх корисними мікроорганізмами шляхом вирощування їх у біореакторі та внесення назад у вигляді великої кількості одержаного «коктейлю» (процес *off-site*).

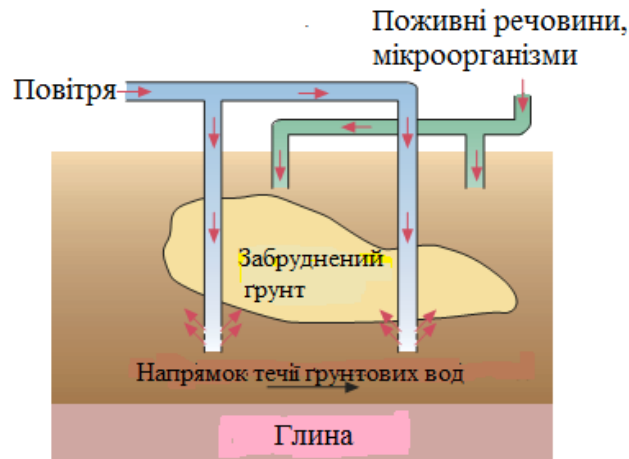


Рис. 105. Біологічне очищення ґрунтів *in situ*

У деяких випадках це дає добрий результат. Низка компаній продають такі «коктейлі», що здатні значно руйнувати нафтопродукти (рис. 106).

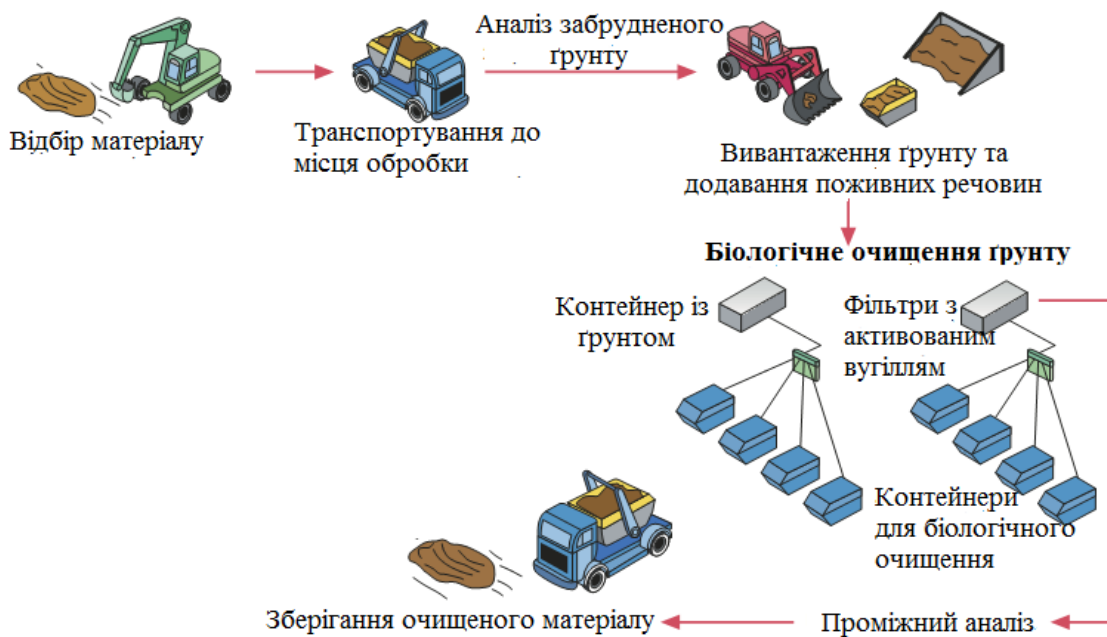


Рис. 106. Біологічне очищення ґрунтів *off-site*

Подальша можливість біоремедіації пов'язується з генетичною інженерією мікроорганізмів, яка може створити штами, здатні руйнувати сполуки, які нині важко утилізуються. При вирішенні цього завдання виникають складності, пов'язані зі значними технічними проблемами, що включають генетичну стабільність та пристосованість нових мікробів у

навколишньому середовищі. Методами генетичної інженерії створено «супермікроб», здатний утилізувати більшість основних вуглеводнів нафти.

На сьогодні отримано низку штамів, які мають пройти польові випробування. У лабораторіях усього світу ведуться інтенсивні дослідження та є надія, що протягом найближчих років ця технологія буде широко використана для охорони навколишнього середовища.

Біоіндикація як метод екологічного дослідження. Біоіндикація – оцінка якості природного середовища за станом біоти. Біоіндикація заснована на спостереженні за складом і чисельністю виглядів індикаторів. Так, скупчення рибоїдних птахів є показником біоіндикації місць, де водиться риба; за складом планктону можна передбачити який буде вилов риби. За складом флори і фауни вод можна визначити придатність води для пиття та з'ясувати ефективність роботи очисних споруд. За допомогою індикаторних рослин та мікроорганізмів можна дати орієнтовну оцінку якості ґрунту. Тварини, рослини, мікроорганізми використовують при космічних дослідженнях як біоіндикатори для з'ясування впливу факторів космічного простору на організми. Отже, біоіндикатори – це група особин одного виду або угруповання, наявність, кількість або інтенсивність розвитку яких у тому чи іншому середовищі є показником певних природних процесів або умов зовнішнього середовища.

Біоіндикація використовується в екологічних дослідженнях як метод виявлення антропогенного навантаження на біоценоз. Метод біоіндикаторів заснований на дослідженні впливу екологічних факторів, що змінюються, на різні характеристики біологічних об'єктів і систем. У якості біоіндикаторів вибирають найбільш чутливі до досліджуваних факторів біологічні системи або організми. Зміни в поведженні тест-об'єкта оцінюють у порівнянні з контрольними ситуаціями, прийнятими за еталон. Наприклад, при оцінці екологічного стану поверхневих вод у якості біоіндикаторів використовують спостереження за поведженням дафній, молюсків, деяких риб тощо.

Рослини-індикатори використовуються як для виявлення окремих забруднювачів, так і для спостереження за загальним станом повітря. Ряд

рослин-індикаторів у більшості випадків реагують на підвищення або зниження концентрації мікро- і макроелементів у ґрунті. Це явище використовується для попередньої оцінки ґрунтів, визначення можливих місць пошуку корисних копалин.

Фактори середовища досить строго визначають, які організми можуть жити в даному місці, а які не можуть. Враховуючи це, можна використати обернену закономірність і розглядати фізичне середовище організму, який в ньому проживає. Так з'явився метод біоіндикації середовища, який особливо широко використовують у лісовій типології, фітоценології, а також для визначення рівня забруднення атмосферного повітря за допомогою лишайників (ліхеноіндикація), мохів (бріоіндикація) чи грибів (мікоіндикація).

Живі індикатори не повинні бути занадто чутливими і занадто стійкими до забруднення. Необхідно, щоб у них був досить тривалий життєвий цикл. Важливо, щоб такі організми були широко поширені на планеті, причому кожен вид повинен відповідати визначеному місцеперебуванню. Лишайники цілком відповідають усім цим вимогам. Вони реагують на забруднення інакше, ніж вищі рослини. Довгостроковий вплив низьких концентрацій забруднюючих речовин обумовлює в лишайників такі ушкодження, що не зникають аж до їх загибелі. Це пов'язано з тим, що лишайники відновлюють свої клітини дуже повільно, у той час як у вищих рослин ушкоджені тканини замінюються новими досить швидко. Завдяки цілому ряду біологічних особливостей, лишайники є добрими індикаторами зміни стану навколишнього середовища в умовах його забруднення двоокисом сірки, фторидами, лужним пилом, важкими металами. Зменшення кількості лишайників говорить про підвищення стресу на сильно забруднених територіях. Угрупування лишайників дають інформацію, пов'язану з багатьма оцінювальними питаннями, включаючи забруднення природних ресурсів, біорізноманіття. Лишайники не тільки показують здоров'я лісів, існує ще чітко встановлений зв'язок зі стресорами навколишнього середовища.

Біоіндикація має ряд переваг перед інструментальними методами. Вона відрізняється високою ефективністю, не вимагає великих витрат і дає можливість характеризувати стан середовища за тривалий проміжок часу.

Біологічну індикацію широко використовують сьогодні для оцінки забруднення навколишнього середовища, яке «усуває» з природних екологічних ніш нестійкі до факторів забруднення види нижчих і вищих рослин, а також представників фауни.

У зв'язку з потребою проведення глобального моніторингу, використання індикаційних можливостей біологічних об'єктів набуває все більшого значення. Вчених цікавить біоіндикація у вузьких рамках, яка відноситься до антропогенних або антропогенно-модифікованих факторів середовища. При цьому мова йде не про оцінку наявності, концентрації чи інтенсивності будь-якого параметра середовища, а про реакції біологічних систем.

Екологічні аспекти біотехнологічного виробництва

Відомо, що антропогенний вплив на біосферу є невід'ємним від розвитку цивілізації. Розорювання земель, вирубування лісів, «витоптування» степів завжди супроводжують історію людства. Є сенс згадати й про знищення окремих видів тварин і рослин та про розселення деяких видів із місць корінного проживання.

У зв'язку з особливою актуальністю проблеми впливу промисловості на біосферу, необхідно розглянути які переваги у цьому плані існують у біотехнологічного виробництва. Насамперед, воно наукомістке і порівняно з хіміко-технологічним виробництвом більш ефективне, оскільки клітина продуцента (біооб'єкта) є «збалансованим комплексом біокаталізаторів», що працює більш продуктивно, ніж системи послідовних хімічних реакцій з неорганічними каталізаторами.

Споживання енергоресурсів і води біотехнологічною промисловістю становить частку відсотка від споживаного сучасною хімічною промисловістю. Викид у повітря газоподібних відходів підприємств біотехнологічної

промисловості не перебільшує і десятої частки відсотка від загального викиду промисловістю. Саме біотехнологічне виробництво є найбільш прийнятним у сучасних умовах, однак і воно має специфічні, екологічні проблеми і, відповідно, удосконалюється у напрямках:

- створення та використання більш активних біооб'єктів-продуцентів (в результаті на одиницю продукції буде менше відходів);
- заміни середовищ та реагентів на менш дефіцитні;
- іммобілізації біооб'єктів (як клітин, так і ферментів), багаторазового їх використання для зменшення відходів;
- впровадження мембранної технології на стадії виділення та очищення цільового продукту (зменшення кількості застосовуваних органічних розчинників, щоб уникнути агресивних умов на деяких стадіях виробничого процесу).

Проблеми, що стосуються ліквідації (утилізації) чи очищення виробничих відходів традиційного біотехнологічного підприємства

Тверді відходи. Насамперед, до них відноситься міцелій (біомаса) продуцента після його відокремлення від культуральної рідини та цільового продукту. Цей вид твердих відходів одного (великого) підприємства становить сотні тонн на рік. При цьому необхідно враховувати, що міцелій містить залишкові кількості цільового продукту, а це, як правило, біологічно високоактивні речовини. Нині тверді відходи ліквідують шляхом переробки міцелію. Його перемішують із ґрунтом і поміщають у ями з бетонними підкладками. Кожну таку яму залишають закритою на кілька років. За цей час ґрунтові мікроорганізми піддають органічні речовини міцелію ферментативному розщепленню, використовуючи їх для побудови «свої» біомаси. Фактично утворюється компост, оскільки органічна частина міцелію розкладається. Бетонна підкладка в такого роду «компостних ямах» необхідна, щоб запобігти попаданню розчинних органічних речовин міцелію, що ще не розклалися, в ґрунтові води і водойми з дощовою водою.

Спроби застосування міцелію для тих чи інших цілей, у цілому, поки що не увінчалися успіхом, проте в лабораторних умовах уже створено маловідходну технологію. З міцелію вилучалася ліпідна фракція і використовувалася як піногасник у наступному виробничому циклі. У деяких випадках (при обмеженості пасовищ) простерилізовану та перемелену біомасу деяких мікроорганізмів використовують як добавку до корму сільськогосподарських тварин. Міцелій грибів та актиноміцетів (відходи при виробництві антибіотиків) підвищує якість деяких будівельних матеріалів (керамзитові плити, цегла та ін.), збільшуючи їхню міцність.

Рідкі відходи. У біотехнологічному виробництві рідкими відходами є стоки та стічна рідина, в основному – це культуральна рідина після відокремлення від неї міцелію та вилучення цільового продукту. Сумарний річний обсяг культуральної рідини, яка має зазнати очищення, становить для одного підприємства десятки тисяч кубометрів. Ступінь очищення, контролюваного різними методами, має бути таким, щоб очищена рідина могла зливатися у відкриті водойми.

Існують різні схеми очищення. Майже у кожному з них ключову роль відіграють мікроорганізми (біологічне очищення) (рис. 107).

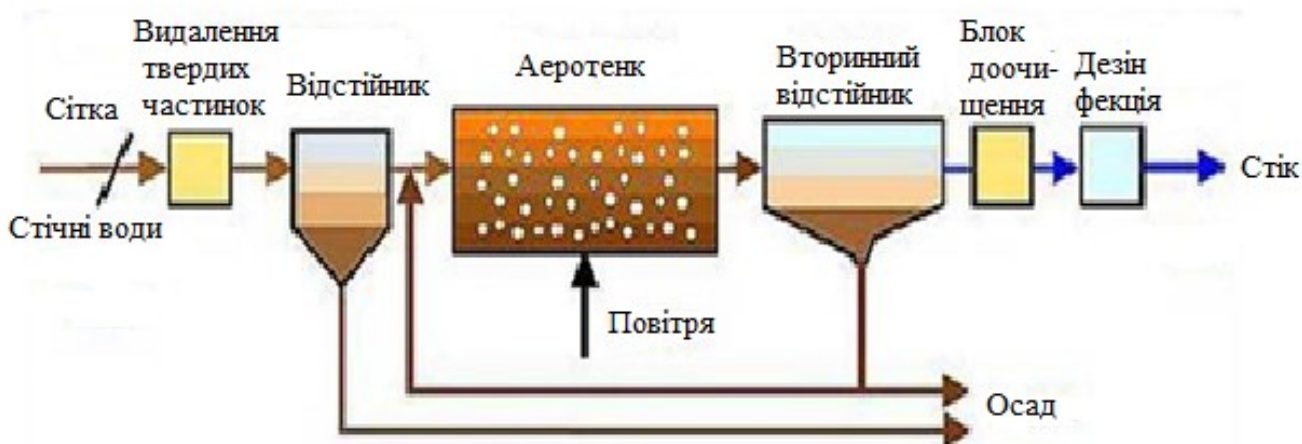


Рис. 107. Схема очищення рідких відходів біотехнологічного виробництва

Першим компонентом системи очищення є залізобетонний відстійник, куди потрапляє відпрацьована культуральна рідина. На дні відстійника

прокладені труби, якими відбувається відсмоктування осаду. На цій стадії з культуральної рідини видаляється приблизно 40% забруднень. Наступна ділянка системи очищення складається з одного або декількох, розташованих один за одним, аеротенків – баків з трубами, що проходять по дну, з яких виходить повітря (у вигляді бульбашок), що проходить через всю товщу рідини, в результаті чого вона насичується киснем. Повітря сприяє інтенсивному перебігу окисних процесів. Ключова особливість аеротенку – наявність у ньому так званого «активного мулу» (штучного біоценозу – співтовариства мікроорганізмів, що окислюють розчинені в рідині органічні речовини до CO_2 і H_2O), що поступово формується в процесі роботи підприємства. Видовий склад біоценозу активного мулу на різних підприємствах може незначно варіювати, оскільки останній залежить від субстратів, що окислюються. Як правило, в ньому домінують представники роду *Pseudomonas* (70%), що представлений великою кількістю безпечних для людини видів. Саме непатогенні штами входять до складу активного мулу. Для цих мікроорганізмів характерний широкий набір окисних ферментів. Далі йдуть мікроорганізми, об'єднані у рід *Bacterium* (20%). Інші 10% складають представники родів *Bacillus*, *Sarcina* та інші мікроорганізми.

Перетворення деяких субстратів до CO_2 і H_2O здійснюється за рахунок послідовного впливу на них ферментів різних мікроорганізмів. Іншими словами, одна ферментна система перетворює конкретну сполуку на проміжні продукти, а інша – каталізує подальшу деградацію цих проміжних продуктів. Цим підкреслюється, що активний мул функціонує як комплекс мікроорганізмів. Але не виключені випадки, коли концентрація антимікробних речовин у рідких відходах, що очищуються, може виявитися надзвичайно високою і викликати загибель клітин активного мулу. Це потребує контролю за станом активного мулу.

Після ділянки з аеротенком (або декількома послідовно розташованими аеротенками та вторинним відстійником) принципово важливим для системи рідких відходів є блок доочистки. У ньому культуральна рідина, в якій

залишається приблизно 10% первинного вмісту органічних речовин (як правило, це речовини, що важко окислюються), пропускається через біофільтри – плівки з іммобілізованими клітинами мікроорганізмів із найбільш високою окисною активністю. Нерідко ці клітини належать до сконструйованих методами генної інженерії штамів, що містять плазмід, які несуть гени окисних ферментів (ферментів деструкції). Такі цілеспрямовано отримані «штами-деструктори» здатні окислювати речовини, що важко окислюються, і знищувати решту 10% забруднень в рідині, що очищується.

Рідина, що пройшла «блок доочищення» і відповідає офіційним критеріям питної води, дезінфікується і потім надходить у відкриті водойми.

У схему біологічної очистки рідких відходів біотехнологічного підприємства, крім аеробної очистки, можуть бути включені: етап анаеробного очищення, етапи з використанням сорбентів (активованого вугілля, цеолітів та ін.), етапи із застосуванням електрохімічних методів (наприклад, електрокоагуляції).

Газоподібні відходи. Газові викиди очищають від органічних сполук при температурі від 300 до 1000°C у колонках з неорганічними каталізаторами. І тут летюча «органіка» перетворюється на CO₂. У деяких випадках використовуються біологічні фільтри на основі мікроорганізмів, що окислюють органічні речовини до CO₂.

Пластики, що біодеградуються. За прогнозами, зростання застосування пластиків неминуче, при цьому найбільший приріст обсягів випуску, як вважають, припадає на новий вид пластиків – біопластики, що руйнуються.

Процеси біологічної деструкції біопластика можуть протікати в аеробних умовах з утворенням діоксиду вуглецю і води, а також в анаеробному середовищі, без участі кисню, з утворенням метану і води.

Полімери, отримані з рослинних відновлюваних матеріалів, таких як зерно і зерновий крохмаль, можуть бути перероблені і перетворені в біомасу за порівняно незначний проміжок часу. Джерелом сировини для виробництва біопластиків такого типу служать злакові рослини і картопля. Так, з кукурудзи

можна отримати до 80% крохмалю від зеленої біомаси рослини. Біопластики з крохмалю розкладаються в ґрунті під впливом ґрунтових і водних мікроорганізмів до гумусу і далі – до діоксиду вуглецю і води (кінцевих продуктів розпаду органіки) в термін від кілька місяців до десятків діб у ході компостування. Діоксид вуглецю використовується рослинами під час фотосинтезу, а гумус повертається в землю в якості добрив для отримання поживних речовин, споживаних рослинами. Однак крохмаль розчиняється у воді, тому вироби з нього деформуються при контакті з вологою.

У даний час все більшого значення набувають екологічні матеріали, одержувані з відновлюваної сировини, джерелом якої служить біомаса рослин.

Ще один напрям орієнтований на надання властивості біоруйнування синтетичним полімерам, що випускаються у величезних кількостях, – поліетилену, поліпропілену, полівінілхлориду, полістиролу і поліетилентерефталату. Середній час використання одного такого пакету складає 20 хв, а самі синтетичні полімери та вироби з них при похованні можуть зберігатися «вічно». Тому питання можливості надання їм здатності до біорозкладання надзвичайно актуальне. Для цього в структуру пластиків можна вводити молекули, які містять у своєму складі функціональні групи, що сприяють прискореному фоторозкладанню полімеру, отримувати композиції з природними добавками, що біологічно руйнуються і здатними певною мірою ініціювати розпад основного полімеру, а також спрямовано синтезувати біодеградуємі пластичні маси на основі промислово-освоєних синтетичних продуктів.

Розглядається також напрям отримання біопластиків, що руйнуються, орієнтований на виробництво полімерів на основі гідроксикарбонових кислот. Одним з найперспективніших біодеградуємих пластиків для застосування в упаковці в даний час є полілактид – продукт конденсації молочної кислоти (ПМК). Це зумовлено насамперед тим, що отримання лактиду і полілактиду можливо як синтетичним способом, так і ферментативним бродінням глюкози, цукру або мальтози, сусла зерна або картоплі. Полілактид у компості

біорозкладається протягом одного місяця, засвоюється він також мікроорганізмами морської води. При відповідній пластифікації полілактид стає еластичним і імітує поліетилен, пластифікований полівінілхлорид або поліпропілен.

Розробляються біологічні пластики, які здатні не тільки до біорозкладання, але також дозволяють створювати упаковку, що перешкоджає розвитку хвороботворних мікроорганізмів у продуктах. В університеті Клемсон розроблена біопластмаса, що містить в якості наповнювача низин, що перешкоджає розвитку патогенів. Низин є антибіотиком поліпептидного типу, похідним молочнокислих бактерій *Streptococcus lactis*, при цьому він нешкідливий для людини.

Серед найбільш перспективних сфер застосування біопластиків, що руйнуються: легка і харчова промисловість, сільське і комунальне господарство (пакети, плівки, бутлі, піддони, пластирі, сітки, мішки, одноразовий посуд, одяг, технічний текстиль і тканина, флакони для парфумерно-косметичних товарів, дитячі іграшки, квіткові горщики, підпірки для рослин, торф'яні мішки, плівки для теплиць, корпуси комп'ютерів, орг-, відео-, аудіотехніки, мобільних телефонів і т. п.).

У країнах ЄС впровадження упаковки, здатної до біорозкладання, підтримується на законодавчому рівні. Так, у Франції прийнятий закон, згідно якого з 2015 р. на території країни можна використовувати тільки пластикову упаковку, що біорозкладається. Уряд Голландії запланував виділення коштів у розмірі декількох мільярдів євро для введення в широке використання ряду пакувальних матеріалів, здатних до біологічного розкладання. У Данії та Ірландії введений спеціальний податок для роздрібних мереж, що використовують поліетиленові пакети. А в Німеччині, навпаки, підприємства, що постачають на ринок товари в біорозкладній упаковці, звільнені від податку на утилізацію відходів. Вже сьогодні в країнах ЄС починають використовувати біопластики для упаковки бутербродів, виготовлення одноразового посуду, а також пакетів для сміття.

В Україні з 1 січня 2022 року також почали діяти обмеження щодо використання поліетиленових пакетів у магазинах та кафе. У той же час, закон дозволяє використовувати біорозкладні або екологічні пакети. Вони виготовляються з картопляного або кукурудзяного крохмалю, завдяки чому згодом розкладаються на елементи природного походження.

Біотехнологія чинитиме різноманітний і зростаючий вплив на способи контролю за навколишнім середовищем та на його стан. Хорошим прикладом такого роду є створення нових, досконаліших способів переробки відходів, проте застосування біотехнології у сфері аж ніяк не обмежується цим. Біотехнологія відіграватиме велику роль у хімічній промисловості та сільському господарстві, допомагаючи створити замкнуті та напівзамкнуті технологічні цикли, вирішуючи, хоча б частково, існуючі тут проблеми.

Контрольні питання

1. Які біотехнологічні методи застосовують для захисту навколишнього середовища?
2. На чому засновані біологічні методи очищення стічних вод?
3. З яких мікроорганізмів і найпростіших складається біоценоз активних мулів?
4. З яких стадій складається система очищення очисних споруд?
5. Які існують підходи до ліквідації нафтозабруднень водної поверхні?
6. У чому полягає біосорбція металів із стічних вод?
7. Яким чином відбувається боротьба із забрудненням повітряного басейну?
8. Які існують технології утилізації твердих відходів?
9. На чому заснована біоіндикація як метод екологічних досліджень?
10. Які проблеми стосуються ліквідації та очищення виробничих відходів традиційного біотехнологічного підприємства?
11. Що таке біопластики і які вони мають переваги порівняно зі звичайними пластиками?
12. Які види біопластиків розробляються у наш час?

9. БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА ОТРИМАННЯ ЕНЕРГІЇ

З моменту свого існування людство покладалося на відновлювані джерела енергії, такі як деревина, вітряки, водопідйомні колеса та тварин – коней та волів. Розробка нових енергетичних ресурсів була головною рушійною силою революції. Протягом останніх двох століть викопне паливо стало основним джерелом енергії в кожному промисловому секторі. Транспортування по всьому світу залежить від використання викопного палива і без нього цілий світ зупиниться. Інтенсивне використання викопного палива має власну ціну. По-перше, природні ресурси швидко виснажуються і можуть задовольнити нинішні потреби енергії лише протягом ще кількох десятиліть. По-друге, їхнє зростаюче використання призвело до викидів та накопичення різних токсичних речовин, що негативно вплинуло на зміну клімату, відступ льодовиків, підвищення рівня моря, втрату біорізноманіття тощо.

Розвиток світової економіки, зростання чисельності населення та рівня його добробуту зробили реальною загрозу глобального дефіциту енергоресурсів. За оцінками експертів, у світі, з урахуванням розвіданих запасів, залишилося 1047 млрд барелів нафти, яких вистачить на 40 років активної експлуатації. Фахівці найбільшої нафтової компанії *Exxon Mobil* прогнозують, що до 2040 р. тільки за рахунок економічного зростання таких країн, як Індія та Китай, світові енерговитрати зростуть на 35%. Одночасно посилюється вкрай негативний екологічний ефект високого споживання енергії, оскільки щорічна емісія CO₂ складає понад 20 млрд т. Цей комплекс проблем змушує світове співтовариство шукати альтернативу нарощуванню обсягів споживання викопного палива за рахунок максимального розвитку та використання екологічно чистих відновлюваних джерел енергії (ВДЕ). Наростання антропогенного впливу на навколишнє середовище робить безперечний внесок у швидкість планетарних процесів, пов'язаних зі зміною клімату та глобальним потеплінням, що спостерігаються в даний час. Найбільш яскравим проявом цього процесу є проблема відходів, яка привертає до себе

дедалі більшу увагу. Загальний світовий обсяг лише твердих комунальних відходів (ТКВ), за прогнозами, до 2030 р. зросте до 2,59 млрд т, а до 2050 р. – до 3,4 млрд т. Екологічна переробка та енергетична утилізація відходів виробництва та споживання знаходить рішення насамперед у спектрі технологій біоенергетики.

Поворотним для відновлюваної енергетики став 2015 р., коли, за даними Міжнародного енергетичного агентства (МЕА), обсяг побудованих у світі електростанцій на основі ВДЕ вперше перевищив обсяг уведеної в експлуатацію традиційної генерації (вугілля, газ, атом): з 300 ГВт сумарної потужності нових електростанцій на частку гідро-, сонячних та вітряних станцій припало 153 ГВт. У 2018 році відновлювані джерела енергії забезпечили, за оцінками, 10,1% попиту на опалення та охолодження. Інвестиції у потужності на основі ВДЕ у 2019 р. були у 3 рази більшими, ніж у вугільну, газову та атомну генерацію. Встановлена потужність у 2019 р. зросла більше, ніж на 200 ГВт і це виявилось найбільшим зростанням за всю історію.

Прагнення позбавитися зовнішньої енергетичної залежності та перейти на внутрішнє енергозабезпечення, а також глобальні кліматичні загрози – головні драйвери розвитку ВДЕ у більшості країн світу. Перехід на «зелену» енергію стає політичним та екологічним завданням, оскільки, як відомо, енергетика є одним із головних джерел парникових газів у світі. За даними МЕА, на неї припадає майже 40% усіх викидів, або близько 700 т CO₂ кожену секунду.

У США, наприклад, поставлене завдання вийти на показники до 33% енергогенерації на основі ВДЕ до 2020 р. У Євросоюзі поставлена мета до 2020 р. забезпечити 20% скорочення викидів парникових газів, збільшення до 20% частки ВДЕ і досягнення 20% підвищення енергоефективності. Це середні чи, швидше, мінімальні (обов'язкові) показники. По країнах завдання різняться. Наприклад, якщо Німеччина до 2050 р. планує досягти 80% долі ВДЕ у виробництві електроенергії і 60% – у загальному енергобалансі країни, то Данія вважає реальним до цього ж часу повністю перевести всю енергогенерацію в

країні на ВДЕ, а в таких країнах, наприклад, як Ісландія та Норвегія, це вже факт, що відбувся.

Ключовими джерелами для задоволення всієї потреби є викопні види палива, але попит, що постійно зростає, і обмежений запас таких видів палива змушують нас використовувати альтернативні підходи для відновлюваного і сталого виробництва енергії.

Відновлювана енергія – це енергія, одержувана з ресурсів, які швидко відновлюються природним шляхом, таких як сонячне світло (2,9%), вітер (6,2%), припливи та відливи, хвилі, геотермальне тепло (0,4%), різні види біомаси (1,6%) та ін. Це альтернативні, поновлювані, стійкі, ефективні та економічні джерела енергії з меншим рівнем викидів. Серед інших альтернативних джерел енергії, біопаливо розглядається як один із стратегічно важливих стійких джерел енергії, яке може значною мірою задовольнити світовий попит на енергію. Тому біопаливо вважається одним із чудових рішень цієї проблеми. Паливо, отримане з біологічного матеріалу, що недавно вивезено з природних місць вирощування або є побічним продуктом живих організмів, класифікується як біопаливо, на відміну від продуктів, отриманих з викопного палива, яке виходить з викопних організмів, похованих протягом мільйонів років під земною корою, та перетворених у вид палива під впливом високого тиску та температури.

Біопаливо – це відновлюване рідке або газоподібне паливо, що виробляється за допомогою або живих організмів або відходів, які вони виробляють. Існує помітна тенденція використання біопалива для ефективної конверсії біоенергії. З цією метою використовується ряд видів біопалива. Як країни, що розвиваються, так і промислово розвинені країни розглядають біопаливо як відповідну технологію з урахуванням різних факторів таких як, безпека, екологічні проблеми, заощадження в іноземній валюті та соціально-економічні проблеми, пов'язані з аграрним сектором. У біопалива є низка переваг, включаючи легкодоступність, екологічно чисте горіння, біорозклад і стійкість. Враховуючи зростання цін на сиру нафту та зростаючу політичну

нестабільність у нафтовидобувних країнах, розробки в галузі біопалива мають першочергове значення. Порівняно з майже повною відсутністю кисню в нафті, у біопалива рівень кисню коливається від 10% до 45%, що робить хімічні властивості біопалива зовсім несхожими на нафту. У багатьох країнах біопаливо широко використовується для виробництва тепла та енергії. У різних країнах були вжиті заходи щодо впровадження біопалива з різною вартістю виробництва, яка залежить від розташування, сировини та інших факторів.

Як альтернатива, біопаливо розглядається як відновлюване, стійке, ефективне, рентабельне та екологічно чисте паливо, яке здатне замінити традиційне паливо з нафти. Мікроорганізми відіграють важливу роль у виробництві багатьох видів біопалива завдяки універсальності їх метаболічних особливостей. Можливість «точного налаштування» існуючих процесів виробництва мікробіологічного біопалива, а також розробка модифікованих штамів мікроорганізмів, що дозволяють ефективно використовувати непотрібні матеріали та побічні продукти, робить мікробіологічне біопаливо привабливим для досліджень.

Сьогодні найдешевшим ресурсом біоенергетики вважаються органічні відходи, а щодо інших джерел біомаси значні зусилля вчених спрямовані на отримання енергонасиченої біомаси із заданими властивостями. Необхідність створення інноваційних технологій отримання ефективних джерел біомаси для біоенергетики є потужним драйвером інтенсифікації фундаментальних та прикладних досліджень за такими напрямками:

1. Фундаментальні дослідження механізмів фотосинтезу з метою покращення здатності фотосинтезуючих організмів та рослин до швидкого зростання: більш ефективного вловлювання світла, подовження фази росту тощо; розробка технологій штучного фотосинтезу.

2. Застосування геномних технологій з метою:

- регулювання генів, білків та метаболітів різних продуцентів для управління процесами синтезу, коригування властивостей рослини, наприклад, для підвищення стійкості рослин до умов середовища;

- нарощування обсягу біомаси відстроченням або виключенням енергоємних репродуктивних процесів;
- збільшення вмісту цукрів у біомасі;
- зміни структури лігніну та целюлози клітинної стінки біомаси та ін.;
- ідентифікації нових генів, що становлять інтерес для створення необхідних сортів рослин та отримання біомаси з покращеними характеристиками.

3. Розробка нових ферментів, застосування генетично модифікованих агентів (мікроорганізмів).

4. Застосування ефективних методів передвиробничої підготовки біомаси та використання різних композицій у складі біомаси для підвищення продуктивності процесів конверсії та якості кінцевого продукту.

На цьому етапі вже розроблені і знаходять все ширше застосування технології, що дозволяють вирощувати високоефективні нехарчові енергетичні культури (з високим вмістом целюлози, геміцелюлози та лігніну), включаючи плантації деревних рослин («швидкого лісу» на основі мікроклонального розмноження) з підвищеною продуктивністю, стійкістю до шкідників та з модифікованою деревиною (верба, тополя та ін.), а також напрацьовувати промислові обсяги енергонасиченої біомаси фототрофних мікроорганізмів (мікробіодоростей).

Високий економічний ефект очікують від виробництва біопалива з біомаси мікробіодоростей. На основі мікробіодоростей виробляють третє покоління біопалив (біодизель та біоетанол). До найважливіших переваг мікробіодоростей належить відсутність при їх культивуванні конкуренції з сільгоспвиробниками за землю і з харчовою промисловістю – за сировину, при цьому виключається витрата питної води та шкода лісам і зеленим насадженням. Висока здатність мікробіодоростей до зв'язування атмосферного вуглекислого газу скорочує парниковий ефект і покладена в основу методу очищення промислових викидів під час роботи електростанцій. За енергетичної ефективності мікробіодорості мають ряд переваг: питома продуктивність їх у

розрахунку на площу в середньому на 2-3 порядки вища, порівняно з сільськогосподарськими культурами, а технологія виробництва біопалива має мінімальну кількість проміжних етапів.

Типи біопалива, виробленого мікроорганізмами. Мікроорганізми можуть перетворювати вуглецеві речовини сировини на біопаливо, таке як етанол, бутанол та ін. Рослинні відходи є ідеальною сировиною для такого перетворення. На першому етапі хімічними засобами, або за допомогою мікроорганізмів, що секретують ферменти, складна сировина перетворюється на прості цукри, які потім перетворюються на біопаливо шляхом мікробної ферментації (рис. 108).

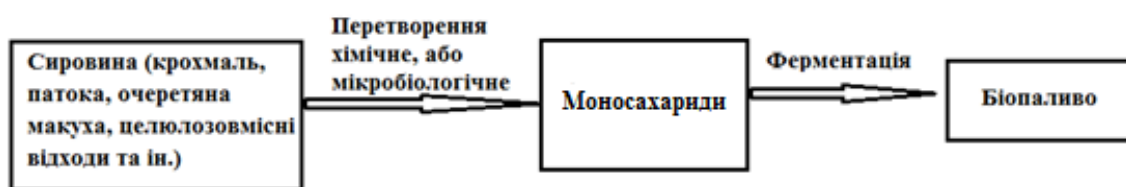


Рис. 108. Загальна схема перетворення вуглецевих відходів на біопаливо

Біоетанол. Алкогольне паливо зазвичай одержують з біологічних джерел, а не з нафти. Оскільки вони походять із біологічних джерел, їх іноді називають біоспиртами. Етанол або етиловий спирт, отриманий з біомаси шляхом гідролізу з подальшою ферментацією, називається біоетанолом. Біоетанол може використовуватися у поєднанні з бензином як паливо для двигунів внутрішнього згоряння автомобілів. Біоетанол у концентрації до 5% можна додавати до бензину без модифікації двигуна. Концентрація біоетанолу у допустимій суміші може бути до 85% для модифікованих двигунів. Паливо із суміші етанолу та бензину має нижчий вміст сірки, ніж бензинове. Це призводить до зниження викидів оксиду сірки, основного компонента кислотних дощів та канцерогену. Такі культури, як цукрова тростина, пшениця та кукурудза є найважливішими видами природних біоресурсів, які можна використовувати для виробництва біоетанолу. Рослинний матеріал містить

велику кількість вуглеводів із загальною формулою $(\text{CH}_2\text{O})_n$, які можуть бути перетворені на етанол різними хімічними та біохімічними методами. Більшість етанолу, одержуваного як біопалива, виробляється із цукру чи крохмалю. Цукрова тростина, цукрові буряки та сорго є звичайними культурами, що використовуються як сировина для виробництва біоетанолу, у той час як сировина з крохмалю включає кукурудзу, пшеницю та маніоку. Рослинна сировина, що складається з целюлози, геміцелюлози та лігніну також може використовуватися для виробництва цукру з подальшим утворенням біоетанолу. Однак, целюлозу через її складну структуру, важко деполімеризувати на прості цукри. З іншого боку, геміцелюлози легко розщеплюються на складові цукру, такі як ксилоза та пентоза, але наступний процес ферментації утруднений, оскільки для цього потрібні вискоєфективні мікроорганізми, що здатні зброджувати 5-вуглецеві цукри до етанолу. Лігнін можна використовувати як паливо, хоча сам він практично не ферментується. Виробництво біоетанолу із рослинної сировини здійснюється у три етапи. На першому етапі проводиться попередня обробка рослинного матеріалу з використанням хімічних методів: обробка паром, обробка аміаком, обробка CO_2 , кислотний або лужний гідроліз. Зазвичай, ці хімічні обробки здійснюються в екстремальних умовах: висока температура, тиск і т. ін. Певною мірою біохімічний гідроліз, що каталізується гідролітичними ферментами, є оптимальною альтернативою. На наступному етапі вуглеводи рослинного матеріалу перетворюються на прості цукри за допомогою таких ферментів, як целюлаза. Ефективність гідролізу целюлози залежить від пористості, кристалічності та наявності лігніну і геміцелюлози. Лігнін і геміцелюлоза негативно впливають на целюлазу, зменшуючи доступність ферменту до субстрату. Таким чином, процес гідролізу можна значно покращити шляхом видалення лігніну та геміцелюлози, зниження кристалічності целюлози та збільшення пористості у процесах попередньої обробки. Ферментація є кінцевим етапом, коли цукри перетворюються на спирт під дією мікроорганізмів без доступу кисню. Отриманий біоетанол можна

очистити дистиляцією. Конвертованість будь-якого конкретного типу біомаси в цукри визначає його цінність як вихідної сировини для ферментації (рис. 109).

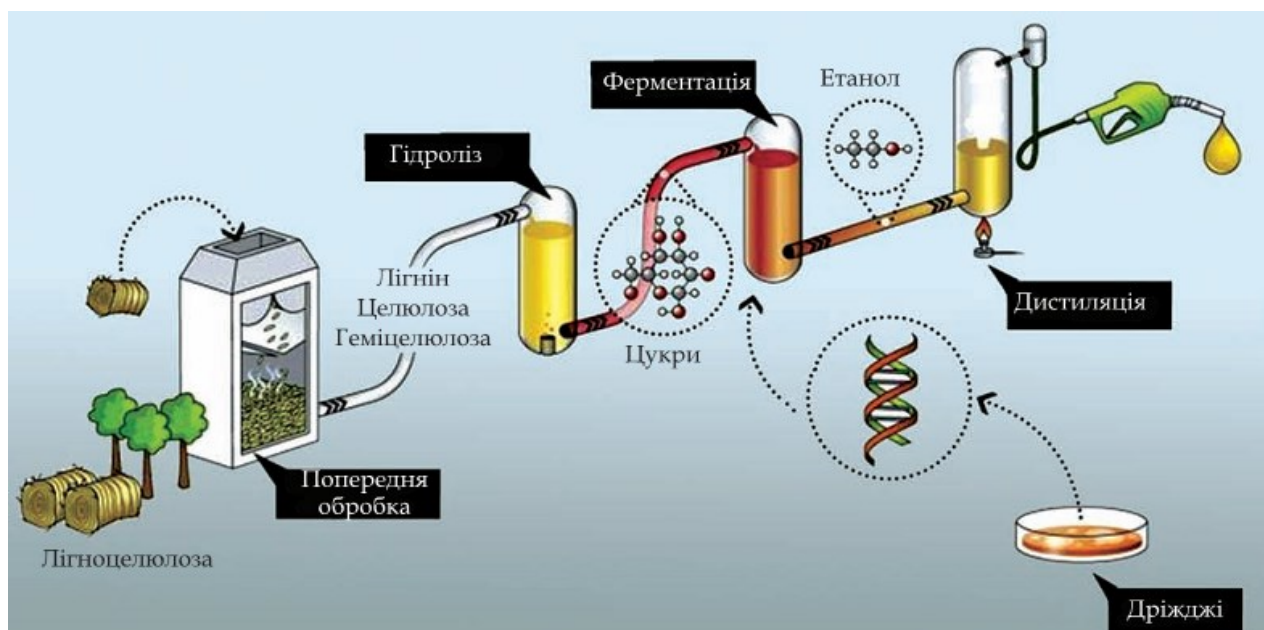


Рис. 109. Схема отримання біоетанолу за допомогою дріжджів

Для отримання біоетанолу, залежно від використовуваної сировини, можуть застосовуватися різні види мікроорганізмів. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є переважно кращими продуцентами для промислового виробництва біоетанолу. Найвищий вихід етанолу (1,9 моль на моль споживаної глюкози) відзначений для термофільних бактерій *Thermoanaerobacter ethanolicus*. Для виробництва біоетанолу термофіли мають певні переваги, що пов'язані з високою швидкістю росту та використанням широкого спектру субстратів. Поряд із цим, багато термофілів виробляють менше небажаних кінцевих продуктів, порівняно з мезофілами. Грибки, такі як *Trichoderma reesei* і *Aspergillus niger*, продукують фермент целюлазу, яка може добре перетворити целюлозу макухи цукрової тростини в зброджуванні цукри для виробництва етанолу. У тропічних регіонах біоетанол був отриманий з використанням *Zymomonas mobilis*, але його спектр вуглеводів, що ферментуються, не дуже широкий. Останнім часом застосовують генну інженерію для експресії чужорідних генів, пов'язаних із катаболізмом різних типів органічних речовин. *Zymomonas mobilis* та *E. coli* були успішно перетворені на ефективних

виробників етанолу. Компанія *DuPont* нещодавно почала використовувати генетично модифікований штам *Z. mobilis* для виробництва целюлозного етанолу.

Субстрати для виробництва біоетанолу. Поки що більша частина світового виробництва біоетанолу заснована на таких культурах, як цукрова тростина та цукровий буряк. Зернові, такі як кукурудза, також використовуються в багатьох областях як сировина для виробництва етанолу за допомогою мікроорганізмів. У наш час вчені досліджують лігноцелюлозну біомасу в якості субстрату завдяки її значному розповсюдженню. Лігноцелюлоза являє собою суміш лігніну, геміцелюлози та целюлози. Лігноцелюлоза є частиною рослини, яка залишається неперетравленою людьми та більшістю тварин. Це непродовольчий продукт, наприклад стебла, тирса та тріска. Лігноцелюлозну біомасу можна гідролізувати в цукор. Існує безліч неїстівних рослинних відходів, які можна переробити для синтезу біоетанолу. Макуха цукрової тростини – побічний продукт цукрової промисловості, широко доступний і дешевий. Він багатий на целюлозу, яка може гідролізуватися целюлазними ферментами для отримання біоетанолу. Аналогічним чином, для біоетанолу можна використовувати іншу целюлозну біомасу, таку як деревина, паперова маса або сільськогосподарські відходи. Різні технології гідролізу для різноманітних лігноцелюлозних відходів утворюють суміш цукрів (таких як глюкоза, ксилоза, арабіноза), деякі з яких дуже важко ефективно ферментувати в біоетанол з використанням звичайних мікроорганізмів. Для цього потрібні мікроорганізми, що здатні зброджувати складні цукри. Генна інженерія призвела до розробки нових штамів мікроорганізмів, здатних ефективно ферментувати такі цукри, як ксилоза.

Біоводень – це потенційне біопаливо, яке можна отримати з органічних відходів. Використання водню як джерела енергії може покращити глобальну зміну клімату, енергоефективність та якість повітря. Його можна використовувати як альтернативу викопному паливу, тому що водень легко перетворюється на електричну енергію в паливних елементах або згорає і

перетворюється на механічну енергію без надмірного виробництва CO_2 . Як паливо майбутнього водень розглядається для зниження залежності від нафти, зменшення забруднення та мінімізації викидів парникових газів. Біомасу можна перетворити на водень за допомогою процесів термохімічної конверсії, таких як піроліз або газифікація пари. Біологічно його можна отримати за допомогою водоростей або ціанобактерій шляхом біофотолізу води. Інші біологічні шляхи виробництва водню включають фото-бродиння та темне бродиння. При фотоферментації водень вироблюється з органічних речовин бактеріями, що здатні до фотосинтезу. З іншого боку, анаеробні організми можуть виробляти H_2 з органічних речовин у процесі «темного бродиння». Комбінація як темної, так і фотоферментації нині вважається найефективнішим методом отримання водню шляхом ферментації. Використовується ряд етапів, по-перше, відходи перетворюються на органічні кислоти у процесі темного бродиння, і ці органічні кислоти потім використовуються як субстрат у процесі фотобродиння. Виробництво водню шляхом ферментації біомаси є безперервним процесом, який потребує нестерильного субстрату з легкодоступною змішаною мікрофлорою (рис. 110).



Рис. 110. Виробництво біоводню

Простота обробки для отримання ферментованої сировини визначає загальну швидкість перетворення біомаси на водень. Різноманітні реакторні системи були розроблені для виробництва водню за допомогою бактеріальної ферментації цукру. Концентрація гексози в середовищі, температура, рН та час гідравлічного затримання в реакторі є важливими факторами, що визначають вихід H_2 . Ферментацію водню можна проводити у рідкій фазі з іммобілізованими клітинами або шляхом утворення самофокусованих гранулярних клітин. Незважаючи на різні дані лабораторних досліджень, мікробіологічний водень ще не перетворився на економічно ефективну технологію у промисловому масштабі.

Мікроорганізми у виробництві біоводню. Для виробництва водню можна використовувати три типи бактерій: ціанобактерії, анаеробні бактерії та ферментативні бактерії. Для фотобіологічного виробництва водню ціанобактерії вважаються ідеальним джерелом, оскільки вони можуть рости в повітрі (N_2 і CO_2), воді та розчинах мінеральних солей, зі світлом у якості єдиного джерела енергії, та здійснювати ефективне фотоперетворення води у водень. Для швидкого отримання водню практикується культивування ціанобактерій у середовищі без нітратів в атмосфері повітря з додатковим вмістом CO_2 і подальшою інкубацією на світлі під аргоном або в атмосфері CO_2 . Анаеробні бактерії, такі як *Clostridium spp.*, були використані для виробництва H_2 . Високий вихід водню (3,3-4,0 моль H_2 на моль використаного вуглеводу) відзначений у гіпертермофілів *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* та *Thermotoga elfi*. Пурпурні несірчані бактерії (PNS) (наприклад, рід *Rhodobacter*) також мають значні перспективи для отримання водню шляхом фотосинтезу та фотоферментації.

Субстрати для біоводню. Різноманітна біомаса використовувалася для виробництва водню за допомогою термохімічних і ферментативних процесів. Газифікація парою оболонки шкаралупи та чорного лугу призводить до утворення водню. Солома зернових культур, чайні відходи та оливкові лушпайки піддаються піролізу для виробництва водню. Целюлозно-паперові

відходи та гнійова суспензія використовуються для виробництва водню шляхом ферментації.

Біогаз. Анаеробне зброджування органічної фракції біомаси утворює суміш метану та вуглекислого газу, що називається «біогазом». Це відновлюване джерело енергії, таке як енергія сонця та вітру. Біогаз є екологічно чистим біопаливом, яке можна зробити з регіональної сировини, такої як гній або стічні води, в біореакторах. Зброджування може тривати від десяти днів до кількох тижнів. Біогаз, в основному, являє собою суміш метану (CH_4) та вуглекислого газу (CO_2) з невеликою кількістю сірководню (H_2S), вологи та силексанів.

Склад біогазу залежить від умов анаеробного зброджування. Основним компонентом біогазу є метан, що становить якнайменш 50% загального обсягу. Прогрес у технологіях обробки відходів збільшив цю межу до 55-75% метану. У реакторах із вільними рідинами концентрація метану може досягати 80-90% за використання методів локального очищення газу. Для отримання біогазу зазвичай використовуються так звані анаеробні біореактори. У біореакторі відбувається розкладання біомаси та її складних органічних сполук на простіші сполуки та газоподібні продукти. Є в основному три типи біореакторів: системи вертикальних резервуарів, системи горизонтальних резервуарів та системи з декількома резервуарами (рис. 111).

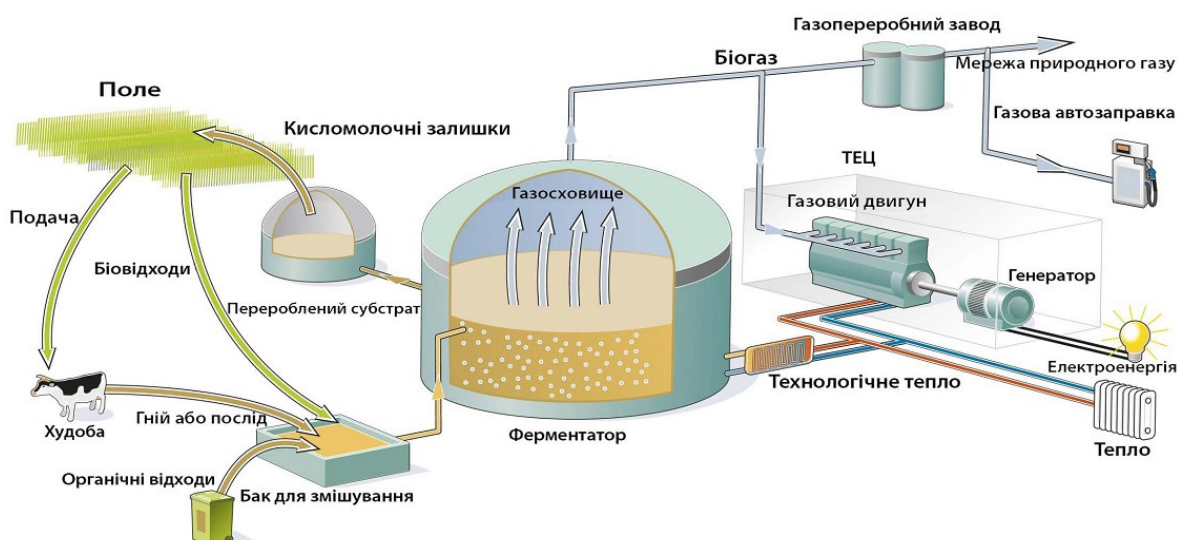


Рис. 111. Схема отримання біогазу

Виробництво біогазу за допомогою анаеробного розкладання органічної речовини (переважно гною) є складним процесом, який включає покрокову серію реакцій, що вимагають спільної дії декількох організмів. Загальний процес можна поділити на чотири етапи. На першому етапі, відомому як процес гідролізу, вуглеводи розщеплюються на прості цукри, білки – на пептиди та вільні амінокислоти, а жири перетворюються на жирні кислоти позаклітинними ферментами, такими як целюлази, амілази, протеази та ліпази, що вивільняються мікроорганізмами. На другому, кислотоутворюючому, етапі продукти гідролізу перетворюються на органічні кислоти, такі як вуглекислота і нижчі спирти, за допомогою кислотоутворюючих бактерій, згодом продукти цього процесу перетворюються на оцтову кислоту (CH_3COOH), діоксид вуглецю (CO_2) та водень (H_2). І нарешті, бактерії, що виробляють метан, розкладають продукти ацидогенезу та утворюють метан. Якщо процес добре збалансований, ці фази синхронізуються. Температура є важливим фактором, що визначає швидкість виробництва біогазу. Біогаз можна отримати при використанні психрофілів, мезофілів та термофілів у різному діапазоні температур. У міру підвищення температури швидкість виробництва метану також зростає. Але збільшення температури пов'язане з підвищенням концентрації вільного аміаку, що зумовлює інгібування виробництва метану. Інші фактори, такі як природа та концентрація субстрату, швидкість подачі, значення рН (повинна становити від 6 до 7), бактеріальна популяція та хімічні індуктори, також істотно впливають на виробництво біогазу.

Рештки початкової сировини, що не прореагували, можна утилізувати як добриво. Воно містить азот, фосфор, калій та інші елементи, що необхідні для покращення ґрунтів. У цьому добриві міститься все, що необхідно ґрунтам, оскільки при метановому бродінні з органічної речовини відділяється тільки вуглець у вигляді CO_2 і CH_4 , а усі поживні речовини знаходяться у формі, що більш доступна для рослин. Крім того, продукт отриманий у результаті метанового бродіння, має ще одну перевагу: він не містить хвороботворних мікроорганізмів, навіть у тому випадку, якщо вони були присутні у початковій

біомасі. Хвороботворні мікроорганізми гинуть у процесі метанового бродіння. Внесення у ґрунт добрива, яке позбавлено специфічного запаху, що характерний для непереробленого гною, не зустрічає перешкоди і з екологічної точки зору (рис. 112).

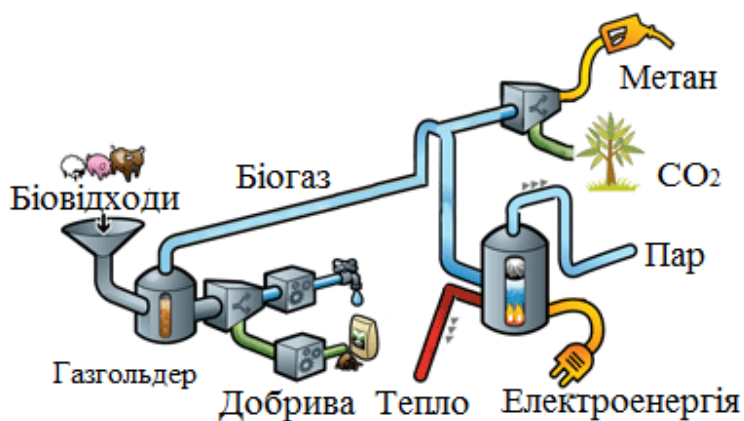


Рис. 112. Шляхи застосування продуктів, що створюються при виробництві біогазу

Надосадова рідина, як і субстрат після бродіння, не має неприємного запаху. Вона містить достатню кількість поживних речовин і може використовуватися як для поливу, так і в якості поживного середовища для вирощування гідробіонтів (водних рослин), які, в свою чергу, можна вводити в раціони тварин, або їх біомасою користатися як сировиною для виробництва біогазу.

Таким чином, технологія утилізації біомаси гною за допомогою метанового бродіння може бути прикладом майже безвідходного виробництва.

Мікроорганізми у виробництві біогазу. Різні мікроорганізми беруть участь у переробці біовідходів і поступово розкладають складні молекули, утворюючи суміш CH_4 та CO_2 . Перший етап гідролізу біомаси включає ряд мікроорганізмів, таких як *Clostridium thermocellum*, *Clostridium celluloliticum*, *Enterococcus faecalis* та ін. У другому етапі ацидогенезу грають важливу роль *Cloacamonas acidaminovorans*, *Clostridium acetibutlicum*, *Lactobacillus*. Мікрофлора, що складається в основному з *Arboxydotherrnus hydrooformans*, *Morella*

thermoacetica та *Pelotomaculum thermopropionicum* бере участь у третьому етапі виробництва оцтової кислоти та CO₂. Нарешті, метаногенез здійснюється за допомогою ацетотрофів, що включають *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina acetivorans* та гідрогенотрофи. Ці мікроорганізми дуже чутливі до змін довкілля, оскільки вони суворо анаеробні.

Субстрати для виробництва біогазу. Біогаз виробляється шляхом анаеробного зброджування або ферментації матеріалів, таких як стічні води, муніципальні відходи, зелені відходи, рослинний матеріал і сільськогосподарські культури (рис. 113).

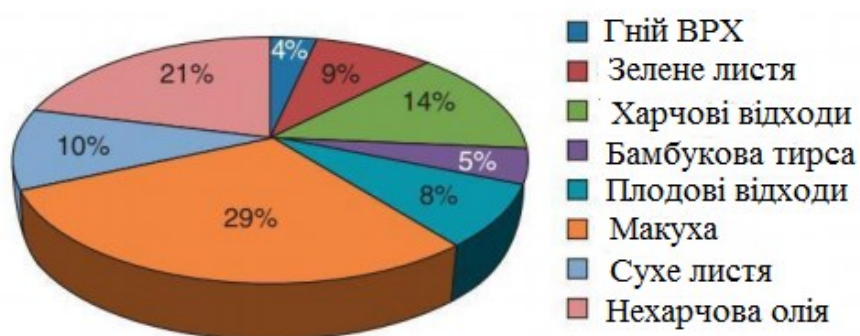


Рис. 113. Субстрати для виробництв біогазу

Фермери можуть виробляти біогаз з гною великої рогатої худоби за допомогою анаеробних реакторів. Можна також використовувати гній інших сільськогосподарських тварин, таких як коні, кури, свині. Крім цього, відпрацьована олія, жир з відходів скотобійні, багаті на органічні відходи промислові стоки, органічні побутові або муніципальні тверді відходи, садові відходи та гнилі харчові продукти – все це можна потенційно використовувати для виробництва біогазу. Органічні відходи лікарень, які можуть включати папір та бавовну, відходи сільського господарства або виробництва продуктів харчування, осад міських стічних вод тощо, також є можливими субстратами для біогазу. Деякі культури, такі як кукурудза (ціла рослина, включаючи качани), трава, конюшина, молода тополя та верба, спеціально вирощуються для виробництва біогазу.

За можливостями виробництва біогазу Україна входить у десятку найперспективніших країн. Наш потенціал оцінюється в 52 млрд м³. Якщо рівень розвитку біогазової енергетики в країні досягне рівня сонячної і вітрової, то зможемо щорічно заміщати до 4 млрд м³ газу. А це – стратегічна інвестиція в енергоне залежність країни.

Якщо в кінці 2014 року в Україні на біогазі працювали установки загальною потужністю 14 МВт, то до кінця 2018 року ця цифра, за даними Держенергоефективності, збільшилася в 4 рази – до 55 МВт.

Реалізація бізнес-ідей, заснованих на переробці біомаси, набирає обертів. Цьому сприяє і підвищений «зелений тариф», за яким держава закуповує електроенергію, вироблену з відновлюваних джерел (рис. 114).



Рис. 114. Кількість біогазових установок, що працюють в Україні за «зеленим тарифом»

Ключ до набуття газової незалежності – будівництво біогазових установок. Кожне сільськогосподарське підприємство, ферма, фабрика харчових продуктів, сміттевий полігон, навіть міська каналізація може бути джерелом сировини для виробництва біогазу. І справа вже зрушила в мертвої точки. За перше півріччя 2019 року в Україні було введено в дію 20 МВт потужностей електрогенерації на біогазі, що в півтора рази більше, ніж за весь 2018 рік.

Біодизель. Етилові ефіри з олії, зазвичай звані «біодизелем», є перспективними в якості альтернативного палива. Виробництво біодизеля значно збільшилося за останні кілька років, як і кількість залишків, що утворюються у процесі виробництва. Європа, як і раніше, є найбільшим виробником біодизеля, хоча за останні кілька років у Бразилії, порівняно зі США та Європою, спостерігалось найвище зростання обсягів виробництва.

Сама рослинна олія також може використовуватися як паливо для дизельних двигунів, але її висока в'язкість є обмеженням і, отже, вимагає модифікації двигуна. Рослинні олії можна перетворити на біодизельне паливо за допомогою процесу переестерифікації в присутності каталізатора. Переестерифікація знижує в'язкість олії. Це потенційно менш дорогий спосіб перетворення великої розгалуженої молекулярної структури біомасел у дрібніші молекули з прямим ланцюгом того типу, який потрібен у звичайних дизельних двигунах внутрішнього згорання (рис. 115).

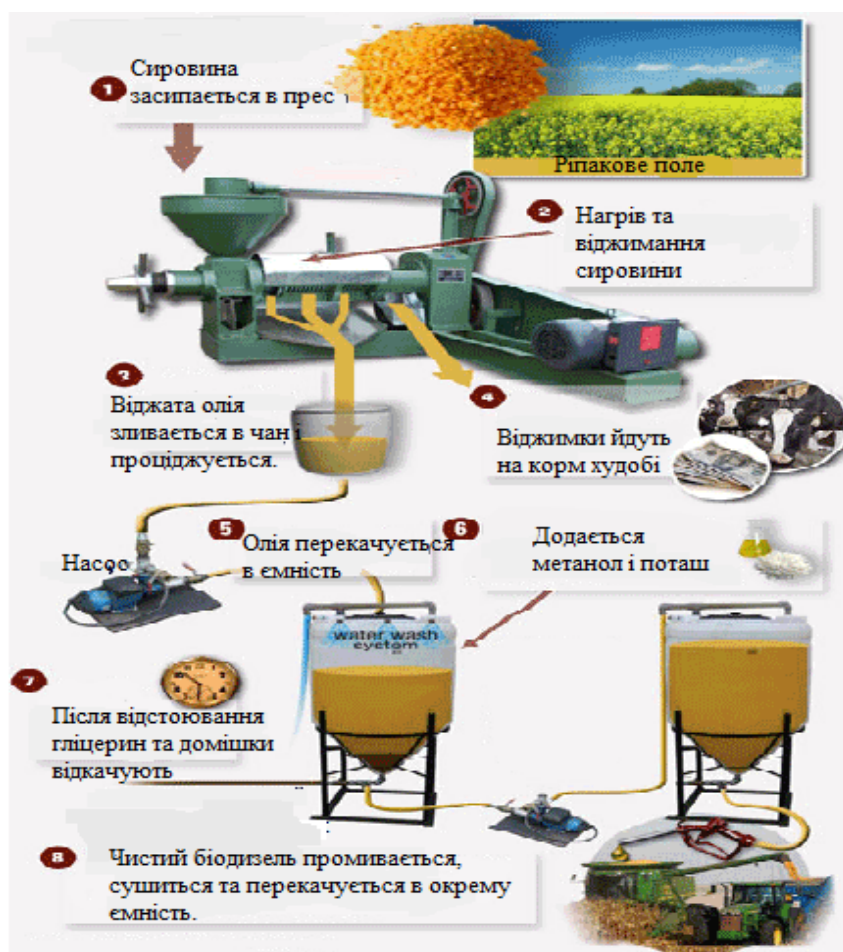


Рис. 115. Виробництво біодизелю з ріпакової олії

При використанні в автомобільних двигунах біодизель забезпечує трохи нижчу потужність, порівняно з нафтовим дизельним паливом. Тим не менш, у нього є переваги – низький вміст сірки, температура займання, вміст ароматичних речовин та біорозкладність. Суміш біодизель-дизельне паливо до 5% за обсягом може використовуватись у звичайному дизельному двигуні. Дизельні двигуни також можна модифікувати за прийнятною ціною, щоб вони підходили для використання чистого біодизеля. Однак, у нього є недолік – необхідність частої заміни моторної олії.

Мікроорганізми у виробництві біодизеля. Біодизель є екологічно чистим альтернативним рідким паливом. Біодизель виробляється з відновлюваних ресурсів, і має екологічну перевагу, яка робить його більш привабливим. Мікроорганізми не відіграють прямої ролі у синтезі біопалива. Фактично, мікробіологія біодизеля є проблемою через бактеріальне окислення під час зберігання, а також через неминучий вміст води, що призводить до корозії. Однак, перетворення рослинної олії на метилові або інші складні ефіри з коротким ланцюгом можна каталізувати в одній реакції переестерифікації з використанням мікробних ліпаз в неорганічних розчинниках. Ліпази з високою специфічною активністю, що отримують з низки мікроорганізмів, наприклад, *Staphylococcus warneri*, *Candida rugosa*, *Fusarium solani* та ін., були успішно випробувані у лабораторних дослідженнях. Процес виробництва у промислових масштабах все ще перебуває на стадії розробки. Для реалізації реакції перетворення розробляються такі стратегії, як іммобілізація ферментів. В останні роки було запропоновано абсолютно нову концепцію біодизеля, отриманого за допомогою бактерій. Існують експериментальні дослідження створення етерифікованого ліпиду бактеріями з використанням передових досягнень метаболічної інженерії.

Субстрати для біодизеля. Біодизель можна використовувати екологічно безпечним способом у будь-якому дизельному двигуні без додаткової модифікації. Він екологічно чистий і відновлюваний, тому у всьому світі зростає інтерес до розробки біодизеля з різних видів рослинних олій. Більшість

використовуваного нині біодизеля виробляється з соєвої олії. Проте, соєва олія є продуктом харчування, що робить економічно ефективне виробництво біодизеля дуже складним завданням. Іншими джерелами біодизеля є олії із гірчиці, жожоба, ятрофи, кокосу, соняшнику тощо. Недорогі жири та олії, такі як відходи ресторанів та тваринні жири, також успішно використовувалися для виробництва біодизеля, але вихід є низьким через наявність вільних жирних кислот, які важко перетворити на біодизель за допомогою будь-якого каталізатора. Деякі водорості здатні накопичувати велику кількість ліпідів, і ця властивість робить їх добрим джерелом біодизеля. Крім того, для виробництва біодизеля водорості можна вирощувати з використанням таких відходів, як стічні води, без використання родючих земель, що робить їх привабливою альтернативою рослинній олії. Прокаріотичні мікроводорості, тобто ціанобактерії (*Chloroxybacteria*) та еукаріотичні мікроводорості, наприклад, зелені водорості (*Chlorophyta*), червоні водорості (*Rhodophyta*) та діатомові водорості (*Bacillariophyta*) можна використовувати для виробництва ліпідів за допомогою мікроорганізмів. *Neochloris oleabundans* (прісноводна мікроводорість) та *Nannochloropsis sp.* (морська мікроводорість), завдяки високому вмісту олії в них, також придатні для виробництва біодизеля.

Мікроводорості у виробництві біопалива

Мікроводорості – це неоднорідна група фотосинтезуючих мікроорганізмів, які можуть швидко рости завдяки своїй простій будові. Вони були досліджені для виробництва різних видів біопалива, включаючи біоводень, біодизель, біоетанол та біометан. Щоб зробити виробництво біопалива економічно доцільним, необхідно використовувати біомасу водоростей, що залишилася, для отримання побічних комерційних продуктів. Для задоволення швидкозростаючого попиту, в умовах обмежених земельних і водних ресурсів, стало можливим виробляти мікробне біопаливо, що відповідає всім вимогам.

У мікроводоростей великий потенціал для отримання біопалива, тому що вміст олії в них може перевищувати 70% порівняно з 5% у кращих

сільськогосподарських олійних культур. Мікроводорості є одноклітинними мікроскопічними організмами, що живуть у прісній воді та морському середовищі. Мікроводорості вважаються одними з найдавніших живих організмів на нашій планеті. Зв'язок між мікроводоростями та біопаливом є перспективним через власну автотрофну здатність мікроводоростей. Мікроводоростям потрібна лише вода, атмосферний CO_2 та сонячне світло для синтезу біомаси. Існує понад 300 тис. видів мікроводоростей, які значно різноманітніші за рослини. Механізм фотосинтезу у мікроводоростей аналогічний механізму рослин, але вони є більш ефективними перетворювачами сонячної енергії через простоту їх клітинної структури і функцій. Крім того, оскільки мікроводорості ростуть у водній суспензії, вони мають більш ефективний доступ до води, CO_2 та інших поживних речовин. За нормальних умов автотрофні мікроводорості використовують сонячне світло і вилучають неорганічний вуглець з атмосфери для синтезу вуглеводів і ліпідів, які можна використовувати для отримання біопалива. Певні види мікроводоростей можуть мати вміст олії до 80% від їх сухої маси. Деякі мікроводорості можуть подвоїти свою біомасу протягом 24 годин, а найкоротший час подвоєння протягом їх росту становить близько 3,5 годин, що робить мікроводорості ідеальним відновлюваним джерелом для біопалива.

Застосування ціанобактерій і мікроводоростей у виробництві біопалива.

Насамперед, індустрія макроводоростей спрямована на виробництво харчових продуктів для особистого споживання. Деякі важливі властивості мікроводоростей, типові для вищих рослин, такі як ефективний кисневий фотосинтез, прості потреби в живленні, високі швидкості росту та здатність накопичувати або виділяти метаболіти, створюють обґрунтування доцільності біотехнології мікроводоростей у найближчому майбутньому. Крім того, величезний запас існуючих видів мікроводоростей є унікальним резервуаром біорізноманіття, який забезпечує потенційне промислове освоєння багатьох продуктів з високою доданою вартістю, наприклад, вітамінів, пігментів і поліненасичених жирних кислот. Ці сполуки можуть сприяти підвищенню

конкурентоспроможності виробництва біопалива із мікроводоростей з урахуванням біопереробного підходу. Дослідження останніх шести десятиліть показали, що ціанобактерії та мікроводорості виробляють різноманітні хімічні напівпродукти та вуглеводні, які є попередниками біопалива. Отже, мікроводорості для палива обіцяють стати потенційним замінником продуктів, що отримуються нині з викопного палива.

Мікроводорості та ціанобактеріальну біомасу можна безпосередньо використовувати як джерела різних видів сировини, отримати важливі біомолекули, такі як антиоксиданти, пігменти, лікарські засоби та біоактивні сполуки. При використанні в анаеробних умовах, біомаса водоростей може бути перетворена на біогаз. Цикл Кальвіна призводить до вироблення вуглеводів, білків, ліпідів та жирних кислот. Вуглеводи можуть перероблятися на біоетанол шляхом біологічного розкладання. Ліпіди можуть перетворюватися на біодизель. Жирні кислоти у процесі біологічного розкладання утворюють ацетат, бутират та пропіонат, які при стабілізації утворюють CH_4 , H_2 та електрони (рис. 116).



Рис. 116. Схема перетворення мікроводоростей у різноманітні види палива та продуктів

Мікроводорості є перспективним відновлюваним джерелом для виробництва біопалива, що має багато переваг у порівнянні з біомасою з харчових або целюлозних матеріалів.

Переваги морських водоростей (макроводоростей та мікроводоростей) як привабливого відновлюваного джерела для біопалива, порівняно з біомасою з традиційних наземних рослин полягають у наступному:

1. Традиційні наземні рослини малоефективно поглинають сонячну енергію і порівняно з мікроводоростями можуть досягати лише 10%.

2. Орієнтовний час подвоєння маси водоростей (~ 24 год) відбувається значно швидше, ніж у будь-якої олійної культури, і, в принципі, не залежить від погоди при мінімумі сонячного годинника.

3. Вони вимагають навіть менше води, ніж наземні культури для зрошення. Звичайна морська вода, доповнена промисловими нітратними та фосфатними добривами, та кілька додаткових мікробіогенних елементів, доступних у продуктах аквакультури, є єдиними поживними речовинами, необхідними для мікроводоростей, тому що атмосферний CO₂ доступний безкоштовно.

4. Морські водорості мають відносно високу ефективність конверсії фотонів, і, таким чином, можуть швидко синтезувати біомасу в ході асиміляції природних багатств, таких як сонячне світло, CO₂ і неорганічні поживні речовини.

5. Для швидкої еволюції штамів можуть використовуватися високопродуктивні технології, з урахуванням того, що морські водорості є одноклітинними організмами, що розмножуються шляхом поділу. Це може скоротити процеси, які займають роки у сільськогосподарських рослин, до кількох місяців у водоростей.

6. Урожайність водоростей на одиницю площі значно вища, ніж у наземної біомаси.

7. Їх можна вирощувати на землі, яка не використовується для традиційного сільгосппризначення, і вони дуже ефективні при видаленні

поживних речовин із води. Таким чином, виробництво біопалива з водоростей зводить до мінімуму використання землі, порівняно з наземними рослинами.

8. Мікроводорості мають велику здатність для зв'язування CO_2 , порівняно з наземною біомасою.

9. Мікроводорості позбавлені геміцелюлози та лігніну і, з цієї причини, можуть відносно легко деполімеризуватися, порівняно з лігноцелюлозною біомасою більшості наземних рослин.

10. Виробничі штами водоростей також можуть бути отримані біотехнологічними способами.

11. Мікроводорості можуть бути вирощені в різних умовах морського середовища, включаючи прісну, солонувату і побутову стічну воду. Здатність мікроводоростей зростати в солонуватих або стічних водах має вирішальне значення для сталого виробництва біопалива, щоб уникнути конкуренції з продовольчими культурами, що вимагають прісну воду та оброблювану землю.

12. Мікроводоростям потрібна нижча швидкість оновлення води, порівняно з тим, як наземним культурам потрібна зрошувальна вода. Вони не потребують застосування пестицидів.

Хоча застосування генної інженерії для збільшення виробництва біопалива та енергетичної продукції з мікроводоростів знаходиться в процесі зародження, останнім часом було досягнуто значних успіхів у розвитку генетичних інструментів за допомогою моделей систем мікроводоростей, які використовуються для управління вуглецевим обміном у цих організмах.

В останні роки робилися спроби поліпшити виробництво водню, переважно методом цілеспрямованої генної інженерії штамів ціанобактерій шляхом покращення активності і надекспресії ферментів, що виділяють H_2 , таких як нітрогенази та гідрогенази.

На відміну від водоростей, ціанобактерії мають добре розроблені генно-інженерні методи для виробництва біопалива першого покоління, включаючи етанол і бутанол. Крім того, ціанобактерії синтезують вільні жирні кислоти (ВЖК), попередників біодизеля, у позаклітинне середовище, спрощуючи

виділення продукту. Це стимулює дослідження ціанобактерій як потенційного джерела біодизельної сировини.

Розробка низки трансгенних штамів, що підвищують експресію рекомбінантних білків, покращують фотосинтез та посилюють метаболізм, відкривають перспективи модифікованих мікроводоростей та інших морських водоростей для створення біопалива. До цього часу морським водоростям, порівняно з наземною біомасою, приділялося менше уваги, однак через невідкладні проблеми у пошуку економічно вигідного відновлюваного палива, а також через проблеми, пов'язані з наземними біопаливними культурами, у розробку біопалива з мікроводоростей вкладаються все більші зусилля та інвестиції.

Існує кілька біотехнологічних компаній, які знаходяться в процесі запуску серійного виробництва біоетанолу з біомаси морських водоростей, у тому числі *Butamax*, *Seaweed Energy Solutions*, *Green Gold Algae i Sciences, Inc.* Оскільки в деяких азіатських країнах добре налагоджено культивування морських водоростей та мікроводоростей, що вирощуються протягом десятиліть для харчових продуктів у комерційних масштабах, спільні зусилля, які можуть об'єднати їх разом з передовими знаннями в галузі перетворення біомаси морських водоростей у біопаливо, будуть корисні для сприяння розвитку цього напрямку. Так, наприклад, *Novozymes* співпрацює з індійською компанією *Sea Energy* для розробки процесу отримання біоетанолу з морських водоростей, причому перша компанія фокусується на розвитку процесу біоконверсії, а друга ділиться своїми знаннями про культивування прибережних морських водоростей.

Біопаливо, що виробляється з мікроводоростей, є одним із завдань у галузі енергетичної безпеки, оскільки у перспективі воно може замінити традиційні викопні види палива. У комбінації із заходами щодо ефективності використання енергії та економії, а також із обґрунтованими змінами у поведінці споживачів, вони можуть бути корисними для енергетичної потреби у найближчому майбутньому.

Контрольні питання

1. Вкажіть напрямки, за якими здійснюються дослідження технологій отримання ефективних джерел біомаси для біоенергетики.
2. Вкажіть переваги виробництва біопалива з біомаси мікроводоростей.
3. Які труднощі виникають під час виробництва біоетанолу з рослинної сировини?
4. За допомогою яких процесів відновлювану біомасу можна перетворити на водень?
5. З яких етапів складається процес виробництва біогазу?
6. Чому технологія утилізації біомаси гною за допомогою метанового бродіння може бути прикладом майже безвідходного виробництва?
7. Вкажіть переваги та недоліки у виробництві та використанні біодизелю?
8. В які види палива та продуктів можна перетворити біомасу мікроводоростей?

10. НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ

Нанотехнологія – сукупність методів і прийомів маніпулювання речовиною на атомному та молекулярному рівнях з метою виробництва кінцевих продуктів із заздалегідь заданою атомною структурою. Нанотехнології забезпечують можливість контрольованим чином створювати та модифікувати об'єкти, що включають компоненти з розмірами менше 100 нм, що мають принципово нові якості та дозволяють здійснювати їхню інтеграцію у повноцінно функціонуючі системи більшого масштабу.

Наноматеріали – матеріали, що містять структурні елементи, геометричні розміри яких хоча б в одному вимірюванні не перевищують 100 нм, і володіють якісно новими властивостями, функціональними та експлуатаційними характеристиками (рис. 117).

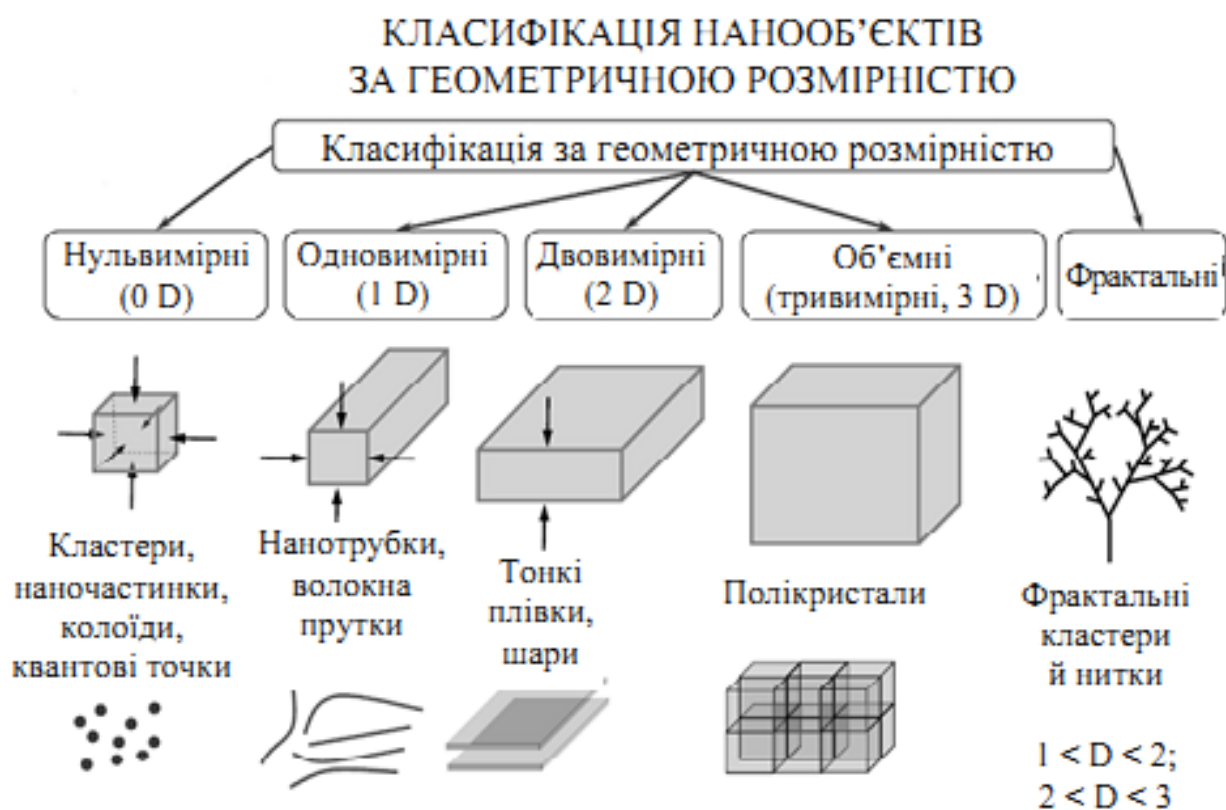


Рис. 117. Класифікація нанооб'єктів за розмірністю

Нанотехнології – науково-дослідні розробки на атомарному, молекулярному або макромолекулярному рівнях із субнанометровою шкалою

по одній або більше координатах для забезпечення фундаментального розуміння явищ і властивостей матеріалів за таких розмірів і для виготовлення та використання структур, приладів і систем, які мають нові властивості і функції внаслідок їх малих розмірів.

Наноструктури – це об’єкти, розміри яких мають діапазон 0,1–100 нм. За розмірністю нанооб’єкти поділяють на нуль-, одно-, дво-, тривимірні, фрактальні. Нанооб’єкти можуть бути такими, як показано на рис. 118:

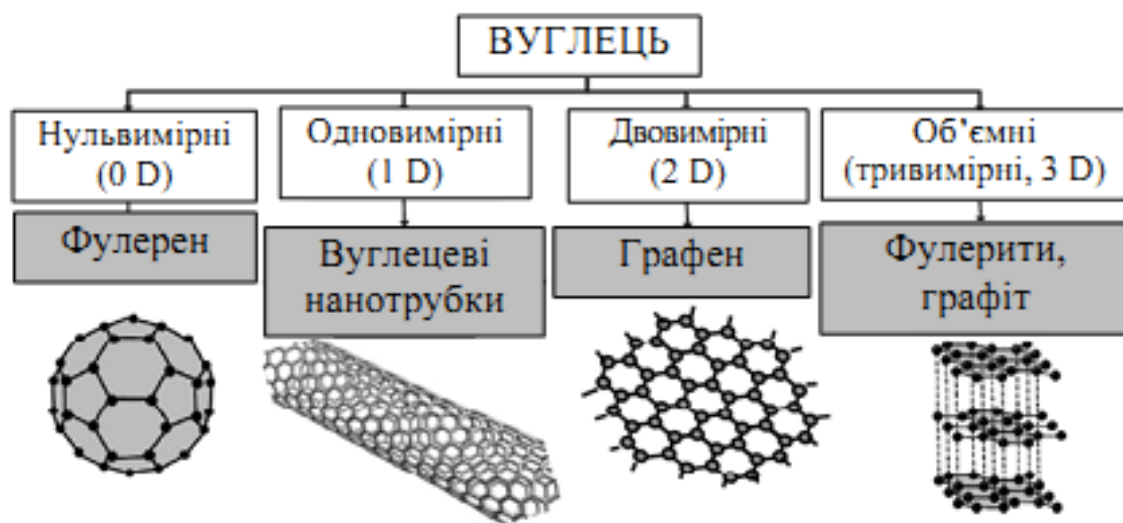


Рис. 118. Класифікація нанооб'єктів за структурою

Кластери – хімічні сполуки, що містять ковалентний зв'язок між атомами або молекулами. Відомі «гігантські кластери», що містять до 1000 атомів.

Наночастинки мають розміри 1–100 нм (нанокристали та нанопорошки).

Квантові точки – фрагменти провідника або напівпровідника.

Нанотрубки – структури циліндричної форми діаметром від одного до декількох десятків нанометрів, довжиною до декількох сантиметрів (у вузлах атоми вуглецю, оксиди d-елементів), можуть бути одношаровими або багатшаровими, а також прямими, зубчастими, спіральними, зигзагоподібними.

Віскери (від англ. whisker – волосся, шерсть, «вуса», неорганічні волокна) – ниткоподібні кристали діаметром 1-10 мкм і зі співвідношенням довжини до діаметра понад 1000.

Фулерени – вуглецеві молекулярні кластери з парних 20 або більше атомів вуглецю, які створюють три зв'язки один з одним. Кристалічні фулерени і плівки з них являють собою напівпровідники, характеризуються фотопровідністю при опроміненні світлом. Кристали C_{60} , леговані атомами лужних металів, мають металеві властивості. Сферична форма фулеренів поряд з твердістю дозволяють використовувати їх як високоефективне тверде мастило.

Фулерити – молекули C_{60} , які утворюють кристал з центрованою кубічною ґраткою, слабкими міжмолекулярними зв'язками. У кристалі є октаедричні та тетраедричні порожнини, у яких можуть міститися сторонні атоми.

Графен – шар атомів вуглецю товщиною в один атом, з'єднаних в гексагональну двовимірну кристалічну ґратку. Натепер – це найтонший матеріал, відомий людству.

Батьком нанотехнології можна вважати грецького філософа Демокріта. Приблизно 400 р. до н.е. він уперше використав слово «атом», що в перекладі з грецької означає «нерозколювані», для опису найменшої частинки речовини.

Прикладом першого використання нанотехнологій можна назвати винахід у 1883 році фотоплівки Джорджем Істменом, який згодом заснував відому компанію Kodak.

Один нанометр (від грецького «нано» – карлик) дорівнює одній мільярдній частині метра. На цій відстані можна розташувати приблизно 10 атомів. Мабуть, першим ученим, який використовував цю одиницю виміру, був Альберт Ейнштейн, який у 1905 р. теоретично довів, що розмір молекули цукру дорівнює одному нанометру.

Започаткував розвиток нанотехнології американський фізик, лауреат Нобелівської премії Р. Фейнман у 1959 році, висловивши припущення, що в майбутньому багато матеріалів та пристроїв будуть виготовлятися на атомарному або молекулярному рівні і це допоможе отримувати матеріали з небаченими досі властивостями (рис. 119).

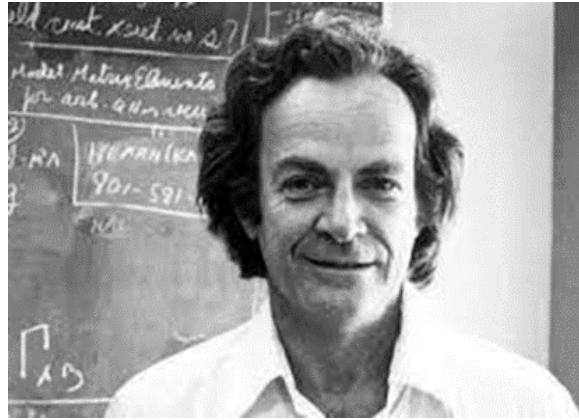


Рис. 119. Американський фізик Річард Філіпс Фейнман

Однак термін «нанотехнологія» уперше ввів професор Токійського університету Н. Танігучі в 1974 р. у своїй доповіді «Про основні концепції «нанотехнології». Н. Танігучі запропонував називати структури розмірами від 1 до 100 нанометрів «наночастинками», а методи їх отримання – нанотехнологіями.

На сьогодні наукові дослідження в галузі нанотехнологій визнані пріоритетними в усьому світі та прогрес пов'язаний з розробкою наноматеріалів для електронної, автомобільної, аерокосмічної промисловості та особливо медицини, набуває все більшої масштабності (рис. 120).



Рис. 120. Пріоритетні сфери застосування нанотехнологій

Це дало розвиток таким напрямам в галузі науки, як наноелектроніка, наномедицина, нанофармакологія та нанобіотехнологія.

Нанобіотехнологія – це міждисциплінарна галузь, що охоплює широкий та різноманітний спектр технологій, що надходять з інженерної сфери, фізики, хімії та біології. Саме поєднання цих областей призвело до народження нового покоління матеріалів та методів їх створення. Сфера їхнього застосування величезна, і кожен день ми відкриваємо для себе нові області нашого повсякденного життя, де вони можуть знайти застосування. Нанобіотехнологія має широку сферу застосування: від технології «лабораторій на чіпі» до нанобіосенсорів, від нанодіагностики до сучасних засобів характеристики та візуалізації, від інтелектуальної доставки ліків до штучних біоконструкцій, від функціональних наноструктурних поверхонь до інтелектуальних матеріалів та нанофлюїдів (рідина, що містить нанорозмірні частинки) (табл. 6).

Таблиця 6

Основні напрямки розвитку нанобіотехнології

Галузь	Конкретні приклади
Медицина	Доставка лікарських препаратів і генів усередину клітини, використання ферментів і мікроорганізмів при виробництві складних ліків, синтез нових антибіотиків, діагностика й мікро- /нанохірургія, розробка біосумісних поверхонь контакту й матеріалів для протезування й імплантації
Генна інженерія	Секвенування й модифікація ДНК
Сільське господарство	Одержання нових штамів мікроорганізмів, нові методи селекції рослин і тварин (включаючи клонування)
Харчова промисловість	Створення нових методів переробки й зберігання харчових продуктів, синтез білка з одноклітинними організмами
Хімічна промисловість	Нові ефективні каталізатори, мембранні технології
Контроль за навколишнім середовищем	Удосконалення методів тестування й моніторингу, засобів детектування й боротьби з хімічною й біологічною зброєю, технології переробки й утилізації відходів
Енергетика	Нові види палива, способи його одержання, зберігання й використання
Наноелектроніка	Сенсорика, біочіпи, інформаційні технології
Матеріалознавство	Вилуження руд, біосинтез, біорозкладання

Біологія та нанотехнології мають безліч перетинів. Біологічні системи складаються з нанорозмірних будівельних блоків (рис. 121). Їх організація та принципи роботи становлять непочатий край нових підходів та структур для нанотехнологій.

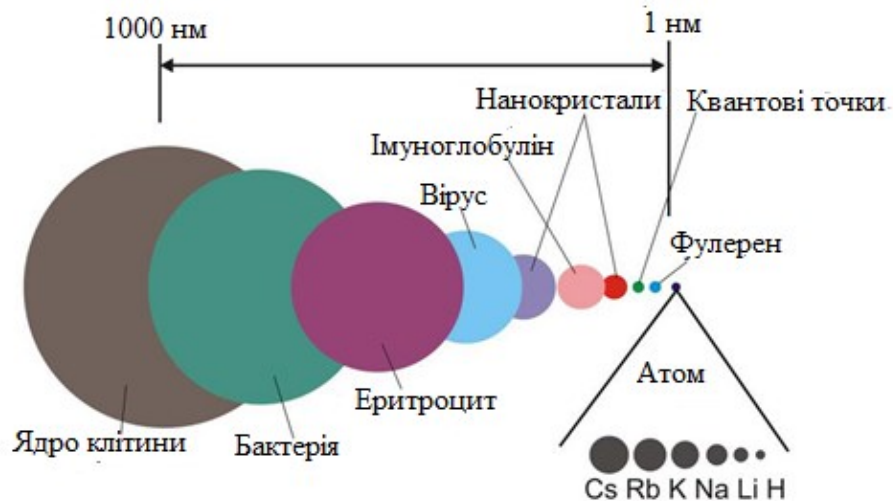


Рис. 121. Розміри типових об'єктів у нанобіотехнології

Водночас нанотехнології забезпечують біологію інструментарієм та технологіями для вивчення організації живого на молекулярному рівні. Пропорційність біологічних структур та штучних наноматеріалів, з одного боку, може визначати біологічні та токсичні властивості останніх. З іншого боку, біологічні структури можуть використовуватися для конструювання нових наноустроїв (рис. 122).

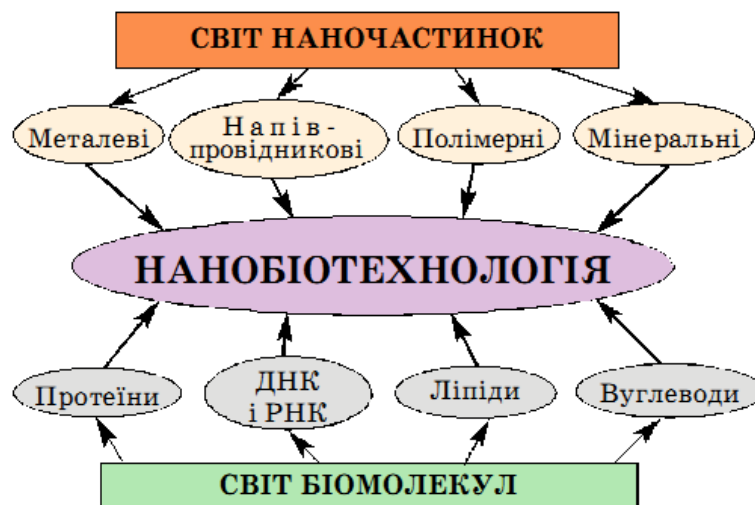


Рис. 122. Взаємодія двох світів – наночастинок і біомолекул

Світовий ринок нанотехнологій, за даними аналізу звіту «Глобальна індустрія нанотехнологій», підготовленого аналітиками консалтингової компанії *Reportlinker.com*, як очікується, досягне 126,8 млрд доларів до 2027 року (рис. 123).

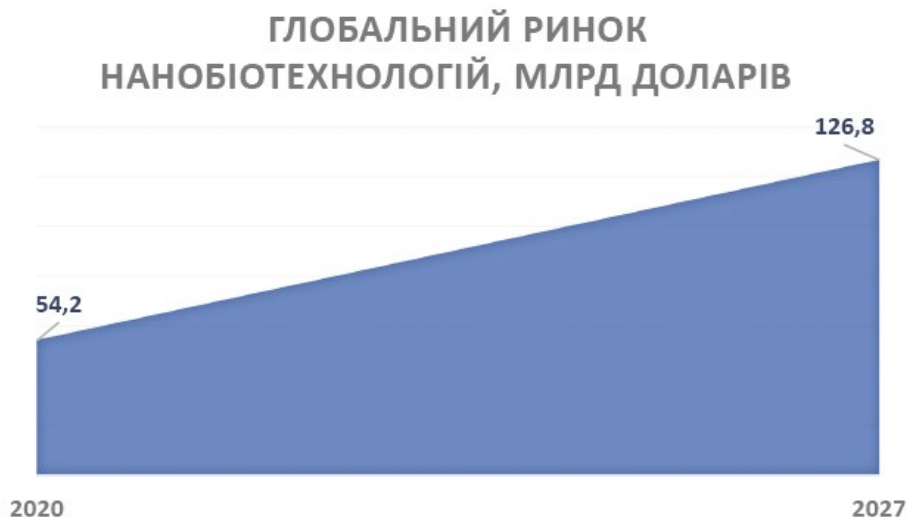


Рис. 123. Прогноз розвитку глобального ринку нанобіотехнологій

Навіть на тлі кризи COVID-19 глобальний ринок нанотехнологій у 2020 р. вже становив 54,2 млрд доларів США. За оцінками, ринок нанотехнологій у США у 2020 році складав 16 млрд доларів США. У Китаї, що є другою за величиною економікою у світі, до 2027 р. прогнозований обсяг ринку досягне 22,1 млрд доларів. Серед інших вартих уваги ринків можна назвати Японію та Канаду, де прогнозується зростання на 11,4 та 11,0% відповідно за період 2020-2027 рр. У межах Європи, в Німеччині ринок нанотехнологій зросте приблизно на 9,4%.

Нанобіотехнологія має три напрями розвитку: нанобіотехнологія живих систем, «напівсинтетична» та «синтетична».

Перший напрям — нанобіотехнологія живих систем — надання живим системам особливих властивостей для забезпечення оптимальних ефективних життєздатних функцій. Для цього проводять спрямовану модифікацію або навіть технологічний цикл із застосуванням наночастинок. Дуже часто для цього останнім часом використовують мікроорганізми, як продуценти наноматеріалів.

Другий напрям – «напівсинтетична» нанобіотехнологія. Використання біополімерів: білків, нуклеїнових кислот, інших молекул і їх комплексів для створення різних пристроїв (сенсорів, біомоторів, ін.). Далі з використанням принципів самоскладання або синтезу органічних і неорганічних молекул можуть бути створені нанопристрої, що виконують суворо визначені функції копійованої біологічної структури. Можливе і створення біокомп'ютерів на основі процесів самоскладання макромолекул. Такі біокомп'ютери можна буде застосовувати для діагностики захворювань.

Третій напрям – «синтетична» нанобіотехнологія, попередниця технологій створення пристроїв, призначених для виправлення молекулярних помилок і первинної діагностики стану організму, тканин, клітин. Тут передбачається використання явища самоскладання або синтезу органічних і неорганічних молекул для створення пристроїв з численних атомів, упорядкованих один відносно одного.

Живі об'єкти використовують у нанобіотехнологічних цілях для формування в природних біореакторах – бактеріальних клітинах – різних наночастинок (магнітних, квантових точок та ін.). Наприклад, синтез частинок магнетиту Fe_3O_4 клітинами магнетотактильних бактерій *Magnetospirillum magneticum*. Розміри наночастинок залежать від умов культивування бактерій. Дотепер уже визначені послідовності генів відповідальних за синтез наночастинок. Тому, використовуючи методи генної інженерії, також можна спрямовано впливати на параметри сформованих наночастинок. Такі наночастинки можуть застосовуватися в діагностикумах з використанням імунохімії, у системах розділення клітин – клітинній сепарації, виділення нуклеїнових кислот, контролю за адресною доставкою ліків, локальній гіпертермії. Крім того, можливе застосування таких наночастинок для завдань атомно-силової мікроскопії. І такий приклад синтезу наночастинок *in vivo* не єдиний. Тепер можна створювати бактеріальним синтезом наночастинки, що складаються з таких металів, як кадмій і лантан.

Зазвичай нанобіотехнологи використовують не лише окремі молекули, але й великі молекулярні ансамблі (наприклад, віруси), що формуються шляхом самоскладання. Класичний приклад – вірус тютюнової мозаїки, що здавна був одним з улюблених об'єктів вірусологів. Він є симетричним паличкоподібним білковим капсидом (циліндр), що складається з понад двох тисяч однакових білкових молекул, укладених по спіралі. Усередині вірусного капсиду є порожнина, в якій розміщена молекула рибонуклеїнової кислоти. Таку вірусну структуру можна використовувати як наноконтейнер для інших наночастинок, передусім металів. Також дуже перспективним є застосування наноструктур для доставки ліків.

У «напівсинтетичній» біотехнології використовують біополімери як «будівельні блоки» для нових пристроїв. Тут найбільш важливі два основні класи біополімерів – білки і нуклеїнові кислоти. Білки – основні компоненти молекулярних машин, структура і функції яких «відточувалися» у ході сотень мільйонів років еволюції. Поступальна лінійна хода – прерогатива таких білків, як міозин і кінезин. Важливо і те, що дослідники вже уміють «вмикати» і «вимикати» роботу подібних моторів, наприклад, бактеріальних джгутиків. Головна особливість нуклеїнових кислот – здатність їх ділянок до взаємного пізнання, взаємодії та комплементарності. Принцип комплементарності – фундаментальний для робіт зі створення наноконструкцій на основі молекул нуклеїнових кислот. Молекули ДНК або їх фрагменти можуть бути використані як будівельні матеріали. «Будівельні блоки», у яких будуть використані полідезоксирибонуклеозидфосфати або модифіковані азотисті основи, дадуть змогу не лише створювати структури певної форми і розміру, але й перейти до проектування та створення об'ємних наноконструкцій. До речі, саме властивості молекул нуклеїнових кислот і дозволили розробляти на їх базі біокомп'ютери, що складаються з молекули ДНК, які використовуються як програма, і допоміжних ферментів. Швидкість обчислень цього пристрою – декілька сотень трильйонів операцій за секунду. Вражає розрахункова щільність пакування інформації, що «записується» у молекулах нуклеїнових

кислот: один кубічний сантиметр розчину ДНК містить інформації стільки ж, скільки трильйон музичних CD дисків.

Велика сфера нанобіотехнологічних розробок – діагностичні системи. У зв'язку з появою нових властивостей діагностичних пристроїв – багатопараметричності, мініатюризації – інтереси ринку діагностикумів до нанотехнологій стабільно ростуть, залучаючи до процесу суміжні технології – мікрофлюїдні технології, мікро- і нанoeлектроніку, зондову мікроскопію, техніку спектрального аналізу одиничних молекул. Найбільш характерний приклад – створення нових технологій секвенування молекул ДНК. Швидкі, економічні і, головне, достовірні способи визначення послідовностей нуклеотидів у їх складі потрібні як медикам, так і фахівцям з генотипування організмів, криміналістам та ін.

З розвитком нанобіотехнології тісно пов'язаний якісно новий напрям медичної науки – молекулярна наномедицина. Основні дослідження цієї галузі полягають у вивченні і створенні: лабораторій на чипі, адресної доставки ліків до уражених клітин, нових бактерицидних та противірусних засобів та діагностики захворювань за допомогою квантових точок.

Розвиток наномедицини тісно пов'язаний з революційними досягненнями геноміки та протеоміки, які дозволили вченим наблизитися до розуміння молекулярних основ хвороб. Наномедицина розвивається там, де дані геноміки та протеоміки поєднуються з можливостями, що дозволяють створити матеріали з новими властивостями на нанометровому рівні. Це потребує лабораторій на чипі, які можуть проводити діагностику як *in vivo* (для імплантації їх в організм), так і *in vitro*, а також використання методів діагностики за допомогою квантових точок (у режимі *in vitro*).

Наступна галузь наномедицини дозволить незабаром здійснювати безперебійну доставку ліків всередину організму в потрібному напрямку без втрат агента, який транспортується. Нині саме адресна доставка ліків з усіх напрямів наномедицини розвивається найшвидшими темпами. У цій галузі вже отримані деякі прикладні результати, які можуть сприяти тому, що найближчим

часом майже всі ліки будуть доставлятися саме таким чином, забезпечуючи тим самим більш ефективний вплив на уражену зону всередині організму.

Створення бактерицидних і противірусних засобів на основі нанобіотехнологій та їх використання в медицині дозволить створити принципово нові лікарські засоби на основі наночастинок різного походження. Уже тепер численні наукові колективи усього світу працюють над вивченням і розробленням різних універсальних платформ зі створення різних видів ліків і вакцин. Особлива увага під час вивчення таких основ створення ліків приділяється вірусам як найбільш універсальним, оскільки, використовуючи всього один вірус, можна створити різні ліки і вакцини. Робота з вірусами дає змогу мати ще одну перевагу при використанні таких ліків у боротьбі з вірусними інфекціями і профілактикою їх появи, що дозволить надійно контролювати прояв таких захворювань.

Слід зазначити, що можлива інтеграція або взаємодія наночастинок неорганічної природи з біологічними наночастинками, що зумовлює тим самим появу комбінованих ліків, які мають переваги обох видів наночастинок, забезпечуючи при цьому універсальність і надійність впливу.

Третій напрям нанобіотехнології – «синтетична» нанобіотехнологія. Фулерени є наноконтейнерами для різних органічних сполук, що виявляють противірусну, протиракову та антибактеріальну активність. Наприклад, фулерен C_{60} був застосований для лікування вірусної інфекції та онкологічних захворювань у тварин. Основні напрями використання вуглецевих нанотрубок в біології та медицині пов'язані з їх унікальними механічними та електричними властивостями. Вже освоєно технології іммобілізації ферментів і навіть ферментативних комплексів, що є аналітичним елементом нанобіосенсора на внутрішній і зовнішній сторонах нанотрубки.

Робота ферменту з певним субстратом (наприклад, використання глюкозооксидази) дозволяє створити високочутливий сенсор, що вимірює концентрацію глюкози. Описано різні біохімічні сенсори для визначення отруйних речовин, катіонів та аніонів, антигенів хвороботворних вірусів і

бактерій, а також пріонових білків. Нанотрубки використовуються для забезпечення адресної доставки лікарських сполук, макромолекул (білків, ДНК) до клітин-мішеней. А комбінація нанотрубок з наночастинками з оксидів металів служить підкладкою в культивуванні клітин та створенні прототипів органів і тканин. Крім того, активно розробляються біонаносенсиори з використанням функціоналізованих нанотрубок і металевих нанопроводів. Подібні проєкти мають на увазі іммобілізацію молекул-датчиків (ферментів, антитіл, лектинів і т. ін.) для створення багатопараметричного біосенсора, сумісного з тканинами організму або клітинами в культурі. З нанотрубок вдалося створити міцну прозору тканину. Як вихідний матеріал використовували вуглецеві нанотрубки діаметром 10 нм. Створена тканина перевищує параметри міцної сталі та алюмінієвих сплавів.

Розглянувши теперішній стан розвитку цієї галузі науки, не можна не згадати й про фундаментальні перспективи її розвитку.

Одна з найважливіших перспектив майбутнього розвитку нанобіотехнології – створення ідеальної технічної системи. Під цим поняттям розуміють систему, маса, габарити і енергоємність якої прагнуть до нуля, а її здатність виконувати роботу при цьому не зменшується. Граничний випадок ідеалізації техніки полягає у зменшенні її розмірів (аж до повного «зникнення») з одночасним збільшенням кількості виконуваних нею функцій.

В ідеалі – технічного пристрою не повинно бути видно, а функції, потрібні людині і суспільству, мають виконуватися. Таким прикладом можуть бути біонанороботи і різні біологічні конструкції нанометрового розміру; стане можливим створювати роботизовані технічні системи з використанням у їх конструкції біологічних елементів; побудова нейроелектронної системи свідомості, яка буде являти собою взаємодію центральної нервової системи і штучного інтелекту.

Принципова можливість об'єднання біологічних і електронних компонентів може реалізуватися завдяки нейроелектричним інтерфейсам – пристроям, що дозволяють з'єднувати комп'ютери з нервовою системою.

Існують два терміни «біонанотехнологія» та «нанобіотехнологія». Є суттєва різниця у двох цих з першого погляду однакових термінах, хоча часто вони використовуються у взаємозамінному порядку (рис. 124).



Рис. 124. Застосування нанобіо- та біонанотехнологій

Біонанотехнологія – це використання біологічних будівельних блоків, а також біологічних специфічності та активності в нанотехнології, що розвивається.

Нанобіотехнологія – застосування нанотехнологічних прийомів для розвитку та покращення біотехнологічних методів та продуктів.

Біонанотехнологія має на увазі застосування біологічних збірок для вирішення різноманітних проблем. До біонанотехнології в основному відноситься розгляд питань про те, як можна вирішувати завдання нанотехнології через вивчення роботи біологічних машин та адаптацію цих біологічних закономірностей для покращення існуючих нанотехнологій або створення нових.

Біонанотехнологія може дозволити, наприклад, модифікувати ДНК, білки, меланіни та інші макромолекули для потреб наноелектроніки та наноелектрохімії.

Нанобіотехнологія – це використання нанонаук для вирішення біологічних завдань. До нанобіотехнології належить: створення пристроїв для вивчення біологічних систем; наносенсорів, що працюють у реальному часі; нанорозмірних матриць для контролю за виробництвом ліків; питання тканинної інженерії та репарації тканин; створення та конструювання нанороботів. Інакше кажучи, нанобіотехнологія – це значно зменшена біотехнологія, а біонанотехнологія – специфічне застосування нанотехнології.

Біоміметичні наноматеріали, або біоміметики – штучні наноматеріали, що імітують властивості біоматеріалів або створені на основі принципів, реалізованих у живій природі. Звернення до біологічних прикладів, що надихають інженерів на створення нових матеріалів і технологій, базується на припущенні, що за мільярди років еволюції природа створила оптимальні живі конструкції, які перевершують ефективність та довговічність конструкцій, що створені людиною. Так, вивчення «ефекту лотоса», тобто властивості листя лотоса не змочуватися дощовою водою та відштовхувати бруд за рахунок своєї мікро- та наноструктурованої поверхні, призвело до створення водовідштовхувальних фарб та тканин. Полімерні нановолокна, що мають міцність, порівняну з міцністю сталі, були створені на основі біологічного прикладу – павутини, нитки якої витримують втричі більший розтяг, ніж сталевий дріт такого ж діаметра.

Багато біомолекул мають властивість самоскладання в регулярні структури, наприклад, скоротливий білок актин полімеризується в філаменти товщиною 7 нм, а білок тубулін – в мікротрубочки діаметром 25 нм. Використання принципу самоскладання та самих біоструктур як матриць дозволяє створювати нанопровідники та нанотрубки шляхом осадження на біополімери моношарів металів.

Принцип комплементарності, що лежить в основі збирання молекул ДНК, використовується в ДНК-конструюванні нових наноматеріалів. Знання про структуру та функції біологічних молекул дають можливість синтезувати гібридні молекули, що включають пептиди, ліпіди, органічні полімери, і створювати біоміметичні нановолокна, біонеорганічні композити і нанопористі покриття для тканинної інженерії.

Можливості нанобіотехнології. Нанобіотехнології відкривають практично нічим не обмежені можливості та горизонти у сфері виробництва якісно нових матеріалів з приголомшливими фізико-хімічними властивостями. Хоча зараз у нашому розпорядженні є засоби для маніпуляцій окремими атомами, навряд чи їх можна «безпосередньо» застосовувати для того, щоб зібрати щось практично необхідне: вже хоча б тільки через кількість атомів, які доведеться «монтувати». Нанотехнологічний контроль виробів і матеріалів, буквально лише на рівні атомів, у деяких галузях промисловості став звичайними справою. Реальний приклад – DVD-диски, виробництво яких було б неможливим без нанотехнологічного контролю матриць.

Завдання, що стоять перед нанобіотехнологіями в окремих галузях життєдіяльності:

Медицина: Проблема застосування нанотехнологій у медицині полягає в необхідності змінювати структуру клітини на молекулярному рівні, тобто, здійснювати молекулярну хірургію за допомогою нанороботів. Нанороботи, або молекулярні роботи, можуть брати участь (як поряд з генною інженерією, так і замість неї) у перепроєктуванні геному клітини, зміні генів або додаванні нових для вдосконалення функцій клітини.

Створення молекулярних роботів-лікарів, які «існували» б усередині людського організму, дозволить усунути всі виникаючі ушкодження, або запобігти виникненню таких, включаючи генетичні ушкодження. Розвиток нанобіотехнології дасть змогу ретельно вивчити процеси, що протікають усередині клітин організму. Є великі підстави вважати, що точне знання того, як функціонують клітини, дозволить створити наномашини, які ліквідують

негативні зміни, що відбуваються в клітинах і тканинах живого організму з часом. Можливо, вдасться переробити програму, записану в ДНК, так, щоб вимкнути старіння і поліпшити генетичні параметри організму. Тоді функції регулюючих наномашин візьмуть на себе органели клітини.

Геронтологія: Досягнення особистого безсмертя людей за рахунок впровадження в організм молекулярних роботів, що запобігають старінню клітин, а також перебудови та «облагороджування» тканин людського організму. Маніпулюючи окремими атомами та молекулами, нанороботи зможуть здійснювати ремонт клітин, зупиняти старіння. Нанобіотехнології – як кардинальне вирішення проблеми старіння – є більше, ніж перспективною.

Промисловість: Заміна традиційних методів виробництва збиранням молекулярними роботами предметів споживання безпосередньо з атомів та молекул. Аж до персональних синтезаторів та копіювальних пристроїв, що дозволяють виготовити будь-який предмет. Для збирання атомів та молекул у субклітинні конструкції планується використовувати нанороботів. Будь-яку хімічну стабільну структуру, що піддається опису, можна сконструювати. Оскільки наноробота можна запрограмувати для будівництва певної структури, зокрема, для будівництва іншого наноробота, вони будуть дуже дешевими. Працюючи групами, нанороботи зможуть створювати різні об'єкти з невеликими витратами та високою точністю. За допомогою механоелектричних наноперетворювачів можна буде також перетворювати будь-які види енергії з великим ККД та створити ефективні пристрої для отримання електроенергії із сонячного випромінювання з ККД близько 90%.

Сільське господарство: Інноваційні наноматеріали й нанотехнології вже починають застосовувати майже у всіх галузях сільського господарства. Це, зокрема, рослинництво, тваринництво, рибництво і ветеринарія. Досить перспективним напрямом є харчова переробна промисловість, а також сучасне сільськогосподарське машинобудування. У переробній промисловості перспективним напрямом є створення нових методів переробки й зберігання харчових продуктів.

До переліку нанотехнологій, які розробляють для потреб сільського господарства, можуть належати: нанорозмірні носії, нанолігноцелюлозні матеріали, вуглецеві нанотрубки, нанобіосенсиори й ін. Наномасштабні носії можна використовувати для ефективної точної доставки добрив, пестицидів, гербіцидів і регуляторів росту до рослин. В основі принципу їх функціонування покладено підхід, що допомагає запобігти надлишковому внесенню та використати тільки ту кількість, що буде корисною для розвитку рослин, тим самим також зменшуючи негативний вплив хімічних речовин на навколишнє середовище.

Заміна «природних машин» виробництва їжі (рослин та тварин) їх штучними аналогами – комплексами з молекулярних роботів. Вони відтворюватимуть ті ж хімічні процеси, що відбуваються в живому організмі, проте більш коротким і ефективним шляхом. Наприклад, з ланцюжка «грунт – вуглекислий газ – фотосинтез – трава – корова – молоко» буде видалено всі зайві ланки. Залишиться «грунт – вуглекислий газ – молоко (сир, масло, м'ясо – все, що завгодно)». Чи варто говорити про те, що подібне «сільське господарство» не залежатиме від погодних умов і не потребуватиме важкої фізичної праці. А продуктивності його вистачить, щоб вирішити продовольчу проблему раз і назавжди.

Біологія: Нанобіотехнологія надає можливість «втручання» в живий організм на рівні атомів. Наслідки можуть бути різними – від «відновлення» вимерлих видів до створення нових типів живих істот, біороботів.

Розробка технології білкових біочипів, що замінюють цілі імунологічні лабораторії, дасть можливість у тисячі та десятки тисяч разів збільшити продуктивність більшості діагностичних методів та різко знизити собівартість аналізів. Залежно від виду використовуваних макромолекул, виділяють різні види біочипів, призначених для певних цілей. Основна частка біочипів, що виробляються нині, це ДНК-чипи (94%), тобто матриці, що несуть молекули ДНК, 6% – білкові чипи. Біочипи являють собою матрицю – крихітну платівку зі стороною 5-10 міліметрів, на яку можна нанести до кількох тисяч різних

мікротестів, її ще називають «платформою». Найчастіше використовують скляні чи пластикові платформи, куди наносяться біологічні макромолекули (ДНК, білки, ферменти), здатні вибірково зв'язувати речовини, які присутні у розчині, що аналізують. Цей незвичайний пристрій дозволяє за короткий час визначати кілька тисяч різних біологічно активних речовин та навіть генетичних дефектів.

Технологія біочипів – новий напрямок у системі сучасних діагностичних методів. Вона вже зараз застосовується в біології, медицині, ветеринарії, сільському господарстві, криміналістиці, охороні навколишнього середовища, токсикології та інших сферах діяльності людини. Нова методика дозволяє аналізувати найрізноманітніші зразки органічного походження. Нині у світі у цьому напрямі працює понад 50 фірм. Ринок оцінюється у десятки мільярдів доларів.

Розроблено біочипи, які застосовуються для вирішення цілком конкретних завдань: діагностики віспи, холери, гепатиту, СНІДу, виявлення інших особливо небезпечних інфекцій, вірусологічного аналізу крові тощо. Біочипи можуть протягом доби аналізувати мутації та знаходити форми туберкульозу, стійкі до певних антибіотиків. Діагностика за допомогою традиційної методики вимагає для цього 5-6 днів. Ще одна можлива сфера застосування біочипів – діагностика лейкозів, спричинених хромосомними перебудовами в ядрах клітин кровотворної тканини. Створюються біочипи, що дозволяють ефективно ідентифікувати збудників сибірки, чуми та інших захворювань з так званого «джентльменського» набору біотерориста.

Створення біочипів та біологічних комп'ютерів на їх основі дозволить як обробляти наявну інформацію, так і у ході експериментів над складними біологічними системами отримувати нову. Наприклад, зараз американська фірма «Аффіметрікс» створила біочипи, що дозволяють вивчати активність всіх генів людини. Те саме можна робити на тваринах. Тобто, створивши генетичний портрет індивіда, можна зрозуміти, який ген на що впливає. Одне з

практичних застосувань цієї технології – з'ясування того, як діють і чи діють взагалі ті чи інші ліки на хворого.

Екологія: Повне усунення шкідливого впливу діяльності людини на довкілля. По-перше – за рахунок насичення екосфери молекулярними роботами-санітарами, що перетворюють відходи діяльності людини на вихідну сировину, а по-друге – за рахунок переведення промисловості та сільського господарства на безвідходні нанотехнологічні методи. Утилізація відходів та глобальний контроль за системами на кшталт «recycling» дозволить суттєво збільшити сировинні запаси людства. Стануть можливими глобальний екологічний контроль, погодний контроль завдяки системі взаємодіючих нанороботів, що працюють синхронно. Що стосується сировинної проблеми, то для будівництва більшості об'єктів нанороботи використовуватимуть кілька найпоширеніших типів атомів: вуглець, водень, кремній, азот, кисень, сірка та ін. у малих кількостях. З освоєнням людством інших планет проблему сировинного постачання буде вирішено.

Освоєння космосу: Очевидно, освоєнню космосу «звичайним» чином передуватиме освоєння його нанороботами. Величезна армія роботів-молекул буде випущена в навколосемний космічний простір і підготує його для заселення людиною – зробить придатним для проживання Місяць, астероїди, найближчі планети, збудує з «підручних матеріалів» (метеоритів, комет) космічні станції. Це буде набагато дешевше та безпечніше існуючих нині методів.

Кібернетика: Відбудеться перехід від існуючих планарних (плоских) структур до об'ємних мікросхем, розміри активних елементів зменшуються до розмірів молекул. Робочі частоти комп'ютерів досягнуть терагерцових величин. Отримають поширення схемні рішення на нейроноподібних елементах. З'явиться швидкодіюча довготривала пам'ять на білкових молекулах, ємність якої вимірюватиметься терабайтами. Стане можливим «переселення» людського інтелекту в комп'ютер.

Розумне місце існування: За рахунок впровадження логічних нанoeлементів у всі атрибути навколишнього середовища, воно стане «розумним» і винятково комфортним для людини.

В Україні останніми роками університети та інститути НАН України виконують основні наукові програми з дослідження нанотехнологій. У 2009 р., завдяки ініціативам Національної академії наук України, була започаткована державна цільова науково-технічна програма «Нанотехнології та наноматеріали» на 2010-2014 роки, згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 1231 від 28 жовтня 2009 р. Запланована сума фінансування становила близько 2 млрд гривень на 5 років. Національна академія наук України активно залучалися до процесу впровадження цієї програми і наукові інститути створили низку успішних розробок та унікальних нанотехнологій, особливо в галузі нанокомпозитів. Однак, порівняно з високорозвиненими країнами, обсяги фінансування дослідження нанотехнологій в Україні та їхнє подальше впровадження у промисловість знаходиться на дуже низькому рівні. Тому Національна академія наук України ініціювала виконання цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми створення нових наноматеріалів та нанотехнологій» на 2015-2019 роки. Аналіз діяльності наукових інститутів НАН України, залучених до цієї програми, показав, що найвищий потенціал знаходиться у сферах нанофізики, нанобіотехнологій та нанохімії. Серед перспективних досліджень, які проводять українські науково-дослідні інститути за державної підтримки, можна виділити нанотехнології, що вже знайшли практичне застосування, а саме це: високонаповнені клейові нанокомпозиції типу «Мультиметал» для усунення кавітаційних пошкоджень гідроагрегатів методом «холодного молекулярного зварювання», магнітопроводи трансформаторів, телекомунікаційних систем, осердь вимірювальної апаратури, синтез кальцієвих гідроксоапатиту і фторапатиту як біонаноматеріалів для медицини, установка для очищення висококонцентрованих стічних вод із використанням ультрадисперсних фаз

гідроксидів заліза, технологія отримання нанодисперсного діоксиду цирконію для зносостійких сопел гідрозбивачів окалини, плунжерів шахтних гідронасосів і маслостанцій, технологія виготовлення біоактивних нанокерамічних композитів «Синтекість» для відновлення кісткової тканини після оперативного втручання в хірургії, що одержала дозвіл МОЗ на застосування матеріалів у клінічній практиці.

З метою прискорення розвитку нанобіотехнологічних досліджень у Національній академії аграрних наук України (НААН) її Президією сформовано програму наукових досліджень «Створення і використання нано- і біотехнологічних матеріалів і засобів у тваринництві» на 2016-2020 рр., головною установою якої є Інститут біології тварин (ІБТ) НААН. Крім ІБТ НААН, за цією програмою виконують дослідження Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН, ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича», Буковинська ДСГДС НААН та інші установи. У Відділенні ветеринарної медицини (ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН (ІЕКВМ) та Інститут ветеринарної медицини НААН) вивчаються можливості застосування наносполук у виготовленні імунобіологічних препаратів, вплив наночастинок на збудників хвороб, а також токсикологічна дія наноматеріалів на організм. Виконання завдань програм НААН забезпечить розроблення нанобіотехнологічних матеріалів і засобів, дослідження їх біологічної дії та ефективного використання у тваринництві та ветеринарній медицині. Нині в цих науково-дослідних установах проводять дослідження з визначення механізмів дії наночастинок і наносполук на біологічні ефекти.

В ІБТ НААН у співпраці з Національним університетом «Львівська політехніка» створюють і використовують у дослідженнях полімерні носії псевдополіамінокислот для доставки біологічно активних речовин. Встановлено здатність нанополімера зв'язувати сироватковий альбумін крові. Це є позитивною характеристикою даного полімеру як потенційного транспортера для протеїнів і лікарських засобів, зокрема для створення вакцин, оскільки

протеїни є основними антигенними складниками. Встановлено, що цей нанополімер здатний проникати через мембрану і надходити у статеві клітини.

В Україні здійснюється активна робота над використанням псевдополіамінокислот, як носіїв мінеральних речовин, для створення преміксів і кормових добавок для тваринництва. Наночастинки можуть переносити фізіологічно активні речовини, ксенобіотики і лікарські засоби у клітини-мішені, як основи розвитку патологічного процесу. Завдяки наноструктуризації зменшується розмір лікарської форми і підвищується вміст активної речовини у крові.

Українськими вченими доведено можливість трансмембранного транспортування нанорозмірних комплексів і частинок у клітини бактерій, що здатні до вибіркового акумулювання колоїдних частинок Au, а також визначено молекулярні структури і механізми, відповідальні за цей процес.

В Інституті ветеринарної медицини НААН використовують наночастинки Ag для знищення патогенних мікроорганізмів, а в Інституті бджільництва НААН проводять дослідження протигрибкових і протибактеріальних властивостей двох препаратів – шумерське срібло (Ag і Cu) та йодоселен (I і Se).

В Україні вперше розроблено нанотехнологію отримання водних розчинів більшості біотичних елементів, які не синтезувалися хімічними методами. Наноаквахелати можуть бути використані в сільському господарстві, у харчовій промисловості, медицині, геронтології, для збагачення кормових, харчових і біологічно активних добавок.

В установах НААН проводяться дослідження з використання наноаквацитратів макро- і мікроелементів. За умов *in vitro* проведено оцінку біологічної активності цитратів Fe, Cu, Zn, Mg, отриманих методом нанотехнології. Досліджено їхній вплив на культури клітин і білки крові людини (альбуміни, імуноглобуліни).

В Інституті розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН уперше в Україні розроблено технологію збереження та раціонального використання генетичних ресурсів вітчизняних порід свиней із застосуванням наноматеріалів на основі високодисперсного кремнезему та цукрози.

За останні роки на вітчизняному ринку активно почала з'являтися продукція на основі застосування нанобіотехнологій. Зокрема, як приклад, можна навести органічні нанодобрива, які дуже ефективно і швидко забезпечують надходження необхідних поживних речовин до рослин, мають високий коефіцієнт засвоєння, а також стимулюють розвиток потужної кореневої системи, покращують якісний склад ґрунтів. Виробництво цих добрив, зокрема, здійснюють ТОВ НВП «5 *ELEMENT*», компанія «Наномікс».

Нанобіотехнологія є одним з найважливіших напрямів у біологічній науці, тваринництві та ветеринарній медицині, сучасному аграрному виробництві, а також харчовій промисловості, що може стати важливою основою подальшого науково-технічного, економічного та соціального розвитку України в найближчому майбутньому.

Нанобіотехнології можуть стати надійним джерелом патентоспроможних технологій, що дають прибуток державам і приватним компаніям. Вони сприятимуть розвитку науково-технічного потенціалу, що забезпечує здоров'я нації, її біобезпеку, контроль за поширенням інфекційних і соматичних захворювань. Таким чином, сьогодні нанотехнології та біотехнології стають усе більш реальним інструментом у розв'язанні глобальних проблем, зокрема й продовольчої.

Ключові технології та матеріали завжди відігравали вагому роль в історії цивілізації, виконуючи не лише вузьковиробничі функції, а й соціальні. Досить згадати, як суттєво відрізнялися кам'яне і бронзове століття, століття пари і століття електрики, атомної енергії та комп'ютерів. На думку багатьох експертів, ХХІ ст. буде століттям нанонауки та нанотехнологій, які й визначать його обличчя. Вплив нанотехнологій на життя обіцяє мати загальний характер, змінити економіку та торкнутися всіх сторін побуту, роботи, соціальних відносин. За допомогою нанотехнологій ми зможемо заощаджувати час, отримувати більше благ за меншу ціну, постійно підвищувати рівень та якість життя.

Контрольні питання

1. Яка існує класифікація нанооб'єктів за розмірністю?
2. Яка існує класифікація нанооб'єктів за структурою?
3. З яким спектром технологій пов'язана нанобіотехнологія?
4. Яку сферу застосування має нанобіотехнологія?
5. Які напрями розвитку має нанобіотехнологія?
6. Чому у «напівсинтетичній» нанобіотехнології використовують такі біополімери, як білки і нуклеїнові кислоти?
7. Як досягнення нанобіотехнології застосовують у наномедицині?
8. В чому полягає взаємозв'язок між біонанотехнологією та нанобіотехнологією?
9. Що таке біоміметичні наноматеріали, або біоміметики?
10. Які завдання стоять перед нанобіотехнологіями у промисловості?
11. Які завдання стоять перед нанобіотехнологіями у сільському господарстві?
12. Які наукові програми з дослідження нанотехнологій виконують в Україні?

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

- | | |
|---------------------------------------|------------------------------|
| Автоліз – 103 | Біосорбція – 100 |
| Адсорбція – 105 | Біотехнологічний процес – 96 |
| Акаріотичні організми – 72 | Біотехнологія – 4, 41 |
| Антибіотики – 164 | мікробна – 49 |
| Архебактерії – 75 | «червона» – 53 |
| Бактеріальне вилуговування – 101 | «зелена» – 54 |
| Бактерії – 74 | «біла» – 55 |
| Бактеріофаг – 73 | «сіра» – 55 |
| Біогаз – 241 | «синя» – 56 |
| Біогеотехнологія – 26 | «жовта» – 57 |
| Біодеградація – 101 | «коричнева» – 57 |
| Біодизель – 246 | «фіолетова» – 58 |
| Біоіндикація – 220 | «золота» – 59 |
| Біоінженерія – 42 | «чорна» – 60 |
| Біоінформатика – 59, 156, 162 | Біотрансформація – 100 |
| Біокаталіз – 100 | Біофармакологія – 163 |
| Біокомпостування – 100 | Біофармінг – 130 |
| Біологічний агент – 107 | Біочип – 271 |
| Біомаса – 119 | Вакцини – 171 |
| Біоміметичні наноматеріали – 268 | Відновлювана енергія – 232 |
| Біонанотехнологія – 267 | Відстоювання – 104 |
| Біооб'єкт – 63, 87 | Віріон – 72 |
| Біоокиснення – 100 | Вірус – 72 |
| Біопаливо – 232 | Віскери – 256 |
| Біопрепарат – 133, 155 | Водорості – 78 |
| Біореактор (ферментер) – 23, 101, 115 | Вторинні метаболіти – 119 |
| Біоремедіація – 217 | Генетична діагностика – 160 |

- Ген-маркер – 94
- Гербіциди – 149
- Гібридизація – 87
- Гормони – 168
- Графен – 257
- Гриби – 76
- Діаліз – 106
- ДНК-полімераза – 27
- Дріжджі – 77
- Експоненційна фаза – 103
- Екстракція – 105
- Ензимологія – 12
- Еукаріотичні організми – 70
- Зімологія – 12
- Імобілізовані ферменти – 109
- Інженерія
 - метаболична – 24
 - генетична – 30, 50, 92, 139
 - клітинна – 50, 88
- Інженерна ензимологія – 49
- Інокулят – 98
- Інтерлейкіни – 171
- Інтерферони – 170
- Інферсія – 87
- Калус – 80, 137
- Кластери – 256
- Клон – 85
- Коагуляція – 104
- Компостування – 216
- Кристалізація – 106
- Лаг-фаза – 102
- Лишайники – 78
- Метанове бродіння – 100
- Мікрофільтрація – 104
- Модифікація – 119
 - хімічна – 120
 - біологічна – 120
 - білкова – 121
- Молекулярна наномедицина – 264
- Моноклональні антитіла – 155, 172
- Мутаген – 84
- Мутація – 83
- Найпростіші – 79
- Нанобіотехнологія – 259, 267
 - живих систем – 261
 - «напівсинтетична» – 262, 263
 - «синтетична» – 262, 265
- Наноматеріали – 255
- Наноструктури – 256
- Нанотехнологія – 255
- Нанотрубки – 256
- Осадження – 105
- Первинні метаболіти – 119
- Плазмідна – 74
- Поживне середовище – 110
- Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – 32
- Прокаріоти – 69

Протопласти – 89, 91, 138
Ревертаза – 29
Ректифікація – 105
Секвенування – 93
Сепарація – 104
Спіруліна – 196
Стаціонарна фаза – 103
Субстрат – 110
Терапія
 клітинна – 54, 156
 генна – 54, 153, 156, 159
Технологія CRISPR – 35, 159
Тотипотентність – 80, 137
Транзиція – 87
Трансверсія – 87
Трансплантація ембріонів – 127
Транспозиція – 87
Фаза відмирання – 103
Ферментація – 100
Ферменти – 108, 166
Фільтрація – 104
Флотація – 104
Фулерени – 257
Фулерити – 257
Хроматографія – 106
Ціанобактерії – 76
Штам – 65, 85
Штучне осіменіння – 126

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біогазові технології як реальна альтернатива природному газу та шлях до енергетичної незалежності України. 2017. URL: www.planet-biogas.com.
2. Біотехнологічне отримання етанолу з ксилози за допомогою дріжджів. *Перспективні науково-технічні розробки. Паливно-мастильні матеріали та технології*. 2018. С. 4.
3. Біотехнологія. Генна інженерія. Найпрогресивніші біотехнології Цікаві факти про біотехнології. URL: <https://l-gallery.ru/uk/okrashivanie/biotehnologiya-gennaya-inzheneriya-samy-progressivnye-biotehnologii-interesnye-fakty-o-biotehnologii/>
4. Біотехнологія: вступ у науку майбутнього / Укладач В. В. Россіхін. Харків : Колорит, 2005. 288 с.
5. Викаш Бабу П. Д., Ашиш Таплиял П. Д., Гириеш Кумар Патель П. Д. Возобновляемая энергия. Производство биотоплива : монография. Пер. с англ. США, Массачусетс : Scrivener Publishing, 2020. 250 с.
6. Власов В., Пышный Д., Воробьев П. Биотехнологии – медицине будущего. *Наука из первых рук*. 2017. № 4. С. 30-44.
7. Влізло В. В. Нанобіотехнології й нанопродукти: досягнення та перспективи досліджень у тваринництві та ветеринарній медицині. *Вісник аграрної науки*. 2017. № 5. С. 5-10.
8. Влізло В. В., Іскра Р. Я., Федорук Р. С. Нанобіотехнології. Сучасність та перспективи розвитку. *Біологія тварин*. 2015. Т. 17. № 4. С. 18-29.
9. Гаркава К. Г., Косоголова Л. О., Карпов О. В., Ястремська Л. С. Біотехнологія. Вступ до фаху : навч. посіб. Київ : НАУ, 2012. 296 с.
10. Глобальные тренды на мировом фармацевтическом рынке. ФРП, 2018. 32 с.
11. Горова А. І., Лисицька С. М., Павличенко А. В., Скворцова Т. В. Біотехнології в екології : навч. посібник. Донецьк : Національний гірничий університет, 2012. 184 с.

12. Демченко О. П., Назаренко В. І. Нанобіотехнологія: шлях у новий мікросвіт, створений синтезом хімії та біології. *Біотехнологія*. 2012. Т. 5. № 2. С. 9-30.
13. Іншина Н. М. Біотехнологія : навч. посіб. Суми : Видавництво СумДПУ ім. А. С. Макаренка, 2009. 172 с.
14. Карпов О. В., Демидов С. В., Кир'яченко С. С. Клітинна та генна інженерія : підручник. Київ : Фітосоціоцентр, 2010. 208 с.
15. Кернасюк Ю. В. Ринок нанобіотехнологій відкриває нові горизонти ефективності агробізнесу. Агробізнес сьогодні. Економічний гектар. 2021. URL: agro-business.com.ua.
16. Кляченко О. Л., Мельничук М. Д., Іванова Т. В. Екологічні біотехнології: теорія і практика : навчальний посібник. Вінниця : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2015. 254 с.
17. Конспект лекцій з дисципліни біотехнологія / Переклад, адаптація та доповнення: Р. В. Петрук. Вінниця : Вінницький національний технічний університет, 2012. 96 с.
18. Курта С. А. Промислові біотехнології : курс лекцій. Івано-Франківськ : Супрун В.П., 2018. 197 с.
19. Лойко В., Шемчук К. Стан та перспективи розвитку безвідходних технологій в Україні в умовах прогресу циркулярної економіки. *Європейський науковий журнал економічних та фінансових інновацій*. 2021. № 1 (7). С. 14-25.
20. Марценюк В. П., Меленчук І. Б. Принципи використання нанотехнологій у фармації та медицині. *Медична інформатика та інженерія*. 2012. № 3. С. 43-47.
21. Проданчук М. Г., Слободкін В. І., Подрушняк А. Є., Левицька В. М. Перспективи впровадження нанотехнологій і наноматеріалів у харчовій промисловості, їх гігієнічна оцінка та актуальні завдання наногігієни харчування. *Проблеми харчування*. 2011. № 3-4. С. 5-15.

22. Споживання та витрати на ліки у світі: основні тенденції та прогнози на наступні 5 років. URL: <https://www.apteka.ua/category/analytical/page/5>
23. Сучасні тенденції розвитку біотехнологій в біології та фармації : навч.-методич. посіб. / укл. Т. І. Тугай, Н. Л. Поєдинок, Н. М. Сергійчук, М. Г. Катинська. Київ : Талком, 2019. 125 с.
24. Тіпанов В. В., Ткаленко С. І. Сучасна структура світового ринку біотехнологій. *Стратегія економічного розвитку України*. 2018. № 42. С. 179-187.
25. Трипольська Г. С., Дячук О. А., Подолець Р. З., Чепелєв М. Г. Біогазові проекти в Україні: перспективи, наслідки та регуляторна політика. *Економіка і прогнозування*. 2018. № 2. С. 111-134.
26. ФАО, МФСР, ЮНІСЕФ, ВПП и ВОЗ. 2021. Краткий обзор. Положение дел в области продовольственной безопасности и питания в мире – 2021. Преобразование продовольственных систем в интересах обеспечения продовольственной безопасности, улучшения питания и экономической доступности здоровых рационов питания для всех. Рим, ФАО. <https://doi.org/10.4060/cb5409ru>.
27. Фесенко О. М., Ковальчук С. В., Нищик Р. А. Проблеми та перспективи розвитку нанотехнологій в Україні та світі. *Маркетинг і менеджмент інновацій*. 2017. № 1. С. 170-179.
28. Чекман И. С. Нанонаука в Україні: до проблеми дослідження (історичний аспект та сучасні проблеми). *Сучасні проблеми токсикології*. 2011. № 1-2. С. 6-11.
29. Юлевич О. І., Водовозов А. М. Біотехнологічні аспекти виготовлення смаженої кави. *Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Specialized and multidisciplinary scientific researches. Principauté de Monaco: Plateforme scientifique européenne*. 2020. Vol. 2. С. 14-20.

30. Юлевич О. І., Водовозов А.М., Іванова Є. О. Виробництво біогазу у світі. *Міжнародний конгрес та технічна виставка ЕТЕВК-2019*, 10-14 червня 2019 р. м. Чорноморськ. 2019. С. 303-308.
31. Юлевич О. І., Ковтун С. І., Гиль М. І. Біотехнологія : навчальний посібник. Миколаїв : МДАУ, 2012. 476 с.
32. Biosicherheit – Freiheit und Verantwortung in der Wissenschaft. Deutscher Ethikrat. 2014, Berlin. 166 p.
33. ISAAA. 2019. Global Status of Commercialized Biotech / GM Crops in 2019: Biotech Crops Drive Socio-Economic Development and Sustainable Environment in the New Frontier. ISAAA Brief No. 55. ISAAA: Ithaca, NY.
34. ISAAA. 2021. Breaking Barriers with Breeding: A Primer on New Breeding Innovations for Food security. ISAAA Brief No. 56. ISAAA: Ithaca, NY.
35. Kaletnik G., Pryshliak N. Bioenergy potential development of the agrarian sector as a component of sustainable development of Ukraine. *Management mechanisms and development strategies of economic entities in conditions of institutional transformations of the global environment* : collective monograph. Edited by M. Bezpartochnyi, ISMA University, Riga : «Landmark» SIA, 2019. Vol. 2. P. 96-104.
36. Miller Benjamin M., Metz David, Schmid Jon Rudin, Paige M., Blumenthal, Marjory S. Measuring the Value of Invention. The impact of Lemelson – MIT Prize Winners' Inventions. RAND Corporation. Santa Monica, Calif., 2021. URL: www.rand.org
37. Technological Platform "BIOENERGY" Strategic Research Program-2021. URL: https://energy.ec.europa.eu/topics/research-and-technology/strategic-energy-technology-plan_en.
38. Zaitlin D. Literature Review on the Use of Biotechnology and Omics, TBO-151-1-CTR. Tobacco Biotechnology and Omics. December 2020. 64 p.

Навчальне видання

Юлевич Олена Іванівна
Луговий Сергій Іванович
Каратєєва Олена Іванівна
Баркарь Євген Володимирович

БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ. ВСТУП ДО ФАХУ

Навчальний посібник

Технічний редактор: С. І. Луговий

Дизайн обкладинки: С. А. Юлевич

Підписано до друку 28.06.2022 р. Формат 60×84/16. Папір офсетн.

Гарнітура Times New Roman.

Друк офс. Умовн. друк. арк. 17,9. Облік видавн. арк. 17,9

Умов. фарбовід. 0,9. Зам. № 537, тир. 100.

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.