

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Введение в микробиотехнологию

Лекция



Новосибирск 2022

УДК 579:577 (07)
ББК 28.4:28.087.1, я7
В 24

Кафедра Экологии

Составитель: канд. биол. наук, доцент *Л.А. Литвина*

Рецензент канд. биол. наук, доцент *О.Г. Грачева*

Введение в микробиотехнологию: лекция / Новосиб. гос. аграр. ун-т. Биол.-технол. фак.; сост.: Л.А. Литвина. – Новосибирск: Изд-во НГАУ. – 2022. – 55 с.

Лекция предназначена для магистров по направлению *19.04.01 Биотехнология*, дисциплина *Микробиотехнология*. Лекция может быть использована для подготовки к экзамену, а также на лабораторно-практических занятиях по дисциплинам микробиологического направления.

Приводятся основные понятия, связанные с термином «микробиотехнология», поясняется, что многие годы термины «биотехнология» и «микробиотехнология» были синонимами, т.к. других направлений биотехнологии (в растениеводстве и животноводстве), не существовало; рассказывается история развития микробиологической промышленности в нашей стране и в Новосибирске; приводятся этапы развития биотехнологии и ее современные направления.

Утверждено и рекомендовано к изданию учебно-методическим советом Биолого-технологического факультета (протокол №6 от 21 июня 2022 г.).

© Новосибирский государственный
аграрный университет, 2022

ЛЕКЦИЯ

План лекции:

1. История развития микробиотехнологии в нашей стране.
2. Современное определение термина «**биотехнология**».
3. Новый период в развитии микробиотехнологии.
4. Этапы развития биотехнологии и ее современные направления.
5. Требования к освоению курса микробиотехнологии.

1. История развития микробиотехнологии в нашей стране

С позиций сегодняшнего дня, Микробиотехнология (или технология производства микроорганизмов и продукции их синтеза в промышленных масштабах) – это самое современное направление на стыке биологии, генетики и инженерных наук, которое развивается очень успешно и привлекает внимание не только ученых, но и общественности.

Если мы обратимся к истории, то микробитехнология окажется одной из самых древних технологий, чему имеются неопровержимые доказательства. Поэтому разделим нашу лекцию условно на две части и начнем с недалекого прошлого микробиотехнологии, свидетелем и участником развития которой мне довелось быть.

Многие годы, с середины XX века, понятия **биотехнология и микробиотехнология были синонимами**, т.к. в больших масштабах, в производственных условиях могла производиться только биомасса микроорганизмов (дрожжи, закваски для кисломолочных продуктов) или продукция микробного синтеза (аминокислоты, витамины, ферменты, антибиотики). **Все это называлось биотехнология**, потому что связано было с живыми микроорганизмами (**био**) и способом их массового производства (**технологией**). Других направлений биотехнологии (в растениеводстве и животноводстве) пока не существовало.

Пик развития микробиотехнологии пришелся в нашей стране на середину 60-х годов XX в. Но задолго до этого, уже в 1943 году, в СССР запустили массовое производство первого отечественного антибиотика под названием «крустозин», продуцент которого гриб *Penicillium crustosum* был выделен отечественным микробиологом Зинаидой Виссарионовной Ермольевой. Гриб культивировали на поверхности питательной среды, находящейся в специальной лабораторной посуде, напоминающей широкие поддоны, называли их «матрасами» (термин сохранился и перешел в вирусологию, где в матрасах на тканевых культурах выращивают вирусы). Крустозин спас тысячи жизней раненых в период Великой Отечественной войны, предотвращая развитие гангрены. Другим важнейшим препаратом был грамицидин С, созданный в 1942 году микробиологами Георгием Гаузе и Марией Бражниковой и применявшийся наружно на раны для предотвращения развития гангрены в виде мазей из-за своей токсичности (продуцентом этого антибиотика была *Bacillus brevis*). В названии препарата отразилось его действие: первая часть наименования означает, что он действует на грамположительные бактерии. Вторая часть – цидин – произошла от латинского *caedo* – убивать. Буква «С» в названии антибиотика подчеркивала - «Советский», она была нужна для того, чтобы отличить версию лекарства от грамицидина, открытого ранее в США. Полное название продуцента грамицидина *S Bacillus brevis* var. G.-B. (R-форма)

<https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/1981/46-04-0657>

Первые партии препаратов выпускались почти кустарным способом, но затем заработали предприятия медицинской промышленности, осваивающие производство антибиотиков. В дальнейшем в нашей стране появились заводы по производству антибиотиков, в том числе Завод Медпрепаратов в г. Новосибирске. В основе получения антибиотиков лежит использование различных культур микроорганизмов, и заводы по производству медицинских антибиотиков были по всей стране. Если не говорить о пищевой промышленности, выпускавшей уже давно кисломолочные продукты, пиво, квас, вино, то получается, что первыми предприятиями микробиотехнологии были предприятия меди-

цинской промышленности по получению антибиотиков.

В 1955 г. вышло постановление Совета министров СССР о развитии в стране **химической и микробиологической промышленности**. Химическая промышленность имела предприятия, на которых осуществлялся химический синтез неорганических веществ, но нужны были и органические вещества, которые образуются только в живых организмах (например, витамины, ферменты, антибиотики). В г. Бердске под Новосибирском в ответ на это постановление началось строительство завода нового направления для получения микробиологической продукции для сельского хозяйства. Но по какой-то причине он получил название Бердский химзавод, в то время как должен был стать одним из десятков новых предприятий микробиопрома в нашей стране. Ошибку можно объяснить следующим. В те годы химический синтез разнообразной продукции уже существовал и был понятен всем. Когда речь шла о синтезе веществ химическим путем, ни у кого не возникало сомнений, что он возможен, даже если синтезируются такие фантастические материалы, как негорючая бумага, керамика с магнитными свойствами, пластмассы, имеющие прочность брони. К химическому синтезу веществ человек в это время как бы привык. А вот синтез веществ с помощью микроорганизмов (или микробный синтез) в промышленных условиях вызывал недоумение. Между тем корни микробного синтеза уходят в глубокую древность. Многие процессы, связанные с приготовлением сыра, пива, вина, уксуса использовались тысячи лет. И в стране работали многочисленные предприятия, основанные на деятельности микроорганизмов – хлебозаводы, молзаводы, пивзаводы, винзаводы, а вот понимания производства какой-то ещё продукции, синтезируемой микробами, не было. Многие годы с микроорганизмами ассоциировались болезни человека и животных и только производство лечебных антибиотиков было понятно. Но получение какой-то еще микробиологической продукции обществом не очень принималось.

Производство микробных препаратов нового поколения – для сельского хозяйства, началось в г. Бердске в феврале 1964 года. Завод выпустил первую партию продукции – антибиотик биовит-40, предназначенный для лечения и

профилактики болезней с.-х. животных – антибиотик широкого спектра действия – Биовит®. Действующее вещество препарата –хлортетрациклин 20%, который относится к антибактериальным препаратам группы тетрациклинов. Хлортетрациклин при использовании всасывается в кровь, проникает в органы и ткани животных, где подавляет развитие патогенных микроорганизмов. Представляет собой высушенную мицелиальную массу, полученную из культуральной жидкости *Streptomyces aureofaciens*. Этот антибиотик относится к группе кормовых и может применяться как с лечебной, так и с профилактической целью, вместе с кормом, без инъекций.

Далее спектр выпускаемой заводом продукции расширился: уже через год началось производство микробиологических средств защиты растений и был выпущен первый препарат нового поколения – энтобактерин (от греческого *entomon* – насекомое и бактерин – сделан на основе бактерий). В мире в это время, выражаясь современным языком, началась экологизация сельского хозяйства, а в те годы это называлось разработкой биологического метода защиты растений. Нужно отметить, что потери сельскохозяйственной продукции от насекомых-фитофагов во всем мире были огромны, население на планете увеличивалось, а потери продукции росли. Необходимы были срочные меры по защите урожаев и главенствующим методом был – химический.

Самыми распространенными для борьбы с насекомыми были препараты **ДДТ** и **Гексахлоран**.

История открытия ДДТ и его «закрытия» вкратце следующая. В 1939 г. швейцарский химик Пауль Мюллер (Paul Müller) обнаружил у 4,4-дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) инсектицидные свойства. В качестве действующего вещества в препарате содержались: циперметрин – 0,2 %, тетраметрин – 0,02%, а также стабилизатор – 0,1%, пиперонилбутоксид (ППБ) – 0,5%, замасливатель, каолин и талькомагнезит – до 100%. В народе препарат называли **дуст**, т.к. он применялся в виде порошка.

ДДТ – это исключительно эффективный и очень простой в получении инсектицид. Его получают конденсацией хлорбензола (C_6H_5Cl) с хлоралем

(Cl_3CCNO) в концентрированной серной кислоте (H_2SO_4). Ядохимикат действовал превосходно, посевы сохранялись, насекомые погибали. В 1948 г. Мюллер за свое открытие был удостоен Нобелевской премии по медицине «За открытие высокой эффективности ДДТ как контактного яда». **Это был первый и единственный случай в истории, когда ученый получил наивысшую награду за открытие пестицида (пестициды – ядовитые вещества, используемые для уничтожения вредителей и возбудителей болезней растений, а также различных паразитов, сорняков, вредителей зерна, зерно-продуктов, и др.).**

Препарат был эффективен также против мух, тараканов, моли и колорадского жука. Кроме того, препарат применяли во многих областях СССР для предотвращения распространения малярии и клещевого энцефалита, а в мире препарат предотвратил заболевания миллионов людей лейшманиозом, малярией, тифом и другими инфекциями, переносимым насекомыми. Поэтому можно считать, что Нобелевская премия была дана за разработку не просто ядохимиката, а еще и препарата, помогавшего спасти без преувеличения миллионы людей от опасных болезней.

Но вскоре накопились данные о появлении устойчивых к препарату насекомых, выдерживающих многократные дозы ядохимиката, а также другие отрицательные последствия обработок. Препараты типа ДДТ и гексахлоран, начавшие использоваться по всему миру и успешно уничтожающие насекомых-вредителей, не распадаются в природе и продолжают циркулировать по пищевым цепям, обнаруживаясь даже в молоке кормящих женщин, накапливаясь в жировых тканях человека, вызывая токсическое действие, а также гибель полезных насекомых и мелких животных. Была опубликована книга биолога и писательницы Рэйчел Карсон «Безмолвная весна», где рисовалась мрачная картина природы, наступающая после применения ДДТ, влияющего на снижение процента появления полноценных птенцов после использования ДДТ.

Стало понятным, что применение химических средств для защиты растений наносит вред человеку, животным, птицам. Препарат запретили во многих странах, и с.-х. культуры остались без защиты.

Вот здесь и началось активное развитие микробиологической промышленности, объединенной с медицинской под руководством Главмикробиопрома (1966). Был взят курс на создание в стране множества предприятий, выпускающих не химическую, а биологическую продукцию на основе разнообразных культур бактерий и грибов с тем, чтобы ее можно было безопасно использовать в природных условиях, в растениеводстве и животноводстве.

Являясь свидетелем и участником этих событий, могу сказать, что роль Бердского завода была уникальна. Выпуск препарата энтобактерин был новым направлением в микробиотехнологии, достаточно сложным, т.к. необходима рентабельность производства, а для этого культура микроорганизма должна выращиваться на подходящей, не очень дорогостоящей питательной среде, не подвергаться фаголизису, сохранять активность поражающего действия на насекомых на конечных этапах производства.

Наша лаборатория микробиологии (БИН СО АН СССР, а ныне ИСиЭЖ СО АН РФ) тесно сотрудничала с заводом, поставляла штаммы *Bac. thuringiensis* (на основе этого вида бацилл создавался препарат для защиты растений), которые могли быть полезными для испытания в ЦЗЛ и дальнейшего использования, разводила и передавала насекомых (*Galleria mellonella* L.) в качестве тест-объекта для круглогодичного испытания патогенного действия препарата. Несколько позже стал выпускаться на основе *Bac. thuringiensis*, но другого варианта (*Bac. thuringiensis* var. *sibiricus*) препарат для защиты леса от сибирского шелкопряда.

Кроме бактерий, в нашей лаборатории БИНа изучалось действие грибов, в частности, хищного энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*, убивающего насекомых не изнутри, как энтобактерин, а снаружи, при контакте со спорами грибов. Круг поражаемых грибом насекомых очень широк – чешуекрылые, жесткокрылые, полужесткокрылые, прямокрылые и др., что делало его очень

перспективным для биометода. В настоящее время выпускается препарат на основе этого гриба, называемого белой мускардиной.

Заражению могут подвергаться особи почти на всех фазах развития: имаго, куколки, личинки, иногда яйца. Попадая на тело насекомого, конидиеносцы гриба прорастают. Но для заражения необходима высокая инфицирующая доза (2-6 млрд спор/г препарата). Видимо, поэтому в природе этот почвенный гриб не вызывает каких-либо значительных поражений у насекомых. Но совместно и химическими препаратами его активность резко возрастает, особенно во влажную погоду, благоприятствующую размножению гриба. Пораженное насекомое сморщивается, перестает питаться и покрывается белым налетом.

Внимание в качестве перспективных агентов биологических методов защиты растений было приковано и к вирусам. Если у патогенных бактерий и грибов достаточно много восприимчивых видов насекомых, но они безопасны для полезных видов, то вирусы обладают более узкой специфичностью и действуют, как правило, против конкретного вида насекомых. В этом есть свои плюсы и минусы. В результате работы сотрудников нашей лаборатории были обнаружены, описаны и изучены многие вирусы, в частности, вирус гранулеза сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschetw, вирус ядерного полиэдроза рыжего соснового пилильщика *Neodiprion sertifer* (Geoff.). Насекомые этих видов представляют опасность для лесов и сейчас, и потребность в препаратах для их защиты огромна.

Мной был выделен впервые в стране вирус ядерного полиэдроза капустной совки – *Mamestra brassicae* L. – насекомого, наносящего большой ущерб овощным культурам – и получен патент на способ применения вируса для защиты от этого полифага. Свойства вируса оказались настолько интересными, что мою статью о вирусе опубликовали в престижном отечественном журнале «Вопросы вирусологии». Ученые из других стран, заинтересовавшиеся этим вирусом, присылали запросы с просьбой выслать оттиски статьи (редакции журналов в те годы выдавали каждому автору такие оттиски, которые можно было рассылать почтой по запросам). С докладом о вирусе я выступала на

Международной конференции, посвященной патологии насекомых, в г. Прага (Чехословакия).

Изолированный из природы вирус капустной совки культивировала круглогодично на искусственной питательной среде в специальных термостатах с регулируемой температурой и влажностью. В процессе роста зараженные гусеницы накапливали большое количество вируса и превращались в биологический препарат для борьбы с этим вредителем. Очень важно нанести правильно препарат на листья капусты, имеющие восковой налет, с поверхности которого скатываются все жидкости. Совместно с сотрудниками Института кинетики и горения СО АН СССР, в котором была сконструирована «пушка» для распыления препаратов с получением микрочастиц определенного размера, обрабатывали поля капусты (десятки гектаров) в Бердском совхозе, где директор совхоза И.И. Леунов одобрительно относился к нашим экспериментам, давая разрешение на обработки, поскольку положительные результаты гибели вредителей после них были очевидны.

Однако, производственный выпуск препаратов на основе вирусов в промышленных масштабах тормозился отсутствием культур тканей насекомых для накопления вируса (как это осуществляется при наработке вирусов человека и животных), а процесс масштабирования вируса превращался в длительный и дорогостоящий, нуждавшийся в постоянном размножении насекомых на искусственных средах круглогодично. И все-таки вирусные препараты для защиты растений были выпущены на рынок – Вирин-ЭНШ – против непарного шелкопряда, Вирин-ЭКС – против капустной совки, Вирин-АББ – для борьбы с американской белой бабочкой, а также КШ – против кольчатого шелкопряда, ГЯП – яблоневого плодового жорки, ХС – хлопковой совки.

На Бердском заводе постепенно расширялся спектр выпускаемой продукции – кроме средств защиты растений и кормовых антибиотиков, появились ферментные препараты на основе *Bac. subtilis* для животноводства – амилаз, субтилины и протосубтилины, ускоряющие расщепление соответственно углеводов и белков в кормах и способствующие их усвоению организмом животного. Мно-

гие дипломные работы на Зооинженерном факультете (сейчас БТФ) выполнялись по этой тематике с постановкой опытов на животных.

В настоящее время Бердский завод биологических препаратов, перенесший множество переименований и сменившей форму собственности, носит название «Сиббиофарм» и производит большой ассортимент самой различной микробиотехнологической продукции для сельского хозяйства – препараты для силосования всех видов растительного сырья, ферментные препараты для различных видов животных и птицы, средства защиты растений, виноградников, плодовых культур и лесов, а также ферментные препараты для пивоварения и спиртопроизводства. Продукция завода многотоннажная и пользуется спросом не только в нашей стране, но и за рубежом.

В НСХИ (сейчас НГАУ) одним из направлений микробиотехнологии был способ дрожжевания кормов, т.е. обогащения их витаминами и белком, содержащихся в дрожжах. Для этого нашей кафедрой был организован цех в Учхозе, получен на Бердском заводе ферментер. Солома предварительно измельчалась и поступала в ферментер, в котором мы подвергали солому, как отход сельскохозяйственного производства, щелочному гидролизу при постоянном перемешивании. При этом высвобождаются простые сахара из клетчатки, и на этих сахарах культивировали дрожжи. Исходные партии дрожжей приобретались на Новосибирском дрожжевом заводе (тоже микробиотехнологическое предприятие). Процессу культивирования предшествовала нейтрализация щелочи кислотой. Культивирование происходило в теплом помещении, которое специально обогревалось. Каждое утро проводили подсчет количества дрожжей в определенном объеме, пользуясь камерой Горяева, и сравнивали с количеством дрожжей, загруженных в ферментер. Остаточное количество дрожжей использовали вновь. Для такой переработки требовались достаточные затраты энергии, щелочи, кислоты, а сам ферментер был из нержавеющей стали. Такую переработку вряд ли назовешь рентабельной и внедрить ее в другие хозяйства было проблематично. Добавка в корм для животных полученной продукции

микробного синтеза, содержащей большое количество белка и витаминов, показала положительные результаты, но экономически это было невыгодно.

На базе Института микробиологии в Минске, с которым мы сотрудничали, в это время на соломе успешно культивировали гриб *Trichoderma viridans*, который непосредственно осуществлял ферментативный гидролиз соломы, делая её доступной для производства грибного белка. По утрам мне удалось наблюдать, как к цеху этого института выстраивалась очередь из машин с цистернами, приезжавшими за новым видом кормовой добавки для животных. Все эти процессы с использованием не только соломы, но и других целлюлозо-содержащих отходов, назывались направлением биотехнологии - синтез белка на целлюлозе. Мир до сих пор испытывает нехватку белка, поэтому возможен возврат к этим технологиям на более современном уровне.

В период развития животноводства и строительства крупных животноводческих комплексов (70-80 годы XX в.) появилась проблема утилизации навоза. В НСХИ практически все сотрудники работали в этом направлении, пытаясь сдвинуть проблему с мертвой точки. У меня была мысль переработки твердой фракции навоза с помощью микроскопических грибов. По этой теме выполняла дипломную работу одна из наших студенток. Культивирование грибов на отходах животноводства показало возможность создания новой кормовой добавки для свиноводства, т.к. изучение аминокислотного состава на нашем аминокислотном анализаторе получаемой биомассы показало ее полноценный состав по набору незаменимых аминокислот. Результаты нашей работы были приняты для выступления на международной научной конференции по охране окружающей среды.

Но для доработки проекта микробиологической переработки навоза необходимо было создание специального цеха, приобретение нового дорогостоящего оборудования, наем обслуживающего персонала и точные доказательства безопасности этой кормовой добавки для животных.

Как раз в этот момент в НСХИ возникла другая идея переработки отходов животноводства, которая оказалась успешнее и быстро развивалась за счет

применения более простых технических решений, а именно использование личинок мух *Musca domestica*, для которых «жизнь в навозе» – дело привычное. Так началось развитие уже не микробиотехнологии в нашем ВУЗе, а биотехнологии (массовое производство личинок насекомых в качестве белковой кормовой добавки), и это было новое направление, которым руководил ректор института, доктор с.-х. наук, профессор ИВАН ИВАНОВИЧ ГУДИЛИН.

В Вузе проводились конференции, на которые съезжались ученые из разных городов, заинтересованные в развитии этого направления, велись жаркие дискуссии, предлагались различные схемы усовершенствования технологии выращивания личинок. Однажды, будучи секретарем ЦК КПСС по сельскому хозяйству, цех, находящийся в Учхозе, посетил М.С. Горбачев (вскоре он стал первым президентом СССР). Представьте себе обстановку, где перерабатывается навоз – тяжелый запах, множество летающих мух и другие издержки процесса. Весь день, готовясь к встрече, опрыскивали одеколоном помещения, от чего запахи становились только хуже, волновались, и поздно вечером встречали М.С. Горбачева. Мы докладывали ему о возможных новых направлениях переработки отходов – микробиотехнологическом и биотехнологическом, и он очень одобрительно, хотя и с удивлением, встретил эти разработки. В результате многолетней работы проект коллективом НСХИ по переработке отходов свиноводства мухами-копрофагами был выполнен. Это, по сути и была первая биотехнология, осуществленная на практике в те годы, когда этот термин по отношению к культивированию личинок не применялся. Личинки мухи превращались в белково-витаминную кормовую добавку для животных, предварительно подвергаясь исследованию на отсутствие токсичности. Полученная после переработки масса навоза успешно использовалась как удобрение. В книге «Биотехнология. Человек. Природа», изданной на основе работ многих исполнителей, подробно разбирается весь технологический процесс переработки. В настоящее время в НГАУ успешно продолжается культивирование этих насекомых и их личинок с использованием несколько других субстратов.

Одновременно, кроме Бердского завода, в стране работали другие предприятия микробиопрома, выпускавшие так необходимую для животноводства и птицеводства продукцию – например, незаменимые аминокислоты, поскольку отечественные корма часто были дефицитны по этой кислоте и для восполнения дефицита за границей закупался соевый шрот. Когда я спрашивала на занятиях у заочников-зооинженеров, что они знают о лизине, многие отвечали, что L-лизин применяется у них в хозяйстве, так как это необходимая и незаменимая аминокислота для животных и птицы. Сейчас такого ответа не услышишь.

В стране работали и микробиологические предприятия, выпускавшие БВК (белково-витаминный концентрат для животноводства и птицеводства), в основе получения которого был синтез биомассы микроорганизмов, проводимый на углеводородах нефти и газа, точнее на отходах нефтепереработки – парафинах, в связи с чем препарат назывался паприн. Даже сейчас такая питательная среда для роста микроорганизмов кажется фантастикой, но так было, и животные и птица получали добавки, что было вызвано большой потребностью в белке. Проект разрабатывался ведущими микробиологами, а произведенный продукт испытывался на животных и птице Всесоюзным НИИ животноводства, Всесоюзным НИИиТИ птицеводства, Донецким и Кубанским сельскохозяйственным институтами и многими другими организациями. Для выращивания на парафинах в основном применялись дрожжи рода *Candida* (*Candida guilliermondii*, *Candida maltosa*, *Candida lipolytica*). В 1984 г. проект был завершён и уже в 1987 г. в СССР производилось 1,1 млн тонн паприна и подобных белково-витаминных концентратов, что составляло 2/3 от общемировых объёмов. Животные и птица на таком корме быстро набирали необходимую массу, т.к. 56% сухого вещества в паприне составлял белок.

Но постепенно стали выясняться отрицательные стороны этого препарата, когда его добавляли сверх предписываемой нормы, а именно – у животных могла начаться жировая дистрофия печени. А ведь эти животные и птица шли, потом, в пищу человека. Кроме того, в тех местах, где производился препарат, начались аллергические заболевания не только у сотрудников предприятия, но

и у населения, появлялся и распространялся кандидоз. Однажды, при аварии на одном из производств из-за несоблюдения техники безопасности, в атмосферу был большой выброс загрязняющих веществ, что повлекло протесты со стороны экологов. Они и до этого возражали против таких кормов, а здесь появился реальный повод для закрытия конкретного, а затем и других подобных производств по всей стране. Микробиопром прекратил свое существование в 1989 г.

Вслед за этим, в 90-ые годы, возникло новое направление в микробиотехнологии – создание препаратов и пищевых продуктов, содержащих полезные для человека микроорганизмы кишечной биоты. Они получили название пробиотики, а продукты – продукты с пробиотическими свойствами. Это направление обязано развитию исследований медицинской микробиологии о роли кишечной микробиоты не только в переваривании пищи, синтезе витаминов и аминокислот, но и в формировании иммунитета. Первыми стали использоваться пробиотики, приготовленные на основе бифидобактерий, а затем спектр используемых микроорганизмов расширился. Оказалось, что препараты с бифидобактериями хорошо влияют на рост и развитие животных, набор их живой массы. Многочисленные опыты, поставленные нами совместно с сотрудниками факультета на молодняке различных видов животных, птиц и пушных зверей с препаратом Биовестин, производимым на созданном в этот период в нашем городе предприятии «Биовеста», показали эффективность препарата и его профилактическое значение для предупреждения кишечных заболеваний у молодняка. В основе препарата лежит культивирование бифидобактерий *Bifidobacterium adolescentis* MC-42. Об эффективности препарата и особенностях его применения в животноводстве я докладывала в Пекине, на Международном конгрессе, получившем название «На рубеже веков».

В этом названии можно усмотреть не только смену тысячелетий, но и обновленный подход к известным технологиям. И это касается, в том числе, возврата опять к микробиотехнологии, поскольку очевидно, что такая продукция как ферменты, пищевой белок, полисахариды, гликозиды, аминокислоты, пищевые кислоты, витамины и др. биологически активные вещества различного

функционального назначения, можно получить только с помощью микробного синтеза.

Для сельского хозяйства особенно значимы разнообразные продукты микробного синтеза, влияющие на здоровье животных, прирост живой массы, получение качественных кормов, силосование различных видов растений и защиту растений от насекомых-фитофагов безопасными для природы биологическими препаратами.

Значение микробиотехнологии понималось раньше очень хорошо. Предмет, который я преподавала на нашем факультете, назывался «Микробиология с основами биотехнологии». Затем, в программу технологов производства и переработки с.-х. продукции была добавлена дисциплина – «Основы биотехнологии переработки с.-х. продукции», и это оправдано, поскольку вся переработка осуществляется микроорганизмами, но уже на разных предприятиях пищевой и молочной промышленности. В этот период преподавание дисциплины было сложным на заочном отделении, так как контактных часов для объяснения предмета было недостаточно. Мы с Владимиром Григорьевичем Маренковым (Кафедра ветеринарной генетики и биотехнологии, [НГАУ](#)), который начал преподавать биотехнологию в животноводстве, решили создать учебное пособие для заочников в электронном виде, чтобы его можно было им отправить. Такая форма работы была в новинку, и мы рискнули послать наше пособие на Всероссийской конкурс пособий для заочных отделений и получили за него первую премию по России и денежную премию. Руководитель заочного отделения В.М. Медведчиков был обрадован и удивлен, так как пособия в электронном виде не поощрялись, предпочтения отдавались печатным вариантам. О своей педагогической работе по биотехнологии мы отправили тезисы на Международный биотехнологический конгресс, на котором я выступила с докладом.

Нас, преподавателей ВУЗа, приглашали в школы читать лекции по биотехнологии, поскольку давно стало понятным, что за биотехнологией будущее, и школьники должны познакомиться с достижениями этой науки как можно раньше.

2. Современное определение термина «биотехнология»

Термин «**Биотехнология**», по определению Европейской биотехнологической ассоциации (1984), означает «совместное использование биохимии, микробиологии и химической технологии для технологического (промышленного) применения полезных качеств микроорганизмов и культур тканей». В более широком смысле определение термина «**Биотехнология**» – производственное использование биологических агентов (микроорганизмов, растительных клеток, животных клеток, частей клеток: клеточных мембран, рибосом, митохондрий, хлоропластов) для получения ценных продуктов и осуществления целевых превращений. В биотехнологических процессах также используются такие биологические макромолекулы как нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК – для переноса чужеродных генов в клетки), белки - чаще всего ферменты. В последние годы наиболее приемлемым для определения многочисленных и разнообразных объектов, используемых в биотехнологии, считается термин «**живые системы**».

Коротко можно охарактеризовать биотехнологию как управляемое производство полезных для медицины, сельского хозяйства и др. отраслей народного хозяйства продуктов, полученных при использовании микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов), клеток животных и растений, а также внеклеточных веществ и компонентов клеток. В настоящее время существует множество самостоятельных направлений биотехнологии, которые в целом должны обеспечить для человека наилучшие условия существования, а именно накормить, одеть, вылечить человека, продлить его жизнь и сохранить окружающую среду.

Как видно из определения, в биотехнологии используются микроорганизмы, клетки животных и растений, поэтому и направления называются, соответственно, микробиотехнология, биотехнология в животноводстве и биотехнология в растениеводстве. Самой первой возникла микробиотехнология, и долгие годы под термином «биотехнология» подразумевалась именно «микробиотехнология», т.к. другие направления просто не существовали.

Биотехнология сегодня – это междисциплинарная область знаний, т.к. базируется на достижениях многих наук – микробиологии, биохимии, молекулярной биологии, биоорганической химии, биофизики, вирусологии, иммунологии, генетики, инженерных науках и электронике. Развитие биотехнологии позволит существенно интенсифицировать производство, повысить эффективность использования природных ресурсов, решить экологические проблемы, создать новые источники энергии.

Кратко определить, что такое биотехнология, можно в нескольких словах – наука о технологиях и методах получения нужной человеку продукции с помощью различных живых клеток или их частей.

3. Новый период в развитии микробиотехнологии

Современное развитие микробиотехнологии (последняя четверть XX в.) непосредственно связано с успехами микробиологии, сумевшей в короткие сроки изучить множество свойств микроорганизмов, которые позволили продвинуться и в применении полученных теоретических сведений на практике. Среди достижений можно назвать изучение молекулярно-генетических основ организации и функционирования микробных клеток; микробного метаболизма и возможности его регуляции; физиологии роста микробных клеток; биологии плазмид; генетической энзимологии.

С точки зрения практического использования очень значимы результаты исследования биосинтеза биологически активных соединений или веществ микробной клеткой и технология их получения, а также изучение метаболизма микроорганизмов и возможности их использования для деградации ксенобиотиков. Стало возможным развитие и других направлений для практики – биотехнология защиты окружающей среды за счет микробиологических средств защиты растений и ремедиация, т.е. восстановление изначальных показателей почвы, воды и атмосферы при ликвидации последствий их загрязнения, в том числе нефтью; сюда же можно отнести разработку экологически безопасных технологий очистки сточных вод, утилизацию отходов агропромышленных комплексов с переработкой биомассы в биогаз, получение этанола и водорода как источников энергии. Новое дыхание обрела давняя разработка микробиологов – способ извлечения редких металлов из бедных руд.

Мечтой микробиологов на производстве всегда было получение штаммов, обладающих способностью к сверхсинтезу той или иной продукции – витаминов, аминокислот, антибиотиков, ферментов. Над этим работали сотни специалистов в разных странах, используя поиск хороших продуцентов в природе, а также применяя самые разные методы воздействия на микроорганизмы – облучение культур ультрафиолетом, радиацией, воздействуя различными химическими веществами. Однако, желаемые результаты достигались редко. Не направленный характер изменчивости бактерий не давал ни одного четко за-

планированного результата. Специалисты изучали сотни и сотни колоний полученных мутантов, чтобы найти хотя бы одну колонию с нужными для производства свойствами.

И вот наступил день и час, когда микробиологи смогли создавать штаммы с заранее заданными свойствами, не существующие в природе, но необходимые человеку для решения тех или иных задач. Мало того, эти новые методы генной или генетической инженерии из микробиологии шагнули не только в растениеводство и животноводство, но и принесли огромную пользу медицине. Вопреки всем законам природы человек сначала на малых существах, а затем и на более сложно устроенных показал, что можно делать то, что в природе не происходит, а именно встраивать чужую генетическую информацию в тот или иной живой объект по своему усмотрению. Но такому прогрессу способствовала целая цепь открытий, сделанных ранее, и на первый взгляд не имевших отношения к тому величайшему перевороту в умах ученых, который затем последовал.

В 1952 г. Уильям Хейс описал плазмиду, как внехромосомный фактор наследственности (на эту тему было много возражений со стороны генетиков, так как они утверждали, что вся генетическая информация находится в хромосоме, т.е. в ДНК клетки, и информация не может находиться вне хромосомы). Позднее выяснилось, что плазида у бактерий – это тоже ДНК, лежащая в плазме бактерии в виде замкнутого кольца и никакого противоречия с генетикой здесь нет.

В 1953 г. Дж. Уотсон, Ф. Крик, М. Уилкинс расшифровали структуру ДНК, за что получили Нобелевскую премию. Джеймс Уотсон написал книгу об этом открытии под названием «Двойная спираль», в которой научным и в то же время популярным языком объяснил суть открытия и осветил интересные обстоятельства, при которых оно было сделано. Обсуждалось даже предложение выдать автору вторую Нобелевскую премию по литературе за книгу, поистине этого достойную.

В 1959 г. – японские ученые открыли плазмиды антибиотикоустойчивости, т.е. была показана значимость генетической информации плазмид бакте-

рий в синтезе ферментов, расщепляющих антибиотики.

Исследования продолжались. Вскоре были выделены белки (ферменты), которые могли «сшивать» или «склеивать» нуклеотиды в полимерные цепочки, синтезируя макромолекулы ДНК. Общее название этой группы ферментов – лигазы. Один из таких ферментов был выделен из кишечной палочки и назван ДНК-полимераза (Артур Корнберг в 1959 г. получил Нобелевскую премию «За открытие механизмов биологического синтеза рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот»).

В 1970 г. выделен фермент рестриктаза (рестриктирующая эндонуклеаза), разрезающий молекулу ДНК. Таким образом, были готовы «инструменты» для проведения «операции» на генетическом аппарате. Но ее сделали уже другие ученые, которые и положили начало следующему, современному периоду биотехнологии – геннотехническому.

Геннотехнический период развития биотехнологии непосредственно связан с микроорганизмами и начался он с 1972 г., когда Пол Берг (Paul Berg) в Стэнфордском университете США создал первую рекомбинантную (перестроенную, гибридную) молекулу ДНК, показав возможность непосредственных манипуляций с генетическим материалом бактерий. Пол Берг с сотрудниками получили вне организма (*in vitro*) рекомбинантную, то есть перестроенную молекулу ДНК, состоящую из нескольких разных «кусочков». Это были фрагменты ДНК бактериофага λ (лямбда), ДНК бактерии *E. coli* и ДНК вируса обезьян SV-40 (*Simian virus*). Такие манипуляции повергли научную общественность в шок. Нарушались все законы биологии, проводилось скрещивание совершенно разных, отдаленных друг от друга микроорганизмов, да еще непосредственно на генетическом уровне.

Пол Наим Берг и его сотрудники стали основателями новой отрасли молекулярной биологии, получившей название "генетическая (генная) инженерия". Своей целью она имеет создание новых генетических структур и, в конечном счете, создание организмов с новыми наследственными свойствами.

В 1973 г. Стэнли Норман Коэн и Герберт Уэйн "Херб" Бойер в «Докладах

национальной академии наук США» сообщили об успешном переносе человеческого гена в плазмиду кишечной палочки. Это явилось началом биотехнологической революции, но отношение к работам в этом направлении оказалось неоднозначным. Сами исследователи в одностороннем порядке объявили мораторий на свои исследования и призвали к этому своих коллег.

В июле 1974 г. несколько крупных ученых обратились к научной общественности с предложением наложить мораторий на работы с рекомбинантными ДНК вне организма, предвидя возможность непредсказуемых для человечества последствий, связанных с возможностью неконтролируемого изменения наследственности организмов. Посредством генной инженерии можно преодолевать практически любую несовместимость организмов и создавать гибриды не только между разными видами и родами, что возможно и при обычной селекции, но и между совершенно неродственными организмами, как, например, между растениями, животными, микроорганизмами. Другая часть ведущих ученых не усмотрела в этих работах ничего предосудительного, и исследования продолжались.

В 1977 г. Фредерик Сенгер с коллегами разработали метод секвенирования (от *sequens* – последовательность), позволяющий определять последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК. За работы в области генной инженерии и за создание метода секвенирования Пол Наим Берг, Уолтер Гилберт и Фредерик Сенгер получили (разделили одну Нобелевскую премию между собой). Нобелевская премия по химии 1980 года (1/2 премии, по 1/4 присуждено Уолтеру Гилберту и Фредерику Сенгеру). Формулировка нобелевского комитета: «За фундаментальные исследования биохимических свойств нуклеиновых кислот, в особенности рекомбинантных ДНК».

В 1975 г. была публикация Жоржа Жан Франц Кёлера и Сезар Мильштейна статьи «Длительно живущие культуры гибридных клеток, секретирующие антитела predetermined «специфичности», в которой описали метод получения моноклональных антител. Такие антитела стало возможным получать в результате создания гибридом (клеток, объединяющих нормальный антителообразующий В-лимфоцит с опухолевой клеткой). Это антитела, вырабатывае-

мые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону. Они узнают один конкретный участок патогена и воздействуют на него. Получение гибридом имеет огромное значение для медицины, т.к. метод можно применять для распознавания опухолевых клеток и замедления или остановки их роста.

В 1978 г. произошло событие, значение которого для человечества трудно переоценить – осуществлен перенос эукариотического гена инсулина в бактериальную клетку, где на нем синтезирован белок – проинсулин (компания Genentech).

В 1982 г. поступил в продажу человеческий инсулин, продуцируемый бактериями кишечной палочки (*Escherichia coli*). Производство такого инсулина было спасением для больных сахарным диабетом, поскольку обычного инсулина, получаемого из поджелудочной железы свиней, просто не хватало. По технологии рекомбинантных ДНК был получен соматотропный гормон человека (СТГ), ответственный за то, какого роста будет человек. Генно-инженерный соматотропин решил проблему лилипутов (людей маленького роста), которых можно было увидеть в достаточно большом количестве в цирках, на подмостках театров, а порой просто на улице.

Впервые соматотропин был синтезирован в 1979 г. группой ученых Калифорнийского университета. Им удалось внедрить в кишечную палочку ген, ответственный за синтез СТГ. Благодаря этому была получена кишечная палочка, синтезирующая соматотропин. Бактерии в питательной среде размножаются очень быстро, что позволяет в короткое время получить большое количество достаточно дешевого по себестоимости гормона, который затем выделяется из культуральной среды и очищается. Ген, внедренный в кишечную палочку, получить было непросто, ведь в человеческом организме нет гена, ответственного за синтез соматотропина. Есть лишь ген, ответственный за синтез прогормона СТГ, из которого затем уже в организме образуется сам гормон. Поэтому человеческая ДНК была обработана соответствующим образом, и к ней был «пришит» недостающий фрагмент, предварительно синтезированный химическим путем. До синтеза бактериального соматотропина использовали лекарства, созданные

на основе гипофизов умерших людей. Получение такого лекарства было затруднительно, стоимость высока, а количество ограничено. По этому принципу были разработаны генно-инженерные интерфероны и другие препараты для медицины.

Интерферон – это группа особых белков, представляющая собой естественный противовирусный антибиотик животного происхождения, который образуется в организме человека и животных в ответ на внедрение вирусов, блокируя их репликацию. Подразделяются на 3 типа – α -, β - и γ -интерфероны, каждый из которых имеет свои особенности как по строению, так и по выполняемым функциям. Интерферон α -2b (IFN α -2b, ИФН α -2b) – иммуномодулятор, используется при лечении гепатита С, хронических форм гепатита В.

Генноинженерный лейкоцитарный интерферон получают в прокариотических системах, т.е. с помощью кишечной палочки. Биотехнология получения интерферона включает множество сложнейших этапов, в которых задействуется плазмида *E. coli* с внесенной в нее новой генетической информацией.

По технологии рекомбинантных ДНК были получены первые вакцины для животных, а в дальнейшем и для человека. Примерами таких вакцин могут быть вакцина против гепатита В (энджерикс), сифилиса, холеры, бруцеллёза, гриппа, бешенства. Принцип получения – наработка необходимого для иммунизации белка происходит под влиянием гена возбудителя, встроенного в геном посторонней клетки-реципиента, в качестве которой могут использоваться различные микроорганизмы – кишечная палочка, сенная палочка (*Bac. subtilis*), клетки дрожжей. Такие вакцины не содержат возбудителя и полностью безопасны. К ним относится и векторная вакцина от коронавируса.

В 1986 г. был разработан метод полимеразной цепной реакции (ПЦР, автор метода К. Мюллис), в основе которого лежит многократное удвоение определённого участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (*in vitro*). В результате даже из небольшого фрагмента нарабатываются количества ДНК, достаточные для определения, например, возбудителя заболевания.

Метод ПЦР позволил определять наличие возбудителя заболевания, даже

если в пробе присутствует всего несколько молекул ДНК возбудителя. ПЦР позволяет диагностировать наличие долго растущих возбудителей, не прибегая к трудоёмким методам, так характерным для микробиологии. Этот метод используется для обнаружения урогенитальных инфекций и заболеваний, передающихся половым путем (ЗППП), а также вирусных инфекций. Метод ПЦР позволяет выявлять даже единичные клетки бактерий или вирусов.

ПЦР-диагностика обнаруживает наличие возбудителей инфекционных заболеваний в тех случаях, когда другими методами (иммунологическими, бактериологическими, микроскопическими) это сделать невозможно. В 1988 г. началось широкомасштабное производства оборудования и диагностических наборов для ПЦР, метод стал обычным для диагностики множества заболеваний.

В конце 80-х гг. были начаты крупные международные проекты, целью которых было полное секвенирование геномов бактерий, грибов, дрожжей, дрожифилы, мыши, пшеницы. В результате был расшифрован геном многих видов микроорганизмов. Первоначально была определена первичная структура ДНК микроорганизмов с размерами генома до 20 млн. п. н., к концу 1998 г. число микроорганизмов с расшифрованным геномом составило 18 (см. табл. 1). Наименьший размер генома у свободно живущих организмов (например, у бактерии *Mycoplasma genitalium*) составляет лишь около 600 000 п.н. У этой бактерии содержится всего 500 генов, причем 150 из них (если их удалять по одной) никак не влияют на её жизнеспособность. Так возникло предположение, что элементарная «машина жизни» теоретически должна работать при наличии всего лишь 350 генов.

Первые объекты для секвенирования были выбраны неслучайно. Большинство из этих микроорганизмов (спирохеты, хламидии, кишечная палочка, возбудители пневмоний, сифилиса, гемофилии, микоплазмы, риккетсии) способны вызывать различные патологии у человека, хотя в списке имеются и не патогенные микроорганизмы (метанобразующие бактерии, археи, цианобактерии). В настоящее время многие из проектов секвенирования уже завершены;

определена полная последовательность нуклеотидов ДНК вируса SV- 40 и нитчатого бактериофага *fd*, исследовано свыше 800 полных клеточных геномов различных видов микроорганизмов, а также пекарских дрожжей, маленького червя – нематоды и весьма интересного в практическом плане сорного растения арабидопсис (*Arabidopsis Thaliana*, семейство *Brassicaceae*).

Растение стало знаменито тем, что расцвело на борту русской космической станции "Салют-7". Изучение генома арабидопсиса может быть полезно для разработки новых лекарственных препаратов. Исследователи нашли у арабидопсиса 139 генов, которые также найдены и у людей, и отвечают за развитие болезней, начиная от рака кишечника и кистозного фиброза и заканчивая глухотой и болезнями сердца.

В таблице 1 приведены названия лишь некоторых организмов, геном которых секвенирован к настоящему времени. Полностью секвенированы геномы модельных объектов генетики – мушки дрозофилы *Drosophila melanogaster*, и бактерии *E. coli*. Истинное число секвенированных геномов гораздо больше.

Таблица 1 – Примеры микроорганизмов, геном которых секвенирован к настоящему времени

Организм (латинское видовое название)	Размер генома (млн. п. н.)	Количество генов
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2,18	2436
<i>Aquifex aeolicus</i>	1,55	1512
<i>Bacillus subtilis</i>	4,20	4100
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1,44	853
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,06	895
<i>Escherichia coli</i> K-12	4,60	4288
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,83	1740
<i>Helicobacter pylori</i> 199	1,64	1495
<i>Helicobacter pylori</i> 26695	1,67	1590
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	1,75	1855
<i>Methanococcus jannaschi</i>	1,66	1738
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4,40	4033
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58	468
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,82	716
<i>Pyrococcus horikoshii</i>	1,74	2061
<i>Rickettsia prowazekii</i>	1,12	834
<i>Synechocystis</i> sp.	3,57	3168
<i>Treponema pallidum</i>	1,14	1041

После расшифровки генома микроорганизмов, был начат проект по секвенированию генома человека, который успешно завершился – к 2000 г. были проведены основные работы (92%) для полного секвенирования генома человека, остальные 8% расшифровали позже, к 2020 году. Если принять расшифрованный геном за образец, то его можно использовать в медико-генетических исследованиях, сравнивая с ним мутации в генах пациентов.

В 2011г. в США был объявлен конкурс на секвенирование 100 геномов долгожителей с тем, чтобы информация могла пролить свет на проблему долголетия. Призовой фонд этого соревнования, которое началось в 2013 году, составил 10 миллионов долларов. Работа по изучению геномов долгожителей проводится и в России. Совместно с археологами в нашей стране была собрана уникальная база ДНК древних людей – более 200 образцов. На основе этих исследований можно реконструировать историю человечества, опираясь на науку и факты, а не на письменные источники, которые могут быть необъективными. Также исследование ДНК древних людей и сравнение с геномом современного человека может предсказать появление в будущем новых заболеваний и даст возможность избежать их. Оказалось, что из одного миллиарда двухсот миллионов генов, а именно столько присутствует в нашем организме, очень большое количество общих с генами червей. Много генов похожи на гены плодовой мушки-дрозофилы. Каждый пятый ген – общий с микробными. Более того, исследователи генома отметили, что число генов собственно человека оказалось в три раза меньше, чем ранее считалось - всего тридцать тысяч против предполагавшихся ста тысяч.

Достижения в области микробиотехнологии позволили перейти к манипуляциям с клетками других организмов. Культуры клеток и тканей растений являются потенциальным источником специфических вторичных метаболитов, к которым относятся алкалоиды, стероиды, масла и пигменты. Многие из этих веществ все еще получают путем экстракции из растений. Не ко всем видам растений в настоящее время применимы методы микробиологической промышленности, т.е. культивирование растительных клеток в ферментерах. За

исключением некоторых видов растений, суспензионные и каллусные (каллус – неорганизованная масса растительных клеток) культуры клеток синтезируют вторичные метаболиты в меньших количествах, чем целые растения, но рост биомассы в ферментере может быть значительным. Новым подходом, направленным на увеличение выхода вторичных метаболитов, является иммобилизация клеток и тканей растений, что применяется и в микробиотехнологии для сокращения расхода ферментов при ряде процессов (иммобилизация ферментов).

Успешные работы генных инженеров в области микробиотехнологии позволили перейти затем и к изменению генома растений и млекопитающих.

В 1980 году Сэром Джоном Гёрдоном (в соавторстве) была получена первая трансгенная мышь, в эмбрион которой микроинъекцией был введен ген тимидин-киназы вируса простого герпеса и показано, что этот ген работает во всех соматических клетках мыши, т.е. осуществлен трансгеноз. Этот метод стал использоваться как для фундаментальных исследований, так и для решения практических задач сельского хозяйства и медицины.

В 1997 г., было осуществлено клонирование первого млекопитающего (овечка Долли) из дифференцированной соматической клетки.

В 1999 г. клонировали мышь и корову, в 2000 г. – свинью.

В 2002 г. полностью секвенирован геном мыши. Созданы трансгенные свиньи – с целью получения человеческого гемоглобина. Созданы трансгенные рыбы – им введен гормон роста: годовалые трансгенные особи лосося в 11 раз крупнее обычных особей.

Решение проблемы снабжения растущего населения планеты продуктами питания возможно с помощью технологий получения трансгенных растений, при этом осуществляется эффективная защита с.-х. культур и увеличение их урожайности. Трансгенными могут называться те виды растений, в которых успешно функционирует ген (или гены), пересаженные из других видов растений или животных. Делается это для того, чтобы растение реципиент получило новые необходимые свойства – повышенную устойчивость к вирусам, засухам,

гербицидам, вредителям и болезням растений. Пищевые продукты, полученные из таких генноизмененных культур, могут иметь улучшенные вкусовые качества, лучше выглядеть и дольше храниться. Такие растения дают более богатый и стабильный урожай, чем их природные аналоги, именно поэтому считается, что за ними будущее.

Получение растений, устойчивых к вредителям, стало возможным при внесении в их геном генов, обеспечивающих в бактериях *Bac. thuringiensis*, а теперь в растениях, синтез токсинов (δ -эндотоксин – Cry-белки), убивающих личинок насекомых отрядов чешуекрылых, жесткокрылых, двукрылых, и др., или значительно снижающих их численность. В строгом смысле это протоксин, т.е. предшественник токсина. Попад в кишечник насекомого он превращается в токсин, насекомое перестает питаться и погибает. Такие генетически измененные растения получены у кукурузы, хлопка, картофеля и носят название *Bt* –культуры.

Получение растений, устойчивых к вирусам, представляет собой важную проблему, т.к. вирусные болезни наносят значительный ущерб сельскому хозяйству (в нашей стране, например, на Дальнем Востоке вирусом поражен картофель). Для того, чтобы получить устойчивые растения, проводят их «иммунизацию» вирусными генами, кодирующими белки оболочки, другими вирусными генами или антисмысловыми последовательностями вирусного генома. Примеры таких растений приведены в таблице 2.

Работы в области генетической инженерии, осуществленные сначала на микроорганизмах, а затем на растениях и млекопитающих, относятся к 100 великим событиям XX в. Ученые, взявшие на себя право менять по своему усмотрению природой созданные организмы, должны осознавать свою ответственность перед будущим человечества.

Таблица 2 – Примеры устойчивых к вирусам трансгенных растений, синтезирующих белки оболочки вирусов

Картофель	Вирус скручивания листьев
Картофель	Вирус Y картофеля
Картофель	Вирус S картофеля
Картофель, табак	Вирус X картофеля
Рис	Вирус полосатости риса
Табак	Вирус мозаики резухи
Табак	Вирус гравировки табака
Табак	Вирус бронзовости томата
Табак, огурец	Вирус мозаики огурца
Табак, томат	Вирус табачной мозаики
Томат	Вирус мозаики томатов

4. Получение пищевых продуктов с новыми свойствами

Кроме огромных достижений в области генетической инженерии, в конце XX в. стала развиваться и более скромная, но очень важная область микробиотехнологии – получение пищевой продукции с лечебными свойствами. В далекие времена люди получали кисломолочные продукты от стихийного процесса скисания молока. Постепенно мир перешел к селекции микроорганизмов заквасочной микробиоты и к масштабному получению молочных продуктов на предприятиях молочной промышленности, представляющих собой ветвь микробиотехнологии. На предприятиях стали использовать не только естественные процессы сквашивания молока его же молочнокислыми бактериями (**простокваша**), но и управлять этими процессами, применяя разнообразные заквасочные культуры, спектр которых сейчас достаточно широк. Кисломолочные продукты производятся в огромных масштабах по всему миру.

В арсенале производителей молочных продуктов имеется набор культур микроорганизмов родов *Lactococcus*, *Lactobacillus* и других для получения кефира, йогурта, сметаны, творога, сыров. К этой продукции теперь добавилась новая, несущая в себе лечебный компонент – продукция с пробиотическими свойствами. Основанием для ее создания явился новый подход к значимости микробиома нашего организма и, в частности, к пониманию роли кишечной микробиоты в формировании иммунитета.

Мы уже упоминали о пробиотиках, как первых продуктах, полученных на основе бифидобактерий. Они проявляют антагонистическую активность по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам в кишечнике, как человека, так и животных.

Появилось и новое понятие – **пробиотики**, т.е. микроорганизмы для жизни (в отличии от антибиотиков – против жизни патогенных бактерий). Первыми в качестве пробиотиков были использованы бифидобактерии.

В настоящее время идентифицировано 24 вида бифидобактерий (название дано от внешнего вида палочек – лат. *bifidus* – раздвоенный, расщепленный надвое), объединенных в род *Bifidobacterium*, который относится к семей-

ству *Actinomycetaceae*. Наиболее изученными видами бифидобактерий являются: *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. Pseudolongum*, *B. thermophilum* и др. Типовой вид – *B. bifidum*. Постепенно спектр микроорганизмов-пробиотиков расширился, но к основным относятся лактобациллы (*Lactobacillus*), бифидобактерии (*Bifidobacterium*), пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium*), стрептококки вида *Streptococcus thermophilus*, бактерии рода *Lactococcus* (ГОСТ Р 56139-2014). К пробиотикам относят и непатогенные штаммы таких бактерий как *Bac.subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *E. salivarius*).

На основе только бифидобактерий готовится Бифилин, технология производства которого была разработана еще в СССР и предназначался он для детей, начиная с раннего возраста. В другие продукты вносят небольшие количества бифидобактерий, поэтому они называются обогащенными (мороженое с бифидобактериями). Пробиотическими свойствами обладают не только кисломолочные продукты (Активия, Актимель, Бифилин, Бифидокефир), но и другие. Например, некоторые производители добавляют пробиотики в квас, определенные виды соков, в печенье, вафли и конфеты.

После исследования микроорганизмов-пробиотиков, были открыты и изучены вещества, получившие название пребиотики, которые способствуют развитию бифидобактерий в кишечнике человека. Их стали применять для лучшего функционирования пробиотических культур.

Пребиотики – это компоненты пищи, которые не перевариваются и не усваиваются в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, но ферментируются микробиотой толстого отдела кишечника человека и стимулируют её рост и жизнедеятельность.

Лактулоза – один из примеров лучших пребиотиков, представляет собой дисахарид, состоящий из галактозы и фруктозы, не гидролизует дисахаридазами слизистой оболочки тонкого кишечника и проходит в толстый, где используется микробиотой. Лактулоза не встречается в свободном виде, а получается в виде изомера молочного сахара – лактозы, она содержится в составе олигос-

ахаридов в грудном молоке. Примерами пребиотиков могут быть – олигофруктоза, инулин, галактоолигосахариды, парааминобензойная кислота, пантотенат кальция, лактулоза, лактитол, олигосахариды грудного молока. Многие натуральные продукты (кукуруза, крупы, хлеб, лук, чеснок, фасоль, горох) содержат компоненты, которые можно отнести к пребиотикам.

Симбиотики. Совместное применение нескольких микроорганизмов одного или разных видов привело к созданию симбиотиков, в которых микроорганизмы усиливают действие друг друга в этом симбиозе. Примеры симбиотиков – ацидобак (9 видов лактобактерий), аципол (лактобактерии, грибки кефирные), бактериобаланс (бифидобактерии, лактобактерии), биовестин-лакто (бифидобактерии, лактобак-терии), бифидин (бифидобактерии, лактобактерии), бифидобак (бифидобактерии, молочнокислые стрептококки).

Синбиотики. Совместное применение про- и пребиотиков привело к созданию синбиотиков – препаратов, в которых наблюдается синергизм воздействия на кишечную биоту – Максифлор максимум, Максифлор плюс, Необиотик, Лактобаланс, Лактобаланс® Бэби, Энтеролакис Фибра, Нормобакт L. и другие.

В основе нового направления микробиотехнологии лежит применение разнообразных культур микроорганизмов, как в составе пищевой продукции, так и в виде самостоятельных препаратов – жидких или лиофильно высушенных микрооаганизмов-пробиотиков.

Заключение о продукции микробиотехнологии. Продукция микробиотехнологии разнообразна – ферменты для животноводства, а также для пищевой промышленности, витамины, незаменимые аминокислоты, антибиотики и др.); кроме того, миллионы тонн продукции пищевой промышленности, полностью основанной на деятельности микроорганизмов (кисломолочные продукты, дрожжи, хлеб, пиво, квас, вино, спирт).

Новое направление микробиотехнологии – использование микроорганизмов для производства кормов, сбалансированных по содержанию белка и аминокислотному составу. Проблема белка остается все также актуальной, особен-

но в кормах для животных и птицы. По данным Минсельхоза, в России потребность комбикормовой промышленности в белковом сырье сейчас удовлетворяется только на 60-65%. Одним из путей устранения нехватки кормового белка является получение его микробиологическим путем. Возобновляется производство микробного белка, выращенного в ферментерах, содержащего в своем составе незаменимые аминокислоты. Добавка микробного белка восполнит его дефицит в кормах для животных и в рыбоводстве.

Российским предприятием ООО «Биопрактика» при поддержке АО «Дукс» и негосударственного института развития «Иннопрактика» разработана улучшенная технология получения протеина с использованием метана», – рассказал генеральный директор ООО «Биопрактика» Станислав Новиков. Это возврат к тем технологиям, за которые в 70-ые годы XX в. Советские ученые получили Государственную премию – культивирование микроорганизмов на парафинах нефти.

Продолжается разработка высокоэффективных биопрепаратов, стимулирующих рост растений и повышающих их устойчивость к фитопатогенам; проводится ремедиация почв и водоемов от техногенных загрязнений различной природы, разрабатываются приемы ускоренной аэробной и анаэробной переработки с/х отходов, а также исследуются возможности использования специфичных фаговых препаратов в аквахозяйствах и борьбе с потерями от фаговых лизисов в пищевой промышленности.

Свидетельством достижений микробиотехнологии может служить наличие в нашей стране вакцин отечественного производства против многих заболеваний. Перечень этих вакцин для профилактики инфекционных заболеваний, зарегистрированных и разрешенных к применению в РФ, содержит более 52 наименований. Среди них вакцины против микроорганизмов первой и второй групп патогенности, особенно опасных и быстро распространяющихся. Примерами могут служить противочумная, против холеры, бешенства, ящура, гриппа, полиомиелита, гепатита В и другие.

Особенно поразительно быстрой была наработка в России за короткий срок миллионов доз вакцин против вируса SARS-CoV-2, что позволило приостановить развитие пандемии и уменьшить смертность от короновиральной инфекции – COVID-19.

Было создано несколько типов Российских вакцин от ковида:

1. Векторные. Эти вакцины являются генно-инженерными.
2. Пептидные. Эти вакцины созданы на основе готовых очищенных белков вируса.
3. Цельновиральные (цельновирусные). Эти вакцины созданы на базе инактивированных (убитых) или ослабленных частиц вируса, то есть по классической технологии.

Для профилактики коронавирусной инфекции у нас применяется четыре отечественных вакцины:

- Гам-Ковид-Вак (торговая марка «Спутник V»). Препарат состоит из двух компонентов, в состав которых входят рекомбинантные аденовирусные векторы на основе двух различающихся сборок аденовируса человека. В основе вакцины использован аденовирусный вектор со встроенным в него фрагментом генетического материала SARS-CoV-2 (коронавирус нового типа), кодирующий информацию о структуре S-белка шипа вируса. Сам фрагмент генетического материала безопасен для человека, но при этом способен обеспечить формирование устойчивого антительного и клеточного иммунного ответа к вирусу.

- «ЭпиВакКорона» – вакцина на основе пептидных антигенов для профилактики COVID-19, разработчик – Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). Зарегистрирована 13.10.2020 г. Ее основу составляют белок-носитель и искусственно синтезированные пептиды – небольшие фрагменты S-белка нового коронавируса. При изготовлении вакцины клеточные линии не использовались и не будут использо-

ваться. Препарат не содержит вируса, его частей и генетического аппарата, практически не дает побочных эффектов. Одним из преимуществ вакцины «ЭпиВакКорона» является ее эффективность против различных штаммов коронавируса, поскольку она содержит консервативные, то есть редко изменяющиеся эпитопы. Для корректной оценки поствакцинального иммунитета после вакцинации пептидной вакциной «ЭпиВакКорона» необходимо использовать ИФА тест-систему «SARS-CoV-2-IgG-Вектор».

- «Спутник Лайт». Разработчик Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Гамалеи, зарегистрирована 06.05.2021 г. Препарат является полной копией первого компонента «Спутник V», производится биотехнологическим путем, при котором не используется патогенный для человека вирус SARS-CoV-2.

- «Ковивак». Разработчик Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова Российской академии наук. Зарегистрирована 20 февраля 2021 г. Вакцина коронавирусная инактивированная цельновирионная концентрированная очищенная.

Первая в мире вакцина Гам-Ковид-Вак («Спутник V»)» для профилактики коронавирусной инфекции была создана у нас в России и зарегистрирована 11.08.20 г. Разработчик вакцины – Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи Минздрава России.

Таким образом, в процессе развития биотехнологии сформировалось три основных направления – микробиотехнология, связанная с крупномасштабным производством микроорганизмов и продуктов их синтеза, явившаяся базисом для дальнейших исследований и формирования следующих направлений – биотехнология в растениеводстве и биотехнология в животноводстве. Будучи самостоятельными, они часто пользуются одинаковыми методами, действуя на генетическом уровне, стремясь к единой для биотехнологии цели – накормить, вылечить, продлить жизнь здорового человека и сохранить окружающую среду.

5. Краткая история развития биотехнологии и современные направления ее развития

Термин «Биотехнология» впервые применил венгерский инженер Карл Эреки в 1917 г. по отношению к производству свинины на основе переработки живым организмом свиньи (био) сахарной свеклы в свинину. В традиционном, классическом, понимании термин «биотехнология» как наука о методах и технологиях производства различных веществ и продуктов с использованием природных биологических объектов, вошел в научную литературу в 60-ые гг. XX в.

На самом деле, биотехнологические процессы известны человечеству давно, т.к. они связаны с деятельностью микроорганизмов и их ферментов. К «древним биотехнологиям» можно отнести те, которые использовались при получении пива, вина, хлеба, кисломолочных продуктов, сыра и др. Это **«Эмпирический» (от лат. опыт) период развития биотехнологии** – самый длительный, охватывающий примерно 8000 лет, из которых более 6000 лет до н.э., и около 1800 лет н.э.. Древние народы того времени интуитивно использовали приемы и способы изготовления хлеба, пива и некоторых других продуктов, не зная теории, объясняющей причину происхождения процессов брожения.

Пивоварение. Излюбленным примером возникновения микробиотехнологии до нашей эры является пивоварение. Пиво – самый древний среди известных сегодня алкогольных напитков, следы его производства найдены в пещере Ракефет на территории современного Израиля. Уже 13 тысяч лет назад здесь готовили этот напиток. Существует теория, что человек начал выращивать зерновые культуры не для производства хлеба, а ради пива <https://winestyle.ru>. История пивоварения восходит к эпохе неолита. Пиво – один из древнейших напитков, издавна известный наряду с мёдом, квасом и вином. Его варили уже шумеры, а затем – египтяне. Первое пиво изготавливали, оставляя в воде зерно (либо хлеб, или кашу), также вскоре туда стали добавлять солод; пили раннее пиво через трубочку.

В Древнем Египте с большим уважением относились к хмельному напитку. Здесь варили не только ячменное, но и пшеничное пиво, рецепт кото-

рого приписывают богу Осирису. Всего египтяне знали около 20 рецептов, а напиток входил в обязательный рацион воинов и строителей пирамид.

В Древней Греции любили пиво, варили его из ячменя и пшеницы, а вот римляне считали напиток "пойлом варваров". Древнеримские историки описывают, что пиво варили кельты и германцы, а также другие европейские племена, которые воевали с легионами (<https://winestyle.ru>).

Во времена Древней Руси всегда пили пиво. Варили его из дикого меда, который добывали бортники. Такое сырье было дефицитным товаром, поэтому крестьяне для придания пиву вкуса начали добавлять в него хмель. В средние века перед праздниками в селах и городах специально строили на небольших речках и ручьях пивоварни, в которых варили большое количество пива к застолью.

Среди русских царей и императоров особой любовью к пиву отличался Петр I, который был поклонником янтарного напитка, сваренного по голландским рецептам. Английский портер и эль в России начали варить при Елизавете I, которая любила эти сорта. При Екатерине II был построен первый пивоваренный завод, а с середины XIX века эти предприятия стали возводиться по всей стране (<https://winestyle.ru>).

В основе пивоварения лежит процесс брожения, вызываемый различными разновидностями дрожжей.

Пиво – слабоалкогольный напиток, получаемый спиртовым брожением солодового сусле с помощью пивных дрожжей, обычно с добавлением хмеля. Содержание этилового спирта в большинстве сортов пива около 3,0-6,0 % об., сухих веществ 7-10 %, углекислого газа 0,48-1,0 %.

Не делая рекламу пива и не призывая потреблять его в неограниченных количествах, нельзя не отметить его пользу. Среди ценных компонентов пива – витамины B₁ и B₂, аминокислоты, микроэлементы калий, натрий, магний, фосфор, антиоксиданты, органические кислоты, флавоноид ксантохумол, который подавляет действие канцерогенов. Кроме того, пиво содержит простые сахара и может быстро пополнить запасы энергии у человека.

В последнее время стали употреблять термин «крафтовое пиво», т.е. пиво, приготовленное небольшими партиями с соблюдением традиций пивоварения («ремесленное») или по своим рецептам и, соответственно, более дорогое.

Квас – история его создания берет начало в Египте. Первые прототипы этого напитка появились еще в III тысячелетии до н.э.

Квас готовят на основе брожения из муки и солода (ржаного, ячменного) или из сухого ржаного хлеба, иногда – с добавлением пахучих трав, мёда, пчелиных сот; также готовится из свёклы, фруктов, ягод. Квас используется не только как напиток, но и является основой для классических холодных похлёбок русской кухни (окрошка, ботвинья и др.).

До XII в. квас на Руси был крепче и гуще современного пива. Квас считался алкогольным напитком, и аналогом слова «пьяница» на языке того времени было слово «квасник» (сленговое понятие «квасить» в значении «пьянствовать» дошло и до нашего времени).

С XII в. стали различать квас как кислый слабоалкогольный напиток и квас как сильно опьяняющий напиток. Опьяняющий квас стали называть «творёным», то есть сваренным, а не произвольно закисшим, как обычный квас.

Виноделие. История виноделия восходит к эпохе неолита. Вино – один из древнейших напитков, издавна известный наряду с мёдом, квасом и пивом. В современном понимании виноделие – сложный технологический процесс изготовления вина из винограда, а также из других плодов и ягод. Включает многочисленные операции: дробление сырья и отделение гребней (у винограда) или плодоножек (у плодов и ягод), получение сусла, спиртовое брожение сусла или мезги, малолактическую ферментацию, спиртование (при изготовлении креплёных вин), выдержку вин и специальную их обработку (доливка, фильтрование, пастеризация и т. п.).

Луи Пастер спас виноделие Франции, предложив прогрев вина при температуре 60-80 °С, чтобы предохранить его от порчи посторонними микроорганизмами. С тех пор термин «пастеризация» прочно вошел в жизнь как прием для уничтожения неспорных микроорганизмов в жидких продуктах.

Малолактическая ферментация (брожение) – это естественный процесс при изготовлении вин, при котором яблочная кислота (ее соли называются малатами) под действием лакто-бактерий превращается в молочную кислоту (ее соли называются лактатами).

Яблочная кислота содержится во всех плодах, она резко кислая. Молочная кислота более мягкая. Молочно-кислые бактерии находятся в природе на ягодах и винограде.



Винные погреба, Каталония (Испания)

Раньше, когда вино производилось без терморегуляции, в бочках или бетонных чанах, малолактическая ферментация начиналась самопроизвольно после того, как заканчивалось алкогольное брожение. После изобретения температурного контроля, алкогольное брожение стали проводить при температурах, ниже обычной температуры в погребе $+16-17^{\circ}\text{C}$. Температура алкогольного брожения при $13-15^{\circ}\text{C}$ позволяет сохранить свежесть вина и избежать появления в нем «уваренных» тонов, так как при проведении алкогольной ферментации выделяется тепло. Но лакто-бактерии при такой температуре «спят», если вино оставить при пониженной температуре в чане, то малолактики можно избежать. Напротив, если перелить вино в дубовую бочку или отключить термо-

регуляцию, то лакто-бактерии начнут работать.

На разных винодельнях применяют различные приемы для получения качественного вина. У Бордо, после того, как закончится алкогольная ферментация, молодое вино переливают в старые деревянные бочки. В таких емкостях уже неоднократно происходил процесс малолактической ферментации, поэтому в них гарантированно присутствуют колонии молочных бактерий. Иногда вино переливают в стальные танки и искусственным путем добавляют в вино эти бактерии, которые размножены в лабораторных условиях. На винодельнях Бургундии новое вино также переливают в старые бочки, в которые не требуется добавление таких бактерий. Своеобразие имеется и на винодельнях Крыма, Грузии, Абхазии, Молдавии.

В древности виноделие развивалось в странах, где было виноградарство. В Античном мире наиболее крупными производителями вина в период с V века до н. э. по V века н. э. в основном были Древняя Греция и Древний Рим. Вино было известно и производилось также в Колхиде, Финикии, Армении, Египте, Израиле и других странах Древнего мира. Но самыми известными винами этого периода считались вина Древней Греции. Греческие колонисты, финикийские мореплаватели и римские завоеватели распространяли культуру винограда и способы приготовления вина в странах Европы, Ближнего Востока и Северной Африки, где для этого были благоприятные климатические условия. Влияние античного виноделия на возникновение и развитие виноделия в этих странах прослеживается в сортименте винограда, в агротехнических приемах его выращивания и способах приготовления вина. Виноградо-винодельческие связи существовали у греческих городов-колоний с населением, которое проживало в междуречье Дуная, Прута, Днестра и Южного Буга.

Хлебопечение. Самые древние народы выпекали хлеб без закваски, используя только размолотые зерна и воду. Появление заквасок в виде дрожжей относят к периоду около II века до н. э. По сообщению Плиния Старшего, выпечка дрожжевого хлеба в Италии стала повсеместной (Плиний старший – древнеримский писатель-эрудит, наиболее известен как автор «Естественной

истории» – крупнейшего энциклопедического сочинения античности, годы жизни 22-24 г. н.э.).

Поначалу среди крестьян, а затем и в городах пекари стали выпекать этот новый вид хлеба – дрожжевой. Он ценился выше пресного, так как считался наиболее полезным для здоровья. Для приготовления дрожжевого хлеба существовало несколько способов заквашивания теста. Так, галлы и иберийцы использовали снятую с пива пену в качестве закваски, придававшей хлебу лёгкость, которой не было у плотных хлебов. В Италии наиболее распространённым методом было оставить кусочек теста после приготовления хлеба и использовать его на следующий день в качестве источника брожения.

Римляне знали также о приготовлении хлебной закваски (*fermentatum*), и в I веке н.э. хлеб выпекался именно из теста с закваской (*panis fermentatus*). Хлеб из пресного теста назывался *panis non fermentatus* (или *azymus*), то есть «без закваски», слегка заквашенный хлеб – *panis leniter fermentatus* (или *acrozymus*). Раз в год, во время сбора урожая винограда, заготавливали большое количество хлебной закваски из пшеничных отрубей или пшена, которые на три дня заливали виноградным суслом, вымешивали, сушили на солнце и затем тонко нарезали, чтобы потом использовать в течение года. При надобности закваску разводили в горячей воде и добавляли в муку.

Сыроварение. История сыра насчитывает около 7 000 лет и его родиной является, повидному, арабский Восток. Бедуины использовали кожаные мешки из овечьих желудков для перевозки молока, а тряска, жара и ферменты превращали его в сыр. Конечно, на самом деле сыроварение – процесс сложный, состоящий из нескольких этапов – созревание молока и его подготовка к свертыванию, получение и обработка сгустка и сырного зерна, самопрессование и прессование сыра, посолка сыра, созревание сыра.

Не из каждого молока можно получить сыр – Решающим фактором в производстве сыров являются химический состав, физические свойства и микробиологические показатели перерабатываемого молока. Эти факторы определяют сыропригодность молока, т.е. его способность к свертыванию, образова-

нию сгустка надлежащей плотности, а также способность к брожению и созданию среды, необходимой для развития и деятельности полезных микроорганизмов и прежде всего молочнокислых бактерий.

Сыропригодность зависит не только от состава и свойств молока, но и от особенностей биотехнологии сыров, для производства которых оно используется. Так, в производстве твердых сыров обсемененность спорами маслянокислых (они являются посторонними в молоке) бактерий и сычужная свертываемость являются важнейшими показателями сыропригодности молока, а в производстве кисломолочных сыров они не играют определяющей роли, т.к. не смогут там развиваться. Поэтому, говоря о сыропригодности молока, подразумевают молоко, которое предназначено для выработки твердых сычужных сыров. Сейчас уровень развития производства таков, что можно перерабатывать на твердые сычужные сыры молоко практически любого качества, но для элитных сыров качество сырья очень важно. Разработаны технические условия на молоко – сырье для сыроделия (ТУ 9811-153-04610209-2004), которые сводятся к следующему:

Молоко должно быть получено от здоровых животных, принадлежащих к стаду, благополучному по инфекционным заболеваниям, что должно быть подтверждено соответствующими документами в установленном порядке.

Молоко не должно содержать ингибирующих веществ, быть замороженным, подвергнутым термической обработке, полученным от животных в первые 7 суток после отела и последние 10 суток перед запуском.

По физико-химическим показателям молоко должно соответствовать нормам:

- Коровье молоко – Кислотность, в градусах Тернера °Т – от 16.0 до 19.0. Массовая доля белка не менее (%) – 2.8. Массовая доля жира не менее (%) – 3.1. Плотность (кг/м³) – 1027.

- Козье молоко – Кислотность, °Т – от 17,0 до 28,0. Массовая доля белка не менее (%) – 3.0. Массовая доля жира не менее (%) – 3.0. Плотность (кг/м³) – 1028,0.

- Овечьего молока – Кислотность, °Т – от 20,0 до 28,0. Массовая доля белка не менее (%) – 5.0. Массовая доля жира не менее (%) – 4.0. Плотность (кг/м³) – 1032,0.

Для производства сыра важным является содержание кальция и фосфора в молоке, которые способствуют образованию хорошего сгустка. Массовая доля кальция в молоке от 110 до 140 мг/100 г. Около 22% всего кальция прочно связаны с казеином. Остальные 78% входят в состав фосфорнокислых и лимоннокислых солей кальция. Наибольшее значение в практике сыроделия имеют фосфаты кальция, часть которых находится в состоянии истинного раствора, часть – в виде коллоидного состояния. Соотношение этих двух форм фосфора и кальция играет важную роль в стабилизации коллоидных белковых частиц молока. Между ними устанавливается равновесие, нарушение которого приводит к образованию дряблого и потере большого количества казеина с сывороткой, а значит, и к снижению выхода сыра. При недостатке содержания кальция в молоко добавляют хлористый кальций. При домашнем сыроварении это делают сразу обязательно, так как нет возможности измерить все показатели молока.

Кроме определенных свойств молока для получения сыра необходим сычужный фермент. Он называется еще реннин (химозин) – фермент из класса гидролаз, который вырабатывается у жвачных животных в желудочных железах 4-го отдела желудка (сычуге). Это первый фермент, который датский учёный Кристиан Хансен выделил химически: путём экстракции солевым раствором из высушенного желудка телёнка (вручена золотая медаль в 1874 г.). Получать этот фермент было сложно, т.к. его брали у новорожденных телят, до 10 дней после рождения. Но с развитием биотехнологии все изменилось. Появился микробный фермент, аналог сычужного.

В 1960-е были выделены штаммы грибов *Mucor pusilus* и *Mucor miehei*, синтезирующих подобные ферменты, но с меньшей активностью. Позднее были разработаны способы получения ферментов из *Pseudomonas mixoides*, *Bacillus licheniformis*, *Edothea parasitica* и др.

С начала 1990-х годов для производства сыров в результате достижений генетической инженерии начали использовать реннин, произведённый бактериями, имеющими копии гена ренина телёнка.

Компания *Pfizer* создаёт сычужный фермент, который синтезировали ГМО-бактерии. Ген животного, ответственный за производство фермента, встроили в бактерию. Она начинает производить ренин, который выделяют из культуральной жидкости.

Ферментов, подобных сычужному, сейчас выпускается много, но не все производятся за счет генетически измененными бактериями. Например, фермент Meito – это микробиальный реннин, произведённая в Японии. Данный фермент вырабатывается из пищевого гриба, затем ферментируется на ячмене и сушится путём экструзии (вакуумная сушка в специальных камерах).

Из сказанного выше видно, что древние технологии, претерпевая изменения, дошли до наших дней, и в усовершенствованном виде продолжают свое существование.

Удивительным является тот факт, что человек начал использовать микроорганизмы задолго до того, как узнал об их существовании. Причины процессов брожения, лежащие в основе пивоварения, виноделия, стали понятными лишь через 200 лет после открытия микроорганизмов (Антоний Ван Левенгук, 1692) и последующего установления их роли в превращениях микроорганизмами различных органических веществ в аэробных и анаэробных условиях. Эти исследования по раскрытию роли микроорганизмов в процессах брожения и гниения были проведены основоположником микробиологии, выдающимся французским ученым Луи Пастером (1822-1895).

С этого момента период развития биотехнологии получил название «**Этиологический**», т.к. были вскрыты причины (в перев. с греч. **этио-** – **причина**) целого ряда биотехнологических процессов. Этот период биотехнологии охватывает вторую половину XIX в. и первую треть XX в. (1856-1933 гг.).

В названный период были открыты новые виды микроорганизмов, созданы многие методы их исследования, в частности, получены плотные питатель-

ные среды, установлена каталитическая функция ферментов, начато изготовление прессованных пищевых дрожжей, а также получены продукты метаболизма микроорганизмов – ацетон, бутанол, лимонная и молочная кислоты.

Во Франции приступили к созданию биоустановок для микробиологической очистки сточных вод. Но работы, связанные с накоплением большой массы клеток микроорганизмов одного возраста, оставались исключительно трудоемким процессом. Вот почему требовался принципиально иной подход для решения многих задач в области биотехнологии. Именно эти задачи были решены в следующем периоде развития биотехнологии, получившем название **«Биотехнологический»** (1933-1972 гг.).

В эти годы достигнуты большие успехи в технологическом оснащении микробиологических процессов, начало которым было положено в работе Альберта Ян Клейвера и Артура Джордж Перкина. Они опубликовали «Методы изучения обмена веществ у плесневых грибов» и изложили в этой работе основные технические приемы, а также подходы к оценке получаемых результатов при глубинном культивировании грибов. Началось внедрение в биотехнологию крупномасштабного герметизированного оборудования, обеспечивающего проведение процессов в стерильных условиях. Были решены основные задачи по конструированию, созданию и внедрению в практику необходимого оборудования, в том числе главного из них – биореактора (ферментера, аппарата-культиватора). Все это послужило базой для дальнейшего производства антибиотиков, первым из которых был пенициллин, открытый Сэром Александром Флемингом еще в 1929 г., но производство, которого освоили только в период 1939-1945 гг. Благодаря открытию многих антибиотиков этот период получил еще и название **«Эра антибиотиков»**.

Антибиотиков оказалось так много, что их стали классифицировать по химическому строению, по механизму действия, по происхождению, активности по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям, антибиотики широкого спектра действия, бактерицидные и бактериостатические, противовирусные, противораковые, синтетические и полусинтетические, анти-

биотики первого, второго, третьего поколения. Было открыто более 2-х тысяч различных антибиотиков, которые относятся к классам β -лактамы, макролиды, аминогликозиды, тетрациклины, полипептиды, полиены, ансамицины и др., но не все можно было использовать из-за токсичности при испытаниях на подопытных животных или клеточных культурах. А затем появились аллергические реакции на антибиотики, т.к. оказалось, что их применяли при выращивании животных и птицы, что запрещено – в ветеринарии должны использоваться другие группы антибиотиков в отличие от лечебных для человека. Следующая причина заката эры антибиотиков – постепенная селекция микроорганизмов, устойчивых ко многим антибиотикам, приобретение ими новых «защитных форм» так называемых L –форм и персистирующих форм, и антибиотики перестали быть эффективными.

Одновременно, в этот период зарождались новые пути развития биотехнологии, т.к. были сделаны открытия, послужившие базой для последующего периода биотехнологии, который начался в 1972 г. – **Геннотехнический период развития биотехнологии (1972 г. по настоящее время)** (мы рассмотрели его в вопросе 4).

Современные направления биотехнологии

Сведения о разнообразных направлениях биотехнологии и ее достижениях стали интересны не только сотрудникам научных учреждений и производственных предприятий, но ими начали интересоваться представители широкой общественности. Эти направления получили свои названия, понятные любому человеку, далекому от знаний самой биотехнологии.

«**Белая**» биотехнология – производство биотоплива, ферментов и биоматериалов для различных отраслей промышленности. К белой биотехнологии относят промышленную биотехнологию, ориентированную на производство продуктов, ранее производимых химической промышленностью, – спирта, витаминов, аминокислот и др. (с учетом требований сохранения ресурсов и охраны окружающей среды).

«**Красная**» биотехнология – производство биофармацевтических препара-

ратов (протеинов, ферментов, антител) для человека, а также коррекция генетического кода; «красная» – это медицинская биотехнология. Производство биотехнологическими методами диагностикумов и лекарственных препаратов с использованием технологий клеточной и генетической инженерии. Клеточная терапия – комплекс терапевтических подходов, основанных на трансплантации клеток в больной организм с целью его лечения.

«Зеленая» – разработка и внедрение в культуру генетически модифицированных растений; использование биотехнологических процессов и методов в лесной, целлюлозно-бумажной и пищевой промышленности, а также в сельском хозяйстве и рыбоводстве. Создание биотехнологических методов и препаратов для борьбы с вредителями и возбудителями болезней культурных растений и домашних животных.

«Синяя» – связана с эффективным использованием ресурсов Мирового океана. Это получение из морской биоты пищевых продуктов, технических, биологически активных и лекарственных веществ.

«Серая» – природоохранная, занимается вопросами охраны окружающей среды современными методами, заменяя химические препараты на биоинсектициды, применяет «микробные пленки» при разливах нефти, перерабатывает отходы с тем, чтобы они не загрязняли окружающую среду, предотвращает биокоррозию, биоповреждения, биообрастания, восстановление плодородия земель.

«Коричневая» – биотехнология пустынь и засушливых зон, управление процессами в этих регионах.

«Золотая» – биоинформатика, нанобиотехнология. Нанобиотехнология – это раздел в нанотехнологиях, посвященный изучению воздействия наночастиц на живые системы, а также разработке способов моделирования и практического применения биологических наноструктур, наноявлений и нанопроцессов в экспериментальной биологии, медицине, экологии, сельском хозяйстве и других отраслях экономики.

«Желтая» – пищевая биотехнология. Это получение продуктов с заранее

запрограммированными свойствами, использование пищи из водорослей, культивируемых в биореакторах, повышение эффективности БАДов, использование ГМО, извлечение из продуктов аллергических компонентов.

«**Фиолетовая**» – академическая, определяемая на правительственном уровне, как правило, теоретические разработки, философские аспекты.

«**Пурпурная**» ее относят к фиолетовой – патенты, публикации, открытия, права на интеллектуальную собственность»);

«**Черная**» – биотерроризм, разработка биологического оружия массового уничтожения, биопреступления, противоурожайные действия).

Более упрощенным может быть деление биотехнологии по применению в разных отраслях народного хозяйства:

- Биотехнология в медицине.
- Биотехнология в животноводстве.
- Биотехнология в растениеводстве.

- Микробиотехнология. Последняя из названных связана с получением биомассы микроорганизмов и получением продукции микробного синтеза в виде аминокислот, ферментов, антибиотиков, токсинов, витаминов, генноинженерных вакцин, а также получением несвойственных микроорганизмам продукции (инсулина, интерферона, соматотропина, и др.).

В таблице 3 приведены данные из доклада Надежды Орловой «Рынок биотехнологий в мире и в России. Перспективы развития» в цикле семинаров «Биотехнологии будущего»: <http://www.youtube.com/watch?v=72VsxIYfsAw>

Классификация биотехнологической продукции приводится в ГОСТ Р 57079-2016, разработанным (НТ НП «ТП БиоТех2030»), введенным впервые. Настоящий стандарт разработчики рекомендуют применять совместно с ГОСТ Р 57095-2016. В качестве биотехнологической продукции могут выступать:

- материальные продукты, являющиеся, как правило, альтернативой продуктам, полученным синтетическим путем (например, каротиноиды, аминокислоты, витамины, биопластики и т. д.), либо образующие новый вид натуральных продуктов (например, биокolleкции, генбанки и т. д.) или их компоненты (нап-

пример, ферменты кормовые, программное обеспечение (биоинформационный анализ) и т. д.;

Таблица 3 – Типология биотехнологии в РФ

Биотехнология	Цвет	1. Медицина	2. Биофарм.	3. Промышленная	4. Пищевая	5. Аквакульт.	6. С/х	7. Лесная	8. Биоэнерг.	9. Экологич.
1. Медицинская б/т	Красный	Клеточные биомед. техн-ии; Диагностика заболеваний; Биосовместимые мат-лы	Персонализированная медицина	Биосовместимые мат-лы (для лаков, красок, одежды)			Диагностика заболеваний растений и животных; Ветеринарные вакцины; Кормовые антибиотики			
2. Биофармацевтика	Красный	Терапевтические ферменты; Гормоны; Гематотропные препараты ^{IV} ; Заменители компонентов крови; Иммуноглобулины; Вакцины	Дженериковое импортозамещение; Цитокины; Моноклональные антитела				Средства защиты и стимуляторы роста растений; Пробиотики; Антибактериальные препараты; Биопестициды	Средства защиты лесов		
3. Промышленная б/т	Белый	Биополимеры для медицины; Медицинское оборудование		Органические кислоты; Биокатализаторы и пром. ферменты; Биополимеры (для автокомб. отр-ли и т.д.); Мономеры для химии полимеров	Органические кислоты; Пищевые ингредиенты; Ферменты для пищ. пром.; Биополимеры (упаковка)	Строительство аквабиосфер	Незаменимые аминокислоты; Витамины; Кормовой белок; Кормовые ферменты	Реагенты для ЦБП; Глубинная переработка древесины	Ферменты для биот-ва; Промышленные газы для биот-ва; Биоэнерг. машиностроение	Деструкторы нефти
4. Пищевая б/т	Желтый		Биологически активные вещества: витамины, минеральные вещества, Аминокислоты; БАД	Органические кислоты как сырье для промышленности	Функциональные пищ. ингредиенты; Продукты с заданными свойствами; Высококонцентрированные закваски; Пищевые белки	Корма для аквакультуры	Белково-витаминные комплексы		Сырье для биотоплива	
5. Б/т аквакультуры	Синий		Гидролизат; Биологически активные соединения	Биополимеры и новые материалы	Рыбий жир; Функциональные пищ. продукты; Пищевой гидролизат	Новые породы гидробионтов; Рыбохозяйство	Рыбная мука; Кормовой гидролизат из гидробионтов; Хитиновые биополимеры		Биодизель из водорослей	Хитиновые биополимеры
6. С/х б/т	Зеленый			Белковые изоляты и текстураты, пищевые волокна			Биотехнологические растения; Клонирование животных; Силовые закваски			Отходы с/х для биотоплива (биодизель, биоэтанол, биобутанол)
				GMO						
7. Лесная б/т	Зел.			Биорефайнинг (полный цикл); Демонстрация			Посад. материалов; Деревья с заданными свойствами; Мониторинг лесонасаждений		Сырье для твердого биотоплива (пеллеты), биогаза и биогаза	Переработка целлюлозы
8. Биоэнергетика	Зел.								Методы повышения коэффициента использования топлива; Снижение воздействия энергетики на окр. среду методом биоконверсии; Биоконверсия для топлива	
9. Экологическая б/т	Серый			Переработка пром. отходов; «Экологически чистое жилье»	Переработка пищевых отходов		Утилизация с/х отходов	Утилизация отходов лесной пром.	Утилизация парниковых газов	Биоремедиация; Технологии оценки благополучия среды
		Переработка упаковки								
10. Наука		Прочтение геномов организмов; Банки биологических образцов; Биоинформатика и системная медицина								Биологические коллекции и биоресурсные центры

- полупродукты, являющиеся сырьем для различных видов промышленно-сти: химической (например, низкомолекулярные органические соединения для органического синтеза), фармацевтической (например, субстанции антибиотиков), пищевой (например, стартовые культуры и закваски) и др.;

- услуги, например, в области диагностики биообъектов (возбудителей заболеваний растений, животных, человека; генетических признаков ценных свойств представителей флоры и фауны, их типирование) или природоохранной деятельности и рационального природопользования (биомониторинг).

В данном ГОСТе на 20 страницах приводятся термины и определения, используемые в биотехнологии. Здесь мы приведем только одно определение, которое обозначает новую эпоху в развитии человечества и которое появилось благодаря биотехнологии:

- генетически модифицированный организм; ГМО (*Genetically Modified Organism – GMO*): Организм или несколько организмов, любое неклеточное, одноклеточное или многоклеточное образование, способные к воспроизводству или передаче наследственного генетического материала, отличные от природных организмов, полученные с применением методов генной инженерии и содержащие генно-инженерный материал, в том числе гены, их фрагменты или комбинации генов.

Человек научился создавать по своему усмотрению микроорганизмы, растения и животных, и это накладывает на него большую ответственность, так как последствия этих действий заранее трудно предсказать

6. Требования к освоению курса «Микробиотехнология»

Магистрам направления 19.04.01 Биотехнология необходимо:

Знать:

- основных представителей микроорганизмов, используемых в микробиотехнологии. Отбор штаммов и требования к ним;
- способы подготовки питательных сред для культивирования биообъектов;
- понятие БАВ;
- принципиальную схему микро-биотехнологического производства от культуры до конечного продукта.

Уметь:

- дать характеристику штамму для его использования в производстве;

- подобрать питательную среду для культивирования микроорганизма;
- привести пример принципиальной схемы получения микробного препарата.

Владеть:

- методами культивирования микроорганизмов на различных средах;
- методами получения чистых культур и исследования их свойств.

В университете проводится 20 часов лекций, 52 часа практических занятий; выполняется одна контрольная работа и в заключении выставляется зачет с оценкой. При выполнении контрольной и самостоятельной работы рекомендуется использовать методическую разработку «Микробиотехнология. Методические указания по выполнению самостоятельной и контрольной работы.»

Для более глубокого понимания дисциплины предусмотрены выездные занятия на предприятия, производящие микробиологическую продукцию для сельского хозяйства и пищевой промышленности.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ксенофонов, Б.С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии: учебное пособие. – Москва: ИД ФОРУМ, НИЦ ИНФРА-М, 2022. – 221 с.: 60х90 1/16. – (Высшее образование). – ISBN 978-5-8199-0615-6 (ЭБС ИНФРА-М)

2. Слюняев, В.П. Основы биотехнологии. Научные основы биотехнологии: учебное пособие. [Электронный ресурс] / В.П. Слюняев, Е.А. Плошко. – Электрон. дан. – Санкт-Петербург: СПбГЛТУ, 2012. – 112 с. – Режим доступа: <http://e.lanbook.com/book/45315>.

СОДЕРЖАНИЕ

1. История развития микробиотехнологии в нашей стране.....	3
2. Современное определение термина «биотехнология».....	17
3. Новый период в развитии микробиотехнологии.....	18
4. Получение пищевых продуктов с новыми свойствами.....	29
5. Краткая история развития биотехнологии и современные направле- ния ее развития.....	35
6. Требования к освоению курса «Микробиотехнология».....	50
Рекомендуемая литература.....	52

Составитель
ЛИТВИНА Лидия Алексеевна

Введение в микробиотехнологию

Лекция

Печатается в авторской редакции
Оператор электронной верстки Н.Е. Карачева

Подписано в печать ____ г.
Формат 60×84 1 /16. Объем ____ уч.-изд. л., 3,4 усл. печ. л.
Тираж ____ экз. Изд. № ____ . Заказ № ____ .

Отпечатано в Издательском центре «Золотой колос»
630039, РФ, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, офис 106
Тел. факс (383) 267-09-10. E-mail: 2134539@mail.ru