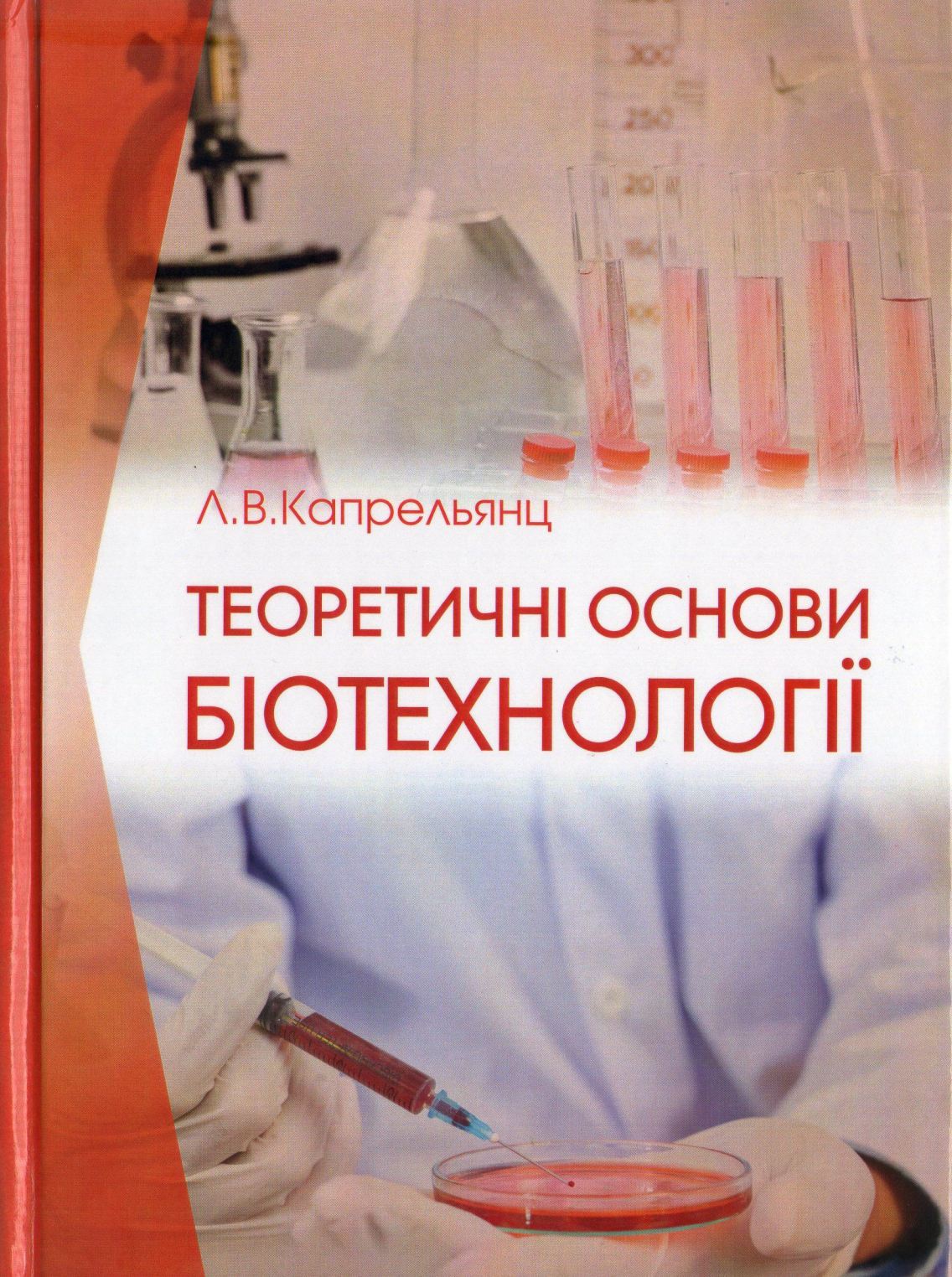


The background of the cover is a composite image of a laboratory. In the upper right, there are several test tubes in a rack, each containing a pink liquid. To their left, a microscope is partially visible. In the lower half, a person in a white lab coat is shown from the chest down, wearing white gloves and using a syringe to add a drop of red liquid into a petri dish. The overall color scheme is dominated by reds, oranges, and whites.

Л.В.Капрельянц

ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Капрелянц Л. В.

ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Навчальний посібник

**Харків «Факт»
2020**

УДК 602.4:001.891.3

К20

Рекомендовано Вченою радою Одеської національної академії харчових технологій (протокол №10 від 2 червня 2020 року)

Рецензенти:

А. І. Божков, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри молекулярної біології та біотехнології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

В. Г. Юкало, доктор біологічних наук, професор кафедри харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету ім. Івана Пулюя.

Г. В. Крусір, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри екології та природоохоронних технологій Одеської національної академії харчових технологій.

Капрельянц Л. В.

К20 Теоретичні основи біотехнології. Навчальний посібник для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» (магістри, аспіранти). Харків «Факт», 2020. 291 с.

ISBN 978-966-637-959-0

Навчальний посібник «Теоретичні основи біотехнології» створено на базі курсу лекцій, який читає автор студентам-магістрам і аспірантам за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Наведені відомості про мікроорганізми, як біологічні агенти біопроцесів, обмін речовин в мікробній клітині, біохімічні механізми біосинтезу і регуляції мікробних метаболітів. Розглянуті методи біотехнології, основи біокаталізу, метаболічної і синтетичної інженерії, промислової реалізації біотехнологічних процесів.

УДК 602.4:001.891.3

ОНАХТ

БІБЛІОТЕКА

716332

ISBN 978-966-637-959-0

© Капрельянц Л. В., 2020

ПЕРЕДМОВА

Розділ 1.

БІОТЕХНОЛОГІЯ: ЕТАПИ СТАНОВЛЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ	11
1.1. Сутність поняття «біотехнології» та їх класифікація	11
1.2. Основні історичні етапи розвитку біотехнології та їх значення	16
1.3. Пріоритетні напрями розвитку біотехнології	21
1.4. Розвиток і перспективи біотехнології в Україні	24
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	29

Розділ 2.

МІКРООРГАНІЗМИ — БІОЛОГІЧНІ АГЕНТИ БІОТЕХНОЛОГІЇ	30
2.1. Морфологія і систематика основних груп мікроорганізмів	31
2.1.1. Розміри, форма і сполучення клітин бактерій	32
2.1.2. Розмноження клітин	33
2.1.3. Рухливість	33
2.1.4. Сучасні методи класифікації бактерій	34
2.1.5. Методи ідентифікації мікроорганізмів	35
2.1.5.1. Класичні методи ідентифікації. Біохімічні аналітичні методи виявлення мікроорганізмів	36
2.1.5.2. Молекулярно-генетичні методи ідентифікації мікроорганізмів. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР)	38
2.1.5.3. Ідентифікація мікроорганізмів за допомогою MALDI-TOF-MS мас-спектроскопії	41
2.1.5.4. Метод проточної цитометрії	42
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	43
2.2. Еукаріотичні мікроорганізми. Віруси	43
2.2.1. Морфологія, будова, розмноження грибів	43
2.2.2. Класифікація грибів	44
2.2.3. Неклітинні організми (віруси і фаги)	46
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	48
2.3. Мікроорганізми і навколишнє середовище	48
2.3.1. Джерела поширення мікроорганізмів	48
2.3.2. Фізичні фактори зовнішнього середовища	49
2.3.3. Хімічні фактори зовнішнього середовища	50
2.3.4. Біологічні фактори зовнішнього середовища	52
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	52
2.4. Фізіологія мікроорганізмів	53
2.4.1. Хімічний склад мікроорганізмів	53
2.4.2. Потреби у вихідних субстратах і способи живлення та надходження в клітину різних речовин	53
2.4.3. Живлення	55

2.4.4. Типи і способи живлення (трофії) мікроорганізмів	56
2.4.5. Ростові та неростові субстрати	57
2.4.6. Типи дихання мікроорганізмів	58
2.4.7. Ріст, розмноження і культивування мікроорганізмів	59
2.4.8. Класифікація біосинтетичних процесів мікробної клітини	62
2.4.9. Особливості культивування рослинних клітин	63
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	63
2.5. Генетика мікроорганізмів. Генна інженерія.	
Генномодифіковані мікроорганізми	63
2.5.1. Спадкові фактори мікроорганізмів	63
2.5.2. Механізми, що викликають зміни генетичної інформації	64
2.5.3. Практичне використання досягнень селекції мікроорганізмів	66
2.5.4. Генетична інженерія мікроорганізмів. Отримання рекомбінантних РНК	67
2.5.5. Особливості селекційно — генетичної роботи з мікроорганізмами. ГМО мікроорганізми	71
2.5.6. Напрямки використання генетично модифікованих мікроорганізмів	73
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	74

Розділ 3.

ОБМІН РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ У МІКРООРГАНІЗМІВ	75
3.1. Особливості метаболізму і метаболічних шляхів у мікроорганізмів	75
3.2. Процеси енергетичного обміну	78
3.3. Основні механізми метаболізму у мікроорганізмів. Катаболізм	81
3.4. Значення ферментів в обміні речовин	82
3.5. Шляхи катаболізму глюкози та інших вуглеводів у мікроорганізмів	83
3.5.1. Окиснення пірувату. Цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса)	88
3.5.2. Анаплеротичні реакції у процесі вирощування мікроорганізмів на вуглеводах	89
3.6. Дихальний (електронно-транспортний) ланцюг. Фосфорилування та синтез АТФ	90
3.7. Анаболізм (пластичний обмін)	91
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	94

Розділ 4.

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ БІОСИНТЕЗУ І РЕГУЛЯЦІЇ МІКРОБНИХ МЕТАБОЛІТІВ	95
4.1. Центральні метаболітичні шляхи	96
4.2. Вузлові пункти метаболізму	97
4.3. Основні шляхи утворення попередників мікробного синтезу	99
4.4. Біосинтетичні процеси у мікроорганізмів. Біохімія мікробного синтезу первинних і вторинних метаболітів	100
4.4.1. Закономірності будови і шляхи біосинтезу вторинних метаболітів ..	101
4.4.2. Механізм регуляції біосинтезу продуктів, синтезованих	

у другій фазі	104
4.4.3. Кіотська енциклопедія генів і геномів KEGG	106
4.5. Основи управління ростом і метаболізмом мікроорганізмів.	
Координація мікробного метаболізму	106
4.5.1. Індукція	108
4.5.2. Репресії. Катаболітна репресія	109
4.5.3. Регуляція за принципом зворотнього зв'язку	110
4.5.4. Регуляція зміни активності ферментів	112
4.5.4.1. Аллостерична модифікація ферментів	115
4.5.4.2. Ковалентна модифікація ферментів	116
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	116

Розділ 5.

НАЙВАЖЛИВІШІ БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ, ЯКІ ВИКЛИКАНІ МІКРООРГАНІЗМАМИ	117
5.1. Перетворення безнітрогенних органічних речовин.	
Загальна характеристика процесів бродіння	117
5.1.1. Спиртове бродіння	120
5.1.2. Молочнокисле бродіння	122
5.1.3. Пропіоновокисле бродіння	125
5.1.4. Маслянокисле бродіння	127
5.1.5. Ацетонобутилове бродіння	126
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	127
5.2. Процеси неповного окиснення	127
5.3. Перетворення сполук Нітрогену, Сульфуру, Фосфору і Феруму	129
5.3.1. Перетворення органічних нітрогенвмісних сполук	129
5.3.2. Перетворення мінеральних нітрогенвмісних речовин	130
5.3.3. Перетворення сполук Сульфуру, Фосфору і Феруму	131
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	131
5.4. Промислові мікроорганізми. Мікробіологічні ферментні системи для промислових процесів. Надсинтез	132
5.4.1. Вимоги, які пред'являються до промислових мікроорганізмів	132
5.4.2. Мікробіологічний каталіз (біокаталіз)	135
5.4.3. Мікробний синтез, надсинтез, «суперпродуценти» і механізми їх захисту	139
5.4.3.1. «Суперпродуценти» і механізми їх захисту	140
5.4.3.2. Збереження властивостей промислових штамів мікроорганізмів — продуцентів	143
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	144

Розділ 6.

МЕТОДИ БІОТЕХНОЛОГІЇ. БІОКІНЕТИКА	145
6.1. Класифікація методів біотехнології	145
6.2. Загальна характеристика кінетики росту клітинних культур у біореакторах	147
6.3. Ріст бактерій у періодичній культурі. Біокінетика. Рівняння Моно	149
6.4. Вплив деяких фізико-хімічних параметрів середовища на кінетику клітинного росту	152
6.5. Основні фази росту клітин в реакторах періодичної дії	153
6.6. Параметри кривої росту періодичної культури	157
6.7. Напівбезперервний спосіб культивування	159
6.8. Ріст у безперервній культурі	159
6.8.1. Хемостатне культивування (система культивування повного змішування)	160
6.8.2. Системи культивування повного витіснення	162
6.8.3. Турбідостатне культивування	163
6.9. Методи визначення кількості бактерій та маси клітин	166
6.10. Стерилізація і дезінфекція в лабораторних і промислових умовах	168
6.10.1. Стерилізація	169
6.10.2. Дезінфекція	170
6.10.3. Асептика у промислових біотехнологічних процесах	171
6.10.4. Стерилізація поживних середовищ	174
6.10.5. Методи знезараження води	175
6.10.6. Підготовка технологічного повітря	176
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	176

Розділ 7.

МЕТАБОЛІЧНА ІНЖЕНЕРІЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ	178
7.1. Історія та використання метаболічної інженерії в біотехнології	179
7.2. Загальні підходи і рівні метаболічної інженерії	181
7.3. Етапи та методи дослідження метаболізму з метою його направленої модифікації та подальшого практичного використання в біотехнології	183
7.3.1. Вибір цільової речовини мікробного синтезу	184
7.3.2. Вибір мікроорганізму-господаря продуцента метаболітів	186
7.3.3. Визначення метаболічного шляху для аналізу	
Цикл проектування отримання нового штаму і цільового продукту	188
7.4. Розробка і модифікація мікробного шасі для метаболічної інженерії	191
7.5. Аналіз метаболічних шляхів та їх регуляторних складових	196
7.5.1. Аналіз бази даних KEGG PATHWAY — важливий етап дизайну метаболічних шляхів	196
7.5.2. Математичне метаболічне моделювання	197
7.5.3. Цілі і завдання метаболічних математичних моделей	
Сучасні методи досліджень хімічних компонентів клітини	200
7.5.4. Методи отримання кількісних аналітичних даних складу	

хімічних речовин клітини для створення математичних метаболічних моделей та їх аналізу	204
7.5.5. Методи змін і корекції метаболізму в метаболічній інженерії	207
7.5.6. Основні стратегії метаболічної інженерії	212
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	214

Розділ 8.

СИНТЕТИЧНА (ІНЖЕНЕРНА) БІОЛОГІЯ	216
8.1. Технології синтетичних метаболічних реакцій	216
8.2. Інженерія на рівні геномів: «зверху донизу» та «знизу доверху»	217
8.3. Методика геномного редагування CRISPR-Cas9	220
8.4. Інженерні комп'ютерні принципи в синтетичній біології	221
8.5. Інструментарій синтетичної інженерії. Інженерне проектування модульного шасі	227
8.6. Взаємодія шасі та метаболічного ланцюга	227
8.7. Проектування, конструювання і перевірка модульних елементів шасі для ефективного комбінаторного біосинтезу хімічних речовин	229
8.8. Синтетична і метаболічна інженерія: перспективи і безпека	232
8.9. Мікробні консорціуми та кворумні комунікаційні системи «відчуття кворуму» (quorum sensing, QS) та їх використання в біотехнології	234
8.9.1. Інженерні мікробні консорціуми в біотехнології	235
8.9.2. Процес формування біоплівки та кворум-систем мікроорганізмів	238
8.9.3. Кворум-системи мікроорганізмів Quorum Sensing (QS)	240
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	243

Розділ 9.

ІНЖЕНЕРНА РЕАЛІЗАЦІЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ	244
9.1. Промислова біотехнологія та її основна мета	244
9.2. Біологічні агенти у біотехнологічному процесі	245
9.3. Стадія підтримки чистої культури та отримання посівного матеріалу в промислових умовах	247
9.4. Субстрати (сировина) біотехнологічного виробництва	249
9.4.1. Сировина, вимоги до неї та живильні середовища в мікробіотехнології	249
9.4.2. Співвідношення концентрації Вуглецю, Нітрогену та інших компонентів у поживному середовищі	253
9.4.3. Принципи складання поживних середовищ	255
9.4.4. Технологія готування поживних середовищ	256
9.5. Продукти біотехнологічних виробництв	257
9.6. Ключові стадії та схема біотехнологічного процесу	258
9.6.1. Підготовча стадія (предферментаційні процеси)	259
9.6.2. Біотехнологічна стадія (виробничий етап)	260
9.6.2.1. Виробничий етап біотехнологічного стадії	261

9.6.2.2. Апаратурне оформлення біотехнологічного процесу. Біореактори	262
9.6.2.3. Культивування штаму-продуцента. Стадія ферментації. Особливості процесів тепломасопереносу в біореакторах	266
9.6.2.4. Системи перемішування й аерації біореакторів. Масо- та газообмін	271
9.6.2.5. Управління біотехнологічними процесами	276
9.7. Заключний етап біотехнологічного виробництва	277
9.7.1. Фракціонування (відділення) біомаси від культуральної рідини	279
9.7.2. Виділення цільового продукту з безклітинної культуральної рідини і біомаси	280
9.7.3. Виділення цільового продукту з біомаси клітин	281
9.7.4. Сушіння	283
9.7.5. Реалізація біотехнологічних виробництв	284
9.7.6. Біотехнологія та біобезпека	284
9.7.6.1. Інженерно-технологічне забезпечення безпеки біотехнологічних виробництв	285
9.7.6.2. Оцінка ідентичності чи справжності біотехнологічних продуктів	286
ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ	288
ОСНОВНА ЛІТЕРАТУРА	290
ДОДАТКОВА ЛІТЕРАТУРА	291

The simplest living cell is so complex that supercomputer models may never simulate its behavior perfectly. But even imperfect models could shake the foundations of biology».

W. Wayt Gibbs, Scientific American

«Найпростіша жива клітина настільки складна, що навіть моделювання на суперкомп'ютерах можливо ніколи не відтворить досконало її поведінку. Проте навіть її недосконалі моделі можуть потрясти основи біології».

Уейт Гіббс, американський науковець

ПЕРЕДМОВА

Біотехнологія — це наука, що спрямована на практичне використання різних біологічних об'єктів (генів, клітин, тканин, мікроорганізмів, рослин і тварин) з метою отримання антибіотиків, ферментів, кормових білків, біодобрив, безвірусних рослин, нових сортів рослин і тварин, а також з метою переробки сировини, промислових і сільськогосподарських відходів, очищення стічних вод і газоповітряних викидів і так далі.

Успіхи, досягнуті в галузі біотехнології, стали можливими завдяки бурхливому розвитку таких наук, як біохімія, генетика, цитологія, молекулярна біологія і, звичайно, мікробіологія, яка є основою мікробіологічної біотехнології. У сучасному розумінні промислова мікробіологія — це наука про найважливіші мікробіологічні процеси та їхнє практичне застосування для одержання індустриальним способом цінних продуктів життєдіяльності мікроорганізмів.

Мікробіологічна біотехнологія в даний час використовує тисячі штамів мікроорганізмів, які первинно були виділені з природних джерел на підставі їх корисних властивостей, а потім поліпшені за допомогою різних методів.

Біотехнологія — поняття більш широке, ніж мікробна технологія, тому що її предметом є отримання продуктів і речовин не тільки за допомогою мікроорганізмів, але й з використанням культур рослинних і тваринних тканин, ізольованих ферментів, протопластів та інших біологічних систем.

На основі загальних знань з технології отримання продуктів і речовин за допомогою живих систем нескладно створити конкретні технологічні процеси, скажімо, технологію виробництва кормових дріжджів, лізину, пеніциліну і таке інше. Для опису технології мікробного синтезу повинні широко використовуватись дані і поняття технічної мікробіології, фізіології і біохімії мікроорганізмів, а також хімічної і харчової технології.

Біотехнологія вивчає фізіологію продуцентів і основні закономірності їх розвитку в умовах, оптимальних для утворення цільового продукту, а також біохімічні особливості транспорту речовин і механізми метаболізму, пов'язані як з ростом популяції, так і з біосинтезом продукту. Знання біотехнології дозволяє оптимізувати рецептуру питомиого середовища. Вибрати цілеспрямовану послідовність технологічних операцій і прийомів, обґрунтувати необхідний ком-

плекс умов зовнішнього середовища. Особливу увагу біотехнологія приділяє взаємовідношенням культури продуцента з іншими мікроорганізмами і питанням стерилізації середовищ, апаратури і комунікацій.

Головним критерієм при виборі біотехнологічного об'єкта є здатність синтезувати цільовий продукт. Мікроорганізми повинні володіти високою швидкістю росту, утилізувати необхідні для їх життєдіяльності дешеві субстрати, бути резистентними до сторонньої мікробіоти, володіти високою конкурентоспроможністю. Все це забезпечує значне зниження витрат на виробництво цільового продукту. Мікробіологічна біотехнологія базується насамперед на використанні мікроорганізмів як продуцентів цінних продуктів.

Відносні переваги більшості мікроорганізмів як біооб'єктів такі: більша «простота» організації геному, досить легка пристосованість (лабільність) до середовища існування у природних і штучних умовах, виражені швидкісні характеристики перебігу ферментативних реакцій і наростання клітинної маси за одиницю часу.

Навчальний посібник «Теоретичні основи біотехнології» складається з двох основних частин: перша частина присвячена загальним питанням технічної мікробіології та маніпуляціям, які пов'язані з нею. В другій частині розглядаються біотехнологічні процеси і сучасні напрямки розвитку біотехнології – метаболічної інженерії та синтетичної (інженерної) біології.

Автор не ставив перед собою завдання детального опису і аналізу апаратів і технологічних ліній, які використовуються в промисловій біотехнології. Основною метою було надати загальні уявлення про біотехнологічне виробництво як про складну комплексну систему, показати роль кожного з її елементів, механізми функціонування і взаємодії окремих підсистем, закономірності направленої біосинтезу продуктів і речовин з використанням живих одноклітинних систем чи ізольованих компонентів цих систем. Також описані основні методологічні підходи до досліджень і розробки різноманітних біопроцесів.

Навчальний посібник розроблено відповідно до програми курсу «Теоретичні основи біотехнології», який є однією з складових у системі професійної підготовки магістрів та аспірантів зі спеціальності 162 «Біотехнологія і біоінженерія».

Автор висловлює подяку професорам А.І.Божкову, В.Г.Юкало, Г.В.Крусир за обговорення, низку цінних зауважень і пропозицій. Автор вдячний асистентам кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування Одеської національної академії харчових технологій кандидатам технічних наук Т.М.Воловик і Л.Г.Пожитковій та інженеру Н.Ц.Дужарь, які надали йому суттєву допомогу в оформленні рукопису.

*Л.В.Капрельяни,
доктор технічних наук, професор,
лауреат Державної премії України,
заслужений діяч науки і техніки України*