

**С.Д.АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ  
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ  
МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ**



**КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.  
АСФЕНДИЯРОВА**

Презентация на тему:  
**Биотехнология вторичных метаболитов.  
Получение антибиотиков биотехнологическими  
методами.**



# Классификация антибиотиков

## **1. Классификация антибиотиков по биологическому происхождению:**

- а) антибиотики, вырабатываемые микроорганизмами, относящимися к эубактериям;
- б) антибиотики, образуемые микроорганизмами, принадлежащими к порядку Actinomycetales;
- в) антибиотики, образуемые цианобактериями;
- г) антибиотики, образуемые несовершенными грибами;
- д) антибиотики, образуемые грибами, относящимися к классам базидиомицетов и аскомицетов;
- е) антибиотики, образуемые лишайниками, водорослями и низшими растениями;
- ж) антибиотики, образуемые высшими растениями;
- з) антибиотики животного происхождения.

## **2. Классификация по спектру биологического действия:**

- а) противобактериальные антибиотики
- б) противогрибные антибиотики;
- д) противоопухолевые антибиотики.

### 3. Классификация антибиотиков по химическому строению:

- а) антибиотики ациклического строения;
- б) антибиотики алициклического строения;
- в) тетрациклины;
- г) ароматические антибиотики;
- д) антибиотики-хиноны;
- е) антибиотики-кислородсодержащие гетероциклические соединения;
- ж) антибиотики-азотсодержащие гетероциклические соединения;
- з) антибиотики-аминогликозиды;
- и) металлсодержащие антибиотики.



# Механизм действия антибиотиков



## Классификация антибиотиков по штаммам-продуцентам:

- В зависимости от продуцирующих организмов антибиотики могут быть разделены на следующие группы:
- 1. Образуемые эубактериями: • бактериями рода *Bacillus*: **грамицидины, полимиксины и др.**; • бактериями рода *Pseudomonas*: **мупиरोцин, пиоцианин, антифунгин и др.**; • бактериями других родов (*Micrococcus, Streptococcus, Escherichia, Proteus*): **низин, колиформин и др.**
- 2. Образуемые бактериями рода *Streptomyces*: **стрептомицин, тетрациклин, новобиоцин и др.**
- 3. Образуемые несовершенными грибами: пенициллин, гризеофульвин и др.
- 4. Образуемые грибами классов базидио- и аскомицетов: термофиллин, лензитин, хетомин и др.
- 5. Образуемые лишайниками, водорослями, низшими растениями:
  - усниновая кислота и др.
- 6. Образуемые высшими растениями: аллицин, рафанин и др.
- 7. Образующиеся в организмах животных: лизоцим, интерферон, круцин и др.

# Продуценты антибиотиков

- В качестве продуцентов антибиотиков используются **микроорганизмы, плесневые грибы, актиномицеты, высшие растения и ткани животных.**
- Микроорганизмы одного вида могут синтезировать антибиотики различной природы и, наоборот, один и тот же антибиотик могут продуцировать микроорганизмы различных таксономических групп.
- Из эубактерий наиболее часто продуцентами являются представители родов *Bacillus* и *Pseudomonas* (около 400–600), причем большинство антибиотиков бактериального происхождения – полипептиды.

- **Актиномицеты – это многоклеточные бактерии.** Актиномицеты не имеют ядра (вместо ядра имеется одна замкнутая нить ДНК), т.е. актиномицеты – прокариоты, не имеют митохондрий, имеют сложный цикл развития.
- Всего имеется 12 тысяч при
- родных антибиотиков, из них 9 тысяч антибиотиков продуцируют актиномицеты.
- **Актиномицеты продуцируют следующие группы антибиотиков:** (не менее 50 % из всех известных),
- -канамицин - *Actinomyces kanamycetus*
- -неомицин - *Actinomyces iracie*
- -окситетрациклин – *Actinomyces ninesus*
- - линкомицин – *Streptomyces linconiensis*
- Природный левомицетин (хлорамфеникол) продуцируется *Streptomyces venezuelae*.
- Рифамицин – *Streptomyces mediterranei*, на основе рифамицина получен рифампицин.

## Мицелиальные грибы, продуцирующие беталактамы антибиотики.

- мицелиальные грибы продуцируют (около 10 %) антибиотиков:
- Пенициллины – *Penicillium chrysogenum*, *P. notatum* цефалоспорины *Cephalosporium Acremonium chrysogenum* являются известными представителями бета-лактамовых антибиотиков, продуцирующимися мицелиальными грибами. В структуре антибиотика имеется бета-лактамовое кольцо, обладающее способностью ингибирования синтеза пептидогликанов клеточной стенки. Антибиотики используются в лечении инфекций, вызванных грам(-) бактериями.
- **Фторхинолоны – синтетические антибиотики.** Обладают широким спектром антимикробного действия. Некоторые фторхинолоны обладают не только антибактериальной, и но и противоопухолевой , анти-ВИЧ-активностью.



- **Антибиотики животного происхождения.** Экмолин, выделенный из осетровых рыб, эритроин – из эритроцитов, лизоцим и интерферон – обладающие антимикробным и противовирусным действиями.
- *Антибиотики, продуцируемые высшими растениями - фитонциды.* Это аллицин из чеснока – *Allium sativum*, иманин из зверобоя, сальван из шалфея, рафанин из редиса - *Raphanus sativum*, фазеолин из фасоли - *Phaseolus vulgaris* и другие



Первая задача при поиске продуцентов антибиотиков - выделение их из природных источников. Биосинтез антибиотиков - наследственная особенность организмов, проявляющаяся в том, что каждый вид (штамм) способен образовывать один или несколько вполне определенных, строго специфичных для него антибиотических веществ.



Выявление потенциальной возможности образовывать в процессе жизнедеятельности антибиотики связано с условиями культивирования организмов. В одних условиях организм образует антибиотик, в других условиях тот же организм при хорошем росте не будет обладать способностью синтезировать антибиотическое вещество. Образование антибиотиков будет происходить только при развитии организма в специфической среде и при наличии особых внешних условий.



К числу наиболее существенных факторов, оказывающих влияние на проявление антибиотических свойств микроорганизмов, относятся состав среды, ее активная кислотность, окислительно-восстановительные условия, температура культивирования, методы совместного выращивания двух или большего числа микроорганизмов и другие факторы.

## Среды для культивирования микроорганизмов

Натуральные (комплексные) среды, состоящие из природных соединений и имеющие неопределенный химический состав (части зеленых растений, животные ткани, солод, дрожжи и т. д.), содержат все компоненты, необходимые для роста и развития микроорганизмов большинства видов. Используются следующие среды:

- мясопептонная среда, в состав которой одновременно с мясным экстрактом и пептоном входят хлорид натрия, фосфат калия, иногда глюкоза или сахароза; используется обычно в лабораторной практике.
- картофельные среды с глюкозой и пептоном, часто используемые в лаборатории для культивирования многих видов актиномицетов и бактерий;
- среды с кукурузным экстрактом, соевой мукой, бардой и другими веществами, в состав которых входят сульфат аммония, карбонат кальция, фосфаты, глюкоза, сахароза, лактоза или иные углеводы и ряд других соединений.

Среды успешно применяются в промышленности, т. к. являются дешевыми и обеспечивают хорошее развитие микроорганизмов с высоким выходом антибиотиков.

Поскольку натуральные среды не позволяют получать строгие количественные данные для изучения физиологических и биохимических особенностей организма, применяют синтетические среды, которые подбирают для отдельных продуцентов индивидуально.

Источниками углерода могут быть органические кислоты, спирты, углеводы, сочетания различных углеродсодержащих соединений. При промышленном получении ряда антибиотиков в качестве источников углерода нередко применяют картофельный крахмал, кукурузную муку или другие растительные материалы.

Источники азота оказывают большое влияние на образование микроорганизмами антибиотических веществ. Обычно в средах для культивирования микроорганизмов источником азота служат соли азотной (реже азотистой) кислоты, аммонийные соли органических и неорганических кислот, аминокислоты, белки и продукты их гидролиза.



Источниками минерального питания служат фосфор, сера и другие макро- и микроэлементы.

Сера входит в состав некоторых антибиотиков, образуемых грибами (пенициллин, цефалоспорин, глиотоксин и др.), бактериями (бацитрацины, субтилины, низины) и актиномицетами (эхиномицины, группа тиострептона). Обычно источником серы в среде служат сульфаты. Однако при биосинтезе пенициллина лучшим источником серы для продуцента служит тиосульфат натрия.

Кроме того, для биосинтеза антибиотиков необходимы и отдельные микроэлементы. Так, продуцент альбомуцина *S. subtropicus* образует антибиотик при значительной концентрации железа в среде. Железо необходимо для образования хлорамфеникола и других антибиотиков.

Биосинтезу ряда антибиотических веществ (хлорамфеникола, стрептомицина, пенициллина и др.) способствуют ионы цинка.

Стимулирующее влияние на биосинтез гентамицина, курамицина А, фософономицина оказывают ионы кобальта.

Ионы галогенов входят в состав некоторых тетрациклиновых антибиотиков и хлорамфеникола.



## Влияние pH среды

Многие бактериальные организмы, синтезирующие антибиотики, лучше развиваются при pH около 7,0, хотя некоторые, например молочнокислые стрептококки, продуцирующие низин, лучше развиваются в среде при pH = 5,5-6,0.

Большинство актиномицетов хорошо развиваются при начальных значениях pH среды в пределах от 6,7 до 7,8; в большинстве случаев жизнеспособность актиномицетов при pH ниже 4,0–4,5 подавлена.

## Температура

Для большинства бактериальных организмов температурный оптимум развития лежит в диапазоне 30–37 °С. Для продуцента грамицидина С оптимальная температура для развития и биосинтеза равна 40 °С.

Актиномицеты, как правило, культивируются при температуре 26–30°С, хотя некоторые виды стрептомицетов могут развиваться как при пониженных (от 0 до 18 °С), так и при повышенных (55–60 °С) температурах.

Для большинства мицелиальных грибов оптимальная температура составляет 25–28 °С.

## Аэрация

Большинство изученных продуцентов антибиотиков являются аэробами. Для биосинтеза многих антибиотиков (пенициллин, стрептомицин и др.) максимальное их накопление происходит при степени аэрации, равной единице, при которой через определенный объем среды за 1 мин продувается такой же объем воздуха.

В процессе развития продуцента антибиотика в промышленных условиях потребность организма в кислороде меняется в зависимости от стадии развития, вязкости культуральной жидкости и других факторов. На определенных стадиях могут возникнуть ситуации, связанные с кислородным голоданием продуцента. В этих условиях следует принимать дополнительные меры, например, повышение концентрации окислителя добавлением пероксида водорода.

Наиболее перспективным методом выращивания микроорганизмов - продуцентов антибиотиков признан метод глубинного культивирования с использованием периодических процессов. В условиях глубинной культуры процесс развития организма и синтеза антибиотика проходит в две фазы.

В первой фазе развития культуры или, как ее иногда называют, тропофазе (фаза сбалансированного роста микроорганизма), наблюдается интенсивное накопление биомассы продуцента, связанное с быстрым потреблением основных компонентов среды и с высоким уровнем поглощения кислорода.

Во второй фазе развития, именуемой идиофазой (фаза несбалансированного роста микроорганизма), накопление биомассы замедлено или даже уменьшено. В этот период продукты метаболизма микроорганизма лишь частично используются на построение клеточного материала, они в основном направляются на биосинтез антибиотика. Обычно максимум продукции антибиотика в среде наступает после максимума накопления биомассы.

# Существует четыре основных модификации глубинного способа выращивания микроорганизмов.

1. Периодическое культивирование. При этом способе весь процесс развития микроорганизмов полностью завершается в одном ферментаторе, после чего ферментатор освобождается от культуральной жидкости, тщательно промывается, стерилизуется и вновь заполняется свежей питательной средой. Среды засеваются изучаемым микроорганизмом, и процесс возобновляется.

2. Отъемный метод. Культивирование микроорганизмов осуществляется в ферментаторах с периодическим отбором части объема культуральной жидкости в ферментаторе и доводится свежей питательной средой до исходного уровня.

3. Батарейный способ. Микроорганизмы развиваются в ряду последовательно соединенных ферментаторов. Культуральная жидкость на определенной стадии развития микроорганизма перекачивается из первого ферментатора во второй, затем из второго в третий и т. д. Освобожденный ферментатор немедленно заполняется свежей питательной средой, засеянной микроорганизмом. При этом способе выращивания микроорганизмов емкости используются более рационально.

4. Непрерывное культивирование. В основе метода лежит принцип непрерывного потока питательной среды, что позволяет поддерживать развитие микроорганизма на определенной стадии его роста. Стадия развития микроорганизма определяется тем, что в этот период происходит максимальный биосинтез антибиотика или другого биологически активного соединения.



**Современное промышленное получение антибиотиков - это сложная многоступенчатая биотехнологическая схема, состоящая из ряда последовательных стадий**

Получение соответствующего штамма — продуцента антибиотика



Биосинтез антибиотика



Выделение и очистка антибиотика



Концентрирование, стабилизация антибиотика и получение готового продукта

Выделение штамма-продуцента антибиотика из природных систем

Селекция наиболее активного штамма

Селекция наиболее активного штамма путем

Индукцированного мутагенеза

Слияния протопластов

Генно-инженерных манипуляций

Высокоэффективный и экономически выгодный штамм продуцента



Высокоэффективный и экономически выгодный штамм продуцента

Продуцент

Посевной материал

Питательная среда

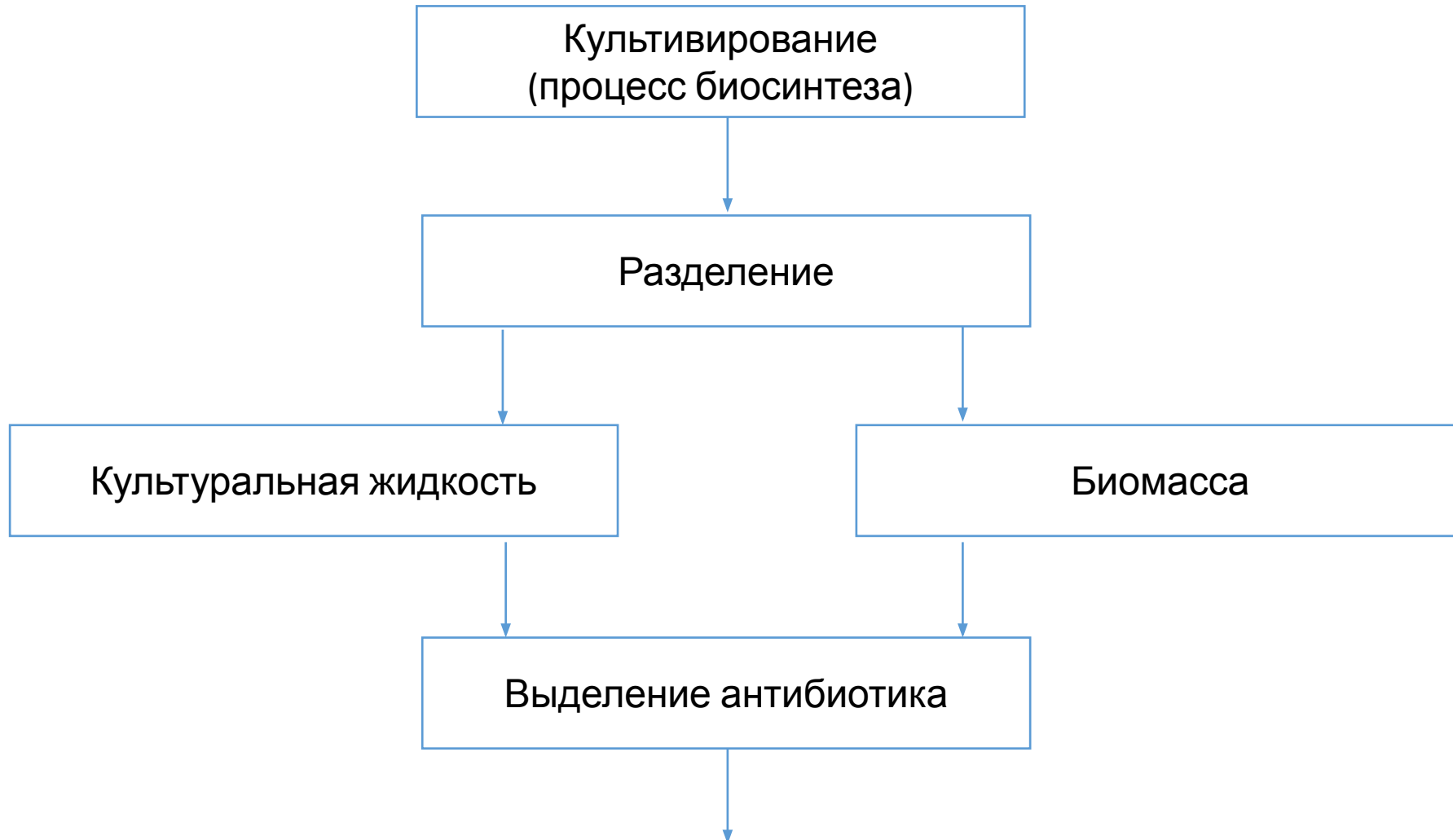
Подготовка инокулята

Смешанная культура

Культивирование  
(процесс биосинтеза)

Монокультура







Выделение антибиотика

Очистка

Концентрирование

Стабилизация

Обезвоживание

Измельчение

Сухой препарат

Жидкий препарат

Фасовка. Хранение