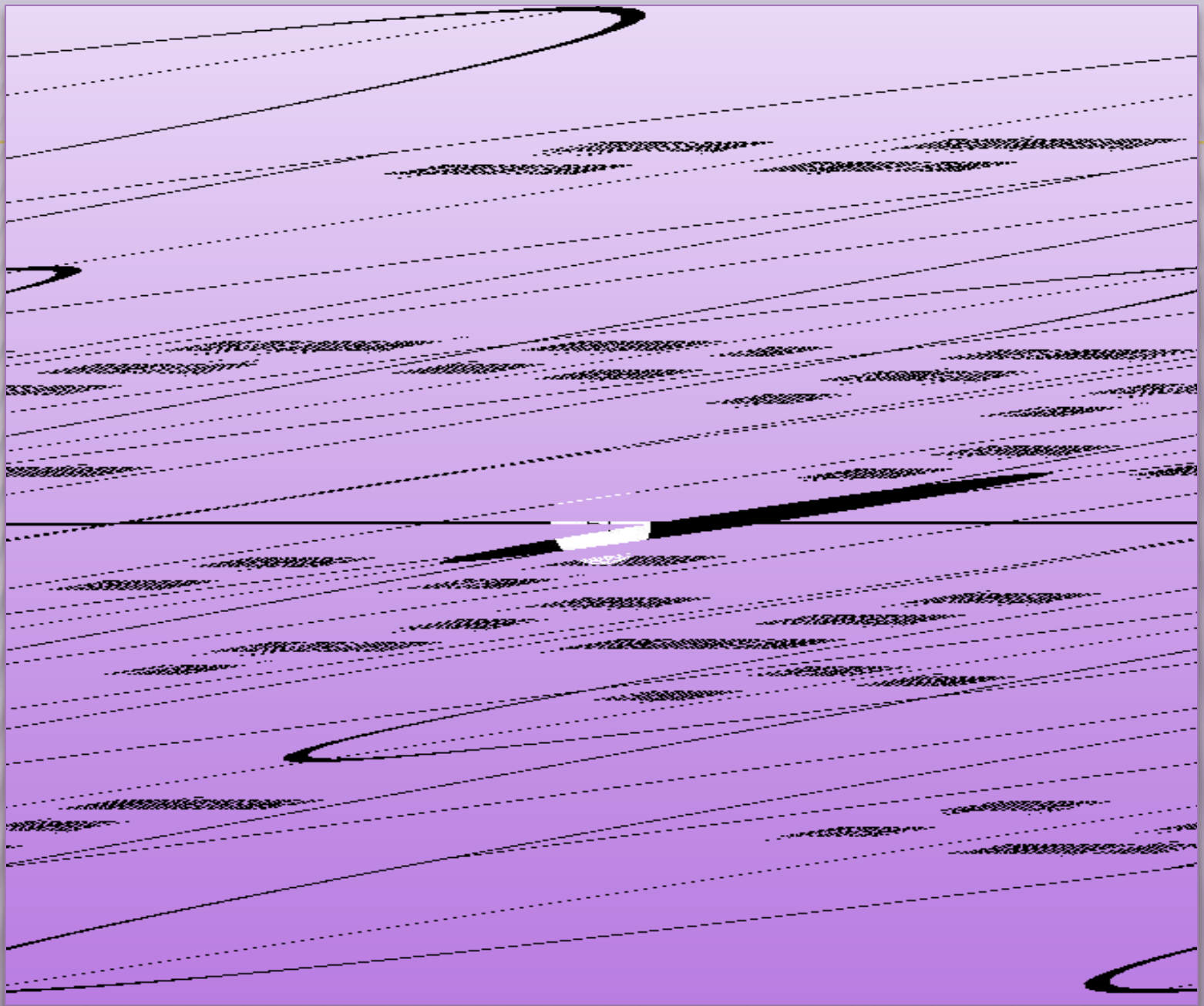


ОСНОВНЫЕ
НАПРАВЛЕНИЯ
БИОТЕХНОЛОГИИ.
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ
ПРОМЫШЛЕННОСТЬ.
ТЕЖНАЯ И КЛЕТОЧНАЯ
ИНЖЕНЕРИЯ



ВОЗНИКНОВЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ

Биотехнология - это производственное использование биологических агентов или их систем для получения ценных продуктов и осуществления целевых превращений.

Биологические агенты в данном случае - микроорганизмы, растительные или животные клетки, клеточные компоненты (мембраны клеток, рибосомы, митохондрии, хлоропласты), а также биологические макромолекулы (ДНК, РНК, белки - чаще всего ферменты). Биотехнология использует также вирусную ДНК или РНК для переноса чужеродных генов в клетки.

Человек использовал биотехнологию многие тысячи лет: люди пекли хлеб, варили пиво, делали сыр, используя различные микроорганизмы, при этом, даже не подозревая об их существовании.

Собственно сам термин появился в нашем языке не так давно, вместо него употреблялись слова «промышленная микробиология», «техническая биохимия» и др.

Вероятно, древнейшим биотехнологическим процессом было сбраживание с помощью микроорганизмов. В пользу этого свидетельствует описание процесса приготовления пива, обнаруженное в 1981г. при раскопках Вавилона на дощечке, которая датируется примерно 6-м тысячелетием до н. э.

В 3-м тысячелетии до н. э. шумеры изготавливали до двух десятков видов пива. Не менее древними биотехнологическими процессами являются виноделие, хлебопечение, и получение молочнокислых продуктов.

В традиционном, классическом, понимании биотехнология - это наука о методах и технологиях производства различных веществ и продуктов с использованием природных биологических объектов и процессов.

Термин «новая» биотехнология в противоположность «старой» биотехнологии применяют для разделения биопроцессов, использующих методы генной инженерии и более традиционные формы биопроцессов.

Так, обычное производство спирта в процессе брожения - «старая» биотехнология, но использование в этом процессе дрожжей, улучшенных методами генной инженерии с целью увеличения выхода спирта - «новая» биотехнология.

Биотехнология как наука является важнейшим разделом современной биологии, которая, как и физика, стала в конце XX в. одним из ведущих приоритетов в мировой науке и экономике.

Всплеск исследований по биотехнологии в мировой науке произошел в 80-х годах, но, несмотря на столь короткий срок своего существования, биотехнология привлекла пристальное внимание, как ученых, так и широкой общественности.

По прогнозам, уже в начале 21 века биотехнологические товары будут составлять четверть всей мировой продукции.

Что касается более современных биотехнологических процессов, то они основаны на методах рекомбинантных ДНК, а также на использовании иммобилизованных ферментов, клеток или клеточных органелл.

Современная биотехнология - это наука о генно-инженерных и клеточных методах создания и использования генетически трансформированных биологических объектов для улучшения производства или получения новых видов продуктов различного назначения.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

Условно можно выделить следующие основные направления биотехнологии:

- · биотехнология пищевых продуктов;
- · биотехнология препаратов для сельского хозяйства;
- · биотехнология препаратов и продуктов для промышленного и бытового использования;
- · биотехнология лекарственных препаратов;
- · биотехнология средств диагностики и реактивов.

Биотехнология также включает выщелачивание и концентрирование металлов, защиту окружающей среды от загрязнения, деградацию токсических отходов и увеличение добычи нефти.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ

С помощью биотехнологии получено множество продуктов для здравоохранения, сельского хозяйства, продовольственной и химической промышленности.

Причем важно то, что многие из них не могли быть получены без применения биотехнологических способов.

Особенно большие надежды связываются с попытками использования микроорганизмов и культур клеток для уменьшения загрязнения среды и производства энергии.

В молекулярной биологии использование биотехнологических методов позволяет определить структуру генома, понять механизм экспрессии генов, смоделировать клеточные мембраны с целью изучения их функций и т.д.

Конструирование нужных генов методами генной и клеточной инженерии позволяет управлять наследственностью и жизнедеятельностью животных, растений и микроорганизмов и создавать организмы с новыми полезными для человека свойствами, ранее не наблюдававшимися в природе.

Микробиологическая промышленность в настоящее время использует тысячи штаммов различных микроорганизмов. В большинстве случаев они улучшены путем индуцированного мутагенеза и последующей селекции. Это позволяет вести широкомасштабный синтез различных веществ.

Некоторые белки и вторичные метаболиты могут быть получены только путем культивирования клеток эукариот. Растительные клетки могут служить источником ряда соединений - атропин, никотин, алкалоиды, сапонины и др.

В биохимии, микробиологии, цитологии несомненный интерес вызывают методы иммобилизации как ферментов, так и целых клеток микроорганизмов, растений и животных.

В ветеринарии широко используются такие биотехнологические методы, как культура клеток и зародышей, овогенез *in vitro*, искусственное оплодотворение.

Все это свидетельствует о том, что биотехнология станет источником не только новых продуктов питания и медицинских препаратов, но и получения энергии и новых химических веществ, а также организмов с заданными свойствами.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

ИСТОРИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Генная инженерия появилась благодаря работам многих исследователей в разных отраслях биохимии и молекулярной генетики.

На протяжении многих лет главным классом макромолекул считали белки. Существовало даже предположение, что гены имеют белковую природу.

Лишь в 1944 году Эйвери, Мак Леод и Мак Карти показали, что носителем наследственной информации является ДНК. С этого времени начинается интенсивное изучение нуклеиновых кислот. Спустя десятилетие, в 1953 году Дж. Уотсон и Ф. Крик создали двуспиральную модель ДНК. Именно этот год принято считать годом рождения молекулярной биологии.

На рубеже 50-60-х годов были выяснены свойства генетического кода, а к концу 60-х годов его универсальность была подтверждена экспериментально.

Шло интенсивное развитие молекулярной генетики, объектами которой стали кишечная палочка (*E. Coli*), ее вирусы и плазмиды.

Были разработаны методы выделения высокоочищенных препаратов неповрежденных молекул ДНК, плазмид и вирусов. ДНК вирусов и плазмид вводили в клетки в биологически активной форме, обеспечивая ее репликацию и экспрессию соответствующих генов.

В 70-х годах был открыт ряд ферментов, катализирующих реакции превращения ДНК. Особая роль в развитии методов генной инженерии принадлежит рестриктазам и ДНК-лигазам.

Историю развития генетической инженерии можно условно разделить на три этапа:

Первый этап связан с доказательством принципиальной возможности получения рекомбинантных молекул ДНК *in vitro*. Эти работы касаются получения гибридов между различными плазмидами. Была доказана возможность создания рекомбинантных молекул с использованием исходных молекул ДНК из различных видов и штаммов бактерий, их жизнеспособность, стабильность и функционирование.

Второй этап связан с началом работ по получению рекомбинантных молекул ДНК между хромосомными генами прокариот и различными плазмидами, доказательством их стабильности и жизнеспособности.

Третий этап - начало работ по включению в векторные молекулы ДНК (ДНК, используемые для переноса генов и способные встраиваться в генетический аппарат клетки-реципиента) генов эукариот, главным образом, животных.

Формально датой рождения генетической инженерии следует считать 1972 год, когда в Стенфордском университете П. Берг и С. Коэн с сотрудниками создали первую рекомбинантную ДНК, содержащую фрагменты ДНК вируса SV40, бактериофага и *E. coli*.

Одним из разделов молекулярной генетики и молекулярной биологии, который нашел наибольшее практическое приложение, является генная инженерия.

Генная инженерия - это сумма методов, позволяющих переносить гены из одного организма в другой, или - это технология направленного конструирования новых биологических объектов.

Родившись в начале 70-х годов, она добилась сегодня больших успехов. Методы генной инженерии преобразуют клетки бактерий, дрожжей и млекопитающих в «фабрики» для масштабного производства любого белка.

Это дает возможность детально анализировать структуру и функции белков и использовать их в качестве лекарственных средств. В настоящее время кишечная палочка (*E. coli*) стала поставщиком таких важных гормонов как инсулин и соматотропин.

Ранее инсулин получали из клеток поджелудочной железы животных, поэтому стоимость его была очень высока. Для получения 100г кристаллического инсулина требуется 800-1000кг поджелудочной железы, а одна железа коровы весит 200-250грамм. Это делало инсулин дорогим и труднодоступным для широкого круга диабетиков.

Инсулин состоит из двух полипептидных цепей А и В длиной 20 и 30 аминокислот. При соединении их дисульфидными связями образуется нативный двухцепочечный инсулин.

Было показано, что он не содержит белков *E. coli*, эндотоксинов и других примесей, не дает побочных эффектов, как инсулин животных, а по биологической активности от него не отличается.

Соматотропин - гормон роста человека, секретируемый гипофизом. Недостаток этого гормона приводит к гипофизарной карликовости. Если вводить соматотропин в дозах 10 мг на 1 кг веса три раза в неделю, то за год ребенок, страдающий от его недостатка, может подрасти на 6 см.

Ранее его получали из трупного материала, из одного трупа: 4 - 6 мг соматотропина в пересчете на конечный фармацевтический препарат. Таким образом, доступные количества гормона были ограничены, кроме того, гормон, получаемый этим способом, был неоднороден и мог содержать медленно развивающиеся вирусы.

Компания "Genentec" в 1980 году разработала технологию производства соматотропина с помощью бактерий, который был лишен перечисленных недостатков. В 1982 году гормон роста человека был получен в культуре *E. coli* и животных клеток в институте Пастера во Франции, а с 1984 года начато промышленное производство инсулина и в СССР.



ЦЕЛИ И МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Цель прикладной генетической инженерии заключается в конструировании таких рекомбинантных молекул ДНК, которые при внедрении в генетический аппарат придавали бы организму свойства, полезные для человека.

На технологии рекомбинантных ДНК основано получение высокоспецифичных ДНК-зондов, с помощью которых изучают экспрессию генов в тканях, локализацию генов в хромосомах, выявляют гены, обладающие родственными функциями (например, у человека и курицы). ДНК-зонды также используются в диагностике различных заболеваний.

Технология рекомбинантных ДНК сделала возможным нетрадиционный подход «белок-ген», получивший название «обратная генетика». При таком подходе из клетки выделяют белок, клонируют ген этого белка, модифицируют его, создавая мутантный ген, кодирующий измененную форму белка. Полученный ген вводят в клетку. Таким способом можно исправлять дефектные гены и лечить наследственные заболевания.

Если гибридную ДНК ввести в оплодотворенную яйцеклетку, могут быть получены трансгенные организмы, передающие мутантный ген потомкам.

Генетическая трансформация животных позволяет установить роль отдельных генов и их белковых продуктов как в регуляции активности других генов, так и при различных патологических процессах.

Технология рекомбинантных ДНК использует следующие методы:

- специфическое расщепление ДНК рестрицирующими нуклеазами, ускоряющее выделение и манипуляции с отдельными генами;
- быстрое секвенирование всех нуклеотидов очищенном фрагменте ДНК, что позволяет определить границы гена и аминокислотную последовательность, кодируемую им;
- конструирование рекомбинантной ДНК;
- гибридизация нуклеиновых кислот, позволяющая выявлять специфические последовательности РНК или ДНК с большей точностью и чувствительностью;
- клонирование ДНК: амплификация *in vitro* с помощью цепной полимеразной реакции или введение фрагмента ДНК в бактериальную клетку, которая после такой трансформации воспроизводит этот фрагмент в миллионах копий;
- введение рекомбинантной ДНК в клетки или организмы.

ФЕРМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Генетическая инженерия - потомок молекулярной генетики, но своим рождением обязана успехам генетической энзимологии и химии нуклеиновых кислот, так как инструментами молекулярного манипулирования являются ферменты.

Если с клетками и клеточными органеллами мы подчас можем работать микроманипуляторами, то никакие, даже самые мелкие микрохирургические инструменты не помогут при работе с макромолекулами ДНК и РНК.

Только ферменты могут найти определенные последовательности нуклеотидов, «разрезать» там молекулу или, наоборот, «заштопать» дырку в цепи ДНК.

Эти ферменты издавна находятся в клетке, выполняя работы по репликации (удвоению) ДНК при делении клетки, репарации повреждений (восстановлению целостности молекулы), в процессах считывания и переноса генетической информации из клетки в клетку или в пределах клетки.

Задача генного инженера - подобрать фермент, который выполнил бы поставленные задачи, то есть смог бы работать с определенным участком нуклеиновой кислоты.

Следует отметить, что ферменты, применяемые в генной инженерии, лишены видовой специфичности, в связи с этим экспериментатор может сочетать в единое целое фрагменты ДНК любого происхождения в избранной им последовательности.

Это позволяет генной инженерии преодолевать установленные природой видовые барьеры и осуществлять межвидовое скрещивание.

Ферменты, применяемые при конструировании рекомбинантных ДНК, можно разделить на несколько групп:

- · ферменты, с помощью которых получают фрагменты ДНК (рестриктазы);
- · ферменты, синтезирующие ДНК на матрице ДНК (полимеразы) или РНК (обратные транскриптазы);
- · ферменты, соединяющие фрагменты ДНК (лигазы);
- · ферменты, позволяющие осуществить изменение структуры концов фрагментов ДНК.