



Министерство сельского хозяйства  
Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования  
«Самарская государственная  
сельскохозяйственная академия»

Кафедра «Разведение и кормление  
сельскохозяйственных животных»

**Л. Ф. Заспа, А. М. Ухтверов, Е. С. Канаева**

# **Биотехнология**

**Методические указания для лабораторных занятий**

Кинель  
РИЦ СГСХА  
2014

УДК 631.147  
3-36

**Заспа, Л. Ф.**

**3-36** Биотехнология : методические указания для лабораторных занятий / Л. Ф. Заспа, А. М. Ухтверов, Е. С. Канаева. – Кинель : РИЦ СГСХА, 2014. – 68 с.

В методических указаниях освещаются вопросы по изучению биотехнологии как науки и областей ее применения. Учебное издание содержит основные положения и методы генетической инженерии, включая молекулярные основы конструирования векторных систем и применение биотехнологических методов в животноводстве.

Учебное издание предназначено для студентов, обучающихся по направлению 111100.62 «Зоотехния», профиль подготовки: «Технология производства продуктов животноводства».

© ФГБОУ ВПО Самарская ГСХА, 2014  
© Заспа Л. Ф., Ухтверов А. М., Канаева Е. С., 2014

## Предисловие

«Биотехнология» – дисциплина, которая возникла на стыке технических (физика, теплотехника) и естественных (химия, биология, физиология) дисциплин, теоретические исследования и практические результаты которой широко применяются в различных областях деятельности человека. Биотехнология является в настоящее время одним из приоритетных направлений науки, с которым связано благосостояние всего человечества в будущем.

Новейшая биотехнология – это наука о генно-инженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования генетически трансформированных (модифицированных) растений, животных и микроорганизмов в целях интенсификации производства и получения новых видов продуктов различного назначения.

Цель дисциплины – сформировать научное мировоззрение о современных развивающихся направлениях биотехнологии, основанных на совокупности методов, использующих живые организмы и биологические процессы. Подготовить будущих выпускников к практической деятельности, к научно-исследовательской работе в области применения биотехнологии для совершенствования и создания высокопродуктивных стад, пород, типов сельскохозяйственных животных.

Задачи курса биотехнологии – ознакомление студентов с основными положениями генетической инженерии и основами получения трансгенных животных, включая молекулярные основы конструирования векторных систем и применение биотехнологических методов в воспроизводстве сельскохозяйственных животных.

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

- способность проводить зоотехническую оценку животных, основанную на знании их биологических особенностей;
- способность обеспечить рациональное воспроизводство животных.

В методических указаниях изложены особенности строения и жизнедеятельности вирусов, прокариот и эукариот; ферменты генетической инженерии; особенности векторных молекул; описаны способы культивирования микроорганизмов, трансплантация эмбрионов, получение трансгенных животных.

## **Занятие 1. МИКРООРГАНИЗМЫ – ОСНОВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДСТВ**

**Цель занятия.** Классификация питательных субстратов, био-объектов; состав питательных субстратов, биообъектов.

В качестве объектов биотехнологии могут выступать клетки микроорганизмов, животных и растений, трансгенные животные и растения, а также многокомпонентные ферментные системы клеток и отдельные ферменты. Основой большинства современных биотехнологических производств до сих пор все еще является микробный синтез, т. е. синтез разнообразных биологически активных веществ с помощью микроорганизмов. К сожалению, объекты растительного и животного происхождения в силу ряда причин еще не нашли столь широкого применения. Независимо от природы объекта, первичным этапом разработки любого биотехнологического процесса является получение чистых культур организмов (если это микробы), клеток или тканей (если это более сложные организмы – растения или животные). Многие этапы дальнейших манипуляций с последними (т.е. с клетками растений или животных), по сути дела, являются принципами и методами, используемыми в микробиологических производствах. И культуры микробных клеток, и культуры тканей растений и животных с методической точки зрения практически не отличаются от культур микроорганизмов.

Мир микроорганизмов крайне разнообразен. В настоящее время относительно хорошо охарактеризовано (или известно) более 100 тысяч различных их видов. Это в первую очередь прокариоты (бактерии, актиномицеты, риккетсии, цианобактерии) и часть эукариот (дрожжи, нитчатые грибы, некоторые простейшие и водоросли). При столь большом разнообразии микроорганизмов весьма важной, а зачастую и сложной, проблемой является правильный выбор именно того организма, который способен обеспечить получение требуемого продукта, т. е. служить промышленным целям. Разделение микроорганизмов на промышленные и непромышленные для лиц, далеких от микробиологии, молекулярной биологии и молекулярной генетики, кажется достаточно определенным: те микроорганизмы, которые используются в промышленном производстве – промышленные, а те, которые

не используются, – непромышленные. Однако для тех, кто близко соприкасается с вышеперечисленными отраслями биологических знаний, граница проходит между немногочисленной, но глубоко изученной группой микроорганизмов, служащих модельными объектами при исследованиях фундаментальных жизненных процессов, и всеми остальными микроорганизмами, которые, как правило, генетиками, молекулярными биологами и генными инженерами не изучались или изучались в очень ограниченной степени. К числу первых относятся кишечная палочка (*E. coli*), сенная палочка (*Bac. subtilis*) и пекарские дрожжи (*S. cerevisiae*). Во многих биотехнологических процессах используется ограниченное число микроорганизмов, которые классифицируются как GRAS («generally recognized as safe» обычно считаются безопасными). К таким микроорганизмам относят бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, другие виды бацилл и лактобацилл, виды *Streptomyces*. Сюда также относят виды грибов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* и дрожжей *Saccharomyces* и др. GRAS-микроорганизмы непатогенные, нетоксичные и в основном не образуют антибиотики, поэтому при разработке нового биотехнологического процесса следует ориентироваться на данные микроорганизмы, как базовые объекты биотехнологии.

Микробиологическая промышленность сегодня использует тысячи штаммов из сотен видов микроорганизмов, которые первично были выделены из природных источников на основании их полезных свойств, а затем (в большинстве своем) улучшены с помощью различных методов. В связи с расширением производства и ассортимента выпускаемой продукции в микробиологическую промышленность вовлекаются все новые и новые представители мира микробов. Следует отдавать отчет, что в обозримом будущем ни один из них не будет изучен в той же степени, как *E.coli* и *Bac.subtilis*. И причина этого очень простая – колоссальная трудоемкость и высокая стоимость подобного рода исследований. Следовательно, возникает проблема разработки стратегии и тактики исследований, которые обусловили бы с разумной затратой труда извлечь из потенциала новых микроорганизмов все наиболее ценное при создании промышленно важных штаммов-продуцентов, пригодных к использованию в биотехнологических процессах.

Следующим этапом является выделение чистой культуры с дальнейшим дифференциально-диагностическим изучением изолированного микроорганизма и, в случае необходимости, ориентировочным определением его продукционной способности. Существует и другой путь подбора микроорганизмов-продуцентов – это выбор нужного вида из имеющихся коллекций хорошо изученных и досконально охарактеризованных микроорганизмов. При этом, естественно, устраняется необходимость выполнения ряда трудоемких операций.

Главным критерием при выборе биотехнологического объекта является способность синтезировать целевой продукт. Однако помимо этого, в технологии самого процесса могут закладываться дополнительные требования, которые порой бывают очень важными или решающими.

Микроорганизмы должны:

- обладать высокой скоростью роста;
- утилизировать необходимые для их жизнедеятельности дешевые субстраты;
- быть резистентными к посторонней микрофлоре, т. е. обладать высокой конкурентоспособностью.

Все вышеперечисленное обеспечивает значительное снижение затрат на производство целевого продукта. Конечно, в каждом конкретном случае ведущим является какой-то один из этих критериев, поскольку в природе устроено так, что во всем получить выигрыш не удастся никогда.

1. Одноклеточные организмы, как правило, характеризуются более высокими скоростями роста и синтетических процессов, чем высшие организмы. Тем не менее, это присуще не всем микроорганизмам. Существуют такие из них (например, олиготрофные), которые растут крайне медленно, однако они представляют известный интерес, поскольку способны продуцировать различные очень ценные вещества.

2. Особое внимание как объекты биотехнологических разработок представляют фотосинтезирующие микроорганизмы, использующие в своей жизнедеятельности энергию солнечного света. Часть из них (цианобактерии и фотосинтезирующие эукариоты) в качестве источника углерода утилизируют  $\text{CO}_2$ , а некоторые представители цианобактерий, обладают способностью усваивать