МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный технический университет
имени К. И. Сатпаева

Г.А. Джамалова, У.Ш. Мусина

ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

(для технических вузов)

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве учебного пособия

Алматы 2015

УДК 60 (075.8)
ББК 30.16 я73
Д 40

Рецензенты:
Казова Р. А., д-р хим. наук, проф. КазНТУ имени К. И. Сатпаева;
Канаев А. Т., д-р биол. наук, проф., зав. каф. биоразнообразия и биоресурсов КазНУ имени аль-Фараби, акад. РАЕ, чл.-корр. Межд. акад. «Конкор» (Франция);
Кентбаев Е. Ж., д-р сельск. наук, проф., зав. каф. «Лесные ресурсы и охотоведение» КазНАУ;
Мирзадинов Р. А., д-р биол. наук, проф. КазАТК имени М.Тынышбаева.

Печатается по плану издания Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2015 год

Д 40 Джамалова Г. А., Мусина У. Ш.
Объекты биотехнологии: Учеб. пособие для технических высших учебных заведений /Г. А. Джамалова, У. Ш. Мусина. – Алматы: КазНТУ, 2015. – 271 с. Ил. 66. Табл. 64. Библиогр. – 237 назв.

ISBN 978-601-228-839-1

В учебном пособии изложен материал по объектам биотехнологии, где особое внимание уделено иерархии и классификации объектов биотехнологии, предпосылкам в использовании биообъектов в различных технологиях производства биотехнологической продукции, актуальность изучения которого предопределена необходимостью решения рационального использования биотехнологических ресурсов экосистем.

Учебное пособие предназначено для студентов, магистрантов, докторантов и преподавателей, а также для научных работников и специалистов, занимающихся разработкой экологизированных технологий и техники на основе биотехнологии.

УДК 60 (075.8)
ББК 30.16 я73

ISBN 978-601-228-839-1

© Джамалова Г. А., Мусина У. Ш., 2015
© КазНТУ имени К. И. Сатпаева

ВВЕДЕНИЕ

Разнообразие биотехнологических процессов, направленных на обеспечение человечества его жизненными интересами, дает достаточный материал для суждения о том, какое значение имеют объекты биотехнологии для промышленного производства высокопродуктивных и резистентностойких генотипов, биологически активных веществ и материалов, для борьбы с генетическими пороками развития и инфекционными заболеваниями, для защиты окружающей среды.

В настоящее время перед нашей цивилизацией стоит вопрос снижения масштабов экологического кризиса, касающихся, в первую очередь, проблем создания, с одной стороны, доброкачественной пищи и сырья, с другой – санитарно-благоприятной среды обитания.

Для того, чтобы изменять наследственную природу живых организмов в условиях техногенеза требуются селекционные работы по созданию новых форм микроорганизмов, растений и животных, хорошо приспособленных к индустриальным способам производства, устойчиво переносящих неблагоприятные условия, эффективно использующих солнечную энергию и позволяющих получать биологически чистую продукцию экологически чистыми способами для окружающей среды.

В этой связи главное место в данном учебном пособии будет уделено биологическим объектам, обеспечивающих внедрение инновационных и принципиально новых подходов в решении фундаментальных и прикладных задач, стоящих перед биотехнологией.

Учебное пособие включает две части. В первой части рассматриваются уровни организации, структура и свойства живых систем, во второй – объекты биотехнологии рассматриваются в виде сообществ живых организмов на экосистемном уровне.

В первой части учебного пособия первая глава раскрывает иерархию объектов биотехнологии: уровни организации и свой-

ства живых систем, их структурно-организационную и биохимическую природу (строение и функции клеток прокариотов и эукариотов; одно- и многоклеточные организмы; возникновение тканей и органов; классификация тканей и их характеристика). В главе раскрываются основные группы живых организмов; разнообразие микробного мира; характеристика основных таксономических групп растений; систематика, строение и экология животных. В главе также излагаются вопросы, касающиеся биотехнологических ресурсов экосистем. Особо следует отметить, что разъяснение роли биологического многообразия как фактора устойчивости системы и биосферы от техногенных факторов воздействия многогранно рассматриваются во всех главах учебного пособия в зависимости от поставленных проблем во взаимосвязи с объектами биотехнологии.

Объекты биотехнологиив виде генетических детерминантов для конструирования полезных генов и нужных генотипов рассмотреныво второй главе. В третьей главе излагаются вопросы, связанные с биохимическим потенциалом живой материи.

Во второй части учебного пособия объекты биотехнологии в виде сообществ живых организмов на экосистемном уровне излагаются в четвертой главе. Особое внимание уделено объектам биотехнологии, обеспечивающих биореконструкцию экосистемы и биопроизводство продуктов в различных отраслях промышленности (главы 5–12).

Тринадцатая глава рассматривает вопросы, связанные с популяцией генетически однородных клеток на уровне биореактора как объектов биотехнологии при производстве биологически активных веществ.

Особо следует подчеркнуть, что объекты биотехнологии рассматриваются в ракурсе их возможного применения в области промышленной биотехнологии и защиты окружающей среды от техногенных факторов воздействия.

Таким образом, знаниебиологической организации живой материи на разных уровнях ее организациипозволит использовать основные принципы биотехнологии для разработки биопрепаратов и технологий их производства.

I. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ: УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ И СВОЙСТВА

Биологические объекты, «вооруженные» прогрессивными технологиями, позволяют осуществлять:

1) *биоконструкцию* нужных и полезных генов в борьбе с генетическими пороками развития и инфекционными заболеваниями, в создании новых высокопродуктивных и резистентностойких генотипов (вирусов, прокариот и эукариот);

2) *биопроизводство* биологически активных соединений (ферментов, витаминов, гормональных препаратов), лекарственных препаратов (антибиотиков, вакцин, сывороток, высокоспецифичных антител и др.), а также белков, аминокислот, используемых как в качестве пищевых и кормовых добавок, так и для технических нужд;

3) *биореконструкцию* окружающей среды как путем очистки атмосферы, почвы и сточных вод от загрязнений, так и путем биовосстановления нарушенных экосистем.

1. ИЕРАРХИЯ ОБЪЕКТОВ БИОТЕХНОЛОГИИ

1.1. Общее представление об объектах биотехнологии

Биотехнология – это наука, основанная на использовании биоорганического мира для целенаправленного и научно обоснованного использования процессов и систем при производстве биологически активных веществ и переработке природного (рудного и нерудного) и техногенного сырья.

Только недавно вплоть до 1972 года, года, когда впервые была создана рекомбинантная ДНК [190], – эпоха начала новой биотехнологии, человек даже не предполагал, что биотехнология не только «вторгнется» в самое «сокровенное» путем конструирования генов и генотипов, но и начнет реализовывать их, как«полезные» гены по коммерческим принципам – «спрос → конструирование → производство → предложение».

Исходя из вышеизложенного следует отметить, что приоритетом для фундаментальной биотехнологии являются вопросы, изучающие живую материю во всем ее природном разнообразии (фундаментальная междисциплинарная область исследований), а для прикладной – вопросы, раскрывающие, с одной стороныгенетически запрограммированную потенцию клетки, с другой – возможности и принципы конструирования *invitro*генов и генотипов.

Фундаментальными основами для изучения объектов биотехнологии являются науки, представленные на рис. 1.1.



Рис. 1.1. Фундаментальные основы для изучения объектов биотехнологии

Как видно из рис. 1.1, для изучения объектов биотехнологии и реализации биотехнологической программы требуются фундаментальные знания по ряду дисциплин. В учебном пособии, как это видно из данного рисунка, особое внимание будет уделено вопросам, связанным с раскрытием экологических аспектов по объектам биотехнологии в зависимости от воздействия природных и антропогенных факторов.

1.2. Биологический объект как ключевой элемент в биотехнологии

Биологический объект (биообъект) как ключевой элемент биотехнологии определяет специфику биотехнологического производства.

Объектами биотехнологии (биообъектами) являются представители основных групп живых организмов природного (вирусы, прокариоты и эукариоты) и биотехнологического (*invitro* сконструированные) происхождения, изолированные из них молекулы, клетки и субклеточные компоненты, а также протекающие в них физико-химические, биохимические и физиологические процессы, в результате которых происходит выделение энергии, синтез и расщепление метаболитов, формирование химических и структурных компонентов клетки.

Объекты биотехнологии классифицируют в зависимости от уровня организации живой материи на молекулярный (обмен веществ, превращение энергии, передача генетической информации), клеточный (структурная и функциональная единица живой материи), тканевой и органный (структурно-функциональная, т.е. дифференцированная ориентация совокупности клеток), организменный (реальный носитель жизни), популяционный (совокупность воспроизводимых генотипов одного вида), биоценотический (сообщество разных видов, лимитированный экологической нагрузкой) и биосферный (сфера распространения жизни).

В табл. 1.1и на рис. 1.2дана иерархия объектов биотехнологии.

Как видно из табл. 1.1 и рис. 1.2, биообъекты биотехнологии разнообразны и в биотехнологии занимают определенную нишу.

Потенциальным источником для получения объектов биотехнологии служит биосфера:

1. На уровне экосистем для биотехнологии интерес представляет консорциум организмов:

- микроорганизмов – это биохимически гибкая биосистема, обеспечивающая цепь сложных ферментативных процессов для переработки субстрата и производства целевого продукта;

- биоценоза – сообщество живых организмов, лимитированных экологической нагрузкой (давление всех факторов на природную систему);

Следует отметить, что для саморегулируемой биосистемы биотехнологической нишей является экологическая биотехнология.

Благодаря методам экологической биотехнологии путем селекции и отбора получают высокопродуктивные и резистентностойкие генотипы, способные рационально вмешиваться в техногенный круговорот веществ для очистки загрязнений различной степени организации и сложности.

2. С точки зрения биотехнологии клетка как «природная биореакторная микроустановка» активно используется во всех биотехнологических процессах для производства целевых продуктов.

Для выполнения биотехнологических задач клетка может функционировать на уровне:

- клетки, когда одна трансформированная клетка дает начало целой популяции сконструированных *invitro* генотипов при клонировании рекомбинантных молекул ДНК;

- ткани или отдельного органа – при экспрессии чужеродного гена, например, в организме соматических трансгенных животных;

- организма – при получении трансгенных растений и трансгенных генеративных животных;

- популяции клеток в биореакторах – при производстве БАВ (биологически активных веществ);

- сообществ, например, в геобиореакторах (полигон твердых бытовых отходов) при аэробной (производят компост) или анаэробной (производят биогаз) утилизации отходов, при очистке сточных вод в техногенных накопителях, при очистке и восстановлении почв.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что клетка занимает всю биотехнологическую нишу.

Таблица 1.1

Иерархия объектов биотехнологии

Уровень	Биообъекты	Биотехнологическая ниша	Происхождение объекта	
			Природное	*in vitro* сконструированное
Биосфера	Органический мир	Биотехнология	Биоразнообразие	Биотехнологический ресурс
Экосистема	Сообщества	Экобиотехнология	Биоценоз, лимитированный экологической нагрузкой	Высокопродуктивные и резистентностойкие сообщества
Генотипы	Популяция	Биотехнология микроорганизмов и макроорганизмов	Генофонд (совокупность генов вида)	Банк генотипов. Банк генов. Библиотека генома
	Организмы	Биотехнология микро- и макроорганизмов	Генотип прокариот и эукариот	Селекционно отобранный, мутационно индуцированный, химерный, трансформированный, клонированный генотип
	Ткани, органы	Медицинская биотехнология Биотехнология животных Биотехнология растений	Ткани, органы эукариот (растений, животных)	Регенерированные, мутационно преобразованные, трансформированные и трансплантируемые
	Клетки	Прикладная биотехнология (все отрасли промышленности)	Клетки прокариот, эукариот (половые, эмбриональные, дифференцированные, тотипотентные). Органеллы	Трансформированные, химерные и индуцированные мутацией клетки про- и эукариот. Органеллы
Генетические детерминанты	Надмолекулярная структура	Молекулярная и клеточная биотехнология	Гены, хромосомы, экстрахромосомы. Геном. Вирусы. Клетка	Чужеродная ДНК. Векторная ДНК. Рекомбинантная ДНК Банк генов. Библиотека генома
	Макромолекулы	Молекулярная и клеточная биотехнология	Первичные и вторичные метаболиты	Мутационные, химерные и рекомбинантные белки
	Строительные блоки макромолекул	Молекулярная биотехнология. Бионанотехнологии	Нуклеотиды, аминокислоты	Олигонуклеотиды Нуклеотиды, аминокислоты



Рис. 1.2. Иерархия объектов биотехнологии

3. Молекулярная и надмолекулярная структура живой материи.

Строительные блоки белков – 20 аминокислот, имеют размеры около одного нм каждая. В природе встречается более 100 аминокислот, но только 20 из них используются организмами при синтезе белков. При формировании молекулы белка эти двадцать аминокислот последовательно соединяются друг с другом прочными пептидными химическими связями и образуют длинные полипептидные цепи, содержащие сотни, а в некоторых случаях – тысячи аминокислот. В некотором смысле их можно уподобить нанопроволокам.Белки, размеры которых обычно лежат между 4 и 50 нм, представляют собой наночастицу, упакованную определенным образом в полипептидную наноцепь [78].

Генетический материал – нуклеиновая кислота (дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК)) также имеют структуру упакованной наноцепи. Ее строительные блоки – 4 нуклеотида, которые связываются в длинные спиральные наноцепи (одинарной для РНК и двойной для ДНК). В случае человека ДНК содержат последовательности около 140 х 10^6 нуклеотидов [77]. Таким образом, молекула ДНК – двойная наноцепь, при этомдве нуклеотидные наноцепи закручены друг вокруг друга с периодом3,4 нм и диаметром 2 нм.

Как видно из табл. 1.1, биотехнологической нишей для макромолекул служит генная (технология конструирования генов) и белковая (технология конструирования белков) инженерия, соответственно молекулярная и клеточная биотехнология.

Упаковываясь в хромосому около 6 мкм длиной и 1,4 мкм шириной ДНК «вынуждена»многократно скручиваться и складываться. Коммерческий интерес в «конвейерном»создании надмолекулярных структур прочно утвердилось во многих промышленных технологиях: от конструирования искусственных генов до производства «нанолекарей» и ДНК-компьютеров [77, 154, 207].

Вирусы (размеры от 10 до 200 нм), как облигатные паразиты с неклеточной формой организации жизни, прочно заняли в биотехнологии нишу векторных биотехнологий, генной инженерии и генетической трансформации.

В табл. 1.2 представлены некоторые объекты биотехнологии в зависимости от их размеров.

Таблица 1.2

Типичные размеры различных биологических объектов (Ч. Пул, Ф.Оуэнс, 2005) [76-79]

Тип	Вещество	Размер
Нанометровый диапазон, нм		
Аминокислоты	Глицин (наименьшая)	0,42
	Триптофан (наибольшая)	0,67
Нуклеотиды	Цитозин фосфат (наименьшая)	0,81
	Гуанин фосфат (наибольшая)	0,86
	Аденозин трифосфат (АТФ, источник энергии)	0,95
Другие молекулы	Стеариновая кислота $C_{17}H_{35}CO_2H$	0,87
	Хлорофилл растений	1,1
Белки	Инсулин, полипептидный гормон	2,2
	Гемоглобин, переносчик кислорода	7,0
Вирусы	Вирус гриппа	60
	Вирус табачной мозаики, длина	120
	Бактериофаг T_2	140
Органелла	Рибосома (в которой происходит синтез белка)	30
Мезоскопический диапазон, мкм		
Органелла	Митохондрия, где при дыхании образуется АТФ	0,5х0,9х3
	Хлоропласт, где происходит фотосинтез, длина	4
Генетический детерминант	Хромосома человека	9
Клетка	Бактерия*Escheterichia coli* (E. coli), длина	8
	Лейкоцит (белое кровяное тело)	8 х 15

Как видно из табл. 1.2, объекты биотехнологии укладываются в широком диапазоне – от примерно 1 нанометра (строительные блоки макромолекул, микроорганизмы) до микрометров (органеллы, клетки) и сантиметров (от надмолекулярной структуры до уровня организма).

1.3. Биотехнологические ресурсы генотипов

Под *биотехнологическим ресурсом*понимают практическую реализацию генетического потенциала организма в познавательных (конструкция гена и генотипа *in vitro*), коммерческих (биотехнологическая индустрия) и терапевтических (генная и клеточная терапия) целях.

Условная классификация биотехнологических ресурсов:

1. Биотехнологический ресурс на молекулярном уровне, который проявляется через структуру и свойства гена, репликацию, репарацию и экспрессию. Данный ресурс обеспечил для биотехнологии возможность конструирования искусственных (рекомбинантных) генов, хромосом, геномов.

2. Биотехнологический ресурс на клеточном уровне, проявляющийся через клеточное деление, синтез метаболитов, тотипотентность и регенерацию. Данный ресурс обеспечил для биотехнологии возможность конструирования искусственных (рекомбинантных) генотипов, экспрессию рекомбинантных и химерных белков.

3. Биотехнологический ресурс на популяционном уровне. Данный ресурс обеспечил получение желательных генотипов на клеточном уровне – через деление, на уровне многоклеточного организма – через воспроизводство.

Таким образом, применение первых двух ресурсов направлено в биотехнологии на получение коммерческой продукции широкого спектра применения (от медицины до компьютерных технологий и космических исследований), а третьего – на адаптацию, закрепление и реализацию в промышленном масштабе желательных или сконструированных *in vitro* генотипов и их метаболитов.

1.4. Биоразнообразие как фактор устойчивости системы и биосферы

Биоразнообразие – эта вариация жизни на генетическом, популяционном и экосистемном уровнях (табл.1.3).

Таблица 1.3

Биоразнообразие как фактор устойчивости биосферы

Уровень	Определение	Особенность
Генетический	Внутривидовая вариация генов и генотипов	Молекулярный полиморфизм обусловлен изменчивостью и отражает внутривидовое разнообразие
Популяционный	Разнообразие видов	На сегодня изучено 5 млн. видов, предполагают наличие около 100 млн. видов. Изучено «в лицо» около 14 % видов эукариот и 9 % – фауна эукариот океана
Экосистемный	Разнообразие биоценоза, лимитированное экологической нагрузкой	Типы вариации: альфа (внутри сообщества), бета (между сообществами) и гамма (ландшафтная)

Из табл.1.3 следует, что все типы биоразнообразия между собой тесно связаны.

1.4.1. Основные принципы классификации живых организмов

Систематика (разработка принципов классификации живых организмов для построения системы; схема органического мира), *классификация* (распределение живой материи по определенной системе иерархически соподчинённых групп – таксонов), *таксономия* (искусственное выделение групп генетически родственных организмов) обеспечивают упорядочение многообразия живых организмов.

Иерархия таксонов: органический мир (живые организмы) → домен (верхний ранг группировки) → царство (иерархия биологических видов) → отдел(в ботанике) или тип (в зоологии) → класс (основной ранг иерархии) → семейство (ранг в биосистематике, объединяющий несколько родов)→ род (надвидовая категория, объединяет несколько видов) → вид (структурная единица биосистематики) [12-14].

На рис. 1.3 показана система классификации живых организмов.



Рис.1.3. Классификация живых организмов
(Томас Кавалье-Смит, 1981–1998) [12-14]

Как видим из рис. 1.3, в зависимости от биологической организации и физических размеров различают микроорганизмы (встречаются везде и всюду) и макроорганизмы.

К микроорганизмам относятся организмы с микроскопическими размерами как неклеточной (вирусы), так и клеточной (бактерии, грибы, простейшие, микроводоросли) организации жизни.

Макроорганизмы имеют клеточную организацию жизни, различают одноклеточные (протисты) и многоклеточные (грибы, растения, животные) организмы.

В процессе своей жизнедеятельности все организмы для построения своего тела нуждаются в химических веществах, а для осуществления процессов жизнедеятельности им необходима энергия.

На рис. 1.4 дана классификация организмов по источнику энергии и типу окисляемого субстрата.



Рис. 1.4. Классификация организмов по источнику энергии, углерода и по типу окисляемого субстрата [12-14]

Как видно из рис. 1.4[12-14]:

1) по источнику энергии организмы делятся на:

- фототрофы, используют энергию солнечного излучения (растения, цианобактерии),

- хемотрофы, используют энергию связей химических соединений (хемотрофные бактерии: нитрифицирующие, водородные, железобактерии, серобактерии и др.);

2) по источнику углерода организмы делятся на:

- автотрофы, используют неорганический источник углерода CO_2 (растения, некоторые бактерии – они создают органические вещества из неорганических),

- гетеротрофы, используют органические источники энергии (животные, грибы, большинство бактерий);

3) по типу окисляемого субстрата организмы делятся на:

- литотрофы – окисляют неорганические соединения (фотолитотрофы – зеленые бактерии, цианобактерии, растения; хемолитотрофы – хемосинтезирующие бактерии),

- органотрофы – окисляют органические соединения (фотоорганотрофы – пурпурные бактерии; хемоорганотрофы – большинство бактерий, грибы, животные).

Из вышеизложенного следует, что, с точки зрения вовлечения живой материи в биотехнологический процесс, различают две формы организации биосистемы [47]:

1.Субклеточные, метаболически неактивные, не способные самостоятельно генерировать энергию. К ним относят:

1.1. ДНК-содержащие: ДНК-вирусы, ДНК-плазмиды (чаще всего), транспозоны (перемещающиеся фрагменты ДНК).

1.2. РНК-содержащие: РНК-вирусы, РНК-плазмиды (очень редко), ретротранспозоны (транспозон, похожий на ретровирус), ретроны (обнаружен у бактерий, генетический элемент с геном обратной транскриптазы, образует ДНК/РНК-гибрид), вироиды.

В иерархии биотехнологических процессов данная ниша используется для производства вирусного ДНК, обеспечивающие интеграцию сконструированного гена в новый геном (в клетку) и его экспрессию и амплификацию.

2. Клеточные, метаболически активные. К ним относят:

2.1. Эубактерии (прокариотические клетки) – это бактерии, содержащие единственную хромосому; геномы митохондрий и хлоропластов.

Бактерии, митохондрии и хлоропласты имеют общие свойства:

- примерно одинаковые размеры и формы;

- собственные кольцевые ДНК;

- гены рРНК в митохондриях и хлоропластах не имеют родства с ядерными генами рРНК;

- имеют собственные рибосомы (в митохондриях и хлоропластах они больше напоминают рибосомы бактерий, а не рибосомы цитоплазмы эукариот);

- деление митохондрий и хлоропластов напоминает размножение бактерий;

- при утрате митохондрия или хлоропласта их цитоплазматическое восстановление невозможно, так как ядерная ДНК не содержит нужной для этого процесса генетической информации.

Таким образом, митохондрии и хлоропласты – это эволюционно «порабощённые» эукариотами бактерии, поэтому клетки эукариот представляют симбиоз двух генетических империй.

2.2. Архебактерии – по структуре прокариоты, так как не имеют ядра, но по биохимическим особенностям, в частности, по нуклеотидным последовательностям генов,организации хромосом (наличие гистонов) близки к эукариотам.

2.3. Эукариоты – империя высших организмов, в которых различают четыре царства: протисты, грибы, растения, животные.

1.4.2. Основные группы живых организмов: филогенетическая классификация прокариот и эукариот

Филогенетическая классификация на основе молекулярного анализа генов рРНК представлена на рис. 1.5.

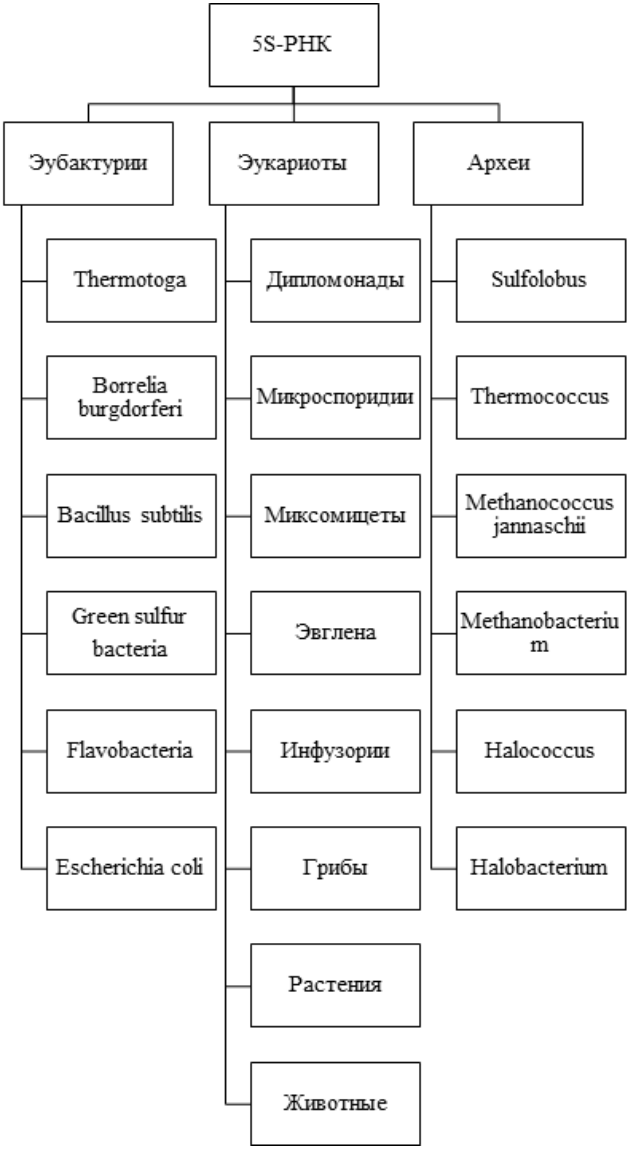


Рис.1.5. Филогенетическое древо генотипов
(по Воезу с дополнениями от Lodish, Berk, Kaiser, 2008; М.Ридли, 2008) [95, 164, 203]

Как видно из рис. 1.5, филогенетическое дерево указывает на общее происхождение генотипов («Лука» – молекула РНК), принадлежащих трем доменам – бактериям, археям и эукариотам. Следует обратить внимание, что в древе в некоторых случаях приводятся представители видов, как основных «рабочих» лошадок биотехнологии.

Родоначальник всех живых организмов в процессе изучения генома был обнаружен около центромеры на длинном плече первой хромосомы человека: ген 5S-РНК, состоящий из 120 нуклеотидов и очень активный из всех генов человека, т.к. 5S-РНК входит в состав рибосомы. ДНК появилась только тогда, когда произошло разделение труда на биохимическую активность (метаболизм) и хранение информации (репликация). Далее в процессе эволюционных преобразований формируются вирусы, прокариоты – эубактерии и археи, а затем – одноклеточные и многоклеточные эукариоты[95].

В табл. 1.4 дана краткая характеристика видам, указанным на рис. 1.5.

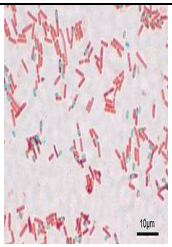
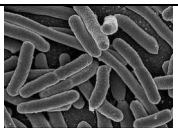
Как видно из табл. 1.4, в биотехнологии используются среди эубактерий – *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, архей – *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium*, эукариот – миксомицеты, эвглена, инфузории, грибы, растения и животные.

Таблица 1.4

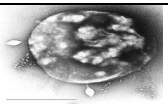
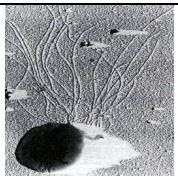
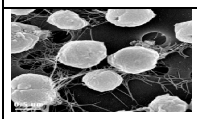
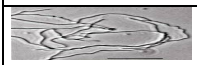
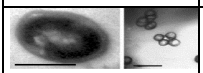
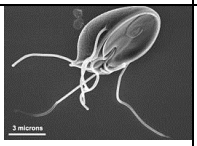
Филогенетическое древо генотипов: краткая биологическая характеристика одно- и многоклеточных организмов [12-14; 95, 164, 203]

Домен	Рисунок	Вид	Краткая характеристика
Эубактерии		Thermotoga	гипертермофильные бактерии, факультативные анаэробы
		Borrelia urgdorferi	Род бактерий, относящийся к семейству Spirochaetaceae. насчитывает 36 различных видов. Паразиты

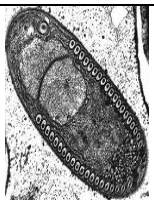
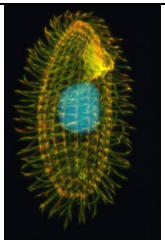
Продолжение табл. 1.4

Домен	Рисунок	Вид	Краткая характеристика
		Bacillussubtilis	Палочковидная спорообразующая подвижная бактерия (3–5 х 0,6 мкм). Колонии сухие, мелкоморщинистые, бархатистые, бесцветные или розовые. Край колонии волнистый. Хемоорганогетеротроф, аммонифицирует белки, расщепляет крахмал, гликоген. Развивается при температуре от +5 до +45°С. Продуценты ферментов и антибиотиков.
		Green sulfurbacteria	Семейство облигатно анаэробных (в присутствии O_2 не растут) фотолитоавтотрофных грамотрицательных бактерий
		Flavobacteria	Класс представляет собой группу синантропных бактерий и патогенных микроорганизмов. Грамотрицательные аэробные подвижные палочки длиной 2–5 мкм, шириной 0,3–0,5 мкм образуют желтые колонии на агаре, разлагают некоторые полисахариды, искл. целлюлоза, а широко распространены в почве и пресноводных водах
Эубактерии		Escherichia coli	Грамотрицательная палочковидная бактерия, широко встречается в нижней части кишечника теплокровных организмов. «Рабочая лошадка» биотехнологии

Продолжение табл. 1.4

Домен	Рисунок	Вид	Краткая характеристика
Археи		Sulfolobus	Растут в вулканических источниках при pH 2–3 и температуре 75–80°C, ацидофилы, термофилы. Клетки неправильной формы со жгутиком
Археи		Thermococcus	Неправильной формы кокковидные виды, размеры от 0,6–2,0 мкм в диаметре. обитают в диапазоне температур от 70 до более 100 ° C. Используют элементарную серу и источники углерода в том числе аминокислоты, углеводы и органические кислоты
		Methanococcus jannaschii	Термофильные метанотрофы. Их геном средиархей впервые секвенирован. Способны к росту на CO_2 и H_2 в качестве первичных источников энергии
		Methano-bacterium	Метанообразующие археи, один из классов Эвриархеот
		Halococcus	Обитают в среде с высоким содержанием солей. Клетки кокки, 0,6-1,5 мкм в длину.
		Halobacterium	Обитают в любых водах с высокой концентрацией соли. Аэробы, растут при 37–42 ºC
Эукариоты		Дипломонады	Протисты из надтипа Excavata. Большинство имеют удвоенный набор органелл: 2 ядра, 8 жгутиков. Насчитывают свыше 100 видов. Свободноживущие и паразиты

Продолжение табл. 1.4

Домен	Рисунок	Вид	Краткая характеристика
		Микроспоридии	Родственные грибам простейшие, облигатные паразиты. Описано около 1300 видов в 160 родах. Самый маленький геном эукариот. Споры содержат уникальный комплекс органелл – аппарат экструзии (заражает клетку хозяина путём прокола её оболочки и вбрасывания зародыша непосредственно в цитоплазму)
Эукариоты		Миксомицеты	Тип слизевиков (грибоподобны), входят в состав супергруппы Amoebozoa. Насчитывает около 1000 видов. Свободноживущие гетеротрофы
		Эвглена	Род одноклеточных организмов из класса эвгленид (Euglenida). Насчитывают более 1000 видов, распространены в морских и в пресных водоёмах. Размеры 30–200 микрон. Хлоропластов несколько
		Инфузория	Группа Alveolata. Формы существования: подвижные, прикреплённые, одиночные, колониальные. Формы тела разнообразны, размеры от 10 мкм до 4,5 мм. Живут в воде, почве и во мхах. Многие инфузории комменсалы, симбионты и паразиты других животных. «Рабочие лошадки» молекулярной биотехнологии

Продолжение табл. 1.4

Домен	Рисунок	Вид	Краткая характеристика
		Грибы	Сочетают признаки растений и животных. Занимают всю биологическую нишу, следовательно, биотехнологическую
		Растения	Описано около 320 тысяч видов растений, из них около 280 тысяч видов цветковых, 1 тысяча видов голосеменных, около 16 тысяч мохообразных, около 12 тысяч видов высших споровых растений (Плауновидные, Папоротникообразные, Хвощевидные). Широко используют в биотехнологии
Эукариоты		Животные	Описано более 1,6 млн. видов животных, большинство из которых составляют членистоногие (более 1,3 млн. видов, 78 %), моллюски (более 118 тыс. видов) и позвоночные (более 42 тыс. видов). Широко используют в биотехнологии

Видовые особенности объектов биотехнологии будут подробно изложены в главах 3–5 при рассмотрении вопросов, связанных с непосредственным производством биотехнологической продукции. Поэтому в этом разделе даются только общие представления о биоразнообразии генотипов.

1.4.3. Особенностисистематикиорганизмов

Систематика бактерий. Бактерии – это одноклеточные микроорганизмы-прокариоты (примерно 4000 – 6000 видов).

На сегодня единой филогенетической классификации на основе 16S-р РНК нет, а имеется искусственная, которая объединяет бактерии в группы по комплексу биологических (молекулярных – на основе ДНК, биохимических, физиологических и морфологических) признаков.

В мире для идентификации бактерий по фенотипу широко практикуется «Определитель бактерий Берджи» [87, 88].

Согласно правилам биологии, название организмов и, в частности, бактерий, складывается из двух латинских слов, первое указывает на род и пишется с прописной буквы, второе – на вид и пишется со строчной буквы. Например, *Thermoanaerobacter ethanolicus* – это название термофильных анаэробных бактерий, используемых в биотехнологии при производстве биоэтанола.

Согласно Определителю, бактерии по фенотипу разделены на четыре категории в зависимости от строения клеточной стенки, которые представлены на рис.1.6.

Дополнительно к рис. 1.6 можно отметить, что фототрофы и нефототрофы (имеют клеточные стенки; 1 категория) и микоплазмы со скользящим движением (лишены клеточных стенок; 3 категория) относятся к грамотрицательным эубактериям, к грамположительным эубактериям – простые неспоро- и спорообразующие бактерии и актиномицеты (2 категория), к археям –термофильные экстремально устойчивые (60–105 ^{o}C), например, метанобразующие, галофильные бактерии (4 категория) [74, 111, 122].

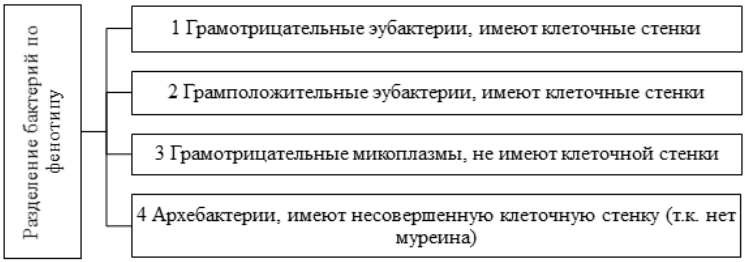


Рис.1.6. Разделение бактерий по фенотипу
(по определителю бактерий Берджи, Мюррей, 1984)[87, 88]

На сегодня археи, как видно на рис.1.5, выделены в самостоятельный домен клеточной организации жизни. Но, в целях изложения достоверной информации, так как систематика архей на сегодня высоко вариабельна и по некоторым аспектам противоречива, в работе рассматривается разделение генотипов прокариот по Определителю бактерий Берджи.

В табл.1.5 дана общая характеристика прокариот.

Таблица 1.5

Общая характеристика прокариот [48, 49]

Бактерии	Основные формы	Размеры, строение и подвижность. Размножение	Среда обитания
Археи	Форма разнообразна: шар, цилиндр, коробочка и др.	Анаэробы, аэробы, гетеротрофы и автотрофы	Обитают в экстремальных условиях: термофилы (при 85–105°С), галофилы (солеустойчивы), ацидофилы (pH 1–2)
Эубактерии (Истинные бактерии)	Палочковидная: одиночные, попарно (дипло-), цепочками (стрептобактерии). Шаровидная: одиночные (моно-), попарно (дипло-), по четыре (тетра-), цепочкой (стрепто-), неправильные скопления (стафилококки), кубообразно (сарцины). Извитая: варьируют по длине, толщине и степени изогнутости. По изогнутости: в виде запятой (вибрионы), в виде штопора (спириллы), с многочисленными завитками (спирохеты)	Размеры: от 0,5–1 до 2–5 мкм. Масса: $4 \cdot 10^{13}$г. Шаровидные, как правило, неподвижны, палочковидные – подвижны и нет, извитые – подвижны. Движение осуществляется путем скольжения или жгутиками. Скорость размножения от 15–20 мин до 5–10 ч	Деление бинарное простое (палочковидные – поперек, шаровидные – в разных плоскостях). Некоторые при неблагоприятных условиях образуют споры

Продолжение табл. 1.5

Бактерии	Основные формы	Размеры, строение и подвижность. Размножение	Среда обитания
Нитчатые	Нитевидные многоклеточные организмы	Длина различна, диаметр 1 – 7 мкм. Часто со слизистым чехлом. Подвижны или прикреплены к субстрату	Могут содержать окись магния или окислы железа. Обитают в водоемах, почве
Миксобактерии	Палочковидные. Образуют плодовые тела, где клетки находятся в покоящемся состоянии (миксоспоры)	Движение скользящее	Обитают в почве и на растительных остатках
Почкующиеся и стебельковые	Образуют выросты	Размножаются почкованием или стебельками	Обитают в водоемах, почве
Бактерии	Основные формы	Размеры, строение и подвижность. Размножение	Среда обитания
Актиномицеты	Ветвистые (палочки или нити). Образуют лучистые нити (мицелий)	Размножаются спорами, бывают окрашенными	Продуцируют антибиотики. Обитают на пищевых продуктах, почве, есть патогенные виды для животных
Риккетсии	Палочковидные, кокковидные	Неподвижны. Спор не образуют	Внутриклеточные паразиты
Микоплазмы	Организмы без клеточной стенки, имеют только трехслойную мембрану	Очень мелкие	Паразиты растений и животных

Как видно из табл.1.5, среди прокариотов имеются как свободноживущие, так и паразиты.

Особенности систематики эукариот. С точки зрения биотехнологии интерес представляют грибы, водоросли, растения (в частности, цветковые) и животные (в частности, млекопитающие).

Водоросли – это преимущественно фототрофные водообитаемые одноклеточные, колониальные или многоклеточные организмы. Водоросли – крайне гетерогенная экологическая группа генотипов (более 100 тыс.видов). На основании особенностей их морфологии и биохимии (различий в наборе пигментов, структуре хроматофора и др.) выделяется 11 отделов [66].

Цветковые растения в зависимости от числа зародышевых листьев в семени делят на два класса – двудольные (с двумя семядолями) и однодольные (с одной семядолей) [12 – 14].

Классификация млекопитающих (особенность: наличие трёх костей среднего уха, волосяного покрова и молочных желез) основывается на главных особенностях эмбрионального развития (однопроходные – откладывают яйца, сумчатые – рождаются слаборазвитые детёныши после короткого периода беременности, плацентарные – относительно длительный период беременности завершается рождением хорошо развитого детёныша [12 – 14; 31 – 33].

Систематика грибов. По сочетанию основных признаков (подвижность, строение зооспор, и гамет, состав клеточной стенки, путь синтеза лизина и др.) грибы разделены на три самостоятельные эволюционные линии и распределены по трем царствам живой природы – Протозоа, Хромиста и Настоящие грибы (табл.1.6) [66, 101].

В табл. 1.7 рассмотрены особенности биологии царств Протозоа, Хромиста и Настоящие грибы.

Таблица 1.6

Отделы и классы грибов и грибоподобных организмов
(По Гарибовой, Лекомцевой, 2005) [66]

Царство	Отдел	Класс
Протозоа (Protozoa)	Миксомикота (Myxomycota)	Ceratiomyxomycetes
		Myxomycetes
		Protosteliomycetes
	Плазмодиофоромикота (Plasmodiophoromycota)	Plasmodiophoromycetes
	(Dictyosteliomycota)	Dictyosteliomycetes
	(Acrasiomycota)	Acrasiomycetes
Хромиста (Chromista)	Labyrinthulomycota	Labyrinthulomycetes
		Thraustochytridiomycetes
	Hyphochytridiomycota	Hyphochytridiomycetes
	Оомикота(Oomycota)	Оомицета (Oomycetes)
Настоящие грибы (Fungi)	Хитридиомикота (Chytridyomycota)	Chytridyomycetes
	Зигомикота (Zygomycota)	Zygomycetes
		Trichomycetes
	Аскомикота (Ascomycota)	Archiascomycetes
		Hemiascomycetes
		Ascomycetes
		Loculoascomycetes
	Базидиомикота (Basidiomycota)	Basidiomycetes
		Urediniomycetes
		Ustilaginomycetes
	Дейтеромикота (Deuteromycota)	Hyphomycetes
		Coelomycetes
		Agonomycetes
	Лишайники, или лихенизированные грибы (*Lichenes*)	Ascolichenes
		Basidiolichenes

Таблица 1.7

Особенности биологии царств Протозоа, Хромиста и Настоящие грибы [66]

Царство	Краткая характеристика
Протозоа (Protozoa) (Миксомицеты, или слизевики)	Гетеротрофные организмы, тело представлено голым многоядерным протопластом – плазмодием, способным к амебоидному движению по субстрату. У некоторых видов вегетативное тело – псевдоплазмодий, где амебоиды не теряют свой обособленности. Питание преимущественно голозойное. Цикл развития сложен: зооспоры, гаплоидные и диплоидные миксоамебы; у некоторых видов подвижная стадия отсутствует. Большинство видов – сапротрофы, немногие – паразиты растений. Группа объединяет 4 отдела и 6 классов, которыемежду собой различаются по уровню организации плазмодия, особенностям цикла развития и способу питания
Хромиста	Грибоподобные организмы (псевдогрибы), а также бурые, золотистые, желто-зеленые водоросли и др. Их клетка имеет митохондрии с трубчатыми кристами, перистые жгутики с мастигонемами. В состав их клеточной стенки входит целлюлоза; хитин и β-глюкан в ней отсутствуют
Настоящие грибы	Имеют настоящий мицелий. Каждая гифа окружена тонкой жесткой стенкой, основным компонентом которой является хитин в сочетании с β-глюканом, маннаном или с хитозаном (в отделе Зигомикота). Питание гетеротрофное абсорбтивное; в вегетативном состоянии неподвижны; наличие жгутиконосных клеток (спор и гамет) с одним (Хитридиомикота) или несколькими жгутиками. Классификация основана на различиях: количество, строение и расположение жгутиков у грибов с подвижными стадиями развития, характер развития спор полового размножения, типы полового процесса и бесполого размножения, состав полисахаридов клеточных стенок

1.3. Клетка как объект биотехнологии: строение и функции клетки прокариотов и эукариотов

Как уже было отмечено выше, клетка – это основной микрореакторный аппарат биотехнологии, так как именно клетка обеспечивает производство биотехнологической продукции на промышленном уровне. В качестве примера будет кратко рассмотрена структурная организация клеток прокариотов и эукариотов.

Как видно из рис.1.7, при рассмотрении клеток прокариот следует обратить внимание на особенности строения клеточной стенки бактерий. По методу окраски (Х.Грам, 1884) в зависимости от строения клеточной стенки различают две группы бактерий: *грамположительные* – клетки удерживают краску (окрашиваются в синий цвет: Грам+), клеточные стенки толстые, аморфные (содержание муреина достигает 50–90 % сухой массы клеточной стенки); *грамотрицательные* – клетки не удерживают краски (малиновый); клеточные стенки тонкие, слоистые, содержат много липидов и мало муреина (5–10 %), тейхоевые кислоты отсутствуют [108].

К первой группе относятся кокковые (искл. род Neisseria) и спороносные формы бактерий, дрожжи, ко второй – многие неспороносные бактерии.

На рис. 1.8 показана схема строения клеток растений и животных.

Как видно из рис. 1.8, существенное различие клеток растений от клеток животных определяется наличием в растительных клетках хлорофилла и хлоропластов, клеточной стенки (целлюлоза) и их отсутствием в клетках животных.

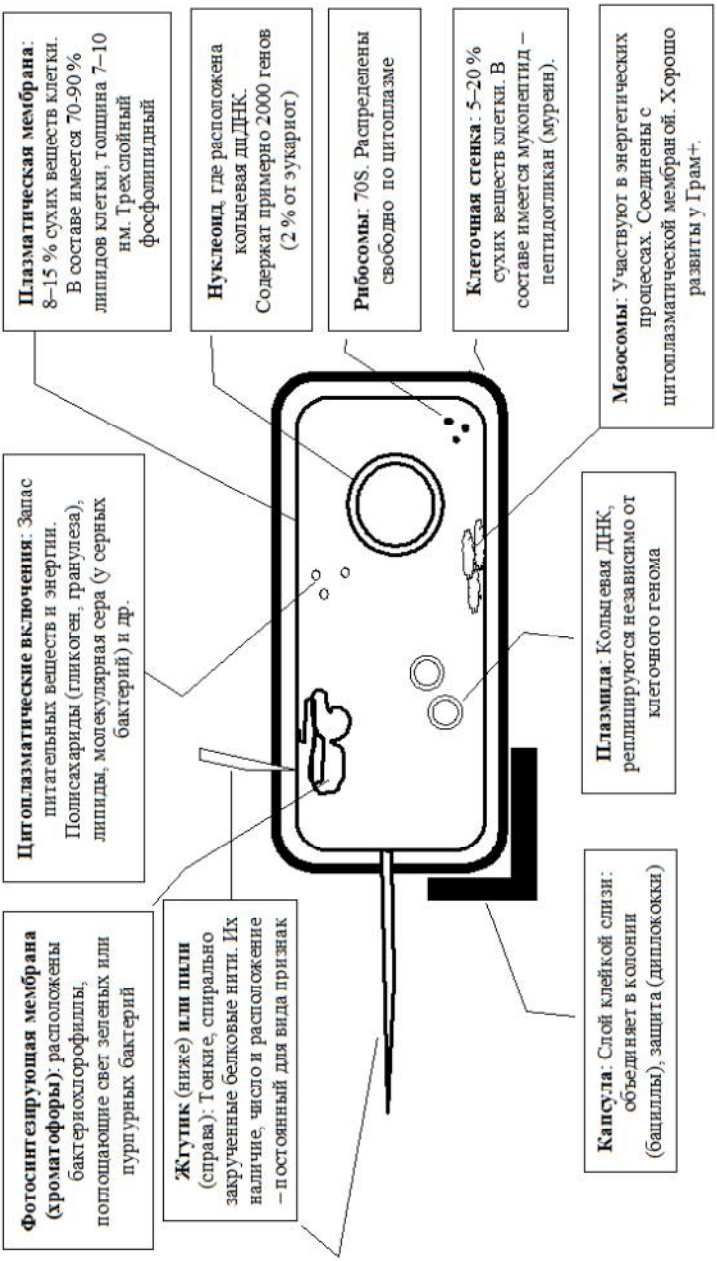


Рис.1.7. Схема и особенность строения клеток прокариот [48, 49]

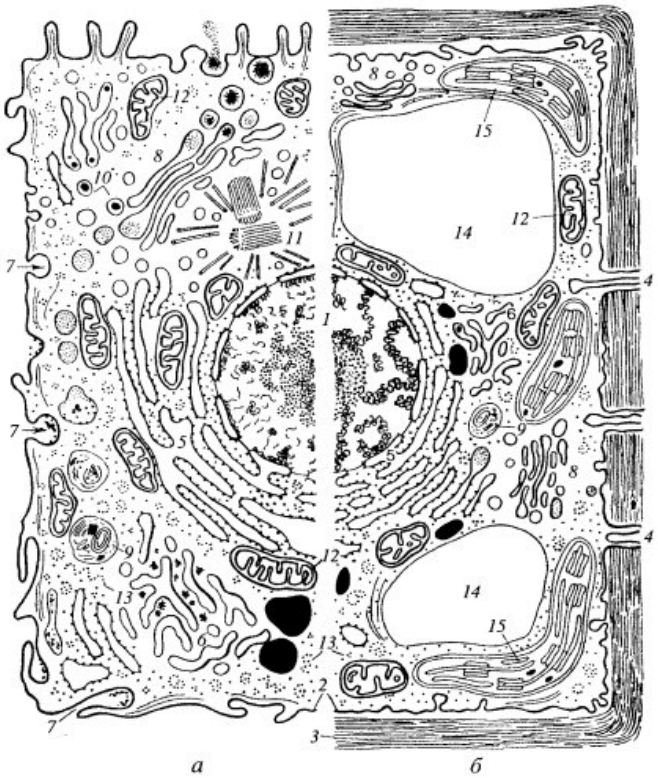


Рис. 1.8. Комбинированная схема строения эукариотической клетки (Атабекова А.И., Устинова Е.И., 1980) [31]:
а – клетка животного происхождения; б – растительная клетка 1 – ядро с хроматином и ядрышком; 2 – плазматическая мембрана; 3 – клеточная стенка; 4 – плазмодесма; 5 – гранулярный цитоплазматический ретикулум; 6 – гладкий ретикулум; 7 – пиноцитозная вакуоль; 8 – аппарат Гольджи; 9 – лизосома; 10 – жировые включения в гладком ретикулуме; 11 – центриоль и микротрубочки центросферы; 12 – митохондрии; 13 – полирибосомы гиалоплазмы; 14 – центральная вакуоль; 15 – хлоропласт

Дополнительно, имеются следующие основные отличия:

- *центриоль*: имеется в клетках животного происхождения, тогда как в клетках растений лишь у некоторых низших форм;

- *вакуоль*: у животных – мелкие (один – несколько), у растений – одна большая (может занимать от объема клетки до 90%).

При сравнении клеток прокариот (рис. 1.7) и эукариот (рис. 1.8) качественно они отличаются между собой по следующим ключевым позициям [3, 31, 48]:

- *размер клеток*: у прокариот находится в интервале 1–10 мкм, тогда как у эукариот от 10 до 100 мкм;

- *ядро*: у эукариот ядерный аппарат обособлен от цитоплазмы мембраной, тогда как упрокариот вместо ядра имеется необособленная от цитоплазмы нуклеоплазма, содержащая кольцевую дцДНК;

- *фотосинтез и хемосинтез АТФ*: на клеточных мембранах у прокариот и в хлоропластах и митохондриях у эукариот (исключение животные);

- *развитие*: у прокариот только гаплоидные формы, у эукариот – как гаплоидные, так и диплоидные;

- *цитоскелет*: у прокариот нет, у эукариот есть;

- *способ поглощения веществ клеткой*: у прокариот через клеточную стенку, у эукариот – фаго- и пиноцитоз;

- *метаболизм*: у прокариот как аэробное, так и анаэробное, у эукариот – аэробное;

- *размножение*: бинарное у прокариот; митоз, мейоз – у эукариот.

Происхождение и классификация тканей многоклеточных организмов.Клетки многоклеточных организмов группируются в ткани, функционально объединенные разнокачественные ткани – в органы и системы (табл. 1.8).

Как видим из табл. 1.8, типы классифицируют в зависимости от происхождения, строения и функциональной ориентации.

Таблица 1.8

Происхождение и классификация тканей многоклеточных организмов [3, 31-33]

Происхождение	Классификация	Функция	Особенность
Растительное	Образовательная (меристема)	Рост	Постоянно делятся
	Покровная	Защита, связь с ОС	Быстро отмирающие клетки. Часто несет различные образования
	Механическая	Прочность	С утолщённой клеточной стенкой. Присутствуют во всех органах, но наиболее развиты по периферии стебля и в центральной части корня
	Основная	Составляют основу органов	Ткани: ассимиляционная, воздухоносная, запасающая
	Проводящая	Для передвижения растворённых питательных веществ	Образует в теле растения непрерывную разветвлённую сеть, соединяющую все его органы в единую систему
Животное	Эпителиальные	Защита	Мало межклеточного пространства. Быстро и часто делятся. Имеют высокую способность регенерировать

Продолжение табл. 1.8

Происхождение	Классификация	Функция	Особенность
Животное	Мышечная	Движение	Свойства: возбудимость, сократимость, проводимость. Клетки вытянутые, способны менять форму. Имеют специальные органеллы (миофибриллы), обеспечивающие способность сокращаться
	Нервная	Взаимодействие и регуляция	Уникальные клетки – нейроны. Свойства: возбудимость и проводимость.
	Соединительная	Внутреннее единство и слаженность: питание органов, защита и опора	Относят: кровь и лимфа, костная и хрящевая, жировая. Общие признаки: много межклеточного вещества; в составе много органических и неорганических веществ

Воспроизведение и жизненный цикл. Воспроизводительный потенциал живой материи генерационно выражается через репликацию (на молекулярном уровне), митоз, мейоз (на уровне

ядра), цитокинез (на клеточном уровне) и воспроизводство (уровне организма).

Под репликацией понимают процесс удвоения молекулы ДНК, под митозом – деление ядерного аппарата с сохранением генетического набора, под цитокинезом – деление цитоплазмы с образованием двух дочерних клеток, под воспроизводством – процесс размножения индивидуумов.

Онтогенез – это индивидуальное развитие организмов [31 – 33]. Периоды онтогенеза:

- у млекопитающих – пренатальный, т.е. внутриутробный и постнатальный, т.е. после рождения;

- у растений – латентный (скрытый) – покоящиеся семена; дегенеративный, или виргинильный, – от прорастания до первого цветения; генеративный – от первого до последнего цветения (молодые, средневзрослые, зрелые и старые генеративные особи); сенильный, или старческий, – с момента потери способности к цветению до отмирания [20].

1.6. Перспективы использования генотипов в биотехнологии

Природная вариация «полезных» свойств организмов настолько многогранна, что раскрыть их все затруднительно. Ниже приводятся только ключевые генотипические ресурсы, нашедшие широкое применение в биотехнологии.

Для биотехнологических целей широко применяются бактерии *Escherichia coli* (*E.coli*), одноклеточные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (*S.cerevisiae*) и различные клеточные линии эукариот (на примере клеток высших растений и животных).

1.6.1. Биотехнологические ресурсы микроорганизмов

Для биотехнологии можно выделить следующие основные потенциальные возможности микроорганизмов [42, 47, 49, 56, 57, 74, 109, 111, 122, 235]:

1. Быстрая смена поколений. Клетки микроорганизмов растут и делятся очень быстро. Новую генерацию клеток можно получить в среднем через каждые 30 мин у бактерии и 2–3 ч – у

дрожжей. При оптимальных условиях в среде культивирования можно достичь выхода сухой биомассы до 100 г/л.

2. Высокая продуктивность. Масса одной бактерии равна 0,2 х 10^{-9}мг, но масса образованной из нее биомассы через 16 ч будет равна 1 мг. При культивировании дрожжей в 1м^3 питательной среды за 1 ч можно получить около 3 кг биомассы дрожжевых клеток в пересчете на сухое вещество. Эти примеры свидетельствуют о том, что с каждого кубического метра аппаратуры в течение суток можно получать около 30 кг белков. Для сравнения, чтобы получить такое количество белков от макроорганизмов требуется в сутки держать 100 коров при получении животного белка или 18 га посевов культур (на примере гороха) при получении растительного белка.

3. Преимущества в протекании химических микробиологических процессов способствует сокращению капиталовложений. Под действием ферментов реакции протекают при сравнительно низкой температуре (20–60^{o}C).

4. Микробиологическое производство, когда из субстратов питательной среды с помощью микроорганизмов синтезируют сложные органические вещества.

5. Микробиологическая трансформация, когда микроорганизмы осуществляют самые различные (чаще неосуществимые или трудноосуществимые) химические реакции.

1.6.2. Биотехнологические ресурсы макроорганизмов

Основные биологические особенности высших эукариот, послужившие предпосылками для использования методов биотехнологии в конструировании генотипов *in vitro* [15, 20, 27, 53, 56, 57, 100]:

1. Клеточный цикл, обеспечивающий размножение генотипов.

2. Клеточная система защиты (иммунитет; регенерация).

3. Тотипотентность (от лат. "totus" – весь, "potentia" – сила) – потенциальная способность генетического аппарата многоклеточных эукариот давать дифференцированное развитие.

4. Дифференциация – функциональная специализация клеток высших эукариот, приводящая к возникновению морфоло-

гических, физиологических и биохимических различий между клетками и тканями одного организма.

5. Гормонозависимость роста и развития клеток высших эукариот. Особое внимание следует обратить на такие гормоны, как:

1) у растений:

фитогормоны – соединения, участвующие в регуляции роста растений и обладающие следующими свойствами:

- синтезируются в одном из органов растения (молодые листья, почки, верхушки корней и побегов) и транспортируются в места, где они активируют процессы органогенеза и роста;

- синтезируются и функционируют в растениях в микроколичествах;

- вызывают в растениях формативный эффект, им свойственны регуляторные функции;

ауксины – фитогормоны, преимущественно индольной природы, которые продуцируются растущими верхушками стеблей и корней и перемещаются в зону растяжения клеток, усиливая рост стеблей, листьев и корней;

2) у животных гормоны репродукции, обеспечивающие размножение животных:

- *фолликулостимулирующий* (ФСГ) и *лютеинизирующий гормон* (ЛГ), вырабатываемые передней долей гипофиза и необходимые для роста и развития гамет (ФСГ), созревания и оплодотворения гамет (ЛГ);

- *эстроген* и *прогестерон*, вырабатываемые гонадами (яичниками) и необходимые для регуляции эстрального цикла у самок млекопитающих (эстроген) и эмбрионального развития (прогестерон).

6. Биотехнология растений основано на применении каллусных клеток. В природе на пораженных участках растения образуется особая ткань – каллус, обладающая питательной, защитными и регенерационными свойствами. Именно эта особенность и послужила важной биологической предпосылкой для применения каллусных клеток в биотехнологии.

7. В биотехнологии животных почти все молекулярно-клеточные технологии осуществляются на уровне гамет и бластомер эмбрионов (стволовые клетки). Биологический резерв

гамет высших животных позволяет осуществлять биоинженерные технологии в промышленных масштабах.

Контрольные вопросы

1. Что собой представляет наука «Биотехнология»?
2. Предмет и объект изучения биотехнологии: особенности и понятия.
3. Охарактеризуйте иерархию объектов биотехнологии в зависимости от уровня их развития и происхождения – природного и сконструированного *invitro*.
4. Какую функцию выполняют объекты биотехнологии в производстве целевых продуктов?
5. Дать определение понятию «биотехнологический ресурс».
6. Объекты биотехнологии: понятие и их место в биотехнологическом процессе.
7. Предполагаете ли Вы, что искусственно созданные гены и генотипы начали оказывать влияние на эволюцию органического мира? И если – да, то дайте разъяснения.

2. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ КАК ОБЪЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ

Исходя из биотехнологии можно выделить два типа детерминантов генетического поведения (рис. 2.1).



Рис.2.1. Детерминанты генетического поведения

Как видно из рис.2.1, согласно биотехнологии, различают два типа генетических детерминантов в зависимости от происхождения – это:

- природные, т.е. естественные, к ним могут быть отнесены: хромосома, экстрахромосома, ген, сегмент ДНК;

- искусственные, т.е. сконструированные *in vitro* – это чужеродная, векторная и рекомбинантная ДНК, искусственные хромосомы, искусственный геном.

Функциональные проявления генетических детерминантов определяются их молекулярной структурой, организацией и свойствами.

Биологическими предпосылками для создания генетических детерминантов коммерческого и терапевтического назначения послужили такие молекулярные свойства природных живых молекул, как [2, 98, 126, 139, 140, 143, 147, 148, 159, 173, 177, 212, 227]:

1. Поведение генетических детерминантов в клетке регулируются ферментами ДНК. Поэтому, воздействуя на ДНК, можно *in vitro* конструировать ДНК различной сложности организации: от чужеродного гена, вектора, рекомбинантного ДНК, до искусственных хромосом и искусственного генома.

2. Высокая вариация генетических детерминантов за счет рекомбинации, мутации и трансформации ДНК. Генетическая вариация широко используется в работах экспериментальной биотехнологии в целях нахождения «полезных» генов.

3. Воспроизведение генетических молекул путем репликации (геном) и амплификации (ген). Синтез нужной последовательности ДНК на сегодня благодаря полимеразной цепной реакции не представляет проблем.

4. Вертикальный (из одного поколения в другое у всех живых организмов) и горизонтальный (трансформация, трансдукция и конъюгация у бактерий – обмен генами между клетками) путь переноса генетической информации. Эта особенность генетического аппарата позволила в биотехнологии создать метод переноса генетической информации как по вертикальному, так и по горизонтальному пути (рис.2.2).

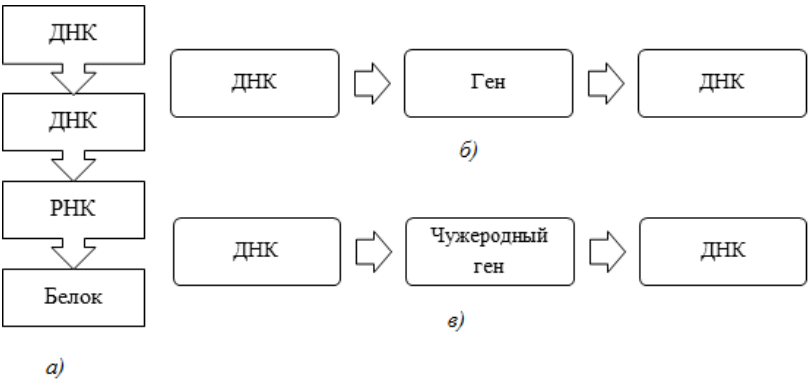


Рис.2.2. Типы переноса генетической информации:
а) вертикальный путь переноса генетической информации;
б) горизонтальный тип переноса генетической информации у прокариот: трансформация, трансдукция и конъюгация у бактерий;
в) искусственный горизонтальный тип переноса генетической информации у прокариот и эукариот: трансгеноз чДНК, сконструированного invitro

Как видно из рис.2.2,*а*, при вертикальном переносе генетической информации, что характерно для всех живых организмов, информация, закодированная в последовательности молекулы ДНК передается следующему поколению в процессе репликации (ДНК → ДНК), тогда как передача информации с ДНК на молекулу РНК и Белок осуществляется посредством транскрипции и трансляции соответственно. Следует отметить, что вертикальный перенос информации генов (генома) обеспечивает непрерывность воспроизводства (репродукции).

Горизонтальный тип переноса генетической информации в природных условиях (рис.2.2, *б*) характерен для прокариот посредством *трансформации* (процесс поглощения клеткой организма свободной молекулы ДНК из среды и встраивания её в геном), *трансдукции* (процесс переноса фрагмента бактериальной ДНК из одной клетки в другую бактериофагом) и *конъюгации* (однонаправленный процесс переноса части генетического фрагмента плазмиды или хромосомы при непосредственном контакте двух клеток). Горизонтальный тип

переноса информации обеспечивает у клетки-реципиента появления новых для неё признаков, характерных для ДНК клетки-донора.

В биотехнологии горизонтальный тип переноса генетической информации (рис.2.2, *в*) используется в целях повышения генетического потенциала клетки и организма (продуктивность, резистентность) и при генной терапии в медицине (борьба с генетическими пороками развития, инфекционными заболеваниями).

5. Реабилитационные способности при репарации молекул и регенерации клеток.

Для понимания конструкторских молекулярно-клеточных технологий *in vitro* далее более подробно рассматриваются вопросы, касающиеся молекулярной организации гена, плазмид, а также ферментативной активности ДНК.

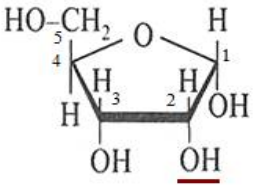
2.1. Природные источники для молекулярных конструкций *in vitro*

2.1.1. Нуклеиновая кислота как объект биотехнологии

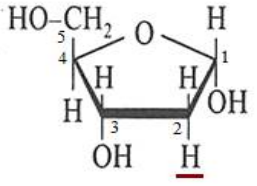
Эволюция наследственного материала породило возникновение двух молекул, относящихся к классу нуклеиновых кислот, но различающиеся по молекулярной структуре, организации и функционированию – это дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты, которые, как генетические элементы, выполняют две основополагающие для живой природы функции – репликацию и экспрессию. Благодаря первой функции обеспечивается генетическая преемственность, второй – жизнедеятельность. Выполнимость этих функций основано на том, что нуклеиновые кислоты могут служить матрицами в переносе генетической информации от нуклеиновой кислоты к нуклеиновой кислоте и белку: ДНК → ДНК → РНК → Белок (рис. 2.2).

Как видно из рис.2.3, нуклеиновая кислота представляет собой полимер, в составе которого имеются четыре разных, но родственных мономеров, именуемых нуклеотидами. В состав нуклеотида входят одно из четырех гетероциклических азотистых оснований и моносахарофосфат [164].

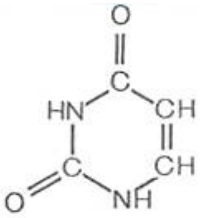
Структура. ДНК – это протяженная, гибкая, нитевидная структура, представленная в форме двойной спирали и образуемая двумя антипараллельными полинуклеотидными цепями, закрученных одна вокруг другой и обе вокруг общей оси (рис.2.4) [2, 9-10, 59, 60, 104, 158-160, 206, 222].



Пентоза в РНК – Рибоза

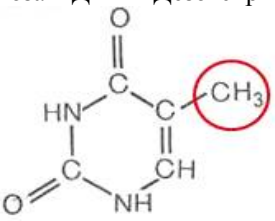


Пентоза в ДНК – Дезоксирибоза



Урацил

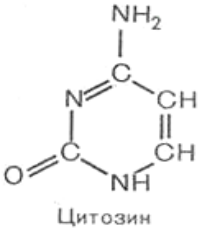
Пиримидиновое основание в РНК



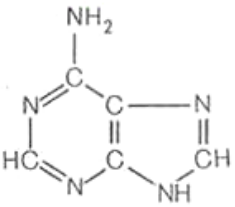
Тимин

Пиримидиновое основание в ДНК

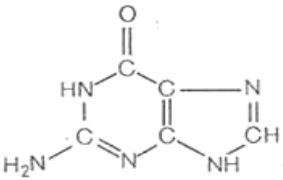
а) специфичные молекулы в составе нуклеотида



Цитозин



Аденин



Гуанин

Пиримидиновое основание

Пуриновые основания

Рис. 2.3. Химическое строение азотистых оснований и нуклеотида [93]

Как видно из рис.2.4, в ДНК сахарофосфатный остов расположен снаружи и заряжен отрицательно, а азотистые основания расположены внутри. Последовательность оснований в одной цепи определяет их последовательность в другой. Соотношение между пуринами (аденин – A, гуанин – G) и пиримидинами (тимин – T, цитозин – C) в ДНК постоянно [61, 228, 229, 233].

РНК – это одноцепочечные молекулы, способные образовывать короткие внутримолекулярные двухцепочечные участки, где A спаривается с U (урацил), а G с C [24, 25 – 28].

Для нуклеиновых кислот различают три уровня организации: первичная структура представляет собой упорядоченную последовательность нуклеотидов, вторичная структура – это сложение нуклеотидов с помощью водородных связей (двойная спираль Уотсона-Крика), третичная структура образуется при суперскручивании [54, 73, 114].

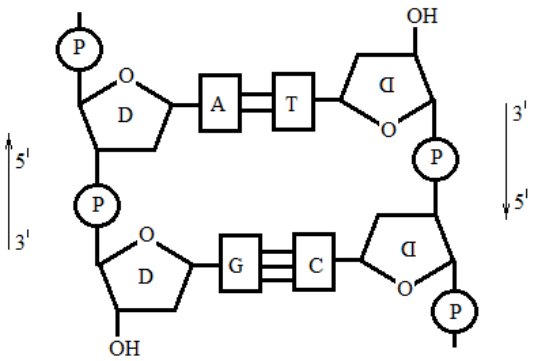


Рис.2.4. Химическая структура ДНК [67]

Вариация. В природе известны право- (A-, B-, C-, D-, E-формы) и левоспиральные (Z-форма) изомерные типы ДНК, из которых A- и C- формы образуются при пониженной (75% и 66% соответственно), B– форма – при повышенной (92%; клеточная ДНК) влажности, Z-форма существует только при повышенных концентрациях солей, а D- и E- формы – обнаружены в ДНК, не содержащих гуанина [69].

Во всех клетках присутствуют три вида РНК – матричная (мРНК), транспортная (тРНК) и рибосомальная (рРНК). мРНК переписывает информационное содержание гена с целью её передачи на аминокислотную последовательность белка. тРНК занимает центральное место в биосинтезе белка, выполняя функцию адаптерной молекулы, ответственной за трансляцию последовательности кодонов в последовательность аминокислот. рРНК является основным компонентом рибосомы, выполняя в ней структурную и связывающую (мРНК с тРНК) функции. Рибосома состоит из малых и больших субчастиц. В малой субъединице рибосомы доля рРНК составляет примерно 60%, а в большой – 70%. Кроме того, в клетках эукариот различают малые РНК, сосредоточенные в ядре (мяРНК) и цитоплазме (мцРНК) и необходимые для посттранскрипционных перестроек (сплайсинг, процессинг). От общей массы РНК на долю мРНК приходится 3,5–4%, тРНК – 15%, рРНК – 80% и малых РНК – 1–1,5% [55, 67, 69, 103, 211, 234].

Размер. Размер молекулы ДНК выражается в числе пар нуклеотидов (н.п.) и за единицу берется либо тысяча пар (килобаз: 1 kb = 1т.п.н), либо 1 млн. пар (мегабаз: 1Mb=1м.п.н) нуклеотидов. Молекулярная масса 1 Mb, в среднем, равна 6,6 • 105, а её длина составляет 340 нм. Хромосома состоит из одной молекулы ДНК размером от нескольких десятков тысяч до многих миллионов пар нуклеотидов [28, 103, 223, 225].

РНК – это полинуклеотид длиной от 70–75 мономерных единиц у некоторых тРНК до 10 тыс. нуклеотидов (т.н.) и более у некоторых мРНК. Число их в клетках варьирует от 1–2 (рРНК) до тысяч (мРНК) [28, 210, 213, 215].

Физические свойства. Двухцепочечные участки нуклеиновых кислот при повышении температуры или pH, вследствие достаточно слабой водородной связи могут денатурировать. В результате денатурации образуются две комплементарные одиночные цепи, которые, в случае понижения температуры или pH, могут ренатурировать [103].

Перспективы использования ДНК в биотехнологии.Применение нуклеиновых кислот в биотехнологии имеет хорошие перспективы. Для понимания этих перспектив приводятся несколько примеров [76 – 78. 86, 102, 103, 130, 146, 150, 167, 168, 175, 177, 197]:

1. Синтетические олигонуклеотиды (праймеры, зонды и др.) – короткие (до 20–30 оснований) нуклеотидные последовательности, используются в качестве «инструментов» молекулярной биотехнологии, а также в молекулярной диагностике в медицине.

2. ДНК-чипы (биочипы) – электронное устройство, содержащее ДНК (биологические молекулы). Разработаны для идентификации генов, изучения характера экспрессии, также применяются в приборостроении, например, для диагностики инфекционных болезней, установления генетической предрасположенности к заболеваниям, в т.ч. раковым, а также в приборах для мониторинга качества окружающей среды. ДНК-чипы широко применяются при поиске мутаций, аллелей, полиморфизма.

3. «Лаборатория на чипе» иначе микросистемы полного анализа (LOC – lab-on-a-chip; μTAS – micro total analysis systems) – минприбор, осуществляющий многостадийные биохимические процессы на одном чипе (микрореактор для химического синтеза ДНК). Применяют для экспресса диагностики инфекционных и онкологических заболеваний, а также для экспресса мониторинга качества окружающей среды в условиях экосистем.

4. ДНК-компьютеры (биокомпьютеры). Имеется предположение, что к 2020 году объем информационных данных составит 5200 Гигабайт на человека (всего 40 трлн. Гигабайт). На сегодня уже разработана технология многоцелевого нанокомпьютера на базе ДНК, которая позволяет в 100 г ДНК хранить информации в объеме 40 трлн. Гигабайт (E. Shapiro, Weizmann Institute).

2.1.2. Геном как объект биотехнологии

Фенотипическое проявление клетки координируется его генетическим аппаратом, качественный состав которого называют *геномом* и в котором различают макроструктурную (хромосома, экстрахромосома) и микроструктурную (гены, сегменты) организацию. Именно геном служит природным молекулярным источником для всех генетических конструкций *in vitro* [58, 133, 149, 191 – 194, 199, 201, 208, 212, 214].

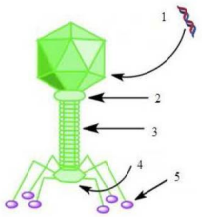
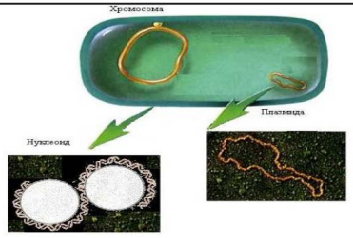
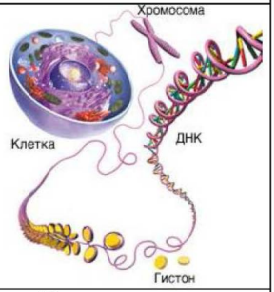
Молекулярная структура и свойства генома для различных уровней организации жизни в кратком сравнительном аспекте даны в табл.2.2.

Таблица 2.2

Молекулярная структура и свойства генома для различных уровней организации жизни в сравнительном аспекте [2, 59, 69, 73, 86, 103, 136 – 140, 166, 179 – 185]

Показатель	Специфичность	Характеристика генома		
		вирусов	прокариот	Эукариот
Геном представлен	Общая	ДНК в комплексе с белками образует хромосому		
	Специальная	ДНК-хромосомы, РНК-хромосомы (одно- или двуцепочечная; кольцевая или линейная)	ДНК-хромосомы цитоплазмы (занимает примерно 30% обьема цитоплазмы; кольцевая, линейная) и кольцевая ДНК-экстрахромосомы (плазмида)	Линейная ДНК-хромосма ядра, Кольцевая ДНК-экстрахромосомы цитоплазмы: ДНК митохондрий и пластид (хлоропластов) организованы как геномы прокариот
Особенность генома	Общая	Наличие кодируемых и не кодируемых последовательностей ДНК		
	Специальная	Локализован внутри капсида, сегментирован (особенно у РНК-вирусов)	Функционирование энергетически лимитировано, поэтому гены в большинстве случаев организованы в полицистроны	ДНК хромосом свертывается вокруг положительно заряженных гистонов, которые нейтрализуют отрицательный заряд самой ДНК
Размер генома	Специальная	От 2 kb до 1,2 Mb	Хромосома: От 600 kb до 10 Mb (от 10^6 до 10^7 пар нуклеотидов и кодируют 1000-4000 генов); Плазмида: от менее 1 до более 500 kb.	Хромосомы: - 10^9 - 10^{10} н.п. (длина 1,5 – 2 м); - общая длина ДНК (на примере человека) во всех клетках ($5x10^{13}$) составляет 10^{11}км. Экстрахромосомы: - митохонтдриальная от 20 (у животных) – 80 (у дрожжей) – до нескольких тысяч kb у растений; - хлоропластная – 120-180 kb

Продолжение табл. 2.2

Показатель	Специфичность	Характеристика генома		
		вирусов	прокариот	эукариот
Макроструктурная организация генома				
		На примере вируса λ: *1 – головка, в которой содержится геном; 2 – воротничок; 3 – чехол; 4 – базальная пластина; 5 – шипы* http://en.wikibooks.org	На примере бактерии *E.coli*: хромосома состоит из большого числа петель двухцепочечной ДНК, уложенных в виде волокон. Средняя плотность суперспирализации соответствует одному отрицательному супервитку на каждые 200 н.п.	Хромосома эукариот, локализованы в ядре http://theoryandpractice.ru

Как видно из таблицы 2.2 [2, 59, 69, 73, 86, 103, 136 – 140, 155], геном:

1) домено- и видоспецифично:

- для доклеточной формы жизни геном представлен либо молекулой РНК (РНК-вирусы), либо – ДНК (ДНК-вирусы), при этом геном сосредоточен в капсиде,

- для клеточной формы жизни геном представлен молекулой ДНК, при этом он может быть сосредоточен в ядре (хромосомы эукариот), в цитоплазме (хромосома и плазмида прокариот, ДНК хлоропластов и ДНК митохондрий эукариот) клетки;

2) размер генома варьирует в широких пределах: от 2 kb у вирусов цирковирус (геном представлен одноцепочечным ДНК, кодирует лишь два белка и содержит всего 2000 нуклеотидов) до 3,1 млрд пар оснований у человека (у эукариотболее 100 млн пар оснований).

Перспективы использования генома в биотехнологии. Для конструирования новой генетической программы используется комплекс методов молекулярной биотехнологии. В задачу данного учебного материала не входят вопросы, рассматривающие методы конструирования, но ознакомиться с молекулярными особенностями созданных генетических детерминантов необходимо, так как в силу своих функциональных особенностей, они, наравне с природными молекулами, также являются объектами биотехнологии [103]:

1. Библиотека генома – коллекция всех индивидуальных генов определенного генотипа, введенных в плазмиду.

2. Библиотека кДНК – коллекция продуктов экспрессии в форме зрелой мРНК (кДНК – гены без интронов) определенного генотипа.

3. Криобанк генотипов– коллекции криозамороженных клеток прокариот и эукариот (в жидком азоте при температуре – 196 ^{o}C).

Сроки хранения библиотеки генома и криобанка генотипов неограниченно. Их основная функция направлена с одной стороны, на процесс сохранения биоразнообразия, с другой – на обеспечение молекулярными ресурсами для конструирования генетической и биологической программы развития *invitro*.

На рис.2.5 показана блок-схема технологии создания детерминантов генетического поведения.

Из рис.2.5 видно, что биотехнология на молекулярном уровне предполагают изучение и применение генетических детерминантов природного происхождения (сегменты ДНК, гены, хромосома, геном), конструирование новых генетических программ (рекомбинантная ДНК, искусственная хромосома), изучение последствий их действия на генотип реципиента (организм, в геном которого интегрирована генетическая конструкция), промышленное производство (клонирование, т.е. биокопирование сконструированных *in vitro* молекул) и коммерческая реализация (например, в медицине: ДНК-вакцины, генная терапия) с получением в итоге новых генетических программ (трансгенный генотип: соматический и генеративный).



Рис.2.5. Блок-схема технологии созданиягенетических детерминантов в биотехнологии

2.1.3. Гены как объекты биотехнологии

Ген– это совокупность сегментов ДНК, в комплексе образующие экспрессируемую единицу и функциональными продуктами которых являются РНК и белок [103].

На рис. 2.6 и в табл. 2.3 даются краткие сведения о молекулярной организации генов прокариот и эукариот в сравнительном аспекте.

Таблица 2.3

Молекулярная организация генов про- и эукариот в сравнительном аспекте [103]

№ п/п	Показатель	Характеристика	Гены	
			прокариот	эукариот
1	Промотор	Общая	Располагается на 5'-конце гена	
		Специализированная	Имеет два сайта связывания: TATA- и TTGAC-последовательности	Имеет три сайта связывания: TATA-, CCAAT- и GC-последовательности
2	Единица транскрипции	Общая	- точку начала транскрипции обозначают числом +1; - транскрипция осуществляется в направлении 5'→3'; - первичным продуктом является РНК или белок	
		Специализированная	- моно- и полицистронная; - опероны, имеющие только один общий набор регуляторных элементов	- моноцистронная; - мозаичность: присутствие экзонов и интронов
3	Терминатор	Общая	Располагается на 3'-конце гена	
4	Регуляторы частоты инициации	Специализированная	Активная и пассивная форма белков регуляторов	определяют тканеспецифичность; оказывают дистанционное влияние на частоту инициации

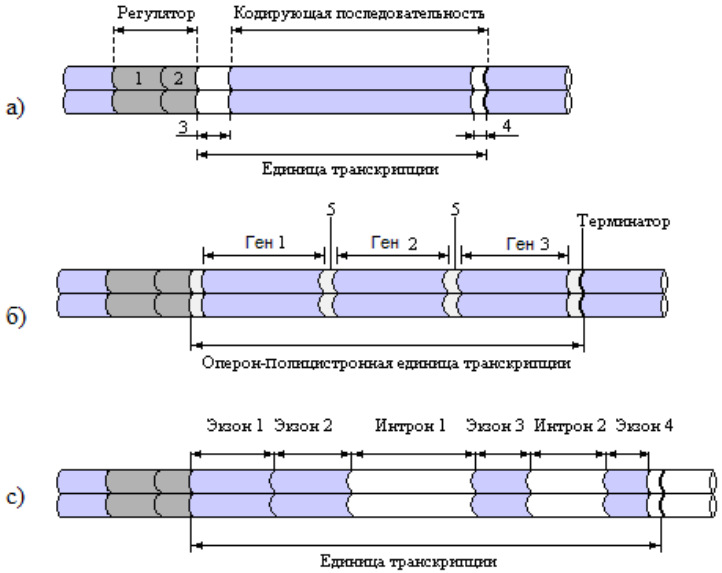


Рис. 2.6.Схема строения генов прокариот и эукариот [103]:
а – ген прокариот; б – оперон прокариот; с – структурный ген эукариот;
1 – активатор, 2 – промотор оператор; 3 – нетранслируемая
5′ – лидерная последовательность; 4 – нетранслируемая
3′ – трейлерная последовательность, 5 – спейсеры

Как видно из рис.2.6 и табл.2.3, молекулярная организация генов про- и эукариот имеет общие и специализированные характеристики [69, 97, 103, 189 – 190, 204, 220, 230, 236]:

1. Общая характеристика генов:

1.1. К сегментам ДНК, составляющим ген, входят транскрипционная единица и регуляторы экспрессии: инициации (промотор), терминации (терминатор) и частоты инициации.

1.2. Единица транскрипции – участок ДНК между сайтами, в которых начинается и заканчивается транскрипция. Единица транскрипции кодирует последовательность первичного продукта (РНК, белок).

1.3. Промотор – регуляторный элемент, представленный минимальной последовательностью на 5'–конце гена и необходимый для начала правильной транскрипции.

1.4. Терминатор – регуляторный элемент, представленный минимальной последовательностью на 3' – конце гена (у прокариот инвертированные повторы в виде шпилек) и необходимый для подачи сигнала об остановке транскрипции.

1.5. Транскрипция гена осуществляется слева направо. Цепь, которая служит матрицей для РНК-транскрипта, называется смысловой. Смысловая цепь считывается РНК-транскриптом в направлении 5'→3'.

2. Специализированные характеристики генов:

2.1. Транскрипционная единица прокариот может быть моно- и полицистронной.

Моноцистронные единицы транскрипции содержат последовательность, кодирующую только один белок или стабильную РНК (рис. 2.6, *а*), а полицистронные – несколько типов белков или РНК (рис.2.6, *б*).

Нуклеотидная последовательность, в которой закодирована информация, более чем одного белка называется *опероном*. Число генов, входящие в состав оперона имеют только один общий набор регуляторных элементов.

2.2. Транскрипционная единица эукариот имеет мозаичное строение и характеризуется чередованием кодирующих (экзоны) и некодирующих (интроны) последовательностей. Наибольшее число интронов представлено в геномах млекопитающих и инфицирующих их вирусов. В геноме эукариот интроны чаще встречаются в генах, кодирующие белки и тРНК, реже – в генах – рРНК и отсутствуют в генах, кодирующие пять гистонов, α- β-интерфероны, 5,8S-, 5S-рРНК; U-РНК, 7SL-РНК и 7SK-РНК.

Интроны располагаются в единицах транскрипции не случайным образом, так в генах тРНК они примыкают к петлям антикодонов, а в белок – кодирующих генах часто находятся между сегментами, которые кодируют отдельные структурные или функциональные домены белка. Размеры интронов колеблется в пределах от 10 н.п. до 10 kb, а экзонов – от 50 до 300 н.п. В целом общая длина интронов превышает суммарную длину экзонов обычно от двух до десяти раз.

2.3. Промотор прокариот имеет два сайта связывания для РНК-полимеразы: TTGAC–последовательность и TATA–бокс.

Благодаря первой последовательности ген контактирует с ферментом, второй – обеспечивает локальное раскручивание спирали.

2.4. У эукариот каждый структурный ген имеет свой собственный набор регуляторных элементов, каждый из них имеет промоторный участок (ТАТА-бокс) из восьми нуклеотидов, включающий последовательность ТАТА; последовательность ССААТ (САТ-бокс); участок из повторяющихся динуклеотидов GC (GC-бокс). Если последовательность ТАТА отсутствует или кардинально изменена, то транскрипция структурного гена становится невозможной.

2.5. Гены эукариот снабжены регуляторами частоты инициации транскрипции, которые ответственны за тканеспецифичность генов многоклеточных эукариот. Эти области так разнообразны по строению, положению и функциям, что для них трудно найти одно простое и емкое название. Кроме того, в клетках эукариот имеется дополнительный механизм контроля активности генов – «РНК-интерференция» (RNA interference), которая сводится к предотвращению синтеза нежелательного для клетки полипептида на уровне транскрипции (как собственного, так и чужеродного РНК). Белки-регуляторы активности генов– это вспомогательные белки, предназначенные для распознавания конкретных генов с целью его включения (белки – активаторы гена) или выключения (белки – репрессоры гена).

Для биотехнологических целей чаще всего используют структурный (ген, кодирующий первичные метаболиты) и регуляторный (регулирует работу структурных генов) ген.

Биотехнологически значимые сегменты ДНК.С точки зрения биотехнологии рекомбинантного ДНК заслуживают внимание [97, 103, 137, 138, 153, 187, 221 – 222, 226, 227]:

1. Палиндромы, куда можно встроить маркерный ген. Палиндромы, участки ДНК, читающие одинаково в обеих цепях, но в разных (5' – 3' и 3' – 5') направлениях:

5' – GAATTC – 3'

3' – CTTAAG – 5'

2. Мобильные (транспонируемые) элементы (используют в качестве векторов) – это паразитические дегенерированные сегменты ДНК, состоящие из способных к перемещению в геноме:

2.1. Транспозоны:

1) впервые обнаружены у бактерий (IS-вставки), имеются в хромосомах бактерий, плазмидах и вирусах;

2) типы:

- *простые* (IS-вставки, концы которых представлены инвертированными повторами и содержат один ген, кодирующий фермент транспоназу, необходимый для перемещения; при перемещении на новый сайт, в старом оставляют брешь; молекулярно включают 750 – 1500 пар оснований с длинными концевыми инвертированными повторами в 20–40 п.н.),

- *комплексные* (разновидность транспозона, способный удваиваться в процессе перемещения; например, Tn1 и Tn3 – придают бактериям устойчивость к антибиотикам группы пенициллина),

- *композитные* (фрагмент ДНК с двумя ограничивающими вставками, перемещается как единое целое; например, Tn10 – несут антибиотико-резистентные свойства, включают 9300 п.о., придает бактериям устойчивость к тетрациклину);

3) являются генетическими "нарушителями спокойствия", т.к. вызывают разнообразные мутации;

4) всегда встраиваются в другие молекулы ДНК и не находятся в свободном состоянии;

5) высоко вариабельны по структуре, механизму перемещения, наличием или отсутствием РНК-фазы:

- транспозоны представлены 57 разновидностями;

- ретропозоны – транспозон, схож с ретровирусом в связи с наличием обратной транскриптазы и РНК-фазы;

- ретроны – не перемещающиеся генетические элементы с геном обратной трансмкриптазы, способен образовывать ДНК/РНК-гибрид.

2.2. Транспозоны высших организмов:

1) семейство Ac/Ds – простые консервативные транспозоны кукурузы;

2) ретротранспозон TY-1дрожжевых клеток;

3) короткие (SINES) и длинные (LINES) рассеянные последовательности.

Например, гемофилия – это результат встраивания в X хромосому в ген VIII фактора свертывания LINES-1.

Перспективы использования генов в биотехнологии [28, 97, 103].*Чужеродная ДНК* (чДНК; чужеродный ген) – это фрагмент ДНК, сконструированный *in vitro* и представленный регуляторным (ген, ответственный за синтез первичного метаболита) или структурным (ген, регулирующий экспрессию структурного гена) геном.

При конструировании гена *invitro* получают химерный ген (содержит сегменты ДНК эукариот и прокариот) и ген-эквивалент (содержит наиболее часто использующиеся генами прокариот триплеты аминокислот).

Химерные гены успешно применяют в клетках прокариот для эффективного синтеза эукариотических полипептидов, например, в *E. coli* производят гормон роста человека, лейкоцитарный интерферон и др.

На сегодня сконструированные *invitro* гены также начали применять в медицине при генной терапии с целью искоренения наследственных пороков развития и борьбы с инфекционными заболеваниями.

2.1.4. Плазмиды бактерий как объекты биотехнологии

Плазмида – экстрахромосомная автономно реплицирующая двухцепочечная кольцевая молекула ДНК бактерий. На долю плазмидной ДНК приходится 0,1 – 5,0 % суммарной клеточной ДНК [69, 102, 103, 132, 134].

Природная организация плазмид характеризуется высокой вариацией, поэтому их условно классифицируют по категориям на определенные классы (табл. 2.4).

Таблица 2.4

Классификация плазмид бактерий [69, 102, 103, 132]

№ п/п	Категория	Класс плазмид	Краткая характеристика
1	Функциональная	F, фактор фертильности	Содержат информацию, обеспечивающую их собственный перенос из одной клетки в другую
		R, фактор резистентности	Содержат гены устойчивости к антибиотикам. Резистентность обеспечивается генами, которые либо изменяют реакцию клетки на антибиотик, либо индуцируют образование белков, вызывающих деградацию или модификацию определенных антибиотиков
		«Вырождающиеся»	Несут определенные наборы генов для утилизации необычных обменных процессов
		Криптические	Не обнаружены гены, выполняющие какие-то определенные функции (“загадочные” плазмиды, не имеют очевидных функциональных фенотипических проявлений)
2	Качественное состояние	одной группы несовместимости	Когда две или более плазмиды не могут сосуществовать в одной и той же клетке
		разных групп несовместимости	Благополучно сосуществуют в одной и той же клетке, независимо от числа копий
3	Количественное состояние	Низкокопийные	Реплицируются под строгим контролем. На хромосому клетки-хозяина приходится от 1 до 4 молекул плазмидной ДНК (F-плазмиды, pSC101)
		Высококопийные	Плазмиды с ослабленным контролем репликации. В клетке представлены 10–100 копиями (colE1, pMB1, CloDF13)
4	Специфичность	с узким спектром хозяев	Плазмиды несут особый сайт инициации репликации и поэтому могут реплицироваться в клетках только одного вида
		с широким спектром хозяев	Для них сайт инициации репликации менее специфичен и поэтому они могут реплицироваться в различных бактериальных клетках

Как видно из табл. 2.4, плазмиды отличаются по выполняемой в клетке функции, количеству и специфичности.

Природные плазмиды обладают следующими свойствами:

1) реплицируются независимо от хромосомы;

2) имеет систему контроля репликации – локус *ori*;

3) сохраняются в клетках стабильно и в характерном для каждого типа плазмид числе копий;

4) передаются от клетки к клетке при их контактировании;

5) в плазмидах происходит множество перестроек и обменов, например, R-плазмиды в определенных бактериальных клетках (*S.typhimurium*) могут диссоциировать на две отдельные плазмиды;

6) могут иметь альтернативные способы существования, так как могут находиться либо в автономном экстрахромосомном состоянии, либо могут быть интегрированы в бактериальную хромосому и находиться в ней как ее часть, подобно любой другой последовательности.

Необходимо отметить, что плазмидная ДНК и ДНК вирусов имеют как общие свойства (потребность в клетке-хозяине, использование синтетического аппарата клетки, ее пластические и энергетические ресурсы), так и различия (наличие белочной оболочки у ДНК вирусов и их отсутствие у плазмид, поэтому последние не могут выживать за пределами клетки и поэтому, что очень важно для биотехнологии, не разрушают ее). Эти качества и послужили основой для конструирования химерных, векторных и рекомбинантных ДНК, клонирования и создания банка генов [4, 30, 119, 172].

Известно, что плазмиды обеспечивают для бактерий устойчивость к антибиотикам, токсическим действиям различных промышленных загрязнителей (например, к тяжелым металлам). Некоторые плазмиды несут гены, придающие бактериям способность в процессе жизнедеятельности разлагать гербициды, некоторые промышленные химикаты и продукты нефтепереработки. Такие бактерии хотя и причиняют определенные неудобства (устойчивость к антибиотикам), но могут быть и полезными, например, могут с успехом применяться в биоремедиации для устранения нефтяного или другого химического загрязнения [113].

Перспективы использования плазмид в биотехнологии. Биотехнологической нишей для плазмид стала векторная биотехнология. *Вектор* – сконструированная *in vitro* молекула ДНК, способная присоединять к себе (акцептировать) чДНК, трансформировать её в клетку и обеспечивать ей там репликацию и экспрессию.

Одним из природных источников для вектора служат плазмиды бактерий, как естественные репликоны. Роль вектора плазмида может выполнять лишь после молекулярного конструирования *in vitro* [116, 159].

2.2. Вирусы как объекты биотехнологии

Вирус – это единственная наноразмерная форма существования живой материи. Размеры вирусов находятся в диапазоне 25–300 нм.

Особенности, характерные для вирусов [69, 103, 142 – 144, 174, 182 – 191, 216 – 218]:

1. Являются внутриклеточными паразитами.

2. Жизненный цикл складывается из двух форм: активной (внутриклеточной) и инертной (внеклеточной) – вирион (рис.2.7).

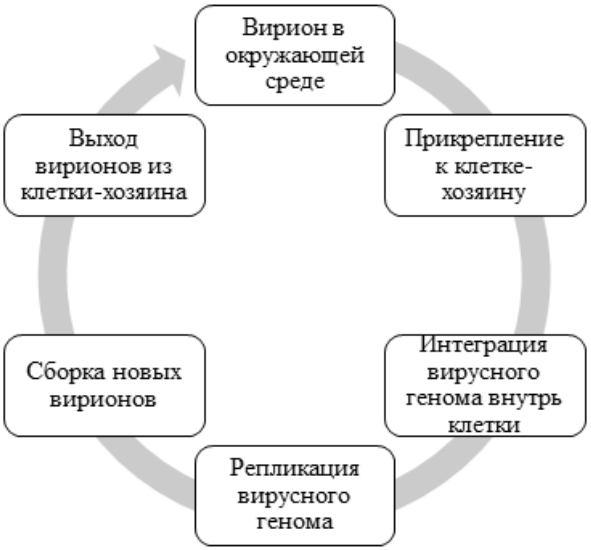


Рис.2.7. Типичный жизненный цикл вируса

Инертная форма обеспечивает вирусу выживание. Активная форма «обязывает» вируса выполнить две функции: реплицироваться и заставить клетку запустить синтез большого количества вирусных белков, необходимых для сборки новых вирионов.

Процесс распознания вирусом «своей» клетки происходит через контакт с рецептором клетки.

3. Геном снаружи (в основном у бактериофагов, т.е. вирусов бактерий) окружен капсидом (белочной оболочкой). У вирусов животных может присутствовать дополнительная оболочка, «отнятая» у клетки-хозяина в процессе выхода из клетки.

Капсид – это симметричная или квазисимметричная структура, построенная из одного или нескольких видов белков. Образование формы капсида ограничивается двумя возможностями – нитевидной или псевдосферической. Построение капсида может осуществляться двумя способами: путем сбора вокруг нуклеиновой кислоты (вирус табачной мозаики – ВТМ) или строится из его компонента в виде пустой оболочки и потом заполняется нуклеиновой кислотой, которая конденсируется по мере проникновения в капсид (фаг лямбда).

У каждого фага имеется свой собственный механизм, обеспечивающий включение в микрочастицу нужного количества ДНК. Все разнообразные способы сборки вирусов завершаются одинаково: упаковкой в капсид молекулы ДНК или РНК.

4. Гены вирусов (на примере бактериофага лямбда) по функционированию условно можно разделить на 4 группы: репликации, сборки вириона, интеграции и лизиса, транскрипции.

Биоразнообразие вирусов[69, 103, 205, 209, 211, 223]. Категории таксонов, что используется в классификации вирусов согласно Международному комитету по таксономии вирусов (МКТВ): Семейство (-viridae) → Род (-virus) → Вид.

Согласно строению генома, различают вирусы:

1. ДНК-вирусы, представленные:

- одноцепочечными линейными (например, парвовирус, размер генома 2kb) или одноцепочечными кольцевыми (например вирус гепатита В, размер генома 3 kb) ДНК;

- двухцепочечными линейными (аденовирус, герпесвирус; размер генома 36 и 250 kb соответственно) или двухцепочечными кольцевыми (вирусы Папова, размер генома 5 kb) ДНК.

2. РНК- вирусы, представленные:

- одноцепочечными, как однофрагментными (полиовирус, ретровирус, размер генома 7 и 10 т.н. соответственно), так и многофрагментными (вирус гриппа содержит 8 молекул РНК, размером 16 т.н.) РНК;

- двухцепочечными линейными (реовирус, содержит 10 разных молекул РНК размером 30 kb) или кольцевыми РНК.

Одноцепочечные РНК-геномные вирусы обозначаются знаками "плюс" и "минус-цепью". У вирусов с "плюс-цепью" РНК-геномы идентичны (полиовирусы, вирус Синдбис) последовательностям мРНК, с "минус-цепью" – комплементарны (вирус везикулярного стоматита). У некоторых вирусов геном представлен двухцепочечной РНК (реовирусы), содержащей и (+)- и (-) -цепи.

Ниже рассматриваются некоторые вирусы, нашедшие широкое применение в биотехнологии [28, 62, 69, 103].

*Бактериофаг Qβ.*Принципиально бактериофаг имеет в своем составе только три структурных гена, обеспечивающих образование капсида, репликацию и разрыв клеточной стенки бактерии E.coli с целью выхода фага наружу. Геном, представленный оцРНК, содержит 3500 н.о. Инфицируют только бактерии с F-плазмидами (F+ клетки). Лишь некоторые виды фагов имеют дцРНК.

*Бактериофаг ФХ174.*Это маленький сферический вирус с оцДНК (5386 н.о.). Особенность фага – наличие перекрывающихся генов (5 из 11), т.е., например, один ген (ген, разрушающий клеточную стенку бактерий) находится в составе другого (гена, участвующего в сборке капсида) [28, 62, 69, 103].

Бактериофаг М13 имеют вид длинных тонких нитей, геном состоит из кольцевой оцДНК. Половоспецифичны, т.е. инфицируют только бактерии с F-плазмидами. Особенность: при выходе из клетки бактерий они не убивают клетки. Это качество широко используется в молекулярной биотехнологии [62, 152, 237].

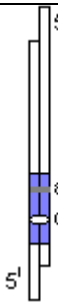
К сложным фагам (так как содержат головку, хвост и хвостовую нить) с кольцевой дцДНК относят фаги Т4 (самый сложно устроенный вирус, имеет примерно 200 генов), λ, π (пи) и μ (мю, имеет примерно 40 генов). Далее в качестве примере, рассматривается бактериофаг лямбда (λ).

Бактериофаг λ. Геном бактериофага лямбда состоит из примерно равных частей ДНК и белка. В период жизненного цикла геном может находиться в четырех разных формах: линейной, кольцевой, интегрированной (лизогенной) и контактамерной [28, 69, 103].

В табл.2.5 раскрывается жизненный цикл бактериофага λ.

Таблица 2.5

Формы организации генома бактериоафага в зависимости от его жизненного цикла [28, 69, 103]

<table>
<tr><td colspan="2">Жизненный цикл бактериофага:</td><td colspan="2">Формы макроструктурной организации генома:</td></tr>
<tr><td>Цикл</td><td>Схема</td><td>Схема</td><td>Характеристика</td></tr>
<tr><td>1. Бактериофаг рядом с бактерией</td><td></td><td rowspan="2">
</td><td rowspan="2">Линейная форма свойственна геному внутри фаговой частицы, где ДНК имеет одноцепочечные концы (cos-сайты) длиной 12 нуклеотидов, способные к взаимному спариванию</td></tr>
<tr><td>2. Присоединение вируса к новой бактерии</td><td></td></tr>
</table>

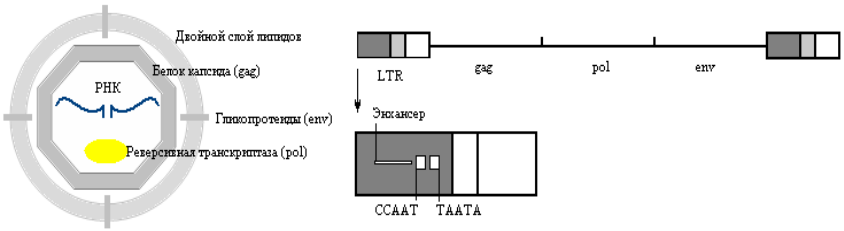
Продолжение табл. 2.5

Жизненный цикл бактериофага:		Формы макроструктурной организации генома:	
Цикл	Схема	Схема	Характеристика
4. Латентный период (производство вирусных компонентов)			Лизогенная – после интеграции ДНК в геном хозяина
5. Сборка вирусных частиц	 * – лизирующий фермент, разрушает стенки клетки;  – вирусная частица		Контактомерная – во время репликации ДНК фага λ по типу “катящегося кольца”(состоит из многих копий генома λ, которые разрезаются в cos-сайтах при образовании зрелой фаговой ДНК
6. Разрыв и гибель бактерии			Выход вирионов

*Вирусы растений.*ДНК-содержащих вирусов растений относительно мало (вирус мозаики цветной капусты; геном – кольцевая дцДНК). В биотехнологии промоторы генов этих вирусов используют для экспрессии генов токсинов в борьбе с насекомыми паразитами растений [20, 28, 103].

Палочковидный вирус табачной мозаики (ВТМ), вызывающий на листьях растений желтые пятна, кодирует приблизительно 10 генов (10 тыс.н.о.) [145].

Вирусы животных. Большинство вирусов ДНК животных содержат двунитевую ДНК – это сферической формы вирусы: SV40 (небольшой вирус, интегрируя в ДНК хромосомы обезьян, вызывает у них рак) и вирус герпеса, имеет дополнительную внешнюю «присвоившую» оболочку (нуклеокапсид). Следует из всего многообразия вирусов животных остановиться на ретровирусе, геном которых представлен оцРНК (рис.2.8) [28, 62, 69, 103].



a *b*

Рис. 2.8. Схема строения типичного ретровируса (*a*) и двухцепочечной ДНК-формы генома ретровируса (*b*) [103]

Как видно из рис.2.8, вирусы состоят из липопротеидной оболочки (70–120нм) и внутренней капсулы, внутри которой располагаются две копии геномной РНК длиной 5–10 kb в форме рибонуклеопротеида. Эндогенные ретровирусы являются одной из разновидностью ретроэлементов, составляющих до 10% генома млекопитающих [103].

По способности инфицировать клетки их подразделяют на [28, 103]:

- экотропные – имеют узкий круг хозяев; например, вирус лейкемии мыши MLV размножается только в клетках мыши и крысы;
- амфотропные – имеют широкий круг хозяев.

Геном ретровирусов состоит из трех кодирующих регионов [28, 103]:

- gag-ген кодирует белки капсида;
- pol-ген – реверсивную транскриптазу;
- env-ген – гликопротеиды для липидной оболочки.

На концах РНК расположены длинные повторы – LTR, которые несут сильный промотор (на 5'-конце) и сигналы полиаденилирования (на 3'-конце РНК) [103].

Следует отметить, что интеграция вирусных частиц в геном клеток хозяина происходит только в митотически активные клетки. Интеграция ДНК провируса в геном и образование новых вирусных белков имеет место лишь по завершении процесса митоза (интерфаза).

Наиболее часто используемыми ретровирусными векторами являются векторные системы на основе ретровирусов мыши типа С (вирус лейкемии мыши), которые состоят из двух компонентов: векторной конструкции и линии клеток упаковщиц. В векторной конструкции (провирусная ДНК) гены, кодирующие структурные белки ретровируса (gag, pol, env) замещают другими генами (гены β-галактозидазы β-gal, ген устойчивости к неомицину – neo). Линия клеток упаковщиц содержит интегрированный в геном провирус, который модифицирован таким образом, что у него отсутствует сигнал узнавания ψ, необходимый для упаковки вирусной РНК. Таким образом, транскрибируемая вирусная РНК не может быть упакована в вирусные частицы. РНК векторной конструкции, наоборот, содержит сигнал узнавания ψ и поэтому может быть упакована в рибонуклеопротеидный комплекс [28, 62, 69, 103].

Использование ретровирусных векторов как переносчиков генов в клетки, тесно связанные с жизненным циклом, имеет ряд преимуществ:

1. Универсальность. Для ретровирусного транспорта генов могут использоваться разнообразные системы хозяев.

2. До 100% всех обработанных клеток могут быть инфицированы ретровирусами и экспрессировать интегрировавшийся ген. Число одновременно обрабатываемых ретровирусами клеток не ограничено (10^6–10^7 клеток).

3. Точки интеграции ДНК в геноме реципиента распределяются случайно, но интегрировавшаяся ДНК соответствует

провирусному ДНК. При соответствующих условиях векторная ДНК интегрируется в геном в одной случайно выбранной точке без образования связанных «голова к хвосту» тандемных структур и большим числом генных копий. В норме интеграция не повреждает долговременно присутствующие в клеточном геноме ретровирусные последовательности клетки.

Ретровирусные векторы не лишены недостатков:

1. Объем встраиваемой вставки ограничен (6–8 kb).

2. Ретровирусные векторы имеют низкий титр (1 х 10^{5-6} КОЕ/мл), поэтому для успешного инфицирования эмбрионы млекопитающих лишают ZP. Если титр вируса равен 1 х 10^{5-6} КОЕ/мл, то для введения в эмбрион хотя бы одной вирусной частицы следует инъецировать не менее 1 нл раствора.

3. Возможность активации клеточных онкогенов.

Перспективы использования вирусов.Таким образом, все «полезные» свойства вирусов направлены в биотехнологии на конструирование векторных молекул. Вирусы выращивают в живых тканях или клетках, т.к. на искусственных средах они не развиваются.

Ниже приводятся только некоторые хорошо изученные качества вирусов, которые нашли широкое применение в векторной биотехнологии [6, 7, 28, 29, 69, 70, 71, 103, 119, 131, 141, 171, 198, 202, 219, 234]:

1. Принципиально вирус (например, бактериофаг Qβ, инфицирующий *E.coli*, представленный одноцепочечной молекулой РНК размером 3500 нуклеотидных оснований) может обходиться тремя генами: ген оболочки (кодирует белок оболочки), ген репликации (кодирует фермент для репликации генома) и ген лизиса (кодирует белок, вызывающий разрыв клеточной стенки и позволяющий новым вирусным частицам покинуть клетку). Эта особенность успешно применяется при конструировании вирусных векторов. Так как несущественный для жизнедеятельности фрагмент можно заменить чужеродным геном, предназначенный для клонирования. Так, бактериофаг лямбда (λ) и бактериофаг пи (π), инфицирующие *E.coli*, используются в качестве векторов для клонирования генов и для переноса бактериальных генов посредством трансдукции.

2. Некоторые вирусы (фаг М13) используют необычный механизм выхода из клетки-хозяина: высвобождаясь, они не убивают клетку. Это явление очень ценно в молекулярной биотехнологии при расшифровке нуклеотидной последовательности одноцепочечных молекул ДНК[62, 152, 156, 237].

3.Для конструирования векторов для растений используются двухцепочечные вирусы, на долю которых от всех фитовирусов приходится лишь 1–2%. Наиболее популярным в этом отношении является вирус мозаики цветной капусты CaMV *(cauliflower mosaic virus),* поражающий растения семейства Капустных. Капсид этого вируса имеет диаметр около 50 нм и содержит кольцевую ДНК длиной 8 kb. Небольшой размер генома CaMV дает возможность манипулировать *in vitro* с вирусной ДНК с целью ввода ее в растения путем втирания в листья. Следует отметить, что, хотя векторы на основе вирусов редко применяются для трансформации растений, промоторы вирусов, прежде всего, промотор вируса мозаики цветной капусты 35S-РНК CaMV, являющийся сильным промотором довольно широко используется для экспрессии чужеродных генов в других векторных системах.

4.Ретровирусный вектор – это эукариотические вирусы, геном которых представлен оцРНК. Их репликация происходит путем образования в качестве промежуточной ступени двухцепочечной ДНК (провирус), которые интегрируются в клеточную ДНК, не разрушая клетки хозяина. Благодаря таким свойствам, как самостоятельность проникновения в клетки хозяина, эффективная интеграция в геном клетки и экспрессия, их с успехом стали использовать для транспорта генов. Ретровирусные векторы широко применяются для получения трангенных животных и осуществления генной терапии наследственных заболеваний. Кроме того, использование ретровирусных векторов (pLNS) позволяет осуществлять трансформацию отдельных органов (молочная железа).

Из вышеизложенного следует, что биотехнологической нишей для вирусов, также, как и для плазмид, стала векторная биотехнология.

2.3. Ферменты ДНК как объекты биотехнологии

Ферментативный аппарат ДНК условно делят на пять классов (табл. 2.6): топологических перестроек, репликации, системы защиты, рекомбинации и экспрессии [103, 157, 165, 166, 217].

Особую привлекательность для молекулярной биотехнологии представляют такие ферменты, как рестриктаза (ферменты, гидролизующие ДНК, используют для разрезания молекул), ДНК-полимераза (ферменты, синтезирующие ДНК, используют для удлинения цепи ДНК, последовательно наращивая по одному нуклеотиду к 3'-ОН-концу) и лигаза (ферменты, соединяющие фрагменты ДНК, используются для соединения двух чужеродно разнородных оснований цепи) [133, 157, 160, 169].

Механизм сохранения стабильности в молекуле ДНК в течение неопределенного числа поколений обеспечивается особой системой, названной системой защиты ДНК.

Таблица 2.6

Ферментативный аппарат ДНК *in vivo* [103, 157, 169]

№ п/п	Ферментативный аппарат ДНК		Ключевые ферменты	
	Категория	Назначение	Наименование	Функция
1	Топологические перестройки	Раскручивание и разделение дуплексной ДНК	Топоизомераза	Изменяет степень и тип сверхспирали
			Гираза	Осуществляет двухцепочечные временные надрезы в ДНК
			Хеликаза	Раскручивает двойную спираль (разрушает водородные связи)
			Лигаза	Соединяет надрезанные концы

Продолжение табл. 2.6

№ п/п	Ферментативный аппарат ДНК		Ключевые ферменты	
	Категория	Назначение	Наименование	Функция
2	Репликация	Синтез ДНК	ДНК-полимераза	Катализирует синтез полинуклеотидной цепи на ДНК-матрице с использованием отдельных нуклеотидов и праймеров со свободной 3'-ОН-группой
			Праймасома (праймаза)	Синтез праймера
			Обратная транскриптаза	Катализирует комплементарное копирование на РНК затравке цепи ДНК
3	Система защиты	R-M-система – ограничивает присутствие инородной ДНК в клетке	Рестриктаза	Расщепляет двухцепочечную молекулу ДНК в специфических сайтах (по характеру расщепления ДНК различают три класса рестриктаз)
			Метилаза	Обеспечивает иммунитет к собственной рестриктазе
		Репарация – исправление повреждения в собственной структуре	Эндонуклеаза и гликозилаза	Элиминация (вырезание и удаление) повреждения
			ДНК - полимераза	Заполнение пробела путем синтеза
4	Рекомбинация	Комбинативная изменчивость	recA-белок	Катализирует обмен одиночными цепями, используя энергию гидролиза ATP до ADP и неорганического фосфора
			recBCD-нуклеаза	Обладает эндо-, экзонуклеазной и геликазной активностями
5	Экспрессия гена	Реализация генетической информации на уровне РНК и белков	РНК-полимераза	Транскрипция – перенос генетической информации с ДНК на РНК
			Аминоацил-тРНК-синтетаза	Трансляция – перенос генетической информации с РНК на белок посредством генетического кода

Различают два класса систем защиты: 1) защита собственной ДНК от вторгшей «чужеродной» ДНК по типу её модификации; 2) репарация повреждения ДНК, возникающая в её структуре.

Эти системы наиболее полно охарактеризованы у *E.coli*, однако их аналоги в клетках эукариот играют такую же важную роль.

В работе этих систем принимают участие ферменты, одни из которых, ферменты-рестрикты, обладают свойствами узнавать последовательности или структурные особенности ДНК собственного происхождения (табл. 2.7); другие – ферменты-репараторы узнают поврежденные сайты в ДНК из-за искажения правильной структуры ДНК в конкретном участке; третьи – исправляющие вредные последствия репликации поврежденной ДНК путем вырезания и замещения. Эти активности составляют, в первом случаи – систему рестрикции и модификации (R-M-система), во втором – систему репарации и в третьем – систему исправлений. Ключевыми ферментами R-M-системы являются рестриктаза и метилаза, а в системах репарации и исправления – такие ферменты, как эндонуклеаза, гликозилаза, фотолиаза, полимераза I и III и лигаза. В системах репарации и исправления одни ферменты доминируют при одних, другие – при других типах повреждения. Общий принцип репарационной системы сводится к обнаружению повреждения и её удалению, исправлению путем синтеза и соединению. На первом этапе для элиминации необходимы эндонуклеаза и гликозилаза, на втором – для заполнения пробела – PolI и PolIII и на третьем, для соединения двух соседних оснований цепи – ДНК-лигаза [62, 103, 116, 117, 145, 151, 188, 203, 231].

Таблица 2.7

Рестрикционная и модифицирующая активность рестриктаз[103]

Показатель	Класс фермента		
	I	II	III
Структура	Три субъединицы: S, M, R	Эндонуклеаза + метилаза	Две субъединицы: R, MS.
Молекулярная масса, кДа	400–600	50–100	200–300
Сайт узнавания	Двусторонняя и ассиметричная последовательность	Короткая палиндромная последовательность	Ассиметричная последовательность (5–7 пар оснований)
Сайт разрезания	На расстоянии от сайта узнавания: от 400п.н.до 7 kb	Внутри палиндрома	Вблизи от сайта узнавания на расстоянии не более 30 п.н.
Рестрикция и метилирование	Взаимоисключающие	Отдельные реакции	Одновременные
Кофакторы	Mg^{2+}, ATP, активатор S-аденозинмонофосфат (SAM)	Mg^{2+}	Mg^{2+}, ATP, SAM

Исключительная значимость ферментов ДНК для конструирования чужеродного ДНК (чДНК, чужеродный ген), векторного ДНК (вДНК, вектор) и рекомбинантного ДНК (рДНК) предопределило развитие исследований по поиску новых катализаторов.

Перспективы использования ферментов ДНК в биотехнологии. Биотехнологической нишей для ферментов ДНК является молекулярная биотехнология, благодаря которым ДНК подвергается различным манипуляциям.

2.4. Системы клонирования как объекты биотехнологии

Система клонирования складывается из двух составляющих – вектора и клетки реципиента.

Векторная конструкция в комплексе с чужеродным геном образует молекулу, названной рекомбинантной (рДНК). Для

клонирования рДНК чаще всего используются из клеток прокариот – *E.coli*, из клеток эукариот – *S.cerevisiae*

E.coli – грамотрицательная непатогенная (условно патогенная) палочковидная подвижная бактерия длиной около 1 и шириной около 0,5 мкм, обитающая в нижнем отделе кишечника теплокровных животных [28]. Благодаря своим биологическим особенностям *E.coli* заняла прочную позицию во многих научных исследованиях, так как [28]:

1. Размножается простым делением.

2. Для «комфортности» *in vitro* им достаточно предоставить среды, содержащие только ионы (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} и др.), микроэлементы и глюкозу.

3. Успешно культивируются как в аэробных, так и анаэробных условиях.

4. Все процессы в клетке подчинены строгим правилам экономии и не один из первичных метаболитов не образуется сверх строго необходимых для роста количеств.

5. Для получения от них рекомбинантного белка их культивируют на сложных жидких питательных средах, где лимитирующим фактором для них служит содержание растворенного кислорода.

Но *E.coli* не способны осуществлять ферментативную модификацию эукариотического белка, путем присоединения к ним низкомолекулярных соединений с целью правильного их функционирования. Эту функцию (получение полноценных эукариотических белков) выполняют дрожжи *S.cerevisiae*, представляющие собой одноклеточные микроорганизмы диаметром клетки 5–12 мкм, хорошо растущие на той же простой среде, что и *E.coli*. Пекарские дрожжи *S.cerevisiae* в суспензии растут в виде отдельных клеток, а на твердом субстрате образуют колонии подобно *E.coli*. В обычной питательной среде время удвоения клеток составляет 1,5–2,5 часа. Гаплоидный геном *S.cerevisiae*, состоящий из 17 хромосом содержит $1{,}4 \times 10^7$ п.н., что примерно в три раза больше, чем геном *E.Coli*[28].

Дрожжи удивительны своей двойственностью: это эукариоты, так как в клетке присутствует ядро, но в культуре они ведут себя, как бактерии. У дрожжей есть половой процесс, и они об-

разуют споры, но могут неограниченно долго размножаться бесполым путем (почкование). Дрожжи существуют в гаплоидной и диплоидной фазах, т. е. имеют одинарный или двойной набор хромосом; смена фаз заменяет им чередование поколений. Как и все эукариоты, дрожжи дышат, т. е. расщепляют сахара на воду и углекислый газ с выделением энергии. Но, оказавшись без кислорода, они перестают дышать и переходят на брожение – это единственные анаэробы средиэукариотов [28, 69, 103].

2.5. Перспективы использования сконструированных генотипов в биотехнологии

Получение сконструированного генотипа на базе биотехнологии происходит в двух направлениях.

1. Создание трансгенных генотипов с интегрированными генами, продукты экспрессии которых являются регуляторами обмена веществ.

В этом случае трансген, изменяя процессы метаболизма в «благоприятном направлении», обеспечивает:

1.1. Повышение продуктивности и улучшение качества продукции, определяющих их питательную и техническую ценность.

1.2. Генетическую устойчивость к инфекциям и стрессу.

1.3. Созданию «биореакторов» на уровне клеток, организма и целых популяций, т.е. генотипов, являющихся продуцентами биологически активных веществ для промышленности, медицины и других потребностей человека.

2. Создание популяции трансгенных генотипов, что обеспечивается методами классической селекции и клонирования. Вначале методами селекции получают «чистые» линии, после чего с целью ускорения процесса размножения осуществляют клонирование трансгенных генотипов.

В результате биотехнология является мощным фактором селекции генотипов.

Селекционные аспекты разведения основаны на получении чистых резистентностойких и высокопродуктивных генотипов. Выборочное разведение таких генотипов до недавних пор было

единственным путем в повышении их генетических характеристик. Используя классические методы селекции, можно через несколько поколений либо устранить нежелательный ген, либо наоборот, закрепить желаемый ген в получаемом новом поколении. Такая работа проводится по определенной селекционной программе, обязательным условием которой является поэтапное тестирование (для каждого поколения) получаемых генотипов на присутствие гена в определенных дозах (гомозиготы, гетеро- и гемизиготы).

2.6. Сконструированные *invitro* генотипы высших эукариот как объекты биотехнологии

Трансгенный генотип – это организм или клетка, в геноме которого функционирует искусственно введенная дополнительная генетическая коснтрукция (трансген). *Трансген* – это чужеродный химерный ген, сконструированный *in vitro* и состоящий из транскрипционной единицы и регуляторов транскрипции (промотор, терминатор). Процесс переноса сконструированной генетической конструкции с одной биологической системы в другую называют *трансгенозом*. Продуктом генетической конструкции *in vivo* является рекомбинантный протеин. Интеграция и экспрессия – это два составляющих трансгеноза, которые обеспечивают чужеродному гену функционирование в трансгеном генотипе. С помощью трансгенной технологии путем синтеза рекомбинантных протеинов осуществляют влияние на определенные свойства реципиентов или придают организму новые качества. Введение генной конструкции в геном реципиента информативен тем, что дает возможность проследить функционирование гена в процессе развития в условиях нормальной физиологии [36, 105, 120, 123, 124, 129, 135, 142, 161, 199 – 206].

Молекулярные технологии *in vitro* заняли прочную позицию в сельском хозяйстве благодаря «эксклюзивным» особенностям макроорганизмов, к наиболее важным из которых можно отнести:

1. Для растений [20, 35]:

1) регенерация фертильных растений из одной клетки или их протопластов;

2) природная система трансформации растений Ti(Ri)-плазмидами агробактерий и создание на их базе векторов, способных интегрироваться в хромосомы растений.

2. Для животных [19, 27, 31-33]:

1) предимплантационное развитие эмбриона, благодаря которому можно их извлекать из репродуктивного аппарата матери;

2) возможность проведения микроклеточных (трансгеноз, клонирование) и макроклеточных (культура клеток, криобиотехнология) технологий на уровне клеток репродукции и эмбрионов.

Успех в проведении молекулярных технологий в сельском хозяйстве определяется фундаментальными исследованиями, направленными на изучение вопросов, связанных с регенерацией и на разработку методов культуры клеток и микрохирургии.

2.6.1. Факторы, влияющие на интеграцию и экспрессию трансгена у макроорганизмов

Модельными объектами в биотехнологии растений являются табак, томаты, петуния среди двудольных и рис, кукуруза – среди однодольных, в биотехнологии животных – мышь и кролик.

Факторы, оказывающие влияние на интеграцию и экспрессию трансгена у макроорганизмов, следующие [20,35, 58, 112, 37,63, 38, 39, 127, 128]:

1. Видовая принадлежность.

Среди сельскохозяйственных индивидуумов наибольший процент трансформации достигнут для клеток растений (до 60%). Для животных данный показатель значительно ниже (0,5%). Причина, несомненно, кроется в биологических качествах и применяемых технологиях трансформации.

В то же время эффективность программ по переносу генов у сельскохозяйственных животных в среднем значительно ниже, чем у лабораторных животных, в частности у мышей.

2.Из опыта многочисленных экспериментов по микроинъекции генных конструкций известно, что линейные фрагменты ДНК интегрируются чаще, чем кольцевые плазмиды. Число ин-

тегрировавшихся копий на клетку колеблется от 1 до 500. Индустриально перспективным для макроорганизмов является включение одной копии.

3. Биологически обусловленный временной интервал.

Для растений данный фактор относительно не существенен, так как размножение трансгенных генотипов осуществляется в растениеводстве, благодаря тотипотентности и способности к регенерации растительных клеток, путем клонирования. При этом создание одного нового генетически модифицированного сорта растения стоит от 50 до 300 млн. долларов и занимает от 6 до 12 лет.

У животных длительный интервал между поколениями приводит к чрезмерным затратам времени и средств. Для того чтобы начать распространение нового генотипа требуется, по крайней мере, три поколения. В среднем, интервал между поколениями составляет 3 года, поэтому потребуется примерно 10 лет для того, чтобы новый генотип стал пригодным для масштабного распространения.

4. Возрастная категория индивидуумов. В растениеводстве технологически "привлекательным" считаются молодые растения, в животноводстве – физиологически зрелые.

Для животных возрастной цензор вносит весомый вклад в получении трансгенной продукции. При получении зигот и пересадке эмбрионов предпочтение отдают, вследствие стабильных показателей репродуктивного процесса, половозрелым самкам.

Первый трансгенный макроорганизм получен среди животных в 1976 (мышь), среди растений в 1983 (табак) году. К настоящему времени уже получены среди сельскохозяйственных растений более 160 видов трансгенных растений и более 50 видов трансгенных животных (кролики,1985; овцы, 1986; крупный рогатый скот, 1987; свиньи,1989 и др.).

Разведение трансгенных животных основано на получении новых генетических линий. Данная технология имеет большое практическое применение. Например, при успешной интеграции рекомбинантный ген экспрессируясь в организме животного стимулирует ускоренный рост, что сопровождается низкими издержками производства. Поэтому в животноводстве использовать трансгенных особей для получения продуктов животного

сырья и ускоренного размножения нужно только после прохождения ими всех испытательных программ.

Расчеты показали, что генетический прогресс животных с применением методов биотехнологии воспроизводства может быть увеличен по молочной продуктивности у коров на 10–14 %, мясной – на 8–15 %, шерстной у овец – на 6–12 %. Если прогнозировать улучшение генетического материала у животных методами эмбриоинженерии, то теоретически можно ожидать следующие результаты: при клонировании животных молочную продуктивность коров можно увеличить на 20–25 %, мясную на 30 % и шерстную на 20 %, при трансгенозе – на 40–60 %, 50–80 % и 30–40 % соответственно [38, 39, 127, 128].

Создание трансгенных животных, которые будут иметь высокую сопротивляемость к инфекционным заболеваниям (у коров к маститу, у свиней к дизентерии, у птиц к гриппу и холере и т.д.) – это будущее, к которому стремятся биотехнологи-селекционеры.

Создание трансгенных растений направлено на получение сортов сельскохозяйственных культур [20, 35]:

1) с более высокой урожайностью;

2) дающих несколько урожаев в год;

3) токсичных для некоторых видов вредителей;

4) устойчивых к неблагоприятным климатическим условиям;

5) способных синтезировать некоторые белки животного происхождения.

Площади, занятые трансгенными растениями, стремительно возрастают: с 1,7 млн. га в 1996 г. до 170300000 га в 2012 году. Причем 99 % этой площади занимают четыре культуры: соя, хлопок, кукуруза и рапс.

Интенсивность и эффективность работ по трансгенозу высших эукариот сдерживается определенными лимитирующими факторами, основными из которых являются следующие [20, 38, 39, 127, 128]:

1. Полигенный тип наследования большинства хозяйственно-полезных признаков сельскохозяйственных растений и животных. Трудно одновременно вводить в геном высших эукариот несколько функциональных генов больших размеров (каждые более 10 kb).

2. Нестабильность аппарата экспрессии трансгена в геноме трансгенного организма. Часто после двух – пяти поколений активно транскрибирующийся трансген вследствие «чуждого для реципиента метаболизма» перестает экспрессироваться. Причина этому – метилирование регуляторных последовательностей или репрессия в результате взаимодействия с промотором каких-то белков. Активизировать такой «выключенный» трансген не представляется возможным. Спрогнозировать, будет ли со временем проходить такое «молчание» трансгена довольно трудно, так как оно зависит от ряда факторов, в том числе, по всей видимости, от последовательности самого белка и конкретного места интеграции его в геном. Преодолеть это, вероятно, в какой-то мере, возможно путем получения многократной трансформации и получения различных линий, несущих одинаковую векторную конструкцию с различными местаи интеграции в геноме растений и животных.

3.Крайне слабое развитие исследований по идентификации эффективных генов, созданию банков генов и ограниченная научная база генетической конструкции.

В любом деле имеются положительные и отрицательные стороны. Получение трансгенных макроорганизмов не исключение. Увеличение продуктивности и повышение резистентности – с одной стороны, влияние на естественное биоразнообразие и нарушение естественной генетической вариации – с другой – это два противоречивых полюса биоконструкторской технологии генотипов, направленных на получение трангенных индивидуумов.

2.6.2. Трансгенные растения как объекты биотехнологии

Одной из основных задач повышения растениеводческой продукции является повышение качества синтезируемых ими продуктов (белков, жиров, полисахаридов и др.), определяющих их питательную и техническую ценность.

Трансгенные растения с модифицированными запасными белками зерновых и бобовых. У злаков наибольший интерес представляют запасные белки эндосперма, имеющих мультигенный тип наследования и тканеспецифический характер экспрессии.

При этом гены экспрессируются только на определенной стадии развития семени [20, 35].

В большинстве случаев запасные белки растений характеризуются дефицитом некоторых аминокислот, в результате которых снижается питательная и кормовая ценность семян. Так, запасные белки бобовых (легумины) – бедны метионином, злаков (проламины) – лизином, триптофаном и треонином [20, 35].

Наиболее перспективным является использование генно-инженерных методов при создании новых сортов, что позволяет ввести в геном растений только полезный признак, без сцепления с отрицательными свойствами. Так, например, введение дополнительных кодонов лизина в гены проламинов может привести к синтезу белков, обогащенных лизином, и улучшению кормовой и питательной ценности белка (табл. 2.8) [28, 124, 170, 176, 196, 216, 219, 224].

Таблица 2.8

Трансгенные растения с модифицированными запасными белками

Трансгенное растение	Природный белок	Генетическая конструкция	рБелок
Кукуруза – улучшенный аминокислотный состав белка на примере модифицированного α-зеина	α-зеина кукурузы характеризуется низким содержанием лизина, что значительно снижает его питательную ценность	Модифицированный ген α-зеина для трансформации клонируют в области Т-ДНК Ti-вектора. В состав конструкции также входит последовательность эндосперм-бокса, ответственный за тканеспецифическую экспрессию α-зеина в семенах. В последовательность гена α-зеина с	Полученный модифицированный ген α -зеина экспрессирует белок, содержащий лизин. Модифицированный белок активно синтезировался в семенах трансгенных растений кукурузы. В результате получены линии кукурузы с улучшенным качеством зерна.

Продолжение табл. 2.8

Трансгенное растение	Природный белок	Генетическая конструкция	рБелок
		помощью олигонуклеотид направленного мутагенеза вводят дополнительные кодоны лизина.	
Пшеница	Глютенин	Введение в геном растения модифицированного гена высокомолекулярной субъединицы белка глютенина с измененной последовательностью	Активный синтез модифицированного белка влияет на состав и уровень соответствующих запасных белков, что приводит к улучшению хлебопекарного качества пшеничной муки.
Табак	гордеин B1 ячменя и легумин B4 бобов	Химерный ген = ген гордеина B1 ячменя + ген легумина B4 бобов	Химерный белок, улучшающий состав белков на основе известной последовательности генов запасных белков однодольных и двудольных

Общим для подавляющего большинства генов запасных белков является [69, 123, 124]:

1. Синтез запасных белков имеет жесткую регуляцию: гены экспрессируются только в единственной ткани (проламины злаков только в эндосперме зерна) и в течение короткого периода развития зерна.

2. Гены запасных белков, вследствие выполнения ими одинаковых функций, имеют общую молекулярную организацию:

- отсутствие интронов;
- на расстоянии 300 н. п. от точки начала транскрипции расположена специфическая последовательность – эндосперм-бокс, размером в 25 п.н., который обеспечивает тканеспецифичную экспрессию генов запасных белков в эндосперме зерна.

Продукт любого гена, перед которым находится последовательность эндосперм-бокса, синтезируется только в семенах или зернах. Такая особенность послужила важной биологической предпосылкой для включения данного сегмента в состав векторов, содержащих модифицированную последовательность генов проламиновых белков с целью их последующего депонирования в семенах или зернах.

На данный момент уже охарактеризованы десятки генов запасных белков злаков, бобовых и ряда других растений, изучены структура и регуляция экспрессии генов. Примерно клонированы 10 генов гордеинов ячменя, геныα- и β-глиадинов и глютенина пшеницы, зеинов кукурузы, легуминов бобовых, пататина картофеля и др. Для некоторых генов определена их нуклеотидная последовательность.

Трансгенные масличные растения с улучшенным составом жирных кислот [20, 28, 35, 186]. Семена рапса характеризуются высоким содержанием масла, но вкусовые и питательные качества рапсового масла резко снижаются вследствие большого количества в нем специфической эруковой кислоты и глюкозинолатов. Методами молекулярной биотехнологии и последующей селекцией были получены сорта рапса со сниженными долями эруковой кислоты, что привело к улучшению качества рапсового масла. Аналогичные работы ведутся по получению модифицированных жирных кислот с повышенным содержанием ненасыщенных связей, что позволит получать растения, синтезирующие новые ценные жирные кислоты. Кроме того, в последнее время было показано, что изменение состава жирных кислот может приводить к повышению устойчивости растений к ряду насекомых, а также к действию пониженных температур.

Трансгенные растения с увеличенной фотосинтетической активностью. Одним из приоритетных направлений в селекции является повышение урожайности новых сортов. Генно-инженерные разработки активно ведутся в направлении [20, 28, 34, 123, 124]:

1. Увеличения фотосинтетической активности. Методы получения трансгенных растений с увеличенной фотосинтетической активностью:

1.1. Введение генов C_4 фотосинтеза в Сз-растения. Ген фосфоенолпируваткарбоксилазы (PEPC) фотосинтетической системы кукурузы C_4, кодирующий основной фермент, участвующий в фиксации атмосферного CO_2 в клетках мезофилла листа, клонируют и переносят путем агробактериальной трансформации в Сз-растения риса. Анализ полученных трансгенных растений показал, что активность фермента в клетках риса привело не только к увеличению фотосинтетической активности, но и урожайности.

1.2. Путем идентифицирования генов, контролирующих количество хлоропластов в клетке растений. Использование таких генов также приводит к изменению уровня фотосинтеза.

1.3.Увеличение содержания хлорофилла в каждом хлоропласте. Были получены модифицированные белки, специфически связывающие хлорофилл *a/b,* и было показано, что повышенная экспрессия таких белков в трансгенных растениях приводит к значительному увеличению биомассы.

2. Увеличение синтеза отдельных веществ. Данное направление проводимых работ касается возможностей *изменения метаболизма у* трансгенных растений. Введение гена сахарозофосфатсинтетазы кукурузы (SPS-гена), являющегося ключевым ферментом в регуляции углеводного метаболизма, в геном других растений приводит к изменению углеводного обмена и повышению продуктивности растений. В настоящее время получены такие трансгенные растения томата, картофеля, рапса, хлопчатника.

В США, Канаде и ряде других стран, где разрешено использование трансгенных растений, уже прошли полевые испытания и используются в сельскохозяйственном производстве трансгенные сорта кукурузы, пшеницы [123].

Помимо трансформации генами, приводящими к улучшению качества и повышенной продуктивности растений, получают коммерческие сорта трансгенных цветов с измененными генами биосинтеза антоциана, приводящие к нетрадиционной окраске лепестков венчика (гвоздики и др.) [28, 34, 123, 124].

Таким образом, с помощью трансгенной технологии получены растения с улучшенными индустриальными характеристиками, это трансгенные растения:

1) томатов с продленным сроком годности плодов, содержащие ген, экспрессия которого приводит к уменьшению уровня эндогенного этилена;

2) масличных культур, у которых скорректирована экспрессия стероил АЦП-десатуразы и увеличен уровень ненасыщенных жирных кислот в семенах;

3) с увеличенным уровнем крахмала, экспрессирующие мутантный ген АДП-глюкозы, выделенный из *E.coli*;

4) с высокой питательной ценностью, содержащие химерный ген, выделенный из бразильского ореха, кодирующий белок, обогащенный метионином и экспрессирующийся в семенах;

5) продуцирующие различные вакцины и рекомбинантные антитела, применяемые в медицине.

2.6.3. Трансгенные животные как объекты биотехнологии

Основным обоснованием в пользу практического использования трансгенных животных является их продуктивность. Поэтому трансгенная технология животных осуществляется с целью:

- создания новых путей обмена веществ (животноводство);
- изменения состава и свойств мяса (свиноводство), молока (скотоводство) и яиц (птицеводство);
- изменения качества шерсти (овцеводство).

Новая технология предполагает после обнаружения, изолирования, извлечения и клонирования полезного фрагмента ДНК (несущий конкретный ген) его трансформацию в новую биологическую установку. Под биологической установкой подразумевают животных, принадлежащих другому виду (например, перенос гена от животных бактериям или от одного вида животных другому) или другой породе [127, 128, 141].

На реализацию у трансгенных организмов биологических качеств биотехнологического происхождения оказывают влияние ряд факторов, наиболее важными из которых являются: ме-

тод проведения трансгенной технологии, пути интеграции трансгена, наследование трансгена.

По характеру локализации трансгена в организме трансгенные животные могут быть генеративными и соматическими [127, 128].

Эффективность программ по переносу генов зависит от ряда факторов, таких как качество пересадки эмбрионов и мастерство при манипуляциях с эмбрионами, вид и продолжительность культивирования эмбрионов *in vitro*, форма и концентрация ДНК, синхронизация по половому циклу доноров и реципиентов, время пересадки и возраст используемых животных [38, 39, 195, 208].

Общий принцип стратегического использования молекулярных конструкций на животных основан на следующих позициях: рДНК переносят в ядро оплодотворенной яйцеклетки, последний трансплантируют в матку реципиента для имплантации и рождения животного, в чей геном был интегрирован чужеродный ген (табл. 2.9).

Таблица 2.9

Биология генеративных трансгенных генотипов животных [127, 128, 192, 232]

Показатель	Трансгенный генотип	
	генеративный	соматический
Получение	В ядро сперматозоида или зиготы вводят искусственную генетическую конструкцию. После инъекции способны к развитию от 1 до 10% зигот. Интеграция трансгена в геном происходит стабильно с частотой 0,5–1,3% от числа инъецированных зигот. Интегрированный в геном трансген локализуется во всех клетках организма	Путем инъекции на ткани и органы половозрелого организма. Технология отличается простотой исполнения, малой трудоемкостью. Для инфицирования достаточного числа клеток следует использовать большую дозу ретровирусов

Продолжение табл. 2.9

Показатель	Трансгенный генотип	
	генеративный	соматический
Уровень экспрессии трансгена	Зависит от места интеграции и числа копий. Экспрессия чДНК носит тканеспецифический характер, может приводить к изменению фенотипа животных	Низкий. Трансген локализуется только в трансформированных тканях и органах. При этом трансформация носит мозаичный характер
Передача трансгена потомству	Передают. Время получения результатов зависит от генерационного интервала	Не передают. Результаты получают непосредственно после введения генетической конструкции

В настоящее время для получения генотипов-биореакторов практикуется получение трансгенных соматических животных в результате трансфекции вымени коров, овцематок, свиноматок и др. в период их лактации. На экспрессию рекомбинантных белков в молоке соматических трансгенных самок животных влияют факторы, основные из которых следующие [19, 27, 38, 39, 50, 72, 127, 128]:

1. Вид животного. Уровень экспрессии рекомбинантных белков в молоке различных видов сельскохозяйственных животных различен. На уровень экспрессии влияют как продолжительность лактации (следует отметить, что чем дольше период лактации, тем выше изменчивость), так и особенности строения молочной железы.

2. Возраст животных. Для получения трансгенных соматических животных предпочтительнее вводить генную конструкцию в молочную железу первотелок. В этом случае трансген высоко экспрессируется в течение всей лактации вследствие активной пролиферации клеток молочной железы. Для коров уровень экспрессии по сравнению с нетелями низок примерно в 2–3 раза, период экспрессии нестабилен, так как в период лактации наблюдаются промежутки, в которых экспрессия отсутствует.

3. Период лактации. Экспрессия рекомбинантного белка непостоянна и носит периодичный характер: периоды усиления

секреции рекомбинантного белка могут чередоваться с периодами её спада. Следует отметить, что наибольшее число пиков активного синтеза белка приходится на первую треть лактации. Далее – содержание рекомбинантного белка в молоке идет на спад.

4. Стадия введения клеток-упаковщиц. Введение клеток-упаковщиц рекомендуется осуществлять во вторую половину беременности.

Таким образом, соматические трансгенные животные создаются для получения новых продуктов, например, синтеза ценных белков, которые необходимы для медицины и ветеринарии, а генеративные трансгенные животные для увеличения селекционных признаков и повышения резистентности.

На сегодня гены, которые идентифицированы и имеют потенциальное использование, это гены гормона роста, инсулина, казеина, фактора свертываемости крови и многие другие, а также гены различных аминокислот. Продукты этих генов применяются в медицине, фармакологии, диетологии и животноводстве. Для фармакологии и медицины созданы биофабрики в лице бактерий, которые производят основные белки и аминокислоты. В животноводстве широкое применение имеет гормон роста, который влияет на физиологическую функцию животного, обеспечивая эффект роста, так как увеличивает мускулатуру, удой без потери питательности и выход шерсти.

Мясная продуктивность. Одним из основных селекционируемых признаков сельскохозяйственных животных является мясная продуктивность. Повышение мясной продуктивности с помощью трансгенной технологии осуществляется путем ускорения темпов роста и развития животных (ген гормона роста – GH), улучшения качественных показателей мяса (белковая ценность, технологические и физико-химические свойства).

Молочная продуктивность. Улучшение качества молочной продуктивности коров с помощью трансгенной технологии предполагает изменение как качественного состава молока с целью придания ей новых свойств, так и количество надоя.

Впервые трансгенных двух телят получили в 1997 г. после пересадки 2470 инъецированных зигот. Учеными установлено, что самый большой вклад в увеличении молочной продуктивно-

сти дает ген гормона роста. В результате применения этого гена, можно повысить средний удой молока на корову до 10 000 кг, а число коров при этом сократить до 30%.

В настоящее время трансгенные коровы имеют широкое применение. Вот только три примера (табл.2.10):

1) в диетологии большое значение имеет получение молока, свободного от лактозы, что стало возможным благодаря трансгенным коровам и, сейчас люди, которые не воспринимают лактозу могут употреблять в пищу молоко;

2) в сыроделии для приготовления сыра получают трансгенных коров, молоко которых насыщено казеином;

3) в фармакологии для получения моноклональных антител.

Таблица 2.10

Трансгенный коровы, как объекты биотехнологии

Трансгенная модификация	рБелок	Практический интерес	
Технологические свойства молока	к-казеин	Сыроделие	Сверхнормативное присутствие в молоке способствует получению более плотного сгустка, что увеличивает конечный выход сыра
Питательные свойства молока	лактоза	Диетология	Изменение белкового состава молока путем отсутствия в молоке лактозы для питания людей
Антимикробные свойства молока	лизоцим	Перерабатывающая промышленность	Сверхнормативное присутствие лизоцима в молоке способствует снижению бактерий
	лактоферрин человека (hLF)	Ветеринария	Сверхнормативное присутствие в молоке лактоферрина для профилактики маститов. Железосвязывающий белок hLF в молоке обеспечивает транспорт железа и его абсорбцию у новорожденных, ингибирует рост бактерий в молочной железе, действует как антиоксидант, препятствуя образованию токсичных радикалов кислорода

Шерстная продуктивность.В области овцеводства австралийскими учеными под руководством профессора Скотта планируется с помощью рДНК усилить у овец резистентность к болезням и получить овец с ускоренным ростом шерсти. Для повышения шерстной продуктивности трансгенная технология в овцеводстве направлена на улучшение технологических свойств шерсти путем изменения белкового (кератин) и аминокислотного (цистеин) состава шерстных волокон. Но в большинстве случаев на сегодняшний день, так же как и от коров, от трансгенных овцематок получают вместе с молоком фармакологические белки.

2.6.4. Резистентноустойчивые трансгенные макроорганизмы как объекты биотехнологии

Огромный научный и практический интерес для аграрного сектора представляет получение сортов растений и пород животных, устойчивых к стрессу и инфекции. Общеизвестно, что использование индивидуумов, толерантных к различным неблагоприятным факторам воздействия, имеет большое экономическое значение. Для сельскохозяйственных сортов растений и пород животных важными показателями высокой продуктивности являются не только качество их продукции, но и здоровое физиологическое состояние, которое неразделимо связано с резистентными качествами индивидуума.

Получение животных, устойчивых к различным заболеваниям, – это важный селекционируемый признак. Но в связи с низким коэффициентом наследуемости и полигенным типом наследования устойчивость к заболеваниям у животных повышается посредством использования лекарственных препаратов и вакцин.

Трансгенная технология в растениеводстве направлена на получение сортов растений, устойчивых к различным стрессам, связанных с погодными условиями, гербицидами и различным паразитам (насекомые, грибы, бактерии и вирусы; табл. 2.11) [20]:

1. Трансгенные стрессоустойчивые растения.Экстремальное влияние окружающей среды(засуха, избыточное увлажнение, воздействие высоких или низких температур, засоление и кислотность почв) оказывает лимитирующее влияние на урожайность сельскохозяйственных культур. Создание трансгенных стрессоустойчивых растений основано на корректировке биохимических процессов.

2. Трансгенные гербицид устойчивые растения. Гербициды широкого спектра действия, уничтожая сорные травы, оказывают угнетающее действие и на посевы. Устойчивость к гербициду возникает либо в результате изменения сродства гербицида с его ферментом-мишенью, либо непосредственно ингибированием молекулы гербицида.

3. Трансгенные инсектицидные растения. Трансгенная технология позволила конструировать геном растений, обладающие повышенной резистентностью к атаке насекомых. Эффективность защиты сельскохозяйственных культур от вредителей с помощью генетических конструкций привело к резкому сокращению применения инсектицидов и повышению урожайности.

Таблица 2.11

Резистентностойкие трансгенные растения как объекты биотехнологии [20, 35, 143]

Трансгенные растения	Чужеродный ген	Рекомбинантный белок	Трансгенный признак
Стрессоустойчивые растения			
Табак	*ProBosm* и *proA*, выделенные из генома *E. coli*	Осмопротекторы (например, пролин, глицинбетаин), которые устанавливают осмотический баланс между цитоплазмой и окружающей средой и осуществляют частичную стабилизацию белков	Осмоустойчивость за счет повышенного синтеза пролина

Продолжение табл. 2.11

Трансгенные растения	Чужеродный ген	Рекомбинантный белок	Трансгенный признак
Табак, рис и др.	BADH (бетаинальдегиддегидрогеназа) бактериального происхождения	Глицинбетаин	Солеустойчивость
Рис	*Fad7*	Влияет на метаболизм жирных кислот	Температуроустойчивость (к высоким температурам)
Гербицидоустойчивые растения			
Табак, томат, сахарная свекла и картофель и др.	*aroA*, выделенный из генома *E. coli*	EPSP-синтетаза, подвергшаяся точечной мутации: осуществлена замена аланина на аргинин	Устойчивость к действию гербицида глифосата
Рис, сорго, пшеница и др.	*bar*(fear-ген) бактериального происхождения	Фосфинотрицинацетилтрансфераза – ацетилирует активный компонент гербицида фосфинотрицин, что приводит к его инактивации	Устойчивость к гербициду BASTA
Табак, томат, рис, картофель и др.	*pbcA*, выделенный из генома некоторых сорняков	Белок Q_b, в котором осуществлена замена аминокислотного остатка серина на глицин для уменьшения связывания гербицида с ферментом-мишенью	Устойчивость к атразину

Продолжение табл. 2.11

Трансгенные растения	Чужеродный ген	Рекомбинантный белок	Трансгенный признак
Рис	Protox, выделенный из генома *B. Subtilis*	Фермент протопорфириногенсинтетаза (Protox); обнаружена прямая зависимость между числом встроенных копий гена и уровнем устойчивости	Нейтрализует действие гербицида
Резистентноустойчивые растения			
Табак, томат, картофель, кукуруза, хлопчатник, рис, соя и др.	Выделенный из генома *B. thuringiensis* ген*bt2*, поставленный под контроль промотора 35SCaMV	Инсектицидный белок-прототоксин, попадая в кишечник насекомых, расщепляется под действием протеаз до активного токсина, приводящего к гибели вредителей	Устойчивость к насекомым (инсектицидные растения)
Табак, хлопок, кукуруза, рапс, томат, рис, картофель, люцерна, турнепс и др.	Ген хитиназы под контролем промотора 35SCaMV	PR-белки (pathogenesisrelatedproteins), в том числе и наиболее изученные хитиназы и Р-1,3-глюканазы;	Ингибируют рост грибов и некоторых видов бактерий
Табак, томат, картофель и др.	Гены низкомолекулярных белков (40—50 кДа)	Цистеиновые белки растений, ингибиторы галактуроназ, растительные дефензины, группа MF-белков	Устойчивость к грибной и вирусной инфекции

Продолжение табл. 2.11

Трансгенные растения	Чужеродный ген	Рекомбинантный белок	Трансгенный признак
Табак, картофель, тыква, папайя и др.	Гены белка оболочки вируса	Белок оболочки вируса (табачной мозаики)	Устойчивость к ВТМ, вирусу тыквенной мозаики. Y вирусу (PVY), вирусам скручивания листьев (PLRV), круговому вирусу папайи (PRV)
Табак, картофель	Гены, кодирующие фитоалексины	Фитоалексины	У картофеля – устойчивость к фитофторозу и фузариозу, а табака – к серой гнили

4. Трансгенные фитопатогеностойкие растения.Активные ответные реакции в растениях на действие фитопатогенов происходит либо путем синтеза соединений, являющихся токсичными и губительными для жизнедеятельности патогенов, либо –путем создания структурных барьеров, предотвращающих повреждение растений и распространение патогенов. В последнем случае это достигается лигнификацией или укреплением клеточных стенок растений за счет гликопротеидов, богатых экстенсинами [20, 35].

2.6.5. Клонированный генотип как объект биотехнологии

Биология клонированных макроорганизмов рассматривается на примере животных [38, 39, 127, 128]:

1. Клонированное животное имеет трех матерей, два из которых генетические и одна – физиологическая. От одной генетической матери клон получает ядерную ДНК в составе кариопласта, от другой – митохондриальную ДНК в составе цитопласта. Сконструированный клонированный эмбрион пересаживают в репродуктивный тракт физиологической матери для полноцен-

ного роста и развития в пренатальный период, а после рождения – питанием в молочный период развития.

2. В большинстве случаев генотип клонированных животных (сибсов) имеет идентичный ядерный геном, но различаются митохондриальным геномом. Это объясняется тем, что для клонирования подготавливаются ядерные аппараты от одного организма. Перенос подготовленных кариопластов осуществляется в энуклеированные яйцеклетки, которые, в свою очередь, были получены от разных суперовулированных самок-доноров. Для сибсов митохондриальная ДНК одинакова в том случае, если для клонирования используются клетки и цитоплазма из материнских линий одного происхождения. Доказательством того, что животное получено путем клонирования, является митохондриальная гетероплазмия. Исходя из этого, клонированные сибсы, полученные методом пересадки ядер, не являются идентичными как по генотипу, так и фенотипу, а также по сравнению с взрослым организмом донором.

3. Наряду с указанными генетическими различиями (генетическая вариация в отдельных ядрах одного донора до клонирования и в отдельных клонированных эмбрионах, гетероплазмия митохондриальной ДНК) на фенотипическое проявление признаков у клонированных сибсов модифицирующим образом действуют факторы внешнего окружения в пренатальный и постнатальный периоды развития.

В программах по клонированию процент абортированных клонированных эмбрионов высок и в некоторых случаях достигает 95–99% от числа пересаженных эмбрионов.

4. По данным многочисленных международных публикаций клонированные животные характеризуются трудностями в развитии и слабостью иммунитета (анемия, артриты, фиброз печени и др.).

Технология клонирования эффективна при биокопировании трансгенных генотипов. В этом случае технология сводится к культивированию *in vitro* клеток, предварительно трансфецируемых и селектируемых в культуре. Использование таких клеток для пересадки ядер позволяет повысить выход трансгенных животных. Данная технология имеет следующие преимущества: все

родившиеся животные будут трансгенными и иметь желательный пол; продолжительность эксперимента существенно сокращается; повышаются шансы для достижения оптимальной экспрессии.

Контрольные вопросы:

1. Какие молекулы являются источниками генетического аппарата?
2. Какой процесс обеспечивает непрерывность генетической программы?
3. Какими основными правилами "пользуется" ДНК для сборки генов и хромосом?
4. Что собой представляют генетические детерминанты, и каких видов они бывают?
5. Какие ферменты важны для технологии рДНК?
6. Для каких целей конструируют векторы и какую важную функцию они выполняют в экспериментах с рДНК?
7. Что чужеродная ДНК собой представляет – фрагмент, ген или сегмент?
8. Какую информацию следует получить о гене, прежде чем приступить к её созданию?
9. Какие особенности характерны для банка генов и библиотеки генома?
10. Биология трансгенных генотипов: особенности наследования трансгена.

3. БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЖИВОЙ МАТЕРИИ

Понятие «живая материя» ввелВ.И. Вернадский. Живой мир многообразен, на сегодня уже описано более миллиона видов живых организмов, и это, как утверждают биологи, еще не предел. Масса живой материи на планете оценивается в $10^{13} – 10^{14}$ т [1, 178].

Отличительные признаки и особенность живых организмов представлены в табл.3.1.

Таблица 3.1

Отличительные признаки и особенность живых организмов [46]

№ п/п	Признак отличительный	Особенность
1	Высокая организация при сложном внутреннем строении	Дифференцированное строение, клеточная специфичность
2	Способность к самовоспроизведению	Рост, размножение
3	Способность извлекать, преобразовывать и использовать энергию окружающей среды	Участие в биологическом круговороте веществ
4	Высокая биологическая вариация в процессе развития и адаптации к окружающей среде	Проявляется на уровне биохимических процессов
5	Способность поддерживать постоянный состав внутренней среды	Обеспечивается строгой регуляцией всех процессов на уровне молекул, органелл, клеток, тканей, органов, организма, популяции, сообществ, биогеоценоза, биосферы

Как видно из табл.3.1, живая материя отличается высокой организацией не только на уровне молекул, но и на уровне всей биосферы.

В табл.3.2 раскрываются основные функции биохимических превращений.

Таблица 3.2

Основные функции биохимических превращений [2, 64]

Биохимические превращения	Ключевое положение
Снабжение энергией	Обеспечивается в процессе фотосинтеза, хемосинтеза и химической энергией за счет расщепления пищевых веществ
Превращение молекул	Метаболические процессы используются для построения клеточных компонентов
Сборка клеточных компонентов	Белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и др.
Синтез и разрушение биомолекул	В живой материи биомолекулы выполняют различные специфические функции

Все процессы метаболизма – цепные. Различают цепи биосинтеза (анаболизм) и цепи деградации (катабализм). Первый связан с накоплением, потреблением и синтезом, второй – с выделением, распадом, деструкцией (химическое расщепление). Реакции биосинтеза обеспечивают рост и развитие, реакции деградации – старение, отмирание, рассасывание. В комплексе эти процессы обеспечивают постоянство внутренней среды как на уровне клетки, так и на уровне биосферы [92].

Метаболизм – комплекс химических превращений, происходящих в живой материи.

3.1. Химический состав живой материи

Биомолекулы – это органические макромолекулы, синтезируемые клеткой. Состав живой материи представлен на рис.3.1.

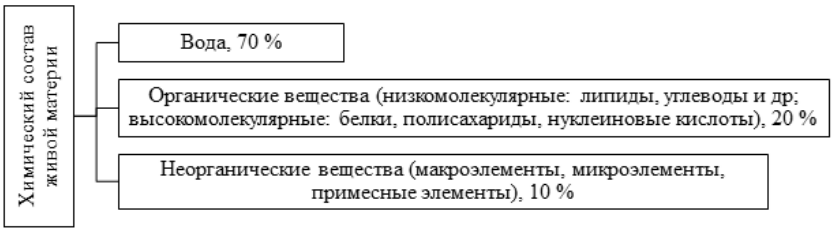


Рис. 3.1.Химический состав живой материи [66, 65]

Как следует из рис.3.1, органогенные элементы (жизненно необходимые; концентрация каждого превышает 1 %) – это C, H, N, O, макроэлементы (необходимые; концентрация более 0,001 %) – Na, K, Ca, Cl, P, S, Fe, Mg, микроэлементы (концентрация 10^{-3} … 10^{-5} %) – Cu, Zn, Co, Mn, I, Mo, F и др., примесные элементы (поступают из окружающей среды и способные откладываться в организме) – это B, Al, V, Si.

Основные компоненты организма – это макрокомпоненты (вода, белки, жиры, углеводы), микрокомпоненты (витамины, гормоны, микроэлементы, протеиновые кислоты и основания).

Основные реакции, протекающие в организме – это гидролиз (реакции расщепления веществ водой), этерификация (реакции образования эфира; приводит к синтезу полимера), окислительно-восстановительные реакции (реакции с изменением степени окисления элемента в веществе, переносом электрона).

В табл.3.3 дана краткая характеристика основным компонентам организма.

В дополнение к табл.3.3 следует отметить, что обмен минеральных веществ контролируется гормонами. Микроэлементы входят в состав гормонов, витаминов, ферментов и других соединений.

Таблица 3.3

Основные компоненты живой материи [2, 23, 41, 46, 55]

Компоненты	Определение	Ключевые функции	Классификация
Белки	Сложные органические соединения, состоящие из полипептидных цепей	Структурная, метаболическая, каталитическая	Разнообразие белков безгранично. Белки классифицируют по составу (простые, сложные), структуре (фибриллярные – выполняют структурные функции, глобулярные – катализ, транспорт, регуляция; промежуточные), функциям
Ферменты	Белки, синтезируемые клеткой	Катализаторы химических реакций	Оксидоредуктазы (катализ окислительно-восстановительных превращений), трансферазы (катализируют перенос химических групп с одной молекулы субстрата на другую), лиазы (катализ разрыва химических связей без гидролиза с образованием двойной связи в одном из продуктов), изомеразы (катализируют превращения в пределах одной молекулы), лигазы (катализ образования химических связей между субстратами за счёт гидролиза АТФ)
Углеводы	органические вещества, содержащие карбонильную группу и несколько гидроксильных групп	Соединения этого класса составляют около 80 % сухой массы растений и 2-3 % массы животных	Источником углеводов для всех живых организмов является процесс фотосинтеза, осуществляемый растениями. По числу мономерных единиц: моносахариды (глюкоза, галактоза, фруктоза), олигосахариды (мальтоза, лактоза, сахароза), полисахариды (целлюлоза, крахмал, гликоген)

Продолжение табл. 3.3

Компоненты	Определение	Ключевые функции	Классификация
Липиды	Жиры и жироподобные вещества	Основной энергетический резерв	Простые липиды состоят из спирта и жирных кислот, сложные – из спирта, высокомолекулярных жирных кислот и других компонентов
Нуклеиновые кислоты	Полинуклеотиды	Генетическая	ДНК, РНК
Витамины	низкомолекулярные органические соединения	Для нормальной жизнедеятельности	Группы: водорастворимые (С, группы В, фолиевая кислота, Н, РР), жирорастворимые (А, D, Е, К). В организме животных синтезируется только витамины D, Е, остальные поступают с пищей
Гормоны	БАВ органической природы	Гуморальные регуляторы химических процессов	Классы по химическому строению: Стероиды, Производные полиеновых (полиненасыщенных) жирных кислот, Производные аминокислот, Белково-пептидные соединения

3.2.Обмен веществ и превращение энергии в клетке

Клетки снабжаются энергии в процессе окислительно-восстановительных реакций, в которых наиболее эффективно используется свободный кислрод. В клетках эукариот энергетическими станциями являются митохондрии. Энергия для живых организмов – это результат окисления восстановленных форм углерода [1, 5, 8]. Формы образования энергии в живой материи: аэробный и анаэробный метаболизмы (рис. 3.2).

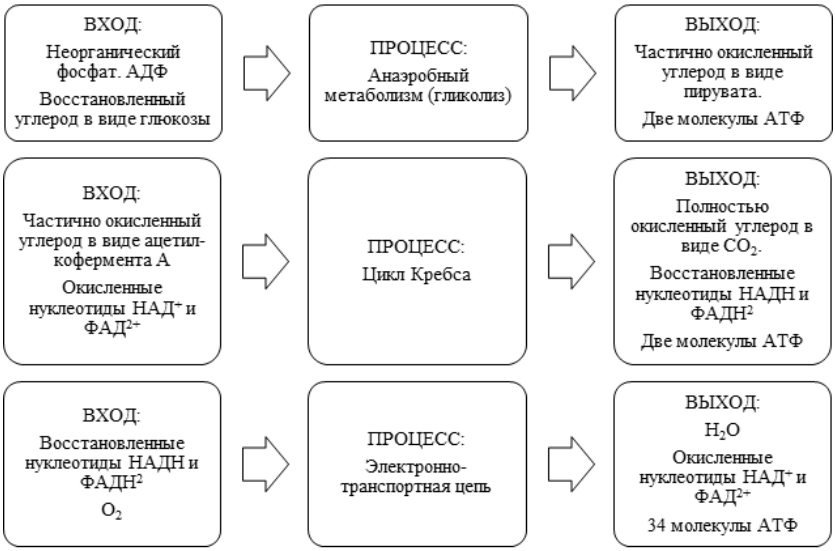


Рис. 3.2. Процессы образования энергии в клетке [110]

Из рис.3.2 видим, что в цикле Кребса кислород не участвует, он используется в электронно-транспортной цепи. При окислении НАД (никотинамидаденуклеотид) и ФАД (флавинаденин-динуклеотид) в цикле Кребса высвобождается энергия. В электронно-транспортной цепи образуется энергия, которая запасается вмакроэргических фосфатных связях аденозинтрифосфата, при разрешении этих связей выделяется большое количество энергии:

$$C_6H_{12}O_6 \text{ (глюкоза)} + 6O_2 = 6\ CO_2 + 6H_2O + 38\ АТФ.$$

При анаэробном метаболизме кислород не участвует. В процессе последовательных превращений образуются соединения, «полезные» в биотехнологии – это молочная, лимонная, пропионовая кислоты, этанол, бутанол, пропанол.

Ферментация – пример анаэробного метаболизма (например, при ферментации винограда образуется этиловый спирт).

3.3. Большой геологический круговорот как природный генератор для биотрансформации веществ

Все вещества на нашей планете находятся в процессе круговорота. Солнечная энергия вызывает на Земле два круговорота веществ (рис.3.3) [68]:

1) *большой (геологический или абиотический)*;
2) *малый (биотический, биогенный или биологический)*.

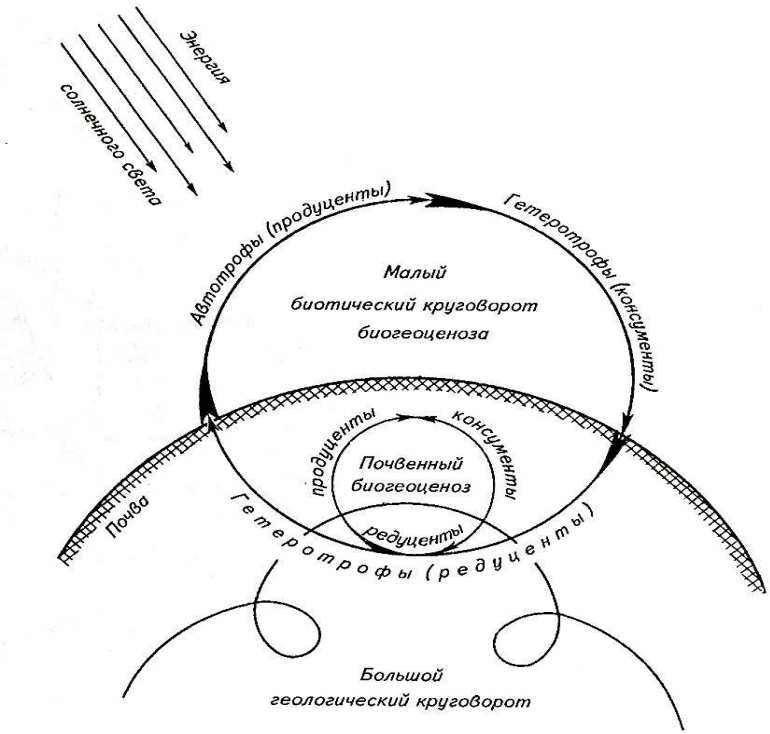


Рис. 3.3. Природные круговороты

Круговороты веществ и потоки космической энергии создают устойчивость биосферы. Круговорот *твердого вещества и воды*, происходящий в результате действия абиотических факторов (неживой природы), называют ***большим геологическим круговоротом.***

При большом геологическом круговороте (протекает миллионы лет) горные породы разрушаются, выветриваются, вещества растворяются и попадают в Мировой океан; протекают геотектонические изменения, опускание материков, поднятие морского дна.

Время круговорота воды в ледниках 8 000 лет, в реках – 11 дней. Именно большой круговорот поставляет живым организмам элементы питания и во многом определяет условия их существования.

Большой, геологический круговорот в биосфере характеризуется двумя основными свойствами [81, 85]:

а) осуществляется на протяжении всего геологического развития Земли;

б) представляет собой современный планетарный процесс, принимающий ведущее участие в дальнейшем развитии биосферы.

На современном этапе развития человечества в результате большого круговорота на большие расстояния переносятся также загрязняющие вещества – оксиды серы и азота, пыль, радиоактивные примеси. Наибольшему загрязнению подверглись территории умеренных широт Северного полушария.

3.4. Круговорот воды

Круговорот воды – замкнутый цикл, который может совершаться, как было сказано выше, и в отсутствии жизни, но живые организмы видоизменяют его (рис. 3.4).

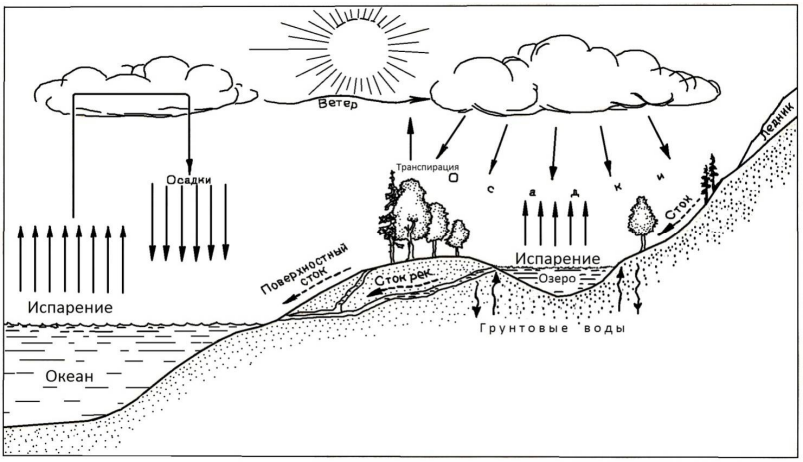


Рис.3.4. Круговорот воды [85]

Круговорот основан на принципе*: суммарное испарение компенсируется выпадением осадков*. Для планеты в целом испарение и осадки уравновешивают друг друга**.** При этом из океана испаряется воды больше, чем возвращается с осадками. На суше, наоборот, больше выпадает осадков, но излишек стекает в озера и реки, а оттуда снова в океан. *Баланс влаги между континентами и океанами поддерживается речным стоком.*

Таким образом, глобальный гидрологический цикл имеет четыре основных потока: *осадки, испарение, влагоперенос, транспирация.*

Вода – самое распространенное вещество в биосфере – служит не только средой обитания для многих организмов, но и является составной частью тела всех живых существ. Несмотря на огромное значение воды во всех жизненных процессах, происходящих в биосфере, *живое вещество не играет определяющей роли в большом круговороте воды на земном шаре. Движущей силой этого круговорота является энергия солнца*, которая тратится на испарение воды с поверхности водяных бассейнов или суши. Испарившаяся влага конденсируется в атмосфере в виде облаков, переносимых ветром; при охлаждении облаков выпадают осадки.

Общее количество свободной несвязанной воды (доля океанов и морей, где жидкая соленая вода), приходится от 86 до 98 %. Остальное количество воды (пресная вода) хранится в полярных шапках и ледниках и образует водные бассейны и ее грунтовые воды. Выпадающие на поверхность суши, покрытой растительностью, осадки частично задерживаются листовой поверхностью и в дальнейшем испаряются в атмосферу. Влага, достигшая почвы, может присоединиться к поверхностному стоку или поглотиться почвой.

Полностью поглотившись почвой (это зависит от типа почв, особенности горных пород и растительного покрова), избыток осадка может просочиться вглубь, к грунтовым водам. Если количество выпавших осадков превышает влагоемкость верхних слоев почвы, начинается поверхностный сток, скорость которого зависит от состояния почвы, крутизны склона, продолжительности осадков и характера растительности (растительность может предохранить почву от водной эрозии). Вода, задержавшаяся в почве, может испаряться с ее поверхности или, после поглощения корнями растений, транспирироваться (испаряться) в атмосферу через листья.

Транспирационный ток воды (почва – корни растений – листья – атмосфера) представляет собой основной путь воды через живое вещество в ее большом круговороте на нашей планете.

3.5. Малый биологический круговорот, как эталон для создания биотехнологических процессов

С точки зрения биотехнологии, процесс малого природного биологического круговорота по ключевым позициям можно сопоставить с процессом работы биореактора (табл.3.4).

Как видим из табл.3.4, в малом круговороте веществ, а также при производстве биотехнологической продукции в биореакторах, участвует множество химических элементов и их соединений, но важнейшими из них являются те, которые определяют современный этап развития биосферы, связанный с хозяйственной деятельностью человека для первого и потребностью общества – для второго.

К ним относятся круговороты *углерода, серы и азота* (их оксиды – *главнейшие загрязнители атмосферы*), а также *фосфора (фосфаты – главный загрязнитель материковых вод)*. Практически все загрязняющие вещества выступают как вредные, и их относят к группе *ксенобиотиков.*

Таблица 3.4

Общность между процессами природного малого биокруговорота веществ и процессами, протекающими в биоректорных установках

Показатель	Общность процесса	Пример протекания процесса в биореакторной установке
Фаза протекания процесса	Твердая, жидкая, газообразная	биоутилизация ТБО, производства белков, производство биоводорода из природного газа соответственно
Процесс протекает при участии	Живой материи	Популяции клеток и организмов, сообществ организмов
Ограниченность системы	происходит на уровне биогеоценозов, т.е. внутри экосистем при малом биокруговороте веществ, и на уровне установки – в биотехнологии	От чашки Петри в условиях лаборатории до 500 $м^3$ и более в условиях промышленности
Аккумуляция питательных веществ из субстрата для построения тела	При малом круговороте питательные компоненты почвы, вода и углерод поступают из окружающей среды, при использовании биореакторной установки – из питательной среды	Например, биоразложение органических отходов: на построение тела затрачивается энергии метаболизма 8 % (анаэробные метанотрофы) или 59 % (аэробы); 89 % на образование газа и 41 % тепла соответственно (дополнительно для метанотрофов потери в окружающую среду составляют 3%)

Продолжение табл. 3.4

Показатель	Общность процесса	Пример протекания процесса в биореакторной установке
Продукты распада органического вещества	До минеральных компонентов	принцип используется при утилизации органических отходов в геобиореакторах, когда производят биогаз
Открытость системы обеспечивает непрерывность процесса	В природе связано с поступлением веществ и энергии в экосистему извне и с выходом части их в биосферный круговорот	В биореакторах принцип открытости для поддержания процессов непрерывного культивирования действует без изменения: поступление питательной среды и газов из вне с одновременным удалением продуктов жизнедеятельности из реактора осуществляется согласованно и непрерывно
Лимитировано во времени	В природе биокруговорот веществ имеет разную продолжительность: сезонные, годовые, многолетние и вековые малые круговороты	Продолжительность ферментационного процесса на уровне биореактора определяется качеством получаемого продукта и видом используемого объекта
	Показателем работы системы в условиях биореактора является фактор оптимизации и интенсификации процесса. Данное биотехнологическое преимущество позволило использовать биореконструкционные технологии восстановления антропогенно нарушенных экосистем для «оздоровления» малого круговорота веществ.	
Функции, выполняемые биомассой	Газовую, концентрационную, окислительно-восстановительную и биохимическую	Настоящее и будущее нашей планеты зависит от участия живых организмов в функционировании биосферы
Зависимость процесса от различных факторов	Температура, влажность, pH и др.	Физико-химические условия протекания процесса определяются видом используемого объекта и качеством производимого продукта

В настоящее время большое значение в целях биореконструкции техногенной нарушенной экосистемы, имеют круговороты ксенобиотиков – токсичных элементов – *ртути (загрязнитель пищевых продуктов) и свинца (компонент бензина)*. Кроме того, из большого круговорота в малый поступают многие вещества антропогенного происхождения (ДДТ, пестициды, радионуклиды и др.), которые причиняют вред биоте и здоровью человека.

Суть биологического круговорота заключается в протекании двух противоположных, но взаимосвязанных процессов – *созидания органического вещества и его разрушенияживым веществом.*

Круговорот химических веществ из неорганической среды через живую материю обратно в неорганическую среду с использованием солнечной энергии и химических реакций, т.е. циркуляция веществ называется *биогеохимическим циклом. Биотехнологическим процессом* называется процесс преобразования живой материей химических веществ в нужный продукт с использованием солнечной энергии или биохимических реакций, а суммарное время выполнения всех операций данного процесса – биотехнологическим циклом.

Важным показателем интенсивности биологического круговорота является скорость обращения химических элементов. Интенсивность характеризуется *индексом*, равным отношению массы лесной подстилки к опаду**.** *Чем больше индекс, тем меньше интенсивность круговорота.*

Индекс в хвойных лесах – 10–17; широколиственных 3–4; саванне не более 0,2; влажных тропических лесах не более 0,1, т.е. здесь биологический круговорот наиболее интенсивный.

Поток элементов (азота, фосфора, серы) через микроорганизмы на порядок выше, чем через растения и животных. Биологический круговорот не является полностью обратимым, он тесно связан с биогеохимическим круговоротом.

Биологический круговорот в противоположность геологическому требует меньших затрат энергии.

Химические элементы циркулируют в биосфере по различным путям биологического круговорота:

- поглощаются живой материей и заряжаются энергией;

- покидают живую материю, выделяя энергию во внешнюю среду.

Сами круговороты состоят из двух частей: *резервного* (это часть вещества, не связанная с живыми организмами) и *подвижного* (обменного: меньшая часть вещества, связанная с прямым обменом между организмами и их непосредственным окружением) *фонда*.

Эти циклы бывают двух типов: круговорот газообразных веществ; осадочный цикл (резерв в земной коре).

Круговороты делят на:

- круговороты *газового типа с резервным фондом* в земной коре (круговороты углерода, кислорода, азота) – способны к быстрой саморегуляции;

- круговороты *осадочного типа с резервным фондом* в земной коре (круговороты фосфора, кальция, железа и др.) – более инертны, основная масса вещества находится в «недоступном» живым организмам виде.

Круговороты также можно разделить на:

- *замкнутые* (круговорот газообразных веществ, например, кислорода, углерода и азота – резерв в атмосфере и гидросфере океана, поэтому нехватка быстро компенсируется);

- *незамкнутые* (создающие резервный фонд в земной коре, например, фосфор – поэтому потери плохо компенсируются, т.е. создается дефицит).

Энергетической основой существования биологических круговоротов на Земле и их начальным звеном является процесс фотосинтеза. Каждый новый цикл круговорота не является точным повторением предыдущего. Например, в ходе эволюции биосферы часть процессов имела необратимый характер, в результате чего происходило образование и накопление биогенных осадков, увеличение количества кислорода в атмосфере, изменение количественных соотношений изотопов ряда элементов и т.д.

Основные биогеохимические (биосферные) циклы веществ: *цикл воды, циклкислорода, цикл азота* (участие бактерий-азотфиксаторов), *цикл углерода* (участие аэробных бактерий; ежегодно около 130 т углерода сбрасывается в геологический цикл**),** *цикл фосфора* (участие почвенных бактерий; ежегодно в океаны вымывается 14 млн.т фосфора), *цикл серы, цикл катионов металлов.*

3.5.1. Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте углерода

От свойств и особенностей углерода зависит все многообразие органических веществ, жизненных форм и протекающих в них биогеохимических процессов на Земле.

Содержание углерода в большинстве живых организмах составляет около 45 % от сухой их биомассы.

В круговороте органического вещества и всего углерода Земли участвует вся живая материя планеты, которое непрерывно возникает, видоизменяется, погибает, разлагается и в такой последовательности происходит перенос углерода с одного органического вещества на построение другого по цепи питания (рис.3.5 и 3.6). Кроме того, все живое дышит, выделяя углекислый газ.

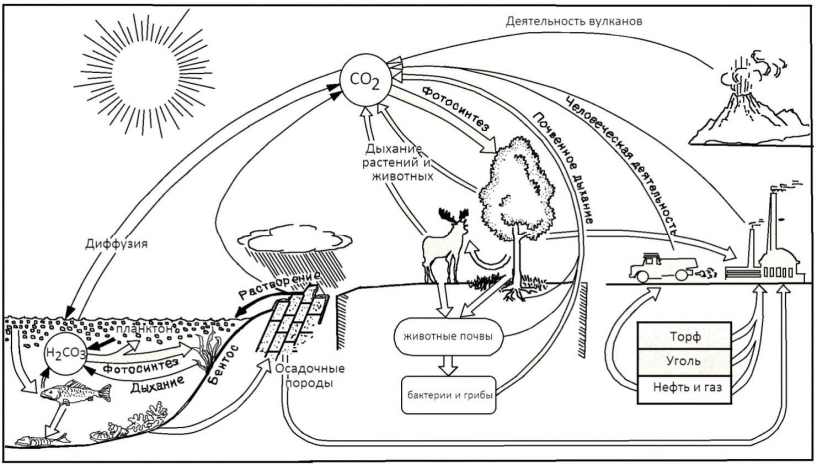


Рис. 3.5. Круговорот углерода в природе [79]

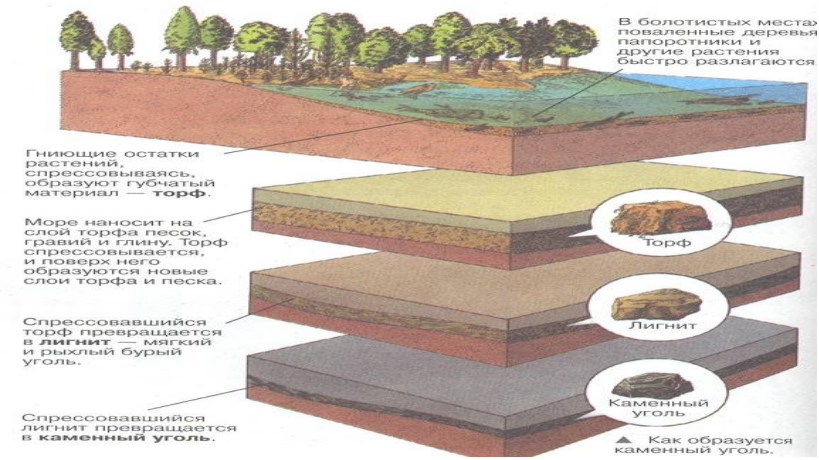


Рис. 3.6. «Отходы» биологического круговорота углерода [81, 82]

Как видно из рис. 3.5, круговорот углерода в природе поддерживается благодаря фотосинтезу наземными растениями и океанским фитопланктоном, из рис.3.6 – «отходами» биокруговорота углерода являются полезные ископаемые – торф, лигнит и каменный уголь.

Круговорот углерода на суше. Принципы природного биохимического круговорота углерода широко практикуются в биотехнологии.

На рис. 3.7 дана схема, а в табл.3.5 раскрываются ключевые позиции по круговороту углерода в твердофазных условиях природы с примерами биотехнологий и их объектов.

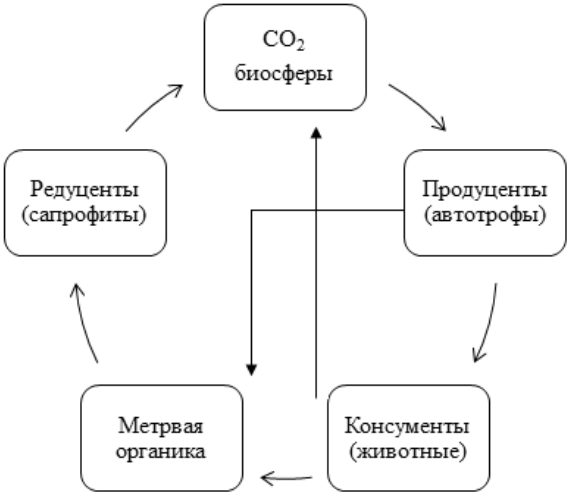


Рис. 3.7. Схема круговорота углерода

Таблица 3.5

Ключевые позиции по круговороту углерода в твердофазных условиях в природе

Показатель		Общность процесса	
Наименование трофического уровня	Краткая характеристика	методов	объектов
Фиксирование неорганического углерода	Поглощая углекислоту, растения с помощью энергии солнечного света преобразуют ее в органические соединения, создавая свою биомассу (первичная продукция)	Биоэнергетика: производство возобновляемой энергии из биомассы	Зеленые клетки низших (водоросли) и высших растений, фотосинтезирующие бактерии

Продолжение табл. 3.5

Показатель		Общность процесса	
Наименование трофического уровня	Краткая характеристика	методов	объектов
Первичная продукция поедается консументами первого порядка (растительноядными животными) для построения свой биомассы	Организмы каждого трофического уровня используют энергию, заключенную в веществах тела своих жертв или хозяев (паразиты) и выделяют в атмосферу углекислый газ, образующийся в процессе дыхания	Трансгенная технология для улучшения кормовой и питательной ценности сельскохозяйственных культур растений	Так, запасные белки бобовых (легумины) – бедны метионином, злаков (пролами-ны) - лизином, триптофаном и треонином
Консументы второго порядка (хищные животные) поедают консументы первого порядка и т. д.		Трансгенная технология в животноводстве	зменение состава и свойств мяса), молока и яиц
Отмершие растения, трупы и экскременты животных служат пищей для многочисленных, обитающих в почве, гетеротрофных организмов (животных, растений-сапрофитов, грибов, микроорганизмов),	Часто мертвое органическое вещество не полностью разлагается и в почвах накапливается гумус (перегной), играющий важную роль в плодородии почв. Степень минерализации и гумификации органических веществ зависит от многих факторов: влажности, температуры, физических свойств почвы, состава органических остатков и т. д.	Биокомпостирование органических отходов	Сложный консорциум микроорганизмов, червей и насекомых, функционирующих в разных условиях для производства компоста – биогумификационного продукта

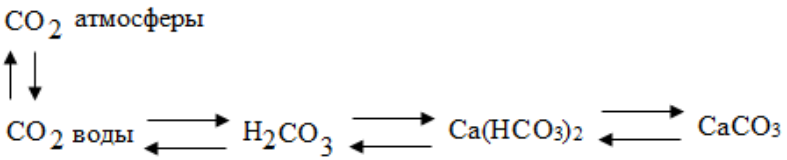
В дополнение к табл.3.5 следует отметить, что при биологическом круговороте на каждом этапе переноса теряется в виде тепла примерно 90% энергии, поэтому живая биомасса прогрессивно сокращается при переходе из одной в другую цепь пищевой иерархии (правило экологической пирамиды): в среднем, из 1 тыс. кг растений образуется 100 кг тела травоядных животных, далее хищники из 100 кг травоядных животных строят только 10 кг своего тела, а вторичные хищники – уже 1 кг [92].

По данным Вернадского и ряда других исследователей общее содержание углерода, участвующее в круговороте на Земле, определяется следующими величинами: в живых организмах 600–700, в почвах примерно 400, в торфах – 1100, в атмосфере – 600, в гидросфере – 16400 млрд. т. Следует обратить внимание, что растительность Земли ежегодно потребляет примерно 60 млрд. т угольной кислоты (≈ 20 млрд. т углерода) [63].

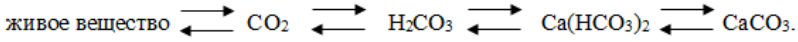
Круговорот углерода в океане. Круговорот углерода в океанеотличается от круговорота на суше. *В океане слабое звено организмов высших трофических уровней, следовательно, и все звенья круговорота углерода. Время прохождения углерода через трофическое звено океана непродолжительно, а количество выделяемого углекислого газа незначительно.*

Океан выполняет роль основного регулятора содержания углекислого газа в атмосфере.

Между океаном и атмосферой происходит интенсивный обмен углекислого газа. Воды океана имеют большую растворяющую способность и буферную емкость. Система, состоящая из угольной кислоты и ее солей (карбонатов) является своеобразным депо углекислоты, связана с атмосферой через диффузию CO_2 из воды в атмосферу и обратно и действует по следующей схеме:



В океане днем интенсивно протекает фотосинтез фитопланктона, при этом свободная углекислота усиленно расходуется, карбонаты служат дополнительным источником ее образования. Ночью при увеличении содержания свободной кислоты за счет дыхания животных и растений значительная ее часть снова входит в состав карбонатов. Происходящие процессы идут в направлениях:



В природе некоторое количество органического вещества не подвергается минерализации в результате недостатка кислорода, большой кислотности среды, специфических условий захоронения и т.д. Часть углерода выходит из биологического круговорота в виде неорганических (известняки, мел, кораллы) и органических (сланцы, нефть, уголь) отложений.

Деятельность человека вносит существенные изменения в круговорот углерода на нашей планете. Изменяются ландшафты, типы растительности, биоценозы и их пищевые цепи, осушаются или орошаются огромные площади поверхности суши, улучшается (или ухудшается) плодородие почв, вносятся удобрения и пестициды и т.д. *Наиболее опасно поступление углекислого газа в атмосферу в результате сжигания топлива. При этомувеличивается скорость круговорота углерода и укорачивается его цикл*.

3.5.2. Природный круговорот кислорода

Кислород является обязательным условием существования жизни на Земле, а также обязательным компонентом питательной среды при культивировании клеток эукариот и аэробных прокариот (рис.3.8).

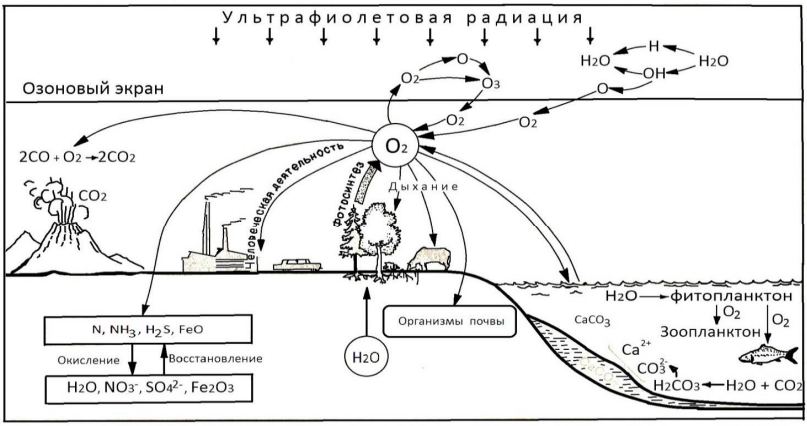


Рис. 3.8. Круговорот кислорода [21]

Он входит практически во все биологические соединения, участвует в биохимических реакциях окисления органических веществ, обеспечивающих энергией все процессы жизнедеятельности организмов биосферы.

Кислород обеспечивает дыхание животных, растений и микроорганизмов в атмосфере, почве, воде, в биореакторах, участвует в химических реакциях окисления, происходящих в горных породах, почвах, илах, водоносных горизонтах и геобиореакторах.

Основные ветви круговорота кислорода:

- образование свободного кислорода при фотосинтезе и его поглощение в процессе дыхания живых организмов (растений, животных, микроорганизмов в атмосфере, почве, воде);
- образование озонового экрана;
- создание окислительно-восстановительных зональностей;
- окисление окиси углерода при извержении вулканов, накопление сульфатных осадочных пород, расход кислорода в человеческой деятельности и т.д.; везде участвует молекулярный кислород фотосинтеза.

3.5.3. Поведение объектов биотехнологии в круговороте азота

Азот входит в состав биологически важных органических веществ всех живых организмов: белков, нуклеиновых кислот, липопротеидов, ферментов, хлорофилла и т.д. Несмотря на содержание азота (79 %) в составе воздуха, он является дефицитным для живых организмов.

Азот в биосфере находится в недоступной для организмов газообразной форме (N_2) – химически мало активной, поэтому он не может непосредственно использоваться высшими растениями (и большинством низших растений) и животным миром. *Растения усваивают азот из почвы в виде ионов аммония (NH_4^-) или нитратных ионов (NO_3^-), т.е. так называемый фиксированный азот*. Различают *атмосферную, промышленную и биологическую фиксации азота*.

Атмосферная фиксация происходит при ионизации атмосферы космическими лучами и при сильных электрических разрядах во время гроз, при этом из молекулярного азота воздуха образуются оксиды азота и аммиака, которые благодаря атмосферным осадкам превращаются в аммонийный (NH_4^-), нитритный (NH_2^-), нитратный (NH_3^-) азот и попадают в почву и водные бассейны.

*Промышленная фиксация*происходит в результате хозяйственной деятельности человека. Атмосфера загрязняется соединениями азота заводами, производящими азотные соединения. Горячие выбросы ТЭЦ, заводов, космических аппаратов, сверхзвуковых самолетов окисляют азот воздуха. Оксиды азота, взаимодействуя с парами воды воздуха с осадками возвращаются на землю, попадают в почву в ионной форме.

Биологическая фиксация играет основную роль в круговороте азота. Ее осуществляют почвенные бактерии:

1) азотфиксирующие бактерии (и сине-зеленые водоросли);

2) микроорганизмы, живущие в симбиозе с высшими растениями (клубеньковые бактерии);

3) аммонифицирующие;

4) нитрифицирующие;

5) денитрифицирующие.

Свободно живущие в почве *азотфиксирующие аэробные* **(**существующие в присутствии кислорода**)** *бактерии (Azotobacter) способны осуществлять фиксацию молекулярного азота атмосферы* за счет энергии, получаемой при окислении органических веществ почвы в процессе дыхания, в конечном итоге связывая его с водородом и вводя в виде аминогруппы (-NH_2) в состав аминокислот своего тела. *Молекулярный азот способен фиксировать инекоторые анаэробные* (живущие в отсутствие кислорода) *бактерии*, существующие в почве *(Clostridium)*. Отмирая, и те и другие микроорганизмы обогащают почву органическим азотом.

К биологической фиксации молекулярного азота способны и сине-зеленые водоросли, особенно важные для почв рисовых полей.

Наиболее эффективно биологическая фиксация атмосферного азота протекает у бактерий, живущих в симбиозе в клубеньках бобовых растений (*клубеньковые бактерии*) (рис. 3.9).



Рис.3.9. Азотфиксирующие клубеньковые бактерии [79]

Эти бактерии (Rizobium) используют энергию растения-хозяина для фиксации азота, в то же время снабжая наземные органы хозяина доступными ему соединениями азота. Усваивая соединения азота из почвы в нитратной и аммонийной формах, растения строят необходимые азотсодержащие соединения своего тела (нитратный азот в клетках растений предварительно восстанавливается).

Растения-продуценты снабжают азотистыми веществами весь животный мир и человечество. Погибшие растения используются, согласно трофической цепи, биоредуцентами.

Аммонифицирующие микроорганизмы разлагают органические вещества, содержащие азот (аминокислоты, мочевину), с образованием аммиака. Часть органического азота в почве не минерализуется, а превращается в гумусовые вещества, битумы и компоненты осадочных пород (рис.3.10).

Аммиак (в виде аммонийного иона) может поступить в корневую систему растений, или использоваться в процессах нитрификации.

Нитрифицирующие микроорганизмы являются *хемосинтетиками, используют энергию окисления аммиака до нитратов и нитритов до нитратов для обеспечения всех процессов жизнедеятельности.* За счет этой энергии нитрификаторы восстанавливают углекислый газ и строят органические вещества своего тела.

Окисление аммиака при *нитрификации* протекает по реакциям:

$$2NH_3 + 3O_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + 600 \text{ кДж (148 ккал)}.$$
$$2HNO_3 + O_2 \rightarrow 2HNO_3 + 198 \text{ кДж (48 ккал)}.$$

Нитраты, образовавшиеся в процессах нитрификации, вновь поступают в биологический круговорот, поглощаются из почвы корнями растений или после поступления с водным стоком в водные бассейны – фитопланктоном и фитобентосом (рис. 3.10).

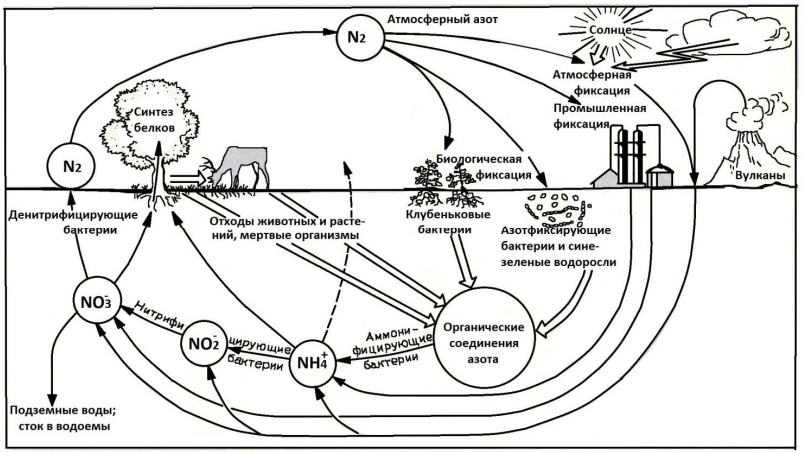


Рис. 3.10. Круговорот азота [21]

Наряду с организмами, фиксирующими атмосферный азот и нитрифицирующие его, в биосфере существуют *микроорганизмы, способные восстанавливать нитраты или нитриты до молекулярного азота.*

Такие микроорганизмы, называемые денитрификаторами, при недостатке свободного кислорода в водах или почве используют кислород нитратов для окисления органических веществ:

$$5C_6H_{12}O_6(\text{глюкоза}) + 24KNO_3 \rightarrow 24KHCO_3 + 6CO_2 + 12N_2 + \\ +18H_2O + \text{энергия}$$

Освобождающаяся при этом энергия служит основой всей жизнедеятельности денитрифицирующих микроорганизмов.

Таким образом, во всех звеньях круговорота исключительную роль играют живые вещества.

В настоящее время все большую роль в азотном балансе почв и, следовательно, во всем круговороте азота в биосфере играет промышленная фиксация атмосферного азота человеком.

3.5.4. Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте фосфора

Круговорот фосфора более прост. В то время как резервуаром азота служит воздух, резервуар фосфора – это горные породы, из которых он высвобождается при эрозии (рис.3.11).

Углерод, кислород, водород и азот легче и быстрее мигрируют в атмосфере, так как находятся в газообразной форме, образуя в биологических круговоротах газообразные соединения. Для всех остальных элементов, кроме серы необходимых для существования живого вещества, в биологических круговоротах нехарактерно образование газообразных соединений. Эти элементы мигрируют в основном в виде ионов и молекул, растворенных в воде.

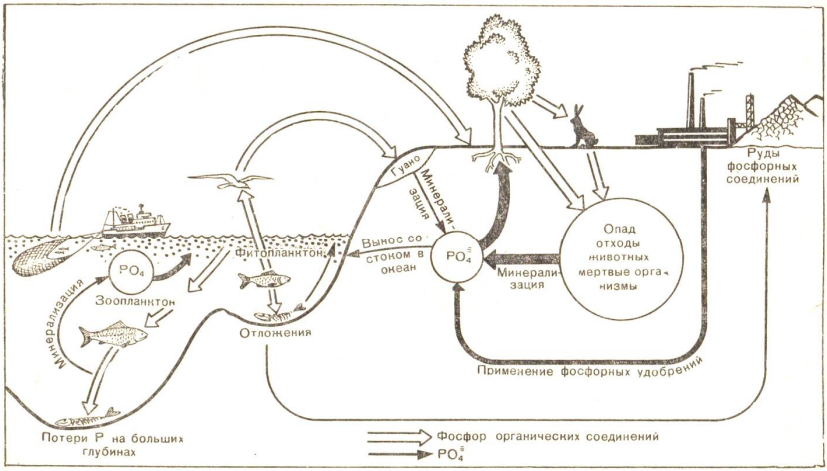
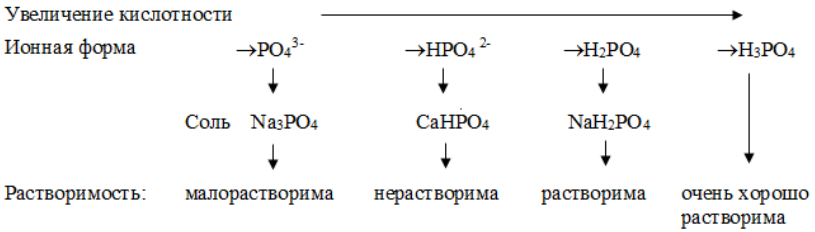


Рис. 3.11. Круговорот фосфора [79]

Фосфор, усваиваемый растениями в виде ионов ортофосфорной кислоты (PO_4^{3-}) принимает большое участие в жизнедеятельности всех живых организмов. Он входит в состав АДФ, АТФ, ДНК, РНК и другие соединения.

Круговорот фосфора в биосфере является незамкнутым. В наземных биогеоценозах фосфор после поглощения растениями из почвы по пищевой цепи вновь поступает в виде фосфатов в почву. Основное количество фосфора вновь поглощается корневой системой растений. Частично фосфор может вымываться со стоком дождевых вод из почвы в водные бассейны. В естественных биогеоценозах часто испытывается недостаток фосфора, причем в щелочной и окисленной среде он находится обычно в виде нерастворимых соединений.



Большое количество фосфатов содержат горные породы литосферы. Часть их постепенно переходит в почву, часть разрабатывается человеком для производства фосфорных удобрений, большая часть выщелачивается и вымывается в гидросферу. Там они используются фитопланктоном и связанными с ними организмами, находящимися на разных трофических уровнях сложных пищевых цепей.

В Мировом океане потери фосфатов из биологического круговорота происходят за счет отложений остатков растений и животных на больших глубинах. Поскольку фосфор перемещается, в основном, из литосферы в гидросферу с водой, то в литосферу он мигрирует биологическим путем (поедание рыб морскими птицами, использование бентосных водорослей и рыбной муки в качестве удобрения и т.д.).

Из всех элементов минерального питания растений фосфор можно считать дефицитным.

3.5.5. Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте серы

Для живых организмов сера играет большое значение, так как она входит в состав серосодержащих аминокислот (цистина, цистеина, метионина и др.). Находясь в составе белков, серосодержащие аминокислоты поддерживают необходимую трехмерную структуру белковых молекул (рис.3.12).

Сера усваивается растениями из почвы только в окисленной форме, в виде иона SO_4^{2-}. В растениях сера восстанавливается и входит в состав аминокислот в виде сульфгидрильных (-SH) и дисульфидных (-S-S-) групп.

Животные усваивают только восстановленную серу, находящуюся в со-ставе органических веществ. После отмирания растительных и животных орга-низмов сера возвращается в почву, где в результате деятельности многочислен-ных форм микроорганизмов подвергается преобразованиям.

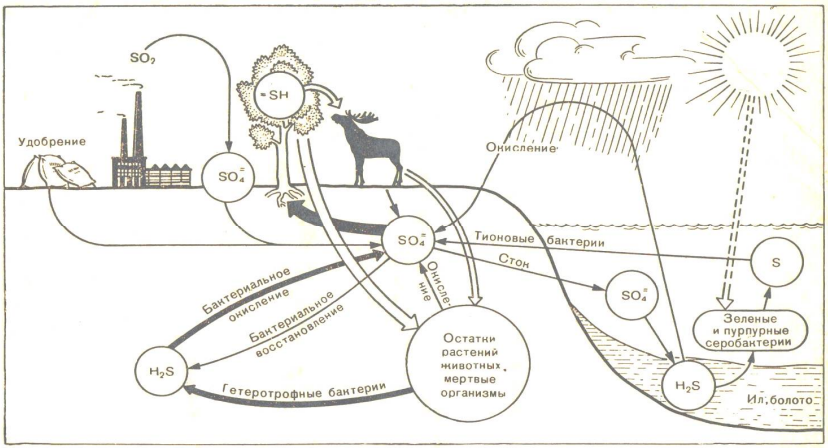


Рис. 3.12. Круговорот серы [21]

Ключевую роль в круговороте серы играют сульфатредуцирующие бактерии *Desulphovibrio*, серобактерии *Thiobacilis*, *Chromatium*.

В аэробных условиях некоторые микроорганизмы окисляют органическую серу до сульфатов. Сульфатные ионы, абсорбируясь корнями растений, вновь включаются в биологический круговорот. Часть сульфатов может включаться в водную миграцию и выноситься из почвы. В почвах, богатых гумусовыми веществами, значительное количество серы находится в органических соединениях, что препятствует ее вымыванию.

В анаэробных условиях при разложении органических соединений серы об-разуется сероводород. Если сульфаты и органические вещества находятся в бескислородной среде, то активируется деятельность *сульфатредуцирующих бактерий.* Они используют кислород сульфатов для окисления органических

веществ и получают таким образом необходимую для своего существования энергию:

$$2CH_2O + 2H^+ + SO_4^{2-} \rightarrow H_2S + 2CO_2 + H_2O + 58 \text{ кДж (14 ккал)}.$$

Сульфатредуцирующие бактерии распространены в подземных водах, в илах и застойных морских водах. Сероводород является ядом для большинства живых организмов, поэтому его накопление в залитой водой почве, озерах, лиманах и т.д. значительно снижает или даже полностью прекращает жизненные процессы. Такое явление наблюдается в Черном море на глубине ниже 200 м от его поверхности.

Таким образом, для создания благоприятной среды необходимо окисление сероводорода до сульфатных ионов, что уничтожит вредное действие сероводорода, сера перейдет в доступную для растений форму – в виде сернокислых солей. Эту роль выполняет в природе *особая группа серобактерий (бесцветные, зеленые, пурпурные) и тионовые бактерии.*

Бесцветные серобактерии являются хемосинтетиками: они используют энергию, получаемую при окислении кислородом сероводорода до элементарной серы и при дальнейшем ее окислении до сульфатов.

Окрашенные серобактерии являются фотосинтезирующими организмами, которые используют сероводород в качестве донора водорода для восстановления углекислоты. Образующаяся элементарная сера у зеленых серобактерий выделяется из клеток, у пурпурных накапливается внутри клеток.

Суммарная реакция этого процесса – *фоторедукция:*

$$CO_2 + 2H_2S \text{свет} \rightarrow (CH_2O) + H_2O + 2S.$$

Тионовые бактерии окисляют за счет свободного кислорода элементарную серу и ее различные восстановленные соединения до сульфатов, возвращая ее снова в основное русло биологического круговорота.

В процессах биологического круговорота, где происходит превращение серы, огромную роль играют живые организмы, особенно микроорганизмы.

Главным накопителем серы на нашей планете является Мировой океан, так как в него из почвы непрерывно поступают сульфат-ионы. Часть серы из океана возвращается на сушу через атмосферу по схеме сероводород – окисление его до двуокиси серы – растворение последней в дождевой воде с образованием серной кислоты и сульфатов – возвращение серы с атмосферными осадками в почвенный покров Земли.

3.5.6. Круговорот неорганических катионов

Жизненно важными кроме основных элементов, входящих в состав живых организмов (углерода, кислорода, водорода, фосфора и серы), являются и многие другие макро- и микроэлементы – неорганические катионы. В водных бассейнах растения получают необходимые им катионы металлов непосредственно из окружающей среды. *На суше главным источником неорганических катионов служит почва*, которая получила их в процессе разрушения материнских пород. В растениях поглощенные корневыми системами катионы передвигаются в листья и другие органы; некоторые из них (магний, железо, медь и ряд других) входят в состав биологически важных молекул (хлорофилла, ферментов); другие, оставаясь в свободном виде, участвуют в поддержании необходимых коллоидных свойств протоплазмы клеток и выполняют иные разнообразные функции.

При отмирании живых организмов неорганические катионы в процессе минерализации органических веществ возвращаются в почву. Потери этих компонентов из почвы происходят в результате выщелачивания и выноса катионов металлов с дождевыми водами, отторжения и выноса органического вещества человеком при возделывании сельскохозяйственных растений, рубке леса, скашивании трав на корм скоту и т.д.

Рациональное применение минеральных удобрений, мелиорация почв, внесение органических удобрений, правильная агротехника помогут восстановить и поддержать баланс неорганических катионов в биоценозах биосферы.

3.6. Антропогенный круговорот: круговорот ксенобиотиков (ртути, свинца, хрома)

Человечество является частью природы и может существовать только в постоянном взаимодействии с ней.

Существуют *сходства и противоречия* между естественным и антропогенным круговоротом веществ и энергии, совершающихся в биосфере.

Естественный (биогеохимический) круговорот жизни имеет следующие *особенности*:

- использование солнечной энергии в качестве источника жизни и все ее проявления на основе термодинамических законов;

- он осуществляется безотходно, т.е. все продукты его жизнедеятельности, минерализуются и снова включаются в следующий цикл круговорота веществ. При этом *за пределы биосферы удаляется отработанная, обесцененная тепловая энергия*. При биогеохимическом круговороте веществ образуются отходы, т.е. запасы в виде каменного угля, нефти, газа и других минеральных ресурсов. В отличие от безотходного естественного круговорота антропогенный круговорот сопровождается увеличивающимися с каждым годом отходами.

В природе нет ничего бесполезного или вредного, даже от вулканических извержений есть польза, так как с вулканическими газами в воздух поступают нужные элементы (например, азот).

Существует *закон глобального замыкания биогеохимического круговорота в биосфере*, действующий на всех этапах ее развития, как и правило увеличения замкнутости биогеохимического круговорота в ходе сукцессии.

Огромную роль на биогеохимический круговорот оказывает человек, но в противоположном направлении. Человек нарушает сложившиеся круговороты веществ, и в этом проявляется его геологическая сила – разрушительная по отношению к биосфере. *В результате антропогенной деятельности степень замкнутости биогеохимических круговоротов уменьшается*.

Антропогенный круговорот не ограничивается энергией солнечного света, улавливаемой зелеными растениями планеты.

Человечество использует энергию топлива, гидро- и атомных станций.

Можно утверждать, что антропогенная деятельность на современном этапе представляет собой огромную разрушительную для биосферы силу.

Биосфера обладает особенным свойством – значительной устойчивостью по отношению к загрязняющим веществам. Эта устойчивость основана на естественной способности различных компонентов природной среды к *самоочищению и самовосстановлению.* Но не безгранично. Возможный глобальный кризис вызвал необходимость построения математической модели биосферы как единого целого (система «Гея») с целью получения информации о возможном состоянии биосферы.

Ксенобиотик – чужеродное для живых организмов вещество, появляющееся в результате антропогенной деятельности (пестициды, препараты бытовой химии и другие загрязнители), способное вызывать нарушение биотических процессов, в т.ч. заболевание или гибель организма. Такие загрязнители не подвергаются биодеградации, а аккумулируются в трофических цепях.

Ртуть– весьма редкий элемент. Она рассеяна в земной коре и только в немногих минералах, таких как киноварь, содержится в концентрированном виде. Ртуть участвует в круговороте вещества в биосфере, мигрируя в газообразном состоянии и в водных растворах (рис.3.13).

В атмосферу она поступает из гидросферы при испарении, при выделении из киновари, с вулканическими газами и газами из термальных источников. Часть газообразной ртути в атмосфере переходит в твердую фазу и удаляется из воздушной среды. Выпавшая ртуть поглощается почвами, особенно глинистыми, водой и горными породами.

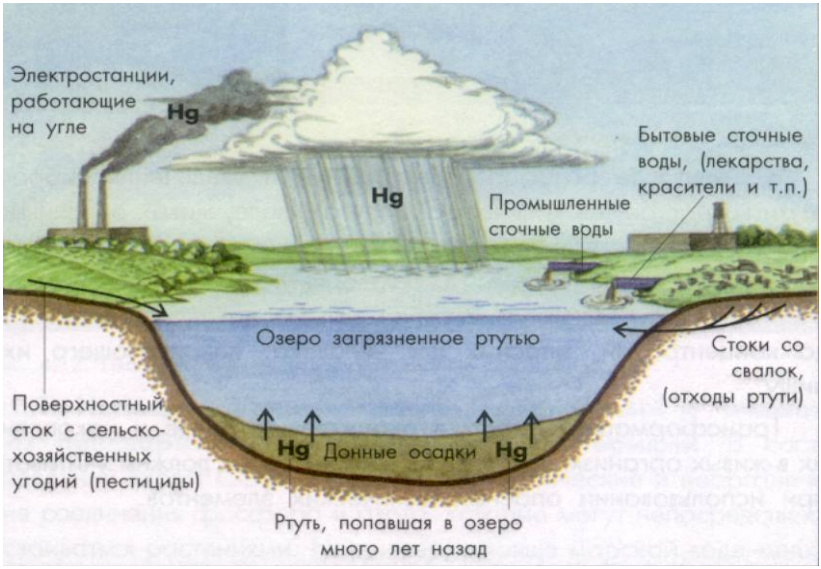


Рис. 3.13. Круговорот ртути (по Л. Цветковой)

В горючих полезных ископаемых – нефти и каменном угле – ртути содержится до 1 мг/кг. В водной массе океанов примерно 1,6 млрд. т, в донных осадках – 500 млрд.т, в планктоне – 2 млн.т. Речными водами ежегодно с суши выносится около 40 тыс.т, что в 10 раз меньше, чем поступает в атмосферу при испарении (400 тыс.т). На поверхность суши ежегодно выпадает около 100 тыс.тонн.

Ртуть из естественного компонента природной среды превратилась в один из наиболее опасных для здоровья человека техногенных выбросов в биосферу. Она широко применяется в металлургии, в химической, электротехнической, электронной, целлюлозно-бумажной и фармацевтической промышленности и используется для производства взрывчатых веществ, лаков и красок, а также в медицине. Промышленные стоки и атмосферные выбросы, наряду с ртутными рудниками, заводами по производству ртути и теплоэнергетическими предприятиями (ТЭЦ и котельные), использующими уголь, нефть и нефтепродукты, являются основными источниками загрязнения биосферы этим

токсичным компонентом. Кроме того, ртуть входит в состав ртутьорганических пестицидов, используемых в сельском хозяйстве для протравливания семян и защиты культур от вредителей. В организм человека попадает с продуктами питания (яйца, протравленное зерно, мясо животных и птиц, молоко, рыба).

Ртуть в воде и донных отложениях рек.Установлено, что около 80 % ртути, поступающей в природные водоемы, находится в растворенной форме, что в конечном итоге способствует ее распространению на большие расстояния вместе с потоками воды. Чистый элемент не токсичен.

Ртуть содержится в воде придонного ила чаще в относительно безвредных концентрациях. Неорганические соединения ртути превращаются в токсичные органические соединения ртути, такие как метилртуть CH_3Hg и этилртуть C_2H_5Hg, благодаря бактериям, живущим в детритах и осадках, в донном иле озер и рек, в слизи, покрывающей тела рыб, а также в слизи рыбьего желудка.Эти соединения легко растворимы, подвижны и очень ядовиты. Химической основой агрессивного действия ртути является ее сродство с серой, в частности с сероводородной группой в белках. Эти молекулы связываются с хромосомами и клетками головного мозга. Рыбы и моллюски могут накапливать их до концентраций опасных для человека, употребляющего их в пищу, вызывая болезнь «Минамата» («улыбка Минамата» – человек умирает с улыбкой на лице).

Металлическая ртуть и ее неорганические соединения действуют, в основном, на печень, почки и кишечный тракт, однако в обычных условиях сравнительно быстро выводятся из организма и опасное для организма человека количество не успевает накопиться. Метилртуть и другие алкильные соединения ртути являются гораздо более опасными, так как происходит кумуляция – токсин поступает в организм быстрее, чем выводится из организма, действуя на центральную нервную систему.

Донные отложения являются важной характеристикой водных экосистем. Аккумулируя тяжелые металлы, радионуклиды и высокотоксичные органические вещества, донные отложения, с одной стороны, способствуют самоочищению водных сред, а с другой – представляют собой постоянный источник вторичного

загрязнения водоемов. Донные отложения – перспективный объект анализа, отражающий многолетнюю картину загрязнения (особенно в малопроточных водоемах). Причем накопление неорганической ртути в донных отложениях наблюдается особенно в устьях рек. Может возникнуть напряженная ситуация, когда адсорбционная способность отложений (ила, осадков) будет исчерпана. Когда будет достигнута адсорбционная емкость, тяжелые металлы, в том числе ртуть, начнут поступать в воду.

Известно, что в морских анаэробных условиях в отложениях отмерших водорослей ртуть присоединяет водород и переходит в летучие соединения.

При участии микроорганизмов может метилироваться в две стадии металлическая ртуть: $Hg \rightarrow CH_3Hg+ \rightarrow (CH_3)_2Hg$.

Метилртуть в окружающей среде появляется практически только при метилировании неорганической ртути.

Биологический период полувыведения ртути велик, он составляет для большинства тканей организма человека 70–80 дней.

Известно, что в начале пищевой цепочки происходит загрязнение ртутью крупных рыб, например меч-рыбы, тунца. Не безынтересно при этом отметить, что в еще большей степени, чем в рыбах, ртуть накапливается (аккумулируется) в устрицах.

Ртуть попадает в организм человека при дыхании, с пищей и через кожу по следующей схеме:

Во-первых, происходит транформация ртути. Этот элемент встречается в природе в нескольких формах.

Металлическая ртуть, применяемая в термометрах, и ее неорганические соли (например, хлорид) выводятся из организма сравнительно быстро.

Гораздо более ядовиты алкильные соединения ртути, в частности метил- и этилртуть. Эти соединения очень медленно выводятся из организма – за сутки всего лишь около 1% общего количества. Хотя большая часть ртути, попадающей в природные воды, содержится там в виде неорганических соединений, в рыбе она всегда оказывается в форме гораздо ядовитой метилртути. Бактерии в донном иле озер и рек, в слизи, покрывающей тела рыб, а также в слизи рыбьего желудка способны превращать неорганические соединения ртути в метилртуть.

Во-вторых, избирательное накопление, или биологическое накопление (концентрирование), повышает содержание ртути в рыбе и моллюсках до уровней во много раз выше, чем в воде залива. Рыбы и моллюски, обитающие в реке, накапливают метилртуть до концентраций, опасных для человека, использующего их в пищу.

99 % мирового улова рыбы содержит ртуть в количестве не более 0,5 мг/кг, а 95% – ниже 0,3 мг/кг. Почти вся ртуть в рыбе находится в виде метилртути.

Учитывая разную токсичность ртутных соединений для человека в пищевых продуктах необходимо определять неорганическую (общую) и органически связанную ртуть. У нас определяется только общее содержание ртути. По медико-биологическим требованиям содержание ртути в пресноводной хищной рыбе допускается 0,6 мг/кг, в морской – 0,4 мг/кг, в пресноводной не хищной только 0,3 мг/кг, а в тунцовых до 0,7 мг/кг. В продуктах детского питания содержание ртути не должно превышать 0,02 мг/кг в мясных консервах, 0,15 мг/кг в рыбных консервах, в остальных – 0,01 мг/кг.

Свинец присутствует практически во всех компонентах природной среды. В земной коре его содержится 0,0016 %. Естественный уровень свинца в атмосфере 0,0005 мг/м^3. Большая часть его осаждается с пылью, примерно 40 % выпадает с атмосферными осадками. Растения получают свинец из почвы, воды и атмосферных выпадений, а животные – потребляя растения и воду. В организм человека металл попадает вместе с пищей, водой и пылью.

Основным источником загрязнения биосферы свинцом являются бензиновые двигатели, выхлопные газы которых содержат триэтилсвинец, теплоэнергетические предприятия, сжигающие каменный уголь, горнодобывающая, металлургическая и химическая промышленность. Значительное количество свинца вносится в почву вместе со сточными водами, используемыми в качестве удобрения. Для тушения горящего реактора Чернобыльской АЭС также использовался свинец, который поступил в воздушный бассейн и рассеялся на обширных территориях.

При увеличении загрязнения окружающей среды свинцом возрастает его отложение в костях, волосах, печени.

Хром. Наиболее опасен токсичный хром (6+), который мобилизуется в кислых и щелочных почвах, в пресных и морских водах. В морской воде хром на 10–20 % представлен формой Cr (3+), на 25–40 % –Cr (6+), на 45–65 % – органической формой. В интервале pH 5 – 7 преобладает Cr (3+), а при pH > 7 – Cr (6+). Известно, что Cr (6+) и органические соединения хрома не соосаждаются с гидроксидом железа в морской воде.

Природные круговороты веществ являются практически замкнутыми. В естественных экосистемах вещество и энергия расходуются экономно и отходы одних организмов служат важным условием существования других. Антропогенный круговорот веществ сопровождается огромным расходом природных ресурсов и большим количеством отходов, вызывающих загрязнение окружающей среды. Создание даже самых совершенных очистных сооружений, не решает проблему, поэтому необходимо разрабатывать мало- и безотходные технологии, позволяющие сделать как можно более замкнутым антропогенный круговорот. Теоретически можно создать безотходную технологию, однако реальны малоотходные технологии.

Контрольные вопросы:

1. Что Вы понимаете под смыслом «вещественный состав живой материи», «химический состав живой материи»?
2. Какую функцию выполняют микрокомпоненты и макрокомпоненты в составе живой материи?
3. Круговорот веществ в природе: определение, виды круговоротов, особенности.
4. Как ведут себя объекты биотехнологии при выполнении процессов, связанных с круговоротом веществ?
5. Какие основные принципы природного круговорота веществ легли в основу круговорота веществ на уровне биореактора?

II. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Биотехнология проникает в *тяжелую промышленность*, где микроорганизмы используются для добычи, превращения и переработки природных ископаемых. Известно, что в древности первые металлурги получали железо из болотных руд, производимых железобактериями, которые способны концентрировать железо. Сегодня разработаны способы бактериальной концентрации ряда других ценных металлов – марганца, цинка, меди, хрома и др. Эти методы используются для разработки отвалов старых рудников и бедных месторождений, где традиционные методы добычи экономически невыгодны.

Для решения *проблемы загрязнения окружающей среды* объекты биотехнологии, в частности:

1. Бактерии родов *Rhodococcus* и *Nocardia* применяют для эмульгирования и сорбции углеводородов нефти из водной среды (они способны разделять водную и нефтяную фазы, концентрировать нефть, очищать сточные воды от примесей нефти). Ассимилируя углеводороды нефти, такие микроорганизмы преобразуют их в белки, витамины группы В и каротины. Если в питательную среду из нефтяных фракций добавить азотистые вещества с минеральными солями, то процесс образования белков пойдет необычайно интенсивно. Практически с каждой тонны углеводородов таким путем можно получить до тонны белков.

2. Некоторые из штаммов галобактерий применяют для удаления мазута с песчаных пляжей.

3. Генно-инженерные штаммы способны расщеплять октан, камфору, нафталин, ксилол, эффективно утилизировать сырую нефть.

4. Штаммы *Citrobacter*, *Zoogloea*, способные накапливать уран, медь, кобальт, широко используются для извлечения металлов из сточных вод.

5 Высокоэффективные штаммы *Pseudomonas* и термофильной бактерии *Sulfolobus* используются для удаления серы из угля, при сжигании которого происходит загрязнение окружающей среды серой.

4. СООБЩЕСТВА ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ КАК ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ЭКОСИСТЕМНОМ УРОВНЕ

Биотехнология в связи с актуализацией нормирования качества окружающей среды на экосистемном уровне в состоянии как «зеленая» технология решать проблемы охраны природы.

Как уже было отмечено (табл. 1.1), объектом биотехнологии на уровне экосистемы является сообщество живых организмов, либо лимитированные экологической нагрузкой (природные сообщества), либо производственно сформированные (например, микрофлора биологических очистных сооружений, предназначенная для очистки городских сточных вод).

На рис. 4.1 дана схема, указывающая на особенности формирования под воздействием техногенных факторов и биотехнологии сообществ на экосистемном уровне.



Рис.4.1. Блок-схема формирования сообществ под воздействием техногенеза и биотехнологии

Как видно из рис.4.1, промышленное предприятие как субъект биотехнологии в процессе функционирования вырабатывает отходы производства, оказывающие негативное воздействие на окружающую среду. Усиление техногенной нагрузки во времени сопровождается изменениями экосистемы, адаптационными преобразованиями сообществ организмов. В целях восстановления техногенно-нарушенной системы искусственно

включаются биореконструкционные и биопроизводственные технологии с участием высокопродуктивных генотипов. В результате развития последних происходит формирование новых искусственных сообществ, которые в состоянии выполнить «зеленую» работу в целях снижения или устранения техногенной нагрузки.

Следовательно, экосистемы бывают естественные (природные) и искусственные (созданы человеком, например, техногенные экосистемы).

4.1. Природные и техногенные экосистемы как субъекты биотехнологии

Природные экосистемы. *Экосистема*– это сообщество живых организмов и среды их обитания, составляющее единое целое на основе устойчивого взаимодействия между элементами живой и неживой природы в определенном пространстве, используя поток энергии и создавая круговорот веществ (рис. 4.2, по Цветковой Л.).

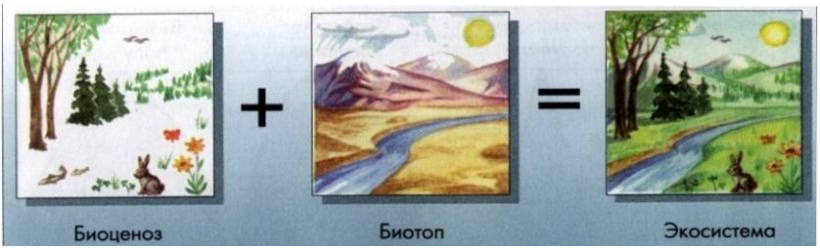
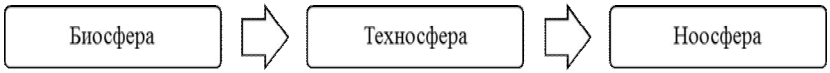


Рис. 4.2. Составляющие природной экосистемы (биогеоценоза)

Биотическая составляющая (биоценоз) складывается из фитоценоза (растения), зооценоза (животные) и микробоценоза (микроорганизмы), характеризующиеся структурно-функциональными особенностями развития, тогда как абиотическая составляющая биогеоценоза складывается из литосферы, гидросферы и атмосферы.

Техногенные экосистемы. Исходя из имеющегося положения можно утверждать, что человек в составе экосистемы проходит три этапа развития: биосфера → техносфера → ноосфера (рис. 4.3).



I этап Продукты, создаваемые природой, присваивались людьми при помощи созданных ими средств труда. Первобытный человек не выделял себя из природы, он считал себя ее частью. *II этап* Человек научился заниматься земледелием и скотоводством. Общество сильно зависело от климатических и других природных условий. И в этот период человек не противопоставлял себя природе	*III этап* Человек осуществил переход от аграрной экономики к индустриальной. Отличительная особенность этого периода – общество и природа представляются как две самостоятельно существующие стороны, внешне противостоящие друг другу и развивающиеся обособленно друг от друга. Человек научился господствовать над природой. Единство человека и природы стало настолько противоречиво, что биосфера превращается в техносферу, причем направленность антропогенного воздействия прямо противоположна направленности эволюции биосферы	*Ноосфера* – это *высшая стадия* развития биосферы, сфера разума, связанная с возникновением и становлением в ней цивилизации, когда разумная деятельность человечества становится определяющим фактором развития биосферы

Рис. 4.3. Триадаразвития нашей планеты

Человек в составе биосферы не противопоставлял себя природе (гармония между человеком и природой), в составе техносферы – господствует над природой (обострение противо-

речий между человеком и природой в пространстве и во времени), в составе нооосферы – должен гармонизировать себя в природе (биореогенерация).

Техносфера – материальная, созданная человеком, оболочка Земли.

Ноосфера – сфера разумного взаимодействия общества и природы как определяющий фактор.

Ноосфера как термин введен в 1927 г. философом Леруа как понятие – французским ученым Тейяром де Шарденом и как учение – В.И.Вернадским в 1930–1940 гг.

В.И. Вернадский развил концепцию ноосферы как растущего глобального осознания усиливающегося вторжения человека в естественные биогеохимические циклы, ведущего к более взвешенному и целенаправленному контролю человека над глобальной системой.

«Мы должны перейти в новое состояние, имя которому ноосфера, т. е. сфера разума» (В.И.Вернадский, 1920). У человечества нет иного выбора.

Ученые полагают, что в настоящее время правильнее говорить лишь о существовании начальных стадий развития ноосферы, имеющих принципиальные отличия от ее будущего состояния. Ценность ноосферной концепции в том, что она дает конструктивную модель вероятного будущего.

На рис. 4.4 и 4.5 показаны виды техногенного вмешательства человека в биосферу.

Как видно из рис. 4.4 и 4.5, техногенное вмешательство человека в биосферу имеет глобальный масштаб.

Стремительный рост населения Земли, развитие промышленности и сельского хозяйства, которые помимо полезной продукции производят большое количество отходов, вырубка лесов и распашка земель ведут к нарушению экологического равновесия и загрязнению биосферы. Локальное накопление органических отходов, количество которых слишком велико для естественного потенциала биодеградации на современном этапе настолько актуально, что переработка отходов, очистка и стабилизация сточных вод и разрушение токсичных соединений, десятилетиями накапливающихся на свалках, в воде и почве обя-

зывают нас находить пути и разрабатывать новые технологии по стабилизации санитарного состояния природы. Одним из важных приемов по ликвидации органических отходов является биотехнология, которая не только не загрязняет окружающую среду, но и безопасна для здоровья человека.

Таким образом, для «зеленой» защиты техногенно-нарушенных объектов окружающей среды, восстановления ее санитарных норм необходимо применение методов биотехнологии.

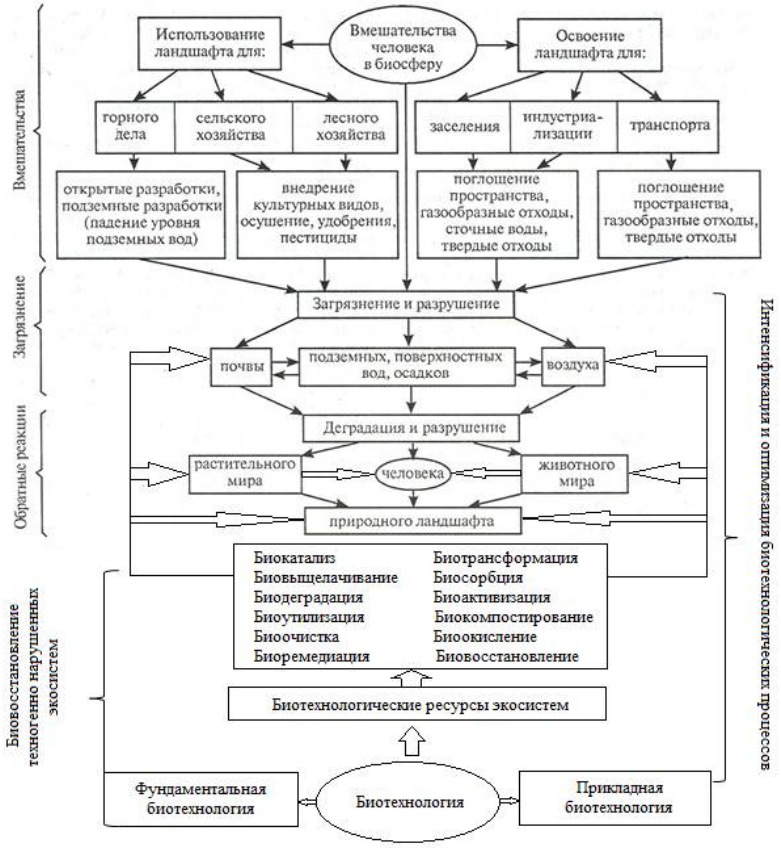


Рис. 4.4. Виды техногенного вмешательства человека в биосферу и пути биотехнологических решений (из словаря-справочника «Охрана окружающей среды», 1993; с дополнением авторов)



Рис. 4.5. Характеристика техносферы

Искусственные экосистемы – неустойчивые экосистемы, для их функционирования необходима постоянная поддержка человека.

С точки зрения биотехнологии антропогенные экосистемы по воздействию на окружающую среду можно разделить – на системы, оказывающие негативное воздействие и системы – направленные на защиту и восстановление окружающей среды. В первом случае к искусственным (антропогенным) экосистемам относятся *агроценозы* и *урбосистемы* (как правило это природно-промышленные комплексы: промышленные площадки предприятий, включая санитарно-защитную зону с прилега-

ющими территориями селитебной зоны; в урбосистеме может находиться разное количество промышленных предприятий), во втором – предприятия биотехнологической отрасли, которые вследствие своего развития все глубже входят в первые.

Для понимания роли биотехнологии в разработке безотходных и малоотходных технологий в защите и восстановлении техногенно-нарушенных экосистем очень важно понимать особенности развития антропогенных экосистем и особенности воздействия их на окружающую среду. Поэтому далее эти вопросы рассматриваются подробно.

Агроценозы. Человек преобразует природные богатства (леса, степи, озера). На смену им приходит посев, посадки культурных растений. Так формируются новые экосистемы – *агробиогеоценозы или агроценозы* – искусственные экосистемы (рис. 4.6).

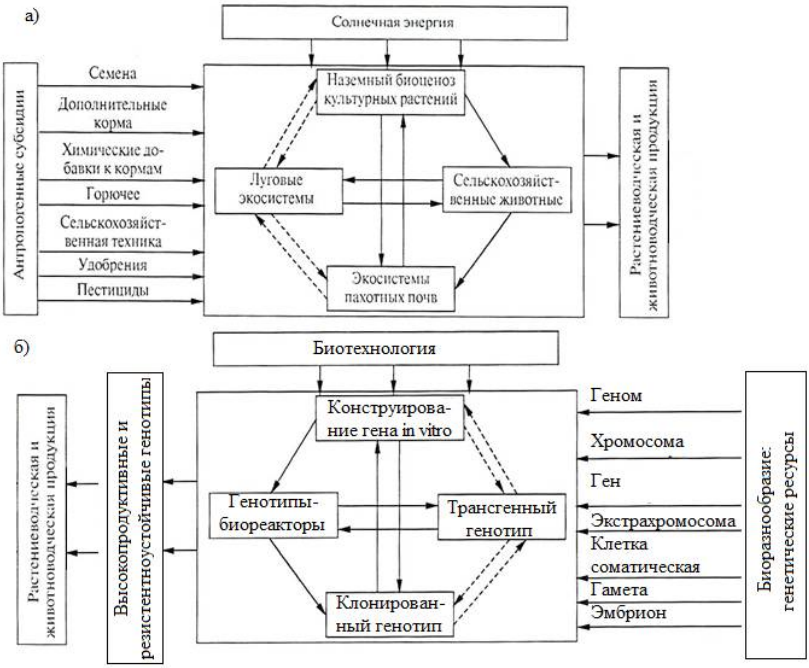


Рис. 4.6. Схема функционирования агроэкосистемы в режимах «обычном» (а) и биотехнологическом (б) (Миркин, 1995 [75]; с дополнением авторов)

Агроценозами являются не только сельскохозяйственные поля, но лесные посадки, пастбища, пруды, водохранилища, каналы и осушенные болота. Хотя в структуре и энергетике естественных и искусственных биоценозов есть много специфических черт, принципиальных различий между ними не существует.

Природно-промышленные комплексы. Значительно сложнее дело обстоит с экосистемами, возникающими в зонах влияния промышленных предприятий, городов, плотин и других крупных инженерных сооружений.

При воздействии производственной деятельности человека на среду его обитания возникает система достаточно сложных ППК, состоящих из предприятия, вспомогательных служб, жилищного комплекса, различных коммуникаций, включая территорию, абиотическую и биотическую составляющие. Биотическая составляющая образована растительным сообществом (природным и частично искусственным, возникшим за счет образования различных типов агроценозов), а также животными, сопутствующими человеку или теми животными и другими типами организмов, которые нормально переносят соседство человека. Природно-промышленные комплексы являются составляющими урбосистем.

Урбосистемы. К антропогенным экосистемам относятся урбосистемы – искусственные экосистемы, возникающие в результате развития городов, в которых сосредоточены население, жилые, промышленные, бытовые, культурные объекты. В состав урбосистем входят различные зоны, представленные на рис. 4.7.



Рис. 4.7. Составляющие искусственных экосистем и отличия от природных

Урбосистема состоит из: *селитебной (жилой); промышленной; санитарно-защитной; складской; внешнетранспортной; зеленой зон* (табл. 4.1). Урбосистемы самостоятельно не могут существовать, а поддерживаются агроэкосистемами, энергией атома и горючих ископаемых.

Таблица 4.1

Составляющие урбосистемы

Зона	Относятся	Особенность	Необходимость биотехнологического вмешательства определяется
Селитебная (жилая)	жилые и административные здания учебных заведений, медицинских учреждений, спортивные учреждения и т.д., зеленые насаждения общего пользования (бульвары, скверы, парки, сады, при этом площадь их составляет до 15 кв.м на человека)	Располагается с наветренной стороны выше по течению рек по отношению к промышленным и сельскохозяйственным предприятиям	На уровне коммунальных хозяйств для утилизации твердых бытовых отходов (ТБО), очистки сточно-коммунальных вод
Промышленная	различные промышленные предприятия, которые связаны удобными транспортными линиями с селитебной зоной	Располагается с подветренной стороны и вниз по течению относительно жилой зоны	Внедрением «зеленых» технологий: без- и малоотходных, рентабельным использованием ресурсов, повышением выхода продукции
Санитарно-защитная (СЗЗ)	для уменьшения влияния промышленной зоны на население, определяется расстоянием от предприятия и ее величина зависит от класса воздействия предприятия на среду обитания	Ширина данной зоны колеблется от 1000 до 50 м (от I до V классов вредного воздействия)	«Усилением» защиты ОС от ксенобиотиков (выбросов, сбросов и твердых отходов)
Коммунально-складская	В больших городах складские зоны располагаются рассредоточено	Актуальны для мегаполисов	Необходимостью переработки вторичных ресурсов
Внешнего транспорта	Вокзалы, порты, пристани, грузовые станции, как правило, вне жилой зоны. Автовокзалы и железнодорожные вокзалы рекомендуется объединять	Жилая зона отделяется от зоны транспорта 100 м СЗЗ. Скоростные дороги размещаются ниже жилой зоны по течению реки	«Усилением» защиты ОС от ксенобиотиков (выхлопных газов, нефтепродуктов)

Продолжение табл. 4.1

Зона	Относятся	Особенность	Необходимость биотехнологического вмешательства определяется
Зеленая	лесопарковый пояс, примыкающий к городу и его ширина колеблется от 2 до 20 км (эта зона для Москвы в 2 раза больше площади города, Токио – в 6 раз). Зеленые насаждения образованы древесными, кустарниковыми и травянистыми формами	Окружает населенный пункт и образует с ним единое ландшафтное целое	Рационализацией и «усилением» защиты ОС: наиболее приемлемы древесные (клен, липа, ель, сосна, граб, тополь и т. д) и кустарниковые (сирень, шиповник и др.) растения

На рис. 4.8 показаны входы и выходы в экосистему или жизненный цикл продукции, производимой в экосистеме на примере создания *автотранспорта*, обслуживающего любую деятельность человека, в том числе производственный процесс всех отраслей промышленности, сферу потребления.

Как видно из рис. 4.8, вход в систему жизненного цикла продукции характеризуется расходом из окружающей среды природных ресурсов для изготовления различных материалов (для создания машин, оборудования, агрегатов, транспорта), а на выходе из системы в окружающую среду поступают газообразные, жидкие и твердые загрязняющие вещества, энергетические загрязнения, происходит отчуждение и деградация земель.

Разрушительному воздействию подвергается почвенно-растительный слой на больших территориях, в особенности при открытых горных работах. Формирование состава и свойств почв происходит под действием как природных процессов, так и техногенных факторов.

Биотехнологические методы охраны окружающей среды можно применить внутри системы для более рентабельного использования природных ресурсов и на выходе из системы для восстановления и улучшения качества окружающей среды: для

очистки газовых выбросов, сточных вод производства и хоз.-бытовых сточных вод, переработки отходов производства и потребления, восстановления нарушенных и деградированных земель.

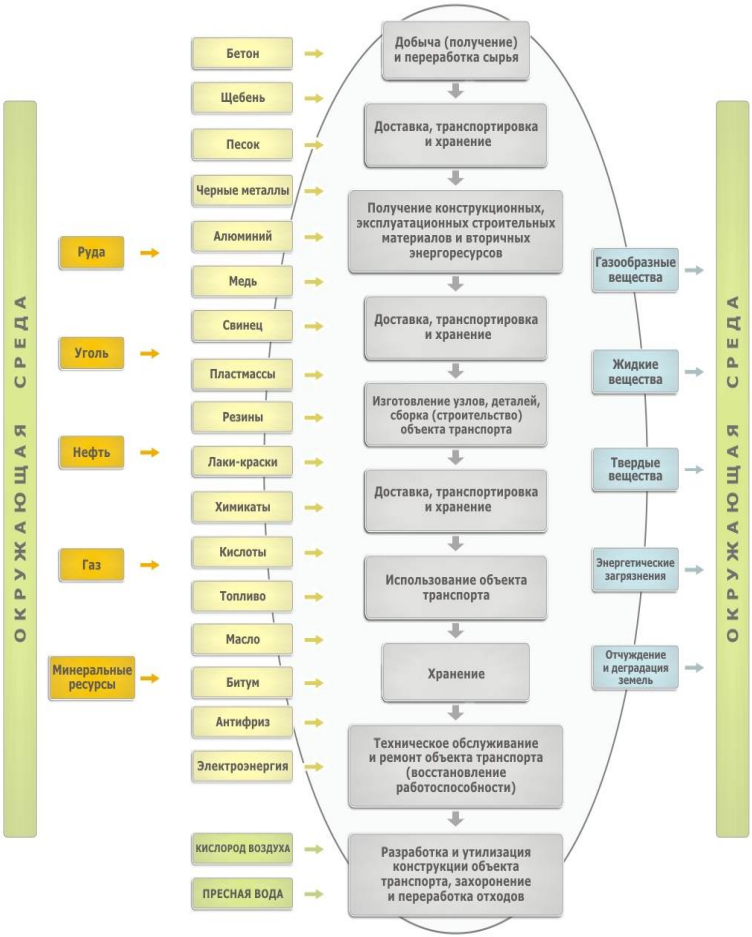


Рис. 4.8. Входы и выходы в экосистему или жизненный цикл продукции, производимой в ППК (по В. Луканину)

Биотехнологии применяются для восстановления нарушенных земель, создающих *техногенный ландшафт*. Например, для борьбы с технической эрозией применяют биологические методы, которые опираются на противоэрозионные защитные свойства наземного растительного покрова и его корневой системы, а также на роли микроорганизмов в связывании субстрата.

Представителями техногенных ландшафтов являются различные сооружения: отвалы, шламо- и хвостохранилища, автодороги и прочие (рис. 4.9).

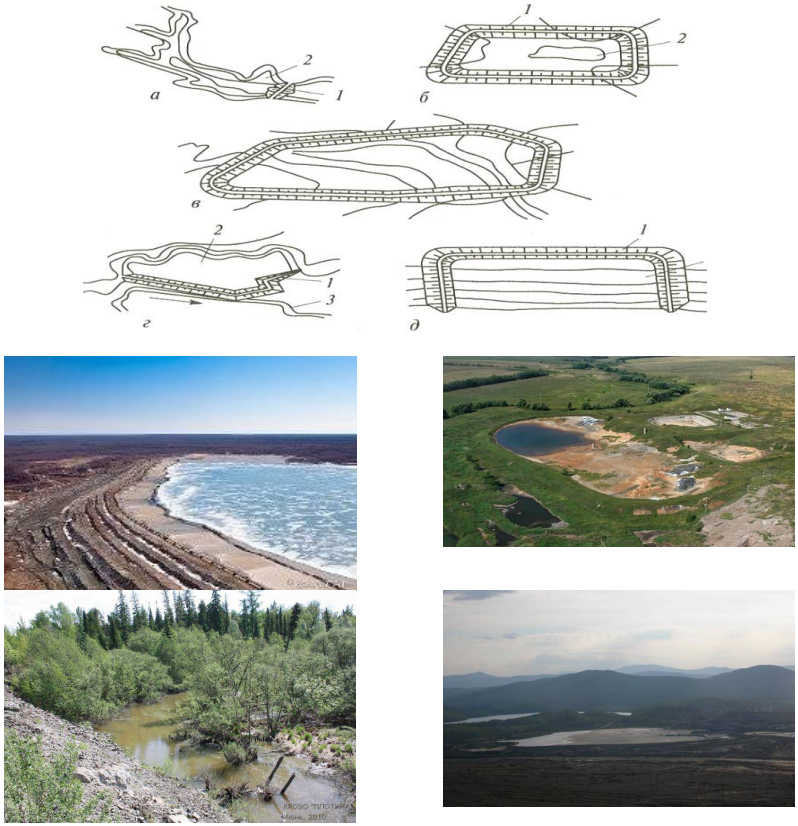


Рис. 4.9. Типы хвостохранилищ и гидроотвалов:
а – овражный; б – равнинный; в – овражно-равнинный; г – пойменный; д – косогорный; 1 – дамба; 2 – ложе хвостохранилища; 3 – река

Защита поверхности отвалов, шламо- и хвостохранилищ, автодорог и других сооружений от ветровой и водной эрозии осуществляют техническими, физико-химическими и биологическими *противоэрозионными методами.*

Технические методы наиболее трудоемки и сводятся к защите поверхности (слоя) от эрозии, их используют в сочетании с другими методами. Физико-химические предусматривают противоэрозионные укрепления поверхности применением вяжущих веществ: битумов, синтетических смол, латексов, силикатов щелочных металлов и др.

Биологические методы основаны на противоэрозионных защитных свойствах наземного растительного покрова и его корневой системы, а также на роли микроорганизмов в связывании субстрата.

Природно-промышленные комплексы часто являются градообразующими, поэтому решение эколого-социо-экономических проблем с применением биотехнологических приемов необходимо решать в масштабе урбосистем.

Таким образом, техногенные экосистемы подвергаются мощной нагрузке, и для поддержания их самовосстанавливающей способности актуально применение биотехнологий.

4.2. Объекты биореконструкционных технологий

Биовосстановление техногенно-нарушенных экосистем возможно при использовании солнечной энергии и энергии биохимических реакций.

Объекты биореконструкционных технологий в зависимости от источника энергии, используемой для жизнедеятельности, делят на четыре класса (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Объекты биореконструкционных технологий [106, 110]

Класс	Представители	Особенность
Фотолитотрофы	Зеленые клетки низших (водоросли) и высших растений, фотосинтезирующие бактерии	Источник энергии – свет. Тип окисляемого субстрата – неорганические соединения (H_2O, H_2S, S)
Фотоорганотрофы	Некоторые пурпурные бактерии	Источник энергии – свет. Тип окисляемого субстрата –органические соединения
Хемолитотрофы	Водородные (окисляют молекулярный водород), серные (окисляют сероводород в серу), денитрифицирующие бактерии (окисляют аммиак и нитраты), железобактерии (окисляют закисное железо)	Источник энергии – реакция окисления. Тип окисляемого субстрата – неорганические соединения (H_2, S, H_2S, NH_3, Fe^{2+})
Хемоорганотрофы	Большинство микроорганизмов, нефотосинтезирующие клетки растений, животные	Источник энергии – реакция окисления. Тип окисляемого субстрата –органические соединения

Биореконструкционные процессы осуществляются в два этапа: биосинтез (синтез органических веществ из более простых соединений), минерализация (биоразложение органических веществ до простых – CO_2, H_2O и солей).

4.2.1. Объекты биотехнологии, участвующие в биосинтезе

Биосинтез осуществляется *автотрофами* (биосинтез органических веществ из CO_2, донором водорода является H_2O) путем фотосинтеза и хемосинтеза, *гетеротрофами* (для питания и пополнения энергии используют органические источники углерода) путем биосинтеза. В первом случае это растения и фотосинтезирующие (некоторые пурпурные) бактерии, во втором – это микроорганизмы и животные.

В табл. 4.3 дается краткая характеристика объектам биотехнологии, участвующих в биосинтезе.

Таблица 4.3

Объекты биотехнологии, участвующие в биосинтезе [110]

Наименование процесса	Определение	Объекты биотехнологии	Особенности	Биотехнологический ресурс
Фотосинтез	Процесс превращения энергии Солнца в энергию химических связей органических веществ	Фотолитотрофы. По биомассе организмы, не способные к фотосинтезу, составляют примерно 1 %	Процесс осуществляется хлорофиллами в хлоропластах растений и хроматофорах бактерий. Побочным процессом является фотолиз воды с выделением кислорода. Общая схема уравнения фотосинтеза: $6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow[\text{свет}]{\text{фотосинтез}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$	При фотосинтезе для образования 1 г молекулы вещества (180 г глюкозы) необходимо 2900 кДЖ солнечной энергии. В масштабах биосферы количество свободного кислорода в составе атмосферы составляет более 10×10^{14} т при ежегодном его образовании при фотосинтезе $1,5 \times 10^9$ т. Ежегодно регенерируется 232 млрд. т сухого органического вещества
Хемосинтез	Процесс усвоения CO_2 за счет энергии окисления неорганических соединений	Хемолитотрофы	Кислород не выделяется	Среднегодовой выброс CO (основной загрязнитель атмосферы) составляет $6,4 \times 10^8$ т. Именно карбоксидобактерии осуществляют процессы удаления CO из атмосферы, сохраняя его концентрацию в атмосфере почти на постоянном уровне
Гетеротрофный синтез	Разлагают все вещества, синтезированные автотрофами, а также подавляющее количество производственно полученных веществ	Гетеротрофы (особенно грибы и бактерии-редуценты): по химиизму дыхания: аэробы, анаэробы	Гетеротрофы замыкают цикл круговорота углерода в природе	Технологии гетеротрофного синтеза многообразны (одним из важных технологий является технология микробиологического синтеза), многие из которых используются в биотехнологии в получении БАВ



Рис.4.10. Объекты биотехнологии, участвующие в биотрансформации веществ (Гришин Ю.И. и др., 2014) [34]

4.2.2. Объекты биотехнологии, участвующие в био трансформации и минерализации веществ

Биосинтез сопряжен с многочисленными биотрансформациями (биохимическое превращение вещества ферментами микроорганизмов) и минерализацией веществ. Процессы биотрансформации и минерализации протекают в водных условиях при умеренной температуре (рис. 4.10).

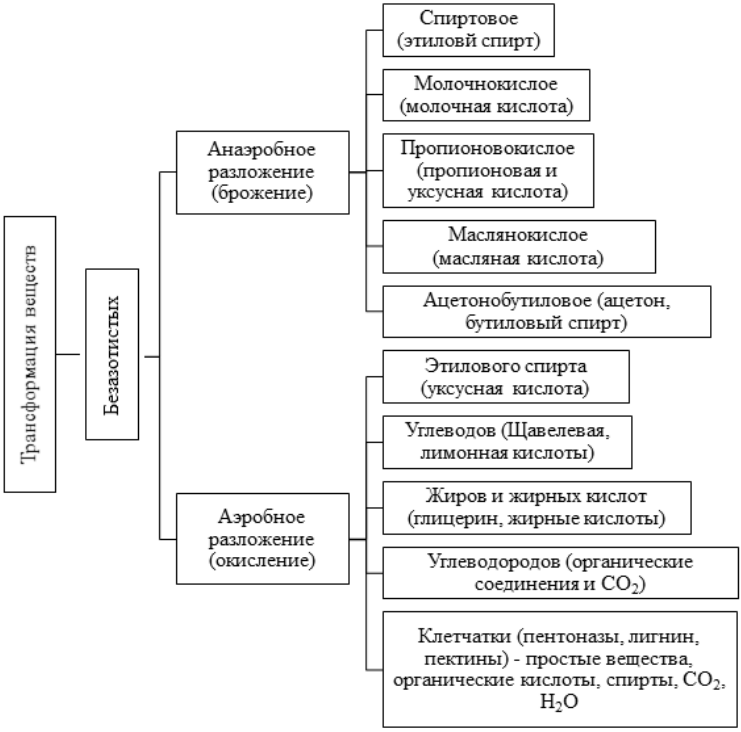


Рис. 4.11. Процессы биотрансформации безазотистых веществ с образованием основного продукта [34]

Как видно из рис. 4.10, применение видов клеток-биотрансформантов (ферментационная активность интактных клеток, ингибированные клетки, мутационно-преобразованные

клетки, новые генетически продуктивные штаммы, иммобилизованные клетки и ферменты) и типов микробиологической биотрансформации (окисление, восстановление, декарбоксилирование, дезаминирование, гидролиз, метилирование, этерификация, галогенирование, расщепление, изомеризация, аминирование, синтез нуклеотидов и др.) определяет процессы биотрансформации.



б)

Рис.4.12. Процессы биотрансформации азотистых веществ с образованием основного продукта [34]

Процессы биотрансформации с образованием основного продукта показаны на рис. 4.11 – 4.12.

Эффективность указанных на рис.4.11 – 4.12 процессов на уровне промышленности определяется качеством выбранного продуцента и строгим соблюдением технологического регламента. Также следует обратить внимание на то, что существенная роль в минерализации органических веществ в природе принадлежит микроорганизмам.

Неиспользованные при биотрансформации органические вещества подвергаются благодаря микробным редуцентам (бактерии, грибы) минерализации.

Не стоит недооценивать влияние беспозвоночных животных на процесс биотрансформации и минерализации веществ. Их «статус» в этом процессе повышается благодаря их способности осуществлять деструкцию и минерализацию органических отходов производства и потребления, т.к. они обеспечивают возврат веществ отходов в общий круговорот веществ и элементов экосистемы (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Беспозвоночные животные, как объекты биотехнологии

Группы по характеру питания	Источник питания	Представители
Копрофаги	Экскременты млекопитающих и птиц	Жуки, мухи и др.
Сапрофаги	Гниющие органические остатки (навоз, растительные остатки)	Черви (олигохеты) клещи и др. членистоногие, насекомые

4.3. Природно-промышленные комплексы Казахстана как субъекты биотехнологии

Природно-промышленные комплексы Казахстана, как субъекты биотехнологии (рис. 4.13), являются источниками загрязнения окружающей среды.

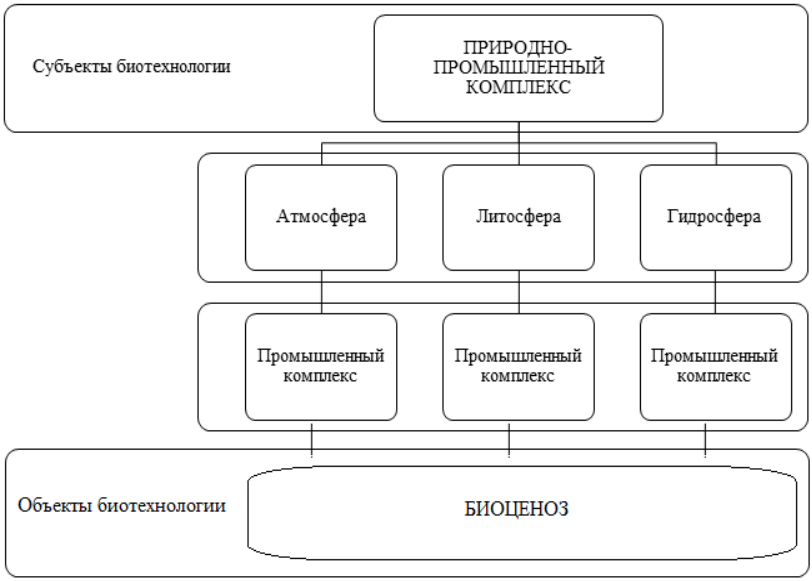


Рис. 4.13. Субъекты и объекты биотехнологии промышленных производств (по отраслям)

Как видно из рис. 4.13, промышленный комплекс оказывает влияние классическими и специфическими загрязняющими веществами на атмосферный воздух, поллютантами природного и техногенного характера на водные ресурсы и почвы.



Рис. 4.14. Направления методов биотехнологии
в промышленном секторе экономики

Загрязнение окружающей среды проявляется на живой материи. Адаптируясь к условиям техногенной среды, последние (особенно микроорганизмы) биохимически преобразовываясь, приобретают способность к трансформации ксенобиотиков. Именно поэтому объектами биотехнологии являются сообще-

ства живых организмов, обитающих на территории природно-промышленного комплекса.

В различных отраслях промышленности широко практикуются методы биотехнологии следующего характера:

1. Методы *биореконструкционных* технологий – это методы биотехнологии, направленные на восстановление санитарных норм окружающей среды и воссоздание на основе «зеленых» принципов материальной структуры экосистемы в целом.

2. Методы *биопроизводственных* технологий – это методы биотехнологии, направленные на производство промышленной продукции по отраслям.

На рис. 4.14 дана упрощенная схема, указывающая на особенности развития методов биотехнологии в промышленном секторе экономики.

Как следует из рис. 4.14, биореконструкционные технологии в большей части основаны на применении сообществ живых организмов, биопромышленные технологии – на использовании отдельных видов.

Республика Казахстан занимает 9-е место в мире по территории (2 724,9 тыс. кв. км), плотности населения (на 1 кв. км – 5,5 чел.).

Обширность территории имеет большое биосферное значение, а большие участки неосвоенных земель говорят о большом экологическом потенциале страны. В недрах казахстанской земли из 105 элементов таблицы Менделеева выявлено 99, разведаны запасы по 70, вовлечено в производство более 60, известно около 500 месторождений, содержащих 1225 видов минерального сырья. По залежам нефти Казахстан занимает 13-е место в мире.

4.3.1. Экономические районы Казахстана

Казахстан состоит из пяти крупных экономических районов (табл. 4.5).

Как видно из табл.4.5, основным источником экономического роста экономики является добыча полезных ископаемых.

Таблица 4.5

Экономические районы Казахстана

№ п/п	Район Казахстана	Развитие экономики
1	Северный	Энергетика, добыча железной руды и каменного угля, производство нефтепродуктов и ферросплавов, машиностроение. Зерновое хозяйство
2	Восточный	Цветная металлургия, машиностроение, энергетика, лесное хозяйство
3	Западный	Крупнейший нефтегазодобывающий регион, машиностроение, приборостроение, производство строительных материалов
4	Центральный	Чёрная и цветная металлургия, машиностроение, животноводство
5	Южный	Цветная металлургия, приборостроение, лёгкая и пищевая промышленность, сельское, рыбное и лесное хозяйство

4.3.2. Промышленная группировка полезных ископаемых

Промышленная группировка полезных ископаемых представлена в табл. 4.6.

Таблица 4.6

Промышленная группировка полезных ископаемых

Виды полезных ископаемых	Руда / Сырье	Примеры
Металлические	черные руды	Fe, Mn, Cr
	руды легирующих тугоплавких металлов	Ti, V, W, Mo, Ni, Co
	руды цветных металлов	Al, Cu, Pb, Zn, Mg, Sn, Bi, Sb, Hg
	драгоценные металлы	Au, Ag, Pt и платиноиды Ru, Rh, Pd, Os, Ir
	руды металлов радиоэлектроники и ядерно-космической техники	редкие – *литофильные легкие* (Be, Li, Cs, Rb, Sr); *тяжелые* (Nb, Ta, Zr, Hf) и лантаноиды – (TR); халькофильные (Cd, Ge, Ga, In, Re, Tl, Te, Se); сидерофильный (Sc)
	руды радиоактивных металлов	U, Th

Продолжение табл. 4.6

Виды полезных ископаемых	Руда / Сырье	Примеры
Неметаллические	индустриальное (горно-рудное) сырье	алмазы и драгоценные самоцветы; магнезит; графит; барит; слюда; флюорит; асбест
	горно-химическое и агрономическое сырье	минеральные соли; серное сырье; фосфатное сырье
Неметаллические	сырье для производства строительных материалов	глины; песок; каолины; гравий; гипс; песчаники и кварциты; ангидрит; магматические и метаморфические породы; кремнистые и карбонатные породы
Горючие (каустобиолиты)	группа углеродного сырья	сапропель, торф, ископаемые угли, горючие сланцы
	группа углеводородного сырья	нефть, газ, твердые битумы

Как видно из табл. 4.6, различают металлические, неметаллические и горючие полезные ископаемые.

Металл в руде редко встречается в чистом виде, большей частью он находится в виде химических соединений – *рудных минералов*. Например, железо находится в руде в виде гематита (Fe_2O_3); свинец – в виде галенита (PbS); олово – в виде касситерита (SnO_2) и т. д.

Рудные минералы в руде обычно смешаны с другими минералами, не представляющими промышленной ценности. Эти сопутствующие минералы принято называть *рудной породой*.

По сходству технологического процесса добычи можно выделить следующие группы месторождений полезных ископаемых: нефти и газа, торфа, угля и горных сланцев, рудные и нерудные месторождения, рассыпные месторождения.

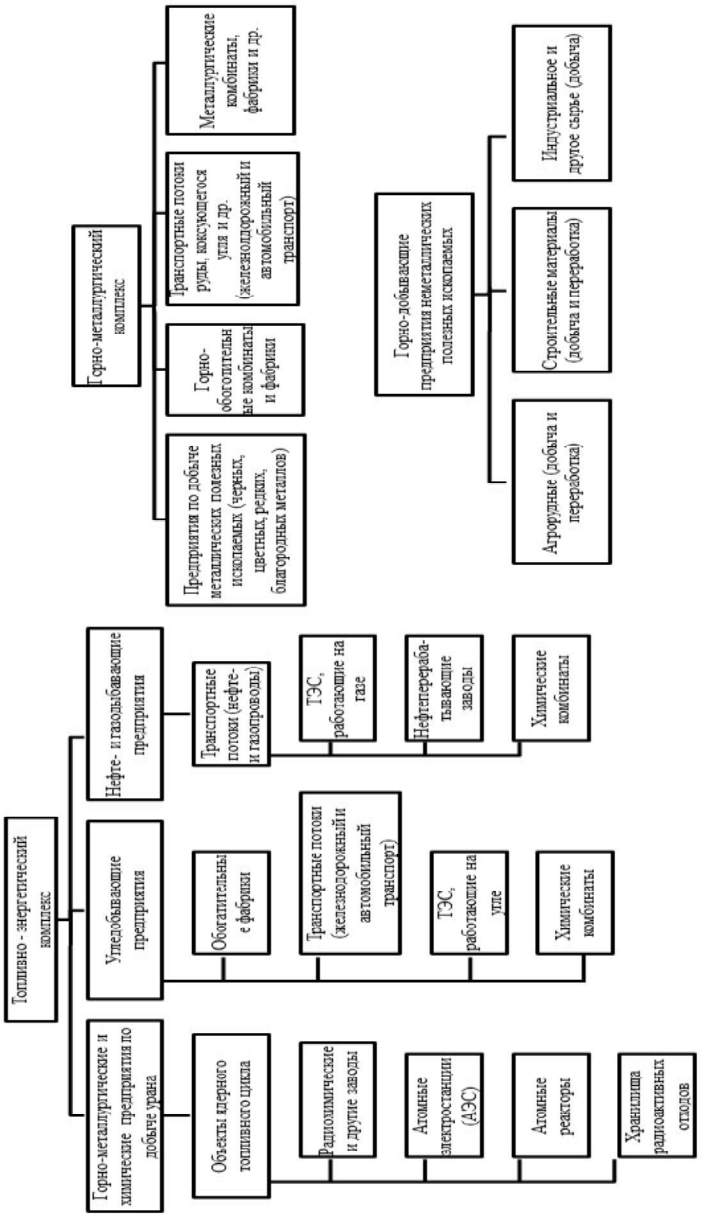


Рис. 4.15. Структура топливно-энергетического и горно-металлургического комплексов (по Еликбаеву Б.К., Мусиной У.Ш., Джамаловой Г.А., 2014)

4.3.3. Качество полезных ископаемых

Требования к качеству полезного ископаемого выражаются в форме *кондиций*, *технических условий* и *государственных стандартов*.

Основным показателем кондиций на руды является, обычно, минимально допустимое промышленное содержание полезных компонентов. Различают, например, богатые, бедные и убогие руды. Например, богатые железные руды (магнетитовые, бурые железняки, железистые кварциты) содержат 45–64 % железа. Богатые медные руды содержат более 2% меди, бедные – менее 1%. Иногда сорта руды различают по содержанию вредных компонентов. Различные сорта могут перерабатываться как совместно по единой технологии, так и раздельно.

Снижение содержания полезного компонента или повышение содержания вредных компонентов, увеличение влажности, изменение гранулометрического состава приводят часто к значительному увеличению затрат на его переработку и существенному снижению эффективности конечной товарной продукции.

На рис.4.15 представлена принципиальная структура топливно-энергетического и горно-металлургического комплексов.

Контрольные вопросы

1. Опишите блок-схему формирования сообществ под воздействием техногенеза и биотехнологии.
2. Что собой представляют субъекты биотехнологии?
3. Что подразумевается под понятием «триадаразвития нашей планеты»?
4. Виды техногенного вмешательства человека в биосферу и пути биотехнологических решений.
5. Составляющие искусственных экосистем и отличия от природных.
6. Входы и выходы в экосистему или жизненный цикл продукции, производимой в ППК.
7. Объекты биореконструкционных технологий.
8. Природно-промышленные комплексы Казахстана как субъекты биотехнологии.

5. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ

5.1. Энергетика как субъект биотехнологии

Казахстан – обладатель крупных запасов энергоресурсов (нефть, газ, уголь, уран) и нетто-импортер электроэнергии (экспорт в Россию на севере и импорт у Киргизии и Узбекистана на юге).

В табл. 5.1 дается краткая характеристика электростанций, имеющихся в Казахстане. По данным системного оператора единой электроэнергетической системы Казахстана (KEGOC) производство электрической энергии в стране осуществляют 72 электростанции различной формы собственности.

Таблица 5.1

Краткая характеристика электростанций Казахстана

Суммарная установленная мощность	Выработка электроэнергии	
	по типу электростанций	из топлива
От всех электростанций Казахстана: 19,0 (2011) – 19,4 (2012) – 19,6 (2013) гВт	ТЭС(тепловые электростанции) – 87,7 %	угля 70 %, гидроресурсов 14,6 %, газа 10,6 %, нефти 4,9 %
	КЭС(конденсационная электростанция) – 48,9 %	
	ТЭЦ(теплоэлектроцентраль)– 36,6 %	
	ГТЭС(газотурбинная электростанция)– 2,3 %	
	ГЭС (гидроэлектростанции)– 12,3 %	

В табл. 5.2 дана краткая характеристика энергетических комплексов Казахстана.

Таблица 5.2
Краткая характеристика энергетических комплексов Казахстана

Энергетика	Основной объем электроэнергии вырабатывается	Ресурсы	Крупнейший в Казахстане
Тепловая	37 тепловыми электростанциями	Угли Экибастузского, Майкубинского, Тургайского и Карагандинского бассейнов	ГРЭС–1 Экибастуза (8 энергоблоков), располагающая на 2015 г. мощностью 3500 мВт
Гидроэлектроэнергия	Мощность всех гидроресурсов страны составляет 170 млрд. кВт·ч	Основные реки: Иртыш, Или, Сырдарья	ГЭС: Бухтарминская, Шульбинская, Усть-Каменогорская (на реке Иртыш) и Капчагайская (на реке Или), обеспечивают 10 % потребностей страны
Атомная	В настоящем не используется. Рассматривается вопрос о строительстве АЭС, мощностью 600 МВт в г. Актау	Запасы урана оценены в 900 тыс.тонн: основные залежи находятся в ЮКО, Кызылординской области, на западе Мангистау, на севере Казахстана (месторождение Семизбай)	1973–1999 гг. функционировала в г.Актау с реактором на быстрых нейтронах с мощностью 350 МВт
	В 2018 году ожидается начало строительства в Казахстане 2 АЭС: в ВКО (г. Курчатов) и Алматинской области (п. Улькен)		

Следует в дополнение к табл. 5.2 отметить, что потребителями электроэнергии являются промышленность (68,7%), частный сектор (9,3%), сектор услуг (8,0%), транспорт (5,6%) и сельское хозяйство (1,2%). При передаче и распределении электроэнергии имеются большие потери – 21,5 %.

5.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в энергетике

Основными предпосылками для внедрения методов биотехнологии в энергетический сектор промышленности являются, с одной стороны, особенности данной отрасли, связанные с мощной техногенной нагрузкой на окружающую среду, с другой – современные приоритеты, направленные на использование альтернативной возобновляемой энергии.

Предпосылки для внедрения биореконструкционных технологий в энергетику:

1. Предпосылки для внедрения биореконструкционных технологий в теплоэнергетику.

1.1. По типу электростанций теплоэнергетика является основным загрязнителем окружающей среды (порядка 30 % от общего объема загрязнений приходится на теплоэнергетику) [81, 82].

По загрязнению атмосферы теплоэнергетика находится на первом месте среди всех промышленных отраслей Республики Казахстан.

Основные компоненты загрязнений с указанием стоимости ущерба от загрязнения атмосферы ТЭС представлены на рисунках 5.1 – 5.4.

Теплоэлектроцентраль(ТЭЦ)– разновидность ТЭС, которая не только производит электроэнергию, но и является источникомтепловой энергиив централизованных системах теплоснабжения (в виде параи горячей воды, в том числе и для обеспечения горячего водоснабжения и отопленияжилых и промышленных объектов).

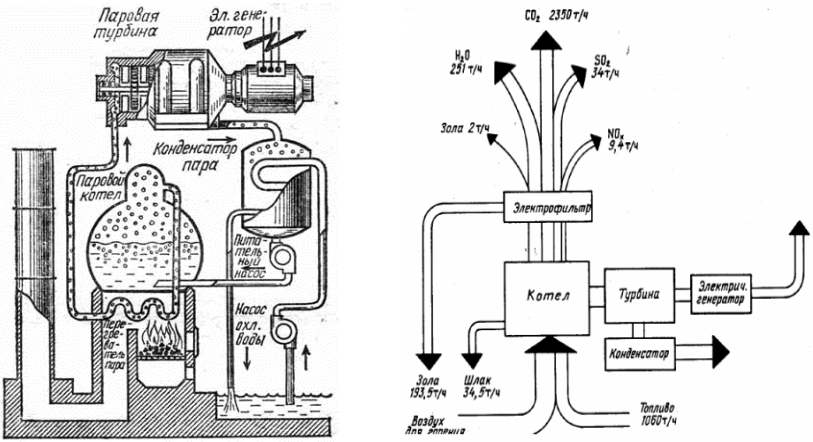


Рис. 5.1. Упрощенная схема ТЭЦ как источника загрязнения окружающей среды и субъекта биотехнологии

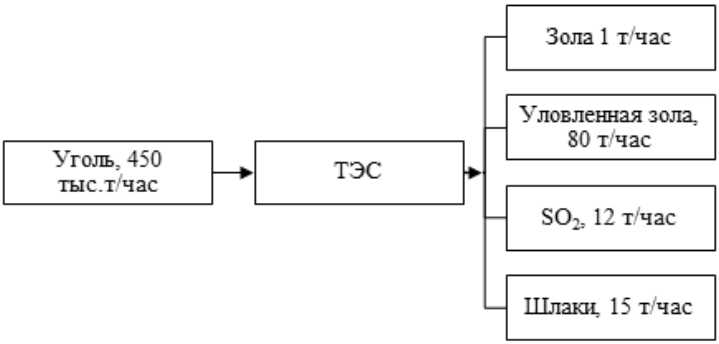


Рис. 5.2. Техногенный поток на ТЭС

Как видно из рис. 5.1–5.4, применение биореконструкционных технологий очистки атмосферы от выбросов ТЭС является актуальным. Ниже рассмотрены основные объекты биореконструкционных технологий защиты атмосферы.

Биореконструкционные методы газоочистки основаны на способности микроорганизмов разрушать и преобразовывать различные соединения. Поглощение и обезвреживание вредных примесей, содержащихся в воздухе при биореконструкции, осуществляется за счет жизнедеятельности микроорганизмов.

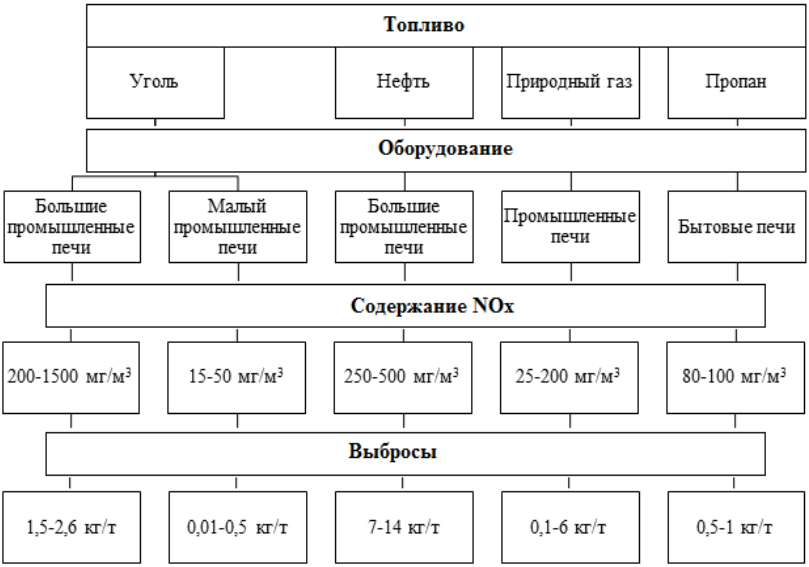


Рис. 5.3. Содержание некоторых загрязняющих веществ (оксидов азота) в продуктах сгорания

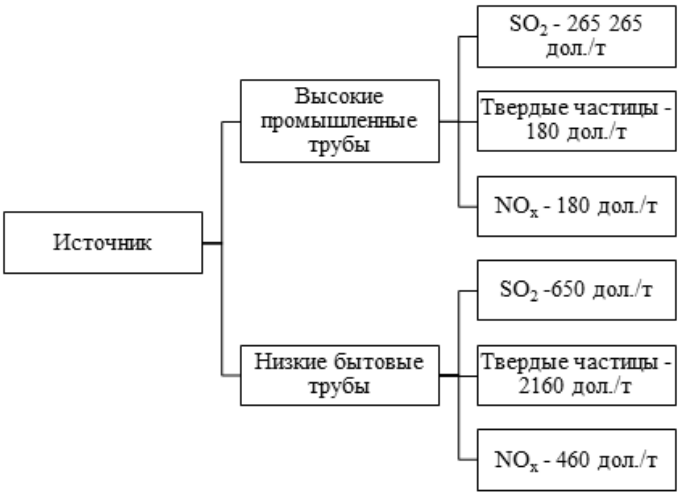


Рис. 5.4. Стоимость ущерба от загрязнения (высокие и низкие источники)

Для комплексной очистки выделяемых из ТЭК газов чаще всего в биофильтрах разной конструкции в качестве фильтрующего материала используют активный ил (табл. 5.3).

Таблица 5.3

Активный ил как объект для биореконструкционных технологий

Определение и особенность	Биоценоз активного ила и биопленки	Визуальная характеристика	Область применения
Биоценоз естественного и искусственного происхождения.	Включает бактерии, актиномицеты, грибы (в основном плесневые многоклеточные, например,Fusarium, одноклеточные, например,Mucor и дрожжи), простейшие (в основном классы: саркодовые, жгутиковые, ренснитчатые и сосущие инфузории). Из бактерий: Pseudomonas, Zoogloea, Flavobacterium, Achromobacter, Alcaligenes, Arthrobacter, Bacillus, Bacterium, Brevibacterium, Caulobacter, Hyphomicrobium, Bdellovibrio, Sphaerotilus, Nocardia и некоторых других	Субстанция из буро-желтых или темно-коричневых хлопьев размером от 3 до 150 мкм, взвешенных в воде и состоящих из живых организмов (70%) и твердых частиц неорганической природы	Очистка газов и сточных вод

Химический состав активного ила зависит от микробиологического состава [64, 65]

Сухое вещество активного ила состоит из органической части и золы и представляет собой примеси, присутствовавшие в исходной сточной воде и трансформированные в биомассу, а также вещества, адсорбированные хлопьями активного ила.

Элементный состав органической части активного ила высоко вариабелен и зависит от состава сточных вод, возраста, технологического режима очистки и может существенно изменяться:

Углерод – 50–52 %;
Кислород – 29–33 %;
Водород – 6–8 %;
Азот – 8–12 %.

Соотношение элементов в активном иле представлено в виде "формулы" клеточного вещества $C_5P_7NO_2$.

Химический состав активного ила. Из органических веществ приходится примерно на:

- белок от 40 до 60%,
- жиры – от 10 до 30 %,

углеводы– от 3 до 20 %.

Зольность колеблется в пределах от 10 до 40 % (P, S, K, Na, Ca, Mg, Fe и т.д.).

В целом следует отметить, что метод биореконструкции экосистемы основан на способности некоторых видов микроорганизмов использовать загрязняющие вещества в качестве своего питания.

1.2. Отходы ТЭС. При использовании твердого топлива (каменный, бурый уголь; торф; горючие сланцы) образуется большое количество золошлаков (табл. 5.4; 5.5). Их количество находится в прямой зависимости от величины зольной части исходного топлива.

Таблица 5.4

Состав и компоненты золошлаков

Ориентировочный химический состав золошлаков, %	Физико-химические свойства золы	Компоненты золы
SiO_2 50–60 Al_2O_3 25–33 CaO 0,5–1,5 CaO 0,5–1,5 Fe_2O_3 3–5	Потери при прокаливании (вода, недожог) 1–5 % Плотность золошлаков 2 –2,5 г/см^3 Удельная поверхность 1500–1600 см^2/г	1. Глинистое вещество (муллит $3Al_2O_3 \cdot SiO_2$, силиманит $Al_2O_3 \cdot SiO_2$);2. Стеклофаза; 3. Кварц (SiO_2); 4. Магнетит (Fe_3O_4); 5 Гематит (Fe_2O_3); 6. Силикаты, сульфаты, карбонаты кальция, магния; 7. CaO; 8. Частицы несгоревшего топлива (недожог) 9. Ge, Mo, Ga, Sc (в некоторых месторождениях угля)

Таблица 5.5

Среднее содержание металлов в золе от сжигания углей

Металл	г/тонна	Металл	г/тонна
скандий	60	галлий	100
германий	500	кобальт	300
молибден	50–200	никель	700

В состав золошлаков входит зола (порошковый пылевидный материал, улавливаемый из дымовых газов; размер фракций: 0,01–0,1 мм), шлак (кусковой сыпучий материал с крупностью частиц до 40 мм) и золошлаковая смесь (образуется при совместном удалении золы и шлака гидротранспортом). Зола в зависимости от способа улавливания – *сухая* или *мокрая* (оксиды железа, известь, силикаты, алюмосиликаты, недожог (до 10 %), стеклянные микросферы (до 70 %). Усредненное соотношение золы и шлака 4:1.

Шлаки: близки к металлургическим (доменным шлакам): силикаты, ферриты, алюминаты, алюмосиликаты ($CaO \cdot Al_2O_3 \cdot SiO_2$).

*Утилизация шлаков.*Из существующих 400 технологий практикуются всего 20, которые позволяют использовать материал в дальнейшем производстве: в строительной индустрии использование шлаков (добавки к цементу, бетону); извлечение редких металлов; в строительстве дорог (шлакоблоки, дорожные покрытия; шлаки используются вместо гравия) для производства тротуарной плитки; используются как сырье для получения алюминия.

Биотехнология утилизации шлака после ее предварительной подготовки предполагает использование биовыщелачивающих технологий для получения редкоземельных (лантан, скандий, иттрий) и благородных (золото, серебро) металлов [5-8, 15-17, 99].

Объектами для данной технологии служит биомасса серо- и железоокисляющих микроорганизмов с доминированием бактерий рода *Acidithiobacillales*.

Тионовые бактерии (30–60^{o}C), представленные родом *Thiobacillus* – используют процесс окисления серы для получения клеточной энергии. Это одноклеточные организмы разной морфологии и размеров; бесспоровые. Размножаются делением или почкованием. Имеют клеточную стенку грамотрицательного типа. Например,

- Железобактерии:

Leptospirillum ferrooxidans и *Thiobacillus ferrooxidans* принадлежат к облигатным хемолитоавтотрофам, использующим энергию окисления железа для ассимиляции CO_2. *Leptospirillum ferrooxidans* – клетки маленькие, в виде изогнутых палочек. Данный грамотрицательный микроорганизм не образует спор. Движение осуществляется посредством единственного жгутика. Растет в кислых условиях на минеральной среде, содержащей Fe^{2+}.

Ferroplasma acidiphilum – мезофильный ацидофильный железоокисляющий, не имеющий клеточной стенки архей. Это строго хемолитотрофный аэробный микроорганизм, представленный грамотрицательными неправильными кокками, изменяющими свою форму от сферической до филаментной.

- Серобактерии:

Acidithiobacillus caldus. Это умеренно термофильная серо-окисляющая бактерия, активно развивающаяся при температурах 40–50°С, не способная окислять железо (II). Аэроб, грамотрицательный и хемолитоавтотрофный микроорганизм.

Sulfobacillus acidophilus – хемолитотрофная грамположительная палочкоообразная умеренно термофильная бактерия. Растет автотрофно и миксотрофно на двухвалентном железе, элементной сере в присутствии экстракта дрожжей и гетеротрофно на экстракте дрожжей.

1.3. Сточные воды. На ТЭС образуются различные виды сточных вод, среди которых минеральные воды химводоочистки (ХВО), от обмывки оборудования и мытья полов, смывные золосодержащие стоки, промливневые и др.

Биотехнологические методы возможны для решения проблем очистки сточных вод как локально, так и непосредственно на золоотвалах, а также хозяйственно-бытовых сточных вод локально [5-8, 15-17].

Объекты биотехнологии при биоокислении органических отходов и стоков.Аэробное окисление органических отходов и коммунальных стоков осуществляются сообществом микрофлоры и микрофауны, представленных в табл. 5.6. Процесс их ферментативной активности завершается производством биокомпоста, который может с успехом использоваться в качестве биоудобрений [115, 121, 125].

Из табл. 5.6 следует, что при аэробном окислении отходов принимают участие более 2000 видов бактерий и не менее 50 видов грибов. Диапазон их функциональной активности находится в интервале 20–40°С (мезофилы) и свыше 40°С до +60°С (термофилы).

При биокомпостировании особая роль принадлежит олигохетам (класс кольчатые черви) семейства «дождевые черви», обитающие в почве (табл. 5.7).

Таблица 5.6

Объекты биотехнологии при биоокислении органических отходов и стоков

Показатель	Стадии аэробного биоразложения			
	Мезофильная	Термофильная	Остывания	Созревания
Общая характеристика	Подкисление	Повышение температуры	Автолиз	Производство гуминовых кислот
Продолжительность	до 4–6 дней	до 2-х мес.	3–6 месяцев	1,5 – 4 мес.
Биоразложению подвержены	сахара, крахмал, жиры, белки	целлюлозы, лигнины, танины и меланины	полисахариды, целлюлоза	остатки лигнина
Микробиологическая активность	Мезофилы	Спорообразующие. Термофилы	Факультативные анаэробы (грибы, актиномицеты)	Актиномицеты, бациллы, олиготрофные бактерии
Продукция	Выделение тепла до 50 – 60 ^{o}C)	Равновесие между выделением и потерей тепла	Стабильность массы	Зрелый компост

Таблица 5.7

Дождевые черви, как объекты биотехнологии [22]

Общая характеристика	Система-тика	Значение в природе	Производитель-ность
Размеры: 0,3–40 см. Число сегментов 80–300. Гермафродиты. Химический состав биомассы червей: жиры до 6, протеины до 54, гликоген до 17,5, зола 23 %. Продолжительность жизни в искусственных условиях: до 6–10 лет. Каждая особь откладывает кокон с 1–2 яйцами через каждые 7–10 суток	Общее число видов в семействе 1500	Гумификация почвы, повышают их плодородие, рыхлят почву, следовательно, способствуют аэрации и увлажнению слоя земли. В результате их жизнедеятельности объем почвы увеличивается на 15–30 %. Оптимальные условия почвы: pH почвы 7,2–7,5; температура от +5 до +20 °С, влажность 25–90 %	В 1 га площади почв количество переработанной ими почвы равно примерно 6 т (при учете, что на 1 м^2 обитает примерно 600 червей со средним весом 1 г)

Из табл. 5.7 следует, что разведение дождевых червей (вермикультура) позволяет:

- переработать различные виды органических отходов в качественное экологически чистое удобрение – биогумус;

- благодаря плодовитости червей можно наращивать их биомассу для использования в качестве кормовых добавок к рациону сельскохозяйственных животных и птицы.

2. Предпосылки для внедрения биотехнологии в атомную энергетику:

Атомная энергетика (рис. 5.5) хоть и считается наиболее дешевым и экологичным видом энергетики, однако является источником опасных радиоактивных отходов производства и сточной воды. На их захоронение и обезвреживание требуются большие капиталовложения.

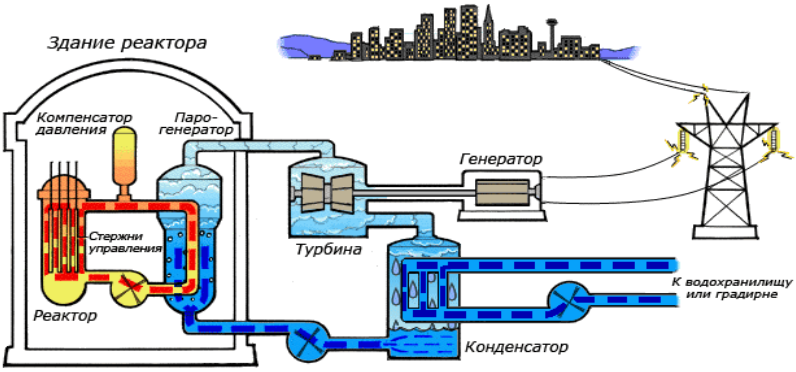


Рис. 5.5. Схема работы атомной станции

Биотехнологические методы возможны для решения проблем очистки низкорадиоактивных сточных вод, а такжехозяйственно-бытовых сточных вод локально. Также биотехнологическими методами осуществляется извлечение урана как сырья для АЭС.

Thiobacillus ferrooxidans – это объект биогеотехнологии, используемый для выщелачивания урансодержащих руд и для извлечения урана из выщелачивающего раствора. Краткие биологические и культуральные особенности данной культуры описаны выше.

3. Предпосылки для внедрения биотехнологии в гидроэнергетику:

Гидроэнергетика является наиболее экологичным видом энергетики. Однако под воздействием ГЭС оказываются огромные территории, занятые водохранилищем, которое является искусственной экосистемой и не может функционировать без поддержки человека.

Биотехнологические методы возможны для решения проблем очистки хоз-бытовых сточных вод в составе городских сточных вод или локально, а также для оздоровительного и декоративного озеленения территорий и санитарно-защитных зон.

Предпосылки для внедрения биопроизводственных технологий в энергетику[81, 82]***:***

Нетрадиционные возобновляемые источники энергии включают 0,2 % суммарной выработки электроэнергии. Ветровая энергетика также, как и Солнечная,в Казахстане развита слабо, однако для этого есть подходящие природные условия. Например:

- в районе Джунгарских ворот и Чиликского коридора, где средняя скорость ветра составляет от 5 до 9 м/с;

- годовая длительность солнечного света составляет 2200–3000 ч в год, а оцениваемая мощность 1300–1800 кВт на 1 м² в год.

В Жамбылской области введена в эксплуатацию первая в Казахстане ветроэлектростанция – Кордайская ВЭС (первая очередь), мощность 9 МВт.

Проекты ВЭС: Жанатасская ВЭС мощностью до 400 МВт (Жамбылская область). Шокпарская ВЭС – мощность 200 МВт (Жамбылская область), Ерейментауская ВЭС мощностью 45 МВт.

В табл. 5.8 приведен перечень солнечных и ветряных электростанций.

Таблица 5.8

Солнечные и ветряные электростанции Жамбылской области Казахстана

Название	Собственник	Вид	Мощность, МВт
Кордайская ВЭС	ТОО «Vista-International»	ВЭС	9,0
ВЭС «К-1»	ТОО «Изен-Су»	ВЭС	1,6
СЭС Отар	ТОО «КазЭкоВатт»	СЭС	0,5

Проект KazPV (2010) направлена на создание полного вертикально-интегрированного производства фотоэлектрических модулей на основе казахстанского кремния:

- KazSilicon добывает кремний в городе Уштобе (Алматинская область);

- Kazakhstan Solar Silicon в Усть-Каменогорске осуществляет переработку сырья и производит кремниевые ячейки;

- Astana Solar в Астане осуществляет последнюю степень передела – сборка фотоэлектрических модулей.

Жамбылская область Кордайский район (2012)– введена в эксплуатацию первая очередь солнечной электростанции «Отар», мощностью 504 кВт (проектная мощность – 7 МВт).

Проект Капшагайская СЭС (Алматинская область) мощностью 2 мегаватт, реализованная дочерней компанией АО «Самрук-Энерго» ТОО «Samruk-Green Energy», использует технологию слежения за солнцем.

5.3. Объекты биоэнергетики

Энергетический потенциал биомассы. К возобновляемым источникам энергии наравне с энергией Солнца, ветра, воды, геотермальной энергии Земли относят энергию биомассы.

Различают три поколения биомассы:

1. Классическая биомасса, когда топливо производится в процессе ферментации пищевых источников углеводов. Из растительного сырья производят спирты (этиловый, метиловый), синтетическую нефть, пиролитическое топливо и биогаз.

2. Биомасса органических отходов, в данном случае топливо также производится за счет ферментации отходов сельскохозяйственного производства и отходов коммунальных хозяйств, т.е. отходов потребления. Из углеродсодержащих отходов получают биогаз, биоэтанол, биобутанол.

3. Эффективная выращиваемая биомасса, когда ожидается, что процесс выработки кислорода и углеводов из исходного углеродного сырья – углекислого газа и энергии Солнца (фотосинтез) будет реализован на уровне замкнутого промышленного цикла (рис. 5.6).

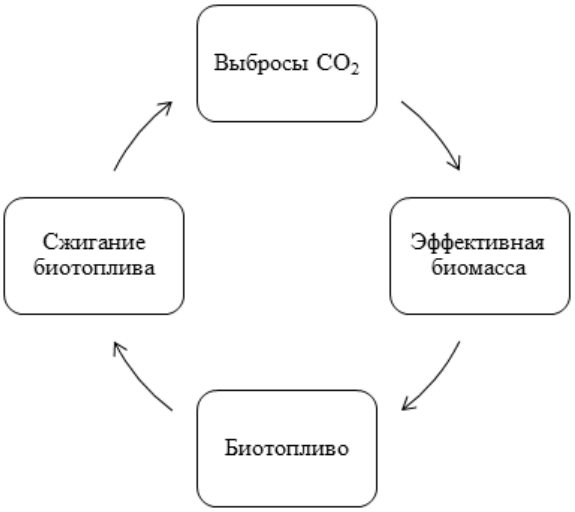


Рис. 5.6. Блок-схема производства эффективной биомассы

Биомасса – совокупность биоорганической материи биогеоценоза определённого уровня.

Биоорганическая материя континентальной части Земли составляет 2420 млрд. т:

- 2400 млрд. т. биомасса растений;
- 20 млрд. т – биомасса животных и микроорганизмов, из них 350 млн.т. – биомасса людей;
- 3,2 млрд. т – океанов, из них 3,0 млрд. т. биомасса растений и животных, 0,2 млрд. т – биомасса растений.

Следовательно, полная биомасса Земли оценивается от $2{,}4 \cdot 10^{12}$ до 10^{14} тонн.

Процесс полного обновления биомассы происходит от 1–3 сут. (фитопланктон, к которым относят цианобактерии и одноклеточные водоросли) до 50 лет (растительность суши).

Биомасса биосферы в процессе фотосинтеза образует до 150 млрд. т сухого органического вещества. Высокопродуктивными в континентальной части биосферы являются тропические и субтропические леса, в океане – рифы, эстуарии (устья рек, расширяющиеся в сторону моря) и апвеллинги (зоны подъема

глубинных вод), низко продуктивными – пустыни и тундры и открытый океан соответственно.

Из вышеизложенного следует, что биомасса – это:

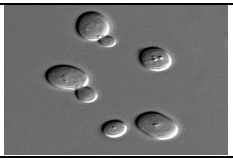
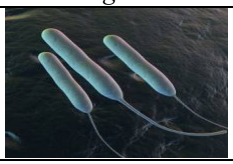
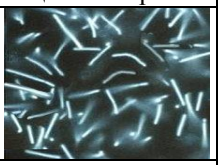
- возобновляемый ресурс: ежегодный процесс образования биомассы составляет примерно 170 млрд. т;

- источник энергии: из биомассы производят тепло, электроэнергию, биотопливо, биогаз (биометан, биоводород), ежегодно получают более 500 млн. тонн у. т.

Продуценты биоэнергии, как объекты биотехнологии. С точки зрения биоэнергетики интерес представляют такие объекты биотехнологии, которые продуцируют возобновляемую энергию в процессе ферментации (табл. 5.9).

Таблица 5.9

Продуценты биоэтанола, биодизельного топлива и биогаза

Показатель	*Saccharoniyces cerevisiae*	*Pseudomonas aeruginosa*	Метанобразующие бактерии
Микрофотография			
	http://en.wikipedia.org	http://bioquellus.studiorepublic.com	https://ru.wikipedia.org
Биология	Пекарские дрожжи, сахаромицеты. неподвижные крупные округлые, размером 5/6x10/14 мкм. Размножаются почкованием и спорами. По Граму окрашиваются положительно	Аэроб. Грамотрицательная подвижная палочка с одним жгутиком. Размер: (0,5–0,7)×(1–3) мкм.	Археи. Число видов достигает более 40. Размеры: от 0,1 до 15 мкм

Продолжение табл. 5.9

Показатель	*Saccharoniyces cerevisiae*	*Pseudomonas aeruginosa*	Метанобразующие бактерии
Экология	Обитают в субстратах, богатых сахарами	В нефть загрязненных почвах	На свалках, в горячих источниках, пищеварительный тракт животных
Ферментационный процесс (основные)	Сбраживают сахара: биоэтанол синтезируется через гликолиз	Слабая сахаролитическая и высокая протеолитическая активность. Утилизирует 2-кетоглюконат	Метаногенез. Получают энергию за счет восстановления CO_2 молекулярным водородом. Продуценты витамина B_{12}
Культуральные свойства	На дрожжевом экстракте с глюкозой, при температуре 30 °С, pH 4,5–5	Появление через 24 ч сине-зеленого окрашивания культуры с последующим проникновением пигмента (пиоцианина) в питательную среду	Строгий анаэроб, температура 30–60 °С, pH 7,5–8,5
Биотехнологическая ниша	Молекулярная биотехнология, пищевая биотехнология, биоэнергетика	Экобиотехнология, биоэнергетика	Биотехнология переработки органических отходов

Из таблицы 5.9 видим, что продуценты:

1. Биоэтанола: дрожжи Saccharoniyces cerevisiae (гликолиз), Zymomonosmobilis (путь Энтнера-Дудорова), термофильные анаэробные бактерии Thermoanaerobacter ethanolicus.

Биоэтанол – этанол, получаемый в процессе ферментационной переработки растительного сырья.

2 Биодизельного топлива: Rhizopus oryzae, Pseudomonas aeruginosa.

BTL-технология (biomass-to-liquids), процесс преобразования отходов биомассы или бытовых отходов в высоколиквидные более высокие качества биодизельное топливо.

Биодизельное топливо – это биотопливо, получаемый в процессе биокатализа растительных или животных жиров (масел).

3. Биогаза: метанобразующие бактерии.

Биогаз – это газ, являющийся продуктом водородного или метанового брожения биомассы. Процесс образования биогаза происходит с участием в хронологическом порядке трех видов продуцентов: вначале функционируют гидролизные бактерии, затем – кислотообразующие и далее – метанообразующие. В промышленности биогаз производят на полигонах в процессе твердофазной ферментации органических отходов.

Биогаз состоит из 50–70 % CH_4, 10–50 % CO_2 и микропримесей H_2 и H_2S.

Биометан получают после очистки биогаза от CO_2. Биометан – это аналог природного газа, отличающийся только происхождением.

4. Биоводорода: Hydrogenomonas, Rodobacter speriodes, Enterobacter cloacae.

Биоводород – это разновидность биогаза, где конечным продуктом жизнедеятельности бактерий является вместо метана водород.

Как видно из табл. 5.9, наиболее часто используемыми микроорганизмами для производства биоэтанола является *Saccharoniyces cerevisiae*, биодизельного топлива – *Pseudomonas aeruginosa* и биогаза (метана) – метанобразующие бактерии.

5.4. Объекты биореконструкционных технологий в энергетике

Исходя из рассмотренных предпосылок в энергетике основные биорегенерационные технологии направлены на очистку загрязняющих веществ атмосферы и почвы, очистку хозяйственно-бытовых стоков, очистки низкорадиоактивных стоков и биовыщелачивания урана, биовыщелачивания алюминия и утилизацию ТБО. При биовыщелачивании используются монокуль-

туры, тогда как при очистке и утилизации – сложное сообщество культур. Далее рассматриваются объекты биотехнологии для энергетических комплексов [34].

Объекты биотехнологии для производства возобновляемых источников энергии. Объектами биотехнологии для производства возобновляемых источников энергии служат метаногены (биогаз) и водоросли (биомасса).

Метаногены. При производстве биогаза на полигонах, как возобновляемого источника энергии, используют аборигенные микроорганизмы, которые в условиях свалочного тела полигона (геобиореактора) осуществляют анаэробное разложение органических отходов.

«Мощность» образования ТБО. По оценкам, население мира производит до 1,3 млрд. т ТБО в год или 1,2 кг ТБО на человека в сутки, при этом следует отметить, что производство ТБО ежегодно увеличивается в расчете на человека примерно на 0,5–1,5 % – 1–4 % по объему или на 0,2–0,4 % – 0,3–0,5 % по массе.

Объем рынка в натуральном выражении для биогаза: выход биогаза составляет 0,600 $м^3$/кг ТБО с содержанием метана 50 %. Из 1 $м^3$ биогаза, как коммерческого продукта, получают от 1,6 до 2,3 кВт·ч электроэнергии. 1$м^3$ биогаза с содержанием 60 % метана дает примерно 22 МДж, а 70% – 25 МДж энергии. Например, при полном энергопотреблении станции 15,1 млн. кВт·ч в год за счет работы мотор-генераторов на биогазе производят в год 15,6 млн. кВт·ч энергии.

Объекты биотехнологии, участвующие в процессах анаэробной биорегенарации органических отходов, представлены в табл. 5.10.

В табл. 5.10 дается характеристика анаэробным микроорганизмам при метановом брожении. Процесс их ферментативной активности завершается производством биогаза, в составе которого до 80 % находится метан, до 20 % – углекислота и менее 1 % – сероводород.

Оптимальными для метаногенеза условия при твердофазной ферментации – 36–60 ºС, pH 7,5 – 8,5, влажность до 45–50 %.

Таблица 5.10

Сообщество микроорганизмов, как объект биотехнологии при анаэробном брожении органических отходов

Сообщество микроорганизмов	Стадия брожения	Описание процесса
Факультативные анаэробы	Ферментативный гидролиз	сложные органические соединения (жиры, белки, углеводы) образуют простые растворимые органические соединения
Гетерогенное	Кислото-образования	Выделение летучих жирных кислот, аминокислот и спиртов
Ацетогенное	Ацетогенная	Образуется уксусная кислота
Метаногенные строгие анаэробы	Метаногенная	Образование метана

Метаногенное сообщество бактерий играет важную роль в круговороте веществ и энергии в природе, ассимилируя двуокись углерода, окись углерода и водород и образуя из них углеводород, метан и свою биомассу.

Водоросли. Это главные производители органических веществ в воде. Значение водорослей для биотехнологии трудно переоценить. Их используют для:

- получения биомассы на топливо;
- в экспериментальных исследованиях для решения проблем фотосинтеза;
- для создания круговорота веществ в обитаемых отсеках космического корабля (хлорелла);
- для получения из морских водорослей в химической промышленности агар-агара, целлюлозы, спирта, уксусной кислоты;
- в кормопроизводстве: для получения корма и кормовой муки, содержащую микроэлементы и йод;
- для очистки сточных вод;
- для производства удобрений.

В табл. 5.11 дана краткая характеристика водорослям, как объектам биотехнологии.

Таблица 5.11

Водоросли как объекты биотехнологии [44, 45, 83, 84, 89, 90]

Систематика	Общая характеристика	Особенность
Гетерогенная группа, более 100 тыс. видов. Из-за различий в наборе пигментов, структуре хроматофора, особенностей морфологии и биохимии выделяют 11 отделов водорослей:	Клетки (за исключением амёбоидного типа) покрыты клеточной стенкой. Выделяют несколько основных типов организации таллома	Хлоропласты имеют различную форму
Прокариоты. Царство Бактерии (Bacteria). Подцарство Цианобактерии (Cyanobionta)		
Отдел Сине-зелёные водоросли (Cyanobacteria)	группа крупных грамотрицательных бактерий, способных к фотосинтезу, сопровождающемуся выделением кислорода.	Общие черты их морфологии – отсутствие жгутиков и наличие слизистой оболочки.
	Одноклеточные, нитчатые и колониальные микроорганизмы	
Эукариоты. Царство Растения (Plantae). Подцарство Водоросли (Phycobionta)		
Отдел Зелёные водоросли (Chlorophyta)	Размеры колеблются: от микронов до сантиметров. Обитают в водоемах различного типа, в почве и воздухе. Одно- и многоклеточные	Одно- или многоядерные, имеют хроматофоры (хлоропласты)
Отдел Эвгленовые водоросли (Euglenophyta)	Обитатели пресных стоячих водоемов. Не имеют клеточной стенки, способны к движению	Летом осуществляют подзеленение водоемов
Отдел Золотистые водоросли (Chrysophyta)	Микроводоросли, Обитатели кислых вод сфанговых болт	Хлоропласты золотисто-желтого цвета

Продолжение табл. 5.11

Систематика	Общая характеристика	Особенность
Отдел Жёлто-зелёные водоросли (Xanthophyta)	Некоторые обладают двумя жгутиками неравной длины	Хлоропласты желто-зеленого цвета
Отдел Диатомовые водоросли (Bacillariophyta)	Одноклеточные	Имеют прочную кремнеземовую оболочку
Отдел Динофитовые водоросли (Dinophyta)	Морские и пресноводные формы, планктон и бентос, вызывают цветение воды.	Некторые способны к фотосинтезу, некторые – к люминесценции
Отдел Криптофитовые водоросли (Cryptophyta)	В основном одноклеточные. Разнообразие окраса хлоропластов	Спинно-брюшное строение клеток
Отдел Бурые водоросли (Phaeophyta)	Макроскопические виды. Морские виды	Обитают во всех морях земного шара
Подцарство Багрянки (Rhodobionta)		
Отдел Красные водоросли (Rhodophyta)	Обитатели морей и некоторые – пресных вод. Размеры от мкм до метра. В большинстве многоклеточные	Донные водоросли.

Контрольные вопросы

1. Дать краткую характеристику электростанций и энергетических комплексов Казахстана.
2. Предпосылки для внедрения биореконструкционных технологий в энергетику.
3. Предпосылки для внедрения биопроизводственных технологий в энергетику.
4. Энергетический потенциал биомассы, что под этим подразумевается?
5. Продуценты биоэнергии, как объекты биотехнологии.
6. Объекты биотехнологии для производства возобновляемых источников энергии.

6. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ГОРНОДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

6.1. Горнодобывающая промышленность как субъект биотехнологии

Добыча полезных ископаемых производится традиционными способами: добыча открытым способом, гидравлическая добыча, штрековый способ, шахтный способ (рис. 6.1).

Каждый из этих способов оказывает негативное воздействие, особенно на литосферу, что нарушает целостность всей экосистемы.

6.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в горнодобывающей промышленности

Предпосылки для внедрения биореконструкционных технологий в горнодобывающую промышленность связаны, в основном, с нарушениями и загрязнениями, исходящие от горных производств. Горное производство – главная отрасль, наносящая огромный ущерб земной поверхности и недрам (изменение ландшафта, отчуждение земель) [113].

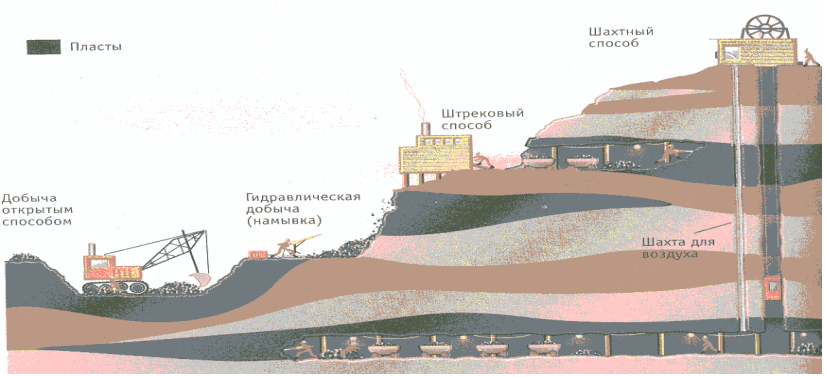
Виды и источники воздействия на литосферу при добыче полезных ископаемых (ПИ) схематично отображены на рис. 6.2 – 6.5.

В районе вредного влияния горных предприятий выделяются четыре зоны экологических изменений:

- *зона сильных нарушений и загрязнений* (сплошная гибель корневых растительных сообществ на расстоянии 0,5–6 км);

- *зона умеренных нарушений и загрязнений* (в радиусе 1–15 км наблюдается угнетение и гибель большей части корневых растительных сообществ и заменой их более устойчивыми к новым условиям);

- *зона слабых нарушений и загрязнений* (в радиусе 2–30 км и более наблюдается гибель только отдельных деревьев на фоне общего снижения продуктивности естественных растительных сообществ;внешняя граница принимается за границу ППК) и

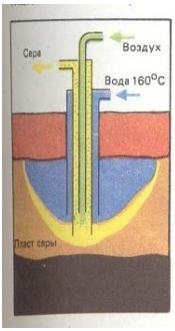




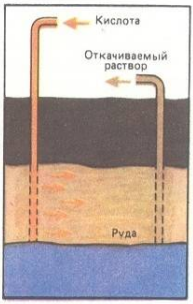
Карьер



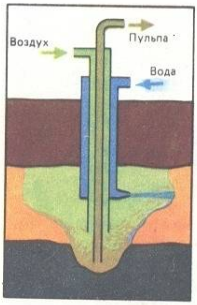
Рудник



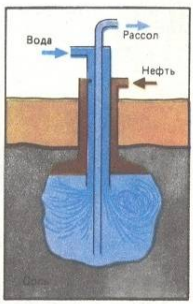
Подземная выплавка серы



Гидрохимический способ добычи полезных ископаемых



Гидравлический способ добычи полезных ископаемых



Подземное растворение солей

Рис. 6.1. Способы добычи полезных ископаемых

- зона изменения только в составе атмосферного воздуха и грунтовых вод в пределах, не превышающих действующие нормы ПДК, но выше кларковых, средних многолетних значений для данной местности (экологических нарушений растительных сообществ нет).

Горное предприятие представляет собой комплексный источник воздействия на все компоненты окружающей среды и характеризуется разнообразием характера воздействия и состава загрязняющих веществ.

Земельный отвод горного предприятия предоставляется предприятию на срок от 3 до 10 лет. На земельных отводах располагаются карьерные выемки, внутренние и внешние отвалы, зоны обрушения, дороги и другие технологические объекты, связанные с краткосрочным использованием земель.

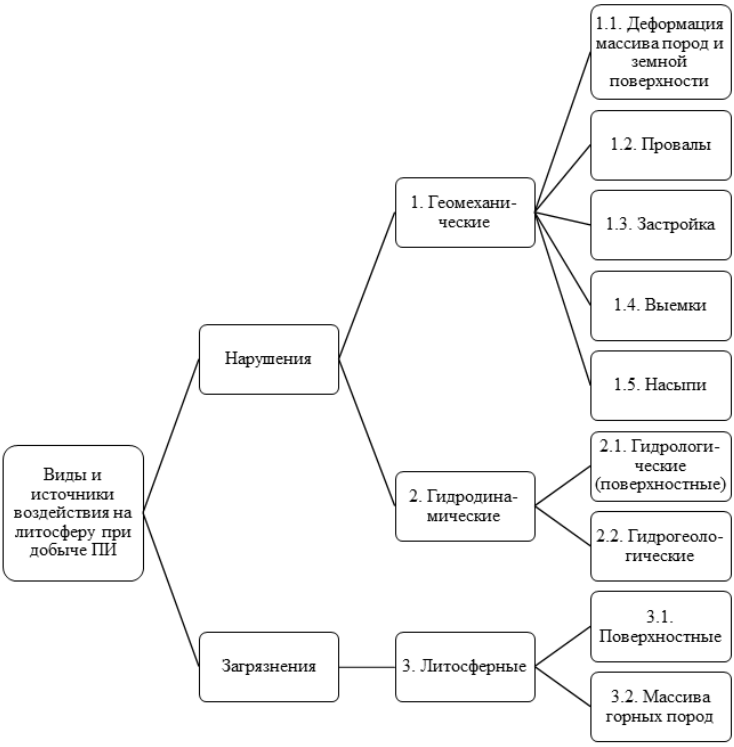


Рис. 6.2. Виды и источники воздействия на литосферу при добыче ПИ

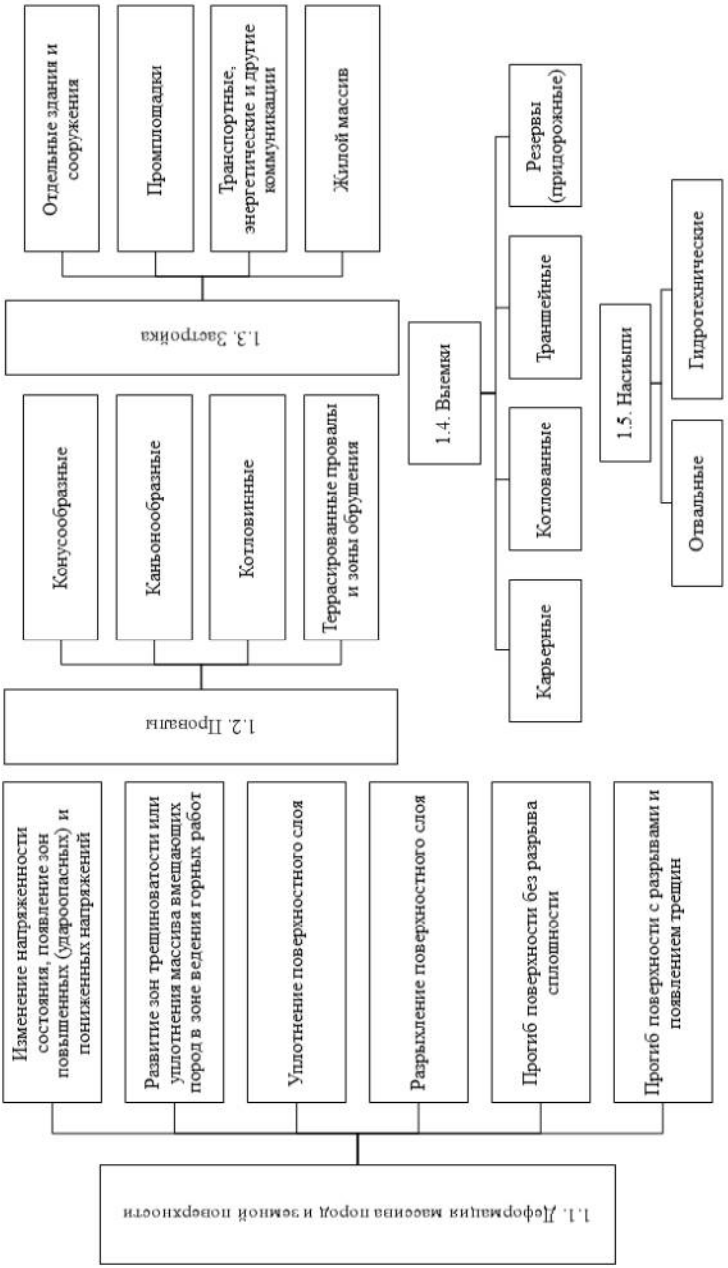


Рис. 6.3. Геомеханические нарушения литосферы при добыче ПИ

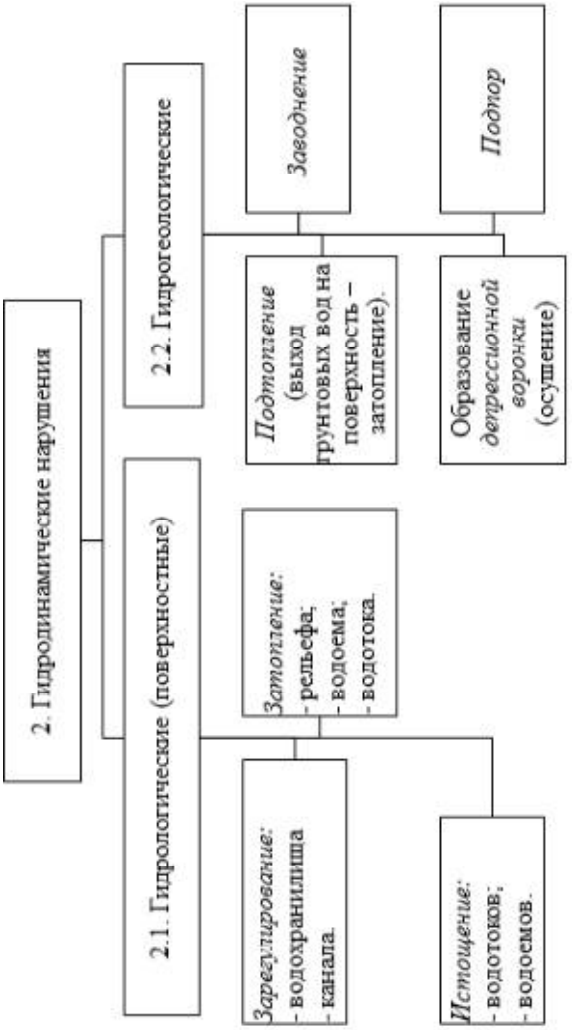


Рис. 6.4. Гидродинамические нарушения литосферы при добыче ПИ

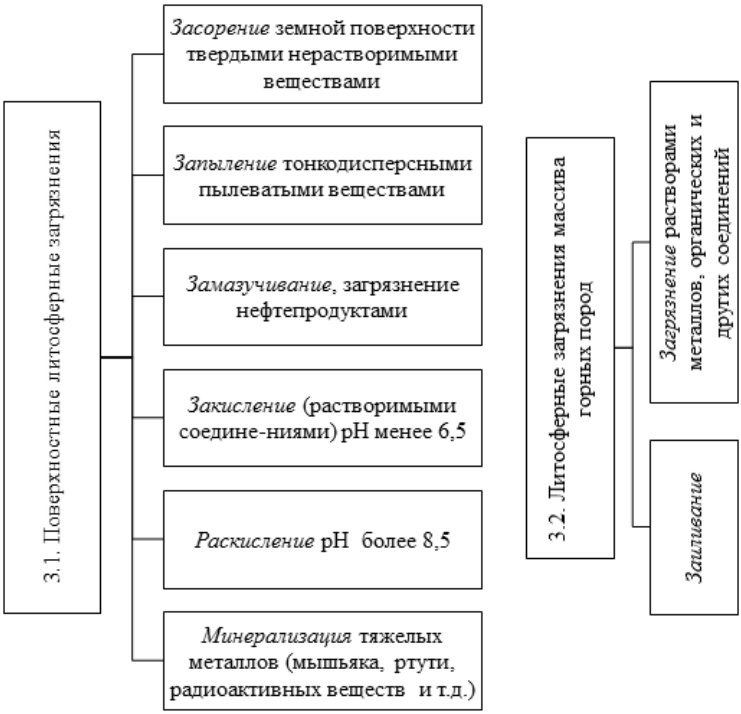


Рис. 6.5. Загрязнения литосферы при добыче ПИ

Горный отвод представлен нарушаемыми (НЗ; утратившие свою хозяйственную деятельность или оказывающие отрицательное воздействие на окружающую среду) и не нарушаемыми землями (ННЗ; земли с ненарушенным почвенно-растительным слоем). Удельный вес нарушаемых земель (НЗ) составляет 60–95 % от земельного отвода.

Особенно нарушают земли открытые горные работы, оставляющие после себя огромные площади нарушенных земель.

Нарушаемые земли состоят из земель, занятыми горными выработками, отвалами и промплощадками коммуникациями (табл. 6.3).

При добыче полезных ископаемых наряду с непосредственным нарушением земной поверхности происходят нарушения в прилегающей территории.

Горные работы влияют на санитарно-гигиенические условия окружающей среды. Размещение карьеров, отвалов и шламохранилищ вблизи населенных пунктов приводит к запыленности и, в случае отвалов угольных месторождений, отравлению окружающей среды продуктами горения.

Таблица 6.3

Нарушаемые горным предприятием земли

Земли, *нарушаемые* горными выработками, включают:	К землям, занятым *отвалами* относятся:	Земли, нарушенные инженерными сооружениями, состоят из:
карьерные выемки, траншеи, котлованы и нагорные канавы и другие горные выработки	внешние, породные, отвалы некондиционных полезных ископаемых, шламо- и хвостохранилище, гидроотвалы пустых пород	железных и автомобильных дорог, трубопроводов, линий электропередач, конвейерных линий, канатных подвесных дорог и других инженерных коммуникаций

Концентрация пыли превышает санитарные нормы на расстоянии до 3500 м от хвостохранилищ горнообогатительных комбинатов, а содержание вредных газов на расстоянии 1500 м от терриконов (террикон – похожая на пирамиду сопка, горка, большая куча материала).

Загрязнение воздуха приводит к повышению коррозии оборудования, нарушению чистоты помещений, медленному разъеданию стен и наносит ущерб здоровью живых организмов.

Горные работы влияют на гидрогеологические условия. При эксплуатации месторождений их обводненность (насыщенность водой) определяется дополнительно искусственными факторами, обусловленными способом вскрытия и системой разработки. При этом наблюдается повышение способности массива пород пропускать через себя воду вниз; перераспределение давления; уход воды, высушивая верхние горизонты в нижние; усиление поступления в горные выработки воды из открытых водоемов.

Нарушается режим малых рек и озер. Происходит деформация поверхности земли под влиянием глубоких работ по понижению и отливу воды. Ведение открытых горных работ приводит к снижению уровню грунтовых вод. Вокруг глубоких карьеров возникают депрессионные (сжимающие, уменьшающие) воронки, которые подсекают все водоносные горизонты, распространенные на десятки и сотни километров.

Радиус депрессионный воронки в горизонтах, сложенных песками, исчисляется несколькими километрами. В трещиноватых породах радиус доходит 15–40 км.

В результате всего этого почвенный слой подвергается *физическому, механическому и химическому воздействию.*

Физическое нарушение структуры почв связано с изменением режима почвенных и подземных вод, ландшафта и деформациями поверхности. В результате почвы осушаются или заболачиваются и теряют плодородные свойства. Механическое нарушение почв происходит из-за загрязнения пылью. Например, при внешних отвалах, сложенных скальными породами и при отсутствии озеленения загрязнение, происходит в радиусе 3–4 км.

Химическое нарушение почв обусловлено их загрязнением отходами. В результате естественного выщелачивания вредных элементов из рудных складов, отвалов забалансовых руд, пустых пород и хвостохранилищ происходит загрязнение атмосферы, почвенных вод и почв прилегающих территорий.

Эти проблемы усугубляются при разработке радиоактивных руд.

Основное загрязнение атмосферы: пыль, NO_x (при взрывных работах), CO. Источники загрязнения атмосферного воздуха горными работами сведены в табл. 6.4 [79].

Таблица 6.4

Источники загрязнения атмосферного воздуха горными работами

Источники загрязнения	Факторы загрязнения	Характеристика источников факторов загрязнений
Вентиляционные выработки шахт и подземных рудников	Буровзрывные работы; отбойка, погрузка, транспортирование горных пород; выделение газов из массивов горных пород; обрушение кровли, разрушение целиков	Сосредоточенные пылегазовые выбросы постоянного действия
Трещины на поверхности, выходы пластов	Выделение газов из массива горных пород (CH_4)	Локальные рассредоточенные газовые выделения постоянного действия
Техногенные образования из отходов горного производства (отвалы, терриконы, хвостохранилища, шламохранилища)	Эрозия поверхностей техногенных образований; самовозгорание горных пород в техногенных образованиях	Рассредоточенные выделения пыли периодического действия; рассредоточенные газовые выбросы постоянного действия
Склады продуктов горного производства	Эрозия поверхностей, погрузочно-разгрузочные работы	Рассредоточенные выделения пыли периодического действия; рассредоточенные пылегазовые выделения постоянного действия; сосредоточенные пылегазовыделения постоянного действия
Обогатительные, перерабатывающие, вспомогательные цехи горного производства	Технологические процессы производства	Сосредоточенные пылегазовыделения постоянного действия

Загрязняющие вещества, выделяющиеся в атмосферу из горных выработок: CH_4, CO, NO_x, пыль.

3. Основное загрязнение воды: высокоминерализованные шахтные, дренажные воды.

Условия образования и состав сточных вод. Производственные сточные воды, полученные в результате использования воды в различных технологических процессах или попутно при добыче полезных ископаемых, можно разделить на загрязненные (преимущественно минеральными или органическими компонентами, или и минеральными и органическими компонентами) и нормативно чистые.

Воды, попутно извлекаемые при добыче полезных ископаемых, разделяются на шахтные, карьерные и дренажные.

Шахтные и карьерные воды образуются в результате попадания подземных и поверхностных природных вод в горные выработки, где они загрязняются в процессе горных работ (взвешенные частицы – 10–600 мг/л и выше (не более 1000 мг/л); нефтепродукты – от 0 до 0,8 мг/л; бактериальное загрязнение – до 4 мг/л (БПК). Дренажные воды образуются за счет попадания подземных и поверхностных вод в те горные выработки, где не ведутся горные работы. Загрязнение таких вод в основном – бактериальное.

По величине pH шахтные, карьерные, дренажные воды делятся на нейтральные (pH = 6,5–8,5), кислые (pH < 6,5), щелочные (pH > 8,5). По степени минерализации делятся на пресные (сухой остаток – до 1 г/л), слабосолоноватые (1–3 г/л), солоноватые (3–5 г/л), сильносолоноватые (5–10 г/л), соленые (10–25 г/л), сильносоленые (25–50 г/л), рассолы (>50 г/л). Жесткость вод: 5–30 мг-экв/л.

Отходы.Для горнодобывающей промышленности характерны крупнотоннажные отходы: вскрышные породы, пустые породы, некондиционные руды.

Биотехнологии применяют для извлечения ценных компонентов в составе некондиционных руд, отвалов, куч и сточных вод.

6.3. Объекты биореконструкционных технологий в горнодобывающей промышленности

В горнодобывающей промышленности биотехнологические методы используют для удаления метана из угольных пластов и для улучшения качества углей удалением серы. В первом случае объектами биотехнологии являются метанокисляющие, во втором – тионовые бактерии.

Метан как компонент газовой фазы почвы также входит и в состав воздушного бассейна. Источники атмосферно метана: 80% CH_4 имеет биологическое (из земной поверхности – 50 –100 г $CH_4/м^2$ в год; из пресноводных болот, маршей или мелководных озер) и 20% антропогенное происхождение. Например, ежегодное количество поступающего в атмосферу метана из всех озер земли составляет $1{,}25–25 \cdot 10^6$ т, из мирового океана CH_4 – $4–6{,}7 \cdot 10^6$ т/год.

Функционирование метанобразующих бактерий при благоприятных гидрогеохимических условиях сопровождается скоплением метана в толще осадочных пород. В горнодобывающей промышленности в целях устранения метана в таких толщах используют метанокисляющие микроорганизмы (табл. 6.5).

Из табл. 6.5 следует, что благодаря деятельности метанокисляющих бактерий в биосферу ежегодно поступает $7{,}9 \cdot 10^8$ т углерода.

Отличительные особенности метанокисляющих микроорганизмов:

- способность синтезировать все клеточные компоненты из одноуглеродного соединения метана;

- усвоение метана может проходить автотрофно (образуется CO_2 из CH_4) и гетеротрофно (при последовательном окислении CH_4 через спирт и альдегид).

Также способны ассимилировать метан в качестве источника углерода: бактерии родов Chromobacterium, Mycobacterium, Actinomyces, Brevibacterium, Bacillus, Pseudobacterium, Staphylococcus.

Биологические особенности тионовых бактерий, в частности Th. Ferrooxidans, были рассмотрены в главе 5.

Таблица 6.5

Метанокисляющие бактерии: систематика и экология

Метан-окисляющие бактерии	Экология	Распространение	Метан-окисляющий процесс	Значение
Семейство Methylo-monadaceae; четыре рода: Methylomonas, Methylococcus, Methylosinus, Methylocystis.	Водные и почвенные формы естественных ландшафтов в ассоциациях с гетеротрофными бактериями.	В местах образования метана биохимическим путем (ил водоемов, заболоченные почвы и др.) или в местах накопления метана геохимического происхождения (угольные шахты, газовые месторождения)	Биотрансформация: метан окисляется бактериями до углекислого газа и воды, через метанол, формальдегид и формиат. Интенсивность окисления: 0,4–6,4–10–2 $см^3$/л/сут.	Биоассимиляция метана предотвращает его попадание в атмосферу. Биоокисление CH_4 с экологической точки зрения – второй (после хемосинтеза) важнейший процесс в водоемах.

Контрольные вопросы

1. Горнодобывающая промышленность как субъект биотехнологии.
2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в горнодобывающей промышленности.
3. Виды и источники воздействия на литосферу при добыче ПИ.
4. Источники загрязнения атмосферного воздуха горными работами.
5. Объекты биореконструкционных технологий в горнодобывающей промышленности.
6. Метанокисляющие бактерии: систематика и экология.

7. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В МЕТАЛЛУРГИИ

7.1. Объекты биотехнологии в черной металлургии

7.1.1. Черная металлургия как субъект биотехнологии

Черная металлургия: производство чугуна и стали. Черная металлургия включает в свой состав: добычу железных, марганцевых, хромовых руд; процессы их обогащения и агломерации; производство огнеупоров; добычу нерудного сырья, необходимого для металлургического передела; коксование угля; металлургический передел (производство чугуна, стали, проката и ферросплавов); производство метизов промышленного назначения; вторичную обработку черных металлов (рис. 7.1).

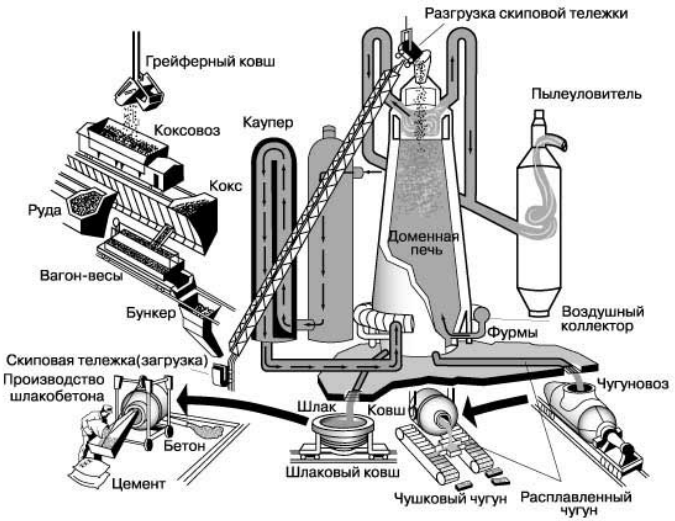


Рис. 7.1. Производство чугуна

По свойствам – в зависимости от содержания углерода – черные металлы делят на три группы – это железо техническое (до 0,02 % С), сталь (0,02–2,14 % С) и чугун (2,14–7 % С).

В качестве сырья для получения железа используют железные руды, которые в соответствии с минералогическим типом рудного минерала делят на четыре типа (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Типы железных руд в соответствии с минералогическим типом рудного минерала

Тип		Краткая характеристика
Красный железняк	рудный минерал – *гематит*– Fe_2O_3	содержит железо в виде безводной окиси железа. Она имеет разную окраску (от темно-красной до темно-серой). Руда содержит много железа (45–65 %) и мало вредных примесей. Восстановим ость железа из руды хорошая
Магнитный железняк	рудный минерал – магнетит – Fe_3O_3	содержит 40–70 % железа в виде закиси-окиси железа. Руда обладает хорошо выраженными магнитными свойствами, имеет темно-серый или черный с различными оттенками цвет. Пустая порода руды кремнеземистая с примесями других окислов. Железо из магнитного железняка восстанавливается труднее, чем из других руд
Бурый железняк	рудный минерал – *гидроксиды железа* – $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$	содержит железо в виде водных окислов. В нем содержится 25–50 % железа. Окраска меняется от желтой до бурожелтой. Пустая порода железняка глинистая иногда кремнисто-глиноземистая
Шпатовый железняк (сидерит)	рудный минерал – $FeCO_3$	содержит железо в виде углекислой соли. В этом железняке содержится 30–37 % железа. Сидерит имеет желтовато-белый и грязно-серый цвет. Он легко окисляется и переходит в бурый железняк. Из всех железных руд он обладает наиболее высокой восстановимостью
Марганцевая руда	–	содержат 25–45 % марганца в виде различных окислов марганца. Их добавляют в шихту для повышения в чугуне количества марганца

Имеются и другие разновидности железных руд: мартиты, полумартиты, титаномагнетиты и др. Пустая порода большинства железных руд состоит в основном из SiO_2, в меньших количествах присутствуют Al_2O_3, CaO, MgO.

Часто в железных рудах есть в небольших концентрациях примеси: полезные – Mn; V; Cr; Ni и др.; вредные – S; P; As; Zn.

Сталь – это сплав железа с углеродом, в котором содержится до 1,7% углерода, т. е. сталь отличается от чугуна меньшим содержанием углерода. Процесс производства стали заключается в выжигании из чугуна излишков углерода и добавлении других примесей, улучшающих ее механические свойства.

Для получения стали из чугуна необходимо снизить концентрацию веществ (углерода, кремния, серы и фосфора) путем окислительной плавки (рис. 7.2).

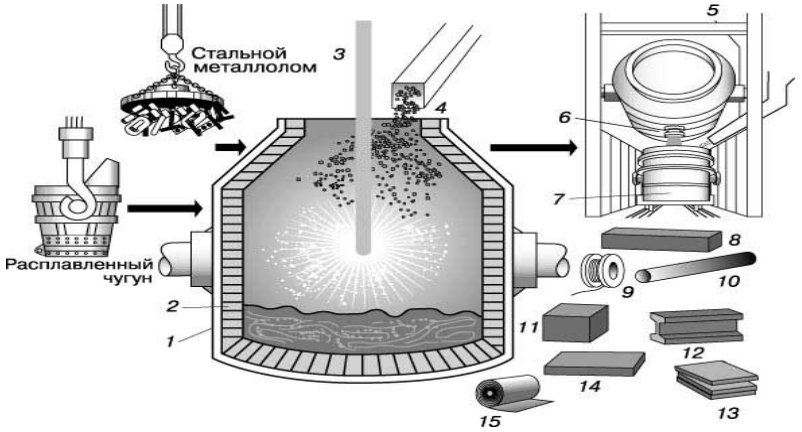


Рис. 7.2. Кислородно-конверторный способ получения стали

Из сопоставления химических составов передельного чугуна и конструкционной стали (табл. 7.2) видно, что для получения стали требуется удалить из металла большую часть углерода, кремния, фосфора, снизить концентрацию серы.

Таблица 7.2

Состав железных сплавов

Сплав	Содержание, %				
	C	Si	Mn	P	S
Чугун	4,5	0,6	0,5	До 0,3	0,05
Сталь	0,3	0,2	0,5	0,04	0,03

Сделать это можно путем окисления чугуна: углерод переходит в газ (в виде CO), а Si, Mn, P переходят в шлак (в виде оксидов).

7.1.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в черной металлургии

Черная металлургия – это в основном производство металлов – железо, хром, магний, изделий из них.

Предпосылки для использования объектов биореконструкционных технологий:

1.1. Загрязнение атмосферы.

Основными загрязняющими веществами, поступающими в атмосферу от мартеновских печей, являются те же газообразные продукты сжигания топлива, что и на предприятиях теплоэнергетики. Значительными являются выбросы пыли, основная составляющая которых оксиды железа. Наибольшее пылевыделение – при погрузочно-разгрузочных работах, приготовлении шихты; пыли и газов – при обжиге известняка и производстве стального проката.

1.2. Сточные воды.

В процессе производства стали расходуется большое количество охлаждающей воды. На сталелитейных заводах, применяющих мартеновские печи, составляет 12–18 м^3 на 1 тонну стали. Оборотная система водоснабжения – до 2 % воды от количества стали.

Механическая обработка металла производится, как правило, вальцеванием на прокатных станах. Для охлаждения вальцов и их опор используется вода, расход которой составляет от нескольких сотен до 1000 м^3 и более в час. Эта охлаждающая вода

содержит вальцовочный шлак, окалину, мельчайшие частицы пыли, в зависимости от рода смазки вальцов и их опор - различные масла.

Содержание одной из самых тяжелых по удельному весу примесей сточных вод – окалины – составляет более 1 г/л. Ее охлаждение затруднено, иногда невозможно вследствие большой дисперсности, а также наличия на поверхности окалины пленки масел или жиров.

1.3. Твердые отходы и осадки сточных вод.

К твердым отходам сталеплавильного производства следует отнести мартеновские шлаки (кислые и щелочные) (табл. 7.3). Это кусковой материал размером порядка 500 мм, плотностью 3,5–4 г/см^3 и температурой плавления 1500–1600 ^{0}C.

Таблица 7.3

Примерный химический состав щелочных и кислых шлаков черной металлургии

Компонент	Примерный химический состав	
	щелочных шлаков	кислых шлаков
SiO_2	15–20	52–60
Al_2O_3	1–3	5–8
CaO	40–45	2–4
MgO	8–12	–
MnO	5–8	18–25
FeO	5–15	8–14
P_2O_5	1–3	–
S	0,1–0,3	–

К твердым отходам относятся различные шламы после сухой очистки отходящих газов.

При очистке сточных вод и применении мокрых методов пылеулавливания образуются осадки с высокой степенью влажности (до 99 % и выше). Химический состав этих осадков определяется используемыми методами водоочистки и природой улавливаемых пылей [80].

7.1.3. Объекты биореконструкционных технологий в черной металлургии

Для решения проблем рационального использования природных ресурсов переработка низкосортных руд и железосодержащих отходов может осуществляться биотехнологическим методами. Очистке биотехнологическими методами можно подвергать выбросы и сбросы (см. гл. 1).

При биотехнологических методах добычи вместо растворителя в скважину закачивается раствор микробиологической природы. Содержащиеся в нем бактерии способны накапливать в своих телах добываемый металл. Добыча руды с помощью этих методов позволяет:

- сохранять ландшафты,
- снизить выбросы загрязняющих веществ,
- снизить стоимость металла в 2 раза, а затраты – в 4 раза,
- повысить производительность труда.

В США методами биотехнологии добывают в год более 300 тыс. т меди.

7.2. Объекты биотехнологии в цветной металлургии

7.2.1. Цветная металлургия как субъект биотехнологии

Цветная металлургия включает в свой состав: добычу и обогащение руд; производство и обработку цветных металлов и их сплавов; производство редких и драгоценных металлов; добыча алмазов.

Основные отрасли цветной металлургии: алюминиевая; медная; свинцово-цинковая; титаномагниевая; никель-кобальтовая; алмазодобывающая.

Металлургия меди. По распространенности в земной коре медь занимает 22-е место – 0,01 % (у железа более 5 %).

Рудная база. В небольших количествах встречаются руды, в которых медь присутствует в виде оксидов CuO и Cu_2O; очень редко находят самородную медь (в виде металла). Основное количество природных медных руд содержит медь в форме сульфидных минералов: $CuFeS_2$; CuS; Cu_2S (табл. 7.4).

Таблица 7.4

Химический состав медных руд

Руда	Состав медных руд, %						
	Cu	Fe	S	SiO_2	Al_2O_3	Zn	Pb
Порфировая	0,9–1,5	1–3	1–2	50–80	5–15	–	–
Колчеданная	2–3	38–42	36–44	5–10	1–2	–	–
Полиметаллическая	0,5–5	15–30	20–32	2–30	2–3	5–8	3–7
Медистые песчаники	1,2–7	1–2	0,4	67–75	12–18	–	–

Одной из особенностей медных руд является их комплексность – в рудах кроме меди присутствуют Fe; Zn; Ni; Pb, а также в небольших количествах благородные и редкие металлы: Ag, Au, Se, Te и др. Извлечение попутных элементов делает производство меди более рентабельным.

Предпосылки для использования объектов биотехнологии при производстве меди – это воздействие производства меди на окружающую среду. Схема классической технологии производства меди и потоки техногенных веществ в ОС представлены на рис. 7.3.

Для решения проблем рационального использования природных ресурсов переработка низкосортных руд и медьсодержащих отходов может осуществляться биотехнологическим методами. Очистке биотехнологическими методами можно подвергать выбросы и сбросы.

Металлургия алюминия. Алюминий – самый распространенный металл в земной коре, его содержание составляет 8,8 %. Однако основная масса Al рассеяна среди большого количества разнообразных минералов (около 250). Из-за малой концентрации алюминия большинство этих минералов непригодно для рентабельной переработки. Промышленное значение имеют лишь корунд – Al_2O_3, бемит – AlOOH, нефелин $(Na,K)2O\ Al_2O_3 \cdot 2SiO_2$ гиббсит – $Al(OH)_3$, каолинит – $Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$.

Рудная база. Основным рудным сырьем для производства алюминия являются бокситы. По сравнению с месторождением железных руд месторождений бокситов, природных для промышленной разработки меньше и размеры их меньше. Алюминий из нефелинов получают в России.

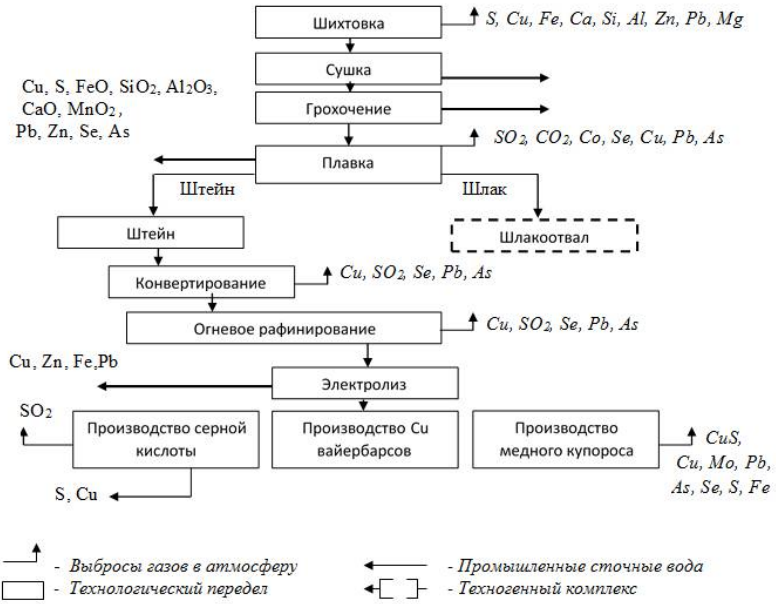


Рис. 7.3. Схема технологии производства меди и потоки веществ в ОС

В табл. 7.3 приведены составы некоторых типов бокситов и нефелина.

Таблица 7.3

Составы бокситов и нефелина

Руда	Составы, %				
	Al_2O_3	SiO_2	Fe_2O_3	Na_2O+K_2O	CaO
Боксит богатый	60,0	1,6	11,0	–	4,0
Боксит бедный	44,5	13,0	16,7	–	4,0
Нефелин	27,3	4,03	5,2	11,9	7,6

В связи с тем, что оксид алюминия является трудновосстановимым, порядок извлечения алюминия из руд принят обратным по сравнению с порядком при металлургии железа – вначале Al_2O_3 отделяют от пустой породы, затем глинозем восстанавливает электролизом.

Бокситы плохо обогащаются, поэтому часто процесс их переработки начинается сразу со II стадии – химического обогащения.

Предпосылки для внедрения объектов биотехнологии для производства алюминия. В производстве алюминия наиболее водоемким является производство глинозема гидрометаллургическим способом – щелочным выщелачиванием бокситов. В составе промливневых и производственных сточных вод ремонтных цехов содержатся нефтепродукты. Наиболее грязными являются сточные воды электролизного цеха, содержащего алюминий. Как на любом предприятии образуются хоз.-бытовые сточные воды, которые возможно очищать локально биотехнологическими методами.

Металлургия урана. Известно около 200 минералов урана. К важнейшим минералам группы оксидов относятся уранинит – UO_2, и настуран (урановая смолка) – U_3O_8.

Урановые руды бедные – 0,005–0,5 % U_3O_8.

Механические методы обогащения не дают хороших результатов.

Для извлечения урана из руд применяют, как правило, способ выщелачивания растворами минеральных кислот или соды. Иногда руду предварительно обжигают с целью удаления органических соединений, мышьяка, серы, CO_2и карбонатов.

Выщелачивание кислотами (H_2SO_4; HNO_3; H_2SO_4 + HNO_3) применяют к рудам, содержащим мало CaO, MgO. В сернокислотных растворах уран находится в виде аниона $[UO_2(SO_4)_3]_4$-.

При выщелачивании растворами соды образуется растворимая соль:

$$UO_3 + 3Na_2CO_3 + H_2O \Leftrightarrow Na_4[UO_2(CO_3)_3](р\text{-}р) + 2NaOH.$$

Для извлечения урана из раствора обычно используют сорбцию на ионообменных смолах. Десорбцию урана со смолы проводят растворами нитрата аммония $(NH_4)NO_3$.

В результате этой операции концентрация урана в растворе повышается с 0,5–2 до 50–200 г/л.

Выделение урана из раствора осуществляют добавкой аммиака- в осадок выпадает малорастворимый диуранит аммония. После прокаливания осадка, отделенного от раствора, получают U_3O_8 – химический концентрат.

Растворение концентрата в HNO_3 с получением $UO_2(NO_3)_2$.

Экстракционная очистка, в результате которой получают раствор уранила.

Предпосылки для внедрения методов биотехнологии при производстве урана. В производстве урана традиционным способом образуется больше количество сточной воды, основная опасность которых заключается в разной степени их радиоактивности. В результате удаления примесей физико-химическими методами образуются отходы различной радиоактивности с последующим захоронением в могильниках. Известны технологии, в которых участвуют сообщества живых организмов для решения экологических проблем и извлечения урана скважинным и кучным методами с использованием микроорганизмов [51, 107, 113, 118].

7.2.2. Объекты биопроизводственных технологий в цветной металлургии

Бактериальное выщелачивание как метод избирательного извлечения химических элементов из многокомпонентных соединений посредством их растворения микроорганизмами в водной среде впервые запатентовано в США (1958) применительно к извлечению меди и цинка.

В табл. 7.4 дается краткая биологическая и технологическая характеристика объектам биогеотехнологии.

Таблица 7.4

Объекты биогеотехнологии: краткая биологическая и технологическая характеристика [51, 107, 113, 118]

Вид	Краткая характеристика		Источник энергии
	Морфологии и экологии	Культуральная	
Грамотрицательные бактерии			
Thiobacillus ferrooxidans	Ацидофильные хемолитотрофы Палочка с одним жгутиком, 0,4х(1–1,5). Не спорообразующая. Сульфидные и серные руды	pH = 1,7–2,5 / 1,0–5; t, ^{0}C = 28–30 / 2–37	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-}), SO_3^{2-}, S_2^{2-}

Продолжение табл. 7.4

Вид	Краткая характеристика		Источник энергии
	Морфологии и экологии	Культуральная	
Thiobacillus thiooxidans	Ацидофильные хемолитотрофы Палочка со спиралевидным жгутиком (0,5–0,8)х1. Преимущественно серные месторождения	pH = 2,0–3,0 / 0,5–5,5; t, ^{0}C = 28–30 / 2–37	S^0, (S^{2-}), SO_3^{2-}
Thiobacillus thioparus	Ацидофильные хемолитотрофы Палочка с закругленными концами с полярным жгутиком. Длина до 1,5. Преимущественно серные месторождения	pH = 1,7–2,5 / 1,0–5; t, ^{0}C = 28–30 / 2–37	S^0, (S^{2-}), SO_3^{2-}
Acidithiobacillus ferrooxidans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,7–2,5 /1,0–4,5; t,^{0}C = 28–30/2–37	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-})
A. caldus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 2,0–2,5 / 1,0–3,5; t, ^{0}C = 45 / 32–52	S^0, (S^{2-})
A. thiooxidans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 2,0–3,0 / 0,5–5,5; t, ^{0}C = 28–30 / 2–37	S^0, (S^{2-})
Leptospirillum ferrooxidans	Сульфидные минералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,8–2,2 / 1,5–5,0; t, ^{0}C = 30–45) / 2–50	Fe^{2+}, FeS_2
Грамположительные бактерии			
Sulfobacillus thermosulfidooxidans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,7–2,4 / 1,5–5,5; t, ^{0}C = 50–55 / 20–60	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-})
Sulfobacillus acidophilus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,7–2,4 / 1,5–5,5; t, ^{0}C = 45–50	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-})
Alicyclobacillus disulfidooxidans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,5–2,5 / 0,5– 6,0; t, ^{0}C = 35 / 4– 40	Fe^{2+}, S^0, $S_2O_3^{2-}$, FeS_2
Al. tolerans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 2,0–2,7 / 1,5–5,0; t, ^{0}C = 28–42 / 20–55	Fe^{2+}, S^0

Продолжение табл. 7.4

Вид	Краткая характеристика		Источник энергии
	Морфологии и экологии	Культуральная	
Археи			
Acidianus brierleyi	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,5– 2,0 / 1,0–6,0; t, ^{0}C = 70 /45–75	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-})
Ac. infernus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,5– 2,0 / 1,0–5,5; t, ^{0}C = 90 / 65–96	S^0
Ac. ambivalens	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 2,5 / 1,0–3,5; t, ^{0}C = 80 / - 87	S^0
Sulfolobus metallicus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = / 1,0–3,5; t, ^{0}C = 65 / 50–75	Fe^{2+}, S^0
Sul. solfataricus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 4,5 / 3,5–5,0; t, ^{0}C = 70 / 55– 85	S^0, (S^{2-}), $S_4O_6^{2-}$
Sul. yangmingensis	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 4,0 / 2,0 - 6,0; t, ^{0}C = 80 / 65 - 90	S^0, (S^{2-}), $S_4O_6^{2-}$
Metallosphaera sedula	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,5– 2,0; t, ^{0}C = 50–80	Fe^{2+}, S^0, (S^{2-})
M. prunae	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 3,0 /1,0–5,0; t, ^{0}C = / 55–80	Fe^{2+}, S^0
M. hakonensis	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 3,0 / 1,0–4,0; t, ^{0}C = 70 / 50–80	S^0, (S^{2-}), $S_4O_6^{2-}$
Ferroplasma acidiphilum	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,7–1,8 / 1,3–2,2; t, ^{0}C = 35 / 15–45	FeS_2, Fe^{2+}
F. acidarmanus	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,2 / 0–1,5; t, ^{0}C = 42 / 23–46	Fe^{2+}
F. cupricumulans	Сульфидныеминералы. Ацидофильные хемолитотрофы	pH = 1,0–1,2 /; t, ^{0}C = 53 / 22–63	Fe^{2+}

Методами биопроизводственных технологий извлекают ценные компоненты (медь, уран; Zn, Co, As, Мп и др.) из руд, отходов производства и т. д. или вредные примеси (мышьяк в рудах чёрных и цветных металлов).

Наиболее широко для бактериального выщелачивания, как это уже было отмечено в разделе 2.2, применяют тионовые бактерии: *Thiobacillus ferrooxidans*, способные окислять сульфидные минералы и закисное железо до окисного (железобактерии), и Th. thiooxidans (серобактерии).

Тионовые бактерии являются хемоавтотрофами, т. е. единственный источник энергии для их жизнедеятельности – процессы окисления закисного железа, сульфидов различных металлов и элементарной серы. Эта энергия расходуется на усвоение углекислоты, выделяемой из атмосферы или из руды. Получаемый углерод идёт на построение биомассы бактерий.

Особенность тионовых бактерий проявляется в ускорении растворения халькопирита в 12 раз, арсенонирита и сфалерита в 7 раз, ковелина и борнита в 18 раз по сравнению с обычными химическими методами.

В значительных промышленных масштабах бактериальное выщелачивание применяется для кучного извлечения полезных ископаемых (меди и урана) из руд на месте их залегания. Например, экономически целесообразно извлекать бактериальное выщелачивание медь из забалансовых сульфидных руд. Это осуществляется водными растворами $Fe_2 (SO_4)_3$ в присутствии $Al_2(SO_4)_3$, $FeSO_4$ и тионовых бактерий Th. ferrooxidans. Раствор подаётся по шлангам в скважины, пробурённые в рудном теле; бактерии и сульфат окиси железа окисляют сульфиды меди.

Также выщелачивают с участием тионовых бактерий металлы Zn, Co, As, Мп и др. Дополнительно для растворения и извлечения золота предложено использовать гетеротрофные бактерии *Aeromonas*, выделенные из рудничных вод золотоносных приисков.

Увеличение сырьевых ресурсов за счёт использования бедных, забалансовых и потерянных (например, в целиках) руд в месторождениях, отвалов из отходов обогащения, пыли, шлаков и др. возможно благодаря:

- простоте аппаратурного оформления процесса биовыщелачивания;

- возможности быстрого размножения бактерий, особенно при возвращении в процесс отработанных растворов, содержащих живые организмы;

В перспективе биовыщелачивание открывает возможности создания полностью автоматизированных предприятий по получению металлов из забалансовых и потерянных руд непосредственно из недр Земли, минуя сложные горнообогатительные комплексы.

Контрольные вопросы

1. Черная металлургия как субъект биотехнологии.
2. Типы железных руд в соответствии с минералогическим типом рудного минерала.
3. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в черной металлургии.
4. Объекты биореконструкционных технологий в черной металлургии.
5. Цветная металлургия как субъект биотехнологии.
6. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в цветной металлургии.
7. Объекты биореконструкционных технологий в цветной металлургии.
8. Объекты биопроизводственных технологий в цветной металлургии.

8. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В МАШИНОСТРОЕНИИ

8.1. Машиностроение как субъект биотехнологии

Отечественный машиностроительный комплекс (МК) включает в свой состав производство: средств транспорта; военной техники и оружия; средств производства; различных предметов потребления.

В состав транспортного машиностроения входят: авиакосмическая промышленность; автомобилестроение; железнодорожное машиностроение; судостроение; тракторостроение.

Машиностроительный завод является предприятием с замкнутым циклом производства, начиная с литья металла и заканчивая механической обработкой, сборкой и испытаниями продукции.

8.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в машиностроении

1. Воздействие машиностроительного предприятия на окружающую среду – выбросы, сбросы и отходы:

1.1. Сточные воды (производственные), в состав которых входят:

1) электролиты, содержащие никель, медь, цинк, кадмий, хром, олово, алюминий, палладий, золото, серебро, родий;

2) травильные растворы, содержащие соляную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту, фтористоводородную кислоту, растворы на основе хромосодержащих соединений, хлорное железо, хлорную медь, персульфат аммония, натрий-нафталиновый комплекс, спиртокислотные смеси;

3) обезжиривающие и моющие растворы (растворители, моющие средства);

4) смазочно-охлаждающие жидкости (СОЖ) – жидкости на основе эмульсола, сульфофрезола, керосина, триэтаноламина, соды кальцинированной;

5) масла;

6) сточные воды.

1.2. Основные загрязнители атмосферы – литейные, термические, гальванические цеха, участки покраски.

1. Литейные цеха

Источники пылегазовыделения:

1) вагранки (печи);

2) электродуговые и индукционные печи;

3) участки складирования и переработки шихты и формовочных материалов;

4) участки выбивки и очистки литья.

Количество выделений зависит также от типа оборудования (табл. 8.1).

Таблица 8.1

Удельные выделения загрязняющих веществ машиностроения

Плавильный агрегат	пыль	CO	Углеводороды	NO_x	SO_2	прочие
при плавке чугуна, кг/т						
Открытая вагранка	19	200	2,4	0,014	1,5	–
Электродуговая печь	8,1	1,5	–	0,29	–	–
при плавке цветных металлов, кг/т						
Газомазутные печи	2,8	1,4	–	0,6	0,6	0,18
Электродуговые печи	1,8	1,1	–	1,2	0,8	0,3
Печи сопротивления	1,5	0,5	–	0,5	0,7	0,3

Неорганизованные выбросы составляют до 40 % от общего количества выбросов. Причины их образования: неплотность оборудования, выпуск металлов без очистки паров (разливка) – при этом образуются фенолы, формальдегиды и т.д. Количество и состав подобных загрязнений зависит от состава формовочных смесей, оборудования и способа выплавки.

2. Кузнечно-прессовые цеха

Источники загрязнения атмосферы: печи по нагреву металла, оборудование по обработке металла.

Загрязняющие вещества: пыль, CO, SO_2, оксиды азота и другие вещества. Масса загрязняющих веществ зависит от типа оборудования, вида топлива, других показателей.

Как правило, на 1 тонну мазута образуется порядка 600 гр пыли, 12 кг CO, 20 кг SO_2.

3. Термические цеха

Основные производственные процессы: закалка, отпуск металла.

Источники: нагревательные печи, дробеструйные камеры, ванны масляные для закалки и отпуска металла.

В дробеструйных камерах: пылевые выделения (7–10 г/м^3 камеры).

В ваннах: в отходящем воздухе концентрация масла составляет 1%.

4. Гальванические цеха

В гальванических цехах образуются наиболее опасные и токсичные загрязнения в виде туманов (тонкодисперсных), паров, газов. Наиболее интенсивно образуются в процессах травления металлов (кислотного и щелочного).

В процессах травления металла: пары и туманы кислот в концентрации до 20 г/мин · м^2 площади (для соляной кислоты – HCl); для серной кислоты H_2SO_4 – концентрация меньше.

При нанесении гальванических покрытий (воронение, фосфатирование, анодирование) – HF, кислоты, соединения Cr и других тяжелых металлов, HCN.

При подготовительных операциях (механическая очистка и обезжиривание поверхности) – пыль, пары бензина, керосина, органических растворителей, туманы щелочей.

5. Цеха механической обработки.

При механической обработке металлов образуются пыль, туманы масел.

При обработке древесины, графита – образуется в основном пыль.

При обработке полимерных материалов – пыль, пары различных химических веществ, входящих в состав обрабатываемых материалов (фенол, формальдегид, стирол и др.)

6. Участки сварки и резки металлов

Основные загрязнения: сварочный аэрозоль, вредные газы.

На 1 кг электродов образуются: 40 г пыли; 2 г HF; 1,5 г оксидов азота и CO (при ручной сварке). При автоматической сварке – в 1,5–2 раза меньше.

Состав сварочной пыли:

99 % – частицы размером 10^{-3}–1 мкм; 1% – частицы размером 1–5 мкм.

Химический состав определяется составом сварочных материалов и типом свариваемых металлов (Cr, Mg, фториды и т.д.).

При резке металлов образуется пыль (конденсат оксидов металла), вредные газы (CO, NO_x, при плазменной резке – озон).

7. Участки пайки и лужения

Основные выделения: CO, HF, аэрозоли (свинец).

В процессе пайки: выделения до 0,04 мг на 100 паек.

В процессе лужения (методом погружения в припой) – до 500 мг/ч*$м^2$.

8. Участки окраски (окрасочные цеха)

Основные загрязнения: пары органических растворителей (бензин, толуол) – до 10 г/$м^3$.

Загрязнения образуются в процессе обезжиривания поверхностей, подготовки лакокрасочных материалов, нанесении лакокрасочных материалов на поверхность изделий, при сушке.

Если окраска производится распылением – выделяется окрасочный аэрозоль (до 1 г/$м^3$).

Сточные воды. Образуются сточные воды нескольких видов:

- производственные (образуются в ходе использования воды для технологических нужд) (табл. 8.2);
- бытовые (санузлы, душевые, столовые и т.п.);
- атмосферные (смыв загрязняющих веществ дождевыми и талыми водами) – взвеси (песок, ил), ГСМ.

1. *Литейные цеха*

2. *Кузнечно-прессовые цеха*

Таблица 8.2

Виды стоков литейного цеха

Вид стоков	Основные примеси	Концентрация, кг/м^3	Температура, ^{0}C
Мокрая газоочистка	Мелкодисперсные минеральные взвеси, окалина	2–5	60–65
Гидровыбивка отливок и регенерация смеси	Песок, глина, окалина, органические вещества	0,05–16	20–30

Источники загрязнения: стоки от охлаждения оборудования и поковок. Состав: взвешенные вещества минеральной природы (песок, глина) – концентрация 0,1–0,2 кг/м^3; окалина 5–8 кг/м^3; масла 10–15 кг/м^3. Температура этих вод примерно 40 градусов.

3. *Термические цеха.*

Основные стоки:

- промывные растворы (окалина, масла, щелочи 0,01–0,03 кг/м^3; температура вод 50–60 ^{0}C);

- отработанные растворы закалочных ванн (взвешенные вещества минерального происхождения, тяжелые металлы, масла, цианиды). Концентрация растворенных примесей – 0,001–0,05 кг/м^3; взвеси – до 0,25 кг/м^3; температура 30–40^{0}C.

4. *Гальванические цеха*. Основным источником образования наиболее токсичных и массовых сточных вод на машиностроительных предприятиях является гальванический цех. Характеристика сточных вод представлена в табл. 8.3.

Таблица 8.3

Источник образования наиболее токсичных и массовых сточных вод гальванического цеха

Вид стоков	Основные примеси	Концентрация, кг/м^3	Температура,^{0}C
Отработанные травильные растворы	Взвешенные вещества	10–20	25–30
	Эмульсии минеральных масел	до 10	
	Щелочи	20–30	
	Кислоты	30–50	

Продолжение табл. 8.3

Вид стоков	Основные примеси	Концентрация, кг/м^3	Температура,^{0}С
Промывные воды после травления	Взвеси	0,4	25–30
	Минеральные масла	0,05–0,1	
	Щелочи	0,02–0,2	
	Кислоты	0,02–0,2	
Промывные воды после хромирования	Хроматы	0,005–0,2	20–30
Отработанные электролиты	Тяжелые металлы	до 10	20–25
	Кислоты	0,04–20	
	Щелочи	0,02–30	
	Масла	0,02–0,03	
	Цианиды	10–100	

5. *Цеха механической обработки*

Отработанные смазочно-охлаждающие жидкости; Взвешенные частицы – до 1 кг/м^3; сода (5–10 кг/м^3); масла (0,5–2 кг/м^3).

Твердые отходы и осадки сточных вод.Основная доля (20 %) – металлоотходы (стружка) – находят широкое вторичное применение (утилизация).

Отходы древесины, пластмасс, пропитанная маслами ветошь, резина, бумага; шламы (сильно обводненные), образующиеся при очистке сточных вод и при использовании мокрых методов очистки газовых выбросов (водные суспензии с объемной концентрацией полидисперсной твердой фазы 0,5–10 %).

Химический состав осадков определяется составом очищаемых стоков, методами очистки, используемыми реагентами.

На сегодня разработаны биотехнологии очистки производственных сточных вод, содержащих металлы, масло- жир-нефтепродукты, например, СОЖ, гальванические стоки и др.

В данной отрасли для биореконструкционных и биопроизводственных технологий используются те же объекты, которые были рассмотренны в главах 5–6.

Контрольные вопросы

1. Машиностроение как субъект биотехнологии.
2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в машиностроении.
3. Почему в данной отрасли для биореконструкционных и биопроизводственных технологий используются те же объекты, что и для металлргии?

9. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИВ НЕФТЕДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

9.1. Нефтедобывающая промышленность как субъект биотехнологии

Добыча и подготовка нефти. Нефть и газ, угли и горючие сланцы, а также другие природные органические соединения составляют особую группу образований земной коры. Нефть – это жидкий горючий минерал, состоит из органических соединений, основную часть которых составляют углеводороды. По внешнему виду нефть– маслянистая, чаще всего темная жидкость, флюоресцирующая на свету.

Принципиальная схема добычи нефти представлена на рис. 9.1.

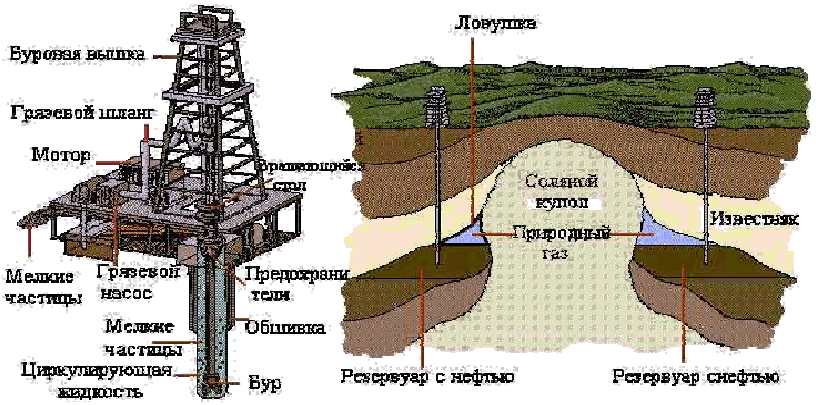


Рис. 9.1.Принципиальная схема добычи нефти

Химический состав нефтей. Всего из нефтей выделено и идентифицировано более 500 индивидуальных химических соединений. Элементарный состав нефтей характеризуется обязательным наличием пяти химических элементов–*углерода, водорода, кислорода, серы и азота* при резком количественном преобладании первых двух– свыше 90 %.

Максимальное содержание остальных трех элементов может в сумме доходить до 5–8% (главным образом за счет серы),

но обычно оно намного меньше. Среди химических соединений в нефтях выделены углеводородные и гетероорганические.

Углеводородные соединения подразделяются на парафиновые (метановые или алканы), нафтеновые (полиметиленовые или цикланы), ароматические (арены) и смешанные.

Парафиновые углеводороды имеют общую формулу CnHsn+z и делятся на нормальные и разветвленные. К нафтенам относят углеводороды с формулой CnHm (мононафтены), CnHzn–2 или CH2n–4 (полинафтены). Ароматические углеводороды также делятся на маноарены (бензол и его гомологи Cn-6) и полиарены (СпН2n-12, CnHzn-is, CnH2n-24). В молекулах смешанных углеводородов имеются различные структурные элементы: ароматические кольца, парафиновые цепи, пяти- и шестичленные нафтеновые циклы.

Гетероорганические соединения могут составлять 10–20 % на сырую нефть. В их состав кроме углерода и водорода входят главным образом кислород, сера и азот.

В золе нефтей обнаружены никель, ванадий, натрий, серебро, кальций, алюминий, медь и др. По-видимому, указанные элементы были в составе некоторых органических соединений. Количество золы, образующейся при сжигании нефтей, невелико – обычно сотые доли процента.

Газ. Углеводородные газы, генерируемые в осадочной оболочке земной коры, могут находиться в различных состояниях: свободном, растворенном, твердом и др. В свободном состоянии они образуют газовые скопления. Углеводородные газы хорошо растворимы в подземных водах и нефтях. При определенных условиях они вступают в соединение с водой и переходят в твердое состояние.

Химический состав газов. Газы газовых скоплений представлены в основном метаном (до 98,8 %) с примесью его гомологов, а также неуглеводородных компонентов: углекислого газа, азота и сероводорода. Ввиду резкого преобладания метана и небольшого (до 0,2 %) количества жидких его гомологов эти газы относят к так называемым сухим газам.

Газы, растворенные в нефтях, называются попутными нефтяными газами.

Состав нефтяных попутных газов резко отличается от сухих значительным содержанием этана, пропана, бутана и высших углеводородов (в сумме до 50 %). Поэтому они получили название жирных или богатых газов.

В составе газов, растворенных в подземных водах, основное значение имеют метан, азот и углекислый газ. Концентрация метана в растворенном газе может достигать 80–95 % и составлять тысячи кубических сантиметров на литр, концентрации углеводородов имеет иногда промышленное значение.

При бурении нефтяных и газовых скважин чаще применяют вращательный способ бурения.

В процессе строительства скважины загрязнение окружающей среды происходит при очистке сеток вибросит, мытье полов и оборудования, обмыве поднимаемых труб, утечках при приготовлении буровых растворов и химических реагентов для их обработки, засорениях и нарушениях целостности желобной системы и т.п.

Загрязнителями окружающей среды при строительстве скважин являются химические реагенты и добавки, применяемые для обработки буровых растворов, а также нефть и нефтепродукты, например горючесмазочные материалы (ГСМ).

Нефть и нефтепродукты загрязняют окружающую среду:

- в составе компонентов буровых растворов (разливы вокруг циркуляционной системы);
- при нерачительном использовании в качестве ГСМ (силовой привод, хозяйственные нужды, транспорт);
- при завершении работ по вызову притока или в результате аварийных ситуаций (нефтепроявления, открытое фонтанирование и т.п.).

Загрязнителями окружающей среды также являются буровые сточные воды, выбуренная порода и отработанный буровой раствор.

Производственные, хозяйственно-бытовые, сточные воды от промывки технологического оборудования и тары из-под химических реагентов, а также сточные воды с производственных площадок буровых установок следует использовать повторно (закачивать в скважины для поддержания пластового давления

на нефтяных месторождениях или направлять в систему оборотного водоснабжения). При невозможности повторного использования сточных вод допускается сброс их в водные объекты после очистки на очистных сооружениях в соответствии с нормативами, установленными правилами охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами.

Бурение морских скважин требует соблюдения правил, предотвращающих загрязнение и засорение моря. Углеводороды, тара, технологические отходы, выбуренный шлам, горюче-смазочные и другие материалы, непригодные для использования при сооружении данной скважины, должны транспортироваться на береговые базы или сжигаться в специальных устройствах. Допускается сброс в море очищенных, обезвреженных и обеззараженных хозяйственно-бытовых и буровых сточных вод в соответствии с нормативами, установленными правилами охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами.

Выбуренный шлам должен быть вывезен на береговые базы. Допускается использование шлама добавлением в промывочную жидкость. Складирование шлама производят в береговых шламоотвалах, исключающих фильтрацию и сток в водные объекты.

Бурение скважин на море. Все установки для морского бурения подразделяют на три основные категории: стационарные – постоянные основания, эстакады, искусственные острова; полустационарные – плавучие (самоподнимающиеся) буровые установки; подвижные – буровые суда, баржи и другие плавучие устройства (полупогружные установки), также существуют еще и промежуточные.

9.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в добыче нефти

Экологические проблемы при нефтедобыче охватывают загрязнение воздуха, воды, почвы нефтью и нефтепродуктами в результате производственной деятельности и при аварийных ситуациях: при выбросах нефти из скважин, транспортировке, хранении нефти. Нефтью и мазутом загрязняются воздух, вода, почва.

Известны технологии, в которых участвуют сообщества живых организмов для решения проблем очистки производственных нефтьсодержащихсточных вод, хозбытовых стоков; выбросов, содержащих соединения углеводородов и серы; шламов и замазученных грунтов и загрязненных территорий в результате разливов нефти.

Нефть и нефтепродукты, попадая в почву и грунты, угнетают жизнедеятельность биоты. Однако отдельные виды микроорганизмов способны окислять углеводороды нефти, и они могут развиваться на средах, где единственным источником углерода являются углеводороды нефти, при том, что окисляемость различных классов углеводородов достаточно сильно различается.

В результате многочисленных работ для нефтеокисляющих микроорганизмов установлено, что:

1) наиболее универсальными источниками питания для них являются:

- нормальные парафины,
- углеводороды, молекулы которых состоят из длинной цепи, имеющей концевые ответвления циклического или ациклического строения;

2) микроорганизмы, выделенные из загрязненных нефтью почв и грунтов, ведут себя по-разному:

- ароматические соединения окисляются только отдельными видами микроорганизмов,
- дрожжи некоторых родов (Candida, Torullopsis и др.), хорошо окисляют нормальные парафины, а также ароматические углеводороды;
- бактерии лучше растут на высококипящих фракциях нефти и хуже – на низкокипящих (в интервале 100...200 °С).

9.3. Объекты биореконструкционных технологий в нефтедобывающей промышленности

Результаты многочисленных исследований в этом направлении явились основой для разработки биопрепаратов, включающие различные сочетания нефтеокисляющих микроорганизмов, а также источники питания для них, для окисления углево-

дородов нефти, присутствующих в почве, грунтах или воде в качестве загрязнителей (табл. 9.1).

Перечисленные в табл. 9.1 препараты имеют недостатки, связанные с тем, что:

- разработанные биопрепараты на основе аборигенных микроорганизмов предназначены для локального применения в заданных природно-географических условиях;
- частично микроорганизмы в распыляемом биопрепарате могут быть уже мертвыми, а живые, попадая в почву, осуществляют дискомфорт в работе.

Поэтому нужно учитывать особенности использования их на конкретных площадках, так как при продаже декларируются более качественные показатели эффекта очистки почвы от нефтепродуктов, чем это обычно достигается на практике

Таблица 9.1

Биопрепараты для окисления углеводородов нефти, присутствующих в почве, грунтах или воде в качестве загрязнителей (по Иванову В.Н., Стабниковой Е.В. и др.) [15-17, 22, 34]

Наименование препарата	Краткая характеристика
Путидойл	Сухая биомасса производится на основе природного бактериального штамма Pseudomonas putuda-36 и предназначена для очистки почвы и воды от нефтезагрязнений. Для применения биомасса перемешивается с подогретой до 20...28 °С водой и после 12 ч аэрирования используется на загрязненных участках
Нафтокс	Получен на основе природного бактериального штамма Mycobacterium Sp-5 kB. Эти бактерии наряду с высокой окислительной способностью помогают эмульгированию нефтепродуктов в случае культивирования в водных средах. При этом микобактерии ассимилируют не только нормальные алканы, но и фенол, бензойную кислоту, нафталин, циклогексан, высшие жирные кислоты. После очистки почвы от нефтепродуктов почва может быть использована для последующего улучшения состояния окружающей среды

Продолжение табл. 9.1

Наименование препарата	Краткая характеристика
Деворойл	Для получения препарата используются бактерии рода Pseudomonas, Alcaligenes, Rhodococcus и др. Способны в достаточно короткий срок очищать от нефтепродуктов почву и воду
Лестан	Препарат применяют для очистки воды и почвы от нефтепродуктов. При дозе от 1 мг/л воды до 10 г/л эффективность очистки за 30 дней достигает 93 %, а скорость деградации нефти – 13 мг/кг в день. Положительные качества: стабильность в экстремальных температурных условиях, а также эмульгирующая и пенообразующая способность
Noggies Biodetox	Сухие смешанные культуры микроорганизмов, безвредные для людей и животных, для очистки почвы и грунтовой воды от углеводородов. В почву (до глубины 0,4 м) вносят в виде пены с питательными веществами и ПАВ. Для очистки грунтовых вод препарат вводится через колодцы, грунтовая вода откачивается, очищается в биореакторе и возвращается в водоносный слой
Noggies Horrepat	Предназначен для разложения в почве мазута, дизельного топлива, бензина, керосина, фенолов, формальдегида, каменноугольного масла; вводится в почву в виде пены
Cytocultur	Бактериальные композиции для очистки окружающей среды от ароматических углеводородов
Microbe Inc.	Коммерческие штаммы для очистки почвы от бифенола, крезола, пентахлорфенола
Konsan	Бактериальный препарат с питательными добавками для очистки грунта

В последнее время применяют комплексное решение для очистки стоков и почв, загрязненных нефтепродуктами. Активный ил (или высушенная биомасса активного ила с влажностью 10 %) из биологических очистных сооружений производственных стоков нефтеперерабатывающих предприятий, вносят в загрязненную почву или грунт в виде суспензии. Преимущество использования активного или – это снижение себестоимости работ по очистке от нефтепродуктов.

Представляет интерес технология получения биомассы нефтеокисляющих микроорганизмов (преимущественно дрожжей Candida) из парафинов нефти. Технология также успешно применяется для производства кормового белка.

Сущность технологии получения биомассы нефтеокисляющих микроорганизмов сводится к отбору в процессе селекции наиболее продуктивного штамма дрожжей (по содержанию протеина в клетках дрожжей), единственным источником углерода которых являлись парафины нефти, культивируют последовательно в специальных аппаратах для выращивания микроорганизмов – биореакторах. При хорошей аэрации культуральной среды в процессе выращивания дрожжей возможен выход биомассы до 98 % от количества используемой при этом массы парафинов [79].

С учетом опыта использования биореконструкционных технологий очистки почвы, следует отметить, что в условиях чрезвычайных ситуаций вследствие малой скорости окисления углеводородов нефти метод не эффективен. В этих условиях более пригодны механические и физико-химические методы очистки, в частности, флотационный метод.

Контрольные вопросы

1. Нефтедобывающая промышленность как субъект биотехнологии.
2. Нефть и природный газ: химический состав и свойства.
3. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в добыче нефти.
4. Объекты биореконструкционных технологий в нефтедобывающей промышленности.
5. Нефтеокисляющие микроорганизмы: экология и биология.
6. Особенности применения биопрепаратов для окисления углеводородов нефти, присутствующих в почве, грунтах или воде в качестве загрязнителей.

10. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ХИМИЧЕСКОЙ И НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

10.1. Химическая и нефтехимическая промышленность как субъект биотехнологии

Химическая промышленность – это отрасль тяжелой промышленности, которая занимается переработкой минерального, углеводородного и другого сырья и производством продукции из полученного материала.

В химическую промышленность входят 10 отраслей, которые вместе производят более 70 тысяч наименований различных видов продукции.

В химическую промышленность входят:

- органическая и неорганическая химия;
- нефтехимическая промышленность;
- керамика, полимеры, нефтехимия;
- взрывчатые вещества;
- агрохимия;
- фармацевтика;
- парфюмерные и косметические изделия.

Продукты промышленности используются и в других отраслях, например в сельском хозяйстве, строительстве, сфере услуг, обрабатывающей промышленности. Условно всю продукцию можно разделить на 4 категории по доле потребления в мире: продукты жизнеобеспечения (30 %), специальные химикаты (24 %), товары потребительские (10 %) и базовые товары (36 %).

Базовые товары –это крупнотоннажная нефтехимия, полимеры, минеральные и неорганические удобрения, лакокрасочные изделия, каучук, резина, смолы, скипидар и т. д. Сюда входят и моющие средства: мыло, порошки, косметика, парфюмерия, вся бытовая химия,а также различные медицинские и ветеринарные препараты. Эта категория товаров показывает самые большие и активные темпы роста в мировом ВВП.

Одной из самых важных отраслей химической промышленности является нефтехимическая промышленность.

Нефтехимическая промышленность – это отрасль тяжелой индустрии, охватывающая производство синтетических материалов и изделий главным образом на основе продуктов переработки нефти и природных видов сырья (рис. 10.1).

На предприятиях нефтехимической промышленности производятся такие виды материалов, как: каучук синтетический, сажа, полиэтилен, пропилен, этилен, бытовая химия и моющие средства, удобрения.

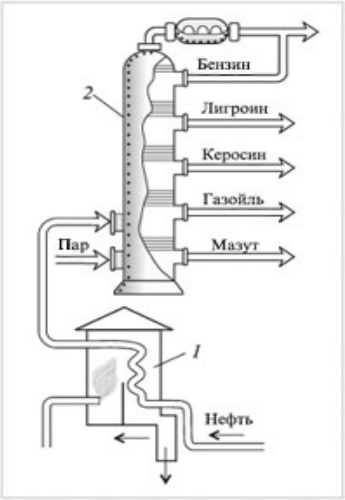


Рис. 10.1. Переработка нефти (отгонка)

10.2. Объекты биореконструкционных технологий для химической и нефтехимической промышленности

Предпосылки для использования объектов биотехнологии в химической и нефтехимической промышленности. Источники *загрязнения воздуха* при переработке высокосернистых нефтей по существу те же, что и при переработке малосернистых нефтей, но каждый из них приобретает более серьезное гигиеническое значение вследствие высокой токсичности газовыделений. Особо важное значение приобретают газовыделения (испарения) через неплотности в оборудовании, возникающие в результате коррозии, а также при сжигании газа в факелах нефтеперерабатывающих заводов.

Одним из наиболее перспективных путей охраны воздушного бассейна от загрязнения сернистыми соединениями является обессеривание дымовых газов.

Бактериологические методы обессеривания дымовых газов основаны на использовании термофильных микроорганизмов.

Используют биотехнологии, в которых участвуют сообщества живых организмов для решения проблем очистки производственных нефтьсодержащихсточных вод, хоз-бытовых стоков; выбросов, содержащих соединения углеводородов и серы; шламов и замазученных грунтов и загрязненных территорий в результате разливов нефти. Объекты, задействованные в данных биотехнологиях, рассмотрены в главах 5–9.

Контрольные вопросы

1. Какие предпосылки для применения объектов биотехнологии имеются в химической и нефтехимической промышленности?
2. Какие объекты биотехнологии применяют в нефтехимической и химической промышленности?
3. Что производит нефтехимическая и химическая промышленность с использованием основных и биологических технологий?

11. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В АВТОТРАНСПОРТЕ И СТРОИТЕЛЬСТВЕ

11.1. Объекты биореконструкции автотранспорта

В качестве субъекта биотехнологии рассмотрим также автотранспорт, находящийся на балансе любого предприятия.

В состав отработанных газов дизельных двигателей входят около 200 компонентов, среди которых вредные: оксиды азота и углерода, углеводороды, альдегиды, бензапирен и др. Наиболее токсичными считаются канцерогенное вещество, бензапирен и некоторые другие, содержащиеся в твердых частицах отработанных газов.

Снижение дымности дизельных двигателей достигается за счет добавления к топливу малотоксичных антидымных присадок, способствующих уменьшению образования сажи. Применение присадок и составе дизельного топлива снижает зольное отложение на деталях двигателя.

Таблица 11.1

Состав выхлопных газов ДВС

Компонент	Объемная доля компонентов, %	
	карбюраторные ДВС	дизельные ДВС
N_2	74–77	76–78
O_2	0,3–8	2–18
CO_2	5–12	1–10
CO	0,5–12	0,01–0,5
пары H_2O	3–5,5	0,5–4
H_2	0–5	–
NO_x (N_2O_5)	до 0,8	0,0002–0,5
Углеводороды	0,2–3	0,009–0,5
Альдегиды	до 0,2 мг/л	0,001–0,09 мг/л
Сажа	0–0,04 г/м^3	0,01–0,1 г/м^3
Бенз(а)пирен	10–20 мкг/м^3	до 10 мкг/м^3

Зависимость содержания свинца в воздухе от содержания свинца в бензине:

Концентрация Pb в бензине, г/л	0,15	0,20	0,25	0,5
Концентрация Pb в воздухе, мкг/м^3	0,4	0,5	0,55	1,0

Более экологичен транспорт на газовом топливе. В перспективе более экологичный транспорт – электромобили и транспорт на водородном топливе.

Объекты биотехнологии, предназначенные для производства биоводорода и биометана, рассмотрены в главе 5.4.

11.2. Объекты биотехнологии в строительстве

В качестве субъекта биотехнологии рассмотрим также ППК, осуществляющего строительные работы. Известно, что при анализе экологической деятельности предприятия любой отрасли, если оно строится, изучаются два режима: строительства и эксплуатации.

В результате строительства основное загрязняющее вещество – пыль.

Выбросы загрязняющих веществ осуществляются в результате сварочных работ, разогреве смолы, земляных работ, окрасочных работ и др.

Строительные отходы обычно используют в качестве грунтовой засыпки, так как они не относятся к опасным отходам.

Строительные работы характеризуются временным режимом.

Рассмотрим возможность применения объектов биотехнологии при функционировании строительного комплекса.

Объекты биотехнологии в строительной отрасли производят биоцидные бетоны и растворы, представляющие собой высокоэффективными и экологически безвредными продуктами [23, 52].

Для биоцидных бетонов и растворов разработана биоцидная добавка катапин – бактерицид, которая не только эффективно подавляет развитие плесневых грибов, но и не ухудшает строительно-технологические свойства цементных материалов.

Для улучшения однородности и качества глинистых материалов и повышения эффективности технологического процесса используют биопрепараты на основе силикатных бактерий *Bacillus mucilaginosus*.

Бактерии *Bacillus mucilaginosus* – сапрофитные микроорганизмы, обладающие уникальными свойствами:

- способны быстро разрушать силикатсодержащие материалы, что может быть использовано в самых разнообразных сферах: в горнообогатительном производстве, в нефтедобывающей промышленности, в земледелии, в технологии керамики и даже в медицине (на основе культуры данного микроорганизма разработан ряд новых продуктов и биопрепаратов);

- в симбиозе с микроводорослью *Platymonos viridis* обезвреживает ил сточных вод.

Контрольные вопросы

1. Какие предпосылки имеются в рассматриваемых отраслях промышленного сектора для использования объектов биотехнологии?

2. Какие объекты биотехнологии используют в автотранспорте, а какие – в строительстве?

12. ТЕХНОГЕННЫЕ СИСТЕМЫ КАК ИСТОЧНИКИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Обобщая характеристики техногенных объектов, очевидно, что они являются постоянными загрязнителями всех компонентов биосферы.

Загрязнение – привнесение в окружающую среду или возникновение в ней новых, обычно не характерных физико-химических и биологических веществ, агентов, оказывающих вредные воздействия на природные экосистемы и человека.

Загрязнения делятся на следующие типы: физическое, химическое, биологическое (табл. 12.1).

Таблица 12.1

Типы загрязнения окружающей среды [44]

Показатель	Типы загрязнения		
	физическое	химическое	биологическое
Определение	изменение физических, температурно-энергетических, волновых и радиационных параметров внешней среды	увеличение количества химических компонентов определенной среды, не свойственных ей или в концентрациях, превышающих норму	случайное или связанное с деятельностью человека проникновение в экосистемы чуждых им растений, животных и микроорганизмов
Источники	подземные газопроводы промпредприятий (140–160 ºС), теплотрассы (50–150 ºС), сборные коллекторы и коммуникации (35–45 ºС) и т.д.	промышленные предприятия; токсиканты (аэрозоли, химические вещества, тяжелые металлы, пестициды, пластмассы, детергенты и др.)	предприятия промышленного биосинтеза, в выбросах которого присутствуют живые клетки микроорганизмов
Примеры	шум, электромагнитное излучение (высоковольтные линии элетропередач, электроподстанции, антенны радио- и телепередающих станций, микроволновые печи, компьютеры и радиотелефоны)	энергетика, горнодобывающая, нефтедобывающая, металлургическая, химическая, строительная, автотранспорт и др	предприятия, производящие антибиотики, ферменты, вакцины, сыворотки, кормовой белок, биоконцентраты и др.

Из табл. 12.1 видно, что многие перечисленные вещества обладают канцерогенными (канцерогеном может быть вещество-химикат, физическая агент-радиация или биологические организмы-вирусы, способствующие возникновению или развитию злокачественных раковых новообразований; большинство канцерогенов антропогенного происхождения) с мутагенными свойствами (мутация – качественное и количественное изменение генетического аппарата).

Среди канцерогенов опасны 200 наименований (согласно ЮНЕСКО): бензол, асбест, бенз(а)пирен, пестициды (ДДТ, эльдрин, линдан и др.), тяжелые металлы (особенно ртуть, свинец, кадмий), разнообразные красители и пищевые добавки класса Е [43, 125].

Среди десяти наиболее опасных веществ и факторов воздействия можно назвать тяжелые металлы (Zn, Cu, Mn, Hg, Co, Mo, Pb, Cd, As и др.), летучие органические соединения, формальдегид, пестициды, побочные продукты сгорания (CO, CO_2, NO_2, SO_2 и др.), пыль, асбест, патогенные микроорганизмы, недостаток солнечного света, радиацию.

Ксенобиотики. Экотоксиканты. Суперэкотоксиканты. *Ксенобиотики.* Особую опасность для живых организмов представляют вещества, являющиеся чужеродными для них.Это такие ксенобиотики, как свинец, ртуть, кадмий, никель, радионуклиды, нефть и нефтепродукты, персис- тентные пестициды и гербициды типа ДДТ, 2,4,5–Т пентахлорфенола, полихлорированные бифенилы, ПАВ, токсичные отходы химических, металлургических и др. предприятий. Все эти вещества являются экотоксикантами.

Экотоксиканты – вредные химические вещества, загрязняющие окружающую среду и отравляющие находящиеся в ней живые организмы. Основными источниками поступления их в среду являются: предприятия химической, нефтеперерабатывающей, металлургической, деревообрабатывающей, топливной и других отраслей; различные виды транспорта (особенно автомобильный); ТЭЦ; сельскохозяйственное производство (минеральные удобрения, пестициды); АЭС. Последствия дозированного воздействия токсиканта или сочетания их, вносимых в реальные

экосистемы, изучает экотоксикология – наука, возникшая на стыке экологии и токсикологии. Экотоксиканты оказывают поражающее действие: канцерогенное, мутагенное, эмбритоксическое, иммунодепрессивное, тератогенное.

Канцероген – вещество (химикат), физический агент (радиация) или биологические организмы (вирусы), способствующие возникновению или развитию злокачественных новообразований. Большинство канцерогенов антропогенного происхождения (в 1990 г. их число составило 237 веществ), это асбест, мышьяк, бензол, винилхлорид, сажа, вар, деготь, нефтяные сланцы, оксид кадмия, афлатоксины и др.

Мутаген – любой агент или фактор, вызывающий мутацию – изменения в генетическом материале организма, способные передаваться по наследству и выражающиеся внешне в изменении физиологических, морфологических и других признаков.

Тератоген – вещество, при воздействии на организм вызывающее возникновение уродств и других аномалий в его развитии.

Наиболее опасные 10загрязняющих веществ внесены в список *экотоксикантов* и контролируются ООН: углекислый газ, окись углерода (угарный газ), сернистый газ, оксиды азота, фосфаты, ртуть, свинец, нефть, ДДТ и другие пестициды, радиация.

Все загрязняющие вещества аккумулируются в почве, в донных отложениях водных объектов и в воде, в верхних слоях атмосферы, накапливаются в живых объектах, многие из которых являются индикаторами качества окружающей среды.

В настоящее время наша планета стоит на пороге критической точки экологической нагрузки, превалирующим фактором которой является загрязнение окружающей среды. Предсказать дальнейшее направление в развитии такой системы в этот момент невозможно.

Происходит нарушение биологического круговорота.

Контрольные вопросы:

1. Какие особенности характерны для природных и антропогенных экосистем?
2. В каких отраслях промышленности объекты биотехнологии имеют широкое применение, а в каких их внедрение незначительное?
3. Почему происходит разделение объектов биотехнологии на биореконструкционные и на биопроизводственные?
4. Какие особенности (биологические, технологические) характерны для рассмотренных объектов?
5. На какие преимущества следует обратить внимание при изучении объектов биотехнологии по отраслям их применения?

13. ПОПУЛЯЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОДНОРОДНЫХ КЛЕТОК НА УРОВНЕ БИОРЕАКТОРА КАК ОБЪЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

13.1. Понятие и классификация биологически активных веществ

Биологически активные вещества (БАВ) – вещества, оказывающие влияние на жизнедеятельность организмов на различных уровнях ее организации в результате избирательной биохимической активности в малых концентрациях. БАВ по природе классифицируют на абиогенные и биогенные, по происхождению – экзогенные и эндогенные (рис. 13.1).

Как видно из рис. 13.1, к экзогенным БАВ, вырабатываемыми микроорганизмами относят антибиотики (антимикробная активность), маразмины (угнетают рост низших растений), микотоксины (яд грибного происхождения), растениями – фитонциды (антимикробная активность, выделяются в атмосферный воздух), колины (выделяются через корневую систему против низших растений), душистые вещества (происхождение чаще эфирное с характерным приятным запахом); к эндогенным – белки, ферменты, гормоны, липиды, углеводы, витамины (вырабатываются микроорганизмами и растениями) и красители. К БАВ также относят лекарственные препараты, яды, пестициды и др.



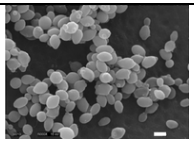
Рис. 13.1. Биогенные биологически активные вещества органической природы [1, 5, 8]

13.2. Продуценты биологически активных веществ

БАВ применяются в различных областях промышленности и в здравоохранении. Ниже рассматриваются классические примеры продуцентов БАВ в пищевой и фармацевтической промышленности. Так, в пищевой промышленности (табл. 13.1), «классическими» продуцентами БАВ являются хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida milleri*; молочнокислые бактерии *Streptococcus, Lactobacillus, Lactobacillus*; пропионовокислые бактерии *Propionibacteriumfreudenreichiisubspglobosum, P. freudenreichiisubspfreudenreichii, P. freudenreichiisubspshermanii*.

Таблица 13.1

Продуценты БАВ в пищевой промышленности [41, 44, 45]

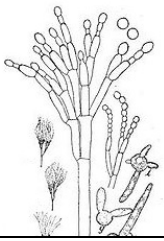
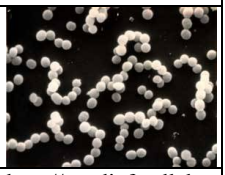
Показатель	Продуценты		
	Хлебопекарные дрожжи	Молочнокислые бактерии	Пропионовокислые бактерии
	Примеры		
	Candida milleri	*Streptococcus, Lactobacillus*	*Propionibacteriumfreudenreichiisubspglobosum, P. freudenreichiisubspfreudenreichii, P. freudenreichiisubspshermanii*
Микрофотография			
	http://www.snipview.com/q/Candida	http://www.gastroscan.ru	http://propionix.ru/propionovokislye-bakterii
Биология	Эндосимбионты животных-хозяев. Почкующиеся клетки	грамположительные, факультативно анаэробные неспорообразующие	грамположительные неподвижные, факультативные анаэробы
Экология	встречаются как представители нормальной микрофлоры человеческой кожи и слизистых оболочек	Нормальная микрофлора ЖКТ животных	Непатогенны, обитают в рубце и кишечнике жвачных животных
Культуральные свойства	33–34 ºС pH 4,5+0,2	+30–35 °С pH 3 – 4,8	Образуют колонии жёлтого, оранжевого или красного цвета
Ферментационный процесс (основные)	сбраживают сахара	сбраживают углеводы с образованием молочной кислоты	сбраживают глюкозу, лактозу и др. углеводы, а также некоторые спирты с образованием пропионовой и уксусной кислот и CO_2
Биотехнологическая ниша	пищевая (хлебопечение, виноделие), продуценты БАВ	Пищевая, фармацевтическая, продуценты БАВ	пищевая, продуценты БАВ

Как видно из табл. 13.1, ферментационная активность рассмотренных продуцентов связана с процессом брожения углеводов.

В табл. 13.2 дается краткая характеристика продуцентам, также используемых в пищевой промышленности.

Таблица 13.2

Продуценты БАВ в пищевой промышленности [45]

Показатель	Продуценты		
	Penicillium camemberti	*Aspergillus oryzae*	*Streptococcus lactis*
Микрофотография			 http://nordicfoodlab.org
Биология	зеленая кистевидная плесень	род несовершенных грибов класса гифомицетов	кокки овальной формы 0.8–1.2 мкм, образуют цепочки различной длины
Экология	обитатели почв	верхние горизонты почв	встречается на растениях
Культуральные свойства	культура белой плесени	30–32°С pH4–4,5	30°С pH 5–4,5
Ферментационный процесс (основные)	закваска кисломолочных сыров	спиртовое брожение	гомоферментативны: сбраживают более 90% сахара в молочную кислоту и лишь незначительную его часть – в уксусную кислоту и спирт
Биотехнологическая ниша	пищевая (сыроделие, консервирование), фармацевтическая, продуценты БАВ	пищевая, фармацевтическая, продуценты БАВ	пищевая (сыроделие), продуценты БАВ

В качестве дополнения к табл. 13.1 и 13.2 следует отметить, что используемые в пищевой промышленности продуценты весьма многообразны.

Таблица 13.3

Продуценты некоторых аминокислот

№ п/п	Показатель	Продуцент		
		Micrococcus	*Hansunella*	*Corynebacterium*
1	Продуцирующая аминокислота	L-лизин	L-триптофан	L-глутамат
2	Краткая характеристика	Грамположительные мутанты ауксотрофных бактерий	Дрожжи	Грамположительные, круглые или овальные бактерии
3	Культуральные свойства	30–33ºС, pH 7,47.	Аэробная среда	В интенсивно аэрационной среде, 28–30ºС, pH 6,8–7,5

Таблица 13.4

Продуценты некоторых органических кислот

Продуцент	Продуцирующая кислота	Краткая характеристика	
		биологии	процесса ферментации
Lactobacillus	Молочная кислота	факультативные анаэробы, клетки сферические или овальные, неподвижные, грамположительные	периодическая без аэрации (6–12 ч)
A.niger	Лимонная кислота	Колонии от белого до черного, быстрорастущие	Аэробная, 35ºС
Acetobacter	Уксусная кислота	Уксуснокислые бактерии, грамотрицательные	Аэробная pH 5,4–6,3; 25– 30 ºС

Таблица 13.5

Промышленные продуценты антибиотиков

Продуценты	Продуцент (название антибиотика)	Краткое описание	
		биологии	культуральных свойств
Бактерии	Bacillusbrevis (Грамицидин С) Bacilluspolymyxa (Полимиксины) Bacillus licheniformis иВ. erevis (Бацитрацины)	Прямые палочки (0,5–2,5 х 1,2–10 мкм). Грамположительные, подвижные. Аэробы. Хемоорганотрофы. Каталазоположительные	Растут на простых плотных питательных средах образует плоские, мелкобугристые, слегка вогнутые, матовые колонии. Край волнистый.
Актиномицеты	Streptomycesgriseus (Стрептомицин), Streptomycesfradiae (Неомицин), Streptomyceskanamyceticus (Канамицин), Streptomycestenebraris (Тобрамицин), Streptomycesaureofaciens (Хлортетрациклин), Streptomycesrimosus (Окситетрациклин), Streptomycesnoolosus (Амфотерецин В), Streptomycesaureofaciens (Тетрациклин), Streptomycesvenezuelae (Хлорамфеникол), Streptomycesambofaciens (Спирамицин), Streptomycesfradiae (Тилозин), Streptomycesnoursei (Нистатин), StreptomycesIevoris (Леворин)	Широко распространены в почве. Грамположительные, не кислото- и спиртоустойчивые. Аэробы. Хеморганотрофы. Метаболизм окислительного типа. Споры неподвижны. Каталазоположительные; восстанавливают нитрат до нитрита. Разлагают аденин, эскулин, казеин, крахмал и др.	Оптимальная температура 25–35 °С, оптимальный pH 6,5–8. В качестве источника энергии используют различные органические соединения. Колонии обособленные и лишайникоподобные, кожистые или маслянистые; поверхность вначале гладкая, затемформируется мицелий. Образуют разнообразные пигменты

Продолжение табл. 13.5

Продуценты	Продуцент (название антибиотика)	Краткое описание	
		биологии	культуральных свойств
	Micromonosporapurpurea (Гентамицин), Micromonosporainyoensis (Сизомицин)	Актинопланы. Мицелий хорошо развит, разветвлен, септированный. Грамположительные, некислотоустойчивые. Хемоорганотрофы. Обитают в почве, воде, иле	Оптимальная температура 20 – 40 °С, оптимальный pH выше 6.
	Saccharopolysporaerythraea (Эритромицин)	Чувствительны к лизоциму	Колонии тонкие, выкуплые
Грибы	Penicilliumchrysogenum (Пенициллины)	по всей земле, гифы септированные	Прорастают на 7 сут., 37°С
	Penicillium griseofulvum (Гризеофульвин)		
	Trichoderma polysporum (Циклоспорин)	широко распространены	растут при 25°С

В табл. 13.3 приведены краткие сведения продуцентов аминокислот, в табл. 13.4 – продуценты органических кислот и в табл. 13.5 – продуценты антибиотиков.

Как видно из табл. 13.3–13.5, перечень видов микроорганизмов, задействованных в получении БАВ весьма разнообразен.

Также следует отметить, что с использованием микроорганизмов получают витамины рибофлавин, цианокобаламин, L-аскорбиновую кислоту. Штаммами-продуцентами для них являются, соответственно, *Ashbyagossypii, Pseudomonasdenitrificans и Corynebacteriumspp*. Основными продуцентами ферментов являются *Bacillus sp., Aspergillus niger, A.oruzae* (амилазы), *Bacillus licheniformis, B. subtilis, Aspergillus spp., Saccharomyces cerevisiae* (протеазы), *E. parasitica, Mucor sp*. (реннин),*Saccharomycopsis lipolytica* (липазы), *Aspergillus spp*. (пектиназы), *Trichoderma reesii* (гемицеллюлазы, целлюлазы), *Saccharomyces cerevisiae* (инуллаза), *Bacillussp*. (аспартаза, фумараза, глюкозоизомераза), *Streptomyces* (уреаза) и др. [115, 121].

В заключении следует отметить, что биосинтетической деятельностью клеток-продуцентов БАВ можно управлять путем изменения условий культивирования (состава питательной среды, режима культивирования, физико-химическими условиями и др.).

Как видно из содержания данной главы, информация освящена очень кратко. Для получения более подробной информации читателю следует обратиться к дополнительным источникам, которые перечислены в списке литературы.

Контрольные вопросы

1. Что собой представляют биологически активные вещества?
2. По каким критериям осуществляется классификация биологически активных веществ?
3. Какие функции выполняют БАВ в организме?
4. В каких отраслях промышленности используются БАВ?

ГЛОССАРИЙ

Автотрофы – используют неорганический источник углерода CO_2.

Алюминий – самый распространенный металл в земной коре, его содержание составляет 8,8 %.

Базовые товары – это крупнотоннажная нефтехимия, полимеры, минеральные и неорганические удобрения.

Бактерии – это одноклеточные микроорганизмы-прокариоты.

Биоводород – это разновидность биогаза, где конечным продуктом жизнедеятельности бактерий является вместо метана водород.

Биогаз – это газ, являющийся продуктом водородного или метанового брожения биомассы.

Биогеохимический цикл – круговорот химических веществ из неорганической среды через живую материю обратно в неорганическую среду с использованием солнечной энергии и химических реакций.

Биодизельное топливо – это биотопливо, получаемое в процессе биокатализа растительных или животных жиров (масел).

Биологически активные вещества (БАВ) – вещества, оказывающие влияние на жизнедеятельность организмов на различных уровнях ее организации в результате избирательной биохимической активности в малых концентрациях.

Биологический объект (биообъект), как ключевой элемент биотехнологии, определяет специфику биотехнологического производства.

Биомасса – совокупность биоорганической материи биогеоценоза определённого уровня.

Биометан – это аналог природного газа, отличающийся только происхождением.

Биомолекулы – это органические макромолекулы, синтезируемые клеткой.

Биопроизводственные технологии – это биотехнологии, направленные на производство промышленной продукции по отраслям.

Биоразнообразие – эта вариация жизни на генетическом, популяционном и экосистемном уровнях.

Биореконструкционные технологии – это биотехнологии,направленные на восстановление санитарных норм окружающей среды и воссоздание на основе «зеленых» принципов материальной структуры экосистемы в целом.

Биосфера – область распространения жизни.

Биотехнологический процесс – процесс преобразования живой материей химических веществ в нужный продукт с использованием солнечной энергии или биохимических реакций.

Биотехнологический ресурс – практическая реализация генетического потенциала организма в познавательных (конструкция гена и генотипа *in vitro*), коммерческих (биотехнологическая индустрия) и терапевтических (генная и клеточная терапия) целях.

Биотехнологический цикл – это суммарное время выполнения всех операций биотехнологического процесса.

Биотехнология – это наука, основанная на использовании биоорганического мира для целенаправленного и научно обоснованного использования процессов и систем при производстве биологически активных веществ и переработке природного (рудного и нерудного) и техногенного сырья.

Биоценоз – сообщество живых организмов, лимитированные экологической нагрузкой (давление всех факторов на природную систему).

Биоэтанол – этанол, получаемый в процессе ферментационной переработки растительного сырья.

Большой геологический круговорот – круговорот твердого вещества и воды, происходящий в результате действия абиотических факторов (неживой природы).

Вирус – это единственная наноразмерная форма существования живой материи. Размеры вирусов находятся в диапазоне 25–300 нм.

Водоросли – это преимущественно фототрофные водообитаемые одноклеточные, колониальные или многоклеточные организмы, это крайне гетерогенная экологическая группа генотипов.

Ген – это совокупность сегментов ДНК, в комплексе образующие экспрессируемую единицу и функциональными продуктами которых являются РНК и белок.

Гетеротрофы – используют органические источники энергии.

ДНК – это протяженная, гибкая, нитевидная структура, представленная в форме двойной спирали и образуемая двумя антипараллельными полинуклеотидными цепями, закрученных одна вокруг другой и обе вокруг общей оси.

Единица транскрипции – участок ДНК между сайтами, в которых начинается и заканчивается транскрипция. Единица транскрипции кодирует последовательность первичного продукта (РНК, белок).

Загрязнение – привнесение в окружающую среду или возникновение в ней новых, обычно не характерных физико-химических и биологических веществ, агентов, оказывающих вредные воздействия на природные экосистемы и человека.

Искусственные экосистемы – неустойчивые экосистемы, для их функционирования необходима постоянная поддержка человека.

Канцероген – вещество (химикат), физический агент (радиация) или биологические организмы (вирусы), способствующие возникновению или развитию злокачественных новообразований.

Капсид – это симметричная или квазисимметричная структура, построенная из одного или нескольких видов белков.

Классификация – распределение живой материи по определенной системе иерархически соподчинённых групп – таксонов.

Клетка – структурно-функциональная единица живой материи; это основной микробиореакторный аппарат биотехнологии, т.к. именно клетка обеспечивает производство биотехнологической продукции на промышленном уровне.

Ксенобиотик – чужеродное для живых организмов вещество, появляющееся в результате антропогенной деятельности (пестициды, препараты бытовой химии и другие загрязнители), способное вызывать нарушение биотических процессов, в том числе заболевание или гибель организма.

Литотрофы – окисляют неорганические соединения.

Микроорганизмы – это биохимически гибкая биосистема, обеспечивающая цепь сложных ферментативных процессов для переработки субстрата и производства целевого продукта.

Мутаген – любой агент или фактор, вызывающий мутацию – изменения в генетическом материале организма, способные передаваться по наследству и выражающиеся внешне в изменении физиологических, морфологических и других признаков.

Нефтехимическая промышленность – это отрасль тяжелой индустрии, охватывающая производство синтетических материалов и изделий главным образом на основе продуктов переработки нефти и природных видов сырья.

Ноосфера – сфера разумного взаимодействия общества и природы как определяющий фактор.

Органотрофы – окисляют органические соединения.

Плазмида – экстрахромосомная автономно реплицирующая двухцепочечная кольцевая молекула ДНК бактерий.

Промотор – регуляторный элемент, представленный минимальной последовательностью на 5'–конце гена и необходимый для начала правильной транскрипции.

Ретровирусный вектор– это эукариотические вирусы, геном которых представлен оцРНК.

Систематика – разработка принципов классификации живых организмов для построения системы; схема органического мира.

Сталь – это сплав железа с углеродом, в котором содержится до 1,7% углерода, т. е. сталь отличается от чугуна меньшим содержанием углерода.

Таксономия – искусственное выделение групп генетически родственных организмов.

Тератоген – вещество, при воздействии на организм вызывающее возникновение уродств и других аномалий в его развитии.

Тератоген – вещество, при воздействии на организм вызывающее возникновение уродств и других аномалий в его развитии.

Терминатор – регуляторный элемент, представленный минимальной последовательностью на 3' – конце гена (у прокариот инвертированные повторы в виде шпилек) и необходимый для подачи сигнала об остановке транскрипции.

Техносфера – материальная, созданная человеком, оболочка Земли.

Трансген– это чужеродный химерный ген, сконструированный *in vitro* и состоящий из транскрипционной единицы и регуляторов транскрипции (промотор, терминатор).

Трансгенный генотип – это организм или клетка, в геноме которого функционирует искусственно введенная дополнительная генетическая коснтрукция (трансген).

Трансгеноз – процесс переноса сконструированной генетической конструкции с одной биологической системы в другую.

Транспирационный ток воды (почва – корни растений – листья – атмосфера) представляет собой основной путь воды через живое вещество в ее большом круговороте на нашей планете.

Химическая промышленность – это отрасль тяжелой промышленности, которая занимается переработкой минерального, углеводородного и другого сырья и производством продукции из полученного материала.

Цветная металлургиявключает в свой состав: добычу и обогащение руд; производство и обработку цветных металлов и их сплавов; производство редких и драгоценных металлов; добыча алмазов. Основные отрасли цветной металлургии: алюминиевая; медная; свинцово-цинковая; титаномагниевая; никель-кобальтовая; алмазодобывающая.

Черная металлургия – это в основном производство металлов – железо, хром, магний, изделий из них.

Экосистема– это сообщество живых организмов и среды их обитания, составляющее единое целое на основе устойчивого взаимодействия между элементами живой и неживой природы в определенном пространстве, используя поток энергии и создавая круговорот веществ.

Экотоксиканты – вредные химические вещества, загрязняющие окружающую среду и отравляющие находящиеся в ней живые организмы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Адамс Р.* Методы культуры клеток для биохимиков. – М.: Мир, 1983.

2. *Айла Ф., Кайгер Дж.* Современная генетика. – В 3-х томах. – М.: Мир, 1988.

3. *Албертс Б., Брей Д. и др.*Молекулярная биология клетки. – В 3-х томах. – М.: Мир, 1994.

4. *Александров А.А., Александров Н.Н., Бородовский М.Ю. и др*. Компьютерный анализ генетических текстов. – М.: Наука, 1990.

5. *Баев А.А.* (отв. редактор). Биотехнология. – М.: Наука, 1984.

6. *Барам Г.И., Грачев С. Л.*Использование перхлората лития при выделении и анализе олиго- и полинуклеотидов // Биоорган.химия, 1985. – Т.11. – С. 1420–1422.

7. *Бауэр Г., Энгельгард Х. и др.* Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии. – М.: Мир, 1988.

8. *Безбородов А.М., Загустина Н.А., Попов В.О.* Ферментативные процессы в биотехнологии. – М.: Наука, 2008.

9. *Бейли, Джеймс.* Основы биохимической инженерии: В 2 ч. – Ч. 1 / *Джеймс Э. Бейли, Дэвид Ф. Оллис*; пер. с англ. *А. А. Кирюшкина*. – М.: Мир, 1989. – 692 с.

10. *Бейли, Джеймс.* Основы биохимической инженерии: В 2 ч. – Ч. 2 / *Джеймс Э. Бейли, Дэвид Ф. Оллис*; пер. с англ. *А. А. Кирюшкина.*– М.: Мир, 1989. – 590 с.

11. *Беккер М.Е.* Введение в биотехнологию. – Рига: Пищевая промышленность, 1978.

12. Биология: Пособие для поступающих в вузы / *А.Г. Мустафин, Ф.К. Лагнуев, Н.Г. Быстренина и др.*, под ред. *В.Н. Ярыгина*. – М.: Высшая школа, 2008. – 492 с.

13. Биология: Справочник студента / *А.А. Каменский, А.И. Ким, Л. Л. Великанов и др.*– М.: Физиологическое общество «СЛОВО» ОО Изд-во АСТ», 2006. – 640 с.

14. Биология: Справочник школьника и студента / Под ред. *З. Брема, И. Мейнке*. – М.: Дрофа, 2009. – 400 с.

15. Биотехнология: принципы и применение / Под ред. *И. Хиггинса*; пер. с англ. *А. С. Антонова*; под ред. *А. А. Баева.* – М.: Мир, 1988. – 479 с.

16. Биохимические основы жизнедеятельности человека: Учеб. пособие / Сост.: *Ю. Б. Филиппович, А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова.*– М.: ВЛАДОС, 2005. – 407 с.

17. *Бирюков В.В.* Основы промышленной биотехнологии. – М.: Колос. Химия, 2004. – 296 с.

18. *Бокуть С.Б.* Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации: Учеб. пособие / *С. Б. Бокуть, Н. В. Герасимович, А. А. Милютин*. – Минск: Высшая школа, 2005. – 463 с.

19. *Брем Г., Кройслих Х., Штранцингер Г.* Экспериментальная генетика в животноводстве. – М.: Россельхозакадемия, 1995.

20. *Валиханова Г.Ж.* Биотехнология растений. – Алматы, 2002.

21. *Вахненко Д.В., Гарнизоненко Т.С., Колесников С.И.* Биология с основами экологии: Учебник для вузов / *Д.В. Вахненко, Т.С. Гарнизоненко, С.И. Колесников.* – Ростов-на-Дону: Феникс, 2009. – 448 с.

22. *Воронов Ю.В., Журов В.Н.* Биологические окислители. – М.: МГСУ, 2009. – 103 с.

23. *Волова, Т. Г.* Введение в биотехнологию. Версия 1.0 [Электронный ресурс]: электрон. учеб. пособие / Т. Г. Волова. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008.

24. *Гельфанд М.С.* Компьютерный анализ последовательностей ДНК // Молекулярная биология, 1998. – Т. 32. – С. 103–120.

25. *Георгиев Г.П.* Гены высших организмов и их экспрессия. – М.: Наука, 1989.

26. *Гердон Дж., Спандидос Д. и др.* Транскрипция и трансляция. Методы. – М.: Мир, 1987.

27. *Гилберт С.* Биология развития. – М.: Мир, 1993.

28. *Глик Б., Пастернак Дж.* Молекулярная биотехнология. – М.: Мир, 2002.

29. *Гловер Д.* (под ред.). Клонирование ДНК. Методы. – М.: Мир, 1988.

30. *Гловер Д.* (под ред.). Новое в клонировании ДНК. Методы. –М.: Мир, 1989.

31. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология / *Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор* /Под ред. Р. Сопера. – М.: Мир, 2007. – Т. 1. – 368 с.

32. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор, под ред. *Р. Сопера*. – М.: Мир, 2009. – Т. 2. – 325 с.

33. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология / *Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор / П*од ред. *Р. Сопера.* – М.: Мир, 2006. – Т. 3. – 325 с.

34. *Гришин Ю.И., Мандрыка Е.А., Мельникова Н.Е.* Биологическая регенерация веществ. Основные процессы, системы, оборудование. – М.:У Никитских ворот, 2014. – 496 с.

35. *Гэлстон А., Дэвис П., Сэттер Р.* Жизнь зеленого растения. – М.: Мир, 1983.

36. *Данилюк Н.К., Ястребов С.И. и др.*Упрощенный вариант метода Максама-Гилберта для определения первичной структуры олигонуклеотидов и фрагментов ДНК //Биоорганическая химия, 1986. – Т. 12. – С. 1185–1188.

37. *Дебабов В.Г.* Современные методы создания штаммов микроорганизмов. – М.,1988.

38. *Джамалова Г.А.* Биотехнология животных. – Алматы, 2004. – 328 с.

39. *Джамалова Г.А.* Практикум по биотехнологии животных. – Алматы, 2004. – 268 с.

40. *Диксон М., Уэбб Э.* Ферменты. –Т.1–3. – М.: Мир, 1982.

41. *Дьяконов Л.П., Ситьков В.И.* (под общ. ред.). Живая клетка в культуре. – М., 2000.

42. *Егорова Т. А.* Основы биотехнологии: Учеб. пособие / *Т.А.Егорова, С.М.Клунова, Е.А.Живухина.*– М.: Академия, 2003. – 208 с.

43. *Еликбаев Б.К.* Почва и окружающая среда. Почва и окружающая среда. – Алматы, 2005. – 114 с.

44. *Емцев В.Т.* Агроэкология: основы экологической биотехнологии:учеб. пособие. – М., 2001.

45. *Емцев В.Т.* Рубежи биотехнологии. – М.:Агропромиздат, 1986.

46. *Ершов Ю.А., Зайцева Н.И.* Основы биохимии для инженеров. – М.: Изд-во МГТУ имени Н.Э. Баумана, 2010. – 329 с.

47. *Ершов Ю.А., Щукин С.И.* Основы анализа биотехнологических систем. – М. Изд-во МГТУ, 2011. – 526 с.

48. *Ивчатов А.Л.* Микробиология. – М.: Ассоциация строительных вузов, 2013. – 120 с.

49. *Ивчатов А.Л., Малов В.И.* Химия воды и микробиология: Учебник. – М.: ИНФРА–М, 2014. – 218 с.

50. *Игнатов П.И.* Иммунитет и инфекция: возможности управления. – М.: Время, 2002.

51. *Ильичев В.Д. и др*. Биоповреждения. – М.: Высшая школа, 1987. – 352 с.

52. *Иуканин. В. Н. Промышленно-транспортная экология: Учеб. для вузов / В.Н. Луканин, Ю.В. Трофименко; Под ред. В. Н. Луканина. - М.: Высш. шк., 2003. - 273 с.*

53. *Кемп П., Армс К.* Введение в биологию / *П. Кемп, К. Армс.* – М.: Мир, 2008. – 671 с.

54. *Кларк Д., Рассел Л.* Молекулярная биология. – М.: ЗАО «Компания КОНД», 2004.

55. *Кнорре Д.Г., Мызина С.Д.* Биохимическая химия. – М.: Высшая школа, 2000.

56. *Кожевин П.А.* Микробные популяции в природе. – М.:Изд-во МГУ, 1989.

57. *Колешко О.И.* Экология микроорганизмов почвы. – Минск, 1981.

58. *Колчанов Н.А.*(ред.). Компьютерный анализ структуры, функции и эволюции генетических макромолекул. – Новосибирск, 1989. – 282 с.

59. *Коничев А.С.* Молекулярная биология: Учебник / *А. С. Коничев, Г. А. Севастьянова*. – 2-е изд., испр. – М.: Академия, 2005. – 400 с.

60. *Корнберг А.* Синтез ДНК. – М.: Мир, 1977.

61. *Кочетков Н.К., Будовский Э.И., Свердлов Е. Д. и др*. Органическая химия нуклеиновых кислот. – М.: Химия, 1970. – 720 с.

62. *Краев А.С.* Простая система клонирования в фаге М13 и секвенирования ДНК с терминаторами // Молекулярная биология, 1988. – Т. 22. – С. 1164–1197.

63. *Ксенофонтов Б.С.* Основы микробиологии и экологической биотехнологии. – М.: Форум. 2015. – 224 с.

64. *Кудрявцев А.Е. и др.* Прикладная экобиотехнология: Учеб. пособие: В 2 т. – 2-е изд. – Т.1. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 629 с.

65. *Кудрявцев А.Е. и др.* Прикладная экобиотехнология: Учеб. пособие: В 2 т. – 2-е изд. – Т.2. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 485 с.

66. *Лемеза Н.А.* Альгология и микология: Практикум. – Минск: Высшая школа, 2008. – 319 с.

67. *Ленинджер А.* Основы биохимии: В 3 т. – М.: Мир, 1985.

68. *Лысов П.К., Акифьев А.П., Добротина Н.А.* Биология с основами экологии: Учебник/ *П.К.Лысов, А.П.Акифьев, Н.А.Добротина*. – М.: Высшая школа, 2007. – 655 с.

69. *Льюин Б.* Гены. – М.: Мир, 1987.

70. *Мазин А.В., Кузнеделов А.В., Краев А.С. и др.* Методы молекулярной генетики и генной инженерии. – Новосибирск: Наука, 1990. – 248 с.

71. *Максам А.М., Гилберт У.* Метод определения последовательности ДНК (секвенирования) после введения метки в конец молекулы и расщепления ее по основаниям // Молекулярная биология, 1986. – Т. 20. – С. 581–637.

72. *Манк М.* (под ред.). Биология развития млекопитающих. Методы. – М., 1990.

73. Молекулярная биология: программа курса / Сост. *Е. А. Лупанов*, *Е. П.Прибылова, Е. С. Иванов*. – Рязань: РГУ, 2006. – 60 с.

74. *Мудрецова-Висс К.А., Дедюхина В.П.* Микробиология, санитария и гигиена. – М.: Форум – ИНФРА–М, 2014. – 400 с.

75. *Мусина У.Ш., Васичкин А.С.* Обзор способов утилизации нефтеотходов и технологий их утилизации // Вестн. КазГАСА. – 2014. – № 2(52). – С.133–141.

76. Нанотехнологии. Азбука для всех / Под ред.

Ю.Д. Третьякова. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. – 2-е изд. испр. и доп. – 368 с.

77. Нанотехнологии. Наноматериалы. Наносистемная техника. Мировые достижения / Под ред. П.П. Мальцева. М.: Техносфера, 2008. – 432 с.

78. *Пул Ч., Оуэнс Ф.* Нанотехнологии. М.: Техносфера, 2008. – 336 с.

79. *Нуркеев С.С., Мусина У.Ш.* Охрана окружающей среды при добыче нефти: Электронный учебник, 2004. – 400с.

80. *Мусина У.Ш., Казова Р.А. и др.* «Живая» технология очистки водных экосистем коксусскими шунгитами и фитосорбентами // Вестн. КазНТУ.– 2014.– №3 (103).

81. *Мусина У.Ш.*Технологии основных производств: УМК ДС и силлабус для специальности 050701 «Биотехнология», 2009. – 86 с.

82. *Мусина У.Ш.*Экологические основы технологий основных производств: УМК ДС и силлабус для специальности 050701 «Биотехнология», 2009. – 81 с.

83. *Нетрусов А.И.* (под.ред). Экология микроорганизмов. – М., 2004.

84. *Нетрусов А.И.* Биотехнология. – М.: Академия, 2044. – 288 с.

85. *Николайкин Н.И, Николайкина Н.Е., Мелихова О. П.* Экология. – М.: Дрофа, 2005.

86. *Овчинников Ю.А.* Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987.

87. Определитель бактерий Берджи:В 2-х т. – Т.1 / Пер. с англ. / Под ред. *Дж. Хоулта, Н.Крига и др.*– М.: Мир, 1997. – 432 с.

88. Определитель бактерий Берджи:В 2-х т. – Т.2 / Пер. с англ. / Под ред. *Дж. Хоулта, Н.Крига и др.*– М.: Мир, 1997. – 368 с.

89. *Орехов С.Н., Чакалева И.И.* Биотехнология. – М.: Академия, 2014.– 288 с.

90. *Осадчая А.И., Погорский В.С., Семенов В.Ф.и др.* Биотехнологическое использование отходов растениеводства. – Киев: Наукова думка, 1990.

91. *Петров С. В.* Общая хирургия. – Питер, 2002.

92. *Пехов А.П.* Биология с основами экологии: Учеб. пособие для вузов с грифом МО / *А.П. Пехов.* – СПб.: Изд-во «Лань», 2007. – 672 с.

93. *Пташне М.* Переключение генов. Регуляция генной активности и фаг λ. – М.: Мир, 1988.

94. *Рабсон Р.* Основы медицинской иммунологии. – М.: Мир, 2002.

95. *Ридли М.* Геном. – М.: Эксмо, 2008. – 432 с.

96. *Румянцев А.Г.* Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей, 2003.

97. *Рыбчин В.Н.* Основы генетической инженерии. – СПб: СПбГТУ, 2002.

98. *Саминский Е.М.* Трансляция генетического кода. – СПб: СПбГТУ, 2000.

99. *Самуилов В.Д., Олексин А.В.* Технологическая биоэнергетика. – М: Изд-во МГУ, 1994.

100. *Сассон А.* Биотехнология: свершения и надежды. – М.: Мир, 1987.

101. *Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М.* Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – М: Мир, 2001. – 486 с.

102. *Свердлов Е. Д., Калинина Н.Ф.*Взаимодействие ДНК с перекисью водорода. Метод локализации пиримидиновых оснований в ДНК// Биоорганическая химия, 1983. – Т. 9. – С. 1696–1698.

103. *Сингер М., Берг П.* Гены и геномы:В 2-х т. – М.: Мир, 1998.

104. *Скрябин К.Г., Захарьев В.М., Баев А.А.*Структура внешнего транскрибируемого спейсера рибосомной РНК дрожжей // Докл. АН СССР, 1978. – Т. 241. – С. 488–490.

105. *Смит Д.П.* Нитевидные фаги в качестве клонирующих векторов // Сельскохозяйственная биология: Векторные системы молекулярного клонирования. – М.: Мир, 1991.

106. *Соколов А.М., Краснова Ю. Т.* Экология и охрана окружающей среды. – М, 1997.

107. *Сухаревич В.И. и др.* Защита от биоповреждений, вызываемых грибами. – СПб, 2009. – 207 с.

108. *Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. –М.: Дрофа, 2005. – 256 с.

109. *Тутов И. К., Ситьков В. И.* Основы биотехнологии ветеринарных препаратов. – Ставрополь, 1987.

110. *Уолкер Ш.* Биотехнология без тайн. – М., 2008. – 335 с.

111. *Федоров М.Ф.* Почвенная микробиология. – М.: Сов.Наука, 1954.– 484 с.

112. *Фогарти В.М.* Микробные ферменты и биотехнология. – М.: Агропромиздат, 1986.

113. *Форстер К.Ф., Дж.Вейза Д.А.* (под ред.). Экологическая биотехнология. – Л.: Химия, Ленинградское отделение, 1990.

114. *Фрайфелдер Д.* Физическая биохимия. Применение физико-химических методов в биохимии и молекулярной биологии. – М.: Мир, 1980.

115. *Фрешни Р.* (под ред.). Культура животных клеток. Методы. – М.: Мир, 1989.

116. *Фролов Ю.П.* Современные методы биохимии / *Ю. П. Фролов*; Самарский гос. унт-т. – Самара: Самарский университет, 2003. – 412 с.

117. *Хефтман Э., Кастер Т. И др.* Хроматография. Практическое приложение метода. – В 2-х ч. – М.: Мир, 1986.

118. *Хиггинс И., Бест Д., Джонс Дж.* Биотехнология: принципы и применение. – М.: Мир, 1988.

119. *Чемерис А.В., Ахунов Э.Д., Вахитов В.А.* Секвенирование ДНК. – М.: Наука, 1999. – 429с.

120. *Шарипов Г. Л., Казаков В.П., Толстиков Г. Л.* Химия и хемилюминесценция 1,2-дио-ксетанов. – М.: Наука, 1990. – С.288.

121. *Шевелуха В.С.* (под ред.). Сельскохозяйственная биотехнология. – М., 2003.

122. *Шлегель Г.* Общая микробиология. – М.: Мир, 1987.

123. *Шмид Р.* Наглядная биотехнология и генетическая инженерия. – М.:БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 325 с.

124. *Щелкунов С.Н.* Генетическая инженерия. Новосибирск, Сибирское университетское издательство, 2004.

125. *Щукин И.* Экология для студентов вузов. Сер. «Шпаргалки». – Ростов н/Д: Феникс, 2004. – 224 с.

126. *Эллиот, Вилльям.* Биохимия и молекулярная биология / Пер. с англ. *О.В. Добрыниной.*– М.: Изд-во НИИ Биомедицинской химии РАМН, 2000. – 372с.

127. *Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., Брем Г.* Современное состояние и перспективы использования трансгенных технологий в животноводстве. – М.: РАСХН, 2002.

128. *Эрнст Л.К., Прокофьев М.И.* Биотехнология сельскохозяйственных животных. – М., 1995.

129.*Якубе Х.-Д., Ешкайт Х.* Аминокислоты. Пептиды. Белки. – М.: Мир, 1985.

130. *Ямщиков В.Ф.*Метод определения последовательности ДНК на твердой фазе // Методы молекулярной генетики и генной инженерии / *А.В. Мазин, А.В. Кузнеделов, А.С. Краев и др.*– Новосибирск: Наука, 1990. – С. 112–115.

131. *Янулайтис А.А.* Ферменты рестрикции и их применение // Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. – Т.17. – М., 1989.

132. *Agelon L.B., Chen T.T.* Supercoiled plasmid sequencing: One buffer for template denatura-tion, primer annealing, and synthesis of labeled strands by reverse transcriptase // Gene Anal. Techn. – 1986. – Vol. 3. – P. 86–89.

133. *Ahmed A.* A simple and rapid procedure for sequencing long (40-kb) DNA fragments // Gene. – 1987. – Vol. 61. – P. 363–372.

134. *Ahmed A*. A vector for sequencing long (40-kb) DNA fragments // Gene. – 1989. – Vol. 75. – P. 315–321.

135. *Ahmed A., Podemski L.* Use of ordered deletions in genome sequencing // Gene. – 1997. – Vol. 197. – P. 367–373.

136. *Akhmetzjanov A. A., Vakhitov V. A.* Molecular cloning and nucleotide sequence of the DNA polymerase gene from Thermus flavus I I Nucl. Acids Res. – 1992. – Vol. 20. – P. 5839.

137. *Allex C.E., Baldwin S.F., ShavlikJ.W., Blattner F.R.* Increasing consensus accuracy in DNA fragment assemblies by incorporating fluorescent trace representations // Proc. Fifth Intern, conf. intelligent systems mol. biol. AAAI press. – 1997. – P. 3–14.

138. *Alphey L.* DNA sequencing from experimental methods to bioinformatics. Berlin etc.: BIOS sci. publ. – 1997. – 224 p.

139. *Alting-Mees M. A., Short J.M.* pBluescnpt II: gene mapping vectors // Nucl. Acids Res. – 1989. – Vol. 17. – P. 9194.

140. *Ambrose B J.B., Pless R.C.* DNA sequencing: Chemical methods // Meth. Enzymol. – 1987. – Vol. 152: Guide to molecular cloning techniques. – P. 522–538.

141. Animal biotechnology: science-based concerns The national academies press. Washington, D.C. – 2001. – 182 p.

142. *Ansorge W., Voss H., Zimmermann J.* (ed.). DNA Sequencing strategies. N.Y. etc. Wiley; Spektrum, 1996. 202 p.

143. *Arazi T, R Sunkar, B Kaplan, H Fromm.*A tobacco plasma membrane cal-modulin-binding transporter confers Ni^{2+} tolerance and Pb^{2+} hypersensitivity in transgenic plants. Plant J 20:171–182, 1999.

144. *Arlinghaus H.F., Kwoka M.N., Guo X.O., Jacobson K.B.* Multiplexed DNA sequencing and diagnostics by hybridization with enriched stable isotope labels // Anal. Chem. – 1997. – Vol. 69. – P. 1510–1517.

145. *Austin C.C.* A new method of bipolymerase sequencing prevents "stop-bands" // Mol. Biotechnol. – 1995. – Vol. 4. – P. 100–101.

146. *Azhikina T., Kostina M., Skaptsova N., Potapov V., Berg D., Sverdlov E.* Factors affecting the priming efficiency of short contiguous oligonucleotide strings in the primer walking strategy of DNA sequencing // DNA Sequenc. – 1996. – Vol. 6. – P. 211–216.

147. *Balbas P., Sober on X., Merino E., Zurita M., Lomeli H.H., Valle F., F lores N., Bolivar F.* Plasmid vector pBR322 and its special-purpose derivates - a review // Gene. – 1986. Vol. 50. – P. 3–40.

148. *Bankier A. T., Barrell B.G.* Sequencing single-stranded DNA using the chain-termination method //DNA sequencing: a practical approach/Ed. C.T. Howe, E.S. Ward. Oxford: IRL press. –1989. – P.37–78.

149. *Barnes W.M.* DNA sequencing by partial ribosubstitution//J.Mol. Biol.– 1978. – Vol.119. – P.83–99.

150. *Beck S., KosterH.* Chemiluminescent detection of DNA: Applications of dioxetane chemilu-minescent probes to molecular biology // Anal. Chem. – 1990. – Vol. 62. – P. 2258–2270.

151. *Bellemare G., Potvin C, Simard C.* Chemical DNA sequencing in the opposite direction to the dideoxy chain termination method, using a single preparation of M13 single-stranded DNA // Biochem. Cell. Biol. – 1986. – Vol. 64. – P. 70–72.

152. *Benes V., Hostomsky Z., Arnold L., Paces V.* M13 and pUC vectors with new unique rectric-tion sites for cloning//Gene. – 1993. – Vol. 130. – P. 151–152.

153. *Benson D.A., Boguski M., Lipman D. J., Ostell J.* Ouetlette B.F.F. GenBank // Ibid. – 1998. – Vol. 26. – P.1–7.

154. *Bergeron B., P.* Chan. Biotechnology Industry. A Global, Economic,and Financing Overview. John Wiley & Sons, Inc. – 2004. – 362p.

155. Bicknell EJ., Rada R., Davidson S., Stander R. Mapping from GenBank to MEDLINE // Ibid. 1988. Vol. 16. P. 1667-1680.

156. BJ van der Zaal, LW Neuteboom, JE Pinas, AN Chardonnens, H Schat, JA Verkleij, PJ Hooykaas. Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc-transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation. Plant Physiol 119:1047–1056, 1999.

157. *Blanco L., Bernard A., Salas M.* Evidence favouring the hypothesis of a conserved 3'-5'-exonuclease active site in DNA-dependent DNA polymerases //Gene. – 1992. – Vol. 112. – P. 139–144.

158. *Boland E. J., Pillai A., Odom M.W., Jagadeeswaran P.* Automation of the Maxam-Gilbert chemical sequencing reactions // Ibid. – 1994. – Vol. 16. – P. 1088–1095.

159. *Bolivar F.* Construction and characterization of new vehicles. 3. Derivatives of the plasmid pBR322 carrying unique EcoRl sites for selection of EcoRl generated recombinant DNA molecules // Gene. – 1978. – Vol. 4. – P. 121–136.

160. *Boom D. van den, Ruppert A., Jurinke C, Koster H.* Combined amplification and sequencing in a single reaction using two DNA polymerases with differential incorporation rates for dideoxynu-cleotides // J. Biochem. and Biophys. Meth. – 1997. – Vol. 35. – P. 69–79.

161. *Brosius J.* Superpolylinkers in cloning and expression vectors // DNA. – 1989. – Vol. 8. – P. 759–777.

162. *Bud R.* Biotechnology in the twentieth century. Soc. Stud. Sci. – 1991.

163. *Bud R.* The Uses of Life: a History of Biotechnology. Cambridge University Press. – 1993. Cambridge, United Kingdom.

164. *Burt A., Carter D. A., White T. J., Taylor J.W.*DNA sequencing with arbitrary primer pairs // Mol. Ecol. – 1994. – Vol. 3. – P. 523–525.

165. *Chee M.* Enzymatic multiplex DNA sequencing // Nucl. Acids Res. – 1991. – Vol. 19. – P. 3301–3305.

166. Chen K., F. H. Arnold. Enzyme engineering for nonaqueous solvents: random mutagenesis to enhance activity of subtilisin E in polar organic media. *Bio/Technology* 9. – 1991. – 1073–1077.

167. *Chretien P., Shen S.H.* Multiplex random priming of internal restriction fragments for DNA sequencing // DNA Cell Biol. – 1992. – Vol. 11. – P. 337–343.

168. *Church G.M., Kieffer-Higgins S.* Multiplex DNA sequencing // Science. – 1988. – Vol. 240. – P. 185–188.

169. *Clark J. M.* Novel non-template nucleotide addition reactions catalyzed by procaryotic and eucaryotic DNA polymerases // Nucl. Acids Res. – 1988. – Vol. 16. – P. 9677–9686.

170. *Clemens S., Antosiewicz D. M., Ward J. M., Schachtman D. P., Schroeder J. I.*The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast. Proc Natl Acad Sci USA 95. – 1998. – 12043–12048.

171. *Davies R.W.* DNA sequencing // Gel electrophoresis of nucleic acids: A practical approach. Oxford: IRL press, 1982. – P. 117–172.

172. *Del Sal G., Manifioletti G., Schneider C.* A one-tube plasmid DNA mini-preparation suitable for sequencing // Nucl. Acids Res. – 1988. – Vol. 16. – P. 9878.

173. *Deng W. P., Nickoloff J. A*. Site-directed mutagenesis of virtually any plasmid by eliminating a unique site. *Anal. Biochem.* – 1992.200: 81–88.

174. *Dotto G.P., Enea V., Zinder N. D.*Functional analysis of bacteriophage fl intergenic region // Virology. – 1981. – Vol. 114. – P. 46373.

175. *Dunn J. J., Butler-Loffredo L.L., Studier F.W.* Ligation of hexamer on hexamer templates to produce primers for cycle sequencing or the polymerase chain reaction // Anal. Biochem. – 1995. – Vol. 228. – P. 91–100.

176. *Eide D., Broderius M., Fett J., ML Guerinot*. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. Proc Natl Acad Sci USA 93:5624–5628, 1996.

177. *Fuller C.W.*The effect of excess glycerol on DNA sequencing gels // Editorial Comments. US. Biochem. Corp. – 1989. – Vol. 16. – P. 19.

178. *Gareth M. Evans, Judith C. Furlong*. Environmental Biotechnology.Theory and Application. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester,

179. *Geisselsoder J., F. Witney, P. Yuckenberg*. Efficient site-directed in vitro mutagenesis. *Bio Techniques* 5. –1987. – 786–791.

180. *Gish G., Eckstein F.* DNA and RNA sequence determination based on phosphorothioate chemistry // Science. – 1988. – Vol. 240. – P. 1520–1522.

181. *Grace E.S.* Biotechnology Unzipped: Promises and Realities Trifolium Press, Inc., 1997. – Toronto, Canada.

182. *Griffin H.G., Griffin A. M. (ed.)*. Methods in molecular biology. – Vol. 23. DNA sequencing protocols. Totowa: Humana press, 1993. – 392 p.

183. *Gronenborn B., Messing J.* Methylation of single-stranded DNA in vitro introduces new restriction endonuclease cleavage sites // Nature. – 1978. – Vol. 272. – P. 375–377.

184. *Haugland R.P.* Molecular probes: Handbook of fluorescent probes and research chemicals. Eugene. – 1992–1994. – 390 p.

185. *Hayashi K.* A cloning vehicle suitable for strand separation // Gene. – 1980. – Vol. 11. – P. 109–115.

*186. Heinrich Klefenz.*Industrial Pharmaceutical Biotechnology.Wiley-VCH. – 2002. – 301 p.

187. *Heller C., Radley E., Khurshid F. A., Beck S.* M13plex vectors for multiplex DNA sequencing //Gene. – 1991. – Vol. 103. – P. 131–132.

188. *Herlitze S., Koenen M.* A general and rapid mutagenesis method using polymerase chain reaction. *Gene* 91. –1990. – 143–147.

189. *Hermes J. D., Parekh S. M., Blacklow S. C., Koster H., Knowles. J. R.*A reliable method for random mutagenesis: the generation of mutant libraries using spiked oligodeoxyri-bonucleotide primers. *Gene* 84. – 1989. – 143–151.

190. *Hong G.F.* The use of DNase I, buffer gradient gel, and ^{35}S label for DNA sequencing // Meth. Enzymol. – Vol. 155.– 1987. Recombinant DNA. – P. 93–110.

191. *Hou W., Smith L.M.* DNA sequencing with a hexamer string primer and dye-labelled terminators //Anal. Biochem. – 1994. – Vol. 221. – P. 136–141.

192. *Hunter A.G.* Biotechnology in livestock in developing countries, *Proceedings of Biotechnology* 1989, University of Edinburgh, Centre for Tropical Veterinary Medicine, Edingurgh.

193. *Jagadeeswaran P., Kaul R.K.* Use of reverse-phase chromatography in the Maxam-Gilbert method of DNA sequencing: A step toward automation // Gene Anal. Techn. – 1986. – Vol. 3. – P. 79–85.

194. *Johnson A. F., Wang R. J., Chen D.* Purification of single-stranded M13 DNA by cooperative triple-helix-mediated affinity capture // Anal. Biochem. – 1996. – Vol. 234. – P. 83–95.

195. *Kipshidze N.N.* Cardiovascular Cell Transplantation. Taylor & Francis, 2003.

196. *Kirsi-Maria Oksman-Galdentey, Wolfgang H.Barz.* Plant biotechnology and transgenic plants. – New-York, 2002.

197. *Korshunova Y. O., Eide D., Clark W. G., Guerinot M. L., Pakrasi H. B.* The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range. Plant Mol Biol 40:37-44, 1999.

198. Kotler L., Sobolev I., Ulanovsky L. DNA sequencing: Modular primers for automated walking // Ibid. 1994. Vol. 17. P. 554-558.

199. Kraft R., TardiffJ., Krauter K.S., Leinwand LA. Using miniprep plasmid DNA for sequencing double stranded templates with sequenase // Biotechniques. – 1988. – Vol. 6. – P. 544–547.

200. *Landt O., GrunertH.-P., Hahn U.*A general method for rapid site-directed mutagenesis using the polymerase chain reaction. *Gene* 96. –1990. – 125–128.

201. *Lee J.-S.* Alternative dideoxy sequencing of double-stranded DNA by cyclic reactions using Taq polymerase // DNA Cell Biol. – 1991. – Vol. 10. – P. 67–73.

202. *Ling H. Q., Koch G., Baumlein H., Ganal M. W* .Map-based cloning of chloro-nerva, a gene involved in iron uptake of higher plants encoding nicotianamine synthase. Proc Natl Acad Sci USA 96. – 1999. – 7098–7103.

203. *Lodish H., Berk A., S Zipursky L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J.* New York: W. H. Freeman, 2000. – 968 p.

204. *Mark D. F., Lu S. D., Creasey A. A., Yamamoto R.,* Lin *L. S.* Site-specific mutagenesis of the human fibroblast interferon gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81– 1984. – 5662–5666.

205.*Marston F.A.*OJ Biochem.– 1986. – 240p.

206. *Maxam A.M., Gilbert W.*A new method for sequencing DNA // Proc. Nat Acad. Sci. USA. – 1977. – Vol. 74. – P. 560–564.

207. *Michael A. Stroscio, Mitra Dutta.* Biological Nanostructures and Applications of Nanostructures in Biology. Electrical, Mechanical, and Optical Properties. NEW YORK, BOSTON, DORDRECHT, LONDON, MOSCOW. – 2004. – 178.

208.*Nicholas F.M.* Veterinary genetics. Oxford Sciences Publications. Clarendon Press. – 1987.

209. *Nichols R., Dixon J.E.* Rapid identification of clones using the same degenerate oligonucleotide mixture for both screening and sequencing // Anal. Biochem. – 1988. – Vol. 170. – P. 110–115.

210. Nosoh Y., T. Sekiguchi. 1990. Protein engineering for thermostability. *Trends Biotechnol.* 8: 16—20.

211. *Okano K., Kambara H.* Fragment walking for long DNA sequencing by using a library as small as 16 primers // Gene. – 1996. – Vol. 176. – P. 231–235.

212. *Peden K.W.C.* Revised sequence of the tetracycline-resistance gene of pBR322 // Gene. – 1983. –Vol. 22. – P. 277–280.

213. *Pence N. S., Larsen P. B., Ebbs S. D., Letham D. L., Lasat M. M., Garvin D. F., Eide D., Kochian L. V.* The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/ Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. Proc Natl Acad Sci USA 97: 4956-4960, 2000.

214. Perbal B. A practical guide to molecular cloning. N.Y. Wiley. – 1984. – 554 p.

215. *Phlllppe Goujon.*From biotechnology to genomes. The Meaning of the Double IIelix. – 2001. – 782 p.

216. *Pickering I., Prince R., George M., Smith R., George G., Salt D. E.* Reduction and coordination of arsenic in indian mustard. Plant Physiol 122.– 2000. –1171–1178.

217. *Rosenberg F. M., Ho Y.-S., Shatzman A.*Methods in Enzymology. – 1983. – № 10.

218. *Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R.* DNA sequencing with chain-terminating inhibitors // Ibid. – 1977. – Vol. 74. – P. 5463–5467.

219. *Schmoger M. E., Oven M., E.* Grill. Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. Plant Physiol 122. – 2000. – 793–801,

220. *Shiraishi H., Shimura Y.* A rapid and efficient method for targeted random mutagenesis. *Gene* 64. – 1988. – 313–319.

221. *Shuman S.* Novel approach to molecular cloning and polynucleotide synthesis using vaccinia DNA topoisomerase // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269. – P. 32678–326784.

222. *Smith M.* In vitro mutagenesis. *Annu. Rev. Genet.* 19. – 1985. – 423–462.

223. *Tang W,, Liu J.-N., Gurewich V.* Preparation of single-stranded phagemid DNA without chromosomal DNA contamination // Biotechniques. – 1996. – Vol. 21.– P. 53–54.

224. *Thomine S., Wang R., Ward J., Crawford N., Schroeder J. I.* Cadmium and iron transport by members of a plant metal, transporter family in *Arabidopsis* with homology to *Nramp* genes. Proc Natl Acad Sci USA 97:4991-4996, 2000.

225. *Voss H., Nentwich U., Duthie S., Wiemann S., Benes V., Zimmermann J., Ansorge W.*Automated cycle sequencing with Taquenase: protocols for internal labelling, dye primer and "dou-blex" simultaneous sequencing // Biotechniques. – 1997. – Vol. 23. – P. 312–318.

226. *Wang G., Blakesley R.W., Berg D.E., Berg C. M.* pDUAL: A transposon-based cosmid cloning vector for generating nested deleUons and DNA sequencing templates in vivo // Proc. Nat. Acad Sci. USA. – 1993. – Vol. 90. – P. 7874–7878.

227. Watson N. A new revision of the sequence of plasmid pBR322 // Gene. 1988. Vol 70 P. 399-403.

228. *Weissman Z., Berdicevsky I., Cavari B. Z., Kornitzer D.* The high copper tolerance of *Candida albicans* is mediated by a P-type ATPase. Proc Natl Acad Sci USA 97. – 2000. – 3520–3525.

229. West Sussex PO19 8SQ, England. – 2003. – 285 p.

230. *Wetzel R., Perry L. J., VeilleuxC.* Mutations in human interferon gamma affecting inclusion body formation identified by a general immunochemical screen. *Bio/Technology* 9. –1991. – 731–737.

231. *Wilkinson A. J., Fersht A. R., Blow D. M., Carter P., Winter G.* A large increase in enzyme-substrate affinity by protein engineering. *Nature* 307. – 1984. – 187–188.

232. *Wooliams J.A., Wilmut I.* Embryo manipulation in cattle breeding and production, Animal Production. – 1989.

233. *Yamakawa H., Ohara O. A.* DNA cycle sequencing reaction that minimizes compressions on automated fluorescent sequencers // Nucl. Acids Res. – 1997. – Vol. 25. – P. 1311–1312.

234. *Zhang H., Scholl R., Browse J., Somerville C.* Double stranded DNA sequencing as a choice for DNA sequencing // Nucl. Acids Res. – 1988. – Vol. 16. – P. 1220.

235. *Zhao H., Eide D.* The yeast *ZRT1* gene encodes the zinc transporter protein of a high-affinity uptake system induced by zinc limitation. Proc Natl Acad Sci USA 93. – 1996. – 2454–2458,

236. *Zimmermann J., Voss H., Schwager C., Stegemann J., Erfle H., Stucky K., Kristensen T., Ansorge W.* A simplified protocol for fast plasmid DNA sequencing // Nucl. Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 1067.

237. *Zoller M. J., Smith M.*Oligonucleotide-directed mutagenesis using M13-derived vectors: an efficient and general procedure for the production of point mutations in any fragment of DNA. *Nucleic Acids Res.* 10. – 1982. – 6487–6500.

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	3
I	ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ: УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ И СВОЙСТВА	5
1.	ИЕРАРХИЯ ОБЪЕКТОВ БИОТЕХНОЛОГИИ	5
1.1.	Общее представление об объектах биотехнологии	5
1.2.	Биологический объект как ключевой элемент в биотехнологии	7
1.3.	Биотехнологические ресурсы генотипов	13
1.4.	Биоразнообразие как фактор устойчивости биосферы	13
1.4.1.	Основные принципы классификации живых организмов	14
1.4.2.	Основные группы живых организмов: филогенетическая классификация: прокариот и эукариот	18
1.4.3.	Особенности систематики организмов	25
1.5.	Клетка как объект биотехнологии: строение и функции клеток прокариотов и эукариотов	31
1.6.	Перспективы использования генотипов в биотехнологии	37
1.6.1.	Биотехнологические ресурсы микроорганизмов	37
1.6.2.	Биотехнологические ресурсы макроорганизмов	38
	Контрольные вопросы	40
2.	ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ КАК ОБЪЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ	41
2.1.	Природные источники для молекулярных конструкций *in vitro*	44
2.1.1.	Нуклеиновая кислота как объект биотехнологии	44
2.1.2.	Геном как объект биотехнологии	48
2.1.3.	Гены как объекты биотехнологии	52
2.1.4.	Плазмиды бактерий как объекты биотехнологии	58
2. 2.	Вирусы как объекты биотехнологии	61
2.3.	Ферменты ДНК как объекты биотехнологии	70
2.4.	Системы клонирования как объекты биотехнологии	73
2.5.	Перспективы использования сконструированных генотипов в биотехнологии	75

2.6.	Сконструированные *in vitro* генотипы высших эукариот как объекты биотехнологии	76
2.6.1.	Факторы, влияющие на интеграцию и экспрессию трансгена у макроорганизмов	77
2.6.2.	Трансгенные растения как объекты биотехнологии	80
2.6.3.	Трансгенные животные как объекты биотехнологии	85
2.6.4.	Резистентноустойчивые трансгенные макроорганизмы как объекты биотехнологии	90
2.6.5.	Клонированный генотип как объект биотехнологии	94
	Контрольные вопросы	96
3.	БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЖИВОЙ МАТЕРИИ	97
3.1.	Химический состав живой материи	98
3.2.	Обмен веществ и превращение энергии в клетке	101
3.3.	Большой геологический круговорот как природный генератор для биотрансформации веществ	103
3.4.	Круговорот воды	104
3.5.	Малый биологический круговорот как эталон для создания биотехнологических процессов	106
3.5.1.	Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте углерода	111
3.5.2.	Природный круговорот кислорода	116
3.5.3.	Поведение объектов биотехнологии в круговороте азота	118
3.5.4.	Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте фосфора	121
3.5.5.	Поведение объектов биотехнологии в природном круговороте серы	123
3.5.6.	Круговорот неорганических катионов	126
3.6.	Антропогенный круговорот: круговорот ксенобиотиков (ртути, свинца, хрома)	127
	Контрольные вопросы	133
II.	ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	134
4.	СООБЩЕСТВА ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ КАК ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ЭКОСИСТЕМНОМ УРОВНЕ	135

4.1.	Природные и техногенные экосистемы как субъекты биотехнологии	136
4.2.	Объекты биореконструкционных технологий	148
4.2.1.	Объекты биотехнологии, участвующие в биосинтезе	149
4.2.2.	Объекты биотехнологии, участвующие в биотрансформации и минерализации веществ	152
4.3.	Природно-промышленные комплексы Казахстана как субъекты биотехнологии	155
4.3.1	Экономические районы Казахстана	157
4.3.2.	Промышленная группировка полезных ископаемых	158
4.3.3.	Качество полезных ископаемых	161
	Контрольные вопросы	161
5.	ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ	162
5.1.	Энергетика как субъект биотехнологии	162
5.2.	Предпосылки для использования объектов биотехнологии в энергетике	164
5.3.	Объекты биоэнергетики	176
5.4.	Объекты биореконструкционных технологий в энергетике	180
	Контрольные вопросы	184
6.	ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ГОРНОДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	185
6.1.	Горнодобывающая промышленность как субъект биотехнологии	185
6.2.	Предпосылки для использования объектов биотехнологии в горнодобывающей промышленности	185
6.3.	Объекты биореконструкционных технологий в горнодобывающей промышленности	195
	Контрольные вопросы	196
7.	ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В МЕТАЛЛУРГИИ	197
7.1.	Объекты биотехнологии в черной металлургии	197
7.1.1.	Черная металлургия как субъект биотехнологии	197

7.1.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в черной металлургии 200
7.1.3. Объекты биореконструкционных технологий в черной металлургии 202
7.2. Объекты биотехнологии в цветной металлургии 202
7.2.1. Цветная металлургия как субъект биотехнологии 202
7.2.2. Объекты биопроизводственных технологий в цветной металлургии 206
Контрольные вопросы 210
8. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В МАШИНОСТРОЕНИИ 211
8.1. Машиностроение как субъект биотехнологии 211
8.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в машиностроении 211
Контрольные вопросы 217
9. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В НЕФТЕДОБЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ 218
9.1. Нефтедобывающая промышленность как субъект биотехнологии 218
9.2. Предпосылки для использования объектов биотехнологии в добыче нефти 221
9.3. Объекты биореконструкционных технологий в нефтедобывающей промышленности 222
Контрольные вопросы 225
10. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ В ХИМИЧЕСКОЙ И НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ 226
10.1. Химическая и нефтехимическая промышленность как субъект биотехнологии 226
10.2. Объекты биореконструкционных технологий для химической и нефтехимической промышленности 227
Контрольные вопросы 228
11. ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ АВТОТРАНСПОРТА И СТРОИТЕЛЬСТВА 229
11.1. Объекты биореконструкции автотранспорта 229
11.2. Объекты биотехнологии в строительстве 230
Контрольные вопросы 231

12. Техногенные системы как источники загрязнения окружающей среды и воздействия на объекты биотехнологии 232
Контрольные вопросы 235
13. ПОПУЛЯЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОДНОРОДНЫХ КЛЕТОК НА УРОВНЕ БИОРЕАКТОРА КАК ОБЪЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ 236
13.1. Понятие и классификация биологически активных веществ 236
13.2. Продуценты биологически активных веществ 237
Контрольные вопросы 243
ГЛОССАРИЙ 244
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК 249

Учебное издание

Г. А. Джамалова, У. Ш. Мусина

ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ
(для технических вузов)

Учебное пособие

Нач. РО УИЦ *З. А. Губайдулина*
Редактор *З. А. Губайдулина*
Компьютерная верстка *Л. П. Умирбекова*

Подписано в печать 29.07. 2015 г.
Тираж 300 экз. Формат 60х84х 1/16. Бумага типографская № 1.
Уч.-изд.л. 16,9. Усл. п.л. 15,8. Заказ № 525. Цена договорная.

Издание Казахского национального технического университета
им. К. И. Сатпаева
Учебно-издательский центр
КазНТУ, г. Алматы, ул. Сатпаева, 22

ISBN 978-601-228-839-1

