

## СОВРЕМЕННАЯ ПРОМЫШЛЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

И. Б. ЛЕЩИНСКАЯ

Казанский государственный университет

### CONTEMPORARY INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

I. B. LESHCHINSKAYA

*Contemporary industrial microbiology makes an important contribution to solving such global social problems as health care, nutrition, environmental protection and energy supply. Today, the range of microbial synthesis products is increasing significantly due to the achievements in genetic engineering: microorganisms produce animal, plant and even human hormones and enzymes, and such substances which are not naturally produced by them.*

*Современная промышленная микробиология вносит существенный вклад в решение таких глобальных социальных проблем, как охрана здоровья, обеспечение человека продовольствием, охрана природы и энергообеспечение. Спектр продуктов микробного синтеза существенно расширяется за счет достижений генной инженерии: микроорганизмы продуцируют гормоны и ферменты животных, растений и даже человека, то есть такие вещества, которые им несвойственны от природы.*

[www.issep.rssi.ru](http://www.issep.rssi.ru)

**Введение.** Микробная биотехнология (промышленная микробиология) – это интегральная по своей природе область науки и техники, которая опирается на теоретические и методические положения молекулярной биологии и генетики, биохимии, физиологии и цитологии, а также использует прогрессивные химические технологии. Биотехнология занимается теми процессами, которые можно вести не в природе, а в искусственно созданных условиях производства круглогодично и повсеместно независимо от сезона, климатических и географических условий. Именно это принципиально отличает биотехнологию от сельского хозяйства, где климатические и другие природные условия являются мощным фактором, существенно ограничивающим возможности управления. В то же время агробиотехнология достигла больших успехов [1, 2]. Существенный вклад в современную промышленную микробиологию внесла генная инженерия, которая расширила арсенал традиционных веществ микробного синтеза за счет совершенно новых продуктов клонированных генов.

**История развития биотехнологии микроорганизмов.** К одним из самых древних областей человеческой деятельности относятся хлебопечение, виноделие и пивоварение, которые в основе своей имеют не что иное, как жизнедеятельность микроорганизмов – хлебопекарных и винных дрожжей. Сюда же можно отнести получение кисломолочных продуктов, сыров с помощью молочнокислых бактерий, пищевого уксуса с помощью уксуснокислых бактерий, а также различных органических кислот и растворителей, производство которых долгое время осуществлялось только биотехнологически и не имело дублера в химической промышленности. Развитие последней потеснило биотехнологию в области производства технических растворителей и органических кислот. Однако пищевая промышленность до настоящего времени использует микроорганизмы для получения пищевого уксуса и спирта.

Бурное развитие биотехнологии связано прежде всего с эрой антибиотиков, которая наступила в 40–50-е годы. Производство антибиотиков оказалось чрезвычайно наукоемкой отраслью, которая потребовала интеграции усилий микробиологов, биохимиков, генетиков,

а также привлечения всех передовых достижений соответствующих отраслей науки. В тот период были созданы микробиологические производства, оснащенные современным оборудованием, разработаны прогрессивные биотехнологии, проведена широкая селекция микроорганизмов — продуцентов антибиотиков и получены мутантные штаммы с гиперпродукцией этих веществ. Расширение знаний об антибиотиках, равно как и развитие антибиотической промышленности, стало отличной школой биотехнологии и привело к существенному повышению культуры микробиологических производств.

Новый импульс биотехнология получила в середине 70-х годов благодаря появлению такой отрасли, как генетическая инженерия. Началом промышленной генной инженерии принято считать 1980 год, когда в США был выдан первый патент на генно-инженерный штамм микроорганизма, способного разлагать нефть. К настоящему времени в области генной инженерии зарегистрировано около 600 патентов, что отражает интенсивность ее развития. Внедрение в производство разработок генной инженерии потребовало переоснащения биотехнологических производств и повышения профессионального уровня обслуживающего персонала. Не случайно поэтому первая генно-инженерная продукция была получена на заводах в Японии, где высочайшие культура производства и профессионализм сотрудников вполне соответствуют научно-техническому уровню новых сложнейших биотехнологий. Первый коммерческий продукт — человеческий инсулин, продуцируемый бактерией, был разрешен для клинического использования в 1982 году. Примерно к тому же времени относится энергичное развитие клеточной инженерии. Микробный продуцент был пополнен новым источником получения полезных веществ — культурой изолированных клеток и тканей растений и животных. На этой основе были созданы новые приемы биотехнологии, а также разработаны принципиально новые методы селекции эукариот. Особенно больших успехов удалось достичь в области микрореклонального размножения растений, а также получения и использования трансгенных растений и животных [1–3].

**Прикладная микробиология.** Условно микробные производства можно разделить на три типа:

- основанные на использовании живой или инaktivированной биомассы микроорганизмов; сюда относится производство пекарских, винных и кормовых дрожжей, вакцин, белково-витаминных концентратов (БВК), средств защиты растений, заквасок для получения кисломолочных продуктов и силосования кормов, почвудобрильных препаратов;

- производящие продукты микробного биосинтеза, к числу которых относятся антибиотики, гормоны, ферменты, аминокислоты, витамины;

- производства, основанные на получении продуктов брожения, гниения, например утилизация целлюлозы и различных отходов с целью получения углеводов, биогаза, биоэтанола. Сюда же относятся получение спиртов, органических кислот, растворителей, а также биотехнология утилизации неперидных соединений.

**Вклад генетической инженерии в микробную биотехнологию.** Генетическая инженерия видоизменила структуру и содержание современной промышленной микробиологии. Во-первых, существенно повысилась продуктивность промышленных микроорганизмов — продуцентов классических продуктов путем введения дополнительных генов, увеличения их количества или активности. Во-вторых, вводя в микробную клетку новые гены, удалось изменить питательные потребности микроорганизма. Далее микроорганизмы “научили” синтезировать несвойственные им вещества и таким образом увеличили разнообразие биотехнологической продукции. Некоторые белки человека, клонированные в микробной клетке, в том числе инсулин, интерфероны, интерлейкины, находят в настоящее время терапевтическое применение. Данные об использовании генно-инженерных продуктов в медицине см. в статье В.Н. Сойфера [5]. Наконец, подверглась пересмотру вся логика селекции микроорганизмов-продуцентов. Так, если раньше сначала искали активный штамм микроорганизма и затем создавали конкретную биотехнологию с учетом физиологических свойств и питательных потребностей продуцента, то теперь можно взять приспособленный к условиям производства штамм и ввести в него генную конструкцию, которая обеспечит эффективный синтез целевого продукта.

К числу важных практических достижений генной инженерии необходимо отнести выделение, клонирование и получение диагностических препаратов. Сегодня уже более 200 новых диагностикумов введены в медицинскую практику, разработаны способы диагностики такого опасного заболевания, как СПИД. Широко применяются методы генной диагностики, то есть выявления дефектных генов, включая пренатальную диагностику.

**Биотехнология в решении социальных проблем.** Мы живем в постоянно и стремительно меняющемся мире. Неизменными остаются социальные жизненно важные проблемы: охрана здоровья, обеспечение человека продовольствием, охрана окружающей природы и энергообеспечение. Какой вклад вносит микробная биотехнология в решение этих проблем?

Известно, что проблемы охраны здоровья человека в значительной степени зависят от обеспечения необходимыми медикаментами. Биотехнология предлагает новые подходы к разработке и производству лекарственных, профилактических и диагностических медицинских препаратов, а также позволяет производить в достаточных количествах широкий спектр лекарственных средств, которые ранее были малодоступны. Биотехнологические медицинские препараты по объему продаж в настоящее время составляют более 5% общего мирового рынка, а к 2005 году достигнут более 15%. Среди примерно 50 новых видов лекарств, вакцин и диагностикумов, появляющихся на рынке ежегодно, 10–15 получены с помощью биотехнологических методов, в стадии клинического изучения находится более 350 новых биопрепаратов, причем большинство из них предназначены для лечения болезней, которые считаются неизлечимыми. По производству биотехнологических медицинских препаратов на первом месте стоит Северная Америка – 63%, в странах Западной Европы производится 25%, в Японии – 7%.

К самому большому классу лекарств, получаемых путем микробного синтеза, относятся антибиотики. По разнообразию и показаниям к применению они занимают первое место среди продукции мировой фармацевтической промышленности. Сегодня известно более 6000 видов антибиотиков, более 100 из которых находят применение в медицинской практике, в том числе при лечении таких тяжелых заболеваний, как туберкулез, менингит, плеврит, пневмония. Отдельные антибиотики применяют при лечении онкозаболеваний. Объем мирового рынка антибиотиков увеличивается в последнее время на 10–12% в год и составляет более 23 млрд долларов.

Второй класс лекарственных веществ, производимых биотехнологическим путем, – гормоны. К традиционным микробиологическим продуктам относятся стероидные гормоны – кортизон, преднизолон, которые широко применяют при лечении различных аллергических заболеваний, в том числе такого тяжелого, как бронхиальная астма, а также ревматоидного артрита и других недугов. Спектр гормональных препаратов, производимых путем микробного синтеза, значительно пополнился за счет пептидных гормонов, представляющих генно-инженерные продукты. Следует отметить такие антивирусные, антиопухолевые и иммуномодулирующие агенты, как интерфероны и интерлейкины.

Среди лекарственных средств особое место занимают ферменты. Так, известно применение протеолитических ферментов при лечении заболеваний пищеварительных органов. Эти же ферменты используют при лечении ожоговых поражений и различных ран для удаления некротических тканей. При лечении патоло-

гий обмена веществ применяют также липазы. Протеиназы с фибринолитическим действием используют для растворения тромбов. С помощью таких препаратов, как стрептокиназа и урокиназа, лечат тромбоз коронарных сосудов сердца, легких, конечностей. Об использовании фермента лизоамидазы см. статью И.С. Кулаева [6].

Важный вклад микробной биотехнологии в медицину состоит в получении профилактических препаратов, причем этот вид продукции не имеет дублера в химической промышленности. Чтобы понять важность вакцинации, приведем несколько примеров. В развитых странах, где профилактическая служба находится на должном уровне, смертность от инфекционных заболеваний составляет всего 4–8 против 30–50% в развивающихся странах. Вакцина против оспы позволила полностью искоренить эту болезнь. В 1955 году в США и Канаде полиомиелитом заболели 200 человек на 1 млн населения. В настоящее время распространенность этого заболевания снизилась в 4000 раз (1 человек на 20 млн населения). Также быстро снизилась заболеваемость корью, краснухой, дифтерией после введения соответствующих вакцин в практику. Большие перспективы в получении новых вакцин открывает генная инженерия. При этом необходимый защитный антиген можно получить с помощью непатогенного микроорганизма и, таким образом, избежать опасности, связанных с токсичностью обычных вакцин.

По прогнозам, к 2050 году население Земли возрастет до 10 млрд человек и для обеспечения его потребности в продукции сельского хозяйства нужно будет увеличить объемы производства на 75%. Анализ проблемы обеспечения человека продовольствием специалистами разных стран показал, что в основном она заключается в недостатке белка животного происхождения, который по аминокислотному составу более богат, чем растительный белок. Промышленная микробиология поставляет животноводству по крайней мере три вида важных веществ: кормовой белок или белково-витаминные концентраты (БВК), незаменимые аминокислоты и кормовые антибиотики. Добавление 1 т БВК в корма обеспечивает экономию 7 т фуражного зерна и дополнительное производство 0,8 т свинины или 5 т мяса птицы. Включение 1 т кормовых дрожжей в рацион телят и поросят позволяет экономить 6 т цельного молока. Наиболее продуктивным сырьем для получения микробного белка следует считать клетчатку, причем преимущественно используются не отходы древесины, а подсолнечная лузга, кукурузные кочерыжки, солома и другие отходы сельского хозяйства, которые ежегодно воспроизводятся. Второй вид биотехнологической продукции – незаменимые аминокислоты, производство которых для медицины и сельского хозяйства

интенсивно развивается во всем мире. Среди них такие, как лизин и метионин, обязательно должны содержаться в готовом виде в пище человека и кормах животных. Метионин производят с помощью химической технологии, а лизин — в основном биотехнологически. Внесение в корма лизина высвобождает фураж и увеличивает объем мясной продукции: на 1 т лизина высвобождается 40–50 т фуражного зерна и получается дополнительно более 10 т мяса.

В дополнение к сказанному необходимо отметить, что так называемая биологическая система животноводства и растениеводства приобретает все большую популярность. В настоящее время в разных странах производят более 100 видов биопрепаратов, применяемых в растениеводстве, в том числе энтомопатогенные препараты: энтобактерин, инсектин, токсобактерин, боверин, вирин, а также гербициды, фунгициды, бактериальные удобрения: нитрагин, азотобактерин, фосфоробактерин. Использование биологических средств защиты растений, стимуляторов роста животных и растений, микробных удобрений позволяет снизить дозы применяемых химических средств защиты и минеральных удобрений, что приводит к повышению качества продукции и созданию экологически чистых технологий.

Методы генной инженерии позволяют добиться улучшения свойств сельскохозяйственных растений путем создания так называемых трансгенных растений, то есть таких, которые несут чужеродные гены. Внедрение генов в растения осуществляется с помощью Ti-плазмид, выделенных из агробактерий, которые при естественном развитии в природе переносят в зараженное растение часть собственных генов, а их продукты вызывают трансформацию, перерождение растительных тканей и образование наростов, так называемых корончатых галлов. Именно эти гены были модифицированы и с помощью агробактерий перенесены в растения. В настоящее время получено более 50 видов трансгенных растений, которые приобрели устойчивость к насекомым-вредителям, фитопатогенным бактериям, микромицетам и вирусам, к повреждениям при хранении, а также растений, синтезирующих гормоны, привлекающие полезных насекомых [1, 2].

Еще одно направление повышения урожайности растений связано с использованием бактерий, фиксирующих атмосферный азот. Известно, что с помощью азотфиксирующих бактерий ежегодно около  $17,5 \cdot 10^7$  т молекулярного азота атмосферы превращается в органические соединения. Фиксацию азота обеспечивают ферменты — продукты *nif*-генов. В настоящее время практически решена проблема увеличения дозы *nif*-генов у клубеньковых бактерий рода *Rhizobium*. Большинство генов, контролирующих способность этих бактерий к симбиозу с бобовыми растениями, локали-

зуется на плаزمидах. Это расширяет возможности использования методов генной инженерии для увеличения эффективности азотфиксации и как следствие — улучшения азотного питания растений. Имеются предпосылки к созданию методами генной инженерии злаковых растений-азотфиксаторов [4].

Связь биотехнологии с проблемами природоохранительного плана многообразна и заслуживает специального рассмотрения. Мы ограничимся наиболее яркими примерами. Известно, что основными загрязнителями природных водоемов являются стоки химических предприятий, содержащие различные синтетические органические соединения, разложение которых в природе происходит крайне медленно. Мертвым грузом накапливаются токсические вещества, так называемые ксенобиотики — соединения, не включающиеся в метаболизм живых организмов. Это вещества, созданные фантазией человека, которых не знает природа. На помощь приходят бактерии, разнообразие путей метаболизма которых настолько велико, что среди них найдется хотя бы один представитель, способный утилизировать самые необычные, в том числе и токсичные, соединения. Опираясь на глубокие знания физиологии бактерий, микробиологи изучают пути катаболизма ксенобиотиков, возможность их разложения и детоксикации. На основе этих исследований создают биотехнологические способы очистки воды от загрязнения неприродными соединениями, а также методы, позволяющие контролировать загрязнения окружающей среды. Так, специальные микробные продукты для контроля и мониторинга загрязнений имеют ежегодный объем продаж около 10 млн долларов, а в перспективе этот объем может достичь 200 млн долларов.

Следующая серия биотехнологий природоохранительного плана направлена на очистку земель и водоемов от загрязнений нефтью. Последние занимают большие площади вокруг отработавших нефтепромыслов и превращают в безжизненный субстрат бывшие плодородные почвы. Нередко загрязнения углеводородами связаны с авариями на танкерах, когда нефтью заливаются акватория и берега рек. Для разработки штаммов-деструкторов, способных разлагать массивные скопления нефтепродуктов, используют методологию генной инженерии. Так, например, у псевдомонад обнаружены плазмиды биодegradации, определяющие способность этих бактерий утилизировать толуол, нафталин, а также расти в экстремальных условиях. Созданные микробные сообщества ремедиаторов, содержащих рекомбинантные плазмиды биодegradации, и соответствующие биотехнологии решают уже сегодня проблемы охраны окружающей среды, а также позволяют разработать безотходные технологии во многих областях промышленности.

Известно, что потребление энергетических ресурсов во всем мире намного превосходит процессы восстановления запасов полезных горючих ископаемых в земных недрах. Все ускоряющиеся темпы развития цивилизации приводят к истощению энергетического потенциала. Понятно, что необходимы поиски новых нетрадиционных решений. Мощный потенциальный источник энергии — это биомасса зеленых растений, которые являются консервантами солнечной энергии. Растительный покров Земли составляет более 1800 млрд т сухого вещества, что энергетически эквивалентно  $30 \cdot 10^{21}$  Дж и соответствует запасам энергии всех полезных ископаемых. При этом леса составляют 68% биомассы, травяные, то есть ежегодно возобновляемые, экосистемы — 16, а возделываемые земли — только 8%. Всего 2% биомассы растений используется для пищи человека и на корм животных, остальное количество в 20 раз превышает годовое потребление энергии полезных ископаемых. Иными словами, конверсия растительной биомассы в энергию может помочь решить энергетические проблемы. Известно, что значительную долю энергетического потенциала растительной биомассы используют путем непосредственного сжигания дров, древесного угля, сухого навоза. Однако такое использование малоэффективно, так как при этом реализуется только 10% энергозапасов, окружающая среда загрязняется дымом, в атмосфере накапливается  $\text{CO}_2$ . Конверсия биомассы в биогаз и биоэтанол дает возможность реализовать 50–80% потенциальной энергии, без загрязнения атмосферы и практически без каких-либо отходов (отходы служат высококачественным удобрением). В получении биогаза ( $\text{CH}_4/\text{CO}_2 = 2/1$ ) из отходов сельского хозяйства пионером является Индия, где в настоящее время функционирует около 1 млн установок для получения газа, который используется для отопления домов, теплиц и т.п. Основным продуцентом здесь являются метаногенные бактерии. В Китае функционирует более 70 млн малых метантенков, которые служат основным источником энергии в сельской местности и удовлетворяют нужды 70% крестьянских семей, где биогаз используют для приготовления пищи.

Впервые идея применения этанола для энергетических целей возникла в 1975 году в Бразилии, а к 1997 году было сэкономлено 35,6 млрд долларов на уменьшении экспорта нефти. Затем подобная программа была разработана в 1978 году в США и в 1998 году в Канаде. Биоэтанол используется в качестве моторного топлива либо в чистом виде, либо с добавлением бензина, на-

пример газохол содержит 10% этанола, биодизель — 15, газолин — 24%. Масштабы производства этанола в качестве топлива с каждым годом увеличиваются. Правительство США в 2000 году выделило 242 млн долларов на научные исследования в этой области, а к 2010 году утроит объемы производства биотехнологической продукции для энергетических нужд.

В заключение следует отметить, что, по оценкам экспертов, в ближайшие годы биотехнология обеспечит прирост сельскохозяйственной продукции на 15–20%. Биосистемы получения энергии смогут обеспечить 10–15% производства энергии в таких странах, как США, Канада, и составят основу энергетики в Бразилии, Китае, Индии, на Филиппинах. Природоохранные технологии уже сегодня позволяют эффективно очищать сточные воды химических производств и проводить биоремедиацию земель и акваторий, залитых нефтью. Здравоохранение получит эффективные противоопухолевые и противовирусные средства, нейротропные препараты, вакцины нового поколения, а также методы диагностики генетических заболеваний. Важно отметить, что биотехнологическая промышленность относится к самым наукоемким отраслям в мире.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 6. С. 3–8.
2. Захаренко В.А. Биотехнология и генная инженерия в защите растений // Защита и карантин растений. 1998. № 5. С. 15–18.
3. Спирин А.С. Современная биология и биологическая безопасность // Вестн. РАН. 1997. Т. 67, № 7. С. 579–588.
4. Проворов Н.А., Аронштам А.А. Генетика симбиотической азотфиксации у клубеньковых бактерий // Итоги науки и техники. Микробиология. 1991. Т. 23.
5. Сойфер В.Н. Международный проект “Геном человека” // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 12. С. 4–11.
6. Кулаев И.С. Бактериолитические ферменты микробного происхождения в биологии и медицине // Там же. 1997. № 3. С. 23–31.

Рецензент статьи О.Н. Кулаева

\* \* \*

Инна Борисовна Лещинская, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии Казанского государственного университета, академик АН Татарстана, заслуженный деятель науки РФ. Область научных интересов — микробиология, молекулярная биология, генная инженерия. Автор более 200 публикаций, четырех монографий и учебного пособия.