

Р. Реннеберг, И. Реннеберг

# ОТ ПЕКАРНИ ДО БИОФАБРИКИ



Reinhard und Ilka Renneberg

# Von der Backstube zur BIOFABRIK

Ein Streifzug  
durch die Biotechnologie



*Керамические фигурки (терракота) изображают работу древнегреческих пекарей в V в. до н. э.*

*Illustrationen von Darja Süßbier*

Der Kinderbuchverlag Berlin

**Р.Реннеберг, И.Реннеберг**

# **ОТ ПЕКАРНИ ДО БИОФАБРИКИ**

Обзор достижений биотехнологии

Перевод с немецкого  
Г. И. Лойдиной



Москва «Мир» 1991

ББК 28.4  
Р39  
УДК 577.15

**Реннеберг Р., Реннеберг И.**

Р39 От пекарни до биофабрики: Пер. с нем. — М.: Мир, 1991. — 112 с, ил.  
ISBN 5-03-001217-6

В книге молодых ученых из ГДР Ильки и Рейнхарда Реннебергов рассказывается об истории и развитии одного из наиболее перспективных направлений современной биологической науки — биотехнологии. В занимательной форме обсуждаются возможности современной биотехнологии (хлебопечение, виноделие, использование микроорганизмов для создания новых материалов в промышленности, для сельского хозяйства, медицины). Книга богато иллюстрирована.

Для широкого круга читателей, особенно школьников среднего и старшего возраста.

Р 1911000000-328 103—91  
041(01)-90

ББК 28.4

*Редакция литературы по химии*

Научно-популярное издание

**Рейнхард Реннеберг, Илька Реннеберг**

**ОТ ПЕКАРНИ ДО БИОФАБРИКИ**

Заведующий редакцией академик О. А. Реутов. Зам. зав. редакцией  
Н. А. Козырева. Старший научный редактор Т. И. Почкаева.  
Младший редактор И. С. Ермилова. Художник В. Н. Конохов.  
Художественный редактор М. Н. Кузьмина.  
Технический редактор Л. П. Бирюкова.  
Корректор Н. А. Гиря

ИБ № 7049

Сдано в набор 28.11.89. Подписано к печати 5.11.90. Формат 70x100 <sup>1/16</sup>.  
Бумага офсетная № 1. Гарнитура тайме. Печать офсетная. Объем 3,50 бум. л.  
Усл. печ. л. 9,10. Усл. кр.-отт. 37,05. Уч.-изд. л. 9,05. Изд. № 3/6638. Тираж 88000 экз.  
Зак. 1515. Цена 2 руб.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»

В/О «Совэкспорткнига» государственного комитета СССР по печати  
129820, ГСП, Москва И-110, 1-й Рижский пер., 2.  
Можайский полиграфкомбинат В/О «Совэкспорткнига»  
Государственного комитета СССР по печати.  
143200, Можайск, ул. Мира, 93.

© Der Kinderbuchverlag Berlin - DDR 1988

© перевод на русский язык, Лойдина Г. И.,  
1991

ISBN 5-03-001217-6 (русск.)  
ISBN 3-358-00491-0 (нем.)

# Предисловие

Перед нами книга, занимательно и с увлечением рассказывающая об истории, современном состоянии и необыкновенных возможностях биотехнологии — самой передовой отрасли биологии, которая наравне с микроэлектроникой и робототехникой в настоящее время играет определяющую роль в научно-технологическом прогрессе.

Применение биологических процессов и систем в производстве — вот чем занимается биотехнология. Более конкретно биотехнологические методы включают микробиологический синтез, генную инженерию, клеточную и белковую инженерию, инженерную энзимологию, культивирование клеток растений, животных и бактерий, методы слияния клеток. Исторически биотехнология возникла на основе традиционных микробиологических (большой частью бродильных) производств; ведь многие подобные «технологии» неосознанно применялись еще в древности при получении вина, пива, хлеба и других пищевых продуктов. Дальнейшее развитие этих традиционных биопроизводств было связано с успехами в области биохимии и других наук биологического цикла.

Современная биотехнология оказывает огромное влияние на все аспекты практической деятельности человека. С ее помощью в настоящее время получают десятки дорогостоящих биологически активных веществ, среди них гормоны, ферменты, витамины, антибиотики, некоторые лекарства. Огромна роль биотехнологии в медицине. Здесь благодаря применению генной инженерии, позволяющей «встраивать» чужие гены в клетки-продуценты, удается нарабатывать в неограниченных количествах такие ценнейшие лекарства, как человеческий инсулин, интерфероны, моноклональные антитела. Чрезвычайно важное значение имеет биотехнология в экологизации промышленных производств на основе создания безотходных процессов; биотехнологические методы применяются при очистке воды; биологические методы подавления вредителей сельскохозяйственных культур уверенно вытесняют, казалось, не имеющие конкурентов химические инсектициды. Благодаря биотехнологии разработаны и внедрены энерго- и ресурсосберегающие производства. Биотехнологические процессы являются базой для получения кормового и пищевого белка; в настоящее время в мире 5% кормового белка производится с помощью микробиологической переработки нефти. Биотехнологическим путем получают возобновляемые источники энергии.

Новые биотехнологические процессы, вполне возможно, приведут к дальнейшей революционизации различных отраслей промышленности. Поистине фантастическое будущее связывается с развитием белковой инженерии, биоэлектроники (биосенсоры, биоэлементы для ЭВМ), с получением новых стимуляторов роста растений, высокоэффективных лекарственных препаратов.

Однако советский читатель имеет в своем распоряжении все еще очень немного книг, с помощью которых он мог бы познакомиться с биотехнологией. Особенно остро ощущается нехватка научно-популярной литературы на эту тему.

Книга молодых ученых из ГДР Ильки и Рейнхарда Реннебергов поможет очень многим, даже не посвященным в тонкости академической науки, а также не обладающим глубокими профессиональными знаниями по биологии, химии, медицине понять многие процессы, с которыми приходится сталкиваться в повседневной жизни. Кто знает, может, прочитав эту увлекательную «повесть», читатель почувствует вдруг неоодолимое влечение узнать все это глубже, подробнее? Такой интерес — огромная награда авторам.

Хочется надеяться, что книга вызовет интерес многих читателей, особенно подрастающего поколения ученых — старшеклассников, молодежи, чей пылкий ум так необходим для дальнейшего развития мировой науки, в частности биотехнологии.

*Г. Лойдина*

#### **ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА \***

- Баев А. А.* Биохимия, молекулярная биология, генетическая инженерия — взгляд в будущее.— Изв. АН СССР, серия биологическая, № 2, 1986, 169-180.
- Бетина В.* Путешествие в страну микробов.— М.: Мир, 1976.
- Вакула В.* Биотехнология: Что это такое? — М.: Молодая гвардия, 1989.
- Голомзик А. М.* Новые профессии микробов.— Свердловск: Ср.-Уральское изд-во, 1974.
- Де Крюи П.* Охотники за микробами,— М.: Молодая гвардия, 1987.
- Манаков М. Н., Победимский Д. Г.* Теоретические основы технологии микробиологических производств.— М.: Агропромиздат, 1990.
- Микромир жизни / Под ред. Д. М. Гольдфарба.— М.: Знание, 1985.
- Муромцев Г.* Сельскохозяйственная биотехнология: Состояние, перспективы развития.— Международный сельскохозяйственный журнал, 1986, № 3, 59—61.
- Попова Т. Е.* Развитие биотехнологии в СССР.— М.: Наука, 1988.
- Реннеберг Р.* Эликсиры жизни: Пер. с нем.— М.: Мир, 1987.
- Тузова Р. М.* Микроорганизмы на службе животноводства.— Минск: Ураджай, 1985.
- Шигаева М. Х.* Путешествие в мир невидимок.— Алма-Ата: Наука, 1979.
- Яковлев В. И.* Технология микробиологического синтеза.— Л.: Химия, 1987.

\* Представлено Г. И. Лойдиной.

# Открытие нового мира

## Диковинные «зверушки» Антони ван Левенгука

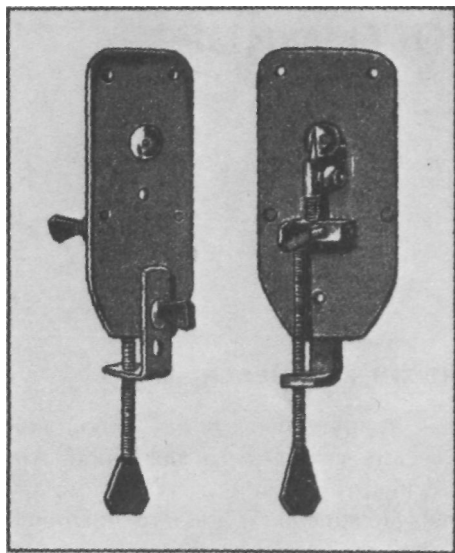
«Он, кажется, начинает сходить с ума»,— шушукались между собой жители голландского города Делфта — соседи весьма уважаемого лавочника Антони ван Левенгука (1632—1723), который с некоторых пор стал упрямо утверждать, что в каждой капле воды, взятой из дождевой бочки или из городского канала, содержится, подумать только, больше живых существ, чем имеется жителей во всей Голландии.

Все началось с того, что Левенгук обучился у одного оптика на ярмарке искусству шлифовки линз. После этого он с подлинной одержимостью стал изготавливать для себя все более сильные увеличительные стекла. С помощью самодельных «микроскопов» ему удалось достигнуть поразительных увеличений. Лавочник мог часами просиживать, забавляясь тем, что тонкий овечий волосок становился под его микроскопом толстым канатом; он разделял под микроскопом на отдельные части мушиную головку, рассматривал блох и вшей.

Однажды Левенгуку пришла в голову мысль посмотреть под микроскопом каплю воды из дождевой бочки. Каков же был его испуг, когда он увидел скопище маленьких существ! Они резво плавали взад и вперед и, казалось, играли друг с другом! Существа эти были в тысячу раз меньше, чем глаз вши. По настоянию одного из своих друзей Левенгук в 1673 г. написал исполненное воодушевления письмо в самое представительное научное учреждение того

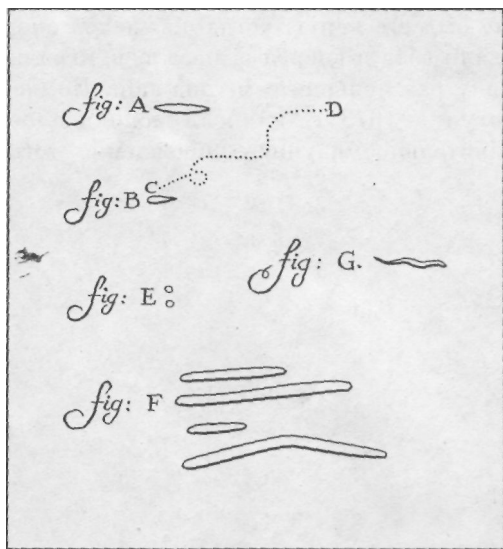


Антони ван Левенгук за своим микроскопом.



Однолинзовый микроскоп Левенгука, с помощью которого любознательный голландец достиг почти 280-кратного увеличения. Исследуемый материал крепился на острие микрометрического винта и передвигался перед линзой.

времени — Лондонское Королевское общество \*. Ученые мужи с удивлением знакомились с описанием «жалких маленьких зверушек», как называл Левенгук обнаруженных им диковинных крохотных созданий. «Они останавливаются, одно мгновение кажутся неподвижными, затем начинают вращаться со скоростью волчка, и траектория их движения не больше окружности песчинки. Я должен сказать,— писал в своем послании дотоле никому неизвестный лавочник,— что я никогда еще не видел такого впечатляющего зрелища, как эта жизнь тысяч крохотных созданий, обитающих в одной-единственной капле воды».



Первое изображение живых бактерий. Зарисовка Левенгука, которую он вложил в свое письмо, обращенное Лондонскому Королевскому обществу. При рассмотрении зубного налета он увидел такие бактериальные формы, как палочки, кокки и спираллы. Теперь нам известно, что в 1 г зубного налета содержится ~100 000 000 000 микроорганизмов, среди них есть и такие бактерии, которые питаются сахаром, выделяя кислоту, в результате чего происходит разрушение зубов (кариес).

\* Основано в 1660 г. Среди инициаторов создания Общества был Роберт Бойль, в числе первых руководителей — Роберт Гук и Исаак Ньютон.— Прим. перев.



Вот так голландский лавочник открыл человечеству новый мир — мир микроскопически малых живых существ — микроорганизмов.

В 1683 г. Левенгук сделал, пожалуй, самое важное из своих открытий. Он соскреб налет со своих зубов и поместил его под микроскоп. Он увидел, как резвятся уже другие существа, еще более крохотные, чем зверушки из дождевой бочки, как перекатываются малюсенькие шарики, тащатся согнутые палочки и вихрем проносятся в самых разных направлениях быстрые, как стрелы, спиральки. Левенгук зарисовал своих крошек и послал свои рисунки в Лондон в Королевское общество. Это было первым изображением живых бактерий.

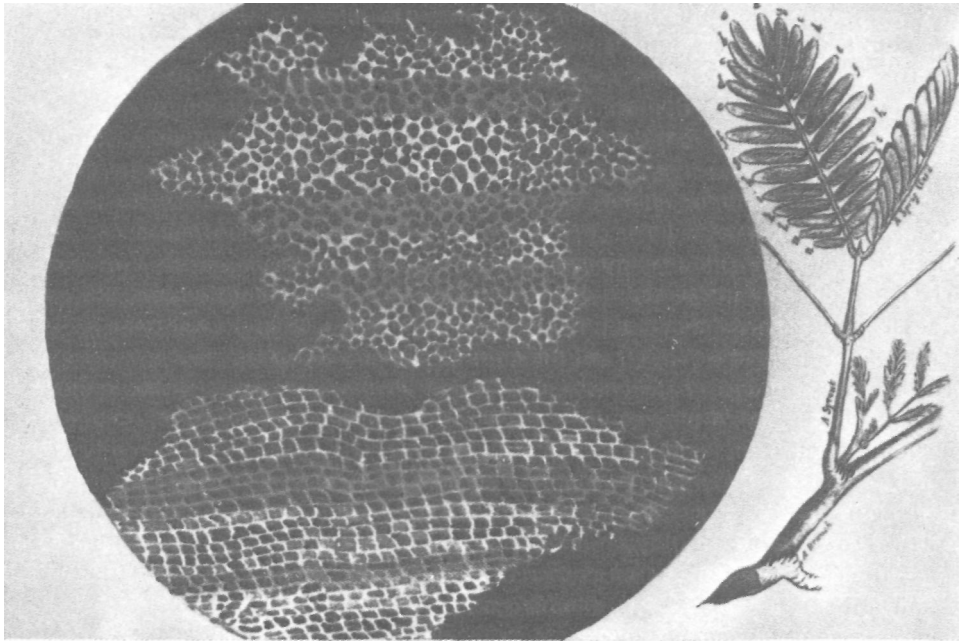
На заседаниях Лондонского Королевского общества демонстрировались интересные новые эксперименты; как раз в то время организация их проведения была поручена английскому естествоиспытателю Роберту Гуку (1635 — 1703). Сам он, изучая с помощью своего усовершенствованного многолинзового микроскопа бутылочную пробку \*, обнаружил в ней регулярно расположенные маленькие поры, которые он предложил назвать «клетками». Следуя указаниям Левенгука, Гук воспроизвел конструкцию его микроскопов и сумел подтвердить его наблюдения; однако он не подозревал, что маленькие «зверушки» тоже состоят из клеток, правда, как правило, лишь из одной-единственной клетки.

Теперь члены Королевского общества смогли воочию убедиться в существовании микроскопически малых живых существ. «Зверушки» вызвали у них живой интерес. Левенгук, никогда не учившийся ни в каком университете, был единогласно избран членом Лондонского Королевского общества. Благодаря своим умелым рукам, любознательности и терпению он достиг гораздо большего, чем многие ученые его времени, которые подчас на вопрос, сколько зубов у осла, предпочитали искать ответ в трудах древнегреческого естествоиспытателя Аристотеля вместо того, чтобы попросту заглянуть в пасть длинноухому.



Многолинзовый микроскоп Роберта Гука, с помощью которого он обнаружил растительные клетки на тонком срезе бутылочной пробки.

\* На изготовление бутылочных пробок обычно идет кора пробкового дуба. — *Прим. перев.*



*Изображение отмерших растительных клеток. Рисунок из книги Гука «Микрография».*

Открытиями Левенгука интересовались короли, знатные люди и, конечно же, ученые всех стран. Его посетили королева Англии и король Пруссии Фридрих I, а также русский царь Петр I, проживавший в то время в Голландии под чужим именем с целью изучения кораблестроительного дела. Довольно долго «крошкам» просто дивились как курьезу, но затем интерес стал постепенно угасать и о них стали забывать. Никто тогда не мог предположить, что именно подобные зверушки вызывают опустошительные эпидемии, а также что им мы обязаны тем, что можем наслаждаться хрустящим хлебом, хорошо сброженным пивом, благородным вином и превосходным сыром. Еще ничего не ведая, человек уже в течение тысячелетий «эксплуатировал» чудесных зверушек.

### **Биотехнология наших предков: пивоварение, хлебопечение и виноделие**

Более чем 6000 лет тому назад шумеры Двуречья (территория между Тигром и Евфратом) уже владели искусством пивоварения: из проросших зерен они изготавливали сытный, стойкий и пьянящий напиток. Для этого после увлажнения ячмень или полба — ранняя культурная форма пшеницы — прорастивались. Из проросших зерен, то есть из солода, выпекали «пивные хлебцы», измельчали их и заливали водой. С помощью сита, сплетенного из ивовых прутьев, жидкость отделяли от твердого осадка и разливали в глиняные сосуды, которые хранили затем закупоренными. Вскоре из жидкости в сосудах начинали подниматься пузырьки газа, т. е., как сказали бы мы сегодня, жидкость начинала бродить. Так из этого сладковатого сиропа возникал напиток, содержащий спирт; это и было пиво тех времен.

Преемникам культуры шумеров, вавилонянам, было известно уже более 20 различных сортов пива. Пивоварение имело у них важное государственное значение. Так, Хаммурапи, наиболее могущественный властитель вавилонян (1792—1750 до н.э.), повелел высечь на камне, что пивовары, уличенные в тайном разбавлении пива водой, будут жестоко наказаны: либо они будут утоплены в собственных пивных сосудах, либо их заставят пить изготовленную ими же бурду до тех пор, пока они не упрутся до смерти.

Умели варить пиво и древние египтяне. Осирис, бог земли и плодородия, одновременно почитался ими как бог пива. Египтяне уже знали, что брожение наступит скорее, если добавить отстой удачно сваренного пива. Естественно, они и не подозревали, что брожение обусловлено живыми организмами, дрожжами. Размеры дрожжевой клетки составляют всего лишь около сотой доли миллиметра. А для того чтобы быть воспринятой человеческим глазом хотя бы в виде точки, ей следовало бы быть по крайней мере в 5—10 раз больше.

Желтые шарики дрожжевых клеток сумел отыскать под микроскопом в капле пива опять-таки все тот же Левенгук. К этому времени дрожжи уже употребляли в концентрированном и очищенном виде как для хлебопечения, так и для пивоварения и для получения вина.

Дрожжи относят к низшим грибам, их называют также почкующимися грибами, так как они размножаются почкованием. Дрожжи состоят всего лишь из одной-единственной клетки. Эта материнская клетка образует при почковании отдельные выпячивания, «дочерние клетки», которые отшнуровываются (отделяются), после чего они способны к самостоятельному существованию и могут в свою очередь образовывать новые клетки. Например, поступающие в магазины прессованные дрожжи легко размножаются в подсахаренной воде.

Сегодня, как и во времена шумеров, процесс приготовления пива начинают с прорастивания ячменя, его превращения в солод. После этого образовавшийся солодовый «корж» измельчают, смешивают с теплой водой и помещают в заторный чан в качестве «затора». Здесь из крахмала, отложенного в зернах, в течение нескольких часов образуется солодовый сахар (мальтоза). Затем твердые компоненты затора отфильтровывают, а остающуюся сладкую жидкость переливают в пивоваренный котел. Туда же добавляют хмель. Он придает пиву пряный горьковатый вкус. Получающееся таким образом «сусло» сливают в бродильный чан и добавляют «пивные дрожжи». Тогда начинается брожение. По окончании брожения пиво на некоторое время оставляют в чане, где оно должно «дозреть». В заключение пиво подвергают кратковременному нагреву для того, чтобы убить вредных микробов, и затем разливают по стеклянным бутылкам, жестяным банкам и другим сосудам.

Таким образом, основные процессы в современном пивоварении те же, что и много тысяч лет назад, только прежде люди для достижения тех же целей использовали работу микроорганизмов неосознанно. В настоящее время техническое использование микроорганизмов, то есть живых существ, называется биотехнологией (*от греч. bios — жизнь*). Пивоварение, виноделие, хлебопечение, сыроварение, производство уксуса и квашение капусты — все это процессы, которыми человек более или менее хорошо владел уже в течение тысячелетий. Да и сушка мяса, рыбы и овощей, копчение и засолка также

относятся к способам предохранения пищевых продуктов от порчи, только здесь упор делается на то, чтобы не допустить развития вредных микроорганизмов, тогда как, к примеру, при приготовлении вина необходимо, чтобы происходило размножение полезных микроорганизмов, то есть дрожжей.

Почти все народы Древнего мира пришли к тем же открытиям, что и шумеры. Так, в одном старом индийском сказании рассказывается, что боги Баруна и Сура нашли в дупле отмершего дерева опьяняющий напиток, образовавшийся из дождевой воды и спелых плодов. Германцы пили мёд — напиток типа пива, сваренный на меду. Древние греки и римляне предпочитали перебродивший виноградный сок — вино. Африканцы получали из пшена пиво «помбе». Азиатские степные народы сбраживали в кожаных мешках кобылье молоко, превращая его в кумыс, японцы готовили sake, алкогольный напиток из риса.

Процесс приготовления вина сегодня также принципиально почти не изменился с тех древних времен: после сбора урожая красный и белый виноград давят и из этой массы путем отжимания получают виноградный сок. Потом этот сок бродит в закупоренных сосудах. Когда образовавшееся вино созревает, его фильтруют и разливают по бутылкам. Разумеется, в древности люди не знали, что на виноградинах находятся дрожжевые грибки, которые попадают в сосуды вместе с выжатым соком и обуславливают брожение; в настоящее время к соку добавляют специально выращенные дрожжи.

Когда вино длительное время стоит открытым или же если бродильный сосуд неплотно закупорен, вместо вина образуется кислая жидкость. Каждый может у себя дома легко наблюдать превращение спирта в уксус. Например, уксус возникает тогда, когда остатки пива или вина стоят в течение нескольких дней незакрытыми в теплом помещении. Шумеры также были уже знакомы с приготовлением уксуса. Древние греки и римляне даже пили разведенный уксус в качестве освежающего напитка. В основу современного промышленного получения уксуса положен так называемый немецкий способ, согласно которому разведенный спирт пропускают через буковые стружки, на которых закреплены соответствующие бактерии, незамедлительно превращающие этот спирт в уксус.

Дрожжи образуют спирт лишь до определенной концентрации, не превышающей 8—10%, при более высоком содержании спирта дрожжевые клетки начинают отмирать. Поэтому пиво и натуральные вина содержат относительно небольшие количества спирта. Напитки большей крепости, такие, как водка, стали известны, по-видимому, лишь начиная с XII в. В те времена получение водки происходило путем нагревания вина в закрытом котле\*. Спирт испаряется уже при 78° С, следовательно задолго до испарения воды, которая закипает только при 100° С. Образующиеся пары спирта направлялись в трубку, охлаждаемую холодной водой, где конденсировались; жидкость стекала в виде капель в приемник. Таким образом получали высококонцентрированный спирт. На современных спирто-водочных заводах чистый спирт получают из картофельного или зернового крахмала. Сначала крахмал превращают в сахар, сахар сбраживается дрожжами до спирта, который нагревают и затем конденсируют (этот процесс испарения и последующей конденсации называется дистилляцией или перегонкой).

\* По старой терминологии этот процесс назывался винокурением. — *Прим. перев.*



*Помол и выпечка хлеба в Древнем Египте.*



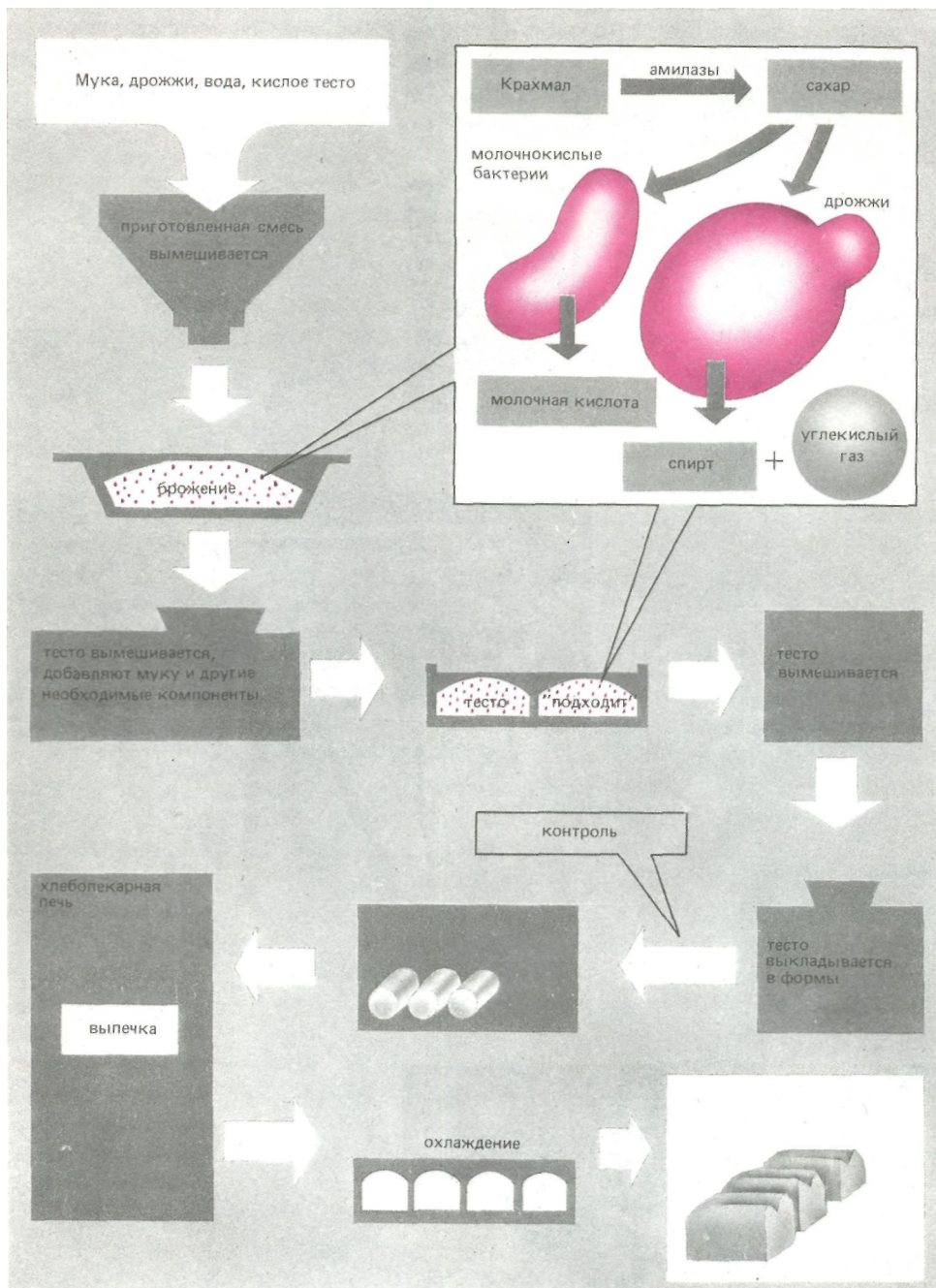
*Выпечка хлеба германскими племенами.*



*Помол и выпечка хлеба в Древнем Риме.*



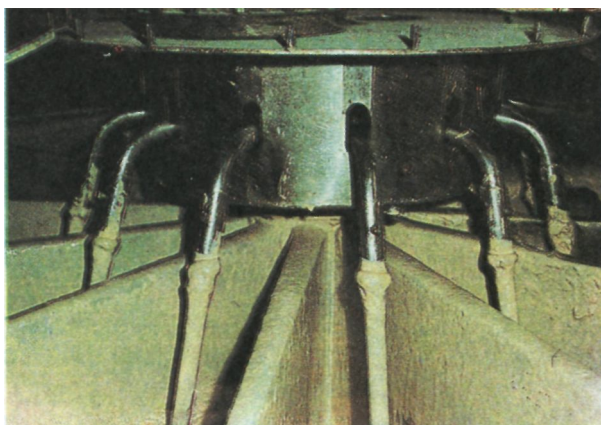
*Хлебопекарня в Западной Европе в период средневековья.*



Процессы в современном хлебопекарном производстве. В кислом тесте происходит превращение крахмала муки в сахар. Дрожжевые трибы, вызывая брожение, выделяют из сахара углекислый газ, который разрыхляет тесто (тесто «подходит»), и этиловый спирт, который улетучивается при выпечке. Молочнокислые бактерии обуславливают характерный вкус хлеба, в связи с этим при производстве белого хлеба используют только дрожжи.



*На современном хлебозаводе. Чан для теста.*

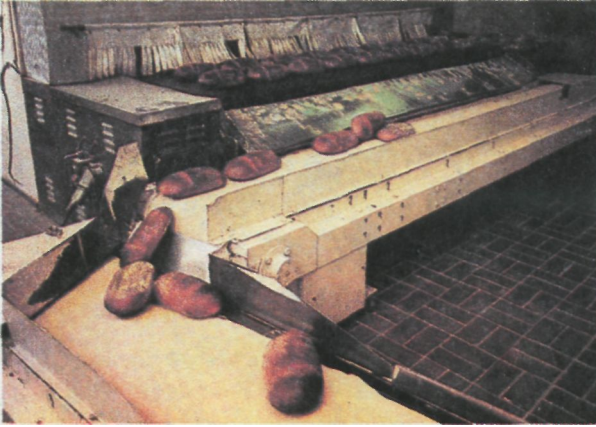


*Смесительный и бродильный отделения чана.*



*Готовое тесто покидает бродильный чан для формирования буханок хлеба, где повторно «подходит».*





*Прежде чем испеченный хлеб попадет к потребителю, он еще должен остыть.*

Хлебопечение было «изобретено», вероятно, позднее пивоварения. Вначале людям был известен только плотный пресный хлеб. Лишь примерно около 6000 лет тому назад древнеегипетские пекари стали выпекать пористый хлеб из заквашенной (забродившей) мучной кашицы. Это кислое тесто содержало многочисленные пузырьки газа, возникшие в результате брожения. Тесто вспучивалось («подходило») и становилось рыхлым. При выпекании брожение прекращалось, так как высокая температура в печи убивала клетки дрожжей. Образующийся при брожении спирт улетучивался, и в выпеченном тесте оставались только сотообразные пустоты.

Сегодня хлеб изготавливают из смеси муки, дрожжей, солода, соли и воды. Замешанное тесто оставляют «подходить» на несколько часов; в это время в тесте и происходят процессы брожения. Затем машина разделяет тесто на порционные куски — будущие буханки или батоны. Эти порции должны вновь «подойти», после чего их раскатывают и помещают в формы для выпечки. Прежде чем тесто попадет в печь, оно должно опять «подойти». Выпечка хлеба занимает примерно 20 мин, после чего из печи вынимают хлебы с хрустящей корочкой и оставляют их для остывания.

## **О сыре и кислой капусте**

Когда человек начал приручать овец, коз и крупный рогатый скот и получать от своих домашних животных молоко, то он познакомился и с кислым молоком, которое возникало как бы «само по себе», когда свежее молоко стояло в течение некоторого времени. Правда, кипяченое молоко «портилось» не столь быстро, это было уже известно из накопленного опыта. Из кислого молока путем отделения более плотных компонентов получали творог, из творога готовили сыр. Очень скоро люди подметили, что приготовленный сыр был значительно лучшего качества, если к молоку добавляли переваривающую субстанцию из желудков молочных телят — сычуг.

Сычуг обладает способностью свертывать молочный белок. При свертывании плотные компоненты молока очень быстро склеиваются в комки и становятся намного плотнее, чем при простом скисании. После отжатия сыворожки полученный таким способом творог перемешивают с солью и нарезают на куски. При получении мягких сыров, таких, как камамбер или бри,

предусматривают, чтобы на поверхности «сырного теста» росли плесневые грибы. С давнего времени в сыроварнях маленьких французских селений Камамбер и Рокфор культивируются и используются особые плесневые грибы, благодаря которым там получают сорта сыров, названия которых связаны с местом их изготовления.

Правда, рокфор относится к твердым сырам. Эти сыры уплотняются с помощью так называемых сырных прессов; твердые сорта более лежкие, чем мягкие. При изготовлении твердых сыров плесневые грибы добавляют прямо в сырное тесто, и тогда плесень растет не только на поверхности, но и в объеме головки сыра. Для «вентилирования» в сырной массе прокалывают острой палочкой тонкие каналы.

Плесневые грибы можно увидеть невооруженным глазом; в отличие от дрожжей они являются многоклеточными организмами. Разумеется, у них, как и у съедобных грибов, видны только спороносы. Само «тело» гриба невидимо. Оно состоит из длинных тонких грибных нитей, образующих мицелий (от греч. *микос* — гриб). Из мицелия вырастают спороносы, которые образуют тысячи спор, распространяющихся с порывами ветра или с потоками дождевой воды. Споры прорастают на любой богатой питательными веществами подстилке и образуют новый мицелий. По типу спор, сидящих на спороносцах, «сырные грибы» относят к кистевикам; их латинское наименование — *Penicillium*, что означает кисточка. Безусловно, каждый из нас знаком также с леечной плесенью (*Aspergillus*) \*, ведь некоторые виды этого гриба растут на хлебе и мармеладе. В отличие от безвредных для здоровья кистевидных плесеней, произрастающих на сырах, различные виды аспергиллов выделяют ядовитые вещества. Именно поэтому никогда не следует употреблять в пищу заплесневелые продовольственные продукты!

Еще одно древнейшее биотехнологическое «производство» — это квашение капусты с целью сделать ее пригодной для длительного хранения. При желании довольно легко самому в домашних условиях приготовить кислую (квашеную) капусту. Для этого мелко нарубленную белокочанную капусту с добавленной солью (иногда также с пряностями) до тех пор уминают в глиняном сосуде, пока поверхность плотно утрамбованного слоя капусты не покроется жидкостью. После этого на капусту кладут плоскую тарелку (или деревянный кружок), которую придавливают чисто вымытым булыжником. Сосуд ставят в прохладное место. Очень скоро в капусте начинается брожение. Без доступа воздуха свежая капуста постепенно превращается в очень вкусную квашеную капусту.

Точно так же в сельском хозяйстве заквашивают зеленый корм на зиму, при этом образуется лежкоспособный силос длительного пользования.

\* В литературе на русском языке для этих грибов принято использовать наименования в русской транскрипции, то есть пеницилл и аспергилл. — *Прим. перев.*

*Дрожжи и плесневые грибы, имеющие важное значение для биотехнологии (схема выполнения с 3000-кратным увеличением). Пивные или пекарские дрожжи (*Saccharomyces*) используются в пивоварении, виноделии и хлебопечении, дрожжи рода *Candida* — в производстве кормового белка. Кистевидные плесени (пенициллы) играют важную роль в сыроварении и фармацевтической промышленности, леечные плесени (аспергиллы) вырабатывают, например, ферменты, расщепляющие крахмал. — Рис. на след. странице.*



Пивные или пекарские дрожжи

Дрожжи рода *Candida*

Левачная плесень (аспергилл)

Кистевидная плесень (пеницилл)

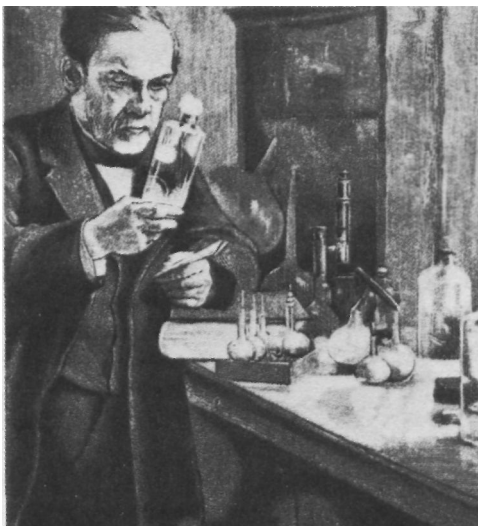
Все описанные выше «биотехнологии» связаны с процессами брожения; эти способы применялись и применяются человеком на протяжении тысячелетий. Накопленный опыт передавался из поколения в поколение, хотя человеку было еще совершенно ничего неизвестно о причинах брожения и о том, как оно осуществляется. И только в XIX в. французский ученый Луи Пастер (1822—1895) разогнал мрак неизвестности. Тем самым он заложил основы сознательного управления технологическими процессами, в которых микроорганизмы являются «рабочими животными». Луи Пастер по справедливости считается одним из отцов современной биотехнологии.

# Исследователи свойств микробов и "охотники" за микробами

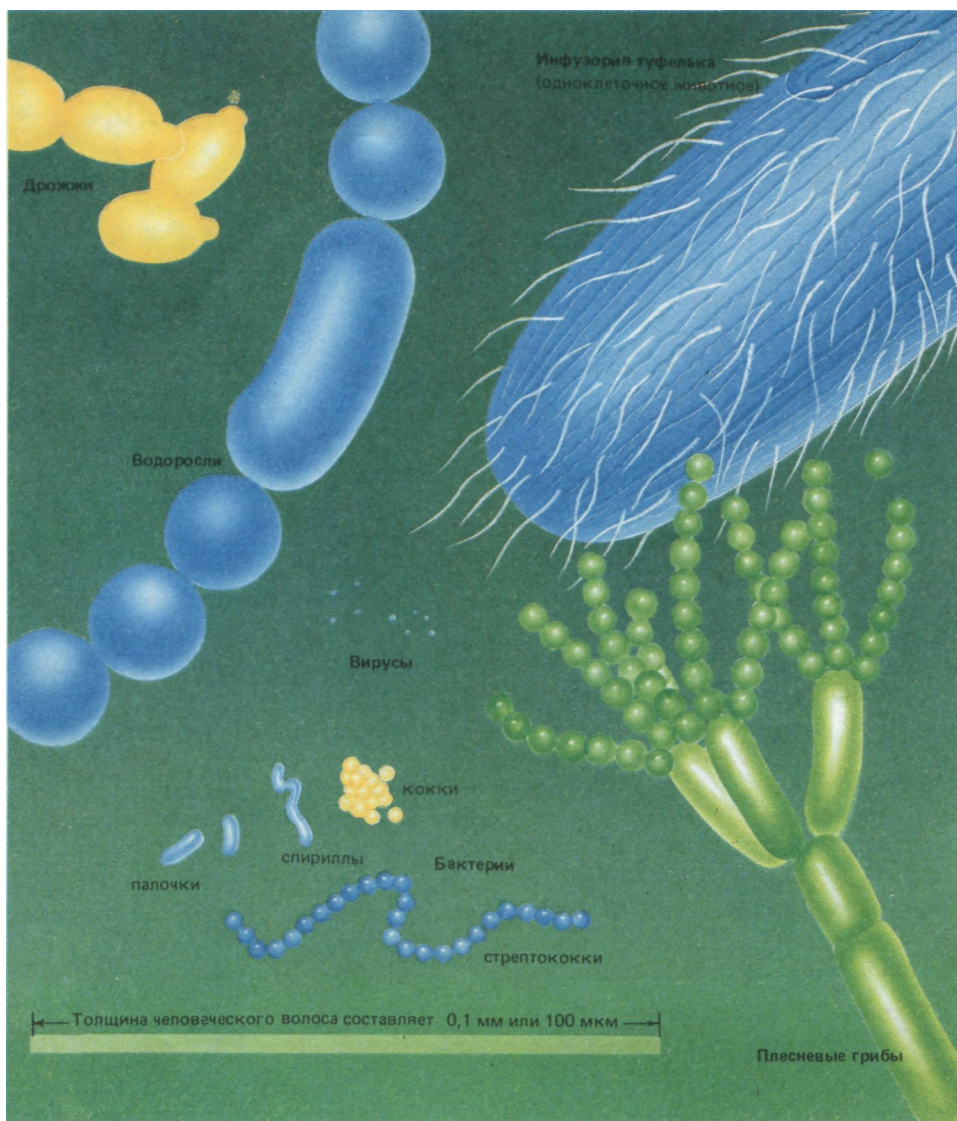
## Тайна кислых чанов

Минуло почти 200 лет после открытий Левенгука, и вот микробы вновь вызывают самый живой интерес ученых. В середине XIX в. в Европе появились крупные промышленные предприятия. Производство спирта теперь также перешагнуло границу семейного предприятия, спирт стали производить в заводских условиях. В результате все настоятельнее стала ощущаться потребность в знаниях о процессах, происходящих при различного рода брожениях, для того чтобы иметь возможность избежать разорительных промахов.

В 1856 г. во французском городе Лилле некий господин Биго, владелец фабрики по производству спирта, навестил профессора химии Луи Пастера. Биго сообщил ему, что многие из его спиртовых чанов поразило необычное «заболевание». Из сахарного сиропа, получаемого из сахарной свеклы, там образуется не спирт, как положено, а вязкая серая жидкость с кислым запахом. Пастер упаковал свой микроскоп и отправился с ним на фабрику. Здесь он взял пробы и из «больных», и из «здоровых» чанов. Как показало микроскопическое исследование, «здоровые» пробы содержали желтые шарики — почкующиеся дрожжи. Следовательно, дрожжи были живыми и их жизнедеятельность обуславливала преобразование сахара в спирт! Затем Пастер исследовал вязкую массу. Там он не обнаружил никаких дрожжей, зато были видны какие-то маленькие серые точки. Каждая точка содержала хаотиче-



*Луи Пастер в лаборатории.*



Сравнение размеров наиболее важных групп микроорганизмов с толщиной человеческого волоса. Схема выполнена с 1000-кратным увеличением, то есть 1 см соответствует 0,01 мм, или 100 мкм. При таком увеличении в световом оптическом микроскопе вирусы не видны. Оптический микроскоп дает увеличение до  $\times 2000$ . Для того чтобы различить вирусы в подробностях, необходимо применение современных электронных микроскопов.

ское скопление дрожжащих палочек — миллионы палочек в каждой серой точке.

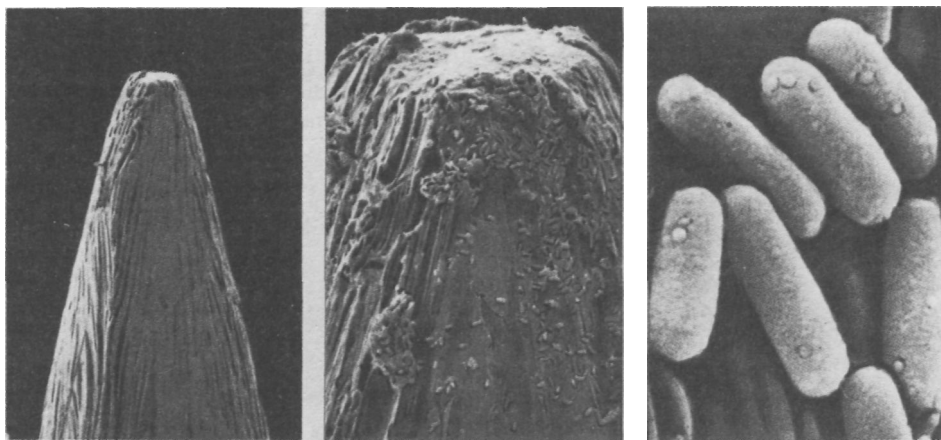
Кислое вещество, которое вырабатывали эти палочки, оказалось молочной кислотой. А что, если эти палочки, подобно дрожжам, являются живыми созданиями? Быть может, они борются с дрожжами за сахар и в какой-то момент одерживают верх? По-видимому, такие или очень похожие мысли пришли в голову Пастера. Он накапал немного жидкости, содержащей палочки, в бутылку, где находился прозрачный раствор из дрожжей и сахара. Спустя корот-

кое время здесь также исчезли дрожжи и палочки стали «господами положения». И опять вместо спирта образовалась молочная кислота.

Обнаруженные палочки были бактериями. Они приобрели свое имя по форме своего тела (*от греч. bakterion* — палочка). Бактерии, со всей очевидностью, путем брожения вырабатывали из сахара молочную кислоту, тогда как дрожжи сбрасывали сахар до спирта и газообразного углекислого газа.

Бактерии, как и дрожжи, состоят из одной-единственной клетки. Размеры бактериальной клетки редко превышают тысячную долю миллиметра, следовательно, она почти в 10 раз меньше дрожжевой клетки. Из-за таких малых размеров в микробиологии в качестве единицы измерения вместо миллиметровой (1 мм) шкалы используется чаще всего микрометровая (1 мкм);  $1 \text{ мкм} = 0,001 \text{ мм} = 10^{-6} \text{ м}$ . Для того чтобы получить представление о размерах тела бактерии, представим крохотный кубик с ребром в 1 мм (то есть объем кубика равен  $1 \text{ мм}^3$ ). В таком кубике может поместиться около одного миллиарда бактерий!

Однако наряду с палочковидными бактериями известны также бактерии в форме шариков — кокки (*от греч. kokkus* — круглое ядро), непрерывно вибрирующие вибрионы в форме запятой (*от лат. vibrare* — дрожать, вибрировать), винтообразно изогнутые спираиллы (*от лат. spirillum* — винтик). У многих бактерий имеются жгутики, с помощью которых они могут быстро передвигаться. Бактерии размножаются посредством деления одной клетки на две (прежде их называли также делящимися грибами). Образующиеся таким образом «дочерние клетки» потом чаще всего разъединяются. Если же они остаются связанными между собой, то возникают более или менее длинные цепочки бактериальных клеток. Их называют стрептококками (*от греч. streptos* — цепь). Бывает, что они



Электронные микрофотографии бактерий, укрепленных на острие булавки. В электронных микроскопах, в создание которых в тридцатые годы нашего столетия внесли большой вклад Эрнст Руска, Манфред фон Арденне, Макс Кноль и др., для получения увеличенного изображения используется пучок электронов (в оптическом микроскопе световой луч). Длина волны электронов в 100 000 раз меньше длин волн диапазона видимого света, поэтому при использовании пучка электронов можно получить изображение увеличенным в 100 000 раз по сравнению с оптическим микроскопом.

Слева: 300-кратное увеличение (приблизительно как в микроскопе Левенгука), в центре: 1500-кратное увеличение (примерно как в хорошем оптическом микроскопе), справа: увеличение в 35 000 раз.

группируются наподобие грозди винограда, тогда их называют стафилококками (*от греч. staphyle — гроздь*).

Палочковидные молочнокислые бактерии (лактобациллы; *от греч. lactos — молоко*) нежелательны только при производстве спирта. Обычно же они совместно с другими молочнокислыми бактериями, чьи клетки собраны в цепочки, напоминающие жемчужные ожерелья (стрептококки), обеспечивают скисание молока, «подъем» кислого теста, квашение нарубленной белокочанной капусты, силоса или огурцов. Поскольку гнилостные микробы не способны развиваться в присутствии молочной кислоты, то кислая капуста, силос и маринованные огурцы способны к длительному хранению.

Вскоре, после того как Пастер открыл в чанах для спирта молочнокислых бактерий, к нему обратились за помощью виноградари Арбуа \*. У них были хлопоты со спиртовым брожением вина. Даже из лучшего виноградного сока получалось маслянистое, вязкое, горькое вино. И здесь тоже вместо дрожжевых грибов Пастер нашел в испорченном вине мелкие бактерии, образующие цепочки наподобие жемчужных нитей. В ходе своих обстоятельных исследований Пастер обнаружил несколько видов бактерий, вызывающих различные болезни вина. В конце концов даже без дегустации вина он мог сказать пораженным виноградарям, каково оно будет на вкус! Для этого ему было достаточно посмотреть пробу под микроскопом и определить вид дрожжей или бактерий.

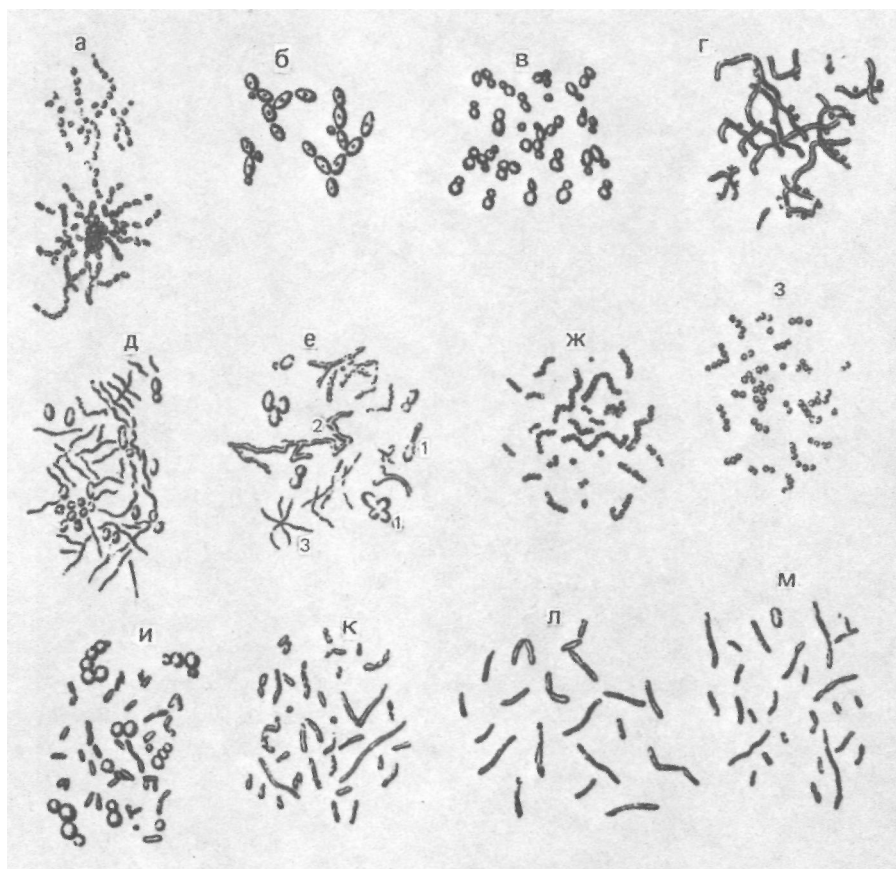
Но практичных виноградарей все же больше интересовало, каким способом они могли бы устранить этих зловредных бактерий. Пастер установил, что, для того чтобы умертвить бактерий, достаточно кратковременного прогревания вина. Подобным приемом можно предохранить и молоко от скисания. В настоящее время этот процесс, при котором погибает подавляющее большинство вредных микроорганизмов, называют в честь Пастера пастеризацией. А ведь в 1 мл (= 1 см<sup>3</sup>) сырого молока содержится от 250 000 до 500 000 микробов! Поэтому в наше время молоко, предназначенное для питья, чаще всего кратковременно пастеризуют (при 71—74° С примерно в течение 40 с), благодаря чему отмирает 98—99,5% микроорганизмов. Молоко, выдерживающее без охлаждения шестинедельное хранение, в течение нескольких секунд нагревают при помощи водяного пара даже до 120° С, затем охлаждают и разливают в стерильные емкости.

\* Городок в Восточной Франции, где Пастер провел детство и юность.— *Прим. перев.*

*Виды бактерий, имеющие важное значение для биотехнологии. Увеличение X 10 000–50 000. Отдельные виды Pseudomonas заселяют листья и корни растений, некоторые способны разрушать вредные вещества, находящиеся в окружающей среде. Клубеньковые бактерии, живущие в пахотном слое почвы, и различные виды азотобактера связывают азот воздуха, делая его доступным для питания растений. При помощи методов генной инженерии колибактерии (Escherichia coli) можно реконструировать так, чтобы они стали производителями белков человека и животных. Различные виды Bacillus продуцируют ферменты, которые разлагают крахмал до сахаров, эти же ферменты входят в состав «биомоющих» средств, так как они принимают участие в растворении стойких загрязнений. Bacillus thuringiensis выделяют кристаллы, которые убивают гусениц. Стафилококки вызывают порчу пищевых продуктов, стрептококки и виды лактобацилл вызывают скисание молока. Стрептомицеты вырабатывают очень важные лекарства, которые подавляют развитие возбудителей болезней. - Рис. на след. странице.*







Микроорганизмы. Зарисовка Луи Пастера из его книги «Болезни вина», а — уксуснокислые бактерии; б и в — дрожжи; г — гид — бактерии «горькой болезни» вина; е — смесь бактерий, выделенных из образцов вина, которое после брожения остается сладким (1) либо становится горьким (2) или кислым, т. е. прокисает (3); ж — бактерии, вызывающие появление прогорклого вкуса вина; з — бактерии, сбраживающие мочу; и — смесь молочнокислых бактерий и пивных дрожжей; к, л и м — различные маслянокислые бактерии, которые, в частности, обуславливают прогоркание масла.

## Дыхание без кислорода

В чем же сущность процесса брожения? Этот вопрос занимал не только Пастера. К концу XVIII в. химики уже доказали, что при брожении виноградного сока из виноградного сахара (глюкозы) образуются спирт и углекислый газ. В середине XIX в. знаменитый немецкий химик Юстус фон Либих (1803 — 1873) выдвинул в этой связи следующую теорию. Он утверждал, что при образовании спирта речь идет о чисто химическом, а не биологическом процессе. Либих находил просто смехотворным, что брожение будто бы могут вызывать микроскопически маленькие создания. Однако же при всех спиртовых брожениях находили дрожжи, то есть живые существа.

Луи Пастер вступил в горячий спор с Юстусом Либихом. «Без живых дрожжей не может быть никакого спирта», — настаивал Пастер. Либих насмешливо парировал: «Те люди, которые думают, что процесс брожения обусловлен анималькулями (зверьками), подобны детям, которые полагают, что течение Рейна обусловлено вращением колес водяных мельниц, стоящих на его берегах». Спор длился годы с переменным успехом. Однако окончательно решен он был лишь после смерти Пастера и Либиха.

В 1876 г. Пастер опубликовал обширный труд, включающий результаты двух десятилетий исследовательской работы. «Брожение есть дыхание без кислорода», — утверждал Пастер. Брожение служит для стимуляции живых существ, для приобретения энергии. Все живые существа нуждаются в энергии для жизни. Они приобретают эту энергию путем расщепления Сахаров, жиров и белков в клетках своего организма. Например, сахар в процессе дыхания разлагается до углекислого газа и воды. Оба этих продукта покидают клетки. Образующуюся при этом энергию организм использует, к примеру, для движения собственных мышц. Для этого «холодного горения», как и для «горячего» горения дров с образованием золы, клеткам необходим кислород воздуха. Таким образом, без кислорода высшие животные и растения не могут добыть энергию, и, следовательно, нежизнеспособны.

В противоположность этому микробы в случае дефицита кислорода способны прибегнуть к своего рода «аварийному дыханию». Вероятно, это в данной ситуации вынужденное решение — брожение — восходит к древнейшему периоду существования жизни на Земле, когда земная атмосфера не содержала кислорода. Лишь позднее кислород был высвобожден растениями из воды и углекислого газа в результате фотосинтеза. А до того времени в бедной кислородом атмосфере брожение являлось для первичных микробов нормальной формой добывания энергии.

При скисании молока и заквашивании капусты и огурцов молочнокислые бактерии являются главными возбудителями брожения. Что касается спиртового брожения, то оно обуславливается дрожжами. В отсутствие доступа воздуха они расщепляют сахар лишь до спирта и углекислого газа. В зависимости от имеющегося в данный момент окислительно-восстановительного потенциала дрожжи могут либо «дышать», либо «бродить». Однако посредством брожения они добывают меньше энергии, чем с помощью дыхания. Поэтому в отсутствие кислорода они размножаются в 20 раз медленнее, чем при его наличии. Ради того чтобы получить спирт или разрыхлить с помощью пузырьков углекислого газа тесто для хлеба, человек помещает дрожжи до известной степени в «аварийную» ситуацию. Однако если требуются большие массы дрожжей, то есть необходимо их размножение, то кислород даже нагнетается в дополнительном количестве в питательный раствор. Правда, тогда образуется очень мало спирта.

Но помимо дрожжей с их «двойной жизнью» имеются и такие микробы, для которых даже ничтожные количества кислорода являются смертельными, например метанобактерии, образующие без доступа воздуха болотный газ (метан).

### **Возможно ли брожение без микробов?**

Что же, прав был Пастер, который утверждал, что без микробов невозможно никакое брожение?

В 1897 г. Эдуард Бухнер (1860—1917) провел чрезвычайно важный эксперимент. Он решил выяснить, возможно ли брожение в случае отсутствия живых клеток. Для этого он до тех пор растирал в ступке дрожжи, перемешанные с кварцевым песком, пока под микроскопом уже нельзя было обнаружить ни одной жизнеспособной дрожжевой клетки. Затем он отжал «дрожжевую кашу» на фильтре и получил прозрачную жидкость. Бухнер добавил к этому дрожжевому экстракту раствор сахара и спустя некоторое время с удивлением констатировал, что в жидкости появились пузырьки газа, причем это был углекислый газ! Сахар быстро превращался в спирт. Но, может быть, некоторые дрожжевые клетки все-таки не утратили жизнеспособности? Бухнер месяцами повторял свои опыты, но результат был всегда один: он действительно получал спирт без живых дрожжей! Оставалось предположить, что в дрожжах имеются вещества, вызывающие брожение, причем они могут проходить даже через самые мелкопористые фильтры. Значит, брожение не нуждалось в «жизненной силе» дрожжей, а было обусловлено содержащимися в них веществами.

Эти впервые обнаруженные, но неувиденные вещества были названы энзимами (*от греч. en zyme* — в дрожжах) или ферментами\*. Сегодня известно, что и в дрожжевых клетках, и в клетках всех других живых существ содержатся миллиарды (!) молекул ферментов (энзимов). Бухнер предполагал, что образование спирта из сахара обусловлено действием одного-единственного фермента, названного им «зимазой». Но современной науке хорошо известно, что для превращения сахара в спирт и углекислый газ дрожжевая клетка привлекает к слаженной работе 12 (!) различных ферментов.

Следовательно, отчасти правы были и Пастер, и Либих: в самом деле брожение вызывают микробы, но химическими превращениями веществ при этом управляют ферменты, находящиеся внутри микробных клеток. Однако ферменты могут оказывать точно такое же действие, находясь и вне живых клеток. Таким образом, спор между Пастером и Либихом привел к новым важным открытиям, касающимся мира микробов.

Ферменты изменяют, направляют и контролируют все химические реакции в живых клетках. К настоящему времени описано более 2000 различных ферментов, некоторые из них представлены в клетке всего лишь несколькими молекулами, другие, напротив, тысячами или даже сотнями тысяч. Все они действуют как «ускорители реакций» (катализаторы), то есть они преобразуют, часто в считанные доли секунды, одни вещества в другие, при этом сами

\* В научной литературе на русском языке принят термин «фермент». — *Прим. перев.*

*Наиболее важные для всех живых организмов атомы (вверху) объединяются в молекулы, которые и образуют основные строительные «блоки» клеток — молекулы Сахаров (в центре), аминокислот и жирных кислот (здесь не изображены). Молекула виноградного сахара (глюкозы) состоит из 6 атомов углерода, 12 атомов водорода и 6 атомов кислорода. Тысячи молекул глюкозы, связываясь в разветвленные цепи, образуют молекулу крахмала (внизу слева). Итак, молекула крахмала состоит из однородных блоков — глюкозных единиц (или остатков), в состав же молекул белка входят различные блоки — это 20 различных аминокислот; суммарное число аминокислотных остатков в белковой молекуле может составлять несколько сотен; аминокислотные остатки в молекуле связаны в цепи и, кроме того, образуют дополнительные поперечные связи. Так возникают шарообразные или нитевидные белковые молекулы (внизу справа).*

*Размеры атомов составляют ~0,1—0,5 нм. 1 нм = 0,001 мкм. — Рис. на след. странице.*

Важнейшие атомы, входящие в состав живых организмов



водород



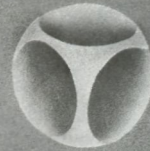
углерод



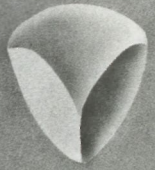
азот



кислород

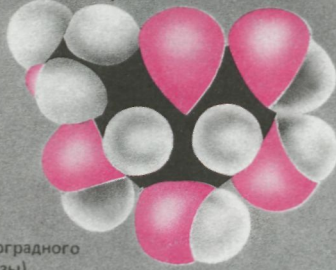


фосфор

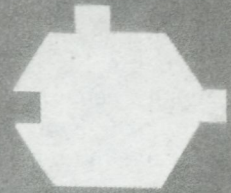


сера

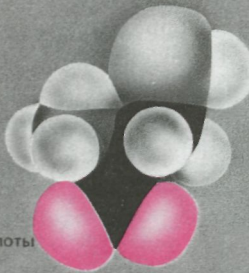
Атомы объединяются в молекулы



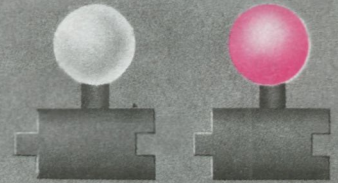
молекула виноградного сахара (глюкозы)



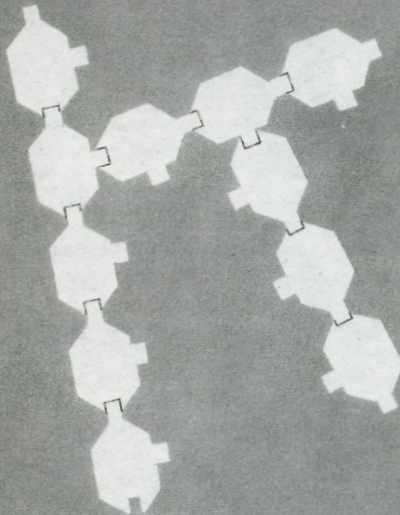
схематически



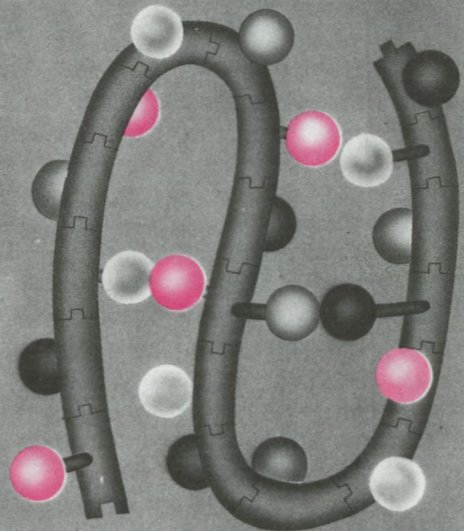
молекула аминокислоты (лизин)



схематически



цепь из молекул глюкозы (молекула крахмала)



цепь из молекул различных аминокислот (молекула белка)

оставаясь неизменными. Образование спирта и углекислого газа из сахара, завершаемое ферментами за несколько секунд, в случае их отсутствия растянулось бы примерно на 5000 лет!

При пивоварении ферментативная активность проявляется уже на первом этапе. Когда ячмень прорастает и становится солодом, то крахмал, содержащийся в зернах, превращается в сахар, что также дело «рук» ферментов, содержащихся в зерне,— амилазы. Уже само наименование фермента указывает на его функцию. Все ферменты имеют названия с окончанием «-аза». Крахмал — *лат.* amylum; отсюда и амилазы — ферменты, расщепляющие крахмал.

Как амилазы производят сахар из крахмала? Большинству читателей, по-видимому, наиболее известен картофельный или пшеничный крахмал, имеющий вид белого порошка. Это вещество не имеет сладкого вкуса, однако же его молекула состоит из тысяч строительных «блоков» — сахарных остатков,— связанных между собой в длинные цепочки. Растения, когда растут, прежде всего синтезируют в своих клетках из многих отдельных молекул сахара крахмал, который накапливается в зернах злаков или в клубнях картофеля. Когда же растению, например, при прорастании ячменя или клубней картофеля, требуется сахар для строительства новых клеток, то им необходимо вновь расщепить запасенные молекулы крахмала на «блоки», из которых они построены,— сахарные «кирпичики» или сахарные остатки. Только тогда для этой цели в клетках прорастающих зерен образуются амилазы.

Подобно большинству ферментов, амилазы представляют собой сферические молекулы белка диаметром около 0,01 мкм; на поверхности этого «шарика» имеется выемка, которой амилазы и накладываются на крахмальную цепь, расщепляя таким образом молекулу крахмала всего за несколько секунд на отдельные сахарные «блоки».

В слюне и кишечнике человека (да и других животных) также содержатся амилазы для расщепления крахмала: если очень долго и тщательно разжевывать хлеб, то можно явно ощутить сладкий вкус сахара, образующегося из крахмала, присутствующего в хлебе.

*Механизм действия ферментов. Амилазы — ферменты, расщепляющие крахмал. Вверху: молекула фермента состоит из нескольких сотен аминокислотных остатков, которые прочно связаны друг с другом, образуя сферическую частицу с небольшим «дефектом» — выемкой на поверхности. В центре: молекула амилазы накладывается этой выемкой на конец молекулы крахмала: «блоки» глюкозы, из которых состоит молекула крахмала, точно входят в амилазную выемку. Этот механизм можно сравнить с замком и подходящим к нему ключом. Амилаза последовательно отщепляет от молекулы крахмала по одному остатку глюкозы. Молекулы крахмала и амилазы перемещаются в противоположных направлениях, и при этом число молниеносно отщепляющихся молекул глюкозы очень быстро увеличивается. В результате молекула амилазы за несколько минут превращает одну молекулу крахмала в тысячи молекул глюкозы, то есть каждую секунду от цепочки крахмальной молекулы отделяется по несколько сот молекул глюкозы!*

*В то же время амилазы не могут расщеплять аминокислотные цепи белковых молекул, так как аминокислоты пространственно не подходят к выемке в молекуле амилазы (внизу справа) подобно тому, как ключ от хорошего замка не подходит ни к какому другому замку. А ферменты, расщепляющие белки (протеазы), с высокой скоростью отщепляют в своих выемках молекулы аминокислот от молекулы белка, однако же эти ферменты не способны расщеплять молекулу крахмала! Следовательно, каждый фермент с помощью выемки на поверхности своей молекулы «узнает» «свое» вещество (свой субстрат) и преобразует только его. Лишь таким образом клетка, располагая в общем-то крошечным внутренним объемом, может поддерживать необходимый «порядок» среди тысяч возможных превращений содержащихся в клетке веществ, то есть так клетка управляет своими процессами. — Рис. на след. странице.*

молекула амилазы

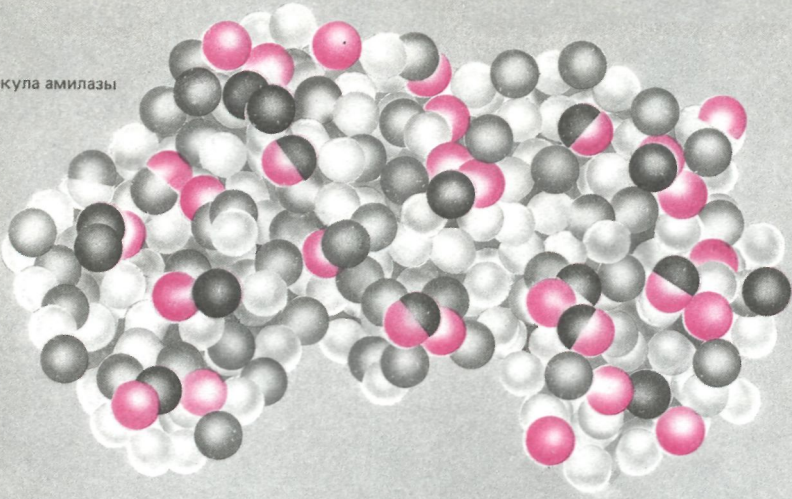
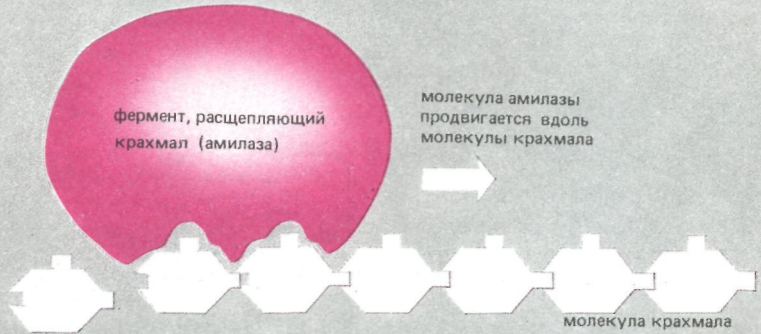
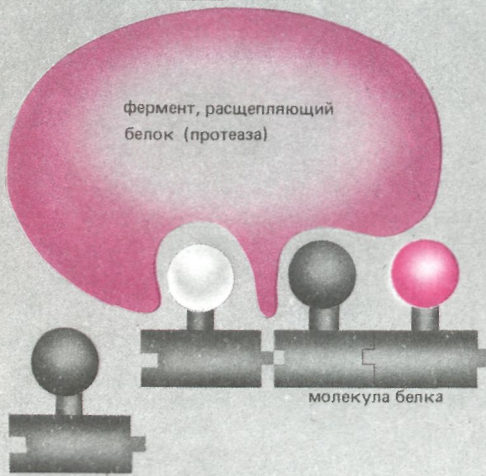


Схема механизма ферментативного расщепления

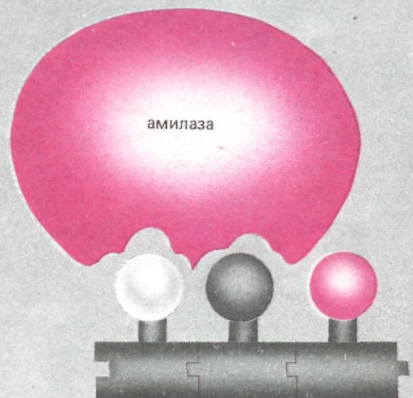
отщепление  
глюкозы



молекула амилазы  
продвигается вдоль  
молекулы крахмала



отщепленная молекула  
аминокислоты



фермент не может расщепить  
молекулу белка

А вот фермент, с которым мы уже знакомы,— это сычуг из телячьих желудков. Сычужный фермент расщепляет белок молока на частицы, которые склеиваются, образуя комки. Фермент всегда проявляет свою активность лишь к какому-либо одному веществу; так, сычужный фермент способен разлагать исключительно белок молока, а амилазы расщепляют только крахмал. Далее мы еще узнаем, как невероятно быстро и согласованно работают миллиарды молекул ферментов в микробных клетках, в объеме, меньшем, чем  $0,000000001 \text{ мм}^3$ !

## «Охота» за микробами

Итак, Пастер выяснил, что болезни вина и пива вызывают микробы. А не обуславливают ли какие-нибудь микроорганизмы также многие болезни человека, животных и растений?

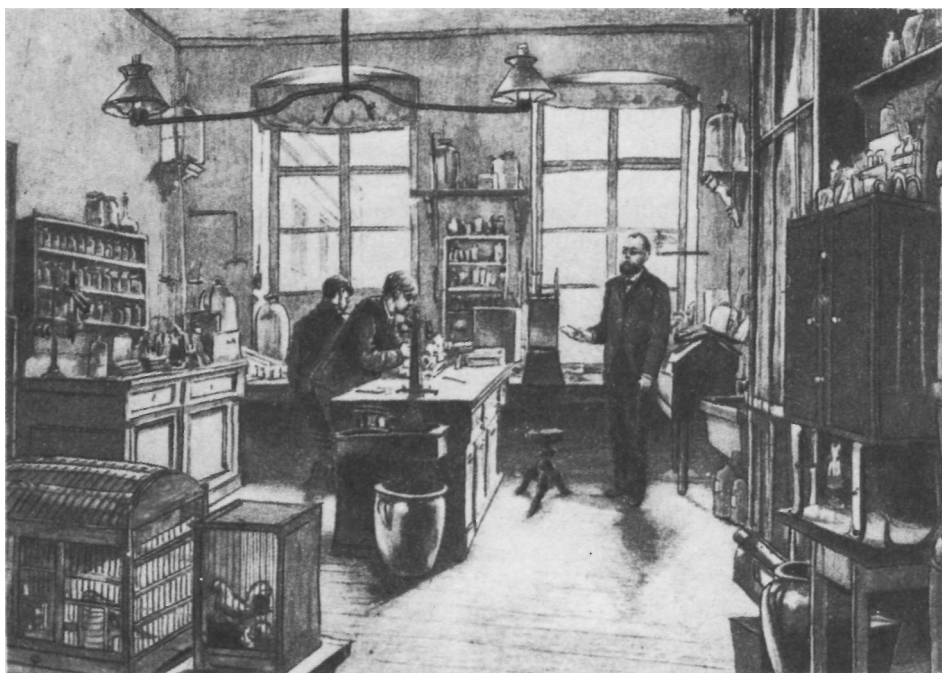
В 1865 г. Пастера попросили приехать в Южную Францию. Среди гусениц тутового шелкопряда вспыхнула ужасная эпидемия, и сосредоточенному там промышленному шелководству угрожало банкротство. Пастер и его сотрудники довольно быстро обнаружили крохотного паразита, который поражал гусениц. Но, кроме того, они обнаружили и другого возбудителя болезни — бактерий! На основании этого Пастер рекомендовал шелководам уничтожить всех больных гусениц и шелковичные деревья, листьями которых они питались, и продолжать разведение, используя яйца только здоровых самок тутового шелкопряда. Благодаря этим мерам шелковая промышленность Франции была спасена. Начиная с этого времени и возникло предположение о том, что болезни домашних животных и человека также вызывают микробы.

В Европе тогда свирепствовала сибирская язва — заразная болезнь, уносящая целые стада крупного рогатого скота и опасная также для людей. Еще в 1849 г. немецкий сельский врач Алоиз Поллендер (1800—1879) обнаружил с помощью микроскопа в крови животных, заболевших сибирской язвой, множество продолговатых телец. Позднее эти палочки находили и другие исследователи. К изучению сибирской язвы обратился также немецкий врач Роберт Кох (1843—1910). Он впрыскивал под кожу мышам и морским свинкам кровь, взятую от заболевших коров. Вскоре после этого подопытные животные тоже заболели сибирской язвой и погибли от нее. В их крови Кох снова нашел зловещие палочки. Это были бактерии! Очевидно, они и были возбудителями сибирской язвы.

После этого Кох стал искать метод, который позволил бы выращивать бактерии сибирской язвы вне организма животных. Оказалось, что в жидкости из бычьего глаза, нагретой до температуры тела животных, бактерии размножались весьма интенсивно. Ученый неустанно наблюдал под микроскопом за развитием бактерий: бактериальная клетка набухла, удлинялась и делилась на две, клетки соединялись в цепочки и одевались капсулой, образуя округлые покоящиеся формы, называемые спорами. Эти споры были нечувствительны к жаре и холоду, они могли годами сохраняться в подобном состоянии покоя и заражать пастбища, пока вновь не попадали в организм какого-нибудь животного, там они «прорастали» и начинали свою разрушительную работу.

Далеко не все бактерии способны просуществовать длительное время в форме спор: бактерии-спорообразователи называются «бациллами». Таким образом, принятое в обиходе для всех возбудителей заболеваний обозначение «бациллы» является неточным. Каждая бациллярная клетка образует только одну спору





*Роберт Кох в лаборатории.*

для сохранения своей жизнеспособности, тогда как плесневые и шляпочные грибы порождают тысячи спор с целью размножения.

После первых успехов Роберт Кох усовершенствовал свои методы «охоты» за бактериями. Для этого он использовал новые химические красители, благодаря которым бактерии, по большей части прозрачные как стекло, становились видимыми под микроскопом. Кроме того, он впервые применил твердые питательные среды. Например, при добавлении агар-агара (сложного полисахарида, добываемого из морских водорослей) к жидкому питательному раствору последний становился желеобразным. В такой среде бактерии уже не могли свободно передвигаться, они оставались на одном месте, здесь они делились и даже образовывали видимые невооруженным глазом бактериальные «колонии». От одной из этих колоний иглой отбирали пробу и этот вид бактерий выращивали на новой пастеризованной питательной среде в виде «чистой культуры», то есть теперь на этой питательной среде росли бактерии только одного вида. Ассистент Коха Юлиус Рихард Петри сконструировал для твердых питательных сред плоские стеклянные чашки с крышками, в которых было удобно культивировать микроорганизмы. С тех пор эти «чашки Петри» применяются микробиологами всего мира.

Первое достижение «охоты» за микробами датировано 24 марта 1882 г., когда Роберт Кох на заседании Физиологического общества в Берлине сообщил об открытии возбудителя туберкулеза. Позднее это открытие совершенно справедливо получило громкую славу как величайшее открытие века, ведь от туберкулеза, называемого также чахоткой или «белой чумой», умирали тысячи людей. Коху с помощью своих новых методов окраски туберкулезной бактерии удалось сделать ее видимой, вырастить в чистой культуре и при переносе на

здоровых животных снова вызвать заболевание туберкулезом. Таким образом, цепь его доказательств была непрерывной.

В 1884 г. Европе стало угрожать другое эпидемическое заболевание — холера. Кох со своими учениками обнаружил в Индии ее возбудителя — «бациллу в форме запятой» (вибриона). В последующие годы Кох установил, что бактерии чумы переносятся через крысиных блох, а возбудители африканской сонной болезни — мухой цеце. Тем самым были указаны пути локализации этих болезней: при помощи установок для очистки воды, улучшения гигиенических условий и борьбы с животными-переносчиками. Но, к сожалению, все эти меры не уничтожают самих микробов.

## От микробов защищают прививки

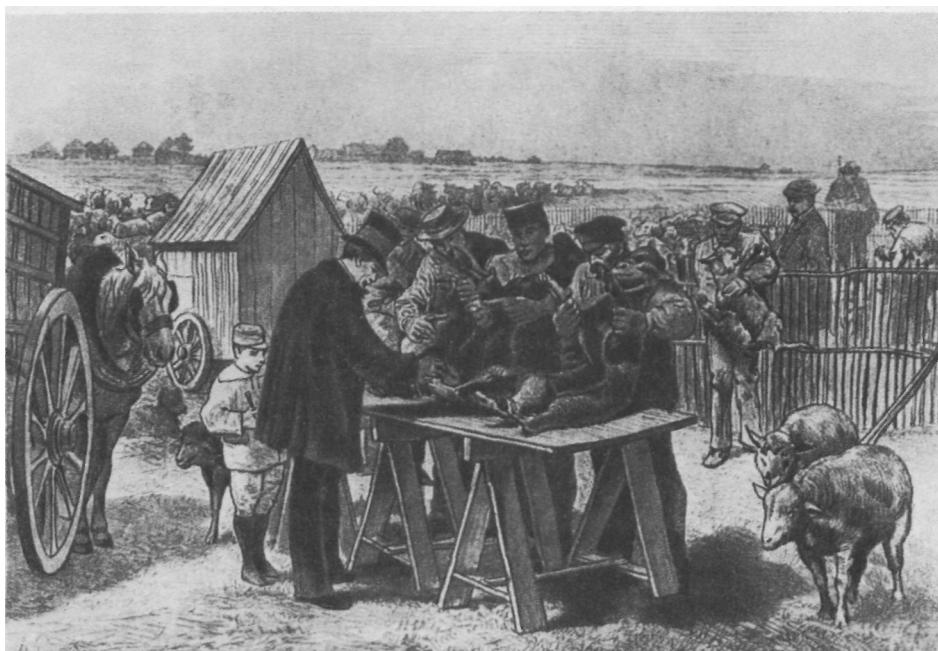
Луи Пастер также принял участие в охоте на возбудителя сибирской язвы. Он подтвердил открытие Коха относительно того, что бациллы сибирской язвы образуют устойчивые (резистентные) споры, которые могут на протяжении многих лет сохранять свою жизнеспособность в почве. Поэтому он рекомендовал сжигать трупы умерших животных, а остатки зарывать очень глубоко в землю.

Однако при изучении сибирской язвы Пастер сделал и другое важное наблюдение: если животные, заболевшие сибирской язвой, все-таки выжили, то в дальнейшем они становились невосприимчивыми к ней (иммунными), они никогда не заболели вторично. Кстати, относительно некоторых болезней человека, например скарлатины, ветряной оспы, дифтерии и натуральной оспы, врачам уже давно было известно, что те, кому удавалось перенести подобную болезнь, никогда не заболели ею повторно.

За полстолетия до Пастера и Коха исследованием натуральной оспы занялся английский врач Эдуард Дженнер (1749—1823). В это время в Англии почти каждый человек заболел оспой и почти каждый третий умирал от этой болезни. Выздоровевшие становились невосприимчивыми к оспе, однако были отмечены оспенными рубцами на коже. Дженнер случайно услышал, что крестьяне, перенесшие коровью оспу — широко распространенное в то время заболевание крупного рогатого скота, — становились иммунными и против настоящей опасной оспы. В 1796 г. Дженнер набрал из пустулы (гнояничка) коровьей оспы у одной доярки немного жидкости и ввел ее мальчику, который после того действительно заболел коровьей оспой. Спустя два месяца он заразил мальчика еще раз — на этот раз настоящей оспой! Если



*Эдуард Дженнер делает первую в истории медицины прививку против оспы (1798 г.).*

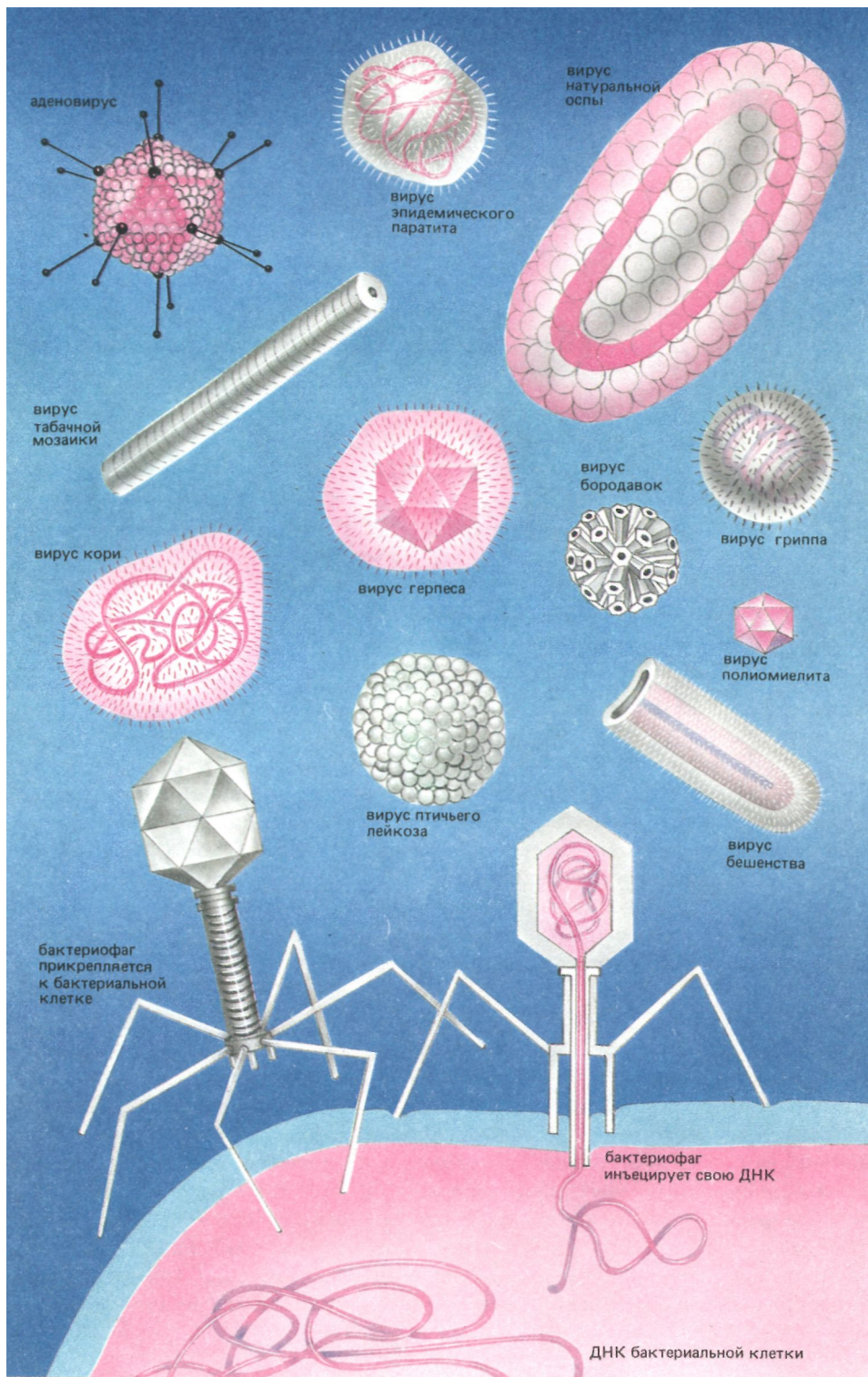


Луи Пастер проводит свой знаменитый публичный эксперимент по вакцинации овец против сибирской язвы (1881 г.).

бы мальчик умер, то Дженнера, безусловно, осудили бы как преступника. Однако мальчик не заболел, и Дженнер сделался героем дня! Успешными были также прививки, сделанные другим испытуемым лицам-добровольцам. Число умерших от оспы в Англии сразу же снизилось на две трети. Одна из самых страшных заразных болезней человечества перестала внушать ужас. Однако еще целых столетия оспа оставалась единственным заразным заболеванием, эффективный способ борьбы с которым был найден. Сегодня благодаря противооспенной вакцинации \* возбудитель оспы на Земле искоренен полностью; Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) не было зарегистрировано ни одного нового случая заболевания. Поэтому теперь уже отменены обязательные противооспенные прививки.

Луи Пастер сначала безуспешно искал какую-либо неопасно протекающую разновидность сибирской язвы, чтобы, как это сделал Дженнер, привить этих ослабленных возбудителей. Но его поиски оказались безуспешными. И тут ему на помощь пришел счастливый случай. Пастер выращивал сибиреязвенных бацилл в инкубаторе, в котором постоянно поддерживалась температура тела животного. Однажды терморегулятор дал сбой. Температура поднялась, бациллы перегрелись. Хотя они и не погибли, однако были повреждены и больше уже не вызывали заболевания. Но Пастер все же заразил этими ослабленными бациллами подопытных животных. И оказалось, что животные стали после этого иммунными против сибирской язвы! Когда Пастер окончательно убедился в своем успехе, то он решил в 1881 г. продемонстрировать в публичном эксперименте эффективность своих прививок. «Я привью

\* Вакцинация (от лат. *vaccina* — коровья) — введение (инъекция) ослабленных или убитых микроорганизмов с целью создания искусственного (приобретенного) иммунитета.— *Прим. перев.*



двадцати четырьмя овцам культуру ослабленных бацилл и такое же количество животных оставлю непривитыми, а затем в назначенное время впрысну всем животным наиболее опасную чистую культуру сибиреязвенных бацилл из тех, что у нас имеются», — разъяснял Пастер. Спустя два дня после того, как были впрыснуты смертельно опасные бациллы, на опытном поле собралась большая толпа людей. Ни одно из привитых животных не обнаруживало даже малейших признаков заражения сибирской язвой! А из 24 непривитых овец 22 уже лежали на поле недвижимыми. «Охотники» за микробами одержали еще одну победу.

В последующие годы такие же впечатляющие успехи были достигнуты Пастером в борьбе с бешенством и куриной чумой. Правда, Пастеру не удалось обнаружить с помощью микроскопа возбудителей этих двух заболеваний. Теперь-то известно, что по сравнению с размерами бактерий эти «злодеи» ничтожно малы, например как мышь по сравнению со слоном. И бешенство, и куриную чуму вызывают вирусы (*от лат. virus* — ядовитая жидкость), которые невидимы при исследовании в оптическом микроскопе. Лишь в нашем столетии стало возможным увидеть вирусы с помощью современных электронных микроскопов.

Вирусы построены так просто, что долгое время их вообще не считали живыми существами: они не могут осуществлять собственный обмен веществ, а для размножения им необходимы клетки других живых организмов. Поэтому вирусы невозможно вырастить, как это пытался сделать Пастер, на искусственных питательных средах, зато их удается успешно культивировать в ... насиженных куриных яйцах.

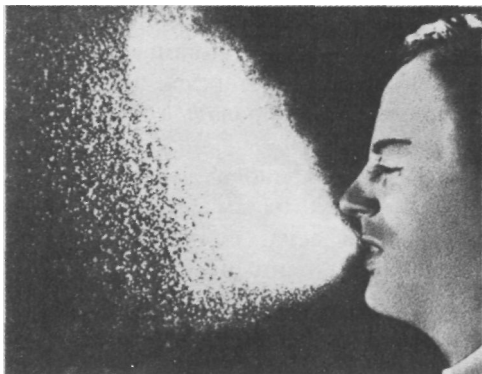
Кроме бешенства вирусы являются возбудителями многих других болезней. К болезням человека вирусной этиологии (то есть их вызывают вирусы) относятся, в частности, коровья оспа, натуральная оспа, полиомиелит, ветряная оспа, эпидемический паротит (свинка), грипп, вирусный гепатит (инфекционная желтуха) и тропическая желтая лихорадка. Ящур крупного рогатого скота, чуму животных и миксоматоз кроликов также вызывают вирусы. Вирусы растений причиняют большой ущерб полезным растениям, например картофелю. Существуют вирусы, которые своим «домом» выбирают насекомых, в результате последние гибнут. Благодаря этому, в частности, против таких вредителей, как монашенка и яблонная плодожорка, уже были успешно применены вирусы. Даже бактерии поражаются вирусами, так называемыми бактериофагами (*от греч. phage* — пожирающий). Бактериофаги внедряются в клетки бактерий и используют их содержимое в качестве строительного материала для своего собственного размножения, убивая при этом приютивший их микроорганизм. В одном из опытов мясо и колбаса были опрысканы неопасными для людей бактериофагами, и продукты, хранившиеся без охлаждения (вне холодильника), не портились в течение нескольких дней!

*Вирусы — возбудители болезней человека, животных, растений (вирус табачной мозаики), а также вирусы, поражающие бактериальную клетку (внизу). Нападающие вирусы — бактериофаги — прикрепляются к поверхности клетки и инъецируют (вводят) в нее свой генетический материал. В ответ бактериальная клетка в соответствии с полученной от бактериофага генетической информацией «слепо» продуцирует из своего строительного «материала» сотни новых вирусных частиц. В результате этого клетка разрушается и высвобождает новых «убийц» бактерий. — Рис. на пред. странице.*

## Как организм обороняется против болезней?

Сегодня для нас профилактические (предохранительные) прививки против заразных болезней, например кори, туберкулеза и полиомиелита, есть нечто само собой разумеющееся. Прежде эти инфекционные заболевания (инфекция — это то же, что и заражение) нередко имели летальный исход. Уже в первую неделю жизни после рождения ребенка ему делается прививка против туберкулеза, спустя два месяца — против полиомиелита, через три месяца — против коклюша, дифтерии и столбняка, через девять месяцев — против кори. Некоторые прививки делаются повторно с целью достижения иммунитета\*, сохраняющегося в течение всей жизни.

Когда в организм через органы дыхания или пищеварения или через поврежденную кожу проникают возбудители заболеваний, то они подвергаются атаке со стороны различных систем защиты. У человека это прежде всего «клетки-пожиратели»\*\*, находящиеся в лимфатических узлах и кровеносных сосудах, которые «заглатывают» и обезвреживают чужеродные для организма вещества и клетки, в том числе бактерии. Но наш организм вырабатывает и защитные вещества, так называемые антитела, которые связываются с микробами, способствуют их слипанию в комочки (агглютинация\*\*\*), вы-



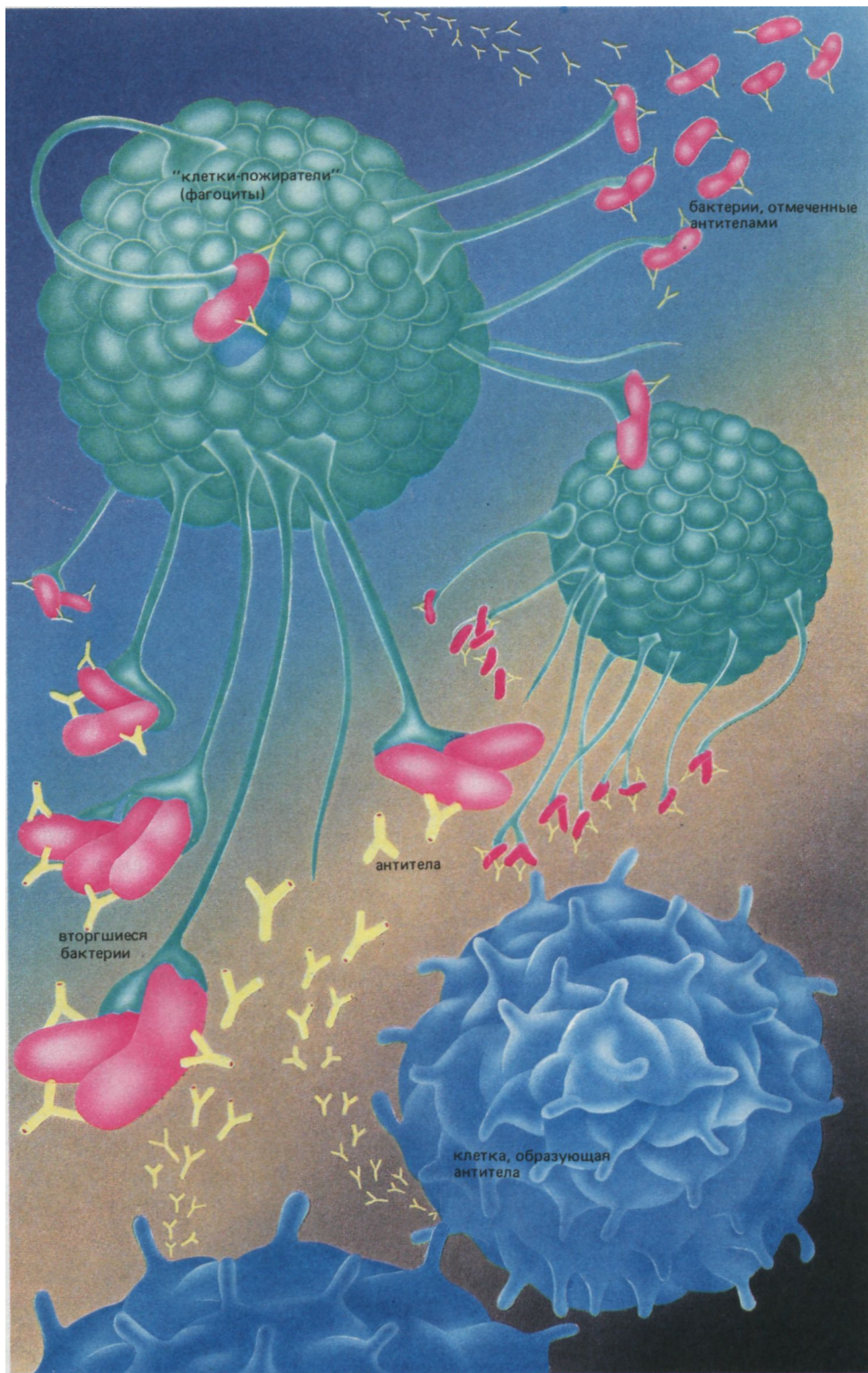
*При сильном чихании десятки тысяч мельчайших капелек разбрызгиваются и с высокой скоростью распространяются в помещении. Нередко крохотные капельки с содержащимися внутри них микробами остаются взвешенными в воздухе даже многие часы спустя. Именно таким образом — как, впрочем, и через рукопожатие — возбудители болезней могут очень быстро распространиться.*

\* Иммуни́тет (от лат. *immunitas* — освобождение, избавление от чего-либо) — невосприимчивость организма к инфекционным агентам и чужеродным веществам. Обеспечивается защитными свойствами кожи и слизистых оболочек, клетками иммунной системы (макро- и микрофаги, лимфоидные клетки), гуморальными факторами (антитела, комплемент), интерфероном и др. Естественный, или врожденный, иммунитет (например, человека к чуме собак) обусловлен наследственно закрепленными особенностями организма. Приобретенный активный иммунитет возникает после перенесенного заболевания или введения вакцин. Приобретенный пассивный иммунитет развивается при искусственном введении антител (например, противодифтерийной сыворотки) или при передаче антител ребенку с молоком матери. — *Прим. перев.*

\*\* Фагоциты. Явление фагоцитоза открыто в 1883 г. И. И. Мечниковым. — *Прим. перев.*

\*\*\* Явление агглютинации, широко используемое также в качестве диагностической реакции. — *Прим. перев.*

*Как организм защищается от возбудителей болезней (бактерий)? Прежде всего внедрившиеся микробы распознаются иммунными клетками как «чужие». Иммунные клетки подают сигналы клеткам, синтезирующим антитела. Образующиеся антитела прикрепляются на поверхности бактерий и тем самым метят их в качестве будущих мишеней для «клеток-пожирателей» — фагоцитов, которые в конце концов поглощают и уничтожают эти отмеченные бактериальные клетки. В действительности защитная система организма имеет гораздо более сложное строение, пока еще выясненное далеко не во всех деталях. — Рис. на след. странице.*



зывают их распад либо нейтрализуют выделяемые ими токсины. Кроме того, антитела облегчают работу «клеток-пожирателей», так как они отчетливо метят микробов. Против каждого проникающего в организм «врага» кровяные клетки человека вырабатывают особые антитела, то есть против бактерий туберкулеза образуются антитела совсем иные, чем, например, против вирусов оспы. Если клетки-пожиратели и антитела выигрывают «битву», то антитела еще некоторое время циркулируют в крови, а затем постепенно распадаются. Однако те клетки человека, которые вырабатывали антитела, а также потомство этих клеток годами, а иногда даже на протяжении всей жизни сохраняют «память» о своих врагах. И если только человек вновь поражается, скажем, бактериями туберкулеза, то клетки, продуцирующие антитела, тотчас же распознают своих врагов и прореагируют, не как в первый раз, постепенным образованием антител, а незамедлительной массовой продукцией антител против туберкулезных бактерий. Последние благодаря этому молниеносно уничтожаются. Это означает, что у человека появляется иммунитет против возбудителя туберкулеза.

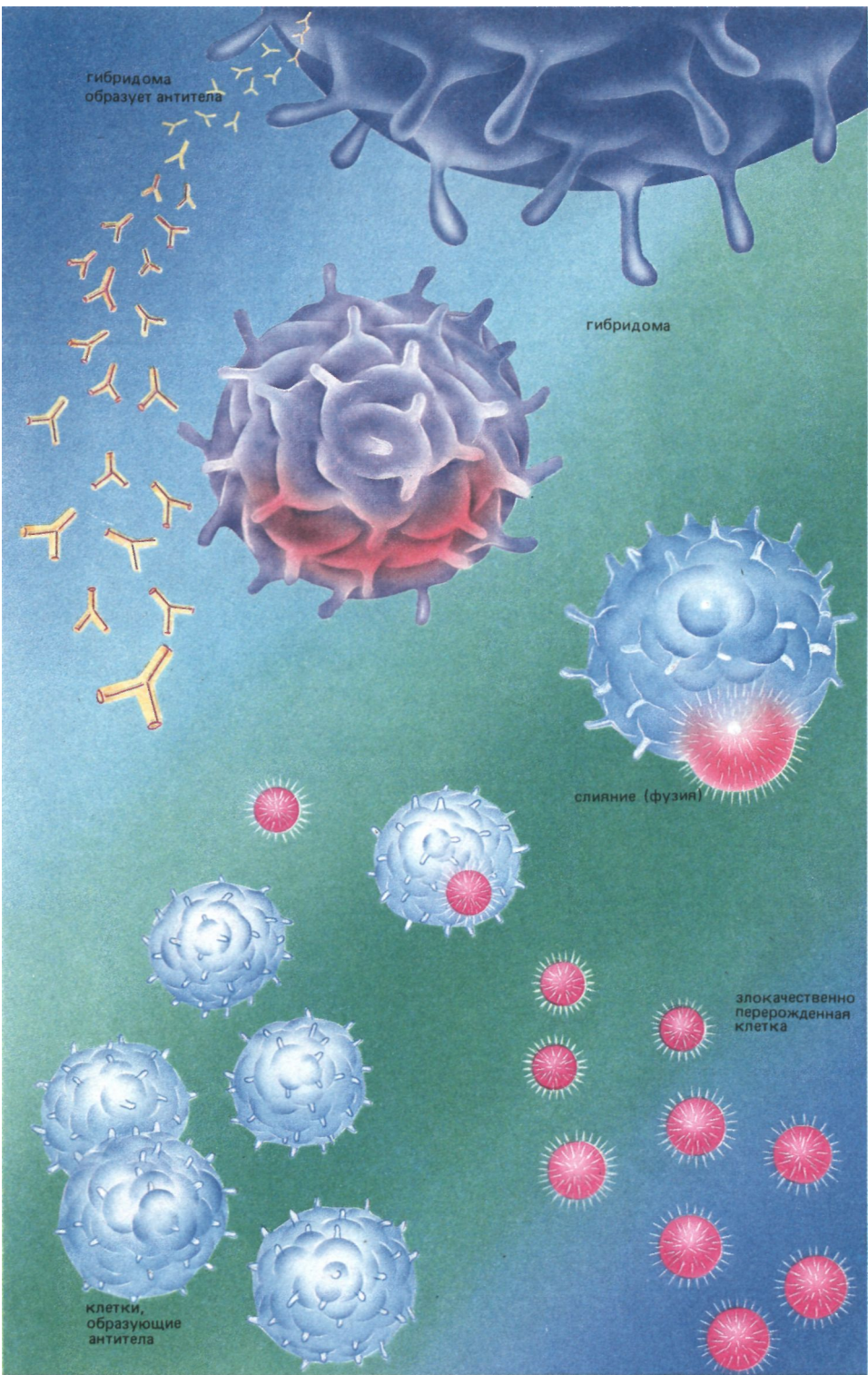
При активной иммунизации вводятся «безобидные враги», например ослабленные бактерии туберкулеза. Прививку проводят еще до того, как человек реально столкнется с возможностью заражения туберкулезом, а именно новорожденному на первой неделе жизни. Тем не менее организм реагирует так, как если бы ему и вправду приходилось отражать атаку опаснейших бактерий: он вырабатывает антитела против бактерий туберкулеза, и клетки, вырабатывающие антитела, сохраняют эту способность в своей «памяти». Впоследствии стоит только действительно появиться истинным опасным возбудителям болезни, как эти клетки тотчас же распознают их и защитят организм. Ведь благодаря прививке он стал теперь иммунным против туберкулеза. Однако профилактическая противотуберкулезная вакцинация защищает его только от туберкулеза, но не против других болезней!

После открытия бактерии туберкулеза Роберт Кох безуспешно пытался найти материал для противотуберкулезных прививок. Лишь десятилетия спустя французам Альберу Кальметту и Камилле Герен в долговременных экспериментах, длившихся с 1908 по 1921 г., удалось настолько «приручить» бактерии туберкулеза, что они потеряли опасность для человека. Начиная с двадцатых годов нашего столетия полученный таким образом материал для вакцинации против туберкулеза применяется почти в неизменном виде и в честь французских ученых именуется вакциной БЦЖ (от латинской аббревиатуры BCG — по начальным буквам Bacilla Calmette — Guerin).

В отличие от этого при пассивной иммунизации не побуждают к выработке антител, а вводят «готовые» чужие антитела с тем, чтобы помочь ослабленному организму. Эти антитела образуются против возбудителей болезней в организмах лошадей, овец или других животных, а затем извлекаются из крови этих животных. Пассивную иммунизацию проводят, к примеру, в том случае, когда имеет место загрязнение раны с подозрением на инфи-

*Антитела могут быть синтезированы и вне живых существ. Путем слияния (фузии) плохо растущих, но продуцирующих антитела клеток млекопитающих с быстро растущими злокачественно перерожденными клетками млекопитающих получают гибридные клетки (гибридомы), которые превосходно растут в питательных растворах и образуют большие количества однородных антител.* — Рис. на след. странице.





цирование возбудителями столбняка, и, следовательно, нет времени ждать, когда человеческий организм начнет сам вырабатывать антитела.

Всего лишь несколько лет тому назад был найден способ, позволяющий продуцировать антитела вне организма животного. Сначала была сделана попытка поддерживать в жизнеспособном состоянии в питательных растворах вне человеческого организма клетки, вырабатывающие антитела. Однако в скором времени эти чувствительные клетки погибали, деление у них протекало очень замедленно. И тут исследователи Цезарь Мильштейн и Георг Келер вдруг припомнили, что существуют клетки, легко и быстро размножающиеся не только в организме, но и в питательных растворах, а именно раковые клетки! Раковые клетки размножаются значительно быстрее, чем нормальные клетки, они прямо-таки буйно разрастаются. Было бы желательным передать это свойство, крайне опасное для организма, болеющего раком, клеткам, вырабатывающим антитела. Но как? И здесь был найден способ «слияния (фузии) клеток». Исследователи смешивали в пробирке раковые клетки и клетки, вырабатывающие антитела: осторожно, чтобы клетки не лопались, растворяли клеточные стенки, после чего оба вида клеток «сливались» (объединялись) друг с другом. В некоторых случаях две слившиеся клетки неожиданно образовывали новую, окружающую их общую клеточную стенку. Новообразованные комбинированные (гибридные) клетки проявляли удивительные свойства: они прекрасно размножались в питательном растворе — унаследованное качество раковой клетки — и при этом вырабатывали антитела определенного типа! По всей вероятности, в не таком уже далеком будущем этим методом удастся дешево и в большом количестве нарабатывать антитела вне живых организмов. В настоящее время подобные лечебные средства предоставляются в распоряжение медицины новой специальной отраслью — иммунологией.

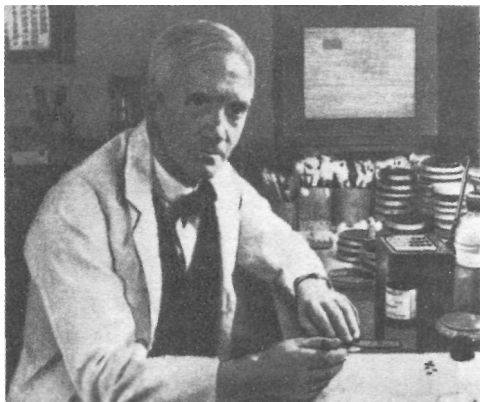
Наряду с разработкой эффективных методов иммунизации ученые, разумеется, стремились отыскать также медикаменты, с помощью которых можно было бы избирательно уничтожать возбудителей болезней, не повреждая при этом клеток пораженных ими животных. Однако первое лечебное средство такого рода было найдено лишь в 1928 г. Его действие было настолько необыкновенно, что сначала его превозносили прямо-таки как чудодейственное средство против микробов.

# Как культивируют микроорганизмы?

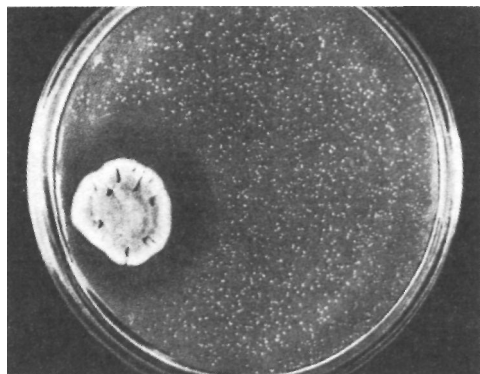
## Чудесный гриб Александра Флеминга

В один из осенних дней 1928 г. в маленькой лаборатории при госпитале Св. Марии в Лондоне микробиолог Александр Флеминг (1881 — 1955) исследовал различные культуры гноеродных бактерий. Казалось, что лаборатория просто набита чашками Петри, в которых на питательных средах с агаром росли бактерии; некоторые из чашек Флеминг засеял бактериями еще до летних каникул, и теперь во всех были отчетливо видны колонии бактерий. Но вот какая жалость! На некоторых чашках Петри поселились еще и плесневые грибы. «Стоит лишь на мгновение приподнять крышку какой-нибудь чашки, как туда сразу же влетают споры плесневых грибов», — раздраженно ворчал себе под нос раздосадованный Флеминг. В одной из чашек Петри выросла особенно «роскошная» колония плесневых грибов. Примечательным здесь было то, что грибную колонию окружала зона, свободная от бактерий. Что же произошло? Почему бактерии не заселяли эту зону, или, может быть, они погибли? Очевидно, плесневые грибы препятствуют распространению бактерий.

Флеминг осторожно отобрал пробу плесени из этой чашки и поместил ее на новую питательную среду, которая была предварительно стерилизована путем нагревания. Так была получена еще одна колония плесневых грибов. Потом он «высадил» вокруг этой плесени различные виды бактерий: цепочечные стрептококки, гроздеподобные стафилококки, дифтерийные и сибиреязвенные бациллы. И действительно — все они не размножились в непосредственной близости от гриба. Это было в высшей степени интересное открытие! Флеминг определил, что «его» гриб является одним из представителей кистевидной плесени рода пенициллиум; точнее это была зеленая кистевидная плесень *Penicillium notatum*.



Первооткрыватель пенициллина Александр Флеминг.



*Отчетливо видно, что рост бактериальных колоний на твердой питательной среде в чашке Петри подавлен вокруг колонии кистевидной плесени, поскольку последняя выделяет пенициллин; таким образом, в этой области возникла мертвая зона.*

Затем Флеминг стал выращивать этот грибок в объемистом сосуде с жидким питательным раствором. Вскоре зеленоватый мицелий покрыл, наподобие газона, поверхность питательного раствора, который спустя несколько дней окрасился в золотисто-желтый цвет. В новых опытах с бактериями было обнаружено, что отделенный от грибка питательный раствор точно так же подавляет размножение бактерий. Следовательно, кистевидная плесень, по всей вероятности, выделяла в окружающую среду какое-то «враждебное» бактериям вещество. Флеминг назвал это вещество в соответствии с его происхождением пенициллином.

Ученый и не подозревал, что сделал чрезвычайно важное открытие, поскольку в будущем пенициллин спасет жизнь миллионов людей. В последующих опытах было показано, что пенициллин причиняет вред только бактериям, но, например, не кроликам (на которых проводились испытания). Однако, несмотря на такие результаты, Флеминг не сделал даже попытки получить пенициллин в чистом виде и применить для борьбы с болезнетворными бактериями хотя бы в организме лабораторных животных. Между тем еще за 50 лет до Флеминга русские врачи Манассеин и Полотебнов применяли для лечения кожных болезней, вызываемых бактериями, кожуру апельсина, на которой росла кистевидная плесень; однако это осталось практически незамеченным современниками.

«Не стоит трудиться ради того, чтобы получить пенициллин», — так писал Флеминг еще в 1940 г. Но к этому времени на вещество, задерживающее рост бактерий, уже было обращено внимание. С началом второй мировой войны сразу же остро возникла огромная потребность в лечебных средствах для борьбы с бактериальными инфекциями при ранениях.

В Оксфордском университете под руководством англичан Хоуарда Флори (1898 — 1968) и Эрнста Бориса Чейна (1906) началась лихорадочная работа, увенчавшаяся получением пенициллина в виде желтого порошка. Пенициллин, очищенный от примесей питательного раствора, был испытан на мышках, предварительно зараженных болезнетворными бактериями, что неминуемо должно было привести к их гибели. Благодаря пенициллину за короткое время мыши выздоровели. Это была сенсация! Правительства Великобритании и США сразу стали активно субсидировать программы, направленные на получение пенициллина в достаточных количествах. Этим исследованиям придавалось важное военное значение, и они были строго засекречены.

В 1941 г. пенициллин был впервые опробован для лечения человека, стра-

дающего от тяжелейшей стафилококковой инфекции. Несмотря на наступившее вначале кратковременное улучшение, пациент умер. Количество пенициллина, имевшегося в распоряжении врачей — всего лишь три грамма — оказалось недостаточным для лечения. Флори и Чейну пришлось наработать довольно значительные количества пенициллина, прежде чем они смогли приступить к лечению первых больных.

Последовавшие вслед за тем случаи излечения от бактериальных инфекций граничили с чудом. Но производство пенициллина все еще оставалось слишком сложным и дорогим. Для того чтобы излечить только одного пациента, требовалось получить и переработать около 1000 л «грибного бульона»! В связи с этим надлежало решить три проблемы: найти вид кистевидной плесени с наиболее высокой продуктивностью пенициллина, научиться культивировать ее в огромных количествах и, наконец, разработать способ получения пенициллина из питательного раствора в чистом виде.

### **Биотехнологи в поисках гриба**

Мировая наука кинула все силы на исследование плесневых грибов. Надо было найти культуру, которая вырабатывала бы пенициллин в больших количествах, чем гриб Флеминга. С этой целью на питательных средах выращивались различные виды плесневых грибов и определялась их способность к пенициллинообразованию.

Флори нашел действенную поддержку в США (лаборатория в г. Пеории). Работа шла полным ходом, но вплоть до 1943 г. никак не удавалось найти более активный продуцент пенициллина. Одной молодой сотруднице лаборатории было вменено в обязанность регулярно ходить на овощной рынок и покупать все заплесневелые продукты, какие только она там найдет. Поэтому коллеги в шутку называли свою «добычицу» «плесневая Мария». Однажды «плесневая Мария» пришла в лабораторию с гнилой дыней, на которой рос плесневый гриб вида *Penicillium chrysogenum*, и этот гриб оказался великолепным продуцентом! Еще и сегодня большинство видов кистевидных плесеней, используемых для производства пенициллина, ведут свое происхождение от этой гнилой дыни из Пеории. Гриб стали культивировать и, подобно тому, как это происходит при разведении животных и растений, каждый раз для дальнейшего воспроизведения отбирались плесневые грибы с наибольшей продуктивностью. Таким образом, через ряд генераций были получены высокопродуктивные штаммы.

Некоторые плесневые грибы вырабатывают много, другие мало пенициллина, на этой питательной среде одни растут хорошо, а другие плохо. Разумеется, у микробов это вовсе не «леность» или «трудолюбие»; такое поведение имеет наследственную основу, то есть свойство «заложено» в данном организме. Каким образом возникают различия в наследственных свойствах? В природе постоянно происходят незначительные изменения, так называемые мутации (*от лат. mutare — изменяться*), в наследственном материале. Разумеется, мутации очень редки: из одного миллиона микробов, вероятно, лишь один-единственный в своем наследственном аппарате содержит измененный наследственный фактор (ген\*), то есть по всем своим другим свойствам этот

\* Ген — единица наследственного материала, ответственная за формирование какого-либо элементарного признака. Совокупность всех генов организма называется генотипом.— *Прим. перев.*

микроорганизм почти не отличается от остальных 999 999, различия имеются только малые. Между тем мутация, возможно, будет причиной того, что этот микроорганизм окажется лучше остальных приспособленным к данной среде, вследствие чего он будет быстрее размножаться и передаст новое свойство своим многочисленным потомкам; благодаря этому мутант «берет верх» над своими конкурентами по питанию. Если же новое свойство, напротив, невыгодно, то такой микроб размножается менее интенсивно, либо вообще отмирает. Подобные процессы в течение миллионов лет обусловили эволюцию всех живых существ на Земле. А теперь селекционеры микроорганизмов «разыгрывают» как бы «эволюцию в пробирке», предлагая микробам, например, совершенно новые жизненные условия и культивируя выборочно наиболее приспособившихся микробов. Этим они пытаются искусственно ускорить селекцию, то есть быстрее получить мутантов.

Уже в двадцатых годах нашего столетия ученые установили, что можно искусственно изменять наследственный материал. Так, воздействие рентгеновских лучей и определенных химических соединений приводит к увеличению числа мутаций в клетках. В этих случаях одна измененная клетка (мутант) приходится уже на 999 неизмененных.

Но вернемся к кистевидным плесням. «Дынный» гриб «плесневой Марии» не менее 20 раз облучался рентгеновскими лучами, что сочеталось также с обработкой различными химическими реактивами; из каждой порции, прошедшей ту или иную обработку, отбирали наилучших пенициллинообразователей. И вот получен теперешний высокопродуктивный штамм, он очень сильно отличается от своего родоначальника, который попал в руки ученых в начале сороковых годов; в среднем 50 г пенициллина на 1 л питательного раствора — такова его производительность. Это в 1000 раз больше «выработки» гриба, росшего на той первой гнилой дыне, и в 10 000 раз больше при сравнении с продукцией гриба Флеминга!

Микробы, сильно различающиеся по своим свойствам, но относящиеся к одному виду, принято называть штаммами. Высокопродуктивные штаммы по большей части так чувствительны и так «избалованы» биотехнологами, что они просто не в состоянии выжить в нормальных природных условиях (как и многие из наших домашних животных). И в этом нет ничего удивительного. Ведь самому-то плесневому грибу — суперпроизводителю его необыкновенная способность производить в 1000 раз большее количество пенициллина по сравнению с его диким предком не приносит никакой пользы, это не его решение в борьбе за жизнь. Он принуждается к «сверхпроизводительности» человеком, который изменяет его наследственную природу и условия существования. Поэтому только в искусственно созданных условиях, при «комфортных» температурах, с избытком предпочитаемого питания, оберегаемое от природных конкурентов и врагов, это крохотное «новейшее домашнее животное» еще способно существовать и служить производителем.

## **«Меню» микроорганизмов**

Кистевидные плесени, подобно многим микробам, растут лучше всего на сахарных растворах. Те микробы, которые, подобно растениям, содержат хлоро-

филл \*, например одноклеточные водоросли, могут даже сами с помощью солнечного света производить требуемый сахар из воды и углекислого газа.

Когда во время второй мировой войны было начато культивирование плесневых грибов, то вначале применяли питательные растворы, содержащие виноградный сахар (глюкозу) и минеральные соли. Грибы потребляли сахар и быстро росли. Но почему-то они вырабатывали очень немного пенициллина. Идеальный питательный раствор, который был дешев и в то же время оптимален для производства пенициллина был найден в пеорийской лаборатории, можно сказать, случайно. Это был жидкий кукурузный экстракт.

Лаборатория в Пеории была, собственно говоря, основана для того, чтобы найти способ утилизации этой жидкости, которая в огромных количествах образуется при производстве крахмала как побочный продукт. Кукурузный экстракт — это раствор крахмала, сахара и различных минеральных веществ. Выращиваемые на жидком кукурузном экстракте плесневые грибы стали сразу же поставлять в 25 раз больше пенициллина, чем на среде с виноградным сахаром!

Для каждого микробного вида необходимо изыскивать подходящую смесь питательных веществ подобно тому, как это было сделано для кистевидной плесени; кроме того, эта смесь должна быть недорогой. Вообще микробам можно «скармливать» любые сахаросодержащие отходы, например некоторые побочные продукты, получаемые при первичной переработке сельскохозяйственной продукции, или сточные воды целлюлозно-бумажных комбинатов. Известны микроорганизмы, утилизирующие даже твердые остатки от перегонки нефти и отходы пластмасс. Благодаря такой способности микроорганизмов можно использовать вещества, которые в противном случае попадают в сточные воды или другим путем отравляют окружающую среду.

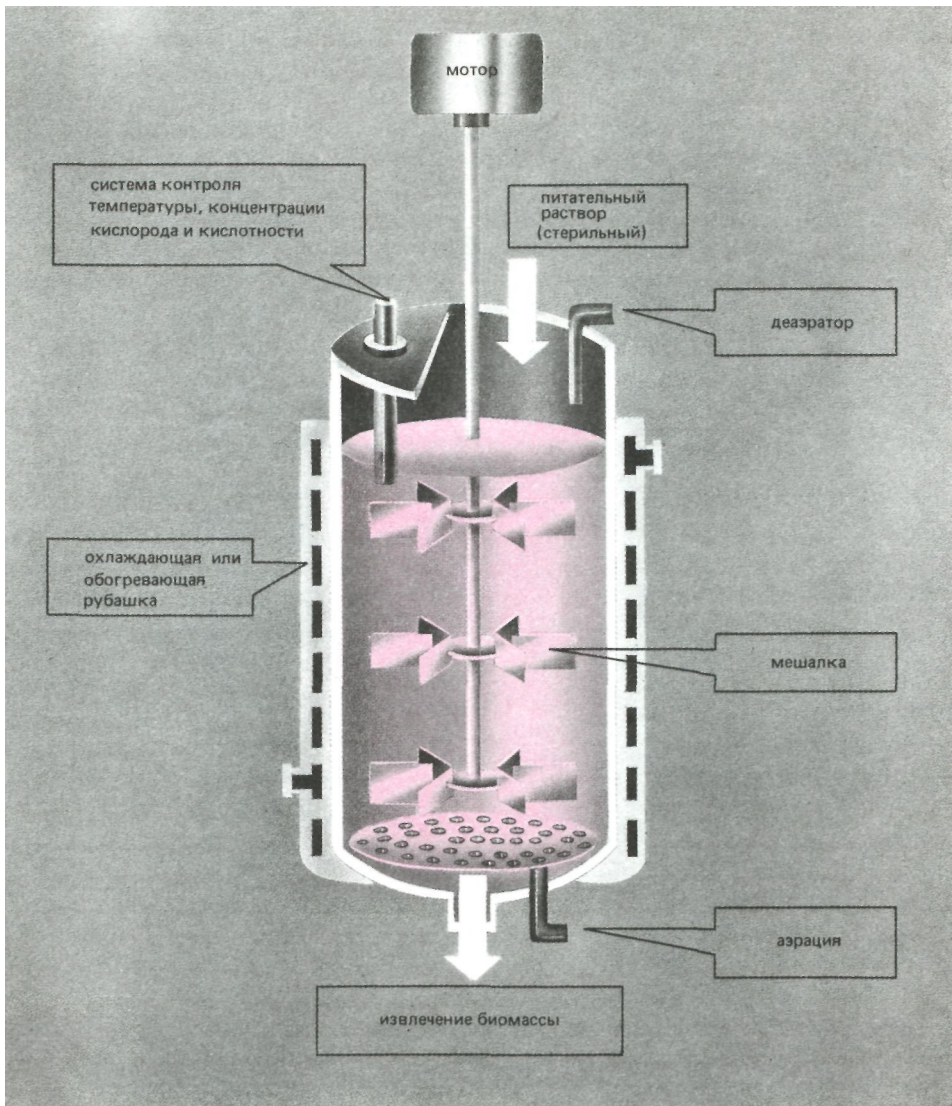
И вот путем тщательной селекционной работы получены «высокопродуктивные штаммы микробов» для производства определенного вещества, например пенициллина; подобрана также оптимальная питательная среда. Однако надо еще разработать технологическую схему крупномасштабного производства, то есть определить все условия и предложить подходящую аппаратуру.

## **Визит на «биофабрику»**

При посещении биотехнологического предприятия совершенно напрасно высматривать чадающие дымовые трубы или ожидать, что в нос ударит какой-то «химический» запах. Вместо этого посетитель вступит в светлые, выложенные кафельными плитками помещения. В них расположены вертикальные резервуары из нержавеющей стали размером с железнодорожную цистерну; вокруг путаница трубопроводов, множество клапанов и индикаторных приборов. Снаружи под открытым небом стоят другие стальные колоссы, по своей громадности не уступающие доменным печам. Все эти стальные резервуары служат «жилищем», «яслями» и «местом работы» микробов. Это — биореакторы.

Современные биореакторы появились в результате многолетней исследовательской работы. Решающим толчком для их проектирования послужила «охота» за пенициллином. Когда Флори и Чейн искали подходящую емкость

\* Хлорофилл — зеленый пигмент растений, участвует в превращении лучистой энергии Солнца в химическую энергию связей органических веществ.— *Прим. перев.*

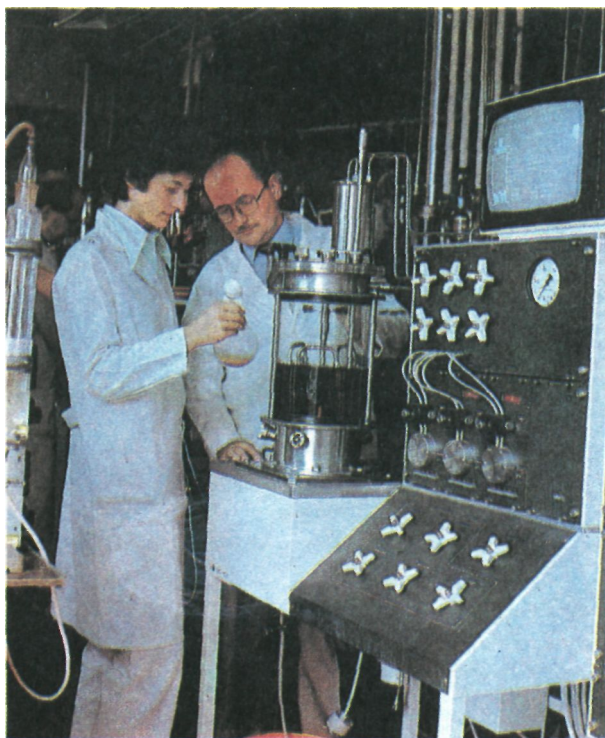


Конструкция биореактора. В биореакторе создаются оптимальные условия для жизнедеятельности и работы микробов, растительных или животных клеток. Температуру, концентрацию кислорода и кислотность среды контролируют и регулируют с помощью чувствительных элементов (датчиков). Профильтрованный стерильный воздух продувается через стерильный питательный раствор, который подвергается непрерывному перемешиванию. Все отверстия биореактора, через которые возможно проникновение чужеродных микробов, стерилизуются водяным паром. По окончании процесса весь питательный раствор с микробами и образовавшимися продуктами сливают, то есть реактор полностью опорожняют. После этого нужные продукты могут быть отделены и очищены.



для выращивания кистевидной плесени, то они начали с маленьких плоских стеклянных чашек, где грибы плавали на поверхности питательного раствора. Однако при такой «технологии» никогда не удалось бы получить пенициллин в количествах, достаточных для удовлетворения потребности в нем для лечебных целей. К тому же для плоских емкостей вообще надо довольно много места. «Вот если бы гриб мог расти не только на поверхности, но и развиваться во всем объеме питательного раствора, тогда его выращивание упростилось бы и габариты установок уменьшились», — так приблизительно сказали себе ученые. Однако дикий штамм *Penicillium notatum* — «гриб Флеминга» — был способен размножаться только на поверхности. К счастью, самый лучший из новых найденных штаммов вида *Penicillium chrysogenum* оказался и хорошим «водолазом»! Он рос и под водой в так называемой «глубинной» культуре, при условии достаточного обеспечения кислородом, то есть когда воздух, как в аквариуме, с помощью насоса прокачивался через жидкость. Нагнетаемый воздух и специальная мешалка обеспечивали также достаточное перемешивание вязкого питательного раствора, содержащего микроорганизмы.

В настоящее время в биореакторах выращивают плесневые грибы, дрожжи, бактерии, а также водоросли. В каждом отдельном случае конструкция биореактора рассчитана именно на получение данного продукта. Например, если надо получить большие количества дрожжей, используемых как кормовая добавка, то строят гигантские биореакторы размерами с многоэтажный дом и вместимостью до 1500 м<sup>3</sup>; цилиндрические резервуары для производства дрожжей из нефти достигают примерно 40 м в высоту и 20 м в диаметре. В пенициллиновом производстве, как правило, биореакторы имеют меньшие



В биотехнологической лаборатории Академии наук ГДР (г. Иена). Лабораторный реактор «засеивается» бактериями, которые могут продуцировать большие количества аминокислоты лизина. В лаборатории проверяют оптимальные условия с тем, чтобы в последующем можно было наладить производство лизина — ценной кормовой добавки — в промышленных биореакторах. Процесс в биореакторе прослеживают при помощи чувствительных элементов (датчиков), связанных с компьютером, компьютер контролирует и регулирует весь биопроцесс.



*Незаполненный биореактор для крупномасштабного производства пенициллина (вид изнутри). Отчетливо видны мешалка и охлаждающая рубашка.*

размеры; их вместимость не превышает  $100 \text{ м}^3$ . Для научно-исследовательской работы с микроорганизмами, проводимой в лаборатории, бывает достаточно мини-реакторов, вместимость которых составляет всего лишь несколько литров. И вот биотехнологический процесс в лаборатории разработан. Тут-то и необходимо взаимодействие ученых, инженеров и конструкторов; ведь биотехнологический процесс, показавший хорошие результаты в лаборатории, должен также успешно протекать в промышленных биореакторах, объем которых в тысячи раз больше.

Разумеется, для хорошего «самочувствия» микробов важное значение имеет температура питательного раствора. Для большинства микроорганизмов «комфортная» температура определяется интервалом  $20\text{--}50^\circ \text{C}$ ; таким образом, их наиболее высокая продуктивность попадает в диапазон от нормальной до «тропических» температур. Потому-то на биопредприятиях нет дымовых труб! В химической промышленности, напротив, при производстве различных веществ требуются поистине «адские» температуры в сотни градусов Цельсия. Для достижения таких температур приходится сжигать гигантские количества топлива (угля, нефти и природного газа). Это дорого, и, кроме того, топливные запасы во всем мире постепенно истощаются, убывают.

Чаще всего для биотехнологических процессов требуется даже охлаждение. Дело в том, что плесневые грибы и другие микроорганизмы при потреблении питательных веществ продуцируют тепло, избыток которого выделяется. Поэтому во избежание смертельного для микромира перегрева стенки биореакторов нужно охлаждать водой.

Для ускорения превращения веществ в химических производствах нередко требуются высокие давления, но для этого тоже необходим расход энергии! Микробам же для их деятельности достаточно нормального давления.

## Стоп! Не очень безобразничайте, нарушители спокойствия!

В течение всего срока работы биореактора много хлопот с невидимыми нарушителями запланированного хода микробиологического процесса. Что пользы от наилучшего штамма-продуцента пенициллина, если другие, нежелательные микроорганизмы поглотят в биореакторе питательные вещества, подавят рост «наших» грибов или даже выделяют в питательный раствор ядовитые вещества? Во избежание этого питательная среда, а также нагнетаемый воздух должны быть подвергнуты кратковременному прогреванию, чтобы освободиться от микроорганизмов (этот процесс называется стерилизацией, *от лат. sterilis* — бесплодный). Для стерилизации биореакторов используется водяной пар, который пропускают через биореакторы непосредственно перед засевом в них микроорганизмов.

Высокие температуры с этой целью используются и в домашнем хозяйстве, и в пищевой промышленности. Чтобы убить «зародышей», то есть вредных микробов, в молоке, мы полагаем достаточным простого кипячения или пастеризации. И при обработке фруктов или при изготовлении консервов бактерий и большую часть грибных спор тоже убивают с помощью нагревания. Поскольку при этом все сосуды герметически закрываются (закупориваются), туда не могут проникнуть ни новые микробы, ни кислород, необходимый для развития большинства микроорганизмов. Вот если в консервы проникнет воздух, они будут испорчены. Например, в стеклянных банках с компотами, которые были недостаточно плотно закрыты, можно увидеть плесень.

Впрочем, консервы «изобрел» без всякого знания о существовании микробов еще за 50 лет до открытий Пастера французский повар Никола Аппер (1752 — 1841). В 1795 г. Наполеон назначил награду за изобретение способа длительного предохранения от порчи продуктов питания, необходимых для снабжения его армии во время походов. Над этой проблемой Аппер проработал 14 лет. Он нагревал пищевые продукты и герметически закупоривал сосуды пробками. После этого его консервы могли храниться месяцами. За свое изобретение Аппер в 1809 г. получил награду в 12 000 франков; он опубликовал описание своей методики и стал основоположником современной консервной промышленности.

Однако, для того чтобы замедлить нежелательное размножение микроорганизмов, можно наряду с сильным нагреванием использовать также охлаждение. Поскольку для развития большинства микробов требуется тепло, то пищевые продукты сохраняют в холодильниках или замораживают в низкотемпературных морозильниках. При этом имеет место лишь временное подавление развития микробов, но не их гибель. Многие микроорганизмы без всякого вреда для себя выдерживают даже температуры жидкого водорода, то есть вплоть до  $-250^{\circ}\text{C}$ . Размороженные пищевые продукты должны быть немедленно употреблены в пищу, иначе они послужат идеальной питательной средой для «пробужденных из ледяного оцепенения» микробов.

Микробам для жизнедеятельности постоянно требуется вода, поэтому путем высушивания можно воспрепятствовать их развитию (например, это реализуется при заготовке чернослива и сушеной рыбы). При закладке в рассол (например, при солении сельди) или в крепкие сахарные растворы (сиропы) у микробных клеток также отнимается вода, они «сморщиваются»,

высыхают и прекращают развитие. Наконец, человек нашел вещества, подавляющие развитие микроорганизмов и вошедшие в состав дезинфицирующих средств.

Когда же, несмотря на все заботы о стерильности и чистоте, в биореакторе «берут верх» нежелательные поселенцы, то волей-неволей приходится реактор полностью опорожнять, а затем подвергать очистке и стерилизации все его части. Процесс производства пенициллина длится не менее двух недель, и если его приходится прерывать до получения результатов, то это означает значительный финансовый ущерб. Вот почему стерильность — это основное и важнейшее требование биотехнологического процесса!

Ну, а если процесс завершился успешно? Тогда можно «собрать урожай». Например, в биореакторе получают пенициллин. Вязкую массу, содержащую плесневые грибы, остатки питательных веществ и пенициллин, выливают из реактора. Пенициллин выделяется грибами в питательный раствор, поэтому его получение очень просто: микробные клетки отфильтровывают, после этого растворенный пенициллин образует в прозрачном питательном растворе твердые кристаллы, которые оседают на дно резервуара и легко отделяются. Однако существуют и такие продукты, которые не выделяются микробами в питательный раствор. Тогда приходится разрушать микробные клетки и с большим трудом отделять нужные продукты от остального клеточного содержимого. Разумеется, в связи с этим получение таких веществ значительно удорожается.

### **«Состязание» с микробами**

Из рассказа о пенициллине становится довольно понятным, какую работу должны проделать специалисты-биотехнологи, чтобы осуществилась вся «цепочка» от научного открытия до биотехнологического продукта. Получение пенициллина стало очень важным этапом в становлении современной биопромышленности. В 1945 г. главные участники создания пенициллина Флеминг, Флори и Чейн получили за свою работу Нобелевскую премию.

В 1945 г. производство пенициллина достигло уже полтонны. Тем не менее оставалось неясным, почему, собственно, пенициллин оказывает смертоносное воздействие на определенных микробов. В настоящее время полагают, что пенициллин «по ошибке» поглощается вместе с питательными веществами растущими бактериями. После каждого деления бактериальные клетки должны строить новые клеточные стенки. Однако пенициллин мешает «построению стенок». В результате нарушающего действия пенициллина в клеточных стенках образуются «негерметичные участки», что является катастрофой для бактерий: дефектные стенки не в состоянии выдержать внутреннее давление клеток, они лопаются. Таким образом, пенициллин подавляет только стадию размножения, но не убивает взрослых бактерий! Именно поэтому в случае заболевания недостаточно применять пенициллин только один раз. Пенициллин поражает бактерию лишь в тот момент, когда она делится. Поэтому для надежности необходимо давать пенициллин в течение нескольких дней. Очень опасно, вопреки предписанию врача, самовольно прерывать лечение пенициллином, как только самочувствие несколько улучшится! В этом случае выжившие бактерии быстренько «поправляются», размножаются и пациент заболевает повторно\*.

\* Наблюдается так называемый рецидив болезни после ремиссии (улучшения состояния), которая может протекать теперь уже в более тяжелой форме, так как организм больного ослаблен и по другим причинам, о которых говорится далее.— *Прим. перев.*

Но и бактерии «обороняются» от пенициллина. Они вырабатывают в своих клетках особые ферменты, которые инактивируют проникающий в них пенициллин. Эти ферменты названы своим первооткрывателем Эрнестом Борисом Чейном пенициллиназами. Содержащие эти ферменты бактерии невосприимчивы (резистентны) к действию пенициллина. Для подавления бактерий, способных образовывать пенициллиназы, требуется применять более высокие дозы пенициллина. Тогда пенициллиназы «не справляются» с достаточно быстрым «раскальванием» смертоносного пенициллина. Но это всего лишь вопрос времени, пока новые бактериальные штаммы не приспособятся к повышенным количествам пенициллина и не начнут вырабатывать еще более активные пенициллиназы для своей защиты.

И все-таки микробов удалось «перехитрить». Пенициллин, выработанный плесневыми грибами, незначительно видоизменяют при помощи специальных ферментов, так что хотя он по-прежнему подавляет бактерии, однако уже не «распознается» их пенициллиназами и поэтому не разрушается ими. Таким образом, идет постоянное «состязание» с микробами, причем для эффективной борьбы человек должен быть всегда «на корпус» впереди. Одновременно происходит интенсивный поиск новых средств против возбудителей болезней.

Когда пенициллин начал свое победное шествие, то поначалу думали, что найдено средство против всех бактерий на свете. Но вскоре выяснилось, что некоторые бактерии имеют клеточные стенки, построенные совсем иначе. Для них пенициллин ничего не значит! К сожалению, к таким бактериям относится и возбудитель туберкулеза — микобактерия. Однако уже в 1941 г. и эта «брешь» была закрыта американским микробиологом Зельманом Ваксманом (1883—1973). Он выделил из почвы микроорганизмы стрептомицеты. Кстати, именно они обуславливают запах, который исходит от земли. Эти стрептомицеты продуцируют биологически активное вещество, которое Ваксман назвал стрептомицином. Кроме того, он же предложил называть антибиотиками все вещества, образуемые микроорганизмами и способные подавить, повредить или убить других микробов (*antibioticum* — против жизни). Стрептомицин является антибиотиком, чрезвычайно активным против возбудителя туберкулеза. За свою работу Ваксман получил в 1952 г. Нобелевскую премию.

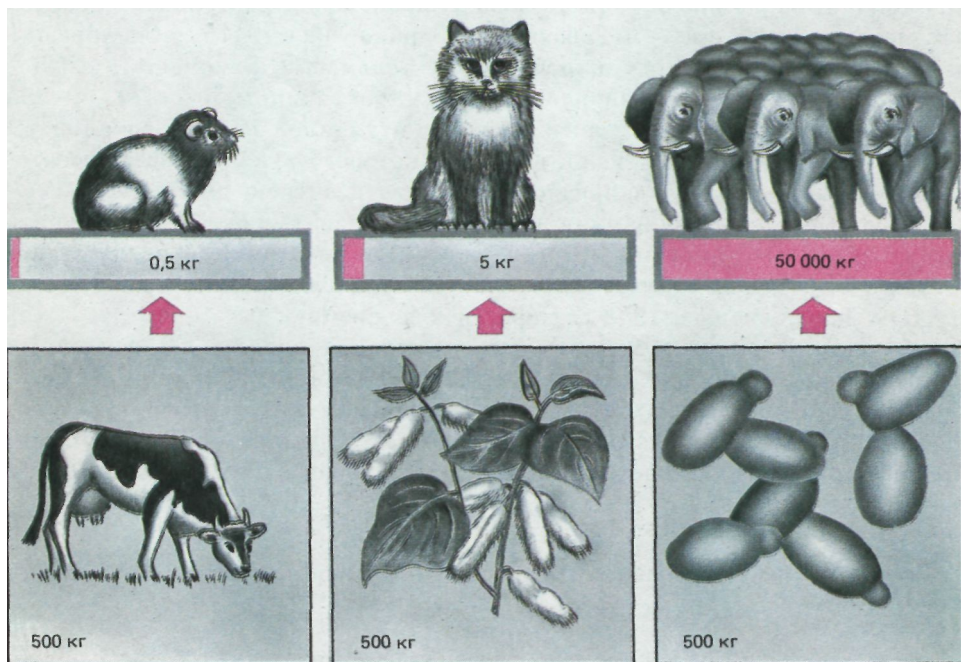
Со времени открытия Флеминга было выявлено около 5000 различных антибиотиков, но в медицине применяется лишь 100 из них. Итак, на дешевых питательных смесях «трудятся» микроорганизмы, в результате образуются антибиотики; мировое производство этих веществ оценивается стоимостью 4 миллиарда долларов. Таковы первые многообещающие «результаты приручения» микробов человеком.

## **Удивительное превращение одной коровы в десять слонов (?)**

Согласно одной древней индийской легенде, могущественный брахманский властитель Шерам обещал своему визирю Зессе ибн Дахеру, изобретателю игры в шахматы, исполнить любое его желание. Мудрец попросил пшеницы, притом столько, сколько получится, если на первую из 64 клеток шахматной доски положить одно пшеничное зерно, на вторую — два, на третью — четыре, на четвертую — восемь, т. е. на каждую последующую клетку надо было положить удвоенное число зерен. Царь был в высшей степени удивлен этой,

казавшейся ему смехотворной, просьбой и приказал принести мешок пшеницы. Однако его лицо все больше вытягивалось по мере того, как содержимое мешка постепенно исчезало, а незаполненных клеток на доске оставалось еще очень много. Наконец расчет показал, что для заполнения одной только 64-й клетки потребовалось бы 18,5 триллионов зерен! Таким количеством можно было бы засыпать всю Землю слоем в 1 см! Для этого не хватило бы даже всего нынешнего урожая зерновых.

Такие же несметные количества получаются, если посчитать, сколько микробов может произойти из одной-единственной клетки. Бактерии — это рекордсмены клеточного деления: в зависимости от условий и бактериального вида требуется от считанных минут до нескольких часов на то, чтобы клетка бактерии произвела перетяжку посередине и разделилась. Если принять во внимание, что одна бактериальная клетка делится каждые 20 мин (в среднем), то, стало быть, через 20 мин образуются две «дочерних» бактерии, спустя 40 мин — четыре «внучки», через 60 мин — восемь «правнучек», через 80 мин — 16 «праправнучек» и т. д. Число бактерий увеличивается лавинообразно. Спустя всего лишь 10 ч 40 мин из одной бактериальной клетки возникло бы свыше 4 миллиардов потомков, т. е. столько, сколько людей живет в данное время на Земле. Через 44 ч, то есть через неполных двое суток, беспрепятственного размножения одна бактерия, несмотря на ее массу, составляющую всего лишь 0,000 000 000 001 г, сумела бы образовать такое



Сравнение способности образовывать новый белок животными (корова), растениями (соя) и микробами (дрожжи).

Каждый из этих организмов на 500 кг своей массы за 1 сут производит следующие количества новообразованного белка: корова — 0,5 кг, то есть примерно это масса хомяка; соя — 5 кг, то есть масса кошки; дрожжи — 50 000 кг, то есть масса десяти взрослых слонов. Если бы корова обладала производительностью дрожжей, то ее привес за единственные сутки, по всей вероятности, был равен массе десяти слонов.

потомство, масса которого соответствовала массе нашей планеты (около 6 000 000 000 000 000 000 тонн)!

К счастью, дело не доходит до того, чтобы наша Земля полностью «заросла» бактериями! Для того чтобы микробы могли быстро размножаться, им необходимо достаточное количество пищи и благоприятные условия существования, подобные тем, какие искусственно создаются в биореакторе. В природе же питательные вещества имеются в наличии лишь в ограниченном количестве, да и то не всегда. Кроме того, огромные количества микробов гибнут от воздействия ультрафиолетовых лучей и солнечного света. Недаром врачи уверяют, что для того, чтобы остаться здоровым, необходимо как можно чаще бывать на свежем воздухе под лучами солнца. Местности с высокой ультрафиолетовой радиацией (обычно берег моря, поросший соснами) характеризуются очень низким содержанием микроорганизмов в воздухе. В больницах и научно-исследовательских лабораториях помещения нередко стерилизуют путем облучения ультрафиолетовым светом.

Итак, микробы невероятно продуктивны. В то время как одна корова с живой массой в 500 кг образует за сутки около 0,5 кг белка, а 500 кг растений сои продуцируют за тот же срок 5 кг белка, равная масса дрожжей (то есть тоже 500 кг) способна выработать в биореакторе за сутки 50 т белка, что в 100 раз превышает их собственную массу и примерно равно массе 10 взрослых слонов! Вообразите, что корова в течение одних суток вырастет в гиганта, равного по массе 10 слонам! А ведь именно так растет микробная масса, беря начало с крошечной невидимой глазом одной-единственной клетки! Таким образом, при определенных условиях микробная клетка способна за равное время продуцировать в 100 000 раз больше белка, чем животная клетка. При этом она потребляет дешевые вещества, например крахмальные растворы или даже сточные воды. Корове же требуются хорошие и, следовательно, дорогие корма.

Поскольку микробов отличает чрезвычайная приспособляемость, их можно быстро и легко селекционировать. Если над тем, чтобы вывести новую породу животных или новый сорт хлебного злака, нередко приходилось биться десятилетиями или даже столетиями (за 150 лет самой напряженной селекционной работы содержание сахара в сахарной свекле было повышено всего лишь в 3 раза), то у кистевидной плесени всего лишь за 30 лет удалось в 10 000 раз повысить продуктивность выработки пенициллина!

Однако традиционные методы селекции оставлены далеко позади такими современными методами, как генная инженерия. Сегодня методами генной инженерии микроорганизмы можно побудить даже к тому, чтобы они, согласно поставленным требованиям, продуцировали совершенно необычные для них вещества растений, животных или человека. Наследственный материал микробов можно направленно изменять посредством «манипулирования» с генами. Так в лабораториях биотехнологов создаются новые «живые существа по индивидуальному заказу».

# Конструирование микроорганизмов

## Знакомство с кишечной палочкой

Из всех живых существ, пожалуй, лучше всего изучена кишечная палочка (колибактерия, *Escherichia coli*). Эти бактерии, открытые венским врачом Теодором Эшерихом (1857 — 1911), в огромных количествах населяют органы пищеварения животных и человека и даже снабжают своих «хозяев» витаминами, которые они могут образовывать из Сахаров.

Эти невидимые «жильцы» кишечника стали знамениты благодаря своему штамму К 12, изолированному в 1922 г. Чтобы отличить микробные штаммы один от другого, их нумеруют. Штамм К 12 очень удобен для экспериментов, так как полностью утратил жизнеспособность в кишечнике человека и животных. Такие микробы характеризуются как «искаленные лабораторные бактерии», так как теперь они хорошо себя чувствуют только в определенном питательном растворе, но не в своей исходной естественной среде. Тем самым сводится к минимуму опасность случайного заражения и последующего заболевания исследователей во время эксперимента.

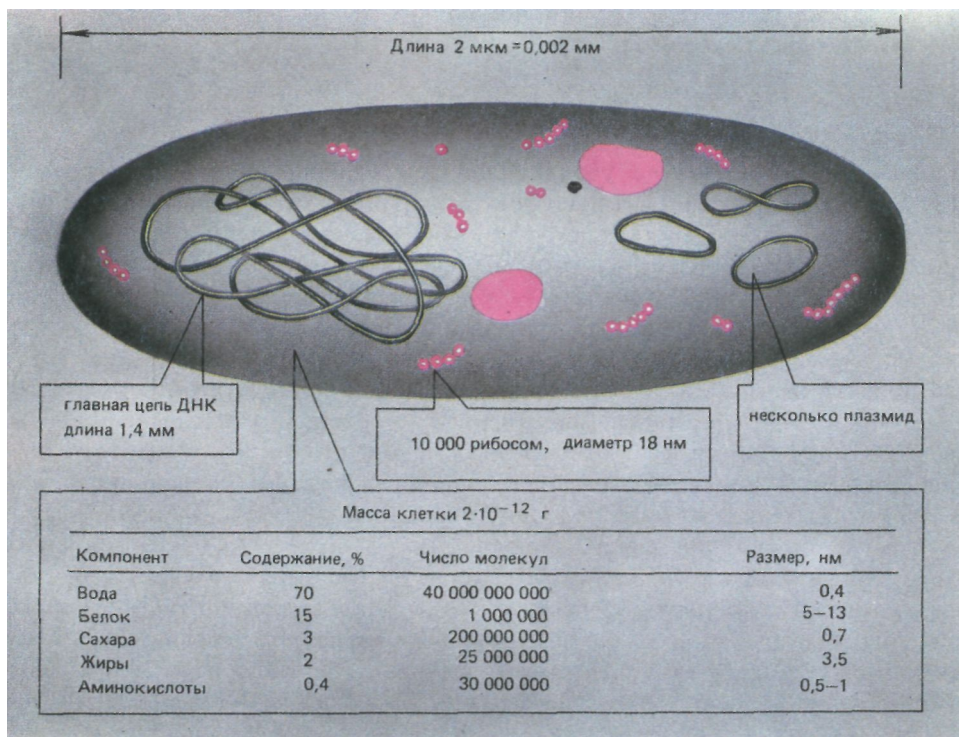
Клетка *Escherichia coli* имеет около 1 мкм (1 мкм = 0,001 мм) в ширину и примерно вдвое большую длину. Следовательно, эти короткие палочки нельзя рассмотреть в подробностях невооруженным глазом, это можно сделать только с помощью электронного микроскопа. Что же мы увидим?

Стенки колибактерии имеют общую толщину около 0,02 мкм. Они образованы оболочкой, состоящей из деревянистых и жироподобных веществ. В стенках расположены маленькие запирающиеся поры, окруженные кольцом из белковых тел, и большое количество канальцев. Через эти отверстия пищевые вещества проходят во внутренний объем клетки. Снаружи клетка покрыта слизистой массой, из которой выступают длинные жгутики \*, которые непрерывно вращаются и продвигают бактерию.

Клетка заполнена водой, в которой «плавают» (растворены) миллиарды молекул, образуя густой вязкий «суп» — цитоплазму (клеточную плазму). В цитоплазме находится 200 миллионов молекул сахара. В накопительных отсеках клетки длинные цепи соединенных между собой сахаров отлагаются в форме крахмала. К этому следует добавить 30 миллионов молекул аминокислот и 25 миллионов тонкодиспергированных молекул жиров. Из трех главных строительных «блоков» — сахара, аминокислоты и жира — построены почти все вещества клетки. Всего в одной клетке содержится примерно 1 миллион молекул белка. Белки состоят из длинных цепей аминокислот. В одной клетке при-

\* Жгутики — нитевидные подвижные выросты клетки.— *Прим. перев.*





Клетка кишечной палочки (колибактерия, *Escherichia coli*) и некоторые количественные данные о ней.  $1 \text{ нм} = 0,001 \text{ мкм} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ мм}$ .

существует приблизительно 5000 различных типов белковых молекул: некоторые белки используются клеткой как строительный материал, у иных белковых молекул другие функции. Так фибриллярные (нитевидные) белки способны сокращаться; это «мышечные белки», которые приводят в движение жгутики кишечных палочек. Транспортные белки осуществляют перенос вещества внутрь клетки или из клетки в окружающую среду (продукты жизнедеятельности клетки).

Однако многие молекулы белков имеют на своей поверхности углубления, или расщелины. Это и есть белки-ферменты. Они обуславливают все превращения веществ в клетке: расщепление пищи, приобретение энергии и построение новых веществ.

Подобно рабочим на фабрике, ферменты организованы в специальные подразделения. Ферменты либо свободно плавают в цитоплазме, либо прочно закреплены во впячиваниях клеточной стенки или на других частях клетки. При этом ферменты, как на конвейере, передают друг другу продукты своих реакций.

В кажущемся хаосе клетки существует порядок, потому что каждый фермент специализирован. Каждый фермент настроен на продукт реакции своего предшественника, он может воздействовать только на этот продукт и благодаря этому цепочка превращений в клетке продолжается дальше.

Следует только представить себе, что в клетке в одну секунду одновременно

протекают превращения с участием нескольких тысяч различных веществ — и это в объеме, равном всего  $1 \cdot 10^{-9}$  мм<sup>3</sup>!

## ДНК — наследственная нить жизни

Продолжим рассмотрение увеличенной под микроскопом бактериальной клетки. Внутри клетки просматривается гигантский клубок, образованный спутанной нитью. Эта нить состоит из двух скрученных одиночных цепей, имеет толщину всего лишь 0,002 мкм и кольцеобразно замкнута. Если бы мы смогли распутать эту нить, то нам пришлось с удивлением констатировать, что ее общая длина составляет 1,4 мм, то есть примерно в 1000 раз превышает длину клетки бактерии. Она умещается в клетке только потому, что так плотно скручена. Наряду с этим в клетке присутствуют «карликовые нити», образующие маленькие кольца, — плазмиды. Все эти нити — носители наследственной (генетической) информации и состоят из особого вещества, которое имеет трудно произносимое название — дезоксирибонуклеиновая кислота, сокращенно ДНК.

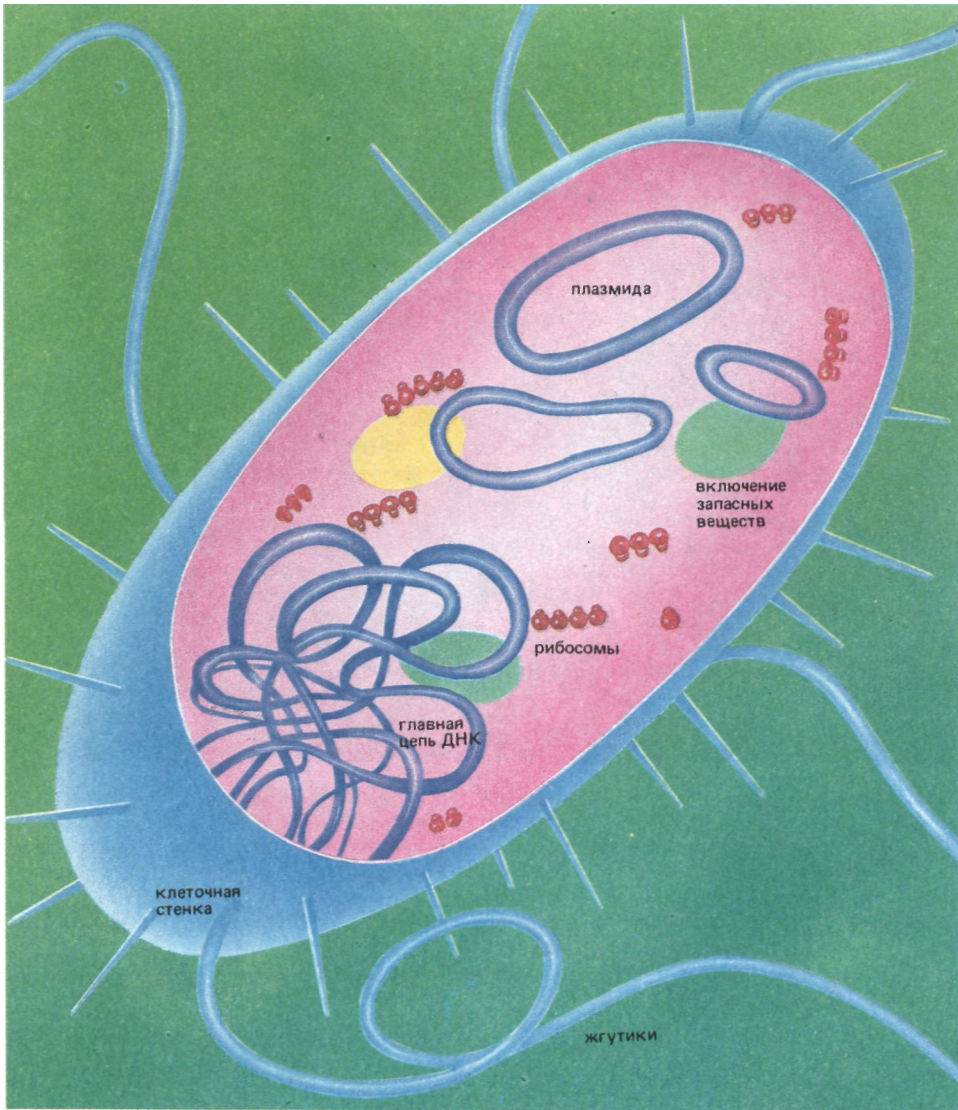
В 1953 г. два исследователя, молодой американский биолог Джеймс О. Уотсон (1928) и английский физик Френсис Н. К. Крик (1916), предложили гипотезу относительно того, каким образом в ДНК аккумулируется вещество наследственности всех живых существ и как оно передается потомству. Работы Уотсона и Крика были столь же значительны для нашего понимания жизни, как, к примеру, модель атома Нильса Бора для развития физики или периодическая система элементов Дмитрия Менделеева и Лотара Мейера \* для химии. В 1962 г. Уотсону и Крику за цикл работ по ДНК была присуждена Нобелевская премия.

У всех представителей живой природы — бактерий, мышей, деревьев, цветов, человека и слона — ДНК построена по одному и тому же принципу. Молекула ДНК хранит все «инструкции», необходимые для того, чтобы направлять и регулировать жизнедеятельность клетки. Инструкции закодированы в последовательности строительных блоков ДНК. ДНК можно сравнить также с перфолентой. На «перфолентах» ДНК имеются указания относительно того, какую молекулу белка должна производить клетка в тот или иной момент на своих «машинах» по производству белка.

Роль клеточных «машин» по производству белка выполняют рибосомы, внешне представляющие собой двоянные сферы; в каждой бактериальной клетке сосредоточено примерно 10 000 рибосом.

Как функционирует рибосома? Рибосомы связывают свободно перемещающиеся в клетке молекулы аминокислот в длинные цепи, которые затем скручиваются и образуют таким образом шарообразные или нитевидные молекулы белков. В одну секунду одна-единственная рибосома связывает друг с другом от 10 до 20 строительных «блоков» — молекул аминокислот. Так как молекула белка обычно состоит из нескольких сотен аминокислот, то, значит, она может быть построена за какие-нибудь 10 с. Закодированный приказ о том, что следует строить данный белок, рибосома получает от ДНК. Кстати, в клетках растений и животных цепи ДНК не «плавают» свободно, как в бактериальной клетке, а заключены в оболочку, образуя клеточное ядро.

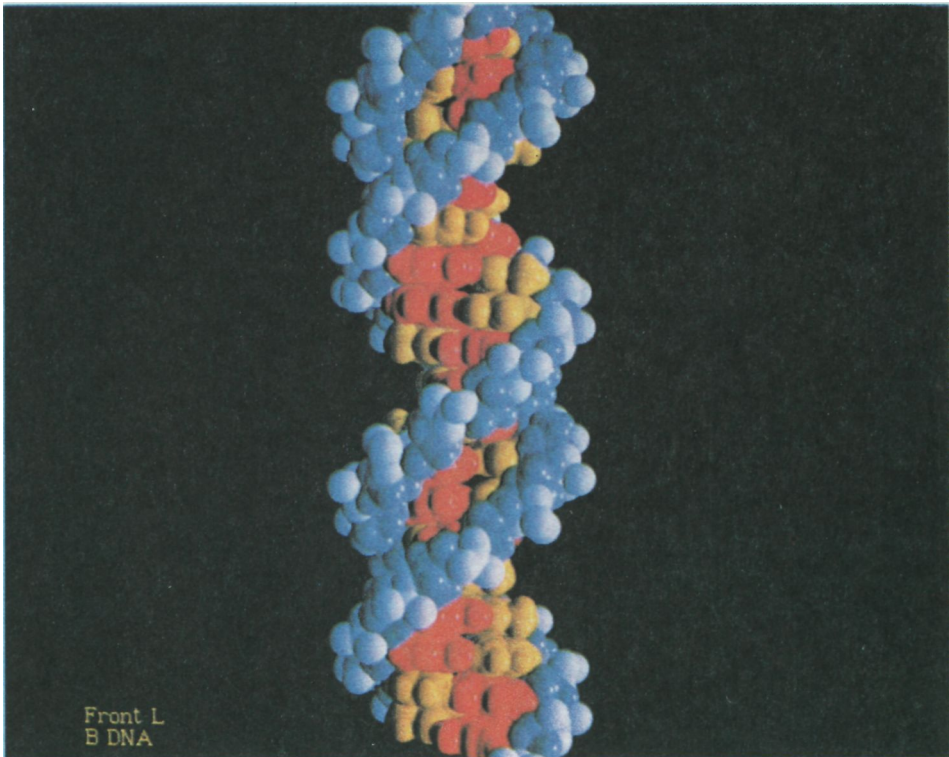
\* Юлиус Лотар Мейер (1830—1895) — немецкий химик. В 1870 г. (вслед за Д. И. Менделеевым) составил полную таблицу химических элементов. По словам самого Мейера, эта таблица в существенном идентична данной Менделеевым. — *Прим. перев.*



Строение клетки *Escherichia coli*.

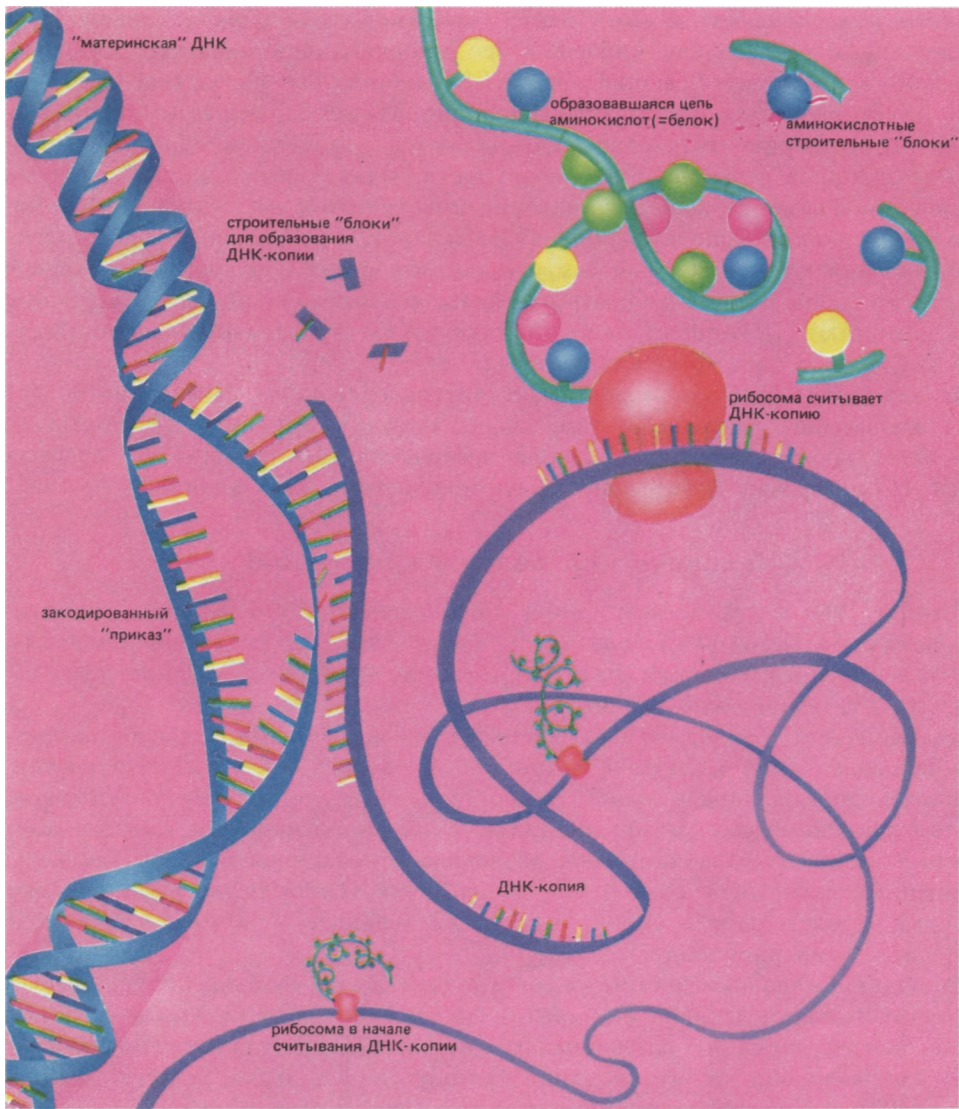
Как же выглядит «приказ ДНК»? В переводе на человеческую речь он означал бы следующее: «Внимание, рибосома! Старт! Начинай, согласно данному приказу, синтезировать белок «Х»! Используй в качестве «стройматериала» молекулы следующие строительные блоки...» (далее следовали бы закодированные обозначения аминокислот, из которых состоит белок «Х»).

При этом число и последовательность аминокислот в цепи для каждого определенного «типа белка» всегда одинаковы. Различные типы белков различаются по числу и последовательности аминокислот. Следовательно, амилаза имеет иную аминокислотную последовательность, чем, например, сычужный фермент.



Молекула дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — наследственного вещества — состоит из двух обвивающих друг друга одиночных цепей (нитей) (выделены голубым цветом), в которых с помощью определенной последовательности четырех различных строительных «блоков» (обозначены красным и желтым цветом) закодирован «приказ» (инструкции) по построению белков из аминокислотных остатков. Определение пространственной структуры ДНК явилось результатом многолетних исследований с использованием современных рентгеноструктурных методов анализа, методов химического анализа, а также ЭВМ. Представленное здесь изображение было получено на ЭВМ, в которую была введена вся имеющаяся информация о расположении отдельных атомов.

Но каким образом приказ от плотно скрученных двойных цепей ДНК доходит к тысячам рибосом, распределенным в цитоплазме? Для этого клетка производит множество «отпечатков» приказа ДНК, как бы копий. Например, когда клетка должна срочно построить амилазу, чтобы превратить крахмал в сахар, в клубке ДНК «отыскивается» участок с записанным в нем приказом синтезировать белок амилазу. Длина ДНК, содержащей этот приказ, составляет около 0,0001 мм. Вот этот участок ДНК с предписанием о синтезе белка, а также другие подобные участки и называются «геном». Можно представить себе, как трудно отыскать нужный ген на сильно скрученной цепи ДНК общей длиной всего лишь 1,4 мм. Тем не менее клетка выполняет это за доли секунды! Итак, ген амилазы «найден». Теперь с этого гена снимаются копии. Для этого существуют специальные ферменты, которые постоянно «прокатываются» вдоль цепи ДНК и копируют ее приказы, составляя из аналогичных строительных «блоков» новую цепь, идентичную «материнской цепи». Затем эта ДНК-копия отъединяется от «материнской» ДНК. Новая цепь имеет длину, равную длине гена, и содержит



«Работа» бактериальной клетки по инструкции, получаемой от ДНК. Клетка синтезирует молекулы белка из аминокислотных остатков.

точно такой же приказ, что и ген на «материнской ДНК». В отличие от «материнской» ДНК, состоящей из двух скрученных цепей, ДНК-копия представляет собой всего лишь одиночную цепь. Для полученной копии принято название информационная рибонуклеиновая кислота (мРНК; буква «м» от *англ. messenger* — вестник).

К готовой ДНК-копии молниеносно присоединяется несколько рибосом, они «нанизываются» на нее по всей длине и «считывают» приказ о сборке молекул аминокислот для построения амилазы. Рибосомы «слепо» повинуются и составляют предписанные цепи из аминокислот. При этом из рибосом — этих «машин» по производству белка — как бы выскальзывают связанные друг

с другим аминокислоты. Работа идет, аминокислотные цепи становятся все длиннее, по мере того как рибосомы все дальше «нанизываются» на ДНК-копию. Но вот рибосомы расшифровали ДНК-копии. Теперь: «Стоп! Белок готов!» Далее рибосомы отторгают выходящие из них длинные аминокислотные цепи. Последние тотчас же сворачиваются в клубки и образуют белки в форме шариков с выемкой на поверхности. Итак, белок амилазы построен и в качестве фермента может немедленно приступить к расщеплению крахмала на строительные «блоки» — молекулы Сахаров. Тем временем вдоль ДНК-копии наслаиваются новые рибосомы, и таким образом образуется все больше молекул амилазы. Если надобность в амилазе исчезает, специальные ферменты вновь разлагают ДНК-копии на составляющие их строительные блоки. После этого рибосомы уже не продуцируют белков.

На самом деле все эти процессы значительно сложнее. Последние 30 лет наука интенсивно занимается тем, чтобы все-таки выяснить некоторые из важнейших законов, лежащих в основе построения хотя бы наиболее простых клеток. Но на что же можно употребить полученные нами знания?

### **Человеческий белок из бактерий?**

В июле 1980 г. газеты всего мира обошло известие о том, что в одной из лондонских больниц 17 добровольцам были сделаны инъекции инсулина.

Что же в этом сообщении было такого примечательного? Ведь инсулин известен уже в течение многих лет.

Инсулин — это белок, вырабатываемый так называемыми островными клетками поджелудочной железы в организме человека и животных. Он регулирует содержание сахара в крови. Кровь транспортирует сахар, поступающий вместе с пищей, во все клетки организма. Если же организм не вырабатывает достаточного количества инсулина, то возникает сахарная болезнь (диабет): неусвоенный сахар переходит в мочу и организм теряет ценные питательные вещества. В настоящее время больному действенным образом могут помочь только инъекции инсулина.

Инсулин обычно получают из поджелудочных желез убойных свиней и крупного рогатого скота. Однако не каждый больной сахарной болезнью в состоянии переносить инсулин, полученный от животных. Молекула инсулина состоит из многих аминокислот. В инсулине свиньи лишь в одном участке аминокислотной цепи содержится аминокислота, иная, чем в инсулине человека, а инсулин крупного рогатого скота отличается от человеческого по трем аминокислотам. Эти незначительные отклонения приводят к тому, что у некоторых больных диабетом вырабатываются антитела против инсулина животных. Таким больным может помочь только инсулин человека. Но откуда взять такой инсулин в больших количествах?

Решение проблемы было осуществлено методами современной биотехнологии: бактерии кишечной палочки были подвергнуты преобразованиям, после чего они стали вырабатывать в больших количествах человеческий инсулин! Вот и объяснение тому, почему поступившее из Лондона сообщение об инсулиновых инфекциях было сенсационным: ведь впервые в истории человечества для лечения людей применили человеческий белок, выработанный микробами!

Но как можно заставить бактерии образовывать белок, который контролирует

уровень сахара в крови человека, то есть белок, полностью «бесполезный» для бактерий?

Главная идея была проста и гениальна: в ДНК бактерий следует каким-либо образом ввести фрагмент ДНК с приказом о синтезе человеческого инсулина, то есть ген инсулина; иными словами, бактерии надо «подложить кукушкино яйцо». Быть может, рибосомы бактерий «обманутся» и начнут продуцировать человеческий белок как свой собственный?

Вроде бы просто, но, чтобы осуществить идею, пришлось провести огромную предварительную работу. Было известно, каким образом составлена молекула инсулина из аминокислотных строительных «блоков», следовательно, было известно и то, как должна выглядеть инструкция, записанная в ДНК, то есть каков должен быть ген инсулина. В конце концов удалось сконструировать в пробирке ген инсулина человека. Уже одно это было грандиозным научным достижением! Теперь «яйцо кукушки» было готово, но все еще отсутствовала сама «кукушка» — средство для транспортировки гена в бактериальную клетку.

И тут вспомнили о плаزمидах, маленьких кольцевых ДНК в бактериальных клетках. Именно с плазмидами связаны те затруднения, которые испытывает медицина при лечении больных. Плазмиды содержат, например, гены пенициллиназ — ферментов, расщепляющих пенициллин, — и при воздействии пенициллина на клетки — хозяева плазмид — последние немедленно передают своим рибосомам приказ о выработке пенициллиназ. В результате скорым порядком синтезируются пенициллиназы, которые тотчас же инактивируют пенициллин — и бактериальная клетка остается жизнеспособной.

Мало того! При соприкосновении двух бактерий плазмида может перейти из одной бактерии в другую и передать ей охранительный приказ к защите против пенициллина.

Стенли Коэн (1928) первый предложил использовать «страсть плазмид к путешествиям»: «Они, вероятно, могли бы быть идеальным транспортным средством для генов!» Что для этого нужно? Извлечь плазмидное кольцо из бактериальной клетки, разрезать его, вставить кусок чужой ДНК с приказом о выработке белка и ввести обратно в бактерию новое плазмидное кольцо с чужим геном. Последовательность операций известна. Но...

Каким способом разрезать нить ДНК плазмиды толщиной в одну миллионную миллиметра? Разумеется, это невозможно сделать с помощью ножниц или ножей. Однако в шестидесятых годах швейцарский биохимик Вернер Арбер (1929) открыл ферменты, которые «разрезают» ДНК на маленькие кусочки. Эти ферменты получили название рестриктаз.

## **Квакающие бактерии?**

Спустя десятилетие после открытия рестриктаз Герберт Бойер (1935), работавший в Сан-Франциско, установил, что эти «ферментативные ножницы» разрезают ДНК только в определенных местах. Другие исследователи открыли ферменты, названные лигазами, которые снова «склеивают» разрезанные участки. Тем самым исследователи стали обладателями и «ножниц» и «клея» для ДНК. В июле 1973 г. Коэн и Бойер приступили к осуществлению своих идей в лаборатории. Они выделяли из бактериальной клетки плазмидные кольца и разрезали их «ферментативными ножницами». Затем они выделяли ДНК из клеток лягушек, вырезали из них с помощью тех же «ферментативных ножниц»

определенные участки и смешивали в пробирке эти фрагменты лягушачьей ДНК с разрезанными кольцами бактериальных плазмид. После этого они добавили «склеивающий» фермент. Лягушачья ДНК была встроена между открытыми концами бактериальной плазмиды, кольцо замкнулось. Затем эту плазмиду с встроенной лягушачьей ДНК ученые снова ввели в клетку бактерии. Результат оказался сенсационным: бактерии действительно дали себя «обмануть»! Правда, они не стали квакать на лягушиный лад, как шутили Коэн и Бойер. Однако теперь их рибосомы наряду с их собственными бактериальными белками образовывали и белок лягушки! И все их потомки несли в себе часть наследственной информации лягушек!

Таким образом, Коэн и Бойер нашли метод, посредством которого в наследственный материал микроорганизма можно добавить чужие гены. Эти новые методы стали известны как методы генной инженерии. В 1978 г. был достигнут следующий этап: «сконструированный» в пробирке из строительных «блоков» ДНК ген инсулина человека был встроен (подобно лягушачьей ДНК) в разрезанные кольца плазмид бактерий, после чего плазмиды были внесены обратно в бактерии. И теперь бактерии стали продуцировать инсулин человека.

Апробация человеческого инсулина из бактерий дала прекрасные результаты. В некоторых клиниках его уже применяют для лечения больных диабетом.

## **Интерферон — первое лечебное средство против вирусов**

Ген инсулина мог быть искусственно сконструирован химиками в пробирке, потому что было известно, как он построен. А как быть, если строение гена неизвестно?

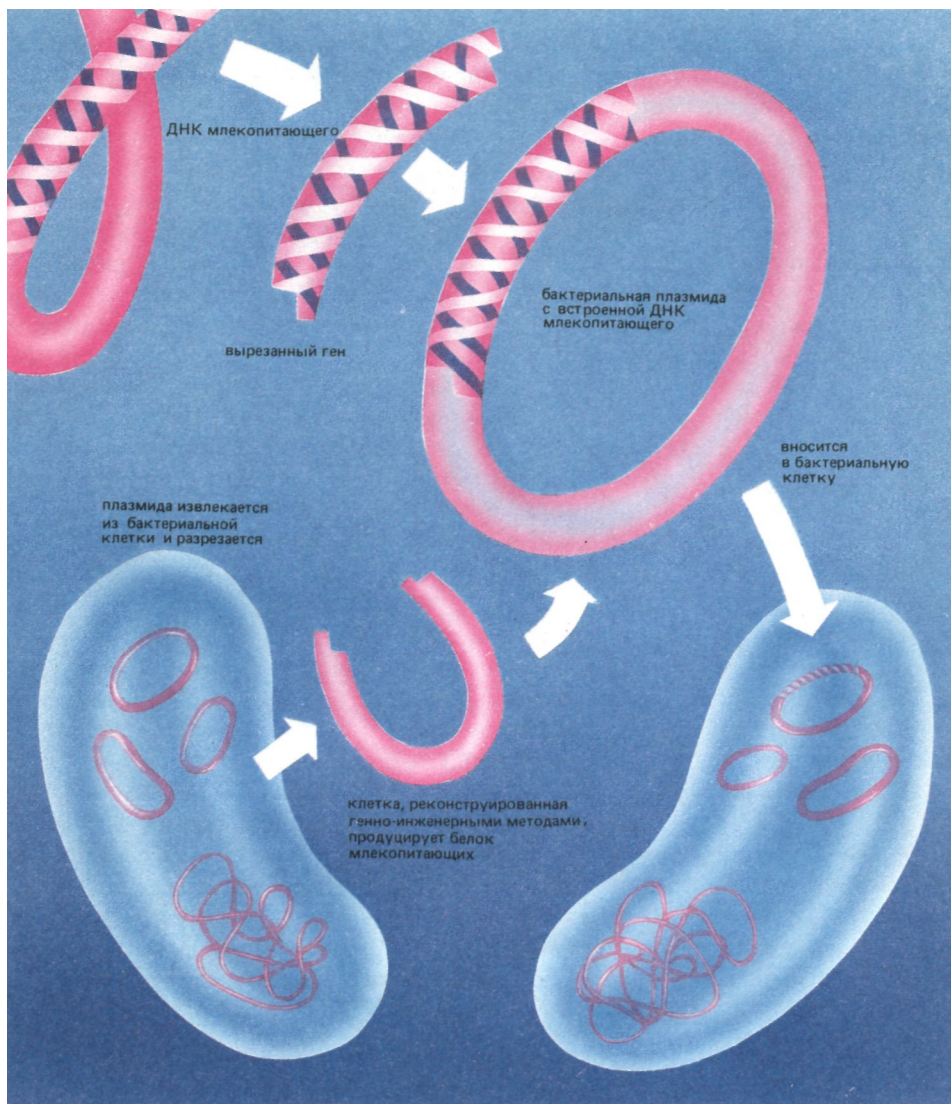
Один неизвестный белок особенно привлекал внимание биотехнологов. Уже в пятидесятых годах было обнаружено, что в клетках живых существ, пораженных вирусами, образуется интерферон — белок, который «предостерегает» и защищает от вирусов еще непораженные клетки.

Интерферон мог бы стать первым лечебным средством против вирусных заболеваний. Ведь, как известно, существующие антибиотики не оказывают никакого воздействия на вирусы, они только «подавляют» развитие тех бактерий, которые могли бы распространиться при вирусном заболевании в организме, ослабленном вирусами. Поэтому создание лечебного средства против вирусов означало бы для медицины прогресс не меньший, чем введение в лечебную практику пенициллина. Стоит только вспомнить хотя бы о том, как много людей ежегодно болеет вирусным гриппом!

Однако до появления методов генной инженерии интерферон мог быть получен лишь в ничтожных количествах из лейкоцитов (белых кровяных клеток). Для получения 1 г интерферона нужно переработать кровь от 90 000 доноров.

Мысль о том, чтобы заставить микробов вырабатывать человеческий интерферон в больших количествах, занимала многие умы. В 1978 г. работу в этой области начал профессор Чарльз Вейссман, биохимик из Цюрихского университета. Прежде всего он «заразил» лейкоциты человека вирусами. Вследствие этого клетки были вынуждены образовывать интерферон для защиты остальных клеток. Следовательно, клеточная ДНК посылала своим рибосомам наряду с приказами о синтезе «нормальных» белков также ДНК-копии с командой: «Вырабатывайте белок интерферон!»





Что же лежит в основе генной инженерии? Из ДНК млекопитающего с помощью ферментов рестриктаз вырезают фрагмент, содержащий инструкцию для построения определенного белка (ген). Одновременно из бактерии извлекают малую кольцевую ДНК (плазмиду) и разрезают ее при помощи тех же рестриктаз. Посредством клеящих (сшивающих) ферментов (лигаз) ДНК млекопитающего встраивается в бактериальную ДНК. Реконструированная плазмида вновь включается в бактериальную клетку. Там наряду с прежними инструкциями содержится и приказ бактериальной клетке синтезировать белок млекопитающего. Бактериальная клетка, претерпевшая генно-инженерные трансформации, «слепо» исполняет теперь новый приказ.

Однако этот приказ о синтезе интерферона Вейсману пришлось разыскивать среди тысяч других распоряжений ДНК кровяных клеток. Для этого он отделил бесчисленное количество различных «однопочечных» ДНК-копий от прочих компонентов кровяных клеток, далее с помощью специальных ферментов «превратил» эти копии вновь в «двухпочечную» материнскую ДНК и разрезал ее «ферментативными ножницами» на фрагменты. Одновременно из бактерий надо было выделить плазмиды и разрезать их при помощи тех же «ферментативных ножниц». Затем в разрезанные кольца ДНК плазмид с помощью «склеивающих» ферментов вставлялись фрагменты ДНК кровяных клеток человека с самыми различными приказами. Преобразованные таким образом бактериальные плазмиды содержали теперь дополнительные приказы о построении тысяч различных белков человека.

После этого Вейсман и его коллеги вновь ввели в бактерии измененные плазмиды. Вся эта работа требовала уйму времени и усилий. Бактерии были размножены на поверхности твердых питательных сред. Возникло примерно 20 000 различных бактериальных колоний, каждая содержала клетки с другими новыми плазмидами. Не могла ли одна из этих колоний иметь плазмиды, несущие информацию для синтеза интерферона человека? Эта колония бактерий могла бы выделять интерферон. Началась кропотливая работа, поиск «иголки в стоге сена».

И вот к рождеству 1979 г. профессор Вейсман сделал себе наилучший долгожданный подарок: он нашел те бактериальные колонии, которые продуцировали человеческий интерферон! Экстракт из этих бактерий защищал клетки человека от поражения вирусами. Отныне была открыта дорога для создания первого лечебного средства против вирусных заболеваний.

Интерферонпродуцирующие бактерии были «размножены» в биореакторах. Их потомство также несло в своем наследственном материале приказ вырабатывать человеческий интерферон. В настоящее время интерферон применяется уже повсеместно во всем мире. Он эффективен против бешенства, инфекционного гепатита (желтухи), а также против различных «видов» ринитов (насморка), обусловленных вирусами. Идет также тщательная проверка ряда сообщений относительно того, что определенные интерфероны могут с успехом применяться и против некоторых злокачественных опухолей (рака).

## **Фузия клеток — новые микробы из ранее существовавших**

Итак, мы познакомились с двумя путями получения новых штаммов микроорганизмов. Первый «пенициллиновый»: отбор и культивирование позволило создать высокопродуктивный штамм, вырабатывающий в 10000 раз больше пеницилина, чем природный (дикий) штамм. Второй путь — генная инженерия: в микробные клетки направленно «встраивают» совершенно особые инструкции для выработки определенных продуктов. В таких случаях эти микроорганизмы образуют в сущности совершенно чуждые им вещества, такие, как инсулин человека или интерферон.

Совсем новым путем является фузия клеток. Фузия означает слияние. Собственно говоря, мы все произошли путем слияния: ведь при оплодотворении происходит слияние мужских и женских половых клеток. При этом происходит комбинация наследственных задатков (генов) матери и отца. Для этих комбинаций существуют бесчисленные возможности; и пусть даже родные братья

и сестры порой имеют значительные отличия, однако они всегда наследуют свои свойства как от отца, так и от матери.

Известно, что микробы размножаются простым делением. Следовательно, не существует ни «микробов-самцов», ни «микробов-самок». Самое большее, что могут микробы,— это обменяться между собой плазмидами. Рассмотрим ситуацию, когда один бактериальный штамм хорошо растет «на сахаре», но плохо продуцирует желаемое вещество, а другой, напротив, в этих условиях очень медленно растет, зато может вырабатывать огромные количества нужного продукта. Разумеется, весьма заманчиво было сконструировать из них один-единственный штамм, который совмещал бы и то и другое: то есть хорошо рос и много продуцировал. И здесь приходит на помощь фузия клеток. Специальными ферментами осторожно, чтобы не полопались клетки, растворяют наружную клеточную стенку микробов обоих штаммов; теперь только тонкая внутренняя клеточная мембрана не дает растечься «голым» клеткам. Клетки обоих штаммов смешивают. Путем подходящей химической обработки или под действием коротких электрических импульсов (электрофузия) те клетки, которые случайно соприкасаются друг с другом, склеиваются в точках касания, их тонкие оболочки спаиваются (сливаются) воедино. И вот из двух клеток появляется одна с общей тонкой оболочкой. Это гибридная клетка (гибридома). «Гибриды» постепенно образуют новую общую прочную клеточную оболочку. Эти новые клетки сочетают в себе свойства обеих «родительских половин». Теперь можно отобрать гибридные клетки с наилучшими признаками (хороший рост, хорошая продуктивность) и приступить к их размножению.

Метод слияния клеток открывает возможность соединить воедино даже совершенно различные микроорганизмы. Принципиально возможно даже слияние клеток растений, животных и человека. Мы уже познакомились с наиболее важным применением этого метода: клетки человека, способные продуцировать антитела, но почти не размножающиеся на искусственных питательных средах вне организма, сливают с интенсивно растущими раковыми клетками. Возникают хорошо растущие клетки, продуцирующие антитела. Интересен, например, результат слияния клеток картофеля и томата. Из слившихся клеток удалось даже снова вырастить растения. В итоге слияния получен «томофель» — растение, дающее на корнях картофельные клубни, а в надземной части несущее плоды томата. Томофель — это пример фантастических возможностей сотворения новой живой природы, которые есть у ученых уже сегодня.

Но не создает ли новая технология новые опасности для человечества, например, в виде новых микроорганизмов?

В лабораториях специалистов по генной инженерии даже при работе с «безвредными» микроорганизмами соблюдаются строгие правила техники безопасности во избежание «случайного» возникновения опасных микробов. Кроме того, «лабораторные» штаммы (например, штамм К 12 кишечной палочки) так чувствительны, что при нормальных условиях, например в организме человека, они просто не могут выжить. Прежде чем внедрять новые микробы для «работы» в сельском хозяйстве и промышленности, необходимо обязательно подвергать их самым суровым испытаниям. Результаты научных исследований должны дать полную гарантию безопасности предлагаемых наукой микроорганизмов для существования других живых существ, а также состояния окружающей среды.

Поскольку биотехнологи довольно скоро осознали свою ответственность,

они потребовали в 1974 г. временно запретить эксперименты по генной инженерии, которые могли бы привести к созданию новых опасных микробов. В дальнейшем, опираясь на проведенные исследования, удалось вновь снять многие из этих запретов. Тем не менее для большей надежности применения генно-инженерных методов кишечные бактерии все чаще заменяются другими бактериями, дрожжами и грибами, не встречающимися у человека или в сельском хозяйстве. Сама природа — а вовсе не генная инженерия — и теперь все еще продуцирует опаснейших новых мутантов; пример тому — появление постоянно изменяющихся вирусов гриппа.

Однако в связи с появлением новых методов встает еще вопрос. Не могут ли микробы, подвергшиеся генно-инженерным преобразованиям, быть использованы для военных целей?

С 1975 г. существует международное соглашение, которое строго запрещает внедрение и разработку «биологического оружия». Это поднимает роль ученых-биологов на небывалую высоту. Ведь именно они в первую очередь несут ответственность за контроль над соблюдением этого международного соглашения, так как только их руками генная инженерия может быть использована не в правомерном направлении.

По-видимому, найдется читатель, который спросит: «Не лучше ли все же вообще отказаться от подобных исследований для того, чтобы их не смогли использовать во вред человечеству?» Но тогда запрет распространялся бы и на разработку новых вакцин для профилактических прививок, новых антибиотиков; человек был бы отдан на произвол возбудителей болезней! Точно так же безрассудно было бы отказаться от бурно развивающейся биотехнологии. Она предоставляет небывалые возможности для защиты нашего здоровья, она указывает реальные выходы из экологических проблем, может содействовать ликвидации голода на Земле, и помочь решить сырьевые и энергетические затруднения общества. Вопрос по-прежнему в том, на кого работают биотехнологи и кто пользуется результатами их исследований.

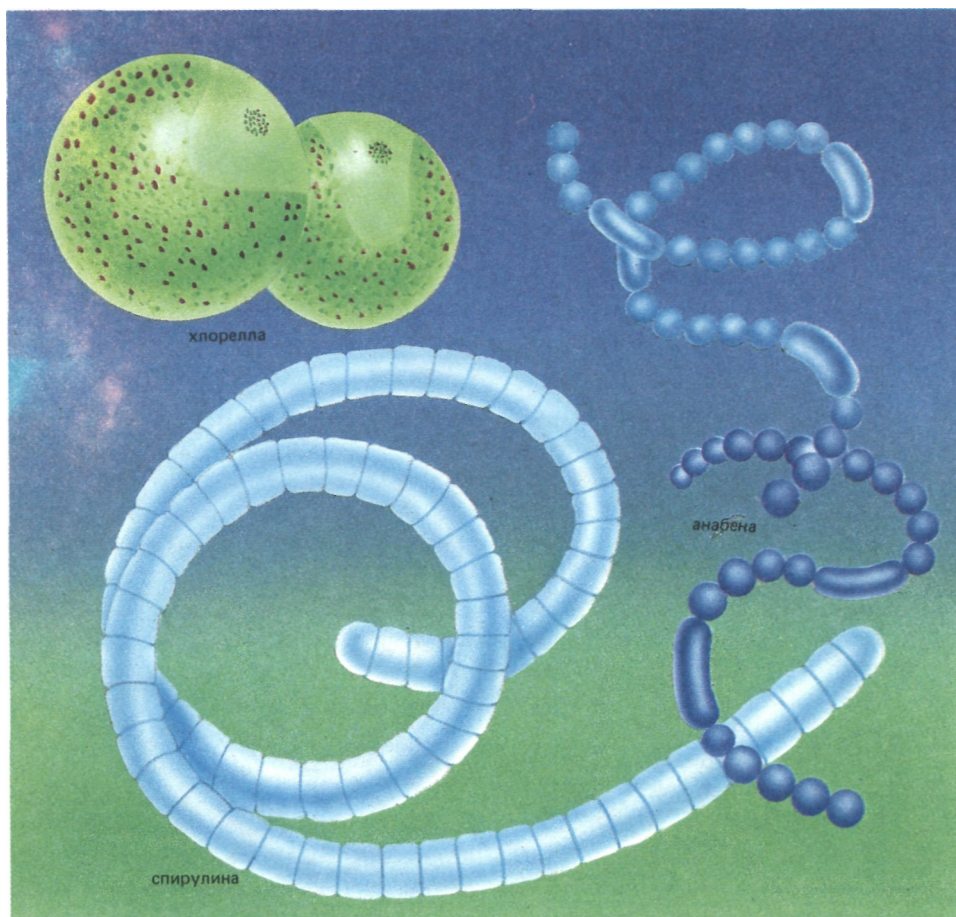
# Биотехнология помогает в борьбе с голодом и дефицитом энергии и сырья

## Микробы съедобны?!

Сегодня на нашей Земле полмиллиарда человек не имеют в достатке пищи. В первую очередь ощущается нехватка продуктов — поставщиков белков, таких, как мясо, рыба, яйца, молоко и бобовые (фасоль, горох, соя). Проблема усугубляется тем, что население Земли возрастает примерно на 70 млн. человек ежегодно; для того чтобы покрыть только дополнительную потребность в 2 млн. т белка, обусловленную приростом населения, следовало бы выращивать богатую белком сою на площади 40 млн. га. Как раз в регионах, где налицо нехватка белковых пищевых продуктов, отмечают и наиболее высокие темпы прироста населения при слабом развитии сельского хозяйства и промышленности. Для того чтобы производить достаточные количества растительного белка, из которого сельскохозяйственные животные создают полноценный животный белок, сельскому хозяйству требуются большие количества азотных удобрений, выпускаемых промышленностью. Для получения 1 кг животного белка требуется 5—10 кг растительного белка. Таким образом, уже на этом этапе как бы «пропадает» («теряется») часть белка и это дополнительно к тем колоссальным потерям продуктов, которые имеют своими причинами «работу» вредителей сельского хозяйства, неаккуратность при уборке, транспортировке и хранении.

Микроорганизмы могли бы эффективно помочь решению продовольственных проблем человечества. Они ведь не только продуцируют лечебные средства, вино и сыр — они еще и съедобны! В них содержатся полноценные белки, жиры, сахара и витамины.

Уже в 1521 г., после завоевания Мексики, испанец Бернал Диас дель Кастильо сообщал, что ацтеки употребляли в пищу диковинные маленькие «пирожки», похожие на сыр. Сегодня нам известно, что эти «пирожки» были приготовлены из одноклеточных водорослей, живущих в мексиканских озерах. Удаленные на тысячи километров от Мексики, проживающие в Африке на берегах озера Чад туземцы племени канембу с незапамятных времен тоже употребляли в пищу одноклеточную синезеленую водоросль рода *Spirulina*. Эта водоросль в огромных количествах растет в оз. Чад, ее вылавливают, высушивают и едят как овощи. В самом деле, водоросли — хорошие продуценты белка. Они удваивают свою массу всего лишь за шесть часов. Злаком для этого требуются две, цыплятам — четыре, пороссятам — шесть недель, а телятам — два месяца. Поэтому во многих странах наука прилагает немалые усилия, чтобы создать «водорослевые фермы». Для этого требуются довольно обширные водные плоскости, то есть бассейны с большой площадью водной поверхности, в которых водоросли могут в достаточной степени облучаться



Виды водорослей, имеющие важное значение для биотехнологии: хлорелла — зеленая водоросль, которую для пищевых целей культивируют на специальных фермах. Синезеленую водоросль спирулину, также съедобную, нередко относят к бактериям (цианобактерии). Синезеленая водоросль анабена связывает азот воздуха и поставляет его водному папоротнику *Azola*, растущему на восточно-азиатских рисовых полях (благодаря чему экономятся искусственные азотные удобрения).

солнечным светом, с помощью которого они образуют из углекислого газа, воды и питательных минеральных веществ сначала сахар, а потом белок. Потребление света и воздуха не требует никаких финансовых затрат; для побуждения водорослей к обильному росту необходимы лишь дешевые минеральные добавки. На равновеликих площадях водоросль *Spirulina* образует в 10 раз больше белковой массы, чем пшеница, и к тому же с более высоким содержанием белка. При сборе урожая водоросли попросту «отцеживают» с помощью сетки, затем их сушат на воздухе и добавляют к ним вещества, улучшающие вкус; после этого продукт готов к потреблению и поступает в продажу. Почему же в районах, где население голодает, до сих пор не созданы подобные крупномасштабные фермы? Да только потому, что там отсутствует даже такая простейшая технология; к тому же во многих регионах крайне скудны запасы воды, которая очень дорога.

## «Жаркое по-домашнему» из микробов

Еще быстрее, чем водоросли, растут бактерии, дрожжи и другие низшие грибы. Бактерии удваивают свою массу за время от 20 мин до двух часов, причем бактериальная масса может на 70% состоять из белка.

Уже говорилось о том, что водоросли синтезируют белок в 100 000 раз быстрее, чем корова. При этом корова отдает нам в форме мяса примерно десятую часть питательных веществ, потребляемых ею в виде растительного корма; 0,9 корма коровы для питания людей пропадает! У бактерий, дрожжей и грибов почти вся масса питательных веществ преобразуется в белки, сахара и жиры, пригодные для использования человеком и животными.

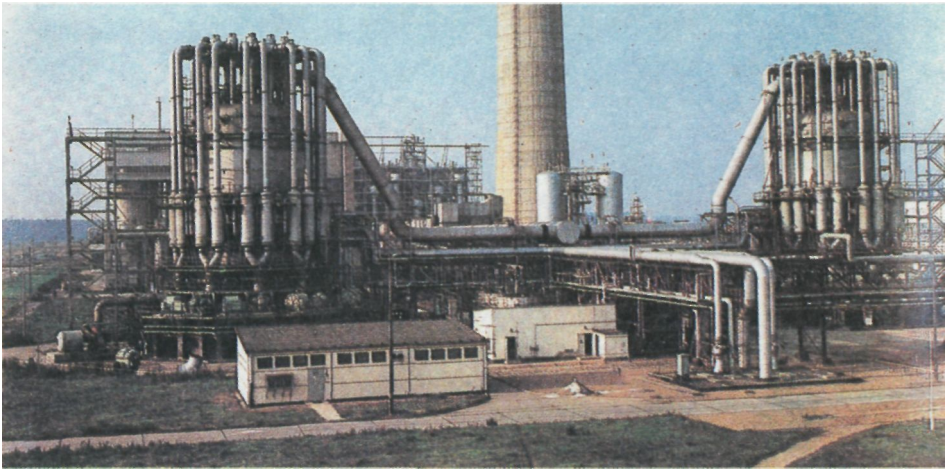
Современная история микробиологического производства белка началась во время первой мировой войны в Германии, где с этой целью использовались дрожжи. Из-за нехватки продуктов питания пекарские дрожжи выращивали в промышленных масштабах и «начиняли» ими преимущественно колбасу и супы. Дрожжи имели то большое преимущество, что они питаются дешевыми, обычно не используемыми сахаросодержащими растворами, преобразуя при этом сахар в высокоценный белок. Во время второй мировой войны с помощью дрожжевых «хлопьев» удалось спасти от голодной смерти тысячи людей. Но трудные времена прошли, а эта вынужденная мера была предана забвению.

Лишь в шестидесятых годах снова начали сооружать установки по производству белка с помощью микробов. Человечество нуждалось во все больших количествах белка. Со временем было обнаружено, что микроорганизмы способны питаться не только сахаросодержащими питательными растворами, но и усваивать компоненты нефти — алканы\*. Несъедобные для человека и животных твердые алканы — парафины — только микробы в состоянии утилизировать и преобразовать в ценный белок. В Советском Союзе осуществляется программа по изысканию наилучших «пожирателей» алканов. Уже в 1963 г. начали работать первые опытные установки. На предварительно очищенных пробах нефти росли штаммы дрожжей рода *Candida*, которые питались алканами и при этом очень быстро размножались и образовывали белок. Из 1 т нефти получалось около 1 т дрожжей, содержащих 600 кг белка. Мало того! Из уже не содержащей алканов остаточной нефти получалось гораздо более высококачественное дизельное топливо!

В самом начале производства дрожжей из алканов многие врачи и ветеринары выражали опасения, не окажется ли получаемый из алканов белок токсичным для высших млекопитающих. Однако многолетние в высшей степени добросовестные эксперименты показали, что дрожжевой белок безвреден. Кстати, благодаря многолетним исследованиям он теперь относится к наиболее изученным пищевым и кормовым средствам\*\*.

\* Алканы — это насыщенные углеводороды с общей формулой  $C_nH_{2n+2}$  — Прим. перев.

\*\* Дискуссия между учеными и производственниками о возможности широкого использования микробиологического белка (витаминного белкового концентрата или сокращенно ВБК) в качестве кормовой добавки в животноводстве, птицеводстве, рыбном хозяйстве приняла в настоящее время прямо-таки драматическую окраску. Тяжелое экологическое состояние некоторых регионов страны жители, поддержанные некоторыми учеными, связывают с расположенными в этих местностях заводами по производству ВБК. Вопрос о производстве и применении ВБК постоянно встает перед народными депутатами СССР и других уровней. Для знакомства с этой проблемой можно рекомендовать следующие публикации в периодической



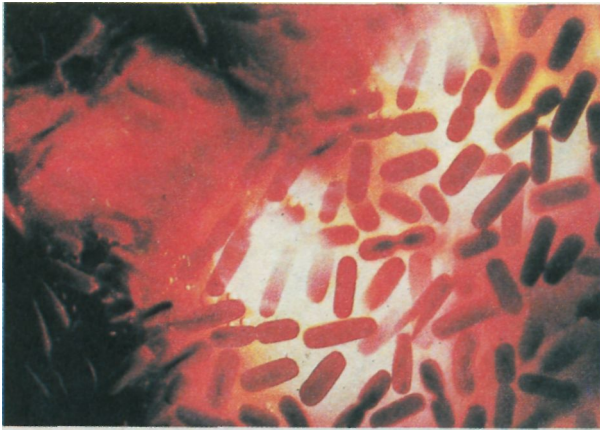
Завод по производству высококачественного кормового белка из компонентов нефти (алканов) в г. Шведте (ГДР). В двух гигантских биореакторах при участии дрожжей рода *Candida* ежегодно производится 50 000 т белкового концентрата фермозина. Попавшая в центр фотографии заводская труба относится к сушильной установке, поскольку продукция завода — кормовой белок — поставляется в сельское хозяйство в сухом гранулированном виде в форме небольших цилиндров.

Дрожжевой белок превосходит все кормовые растения по содержанию в нем питательных веществ. Опыты показали, что 1 т дрожжей способна заменить 7—8 т кормовых злаков. Первое большое предприятие по производству дрожжей на основе алканов начало функционировать в Советском Союзе в 1973 г. с производительностью 70 000 т в год. Сегодня в СССР действует восемь гигантских заводов по производству «алкановых» дрожжей. Такие же предприятия, где ценный белок производится из алканов нефти, функционируют в ГДР в г. Шведте (конечный пункт нефтепровода «Дружба»), а также в Румынии. В Китайской Народной Республике (нефтяные месторождения этой страны характеризуются высоким содержанием алканов) в настоящее время также сооружаются подобные «фабрики белка». Даже арабские страны — экспортеры нефти сейчас проявляют большую заинтересованность в этой биотехнологии, поскольку производить кормовой белок из собственной нефти при ее колоссальных запасах экономически выгодно; ведь тогда не надо окультуривать земельные массивы в пустынях, которые занимают основную территорию этих стран. При налаженном биотехнологическом производстве отпала бы и потребность в дорогом импорте зерна, бобов, сои или рыбной муки.

В середине семидесятых годов в результате внезапного довольно сильного повышения цен на нефть страны, не имеющие собственной нефтедобычи, были вынуждены изыскивать другой, более дешевый источник питательных веществ для белокпродуцирующих микробов. В качестве такового был предложен метиловый спирт (метанол). Его можно получать в очень чистом виде из каменного угля или нефти. В Англии на одной из установок для полу-

печати: Объявлен «крестовый поход» против биотехнологии. Кому он выгоден? — Правительственный вестник: Еженедельная газета. № 11 (37), март 1990 г.; Горизонты биотехнологии.— Сельская жизнь, 25 февраля 1990 г.— *Прим. перее.*





Бактерии вида *Methylophilus methylophilus* образуют из метанола, который получают дешевым способом из угля или нефти, белковый корм (прутин).

Белок, полученный из гриба рода *Fusarium*, подвергается дальнейшей переработке путем добавления вкусовых и красящих веществ. На фотографии приведенных образцов можно различить волокна, напоминающие мясные. Из правого куска получают «говяжье», из левого — «куриное» мясо.



Грибной белок становится неузнаваемым после переработки в рубленые котлеты, паштеты, шоколад и салаты.



Дегустация «жаркого» микробного происхождения прошла вполне успешно. Это блюдо не только «как настоящее» на вкус, но к тому же богато белком и содержит мало жиров, то есть оно полезнее для здоровья по сравнению с натуральным (животным) продуктом.

чения микробного белка из метанола «работает» *Bacterium Methylophilus methylotrophus* (при дословном переводе на русский язык это латинское наименование бактерии звучит так: «Бактерия, любящая метан и поедающая метан»); ежегодная «производительность» этой бактерии 50 000 т белкового корма прутин, используемого в основном при выращивании цыплят-бройлеров и откорме телят. Биореактор имеет 60 м в высоту, его вместимость 150 000 л абсолютно стерильного питательного раствора, в котором бактерии живут при 35° С, потребляя исключительно метанол, аммиак и кислород воздуха. Бактерии непрерывно удаляются из биореактора; затем они обрабатываются горячим водяным паром (жизнедеятельность бактерий прекращается) и полученная в виде довольно крупных комков биомасса высушивается. В итоге получают зернистый продукт, имеющий цвет жженного сахара; фирменное название этого продукта прутин.

Начиная с 1985 г. микробный белок используется также в пищевой промышленности для изготовления различных блюд и полуфабрикатов. В Англии специализированные магазины продают слоеные паштеты с начинкой, похожей по виду и вкусу на говяжью. В этом блюде даже можно ощутить «мясные волокна»! Новый биопродукт микопротеин (от греч. *μυκη* — гриб, *protein* — белок) изготавливается из гриба фузариум. Он содержит 45% белка и 13% растительного жира, то есть не уступает по питательности многим сортам мяса. Грибные нити (мицелий) так «сплетаются» между собой, что появляется внешняя аналогия с мясными волокнами. А как известно, волокнистая пища чрезвычайно важна для хорошего пищеварения. Фузариум растет на всех сахаристых веществах, например в Европе для этого используют отходы картофеля, а в Америке — корни кассавы\*, фрукты или сахарный тростник. Наряду с «говядиной» из фузариума изготавливается также «куриное мясо». В скором будущем в магазинах можно будет купить не менее 10 видов пирожков, рубленые котлеты, лакомства и салаты, приготовленные с добавлением микробного белка.

В Финляндии при помощи низших грибов, растущих на ядовитых сточных водах целлюлозно-бумажных предприятий, ежегодно производят 10 000 т

\* Кассава (маниок) — растение семейства молочайных. Возделывается на американском континенте в районах с тропическим климатом. Из корней кассавы получают муку.— Прим. перев.

ценного кормового белка. Без проведения «микробной обработки» эти сточные воды вызывают массовую гибель рыб в озерах и реках. В этом случае биотехнология разрешает одновременно две проблемы — получение белка на беззатратных питательных растворах и защиту окружающей среды.

Советский Союз занимает первое место в мире по промышленному микробиологическому производству белка: более 1 млн. т кормовых дрожжей ежегодно. Наряду с использованием алканов нефти и спирта источником питательных веществ служит также древесина. Но при этом не расщепляемая дрожжами целлюлоза древесины должна быть сначала разрушена с помощью кислот на строительные «блоки» — сахара. Такие отходы сельского хозяйства, как солома, хлопковые остатки, отходы картофеля, овощей и фруктов, содержащие не более 5% белка, также могут быть превращены микробами в ценный корм.

### **Растения, которые сами себя удобряют**

Азот наряду с углеродом, водородом и кислородом представляет собой важнейший маленький «кирпичик», входящий в состав соединений, встречающихся во всех живых существах, белках и наследственном материале. Воздух содержит 78% (об.) азота, однако ни человек, ни животные не могут усваивать газообразный азот. То же самое относится и к большей части растений, которые способны усваивать только химически связанный азот в форме аммиачных солей, нитратов или мочевины.

Уже древние римляне знали, что при выращивании бобовых, например клевера, люпина, люцерны, фасоли и гороха, повышается плодородие почвы. Когда на каком-нибудь поле впервые начинали культивировать бобовые, то по нему предварительно рассеивали землю с полей, на которых уже росли растения этого семейства. Разумеется, римляне еще не могли знать, что они обязаны своими сельскохозяйственными успехами азотфиксирующим клубеньковым бактериям, которые обитают на сплетениях корешков определенных видов бобовых. В тесном взаимодействии (симбиозе) с растением эти микробы образуют из азота воздуха аммиак — одно из питательных веществ, усваиваемых растением. Таким образом, бактерии поставляют в почву азотные удобрения; взамен они получают от растения другие питательные вещества.

Аммиак производится также в промышленности по так называемому способу Габер — Боша: атмосферный азот при 550° С и давлении в несколько сотен атмосфер связывается с водородом с образованием аммиака, который потом в качестве «азотного удобрения» (солей аммония) вносится в почву. Химический способ получения аммиака требует колоссальных затрат энергии, а энергия все больше дорожает, поэтому заметно выросли и цены на удобрения. В результате азотные удобрения становятся мало доступными для сельского хозяйства именно тех стран, где повышение урожайности — первоочередная задача для того, чтобы накормить полуголодное население.

К этому следует добавить, что, вообще говоря, растения усваивают лишь менее половины того количества удобрений, которое вносится человеком в почву. Большая часть удобрений вымывается из почвы дождевой водой и «перенасыщает» затем озера и реки. Вследствие этого в водоемах непомерно размножаются микроорганизмы, они полностью потребляют кислород, растворенный в воде, после чего огромные количества этих микроорганизмов отми-

рают. Вместе с бактериями гибнут рыба, раки и все остальные живые существа, нуждающиеся в кислороде.

Напротив, клубеньковые растения образуют аммиак при нормальных температуре и давлении. Например, красный клевер на 1 га посева продуцирует при помощи своих же бактерий 100—150 кг азотных «удобрений». В общей сложности благодаря микробам из воздуха ежегодно извлекается примерно 100 млн. т аммиака против 40 млн. т, получаемых промышленным способом при «адских» температурах и высоком давлении. Причем клубеньковые бактерии вновь демонстрируют преимущество биологических процессов: они являются энергосберегающими. Образование микробами «азотных удобрений» из воздуха имеет еще одно преимущество: они не вымываются дождями — стало быть, полностью сохраняются для растений и не загрязняют водоемы.

Во многих странах предпринимаются экспериментальные попытки заселить клубеньковыми бактериями также другие культурные растения, не относящиеся к семейству бобовых. Специалисты по генной инженерии пытаются даже перенести гены азотфиксирующих бактерий в клетки злаков.

### Новые растения из пробирки

Прежде чем злаки «научатся» извлекать азот непосредственно из воздуха, предстоит провести еще немало исследований. В то же время уже сегодня новые высокоурожайные сорта растений размножают в пробирке при помощи биотехнологических методов. Сначала ученые культивируют растительные клетки (принципиально это аналогично культивированию микробов) в питательных растворах. Затем с помощью ферментов осторожно растворяют клеточные стенки. Подобная «голая» одиночная клетка способна делиться и размножаться, образуя в питательном растворе скопление клеток (каллус). После добавления определенных питательных и ростовых веществ из этого клеточного скопления спустя некоторое время вновь возникают полноценные растения! Таким путем из 1 г растительных клеток в пробирке можно вырастить тысячи растений. Подобным образом уже были размножены земляника, спаржа, ананас, люцерна и декоративные растения. Теперь на 1 м<sup>2</sup> лабораторной площади можно за короткий срок вырастить 100 000 таких растений, причем все из клеток одного «суперрастения». Получаемое потомство называют «клон» (*от греч. клон — ветвь*). Все они — как однойцевые близнецы — имеют одинаковый наследственный материал. Например, путем «клонирования» удалось произвести 1000 молодых масличных пальм, которые были высажены в Юго-Восточной Малайзии. Эти пальмы — прямые потомки одной

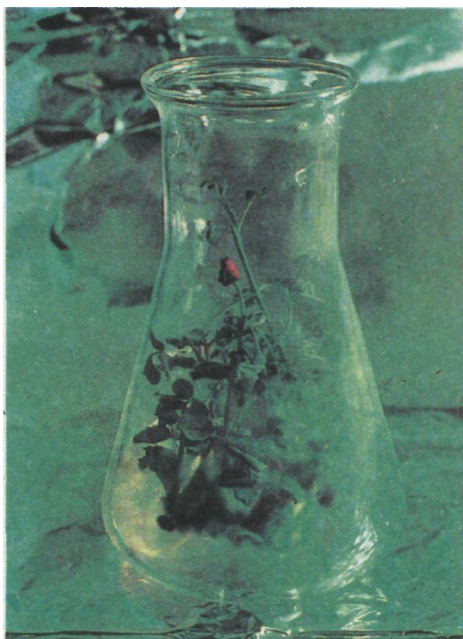
#### *Клонирование растений.*

*На первом этапе (вверху слева) от растения, которое предполагается размножить, отрезается лист. В растворе, содержащем ферменты, разрушающие клеточные стенки, образуются тысячи одиночных «голых» клеток (протопластов), не имеющих стенок. В питательном растворе протопласты образуют новые клеточные стенки, клетки начинают делиться (внизу справа). Приблизительно через две недели из каждой отдельной клетки возникает скопление клеток (каллус) (внизу слева). Каллус помещают на особую питательную среду, где он развивается в полную силу и начинает образовывать побег (в центре слева). На другой питательной среде побег вырастает в маленькое растение с корнями, которое затем высаживают в землю (вверху слева). Так из одного-единственного листа в самое короткое время можно вырастить тысячи новых растений со свойствами материнского растения. - Рис. на след. странице.*

пальмы, оказавшейся необычайно устойчивой против болезней, а также дававшей на 20—30% больше пальмового масла, чем обычно.

Если растительные клетки удастся, подобно микроорганизмам, культивировать в питательных растворах, то почему бы не попробовать также изменять их при помощи генно-инженерных методов? Растения, устойчивые против засухи и средств защиты растений (гербицидов), растущие даже на засо-





В культивационном сосуде крошечная роза, возникшая в результате клонирования.

ленных почвах и отличающиеся большим содержанием белка — таковы некоторые цели, намеченные специалистами по генной инженерии. К сожалению, в растительные клетки нельзя непосредственно ввести плазмиды, как это имело место у бактерий. Однако ученые и здесь отыскивали «кукушку» для генов: широко распространенную почвенную бактерию *Agrobacterium tumefaciens*. Эта бактерия инфицирует растительные клетки и побуждает их к беспорядочному опухолеобразному росту и образованию «галлов»\*. В галлах гены бактерий с помощью бактериальных плазмид проникают в клетки растений. Затем измененные растительные клетки галлов клонируют в пробирке, как описано выше, и вновь выращивают из них целые растения. Таким образом, культурным растениям действительно можно передать такие свойства, как повышенная продуктивность белка или связывание азота воздуха, или устойчивость против засухи и вредителей.

Из чисто научного интереса была сделана попытка включить в растения табака гены светлячка. Подвергнутые подобным манипуляциям табачные растения испускали в темноте зеленовато-желтое сияние — доказательство того, что эксперимент удался.

### **Микробы против вредителей**

В некоторых африканских странах насекомые или грызуны уничтожают около 60% урожая. В Европе потери урожая составляют от 25 до 40%. Кроме того, в тропических странах насекомые представляют опасность как переносчики малярии (комары рода *Anopheles*) или сонной болезни (муха цеце). Малярией впервые заболевают ежегодно 300 млн. человек; по своим масштабам малярия занимает первое место в мире среди других болезней на Земле.

Для борьбы с насекомыми используются различные химические препа-

\* Галлы — болезненные наросты на растениях.— *Прим. перев.*

раты, называемые инсектицидами; ежегодные затраты на эти средства составляют ~ 2,5 млрд. долл. Однако при этом погибают не только вредители, но все другие насекомые, входящие в контакт с инсектицидами. Тем самым инсектициды нарушают совместную среду обитания животных и растений, происходит постепенное отравление насекомоядных животных, особенно птиц. Инсектициды в конце концов попадают и в воду, и в нашу пищу. Кроме того, примерно на 400 видов насекомых инсектициды уже не оказывают никакого воздействия, так как эти виды стали устойчивыми к применяемым препаратам. Для того чтобы бороться с этими устойчивыми видами, необходимо увеличивать дозировку яда, либо применять новые инсектициды. Поэтому во многих странах занимаются поиском безвредных для окружающей среды биологических методов борьбы с вредителями.

В настоящее время в Советском Союзе и США уже выращивают «поточным методом» миллионы крохотных (длина не более 1 мм) наездников-трихограмм и переносят их на поля, пораженные вредителями. Каждая трихограмма-самка прокалывает до 300 яиц других насекомых и откладывает в них свои яйца. Вышедшие из яиц-паразитов гусеницы-трихограммы пожирают содержимое яйца хозяина.

Бактерии, грибы и вирусы также используются для борьбы с вредителями. Так, *Bacillus thuringiensis*, которая стала известна в Тюрингии как истребитель личинок моли, прекрасно зарекомендовала себя и как «убийца» гусениц. Водными взвешьями этих микробов опрыскивают поля, и гусеницы поедают их вместе с кормом. Микробы образуют ядовитые кристаллы белка, которые разрушают кишечник гусениц, вызывая их гибель. В настоящее время *Bacillus thuringiensis* выращивают в биореакторах. Одной тонны микробного препарата достаточно, чтобы очистить от вредителей 300 га леса, свекловичных полей, посевов хлопчатника или плантаций плодовых деревьев!

Удалось также передать ген, контролирующий образование ядовитых кристаллов белка от *Bacillus thuringiensis*, бактериям, заселяющим корни (*Pseudomonas fluorescens*). Теперь гусеницы озимой совки, повреждающие хлебные злаки посредством погрызов корней, погибают, если только поглотят вместе с пищей бактерии *Pseudomonas*, трансформированные генно-инженерными методами.

Было испробовано совместное применение наездников-трихограмм и бацилл против капустниц. При этом «наездники» снижают количество яиц бабочек, бациллы же убивают только что вылупившихся гусениц. Новые бактериальные штаммы действуют специально против колорадского жука. Насекомых, питающихся на лесных деревьях, например трубноверта дубового или различные виды шелкопрядов, можно ликвидировать так же направленно, как домашних мух, златогузок или комаров *Anopheles*, не затрагивая существования других насекомых, в частности пчел. В Советском Союзе против непарного шелкопряда и монашенки, а в США против шиповатого червя успешно применяют вирусы. Для борьбы с колорадским жуком, яблонной плодовой жорткой и комарами используются микроскопические грибы.

Так называемая биологическая защита культурных растений направленно нацелена против вредных насекомых, характеризующихся массовым размножением. При этом не нарушается уравновешенное совместное обитание всего живого и, кроме того, в нашу природную среду не попадают ядовитые вещества.

## **«Противоморозобойные» бактерии**

К большим потерям урожая помимо вредителей приводят также неожиданные ночные заморозки весной или ранней осенью. Но холод повреждает растения лишь в том случае, если на растениях и внутри их различных частей (корни, стебли, листья) образуются кристаллы льда.

Было обнаружено, что на растениях живут и выделяют белки миллиарды бактерий вида *Pseudomonas syringae*. Вокруг этих так называемых бактерий — «льдообразователей» и их белков при минусовых температурах формируются кристаллы льда. Эксперименты показали, что если избавиться от этих бактерий, то на растениях не образуется кристалликов льда вплоть до  $-8^{\circ}\text{C}$ . И напротив, в присутствии бактерий — «льдообразователей» на растениях уже при температурах, близких нулю, возникают кристаллы льда, повреждающие растительные ткани. Этим «вредным» бактериям найдено и полезное применение: их добавляют к воде в «снеговых пушках»; даже при небольшом охлаждении они способствуют образованию снега, необходимого для создания снеговых покрытий с целью обеспечения условий для занятия зимними видами спорта.

Однако более интересна другая идея: была сделана попытка трансформировать генно-инженерными методами бактерии — «льдообразователи», а именно направленно вырезать из бактериальной ДНК ген, контролирующий образование «ледового» белка. После этой «операции» бактерии уже не могли продуцировать «ледовый» белок. И действительно, вокруг этих измененных бактерий уже не образовывались кристаллы льда! Для пробы эти бактерии были использованы для опрыскивания посадок земляники. Оказалось, что «противоморозобойные» бактерии подавили развитие бактерий — «льдообразователей» и предохранили растения от внезапных понижений температуры. В данном случае земляничные растения служили всего лишь в качестве экспериментальных растений, поскольку основная задача состоит в защите от заморозков апельсиновых, грейпфрутовых и лимонных деревьев. Не исключено, что в будущем эти растения, чувствительные к минусовым температурам, можно будет выращивать на территориях, находящихся на несколько сот километров севернее.

Эти возможности еще проверяются. Дело в том, что некоторые исследователи опасаются, что новые микробы могут распространиться по всему миру и нарушить природное равновесие различных видов. В этой связи биотехнологи несут особую ответственность, ведь надо гарантировать, что новые микробы вполне безопасны, и не допускать нанесения ущерба природе и человеку.

## **Чистая вода благодаря работе микробов**

В 1892 г., а это в общем-то не так уж и давно, жители Гамбурга полагали, что они могут брать воду для питья непосредственно из рек Эльба и Альстер. Но такие представления имели трагический конец — жителей Гамбурга «косила» холера. Вода многих рек давно уже перестала быть чистой; это была среда обитания микробов, в том числе и опаснейших возбудителей холеры. В больших городах очистка сточных вод стала обязательной. Сегодня каждый городской житель ежедневно «продуцирует» 150—200 л сточных вод. При производстве 1 т бумаги объем сточных вод примерно такой же, как



объем бытовых сточных вод от 1000 человек, и нередко сток одного химического предприятия соответствует по объему стокам города с миллионным населением.

Естественной самоочищающей способности рек, обусловленной деятельностью микроорганизмов, теперь уже не хватает, поэтому сточные воды приходится разлагать с помощью микроорганизмов в гигантских очистных сооружениях с тем, чтобы стоки можно было вновь спускать в реки и озера без ущерба для природной среды.

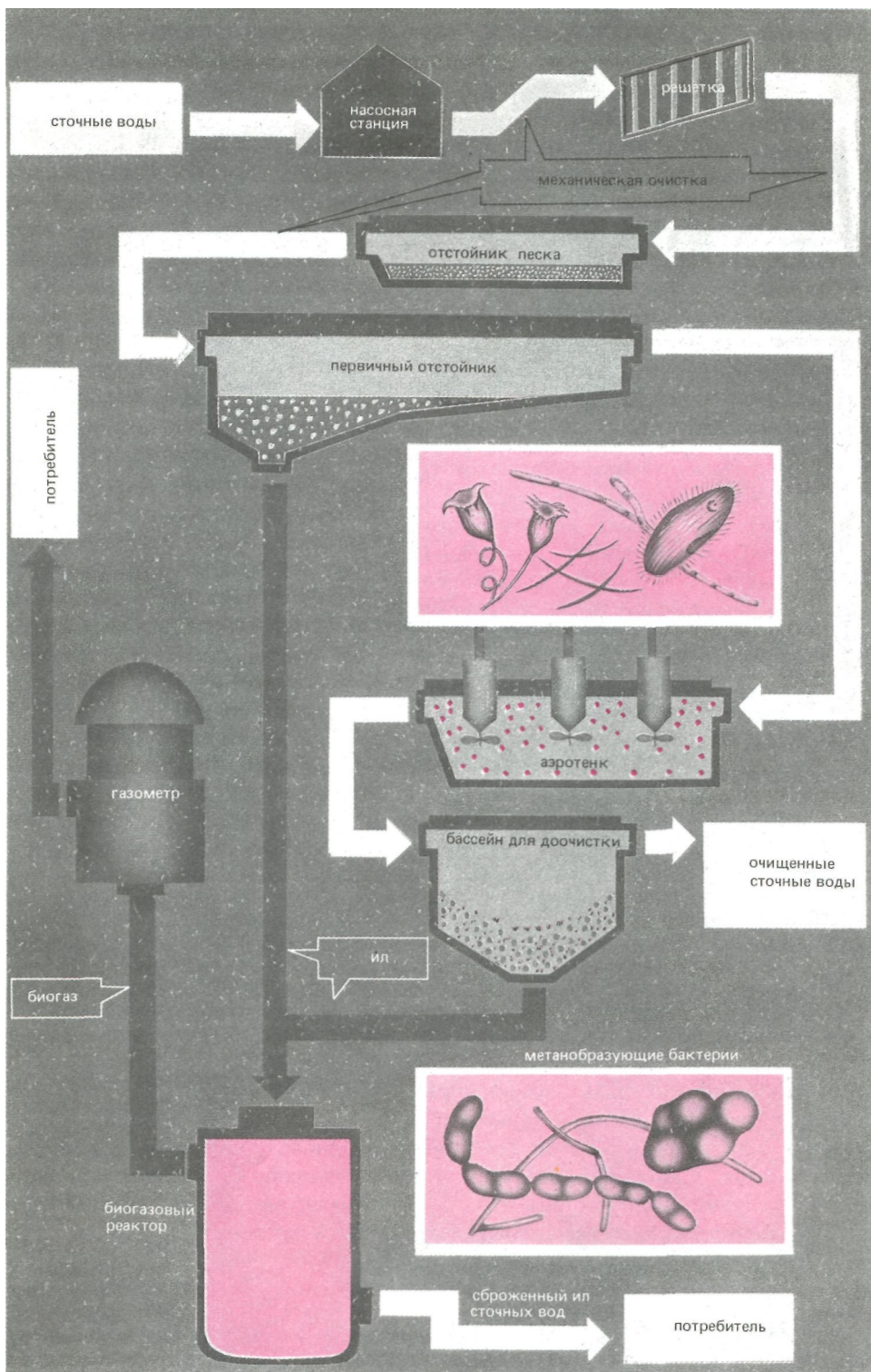
При очистке сточных вод микроорганизмы проделывают особенно трудную работу. Потребляя кислород в процессе дыхания, они с его помощью разлагают содержащиеся в сточных водах сахара, жиры и белки до углекислого газа и воды и на этой основе растут и строят свои новые клетки. Очистные установки предоставляют им наилучшие условия для развития, размножения и для деструктивной деятельности. Это гигантские «биофабрики», и их «биопродуктом» является чистая вода.

При очистке сточных вод прежде всего из них удаляются макрозагрязнения: бумага, куски дерева, обрывки материи. Тяжелые частицы песка осаждаются в пескоуловителе. Лишь после этого более легкие взвешенные частицы концентрируются на дне отстойника в илоуловителе. Далее сточные воды поступают в аэротенк\*, где поддерживаются идеальные условия для жизнедеятельности микробов. В аэротенке бактерии, дрожжи и грибы образуют с веществами сточных вод большие хлопья («активный ил»), которые не распадаются благодаря слизи, выделяемой бактериями. Основная проблема этого биопроцесса связана со снабжением микробов кислородом. На расщепление 1 г сахара микробы расходуют более 1 г кислорода, а растворимость кислорода в воде при нормальной температуре составляет всего лишь 9 мг/л. Поэтому очень скоро после начала микробиологического процесса весь содержащийся кислород будет полностью израсходован микроорганизмами. Таким образом, для успеха дела сточные воды в аэротенке должны постоянно перемешиваться и обогащаться кислородом. Кстати, человек продуцирует за сутки столько сточной воды, что на ее разложение микроорганизмы расходуют 54 г кислорода. Для обеспечения аэрации сточных вод аэротенк снабжен вращающимися щетками, лопастями, а также трубой, через которую в воду нагнетается воздух. Воздух постоянно «завихряет» хлопья активного ила, благодаря чему они не достигают слишком больших размеров, остаются взвешенными и хорошо обеспечиваются кислородом. Микробы хлопьев поглощают вещества сточных вод, разлагают их в процессе дыхания и при этом размножаются.

Часть микробных хлопьев осаждается затем во вторичных отстойниках в виде ила. Меньшую часть возвращают в аэротенк для того, чтобы иметь достаточное количество микробов для окисления вновь поступающих сточных вод. Весь осадок, собранный из первичного и вторичного отстойников разлагается в септиках или метантенках\*\* метанобактериями до образования «биогаза» (метана). Этот газ может быть очень рационально использован путем сжигания для получения тепла. Остаточный «переброженный» ил высушивают и нередко применяют в качестве удобрения.

\* Аэротенк — аэрируемый резервуар.— *Прим. перев.*

\*\* Септик и метантенк — сооружения для сбраживания с помощью микроорганизмов осадка сточных вод.— *Прим. перев.*



Резервуары очистных сооружений занимают большую площадь; это условие, однако, трудно выполнить в промышленных районах. Поэтому за последние годы биотехнологами для очистки сточных вод были разработаны «малогобаритные» башенные биореакторы высотой примерно 15—20 м.

Сточные воды промышленных предприятий нередко содержат трудноразлагаемые вещества и яды, например синильную кислоту и соединения ртути. Эти вещества не разлагаются «нормальными» микробами, они далее убивают многие микроорганизмы. Поэтому идут поиски новых высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, которые могли бы утилизировать и эти ядовитые примеси. Например, индийский биотехнолог профессор Ананда Чакрабартти выделил «супербактерии», способные расщеплять высокотоксичное средство 2,4,5-Т \*, которое США применяли во время войны во Вьетнаме для того, чтобы вызвать «листопад» в больших массивах джунглей \*\*. Профессор Чакрабартти выделил также подлинных «пожирателей» нефти. Эти бактерии с «жадностью» набрасываются на ядовитые нефтяные остатки. Они применяются для быстрого разложения нефти в случае катастроф с нефтяными танкерами, когда огромные площади моря находятся под угрозой загрязнения нефтепродуктами. Впоследствии микроорганизмы, размножившиеся в огромных количествах, поедаются другими морскими животными и благодаря этому быстро исчезают. Но катастрофы, происходящие с танкерами, это всего лишь малый процент нефтяных загрязнений. Ежегодно в моря попадает примерно 6 млн. т нефти, четвертая часть этого количества — в результате очистки порожних танкеров в открытом море, треть — со сточными водами, приносимыми реками. Кстати, «нефтееды» профессора Чакрабартти являются первыми в истории «новообразованными» живыми существами, на которые был выдан патент.

В Институте биотехнологии в Лейпциге были выделены штаммы бактерий, поглощающие и откладывающие в своих клетках ртуть. Если этих «собираателей ртути» осадить на фильтре, то тем самым можно вновь уловить ртуть из сточных вод. Водоросли тоже обладают способностью накапливать в своих клетках ртуть, свинец и серебро и благодаря этому очищать сточные воды.

И все-таки самый короткий и простой путь к тому, чтобы защитить водный бассейн нашей планеты, это разработка таких производственных процессов, которые вовсе не выделяют вредных продуктов в окружающую среду! Именно этой цели Желают достичь биотехнологи.

## **Биосенсоры: о загрязнении сигнализируют микробы**

Откуда же, собственно говоря, становится известно, насколько велико загрязнение сточных вод?

Сточные воды на содержание разлагаемых и токсичных веществ могут ана-

\* 2,4,5-Т — трихлорофеноксисукусная кислота. — *Прим. перев.*

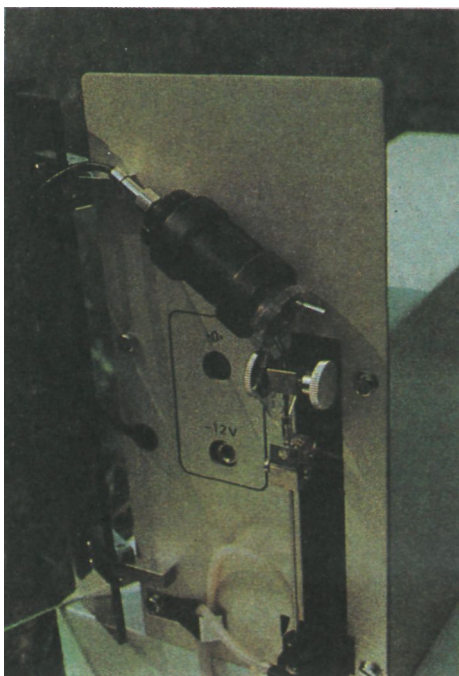
\*\* Химические препараты из группы пестицидов, вызывающие старение листьев — искусственный листопад, известны под названием дефолианты. Применяются в сельском хозяйстве в предуборочный период для дефолиации растений (удаления листьев), в основном у хлопчатника. — *Прим. перев.*

*Самые крупные промышленные биопредприятия в мире — это предприятия для очистки сточных вод. Их главный продукт — чистая питьевая вода. В качестве побочных продуктов могут вырабатываться биогаз (для энергетических целей) и удобрения. - Рис. на пред. странице.*



Биосенсорная система ECA-20, созданная в ГДР. 8 течение одного часа с помощью этой системы, работающей в автоматическом режиме, можно выполнить полный анализ на глюкозу в 150 пробах крови. Прибор снабжен микрокомпьютером; после погружения отстойка пробоотборника в пробу крови результат анализа уже через 5 с появляется на электронном табло, а затем выдается в виде распечатки на диаграммной ленте.

лизировать сами микробы. Для этого отбирают пробы сточных вод. Сначала в каждой пробе определяют концентрацию кислорода, затем в пробы вносят микробов, живущих в сточных водах, бутылки с пробями плотно закрывают и спустя 5 сут вновь определяют в каждом сосуде содержание кислорода в пробах. В пробах с высокой степенью загрязнения содержится много питательных веществ, следовательно, здесь микроорганизмы потребляют больше кислорода, чем в сосудах с «чистыми» сточными водами. Но 5 сут — это слишком продолжительный срок. За это время сильно загрязненные сточные воды успевают поступить в реки в огромных количествах. Значит, нужен более ранний «предупредительный сигнал»!



«Мозгом» биосенсорного устройства является чувствительный электрод, на котором в тонком слое между полупроницаемыми мембранами находятся ферменты (например, фермент глюкозооксидаза для измерения количества глюкозы) или живые микробы (для определения степени загрязнения сточных вод). Электрод преобразует сигнал, полученный от ферментов или микробов, реагирующих селективно только на «свой» компонент испытуемой пробы, в электрический сигнал. Определяемые вещества (например, глюкоза) легко проникают через поры полупроницаемой мембраны, в то время как обладающие гораздо большей пространственной структурой ферменты или микробы удерживаются мембраной на электроде, благодаря чему небольшие количества ферментов или микробов могут быть тысячекратно весьма экономично использованы для новых измерений.

В течение последних 10 лет были сконструированы «биосенсоры» — биологические измерительные зонды, которые в пределах нескольких минут показывают степень загрязнения сточных вод. Биосенсор — это электрод, соединенный с электронным табло, на котором появляются сведения о содержании кислорода в данной жидкости. На поверхность этого электрода наносится тонкий слой микробов, живущих в сточных водах, микробы удерживаются на электроде при помощи плотного фильтра. Погрузив такой биосенсор в жидкость, можно непосредственно «измерить» дыхание микробов. В том случае, когда биосенсор находится в чистой воде, микробы почти не дышат, поскольку слишком мало питательных веществ находится в их распоряжении, и биосенсор подает совсем слабый сигнал. Напротив, если биосенсор погружен в пробу сточных вод, содержащую много питательных веществ (то есть сильно загрязненную), то микробы получают много «корма», они дышат более интенсивно, потребляют больше кислорода и биосенсор реагирует сигналом большей силы. При этом способе контроль сточных вод может быть осуществлен за одну минуту.

С помощью таких же биосенсоров можно определять и концентрацию питательных веществ в биореакторе. Существуют биосенсоры, работающие на основе ферментов, извлекаемых из микробов. Например, прибор с биосенсором, несущем на поверхности своего электрода фермент глюкозооксидазу, за 1 ч может с большой точностью определить более чем в 100 пробах крови или мочи, не содержится ли в них повышенное против нормы количество сахара, то есть диагностировать заболевание сахарным диабетом. Биосенсоры особенно пригодны для серийных анализов, с их помощью можно за короткий срок проверить здоровье тысяч людей.

## **Возобновляемые источники энергии. Что это?**

В Бразилии сотни тысяч автомашин работают на «новом горючем». Это горючее — этанол (этиловый спирт)! Толчком к внедрению спирта в качестве моторного топлива послужил энергетический кризис, разразившийся в семидесятых годах, когда цены на нефть на мировом рынке внезапно сильно поднялись. В Бразилии добывается мало нефти, поэтому импорт нефти вскоре стал тяжким бременем для этой страны. В поисках выхода для Бразилии было запланировано производство спирта из растительного сырья.

Благодаря значительной протяженности и тропическому климату Бразилии разведение сахарного тростника на огромных площадях не представляет в этой стране никаких технических трудностей.

В этом крупнейшем в мире биотехнологическом проекте тростниковый сахар сбраживается с помощью дрожжей, образуя спирт. В 1985 г. было получено 10 млрд. л спирта! Таким образом, Бразилия — самый крупный производитель спирта в мире.

Помимо сахарного тростника, который хорошо растет только на плодородных почвах, предлагается также ввести в производство крахмалистое растение кассаву (маниок). В отличие от сахарного тростника картофелеподобные растения кассавы растут и на скудных почвах. Но у них сначала приходится расщеплять крахмал с помощью амилаз до Сахаров, которые потом уже сбраживаются дрожжами до спирта.

До сих пор считалось, что бразильский вариант биотехнологического решения топливной проблемы был наилучшим. Однако получилось, что в Бразилии



*Автомобиль с двигателем, работающим на этаноле, на плантации сахарного тростника — сырья для производства этанола — горючего для автомобилей (Бразилия).*

огромные площади пахотной земли засеяны «автомобильным кормом». Чтобы произвести количество спирта, достаточное для удовлетворения годичной потребности в горючем автомобиля с пробегом, равным 12 000 км, нужно собрать растения с 13 000 м<sup>2</sup> пашни. Между тем для годового питания одного человека требуется всего 800 м<sup>2</sup>. Другими словами: один автомобиль отбирает пищу примерно у 18 жителей! А ведь в Бразилии миллионы людей страдают от недоедания! К этому добавляются и экологические проблемы: из экономических соображений промышленные стоки спиртовых заводов спускают в реки неочищенными, превращая их в мертвые воды, на огромных территориях вырубаются тропические леса, то есть погоня за спиртом приводит к нарушению хрупкого природного равновесия.

Тем не менее основная идея об освоении биологических источников энергии, которые в противоположность нефти и каменному углю постоянно возобновляются, имеет большую будущность. Во многих странах рационально перерабатывают на спирт непригодные к иному употреблению отходы сельскохозяйственной продукции. При переработке сахарной свеклы и сахарного тростника они накапливаются в виде мелассы, при производстве творога и сыров — в виде сахаросодержащей сыворотки.

Однако спирт служит не только для получения энергии, его используют также в промышленности в качестве растворителя и в качестве исходного материала для получения красителей, искусственных волокон, клеев и косметических изделий.

Древесные отходы также могут быть расщеплены ферментами до сахаров. В некоторых странах, богатых лесом, закладывают даже «энергетические плантации». Это быстрорастущие породы деревьев, древесина которых каждые 3—5 лет регулярно «собирается» и перерабатывается в сахар, используемый в ка-

честве источника питания для микроорганизмов. Правда, для многих развивающихся стран древесина стала таким же дефицитным товаром, как в иных регионах продукты питания. В некоторых засушливых районах Африки годовое потребление дров на душу населения только для приготовления пищи составляет всего 0,5 м<sup>3</sup>. Последние леса «сжигаются», пустыня продвигается все дальше. Но чем же завтра будут люди отапливать свои очаги? Биотехнология и здесь предлагает выход: получение биогаза.

### **Биогаз спасает тропические леса**

«Блуждающие огоньки», известные из сказок и саг, зажигались там ведьмами и кобольдами \*, чтобы заманить и погубить добрых странников; в основе народного эпоса лежат вполне реальные факты: в болотах при недостатке кислорода из отмерших частей растений при участии микроорганизмов образуется болотный газ — метан, который способен самовоспламениться; тогда-то и возникает «блуждающий огонек». Если «взболтать» ил в какой-нибудь трясине, то можно почувствовать запах «биогаза».

Метанобактерии, продуцирующие биогаз, очень чувствительны к кислороду. Предполагают, что они жили уже в первичной атмосфере Земли. Тогда в атмосфере еще не было кислорода, зато имелись углекислый газ, водород; атмосфера имела такую температуру, которая как раз и необходима для развития метанобактерии. Если в настоящее время для них где-нибудь в болотах или искусственно в биореакторе создаются такие же условия, то они точно так же продуцируют метан. Правда, при этом они зависят от подготовительной работы других бактерий, которые прежде при помощи своих ферментов разлагают древесину, крахмал, белки и жиры на составляющие их строительные «блоки» и сбрасывают эти последние до уксусной или масляной кислоты, водорода или углекислого газа.

В природе в результате деятельности бактерий ежегодно образуется примерно 800 млн. т метана, это приблизительно столько же, сколько природного газа добывается людьми. В Китайской Народной Республике сегодня уже 5 млн. маленьких, по техническому выполнению очень простых установок поставляют биологически «добываемый» газ. Эти «биогазовые» установки представляют собой маленькие, герметически закрытые бачки, в которых встряхиваются экскременты животных и человека и растительные отходы. При нагревании баков бактерии образуют метан. Газ отводится и используется для варки пищи, отопления и производства электроэнергии. Биогаз — весьма ценное топливо. 1 м<sup>3</sup> биогаза дает столько же энергии, сколько получается при сгорании 1 л мазута. Оказалось, что вместо бестолкового сжигания сухого навоза, растительных остатков и лесной древесины можно получать энергию в виде биогаза из отходов! Производимый биогаз сгорает с образованием углекислого газа и воды, а в «биогазовом реакторе» остается естественное удобрение сапропель. Сапропель содержит крайне нужные растениям питательные вещества — азот, фосфор и калийные соли. Благодаря этому можно сократить импорт удобрений.

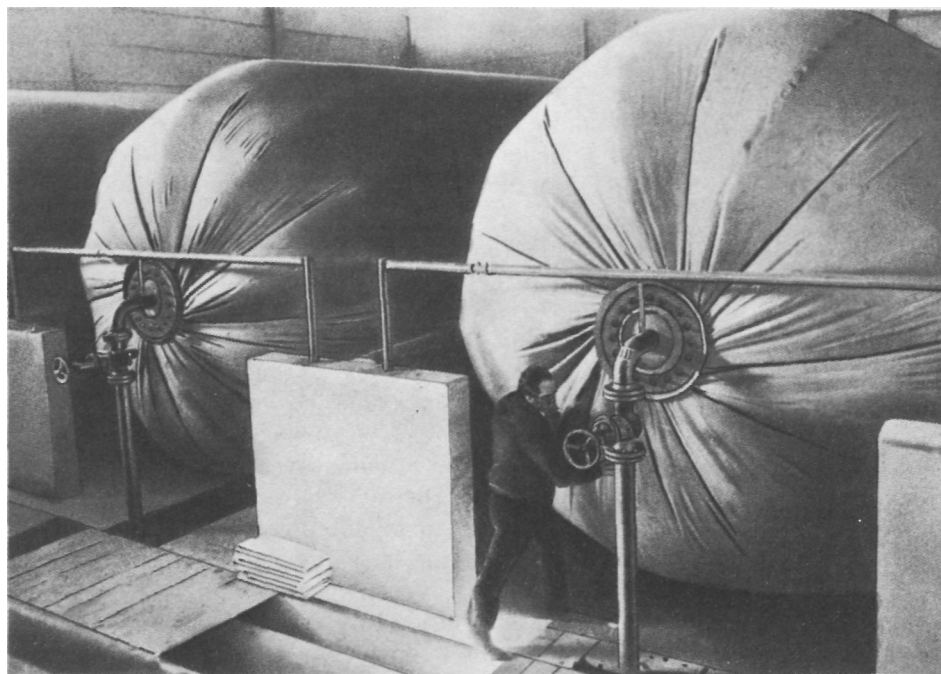
В Индии же все еще сжигают ежегодно 50 млн. т коровьего навоза и 30 млн. т других отходов, потому что многие крестьяне слишком бедны для того, чтобы самим приобрести биогазовую установку, и, кроме того, для получения доста-

\* Кобольды — горные духи в средневековой германской мифологии. — *Прим. перев.*

точных количеств биогаза необходимо держать несколько коров. А вот в Китайской Народной Республике нередко коллективно эксплуатируются крестьянами всей деревни большие «биогазовые» установки. «Биогазовые реакторы» одновременно служат и охране здоровья: ведь в герметически замкнутых резервуарах возбудители болезней убиваются высокой температурой брожения.

Итак, «биогазовые» установки выгодны жителям небольших поселков и деревень, особенно в жарких странах. Они не только не отнимают у людей, как это имеет место при производстве спирта из растений, пищи и лучшей пахотной земли, но даже повышают доходы от сельского хозяйства. Их широкое внедрение может помочь спасти тропические леса, приостановить наступление пустыни и с помощью удобрений сделать плодородными отдаленные территории.

В Европе «биогазовые реакторы» могут решить проблему отходов в больших животноводческих комплексах. Дело в том, что жидкие фекалии животных (навозная жижа) лишь частично могут быть применены в качестве удобрений, иначе они слишком перегрузят почву. Ведь за сутки от одной молочной коровы или 10 свиней скапливается до 45 л навозной жижи! Зато из этого количества можно получить 2 м<sup>3</sup> биогаза! Например, «биогазовая» установка вблизи Лейпцига производит метан из фекалий более чем тысячи голов крупного рогатого скота. Полученной энергии хватает на то, чтобы круглый год отапливать коровники.



Ежедневно в племенном свиноводческом хозяйстве в Рипперсхаузене (округ Зуль, ГДР), где откармливается 34 000 свиней, скапливаются 300 м<sup>3</sup> животноводческих стоков (фекалии и моча). До недавнего времени утилизация таких количеств полужидкого навоза вызывала большие затруднения. Теперь же с этой работой справляются 5 биореакторов, где навозная жижа разлагается микробами до биогаза, благодаря чему не происходит загрязнения окружающей среды. Ежедневная производительность этого биопредприятия 5500 м<sup>3</sup> биогаза, который используется как топливо в самом хозяйстве, что дает экономию 4000 т бурого угля.



## Бесшумная разработка месторождений

В последние годы добыча меди велась так интенсивно, что рудные месторождения с высоким содержанием металла стали большой редкостью. Горные разработки перемещаются во все более глубокие зоны. Энергетические затраты на разработку месторождений резко возрастают. Уже в XVIII в. испанцы добывали медь в своих рудниках близ Рио-Тинто в значительной степени из шахтной воды, содержащей медь. Вода уже выщелочила медную соль из горной породы. Однако всего лишь 25 лет тому назад еще никто не знал, что в этом процессе принимают участие бактерии: они способствуют превращению труднорастворимой в воде «меди» в водорастворимую солевую форму.

В настоящее время микробы целенаправленно применяются для выщелачивания руды и на их долю приходится уже 20% всей мировой добычи меди, в первую очередь из горных пород вскрышных отвалов с низким содержанием меди.

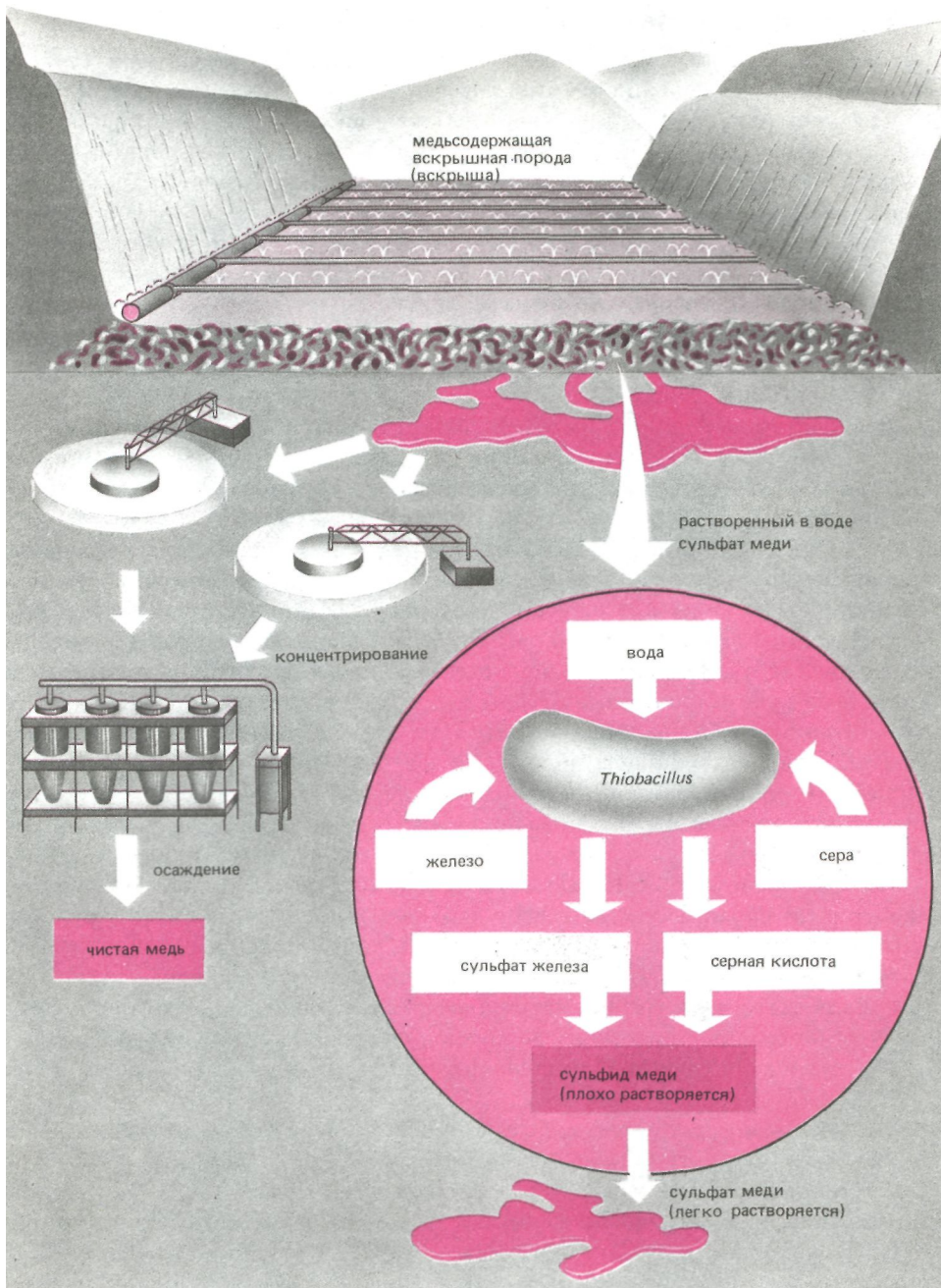
Именно бактерии рода *Thiobacillus* (от греч. theion — сера) помогают извлечь металл из породы. Они питаются не сахаром, а серой и железом! Они развиваются даже в присутствии сильных кислот, более того, они сами продуцируют серную кислоту.

При биологическом выщелачивании руды сначала переправляют на сборные пункты миллионы тонн вскрышных пород\*, содержащих серу и медь. Эти вскрышные породы содержат небольшие количества ценной меди совместно с железом. Известны отвалы высотой свыше 400 м, содержащие 4 млрд. т породы, которые ранее так и оставались бы неиспользованными. Их орошают и пропитывают тысячами кубометров воды. Отвалы вовсе не требуется предварительно заражать бактериями *Thiobacillus*, потому что эти бактерии присутствуют повсюду. В 1 г серосодержащей породы живет более одного миллиона клеток *Thiobacillus*. По мере проникновения воды бактерии размножаются. Эти крохотные помощники прежде всего переводят труднорастворимые соли железа в легко растворимую соль — сульфат железа с попутным образованием серной кислоты. Сульфат железа с помощью серной кислоты переводит содержащийся в горной породе нерастворимый в воде сульфид меди в растворимый сульфат меди. После этого у подножия отвала начинает просачиваться голубой раствор сульфата меди, который собирают в огромных сборниках. Теперь с помощью какого-нибудь технического приема можно легко получить чистую медь. Остаточную, уже не содержащую медь, но содержащую серную кислоту и бактерии жидкость, образовавшуюся при выщелачивании руды, вновь разбрызгивают по отвалу.

Вполне возможно, что в будущем с помощью «биоразработки» месторождений можно будет получать также уран, цинк, свинец, никель и кобальт. По-видимому, и каменный уголь с высоким содержанием серы можно будет «обессеривать» путем воздействия серобактерий и тем самым делать его использование более безопасным для окружающей среды.

Еще более многообещающим, чем выщелачивание отвалов горной породы, является рудное выщелачивание непосредственно под землей. Для этого горную породу вовсе не нужно сначала извлекать на поверхность. Штольню просто обрызгивают или заливают водой. «Биоразработка» месторождений выгодна и на старых, уже заброшенных рудниках.

\* Вскрышные породы (вскрыша) — горные породы, покрывающие и вмещающие тело полезного ископаемого в массиве и подлежащие выемке при открытой разработке месторождения.—  
*Прим. перев.*



Получение меди из вскрышных пород с низким содержанием меди с использованием работы бактерий.

По всей вероятности, бактерии могут оказать помощь также в том, чтобы сделать горные работы более безопасными. В каменноугольных шахтах постоянно происходят серьезные катастрофы из-за устрашающего «рудничного газа»: газ метан, скапливающийся на дне выемок, воспламеняется в результате случайно проскочившей искры. В Советском Союзе в некоторых шахтных стволах и забоях были «распылены» бактерии, которые за 2—4 недели почти полностью превращают метан в негорючий углекислый газ.

Вероятно, в будущем микробы могут оказаться полезными и при добыче нефти. К настоящему времени добыто лишь около трети общих запасов нефти нефтяных месторождений, так как нефть лишь очень редко образует большие подземные «озера» и часто прочно связана в порах горной породы. Поэтому уже сегодня рядом с настоящей буровой скважиной в нефтяные пласты закачивают воду с тем, чтобы выдавить остаточную нефть. Но вода слишком «жидкая», она легко протекает сквозь нефтеносные «россыпи» горной породы. Нужно было сделать воду более «вязкой», и для этого было найдено средство — сахаросодержащее вещество, выделяемое бактериями рода *Xanthomonas*, почему оно и названо «ксантаном». Но сначала воду смешивают с поверхностно-активным («мыльным») веществом и смесь закачивают в нефтеносные породы, для того чтобы высвободить нефть из пор. Причем подобное «мыло» могут образовывать и сами бактерии. Только после этого заканчивается ксантановая вода, которая посредством высокого давления выдавливает нефть из буровой скважины. Существуют также проекты «закачки» микроорганизмов непосредственно в нефтеносные пласты при условии обеспечения их кислородом; при участии этих бактерий будут вырабатываться газы, которые благодаря создаваемому ими давлению заставят нефтяные источники «фонтанировать» более энергично.

Ксантан относится к самым первым продуктам, полученным в биореакторе, которые прежде были неизвестны. Пока что молодая биотехнологическая промышленностьставляет лишь некоторые из подобных новых «биопродуктов». Но уже сегодня они демонстрируют грандиозные возможности биопромышленности будущего.

# Новые продукты биопромышленности

## «Старая» и «новая» биотехнология

Огромная масса потребляемых нами продуктов — это биопродукты; они еще и сегодня производятся по проверенной тысячелетиями технологии, разработанной нашими далекими предками. Как уже говорилось в начале нашей книги, очень давно человек заставил работать на себя бактерии, дрожжи и другие микроорганизмы. Ежегодно во всем мире при участии микроорганизмов производятся примерно 100 млн. т хлеба и хлебобулочных изделий, 100 млн. т пива, 40 млн. т вина, 10 млн. т чистого спирта, 8 млн. т сыра, 800 000 т уксусной эссенции и свыше 1 млн. т пекарских дрожжей. Именно «трудом» микробов сегодня создаются гигантские количества этих продуктов, имеющих высокую стоимость.

Задействовав древние биотехнологические процессы, человек не догадывался, как и отчего они функционируют подобным образом. Лишь нашему современнику благодаря достижениям в области биологии удалось понять причинные связи в большинстве этих процессов. Теперь довольно подробно изучено, какие виды микробов могут быть использованы для определенных назначений, как «функционируют» сами микроорганизмы, как их ферменты обуславливают в минимальном (клеточном) объеме сложнейшие превращения веществ.

В отличие от старых биотехнологических производств в современной биотехнологии микробы используются осознанно и необычайно интенсивно: средствами селекции, фузии клеток и генной инженерии созданы высокопродуктивные штаммы микробов, которые по производительности тысячекратно превосходят своих природных «собратьев». Более того, создаются новые микробы, вырабатывающие в большом количестве вещества «высших» живых существ и человека. Микроорганизмы, трансформированные генно-инженерными методами, могут вырабатывать даже такие вещества, которых вообще не существует в природе. Для получения новых веществ наряду с микробными клетками в биотехнологии во все возрастающем количестве применяются также «более высокоорганизованные» клетки и ткани растений, животных и человека, «работающие» в питательных растворах вне организма, и, более того, даже отдельные части клеток.

Какие же компоненты клеток можно с наибольшей пользой применить для преобразования веществ вне клеток? Конечно, ферменты, эти биологические катализаторы клетки, которые обуславливают, регулируют и направляют все реакции, происходящие в клетке! По причине крошечных размеров и огромной эффективности их нередко называют «добрыми гномами» клетки.

## «Добрые гномы» в домашнем хозяйстве и в промышленности

Переваривание (утилизация) крахмала и белков происходит у людей и микробов одинаково, с помощью ферментов. В клетках и тех, и других работают амилазы, расщепляющие крахмал, и протеазы, расщепляющие белки. Кроме того, клетки способны выделять ферменты и в окружающую среду. У человека и высших млекопитающих ферменты выделяются, в частности, клетками поджелудочной железы в кишечник. Здесь крахмал и белки разлагаются на свои строительные «блоки» — сахара и аминокислоты — и легко усваиваются клетками кишечника. В свою очередь у микроорганизмов выделенные наружу амилазы и протеазы расщепляют крахмал и белки в непосредственной близости от микроорганизмов, и микробы поглощают потом «переваренные снаружи» строительные блоки.

Вскоре после того, как было установлено действие пищеварительных ферментов, удалось выделить секрет \* поджелудочной железы свиньи, который в высушенном и измельченном виде стали применять при расстройствах пищеварения.

Но если амилазы и протеазы так хорошо работают и вне клеток человека и микробов, то почему бы не попробовать применить их для других целей?

Уже в 1907 г. у Отто Рема, владельца небольшой фирмы, возникла гениальная идея. Известно, что содержащие белок пятна от пота, крови, яичного желтка или других пищевых остатков удаляются с белья с большим трудом. Рем предложил добавлять к обычному моющему средству порошок, полученный из поджелудочной железы свиньи. При замачивании сильно загрязненного белья в этом «ферментном» моющем средстве был получен удивительный эффект — пятна легко отмылись, так как протеазы поджелудочной железы расщепили белки на аминокислотные строительные «блоки». Так впервые было изготовлено моющее средство с биодобавками. Однако свое победное шествие моющие «биопорошки» начали лишь спустя 50 лет, когда взамен дорогого и не очень стабильного животного фермента удалось наладить массовое и дешевое микробиологическое производство подобных протеаз, в основном штаммов *Bacillus*. Эти *Bacillus* в отличие от большинства микробов предпочитают щелочную среду. И их протеазы лучше всего действуют в щелочных жидкостях, следовательно, они наиболее активны в мыльном растворе.

Сегодня около 80% всех выпускаемых моющих средств содержат протеазы. В 1980 г. во всем мире было получено около 50 т бактериальных протеаз для биомоющих средств. При этом ферменты содержатся в моющих средствах буквально в «следовых» количествах \*\*: на 1 кг моющего средства приходится 0,1 г фермента \*\*\*. И даже при таких малых биодобавках сильно загрязненное белье становится чистым. Ферменты моющих средств наиболее активны в температурном интервале 40—60° С. Таким образом, они еще помогают сэкономить энергию, которая в противном случае понадобилась бы для кипячения сильно загрязненного белья. Впрочем, при полоскании ферменты вновь удаляются из белья.

\* Вещества, в том числе и ферменты, выделяемые в организме железами внутренней секреции, называются секретом. — *Прим. перев.*

\*\* Следовые количества, или просто следы, — это характеристика содержания примеси в основном веществе. Принято называть примеси, содержание которых составляет  $10^{-1}$ — $10^{-3}$ %, следами,  $10^{-3}$ — $10^{-6}$ % — микроследами,  $10^{-6}$ — $10^{-9}$ % — ультрамикроследами. — *Прим. перев.*

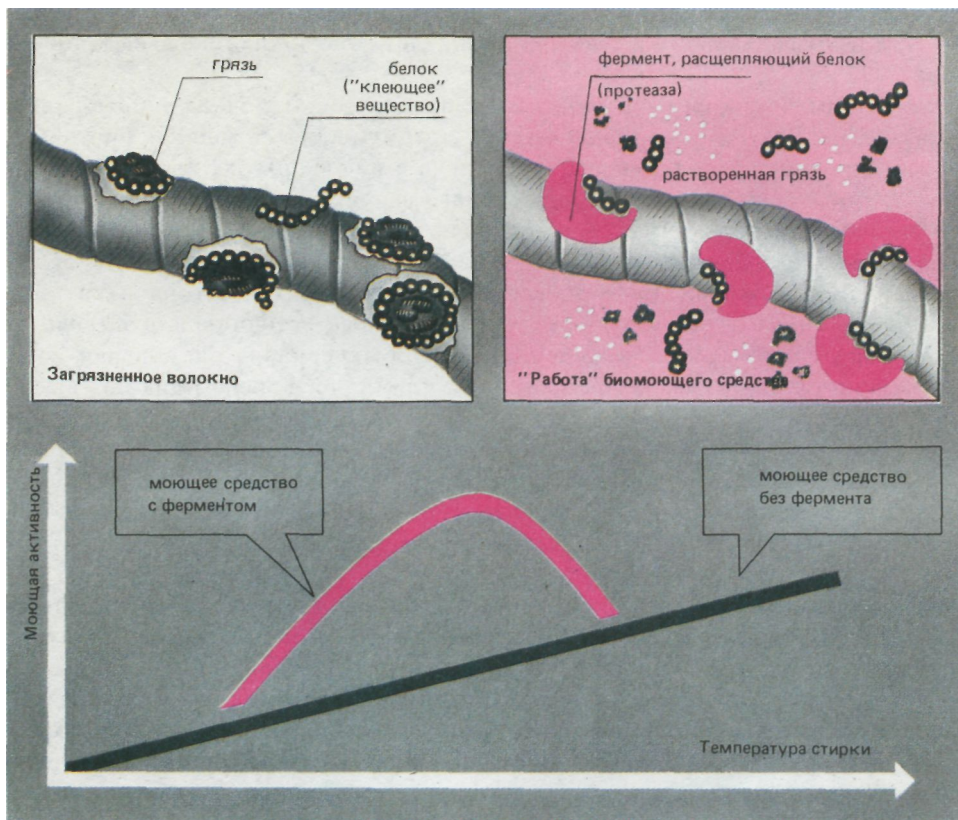
\*\*\* Это составляет 0,01 (т. е.  $10^{-2}$ )%. — *Прим. перев.*



*Отто Рем (справа) впервые применил ферменты в кожевенном производстве, а также как добавку к моющим средствам. Апробация предложенного Ремом метода дубления кож.*



*Первое моющее средство «Burnus» с биодобавками появилось в 1914 г. В качестве активных биодобавок использованы ферменты животного происхождения. Однако свое триумфальное шествие «биомоющие» средства начали лишь после того, как стало возможным получать биотехнологическим способом дешевые и устойчивые в мыльном щелоке ферменты микробов. (На плакате надпись: «"Burnus" чудесно стирает белье».)*



Принцип «работы» биомоющих средств (вверху). Сравнение эффективности обычных и «биологических» моющих средств (внизу).

В некоторых странах препарат протеазы продается также в качестве «размягчителя» мяса (тендеризатор; *от англ. tender* — нежный). Им посыпают мясо за несколько часов до приготовления. Ферменты расщепляют жесткие мышечные белки мяса и делают его нежным и сочным. Кстати, имеются и косметические средства для ухода за кожей, содержащие протеазы. При пользовании ими кожа становится свежей и розовой. Разумеется, эти мыла и кремы содержат совершенно ничтожные количества фермента!

В кожевенной промышленности протеазы микробного происхождения применяют для удаления со шкур волос и щетины и для дубления кож. Ранее для дубления применяли фекалии животных. Это была очень неприятная работа. И вот сегодня открыт секрет этого процесса: полезные свойства экскрементов, благодаря которым они использовались для дубления кож и удаления со шкур волос, основаны на том, что содержащиеся в них микробы выделяют протеазы.

В молочной промышленности также «работают» микробные протеазы: они расщепляют белок молока казеин, так как в связи с резко возросшим производством сыра сычужный фермент становится все менее доступным. Однако методами генной инженерии уже получены такие бактерии, которые продуцируют в биореакторах сычужный фермент животных. В сельском хозяйстве протеазы примешивают к животному корму, для того чтобы сделать его более усвояемым.

Воздействуя протеазами на отходы переработки рыбы, можно отделить белок «до костей» и превратить его в смесь аминокислот — отличная добавка к корму для скота.

Область применения ферментов, расщепляющих белки, далеко не исчерпана вышесказанным. Разумеется, предпосылкой к этому является мощная биотехнологическая промышленность, способная дешево и в больших количествах вырабатывать ферменты из микробов. Биотехнологи ведут интенсивный поиск таких микроорганизмов, которые продуцируют очень активные и стабильные ферменты. В качестве таких «рабочих лошадок» наиболее перспективны прежде всего микроорганизмы, выживающие в экстремальных условиях — в горячих вулканических источниках, в оттоках из рудных или серных источников, в бассейнах для добывания соли методом осаждения, в которых испаряется морская вода и остается кристаллическая поваренная соль, или же на морском дне под высоким давлением.

Однако часто даже не требуется снаряжать экспедиции к далеким вулканам для того, чтобы отыскать такие «живучие» микроорганизмы. В ГДР в Лейпцигском институте биотехнологии в «титане» с горячей водой были обнаружены бактерии, которые имели наибольшую активность при температурах между 75 и 92 °С.

Как же получают ферменты из микробов? Если речь идет о протеазах и амилазах, то относительно просто: микробы, в частности штаммы *Bacillus* или леечной плесени *Aspergillus*, выращивают в белковых или крахмальных смесях. Затем побуждают микроорганизмы к усиленному выделению в окружающую жидкость протеаз, расщепляющих белки, или амилаз, расщепляющих крахмал. После отделения микробных клеток получают смесь непотребленных питательных веществ и выделенных ферментов. Посредством центрифугирования тяжелые молекулы, в данном случае ферменты, осаждаются в виде концентрированного донного осадка. Потребителям они отпускаются либо в жидком виде, либо в форме высушенного порошка.

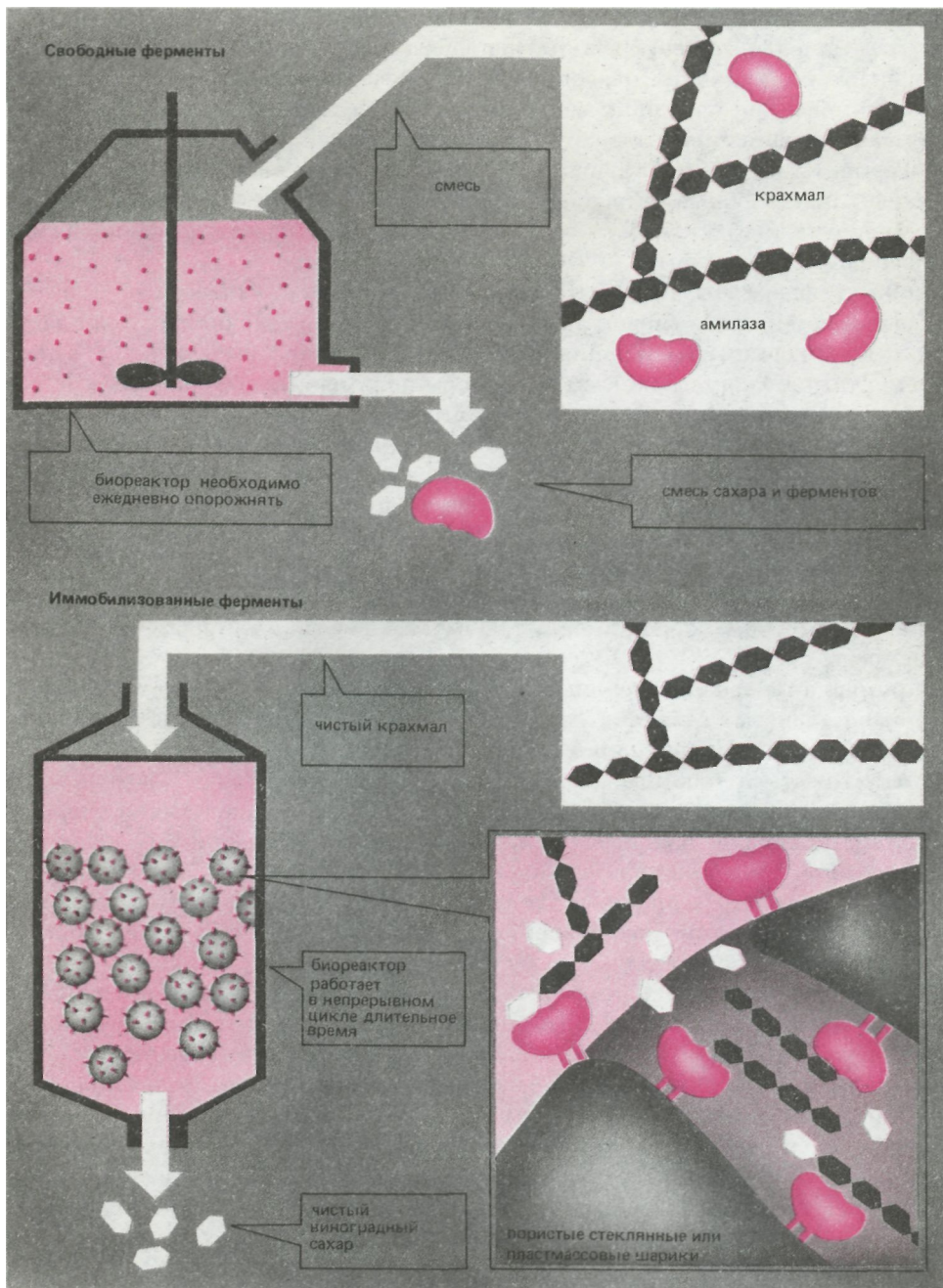
### **Ферменты «на привязи»**

«Переваривание» крахмала амилазами применяется при промышленном производстве виноградного сахара (глюкозы). Виноградный сахар получил свое название от винограда, в котором был найден впервые. В качестве строительного «блока» он содержится в свекловичном сахаре, молочном сахаре и крахмале.

Для получения виноградного сахара сначала распускают в воде белый безвкусный порошок кукурузного или картофельного крахмала, варят крахмальный клейстер и кипятят его несколько часов. Это делается для того, чтобы облегчить амилазам доступ к оптимальным участкам воздействия в молекуле крахмала. При температурах 35—60 °С к крахмальному клейстеру добавляют микробные амилазы. Через короткий срок весь крахмал разлагается до глюкозы, которую остается только очистить и высушить.

Однако в этом процессе имеется одна «загвоздка»: как и в случае с моющими средствами, ферменты могут быть использованы только единожды. И это очень досадно! Ведь они были бы в состоянии расщепить много больше крахмала, чем в этом одноразовом процессе. Однако пока что не удастся разработать дешевый способ извлечения ферментов из концентрированных сахарных растворов с целью повторного применения.





Сравнение эффективности применения растворимых амилаз и амилаз, адсорбированных (иммобилизованных) на пористых стеклянных шариках, для получения глюкозы из крахмала.

И вот в связи с этим в начале шестидесятых годов биотехнологам пришла в голову блестящая идея: они решили попробовать прикрепить ферменты к довольно большим, видимым невооруженным глазом шарикам таким образом, чтобы они могли по-прежнему исполнять свои функции, подобно тому как собака, посаженная на цепь, может по-прежнему лаять, а при случае и укусить. Такие ферменты уже не мобильны, то есть они не могут свободно перемещаться в растворе. Про подобные закрепленные молекулы говорят, что они иммобилизованы (неподвижны). Поэтому новый метод работы был назван методом с иммобилизованными ферментами.

Например, ферменты могут быть иммобилизованы путем химического связывания со стеклом или полимером в случае использования стеклянных или пластмассовых шариков; иммобилизация ферментов может заключаться также в том, что ферментные молекулы включаются в поры полимерных материалов. «Бегство» молекул ферментов и в том и в другом случаях становится невозможным. Шарики или пористые частицы имеют такие размеры, что могут быть без труда с помощью фильтров грубой очистки вновь выделены из биореакторов. После недолгого отмывания их можно опять применить в новом процессе; более того, многие ферменты в результате иммобилизации становятся даже стабильней, так как, располагаясь в порах губчатых материалов, они обретают защиту от разрушения «прожорливыми» микробами.

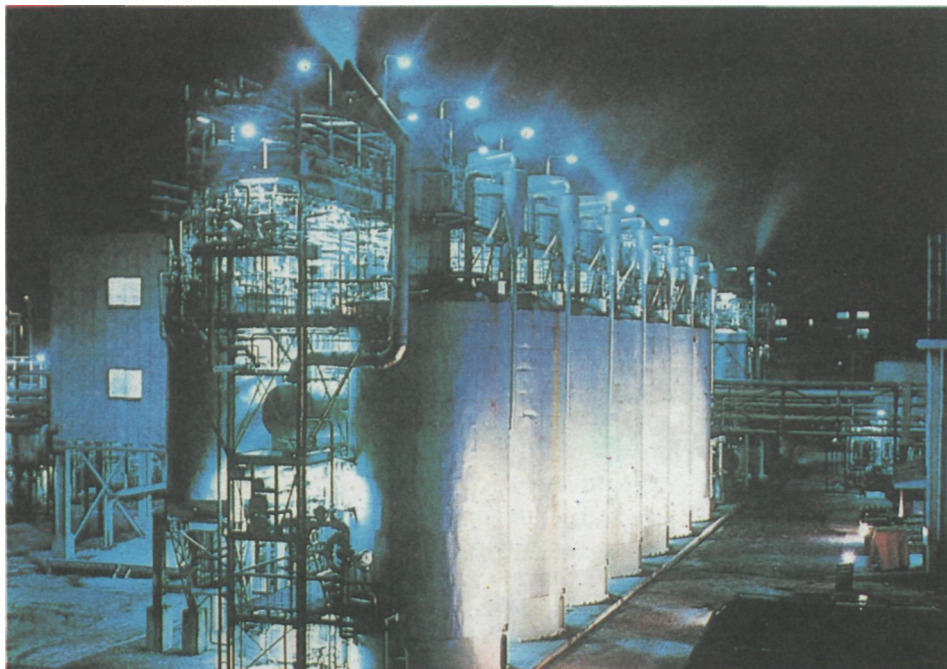
Теперь посмотрим, как применяются иммобилизованные ферменты в промышленности.

Например, амилазы, расщепляющие крахмал до виноградного сахара, иммобилизуют на пористых стеклянных шариках: они становятся прочно закрепленными на поверхности шариков и в их порах. Иммобилизованные таким образом ферменты (то есть стеклянные шарики, «содержащие» ферменты) загружают в большую стальную колонну биореактора. Через биореактор пропускают очищенный раствор крахмала. Амилазы, иммобилизованные на стеклянных шариках, расщепляют протекающий крахмал до глюкозы. Специально установленное сито препятствует тому, чтобы шарики покидали реактор вместе с раствором глюкозы. Такой проточный реактор может работать месяцами, пока не будут исчерпаны (то есть так или иначе потеряны в результате растворения, разрушения и т. д.) до конца все амилазы или пока в биореакторе не поселятся вредные микробы.

Виноградный сахар — это ценный продукт питания для грудных младенцев, больных людей, да и для спортсменов, так как он легко и быстро усваивается организмом. Но, к сожалению, он имеет только половинную сладость по сравнению со свекловичным или тростниковым сахаром. Это легко проверить: в двух стаканах воды растворить в одном ложку свекловичного, а в другом ложку виноградного сахара; попробовав «водичку» из того и из другого стакана, можно легко убедиться, что виноградный сахар совсем не дает привычной сладости.

### **Биотехнология для лакомок**

Кариес — разрушение зубов — одно из самых распространенных заболеваний человека, это своего рода «эпидемия» в современном обществе. Возникновение кариеса обусловлено деятельностью бактерий, которые питаются остатками сладкой пищи в полости рта. В результате бактерии образуют отложения и выделяют кислоты, разрушающие зубную эмаль. Поэтому наиболее частыми «жертвами» кариозных бактерий становятся любители сладостей. Борются с этими



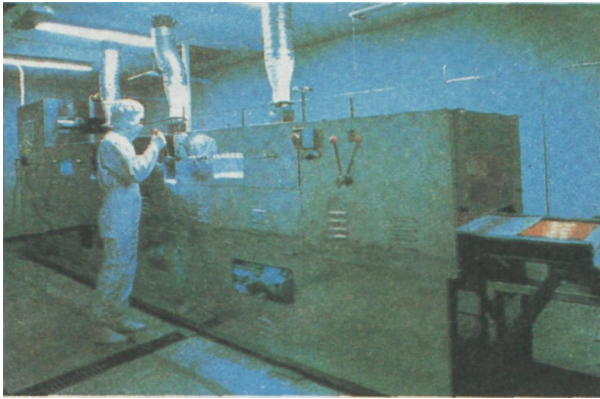
В таких гигантских биореакторах (высота 30 м, вместимость 240 м<sup>3</sup>) фирма Киова Хакко (Хофу, Япония) выращивает микробов, которые при участии кислорода ежегодно вырабатывают 20 000 т глутамата — соли глутаминовой кислоты (вкусовая добавка к пищевым продуктам) — и 10 000 т аминокислоты лизина, используемой как кормовая добавка.

бактериями можно при помощи чистки зубов и укрепления их путем приема фтора, а также путем сокращения потребления сахара.

Однако почти никто не проявляет большой охоты отказаться от сладкого. Поэтому уж давно идет поиск таких заменителей сахара, которые бы, не отличаясь от него по вкусу, в то же время не служили пищей кариозным бактериям, а также имели значительно меньшую калорийность (пищевую ценность), благодаря чему не способствовали увеличению массы тела «сладеньки». Хотя найденные ранее заменители сахара — цикламаты и сахарин — очень сладкие, но все же они не имеют вкуса «настоящего сахара» \*. Поиски новых веществ со сладким вкусом продолжаются. Это необходимо не только для лакомок, но и для миллионов больных «сахарной болезнью» (сахарным диабетом), для которых сахар может играть прямо-таки роль яда. Кроме того, к сожалению, все время возрастает число людей с избыточной массой тела; очень часто причина этого состоит попросту в том, что едят слишком много сахара и жиров. Виноградный сахар, образуемый из крахмала амилазами, видимо, не совсем подходит в качестве заменителя сахара из-за своего недостаточно сладкого вкуса; его применение, следовательно, приведет к увеличению доз, то есть опять-таки к избыточному поглощению питательных веществ.

Но вот в 1957 г. исследователи ферментов нашли у микробов новый

\* Цикламаты, соли цикламовой кислоты, как обнаружилось, имеют канцерогенные свойства, поэтому вообще не могут применяться в пищу.— *Прим. перев.*



*Это отнюдь не лаборатория в космосе, а установка для иммобилизации живых дрожжевых клеток на полимерных материалах. Здесь стерильные условия — главное и обязательное требование, поэтому японские служащие надевают защитную одежду.*

фермент — глюкозоизомеразу. Этот фермент преобразует виноградный сахар (глюкозу) во фруктовый сахар (фруктозу). Фруктоза же даже на 80 % слаще, чем свекловичный сахар! Следовательно, стоило «только» при помощи глюкозоизомеразы превратить глюкозу во фруктозу, чтобы появилась возможность получать из крахмала очень сладкий сахар.

В 1966 г. японские ученые впервые успешно получили фруктозный сироп из глюкозы. Этот фруктозный сироп был удивительно сладким на вкус и содержал меньше питательных веществ, чем свекловичный сахар, но зато был существенно дороже.

В 1974 г. мировые цены на свекловичный и тростниковый сахар неожиданно возросли в 7 раз. После этого многие фирмы по производству сахара почти сразу заинтересовались новым сиропом.

Но фермент был все еще очень дорог. Дело в том, что микробы не выделяли его в окружающую среду, подобно амилазам и протеазам, и поэтому его приходилось с большими трудностями изолировать из клеток микроорганизмов — из смеси тысяч различных веществ!

Поэтому исследователи решились иммобилизовать дорогую глюкозоизомеразу, что позволило использовать ее многократно. Кроме того, благодаря иммобилизации фермент стал более устойчивым. Итак, производство фруктозного сиропа налажено. Это было огромным достижением! Когда в 1976 г. цены на сахар вновь упали до прежнего уровня, фруктозный сироп был уже не только слаще, но благодаря различным техническим усовершенствованиям и дешевле, чем тростниковый и свекловичный сахар. Он одержал победу. Сегодня в мире при помощи иммобилизованной глюкозоизомеразы ежегодно получают 3 млн. т фруктозного сиропа, который применяется главным образом для производства безалкогольных (освежающих) напитков.

На приведенном примере с фруктозным сиропом можно со всей очевидностью понять, что разработка нового биотехнологического способа — это еще не все. Необходимо, чтобы новый биопродукт был лучше или по меньшей мере дешевле ранее получаемого продукта, иначе он не будет иметь успеха на мировом рынке.

В последнее время даже у фруктозного сиропа появился «биотехнологический конкурент» — было открыто новое сладкое вещество, которое в 200 раз слаще, чем сахар. Удивительно, что этот новый «сахар» представляет собой «мини-белок», его молекула состоит всего из двух аминокислотных остатков — строительных «блоков» аспартата и фенилаланина; вещество называется «ас-

партам». Обе «безвкусные» (несладкие) аминокислоты аспарагиновая кислота и фенилаланин продуцируются бактериями в биореакторах в громадных количествах порознь и лишь потом при помощи фермента связываются друг с другом в двухзвенную цепь. Именно эта двухзвенная цепь — молекула аспартама и обладает сладким (сахарным) вкусом. В отличие от других сладких веществ, таких, как сахарин или цикламаты, он имеет вкус «настоящего» свекловичного или тростникового сахара. Пока что аспартам дороже, чем фруктозный сироп. Но если только с помощью генно-инженерных методов удастся заставить микробов производить аспартам сразу «в готовом виде» либо вырабатывать более дешевым способом и в еще больших количествах оба аминокислотных блока по отдельности, то не исключено, что аспартам вскоре «победит» своих сладких «конкурентов». Чтобы подсластить чашку чая, достаточно такого количества аспартама, которое, усваиваясь организмом, соответствует поглощенной энергии всего лишь в 4 Дж (примерно 1 кал)!

### **Микробы как приправа в супах**

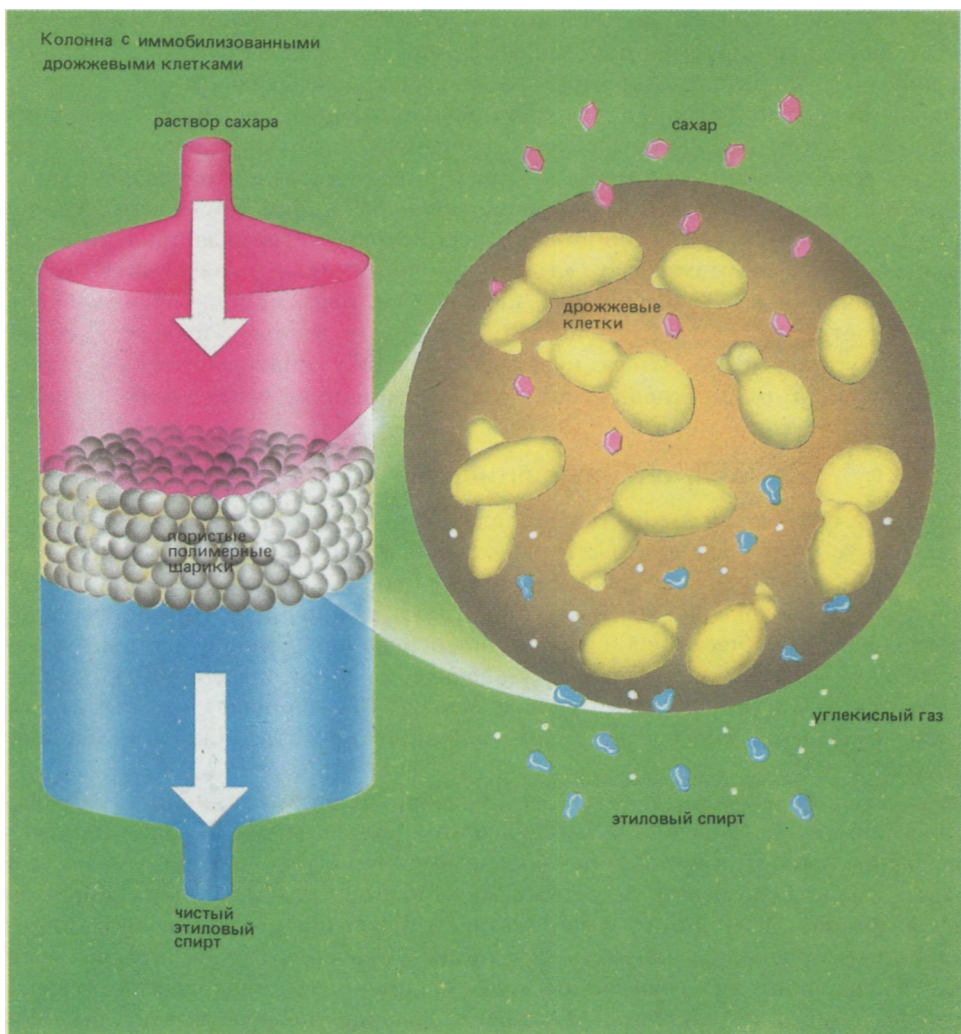
Аминокислоты могли бы не только делать сладким наш чай или кофе, но и улучшать вкус в качестве приправы нашего обеда. Одна из аминокислот в виде своей соли глутамата уже сегодня имеется в каждой кухне в качестве приправы. В Европе глутамат пока еще чаще всего получают из пшеницы. Но мировое производство, составляющее 500 000 т ежегодно, основано почти повсюду на микробиологическом способе с помощью коринебактерий и брeвибактерий! Глутамат используется как приправа для супов и соусов. Он усиливает их пикантный вкус, более того, он способствует возбуждению аппетита даже у домашних животных!

Разумеется, более важной целью, чем повышение аппетита, является производство аминокислот микробами для дешевого и полноценного питания сельскохозяйственных животных. Из 20 различных аминокислот, из которых человек и животные строят свои белки, животные, не относящиеся к жвачным, например свиньи и домашняя птица, не в состоянии сами синтезировать восемь аминокислот и поэтому должны получать их с пищей. Особенно важна аминокислота лизин. Она содержится в чрезвычайно малых количествах в злаковых культурах. Между тем такие аминокислоты, как лизин, совершенно необходимы для здоровья животных и человека. При кормлении сельскохозяйственных животных 1 т лизина в качестве подкормки заменяет 75 т зерна, 5 т рыбной муки или 9 т соевого шрота\*.

Со временем раскрываются все новые свойства аминокислот и белков. Так, японские исследователи нашли «мини-белок», молекула которого состоит из двух аминокислотных остатков и который обладает вкусом поваренной соли! Из одной из солей глутамата создано даже «аминокислотное» мыло. Оно образует нежную пену (напоминающую пену взбитого «метелкой» («венчиком») белка куриного яйца) и благодаря своему биологическому происхождению очень хорошо переносится даже чувствительной кожей. Более того, это мыло съедобно!

Наряду с аминокислотами человеку и животным требуются также витамины. Большинство витаминов помогают клеточным ферментам в их работе, и, подобно ферментам, их можно тысячекратно использовать повторно, поэтому они тре-

\* Шрот — измельченные семена масличных растений после экстрагирования из них жира. Применяется как концентрированный корм для животных. — *Прим. перев.*



Дрожжевые клетки, иммобилизованные внутри пористых шариков, месяцами сохраняют жизнеспособность и вырабатывают из поступающего раствора сахара спирт, который в свою очередь покидает полимерные шарики и выходит из колонны.

буются всего лишь в следовых количествах. Но если витамины почему-либо отсутствуют, то и ферменты, и клетки и как следствие этого сами живые существа перестают правильно функционировать. Мы поглощаем витамины с фруктами, овощами, мясом, молоком и яйцами. Однако в животноводстве требуются очень дешевые витамины. В настоящее время при помощи бактерий (пропионовые бактерии *Pseudomonas*) и гриба *Ashbya* можно, например, очень недорого получать витамины так называемой группы В. Кстати, производственные штаммы этих микробов продуцируют по сравнению со своими природными («дикими») «родичами» в 20 000 раз больше витамина В<sub>2</sub> и в 50 000 раз больше витамина В<sub>12</sub>.

Иммобилизованные ферменты применяются также для производства аминокислот. Ферментативные процессы, подобно всем другим биотехнологическим

процессам, идут при температурах не выше 100 °С, нормальном давлении и не требуют ни подщелачивания, ни подкисления.

При создании новых видов антибиотиков, устойчивости к которым у микробов еще не существует, тоже используются иммобилизованные ферменты. Они изменяют в определенных местах строение известных, продуцируемых микробами антибиотиков, после чего ферменты болезнетворных микроорганизмов, например пенициллиназы, уже не в состоянии «распознать» эти антибиотики «как микробные яды» и потому не могут их инактивировать.

Кроме того, иммобилизованные ферменты способны направленно разлагать ядовитые вещества в сточных водах. Исключительно сильными и к тому же с трудом устранимыми ядами, возникающими в промышленности в качестве побочных продуктов, являются синильная кислота и ее соли цианиды (наиболее известен цианид калия — цианистый калий). Было обнаружено, что многие растения постоянно выделяют цианид в почву, чтобы защитить себя от вредителей, но что даже в непосредственной близости от растений для некоторых микробов этот яд неопасен. Действительно, эти микроорганизмы продуцируют «обезвреживающий» фермент цианидгидратазу, которая молниеносно преобразует ядовитый цианид в абсолютно безвредный продукт. Основываясь на этом, был разработан способ, при котором указанный фермент выделяют из низших грибов и затем помещают в биореактор, где он «обезвреживает» сточные воды, содержащие цианиды.

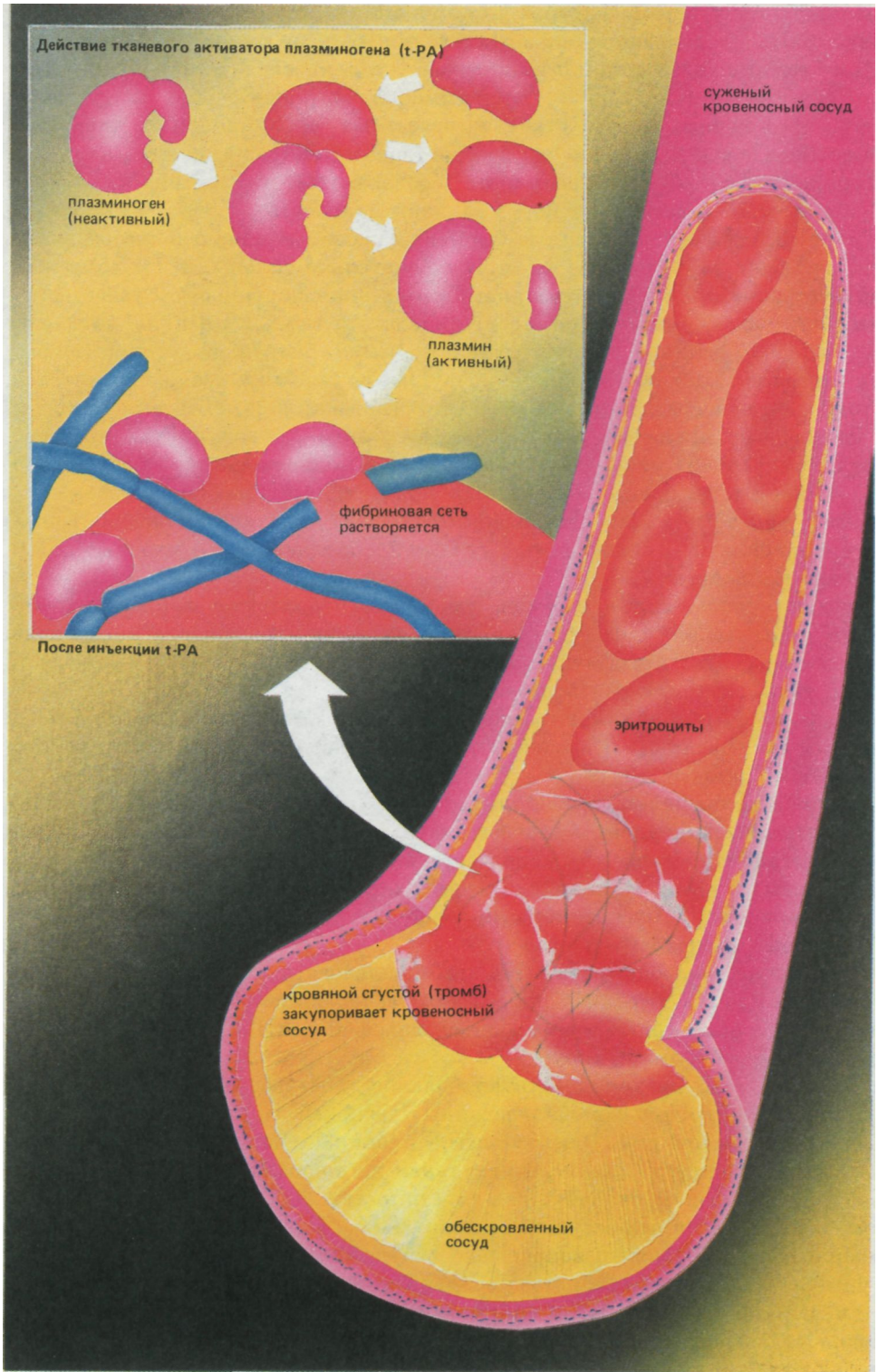
Сегодня в большинстве случаев ферменты используют в превращениях веществ, протекающих в одну стадию, либо если эти превращения невозможно осуществить в результате обычного химического процесса, либо если химический процесс очень сложный или дорогой.

Правда, уже предпринимаются попытки разработать технологию с последовательным «включением» нескольких ферментов, подобно тому как это происходит в любой клетке.

Однако было бы целесообразно посредством «последовательно включенных» иммобилизованных ферментов вырабатывать, например, спирт из глюкозы, так как для этого потребовалось бы использовать 12 различных сложных ферментов из дрожжевых клеток. Причем для этого их нужно было бы предварительно выделить и очистить. Пока что гораздо проще и лучше это исполняют неповрежденные живые дрожжевые клетки.

А нельзя ли, подобно ферментам, иммобилизовать и клетки? Прямо-таки удивительно, что эта мысль возникла всего несколько лет тому назад — только после того, как были успешно иммобилизованы ферменты — и оказалось, действительно: это все функционирует!

В настоящее время уже действуют большие опытные установки для получения спирта с помощью иммобилизованных дрожжей. При этом дрожжи включены в пористые шарики. Глюкоза легко проникает через поры к дрожжам, образовавшиеся спирт и углекислый газ также легко покидают шарики. Шариками заполняют колонны биореакторов вместимостью 2000 л. Упрощенная схема такая: сверху в колонны поступает раствор сахара, а снизу из нее льется спирт. Иммобилизованные дрожжи непрерывно «трудятся» примерно в течение четырёх месяцев и в течение всего этого времени ими продуцируется 2400 л спирта в сутки. В то же время в случае «нормального» получения спирта при помощи свободно плавающих в растворе дрожжевых клеток необходимо через каждые несколько дней регулярно заменять старые дрожжи новой партией дрожжей.





*Против тромбов, образующихся при инфарктах, активно действует вырабатываемый в биореакторах клетками млекопитающих белокрасщепляющий фермент — тканевой активатор плазминогена t-PA (от англ. tissue plasminogen activator).*

*t-PA отщепляет фрагмент от другого циркулирующего в крови фермента (плазминогена) и тем самым предоставляет ему возможность активно растворять сеть из белковых нитей (фибрин), которая крепко удерживает кровяной сгусток (тромб). Благодаря этому сердце быстро начинает вновь снабжаться кислородом и питательными веществами. Есть предположения, что уже в девяностые годы t-PA поможет спасти жизнь миллионам людей. - Рис. на пред. странице.*

При старом способе производства приходилось через несколько дней начинать весь процесс сначала — с новым сахарным раствором, новыми дрожжами и в вычищенном реакторе. В противоположность этому биореактор с иммобилизованными дрожжевыми клетками функционирует в течение длительного времени, он в 10 раз более продуктивен, а потому и продукция намного дешевле, чем при прежнем способе.

## **Новые белки как средства против болезней**

В настоящее время микроорганизмы, трансформированные генно-инженерными методами, продуцируют уже человеческий инсулин для лечения больных диабетом и человеческий интерферон, первое действенное средство против вирусных инфекций.

Это всего лишь первые «дети» биотехнологии, без которой о них вообще мы не могли бы говорить. Однако список белков человека и животных, настоятельно требующихся для лечения или предупреждения болезней, далеко не ограничивается этим; в частности, здесь как цель биотехнологии следует назвать биологически активные факторы (гормоны), стимулирующие развитие; ферменты, препятствующие образованию сгустков в крови и потому применяемые как средство против сердечных инфарктов, вакцины против гриппа, инфекционного гепатита (желтухи) и других вирусных болезней, а также против болезней, вызываемых паразитами, например малярии; и, наконец, новые белки, подавляющие злокачественный рост клеток (раковых клеток).

## **Пластмассы, текстильные изделия, электроника... И все это в результате деятельности микробов?**

Все больше новых продуктов, ранее вовсе не известных, появляется на свет благодаря развитию биопромышленности. Например, определенные микробы паразитическим образом могут продуцировать из сахара полимерные вещества, то есть без использования нефти и сложных энергоемких установок. Так, бактерия *Alkaligenes eutrophus* образует полигидроксibuтират. Ее клетки накапливают этот полимер в количестве, достигающем 80% собственной массы. В таком случае бактерия состоит почти вся из пластмассы! Продуцируемый полимер служит клеткам в качестве запасного материала (подобно крахмалу в растительных клетках) и потому обладает ценным преимуществом перед всеми химически получаемыми полимерными материалами: он разлагается также биологически! Например, нити из «биопласта» могут использоваться для наложения швов на послеоперационные раны.

Другие микроорганизмы образуют из крахмала уже другой полимер пуллулан. Из пуллулана изготавливают тонкие пленки, в которые можно герметично



Эти бактерии на 80% состоят из пластмассы! *Alcaligenes eutrophus* образует из сахара полимер полигидроксibuтират (ПГБ), который она накапливает в качестве запасного материала.

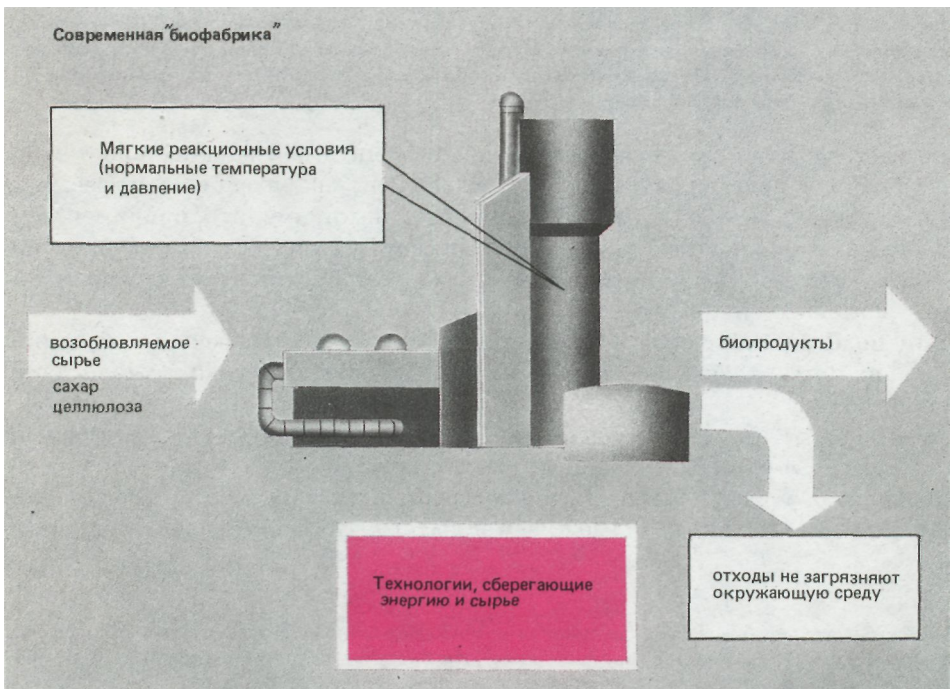
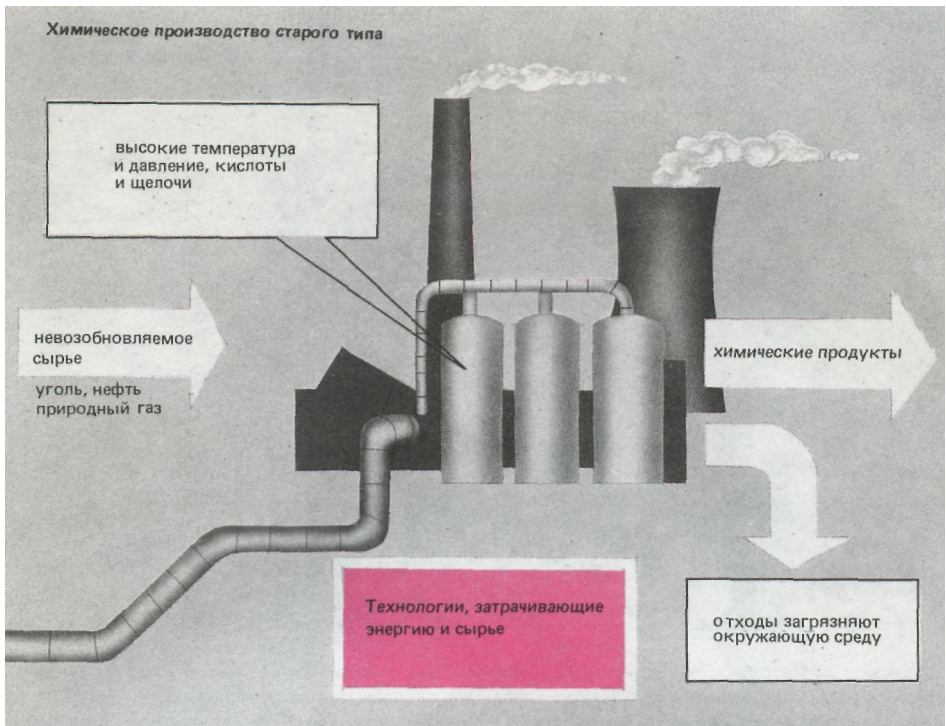


Биополимерный материал ПГБ обладает всеми «хорошими» свойствами химически изготовленной пластмассы, однако в отличие от нее легко разлагается микробами.

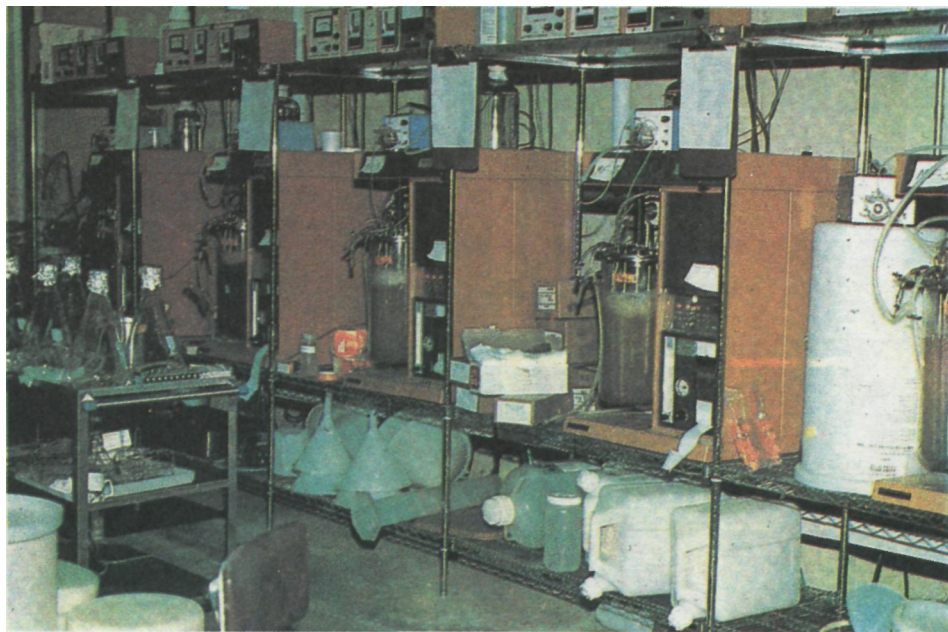
упаковывать пищевые продукты, сохраняя их свежими. А потом продукты вместе с упаковкой можно класть в кастрюлю и варить, так как пуллулан (подобно крахмалу) съедобен и растворяется в горячей воде. При производстве этих новых «микробных» пластмасс экономится энергия и сырье, и к тому же они не загрязняют окружающую среду: они быстро разрушаются микробами.

Возможно даже, что недалек тот день, когда мы будем ходить в одежде, сотканной из нитей, изготовленных микробами из сахара. У некоторых микроскопических грибов грибные нити (гифы) образуют густое плетение, это также может быть использовано, например для изготовления бумаги и текстильных изделий. Эти «нити» значительно тоньше, чем хлопчатобумажные волокна, и все же очень прочны. Уже сегодня подобные новые текстильные изделия применяются в медицине при оказании неотложной помощи в качестве искусственной «кожи» для закрытия обширных ран.

Наряду с полимерами микробы могут производить и новые материалы для электроники. Нам всем знакомы жидкие кристаллы цифровых индикаторов электронных часов или микрокалькуляторов. Бактерии рода *нокардия* образуют



Сравнение химического производства старого типа с современным биопроизводством.



В этих 14-литровых биореакторах (фирма «Генекс», США) образуется первый в мире биоклеящий материал. Каждый знаком с темно-фиолетовыми раковинами съедобных мидий (*Mytilus edulis*), которые во всех морях прикрепляются к сваям, камням, буйам и днищам шлюпок при помощи тонких прочных биссусовых \* нитей. Эти нити состоят из белка, который действует как клей. В отличие от химических клеев биоклей и в морской воде долгие годы сохраняет крепость камня. С помощью современных методов генной инженерии удалось передать кишечной палочке и дрожжевым клеткам способность вырабатывать белок ракушек; это и используется в биореакторах. По всей вероятности, биоклей в первую очередь начнут применять в своей практике зубные врачи.

в своих клетках вещества, которые можно применить для жидких кристаллов нового типа. Эти кристаллы реагируют на сигналы значительно быстрее, чем прежние системы, следовательно, их можно было бы применить, например, для особоплоских телевизионных экранов. Телевизор будущего, висящий на стене наподобие картины, — не случится ли так, что этот проект будет осуществлен именно с помощью микробов?

Биотехнология уже сейчас развивается в таком захватывающем дух темпе, каким до сих пор продвигалась вперед только еще одна ключевая технология — микроэлектроника.

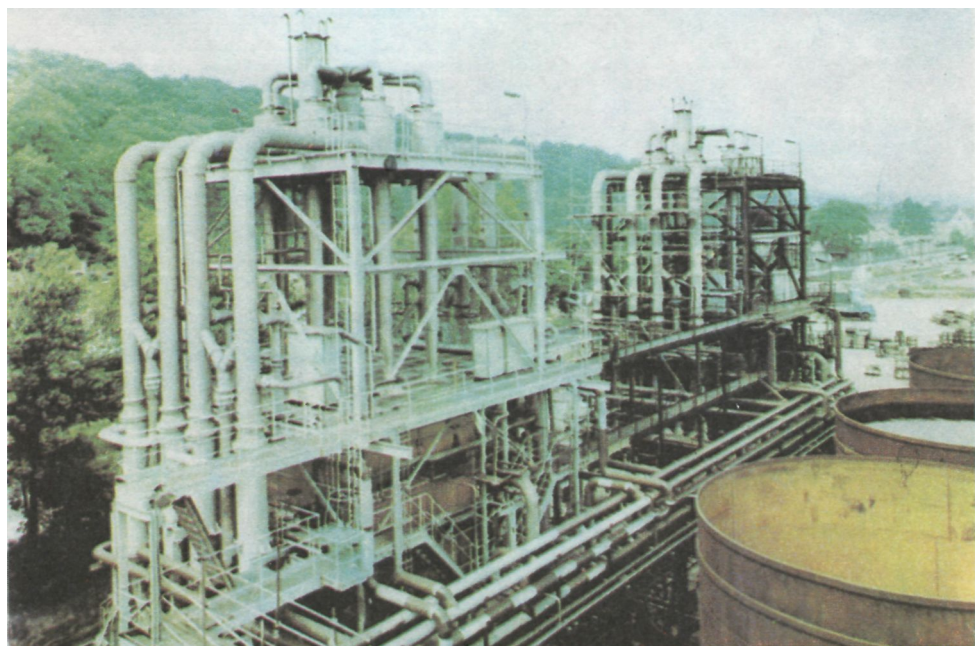
Еще несколько лет тому назад термин «чип» \*\* был понятен исключительно специалистам. Сегодня электронные часы, микрокалькуляторы — предметы повседневного обихода. Роботы и компьютеры внедряются во все отрасли промышленности. Точно так же мы доживем и до того, что биометоды и биопродук-

\* Биссус — секрет биссусовой железы (имеющейся в ноге у двусторчатых моллюсков), затвердевающий при выделении в прочные нити. Из биссуса моллюска пинны и др. в древности изготавливали особую ткань — вискон. — *Прим. перев.*

\*\* Чип — первоначально тонкая пластинка кремния размером 0,2—1 см<sup>2</sup>. Ныне под чипом понимается интегральная схема в отдельном корпусе. — *Прим. перев.*



Современный завод по получению белка при помощи микробов по сравнению с природными «биофабриками» (на переднем плане!) имеет в 100 000 раз более высокую производительность!



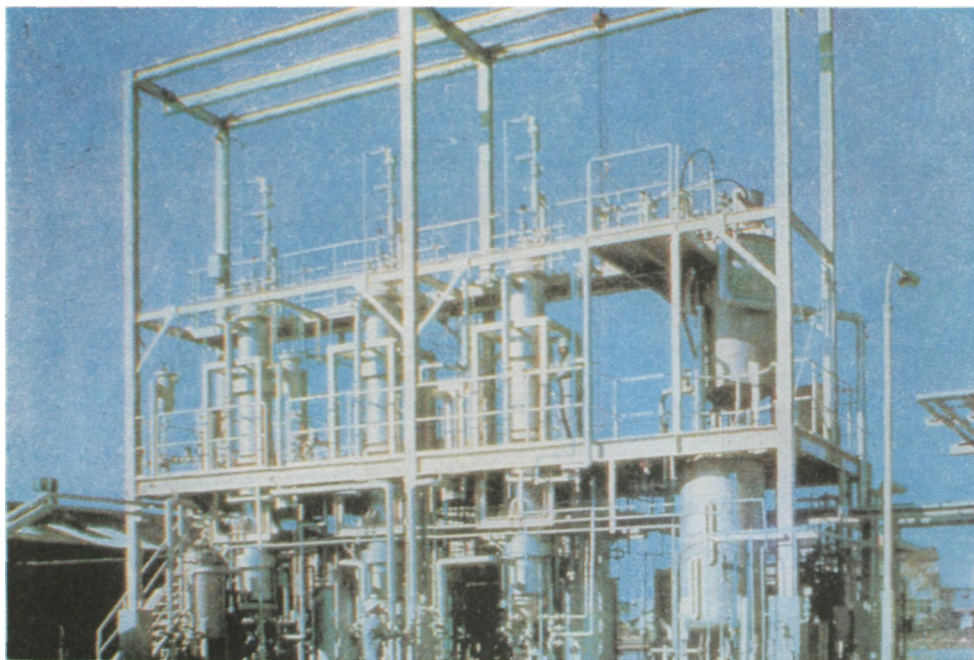
Завод по производству кормовых дрожжей из отработанного сульфитного щелока, выдающий в качестве побочного продукта чистую воду (Пирна, ГДР).



Агрегаты для получения биогаза из сточных вод (Делфт, Нидерланды).



Биореактор для производства белка из метанола (Биллингхем, Англия).



*Установка для производства спирта с помощью иммобилизованных дрожжевых клеток (Киушу, Япония).*

ты, о которых мы сегодня совсем ничего не знаем, постепенно станут занимать все большее место в нашей будущей будничной жизни и промышленном производстве.

Такие непривычные сегодня названия, как пуллулан, аспартам, фруктозный сироп, биогаз или интерферон, вероятно, войдут в нашу обиходную речь. К этому добавится еще множество новых наименований и продуктов.

Обе передовые технологии, микроэлектроника и биотехнология, производят переворот не только в промышленности и практической повседневной жизни, они меняют наш образ мыслей! Вместо опасных и расточительных «дорог с движением в одном направлении» по схеме: сырье > продукт > отходы — мы должны достигнуть создания круговорота веществ, как это происходит в живой природе. Ведь в природе не существует отходов: каждый продукт — это одновременно сырье для какого-нибудь нового процесса.

Так что же, считать биотехнологию панацеей от всех проблем человечества? Разумеется, нет! Но биотехнология создает научные и технические предпосылки, которые, возможно, сумеют помочь тому, чтобы все люди на Земле ощущали себя здоровыми и жили счастливо.

# Оглавление

Предисловие. . . . .	5
<b>Открытие нового мира . . . . .</b>	<b>7</b>
Диковинные «зверушки» Антони ван Левенгука . . . . .	7
Биотехнология наших предков: пивоварение, хлебопечение и виноделие . . . . .	10
О сыре и кислой капусте . . . . .	17
<b>Исследователи свойств микробов и «охотники» за микробами . . . . .</b>	<b>21</b>
Тайна кислых чанов . . . . .	21
Дыхание без кислорода . . . . .	26
Возможно ли брожение без микробов? . . . . .	27
«Охота» за микробами . . . . .	32
От микробов защищают прививки . . . . .	34
Как организм обороняется против болезней? . . . . .	38
<b>Как культивируют микроорганизмы? . . . . .</b>	<b>43</b>
Чудесный гриб Александра Флеминга . . . . .	43
Биотехнологи в поисках гриба . . . . .	45
«Меню» микроорганизмов . . . . .	46
Визит на «биофабрику» . . . . .	47
Стоп! Не очень безобразничайте, нарушители спокойствия! . . . . .	51
«Состязание» с микробами . . . . .	52
Удивительное превращение одной коровы в десять слонов (?) . . . . .	53
<b>Конструирование микроорганизмов . . . . .</b>	<b>56</b>
Знакомство с кишечной палочкой . . . . .	56
ДНК — наследственная нить жизни . . . . .	58
Человеческий белок из бактерий? . . . . .	62
Квакающие бактерии? . . . . .	63
Интерферон — первое лечебное средство против вирусов . . . . .	64
Фузия клеток — новые микробы из ранее существовавших . . . . .	66
<b>Биотехнология помогает в борьбе с голодом и дефицитом энергии и сырья . . . . .</b>	<b>69</b>
Микробы съедобны?! . . . . .	69
«Жаркое по-домашнему» из микробов . . . . .	71
Растения, которые сами себя удобряют . . . . .	75
Новые растения из пробирки . . . . .	76
Микробы против вредителей . . . . .	78
«Противоморозобойные» бактерии . . . . .	80
Чистая вода благодаря работе микробов . . . . .	80
Биосенсоры: о загрязнении сигнализируют микробы . . . . .	83
Возобновляемые источники энергии. Что это? . . . . .	85
Биогаз спасает тропические леса . . . . .	87
Бесшумная разработка месторождений . . . . .	89
<b>Новые продукты биопромышленности . . . . .</b>	<b>92</b>
«Старая» и «новая» биотехнология . . . . .	92
«Добрые гномы» в домашнем хозяйстве и в промышленности . . . . .	93
Ферменты «на привязи» . . . . .	96
Биотехнология для лакомок . . . . .	98
Микробы как приправа в супах . . . . .	101
Новые белки как средства против болезней . . . . .	105
Пластмассы, текстильные изделия, электроника... И все это в результате деятельности микробов? . . . . .	105



Огромная масса потребляемых нами продуктов - это биопродукты; они еще и сегодня производятся по проверенной тысячелетиями технологии, разработанной нашими далекими предками. Очень давно человек заставил работать на себя бактерии, дрожжи и другие микроорганизмы. "Трудом" микроорганизмов производятся хлеб и хлебобулочные изделия, пиво, вино, спирт, сыр, эссенция и пекарские дрожжи.

