

Εργασία στο μάθημα της βιολογίας
β' τριμήνου την σχολική χρονιά 2014-2015

Αρχές και μεθοδολογία της βιοτεχνολογίας

1/2015

Γεώργιος Τσομίδης

Κλάδοι της βιοτεχνολογίας

Ανάλογα με τα πεδία εφαρμογής η Βιοτεχνολογία διακρίνεται σε :

Βιοτεχνολογία υγείας (κόκκινη βιοτεχνολογία)

Η βιοτεχνολογία υγείας εστιάζει σε έρευνα για την ανακάλυψη και την παραγωγή νέων τρόπων διάγνωσης ασθενειών και εξατομικευμένες θεραπείες μέσα από την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων και ανοσοπροσδιορισμού, δημιουργία καινοτόμων φαρμάκων με την εκτεταμένη μελέτη πρωτεϊνών (πρωτεομική), την αντιμετώπιση σύγχρονων ασθενειών και την βελτίωση του βιοτικού επιπέδου και της διατροφής του ανθρώπου.

Βιοτεχνολογία γεωπονίας (πράσινη βιοτεχνολογία)

Η βιοτεχνολογία στη γεωπονία εστιάζει στην διαχείριση του γενετικού υλικού για την δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών (ΓΤΟ) που φέρουν επιθυμητά χαρακτηριστικά ,ξεπερνώντας τις συμβατικές μεθόδους βελτίωση. Αποτέλεσμα είναι να δημιουργηθούν φυτά ανθεκτικά σε διάφορες ασθένειες και καταπονήσεις, πιο παραγωγικά, με λιγότερες απαιτήσεις σε νερό με αποτέλεσμα οι βιομηχανίες να παράγουν περισσότερα και γρηγορότερα τα προϊόντα τους με λιγότερο κόστος.

Βιοτεχνολογία βιομηχανίας (λευκή βιοτεχνολογία)

Είναι ο κλάδος της βιοτεχνολογίας που σχετίζεται με το σχεδιασμό μεγάλων εγκαταστάσεων παραγωγής προϊόντων από γενετικά τροποποιημένους ή όχι μικροοργανισμούς. Συνδυάζει της γνώσης της μικροβιολογίας, της βιοχημικής μηχανικής και της ενζυμομηχανικής για την παραγωγή σε μεγάλες ποσότητες προϊόντων σε πολλές κατηγορίες βιομηχανιών, όπως βιομηχανίες τροφίμων (οίνος, ζύθος, αλκοολούχα ποτά, βρώσιμα έλαια, αρτοποιία, ζωοκομικά προϊόντα, προϊόντων φρούτων και πρωτεϊνικών προϊόντων), οι βιομηχανίες ιατρικών φαρμάκων (παρασκευή στεροειδών, αμινοξέων, θρομβολυτικών ενζύμων κ.α.) και άλλες βιομηχανίες χαρτοποιίας και υφαντουργίας.

Μικροβιακές καλλιέργειες

Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών καθορίζεται από το χρόνο διπλασιασμού, δηλαδή τον ρυθμό με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του. Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού.

Είδος	Χρόνος
Escherichia coli	20 λεπτά
Mycobacterium tuberculosis	18 ώρες
Amoeba proteus	24 ώρες
Sacharomyces cerevisiae	2 ώρες

Ο χρόνος διπλασιασμού επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως είναι:

1. Το pH (Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε pH εύρους 6-9. Υπάρχουν όμως και άλλοι όπως τα βακτήρια του γένους Lactobacillus που αναπτύσσονται σε 4-5.)
2. Το O₂ (Υποχρεωτικά αερόβιοι π.χ. του γένους Mycobacterium, Προαιρετικά αερόβιοι π.χ. μύκητες της αρτοβιομηχανίας, Υποχρεωτικά αναερόβιοι π.χ. βακτήρια του γένους Clostridium)
3. Η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών (Νερό, Άνθρακας, Άζωτο, Διάφορα μεταλλικά ιόντα)
4. Η θερμοκρασία (Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε 20 °- 45°C. Άλλοι αναπτύσσονται σε μεγαλύτερες των 45° και άλλοι σε μικρότερες των 20°)

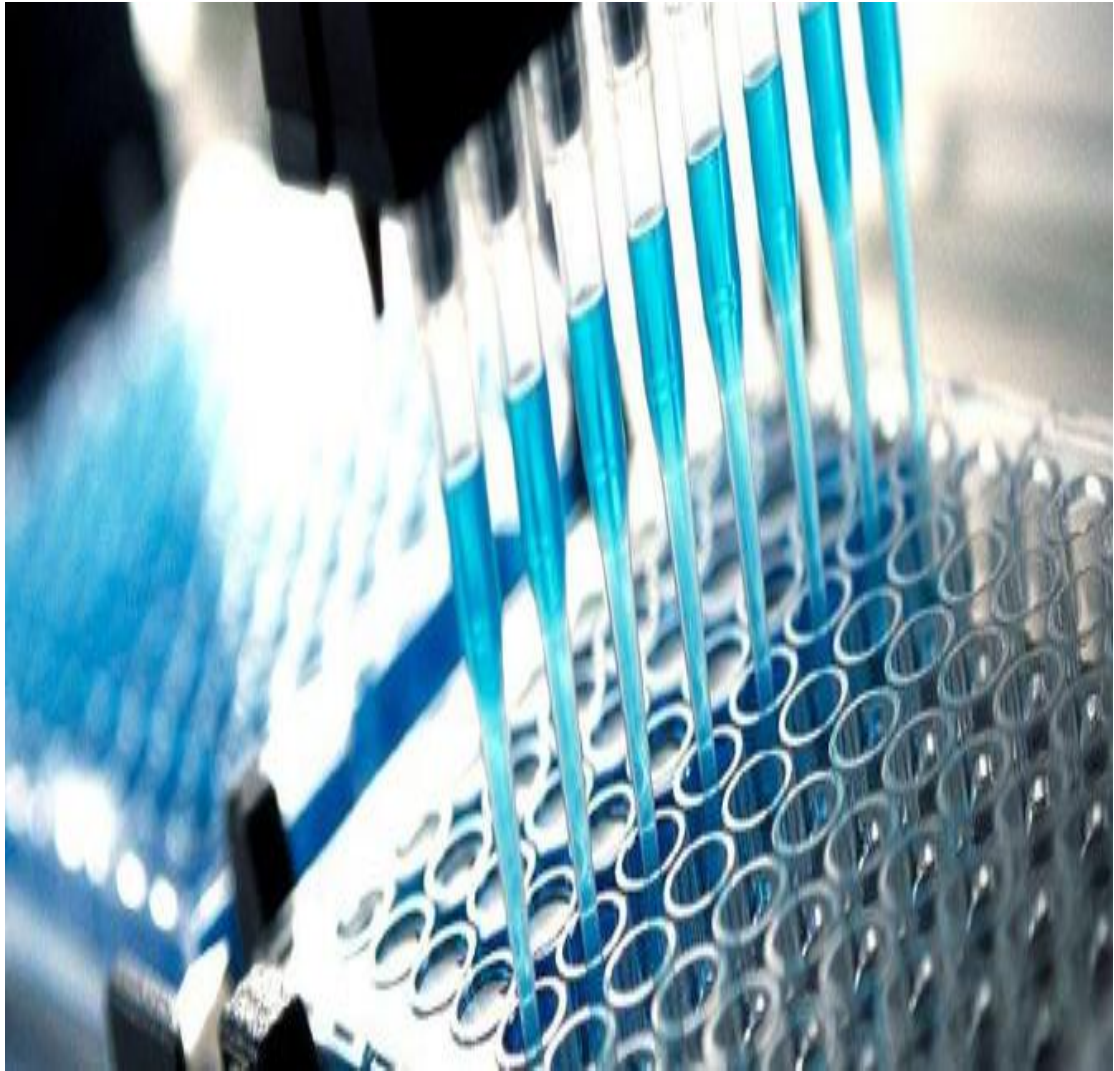
Ανάπτυξη μικροοργανισμών στο εργαστήριο

Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκητών. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από τους πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διάφορων ειδών βακτηρίων ή μυκητών, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα, μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. Τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα **υγρά** θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα **στερεά** θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη του υγρού θρεπτικού υλικού με έναν πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη, το άγαρ.

Άγαρ:

Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45° C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες. το σημείο τήξης του είναι 100°C. Ανάμεσα σε 45°C και 100°C είναι σε κατάσταση γέλης (gel). Μία καλλιέργεια ξεκινάει με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό, μια διαδικασία που ονομάζεται εμβολιασμός. Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε ένα κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξή τους. Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών. Οι καλλιέργειες αυτές μπορούν να

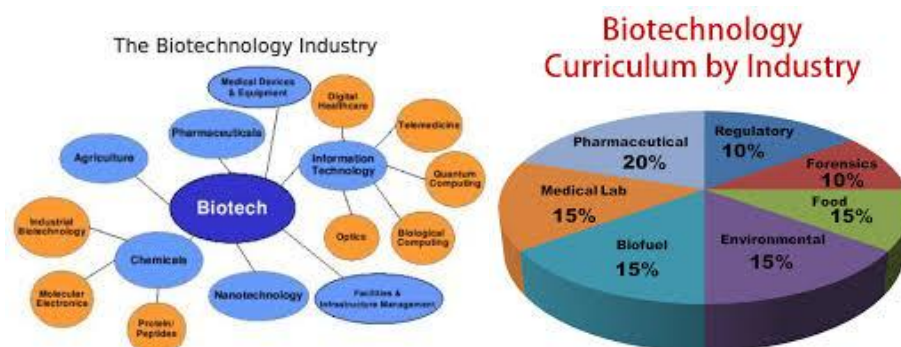
διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν από την έναρξη της καλλιέργειας.



Ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιομηχανική κλίμακα

Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες. Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O₂) που αφορούν την καλλιέργεια. Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο. Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση.

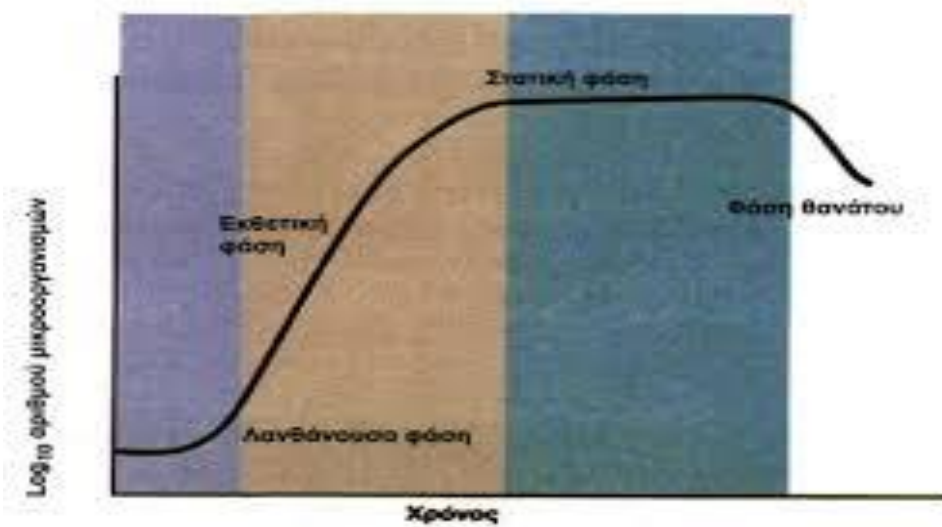
Ζύμωση: Με τον όρο ζύμωση εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιοδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται βιομάζα είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.



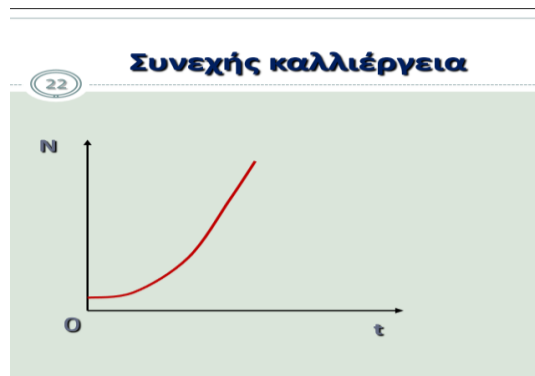
Τρόποι καλλιέργειας

Κλειστή καλλιέργεια:

1. λανθάνουσα φάση
2. εκθετική φάση
3. στατική φάση
4. φάση θανάτου.

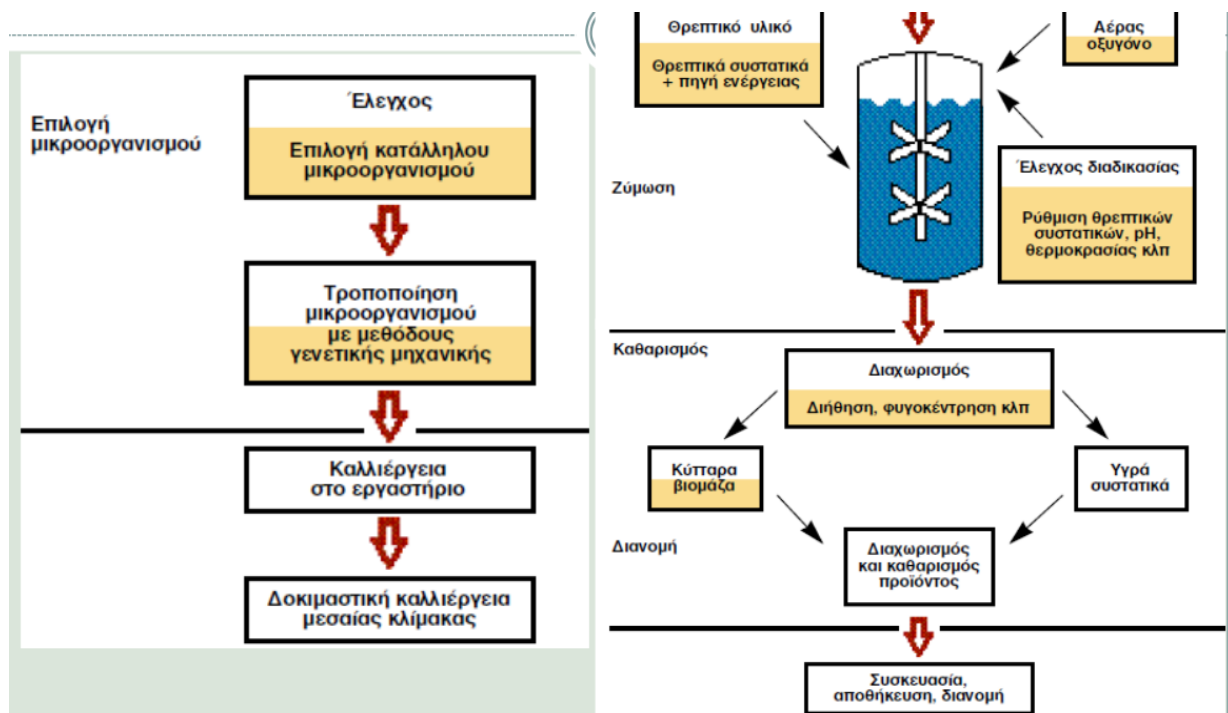


Συνεχής καλλιέργεια: συνεχής τροφοδοσία των μικροοργανισμών με θρεπτικά υλικά και απομάκρυνση των αχρήστων.



Παραλαβή και καθαρισμός των προϊόντων ζύμωσης

Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων. Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις.



Πενικιλίνη

Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί σημαντικό σταθμό στην πορεία της Βιοτεχνολογίας. Η ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1928 από τον Fleming είναι το σημείο αφετηρίας για την αντιμετώπιση μιας σειράς ασθενειών με τη χρήση αντιβιοτικών. Η πενικιλίνη, που άρχισε να χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκόσμιου Πολέμου, έχει σώσει εκατομμύρια ζωές προσφέροντας προστασία από σοβαρές ασθένειες όπως οι πνευμονικές λοιμώξεις, η βλεννόρροια και η σύφιλη. Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί την πρώτη εφαρμογή μεθόδων Βιοτεχνολογίας με χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών για παραγωγή και άλλων προϊόντων εκτός από τρόφιμα και ποτά. Η πενικιλίνη είναι προϊόν μυκήτων του γένους **Penicillium**. Η παραγωγή της εξαρτάται 1: από το στέλεχος του μύκητα που χρησιμοποιείται, 2: από το θρεπτικό υλικό στο οποίο αναπτύσσεται 3: από τις συνθήκες καλλιέργειας. Στελέχη τα οποία έχουν επιλεγεί για την υψηλή απόδοσή τους καλλιεργούνται αρχικά στο εργαστήριο σε στερεό θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια, τα στελέχη αυτά χρησιμοποιούνται ως αρχική καλλιέργεια για ανάπτυξη σε βιοαντιδραστήρες. Το θρεπτικό υλικό περιέχει, εκτός των άλλων, και γλυκόζη ως πηγή άνθρακα. Στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας (λανθάνουσα και εκθετική φάση), που διαρκούν 30-40 ώρες αυξάνεται η βιομάζα του μύκητα. Στη συνέχεια, προστίθεται γλυκόζη σε χαμηλή συγκέντρωση, σταματάει η ανάπτυξη του μύκητα (στατική φάση) και αρχίζει η παραγωγή της πενικιλίνης. Η καλλιέργεια διαρκεί έως και 15 ημέρες. Για την παραλαβή πενικιλίνης σε καθαρή μορφή χρησιμοποιούνται φυσικές και χημικές μέθοδοι.



Ιστορικές στιγμές

1957 Κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας δυσεντερίας στην Ιαπωνία ανακαλύπτονται βακτήρια τα οποία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε μια σειρά αντιβιοτικών. Λίγο αργότερα αποκαλύπτεται ότι η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται σε γονίδια που υπάρχουν στα πλασμίδια.

1970 Απομονώνεται η περιοριστική ένδονουκλεάση του DNA, EcoRI, δηλαδή ένα ένζυμο που υδρολύει (κόβει) το DNA σε συγκεκριμένα σημεία της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας.

1975 Η τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων κάνει την εμφάνισή της.

1976 Δημιουργείται στο San Francisco της California η πρώτη ιδιωτική εταιρεία παραγωγής προϊόντων με χρήση τεχνικών ανασυνδυασμένου DNA.

1978 Επιτυγχάνεται η παραγωγή από βακτήρια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης σωματοστατίνης, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει τη δράση των αυξητικών ορμονών.

1980 Ψηφίζεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής νόμος ο οποίος επιτρέπει τη μεταφορά τεχνολογίας και τεχνολογίας από πανεπιστημιακά και ερευνητικά ιδρύματα σε εμπορικές εταιρείες.

1982 Δίνεται άδεια χρήσης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ινσουλίνης ως φάρμακου για διαβητικούς. Τον ίδιο χρόνο, το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό (μια ποικιλία καπνού) απελευθερώνεται στο φυσικό περιβάλλον.

1989 Ξεκινά το Πρόγραμμα Χαρτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (HUGO, Human Genome Organization).



1990 Εφαρμόζεται πειραματικά η γονιδιακή θεραπεία σε ένα τετράχρονο κορίτσάκι το οποίο πάσχει από έλλειψη του γονιδίου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA).

1995 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας γονιδιώματος ενός βακτηρίου (*Haemophilus influenzae*).

1996 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου ευκαρυωτικού γονιδιώματος (*Saccharomyces cerevisiae*).

1997 Το Ινστιτούτο Rosalin της Σκωτίας ανακοινώνει την κλωνοποίηση της προβατίνας Dolly.

1998 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου γονιδιώματος πολυκύτταρου οργανισμού (*Caenorhabditis elegans*).



2002 : ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου γονιδιώματος θηλαστικού (ποντικού – *Mus musculus*).

2004 : ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του γονιδιώματος του ανθρώπου (*Homo sapiens*).

Συνοψίζοντας

Η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό επιστήμης και τεχνολογίας με στόχο τη χρησιμοποίηση των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και καλλιέργειας μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες κατά τις οποίες υπάρχει μια σειρά κατάλληλων θρεπτικών συστατικών. Σε μια καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, που ονομάζονται βιοαντιδραστήρες.. Τα προϊόντα λαμβάνονται ύστερα από τελική κατεργασία, δηλαδή από μια διεργασία καθαρισμού τους με βιοχημικές, κυρίως, τεχνικές.

Προσωπική γνώμη: Με τις πληροφορίες που άντλησα επιμελώντας και παράλληλα συνθέτοντας αυτήν την εργασία ,θεωρώ ότι η εξέλιξη της βιοτεχνολογίας έχει βοηθήσει σημαντικά στη γενικευμένη επιστήμη ,παρά το γεγονός ότι είναι ένας σχετικά πρόσφατος κλάδος της βιολογίας.Έτσι αποκτάμε το συμπέρασμα ότι η βιοτεχνολογία θα εξελιχθεί σε μεγάλο βαθμό στο μέλλον αλληλεπιδρώντας φυσικά με τις άλλες επιστήμες.Το σημείο όπως στο οποίο πρέπει να δωθεί μεγάλη “βάση” είναι η εσφαλμένη χρήση τούτης της επιστήμης για ειδικούς σκοπούς και συμφέροντα μεγαλοβιομηχανιών (π.χ. γενετικά μεταλλαγμένα προϊόντα.)



Πηγές-βιβλιογραφία

1. <http://3lyk-ilioup.att.sch.gr/viologia/Files/7-kat.pdf>
2. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%92%CE%B9%CE%BF%CF%84%CE%B5%CF%87%CE%BD%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%AF%CE%B1>
3. <http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-C112/52/390,1510/>
4. https://www.google.com/imghp?hl=el&gws_rd=ssl
5. <https://kkeram1441.wordpress.com/2009/07/16/%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CF%84%CE%B5%CF%87%CE%BD%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%B9%CE%B1/>

