

Использование сверхмалых концентраций биологически активных веществ синергетического действия для интенсификации биотехнологических производств

Глухих С.А.

Центр промышленного внедрения прикладных разработок НИИ РАН «БИОЦЕНТР-САС»,
г. Пущино, @yandex.ru

Имеется большое количество публикаций о чувствительности микробиологических объектов к химическим и физическим воздействиям. Объекты биологии реагируют на освещение определенного спектра, на излучение некоторых частотных диапазонов, на наличие статического электричества и магнитного поля, на присутствие пептидов, гормонов, ядов в концентрациях нано-уровня и более низких. Эти явления укладываются в рамки современных представлений о клеточной регуляции. Реакции на воздействие сверхмалых доз (СМД) биологически активных веществ (БАВ) предполагают наличие у организмов множества мишеней и соответствующих путей на различных иерархических уровнях систем регуляции (Бурлакова с соавт., 1990). Эти свойства БАВ в перспективе имеют практические следствия, в частности, при сохранении активности лекарственных препаратов исчезают побочные эффекты от их применения. Для физических факторов, например, облучения, эффект усиливается с понижением интенсивности воздействия в определенных пределах.

Воздействие сверхмалых доз биологически активных веществ или композиций биологически активных стимуляторов (КБС) обнаружено также для микроорганизмов. Превосходные результаты в микробной биотехнологии показали композиционные биостимуляторы, интенсифицируя процессы производства кормовых дрожжей на спиртовой барде и отрубях, производство ферментов и спиртовое брожение дрожжами, увеличивая продукцию этанола и снижая количество примесей в готовом продукте. В то же время, этот метод не менее интересен для интенсификации производственных процессов на основе бактериальных штаммов.

Прежде всего, необходимо уточнить, что СМД – это дозы, эффективность которых необъяснима с современных позиций науки и требует дальнейшей разработки. Граница СМД определяется числом молекул БАВ на клетку. В одном моле вещества около $6 \cdot 10^{23}$ молекул, а число клеток в любом многоклеточном организме (например, животного) по порядку величин составляет примерно 10^{10} , так что при введении БАВ в организм в дозах $10^{-12} - 10^{-13}$ М на одну клетку приходится от 10 до одной молекулы БАВ. Поэтому СМД отвечают концентрации 10^{-12} М и ниже. Особый интерес представляет изучение совместного действия двух или более химических агентов в сверхмалых и подпороговых дозах, а также совместное действие слабых полей и низких концентраций биологически активных веществ (явление синергизма).

В данной работе в связи с большим интересом, проявляемым в последние годы к процессу биосинтеза микробного белка с использованием в качестве источников углерода метана и метанола, изучали влияние КБС на рост галотолерантного облигатного метанотрофа *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z VKM В-2133. Культивирование проводили в колбах объемом 100 мл на минеральной среде с ежесуточной подачей метана или метанола (0,5% об/об) с замером оптической плотности при $\lambda = 600$ нм. Для тестирования использовали стерильные растворы КБС в 3-х концентрациях. Результаты исследования представлены в Таблице 1

Эффект от воздействия КБС имеет нелинейный характер, очевидны спады, и разные уровни проявления эффекта, включая присутствие зон отсутствия эффекта – характерные для СМД «мертвые зоны». В нашем исследовании более явно проявился эффект от воздействия наиболее разбавленного КБС. Учитывая, что КБС – это композиция из

нескольких БАВ, каждое вещество которой имеет свою собственную частоту воздействия, под которую при создании КБС рассчитывалась концентрация. Эта концентрация находится в зоне синергизма суммарного проявления ингредиентов композиции на биологические процессы и как следствие, на биотехнологическое производство.

Табл. 1. Рост *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z на метане в присутствии КБС*

Время культивирования, сут	Контроль, Без КБС	Опыт, КБС Разбавление 10^{-6}	Опыт, КБС Разбавление 10^{-8}	Опыт, КБС Разбавление 10^{-11}
0	0,16	0,15	0,16	0,16
1	0,47	1,08	0,53	1,21
2	1,04	2,22	1,21	2,48
3	1,53	3,15	2,07	3,42
4	2,33	3,52	2,22	4,06
5	2,45	3,99	3,00	4,41
6	3,02	4,71	3,51	5,42
7	3,25	5,23	4,19	6,51
8	3,52	5,61	5,23	6,52
9	4,03	5,72	5,12	6,82
10	4,39	6,01	5,23	7,20

Табл. 2. Рост *Methylomicrobium alcaliphilum* 20Z на метаноле в присутствии в КБС*

Время культивирования, сут	Контроль, без КБС	Опыт, КБС Разбавление 10^{-6}	Опыт, КБС Разбавление 10^{-8}	Опыт, КБС Разбавление 10^{-11}
0	0,25	0,2	0,22	0,23
1	1,06	1,16	0,93	1,20
2	1,52	1,71	1,51	1,74
3	2,65	2,74	2,42	3,24
4	3,50	4,06	3,21	4,80
5	4,42	5,60	4,02	6,48
6	6,25	5,93	7,81	11,00
7	5,85	8,59	6,41	9,82
8	6,61	8,83	6,54	11,16
9	6,12	8,91	6,59	10,22

10

6,59

9,01

6,51

11,01

*Навеска КБС составила 0,24 г

Фазовая микроскопия опытной и контрольной культур метанотрофа выявила, что клетки при росте в присутствии КБС характеризуются более высокой плотностью, что может свидетельствовать о более высоком содержании мембран.

Аналогичные результаты были получены при изучении воздействия сверхмалых концентраций КБС на рост продуцента лизина *Corynebacterium glutamicum*.

Интенсификация процесса роста микроорганизмов-продуцентов целевых продуктов позволяет сократить сроки наработки биомассы и увеличить объемы выпуска. В конечном счёте, это приводит к росту производственной мощности биотехнологического предприятия за счет увеличения коэффициента оборачиваемости оборудования, к росту производительности и экономической эффективности, что не может не сказаться на конкурентных и ценовых преимуществах продукции на рынке сбыта.

Литература

1. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В. Воздействие химических агентов в сверхмалых дозах на биологические объекты. Известия АН СССР, Серия биологическая, 1990, №2, С.184-193.