**Биотехнология негіздері пәні негізгі 3 бөлімнен тұрады:**

**1 БӨЛІМ - Микроорганизмдер биотехнология негіздері**

**2 БӨЛІМ – Жануарлар биотехнология негіздері**

**3 БӨЛІМ - Өсімдіктер биотехнология негіздері**

**Методикалық нұсқалар тек қана 1 БӨЛІМ БОЙЫНША БЕРІЛГЕН - Микроорганизмдер биотехнология негіздері 5 апталық лабораториялық жұмыстар көрсетілген**

**Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті**

**Биология және биотехнология факультеті**

**Биотехнология және Молекулалық биология және генетика кафедралары**

**5B070100 – Биотехнология» мамандығы бойынша**

**білім беру бағдарламасы**

 **«ОВ2301 Биотехнология негіздері»**

**Көктемгі семестр 2018-2019 оқу жылы**

**«Микроорганизмдер биотехнология негіздері»**

**пәні бойынша лабораториялық сабақтарға методикалық нұсқаулар**

**Зертханалық сабақ 1 .**

***Тақырыбы:*** *«Биотехнологиялық өндірістің негізгі кезеңдерімен танысу. Биотехнологияны дамытудың негізгі бағыттарын зерттеу (аминқышқылдармен, гормондар).*

**Жұмыстың мақсаты:** биотехнологиялық өндірістің негізгі кезеңдерімен танысу. Биотехнологияны дамытудың негізгі бағыттарын зерттеу.

**Қысқаша теориялық ережелер**

Биотехнология-бұл тірі организмдерді пайдалана отырып, іс жүзінде маңызды заттар мен азық-түлік өнімдерін өндіру әдістерін және берілген қасиеттері бар жаңа организмдерді құрастыру әдістерін зерттейтін ғылым. Биотехнология-биологиялық, химиялық және техникалық ғылымдар тоғысында пайда болған пәнаралық облыс.

Қазіргі заманғы биотехнология биологиялық цикл ғылымының жетістіктерін пайдаланады, өйткені микроорганизмдердің сипаттамаларын терең білуге, олардың құрылысына, физиологиясына, биохимиясына, генетикасына, ассоциациялардағы өзара қарым-қатынастарына негізделеді.

Биотехнологияның дамуына тікелей химия, физика, математика, механика әсер етеді, олар процестердің кинетикасымен, әртүрлі сыртқы факторлардың процестеріне әсерімен, массалық - және энергия бергіштермен байланысты. Машина жасау, Электроника, автоматика жетістіктері жаңа аппаратураны құруға және биотехнологиялық процестерді автоматтандыруға мүмкіндік берді.

Экономикалық ғылымдармен байланыс балама технологиялармен (химиялық, ауыл шаруашылық) тұрақты бәсекеге негізделген.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Продуцент |  | Инокулятты дайындау |  | Қоректік орта |
|  |  |  |  |  |
|  |  | дақылдау |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  | Бөліп алу |  |  |
|  |  |  |  |  |
| Культуралды сұйықтық  |  |  |  | Клетклар |
|  |  |  |  |  |
|  |  | Өлген клеткалар биомассасы |  | Тірі клетка биомассасыБиомасса живых клеток |
|  Өлген клеткалар дезинтеграциясы |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| Метаболиттерді бөліп алу және тазарту |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  | Концентрлеу |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  | Өнімді тұрақтандыру |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  | сусыздандыру |  |  |

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  | Құрғақ өнім |  | Сұйық өнімт |  |  |  |  |

сақтау

қолдану

**Сурет 1 - Өндірістің көп сатылы биотехнологиялық схемасы**

Биотехнологиялық өндірістер өте перспекті болып табылады, бұл олардың жинақылығымен, ірі ауқымымен, автоматтандырудың жоғары деңгейімен және еңбек өнімділігімен байланысты.

Биотехнологиялық өндіріс процестері әртүрлі, бірақ олардың барлығы бес жалпы негізгі сатыға ие, олар оларға қол жеткізудің мақсаттары мен принциптері бойынша ерекшеленеді. Микробтық синтез өнімдерін өндірудің жалпы биотехнологиялық схемасы суретте келтірілген. 1.

***Бақылау сұрақтары***

1. Биотехнология дегеніміз не?

2. Биотехнологияның басқа ғылымдармен байланысы неде?

3. Биотехнологияны дамытудың негізгі бағыттары қандай?

4. Биотехнологиялық өндірістің негізгі кезеңдерін атаңыз.

5. Егіс материалы дегеніміз не?

6. Егін егу материалдарын өндірістік жағдайда қалай дайындайды?

7. Қоректік ортаның құрамына қандай компоненттер кіреді?

8. Ферментация дегеніміз не?

9. Биомассаны дақылдық сұйықтықтан бөлу қандай әдістермен жүзеге асырылады?

10. Қандай жағдайда жасушаларды дезинтеграциялау қажет?

11. Өнімді шоғырландырудың қандай жолдары белгілі?

**Зертханалық сабақ 2.**

***Тақырыбы:*** Өндірістің көп сатылы биотехнологиялық сызбасын келтіру. Микробтық синтез өнімдері (интерферондар, рекомбинантты вакциналар, вакцина – антигендер, медициналық мақсаттағы ферменттер).

**Жұмыстың мақсаты:** интерферондар, рекомбинантты вакциналар, вакцина – антигендер, медициналық мақсаттағы ферменттердің сызба нұсқасын келтіру.

**Интерферондар**-вирустармен жұқтыруға жауап ретінде адам мен жануарлар жасушаларымен бөлінеді. Олар вирусқа қарсы белсенділікке ие. Гендік инженерия әдістерін енгізгенге дейін интерферондар донорлық қаннан – 1 л қаннан 1 мкг-ге дейін тазартылмаған интерферон, яғни инъекцияға арналған шамамен бір доза алды. Қазіргі уақытта интерферондар Escherichia coli генноинженерлік штаммдарын, ашытқыларды, өсірілетін жәндіктер мен сүтқоректілердің жасушаларын пайдалана отырып табысты алады. Интерферондар герпес, гепатиттер және т. б. вирустарынан туындайтын ауруларды емдеу үшін қолданылады.

**Рекомбинантты вакциналар және вакциналар-антигенде**р. Вакцинация-жұқпалы ауруларға қарсы күрестің негізгі тәсілдерінің бірі. Жалпы вакцинация арқылы табиғи шешек жойылды, құтыру, полиомиелит, сары қызба таралуы шектелген. Ауыл шаруашылығы жануарларының ауруларына қарсы вакциналар (нпр, аусыл) әзірлеудің экономикалық маңызы зор. Дәстүрлі вакцина препараттары әлсіз немесе белсенді қоздырғыштардың негізінде жасалады. Қазіргі заманғы биотехнологиялық әзірлемелер рекомбинанттық вакциналар мен антиген вакциналарын жасауды көздейді. Екі типті вакциналар гендік инженерлік тәсілге негізделген.

**Медициналық мақсаттағы ферменттер.** Медицинада ферментті препараттарды әртүрлі қолдану. Оларды тромбтарды еріту, тұқым қуалайтын ауруларды емдеу, ағзаны уытты заттардан босату және т. б. үшін қолданады.

**Тапсырма:**

Топ бойынша жұмыс жасау. Студенттер топқа бөлініп әр топ сызба нұсақны келтіріп ауызша жауап береді. Сызба нұсқа өткізіледі.

1 топқа - интерферондар

2 топқа - рекомбинантты вакциналар

3 топқа - вакцина – антигендер

4 топқа - медициналық мақсаттағы ферменттер.

**Презентация 15 бет, сызба нұсқа келтіру, продуцент микроорганизмдерді қарастыру, алу жолдары, сызба нұсқасы.**

**Зертханалық сабақ 3.**

***Тақырыбы:*** Өндірістің көп сатылы биотехнологиялық сызбасын келтіру. Микробтық синтез өнімдері (органикалық қышқылдар сірке қышқылы, бензой, сүт, глюкон, лимон; консерванттар, хош иістендіргіштер).

**Жұмыстың мақсаты:** органикалық қышқылдар сірке қышқылы, бензой, сүт, глюкон, лимон; консерванттар, хош иістендіргіштер сызба нұсқасын келтіру.

**Органикалық қышқылдарды алу.** Органикалық қышқылдарды медицинада, тамақ өнеркәсібінде, техникалық мақсатта және әртүрлі химиялық синтезде пайдаланады. Үш карбондық қышқылдар айналымында кездесетін барлық
қышқылдарды микробиологиялық жолмен алуға болады. Бір қатар
органикалық қышқылдар айналымда түзіледі, ал қалғандары әр түрлі ферментациялардың өнімдері болып табылады. Көбінесе органикалық қышқылдардың түзілу процесі аэробты жағдайдағы көміртекті қосылыстардың ала тотығуына негізделеді. Қазіргі кезде өнеркәсіптік масштабта және пилотты қондырғыларда 35% (изолимонды қышқыл) – 100%-ға (галды қышқылы) дейін шығымдылығы жоғары органикалық қышқылдың 18 түрін өндіреді, олардың ішінен тек лимон қышқылы толық ферментация жолымен алынады. Ал, басқа қышқылдарды микробиологиялық және химиялық әдістер арқылы өндіреді.

**Лимон қышқылының өн**д**ірісі**

1893 жылы К.Вемер алғаш рет лимон қышқылын Репісllит және
Мисоr туысы зең саңырауқұлақтарының метаболизмінің өнімі ретінде түзілетіндігін көрсетті. Қазіргі кезде бұл қосылыс тамақ және фармацвтік өнеркәсіптерде, техникада кең қолданылады

**Органикалық қышқылдар** (сірке, бензой, сүт, глюкон, лимон) – консерванттар, хош иістендіргіштер.

**Тапсырма:**

Топ бойынша жұмыс жасау. Студенттер топқа бөлініп әр топ сызба нұсақны келтіріп ауызша жауап береді. Сызба нұсқа өткізіледі.

1 топқа - органикалық қышқылдар сірке қышқылы, бензой, сүт, глюкон, лимон;

2 топқа - консерванттар, хош иістендіргіштер

.

**Презентация 20 бет, сызба нұсқа келтіру, продуцент микроорганизмдерді қарастыру, алу жолдарын көрсету.**

**Зертханалық сабақ 4 - 5.**

***Тақырыбы:*** Микроорганизмдерді дақылдау әдістері.

**Жұмыстың мақсаты:** микроорганизмдерді дақылдау әдістерін игеру.

Микроорганизмдерді өсіру үшін беттік немесе тереңдік әдістерді қолданады.

**Беттік әдіспен микроорганизмдер** көбінесе қатты (қопсытылған, 30-80% - ға дейін ылғалданған, мысалы кебек) немесе сұйық (сирек) қоректік ортада өсіріледі. Бірінші жағдайда өсім қатты бөлшектердің бетінде және сумен немесе ауамен толтырылған күйлерде жүреді, араластыру жоқ. Егер орта сұйық болса, онда онымен кюветтерді ауамен желдетілетін камераларға орналастырады. Микроорганизмдер дақылы тікелей газ фазасынан оттегіні пайдаланады.

**Аэробты микроорганизмдер** (мысалы, зең саңырауқұлақтары) беттік жолмен өсіріледі.

**Тереңдік тәсіл микроорагнизмдерді -** Арнайы аппараттарда (ферментаторларда) сұйық қоректік ортаның барлық қалыңдығында дамитындығымен сипатталады. Әдіс аэробты (ортаның аэрациясы міндетті) және анаэробты микроорганизмдерді өсіру үшін де қолданылады. Барлық жағдайларда қоректік ортаны араластырғышпен араластыру жүргізіледі.

**Тереңдік тәсілмен өсіру мерзімді немесе үздіксіз болуы мүмкін.**

Кезеңдік тәсілдің мәні қоректік ортаның барлық көлемін аппаратқа бірден жүктейді, микроорганизмдер дақылдарын қосады және оңтайлы жағдайларда биомассаның (мысалы, ашытқылардың, бактериялардың таза дақылдарын өсіру кезінде; нан пісіретін ашытқылар өндірісінде) немесе микроорганизмдердің — метаболиттердің (мысалы, спирт) тіршілік ету өнімдерін жинақтағанша процесті жүргізеді.

Мерзімді өсіру кезінде ортаның құрамы өзгереді (қоректік заттардың концентрациясы азаяды және метаболиттер саны артады); өсу жылдамдығы; дақылдың морфологиялық және физиологиялық қасиеттері. Сонымен қатар, технологиялық қиындықтар, операциялардың циклдық барысы, ауысымды технологиялық тәртіптер туындайды, бұл процесті бақылау мен автоматтандыруды қиындатады. Бұл тәсілдің тиімділігі төмен (уақыттың 70%-ы өндірістік емес сатыға келеді).

**Тапсырма:**

*Saccharomyces cerevisiae* ашытқыларының клеткалары - сфералық немесе сопақ жасушалар болып табылады, өлшемі (8 -10) мкм, қозғалмайтын, бүршіктену арқылы көбейеді, субстратты мицеллия түзбейді, спора түзбейді, полиплоидты (жиі ди - және тетраплоидты).

Олардың клеткасы ірі және физиологиялық белсенді, қолайсыз технологиялық факторларға (тұздардың жоғары концентрациясына, температураға, спирттерге және т.б. төзімді).

Қолайлы өсу және көбею температурасы 28-30 0С. *Saccharomyces cerevisiae* дақылдарын мерзімді қайта егу нәтижесінде 3-6 ай арасында сақтайды. Ұзақ сақтау үшін вазелин майымен (1 жылға) ашытқы сақтау әдісі кеңінен қолданылады, ол 5 жыл бойы қайта егусіз өміршеңдігін сақтауға мүмкіндік береді.

Ашытқылар сондай-ақ ашытқы лиофилизирленген күйде және 10% сахароза ерітіндісінде 3-тен 10 жылға дейін сақтауға болады.

Инокулятты алу үшін сұйық қоректік ортаны дайындайды (1-кесте). Ортаны 0,5 атм кезінде стерильдейді және қопсыту температурасына дейін салқындатылғаннан кейін көлбеу агардан (колбаға 1 пробирка) клетка суспензиясымен егеді. Егілген материал 28-30 0С кезінде ортанының көлемі 50 мл болатын 250 мл-ге (150-180 об/мин) колбада егіледі. Содан кейін алынған инокулятпен зертханалық ферментерді егу жүргізіледі. Инокуляттың саны қоректік орта көлемінің ~ 2-5% құрайды.

**Кесте 1 – Ашытқыларды өсіруге арналған қоректік ортаның құрамы**

**Қоректік орта компоненті (г/ л)**

**Варианттар I II Ш**

**Меласса**  78,5 78,5 78,5

Диаммоний фосфат 1,47 1,47 1,47

**Азот** 1,88 - 0,9

Сульфат аммония - 1,6 0,7

**Хлорлы калий**  0,93 0,93 0,93

**Ашытқы автолизаты** 0,1-0,2 0,1-0,2 0,1-0,2

**4 лабораториялық жұмыста** беттік және тереңдік әдістермен микроорганизмдерді дақылдау (ашытқы саңырауқұлақтарын, бактерияларды). Клетка морфологиясын әрүрлі әдістермен қарастыру (бекітілген препарат, грам әдісімен бояу), колонияны сипаттау.

**5 лабораториялық жұмыста** (ашытқы саңырауқұлақтарын, бактерияларды). Клетка морфологиясын әрүрлі әдістермен қарастыру (бекітілген препарат, Грам әдісімен бояу), колонияны сипаттау.

Тереңдік әдістермен егілген микроорганизмдердің биомассасын анықтау.

Алынған деректер негізінде процестің тиімділігі туралы қорытынды жасайды (биомассаның шығуы, субстратты пайдалану коэффициенті, өнімділік).

***Бақылау сұрақтары***

1. "Қоректік орта" ұғымын анықтаңыз.

2. Қоректік ортаның құрамына қандай талаптар қойылады?

3. Мысалдарда қоректік ортаның жіктелуін түсіндіріңіз.

4. Қатты орталарды алу үшін қандай заттар қолданылады?

5. Неге агар ең пайдаланылатын тығыздағыш болып табылады

тығыз орталарды дайындау?

6. Бактериологиялық практикада ең көп таралған қоректік ортаны атаңыз, сипаттаңыз.