

## Biotechnologie

663.1

RNDr. VLADIMÍR JIRKŮ, CSc., Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

*Časopis Kvasný průmysl je v podstatné části svých příspěvků orientován na technologie, jejichž specifickým rysem je biochemické působení určité formy biologického materiálu na surovinu nebo substrát. Probíhající intenzivní vývoj v možnostech manipulace s mikrobi, rostlinnou nebo živočišnou buňkou umožnil v posledních letech inovaci „starých“ technologií a vývoj technologií zcela nových.*

*V této souvislosti pokládá redakce a redakční rada časopisu za nutné ilustrovat proces průmyslové aplikace poznatků biologických věd a inženýrských disciplín jako samostatnou problematiku biotechnologií.*

**Klíčová slova:** biotechnologie, genetické programování, ge nové inženýrství, buněčné inženýrství, enzymové inženýrství, bioprocessy

### 1. Vývoj a pojem

Politické, společenské a především ekonomické problémy 70. a 80. let stimulovaly v mnoha vyspělých státech analýzu vědecko-technického potenciálu. Je pochybné, že tato analýza byla zaměřena na klíčové oblasti se strategickým významem. V této souvislosti se týkala především efektivnosti vědecko-výzkumné práce a procesu aplikace a realizace jejich výsledků. Tento proces samozřejmě podléhal požadavkům a vlivům jednotlivých společenských systémů a proto nelze určité poznatky jednoznačně generalizovat. Společným rysem je však bezpochyby poznání významu interdisciplinárního charakteru vědecké práce jako faktoru, který specificky ovlivňuje kvantitu a kvalitu poznatků i jejich praktickou použitelnost. Z tohoto aspektu lze snad nejlépe vysvětlit i aktuální význam pojmu biotechnologie.

Není třeba zdůrazňovat, že vývoj technologií založených na procesu, který je katalyzován (realizován) určitým biosystémem, je starý jako lidstvo samo. Neuvědomělé nebo pouze empirické využívání biologické složky se však stalo řízeným procesem teprve vývojem experimentálních vědeckých disciplín. Vývoj od popisné vědy k experimentální biologické disciplíně však byl pouze první fází. Jeho pokračováním byla integrace různých biologických disciplín a její samostatný vývoj. Poznání biologické složky nepřineslo jen větší možnosti řízení biologického procesu, ale i poznání, že požadavky zvoleného biosystému jsou komplexním určujícím faktorem. Požadovaná optimální interakce biologické a inženýrské složky technologie stimulovala třetí vývojovou fázi, a to cílenou integraci biologických a technických disciplín.

Obecné schéma vývoje technologií s biologickým základem má však i určité specifické rysy. Především je to vývoj v procesu vytváření poznatků biologických věd. Jinými slovy jde o specifický vývoj vědecké metody, jako systému poznávacích operací v klíčových biologických disciplínách, tj. fyziologii a genetice mikroorganismů, biochemii, biofyzice a obecné molekulární biologii. Někdy uváděný termín „biologická revoluce“ je v těchto souvislostech nutno chápat nejen jako akumulaci klíčových (revolučních) poznatků, ale především jako dosažení stavu, který umožňuje experimentovat se zcela novými proměnnými. Je zřejmé, že vyvrcholení tohoto procesu je i kvalitativně nová forma praktické aplikace vědeckého poznatku. Podobný proces probíhal i ve vývoji inženýrského přístupu jako neoddělitelné části celé problematiky. Pro inženýrské zvládnutí biologického procesu přirozeně nestačilo aplikovat nazírání chemického inženýrství na chemický proces. Aplikace inženýrských zásad a manipulací proto vedla ke vzniku nové disciplíny, kterou se již v 50. letech stalo biochemické

inženýrství. Následující vývoj v této oblasti probíhal do značné míry paralelně s vývojem poznatků biologických disciplín i možnostmi jejich aplikace. Současný stav ilustruje procesní a systémové inženýrství zaměřené na kinetiku bioprocessu, konstrukci bioreaktoru a senzorového zařízení i specifické použití výpočetní techniky.

Vývoj technologií s biologickým základem je možno ilustrovat i charakterem produktů a jejich celkovou výtežností. V této souvislosti lze říci, že poznatky získané v 50. a 60. letech byly realizovány především v technologiích výroby komplexních molekul s biologickou aktivitou (antibiotika, enzymy). V druhé polovině 70. let se tyto technologie rozšiřují o velkokapacitní produkce jednoduchých produktů (např. bílkovin jednobuněčných organismů). Paralelně se však vyvíjejí zcela nové technologie, které umožňují výrobu nebo přípravu dosud nevyráběných komplexních produktů, nebo tradiční výroby výrazně zefektivnit. Tento stabilní vývojový trend bude pravděpodobně rozšířen o technologie umožňující ekonomicky vyrábět i některé jednoduché organické molekuly.

Uvedené aspekty vývoje průmyslových realizací bioprocessů ukazují, že pojem biotechnologie je snadnější vysvětlit než definovat. Současný význam tohoto pojmu nelze chápat jako novou nebo samostatnou vědní disciplínu, ale především jako význam pojmu technologie, jejímž specifickým rysem je nezbytná úloha biologické složky. Jinými slovy jde vždy o průmyslovou realizaci biochemického působení na surovinu nebo substrát. Průmyslové zvládnutí nebo příprava vhodného biosystému nejsou v tomto případě možné bez integrace poznatků řady vědních disciplín. Je zřejmé, že v těchto souvislostech pojem biotechnologie není pojmem novým. Jeho nové zavedení v 70. letech bylo spojeno především s novými možnostmi manipulace s biologickou složkou. V této souvislosti lze pojem biotechnologie chápat i jako synonymum kvalitativně nových forem průmyslového využití integrovaných poznatků biologických a technických věd současné doby.

### 2. Genetické programování a sekundární techniky

Lze říci, že znakem každého živého systému, který se udržel v evoluční dráze, je schopnost reprodukce, kterou lze charakterizovat určitou množivou potenci. Vlastnosti nově vzniklého jedince však nikdy nejsou naprosto identickou kopií mateřského organismu. Tato skutečnost je důsledkem chyb, které vznikají v procesu vlastní reprodukce genetické informace a důsledkem kombinace různých částí této informace. Je tedy možno předpokládat, že vlastnosti potomstva budou statisticky náhodně rozloženy okolo vlastností organismu mateřského. Jinými slo-



vy je potomstvo množivou verzí téže informace a jako takové vstupuje do interakce s vnějším prostředím. V průběhu této interakce je pak rozhodnuto o tom, která z verzí je v lepším souladu s vnějšími podmínkami. V obecném pojetí je lepší verzí ta, která se lépe realizuje svou množivou potencií. Nově získané vlastnosti, které jsou naopak v rozporu s vnějšími podmínkami, podmiňují snížení množivé potence, nebo její úplné potlačení. Tato skutečnost pak postulují, že v potomstvu další generace budou výrazně zastoupeni potomci těch jedinců, kteří měli takové vlastnosti, které nejlépe vyhovovaly vnějším podmínkám. V tomto mechanismu vnější podmínky tedy fungují jako selekční tlak, přičemž selekčním kritériem je množivá potence daného organismu. Během evoluční dráhy je tedy zesílena a upevňována ta genetická informace, která determinuje takovou variantu biochemické aktivity organismu, která v daných podmínkách zajišťuje jeho maximální reprodukci. Tento stav je podmíněn i striktní ekonomikou biochemického procesu. Je zřejmé, že tato základní charakteristika jednobuněčného organismu je zajištěna jeho genetickým programem. Tento program je ovšem v rozporu s každým průmyslovým využitím mikroorganismu, které je založeno na nadprodukcii, a tato není, z uvedených požadavků pro organismus výhodná. Řešením tohoto problému jsou především genetické manipulace [1]. I když tradiční přístupy (mutagenese) neztratily svůj význam, jsou nové formy průmyslového využití mikrobiální i nemikrobiální buňky spojovány s metodami, které vznikly až v 70. letech. Průmyslový potenciál těchto technik spočívá v možnosti cílené kvalitativní změny genofondu, kombinaci genetické informace druhově značně vzdálených jedinců, možnosti cíleného zvýšení dávky genu, a v neposlední řadě konstrukcí nového druhu vnitrodruhovou nebo mezidruhovou hybridizací celých buněk. V uvedených souvislostech lze tyto možnosti genového a buněčného inženýrství [1] doplnit vysvětlením dalšího často citovaného termínu, kterým je enzymové inženýrství. Jde o cestu cílené změny stavby molekuly enzymu jako programované alterace jeho vlastností. Tento termín by neměl být zaměňován s problematikou průmyslového využití enzymů nebo technologií jejich výroby. Jinými slovy jde o design bílkovinné molekuly, která má funkci biokatalyzátoru. Je zřejmé, že metodická podstata této oblasti vychází z genetické determinace molekuly bílkoviny. Chemická syntéza oligonukleotidů a aplikace metod genového inženýrství umožnily přípravu fragmentu rekombinované DNA, která odpovídá požadovaným změnám v primární sekvenci bílkoviny, kterou determinuje. Je možno říci, že jde o experimentální řešení vztahu struktury a funkce bílkovinné molekuly, které lze označit jako molekulární modelování. V praxi jde o kombinaci uvedených přístupů s metodami makromolekulární fyzikální chemie a fyziky, včetně počítačové grafické ilustrace [2].

Průmyslová účinnost této cílené přípravy biosystému může být výrazně zvýšena sekundárními technikami, jejichž vznik a vývoj rovněž spadá do 70. a 80. let. Jejich cílem je významné vlastnosti biosystému stabilizovat, optimálně dále pozměnit a umožnit jeho opakované použití. V této souvislosti byl značný vývoj zaznamenán zejména v oblasti imobilizací [3]. Potenciál připravovaného biosystému je možno násobit i jeho kombinací s přístrojem nebo jiným biosystémem. Významná je i regulace bioprocesu modifikacími vnějšího prostředí. Mezi sekundární techniky lze z určitého hlediska zařadit i všechny zásahy a možnosti inženýrských disciplín.

### 3. Oblasti perspektivního využití

Přehledy o současném stavu a perspektivách biotechnologií je možno pokládat za nejčastější zdroj informací, které pojem biotechnologie ilustrují. Není třeba zdůraz-

ňovat, že zájem o tuto oblast podmiňuje i určité zkreslení současných reálných možností, zejména pokud jde o informace určené laické veřejnosti. V této souvislosti se ilustrace laboratorního výsledku často přenáší do povědomí jako průmyslově realizovaný proces. Vývoj v 70. a 80. letech však bezpochyby prokázal, že nové formy zvládnutí biosyntetického, biotransformačního a biodegradačního potenciálu mikrobiální i nemikrobiální buňky je možno oprávněně pokládat za nové formy průmyslového potenciálu. Zároveň je zřejmé, že současný stav a perspektivy nelze v celé šíři vůbec ilustrovat. Následující přehled je proto pouze přibližnou informací.

**Nekonvenční zdroje potravin.** V tomto směru je vývoj stimulován nedostatečným zajištěním základních živin, zejména bílkovin. Pozornost byla orientována na výrobu tzv. mikrobiálních bílkovin, bílkovin jednobuněčných organismů (single cell protein, SCP). V této souvislosti je vývoj technologií zaměřen na přípravu surové nebo rafinované bílkoviny bakteriální a kvasinkové buňky, popř. buněk vláknitých hub nebo řas. Požadavky, které mohou být řešeny moderními biologickými přístupy, se týkají intracelulární hladiny bílkovin, zastoupení esenciálních aminokyselin, stability a proměnlivosti bílkovinné složky, redukce toxických a potenciálně toxických látek a dalších aspektů včetně inženýrských. Vývoj těchto biotechnologií je tedy podmíněn především přípravou optimálních produkčních kmenů. V této souvislosti nabízejí zcela specifické možnosti postsyntetické úpravy bílkovin in vitro. Cestou tzv. plasteinové reakce je možno bílkoviny částečně štěpit a v další fázi obohatit o žádané aminokyseliny.

Na tomto místě je možno uvést i technologie mikrobiálního výroby aminokyselin. Modifikace biologické složky jsou v tomto případě podřízeny požadavku nadprodukce aminokyseliny v kombinaci s optimálními kulturními požadavky.

Moderním biologickým problémem této kategorie je i fixace atmosférického dusíku jako cesty ke zvýšení výnosu rostlinné výroby. Principem je aplikace mechanismu biologické fixace molekulárního dusíku bakterií na zemědělskou rostlinu, která tuto schopnost nemá. Biologické řešení tohoto problému může být vedeno jednak cestou optimalizace symbiózy bakteriální populace s rostlinou, jednak cestou transferu bakteriální genetické informace determinující tento proces do genofondu rostliny.

Biotechnologické zvládnutí fotosyntetického potenciálu jednobuněčných organismů nebo fragmentů rostlin nabízí levnou výrobu cukrů. Schopnost řady organismů akumulovat vysoké hladiny lipidů představuje (paralelně s bílkoviny) levnou produkci mikrobiálních tuků (single cell oil, SCO).

Vývoj biotechnologií tohoto směru je samozřejmě orientován i na řadu sekundárních a minoritních komponentů, které jsou potravinářsky významné. Z hlediska rostlinné výroby lze upozornit i na perspektivní možnosti náhrady chemických insekticidů biologickými, které nemají negativní ekologické vlivy. Tato cesta je podmíněna vývojem biotechnologií produkce mikrobiálních (popř. rostlinných) metabolitů s insekticidními vlastnostmi.

**Nekonvenční zdroje energie.** V tomto případě jde o specifické konverze biologického materiálu (biomasy) v palivo, jejichž biotechnologickým principem je anaerobní proces. Tento proces je obvykle kombinován s biodegradací nebo chemickou degradací biomasy na rozpustný zdroj uhlíku, popř. jiné organické substráty. Předmětem zájmu je v této souvislosti produkce methanu (přesněji bioplynu jako směsi  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$  a dalších plynů), jednak produkce ethanolu. V prvním případě je řešení biologické



problematicky orientováno na biochemicky poměrně komplikovaný proces metanogeneze, jehož specifickým rysem je účast více (druhově vzdálených) mikroorganismů. V druhém případě je biologická problematika především zaměřena na přípravu kmenů se schopností přímé konverze biomasy v ethanol, tedy kmenů vybavených enzymovým systémem, který katalyzuje štěpení biopolymerů biomasy na rozpustný zdroj uhlíku. Konverze pentos na ethanol, vysoká rezistence k ethanolu a průmyslově výhodný teplotní režim, jsou další žádané vlastnosti průmyslových kmenů, které ilustrují současný vývoj těchto biotechnologií.

V těchto souvislostech lze upozornit i na vývoj biotechnologických technologií, jejichž podstatou je bioprodukce vodíku s vysokým využitím sluneční energie. Zajímavé je i studium organismů s vysokou produkcí glycerolu a jeho další zpracování na produkty podobné naftě, nebo příprava bioenergetických článků na bázi imobilizovaných subbuněčných struktur a organel.

**Biologicky aktivní látky.** Vstup mikrobiologie do farmaceutického průmyslu je spojován se začátkem 40. let. Od té doby vývoj technologií výroby farmaceuticky významných bioproduktů prodělal řadu revolučních změn, jejichž ilustrací jsou současné výroby antibiotik a biofarmak. Podstatou tohoto vývoje je poznání a průmyslové zvládnutí biosyntetického a biotransformačního materiálu mikrobiální i nemikrobiální buňky [4]. Není náhodou, že biotechnologie tohoto směru také nejvíce zasáhl vliv genového a buněčného inženýrství. Transformace genomu mikrobiální buňky humánní genovou informací se již stala, nebo v blízké budoucnosti stane, základem výroby inzulinu, somatostatinu, interferonů, určitých vakcín, hemoglobinu, serumalbuminu a dalších farmaceuticky významných komponentů [4]. Komerční možnosti těchto výrob není třeba zdůrazňovat. Do této oblasti spadá i biotechnologické uplatnění imunologických poznatků. Především jde o přípravu monoklonálních protilátek, klonování genů s cílem získat protektivní antigen a jejich zavedení do terapeutické a diagnostické praxe. Vývoj speciálních biotechnologií tohoto směru vyžaduje i intenzivně se vyvíjející terapeutické a diagnostické využití enzymů.

**Biodegradace.** Stále většího biotechnologického významu nabývají i řízené biodegradací procesy, které jsou jednak orientovány na konverze biopolymerů a komplexních substrátů v rozpustné nízkomolekulární komponenty, jednak na biodegradaci odpadních toxických materiálů.

Ilustrací prvního případu může být biodegradace lignocelulózových materiálů založená na průmyslové aplikaci celulolytických a ligninolytických mikroorganismů. Přehled odborné i patentové literatury ukazuje, že tato oblast má z hlediska aplikace moderních přístupů značné rezervy. Prakticky nevyužita je možnost přípravy průmyslových kmenů cestou genové manipulace. Podobně nebyly dosud využity možnosti přípravy hybridních klonů fúzí buněk. Vzhledem k problému katabolické represe syntézy celulasového systému je aktuální i řešení přípravy kmenů necitlivých k tomuto regulačnímu mechanismu. Podobné problémy má i vývoj průmyslově významných biodegradací jiných materiálů.

Ilustrací druhého příkladu je možno uvést konstatováním, že více než 5 miliónů chemických látek bylo do roku 1980 popsáno v Chemical Abstracts. Ekotoxikologický vliv této situace není třeba zdůrazňovat stejně jako naléhavost vývoje v oblasti biodegradací chemických polutantů. Biologické štěpení toxické látky, nebo její biotransformace na méně toxickou složku je však proces, který je zatím poznán u poměrně malého počtu látek, nemluvě o biodegradaci petropolutantů a makropolutantů. Příčinou zatím neuspokojivého stavu je složitost

biodegradacího procesu, která je dána interakcí řady faktorů (vliv prostředí, složité mezibuněčné vztahy ve směsných kulturách atd.). Poznání těchto procesů i příprava kmenů s širokým spektrem biodegradací aktivity je tedy kategorickým imperativem vývoje příslušných biotechnologií [5].

**Biosorpce.** Průmyslový význam těchto procesů spočívá především v mikrobiální sorpci kovů. Tato je podmíněna vznikem jejich organických komplexů, a to za účasti reaktivních skupin buněčných povrchů. Zastoupení a dostupnost těchto skupin je pod vlivem řady biologických faktorů a může být předmětem moderních biologických manipulací. Biotechnologie na této bázi jsou součástí nového pojetí — biometalurgie. Značná perspektiva je i ve využití této vlastnosti při lokálních extrakcích těžkých kovů a radionuklidů jako polutantů. Samostatnou kategorií biosorpcí jsou i bioakumulace organických polutantů. V tomto směru jsou biologické manipulace orientovány na přípravu kmenů, u kterých je zmíněná vlastnost kombinována s vlastností biodegradace akumulované látky.

**Renovace „starých“ technologií.** Je zřejmé, že vymezení dalších úseků biotechnologií by bylo možné uvedením jejich vhodných kombinací, včetně kombinací s klasickými biotechnologiemi. Tato poslední kategorie ovšem prodělavá své vlastní změny rovněž umožněné moderními manipulacemi s biologickou složkou. Příprava nových průmyslových kmenů i jejich nové aplikační formy již pozitivně ovlivnily kvalitativní i kvantitativní stránku zavedených výrobní antibiotik, enzymů, organických kyselin, i klasické biotechnologie potravinářské.

#### 4. Problémy a požadavky dalšího vývoje

S pojmem biotechnologie je dnes spojována nejen vize komerčního úspěchu, ale i řešení naléhavých problémů obyvatel naší planety. Z těchto důvodů se problematika biotechnologie stává předmětem programů vlád i politických stran, a to nejen vyspělých států, ale i rozvojových zemí. Komplexní charakter celé problematiky vyžaduje i komplexní řešení. Programy biotechnologií stimuluji klíčové změny i v dosti vzdálených oblastech vědecké, průmyslové i komerční praxe. I když lze tyto změny z dílčích hledisek chápat, nelze říci, že jsou jednoznačně pozitivní. Mezinárodní charakter vědecké práce např. značně utrpěl utajováním výsledků základního výzkumu, které získaly komerční význam. Výměna vědeckých informací je v řadě případů omezována už jen z toho důvodu, že je těžké odhadnout, které poznatky a problematiky mohou být v budoucnosti komerčně využity. Atraktivnost celé problematiky ovšem stimuloval i růst počtu publikací, odborných periodik a monografií orientovaných na tuto oblast. Nárůstu počtu odborných sdělení však velmi často neodpovídá růst ekonomické aktivity v dané oblasti. Například rozdíl v počtu publikací věnovaných problematice zakotvených enzymů a jejich skutečné průmyslové aplikaci je vhodnou ilustrací. Tento stav je často chápán jako nedostatek technologicky použitelných informací, což na pozadí narůstajícího počtu odborných sdělení je někdy interpretováno jako snižující se kvalita, stereotyp nebo špatná strategie vědecké práce. V této souvislosti je nutno zdůraznit, že řada klíčových poznatků není průmyslově využita proto, že jiné poznatky chybějí nebo chybějí i příslušné oblasti jejich průmyslových aplikací. Příčinou je často i to, že řada významných poznatků vzniká na pracovištích, která nemají, nebo tradičně neměla, určité kontakty s průmyslem. Velký počet časopisů, ve kterých lze nyní v této oblasti publikovat, ovšem nevylučuje i to, že jsou otiskovány i druhořadé nebo duplicitní práce. Interdisciplinární charakter dané problematiky je sám o sobě specifickou komplikací, která vyžaduje vývoj nových



informačních systémů. Z jiného hlediska je složitost předmětu biotechnologie i v tom, že jde stále ještě o problematiku spíše budoucí než současnou. V této souvislosti je současným problémem vhodný program a optimální strategie jeho řešení. Je zřejmé, že vhodná strategie spočívá ve správném odhadu vývoje poznatků biologických a inženýrských disciplín, správném odhadu vývoje požadavků v sociálně-ekonomické oblasti, vývoje stavu surovinové základny a v neposlední řadě i výchově specialistů. V tomto směru je biotechnologie problematikou mezinárodní, k jejímuž řešení výrazně přispěje i odstranění zbytečných bariér mezinárodního dorozumění.

#### Literatura

- [1] JIRKŮ, V., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům. **29**, 1984, č. 4, s. 80.
- [2] PASTETTER, W. H.: Trends in Biotechnology **1**, 1983, č. 3, s. 80.
- [3] JIRKŮ, V., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům. **30**, č. 2, 1984, v tisku.
- [4] ANARONOWITZ, Y., COHEN, G.: Scientific American **245**, 1981, č. 3, s. 106.
- [5] GHISALBA, O.: Experientia **39**, 1983, s. 1247.

**Jirků, V. - Basařová, G.: Biotechnologie.** Kvas. prům. **30**, 1984, č. 11, s. 254—257.

Biotechnologie je oblastí silných technologií, která je založena na výjimečných vlastnostech biologického materiálu — mikrobiální, rostlinné a živočišné buňky. V této souvislosti se přehledný článek týká základní problematiky, která je nyní spojována s pojmem biotechnologie. Současné požadavky a problémy i futurologické aspekty jsou uvedeny rovněž.

**Ирку, В., Басаржова, Г.: Биотехнология.** Квас. прум. **30**, 1984, № 11, стр. 254—257.

Биотехнология является областью крупных технологий, которая основана на исключительных свойствах биологического материала-микробальной, растительной и животной клеток. В связи с тем обзорная статья касается основной проблематики, которая теперь связывается с понятием биотехнология. Современные требования и аспекты прогноза также приводятся.

**Jirků, V. - Basařová, G.: Biotechnologie.** Kvas. prům. **30**, 1984, No. 11, pp. 254—257.

Biotechnology is an area of high technology which is based upon the unique characteristics of biological materials such as microbial, plant or animal cells. In this connection, this survey article deals with basic topics which are the basis of what is currently considered to be biotechnology. Current demands and problems as well as the futurological aspects are also covered here.

**Jirků, V. - Basařová, G.: Biotechnologie.** Kvas. prům. **30**, 1984, Nr. 11, S. 254—257.

Die Biotechnologie stellt das Gebiet der starken Technologien dar, das auf den speziellen Eigenschaften des biologischen Materials — der mikrobiellen, pflanzlichen und animalischen Zelle basiert. In diesem Zusammenhang befaßt sich der Artikel mit der Grundproblematik, die gegenwärtig mit dem Begriff Biotechnologie verbunden wird. Es werden auch die gegenwärtigen Anforderungen und Probleme sowie auch die futurologischen Aspekte angeführt.