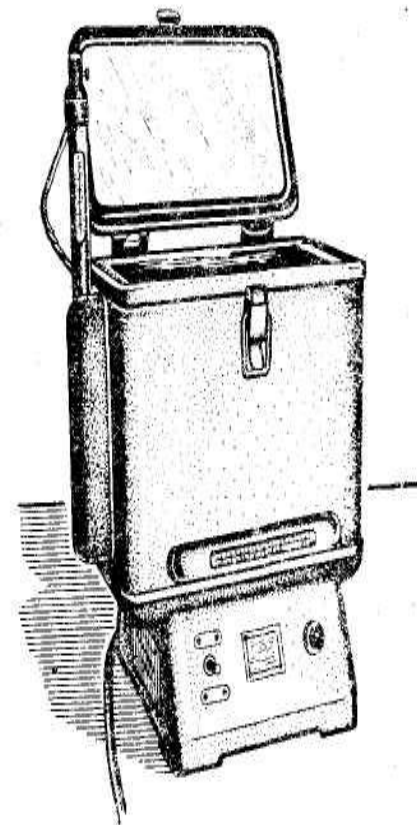
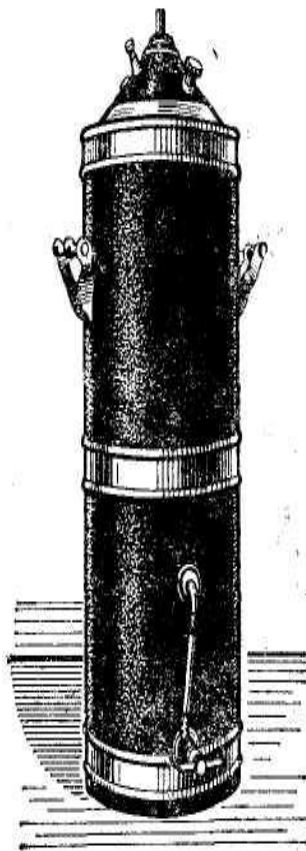
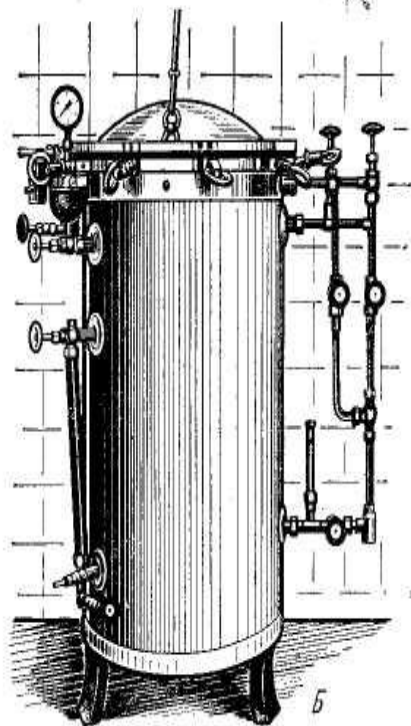
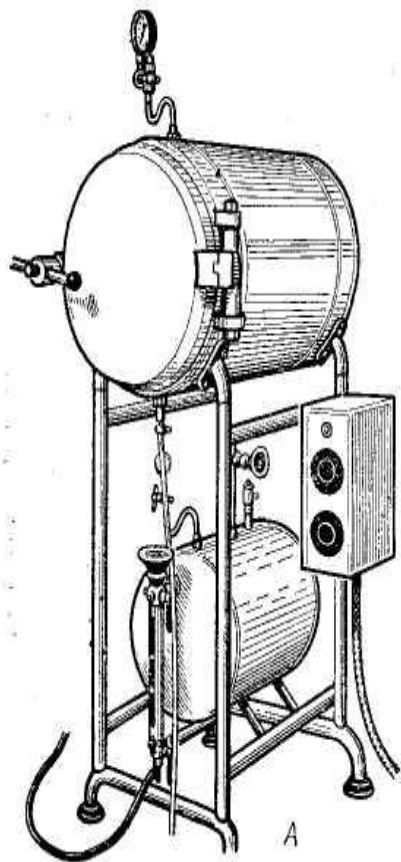


СТЕРИЛИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Стерилизация ПС в лабораторных условиях



Автоклавы:

А – горизонтальный;

Б – вертикальный

Аппарат Коха

Режимы стерилизации ПС в промышленных биореакторах

Используются режимы непрерывной и периодической стерилизации ПС при температуре – от **100** до **140°C**

- МПБ или МПА и другие термостабильные среды стерилизуют при **120°C**;
- среды, содержащие молоко, витамины, сахара, дрожжевой автолизат, дрожжевую воду, среды с желатиной и т.д - при температуре **112°C**.
- сыворотки и факторы роста не выдерживают нагревания даже до **100°C**. Их подвергают *стерилизации фильтрованием и добавляют асептически к компонентам ПС, простерилизованным термическим методом.*

При стерилизации ПС необходимо учитывать значение рН

В кислой среде при температуре стерилизации:

- Гидролизуются входящие в состав ПС полимеры:
 - при рН **<6,0** - пептонизация желатины, среда после стерилизации не застывает;
 - при рН **<5,0** гидролизуются агар-агар и теряет способность образовывать гель;

в щелочной среде при температуре стерилизации:

- выпадают в осадок соли железа,
- карамелизуются сахара и становятся недоступными для микроорганизмов.

Чтобы избежать этих явлений, среды, предназначенные для культивирования кислото- или щелочелюбивых микроорганизмов, стерилизуют при *нейтральном значении рН* и только после стерилизации подкисляют или подщелачивают

Определение режима стерилизации ПС в промышленной БТ

- Отличается от выбора режима стерилизации лекарственных средств.
- Значение **температуры стерилизации** ПС в биореакторе определяется свойствами ингредиентов, входящих в ее состав;
- Расчет **режима стерилизации** сводится к определению времени стерилизации ПС

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВРЕМЕНИ СТЕРИЛИЗАЦИИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Время стерилизационной выдержки – t – время, в течение которого в стерилизуемом объекте при заданной температуре погибнут все микроорганизмы

**N_0 - исходное число спорообразующих
микроорганизмов в стерилизуемом объекте**

Компонент среды	Число спор в 1 г вещества
Глюкоза	$(3,3 - 6,0) \cdot 10^4$
Сахароза	$(1,9 - 6,0) \cdot 10^2$
Зеленая патока	$4 \cdot 10^2$
Кукурузный экстракт	$(3,0 - 6,0) \cdot 10^6$
БВК	$0,7 \cdot 10^4$
Соевая мука	$(8,2 - 8,8) \cdot 10^4$
Кукурузная мука	$(2,1 - 3,0) \cdot 10^6$
Кальция карбонат	$(0,2 - 1,0) \cdot 10^2$
Вода водопроводная	$(2,0 - 4,0) \cdot 10^2$
При отсутствии данных	10^6

Рассчитывается по
обсемененности компонентов ПС
(концентрации м/о в среде)

N - конечное число спорообразующих микроорганизмов в стерилизуемом объекте

- В стерильном объекте **N** д.б. равным 0.
- Однако, из соображений обеспечения гарантии принимается как вероятность выживания в пределах от **0,01** до **0,001**

См. ГФ РБ: SAL для ЛС = 10^{-6}

SAL для питательных сред $\sim 10^{-2}$ - 10^{-3}

К – удельная скорость гибели микроорганизмов, зависит от величины температуры стерилизации (Т°С) и термической устойчивости микроорганизмов

Удельная скорость гибели (К) для

Vacillus stearrowthermophyllus

при разных значениях температуры

Т, °С	100	102	104	106	108	110	112
К, мин⁻¹	0,013	0,023	0,036	0,062	0,109	0,163	0,234

Т, °С	118	120	122	124	126
К, мин⁻¹	1,002	1,480	2,44	3,770	5,9

При стерилизации ПС с нерастворимыми агломератами необходимо отделять частицы с размером, превышающим **R**

Для ПС,
содержащих
соевую,
кукурузную
или иную муку

$$R^2 = \frac{\ln \frac{N_{ож}}{N_{отв}}}{\left(\frac{2}{\pi}\right)^2 \cdot \frac{K}{a} \ln \left[\frac{4}{\pi} (t_{ст} - t_0) \right]}, \text{ м,}$$

R – максимальный радиус агломератов, стерилизуемых с ПС;

N_{ож} - содержание м/о в жидкой фазе;

N_{отв} – содержание м/о в агломератах

K – удельная скорость гибели м/о, мин⁻¹;

t_{ст} – температура стерилизации;

t₀ – начальная температура в центре агломерата (при периодической стерилизации равна температуре ОС);

a – коэффициент теплопроводности, м²/с, справочная величина:

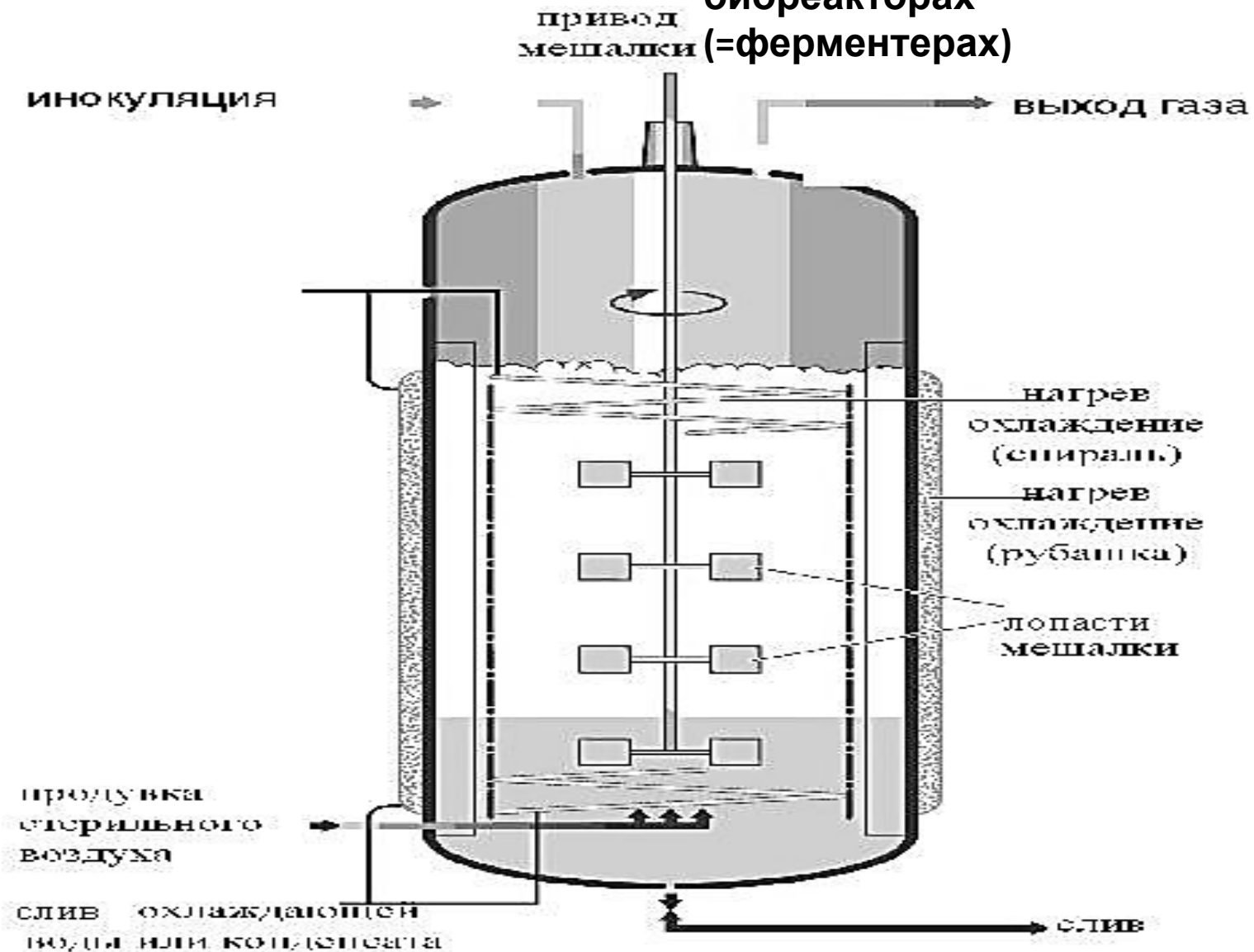
для: - пшеничной муки – $0,0835 \times 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с}$;

 - кукурузной муки – $0,0744 \times 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с}$;

 - соевой муки – $0,19 \times 10^{-6} \text{ м}^2/\text{с}$;

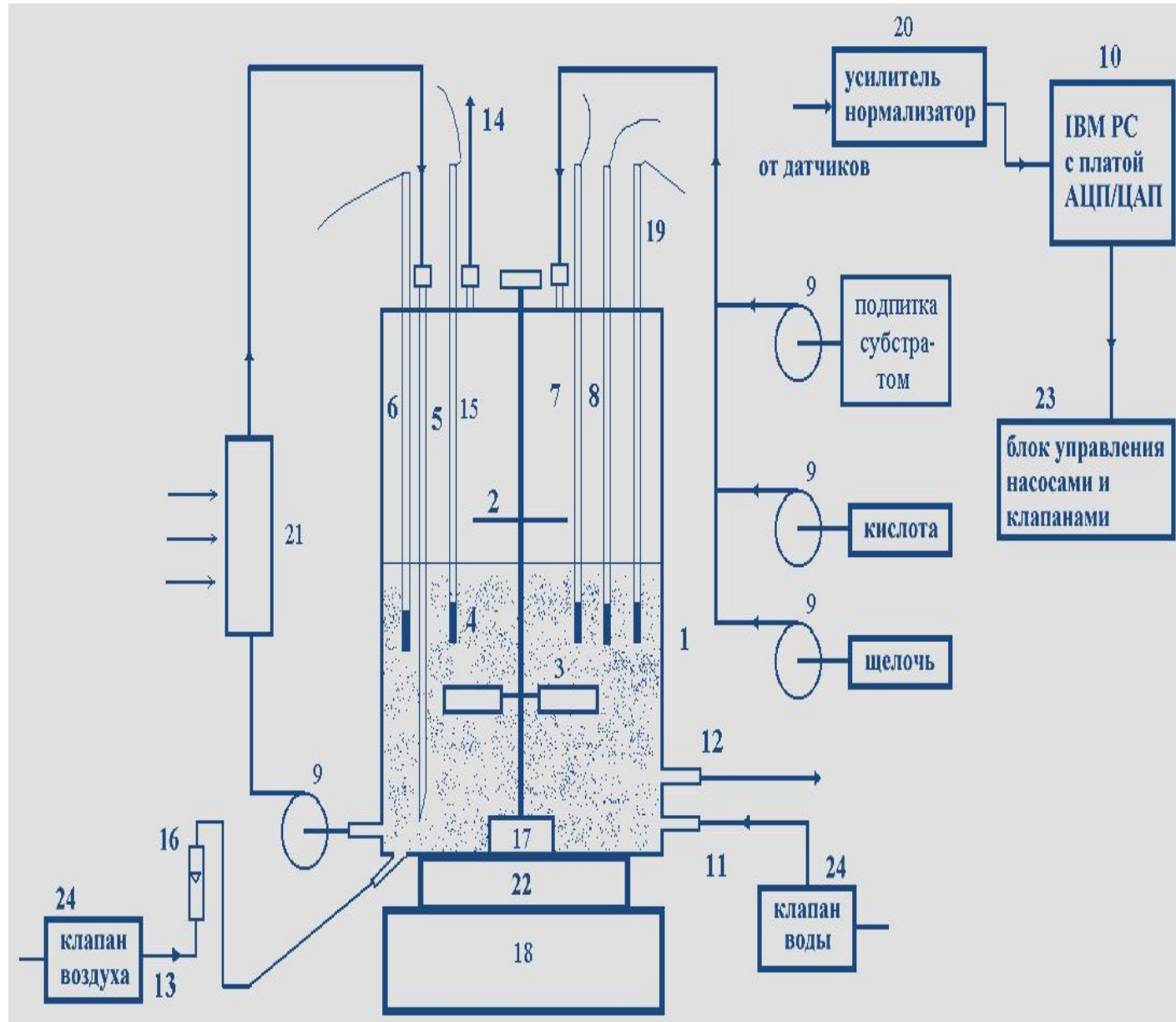
Ферментер с механическим перемешиванием

Биосинтез БАВ осуществляют в биореакторах (=ферментерах)



БИОРЕАКТОР С СИСТЕМОЙ УДАЛЕННОГО ДОСТУПА ДЛЯ СБОРА ДАННЫХ И КОНТРОЛЯ ФЕРМЕНТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

1 – корпус ферментера; 2 – дискообразный пеногаситель; 3 – лопастная мешалка; 4 – среда культивирования; 5 – сливной патрубок; 6 – электрод сравнения; 7 – pH-электрод; 8 – pO₂-электрод; 9 – перистальтические насосы; 10 – IBM PC с платой АЦП/ЦАП; 11, 12 – подача охлаждающей воды в теплообменник ферментера; 13 – подача воздуха; 14 – выход воздуха; 15 – термосопротивление; 16 – ротаметр; 17 – магнитный привод; 18 – привод двигателя; 19 – eH-электрод; 20 – усилитель-нормализатор; 21 – выносная кювета для измерения биомассы (оптической плотности ферментационной среды); 22 – нагревательный элемент; 23 – блок



Основные технологические стадии биотехнологического процесса

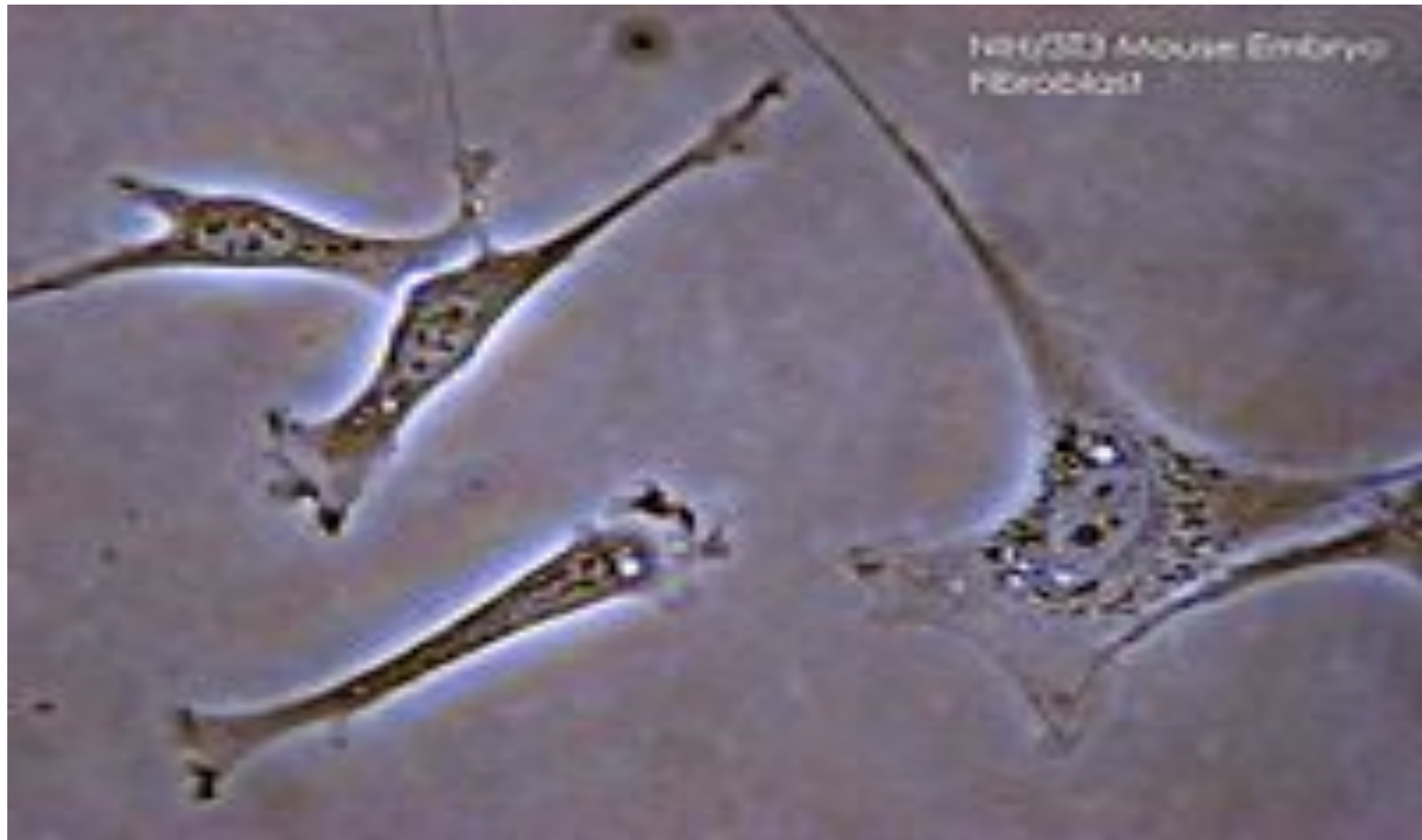
1. приготовление и стерилизация питательных сред
- 2.** приготовление посевного материала
3. культивирование
4. обработка культуральной жидкости
5. выделение и очистка биопрепарата
6. получение готовой продукции

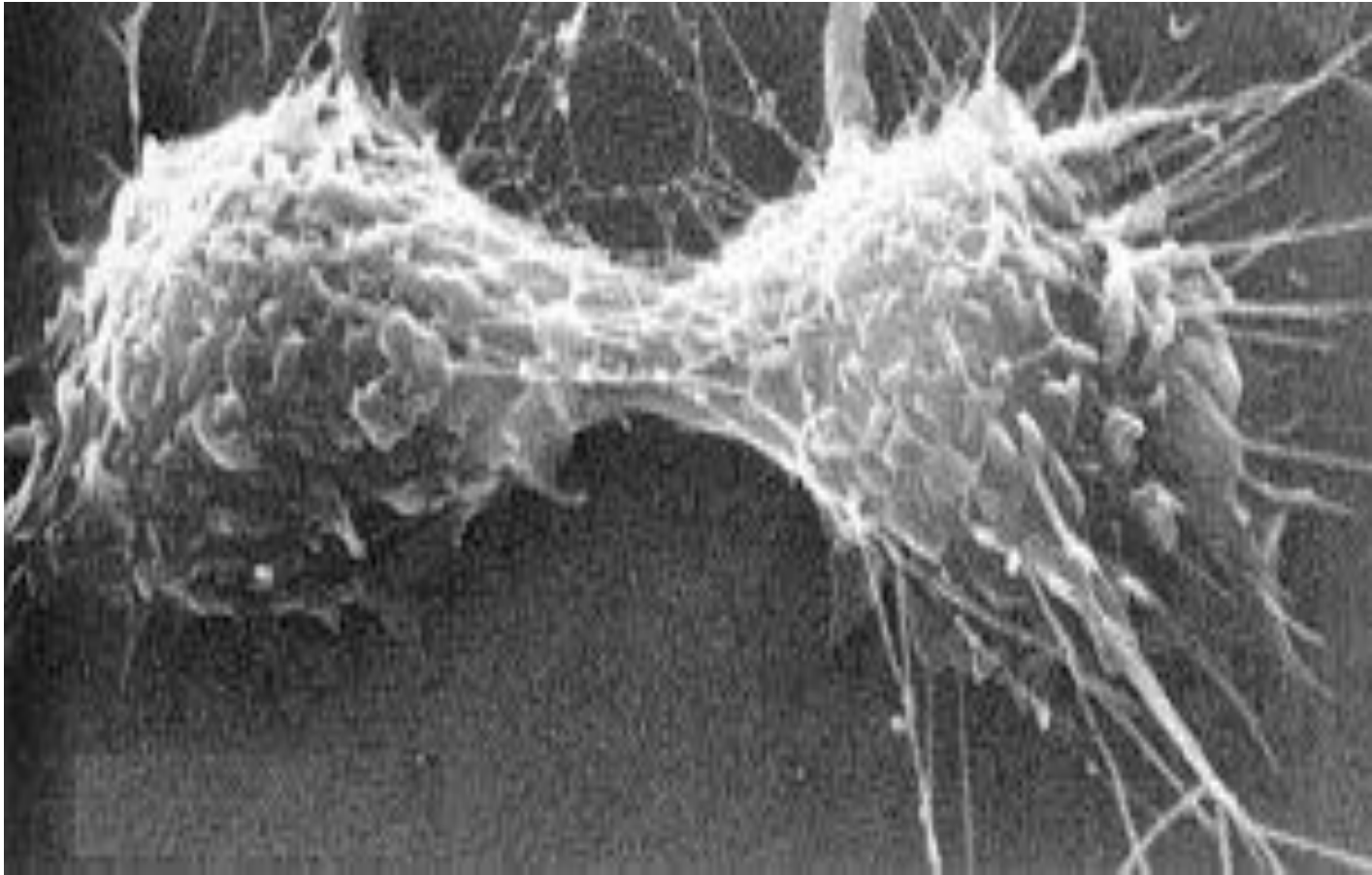
ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА

Виды посевного материала

- *Прокариоты*
- *Простейшие эукариоты*
- *Вирусы*
- *Культуры клеток развитых и сложных эукариотов*

Форма фибробластов разнообразна, зависит от уровня их активности и локализации в организме. Размер активных фибробластов увеличен, они имеют отростки, овальное клеточное ядро, богаты рибосомами. Неактивные фибробласты (фиброциты) размером меньше, имеют веретенообразную форму.





Животные клетки в культуре в процессе деления

Теломеры (греч. *telos* — конец и *meros* — часть)

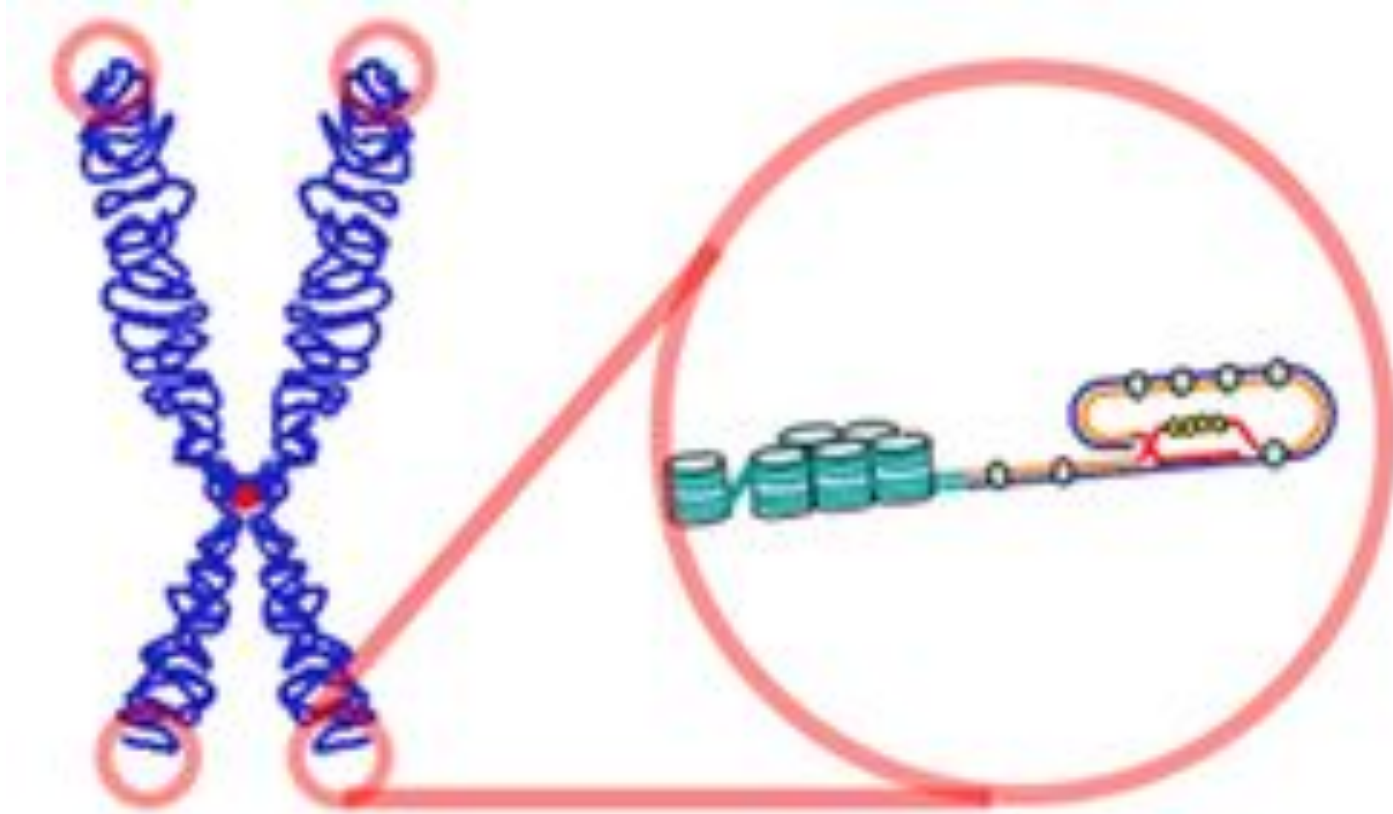
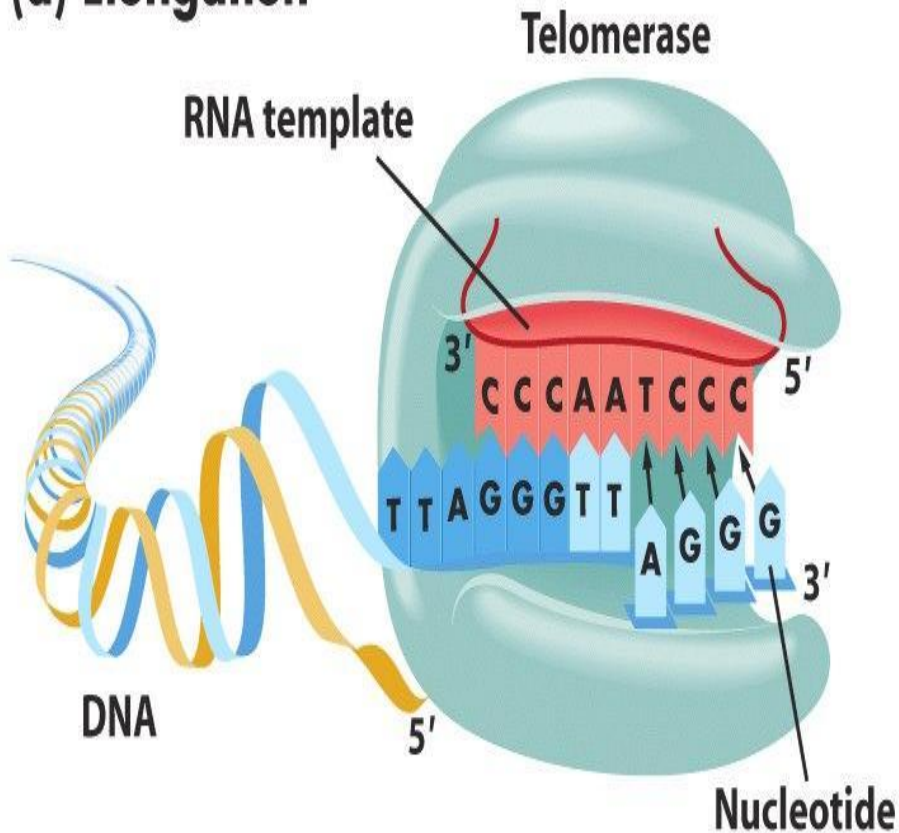
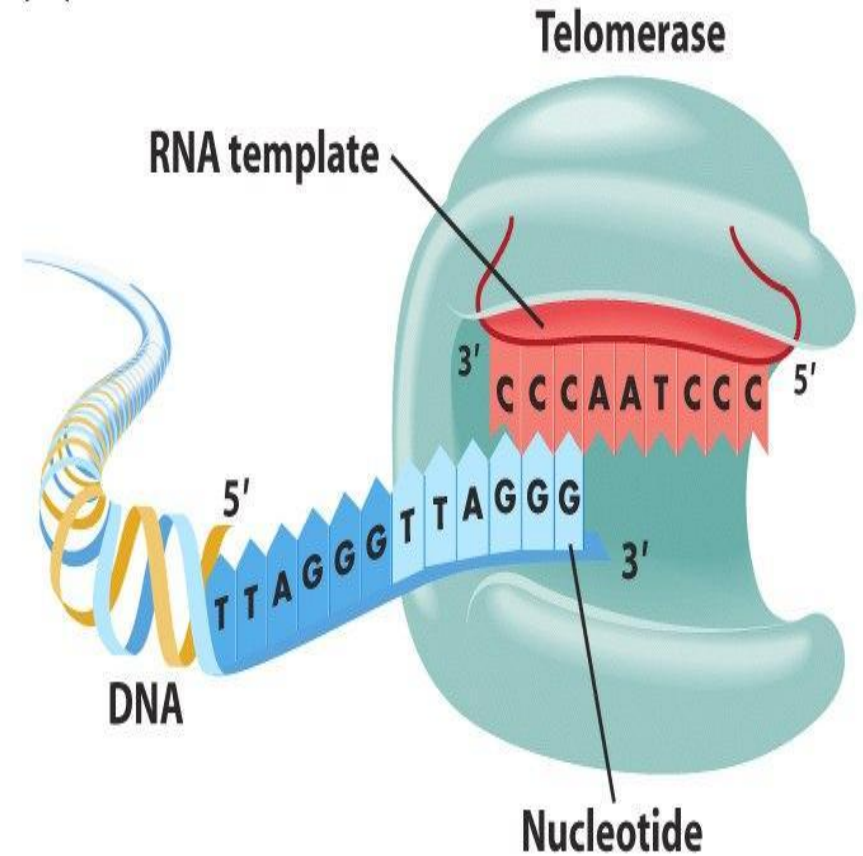


Схема расположения теломер на хромосоме

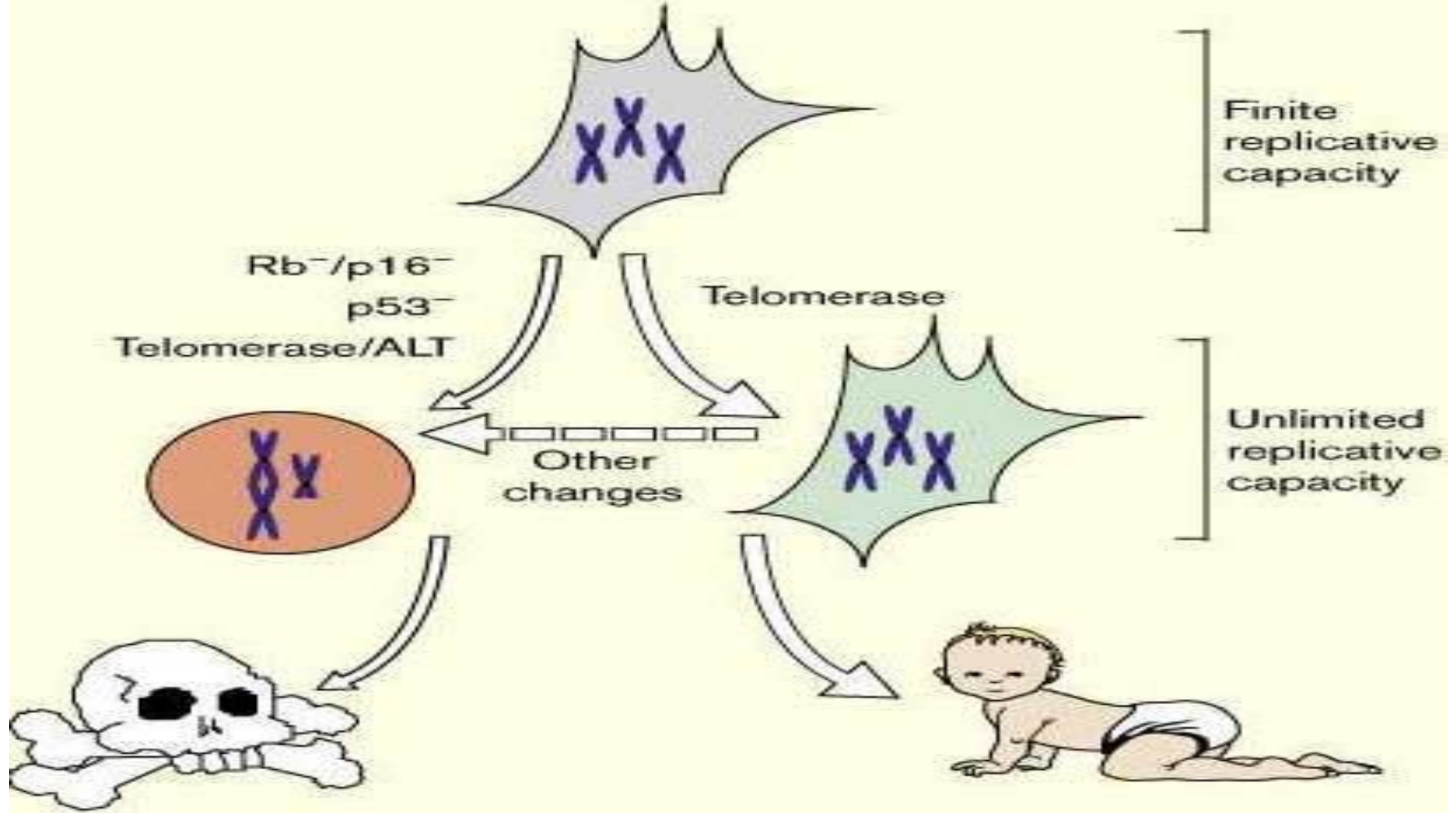
(a) Elongation



(b) Translocation



[Теломераза](#) – обратная транскриптаза. При помощи собственной РНК-матрицы она достраивает теломерные повторы и удлиняет теломеры в половых и стволовых клетках .



Клетки с финальным репликативным потенциалом могут быть immortalизованы. В некоторых типах клеток инактивация теломеразы, скомбинированная с поддержанием теломер, может вести к immortalизации клеток с потерей контроля роста, типичными для онкогенотрансформированных клеток (in orange), тогда как экзогенная экспрессия только теломеразы (**индуктором теломеразы**) может увеличивать репликативный потенциал без онкогенной трансформации (in green).

Возможно, что еще неизвестные факторы могут вовлекать клетки в онкогенную трансформацию теломеразой - immortalизованные клетки.