Ф А 2.2.1-32-367

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ факультет медико-фармацевтичних технологій кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА на тему: **«АНАЛІЗ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ У СТВОРЕННІ КУЛЬТИВОВАНОГО М'ЯСА»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи ПБтм24(1,6д)-01 спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія освітньої програми Промислова біотехнологія
Ірина ЖИДКОВА
Керівник: доцент закладу освіти кафедри біотехнології, к.фарм.н., доцент Ольга КАЛЮЖНАЯ
Рецензент: декан факультету біотехнологій Державного біотехнологічного університету, професор кафедри біотехнології, молекулярної біології та водних біоресурсів,
к. с.-г. н., професор Олена ЩЕРБАК

Харків – 2026 рік

АНОТАЦІЯ

У роботі проведено комплексний аналіз сучасних біотехнологічних підходів до створення культивованого м’яса — інноваційного продукту, що отримується шляхом культивування клітин тварин *in vitro.* Розглянуто глобальні передумови розвитку клітинного сільського господарства, зокрема екологічні, етичні та економічні аспекти. Здійснено детальний огляд літературних джерел щодо біології міогенезу, типів стовбурових клітин, складів поживних середовищ та конструкцій біореакторів. Охарактеризовано основні типи скаффолдів (каркасів) для забезпечення тривимірної структури тканини.

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновку. Загальний обсяг роботи 73 сторінок, кількість таблиць 9, рисунків 10, джерел літератури 33, додатків 1.

Ключові слова: культивоване м’ясо, біореактор, міосателітні клітини, скаффолд, тканинна інженерія.

ANNOTATION

This master's thesis describes the entire technological chain of monoclonal antibody production, from the selection of the optimal cell line to the production and purification of the final product.

The most modern cell cultivation technologies, in particular, the creation of high-performance cell lines and optimization of cell cultivation conditions, which have great prospects for implementation in production among domestic manufacturers of biotechnological drugs and can significantly affect their quality and productivity of production lines, are considered.

The work consists of an introduction, three chapters, and a conclusion. The total volume of the work is 73 pages, the number of tables is 9, figures is 10, references are 33, appendices are 1.

Keywords: monoclonal antibodies, cell lines, cultivation.

.

ЗМІСТ ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....5

ВСТУП.....6

РОЗДІЛ 1.....9

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....9

1.1. Історичні та екологічні передумови розвитку культивованого м'яса.....9

1.2. Сучасні підходи до виробництва культивованого м'яса.....12

1.3. Регуляторне забезпечення виробництва культивованого м'яса.....13

1.4. Біологічні основи створення культивованого м'яса: міогенез *in vitro*.....16

1.5. Поживні середовища у виробництві культивованого м'яса.....18

Висновки до розділу 1.....22

РОЗДІЛ II.....23

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....23

вибору.....23

2.2. Біологічні передумови формування м'язового та жирового компонентів 33

культивованого м'яса *in vitro*.....33

2.3. Фактори, що впливають на вибір та ефективність типів клітин.....35

2.4. Поживні середовища для культивування клітин.....37

2.5. Методи наукових досліджень.....41

Висновки до розділу 2.....42

РОЗДІЛ III.....43

ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ВИРОБНИЦТВА КУЛЬТИВОВАНОГО М'ЯСА.....43

3.1. Загальна характеристика технологічного процесу виробництва 43

культивованого м'яса 43

3.2 Отримання та підготовка клітинного матеріалу.....46

3.3. Проліферація та стратегії нарощування клітинної біомаси 54

3.4 Диференціація та формування м'язових волокон 59

3.5. Роль скафолдів у формуванні тканинної структури 61

3.6. Формування кінцевого продукту, дозрівання та підготовка до 66

споживання 66

3.7. Масштабування біореакторних процесів 69
Висновки до розділу 3.....76
ВИСНОВКИ.....77
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....78
ДОДАТОК.....83

2.1. Джерела клітинного матеріалу: порівняльна характеристика та критерії

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДСК — стовбурові клітини жирової тканини (Adipose-Derived Stem Cells)

АСК — дорослі (мультипотентні) стовбурові клітини bESC — ембріональні стовбурові клітини великої рогатої худоби

CDM — хімічно визначене поживне середовище (Chemically Defined Medium)

DMEM — середовище Дульбекко, модифіковане за Іглом (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

DMEM/F12 — комбіноване поживне середовище DMEM та Ham's F12

ESC — ембріональні стовбурові клітини (Embryonic Stem Cells)

FBS — фетальна бичача сироватка (Fetal Bovine Serum)

FGF — фактор росту фібробластів (Fibroblast Growth Factor)

FGF-2 — основний фактор росту фібробластів

GF — фактор росту (Growth Factor)

HBSS — збалансований сольовий розчин Хенкса (Hank's Balanced Salt Solution)

IGF-1 — інсуліноподібний фактор росту 1 (Insulin-like Growth Factor 1)

iPSC — індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (induced Pluripotent Stem Cells)

MAPK/ERK — сигнальний каскад мітоген-активованих протеїнкіназ

MRF — міогенні регуляторні фактори (Myogenic Regulatory Factors)

MSC (МСК) — мезенхімальні стовбурові клітини (Mesenchymal Stem Cells)

PBS — фосфатно-сольовий буфер (Phosphate Buffered Saline)

SCs — міосателітні клітини (Satellite Cells)

ВСТУП

Актуальність теми. Людство стоїть на порозі глобальної продовольчої кризи, зумовленої стрімким зростанням населення планети, яке, за прогнозами ООН, досягне 9,7 мільярда осіб до 2050 року. Це демографічне зростання супроводжується підвищенням рівня життя у країнах, що розвиваються, що неминуче веде до збільшення попиту на білки тваринного походження. Традиційне тваринництво, яке історично забезпечувало потреби людства, наближається до меж своїх виробничих та екологічних можливостей.

За даними Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН (FAO), галузь тваринництва відповідальна приблизно за 14,5 % антропогенних викидів парникових газів, використовує понад 70 % сільськогосподарських угідь та є одним із найбільших споживачів прісної води. Окрім екологічного навантаження, інтенсивне тваринництво пов’язане з ризиками поширення зоонозних інфекцій, розвитком антибіотикорезистентності та етичними проблемами, пов’язаними з утриманням і забоєм тварин.

У цьому контексті біотехнологічне виробництво культивованого м’яса (cellular agriculture) розглядається як перспективна альтернатива традиційному м’ясному виробництву. Технологія передбачає отримання м’язової та жирової тканини шляхом культивування тваринних клітин у контрольованих умовах біореакторів без необхідності вирощування та забою цілого організму. Культивоване м’ясо потенційно здатне суттєво знизити екологічний слід виробництва білка, зменшити використання земельних і водних ресурсів, а також підвищити рівень біологічної безпеки та суспільного прийняття харчових продуктів тваринного походження.

Попри значний науковий прогрес, технологія культивованого м’яса стикається з низкою критичних викликів, серед яких вибір і стабілізація клітинних ліній, розробка економічно доцільних поживних середовищ, масштабування процесів у біореакторах та формування тканинної структури, наближеної до традиційного м’яса. Особливо актуальним є системний аналіз

цих аспектів з урахуванням потенціалу аграрно-біотехнологічного сектору України..

Метою даної роботи є аналіз сучасних біотехнологічних підходів до виробництва культивованого м’яса та визначення ключових технологічних чинників, що впливають на ефективність і масштабування цього процесу.

Предметом дослідження є біотехнологічні процеси, пов'язані з використанням клітинних ліній у виробництві культивованого м’яса.

Об'єктом дослідження є самі клітини лінії, що використовуються для виробництва культивованого м’яса, а таккож технологічний процес його виробництва.

Для досягнення мети поставлено такі завдання:

1. Проаналізувати типи клітинних джерел, придатних для виробництва культивованого м’яса, та підходи до забезпечення їх генетичної стабільності.

2. Охарактеризувати сучасні стратегії створення безсироваткових поживних середовищ і фактори, що впливають на їх економічну доцільність.

3. Розглянути біологічні механізми міогенезу та адипогенезу in vitro як основу формування м’язової та жирової тканини.

4. Проаналізувати технологічні підходи до масштабування клітинних культур і використання біореакторних систем у виробництві культивованого м’яса.

5. Узагальнити основні наукові та технологічні виклики, що визначають перспективи комерціалізації культивованого м’яса.

Методи наукових досліджень. описового дослідження - проаналізовані літературні і доступні в Інтернеті джерела; графічні методи - складені схеми, таблиці та діаграми; технологічні методи - проведено аналіз використаних методів масштабування клітинних ліній на виробничому підприємстві.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи можуть бути використані при науковому обґрунтуванні вибору клітинних

ліній, поживних середовищ і технологічних рішень у сфері клітинної агробіотехнології. Узагальнені підходи до оптимізації культивування клітин і масштабування процесів можуть бути корисними для вітчизняних біотехнологічних підприємств та науково-дослідних установ, що працюють у галузі клітинних технологій харчового та біомедичного призначення.

Апробація результатів дослідження і публікації.

1. Жидкова І.О., Хохленкова Н. В. Аналіз сучасних біотехнологій у створенні культивованого м'яса. Youth Pharmacy Science: матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (10-11 грудня 2025 р., м. Харків). – С. 197-198.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи

Робота складається зі вступу, трьох розділів: літературний огляд, об’єкти та методи досліджень, опис технологічного процесу отримання культивованого м’яса, висновку. Загальний обсяг роботи 73 сторінок, кількість таблиць 9, рисунків 10, джерел літератури 33, додатків 1.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Історичні та екологічні передумови розвитку культивованого м’яса

Ідея вирощування м’язової тканини поза організмом тварини має тривалу історію та бере свій початок задовго до становлення сучасних біотехнологій. Одним із перших, хто публічно сформулював концепцію отримання м’яса без вирощування цілісного організму, був Вінстон Черчилль. У своєму есе «Fifty Years Hence» (1931 р.) він висловив припущення, що людство зможе уникнути нераціонального вирощування цілих тварин, культивуючи лише їстівні частини у штучному середовищі [10].

Подібні ідеї знаходили відображення і в художній літературі: зокрема, французький письменник-фантаст Рене Баржавель у 1943 році згадував м’ясо in vitro як елемент ресторанної культури майбутнього, що свідчить про ранній інтерес суспільства до альтернативних джерел тваринного білка [14].

Наукові передумови для практичної реалізації цієї концепції були створені в середині XX століття з розвитком методів культивування клітин ссавців. У 1950–1960-х роках було розроблено базові поживні середовища, впроваджено методи асептичної роботи та сформовано підходи до контролю фізикохімічних параметрів культивування [6, 15]. У 1971 році Р. Росс уперше здійснив довготривале культивування гладеньком’язових клітин, а в 1980-х роках було продемонстровано можливість клінічного застосування тканинно-інженерних продуктів, зокрема штучної шкіри на основі кератиноцитів [22].

Перші експериментальні спроби отримання їстівної м’язової тканини in vitro датуються кінцем 1990-х років. Значний внесок у розвиток цього напряму зробили дослідження, профінансовані Національним управлінням з аеронавтики і дослідження космічного простору (NASA), спрямовані на створення альтернативних джерел білка для тривалих космічних місій. У 2001

році було успішно культивовано м’язову тканину риби, що вважається одним із перших прикладів отримання прототипу культивованого м’яса [7].

Переломним моментом у розвитку галузі став 2013 рік, коли професор Марк Пост (Маастрихтський університет, Нідерланди) представив перший бургер із культивованої яловичини. Хоча собівартість цього продукту була надзвичайно високою, дана подія наочно продемонструвала принципову можливість виробництва м’яса з клітинних культур та стала потужним імпульсом для подальших наукових і промислових досліджень [20]. У наступні роки було створено десятки стартапів і науково-дослідних центрів, що спеціалізуються на різних аспектах клітинного виробництва м’ясних продуктів [27].

Загальну еволюцію розвитку ідей та технологій культивованого м’яса від початкових теоретичних концепцій до сучасних біотехнологічних рішень узагальнено на рис. 1.1 [8, 11].

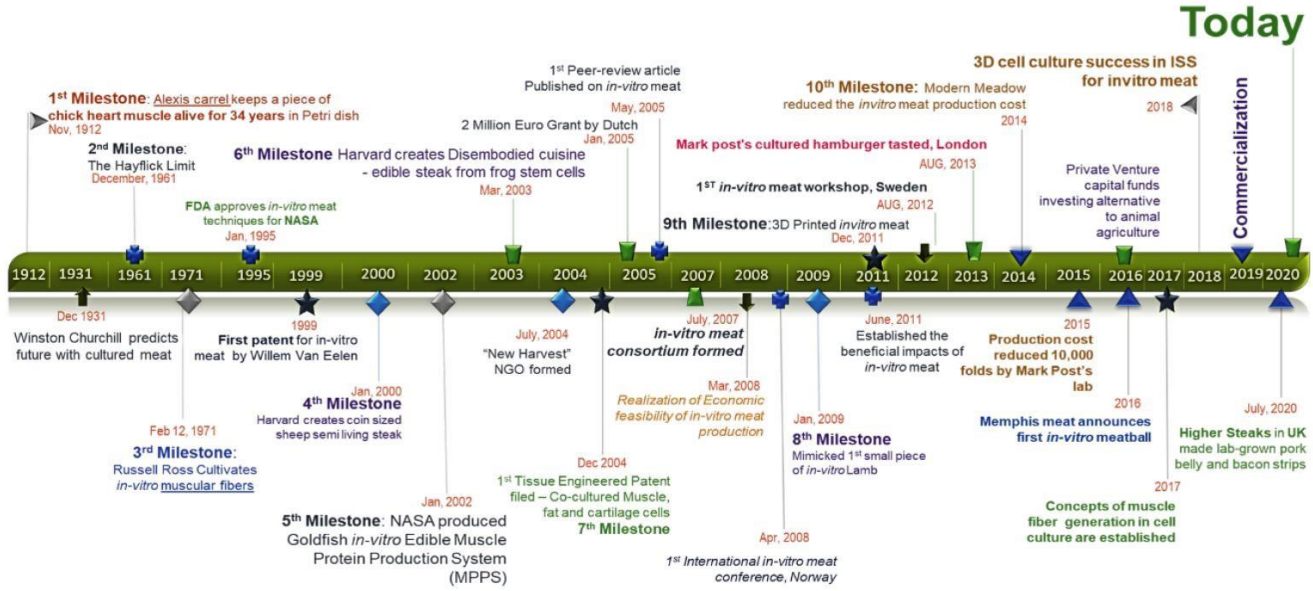

Рис. 1.1 Хронологія м'яса *in vitro* від початку культивування клітин до виробництва культивованого м'яса

Екологічні та етичні дилеми використання культивованого м’яса

Традиційне тваринництво є одним із найбільш ресурсомістких секторів агропромислового комплексу та справляє значний негативний вплив на довкілля. За оцінками міжнародних організацій, сектор тваринництва

відповідальний приблизно за 14,5% усіх антропогенних викидів парникових газів, при цьому близько 45% цих викидів припадає на метан [12]. Окрім цього, тваринництво споживає близько 30% прісної води, що використовується у сільському господарстві, та займає понад 70% сільськогосподарських угідь, що становить приблизно 30% загальної площі суходолу [12].

Подальше зростання глобального попиту на м’ясо здатне нівелювати потенційні екологічні покращення, досягнуті в межах інтенсифікації традиційного тваринництва. Поряд з екологічними викликами, інтенсивне тваринництво асоціюється з підвищеним ризиком поширення зоонозних інфекцій, зокрема свинячого та пташиного грипу, а також сприяє формуванню антибіотикорезистентності внаслідок масового застосування антимікробних препаратів
[27].

Особливо значним є негативний вплив виробництва яловичини, оскільки велика рогата худоба характеризується низькою ефективністю конверсії кормів у тваринний білок [16]. Для отримання 1 кг яловичини необхідні значні площі сільськогосподарських угідь, великі обсяги води та енергії. Розширення пасовищ і площ під кормові культури є однією з провідних причин вирубування лісів і втрати біорізноманіття в багатьох регіонах світу [12].

У цьому контексті культивоване м’ясо розглядається як перспективна альтернатива, здатна суттєво знизити екологічне навантаження на навколишнє середовище. Згідно з результатами аналізу життєвого циклу, перехід до клітинного виробництва м’яса може забезпечити значне скорочення використання земельних і водних ресурсів, а також зменшення викидів парникових газів [17, 29, 21]. Водночас величина потенційних екологічних переваг істотно залежить від джерел енергії, що використовуються у виробництві, та від загальної технологічної організації процесу.

Етичний аспект також відіграє важливу роль у розвитку технологій культивованого м’яса. За наявними оцінками, щорічно у світі забивається

понад 80 мільярдів наземних тварин, більшість з яких утримується в умовах інтенсивного промислового тваринництва [30]. Виробництво культивованого м’яса дозволяє суттєво зменшити страждання тварин, знизити ризики поширення зоонозних захворювань та скоротити потребу у використанні антибіотиків, що розглядається як важлива перевага з точки зору сталого розвитку та біоетики.

1.2. Сучасні підходи до виробництва культивованого м’яса

Сучасні підходи до виробництва культивованого м’яса ґрунтуються на різних стратегіях відтворення м’ясної тканини, які відрізняються за рівнем структурної складності, біологічними вимогами та технологічною реалізовуваністю [11, 32, 33]. На відміну від традиційного м’ясного виробництва, культивоване м’ясо не є однорідним продуктом, а може бути отримане у декількох принципово різних форматах — від простої клітинної біомаси до високоорганізованих тканинних конструкцій.

Найбільш технологічно доступною є стратегія отримання неструктурованого ультивованого м’яса, яка передбачає вирощування м’язових клітин у вигляді клітинної маси без формування складної тканинної архітектури [8, 14]. Такий підхідт орієнтований на виробництво продуктів типу фаршу, котлет або нагетсів і тхарактеризується нижчими вимогами до просторової організації клітин, васкуляризації та механічних властивостей тканини.

Більш складною є стратегія створення структурованого культивованого м’яса, яка спрямована на відтворення природної організації м’язової тканини з урахуванням орієнтації волокон, наявності жирових включень, сполучної тканини та позаклітинного матриксу [13, 15, 24]. Реалізація цього підходу потребує застосування тканинної інженерії, біоматеріалів та керованих процесів диференціації клітин у тривимірному середовищі.

Окрему групу становлять гібридні стратегії, які поєднують культивовані тваринні клітини з рослинними або мікробними матрицями [22, 25]. Такий

підхід дозволяє зменшити біологічну та економічну складність процесу, водночас зберігаючи ключові сенсорні властивості м’яса за рахунок присутності культивованого жиру або м’язових клітин.

Загальну класифікацію основних стратегій формування культивованого м’яса подано на рис. 1.2. Розуміння цих підходів є необхідною передумовою для аналізу біологічних основ культивування клітин та подальшого розгляду технологічних процесів, що лежать в основі промислового виробництва культивованого м’яса.

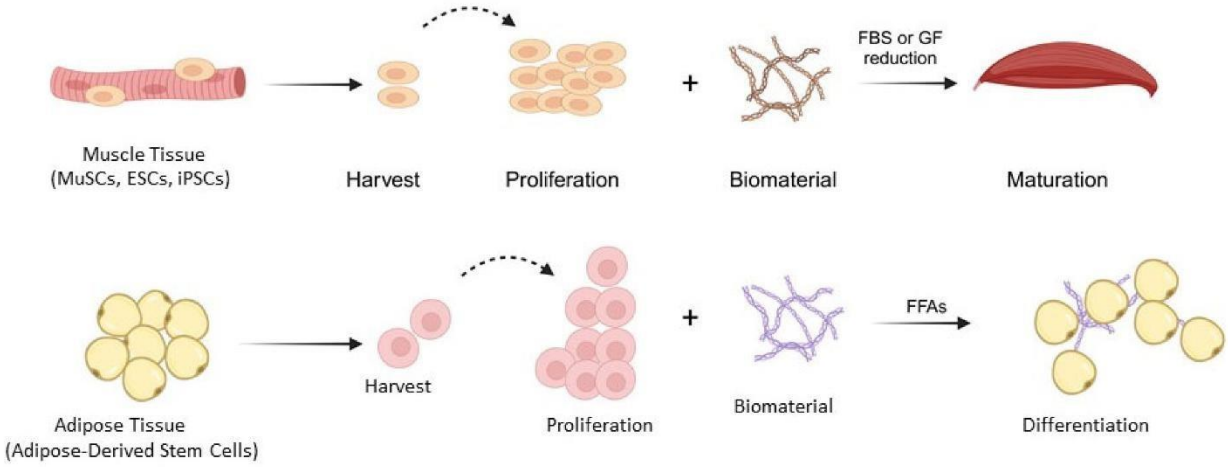

Рис. 1.2 Принципова схема отримання культивованого м’яса з м’язової та жирової тканини: ізоляція клітин, проліферація, інтеграція з біоматеріалами та формування зрілої тканини в умовах *in vitro*.(джерело: Khan I, Sun J, Liang W, Li R, Cheong K-L, Qiu Z, Xia Q. Innovations, Challenges, and Regulatory Pathways in Cultured Meat for a Sustainable Future. Foods. 2025; 14(18):3183).

Етичний аспект також відіграє важливу роль у розвитку технології культивованого м’яса. Щорічно у світі забивається понад 80 мільярдів наземних тварин, більшість з яких утримується в умовах інтенсивного промислового тваринництва. Культиване м’ясо дозволяє мінімізувати страждання тварин, зменшити ризики поширення зоонозних інфекцій та знизити потребу у застосуванні антибіотиків.

1.3. Регуляторне забезпечення виробництва культивованого м’яса

Регуляторне забезпечення є одним із ключових чинників, що визначає темпи наукового розвитку, промислового масштабування та комерціалізації

культивованого м’яса [19, 27]. Оскільки ця продукція поєднує риси харчового продукту, біотехнологічного виробу та результату клітинної інженерії, її правове регулювання потребує міждисциплінарного підходу з урахуванням вимог харчової безпеки, біобезпеки та захисту споживачів.

На сьогодні у світі відсутня уніфікована міжнародна нормативно-правова база щодо культивованого м’яса. Регуляторні підходи перебувають на етапі формування та суттєво відрізняються між країнами, що зумовлює асиметрію доступу таких продуктів до ринку. Водночас кількість керівних документів, рекомендацій і регуляторних рамок стрімко зростає, що свідчить про активну підготовку держав до появи клітинно-культивованих харчових продуктів у масовому обігу

Піонером у сфері правового визнання культивованого м’яса став Сінгапур. У 2020 році Агентство з безпеки харчових продуктів Сінгапуру (Singapore Food Agency, SFA) вперше у світі схвалило реалізацію культивованої курятини для споживання людиною [31]. Регуляторна оцінка охоплювала повний виробничий ланцюг — від характеристик клітинної лінії та поживного середовища до мікробіологічної безпеки, токсикологічного профілю та харчової цінності кінцевого продукту. Саме цей підхід став еталонним для подальших регуляторних моделей у інших країнах.

У Сполучених Штатах Америки регуляторний контроль над культивованим м’ясом здійснюється спільно Управлінням з контролю за продуктами і ліками (FDA) та Міністерством сільського господарства США (USDA). FDA відповідає за доклінічну оцінку безпеки клітинних ліній, середовищ культивування та процесів біотехнологічного виробництва, тоді як USDA здійснює нагляд за етапами після збору клітин, включно з обробкою, маркуванням та дистрибуцією. У 2023 році в США були схвалені перші продукти культивованого м’яса для обмеженої комерційної реалізації, що стало важливим кроком до формування повноцінного регуляторного поля [27].

Європейський Союз розглядає культивоване м’ясо в межах регламенту Novel Food, який передбачає складну багаторівневу процедуру оцінки безпеки. Європейське агентство з безпеки харчових продуктів (EFSA) вимагає детальної інформації щодо походження клітин, їх генетичної та фенотипової стабільності, відсутності зоонозних агентів, контролю (епі)генетичного дрейфу, залишкових концентрацій ростових факторів, антибіотиків, кріопротекторів, а також потенційної алергенності та токсичності кінцевого продукту [19]. Особливу увагу приділяють необхідності впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів, зокрема принципів HACCP, на всіх етапах виробництва

На глобальному рівні Продовольча та сільськогосподарська організація ООН (FAO) спільно з Всесвітньою організацією охорони здоров’я (WHO) розробляють рекомендації щодо безпеки клітинно-культивованих харчових продуктів [12, 21]. У цих документах визначено ключові потенційні небезпеки культивованого м’яса — біологічні (мікробіологічне забруднення, пріони, віруси), хімічні (залишки поживних середовищ, антибіотиків, ростових факторів, важкі метали, мікропластик) та фізичні. Наголошується на необхідності комплексної оцінки ризиків, включно з аналізом генетичної стабільності клітинних ліній, контролем утворення небажаних метаболітів і оцінкою харчової адекватності продукту.

В Україні на сьогодні відсутня спеціалізована нормативно-правова база, що регулює виробництво та обіг культивованого м’яса. Водночас у контексті євроінтеграційних процесів перспективним є гармонізування національного законодавства з підходами Європейського Союзу, зокрема в межах регламенту Novel Food та рекомендацій EFSA. Формування відповідної правової рамки в Україні потребуватиме міжвідомчої координації, залучення експертів у галузі біотехнології, харчової безпеки та ветеринарної медицини, а також адаптації існуючих систем контролю якості харчових продуктів до специфіки клітинних технологій.

Таким чином, регуляторне забезпечення культивованого м’яса перебуває на стадії активного розвитку. Подальший прогрес галузі залежить від створення прозорих, науково обґрунтованих і гармонізованих нормативних підходів, які забезпечать баланс між інноваційністю технологій, безпечністю продукту та довірою споживачів..

1.4. Біологічні основи створення культивованого м’яса: міогенез *in vitro*

Анатомо-фізіологічні особливості скелетної м’язової тканини

Скелетна м’язова тканина є високоорганізованою багатоядерною структурою, що забезпечує скорочення та рух. Вона складається з довгих циліндричних клітин — м’язових волокон (міоцитів), які формуються внаслідок злиття міобластів у процесі міогенезу [14, 15]. Частка скелетних м’язів у масі тіла ссавців становить у середньому 35–45 %, що зумовлює їх ключове значення як джерела харчового білка.

М’язове волокно містить міофібрили, організовані у повторювані структурно-функціональні одиниці — саркомери. Основними скоротливими білками є актин і міозин, взаємодія яких регулюється допоміжними білками тропонінового комплексу та тропоміозином. Просторова організація саркомерів визначає механічні та текстурні властивості м’ясної тканини.

Важливим компонентом м’язової тканини є сателітні клітини - тканинно-специфічні стовбурові клітини, локалізовані між сарколемою та базальною мембраною. Саме вони забезпечують ріст і регенерацію м’язів in vivo та є основним джерелом клітин для виробництва культивованого м’яса [20, 28].

Крім міоцитів, м’язова тканина містить фібробласти, адипоцити та ендотеліальні клітини. Їх присутність визначає такі властивості м’яса, як мармуровість, соковитість і жорсткість, що зумовлює необхідність багатоклітинного підходу при створенні структурованих культивованих м’ясних продуктів [6, 22] Джерела цих клітин та шляхи їхньої диференціації представлені на рис. 1.3.

Процес отримання адипогенних і міогенних клітин з плюрипотентних стовбурових клітин (ПСК), незалежно від того, чи походять вони від індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (іПСК), чи від ембріональних стовбурових клітин (ЕСК), вимагає додаткових етапів (ілюстрованих пунктирними стрілками на рис.1.3.) порівняно з їхньою диференціацією з фібро-адипогенних прогеніторних клітин або прогеніторних сателітних клітин. Чорні стрілки позначають ручне маніпулювання клітинами, тоді як червоні стрілки вказують на диференціацію in vitro, індуковану реагентами, або розвиток in vivo. Сірі стрілки представляють генетичні модифікації, при цьому сірі кругові стрілки спеціально виділяють модифікації, що використовуються для імморталізації популяцій клітин.

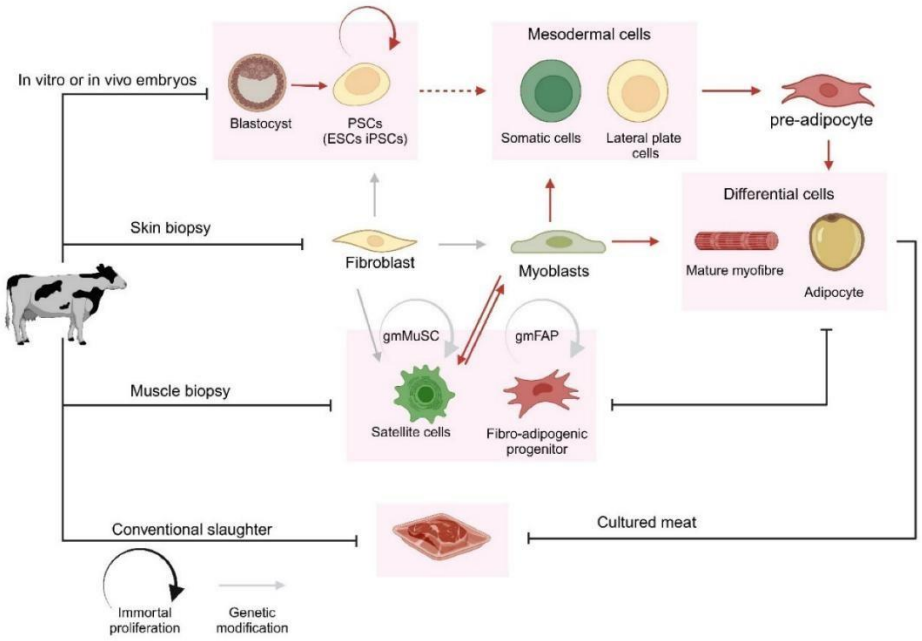

Рис. 1.3 Джерела клітин та їхні шляхи диференціації, необхідні для виробництва культивованого м'яса. (джерело: Khan, I., Sun, J., Liang, W., Li, R., Cheong, K.-L., Qiu, Z., & Xia, Q. (2025). Innovations, Challenges, and Regulatory Pathways in Cultured Meat for a Sustainable Future. Foods, 14(18), 3183. https://doi.org/10.3390/foods14183183)

Міогенез in vitro: стадії та клітинні механізми

Міогенез — це багатостадійний процес формування м’язових волокон із міогенних прекурсорів. В умовах *in vitro* він включає активацію стовбурових

клітин, їх проліферацію, диференціацію та дозрівання міотрубок. Відтворення цього процесу є фундаментальною біологічною основою виробництва культивованого м’яса [15, 18].

На першому етапі відбувається активація сателітних клітин, які переходять зі стану спокою (G0) у клітинний цикл. Цей процес супроводжується експресією транскрипційного фактора MyoD та інших регуляторів міогенної програми. Далі слідує фаза проліферації міобластів, що характеризується інтенсивними поділами та накопиченням клітинної біомаси [20].

На етапі диференціації міобласти припиняють поділ, експресують міогенін і зливаються між собою з утворенням багатоядерних міотрубок. Завершальною стадією є дозрівання, під час якого формується саркомерна організація та накопичуються м’язоспецифічні білки. Тривалість повного циклу міогенезу *in vitro* зазвичай становить 14–28 діб залежно від типу клітин і умов культивування [18].

Молекулярні механізми регуляції міогенезу

Регуляція міогенезу здійснюється складною мережею транскрипційних факторів, сигнальних шляхів та епігенетичних механізмів. Ключову роль відіграє родина міогенних регуляторних факторів (MRF), до якої належать MyoD, Myf5, myogenin та MRF4. Їх координована експресія визначає послідовність переходу клітин від проліферації до диференціації.

Сигнальні шляхи Wnt/β-катенін, Notch, mTOR та MAPK/ERK регулюють баланс між самовідновленням, ростом і диференціацією клітин. Порушення цього балансу може призводити до зниження продуктивності культури або неповної диференціації, що є критичним фактором для промислового виробництва [11, 33].

1.5. Поживні середовища у виробництві культивованого м’яса

Поживне середовище є одним із ключових елементів технології культивованого м’яса, що визначає не лише біологічну ефективність

проліферації та диференціації клітин, але й екологічну сталість, економічну доцільність і масштабованість усього виробничого процесу. За результатами сучасних досліджень, саме виробництво компонентів поживних середовищ може формувати до 80–90 % сумарного екологічного сліду культивованого м’яса, зокрема за показниками енергоспоживання та викидів парникових газів [21].

Традиційні поживні середовища для культивування клітин ссавців були розроблені для біомедичних і фармацевтичних застосувань та зазвичай містять фетальну бичачу сироватку (Fetal Bovine Serum, FBS) [25]. Однак використання таких середовищ є неприйнятним для промислового виробництва культивованого м’яса з етичних, економічних і регуляторних причин [14, 29]. Отримання FBS пов’язане із забоєм вагітних тварин, що суперечить концепції гуманного виробництва м’яса, а також характеризується високою вартістю, варіабельністю складу та ризиком біологічної контамінації.

У загальному вигляді поживні середовища для культивування м’язових клітин складаються з джерел вуглецю та азоту, амінокислот, макро- та мікроелементів, вітамінів, ліпідів і факторів росту (див. табл.1.1) [5, 11]. Кожна з цих груп компонентів виконує чітко визначену функцію в метаболізмі клітин, водночас істотно відрізняючись за екологічним навантаженням залежно від походження, способу отримання та ступеня очищення.

Таблиця 1.1

Основні компоненти поживних середовищ для культивованого м’яса

Група компонентів	**Функціональне призначення**
Амінокислоти	Синтез білків, підтримка росту клітин
Вуглеводи	Джерело енергії
Ліпіди	Формування мембран, енергетичний резерв
Фактори росту	Регуляція проліферації та диференціації
Солі та буфери	Підтримка осмотичного балансу і pH

Особливо ресурсо- та енергоємними компонентами поживних середовищ є рекомбінантні фактори росту (зокрема FGF, IGF, TGF-β), а також амінокислоти фармацевтичної якості. Застосування таких компонентів у концентраціях, характерних для медичної клітинної культури, є економічно та екологічно неприйнятним у контексті харчової біотехнології та сталого розвитку.

Перспективним напрямом оптимізації поживних середовищ є перехід до хімічно визначених безсироваткових середовищ харчової якості, які дозволяють точно контролювати склад, зменшувати варіабельність процесу та знижувати екологічний слід виробництва [28]. Особливу увагу приділяють альтернативним джерелам поживних речовин, зокрема використанню відходів агропромислового комплексу — меляси, глюкозних сиропів, рослинних білкових гідролізатів і дріжджових екстрактів. (табл. 1.2.).

Таблиця 1.2

Вплив компонентів поживного середовища на екологічний слід виробництва культивованого м'яса

Компонент поживного середовища	**Функціональне призначення**	**Внесок в екологічний слід**	**Напрям оптимізації**
Глюкоза	Основне джерело енергії	Низький	Заміна на мелясу або глюкозні сиропи
Амінокислоти	Біосинтез білка	Середній	Використання рослинних гідролізатів
Ліпіди	Мембранний синтез, енергетичний резерв	Низький–середній	Рослинні олії, мікробні ліпіди
Фактори росту	Регуляція проліферації та диференціації	Високий	Зниження концентрацій, автокринні механізми

Сироватка крові	Стимуляція росту клітин	Дуже високий	Повна елімінація
Вітаміни та солі	Метаболічна підтримка	Низький	Стандартизація харчової якості

Важливим аспектом є також специфічність вимог до поживного середовища залежно від типу клітин. Плюрипотентні стовбурові клітини потребують складного мікрооточення та чітко визначеного набору факторів росту для підтримання стану плюрипотентності. Хоча безсироваткові середовища для культивування ембріональних стовбурових клітин уже є комерційно доступними, їхня висока вартість суттєво обмежує можливості масштабування

М’язові сателітні клітини традиційно культивують у середовищах із додаванням сироватки, проте останніми роками було розроблено низку хімічно визначених безсироваткових середовищ, придатних для їх проліферації та диференціації. Виключення тваринної сироватки з процесу культивування вважається одним із ключових чинників підвищення суспільного прийняття культивованого м’яса, водночас потребуючи вирішення низки регуляторних питань щодо безпечності альтернативних компонентів.

Разом із тим, використання мезенхімальних стовбурових клітин як джерела м’язових і жирових клітин має певні переваги, оскільки дозволяє спростити склад поживних середовищ для диференціації. На відміну від цього, отримання необхідних диференційованих клітинних типів із плюрипотентних стовбурових клітин вимагає більшої кількості технологічних етапів та складніших комбінацій факторів росту.

Таким чином, вибір типу клітинного джерела та виду тварини є критично важливими чинниками, що безпосередньо визначають склад поживного середовища, а отже — впливають на екологічний слід, собівартість виробництва та споживче сприйняття культивованого м’яса. Оптимізація поживних середовищ розглядається як одна з ключових передумов переходу

від лабораторних досліджень до промислового виробництва культивованого м’яса [11, 21, 32].

Таким чином, оптимізація складу поживних середовищ розглядається як ключова умова зниження екологічного навантаження та економічної доцільності промислового виробництва культивованого м’яса.

Висновки до розділу 1

1. Культивоване м’ясо є перспективним напрямом сучасної харчової біотехнології, що базується на досягненнях клітинної та тканинної інженерії й спрямований на створення альтернативних джерел тваринного білка без вирощування та забою цілісних організмів.

2. Традиційне тваринництво характеризується значним екологічним навантаженням, високими викидами парникових газів, інтенсивним використанням земельних і водних ресурсів, а також ризиками поширення зоонозних інфекцій і розвитку антибіотикорезистентності, що зумовлює актуальність пошуку альтернативних підходів до виробництва м’яса.

3. Сучасні стратегії отримання культивованого м’яса включають як накопичення клітинної біомаси, так і формування складних структурованих тканин, що містять м’язові, жирові та сполучнотканинні компоненти, необхідні для відтворення органолептичних властивостей традиційного м’яса.

4. Регуляторне забезпечення культивованого м’яса перебуває на стадії активного формування: окремі країни вже дозволили комерційну реалізацію таких продуктів, тоді як в інших регіонах, зокрема в Україні, нормативно-правова база потребує подальшої гармонізації з міжнародними підходами.

5. Біологічною основою виробництва культивованого м’яса є процес міогенезу in vitro, що включає активацію, проліферацію, диференціацію та дозрівання м’язових клітин і регулюється складною мережею транскрипційних факторів, сигнальних шляхів та епігенетичних механізмів.

6. Поживні середовища є ключовим чинником екологічної та економічної ефективності технології культивованого м’яса; перехід до хімічно визначених безсироваткових середовищ харчової якості розглядається як необхідна умова масштабування виробництва та зниження екологічного сліду.

7. Вибір клітинного джерела, складу поживного середовища та біологічно активних компонентів є взаємопов’язаними чинниками, що безпосередньо впливають на собівартість, технологічну доцільність і споживче сприйняття культивованого м’яса.

РОЗДІЛ ІІ
ОБ’ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Джерела клітинного матеріалу: порівняльна характеристика та критерії вибору

Успіх біотехнологічного виробництва культивованого м'яса критично залежить від обґрунтованого вибору вихідного клітинного матеріалу [5,11,20]. Ідеальна клітинна лінія для промислового застосування повинна відповідати комплексу жорстких критеріїв: демонструвати здатність до швидкої проліферації у суспензійній культурі, зберігати генетичну стабільність протягом тривалого часу пасажування, проявляти високу ефективність диференціювання у цільові типи тканин (насамперед міоцити та адипоцити) та бути абсолютно безпечною для кінцевого споживача [8,12,25].

Клітинні лінії можуть бути отримані двома основними шляхами: безпосередньо через біопсію м'язової тканини сільськогосподарських тварин або створені шляхом генетичної модифікації та репрограмування клітин [7,20]. На сьогодні у біотехнології культивованого м'яса розглядаються дві ключові категорії стовбурових клітин: плюрипотентні та мультипотентні стовбурові клітини, загальна схема походження та диференціації яких наведена на рис. 2.1.

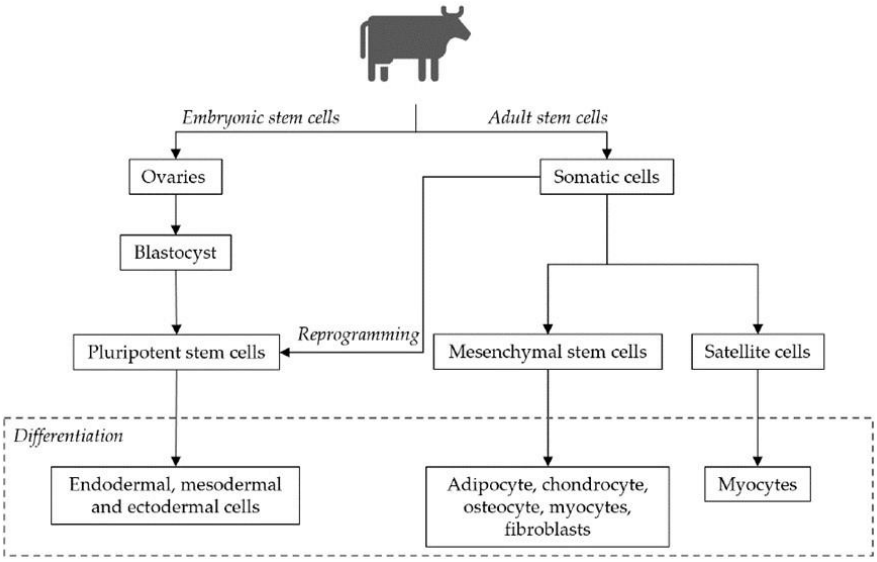

Рис. 2.1. Загальна схема джерел походження та напрямків диференціації основних типів стовбурових клітин, що використовуються для виробництва культивованого м'яса. (джерело: De Schauwer, C.; Meyer, E.; Van de Walle, G.R.; Van Soom, A. Markers of stemness in equine mesenchymal stem cells: A plea for uniformity. Theriogenology 2011, 75, 1431–1443.

Представлена на рис. 2.1 схема відображає загальні джерела походження клітин та основні напрями їх диференціації, що використовуються у технологіях культивованого м’яса [6,22]. Водночас для практичного застосування в біотехнологічному виробництві важливе не лише походження клітин, а й їх функціональні характеристики, зокрема проліферативний потенціал, здатність до диференціації, технологічна керованість і регуляторна прийнятність [11, 27]. З огляду на це, у табл. 2.1 наведено порівняльну характеристику основних типів клітинного матеріалу, що розглядаються як джерела клітин для виробництва культивованого м’яса [6, 11, 18, 22].

Таблиця 2.1

Порівняльна характеристика основних типів клітинного матеріалу, що використовуються для виробництва культивованого м’яса

Категорія клітин	**Позиція (Походження)**	**Диференціація**	**Проліферація**	**Переваги**	**Недоліки**
Плюрипотентні стовбурові клітини (ПСК)					

Ембріональні стовбурові клітини (ЕСК)	Внутрішня клітинна маса бластоцисти	Усі три зародкові листки	Необмежена	Стабільність та відтворюваність; формування банків клітин для уникнення багаторазов их біопсій	Необхідність верифікації генетичної стабільності; складність отримання; складні протоколи диференціації
Індуковані ПСК (іПСК)	Репрограмовані соматичні клітини	Усі три зародкові листки	Необмежена	Порівняно з ембріональними клітинами - простіше отримання	Складні протоколи диференціації; необхідність генетичної модифікації;

					потенційні фенотипові зміни; епігенетична пам'ять
Дорослі стовбурові клітини (АСК)					
Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК)	Жирова тканина або кісткови й мозок	Переважно сфокусовані на клітинах, що продукують колаген (фібробласти), скелетних м'язах та адипоцитах	Обмежена	Легка диференціація в адипоцити	Потребує кількох генетичних модифікацій або біопсій; обмежена

					проліферація
Фіброадипогенні клітинипередники	М'язова тканина	Остеогенні клітини, міофібробласти, хондроцити, адипоцити	Обмежена	Легка диференціація у фібробласти та адипоцити	
М'язові сателітні клітини	М'язова тканина	Міобласти (які згодом розвиваються у міоцити, міотрубки та	Обмежена	Проста диференціація в основний компонент культивованого м'яса - м'язові клітини	

		міоволокна)			
Зрілі клітини					

Адипоцити	Жирова тканина	Вже диференційовані	Обмежена або відсутня (до моменту імморталізації)	Немає специфічних вимог до диференціації; лише базове культивування	Імморталізація або генетична модифікація можуть бути необхідними; занепокоєння щодо регулювання та прийняття споживачами
Міоцити	М'язова тканина	Міоволокна, міотрубки	Обмежена або відсутня	Немає специфічних вимог до диференціації; лише базове культивування	Імморталізація може змінити властивості клітин та знизити потенціал диференціації
Фібробласти	Шкіра, сполучна тканина	Фіброцити, міофібробласти, адипоцити, хондроцити та остеоцити	Обмежена		
Ендотеліальні клітини	М'язи, шкіра, кровоносна тканина	Самоорганізація у судинні тканини; вже диференційовані	Обмежена		

Плюрипотентні стовбурові клітини (PSCs)

Плюрипотентні стовбурові клітини (ПСК), до яких належать ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) та індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (іПСК), мають здатність до самовідновлення та можуть диференціюватися майже в будь-який тип клітин [20, 22]. Їхні унікальні особливості, такі як необмежене самовідновлення та висока швидкість розмноження, є особливо вигідними для забезпечення значної кількості подвоєнь популяції, необхідних для культивованого м'яса. Ця здатність є критично важливою для створення клітинних банків та усунення необхідності у повторних біопсіях. Банки клітин проходять ретельну характеристику на предмет стабільності росту, стерильності та відтворюваності, що гарантує надійний та безпечний виробничий процес[3, 27].

Крім того, ПСК є економічно ефективними, оскільки одна віала розморожених клітин може генерувати численні виробничі партії. Більше того, у біореакторах ПСК можуть досягати вищої щільності клітин порівняно з сателітними клітинами та МСК у 2D-культурі завдяки своєму меншому розміру, що полегшує масштабування перед посівом клітин [13, 24]. ПСК можна культивувати у суспензії для формування клітинних агрегатів або вирощувати на їстівних мікроносіях, що дозволяє застосовувати 3D-культивування у біореакторах..

Ембріональні стовбурові клітини (ESCs). Отримуються з внутрішньої клітинної маси бластоцисти [20]. Їхньою головною перевагою є "безсмертя" в культурі, що дозволяє створити єдиний банк клітин для нескінченного виробничого циклу без необхідності повторних біопсій. Однак, встановлення стабільних ліній ESCs від сільськогосподарських видів (зокрема, *Bos taurus*) залишається технологічним викликом, хоча останні дослідження демонструють успіхи у створенні бовінських ліній bESC. Суттєвим недоліком є складність протоколів спрямованого диференціювання: необхідно

прецизійно контролювати сигнальні шляхи, щоб уникнути утворення тератом або небажаних типів тканин [22].

Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (iPSCs). Це соматичні клітини (наприклад, фібробласти шкіри або клітини крові), репрограмовані у плюрипотентний стан за допомогою факторів Яманаки (Oct4, Sox2, Klf4, cMyc) [20, 22]. Вони поєднують проліферативний потенціал ESCs з відсутністю етичних проблем, пов'язаних з використанням ембріонів. iPSCs дозволяють отримувати клітинні лінії рідкісних порід тварин. Проте, використання вірусних векторів для репрограмування створює ризики щодо харчової безпеки (ГМО-статус), а самі клітини часто демонструють епігенетичну пам'ять та нижчу ефективність диференціації порівняно з ембріональними аналогами.

Генетична модифікація стовбурових клітин

Однією зі стратегій спрощення складних багатоступеневих протоколів диференціації ПСК є їх генетична модифікація для посилення експресії адипогенних та міогенних генів. Цей метод був продемонстрований шляхом активації гену MYOD у людських іПСК з використанням системи на основі транспозонів, що успішно індукувало утворення міотрубок. Лентівірус-опосередкована надекспресія Paired Box 7 (PAX7) посилила диференціацію у структури, подібні до сателітних клітин. Крім того, клітини з характеристиками зрілих білих адипоцитів були створені шляхом індукованої експресії рецептора PPAR-γ у мезенхімальних попередниках .

Дорослі стовбурові клітини (АСК) та прогенітори

АСК — це недиференційовані клітини-попередники, розташовані у специфічних тканинах та органах дорослих тварин. Ці мультипотентні клітини мають здатність диференціюватися в обмежений діапазон типів клітин залежно від тканини їхнього походження. Їхній лімітуючий проліферативний потенціал у 50–60 поділів (обмежений віком тварини) відповідає ліміту Гейфліка. Внаслідок цього для підтримання виробництва комерційного

культивованого м'яса часто необхідні численні біопсії. Забезпечення безпеки, стабільності та відтворюваності вимагає повторних тестів на характеризацію, що, у свою чергу, вносить варіабельність у процес[22, 27].

Мезенхімальні стовбурові клітини (MSCs). Ізолюються переважно з кісткового мозку або жирової тканини. Вони здатні диференціюватися у фібробласти, адипоцити, остеобласти, хондроцити та міоцити. Завдяки легкості виділення та високій здатності до адипогенної диференціації, MSCs є критично важливими для створення жирового компонента культивованого м'яса, що відповідає за смако-ароматичні властивості продукту.

Міосателітоцити (Satellite Cells). Це уніпотентні або олігопотентні стовбурові клітини, що локалізуються між базальною мембраною та сарколемою м'язових волокон. Вони є «золотим стандартом» для виробництва м'яса, оскільки in vivo відповідають за регенерацію м'язової тканини [22, 27].

- *Переваги:* Висока детермінованість до міогенезу. Вони природним чином диференціюються у міотуби при зниженні концентрації мітогенів. Саме міосателіти великої рогатої худоби були використані для створення першого прототипу культивованого бургера.
- *Недоліки:* Обмежений проліферативний потенціал (ліміт Гейфліка). Первинні клітини здатні лише до 20–30 поділів, що недостатньо для промислових біореакторів великого об'єму (понад 10 000 л). Крім того, при тривалому культивуванні in vitro вони схильні до втрати міогенного потенціалу.

Для поглибленого аналізу біотехнологічної придатності основних типів джерел клітинного матеріалу у табл. 2.2 наведено їх порівняльну характеристику з урахуванням проліферативного потенціалу, можливостей масштабування та технологічних обмежень.

Таблиця 2.2

Характеристика джерел клітинного матеріалу для виробництва культивованого м’яса

Категорія клітин	**Позиція (локалізація)**	**Потенціал диференціації**	**Проліферація (in vitro)**	**Переваги для біотехнології**	**Недоліки та виклики**
Ембріональні стовбурові клітини (ESCs)	Внутрішня клітинна маса бластоцисти	Плюрипотентні (всі три зародкові листки)	Необмежена	Формування єдиного банку клітин; висока стабільність та відтворюваність	Складні протоколи диференціації; етичні питання; необхідність перевірки генетичної стабільності
Індуковані плюрипотентні клітини (iPSCs)	Репрограмовані соматичні клітини	Плюрипотентні (всі три зародкові листки)	Необмежена	Простіше отримання (не потрібні ембріони); збереження генофонду рідкісних тварин	Висока вартість репрограмування; епігенетична пам'ять; ризик мутацій; регуляторні бар'єри (ГМО)
Мезенхімальні стовбурові клітини (MSCs)	Жирова тканина, кістковий мозок	Мультипотентні (адипоцити, хондроцити, міоцити)	Обмежена	Легка ізоляція; ефективна диференціація в адипоцити (жировий компонент)	Потребують імморталізації для масштабування; гетерогенність популяції

Міосателіто цити (Сателітні клі- тини)	Скелетні м'язи (ніша під базальною мембраною)	Уніпотентні (міобласти →міоцити → міотуби)	Обмежен а (Ліміт Гейф- ліка)	Природна схильність до міогенезу; прості протоколи диференціа ції; основний компо- нент м'яса	Втрата міогенності при пасажуванні; залежність від субстрату (адгезивні); низький вихід біомаси без імморталі- зації
Фіброадипог енні прогенітори (FAPs)	Інтерстиціал ьний простір м'я- зів	Мультипоте нтні (фібробласт и, адипоцити)	Обмежен а	Підтримка міогенезу; джерело сполучної тканини	Не здатні формувати скоротливі м'язові волокна
Зрілі ди-	Жирова	Вже дифе-	Відсутня або	Не потребу-	Вимагають дедиференціа ції
ференційова ні клітини	або м'язова тканина	ренційовані (адипоцити, міоцити)	вкрай низька	ють диференціа ції; готові функціонал ьні характерист ики	або складно ї імморталізаці ї для розмноження ; не придатні для масштабуван ня

Таким чином, вибір клітинного джерела для виробництва культивованого м’яса визначається компромісом між проліферативним потенціалом, здатністю до контрольованої диференціації, технологічною відтворюваністю та регуляторною прийнятністю. Найбільш перспективними з точки зору формування м’язового та жирового компонентів культивованого

м’яса залишаються міосателітні клітини та мезенхімальні стовбурові клітини, що зумовлює специфічні вимоги до умов їх культивування та складу поживних середовищ.

2.2. Біологічні передумови формування м’язового та жирового компонентів культивованого м’яса *in vitro*

Якість м'яса значною мірою визначається вмістом жиру та м'язовими білками [14, 23]. Хоча жир може зберігатися в м'язових клітинах, адипоцити в першу чергу відповідають за виробництво внутрішньом'язового жиру, який становить приблизно 80% загального жиру в м'ясі. Сенсорні властивості, такі як смак, текстура, соковитість та колір, тісно пов'язані з вмістом внутрішньом'язового жиру [9, 14]. Щоб продукти з культивованого м'яса могли конкурувати на ринку, вони повинні включати смакові властивості, які відтворюють жирові характеристики традиційного м'яса.

На відміну від альтернатив на рослинній основі, культивоване м'ясо має потенціал відтворювати жирові профілі тваринного м'яса шляхом використання тваринних стовбурових клітин, а не просто імітувати тваринні жири [22, 32]. Крім того, включення екзогенних жирних кислот, таких як олеїнова кислота, у живильне середовище може покращити як користь для здоров'я, так і смак культивованого жиру. Більше того, незамінні поліненасичені жирні кислоти (PUFAs), отримані з фосфоліпідних бішарів культивованого жиру, можуть відігравати вирішальну роль у задоволенні потреб організму в PUFA, які є необхідними для підтримки функції імунної системи та здоров'я мозку [23].

Зрілі адипоцити можуть бути отримані з мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), фібро-адипогенних клітин-попередників (FAPs) та стовбурових клітин жирової тканини (ADSCs). ADSCs та FAPs мають схожий стовбуровий потенціал до МСК, але вони знаходяться в різних анатомічних локаціях [6, 15, 22]. МСК присутні в кістковому мозку, FAPs походять з перимізію, а ADSCs походять з жирової тканини. МСК є одними з найбільш ретельно досліджених

типів стовбурових клітин, головним чином завдяки їхній здатності до адипогенезу. МСК зазвичай отримують шляхом культивування кісткового мозку в чашках або флаконах для розширення популяції адгезивних клітин [15, 22]. Натомість FAPs та ADSCs вилучають з м'язової або жирової тканини шляхом ферментативного розщеплення, як правило, з використанням колагенази типу II, з подальшим центрифугуванням. Цей процес дає клітинний осад, що містить стромально-васкулярну фракцію, яка включає імунні клітини, перицити та преадипоцити, такі як ADSCs та FAPs. (рис. 2.2).

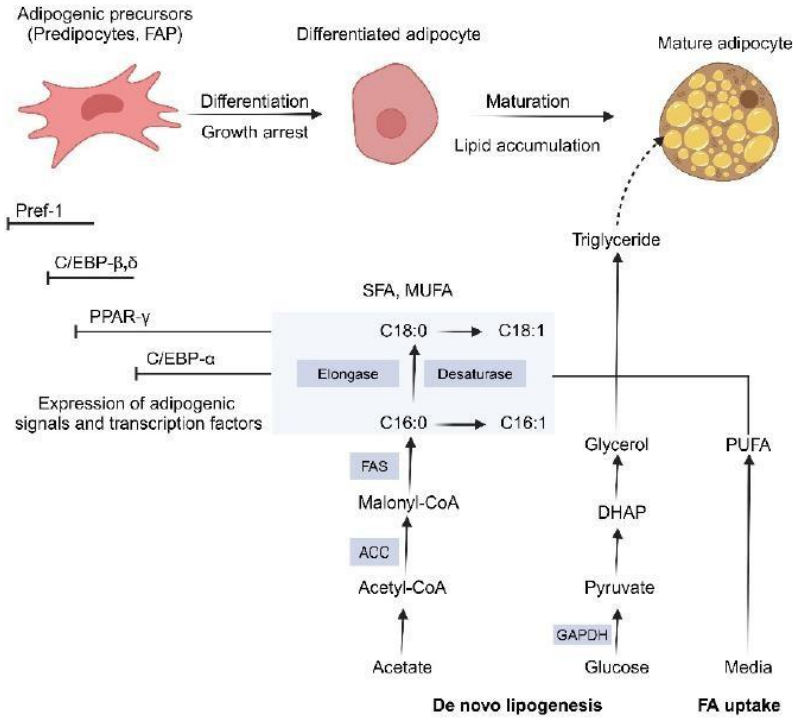

Рис. 2.2. .Схема ліпогенезу та адипогенної диференціації (адипогенезу) .
(джерело: Khan, I., Sun, J., Liang, W., Li, R., Cheong, K.-L., Qiu, Z., & Xia, Q. (2025). Innovations, Challenges, and Regulatory Pathways in Cultured Meat for a Sustainable Future. Foods, 14(18), 3183. https://doi.org/10.3390/foods14183183)

Оцінку адипогенного потенціалу преадипоцитів можна визначити шляхом аналізу профілю експресії факторів транскрипції та клітинного циклу. Фактор транскрипції Zfp423 є критичним для початкової диференціації в преадипоцити під час переходу з мультипотентного стану МСК, FAPs та ADSCs. У FAPs, отриманих з м'язів великої рогатої худоби, Zfp423 ідентифіковано як ключовий маркер високоадипогенних FAPs, причому його надекспресія значно посилює адипогенну диференціацію. Після досягнення

клітинами преадипогенного стану ядерний гормональний рецептор PPAR-γ виступає головним регулятором адипогенезу. PPAR-γ взаємодіє з факторами транскрипції з родини CCAAT/енхансер-зв'язуючих білків (C/EBP), щоб ініціювати адипогенну програму транскрипції

2.3. Фактори, що впливають на вибір та ефективність типів клітин

Оптимальні умови культивування для клітин риб, великої рогатої худоби та курей залишаються менш вивченими порівняно з клітинами людини [11, 18, 32, 33].

- *Велика рогата худоба:* Бичачі ЕСК залежать від інгібітора передачі сигналів Wnt endo (IWR1) для підтримки плюрипотентності.
- *Риба:* Специфічні протоколи та безсироваткові середовища для риб є рідкісними.

Структурований огляд пріоритетних джерел клітин та вимог до їх культивування наведено у табл. 2.3.

Таблиця 2.3.

Порівняльний огляд видоспецифічних джерел клітин та вимог до культивування

Вид	**Пріоритетні джерела клітин**	**Вимоги до середовища**	**Промислова здійсненність**
Велика рогата худоба (Bovine)	Сателітні клітини (SCs), МСК жирової тканини, імморталізовані сателіти (iBSCs).	Хімічно визначені безсироваткові середовища; ліганди для IGF1R, TFRC.	**Висока.** iBSCs > 120 подвоєнь; інженерні м'язово-жирові тканини демонструють стратегії економії витрат.

Свині (Porcine)	М'язові стовбурові клітини (збагачені CD29/CD56); ADSCs; WJ-MSCs.	Середовище SkGM-2, збагачене EGF, дексаметазоном.	**Середня.** Магнітна сепарація підвищує чистоту до ~91%; ADSCs ефективно розширюються.
Птиця (Chicken)	Сателітні клітини, МСК; іПСК як альтернатива.	Необхідні безсироваткові адаптовані середовища.	**Низька/Середня.** Відсутність стабільних ліній та дорогі середовища.
Риба (Fish)	Фібро-адипогенні прогенітори, міосателіти.	Немає валідованих специфічних безсироваткових рецептур.	**Низька.** Відсутність надійних клітинних ліній.

Таким чином, видоспецифічні відмінності у проліферативному потенціалі клітин, вимогах до поживного середовища та рівні технологічної зрілості істотно впливають на промислову здійсненність культивованого м’яса. Це зумовлює необхідність урахування біологічних і технологічних факторів при переході від вибору клітинного джерела до керованого формування м’язової та жирової тканин *in vitro* [11, 18, 27, 33].

Молекулярні механізми міогенезу та адипогенезу in vitro

Для отримання повноцінного структурованого продукту критично важливо відтворити in vitro складні процеси розвитку тканин[14, 15, 22].

Міогенез. Процес формування м'язових волокон регулюється родиною транскрипційних факторів MRFs (Myogenic Regulatory Factors), зокрема MyoD, Myf5, міогеніном та MRF4 [14, 15, 20].

Технологічний процес можна розділити на чотири стадії:

Проліферація: На цьому етапі клітини (міобласти) активно діляться. Високий рівень факторів росту в середовищі (FGF-2, IGF-1) активує

сигнальний шлях MAPK/ERK, стимулюючи проходження клітинного циклу та тимчасово інгібуючи диференціацію[5, 15, 25].

Вихід з клітинного циклу: Зниження концентрації мітогенів (так зване "сироваткове голодування" або заміна середовища) призводить до експресії інгібіторів циклін-залежних кіназ (зокрема p21). Це викликає зупинку клітинного циклу та початок експресії міогеніну — ключового фактора диференціації[14, 20].

Злиття (Fusion): Міобласти вишиковуються в ланцюжки і зливаються, утворюючи багатоядерні міотуби. Цей процес є кальцій-залежним та корелює зі щільністю клітинної культури[15, 22].

Дозрівання: Міотуби гіпертрофують, формують саркомери (скоротливі елементи) і починають спонтанно скорочуватися. Експресуються специфічні білки: важкі ланцюги міозину (MHC), актин, тропонін, які формують текстуру та нутріціологічну цінність м'яса[14, 23].

Адипогенез. Формування жирової тканини надає м'ясу необхідного смакового профілю та соковитості. Для цього використовують MSCs або FAPs, які під дією індукторів у середовищі (інсулін, дексаметазон, жирні кислоти) перетворюються на зрілі адипоцити, акумулюючи ліпідні краплі в цитоплазмі[6, 15, 22, 23].

2.4. Поживні середовища для культивування клітин

Поживні середовища є одним із визначальних технологічних чинників у процесі культивування клітин для виробництва культивованого м’яса, оскільки безпосередньо впливають на проліферативну активність, ефективність диференціації та стабільність клітинних культур. Вибір складу поживного середовища здійснюється з урахуванням типу клітин, виду тварини та цільового етапу культивування (проліферація або диференціація) [5, 11, 25, 33].

Типи поживних середовищ та принципи їх формування

У біотехнологічних процесах культивування клітин ссавців історично застосовувалися середовища, збагачені фетальною бичачою сироваткою (Fetal Bovine Serum, FBS), яка забезпечує клітини комплексом факторів росту, гормонів та білків транспорту. Проте для технологій культивованого м'яса використання FBS вважається непридатним у зв'язку з етичними обмеженнями, варіабельністю складу та високою вартістю, що унеможливлює стандартизацію і масштабування процесу[11, 28, 32].

У сучасних технологічних схемах застосовуються безсироваткові поживні середовища (Serum-Free Media), а також хімічно визначені середовища, у яких кожен компонент має відому концентрацію та функціональне призначення. Такі середовища забезпечують відтворюваність результатів культивування та контроль метаболічних параметрів культури.

Базою поживних середовищ для м'язових клітин слугують стандартні живильні системи типу DMEM/F12, які забезпечують клітини джерелами вуглецю, амінокислотами, вітамінами та солями. Для заміни сироваткових білків використовують рекомбінантні аналоги альбуміну або рослинні гідролізати, а транспорт іонів заліза забезпечується за рахунок рекомбінантного трансферину або низькомолекулярних хелаторів[11, 28, 33].

Фактори росту як компоненти поживних середовищ

Фактори росту є обов'язковими компонентами поживних середовищ для підтримання проліферації та диференціації м'язових клітин. До основних факторів росту, що застосовуються при культивуванні клітин для виробництва м'яса, належать FGF-2, TGF-β та IGF-1[5, 20, 25].

FGF-2 забезпечує підтримання проліферативної активності міобластів, IGF-1 стимулює синтез білка та гіпертрофію м'язових клітин, тоді як TGF-β бере участь у регуляції процесів диференціації. Застосування цих факторів росту здійснюється у концентраціях, оптимізованих для харчової

біотехнології, з урахуванням економічної доцільності та стабільності клітинної культури.

Для зниження вартості поживних середовищ використовуються рекомбінантні фактори росту, отримані в бактеріальних, дріжджових або рослинних експресійних системах, а також частково очищені білкові екстракти. Додатковим підходом є застосування стабільніших варіантів факторів росту з подовженим періодом напіврозпаду у культурі[25, 28, 33].

Метаболічні обмеження та режими культивування

У процесі культивування клітин відбувається накопичення метаболітів, зокрема лактату та аміаку, що може негативно впливати на ріст і життєздатність клітин. Концентрації аміаку понад 2–4 мМ асоціюються зі зниженням проліферативної активності та індукцією апоптозу[5, 11, 25].

Для контролю метаболічного навантаження застосовуються оптимізовані режими культивування, включаючи заміну нестабільного глютаміну на діпептидні форми, використання перфузійних систем та часткове оновлення поживного середовища. У промислових біореакторах такі підходи дозволяють підтримувати високу щільність клітин та стабільні параметри культури [5, 11, 25].

Таким чином, так само як вибір типу клітинного матеріалу (п. 2.1), склад і режим використання поживних середовищ визначають технологічну здійсненність процесу культивування клітин. Тип клітин (ПСК, МСК, сателітні клітини), їхній проліферативний потенціал і напрям диференціації безпосередньо впливають на вимоги до поживного середовища та режимів культивування.

Стратегії іммортalізації та генетичної стабільності клітинних ліній

Зрілі диференційовані клітини характеризуються обмеженим проліферативним потенціалом і можуть бути використані у технологіях виробництва культивованого м’яса лише за умови іммортalізації або генетичної модифікації. Іммортalізація клітин передбачає подолання

реплікативного старіння шляхом порушення регуляції контрольних точок клітинного циклу та активації механізмів підтримання теломерної стабільності [11, 18, 25].

Окрім ідентифікації природно іммортalізованих клітинних ліній, у біотехнологічній практиці застосовуються методи штучної імморталізації, зокрема шляхом порушення сигнальних шляхів p53/p14/RB або індукції експресії каталітичної субодиниці теломерази (TERT). Такі підходи забезпечують клітинам здатність до тривалого пасажування без суттєвої втрати проліферативної активності **[**22, 25, 27].

Водночас застосування методів імморталізації призводить до утворення генетично модифікованих клітинних ліній, які потребують обов'язкового маркування та ретельної оцінки генетичної стабільності. Імморталізовані клітини можуть набувати пухлиноподібних властивостей, що зумовлює необхідність регулярного моніторингу каріотипу, рівня мутацій та збереження диференційного потенціалу з метою забезпечення безпечності кінцевого продукту [19, 27]**.**

До зрілих клітин, які розглядаються як потенційні джерела для виробництва культивованого м'яса, належать адипоцити (здатні до трансдиференціації у міоцити), міоцити, ендотеліальні клітини та фібробласти. Практична реалізація такого підходу продемонстрована, зокрема, компаніями Believer Meats (раніше *Future Meat*), яка використовувала спонтанно імморталізовані курячі фібробласти, та Upside Foods, що застосовує імморталізовані міобласти, отримані з ембріональних тканин курки [26, 31].

Основні методи імморталізації клітин

Ектопічна експресія теломерази (hTERT).

Теломераза забезпечує відновлення довжини теломер, які вкорочуються при кожному клітинному поділі. Введення екзогенного гена TERT дозволяє стабілізувати хромосомний апарат без істотного порушення клітинного фенотипу та здатності до диференціації [22, 25].

Інактивація супресорів пухлин.

Блокування білків p53 або pRb, що контролюють клітинний цикл та апоптоз, досягається, зокрема, шляхом експресії вірусних онкогенів (наприклад, SV40 Large T antigen). Незважаючи на високу ефективність, ці методи пов’язані з підвищеними ризиками онкогенності, що істотно ускладнює їх регуляторне схвалення для харчових застосувань [25, 27].

Спонтанна іммортalізація.

Метод ґрунтується на відборі рідкісних клітинних клонів, які внаслідок природних мутацій набули здатності до необмеженого поділу. Такий підхід є найбільш прийнятним з регуляторної точки зору (non-GMO), проте характеризується низькою передбачуваністю та видовою специфічністю: клітини гризунів іммортalізуються значно легше, ніж клітини людини або великої рогатої худоби.

2.5. Методи наукових досліджень

У роботі використано комплекс загальнонаукових та спеціальних методів дослідження [4]**,** спрямованих на аналіз сучасних підходів до біотехнологічного виробництва культивованого м’яса.

Описові методи дослідження включали системний аналіз наукових публікацій, огляд спеціалізованих монографій, нормативних документів, а також відкритих наукових і галузевих джерел, доступних у мережі Інтернет. Застосування цього підходу дозволило узагальнити сучасний стан проблеми, виявити ключові технологічні тенденції та існуючі обмеження.

Графічні методи полягали у розробці та систематизації схем, таблиць і діаграм, що відображають джерела клітинного матеріалу, напрямки диференціації клітин, особливості поживних середовищ і технологічні етапи виробництва культивованого м’яса.

Технологічні методи включали аналіз описаних у літературі підходів до масштабування клітинних ліній, зокрема методів культивування у

біореакторах, стратегій підтримання клітинної життєздатності та стабільності в умовах промислового виробництва.

Висновки до розділу 2

1. Встановлено, що вибір джерела клітинного матеріалу для виробництва культивованого м’яса визначається балансом між проліферативним потенціалом, здатністю до контрольованої диференціації, технологічною відтворюваністю та регуляторною прийнятністю. Найбільш біотехнологічно придатними для формування м’язового і жирового компонентів є міосателітні клітини та мезенхімальні стовбурові клітини.

2. Встановлено, що ефективність культивування клітин значною мірою залежить від складу поживних середовищ, режимів їх використання та контролю метаболічних обмежень. Перехід до хімічно визначених безсироваткових середовищ із оптимізованими концентраціями факторів росту є ключовою передумовою відтворюваності та масштабування процесу.

3. Визначено, що обмежений проліферативний потенціал більшості первинних клітин зумовлює необхідність застосування стратегій імморталізації та контролю генетичної стабільності клітинних ліній. Вибір методу імморталізації має враховувати технологічну ефективність, безпечність та регуляторні вимоги до харчових біотехнологій.

РОЗДІЛ ІІІ

ТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ВИРОБНИЦТВА КУЛЬТИВОВАНОГО М’ЯСА

Технологічна реалізація виробництва культивованого м’яса базується на поетапній інтеграції клітинних, біохімічних та інженерних рішень, спрямованих на отримання безпечної, відтворюваної та економічно доцільної м’ясної продукції. На відміну від лабораторних моделей, промислове виробництво потребує масштабування процесів культивування клітин, стандартизації поживних середовищ, використання біореакторів різних типів і впровадження систем контролю критичних параметрів [5, 11, 25].

Метою даного розділу є аналіз ключових технологічних етапів виробництва культивованого м’яса, починаючи з формування клітинних банків і закінчуючи отриманням тканинно-інженерних м’ясних конструкцій, а також узагальнення сучасних тенденцій і технологічних викликів галузі [21, 27].

3.1. Загальна характеристика технологічного процесу виробництва культивованого м’яса

Технологічний процес виробництва культивованого м’яса є інноваційною багатостадійною біотехнологічною системою, що ґрунтується на принципах клітинної та тканинної інженерії й інтегрує методи промислової біотехнології, біохімії, матеріалознавства та харчових технологій. Його основною метою є отримання харчового продукту тваринного походження шляхом контрольованого культивування клітин *in vitro* без необхідності вирощування та забою цілісного організму тварини [14, 20, 22].

На відміну від традиційного тваринництва, де формування м’язової тканини відбувається в умовах складної фізіологічної регуляції організму, у виробництві культивованого м’яса всі процеси росту, диференціації та дозрівання клітин здійснюються в штучно створеному, суворо контрольованому середовищі [6, 15, 18]. Це зумовлює принципово інший

підхід до організації технологічного процесу, у якому біологічні параметри безпосередньо пов’язані з інженерними та технологічними рішеннями.

Технологічний процес культивованого м’яса спрямований не лише на отримання клітинної біомаси, але й на формування просторово організованої тканинної структури, яка повинна відтворювати морфологічні, механічні та органолептичні характеристики традиційного м’яса. У зв’язку з цим процес виробництва розглядається як комплексна система, у якій кожен етап має критичне значення для якості та функціональних властивостей кінцевого продукту [8, 15, 24].

Узагальнено технологічний процес включає такі основні стадії:

– отримання та підготовку клітинного матеріалу;

– проліферацію клітин у поживному середовищі;

– масштабування клітинної культури в біореакторних системах;

– індукцію диференціації та формування м’язової й жирової тканини;

– дозрівання тканини та післякультиваційну обробку продукту [5,18, 25].

Загальну послідовність та взаємозв’язок зазначених стадій наведено на рис. 3.1.

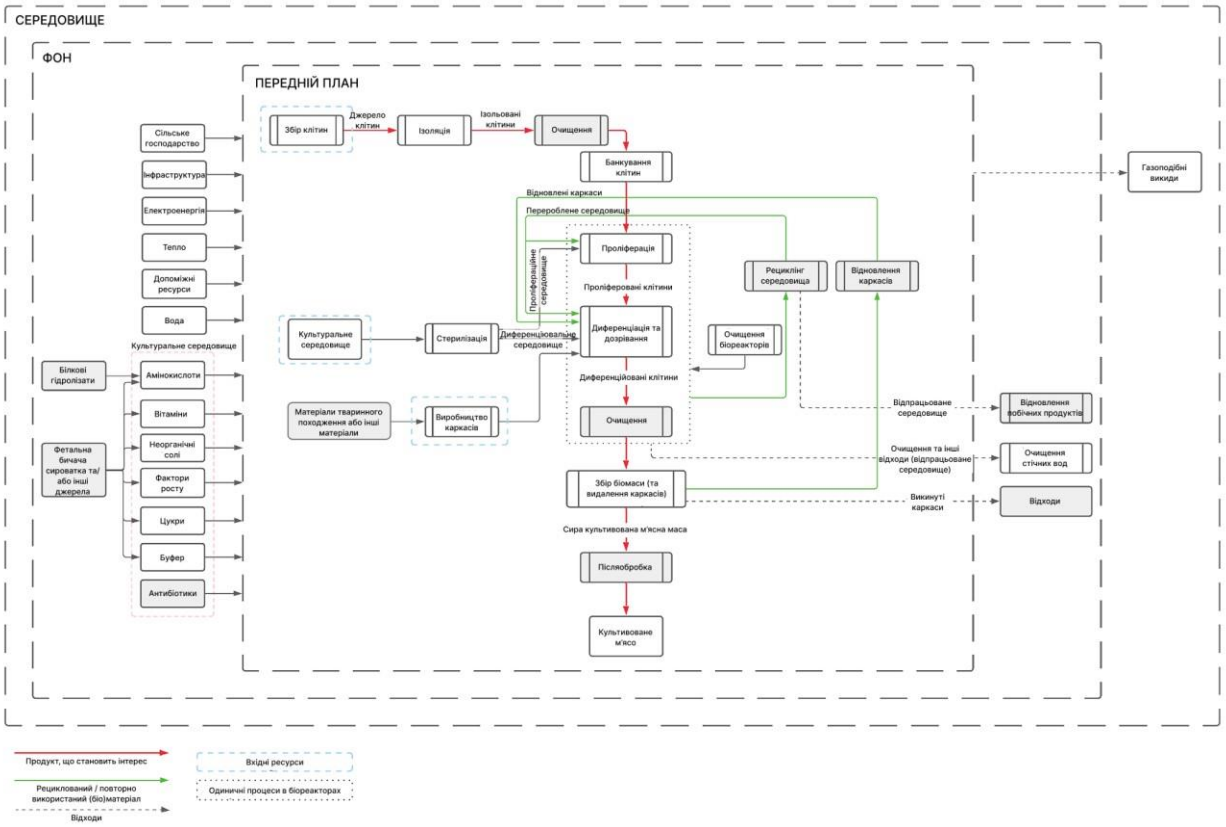

Рис. 3.1 Узагальнена схема технологічного процесу виробництва культивованого м’яса (адаптовано за Rodríguez Escobar M.I. et al. Analysis of the Cultured Meat Production System in Function of Its Environmental Footprint. Foods, 2021, 10(12):2941)

Кожен із перелічених етапів характеризується наявністю критичних контрольних параметрів, до яких належать температура, pH середовища, концентрація розчиненого кисню, склад поживного середовища, щільність клітинної культури та тривалість культивування. Відхилення цих параметрів від оптимальних значень може призводити до зниження проліферативної активності клітин, порушення процесів диференціації або погіршення структурних властивостей сформованої тканини [5, 11, 25].

Особливістю технологічного процесу виробництва культивованого м’яса є його висока залежність від економічних чинників, насамперед вартості поживних середовищ, факторів росту, енергоспоживання та обладнання. Тому при розробці технології необхідно одночасно враховувати біологічну ефективність процесу та його економічну доцільність, що є однією з ключових

відмінностей клітинного сільського господарства від медичних і фармацевтичних клітинних технологій [17, 21, 25].

Крім того, технологічний процес культивованого м’яса повинен відповідати вимогам харчової безпечності, простежуваності та відтворюваності, що накладає додаткові обмеження на вибір сировини, матеріалів і технологічних рішень. У цьому контексті виробництво культивованого м’яса розглядається не лише як біотехнологічний, але й як харчовий виробничий процес, інтегрований у систему сучасної харчової промисловості [3, 19, 31].

Таким чином, загальна характеристика технологічного процесу виробництва культивованого м’яса свідчить про його міждисциплінарний характер і складність, що зумовлює необхідність детального аналізу кожної технологічної стадії. Подальші підпункти даного розділу присвячені поетапному розгляду ключових складових процесу, починаючи з отримання та підготовки клітинного матеріалу.

3.2 Отримання та підготовка клітинного матеріалу

Технологічний процес культивованого м’яса традиційно розпочинається з отримання первинних клітинних популяцій із м’язової тканини тварини-донора. Цей етап включає комплекс біопсійних та лабораторних процедур, спрямованих на ізоляцію активних клітин-попередників, здатних до проліферації та подальшої диференціації у м’язові структури. Вибір клітинного джерела та методів його обробки має визначальне значення для стабільності та ефективності всього подальшого технологічного процесу виробництва культивованого м’яса [6, 7, 15].

Обґрунтування вибору джерела клітин

Початковим етапом технологічного ланцюга виробництва культивованого м’яса є вибір та виділення відповідного типу клітин, здатних до ефективної проліферації та подальшої диференціації. Відомо, що клітини зберігають так звану епігенетичну пам’ять, яка визначає їхній

диференціаційний потенціал і значною мірою залежить від тканинного походження біопсійного матеріалу [1, 8, 14, 20].

Так, мезенхімальні стовбурові клітини, ізольовані з кісткового мозку, демонструють інші напрямки та ефективність диференціації порівняно з клітинами, отриманими з жирової тканини. Подібні відмінності можуть впливати на швидкість росту культури, її стабільність in vitro та здатність до формування м’язової або жирової тканини [6, 22].

Водночас на сьогодні залишається недостатньо дослідженим питання щодо можливого впливу породної належності тварин-донорів на органолептичні властивості культивованого м’яса або на особливості технологічного процесу його виробництва. Наявні дані не дозволяють однозначно визначити, чи ці характеристики залежать переважно від генетичних особливостей клітин, чи формуються в основному під впливом умов культивування та складу поживного середовища [9, 14].

Аналогічно, відсутні переконливі дані щодо впливу статі тварини-донора на біологічні властивості клітин та характеристики кінцевого продукту, що свідчить про необхідність подальших досліджень у цьому напрямі [11, 32].

Таким чином, вибір джерела клітин для виробництва культивованого м’яса передбачає пошук компромісу між складністю технологічного процесу, доступністю та простотою отримання клітин, вартістю культивування, рівнем споживчого прийняття, регуляторними вимогами та бажаними властивостями кінцевого продукту [3, 14, 27].

З метою систематизації сучасних підходів у табл. 3.1 наведено структурований огляд переважних джерел клітин для різних видів тварин, вимог до поживних середовищ, епігенетичних аспектів та оцінки промислової доцільності їх використання. Узагальнені дані дозволяють виділити як спільні риси, так і видоспецифічні відмінності, формуючи чітке підґрунтя для обґрунтованого вибору та оптимізації клітинних типів у технології виробництва культивованого м’яса [5, 21, 33].

Таблиця 3.1

Порівняльна характеристика видоспецифічних клітинних джерел, вимог до культивування та технологічної доцільності для виробництва культивованого м’яса

Вид	Переважні клітинні джерела	Вимоги до поживного середовища	Епігенетичні аспекти	Промислова доцільність
Велика рогата худоба (Bovine)	М’язові сателітні клітини (SCs); мезенхімальні стовбурові клітини жирового походження (MSCs); іммортalізовані бичачі сателітні клітини (iBSCs)	Безсироваткові, хімічно визначені середовища; ліганди до IGF1R, TFRC, LPAR1; інженерні iBSCs з експресією TERT/CDK4 для подовженої проліферації	Транскриптом на гетерогенність (квазіспокійний, активний, комітований стани); обмежені дані щодо локусспецифічних епігенетичних змін	Висока технологічна доцільність: iBSCs >120 подвоєнь; безсироваткова диференціація підтримує 3Dконструкти; інженерні м’язовожирові тканини
				демонструють покращену структуру та стратегії зниження собівартості

Свині (Porcine)	М’язові стовбурові клітини (SCs), збагачені шляхом сортування за CD29/CD56; мезенхімальні стовбурові клітини жирового походження (ADSCs); мезенхімальні стовбурові клітини желе Вартона (WJMSCs)	Середовище для росту скелетних м’язів SkGM-2 з додаванням епідермального фактора росту (EGF), дексаметазону та інгібітора p38 MAPK (SB203580); модифікація позаклітинного матриксу (ECM) із застосуванням фактора росту сполучної тканини (CTGF) стимулює міогенез	ADSCs характеризуються вищою проліферацією та адипогенезом; WJ-MSCs мають більший остеогенний потенціал; доступні епігенетичні карти є обмеженими	Збагачення методом MACS підвищує частку CD56+/CD29+ SCs до ~91%; ADSCs ефективно масштабуються; підходи ECM/CTGF є перспективними, але потребують валідації у промислових масштабах
Курка (Chicken)	М’язові сателітні клітини (SCs); мезенхімальні стовбурові/прогенітні клітини (MSCs); індуковані	Безсироваткові, видоспецифічно адаптовані середовища	Дані щодо метилювання ДНК або модифікацій гістонів для	Подібні до ссавців обмеження: низький потенціал експансії

	плюрипотентні стовбурові клітини (iPSCs) як альтернативи	з оптимізованими факторами росту та добавками; валідовані курячі формуляції відсутні	курки відсутні; описані лише загальні механізми регуляції стовбурових/прогеніторних клітин	SCs, відсутність стабільних клітинних ліній, висока вартість середовищ; великомасштабні демонстрації відсутні
Риба (Fish)	Огляди вказують на перспективність риби як об’єкта культивованого м’яса, однак специфічні протоколи та кількісні дані культивування є обмеженими	Валідовані безсироваткові, видоспецифічні рецептури середовищ для риб відсутні	Дані щодо метилювання ДНК або модифікацій гістонів у клітинах риб відсутні	Подібні обмеження, як і для ссавців: обмежена експансія дорослих стовбурових клітин (ASCs), відсутність надійних клітинних ліній, висока вартість середовищ; відсутні великомасштабні демонстрації отримання м’язової або жирової тканини риби

Біопсія та ізоляція міосателітних клітин

Для виробництва культивованого м’яса пріоритетним клітинним джерелом є міосателітні клітини (м’язові стовбурові клітини), які характеризуються високою проліферативною активністю [7, 15, 20].

Технологічний процес отримання клітин розпочинається з біопсії скелетної мускулатури тварини-донора (рис. 3.2).

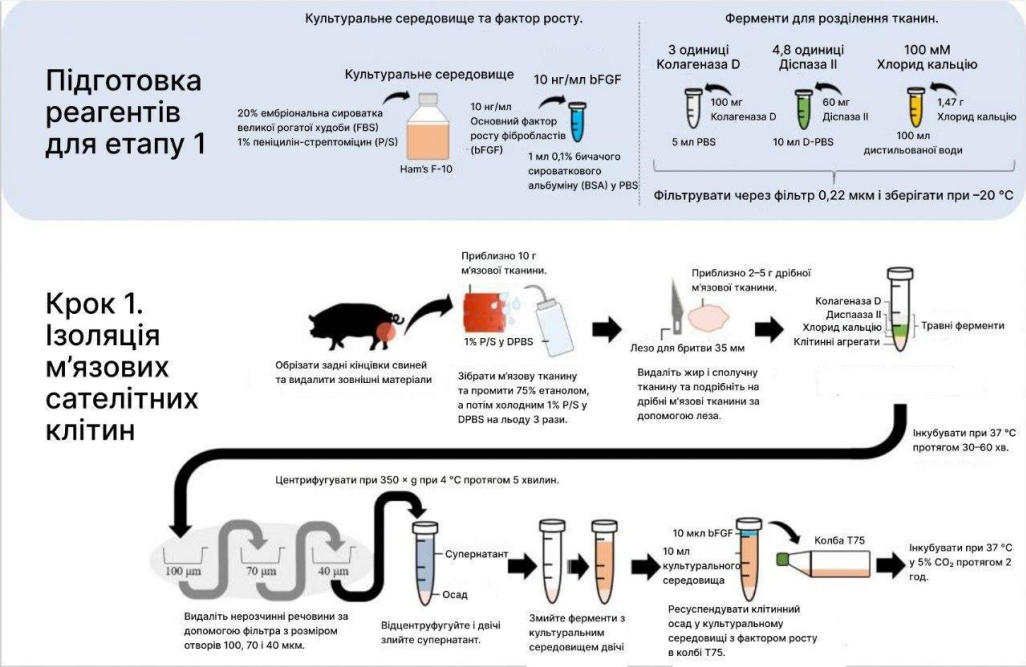

Рис. 3.2 Етапи ізоляції первинних клітин із м'язової тканини тварини (адаптовано з джерела Lee, S. Y., Kang, H. J., Lee, D. Y., Kang, J. H., Ramani, S., Park, S., & Hur, S. J. (2021). Principal protocols for the processing of cultured meat. *Journal of animal science and technology*, *63*(4), 673–680. https://doi.org/10.5187/jast.2021.e40)

Отриманий фрагмент м'язової тканини масою 1–2 г піддають первинній обробці з метою забезпечення стерильності. Зразок короткочасно обробляють 70% розчином етанолу, після чого тричі промивають у збалансованому сольовому розчині Хенкса (HBSS) або фосфатно-сольовому буфері (PBS).

Для запобігання бактеріальному та грибковому забрудненню на етапі транспортування біоптат поміщають у поживне середовище DMEM, доповнене подвійною концентрацією антибіотика (пеніцилін–стрептоміцин) та антимікотика [11, 28].

Механічна підготовка тканини передбачає ретельне видалення залишків жирової та сполучної тканини, зокрема епімізію та перимізію, за допомогою мікрохірургічних інструментів. Після цього здійснюють ферментативну

дисоціацію з метою руйнування позаклітинного матриксу та вивільнення клітин [7, 24].

Тканину інкубують у розчині колагенази II типу з концентрацією 2 мг/мл протягом 60 хвилин при температурі 37 °C у термостаті з помірним перемішуванням. Для остаточного роз'єднання клітин застосовують 0,25% розчин трипсину-ЕДТА з інкубацією протягом 20 хвилин. Після завершення ферментативної обробки активність трипсину нейтралізують шляхом додавання ростового середовища, що містить 10% сироватки. Отриману клітинну суспензію піддають фільтрації через нейлонові сита з розміром пор 100 мкм та 40 мкм з метою видалення недисоційованих фрагментів тканини та отримання гомогенної клітинної фракції, придатної для подальшого культивування [7, 15].

Очищення, збагачення та первинне культивування клітин

Після завершення ферментативної дисоціації та отримання гомогенної клітинної суспензії наступним етапом є очищення та збагачення популяції міосателітних клітин, а також їх адаптація до умов *in vitro*. Цей етап є критичним для забезпечення однорідності культури, збереження міогенного фенотипу клітин і підвищення ефективності подальшої проліферації [15, 18].

Отримана клітинна суспензія містить суміш різних типів клітин, включаючи фібробласти, ендотеліальні клітини та інші елементи сполучної тканини. Оскільки наявність сторонніх клітин може негативно впливати на швидкість росту культури та диференціаційний потенціал, застосовують методи селекції та збагачення міосателітних клітин [8, 15].

Одним із поширених підходів є використання адгезивних властивостей клітин, коли суспензію висівають у культуральні флакони, а через певний час проводять селективне видалення швидкоадгезивних фібробластів. Більш точним методом є застосування імунологічних технологій сортування клітин, зокрема магнітно-активованого клітинного сортування (MACS) або флуоресцентного клітинного сортування (FACS) [15, 33].

Для ідентифікації та збагачення міосателітних клітин використовують специфічні поверхневі маркери, такі як CD56 (NCAM), CD29 та M-cadherin, у поєднанні з негативною селекцією клітин, що експресують маркери кровотворних або ендотеліальних клітин. Застосування таких методів дозволяє отримати клітинні популяції з високим ступенем чистоти та стабільними біологічними характеристиками [15, 20].

Після збагачення клітини піддають первинному культивуванню з метою їх адаптації до штучного середовища. Клітини висівають на культуральні поверхні, попередньо оброблені адгезивними білками, такими як колаген або ламінін, що сприяє прикріпленню та виживанню клітин. Як поживне середовище зазвичай використовують модифіковане середовище DMEM або DMEM/F12, доповнене факторами росту, інсуліном та іншими компонентами, необхідними для підтримання проліферативного стану.

Первинне культивування здійснюють у стандартних умовах для клітин ссавців: температура 37 °C, концентрація CO_2 5% та контрольована вологість. Протягом перших 24–48 годин проводять морфологічну оцінку клітин, визначаючи їх життєздатність, ступінь прикріплення та однорідність культури. Клітини з типовою веретеноподібною морфологією та активним ростом вважаються придатними для подальшого масштабування.

Таким чином, етап очищення, збагачення та первинного культивування клітин забезпечує отримання стабільної та функціонально повноцінної клітинної культури, яка є основою для подальших стадій технологічного процесу — проліферації, масштабування та диференціації клітин у біореакторних системах.

Після виділення цільових клітин їх переносять у поживне середовище для первинного культивування, яке здійснюється в умовах контрольованої температури, вологості та газового складу. На цьому етапі клітини адаптуються до *in vitro* умов, прикріплюються до поверхні культурального посуду та розпочинають проліферацію.

Ключовим завданням первинного культивування є оцінка життєздатності, проліферативної активності та морфологічної однорідності клітинної культури. Для цього застосовують мікроскопічний аналіз, тестування життєздатності клітин та, за потреби, молекулярно-біологічні методи для підтвердження збереження міогенного фенотипу.

Таким чином, стадія отримання та підготовки клітинного матеріалу формує біологічну основу всього технологічного процесу виробництва культивованого м’яса. Саме на цьому етапі закладаються передумови для ефективного масштабування культури, керованої диференціації клітин і формування кінцевого продукту з прогнозованими якісними характеристиками.

3.3. Проліферація та стратегії нарощування клітинної біомаси

Після отримання та первинної підготовки клітинного матеріалу наступною ключовою стадією технологічного процесу виробництва культивованого м’яса є проліферація клітин у поживному середовищі. Метою цього етапу є багаторазове збільшення кількості клітин за збереження їх життєздатності, генетичної стабільності та здатності до подальшої диференціації. Саме стадія проліферації визначає ефективність використання клітинного ресурсу та значною мірою впливає на економічні показники виробництва. Критичним параметром проліферації є підтримка сателітних клітин у стані активного поділу, не допускаючи їх передчасного злиття [5, 11, 18].

Біологічні передумови проліферації клітин

Проліферація м’язових сателітних клітин або інших клітин-попередників відбувається за умови створення *in vitro* середовища, що імітує фізіологічні умови тканинного мікрооточення. Для підтримання активного клітинного циклу необхідна наявність поживних речовин, джерел енергії, факторів росту та оптимальних фізико-хімічних параметрів середовища [5, 22].

Клітини на цій стадії перебувають переважно у фазах G_1, S та G_2 клітинного циклу, активно синтезуючи ДНК і структурні компоненти. Порушення балансу поживних компонентів або накопичення метаболічних продуктів може призводити до уповільнення проліферації, індукції апоптозу або передчасної диференціації клітин, що є небажаним на даному етапі технологічного процесу.

Поживні середовища, що використовуються на стадії проліферації, повинні забезпечувати клітини всіма необхідними макро- та мікронутрієнтами для інтенсивного росту. До їх складу зазвичай входять джерела вуглецю (глюкоза), незамінні та замінні амінокислоти, вітаміни групи B, неорганічні солі, а також регуляторні молекули, які стимулюють клітинний поділ (табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Склад поживного середовища для проліферації

Компонент	**Кількість**	**Призначення**
DMEM (High Glucose)	400 мл	Джерело енергії (глюкоза 4.5 г/л) та солей
FBS (Фетальна сироватка)	80 мл	Джерело гормонів та адгезивних факторів
L-глутамін (200 мМ)	5 мл	Амінокислотний субстрат для метаболізму
bFGF (10 мкг/мл сток)	100 мкл	Підтримка проліферації, інгібування міогенезу
Антибіотик/Антимікотик	5 мл	Стерильність культури

Особливе значення мають фактори росту, зокрема інсуліноподібний фактор росту (IGF-1), фактор росту фібробластів (FGF-2) та епідермальний фактор росту (EGF), які активують сигнальні шляхи, пов’язані з проліферацією та виживанням клітин. Водночас концентрації цих компонентів повинні бути

ретельно оптимізовані, оскільки надмірна стимуляція може призводити до порушення регуляції клітинного циклу [24, 25].

Оптимальне ростове середовище складається з базальної основи DMEM або Ham's F-10, збагаченої 20% фетальною бичачою сироваткою (FBS) або її безсироватковими аналогами. Ключовим біохімічним сигналом є основний фактор росту фібробластів (bFGF), який додається у концентрації 10–20 нг/мл. bFGF активує шлях сигналізації MAPK/ERK, що стимулює поділ міобластів та пригнічує експресію міогеніну — білка, відповідального за початок диференціації.

Для очищення культури від фібробластів, які мають вищу швидкість адгезії, використовується протокол пре-плейтингу: клітини висівають на немодифікований пластик на 45 хвилин, після чого суспензію з неадгезованими сателітними клітинами переносять у нові флакони, покриті желатином або колагеном. Це забезпечує чистоту лінії понад 95%.

Сучасні тенденції розвитку технологій культивованого м’яса спрямовані на використання безсироваткових і хімічно визначених середовищ, що забезпечує кращу відтворюваність процесу та відповідає вимогам харчової безпечності. Перехід до таких середовищ також є важливим чинником зниження залежності від компонентів тваринного походження.

Умови культивування та контроль параметрів процесу

Проліферація клітин здійснюється за суворо контрольованих умов культивування. Оптимальна температура для більшості клітин ссавців становить близько 37 °C, а рівень pH середовища підтримується в межах 7,2–7,4. Газове середовище зазвичай містить 5 % CO_2, що забезпечує стабільність буферної системи середовища [11, 21].

Важливим параметром є також концентрація розчиненого кисню, оскільки гіпоксичні умови можуть уповільнювати клітинний ріст або змінювати метаболічний профіль клітин. На стадії проліферації підтримання

оптимального кисневого режиму сприяє рівномірному росту культури та зменшенню утворення токсичних метаболітів.

Контроль щільності клітин є ще одним критичним аспектом. Надмірна кон-флуентність клітинної культури може призводити до контактного гальмування росту, тоді як надто низька щільність негативно впливає на міжклітинні сигнальні взаємодії. Тому на практиці застосовують регулярне пересівання клітин у свіжі культуральні ємності.

Протягом стадії проліферації здійснюють постійний моніторинг стану клітинної культури, який включає візуальну оцінку морфології клітин, визначення швидкості росту та життєздатності. Для цього використовують світлову мікроскопію, тестування метаболічної активності та кількісні методи підрахунку клітин [5, 25].

Крім того, у наукових і дослідно-промислових умовах можуть застосовуватися молекулярні маркери, що підтверджують збереження міогенного фенотипу клітин. Це особливо важливо для запобігання втраті диференціаційного потенціалу під час тривалого культивування.

Схематичне зображення процесу проліферації клітин у поживному середовищі наведено на рис. 3.3.

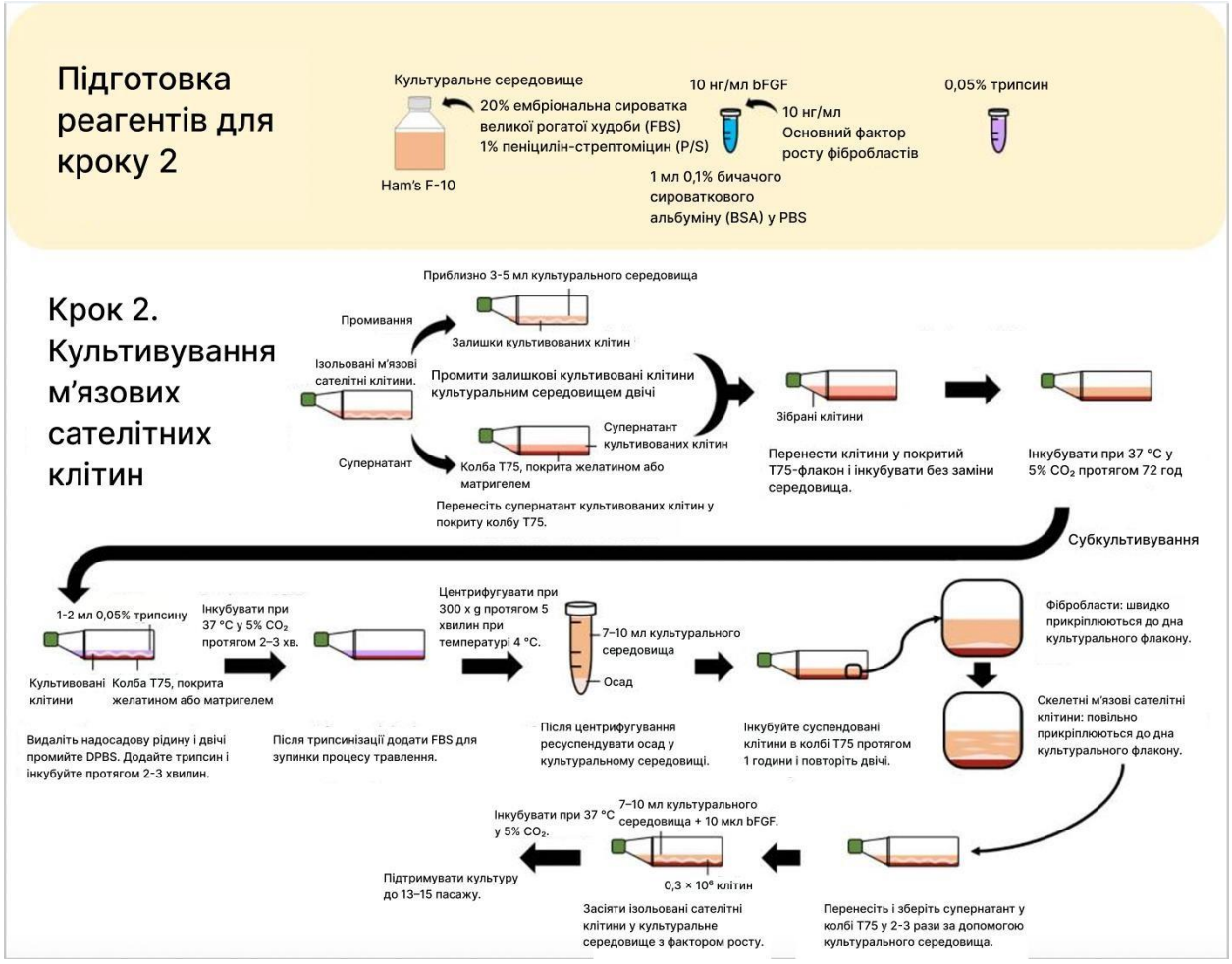

Рис. 3.3 Культивування клітин у поживному середовищі на стадії виробництва культивованого м'яса (адаптовано з джерела Lee, S. Y., Kang, H. J., Lee et al. (2021). Principal protocols for the processing of cultured meat. Journal of animal science and technology, 63(4), 673–680)

Стадія проліферації клітин виконує центральну роль у технологічному процесі виробництва культивованого м'яса, оскільки вона забезпечує необхідну кількість клітин для подальших етапів масштабування та диференціації. Ефективна організація цього етапу дозволяє зменшити втрати клітин, оптимізувати використання поживних середовищ та підвищити загальну продуктивність процесу.

Отримана на стадії проліферації клітинна біомаса створює передумови для переходу до наступного етапу — масштабування культури у біореакторних системах, що забезпечують промислово значущі об'єми виробництва.

Після досягнення необхідної кількості клітин на стадії проліферації наступним етапом технологічного процесу виробництва культивованого м’яса є масштабування клітинної культури. Ця стадія передбачає перенесення клітин із лабораторних або маломасштабних культуральних систем у біореактори, що забезпечують контрольовані умови для подальшого зростання клітинної біомаси у промисловно значущих об’ємах.

Масштабування є одним із найбільш технологічно складних етапів процесу, оскільки потребує одночасного врахування біологічних потреб клітин і інженерних характеристик апаратури. Саме на цьому етапі відбувається інтеграція клітинних технологій із біоінженерними рішеннями.

3.4 Диференціація та формування м’язових волокон

Після етапу масштабування клітинної культури ключовим технологічним завданням є індукція диференціації клітин та формування м’язової тканини, яка за своїми структурними й функціональними характеристиками наближається до традиційного м’яса. На цій стадії відбувається перехід клітин із проліферативного стану до спеціалізованого фенотипу, що забезпечує синтез скоротливих білків і формування м’язових волокон [6, 15, 20].

Диференціація є біологічно складним процесом, який залежить від типу клітин, складу поживного середовища, фізичних умов культивування та наявності структурної підтримки у вигляді матриксу або каркасу. Саме на цьому етапі закладаються основні органолептичні властивості майбутнього продукту, зокрема текстура та щільність[14, 24].

Біологічні основи диференціації м’язових клітин

М’язові клітини, зокрема сателітні клітини, у відповідних умовах здатні до диференціації з утворенням міобластів, які надалі зливаються в багатоядерні міотуби. Цей процес супроводжується активацією специфічних транскрипційних факторів, таких як MyoD, Myf5 та myogenin, які регулюють експресію м’яз-специфічних білків[15, 20].

Індукція диференціації зазвичай досягається шляхом зміни складу культурального середовища, зокрема зниження концентрації факторів росту та додавання компонентів, що стимулюють м’язову спеціалізацію. Основний технічний прийом — заміна середовища з високим вмістом мітогенів (20% FBS) на диференційне середовище з низьким вмістом (2% кінської сироватки або 2% FBS) [6, 28].

У промислових умовах особливу увагу приділяють використанню безсироваткових та хімічно визначених середовищ, що відповідають вимогам харчової безпеки.

Схематичне зображення процесу переходу клітин від проліферації до диференціації наведено на рис. 3.4.

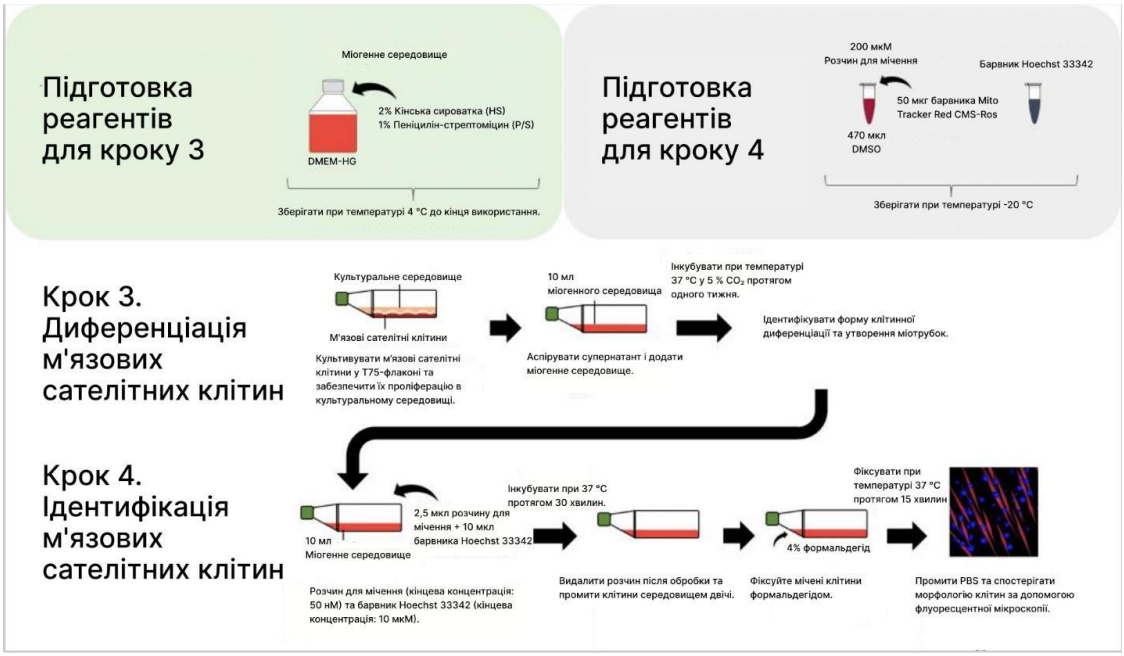

Рис. 3.4 Етапи диференціації та ідентифікації м’язових сателітних клітин. (адаптовано з джерела Lee, S. Y., Kang, H. J., Lee et al. (2021). Principal protocols for the processing of cultured meat. Journal of animal science and technology, 63(4), 673–680)

Процес диференціації включає кілька стадій:

1. **Вихід з клітинного циклу:** Зниження рівня ростових факторів змушує міобласти припинити поділ.

2. **Міграція та вирівнювання:** Клітини починають вибудовуватися в паралельні ланцюги.

3. **Злиття (Fusion):** Клітинні мембрани сусідніх міобластів зливаються, утворюючи багатоядерні міотрубки.

4. **Дозрівання:** Усередині міотрубок починається активний синтез скоротливих білків — актину та міозину.

Для стимуляції цього процесу передбачається додавання інсуліну (10 мкг/мл) та дексаметазону. На цій стадії вкрай важливо використовувати скафолди або спеціальне покриття поверхонь (Matrigel), що забезпечує механічні сигнали для спрямованого росту волокон. Час диференціації зазвичай становить 5–7 діб, протягом яких міотрубки товщають і набувають здатності до скорочення.

3.5. Роль скафолдів у формуванні тканинної структури

Культивування м’язових клітин *in vitro* відрізняється від фізіологічних умов ***in vivo*** відсутністю механічного навантаження, васкуляризації та тривимірної архітектури. Це обмежує розмір тканинних конструкцій і зумовлює необхідність застосування скаффолдів, механічної або електричної стимуляції та контрольованих біореакторних систем [15, 22, 24].

Вирощування безструктурної клітинної маси дозволяє створювати продукти типу фаршу (бургери, нагетси). Однак для створення структурованих продуктів (стейки, філе) необхідно відтворити тривимірну архітектуру м'яса. Для цього використовують скафолди (scaffolds) — пористі каркаси, які імітують позаклітинний матрикс (ECM) і забезпечують механічну підтримку для адгезії та росту клітин. Такі біоматеріали не лише забезпечують транспорт кисню та поживних речовин і сприяють видаленню метаболічних відходів, але й запобігають утворенню некротичних ядер усередині тканинних конструкцій [6, 24, 25].

Важливо зазначити, що скаффолди зазвичай є біодеградованими. Однак у випадку використання недеградованих скаффолдів необхідно забезпечити їх

безпечність для споживання людиною як у сирому, так і в термічно обробленому вигляді. Такі скаффолди повинні відповідати визначеним критеріям щодо текстури, смакових властивостей, кулінарної поведінки та поживної цінності [14, 23].

Вимоги до біоматеріалів для харчових скафолдів

- Біосумісність та їстівність: Матеріал не повинен бути токсичним, має бути безпечним для споживання або біодеградуючим.
- Текстура: Механічні властивості (жорсткість, еластичність) повинні відповідати природному м'ясу. Оптимальна жорсткість (близько 12 кПа) стимулює міогенну диференціацію через механотрансдукцію.
- Пористість: Структура повинна мати взаємопов'язані пори для міграції клітин та дифузії поживних речовин і кисню.
- Економічна доступність.

Додатково, важливою характеристикою є термічна стабільність, яка гарантує збереження цілісності структури під час процесів приготування їжі. Скаффолди, призначені для харчового виробництва, мають бути не лише безпечними та функціональними, але й економічно доступними та придатними до масштабування у промислових умовах [23, 27].

Джерела отримання скафолдів

Біоматеріальні скаффолди для клітинних харчових продуктів переважно походять з біологічних джерел. Такі матеріали переробляють у відповідні форми та морфології зі збереженням їх первинного хімічного складу. З метою мінімізації витрат обробка матеріалів біологічного походження має бути максимально обмеженою. Крім того, слід уникати використання матеріалів, отриманих від сільськогосподарських тварин, зокрема колагену, оскільки вони не є самовідновлюваними та залишаються залежними від традиційного тваринництва [22, 25].

У зв’язку з цим полісахариди, такі як крохмаль (амілопектин/амілоза), целюлоза, хітозан/хітин, альгінати, пулулан і гіалуронова кислота, вважаються

більш доцільними матеріалами. Значний потенціал також мають білкові системи, отримані за допомогою рекомбінантних технологій, зокрема желатин, колаген, фібрин, шовк або кератин. Ще одним перспективним класом матеріалів є поліестери, включаючи полігідроксіалканоати, які можуть продукуватися бактеріальними та іншими біологічними системами [13, 22, 25].

Окрім того, активно досліджуються складні композиційні матриці рослинного та мікробного походження, зокрема децелюляризовані рослинні листки, лігніни та грибний міцелій. Синтетичні полімери, включаючи різні типи поліестерів, також розглядаються як матеріали для створення біоматеріальних скаффолдів. Зазвичай такі матеріали є біосумісними, безпечними для використання людиною та дозволяють регулювати швидкість деградації шляхом хімічного гідролізу. Хоча синтетичні полімерні системи характеризуються стабільністю постачання та відтворюваністю якості, їх висока вартість і необхідність поверхневої функціоналізації можуть становити певні обмеження. Для застосувань у біодруці біоматеріали також повинні відповідати додатковим вимогам для ефективного функціонування як біочорнила [24, 25].

Для потреб клітинного сільського господарства скаффолди повинні володіти специфічними властивостями, зокрема відповідною текстурою, засвоюваністю, втратами маси під час термічної обробки, водоутримувальною здатністю та смаковими характеристиками. Ці параметри не завжди є пріоритетними при розробці скаффолдів для медичних застосувань [23, 27]. Усі зазначені властивості мають оцінюватися за допомогою відповідних методик для підтвердження придатності матеріалів до споживання людиною у складі харчових продуктів.

Крім того, необхідно проводити нутрієнтний аналіз, зокрема екстракцію та хроматографічне кількісне визначення макронутрієнтів. Важливо також оцінювати механічні властивості скаффолдів з метою аналізу їхньої структури, використовуючи методи, прийняті у м’ясній промисловості, такі як визначення

сили зсуву за Ворнером—Братцлером, водоутримувальної здатності та втрат маси при приготуванні. Технології тривимірного друку дозволяють контролювати морфологію скаффолдів, зокрема топографію поверхні, розмір волокон, пористість та орієнтацію, що забезпечує їх відповідність запланованому функціональному призначенню [13, 24].

Застосування культивованого м’яса передбачає забезпечення як стабільності продукту, так і його засвоюваності. Найбільш ефективно ці показники можуть бути оцінені за допомогою досліджень in vitro, які моделюють умови шлунково-кишкового тракту, включаючи значення pH, механічні навантаження та дію травних ферментів. Скаффолди повинні оцінюватися як у до-, так і післятермічно обробленому стані, що дозволяє провести порівняльний аналіз за аналогією з методами оцінювання інших нових харчових інгредієнтів.

Вартість скаффолдів є критично важливим чинником, оскільки вона має становити лише незначну частку загальної собівартості виробництва з метою забезпечення стабільної якості продукції, відтворюваності процесу та економічної доцільності. У табл.3.3 наведено огляд полімерів, які застосовують як скафолди.

Таблиця 3.3.

Клас біополімерів	**Походження та характеристики**	**Категорія**
Полісахариди	Бактерії, рослини	Похідні целюлози та целюлоза (метилцелюлоза (MC), гідроксипропілметилцелюлоза (HPMC), карбоксиметилцелюлоза (CMC))
	Рослини	Амілопектин, амілоза (крохмаль)
	Дріжджі, гриби, комахи, ракоподібні	Хітозан / хітин
	Гетерологічна	Метакрилатні похідні, гіалуронова
	експресія	кислота

	Рослини	Агароза
	Рослини	Альгінат
Білки	Гетерологічна експресія	Зеїн, колаген / желатин, метакрилатні похідні
		Кератин
		Еластин
		Ламінін
Синтетичні полімери	Хімічний синтез	Полігліколеві кислоти / полімолочна кислота
		Поліетиленгліколь
		Полікапролактон
		Полівініловий спирт
Поліестери	Гетерологічна експресія	Полігідроксіалканоати, включаючи гомополімери та кополімери
Складні природні композити	Рослини	Лігнін
	Гриби	Міцелій
	Рослини	Соєві гідролізати
	Рослини	Децелюляризовані тканини

Окрім біохімічних факторів, значну роль у формуванні функціональної м’язової тканини відіграють фізичні стимули, такі як механічне розтягування, електрична стимуляція та гідродинамічні навантаження. Ці фактори імітують природні умови функціонування м’язів у живому організмі та сприяють підвищенню структурної організованості тканини [15, 24].

Механічна стимуляція сприяє вирівнюванню м’язових волокон і збільшенню їхнього діаметра, тоді як електричні імпульси можуть стимулювати скоротливу активність клітин і прискорювати їх дозрівання. Застосування таких підходів дозволяє отримати тканини з покращеними механічними властивостями [15, 22].

Проте інтеграція фізичних стимулів у масштабовані виробничі процеси залишається технологічним викликом, оскільки потребує складного обладнання та додаткових витрат.

Формування комбінованих м’язово-жирових структур

Для наближення властивостей культивованого м’яса до традиційного продукту дедалі більшої уваги приділяють ко-культивуванню м’язових та жирових клітин. Наявність жирової тканини є важливою для формування смаку, соковитості та аромату м’яса [18, 23].

Формування комбінованих структур може здійснюватися шляхом послідовного або одночасного культивування різних типів клітин на спільному каркасі. Такий підхід дозволяє відтворити складну мікроструктуру м’ясної тканини, включаючи взаємодію між клітинними популяціями [22, 32].

Однак ко-культивування ускладнює контроль процесу, оскільки різні типи клітин мають відмінні вимоги до поживного середовища та умов культивування. Це вимагає додаткової оптимізації технологічних параметрів.

Стадія диференціації та формування тканини є визначальною для споживчих характеристик культивованого м’яса. Саме на цьому етапі формується структура продукту, його механічні властивості, а також передумови для розвитку смако-ароматичних характеристик під час подальшої термічної обробки [14, 23].

Недостатня або неконтрольована диференціація може призводити до утворення аморфної клітинної маси, яка не відповідає очікуванням споживачів щодо текстури м’яса. Водночас оптимізація цього етапу дозволяє створювати продукти з різними структурними властивостями, орієнтованими на конкретні види м’ясних виробів [9, 27].

Таким чином, диференціація клітин і формування м’язової тканини є центральним етапом технологічного процесу виробництва культивованого м’яса, що поєднує біологічні, матеріалознавчі та інженерні аспекти.

3.6. Формування кінцевого продукту, дозрівання та підготовка до споживання

Завершальним етапом технологічного процесу виробництва культивованого м’яса є формування кінцевого продукту, його дозрівання та

підготовка до подальшого використання як харчового інгредієнта або готового продукту. На цій стадії культивована тканина набуває властивостей, необхідних для забезпечення безпечності, стабільності та споживчої привабливості [11, 14, 23].

На відміну від попередніх етапів, орієнтованих переважно на біологічні аспекти росту клітин, фінальна стадія поєднує біотехнологічні, харчові та інженерні підходи. Саме тут формується зв’язок між клітинним виробництвом і харчовою промисловістю.

Відокремлення та обробка культивованої тканини

Після завершення процесів диференціації та тканинного формування культивована м’язова тканина підлягає відокремленню від культуральної системи**.** **З**алежно від використовуваної технології це може включати вилучення тканини разом із каркасом або її відділення від мікроносіїв чи біореакторних поверхонь [15, 24].

На цьому етапі важливо забезпечити мінімальний механічний вплив на тканину, щоб не порушити її структуру. Для цього застосовують щадні методи збору, що включають контрольоване зниження перемішування, зміну параметрів середовища або використання біодеградуючих каркасів.

Дозрівання та стабілізація структури продукту

Після вилучення культивована тканина може піддаватися етапу дозрівання, під час якого відбувається стабілізація її структурних та механічних властивостей. Цей процес є аналогом післязабійного дозрівання традиційного м’яса, проте здійснюється за контрольованих умов без участі ферментативних процесів, пов’язаних із розкладом тканин [14, 23].

Дозрівання може включати контроль температури, вологості та часу витримки, що дозволяє покращити текстуру продукту та зменшити залишкову метаболічну активність клітин. У деяких технологіях також застосовують короткочасну термічну або фізичну обробку для стабілізації форми продукту.

Формування харчових виробів із культивованої тканини

Залежно від кінцевого призначення культивована м’язова тканина може використовуватися як структурований або неструктурований інгредієнт. Неструктуровані продукти, такі як фарші або напівфабрикати, є технологічно простішими у виробництві та наразі вважаються найбільш реалістичними для комерційного впровадження [18, 32].

Для отримання структурованих виробів, що імітують цілісні шматки м’яса, застосовують додаткові технологічні прийоми, зокрема формування шарів, пресування або поєднання з харчовими зв’язуючими компонентами. При цьому важливим є збереження автентичної м’язової текстури та рівномірного розподілу жирових включень.

Харчова безпека та контроль якості

На фінальній стадії виробництва особливу увагу приділяють харчовій безпечності та контролю якості культивованого м’яса. Це включає мікробіологічний контроль, оцінку залишкових компонентів поживного середовища та перевірку відповідності продукту нормативним вимогам [3, 19, 27].

Оскільки культивоване м’ясо виробляється в асептичних умовах, ризик мікробіологічного забруднення є потенційно нижчим, ніж у традиційному м’ясному виробництві. Водночас необхідно враховувати вимоги до простежуваності процесу та відтворюваності якості між партіями [16, 21].

Підготовка продукту до споживання та перспективи впровадження

Заключним етапом є підготовка культивованого м’яса до споживання**,** яка може включати охолодження, пакування або попередню термічну обробку. Продукт повинен бути стабільним під час зберігання та зберігати свої органолептичні властивості протягом усього терміну придатності.

Формування кінцевого продукту є не лише технологічним, але й маркетинговим етапом, оскільки саме на цій стадії визначається формат продукту, його позиціонування та сприйняття споживачем. Успішна інтеграція

цієї стадії в загальну технологічну схему є критично важливою для комерційного успіху культивованого м’яса [11, 23, 32].

Таким чином, фінальна стадія технологічного процесу завершує ланцюг виробництва культивованого м’яса, забезпечуючи перехід від клітинної біомаси до безпечного, функціонального та конкурентоспроможного харчового продукту.

3.7. Масштабування біореакторних процесів

Масштабування є одним із головних викликів у виробництві культивованого м’яса. Перехід від лабораторних об’ємів (1–10 л) до промислових (>1000 л) супроводжується зміною гідродинамічних умов, масообміну та розподілу кисню [5, 11, 25]. .

Основні підходи до масштабування включають:

- збереження питомої потужності перемішування;
- контроль швидкості зсуву;
- оптимізацію систем аерації;
- застосування комп’ютерного моделювання (CFD).

Критичним параметром є коефіцієнт масопередачі кисню ($k_L a$). Оскільки розчинність кисню у середовищі низька, клітини у щільній культурі можуть швидко відчувати гіпоксію. Це призводить до некрозу в центрі клітинних агрегатів діаметром понад 0,2-0,5 мм [11, 18, 29].

Для вирішення цієї проблеми використовують:

- Підвищення парціального тиску кисню.
- Використання перфторвуглецiв як носіїв кисню.
- Дизайн пористих мікроносіїв.

Автоматизація та контроль якості біопроцесу (PAT)

Технологія аналізу процесу (PAT - Process Analytical Technology) передбачає використання онлайн-сенсорів для моніторингу ключових параметрів: біомаси (через ємнісні датчики), концентрації глюкози/лактату (Raman-спектроскопія) та метаболічної активності. Це дозволяє реалізувати

адаптивне керування біореактором, мінімізуючи людський фактор та ризик контамінації [5, 27].

Біореактори як основа промислового культивування клітин

Біореактор є ключовим елементом технологічної схеми культивованого м’яса, оскільки він забезпечує контроль параметрів середовища, необхідних для життєдіяльності клітин. Основними функціями біореакторних систем є підтримання оптимальної температури, pH, концентрації розчиненого кисню, а також ефективне перемішування культурального середовища [11, 25].

Для культивування клітин тваринного походження найчастіше використовують біореактори з м’яким режимом перемішування, що мінімізує механічний вплив на клітини. Залежно від типу клітин та стратегії культивування можуть застосовуватися різні типи біореакторів, включаючи мішалкові, ерліфтні та перфузійні системи [5, 18].

Незважаючи на значний прогрес, виробництво культивованого м’яса стикається з низкою технологічних викликів, серед яких висока вартість поживних середовищ, складність масштабування, відсутність повноцінної васкуляризації та необхідність регуляторної гармонізації. Подальший розвиток галузі пов’язаний з оптимізацією біореакторних систем, зниженням собівартості та інтеграцією суміжних технологій, зокрема 3D-біодруку [13, 21, 33].

Розв’язання зазначених проблем є ключовою умовою переходу культивованого м’яса від експериментальної технології до повноцінного сегмента харчової промисловості.

Масштабування культивування клітин здійснюють із використанням біореакторів різних типів: мішалкових, хвильових, повітряно-ліфтних та біореакторів із мікроносіями. Вибір типу біореактора визначається типом клітин, чутливістю до зсувних напружень і необхідним рівнем контролю параметрів процесу [27, 32].

Біореактор виконує центральну функцію контролю параметрів процесу виробництва культивованого м’яса, оскільки саме в ньому забезпечується контрольоване середовище для проліферації та диференціації клітин. На відміну від фармацевтичної біотехнології, де основною метою є отримання біологічно активної речовини, у виробництві культивованого м’яса біореактор повинен забезпечувати формування великої кількості клітинної біомаси з заданими морфологічними та функціональними властивостями [11, 18].

Основні технологічні вимоги до біореакторних систем включають:

- забезпечення стерильності та біобезпеки процесу;
- можливість масштабування від лабораторного до промислового рівня;
- контроль параметрів культивування (температура, pH, розчинений кисень, концентрація поживних речовин);
- мінімізацію механічного стресу клітин;
- сумісність із системами носіїв (мікроносії, скаффолди).

Типи біореакторів, що застосовуються для культивування тваринних клітин

У сучасних технологіях культивованого м’яса використовуються кілька основних типів біореакторів (табл.3.4.).

Таблиця 3.4

Порівняльна характеристика біореакторів для виробництва культивованого м’яса

Тип біореактора	Типові робочі масштаби	Основні переваги	Ключові обмеження

Реактор з мішалкою (Stirred Tank Reactor, STR)	Від лабораторного до промислового; одноразові та сталеві реактори об’ємом до десятків–сотень тисяч літрів	Добре відпрацьована промислова платформа; ефективний контроль процесу, перенесення кисню та перемішування; сумісність з мікроносіями та перфузійними режимами	Чутливість адгезивних клітин до зсувних напружень; обмеження переносу кисню при високій щільності клітин; високі капітальні витрати (CAPEX) для стерильних харчових виробництв
Перфузійні системи (утримання клітин у змішаних реакторах)	Лабораторний – пілотний рівень; промислові об’єми з високою щільністю клітин обмежені	Підтримання високої життєздатної концентрації клітин завдяки безперервному надходженню поживних речовин та видаленню метаболітів	Складні системи утримання клітин; обмеження масштабування через швидкість перфузії та масообмін; підвищене споживання поживного середовища
Культури на мікроносіях	Лабораторний – пілотний; масштабування в STR (одноразові ємності ~1–10000 л)	Перехід адгезивних клітин до 3D-росту з великою питомою площею; можливість bead-to-bead перенесення для інтенсифікації процесу	Вартість мікроносіїв; складність їх відокремлення на стадії очищення; зсувні навантаження та зіткнення частинок; ефективність збору клітин
Фіксований / насипний шар (Fixedbed / Packedbed)	Лабораторний – малий пілотний	Висока питома площа поверхні для адгезивних клітин і інтеграції скаффолдів; низькі зсувні навантаження	Каналювання потоку; недостатнє перемішування; складність рівномірної оксигенації при масштабуванні; обмежений відбір проб

Псевдозріджений шар (Fluidizedbed)	Лабораторний – малий пілотний	Покращений масообмін навколо частинок/носіїв; потенційно рівномірні умови культивування	Абразія частинок; складні системи утримання носіїв; зсувні навантаження на клітини; складність масштабування
Біореактор з порожнистими волокнами (Hollow Fiber Bioreactor, HFB)	Лабораторний – прототипний; малий пілотний для тканинних конструкцій	Дуже високий локальний масообмін через напівпроникні волокна; можливість формування перфузованих, орієнтованих тканин і конструкцій сантиметрового масштабу	Складна геометрія; обмежені можливості однорідного виробництва у великих об’ємах; забруднення волокон; складність масштабування шляхом збільшення об’єму
Аерліфтний реактор (Airlift)	Концептуальний пілотний – великий промисловий (у моделях)	Низькі зсувні навантаження; ефективний газообмін; менші енергетичні витрати; розглядається як життєздатна альтернатива для великих масштабів	Менша потужність перемішування може обмежувати масообмін при дуже високій щільності клітин; обмежений промисловий досвід для адгезивних клітин ссавців
Макрофлюї дні одноразові системи	Лабораторний рівень та R&D; потенційне масштабування шляхом паралелізації	Низька вартість, швидке прототипування; харчові термопластичні матеріали знижують витрати на обладнання та ризик контамінації	Обмежений об’єм одного модуля; необхідність масштабування шляхом використання великої кількості паралельних одиниць

Статичні та напівстатичні системи застосовуються переважно на ранніх етапах досліджень. До них належать культуральні флакони, багатошарові системи (cell factories), а також біореактори з хвильовим перемішуванням. Їх перевагами є простота використання та низькі капітальні витрати, однак вони мають обмежений потенціал масштабування.

Біореактори з мішалками (stirred-tank bioreactors) є найбільш перспективними для промислового виробництва культивованого м'яса. Вони широко використовуються у фармацевтичній та харчовій біотехнології, що забезпечує наявність відпрацьованих рішень для масштабування до об'ємів понад 10 000 л. Основною проблемою таких систем є механічний зсув, який може негативно впливати на адгезивні клітини.

Біореактори з фіксованим або псевдозрідженим шаром дозволяють культивувати клітини на скаффолдах або мікроносіях, забезпечуючи покращену дифузію поживних речовин та кисню. Такі системи є перспективними для етапу диференціації та формування тканин.

Перфузійні біореактори забезпечують безперервне оновлення поживного середовища та видалення метаболітів, що особливо важливо для довготривалого культивування м'язових тканин.

Використання мікроносіїв для адгезивних клітин

Оскільки більшість м'язових клітин є адгезивними, масштабування їх культивування у суспензійних біореакторах можливе за рахунок застосування мікроносіїв. Мікроносії являють собою дрібнодисперсні частинки, виготовлені з біосумісних матеріалів, які забезпечують поверхню для прикріплення та росту клітин [5, 18].

Застосування мікроносіїв дозволяє значно збільшити площу поверхні для адгезії клітин у межах обмеженого об'єму біореактора, що є критично важливим для досягнення високої щільності клітинної культури. Крім того, мікроносії сприяють більш рівномірному розподілу клітин у середовищі та покращують масообмін [21, 25].

Водночас використання мікроносіїв потребує оптимізації режимів перемішування, оскільки надмірні гідродинамічні навантаження можуть призводити до пошкодження клітин або відшарування їх від поверхні носія.

Контроль параметрів процесу під час масштабування

Під час масштабування клітинної культури особливу увагу приділяють контролю критичних параметрів процесу, оскільки навіть незначні відхилення можуть мати суттєвий вплив на ріст і функціональний стан клітин. До таких параметрів належать температура, pH, концентрація кисню, швидкість перемішування та подача поживних компонентів [5, 18].

Однією з основних проблем масштабування є забезпечення рівномірного постачання кисню та поживних речовин у всьому об’ємі біореактора. Для цього використовують системи аерації та датчики, які дозволяють у режимі реального часу коригувати умови культивування.

Крім того, важливим є контроль накопичення метаболічних відходів, зокрема лактату та амонію, які можуть негативно впливати на клітинний метаболізм. З цією метою застосовують періодичну або безперервну заміну культурального середовища.

Біологічні ризики та обмеження масштабування

Незважаючи на технологічні досягнення, масштабування клітинних культур супроводжується низкою біологічних ризиків. Зі збільшенням об’єму культивування зростає ймовірність гетерогенності клітинної популяції, що може призводити до нерівномірного росту або втрати диференціаційного потенціалу.

Також на великих об’ємах підвищується ризик контамінації, що вимагає суворого дотримання асептичних умов і застосування закритих систем культивування. Будь-яке мікробіологічне забруднення на цій стадії може призвести до втрати всієї партії продукту [21, 27, 32].

З огляду на це, масштабування клітинної культури потребує комплексного підходу, який поєднує біологічну оптимізацію клітинних ліній із інженерним проєктуванням біореакторних систем.

Стадія масштабування є визначальною для переходу від лабораторних досліджень до промислового виробництва культивованого м’яса. Саме на цьому етапі формується основний об’єм клітинної біомаси, яка надалі буде використана для диференціації та формування тканиноподібної структури продукту.

Ефективне масштабування дозволяє знизити собівартість продукції, підвищити відтворюваність процесу та забезпечити стабільну якість кінцевого продукту. Таким чином, біореакторні технології є ключовим елементом комерціалізації клітинного м’ясного виробництва та подальшого розвитку клітинного сільського господарства.

Споживче сприйняття та етичні переваги

Дослідження показують, що готовність споживачів спробувати культивоване м'ясо варіюється від 20% до 60% в залежності від країни та способу подачі інформації . Основні бар'єри: "фактор неприродності" (food neophobia) та недовіра до біотехнологій [9, 27].

Водночас, етичні переваги (відсутність страждань тварин) є потужним маркетинговим драйвером, особливо серед молоді (покоління Z), яка стурбована змінами клімату та добробутом тварин .

Висновки до розділу 3

1. Розглянуто технологічний процес виробництва культивованого м’яса як багатостадійну біотехнологічну систему, що поєднує клітинні, інженерні та харчові підходи. Показано, що ефективність отримання продукту визначається узгодженістю всіх етапів - від вибору клітинного джерела до формування кінцевого харчового виробу.

2. Встановлено, що початкові стадії ізоляції та адаптації клітин є критичними для стабільності культури та її проліферативного потенціалу.

Обґрунтовано, що вибір типу клітин і умов культивування безпосередньо впливає на склад поживного середовища та економічні показники виробництва.

3. Показано, що масштабування клітинної культури в біореакторах є одним із найбільш складних етапів процесу та потребує поєднання біологічних вимог клітин і технічних характеристик обладнання. Використання контрольованих біореакторних систем і мікроносіїв забезпечує досягнення високої щільності клітинної маси.

4. Доведено, що стадія диференціації клітин визначає структурні та функціональні властивості культивованого м’яса. Формування тканинної організації продукту на цьому етапі впливає на його текстуру та органолептичні характеристики, що зумовлює доцільність застосування каркасних матеріалів і фізичних стимулів.

5. Показано, що фінальний етап виробництва забезпечує перехід від клітинної біомаси до харчового продукту, придатного для споживання. Контроль якості та харчова безпечність є визначальними чинниками впровадження культивованого м’яса у харчову промисловість.

6. Технологічний процес виробництва культивованого м’яса є складною, але перспективною біотехнологією, ефективна реалізація якої можлива лише за умови інтеграції клітинної біології, біоінженерії та технології харчових продуктів.

ВИСНОВКИ

1. У результаті аналізу сучасних наукових джерел встановлено, що культивоване м’ясо є перспективним напрямом харчової біотехнології, здатним частково вирішити екологічні, етичні та ресурсні проблеми традиційного тваринництва за умови подальшої технологічної оптимізації виробничих процесів.

2. Порівняльна характеристика джерел клітинного матеріалу показала, що найбільш придатними для промислового виробництва культивованого м’яса є м’язові сателітні клітини та мезенхімальні стовбурові клітини, які забезпечують поєднання міогенного й адипогенного потенціалу при відносній технологічній простоті культивування.
3. Встановлено, що ефективність формування м’язової та жирової тканин in vitro визначається регульованими молекулярними механізмами міогенезу й адипогенезу, контроль яких є критично важливим для отримання продуктів із заданими структурними та сенсорними характеристиками.
4. Проаналізовано роль поживних середовищ як ключового фактору масштабованості та економічної доцільності виробництва культивованого м’яса; показано, що перехід до хімічно визначених безсироваткових середовищ є необхідною умовою зниження екологічного сліду та підвищення регуляторної прийнятності продукту.
5. Обґрунтовано, що створення генетично стабільних іммортalізованих клітинних ліній за умови контролю безпечності та збереження диференціаційного потенціалу є ключовою передумовою переходу від лабораторних досліджень до промислового виробництва культивованого м’яса.
6. Україна має значний потенціал у цій галузі завдяки потужному агросектору (сировина для середовищ та скафолдів) та науковій базі. Інтеграція у цей ринок вимагає державної підтримки наукових досліджень та адаптації законодавства.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вогнівенко Л. П. Біотехнології в харчовій промисловості: інновації та можливості. *Таврійський науковий вісник. Серія : Технічні науки*. 2024.

Вип. 5. С. 157–163.

2. ДСТУ 8302:2015. Інформація та документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання. Київ : ДП УкрНДНЦ, 2016. 16 с.
3. Кушнеренко В. Г. Безпечність та якість культивованого м’яса. *Інноваційні аспекти та перспективи розвитку технології виробництва і переробки продукції тваринництва*: матеріали Міжнар наук.-практ. конф., м. Миколаїв, 24-25 жовт. 2025 р. Миколаїв : МНАУ, 2025. С. 90–93.
4. Методичні рекомендації до виконання кваліфікаційної роботи магістра для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» / Н. В. Хохленкова, О. С. Калюжна, Н. В. Двінських. Харків :

   НФаУ, 2022. 40 с.
5. 3D bioprinting of cultured muscle meat and seafood products and its potential for the food industry / M. Gurel et al. *Trends in Food Science Technology* 2024. Vol. 152. P. 104670. DOI: 10.1016/j.tifs.2024.104670.
6. Allan S. J., De Bank P. A., Ellis M. J. Bioprocess design for mass production of cultured meat. *Foods*. 2019. Vol. 8(10). P. 459.
7. An overview of recent progress in cultured meat: Focusing on technology, quality properties, safety, industrialization, and public acceptance / Y. Xie et al. *The Journal of Nutrition*. 2025. Vol. 155(3). P. 745–755. DOI: 10.1016/j.tjnut.2025.01.010.
8. Analysis of the cultured meat production system in function of its environmental footprint: Current status, gaps and recommendations / M. I. Rodríguez

   Escobar et al. *Foods*. 2021. Vol. 10(12). P. 2941. DOI: 10.3390/foods10122941.

9. Anticipatory life cycle assessment of in vitro biomass cultivation for cultured meat production in the United States / C. S. Mattick et al. *Environmental Science Technology*. 2015. Vol. 49(19). P. 11941–11949.
10. Benjaminson M. A., Gilchriest J. A., Lorenz M. In vitro edible muscle protein production system (MPPS): Stage 1, fish. *Acta Astronautica*. 2002. Vol. 51(12). P. 879–889.
11. Bhat Z. F., Bhat H. Tissue engineered meat: Future meat. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*. 2011. Vol. 2(1). P. 1–10.
12. Bringing cultured meat to market: Technical challenges, social implications, and economic determinants / N. Stephens *et al*. *Trends in Food Science Technology*. 2018. Vol. 78. P. 155–166.
13. Bryant C., Barnett J. Consumer acceptance of cultured meat: A systematic review. *Meat Science*. 2018. Vol. 143. P. 8–17.
14. Cultured beef: From small biopsy to substantial quantity / L. Melzener et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021. Vol. 101(1). P. 7–14.
15. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects 2019. Highlights. New York : United Nations, 2019. 46. p
16. Fifty Years Hence / Winston Churchill. *The National Churchill Museum*. URL: https://www.nationalchurchillmuseum.org/fifty-years-hence.html (Date of access: 26.09.2025).
17. Fish K. D., Riederer J., Dunsford I. Cultured meat: A review of the technology, status, and challenges. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
2020. Vol. 60(15). P. 2611–2627.
18. Hocquette J. F. Is in vitro meat the solution for the future? *Meat Science*. 2016. Vol. 120. P. 167–176.
19. Lynch J., Pierrehumbert R. Climate impacts of cultured meat and beef cattle. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2019. Vol. 3. P. 5.

20. Meet the new meat: Tissue engineered skeletal muscle / M. L. Langelaan *et al. Trends in Food Science Technology*. 2010. Vol. 21(2). P. 59–66.
21. Monaco A. A perspective on the regulation of cultivated meat in the European Union. *npj Science of Food*. 2025. Vol. 9. P. 21. DOI: 10.1038/s41538-02500384-0.
22. Nutritional, environmental and social profiles of natural meat and food derived from cultured muscle cells: An overview/ A. Salzano et al. *Meat Science*. 2025. Vol. 228. P. 109868. DOI: 10.1016/j.meatsci.2025.109868.
23. Opportunities for applying biomedical production and manufacturing methods to the development of the clean meat industry / E. A. Specht et al. *Biochemical Engineering Journal*. 2018. Vol. 132. P. 161–168.
24. Post M. J. Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science*. 2012. Vol. 92(3). P. 297–301.
25. Rubio N. R., Xiang N., Kaplan D. L. Possibilities for the production of bioengineered meat. *Nature Reviews Materials*. 2019. Vol. 4. P. 1–15.
26. Scaffolding techniques for in vitro meat production / J. S. H. Seah et al. *International Journal of Bioprinting*. 2021. Vol. 7(4). P. 405.
27. Simple and effective serum-free medium for sustained expansion of bovine satellite cells for cell cultured meat / A. J. Stout et al. *Communications Biology*. 2020. Vol. 3. P. 310.
28. Spontaneous immortalization of bovine fibroblasts following long-term expansion offers a non-transformed cell source for cultivated beef. *Nature*. 2025. Vol. 6(11). P. 1079–1094. DOI: 10.1038/s43016-025-01255-3.
29. Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities / P. J. Gerber et al. Rome : FAO, 2013. 115 p.
30. Tissue engineering approaches to develop cultured meat from cells: A mini review / M. S. Arshad et al. *Cogent Food Agriculture*. 2017. Vol. 3. P. 1320814.

31. Tuomisto H. L., Teixeira de Mattos M. J. Environmental impacts of cultured meat production. *Environmental Science Technology*. 2011. Vol. 45(14). P. 6117–6123.
32. Waltz E. Lab-grown chicken approved for sale in Singapore. *Nature Biotechnology*. 2021. Vol. 39. P. 11.
33. Zheng Y. Y., Hu Z. N., Zhou G. H. Analysis of technical challenges in cultured meat production and its commercialization: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2025. Vol. 65(10). P. 1911–1928. DOI: 10.1080/10408398.2024.2315447.

ДОДАТОК

Публікації за темою роботи

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

YOUTH PHARMACY SCIENCE

МАТЕРІАЛИ
VI ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

10-11 грудня 2025 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2025

аналогів. У результаті, створення таких «клітинних фабрик» дає можливість виробляти комбінації олігосахаридів, які максимально схожі на профіль грудного молока.

Щодо практичного застосування, до складу сучасних дитячих сумішей найчастіше вводять такі НМО, як 2'-фукозиллактозу, 3'-фукозиллактозу, лакто-N-неотетраозу, лакто-N-тетраозу, а також сіалізовані форми – 3'-SL і 6'-SL. Їх концентрація у більшості формул відповідає нижній межі природного діапазону. Результати клінічних спостережень підтверджують, що суміші з додаванням НМО краще підтримують становлення мікробіоти та імунних реакцій, а також можуть знижувати частоту певних інфекцій у порівнянні зі звичайними формулами. Саме тому НМО розглядаються як ключовий елемент у вдосконаленні дитячого харчування.

На сьогодні, синтетичні НМО вже застосовують провідні компанії виробництва дитячих сумішей. Продукти проходять обов'язкову перевірку безпечності та відповідають вимогам, що висуваються до інгредієнтів дитячого харчування. Водночас, зростає інтерес до створення формул з одночасним включенням кількох олігосахаридів, які б відтворювали багатокомпонентний профіль природного молока.

Висновки. Олігосахариди грудного молока є важливими біомолекулами, що суттєво впливають на здоров'я та розвиток немовлят. Біотехнологічні методи синтезу, насамперед мікробні та ферментативні, є ефективними для отримання структурно ідентичних НМО. Використання НМО у складі дитячих сумішей підвищує їхню біологічну цінність і наближає до природного молока. Розвиток метаболічної інженерії відкриває перспективи створення більш складних комбінацій НМО, що дозволить формувати індивідуалізовані харчові продукти для немовлят. Подальші дослідження мають бути зосереджені на оптимізації виробництва та розширенні спектра олігосахаридів, доступних для промислового використання.

АНАЛІЗ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ У СТВОРЕННІ КУЛЬТИВОВАНОГО М'ЯСА

Жидкова І.О.
Науковий керівник: Хохленкова Н.В.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
hohnatal@gmail.com

Вступ. Традиційне тваринництво характеризується високим рівнем викидів парникових газів, надмірним споживанням водних та земельних ресурсів, що створює значні екологічні виклики у контексті глобальних кліматичних змін. Культивоване м'ясо, яке отримують шляхом культивування клітин in vitro, розглядається як перспективна альтернатива традиційному виробництву, здатна забезпечити продовольчу безпеку з мінімальним екологічним впливом.

Мета дослідження. Метою роботи є аналіз даних наукової літератури щодо сучасних біотехнологічних методів виробництва культивованого м'яса та визначити головні технологічні виклики для його масового виробництва.

Матеріали та методи. Для виконання поставлених завдань використовували теоретичні методи скринінгу та аналізу літературних даних.

Результати дослідження. Критичним етапом процесу отримання культивованого м'яса є вибір джерела клітин. Встановлено, що найвищий біотехнологічний потенціал мають

міосателітоцити завдяки їхній детермінованості до міогенезу. Однак для промислового масштабування перспективним є використання індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (iPSC) через їхню здатність до необмеженого самооновлення.Для повноцінної імітації м'яса необхідне ко-культивування міоцитів з адипоцитами, що забезпечує формування мармурової текстури та відповідного ліпідного профілю продукту.

Значна увага приділяється розробці безсироваткових культуральних середовищ (serum-free media), оскільки використання фетальної бичачої сироватки (FBS) є етично неприйнятним та несе ризики контамінації. Актуальним є заміщення компонентів тваринного походження рекомбінантними факторами росту або їхніми рослинними аналогами.

Ключовим елементом формування структури є скафолди (тривимірні пористі каркаси). Найбільшу біосумісність демонструють гідрогелі на основі альгінату та хітозану, а також децелюляризовані рослинні матрикси (наприклад, листя шпинату), які забезпечують ефективну адгезію клітин.

Технології тривимірного біопринтингу та тканинної інженерії дозволяють створювати структуровані м'ясні продукти з використанням харчових скафолдів на основі рослинних білків та полісахаридів, які імітують позаклітинний матрикс природної м'язової тканини. Застосування біореакторів промислового масштабу забезпечує культивування клітин у режимі суспензійних культур, що критично важливо для масштабування.

Економічний аналіз демонструє позитивну динаміку: якщо у 2013 році вартість першого культивованого бургера становила близько 300000 доларів США, то у 2024-2025 роках окремі компанії досягли собівартості 6.20-10.00 доларів США за фунт продукції при промисловому виробництві. До технологічних викликів належать оптимізація складу культуральних середовищ, зниження вартості факторів росту, забезпечення стабільності органолептичних властивостей продукції та створення ефективних систем контролю якості.

Висновки. Біотехнологічні підходи до створення культивованого м'яса демонструють значний прогрес у напрямку комерціалізації. Ключовими досягненнями є розробка безсироваткових культуральних середовищ, створення стабільних клітинних ліній, впровадження біореакторів промислового масштабу та зниження собівартості виробництва більш ніж у тисячу разів порівняно з початковими етапами розробки. Подальший розвиток технологій культивування, регуляторне схвалення у різних країнах та формування споживчого сприйняття є критичними факторами для масового впровадження культивованого м'яса як сталої альтернативи традиційному виробництву.

БІОКАТАЛІТИЧНИЙ СИНТЕЗ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЇ КИСЛОТИ: СУЧАСНІ СТРАТЕГІЇ ТА ПРОМИСЛОВІ ПЕРСПЕКТИВИ

Каплюк В.В.
Науковий керівник: Хохленкова Н.В.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
Votsek.88@gmail.com

Вступ. Урсодезоксихолева кислота (УДХК) є вторинною жовчною кислотою, що має виняткове клінічне значення як препарат вибору для лікування холестатичних захворювань печінки та розчинення холестеринових жовчних каменів. Вона краще переноситься та є ефективнішою за хенодезоксихолеву кислоту (CDCA) і застосовується в дозах 8–10