

Проф. др Љубиша ТОПИСИРОВИЋ
Милена СТЕВАНОВИЋ

МОЛЕКУЛАРНЕ БИОТЕХНОЛОГИЈЕ

УВОД

Микроорганизми су били коришћени у различитим производним процесима у најстаријим цивилизацијама, односно још од периода када човек није ни знао за њихово постојање, нити је разумевао њихову природу. Тек почетком двадесетог века, први пут се појавио термин биотехнологија. Данас се биотехнологија најчешће дефинише као процес који користи живе организме или њихове делове за добијање или модификацију одређених производа, као и за различите видове услуга (на пример, коришћење микроорганизама за пречишћавање отпадних вода или за разградњу градског ћубрива).

Другу половину 20-ог века и сам почетак 21-ог века су обележиле молекуларна биологија и молекуларна генетика као науке. Захваљујући тим сазнањима (Табела 1) омогућен је развој развој технологије рекомбинантне DNK (генетичког инжењерства), која поседује неслућене потенцијале.

Табела 1. – Научни резултати који су омогућили развој генетичког инжењерства и примена у молекуларној биотехнологији

- | | |
|-----------|---|
| 1953 | – Watson и Crick дају модел молекула дезоксирибонуклеинске киселине (DNK) који је основа генетичке информације, односно гена. |
| 1962 | – показано постојање рестрикционих ензима („молекулских маказа“) који веома прецизно могу да секу молекул DНK без обзира на његово порекло. |
| 1972-1973 | – развијене технике клонирања гена, клониран први ген. |
| 1975-1977 | – развијена метода за ефикасно читање генетичке информације (секвенцирање DНK). |
| 1978 | – конструисана бактерија <i>Esherichia coli</i> која производи људски инсулин. |
| 1980 | – патентиран први конструисани организам помоћу генетичког инжењерства (бактерија која разлаже нафту). |

- 1981-1982 – добијен први трансгени миш и трансгена винска мушица (*Drosophila*).
 1983 – успешно урађена генетичка трансформација биљака помоћу Ти плазмida.
 1985 – развијен систем ланчане реакције полимеразе (PCR).
 1995 – секвенциран комплетан геном бактерије *Haemophilus*.
 1999 – секвенциран комплетан геном изазивача маларије (плазмодијум).
 2000 – секвенциран геном бактерије *Enterococcus* у току једног дана.
 2001 – секвенциран геном човека.

Управо је развој генетичког инжењерства у последњих тридесетак година омогућио унапређење биотехнологије, која се сада назива *молекуларна биотехнологија*. С обзиром на могућности, молекуларна биотехнологија даје основу да се у постојећим процесима оствари значајно већа производња. Поред тога, пружа могућности отварање нове индустриске ере у смислу конструкције процеса који ће омогућити добијање производа који се на други начин нису могли добијати у задовољавајућој количини или који су добијани на веома скупе начине. Уместо да се само изолују одређени производи које неки организам већ синтетише, што нуди класична биотехнологија, сада је могуће од микроорганизама, биљних или животињских ћелија направити „биолошке фабрике” које ће производити велику количину економски вредних једињења. У прилог оваквој тврдњи говори могућност клонирања гена за биосинтезу неког интересантног производа и њихово пребацивање у други организам, односно конструисати трансгене организме – генетички модификоване организме (ГМО). Стога се данас у свету под молекуларном биотехнологијом подразумевају технолошки процеси засновани на коришћењу ГМО.

Молекуларна биотехнологија базирана на микроорганизмима

Пре увођења генетичког инжењерства, највећи проблем је био доћи до довольних количина хуманих протеина који се користе у терапеутске сврхе. Овај проблем је било могуће превазићи клонирањем одговарајућих гена у микроорганизме, који онда могу да се гаје у релативно једноставним медијумима и из којих је могуће изоловати дати производ у великим количинама и на много лакши начин. Неки хумани протеини који се производе коришћењем молекуларне биотехнологије су инсулин, хормон раста, интерферони, интерлеукини, антитрипсин, фактор некрозе тумора, урокиназа, серум албумин.

Поред протеина, генетички инжењерисани микроорганизми се могу користити и за производњу различитих биолошки важних молекула. Витамин С (L-аскорбинска киселина) се тренутно производи тако што се користи *Acetobacter suboxydans*, који у процесу ферментације даје један од прекурсора аскорбинске киселине. Затим следи низ скупих хемијских реакција које тај прекурсор преводе у финални продукт. Цео процес производње може знатно да се поједностави и учини јефтинијим, уколико се

искомбинују метаболички путеви које поседују две веома различите бактерије родова *Erwinia* и *Corynebacterium*. Кључни ген из бактерије *Corynebacterium* клониран је у *E. coli*, где су му изменjeni сигнали за експресију, а затим је убачен у бактерију *Erwinia herbicola*. Трансформисане ћелије имају изменjen метаболички пут, тако да њихов крајњи продукт замењује три корака у хемијској синтези.

Поједини микроорганизми синтетишу биополимере који се користе за производњу гуме или пластичних материја. Коришћењем молекуларне биотехнологије је могуће добити нов квалитет оваквих биополимера или побољшати њихову производњу. Предност оваквих биополимера је што је њихова производња једноставнија; као полазни материјал се могу користити чак и отпадни материјали (поједине бактерије могу да расту на сурутки која је отпадни материјал у процесу производње сира, и чим се одлагањем загађује животна средина).

Бактерије млечне киселине (БМК) се вековима користе за производњу ферментисане хране. Оне имају широку употребу у индустрији хране и пљојправреди (киселомлечни производи, алкохолна пића, месне праћевине, кисело поврће, припрема силаже, итд.). БМК значајно доприносе нутритивној вредности производа дајући им специфичан укус, мирис и изглед. С друге стране, све је више података да су неки сојеви БМК пробиотици. Због тога је све веће интересовање за конзумацијом млечних производа који садрже специфичне бактеријске врсте (пробиотике) које могу допринети побољшању здравља људи. Пробиотици су моно или мешане културе живих микроорганизама, које када се користе од стране човека или животиња, имају повољно деловање на домаћина побољшавајући особине постојеће микрофлоре. Ефекти на здравље човека које БМК испољавају односе се на њихову учешће у (а) контроли и третману цревних инфекција изазваних ентеропатогеним агенсима или инфекција урогениталног тракта, (б) смањивању вероватноће настанка тумора или рака колона, оболења срчаних крвних судова или смањивању нивоа серумског холестерола и (ц) стимулацији имуног одговора или стимулацији перисталтике црева. Имајући у виду све ове могуће здравствене ефекте БМК, сваким даном све више и више расте интерес за добијање млечних производа чија ће производња базирати на БМК са карактеристикама које доприносе побољшању здравља човека. Овакви производи се једним именом називају функционална храна. Имајући у виду значај БМК у многим видовима људске активности, развој генетичке манипулатије ових бактерија веома брзо напредује и шири се у последњих петнаест година. Међутим, до сада је главна пажња била усмерена на сојеве БМК који се рутински користе у индустријским процесима. Веома мало се зна о генетичкој организацији БМК пореклом из природне средине. Стога изучавање генетичке организације БМК изолованих из ферментисаних производа добијених на традиционалан начин може би-

ти изузетно интересантно, јер се такве БМК могу користити за добијање производа специфичног географског порекла.

Свакако да је једна од најбитнијих употреба сазнања молекуларне биотехнологије могућност веома прецизне генетичке анализе бактерија, односно веома прецизно дефинисање употребних квалитета тих бактерија у конкретном биотехнолошком процесу.

Молекуларна биотехнологија у пољопривреди и искоришћавању биљака за друге сврхе

Примена генетичког инжењерства у манипулацији биљкама отворила је несагледиве перспективе коришћења биљака у будућности. Главни циљ молекуларне биотехнологије биљака је конструкција нових варијетета култивисаних биљака, односно пољопривредних култура. Изучавања су усмерена на развој варијетета који ће дати већи принос са истим или повећаним хранљивим квалитетом биљке. Стога су већ конструисане генетички модификоване биљке које поседују резистенцију на инсекте, патогене (у првом реду на вирусе), хербициде, одређене стресне услове средине, биљке чији плодови спорије труле или биљке са измененим квалитетом уља или протеина. Најинтересантнији аспект укључивања генетички модификованих биљака у производњу је њихово коришћење у облику биореактора. Биљке релативно брзо расту, и лако их је одржавати, при чему производе огромну биомасу. Стога би биљке могле бити биореактори за производњу комерцијалних протеина или специфичних хемикалија. Најновија истраживања говоре да ће бити могуће користити трансгене биљке и вирусе биљака за производњу вакцина против болести људи, у распону од заштите кварења зуба до вакцина против колере, дијареје и сиде. Трансгене биљаке би директно синтетисале антитела против специфичних патогена, односно представљале би фабрике антитела. Најатрактивнија научно заснована идеја је да се неке вакцине уграде у биљке које се нормално користе као храна, и да се тако дође до конструкције „јестивих вакцина“. Наиме, овако конструисане трансгене биљке имале би у себи антигене који могу побуђивати имуни одговор човека или животиње који једу такве биљке.

Током последње деценије је много пажње посвећено развитку нове биодеградабилне пластике, односно пластике која се може у природним условима разградити до саставних делова, који не оптерећују, не загађују животну средину. Ово интересовање је у највећој мери управо покренуто због еколошки штетног дејства постојећих синтетичких пластичних маса, неразложивих природним путем, као и проблема њиховог одлагања. Међу многим разложивим пластикама које су познате, највише пажње је почело да се придаје групи polyhydroxyalkanoata (у даљем тексту ПХА) т.ј. полиестерима за које се од раније зна да их синтетишу неке бактерије. Ови полимери пртедстављају вредан извор биолошки разло-

живих биоматерија нешкодљивих по околину. Могу се користити за широк спектар производа, као на пример: судова у прехрамбеној индустрији, фолија за паковање, хигијенских производа, у медицинској индустрији за производњу имплантата или за производњу газа, пластичних фолија за стакленике итд. Већина разложивих биодеградабилних пластика се могу само делимично разградити и то до продуката, конституената, који се даље не могу разграђивати и то било photoхемијски, било помоћу неензимске хидролизе. За разлику од ових пластика, ПХА се могу потпуно разложити до угљен диоксида и воде деловањем одређених микроорганизама присутних у земљишту. Према томе, производи за широку потрошњу направљени од ПХА, могу се потпуно разложити под дејством тих бактерија, у природним условима компоста, односно земљишта.

Синтеза ПХА у биљкама је прво проучавана у биљци *Arabidopsis thaliana*, биљци која је сродна са репицом. Конструисана је трансгенна биљка, *A. thaliana*, која је синтетисала ПХА у количини од 0,1% суве материје. Коришћењем трансмисионалног електронског микроскопа, откривено је да се синтетисана пластична материја акумулира у облику гранула. Хемијска анализа овог биљног полимера, показује да овај молекул има велику молекуларну масу и да има сличне особине као и ПХА произведен у бактеријама. Каснијим интервенцијама генетичким инжењерством, добијене су трансгенске биљке *A. thaliana* у чијим је листовима пластика била присутна у 10-14% суве материје.

Молекуларна биотехнологија у сточарству

До увођења молекуларне биотехнологије у сточарство, нове животињске расе су добијане мукотрпним укрштањем и селекцијом, при чему су се за даљу оплодњу, бирале оне јединке које су имале боље карактеристике (давале више млека, имале бољи квалитет вуне, имале већу телесну масу, или давале више јаја). Улога молекуларне биотехнологије је да омогући конструкцију трансгених животиња које ће имати побољшане или развијене нове економски значајне особине. Традиционални селекционери и молекуларни биотехнологи би волели да се оствари прогноза да ће будуће домаће животиње много ефикасније искоришћавати унету храну, да ће имати месо бољег квалитета (мање масноће, на пример), да ће драстично порастати величину прихватљиву за тржиште брже и да ће бити отпорне на данашње болести које десеткују популације и остварени профит. Један од циљева примене ове биотехнологије је, на пример, добијање крава које би производиле млеко другачијег квалитета. Главни протеини млека су α , β и κ -казеини. Међутим, количина сира произведена од млека највише зависи од садржаја κ -казеина, и због тога је циљ да се повећа експримирање трансгена за κ -казеин. Рад на производњи трансгених пилића се усмерава на то да је ефикаснији прираст мишића пиле-

та, да се повећа продукција јаја и да пилићи буду отпорнији на болести, али да се за остварење ових циљева не користе хемикалије.

Прилаз конструкцији трансгених животиња које би биле биореактори за добијање важних протеина је, такође, велики изазов. Са успехом су добијене трансгене овце и козе које секретирају хумане протеине у свом млеку. Гени за хумане протеине се експримирају у млечним жлездама а присуство датог протеина у млеку нема неповољно дејство ни на саму животињу ни на њено потомство које се тим млеком храни. Испитивања су показала да овако добијени биолошки активни протеини (на пример, активатор пласминогена, урокиназа, α_1 -антитрипсин, фактор коагулације IX, лактоферин) имају активност сличну онима добијеним из људских ткива.

Стога, све светске прогнозе говоре да ће основа технологије 21. века бити баш молекуларна биотехнологија, јер је основа за решавање многих проблема са којима се већ сусреће данашња цивилизација.

ПОТЕНЦИЈАЛИ ЦРНЕ ГОРЕ ЗА ИМПЛЕМЕНТАЦИЈУ МОЛЕКУЛАРНЕ БИОТЕХНОЛОГИЈЕ

Бактерије млечне киселине

Производња сирева на Балкану је веома стара. Историјски подаци указују да су наши крајеви били под утицајем разних цивилизација, чији су начини живота, обичаји и исхрана, оставили запажене ефекте и до данашњих дана. Планинска подручја са великим пашњачким површинама били су веома погодни за развој сточарства. Тако је сточарство постало важна привредна грана становништва, а све веће потребе за храном и учиниле су да се оно расшири на многим другим подручјима. Остаци оваквог екстензивног система су и данас присутни кроз пролетње изласке стада на планине и њиховог боварка за време испашног периода при катунима, балијама и сл.

У сточарској производњи је доминантан узгој говеда, а нажалост све мање оваца. То значи да је сировина за аутохтоне производе кравље и делимично овчије млеко. Квалитет ових врста млека своју специфичност изражава више кроз услове средине (надморска висина, квалитет пашњака, чистоћа ваздуха и воде), а може кроз расни састав и генетичке карактеристике музних животиња. Друга карактеристика је да се значајан део аутохтоних млечних производа користи у самим домаћинствима, мањи део износи на локална тржишта, а готово незнатац део у велике потрошачке ценре. Организовање производње готово да и нема, а када је има она је неодговарајућа, чиме се губе главна обележја квалитета производње.

Аутохтони млечни производи су богатство и део историје сваке земље. Истраживања у овој области доприносе повећању ризнице материјалне културе народа. Највећи број аутохтоних млечних производа, посебно сирева, носи име свог места порекла, која су због тога постала позната. Израда аутох-

ноних млечних производа није уједначена. На то утичу пре свега природни, економски и социјални фактори. У некој земљи аутохтона производња се највише сачувала у брдско-планинским пределима.

У Југославији се сир вековима производи у домаћој радиности, а ова аутохтона производња се највише сачувала у брдско-планинским пределима. Такав тип производње се задржао до данашњег дана. Ови производи су можда по обиму производње мање значајни, али по квалитету још увек могу допринијети повећању асортимане домаћих млечних производа, услед поседовања специфичних БМК. Неки од тих сирева су сјенички бели сир и пиротски качкаваљ, сир који се чува у уљу у приморским местима, итд. У таквим сиревима се налази природна популација БМК карактеристична за сваки посебни локалитет.

Циљ рада у овој области треба да буде да се утврди и анализира присуство специфичних сојева БМК у аутохтоним ферментисаним млечним производима нашег подручја. Поред тога, изузетно је важно утврдити могућност очувања аутохтоних технологија производње сирева са посебним освртом на планинска подручја као што је, на пример, Дурмитор. Скуп оваквих сазнања може омогућити приступање стандардизацији и организованој производњи специфичних, аутохтоних ферментисаних млечних производа базираних на молекуларно-генетички окарактерисаним БМК које би биле коришћене као стратер културе.

У свету влада велики интерес да се изолују и дефинишу БМК из природних станишта, јер ће то омогућити проширење палете произведених сирева и осталих ферментисаних млечних производа. Истраживања природних изолата БМК нису била у центру пажње истраживача у свету све до момента када је уочено да би ови изолати могли бити извор нових гена, чијом би се комбинацијом могло доћи до нових типова стартер култура или побољшања карактеристика постојећих стартер култура. Зато се изучавању биодиверзитета БМК придаје, данас, велики значај.

Анализом колекције БМК формиране сакупљањем сира из домаће радиности са различитих специфичних подручја широм Југославије (високе планине, речне долине, локалитети близу мора где се сударају континентална и медитеранска клима) показано је да у Југославији постоје БМК веома специфичних карактеристика. Анализом ове колекције установљено је да се међу њима налазе изолати који производе протеиназе, бактериоцине и егзополисахариде. Шта више, нађено је да поједини изолати истовремено синтетишу како протеиназе, тако и бактериоцине.

БМК играју важну улогу у производњи ферментисане хране за човека и животиње јер производе велики број супстанци које поседују антимикробну активност. Ова антимикробна активност БМК је повезана са њиховом способношћу да, као крајње продукте свог метаболизма, синтетишу млечну или сирћетну киселину као и бактериоцине. Бактериоцини су протеински молекули које карактерише реластивно узак антими-

кробни спектар и бактерицидно деловање. Тако, *Lactococcus lactis* субсп. *lactis* BGMN1-5 је природни изолат из полутордог сира произведеног у домаћинству (Забрђе, Луштица, Бока Которска). Овај изолат производи три бактериоцина. Лактококе, које производе бактериоцине, су нађене и у сиревима произведеним у домаћинствима из Буковице и Јаворја, Дурмитор, Илијашу (Босна и Херцеговина), Рендара Копаоник. Анализом природних изолата лактобацила, показано је да се на нашим просторима налaze и они који производе бактериоцине. Такви лактобацили су изоловани из сирева произведених у Адревићима, Пљевља, у селима у околини Даниловграда или селима на Сињајевини.

Веома интересантан је податак да су у колекцији природних изолата лактобацила, сакупљеној из сирева произведених у селима на Сињајевини, нађени сојеви који су резистентни на низин. Резистенција на низин се креће у опсегу од 1000 ИУ до 10.000 ИУ у зависности од изолата. Овај резултат је изузетно значајан, с обзиром да се у више од четрдесет земаља света низин користи као, по човека, безбедан биолошки адитив ферментисању хране. Низин припада групи бактериоцина са широким спектром антимикробног деловања. Додавање низина у млеко омогућава да се сви потенцијални микробни контаминанти млека елиминишу. Стога се на основу ових природних изолата могу конструисати нове стартер културе.

Веома важна особина БМК је способност синтезе екстрацелуларних протеиназа, јер оне катализују иницијални корак у процесу разградње протеина млека (казеина), што обезбеђује доступност аминокиселина БМК које расту и размножавају се у млеку. Ове протеиназе, које су везане за зид бактерија, омогућавају веома ефикасан раст БМК у медијумима који садрже велику количину протеина као што је млеко. С друге стране, екстрацелуларне протеиназе и пептидазе БМК иргају значајну улогу у зрењу сира јер омогућавају формирање укуса и изгледа ферментисаних производа.

Протеиназе су детектоване и у природним изолатима БМК. Анализа протеолитичке активности мезофилних лактобацила изолованих из различитих ферментисаних производа израђених у кућној радиности (Сјеница, Буковица, Сомбор, Ливно, Гацко, Херцег Нови, Убли, Копаоник) показала је да су сојеви који синтетишу протеиназе релативно често присутни (17 од 75 тестиралих изолата је синтетисало протеиназе).

Истраживања су показала да велики број БМК производе егзополисахариде (EPS) који им даје мукоидни фенотип. Нађено је да и мезофилне и термофилне БМК производе EPS, који се разликују по структури и моносахаридном саставу. С друге стране, показано је да у животиња које имају нарушену интестиналну микрофлору, ефикасност имуног система је смањена. Стога се претпоставља да пробиотици који производе EPS могу имати позитивне ефекте на ниво интестиналног и системског имуног система у човека. Анализом природних изолата мезофилних лактобацилла са нашег подручја изоловани су произвођачи ЕПС-а Производња

EPS-а од стране природног изолата *Lactobacillus casei* BCG11 (пореклом из сира произведеног у Адровићима) је детаљно анализирана и показано је да производи хетерополисахарид чија је мономерна структура одређена. Лактобацили који производе EPS су нађени у сиревима произведеним углавном у селима лоцираним на већим надморским висинама.

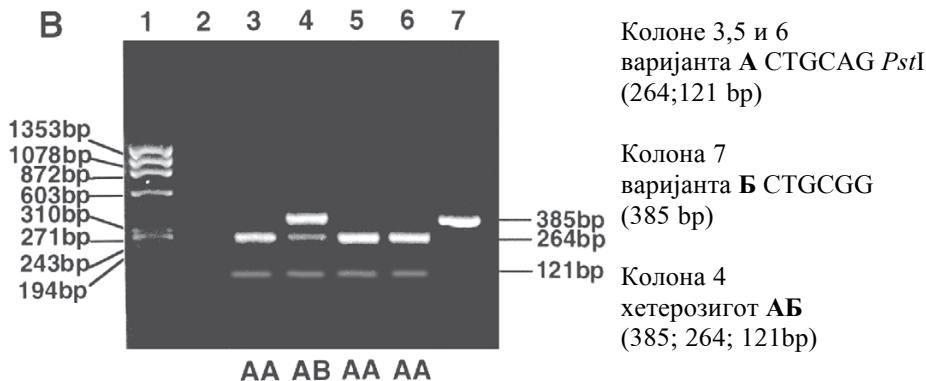
Генетички условљене варијантне протеина млека: веза између генетичких маркера и продукције млека

До недавно, селективно укрштање је представљало једини начин да се побољша генетичка основа домаћих животиња. Међутим, селективни програми засновани на квантитативној генетици имају и своја ограничење, тако да је од недавно молекуларна биотехнологија постала моћно средство за генетичко побољшање селекције и продукције код домаћих животиња. Молекуларна биотехнологија омогућава идентификацију гена одговорних за варирање особина, као и на детекцију маркера који се могу користити у програмима укрштања и селекције.

Технике молекуларне биотехнологије омогућавају типизацију варијанти гена за протеине млека из узорака ДНК добијених из крви или сперме, без обзира на старост или пол животиње. Показано је да генетички условљене варијантне κ-казеина и β-лактоглобулина имају значајан утицај на производне особине млека, укључујући принос млека и садржај масти и протеина, као и време сирења. Казеини чине главну компоненту протеина млека код крава (80% свих протеина присутних у млеку). Специфичне генетичке варијантне казеина имају ефекат на квалитет сира, а постојање полиморфизма је по први пут показано у гену за κ-казеин говеда. Детектована су два најчешћа алела означена као алел А и алел Б при чему Б алел има значајно повољнији ефекат на квалитет и квалитет млека и млечних прерађевина.

С друге стране, генетичке варијантне β-лактоглобулина имају велики утицај на састав млека и његове производне способности, укључујући и принос сира добијеног из млека. Генотип ББ је повезан са повећаним садржајем масти и казеина у млеку и овај генотип је пожељнији код крава чије се млеко користи за прављење сирева. Генетичке варијантне гена за κ-казеин и β-лактоглобулин могу се одредити применом ДНК теста који је базиран на методи ланчаног умножавања ДНК (PCR) и полиморфизму рестрикционих места (RFLP). Тест је подразумевао амплификацију специфичних региона који садржи полиморфне секвенце у овим генима и каснију обраду добијених фрагмената рестрикционим ензимима.

PCR-RFLP тест омогућава детектовање полиморфизма у гену за κ-казеин и разликовање варијантне А и Б овог гена. Варијанта А се разликује од варијантне Б када се у анализи користи рестрикциони ензим *Pst*I. Јединствен распоред ДНК трака карактеристичан је за сваки генотип (Слика 1).



Слика 1. Одређивање варијанти А и Б у гену за κ -казеин применом PCR-RFLP методе.

Раздавање фрагмената добијених након обраде рестрикционим ензимом *PstI* на гелу од 2% агарозе са означеним профилима фрагмената карактеристичним за поједине генотипове. Подвучене базе су разлика у секвенци гена за варијанту А и Б.

Применом овог теста може се извршити брза и ефикасна селекција пожељних генотипова. Да би се повећала учесталост пожељног алела Б, типизација варијанти овог гена би требало да буде укључена у програм укрштања и селекције. На сличан начин се могу одредити и генетичке варијанти гена за β -лактоглобулин.

На крају, може се закључити да примена тестова за одређивање генетичких варијанти гена за κ -казеин и β -лактоглобулин омогућава брузу и ефикасну селекцију пожељних генотипова. Да би се повећала учесталост пожељних алела, одређивање генетичких варијанти гена за κ -казеин и β -лактоглобулин требало би да буде укључено у програм селекције и укрштања. С друге стране, исти приступ коришћења молакуларне биотехнологије се може користити и у процесу селекције коза, где би се одређивала генетичка варијабилност гена који кодира α_{s1} -казеин.

Ljubiša TOPISIROVIĆ
Milena STEVANOVIĆ

MOLECULAR BIOTECHNOLOGY

Summary

According to general prognosis, the molecular biotechnology will be a basis for 21st century technologies and that it would be a moving force for development of modern civilisation. Introduction of genetic engineering for an improvement of biotechnology processes opens qualitatively new approaches. Molecular biotechnology facilitate the using of microorganisms, plant and animal cells as “biological factories” that are able to produce higher quantities of high value-added compounds. On the other hand, molecular biotechnology opened a possibility to clone a gene encoding high value-added product from one organism and to transfer this gene in some other organism in order to make transgenic organism.

Lactic acid bacteria (LAB) have been essential in food and feed fermentation for centuries. LAB significantly contributed to the nutritional value of the products such as flavour, texture and others. The data is rapidly accumulating that some strains of LAB could be probiotics. Therefore, an increasing interest exists for dairy products containing specific bacterial species (probiotics) with potential health-improving properties. Development of the research in molecular biotechnology of LAB will give a means for precise elucidation of gene expression in these bacteria.

Application of molecular biotechnology in animal breeding will have an enormous impact in selection process. This is because the selection of beneficial genotypes would be possible and very quick on the basis of genetic analysis performed on animals' blood or sperm.

