

Laboratorijski uzgoj mesa

Pastva, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:470338>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

LABORATORIJSKI UZGOJ MESA

CULTURING MEAT IN LABORATORIES

SEMINARSKI RAD

Nikolina Pastva
Preddiplomski studij biologije
(Undergraduate Study of Biology)
Mentor: izv. prof. dr. sc. Inga Urlić

Zagreb, 2021.

1. UVOD	2
2.1. POVIJESNI PREGLED UZGOJA MESA U LABORATORIJU	4
2.2. PROIZVODNI PROCES	5
2.3. STANICE	6
2.3.1. MATIČNE STANICE	7
2.3.2. SATELITNE STANICE I PROCES MIOGENEZE	8
2.3.3. FIBROBLASTI I IZVANSTANIČNI MATRIKS	9
2.3.4. ENDOTELNE STANICE I KRVOŽILNI SUSTAV	10
2.3.5. ADIPOCITI I INTRAMUSKULARNO MASNO TKIVO	11
2.4. NESTANIČNE KOMPONENTE ESENCIJALNE ZA UZGOJ MESA.....	12
2.4.1. STANIČNI MEDIJ	12
2.4.2. NOSAČI – GRAĐA, ULOGA I PROIZVODNJA.....	13
2.4.3. INDUSTRIJSKI BIOREAKTORI.....	16
2.5. POTROŠAČKI, POLITIČKI I DRUŠTVENI ASPEKTI UZGOJA MESA U LABORATORIJU	17
2.5.1. PRIHVAĆANJE UZGOJENOG MESA OD STRANE POTROŠAČA	17
2.5.2. POLITIČKI I SOCIJALNI ASPEKTI UZGOJENOG MESA	20
2.6. PREDNOSTI UZGOJA MESA U LABORATORIJU.....	21
2.7. NEDOSTACI UZGOJA MESA U LABORATORIJU	22
ZAKLJUČAK.....	23
SAŽETAK.....	24
SUMMARY.....	24
LITERATURA	25

1. UVOD

Tijekom prošla dva stoljeća došlo je do značajnog povećanja ekološkog otiska čovjeka; jedan od glavnih krivaca jest intenzivna proizvodnja mesa potaknuta rastom populacije, urbanizacijom, ekonomskim rastom i konstantnim širenjem tržišta. Stočarstvo je jedna od najbrže rastućih grana agrikulture, štoviše, preko 1.3 milijarde ljudi aktivno je zaposleno u njoj. Nažalost, ovakva proizvodnja nije bez negativnih posljedica. Globalno, 30% dostupnog tla iskorišteno je za uzgoj stoke od čega se 33% koristi za uzgoj stočnog bilja, a 26% je konvertirano u pašnjake. Oko 70% raspoloživih izvora čiste vode i do 20% ukupno proizvedene energije direktno se iskorištava za proizvodnju hrane, u koju spada i meso. Nadalje stoka, posebno preživači, proizvode velike količine stakleničkih plinova (ugljikov dioksid, dušikov oksid) kao nusprodukte njihovog probavnog trakta. Preciznije, oko 18% stakleničkih plinova proizvedenih antropogenim djelovanjem i oko 37% metana u atmosferi direktno je povezano s uzgojem stoke (Steinfeld i sur., 2006). Populacija ljudi na svijetu u konstantnom je porastu iz čega se može zaključiti da nužno mora doći do proizvodnje još veće količine mesa. Tijekom povijesti, zbog sve većih potrebe za mesom, životinje se uzgajaju u većem broju u sve manjim prostorima i nepovoljnim uvjetima na što konstantno upozoravaju mnoga društva za zaštitu prava životinja. Iako se domaće životinje mogu do neke mjere adaptirati na promjene u okolini, navedena razina adaptacije nije ni blizu dovoljna ako uzmemo u obzir nehumane uvjete u kojima se životinje drže. Životinje su zbog ovakvog načina uzgoja izložene velikom stresu što vrlo često rezultira bolešću, abnormalnim ponašanjem ili čak smrću životinje. Nadalje, tradicionalan uzgoj podrazumijeva uporabu antibiotika širokog spektra zbog čega vrlo često dolazi do nastanka rezistentnih sojeva bakterija kao što su *Salmonella*, *Campylobacter* i *E. coli* koje su odgovorne za milijune slučajeva bolesti probavnog sustava u ljudi. S epidemiološkog stajališta, bolesti kao što su svinjska i ptičja gripa, nastale su iz patogena čiju pojavnost upravo uzrokuju uvjeti uzgoja stoke kao i drugi antropogeni učinci mesne i bioindustrije (Post, 2012).

Svi navedeni problemi nuspojave su mesne industrije koja će prema određenim podacima i modelima, kako bi meso bilo dostupno rastućoj populaciji ljudi svijeta, morati udvostručiti svoju proizvodnju (FAO, 2006) što je nemoguće jer je proizvodnja mesa prema predikcijama skoro dosegla svoj maksimalni kapacitet (FAO, 2013). Rezultat toga bi mogla biti potencijalna nestašica mesa, nejednolika raspodjela hrane u još većim proporcijama i neophodno poskupljivanje mesa. Uzimajući u obzir navedeno, postavlja se pitanje održivosti postojećeg stanja, budući da mesna industrija iskorištava veliku količinu raspoloživih resursa vode,

energije i zemljišta. Sve jasnije se uočava potreba za mesnim alternativama koji će klasično meso imitirati u što više aspekata i čija će proizvodnja biti ekoloških prihvatljiva.

Kako bi nešto bilo alternativa mesu mora ispunjavati tri ključna uvjeta. Prvi uvjet je da mora imitirati, ili još bolje, rekreirati tradicionalno meso u svim aspektima kao što su izgled, okus, tekstura, miris. Samo ta činjenica predstavlja znatnu prepreku proizvodnji mesa u laboratoriju budući da se meso sastoji od više različitih topivih i masnih komponenata specifičnih za vrstu životinje ili čak određeni skeletni mišić. Drugi ključni uvjeti su industrijalizacija procesa proizvodnje koji mora biti visoke efikasnosti te prihvaćanje nove mesne alternative od strane potrošača. Na tržištu su dostupne mnoge alternative kao što su produkti bazirani na soji (tofu), mliječnim proteinima, žitaricama (seitan), proteinima gljiva (quorn) koji imaju efikasni proizvodni proces i prihvatljiv ekološki otisak (Post, 2012). Ovakve alternative prihvatljive su i osobama koje ne konzumiraju meso iz osobnih ili religijskih razloga. Svi navedeni proizvodi predstavljaju validnu zamjenu tradicionalnog mesa te se svakodnevno razvijaju tehnike koje poboljšavaju njihov okus i teksturu. Meso je izvor esencijalnih aminokiselina, masti i drugih tvari koje biljke sadrže, ali u znatnom manjoj količini (ili sadrže samo dio), a koje su ljudskom organizmu za održanje homeostaze potrebne. Nažalost, iako ne postoji medicinski opravdani razlog za konzumaciju mesa, jako mali broj svjetske populacije se odlučuje za konzumaciju navedenih alternativa što sugerira sljedeći podatak: u SAD-u godišnja prodaja mesnih alternativa doseže 267 milijuna dolara za razliku od prodaje klasičnog mesa gdje samo prodaja goveđeg mesa doseže 74 milijarde dolara godišnje (Mathews & McConnell, 2011). Iz navedenog se može zaključiti da meso jedino može zamijeniti meso, ali je jasno da se način njegove proizvodnje mora promijeniti. Moguće rješenje pruža meso uzgojeno u laboratoriju.

Laboratorijski uzgoj mesa je grana celularne agrikulture koja podrazumijeva uporabu tehnika i metoda koje se rabe u tkivnom inženjerstvu za proizvodnju mesa *in vitro* koje se može konzumirati kao hrana. Pojam *in vitro* odnosi se na uzgoj stanica biljnog ili životinjskog porijekla bez organizma iz kojeg su originalno izolirane tj. stanice se uzgajaju na povoljnom mediju koji sadrži potrebne nutrijente i regulatore rasta. Sastav medija varira ovisno o tipu stanica i o razvojnom obrascu u koji stanice želimo usmjeriti. Finalni produkt ovog oblika celularne agrikulture je uzgojeno meso (engl. *cultured meat*), „čisto“ meso (engl. *clean meat*) ili meso *in vitro* koje može poslužiti kao alternativa tradicionalnom mesu. Ova tehnologija je relativno mlada i u proteklih 15 godina uspješno su dobivene kulture skeletnih mišića i drugih mezenhimskih tkiva kao što su hrskavica, kosti, masno i fibrozno tkivo. Nadalje, uzgojem mesa

u laboratoriju uspješno su identificirane, selektirane i modificirane brojne linije matičnih stanica koje imaju veliku ulogu u proizvodnji mesa zbog proliferativnih sposobnosti. U staničnoj kulturi skeletnih mišića predviđenih za proizvodnju mesa postoji bezbroj varijabli koje se mogu i moraju kontrolirati kako bi proces bio pouzdan i efikasan (Post i sur., 2020). Najveći izazov je definirati razinu pojedinačnih varijabli tj. količinu hranjivog medija i njegovih komponenti, fizičke i kemijske uvjete uzgoja te kako te varijable potencijalno mogu utjecati jedna na drugu. Današnji optimizirani protokoli koji se koriste za uzgoj mesa mukotrпно su dobiveni provedbom velikog broja eksperimenata, no sam proces proizvodnje veće količine mesa ima još brojnih poteškoća.

U ovom radu objasniti ću samu metodu uzgoja mesa u laboratoriju; njezine prednosti i nedostatke te ekološki i socijalni utjecaj ove rane, ali obećavajuće tehnologije.

2.1. POVIJESNI PREGLED UZGOJA MESA U LABORATORIJU

Uzgoj mesa u laboratoriju vuče korijenje iz davne 1912. godine kada je Alexis Cerrel uspješno održao kucanje komadića pilećeg srca što je dokazalo da se mišićno tkivo može održati na životu *in vitro* ako su mu dostupne potrebne hranjive tvari i sterilan okoliš. Sama ideja o mogućnosti uzgoja mesa izvan životinje nastala je 1932. godine. W. Churchill u svojem eseju *Fifty years hence* naveo je da će čovjek u idućih pedeset godina izbjeći apsurdnost uzgoja cijelog pileta kako bi se u konačnici konzumirali samo dijelovi te životinje tako da se željeni dijelovi tijela uzgoje razdvojeno na nekom „povoljnom mediju“. Na početku 21. stoljeća započelo je ostvarivanje Churchillove tada radikalne predikcije, međutim, proces je daleko od savršenstva (Stephens i sur., 2018). Dvije grupe, nezavisno jedna od druge uspjele su proizvesti malu količinu tkiva. Prva grupa koju je financirala NASA imala je cilj proizvesti MPPS (engl. *muscle protein production system*), odnosno, sustav koji bi proizvodio proteine mišića izvan žive životinje i kao takav predstavljao obnovljiv izvor hrane za astronaute u svemiru. Grupa je uspješno kultivirala stanice dorzalnih mišića zlatne ribice pri čemu su dobili nakupine tkiva nalik ribljim filetima (Benjaminson, Gilchrist i Lorenz, 2002). Druga grupa je uspješno uzgojila stanice mišića žabe (Catts i Zurr, 2002). Navedena istraživanja dokazala su da je moguće uzgojiti pojedinačne mišićne stanice izoliranih iz životinja te njihovom proliferacijom dobiti nakupinu tkiva koja je jestiva. Također, je bitno naglasiti da su oba istraživanja provedena na uzorcima diferenciranih stanica direktno izoliranih iz životinja, a ne na matičnim stanicama, stoga prilikom uzgoja pokazuju malu sposobnost za proliferaciju tj. nastala masa stanica je mala.

Prvi projekt koji je privukao pažnju šire javnosti i prezentirao svijetu koncept jestivog mesa proizvedenog u laboratoriju jest onaj profesora Marka Posta sa sveučilišta Maastrich koji je uz financijsku podršku suosnivača *Googlea* Sergey Brina uspješno proizveo prvi laboratorijski uzgojen hamburger. Isti je pripremljen i pojeđen na konferenciji u Londonu 2013. godine, a prodan je za astronomski iznos od 300 000\$ (Post, 2013). Postov projekt koji se smatra ujedno i vrhuncem prve faze uzgoja laboratorijskog mesa pokrenuo je cijeli niz novih istraživanja pri čemu su u fokus stavljene matične stanice. U proteklih par godina osnovan je niz manjih *start-up* kompanija koje su izdale velik broj prototipova. Budući da je riječ o kompanijama koje selektivno daju informacije vrlo je teško reći koliko je proces uzgoja mesa u laboratoriju napredovao, ali Post i suradnici su 2020. godine objavili revijalni rad koji je fokusiran na napredak ove tehnologije. Među istaknutijim kompanijama koje i danas djeluju su: *Mosa Meats* koji proizvode hamburgere iz kultiviranih skeletnih mišića goveda, *Upside Foods* (prije zvani *Memphis Meats*) koji proizvode produkte poput mesnih okruglica, piletine i pačetine, *Just* sa svojim u laboratoriju uzgojenim pilećim *nuggetsima*. Uz navedene američke kompanije se sve više ističe izraelska kompanija *Super Meats* koji su prema dostupnim informacijama uspjeli proizvesti prvi goveđi odrezak, međutim istinitost ove tvrdnje do danas nije potvrđena.

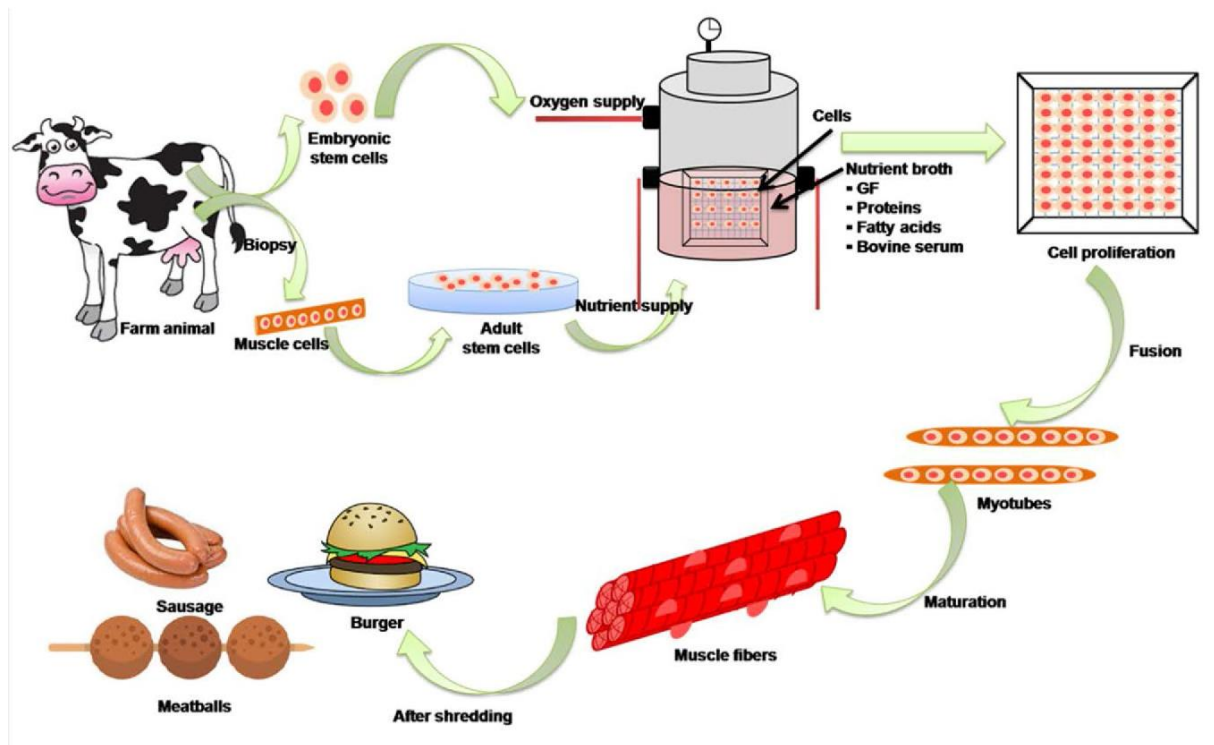
Tehnologija proizvodnje mesa uzgojenog u laboratoriju svakodnevno napreduje, ali kako bi uzgojeno meso doista postala alternativa tradicionalnom mesu mora ga oponašati u svakom aspektu: okus, miris, tekstura, izgled, a za tehnologijama i metodama koje će to omogućiti još se traga.

2.2. PROIZVODNI PROCES

Proizvodni proces započinje izolacijom stanica iz živih životinja i uspostavom primarne kulture stanica koja može biti homogena ili heterogena. Ključno je da stanice u kulturi zadrže kapacitet samoobnavljanja i diferencijacije u okolišu gdje su životinjske komponente, kao što je serum, prisutne u maloj količini ili kompletno eliminirane. Stanice nasađene na podlozi smještaju se u bioreaktore, intenzivno se dijele i čine početnu populaciju stanica iz koje će se regenerirati mišić (Slika 1.). Regenerirano meso svojim sastavom liči na mljeveno meso i može se procesirati u niz mesnih proizvoda koja služe kao alternativa klasičnom mesu.

Uz navedeno, kompleksan proces proizvodnje mesa osim proizvodnje samog tkiva uključuje korake kao što su sakupljanje i pročišćavanje stanica nakon produkcije; skladištenje stanica, uspostavljanje banke staničnih linija, transport i standardizacija stanica, kontrola kvalitete proizvedenih tkiva (Post i sur., 2020) – sve su to koraci koji se nužno moraju uračunati u ukupni

proces proizvodnje što će omogućiti precizno određivanje efikasnosti, ekonomičnost i održivost industrijske proizvodnje mesa *in vitro*.



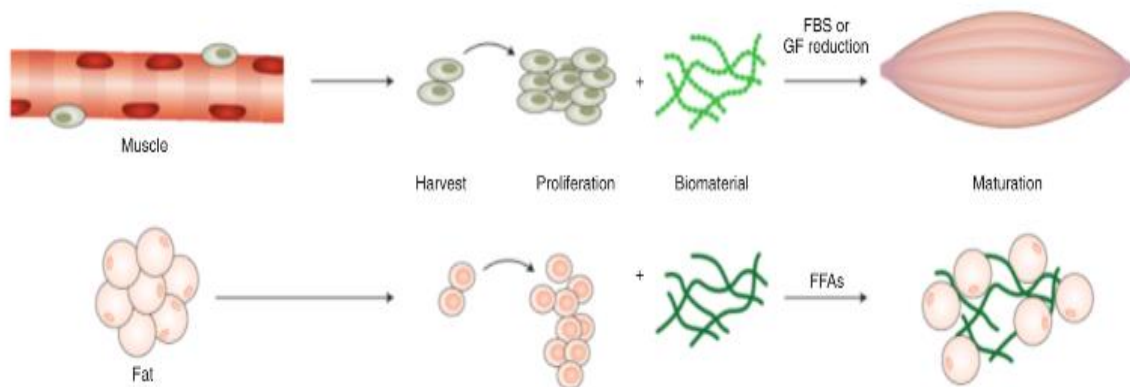
Slika 1. Shema procesa proizvodnje u laboratoriju uzgojenog mesa. (preuzeto iz www.semanticscholar.org).

2.3. STANICE

Meso, ili preciznije, skeletni mišići imaju kompleksni sastav i sadrže 90% mišićnih vlakana, 10% vezivnog i masnog tkiva te 0,3% krvi. Već iz navedenog uočava se da rekreacija mesa u laboratoriju nije nikako lak zadatak. Tehnologija koja se koristi za proizvodnju tkiva rabi trodimenzionalni nosače stanica koji omogućuju formiranje kompleksnih struktura poput tkiva ili organa tzv. „*3D scaffolds*“ napravljenih od različitih bioloških materijala. Stanice skeletnih mišića i njima potrebnih pomoćnih stanica (adipozne, endotelne, krvne) uzgojenih na zasebnim podlogama nasaduju se na takav nosač (Ben-Aye i Levenberg, 2019), međutim, nasađivanje terminalno diferenciranih stanica je komplicirano, a ukupan prinos je nizak. Diferencirane stanice imaju smanjeni kapacitet stanične diobe i ne mogu se obnavljati zbog čega ih je potrebno opetovano izolirati iz životinja. Iz navedenih razloga provode se brojne studije koje proučavaju koji tip stanica upotrijebiti kao izvor svih ostalih, a da proces postane efikasan i jeftin te da se smanji ukupno iskorištavanje životinja koje su u osnovici živa bića, a ne tvornice mesa.

2.3.1. MATIČNE STANICE

Matične stanice su populacija nediferenciranih stanica koje imaju visoki kapacitet proliferacije. One stvaraju velik broj stanica kćeri koje se diferenciraju i specijaliziraju za specifičnu funkciju. Upravo njihova sposobnost da se gotovo beskonačno dijele i samostalno obnavljaju čini ih dobrim kandidatima za izvor stanica potrebnih za uzgoj mesa u laboratoriju. Stanice na koje je stavljen poseban fokus u okviru ove tehnologije su miogene i adipozne stanice (Slika 2.) – neophodne za proizvodnju čistog mesa (Ben-Aye i Levenberg, 2019).



Slika 1. Matične stanice se izoliraju iz zrelog mišićnog i adipoznog tkiva, one čine prekursore iz kojih će se proliferacijom stanica razviti primarna populacija stanica. Formiranje mišićnih vlakna i masnog tkiva inducira se korištenjem specifičnog medija i diferencijacijom stanica kćeri prema određenom protokolu. (Post i sur. 2020).

Nedavno u istraživanju koje su provodili Bogliotti i sur. 2018. godine uspješno je uspostavljena stabilna kultura goveđih embrionalnih stanica. Ono što embrionalne stanice čini posebno pogodnim je njihova sposobnost da se diferenciraju u sve tipove stanica potrebnih za potpunu rekonstrukciju skeletnog mišića, naravno, pod utjecajem odgovarajućih faktora (Chal i Pourquié, 2017). Također, uspostava kulture embrionalnih stanica sa stabilnim kariotipom otvara mogućnost formiranja banke stanica što bi eliminiralo daljnju potrebu za životinjama kao izvorima stanica.

Drugi obećavajući kandidat su mezenhimske matične stanice (MSC, engl. *mesenchymal stem cells*) jer tijekom razvoja skeletnog mišića imaju niz uloga zahvaljujući svojoj sposobnosti da se diferencijacije u miocite, adipocite, fibroblaste i epitelne stanice. Problem kod MSC je da stanice *in vitro* ulaze u proces starenja, međutim, navedeni se može riješiti ako se uzgajaju u povoljnim uvjetima. Također, postoje brojni podtipovi MSC koji imaju produljeni „rok trajanja“ tj. mogu se dijeliti i diferencirati duže vrijeme u kulturi (Ben-Aye i Levenberg, 2019).

Treći kandidat su inducirane pluripotentne matične stanice (iPSC, engl. *induced pluripotent stem cells*) koje se lako proizvode i predmet su intenzivnih istraživanja zadnjih par godina. Prednosti iPSC u odnosu na sve prijašnje navedene tipove matičnih stanica je to što lako izoliraju iz zrelih stanica životinje. Nedostaci ovih stanica su sljedeći: potrebno je gensko editiranje, daju male prinose i ne imitiraju precizno ponašanje prirodnih matičnih stanica (Specht i sur., 2018). Iz navedenih razloga, može doći do problema prihvaćanje mesa nastalog iz navedenog tipa stanica kao adekvatne zamjene od strane potrošača koji imaju averziju na GMO proizvode.

2.3.2. SATELITNE STANICE I PROCES MIOGENEZE

Tijekom embrionalnog razvoja, usmjereni razvoj i formacija mišićnog tkiva započinje u mononuklearnim mioblastima koji imaju ograničenu sposobnost proliferacije (Benjaminson, Gilchrist i Lorenz, 2002). Mioblasti fuzioniraju jedni s drugima i formiraju multinuklearne miotubule koji će maturirati u zrela mišićna vlakna koja nemaju sposobnost diobe. Postnatalno, povećanje broja mišićnih vlakna i broja jezgara održava se minimalnim, osim u slučajevima kada je potrebno mišić regenerirati ili popraviti. Satelitne stanice (SC, engl. *satellite cells*) su matične stanice koje sudjeluju u procesu popravka mišića nakon ozljeđivanja. Locirane su između bazalne lamine i sarkoleme mišićnog vlakna. Mononuklearne satelitne stanice su inače u mirujućem stanju, u osnovi stanje u kojem se ne dijele. Kada se aktiviraju *in vivo* djelovanjem stresa ili ranjavanjem mišića, dolazi do niza asimetričnih dioba pri čemu nastaju novi mioblasti i mišićna vlakna (Ben-Aye i Levenberg, 2019). Upravo ta karakteristika ih čini adekvatnim za uporabu u svrhu uzgoja laboratorijskog mesa gdje se djelovanjem fizikalnih, kemijskih i bioloških faktora mogu inducirati i potaknuti na diobu.

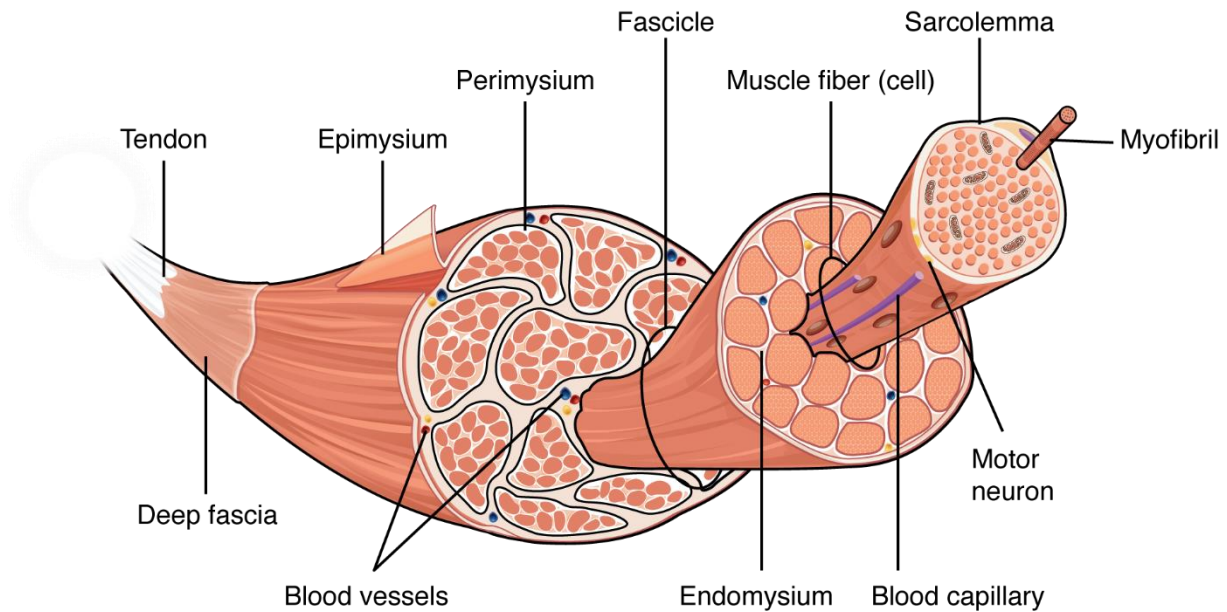
Razvojni obrazac koji će satelitne stanice poprimiti *in vitro* se regulira upotrebom različitih faktora rasta, najčešće se upotrebljavaju inhibitorni faktor leukemije (LIF, engl. *leukemia inhibitory factor*), fibroblastni faktor rasta (FGF, engl. *fibroblast growth factor*), epidermalni faktor rasta (EGF, engl. *epidermal growth factor*) inzulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1, *insulin like growth factor*) i transformirajući faktor rasta β (TGF- β , engl. *transforming growth factor β*) (Slika 4.). TGF- β ima centralnu ulogu u razvoju zrelog mišićnog tkiva i ključan je regulator intramuskularne fibrogeneze. Nadalje, zapaženo je da TGF- β inhibira miogenezu u 2D kulturama dok je potiče u 3D kulturama stanica zbog čega je posebno važan regulator u uzgoju mišića *in vitro* (Krieger i sur., 2018).

Burton i njegovi suradnici su 2000. godine objavili rad u kojem su navedeni protokoli za ekstrakciju satelitnih stanica iz različitih vrsta životinja, kao i njihove karakteristike te odgovore

na različite regulatore rasta. Prvi prototip „čistog“ mesa upravo je dobiven iz goveđih satelitnih stanica (Post, 2013), a njihov rast u bioreaktorima je detaljno proučen. Većina istraživanja fokusirano je na goveđe satelitne stanice budući da je ekološki otisak uzgoja goveda velik - puno veći u odnosu na ekološki utjecaj uzgoja svinja ili peradi. Goveđe satelitne stanice se mogu izolirati direktno iz životinja biopsijama ili iz fetusa, a sami proces izolacije je relativno jednostavan i bezopasan za životinju. Uzgoj satelitnih stanica uključuje korake poput enzimatske digestije i nasađivanja stanica na hranjivu podlogu.

2.3.3. FIBROBLASTI I IZVANSTANIČNI MATRIKS

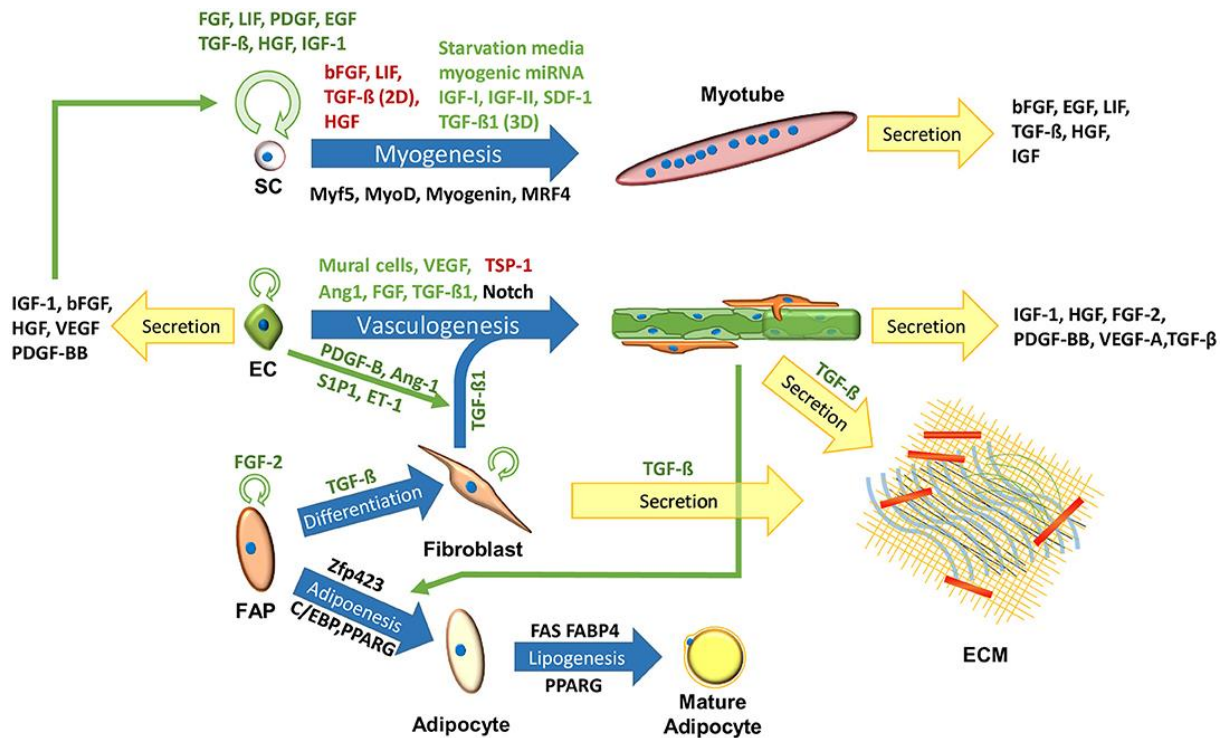
Osim samih stanica koje čine skeletni mišić, bitnu ulogu razvoju mišića igra tkivo koje je acelularno i koje okružuje sami mišić. Izvanstanični matriks (ECM, engl. *extracellular matrix*) je odgovoran za elastičnost tkiva, stvara mjesta na koje se stanice adhezijom mogu učvrstiti te pruža stanicama 3D okoliš koji ima ključnu ulogu u regulaciji proliferacije, diferencijacije, migracije stanica te morfologije tkiva. Sastav i uloge izvanstaničnog matriksa su varijabilne i povezane su s procesom starenja, ali tijekom formacije skeletnog mišića sudjeluje u procesu fibrinogeneze. Mišićni ECM sastoji se od tri sloja vezivnog tkiva koji se međusobno razlikuju po sastavu i debljini (Slika 3.). Endomizij koji ispunjava prostor između mišićnih vlakana, perimizij koji stvara odjeljke u kojima su smješteni mišićni snopovi i epimizij koji obavija cijeli mišić. ECM sadrži brojne proteine (kolagen kao najčešći), glikozaminoglikane (npr. hijaluronska kiselina) i proteoglikane koji utječu na teksturu i ukupni okus mesa (Ben-Aye i Levenberg, 2019). Sukladno tome, nakon što su znanstvenici prepoznali važnost ECM u formiranju mesa kakvog poznajemo, napravljeni su i razvijeni brojni trodimenzionalni nosači koji bi oponašali djelovanje ECM u *in vitro*. Stanice za koje se sve više smatra da imaju važnu ulogu u proizvodnji mesa *in vitro* su fibroblasti. Fibroblasti izlučuju i modeliraju ECM, a same stanice se lako izoliraju i uzgajaju kulturi.



Slika 2. Anatomija skeletnog mišića obavijenog izvanstaničnim matriksom (endomiziji, perimizij, epimizij). (Preuzeto iz www.open.oregonstate.edu).

2.3.4. ENDOTELNE STANICE I KRVOŽILNI SUSTAV

Mišići u organizmu dobro su opskrbljeni svim potrebnim nutrijentima uz pomoć guste mreže kapilara i manjih krvnih žila koje su dio krvožilnog sustava. Krvožilni sustav je nužan *in vivo* jer dozvoljava nadilaženje ograničenja transporta tvari na veće udaljenosti što jednostavna difuzija ne može. U kulturi stanica skeletnih mišića nema potrebe za stvaranjem alternativnog oblika krvožilnog sustava budući da se problem opskrbe stanica s hranjivim tvarima lako rješava uzgojem istih u bioreaktorima. Formacija krvožilnog sustava *in vitro* moguća je indukcijom endotelne stanice u odgovarajućim uvjetima. Endotelne stanice imaju ulogu generiranja izvanstaničnog matriksa (Slika 4.) Nadalje, brojni faktori koje izlučuju endotelne stanice u sklopu krvožilnog sustava imaju važnu ulogu u angiogenezi i adipogenezi. Sumarno, iako krvožilni sustav i endotelne stanice imaju ulogu u razvoju tkiva, meso *in vitro* koje ima manju ukupnu količinu stanica jednostavnije se i jeftinije proizvodi bez njega. Za sada se smatra da krvožilni sustav nije esencijalan sastojak mesa proizvedenog u kulturi te da se može izostaviti iz proizvodnog procesa bez da konačni proizvod gubi na kvaliteti (Ben-Aye i Levenberg, 2019).



Slika 3. Stanice skeletnih mišića. Plave strelice označavaju procese maturacije. Crne, zelene i crvene strelice označavaju ključne markere, inhibitore, enhancere pojedinačnih procesa. Zelene strelice predstavljaju staničnu diobu. (preuzeto iz www.frontiersin.org).

2.3.5. ADIPOCITI I INTRAMUSKULARNO MASNO TKIVO

Intramuskularno masno tkivo (IMF, engl. *intramuscular fat*) odgovorno je 80% mišićne masti (ostalih 20% nalazi se unutar mišićnih vlakana). Količina IMF i njegov sastav ovisi vrsti masnih kiselina od kojih je IMF građen. Osim navedenih, razni drugi faktori utječu na sadržaj IMF kao što su životinjska vrsta, spol i starost životinje kao i prehrana životinje. Karakteristike mesa kao što su okus, sočnost, krtost i nutricionistička vrijednost izravno ovisi o IMF (Hudson i sur., 2015). IMF nastaje iz adipocita koji se formiraju diferencijacijom matičnih stanica, odnosno, adipogenezom. Adipociti su stanice koje su ispunjene trigliceridima koji nastaju tijekom lipogeneze (Slika 4.).

Adipogeneza započinje diferencijacijom MSC ili fibrogenih/adipogenih progenitorskih stanica koje su usmjerene u specifični razvojni obrazac djelovanjem faktora Zfp423 (Huang i sur, 2012) pri čemu nastaju preadipociti koji se onda dalje diferenciraju u zrele adipocite. Adipogeneza *in vitro* inducira se korištenjem koktela agensa koji induciraju adipogenezu ili uporabom komercijalnih kitova. Do danas provedeno je niz istraživanja koja su fokusirana na rekreaciju IMF i izvanstanične masti, od kojih je većina provođena na ljudskim i mišjim stanicama čiji protokoli su neadekvatni za stanice stočnih životinja (Ben-Aye i Levenberg, 2019). Kako bi se

riješio ovaj problem potrebno je provesti istraživanja IMF na stajskim životinjama što bi rezultiralo optimizacijom protokola.

2.4. NESTANIČNE KOMPONENTE ESENCIJALNE ZA UZGOJ MESA

2.4.1. STANIČNI MEDIJ

Stanice izolirane iz živog organizma nasađuju se na podlogu koja sadrži stanični medij čiji sastav ovisi o tipu izoliranih stanica. Proizvodnja adekvatnog medija prva je prepreka masovnoj proizvodnji uzgojenog mesa i industrijalizacije cijelog procesa. Najčešći medij korišten za uzgoj kulture mioblasta je animalni serum koji se tipično dobiva iz odraslih, novorođenih ili fetalnih organizama. Kako bi se opseg proizvodnje mesa *in vitro* povećao, potrebne su velike količine seruma; najčešće je riječ o serumu izoliranom iz goveđih fetusa što predstavlja veliki problem jer kao prvo serum je skup, a kao drugo proizvodnja opet ovisi o životinjama što je etički problematično (Fayaz i Fayaz, 2010). Fetalni goveđi serum (FBS, engl. *fetal bovine serum*) je univerzalni dodatak mediju koji sadrži 200-400 različitih proteina i na tisuće manjih molekularnih metabolita nedefiniranih koncentracija tako da njegova kompletna zamjena s definiranim medijem jest moguća, ali je skupa (Post i sur, 2020). Zbog svojeg *in vivo* podrijetla animalni serum također može sadržavati brojne patogene koji mogu ugroziti kvalitetu mesa. Na tržištu su dostupni brojni komercijalni kitovi i mediji koji ne sadrže serum i čiji se sastav tijekom vremena konstanto doraduje u svrhu što boljeg uzgoja stanica. Trenutačno dostupni komercijalni mediji daju stanične kulture manjeg prinosa za razliku od onih koje rabe FBS, a problematična je i činjenica da su ti mediji pogodni za uzgoj limitiranog broja staničnih linija (Post i sur., 2020).

Kod kulture matične stanica izrazito je važno da stanice ostanu u nediferenciranom stanju te da im se omoguće uvjeti u kojima se mogu neograničeno dijeliti. Da bi se matične stanice ipak potakle na diferencijaciju, potrebni su različiti faktori rasta koji djeluju tako da selektivno aktiviraju signalne puteve stanice. Faktori rasta sastavni su dio medija ili animalnog seruma. Faktori rasta u organizmu izlučuju miociti, ali i drugi stanični tipovi. Izlučeni faktori rasta mogu djelovati lokalno ili na mjestu udaljenom od mjesta njihovog izlučivanja. *In vitro* pročišćeni faktori rasta i hormoni izoliraju se iz transgениčnih bakterija, biljaka ili životinja te se dodaju se u medij. Faktori koji se često koriste za uzgoj matičnih stanica su: morfogenetski protein kostiju (BMP, engl. *bone morphogene protein*), EGF, FGF i vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*), dok su za uspostavu primarne kulture stanica nužni IGF i trombocitni faktor rasta (PDGF, engl. *platelet growth factor*) (Post i sur., 2020).

Ostale komponente prisutne u mediju u visokim koncentracijama su glukoza i aminokiseline (Post i sur.,2020). Proizvodnja ovih komponenti u velikim količinama također ima veliki utjecaj na ukupni ekološki otisak procesa proizvodnje uzgojenog mesa i stoga ona mora biti efikasna te ekološki prihvatljiva. Aminokiseline se najefikasnije proizvode procesom fermentacije korištenjem glukoze kao supstrata, a alternativno velike količine aminokiselina i peptida mogu se izolirati iz algi i biljaka čiji uzgoj može smanjiti ukupnu proizvodnju CO₂ (ugljičkov dioksid može nastati u različitim stadijima proizvodnje laboratorijskog mesa). Biljke su izvor škroba koji je onda dobar za proizvodnju glukoze. Preciznije, hidrolizom škroba nastaje glukoza koja se onda može dodati u hranjivi medij.

2.4.2. NOSAČI – GRAĐA, ULOGA I PROIZVODNJA

Stanice kako bi se pravilno diferencirale i izgradile kompleksnu strukturu mesa *in vitro* uzgajaju se na trodimenzionalnim nosačima koji stanicama pružaju potrebnu potporu i mjesto za prihvaćanje. Porožna građa nosača omogućuje protok kisika i nutrijenata kao i uklanjanje štetnih tvari i produkata metabolizma stanica, što je neophodno za preživljenje stanica. Razvoj nosača započeo je u regenerativnoj medicini i tkivnom inženjerstvu, međutim, u svrhu celularne agrikulture potrebno je uzeti u obzir brojne kriterije kao što su morfologija, struktura i kemijska kompozicija samog nosača. Kako bi meso *in vitro* bilo jestivo, nosač treba biti razgradiv, mora biti prihvatljivog okusa i siguran za konzumaciju, bez obzira na termičku obradu. Nadalje, nosači moraju biti sigurni, ekonomični i dostupni za industrijsku proizvodnju u većoj količini. Popis bioloških materijala pogodnih za proizvodnju nosača nalazi se u tablici 1.

Tablica 1. Potencijalni kandidati polimera za izgradnju nosača iz neživotinjskih izvora (Post i sur., 2020).

Razred biopolimera	Specifični tip	Izvor
Polisaharidi	celuloza i celulozni derivati	biljke, bakterije
	škrob	biljke
	hitin	insekti, rakovi, gljive, kvasci
	hijaluronska kiselina	heterologna ekspresija gena
	alginat	biljke
	agaroza	biljke
Proteini	kolagen	heterologna ekspresija gena
	svila	dudov svilac, pauzi, heterologna ekspresija gena
	elastin	heterologna ekspresija gena
	keratin	heterologna ekspresija gena
	laminin	heterologna ekspresija gena
Poliesteri	polihidroksialkanoati	heterologna ekspresija gena
Sintetika	polilaktična/poliglitolne kiseline	kemijska sinteza
	polikaprolakton	kemijska sinteza
	polietilen glikol	kemijska sinteza
	polivinilalkohol	kemijska sinteza
Kompleksni prirodni kompoziti	micelij	gljive
	lignin	biljke
	decelularizirano tkivo	biljke
	hidrolizat soje	biljke

Uzimajući navedeno u obzir, potrebno je pronaći prihvatljive biološke materijale za izgradnju nosača koji prvenstveno moraju biti porijeklom iz bioloških izvora koji će nakon procesiranja dati strukture željene morfologije i zadržati nativne karakteristike. Kako bi se smanjili troškovi proizvodnje, manipulacija biološkim materijalom mora ostati na minimalnoj razini. Produkti stočnog podrijetla, kao primjerice kolagen, trebali bi se izbjegavati jer nemaju sposobnost diobe i njihova izolacija bi zahtijevala masovni uzgoj stoke. Iz svega navedenog, brojna

istraživanja se okreću materijalima porijeklom iz gljiva, biljaka i algi, a u tu kategoriju spadaju brojni polisaharidi kao što su celuloza, škrob, hitin, pululan, alginati, hijaluronska kiselina i drugi (Post i sur., 2020.). Trodimenzionalni nosači bazirani na proteinima kao što su fibrin, kolagen i keratin ostvarivi su koristeći metode rekombinantne DNA. Drugi materijali od interesa uključuju poliestere i polihidroksialkanoate koji se mogu proizvoditi u bakterijama vještom manipulacijom gena. Danas sve više se traga za kompleksnim kompozitnim matricama koje nastaju iz biljaka ili mikroorganizama, a primjeri takvog sustava su decelularizirani listovi i micelij gljiva. (Modulevsky i sur., 2014). Konačno, osim bioloških polimera, dobre kandidate za građevni materijal čine i sintetski polimeri. Sintetski polimeri generalno su sigurni za ljudsko tijelo i mogu imati podešenu brzinu degradacije kemijskom hidrolizom (Post i sur., 2020). Ono što sintetske polimere čini adekvatnim je njihova velika dostupnost i jednostavnost proizvodnje. Nosači se mogu proizvoditi i korištenjem 3D printera, pod uvjetom da odabrani materijal može biti korišten kao „tinta“.

Nakon što je uspješno proizveden, nosač se mora podvrgnuti nizu testova koji će utvrditi njegove osnovne značajke:

- fizičke – podložnost procesiranju, struktura, termalna stabilnost, tekstura, površinske karakteristike i morfologija
- kemijske – jestivost, probavljivost i stabilnost biološkog materijala
- biološke – izvor, okus, nutricionistička vrijednost, kompatibilnost između nosača i stanica, sigurnost konzumacije
- ekološke – održivost proizvodnje nosača.

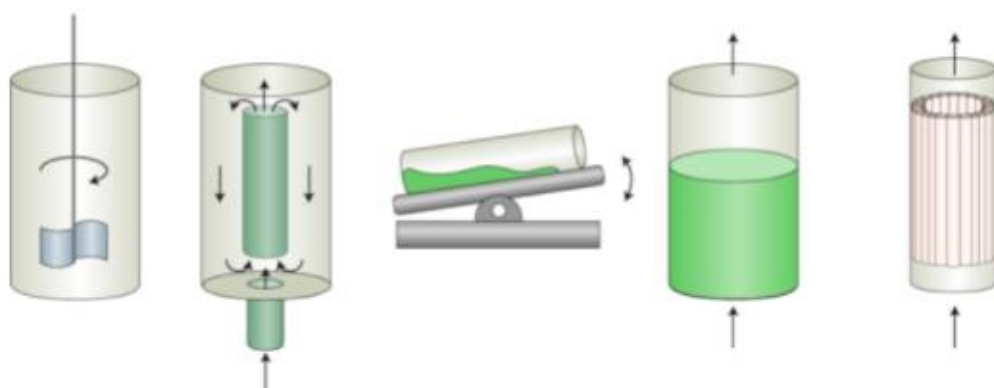
Svaka značajka mora biti proučena odgovarajućim metodama kako bi se osigurala mogućost konzumacije finalnog produkta kao hrane, bez narušavanja ljudskog zdravlja. Primjerice, nutricionističke analize, koje uključuju ekstrakciju i neku vrstu kvantifikacije pogodne su za analizu nutrijenata uzgojenog mesa, dok su mehanički testovi nužni za analizu teksture proizvoda. Uzgojeno meso mora biti probavljivo stoga bi pogodno bilo provoditi *in vitro screeninge* u uvjetima koji imitiraju one koji vladaju u gastrointestinalnom sustavum (Post i sur., 2020).

U konačnici nosač je ključna komponenta mesa *in vitro* pa stoga njegova proizvodnja mora biti konstantno nadzirana, a cijena proizvodnje mora ostati mala kako bi kvaliteta i cijena finalnog produkta bile prihvatljive.

2.4.3. INDUSTRIJSKI BIOREAKTORI

Laboratorijsko meso može služiti kao alternativa klasičnom mesu samo ako se proces njegove proizvodnje industrijalizira, a da pri tome isti ostane ekološki prihvatljiv. Ključnu ulogu u industrijskog proizvodnji igraju bioreaktori jer sustavu omogućuju održivost i lakšu manipulaciju stanicama koje se tada mogu uzgajati u većoj gustoći nego što je to moguće u planarnim sustavima (Post i sur., 2020). Na tržištu postoje različiti tipovi bioreaktora no svi imaju jednaki cilj – održavanje rasta većih količina tkivnih kultura koje precizno imitiraju arhitekturu tkiva *in vivo* pružanjem povoljnog okoliša. Bioreaktori sadrže rotirajuće dijelove koji omogućuju stalni protok hranjivog medija tako da se stanice difuzijom konstantno mogu opskrbljivati potrebnim nutrijentima (Carrier i sur. 2002).

U industriji bioreaktori za uzgoj stanica sisavaca imaju velike tankove u kojima se medij konstantno miješa, a stanice se nalaze u suspenziji ili su vezane za mikronosače. Većina razvoja stanica sisavaca ovisi o usidrenju i zato mikronosači pružaju površinu na koju se stanice mogu vezati. Stanične suspenzije su povoljne jer su ukupni prinosi takvog uzgoja veći. Postoje različiti tipovi bioreaktora (Slika 5.), a svaki tip ima svoje prednosti i mane. Primjerice, bioreaktori s konstantnim miješanjem koji se koriste za uzgoj stanica sisavaca povećavaju količinu ukupno proizvedenih stanica, ali zbog konstantnog agitiranja stanica miješanjem, stanice se često nalaze pod stresom. Nasuprot toga, bioreaktori koji sadrže vlakna dozvoljavaju rast stanica na vanjskim stijenkama tih vlakana ili rastu između njih. Stanice se opskrbljuju nutrijentima koji difundiraju iz lumena vlakna što smanjuje stanični stres. Nažalost, vlakna se mogu upotrijebiti samo jednom, a njihova proizvodnja je skupa (Post i sur., 2020).



Slika 4. Različiti tipovi industrijskih bioreaktora za uzgoj stanica sisavaca. S lijevog na desno prikazani su: bioreaktor za miješanje medija, *airlift*, ljuļajuci/njihajuci bioreaktor, *fluidized bed* i bioreaktor s vlaknima (Post i sur., 2020).

Glavni cilj koji se nastoji postići novim modelima bioreaktora jest povećanje postotka nutrijenata u mediju koji će se konvertirati u jestivo životinjsko tkivo. Gustoća stanica (broj stanica po mL medija) i korištenje medija može biti optimizirana uporabom različitih tehnika recikliranja. Nadalje, stanicama, osim što im se moraju pružati uvjeti koji će im omogućiti proliferaciju, moraju imati i uvjete koji će im omogućiti diferencijaciju i stavljanje zrelih tkiva. Dakle, potrebno je stvoriti integrirani sustav između bioreaktora za proliferaciju i bioreaktora za diferencijaciju budući da se uvjeti za oba procesa znatno razlikuju. Za diferencijaciju stanica u specifične tipove tkiva potrebno je razviti različite bioreaktore za diferencijaciju (Post i sur., 2020).

2.5. POTROŠAČKI, POLITIČKI I DRUŠTVENI ASPEKTI UZGOJA MESA U LABORATORIJU

2.5.1. PRIHVAĆANJE UZGOJENOG MESA OD STRANE POTROŠAČA

Sva istraživanja usmjerena na stavljanje boljeg alternativnog proizvoda za tradicionalno meso neće značiti ništa ako isti nije prihvaćen od strane javnosti. Danas je internet jedan od glavnih izvora informacija i vrlo često prvo mjesto gdje se potrošač susreće s nekom vrstom novog proizvoda. Kako je nešto prezentirano u medijima ima veliki utjecaj na percepciju šire javnosti, bez obzira koliko je takva percepcija opravdana i realna. Laboratorijski proizvedeno meso treba prezentirati kupcima postupno, uz naglašavanje njegove važnosti i prednosti te ga na neki način izdvojiti od ostalih alternativa mesa, kao i samog tradicionalnog mesa. Štoviše, mnogim osobama je pojam mesa proizvedenog u laboratoriju bio nešto što spada u okvire znanstvene fantastike sve dok prvi opipljivi proizvod – Postov hamburger nije dokazao da je to moguće. Post je prezentirao široj javnosti uzgojeno meso koje jest meso kakvo poznajemo, samo ne proizvedeno u kravi te se može konzumirati od osoba koje izražavaju zabrinutost za ekološke učinke tradicionalnog stočarstva i dobrobit životinja (Post, 2013).

Nema sumnje da meso uzgojeno u laboratoriju postavlja znatne izazove i mnoga društvena pitanja, od toga kako bi se ta nova tehnologija trebala regulirati, do toga kako će izgledati buduća raspodjela moći u prehrambenoj industriji. Osobito je važno kako će se u budućnosti ovaka proizvodnja odraziti na zajednice koje ovise o tradicionalnom načinu proizvodnje mesa. Gore navedeni faktori moći će se razmatrati samo pod uvjetom da potrošači prihvate uzgojeno meso. Kako bi se odredio stupanj prihvaćenosti uzgojenog mesa kao adekvatne alternative provedene su brojne ankete, upitnici i studije (Tablica 2.) Podaci dobiveni ovom metodom uvelike se razlikuju i ovise o tome kako je pitanje formulirano te o nacionalnosti ispitanika (Post i sur., 2020).

Zanimljivo je to da faktor koji najviše utječe na odgovor ispitanika je upravo informiranost ispitanika. Primjerice, ako je ispitaniku dan velik broj informacija, odgovor je vrlo često bio pozitivan, dok su kod ispitanika kojima su informacije pružane šturo i nedovoljno jasno vrlo često izazvani negativni odgovori. Također, zapaženo je da bi se naziv laboratorijsko meso trebao izbjegavati jer izaziva negativni stav prema uzgojenom mesu, odnosno, laboratorij se često povezuje su pojmovima poput eksperimentalno i neprirodno. Umjesto toga, bolje bi bilo koristiti termine poput „čistog“ mesa i uzgojenog mesa (Laestadius i Caldwell, 2015). Kako bi se povećao prag prihvaćanja kod potrošača, ova nova tehnologija im se mora prezentirati na jednostavan i lako razumljiv način. Podatak koji govori o tome da je meso uzgojeno u laboratoriju relativno nova stvar jest taj da većina Amerikanaca (57%) nije upoznato sa navedenim pojmom (Bryant i sur., 2019).

Tablica 2. Stupanj prihvaćanja mesa uzgojenog u laboratoriju od strane potrošača (preuzeto iz Post i sur, 2020).

Izvor	Godina	Veličina uzorka i demografija	Postavljeno pitanje	Jeli bi	Ne znaju	Ne bi jeli
YouGov	2013	1729 odraslih u Ujedinjenom Kraljevstvu	Zamislite da je umjetno meso komercijalno dostupno, biste li ga konzumirali?	19%	19%	62%
Pew Research	2014	1001 odraslih u SAD-u	Biste li konzumirali...meso uzgojeno u laboratoriju?	20%	2%	78%
Flycatcher	2013	1296 odraslih u Nizozemskoj	Pretpostavimo da je uzgojeno meso dostupno u supermarketu. Biste li ga kupili kako bi ga probali?	52%	23%	25%
The Grocer	2017	2082 odraslih u Ujedinjenom Kraljevstvu	Biste li ikad kupili uzgojeno meso koje je proizvedeno u laboratoriju?	16%	33%	50%
Wilks i Phillips	2017	673 odraslih u SAD-u	Biste li bili voljni okusiti <i>in vitro</i> meso?	65%	12%	21%
Surveygoo	2018	1000 odraslih u UK i SAD-u	Biste li bili voljni okusiti uzgojeno meso?	29%	38%	33%
Bryant i sur.	2019	3030 odraslih u SAD-u, Indiji i Kini	Kolika je vjerojatnost da probate čisto meso?	52%	34%	13%

Različite studije su došle do spoznaje da je stupanj prihvaćanja veći kod muškaraca nego kod žena. Također jer veći među mladim ljudima nego kod starijih ljudi i kod svejeda u odnosu na vegetarijance (Post i sur., 2020). Razlika u prihvaćanju među spolovima može se objasniti činjenicom da su žene generalno izbirljivije oko izbora hrane. Mlađa populacija je otvorena prema novim iskustvima što je vjerojatno i razlog većeg prihvaćanja uzgojenog mesa kao adekvatne alternative tradicionalnom mesu. Vegetarijanci nisu ciljana skupina ovog proizvoda,

štoviše, promoviranje ovog mesa kao proizvoda kojeg mogu konzumirati vegetarijanci može dovesti do obilježavanja istog kao vegetarijanskog – što u konačnici ne bi doprinosilo rješenju glavnog problema, a to je smanjenje konvencionalne proizvodnje mesa.

Uzgojeno meso je puno atraktivnije potrošačima u Americi i Aziji nego potrošačima iz Europe, uz iznimku Britanaca koji su se pokazali u istraživanju provedenog 2005. godine kao najotvoreniji. Međutim, stupanj prihvaćanja kod Britanaca je znatno niži nego kod Amerikanaca, dok su od njih bolji u tom aspektu samo potrošači iz Kine i Indije (Bryant i sur., 2019). Ova razlika se može objasniti ako u obzir uzmemo različite uloge koje animalna agrikultura zauzima u njihovom društvu i kulturi.

2.5.2. POLITIČKI I SOCIJALNI ASPEKTI UZGOJENOG MESA

Kako bi dobili konačnu sliku o cjelovitom utjecaju uzgojenog mesa na budućnost prehrambene industrije, neophodno se moraju razmotriti društvene, političke i institucijske promjene do kojih će sigurno doći. Za sada većina medija promovira uzgojeno meso kao revolucionaran i ekološki osviješteni proizvod, međutim, uzgojeno meso još uvijek nije dostupno kao opipljiv proizvod široj javnosti. Oko njegove proizvodnje postoji mnogo nejasnoća i još uvijek nije jasno kako će sektor njegove proizvodnje izgledati, npr. hoće li proizvodnju vršiti jedan proizvođač ili više manjih, koji će se tip medija koristiti s kojim tipom stanica i hoće li to zaista riješiti već nekoliko puta spomenute poteškoće?

Nema sumnje da uzgojeno meso treba analizirati još dok je u preliminarnoj fazi proizvodnje upravo zato što se trebaju promatrati svi njegovi aspekti, pozitivni i negativni, i kako će oni doprinositi ili modificirati postojeću ekonomiju i politiku globalnog prehrambenog sustava. Preciznije, potrebno je utvrditi tko će ostvariti benefit, a tko deficit u slučaju da se sektor za proizvodnju uzgojenog mesa doista ostvari. Dakle, kako bi se to moglo utvrditi, potrebno je odrediti tko se već može adaptirati i profitirati uporabom navedene tehnologije i gdje će se (u kojim regijama svijeta) proizvoditi. Postoji određena razina zabrinutosti da je uzgojeno meso samo još jedan element koji će dodatno povećati ekonomsku nejednakost između razvijenih zemalja sjevera i ne tako razvijenog juga, odnosno, bogate učiniti još bogatijima, a siromašne još siromašnjima (Stephens i sur., 2018).

Nadalje, postavlja se pitanje koje osobe će biti kvalificirane za rad u toj novoj grani industrije. Uzevši to u obzir, nadovezuje se potreba za edukacijom nove radne snage i njezino pozicioniranje unutar postojeće ekonomske strukture. Nova radna snaga morat će imati niz vještina i znanja koja nadilaze tradicionalne poslove kao što su poljoprivrednici i veterinari.

Štoviše, nova radna snaga uključivat će osobe koja imaju stručna znanja iz područja kemije, stanične biologije, sintetske kemije. Kemijski inženjeri, znanstvenici koji se bave građom skeletnih mišića, tehničari i prehrambeni tehničari samo su neka od zanimanja koja su neizostavni dio ove nove grane celularne agrikulture (Stephens i sur., 2018).

2.6. PREDNOSTI UZGOJA MESA U LABORATORIJU

Iako uključuje niz kompleksnih procesa koji se moraju strogo regulirati, meso uzgojeno u laboratoriju ima niz prednosti u odnosu na njegovog tradicionalno dobivenog srodnika. Prednosti koje često navode pobornici (Fayaz i Fayaz, 2010) ovih metoda su sljedeće:

- meso *in vitro* se može modificirati. Na kompoziciju laboratorijskog mesa se može utjecati primjenom različitog medija. Meso se može poboljšati dodavanjem različitih faktora kao npr. vitamina koji imaju pozitivan učinak na zdravlje. Nadalje, metoda dozvoljava precizno kontroliranje ukupnog sadržaja masti uključujući i kontrolu masnih kiselina od kojih je mast građena.
- Meso producirano u laboratoriju nema podrijetlo iz živućih organizama zbog čega se može konzumirati od strane pripadnika određenih religija koje brane konzumaciju određenog tipa mesa.
- Smanjena opasnost od zaraznih bolesti kojima se čovjek zarazi konzumacijom kontaminiranog mesa. Šanse da se meso kontaminira su znatno niže zbog stroge regulacije i kontrole kvalitete proizvodnog procesa. Spomenute kontrole se jednostavno u toj mjeri ne mogu provoditi kod stočnih životinja. Također, izlaganje mesa, a time i potrošača pesticidima i hormonima koji su povezani sa tradicionalnim stočnim uzgojem je reduciran.
- Mogućnost proizvodnje mesa od egzotičnih i ugroženih organizama.
- U teoriji, jedna životinja bi mogla biti korištena za proizvodnju količine mesa dovoljne za opskrbu cijelog svijeta tj. smanjuje se potreba za životinjama.
- Životinja koja se uzgoja u svrhu proizvodnje mesa osim mišićnih stanica, sadrži biološke strukture koje su nužan uvjet za preživljavanje životinje. To su prvenstveno kosti, respiratorni sustav, probavni sustav, koža i živčani sustav. Oni nisu nužni za proizvodnju mesa *in vitro* što kao posljedicu ima uštedu energije i nutrijenata koji se koriste za njihov razvoj *in vivo*.
- Sustav *in vitro* proizvodi jednaku ili veću količinu mesa u kraćem vremenskom razdoblju koje je potrebno za proizvodnju te količine mesa uzgojem životinja. U

nekoliko tjedana umjesto mjeseci (za perad) ili godina (za svinje i krave) nastaje meso koje se može iskoristiti u prehrambene svrhe.

- Za razliku od stočnih životinja koje zahtijevaju veliki prostor za uzgoj i život, bioreaktori u kojima se uzgajaju stanice ne trebaju puno prostora. Štoviše, bioreaktori se mogu slagati jedan na drugi u industrijskim prostorima.
- Postojanje i povećanje tržišta za mesne alternative.
- Laboratorijsko meso mogu konzumirati vegetarijanci jer je riječ o proizvodu čija proizvodnja neće ugroziti život životinje
- Smanjena emisija stakleničkih plinova, te smanjeno iskorištavanje dostupnih vodenih i zemljišnih kapaciteta.

2.7. NEDOSTACI UZGOJA MESA U LABORATORIJU

Uzgoj mesa u laboratoriju nudi niz već spomenutih prednosti, no budući da je riječ o relativnoj mladoj tehnologiji postoji i niz poteškoća. Dio tih poteškoća i nedostataka se može uočiti u samom proizvodnom procesu. Životinje su još uvijek dio proizvodnog procesa, odnosno, iz njih se izoliraju stanice ili serum što postavlja pitanje koliko je finalni proizvod doista *animal friendly*. Nadalje, za sada se proizvode male količine mesa budući da proces nije u potpunosti industrijaliziran i automatiziran zbog čega je cijena finalnog proizvoda visoka i mnogim potrošačima nedostižna (500 grama uzgojenog mesa košta 11\$). Hipotetski, za proizvodnju 1 kg proteina mišića potrebna je stanična populacija veličine 8×10^{12} stanica koja bi se uzgajala u bioreaktoru volumena 5000 L, a takvi bioraktori do danas nisu uspješno konstruirani što ukazuje i na problem razvoja potrebne opreme (Stephens i sur., 2018). Finalni proizvod koji tvrtke definiraju kao meso nije perfektna replika tradicionalnog mesa tj. postoje razlike u okusu, teksturi i sočnosti između uzgojenog i tradicionalnog mesa. Uzgojeno meso podrazumijeva određenu količinu genetičke manipulacije i stoga potiče istu zabrinutost kod potrošača kao i genetički modificirani proizvodi. Iako se smanjene ekološkog otiska navodi kao jedna od prednosti proizvodnje mesa u laboratoriju, za sad se još ne zna u kolikoj će se mjeri to ostvariti, budući da ovaka proizvodnja sa sobom nosi i niz drugih faktora koji se moraju uračunati. Proizvodnja nosača, opskrba stanica s potrebnim nutrijentima, transport, skladištenje, procesiranje stanica te stroge kontrole svih ovih procesa samo su neki od faktora koji će utjecati na ukupnu ekonomičnosti, efikasnost i u konačnosti - ekološki utjecaj cijelog procesa. Uz sve navedeno, ako se laboratorijski uzgoj mesa doista industrijalizira i proizvod postane dostupan širim masama, kako će se to odraziti na ljude koji se bave stočnim uzgojem? Velik broj ljudi bi mogao ostati bez posla u tom agronomskom sektoru, međutim, to ne mora biti slučaj. Ova nova

tehnologija ne mora nužno zamijeniti tradicionalni uzgoj mesa, već samo povećati ukupno proizvodnju mesa dostupnog za konzumaciju, a stručnjaci nazivaju ovu pojavu aditivnim efektom. Spomenuti efekt bi doveo do povećanja ukupne konzumacije mesa, pogotovo ako meso postane jeftino i s time svima dostupno. Pretjerana konzumacija mesa ima negativan efekt na ljudsko zdravlje (dijabetes, rak debelog crijeva i rektuma, pretilost). Ovakav aditivni efekt nije dovoljno razmatran i u slučaju da do njega dođe, neće doći do smanjenja ukupnog ekološkog otiska ili smanjene uporabe životinja u svrhu prehrane. Za kraj veliku prepreku marketingu uzgojenog mesa predstavlja volja potrošača da prihvate novu alternativu. Javnost je za sada skeptična što se može zaključiti iz brojnih negativnih naziva za laboratorijski uzgojno meso među kojima su sintetsko meso, meso *in vitro* ili čak Frankenstein meso (Stephens i sur., 2018). Prevencija asociranja uzgojenog mesa s navedenim negativnim nazivima može se postići postupnim educiranjem šire javnosti.

ZAKLJUČAK

Meso uzgojeno u laboratoriju je obećavajuća nova tehnologija koja je prošlih 20 godina daleko uznapredovala i ima veliki potencijal kao ekološki prihvatljiva alternativa tradicionalnom mesu, ali na putu do ostvarenja ovog cilja nalaze se brojne prepreke. Trenutna dostignuća ove tehnologije dolazi iz tkivnog inženjerstva i uključuje izolaciju i propagaciju matičnih stanica, identifikaciju pogodnih bioloških materijala i dizajniranje složene kulture stanica koja sadrži mišićne i adipozne stanice. Znanje iz biologije i tehnologije potrebno za industrijsku proizvodnju uzgojenog mesa je manjkavo iz čega se može zaključiti da uzgojeno meso još nije proizvod koji se uspješno može masovno proizvoditi. Dakle, fokus se mora staviti na istraživanja koja će popuniti postojeće rupe u znanju (detaljno istraživanje biologije pojedinačnih staničnih linija, potpuna zamjena FBS, dizajn adekvatne opreme za uzgoj većeg volumena stanica). Nadalje, o tome kako će proizvodnja utjecati na etičke, društvene i političke aspekte zna se jako malo, odnosno, riječ je o aspektima koji se moraju analizirati od strane stručnjaka detaljno prije nego što se uzgojeno meso počne proizvoditi na industrijskoj razini. Sve navedeno će biti beznačajno ako uzgojeno meso ne bude prihvaćeno od strane potrošača koje je potrebno educirati o novom prehrambenom proizvodu. Informativne reklamne kampanje koje naglašavaju ekološku važnost i potrebu za uzgojenim mesom mogle bi riješiti ovaj problem, a odgovor potrošača je potrebno analizirati nizom anketa i intervjuja. Većinu istraživanja provodne privatne tvrtke, međutim, kako bi se nadišli tehnički problemi i u konačnici proizveo niz proizvoda nastalih iz uzgojenog mesa, mora doći do uključivanja šire znanstvene i akademske zajednice. Na ovoj način će uzgoj mesa u laboratoriju postati

transparentan. Za kraj sve upućuje na to da ćemo u bliskoj budućnosti moći otići u trgovinu i kupiti meso čiji nastanak životom nije morala platiti niti jedna životinja.

SAŽETAK

Povećanjem svijesti javnosti o bolestima koje se prenose hranom, tvorničkoj poljoprivredi i ekološkom otisku mesne industrije, stvorilo je potrebu za alternativama mesu proizvedenih bez životinja. U posljednjem desetljeću znanstvenici su počeli koristiti znanja i alate iz područja matičnih stanica i tkivnog inženjerstva prema razvoju mesa na bazi stanica (tj. čistog mesa). U tkivnom inženjerstvu mogu se imitirati fizičke i biokemijske značajke izvornog tkiva; stanice i biološki materijali integrirani su u kulture pod prikladnim uvjetima kako bi se stvorila zrela tkiva. Kako bi uzgojeno meso služilo kao vjerodostojna alternativa stočnom mesu, laboratorijsko ili tvornički uzgojeno meso mora se učinkovito proizvoditi i oponašati meso u svim njegovim fizičkim aspektima, kao što su vizualni izgled, miris, tekstura i, naravno, okus. To je težak izazov iako su razvijene i testirane sve tehnologije za stvaranje skeletnih mišića i masnog tkiva. Uzgojeno meso može pružiti mogućnost proizvodnje novih i zdravijih mesnih proizvoda. Meso *in vitro* drži velika obećanja kao alternativa tradicionalno proizvedenom mesu, ako se može prevladati skeptičnost potrošača. Konačno, znanje o etičkim i društvenim utjecajima uzgojenog mesa je manjkavo i potrebno je provesti mnogo istraživanja prije nego što se ova vrsta mesa može proizvesti u industrijskim razmjerima.

SUMMARY

Increasing public awareness of foodborne illnesses, factory farming, and the ecological footprint of the meat industry, has generated the need for animal-free meat alternatives. In the last decade, scientists have begun to leverage the knowledge and tools accumulated in the fields of stem cells and tissue engineering toward the development of cell-based meat (i.e., clean meat). In tissue engineering, the physical and biochemical features of the native tissue can be mimicked; cells and biomaterials are integrated under suitable culture conditions to form mature tissues. In order to serve as a credible alternative to livestock meat, lab or factory grown meat should be efficiently produced and should mimic meat in all of its physical sensations, such as visual appearance, smell, texture and of course, taste. This is a formidable challenge even though all the technologies to create skeletal muscle and fat tissue have been developed and tested. Culturing meat may provide opportunities for production of new and healthier meat products. *In vitro* meat holds great promises as an alternative to traditionally produced meat if consumer resistance can be overcome. Finally, knowledge is lacking with respect to ethical and

societal issues and a great deal of research must be performed before this kind of meat can be produced on an industrial scale.

LITERATURA

Ben-Aye T., Levenberg S. (2019) Tissue engineering for clean meat production.

Benjaminson M., Gilchrist J., Lorenz M. (2002) In-vitro edible muscle protein production system (MPPS): Stage 1, Fish. *Acta Astronautica* 51:879–889

Bogliotti, Y. S., Wu, J., Vilarino, M., Okamura, D., Soto, D. A., Zhong, C., et al. (2018) Efficient derivation of stable primed pluripotent embryonic stem cells from bovine blastocysts.

Bryant, C., Szejda, K., Parekh, N., Desphande, V. (2019) Survey of consumer perceptions of plant-based and clean meat in the USA, India, and China.

Burton, N. M., Vierck, J., Krabbenhoft, L., Bryne, K., and Dodson, M. V. (2000) Methods for animal satellite cell culture under a variety of conditions. *Methods Cell*.

Carrier RL, Rupnick M, Langer R, Schoen FJ, Freed LE, Vunjak-Novakovic G. Perfusion improves tissue architecture of engineered cardiac muscle.

Catts O., Zurr I. (2010) The ethics of experiential engagement with the manipulation of life. *Tactical biopolitics. Art, activism and technoscience.* MIT Press; Cambridge.

Chal, J., and Pourquié, O. (2017) Making muscle: skeletal myogenesis *in vivo* and *in vitro*.

Costales A., Gerber P., Steinfeld H. (2006) Underneath the livestock revolution. *Livestock report*, Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FAO (2006) *Livestock's long shadow - Environmental issues and options.* FAO publications.

FAO (2011) *World Livestock; Livestock in food security.* FAO publications.

Fayaz Bahat Z., Fayaz H. (2010) *Prospectus of cultured meat - advancing meat alternatives.*

Huang, Y., Das, A. K., Yang, Q.-Y., Zhu, M.-J., and Du, M. (2012) Zfp423 promotes adipogenic differentiation of bovine stromal vascular cells.

Hudson, N. J., Reverter, A., Greenwood, P. L., Guo, B., Cafe, L. M., and Dalrymple, B. P. (2015) Longitudinal muscle gene expression patterns associated with differential intramuscular fat in cattle.

Krieger, J., Park, B.-W., Lambert, C. R., and Malcuit, C. (2018) 3D skeletal muscle fascicle engineering is improved with TGF- β 1 treatment of myogenic cells and their co-culture with myofibroblasts.

Laestadius L., Caldwell M. (2015) Is the future of meat palatable? Perceptions of in vitro meat as evidenced by online news comments. *Public Health Nutrition.*

Mathews, K. H. J., i McConnell, M. (2011) U.S. beef and cattle industry.

Modulevsky, D. J., Lefebvre, C., Haase, K., Al-Rekabi, Z. & Pelling, A. E. (2014) Apple derived cellulose scaffolds for 3D mammalian cell culture. *PLoS ONE.*

Post M. (2013) Cultured burger press conference footage.

Post M. J. (2012) Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects.

Post M. J., Levenberg S., Kaplan D., Genovese N., Fu J., Bryant C. J., Negowetti N., Verzijden K., Moutsatsou P. (2020) Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat.

Specht, E. A., Welch, D. R., Rees Clayton, E. M., and Lagally, C. D. (2018) Opportunities for applying biomedical production and manufacturing methods to the development of the clean meat industry.

Stephens N., Di Silvio L., Dunsford I., Ellis M., Glenceoss A., Sexton A. (2018) Bringing cultured meat to market: Technical, socio-political, and regulatory challenges in cellular agriculture.

Internetski izvori

www.open.oregonstate.education (pristupljeno 17.7.2021.)

www.frontiersin.org (pristupljeno 18.7.2021.)

www.nature.com (pristupljeno 20.7.2021.)

www.ncbi.nlm.nih (pristupljeno 16.7.2021.)

www.semanticscholar.org (pristupljeno 12.7.2021.)