

Клеточное выращивание мяса: обзор предметного поля

С. А. Сухих¹, Е. В. Ульрих², С. Ю. Носкова¹, О. Б. Калашникова¹, О. О. Бабич¹

¹ Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, г. Калининград, Российская Федерация

² Калининградский государственный технический университет г. Калининград, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение: В свете нарастающего глобального демографического роста, мясная индустрия сталкивается с проблемами в обеспечении достаточного уровня производства мясных продуктов, чтобы удовлетворить возрастающий мировой спрос. В этом контексте растительные белки и другие альтернативные источники белка представляют собой перспективные варианты для устойчивой замены животных белков. Особое внимание в последнее время уделяется разработке культивируемого мяса.

Цель: комплексный анализ современного состояния и перспектив развития альтернативных источников белка, включая растительные белки и культивируемое мясо, в контексте глобальных вызовов, связанных с необходимостью удовлетворения возрастающего спроса на мясные продукты при одновременном снижении негативного воздействия на окружающую среду и обеспечении устойчивости продовольственных систем.

Материалы и методы: Источники подбирали в базах данных Scopus, Web of Science, PubMed. Из 187 источников, релевантных по ключевым словам, 79 соответствовали критериям включения. Обзор предметного поля опирался на протокол PRISMA-ScR.

Результаты: Воссоздание мясной ткани представляет сложность из-за её комплексной структуры, включающей разнообразные клетки, внеклеточный матрикс, белки, питательные вещества и факторы роста, что ставит перед современной тканевой инженерией и 3D-культурой тканей определённые вызовы. Клеточное сельское хозяйство, производящее агропродукцию из клеточных культур, требует добавления питательной среды для обеспечения необходимых условий для пролиферации, дифференциации и созревания клеток. Различные типы клеток, включая стволовые и сателлитные клетки, используются для создания культивируемого мяса, при этом ключевым аспектом является выбор клеток с высокой репродуктивной способностью.

Выводы: Выращивание мяса представляет собой технологический прорыв для мировой пищевой индустрии, предлагая решение проблем экологии, устойчивого развития, общественного здоровья и благополучия животных. Его широкое распространение в будущем ограничивается в основном недоступностью технологий, в то время как потенциальные потребители уже в значительной мере готовы принять эту инновацию.

Ключевые слова: культивируемое мясо, клеточная инженерия, мультипотентные мезенхимные стволовые клетки, растительное мясо

Корреспонденция:
Станислав Алексеевич Сухих
E-mail: SSukhikh@kantiana.ru

Конфликт интересов:
авторы сообщают
об отсутствии конфликта
интересов.

Поступила: 23.10.2023

Принята: 15.03.2024

Опубликована: 30.03.2024

Copyright: © 2024 Авторы



Для цитирования: Сухих, С. А., Ульрих, Е. В., Носкова, С. Ю., Калашникова, О. Б., & Бабич, О. О. (2024). Клеточное выращивание мяса: обзор предметного поля. FOOD METAENGINEERING, 2(1), 51-67. <https://doi.org/10.37442/2024.1.40>

Cellular Meat Cultivation: A Scoping Review

Stanislav A. Sukhikh¹, Elena V. Ulrikh², Svetlana Yu. Noskova¹, Olga B. Kalashnikova¹, Olga O. Babich¹

¹ Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

² Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction: Considering the increasing global demographic growth, the meat industry is facing challenges in ensuring a sufficient level of meat production to meet the increasing global demand. In this context, plant proteins and other alternative protein sources represent promising options for sustainable replacement of animal proteins. Special attention has recently been paid to the development of cultured meat.

Purpose: A comprehensive analysis of the current state and prospects for the development of alternative protein sources, including vegetable proteins and cultured meat, in the context of global challenges related to the need to meet the increasing demand for meat products while reducing the negative impact on the environment and ensuring the sustainability of food systems.

Materials and Methods: To write a review of the subject field, sources were selected in the databases Scopus, Web of Science, PubMed. Of the 187 keyword-relevant sources, 79 met the inclusion criteria. The review of the subject field was based on the PRISMA-ScR protocol.

Results: The reconstruction of meat tissue is difficult due to its complex structure, which includes a variety of cells, extracellular matrix, proteins, nutrients, and growth factors, which poses certain challenges to modern tissue engineering and 3D tissue culture. Cellular agriculture, which produces agricultural products from cell cultures, requires the addition of a nutrient medium to provide the necessary conditions for cell proliferation, differentiation, and maturation. Various cell types, including stem and satellite cells, are used to create cultured meat, with the key aspect being the selection of cells with high reproductive capacity.

Conclusions: Cultured meat has been a revolutionary technological advancement for the global food industry and has been seen as a potential answer to environmental, sustainability, public health and animal welfare concerns. The spread of cultured meat in the near future is limited only by the lack of available technologies, while widespread acceptance by potential consumers has almost been achieved.

Keywords: cultured meat; cell engineering; multipotent mesenchymal stem cells; plant-based meat

Correspondence:

Stanislav Alekseevich Sukhikh,
E-mail: SSukhikh@kantiana.ru

Conflict of interest:

The authors report the absence of a conflict of interest.

Received: 23.10.2023

Accepted: 15.03.2024

Published: 30.03.2024

Copyright: © 2024 The Author



ВВЕДЕНИЕ

В 2022 году глобальное население достигло отметки в 8 миллиардов человек, несмотря на пандемические вызовы и мировой экономический кризис, подчеркивая прогнозы о его росте до 11.2 миллиарда к 2100 году (Ong, 2020; Desa, 2015). Это предполагает значительное увеличение потребления мяса, особенно в странах с развивающейся и переходной экономикой, в то время как промышленное животноводство оказывает давление на биоразнообразие и климат (Campbell, 2017), а высокое потребление мяса связано с риском развития онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний (Willett, 2019). В контексте стремления к устойчивому развитию и минимизации экологического воздействия мясной промышленности, которая требует значительных ресурсов земли и воды для производства кормов, научное сообщество исследует альтернативные подходы к мясному производству. Один из таких подходов — клеточное мясо, представляющее собой технологию, потенциально снижающую негативное влияние на окружающую среду и улучшающую благополучие животных, предоставляя при этом возможности для удовлетворения растущего спроса на мясные продукты (Shepon, 2018; Desa, 2015). Клеточное выращивание мяса является новым современным направлением альтернативного производства съедобной мышечной ткани животных (т.е. мяса), который приобретает вполне реальные очертания благодаря достижениям в области биотехнологии, клеточной и тканевой инженерии.

Первые патенты на производство искусственного мяса и мясоподобных продуктов из клеточного сырья были получены в США Ансоном, Педером и Боэром в 1956–1963 гг. В последующие годы в США, Японии, Великобритании возникла новая промышленность, производящая самые разнообразные искусственные мясные продукты, например, жареное, заливное, молотое и другое мясо разных видов, мясные бульоны, котлеты, колбасы, сосиски и другие мясопродукты (Rogov, 2013).

Уровень развития науки и практики культивирования клеток, тканевой инженерии, биотехнологии к началу XXI века достиг достаточно высокого уровня, и идея создания культурального мяса почти одновременно стала

очевидной для многих зарубежных стран, таких как Нидерланды, США, Австрия, Великобритания, Индия, Канада и др. (Post, 2012; Schmidinger, 2012) и российских исследователей (Рогов, 2012), и представителей бизнеса. Первые исследования, проведенные в России под руководством академика РАСХН Иосифа Александровича Рогова, позволили предложить оригинальный способ накопления клеток мышечной ткани с использованием отечественных разработок¹. Представляет интерес продолжить исследования в данном направлении, используя в качестве источника для наращивания клеточной биомассы мультипотентные мезенхимные стволовые клетки, выделенные из костного мозга и жировой ткани крупного рогатого скота, т.к. стройной картины изучения проблематики пока нет.

В последние годы наблюдается рост количества исследований о приемлемости культивированного мяса потребителями, методах тканевой инженерии. Также большинство исследований в области культивированного мяса затрагивают моральную сторону этого вопроса. При этом остается малоизученным вопросы, связанные с развитием инновационной технологии производства культивированного мяса в России. Фрагментированные также являются знания в области стратегии получения культивированного мяса и особенностей потребления как культивированного мяса, так и продуктов на его основе (Ong, 2020; Willett, 2019; Arshad, 2017),

Основная задача данного обзора предметного поля заключается в детальном изучении текущего состояния и будущих возможностей альтернативных источников белка, таких как растительные белки и лабораторно выращенное мясо, в рамках решения глобальных задач. Последние включают удовлетворение растущего мирового спроса на мясо, минимизацию вредного влияния на окружающую среду и способствование устойчивому развитию продовольственных систем. Обзор нацелен на изучение передовых технологий в области производства альтернативного белка, анализ его влияния на экологию, экономику и общество, а также на исследование возможностей для интеграции этих инноваций в пищевую индустрию и рынок потребительских товаров.

¹ Рогов, И.А., Валихов, А.Ф., Демин, Н.Я., Кроха, Н.Г., Лисицын, А.Б., Семёнов, Г.В., Титов, Е.И., Тутельян, В.А., Рогов, С.И., & Эрнст Л.К. Пат. 2314719 Российская Федерация МПК7 C12N 5/06, А 23 L 1/31. Способ получения мясного продукта: заявитель и патентообладатель ФАО ГОУ ВПО Московский государственный университет прикладной биотехнологии. № 2006119540; заявл. 06.06.2006; опубл. 20.01.2008, бюл. №2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Протокол и заявление о прозрачности исследования

Обзор представляет собой прозрачный, точный и честный отчет о проведенном исследовании.

Критерии отбора

Объектами данного исследования являлись научные публикации российских и зарубежных авторов, касающиеся общих сведений и методов выращивания клеточного мяса в разных странах. В обзор предметного поля включены экспериментальные статьи, подходящие под критерии отбора. Критерии отбора в соответствии с Population, Concept, Context подходом представлены в Таблице 1.

Решение о включении или исключении публикации в обзор предметного поля принималось авторами на основе представленных критериев. Также дополнительным критерием являлось наличие доступа к полному тексту статьи. В случае отсутствия такого доступа полный текст работы запрашивался у авторов, если авторы работ не предоставляли доступ к тексту, то работа исключалась из обзора.

Стратегия поиска источников

Исследование литературы по теме культивированного мяса и связанных с ним аспектов проводилось через анализ публикаций в базах данных Scopus, Web of Science, PubMed, РИНЦ. Временной интервал охватывает период с начала 2005 года, когда появилась первая публикация по данной тематике, до середины 2023 года. Для анализа были отобраны обзорные и экспериментальные статьи, доступные в открытом доступе в Интернете и освещающие вопросы культивированного мяса, источников клеток для его производства, а также научные публикации, посвященные обоснованию актуальности данной темы, изучению свойств и механизмов различных методов клеточного выращивания мяса и определению перспективных направлений исследований в этой области. Особое внимание было уделено работам, опубликованным за последние пять лет в рецензируемых научных журналах с высоким индексом цитирования, на английском и русском языках. Кроме того, в анализ включены материалы конференций и главы из научных книг. В PubMed проведён дополнительный поиск публикаций за период 2005–2023 гг., используя ключевые слова, такие как культивированное мясо, клеточная инженерия, мультипотентные мезенхимные стволовые клетки, растительное мясо и виды клеточного выращивания мяса.

Таблица 1

Критерии отбора источников

Критерий	Включено	Исключено	Причины
Концепция	Исследования, описывающие особенности потребления мяса, методы культивирования клеток для производства мясных культур	Исследования, не затрагивающие предметное поле исследований	Комплексный анализ современного состояния и перспектив развития методов получения альтернативных источников белка, включая растительные белки и культивированное мясо
Контекст	Исследования, направленные на развитие технологии производства культивированного мяса в России	Исследования, направленные на развитие технологии производства культивированного мяса в других странах	Наблюдается дефицит производства пищевого белка, в следствии стагнации скотоводства и снижения покупательской способности населения
Язык	Русский, английский	Все, кроме русского и английского	В связи с наибольшей доступностью статей на русском и английском языках
Временной период	до 01.07.2023	после 01.07.2023	Статьи были ограничены по временному так как в литературных источниках до 1990 года не обнаруживаются опубликованные обзоры по заданной теме
География	Развитые страны	Страны со слаборазвитой экономикой, невысоким уровнем жизни	В развитых странах наблюдается внедрение передовых технологий

Отбор источников

Результаты поиска анализировали и отбирали в соответствии с протоколом PRISMA-ScR. На первом этапе отбора научной литературы в рамках предметного поля исключали научные публикации из-за отсутствия доступа к полному тексту, а также исключали труды конференций, в силу фрагментированной информации. На втором этапе проводили скрининг с целью выявления публикаций с дублирующей информацией. В случае обнаружения — дубликаты исключались. Далее осуществляли анализ источников по названию и содержанию аннотаций. На последнем этапе проводили скрининг полного текста научных публикаций предыдущего этапа. Отобранные в результате многоэтапного скрининга научные публикации были включены в обзор предметного поля.

Извлечение и анализ данных

Из отобранных работ была извлечена следующая информация: имена авторов и информация о странах происхождения, цель и дизайн исследования, выводы, год публикации. Все включенные в обзор были проанализированы авторами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты поиска и процесс отбора

Из баз данных Scopus, Web of Science, PubMed, РИНЦ по первичному поисковому запросу были отобраны 187 потенциально приемлемых источника (Рисунок 1). Среди этих публикаций до начала исследований было исключено 16 публикаций: 6 — из-за отсутствия доступа к пол-

Рисунок 1

Процедура отбора источников для составления обзора предметного поля по PRISMA-ScR



ному тексту после запроса у авторов, 10 — из-за жанра публикации (труды конференций не включались в обзор). Далее скринингу было подвергнуто 152 работы, 30 из которых были исключены как дублирующие.

После анализа названий и аннотаций было исключено еще 4 исследования. В ходе дальнейшего скрининга полного текста статей, из 137 оставшейся статьи было исключено еще 58. В итоге в обзор предметной области было включено 79 исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Большинство отобранных публикаций являлись экспериментальными работами. Отобранные исследования были опубликованы в период с 2000 по 2023 год, из них 60,7% статей было опубликовано в последние 5 лет. Наибольшее количество работ было опубликовано в 2019 году — 21,5%.

Особенности потребления культивированного мяса

К 2050 году глобальное население достигнет 10 миллиардов человек, что потребует удвоения производства белка (Godfray, 2019). Несмотря на то, что мясо служит распространенным источником белка, традиционные методы его производства характеризуются высокой степенью неустойчивости (Godfray, 2019). В свете этого возникает насущная потребность в поиске альтернативных источников белка для обеспечения продовольственной безопасности в обозримом будущем. Альтернативные белки, в числе которых растительные белки, микопротеины, белки насекомых и продукты, полученные с помощью клеточного синтеза, представляют собой направление к сокращению зависимости от продуктов животного происхождения (Sexton, 2019). Клеточное сельское хозяйство, представляющее собой производство сельскохозяйственных продуктов на основе клеточных культур, отличается от других видов альтернативного производства белка стремлением создавать продукты, «биологически эквивалентные» традиционным изделиям животноводства (Allan, 2019; Bhat, 2019; Stephens, 2018). Последние годы отмечены возрастающим интересом к производству мяса на клеточной основе (National Academies of Sciences, 2017), обусловленным восприятием таких продуктов как более здоровой, экологически чистой и устойчивой альтер-

нативы существующим методам сельскохозяйственного производства (Shepon, 2018). Стартапы и исследовательские группы достигли значительного прогресса в разработке клеточных линий, оптимизации условий культивации (Ding, 2018), создании съедобных каркасов (Enrione, 2017), разработке производственных платформ (Fish, 2020) и представлении прототипов продукции для дегустации (O'Riordan, 2017). Некоммерческие организации, включая Good Food Institute (GFI) и New Harvest, провели ряд научных исследований, а также организовали конференции и встречи для обсуждения социальных последствий, экономической осуществимости и вопросов регулирования безопасности продуктов питания на клеточной основе (Waschulin, 2018). Исследования, посвященные анализу потребительского восприятия, указывают на необходимость улучшения текстурных характеристик мяса на клеточной основе (Bhat, 2019; Szejda, 2018).

Растительное и культивированное мясо — это две важные технологии, которые могут удовлетворить потребительский спрос на мясо, избегая при этом этических, экологических проблем и проблем общественного здравоохранения, связанных с традиционным производством мяса (Bryant, 2021; Ismail, 2020). Однако белковые продукты на растительной основе содержат недостаточное количество незаменимых аминокислот и микроэлементов, из-за того, что создать продукт, имитирующий питательную ценность мяса, сложнее (Fraeye, 2020).

Различные стволовые клетки, включая мышечные стволовые клетки (также известные как сателлитные клетки) или эмбриональные стволовые клетки, могут использоваться для производства культивированного мяса. Культивирование мышечных стволовых клеток можно разделить на две фазы: пролиферацию и дифференцировку (Tuomisto, 2019). Фаза пролиферации предназначена для достижения максимального числа клеток (Dupont, 2020). В фазе дифференцировки мышечные стволовые клетки подвергаются миогенезу, во время которого мышечные стволовые клетки развиваются в клетки скелетных мышц (Bryant, 2018, Crosser, 2020, Reiss, 2021).

Несмотря на достижения в тканевой инженерии и трехмерной культуре тканей, воспроизвести мясную ткань сложно из-за сложного расположения различных клеток, внеклеточного матрикса, белков, питательных веществ и факторов роста (Ding, 2018, Handral, 2020). Очевидно, что осведомленность и опыт дегустации

увеличили бы шансы на признание культивированного мяса, и информация о личных преимуществах культивированного мяса стала бы более приемлемой, чем качество и вкус. В недавнем опросе 58% респондентов заинтересованы платить больше за культивированное мясо, и в среднем 37% респондентов готовы рассматривать цену на обычное мясо для выращивания культивированного мяса (Morais-da-Silva, 2022, Weinrich, 2020).

Исследование, проведенное Weinrich et al. (2020), показало, что более половины (57%) немецких потребителей открыты к пробе культивированного мяса, при этом треть из них (30%) готовы включить его в свой регулярный рацион. В сравнении, бельгийские потребители продемонстрировали более низкую готовность к акцептации культивированного мяса, с диапазоном от 23.9% до 42.5%, в зависимости от полученной информации. Также, Mancini и Antonioli (2019) выявили, что 54.5% итальянских потребителей выразили интерес к испытанию культивированного мяса.

Изучение факторов, влияющих на приемлемость культивированного мяса, выявило различные подходы в исследованиях. В целом, среди ключевых тенденций были выделены пищевая неофобия и отвращение к пище, играющие значительную роль в определении готовности к потреблению культивированного мяса. Помимо этого, было отмечено, что возраст и пол могут оказывать влияние на акцептацию культивированного мяса в одних исследованиях (Morais-da-Silva, 2022), тогда как в других эти факторы не имели значимого воздействия на предпочтения потребителей (Mancini, 2019). Кроме того, уровень образования не влиял на готовность участников к покупке культивированного мясного бургера (Wilks, 2019) или их интерес к употреблению культивированного мяса (Slade, 2018), что указывает на сложность факторов, влияющих на потребительские предпочтения в отношении новых продуктов питания.

Методы клеточного выращивания мяса

Процесс выращивания тканевого мяса начинается с приобретения желаемых типов клеток или тканей. Поскольку зрелые клетки скелетных мышц не обладают способностью к пролиферации, стволовые клетки (мезенхимальные) являются наиболее распространенным первичным источником миопрогениторов. Несмотря на наличие некоторых ограничений в отношении их регенерационного потенциала, который связаны только

с незначительными повреждениями (Witt, 2017), регенеративные способности этих стволовых клеток (сателлитных клеток) и их потенциал к пролиферации и дифференцировке представляют собой важную основу для инженерии ткани скелетных мышц (Shepon, 2018).

Различные типы клеток, в частности стволовые клетки, могут использоваться в качестве источника материала для производства клеточного мяса (Crosser, 2020, Warner, 2019). Для роста клеток в культуре необходимы питательные вещества, подобные клеткам живой ткани. В отсутствие кровоснабжения, обеспечивающего питательные вещества (и удаляющего отходы), клетки погружаются в культуральную среду, которая обеспечивает важные питательные вещества и факторы роста. Факторы роста, необходимые для пролиферации, дифференциации и созревания, обычно предоставляются путем добавления от 10% до 20% питательной среды (Stephens, 2018).

Среда для культивирования должна быть разработана таким образом, чтобы обеспечить высокую скорость роста клеток не только с соответствующим уровнем питательных веществ, но и с соответствующими миогенными регуляторными факторами роста и гормонами (Rubio, 2019). Следует отметить, что пролиферация (увеличение количества клеток) возможна только на стадии сателлитных клеток и стадии мононуклеарных миобластов (Stephens, 2019). Миотрубки (многоядерные слитые миобласты) и миофибры (многоядерные зрелые мышечные клетки) не пролиферируют и, следовательно, важна экстенсивная и быстрая пролиферация на стадиях стволовых клеток и миобластов (Weinrich, 2020). Традиционно стволовые клетки культивируются в среде, содержащей питательные вещества и сыворотку эмбриона быка, и точный состав этой сыворотки не определен (Handral, 2020, Morais-da-Silva, 2022). Культивирование клеток *in vitro* обычно проводится в асептической среде из-за риска заражения, которое может привести к бактериальному заражению и гибели клеток (Mancini, 2019). Бензоат натрия — распространенный консервант, добавляемый в мясные продукты (Allan, 2019). Кроме того, антибиотики часто добавляют в среду для выращивания клеток в долгосрочной культуре, чтобы предотвратить заражение бактериями (O’Riordan, 2017). В патентах на промышленное производство мяса на основе клеток указывают, что процесс будет осуществляться без антибиотиков (или гормонов) (Slade, 2018).

Первым шагом в рабочем процессе производства мясных культур является поиск клеток, что может быть

С. А. Сухих, Е. В. Ульрих, С. Ю. Носкова, О. Б. Калашникова, О. О. Бабич

достигнуто двумя способами (Witt, 2017). Существует несколько подходов к производству культивируемого мяса с различными типами клеток исходного сырья (эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и сателлитные клетки (СК))¹. Сателлитные клетки, также называемые стволовыми мышечными клетками крупного рогатого скота, кажутся наиболее простыми и подходящими кандидатами для этой цели (Eibl, 2021). Это мононуклеарные клетки, которые можно найти между базальной мембраной и сарколеммой близлежащих мышечных волокон в скелетных мышцах млекопитающих. Они участвуют в регенерации скелетных мышц и обладают способностью размножаться, сохраняя при этом свои стволовые свойства (Thorrez, 2019). Когда активируются определенные сигнальные пути, они могут дифференцироваться в мышечные клетки (Burton, 2000). В настоящее время требуется всего несколько миллиграммов мышц, чтобы изолировать достаточное количество клеток для начала культивирования (Reiss, 2021).

3D-печать культивированного мяса — это новая технология (Crosser, 2020). Несмотря на отсутствие доказа-

тельств устойчивости выращивания мяса (Ismail, 2020), 3D-печать выращенного мяса, несомненно, обеспечивает гибкость мясных продуктов, поскольку они могут быть изготовлены с питательной ценностью для определенных групп потребителей и создавать уникальные текстуры и формы (Handral, 2020).

3D-печать сложна и отличается от выращивания одного только мяса, поскольку она печатает мышечные клетки, жировые клетки и даже поддерживающие клетки внеклеточного матрикса внутри каркаса, который поддерживает рост и пролиферацию клеток (Helliwell, 2021). После процесса печати мясо будет подвергаться дальнейшей выдержке, обычно в биореакторах, обеспечивающих транспортировку питательных веществ. Напротив, только выращенное мясо (без 3D-печати) производится путем размножения мышечных клеток и прикрепления их к каркасу или носителю перед переносом в подходящий биореактор со средой для выращивания (Kikuchi, 2018). Возможности этого метода по своей природе ограничены, поскольку невозможно производить мясо с высокой структурой, такое как стейки¹. Характеристики описанных методов представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Достоинства и недостатки методов клеточного выращивания мяса.

Метод клеточного выращивания мяса	Достоинства	Недостатки	Источники
Из стволовых клеток in vitro	Способность к полиферации и дифференцировке	Низкий регенерационный потенциал	(Handral, 2020, Ismail, 2020)
Из мышечных клеток in vitro	Рост на культуральных средах, которые обеспечивают клетки питательными веществами и факторами роста	Невозможность совместного культивирования	(Crosser, 2020, Warner, 2019)
Из жировых клеток in vitro			(Morais-da-Silva, 2022)
Из соединительной ткани in vitro			(Morais-da-Silva, 2022)
Из сателлитных клеток in vitro	Содержат миотрубки и миофибры — многоядерные зрелые мышечные клетки	Низкая полиферация	(Godfray, 2019, Willett, 2019)
Из резистентных клеток в биореакторе	Способность к дифференцировке	Низкая полиферация	(Slade, 2018, Warner, 2019)
Из мононуклеарных клеток in vitro	Участие в регенерации скелетных мышц	Излишне быстрая дифференцировка	(Bonny, 2015)
Методом 3D-печати	Быстрая печать клеток, хорошая полиферация	Невозможность производить мясо со сложной структурой	(Bonny, 2015, Bryant, 2021, Morais-da-Silva, 2022)

¹ Plant-based and cell-cultured 'meat' labeling under attack in 25 states. <https://www.foodnavigator-usa.com/Article/2019/05/29/Plant-based-and-cell-cultured-meat-labeling-under-attack-in-25-states>

Источники клеток для производства мясных культур

Методика создания культивируемых мышечных тканей из стволовых клеток была описана давно, но еще не разработана для коммерческого производства культивируемых мясных продуктов (Shaikh, 2021). Последние достижения в технологиях культивирования тканей позволяют предположить, что производство может быть экономически целесообразным при условии, что его продукты переработки повторяют физические свойства с точки зрения цвета, вкуса, аромата, текстуры и вкусовых качеств, сравнимые с обычным мясом (Hoang, 2016, Warner, 2019).

Для производства клеточного мяса необходимо идентифицировать и получать клетки с большой способностью к размножению. В идеале эти клетки обладают способностью к самообновлению и могут бесконечно продолжать делиться, в этом и заключается первая проблема. Миогенез начинается после формирования эмбриона, продолжается на протяжении всей жизни плода и в основном завершается при рождении (Szejda, 2018). При рождении все мышечные клетки (волокна) в мышечной ткани полностью сформированы, при этом основные изменения во время роста и созревания животного заключаются в изменении ширины мышечных клеток (гипертрофия) и некоторых типов мышечных волокон (Tomiyama, 2020). Мышечные волокна многоядерные, являются результатом слияния одноядерных миобластов. В ткани скелетных мышц животных миосателлитные стволовые клетки располагаются сразу за мышечной клеткой, между сарколеммой и базальной мембраной и обычно находятся в состоянии покоя (не делятся) (Warner, 2019). При стимуляции, например, при повреждении мышечных клеток, эти сателлитные клетки могут делиться и давать новые ядра. Эти новые ядра, однажды сформировавшись, затем переносятся из внеклеточного во внутриклеточное пространство мышечной клетки. Большая часть миогенеза происходит во время развития эмбриона и плода, но миогенез также может происходить за счет привлечения миосателлитных клеток для регенерации мышц после травмы или в качестве адаптации к рабочей нагрузке (Ven Arye, 2019, Vodiu, 2020). По мере старения организма регенеративный потенциал популяции миосателлитов быстро снижается, отсюда и предпочтение собирать миосателлитные клетки у новорожденных животных (O'Neill, 2021).

Процесс производства культивируемого мяса начинается с иссечения небольшого кусочка ткани у живых животных, что делается с помощью небольшой биопсии под анестезией. Культивирование клеток скелетных мышц из сателлитных клеток может осуществляться в фазах пролиферации и дифференцировки (Bryant, 2021). Вкратце, на стадии пролиферации стволовые клетки сначала отделяются от тканей, а затем клетки развиваются в другую новую мышечную ткань. Как правило, сами стволовые клетки обладают способностью к самообновлению, так что они могут создавать новую мышечную ткань самостоятельно при наличии доступных факторов роста (Wilks, 2019). Клетки культивируются в определенных жидких средах, содержащих некоторые определенные питательные вещества (в зависимости от вида клеток и типа ткани), которые обеспечивают условия, необходимые для роста тканей. Процесс пролиферации удваивает популяцию за 7–8 недель, и этот процесс продолжается в биореакторах до тех пор, пока не будут произведены триллионы клеток (Stephens, 2018).

Стадия дифференцировки наступит, когда будет произведено достаточное количество клеток. Клетки-сателлиты дифференцируются, когда в среде отсутствуют факторы роста (Crosser, 2020). Затем клетки сливаются и естественным образом образуют мышечные трубки. Впоследствии они будут погружены в коллагеновый гель с центральной втулкой, расположенной в середине чашки для культивирования, для образования мышечного волокна в форме пончика диаметром 1 мм. Врожденная склонность мышечных клеток к сокращению является мощным стимулом для созревания мышц и производства белка. На производство этого мышечного волокна уходит всего три недели, а для приготовления 85 г гамбургера потребуется 10,000 мышечных волокон (Stephens, 2018). Это культивируемое мясо считается более безопасным, чем другие виды мясных аналогов, поскольку оно не содержит аллергенных веществ, таких как мясо на растительной основе. Более того, здоровое мясо можно получить, заменив насыщенные жирные кислоты полезными полиненасыщенными жирными кислотами. Однако удаление фетальной бычьей сыворотки и антибиотика из культуральной среды необходимо для того, чтобы культивируемая говядина стала устойчивой и приемлемой ((Stephens, 2018).

Существует два возможных источника клеток для производства мяса *in vitro*: первичные клетки, выделенные

С. А. Сухих, Е. В. Ульрих, С. Ю. Носкова, О. Б. Калашникова, О. О. Бабич

из исходной ткани, или установленные клеточные линии, полученные непосредственно из нативной опухолевой ткани или искусственно созданные из первичных клеток *in vitro* (Burton, 2000). Последнее может быть достигнуто двумя способами. Типичная стратегия включает генетическую или химическую индукцию, которая перепрограммирует клетки для неограниченной пролиферации (Willett, 2019). Другой метод — отобрать клетки, прошедшие спонтанную трансформацию и ставшие бессмертными, а затем продолжить культивирование только выбранных субклонов (Burton, 2000). Эти иммортализованные клетки (т.е. непрерывные клеточные линии) уже оказались полезным альтернативным источником свежих образцов тканей, и они могут быть ценными инструментами для увеличения скорости пролиферации и дифференцировки (Burton, 2000, Rorheim, 2016).

Тем не менее, поскольку они претерпели значительные мутации, чтобы стать бессмертными, потенциальные последствия этих процессов необходимо оценивать с особой осторожностью. Более того, эти клетки могут генетически изменяться в течение нескольких пассажей, что приводит к фенотипическим различиям между изолятами и потенциально ошибочной идентификации. Одно общее ограничение также может заключаться

в том, что они не всегда являются репрезентативными для первичных клеток. Например, они могут показывать разные темпы роста; следовательно, данные ячеек следует интерпретировать с осторожностью (Burton, 2000).

Сравнительные характеристики описанных в исследованиях ученых методов клеточного выращивания мяса представлены в Таблице 2.

Развитие технологии производства культивированного мяса в России

Поскольку рыба и биоресурсы являются важнейшими в питании населения России, рыбная и мясная промышленность еще долгие годы будет являться одной из важнейших составляющих пищевой отрасли. В то же время развитие технологий вплотную приблизило Россию к той черте, за которой самостоятельное восстановление биоресурсов будет невозможно, если человечество продолжит потреблять их в тех же объемах. Настало время думать не только о том, как увеличить использование биоресурсов (в основном, мяса и рыбы), но и о том, как их преумножить и сохранить (Onwezen, 2020).

В России, как и в других развивающихся странах, существует дефицит производства пищевого белка, причи-

Таблица 2

Сравнительные характеристики описанных в исследованиях ученых методов клеточного выращивания мяса

Метод клеточного выращивания мяса	Достоинства	Недостатки	Источники
Одновременное выращивание всех типов клеток и управление ими	Получение полноценного мяса с высокой структурой	Усложняет целевой продукт, увеличивает технические проблемы его производства	(Specht, 2018)
Сателлитные клетки	Используются для регенерации мышц после травмы или в качестве адаптации к рабочей нагрузке	Сложные процессы выделения, культивирования и поддержания высококачественной популяции, быстрое старение	(Hoang, 2016, Lynch, 2019)
Миобласты, миоциты	При повреждении мышечных клеток, эти клетки могут делиться и давать новые ядра	Необходимость сеять, поливать, удобрять, собирать и обрабатывать клетки, забивать	(Godfray, 2019, Lynch, 2019, Willett, 2019)
Стволовые клетки	Способность развиваться во множество различных типов клеток в организме, и все стволовые клетки могут самообновляться	Низкая дифференцировка	(Lynch, 2019, Rorheim, 2016)
Адипоциты и фибробласты	Устойчивость культивированного мяса, все процессы протекают как внутри клетки	Невозможность совместного культивирования	(Bryant, 2021, Crosser, 2020, O'Neill, 2021)
3D-печать	Быстрая печать клеток, хорошая полиферация	Невозможность производить мясо с высокой структурой	(Chriki, 2020, Gholobova, 2018, Ismail, 2020, Morais-da-Silva, 2022)

нами которого являются последствия продолжавшейся почти двадцать лет стагнации скотоводства и снижение покупательской способности населения. На каждого жителя страны в 2013 г. Было произведено около 15.5 кг белка при норме 20.4 кг в год. За последние годы происходит удорожание производства полноценных белков в России (в 3–6 раз), основным поставщиком которого является животноводство и птицеводство. Проблему сокращения дефицита полноценного белка возможно решить благодаря созданию альтернативных методов его получения (Lisitsyn, 2019).

Первые исследования, проведенные в России, позволили предложить оригинальный способ накопления клеток мышечной ткани (Lisitsyn, 2019). В развитие полученных результатов учеными Московского государственного университета пищевых производств, Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко, Всероссийского научно-исследовательского института мясной промышленности им. В. М. Горбатова Россельхозакадемии были продолжены научно-исследовательские работы по созданию перспективных методов получения культурального мяса и формированию молодых научных кадров, способных работать на стыке таких наук как биология, биотехнология, технология мяса и мясных продуктов, клеточная и тканевая инженерия.

В настоящее время путем направленной миодифференцировки мультипонентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) *in vitro* получена биомасса, состоящая из клеток мышечной ткани. Для этих целей из костного мозга (КМ) и жировой ткани (ЖТ) крупного рогатого скота (КРС) были выделены и охарактеризованы клеточные популяции с фенотипом, подобным ММСК. Установлено, что ММСК, выделенные как из КМ, так и из ЖТ КРС, способны формировать клетки жировой, костной и мышечной тканей при культивировании в индукционных средах *in vitro* (Gholobova, 2018, Lisitsyn, 2019). Полученная биомасса клеток мышечной ткани представляет интерес, прежде всего, как источник полноценного белка (Kenigsberg, 2020).

Петровым и др. (Petrov, 2017) проведены исследования, в результате которых разработан экспериментальный образец биореактора для получения мяса *in vitro* как полноценного белка и экспериментальный образец системы управления им, создана система для управления технологическим процессом получения мяса *in vitro* как полноценного белка в биореакторе. Предложенное техни-

ческое средство для культивирования стволовых клеток в двухкамерном устройстве обеспечивает оптимальные параметры для их роста в автоматизированном режиме и предназначено для использования в исследовательских лабораториях, ветеринарии, животноводстве, биотехнологической промышленности, а также в медицине.

В России на федеральном уровне большое внимание уделяется изучению биологии ММСК человека и их использованию в качестве биомедицинского клеточного продукта (Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах»). В свою очередь, исследование культур ММСК различных видов животных, в том числе сельскохозяйственных, способствует разрешению многих вопросов, связанных со стандартизацией протоколов получения и культивирования данных клеток для использования в доклинических исследованиях регенеративной медицины. Создание новейших материалов в сочетании с уникальными свойствами ММСК также обеспечивает возможность осуществления достижений в области различных отраслей биотехнологии, регенеративной, ветеринарной медицины, а также углубления и расширения уже накопленных знаний (Zhang, 2020).

ММСК, выделенные из КМ и ЖТ КРС, депонированы в Специализированную Коллекцию перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных при ГНУ ВИЭВ Россельхозакадемии (СХЖ РАСХН) под №79 и №80, соответственно. Получено положительное решение о выдаче патентов РФ по заявкам № 2011149133/10 (073706) и № 2011149132/10 (073705) от 02.12.2011 г. Представленная научно-исследовательская работа закладывает основы будущей биотехнологии получения мяса *in vitro* в промышленном масштабе. Методика получения и культивирования ММСК сельскохозяйственных животных отработана и используется в секторе стволовой клетки ГНУ ВИЭВ Россельхозакадемии, а также на кафедре «Технология мяса и мясных продуктов» ФГБОУ НПО МГУПП в научно-исследовательской работе (Zhang, 2020).

В конце 2019 года в России вырастили искусственное мясо. Разработкой занимался Очаковский комбинат пищевых ингредиентов. Полученные 40 грамм говядины из чашки Петри экспериментаторы оценили в 900 тыс. рублей. При растущем спросе на культивированное мясо в России планируется, что к 2025 году лабораторная говядина появится в магазинах по приемлемым ценам (Rudenko, 2022).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оценка литературных источников показала, что перспективность идеи создания культивированного мяса была известна многим зарубежным и российским исследователям и представителям компаний практически одновременно. Поэтому в июне 2007 года состоялся международный семинар по производству искусственного мяса с участием ученых из Норвегии, Германии, Израиля, Голландии, Португалии и Бельгии. Журнал *Time* назвал производство клеточного мяса одной из 50 прорывных идей XXI века (Dupont, 2022).

Исследования современной литературы показали, что рост мирового производства натурального мяса будет усугублять связанные с этим проблемы, такие как неэффективное использование энергии, труда, кормов и воды на единицу продукции (Carper, 2011). Кроме того, известно, что будет увеличиваться и экологическая нагрузка. Выбросы будут увеличивать загрязнение почвы, воды и воздуха, а выращивание кормовых культур будет увеличиваться за счет вырубки лесов (Cederberg, 2011). Кроме того, чрезмерное потребление мяса и животных жиров может привести к сердечно-сосудистым, желудочно-кишечным и онкологическим заболеваниям, в итоге ухудшающим качество жизни людей и потенциально приводящим к смерти (Clemente-Suárez, 2023). Нельзя исключать токсические инфекции и отравления, связанные с употреблением мяса, а также появление штаммов бактерий, устойчивых к антибиотикам (Marlow, 2009).

Современное состояние мировой продовольственной проблемы обусловлено, прежде всего, крайне неравномерным распределением производства и потребления продуктов питания между различными регионами, странами и группами населения мира. Более 60% населения мира испытывает хронический дефицит полноценного животного белка. В условиях современной научно-технической революции люди пытаются решить проблемы питания за счет повышения продуктивности животноводства, птицеводства и рыболовства, а также за счет совершенствования технологий переработки существующего сырья и более эффективного его использования (FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO, 2023). Однако, неизбежно будут разработаны новые методы и способы получения полноценных животных белков. Эти методы включают в себя новые методы культивированной *in vitro* мышечной ткани из клеток домашнего скота. Новые методы производства клеточного мяса помогут

преодолеть вышеупомянутые противоречия, присущие традиционным технологиям (Balasubramanian, 2021).

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что производство клеточного мяса занимает минимальные производственные площади, не трудоемко и совершенно не зависит от климатических, географических и сезонных факторов (Rodríguez, 2021). Технологии клеточного выращивания позволяют производить разнообразную искусственную мясную продукцию, в том числе продукты детского, лечебного и профилактического питания. Потребление и свойства культивированного мяса также можно широко регулировать, например, путем изменения параметров технологического процесса. Преимуществом является стандартизация сырья, состава, структуры, технологии и потребительских характеристик клеточных мясных продуктов, позволяющая исключить ручной труд на производстве, автоматизировать его и наладить рынок сбыта. Например, при производстве искусственных мясных продуктов (без туш, излишков жировой ткани и костей) обвалка не обязательна, а использование отходов, контроль качества, сортировка и т.д. со временем становятся ненужными, что является привлекательным для квалифицированных сотрудников и бизнеса. Авторами обзора установлено, что использование клеточного мяса и мясных продуктов значительно снизит затраты и облегчит организацию снабжения и питания в районах, где традиционное производство, распределение и хранение продуктов питания затруднено (Treich, 2021). При этом учитывается автоматическая упаковка искусственных мясных продуктов, удобство хранения и транспортировки сырья, удобство организации питания работников в отдаленных районах Севера, в море и в космосе. Основываясь на этом обзоре, мы хотели бы отметить, что взаимосвязь между традиционными и новыми методами производства мяса — это не противостояние, а, скорее, одновременное и дополняющее развитие и использование (Dupont, 2022; Awang, 2023).

Обзор позволил изучить исследования в этой области, которые были направлены на получение клеточно-выращенных продуктов, имитирующих традиционные изделия из рубленого мяса (технология сравнительно проста, продукты дешевы и удобны для использования) и нерубленые мясопродукты волокнистой структуры, т.е. одну из наиболее дорогих форм пищи (Treich, 2021).

Показано, что культивированное мясо благодаря быстрому развитию методов клеточной инженерии, ста-

новится новым способом получения богатых белком продуктов животного происхождения. В настоящее время это мясо не является заменой традиционного мяса животных. Это становится перспективным новым направлением на стыке многих дисциплин. Конечным результатом исследований в области производства мяса *in vitro* является производство мышечной ткани из клеток крупного рогатого скота (Awang, 2023).

Анализируя литературу по этой теме, выяснилось, что авторы публикаций выделяют примерно девять групп ученых во всем мире, работающих над проблемой производства, культивированного мясного. Голландские ученые ведут дальнейшие успешные исследования в этом направлении. Они активно представляют свои исследования в научной литературе, представляют результаты на телевидении и в интернете. Правительство Голландии также предоставляет мощную финансовую поддержку для развития направлений культивирования клеточного мяса. В 2023 году на научные и практические разработки выделено около 2 миллионов евро (Santos, 2023). Современные исследования клеточного мяса в США выросли из экспериментов NASA, где ученые уже давно пытаются найти лучшие способы питания космонавтов. До настоящего времени обширные исследования по этому вопросу проводились под руководством профессора В.А. Миронова из медицинского университета в Южной Каролине и профессора МакФарланда из университета Южной Дакоты США (Edelman, 2005). В России по данным Московского государственного университета пищевых производств и Всероссийского научного центра экспериментальной ветеринарной медицины имени Ю.П. Коваленко РАСХН, под руководством академика РАСХН И.А. Рогова ведутся научные работы по изучению способов получения культивированного мяса (Рогов, 2012).

В Голландии над темой создания культивированного мяса работают ведущие учёные страны. Среди основных можно отметить команду учёных под руководством Марка Поста (Маастрихтский Университет). Этими вопросами также занимаются ученые под руководством профессора Утрехтского университета Хенка Хаагсмана и под руководством профессора Эдельмана (Университет Вагенингена). Интересно отметить, что ученые группы профессора Эдельман тесно сотрудничают по этому вопросу с университетами Южной Дакоты и Южной Каролины. Например, в университете Утрехта ведутся работы с культурами клеток, в том числе стволовыми,

а в университете Эйнховена разрабатываются биореакторы для наращивания культурального мяса в больших масштабах (Hong, 2021).

Согласно анализу литературных источников, в настоящее время существует несколько вариантов получения культивированного мяса (Basile, 2010). Первый вариант — выращивание клеток мышечной ткани животных или рыб в коллагеновой матрице и на питательной среде с добавлением бычьей сыворотки в чашках Петри или цилиндрическом контейнере. Второй вариант — получить большое количество клеток мышечной ткани (в ферментере) с внесением дополнительного количества аминокислот, витаминов и других питательных веществ (Awang, 2023). Третий вариант — монослойное культивирование миобластов в среде, содержащей фунгизон. Сутью этого подхода является дифференциация фибробластов, которые обычно встречаются в культурах миобластов и мешают процессу их дифференцировки. Полученные миобласты помещают в индукционную среду, и миотубы начинают формироваться через 6–8 дней (Lee, 2021).

Основная проблема выращивания клеточного мяса — выбор типа клеток, оценка их преимуществ и недостатков. Это могут быть эмбриональные клетки, клетки-сателлиты, стволовые клетки мышечной ткани взрослых животных или стволовые клетки головного мозга. Стволовые клетки являются перспективными из-за их способности делиться бесконечно и генерировать множество клеток различных тканей животных *in vitro*. Способность эмбриональных стволовых клеток к самостоятельному воспроизводству не ограничена. Они могут дифференцироваться и образовывать клетки любых мышечных тканей *in vitro* (Shaikh, 2021).

Однако наш обзор не охватил всего объема существующих проблем с эмбриональными стволовыми клетками для производства мяса, которые включают в себя риск неконтролируемой пролиферации и дифференцировки, а также этические вопросы об использовании этого типа клеток. Необходимо также осветить проблемы использования собственных стволовых клеток мышечной ткани — сателлитных клеток, заключающуюся в том, что они запрограммированы на направленную дифференцировку только в клетки мышечной ткани. У данного типа клеток ограниченный пролиферативный потенциал, а также они способны дифференцироваться только в один тип клеток. В последующих работах необходимо изучить прогнозируемое учеными большое будущее

С. А. Сухих, Е. В. Ульрих, С. Ю. Носкова, О. Б. Калашникова, О. О. Бабич

для мезенхимных стволовых клеток в связи с их основными свойствами и признаками. Объем и задачи данного обзора не позволили также обсудить проблему спонтанной дифференцировки *in vitro* стволовых клеток взрослого организма. Несмотря на перечисленные недостатки представленного обзора, авторам удалось обсудить некоторые особенности и методы клеточного выращивания и потребления культивируемого мяса. Были выдвинуты гипотезы развития технологий клеточного выращивания мяса в России. Авторы коснулись перспективной темы исследования возможных источников клеток для получения культивируемого мяса. Тенденции решения данных вопросов будут представлены в будущих обзорах предметного поля о специфике клеточного выращивания мяса

ВЫВОДЫ

В современном мире растущий спрос на альтернативные источники белка подчеркивает важность развития технологий культивируемого мяса. Производство мяса через клеточное культивирование предлагает возможность уменьшения зависимости от традиционного животноводства, однако сталкивается с техническими сложностями, связанными с воспроизведением сложной структуры мясной ткани. Использование различных типов стволовых клеток и разработка условий для их роста в культуре открывают новые перспективы для этой области. Внедрение 3D-печати в производство культивируемого мяса расширяет возможности создания продуктов с уникальными питательными и тек-

стурными характеристиками, адаптированными к нуждам различных групп потребителей.

Тем не менее, для реализации потенциала клеточного выращивания мяса требуются дополнительные исследования, направленные на оптимизацию методов культивирования и изучение влияния различных условий на характеристики конечного продукта. Вклад научного сообщества через проведение широкомасштабных исследований способен способствовать прогрессу в данной области, обеспечивая разработку экологически устойчивых и питательных альтернатив традиционному мясу, что в свою очередь будет способствовать удовлетворению глобальных продовольственных потребностей.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Сухих Станислав Алексеевич: разработка методологии исследования, проведения исследований.

Ульрих Елена Викторовна: написание-рецензирование и редактирование рукописи.

Носкова Светлана Юрьевна: программное обеспечение, валидация данных.

Калашникова Ольга Борисовна: визуализация, проведение исследования, написание — подготовка черновика рукописи.

Бабич Ольга Олеговна: концептуализация, научное руководство исследованием.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Рогов, И.А., & Волкова, И.М. (2012). Способ выращивания мяса *in vitro*. Обзор. *Биозащита и биобезопасность*, 4(3), 26–32.
- Rogov, I.A., & Volkova, I.M. (2012). Method of *in vitro* meat cultivation. Review. *Biosecurity and Biosafety*, 4(3), 26–32. (In Russ.).
- Allan, S. J., De Bank, P. A., & Ellis, M. J. (2019). Bioprocess design considerations for cultured meat production with a focus on the expansion bioreactor. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 44. <https://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2019.00044>
- Arshad, M.S., Javed, M., Sohaib, M., Saeed, F., Imran, A., & Amjad, Z. (2017). Tissue engineering approaches to develop cultured meat from cells: A mini review. *Cogent Food & Agriculture*, 3, 1320814. <https://dx.doi.org/10.1080/23311932.2017.1320814>
- Awang, A., Arshad, N., Zakaria, F.A., Siti, N., & Uddin, A.M. (2023). A review of cultured meat and its current public perception. *Current Nutrition & Food Science*, 19(9), 928–944. <https://doi.org/10.2174/1573401319666230227115317>
- Balasubramanian, B., Liu, W., Pushparaj, K., & Park, S. (2021). The epic of *in vitro* meat production — A fiction into reality. *Foods*, 10(6), 1395. <https://doi.org/10.3390/foods10061395>
- Basile, A. (2019). Pasquale ferranti, synthetic meat. In *Acceptance, Encyclopedia of Food Security and Sustainability* (pp. 285–288). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22132-X>

- Ben-Arye, T., & Levenberg, S. (2019). Tissue engineering for clean meat production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 46. <https://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2019.00046>
- Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., Bekhit, A. E. D. A., & Bhat, H. F. (2019). Technological, regulatory, and ethical aspects of *in vitro* meat: A future slaughter-free harvest. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 1192–1208. <https://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12473>
- Bodiou, V., Moutsatsou, P., & Post, M. J. (2020). Microcarriers for upscaling cultured meat production. *Frontiers in Nutrition*, 7, 10. <https://dx.doi.org/10.3389/fnut.2020.00010>
- Bonny, S. P. F., Gardner, G. E., Pethick, D. W., & Hocquette, J. F. (2015). What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *Journal of Integrative Agriculture*, 14, 255–263. [https://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60888-1](https://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60888-1)
- Bryant, C. & Sanctorem, H. (2021). Alternative proteins, evolving attitudes: Comparing consumer attitudes to plant-based and cultured meat in Belgium in two consecutive years. *Appetite*, 161, 105161. <https://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2021.105161>
- Bryant, C., & Barnett, J. (2018). Consumer acceptance of cultured meat: A systematic review. *Meat Science*, 143, 8–17. <https://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.008>
- Burton, N. M., Krabbenhoft, L., Bryne, K., & Dodson, M.V. (2000). Methods for animal satellite cell culture under a variety of conditions. *Methods in Cell Science*, 22, 51–61.
- Campbell, B. M., Beare, D. J., Bennett, E. M., Hall-Spencer, J. M., Ingram, J. S., Jaramillo, F., & Shindell, D. (2017). Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. *Ecology and Society*, 22, 8. <https://dx.doi.org/10.5751/ES-09595-220408>
- Capper, J. L. (2011). The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. *Journal of Animal Science*, 89(12), 4249–4261.
- Cederberg, C., Persson, U.M., Neovius, K., Molander, S., & Clift, R. (2011). Including carbon emissions from deforestation in the carbon footprint of Brazilian beef. *Environmental Science & Technology*, 45(5), 1773–1779
- Chriki, S., & Hocquette, J. F. (2020). The myth of cultured meat: A review. *Frontiers in Nutrition*, 7, 7. <https://dx.doi.org/10.3389/fnut.2020.00007>
- Clemente-Suárez, V. J., Beltrán-Velasco, A. I., Redondo-Flórez, L., Martín-Rodríguez, A., & Tornero-Aguilera, J. F. (2023). Global Impacts of Western Diet and Its Effects on Metabolism and Health: A Narrative Review. *Nutrients*, 15(12), 2749. <https://doi.org/10.3390/nu15122749>
- Crosser, N., Bushnell, C., Derbes, E., Friedrich, B., Lamy, J., Manu, N., & Swartz, E. (2020). State of the Industry Report Cultivated Meat. *Good Food Institute*, 3, 24–35.
- Department of Economic and Social Affairs. (2015). United nations department of economic and social affairs, population division. In *World population prospects: The 2015 revision, key findings and advance tables* (pp. 1–66). United Nations.
- Ding, S. Swennen, G. M. Messmer, T., Gagliardi, M., Molin, D. G., Li, C., & Post, M. J. (2018). Maintaining bovine satellite cells stemness through p38 pathway. *Scientific Reports*, 8, 1–12. <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-28746-7>
- Dupont, J., Harms, T., & Fiebelkorn, F. (2022). Acceptance of cultured meat in Germany—Application of an extended theory of planned behaviour. *Foods*, 11(3), 424. <https://doi.org/10.3390/foods11030424>
- Edelman, P.D., McFarland, D.C., Mironov V.A. & Matheny, J.G. (2005). *In Wiro*-cultured meat production. *Tissue Engineering*, 11(5/6), 659–662
- Dupont, J., & Fiebelkorn, F. (2020). Attitudes and acceptance of young people toward the consumption of insects and cultured meat in Germany. *Food Quality and Preference*, 85, 103983. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103983>
- Eibl, R., Senn, Y., Gubser, G., Jossen, V., van den Bos, C., & Eibl, D. (2021). Cellular agriculture: Opportunities and challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 12, 51–73.
- Enrione, J., Blaker, J. J., Brown, D. I., Weinstein-Oppenheimer, C. R., Pepczynska, M., Olguín, Y., Sánchez, E., & Acevedo, C. A. (2017). Edible scaffolds based on nonmammalian biopolymers for myoblast growth. *Materials*, 10, 1–15. <https://dx.doi.org/10.3390/ma10121404>
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. 2023. The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. Urbanization, agrifood systems transformation and healthy diets across the rural–urban continuum. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc3017en>
- Fish, K. D., Rubio, N. R., Stout, A. J., Yuen, J. S. K., & Kaplan, D. L. (2020). Prospects and challenges for cell-cultured fat as a novel food ingredient. *Trends in Food Science and Technology*, 98, 53–67. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.005>
- Fraeye, I., Kratka, M., Vandeburgh, H., & Thorrez, L. (2020). Sensorial and nutritional aspects of cultured meat in comparison to traditional meat: Much to be inferred. *Frontiers in Nutrition*, 7, 35. <https://dx.doi.org/10.3389/fnut.2020.00035>
- Gholobova, D., Gérard, M., Decroix, L., Desender, L., Callewaert, N., Annaert, P., & Thorrez, L. (2018). Human tissue-engineered skeletal muscle: A novel 3D *in vitro* model for drug disposition and toxicity after intramuscular injection. *Scientific Reports*, 8, 1–14. <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-30123-3>

- Godfray, H. C. J., Springmann, M., Sexton, A., Lynch, J., Hepburn, C., & Jebb, S. (2019). *Meat: The future series — alternative proteins*. Cologny.
- Handral, K., Tay, S. H., Chan W. W., & Choudhury, D. (2020). 3D Printing of cultured meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(1), 272–281. <https://dx.doi.org/10.1080/10408398.2020.1815172>
- Helliwell, R., & Burton, R. J. F. (2021). The promised land? Exploring the future visions and narrative silences of cellular agriculture in news and industry media. *Journal of Rural Studies*, 84, 180–191. <https://doi.org/10.1016/j.rurstud.2021.04.002>.
- Hoang, Y. T. H., & Vu, A. T. L. (2016). Sodium benzoate and potassium sorbate in processed meat products collected in Ho Chi Minh City, Vietnam. *International Journal on Advanced Science Engineering and Information Technology*, 6, 477–482. <https://dx.doi.org/10.18517/ijaseit.6.4.876>
- Hong, T.K., Shin, D.M., Choi, J., Do, J.T., & Han, S.G. (2021). Current Issues and Technical Advances in Cultured Meat Production: A Review. *Food science of animal resources*, 41(3), 355–372. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e14>
- Ismail, I. Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2020). Meat analog as future food: A review. *Journal of Science and Technology*, 62, 111. <https://dx.doi.org/10.5187/jast.2020.62.2.111>
- Kenigsberg, J. A., & Zivotofsky, A. Z. A. (2020). Jewish religious perspective on cellular agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 128. <https://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2019.00128>
- Kikuchi, Y., Kanematsu, Y., Yoshikawa, N., Okubo, T., & Takagaki, M. (2018). Environmental and resource use analysis of plant factories with energy technology options: A case study in Japan. *Journal of Cleaner Production*, 186, 703–717. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.110>
- Lisitsyn, A. B., Chernukha, I. M., & Lunina, O. I. (2019). To the question about meat freezing. Review. *Theory and Practice of Meat Processing*, 4, 27–31. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-2-27-31>
- Lynch, J., & Pierrehumbert, R. (2019). Climate impacts of cultured meat and beef cattle. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 5. <https://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2019.00005>
- Mancini, M. C., & Antonioli, F. (2019). Exploring consumers' attitude towards cultured meat in Italy. *Meat Science*, 150, 101–110. <https://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.12.014>
- Marlow, H.J., Hayes W.K., Soret, S., Carter, R.L., E.R. Schwab, & Sabate, J. (2009). Diet and the environment: does what you eat matter? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 1S-5S
- Morais-da-Silva, L. R., Reis, G. G., Sanctorem, H., Forte, C. & Molento, M. (2022). The social impacts of a transition from conventional to cultivated and plant-based meats: Evidence from Brazil. *Food Policy*, 111, 102337. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodpol.2022.102337>
- National Academies of Sciences. (2017). *Preparing for future products of biotechnology*. The National Academies Press. <https://dx.doi.org/10.17226/24605>
- O'Neill, E. N., Cosenza, Z. A., Baar, K., & Block, D. E. (2021). Considerations for the development of cost-effective cell culture media for cultivated meat production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 686–709. <https://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12678>
- Ong, S., Choudhury, D., & Naing, M. W. (2020). Cell-based meat: Current ambiguities with nomenclature. *Trends in Food Science and Technology*, 102, 223–231. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.010>
- Onwezen, M. C., Bouwman, E. P., Reinders, M. J., & Dagevos, H. (2020). A systematic review on consumer acceptance of alternative proteins: Pulses, algae, insects, plant-based meat alternatives, and cultured meat. *Appetite*, 159, 105058. <https://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2020.105058>
- O'Riordan, K., Fotopoulou, A., & Stephens, N. (2017). The first bite: Imaginaries, promotional publics and the laboratory grown burger. *Public Understanding of Science*, 26, 148–163. <https://dx.doi.org/10.1177/0963662516639001>
- Petrov, E. B., Sidorova, V. Y., & Novikov, N. N. (2017). An experimental model of a bioreactor with the control system for *in vitro* meat as a promising source of complete protein. *Journal of VNIIMZH*, 125, 83–87.
- Post, M. J. (2012). Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science*, 92, 297–301.
- Reiss, J., Robertson, S., & Suzuki, M. (2021). Cell Sources for Cultivated Meat: Applications and Considerations throughout the Production Workflow. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 7513. <https://dx.doi.org/10.3390/ijms22147513>
- Rodríguez Escobar, M.I., Cadena, E., Nhu, T.T., Cooreman-Algoed, M., De Smet, & S., Dewulf, J. (2021). Analysis of the Cultured Meat Production System in Function of Its Environmental Footprint: Current Status, Gaps and Recommendations. *Foods*, 10(12), 2941. <https://doi.org/10.3390/foods10122941>
- Rogov, I.A., Volkova, I.M., Vostrikova, N.L., & Taranova, K.G. (2013). Cell biomass — the first step in the way of cultured meat. Biotechnology: state of the art and prospects of development: materials of the VII Moscow International Congress, 2, 76
- Rorheim, A., Mannino, A., Baumann, T., & Caviola, L. (2016). Cultured meat: An ethical alternative to industrial animal farming. *Policy paper by Sentience Politics*, 1, 1–14.
- Rubio, N., Datar, I., Stachura, D., Kaplan, D., & Krueger, K. (2019). Cell-based fish: A novel approach to seafood production and an opportunity for cellular agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 43. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00043>

- Rudenko, R. A., & Tkacheva, I. V. (2022). Modern technologies for the production of artificial meat. *International Scientific Research Journal*, 1(1).
- Santos, A.C.A., Camarena, D.E.M., Roncoli R.G., Chamberg, F.S., Nunes, V.A., Trindade, M.A., & Stuchi Maria-Engler, S. (2023). Tissue engineering challenges for cultivated meat to meet the real demand of a global market. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6033. <https://doi.org/10.3390/ijms24076033>
- Schmidinger, K. (2012). *Worldwide alternatives to animal derived foods. Overview and evaluation models — Solutions to global problems caused by livestock* [Unpublished doctoral dissertation]. Vienna.
- Sexton, A. E., Garnett, T., & Lorimer, J. (2019). Framing the future of food: The contested promises of alternative proteins. *Environment and Planning E: Nature and Space*, 2, 47–72. <https://dx.doi.org/10.1177/2514848619827009>.
- Shaikh, S., Lee, E., Ahmad, K., Ahmad, S.S., Chun, H., Lim, J., Lee, Y., & Choi, I. (2021). Cell types used for cultured meat production and the importance of myokines. *Foods*, 10, 2318. <https://doi.org/10.3390/foods10102318>
- Shepon, A., Eshel, G., Noor, E., & Milo, R. (2018). The opportunity cost of animal-based diets exceeds all food losses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115, 3804–3809. <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1713820115>
- Slade, P. (2018). If you build it, will they eat it? Consumer preferences for plant-based and cultured meat burgers. *Appetite*, 125, 428–437. <https://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2018.02.030>
- Specht, E. A., Welch, D. R., Clayton, E. M. R., & Lagally, C.D. (2018). Opportunities for applying biomedical production and manufacturing methods to the development of the clean meat. *Biochemical Engineering Journal*, 132, 161–168. <https://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2018.01.015>
- Stephens, N., Di Silvio, L., Dunsford, I., Ellis, M., Glencross, A., & Sexton, A. (2018). Bringing cultured meat to market: Technical, sociopolitical, and regulatory challenges in cellular agriculture. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 155–166. <https://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.010>
- Stephens, N., Sexton, A. E., & Driessen, C. (2019). Making sense of making meat: Key moments in the first 20 Years of tissue engineering muscle to make food. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00045>
- Szejda, K. (2018). *Cellular agriculture nomenclature: Optimizing consumer acceptance*. The Good Food Institute.
- Thorrez, L., & Vandenburg, H. (2019). Challenges in the quest for «clean meat». *Nature Biotechnology*, 37, 215–216. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0043-0>
- Tomiyama, A. J., Kawecki, N. S., Rosenfeld, D. L., Jay, J. A., Rajagopal, D., & Rowat, A. C. (2020). Bridging the gap between the science of cultured meat and public perceptions. *Trends in Food Science & Technology*, 104, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.019>
- Treich, N. (2021). Cultured Meat: Promises and Challenges. *Environmental & Resource Economics*, 79(1), 33–61. <https://doi.org/10.1007/s10640-021-00551-3>
- Tuomisto, H. L. (2019). Vertical farming and cultured meat: Immature technologies for urgent problems. *One Earth*, 1, 275–277. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.024>
- Warner, R. D. (2019). Analysis of the process and drivers for cellular meat production. *Animal*, 13, 3041–3058. <https://dx.doi.org/10.1017/S1751731119001897>
- Waschulin, V., & Specht, L. (2018). *Cellular agriculture: An extension of common production methods of food*. The Good Food Institute.
- Weinrich, R., Strack, M., & Neugebauer, F. (2020). Consumer acceptance of cultured meat in Germany. *Meat Science*, 162, 107924. <https://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107924>.
- Wilks, M., Phillips, C. J., Fielding, K., & Hornsey, M. J. (2019). Testing potential psychological predictors of attitudes towards cultured meat. *Appetite*, 136, 137–145. <https://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2019.01.027>.
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., & Murray, C. J. (2019). Food in the Anthropocene: The EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *Lancet*, 393, 447–492. [https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4).
- Witt, R., Weigand, A., Boos, A. M., Cai, A., Dippold, D., Boccaccini, A. R., & Beier, J. P. (2017). Mesenchymal stem cells and myoblast differentiation under HGF and IGF-1 stimulation for 3D skeletal muscle tissue engineering. *BMC cell biology*, 18, 1–16. <https://dx.doi.org/10.1186/s12860-017-0131-2>.
- Zhang, G., Zhao, X., Li, X., Du, G., Zhou, J., & Chen, J. (2020). Challenges and possibilities for bio-manufacturing cultured meat. *Trends in Food Science and Technology*, 97, 443–450.