

Nhằm đóng góp tích cực cho việc xây dựng một lực lượng công nhân lành nghề được đào tạo bài bản cả về lý thuyết lẫn thực hành tại Việt Nam, Quỹ Thời báo Kinh tế Sài Gòn (Saigon Times Foundation – STF) và Ủy ban Tương trợ người Việt Nam tại Cộng hòa Liên bang Đức (VSW-UBTT), vào năm 2010 đã thành lập Tủ sách Nhất Nghệ Tinh, với sự phối hợp của Nhà xuất bản Trẻ để dịch và in các cuốn sách dạy nghề quan trọng, cơ bản và sự phạm của Đức bằng tiếng Việt đầu tiên do nhiều chuyên gia Việt kiều tốt nghiệp và làm việc ở Đức/Việt Nam với nhiều năm kinh nghiệm đảm nhận.

CHUYÊN NGÀNH CƠ KHÍ

Quyển sách giới thiệu về ngành Cơ khí. Sách đã được Giải thưởng SÁCH HAY 2013 của viện IRED tại Việt Nam. Quyển *Chuyên ngành Cơ khí* gốc tiếng Đức (xuất bản lần thứ 56) là một trong những quyển sách bán chạy nhất của nhà xuất bản Europa-Lehrmittel.

CHUYÊN NGÀNH KỸ THUẬT ĐIỆN - ĐIỆN TỬ

Nội dung phong phú bao gồm những phần quan trọng, đặc biệt là phần về thiết bị cho kỹ thuật công trình, kỹ thuật tự động hóa, điều khiển logic lập trình (PLC). Sách dự kiến sẽ được tái bản theo ấn bản mới nhất lần thứ 30 của sách gốc tiếng Đức.

CHUYÊN NGÀNH CƠ ĐIỆN TỬ

Sách *Cơ Điện Tử* là tài liệu cần thiết về một ngành tổng hợp đang được xem là chủ yếu trong các trường nghề bao gồm các lĩnh vực cơ khí, điện, tin học, tự động hóa, vật liệu và quản lý. Một quyển sách đồng hành rất cần thiết cho các chuyên viên ngành Cơ Điện Tử.

Cả ba cuốn chuyên ngành Cơ Khí, Điện - Điện Tử và Cơ Điện Tử đã được Tổng cục Giáo dục nghề nghiệp và Tổ chức Hợp tác quốc tế của Đức (GIZ) giới thiệu làm sách tham khảo và được đưa vào sử dụng cho công tác đào tạo ngành nghề ở Việt Nam theo tiêu chuẩn dạy nghề của CHLB Đức.

CHUYÊN NGÀNH KỸ THUẬT Ô TÔ và XE MÁY HIỆN ĐẠI

Sách giới thiệu những kỹ thuật hiện đại và tiên tiến nhất của các nước đứng hàng đầu thế giới về sản xuất ô tô. Rất cần thiết cho việc tham khảo trong bối cảnh xu hướng sản xuất ô tô ở Việt Nam đang chuyển động.

CẨM NANG CÔNG NGHỆ HÓA HỌC

Một quyển Sổ tay tra cứu cơ bản cho người thực hành trong lĩnh vực công nghệ quá trình và thiết bị hóa học.

CHUYÊN NGÀNH SINH HỌC VÀ KỸ THUẬT SINH HỌC

Một quyển sách đặc biệt hấp dẫn giới thiệu những kỹ thuật tiên tiến nhất của sinh học.

Những quyển sách chuyên ngành khác sẽ xuất bản trong năm 2018 và 2019: *Chuyên ngành Kỹ thuật Chất dẻo, Kỹ thuật Xây dựng, Kỹ thuật Môi trường, Chuyên ngành Trang phục, Cẩm nang cơ khí*.

Một số sách (Cơ Khí và Điện-Điện tử) đã được đưa lên mạng dưới dạng eBook (website: <http://www.ybook.vn/>)

Tất cả thuật ngữ cho tủ sách nghề gồm ba thứ tiếng Đức-Việt-Anh đã được đưa lên mạng với từ điển trực tuyến www.tudien.vsw-ubtt.com (20.000 từ trong thời điểm hiện tại).



Tủ sách NHẤT NGHỆ TINH

CHUYÊN NGÀNH SINH HỌC VÀ KỸ THUẬT SINH HỌC

Fachwissen Biologie
und Biotechnik



C.D Paul, A. Rotthues

Nhiều dịch giả

Nhiều tác giả

CHUYÊN NGÀNH

SINH HỌC VÀ KỸ THUẬT SINH HỌC

Fachwissen Biologie
und Biotechnik

SỬ DỤNG TIỀN THƯƠNG HIỆU - Chương trình chăm sóc khách hàng và khuyến mãi của NXB Trẻ. Click/ôm và đăng ký bằng 1 trong 2 cách:
1. Truy cập <http://tskh.nxbtre.com.vn/Action> và đăng ký/đăng nhập tài khoản để nhập mã số
2. Dùng smartphone quét QR Code và đăng ký/đăng nhập tài khoản để nhập mã số. Để được hỗ trợ xin liên hệ: Hotline: 0932.260.062 - Email: cskh@nxbtre.com.vn



QR Code

ISBN 978-604-1-11479-1



9 786041 114791



NHÀ XUẤT BẢN TRẺ

Quỹ Thời báo Kinh tế Sài Gòn
(Saigon Times Foundation – STF)

và

Ủy ban Tương trợ người Việt Nam tại CHLB Đức
(Vietnamesisches Studienwerk in der BRD e.V. – VSW-UBTT)

KIẾN THỨC CHUYÊN NGÀNH SINH HỌC VÀ KỸ THUẬT SINH HỌC

Bản dịch tiếng Việt từ ấn bản tiếng Đức lần thứ 1, 2012
Hợp đồng bản quyền của nhà xuất bản Europa-Lehrmittel ký ngày 10.07.2013

Tựa gốc tiếng Đức: **Fachwissen Biologie und Biotechnik**
VERLAG EUROPA-LEHRMITTEL, Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG
Düsseldorfer Straße 23 . 42781 Haan-Gruiten, Germany

Europa-Nr.: 70951

Tác giả:

Claus-Dieter Paul
Dr. Alexander Rotthues

Dipl.-Biologe
Dipl.-Biotechnologe

Oberstudienrat, Frankfurt am Main
Studienrat, Königstein im Taunus

Biên tập:

Walter Bierwerth

Dipl.-Ingenieur

Studiendirektor

Eppstein/Taunus

Minh họa:

Văn phòng thiết kế Nxb EUROPA-LEHRMITTEL, 73760 Ostfildern và
Design-Studio Wiegand, Hamburg

Hình bìa: Michael M. Kappensten, Frankfurt am Main

Dịch thuật:

Trang Quan Sen

Tiến sĩ

Khoa học tự nhiên, Đại Học Hannover, CHLB Đức

Phạm Hải Hồ (chương 4)

Tiến sĩ

Đại Học Hamburg, CHLB Đức

Hiệu đính:

Lê Thị Kính

Tiến sĩ

Trường Đại học mở Tp HCM, Khoa Công Nghệ Sinh học,
Giảng viên Di Truyền Học

Nguyễn Công Thắng

Nhà báo

Biên tập viên Thời báo Kinh Tế Sài Gòn

Phạm Nam Hương

Dipl.-Ing.

Techn. Univ. Berlin

(Người điều phối Tủ sách nghề Nhất Nghệ Tĩnh)

Ủy Ban Tương Trợ Người Việt Nam tại CHLB Đức giữ bản quyền dịch thuật. Sản phẩm được bảo vệ quyền tác giả. Mọi việc sử dụng ngoài quy tắc luật pháp phải được sự chấp thuận bằng văn bản của Nhà xuất bản Trẻ.

BIỂU GHI BIÊN MỤC TRƯỚC XUẤT BẢN DO THƯ VIỆN KHTH TP.HCM THỰC HIỆN
General Sciences Library Cataloging-in-Publication Data

Paul, C.-D.

Chuyên ngành sinh học và kỹ thuật sinh học / C.-D. Paul, A. Rotthues ; Nhiều
dịch giả. - In lần thứ 1. - T.P. Hồ Chí Minh : Trẻ, 2018.
348 tr. ; 24 cm. - (Tủ sách Nhất nghệ tinh).
Nguyên bản : Fachwissen Biologie und Biotechnik.
ISBN 978-604-1-10366-5.

1. Sinh học. 2. Công nghệ sinh học. I. Rotthues, A II. Ts. III. Ts: Fachwissen
Biologie und Biotechnik.

660.6 -- ddc 23
P324

Nhằm đóng góp tích cực cho việc xây dựng một lực lượng công nhân, chuyên viên lành nghề được đào tạo bài bản cả về lý thuyết lẫn thực hành tại Việt Nam, Quỹ Thời báo Kinh tế Sài Gòn (Saigon Times Foundation – STF) và Ủy ban tương trợ người Việt Nam tại Cộng hòa Liên bang Đức (VSW-UBTT), hai tổ chức xã hội, phi lợi nhuận, đã thành lập Tủ sách Nhất Nghệ Tinh từ năm 2010, để dịch các cuốn sách dạy nghề quan trọng, cơ bản và rất sự phạm của nhà xuất bản Europa-Lehrmittel ở Đức.

Ngành kỹ thuật sinh học được hình thành từ lâu đời. Ngay từ thời xa xưa, loài người đã biết ứng dụng kiến thức trong ngành này để làm các sản phẩm lên men như làm phở mát, bia, giấm ... Trong những năm gần đây, ngành này phát triển tốt bậc qua việc chế tạo các thuốc kháng sinh, kỹ thuật ADN, chế tạo gen... Sản phẩm của kỹ thuật sinh học rất thực tiễn, mang lại lợi ích cho nhiều người và doanh thu lớn cho các công ty trên thế giới.

Ở Việt Nam, viện nghiên cứu Pasteur được thành lập vào năm 1891; các danh y người Pháp ở viện này như Calmette, Yersin đã tìm ra các vi khuẩn về đậu mùa, chó dại... và nghiên cứu, chế tạo thành công các loại thuốc tây y chữa trị các bệnh nhiệt đới rất được thế giới hoan nghênh. Đây là một ngành học rất thú vị và có tương lai cho các bạn đang hay muốn theo đuổi ngành này.

Cuốn sách *Chuyên ngành Sinh học và Kỹ thuật Sinh học* do các chuyên gia Đức trong ngành sinh học biên soạn và được trình bày theo các phương pháp sự phạm. Vì vậy, nó thích hợp chẳng những cho các học sinh, sinh viên chuyên ngành mà còn là quyển sách tham khảo cho các nhà nghiên cứu thuộc các ngành y, dược, sinh học, thực phẩm và nông nghiệp.

Ngoài phần sinh học cơ bản và vi sinh vật, đối tượng quan trọng trong ngành sinh học hiện đại, các tác giả còn đề cập từng bước một đến các vấn đề sản xuất kỹ thuật sinh học và sinh thái mà hiện nay chúng đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong việc sản xuất thực phẩm và dược phẩm cũng như các vấn đề liên quan đến môi trường.

Cuốn sách này được dịch ra tiếng Việt từ nguyên bản tiếng Đức, ấn bản lần thứ 1.

Chúng tôi cảm ơn nhà xuất bản Europa-Lehrmittel, nhà xuất bản Trẻ đã dành sự giúp đỡ tận tình trong việc thực hiện quyển sách này. Đặc biệt cảm ơn tập thể các chuyên gia Việt Nam uy tín trong và ngoài nước đã âm thầm cống hiến tâm sức để dịch và hiệu đính, hoàn thành việc chuyển ngữ.

Mặc dù đã cố gắng nhiều khi thực hiện ấn bản Việt ngữ đầu tiên, cuốn sách không thể nào tránh khỏi sai sót. Chúng tôi mong nhận được các góp ý để hoàn thiện các ấn bản trong tương lai. Mọi đề nghị và thắc mắc xin gửi về địa chỉ email: tusachnghe@googlegroups.com.

Với mục tiêu hỗ trợ công tác dạy nghề, chúng tôi tin rằng quyển sách này sẽ đóng góp thiết thực vào công cuộc phát triển nguồn nhân lực kỹ thuật cao nước nhà.

Thành phố Hồ Chí Minh, tháng 12/2017
QUỸ THỜI BÁO KINH TẾ SÀI GÒN (SAIGON TIMES FOUNDATION- STF)
ỦY BAN TƯƠNG TRỢ NGƯỜI VIỆT NAM TẠI ĐỨC
(VIETNAMESISCHES STUDIENWERK IN DER BRD e.V. - VSW-UBTT)

Chuyên ngành Sinh học và Kỹ thuật Sinh học là một quyển sách do các chuyên gia trong ngành biên soạn và được trình bày theo các phương pháp sư phạm, vì vậy nó thích hợp chẳng những cho các học sinh, sinh viên chuyên ngành mà còn là quyển sách tham khảo cho các nhà nghiên cứu thuộc các ngành y, dược, sinh học, thực phẩm và nông nghiệp.

Đối với chúng ta, kỹ thuật sinh học là một ngành còn rất mới, do đó trong tiếng Việt có ít thuật ngữ chuyên môn. Vì vậy để chuyển các thuật ngữ từ tiếng Đức (Anh) sang tiếng Việt chúng tôi dựa vào một số quy tắc thông dụng hiện nay:

- Những từ đã có trong tiếng Việt thì sử dụng hoàn toàn tiếng Việt.
- Một số danh từ, mặc dù đã có trong tiếng Việt và rất thông dụng như từ chất béo (mỡ), chất ngọt (đường), chất đạm nhưng ít sử dụng trong lãnh vực khoa học. Vì vậy chúng tôi dùng các thuật ngữ tương ứng là *lipid*, *glucose* và *protein* để dịch các thuật ngữ nói trên như phần lớn các sách khoa học tiếng Việt đã thực hiện.
- Đối với những từ chưa có trong ngôn ngữ Việt, nếu không có lý do nào đặc thù thì chúng tôi dùng tiếng Anh làm chuẩn thí dụ *virus* thay vì *virut*, *carbohydrate* thay vì *cácbon hydrat* v.v. Một vài quyển sách giáo khoa đổi phụ âm d ở cuối nhiều chữ thành t, thí dụ *lipid* thành *lipit*. Tuy nhiên, chúng tôi vẫn giữ nguyên phụ âm d để người đọc dễ nhận diện với tiếng Anh, có rất nhiều thuật ngữ tiếng Anh loại này đã được chuyển sang tiếng Việt vẫn giữ phụ âm d (thí dụ *capsid*, *plasmid*, v.v.).
- Một vài thuật ngữ đặc biệt trong ngành sinh học được sử dụng rất nhiều như các từ *acid/axit*, *base/bazơ*, nhưng không thống nhất cách viết trong các sách tiếng Việt. Nhiều tác giả dùng *axít* thay vì *acid* thí dụ *axít deoxyribonucleic* hay *axít ribonucleic*, và viết tắt là *ADN* và *ARN*. Tuy nhiên *DNA* (*deoxyribonucleic acid*) và *RNA* (*ribonucleic acid*), đã trở thành một ký hiệu quốc tế được sử dụng khắp nơi trên thế giới, kể cả CHLB Đức. Hơn nữa *DNA* và *RNA* còn có nhiều chức năng và trong mỗi chức năng người ta đều thêm một mẫu tự vào ký hiệu này để phân biệt thí dụ *dsRNA* (*RNA nhánh đôi*), *mRNA* (*RNA thông tin*), *tRNA* (*RNA vận chuyển*), thay vì *dsARN*, *mARN*, *tARN*, v.v. Như vậy sẽ dễ đưa đến sự lầm lẫn. Từ những lý do nêu trên chúng tôi dùng từ *acid* thay vì *axít*.
- *Base/bazơ* trong ngành sinh hóa được xem như chất đối xứng với *acid*. Mặc dù hiện nay vẫn còn nhiều sách chuyên môn sử dụng *bazơ* để dịch từ *base*, nhưng ở đây chúng tôi để nguyên từ *base*, vì phần lớn các ngôn ngữ trên thế giới, trong đó có tiếng Anh, Đức và Pháp đều dùng *base*. Và như vậy người đọc dễ nhận diện hơn khi đọc tài liệu nước ngoài. Từ *bazơ* trong tiếng Việt có nguồn gốc từ âm đọc, như vậy lại càng không nên dùng. Dịch tiếng nước ngoài theo âm là một việc chúng ta nên tránh, vì mỗi người sẽ dịch theo cách nghe và phát âm của mình. Mỗi miền, mỗi người trong chúng ta sẽ phiên âm khác nhau, không theo nguyên tắc nào cả. Ngoài ra phụ âm Z trong thuật ngữ *bazơ* này không có trong mẫu tự tiếng Việt và như vậy sẽ gây không ít khó khăn cho người đọc.
- Một thuật ngữ quan trọng không thể không bàn đến là *gen* do nhà sinh học người Đan Mạch Wilhelm Johannsen sử dụng lần đầu tiên vào năm 1909. Người Anh chuyển nó thành *gene*, người Pháp gọi là *gène*, còn người Đức vẫn dùng *gen*. Nhiều sách tiếng Việt dựa vào âm tiếng Pháp nên viết thành *gien*, tiếng Anh thành *gene*. Từ *gen* khá đơn giản hợp với tiếng Việt là ngôn ngữ đọc âm. Nếu dùng bản gốc *gen* cho tiếng Việt thì chúng ta không phải chuyển đi chuyển lại, vừa dễ đọc và vừa có ý nghĩa lịch sử. Hơn nữa thuật ngữ này cũng đã được phổ biến ít ra từ 11 năm nay trong nhiều sách công nghệ sinh học. Các tờ báo lớn như Tuổi trẻ, Thời báo Kinh tế Sài Gòn, Vietnamnet v.v. đều dùng từ *gen* thay vì *gene* hay *gien*. Vì vậy trong quyển sách này chúng tôi dùng thuật ngữ *gen* để chỉ vật chất di truyền.

Mặc dù đã cố gắng nhiều cho việc thực hiện bản dịch này, nhưng chắc hẳn còn nhiều thiếu sót, rất mong quý độc giả góp ý, nhất là về vấn đề thuật ngữ cho lần tái bản.

Dịch giả cảm ơn TS. Lê Thị Kính, BTV Vũ Thị Thu Nhi của NXB Trẻ đã trao đổi và cho nhiều ý kiến quan trọng, Phạm Hải Hồ góp phần dịch chương "Sinh thái", Phạm Nam Hương, Nguyễn Công Thắng đã đọc lại. Chúng tôi cũng cảm ơn NXB EUROPA-LEHRMITTEL, NXB Trẻ, Ủy ban Tương trợ Người Việt tại CHLB Đức và Saigon Times Foundation (STF) đã hợp tác xuất bản cuốn sách này.

TRANG QUAN SEN

Tiến sĩ khoa học tự nhiên, Đại học Hannover, CHLB Đức

Ngành sinh học ngày càng đóng vai trò quan trọng, nhất là từ khi ngành kỹ thuật sinh học hiện đại và kỹ thuật di truyền tận dụng được tính đa năng của vi sinh vật, của các tế bào động và thực vật, mang đến nhiều lợi ích cho con người. Vì vậy các vấn đề dinh dưỡng, sức khỏe, nông nghiệp, sản xuất hóa chất, cung cấp năng lượng và bảo vệ môi trường đã trở thành những mục tiêu ứng dụng quan trọng của phương pháp kỹ thuật sinh học.

“*Chuyên ngành Sinh học và Kỹ thuật Sinh học*” là sách tham khảo chuyên ngành và là sách thực hành nhằm hỗ trợ cho việc đào tạo các chuyên gia trong lĩnh vực hóa học, vật lý, sinh học, đặc biệt là các lĩnh vực học tập trong các chương trình liên bang (Đức) về kỹ thuật vi sinh và sản xuất kỹ thuật sinh học. Đồng thời phần sinh học và sinh thái cơ bản cũng được đưa vào để hình thành kiến thức chung của ngành học. Sách có thể được sử dụng cùng với giáo trình giảng dạy trong các trường dạy nghề và đào tạo chuyên môn, thích hợp nhất là đối với các ngành sản xuất hóa chất, dược phẩm, phụ trợ trong sản xuất hóa học, phòng thí nghiệm sinh học, phòng thí nghiệm hóa, phòng thí nghiệm sơn, phòng thí nghiệm vật lý cũng như ngành quản đốc công nghiệp hóa và dược.

Ngoài ra quyển sách này còn được sử dụng cho các trường chuyên nghiệp kỹ thuật, hóa học và kỹ thuật sinh học, trong các trường dạy nghề cho ngành phụ trợ kỹ thuật sinh học, ở các trường trung học phổ thông, chuyên môn kỹ thuật sinh học cũng như cho các chuyên gia trong ngành *quản lý chu trình cấp nước và nước thải*. Vì các phương pháp kỹ thuật sinh học ngày càng đóng vai trò quan trọng trong những ngành công nghiệp, nhân viên đang làm việc trong lãnh vực chuyên môn cũng sẽ tìm thấy trong quyển sách này nhiều tài liệu tham khảo thực dụng, có thể hỗ trợ kết hợp vào ngành tương ứng. Quyển “*Chuyên ngành Sinh học và Kỹ thuật Sinh học*” được phân chia như sau:

- **Sinh học cơ bản.** Xuất phát từ sinh học phân tử và tế bào với các chức năng của chúng, mối quan hệ giữa tổ chức và chức năng của sự sống được giải thích rõ ràng.
- **Vi sinh vật.** Sau các dạng xuất hiện và đặc điểm của vi sinh vật là phần trình bày về vai trò trong hệ sinh thái tổng thể cũng như ý nghĩa của chúng đối với con người, đặc biệt là các ứng dụng trong các phương pháp kỹ thuật sinh học và kỹ thuật di truyền.
- **Kỹ thuật sinh học.** Chủ yếu là phần cơ bản của kỹ thuật di truyền, việc xử lý và sử dụng vi sinh vật và tế bào, phản ứng sinh học, quy trình sản xuất sinh học cũng như một phần chọn lựa các ứng dụng kỹ thuật sinh học.
- **Sinh thái.** Trình bày các mối quan hệ đa dạng của sinh vật với môi trường cũng như việc gây ô nhiễm của con người đối với môi trường sống. Thêm vào chương này là các quy định trong lĩnh vực môi trường, các biện pháp bảo vệ môi trường và lao động.
- **Phần chuyên sâu.** Một số nội dung chọn lọc của phần sinh học, kỹ thuật sinh học và sinh thái được bàn sâu hơn để tạo một mối quan hệ thiết thực cho các nghề nghiệp tương ứng.
- **Kiểm tra kiến thức.** Mục đích của phần này là ôn lại và ổn định các kiến thức đã học. Trong các câu hỏi được đưa ra chúng tôi có chủ ý phân chúng thành từng nhóm với các mức độ khó khác nhau tùy thuộc vào mục tiêu kiểm tra kiến thức.

Để tạo điều kiện cho việc nắm bắt dễ dàng nội dung của quyển sách này, chúng tôi cố ý sắp xếp các mục liên quan với nhau vào một trang hoặc một trang đôi. Các tham khảo đối chiếu (chéo) trong văn bản đều liên quan với nhau. Những vấn đề quan trọng được nhấn mạnh bằng các ghi chú. Việc sử dụng danh từ chuyên môn được giới hạn đến mức tối đa. Do thời gian giảng dạy có giới hạn nên một số mục tiêu học tập đã được giảm đáng kể theo nguyên tắc sư phạm. Bù lại, một số lĩnh vực được đặc biệt lưu ý, như phương pháp kỹ thuật sinh học chứng tỏ là một công nghệ hiện đại, đã được áp dụng để giải quyết thành công các vấn đề khẩn cấp của nhân loại.

Chúng tôi chúc quý độc giả của cuốn sách này, đạt kết quả, nhập môn vào phần cơ bản của ngành sinh học và kỹ thuật sinh học hiện đại. Những góp ý giúp cải thiện và phát triển cho quyển sách, quý độc giả có thể gửi đến địa chỉ của nhà xuất bản hoặc e-mail (lektorat@europa-lehrmittel.de).

I Sinh học cơ bản	6	2.2.1 Tổng quát về kỹ thuật di truyền.....	82
1 Đặc tính và tình trạng của hệ thống sinh vật	7	2.2.2 Phân lập nucleic acid.....	84
1.1 Dấu hiệu của sự sống.....	7	2.2.3 Nhận diện nucleic acid.....	86
1.2 Các phần tử của sự sống (chất sống).....	8	2.2.4 Phản ứng chuỗi PCR.....	88
1.2.1 Protein.....	9	2.2.5 Ngân hàng DNA.....	90
1.2.2 Enzyme (protein xúc tác).....	12	2.2.6 Xác định trình tự (DNA sequencing).....	93
1.2.3 Nucleic acid DNA.....	14	2.2.7 Kỹ thuật tạo dòng phân tử.....	94
1.2.4 Ribonucleic acid (RNA).....	16	2.2.8 Luật kỹ thuật di truyền.....	98
1.2.5 Carbohydrate.....	16	3 Cách xử lý với vi sinh vật và các tế bào	
1.2.6 Lipid.....	18	Kỹ thuật sinh học quan trọng	100
2 Tương quan giữa cơ cấu và chức năng của tế bào	19	3.1 Vi sinh vật và các tế bào là tác nhân sinh học.....	100
2.1 Tế bào nhân sơ và tế bào nhân thực.....	19	3.2 Nguyên tắc của kỹ thuật vi sinh tốt.....	102
2.2 Cơ cấu của tế bào.....	19	3.3 Mức độ bảo vệ và an toàn trong phòng thí nghiệm và trong sản xuất.....	104
2.2.1 Tế bào chất.....	19	3.4 Tiệt trùng và khử trùng.....	105
2.2.2 Màng sinh học.....	20	3.5 Các phương pháp tiệt trùng.....	106
2.2.3 Bào quan.....	22	3.5.1 Nhiệt ẩm.....	106
2.2.4 Nhiễm sắc chất và nhiễm sắc thể.....	27	3.5.2 Sấy khô.....	108
2.3 Phân bào.....	30	3.5.3 Khí.....	108
2.4 Thay đổi vật chất di truyền (đột biến).....	32	3.5.4 Bức xạ ion hóa.....	109
3 Quá trình trao đổi chất trong tế bào	36	3.5.5 Lọc vô trùng.....	109
3.1 Định nghĩa quá trình trao đổi chất.....	36	3.6 Phương pháp khử trùng.....	112
3.2 ATP và ADP.....	37	3.6.1 Phương pháp khử trùng vật lý.....	112
3.3 Quang hợp.....	38	3.6.2 Phương tiện khử trùng hóa học và các phương pháp khử trùng.....	112
3.4 Oxy hóa sinh học.....	40	3.7 Xử lý vật liệu ô nhiễm sinh học.....	114
3.5 Lên men rượu.....	41	3.8 Phòng thí nghiệm kỹ thuật sinh học.....	116
3.6 Tổng hợp protein.....	42	3.9 Bảo trì đồng và bảo quản vi sinh vật và tế bào.....	119
4 Phân loại sinh vật theo hệ thống (biological classification)	44	4 Nuôi cấy vi sinh vật quan trọng cho kỹ thuật sinh học và tế bào	122
4.1 Đơn vị hệ thống.....	44	4.1 Các yếu tố ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và sinh sản.....	122
4.2 Phả hệ sinh vật.....	45	4.1.1 Môi trường dinh dưỡng.....	123
II Vi sinh vật học	46	4.1.2 Nhiệt độ.....	126
1 Dạng xuất hiện và tình trạng của vi sinh vật	46	4.1.3 Trị số pH.....	126
1.1 Sinh vật trong vùng vi sinh.....	47	4.1.4 Dưỡng khí (oxy).....	127
1.2 Tình trạng của vi sinh vật.....	48	4.2 Tốc độ tăng trưởng.....	128
1.2.1 Hiện hữu tự nhiên và sự phát triển.....	48	4.3 Giai đoạn tăng trưởng và tốc độ tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy lỏng.....	130
1.2.2 Hình dạng và độ lớn tương đối của vi sinh vật.....	50	4.4 Tăng trưởng trên môi trường dinh dưỡng đặc.....	132
1.2.3 Vi khuẩn – cơ cấu và cách sống.....	53	5 Lò phản ứng sinh học	134
1.2.4 Nấm – cơ cấu và lối sống.....	59	5.1 Lò phản ứng sinh học – chức năng và đòi hỏi.....	135
1.2.5 Virus – cơ cấu và cách sống.....	63	5.2 Lò phản ứng sinh học bốn khuấy.....	136
2 Ý nghĩa của vi sinh vật	66	5.3 Xây dựng một lò phản ứng sinh học bốn khuấy... 5.3.1 Thành phần bốn khuấy – Lò phản ứng sinh học... 5.3.2 Các thành phần để bảo tồn khả năng vô trùng của lò phản ứng sinh học.....	137 140
2.1 Ý nghĩa của vi sinh vật đối với sự sống trên trái đất.....	66	5.3.3 Vật liệu.....	142
2.2 Ý nghĩa của vi sinh vật đối với con người.....	68	5.4 Hoạt động của một lò phản ứng bốn khuấy.....	144
2.2.1 Vi sinh vật là mầm gây bệnh.....	68	5.4.1 Tẩy sạch và tiệt trùng.....	144
2.2.2 Vi sinh vật là yếu tố gây hư thực phẩm.....	71	5.4.2 Trộn và sục khí.....	148
2.2.3 Vi sinh vật là nguyên nhân gây sự ăn mòn.....	72	5.4.3 Bọt khí và trừ bọt.....	152
III Kỹ thuật sinh học	74	5.5 Quy trình kiểm soát trong một lò phản ứng sinh học bốn khuấy.....	154
1 Kỹ thuật sinh học và kỹ thuật di truyền	75	5.5.1 Các đại lượng trong các lò phản ứng sinh học.....	155
1.1 Lịch sử của kỹ thuật sinh học và kỹ thuật di truyền.....	76	5.5.2 Điều chỉnh đại lượng trong lò phản ứng sinh học.....	162
1.2 Ưu thế của phương pháp kỹ thuật sinh học.....	78	5.6 Lò phản ứng sinh học không khuấy.....	166
2 Vi sinh vật và các tế bào quan trọng trong kỹ thuật sinh học	80		
2.1 Vi sinh vật sản xuất trong kỹ thuật sinh học.....	80		
2.2 Kỹ thuật di truyền – sản xuất sinh vật chuyển gen để sử dụng trong kỹ thuật sinh học.....	82		

5.6.1	Lò phản ứng sinh học dùng một lần	166	3.1.1	Những chất khí ô nhiễm không khí (vài thí dụ điển hình).....	245
5.6.2	Lò phản ứng sinh học rung.....	168	3.1.2	Những chất ô nhiễm không khí ở thể hơi (vài thí dụ điển hình).....	246
5.6.3	Lò phản ứng sinh học cột khí và lò phản ứng sinh học vận chuyển khí	169	3.1.3	Bụi và aerosol với tính chất của những chất ô nhiễm không khí (vài thí dụ điển hình).....	247
5.6.4	Lò phản ứng sinh học lớp đệm cố định và lò phản ứng sinh học lớp đệm tầng xoay	170	3.1.4	Những vấn đề toàn cầu do ô nhiễm không khí gây ra.....	248
5.6.5	Lò phản ứng sinh học màng.....	171	3.1.5	Những vấn đề giới hạn về không gian do ô nhiễm không khí gây ra	250
6	Quy trình sản xuất kỹ thuật sinh học	172	3.2	Ô nhiễm đất	252
6.1	Sơ đồ của một quá trình sản xuất kỹ thuật	173	3.2.1	Những ô nhiễm thông thường đến bề mặt đất (vài thí dụ chọn lọc)	252
6.2	Chuẩn bị các nguyên liệu khởi sự (Upstream-Processing)	174	3.2.2	Ô nhiễm mặt đất bởi nông nghiệp.....	252
6.2.1	Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng	174	3.2.3	Ô nhiễm đất do rác thải	255
6.2.2	Khử trùng của hệ thống lò phản ứng sinh học và môi trường dinh dưỡng	174	3.3	Ô nhiễm nước	256
6.2.3	Sản xuất vật liệu cấy	175	3.3.1	Những tác động tự nhiên đến môi trường nước và việc sản xuất nước uống.....	256
6.3	Tiến trình lên men (sự chuyển hóa)	176	3.3.2	Sự tự làm sạch tự nhiên của môi trường nước	257
6.3.1	Tiến trình lên men gián đoạn	176	3.3.2	Ô nhiễm môi trường nước bởi hoạt động của con người	258
6.3.2	Tiến trình lên men liên tục	179	4	Đối phó với ô nhiễm môi trường	260
6.4	Hoàn thành sản phẩm (tiến trình downstream) ..	180	4.1	Bảo vệ môi trường.....	260
6.4.1	Tách tế bào	182	4.2	Những quy định trong khuôn khổ bảo vệ môi trường	261
6.4.2	Phá vỡ tế bào	188	4.3	Bảo vệ môi trường và bảo vệ lao động	262
6.4.3	Bổ sung sản phẩm	190	4.4	Kết hợp bảo vệ môi trường vào sản xuất.....	264
6.4.4	Thanh lọc và bao bì sản phẩm.....	192	4.5	Giảm tác động môi trường qua thí dụ sông Rhein	265
7	Các ứng dụng chính của kỹ thuật sinh học	198	V	Phần chuyên sâu	266
7.1	Kỹ thuật sinh học trắng	198	1	Phần chuyên sâu sinh học	266
7.1.1	Kỹ thuật sinh học trong công nghiệp thực phẩm và thức uống.....	198	1.1	Protein và chế độ ăn uống.....	266
7.1.2	Kỹ thuật sinh học trong ngành công nghiệp hóa chất.....	203	1.2	Các lớp enzyme	267
7.2	Kỹ thuật sinh học xám	213	1.3	Động học enzyme	268
7.2.1	Xử lý ô nhiễm đất sinh học.....	213	1.4	Kháng thể (antibody).....	270
7.2.2	Xử lý khí thải sinh học	214	1.5	Kháng thể đơn dòng.....	271
7.2.3	Xử lý sinh học nước thải	216	1.6	Kính hiển vi để nghiên cứu cơ cấu sinh học.....	272
7.3	Kỹ thuật sinh học đỏ	221	1.7	Cơ cấu của tế bào thực vật.....	274
7.3.1	Dược sinh học.....	221	2	Chuyên sâu kỹ thuật sinh học	276
7.3.2	Vaccine	226	2.1	Cô lập nucleic acid từ hệ gen DNA.....	276
7.4	Kỹ thuật sinh học xanh	227	2.2	Chuyên sâu phần quá trình tiệt trùng.....	277
7.4.1	Sinh khối và sản xuất nguyên liệu.....	227	2.3	Phát hiện vi sinh vật với tấm thạch nền	280
IV	Sinh thái học	230	2.4	Quá trình sản xuất kỹ thuật sinh học với thí dụ insulin người.....	282
1	Quan hệ hỗ tương giữa sinh vật và môi trường ..	230	3	Sinh thái học chuyên sâu	285
1.1	Những khái niệm cơ bản của sinh thái học	231	3.1	Đánh giá về tình trạng ô nhiễm nước.....	285
1.2	Những yếu tố môi trường vô sinh.....	233	VI	Kiểm tra kiến thức	288
1.2.1	Khí hậu.....	233	1	Nguyên tắc cơ bản của sinh học	288
1.2.2	Mặt đất.....	237	2	Vi sinh vật học	291
1.3	Những yếu tố môi trường hữu sinh	238	3	Kỹ thuật sinh học	292
2	Quan hệ về thực phẩm và sự sản xuất chất trong hệ sinh thái	240	4	Sinh thái học	299
2.1	Loài sản xuất, loài tiêu thụ và loài phân hủy.....	240	5	Phần chuyên sâu	302
2.2	Chuỗi thức ăn	241		Bảng thuật ngữ Việt - Đức - Anh	303
2.3	Chu trình sinh hóa	242		Lời cảm ơn.....	341
2.3.1	Chu trình carbon và oxy.....	242		Danh sách nguồn gốc hình ảnh.....	345
2.3.2	Chu trình nitơ	242			
3	Sự can thiệp của con người vào những hệ sinh thái	244			
3.1	Ô nhiễm không khí.....	244			

3 Quá trình trao đổi chất trong tế bào

Một dấu hiệu của sự sống là sự trao đổi vật chất và năng lượng giữa các tế bào và môi trường chung quanh của chúng. Quá trình này được gọi chung là quá trình trao đổi chất hay metabolism. (Hình 1).

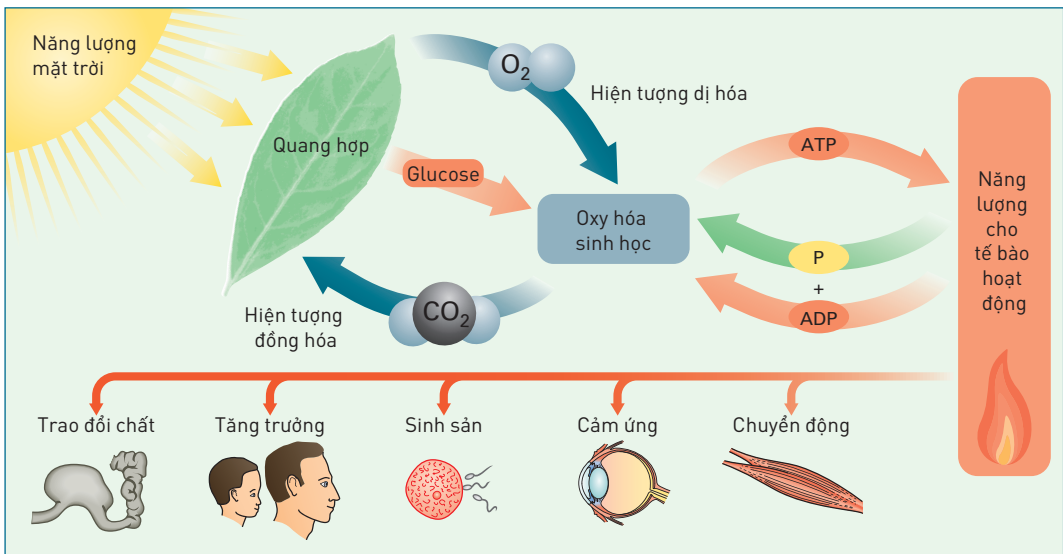
3.1. Định nghĩa quá trình trao đổi chất

▶ **Hiện tượng đồng hóa.** Trong tất cả các tế bào xuất hiện liên tục các quá trình tổng hợp từ những chất đơn giản thành những phân tử phức tạp cho tế bào. Quá trình này đòi hỏi năng lượng từ phía tế bào (**phản ứng không tự nguyện**, endergonic) và được gọi là **hiện tượng đồng hóa** (assimilation) hay **anabolism** (trang 37).

▶ **Hiện tượng dị hóa.** Sự phân hủy chất dinh dưỡng hữu cơ (thí dụ protein, carbohydrate, mỡ) sẽ tạo ra năng lượng (các phản ứng tự nguyện, exergonic). Hiện tượng này được gọi là **hiện tượng dị hóa** (dissimilation) hay **catabolism**. (trang 37).

▶ **Tính dị dưỡng và tính tự dưỡng.** Mọi sự sống đều tùy thuộc vào năng lượng. Nếu sinh vật nhận năng lượng được cung cấp chỉ từ sự khai thác các phân tử hữu cơ (thí dụ từ thực phẩm thực vật, thịt, sữa, sản phẩm phân rã và phân hủy) thì chúng là sinh vật dị dưỡng (heterotrophic). **Con người, động vật, nấm** và phần lớn vi khuẩn là sinh vật dị dưỡng.

Vi thực vật sử dụng ánh sáng mặt trời làm năng lượng cơ bản nên không cần chất hữu cơ làm thực phẩm. Thực vật là sinh vật tự dưỡng (autotrophic).



Hình 1: Quá trình trao đổi chất qua thí dụ về biến đổi năng lượng (sơ đồ)

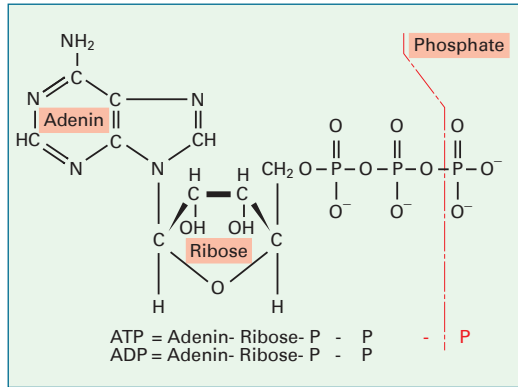
Thí dụ trao đổi chất sau đây làm sáng tỏ tính đa dạng về sự trao đổi năng lượng và vật chất trong tế bào:

- vận chuyển năng lượng với sự hỗ trợ **ATP và ADP** (adenosine diphosphate)
- sử dụng năng lượng mặt trời (**quá trình quang hợp**)
- nhận năng lượng do quá trình **oxy hóa sinh học và lên men rượu** (ethanol fermentation) và
- xây dựng các tế bào protein theo chương trình của DNA (**tổng hợp protein**).

3.2 ATP và ADP

► **ATP (adenosin triphosphate, Hình 1).** ATP là phân tử sinh học quan trọng nhất cho việc tạo và vận chuyển năng lượng trong các quá trình trao đổi chất. Chúng xuất hiện ở mọi tế bào và tham dự trực tiếp ở hầu hết các hoạt động trao đổi chất. (Hình 2)

Hàm lượng năng lượng của ATP do “hiệu thế” bên trong, mà phân tử có được từ bốn điện tích âm lân cận trong phần triphosphate. Từ đó ở mọi nơi và mọi thời điểm trong tế bào, nhóm phosphate PO_4^{3-} có thể do enzyme dễ dàng tách ly và thu thập năng lượng.

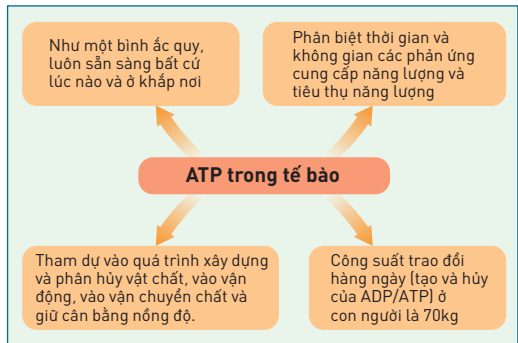


Hình 1: Phân tử ATP

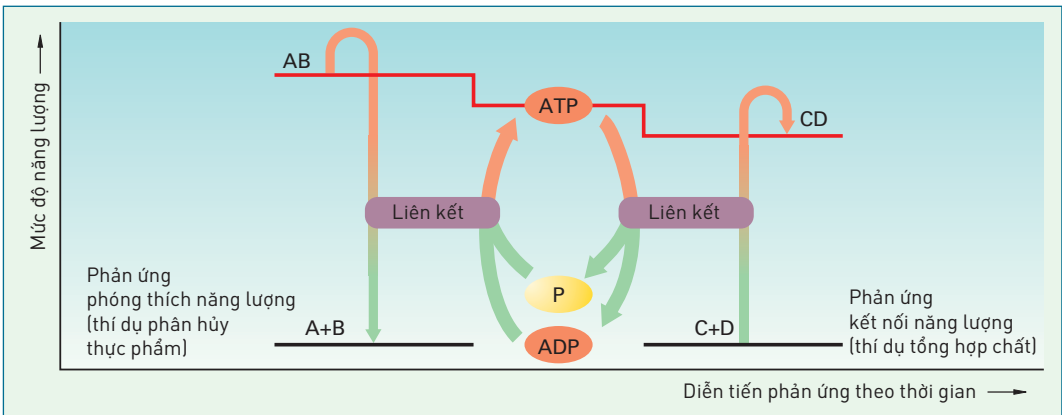
Phản ứng tỏa năng lượng: $ATP + H_2O \rightarrow ADP + PO_4^{3-} + \text{năng lượng}$ $\Delta G \approx -30 \text{ kJ/mol}$

Nhóm phosphate tự do có thể sát nhập vào phân tử khác, quá trình này có tên là **phosphor hóa** (phosphorylation). Nhóm phân tử mới này có năng lượng nhiều hơn và nhờ đó làm cho các phản ứng thực hiện dễ dàng hơn (Hình 3). Nguyên tắc này được gọi là **khớp nối năng lượng** (energy coupling). Qua đó các phản ứng thu năng lượng có thể xuất hiện theo con đường khác, bằng cách nối kết với phản ứng tỏa năng lượng.

► **Phục hồi ATP.** Giống như một ắc quy hết năng lượng, phân tử kém năng lượng **ADP (adenosin diphosphate)** có thể lấy lại năng lượng, thí dụ như trong ty thể qua quá trình oxy sinh học biến ADP thành **ATP**, bằng cách để nhóm phosphor sát nhập vào. Như vậy ATP được “nạp” đầy năng lượng và có thể cung cấp năng lượng như trước. (trang 40)



Hình 2: ATP phương tiện truyền tải năng lượng trong tế bào



Hình 3: Vận chuyển năng lượng qua hệ thống ATP - ADP (sơ đồ)

ATP là một phương tiện truyền tải đa năng và giữ năng lượng. Nó tham dự ở hầu hết các phản ứng trao đổi chất.

3.6 Tổng hợp protein

Tổng hợp protein trong tế bào dưới sự giám sát của DNA qua các gen của chúng, được thực hiện theo hai bước: **phiên mã** (transcription) và **dịch mã** (translation).

▶ **Gen và bộ gen.** DNA được mã hóa bằng mã di truyền và cho thông tin qua amino acid của tất cả các protein (trang 9). Ở đây mỗi đoạn DNA mã hóa, mang thông tin về sự hình thành một hay nhiều protein (cũng như phân tử RNA, trang 16), có giới hạn từ **đoạn khởi động** (promotor) cho đến **vùng kết thúc** (terminator) và được gọi là **gen**. (Hình 1, trang kế)

Tất cả gen của một sinh vật hợp lại thành **bộ gen** (genome). Như vậy bộ gen của con người bao gồm khoảng 22.000 gen, có trách nhiệm xây dựng các protein, thực hiện các chức năng của cơ thể.

▶ **Mã di truyền.** Vì trong chuỗi protein bao gồm 20 amino acid khác nhau nên cần có 20 đơn vị thông tin tương ứng mã hóa của DNA. Nhưng phân tử DNA chỉ có bốn nucleotide khác nhau với các base Adenin, Thymin, Cytosin và Guanin, ngắn gọn A, T, C và G. Vì vậy cứ **ba nucleotide** sát nhau trên DNA hợp lại thành một **bộ ba** (Triplet), còn gọi là **codon** làm một đơn vị thông tin cho một amino acid.

Hình 1 cho thấy sự liên hệ các codon tương ứng với amino acid. Theo quy định chung, mã di truyền dựa vào phân tử RNA dưới dạng mRNA là một bản sao của DNA, chịu trách nhiệm trong việc tổng hợp protein. RNA khác với DNA chủ yếu ở chỗ, thymin được thay bằng một base cùng chức năng uracil, viết tắt U.

Vị trí 1 (5' cuối)	Vị trí 2 (Giữa)				Vị trí 3 (3' cuối)
	U	C	A	G	
U	Phe F	Ser S	Tyr Y	Cys C	U
	Phe F	Ser S	Tyr Y	Cys C	C
	Leu L	Ser S	STOPP	STOPP	A
	Leu L	Ser S	STOPP	Trp W	G
C	Leu L	Pro P	His H	Arg R	U
	Leu L	Pro P	His H	Arg R	C
	Leu L	Pro P	Gln Q	Arg R	A
	Leu L	Pro P	Gln Q	Arg R	G
A	Ile I	Thr T	Asn N	Ser S	U
	Ile I	Thr T	Asn N	Ser S	C
	Ile I	Thr T	Lys K	Arg R	A
	Met M/ Start	Thr T	Lys K	Arg R	G
G	Val V	Ala A	Asp D	Gly G	U
	Val V	Ala A	Asp D	Gly G	C
	Val V	Ala A	Glu E	Gly G	A
	Val V	Ala A	Glu E	Gly G	G

Hình 1: Mã di truyền (Xem trang 10 về các tên viết tắt của amino acid)

Trong bộ mã di truyền ở **Hình 1**, thí dụ codon UUU là mã di truyền cho Phenylalanin, AAG cho Lysin. Theo định luật kết hợp, cứ ba

(codon) trong bốn base A,U,C và G có thể cho $4^3 = 64$ codon khác nhau, vì vậy ở một vài amino acid, một acid có thể có nhiều codon. Thêm vào đó có nhiều codon chỉ cho dấu hiệu như AUG là **codon khởi động** (startcodon) và UAA là codon cuối của một gen gọi là **codon kết thúc** (stoppcodon).

Tất cả sinh vật đều sử dụng cùng mã di truyền, vì vậy mã di truyền được xem như có tính phổ quát. Như vậy virus có thể xâm nhập vào tế bào, truyền DNA của chúng vào tế bào và buộc tế bào này sản xuất ra các virus mới. Ngay cả ngành **kỹ thuật di truyền** cũng tận dụng tính phổ quát của mã di truyền. Thí dụ như người ta dùng gen của người đưa vào vi khuẩn và khiến chúng sản xuất các protein người. (trang 82)

▶ **Phiên mã.** Việc tổng hợp protein bắt đầu với một bản sao của gen tương ứng trên DNA dưới dạng **RNA thông tin** (mRNA, messenger = truyền tin) (**Hình 1**, trang kế). Sự sao chép thông tin từ DNA sang mRNA rất thuận lợi, vì bản sao gen là những phân tử tương đối nhỏ và nhẹ, dễ dàng thoát khỏi thành của nhân để chuyên chở thông tin sang ribosome trong tế bào chất. Ngoài ra từ một gen có thể làm ra hàng trăm bản sao và sau khi thực hiện xong nhiệm vụ của mình chúng có thể bị hủy. Khả năng điều chỉnh gen không thể thiếu cho quá trình trao đổi chất.

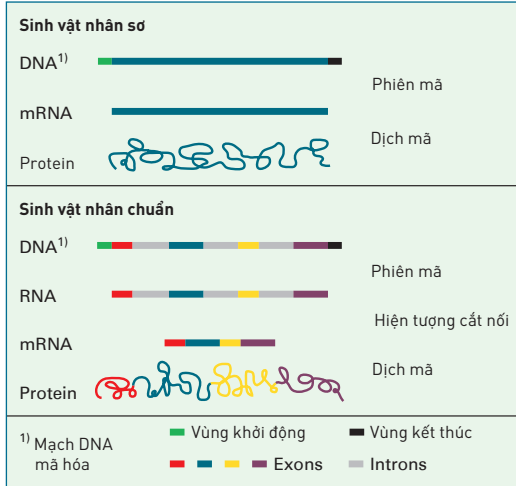
Để tổng hợp protein, trước tiên enzyme RNA-Polymerase tháo mở ra vùng tương ứng trên DNA-Helix đôi. Theo nguyên tắc base bổ sung, RNA-nucleotide tương ứng sát nhập vào các nucleotide trống của một trong hai nhánh vừa được mở, còn gọi là nhánh **codogen** (mã hóa). Sau đó enzyme RNA-Polymerase kết hợp chúng lại thành nhánh đơn mRNA và rời khỏi DNA, tiến về phía ribosome. Ở loài vi khuẩn (sinh vật nhân sơ) với DNA nằm tự do trong tế bào thì tiến trình phiên mã đến đây là chấm dứt. Vì giữa đoạn khởi động và vùng kết thúc của vi khuẩn chỉ có các codon xuất hiện.

Ở thực vật, động vật và con người (sinh vật nhân chuẩn) trước khi vận chuyển sang ribosome, mRNA còn được chỉnh sửa, vì tùy theo độ lớn, nhiều gen chứa nhiều đoạn DNA, gọi là **Exon** và **Intron**. Exon bao gồm các codon mã hóa amino acid trong khi intron chứa các nucleotide không mã. Với một loại enzyme đặc biệt, intron bị cắt đứt ra và các exon được nối lại, thành một nhánh mới mRNA có chức năng, chỉ bao gồm exon. Hiện tượng này gọi là **hiện tượng cắt nối** (splicing). Sau đó mRNA nhẹ nhàng di chuyển xuyên ra màng nhân vào tế bào chất. (Hình 1).

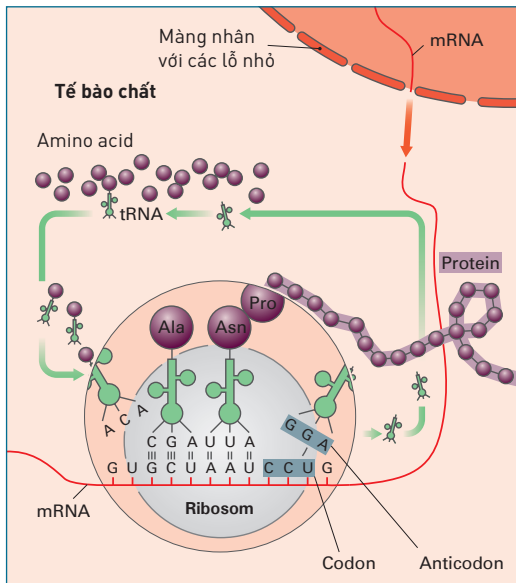
► **Dịch mã** (Hình 2). Ở ribosome, các amino acid tổng hợp thành protein qua quá trình **dịch mã** (translation). Các phân tử amino acid xuất phát từ protein thực phẩm, kết nối vào phân tử **RNA vận chuyển** (tRNA transfer = vận chuyển) đặc biệt để được đưa đến ribosome.

Tương ứng với mỗi codon của mã di truyền có một phân tử vận chuyển tRNA, gồm hai đầu. Một đầu mang ba base chưa kết nối, gọi là anticodon. Anticodon có thể nhận ra được codon tương ứng của mRNA như một đối tác. Ở đầu thứ hai của phân tử tRNA được kết hợp với một amino acid, tương ứng với codon của mã số.

Quy trình dịch mã bắt đầu với codon khởi đoạn AUG (Methionin). Trong quá trình tổng hợp protein, ribosome di chuyển từng giai đoạn dọc theo nhánh mRNA. Trong mỗi giai đoạn, tRNA nối tạm thời ở một đầu với amino acid và đầu kia là một anticodon tương ứng với codon của mRNA. Amino acid rời khỏi tRNA và kết hợp với amino acid đã hình thành. Chu trình này được lặp lại cho đến khi một stopcodon báo hiệu cho sự chấm dứt của tiến trình dịch mã. Tất cả các amino acid đều nằm tuần tự vào vị trí do gen xác định và rời khỏi ribosome. Sau khi sắp xếp cấu trúc tương ứng, protein vừa được tổng hợp có đầy đủ chức năng, thí dụ là enzyme, hormone, kháng thể, protein bắp thịt hay protein sữa. (trang 9)



Hình 1: Kết cấu của gen



Hình 2: Tiến trình tổng hợp protein (sơ đồ)

Gen cung cấp thông tin qua chuỗi amino acid để hình thành protein.

2 Vi sinh vật và các tế bào quan trọng trong kỹ thuật sinh học

Trong nghiên cứu, phát triển và sản xuất kỹ thuật sinh học, **vi sinh vật** được dùng làm đối tượng rất tiện lợi, vì chúng tương đối dễ xử lý. Trái lại **việc nuôi cấy tế bào thực vật, động vật hay tế bào người** ngoài cơ thể với môi trường dinh dưỡng trong lò phản ứng sinh học phức tạp hơn nhiều và đòi hỏi rất cao về kỹ thuật sinh học. Dù vậy vẫn phải làm, nhất là để sản xuất các hoạt chất bằng kỹ thuật sinh học đồ.

2.1 Vi sinh vật sản xuất trong kỹ thuật sinh học

▶ **Vi sinh vật sản xuất.** Mặc dù theo dự đoán của các nhà khoa học, vi sinh vật xuất hiện đến hàng triệu loài, nhưng không quá 100 loài được dùng trong kỹ thuật sinh học. (Bảng 1). Sự kiện này liên quan đến các đòi hỏi về tính an toàn cao, vì chỉ có vi sinh vật được đánh giá “là an toàn” mới được sử dụng. Điều này có nghĩa là chúng không độc, không là mầm gây bệnh và không tạo kháng sinh.

Nhiều vi sinh vật sản xuất được thay đổi có mục tiêu bằng kỹ thuật di truyền để chúng mang lại hiệu quả cao nhất trong các quá trình sinh học.

GMO (*Genetically Modified Organism* - sinh vật chuyển gen) hay thường gọi là “**lỗi thiết kế**” (“*Designer Bug*”) làm tăng hiệu quả sản xuất kỹ thuật sinh học, thí dụ vitamin B₂ với vi khuẩn đất *Bacillus subtilis*: Qua chuyển gen, khả năng của *Bacillus subtilis* được tối ưu hóa, các dòng

vi khuẩn chuyển gen sản xuất vitamin B₂ nhiều gấp 300.000 lần so với vi khuẩn gốc. (trang 78)

Sinh vật GMO cũng cho phép sản xuất một loại protein tái tổ hợp. Protein *tái tổ hợp* có nghĩa là gen mã hóa cho protein được đưa vào vi sinh vật bằng phương pháp kỹ thuật sinh học, để tạo ra một protein mới chưa có trong thiên nhiên (trang 83). Hơn 80% enzyme công nghiệp và 100% insulin người được sản xuất dưới dạng protein tái tổ hợp qua kỹ thuật chuyển gen.

▶ **Nuôi cấy tế bào.** (Bảng 1 trong trang tới) Để sản xuất protein *tái tổ hợp* của người làm chất kích hoạt như hormone, enzyme, chất cầm máu, kháng thể hay vaccine người ta sử dụng chủ yếu phương pháp nuôi cấy tế bào với các **dòng động vật có vú**. Chỉ tế bào loại này mới có khả năng thay đổi các protein sau khi tổng hợp, thí dụ ghép vào một carbohydrate (đường hóa) cần thiết như ở nhiều loại protein người (glycoprotein) để có đầy đủ chức năng.

Bảng 1: Một số vi sinh vật sản xuất chọn lọc

Sinh vật	Sản phẩm thí dụ
Vi khuẩn <i>Bacillus subtilis</i> * <i>Bacillus coagulans</i> * <i>Bacillus licheniformis</i> * <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	vitamin B ₂ , enzyme kỹ thuật enzyme: glucose isomerase enzyme kỹ thuật: protease, amylase Bt-độc tố (thuốc trừ sâu sinh học)
<i>Clostridium acetobutylicum</i> <i>Corynebacterium glutamicum</i> *	dung môi: butanol, acetone amino acid: glutamic acid, lysine
<i>Escherichia coli</i> *	insulin người, enzyme điều trị
<i>Lactobacillus casei</i>	lactic acid
<i>Pseudomonas putida</i> *	aspartase cho chất làm ngọt aspartame
<i>Xanthomonas campestris</i> *	xanthan (độ nhớt cao polysaccharid cho công nghiệp thực phẩm sản xuất dầu và khí đốt) Rượu
<i>Zymomonas mobilis</i>	ethanol
Men và nấm mốc <i>Saccharomyces cerevisiae</i> * <i>Pichia pastoris</i> * <i>Penicillium chrysoGenum</i> <i>Aspergillus niger</i> *	men bánh, ethanol, protein tái tổ hợp protein tái tổ hợp kháng sinh: penicillin citric acid, “labenzyme” cho vi sinh vật

* Còn được dùng dưới dạng GMO

Nuôi cấy tế bào côn trùng được sử dụng cho các ứng dụng đặc biệt. Thí dụ, để sản xuất vaccine chống lại bệnh ung thư cổ tử cung do virus gây ra.

Nuôi cấy tế bào thực vật được dùng để sản xuất protein tái tổ hợp và enzyme, tuy nhiên trong sản xuất công nghiệp, chúng vẫn chưa đạt được hiệu quả mong muốn.

Sản xuất dược phẩm sinh học do chuyển gen vi sinh vật và tế bào đòi hỏi tiêu chuẩn cao nhất của phương pháp sản xuất kỹ thuật sinh học. Vì vậy các sinh vật quan trọng nhất cho sản xuất được trình bày ngắn với một số đặc tính của chúng (**Bảng 2**):

Bảng 1: Vài thí dụ cho việc nuôi cấy tế bào

Dòng nuôi cấy tế bào	Giải thích
Dòng tế bào CHO	Dòng tế bào động vật có vú từ buồng trứng của chuột hamster Trung Quốc (Chinese hamster ovary)
Dòng tế bào BHK	Dòng tế bào động vật có vú từ mô thận chuột Syria (Baby hamster kidney)
Dòng tế bào MDCK	Dòng tế bào động vật có vú từ mô thận của chó (Madin-Darby canine kidney)
Dòng tế bào Sf-9	Dòng tế bào côn trùng từ buồng trứng của một loại bướm đêm.
<i>Nicotiana tabacum</i> BY-2	Dòng tế bào thực vật chiết xuất từ cây thuốc lá

Bảng 2: Tế bào chuẩn cho sản xuất dược sinh học trong lò phản ứng

Sinh vật sản xuất	Đặc tính
<p><i>Escherichia coli</i> (vi khuẩn)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Dòng an toàn, không gây bệnh có sẵn, chẳng hạn như <i>E. coli</i> K12 ■ Tăng trưởng nhanh chóng trong các lò phản ứng sinh học ■ Môi trường dinh dưỡng rẻ tiền ■ Quy trình sản xuất tương đối đơn giản ■ Độ bền cơ học cao ■ Chỉ sản xuất protein đơn giản ■ Không nối chuỗi carbohydrate vào protein (không đường hóa) ■ Protein được sản xuất nằm lại trong tế bào, thường dưới dạng thể ẩn nhập (inclusion body), có thể tạo thuận lợi cho sản phẩm cách ly ■ Nội độc tố (endotoxin) <p>Sản phẩm chính: kích thích tố (Insulin người, insulin tương tự, somatropin), phân tử tín hiệu (cytokine) như một α-interferon, hoạt chất làm tan máu đông (fibrinolytic)</p>
<p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> (men bánh)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Bình thường không gây bệnh ■ Tăng trưởng nhanh chóng trong các lò phản ứng sinh học (nhưng chậm hơn so với <i>E. coli</i>) ■ Môi trường dinh dưỡng rẻ tiền, quy trình sản xuất tương đối đơn giản ■ Độ bền cơ học cao ■ Đem so sánh chỉ sản xuất được protein đơn giản ■ Có thể nối chuỗi carbohydrate vào protein, nhưng không giống với các tế bào động vật có vú. Do đó, phản ứng miễn dịch có thể xảy ra. ■ Protein tái tổ hợp được phóng thích ra khỏi tế bào, không hình thành các thể nhỏ ■ Không nội độc tố <p>Sản phẩm chủ lực: insulin người, các thuốc ức chế đông máu, vaccine</p>
<p>CHO-Tế bào (tế bào sinh vật có vú)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Không chứa virus và gen ung thư (gen gây ung thư) ■ Tăng trưởng chậm trong lò phản ứng sinh học ■ Môi trường dinh dưỡng đắt tiền ■ Quy trình sản xuất phức tạp và tốn kém ■ Độ bền cơ học rất thấp ■ Có thể gắn chuỗi carbohydrate vào protein, tương tự như ở người ■ Protein gấp đúng cách ■ Có thể sản xuất các protein rất lớn và phức tạp ■ Protein tái tổ hợp được phóng thích ra khỏi tế bào, không hình thành các thể nhỏ <p>Sản phẩm quan trọng: yếu tố đông máu VIII và IX, hoạt chất làm tan máu đông, chống thiếu máu như erythropoietin (EPO), kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)</p>

2.2.4 Phản ứng chuỗi PCR

Trong các chương trước, chúng ta đã bàn về sự phân lập và tiếp theo là phương pháp phát hiện nucleic acid, chủ yếu của nhánh DNA kép. Để thực hiện chúng ta giả định, là luôn luôn có đủ số tế bào cần thiết để xác định số lượng DNA phân lập trên gel agarose.

Tùy vào chất màu sử dụng, sự phát hiện nucleic acid trên gel agarose ở mức độ khoảng 20 pg mỗi **băng mẫu**. Một cặp base có khối lượng $m = 1,1 \cdot 10^{-21}$ g ($M=660$ g/mol). Điều này có nghĩa là DNA của một gen với chiều dài 1000 bp có khối lượng $m = 1,1 \cdot 10^{-18}$ g. Như vậy một băng mẫu với 20 pg của gen này chứa khoảng 18 triệu phân tử.

Trên thực tế không phải lúc nào cũng có đủ tế bào để hình thành khối lượng nucleic acid cần thiết. Thí dụ trong lĩnh vực tội phạm thường chỉ từ một vết máu hoặc một mẫu nước bọt phải lấy được thông tin di truyền của thủ phạm.

Tuy nhiên với một phương pháp đặc biệt người ta có thể nhân một số lượng nhỏ DNA thành nhiều lần để đảm bảo vượt qua giới hạn lượng phát hiện cần thiết trên gel agarose.

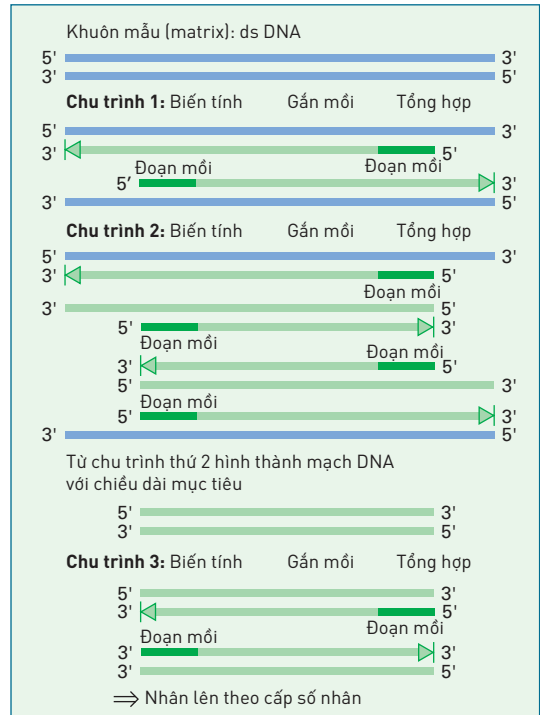
► **Phản ứng chuỗi - PCR (Hình 1)**. Phương pháp chọn để nhân một lượng nhỏ DNA thành nhiều lần là phương pháp phản ứng chuỗi (PCR, chữ tắt từ tiếng Anh Polymerase Chain Reaction) được *Kary Mullis* phát triển vào năm 1985.

Nguyên tắc của PCR dựa trên cơ chế sao chép của DNA, như quá trình phân bào trong mỗi tế bào để DNA của sinh vật được nhân đôi (trang 16). Đặc tính của phương pháp này là độc lập với sinh vật, do đó có thể thực hiện được trong ống nghiệm (in vitro).

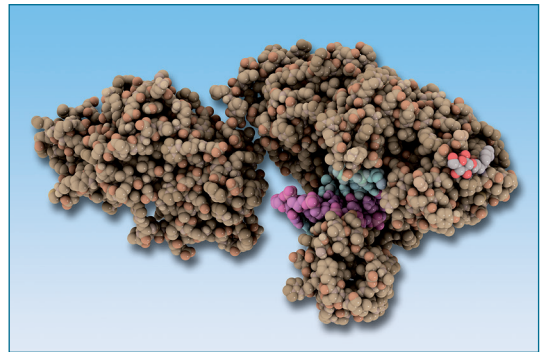
Để thực hiện phương pháp PCR đòi hỏi đầu tiên là một **khuôn mẫu** (template) để nhân lên, như vậy ít nhất là một phân tử DNA nhánh đôi (*dsDNA*), xuất phát từ đoạn mẫu và cần sao chép nhiều lần. Từ đoạn DNA này phải biết rõ ít nhất là

trình tự của các phần cuối, vì ở đây **đoạn mồi** được thêm vào để khởi động phản ứng. Ngoài ra bốn nucleotide dATP, dCTP, dGTP và dTTP và enzyme DNA-polymerase cần thiết để xúc tác quy trình tổng hợp DNA. Phương pháp PCR còn đòi hỏi một enzyme chịu nhiệt như Taq DNA polymerase. Enzyme này được phân lập từ vi khuẩn *Thermus aquaticus* sống trong suối nước nóng (**Hình 2**).

► **Tiến trình PCR**. PCR là một chu kỳ nối tiếp, gồm ba giai đoạn phản ứng: **biến tính**, **gắn mồi** và **tổng hợp**, được thực hiện tự động trong máy PCR (thermo cycler) (**Hình 2**, trang tiếp theo). Như vậy toàn bộ phản ứng PCR được lặp lại thường xuyên, thí dụ 25 chu kỳ của ba giai đoạn này.



Hình 1: Phản ứng chuỗi PCR



Hình 2: DNA Polymerase

Biến tính. Trong bước phản ứng đầu tiên này, DNA mạch đôi được tách ra ở nhiệt độ 95°C thành hai nhánh đơn.

Gắn mỗi. Đối với phản ứng ở giai đoạn thứ hai, tùy thuộc vào cơ cấu của đoạn mỗi (xem bên dưới), nhiệt độ được giảm xuống còn khoảng 50°C để đoạn mỗi có thể bám bổ sung vào mạch đơn. Nhiệt độ gắn đoạn mỗi cao hay thấp phụ thuộc vào độ dài và thành phần của đoạn mỗi.

Đoạn mỗi càng dài bao nhiêu và thành phần GC càng cao bao nhiêu thì nhiệt độ gắn mỗi được lựa chọn càng cao bấy nhiêu.

Nếu nhiệt độ gắn mỗi quá thấp thì có thể xảy ra trường hợp là đoạn mỗi nối với một đoạn không đặc hiệu của DNA và như vậy việc sao chép không chỉ có phần mục tiêu mà còn có thêm phần không muốn, PCR sẽ trở nên không đặc hiệu.

Nhiệt độ gắn mỗi có thể tính gần đúng theo công thức $\vartheta_M = 2 \times (\text{số adenin} + \text{số thymin}) + 4 \times (\text{số guanin} + \text{số cytosin})$. Trong thực hành, thì nên sử dụng phần mềm có sẵn để tính nhiệt độ gắn mỗi theo một lập trình phức tạp (thí dụ Primer3) sau khi cho đoạn mỗi vào.

Tổng hợp. Bước phản ứng thứ ba được thực hiện ở 72°C. Ở nhiệt độ này, enzyme *Taq* polymerase làm việc tốt nhất và bắt đầu tổng hợp bổ sung vào mạch đơn thành mạch đôi.

Cho mục đích này, chúng sử dụng nucleotide DNA trong phản ứng tiếp cận. Quy trình tổng hợp bắt đầu ở đầu cuối 3' của đoạn mỗi (trang 14).

Sau giai đoạn tổng hợp, chu kỳ tiếp theo bắt đầu với biến tính v.v. Như vậy dưới cái nhìn toán học, đoạn mẫu sẽ tăng đôi ở mỗi bước (số lượng phân tử nhân lên là $= 2^n$ với n là số chu kỳ). Một quá trình PCR với 25 chu kỳ, về mặt lý thuyết sẽ cung cấp chỉ với một phân tử mẫu là 2^{25} phân tử ($= 33\,554\,432$). Về mặt lý thuyết thì rất lạc quan, nhưng trong thực tế các yếu tố nhân lên nhỏ hơn nhiều và ở khoảng $1,7^n$ thay vì 2^n . Hiếm khi PCR bắt đầu với một phân tử mẫu; thông thường bắt đầu với một số lượng phân tử lớn hơn.

Khi sử dụng pipette cho phản ứng PCR thì cần lưu ý, chúng không được bị ô nhiễm (**Hình 1**). Các khoảng nhiệt độ tái lập cách nhau trong các phản ứng PCR được điều khiển tự động bởi một thiết bị PCR (**Hình 2**).

Thiết bị PCR xuất hiện với nhiều dạng đặc biệt. Chúng được đề cập đến trong các tài liệu liên quan (thí dụ, iPCR, qPCR, multiplex PCR, sao chép ngược PCR, v.v.).



Hình 1: Phòng làm việc với PCR



Hình 2: Máy PCR (thermocycler)

PCR được dùng để nhân phân tử DNA trong ống nghiệm. Cho một PCR người ta cần mẫu, đoạn mỗi, chất đệm, nucleotide và enzyme polymerase chịu nhiệt cao. Chu trình PCR được chia thành ba giai đoạn: biến tính, gắn mỗi và tổng hợp. Một phản ứng PCR bao gồm khoảng 25 chu kỳ.

4 Nuôi cấy vi sinh vật quan trọng cho kỹ thuật sinh học và tế bào

4.1 Các yếu tố ảnh hưởng đến sự tăng trưởng và sinh sản

► **Tăng trưởng và sinh sản.** Tăng trưởng được định nghĩa là sự gia tăng sinh khối tế bào.

Tăng trưởng bao gồm sự gia tăng số tế bào, vì tế bào vi sinh vật cũng như tế bào thực và động vật được nuôi cấy riêng trong môi trường dinh dưỡng. Khi đạt được kích thước tối ưu chúng sẽ phân bào. Ở mỗi bước như vậy số lượng tế bào và sinh khối sẽ tăng lên gấp đôi, tương ứng với một sự **tăng trưởng cấp số nhân**. (exponential growth) (trang 128).

Động lực học của sự tăng trưởng này khó biểu diễn trong một hệ thống tọa độ trong khoảng thời gian lớn. Do đó, các trị số về số lượng hoặc khối lượng tế bào được chuyển qua hàm logarithm. Qua chuyển đổi này sự tăng trưởng tế bào theo cấp số nhân trở thành một đường thẳng (**Hình 1** và trang 130)

Do cường độ chuyển hóa của vi sinh vật cao nên sự tăng trưởng và sinh sản của chúng cũng nhanh hơn so với tế bào động vật và thực vật. Nhiều loại vi khuẩn có thể nhân lên 2-3 lần trong mỗi giờ. Vận tốc tăng trưởng của vi sinh vật vượt trội so với tất cả các sinh vật khác và mang đến nhiều lợi ích trong việc chế tạo các phân tử sinh học (trang 57).

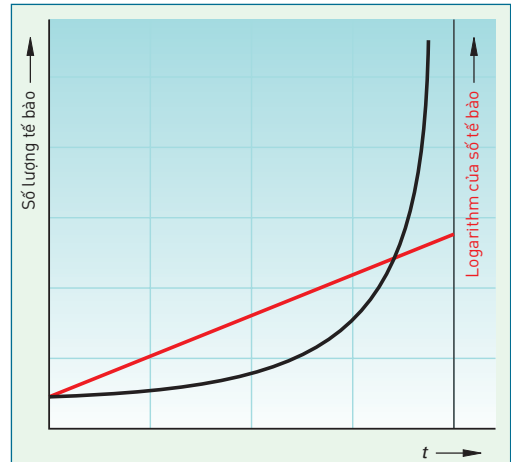
Do đó trong công nghệ sinh học người ta rất thường sử dụng vi sinh vật để sản xuất có kinh tế một khối lượng lớn amino acid, rượu, thuốc kháng sinh, enzyme, hormone v.v. (**Hình 2**).

Nếu vi khuẩn không lệ thuộc, tự do nhân đôi thì cứ trong 20 phút, 1000 g vi khuẩn sẽ biến thành một tấn vi khuẩn trong ba tiếng rưỡi đồng hồ và sau bảy tiếng sẽ tăng lên nhiều ngàn tấn. Sau 10 tiếng khối lượng vi khuẩn sẽ tăng lên gần 1 triệu tấn.

Nhưng thực tế, để gia tăng như vậy cần điều kiện **phát triển tối ưu không giới hạn** cho mỗi tế bào. Trong thiên nhiên, không bao giờ xảy ra, vì nếu không trái đất sẽ bị bao trùm nhanh chóng bởi vi sinh vật.

Tình hình nuôi cấy các tế bào trong một **lò phản ứng sinh học** thì rất khác. Ở đây vi sinh vật, tế bào thực vật và động vật có thể tự do sinh sản, miễn là các điều kiện tăng trưởng được điều chỉnh một cách tối ưu. Chủ yếu là:

- **môi trường dinh dưỡng,**
- **nhiệt độ,**
- **trị số pH** và có thể có
- **oxy.**



Hình 1: Sự tăng trưởng theo cấp số nhân của các tế bào



Hình 2: Sản xuất amino acid bằng vi khuẩn

Trong điều kiện tăng trưởng thuận lợi, vi sinh vật sinh sản bùng nổ.

4.1.1 Môi trường dinh dưỡng

Môi trường dinh dưỡng còn gọi là môi trường nuôi cấy là nơi cung cấp thức ăn cho vi sinh vật, cho các tế bào thực và động vật trong quá trình nuôi cấy tế bào (**Hình 1**). Chúng phải **vô trùng** và chứa các chất cần thiết cho sự phát triển, sinh sản và biệt hóa tế bào (cellular differentiation) như sau:

- **nguồn carbon và năng lượng** (chất nền)
- **chất khoáng** (nguồn nitơ, phốt pho và lưu huỳnh)
- **nguyên tố vi lượng** (chất khoáng tính bằng mg)
- **các yếu tố tăng trưởng** (thí dụ như vitamin và kích thích tố và các amino acid trong môi trường nuôi cấy tế bào).

► **Chất nền.** Nguồn carbon và năng lượng chiếm tỷ trọng lớn nhất trong một môi trường dinh dưỡng được gọi là chất nền. Vi sinh vật và các tế bào động vật có vú chọn ưu tiên carbohydrate, trong đó **glucose** (dextrose) trực tiếp tham dự vào quá trình chuyển hóa và được sử dụng cho hơn 90% các môi trường dinh dưỡng (**Bảng 1**, trang tiếp theo). Tùy theo loài, vi sinh vật cũng tiêu thụ các carbohydrate khác như dầu và mỡ, amino acid và protein, ít cồn, methan và hydrocarbon (**Bảng 1**).

Các môi trường dinh dưỡng khác nhau về thành phần cũng như về mục tiêu sử dụng. Tùy thành phần người ta chia chúng ra môi trường dinh dưỡng phức hợp và môi trường dinh dưỡng tổng hợp.

► **Môi trường dinh dưỡng phức hợp** chứa carbon, nitơ, nguyên tố vi lượng, vitamin và các thành phần sinh học tự nhiên, thí dụ, carbohydrate phức hợp, peptone (enzyme protein bị suy thoái), chiết xuất thịt (phần dung dịch từ cơ bắp do enzyme phân hủy), chiết xuất men bia, rượu bắp và huyết thanh, làm nguồn chính.

Các thành phần của môi trường không được xác định về mặt hóa học và bị biến động đặc trưng về lô (charge). Tuy nhiên môi trường dinh dưỡng phức hợp là một **môi trường hoàn chỉnh**, có tất cả các thành phần cần thiết, do đó việc tăng trưởng tế bào luôn được đảm bảo, nhưng không phải lúc nào cũng tối ưu. Môi trường dinh dưỡng phức hợp dễ sản xuất và phần lớn được chế tạo sẵn, đầy đủ và có thể đặt mua.

Môi trường dinh dưỡng kỹ thuật được dùng cho kỹ thuật sinh học với sản xuất quy mô lớn, thường rất phức tạp và đặc biệt là rẻ tiền. Chúng thường chứa các thành phần là các sản phẩm dư, phụ từ các sản xuất công nghiệp khác.

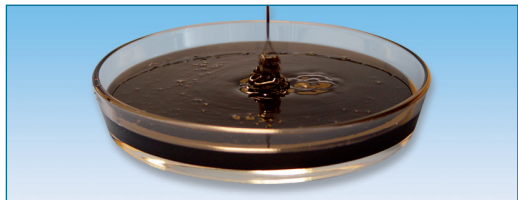
Mật đường. Nguồn carbohydrate phức hợp này là một trong những nguồn chất nền thông dụng nhất cho quá trình lên men, đặc biệt trong sản xuất men bánh (**Hình 2**). Chất còn dư rẻ tiền trong sản xuất đường, chứa ngoài nitơ, nguyên tố vi lượng và vitamin, còn có đến 50% đường saccharose, tuy nhiên vì chúng còn chứa các chất khác nên không thể đưa ra thị trường bán như loại đường cát tinh chất.

Bảng 1: Nguồn chính của carbon

Nguồn carbon	Thí dụ
Carbohydrate (xác định)	Glucose, sucrose (đường củ cải), lactose (đường sữa), tinh bột, cellulose
Carbohydrate (phức hợp)	Mật đường củ cải đường, chiết xuất của mạch nha, nước sữa lên men
Rượu	Ethanol, methanol, glycerol
Dầu	Dầu thực vật và mỡ
Hydrocarbon	Parafin, khí methane



Hình 1: Môi trường dinh dưỡng trước máy hấp áp suất trong phòng lớn



Hình 2: Mật đường như một nguồn carbon cho quá trình lên men trong các lò phản ứng

Nước bắp (dung dịch cornsteep) là một nguồn nitơ phức tạp. Dung dịch huyền phù màu vàng chứa nhiều chất đạm, chất khoáng và vitamin. Rượu bắp là một sản phẩm phụ của công nghiệp khai thác tinh bột bắp và đặc biệt được sử dụng như **môi trường dinh dưỡng rắn** trong sản xuất thuốc kháng sinh do nấm mốc.

► **Môi trường dinh dưỡng tổng hợp** (môi trường được xác định). Thành phần của môi trường dinh dưỡng tổng hợp rõ ràng, vì chúng chỉ gồm các hợp chất hóa học được quy định, tương ứng với vi sinh vật hay các tế bào động vật có vú. Môi trường được tối ưu hóa qua các biện pháp tốn kém gọi là **môi trường tối thiểu**. Môi trường này chỉ bao gồm các thành phần không thể thiếu và cho phép một sự tăng trưởng và hình thành sản phẩm tối ưu. Đối với sinh vật nuôi cấy phát triển càng cao thì môi trường dinh dưỡng tổng hợp chứa càng nhiều chất. Như vậy các đòi hỏi môi trường dinh dưỡng của vi khuẩn thường thấp hơn đòi hỏi của nấm (**Bảng 1**). Đòi hỏi cao nhất là tế bào động vật có vú, chúng cần môi trường nuôi cấy tế bào bao gồm rất nhiều chất.

Việc sản xuất tốn kém và các đòi hỏi cao về độ tinh khiết của từng chất làm cho môi trường dinh dưỡng tổng hợp rất đắt tiền. Do đó chúng chỉ được đặc biệt áp dụng trong phòng thí nghiệm kỹ thuật sinh học cho việc nghiên cứu và phát triển. Trong sản xuất quy mô lớn chỉ được dùng cho các mặt hàng đặc biệt có giá trị, như các dược phẩm protein (insulin, kháng thể đơn dòng, vaccine, v.v...)

Bảng 1: Thí dụ về môi trường dinh dưỡng - thích hợp cho việc nuôi cấy vi khuẩn và nấm			
Loại môi trường dinh dưỡng	Thành phần môi trường dinh dưỡng	Chất	Khối lượng trong mỗi lít nước
Môi trường dinh dưỡng phức hợp cho vi khuẩn		Glucose Men chiết xuất Peptone Natri clorua	1,0 g 3,0 g 15,0 g 6,0 g
Môi trường dinh dưỡng kỹ thuật cho nấm		Lactose Glucose Rượu bắp Kali dihydrophosphate Calciumcarbonate Dầu đậu nành	35,0 g 10,0 g 35,0 g 4,0 g 10,0 g 2,5 g
Môi trường dinh dưỡng tổng hợp cho vi khuẩn	Carbon và nguồn năng lượng khoáng chất (như nitơ, phosphor và nguồn lưu huỳnh) Khoáng chất tính bằng mg (phần tử vi lượng)	Glucose Ammonium sulfate Kali dihydrophosphate Magnesium sulphate Cancium clorua Sulfat sắt (II)	10,0 g 1,0 g 1,0 g 0,2 g 10,0 mg 10,0 mg
Môi trường dinh dưỡng tổng hợp cho nấm	Carbon và nguồn năng lượng khoáng chất (như nitơ, phosphor và nguồn lưu huỳnh) Khoáng chất tính bằng mg (phần tử vi lượng) Yếu tố tăng trưởng (vitamin và hormone)	Glucose Ammonium sulphate Amoni hydro phosphate Kali clorua Magnesium sulfate Cancium clorua Sulfat đồng Sulfat kẽm Sulfat mangan Sắt (III) clorua Inositol Pantothenic acid Vitamin B ₁ Vitamin B ₆ Biotin (vitamin H)	10,0 g 2,0 g 0,64 g 0,3 g 0,15 g 0,09 g 0,8 mg 3,0 mg 3,5 mg 4,8 mg 20,0 mg 10,0 mg 2,0 mg 0,5 mg 0,01 mg

Tương ứng với mục đích sử dụng người ta phân biệt:

▶ **Môi trường dinh dưỡng toàn năng;** môi trường này được dùng để phân lập phần lớn các loại vi sinh vật khác nhau như **I-Nährbouillon chuẩn** được dùng như môi trường dinh dưỡng phức hợp, chỉ bao gồm glucose, peptone, men chiết xuất và natri clorid.

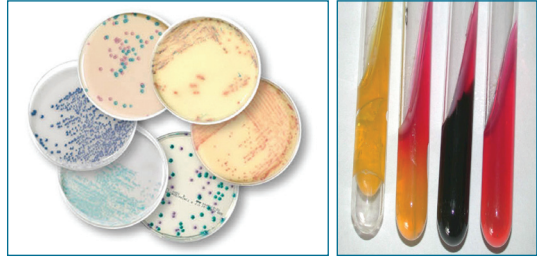
▶ **Môi trường dinh dưỡng.** Đây là môi trường đặc do có sử dụng **agar**, thí dụ như I-Nährbouillon chuẩn hay môi trường máu. Agar là một chất có nguồn gốc từ rong biển và vi sinh vật không sử dụng chúng làm thức ăn. Môi trường dinh dưỡng thường được dùng cho mục tiêu phân tích như để đếm số lượng vi khuẩn (**Hình 1** và trang 132).

▶ **Môi trường dinh dưỡng đặc biệt** phục vụ cho một mục đích cụ thể: **Môi trường chọn lọc** chứa các chất dinh dưỡng chọn lọc, chỉ tiêu thụ bởi một loài vi sinh vật nhất định và ức chế sự tăng trưởng của các loài khác; **môi trường chênh lệch** cho phép phân biệt các loài vi sinh vật khác nhau. Các loại môi trường tiếp nhằm để **chứng minh, tích lũy** hoặc **lưu trữ** vi sinh vật và tế bào.

▶ **Môi trường dinh dưỡng lên men** phục vụ như là một môi trường kỹ thuật hay tổng hợp để nuôi cấy vi sinh vật và các tế bào cho mục đích nghiên cứu trong phòng thí nghiệm và trong công nghệ sản xuất kỹ thuật sinh học (**Hình 2**).

Môi trường lên men tổng hợp có thể xem như môi trường được phát triển dành riêng cho mỗi loại vi sinh vật và mỗi loại tế bào. Môi trường này được hình thành qua nhiều thử nghiệm trong khuôn khổ tối ưu hóa để tìm ra nồng độ của từng thành phần. Trong công nghiệp sản xuất lớn glutamic acid được sử dụng như một chất tăng cường hương vị do vi khuẩn *Corynebacterium glutamicum* tác động, cho thấy sự hình thành sản phẩm phụ thuộc vào độ đậm đặc của yếu tố tăng trưởng biotin (**Hình 3**). Trên thực tế hầu hết các thành phần của môi trường đều có một sự lệ thuộc tương ứng.

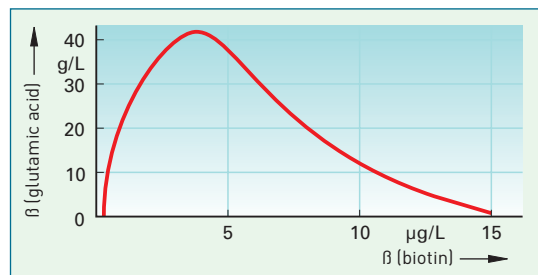
Nồng độ chất nền, thường là glucose được lựa chọn có lợi trong các lò phản ứng sinh học cho quá trình lên men để chúng là yếu tố hạn chế tăng trưởng. Nếu tiêu thụ hết chất nền thì tăng trưởng cũng sẽ kết thúc, mặc dù tất cả các thành phần dinh dưỡng khác còn dư thừa (trang 177).



Hình 1: Môi trường dinh dưỡng dưới dạng agar



Hình 2: Các thùng chứa môi trường dinh dưỡng lên men trong sản xuất công nghiệp sinh học



Hình 3: Ảnh hưởng nồng độ của một thành phần của môi trường dinh dưỡng đến sản xuất

Môi trường dinh dưỡng tối ưu đảm bảo hiệu suất tối đa về sinh khối hoặc sản phẩm.

5 Lò phản ứng sinh học

► **Lò phản ứng sinh học** là một thiết bị chứa môi trường dinh dưỡng để nuôi vi sinh vật hay tế bào thực và động vật (nuôi cấy tế bào) trong điều kiện kiểm soát. Lò phản ứng sinh học thường được gọi là **lò lên men** (fermenter), vì trong đó diễn ra quá trình lên men. Như vậy chúng là nơi biến đổi sinh hóa do quá trình trao đổi chất của tế bào, và từ đó tạo ra các sản phẩm mong muốn.

Phản ứng sinh học trong các lò phản ứng sinh học còn cho phép: (**Hình 1**)

- **sản xuất** các loại tế bào
- **sản xuất** các chất khác nhau nhất của quá trình chuyển hóa bậc một và bậc hai của tế bào.
- **chuyển đổi** các chất hữu cơ do tế bào (chuyển đổi sinh học) hay enzyme cô lập (xúc tác sinh học), mà các biện pháp hóa học không thực hiện được hay do chi phí cao.
- phân hủy các chất làm hại môi trường qua tế bào ở nhiều giai đoạn tẩy sạch nước thải.

Chất dùng	Quá trình sinh học trong lò phản ứng sinh học	Sản phẩm sinh học	Sinh vật sản xuất
môi trường dinh dưỡng + tế bào	sản xuất tế bào dưới dạng khối lượng tế bào hay sinh học	nấm, men bánh, nấm men thức ăn gia súc môi trường khởi sự, thí dụ cho phôi mai và các sản phẩm sữa protein đơn bào (SCP = single cell protein) để dinh dưỡng ethanol (bia, rượu)	nấm men (nấm) vi khuẩn, nấm vi khuẩn
	sản xuất các chất chuyển hóa của tế bào	cồn nhiên liệu (nhiên liệu sinh học) metan (thành phần của khí sinh học) hydro acetic acid amino acid citric acid lactic acid kháng sinh vitamin enzyme hương liệu kháng thể hoạt chất nội sinh (protein được học) dung môi (Butanol, Acetone) polysaccharids (Dextran, Xanthan) hormone giới tính và hoạt chất chống viêm từ cấu trúc cơ bản thiên nhiên (Steroids) xử lý nước thải: giai đoạn tẩy sạch sinh học, hệ thống sinh học cao	nấm men (nấm) nấm men (nấm) vi khuẩn, vi khuẩn cổ rong, vi khuẩn vi khuẩn vi khuẩn vi khuẩn nấm, vi khuẩn vi khuẩn, nấm vi khuẩn, nấm tế bào động vật vi khuẩn, tế bào động vật vi khuẩn vi khuẩn vi khuẩn, nấm vi khuẩn, nấm, đơn bào
	chất chuyển hóa do trao đổi chất của tế bào		
	chất phân hóa do trao đổi chất của tế bào		

Hình 1: Thí dụ về các sản phẩm sinh học được sản xuất trong lò phản ứng sinh học đối với kỹ thuật sinh học đỏ và trắng

Tương ứng với các ứng dụng trong nghiên cứu và phát triển hay trong sản xuất công nghiệp và tùy theo sản phẩm sinh học, lò phản ứng sinh học được xây dựng với nhiều cấu trúc và độ lớn khác nhau.

Lò phản ứng sinh học vi lượng có độ lớn chỉ chứa được vài μl . Lò phản ứng sinh học lớn nhất có thể chứa dung dịch với thể tích đến trên 20.000 m^3 (**Bảng 1**).

Bảng 1: Thể tích chứa chất lỏng của các lò phản ứng sinh học

Môi trường sử dụng	Thể tích bằng m^3
Phòng thí nghiệm	0,001 ... 0,01
Trường kỹ thuật	0,01 ... 0,3
Sản xuất công nghiệp	
- Protein tái tổ hợp	0,5 ... 80
- Kỹ thuật enzyme,	80 ... 1500
- Thuốc kháng sinh, amino acid,	
- Ethanol, nấm men	
Xử lý nước thải	> 20 000

Lò phản ứng sinh học phục vụ việc nuôi cấy tế bào trong điều kiện kiểm soát.

5.1. Lò phản ứng sinh học – chức năng và đòi hỏi

Lò phản ứng sinh học cần phải bảo đảm an toàn nhất cho môi trường và các quá trình sinh học; và có hiệu suất cao như có thể. Do đó trong lò phản ứng sinh học cần tạo các điều kiện tối ưu cho các sinh vật sản xuất (Hình 1). Sau đây là các yêu cầu chung, đặc biệt quan trọng đối với lò phản ứng sinh học.

- **Thiết bị vô trùng.** Sự xâm nhập của vi trùng lạ phải được ngăn chặn bằng cách sử dụng các kỹ thuật khử trùng thích hợp và chỉ để các sinh vật sản xuất trong các lò phản ứng xuất hiện (hoạt động đơn mầm, *monoseptisch*)
- **Vật liệu chọn lọc.** Không những sinh vật sản xuất mà cả sự hình thành sản phẩm hoặc chính sản phẩm bị ảnh hưởng bởi các vật liệu sử dụng.
- **Pha trộn** các thành phần phản ứng sinh học. Cần đảm bảo rằng, tất cả các tế bào được cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng và khí cần dưỡng khí ở mỗi thời điểm và bất kỳ nơi nào trong lò phản ứng- Các chất thải cần được xử lý
- **Sục khí với không khí.** Đa đa số vi sinh vật hiếu khí có nhu cầu oxy cao. Ngoài ra, tế bào động vật cần oxy trong việc nuôi cấy tế bào
- **Kiểm soát nhiệt độ.** Nhiệt độ cần thiết phải được duy trì chính xác bằng cách nung nóng hoặc làm mát, vì phạm vi nhiệt độ tối ưu tương đối nhỏ.
- **Kiểm soát trị số pH** bằng cách bổ sung acid hoặc kiềm. Các trị số pH cũng cần phải được duy trì chính xác, vì biên độ pH tối ưu thường nhỏ.

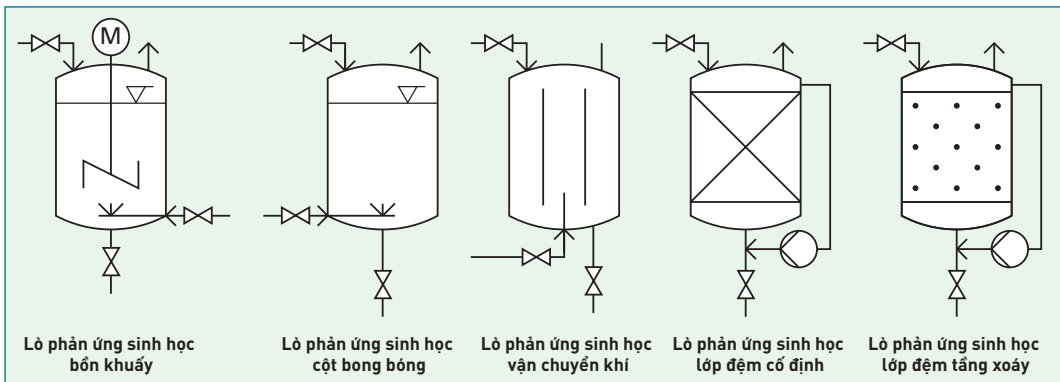
Khả năng đo liên tục và kiểm soát các quá trình quy mô quan trọng nhất là chức năng của kỹ thuật hiện đại, cũng như khả năng bổ sung vô trùng bên cạnh không khí hoặc oxy, các chất khác trong quá trình đang thực hiện. Mức độ tự động hóa cao của phản ứng sinh học tạo điều kiện cho việc quản lý quá trình sinh học trong một thời gian dài.

Theo yêu cầu trong nghiên cứu, phát triển, sản xuất, cũng như các nhu cầu khác nhau của các vi sinh vật và các tế bào cần có nhiều loại lò phản ứng sinh học khác nhau (Hình 2). Thí dụ quan trọng là:

- Lò phản ứng sinh học **bồn khuấy** (stirred tank) (trang 136)
- Lò phản ứng sinh học **cột bong bóng** (bubble columns) và lò phản ứng sinh học **vận chuyển khí** (airlift) (trang 169)
- Lò phản ứng sinh học **lớp đệm cố định** hay nền đặc và **lớp đệm tầng xoáy** hay nền lỏng (trang 170).



Hình 1: Hệ thống lò phản ứng sinh học trong sản xuất dược phẩm dưới điều kiện GMP



Hình 2: Thí dụ về các loại lò phản ứng

5.2 Lò phản ứng sinh học bồn khuấy

► **Lò phản ứng sinh học bồn khuấy** hay lò lên men bồn khuấy là **lò phản ứng sinh học quan trọng nhất** và hơn 90% được đưa vào sử dụng trong lãnh vực thí nghiệm, trường kỹ thuật và sản xuất. Lò phản ứng sinh học bồn khuấy về mặt kỹ thuật dựa vào kỹ thuật sản xuất trong ngành hóa học và là lò phản ứng bồn khuấy rất thông dụng (Stirred Tank Reactor, STR). Chúng có nhiều hình dạng cơ cấu đặc thù.

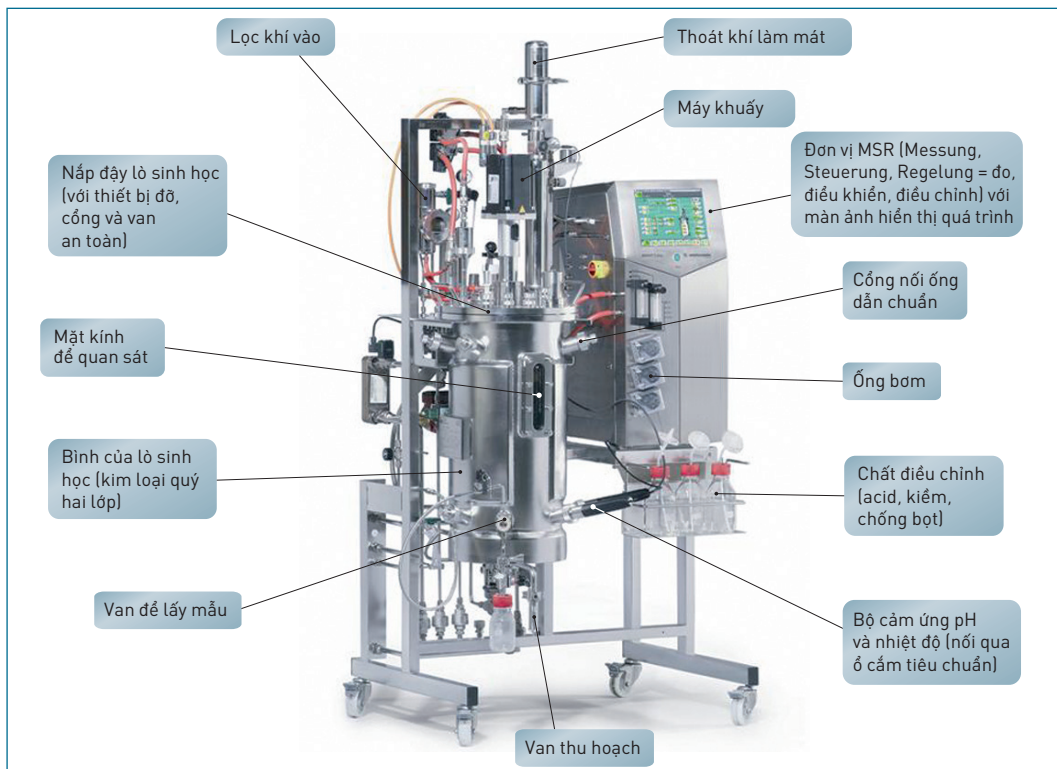
Lò phản ứng sinh học bồn khuấy có nhiều quy mô khác nhau. Trong phòng thí nghiệm, chúng thường có thể tích hữu ích từ 10 L trở lên. Hệ thống thử nghiệm tiên phong tại các trường kỹ thuật có thể lên đến 3000 L. Tại các hãng sản xuất, khả năng chứa của các lò phản ứng sinh học để chế tạo một khối lượng lớn các chất kháng sinh hay các acid hữu cơ do vi sinh vật, có thể lên đến 500 m³ hay nhiều hơn.

Lò phản ứng sinh học bồn khuấy được đánh dấu qua:

- ứng dụng linh hoạt bằng cách sử dụng các thiết bị khuấy khác nhau,
- phù hợp cho quá trình sinh học với tế bào cần cung cấp oxy,
- phù hợp cho quá trình lên men trong môi trường có độ nhớt cao hơn đến rất cao và
- có truyền thống lâu trong sử dụng, vì vậy có sẵn nhiều tài liệu thiết kế để mở rộng.

5.3 Xây dựng một lò phản ứng sinh học bồn khuấy

Ngoại trừ kích thước của lò phản ứng thì nguyên tắc xây dựng của các lò phản ứng sinh học bồn khuấy đều giống nhau, và để diễn tả có thể lấy thí dụ của một lò phản ứng sinh học được ứng dụng giống nhau trong các quá trình nghiên cứu, phát triển và sản xuất quy mô nhỏ. (Hình 1).



Hình 1: Lò phản ứng nhỏ gọn dung tích 20 L (tiệt trùng tại chỗ)

Lò phản ứng sinh học bồn khuấy là thiết bị cơ bản trong sản xuất kỹ thuật sinh học.

5.3.1 Thành phần bồn khuấy – Lò phản ứng sinh học

► **Thân lò phản ứng sinh học.** Trong các phòng thí nghiệm nghiên cứu và đào tạo, lò phản ứng sinh học bồn khuấy thường có thể tích hữu ích từ 1 l đến 10 l. Thân lò phản ứng sinh học được làm bằng thủy tinh (borosilicate), trong khi nắp lò bằng thép không gỉ và thường có hình dạng phẳng (**Hình 1**).

Các bồn khuấy lò phản ứng sinh học lớn hơn trong các trường kỹ thuật hay trong hãng xưởng vì lý do an toàn thường là hình trụ và được làm bằng thép không gỉ có đáy hình cái mō gỗ, cong hay bán cầu (vòng dưới cùng), trong đó có một van xả đáy dùng làm van thu hoạch (**Hình 2**).

Đối với việc nuôi cấy vi sinh vật có vách tế bào cứng chắc thì tỷ lệ chiều cao và đường kính thân lò phản ứng sinh học theo chuẩn là 3:1 (**Hình 2**). Trái lại tỷ lệ chiều cao-đường kính từ 2:1 đến 1:1 thường được sử dụng cho việc nuôi cấy tế bào động vật. Vì không có vách tế bào nên các tế bào này rất nhạy cảm và không chịu được áp lực thủy tĩnh cao.

Trên nguyên tắc, một **lớp áo đôi** phục vụ như là thiết bị sưởi, làm mát và tiệt trùng bằng nước và hơi nước.

Để có thể trộn tốt nhất là trên trục khuấy thí dụ ba ống khuấy 6 lưỡi được sắp xếp chồng lên nhau. Vách ngăn bên trong thành nổi làm tăng sự hỗn loạn và hỗ trợ sự pha trộn.

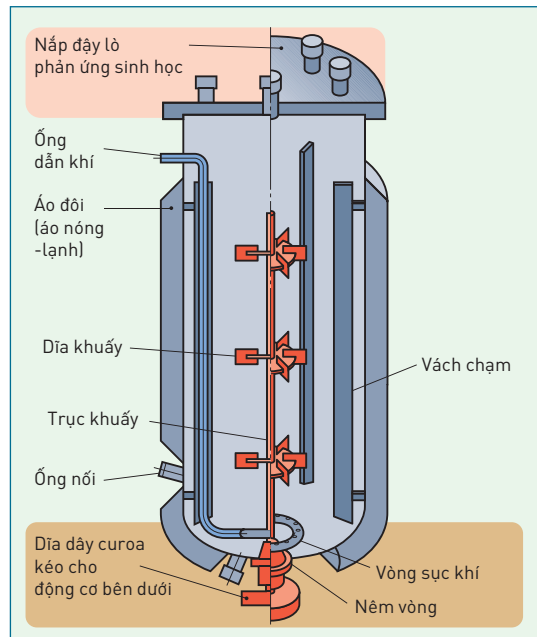
Sức khuấy được khởi động qua một **dây curoa** nằm bên dưới. Nhờ đó phạm vi nắp đậy được tự do sử dụng và việc lắp ráp nắp đơn giản hơn. Ngoài ra tấm đệm trục khuấy, thường là **một tấm đệm đôi kín vòng**, được làm mát và ít hư hao, vì các chuyển động của một ổ đĩa ở đáy thường không gây khó khăn. Tương ứng có thể thay thế vào đó là một thiết bị **khuấy điện từ** không cần đệm kín khi khởi động.

Các lò phản ứng sinh học nhỏ bằng thủy tinh, cũng như lò phản ứng sinh học cực lớn thường có máy khuấy nằm bên trên. Điều này có lợi là trong trường hợp đệm bị hỏng, thành phần bên trong lò phản ứng sinh học không bị chảy ra ngoài.

Để sục khí trong các quá trình sinh học hiếu khí, không khí vô trùng được bơm vào các ống dẫn qua **vòng sục khí** với các lỗ khí nhỏ khoảng 1 mm nằm phía dưới của ổ khuấy thấp nhất.



Hình 1: Lò phản ứng sinh học thân thủy tinh quy mô phòng thí nghiệm



Hình 2: Sơ đồ của một nồi phản ứng sinh học bằng thép không gỉ

1.3 Động học enzyme

Ngành động học enzyme nhằm phân tích thời gian các phản ứng do enzyme xúc tác. Với sự hỗ trợ của chúng người ta có thể xác định được tốc độ phản ứng enzyme. Tốc độ phản ứng cho biết trong khoảng thời gian nào, một lượng chất nền nhất định được chuyển đổi từ một lượng enzyme nhất định.

Các nhà nghiên cứu *Leonor Michaelis* và *Menten Maud* chứng minh rằng, với một lượng enzyme không đổi, tốc độ của một phản ứng enzyme tùy thuộc vào nồng độ chất nền.

Với sự gia tăng nồng độ chất nền sẽ đạt đến một giới hạn, từ giới hạn này tốc độ phản ứng sẽ không tăng (tốc độ tối đa). Michaelis và Menten tóm tắt kết quả bằng toán học và đồ họa và được gọi là **động học Michaelis-Menten**:

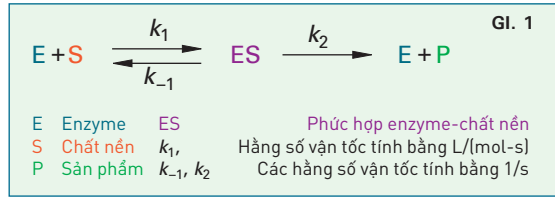
Mỗi phản ứng enzyme có thể được mô tả về cơ bản bằng các phản ứng thể hiện trong phương trình 1 (Hình 1). Nó cho thấy sự liên kết của chất nền S và enzyme E và có tên gọi là phức hợp enzyme-chất nền ES. Tốc độ hình thành phức hợp này được diễn tả bằng hằng số tốc độ k_1 . Như vậy ES có thể hoặc phân ra trở thành E + S, mà không xuất hiện việc chuyển đổi cơ chất, hoặc chuyển thành sản phẩm P khi nhận lại E. Tốc độ phân rã được diễn tả bởi hằng số k_{-1} , tốc độ của các phản ứng chuyển đổi được diễn tả bởi k_2 .

Với sự hỗ trợ của phép tính vi phân và giả định rằng nồng độ của phức hợp enzyme-chất nền trong giai đoạn quan sát phản ứng không thay đổi, nghĩa là đang ở một trạng thái ổn định, thì ba hằng số tốc độ được gom lại thành hằng số Michaelis-Menten K_M . Như vậy hằng số này có chứa đơn vị nồng độ.

Trong phương trình 2, nồng độ chất nền $c(S)$ là nồng độ duy nhất trực tiếp đo lường được (Hình 2).

Trong khi nồng độ của $c(E)$ và $c(ES)$ từng phần riêng rẽ không đo được, nhưng tổng hợp của chúng, đó là nồng độ enzyme $c(E_t) = c(ES) + c(E)$ (tổng số enzyme) thường đo được, miễn là sử dụng enzyme tinh khiết. Bằng phương pháp biến đổi toán học, trong phương trình 3 bây giờ chỉ có còn các thông số có thể đo lường trực tiếp được liệt kê (Hình 3).

Câu hỏi được đặt ra là làm thế nào kết hợp nồng độ đo được với tốc độ phản ứng. Để trả lời câu hỏi này Michaelis và Menten dùng một giả định đơn giản, nhưng chính đáng và cho rằng, phần chậm nhất và như vậy là bước quyết định vận tốc của toàn bộ phản ứng enzyme, hình thành sản phẩm, điều này dẫn đến phương trình 4 (Hình 4).



Hình 1: Chương trình phản ứng phản ứng enzyme

$$\frac{c(E) \cdot c(S)}{c(ES)} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M \quad \text{GI. 2}$$

K_M	Hằng số Michaelis-Menten tính bằng mol/L
c	Nồng độ vật liệu tính bằng mol/L
E	Enzyme
S	Chất nền
ES	Phức hợp enzyme-chất nền
k_1	Hằng số vận tốc tính bằng mol/L
k_{-1}, k_2	Hằng số vận tốc tính bằng 1/s

Hình 2: Cân bằng dòng chảy

$$c(ES) = \frac{c(E_t) \cdot c(S)}{K_M + c(S)} \quad \text{GI. 3}$$

K_M	Hằng số Michaelis-Menten tính bằng mol/L
c	Nồng độ vật liệu tính bằng mol/L
E_t	Enzyme toàn bộ
S	Chất nền
ES	Phức hợp enzyme-chất nền

Hình 3: Số liệu về các trợ số đo được

$$v = k_2 \cdot c(ES) \quad \text{GI. 4}$$

v	Vận tốc phản ứng tính bằng mol/L
c	Nồng độ vật liệu tính bằng mol/L
ES	Phức hợp enzyme-chất nền
k_2	Hằng số vận tốc tính bằng 1/s

Hình 4: Bước quyết định vận tốc

Tốc độ phản ứng enzyme đạt đến cực điểm, nếu tất cả các phân tử enzyme $c(E_t)$ với các chất nền được xếp đầy (**Hình 1**).

Bước toán học cuối cùng nối kết tốc độ phản ứng với nồng độ và đưa đến **phương trình Michaelis-Menten (Hình 2)**. Phương trình Michaelis-Menten chỉ còn chứa các độ lớn đo được và diễn tả bằng đồ họa một đường cong hyperbol. Nếu chỉ một nửa lượng enzyme được sử dụng trong *phức hợp enzyme-chất nền* thì cũng chỉ xuất hiện một nửa tốc độ tối đa của các phản ứng enzyme.

Với $v_{\max} / 2$ sẽ cho $c(E) = c(ES)$

Kết nối với phương trình 2:

$\frac{c(E) \cdot c(S)}{c(ES)} = K_M$ trong điều kiện ở $v_{\max} / 2$ có thể giảm cắt $c(E)$ và $c(ES)$

và như vậy còn:

$$c(S)_{v_{\max} / 2} = K_M$$

Như vậy từ đồ thị trong **Hình 3** với điều kiện ở $v_{\max} / 2$ cho phép đọc được giá trị K_M .

Nếu phương trình Michaelis-Menten được lũy thừa (-1), tức là thành lập nghịch đảo của cả hai bên thì người ta thu được theo **Lineweaver-Burk** phương trình như sau:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{c(S)} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Các phương trình nghịch đảo đòi cho **đồ thị Lineweaver-Burk** và cho phép đọc trị số tại điểm cắt của K_M và v_{\max} (**Hình 4**).

Đại lượng K_M là một trị số đặc biệt của enzyme và mô tả các mối quan hệ của enzyme với chất nền. Enzyme với trị số K_M thấp có đặc hiệu chất nền cao, vì đã đạt được nửa tối đa tốc độ phản ứng ở nồng độ chất nền thấp. Ngược lại enzyme với các giá trị K_M cao đòi hỏi nồng độ chất nền cao để đạt được v_{\max} và do đó có một mức **ái lực** (affinity) thấp đối với chất nền (trang 131).

$$v_{\max} = k_2 \cdot c(E_t) \quad \text{Gl. 5}$$

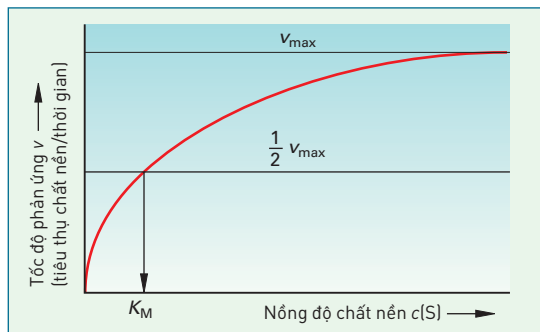
- v_{\max} Tốc độ phản ứng tối đa
- c Nồng độ vật liệu tính bằng mol/L
- E_t Enzyme tổng
- k_2 Hằng số vận tốc tính bằng 1/s

Hình 1: Tốc độ phản ứng tối đa

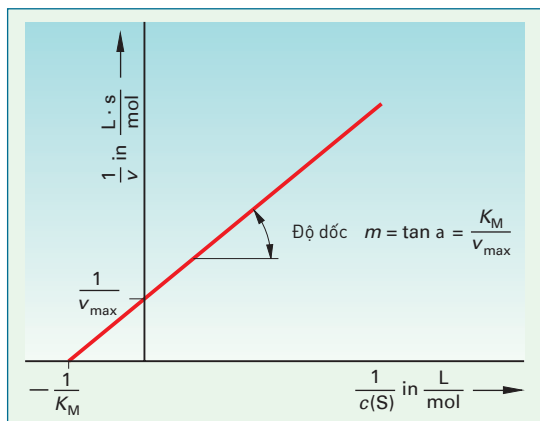
$$v = \frac{v_{\max} \cdot c(S)}{K_M + c(S)} \quad \text{Gl. 6}$$

- v Tốc độ phản ứng
- v_{\max} Tốc độ phản ứng tối đa
- K_M Phương trình Michaelis-Menten
- c Nồng độ vật liệu tính bằng mol/L
- S Chất nền

Hình 2: Phương trình Michaelis-Menten



Hình 3: Đồ thị Michaelis-Menten



Hình 4: Đồ thị Lineweaver-Burk

Vận tốc của một phản ứng enzyme có thể được mô tả với sự hỗ trợ của phương trình Michaelis-Menten. Nồng độ chất nền, mà ở đây xuất hiện nửa tối đa tốc độ phản ứng, tương ứng với giá trị K_M .