

TỬ MINH KOÓNG

CƠ SỞ
CÔNG NGHỆ
SINH HỌC
Òà
SẢN XUẤT,
DƯỢC PHẨM



NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

TỪ MINH KOÓNG

**CƠ SỞ CÔNG NGHỆ SINH HỌC
VÀ
SẢN XUẤT DƯỢC PHẨM**

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

HÀ NỘI - 2004

LỜI NÓI ĐẦU

Kể từ năm 1982 khi cơ quan quản lý thuốc và thực phẩm của Mỹ (FDA) cho phép sử dụng insulin (chế phẩm sản xuất nhờ kỹ thuật tái tổ hợp ADN) vào điều trị trong y học. Một cuộc cách mạng lớn trong tư duy mới về sản xuất các dược phẩm có bản chất là protein (dùng điều trị) đã nổ ra và liên tiếp sau đó là hàng loạt các chế phẩm đã được phép dùng trong điều trị như: interferon, interleukin, vaccin viêm gan B bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN. Đến cuối năm 2000 doanh số các dược phẩm được sản xuất bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN đã đạt khoảng 10 tỷ USD.

Công nghệ sản xuất dược phẩm trước đây dựa vào 3 phương pháp:

1. Sản xuất từ nguồn dược liệu
2. Sản xuất bằng tổng hợp hóa học
3. Sản xuất bằng công nghệ lên men vi sinh vật (kháng sinh, vitamin, acid amin).

Hiện nay lại có thêm một công nghệ mới để sản xuất thuốc, đó là sản xuất các protein dùng điều trị bằng công nghệ gen. Các thuốc sản xuất bằng công nghệ sinh học sẽ chiếm tỷ trọng từ 40-50% trong toàn bộ các thuốc dùng để điều trị. Vì vậy, trong chương trình đào tạo dược sỹ, không thể thiếu mảng kiến thức quan trọng này. Cuốn sách nhỏ này còn cung cấp những kiến thức chọn lọc cần thiết cho chương trình cao học, chuyên ngành CNDP nhằm giúp các học viên có những kiến thức cơ bản để hiểu được ngành khoa học vừa lý thú, vừa quan trọng này, và giúp cho việc hướng dẫn sử dụng thuốc an toàn, hiệu quả, hoặc tham gia vào các công trình nghiên cứu có liên quan đến CNSH. Sách cũng có thể làm tài liệu tham khảo cho các sinh viên thuộc chuyên ngành sinh học của các trường đại học khác. Công nghệ sinh học cùng với vi điện tử đang được coi là những ngành khoa học then chốt của đất nước. Nếu được đầu tư thích đáng, đất nước sẽ có cơ hội thoát nghèo và nhanh chóng đuổi kịp các nước phát triển.

Với thời lượng hạn chế, thông tin lại quá nhiều, vì vậy cuốn sách không tránh khỏi những thiếu sót. Tác giả mong nhận được những ý kiến bổ sung của các bạn đồng nghiệp và bạn đọc

Xin chân thành cảm ơn.

Hà Nội, tháng 10 năm 2004

Tác giả

MỤC LỤC

Nội dung	Trang
<i>Lời nói đầu</i>	3
<i>Những chữ viết tắt</i>	9
Chương 1	
GIỚI THIỆU VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC	
1.1. Công nghệ sinh học là gì ?	11
1.2. Công nghệ sinh học - một sự theo đuổi đa ngành	12
1.3. Công nghệ sinh học - hạt nhân trung tâm ba thành phần	15
1.4. An toàn sản phẩm	16
1.5. Nhận thức của cộng đồng về công nghệ sinh học	16
1.6. Công nghệ sinh học và các nước đang phát triển	17
Chương 2	
NGUYÊN LIỆU CHO CÔNG NGHỆ SINH HỌC	
2.1. Chiến lược sinh khối	18
2.2. Nguyên liệu thô thiên nhiên.	21
2-3. Tính sẵn có của sản phẩm phụ	22
2.4. Nguyên liệu hoá học và hoá dầu	24
2.5 Nguyên liệu thô và tương lai của công nghệ sinh học	25
Chương 3	
KỸ THUẬT GEN VÀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC	
3.1 Giới thiệu chung	27
3.2. Di truyền công nghiệp	28
3.3. Protoplast và kỹ thuật dung hợp tế bào	28
3.4. Kỹ thuật gen (gentic engineering)	30
3.4.1 Hệ thống chuyển gen	31
3.4.2. Plasmid là những vector chuyển gen	32
3.4.3. Bacteriophages như những vector chuyển gen	33
3.4.4. Các vector dựa trên cơ sở phage λ	34

3.4.5 Các vector dựa trên cơ sở phage M13	36
3.5. Phương pháp đưa ADN vào tế bào chủ	37
3.5.1 Biến nạp và tải nạp	37
3.5.2 Phương pháp gói ADN của phage in vitro	38
3.5.3 Các phương pháp truyền ADN khác	40

Chương 4

KỸ THUẬT LÊN MEN 42

4.1 Giới thiệu tổng quát	42
4.2 Các giai đoạn phát triển của vi sinh vật	44
4.3 Thiết bị lên men vi sinh vật	47
4.4. Trình tự quá trình lên men	49
4.5. Thiết kế môi trường cho quá trình lên men	50
4.6. Lên men trên cơ chất rắn	51
4.7. Kỹ thuật lên men tế bào động vật và thực vật	52
4.8. Quá trình tinh chế để thu sản phẩm	53

Chương 5

KỸ THUẬT SẢN XUẤT ENZYM 55

5.1. Đại cương	55
5.2. Các ứng dụng của enzym	56
5.3. Kỹ thuật di truyền và kỹ thuật protein của enzym	59
5.4. Kỹ thuật sản xuất enzym	61
5.5. Phương pháp bất động enzym	64

Chương 6

SẢN XUẤT PROTEIN ĐƠN BÀO 70

6.1. Sự cần thiết sản xuất protein đơn bào	70
6.2. Sản xuất sinh khối nấm men	74
6.2.1 Sản xuất sinh khối nấm men từ rỉ đường	74
6.2.2. Ứng dụng của men ép	79
6.3. Sản xuất tảo đơn bào	79
6.4. Sản xuất nấm sợi	80
6.5. Sản xuất nấm ăn	81

Chương 7

CÔNG NGHỆ SINH HỌC VÀ Y HỌC

	83
7.1. Giới thiệu tổng quát	83
7.2. Dược phẩm và dược sinh học	84
7.3. Sản xuất các kháng sinh	84
7.4. Công nghệ sản xuất penicilin và các kháng sinh bán tổng hợp nhóm beta lactam	89
7.4.1. Giới thiệu chung về penicilin	89
7.4.2. Lên men sinh tổng hợp penicilin G	90
7.4.3. Chiết xuất penicilin G	92
7.4.4. Sản xuất 6-APA và các penicilin bán tổng hợp	92
7.4.4.1. Sản xuất 6-APA bằng phương pháp hoá học	93
7.4.4.2. Sản xuất 6-APA bằng phương pháp enzym	93
7.4.4.3. Sản xuất các penicilin bán tổng hợp từ 6-APA	94
7.4.4.4. Sản xuất các kháng sinh cephalosporin bán tổng hợp từ penicilin	95
7.5. Vaccin	98
7.5.1. Vaccin giảm độc lực	99
7.5.2. Vaccin bất hoạt	100
7.5.3. Vaccin chế từ các thành phần của vi sinh vật	100
7.5.4. Vaccin vector	100
7.5.5. Nghiên cứu sản xuất vaccin chống AIDS	101
7.5.5.1. Giới thiệu về HIV	101
7.5.5.2. Nguyên lý sản xuất vaccin chống AIDS	104
7.6. Các protein dùng trong điều trị (biopharmaceuticals)	104
7.6.1. Insulin	105
7.6.1.1. Cấu trúc phân tử insulin	106
7.6.1.2. Sản xuất insulin bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN	107
7.6.2. Hormon tăng trưởng người	112
7.6.2.1. Tác dụng sinh học của GH	114
7.6.2.2. Sử dụng GH trong điều trị	114

7.6.2.3. Kích tố tăng trưởng tái tổ hợp (rhGH) và bệnh lùn tuyến yên	116
7.6.2.4. Tác dụng chuyển hoá của hGH	117
7.6.3. Cytokin - các chất thuộc nhóm interferon	118

Chương 8

LIỆU PHÁP ACID NUCLEIC 121

8.1. Liệu pháp gen	121
8.2. Cơ sở của liệu pháp gen	122
8.3. Các vector sử dụng trong liệu pháp gen	124
8.4. Các vector retrovirus	124
8.5. Sản xuất các vector virus	127
8.6. Các vector không phải virus	129
8.7. Sản xuất ADN plasmid	129
8.8. Liệu pháp gen và các bệnh di truyền	131
8.9. Liệu pháp gen và ung thư	133
8.10. Liệu pháp gen và bệnh AIDS	133
Kết luận	134
Phụ lục 1	135
Phụ lục 2	146
Tài liệu tham khảo	150

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

- 7-ACA : acid - 7 - amino - cephalosporinic
- 7-ADCA : acid - 7 - amino - desacetoxy-cephalosporinic
- 6-APA : acid - 6 - amino - penicilanic
- ADA: Adenosin desaminase
- AIDS: aquired immuno deficiency syndrome
- BDNF (brain derived neurotrophic factor) - Yếu tố dẫn truyền thần kinh vỏ não
- BHK (baby hamster kidney) - Thận chuột hamster nhỏ
- CNDP : Công nghệ dược phẩm
- CNSH : Công nghệ sinh học
- CHO (Chinese hamster ovary) - Trứng chuột hamster Trung Quốc
- EGF (epidermal growth factor) - Yếu tố phát triển nguyên bào sợi
- EPO (erythropoietin) - Tạo hồng cầu.
- EFB (the European federation of biotechnology) - Liên đoàn công nghệ sinh học châu Âu
- FSH (follide stimulating hormone) - Hormon kích thích rụng trứng
- TSH (thyroid stimulating hormone) - Hormon kích thích tuyến giáp
- G-CSF (granulocyte - colony sitimulating factor) - Yếu tố kích thích bạch cầu hạt.
- GHRH (growth hormone releasing hormone) - Yếu tố gây tiết hormon tăng trưởng
- GHRF (growth hormone releasing factor) - Yếu tố gây tiết hormon tăng trưởng
- GHs (growth hormone somatotrophin) - Hormon tăng trưởng somatotrophin
- GHRIF (growth hormone inhibitory factor) - Yếu tố ức chế phóng thích hormon tăng trưởng
- GM-CSF (granulocyte macrophage - colony sitimulating factor) - Yếu tố kích thích bạch cầu hạt - đại thực bào
- HAT : Hypoxanthin - aminopterin - Thimidin
- HBsAg (hepatitis B surface antigen) - Kháng nguyên bề mặt viêm gan B
- hGH (human growth hormone) - Hormon tăng trưởng người
- HIV (human immunodeficiency virus)
- HPLC (hight performance liquid cromatographia)

- HPRT : Hypoxanthin phosphoribotransferase
- IL (interleukin)
- IFN (interferon)
- LIF (leukaemia inhibitory factor) - Yếu tố kìm hãm bạch cầu
- M-CSF (macrophage colony stimulating factor) - Yếu tố kích thích đại thực bào.
- Mab (monoclonal antibody) - Kháng thể đơn dòng.
- MIF 1α , 1β (macrophage inflammatory protein factor) - Các protein chống viêm đại thực bào.
- NGF (nerve growth factor) - Yếu tố tăng trưởng thần kinh.
- NT-3 (neurotrophin 3)- Thần kinh 3
- NT-4 (neurotrophin 4) - Thần kinh 4
- PDGF (platelet derived growth factor) - Yếu tố phát triển tiểu cầu.
- rADN (recombinant ADN) - ADN tái tổ hợp
- RF (replicative form) - Dạng sao chép
- SCID (reverse combine immunodeficiency) - Hội chứng thiếu hụt miễn dịch hỗn hợp trầm trọng.
- SCP (single cell protein) -Protein đơn bào
- TNF (tumour necrotic factor) - Yếu tố hoại tử ung thư
- TNFR (tumour necrosis factor receptor) - Thụ thể của yếu tố hoại tử ung thư.
- tPA (tissue plasminogen activator)- Hoạt hoá plasminogen mô.
- VSV : Vi sinh vật