

QUY TRÌNH KỸ THUẬT

LÊN MEN SẢN XUẤT VÀ TÍNH SẠCH PROVITAMIN A TỪ *E. COLI* TÁI TỔ HỢP

I. THÔNG TIN CHUNG

- Xuất xứ của quy trình: Thuộc đề tài NCKH cấp Bộ “*Nghiên cứu sản xuất provitamin A bằng chủng Escherichia coli tái tổ hợp*”.
- Mã số đề tài: B2014-TN02-01
- Chủ trì quy trình: ThS. Lương Thị Thu Hương
- Chủ nhiệm đề tài: ThS. Lương Thị Thu Hương
- Ngày nghiệm thu cơ sở: 15/08/2017
- Quyết định thành lập hội đồng nghiệm thu số 991/QĐ-KHCN ngày 11/08/2017

II. MỤC ĐÍCH CỦA QUY TRÌNH

- Lên men *E. coli* tái tổ hợp sinh tổng hợp provitamin A.
- Thu hồi provitamin A từ canh trường nuôi cấy *E. coli*.

III. THUYẾT MINH QUY TRÌNH

Giai đoạn 1: Lên men.

Chủng gốc *E. coli* BL21(DE3) tái tổ hợp mang đồng thời hai vector pR-iEIBY và pET28-mvaK1K2D chứa các gene tham gia vào quá trình sinh tổng hợp provitamin A (sản phẩm của đề tài NCKH mã số B2014-TN02-01) bảo quản trong glycerol ở -80°C được cấy ria trên đĩa thạch 2YT đặc có bổ sung ampicilin. Khuẩn lạc trên đĩa thạch được nhặt sang nuôi trong 10ml 2YT lỏng có bổ sung ampicilin 37°C lắc 200v/p qua đêm. Sáng ngày kế tiếp, 10 ml dịch nuôi được chuyển sang 1 lít 2YT lỏng có bổ sung thêm 0,5 % Glycerol và 100 µg/ml ampicilin trong bình tam giác 2 lít và nuôi lắc 200 v/p trong khoảng 3-4 tiếng. Khi OD₂₆₀ đạt 0.3-0.5, sinh tổng hợp provitamin A được cảm ứng bằng IPTG nồng độ 0,2 mM. Tiếp tục nuôi 120 giờ.

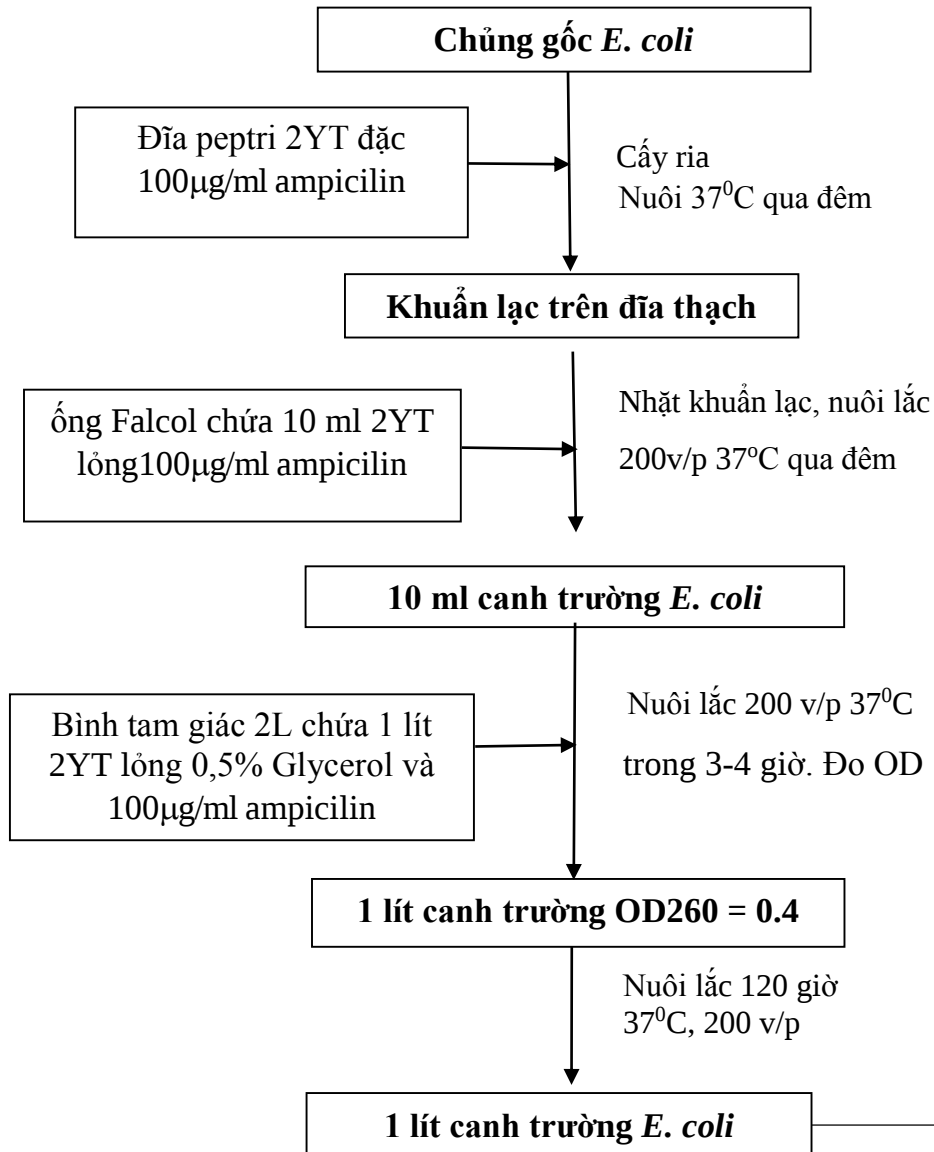
Giai đoạn 2: Thu hồi provitamin A sản phẩm

Canh trường nuôi cấy được ly tâm với tốc độ 4000 v/p trong 10 phút ở điều kiện 4°C để loại bỏ dịch nổi thu cặn tế bào *E. coli*. Cặn tế bào được rửa qua với nước khử ion khử trùng và ly tâm loại bỏ dịch nổi. Sau đó, bổ sung thêm 5 mL dung dịch hexane:petroleum ether (v/v = 1:1) vào ống chứa cặn tế bào, đảo trộn đều bằng tay và ủ ở 55°C trong 15 phút, trong điều kiện tối. Sau đó hỗn hợp này tiếp tục được lọc qua màng nylon kích thước 0.22 μm . Dung môi thu được để bay hơi thu được β -carotene thô. β -carotene sản phẩm được bảo quản ở 4°C.

IV. SƠ ĐỒ QUY TRÌNH

Quy trình được sơ đồ hóa ở trang 3.

A. QUY TRÌNH LÊN MEN



B. QUY TRÌNH THU HỒI β -carotene

