

Chương 5:

CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỘNG VẬT **ANIMAL BIOTECHNOLOGY**

- I. Nuôi cấy tế bào động vật** (Animal cell culture)
- II. Hybridoma và các kháng thể đơn dòng** (Hybridoma and monoclonal antibodies)
- III. Nhân bản vô tính ở động vật có vú** (Cloning in mammals)
- IV. Nuôi cấy tế bào gốc** (stem cells culture)
- V. Các ứng dụng** (Applications)

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

Ứng dụng chủ yếu vào các lĩnh vực (Mainly applied to):

- Sản xuất vaccine virus (Manufacture of virus vaccines);
- Sản xuất các protein, hormone trị liệu, các protein tái tổ hợp dùng cho trị liệu bằng các tế bào động vật chuyển gen (Production of proteins, hormone therapy, recombinant proteins for treatment with transgenic animal cells);
- Sản xuất các kháng thể đơn dòng (Production of monoclonal antibodies);
- Góp phần phục hồi các cơ quan bị thương tổn hay chế tạo các cơ quan (Contribute to the recovery of damaged organs or the construction of organs).

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

1.1. Những khó khăn trong nuôi cấy tế bào động vật có vú

- Không có tính toàn thể (totipotency)
- Phát sinh số bội thể trong quá trình nuôi cấy
- Chết theo chương trình (apoptosis)
- Sinh sản rất chậm → Mật độ tế bào đạt được sau nuôi cấy rất thấp
- Tế bào động vật có vú rất nhạy cảm với các yếu tố môi trường nuôi cấy, chỉ chịu được nhiệt độ giữa 35 và 39°C.

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

1.2. Phương pháp xác định các tế bào để nuôi

Mảnh mô vô trùng đem xử lí với protease - *trypsin*, để tách rời tế bào. Dịch tế bào được cấy vào bình thủy tinh/nhựa có đáy phẳng rộng chứa MT dinh dưỡng lỏng. Các tế bào sau khi qua *pha lag* sẽ bám vào đáy và bắt đầu nguyên phân.

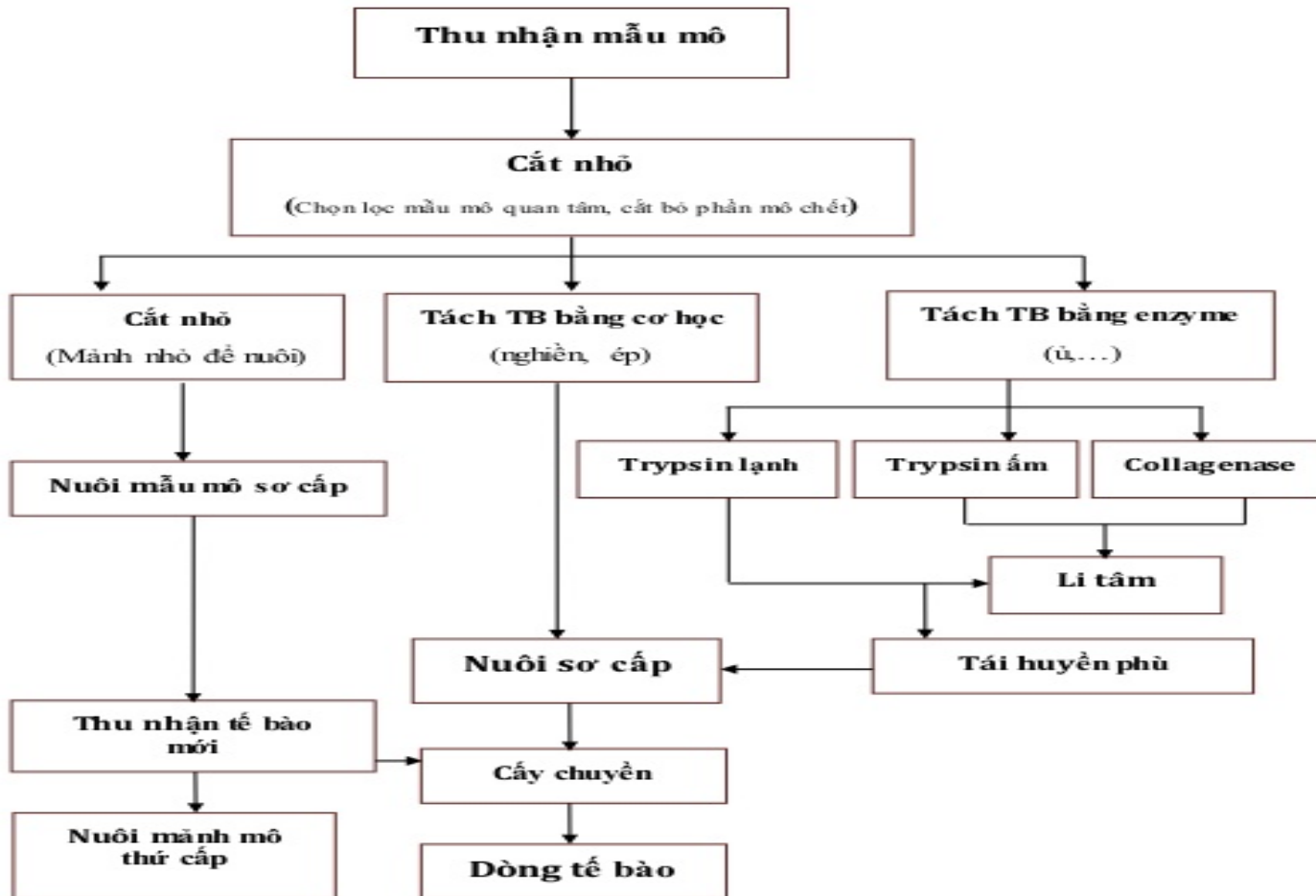
Dòng tế bào nuôi trực tiếp từ mô đã biệt hóa là dòng nuôi sơ cấp. Các tế bào phân chia đã nhanh chóng tạo lớp đơn.

Việc tạo lớp đơn là biểu hiện đặc biệt của các tế bào bình thường do tính chất được gọi là *kìm hãm tiếp xúc*. **Các tế bào từ mô ung thư hoặc đã biến đổi (transformed) thì mất sự kìm hãm tiếp xúc, nên chia liên tục tạo thành nhiều lớp tế bào chồng lên nhau.**

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

1.2. Phương pháp xác định các tế bào để nuôi (Methods of identifying cells to grow)



Sơ đồ 1.2.5 Quy trình nuôi cấy sơ cấp

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

1.3. Môi trường dinh dưỡng

Môi trường tự nhiên: máu, huyết tương, nước ối, dịch chiết của phôi...

Môi trường tổng hợp: cần có huyết tương (serum) + dung dịch sinh lý (các loại muối).

Thành phần cơ bản

Ion vô cơ căn bản (Na, Ca, K,...);

Áp suất thẩm thấu phải chính xác;

pH chính xác (7-7,3);

Nguồn năng lượng từ glucose;

Có phenol để theo dõi pH;

Huyết tương: 5-10%;

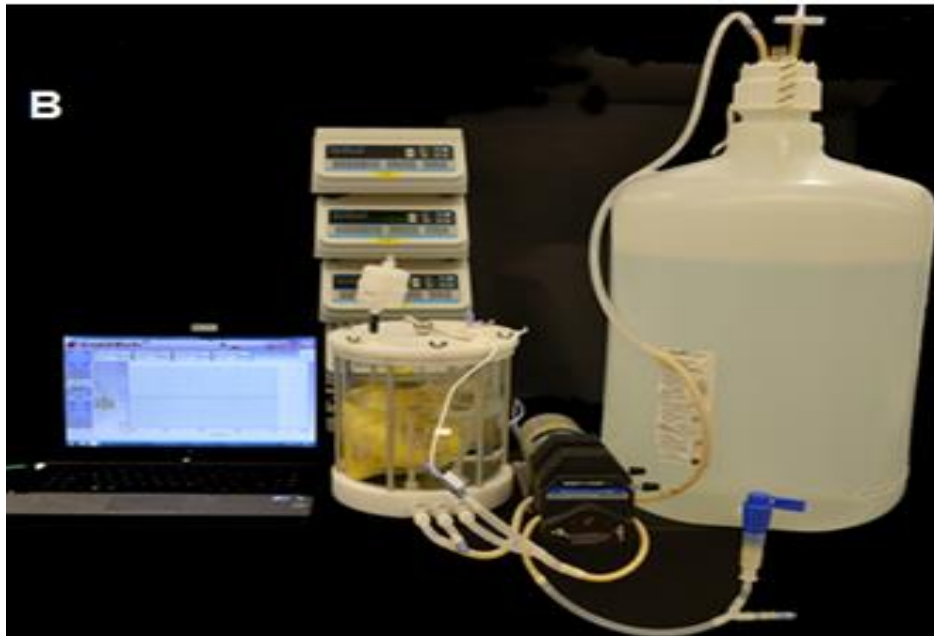
Chất kháng khuẩn và kháng nấm.

I. NUÔI CÂY TẾ BÀO ĐỘNG VẬT

(Animal cell culture)

1.4. Thiết bị nuôi (Farming equipment)

- Bình Broux
- Bioreactor



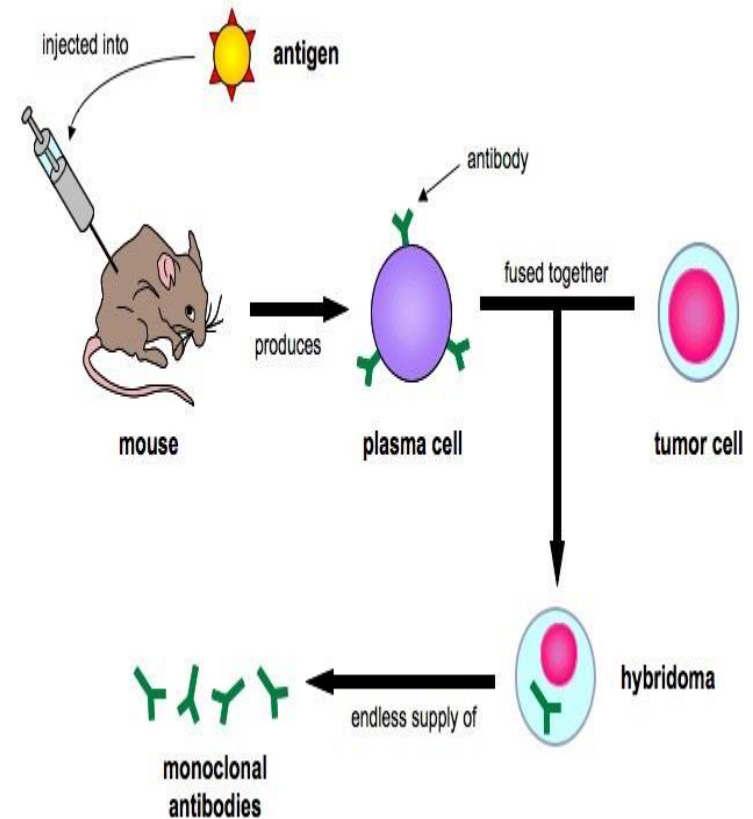
B. Hệ thống phản ứng sinh học nuôi cấy tim trong phòng thí nghiệm. Từ trái sang phải: máy tính cài đặt phần mềm điều khiển máy bơm, bộ điều khiển máy bơm, buồng chứa tim người đã trải qua quá trình khử hóa tế bào, bơm con lăn, bình 50 L chứa dịch tưới. (Biological reaction system culturing the heart in the laboratory. From left to right: computer installs pump control software, a pump controller, a human heart chamber that has undergone cell denaturation, a roller pump, and a 50 L bottle containing irrigation fluid.)

<http://biomedia.vn/review/buoc-tien-moi-trong-qua-trinh-tao-te-bao-co-tim-nguoi-trong-phong-thi-nghiem.html>

II. Hybridoma và kháng thể đơn dòng (Hybridoma and monoclonal antibodies)

- *Kháng thể đơn dòng*: là những sp của một dòng tb bạch cầu, đặc hiệu chống lại kháng nguyên (Monoclonal antibodies: are sp of a white blood cell line, specific against antigens);
- *Tế bào bạch cầu bình thường*: sinh kháng thể, chết sau 1 thời gian (Normal white blood cells: produce antibodies, die after a while);
- *Myeloma* (Tế bào bạch cầu ung thư): sinh sản vô hạn nhưng không sinh kháng thể (Myeloma (Cancer white cells) - Infinitely reproduces but does not produce antibodies)

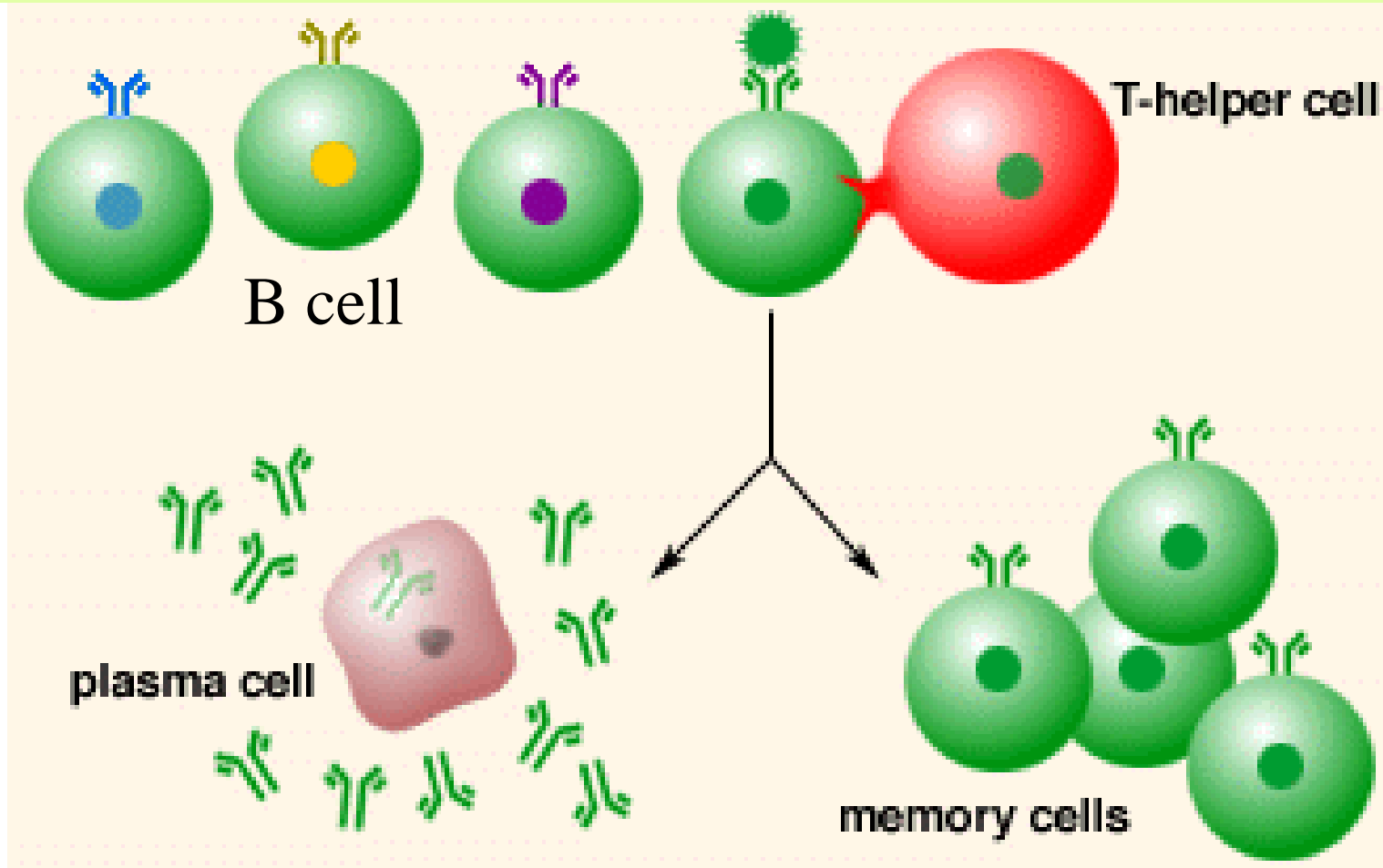
Hybridoma = Tế bào bạch cầu bình thường sản xuất Kháng thể đặc hiệu + myeloma
(Hybridoma = Normal white blood cells produce specific antibodies + myeloma.)



Production of Monoclonal Antibodies

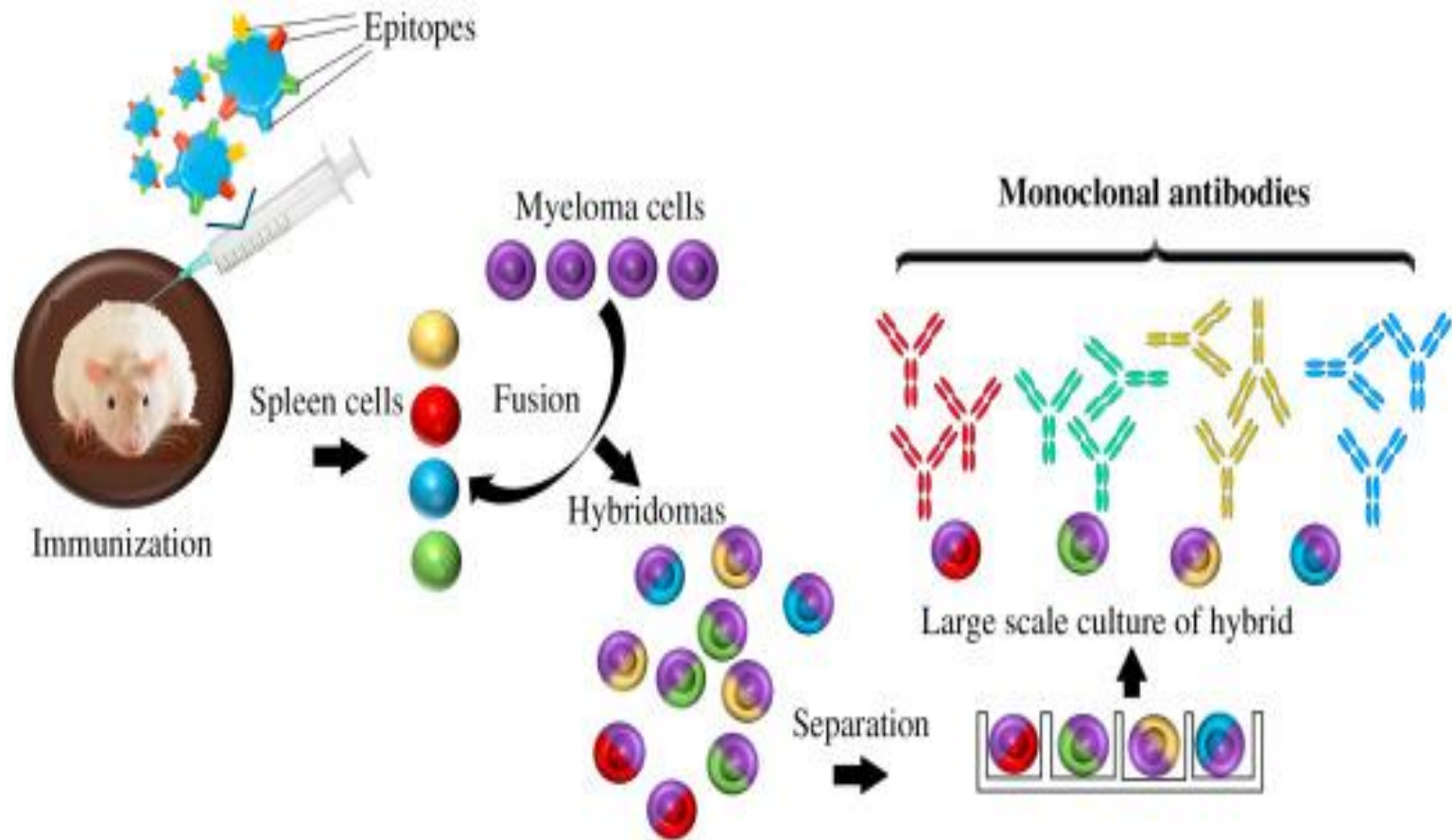
<http://www.old-ib.bioninja.com.au/higher-level/topic-11-human-health-and/111-defence-against-infecti.html>

II. Hybridoma và kháng thể đơn dòng (Hybridoma and monoclonal antibodies)



Vai trò (Role) T_H : kích thích tế bào B tạo kháng thể và sự nhớ miễn dịch (Stimulates B cell to create antibodies and immune memory)

II. Hybridoma và kháng thể đơn dòng (Hybridoma and monoclonal antibodies)



Production of Monoclonal Antibodies

II. Hybridoma và kháng thể đơn dòng (Hybridoma and monoclonal antibodies)

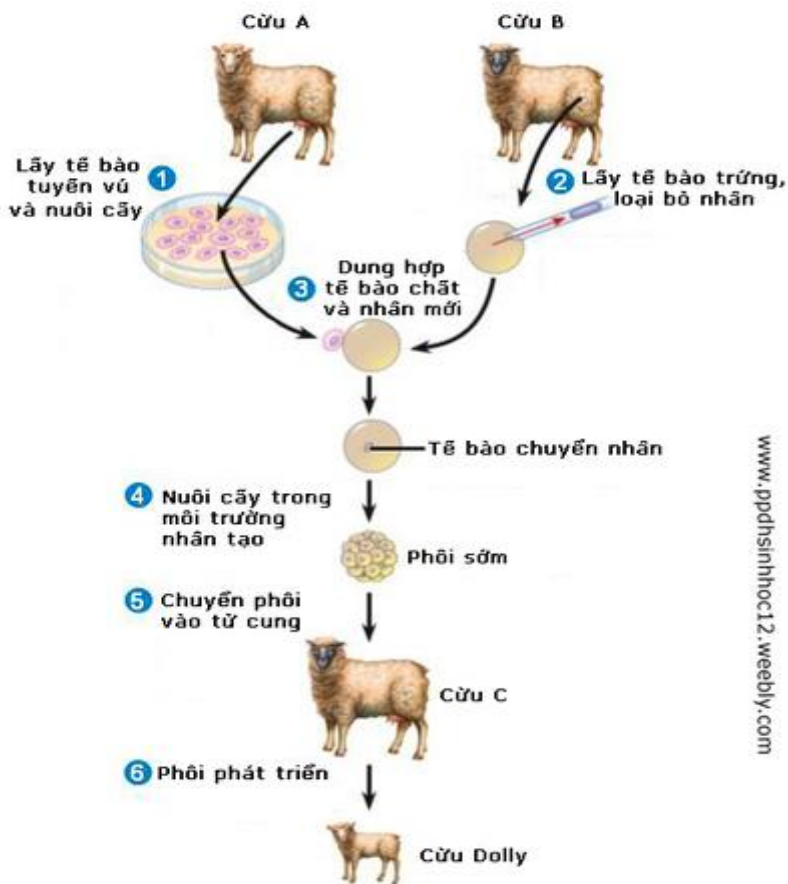
Các ứng dụng

- ***Tăng độ nhạy trong xét nghiệm:*** thử kháng nguyên, nhóm máu, tinh trùng, phát hiện thai, yếu tố đông máu
- ***Chẩn đoán:*** bệnh ung thư, bệnh truyền qua đường tình dục
- ***Trị liệu:*** chỉnh lại thuốc quá liều, giảm nguy hiểm...
- ***Thuốc hướng mục tiêu:*** gắn độc tố lên KT đơn dòng để chúng hướng đúng đến tế bào ung thư
- ***KT gắn các chất đồng vị phóng xạ*** phát ra tia β , γ diệt tế bào
- ***Nghiên cứu:*** giúp phát hiện vị trí protein qua KT có gắn huỳnh quang
- ***Tinh sạch sản phẩm:*** enzyme, protein,...

III. Nhân bản vô tính động vật (Cloning of animals)

Tạo dòng vô tính cừu Dolly
(Create Dolly sheep clones)

QUY TRÌNH NHÂN BẢN VÔ TÍNH BẰNG KỸ THUẬT CHUYỂN NHÂN



Cừu Dolly và mẹ mang thai BlackFace
(Dolly Sheep and BlackFace pregnant mother)



Dolly và con (Dolly and child)

III. Nhân bản vô tính động vật (Cloning of animals)

- Nhân bản các động vật khác
(Clone other animals)



https://vnreview.vn/tin-tuc-khoa-hoc-cong-nghe/-/view_content/content/2092031/sau-cuu-dolly-cac-nha-khoa-hoc-da-nhan-ban-them-dong-vat-nao



Nhân bản vô tính ở người, nên mừng hay lo sợ?

Human cloning in humans, should be happy or afraid?

<http://kenh14.vn/nhan-ban-vo-tinh-con-nguoi-tuong-lai-tuoi-sang-hay-tham-hoa-diet-vong-2018042121570508.chn>

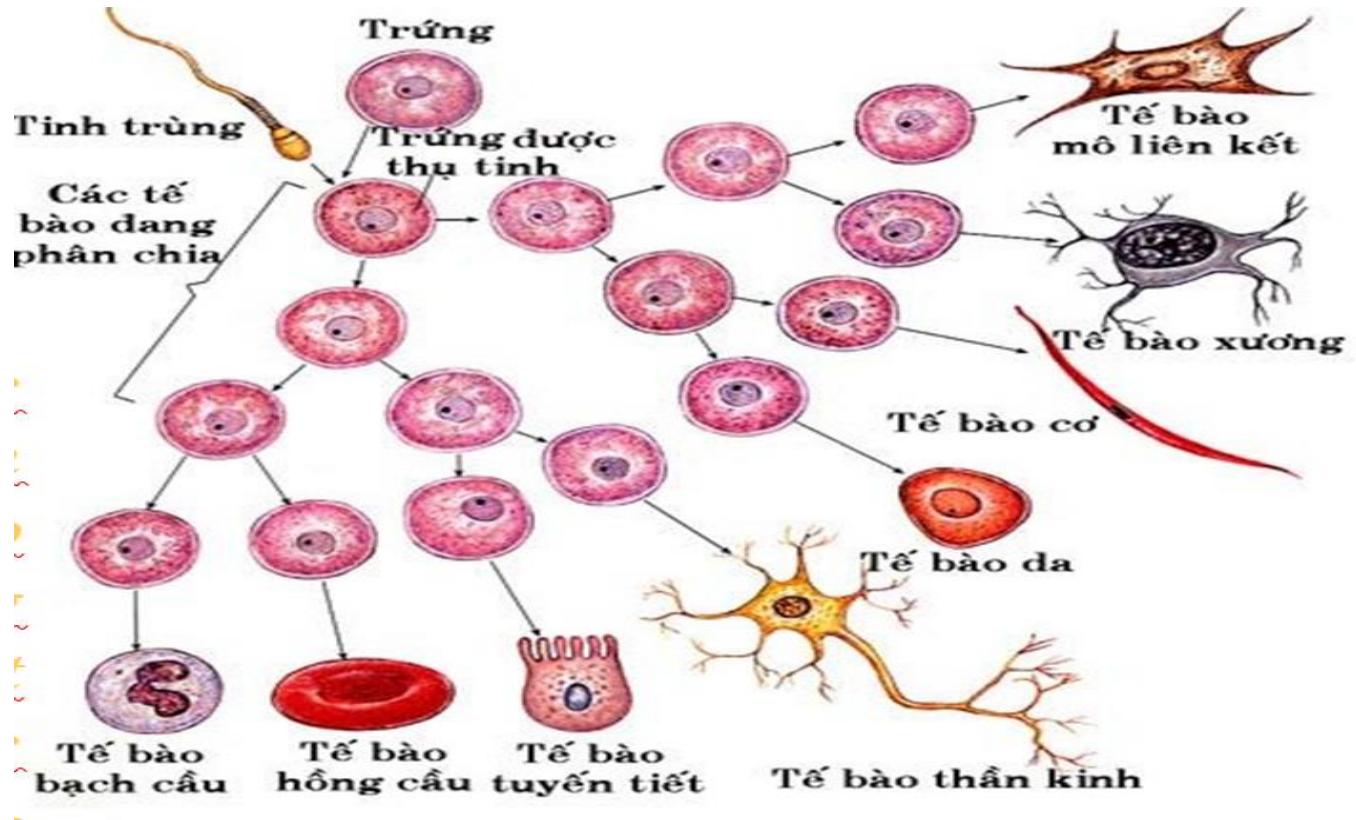
III. Nhân bản vô tính động vật (Cloning of animals)

Các ứng dụng (applications):

- Nhân bản các vật nuôi kỷ luật trong sản xuất
(Duplicate pets disciplined in production)
- Nhân bản các động vật chuyển gen
(Cloning of transgenic animals)
- Bảo tồn gen và những động vật quý hiếm
(Conserve genes and rare animals)

IV. Tế bào gốc (Stem cells)

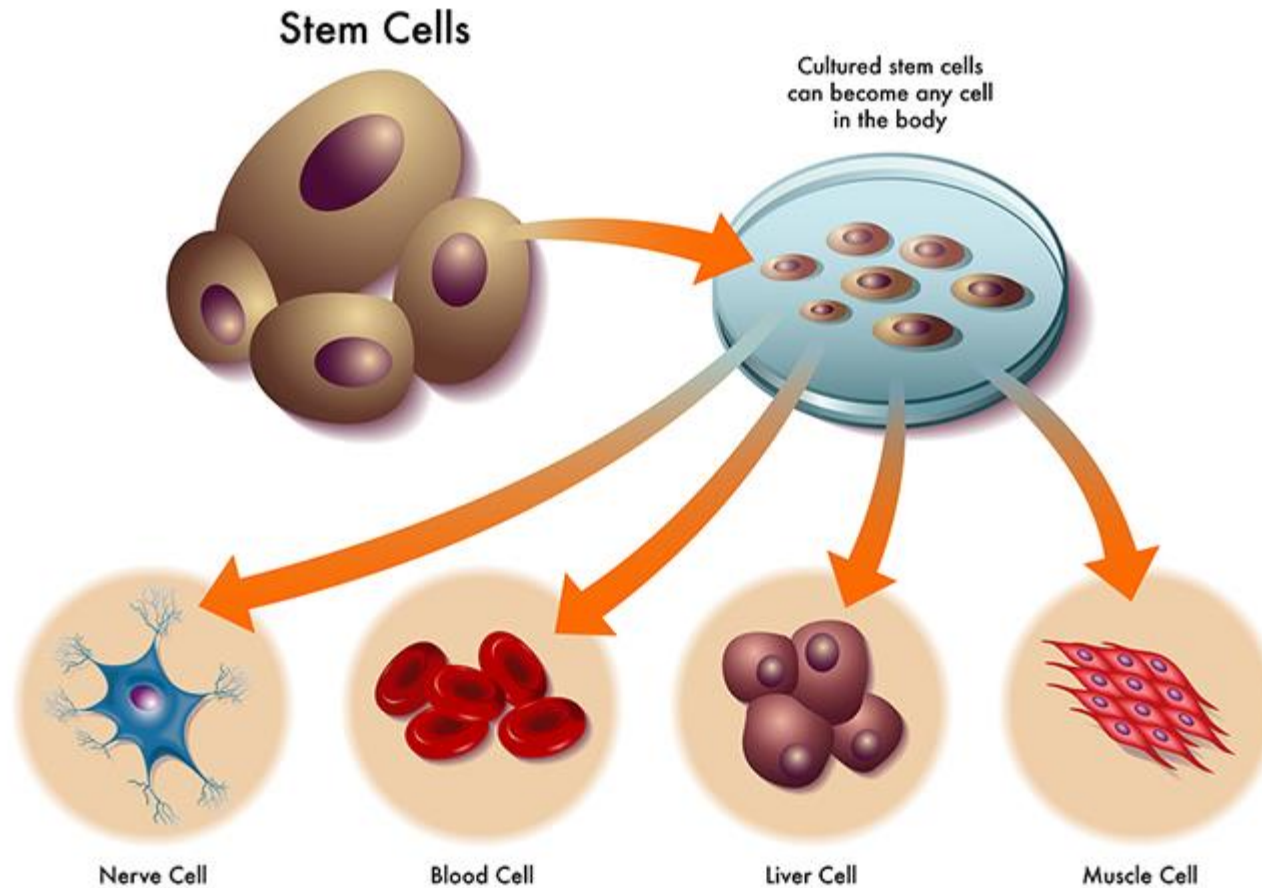
- Tế bào phôi và tế bào gốc soma (Embryonic cells and somatic stem cells)
- Tế bào gốc là những tế bào có khả năng tự tái sinh vô hạn và có thể tạo ra ít nhất một kiểu tế bào hậu duệ được biệt hóa ở mức độ cao (Stem cells are cells that are infinitely self-regenerating and can produce at least one highly differentiated type of descendant cell.).



Tế bào gốc phôi sinh sản tạo nhiều dòng tế bào biệt hoá khác nhau (Embryonic stem cells reproduce multiple differentiated cell lines)

IV. Tế bào gốc (Stem cells)

Tế bào gốc soma (Somatic stem cell)



Các tế bào gốc có thể được nuôi cấy thành các tế bào khác (Stem cells can be cultured into other cells)

IV. Tế bào gốc (Stem cells)

Tế bào gốc có **2 con đường để tự tái sinh và biệt hoá**
(Stem cells have **two pathways for self-regeneration and differentiation**):

1/ Tạo ra trực tiếp các tế bào biệt hoá bằng cách ***phân chia bất đối xứng***

(Direct generation of differentiated cells by **asymmetric division**)

2/ Tạo ra nhiều quần thể tế bào và dưới tác động của các nhân tố đặc hiệu sẽ tạo ra các tế bào biệt hoá

(Creating multiple cell populations and under the influence of specific factors will create specialized cells)

IV. Tế bào gốc (Stem cells)

Khả năng ứng dụng của tế bào gốc (Applicability of stem cells)

- Nuôi cấy tế bào động vật: tránh chết theo chương trình (Animal cell culture: avoid apoptosis);
- Đáp ứng chính xác đặc hiệu miễn dịch của từng cá thể. Liệu pháp tế bào (Responds exactly to the immune specificity of each individual. Cell therapy);
- Dễ dàng tạo kháng thể đơn dòng với tế bào gốc người (Easy to create monoclonal antibodies to human stem cells);
- Nhân bản vô tính dễ dàng hơn với nhân tế bào gốc (Cloning is easier with the stem cell nucleus);
- Thay thế hay ghép cơ quan người sẽ dễ dàng hơn (Replacing or transplanting human organs will be easier).

V. Sự phát triển công nghệ gen ở động vật

Các phương pháp chuyển gen ở động vật

Tải nạp nhờ virus: Gen của người được chèn vào bộ gen *herpes virus* và nó nhiễm vào tế bào người để chuyển gen;

Tải nạp nhờ retrovirus: Bộ gen RNA của retrovirus mang gen người, xâm nhập tế bào soma người và phiên mã ngược để tạo cDNA mạch kép, chèn vào nhiễm sắc thể người;

Chuyển gen nhờ liposome: là các màng lipid gói DNA ở trong, xâm nhập tế bào soma đưa gen vào thay gen bệnh;

Hóa biến nạp: *Calcium phosphate* hay *dextran sulfate* mở các lỗ trên màng để DNA xâm nhập;

Điện biến nạp: Dòng điện mở các lỗ trên màng để DNA xâm nhập;

Vi tiêm: Dùng kim bơm DNA vào tế bào;

Bắn vi đạn đạo: Dùng luồng khí mạnh thổi các viên đạn (vàng hoặc tungsten).

V. Sự phát triển công nghệ gen ở động vật (Genetic engineering in animals)

Tính trạng chuyển gene ở vật nuôi (Transgenic traits in livestock)

- Năng suất (Productivity)
- Hormone tăng trưởng (Growth hormone)
- Kích thích sự tăng trưởng cơ (Stimulates muscle growth)
- Tăng năng suất tạo lông ở cừu (Increased hair yield in sheep)

V. Sự phát triển công nghệ gen ở động vật (Genetic engineering in animals)

Động vật chuyển gen (Transgenic animals)

- Động vật mang gen người làm mô hình thí nghiệm (bệnh di truyền, ung thư, thoái hóa cơ, viêm khớp,...) - Animals carrying human genes as experimental models (genetic diseases, cancer, muscle degeneration, arthritis, ...)

- Sản xuất protein tái tổ hợp
(Production of recombinant proteins)

- Chăn nuôi gene (gene farming)

