

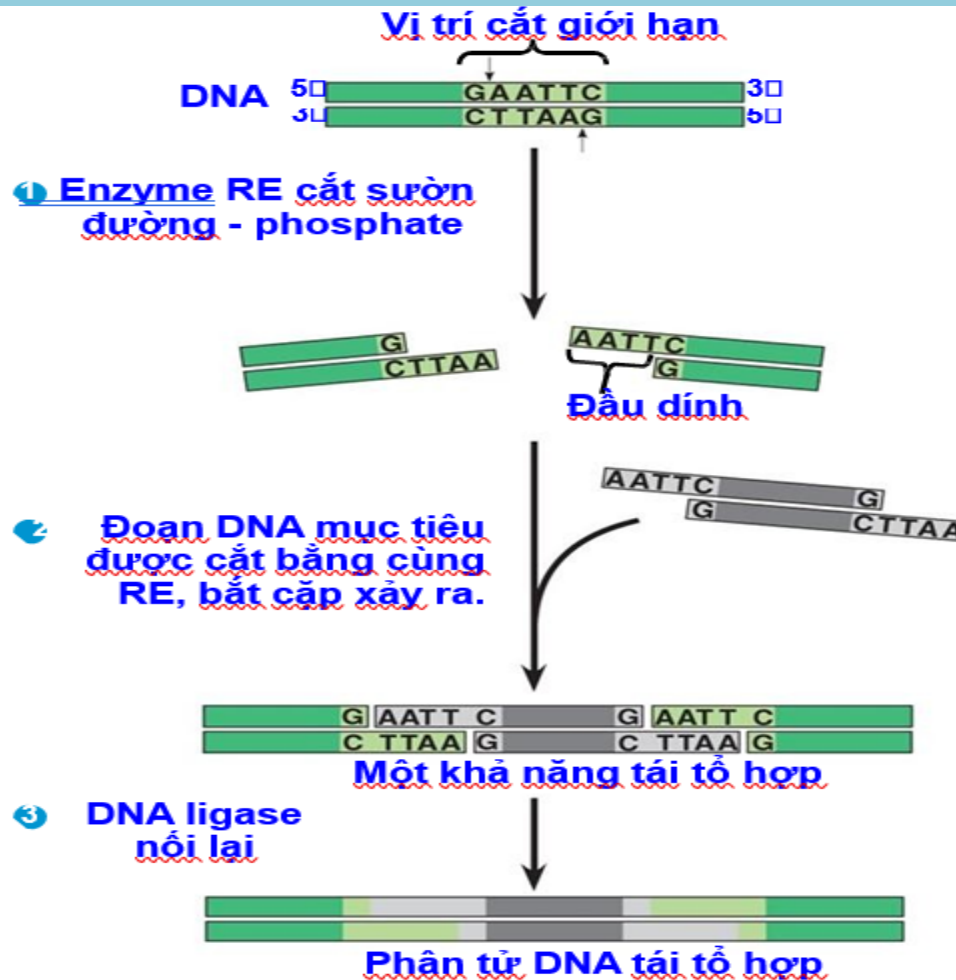
Chương 2:

CÔNG NGHỆ DNA TÁI TỔ HỢP **RECOMBINANT DNA TECHNOLOGY**

- I. Sơ đồ khái quát - Overview diagram**
- II. Các công cụ - Tools**
- III. Các kỹ thuật và phương pháp cơ bản -
Basic techniques and methods**
- IV. Ứng dụng - Application of gene technology**

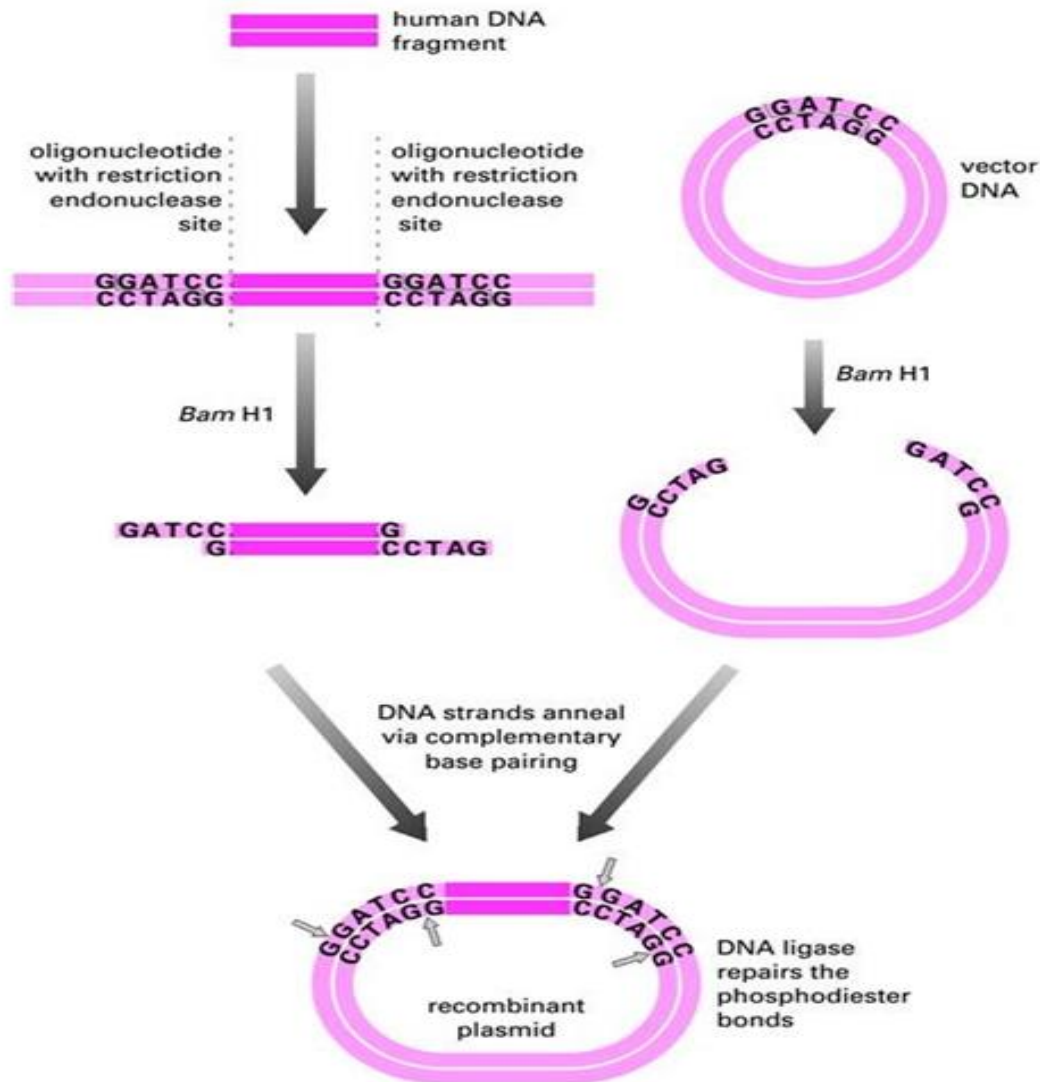


DNA tái tổ hợp - Recombinant DNA



DNA tái tổ hợp là phân tử DNA được tạo thành từ hai hay nhiều trình tự DNA của các loài sinh vật khác nhau

DNA tái tổ hợp - Recombinant DNA



Plasmid tái tổ hợp

Công nghệ DNA tái tổ hợp - Recombinant DNA technology

Tập hợp các kỹ thuật tạo nên các phân tử DNA TTH nhằm đưa các gen mới mang thông tin di truyền mã hóa những đặc điểm mong muốn vào các tế bào hoặc cơ thể sống.

DNA TH có thể tạo ra từ 2 hay nhiều đoạn DNA (RNA) có nguồn gốc khác nhau, hoặc từ DNA của các cá thể thuộc các loài khác nhau.

GIỐNG LÚA ĐƯỢC CHUYỂN GEN TỔNG HỢP β -CAROTEN



Giống lúa được chuyển gen tổng hợp β -Carotene cho hạt gạo vàng (bên trái) và giống lúa bình thường cho hạt gạo màu trắng đục (bên phải)

CHUYỂN GEN KHÁNG VIRÚT Ở CÀ CHUA



Giống cà chua bình thường (bên trái) và giống cà chua được chuyển gen kháng virút xoắn lá CMV (bên phải)



GMO (Genetically Modified Organism) đều là sản phẩm của công nghệ DNA TTH, hay công nghệ DNA TTH là cơ sở tạo nên các GMO

Lịch sử hình thành

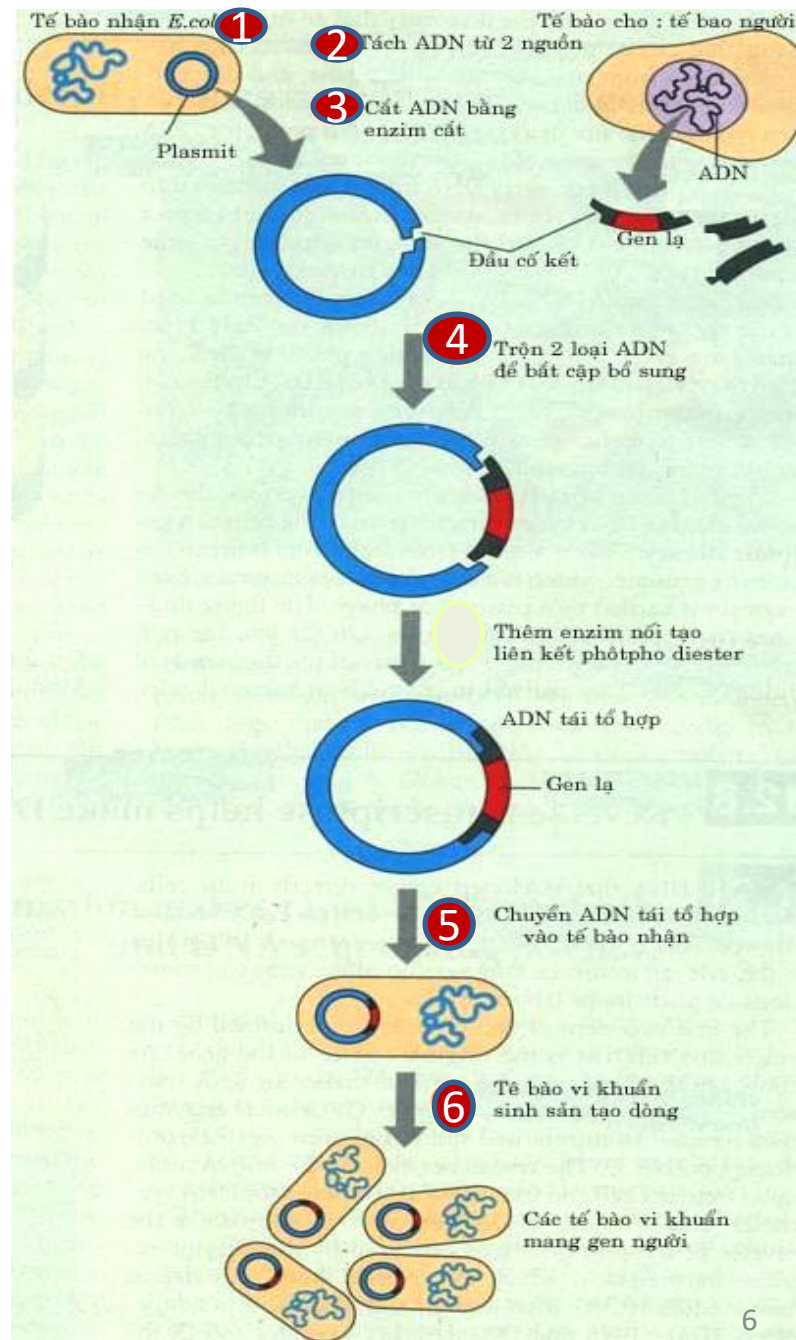
- 1972 – 1973: đã tạo nên DNA TTH *in vitro* (Berg, Boyer và Cohen)
- 1973 – 1974: DNA TTH có hoạt tính sinh học (Cohen, Henlinski, Boyer).

Các thuật ngữ:

- Kỹ thuật tái tổ hợp DNA (DNA recombinant technology)
- Kỹ thuật gene (Gene engineering) hay công nghệ gene (Genetic technology)
- Thao tác gene (Gene manipulation)
- Tạo dòng phân tử (Molecular cloning)
- Kỹ thuật di truyền (Genetic engineering)

I. Sơ đồ khái quát

- **Bước 1:** Nuôi tế bào chủ để tạo vector và tế bào cho để thu DNA
- **Bước 2:** Tách DNA plasmid và DNA tế bào cho
- **Bước 3:** Cắt DNA plasmid và DNA mục tiêu bằng 1 loại enzyme EcoRI để tạo đầu so le
- **Bước 4:** Trộn và nối 2 loại DNA bằng enzyme nối tạo DNA TTH hoàn chỉnh
- **Bước 5:** Chuyển DNA TTH tế bào nhận (*E. coli*, nấm men)
- **Bước 6:** Chọn lọc và nhân dòng tế bào mang gene tái tổ hợp





II. Các công cụ

2.1. Công cụ enzyme

2.2. Các vector chuyển gene

2.3. Hệ thống tế bào chủ

II. Các công cụ

2.1. Công cụ enzyme

- Enzyme cắt hạn chế (Restriction endonuclease)
- Enzyme nối (Ligase)
- Enzyme phiên mã ngược (Reverse transcriptase)
- Các enzyme khác (DNA-polymerase, Nuclease, Taq-polymerase)

II. Các công cụ

2.1. Công cụ enzyme

a/ Enzyme cắt hạn chế (*Restriction endonuclease*)

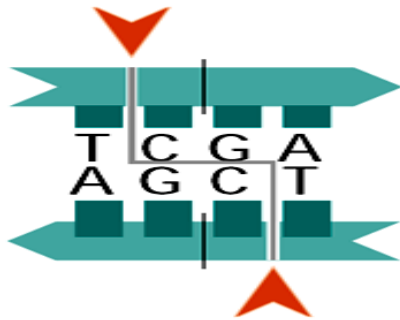
- 1962: A. Aber phát hiện enzym “hạn chế” sự sinh sản của phage trong vi khuẩn và gọi *Restriction endonuclease* -RE
 - 1970: H. Smith tách được RE từ *Haemophilus influenzae* - *HinII*.
- RE: cắt ADN 1 cách đặc hiệu nên được gọi là E cắt hạn chế
- VK có hệ thống *hạn chế - biến đổi* (restriction – modification system) giúp bảo vệ tế bào khỏi sự xâm nhập của DNA lạ.

2.1. Công cụ enzyme

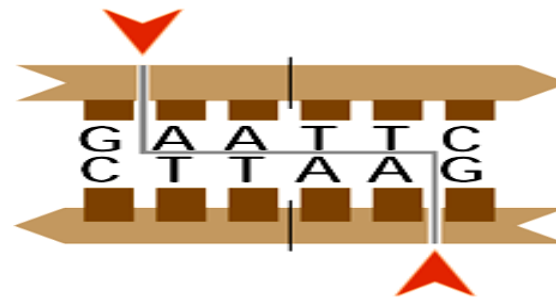
a/ Enzyme cắt hạn chế (Restriction endonuclease)

- Trình tự nhận biết: 4-6 cặp Nu đối xứng đảo ngược (palindrom)

TaqI (*Thermus aquaticus*)



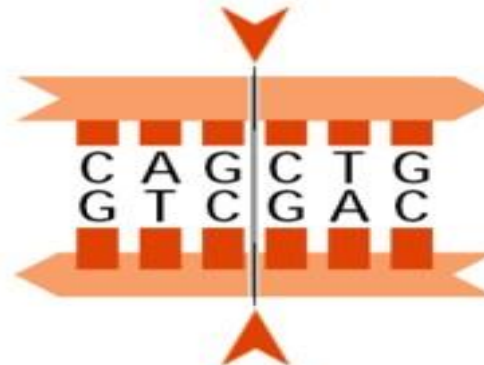
EcoRI (*Escherichia coli*)



RsaI (*Rhodopseudomonas sphaeroides*)



PvuII (*Proteus vulgaris*)

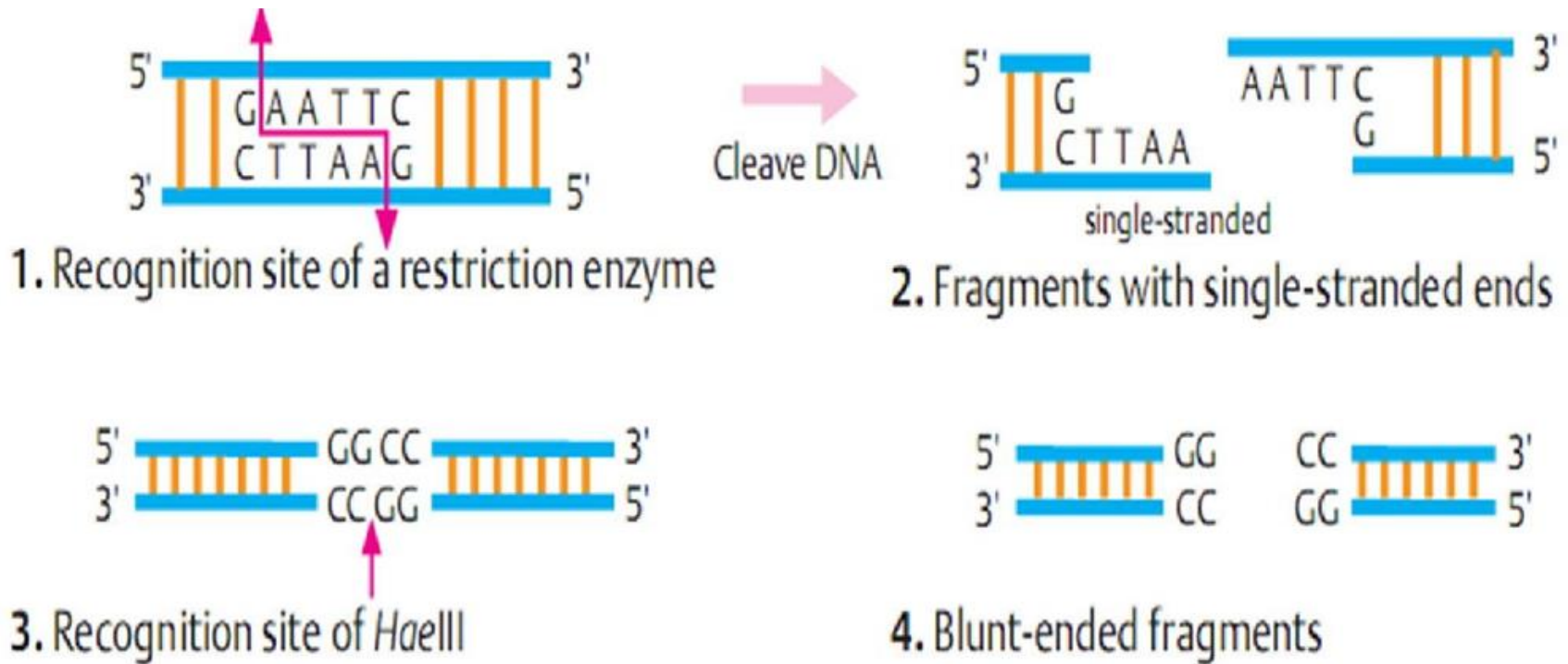


Hình. Các kiểu cắt và nhận biết trình tự nucleotide của enzyme hạn chế.

2.1. Công cụ enzyme

a/ Enzyme cắt hạn chế (Restriction endonuclease)

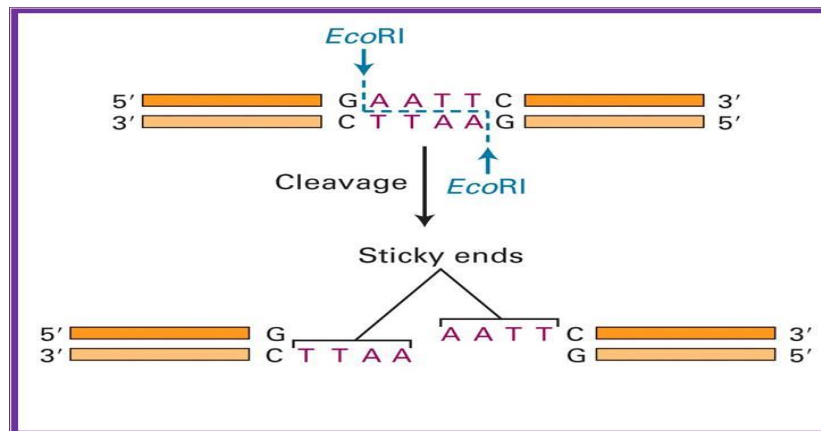
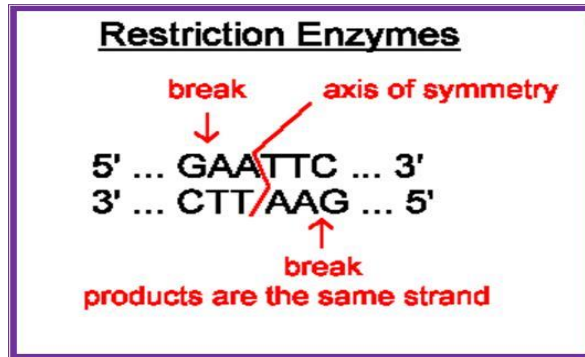
- Trình tự nhận biết: 4-6 cặp Nu *đối xứng đảo ngược* (palindrom) (palindrom)
- Cắt tạo thành đầu so le (sticky end) hay đầu bằng (cohesive end)



A. DNA cleavage by restriction nucleases

2.1. Công cụ enzyme

a/ Enzyme cắt hạn chế (Restriction endonuclease)

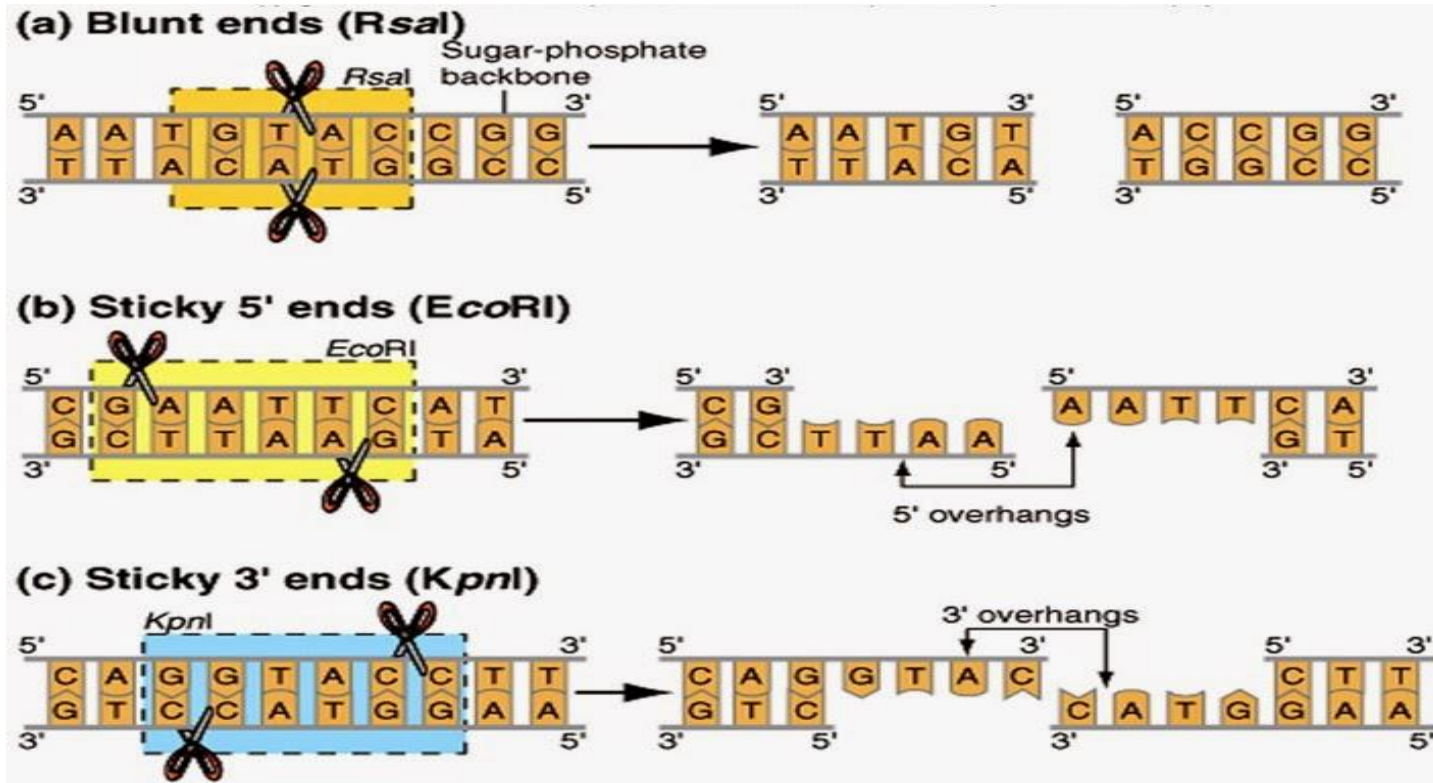


Restriction enzymes: <http://www.symposcium.com/>

- Cắt tạo thành đầu so le (sticky end) hay đầu bằng (cohesive end)

2.1. Công cụ enzyme

a/ Enzyme cắt hạn chế (Restriction endonuclease)



Sticky ends generated after restriction digestion

<http://upendratts.blogspot.com/2014/07/>

- Khoảng 3000 RE với 230 trình tự nhận biết khác nhau.
- *EcoRI*: *Escherichia coli* R: dòng vi khuẩn; I: thứ tự tìm ra (I: đầu tiên)

Examples of restriction endonucleases with their recognition sites

Enzyme	Source	Recognition Sequence	Cut
EcoRI	Escherichia coli	5'GAATTC 3'CTTAAG	5'---G AATTC---3' 3'---CTTAA G---5'
EcoRII	Escherichia coli	5'CCWGG 3'GGWCC	5'--- CCWGG---3' 3'---GGWCC ---5'
BamHI	Bacillus amyloliquefaciens	5'GGATCC 3'CCTAGG	5'---G GATCC---3' 3'---CCTAG G---5'
HindIII	Haemophilus influenzae	5'AAGCTT 3'TTCGAA	5'---A AGCTT---3' 3'---TTCGA A---5'
TaqI	Thermus aquaticus	5'TCGA 3'AGCT	5'---T CGA---3' 3'---AGC T---5'
NotI	Nocardia otitidis	5'GCGGCCGC 3'CGCCGGCG	5'---GC GGCCGC---3' 3'---CGCCGG CG---5'
HinfI	Haemophilus influenzae	5'GANTC 3'CTNAG	5'---G ANTC---3' 3'---CTNA G---5'
Sau3A	Staphylococcus aureus	5'GATC 3'CTAG	5'--- GATC---3' 3'---CTAG ---3'
PovII*	Proteus vulgaris	5'CAGCTG 3'GTCGAC	5'---CAG CTG---3' 3'---GTC GAC---5'
SmaI*	Serratia marcescens	5'CCCGGG 3'GGGCCC	5'---CCC GGG---3' 3'---GGG CCC---5'
HaeIII*	Haemophilus aegyptius	5'GGCC 3'CCGG	5'---GG CC---3' 3'---CC GG---5'
AluI*	Arthrobacter luteus	5'AGCT 3'TCGA	5'---AG CT---3' 3'---TC GA---5'
EcoRV*	Escherichia coli	5'GATATC 3'CTATAG	5'---GAT ATC---3' 3'---CTA TAG---5'
KpnI	Klebsiella pneumoniae	5'GGTACC 3'CCATGG	5'---GGTAC C---3' 3'---C CATGG---5'
PstI	Providencia stuartii	5'CTGCAG 3'GACGTC	5'---CTGCA G---3' 3'---G ACGTC---5'
SacI	Streptomyces achromogenes	5'GAGCTC 3'CTCGAG	5'---GAGCT C---3' 3'---C TCGAG---5'
SalI	Streptomyces albus	5'GTCGAC 3'CAGCTG	5'---G TCGAC---3' 3'---CAGCT G---5'
ScaI	Streptomyces caespitosus	5'AGTACT 3'TCATGA	5'---AGT ACT---3' 3'---TCA TGA---5'
SphI	Streptomyces phaeochromogenes	5'GCATGC 3'CGTACG	5'---G CATGC---3' 3'---CGTAC G---5'
StuI	Streptomyces tubercidicus	5'AGGCCT 3'TCCGGA	5'---AGG CCT---3' 3'---TCC GGA---5'
XbaI	Xanthomonas badrii	5'TCTAGA 3'AGATCT	5'---T CTAGA---3' 3'---AGATC T---5'

* = blunt ends

N = C or G or T or A

W = A or T

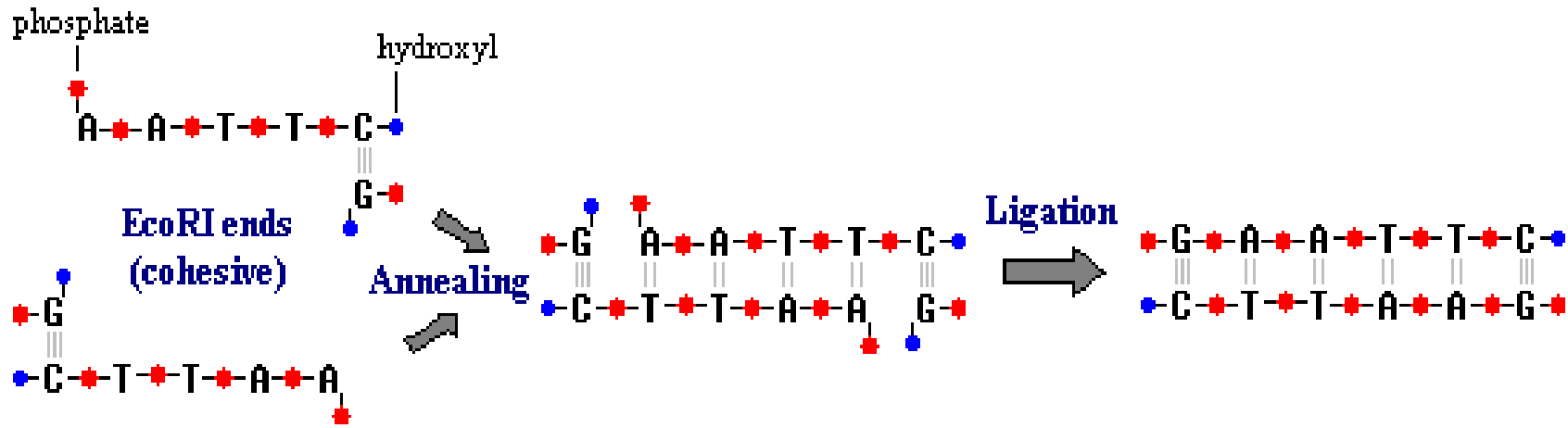
2.1. Công cụ enzyme

b/ Enzyme nối (Ligase)

Hình thành cầu phosphodiester gắn các nucleotid kề cận với nhau

Có các ligase sau:

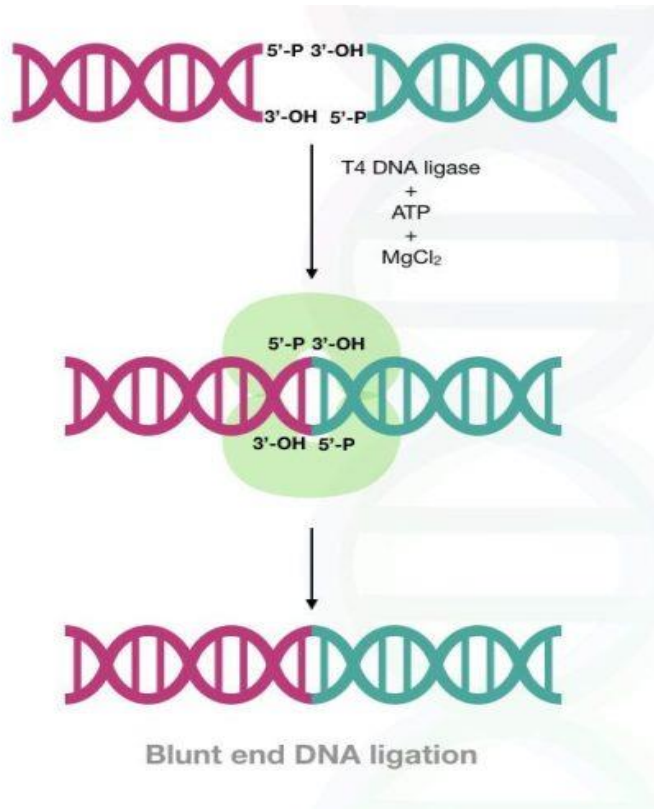
- T4 DNA (RNA) ligase: li trích từ phage T4 xâm nhiễm *E. coli*
- T4 polynucleotide kinase: li trích từ phage T4 xâm nhiễm *E. coli*
- Alkaline phosphatase: li trích từ *E. coli* hay từ ruột bê



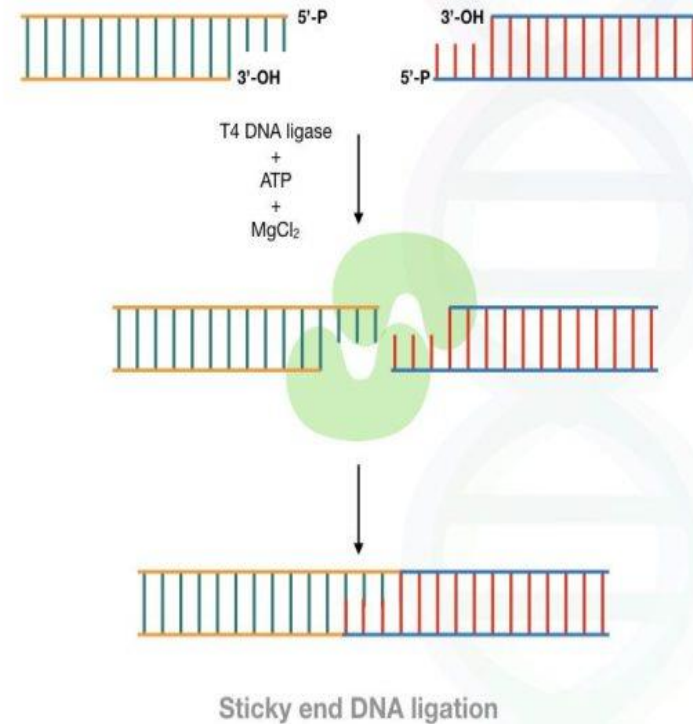
Cơ chế tạo liên kết phosphodiester của ligase

2.1. Công cụ enzyme

b/ Enzyme nối (Ligase)



The process of blunt-end ligation



The process of sticky end ligation

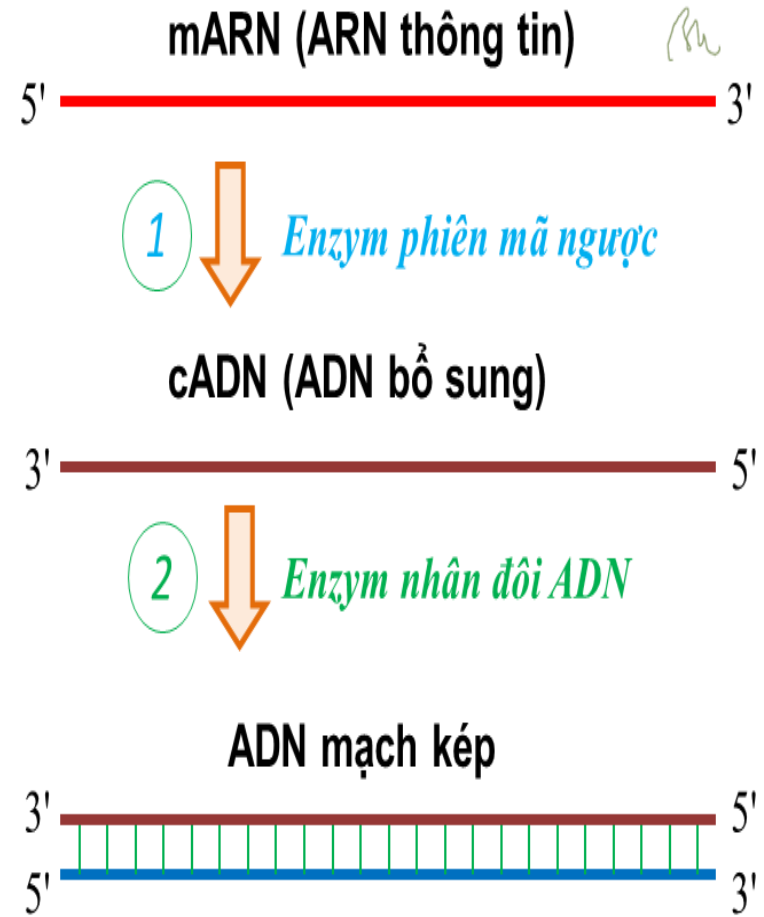
2.1. Công cụ enzyme

c/ Các enzyme khác

Enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase)

- Tổng hợp sợi DNA bổ sung c-DNA (complementary DNA) từ một sợi mRNA hoặc từ polyribonucleotide tổng hợp

- c-DNA có thể tổng hợp thành c-DNA kép (c-DNA duplex) nhờ DNA polymerase. c-DNA kép được dùng tạo dòng c-DNA.



Sự tạo thành ADN bổ sung từ ARN.

2.1. Công cụ enzyme

c/ Các enzyme khác

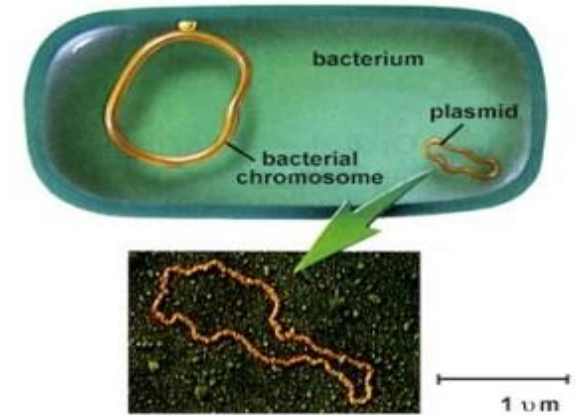
Enzyme	Chức năng
DNaseI	Phân hủy DNA mạch kép bằng phản ứng thủy phân nội liên kết phosphodiester (Endonuclease)
Nuclase BAL31	Phân hủy 2 đầu mút 3' và 5' của DNA (Exonuclease)
S1 nuclease	Cắt DNA mạch đơn
Đoạn Klenow	DNA polymerase chỉ còn hoạt tính exonuclease 3'-5'
<i>Taq</i> polymerase	DNA polymerase chịu nhiệt từ vi khuẩn <i>Thermophilus aquaticus</i>

II. Các công cụ

2.2. Các vector chuyển gene

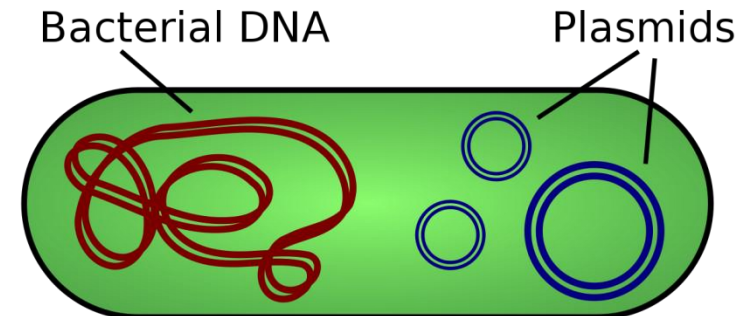
Plasmid

- DNA vòng tròn
- Sao chép độc lập trong tế bào
- Có một số gene có khả năng biểu hiện thành protein.



Vector chuyển gen là

- Phân tử DNA có khả năng tự tái bản
- Tồn tại độc lập trong tế bào
- Mang được gene mong muốn

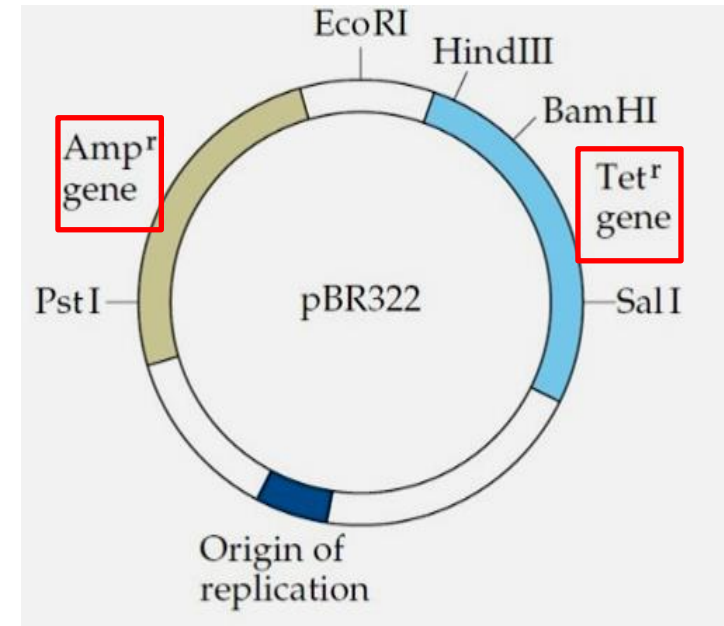


II. Các công cụ

2.2. Các vector chuyển gene

Yêu cầu tối thiểu đối với vector chuyển gene

- Có trình tự khởi đầu sao chép (Ori) để tự sao chép mà tồn tại độc lập
- Trình tự nhận biết cho RE tạo vết cắt để chèn gene lạ
- Trình tự Promoter (vùng khởi động) tạo điều kiện phiên mã gene lạ
- Đảm bảo sự di truyền bền vững của DNA tái tổ hợp
- Có gene đánh dấu (marker) để dễ dàng nhận biết các gene lạ.



Ampicillin resistant
Tetracycline resistant

Các loại plasmid

- **Plasmid thể hệ thứ nhất:** tìm thấy trong tự nhiên (ColE1, pSC101...)
- **Plasmid thể hệ thứ hai:** plasmid nhân tạo (pBR322: kích thước 4364 bp, mang hai gen ApR, TetR và 20 vị trí nhận biết duy nhất của các enzyme cắt giới hạn)
- **Plasmid thể hệ thứ ba:** đây là các plasmid mạnh hiện nay có hai đặc tính cơ bản
 - Kích thước nhỏ
 - Có mang một polylinker

II. Các công cụ

2.2. Các vector chuyển gene

Các ứng dụng quan trọng của vector chuyển gene

- Tạo dòng và khuếch đại trình tự DNA (nhiều bản sao),
- Nghiên cứu sự biểu hiện của đoạn DNA,
- Chuyển gene vào tế bào các sinh vật khác,
- Sản xuất RNA,
- Sản xuất protein từ gene được tạo dòng.

2.2. Các vector chuyển gene

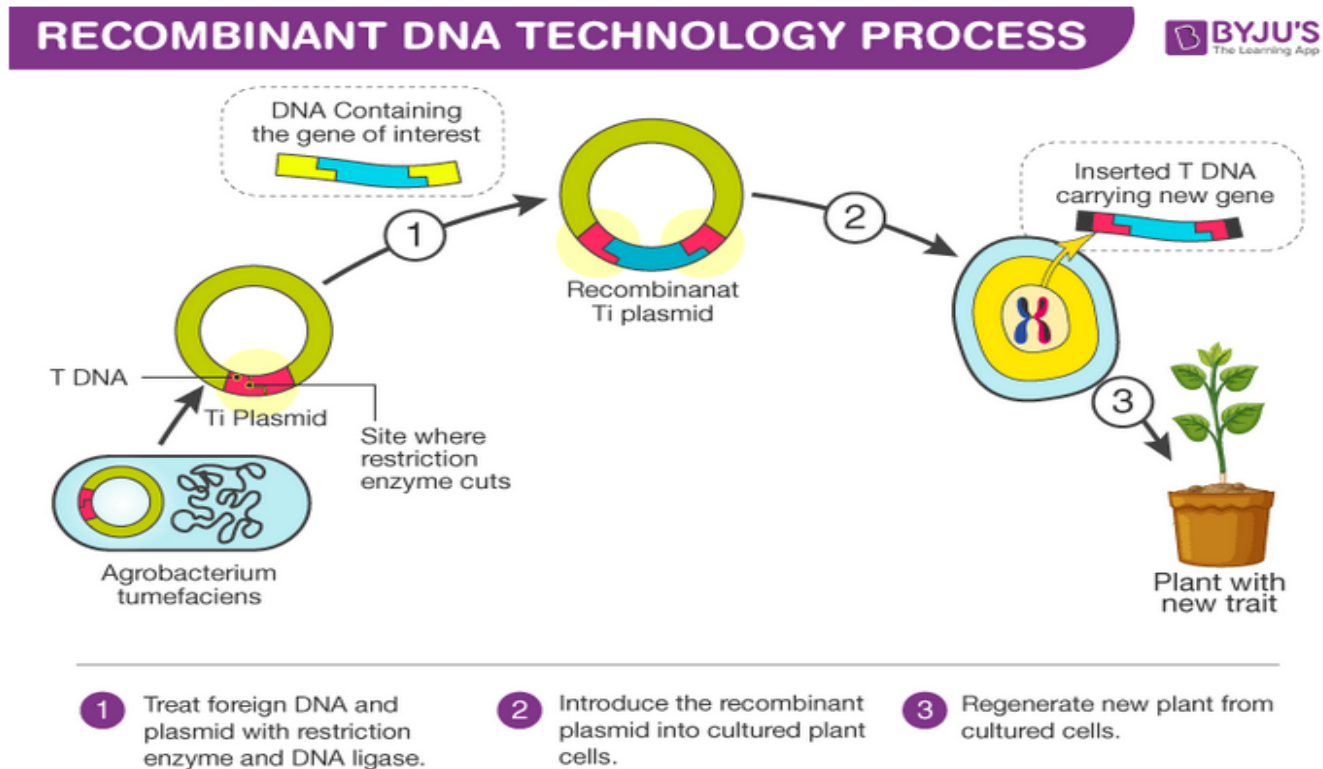
Các loại vector chuyển gen

Vector	Đặc điểm	Khả năng chèn	Ứng dụng
Plasmid	Dạng vòng	0,1 – 10kb	Procaryote
Phage λ	Tự động xâm nhiễm và sinh sản trong TB vi khuẩn	15 – 23 kb	Lập ngân hàng gene
Cosmid	Plasmid + đoạn cos của phage λ	45kb	Lập thư viện gene
Phage M13	DNA mạch đơn		Xác định TT Nu. Sản xuất mẫu dò .Gây đột biến điểm định hướng
BAC (Bacterial artificial chromosome)	NST nhân tạo vi khuẩn	50 – 300kb	
YAC	NST nhân tạo nấm men	100-2000kb	
MAC (Mammalian AC)	NST nhân tạo ĐV có vú	>2000kb	
huAC (Human AC)	NST nhân tạo người	>2000kb	

2.2. Các vector chuyển gene

Plasmid Ti

- Kích thước 200Kb, từ *Agrobacterium tumefaciens*
- Chuyển gen ở thực vật
- Chuyển và gắn ngẫu nhiên vào bộ gene của tế bào



II. Các công cụ

2.3. Hệ thống tế bào chủ

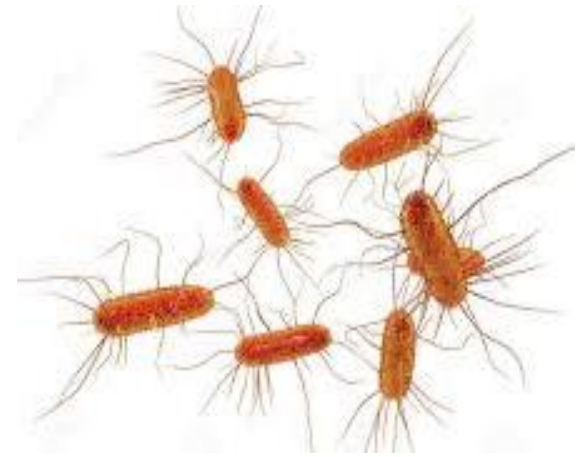
Mục đích

- Nhân nuôi tạo số lượng lớn dùng cho thí nghiệm tạo dòng;
- Biểu hiện gene, đặc biệt ở Eukaryote;
- Sản xuất protein tái tổ hợp.

2. 3. Hệ thống tế bào chủ

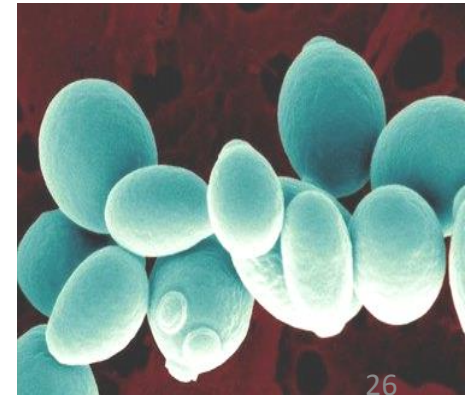
a/ Escherichia coli (E.coli)

- Vi khuẩn G⁻, hình que, không độc,
- Dễ nuôi cấy và nhân dòng,
- Dễ chấp nhận các loại vector khác nhau,
- Bộ gene khoảng $4,6 \times 10^6$ cặp base.



b/ Saccharomyces cerevisiae

- Eukaryote đơn bào, biết rất chi tiết về di truyền và sinh lý
- Dễ dàng nuôi cấy trong bioreactor và thu sinh khối,
- Phân lập được nhiều promotor hoạt động mạnh,
- Thực hiện biến đổi sau dịch mã tạo protein có đủ HTSH,
- Sản xuất protein tái tổ hợp dễ dàng,
- Sinh vật an toàn.



2. 3. Hệ thống tế bào chủ

c/ Các hệ thống tế bào thực vật

- Tảo đơn bào: *Chlamydomonas reinhardtii*

d/ Hệ thống tế bào động vật

- TB thận khỉ xanh châu Phi (COS- African green monkey kidney)
- TB thận chuột đồng con (BHK- Baby hamster kidney)
- TB thận phôi người (HEK-239- Human embryonic kidney)
- TB tử cung chuột bạch (CHO-Chinese hamster ovary)
- TB côn trùng nuôi baculovirus biểu hiện protein người
- TB tuyến trùng *Caenorhabditis elegans*

III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.1. Thu nhận gene

- a/ Thư viện DNA từ bộ gen (Tách các đoạn DNA từ bộ gen có sẵn)
- b/ Tổng hợp gene bằng phương pháp hóa học
- c/ Lập ngân hàng c-DNA (STH gen từ mARN tương ứng)

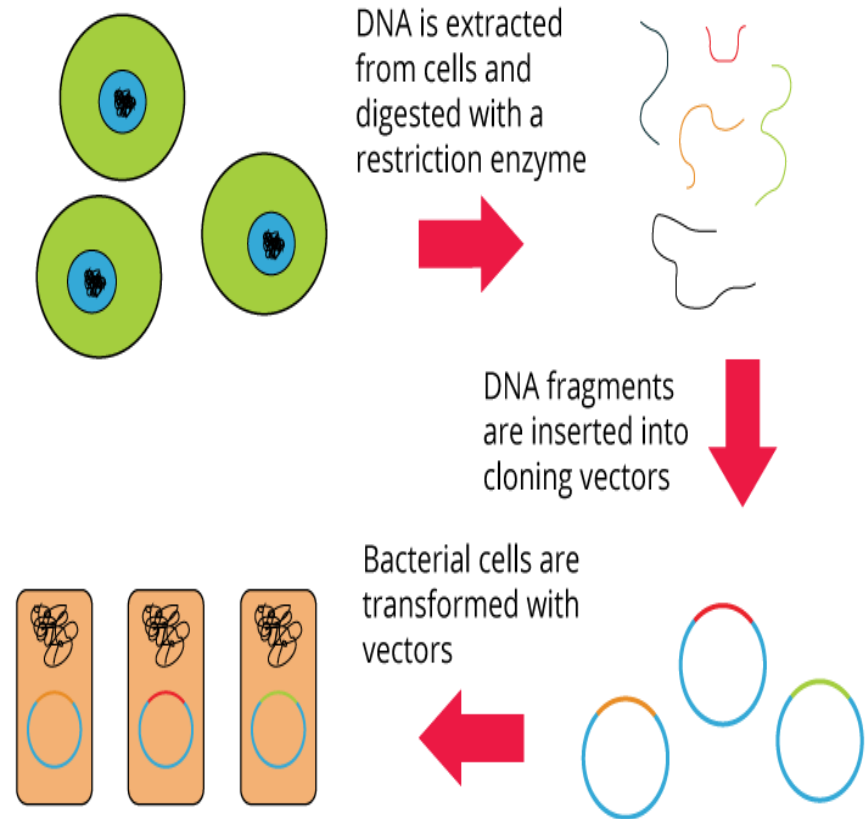
III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.1. Thu nhận gene

a/ Từ thư viện DNA bộ gen

- **Shotgun:** toàn bộ DNA của sinh vật được cắt đoạn nhỏ bằng cơ học hay RE và gắn vào vector tạo dòng.

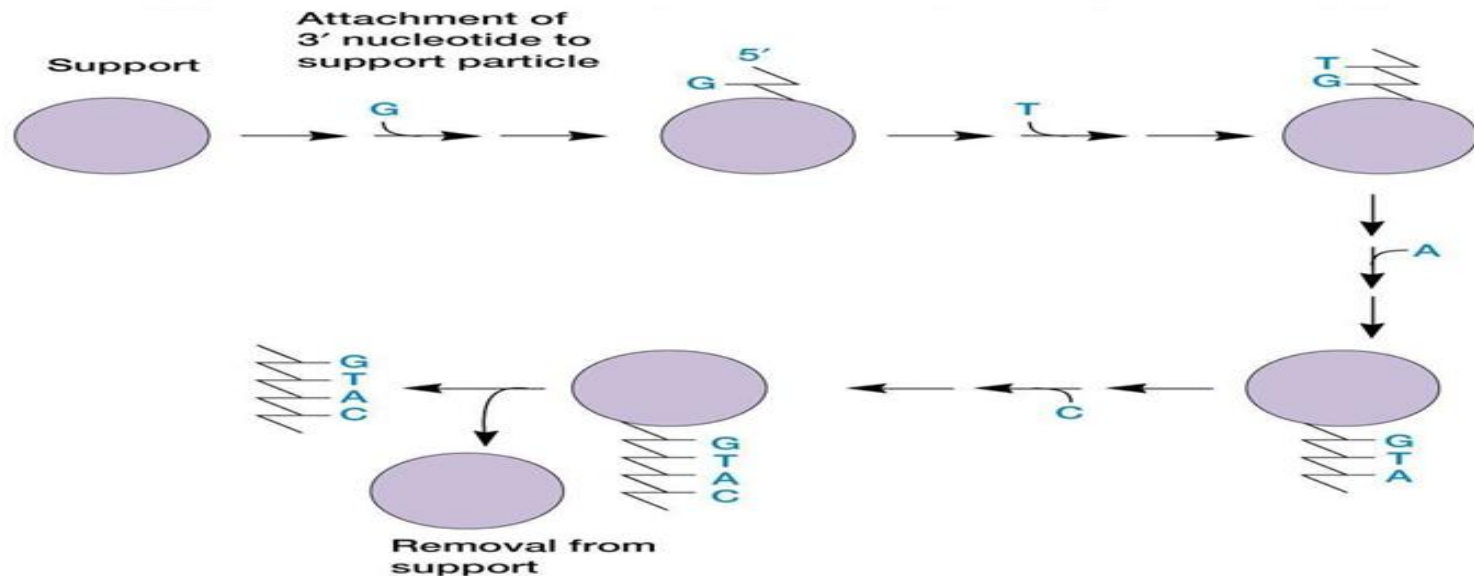
→ Sử dụng trong lập Ngân hàng/thư viện DNA bộ gene (Bank/Library of genomic DNA)



III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.1. Thu nhận gene

b/ Tổng hợp gene bằng phương pháp hóa học



- Dựa trên trình tự nucleotide đã biết của gen → tổng hợp nhân tạo các gen cần thiết.

Tạo gen mã hóa somatostatin(14 a.a) và biểu hiện trong *E. coli*

III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

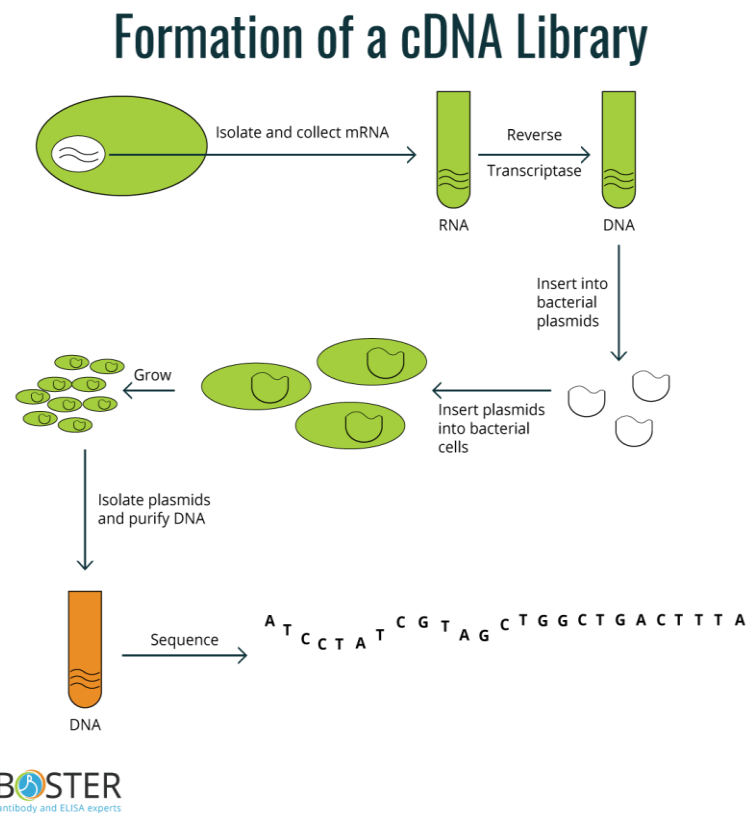
3.1. Thu nhận gene

c/ Lập ngân hàng c-DNA

Tạo gen từ các mRNA nhờ enzyme phiên mã ngược

Ưu điểm:

- Chứa trình tự mã hóa liên tục của một gene (không chứa đoạn intron)
- Giảm nhẹ đáng kể việc xác định đúng dòng mong muốn từ ngân hàng gen.



Polymerase Chain Reaction, PCR

PCR dựa trên 3 bước ở nhiệt độ khác nhau.

1- Biến tính: tạo dây đơn DNA với nhiệt độ 94°C

2- Bắt cặp: lai giữa primers và DNA đơn. Nhiệt độ khoảng 50°C

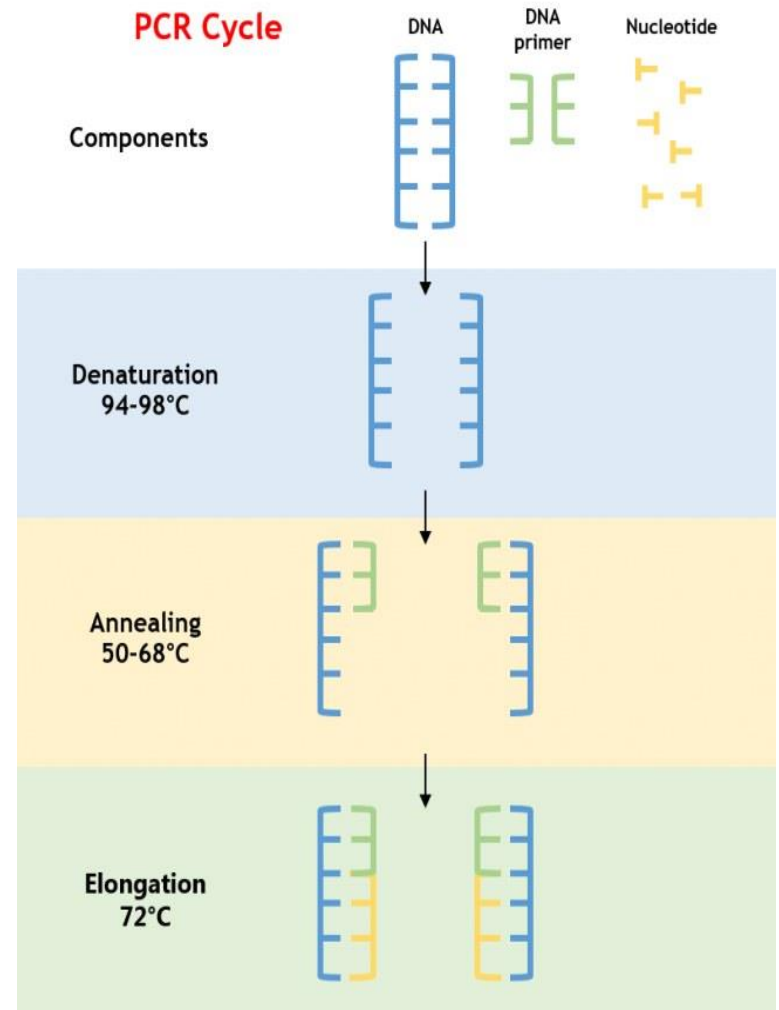
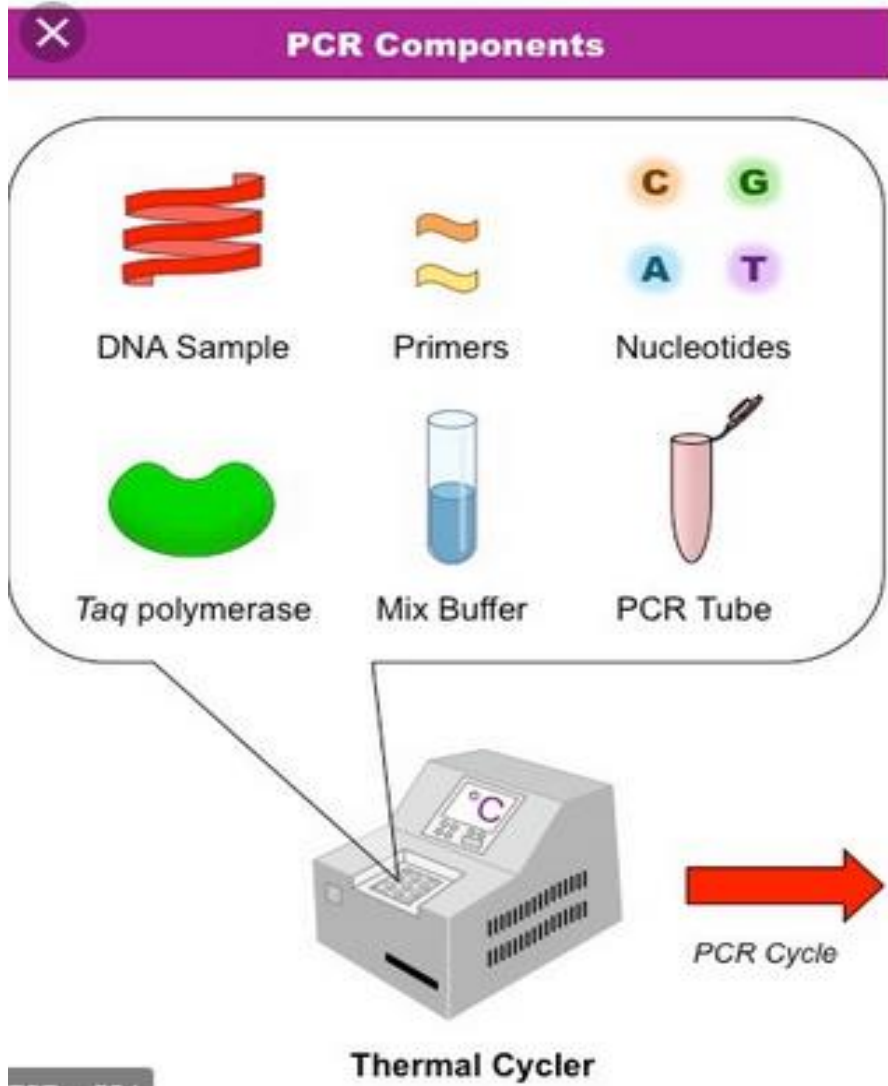
3- Kéo dài : tạo dây DNA bổ sung với tác động của polymerase và dNTPs: 72°C.

Lặp lại chu kỳ khoảng 30-40 lần sẽ tạo ra số lượng DNA cần khuếch đại đủ quan sát trên gel qua quá trình điện di

Thành phần phản ứng

- Mẫu DNA cần khuếch đại
- Các Primer (các mồi)
- Polymerase chịu nhiệt
- dNTP (các loại nucleotide triphosphate)
- Dung dịch đệm thích hợp và $MgCl_2$

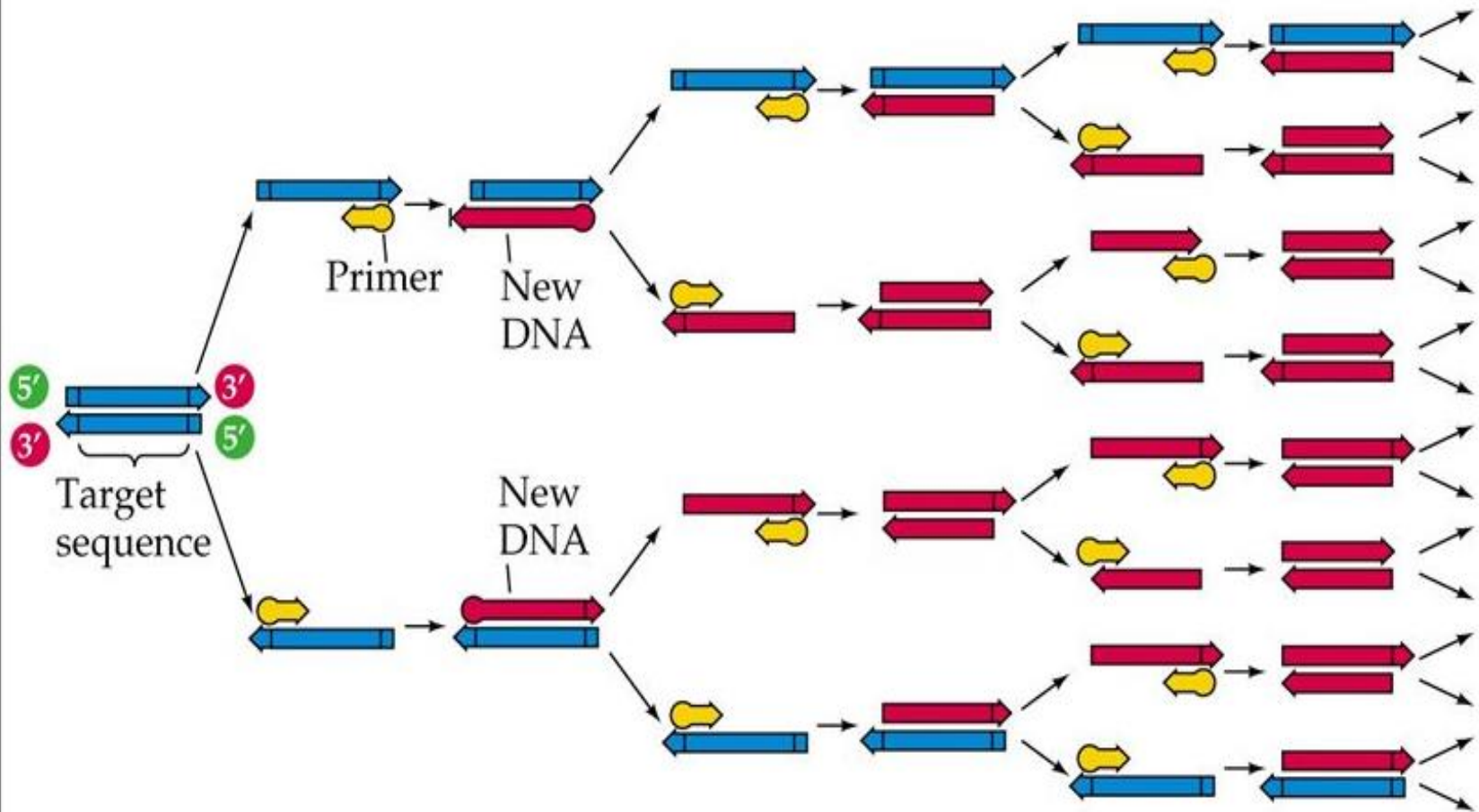
Polymerase Chain Reaction, PCR



https://www.google.com.vn/search?biw=1366&bih=632&tbm=isch&sa=1&ei=z3NWXybsCNCh-QopAopRQ&img=1.2.0i1913j0i8i30i1912.542006.545526..549906...0.0..0.322.1882.0j5j3j1.....0....1..gws-wiz-r_i-znE#imgcr=rTaj_H2Pn-ntrM:

Polymerase Chain Reaction, PCR

RESEARCH METHOD



III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.2. Tạo plasmid tái tổ hợp

a/ Dùng các đầu cố kết (so le)

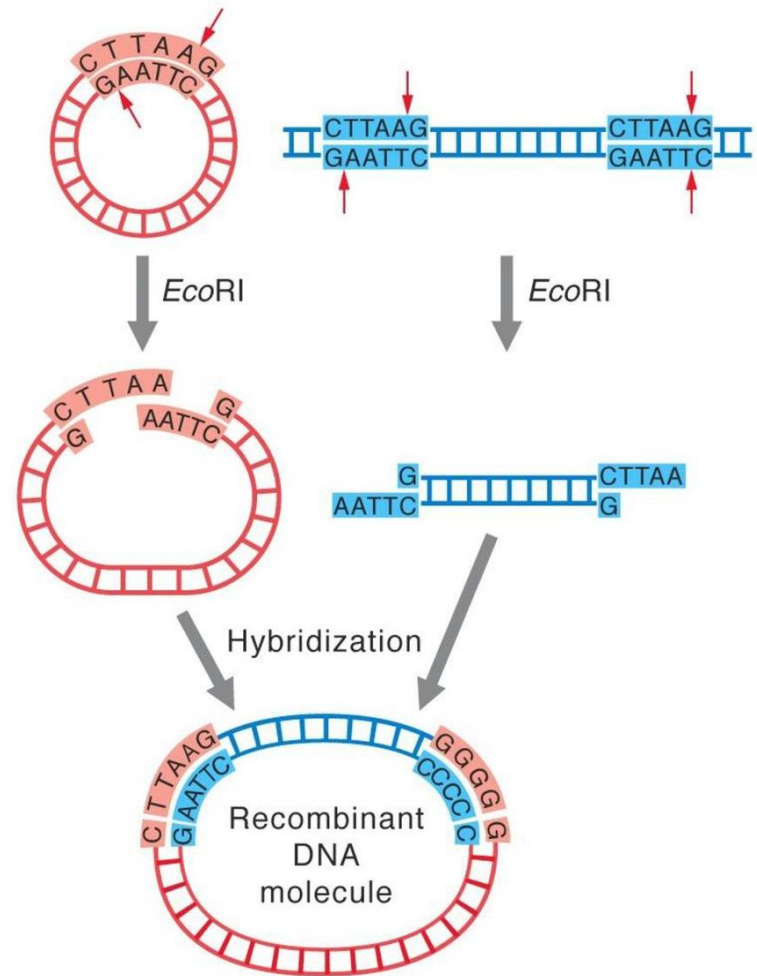
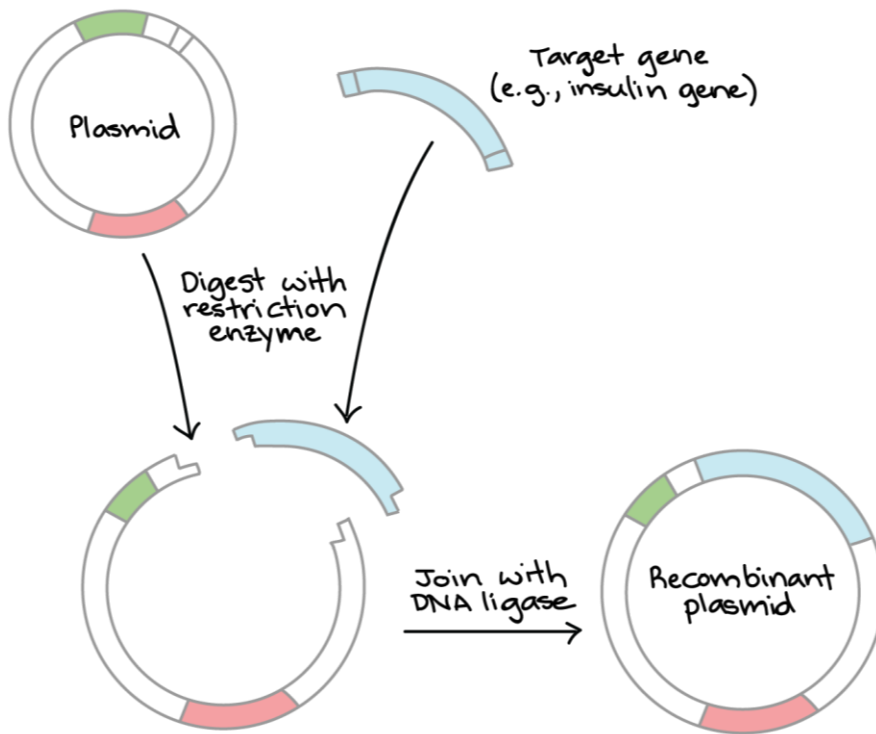
b/ Dùng các đoạn nối (linkers)

c/ Dùng enzyme terminal transferase

III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.2. Tạo plasmid tái tổ hợp

a/ Dùng các đầu cổ kết (so le)



<https://byjus.com/biology/recombinant-dna-technology-process/>

III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.2. Tạo plasmid tái tổ hợp

b/ Dùng các đoạn nối (linkers)

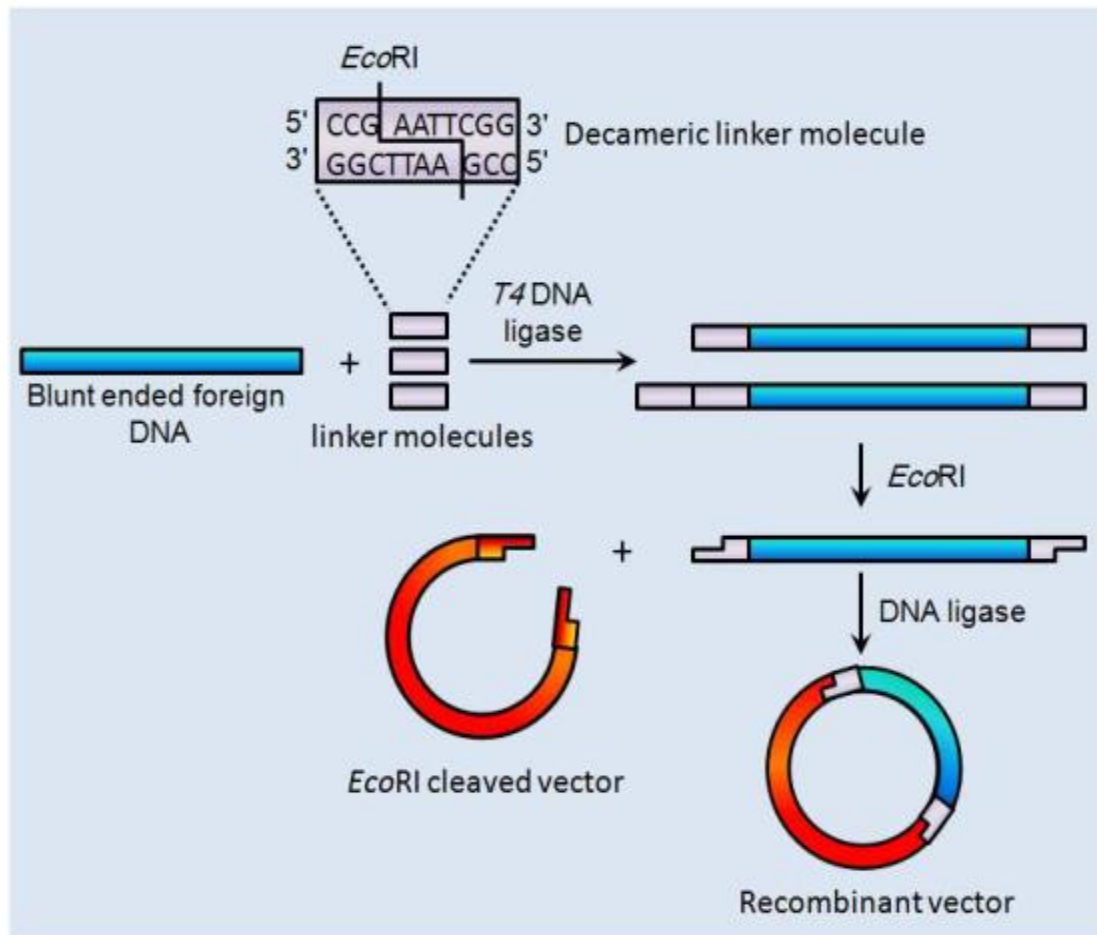
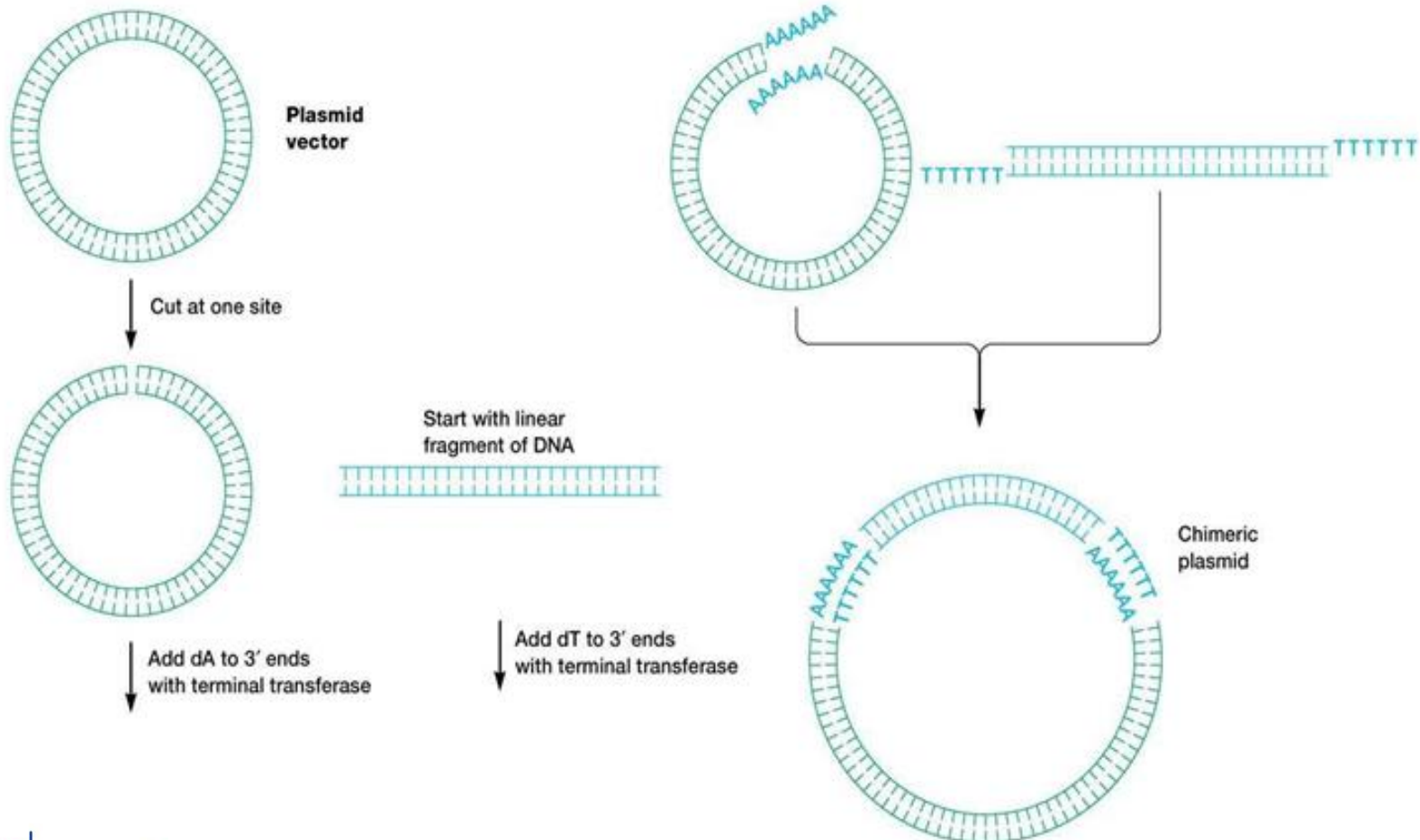


Figure (6.7); ligation of linkers that contain EcoRI site by T₄ DNA ligase with the blunt ended foreign DNA molecules. Consequently, the resulting DNA molecules have cohesive ends by the restriction enzyme EcoRI. This DNA is joined with the vector that is treated with the same restriction enzyme.

III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.2. Tạo plasmid tái tổ hợp

c/ Dùng enzyme terminal transferase



III. Kỹ thuật và phương pháp căn bản

3.3. Biến nạp DNA tái tổ hợp vào tế bào

a/ Hóa biến nạp

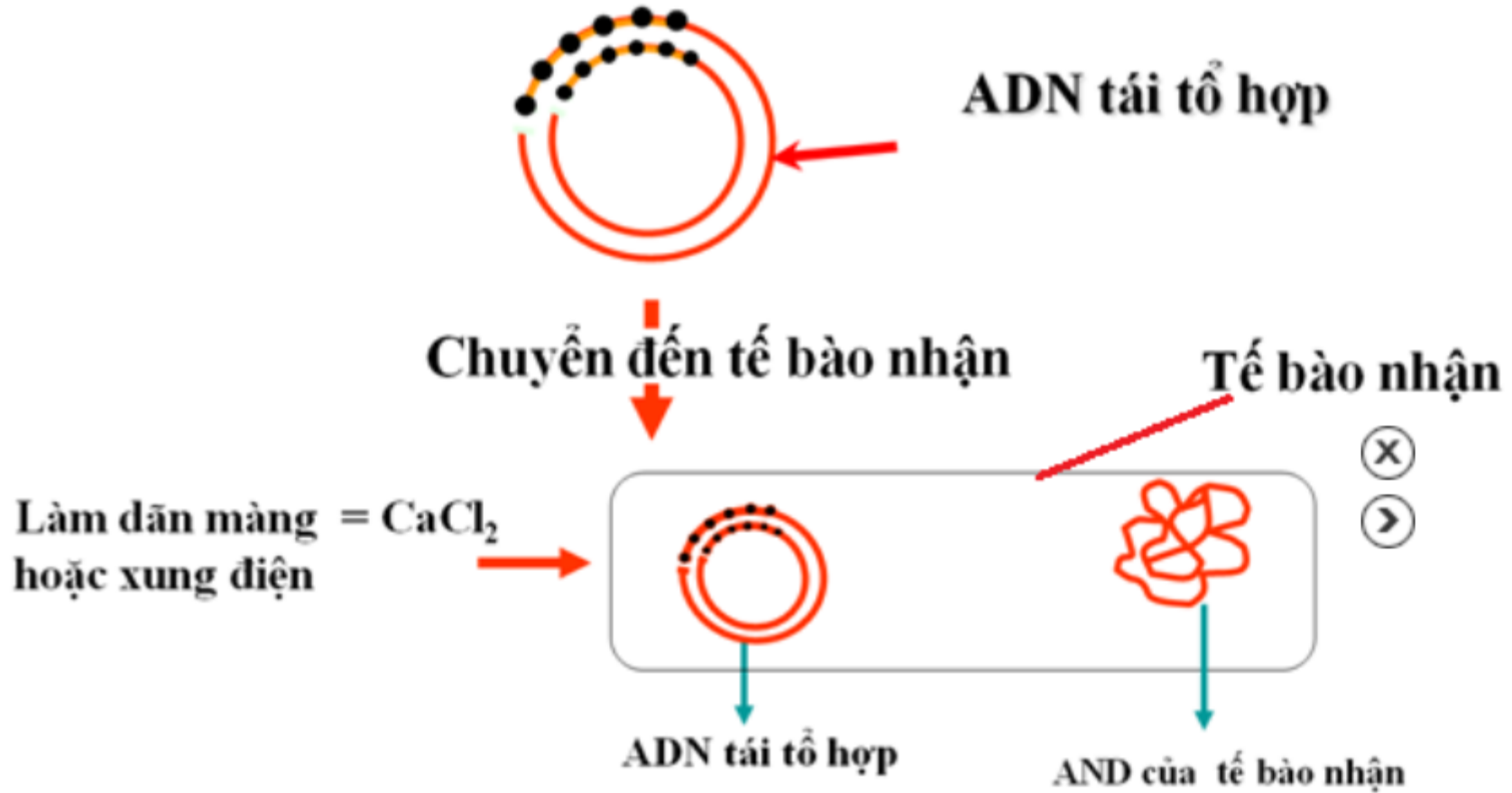
b/ Điện biến nạp

c/ Vi tiêm

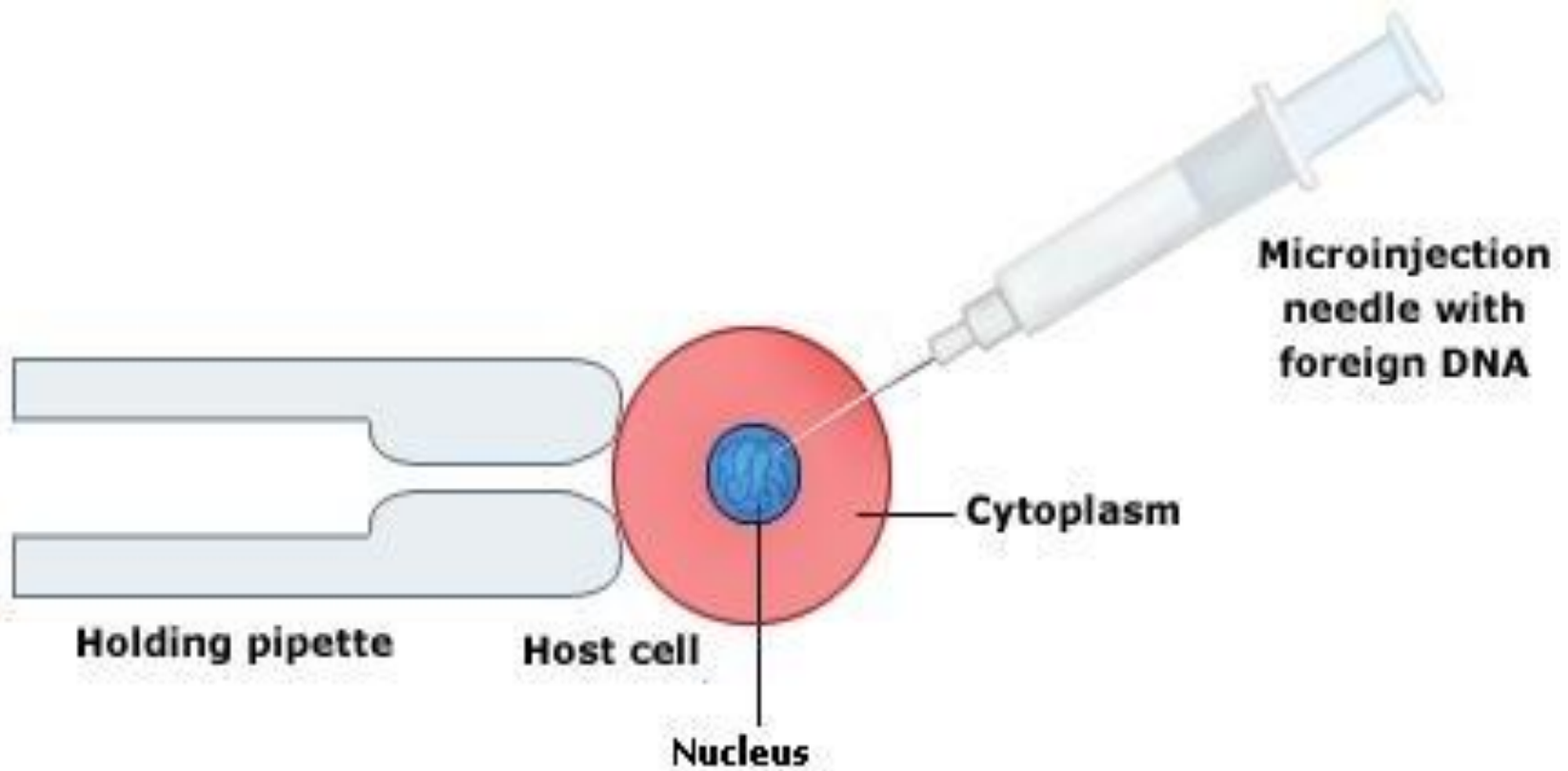
d/ Bắn gen

e/ Liposome, virus

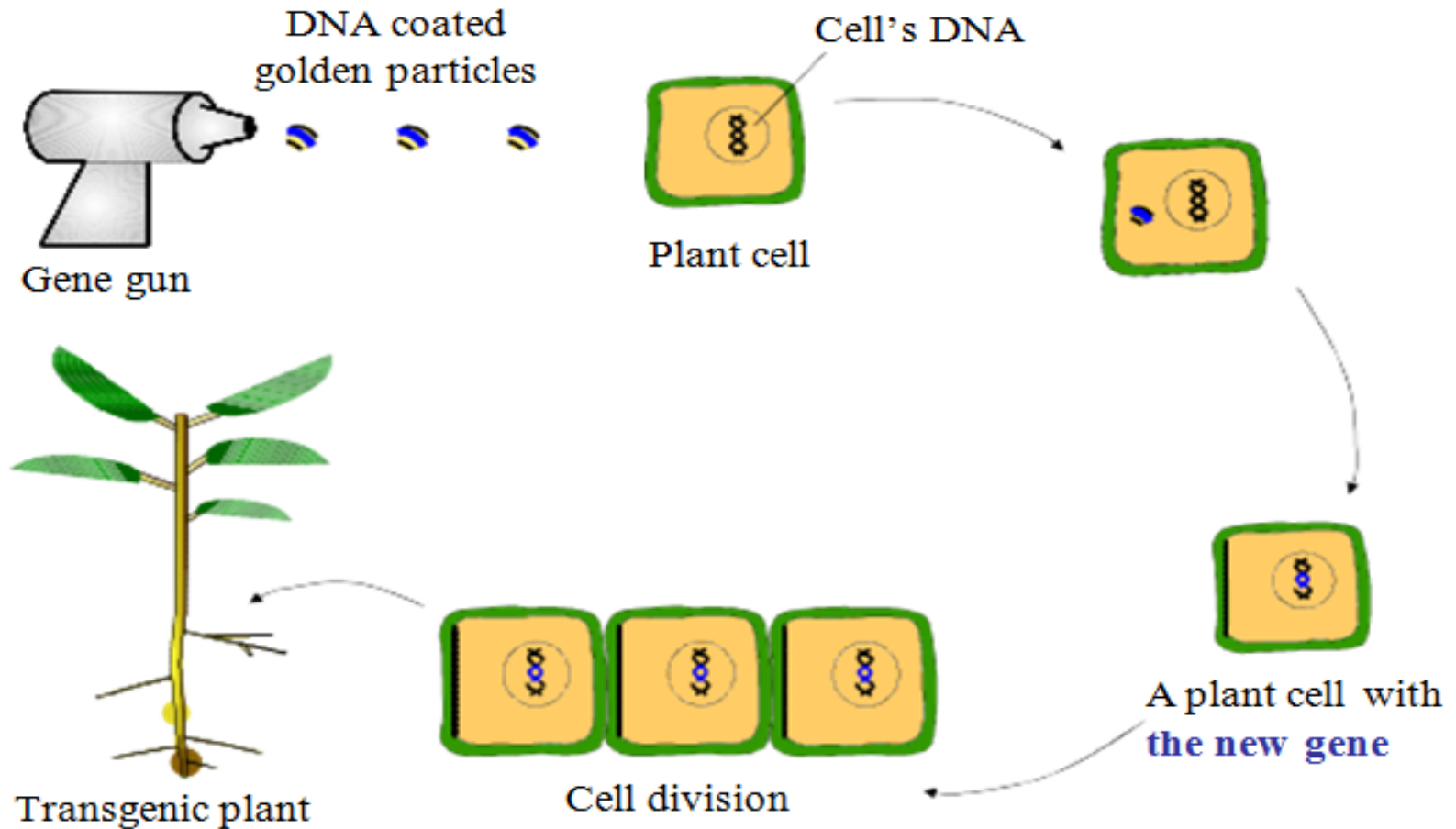
Hóa biến nạp, điện biến nạp



Vi tiêm



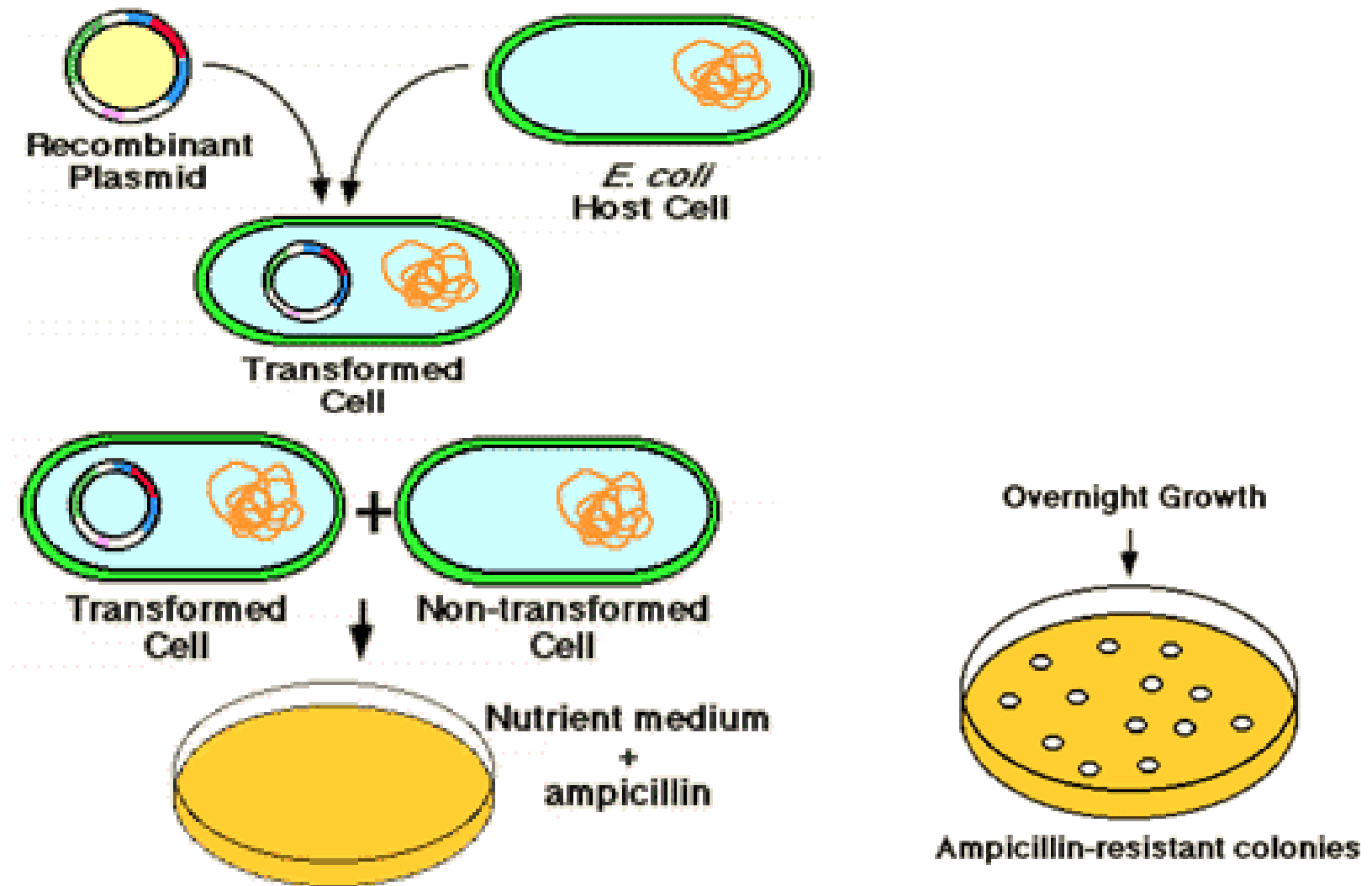
Bắn gen



Tạo cây chuyển gen bằng bắn gen

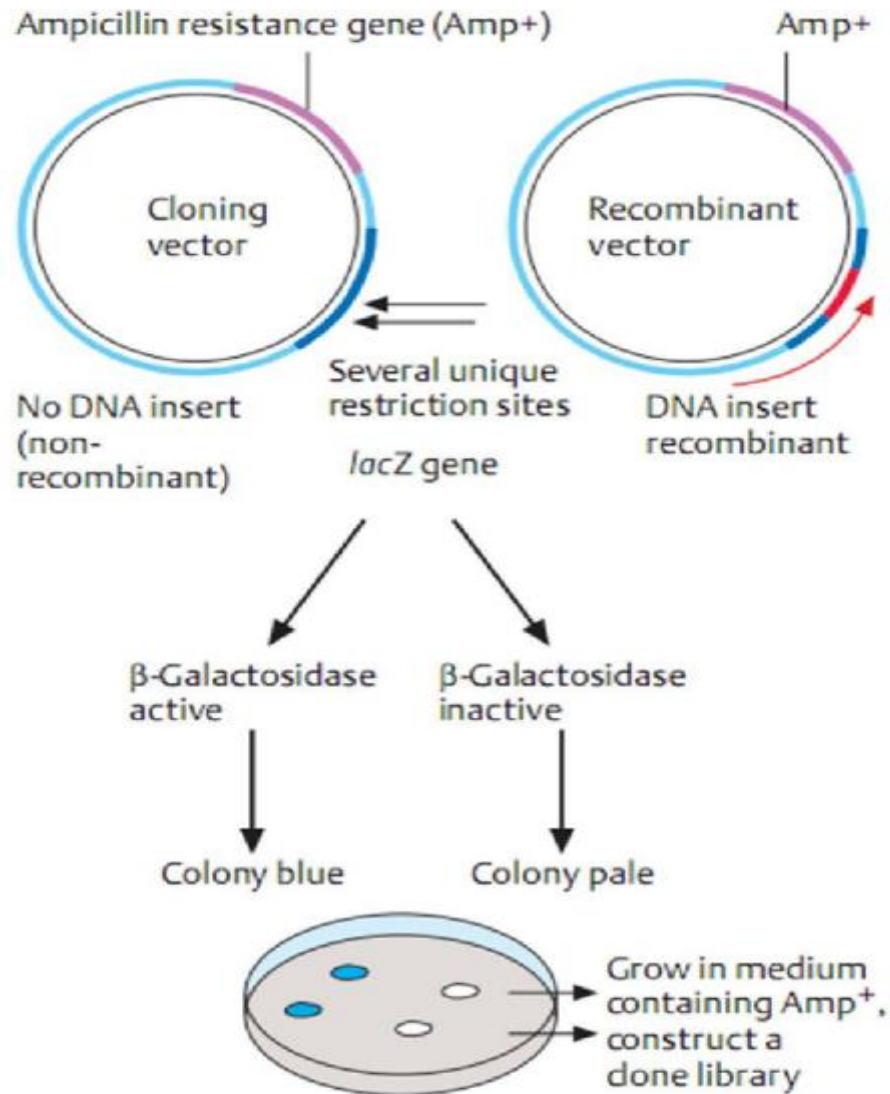
5. Chọn lọc, tạo dòng và sự biểu hiện gene

5.1. Xác định dòng vi khuẩn chứa plasmid tái tổ hợp



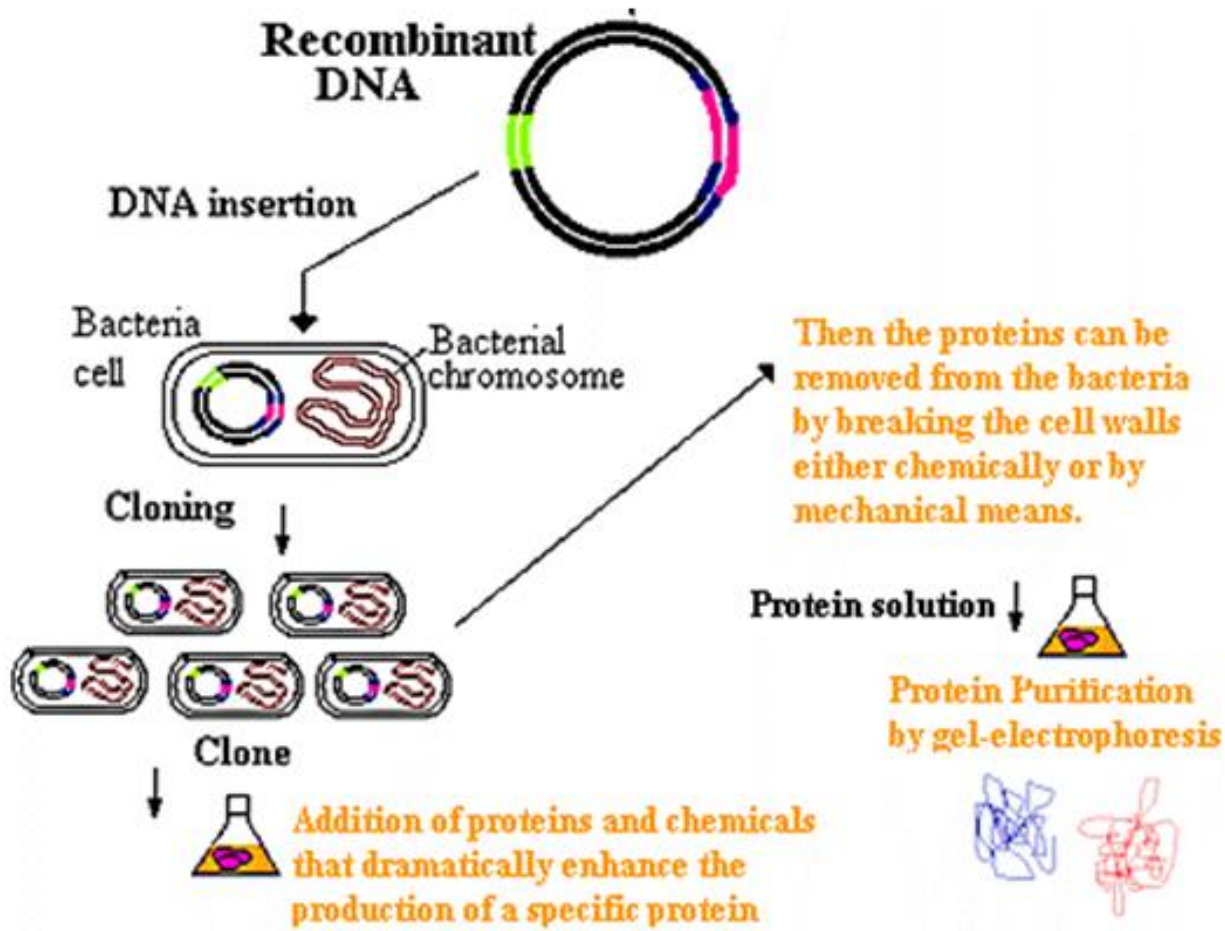
5. Chọn lọc, tạo dòng và sự biểu hiện gene

5.1. Xác định dòng vi khuẩn chứa plasmid tái tổ hợp



5. Chọn lọc, tạo dòng và sự biểu hiện gene

5.2. Sự biểu hiện của gene thành protein



LAI NUCLEIC ACID - nucleic acid hybridization

- **Thăm Southern (Southern blot), do E. Southn tìm ra, dùng cho ADN**
- **Thăm Northern (Northern blot), dùng cho ARN**
- **Lai tại chỗ (in situ hybridization)**

XÁC ĐỊNH TRÌNH TỰ NUCLEOTIDE CỦA GEN

Phương pháp hóa học của Maxam-Gilbert

Phương pháp dideoxy của F. Sanger

Phương pháp dùng máy tự động

IV. Ứng dụng

4.1. Vi sinh vật chuyển gene

4.2. Thực vật chuyển gene

4.3. Động vật chuyển gene

4.4. Khai thác DNA bộ gen

4.5. Công nghệ protein TTH

4.6. Chẩn đoán phân tử

4.7. Công nghệ gene đối với sức khỏe con người

4.1 Trong nông nghiệp

4.2 Trong công nghiệp, y dược

4.3 Trong thực phẩm

4.4 Lĩnh vực khác

IV. Ứng dụng

4.1. Vi sinh vật chuyển gene

- Genomics vi sinh vật: giải trình tự hơn 200 loài vsv.
- Sản xuất các hợp chất sơ cấp và thứ cấp.
- Công nghệ bề mặt tế bào nấm men.

4.1. Vi sinh vật chuyển gene

Sản xuất insulin người

Insulin là một loại kích tố thuộc loại polypeptid do tụy tạng của người và động vật sinh ra. Thiếu insulin thì không duy trì được đường huyết, không tích lũy được glycogen và lipid, không điều hòa và khống chế được nhiều quá trình trao đổi chất trong cơ thể.

Hiện nay, hầu hết những phương pháp sản xuất insulin thương mại đều dựa trên các chủng nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) hoặc vi khuẩn (*E. coli*) kết hợp với các kỹ thuật gene để sản xuất insulin người tổng hợp.



4.1. Vi sinh vật chuyển gene

Vacxin viêm gan B:

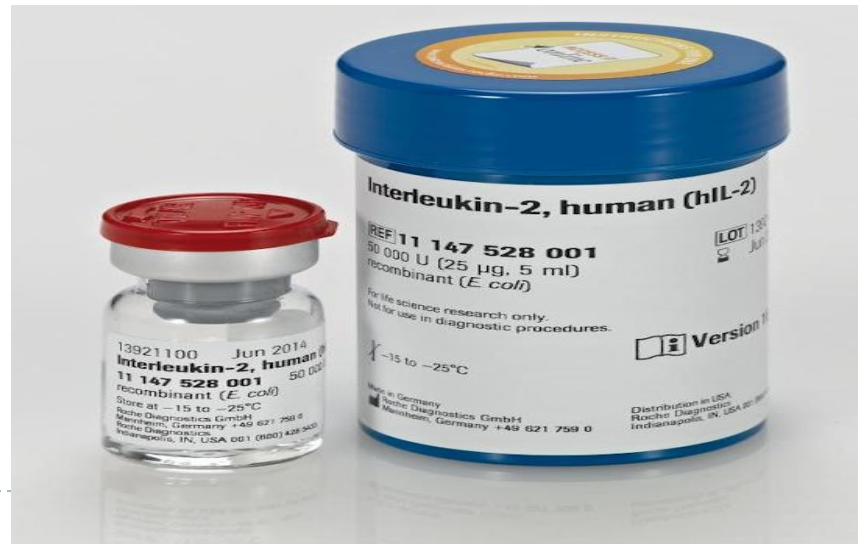
- ✓ **Bệnh viêm gan B** do virus viêm gan B (trước đây thường gọi là siêu vi trùng viêm gan B) gây nên. Bệnh gây tổn thương ở gan và dẫn đến hậu quả là viêm gan mạn tính, xơ gan, ung thư gan...
- ✓ Có hai nhà sản xuất Merck (Mỹ) và Matsubazơ (Nhật) đồng thời tìm ra phương pháp tái tổ hợp dùng nấm men sản xuất kháng nguyên HBs.



4.1. Vi sinh vật chuyển gene

Sản xuất interleukin-2 chữa ung thư

- ✓ Interleukin-2 là một cytokinin được sản xuất bởi các lympho bào T hoạt hóa
- ✓ IL-2 là sản phẩm protein trị liệu tái tổ hợp đầu tiên được tiến hành nghiên cứu trọn vẹn từ khâu thiết kế gen ban đầu đến tạo chủng vi khuẩn *E. coli* tái tổ hợp mang gen IL-2 của người và cả thử nghiệm sản xuất trong điều kiện tiêu chuẩn GMP.



IV. Ứng dụng

4.2. Thực vật chuyển gene

- Cải thiện giống cây trồng: kháng thuốc diệt cỏ, kháng bệnh,
- Tạo giống chống chịu điều kiện khí hậu bất lợi,
- Tạo sắc tố ở các thực vật chuyển gene,
- Biến đổi chất lượng thực phẩm cây trồng,
- Thực vật sản xuất vaccine, protein trị liệu.

GIỐNG LÚA ĐƯỢC CHUYỂN GEN TỔNG HỢP β -CAROTEN



Giống lúa được chuyển gen tổng hợp β -Carotene cho hạt gạo vàng (bên trái) và giống lúa bình thường cho hạt gạo màu trắng đục (bên phải)

CHUYỂN GEN KHÁNG VIRÚT Ở CÀ CHUA



Giống cà chua bình thường (bên trái) và giống cà chua được chuyển gen kháng virút xoắn lá CMV (bên phải)



Ngô chuyển gen (Bt)

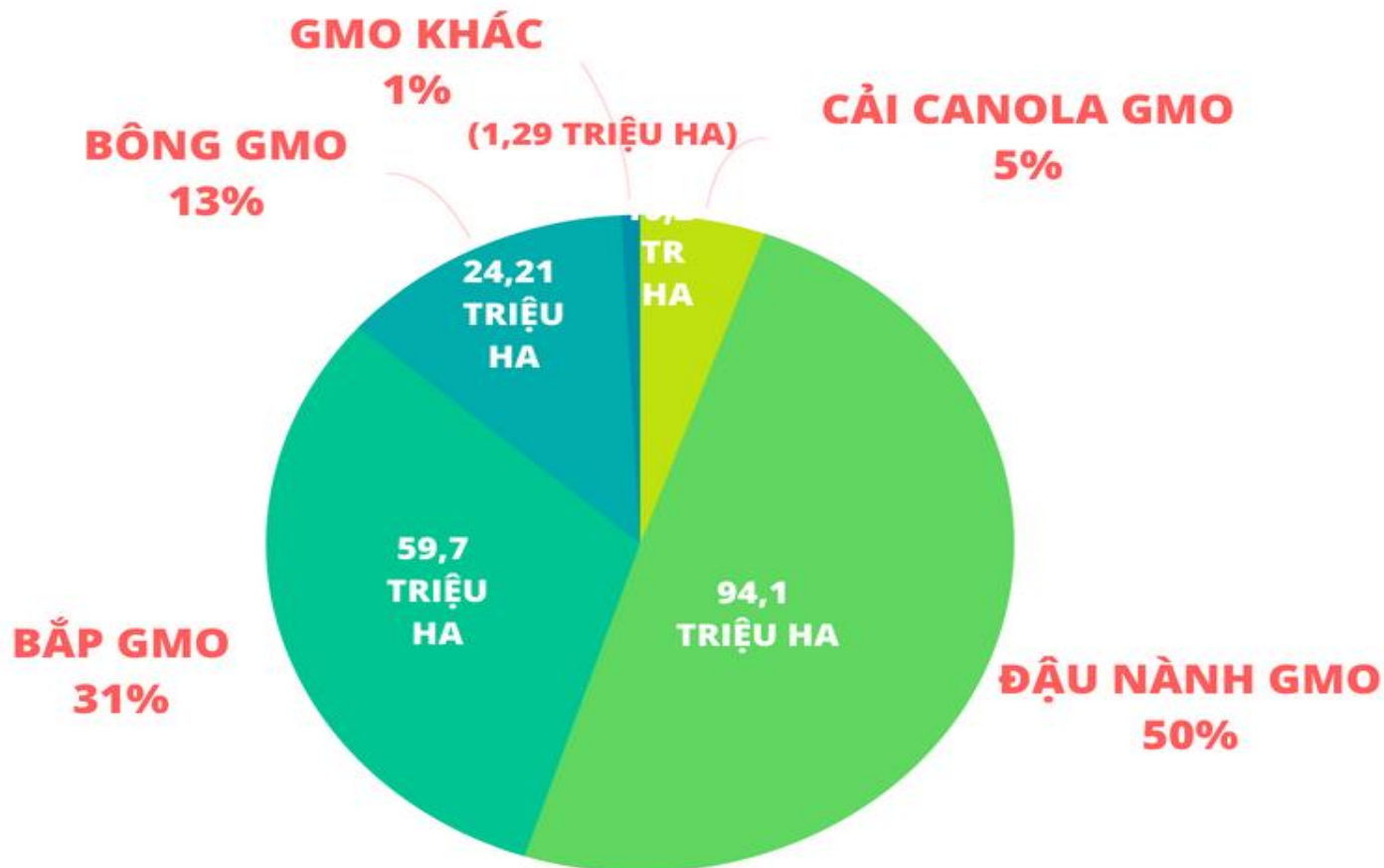
4.2. Thực vật chuyển gene

- Cây trồng chuyển đổi gen được tạo ra lần đầu tiên vào 1982 - cây thuốc lá chống kháng sinh.
- Những khu vực trồng thử nghiệm cây thuốc lá có khả năng chống thuốc diệt cỏ đầu tiên là ở Pháp và Hoa Kỳ vào năm 1986.
- Cây trồng biến đổi gen đầu tiên được phê chuẩn bán ở Mỹ vào năm 1994 là cà chua FlavrSavr.



4.2. Thực vật chuyển gene

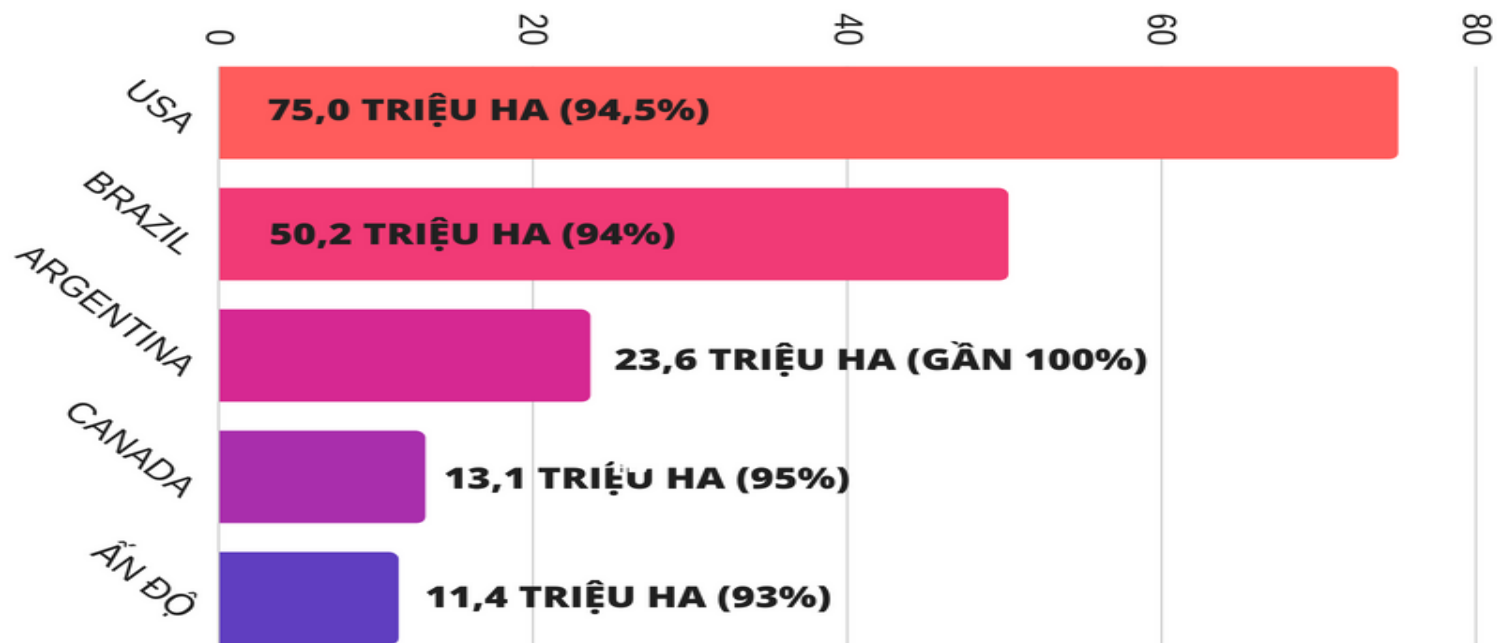
HIỆN TRẠNG CÂY TRỒNG BIẾN ĐỔI GENE TOÀN CẦU



Các loại cây trồng biến đổi gene GMO phổ biến trên thế giới

4.2. Thực vật chuyển gene

TỈ LỆ CÂY TRỒNG BIẾN ĐỔI GENE/TỔNG DIỆN TÍCH CÂY CÙNG LOẠI CỦA 5 NƯỚC TRỒNG CÂY GMO LỚN NHẤT THẾ GIỚI 2017



Tỉ lệ cây trồng GMO tại 5 quốc gia

4.2. Thực vật chuyển gene



Có 17 triệu nông dân canh tác các cây trồng GMO trên thế giới.

4.2. Thực vật chuyển gene

67 QUỐC GIA CHẤP NHẬN GMO TỪ NĂM 1996
24 NƯỚC TRỒNG GMO - 43 NƯỚC NHẬP KHẨU GMO



Từ 2016 đã có 67 quốc gia chấp nhận trồng hoặc sử dụng thực phẩm GMO, trong đó có 24 nước cho phép trồng GMO và 43 nước cho nhập khẩu loại thực phẩm này.

4.2. Thực vật chuyển gene

HIỆN TRẠNG CÂY TRỒNG GMO Ở VIỆT NAM 2017

45.000^{HA} DIỆN TÍCH CÂY TRỒNG GMO
TĂNG 13 LẦN SO VỚI 2015

37.500 NÔNG DÂN TRỒNG
CÂY BIẾN ĐỔI GENE

22 GIỐNG GMO ĐƯỢC
THƯƠNG MẠI HÓA

4.2. Thực vật chuyển gene

Sản phẩm	Đặc điểm
Cải dầu	Chống chịu chất diệt cỏ, hàm lượng oleic acid cao
Ngô	Chống chịu chất diệt cỏ, kháng côn trùng.
Bông	Chống chịu chất diệt cỏ, kháng côn trùng.
Khoai tây	Kháng côn trùng, kháng virus.
Đậu tương	Chống chịu chất diệt cỏ, hàm lượng oleic acid cao.
Bí	Kháng virus.
Cà chua	Chín chậm.
Lúa	Chống chịu chất diệt cỏ, sản xuất vitamin A.
Đu đủ	Kháng virus.

IV. Ứng dụng

4.3. Động vật chuyển gene

- Động vật mang gene người làm mô hình thí nghiệm (bệnh di truyền, ung thư, thoái hóa cơ, viêm khớp,...)
- Sản xuất protein tái tổ hợp,
- Chăn nuôi gene (gene farming),

CHUỘT NHẤT ĐƯỢC CHUYỂN GEN MÃ HÓA
HOOCMÔN SINH TRƯỞNG CỦA CHUỘT CỒNG

www.ppdhainhthoc12.weebly.com



Chuột bình thường (bên trái) và chuột được chuyển gen mã hóa hormone sinh trưởng (GH) của chuột cống (bên phải)



LỢN THÂN THIỆN VỚI MÔI TRƯỜNG

- ✓ Đây là một con lợn được biến đổi gen để tiêu hóa và xử lý phốt pho tốt hơn. Lúc trước, phân lợn có hàm lượng acid phytic cao, một dạng của phốt pho nên khi nông dân sử dụng phân hữu cơ làm phân bón, loại hóa chất này chảy vào các lưu vực sông. Điều này khiến :
 - ✓ Tảo nở hoa
 - ✓ Làm cạn kiệt oxy trong nước
 - ✓ Giết chết sinh vật biển.



CỪ CHUYÊN GEN

Chuyên gen làm tăng :

- Hàm lượng systemin
- Làm tăng tốc độ mọc lông
- Làm tăng tổng hợp collagen
- Làm tăng độ bền của da
- Đã tạo ra được giống cừu chuyên gen mà có thể tự thay bộ lông khi ăn một loại thức ăn đặc biệt dù không cần cắt xén lông.



BÒ CHUYỂN GEN

❖ Bò sản xuất ra ... "sữa người" như thế nào?

DNA nhân tạo (hoặc DNA TTH) với gene mã hóa protein sữa người sẽ được tích hợp vào một dòng virus, dòng virus này được thiết kế đặc biệt có khả năng chèn DNA vào bộ gene bên trong tế bào bò sữa. Sau đó, vật liệu di truyền mới sẽ chuyển vào tế bào trứng của bò cái bằng một quy trình gọi là "Chuyển giao hạt nhân tế bào soma" (Somatic Cell Nuclear Transfer) - Bò con sinh ra sẽ mang gen "sữa người" và sản xuất được "sữa người"



IV. Ứng dụng

4.4. Khai thác DNA bộ gen

a/ Genomics

- Xác định trình tự nucleotide của bộ gene và chức năng của chúng
- Phát hiện, bảo tồn sự đa dạng sinh học, sử dụng chúng.

b/ Proteomics

- Nghiên cứu cấu hình (conformation), vị trí (localization), các biến đổi (modification), tương tác (interactions), chức năng (function)
- Tạo hormone, vaccin tái tổ hợp dùng chữa trị bệnh.

c/ Human Genome Project →

d/ Các ngành học khác

- Cellomics: NC chức năng tb và tác động của thuốc ở cấp độ tb.
- Metabolomics: ứng dụng CN gen điều khiển trao đổi chất.
- Ionomics: NC cơ chế các gen chi phối điều hòa các ion trong tb.

IV. Ứng dụng

4.5. Công nghệ protein TTH

STT	Sản phẩm	Các bệnh điều trị
1	Insulin	Tiểu đường
2	Interferon alpha	Viêm gan siêu vi B, ung thư, ...
3	Interferon beta	Xơ cứng
4	Hormon tăng trưởng người	Thiếu năng tăng trưởng
5	Erythropoetin	Thiếu máu
6	T-PA (tissue plasminogen activator)	Nhồi máu cơ tim
7	G-CSF (granulocyte – COLONY Stimulating Factor)	Giảm bạch cầu do hóa trị

IV. Ứng dụng

4.6. Chẩn đoán phân tử

- Dựa trên pp lai DNA: đặc hiệu, nhạy, chính xác
- DNA marker: chuỗi DNA dùng để phân biệt giữa 2 cá thể, 2 dòng hoặc 2 giống khác nhau.
- Biomarker: dấu chuẩn sinh học
- DNA fingerprinting: dấu vân tay di truyền
- Microarray và Biochips.

IV. Ứng dụng

4.7. Công nghệ gene đối với sức khỏe con người

Xét nghiệm SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

- Thiết kế thuốc cho từng bệnh nhân
- Nhận dạng từng nhóm bệnh, xác định phương thức điều trị.

Pharmacogenomics (Dược học bộ gene)

Cung cấp cách chữa bệnh an toàn và hiệu quả cho từng cá nhân.

Gene therapy:

- Chuyển gen lành thay thế gene sai hỏng
- Thay thế gene