



1. PCR truyền thống

2. Các loại PCR và ứng dụng

3. Thảo luận

## Thảo luận


**Chủ đề 1: ứng dụng RT PCR chẩn đoán sớm trẻ sơ sinh bị nhiễm HIV**

- Đọc hiểu nội dung cung cấp
- Thực hiện hỏi đáp giữa các nhóm

**Chủ đề 2: yêu cầu thiết kế bộ kit chẩn đoán bệnh nhân COVID19, hãy vạch ra kế hoạch thực hiện và phương án thực hiện**

11/4/2021
Nguyễn Ngọc Phương Thảo
189

189



## CHƯƠNG 6

# KỸ THUẬT DI TRUYỀN VÀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

GV: Nguyễn Ngọc Phương Thảo

190



## NỘI DUNG

1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học
2. Kỹ thuật di truyền và cây chuyển gene
3. Kỹ thuật di truyền và động vật chuyển gene
4. Kỹ thuật di truyền trong y học và pháp y
5. Thảo luận: một số kỹ thuật hiện đại tạo đột biến hệ gene

191



### 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học 1.1 Sản xuất protein

- Tổng hợp protein, tinh sạch protein từ các gene được tạo dòng là một ứng dụng rất lớn trong KTĐT
  - 2 khía cạnh cần tối ưu hoá:
    - Hệ thống sinh học
    - Quá trình sản xuất protein
- Mục tiêu: Công nghệ từ phòng thí nghiệm, scale up quy mô nhà máy để thương mại hoá sản phẩm

192



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.1 Sản xuất protein

- Có thể sản xuất protein nguyên bản (native protein) hay protein dung hợp (fusion protein)
- Có thể sản xuất bởi *E. coli*, nấm men hoặc baculovirus, hoặc tế bào động vật
- Từng hệ thống có ưu, nhược điểm riêng, được cân nhắc khi sản xuất một loại protein mục tiêu

193



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.2 Kỹ thuật protein

Thay đổi các đặc tính của proteins: thay đổi trình tự của gene là kỹ thuật phổ biến có thể tăng tốc quá trình xác định các protein biến thể mới. Có 2 cách tiếp cận:

- Thiết kế hợp lý (rational design): dựa trên dữ liệu sẵn có, thực hiện tạo đột biến DNA tại vị trí mong muốn, phân tích đặc tính của protein đột biến xem có được như mong muốn sau khi cấu trúc bị thay đổi
- Tiến hoá trực tiếp (directed evolution): quá trình tiến hoá có thể dẫn đến nhiều sự thay đổi trên protein. Biến thể mục tiêu được chọn lọc và thu nhận

194



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.3. Từ PTN đến nhà máy

Sản xuất amino acids, enzyme bằng lên men truyền thống

Sản xuất thuốc; phụ gia thực phẩm, các sản phẩm lĩnh vực y học, nông nghiệp

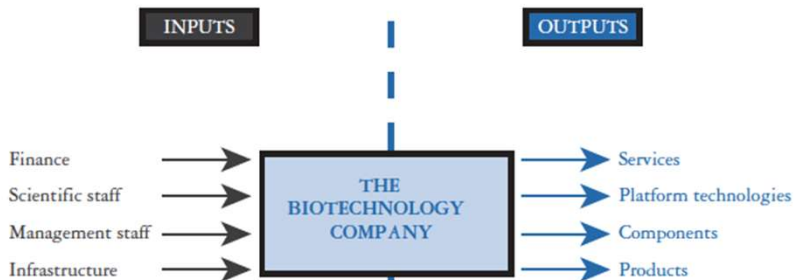
Chuyển từ PTN ra nhà máy như thế nào?

195



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.3. Từ PTN đến nhà máy



Giải phẫu học một công ty công nghệ sinh học

196



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.3. Từ PTN đến nhà máy

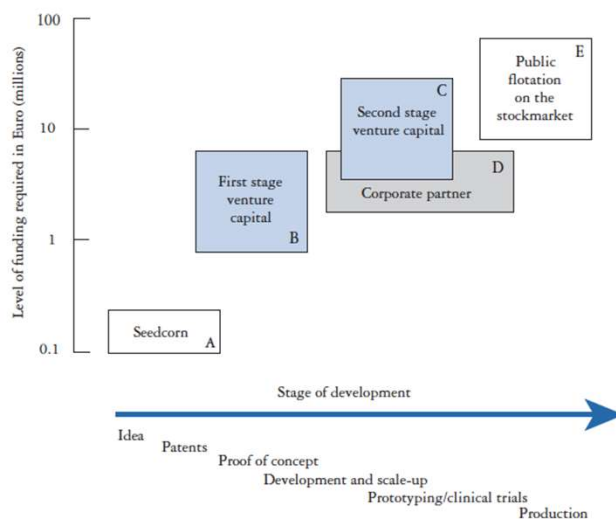
- Mặc dù một quy trình hoặc sản phẩm hợp lý và khả thi về mặt thương mại rõ ràng là điều cần thiết, nhưng yếu tố quan trọng nhất để giúp một công ty đạt được thành công là việc cung cấp các mức tài trợ thực tế cho mỗi giai đoạn phát triển của công ty.
- Khi một công ty lớn mạnh và phát triển, vai trò của nhân viên sẽ thay đổi khi trách nhiệm trở nên cụ thể và khắt khe hơn.
- Đội ngũ khởi nghiệp phải đảm bảo rằng sản phẩm hoặc quy trình được phát triển từ ý tưởng ban đầu đến khả năng sản xuất thương mại.
- Khi một sản phẩm đã được tạo ra, thường có một số bước bổ sung cần thiết để tinh chế, cô đặc, xây dựng công thức, đóng gói và phân phối nguyên liệu.

197



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.3. Từ PTN đến nhà máy



198



## 1. Kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học

### 1.4. Ví dụ

Sản xuất enzyme:

- Chymosin tự nhiên dùng trong sản xuất phô mai: từ bê, bò, lợn, nấm *Rhizomucor miehei*, *Endothia parasitica*, and *Rhizomucor pusillus*
- Chymosin tái tổ hợp được sản xuất bởi *E. coli*, *K. lactis*, *A. niger* từ 1988, hiện nay 90% phô mai cứng ở UK được lên men từ công nghệ này
- Lipase tái tổ hợp (Novozyme) trong bột giặt: tăng cường loại bỏ chất béo ở nhiệt độ giặt giữ thấp

199




## 2. Kỹ thuật di truyền và cây biến đổi gene

Trong nông nghiệp, một số khía cạnh của sự phát triển của cây trồng là mục tiêu tiềm năng để cải thiện, bằng các phương pháp tạo giống cây trồng truyền thống hoặc bằng kỹ thuật gen

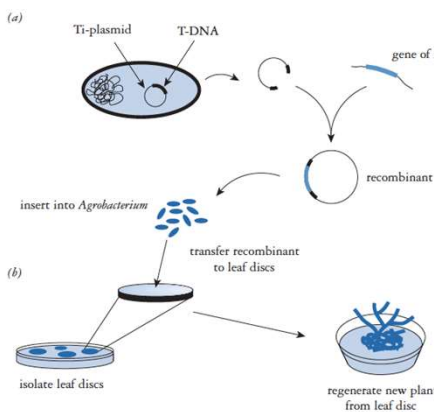
Table 13.1. | Possible targets for crop plant improvement

Target	Benefits
Resistance to: Diseases Herbicides Insects Viruses	Improve productivity of crops and reduce losses due to biological agents
Tolerance of: Cold Drought Salt	Permit growth of crops in areas that are physically unsuitable at present
Reduction of photorespiration	Increase efficiency of energy conversion
Nitrogen fixation	Capacity to fix atmospheric nitrogen extended to a wider range of species
Nutritional value	Improve nutritional value of storage proteins by protein engineering
Storage properties	Extend shelf-life of fruits and vegetables
Consumer appeal	Make fruits and vegetables more appealing with respect to colour, size, shape, etc.

200



## 2. Kỹ thuật di truyền và cây biến đổi gene




(a) Ti-plasmid, T-DNA, gene of interest, recombinant

insert into *Agrobacterium*

(b) isolate leaf discs, transfer recombinant to leaf discs, regenerate new plant from leaf disc

Tái sinh cây chuyển gen từ đĩa lá. (a) Gen đích được nhân bản thành vectơ dựa trên plasmid Ti. Plasmid tái tổ hợp được sử dụng để biến nạp vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* (thường sử dụng phép lai ba cha mẹ như mô tả trong văn bản). Sau đó, vi khuẩn này được sử dụng để lây nhiễm các tế bào thực vật đã được nuôi cấy dưới dạng đĩa mô của mô lá, như được trình bày trong (b). Cây chuyển gen được tái sinh từ đĩa lá bằng cách nhân giống trên môi trường nuôi cấy mô thích hợp

201



## 2. Kỹ thuật di truyền và cây biến đổi gene

- Vi khuẩn *P. syringae* đột biến (loại bỏ protein tạo đông đá) được xịt lên cây để giảm thiểu hư hại do hiện tượng đông đá vào mùa đông
- Từ 2000, 50% mùa vụ cây đậu nành là cây biến đổi gene chống lại côn trùng tấn công. Ngoài ra có cây bắp, khoai tây, cotton
- Monsanto có nhiều giống cây kháng cỏ dại
- Canola oil có nhiều lauric acid
- Gạo giàu beta carotene
- Cây trồng hiện còn được xem là hệ thống sản xuất protein liệu pháp y học như sản xuất kháng nguyên, kháng thể

202



### 3. Kỹ thuật di truyền và động vật biến đổi gene

- Tạo động vật biến đổi gene là kỹ thuật phức tạp nhất và liên quan đến vấn đề đạo đức
- Nhiều cách chuyển gene vào phôi:
  - Chuyển nạp trực tiếp hoặc chuyển nhiễm bằng retrovirus của tế bào gốc phôi
  - Nhiễm retrovirus vào phôi sớm
  - Vi tiêm trực tiếp dna vào trứng/hợp tử/tế bào phôi sớm
  - Chuyển qua trung gian tinh trùng

203



### 3. Kỹ thuật di truyền và động vật biến đổi gene

- Lợn chuyển gene kích thước nhỏ dùng cho nghiên cứu tế bào gốc
- Bọ cánh cứng có con mắt thứ ba: nghiên cứu phát triển các cơ quan nhân tạo trong PTN
- Khỉ chuyển gene nghiên cứu rối loạn tâm thần
- Mèo phát sáng để tìm liệu pháp chữa HIV
- Trứng gà chứa beta interferon kháng ung thư
- Các mô hình chuột chuyển gene dành cho nghiên cứu

<https://suckhoedoisong.vn/dong-vat-chuyen-gen-dung-cho-nghien-cuu-khoa-hoc-va-chua-benh-n149873.html>

204





## 4. Kỹ thuật di truyền trong y học và pháp y

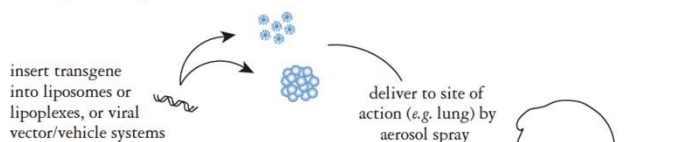
- KTDT dùng để chẩn đoán và phân tích các bệnh trong y học: những bệnh di truyền
- Chẩn đoán bệnh nhiễm: vi khuẩn, virus, vi nấm, kí sinh trùng
- Liệu pháp gene: về mặt lý thuyết, liệu pháp gene trông đơn giản, nhưng thực tế rất khó thực hiện được

205

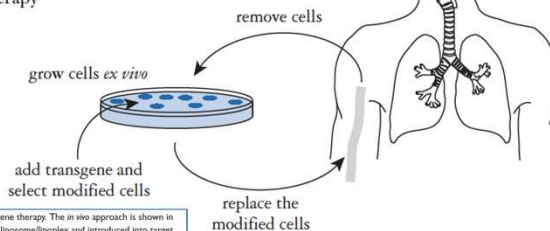


## 4. Kỹ thuật di truyền trong y học và pháp y

(a) *In vivo* gene therapy



(b) *Ex vivo* gene therapy



**Fig. 12.4** *In vivo* and *ex vivo* routes for gene therapy. The *in vivo* approach is shown in (a). The gene is inserted into a vector or liposome/lipoplex and introduced into target tissue of the patient. In this case the lung is the target, and an aerosol can be used to deliver the transgene. Such an approach can be used with cystic fibrosis therapy. (b) The *ex vivo* route. Cells (e.g. from blood or bone marrow) are removed from the patient and grown in culture medium. The transgene is therefore introduced into the cells outside the body. Modified cells can be selected and amplified (as in a typical gene-cloning protocol with mammalian cells) before they are injected back into the patient.

206



## 5. Thảo luận

Nhiều kỹ thuật di truyền hiện đại khác:

- CRISPR Cas9
- RNAi
- DNA profiling

207



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- DST Nicholl, Genetic engineering 3<sup>rd</sup>, Cambrigde

208