

## THIẾT LẬP QUI TRÌNH THAO TÁC, CHỌN LỌC CÁC TẾ BÀO SINH ĐỘNG VẬT HỮU NHỮ NHẪM TẠO NGUỒN PHÔI *IN-VITRO*, *IN-VIVO* ỨNG DỤNG TRONG CHĂN NUÔI VÀ NGHIÊN CỨU TẾ BÀO MÀM

**Mã số đề tài: 620203**

Chủ nhiệm đề tài: **PGS.TS. NGUYỄN TƯỜNG ANH**

Cơ quan công tác: Trường ĐHKHTN-ĐHQG Tp. HCM

Địa chỉ liên lạc: 227 Nguyễn Văn Cừ -Quận 5-Tp.HCM

Điện thoại: 8353193

E-mail:

Thành viên tham gia: 07

### 1. Tóm tắt mục đích, nội dung nghiên cứu

#### 1.1. Mục đích nghiên cứu

Từ những thập kỷ qua, khả năng làm chủ trên các loại tế bào giao tử và phôi động vật- được gọi chung là kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (Assisted Reproductive Technology-ART) đã mang lại giá trị kinh tế to lớn cho các quốc gia có ngành chăn nuôi phát triển nhờ vào khả năng chủ động được trong việc tạo ra nguồn phôi có đặc điểm di truyền tốt. Ngoài ra, tiềm năng sử dụng các nguồn tế bào này trong các lĩnh vực nghiên cứu khác như chuyên gene, nhân bản động vật, khai thác tế bào mầm... rất lớn. Ở nước ta, về các lĩnh vực trên vẫn còn nhiều mới mẻ. Do đó, những nghiên cứu tiền đề cần được mở ra. Trên cơ sở đó, đề tài xác định mục tiêu: xây dựng các quy trình thao tác trên tế bào sinh động vật. Thông qua các quy trình thao tác trên tạo nguồn phôi động vật hữu nhũ trong điều kiện *in vitro*, *in vivo* phục vụ cho những nghiên cứu ở mức tế bào như khai thác tế bào mầm và trong lĩnh vực tạo giống cho ngành chăn nuôi của Việt Nam.

#### 1.2. Nội dung nghiên cứu

##### 1.2.1. Xây dựng quy trình thụ tinh *in-vitro* và *in-vivo* ở động vật hữu nhũ

###### a. Quy trình thụ tinh *in-vitro*

- Xây dựng quy trình thu nhận buồng trứng từ động vật giết thịt và khảo sát môi trường nuôi chín *in vitro* nguồn trứng thu nhận
- Khảo sát khả năng kích thích sự rụng trứng bằng kích dục tố.
- Khảo sát các phương pháp tách tinh trùng

###### b. Quy trình thu nhận phôi *in- vivo*

- Thiết lập quy trình gây rụng trứng , thu nhận và nuôi cấy phôi ở động vật hữu nhũ.

1.2.2. Xây dựng quy trình xác định giới tính phôi ở các giai đoạn 4, 8 tế bào bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

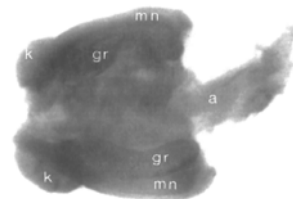
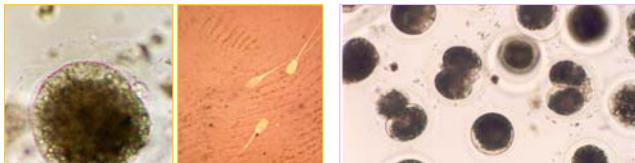
1.2.3. Xây dựng quy trình bảo quản nguồn giao tử và phôi phục vụ cho mục tiêu bảo tồn.

1.2.4. Bước đầu khai thác tế bào mầm từ phôi động vật làm cơ sở cho các đối tượng khác.

## 2. Kết quả nghiên cứu, ý nghĩa khoa học đã đạt được

### 2.1. Những kết quả nghiên cứu

- Xây dựng và hoàn thiện quy trình thu nhận, chọn lọc, nuôi cấy đến giai đoạn trưởng thành các loại tế bào giao tử (trứng, tinh trùng) của động vật (chuột nhắt trắng- *Mus musculus Var. Albino* và heo- *Sus scrofa domestica*)
- Xây dựng và hoàn thiện quy trình thụ tinh *in-vitro* trên chuột nhắt trắng và heo. Quy trình xác định giới tính phôi ở giai đoạn sớm trên heo bằng kỹ thuật sinh học phân tử.
- Thiết lập quy trình nuôi cấy nguồn phôi chuột *in-vitro*, *in-vivo* đến giai đoạn Morula, Blastocyst.
- Xây dựng quy trình nuôi cấy và cấy chuyển phôi *in-vitro*, *in-vivo* trên chuột nhắt trắng. Đông lạnh phôi chuột bằng kỹ thuật đông lạnh nhanh và chậm trong Nitơ lỏng.
- Quy trình thu nhận, tinh sạch và nuôi cấy tế bào mầm từ nguồn phôi chuột *in-vivo*.



(a) Phôi chuột 8 tế bào được giải đông trước và sau nhuộm (b) Cầu sinh dục và cụm tế bào mầm

### 2.2. Ý nghĩa thực tiễn và hiệu quả ứng dụng thực tiễn

Nhìn chung, trong lĩnh vực chăn nuôi, thành công trong các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (thụ tinh nhân tạo, thụ tinh trong ống nghiệm, cấy truyền phôi) giúp cho việc phát triển và nhân giống các vật nuôi có giá trị kinh tế, tạo được hàng loạt vật nuôi có đặc điểm di truyền mong muốn.

Các quy trình nuôi cấy, đông lạnh các loại giao tử, phôi có khả năng áp dụng cho lĩnh vực bảo tồn giống vật nuôi có giá trị kinh tế và quý hiếm.

Nghiên cứu tế bào mầm từ phôi là hướng nghiên cứu mang tính thời sự hiện nay trên cả thế giới vì những tiềm năng ứng dụng to lớn của chúng trong lĩnh vực y sinh học, sức khoẻ con người.

### 3. Kết quả đào tạo sau đại học

Thạc sĩ:	số đã bảo vệ:	03	đang hướng dẫn:	00
Tiến sĩ:	số đã bảo vệ:	00	đang hướng dẫn:	00

### 4. Sản phẩm khoa học đã hoàn thành

#### 4.1. Các công trình đã công bố trong các tạp chí KH

Nguyễn Thị Thương Huyền, Trần Cẩm Tú, Phan Kim Ngọc. *Chuyển phôi in vivo ở chuột nhắt trắng*. Tạp chí Sinh học, Tập7-số 2, tháng 6-2005. Trang 74-77

#### 4.2. Các báo cáo khoa học tại các hội nghị, hội thảo KH (

- [1]. Nguyễn Thị Thương Huyền, Trần Cẩm Tú, Phạm Văn Phúc, Huỳnh Thị Lệ Duyên, Phan Kim Ngọc. *Thu nhận, nuôi cấy và chuyển phôi ở chuột nhắt trắng (Mus musculus var. Albino)*. Asian Reproductive Biotechnology Conference, 2-7 November 2005, Bangkok, Thailand
- [2]. Huỳnh Thị Lệ Duyên, Phan Kim Ngọc, Hồ Huỳnh Thuỳ Dương, Nguyễn Quốc Đạt. *Ứng dụng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm trên heo (Sus scrofa domestica)*. Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc 2003.
- [3]. Huỳnh Thị Lệ Duyên, Nguyễn Hoàng Chương, Phan Kim Ngọc, Hồ Huỳnh Thuỳ Dương. *Thiết lập quy trình xác định giới tính heo (sus scrofa domestica) dựa trên kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction)*. Hội nghị Khoa học Tự nhiên-Ngành Khoa học sự sống năm 2003
- [4]. Phạm Thị Lan Hương, Nguyễn Khánh Tâm, Nguyễn Hữu Hùng, Nguyễn Thị Thương Huyền, Trần Cẩm Tú, Nguyễn Đăng Quân, Trần Thị Việt Hồng, Phan Kim Ngọc, Nguyễn Tường Anh, Đỗ Quang Minh. *Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến sự t ăng sinh của phôi 2 tế bào nuôi cấy in vitro và thử nghiệm quy trình đông lạnh phôi của chuột nhắt trắng*. Hội nghị toàn quốc 2004-Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống- định hướng Y-Dược học. Trang 239.
- [5]. Phạm Văn Phúc, Phan Minh Liêm, Phan Kim Ngọc, Ngô Kế Sương. *Thu nhận, tinh sạch tế bào mầm từ phôi chuột (Mus musculus var. Albino) (12,5ng ày) và tạo lớp feeder MEF nuôi tế bào mầm*. Hội nghị toàn quốc 2005- Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Khoa học sự sống

### 5. Đánh giá và kiến nghị

Đề tài hoàn thành được các mục tiêu nghiên cứu đề ra.

**PROTOCOLS FOR MAMMALIAN GAMETES MANIPULATION,  
SELECTING TO PRODUCE *IN-VITRO*, *IN-VIVO* EMBRYOS APPLIED  
TO STUDY EMBRYONIC STEM CELLS**

**ABSTRACT**

Assisted Reproductive Technology (ART) consisted of mammalian gametes, embryo manipulation was established 20-30 years ago. These techniques supported important economic effects based on production of mammalian embryos with good genetic characteristics. In addition, applying of these cells (gametes, embryos ) on researches such as transgenic, cloning, embryonic stem cell (ES) is necessary. Now, studying on ART or ES is new in Vietnam. However, ART and ES cell researches should be carried out for developing of continued researches. Our subjects are:

- Establish protocols for collection, selection and *in-vitro* maturation culture of mammalian gametes used for *in-vitro* fertilization
- Establish *protocols for In-vitro* fertilization , embryo culture, embryo sex-determining (PCR technique)
- Establish protocols for conservation of gametes and embryos.
- Isolate and culture embryonic stem cell from mammalian embryos