

## NGHIÊN CỨU CÁC VẤN ĐỀ SINH HỌC BẰNG KỸ THUẬT SINH HỌC HIỆN ĐẠI

**Mã số đề tài: 642801**

Chủ nhiệm đề tài: **PGS.TS. TRẦN LINH THUỐC**

Cơ quan công tác: Trường ĐH Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP.HCM

Địa chỉ liên lạc: 227 Nguyễn Văn Cừ, Q. 5, TP.HCM,

Điện thoại: 08-8307079      Email: tlthuoc@hcmuns.edu.vn,  
tlthuoc@hcmc.netnam.vn

Thành viên tham gia:

- Nguyễn Tiến Dũng
- Nguyễn Đức Hoàng
- Đặng Thị Phương Thảo
- Lê Văn Bình
- Đỗ Anh Tuấn
- Chu Thị Thu Trang
- Nguyễn Thanh Thùy Nhiên
- Nguyễn Thị Bạch Huệ
- Nguyễn Quỳnh Anh
- Huỳnh Ngọc Vi ca.

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

Ứng dụng các kỹ thuật sinh học phân tử trong nghiên cứu các vấn đề:

- Xây dựng các qui trình PCR (polymerase chain reaction) chẩn đoán nhanh một số vi khuẩn gây bệnh thường được kiểm soát trong thực phẩm (*Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7);
- Phân biệt *Salmonella* gây bệnh và không gây bệnh trong môi trường nước và trong thực phẩm;
- Phát triển công nghệ gen và công nghệ bề mặt tế bào phục vụ mục đích nghiên cứu cơ bản và nghiên cứu ứng dụng.

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

1) Xây dựng thành công các qui trình PCR phát hiện vi sinh vật gây bệnh thường được kiểm soát trong mẫu thực phẩm sau đây: (i) Qui trình phát hiện từng tác nhân gây bệnh như *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7; (ii) Qui trình phát hiện đồng thời tác 3 tác nhân gây bệnh *Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*. Về mặt khoa học, nội dung này mang ý nghĩa ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử là PCR để tạo ra các qui trình chẩn đoán mới cho phép phát hiện các vi sinh vật gây bệnh trong mẫu thực phẩm nhanh và nhạy hơn so với phương pháp vi sinh vật truyền thống.

2) Nghiên cứu phân biệt *Salmonella* gây bệnh và không gây bệnh trong môi trường nước và trong thực phẩm bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Trong nội dung này, đã tiến hành kiểm chứng sự hiện diện của các gen *fimA*, *invA*, *iagAB*, *spvC* trên 114 chủng *Salmonella spp.* phân lập từ nước, thực phẩm; hình thành quy trình phát hiện phân biệt giống *Salmonella* với nhóm *S. enterica* I gây bệnh và ứng dụng các kết quả phát hiện phân biệt *Salmonella* gây bệnh và không gây bệnh trong môi trường nước nuôi tôm. Về mặt khoa học, đây là những nghiên cứu đầu tiên trên thế giới và tại Việt Nam về việc dùng PCR và các gen gây bệnh khác nhau để phát hiện phân biệt giữa *Salmonella* nói chung và *Salmonella* gây bệnh.

3) Tạo dòng và biểu hiện các gen mã hóa protein vỏ VP19, VP28 của virút gây hội chứng đốm trắng WSSV trên tôm sú. Về mặt khoa học, nội dung nghiên cứu này đã đóng góp trình tự nucleotide của hai gen quan trọng đối với tính gây bệnh của WSSV, thu nhận sản phẩm kháng nguyên tái tổ hợp.

4) Nghiên cứu phát triển các hệ thống biểu hiện định vị sản phẩm gen ngoại lai ở tế bào sử dụng mô hình nấm men *Saccharomyces cerevisiae* bao gồm: (i) Thiết lập hệ thống biểu hiện sản phẩm gen ngoại lai (protein phát huỳnh quang lục GFP, protein phát quang aequorin, enzyme glucoamylase,  $\alpha$ -amylase) lên bề mặt tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae*; (ii) Thiết lập hệ thống biểu hiện sản phẩm của gen ngoại lai (protein phát huỳnh quang lục GFP và các dạng đột biến EYFP, ECFP) lên màng tế bào ở *S. cerevisiae*. Về mặt khoa học, nội dung nghiên cứu này đã góp phần hình thành các công cụ sau đây cho khoa học: (i) Phương pháp cố định protein ngoại lai trên bề mặt tế bào nấm men *S. cerevisiae*; (ii) Hệ thống gen chỉ thị trong công nghệ bề mặt tế bào nấm men *S. cerevisiae*; (iii) Công cụ nghiên cứu vai trò các protein trên màng trong hệ thống truyền thông tin nội bào.

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

1) Tạo cơ sở để phát triển các bộ KIT để phân tích nhanh các tác nhân gây bệnh trong mẫu thực phẩm phục vụ: (i) công tác giám sát, quản lý chất lượng trong sản xuất, chế biến thực phẩm; (ii) xác định nguyên nhân gây ngộ thực phẩm hoặc dịch bệnh; (iii) giám sát sự lan truyền vi khuẩn gây bệnh trong cộng đồng.

2) Các kết quả phân biệt *Salmonella* gây bệnh và không gây bệnh bằng kỹ thuật sinh học phân tử chứng minh có thể xây dựng một tiêu chuẩn mới để kiểm soát sự hiện diện của *Salmonella* trong thủy hải sản xuất khẩu dựa trên nhóm *Salmonella* gây bệnh thay vì *Salmonella* nói chung (hiện diện rất phổ biến trong môi trường nước và rất khó tránh bị nhiễm), tạo tiêu chuẩn đầu ra tốt hơn cho thủy hải sản xuất khẩu.

3) Tế bào nấm men với các protein chức năng như enzyme, kháng nguyên được bổ sung trên bề mặt có thể được sử dụng dưới dạng enzyme bất động trong sản xuất và chế biến thực phẩm hoặc làm vắc xin phòng chống bệnh cho vật nuôi.

### 4. Kết quả đào tạo sau đại học

Thạc sĩ: 04;	số đã bảo vệ: 04;	số đang hướng dẫn: 0
Tiến sĩ: 01;	số đã bảo vệ: 0;	số đang hướng dẫn: 01

### 5. Các sản phẩm khoa học đã hoàn thành

#### 5.1. Các công trình đã công bố trong các tạp chí khoa học

- [1]. Phát hiện đồng thời *E. coli*, *Salmonella spp.* và *Vibrio cholerae* bằng multiplex PCR, *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, số 2, 29 - 35, 2002.
- [2]. Phát hiện *E. coli* O157:H7 trong mẫu thực phẩm bằng phản ứng multiplex PCR, *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, số 2, 23 - 29, 2002.
- [3]. Thiết kế plasmid biểu hiện protein phát huỳnh quang ECFP trên mặt trong của màng tế bào nấm men *S. cerevisiae*, *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, số 3, 52 - 58, 2002.
- [4]. Thiết kế plasmid biểu hiện protein EYFP trong tế bào chất nấm men *S. cerevisiae* nhờ sự cảm ứng bằng glucose, *Tạp chí Phát triển Khoa học Công nghệ ĐH Quốc gia TP.HCM*, tập 5, số 7, 51 - 58, 2002.
- [5]. Tạo dòng nấm men *S. cerevisiae* tái tổ hợp biểu hiện gen mã hóa glucoamylase, *Tạp chí Phát triển Khoa học Công nghệ ĐH Quốc gia TP.HCM*, tập 5, số 7, 36 - 43, 2002.
- [6]. Khảo sát sự hiện diện của plasmid spv (*Salmonella* virulence plasmid) trên các *Samonella* phân lập từ nước và thực phẩm thủy sản, *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, 2, 35-41, 2003.
- [7]. Quan sát sự biểu hiện của protein ngoại lai trong tế bào nấm men nhờ protein phát huỳnh quang ECFP, *Tạp chí Sinh học*, 26, 30-34, 2004.

## 5.2. Các báo cáo khoa học tại các hội nghị, hội thảo khoa học

- [1]. Nghiên cứu phát hiện phân biệt *Salmonella spp.* và *S. enterica* I trong thực phẩm bằng phản ứng PCR, *Hội nghị toàn quốc lần II, Nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học*, Huế, 865-868, 2003.
- [2]. Tạo các plasmid với chỉ thị protein phát huỳnh quang phục vụ nghiên cứu tương tác giữa các protein nội bào ở nấm men *S. cerevisiae*, *Hội nghị toàn quốc lần II, Nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học* - Huế, 906-909, 2003.
- [3]. Nghiên cứu hệ thống biểu hiện protein ngoại lai trên bề mặt tế bào nấm men *S. cerevisiae*, *Hội nghị toàn quốc lần II, Nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học* - Huế, 1016-1019, 2003.

## 5.3. Sách chuyên khảo đã xuất bản

Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm, mỹ phẩm, NXB Giáo dục, Chi nhánh t5i TP.HCM, 8/2002)

## 6. Đánh giá và kiến nghị

Hoàn thành mục tiêu và nội dung của đề tài: có nhiều công trình công bố (07 bài báo khoa học, 03 báo cáo khoa học toàn quốc), đào tạo 04 thạc sỹ, có 01 sách. Ngoài ra, một số kết quả của đề tài có giá trị thực tiễn lớn có thể phát triển thành đề tài khoa học công nghệ để ứng dụng vào đời sống và sản xuất.

## **STUDIES ON BIOLOGICAL ISSUES BY MODERN BIOLOGICAL TECHNIQUES**

### **ABSTRACT**

Application of molecular biological techniques in studying on the following issues: (i) Establishment of PCR (polymerase chain reaction) protocols for rapid detection of some commonly regulated bacterial pathogens (*Salmonella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7) in food; (ii) Differentiation of pathogenic and non-pathogenic *Salmonella* in natural water, food; (iii) Development of gene technology and cell surface engineering for basic and applied studies.