

Ứng dụng công nghệ hiện đại bảo tồn và phát triển các nguồn gen bản địa quý hiếm

Nguyễn Bá Tư, Phạm Trường Duy, Phạm Minh Chiến,
Phạm Quốc Định, Bùi Hồng Thủy, Nguyễn Văn Thuận

Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Nguồn gen động vật bản địa quý hiếm có ý nghĩa vô cùng quan trọng đối với cuộc sống con người, là nền tảng của đa dạng sinh học, đa dạng nông nghiệp, đảm bảo cho sự phát triển bền vững của mọi quốc gia. Tại Việt Nam, công tác bảo tồn nguồn gen động vật bản địa quý hiếm được thực hiện chủ yếu qua 2 hình thức là bảo tồn tại chỗ (in-situ) và bảo tồn chuyển vị (ex-situ). Trong bài viết, các tác giả trình bày một số ứng dụng công nghệ sinh học hiện đại như tái biệt hóa tế bào, tế bào gốc và công nghệ sinh học sinh sản hiện đại cần thực hiện để góp phần bảo tồn, khai thác và phát triển nguồn gen động vật bản địa quý hiếm của Việt Nam bền vững và có hiệu quả hơn.

Bảo tồn nguồn gen động vật quý hiếm bằng công nghệ hiện đại

Nguồn gen động vật bản địa quý hiếm có ý nghĩa vô cùng to lớn đối với cuộc sống con người, là nền tảng của đa dạng sinh học, đảm bảo cho phát triển bền vững của tất cả các quốc gia. Đây là tài sản quốc gia quý giá đang cần được bảo tồn, khai thác và phát huy ý nghĩa kinh tế, đồng thời còn là nguyên liệu phục vụ cho công tác lai tạo giống động vật trước mắt và sau này của đất nước. Sự tuyệt chủng của nhiều giống vật nuôi bản địa quý hiếm, những giống tuy năng suất thấp nhưng mang những đặc điểm quý giá như thơm ngon, thích nghi với điều kiện sinh thái sẽ làm mất dần đa dạng tài nguyên di truyền,

cạn kiệt nguồn đa dạng sinh học. Trong khi nhiều nước trên thế giới và các tổ chức quốc tế tập trung bảo tồn nguồn gen động vật hoang dã quý hiếm và vật nuôi bản địa thì ở Việt Nam, nguồn tài nguyên di truyền này đang đứng trước thách thức lớn do các hệ sinh thái bị phá vỡ; sự gia tăng nhập nội các giống vật nuôi có năng suất và giá trị kinh tế tạm thời cao. Việc không sử dụng các nguồn gen động vật hoang dã quý hiếm và vật nuôi bản địa có chất lượng cao của địa phương để lai tạo, chọn giống, tạo ra giống mới đã làm cho tốc độ tuyệt chủng của các loài động hoang dã quý hiếm và vật nuôi bản địa của Việt Nam ngày càng tăng và trở thành nguy cơ hiện hữu.

Các nước phát triển như Hoa Kỳ, Nhật Bản, Hàn Quốc... đã nhìn thấy trước điều này và đã có chiến lược sưu tầm, tập hợp nhiều nguồn gen động vật nguyên thủy, vật nuôi bản địa (chưa bị lai tạp) và quý hiếm trên thế giới để lưu giữ ở dạng tế bào. Tại Việt Nam, công tác bảo tồn nguồn gen động vật quý hiếm chủ yếu là bảo tồn tại chỗ. Tuy nhiên việc bảo tồn tại chỗ thì không bền vững và rất dễ mai một. Bằng chứng là sao la, tê giác 1 sừng, tê giác 2 sừng, lợn vòi Tây Nguyên, hươu sao, bò xám Tây Nguyên, cây rái cá... đã tuyệt chủng ngoài tự nhiên sau một thời gian dài bảo tồn nguyên vị.

Hiện nay, tại các nước phát triển, việc bảo tồn nguồn gen

động vật, ngoài bảo tồn tại chỗ và nguyên trạng, đều xây dựng và phát triển các trung tâm bảo tồn nguồn gen quốc gia ở cấp độ tế bào. Mỗi khi xã hội cần thì từ nguồn tế bào đó có thể tạo ra thể hệ động vật hoàn chỉnh phục vụ cho công tác lai tạo giống mới, sản xuất và phát triển nông nghiệp. Với sự phát triển của khoa học và công nghệ, việc ứng dụng công nghệ tái biệt hóa tế bào, nhân bản vô tính động vật và công nghệ sinh học sinh sản hiện đại đã được nghiên cứu và áp dụng để bảo tồn nguồn gen động vật bản địa quý hiếm [1-3]. Trên thế giới, nhiều loài động vật nguy cấp như báo tuyết [4], tê giác [5] và khỉ [6] đã được lưu trữ dưới dạng tế bào gốc vạn năng cảm ứng (induced pluripotent stem cells, iPS). Từ các tế bào gốc vạn năng này, có thể nuôi cấy và biệt hóa trở lại thành tế bào giao tử đực (tinh trùng) và giao tử cái (trứng) [7], sau đó thụ tinh bằng kính hiển vi (intracytoplasmic sperm injection - ICSI) để có thể tạo ra thể hệ mới. Bên cạnh đó, thông qua ứng dụng công nghệ hỗ trợ sinh sản, các nhà khoa học đã thụ tinh trứng và tinh trùng tê giác trắng bằng kỹ thuật ICSI để tạo ra phôi và tế bào gốc phôi với mục đích lưu trữ lâu dài [8]. Bên cạnh đó, ứng dụng công nghệ nhân bản vô tính động vật, từ tế bào sinh dưỡng động vật quý hiếm các nhà khoa học đã tạo ra được bò tốt [9]... Từ những thành tựu trên, để bảo tồn nguồn gen động vật quý hiếm một cách bền vững và hiệu quả thì bên cạnh phương

pháp bảo tồn tại chỗ và bảo tồn chuyển vị, Việt Nam cần ứng dụng các công nghệ sinh học hiện đại như công nghệ tế bào gốc phôi, tế bào gốc vạn năng cảm ứng, công nghệ nhân bản vô tính động vật và công nghệ sinh học sinh sản hiện đại. Từ tế bào sinh dưỡng chuột đã được trữ lạnh 16 năm ở -20°C, nhóm nghiên cứu của TS Wakayama (Nhật Bản), với sự tham gia của các nhà khoa học Việt Nam đã tạo ra được chuột nhân bản [10]. Năm 2013, nhóm nghiên cứu tiếp tục thành công trong việc nhân bản 25 thế hệ chuột từ một tế bào [11] và lần đầu tiên đã nhân bản thành công động vật thuần chủng [12].

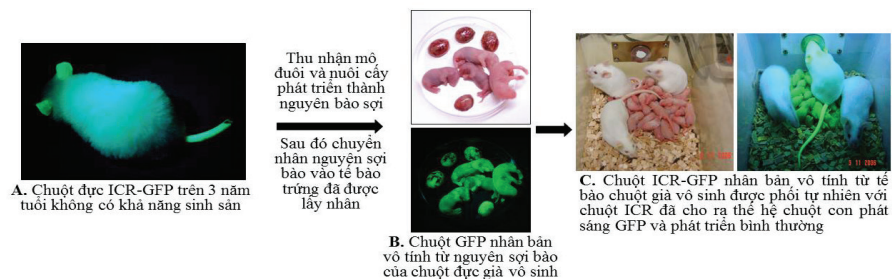
Những công nghệ cần cho Việt Nam

Công nghệ chuyển nhân tế bào sinh dưỡng

Thông thường, chuột trên 3 năm tuổi thì mất khả năng sinh sản. Trong một thí nghiệm trên chuột, chúng tôi sử dụng chuột đực chuyển gen phát sáng (ICR-GFP) trên 3 năm tuổi và đã vô sinh, sau đó thu nhận mô đuôi (hình 1A) và nuôi cấy phát triển

dòng tế bào nguyên bào sợi (fibroblast cells). Từ dòng tế bào nguyên bào sợi này, chúng tôi đã thực hiện chuyển cấy nhân sang tế bào trứng chuột đã lấy nhân tế bào (enucleated oocytes), sau đó kích hoạt (activation) và tạo ra phôi chuột ICR-GFP nhân bản vô tính. Chuyển cấy phôi nhân bản vô tính này qua chuột mang thai hộ, chúng tôi đã tạo ra được chuột đực ICR-GFP nhân bản vô tính (hình 1B). Các chuột đực ICR-GFP nhân bản vô tính này phát triển bình thường và khi cho phối tự nhiên với chuột cái ICR thì có khả năng sinh ra thể hệ mới ICR-GFP phát sáng huỳnh quang (hình 1C). Kết quả này cho thấy rằng cho dù động vật vô sinh, nếu ứng dụng công nghệ chuyển cấy nhân tế bào thì từ tế bào nguyên bào sợi chúng ta vẫn có thể tạo ra thể hệ mới khỏe mạnh và có khả năng sinh sản bình thường.

Ứng dụng công nghệ này, phòng thí nghiệm (PTN) của chúng tôi đã thành công trong việc tạo ra phôi bò Wagyu - Úc nhân bản vô tính từ các mô tế bào Wagyu - Úc nhập khẩu nhưng đã



Hình 1. Từ chuột đực già ICR chuyển gen phát sáng GFP đã vô sinh, ứng dụng công nghệ nhân bản vô tính đã tạo ra được chuột đực ICR-GFP có khả năng sinh sản bình thường.

Khoa học - Công nghệ và Đổi mới sáng tạo

bị thiên vô sinh (hình 2). Mô bò Wagyu - Úc sau khi thu nhận được nuôi cấy phát triển thành dòng nguyên sợi bào để làm nguồn tế bào chuyển nhân (hình 2A-B). Tế bào trứng được thu nhận từ buồng trứng bò tại các lò mổ địa phương, sau đó nuôi cấy chín trong PTN (hình 2C-D). Tế bào trứng chín sau khi đã được lấy nhân (hình 2E) sẽ chuyển nhân tế bào Wagyu - Úc, kích hoạt (hình 2F) và nuôi cấy phát triển thành phôi nang bò Wagyu - Úc nhân bản (hình 2G). Hiện nay ứng dụng kỹ thuật nâng cao khả năng acety hóa histone của phôi nhân bản vô tính [12], chúng tôi đã có thể nâng cao khả năng phát triển phôi nang với tỷ lệ cao trên 30% (nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ theo đề tài mã số ĐL.CN-49/16). Dự án này đang được tiến hành và

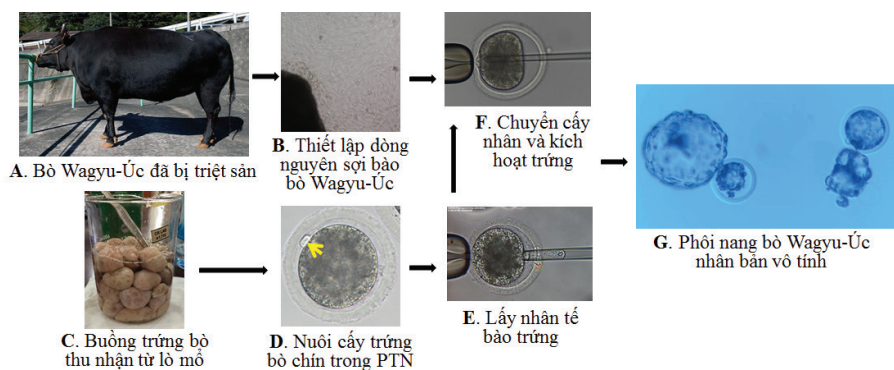
trong giai đoạn chuyển phôi tạo bò nhân bản vô tính. Công nghệ này cần được ứng dụng để bảo tồn, lưu trữ và phát triển nguồn gen động vật quý hiếm của Việt Nam.

Bò tót (Bos Gaurus) là một trong những động vật quý hiếm được xếp vào nhóm động vật nguy cấp cần bảo tồn của Việt Nam. Năm 2014, một bò tót đực đã được phát hiện chết tại Quảng Nam. PTN của chúng tôi may mắn đã nhận được mô và tinh trùng của tế bào bò tót này. Chúng tôi đã nuôi cấy và phát triển được dòng tế bào nguyên bào sợi để bảo quản. Trong năm 2018, từ tế bào nguyên bào sợi này, chúng tôi đã tạo được phôi nang bò tót nhân bản - hình 3 (nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh theo đề tài mã số B2016-28-01). Kết

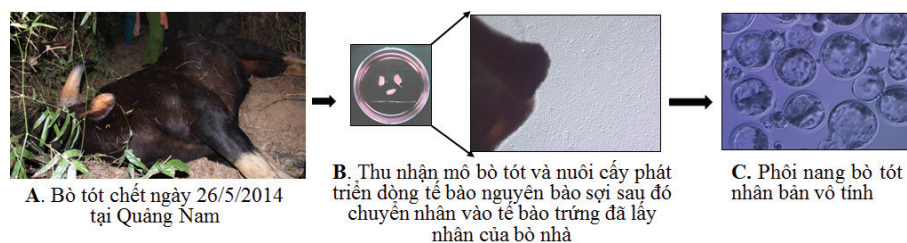
quả này cho thấy, từ tế bào bò tót đã chết chúng ta có thể thu nhận mô và phát triển dòng tế bào nguyên bào sợi. Từ dòng tế bào nguyên bào sợi này chúng ta có thể chuyển nhân vào tế bào trứng bò nhà đã lấy nhân và tạo ra được phôi nang bò tót nhân bản. Công nghệ này có thể giúp tái tạo động vật hoang dã quý hiếm trong tương lai.

Công nghệ tái biệt hóa tế bào sinh dưỡng thành tế bào gốc đa năng cảm ứng

Như chúng ta biết, việc nuôi cấy và bảo quản tế bào sinh dưỡng từ mô động vật bản địa quý hiếm là không bền vững do tế bào sinh dưỡng sẽ dừng phát triển sau khi cấy chuyển khoảng 8-10 lần. Năm 2006, TS Yamanaka và cộng sự lần đầu tiên trên thế giới đã biệt hóa tế bào sinh dưỡng thành tế bào gốc vạn năng cảm ứng (Induced Pluripotent Stem Cell, iPS cell) [13]. Ứng dụng công nghệ này, một số loài động vật quý hiếm đã được thu nhận mô, nuôi cấy thành tế bào nguyên bào sợi, sau đó được tái biệt hóa thành tế bào gốc vạn năng cảm ứng để bảo quản lâu dài và bền vững như mèo hoang dã [2], hổ tuyết [4], tê giác [5], khỉ [6]... Ở Việt Nam, công nghệ này còn mới mẻ và mới được quan tâm nghiên cứu trong thời gian gần đây, nhưng vẫn chưa được ứng dụng trong chiến lược bảo tồn nguồn gen động vật quý hiếm. Dự kiến từ năm 2021, PTN của chúng tôi sẽ áp dụng công nghệ này để tái biệt hóa một số nguồn gen quý hiếm bản địa của Việt Nam thành



Hình 2. Quy trình tạo phôi nang nhân bản từ tế bào bò Wagyu - Úc đã bị vô sinh.



Hình 3. Tạo phôi nang nhân bản từ mô bò tót đã chết.

tế bào gốc vạn năng cảm ứng để có thể lưu trữ lâu dài.

*
* *

Để bảo tồn, khai thác và phát triển nguồn gen động vật bản địa quý hiếm của Việt Nam một cách bền vững phục vụ cho phát triển nông nghiệp, bên cạnh phương pháp bảo tồn cổ điển là bảo tồn tại chỗ và bảo tồn chuyển vị, Việt Nam cần ứng dụng các công nghệ sinh học tiên tiến như tái biệt hóa tế bào, công nghệ sinh học sinh sản hiện đại để lưu trữ nguồn gen động vật quý hiếm của đất nước. Hiện nay nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã và đang xây dựng một trung tâm bảo tồn nguồn gen quý hiếm ở mức độ tế bào tại Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh. Trung tâm này hướng tới sẽ thu thập các nguồn gen động vật quý hiếm và các nguồn gen động vật bản địa có đặc tính tốt của Việt Nam ở dạng tế bào sinh dưỡng, sau đó tái biệt hóa các dòng tế bào này thành tế bào gốc vạn năng cảm ứng và tế bào gốc phôi nhân bản (ntES cells) để lưu trữ lâu dài nguồn gen quý hiếm này cho Việt Nam. Từ nguồn tế bào đã lưu trữ này, chúng tôi sẽ tiến hành nhân bản vô tính để cuối cùng có thể tái tạo lại động vật hoang dã quý hiếm và bản địa cho Việt Nam ✍

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] I.F. Ben-Nun, S.C. Montague, M.L. Houck, H.T. Tran, I. Garitaonandia, T.R. Leonardo, Y.C. Wang, S.J. Charter, L.C. Laurent, O.A. Ryder, J.F. Loring (2011), "Induced pluripotent stem cells from highly endangered species", *Nat.*

Methods, **8(10)**, pp.829-831.

[2] M.C. Gómez, C.E. Pope, D.M. Ricks, J. Lyons, C. Dumas, B.L. Dresser (2009), "Cloning endangered felids using heterospecific donor oocytes and interspecies embryo transfer", *Reprod. Fertil. Dev.*, **21(1)**, pp.76-82.

[3] R.E. Piña-Aguilar, J. Lopez-Saucedo, R. Sheffield, L.I. Ruiz-Galaz, J. Barroso-Padilla Jde, A. Gutiérrez-Gutiérrez (2009), "Revival of extinct species using nuclear transfer: hope for the mammoth, true for the Pyrenean ibex, but is it time for "conservation cloning"?", *Cloning Stem Cells*, **11(3)**, pp.341-346.

[4] R. Verma, M.K. Holland, P. Temple-Smith, P.J. Verma (2012), "Inducing pluripotency in somatic cells from the snow leopard (*Panthera uncia*), an endangered felid", *Theriogenology*, **77(1)**, pp.220-228.

[5] E. Callaway (2016), "Stem-cell plan aims to bring rhino back from brink of extinction", *Nature*, **533(7601)**, pp.20-21.

[6] H. Liu, F. Zhu, J. Yong, P. Zhang, P. Hou, H. Li, W. Jiang, J. Cai, M. Liu, K. Cui, X. Qu, T. Xiang, D. Lu, X. Chi, G. Gao, W. Ji, M. Ding, H. Deng (2008), "Generation of induced pluripotent stem cells from adult rhesus monkey fibroblasts", *Cell Stem Cell*, **3(6)**, pp.587-590.

[7] C. Yamashiro, K. Sasaki, Y. Yabuta, Y. Kojima, T. Nakamura, I. Okamoto, S. Yokobayashi, Y. Murase, Y. Ishikura, K. Shirane, H. Sasaki, T. Yamamoto, M. Saitou (2018), "Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in vitro", *Science*, **362(6412)**, pp.356-360.

[8] T.B. Hildebrandt, R. Hermes, S. Colleoni, S. Diecke, S. Holtze, M.B. Renfree, J. Stejskal, K. Hayashi, M. Drukker, P. Loi, F. Göritz, G. Lazzari, C. Galli (2018), "Embryos and embryonic stem cells from the white rhinoceros", *Nat. Commun.*, **9(1)**, pp.2589.

[9] R.P. Lanza, J.B. Cibelli, F.

Diaz, C.T. Moraes, P.W. Farin, C.E. Farin, C.J. Hammer, M.D. West, P. Damiani (2000), "Cloning of an endangered species (*Bos gaurus*) using interspecies nuclear transfer", *Cloning*, **2(2)**, pp.79-90.

[10] Sayaka Wakayama, Hiroshi Ohta, Takafusa Hikichi, Eiji Mizutani, Takamasa Iwaki, Osami Kanagawa, and Teruhiko Wakayama (2008), "Production of healthy cloned mice from bodies frozen at -20°C for 16 years", *PNAS*, **105(45)**, pp.17318-17322.

[11] S. Wakayama, T. Kohda, H. Obokata, M. Tokoro, C. Li, Y. Terashita, E. Mizutani, V.T. Nguyen, S. Kishigami, F. Ishino, T. Wakayama (2013), "Successful serial recloning in the mouse over multiple generations", *Cell Stem Cell*, **12(3)**, pp.293-297.

[12] N. Van Thuan, H.T. Bui, J.H. Kim, T. Hikichi, S. Wakayama, S. Kishigami, E. Mizutani, T. Wakayama (2009), "The histone deacetylase inhibitor scriptaid enhances nascent mRNA production and rescues full-term development in cloned inbred mice", *Reproduction*, **138(2)**, pp.309-317.

[13] K. Takahashi, S. Yamanaka (2006), "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors", *Cell*, **126(4)**, pp.663-676.