

Phát triển công nghệ sinh học ứng dụng trong sản xuất vắc-xin cho vật nuôi tại Việt Nam

TS Lê Huỳnh Thanh Phương¹, ThS Ngô Thị Tuyết Lan², PGS.TS Phạm Công Hoạt³

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Trường Đại học Công nghệ Đồng Nai

³Bộ Khoa học và Công nghệ

Ngày nay với việc ứng dụng thành tựu của khoa học và công nghệ (KH&CN), đặc biệt là công nghệ sinh học (CNSH) trong việc nghiên cứu, sản xuất vắc-xin để phòng chống bệnh cho vật nuôi là thực sự cần thiết, khi mà dịch bệnh phát triển ngày một phức tạp và xuất hiện thêm nhiều bệnh nguy hiểm. Bài viết giới thiệu những công nghệ đã được các nhà khoa học Việt Nam nghiên cứu phát triển để sản xuất vắc-xin cho vật nuôi, góp phần hạ giá thành sản phẩm, tăng thu nhập cho người chăn nuôi, tạo điều kiện cho ngành chăn nuôi trong nước phát triển ổn định, bền vững.

Chỉ thị số 50-CT/TW ngày 4/3/2005 của Ban Bí thư về việc đẩy mạnh phát triển và ứng dụng CNSH phục vụ sự nghiệp công nghiệp hoá, hiện đại hoá đất nước đã chỉ rõ: “CNSH là một lĩnh vực công nghệ cao dựa trên nền tảng khoa học về sự sống, kết hợp với quy trình và thiết bị kỹ thuật nhằm tạo ra các công nghệ khai thác các hoạt động sống của vi sinh vật, tế bào thực vật và động vật để sản xuất ở quy mô công nghiệp các sản phẩm sinh học có chất lượng cao, phục vụ phát triển kinh tế - xã hội và bảo vệ môi trường”.

Trên thế giới, ứng dụng CNSH đã trở thành ngành công nghiệp đem lại giá trị gia tăng cao cho nhiều lĩnh vực, trong đó lĩnh vực y - sinh học phát triển sớm nhất và chiếm tỷ trọng cao nhất 56,4% (trong đó có các sản phẩm vắc-xin cho người và vật nuôi), sau đó là chế biến sinh học 12,5%, hóa sinh 9,2%, nông nghiệp 8,4%, thực phẩm 7,3%, môi trường 6,2%. Tại Việt Nam, việc nghiên

cứu và ứng dụng thành tựu của CNSH phục vụ sản xuất vắc-xin cho vật nuôi bước đầu đã mang lại những hiệu quả thiết thực, dưới đây là một số kết quả đã đạt được:

Nghiên cứu sản xuất protein kháng nguyên bằng kỹ thuật di truyền trên tế bào bèo tấm (Wolffia)

Các nghiên cứu trong thời gian vừa qua cho thấy tiềm năng ứng dụng của vắc-xin uống sản xuất thông qua hệ thống thực vật chuyển gen là rất lớn, không những góp phần giảm giá thành vắc-xin mà còn mở ra những triển vọng mới của việc ứng dụng CNSH thực vật trong nông nghiệp và y học. Trong các loài thực vật được nghiên cứu để sử dụng cho hệ thống sản xuất vắc-xin, các loài họ bèo tấm đang được đặc biệt chú ý bởi các đặc tính: Tốc độ nhân vô tính rất nhanh, hàm lượng các chất dinh dưỡng cao, rất dễ nuôi trồng, không cần các điều kiện đặc biệt (như bảo quản lạnh, chế độ vô trùng...). Trên cơ

sở hợp tác với các nhà khoa học của Viện Sinh lý phân tử và Công nghệ sinh học thuộc Đại học Tổng hợp Bonn (CHLB Đức), các nhà khoa học của Viện Di truyền Nông nghiệp đã tạo được dòng bèo tấm chuyển gen có khả năng biểu hiện kháng nguyên VP2 của virus gây bệnh Gumboro để sử dụng trong phòng bệnh Gumboro cho gà; xây dựng được hệ thống tái sinh và nhân sinh khối ở bèo tấm (*Wolffia*); xây dựng được quy trình chuyển gen đạt hiệu quả cao bằng súng bắn gen và thông qua *Agrobacterium* đã cải thiện được các yếu tố chính ảnh hưởng đến quá trình biến nạp: Chủng vi khuẩn, thời gian nuôi cấy... Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu cũng đã thu nhận được 6 dòng bèo tấm *Wolffia australiana* chuyển gen biểu hiện kháng nguyên VP2. Thử nghiệm bước đầu cho thấy, 1 dòng bèo tấm chuyển gen có khả năng gây đáp ứng miễn dịch trên gà. Như vậy, kháng nguyên VP2 được biểu hiện trên bèo tấm thông qua đường ăn đã có khả năng kích thích gà thí nghiệm sản

sinh kháng thể tương ứng. Thành công này là tiền đề cho việc nghiên cứu chế tạo vắc-xin kháng Gumboro giá rẻ dùng trong chăn nuôi gia cầm, hoặc tiến đến là sản xuất các hoạt chất sinh học khác cho nông nghiệp và y học bằng kỹ thuật di truyền thực vật.

Nghiên cứu sản xuất vắc-xin bằng công nghệ vector adenovirus

Những tiến bộ về công nghệ DNA tái tổ hợp, genomics, virus học và miễn dịch học phân tử đã mở ra hướng ứng dụng cho quá trình nghiên cứu và phát triển các loại vắc-xin thế hệ mới nhằm phòng chống bệnh truyền nhiễm. Trong số vắc-xin thiết kế dựa trên hệ thống vector virus tái tổ hợp, hệ thống adenovirus là loại hình công nghệ có hiệu quả nổi bật, đóng vai trò quan trọng trong phát triển vắc-xin thế hệ mới hiện nay. Nghiên cứu sản xuất vắc-xin bằng công nghệ vector adenovirus là nghiên cứu lần đầu tiên được thực hiện tại Việt Nam với mục tiêu thiết kế được hệ thống adenovirus để làm vắc-xin cho động vật, trước hết là để xây dựng mô hình mang gen kháng nguyên VP2 của virus Gumboro ở gia cầm, từ đó tiếp cận công nghệ mới trong nghiên cứu sản xuất vắc-xin và các chế phẩm hoạt tính sinh học thế hệ mới sau này.

Với việc nghiên cứu chế tạo thành công hệ thống adenovirus tái tổ hợp tái thiết kế (khung, hộp gen mở, plasmid con thoi, tế bào), các nhà khoa học của Viện Công nghệ Sinh học đã làm chủ được công nghệ và sản xuất thử nghiệm thành công vắc-xin vector adenovirus ở quy mô phòng thí nghiệm. Sau 21 ngày thử nghiệm, gà thí nghiệm đều phát hiện có kháng thể kháng

VP2. Với việc tạo adenovirus tái tổ hợp mang gen biểu hiện kháng nguyên VP2 là hướng nghiên cứu để sản xuất vắc-xin thế hệ mới có thể sử dụng qua đường tiêu hóa (uống/ăn), hô hấp (khí dung), đường tiêm và có giá trị kinh tế cao.

Sản xuất thành công vắc-xin dạng bào tử *Bacillus subtilis*

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1835 bởi Christion Erenberg (nhà sinh vật học nổi tiếng của Đức). Năm 1941, *Bacillus subtilis* được phát hiện có trong phân ngựa bởi Tổ chức Y học Nazi (Đức) và được dùng chủ yếu để phòng bệnh lý cho các binh sỹ. Giai đoạn 1949-1957, Henry và các cộng sự (Mỹ) đã tách thành công các chủng thuần khiết của *Bacillus subtilis*, trở thành vi sinh vật để phòng và trị các bệnh về rối loạn đường tiêu hóa, các chứng viêm ruột, tiêu chảy... Ngày nay, *Bacillus subtilis* đã và đang được nghiên cứu và phát triển rộng rãi với nhiều tiềm năng ứng dụng hiệu quả trong chăn nuôi, công nghiệp và môi trường.

Nghiên cứu của các nhà khoa học thuộc Trường Đại học Khoa học Tự nhiên (Đại học Quốc gia Hà Nội) đã góp phần làm chủ công nghệ sản xuất vắc-xin dạng bào tử *Bacillus* trị bệnh gây đốm trắng trên tôm. Đặc biệt, các nhà khoa học đã thành công trong việc nghiên cứu sản xuất chủng *Bacillus subtilis* sau khi được chuyển gen vẫn giữ được đặc tính vốn quý của một vi khuẩn có lợi probiotic như: Trung hòa độc tố, cạnh tranh với mầm bệnh, thay đổi chuyển hóa của vi sinh vật, kích thích miễn dịch của cơ thể vật chủ, đảm bảo có sức sống tốt và khả năng chịu đựng trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt.

Đồng thời, vi khuẩn *Bacillus subtilis* chuyển gen này vẫn biểu hiện được kháng nguyên VP28 (một kháng nguyên của virus gây bệnh đốm trắng cho tôm) khi sử dụng cho tôm đảm bảo có khả năng gây đáp ứng miễn dịch. Như vậy, với việc sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* chuyển gen kháng nguyên VP28, các nhà khoa học đã thu được chủng vi khuẩn mới có tác dụng 2 trong 1, vừa là probiotic, vừa mang gen biểu hiện kháng nguyên VP28.

Kết quả thử nghiệm dạng chế phẩm probiotic trên tôm sú và tôm thẻ chân trắng với bào tử *Bacillus subtilis* biểu hiện kháng nguyên VP28 cho thấy, chế phẩm có khả năng gây đáp ứng miễn dịch, đảm bảo ngăn ngừa bệnh đốm trắng ở mức trên 70%. Đây là hướng đi đầy triển vọng trong việc sản xuất vắc-xin cho thủy sản trong tương lai.

Nghiên cứu sản xuất vắc-xin dựa trên các hạt giả virus (VLPs - virus like particle)

Bệnh lở mồm long móng là một loại bệnh truyền nhiễm do virus gây ra trên động vật móng guốc chẵn như lợn, bò, trâu, dê... Bệnh này rất nguy hiểm vì nó có khả năng lây lan rất nhanh qua nhiều con đường khác nhau như tiếp xúc trực tiếp giữa động vật với nhau, lây truyền qua môi trường không khí. Để phòng bệnh lở mồm long móng cho đàn gia súc phải chủ động tiêm phòng vắc-xin. Từ năm 2015 trở về trước, nước ta phải nhập khẩu vắc-xin từ nước ngoài để tiêm phòng bệnh lở mồm long móng.

Nhằm kiểm soát bệnh lở mồm long móng và chủ động nguồn vắc-xin trong phòng chống dịch bệnh, các nhà khoa học thuộc Viện Hóa sinh biển (Viện Hàn

lâm KH&CN Việt Nam) đã triển khai các nội dung nghiên cứu: Thiết kế và tổng hợp primer để nhân bản đoạn gen VP0, VP1-2A-VP3; tách dòng và tối ưu hóa trình tự các đoạn gen để biểu hiện trong tế bào côn trùng; tạo baculovirus tái tổ hợp và xác định điều kiện biểu hiện baculovirus tái tổ hợp trong tế bào côn trùng Sf9 để thu nhận VLP; thu hồi protein tái tổ hợp dạng giả virus; phân tích protein tái tổ hợp bằng điện di trên gel SDS-PAGE và phản ứng miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên - kháng thể; kiểm tra độc tính của kháng nguyên cho động vật thí nghiệm; xác định kháng thể kháng lại virus gây bệnh lở mồm long móng trong huyết thanh động vật thí nghiệm... và bước đầu đã thành công trong việc nghiên cứu sản xuất vắc-xin phòng bệnh này cho gia súc. Việc thực hiện nghiên cứu sản xuất vắc-xin dạng VLPs phòng bệnh lở mồm long móng được đặt ra nhằm xây dựng công nghệ sản xuất kháng nguyên tái tổ hợp dạng giả virus type O - một trong những chủng đang lưu hành phổ biến tại các vùng dịch lở mồm long móng ở Việt Nam. Nghiên cứu sản xuất vắc-xin dạng VLPs từ chủng gây bệnh tại Việt Nam tạo tính tương đồng của kháng nguyên virus cao và đồng thời biểu hiện được các protein vỏ capsid của virus chứ không chỉ một hoặc vài kháng nguyên đại diện, do vậy hiệu quả kích ứng miễn dịch của vắc-xin dạng VLPs sẽ cao. Bước đầu, vắc-xin dạng VLPs phòng bệnh lở mồm long móng do các nhà khoa học Việt Nam nghiên cứu, sản xuất được thử nghiệm trong phòng thí nghiệm, đã kích thích động vật thí nghiệm có đáp ứng miễn dịch chủ động đạt ngưỡng hiệu giá bảo hộ bệnh. Đây là hướng nghiên cứu

sản xuất vắc-xin được nhiều nước tiên tiến trên thế giới quan tâm đầu tư để đa dạng hóa các loại vắc-xin phòng bệnh cho người và vật nuôi.

Sản xuất kháng nguyên HA của virus cúm A/H5N1 bằng phương pháp biểu hiện tạm thời trên cây thuốc lá

Cúm là một căn bệnh nguy hiểm, gây tử vong cao và có diễn biến phức tạp vì hệ gen của virus cúm luôn biến đổi. Hemagglutinin (HA) là protein chính của vỏ virus cúm, chứa các epitope trung hòa virus, được xem như là mục tiêu hàng đầu dùng để thiết kế loại vắc-xin tái tổ hợp chống lại sự xâm nhiễm của virus cúm A.

H5N1 là virus gây nên dịch cúm gia cầm ở các quốc gia trên thế giới, gây thiệt hại rất lớn về kinh tế và ảnh hưởng tới sức khỏe con người. Virus H5N1 chứa hệ gen RNA sợi âm đơn gồm 8 phân đoạn mã hóa cho 8 loại protein. Trong đó HA, NA và M là những protein có khả năng gây đáp ứng miễn dịch mạnh trên cơ thể động vật. Vì thế, các kháng nguyên này là đối tượng được quan tâm trong sản xuất vắc-xin phòng chống sự lây lan dịch bệnh. Để có được kháng nguyên HA ứng dụng trong phòng bệnh do virus cúm gây ra, Việt Nam đã thành công trong việc thiết kế các cấu trúc vector biểu hiện mang gen mã hóa kháng nguyên HA của đồng thời các virus cúm A/H5N1(H5N1: clade 2.3.2.1C và clade 1.1) dưới sự điều khiển của constitutive promoter 35S CaMV và gắn kết Elastin like-polypeptide, IgM-Fc vào cấu trúc gen HA và tạo chủng *A. tumefaciens* mang vector tương ứng. Bên cạnh đó, các nhà khoa học đã tiến hành tối ưu hóa quy trình biểu hiện tạm thời của kháng nguyên tái tổ hợp HA dạng

trimer (tổ hợp chập 3) của chủng virus cúm A/H5N1 trên cây thuốc lá. Tách chiết và tinh sạch kháng nguyên HA tái tổ hợp dạng trimer, đồng thời đánh giá hoạt tính sinh học của protein kháng nguyên tinh sạch dạng trimer. Hoạt tính sinh học quan trọng nhất của protein kháng nguyên tái tổ hợp này được đánh giá chi tiết về khả năng kích thích sinh miễn dịch và kết hợp đặc hiệu được với kháng thể kháng HA. Việc sản xuất kháng nguyên theo hướng này rất an toàn trong quá trình sản xuất vắc-xin, nên thường được sử dụng đối với những vắc-xin phòng bệnh nguy hiểm mà mầm bệnh dễ phát tán.

Trong giai đoạn tới, để đẩy mạnh hơn nữa việc ứng dụng KH&CN, đặc biệt là CNSH trong sản xuất vắc-xin cho vật nuôi, chúng ta cần tiếp tục đẩy mạnh việc nghiên cứu và ứng dụng các thành tựu CNSH mới và hiện đại để sản xuất các protein tái tổ hợp phục vụ chế tạo bộ kit chẩn đoán nhanh và chính xác dạng que thử (cả định tính và định lượng) các bệnh trên gia súc, gia cầm; tiếp tục nghiên cứu mở rộng quy mô sản xuất các kháng nguyên tái tổ hợp để phục vụ sản xuất vắc-xin thế hệ mới. Sản xuất vắc-xin dựa trên kháng nguyên tái tổ hợp sẽ góp phần đa dạng hóa các loại vắc-xin cho vật nuôi tại Việt Nam. Sản xuất vắc-xin bằng kháng nguyên tái tổ hợp vừa góp phần hạn chế phát tán mầm bệnh, hạ giá thành sản xuất, tạo điều kiện cho sản phẩm chăn nuôi trong nước đứng vững trong giai đoạn hội nhập và phát triển bền vững