

XÂY DỰNG MÔ HÌNH RUỒI GIẤM (*Drosophila melanogaster*) ĐỂ NGHIÊN CỨU DƯỢC LIỆU CÓ HOẠT TÍNH KHÁNG OXY HÓA

Trần Thanh Mến^{1,*}, Nguyễn Đình Hải Yến², Huỳnh Thị Kim Nguyên¹,
Huỳnh Kim Yến³, Nguyễn Phương Anh Thu¹, Đái Thị Xuân Trang¹

¹Trường Đại học Cần Thơ, ²Viện Công Nghệ Kyoto – Nhật Bản

³Trường Đại học Kiên Giang

TÓM TẮT

Sử dụng ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) trong nghiên cứu dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa có nhiều điểm thuận lợi như: bộ gene đã được giải mã hoàn toàn, có 75% các gen gây bệnh trên người được tìm thấy có trong ruồi giấm, vòng đời ngắn, dễ nuôi giữ, ... Kết quả nghiên cứu đã chứng minh ruồi giấm đực CS (Canton S) được nuôi trong điều kiện có bổ sung D-Galactose lão hóa nhanh và có tuổi thọ trung bình, tuổi thọ tối đa ngắn hơn so với ruồi giấm được nuôi trong thức ăn tiêu chuẩn. Các gene có vai trò tổng hợp các enzyme kháng oxy hóa có trong ruồi giấm như *Sod1*, *Cat* và *Rpn11* tăng biểu hiện khi được nuôi giữ trong thức ăn có D-Galactose. Ruồi giấm được nuôi giữ trong điều kiện có H₂O₂ chết nhanh hơn so với đối chứng không sử dụng H₂O₂. Ruồi giấm được nuôi trong thức ăn có bổ sung acid gallic có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn so với đối chứng. Từ đó cho thấy, D-Galactose và H₂O₂ có thể được sử dụng như là tác chất trong nghiên cứu dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa *in vivo*.

Từ khóa: ruồi giấm CS; acid gallic; D-Galactose; kháng oxy hóa; H₂O₂

Ngày nhận bài: 19/5/2019; Ngày hoàn thiện: 03/7/2019; Ngày đăng: 27/7/2019

Drosophila melanogaster MODEL FOR STUDY ANTIOXIDATIVE SUBSTANCES

Tran Thanh Men^{1,*}, Nguyen Dinh Hai Yen², Huynh Thi Kim Nguyen¹,
Huynh Kim Yen³, Nguyen Phuong Anh Thu¹, Dai Thi Xuan Trang¹

¹Can Tho University, ²Kyoto Institute of Technology– Japan

³Kien Giang University

ABSTRACT

There are numerous advantages for using the fruit fly model (*Drosophila melanogaster*) to study antioxidants, including completely decoded genome, finding of 75% of human pathogens in fruit flies, its short life cycle, being easy to culture, ... The present study demonstrates that male flies (Canton S) fed by D-Galactose have shown shorter mean life span and maximum lifespan than flies raised using standard food. Genes which are responsible for translating antioxidant enzymes in fruit flies such as *Sod1*, *Cat* and *Rpn11* have increased expression level when fed in food with D-Galactose supplement. Flies are kept in condition with H₂O₂ died earlier than the control without H₂O₂. Besides, the flies fed by gallic acid supplemented foods and then kept in H₂O₂ condition showed better survival rate than the control one. Therefore, D-Galactose and H₂O₂ can be used as agents for *in vivo* study of antioxidant activity.

Keywords: *Drosophila melanogaster*; antioxidant; D-Galactose; H₂O₂; gallic acid

Received: 19/5/2019; Revised: 03/7/2019; Published: 27/7/2019

* Corresponding author. Email: ttmen@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) là mô hình động vật được sử dụng trong phòng thí nghiệm từ năm 1901 và Thomas Hunt Morgan được cho là cha đẻ của việc sử dụng ruồi giấm để nghiên cứu khoa học [1]. Bộ gen của ruồi giấm đã được giải mã hoàn chỉnh vào năm 2000 với khoảng 17.000 gen [2]. Các số liệu nghiên cứu đã chứng minh có khoảng 75% các gen gây bệnh trên người được tìm thấy có trong ruồi giấm [3]. Chính vì vậy ruồi giấm được xem là mô hình động vật thí nghiệm lí tưởng để nghiên cứu về bệnh trên người. Việc sử dụng ruồi giấm trong nghiên cứu khoa học có nhiều điểm thuận lợi so với các mô hình khác như: vòng đời của ruồi giấm ngắn (khoảng 11 ngày ở nhiệt độ 25°C), dễ nuôi, chỉ có 4 cặp nhiễm sắc thể, bộ gen đã được giải mã hoàn toàn, ... [4]. Bên cạnh đó, ruồi giấm là động vật bậc thấp nên hạn chế được những vấn đề về đạo đức trong việc sử dụng động vật làm mô hình thí nghiệm. Chính vì vậy mà ruồi giấm ngày càng được sử dụng nhiều trong nghiên cứu tại các phòng thí nghiệm trên thế giới.

Ngày nay, việc chống lão hóa đang là một chủ đề thú vị và hấp dẫn không những cho các nhà khoa học mà đối với cả nhân loại. Nghiên cứu về dược liệu có khả năng chống lão hóa ngày càng nhận được sự quan tâm của các nhà khoa học khắp nơi trên thế giới. Các công trình nghiên cứu trước đây đã chứng minh “stress” oxy hóa là một trong các nguyên nhân dẫn đến sự lão hóa nhanh [5]. Do đó nghiên cứu về các chất kháng oxy hóa là bước đầu trong nghiên cứu về dược liệu chống lão hóa. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy mô hình ruồi giấm rất có ích trong việc nghiên cứu về dược liệu có khả năng kháng oxy hóa và chống lão hóa. Melanie and Mike (2011) cho rằng khả năng di chuyển là một trong những tiêu chuẩn để đánh giá mức độ lão hóa của ruồi giấm [6]. Yaning *et al.* (2013) đã xây dựng các thí nghiệm để đánh giá mức độ lão hóa trên ruồi như thí nghiệm xác định khả

năng sinh sản, xác định khả năng chống chịu với stress, xác định khả năng sống lâu, ... [7]. Nghiên cứu của Mahtab *et al.* (2008) đã chứng minh cao chiết từ lá cây hoa hồng Damask (*Rosa damascena*) có tác dụng kháng oxy hóa và kéo dài tuổi thọ của ruồi giấm thí nghiệm [8]. Lutein là một loại sắc tố có ở nhiều loài thực vật và đã được xác định là có hoạt tính kháng oxy hóa trên mô hình ruồi giấm [9]. Chất resveratrol là một loại polyphenol có trong rượu vang đỏ đã được xác định là có khả năng kháng oxy hóa và kéo dài tuổi thọ của nấm men, sâu và ruồi giấm thông qua việc tương tác với các gene liên quan đến quá trình lão hóa [10]. Từ những dẫn liệu trên cho thấy việc sử dụng mô hình ruồi giấm để nghiên cứu về dược liệu có hoạt tính kháng oxy hóa là hướng nghiên cứu mới và cần thiết làm tiền đề cho các nghiên cứu để tìm ra các dược chất có hoạt tính chống lão hóa.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Ruồi giấm và môi trường nuôi giữ

Ruồi giấm hoang dại (*Drosophila melanogaster*) sử dụng trong nghiên cứu này là chủng Canton S (CS) được cung cấp bởi giáo sư Kamei Kaeko (Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản). Đây là chủng ruồi được dùng phổ biến trong các phòng thí nghiệm trên thế giới. Ruồi giấm được nuôi giữ bằng thức ăn tiêu chuẩn theo hướng dẫn của trung tâm ruồi giấm Bloomington (Mỹ). Thành phần dinh dưỡng trong thức ăn tiêu chuẩn để nuôi giữ ruồi gồm có (1 L): agar (8 g), đường glucose (100 g), nấm men khô (40 g), bột bắp (50 g), acid propionic (5 mL) và natribenzoate (1 g). Thức ăn được đun sôi và cho vào các lọ thủy tinh có kích thước 10x4cm, mỗi lọ 20 mL. Ruồi giấm được nuôi giữ với số lượng 20 con cho mỗi lọ và đặt trong điều kiện nhiệt độ 25°C để ruồi sinh sản và phát triển.

2.2. Khảo sát tuổi thọ (lifespan assay)

Ruồi giấm được mới nở trong vòng 48 giờ được lựa chọn cho thí nghiệm khảo sát tuổi thọ. D-Galactose là đường đơn đã được chứng minh có tác dụng gây lão hóa nhanh và làm

ngắn tuổi thọ ở ruồi được sử dụng trong nghiên cứu này [11]. Nghiệm thức đối chứng là sử dụng thức ăn tiêu chuẩn, nghiệm thức khảo sát sử dụng D-Galactose để thay thế cho glucose trong nghiệm thức đối chứng. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại là 1 lọ khảo sát với số lượng 20 ruồi/lọ. Ruồi được nuôi giữ trong điều kiện nhiệt độ 25°C. Thức ăn được thay mới sau mỗi 3 ngày khảo sát, số ruồi chết được ghi nhận qua mỗi lần thay thức ăn. Tuổi thọ trung bình được xác định dựa trên tổng tuổi thọ của tất cả các cá thể trên tổng số cá thể. Thời gian sống sót còn 50% được tính là thời gian trung bình từ thời điểm bắt đầu thí nghiệm đến thời điểm còn 50% số ruồi còn sống sót. Tuổi thọ trung bình tối đa trong nghiên cứu này được xác định là trung bình tuổi thọ của 10% số ruồi còn lại trong mỗi nghiệm thức [12].

2.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của chất oxy hóa H_2O_2 và khả năng kháng oxy hóa của acid gallic

Gốc hydroxyl là thành phần chính trong các phản ứng oxy hóa khử và nó được tạo từ nhiều phản ứng khác nhau từ các quá trình biến dưỡng sinh học bên trong cơ thể sinh vật. Trong nghiên cứu này, H_2O_2 được sử dụng để khảo sát khả năng chống chịu của ruồi với các nồng độ H_2O_2 khác nhau nhằm tìm ra nồng độ H_2O_2 thích hợp cho các khảo sát tiếp theo. Ruồi giấm đực mới nở trong vòng 48 giờ được chọn nuôi trong điều kiện thức ăn tiêu chuẩn cho đến ngày thứ 10, tiếp theo ruồi được giữ trong tình bị đói trong vòng 2 giờ, sau đó ruồi được cho vào các lọ thí nghiệm có giấy thấm H_2O_2 được pha trong dung dịch đường glucose 9% (w/v) với các nồng độ 5%, 10% và 15% (v/v). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho mỗi nghiệm thức (20 ruồi cho mỗi nghiệm thức). Số lượng ruồi còn sống sót được ghi nhận sau mỗi 4 giờ khảo sát.

Acid gallic là chất được sử dụng làm đối chứng trong các nghiên cứu về được chất có hoạt tính kháng oxy hóa. Trong nghiên cứu này, ruồi giấm đực CS mới nở trong vòng 48

giờ được thu và nuôi tiếp trong điều kiện thức ăn có bổ sung acid gallic 0,05 mg/mL thức ăn. Nghiệm thức đối chứng sử dụng thức ăn tiêu chuẩn. Thức ăn được thay mới sau mỗi 2 ngày. Ruồi giấm sau 10 ngày nuôi giữ trong điều kiện có bổ sung acid gallic sẽ được sử dụng để khảo sát khả năng kháng oxy hóa do H_2O_2 gây ra (nồng độ H_2O_2 được chọn từ kết quả thí nghiệm trên) để đánh giá khả năng kháng oxy hóa *in vivo* của acid gallic.

2.4. Realtime PCR

Phương pháp realtime PCR (Polymerase Chain Reaction) được thực hiện theo miêu tả của Kohyama-Koganeya *et al.* (2008) [13]. ARN tổng số được tách chiết từ ruồi thí nghiệm tại các nghiệm thức sử dụng bộ kit Qiagen RNeasy (Đức). cDNA được tổng hợp bằng cách sử dụng bộ kit SimpliAmp™ Thermal Cycler (Life Technologies, Singapore). FastStart Essential DNA Green Master Mix (Roche, Đức) được dùng để thực hiện phản ứng realtime PCR thông qua máy LightCycler 96 (Roche, Đức). Các gene có liên quan đến quá trình kháng oxy hóa như *Sod1* (Superoxide dismutase 1), *Cat* (Catalase) và *Rpn11* (26S proteasome regulatory subunit *rpn11*) là các gene mục tiêu cho nghiên cứu này. *Rp49* (Ribosomal protein 49) được sử dụng là gene đối chứng trong nghiên cứu này vì tính biểu hiện ổn định của nó ở tất cả các mô trong mọi giai đoạn phát triển của ruồi giấm [14]. Phương pháp delta delta C_t ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) được sử dụng để so sánh tương đối mức độ biểu hiện các gene ở các nghiệm thức theo miêu tả của Livak and Schmittgen (2001) [15]. Trình tự các cặp mồi (primer) của các gene sử dụng trong thí nghiệm này như sau:

Sod1: 5'TAATTCATTTCGAAATGGTGGT3'
và 5'GAGACCTTCACGGGCATA3'

Cat: 5'TGCAATGGGTGGAATTCAG3'
và 5'ACCATTTCGAAGCAGGAATC3'

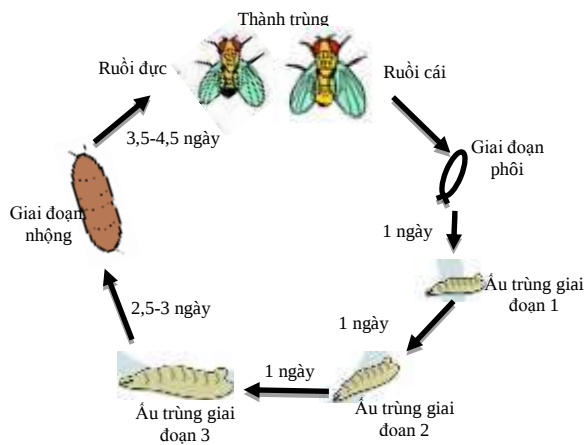
Rpn11: 5'TTCCATCAACGAGGACACC3'
và 5'TCCTCGTCCTCCAGTGAC-3'

Rp49: 5'AATCTCCTTGCGCTTCTTGG3'
và 5'TTACGGATCGAACAAGCGC3'

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Vòng đời ruồi giấm

Kết quả khảo sát ở 25°C cho thấy vòng đời của ruồi giấm từ lúc xuất hiện trứng đến lúc ruồi giấm được nở là 11 ngày đến 12 ngày (Hình 1). Từ giai đoạn xuất hiện trứng đến giai đoạn phôi, ấu trùng giai đoạn 1 và sau đó là giai đoạn ấu trùng giai đoạn 2 với khoảng thời gian 24 giờ cho mỗi giai đoạn. Giai đoạn 3 của ruồi giấm xuất hiện vào ngày thứ 4, ấu trùng giai đoạn này bò lên mặt môi trường và bám lên thành lọ để chuẩn bị cho giai đoạn hóa nhộng. Thời gian kéo dài của giai đoạn 3 khoảng 2,5 đến 3 ngày. Giai đoạn nhộng xuất hiện vào ngày thứ 8 đến ngày thứ 10 ruồi giấm được nở ở ngày 11 đến 12 ngày.



Hình 1. Các giai đoạn phát triển của ruồi giấm *Drosophila melanogaster* ở nhiệt độ 25°C

Bảng 1. D-Galactose có tác dụng làm ruồi chết sớm

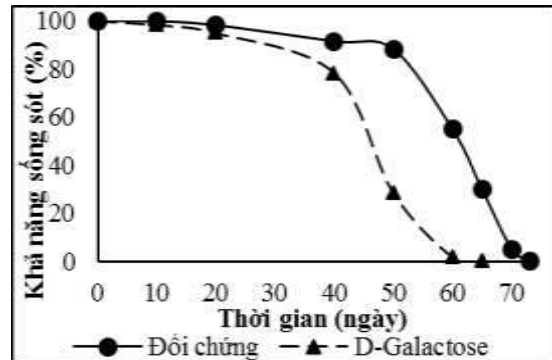
Thí nghiệm	Trong điều kiện thức ăn có bổ sung D-Galactose		
	Tuổi thọ trung bình (ngày)	Thời gian sống sót còn 50% (ngày)	Tuổi thọ trung bình tối đa (ngày)
Đối chứng	60,9 ± 1,8 ^a	62,4 ± 1,7 ^a	71,5 ± 0,8 ^a
D-Galactose	50,3 ± 2,2 ^b	53,2 ± 1,2 ^b	62,5 ± 2,6 ^b

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey

Realtime PCR là một phương pháp sinh học phân tử hiện đại được dùng để xác định mức độ biểu hiện của gene thông qua việc xác định số lượng bản phiên mã ARN thông tin. Trong nghiên cứu này, realtime PCR được sử dụng để xác định sự biểu hiện của các gene *Sod1*, *Cat* và *Rpn11*. Kết quả từ Hình 3 cho thấy, ruồi giấm được nuôi 10 ngày trong điều kiện thức ăn có D-Galactose thì các gene có liên quan đến cơ chế kháng oxy bên trong tế bào đều tăng sự biểu hiện. Cụ thể gene *Sod1* tăng biểu hiện lên 1,18 lần, gene *Cat* tăng biểu hiện 1,37 lần và gene *Rpn11* tăng biểu hiện

3.2. D-Galactose gây lão hóa nhanh và chết sớm theo cơ chế tạo ra các chất oxy hóa

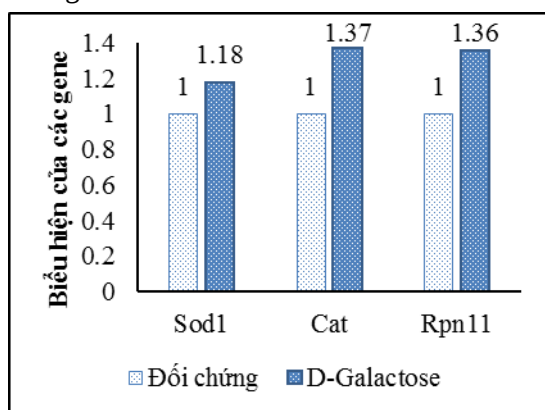
Khả năng sống sót của ruồi giấm trong môi trường thức ăn tiêu chuẩn và có bổ sung D-Galactose được thể hiện ở Hình 2 và Bảng 1.



Hình 2. Hiệu quả gây chết sớm của D-Galactose ở ruồi giấm CS đực

Kết quả thí nghiệm cho thấy ruồi giấm CS đực được nuôi trong môi trường thức ăn tiêu chuẩn có tuổi thọ trung bình lớn hơn so với môi trường thức ăn có bổ sung D-Galactose (60,9 ngày so với 50,3 ngày). Số liệu của thí nghiệm cũng ghi nhận thời gian sống sót còn 50% cũng khác nhau giữa hai thí nghiệm thức, ruồi nuôi trong thức ăn tiêu chuẩn là 62,4 ngày so với ruồi được nuôi trong môi trường có D-Galactose là 53,2 ngày. Tuổi thọ trung bình tối đa của 10% ruồi còn sống cuối cùng ở thí nghiệm thức ăn tiêu chuẩn cũng cao hơn so với có ruồi có bổ sung D-Galactose (71,5 ngày so với 62,5 ngày).

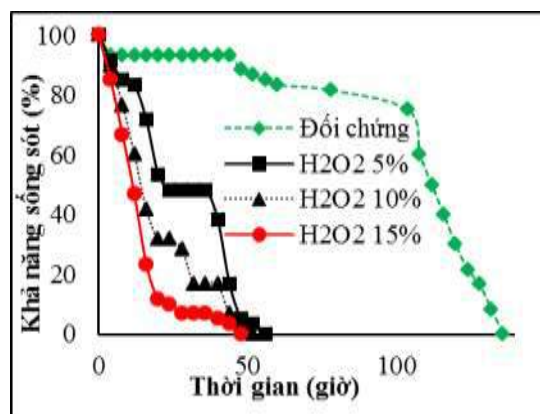
1,36 lần khi nuôi trong điều kiện có D-Galactose. Các gene Sod1, Cat và Rpn11 là các gene tổng hợp các enzyme có chức năng giúp tế bào kháng lại các chất oxy hóa để bảo vệ tế bào và cơ thể [16]. Bên cạnh đó, D-Galactose là đường được sử dụng trong nghiên cứu để gây oxy hóa và dẫn đến lão hóa ở các động vật thí nghiệm như chuột, chuột nhắt, ruồi nhà, giun tròn và ruồi giấm [11]. D-Galactose là một loại đường khử, khi đường này đi vào quá trình biến dưỡng trong tế bào sẽ tạo ra các sản phẩm là các gốc oxy hóa tự do (ROS), các gốc oxy hóa tự do chính là tác nhân gây nên hiện tượng lão hóa trong cơ thể sống [17]. Như vậy kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây. D-Galactose có thể được sử dụng như là một chất gây lão hóa nhanh trong nghiên cứu về được chất có hoạt tính kháng oxy hóa và chống lão hóa.



Hình 3. Biểu hiện của gene Sod1, Cat và Rpn11 ở ruồi giấm được nuôi 10 ngày trong điều kiện có D-Galactose

3.3. H_2O_2 gây oxy hóa trên ruồi và acid gallic có hiệu quả kháng oxy hóa do H_2O_2 gây ra

Ruồi giấm được nuôi 10 ngày tuổi trong điều kiện thức ăn tiêu chuẩn được sử dụng cho khảo sát khả năng gây oxy hóa của H_2O_2 . Hiệu quả gây oxy hóa cho ruồi giấm của H_2O_2 được trình bày ở Hình 4 và Bảng 2.



Hình 4. Ảnh hưởng của H_2O_2 đến khả năng sống của ruồi giấm theo thời gian

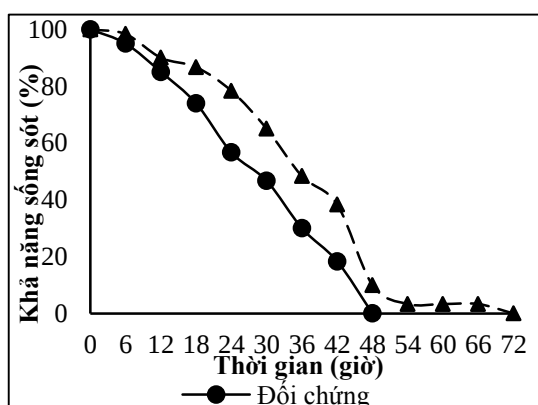
Kết quả khảo sát chứng minh rằng khi ruồi giấm được nuôi giữ trong điều kiện có H_2O_2 càng cao thì thời gian sống sót của ruồi giấm càng thấp (Bảng 2). Thời gian sống sót trung bình của ruồi trong điều kiện có H_2O_2 giảm dần từ nồng độ H_2O_2 5% là 27,77 giờ, H_2O_2 10% là 19,27 giờ và khi H_2O_2 15% ruồi giấm chỉ có khả năng sống 16,29 giờ, trong khi đó ở điều kiện không có H_2O_2 ruồi giấm có khả năng sống đến 92,35 giờ. Kết quả tương tự cũng thể hiện ở thời gian số ruồi còn sống 50%. Ngoài ra, thời gian sống tối đa là một chỉ tiêu phản ánh khả năng sống dài nhất của ruồi trong các điều kiện thí nghiệm khác nhau. Thời gian này được tính từ thời điểm 10% số ruồi sống sót còn lại đến lúc ruồi chết hoàn toàn. Thời gian sống tối đa của ruồi trong điều kiện có H_2O_2 trong nghiên cứu này cho thấy càng ngắn khi nồng độ H_2O_2 càng cao. Ở nghiệm thức đối chứng thời gian này lớn hơn gấp 2,8 lần so với nghiệm thức H_2O_2 5%, gấp 3,1 lần so với nghiệm thức H_2O_2 10%, và gấp 5,4 lần so với nghiệm thức H_2O_2 15%. Như vậy nồng độ H_2O_2 10% sẽ được sử dụng để thực hiện cho khảo sát tiếp theo.

Bảng 2. H_2O_2 gây oxy hóa ở ruồi giấm và ảnh hưởng lên khả năng sống sót của ruồi

Thí nghiệm	Trong điều kiện có H_2O_2 (v/v)		
	Thời gian sống trung bình (giờ)	Thời gian ruồi còn sống 50% (giờ)	Thời gian sống tối đa (giờ)
Đối chứng	92,3 ± 2,4 ^a	112,3 ± 4,1 ^a	130,4 ± 8,8 ^a
H_2O_2 5%	47,7 ± 2,8 ^b	45,9 ± 2,3 ^b	46,5 ± 1,5 ^b
H_2O_2 10%	29,2 ± 2,3 ^c	24,4 ± 0,7 ^c	42,6 ± 3,5 ^b
H_2O_2 15%	16,3 ± 1,9 ^d	10,2 ± 1,9 ^d	24,4 ± 2,0 ^c

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey

Acid gallic là một loại polyphenol đã được nghiên cứu và chứng minh có hoạt tính kháng oxy hóa tốt. Acid gallic được sử dụng như là một chất chuẩn trong các nghiên cứu về chất có hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro* [18]. Weidong and Yuae (2017) cho rằng acid gallic còn có tác dụng kháng oxy hóa *in vivo* trên mô hình chuột thí nghiệm [19]. Ruồi giấm đực CS được nuôi 10 ngày trong điều kiện thức ăn có bổ sung acid gallic được sử dụng để khảo sát khả năng kháng oxy *in vivo* do H_2O_2 gây ra. Kết quả thử nghiệm chứng minh rằng ruồi giấm được nuôi trong điều kiện thức ăn có bổ sung 0,05 mg/mL acid gallic có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn so với được nuôi trong điều kiện thức ăn tiêu chuẩn (Hình 5 và Bảng 3). Số liệu từ Bảng 3 cho thấy khả năng kháng oxy hóa trung bình của ruồi được nuôi có bổ sung acid gallic cao hơn 16 giờ so với đối chứng. Thời gian sống sót còn 50% và thời gian kháng oxy hóa tối của ruồi ăn thức ăn có acid gallic và đều lớn hơn so với đối chứng.



Hình 5. Ruồi giấm nuôi trong điều kiện có bổ sung acid gallic 0,05 mg/mL có khả năng kháng oxy hóa do H_2O_2 gây ra

Bảng 3. Hiệu quả kháng oxy hóa *in vivo* do H_2O_2 gây ra của acid gallic

Thí nghiệm	Trong điều kiện có H_2O_2 10%		
	Thời gian kháng trung bình (giờ)	Thời gian sống sót còn 50% (giờ)	Thời gian kháng tối đa (giờ)
Đối chứng	29,9 ± 4,7 ^b	26,4 ± 2,2 ^b	38,1 ± 0,9 ^b
Acid gallic 0,05 mg/mL	56,2 ± 3,4 ^a	36,7 ± 3,3 ^a	52,6 ± 3,1 ^a

Ghi chú: Các chữ cái giống nhau trên cùng một cột biểu diễn sự khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey

H_2O_2 đã được chứng minh là tác chất có thể dùng để gây oxy hóa trên mô hình ruồi giấm. Ruồi giấm bị gây oxy hóa bằng H_2O_2 sẽ chết sớm hơn so với ruồi không sử dụng H_2O_2 [9]. Nghiên cứu trên ruồi giấm của Nagpal and Suresh (2017) cũng đã cho rằng acid gallic có tác dụng kháng oxy hóa trên mô hình ruồi giấm [20]. Từ những dẫn liệu trên cho thấy kết quả của thí nghiệm này phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Như vậy có thể cho rằng H_2O_2 là tác chất có thể sử dụng để gây oxy hóa *in vivo* trên ruồi và ứng dụng trong nghiên cứu được liệu có hoạt tính kháng oxy hóa.

4. Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, D-Galactose và H_2O_2 là tác chất có thể sử dụng để gây lão hóa nhanh và gây oxy hóa *in vivo* trên mô hình ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*). D-Galactose gây lão hóa nhanh thông qua cơ chế tạo các chất oxy hóa từ sản phẩm biến dưỡng của D-Galactose và tăng biểu hiện các gene tổng hợp các enzyme kháng oxy hóa như Sod1, Cat và Rpn11. H_2O_2 là chất có hiệu quả gây oxy hóa trên mô

hình ruồi giấm và làm ruồi giấm chết nhanh hơn khi khảo sát trong điều kiện có H₂O₂. Acid gallic là chất kháng oxy hóa tốt trong điều kiện *in vivo* nên có thể sử dụng acid gallic là chất đối chứng dương trong các nghiên cứu về dược chất có hoạt tính kháng oxy hóa.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Giáo sư Kamei Kaeko - Viện Công nghệ Kyoto, Nhật Bản đã cung cấp ruồi giấm hoang dại Canton-S cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. R. E. Kohler, *Lords of the fly: Drosophila genetics and the experimental life*, University of Chicago Press, pp. 111-119, 1994.
- [2]. M. D. Adams, S. E. Celniker, R. A. Holt, C. A. Evans, J. D. Gocayne *et al.*, "The genome sequence of *Drosophila melanogaster*", *Science*, 287, pp. 2185-2195, 2000.
- [3]. U. B. Pandey and D. N. Charles, "Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery", *Pharmacological Reviews*, 63(2), pp. 411-436, 2011.
- [4]. E. Bier, "*Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics", *Nat. Rev. Genet.*, 6(1), pp. 9-23, 2005.
- [5]. I. L. Stefan, "Which Is the Most Significant Cause of Aging?", *Antioxidants*, 4(4), pp. 793-810, 2015.
- [6]. A. J. Melanie and Mike Grotewiel, "*Drosophila* as a Model for Age-Related Impairment in Locomotor and other Behaviors", *Exp. Gerontol.*, 46(5), pp. 320-325, 2011.
- [7]. Mahtab Jafari, Asghar Zarban, Steven Pham, and Thomas Wang, "*Rosa damascena* Decreased Mortality in Adult *Drosophila*", *J. Med. Food*, 11(1), pp. 9-13, 2008.
- [8]. Z. Zhang, S. Han, H. Wang, T. Wang, "Lutein extends the lifespan of *Drosophila melanogaster*", *Arch Gerontol Geriatr*, 58(1), pp. 153-159, 2013.
- [9]. A. R. Baxter, "Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation", *J. Cosmet Dermatol.*, 7(1), pp. 2-7, 2008.
- [10]. X. Cui, L. Wang, P. Zuo, Z. Han, Z. Fang, W. Li and J. Liu, "D-galactose-caused life shortening in *Drosophila melanogaster* and *Musca domestica* is associated with oxidative stress", *Biogerontology*, (5), pp. 317-325, 2004.
- [11]. Volodymyr Padalko, Viktoriya Dzyuba, Olena Kozlova, Hanna Sheremet, and Olena Protsenko, "*Zingiber officinale* extends *Drosophila melanogaster* life span in xenobiotic-induced oxidative stress conditions", *Frontiers in Biology*, 13(2), pp. 130-136, 2018.
- [12]. A. Kohyama-Koganeya, Y. J. Kim, M. Miura, and Y. Hirabayashi, "A *Drosophila* orphan G protein-coupled receptor BOSS functions as a glucose-responding receptor: loss of boss causes abnormal energy metabolism", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), pp. 15328-15333, 2008.
- [13]. Matthias B. Van Hiel, Pieter Van Wielendaele, Liesbet Temmerman, Sofie Van Soest, Kristel Vuerinckx, Roger Huybrechts, Jozef Vanden Broeck, and Gert Simonet, "Identification and validation of housekeeping genes in brains of the desert locust *Schistocerca gregaria* under different developmental conditions", *BMC Molecular Biology*, 10(56), pp. 1-10, 2009.
- [14]. K. J. Livak and T. D. Schmittgen, "Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCt} method", *Methods*, 25, pp. 402-408, 2001.
- [15]. C. Peng, Y. Zuo, K. M. Kwan, Y. Liang, K. Y. Ma, H. Y. Chan, Y. Huang, H. Yu, and Z. Y. Chen, "Blueberry extract prolongs lifespan of *Drosophila melanogaster*", *Experimental Gerontology*, 47(2), pp. 170-178, 2012.
- [16]. Kodeeswaran Parameshwaran, Michael H. Irwin, Kosta Steliou, and Carl A. Pinkert, "D-Galactose Effectiveness in Modeling Aging and Therapeutic Antioxidant Treatment in Mice", *Rejuvenation research*, 13(6), pp. 729-735, 2010.
- [17]. Helena Abramovič, Blaž Grobin, Nataša Poklar Ulrih, and Blaž Cigić, "Relevance and Standardization of *In Vitro* Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu", *Journal of Chemistry*, Vol. 2018, 9 pages, 2018.
- [18]. Weidong Wang and Yuee Sun, "*In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of polyphenol extracted from black garlic", *Food Sci. Technol, Campinas*, 37(4), pp. 681-685, 2017.
- [19]. Nagpal Isha and Suresh K. Abraham, "Ameliorative effects of gallic acid, quercetin and limonene on urethane-induced genotoxicity and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*", *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(4), pp. 286-292, 2017.
- [20]. Yaning Sun, Jason Yolitz, Cecilia Wang, Edward Spangler, Ming Zhan, and Sige Zou, "Aging Studies in *Drosophila melanogaster*", *Methods Mol. Biol.*, 1048, pp. 77-93, 2013.

