

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Tên luận án tiến sĩ: Nghiên cứu tổng hợp nano selen/ β -glucan có hoạt tính sinh học bằng phương pháp chiếu xạ.

Chuyên ngành: Công nghệ Sinh học **Mã số:** 9.42.02.01

Nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Dung

Họ và tên người hướng dẫn: PGS.TS. Lê Quang Luân,
PGS.TS Trần Thị Lệ Minh

Cơ sở đào tạo: Trường Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

1. Mục tiêu và đối tượng nghiên cứu của luận án

Mục tiêu nghiên cứu

Xây dựng thành công quy trình và tổng hợp được chế phẩm SeNPs ổn định trong β -glucan (SeNPs/ β -glucan) có hoạt tính sinh học bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60.

Mục tiêu cụ thể

- Xây dựng được quy trình tổng hợp chế phẩm SeNPs ổn định trong β -glucan tan trong nước có hoạt tính sinh học bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60.
- Tổng hợp thành công chế phẩm SeNPs/ β -glucan có hoạt tính sinh học bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60.
- Đánh giá được hoạt tính chống oxy hóa, ức chế tế bào ung thư gan HepG2 và tăng cường miễn dịch của chế phẩm SeNPs/ β -glucan tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ.

Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng dòng BALB/c sử dụng đánh giá hoạt tính tăng cường miễn dịch trên mô hình chuột bị suy giảm miễn dịch;

- Dòng tế bào ung thư gan HepG2, tế bào nguyên bào sợi L929 sử dụng đánh giá hoạt tính ức chế tế bào ung thư gan.

2. Các phương pháp chủ yếu đã sử dụng trong nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng phương pháp chiếu xạ để tổng hợp SeNPs/ β -glucan trên nguồn gamma Co-60, sử dụng phương pháp ly tâm tốc độ cao (50.000 vòng phút) để thu hết nano selen và phân tích hàm lượng muối Se^{4+} còn lại trong dung dịch sau khi chiếu xạ.

Phân tích các đặc trưng của sản phẩm SeNPs trên các phương pháp sau: Phổ XRD được xác định trên hệ thống nhiễu xạ tia X D8 Advance ECO (Bruker, Đức) sử dụng ống phát bức xạ $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$, $U = 40 \text{ kV}$, $I = 25 \text{ mA}$). Để phân tích sự tương tác bề mặt, các nhóm chức đặc trưng và các liên kết giữa các hạt nano tổng hợp với các phân tử khác tham gia vào quá trình tổng hợp SeNPs, tiến hành đo phổ hồng ngoại FTIR trên máy quang phổ hồng ngoại (model 4700, Jasco, Nhật Bản). Kích thước và phân bố kích thước hạt SeNPs được xác định bằng phương pháp đo DLS sử dụng thiết bị Zetasizer (Nano ZSP, model ZEN5600 (Malvern, Anh). Kích thước và phân bố kích thước hạt SeNPs/ β -glucan được xác định bằng phương pháp chụp ảnh TEM

Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* dung dịch keo nano SeNPs/ β -glucan ở các kích thước hạt khác nhau và nồng độ khác nhau dựa vào phương pháp bắt gốc tự do ABTS⁺. Tạo mô hình chuột suy giảm miễn dịch bằng Cytoxan. Phân tích các chỉ số cytokine (IL-2, TNF- α và IFN- γ) và immunoglobulin trong lách và huyết thanh (IgG và IgM) bằng Kit ELISA (abcam, USA). Các chỉ số bạch cầu, tế bào lympho, CD4, CD34, tế bào B, chỉ số miễn dịch trong máu ngoại vi và tủy xương của những con chuột thử nghiệm được xác định bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy trên hệ thống phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry) FACS (BD Science, USA).

Đánh giá hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan HepG2 của SeNPs/ β -glucan theo phương pháp MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazol brome). Đánh giá cảm ứng apoptosis đối với tế bào HepG2

được bằng phương phân tích dòng chảy tế bào (flow cytometry) được định lượng bằng phần mềm CellQuest Pro.

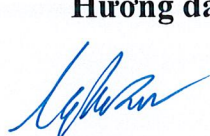
3. Các kết quả chính của luận án

Kết quả luận án đã nghiên cứu đưa ra được quy trình tổng hợp SeNPs ổn định trong β -glucan có hoạt tính sinh học bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60. Các điều kiện tổng hợp dung dịch SeNPs/ β -glucan cụ thể là: nồng độ selen Se^{4+} là 80 ppm, nồng độ chất ổn định β -glucan là 2%, pH \sim 5 và suất liều là 10 kGy/h. Chế phẩm SeNPs/ β -glucan tổng hợp được có hình cầu, kích thước hạt trung bình khoảng 92,5 nm (đo bằng LDS), khoảng 65,32 nm (đo bằng TEM) và sự phân bố kích thước hạt dao động trong chủ yếu khoảng từ 55 - 75 nm. Nghiên cứu đã đánh giá được điều kiện bảo quản ở 0°C giúp kích thước hạt và sự phân bố kích thước hạt của dung dịch SeNPs/ β -glucan được ổn định nhất. Đánh giá được phương pháp đông khô là phương pháp tốt nhất để tạo SeNPs/ β -glucan dạng bột mà không làm gia tăng kích thước hạt.

Chế phẩm SeNPs/ β -glucan tổng hợp được có hoạt tính chống oxy hóa cao và khá bền theo thời gian. Chế phẩm SeNPs/ β -glucan cho thấy có hoạt tính tăng cường miễn dịch khá tốt với các chỉ tiêu theo dõi ở miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể trong máu ngoại vi, trong tủy xương và trong lách trên mô hình chuột bị gây suy giảm miễn dịch bằng CTX. Bên cạnh đó, sản phẩm SeNPs/ β -glucan còn cho thấy hoạt tính ức chế mạnh đối với tế bào ung thư gan HepG2 nhưng hầu như không gây độc đối với nguyên bào sợi L929 ở các nồng độ 1 - 20 ppm. Ngoài ra các kết quả nghiên cứu cũng chứng minh được SeNPs/ β -glucan ức chế sự tăng sinh của tế bào ung thư gan HepG2 thông qua sự cảm ứng apoptosis và rối loạn chu kỳ phân chia tế bào.

Chế phẩm SeNPs/ β -glucan tổng hợp bằng phương pháp chiếu xạ có triển vọng ứng dụng để sản xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe thể hệ mới hỗ trợ tăng cường miễn dịch và hỗ trợ phòng trị ung thư an toàn và hiệu quả.

Hướng dẫn khoa học

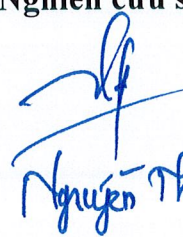


Lê Quang Luân



Trần Thị Lê Minh

Nghiên cứu sinh



Nguyễn Thị Dung