

BÀI TỔNG QUAN

HIỆN TRẠNG ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ GEN Ở CÁC NƯỚC CHÂU ÂU (ANH, PHÁP, ĐỨC) TRONG LĨNH VỰC Y DƯỢC VÀ NÔNG NGHIỆP

Lê Thị Thu Hiền^{1,2}✉, Lê Thị Thu Hà¹, Phạm Lê Bích Hằng¹, Nguyễn Hải Hà^{1,2}

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: hienlethu@igr.ac.vn

Ngày nhận bài: 20.12.2017

Ngày nhận đăng: 20.5.2018

TÓM TẮT

Tại các nước châu Âu, đặc biệt ở ba nước Anh, Pháp, Đức, các khoản tài trợ cho công nghệ sinh học, trong đó chủ yếu là công nghệ gen, tăng nhanh mỗi năm, thúc đẩy ngành công nghiệp này phát triển. Trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe, các quốc gia tập trung ứng dụng công nghệ gen vào việc chẩn đoán các bệnh di truyền, ung thư, truyền nhiễm bằng các kỹ thuật liên quan đến phân ứng dây chuyền polymerase, giải trình tự gen thế hệ mới; thử nghiệm lâm sàng để điều trị các bệnh ung thư và di truyền đơn gen bằng liệu pháp gen; phòng ngừa bằng các loại vaccine tái tổ hợp. Công nghệ gen sử dụng các kỹ thuật tiên tiến đã rút ngắn thời gian chẩn đoán, tăng tính chính xác so với các phương pháp chẩn đoán thông thường, mở ra hy vọng mới cho các bệnh nhân mắc bệnh hiểm nghèo, hạn chế nguy cơ mắc các bệnh truyền nhiễm, từ đó cải thiện chất lượng y tế trong tương lai. Trong lĩnh vực nông nghiệp, ứng dụng điển hình của công nghệ sinh học hiện đại là biến đổi các sinh vật sống để cải thiện cây trồng hay vật nuôi mang những đặc tính mong muốn. Tuy nhiên, tại các quốc gia này, việc canh tác cây trồng biến đổi gen hay nhập khẩu thực phẩm và thức ăn chăn nuôi biến đổi gen bị hạn chế bởi các quy định an toàn sinh học chặt chẽ của chính phủ. Nhìn chung, trong lĩnh vực công nghệ gen, ba nước Anh, Pháp và Đức đã có nhiều công trình nghiên cứu và ứng dụng mang lại lợi ích cho con người trên các lĩnh vực, góp phần nâng cao chất lượng của cuộc sống.

Từ khóa: Công nghệ sinh học, công nghệ gen, PCR, giải trình tự gen thế hệ mới, cây trồng biến đổi gen

MỞ ĐẦU

Ngày nay, công nghệ gen là một phần quan trọng của công nghệ sinh học hiện đại, cho phép trực tiếp sửa đổi vật liệu di truyền, thay đổi cấu trúc của các tế bào, bao gồm chuyển gen giữa các cá thể trong cùng một loài hay giữa các loài để tạo ra các sinh vật mang những tính trạng mới mong muốn. Các nhà khoa học phát triển sinh vật biến đổi gen (genetically modified organisms - GMOs) với mục đích cung cấp vaccine và thuốc, tăng hiệu quả trong trồng trọt và chăn nuôi, giảm giá thành của thực phẩm. Tuy nhiên, tại Liên minh châu Âu (EU), những lo ngại của cộng đồng về GMOs bắt đầu khi cơ quan chức năng áp dụng lệnh cấm phân phối GMOs vào EU tháng 10 năm 1998, và thậm chí các tiêu chuẩn chặt chẽ hơn đã được đề xuất trong Chỉ thị sửa đổi của EU 90/220 tháng 8 năm 2000. Trước khi áp dụng lệnh cấm, việc giải phóng GMOs được xem xét theo từng trường

hợp cụ thể và phải được phê duyệt ở từng bước từ kiểm nghiệm tại phòng thí nghiệm, qua thử nghiệm thực địa đến bước tiếp thị cuối cùng. Thực phẩm và thức ăn chăn nuôi biến đổi gen nhập khẩu hay việc canh tác cây trồng biến đổi gen chỉ có thể được cấp phép trong châu Âu sau các đánh giá an toàn nghiêm ngặt của Cơ quan An toàn Thực phẩm châu Âu (European Food Safety Authority - EFSA). Tuy vẫn còn nhiều hạn chế trong các chính sách, quy định pháp luật khi áp dụng công nghệ gen trong nuôi trồng và sử dụng thực phẩm biến đổi gen như trên, các quốc gia châu Âu vẫn đạt được nhiều kết quả tích cực trong nghiên cứu và ứng dụng công nghệ gen vào các lĩnh vực y tế, nông nghiệp. Bài tổng quan này đánh giá hiện trạng ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực y dược và nông nghiệp ở châu Âu, trong đó tập trung vào ba quốc gia có nền công nghệ sinh học phát triển là Anh, Pháp và Đức.

ANH

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực y dược

Tại Anh, ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực y dược tập trung vào các dự án nhằm tăng khả năng chẩn đoán, điều trị đối với người bệnh. Năm 2013, Bộ Y tế đã tài trợ cho Công ty Genomics England triển khai Dự án “100.000 hệ gen” để giải trình tự hệ gen của 100.000 người. Trong đó, Genomics England hợp tác với Công ty Illumina và Wellcome Trust để thực hiện việc giải trình tự toàn bộ hệ gen (whole genome sequencing - WGS) ở Viện Sanger. Dự án tập trung vào những bệnh nhân mắc bệnh hiểm (và gia đình họ), cũng như những bệnh nhân ung thư. Dự án đã được sự đầu tư và hợp tác của chính phủ và các công ty để tiếp tục thực hiện đến năm 2021 (www.gov.uk). Tính đến tháng 6 năm 2017, dự án này đã giải trình tự hệ gen của 23.106 người (www.genomicsengland.co.uk/the-100000-genomes-project-by-numbers/). Đối với bệnh nhân, dự án này đem lại cơ hội được chẩn đoán và có được phương hướng điều trị hiệu quả hơn.

Ngoài ra, WGS còn được áp dụng trong chẩn đoán di truyền tiền cấy phôi (preimplantation genetic diagnosis - PGD), nhằm phát hiện các vấn đề sức khỏe có khả năng ảnh hưởng đến người mẹ, phôi thai hoặc trẻ sơ sinh. Tại Anh, việc áp dụng xét nghiệm PGD được cấp phép bởi Cơ quan thẩm quyền về Thụ tinh và Phôi sinh học người (The UK Human Fertilisation and Embryology Authority - HFEA) theo các điều khoản của Đạo luật về Thụ tinh và Phôi sinh học người (1990) do những lo ngại ảnh hưởng đến sức khỏe và tính mạng của con người.

Hiện nay, mặc dù tình hình đã có nhiều cải thiện, bệnh truyền nhiễm vẫn là một gánh nặng kinh tế đối với Anh (POSTnote 545, 2017). Để giám sát bệnh truyền nhiễm, hệ thống y tế của Anh kết hợp các xét nghiệm chẩn đoán với WGS giúp tăng tốc độ chẩn đoán và tính chính xác về dịch tễ học. Phương pháp WGS cho phép xác định loại bệnh mà vi khuẩn gây ra và tính kháng kháng sinh của các vi khuẩn đó, từ đó phát triển vaccine tương ứng. Với sự tiến bộ của khoa học hiện nay, việc giải trình tự hệ gen của vi khuẩn hay virus có thể được thực hiện trong vòng 48 giờ với chi phí thấp khoảng 40 Bảng Anh (Köser *et al.*, 2012). Trong tương lai, WGS sẽ được sử dụng như một công cụ phổ biến trong chẩn đoán và y tế công cộng.

Bên cạnh các bệnh truyền nhiễm, khả năng kháng thuốc của vi khuẩn cũng ảnh hưởng nghiêm trọng đến việc chăm sóc sức khỏe của con người. Một trong những vi khuẩn kháng thuốc được quan tâm nhiều nhất ở các quốc gia trên thế giới, trong đó có Anh, là vi khuẩn lao kháng rifampicin và isoniazid. Các phương pháp truyền thống dùng để phát hiện tính kháng rifampicin và isoniazid đòi hỏi phải nuôi cấy vi khuẩn dài ngày, kéo dài thời gian chẩn đoán, tăng nguy cơ truyền kháng bệnh ở cộng đồng. Trong khi đó, các kỹ thuật sinh học phân tử như phản ứng dây chuyền polymerase (polymerase chain reaction - PCR), giải trình tự gen cho phép xác định nhanh chóng các đột biến gen có liên quan đến tính kháng kháng sinh, rút ngắn thời gian chẩn đoán bệnh (Jenkins, 2005).

Gần đây, lĩnh vực nghiên cứu liên quan đến công nghệ “chỉnh sửa gen” (genome-editing technology) đang tiến gần đến những thử nghiệm trên người. Có ba kỹ thuật chỉnh sửa gen chính, sử dụng enzyme nucleases để làm thay đổi di truyền tại một hoặc nhiều vị trí trong hệ gen bao gồm zinc finger nucleases (ZFNs), transcription activator-like effector nucleases (TALENs) và CRISPR/Cas9 (Cao *et al.*, 2016). Báo cáo đầu tiên về việc sử dụng TALENs tại Anh được thực hiện ở bệnh nhân điều trị bệnh bạch cầu lympho cấp tính (ALL). Các nhà nghiên cứu đã chèn thêm một gen mã hóa thụ thể đặc hiệu (CAR) vào tế bào T để thu được các tế bào UCART19 có thể phá hủy tế bào ung thư biểu hiện phân tử CD19 trên bề mặt. Việc ứng dụng các tế bào UCART19 này trên người được thực hiện lần đầu tiên vào năm 2015 trong trường hợp của bé Layla Richards 11 tháng tuổi tại Bệnh viện Great Ormond Street. Thành công của thử nghiệm này đã mở ra hy vọng UCART19 sẽ trở thành một phương pháp điều trị hiệu quả trong vòng một thập kỷ trở lại đây (POSTnote 541, 2016).

Những nỗ lực ban đầu trong việc áp dụng kỹ thuật chỉnh sửa gen vào liệu pháp tế bào soma tập trung vào các bệnh di truyền về máu, như bệnh bạch cầu và HIV/AIDS do có thể dễ dàng loại bỏ, chỉnh sửa và đưa tế bào trở lại vào bệnh nhân. Các thử nghiệm lâm sàng sử dụng TALENs và ZFNs đang được tiến hành và dự kiến triển khai đối với CRISPR/Cas9. Nghiên cứu điều chỉnh locus CFTR trong ruột người và chuột đã được thực hiện bằng công nghệ CRISPR/Cas9 (Schwank *et al.*, 2013). Vào tháng 2/2016, HFEA đã cho phép Viện Francis Crick (London) sử dụng công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 trên phôi người do các phụ nữ thực

hiện thụ tinh trong ống nghiệm hiến tặng nhằm hiểu rõ quá trình phát triển của phôi thành một bào thai khỏe mạnh cho đến khi chào đời. Tuy việc thay đổi hệ gen của phôi dùng để mang thai là bất hợp pháp ở Anh nhưng quyết định này của HFEA xuất phát từ nhu cầu lớn trong việc điều trị chứng vô sinh (Callaway, 2016). Sự phát triển nhanh chóng của CRISPR/Cas9 và nucleases tạo ra những thách thức mới về quản lý ở Anh. Luật pháp của Anh nghiêm cấm phát triển phôi người ở ngoài cơ thể trên 14 ngày và cây phôi đã bị biến đổi gen theo bất kỳ cách nào. Vì vậy, việc nghiên cứu phôi người chỉ được phép sử dụng cho các mục đích nhất định và phải có giấy phép từ HFEA.

Trong vấn đề kiểm soát dịch bệnh như sốt rét, virus Zika hay Dengue, công nghệ CRISPR/Cas9 có thể được sử dụng để biến đổi gen ở muỗi. Thông thường, phải trải qua nhiều thế hệ để các biến thể của gen trở nên phổ biến trong quần thể, do 50% cơ hội nhận một bản sao từ mỗi bố mẹ. Tuy nhiên, hệ thống CRISPR/Cas9 có thể tăng khả năng nhận một gen cụ thể lên gần 100% trong thời gian ngắn hơn bằng cách chèn gen kiểm soát bệnh (gen đích) vào hệ gen của con đực. Gen này sẽ được di truyền sang thế hệ con và hệ thống CRISPR/Cas9 tiếp tục kích hoạt làm cho cấu trúc gen đó được sao chép và chèn vào nhiễm sắc thể con cái, kết quả sẽ có hai bản sao của gen đích. Trên cơ sở đó, nhóm nghiên cứu của Hammond (2015) đã sử dụng CRISPR/Cas9 để làm tăng xác suất thừa hưởng một gen bị lỗi cản trở việc nở trứng đến hơn 90% ở muỗi *Anopheles gambiae*, góp phần kiểm soát dịch bệnh do muỗi gây ra.

Các kỹ thuật sinh học phân tử đã được áp dụng để chẩn đoán trước sinh các bệnh di truyền ở thai nhi. Trong nhiều trường hợp, nhiều bất thường bẩm sinh và/ hoặc khó khăn trong việc nhận thức ở trẻ nhỏ có thể là kết quả của việc mất hoặc lặp nhiễm sắc thể (collectively termed copy number variants - CNVs). Trước đây, việc xác định CNVs được thực hiện bằng việc kiểm tra trực quan các nhiễm sắc thể bằng kính hiển vi ánh sáng dưới dạng xét nghiệm karyotype. Tuy nhiên, hạn chế của kỹ thuật này là các trường hợp bất thường nhiễm sắc thể có kích thước bé hơn 5 Mb sẽ không thể được phát hiện. Nhiều trường hợp tái sắp xếp nhiễm sắc thể rất khó phát hiện hoặc không thể phát hiện được do kích thước quá nhỏ, cường độ thuốc nhuộm không đủ và thiếu các mẫu băng ở những đoạn nhiễm sắc thể đã bị thay đổi. Phép lai so sánh hệ gen (array comparative genomic hybridization - mảng CGH) ra đời, có độ nhạy cao, có thể sàng lọc toàn bộ hệ gen

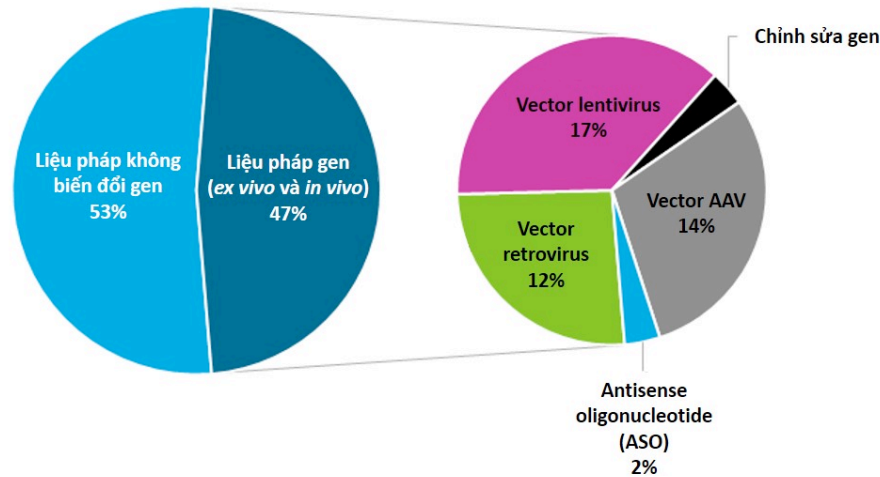
cho CNVs ở độ phân giải khoảng 50 kb nhằm giải quyết các vấn đề trên. Kết quả của kỹ thuật này đã hỗ trợ cải thiện lâm sàng so với xét nghiệm karyotype trước sinh; do đó, một số trung tâm ở Anh đã tiến hành cung cấp dịch vụ này. Các thảo luận đang tiếp tục ở Anh nhằm đạt được sự thống nhất để áp dụng thường quy kỹ thuật này trong chẩn đoán trước sinh (Kharbanda *et al.*, 2015). Ngoài ra, đã có nhiều phát triển trong phương pháp chẩn đoán trước sinh bằng cách lấy mẫu DNA thai nhi có trong máu mẹ (cffDNA) thay vì xâm lấn để lấy mẫu bào thai, làm giảm tối đa nguy cơ ảnh hưởng tới bào thai (Lewis *et al.*, 2012). Trong một số trường hợp cần yêu cầu xác định giới tính thai nhi, kỹ thuật real-time QF-PCR được sử dụng để phát hiện các đoạn đặc hiệu nhiễm sắc thể Y, thường là vùng xác định giới tính Y (*SRY*) hoặc *DYS-14*. Kỹ thuật này cho độ nhạy 96,6% và độ đặc hiệu là 98,9% (Wright *et al.*, 2012).

Trong lĩnh vực phòng bệnh, Anh tập trung nghiên cứu và phát triển các vaccine sử dụng công nghệ DNA tái tổ hợp. Những vaccine thế hệ mới đang được sử dụng trong chương trình tiêm chủng của Anh như vaccine 5 trong 1 DTaP/IPV/Hib (Pediaceal and Infanrix IPV+Hib), Hepatitis B vaccine (HBVaxPro), MenB vaccine (Bexsero), MenACWY vaccine, HPV vaccine (Gardasil)... Chỉ có một loại vaccine có chứa GMOs là vaccine ngừa cúm Nasal Flu vaccine (Fluenz). Virus dùng trong vaccine phòng bệnh cúm thường được thực hiện bằng cách tiêm hai dòng virus cúm vào trứng, để chúng tái tổ hợp tự nhiên và tạo ra các chủng mới. Các nhà nghiên cứu sau đó sàng lọc tất cả các loại virus mới nhằm tìm ra loại virus nào có những đặc điểm quan tâm để thực hiện việc chủng ngừa trong năm đó. Các virus được sử dụng tạo Fluenz được chỉnh sửa bằng cách ghép các gen riêng biệt mang các đặc tính phù hợp (<http://vk.ovg.ox.ac.uk/vaccine-ingredients>).

Liệu pháp gen là một lĩnh vực quan trọng khác của công nghệ gen. Đây là biện pháp đưa các gen vào trong tế bào của bệnh nhân để điều trị hoặc chủng ngừa thông qua việc chuyển DNA ngoại lai trong các vector chuyên biệt. Hiện nay, các nghiên cứu lâm sàng thường tập trung vào các bệnh ung thư, tim mạch, di truyền đơn gen và bệnh truyền nhiễm. Ở châu Âu, các liệu pháp gen được phân loại là các sản phẩm liệu pháp trị liệu tiên tiến, bao gồm các liệu pháp gen, liệu pháp tế bào và các sản phẩm công nghệ mô. Báo cáo cơ sở dữ liệu tính đến tháng 6 năm 2017 cho thấy có 57 thử nghiệm liệu pháp tế bào và

gen đang diễn ra tại Anh. Trong đó, có 47% liên quan tới liệu pháp tế bào và gen biến đổi *ex vivo* với một vector hoặc liệu pháp gen *in vivo*, phần lớn sử

dụng vector dựa trên lentivirus (Hình 1) (<https://ct.catapult.org.uk/resources/cell-and-gene-therapy-catapult-uk-clinical-trials-database>).



Hình 1. Liệu pháp tế bào và gen sử dụng công nghệ biến đổi gen tại Anh năm 2017.

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực nông nghiệp

Ứng dụng điển hình của công nghệ sinh học hiện đại là việc tạo ra các giống cây trồng biến đổi gen mang những đặc tính mong muốn thông qua cải biến hoặc chuyển gen khác vào cây trồng... Tuy nhiên, ở Liên minh châu Âu (European Union - EU) nói chung và Anh nói riêng, GMOs và cây trồng chuyển gen bị hạn chế. Chính phủ “chỉ cho phép trồng cây biến đổi gen, GMOs, tiếp thị thực phẩm chuyển gen hoặc các sản phẩm thức ăn chăn nuôi, nếu an toàn cho người và môi trường”. Các nghiên cứu về GMOs phải được thông qua bởi các cơ quan có thẩm quyền như Cục Môi trường, Thực phẩm và Nông thôn (Department for Environment, Food & Rural Affairs - DEFRA) và Ủy ban Cố vấn Môi trường (Advisory Committee on the Release to the Environment - ACRE).

Tại Anh, các cây trồng biến đổi gen không được phép trồng thương mại nhưng được nhập khẩu, đặc biệt là đậu tương, chủ yếu dùng làm thức ăn cho gia súc (DEFRA, 2015). Theo quy định của EU, các loại thực phẩm có chứa GMOs phải được dán nhãn rõ ràng; bao gồm các thực phẩm có nguồn gốc từ cây trồng biến đổi gen, ngay cả khi không phát hiện được có chứa thành phần biến đổi gen. Tuy nhiên, thực phẩm được sản xuất từ công nghệ biến đổi gen

không bắt buộc phải dán nhãn, chẳng hạn như phô mai làm từ enzyme biến đổi gen, hoặc các sản phẩm từ động vật đã được cho ăn các sản phẩm biến đổi gen, như sữa hoặc thịt từ bò cái do không thấy sự gây nguy hại nào cho sức khỏe con người (DEFRA, 2015).

Công nghệ biến đổi gen đưa ra các chiến lược thay thế cho chăn nuôi truyền thống. Theo đó, động vật được nghiên cứu biến đổi gen cho nhiều mục đích khác nhau bao gồm tăng khả năng sinh trưởng, tăng sức đề kháng với bệnh tật, thay đổi thành phần thịt và sản xuất sữa có chứa protein điều trị hoặc thay đổi thành phần của sữa để cải thiện giá trị dinh dưỡng cho trẻ sơ sinh. Cừu, dê và gia súc đã được sản xuất để tạo ra các protein có giá trị y dược chỉ có trong sữa. Việc này được thực hiện bằng cách chèn các bản sao gen người mã hóa các protein này và gắn vào các đoạn điều khiển đảm bảo gen chèn chỉ hoạt động trong tuyến vú. Năm 2003, công ty PPL Therapeutics của Anh đã thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II sản phẩm alpha-1-antitrypsin tinh chế từ sữa của cừu chuyển gen để điều trị cho trẻ bị xơ nang. Các nhà nghiên cứu chỉ ra những lợi ích về sức khỏe khi giải quyết tình trạng béo phì và bệnh tim mạch ở người bằng cách cho động vật biến đổi gen tạo ra lượng các chất béo bão hòa thấp hơn và lượng acid béo omega-3 có lợi nhiều hơn. Một nghiên cứu lớn ở Anh kết luận rằng giảm 30% lượng hấp thu chất béo

bảo hòa từ nguồn động vật có thể làm giảm 15% bệnh tim (Friel *et al.*, 2009).

Nhìn chung, tại Anh, nghiên cứu tạo ra chuột, bò, lợn, cừu và dê biến đổi gen là hợp pháp. Hội đồng Nghiên cứu Y khoa (The Medical Research Council) là đơn vị tài trợ hầu hết các thí nghiệm động vật ở các phòng thí nghiệm tại Anh. Tuy nhiên, không có động vật biến đổi gen nào được cấp phép thương mại làm thực phẩm ở Anh.

Trong lĩnh vực chăn nuôi, tỉ lệ các bệnh truyền nhiễm gia tăng dẫn tới giảm lợi nhuận của người nông dân và gây ra những vấn đề cho sức khỏe động vật và con người. Do đó, phát triển các giống mới có khả năng phục hồi bệnh tật là vấn đề đang được các nhà khoa học quan tâm. Sốt rét châu Phi (ASF) là một bệnh do virus thường gây ra tỷ lệ tử vong cao và nhanh đối với đàn lợn ở châu Phi và châu Âu, đặc biệt tại Nga. Hiện tại không có loại vaccine hay thuốc nào có hiệu quả đối với ASF. Ở Anh, tất cả đàn lợn trong cơ sở bị nhiễm bệnh phải bị giết. Các nhà khoa học nhận thấy, các con lợn rừng ở châu Phi mặc dù bị nhiễm virus ASF nhưng không có các triệu chứng bệnh như lợn thường. Điều này có thể được giải thích là do lợn rừng và lợn nhà có các phiên bản gen khác nhau giúp kích hoạt phản ứng miễn dịch của cơ thể đối với virus. Các nhà nghiên cứu tại Viện Roslin đã sử dụng ZFNs và TALENs để tạo ra các con lợn sống mang phiên bản gen *RELA* của lợn rừng. Nghiên cứu đang được tiến hành để điều tra liệu những thay đổi di truyền này sẽ tăng khả năng phục hồi đối với lợn bị nhiễm ASF, mang lại lợi ích cho chăn nuôi (Lillico *et al.*, 2016).

PHÁP

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực y dược

Trong các lĩnh vực sức khỏe con người và động vật, công nghệ gen có các ứng dụng trong chẩn đoán (xét nghiệm miễn dịch và xét nghiệm di truyền), điều trị (thuốc mới) và phòng ngừa (vaccine). Có 1.359 công ty về khoa học sự sống trên toàn nước Pháp, trong đó ngành công nghệ sinh học chăm sóc sức khỏe ở Pháp đã tăng lên đến 521 công ty, so với 446 trong năm 2010. Trong các công ty nghiên cứu, 95% công ty có liên quan đến sức khỏe con người với trọng tâm là nghiên cứu về ung thư. Về hoạt động của doanh nghiệp, một nửa trong số các công ty này phát triển sản phẩm điều trị, chẩn đoán hoặc nghiên cứu. Pháp đứng thứ tư trong số các nước châu Âu xét

về số lượng các sản phẩm điều trị đang được phát triển và số lượng các sản phẩm trong các thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III, đứng trên mức trung bình của châu Âu. Đặc biệt, số công ty hoạt động sử dụng mô hình kép (phát triển sản phẩm và cung cấp dịch vụ) đã tăng đáng kể từ năm 2010 (+265%) (The Health Care Biotechnology Industry in France, 2014).

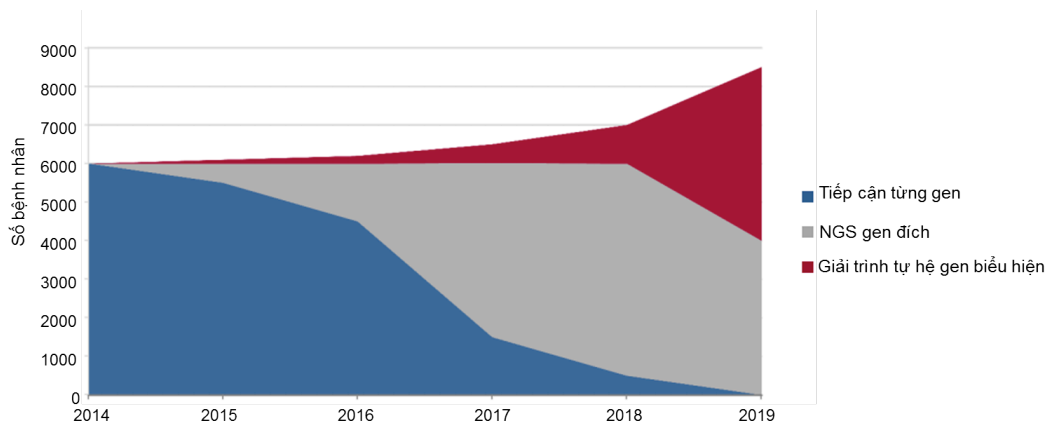
Trong lĩnh vực chẩn đoán bệnh, cụ thể là bệnh truyền nhiễm, phương pháp PCR và các biến thể như multiplex-PCR, real-time PCR, MLPA... được ưu tiên sử dụng tại tất cả các trung tâm ở Pháp vì ưu điểm nhanh, đặc biệt kể từ khi ra đời các bộ kit thương mại (Sterkersa *et al.*, 2010; Salez *et al.*, 2015). Trong một cuộc khảo sát trên 166 mẫu lâm sàng nhiễm trùng hô hấp cấp sử dụng 4 bộ kit thương mại dựa trên kỹ thuật real-time PCR bao gồm xTAG Respiratory Viral Panel Fast, RespiFinder SMART 22, CLART PneumoVir và Fast Track Diagnostics Respiratory Pathogen, kết quả đều cho thấy khả năng phát hiện cao các loài virus hoặc vi khuẩn gây bệnh ở lượng thấp (Salez *et al.*, 2015). Phương pháp PCR cũng được sử dụng trong chẩn đoán ung thư tại các bệnh viện Pháp do giá thành thấp (Baffert *et al.*, 2013).

Những đổi mới công nghệ trong việc phát hiện và xác định các vi sinh vật sử dụng các kỹ thuật phân tử như PCR đã mở ra kỷ nguyên mới đối với chẩn đoán vi sinh vật; từ đó cho phép chẩn đoán nhanh các bệnh nhiễm trùng gây ra bởi các vi sinh vật. Sự phát triển gần đây của giải trình tự genome của vi khuẩn cho phép việc lựa chọn hợp lý các primers để chẩn đoán và xác định kiểu gen. Ngoài ra, sự phát triển của các kỹ thuật mới như real-time PCR cho phép định lượng và giảm nguy cơ lây nhiễm. Các kỹ thuật dựa trên PCR đã được áp dụng để giúp chẩn đoán các vi khuẩn khó hoặc không thể nuôi cấy được bao gồm *Bartonella henselae* gây bệnh đầu mèo, *Coxiella burnetii* gây bệnh sốt Q và *Mycoplasma genitalium* gây bệnh viêm niệu đạo ở nam giới (Fenollar *et al.*, 2004). Một số kỹ thuật sinh học phân tử cho phép chẩn đoán nhanh các bệnh do virus và nhiễm trùng do một số loài vi khuẩn như *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* và *Bordetella pertussis*. Ưu điểm của các kỹ thuật này là có thể tránh được thời gian nuôi cấy dài ngày trong các môi trường nuôi cấy thông thường, từ đó cho phép phát hiện và điều trị sớm. Năm 2008, khi kết hợp nuôi cấy mô và kỹ thuật RT-PCR, nhóm nghiên cứu của Gouarin đã phát hiện 18 chủng virus cúm C trong số 2.281 bệnh nhân bị bệnh đường hô hấp cấp tính ở Normandy, Pháp. Hầu hết các bệnh nhân bị nhiễm virus cúm C (13/18) là trẻ sơ sinh hoặc dưới 2 tuổi

(Gouarin *et al.*, 2008). Việc sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử cũng có vai trò quan trọng đối với việc xác định các loài vi khuẩn thông qua việc phân tích trình tự gen 16S rRNA ở nhiều phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, ở một số loài, việc phân biệt cần phân tích đồng thời một số gen khác như *hsp65*, *rpoB* và *sod* (Devulder *et al.*, 2005). Một số phương pháp đã được áp dụng để chẩn đoán virus như real-time PCR cho phép chẩn đoán đồng thời lây nhiễm HIV-O và HIV-M; định lượng các chủng HIV-O khác nhau. Đây là một kỹ thuật có chi phí thấp và phù hợp để áp dụng ở những vùng có tần suất lây nhiễm kép HIV-M/HIV-O cao. Kết quả cho thấy kỹ thuật này có độ nhạy cao và giới hạn phát hiện của kỹ thuật là 40 bản sao/mL tương đương với các kit thương mại có cùng lượng đầu vào là 200 μ L, độ đặc hiệu là 100%, khả năng lặp lại chính xác (Gueudin *et al.*, 2011).

Ngày nay, việc chẩn đoán ung thư có xu hướng sử dụng kỹ thuật di truyền hiện đại, trong đó có kỹ

thuật giải trình tự gen thế hệ mới (next generation sequencing - NGS). Ở Pháp, nhóm nghiên cứu gồm các bác sĩ và nhà sinh học từ Bệnh viện châu Âu Pompidou Georges và Bệnh viện Pitié Salpêtrière đã đề xuất phương pháp phát hiện DNA khối u trong huyết tương dựa trên kỹ thuật NGS. So với kỹ thuật PCR, phương pháp này thu được tỷ lệ đột biến tương đương, trong khi có thể áp dụng cho số lượng các gen và bệnh nhân lớn hơn (Pécuchet *et al.*, 2016). Thực tế, việc thực hiện kỹ thuật NGS trong chẩn đoán đã được lên kế hoạch cho 28 trung tâm di truyền phân tử ở Pháp, kêu gọi đề cương để duyệt các dự án thí điểm và nhóm tham chiếu sinh tin học năm 2013. Trong thời gian này, sự phát triển của các công nghệ giải trình tự thông lượng rất cao cùng với chi phí giảm cho phép xem xét việc giải trình tự hệ gen khối u; bao gồm giải trình tự toàn bộ exome (whole exome sequencing - WES) và giải trình tự hệ gen phiên mã (RNAseq) trong điều kiện thử nghiệm lâm sàng (Hình 2) (Nowak, 2015).



Hình 2. Số lượng bệnh nhân sử dụng các phương pháp chẩn đoán trong ung thư.

Cách hiệu quả nhất để đối phó với bệnh ung thư là ngăn ngừa sự phát triển của bệnh. Chẩn đoán ban đầu của hầu hết các loại ung thư là thông qua các dấu hiệu hoặc triệu chứng lâm sàng dẫn đến chẩn đoán không chính xác. Trước khi chẩn đoán phân tử, bác sĩ lâm sàng đã phân loại tế bào ung thư dựa vào sinh thiết mẫu và quan sát sự xuất hiện của các tế bào ung thư dưới kính hiển vi. Phân tích phân tử các oncogenes và gen ức chế khối u liên quan đến các loại khối u có thể cung cấp thông tin cho chẩn đoán ung thư và theo dõi điều trị hiệu quả. Kỹ thuật microarrays cho phép các nhà nghiên cứu quan sát đồng thời sự biểu hiện của hàng nghìn gen và so sánh sự biểu hiện của các gen đó. Các kết quả thu

được từ thí nghiệm microarrays đã thay đổi một cách đáng kể quyết định điều trị ung thư. Năm 2003, Staudt nghiên cứu biểu hiện đồng thời hàng nghìn gen, tạo ra một bức tranh tổng thể về chức năng tế bào và cho thấy rằng việc chẩn đoán ung thư huyết học thường dựa trên đánh giá hình thái bổ sung bằng phân tích một số marker phân tử. Tại Pháp, chương trình nghiên cứu chi thị sinh học (Biomarker) được thực hiện từ 04/2012 đến 04/2013 trên 17.000 bệnh nhân có biểu hiện lâm sàng của bệnh ung thư phổi cho thấy có ít nhất một sự thay đổi di truyền ở khoảng 50% mẫu phân tích. Các đột biến *EGFR*, *HER2*, *KRAS*, *BRAF*, *PI3K* được phát hiện lần lượt ở 11%, 1%, 29%, 2% và 2% bệnh nhân; sự tái sắp xếp

của *ALK* được phát hiện ở 5% các mẫu phân tích. Dự án này của Pháp, tương tự các dự án khác như Mạng lưới Y học Genomic của Đức (NGM), Mạng lưới Sàng lọc Ung thư phổi Quốc gia (LC-SCRUM) của Nhật Bản đã góp phần hiểu rõ hơn về ung thư phổi (Ruppert *et al.*, 2016). Ở Pháp, xét nghiệm đột biến *EGFR/KRAS* ở bệnh nhân ung thư phổi bằng các kỹ thuật di truyền phân tử đang được thực hiện tại Viện Ung thư Quốc gia Pháp. Các kỹ thuật xét nghiệm đột biến *EGFR/KRAS* được chia thành: kỹ thuật dựa trên sự khác biệt về kích thước sản phẩm PCR, ví dụ phân tích đoạn (gen *EGFR* tại các exon 19, 20, 21); các kỹ thuật phân tích đặc hiệu vị trí đích, bao gồm multiplex allele-specific oligonucleotide - PCR, phân tích SNaPshot (Qiagen, Courtaboeuf, Pháp), phát hiện đầu dò đặc hiệu TaqMan assay (Applied Biosystems, Life Technologies), phương pháp lai với đầu dò peptide nucleic acid, giải trình tự và nhóm phân tích không đặc hiệu vị trí đích (HRM, pyrosequencing) (Beau-Faller *et al.*, 2014).

Đối với một số bệnh như đái tháo đường, đặc biệt ở các nước phát triển, chẩn đoán chính xác về các dạng đơn của bệnh có vai trò quan trọng để cải thiện việc chữa trị và tư vấn di truyền. Vào năm 2014, nhóm nghiên cứu của Bonnefond đã sử dụng một phương pháp mới dựa trên PCR kỹ thuật số dạng giọt (rain-dance technologies) và NGS để chẩn đoán 43 dạng đơn bệnh tiểu đường hoặc béo phì. Ngoại trừ một biến thể, nhóm nghiên cứu đã xác định được tất cả các đột biến trong mỗi bệnh nhân; hầu hết kết quả tương đồng với kết quả giải trình tự gen (trung bình 98,6%). Trong 3 bệnh nhân, nhóm nghiên cứu đã phát hiện được 3 đột biến khác ngoài các đột biến đã được chẩn đoán tại các phòng thí nghiệm chẩn đoán gen là *ABCC8*, *BBS6*, *HNFB1*.

Công nghệ gen cũng đem lại nhiều ứng dụng to lớn trong việc điều trị những bệnh hiểm nghèo. Trong đó, liệu pháp gen là phương pháp điều trị đầy hứa hẹn áp dụng cho nhiều loại bệnh, với mục tiêu là xử lý triệt để nguyên nhân gây bệnh thay vì chỉ làm giảm các triệu chứng. Liệu pháp gen có thể có hiệu quả trên một loạt các bệnh chưa được điều trị trước đây, như các bệnh huyết học, mắt, các bệnh thoái hóa thần kinh và một số bệnh ung thư (Kumar *et al.*, 2016). Công ty công nghệ sinh học của Pháp Eyeevensys đã được Cơ quan Quản lý An toàn Sản phẩm Pháp (French Product Security Regulatory Agency - ANSM) thông qua để tiến hành trong phòng khám dựa trên nền tảng EyeCET. EyeCET không dùng các vector virus để vận chuyển DNA, mà sử dụng hệ thống biến nạp điện. Kỹ thuật này

chuyển DNA plasmid đến cơ mắt, duy trì việc tạo ra các protein trị liệu ở cả hai vùng trước và sau của mắt. Công nghệ EyeCET có tiềm năng trở thành liệu pháp gen không virus đầu tiên cho mắt, đánh dấu một bước tiến trong việc phát triển các liệu pháp gen. Gần đây nhất, các bác sĩ của bệnh viện Necker Children's Hospital, Paris, Pháp đã chữa thành công bệnh hồng cầu hình liềm bằng liệu pháp gen *ex vivo* sử dụng lentiviral vector để chuyển gen (Ribeil *et al.*, 2017). Kết quả khả quan sẽ là động lực để các nhà nghiên cứu Pháp đẩy mạnh ứng dụng liệu pháp gen vào các thử nghiệm lâm sàng.

Đối với lĩnh vực phòng bệnh, nhiều công ty công nghệ sinh học tại Pháp tập trung vào sản xuất vaccine sử dụng công nghệ DNA tái tổ hợp. Công ty ABIVAX nghiên cứu hệ thống miễn dịch để loại bỏ các bệnh do virus và viêm. ABX544 là một trong số những nghiên cứu của ABIVAX mở ra cơ hội điều trị nhiễm virus Ebola. ABX544 tập trung vào việc sản xuất và thanh lọc nhanh chóng các kháng thể trung hòa từ động vật miễn dịch với kháng nguyên đặc hiệu từ virus Ebola. ABIVAX đã bắt đầu đánh giá lâm sàng các kháng thể này và mục tiêu vào pha I trong năm 2018 để chứng minh sự an toàn của sản phẩm trước khi bắt đầu các nghiên cứu lâm sàng trên các vùng dịch. Những kháng thể này có thể được sử dụng để điều trị những người bị nhiễm virus Ebola, cũng như ngăn ngừa sự bùng phát của dịch bệnh (<http://www.abivax.com/en/>). Vaxon Biotech là một công ty tư nhân tại Paris - Pháp, được thành lập vào năm 2004. Công ty phát triển các loại vaccine tiên tiến để điều trị các bệnh ung thư bao gồm ung thư phổi, dạ dày, tuyến tiền liệt, vú, thận, gan và ung thư đại trực tràng. Các vaccine trị liệu của Vaxon Biotech được dùng để điều trị ung thư bằng cách kích hoạt hệ thống miễn dịch nhận diện và tấn công các tế bào ung thư mà không gây tổn hại cho các tế bào bình thường. Loại vaccine tiên tiến, Vx-001 đã được hoàn thành nghiên cứu thử nghiệm mù giai đoạn IIb ở 221 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC). Vx-001 đã được cấp đăng ký sản phẩm thuốc cho NSCLC từ Cơ quan Thuốc châu Âu (EMA) trong tháng 11 năm 2007 và từ Cơ quan Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (Food and Drug Administration - FDA, Hoa Kỳ) vào tháng 2 năm 2009 (<http://vaxon-biotech.com/>).

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực nông nghiệp

Pháp là quốc gia đang hoạt động khá mạnh trong các nghiên cứu phòng thí nghiệm về công nghệ sinh học. Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc gia Pháp

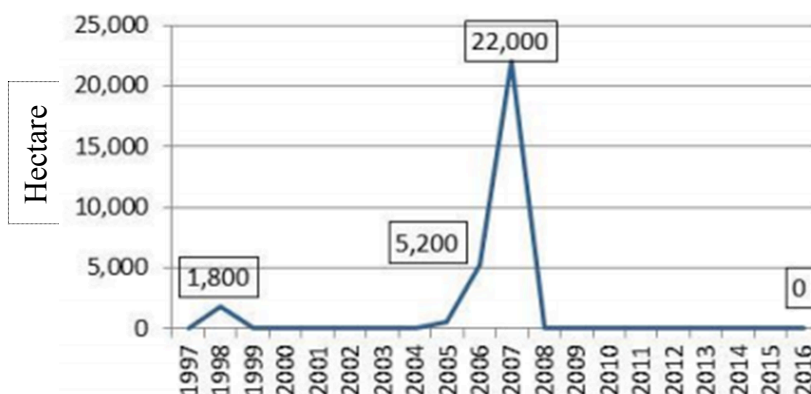
(National Institute of Agricultural Research - INRA) điều phối nhóm Công nghệ sinh học xanh của Pháp thu hút hơn 300 nhà nghiên cứu từ tất cả các ngành nông nghiệp để khởi động các dự án nghiên cứu về di truyền thực vật. Bên cạnh đó, Viện Nghiên cứu Cây trồng Pháp cũng tham gia nghiên cứu các loại ngũ cốc biến đổi gen.

Pháp đã từng có số lượng thử nghiệm đồng ruộng cho các cây trồng biến đổi gen nhiều nhất ở châu Âu, nhưng các nhà hoạt động xã hội liên tục phản đối các thử nghiệm này. Một số phòng thí nghiệm ở Pháp phát triển cây trồng biến đổi gen tiến hành các khảo nghiệm ở các nước khác. Lô thử nghiệm cuối cùng ở Pháp là cây bạch dương biến đổi gen được INRA thử nghiệm nhằm tìm kiếm nguồn năng lượng sinh học. Tuy nhiên, giấy phép thử nghiệm đồng ruộng nhiều năm đã không được Bộ Nông nghiệp gia hạn và tất cả các cây bị tiêu hủy vào tháng 7 năm 2013 (FAS Paris, 2016). Ngô MON810 *Bt* hiện là cây chuyển gen duy nhất được phê duyệt cho trồng trọt ở EU, song từ năm 2008, việc trồng ngô bị cấm ở Pháp (Hình 3) (French Senate, <http://www.senat.fr/leg/tas13-107.html>; FAS Paris, 2016).

Cũng như các quốc gia khác trong khối EU,

Pháp không sản xuất bất kỳ cây trồng biến đổi gen vì mục đích thương mại, tuy nhiên có nhập khẩu ngũ cốc biến đổi gen và các thành phần thức ăn cho ngành chăn nuôi. Tỷ trọng của các sản phẩm biến đổi gen trong tổng nhập khẩu ước tính trên 80%. Ngoài ra, Pháp cũng nhập khẩu hạt cải dầu biến đổi gen chủ yếu từ Canada và Australia (FAS Paris, 2016).

Trên động vật, các nghiên cứu trên động vật và nhân bản được áp dụng trong các lĩnh vực: (1) Nghiên cứu dịch bệnh: Các mô hình động vật của bệnh ở người được tạo ra bởi các kỹ thuật chỉnh sửa gen và công nghệ gen; (2) Sản xuất các mô hoặc cơ quan từ lợn biến đổi gen dùng trong cấy ghép dị chủng cho con người (xenotransplantation); (3) Sản xuất các protein dược phẩm (các yếu tố máu, kháng thể, vaccine) trong sữa động vật có vú hoặc lòng trắng trứng gà. Protein cũng có thể được sản xuất bởi các tế bào động vật trong phòng thí nghiệm; (3) Cải thiện chăn nuôi. Không có động vật biến đổi gen nào dùng trong thực phẩm được thương mại hóa ở Pháp. Đồng thời, động vật thí nghiệm đều phải được dán nhãn và truy xuất nguồn gốc và không được giải phóng ra môi trường (FAS Paris, 2016).



Hình 3. Diện tích canh tác thương mại ngô biến đổi gen *Bt* ở Pháp từ 1997 - 2016.

ĐỨC

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực y dược

Các quy định về nghiên cứu khoa học và văn bản quy phạm pháp luật về ứng dụng công nghệ gen trong đời sống ở Đức cũng tương tự như Anh và Pháp. Kỹ thuật NGS vẫn là xu hướng được sử dụng

trong các chẩn đoán bệnh di truyền và ung thư (Sahm *et al.*, 2016). Trong ung thư học phân tử, NGS có độ nhạy tăng lên rõ rệt so với phương pháp giải trình tự Sanger truyền thống và đang phát triển thành công cụ chẩn đoán chuẩn để phát hiện các đột biến soma trong các tế bào ung thư, với mức độ ảnh hưởng lớn đến việc điều trị cá nhân cho bệnh nhân (Grumbt *et al.*, 2013).

Gần đây, tại Đức, lĩnh vực nghiên cứu liên quan đến công nghệ chỉnh sửa gen đã đạt được một số kết quả nhất định. Vào tháng 2 năm 2015, các nhà khoa học Đức đã công bố chi tiết phương pháp để tăng hiệu quả việc sửa chữa theo hướng đồng nhất cảm ứng CRISPR/Cas9 nhằm chỉnh sửa gen chính xác trong tế bào động vật có vú (Chu *et al.*, 2015). Gần đây nhất, năm 2016, nhóm nghiên cứu Wefers đã ứng dụng TALENs để chỉnh sửa gen chuột. Kỹ thuật gen tạo ra chuột đột biến là công nghệ chỉnh trong nghiên cứu y sinh. Sử dụng TALENs như là một nucleases đứt gãy sợi đôi, hệ gen của chuột có thể trực tiếp biến đổi mà không cần các tế bào gốc phôi thai. Bằng cách vi tiêm vào phôi mRNAs TALENs và vector đích, việc knockout và knock-in các allele trở nên nhanh và hiệu quả (Wefers *et al.*, 2016). Tuy nhiên, hiện tại không có nghiên cứu nào ở Đức sử dụng các kỹ thuật chỉnh sửa gen trong phôi người. Tại Đức, kỹ thuật di truyền nói chung được quy định bởi Đạo luật Di truyền học của Đức, nhằm mục đích bảo vệ sự sống và sức khỏe của con người, môi trường, thực vật và động vật khỏi các tác động có hại do các thao tác di truyền. Việc sử dụng phôi cho nghiên cứu bị cấm ở Đức như đã quy định trong Đạo luật Bảo vệ phôi năm 1991 và sự phát triển của dòng tế bào gốc phôi được coi như một hành vi phạm tội hình sự.

Sự phát triển nhanh chóng của các kỹ thuật sinh học phân tử đã giúp rút ngắn thời gian chẩn đoán các vi sinh vật gây bệnh so với các kỹ thuật nuôi cấy thông thường. Trong đó, việc phát hiện nhanh các mầm bệnh trong máu từ các bệnh nhân nhiễm khuẩn rất cần thiết cho việc điều trị và tiên lượng bệnh nhân. Nhóm nghiên cứu của Klaschik (2002) đã phát triển kỹ thuật real-time PCR cho phép phát hiện DNA 16S của vi khuẩn từ các mẫu nước, nước tiểu, huyết tương, đờm. Kỹ thuật này cho phép phân loại 17 chủng vi khuẩn bằng các đầu dò lai huỳnh quang. Tất cả các vi khuẩn đã được kiểm tra đều được xác định chính xác. Năm 2008, kỹ thuật real-time PCR cũng được nhóm nghiên cứu của Gebert sử dụng để phát hiện DNA vi khuẩn và phân biệt đồng thời các vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Kết quả PCR dương tính thu được ở mẫu từ bình nuôi cấy máu 5 đến 8,7 giờ trước khi có tín hiệu dương tính từ hệ thống BACTEC. Nhóm tác giả xác định được vi sinh vật gây bệnh ở 11/18 mẫu, trung bình 10,7 giờ trước khi có tín hiệu dương tính ở môi trường nuôi cấy. Trong số 83 mẫu cho kết quả âm tính ở môi trường nuôi cấy, 6 mẫu cho kết quả PCR dương tính. Nhóm tác giả đã kết luận phân tích PCR kết hợp với việc chuẩn bị DNA bằng công cụ MolYsis cho phép phát

hiện nhanh các mầm bệnh trong các mẫu máu nuôi cấy. Đây là một kỹ thuật hiệu quả đối với kỹ thuật nuôi cấy máu ở những bệnh nhân có nghi ngờ nhiễm trùng hoặc có tình trạng lâm sàng nghiêm trọng.

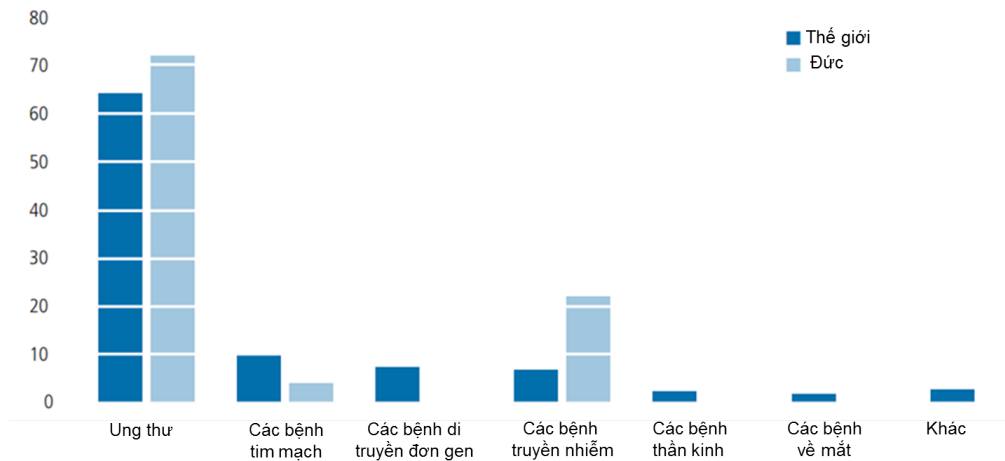
Việc đánh giá lượng DNA hoặc RNA của virus đã trở thành tiêu chuẩn để chăm sóc cho một số bệnh nhiễm virus mãn tính. Các kỹ thuật được sử dụng để định lượng virus bao gồm các hệ thống PCR cạnh tranh (competitive PCR system), ghép mạch chuỗi tín hiệu DNA (branched chain DNA signal amplification) hoặc real-time PCR. Các xét nghiệm được sử dụng để theo dõi sự thành công của liệu pháp kháng retrovirus cũng như phát hiện sự kháng virus, trong quá trình điều trị, dự đoán tiến triển của bệnh và cung cấp thông tin tiên lượng. Nhiều xét nghiệm thương mại đã được đưa vào chẩn đoán và có độ nhạy phát hiện cao. Năm 2005, xét nghiệm Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Ultrasensitive Test đã được công bố cho phép giảm giới hạn phát hiện virus xuống dưới 50 bản sao/mL (Berger *et al.*, 2005).

Tại Đức cũng như nhiều quốc gia khác trên thế giới, ung thư vú là loại ung thư thường gặp nhất và gây tử vong hàng đầu ở phụ nữ. Các nỗ lực để chẩn đoán sớm ung thư vú bằng các kỹ thuật sinh học phân tử cho phép tiên lượng tốt, từ đó lựa chọn được liệu pháp trị liệu phù hợp. Các tế bào khối u tuần hoàn (CTCs) là các tế bào tách rời khỏi khối u nguyên phát, lưu thông trong máu ngoại vi và được coi là gốc rễ của di căn xa. Năm 2013, Zebisch và đồng tác giả đã sử dụng real-time PCR trên các marker cytokeratin 8, 18, 19 để phát hiện CTCs. Kết quả cho thấy khi thêm 10 tế bào khối u vào các mẫu bệnh nhân ung thư vú, biểu hiện của cytokeratin trong tất cả các mẫu đều tăng lên. Trong dòng tế bào CAMA-1, khi số tế bào khối u được thêm vào càng nhiều, biểu hiện của cytokeratin càng tăng. Nghiên cứu này đã mở ra tiềm năng mới trong việc phát hiện các tế bào ung thư biểu mô tế bào vú có thể được phát hiện trong các mẫu máu (Zebisch *et al.*, 2012). Ngoài ra, nghiên cứu của nhóm tác giả Andergassen (2013) đã phát hiện mRNA đặc hiệu của tế bào khối u trong máu ngoại vi của bệnh nhân ung thư vú với một số marker (BCSP, CK8, Her2, MGL, CK18, CK19) sử dụng kỹ thuật real-time PCR. Các mẫu máu từ bệnh nhân di căn đã cho thấy mức độ cytokine tăng lên so với các mẫu máu bình thường. Sự kết hợp của nhiều marker như vậy làm tăng độ nhạy và độ đặc hiệu, đặc biệt ở những bệnh nhân di căn (Andergassen *et al.*, 2013). Gần đây, Andergassen đã sử dụng RT-qPCR trên các marker

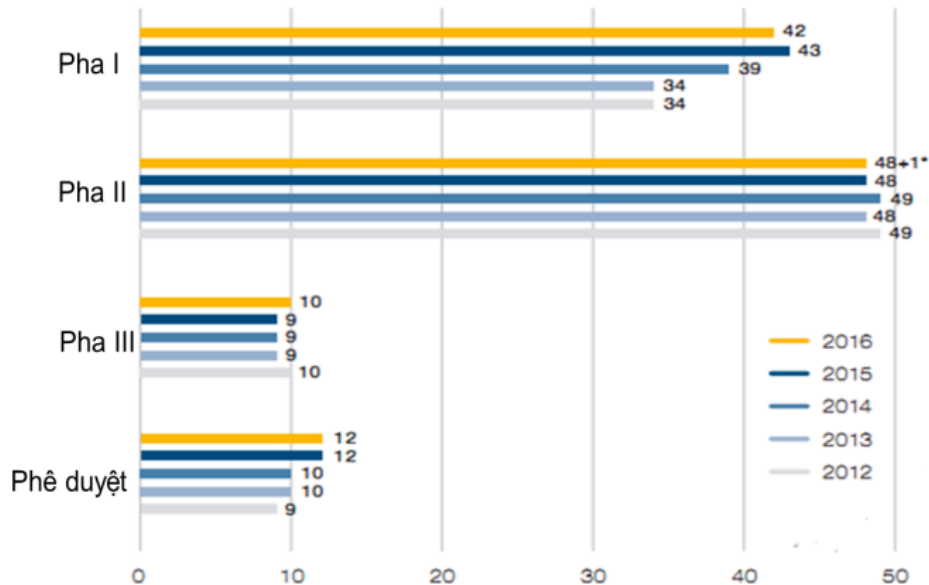
cytokeratin 8, 18, 19 để phát hiện CTCs (Andergassen *et al.*, 2016).

Ứng dụng của công nghệ gen vào lĩnh vực điều trị là liệu pháp gen, tập trung chủ yếu vào bệnh ung thư và các bệnh truyền nhiễm (Hình 4). Nghiên cứu về liệu pháp gen đang ngày càng được các nhà khoa học quan tâm (Gene therapy in Germany, 2008).

Tính đến năm 2016, tổng cộng có 57 công ty công nghệ sinh học tại Đức tập trung hoàn toàn vào lĩnh vực sản xuất thuốc và có ít nhất một sản phẩm đang trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng; phần lớn đang ở pha II (Hình 5). Chỉ có một số ít sản phẩm thuốc đang ở pha III hoặc đã được phê duyệt (Bảng 1) (The German Biotechnology Sector 2016).



Hình 4. Những chỉ định được thực hiện thử nghiệm lâm sàng bằng liệu pháp gen.



Hình 5. Các sản phẩm thuốc của các công ty công nghệ sinh học tại Đức từ 2012-2016.

Bảng 1. Một số sản phẩm thuốc đang thử nghiệm lâm sàng pha III tại Đức.

Công ty	Sản phẩm	Điều trị
AiCuris	Letermovir	Bệnh truyền nhiễm
Ascendis	ACP-001	Thiếu hụt hormone tăng trưởng
DermaTools Biotech	Dermapro	Làm lành vết thương
Formycon	FYB201	Thoái hóa điểm vàng
imnatics biotechnologies	IMA901	Ung thư tế bào thận
Lipid Therapeutics	LT-02	Viêm loét đại tràng
Mologen	MGN1730	Ung thư đại trực tràng di căn
Oncoscience	Theraloc	U cầu não
Paion	Remimazolam	Gây mê
Vasopharm	VAS-203	Chấn thương sọ não

Trong lĩnh vực phòng bệnh, Bavarian Nordic là một công ty công nghệ sinh học hoàn toàn tập trung vào việc phát triển, sản xuất và thương mại hóa các liệu pháp miễn dịch ung thư và vaccine cho các bệnh truyền nhiễm tại Đức. Công ty sử dụng nền tảng vaccine virus để tạo ra các liệu pháp miễn dịch đặc hiệu hướng đích, tiêu diệt các tế bào ung thư nhưng không ảnh hưởng tới các tế bào bình thường. Việc khai thác hệ thống miễn dịch để chống lại ung thư là một lĩnh vực nghiên cứu mới và đầy tiềm năng, làm giảm tốc độ tăng trưởng của khối u và kéo dài tuổi thọ. Sản phẩm đang được ưu tiên phát triển hàng đầu hiện nay là PROSTVAC® hướng tới điều trị ung thư tuyến tiền liệt không triệu chứng hoặc có biểu hiện ít triệu chứng (mCRPC). PROSTVAC® hiện đang trong giai đoạn thử nghiệm pha III với sự hợp tác của Viện Ung thư Quốc gia. Kết quả cho thấy PROSTVAC® có tiềm năng kết hợp với các liệu pháp khác và/hoặc trong giai đoạn đầu của bệnh. Điều trị miễn dịch PROSTVAC® nhằm kích thích phản ứng miễn dịch đặc hiệu và mục tiêu để chống lại các tế bào ung thư tuyến tiền liệt và mô bằng cách sử dụng liệu pháp miễn dịch dựa trên virus mang kháng nguyên PSA liên quan khối u (kháng nguyên tuyến tiền liệt) cùng với 3 phân tử costimulatory tăng cường miễn dịch của con người TRICOM (LFA-3, ICAM-1 và B7.1) (www.bavarian-nordic.com/).

Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ gen trong lĩnh vực nông nghiệp

Có rất nhiều nghiên cứu khoa học cơ bản về cây trồng biến đổi gen tại các trường đại học ở Đức; tuy

nhiên các thử nghiệm trên đồng ruộng bị giảm dần qua các năm. Năm 2007, diện tích canh tác cây trồng biến đổi gen là 70 hectare, nhưng đến năm 2015 không còn khảo nghiệm nào được tiến hành. Nhìn chung, Đức không sản xuất thương mại cây trồng nông nghiệp biến đổi gen. Một số công ty hạt giống của Đức như Bayer Crop Science, BASF và KWS phát triển các cây trồng biến đổi gen nhưng địa điểm sản xuất nằm ngoài châu Âu, cung cấp hạt giống cây trồng biến đổi gen cho nông dân trên thế giới. Điển hình KWS là nhà cung cấp hàng đầu củ cải đường biến đổi gen cho nông dân Mỹ (Agricultural Biotechnology Annual German, 2015).

Ngoài ra, tại Đức, chính sách "cùng tồn tại" giữa cây trồng biến đổi gen và cây trồng hữu cơ thông thường đang chống lại việc sử dụng cây trồng biến đổi gen. Chính phủ liên bang và chính quyền địa phương Đức đã đưa ra một loạt lệnh cấm trồng, khoảng cách cách ly và các yêu cầu khác. Cụ thể, khoảng cách giữa các cánh đồng trồng cây biến đổi gen và cây trồng thông thường tối thiểu là 150 mét, giữa các cánh đồng canh tác cây trồng biến đổi gen và cây trồng hữu cơ là 300 mét. Brandenburg là bang duy nhất của Đức quy định khoảng cách tối thiểu giữa cây trồng biến đổi gen và các khu bảo tồn thiên nhiên là 800 mét (Agricultural Biotechnology Annual German, 2015).

Đức áp dụng các quy định của EU về dán nhãn thực phẩm biến đổi gen (Quy định EC 1829/2003 và 1830/2003). Theo các quy định của EU, thực phẩm được yêu cầu dán nhãn nếu như thành phần có sử

dụng cây trồng biến đổi gen, không có yêu cầu dán nhãn đối với thịt hoặc các sản phẩm sữa từ động vật nuôi bằng thực phẩm biến đổi gen. Báo cáo thường niên cho biết không có thực phẩm nào dán nhãn “GMOs” được bày bán ở Đức (Agricultural Biotechnology Annual German, 2015).

Đức là quốc gia sản xuất gia súc lớn và phụ thuộc vào đậu tương biến đổi gen nhập khẩu làm thức ăn. Năm 2015, Đức đã nhập khẩu gần 7 triệu tấn đậu tương và bột đậu nành. Các nhà cung cấp chính cho Đức là Argentina, Brazil và Hoa Kỳ.

Đối với công nghệ gen áp dụng trên động vật, các nghiên cứu tại Đức được thực hiện chủ yếu ở Viện Friedrich Loeffler (FLI), thuộc Tổ chức Di truyền học động vật và các phòng thí nghiệm được thiết kế theo “hệ thống đóng”. Đức không nhập khẩu động vật biến đổi gen cho các mục đích nông nghiệp (Rehder, Mueth, 2016).

KẾT LUẬN

Nhìn chung, so với các nước đang phát triển, các nước trong khối EU có nhiều tiến bộ vượt trội trong lĩnh vực công nghệ gen; nhờ đó áp dụng vào đời sống, góp phần nâng cao chất lượng cuộc sống của con người. Tuy vẫn còn nhiều hạn chế trong các chính sách, quy định pháp luật khi áp dụng công nghệ gen ở một số đối tượng, ba quốc gia Anh, Pháp, Đức vẫn đạt được nhiều kết quả tích cực khi ứng dụng công nghệ gen vào các lĩnh vực y tế, nông - lâm nghiệp; khẳng định vai trò quan trọng của nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học nói chung và công nghệ gen nói riêng đối với sự phát triển kinh tế và xã hội.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài: "Đánh giá hiện trạng, năng lực và nhu cầu đổi mới công nghệ về nghiên cứu và ứng dụng công nghệ gen ở Việt Nam" (Mã số: ĐM.11.DA/15) thuộc chương trình Đổi mới công nghệ Quốc gia đến năm 2020, Bộ Khoa học và Công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Andergassen U, Zebisch M, Kölbl AC, König A, Heublein S, Schröder L, Hutter S, Friese K, Jeschke U (2016) Real-Time qPCR-based detection of circulating tumor cells from blood samples of adjuvant breast cancer patients: A preliminary study. *Breast Care* 11: 194-198.

Andergassen U, Hofmann S, Kölbl AC, Schindlbeck C, Neugebauer J, Hutter S, Engelstädter V, Ilmer M, Friese K, Jeschke U (2013) Detection of tumor cell-specific mRNA in the peripheral blood of patients with breast cancer-evaluation of several markers with real-time reverse transcription - PCR. *Int J Mol Sci* 14(1): 1093-1104.

Baffert S, Italiano A, Pierron G, Traoré MA, Rapp J, Escande F, Ghnassia JP, Terrier P, Voegeli AC, Ranchere-Vince D, Coindre JM, Pedeutour F (2013) Comparative cost analysis of molecular biology methods in the diagnosis of sarcomas. *Bull Cancer* 100(10): 963-971 [Article in French].

Beau-Faller M, Blons H, Domerg C, Gajda D, Richard N, Escande F, Solassol J, Denis MG, Cayre A, Nanni-Metellus I, Olschwang S, Lizard S, Piard F, Pretet JL, de Fraipont F, Bièche I, de Cremoux P, Rouquette I, Bringuier PP, Mosser J, Legrain M, Voegeli AC, Saulnier P, Morin F, Pignon JP, Zalcman G, Cadranel J (2014) A multicenter blinded study evaluating *EGFR* and *KRAS* mutation testing methods in the clinical non-small cell lung cancer setting - IFCT/ERMETIC2 Project Part 1: Comparison of testing methods in 20 French molecular genetic National Cancer Institute platforms. *J Mol Diagn* 16(1): 45-55.

Berger A, Scherzed L, Sturmer M, Preiser W, Doerr HW, Rabenau HF (2005) Comparative evaluation of the cobas amplicor HIV-1 monitor ultrasensitive test, the new cobas ampliprep/cobas amplicor HIV-1 monitor ultrasensitive test and the versant HIV RNA 3.0 assays for quantitation of HIV-1 RNA in plasma samples. *J Clin Virol* 33: 43-51.

Bonnefond A, Philippe J, Durand E, Muller J, Saeed S, Arslan M, Martínez R, De Graeve F, Dhennin V, Rabearivelo I, Polak M, Cavé H, Castaño L, Vaxillaire M, Mandel JL, Sand O, Froguel P (2014) Highly sensitive diagnosis of 43 monogenic forms of diabetes or obesity through one-step PCR-based enrichment in combination with next-generation sequencing. *Diabetes Care* 37(2): 460-467.

Cao XH, Wang W, Le TTH, Vu THG (2016) The power of CRISPR-Cas9-induced genome editing to speed up plant breeding. *Int J Genomics*, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5078796>.

Callaway E (2016) Embryo editing gets green light - UK decision sets precedent for research on editing genomes of human embryos. *Nature* 530: 18-19.

Chu VT, Weber T, Wefers B, Wurst W, Sander S, Rajewsky K, Kühn R (2015) Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells. *Nat Biotechnol* 33(5): 543-548.

Devulder G, Perouse de Montclos M, Flandrois JP (2005) A multigene approach to phylogenetic analysis using the

- genus *Mycobacterium* as a model. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 293-302.
- Fenollar F, Raoult D (2004) Molecular genetic methods for the diagnosis of fastidious microorganisms. *APMIS* 112: 785-807.
- Friel S, Dangour AD, Garnett T, Lock K, Chalabi Z, Roberts I, Butler A, Butler CD, Waage J, McMichael AJ, Haines A (2009) Public health benefits of strategies to reduce greenhouse-gas emissions: food and agriculture. *Lancet* 374(9706): 2016-2025.
- Gebert S, Siegel D, Wellinghausen N (2008) Rapid detection of pathogens in blood culture bottles by real-time PCR in conjunction with the pre-analytic tool MoLYsis. *J Infect Prev* 57(4): 307-316.
- Gouarin S, Vabret A, Dina J, Petitjean J, Brouard J, Cuvillon-Nimal D, Freymuth F (2008) Study of influenza C virus infection in France. *J Med Microbiol* 80: 1441-1446.
- Grumbt B, Eck SH, Hinrichsen T, Hirv K (2013) Diagnostic applications of next generation sequencing in immunogenetics and molecular oncology. *Transfus Med Hemother* 40: 196-206.
- Gueudin M, Leoz M, Lemée V, Oliveira FD, Aurélia Vessière A, Anfumbom Kfutwah A, Plantiera J-C (2011) A new real-time quantitative PCR for diagnosis and monitoring of HIV-1 group O infection. *J Clin Microbiol* 831-836.
- Hammond A, Galizi R, Kyrou K, Simoni A, Siniscalchi C, Katsanos D, Gribble M, Baker D, Marois E, Russell S, Burt A, Windbichler N, Crisanti A, Nolan T (2015) A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat Biotechnol* 34: 78-83.
- Jenkins C (2005) Rifampicin resistance in tuberculosis outbreak, London, England. *Emerg Infect Dis* 11: 931-934.
- Klaschik S, Lehmann LE, Raadts A, Book M, Hoefft A, and Stuber F (2002) Real-time PCR for detection and differentiation of gram-positive and gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol* 40(11): 4304-4307.
- Köser CU, Ellington MJ, Cartwright EJP, Gillespie SH, Brown NM, Farrington M, Holden MTG, Dougan G, Bentley SD, Parkhill J, Peacock SJ (2012) Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology. *PLoS Pathogens* 8(8): e1002824.
- Kumar SR, Markusic DM, Biswas M, High KA, Herzog RW (2016) Clinical development of gene therapy: results and lessons from recent successes. *Mol Ther Methods Clin Dev* 3: 16-34.
- Kharbanda M, Tolmie J, Joss S (2015) How to use microarray comparative genomic hybridisation to investigate developmental disorders archives of disease in childhood. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 100(1): 24-29.
- Lewis C, Hill M, Skirton H, Chitty LS (2012) Fetal sex determination using cell-free fetal DNA: service users' experiences of and preferences for service delivery. *Prenat Diagn* 32(8): 735-741.
- Lillico S G, Proudfoot C, King T J, Tan W, Zhang L, Mardjuki R, Paschon D E, Rebar E J, Urnov F D, Mileham A J, McLaren D G, Whitelaw C B A (2016) Mammalian interspecies substitution of immune modulatory alleles by genome editing. *Sci Rep* 6: 21645.
- Nowak F (2015) Implementation of nation-wide molecular testing in oncology in the French Health care system: quality assurance issues & challenges. https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/20151020-21-breast-cancer-standards-nowak_en.pdf.
- Pécuchet N, Rozenholc Y, Zonta E, Pietraz D, Didelot A, Combe P, Gibault L, Bachet JB, Taly V, Fabre E, Blons H, Laurent-Puig P (2016) Analysis of base-position error rate of next-generation sequencing to detect tumor mutations in circulating DNA. *Clin Chem* 62(11): 1492-1503.
- Ribeil JA, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, Magnani A, Semeraro M, Magrin E, Caccavelli L, Benedicte Neven, Bourget P, Nemer WE, Bartolucci P, Weber L, Puy H, Meritet JF, Grevent D, Beuzard Y, Chrétien S, Lefebvre T, Ross RW, Negre O, Veres G, Sandler L, Sandeep Soni, Montalembert M, Blanche S, Leboulch P, Cavazzana M (2017) Gene therapy in a patient with sickle cell disease. *N Engl J Med* 376(9): 848-855.
- Ruppert A-M, Cadranet J, Wislez M (2016) Screening for mutations in lung cancer in France: purpose of precision medicine. *Transl Cancer Res* 5(S1): S47-S49.
- Sahm F, Schrimpf D, Jones DT, Meyer J, Kratz A, Reuss D, Capper D, Koelsche C, Korshunov A, Wiestler B, Buchhalter I, Milde T, Selt F, Sturm D, Kool M, Hummel M, Bewerunge-Hudler M, Mawrin C, Schüller U, Jungk C, Wick A, Witt O, Platten M, Herold-Mende C, Unterberg A, Pfister SM, Wick W, von Deimling A (2016) Next-generation sequencing in routine brain tumor diagnostics enables an integrated diagnosis and identifies actionable targets. *Acta Neuropathol*. 131(6): 903-910.
- Salez N, Vabret A, Leruez-Ville M, Andreoletti L, Carrat F, Renois F (2015) Evaluation of four commercial multiplex molecular tests for the diagnosis of acute respiratory infections. *PLoS ONE* 10(6): e0130378.
- Schwank G, Koo BK, Sasselli V, Dekkers JF, Heo I, Demircan T, Sasaki N, Boymans S, Cuppen E, van der Ent CK, Nieuwenhuis EE, Beekman JM, Clevers H (2013) Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell* 13: 653-658.
- Staudt LM (2003) Molecular diagnosis of the hematologic cancers. *N Engl J Med* 348: 1777-1785.

Sterkersa Y, Varlet-Mariea E, Martyb P, Bastien P (2010) Diversity and evolution of methods and practices for the molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis in France: a 4-year survey. *Clin Microbiol Infect* 16(10): 1594-1602.

Wefers B, Brandl C, Ortiz O, Wurst W, Kühn R (2016) Genome editing in mice using TALE nucleases. *Methods Mol Biol* 1338: 229-243.

Wright C, Wei Y, Higgins J, Sagoo G (2012) Non-invasive prenatal diagnostic test accuracy for fetal sex using cell-free DNA a review and analysis. *BMC Res Notes* 5: 476.

Zebisch M, Kölbl AC, Schindlbeck C, Neugebauer J, Heublein S, Ilmer M, Rack B, Friese K, Jeschke U, Andergassen U (2012) Quantification of breast cancer cells in peripheral blood samples by real-time RT-PCR. *Anticancer Res* 32: 5387-5392.

Zebisch M, Kölbl AC, Andergassen U, Hutter S, Neugebauer J, Engelstädter V, Günthner-Biller M, Jeschke U, Friese K, Rack B (2013) Detection of circulating tumour cells on mRNA levels with established breast cancer cell lines. *Biomed Rep* 1(2): 231-234.

CURRENT APPLICATIONS OF GENE TECHNOLOGY TO MEDICINE AND AGRICULTURE IN SELECTED EUROPEAN COUNTRIES (UK, FRANCE, GERMANY)

Le Thi Thu Hien^{1,2}, Le Thi Thu Ha¹, Pham Le Bich Hang¹, Nguyen Hai Ha^{1,2}

¹*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

SUMMARY

In European countries, particularly in the United Kingdom, France, and Germany, grants for biotechnology, especially in gene technology, are growing rapidly each year, and boosting the development of industries. In the field of medicine and health care, these countries focus on the diagnosis of genetic diseases, cancers, transmission diseases by polymerase chain reaction - related techniques, and next generation sequencing technologies (NGS); implementing clinical trials for the treatment of cancers and single-gene genetics by gene therapy; improving the prevention by using recombinant vaccines. Advanced genetic engineering shortens diagnostic time and improves accuracy compared to conventional diagnostic methods and offers new hope to patients with serious diseases, limiting the spread of communicable diseases, thereby improving the quality of health care in the future. In the area of agriculture, the typical application of modern biotechnology is the development of genetically modified organisms including plants and animals with desired characteristics. In these countries, however, the cultivation of genetically modified plants or the importation of genetically modified food and feed is restricted by strict government regulations on biosafety. But overall, in comparison with other countries in the region and in the world, the United Kingdom, France, and Germany have advanced genetic engineering with a number of research projects that benefit people in various fields, improving the quality of life.

Keywords: *Biotechnology, gene technology, PCR, next generation sequencing, genetically modified plants*