

PHUSABiochem:

NGHIÊN CỨU, SẢN XUẤT OLIGO “MADE IN VIETNAM”

Ngô Quốc Nam

Giám đốc Công ty TNHH MTV sinh hóa Phù Sa

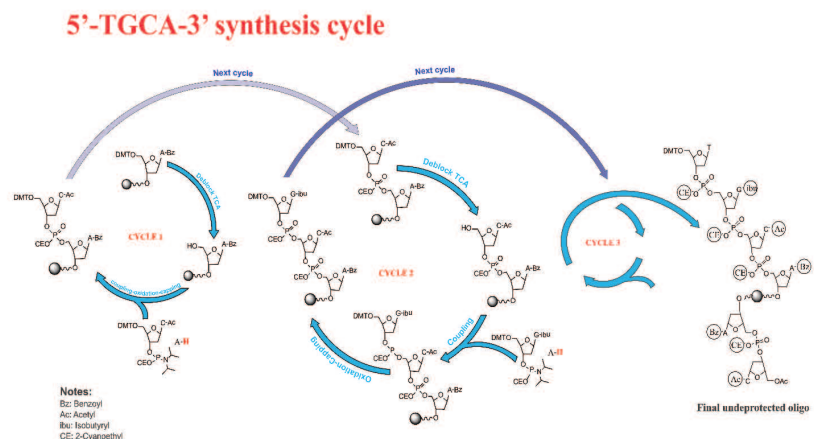
Từ năm 2014, Công ty TNHH MTV sinh hóa Phù Sa (PHUSABiochem) đã nghiên cứu tổng hợp thành công và chính thức thương mại hóa những Oligo “Made in Vietnam” đầu tiên, thiết thực đóng góp cho sự phát triển lĩnh vực sinh học phân tử ở trong nước. Bài viết giới thiệu một số kết quả đạt được của PHUSABiochem và những nỗ lực của doanh nghiệp để hướng tới mục tiêu “tự chủ về công nghệ” trong lĩnh vực của mình.

Oligo và tầm quan trọng trong lĩnh vực sinh học phân tử

Oligo hay Oligonucleotid là một sợi DNA/RNA ngắn, được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực sinh học phân tử, đặc biệt là các nghiên cứu về gen, như trong tổng hợp gen, PCR (phản ứng khuếch đại đoạn DNA), giải trình tự DNA, xây dựng thư viện DNA hay ứng dụng có liên quan đến các khảo sát RNA và biểu hiện gen...

Ngày nay Oligo được tổng hợp khá phổ biến trong phòng thí nghiệm bằng phương pháp hóa học trên pha rắn. Trong đó quy trình tổng hợp sẽ tiến hành theo chiều từ 3' đến 5', đầu 3'-hydroxyl nucleoside đầu tiên sẽ được gắn với CPG (controlled - pore glass), còn đầu 5'-hydroxyl của nucleoside được bao phủ bởi dimethoxytrityl (DMT) nhằm ngăn sự thành lập chuỗi nucleotide. Để thêm vào 1 nucleotide thì phải loại bỏ DMT bằng phương pháp hóa học, và 1 nucleotide được thêm vào. Đầu 5'-hydroxyl của nucleotide mới bị khóa lại bởi DMT nhằm ngăn chặn sự gắn thêm vào 1 hay nhiều nucleotide trên 1 chuỗi. Sau đó, chu trình được lặp lại đối với mỗi nucleotide đến khi có được chuỗi Oligo có chiều dài như mong muốn. Đây chỉ là mô tả đơn giản, còn quy trình thực tế thì khá phức tạp.

Đồng hành với kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction), công nghệ Oligo đã và đang trở thành yếu tố quan trọng, tạo nên bước đột phá trong lĩnh



Quy trình tổng hợp Oligo pha rắn

vực sinh học phân tử thập niên vừa qua. Từ năm 2014 trở về trước, việc tổng hợp Oligo ở Việt Nam chưa được thực hiện, gây ảnh hưởng không nhỏ đến thời gian (phải chờ đợi) cũng như vấn đề tài chính của các đơn vị khi phải đặt mua Oligo từ các nhà cung cấp ở nước ngoài.

Nghiên cứu, sản xuất Oligo “Made in VietNam”

PHUSABiochem được thành lập năm 2008, hoạt động trong lĩnh vực sinh học phân tử với 4 chuyên ngành chính: hóa DNA; tổng hợp Oligo; sinh học; kỹ thuật và tự động hóa. Ban đầu, PHUSABiochem hoạt động tại Việt Nam như một công ty gia công cho Công ty CTGen (San Jose, California, Mỹ), để sản xuất các chất nền dùng cho tổng hợp Oligo pha rắn. Năm 2014 là cột mốc

đánh dấu sự phát triển mạnh mẽ của PHUSABiochem khi chính thức được quyền sử dụng và khai thác các bằng sáng chế (Universal Linker - Catechol số US 6.590.092; EZ Frit, DNA/RNA Solid Synthesis Supports số US 7.691.316; Activa Frits - Activator - Bound Supports số US 7.579.459; MLC Purification Multi Layer - Chromatography Purification số US 7.781.573) về công nghệ tổng hợp, tinh sạch Oligo trên chất mang từ Công ty CTGen để sản xuất và cung cấp cho các công ty hàng đầu như: Sigma (Mỹ), EUROGENTEC (châu Âu), Genscript (Trung Quốc). Cái tên Phù Sa của công ty đặt trụ sở tại Khu công nghiệp Bình Minh ven bờ sông Hậu, để khiến chúng ta hình dung về một công ty nông nghiệp bình thường, nhưng đó chính là nơi nghiên cứu, sản xuất và

thương mại hóa những Oligo "Made in Vietnam" đầu tiên (năm 2014). Để đạt được kết quả này, các nhà khoa học thuộc PHUSABiochem đã phải trải qua một quá trình gần 6 năm không ngừng nỗ lực, từ xây dựng hệ thống nhà xưởng, phòng thí nghiệm, thiết bị (máy tổng hợp Oligo, HPLC, hệ thống máy PCR và qPCR...) hiện đại theo tiêu chuẩn Mỹ, đến nghiên cứu, chế tạo các chất nền; và tiếp thu, cải tiến các quy trình công nghệ về Oligo cho phù hợp với điều kiện, hoàn cảnh ở Việt Nam.

Hiện nay, PHUSABiochem đã có thể tự chế tạo một số chất mang rắn làm nguyên liệu sản xuất Oligo, như: UL1 cho Oligo thường (Standard Oligo); TAMRA cho modified Oligo (Taqman Oligo); hóa chất Fluorescein Amidite (Taqman Oligo); chất mang rắn cho tổng hợp RNA và Long Oligo (200 mer); chất mang cho tổng hợp pmol scale synthesis; dinucleoside amidite giúp đẩy nhanh quá trình tổng hợp Oligo. Đồng thời, phát triển thành công một số công nghệ nền đặc thù, giúp giảm thiểu hóa chất đầu vào, đơn giản hóa quy trình tổng hợp và tinh sạch, góp phần nâng cao chất lượng và giảm giá thành sản phẩm. Đây là 2 bước chuẩn bị quan trọng cho quá trình tổng hợp Oligo.

Về quy trình công nghệ, để cho ra đời một Oligo tại PHUSABiochem, phải tuân thủ chặt chẽ 6 bước như sau:

1- Nhập dữ liệu Oligo vào máy (Oligo cần phải được nhập theo chiều 5' tới 3').

2- Quy trình tổng hợp trên cột (quy trình này bắt đầu từ 3' và kết thúc ở 5'). Với hiệu suất tổng hợp 99% cho mỗi chu kỳ, khi tổng hợp xong một cột Oligo 25 mer thì % Oligo tốt sẽ là 79%, nghĩa là cứ 100 Oligo sẽ có 79 Oligo 25 mer và 21 Oligo ngắn hơn 25 mer, một Oligo 25 mer sẽ mất 2 h để tổng hợp.

3- Quy trình hậu tổng hợp, ở bước này Oligo cần phải được tách khỏi chất mang và loại trừ các nhóm bảo vệ kèm theo bằng dung môi base như NH_4OH ở 75°C trong 2 h.

4- Quy trình tinh sạch, tùy theo mức độ yêu cầu sẽ sử dụng 1 trong 3 quy trình tinh sạch sau: Clean-Up, với quy trình này các nhóm bảo vệ được loại

trừ và một số các Oligo ngắn (khoảng 90% là Oligo cần tổng hợp, 10% còn lại là Oligo ngắn); tinh sạch bằng cột pha đảo (Reverse phase purification), quy trình này loại trừ được các nhóm bảo vệ và hầu hết các Oligo ngắn (khoảng 95-98% là Oligo cần tổng hợp, 5-2% còn lại là Oligo ngắn); tinh sạch bằng công nghệ MLC cho các Oligo với độ dài từ 80 mer trở lên (80-130 mer), có độ tinh sạch khoảng từ 75-90%, các nhóm bảo vệ đã được loại bỏ hết, chỉ còn 10-25% Oligo ngắn (tùy vào độ dài của Oligo cần tổng hợp sẽ có được sản phẩm với độ tinh sạch khác nhau, Oligo càng dài thì độ tinh sạch sẽ càng thấp).

5- Đo nồng độ Oligo bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ ở bước sóng 260 nm (OD 260 nm - Optical Density 260 nm).

6- QC (Quality Control) Oligo bằng phương pháp sắc ký lỏng hoặc khối phổ.

Trước đây, khách hàng thường lựa chọn dạng Oligo khử muối (Desalted Oligo) để phục vụ nghiên cứu của mình vì có giá thành thấp. Tuy nhiên, Oligo này mới chỉ được loại bỏ một số tạp chất hữu cơ (muối), vẫn còn tồn tại những đoạn Oligo ngắn trong dung dịch, nên hiệu quả sử dụng không cao. Để giải quyết vấn đề này, PHUSABiochem đã xây dựng công nghệ tinh sạch của riêng mình (Clean-Up technology), tạo ra các dòng sản phẩm Premium Oligo với độ tinh sạch cao hơn mà vẫn đảm bảo giá thành phù hợp cho nghiên cứu và ứng dụng. Ngoài những dòng Oligo thông thường (Standard Oligo: Premium Oligo, Pure Oligo, High OD Oligo...), PHUSABiochem cũng đã nghiên cứu thành công các công nghệ Oligo trên bead như PCR - Bead dùng trong PCR, GSO - Bead cho tổng hợp gen hay Modified Oligo phục vụ các nghiên cứu đặc biệt, làm đoạn dò... Nhờ quy trình đã được tối ưu hóa, nên thời gian tổng hợp và bàn giao một Oligo ở PHUSABiochem chỉ từ 24-48 h kể từ khi nhận đơn đặt hàng, giúp giải quyết đáng kể vấn đề thời gian cho các nhà khoa học; với chất lượng tương đương hoặc cao hơn, nhưng các Oligo này có giá rẻ hơn so với sản phẩm nhập ngoại, góp phần giảm giá thành nghiên cứu và ứng dụng trong chẩn đoán, phát hiện bệnh,



Sản phẩm Oligo "Made in VietNam" của PHUSABiochem

mở ra tiềm năng giúp người có thu nhập thấp cũng có thể khám chữa bệnh bằng công nghệ tiên tiến.

Ngoài các công nghệ về tổng hợp Oligo, PHUSABiochem còn phát triển được các dòng thiết bị cơ bản dùng trong lĩnh vực sinh học phân tử. Cụ thể, Công ty đã cho ra đời các máy PCR, bộ điện di tích hợp, PCR-Analyzer (thiết bị phân tích sản phẩm PCR). Nếu được đầu tư sản xuất đại trà, các sản phẩm này sẽ góp phần giải quyết hiệu quả những khó khăn về giá (so với sản phẩm nhập ngoại), giúp các nhà khoa học trong lĩnh vực sinh học phân tử nói chung, công tác đào tạo, thí nghiệm/thực nghiệm tại các trường đại học/viện nghiên cứu nói riêng có cơ hội tiếp cận rộng rãi hơn.

Trong thời gian tới, với định hướng "tự chủ về công nghệ" trong lĩnh vực của mình, PHUSABiochem sẽ tăng cường hợp tác với các đơn vị đầu ngành (Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ, Trường Đại học Bách khoa thành phố Hồ Chí Minh...) để mở rộng sản xuất những dòng sản phẩm và dịch vụ trong lĩnh vực sinh học tổng hợp như: hóa chất, vật tư tiêu hao, dịch vụ tổng hợp gen, giải trình tự gen và tạo dòng; đặc biệt là phải sớm hoàn thành mục tiêu tự nghiên cứu, chế tạo các máy móc, thiết bị hiện đại và hóa chất dùng trong PCR. Như vậy, nhiệm vụ đặt ra cho PHUSABiochem là rất lớn, ngoài việc phát huy nội lực của doanh nghiệp, rất cần sự quan tâm của Nhà nước thông qua các chính sách hỗ trợ để PHUSABiochem đẩy mạnh nghiên cứu, ứng dụng về sinh học phân tử, góp phần phục vụ hiệu quả hơn cho các phòng thí nghiệm/xét nghiệm tại các trường đại học/viện nghiên cứu/bệnh viện trên cả nước.