

MÀNG LỌC COMPOSITE DỰA TRÊN AMYLOID

Xử lý nước thải ở quy mô công nghiệp, nhất là những nguồn nước thải chứa ion kim loại nặng luôn là thách thức đối với các nhà khoa học. Nhiều phương pháp xử lý đã được đề nghị nhưng mỗi phương pháp đều có những hạn chế riêng, đặc biệt chúng thường tỏ ra không hiệu quả đối với nước thải chứa đồng thời nhiều ion kim loại nặng khác nhau. Lấy ý tưởng từ khả năng kết dính cao của amyloid (một loại protein có nguồn gốc rết tiền) với các ion kim loại, hai nhà khoa học Sreenath Bolisetty và Raffaele Mezzenga thuộc Khoa Công nghệ và khoa học sức khỏe (Đại học Zurich, Thụy Sĩ) đã phát triển một loại màng lọc composite mới dựa trên sự kết hợp giữa các sợi amyloid và than hoạt tính. Loại màng lọc này không chỉ có khả năng loại bỏ hiệu quả đồng thời nhiều ion kim loại nặng trong nước thải mà còn có thể tái sử dụng lại nhiều lần với hiệu suất xử lý giảm không đáng kể.

Các phương pháp xử lý kim loại nặng trong nước

Ô nhiễm nước đang là vấn nạn môi trường toàn cầu, ảnh hưởng đến hàng triệu người trên thế giới và là nhân tố chính gây nên các vấn đề về sức khỏe, dịch bệnh [1, 2]. Ô nhiễm nguồn nước còn ảnh hưởng đến cây trồng và sinh vật sống trong ao hồ, sông suối, đại dương cũng như các mạch nước ngầm [3]. Những nguồn nước ô nhiễm này thường chứa nhiều chất độc như kim loại nặng, chất thải hữu cơ... xuất phát từ nhiều ngành công nghiệp khác nhau, được thải trực tiếp vào nguồn nước mà không thông qua các biện pháp xử lý hiệu quả [4].

Một loạt các phương pháp loại bỏ ion kim loại nặng trong nước đã được đề nghị và ứng dụng, tất cả chúng đều có những ưu điểm và nhược điểm riêng [5]. Kết tủa hóa học là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất nhờ vào tính hiệu quả (ở điều kiện lý tưởng có thể loại bỏ 99% kim loại nặng [6]). Tuy nhiên, kỹ thuật này thường tạo ra các sản phẩm phụ dưới dạng bùn thải, vốn là nguồn ô nhiễm thứ cấp. Hơn nữa, chi phí cao cũng như chỉ có thể áp dụng để xử lý những nguồn nước thải với hàm lượng kim loại nặng cao là những hạn chế chính của phương pháp kết tủa hóa học [5]. Một phương pháp khác cho phép loại bỏ kim loại nặng và các chất ô nhiễm khác là sử dụng chất hấp phụ hay nhựa trao đổi ion [7]. Tuy nhiên, kỹ thuật này có giá thành cao,

đồng thời chỉ phù hợp xử lý lượng nước thải nhỏ. Khả năng xử lý kim loại nặng cũng chỉ đạt 60-90%, và còn giảm dần theo thời gian xử lý. Hơn nữa, các hệ thống nhựa trao đổi ion khi bão hòa cần phải được chuyển hóa bằng các phản ứng trao đổi hóa học, vốn có thể sinh ra những nguồn ô nhiễm thứ cấp khác [8, 9].

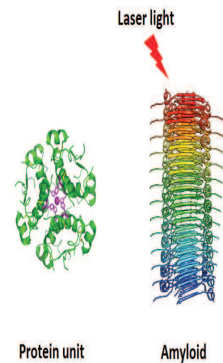
Gần đây, xử lý nước với màng lọc đang được xem là kỹ thuật có thể thay thế hiệu quả cho các phương pháp trên vì có thể hoạt động liên tục [10]. Phương pháp này có nhiều biến thể, bao gồm màng lọc thẩm thấu ngược [11], màng lọc tăng cường với polymer [12] hay màng lọc nano [13], với hiệu suất xử lý có thể đạt 99% ở điều kiện thực nghiệm và pH lý tưởng. Mặc dù vậy, các kỹ thuật này có chi phí vận hành cao, màng hay bị tắc nghẽn, đồng thời tốc độ dòng nước thải đi vào cũng bị hạn chế. Những nguyên nhân này khiến cho màng lọc ít khi được sử dụng để xử lý nước thải ở quy mô công nghiệp.

Đặc biệt, tất cả các phương pháp trên đều có 1 nhược điểm lớn: tính đặc hiệu trong việc loại bỏ ion kim loại nặng. Nói cách khác, mặc dù chúng có thể xử lý rất tốt một ion kim loại nặng nào đó, nhưng lại tỏ ra kém hiệu quả đối với các ion kim loại nặng khác, khiến cho việc ứng dụng chúng vào thực tế bị giới hạn rất nhiều. Chẳng hạn, sử dụng màng lọc nano cho phép loại bỏ 98% ion nickel, nhưng khi

có mặt ion cadmi, khả năng loại bỏ đồng thời 2 ion chỉ còn 83% [14]. Mặt khác, hiệu suất xử lý của các phương pháp thường bị giảm rất nhanh nếu không được sử dụng trong các điều kiện thực nghiệm và pH lý tưởng.

Ứng dụng amyloid trong xử lý nước

Trong một hướng nghiên cứu khác, người ta nhận ra các sợi amyloid, một nhóm protein dạng sợi với khoảng 18 vòng cuộn (hình 1), có khả năng tạo liên kết bền vững với các ion kim loại để hình thành nên những sợi tơ nhỏ xuất hiện trong các chứng bệnh thoái hóa thần kinh. Cụ thể, Rufo và cộng sự đã phát hiện khả năng liên kết tốt giữa amyloid và ion kẽm, vốn có thể xúc tác cho quá trình tạo thành các sợi dạng tơ [15]. Vì vậy, một ý tưởng mới đang được các nhà khoa học chú ý là ứng dụng amyloid để loại bỏ ion kim loại nặng trong nước. Trong một nghiên cứu gần đây, hai nhà khoa học Sreenath Bolisetty và Raffaele Mezzenga thuộc Khoa Công nghệ và khoa học sức khỏe (Đại học Zurich, Thụy Sĩ) đã phát triển một loại màng mỏng composite mới, kết hợp giữa sợi amyloid xuất phát từ β -lactoglobulin với than hoạt tính nhằm mục tiêu xử lý các ion kim loại nặng trong nước [16].



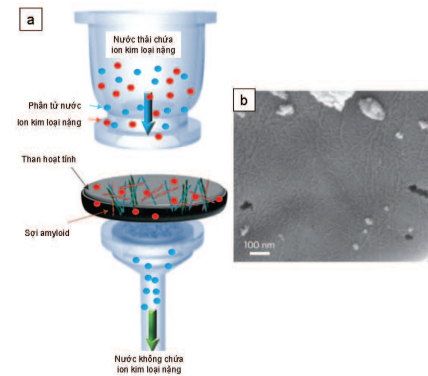
Hình 1: cấu trúc của protein amyloid

Để tổng hợp màng lọc lai ghép với 2% protein amyloid, đầu tiên, 5 ml dung dịch chứa than hoạt tính (10% khối lượng) được trộn với 0,5 ml dung dịch chứa β -lactoglobulin (nồng độ 2%) ở pH 2. Sau

đó, dung dịch sản phẩm tạo thành được lọc trong chân không với giấy lọc cellulose (đường kính lỗ xốp khoảng 0,22 μm). Tính bám dính cực cao và độ cứng của các sợi protein cho phép các sợi amyloid được phân bố một cách đồng thể trong than hoạt tính. Than hoạt tính vốn được biết đến rộng rãi như một môi trường chiết tách hữu hiệu, có khả năng hấp phụ các tiểu phân tử và ion kim loại nặng nhờ diện tích bề mặt riêng lớn. Trong khi đó, β -lactoglobulin là một protein có trong sữa, có thể chuyển hóa dễ dàng thành sợi amyloid với những tính chất cơ lý bền vững. Chính vì vậy, ý tưởng kết hợp hai vật liệu này được mong chờ sẽ đem lại khả năng xử lý mạnh mẽ và không chọn lọc đối với nhiều ion kim loại nặng khác nhau.

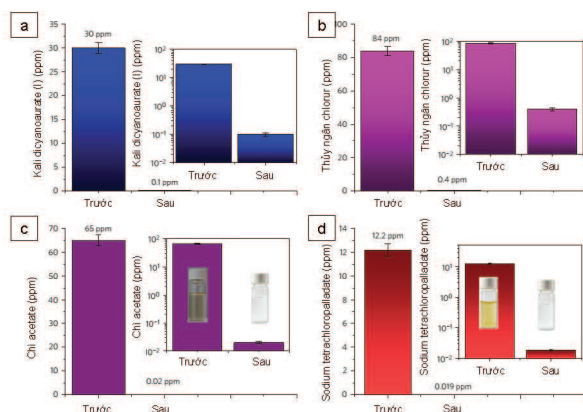
Khả năng xử lý ion kim loại nặng của màng lọc composite

Hình 2a trình bày sơ đồ quy trình hấp phụ ion kim loại nặng trên màng lọc composite tổng hợp trong nghiên cứu của Sreenath Bolisetty và Raffaele Mezzenga. Quá trình lọc - hấp phụ này dựa trên nguyên lý đơn giản: khi dung dịch chứa các kim loại nặng đi qua màng lọc, nhờ vào khả năng kết dính tốt với ion kim loại, các sợi amyloid sẽ giữ lấy ion kim loại nặng và cho nước sạch đi qua. Màng lọc cũng là sự kết hợp đơn giản giữa lớp phim than hoạt tính với các sợi amyloid phân bố một cách đồng nhất, được thể hiện rõ trên ảnh kính hiển vi điện tử quét có độ phân giải cao (hình 2b).



Hình 2: (a) Sơ đồ lọc bằng màng lọc composite dựa trên amyloid, (b) Ảnh kính hiển vi điện tử quét của màng lọc composite than hoạt tính - amyloid

Để kiểm chứng khả năng xử lý nhiều ion kim loại nặng khác nhau, vốn phổ biến trong môi trường nước thải, màng lọc được thử nghiệm lần lượt với 4 hợp chất sau: $\text{KAu}(\text{CN})_2$, HgCl_2 , $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_4$ và Na_2PdCl_4 . Khoảng nồng độ của các chất này được lựa chọn sao cho tương ứng với nồng độ của chúng trong nước thải thực tế. Sau khi xử lý, hàm lượng ion kim loại được khảo sát bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử. Hình 3 thể hiện sự thay đổi nồng độ của các ion kim loại này trước và sau khi lọc. Có thể thấy, cả 4 ion kim loại nặng đều được xử lý rất tốt với màng lọc composite dựa trên amyloid, đạt hiệu suất xử lý trên 99,9%. Ngoài ra, khi phải xử lý đồng thời 4 ion trên cùng tồn tại trong một dung dịch nước, màng lọc composite vẫn cho thấy khả năng xử lý rất hữu hiệu, với hiệu suất xử lý dao động trong khoảng từ 99,54-99,92%.



Hình 3: biến thiên nồng độ của các dung dịch
(a) $\text{KAu}(\text{CN})_2$, (b) HgCl_2 , (c) $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_4$
và (d) Na_2PdCl_4 trước và sau khi lọc bằng màng lọc composite
dựa trên amyloid

Những kết quả này chứng tỏ màng lọc composite dựa trên amyloid rất có tiềm năng trong việc xử lý nước thải chứa kim loại nặng. Kỹ thuật này vừa có tính linh động cao, vừa có khoảng pH hoạt động rộng, đồng thời có chi phí thấp vì chỉ dựa trên tiền chất protein giá rẻ. Ngoài ra, màng lọc này có thể tái sử dụng nhiều lần mà không giảm đáng kể hiệu suất xử lý, hứa hẹn rất phù hợp cho những nhu cầu xử lý nước thải ở quy mô công nghiệp trong tương lai gần.

LTK (tổng hợp)

Tài liệu tham khảo

- [1] M.A Montgomery, M Elimelech (2007), "Water and sanitation in developing countries: including health in the equation", *Environ Sci Technol*, **41**, pp.17-24.
- [2] M.A Shannon (2008), "Science and technology for water purification in the coming decades", *Nature*, **452**, pp.301-310.
- [3] E.C Peters, N.J Gassman, J.C Firman, R.H Richmond, E.A Power (1997), "Ecotoxicology of tropical marine ecosystems", *Environ Toxicol Chem*, **16**, pp.12-40.
- [4] R.P Schwarzenbach (2006), "The challenge of micropollutants in aquatic systems", *Science*, **313**, pp.1072-1077.
- [5] F Fu, Q Wang (2011), "Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review", *J Environ Manage*, **92**, pp.407-418.
- [6] P Ghosh, A.N Samanta, S Ray (2011), "Reduction of COD and removal of Zn^{2+} from rayon industry wastewater by combined electro-Fenton treatment and chemical precipitation", *Desalination*, **266**, pp.213-217.
- [7] T.A Kurniawan, G.Y.S Chan, W.H Lo, S Babel (2006), "Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals", *Chem Eng J*, **118**, pp.83-98.
- [8] V.J Inglezakis, M.A Stylianou, D Gkantou, M.D Loizidou (2007), "Removal of Pb (II) from aqueous solutions by using clinoptilolite and bentonite as adsorbents", *Desalination*, **210**, pp.248-256.
- [9] M.E Argun (2008), "Use of clinoptilolite for the removal of nickel ions from water: kinetics and thermodynamics", *J Hazard Mater*, **150**, pp.587-595.
- [10] P Vandezande, L.E.M Gevers, I.F.J Vankelecom (2008), "Solvent resistant nanofiltration: separating on a molecular level", *Chem Soc Rev*, **37**, pp.365-405.
- [11] L Zhang, Y Wu, X Qu, Z Li, J Ni (2009), "Mechanism of combination membrane and electro-winning process on treatment and remediation of Cu^{2+} polluted water body", *J Environ Sci*, **21**, pp.764-769.
- [12] E.D Jellouli, L Gzara, M Ramzi Ben Romdhane, M Dhahbi (2009), "Cadmium removal from aqueous solutions by polyelectrolyte enhanced ultrafiltration", *Desalination*, **246**, pp.363-369.
- [13] Z.V.P Murthy, L.B Chaudhari (2008), "Application of nanofiltration for the rejection of nickel ions from aqueous solutions and estimation of membrane transport parameters", *J Hazard Mater*, **160**, pp.70-77.
- [14] Z.V.P Murthy, L.B Chaudhari (2009), "Separation of binary heavy metals from aqueous solutions by nanofiltration and characterization of the membrane using Spiegler-Kedem model", *Chem Eng J*, **150**, pp.181-187.
- [15] C.M Rufo (2014), "Short peptides self-assemble to produce catalytic amyloids", *Nature Chem*, **6**, pp.303-309.
- [16] S Bolisetty, R Mezzenga (2016), "Amyloid-carbon hybrid membranes for universal water purification", *Nat Nanotech*, pp.1-8.

CHỈNH SỬA GEN SỬ DỤNG CÔNG NGHỆ NUCLEOFECTOR™

Trước đây việc chỉnh sửa gen được thực hiện bằng tích hợp ngẫu nhiên plasmid, transposon, virus hoặc thông qua tái tổ hợp tương đồng. Các phương pháp sau này nhằm tích hợp vào vị trí đặc hiệu, nhưng rất tốn thời gian và không hiệu quả. Với sự ra đời của các công cụ chỉnh sửa gen, việc chỉnh sửa một cách ổn định tại vị trí đặc hiệu giờ đây có thể được thực hiện dễ dàng. Bài viết giới thiệu một số nội dung cơ bản của các phương pháp chỉnh sửa gen (genome editing), hiệu quả sử dụng ZFN, TALEN, CRISPR/Cas9 kết hợp với công nghệ Nucleofector™ đã được đăng tải trên Tạp chí Resource Note số tháng 3.2016.

Hệ thống chỉnh sửa gen ZFN và TALEN

Hệ thống chỉnh sửa gen ZFN là thể hệ đầu tiên sử dụng protein khảm gồm vùng gắn ADN đặc hiệu cao ZF và vùng chức năng gắn với enzym cắt giới hạn FokI. Hệ thống ZFN được áp dụng thành công trong việc chỉnh sửa hệ gen thực vật, cá ngựa vằn, chuột và các dòng tế bào người. Đặc biệt là thành công trong việc điều trị cho hơn 70 bệnh nhân nhiễm HIV và kết quả khả quan trong điều trị bệnh hồng cầu hình liềm.

TALEN là thể hệ thứ hai linh hoạt hơn, chi phí thấp hơn, nhanh hơn và tốt hơn ZFN. TALEN gồm protein gắn ADN đặc hiệu TALEN và vùng chức năng để gắn với enzym cắt giới hạn FokI. Hệ thống chỉnh sửa gen TALEN đã được áp dụng thành công để sửa đổi gen thực vật, côn trùng, giun tròn, cá, lưỡng cư, chuột, thỏ, tế bào ung thư người và tế bào gốc đa tiềm năng cảm ứng. Thành quả to lớn mới đây của TALEN đạt được khi áp dụng thành công trên bệnh nhân ung thư máu đầu tiên. Bằng cách chỉnh sửa tế bào T của người cho trước khi truyền vào bệnh nhân nhằm ngăn chặn khả năng tế bào T này tấn công bệnh nhân.

Hai hệ thống chỉnh sửa gen ZFN và TALEN có tiềm năng to lớn nhưng bên cạnh đó cũng có những hạn chế nhất định như: việc nhận diện trình tự đặc hiệu chịu trách nhiệm bởi vùng protein gắn ADN thông qua tương tác protein - ADN. Tương tác này không đặc hiệu hoàn toàn, hơn nữa khó dự đoán trước

độ đặc hiệu mà cần phải kiểm tra và tối ưu hóa qua thực nghiệm; việc thiết kế ZFN và TALEN khó khăn do tính phức tạp trong thiết kế protein và dự đoán độ đặc hiệu. Ngoài ra, 2 phương pháp này còn có khả năng gây đột biến chệch mục tiêu và phát sinh độc tố.

Hệ thống CRISPR/Cas9 - một lựa chọn mới đầy tiềm năng

CRISPR được phát hiện vào năm 1987 trong vi khuẩn *E. Coli*. Sự ra đời của hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 đã khắc phục được những hạn chế của ZFN và TALEN, tạo nên cuộc cách mạng đột phá trong công nghệ sinh học.

Về bản chất, CRISPR là một phần hệ thống miễn dịch của vi khuẩn chống lại virus xâm nhiễm. Hệ thống này đã được ứng dụng trên các tế bào nhân thực. Tính đặc hiệu được điều khiển bởi "guide ARN" (thường gắn với một đoạn trình tự 18-20 cặp base trên ADN mục tiêu) và có thêm một số motifs giúp hình thành một phức hợp với Cas9 nuclease (CRISPR - associated nuclease). Để có thể gắn thành công Cas9, trong trình tự bộ gen đích phải có một đoạn trình tự protospacer adjacent motif (PAM) ngay sau trình tự đích. PAM là một motif NGG liền kề vị trí liên kết. Đối lập với ZFN và TALEN, hệ thống CRISPR giúp nuclease (enzyme cắt - Cas9) nhận biết trình tự cắt thông qua "guide ARN". Đặc tính này giúp ta dễ dàng thiết kế một "guide ARN" mới khi cần cắt một trình tự mục tiêu mới và cũng

cho phép cắt nhiều mục tiêu cùng lúc (khi kết hợp nhiều "guide ARN").

Sự khác nhau giữa CRISPR/Cas9 với ZFN, TALEN

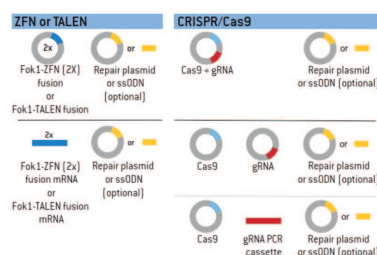
Một cách ngắn gọn, ZFN và TALEN cần phải tổng hợp protein, do đó tốn thời gian, công sức hơn để tạo ra một nuclease mới cho một vị trí mục tiêu khác. Đối với hệ thống CRISPR, chỉ cần tạo ra một "guide ARN" mới để gắn vào trình tự mục tiêu khác. Hơn nữa, với CRISPR việc gắn đa mục tiêu có thể được thực hiện bằng cách kết hợp Cas9 nuclease với nhiều "guide ARN" cùng lúc.

Tuy nhiên, hiện nay, phương pháp ZFN và TALEN có tính đặc hiệu cao hơn so với CRISPR và do đó rủi ro gắn không đúng trình tự đích sẽ thấp hơn. Nguyên nhân đầu tiên là do các phương pháp kia nhận biết trình tự ADN dài hơn và cần phải có 2 phân tử protein kết hợp với nhau mới tạo thành nuclease có hoạt tính (dạng dimer). Để khắc phục điều này, một vài nhà nghiên cứu đã biến đổi CRISPR/Cas9 nuclease thành một "nickase" có thể được sử dụng cùng với các cặp gARNs sense và antisense, do đó giúp tăng cường độ đặc hiệu.

Ưu thế của công nghệ chỉnh sửa gen Nucleofector™

Một đặc điểm chung của các phương pháp ZFN, TALEN hoặc CRISPR/Cas9 là để chỉnh sửa gen thành công cần phải chuyển đồng thời với nhiều vật liệu (plasmid, mARNs hoặc oligonucleotide) vào loại tế bào

quan tâm (hình 1). Việc biến nạp đồng thời khó thực hiện đối với một số dòng tế bào như: primary T, tế bào gốc phôi người (hESCs) hoặc các tế bào gốc đa năng (iPSCs). Khó khăn này sẽ được giải quyết bằng công nghệ Nucleofector™.

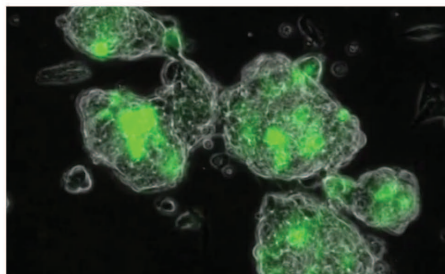


Hình 1: các phương pháp chuyển/biến nạp đồng thời với nhiều vật liệu cho ZFN, ALEN, CRISPR/Cas9

Nucleofection là phương pháp chuyển gen dựa trên nguyên tắc chuyển gen bằng xung điện. Các vật chất di truyền như ADN, ARN được chuyển vào tế bào nhờ một hiệu điện thế và hóa chất đặc hiệu với từng loại tế bào. Phương pháp này được biết đến với tên là công nghệ Nucleofector™ được phát minh bởi Công ty Công nghệ sinh học Amaxa và thuộc bản quyền kinh doanh của Tập đoàn Lonza. Với phương pháp này, chất nền sẽ được chuyển trực tiếp vào nhân và tế bào chất. Mặt khác, ở các phương pháp không dùng virus phải nhờ vào sự phân chia của tế bào để chuyển ADN vào nhân. Vì vậy phương pháp nucleofection cho phép chúng ta chuyển gen vào những tế bào không phân chia như tế bào thần kinh, tế bào máu tĩnh (resting blood cell). Phương pháp này đã được kiểm chứng là có thể áp dụng cho bất kỳ công nghệ chỉnh sửa gen nào đã được mô tả ở trên.

Áp dụng công nghệ Nucleofector™ cho việc chỉnh sửa gen

Lonza cung cấp các protocol đã được tối ưu, sẵn sàng sử dụng cho rất nhiều loại tế bào (tham khảo www.lonza.com/protocols) bao gồm cả các dòng tế bào khó biến nạp. Trước khi

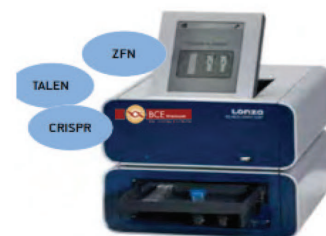


Hình 2: chỉnh sửa gen trở nên dễ dàng hơn với sự hỗ trợ của các công nghệ Nucleofector™

thực hiện chỉnh sửa gen, chúng ta được khuyến nghị nên sử dụng vector đối chứng dương pmaxGFP™ để xác minh các điều kiện tối ưu mà Lonza đã xác định trong điều kiện người sử dụng thiết lập riêng.

Nếu không có sẵn protocol cho một loại tế bào nào đó, ta có thể dễ dàng xác định các điều kiện tối ưu cho nucleofection khi sử dụng vector pmaxGFP™ và làm theo protocol tối ưu hóa cho một nhóm tế bào nhất định hoặc các protocol tối ưu hóa chung của Lonza cho các primary cells hoặc cell lines. Ví dụ, đối với các ESCs hoặc iPSCs, chúng ta được khuyến nghị nên sử dụng Basic Stem Cell Protocol của Lonza vì mỗi dòng tế bào này có thể yêu cầu các điều kiện biến nạp đặc hiệu khác nhau. Khi đã xác định được các điều kiện tối ưu, thì áp dụng được cho biến nạp ADN hoặc ARN (hoặc cả hai). Để chỉnh sửa gen thành công, điều quan trọng là xác định hàm lượng vật liệu tối ưu. Điều này có thể khác nhau đối với các công cụ, loại vật liệu hoặc tế bào khác nhau (tham khảo thêm tại www.lonza.com/genome-editing).

Công nghệ Nucleofector™ còn phù hợp để chuyển các peptide và protein. Để bắt đầu, chúng ta được khuyến nghị nên sử dụng các điều kiện tối ưu đã được thiết lập cho axit nucleic, nhưng có thể cần đến một số chương trình tinh chỉnh. Các nghiên cứu gần đây đã chuyển Cas9-gARN ribonucleoprotein sử dụng hệ thống 4D-Nucleofector™ bằng cách biến nạp vào các loại tế bào khác nhau



sử dụng Cas9 protein được trộn trước với gARN (tổng hợp trong phòng thí nghiệm).

Chọn lọc các dòng tế bào sau biến nạp và phân tích các sự kiện chỉnh sửa gen bằng công nghệ Nucleofector™

Chọn lọc dòng tế bào có thể được bắt đầu từ 24 giờ đến 7 ngày sau khi biến nạp. Thời điểm tối ưu phải được dựa trên việc thiết lập thí nghiệm như thế nào. Một cách để tăng số lượng các dòng tế bào được biến nạp là đồng biểu hiện một protein phát huỳnh quang (cho phép làm giàu các tế bào được biến nạp bằng phương pháp phân loại FACS). Đối với các tế bào mà không được phát triển như các tế bào đơn (ESCs và iPSCs), phương pháp tách bằng FACS có thể thay thế cho quá trình pha loãng.

Chỉnh sửa gen có thể được phân tích bằng các phương pháp khác nhau. Các phương pháp thông thường được sử dụng bao gồm PCR hay RT-PCR, giải trình tự như: giải trình tự sâu (deep sequencing), giải trình tự thế hệ mới (next generation sequencing), lai Southern blot, Northern blot hoặc các xét nghiệm tần số đột biến hoặc Western blot để phân tích protein knockout. Đối với iPSCs, Yang và cộng sự (2014) đã phát triển một hệ thống hiệu suất cao và dễ sử dụng (hệ thống đánh giá gen chỉnh sửa) bằng việc sử dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới để sàng lọc cho cả HDR và NHEJ.

Nguyễn Như Hoa (lược dịch)