

Bài tiểu luận

PROTEIN TÁI TỔ HỢP VÀ VIRUS *AUJESZKY*

I. Đặt vấn đề:

Trong ngành chăn nuôi heo, thường gặp các loại bệnh do virus gây ra thiệt hại lớn, có thể gây tử vong hàng loạt ở các trang trại hay heo trở thành vật chủ gây bệnh tiềm ẩn. Bệnh *Aujeszky* (bệnh giả dại) ở heo là một thí dụ điển hình, là một bệnh ác tính có tốc độ lây nhiễm cao và mang ý nghĩa quan trọng về mặt kinh tế.



Heo và mèo chết do bệnh giả dại (bệnh Aujeszky)

Bệnh nhiễm do virus là nguyên nhân gây ra các dấu hiệu về thần kinh trung ương và tỉ lệ tử vong cao ở những heo con, và các bệnh tích đường hô hấp ở những heo trưởng thành. Các loài khác có thể bị nhiễm do tiếp xúc trực tiếp với heo bệnh. Bệnh có thể gây ra sự giới hạn về mặt kinh tế ở những vùng có bệnh phổ biến.

Những chương trình trừ diệt bệnh đã tiến hành và đã thành công ở nhiều quốc gia. Ở Mỹ, tất cả các bang hiện đã kiểm soát được bệnh trong đàn heo nuôi. Nhưng sự có mặt của virus trong heo hoang dã là một vấn đề cần quan tâm.

Heo là nguồn chứa virus chủ yếu, biểu hiện các triệu chứng thần kinh và hô hấp. Bệnh có thể lây nhiễm qua nhiều đường khác nhau, chủ yếu thông qua các chất tiết. Không lây nhiễm cho người.

Bệnh hiện nay không có thuốc điều trị. Chủ yếu phòng bệnh bằng tiêm vaccine cho thú, gây ra đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Nhiều loại vaccine đã được chế tạo bằng các kỹ thuật hiện đại, trong đó có kỹ thuật sản xuất protein tái tổ hợp và đã có những ứng dụng quan trọng trong công tác kiểm soát bệnh.

II. Tổng quan

1. Giới thiệu chung về bệnh *Aujeszky*

1.1. Khái niệm và phân bố địa lý

Là bệnh truyền nhiễm do virus thuộc họ *Herpesviridae*, các triệu chứng lâm sàng nổi bật là ở hệ thần kinh và hô hấp. Ở heo, bệnh lan

trần dưới dạng nhiễm trùng tiềm ẩn, gây tử vong heo con bằng chứng viêm não cấp và suy đường hô hấp ở heo lớn hơn. Ở các loài khác bệnh gây chứng viêm não kèm theo triệu chứng ngứa.



Năm 1902, Aladar Aujeszky, giáo sư vi trùng học trường Thú y Budapest, đã phân lập một căn bệnh bằng việc nuôi cấy trên thỏ mẫu bệnh phẩm lấy từ thần kinh trung ương chó và bê (xuất hiện các triệu chứng thần kinh giống như bệnh dại) với biểu hiện ngứa dữ dội ở điểm tiêm truyền. Nhưng thời gian nung bệnh ngắn 3 ngày, dẫn đến chết trong 24-48 giờ. Về sau, bệnh được ghi nhận ở nhiều loại thú. Năm 1966, xác định heo là ổ chứa và là nguồn lây nhiễm bệnh chủ yếu.

Bệnh xuất hiện ở một số quốc gia Châu Âu, Đông Nam Á, trung tâm và nam Mỹ (bao gồm Mexico). Vài quốc gia như Áo, Úc, Nhật chưa thấy bệnh xuất hiện. Những năm gần đây đã gây thiệt hại ở nhiều quốc gia như Singapore, Đài Loan... Tầm quan trọng về mặt kinh tế của bệnh đã được đề cập và nó đã dần thay thế vị trí số một của bệnh dịch tả heo cổ điển.

1.2. Nguồn lây nhiễm

Heo là vật chủ tự nhiên của virus *Aujeszky* và là nguồn mang bệnh tiềm ẩn. Tuy nhiên, virus cũng có thể lây nhiễm cho tất cả các động vật nuôi và hoang dã khác như trâu bò, cừu, dê, mèo và chó. Bệnh không lây nhiễm cho người và khi, tỉ lệ mắc bệnh ở ngựa rất hiếm.

Heo bệnh: Các chất tiết (mũi, miệng, cơ quan sinh dục) và tử thi của heo thì rất giàu virus.

Heo khỏi bệnh mang virus: Có thể thấy virus trong nước mũi khoảng 6 tháng sau.

Heo khỏe mang virus: (thể nhiễm trùng thầm lặng) có thể gặp trên heo sinh sản hay heo đã tiêm vaccine.

Các sản phẩm động vật như thịt và cơ quan (gan, thận, phổi), tinh trùng, huyết thanh heo.

Virus có thể tồn tại trong thức ăn, nước uống, phương tiện vận chuyển trong 30-40 ngày và có thể được gió mang đi từ vài trăm mét tới 2 km.

1.3. Cách lây lan:

Ở heo có thể lây theo 2 cách:

-Trực tiếp (chủ yếu):

+Heo con khi bú sữa mẹ mắc bệnh

+Heo con lớn khi nuôi nhốt chung

+Heo giống khi giao phối

+Qua bào thai: Tùy theo ngày nhiễm virus mà gây sảy thai, thai khô, chết thai, sinh ra còi cọc..

-Gián tiếp: Qua xe chở thức ăn, dụng cụ nhiễm.

Ở loài vật khác: Chó, mèo, thú lấy lông phân lớn là do tiêu thụ những bộ phận heo bệnh chứa virus.

1.4. Các triệu chứng bệnh:

Ở heo, các triệu chứng bệnh khác nhau tùy thuộc độ tuổi.

Ở heo con (nhỏ hơn 3 tuần tuổi), bệnh đặc trưng bởi chết bất ngờ và ít có dấu hiệu báo trước, các triệu chứng sốt rất cao, bơ phờ, chán ăn, nôn mửa, run rẩy, đi không vững, và co giật. Một số heo con mất khả năng di động ở chân sau và ngồi xổm giống chó. Số khác có triệu chứng nằm nghiêng, đi không vững hay đi vòng tròn. Tỷ lệ tử vong ở nhóm tuổi này rất cao, một khi các dấu hiệu thần kinh phát triển, thú thường chết trong vòng 24-36 giờ.



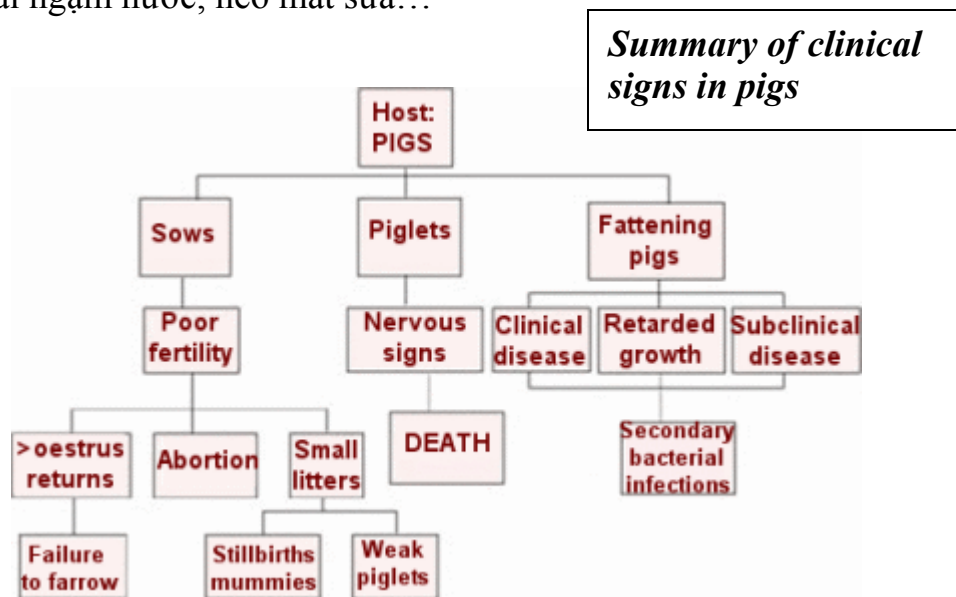
Neurological disorders in piglets

Ở heo cai sữa (từ 3 tuần tuổi đến 5 tháng tuổi), bệnh thể hiện chủ yếu là các bệnh về đường hô hấp, với các triệu chứng như sốt, chán

ăn, cân nặng giảm, ho, hắt hơi, viêm màng kết và khó thở. Tỷ lệ chết giảm từ 50% xuống còn 5% khi được 5 tháng tuổi.

Ở heo trưởng thành, sự lây nhiễm bệnh thường ảnh hưởng nhẹ, chủ yếu là xảy ra các triệu chứng về đường hô hấp như chảy nước mũi, ho, hắt hơi, các dấu hiệu thần kinh run loạn choạng. Tuy nhiên, một vài heo trưởng thành có những triệu chứng về đường hô hấp rất xấu có thể dẫn đến viêm phổi. Tỷ lệ tử vong thấp khoảng 1%.

Ở heo nái sinh sản, hầu như là cảm nhiễm thầm lặng, đôi khi sốt, ăn không ngon hay kén ăn, vật hay ngáp trong 4-5 ngày. Hiếm thấy các triệu chứng thần kinh. Trên heo nái có mang, thấy những xáo trộn sinh sản, sảy thai 50% trường hợp thấy ở những tháng đầu hơn tháng sau, đẻ ra những heo con chết, trong ổ có con sống con chết, thai khô hoặc thai ngâm nước, heo mất sữa...



Self mutilation of a goat's head

Ở gia súc và cừu, triệu chứng đầu tiên là ngứa tập trung ở một mảng da, sau đó thú thường hay liếm, cọ xát cơ thể, day dứt, khó chịu, sự tự tổn thương cơ thể (self-mutilation). Những thú bị nhiễm thường trở nên yếu hơn và thậm chí có thể chết. Chúng co giật, kêu rống, nghiến răng, nhịp tim nhanh và không đều đặn, thở khó nhọc thường xảy ra. Các triệu chứng này cũng xảy ra tương tự như ở chó và mèo, các triệu chứng thần kinh, vùng hậu bị tê liệt, tiết nước bọt nhiều giống như bệnh dại. Những thú bị

nhiễm điển hình chết trong 1-2 ngày.

1.5. Bệnh tích

a. Đại thể:

Không có bệnh tích đặc trưng. Trừ heo con 10 ngày tuổi và bào thai có những nhóm hoại tử (gần giống hạt kê) trên gan và lá lách. Ở heo trưởng thành bệnh tích hoại tử ở hạch amygdale, viêm phổi thùy và sự tích nhiều nước tiểu ở bàng quang..

Ở heo có triệu chứng thần kinh thấy rõ: Cho thấy sung huyết ở màng não, bán cầu não và nhiều dịch ở não tủy.



White to yellow necrotic foci on spleen (pig)



Congestion and consolidation of the lungs

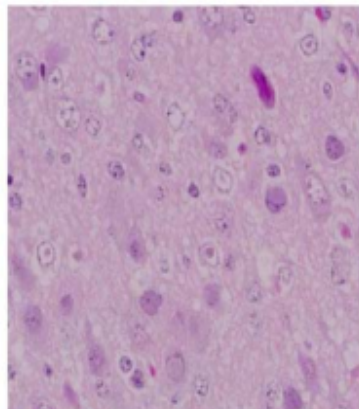
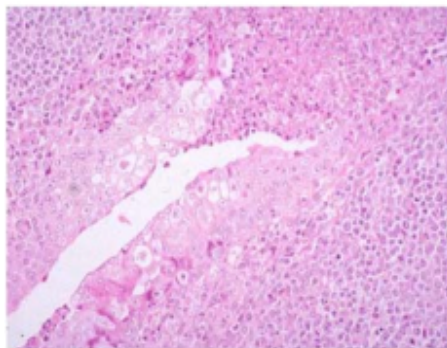
b. Vi thể:

Viêm não tủy do virus, có sự xâm nhập và phát tán bạch cầu lympho, có những lớp lymphocyte quanh mạch.

Thể vùi trong nhân thuộc type cowdry A, NST đẩy ra sát rìa của tế bào thần kinh.

Aujeszky's disease

Left: Eosinophilic inclusion bodies are seen in the nucleus of epithelium of tonsillar crypt. Right: Eosinophilic and basophilic inclusion bodies are seen in the nucleus of neurons.



1.6. Điều trị bệnh:

Bệnh không có thuốc điều trị đặc hiệu.

1.7. Phòng bệnh:

Tiêu độc chuồng trại định kỳ hàng tuần bằng Vimekon 100g/20l nước.
Chỉ mua và đưa vào trại những heo không mang mầm bệnh, cách ly và theo dõi heo mới nhập đàn trong 30 ngày.

Tiêm phòng đàn heo khỏe bằng vaccine.

Heo khỏi bệnh chỉ nên bán thịt, không sử dụng vào việc sinh sản.

2. Virus Aujeszky

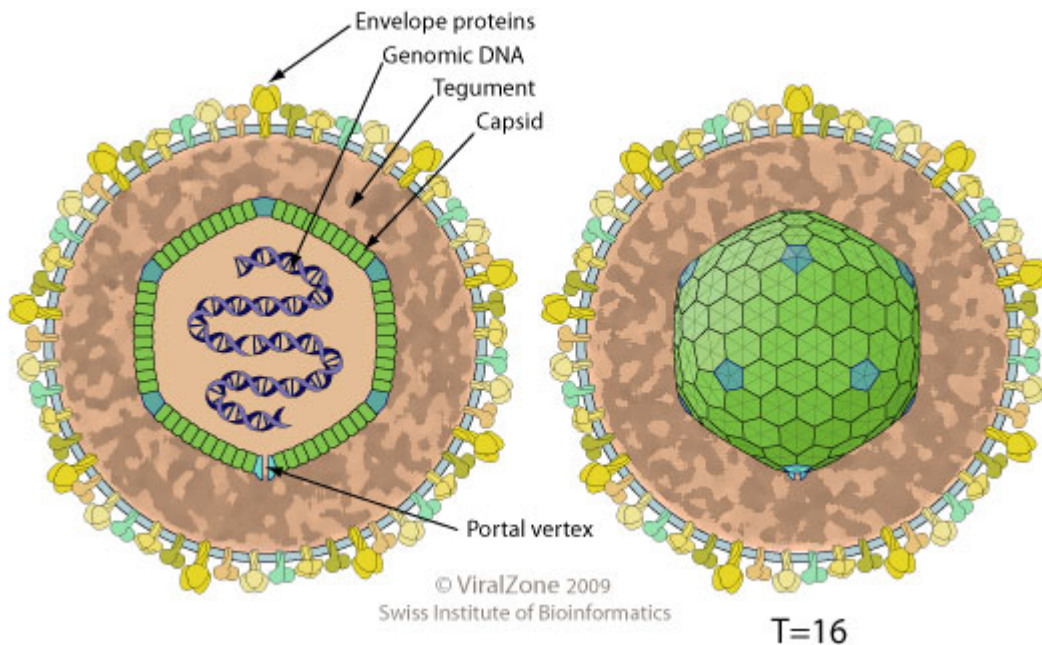
Virus gây bệnh Aujeszky (ADV), còn gọi là virus pseudorabies.

Giống: *Varicellovirus*

Phân họ: *Alphaherpesvirinae*

Họ: *Herpesviridae Suid Herpesvirus 1 (SHV 1)*

2.1. Hình thái



Dạng hình cầu, có vỏ bọc (bao quanh bởi các protein màng).

Đường kính 150-200nm. T=16

Capsid bao gồm 162 capsomers và được bao quanh bởi vỏ không có hình dạng nhất định (Tegument).

Phức hợp Glycoproteins được gắn vào trong màng lipid.

Phía dưới có một điểm mở (Portal vertex) để DNA virus thoát ra ngoài khi vào nhân của tế bào vật chủ.



2.2. Bộ gene

DNA virus là một DNA mạch đôi trong đó có chứa đoạn Us mã hóa cho 2 loại protein gây bệnh gE và gI, chiều dài DNA 120-240kb. Bộ gene chứa trình tự cuối và trình tự lặp lại ở bên trong.

Biểu hiện gene:

Mỗi sự sao chép của virus luôn luôn mã hóa một protein và có một trình tự promoter, một hộp TATA, một điểm khởi đầu của sự sao chép, một trình tự ở đầu 5' (30-300bp)(không dịch mã), một trình tự ở đầu 3' không dịch mã (10-30bp), và một điểm đánh dấu poly A. Có nhiều gene bị chồng lấp. Chỉ có một vài gene được ghép với nhau. Có một số gene không mã hóa.

Bộ gene DNA của các dòng ADV được phân lập bằng kỹ thuật **Restriction endonuclease analysis (RFLP)** với *BamHI* (nghiên cứu ở Brazil từ 1982 đến 1996). Kết quả cho ra 30 dòng virus được xếp loại: types I (2 dòng), types II (28 dòng), types III chưa được ghi nhận.

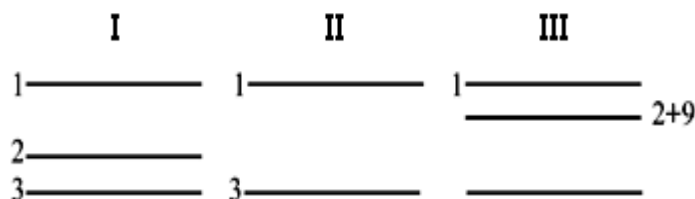


Figure I. Schematic representation of genomic types of ADV (I, II and III) based on the migration of the first three fragments obtained by *BamHI*RFLP(6,8).

Sau khi hệ thống hóa thì phát hiện ra được 3 đoạn đầu tiên có thể sử dụng cho phân loại các dòng ADV (Fig.1). Type II không có đoạn 2, điều này sẽ dẫn đến sự xuất hiện của các đoạn mới 2a và 2b. Type III thiếu đi một trình tự cắt giữa đoạn 2 và 9, đoạn 2 và 9 xuất hiện dưới đoạn 1.

Kết quả sau khi chạy điện di

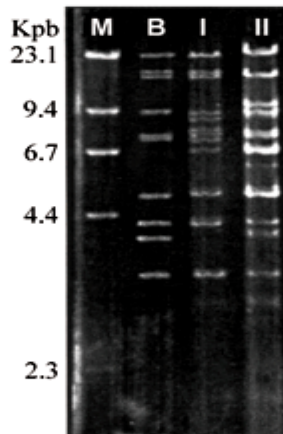


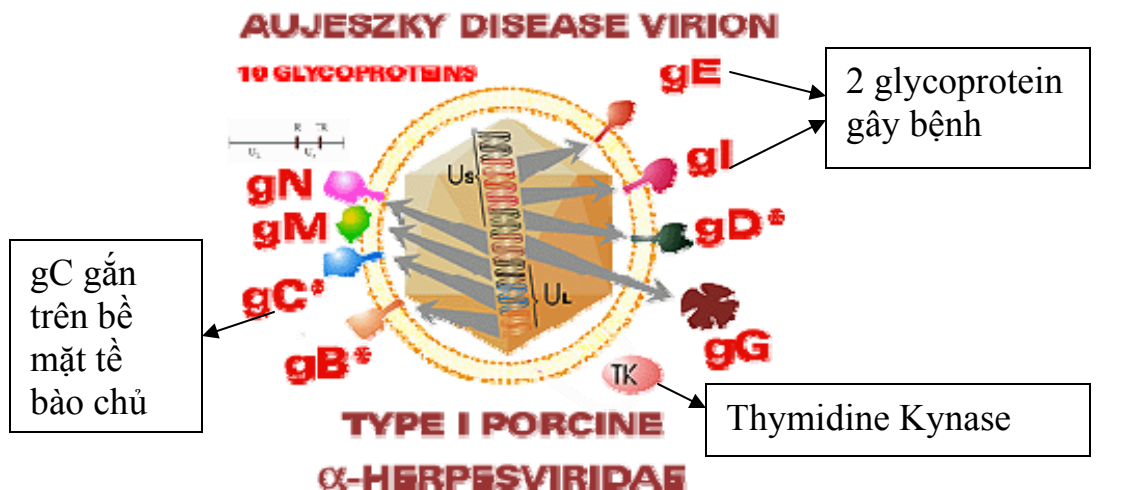
Figure 2. Restriction fragment patterns of genomic types of ADV strains. M = Molecular weight marker (Lambda DNA Hind III Digest), B = Bartha reference strain, I = Genomic type I; II = Genomic type II., Kpb = kilo base pairs.

2.3. Khả năng gây bệnh

Virus gây bệnh thông qua các glycoproteins nằm ở màng ngoài của tế bào virus (các protein màng). Người ta phát hiện được 11 loại glycoproteins tham gia vào quá trình xâm nhiễm và gây bệnh tế bào chủ thì có các loại điển hình như: gE, gI, gD, gN, gM, gC, gB, gG...

Trong các glycoprotein thì sự biểu hiện của 2 glycoprotein gE và gI có liên quan trực tiếp đến khả năng gây bệnh của virus.

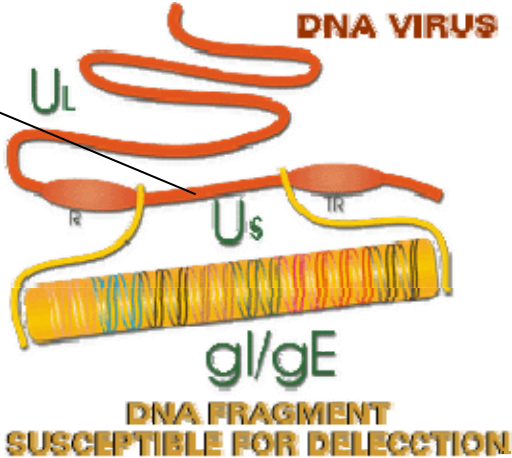
Hai glycoprotein này được dịch mã từ vùng gene Us. Capsid chứa các protein và Thymidine Kinase.



gB, gD, gL giúp virus phân giải màng tế bào chủ

Đoạn gene Us mã hóa cho gE và gI protein

Structure of the DNA of the *Aujeszky virus*. The gene of the proteins gE and gI are located in the Us fragment.



Chức năng của các glycoprotein trong quá trình xâm nhiễm của virus vào tế bào chủ

Glycoprotein C (gC) có khả năng kết hợp lên bề mặt tế bào, đây là sự tương tác trung gian giữa phần virus và tế bào chủ. Sự kết hợp này ban đầu yếu sau đó sẽ mạnh lên nhờ vào sự kết hợp của một glycoprotein khác, gD, thông qua những thụ thể đặc biệt của virus đối với tế bào chủ. Sự kết hợp thụ thể gD này mở đầu cho sự làm tan màng tế bào chủ của các protein vỏ.

Nucleocapsid và các protein vỏ vào tế bào chủ và nucleocapsid di chuyển theo những ống nhỏ để đến lỗ nhân.

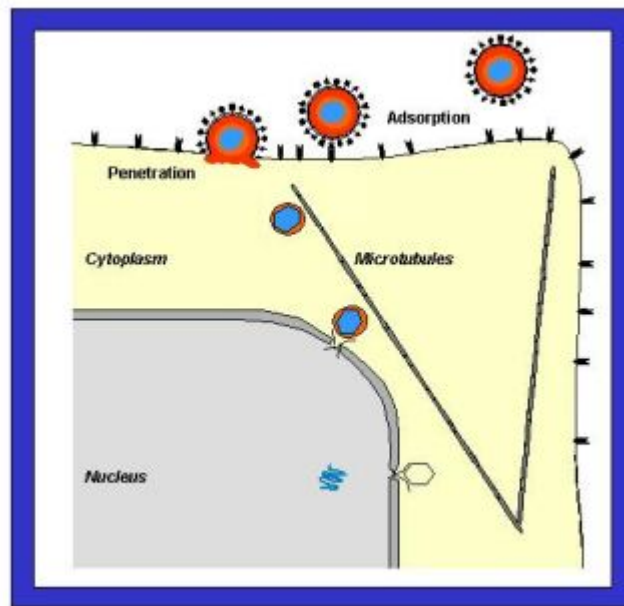
DNA của virus sau đó được giải phóng vào trong nhân, sự sao chép và tổng hợp virus bắt đầu.

Glycoprotein B (gB) và phức hợp gH/gL cũng đóng vai trò quan trọng trong tiến trình xâm nhiễm.

Nếu thiếu một hoặc cả hai loại glycoprotein trên thì sẽ sinh ra loại virus đột biến:

-gH đòi hỏi chính xác cho sự lây nhiễm ban đầu, sự lây truyền trực tiếp từ tế bào sang tế bào.

-gL thì cần cho sự xâm nhập và không hoàn toàn quan trọng trong tiến trình lây nhiễm trực tiếp từ tế bào sang tế bào.



Initiation of *herpesvirus* infection. *Herpesviruses* generally initiate infection by attachment of extracellular virions to cell surface receptors followed by fusion of viral envelope and cellular plasma membrane. Incoming nucleocapsids are then transported along microtubules to the nuclear pore where genomic viral DNA is released into the nucleus.

Virus có tính gây bệnh mạnh: virus hướng thần kinh liên quan tới những biểu hiện lâm liên và phân bố virus trong cơ thể, virus hướng

sinh dục liên quan đến việc gây sảy thai và sinh heo con chết, virus hướng phôi gây xáo trộn hô hấp (hầu hết cho heo cai sữa).

Người ta có thể biến đổi đặc tính gây bệnh của virus qua việc truyền cấy liên tục trên thú(như bò câu), trên trứng có phôi (như chủng BUCAREST), trên môi trường tế bào ở nhiệt độ thường (như chủng K61 của Bartha) hay ở nhiệt độ thấp (như chủng Alfort 25).

Khả năng tái tạo trong tế bào vật chủ:

1. Virus tấn công lên thụ thể vật chủ thông qua gB, gC, gD và gH.
2. Bám vào màng tế bào giải phóng lõi và vỏ protein vào trong tế bào chất của tế bào vật chủ.
3. Capsid được vận chuyển qua lỗ nhân nơi mà DNA virus được giải phóng vào trong nhân.
4. Những gene đầu được sao chép trực tiếp.
5. mRNA của virus sẽ được sao chép bởi *polymerase II* của tế bào chủ, vận chuyển vào trong tế bào chất và dịch mã thành các protein đầu.
6. Những protein đầu có liên hệ đến sự tái tạo của DNA virus và nó được vận chuyển trở lại vào trong nhân.
7. Tổng hợp nhiều bản sao của DNA virus bởi *polymerase*.
8. Sự sao chép của các mRNA cuối bởi *polymerase II* của vật chủ, vận chuyển vào trong tế bào chất và dịch mã thành các protein cuối.
9. Những protein cuối này là protein cấu trúc hay các protein lõi, mà được vận chuyển trở lại vào trong nhân.
10. Sự sản xuất virus và bắt đầu thông qua phần mỏng bên trong của màng nhân mà được sửa đổi bằng việc đưa vào glycoproteins herpes, trong thể Golgi và cuối cùng được giải phóng ra màng tế bào.

Sự tái tạo tiềm tàng: Sự tái tạo vòng đời của virus gắn với DNA của tế bào chủ và virus sử dụng bộ máy di truyền của tế bào chủ để sản sinh ra những virus mới.

2.4. Đường xâm nhập:

Virus thường chủ yếu lây truyền qua tuyến đường hô hấp và đường miệng (những chất tiết từ miệng và mũi là nguồn chứa virus tiềm ẩn),

lây nhiễm cho các loài mẫn cảm với bệnh thông qua sự tiếp xúc trực tiếp.

Trong quá trình lây nhiễm cấp tính, virus có thể tồn tại hơn 2 tuần trong biểu mô hạch hạnh nhân, sữa, nước tiểu, âm đạo, chất dịch từ bao quy đầu.

Virus vẫn còn khả năng lây nhiễm trong 7 ngày ngoài không khí, nếu độ ẩm không khí dưới 55%. Virus có thể lây truyền qua xác súc vật chết.

Dưới những điều kiện bất lợi, virus có thể tồn tại vài ngày trong những khu vực và nước bị ô nhiễm, và có khả năng truyền qua đường sinh dục.

Các con đường lây nhiễm khác: Chất tiết tinh dịch và âm đạo, thịt heo nhiễm bệnh, sữa và sữa non, nước tiểu, phân, ổ rơm, cỏ xanh, những nơi mà nước thải không thoát đi hay không được xử lý trực tiếp, các dụng cụ phẫu thuật thú y bị nhiễm, bệnh có thể lây lan giữa các nông trại trong điều kiện bất lợi...

2.5. Cách sinh bệnh:

Sau khi theo đường mũi-miệng, virus sẽ nhân lên tại chỗ (đặc biệt nhất là ở hạch amygdale) và lan tỏa theo hướng trung tâm thần kinh, tấn công thần kinh trung ương. Mặt khác qua đường máu, trong tình trạng viremia, virus tấn công nhiều cơ quan nhất là phổi (gây xáo trộn hô hấp), cơ quan sinh dục (gây xáo trộn sinh sản). Việc cảm nhiễm ở thời kỳ phôi thai (thời kỳ heo nái mang thai) có thể dẫn đến sảy thai.

Thời gian ủ bệnh thường từ 2-4 ngày ở lợn sữa và từ 3-6 ngày ở lợn cai sữa hay trưởng thành.

2.6. Nuôi cấy:

Nuôi cấy tế bào:

Đây là kỹ thuật được chọn trong thực hành để tạo ra nhiều virus. Virus mọc dễ dàng trên nhiều hệ thống tế bào (từ loài gia cầm đến động vật hữu nhũ), thường dùng nhất là môi trường tế bào PK 15, IBR-S2, BHK 21.

Bệnh tích tế bào đặc trưng là xuất hiện những thể vùi trong nhân ura acid và hợp bào (syncytia).

→ Áp dụng trong thực hành phương pháp này: sản xuất nhiều virus (cho việc chế tạo vaccine) biến đổi độc lực, phân lập những chủng virus (chẩn đoán virus) định hiệu giá và tìm kiếm kháng thể.

Nuôi cấy trên thú (In vivo)

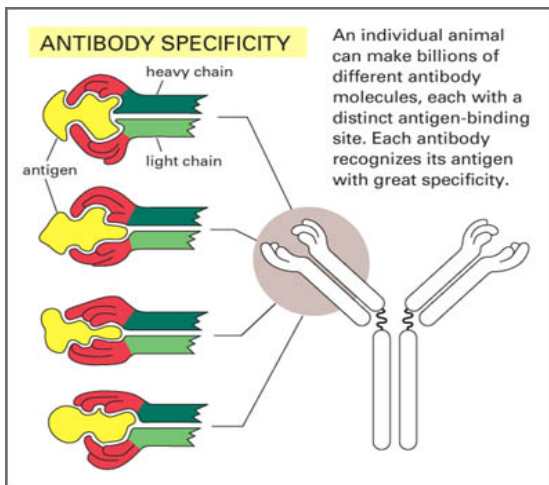
Có thể sử dụng nhiều loại thú trong phòng thí nghiệm nhưng hầu hết là dùng thỏ.

Nuôi cấy trên trứng (In ovo)

Có thể thực hiện được. Đặc biệt, việc cấy qua màng nhũn trứng gà đã được dùng để sản xuất vaccine.

2.7. Chẩn đoán

Các dấu hiệu lâm sàng của bệnh do virus gây ra rất biến đổi có thể



nhầm lẫn với bệnh khác như các bệnh gây sẩy thai, con yếu non mửa giống bệnh viêm dạ dày-ruột truyền nhiễm (TGE) ... nên phải được chẩn đoán chính xác ở những phòng thí nghiệm bằng các phương pháp trung hòa kháng huyết thanh (SN), phản ứng virus (VI), kiểm tra cắt lát tổ chức **kháng thể huỳnh quang (FATS), ELISA và phản ứng kết tủa Latex (LAT)...**

Phản ứng ELISA

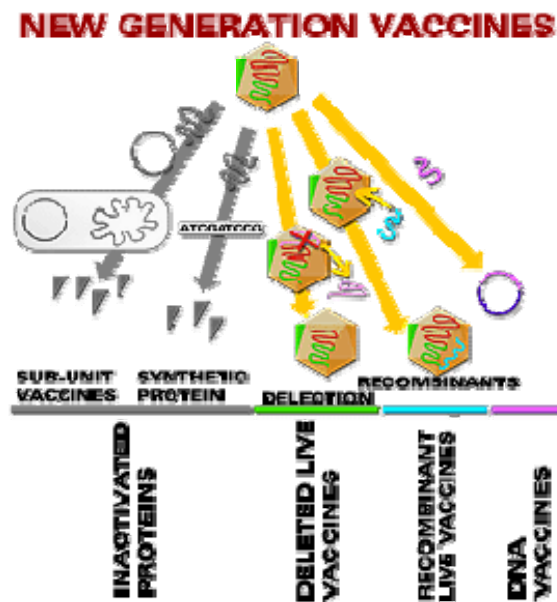
3. Protein tái tổ hợp:

Bệnh tích xảy ra phức tạp, với các triệu chứng khác nhau tùy theo lứa tuổi của vật nuôi. Bệnh gây ra nhiều thiệt hại cho ngành chăn nuôi heo và bệnh có thể cho các thú khác mà mắc cảm với bệnh.

Để kiểm soát dịch bệnh cũng như phòng bệnh cho vật nuôi (đặc biệt là heo), việc nghiên cứu đã sử dụng các kỹ thuật di truyền hiện đại để tạo ra các loại vaccine thể hệ mới với những hiệu quả phòng bệnh vượt trội đang được tiến hành và thu được nhiều kết quả ban đầu.

3.1 .Giới thiệu:

Vaccine phòng bệnh được chế tạo theo nhiều cách khác nhau. Nhưng tất cả đều có một mục đích chung là kích thích cơ thể vật nuôi gây đáp ứng miễn dịch (tạo kháng thể) chống lại tác nhân gây bệnh. Điển hình như các vaccine: vaccine virus nhược độc, vaccine virus sống, vaccine DNA...



Trong đó có vaccine sản xuất từ protein virus ứng dụng công nghệ DNA tái tổ hợp cho phép sản xuất một lượng lớn protein virus thích hợp sẽ được chuyển vào các yếu tố mang (plasmide) và được biểu hiện thông qua một số các hệ thống sản xuất sinh học từ các tế bào nấm men, tế bào côn trùng hoặc vi khuẩn...

Những tế bào nhân thật như nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*), hoặc tế bào côn trùng (*Spodoptera frugiperda*), thường hay sử dụng làm hệ thống biểu hiện. Các hệ thống biểu hiện này làm nhiệm vụ

tổng hợp nên các protein virus được qui định bởi các gene chèn vào (cloning). Protein virus sau đó sẽ được tinh chế và sử dụng để sản xuất vaccine →

Vaccine tiểu phân

Để sản xuất protein virus, nhất là đối với các protein có sự biến đổi sau phiên mã bởi cơ chế glycosylation trong việc đảm bảo khả năng gây đáp ứng miễn dịch của chúng, các tế bào eukaryotes (nấm men, tế bào động vật hữu nhũ, tế bào côn trùng ..) thường sử dụng để làm hệ thống biểu hiện. Và sản xuất ra một lượng lớn protein virus thông qua tác nhân gây nhiễm là *virus baculoviruses* mang gene của virus vaccine, hoặc protein virus được biểu hiện bằng các vi khuẩn hoặc virus chuyển gene.

3.2 Ưu điểm:

Do vaccine tiểu phân chỉ chứa một hoặc một vài protein riêng biệt tinh sạch hoặc bán tinh sạch nên có những ưu điểm sau:

- Độ an toàn cao
- Có thể phối hợp với nhiều loại protein tương ứng với các yếu tố kháng nguyên khác nhau, để phòng được nhiều bệnh khác nhau, giảm chi phí phân phối, tăng hiệu quả kinh tế.
- Tính hướng đến tế bào đích cao.
- Cho phép phân biệt thú tiêm vaccine và thú nhiễm tự nhiên.

3.3. Ứng dụng

Protein tái tổ hợp được sản xuất theo mục đích đưa các phân tử sinh học cần thiết vào cơ thể sinh vật.

Khi cơ thể mang bệnh lý về thiếu một protein nào đó (như sản xuất insulin tái tổ hợp), hoặc tạo ra các loại vaccine protein tái tổ hợp mới với hiệu quả tác dụng an toàn và giá thành rẻ...

Trong thú y, để phòng chống và kiểm soát các bệnh do virus gây ra, người ta sử dụng recombinant protein để làm sub-unit vaccine (safe, effective, cheap).

3.4. Quy trình sản xuất:

Recombinant subunit vaccines were produced by VP2 proteins of canine or porcine parvoviruses. The vaccines are safe, effective and cheap. —————>

Sub-unit vaccine

Quy trình sản xuất có thể thực hiện theo các bước sau:

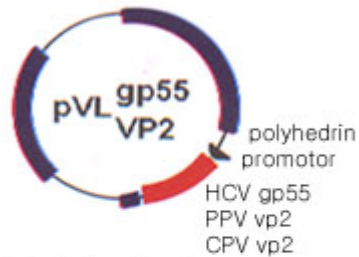
Đoạn gene qui định protein gây bệnh của *ADV* được cắt ra và chèn vào vector mang của *Baculovirus*.

Tuyển chọn các tái tổ hợp *Baculovirus* tương đồng (thường là các dòng tế bào Sf9).

Dòng *Baculovirus* tái tổ hợp sẽ tổng hợp ra các protein bị bất hoạt (điển hình là glycoprotein gE).

Cloning of HCV gp55, PPV VP2, CPV VP2

Construction of transfer vector



Baculovirus transfer vector

Homologous recombination

Recombinant Baculovirus

Sf9 cells

Protein expression

Protection rates of the four subunit vaccines reached above 85%

Kết quả

Một vaccine *ADV* được tạo thành với gE bị bất hoạt và gp50 tái tổ hợp của *ADV* được phát triển nhằm mục đích phân biệt vaccine cho lợn với các loài mẫn cảm khác.

III. Kết luận và đề nghị

Bệnh *Aujeszky* là một bệnh có liên quan đến vấn đề tổn thương thần kinh trung ương, và hô hấp. Bệnh có tính chất lây nhiễm nhanh, mà heo chính là nguồn chứa bệnh tiềm ẩn cũng như là vật lây nhiễm chính sang các loài mẫn cảm khác. Hậu quả gây thiệt hại về mặt kinh tế rất quan trọng và bệnh không có thuốc đặc trị.

Virus gây bệnh thuộc nhóm *Herpesvirus*, gây bệnh thông qua các glycoprotein trên vỏ ngoài virus, bộ gene chứa DNA.

Qua việc nghiên cứu về hình thái cũng như khả năng gây bệnh và lây truyền của virus, từ đó ta định hướng đến việc sản xuất các loại vaccine phòng bệnh cho vật nuôi hiệu quả tác dụng tốt, an toàn, giá thành rẻ.

Protein tái tổ hợp với nhiều ứng dụng quan trọng về mặt thực tiễn, nhất là trong việc tạo vaccine phòng bệnh với những ưu điểm vượt trội, đề nghị tiếp tục mở rộng hướng nghiên cứu liên kết với các bệnh truyền nhiễm khác để tạo ra vaccine protein tái tổ hợp đa giá, có thể tác dụng cùng lúc nhiều bệnh.

đề nghị nên tiếp tục nghiên cứu và tìm hiểu sâu hơn về các type của ADV để biết rõ nguồn gốc, sự khác biệt, lập nên cây sinh giảm từ đó đề ra hướng kiểm soát dịch bệnh hiệu quả.

IV. Tài liệu tham khảo

www.thepigsite.com

www.cfsph.iastate.edu/FastFacts/pdfs/aujeskys_disease_F.pdf

www.rda.go.kr/.../eng/research_list0705.jsp

www.expasy.ch/viralzone/all_by_species/176.html

http://www.aphis.usda.gov/animal_health/area_offices.htm

Công nghệ sinh học trong thú y - Nguyễn Ngọc Hải-Trường ĐH Nông Lâm Tp HCM.

http://www.vet.uga.edu/vpp/gray_book02/fad/index.pdf

Bài giảng bệnh truyền nhiễm do virus trên heo – Trần Thanh Phong – Trường Đại học Nông Lâm Tp HCM.