**TÓM TẮT THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: Thiết lập công nghệ nuôi cấy tế bào 2D, 3D tự động dùng trong sàng lọc một số dược liệu có tác động gây độc tế bào HepG2, CD133+ HepG2

Ngành: Sinh lý học người và động vật

Mã số ngành: 62420114

Họ tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Trường Sinh

Khóa đào tạo: 2013

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. Trương Đình Kiệt; PGS. TS. Phạm Văn Phúc

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên- ĐHQG.HCM

1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN:

Mục tiêu của nghiên cứu này là thiết lập quy trình kĩ thuật nuôi cấy 2D và 3D trên tế bào ung thư và tế bào gốc ung thư HepG2 với thông lượng trung bình bằng hệ thống máy chia dịch tự động. Tiếp theo, nghiên cứu áp dụng sàng lọc hoạt tính kháng phân bào của 35 cao chiết thực vật lên tế bào HepG2 và tế bào gốc ung thư HepG2 trên các mô hình đã thiết lập. Cuối cùng, nghiên cứu tìm kiếm cao chiết có khả năng gây độc HepG2 tiềm năng để tách hợp chất, dựa trên những khác biệt trong tác động kháng phân bào của cao chiết thô lên trên tế bào ung thư HepG2 và tế bào gốc ung thư HepG2 khi nuôi cấy ở điều kiện 2D và 3D.

Để thực hiện được mục tiêu trên, trong nội dung đầu nghiên cứu đã hợp tác với khoa Hóa, trường Đại học Tự nhiên ĐHQG Tp HCM để tạo cao chiết thô từ các loại thực vật thu thập từ các khu rừng ở khu vực miền Nam Việt Nam. Kết quả của nội dung này đã tạo được 35 cao chiết. Trong nội dung tiếp theo, nghiên cứu tiến hành khảo sát 2 loại tế bào gốc mô mỡ và tế bào da người thường để chọn ra loại tế bào dùng làm tế bào đối chứng trong các thí nghiệm sàng lọc tiếp theo. Nghiên cứu cũng đã tiến hành khảo sát và so sánh nồng độ của các loại dung môi để tìm ra dung môi thích hợp cho thí nghiệm sàng lọc. Trong nội dung tiếp theo, nghiên cứu tiến hành xây dựng mô hình và quy trình sàng lọc trên đối tượng tế bào ung thư gan. Quần thể tế bào gốc ung thư gan được phân lập từ quần thể tế bào ung thư gan HepG2. Cả 2 quần thể tế bào ung thư gan và tế bào gốc ung thư gan được sử dụng để thiết lập quy trình sàng lọc dạng nuôi cấy lớp đơn (mononuclear cell-thường gọi là nuôi cấy 2 chiều hay 2D) và dạng nuôi cấy khối cầu (sphere culture hay 3D).

2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN:

**Nghiên cứu này đã đạt được những kết quả:**

* Xây dựng thành công quy trình sàng lọc với thông lượng trung bình trên hệ thống robot cho sàng lọc 2D và 3D, trên đối tượng tế bào ung thư gan và tế bào gốc ung thư gan.
* Tế bào gốc từ mô mỡ tăng sinh ổn định hơn tế bào nguyên bào sợi, do đó có thể dùng làm đối chứng trong các thí nghiệm sàng lọc.
* Tác động của 35 cao chiết là khác nhau trên các mô hình nuôi cấy 2D và 3D (trên 91% cao chiết), của tế bào ung thư và tế bào gốc ung thư là khác nhau (trên 80% cao chiết)
* Nghiên cứu đã sàng lọc được 4 cao chiết từ 35 dịch chiết thô bao gồm E18, E21, E27, và E31, có tác động kháng phân bào HepG2 tiềm năng nhưng có tác dụng phụ tối thiểu lên tế bào thường
* Nghiên cứu đã chọn lọc được cao chiết E32 từ 35 dịch chiết thô, có tác động kháng phân bào tiềm năng trên tế bào HepG2 trên cả 2 điều kiện nuôi cấy 2D và 3D.
* Từ kết quả sàng lọc cao chiết tiềm năng, nghiên cứu đã xác định được hợp chất Isopanduratin A phân lập từ cao chiết Ngãi Bún cũng cho thấy khả năng gây chết tế bào HepG2 trên cả 2D và 3D.

3. CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU:

**Từ những kết quả đạt được, nghiên cứu khuyến nghị:**

* Sử dụng kết hợp giữa sàng lọc 2D và 3D, tế bào ung thư và tế bào gốc ung thư, tế bào thường và tế bào ung thư để vượt qua một số hạn chế của sàng lọc truyền thống trên 2D.
* Sử dụng hợp chất Isopanduratin A từ rễ cây Ngãi Bún để thử nghiệm điều trị mô hình khối u HepG2 trên chuột.
* Nghiên cứu cơ chế tác động của hợp chất Isopanduratin A ở cấp độ phân tử và sử dụng các kỹ thuật PCR, Western Blot để đánh giá đích tác động ở các đường truyền tín hiệu tế bào.
* Tiếp tục đánh giá tác động kháng phân bào và phân tách hợp chất từ cao chiết tiềm năng E21 và E27.

|  |  |
| --- | --- |
| **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN** | **NGHIÊN CỨU SINH** |

GS.TS. Trương Đình Kiệt PGS.TS. Phạm Văn Phúc Nguyễn Trường Sinh

**THESIS INFORMATION**

Thesis title: Establishing automatic 2D and 3D cell culture technique for screening some medicinal herbs with cytotoxic effects on HepG2 and CD133+ HepG2 cells

Speciality: Human and Animal Physiology

Code: 62420114

Name of PhD Student: Nguyễn Trường Sinh

Academic year: 2013

Supervisor: Prof. Trương Đình Kiệt; Assoc. Prof. Phạm Văn Phúc

At: VNUHCM -University of Science

1. SUMMARY:

The purpose of this work is to develop a medium-throughput 2D and 3D culturing approach for HepG2 cancer cells and cancer stem cells utilizing an autonomous liquid management system. Following that, 35 plant crude extracts were screened on HepG2 cells and HepG2 cancer stem cells using existing models. Finally, the study sought for probable HepG2 cytotoxic extracts in order to isolate the molecule, based on the crude extract's antimitotic properties on HepG2 cancer cells and HepG2 cancer stem cells when cultivated in 2D and 3D conditions, respectively.

To accomplish this purpose, we collaborated with the Department of Chemistry at the University of Science Ho Chi Minh City to synthesize 35 crude extracts from plants gathered in the Southern area of Vietnam. Following that, the study examines two types of adipose tissue stem cells and normal human skin cells in order to determine which cells will serve as control cells in further screening procedures. Additionally, the study performed a survey and compared the concentrations of several solvents in order to choose the most acceptable solvent for the screening experiment.

Following that, the model and screening processes were established using liver cancer cells. From the HepG2 liver cancer cell population, the liver cancer stem cell population was separated. We established screening methodologies in monolayer cell (2D) and sphere culture using both hepatocellular carcinoma and liver cancer stem cell populations (3D).

2. NOVELTY OF THESIS:

**The following findings were obtained as a consequence of this study:**

* Successfully developed a screening procedure using a robotic system with an average throughput for 2D and 3D screening of liver cancer cells and liver cancer stem cells.
* Because stem cells generated from adipose tissue grew more steadily than fibroblast cells, they can be employed as controls in screening assays.
* The effects of 35 extracts on cancer cells and cancer stem cells were significantly different in 2D and 3D culture models (over 91 percent of extracts) (over 80 percent of extracts).
* The study analyzed four extracts from 35 raw extracts for the presence of E18, E21, E27, and E31, which have the potential to be cytotoxic to HepG2 cells but have few adverse effects on normal cells.
* The extract E32 was chosen for the investigation from 35 raw extracts that have the potential to be cytotoxic to HepG2 cells in both 2D and 3D culture settings.
* Isopanduratin A, was found from ngai bun extract, shown anti-proliferative activity against HepG2 cells in both 2D and 3D.

3. APPLICATIONS/ APPLICABILITY/ PERSPECTINE)

**The research makes the following recommendations based on the available data:**

* Utilize a mix of 2D and 3D screening, cancer cells and cancer stem cells, normal cells and cancer cells to circumvent some of the constraints associated with traditional 2D screening.
* Isopanduratin A derived from the roots of the ngai bun tree will be used to evaluate the therapy on HepG2 tumor model in mice.
* Investigate the cytotoxic mechanism of isopanduratin A at the molecular level and examine the effect on cell signaling pathways using PCR and Western Blot methods.
* Continue to assess the anti-proliferation capabilities of possible extracts E21 and E27.

|  |  |
| --- | --- |
| SUPERVISOR  Prof. Trương Đình Kiệt Assoc. Prof. Phạm Văn Phúc | PhD STUDENT  Nguyễn Trường Sinh |

**CONFIRMATION**

**UNIVERSITY OF SCIENCE**

**VICE PRESIDENT**