Trao đổi trực tuyến tại:

http://www.mientayvn.com/chat_box_sinh.html

Tế Bào Gốc

- Tế bào gốc là các tế bào chưa biệt hóa, có thể tự tái tạo (self renew), có khả năng phân chia vô hạn định, và có khả năng sinh sản và tạo nên các tế bào khác có những chức năng chuyên biệt, một khi nó được cấy vào một môi trường thích hợp.

A. Xếp loại tế bào gốc.

- Xếp loại theo đặc tính hay mức độ biệt hóa.
- Xếp loại theo nguồn gốc phân lập.

1. Xếp loại theo đặc tính hay mức độ biệt hóa.

- Theo mức độ biệt hoá có thể xếp tế bào gốc thành bốn loại:
  - Toàn năng (hay thuỷ tổ).
  - Vạn năng.
  - Đa năng.
  - Đơn năng.

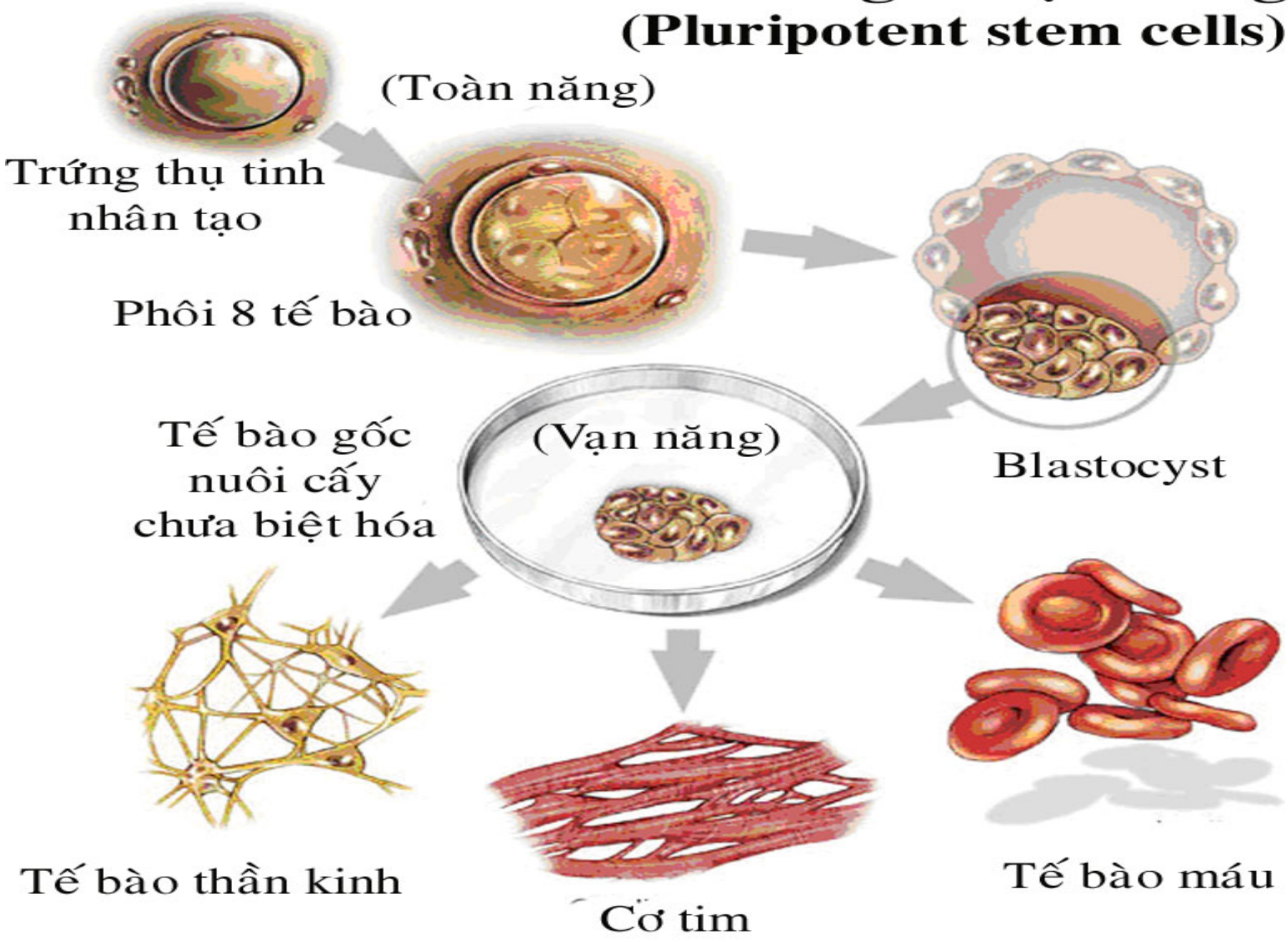
a/ Tế bào gốc toàn năng hay tế bào gốc thủy tổ (totipotent stem cells).

- Là những tế bào có khả năng biệt hóa thành tất cả các loại tế bào cơ thể từ một tế bào ban đầu.
- Trứng đã thụ tinh và các tế bào được sinh ra từ những lần phân chia đầu tiên của tế bào trứng đã thụ tinh (giai đoạn 2 - 4 tế bào – các blastosomer).

b/ Tế bào gốc vạn năng (pluripotent stem cells).

- Là những tế bào có khả năng biệt hóa thành tất cả các tế bào của cơ thể có nguồn gốc từ ba lá mầm phôi – lá trong, lá giữa và lá ngoài.
- các tế bào gốc vạn năng không thể phát triển thành thai, không tạo nên được một cơ thể sinh vật hoàn chỉnh mà chỉ có thể tạo nên được các tế bào, mô nhất định.

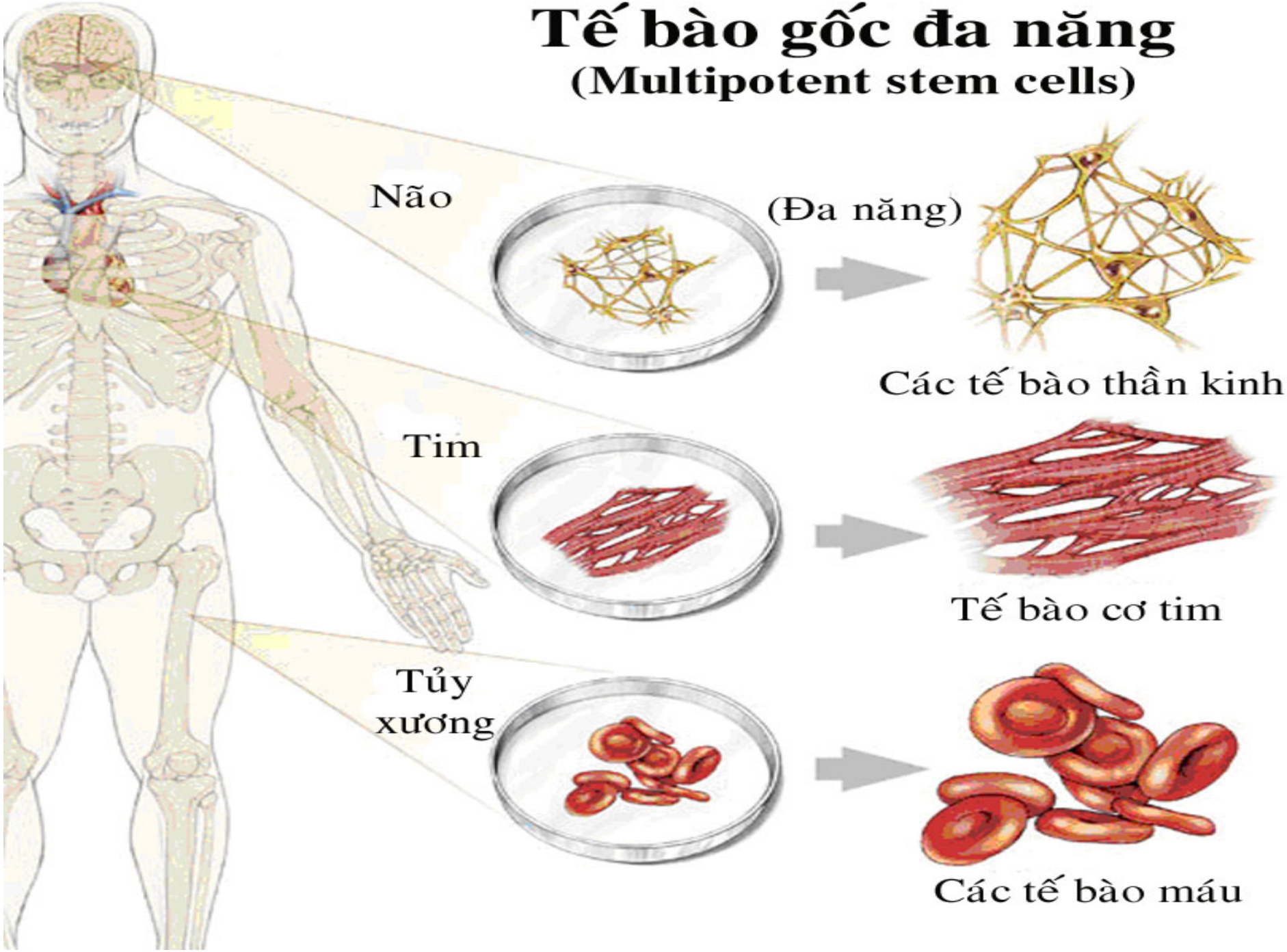
Tế bào gốc vạn năng
(Pluripotent stem cells)



c/ Tế bào gốc đa năng (multipotent stem cells).

- Là những tế bào có khả năng biệt hóa thành nhiều loại tế bào của cơ thể từ một tế bào ban đầu.
- các tế bào gốc trưởng thành như tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc thần kinh chỉ có tính đa năng; nhưng trong những điều kiện nhất định, chúng vẫn có thể chuyển biệt hóa và trở nên có tính vạn năng.

Tế bào gốc đa năng
(Multipotent stem cells)



d/ Tế bào gốc đơn năng (mono/unipotential progenitor cells).

- Tế bào gốc đơn năng là những tế bào gốc chỉ có khả năng biệt hóa theo một dòng.

- Khả năng biệt hóa theo dòng cho phép duy trì trạng thái sẵn sàng tự tái tạo mô, thay thế các tế bào mô chết vì già cỗi bằng các tế bào mô mới.

2. Xếp loại theo nguồn gốc phân lập.

- Theo nguồn gốc phân lập có thể xếp loại tế bào gốc làm 3 loại:

- Tế bào gốc phôi (trong đó có tế bào gốc phôi thực thụ và tế bào mầm phôi).
- Tế bào gốc thai.
- Tế bào gốc trưởng thành.

a/ Tế bào gốc phôi (Embryonic stem cells-ESCs) và tế bào mầm phôi (Embryonic germ cells).

- Tế bào gốc phôi là các tế bào gốc vạn năng được lấy từ phôi giai đoạn sớm (4-7 ngày tuổi).

- Tế bào mầm phôi là các tế bào mầm nguyên thủy có tính vạn năng.

a/ Tế bào gốc phôi (Embryonic stem cells-ESCs) và tế bào mầm phôi (Embryonic germ cells).

- Tế bào mầm phôi là các tế bào sẽ hình thành nên giao tử và được phân lập từ phôi 5-9 tuần tuổi hoặc từ thai nhi.
- So với tế bào gốc phôi, các tế bào mầm phôi khó duy trì dài hạn hơn trong nuôi cấy nhân tạo do chúng ở giai đoạn biệt hóa cao hơn.

✶Ưu điểm:

- Tế bào gốc phôi có tính vạn năng và dễ tăng sinh khi nuôi cấy labo nên tế bào gốc phôi thuận lợi hơn cho liệu pháp điều trị bằng tế bào gốc.

✶ Nhược điểm:

- Nếu chỉ tiêm tế bào gốc phôi vào vị trí tổn thương dễ hình thành nên khối u teratoma tại vị trí tiêm.
- Các tế bào gốc cần được định hướng biệt hóa thành các tế bào mong muốn trước.
- Hiện tượng đào thải do hệ thống miễn dịch.

b/ Tế bào gốc thai (Foetal stem cells).

- Là các tế bào vạn năng hoặc đa năng được phân lập từ tổ chức thai sau nạo phá thai hoặc từ máu cuống rốn sau khi sinh.

c/ Tế bào gốc trưởng thành (Adult stem cells/Somatic stem cells):

- Là các tế bào chưa biệt hóa được tìm thấy với một số lượng ít trong các mô của người trưởng thành (máu ngoại vi, mô não, mô da, mô cơ…).

✶Ưu điểm:

- Tránh được hiện tương đào thải do miễn dịch.

- Các tế bào gốc trưởng thành có tính đa năng, tuy nhiên cũng có thể có tính vạn năng (nhờ khả năng mềm dẻo) cho phép chúng biệt hóa thành các chủng loại tế bào khác nhau.

✶ Nhược điểm:

- Có rất ít trong các tổ chức trưởng thành và khó nhân lên về số lượng trong nuôi cấy hơn so với các tế bào gốc phôi do chúng ở giai đoạn biệt hóa cao hơn.

B. Nguồn lấy tế bào gốc.

- 1. Nguồn lấy tế bào gốc phôi.
- 2. Nguồn lấy tế bào mầm phôi và tế bào gốc thai.
- 3.Nguồn lấy tế bào gốc trưởng thành.

1. Nguồn lấy tế bào gốc phôi:

- Tế bào gốc phôi được lấy từ khối tế bào bên trong của phôi túi phát triển từ:

- Các phôi tạo nên bằng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm.
- Các phôi nhân bản tạo nên bằng tách blastosomer trong giai đoạn phôi 2- 4 tế bào, hoặc bằng phân chia blastocyst.
- Các phôi nhân bản vô tính tạo nên bằng kỹ thuật chuyển nhân tế bào.

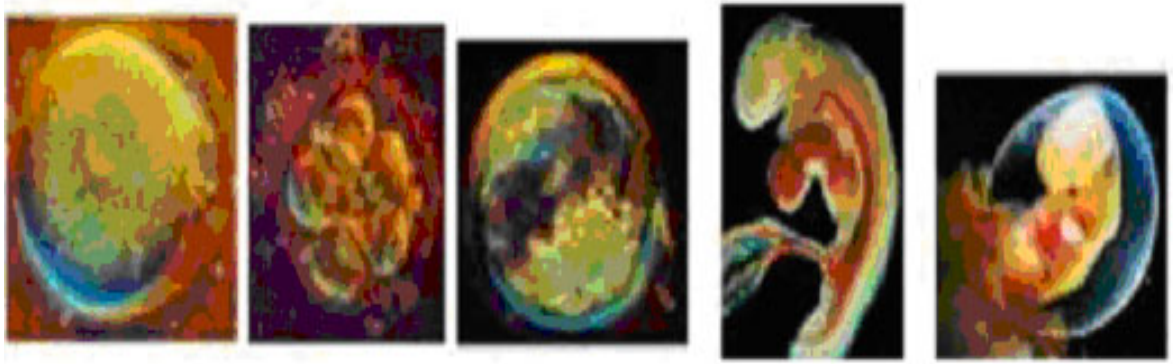
2.Nguồn lấy tế bào mầm phôi và tế bào gốc thai.

- Nguồn lấy tế bào mầm phôi và tế bào gốc thai là thai động vật hoặc thai thai nhi nạo bỏ. Với thai người nạo bỏ, thường chỉ lấy ở thai nhi dưới 6 tuần tuổi. Tổ chức mầm sinh dục thai là nơi lấy tế bào mầm phôi, các tổ chức khác của thai (não, gan) là nơi lấy tế bào gốc thai.

3. Nguồn lấy tế bào gốc trưởng thành.

- Thường lấy từ các tổ chức trưởng thành như: máu cuống rốn, trung mô cuống rốn, tủy xương, máu ngoại vi, nang lông, tổ chức não…

Tiến trình phát triển người →



Phôi 1 tế bào

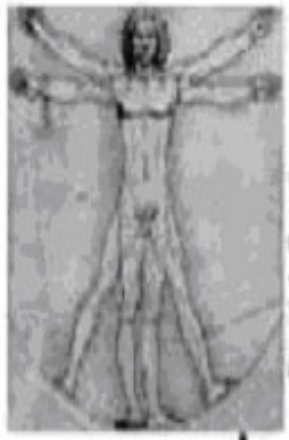
Phôi 3 ngày

Phôi 5-7 ngày

Phôi 4 tuần

Phôi 6 tuần

Sơ sinh



Trưởng thành

Tế bào gốc phôi (ESC)

Totipotent

Pluripotent

Tế bào mầm phôi (EGC)

Pluripotent

Tế bào gốc tổ chức thai

Pluripotent hoặc Multipotent

Tế bào gốc máu cuống rốn
Tế bào gốc nhau thai

Pluripotent hoặc Multipotent

Tế bào gốc "Trưởng thành"

Pluripotent hoặc Multipotent

Tetracacinoma (U tế bào mầm)

Tế bào carcinoma phôi (ECC)

Pluripotent

Tế bào gốc phôi	Tế bào gốc trưởng thành
Có ở phôi túi (blastocyst) với số lượng lớn	Có ở các mô trưởng thành, số lượng ít.
Dễ nuôi cấy nhân tạo.	Khó nuôi cấy nhân tạo hơn
Có tính vạn năng cao hơn, dễ tăng sinh trên nuôi cấy in vi tro, cho phép tạo ra lượng lớn.	Về cơ bản có tính đa năng, có thể có tính vạn năng.
Gần như bất tử	Không bất tử, số lần phân chia bị giới hạn
Nguy cơ tạo các khối u teratoma cao Vì thế mà tế bào gốc phôi chưa được sử dụng trên lâm sàng. Để tránh tạo khối u, cần định hướng biệt hóa tế bào gốc phôi trước trên nuôi cấy nhân tạo.	Ít nguy cơ tạo các khối u teratoma
Do lấy từ một cơ thể khác nên tế bào gốc phôi “lạ” với cơ thể nhận vì thế có nguy cơ gây nên phản ứng thải ghép.	-Không bất đồng miễn dịch, không gây thải ghép nếu là ghép tự thân. -Nếu ghép cho một người khác thì vẫn bất đồng gây phản ứng thải ghép.
Không dùng được cho ghép tự thân, trừ trường hợp tế bào gốc tạo ra bằng kỹ thuật nhân bản tạo phôi vô tính.	Các tế bào gốc của bản thân là nguồn tế bào tốt nhất cho ghép.

C. Ứng dụng tế bào gốc.

- Ghép tế bào gốc trị liệu (stem cell therapy).
- Công nghệ mô (tissue engineering).
- Các ứng dụng tế bào gốc phôi không liên quan đến ghép.

1. Ghép tế bào gốc trị liệu (stem cell therapy).

- Dùng tế bào gốc để thay thế, sửa chữa các phần cơ thể bị bệnh và tổn thương bằng các tế bào mới khỏe mạnh.

a/Quy trình ứng dụng tế bào gốc trị liệu.

- Sản xuất dòng tế bào gốc:

- Thu tế bào gốc: từ phôi hoặc từ tổ chức trưởng thành.
- Nuôi cấy các tế bào gốc này trong labo nhằm nhân lên về mặt số lượng.

a/Quy trình ứng dụng tế bào gốc trị liệu.

- Với tế bào gốc phôi, cần nuôi cấy nhân tạo trong các điều kiện môi trường lý hóa thích hợp để định hướng biệt hóa thành các tế bào mong muốn.
- Ghép tế bào gốc, đưa các tế bào gốc này vào các khu vực tổn thương cần sửa chữa.

b/Ứng dụng tế bào gốc trưởng thành trong điều trị.

- Điều trị các bệnh tai biến mạch máu não, suy giảm miễn dịch, thiếu máu, tổn thương giác mạc, các bệnh máu và bệnh gan, tạo xương không hoàn chỉnh, tổn thương tủy sống, liền vết thương da, điều trị ung thư, u não, u nguyên bào võng mạc, ung thư buồng trứng, các khối u đặc, đa u tủy, ung thư vú, u nguyên bào thần kinh, tái tạo cơ tim sau cơn đau tim, đái đường type I, tổn thương xương và sụn…

Tái tạo, phục hồi khớp xương

(Điều trị viêm tủy xương)

Viêm tủy

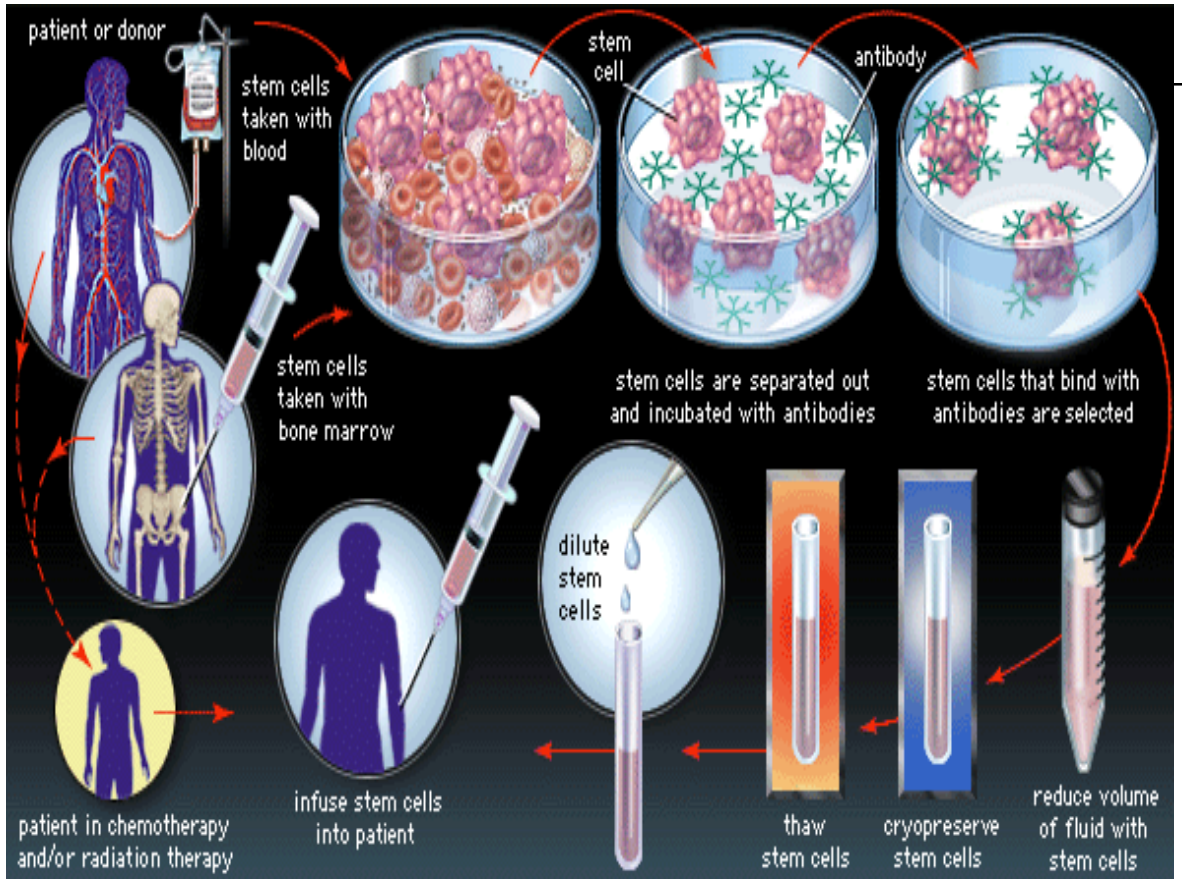
Cắt bỏ

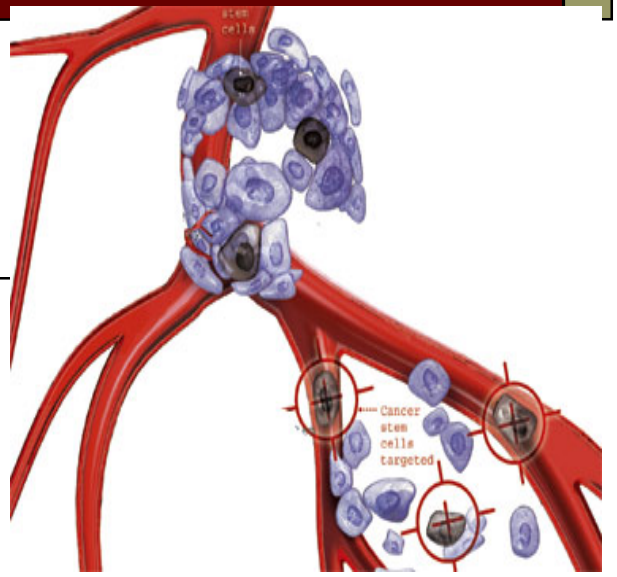
Phục hồi

Trước khi cấy TBG

Sau khi cấy TBG

Điều trị ung thư





Tiêu diệt TBG ung thư

tiêm tế bào gốc thần kinh vào một phần não của động vật bị bệnh glioma ác tính

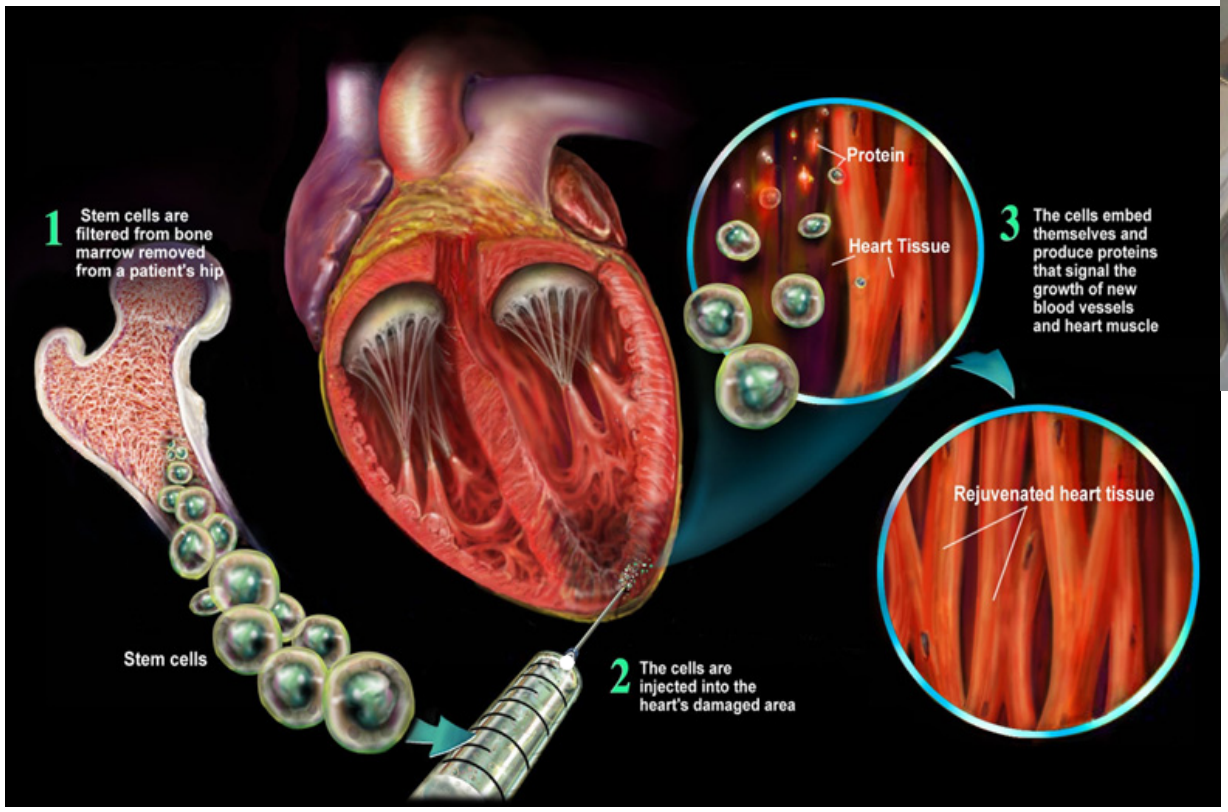
Liệu pháp TBG trong điều trị ung thư

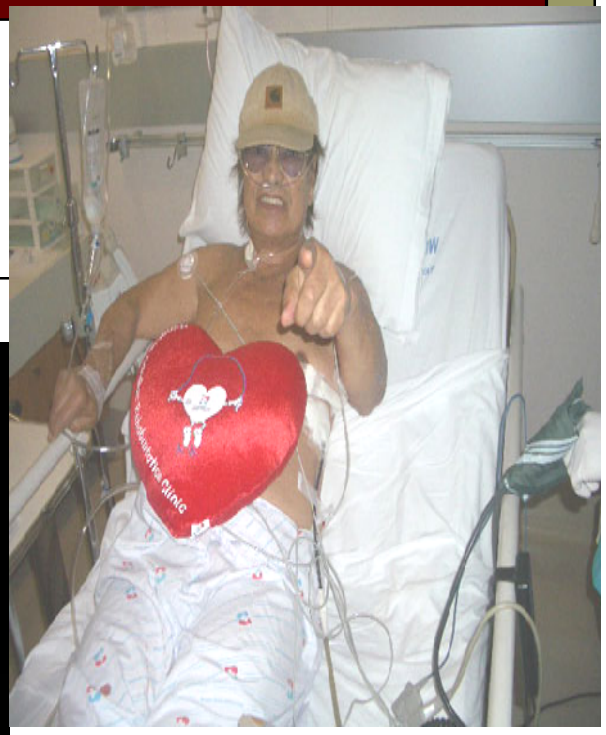
Tế bào gốc từ vùng não không bị bệnh di cư đến khu vực khối u và tấn công tế bào khối u

c/Ứng dụng tế bào gốc phôi trong điều trị.

- Các bệnh có thể được điều trị bằng ghép các tế bào có nguồn gốc từ tế bào gốc phôi người bao gồm bệnh Parkinson, đái đường, chấn thương tủy sống, suy tim…

Điều trị suy tim





- **Bệnh nhân suy tim.**

Điều trị tiểu đường

Bệnh nhân tiểu đường tiêm insulin mỗi ngày

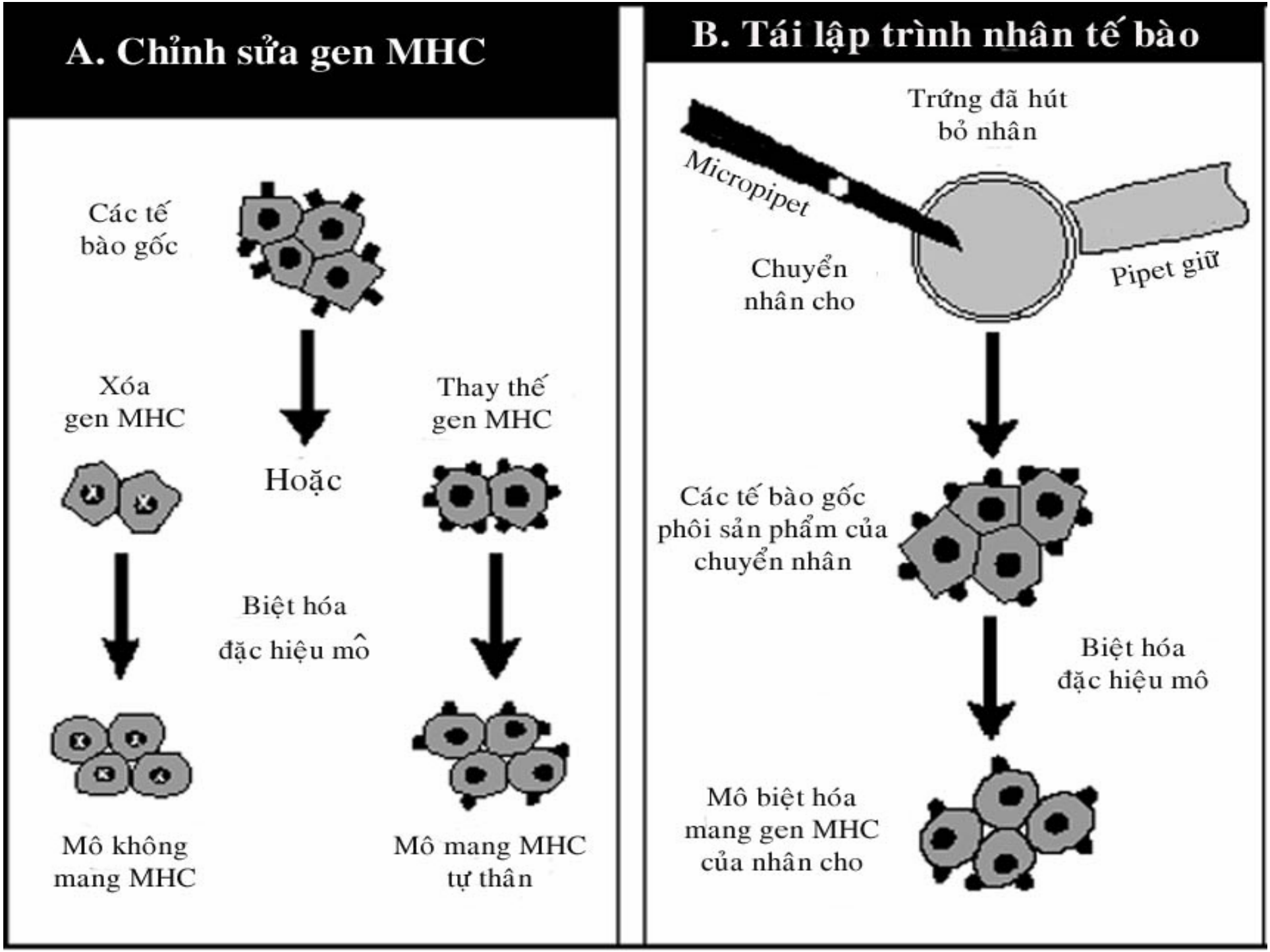
Tháng 4 năm 2007, TBG được tiêm vào 15 bệnh nhân trẻ

93% bệnh nhân có tế bào có thể tiết insuline tự nhiên trở lại

Nhiều nơi cũng đã nghiên cứu, sử dụng tế bào gốc trung mô để biệt hóa thành tế bào tiết insulin, hướng đến việc chữa bệnh tiểu đường

2. Công nghệ mô (tissue engineering)

- Công nghệ mô là một ứng dụng của tế bào gốc trị liệu, có thể thiết lập tế bào thành các cấu trúc không gian ba chiều dùng để sửa chữa mô tổn thương. Sửa chữa tổ chức bằng công nghệ mô có thể được thực hiện bằng cách nuôi cấy tế bào gốc và sau đó ghép vào mô tổn thương.


A. Chỉnh sửa gen MHC
Các tế bào gốc
Xóa gen MHC
Hoặc
Thay thế gen MHC
Biệt hóa đặc hiệu mô
Mô không mang MHC
Mô mang MHC tự thân
B. Tái lập trình nhân tế bào
Trứng đã hút bỏ nhân
Micropipet
Chuyển nhân cho
Pipet giữ
Các tế bào gốc phôi sản phẩm của chuyển nhân
Biệt hóa đặc hiệu mô
Mô biệt hóa mang gen MHC của nhân cho

3.Các ứng dụng tế bào gốc phôi không liên quan đến ghép.

- Dự đoán các dị tật bẩm sinh và các bất thường nhau thai dẫn đến sảy thai.
- Nghiên cứu các khối u ở trẻ em có nguồn gốc từ phôi.
- tế bào gốc phôi có thể được định hướng biệt hóa thành các loại tế bào đặc thù cho sàng lọc thuốc.

D. NUÔI CẤY TẾ BÀO GỐC

Thành phần môi trường nuôi cấy

- Muối vô cơ
- Carbohydrate, acid béo, amino acid
- Vitamine
- Yếu tố vi lượng
- Huyết thanh

1. Nuôi cấy sơ cấp

✓ Là quá trình nuôi cấy được thực hiện trực tiếp từ mảnh mô ban đầu đến khi cấy chuyền lần thứ nhất

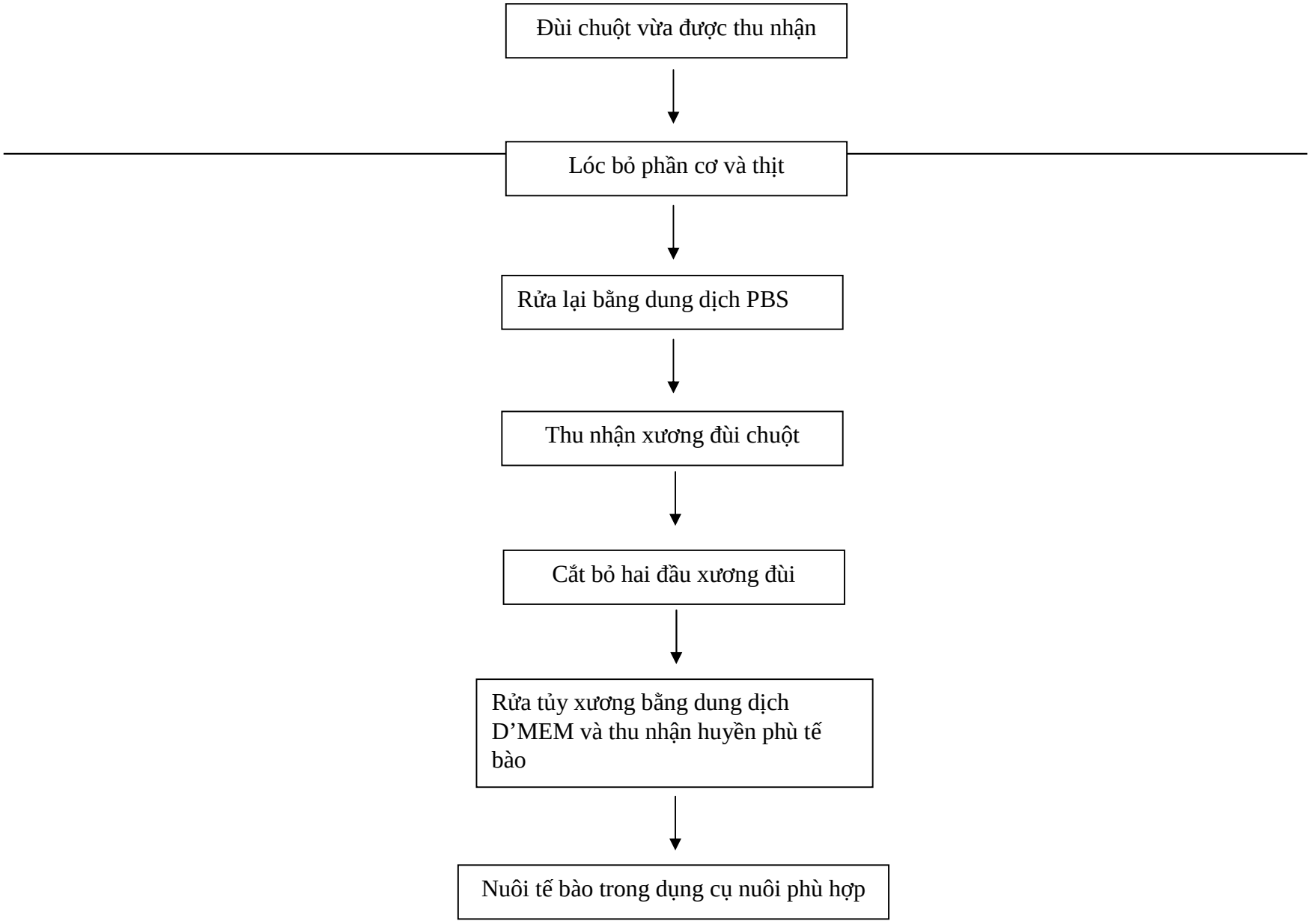
✓ Gồm các bước: thu nhận mô → tách rời các tế bào → nuôi cấy tế bào

2. Nuôi cấy thứ cấp

✓ Là quá trình nuôi cấy được thực hiện sau lần cấy chuyền đầu tiên

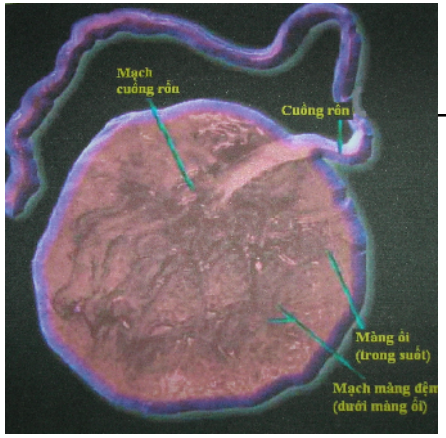
✓ Gồm các bước: loại bỏ môi trường cũ → rửa bình/đĩa nuôi → tách các tế bào gốc bám vào đáy đĩa → pha loãng các tế bào gốc bằng môi trường mới

Thu nhận và nuôi cấy tế bào gốc từ tủy xương chuột



Thu nhận và nuôi cấy tế bào gốc từ máu cuống rốn

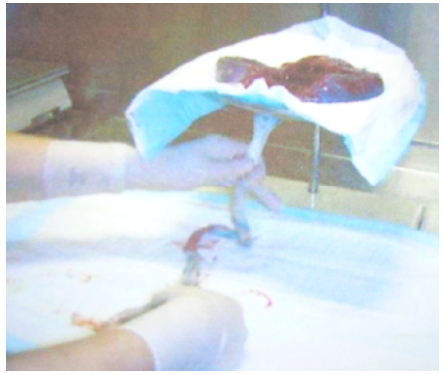
Pha mẫu máu thu được với dung dịch PBS/2mM EDTA theo tỉ lệ 1:1



Dùng pipette hút 15 ml dung dịch Ficoll_Hypaque vào ống ly tâm 50ml

Rót nhẹ 30 ml hỗn hợp PBS và máu lên trên lớp dung dịch Ficoll_Hypaque sao cho không làm xáo động bề mặt Ficoll_Hypaque/mẫu

Ly tâm 30’ ở 1500v\phút, nhiệt độ phòng



Tách tế bào đơn nhân ra từ pha giữa

Rửa 2-3 lần với PBS/EDTA

Tái huyền phù tế bào trong môi trường nuôi cấy

E. Biệt hóa tế bào gốc.

- *Biệt hóa tế bào gốc* là quá trình biến đổi từ tế bào gốc không có chức năng chuyên biệt thành tế bào chuyên hóa.

Nguyên tắc

- Loại bỏ các tác nhân biệt hóa không định hướng.
- Cảm ứng tế bào gốc biệt hóa thành dạng tế bào mong muốn bằng các tác nhân biệt hóa thích hợp.

Biệt hóa bằng hóa chất

- Một số hormone, cytokine, vitamin, các ion Ca2+...
- tác động lên tế bào làm tế bào thay đổi sự biểu hiện của gen

Biệt hóa bằng các chất nền

- Dựa vào sự tương tác giữa tế bào và chất nền trong nuôi cấy tế bào in vitro.
- Mỗi mô khác nhau có thành phần chất nền ngoại bào ECM (Extra cellular matrix) của riêng nó.
- Bổ sung ECM thích hợp vào nuôi cấy in vitro giúp các tế bào gốc có thể biệt hóa thành các tế bào mong muốn.