



Science for a better world

November 2015 - Volume 2 - Issue 2

VIETNAM JOURNAL OF SCIENCE

Science for a better world

EDITOR-IN-CHIEF

Liem Phan, Ph.D.
Department of Emergency Medicine
The University of Texas – MD Anderson Cancer Center
Houston, Texas, USA
Email: liemphan@vjsonline.org

EXECUTIVE ADMINISTRATOR

Lam Thieu, Ph.D. candidate
Virginia Tech
Virginia, USA
Email: langdu@vjsonline.org

MANAGING EDITORS

Mai Tran, Ph.D.
School of Biotechnology
Ho Chi Minh City International University – Vietnam National University
Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: maitran@vjsonline.org

Huong Ha, Ph.D. candidate
Department of Neurology and Neurological Sciences
Stanford University
Palo Alto, California, USA
Email: huongha@vjsonline.org

ABOUT VIETNAM JOURNAL OF SCIENCE

Vietnam Journal of Science (VJS) is an online and open access journal established by many scientists and volunteers from the Vietnam Education Foundation Fellow Association (VEFFA) and other organizations. Since its establishment, VJS has attracted the participation of multiple Vietnamese and international scientists from all over the world. Currently, VJS team consists of more than 100 editors and staffs. VJS has been registered for publication in the United States and has received the ISSN 2374-8664 for online edition.

AIMS AND SCOPE

VJS aims to provide readers with updated information about scientific discoveries and technological advances that are relevant to Vietnamese people and economy, as well as establish a global and supportive platform to enhance collaboration among Vietnamese scientists, entrepreneurs, investors, and the general public.

VJS publishes news and manuscripts on all aspects of science and technology including Basic Sciences such as Mathematics, Physics, Chemistry, and Biology; Health Sciences such as Biomedical Sciences, Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Public Health, and Medicine; and Engineering such as Mechanical Engineering, Bioengineering, Civil Engineering and other Engineering areas. The articles published in VJS provide insights into current trends of research and applied technology, new discoveries, guidelines, and introduction of established research areas for students, essential professional skills for career development in science and technology, and experience sharing from successful scientists. Papers discussing political matters are not appropriate for this journal.

Format of VJS

Each issue of VJS consists of 5 main sections: Science and Technology Pulses, Research and Review, Scientist Portrait, Career, and News.

1. Science and Technology Pulses: Manuscripts published in this section summarize or introduce breakthroughs in science and technology with the goal of promoting their applications in industry, medicine and other aspects of society. Lay terms and explanation of specific scientific and technological concepts are encouraged.
2. Research and Review: Research papers need to offer original data supporting new discoveries in science and technology that have not been previously published in any journals. Review articles should provide readers with comprehensive summary and analysis of major advances in important fields of science and technology. English is required for publications in this section.
3. Scientist portrait: Interviews with leading Vietnamese scientists and/or research groups are published in this section.
4. Career: VJS Career also provides readers with valuable career opportunities from leading universities, employers, institutions, and enterprises.
5. News: This section provides critical and up-to-date information about science and technology, especially those about facts, initiatives, and policies affecting scientific and technological development in Vietnam.

CONTACT:

Please send your manuscripts or suggestions to our email address: paper@vjsonline.org

Authors who submit manuscripts to VJS will benefit from

- Thorough and constructive review and feedbacks from our editors and reviewers, who are experts in various science and engineering disciplines.
- The opportunity to reach out to millions of readers all over the world via our open access and online publication platform.
- Our free publication policy: there is no publication fee to publish in our journal.

TABLE OF CONTENT

Science & Technology Pulse	Caenorhabditis elegans – động vật mô hình trong nghiên cứu Sinh học phân tử <i>Lê Thọ Sơn</i>	1
	Khả năng kháng ung thư của Curcumin và Graviola <i>Phan Minh Liêm</i>	6
Research & Review	Targeting PI3K/AKT/mTOR signaling in Acute Myeloid Leukemia <i>Huu Phuc Nguyen et al.</i>	11
	Disulfide Bond Formation of Heterodimer and Heterotrimer of Human Laminin-332 Coiled-coil Domains <i>Hoang Phuong Phan et al.</i>	17
	Oncolytic Virus – an effective targeting therapy for cancer treatment <i>Khue Gia Nguyen et al.</i>	25
Scientist Portraits	PGS.TS Lê Thị Lý: “Hãy quay về khi tuổi đời còn trẻ, khi sức còn dài và vai còn rộng” <i>Hoa Phan, Hương Hà</i>	31
	GS. TS. Trương Nguyễn Thành: “Cần một sự thay đổi mạnh mẽ trong tư duy quản lý Khoa học và Công Nghệ Việt Nam” <i>Lăng Du, Hương Hà</i>	34
News	Phát hiện nhóm hoạt chất có tính kháng vi khuẩn tụ cầu vàng <i>Hoa Phan</i>	38
	Các hợp chất gây rối loạn tuyến nội tiết trong môi trường. Kỳ 1: Nguồn gốc và những ảnh hưởng của các chất gây rối loạn tuyến nội tiết đến môi trường và con người <i>Hào Võ</i>	40
	Phát hiện protein chữa lành tổn thương của cơ tim <i>Bùi Văn Anh</i>	42
Career	Mạng xã hội: công cụ mới dành cho nhà khoa học thế kỷ 21 <i>Hương Hà</i>	44



SCIENCE & TECHNOLOGY PULSE

Caenorhabditis elegans – động vật mô hình trong nghiên cứu Sinh học phân tử

Lê Thọ Sơn^{1*}

1 Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Đại học Lâm nghiệp Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam

*Địa chỉ email của tác giả: sonacademiasinica@gmail.com

ARTICLE INFO

Editor:

Vương Văn Thu, University of Toronto.

Corresponding author:

Lê Thọ Sơn
sonacademiasinica@gmail.com

Keywords:

Caenorhabditis elegans
Chức năng của gen
GFP
RNAi
Chuyển gen

ABSTRACT

To explore the biological principles, biologists have been using different model organisms such as *E. coli*, yeast, *Drosophila*, mice, human cells, *Arabidopsis*, maize and so on. Since none of them is perfect and appropriate for various types of research, biologists have to select suitable models for their specific research focuses. This paper introduces *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), a tiny round-worm species, as an organismal model, and its fundamentally biological characters. Since the first genetics studies by Sydney Brenner in 1963, *C. elegans* has become commonly used for research on functional genetics, cell and developmental biology, evolution and bio-medication. This paper reports four biological breakthroughs from *C. elegans*, including apoptosis, green fluorescence protein, RNA interference and aging. Additionally, we also present our research on *Caenorhabditis* biodiversity and the effects of females on males' behaviors using *C. elegans*.

Tóm tắt

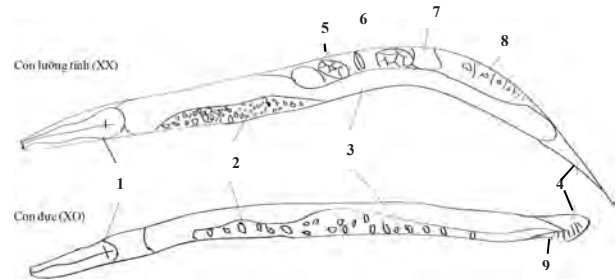
Để hiểu được nhiều quy luật sống của sinh vật, con người đã sử dụng nhiều mô hình khác nhau như *E. coli*, nấm men, ruồi dấm, chuột, tế bào người, *Arabidopsis*, ngô, v.v.. Vì không có một mô hình nào lý tưởng và phù hợp với các dạng nghiên cứu khác nhau nên nhà sinh vật học cần chọn mô hình phù hợp với từng mục tiêu nghiên cứu chuyên biệt. Bài báo này giới thiệu *Caenorhabditis elegans* - một loài giun tròn nhỏ, và những đặc điểm căn bản của nó. Kể từ những nghiên cứu di truyền học đầu tiên của Sydney Brenner năm 1963, giun *C. elegans* đã được sử dụng rất nhiều trong các nghiên cứu di truyền chức năng, tế bào, sinh học phát triển, tiến hóa sinh học và y sinh. Bài báo trích dẫn bốn khám phá sinh học bắt nguồn từ *C. elegans* bao gồm: cơ chế tự hủy diệt của tế bào (apoptosis), kim hãm biểu hiện gen bằng cách phân hủy RNA (RNAi), protein phát huỳnh quang (GFP) và sự lão hóa. Những nghiên cứu của nhóm chúng tôi, ứng dụng *C. elegans* trong nghiên cứu đa dạng sinh học các loài thuộc chi *Caenorhabditis* và ảnh hưởng của giới cái lên các hành vi của giới đực, cũng sẽ được trình bày trong bài.

Lịch sử

Caenorhabditis elegans là loài giun tròn sống tự do trong môi trường đất với kích thước trưởng thành khoảng 1 mm. Năm 1963, Sydney Brenner bắt đầu ý tưởng nghiên cứu tính chất di truyền của sự phát triển ở tế bào thần kinh trong *C. elegans*. Năm 1974, Brenner nghiên cứu sinh học phân tử và sinh học phát triển của *C. elegans* và kể từ đó *C. elegans* được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu sinh học (1).

Sự phát triển và tập tính của giun *Caenorhabditis elegans*

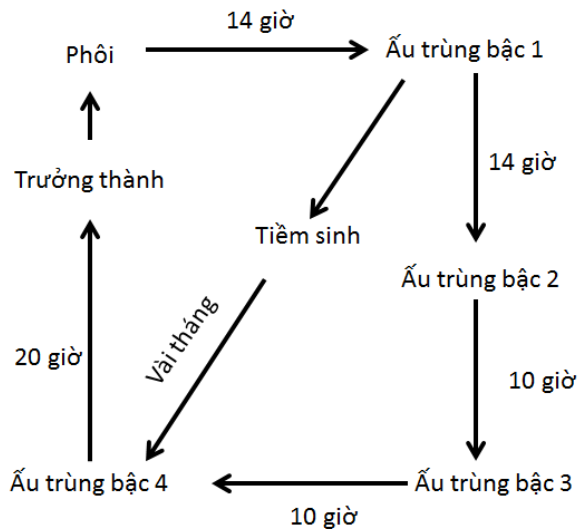
Cơ thể giun *C. elegans* dài khoảng 1 mm ở độ tuổi trưởng thành. Phần chính cơ thể cấu tạo dạng “hai ống” lồng vào nhau: trong cùng là ống ruột, ngoài cùng là lớp biểu bì cu-tin và hệ thống cơ. Cơ thể được chia thành ba phần: đầu, thân và đuôi. Trong quần thể có con lưỡng tính và con đực. Thông thường con lưỡng tính chiếm áp đảo và con đực chiếm khoảng 0.2%. Con lưỡng tính được cấu tạo bởi 959 tế bào (2) và con đực là 1003 (3). Cơ thể gồm có hệ thống tế bào soma, tế bào sinh sản và tế bào thần kinh. Dưới kính hiển vi chúng ta có thể nhìn xuyên thấu vào các cơ quan bên trong cơ thể giun (Hình 1).



Hình 1: Cấu trúc cơ thể giun lưỡng tính và giun đực *C. elegans*.

1-phần đầu; 2-cơ quan sinh dục; 3-ruột; 4-đuôi; 5-hộp tử hoặc phôi; 6-âm hộ; 7-cơ quan tạo hoặc lưu trữ tinh trùng; 8-tùng; 9-gai giao hợp.

Giun *C. elegans* sống khoảng 20 ngày. Giun phát triển qua bốn giai đoạn ấu trùng (ấu trùng L1, L2, L3, L4), trưởng thành, sinh sản, lão hóa, và chết. Giun có thể chuyển sang trạng thái sống tiềm sinh trong vài tháng ở giai đoạn L2 khi thiếu thức ăn, mật độ cá thể đông và nhiệt độ thấp (Hình 2).



Hình 2: Vòng đời và phát triển của giun *C. elegans* ở nhiệt độ 20°C.

C. elegans có chu kỳ phát triển là ba ngày, thông thường bắt đầu sinh sản từ ngày thứ 3 cho tới ngày thứ 5 kể từ khi sinh ra. Vì có con lưỡng tính nên sinh sản tự phối sản xuất khoảng 300 cá thể. Vì có cả con đực nên sinh sản giao phối giữa con đực và con lưỡng tính sản xuất vài trăm cho tới khoảng 1000 con lai.

Hệ gen và gen

Kích thước hệ gen là 100.272.276 Mb và phân bố thành năm cặp nhiễm sắc thể: bốn cặp nhiễm sắc thể thường và một nhiễm sắc thể giới tính X. Tất cả các nhiễm sắc thể đều có cấu trúc holocentric (các nhiễm sắc

thể không phân định rõ tâm động), trong đó con lưỡng tính có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX và con đực là XO. Hệ gen của *C. elegans* có những đặc trưng chung của sinh vật cấu tạo bởi tế bào nhân chuẩn bao gồm khoảng 19.000 gen (3), trình tự nucleotit lặp, yếu tố nhảy (gen nhảy) v.v.. Khoảng 60-80% gen giun giống với gen người (4). Toàn bộ hệ gen đã được giải trình tự trên dòng giun đồng hợp tử *C. elegans* N2. Cùng với những ưu thế tiện lợi khác, *C. elegans* được sử dụng rộng rãi trong nhiều nghiên cứu sinh học liên quan tới các locus.

Tiện ích trong thí nghiệm nghiên cứu gen

Hiện nay cộng đồng các nhà khoa học sử dụng giun *C. elegans* đã rất đông trên thế giới, vì vậy các thông tin liên quan tới một nghiên cứu thường có nhiều sự tham khảo. Mọi thông tin thường xuyên cập nhật tại địa chỉ www.WormBase.org. Các thư viện như RNAi (RNA interference) và thư viện biểu hiện ORF (open reading frame expression library - là tập hợp các dòng vi khuẩn mang cDNA tái tổ hợp) đã được tạo ra cho hầu hết các gen. Sự phát triển và biệt hoá của các cơ quan và từng tế bào đã được mô tả chi tiết. Kỹ thuật RNAi và vi tiêm gen không phức tạp và đã được ứng dụng rộng rãi trên thế giới. Hai kỹ thuật này vô cùng cần thiết trong nghiên cứu chức năng trực tiếp của gen. Khi biết trình tự nucleotit và vị trí của gen, đột biến gen có chủ đích được thực hiện bằng cách sử dụng ethyl methanesulfonate (EMS), tia UV và transposon (5). Mới đây phương pháp đột biến gen CRISPR/Cas9 đã được ứng dụng và quy trình hóa để gây đột biến gen quan tâm trong *C. elegans*. Phương pháp này được tóm tắt như sau: một phức hợp vector mã hóa CRISPR/Cas9 cho gen quan tâm được tạo ra và vi tiêm vào giun mẹ lưỡng tính; hệ vector được kích hoạt bởi enzyme phiên mã và giải mã và gây đột biến gen chủ đích trong tế bào sinh dục của giun mẹ; những tế bào sinh dục mang gen đột biến phát triển thành các giao tử (trứng và tinh trùng) và thụ tinh cho nhau tạo ra các hợp tử mang gen đột biến mất hoặc thêm nucleotit (6, 7). Vì vòng đời ngắn, lai chéo giữa các dòng giun không khó và con lai có số lượng đông, *C. elegans* được sử dụng để xác định tương tác di truyền giữa hai gen bằng cách lai hai đột biến của hai gen quan tâm cùng quy định một tính trạng.

Những phát hiện tiêu biểu từ *Caenorhabditis elegans*

Tương tự nhiều sinh vật mô hình khác như nấm men, cây *Arabidopsis*, ruồi dấm, chuột và tế bào người, giun *C. elegans* đã được sử dụng nhiều trong nghiên cứu sinh học phân tử và đã góp phần tìm ra nhiều tính chất của sự sống.

Năm 2002, giải Nobel Y học được trao cho các tác giả đã phát hiện cơ chế tự hủy diệt tế bào (apoptosis) trên *C. elegans* (8). Apoptosis là một hiện tượng "chết chủ động do chương trình di truyền điều khiển" của tế bào. Tế

bào thực hiện apoptosis thể hiện các đặc điểm cơ bản như DNA nhân bị phân hủy, màng ty thể mất điện thế và màng tế bào tách khỏi tế bào chất. Trong quá trình phát triển phôi thai giun *C. elegans* lưỡng tính 1090 tế bào được sinh ra và 131 tế bào tự hủy diệt. Người ta đã tìm ra khoảng 20 gen liên quan điều hòa quá trình tự hủy diệt, trong số đó, bốn gen vô cùng cần thiết là *ced-3* (Cell Death abnormality), *ced-4*, *ced-9* và *egl-1* (EGG Laying defective). Các gen này tạo ra các protein tương ứng và cùng hoạt động trong tế bào được xác định tự hủy diệt. CED-3, CED-4 và EGL-1 là các protein kích hoạt apoptosis và CED-9 là protein chống lại apoptosis của 131 tế bào.

Protein phát huỳnh quang xanh (green fluorescent protein - GFP) được sử dụng làm dấu hiệu biểu hiện gen và vị trí protein trong tế bào (được trao giải Nobel Hóa học năm 2008) (9, 10) (Hình 3).

Gen GFP đầu tiên được phân lập từ loài sứa biển (*Aequorea victoria*). Protein GFP có 238 amino acid, hấp thụ sóng UV tối ưu ở bước sóng 450 nm tới 490 nm và phát ra huỳnh quang xanh. Tính chất này được ứng dụng để theo dõi biểu hiện một gen bất kỳ (tạm gọi là A) và protein mã hóa bởi gen đó (protein A) trong tế bào sống của giun. Gen A được thao tác gen để gắn gen GFP và tạo ra một vector tái tổ hợp A::GFP hoặc GFP::A. Khi được vi tiêm vào giun, vector biểu hiện protein tái tổ hợp phát huỳnh quang xanh. Gen đầu tiên được áp dụng nghiên cứu biểu hiện là *mec-7* mã hóa protein β -tubulin.



Hình 3: GFP biểu hiện trong tế bào.
1-tế bào uste; 2-tế bào ruột.

Nghiên cứu hạn chế biểu hiện gen ở mức độ RNA (RNA interference, gọi tắt RNAi) được trao giải Nobel Sinh-Y học năm 2006 cũng là một nghiên cứu sử dụng *C. elegans* (11, 12). Kỹ thuật RNAi sử dụng siRNA, phân

từ RNA ở trạng thái mạch kép hỗ trợ, có độ dài khoảng 20 nucleotit, được tạo ra từ dsRNA (double strand RNA) bởi phức hợp protein Dicer. siRNA cùng với một số protein khác như PIWI tạo ra phức hợp RISC (RNA Inducing Silencing Complex). Phức hợp RISC bám vào pre-mRNA và/hoặc mRNA của gen mục tiêu tại vị trí mà phân tử siRNA mạch đơn bám vào theo nguyên tắc bổ trợ. Phức hợp RISC cắt các phân tử mRNA mục tiêu, kết quả là tế bào thiếu mRNA để tổng hợp đủ lượng phân tử protein mục tiêu (13). Những gen đầu tiên của *C. elegans* thành công với hiện tượng RNAi là *unc-22* (UNCoordinate), *fem-1* (FEMinization of XX và XO animals), *unc-54*, *hlh-1* (Helix Loop Helix) và gen ngoại lai *GFP* có nguồn gốc từ sứa được vi tiêm vào *C. elegans* (11).

Gen tham gia vào quá trình lão hóa đã được phát hiện trên *C. elegans*. Trong một nghiên cứu di truyền tuổi thọ, Kenyon đã sử dụng kỹ thuật RNAi để ức chế biểu hiện gen của gen *daf-2* (abnormal DAuer Formation), dẫn đến kéo dài tuổi thọ của giun. Thêm vào đó, đột biến mất nucleotit dẫn đến mất chức năng của gen *daf-2* cũng kéo dài tuổi thọ của giun, cho phép giun sống lâu gấp ba lần so với bình thường (14). Các thí nghiệm trên chứng tỏ gen *daf-2* hạn chế tuổi thọ giun. Ngược lại đột biến mất chức năng của gen *daf-16* gây rút ngắn tuổi thọ, chứng tỏ *daf-16* có chức năng duy trì tuổi thọ giun (2). Cả hai gen này đều có các gen đồng dạng ở người liên quan đến con đường đồng hóa đường liên quan đến insulin. Phát hiện này mở ra một ý tưởng là con người có thể kéo dài tuổi thọ nhờ thay đổi di truyền.

Ngoài vai trò mấu chốt trong các phát hiện mang tính đột phá kể trên, các loài giun thuộc giống *Caenorhabditis* cũng được sử dụng trong nghiên cứu tiến hóa sinh vật (như nghiên cứu hệ gen) (15, 16); trong Sinh-Y (như nghiên cứu bệnh Alzheimer và đái tháo đường (4, 17).

Có khả năng sử dụng *C. elegans* ở Việt Nam?

Tôi cho rằng *C. elegans* là động vật mô hình nghiên cứu có thể dùng trong nghiên cứu sinh học ở mức độ quần thể, nhóm cá thể, cá thể, cơ quan, tế bào và phân tử ở Việt Nam. *C. elegans* còn có thể trở thành sinh vật mô hình thực hành cho nhiều chủ đề trong sinh học, ví dụ như thực hành các quy luật di truyền Mendel. Ngoài các trang thiết bị phổ biến cho thí nghiệm liên quan đến sinh học phân tử, các thiết bị cần thiết cho nghiên cứu trên *C. elegans* là những thiết bị với "giá thấp" như tủ nuôi cấy ổn định nhiệt độ (16, 20 và 25°C), kính hiển vi và hệ vi tiêm. Vì vậy xét trên nhiều góc độ, *C. elegans* hoàn toàn có thể là một trong số lựa chọn thiết thực để góp phần phát triển nghiên cứu và đào tạo khoa học sự sống ở Việt Nam.

Hiện nay chúng tôi đang sử dụng tuyến trùng giun tròn thuộc chi *Caenorhabditis* bao gồm cả *C. elegans* trong hai nghiên cứu độc lập. Nghiên cứu thứ nhất là về tiến hóa sinh vật, bao gồm: phân lập giun *Caenorhabditis* từ nhiều vùng sinh thái thuộc lãnh thổ Việt Nam và xác định đa dạng di truyền-thích nghi sinh thái của các loài giun này. Kết quả nghiên cứu giúp mô phỏng lịch sử tiến hóa/chọn lọc của tuyến trùng giun tròn *Caenorhabditis* ở các vùng sinh thái ở Việt Nam. Nghiên cứu thứ hai về tác động của giới cái lên hành vi của giới đực nhằm góp phần quản lý những tác động của sự chênh lệch giới thụ động trong xã hội loài người trong đó có Việt Nam.



Hình 4: Nhóm sinh viên làm thí nghiệm trên *C. elegans*.

Kết luận

Con người đã sử dụng tuyến trùng giun tròn *Caenorhabditis elegans* làm sinh vật mô hình trong nghiên cứu sinh học và đã tìm ra nhiều quy luật sinh học phục vụ cho hiểu biết và ứng dụng trong đời sống. Giun mô hình này có những ưu thế thuận lợi cho nghiên cứu nhiều quy luật sinh học ở mức độ phân tử, cũng như đào tạo khoa học sự sống trong điều kiện hạn chế về kinh phí và cơ sở vật chất của Việt Nam.

VỀ TÁC GIẢ

TS. Lê Thọ Sơn được đào tạo thạc sỹ tại Học viện Gwangju Institute of Science and Technology và tiến sỹ tại Đại học Hanyang, Hàn Quốc, và sau tiến sỹ tại Học viện Academia Sinica, Đài Loan. Tác giả đã nghiên cứu enzym dehydrogenase và tiến hóa kích thước hệ gen sinh vật trên mô hình *C. elegans*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brenner S (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics 77(1):71-94.
2. Sulston JE (1976) Post-embryonic development in the ventral cord of *Caenorhabditis elegans*. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 275:287-297.
3. Kemphues K (2005) Essential Genes. Wormbook.
4. Kaletta T & Hengartner MO (2006) Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. Nature reviews. Drug discovery 5(5):387-398.

5. Kutscher LM & Shaham S (2014) Forward and reverse mutagenesis in *C. elegans*. Wormbook.
6. Dickinson DJ, Ward JD, Reiner DJ, & Goldstein B (2013) Engineering the *Caenorhabditis elegans* genome using Cas9-triggered homologous recombination. *Nature methods* 10(10):1028-1034.
7. Friedland AE, et al. (2013) Heritable genome editing in *C. elegans* via a CRISPR-Cas9 system. *Nature methods* 10(8):741-743.
8. Lettre G & Hengartner MO (2006) Developmental apoptosis in *C. elegans*: a complex CEDnario. *Nature reviews. Molecular cell biology* 7(2):97-108.
9. Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, Ward WW, & Prasher DC (1994) Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* 263(5148):802-805.
10. Huang M & Chalfie M (1994) Gene interactions affecting mechanosensory transduction in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 367(6462):467-470.
11. Fire A, et al. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391(6669):806-811.
12. Xu S-Q & Fire A (1996) Fire Lab Vector Kit.
13. Grishok A (2005) RNAi mechanisms in *Caenorhabditis elegans*. *FEBS letters* 579(26):5932-5939.
14. Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, & Tabtiang R (1993) A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 366(6454):461-464.
15. Hodgkin J (2005) Introduction to genetics and genomics. Wormbook.
16. Wang J, Chen P-J, Wang GJ, & Keller L (2010) Chromosome size differences may affect meiosis and genome size. *Science* 329(293):5989.
17. Conradt B & Xue D (2005) Program cell death. Wormbook.



SCIENCE & TECHNOLOGY PULSE

Khả năng kháng ung thư của Curcumin và Graviola

Phan Minh Liêm

Trung tâm Ung thư MD Anderson, thành phố Houston, bang Texas, Hoa Kỳ

ARTICLE INFO

Editor:

Trần Ngọc Ánh Mai, ĐH Quốc Tế, ĐH Quốc Gia, TPHCM

Corresponding author:

Phan Minh Liêm
liemphan@mdanderson.org
pmliem@gmail.com

Keywords:

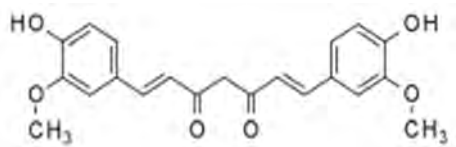
PI3K
Akt
mTOR
acute myeloid leukemia

ABSTRACT

Ung thư là một trong những căn bệnh nguy hiểm nhất trên thế giới và tại Việt Nam hiện nay. Theo thống kê của Bộ Y tế, mỗi năm có khoảng 110.000 ca bệnh ung thư mới được phát hiện ở nước ta (1). Điều đáng lo ngại là số lượng bệnh nhân ung thư đang gia tăng nhanh và tỉ lệ tử vong do ung thư tại Việt Nam thuộc hàng cao nhất trên thế giới (2). Vì vậy việc tầm soát và chữa trị ung thư tại Việt Nam cần nhiều bước tiến nhanh để chăm sóc sức khỏe cho người dân. Bài viết này sẽ đề cập đến khả năng kháng ung thư của một số hoạt chất thiên nhiên được chiết xuất từ nghệ và cây mãng cầu xiêm. Những thông tin được giới thiệu trong bài viết được trích dẫn từ các nghiên cứu khoa học và y học của nhiều viện nghiên cứu và bệnh viện ung thư trên thế giới. Nếu quý độc giả quan tâm đến các nghiên cứu này, xin vui lòng đọc các tài liệu gốc bằng tiếng Anh với trích dẫn ở cuối bài viết. Bài viết chỉ nhằm cung cấp các thông tin khoa học và y học liên quan đến tác dụng của curcumin và graviola đối với ung thư. Việc tham khảo ý kiến chuyên môn của các bác sĩ, dược sĩ, và chuyên gia y tế trước khi sử dụng các loại thuốc, thuốc bổ, vitamin,... là rất cần thiết.

I. Hoạt tính kháng ung thư của curcumin

Curcumin là một hoạt chất quan trọng trong củ nghệ. Khả năng kháng ung thư của curcumin được phát hiện và kiểm chứng bởi hơn 2200 công trình nghiên cứu khoa học và y học trên thế giới. Các nghiên cứu sức khỏe cộng đồng cho thấy Ấn Độ là nước có tỉ lệ ung thư đường tiêu hoá thấp nhất trên toàn cầu (3). Một trong những nguyên nhân chính là do trong khẩu phần ăn của người Ấn Độ có rất nhiều cà ri, với thành phần chủ yếu là nghệ và các loại gia vị. Hàm lượng curcumin trong cà ri khá cao và đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa, ức chế, tiêu diệt



Hình 1: Công thức hoá học của curcumin.

Nguồn: Wikipedia

tế bào ung thư (3-9).

Các nghiên cứu khoa học cho thấy curcumin có tác dụng bất hoạt phân tử NF- κ B và các con đường truyền tín hiệu liên quan đến phân tử này (3-10). NF- κ B đóng vai trò quan trọng đối với sự sinh tồn, tăng trưởng, phân chia, và di căn của rất nhiều loại tế bào ung thư. Vì vậy khi phân tử NF- κ B bị ức chế, tế bào ung thư sẽ tự chết (tự sát, apoptosis), giảm hoặc mất khả năng tăng trưởng và di căn (5, 6, 8, 9).

Hơn nữa, curcumin còn có tác dụng kích hoạt các protein kháng ung thư sẵn có trong tế bào như p53, p16, Bax... qua đó tiêu diệt, ức chế sự tăng trưởng và sinh tồn của tế bào ung thư. Curcumin còn có khả năng kìm hãm các gen mã hoá các protein gây ung thư như Bcl-2, Bcl-XL, MMP9, VEGF, cyclin D1, cyclin E, c-jun, c-fos, c-myc, NIK, MAPKs, ERK, ELK, PI3K, Akt, CDK ... và làm suy giảm khả năng sống sót, di căn và phát triển của tế bào ung thư cũng như ức chế quá trình tạo mạch máu



Hình 2: Curcumin, một thành phần quan trọng của nghệ. Nguồn: Wikipedia.

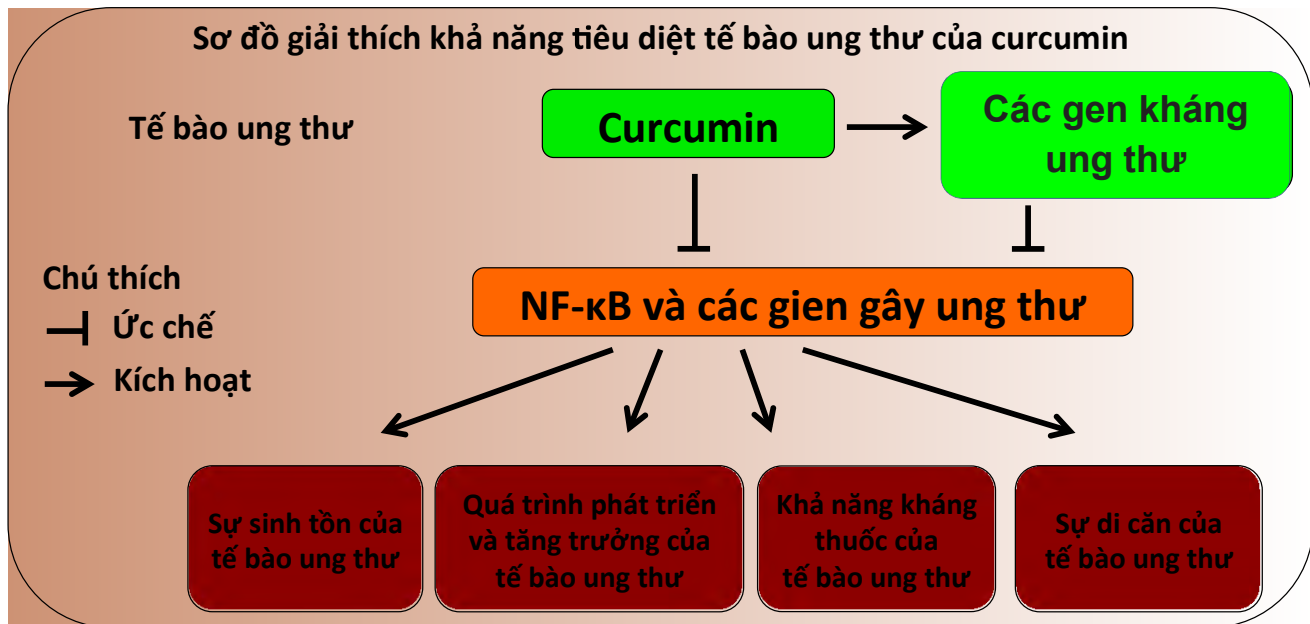
trong khối u (4-10). Vì vậy, curcumin tấn công tiêu diệt tế bào ung thư hiệu quả bằng nhiều cách khác nhau mà

không làm ảnh hưởng nhiều đến các tế bào bình thường (4-10).

Curcumin còn có tác dụng ngăn ngừa ung thư (9, 11). Quan trọng hơn, curcumin còn vô hiệu hoá hoặc giảm khả năng kháng thuốc của khối u bằng cách ức chế hệ thống cytochrome P450 và enzyme glutathione-S-transferase của tế bào ung thư (7, 8, 12-14).

Ngoài tác dụng kháng ung thư, curcumin còn có khả năng chống ôxi hoá, kháng viêm, kháng khuẩn và chống lão hoá (4, 6, 10, 15). Việc sử dụng curcumin đúng liều lượng và đúng cách hầu như không có tác dụng phụ hoặc độc tính nào đáng kể đối với các tế bào bình thường (3, 4, 6, 7, 9-11, 15).

Vì vậy, hiện nay có rất nhiều công trình nghiên cứu y học và thử nghiệm lâm sàng đang được tiến hành tại nhiều viện nghiên cứu và trung tâm y khoa trên thế giới để nâng cao hiệu quả của curcumin cũng như khai thác khả năng kháng ung thư của hoạt chất này trong việc điều trị và phòng ngừa căn bệnh ung thư.



Hình 3: Khả năng ức chế và tiêu diệt tế bào ung thư của curcumin.

Curcumin có tác dụng bất hoạt phân tử NF-κB và các con đường truyền tín hiệu liên quan đến phân tử này. NF-κB đóng vai trò cực kì quan trọng đối với sự sinh tồn, tăng trưởng, phân chia, kháng thuốc và di căn của rất nhiều loại tế bào ung thư. Vì vậy khi phân tử NF-κB bị ức chế hoàn toàn, tế bào ung thư sẽ tự chết (tự sát, apoptosis), giảm hoặc mất các khả năng phân chia, kháng thuốc, di căn. Curcumin cũng bất hoạt và kìm hãm các gen gây ung thư khác. Quan trọng hơn, curcumin còn kích hoạt các gen kháng ung thư sẵn có trong tế bào, qua đó ức chế và tiêu diệt tế bào ung thư.

Lưu ý: Tác dụng phụ của curcumin là không đáng kể. Tuy nhiên, các bệnh nhân bị loãng máu, hoặc đang sử dụng thuốc chống đông máu, thuốc kháng viêm, thuốc ức chế miễn dịch, thuốc giảm đau cần tránh sử dụng curcumin bởi các nguy cơ tương tác thuốc. Curcumin còn làm tăng hoạt tính của nhiều loại thuốc khác. Do đó, việc dùng curcumin riêng rẽ hoặc cùng với các thuốc khác đều cần có sự tư vấn chuyên môn của các chuyên gia y tế.

II. Hoạt tính kháng ung thư của Graviola

Graviola còn được gọi là măng cầu xiêm. Lá, thân, trái, hạt của măng cầu xiêm thường được dùng trong các bài thuốc y học dân gian và các món ăn.

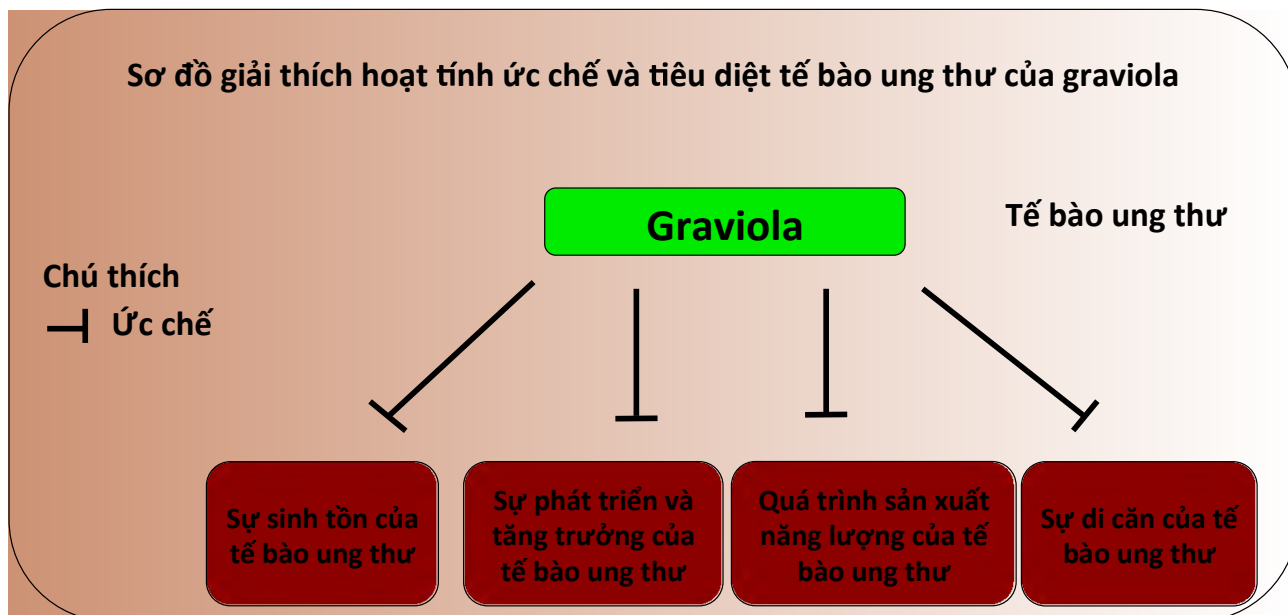
Các nghiên cứu y sinh học gần đây phát hiện graviola có khả năng ức chế quá trình tăng trưởng và phân chia của tế bào ung thư cũng như tiêu diệt tế bào ung thư hiệu quả (16-18). Các hoạt tính kháng ung thư của graviola đã được chứng minh trong nhiều thí nghiệm trên nhiều dòng tế bào ung thư cũng như trên các mô hình động vật mang tế bào ung thư của người (16-18). Trong một nghiên cứu năm 2011, các nhà khoa học tại Đại Học Virginia Tech, Hoa Kỳ, phát hiện graviola có tác dụng ức chế sự tăng trưởng của dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-468 (tế bào ung thư vú di căn ác tính) bằng cách kìm hãm con đường truyền tín hiệu của phân tử EGFR (epidermal growth factor receptor, thụ thể của nhân tố tăng trưởng ngoại bì)

(16). Quan trọng hơn, graviola không ảnh hưởng đến tế bào vú bình thường.



Hình 4: Lá và trái của cây măng cầu xiêm
Annona muricata (graviola). Nguồn: Wikipedia

Điều này chứng tỏ tác dụng đặc hiệu của graviola lên tế bào ung thư (16).



Hình 5: Graviola làm suy giảm khả năng sinh tồn, ức chế sự tăng trưởng, kìm hãm quá trình sản xuất năng lượng và ngăn chặn sự di căn của tế bào ung thư.

Năm 2012, các nhà nghiên cứu tại Đại Học Omaha, Hoa Kỳ báo cáo trên tạp chí khoa học Cancer Letters về tác dụng của graviola trong việc ức chế quá trình chuyển hoá năng lượng, phân chia và di căn của tế bào ung thư tuy (17). Trong một nghiên cứu gần đây (tháng 7 năm 2013), các nhà nghiên cứu tại Đại Học Nông Nghiệp Tamil Nadu của Ấn Độ phân tích các thành phần hoá học của graviola và phát hiện graviola chứa nhiều hoạt chất acetogenin có khả năng ức chế các quá trình sản xuất năng lượng và tăng trưởng của tế bào ung thư (18).

Graviola còn được sử dụng trong một số bài thuốc dân gian để điều trị các bệnh do nấm, vi khuẩn, virus, và kí sinh trùng.

Kết luận: Curcumin và graviola là hai trong số các loại hợp chất thiên nhiên có khả năng tiêu diệt tế bào ung thư một cách hữu hiệu bằng cách ức chế cùng lúc nhiều quá trình sinh học quan trọng của tế bào ung thư. Các nghiên cứu khoa học trong phòng thí nghiệm và trên các mô hình động vật cho thấy curcumin và graviola có tác dụng ức chế hiệu quả sự sinh tồn, tăng trưởng và di căn của khối u. Nhiều thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu chuyên sâu hơn về graviola và curcumin đang được tiến hành trên bệnh nhân.

Lưu ý: Một số nghiên cứu cho thấy graviola, nếu được dùng với liều cao và lâu dài, có thể ảnh hưởng đến hệ thần kinh. Graviola không nên sử dụng chung với thuốc điều trị trầm cảm, cao huyết áp, bệnh tiểu đường. Graviola cũng có thể làm giảm tiêu cầu và khả năng hấp thu các hoạt chất phóng xạ của tế bào. Do đó, các bệnh

nhân đang thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán hình ảnh hoặc các qui trình điều trị cần sử dụng các chất đánh dấu phóng xạ, các đồng vị phóng xạ, nên tạm ngưng sử dụng graviola trong thời gian thực hiện các qui trình trên. Việc sử dụng graviola liều cao trong thời gian dài cũng có thể làm ảnh hưởng đến chức năng gan và thận. Do đó, việc theo dõi chức năng gan và thận cần được tiến hành khi thường xuyên dùng graviola liều cao.

Các thông tin trong bài viết này được trích dẫn từ các nghiên cứu khoa học và y học do nhiều trung tâm và bệnh viện ung thư trên thế giới tiến hành. Mục tiêu của bài viết nhằm cung cấp cho quý độc giả các thông tin khoa học và y học về curcumin và graviola. Tuy nhiên, quý độc giả cần cân nhắc và thận trọng khi sử dụng curcumin và graviola. Việc tham khảo ý kiến chuyên môn của bác sĩ và dược sĩ và các chuyên gia y tế trước khi sử dụng các loại thảo dược, hợp chất thiên nhiên, vitamin, thuốc bổ và các loại thuốc khác là rất cần thiết.

VỀ TÁC GIẢ

T.S. Phan Minh Liem nhận bằng Tiến sĩ về Khoa Học Y sinh – chuyên ngành Ung thư của Trường Đại Học Texas – Trung tâm Ung thư MD Anderson, thành phố Houston, bang Texas, Hoa Kỳ. Trung tâm Ung thư MD Anderson được tạp chí US News & Reports xếp hạng là trung tâm ung thư số 1 tại Hoa Kỳ. Mỗi năm, Trung tâm Ung thư MD Anderson chữa trị cho hơn 1,1 triệu lượt bệnh nhân ung thư và thực hiện hơn 11 triệu qui trình khám và điều trị. T.S. Phan Minh Liem đang nghiên cứu và phát triển

các liệu pháp mới để chữa trị và phòng ngừa ung thư tại Trung tâm Ung thư MD Anderson.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cancer patients increase quickly in Vietnam. Vietnamnet. <http://english.vietnamnet.vn/fms/society/56271/cancer-patients-increase-quickly-in-vietnam.html>
2. Anh PT & Duc NB (2002) The situation with cancer control in Vietnam. *Jpn J Clin Oncol* 32 Suppl:S92-97.
3. Aggarwal B, Prasad S, Sung B, Krishnan S, & Guha S (2013) Prevention and Treatment of Colorectal Cancer by Natural Agents From Mother Nature. *Curr Colorectal Cancer Rep* 9(1):37-56.
4. Gupta SC, Kismali G, & Aggarwal BB (2013) Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *BioFactors* 39(1):2-13.
5. Kuttan G, Kumar KB, Guruvayoorappan C, & Kuttan R (2007) Antitumor, anti-invasion, and antimetastatic effects of curcumin. *Advances in experimental medicine and biology* 595:173-184.
6. Lin JK (2007) Molecular targets of curcumin. *Advances in experimental medicine and biology* 595:227-243.
7. Kunnumakkara AB, Anand P, & Aggarwal BB (2008) Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer letters* 269(2):199-225.
8. Shishodia S, Amin HM, Lai R, & Aggarwal BB (2005) Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochemical pharmacology* 70(5):700-713.
9. Oyagbemi AA, Saba AB, & Ibraheem AO (2009) Curcumin: from food spice to cancer prevention. *Asian Pac J Cancer Prev* 10(6):963-967.
10. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, & Torti SV (2008) Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cell Mol Life Sci* 65(11):1631-1652.
11. Park W, Amin AR, Chen ZG, & Shin DM (2013) New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer prevention research* 6(5):387-400.
12. Jiang M, et al. (2013) Curcumin induces cell death and restores tamoxifen sensitivity in the antiestrogen-resistant breast cancer cell lines MCF-7/LCC2 and MCF-7/LCC9. *Molecules* 18(1):701-720.
13. Yallapu MM, Jaggi M, & Chauhan SC (2013) Curcumin nanomedicine: a road to cancer therapeutics. *Curr Pharm Des* 19(11):1994-2010.
14. Nagaraju GP, et al. (2012) The impact of curcumin on breast cancer. *Integr Biol (Camb)* 4(9):996-1007.
15. Gupta SC, Patchva S, & Aggarwal BB (2013) Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *AAPS J* 15(1):195-218.
16. Dai Y, et al. (2011) Selective growth inhibition of human breast cancer cells by graviola fruit extract in vitro and in vivo involving downregulation of EGFR expression. *Nutrition and cancer* 63(5):795-801.
17. Torres MP, et al. (2012) Graviola: a novel promising natural-derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo through altering cell metabolism. *Cancer letters* 323(1):29-40.
18. Paul J, Gnanam R, Jayadeepa RM, & Arul L (2013) Anti cancer activity on Graviola, an exciting medicinal plant extract vs various cancer cell lines and a detailed computational study on its potent anti-cancerous leads. *Curr Top Med Chem* 13(14):1666-1673.



RESEARCH & REVIEW

Targeting PI3K/AKT/mTOR signaling in Acute Myeloid Leukemia

Huu Phuc Nguyen¹, Do Thi Thu Hang², Quoc Trung Ly³, Hoang ND Pham⁴, Dang Quan Nguyen^{5,#}, and Le Xuan Truong Nguyen^{5,6,#,*}

¹Department of Oncology, University of Medicine and Pharmacy of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Vietnam National University School of Medicine, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Cellular Transplantation Biology, Kanazawa University Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa, Japan

⁴Department of Medical Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵Department of Microbial Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City Vietnam

⁶Stanford Cancer Institute, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA

These authors contributed equally to the manuscript

ARTICLE INFO

Editor:

Liem Phan Ph.D., MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA

Corresponding author:

Le Xuan Truong Nguyen
Email: nguyen66@stanford.edu
Lorry Lokey Building, 265 Campus Drive,
Suite G2165, Stanford, CA 94305-5456 –
Phone: +1 6507364301,
Fax: +1 6507360607

Keywords:

PI3K
Akt
mTOR
acute myeloid leukemia

ABSTRACT

The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), AKT, mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway (PI3K/AKT/mTOR) is involved in a diverse number of cellular functions and has emerged as one of the most deeply investigated cell signaling networks. This pathway is frequently deregulated in many types of human cancers including acute myeloid leukemia (AML) at multiple points, providing a compelling rationale to consider PI3K/AKT/mTOR as an effective target for therapeutic treatment of AML. This discussion highlights the activation of PI3K/AKT/mTOR and its positive effects on AML. Moreover, we will discuss the development of inhibitors that are used to target PI3K/AKT/mTOR in clinical trials. Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling network with small molecule inhibitors, employed either alone or in combination with other drugs, may result in less toxic and more efficacious treatment of AML patients.

Acute myeloid leukemia (AML) is comprised of a group of clonal malignant diseases characterized by deregulated proliferation of immature myeloid cells (1). AML accounts for approximately 80% of all adult leukemias and most patients will relapse and die from the disease (2). In AML, there is deregulation of many signaling pathways that include the PI3K/Akt/mTOR, ERK/MAPK, STAT3/5, Wnt/ β -catenin and NF- κ B pathways (3-8). Between 50 and 70% of AML patients have Akt activation by phosphorylation at Thr308 and Ser473 (9). The overall survival of patients who have Akt activation is significantly shorter than that of patients without Akt activation (10). Moreover, alterations in the PI3K/Akt axis are known to be both associated with and causal of oncogenesis (11, 12). Therefore, the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway appears to represent a valid target for innovative treatments of AML patients.

The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3Ks) are a large family of kinases that function as intracellular messengers to orchestrate an array of important cellular processes, such as growth, survival, and metabolism. Their primary biochemical function is to phosphorylate the 3'-OH group in inositol lipids (13). The PI3K family is comprised of three classes (I, II, III), each of which has a distinct structure, distribution in the cell, and mechanism of action. The roles of class II and III PI3Ks are not well-characterized, while class I PI3Ks are widely implicated in the development of cancer. The class I PI3Ks are composed of a regulatory (p85) and a catalytic (p110) subunit (14, 15). There are several isoforms of each subunit. For example, p85 is encoded by the PIK3R1 (p85 α), PIK3R2 (p85 β) or PIK3R3 (p85 γ) genes; p110 is encoded by the PIK3CA (p110 α), PIK3CB (p110 β) or PIK3CC (p110 δ) genes. Class I PI3Ks are divided into class IA and class IB based on whether they are activated by receptor tyrosine kinases (RTKs) or G-protein coupled receptors (GPCRs) (13, 16). The class I PI3Ks are responsible for the conversion of the membrane lipid phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) into phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PIP3) through the addition of a phosphate group to the 3' position of its inositol ring. PIP3 recruits phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) and AKT to the plasma membrane (17), followed by Akt phosphorylation and activation by PDK1 (13, 16). The S6K1 and phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN) negatively regulates PI3K/Akt activation by converting PIP3 product to PIP2 (18) (Figure 1).

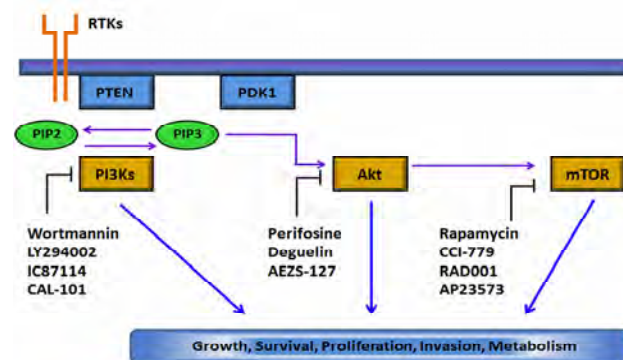


Figure 1: Targeting the PI3K/AKT/mTOR signaling in Acute Myeloid Leukemia.

RTKs: Receptor Tyrosine Kinases; PTEN: Phosphate and Tensin homologue deleted on chromosome 10; PIP2: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; PIP3: Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate; PDK1: Phosphoinositide-dependent protein kinase 1; Akt: Protein kinase PKB/Akt.

Akt, a serine/threonine protein kinase also known as protein kinase B (PKB), is recruited to the inner surface of plasma membrane through the interaction of its pleckstrin homology (PH) domain with phospholipid products of PI3K. At the plasma membrane, activation of Akt is dependent on phosphorylation, which is achieved at least in part by the protein kinase PDK1 (16, 19) (Figure 1). Akt was originally identified as a retroviral oncogene product, v-Akt, that can transform rodent cells (20, 21). There are three isoforms of Akt which are encoded from distinct genetic loci: Akt1/ α ; Akt2/ β and Akt3/ γ (22). Overexpression of constitutively activated Akt mutants in many cell types promotes cellular transformation by stimulating proliferation and inhibiting apoptosis (23). Recently, mounting evidence indicates that Akt overexpression is observed in diverse cancers and Akt perturbations play an important role in human malignancy.

Activation of the target of Rapamycin (TOR) has emerged as a major effector of the PI3K/Akt pathway's ability to govern protein synthesis (Figure 1), a function that is conserved from yeast to mammals (24 - 26). The mTORC1 complex is composed of FRAP, Raptor, PRAS40 and LSt8 (27) and its activation is mostly regulated by Akt/tuberous sclerosis 2 (TSC2) axis (28). Akt inhibits the tuberous sclerosis complex-2 (TSC2) regulated mTORC1 activity through direct phosphorylation of TSC2 at S939 and T1462 (29). mTORC1 is also directly phosphorylated and activated as a substrate of Akt (30). mTORC1 regulates protein synthesis by activating p70S6K and inactivating 4EBP1 (31). The mTORC1 complex is sensitive to rapamycin and inhibits Akt via a negative feedback loop (32).

The PI3K/AKT/mTOR signaling cascade is crucial to many widely divergent physiological processes that include cell cycle progression, transcription, translation, differentiation, apoptosis, motility and metabolism. As a result, this pathway has received considerable attention as a potential therapeutic target in malignancy since a gain of function is present in many types of cancers including AML (34 - 38). Furthermore, activation of this pathway confers leukemogenic potential to mouse hematopoietic cells (39). There are promising preclinical data demonstrating activity of different PI3K/Akt/mTOR targeted agents against AML (40 - 43). For a number of these malignancies, the real promise of these inhibitors is their ability to overcome chemotherapy resistance and synergize with existing cytotoxic therapies. Therefore, this signal transduction cascade may represent a valuable addition to the current regimens for AML. Drugs that target mTOR were the first to be studied, showing remarkable efficacy in a number of conditions. Subsequently, drugs were developed to target PI3K and AKT as well as a number of intermediates in the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway, including agents that target individual protein kinases and drugs that target multiple kinases in the pathway (44, 45).

Following are several pharmaceutical inhibitors that selectively target the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and have therapeutic potential (Table 1).

PI3K p110 inhibitors: Wortmannin and LY294002 are classical PI3K inhibitors that induce apoptosis in leukemic progenitors. Wortmannin irreversibly inhibits PI3K by covalent modification of Lys802 while LY294002 competes with ATP for the ATP binding site of PI3K (4, 46). However, both Wortmannin and LY294002 are not specific for the PI3K/Akt pathway (47). IC87114 is a potent selective inhibitor of PI3K p110 δ which down-regulates Akt phosphorylation and cell proliferation in AML blast cells with elevated PI3K p110 δ but not in normal hematopoietic precursor cells (4). There are also more potent inhibitors currently under development by pharmaceutical companies such as Piramed, Novartis and Calistoga. For example, CAL-101 (Calistoga) treatment inhibits ribosomal RNA synthesis and cell proliferation in AML cells through inhibition of Akt activation (48). Results obtained with these inhibitors indicate that selectively targeted PI3K inhibitors are less toxic than those compounds that inhibit all PI3K activities and they may offer greater clinical benefit.

TABLE 1: Therapeutic targets in the PI3K/Akt/mTOR signaling pathways

Molecules	Molecular targets	Drug sponsors
Wortmannin	PI3K	generic
LY294002	PI3K	generic
IC87114	PI3K	ICOS
CAL-101	PI3K	Calistoga
Rapamycin	mTORC1	Wyeth/Pfizer
CCI-779	mTORC1	Wyeth
RAD001	mTORC1	Norvatis
AP23573	mTORC1	Ariad
Perifosine	Akt	AEterna Zentaris
Deguelin	Akt	generic
AEZS-127	Akt	AEterna Zentaris
AZD8055	mTORC1/2	AstraZeneca

mTORC1 inhibitors: mTORC inhibitors are the most developed class of compounds that target the PI3K/Akt pathway including rapamycin, CCI-779, RAD001 and AP23573. Rapamycin has shown activity against many types of cancer in phase I and II clinical trials (30). Moreover, combination treatment of rapamycin with other inhibitors may be synergistic. For examples, combined treatment with rapamycin and etoposide dramatically increases cytotoxicity in AML blast (49); adding UCN-01 to rapamycin results in marked apoptosis in U937 cells (50); and treatment with rapamycin and the cell permeable glycolytic inhibitor 3-bromo-2-oxopropionate-1-propyl ester has synergistic effects on HL60 leukemia cell cytotoxicity (42). Although some patients do not respond to rapamycin treatment (51) and mechanisms of resistance to rapamycin have been identified (52), it is still considered to be of particular interest due to its ability to inhibit the growth of cancer cells and induce apoptosis. Another mTOR inhibitor, CCI-779, has been used in clinical trials with metastatic renal carcinoma patients. Both RAD001 and AP23573, two additional mTOR inhibitors, are also in clinical trials as antitumor drugs (53).

Akt inhibitors: a new class of Akt inhibitors are in the phosphatidylinositol ether analog (PIAs) family and include perifosine, deguelin and AEZS-127. PIAs are inhibitors that bind to the PH domain of Akt and prevent its translocation to the plasma membrane, thereby inhibiting the phosphorylation and activation of Akt. These inhibitors sensitize leukemic cells to the effects of other chemotherapies (54). Perifosine dephosphorylates Akt and ERK 1/2 and activates caspases, inducing apoptosis in leukemic cells (41). Deguelin inhibits Akt through an unknown mechanism and increase AML sensitivity to cytarabine (40). AEZS-127 is an alkylphospholipid and has been tested in phase I for relapsed hematologic malignancies (55). The compound AZD8055, an inhibitor of both Akt and mTOR, shows more efficacy than rapamycin in decreasing ribosomal RNA synthesis and inhibiting the growth of leukemic cells in vitro and in vivo (48, 56). Akt inhibitors have the potential to provide greater efficacy and less toxicity to patients.

The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway is aberrantly activated in a number of malignant and non-malignant diseases. It represents one of the major survival pathways that contribute to both cancer pathogenesis and drug resistance. As a result, preclinical studies and clinical trials have been designed to investigate compounds that target the various components of the pathway. Here, we described the efficacy and toxicity of agents that target the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in AML. The development of compounds directed against PI3K/Akt and mTORC and their modulators as novel and potent agents for treating AML is expanding and additional work is needed to determine the potential of PI3K/Akt/mTOR inhibitors in the treatment of AML.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Dr. Beverly S. Mitchell for reading and comments on the manuscript. This work was supported by a research of science and technology grant from Department of Science and Technology of Ho Chi Minh City, Vietnam to LXTN and DQN (226/2013/HD-SKHCN).

VỀ TÁC GIẢ

Thạc sĩ - Bác sĩ Nguyễn Hữu Phúc hiện là bác sĩ giải phẫu chuyên ngành ung thư công tác tại bệnh viện ung bướu TPHCM. Ngoài ra, anh còn là giảng viên bộ môn ung thư trường ĐH Y Dược TPHCM. Tiến sĩ Đỗ Thị Thu Hằng tốt nghiệp tiến sĩ ngành Dược tại ĐH Sungkyunkwan, Hàn Quốc. Chị hiện đang công tác tại ĐHQG TPHCM. Tiến sĩ - Bác sĩ Lý Quốc Trung tốt nghiệp tiến sĩ chuyên ngành y học ung thư tại ĐH Kanazawa, Nhật Bản. Anh hiện đang công tác tại bệnh viện đa khoa tỉnh Sóc Trăng. Tiến sĩ Phạm Nguyễn Đức Hoàng tốt nghiệp tiến sĩ tại ĐH Chiba, Nhật Bản và hiện là trưởng phòng vi sinh tại TT CNSH TPHCM. Tiến sĩ Nguyễn Đăng Quân tốt nghiệp tiến sĩ chuyên ngành miễn dịch

học tại đại học Justus Liebig, Đức. Anh hiện là trưởng phòng Công nghệ Y sinh tại TT CNSH TPHCM. Tiến sĩ Nguyễn Lê Xuân Trường tốt nghiệp cử nhân ngành CNSH năm 2004 tại ĐH KHTN TPHCM. Sau đó, anh nhận được học bổng đào tạo tiến sĩ chuyên ngành sinh học phân tử tế bào tại ĐH Sungkyunkwan, Hàn quốc từ năm 2004-2010. Sau khi tốt nghiệp, anh về Việt Nam giảng dạy tại ĐH KHTN từ năm 2010 đến năm 2011 trước khi sang Mỹ làm nghiên cứu sau tiến sĩ tại viện ung thư thuộc đại học Stanford. Hiện nay anh là chuyên gia khoa học công tác tại TT CNSH TPHCM.

REFERENCES

1. Steffen, B., C. Muller-Tidow, J. Schwable, W.E. Berdel, and H. Serve. 2005. The molecular pathogenesis of acute myeloid leukemia. *Critical reviews in oncology/hematology*. 56:195-221.
2. Smith, M., M. Barnett, R. Bassan, G. Gatta, C. Tondini, and W. Kern. 2004. Adult acute myeloid leukaemia. *Critical reviews in oncology/hematology*. 50:197-222.
3. Wu, J., W.W. Wong, F. Khosravi, M.D. Minden, and L.Z. Penn. 2004. Blocking the Raf/MEK/ERK pathway sensitizes acute myelogenous leukemia cells to lovastatin-induced apoptosis. *Cancer research*. 64:6461-6468.
4. Sujobert, P., V. Bardet, P. Cornillet-Lefebvre, J.S. Hayflick, N. Prie, F. Verdier, B. Vanhaesebroeck, O. Muller, F. Pesce, N. Ifrah, M. Hunault-Berger, C. Berthou, B. Villemagne, E. Jourdan, B. Audhuy, E. Solary, B. Witz, J.L. Harousseau, C. Himmerlin, T. Lamy, B. Lioure, J.Y. Cahn, F. Dreyfus, P. Mayeux, C. Lacombe, and D. Bouscary. 2005. Essential role for the p110delta isoform in phosphoinositide 3-kinase activation and cell proliferation in acute myeloid leukemia. *Blood*. 106:1063-1066.
5. Tamburini, J., C. Elie, V. Bardet, N. Chapuis, S. Park, P. Broet, P. Cornillet-Lefebvre, B. Lioure, V. Ugo, O. Blanchet, N. Ifrah, F. Witz, F. Dreyfus, P. Mayeux, C. Lacombe, and D. Bouscary. 2007. Constitutive phosphoinositide 3-kinase/Akt activation represents a favorable prognostic factor in de novo acute myelogenous leukemia patients. *Blood*. 110:1025-1028.
6. Steelman, L.S., S.L. Abrams, J. Whelan, F.E. Bertrand, D.E. Ludwig, J. Basecke, M. Libra, F. Stivala, M. Milella, A. Tafuri, P. Lunghi, A. Bonati, A.M. Martelli, and J.A. McCubrey. 2008. Contributions of the Raf/MEK/ERK, PI3K/PTEN/Akt/mTOR and Jak/STAT pathways to leukemia. *Leukemia*. 22:686-707.
7. Petropoulos, K., N. Arseni, C. Schessl, C.R. Stadler, V.P. Rawat, A.J. Deshpande, B. Heilmeyer, W. Hiddemann, L. Quintanilla-Martinez, S.K. Bohlander, M. Feuring-Buske, and C. Buske. 2008. A novel role for Lef-1, a central transcription mediator of Wnt signaling, in leukemogenesis. *The Journal of experimental medicine*. 205:515-522.
8. Guzman, M.L., S.J. Neering, D. Upchurch, B. Grimes, D.S. Howard, D.A. Rizzieri, S.M. Luger, and C.T. Jordan. 2001. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells. *Blood*. 98:2301-2307.
9. Brandts, C.H., B. Sargin, M. Rode, C. Biermann, B. Lindtner, J. Schwable, H. Buerger, C. Muller-Tidow, C. Choudhary, M. McMahon, W.E. Berdel, and H. Serve. 2005. Constitutive activation of Akt by Flt3 internal tandem duplications is necessary for increased survival, proliferation, and myeloid transformation. *Cancer research*. 65:9643-9650.
10. Min, Y.H., J.I. Eom, J.W. Cheong, H.O. Maeng, J.Y. Kim, H.K. Jung, S.T. Lee, M.H. Lee, J.S. Hahn, and Y.W. Ko. 2003. Constitutive phosphorylation of Akt/PKB protein in acute myeloid leukemia: its significance as a prognostic variable. *Leukemia*. 17:995-997.
11. Martelli, A.M., P.L. Tazzari, C. Evangelisti, F. Chiarini, W.L. Blalock, A.M. Billi, L. Manzoli, J.A. McCubrey, and L. Cocco. 2007. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin module for acute myelogenous leukemia therapy: from bench to bedside. *Current medicinal chemistry*. 14:2009-2023.

12. Polak, R., and M. Buitenhuis. 2012. The PI3K/PKB signaling module as key regulator of hematopoiesis: implications for therapeutic strategies in leukemia. *Blood*. 119:911-923.
13. Markman, B., R. Dienstmann, and J. Tabernero. 2010. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway--beyond rapalogs. *Oncotarget*. 1:530-543.
14. Fruman, D.A., R.E. Meyers, and L.C. Cantley. 1998. Phosphoinositide kinases. *Annual review of biochemistry*. 67:481-507.
15. Hennessy, B.T., D.L. Smith, P.T. Ram, Y. Lu, and G.B. Mills. 2005. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nature reviews. Drug discovery*. 4:988-1004.
16. Courtney, K.D., R.B. Corcoran, and J.A. Engelman. 2010. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 28:1075-1083.
17. Grupp, S.A., and J.A. Harmony. 1985. Increased phosphatidylinositol metabolism is an important but not an obligatory early event in B lymphocyte activation. *Journal of immunology*. 134:4087-4094.
18. Steelman, L.S., S.C. Pohnert, J.G. Shelton, R.A. Franklin, F.E. Bertrand, and J.A. McCubrey. 2004. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia*. 18:189-218.
19. Brunet, A., S.R. Datta, and M.E. Greenberg. 2001. Transcription-dependent and -independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Current opinion in neurobiology*. 11:297-305.
20. Bellacosa, A., J.R. Testa, S.P. Staal, and P.N. Tsichlis. 1991. A retroviral oncogene, akt, encoding a serine-threonine kinase containing an SH2-like region. *Science*. 254:274-277.
21. Staal, S.P. 1987. Molecular cloning of the akt oncogene and its human homologues AKT1 and AKT2: amplification of AKT1 in a primary human gastric adenocarcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 84:5034-5037.
22. Hanada, M., J. Feng, and B.A. Hemmings. 2004. Structure, regulation and function of PKB/AKT--a major therapeutic target. *Biochimica et biophysica acta*. 1697:3-16.
23. Nicholson, K.M., and N.G. Anderson. 2002. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cellular signalling*. 14:381-395.
24. Sabatini, D.M., H. Erdjument-Bromage, M. Lui, P. Tempst, and S.H. Snyder. 1994. RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell*. 78:35-43.
25. Jacinto, E., and M.N. Hall. 2003. Tor signalling in bugs, brain and brawn. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 4:117-126.
26. Guertin, D.A., and D.M. Sabatini. 2005. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends in molecular medicine*. 11:353-361.
27. Inoki, K., Y. Li, T. Zhu, J. Wu, and K.L. Guan. 2002. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nature cell biology*. 4:648-657.
28. Long, X., Y. Lin, S. Ortiz-Vega, K. Yonezawa, and J. Avruch. 2005. Rheb binds and regulates the mTOR kinase. *Current biology : CB*. 15:702-713.
29. Manning, B.D., A.R. Tee, M.N. Logsdon, J. Blenis, and L.C. Cantley. 2002. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Molecular cell*. 10:151-162.
30. Granville, C.A., R.M. Memmott, J.J. Gills, and P.A. Dennis. 2006. Handicapping the race to develop inhibitors of the phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 12:679-689.
31. Holz, M.K., B.A. Ballif, S.P. Gygi, and J. Blenis. 2005. mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events. *Cell*. 123:569-580.
32. Hay, N. 2005. The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer. *Cancer cell*. 8:179-183.
33. Campbell, M., W.E. Allen, C. Sawyer, B. Vanhaesebroeck, and E.R. Trimble. 2004. Glucose-potentiated chemotaxis in human vascular smooth muscle is dependent on cross-talk between the PI3K and MAPK signaling pathways. *Circulation research*. 95:380-388.
34. Campbell, M., and E.R. Trimble. 2005. Modification of PI3K- and MAPK-dependent chemotaxis in aortic vascular smooth muscle cells by protein kinase Cbeta11. *Circulation research*. 96:197-206.
35. Solomon, B., and R.B. Pearson. 2009. Class IA phosphatidylinositol 3-kinase signaling in non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 4:787-791.
36. Altomare, D.A., and J.R. Testa. 2005. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. *Oncogene*. 24:7455-7464.
37. Shaw, R.J., and L.C. Cantley. 2006. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature*. 441:424-430.
38. Uddin, S., A.R. Hussain, A.K. Siraj, P.S. Manogaran, N.A. Al-Jomah, A. Moorji, V. Atizado, F. Al-Dayel, A. Belgaumi, H. El-Solh, A. Ezzat, P. Bavi, and K.S. Al-Kuraya. 2006. Role of phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT pathway in diffuse large B-cell lymphoma survival. *Blood*. 108:4178-4186.
39. Horn, S., U. Bergholz, M. Jucker, J.A. McCubrey, L. Trumper, C. Stocking, and J. Bausecke. 2008. Mutations in the catalytic subunit of class IA PI3K confer leukemogenic potential to hematopoietic cells. *Oncogene*. 27:4096-4106.
40. Bortol, R., P.L. Tazzari, A.M. Billi, G. Tabellini, I. Mantovani, A. Cappellini, T. Grafone, G. Martinelli, R. Conte, and A.M. Martelli. 2005. Deguelin, a PI3K/AKT inhibitor, enhances chemosensitivity of leukaemia cells with an active PI3K/AKT pathway. *British journal of haematology*. 129:677-686.
41. Papa, V., P.L. Tazzari, F. Chiarini, A. Cappellini, F. Ricci, A.M. Billi, C. Evangelisti, E. Ottaviani, G. Martinelli, N. Testoni, J.A. McCubrey, and A.M. Martelli. 2008. Proapoptotic activity and chemosensitizing effect of the novel Akt inhibitor perifosine in acute myelogenous leukemia cells. *Leukemia*. 22:147-160.
42. Xu, R.H., H. Pelicano, H. Zhang, F.J. Giles, M.J. Keating, and P. Huang. 2005. Synergistic effect of targeting mTOR by rapamycin and depleting ATP by inhibition of glycolysis in lymphoma and leukemia cells. *Leukemia*. 19:2153-2158.
43. Nguyen le, X.T., S.M. Chan, T.D. Ngo, A. Raval, K.K. Kim, R. Majeti, and B.S. Mitchell. 2014. Interaction of TIF-90 and filamin A in the regulation of rRNA synthesis in leukemic cells. *Blood*. 124:579-589.
44. Yap, T.A., M.D. Garrett, M.I. Walton, F. Raynaud, J.S. de Bono, and P. Workman. 2008. Targeting the PI3K-AKT-mTOR pathway: progress, pitfalls, and promises. *Current opinion in pharmacology*. 8:393-412.
45. LoPiccolo, J., G.M. Blumenthal, W.B. Bernstein, and P.A. Dennis. 2008. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway: effective combinations and clinical considerations. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*. 11:32-50.
46. Luo, J., B.D. Manning, and L.C. Cantley. 2003. Targeting the PI3K-Akt pathway in human cancer: rationale and promise. *Cancer cell*. 4:257-262.
47. Martelli, A.M., M. Nyakern, G. Tabellini, R. Bortol, P.L. Tazzari, C. Evangelisti, and L. Cocco. 2006. Phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway and its therapeutic implications for human acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 20:911-928.
48. Nguyen, L.X., A. Sesay, and B.S. Mitchell. 2014. Effect of CAL-101, a PI3Kdelta inhibitor, on ribosomal rna synthesis and cell proliferation in acute myeloid leukemia cells. *Blood cancer journal*. 4:e228.
49. Xu, Q., J.E. Thompson, and M. Carroll. 2005. mTOR regulates cell survival after etoposide treatment in primary AML cells. *Blood*. 106:4261-4268.
50. Hahn, M., W. Li, C. Yu, M. Rahmani, P. Dent, and S. Grant. 2005. Rapamycin and UCN-01 synergistically induce apoptosis in human

- leukemia cells through a process that is regulated by the Raf-1/MEK/ERK, Akt, and JNK signal transduction pathways. *Molecular cancer therapeutics*. 4:457-470.
51. Recher, C., O. Beyne-Rauzy, C. Demur, G. Chicanne, C. Dos Santos, V.M. Mas, D. Benzaquen, G. Laurent, F. Huguet, and B. Payrastre. 2005. Antileukemic activity of rapamycin in acute myeloid leukemia. *Blood*. 105:2527-2534.
 52. Giles, F.J., and M. Albitar. 2005. Mammalian target of rapamycin as a therapeutic target in leukemia. *Current molecular medicine*. 5:653-661.
 53. Cheng, J.Q., C.W. Lindsley, G.Z. Cheng, H. Yang, and S.V. Nicosia. 2005. The Akt/PKB pathway: molecular target for cancer drug discovery. *Oncogene*. 24:7482-7492.
 54. Gills, J.J., and P.A. Dennis. 2004. The development of phosphatidylinositol ether lipid analogues as inhibitors of the serine/threonine kinase, Akt. *Expert opinion on investigational drugs*. 13:787-797.
 55. Park, S., N. Chapuis, J. Tamburini, V. Bardet, P. Comillet-Lefebvre, L. Willems, A. Green, P. Mayeux, C. Lacombe, and D. Bouscary. 2010. Role of the PI3K/AKT and mTOR signaling pathways in acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 95:819-828.
 56. Nguyen le, X.T., and B.S. Mitchell. 2013. Akt activation enhances ribosomal RNA synthesis through casein kinase II and TIF-IA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 110:20681-20686.



RESEARCH & REVIEW

Disulfide Bond Formation of Heterodimer and Heterotrimer of Human Laminin-332 Coiled-coil Domains

Hoang Phuong Phan, Yasuo Kitagawa, and Tomoaki Niimi

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan

ARTICLE INFO

Editor:

Thu V. Vuong, University of Toronto,
Toronto, Canada

Corresponding author:

Hoang Phuong Phan
phanhoangphuong@hotmail.com

Keywords:

laminin-332
laminin assembly
coiled-coil domain
disulfide bond
cell-free translation
chaperone

ABSTRACT

Laminin (LM) α , β , and γ chains were connected by disulfide bonds at the C- and N-termini of the LM coiled-coil (LCC) domain to form heterodimers and heterotrimers. At the C-terminus of LCC domain, one disulfide bond is formed to connect β and γ chains while it was unclear how disulfide bond pattern is formed to connect α , β , and γ chains at the N-terminus of LCC domain. Using an insect cell-free translation system, we succeeded to produce heterotrimers of LCC domain of human LM-332. To analyze disulfide bond formation at the N-terminus of LCC domain, we mutated cysteines of LCC domains into alanines by site-directed mutagenesis and co-expressed these mutants in an insect cell-free translation system. Mutation of a single cysteine at the N-terminus of LCC domain of one chain caused the failure of disulfide bond formation of heterotrimers. However, mutation of cysteines at the N-terminus of LCC domain of two different chains recovered the disulfide bond formation of heterotrimers with different efficiencies. These results suggest that the disulfide bond patterns at the N-terminus of human LM-332 LCC domains are not specific.

1. Introduction

Laminins (LM) are large multidomain glycoproteins of the extracellular matrix (ECM). LMs and type IV collagen, nidogen, perlecan, agrin are major components of basement membranes (BM) that act as supportive architecture for the cells to proliferate, differentiate, and migrate. Each LM molecule is a 500 to 900 kDa heterotrimeric glycoprotein, in which α , β , and γ chains are assembled and disulfide bonded in a cross shaped structure with three short arms and one rodlike long arm (1-4). Since the first purification of LM-111 from mouse Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) sarcoma (5), five α , three β , and three γ chains have been recognized to combine into 16 different heterotrimeric LMs (6).

The LM coiled-coil (LCC) domain is the site of trimer assembly. It has many repeats of the heptad motif where hydrophobic residues are located in the first and fourth positions and charged residues in the fifth and seventh positions (7-9). They form a hydrophobic surface along α -helix with ionic edges at both sides. Interchain hydrophobic interactions at this surface drive the chain assembly and ionic interactions at the edges determine the chain selectivity (10). Many studies of LM trimer assembly confirmed that β and γ chains first form β - γ heterodimer with disulfide bonds. Then, α chain assembles with β - γ heterodimer to form α - β - γ heterotrimer with disulfide bonds (11-14). Two cysteine residues (-C-X-X-C- motif) at the N-terminus and one cysteine residue at the C-terminus of LCC domains involve in disulfide bond formation of β - γ heterodimers and α - β - γ heterotrimers (2, 12, 15-17). Up to now, we do not know exactly which cysteine forms disulfide bond with which cysteine at the N-terminus of LCC domains.

In our previous study, we succeeded to produce heterotrimers of LCC domain of human LM-332 ($\alpha 3\beta 3\gamma 2$) in an insect cell-free translation system (17). In this study, we mutated cysteine residues at the N- and C-termini of the LCC domains of human LM-332 into alanine residues by site-directed mutagenesis and co-expressed these mutants to analyze the role of these cysteine residues for LM heterotrimer formation with disulfide bonds *in vitro* (Fig. 1). The results showed that disulfide bonds at the N-terminus of heterotrimers of LCC domains could not form when we mutated only a single cysteine residue at the N-terminus of LCC domain of one chain into alanine residue. But the disulfide bonds could form with different efficiencies when we mutated cysteine residues at the N-terminus of LCC domain of two different chains into alanine residues. These results suggest that there is no fixed disulfide bond pattern among six cysteine residues at the N-terminus of LCC domains of human LM-332 heterotrimers.

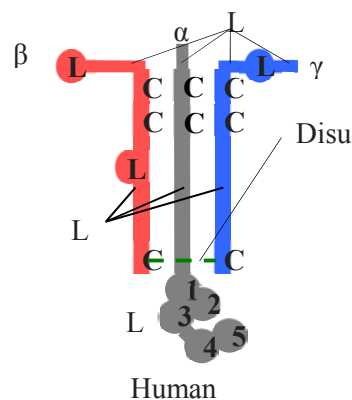


Fig. 1. Model of human LM-332 heterotrimer. Human LM-332 consists of $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains; $\alpha 3$ chain has an LM epidermal growth factor-like (LEc1-4) domain, an LM coiled-coil (LCC) domain, and an LM globular (LG1-5) domain; $\beta 3$ chain has an LM N-terminal (LN) domain, an LEa1-3 domain, an LEB1-3 domain, an LCC domain, and an LM β knob (L β) domain; $\gamma 2$ chain has an LEa1-3 domain, an LM 4 (L4) domain, an LEB1-3 domain, and an LCC domain. LCC domains of $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains assemble to form heterotrimers by disulfide bonds at the N- and C-termini. The drawing is to show that the disulfide bonds exist but does not imply their specificity.

2. Materials and Methods

2.1 Plasmid construction

We had cloned the LCC domains of human LM $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains into pTD1 vectors as previously described (17-20). We used these vectors as templates for site-directed mutagenesis using GeneTailor site-directed mutagenesis kit (Invitrogen, Carlsbad, CA). We designed primers as shown in Table I. Mutated plasmids were checked by sequencing with an ABI Prism 310 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). The mutated LCC domains were named by adding their mutated cysteine residues C¹, C², and C³ into their names. Thus, single mutations of LCC domains were named as $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\beta 3C^3$, $\gamma 2C^1$, $\gamma 2C^2$, and $\gamma 2C^3$ while double mutations were named as $\beta 3C^1C^2$, $\beta 3C^1C^3$, $\beta 3C^2C^3$, and $\gamma 2C^2C^3$. One special mutant of the $\alpha 3$ LCC domain was made by substituting valine residue Val217 of $\alpha 3C^2$ mutant with a cysteine. This special mutant was named as $\alpha 3C^*$ (Fig. 2).

Table I. List of primers used for site-directed mutagenesis

Mutant names	Primer sequences	Template
$\alpha 3C^1$	5'-ATGACGATGACAAGGATGATGCCGACAGCTGTG-3'; 5'-ATCATCCTTGTCATCGTCATCCTTGTAGTC-3'	$\alpha 3$ LCC
$\alpha 3C^2$	5'-ACAAGGATGATTGCGACAGCGCTGTGATGACCC-3'; 5'-GCTGTCGCAATCATCCTTGTCATCGTCATC-3'	$\alpha 3$ LCC
$\alpha 3C^*$	5'-ACAAGGATGATTGCGACAGCGCTTGCATGACCCTCC-3'; 5'-GCTGTCGCAATCATCCTTGTCATCGTCATC-3'	$\alpha 3C^2$
$\beta 3C^1$	5'-AATATAAAGATATGGTGGCCGCCACCCCTTGCT-3'; 5'-GGCCACCATATCTTTATATTTTATTTTCT-3'	$\beta 3$ LCC
$\beta 3C^2$	5'-ATATGGTGGCCTGCCACCCTGCCTTCCAGACCT-3'; 5'-AGGGTGGCAGGCCACCATATCTTTATATTT-3'	$\beta 3$ LCC
$\beta 3C^3$	5'-GCGTGCTCTACTATGCCACCGCCAAGTAGTCT-3'; 5'-GGTGGCATAGTAGAGCACGCGCCCATTGAT-3'	$\beta 3$ LCC
$\beta 3C^1C^2$	5'-AATATAAAGATATGGTGGCCGCCACCCCTGCC-3'; 5'-GGCCACCATATCTTTATATTTTATTTTCT-3'	$\beta 3C^2$
$\beta 3C^1C^3$	5'-GCGTGCTCTACTATGCCACCGCCAAGTAGTCT-3'; 5'-GGTGGCATAGTAGAGCACGCGCCCATTGAT-3'	$\beta 3C^1$
$\beta 3C^2C^3$	5'-GCGTGCTCTACTATGCCACCGCCAAGTAGTCT-3'; 5'-GGTGGCATAGTAGAGCACGCGCCCATTGAT-3'	$\beta 3C^2$
$\gamma 2C^1$	5'-TGGAGCATGGAGCATTACGCGCTCCAGCTTGCT-3'; 5'-GCTGAATGCTCCATGCTCCATATCTTTATA-3'	$\gamma 2$ LCC
$\gamma 2C^2$	5'-GAGCATTCAGCTGTCCAGCTGCCTATAATCAAG-3'; 5'-AGCTGGACAGCTGAATGCTCCATGCTCCAT-3'	$\gamma 2$ LCC
$\gamma 2C^3$	5'-GGGACAACCTGCCCCAGGCGCCTACAATACCC-3'; 5'-GCCTGGGGGCAGGTTGTCCCTAATGTTCTC-3'	$\gamma 2$ LCC
$\gamma 2C^2C^3$	5'-GGGACAACCTGCCCCAGGCGCCTACAATACCC-3'; 5'-GCCTGGGGGCAGGTTGTCCCTAATGTTCTC-3'	$\gamma 2C^2$

FLAG-DDC ¹ DSC ² VM	EDLKGY	$\alpha 3$
FLAG-DDA ¹ DSC ² VM	EDLKGY	$\alpha 3C^1$
FLAG-DDC ¹ DSA ² VM	EDLKGY	$\alpha 3C^2$
FLAG-DDC ¹ DSA ² C ³ M	EDLKGY	$\alpha 3C^*$
VAC ¹ HPC ² FQ	YYATC ³ K	$\beta 3$
VAA ¹ HPC ² FQ	YYATC ³ K	$\beta 3C^1$
VAC ¹ HPA ² FQ	YYATC ³ K	$\beta 3C^2$
VAC ¹ HPC ² FQ	YYATA ³ K	$\beta 3C^3$
VAA ¹ HPA ² FQ	YYATC ³ K	$\beta 3C^1C^2$
VAA ¹ HPC ² FQ	YYATA ³ K	$\beta 3C^1C^3$
VAC ¹ HPA ² FQ	YYATA ³ K	$\beta 3C^2C^3$
EHGAFSC ¹ PAC ²	C ³ YNTQALEQQ	$\gamma 2$
EHGAFSA ¹ PAC ²	C ³ YNTQALEQQ	$\gamma 2C^1$
EHGAFSC ¹ PAA ²	C ³ YNTQALEQQ	$\gamma 2C^2$
EHGAFSC ¹ PAC ²	A ³ YNTQALEQQ	$\gamma 2C^3$
EHGAFSC ¹ PAA ²	A ³ YNTQALEQQ	$\gamma 2C^2C^3$

Fig. 2. Summary of LCC domains of human LM-332 and their mutants used in this study. A FLAG tag was inserted at the N-terminus of LCC domain of $\alpha 3$ chain. A part of amino acid sequences from the N- and C-termini of LCC domains and their mutants were showed in boxes. Two cysteine residues at the N-terminus (-C¹-X-X-C²-) and one cysteine residue at the C-terminus (C³) of LCC domains were mutated into alanine residues (A) by site-directed mutagenesis. The mutants were named by adding their mutated cysteine residues (C¹, C², and C³) into their names. One special mutant, $\alpha 3C^*$, was created from $\alpha 3C^2$ by mutating the valine residue that is adjacent to the alanine residue into cysteine. In this study, we called $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\beta 3C^3$, $\gamma 2C^1$, $\gamma 2C^2$, and $\gamma 2C^3$ as single cysteine mutants, and $\beta 3C^1C^2$, $\beta 3C^1C^3$, $\beta 3C^2C^3$, and $\gamma 2C^2C^3$ as double cysteine mutants.

2.2 Protein expression

mRNAs were synthesized from 1 μ g of the linearized vectors using a ScriptMax Thermo T7 Transcription Kit (Toyobo, Osaka, Japan). The synthesized mRNAs were diluted to a final concentration of 2 μ g/ μ l with nuclease-free water. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) was added to a final concentration of 1 mM. Protein synthesis was carried out using a Transdirect insect cell kit (Shimadzu, Kyoto, Japan) in non-reducing conditions. To check the heterodimer and heterotrimer formation, 6 μ g of mRNAs of each $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ LCC domains and their mutants were mixed with other reagents of the kit to

reach 50 μ l of reaction volume following instruction (21-23). The reaction mixtures were incubated for 5 h at 25 °C.

2.3 Western blot analysis

Protein samples were separated on 8% sodium dodecyl sulphate (SDS) polyacrylamide gels under reducing or non-reducing conditions, and transferred onto Hybond™-ECL membranes (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Membranes were blocked with 5% non-fat dry milk in phosphate buffer saline (PBS) buffer containing 0.1% Tween-20 (blocking buffer) for an hour at room temperature. Next, the membranes were incubated with primary antibodies against FLAG-tag (1:2,000) (monoclonal anti-FLAG M2; Sigma, St. Louis, MO), against LM $\beta 3$ (1:2,000) (polyclonal antibody H-300; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), against LM $\gamma 2$ (1:2,000) (monoclonal antibody B-2; Santa Cruz Biotechnology) in blocking buffer for 1 hour at room temperature. Membranes were washed with PBS buffer containing 0.1% Tween-20 (washing buffer), and incubated with horseradish peroxidase-conjugated secondary antibodies (1:1,000) (GE Healthcare) in blocking buffer for 1 hour at room temperature. Membranes were washed again in washing buffer and developed using ECL western blotting detection reagents (GE Healthcare), and visualized on Hyperfilm MP (GE Healthcare).

3. Results

3.1 Mutation of cysteine residues of LCC domains of human LM-332 into alanine residues by site-directed mutagenesis

One cysteine residue at the C-terminus of β and γ LCC domains and two cysteine residues at the N-terminus of α , β , and γ LCC domains are necessary for disulfide bond formation of LM heterodimer and heterotrimer (2). These cysteine residues are Cys213 and Cys216 at the N-terminus of $\alpha 3$ LCC; Cys581 and Cys584 at the N-terminus and Cys1177 at the C-terminus of $\beta 3$ LCC; Cys609 and Cys612 at the N-terminus and Cys1190 at the C-terminus of $\gamma 2$ chain. To explain our data easily, we called Cys213 and Cys216 of the $\alpha 3$ chain, Cys581 and Cys584 of the $\beta 3$ chain, Cys609 and Cys612 of the $\gamma 2$ chain as C¹ and C² of the corresponding chains, respectively. We also called Cys1177 of the $\beta 3$ chain and Cys1190 of the $\gamma 2$ chain as C³ of the $\beta 3$ chain and C³ of the $\gamma 2$ chain (Fig. 1). We created single cysteine mutations of LCC domains including $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\alpha 3C^*$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\beta 3C^3$, $\gamma 2C^1$, $\gamma 2C^2$, and $\gamma 2C^3$. We also created double cysteine mutations of LCC domains including $\beta 3C^1C^2$, $\beta 3C^1C^3$, $\beta 3C^2C^3$, and $\gamma 2C^2C^3$ (Fig. 2). We co-expressed these mutated $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ LCC

domains with normal $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ LCC domains in different combinations to check disulfide bond formation of heterodimers and heterotrimers.

3.2 Disulfide bond formation at the N- and C-termini of heterodimer of $\beta 3$ and $\gamma 2$ LCC domains

First, we investigated the roles of two cysteine residues, C^1 and C^2 , at the N-terminus and one cysteine residue, C^3 , at the C-terminus of $\beta 3$ and $\gamma 2$ LCC domains for disulfide bond formation of $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimer. Many experiments confirmed that LM β and γ chains form a disulfide bond with cysteine C^3 at the C-terminus of LCC domains (7, 11, 15). However, cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domain of β and γ chains have not been reported to form disulfide bonds. We co-expressed $\beta 3$ or $\beta 3C^3$, $\beta 3C^1C^2$, $\beta 3C^1C^3$, and $\beta 3C^2C^3$ with $\gamma 2$ or $\gamma 2C^3$, $\gamma 2C^1$, and $\gamma 2C^2C^3$ to examine if disulfide bonds by cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus can be formed in the absence of cysteine C^3 at the C-terminus LCC domains. We also examined which cysteine of $\beta 3$ LCC binds to which cysteine of $\gamma 2$ LCC at the N-terminus in the case $\beta 3$ and $\gamma 2$ LCCs can form disulfide bonds at the N-terminus. Western blotting using anti- $\beta 3$ antibody showed that when $\beta 3$ and $\gamma 2$ LCCs did not have cysteine C^3 at the C-terminus, heterodimer could not form disulfide bond by cysteine C^1 and C^2 at the N-terminus (Fig. 3). Western blotting using anti- $\gamma 2$ antibody showed the same results (data not shown). Therefore, the disulfide bond of cysteines C^3 at the C-terminus of LCC domain of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains is crucial for $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimer formation without $\alpha 3$ LCC domain; in the absence of cysteine C^3 , disulfide bonds of cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains did not form.

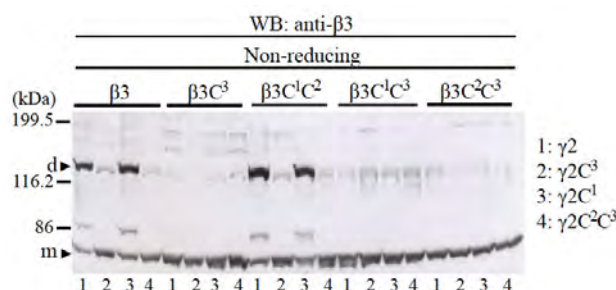


Fig. 3. The role of cysteine residues C^1 , C^2 , and C^3 of LCC domains of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains for disulfide bond formation of $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimer. Mutants of $\beta 3$ chain ($\beta 3$, $\beta 3C^3$, $\beta 3C^1C^2$, $\beta 3C^1C^3$, and $\beta 3C^2C^3$) were co-expressed with mutants of $\gamma 2$ chain ($\gamma 2$, $\gamma 2C^3$, $\gamma 2C^1$, and $\gamma 2C^2C^3$). Samples were load into an 8% SDS-PAGE gel, in non-reducing condition and immunoblotted with an anti- $\beta 3$ antibody. The results showed that only when both LCC domains of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains had cysteine C^3 at the C-terminus, $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers could be formed (lanes 1

and 3 of $\beta 3$ and $\beta 3C^1C^2$). Molecular weight markers are indicated on the left. Monomer (m) and dimer (d) bands are indicated with black triangles.

3.3 Disulfide bond formation with cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains of $\alpha 3$ - $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterotrimer

To check for disulfide bond formation by cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains, we co-expressed LCC domain of $\alpha 3$ chain with $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants which do not have cysteine C^3 at the C-terminus but intact cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus. Western blotting using an anti-FLAG antibody showed that $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants could form heterotrimers with disulfide bonds normally (Fig. 4A). Western blotting using anti- $\beta 3$ antibody and anti- $\gamma 2$ antibody show similar results (data not shown). Therefore, without disulfide bond at C-terminus of LCC domain of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains, $\alpha 3$ - $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterotrimer could form disulfide bonds by cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains.

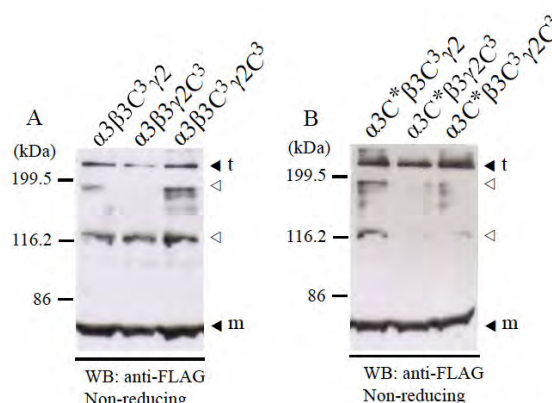


Fig. 4. Disulfide bond formation of $\alpha 3$ - $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterotrimer with cysteines C^1 and C^2 at the N-termini of LCC domains. LCC domains of $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains and their mutants ($\alpha 3C^*$, $\beta 3C^3$, and $\gamma 2C^3$) were co-expressed and checked for disulfide bond formation at the N-terminus. Expression samples were load into an 8% SDS-PAGE gel in non-reducing condition and detected by western blot with an anti-FLAG antibody. A, LCC domains of $\alpha 3$ chain could form disulfide bonds with $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants at the N-terminus. B, $\alpha 3C^*$ mutant which has the -C-X-X-X-C- motif at the N-terminus could form disulfide bonds with $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants at the N-terminus. Molecular weight markers are indicated on the left. Monomer (m) and trimer (t) bands are marked with black triangles. The bands indicated with white triangles are thought to be non-specific bands.

Next, we examined whether the position of cysteine residues C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains affects disulfide bond formation of heterotrimer. Cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains usually have $-C^1-X-X-C^2-$ motif, except $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains, which have $-C^1-X-X-X-C^2-$ motif (24, 25). We made $\alpha 3C^*$ mutant which has the $-C^1-X-X-A-C^*$ motif instead of the $-C^1-X-X-C^2-$ motif. Therefore, the position of cysteine C^2 was moved 1.5 angstrom far from C^1 . The results using $\alpha 3C^*$ mutant showed that heterotrimer could form disulfide bonds normally by cysteine residues C^1 and C^* at the N-terminus of $\alpha 3C^*$ LCC domains with $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants (Fig. 4B). This result suggested that interaction of $\alpha 3$ chains with $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers at the N-terminus of LCC domains is not rigid but flexible.

3.4 Disulfide bond formation at the N-terminus of LCC domains with mutations of cysteines C^1 and C^2

We co-expressed one single cysteine mutant among $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\gamma 2C^1$, or $\gamma 2C^2$ with two normal LCC domains of $\alpha 3$, $\beta 3$, or $\gamma 2$ chains to examine disulfide bond formation of heterotrimers. Using an anti-FLAG antibody for Western Blot, we did not detect any heterotrimer bands (Fig. 5). However, when using an anti- $\beta 3$ antibody or an anti- $\gamma 2$ antibody, we could detect very little amount of some heterotrimer bands with different size and migration (data not shown). By immunoprecipitation using anti-FLAG antibody, we could also detect the presence of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains using an anti- $\beta 3$ antibody and an anti- $\gamma 2$ antibody (data not shown). It means all the mutants interacted and assembled into dimers and trimers normally.

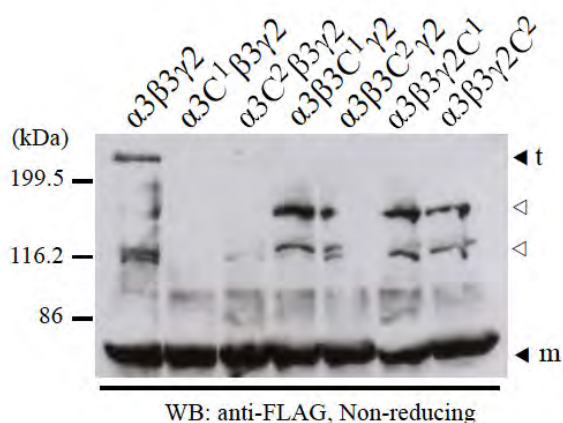


Fig. 5. Failure of disulfide bond formation by a single mutation of cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains. Two normal LCC domains of $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ with one of the single cysteine mutants ($\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\gamma 2C^1$, and $\gamma 2C^2$) were separately co-

expressed and evaluated for heterotrimer formation by disulfide bonds at the N-termini. Samples were loaded into an 8% SDS-PAGE gel in non-reducing condition and detected by Western Blot with an anti-FLAG antibody. The results showed that without one cysteine C^1 or C^2 at the N-terminus of LCC domains of $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains, $\alpha 3$ - $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterotrimers could not form. Molecular weight markers are indicated on the left. Monomer (m) and trimer (t) bands are indicated by black triangles. The bands indicated with white triangles are thought to be non-specific bands.

We then co-expressed two single cysteine mutants among $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\gamma 2C^1$, or $\gamma 2C^2$ with one normal LCC domain of $\alpha 3$, $\beta 3$, or $\gamma 2$ chains to check for the disulfide bond formation of heterotrimer. The results showed that some mutant combinations such as $\alpha 3$ - $\beta 3C^1$ - $\gamma 2C^1$, $\alpha 3C^1$ - $\beta 3C^1$ - $\gamma 2$, $\alpha 3C^1$ - $\beta 3$ - $\gamma 2C^1$, and $\alpha 3C^2$ - $\beta 3$ - $\gamma 2C^1$ have weak efficiency of heterotrimer formation. Some other mutant combinations such as $\alpha 3$ - $\beta 3C^2$ - $\gamma 2C^1$, $\alpha 3$ - $\beta 3C^2$ - $\gamma 2C^2$, $\alpha 3C^1$ - $\beta 3$ - $\gamma 2C^2$, $\alpha 3C^2$ - $\beta 3C^1$ - $\gamma 2$, $\alpha 3C^2$ - $\beta 3C^2$ - $\gamma 2$, and $\alpha 3C^2$ - $\beta 3$ - $\gamma 2C^2$ showed normal heterotrimer formation. But two special combinations of $\alpha 3$ - $\beta 3C^1$ - $\gamma 2C^2$ and $\alpha 3C^1$ - $\beta 3C^2$ - $\gamma 2$ showed the failure of heterotrimer formation with disulfide bonds (Fig. 6). With three antibodies against $\alpha 3$, $\beta 3$, and $\gamma 2$ chains, we repeated this experiments several times and the results were the same. We could not identify which cysteine binds specifically to which cysteine at the N-terminus of LCC domains of LM-332. These results suggested that there is no specific disulfide bond pattern for cysteines at the N-terminus of LCC domains of LM-332.

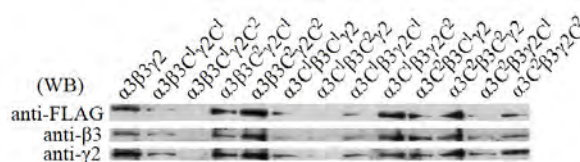


Fig. 6. Disulfide bond formation of heterotrimers by two single mutations of cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains. One normal LCC domain of $\alpha 3$, $\beta 3$, or $\gamma 2$ and two other single cysteine mutants among $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\gamma 2C^1$, and $\gamma 2C^2$ were co-expressed and examined for heterotrimer formation by disulfide bonds at the N-termini. Samples were loaded into an 8% SDS-PAGE gel in non-reducing conditions. Western Blot was first done with an anti-FLAG antibody to detect $\alpha 3$ chains, then the membrane was stripped and reprobed with an anti- $\beta 3$ antibody to detect $\beta 3$ chains, and finally stripped and reprobed again with anti- $\gamma 2$ antibody to

detect $\gamma 2$ chains. The results showed that LM heterotrimers formed with different efficiencies depending on single cysteine mutant combinations.

4. Discussion

Cell-free translation system is a convenient system for recombinant protein expression and protein-protein interaction analysis. We succeeded in synthesizing heterotrimers of LCC domains of LM-332 in a cell-free translation system derived from *Spodoptera frugiperda* 21 (Sf21) insect cells (21-23). With the advantages of this system, we could analyze the disulfide bond formation of heterodimers and heterotrimers using many mutants. Our study focused on the disulfide bond formation of two cysteine residues C^1 and C^2 at the N-terminus and one cysteine residue C^3 at the C-terminus of LCC domains, which involve in disulfide bond formation of LM heterodimer and heterotrimer.

Our previous data showed that when we expressed monomers of LCC domain of $\alpha 3$, $\beta 3$, or $\gamma 2$ chains, LCC domain of $\beta 3$ or $\gamma 2$ chains could form homodimers except $\alpha 3$ chain, but not homotrimers. When we co-expressed LCC domain of $\beta 3$ with $\gamma 2$, the main product was $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers with a little amount of homodimers. This suggested that $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers are more preferably formed comparing with $\beta 3$ - $\beta 3$ and $\gamma 2$ - $\gamma 2$ homodimers. Interchain hydrophobic interactions and ionic interactions of α -helix coiled-coil domains drive the assembly of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains and that supports the disulfide bond formation by cysteines C^3 at the C-termini. We did not find any trimers such as $\beta 3$ - $\beta 3$ - $\gamma 2$, $\beta 3$ - $\beta 3$ - $\beta 3$, $\gamma 2$ - $\gamma 2$ - $\beta 3$, and $\gamma 2$ - $\gamma 2$ - $\gamma 2$ when we co-expressed LCC domains of $\beta 3$ with $\gamma 2$. In this study, we mutated cysteines C^3 at the C-termini of LCC domains of $\beta 3$ and $\gamma 2$ chains into alanines, we found that $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$ mutants could not form disulfide bonds by cysteines C^1 and C^2 at the N-termini. This result suggested that interchain interactions of LCC domains of $\beta 3$ and $\gamma 2$ at the N-terminus were not strong enough or incomplete to support the disulfide bond formation. Therefore, interchain hydrophobic interactions and ionic interactions at the C-terminus of LCC domains will drive the chain selectivity of LM β and γ chains. Then, cysteine C^3 as a first lock will fix all preferably formed β - γ heterodimers by a disulfide bond at the C-terminus of LCC domains.

When $\alpha 3$ chain interacts with $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimer, the interaction of three chains at the N-terminus of LCC domains can make their cysteine residues come closer to each other and that interaction supports better for disulfide bond formation. The result using $\alpha 3C^*$ mutant, which has the -C-X-X-X-C- motif instead of the -C-X-X-C- motif showed that the $\alpha 3C^*$ mutant could form disulfide bonds normally with the $\beta 3C^3$ and $\gamma 2C^3$

mutants. This result suggested that interaction of $\alpha 3$ chains with $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers at the N-terminus of LCC domains are flexible with more than one interacting site. So the existence of LM heterotrimers that do not have disulfide bonds at the N-terminus of LCC domains could be because α chains do not interact with β - γ heterodimers at the site suitable for disulfide bond formation (12). From this result we also suggest that $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimer may be able to form disulfide bonds *in vitro* with all other LM α chains by cysteines C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains. Furthermore, to the best of our knowledge, this study is the first to show that without a disulfide bond at the C-termini of coiled-coil domain of $\beta 3$ - $\gamma 2$ heterodimers, heterotrimers could be formed by disulfide bonds at the N-termini of coiled-coil domains. By using computer programs to analyze coiled-coil structure of all human and mouse LCC domains, Zimmerman and Blanco also concluded that it is possible for all LM α , β , and γ chains to form other non-natural disulfide-bonded heterotrimers out of 15 well-known natural LMs *in vitro* (26).

Our data showed that cysteines C^1 and C^2 at the N-termini of LCC domains are necessary for disulfide bond formation of heterotrimers. We created six single cysteine mutants including $\alpha 3C^1$, $\alpha 3C^2$, $\beta 3C^1$, $\beta 3C^2$, $\gamma 2C^1$, and $\gamma 2C^2$, and co-expressed these mutants with normal LCC domains to analyze which cysteine binds specifically to which cysteine at the N-terminus of LCC domains of LM-332. When we co-expressed two normal LCC domains with one single cysteine mutant, disulfide bonds could not form at the N-terminus of LCC domains. But when we co-expressed one normal LCC domains with two single cysteine mutants, disulfide bonds could form again with different efficiencies depending on mutant combinations. Furthermore, when we co-expressed three single cysteine mutants, heterotrimer could not form again (data not shown). These results suggested that the disulfide bond formation by cysteine residues C^1 and C^2 at the N-terminus of LCC domains of LM-332 are not fixed but random with different efficiencies depending on which cysteine binds to which cysteine. There should have other factors that interfere with or involve in the disulfide bond formation by binding to cysteine residues of LM chains. These factors could be any molecular chaperones involving in interchain and intrachain disulfide bond formation of proteins (27). Further research is needed to understand the mechanism of disulfide bond formation of LM heterotrimers inside the cell.

In conclusion, we provided new information about disulfide bond formation of LM heterodimers and heterotrimers. First, LM α , β , and γ chains are translated as monomers. Then, β and γ chains assemble to form β - γ heterodimers with a disulfide bond at the C-terminus of

LCC domains. Next, α chain assembles with β - γ heterodimers. When α chains interact with β - γ heterodimers at suitable sites, disulfide bonds will form randomly at the N-terminus of LCC domains. Disulfide bond formation of heterotrimers at the N-termini does not depend on the disulfide bond formation at the C-termini of coiled-coil domains. We suggest that interactions at the N-terminus of LCC domains are important for disulfide bond formation of LM heterotrimers.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by a Grant-in-aid (no. 18108003) for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan. HPP was supported by the Iwatani Naoji Foundation. We would like to sincerely thank Assoc. Prof. Tatsuhiko Kadowaki for his contribution in cloning laminin332 cDNA for this research.

ABOUT THE AUTHORS

Dr. Phuong Phan received a Bachelor of Biotechnology from Vietnam National University at Hanoi, and then an MSc as well as a PhD in Bioengineering Sciences from Nagoya University, Japan. His research at Nagoya University was to develop an expression system to produce human laminin-332 at an industrial scale as well as to elucidate the assembly mechanism of this protein. He has gained many industrial experiences when working for companies in pharmaceutical industry and next generation sequencing technology in Japan. Professor Yasuo Kitagawa was a laminin guru professor at Nagoya University; the late Professor Kitagawa passed away in 2007. Assistant professor Tomoaki Niimi is an expert of laminin; assistant professor Niimi currently focuses on studying the roles of Nel-like molecule 1 (NELL1) in cell adhesion and differentiation.

REFERENCES

1. Aumailley M, et al. (2005) A simplified laminin nomenclature. *Matrix Biol* 24(5):326-332.
2. Beck K, Hunter I, & Engel J (1990) Structure and function of laminin: anatomy of a multidomain glycoprotein. *FASEB J* 4(2):148-160.
3. Burgeson RE, et al. (1994) A new nomenclature for the laminins. *Matrix Biol* 14(3):209-211.
4. Miner JH & Yurchenco PD (2004) Laminin functions in tissue morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20:255-284.
5. Timpl R, et al. (1979) Laminin - a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem* 254(19):9933-9937.
6. Scheele S, et al. (2007) Laminin isoforms in development and disease. *J Mol Med* 85(8):825-836.
7. Hunter I, Schulthess T, Bruch M, Beck K, & Engel J (1990) Evidence for a specific mechanism of laminin assembly. *Eur J Biochem* 188(2):205-211.
8. Hunter I, Schulthess T, & Engel J (1992) Laminin chain assembly by triple and double stranded coiled-coil structures. *J Biol Chem* 267(9):6006-6011.
9. Paulsson M, et al. (1985) Evidence for coiled-coil alpha-helical regions in the long arm of laminin. *EMBO J* 4(2):309-316.
10. Beck K, Dixon TW, Engel J, & Parry DA (1993) Ionic interactions in the coiled-coil domain of laminin determine the specificity of chain assembly. *J Mol Biol* 231(2):311-323.
11. Engel J, et al. (1991) Assembly of laminin isoforms by triple- and double-stranded coiled-coil structures. *Biochem Soc Trans* 19(4):839-843.
12. Kumagai C, Kadowaki T, & Kitagawa Y (1997) Disulfide-bonding between Drosophila laminin beta and gamma chains is essential for alpha chain to form alpha beta gamma trimer. *FEBS Letters* 412(1):211-216.
13. Morita A, Sugimoto E, & Kitagawa Y (1985) Post-translational assembly and glycosylation of laminin subunits in parietal endoderm-like F9 cells. *Biochem J* 229(1):259-264.
14. Nomizu M, Otake A, Utani A, Roller PP, & Yamada Y (1994) Assembly of synthetic laminin peptides into a triple-stranded coiled-coil structure. *J Biol Chem* 269(48):30386-30392.
15. Goto A, Aoki M, Ichihara S, & Kitagawa Y (2001) Alpha-, beta- or gamma-chain-specific RNA interference of laminin assembly in Drosophila Kc167 cells. *Biochem J* 360(Pt 1):167-172.
16. Niimi T, Miki K, & Kitagawa Y (1997) Expression of the long arm sequence of mouse laminin alpha1, beta1, or gamma1 chain in COS1 cells and assembly of monkey-mouse hybrid laminin. *J Biochem* 121(5):854-861.
17. Phan HP, et al. (2008) Expression and chain assembly of human laminin-332 in an insect cell-free translation system. *Biosci Biotechnol Biochem* 72(7):1847-1852.
18. Gerecke DR, Wagman DW, Champlaud MF, & Burgeson RE (1994) The complete primary structure for a novel laminin chain, the laminin B1k chain. *J Biol Chem* 269(15):11073-11080.
19. Kallunki P, et al. (1992) A truncated laminin chain homologous to the B2 chain: structure, spatial expression, and chromosomal assignment. *J Cell Biol* 119(3):679-693.
20. Ryan MC, Tizard R, VanDevanter DR, & Carter WG (1994) Cloning of the LamA3 gene encoding the alpha 3 chain of the adhesive ligand epiligrin. Expression in wound repair. *J Biol Chem* 269(36):22779-22787.
21. Ezure T, et al. (2006) Cell-free protein synthesis system prepared from insect cells by freeze-thawing. *Biotechnol Prog* 22(6):1570-1577.
22. Ezure T, et al. (2007) Expression of proteins containing disulfide bonds in an insect cell-free system and confirmation of their arrangements by MALDI-TOF MS. *Proteomics* 7(24):4424-4434.
23. Suzuki T, et al. (2006) Performance of expression vector, pTD1, in insect cell-free translation system. *J Biosci Bioeng* 102(1):69-71.
24. Nagayoshi T, et al. (1989) Human laminin A chain (LAMA) gene: chromosomal mapping to locus 18p11.3. *Genomics* 5(4):932-935.
25. Zhang X, Vuolteenaho R, & Tryggvason K (1996) Structure of the human laminin alpha 2-chain gene (LAMA2), which is affected in congenital muscular dystrophy. *J Biol Chem* 271(44):27664-27669.
26. Zimmerman T & Blanco FJ (2007) The coiled-coil structure potential of the laminin LCC domain is very fragmented and does not differentiate between natural and non-detected isoforms. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics* 24(4):413-420.
27. Kumagai C & Kitagawa Y (1997) Potential molecular chaperones involved in laminin chain assembly. *Cytotechnology* 25(1-3):173-182.



RESEARCH & REVIEW

Oncolytic Virus – an Effective Targeting Therapy for Cancer Treatment

Khue Gia Nguyen^{1,2}, Dang Quan Nguyen³, and Le Xuan Truong Nguyen^{4*}

¹Laboratory of Vaccine and Immunotherapy Delivery, University of Arkansas at Fayetteville, AR 72701, USA

²Laboratory of Stem cell Research and Application, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Medical Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Stanford Cancer Institute, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305, USA

ARTICLE INFO

Editor:

Mai Tran Ph.D., International University,
Ho Chi Minh city National University

Corresponding author:

Khue Gia Nguyen
kgnguyen@email.uark.edu

Keywords:

oncolytic virus
cancer therapy

ABSTRACT

The oncolytic viruses that were discovered in the late of 19th century have been recently considered as an effective anti-cancer therapy due to its selective replication activity in cancer cells. Currently, at least nine types of virus have been studied in clinical trials for treating a variety of cancers including T-VEC and Reolysin. In this review, we focus on historical researches of oncolytic viruses. We also describe the molecular mechanism of oncolytic viruses in cancer cells. Positive clinical trial results strongly suggest oncolytic viruses as an effective targeting virotherapy for treating cancer.

BRIEF OVERVIEW OF ONCOLYTIC VIRUSES

Viruses are usually considered as infectious agents that can lyse cells and cause deadly diseases such as Acquired Immune Deficiency Syndrome (HIV/AIDS), Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS), or Ebola Hemorrhagic Fever (EHF). Indeed, viruses are dangerous causative agents because of its wide range of targeting cell types and rapid infectious rate. According to the estimation of World Health Organization (WHO), 35.3 million people around the world had HIV infection in 2012 and this number is increasing every year with 0.8% global prevalence [1]. An outbreak epidemic of Ebola, which began in February 2014 at Guinea, caused suspectedly 1,323 cases with 729 deaths that have been reported as of 27 July 2014 [2]. Measles virus recently re-emerged in Vietnam with spreading out in 24 cities and caused approximately 1000 infectious cases [3]. Despite of the virus' effects on human diseases, a large amount of studies demonstrate that viruses can be modified by

Generally, this concept describes several specific viruses that lyse cancer cells, but leave healthy cells unharmed.

Historically, anti-cancer activity of virus was recorded in the late of 19th century on cancer patients infected with virus. In 1896, a myelogenous leukemia patient had significant dropping of leukocyte count after getting influenza infection [7]. In another case, a lymphatic leukemia boy was infected with chickenpox virus, which led to cancer regression when his spleen size and leukocyte number returned to normal. These observations suggested that viral infection could treat cancer in patients. Moreover, compromised immune system on cancer patients could facilitate the anti-cancer activity of virus. Indeed, clinical experiments of virotherapy on cancer patients became popular in the middle 20th century [7]. These studies were often conducted in cancer patients with live virus that directly were extracted from virus-infected patients without any attenuating treatment. Although these experiments

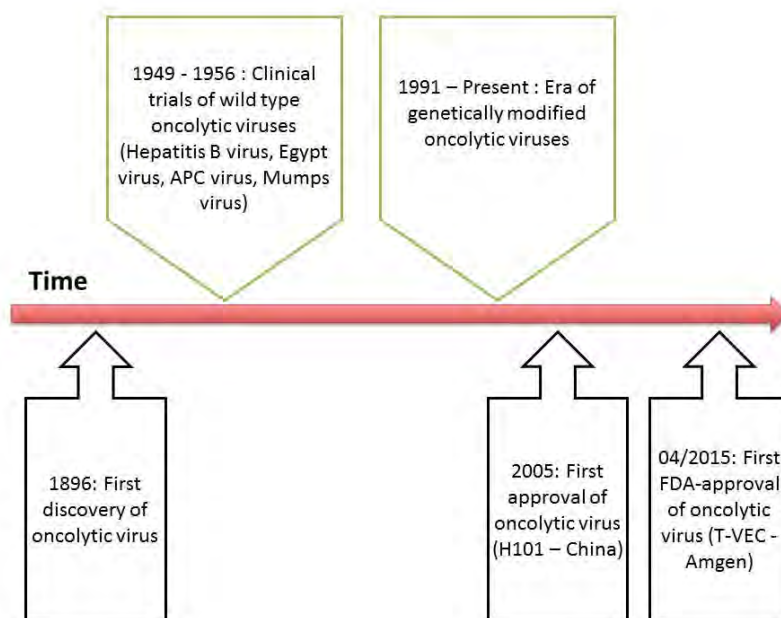


Figure 1: A timeline of milestones in the development of oncolytic virus as a cancer therapy. Since the first discovery in the late 19th century, oncolytic viruses have been getting more attention to be used as anti-tumor therapy. Until the middle of 20th century, clinical trials of oncolytic viruses on cancer patients, who were transmitted body fluids containing viruses, revealed the potential of using wild type viruses for treating cancer. Even though these wild type viruses can inhibit tumor growth in some immunosuppressed patients, they are easily recognized and cleared by immune system. Also, these wild type viruses can cause infection to normal cells leading to fatality in patients. Thus, modern approaches of genetics in recent years, which enhance selective viral replication on tumor cells, gene-carrying ability, and penetration of host immune defenses, allow oncolytic viruses to improve their anti-tumor ability.

genetic engineering and used as an effective therapy in treating cancer in both preclinical models and clinical trials with human patients [4] [5] [6]. These viruses are called oncolytic viruses (OVs) in which “onco” and “lytic” represent for “cancer” and “lysis”, respectively.

achieved positive results with tumor regressions in cancer patients, the oncolytic efficacy was still limited due to (1) virus activity was also suppressed by the immune system; (2) the contamination of virus infection in normal cells; and (3) the virus' effects causing fatality in patients [4].

There were four main clinical studies in this era using viruses as a therapy for cancer treatment including Hepatitis B virus [8], Egypt 101 virus [9], Adenovirus adenoidal pharyngeal-conjunctival virus (APC) [10], and Mumps virus [11]. In 1949, Hepatitis B virus was first used for treating Hodgkin's disease in 21 patients [8]. The patients were administrated by parenteral injection of impure human serum containing virus. In the results, 13/22 patients had hepatitis, 7 of whom had partial tumor responses to therapy and 4 among them had tumor size reduction [8]. Three years later, Southam *et al.* used Egypt 101 virus to treat advanced – unresponsive neoplastic disease in 34 patients by using intravenous and intramuscular injection of bacteria-free mouse and human tissue extracts containing viruses. The results showed that 27/34 patients were successfully infected by Egypt 101 virus; 14/34 patients were positive with oncotropism, which defines the ability or property of virus to find and destroy malignant tumor cells, but ignore the healthy cells; and 4/34 temporarily had tumor regression [9]. In 1956, APC virus was employed by Georgiades *et al.* to apply in 30 cervical carcinoma patients. They obtained positive results with 26/30 inoculations in localized necrosis when injected APC to patients through intra-arterial, intravenous administration [10]. In another study, Asada conducted clinical trials to treat terminal gastric, pulmonary, uterine cancers by using wild type mumps virus in 90 cancer patients. There were 37/90 complete regression patients, 42/90 growth suppression patients and 11/90 unresponsive patients [11].

In 1991, modern approach for applying OV's in treating cancer was officially begun by a research on modified HSV genome with deletion of thymidine kinase (TK) gene [12]. This research showed that virulence of this virus strain was reduced in normal neurons, but selective in human glioma cells. In detail, TK-negative mutant of herpes simplex viruses – 1 could lyse 5 glioma cell lines (U87 cell line, T98G cell line, and 3 other cell lines obtained from human glioma patients). In immune deficiency mice, these viruses could inhibit tumor growth from injected subcutaneous U87 glioma cells and prolong mice survival [12] [4]. After this study, the research on OV's has been more focused on the interaction of virus protein and dysfunctional protein inside cancer cells. Among them, Onyx-15 was an engineered genome oncolytic adenovirus that carried viral genome with deletion of E1B55kD gene [13] [4] [14]. It has been shown that Onyx-15 could replicate selectively and lyse p53-deficient tumor cells and ignore healthy cells [13]. Bischoff *et al.* proved the efficacy of this virus strain by injecting them into nude mice that carried p53-deficient human cervical carcinomas. The results showed that Onyx-15 caused a significant reduction in tumor size and decreased 60 percent of the tumors in comparison to control group [13]. Unexpectedly, the clinical trials

indicated that Onyx-15 was ineffectively replicated in certain tumor cells [12]. Therefore, the exact replication mechanism in this virus is still a controversial topic [13] [14]. Due to this unknown, research on this virus has been abandoned in early 2000s in Europe. However, after clinical trial research in China, a similar mutant virus strain with Onyx-15 named as Oncorine – H101 was approved by Chinese State Food and Drug Administration to treat late-stage of nasopharyngeal cancer in combination with chemotherapy [15].

Currently, there are at least 9 types of virus family being studied on clinical trials at various phases (Table 1) [16]. Talimogene laherparepvec (T-VEC) and Reolysin, phase III of clinical trial of which were completed, are the two of the promising OV's. T-VEC is an oncolytic herpes simplex virus currently being studied for the treatment of melanoma and other advanced cancers. This virus was initially developed by BioVex, Inc. under the name OncoVEX^{GM-CSF} until it was acquired by Amgen in 2011. With the announcement of positive results in March 2013, T-VEC was the first oncolytic herpes simplex virus to be proven effective in a phase III clinical trial for treating melanoma [17] [18]. Recently, T-VEC was voted as the first oncolytic virus to gain FDA (US Food and Drug Administration) - approval recommendation for treating melanoma in April, 2015 [19]. This recommendation may lead to a great opportunity for T-VEC to become the first oncolytic virus approved by FDA for widely using on cancer patients. Reolysin, which is originated from respiratory enteric orphan virus, was developed by Oncolytic Biotech Company for the treatment of various cancers and cell proliferative disorders. Phase III clinical trial of this virus was completed for treating carcinoma, squamous cell of the head and neck cancer in combination with paclitaxel and carboplatin [20].

THE ONCOLYTIC MECHANISM OF OV's

One of the most important ability of OV's to attack cancer but not healthy cells is the selective replication ability. The selective replication of OV's could be achieved by taking advantage in several key-signaling pathways in cancer cells, including p53, interferon response pathway, epidermal growth factor receptor (EGFR) and Ras pathway, interferon-induced and double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR) pathways. Interestingly, these signaling pathways in cancer and normal cells are differently regulated by OV's [16] [4] [14].

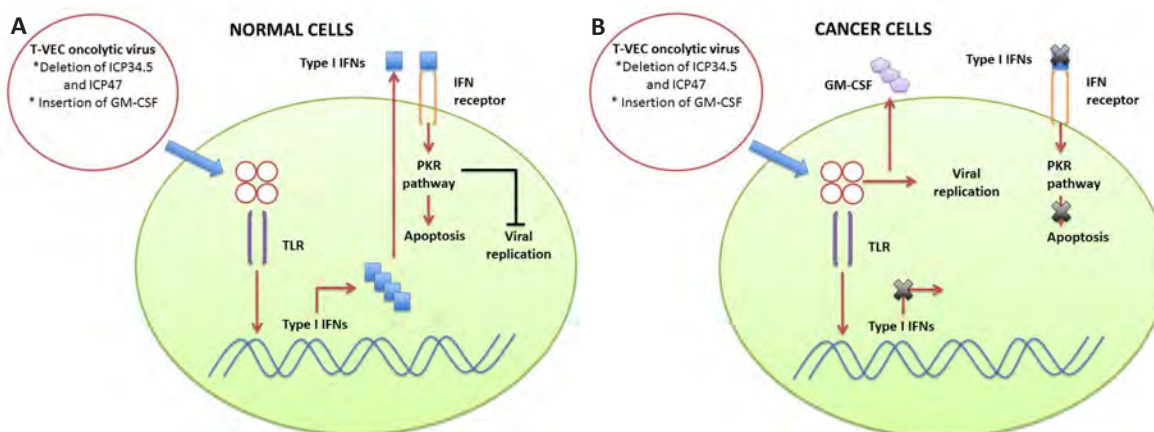


Figure 2. A (left). Illustration of oncolytic virus (T-VEC) activity in normal cells. Deletion of ICP34.5 gene leads to virus recognizing by viral defense system in normal cells, which includes type I IFN and double-stranded RNA-dependent protein kinase signaling. This system activates a signaling cascade that prevents viral replication and directs infected cells for apoptosis or necrosis. ICP34.5: Infected cell protein 34.5, ICP47: Infected cell protein 47, GM-CSF: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor, TLR: Toll-like receptor, IFNs: Interferons, PKR: double-stranded RNA-dependent protein kinase. Figure 2. B (right). Illustration of oncolytic virus (T-VEC) activity in cancer cells. Due to the dysfunction of PKR pathway, cancer cells cannot target and inhibit viral replication. Deletion of ICP47 gene leads to antigen presented to cell surface, which in turn recruits immune cells to tumor site. Expression of GM-CSF, which is inserted to viral genome, also enhances anti-tumor immune response by recruiting and stimulating dendritic cells to tumor sites. ICP34.5: Infected cell protein 34.5, ICP47: Infected cell protein 47, GM-CSF: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor, TLR: Toll-like receptor, IFNs: Interferons, PKR: double-stranded RNA-dependent protein kinase.

P53

P53 is a key tumor suppressor protein that can arrest cell cycle or induce cell apoptosis in cells under stress conditions. Moreover, the tumor suppressor protein p53 is a main protein in cellular defense system against viruses [14]. Due to gene mutations or the influence of p53 inhibitors, p53 expression is reduced in a variety of cancer cells [21] [22]. The suppression of p53 enhances cancer cells' susceptibility to oncolytic viruses and facilitates viral replication inside cancer cells. In contrast, the normal expression of p53 in healthy cells inhibits both the infection and replication of oncolytic viruses [14]. This principle was employed in Onyx-15 and H101 oncolytic viruses as mentioned in the first part of this review [15].

Interferon response and Ras pathway

Another strategy to gain selective replication in cancer cells by oncolytic virus is to interfere with interferon response and EGFR/Ras pathway [23]. In normal cells, interferon α or β inhibits the viral replication inside the cells by blocking translation of viral RNA into protein. In order to replicate, vaccinia virus, which is the causative agent of eradicated smallpox disease, employs protein B18R to inhibit the interferon pathway. Thus, in cancer cells, selective replication will be achieved when B18R encoding gene is removed from

vaccinia virus to reduce the expression of interferon α or β receptor [23]. The EGFR/Ras pathway is usually dysregulated in cancer cells, leading to a significant increase in nucleotides, which is a very favorable condition for Vaccinia virus replication. Thymidine kinase (TK) and Vaccinia grow factor (VGF) are viral proteins that have similar functions with the EGFR/Ras pathway in making nucleotide pool for viral replication. Therefore, TK and VGF encoding genes could be removed from vaccinia viral genome in order to achieve selective replication [23]. The engineered vaccinia viruses could not replicate in normal cells due to lack of their vital proteins whereas they could selectively replicate in cancer cells that do favor virus replication by abnormal expression of EGFR/Ras pathway and IFN response pathway. In addition, key immune system genes can be inserted into virus genome, such as GM-CSF to further enhance recognition of cancer antigens by immune system and promote the oncolytic effect.

Interferon (IFN) and double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR) pathways

Talimogene laherparepvec (T-VEC), which was developed from herpes simplex virus 1 (HSV-1), selectively replicate in cancer cells by taking advantage of the type I IFN and double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR) pathways. When healthy cells are infected by viruses, PKR pathway inhibits viral protein synthesis by phosphorylation of eIF2 α . In order to prevent this inhibition, herpes simplex virus expresses ICP34.5 protein to dephosphorylate eIF2 α and trigger viral protein synthesis. In addition, interferon type 1 (IFN α or IFN β) expressed by infected cells could produce an activation signal on PKR by binding to interferon type 1 receptors because one of their downstream targets is PKR [14]. However, cancer cells which possess the dysregulation of this pathway will favor the replication of oncolytic virus [14] [24]. Deletion of ICP34.5 in T-VEC genome facilitates selective replication of this virus inside cancer cells. Moreover, there are genetic changes in T-VEC genome that also favor its oncolytic ability. First of all, ICP 47 protein is a viral protein that inhibits virus antigen presenting in target cells by retaining the MHC class I molecule in the endoplasmic reticulum. This protein-encoding gene is deleted in T-VEC genome,

leading to the virus antigen present in virally infected cancer cells. This event recruits immune cells to tumor sites and induces the immune responses. In addition, the insertion of GM-CSF gene into T-VEC genome enhances anti-tumor immune responses. GM-CSF is a cytokine that could recruit and stimulate antigen-presenting cells to tumor sites, thus increases cancer killing ability of virus in combination with that of the immune system [24].

Conclusion

These examples of oncolytic viruses reveal that anti-tumor ability of virus can be used as a target therapy for treating cancer. Selective replication and gene carrying ability can be considered as the most important benefits of this method to make oncolytic virus become an effective targeting therapy. Although further research need to be explored to improve the effects of OV, current positive clinical trial results demonstrate the feasibility of this method in treating cancer.

Table 1. Examples of oncolytic viruses in current clinical trials from nine virus families [16]

Virus family	Virus name	Current clinical trial phase	Genetic modifications
Herpesviridae	T-VEC	Completed phase III for treating melanoma	Deletion of ICP 34.5 and ICP 47 gene Addition of GM-CSF gene
Reoviridae	Reolysin	Completed phase III for treating head and neck cancers in combination with paclitaxel and carboplatin	None
Adenoviridae	Oncorine (H101)	Approved for treating head and neck cancer with Cisplatin in China	Deletion of E1B55KD gene
Poxviridae	JX-594	Ongoing phase IIB for treating hepatocellular carcinoma	Deletion of Thymidine Kinase gene Addition of GM-CSF gene
Paroviridae	ParvOryx	Ongoing phase I and II for treating Glioma	None
Paramyxoviridae	MV-NIS	Ongoing phase I for treating Myeloma in combination with Cyclophosphamide	Gene modifications for not blocking STAT1 and MDA5 pathway
Picornaviridae	PVS-RIPO	Ongoing phase I for treating Glioma	Controlled translation by the internal ribosome
Rhabdoviridae	VSV-hIFN β	Ongoing phase I for treating hepatocellular carcinoma	Addition of human IFN β gene
Retroviridae	Toca 511	Ongoing phase I and II for treating Glioma	Addition of cytosine deaminase gene

GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; hIFN β , human interferon- β ; ICP, infected cell protein; MDA5, melanoma differentiation-associated protein 5; MV, measles virus; NIS, sodium-iodide symporter; PVS, poliovirus Sabin; RB, retinoblastoma protein; RIPO, Rhinovirus-poliovirus hybrid; STAT1, signal transducer and activator of transcription 1; US, unique sequence; VSV, vesicular stomatitis virus.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported in part by a research of science and technology research grant from Department of Science and Technology of Ho Chi Minh City, Vietnam to LXTN (226/2013/HD-SKHCN).

ABOUT THE AUTHORS

Khue Nguyen is a Ph.D. student in Cell and Molecular Biology at the University of Arkansas, USA. Currently, he is working in the research group at the Laboratory Vaccines and Immunotherapy Delivery. His main research focuses on using glycosaminoglycan molecules for enhancing the activity of immune system. Dr. Dang-Quan Nguyen graduated with a Ph.D degree in Immunology from the University of Justus Liebig, Germany. He is currently the Director of Division of Medical Biotechnology at Biotechnology Center of Ho Chi Minh City. Dr. Truong Nguyen is working in Biotechnology Center of Ho Chi Minh City as a scientific expert.

Khuê hiện là nghiên cứu sinh theo chuyên ngành Sinh học Phân tử và Tế bào tại Đại học Arkansas, Hoa Kỳ. Hiện tại, anh đang tham gia vào nhóm nghiên cứu tại phòng thí nghiệm phân phối vaccine và liệu pháp miễn dịch. Hướng nghiên cứu chính của anh là sử dụng các phân tử glycosaminoglycan trong việc thúc đẩy hoạt động của hệ miễn dịch. Tiến sĩ Nguyễn Đăng Quân tốt nghiệp chuyên ngành miễn dịch học tại đại học Justus Liebig, Đức. Anh hiện là trưởng phòng Công nghệ Y sinh tại TT CNSH TPHCM. Tiến sĩ Nguyễn Lê Xuân Trường hiện là chuyên gia khoa học công tác tại TT CNSH TPHCM.

REFERENCES

- WHO, *HIV/AIDS*, in *Global Health Observatory*, b.W.r. Adult HIV prevalence (15-49 years), Editor. 2013.
- WHO. *Ebola virus disease, West Africa – update 29 July 2014*. WHO: Outbreak news. 29 July 2014. 2014.
- Nguyen, C. *Measles Reemerges in Vietnam*. The Disease Daily 2014; Available from: <http://healthmap.org/site/diseasedaily/article/measles-eemerges-vietnam-22814>.
- Russell, S.J., K.W. Peng, and J.C. Bell, *Oncolytic virotherapy*. Nat Biotechnol, 2012. **30**(7): p. 658-70.
- Guo, Z.S., S.H. Thorne, and D.L. Bartlett, *Oncolytic virotherapy: molecular targets in tumor-selective replication and carrier cell-mediated delivery of oncolytic viruses*. Biochim Biophys Acta, 2008. **1785**(2): p. 217-31.
- Cerullo, V., et al., *Chapter eight--Oncolytic adenoviruses for cancer immunotherapy: data from mice, hamsters, and humans*. Adv Cancer Res, 2012. **115**: p. 265-318.
- Kelly, E. and S.J. Russell, *History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering*. Mol Ther, 2007. **15**(4): p. 651-9.
- Hoster, H.A., R.P. Zanes, Jr., and E. Von Haam, *Studies in Hodgkin's syndrome; the association of viral hepatitis and Hodgkin's disease; a preliminary report*. Cancer Res, 1949. **9**(8): p. 473-80.
- Southam, C.M. and A.E. Moore, *Clinical studies of viruses as antineoplastic agents with particular reference to Egypt 101 virus*. Cancer, 1952. **5**(5): p. 1025-34.
- Georgiades, J., et al., *Research on the oncolytic effect of APC viruses in cancer of the cervix uteri; preliminary report*. Biul Inst Med Morsk Gdansk, 1959. **10**: p. 49-57.
- Asada, T., *Treatment of human cancer with mumps virus*. Cancer, 1974. **34**(6): p. 1907-28.
- Martuza, R.L., et al., *Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant*. Science, 1991. **252**(5007): p. 854-6.
- Bischoff, J.R., et al., *An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells*. Science, 1996. **274**(5286): p. 373-6.
- Chiocca, E.A., *Oncolytic viruses*. Nat Rev Cancer, 2002. **2**(12): p. 938-50.
- Liu, T.C. and D. Kim, *Gene therapy progress and prospects cancer: oncolytic viruses*. Gene Ther, 2008. **15**(12): p. 877-84.
- Miest, T.S. and R. Cattaneo, *New viruses for cancer therapy: meeting clinical needs*. Nat Rev Microbiol, 2014. **12**(1): p. 23-34.
- Deal watch: Amgen buys oncolytic virus company. Nat Rev Drug Discov, 2011. **10**(3): p. 166.
- Schmidt, C., *Amgen spikes interest in live virus vaccines for hard-to-treat cancers*. Nat Biotechnol, 2011. **29**(4): p. 295-6.
- Dolgin, E., *Oncolytic viruses get a boost with first FDA-approval recommendation*. Nat Rev Drug Discov, 2015. **14**(6): p. 369-71.
- Carew, J.S., et al., *Reolysin is a novel reovirus-based agent that induces endoplasmic reticular stress-mediated apoptosis in pancreatic cancer*. Cell Death Dis, 2013. **4**: p. e728.
- Hollstein, M., et al., *p53 mutations in human cancers*. Science, 1991. **253**(5015): p. 49-53.
- Olivier, M., M. Hollstein, and P. Hainaut, *TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010. **2**(1): p. a001008.
- Kim, D.H. and S.H. Thorne, *Targeted and armed oncolytic poxviruses: a novel multi-mechanistic therapeutic class for cancer*. Nat Rev Cancer, 2009. **9**(1): p. 64-71.
- Liu, B.L., et al., *ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties*. Gene Ther, 2003. **10**(4): p. 292-303.



SCIENTIST PORTRAIT

“Hãy quay về khi tuổi đời còn trẻ, khi sức còn dồi dào và vai còn rộng”

Hoa Phan¹, Hương Hà²¹ Michigan State University² Stanford University

ABSTRACT

VJS just had the honor to interview Dr. Ly Le, a very young, successful, dedicated, and inspiring assistant professor in Bioinformatics from International University, Ho Chi Minh city, Vietnam. With a successful PhD training in chemistry from University of Utah (more than 5 publications), she could find postdoc and professor positions in the US but instead, she chose to come back to Vietnam. Starting her own lab right after graduate school in 2010, Dr. Ly Le and her team have published more than 20 research articles within 5 years about Drug Discovery using computational and experimental approaches in accredited international journals. And yet she is determined to go beyond just publications. Her dream is translating discovery in her lab into actual products that can efficiently treat cancer and other common diseases in Vietnam.

Vietnam Journal of Science vừa có vinh dự được trò chuyện cùng chị Lê Thị Lý - một trong những nữ Phó giáo sư (PGS) trẻ tuổi nhất Việt Nam. Dù tốt nghiệp tiến sĩ tại Mỹ và có rất nhiều cơ hội để ở lại công tác trong các Viện, Đại học lớn, nhưng PGS. TS. Lê Thị Lý vẫn quyết tâm về Việt Nam xây dựng chuyên ngành Sinh - Tin học tại trường Đại học Quốc Tế (ĐHQT), Tp. Hồ Chí Minh – nơi chị đang công tác hiện nay.

Trải qua giai đoạn gầy dựng đầy nhiệt huyết bắt đầu từ năm 2010, PGS. TS. Lê Thị Lý cùng cộng sự và các sinh viên đã xuất bản hơn 20 bài báo trên các tạp chí uy tín quốc tế về chủ đề Khám Phá và Sàng Lọc Dược Phẩm Mới. Chị chia sẻ: "Sau 5 năm nhìn lại, tôi cảm thấy mình cần làm những việc thiết thực hơn nữa. Tôi và nhóm nghiên cứu tại trường ĐHQT muốn cộng tác với nhiều nhà khoa học trong nước và quốc tế để tạo ra những sản phẩm cụ thể phục vụ cho người dân Việt Nam thay vì chỉ là những bài báo nghiên cứu."

Mời bạn đọc cùng theo dõi động lực và hành trình của nữ khoa học gia cần mẫn và nhiều đam mê này.



Ảnh 1: PGS. TS. Lê Thị Lý đến thăm và làm việc tại Viện Khoa Học Tiên Tiến Nhật Bản (JAIST)

Chào chị Lý, được biết chị đã hoàn tất một trong những chương trình đào tạo Tiến sĩ Hóa học tốt nhất nước Mỹ ở Đại học Utah, chị còn có trong tay rất nhiều công trình nghiên cứu khoa học xuất bản trên các tạp chí uy tín trong ngành như Tạp chí Hóa học Hữu cơ (Journal of Organic Chemistry) – Hệ số ảnh hưởng (Impact Factor) lên tới 4.72 nên cơ hội ở lại và làm việc chắc cũng rất nhiều. Vậy điều gì đã thôi thúc chị trở về Việt Nam?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Cảm ơn Vietnam Journal of Science đã mời tôi chia sẻ về câu chuyện của mình. Khi theo học ở Mỹ, tôi đã có cơ hội kết nối với khá nhiều giáo sư ở những đại học lớn thông qua những lần đi dự hội thảo hay hợp tác nghiên cứu, điển hình nhất là đại học Illinois tại thành phố Urbana Champaign. Tôi đã ngó lơ tìm hiểu và cũng có được những cơ hội làm nghiên cứu sau Tiến sĩ. Nhưng ngay thời điểm năm 2009, khi gần tốt nghiệp, tôi tham dự hội thảo thường niên của Quỹ Giáo Dục Việt Nam (VEF) và được nghe những chia sẻ về các hướng phát triển mới của Đại học Quốc Tế (ĐHQT) – Tp.Hồ Chí Minh từ chính thầy Hiệu trưởng - Giáo sư Hồ Thanh Phong. Thầy cũng thông báo trường đang tuyển giảng viên, nghiên cứu viên để thành lập các hướng nghiên cứu mới. Mặc dù chuyên ngành Tiến sĩ của tôi là Hóa học, hầu hết các đề tài nghiên cứu của tôi lại thiên về hướng Sinh - Tin học – là một trong những lĩnh vực mũi nhọn mà ĐHQT muốn đầu tư phát triển. Cảm thấy đây là một cơ hội rất tốt để đóng góp cho nền khoa học nước nhà, tôi quyết định về trường và tính tới nay thì tôi đã công tác ở ĐHQT được hơn 5 năm.

PV: Chị có thể chia sẻ về điều kiện công tác khi chị quyết định quay về Việt Nam?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Khi về Việt Nam không lâu là tôi...sinh bé đầu tiên (mỉm cười), nên công việc cũng có chút gián đoạn. May mắn là tôi chọn hướng nghiên cứu thiên về mô phỏng và tính toán nên có thể sớm quay lại công việc sau khi sinh bé. Cụ thể hơn, nhóm tôi theo đuổi lĩnh vực “ứng dụng Tin Sinh Học trong Phát Triển Dược phẩm mới”. Đây là một trong những hướng nghiên cứu có ý nghĩa rất lớn tại Việt Nam vì nước ta có nguồn dược liệu truyền thống khá phong phú mà lại chưa được nghiên cứu sâu bằng các kỹ thuật hiện đại và đưa vào ứng dụng. Bên cạnh đó, hướng đi này cũng không đòi hỏi quá nhiều trang thiết bị máy móc đắt tiền, lại còn phát huy được tư duy nghiên cứu và sự chủ động của các bạn sinh viên.

Điểm thuận lợi tiếp theo là sự hỗ trợ từ trường ĐHQT. Không chỉ thành lập quỹ nghiên cứu ban đầu và phòng ốc, trường còn tạo điều kiện tối đa giúp tôi tìm được các nguồn tài trợ từ Quỹ nghiên cứu Hải Quân Hoa Kỳ và nhất là quỹ NAFOSTED. Nhóm nghiên cứu được xây dựng ngay từ khi tôi chính thức giảng dạy tại trường. Môi trường làm việc ở đây rất năng động, cởi mở và mức

lương ổn định. Thêm nữa, nhà trường luôn chủ động kết nối các doanh nghiệp, quỹ đầu tư với giảng viên để thúc đẩy các nghiên cứu mang tính thực tiễn và thu hút thêm kinh phí cho khoa học.

Việc cộng tác với các tổ chức nghiên cứu khác trong nước cũng đóng vai trò quan trọng trong công việc của tôi. Tôi nhận được nhiều hỗ trợ của Sở Khoa học Công nghệ TP.HCM thông qua công tác nghiên cứu với phòng Khoa Học Sự Sống của Viện Khoa Học và Công Nghệ Tính Toán (ICST). Một yếu tố nữa không kém phần quan trọng khác là hiện nay ở Việt Nam đã bắt đầu có nhiều nhà nghiên cứu trẻ, năng động, nên cơ hội hợp tác để thực hiện những đề tài đa ngành cũng dần cao hơn.

PV: Những chia sẻ của chị thực sự tạo động lực để các khoa học gia trở về nước công tác vì môi trường nghiên cứu bây giờ đã có nhiều đổi mới. Thuận lợi là vậy, nhưng chắc chị cũng có gặp không ít khó khăn hay thử thách?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Trong khoảng thời gian đầu, tôi nộp hồ sơ xin kinh phí tại nhiều nơi khác nhau nhưng liên tục thất bại. Chỉ với 400 triệu ngân quỹ, tôi phải trang trải cho việc xây dựng nhóm nghiên cứu trong 3 năm, hỗ trợ sinh viên để các bạn có thể yên tâm làm nghiên cứu và gửi các bạn qua nước ngoài học tập để liên tục cập nhật những kỹ thuật mới. Ngoài chuyện kinh phí, việc công bố các nghiên cứu cũng là một thử thách lớn. Nếu ở Mỹ nộp bản thảo và xuất bản thuận lợi bao nhiêu thì ở Việt Nam khó bấy nhiêu. Thứ nhất là do sinh viên chưa có kỹ năng viết, nên tôi dành rất nhiều thời gian giúp các em sửa bản thảo, có lúc phải sửa hơn 10 lần mới nộp được. Sau này, khi nhóm dần ổn định rồi thì các bạn có kinh nghiệm nhiều hơn giúp tôi hướng dẫn cho những em sinh viên mới.

Thứ hai, tới khi hoàn thành bản thảo và gửi cho tạp chí rồi, do ngành của mình ở Việt Nam chưa có tên tuổi trên trường quốc tế nên các nhà biên tập rất khắt khe và liên tục trả về bài viết mà không gửi cho phản biện. Đôi khi phải bắt buộc nộp cho các tạp chí có chỉ số ảnh hưởng thấp hơn mà không còn cách khác.

Bên cạnh đó, quy mô của nhóm nghiên cứu còn nhỏ, tôi lại thích hỗ trợ sinh viên đi du học nên đôi khi có nhiều ý tưởng cho các dự án lớn mà rất khó thực hiện vì thiếu nhân lực. Tôi cũng chủ động hợp tác với Đại học Y Dược và viện Khoa học Công nghệ Tính toán, tuy vậy vẫn khó để triển khai các đề tài mang tầm cỡ quốc gia để có thể thực sự chế tạo ra được dược phẩm mới. Hi vọng hướng nghiên cứu này sẽ sớm nhận được sự hỗ trợ và đầu tư có hệ thống của nhà nước cũng như của các doanh nghiệp.

Một khó khăn khác là tôi cũng phải dành nhiều thời gian cho giảng dạy và các công tác quan trọng khác như tuyển sinh, tổ chức hội thảo... Khó thì khó vậy, nhưng tôi đam mê cả việc dạy và làm khoa học nên luôn cố gắng dành thời gian tối đa có thể cho những công việc này.



Ảnh 2: PGS. TS. Lê Thị Lý tư vấn sinh viên đọc bài báo và tìm thông tin nghề nghiệp.

PV: Chủ đề Tìm kiếm và Sàng lọc Dược phẩm mới thật sự rất thú vị! Chị có thể miêu tả cụ thể hơn cách thức nghiên cứu của chị không?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Nhóm của tôi kết hợp cả việc sàng lọc dược phẩm trên máy tính và thử nghiệm trực tiếp bằng các phương pháp thực nghiệm. Việc ứng dụng các công nghệ sinh tin học giúp cho nhóm tiết kiệm thời gian, giới hạn lại các đối tượng có được tính tốt cho loại bệnh mà nghiên cứu quan tâm. Sau khi có được các ứng cử viên tiềm năng rồi thì nhóm sẽ tìm hiểu các đặc tính hóa học và sinh học của các hợp chất này. Bước thứ hai này rất quan trọng và giúp tiến gần hơn tới việc phát hiện thuốc mới. Các cộng sự của nhóm tôi từ trường ĐH Y Dược sẽ giúp thử dược tính thực sự trên mô hình động vật. Trước đây tôi tập trung nghiên cứu để tìm được liệu mới cho bệnh cúm A trên gia cầm và người, và hiện nay thì hướng tới hai nhóm bệnh rất phổ biến ở Việt Nam đó là ung thư và tiểu đường.

PV: Trở thành Phó giáo sư và có những thành tựu trong nghiên cứu khoa học và đào tạo sinh viên khi tuổi đời còn rất trẻ. Theo chị, yếu tố nào đã giúp chị có được thành công như ngày hôm nay? Làm thế nào để chị cân bằng giữa gia đình và công việc?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Tôi không nghĩ mình thành công hay quá xuất sắc đâu (mỉm cười). Điều mấu chốt là tôi rất thích dạy học và cũng rất yêu công việc nghiên cứu, nên khi làm những công việc này thì cảm thấy không quá nặng nhọc mà ngược lại rất hào hứng. Mỗi sáng thức dậy, ngay khi ra khỏi nhà trên đường đi đến trường là tôi lại

nghĩ đến công việc, nảy ra các ý tưởng mới cho các đề tài của nhóm. Tôi cũng không dám tự nhận mình là người hoàn hảo, giỏi giang cả ngoài xã hội và trong gia đình. Song tôi luôn tâm niệm rằng phải đảm bảo những thứ cần thiết nhất cho con. Tôi cố gắng chăm sóc con khoa học và sắp xếp việc nhà hợp lý, tập cho các bé có tính tự lập, nấu những món ăn bổ dưỡng cho con nhưng không quá cầu kỳ và mất nhiều thời gian. May mắn hơn nữa là tôi luôn được gia đình nội ngoại hỗ trợ chăm sóc các bé khi đi công tác xa hay khi công việc quá căng thẳng.

PV: Sau chặng đường 5 năm nhìn lại, chị có suy nghĩ và dự định như thế nào về tương lai?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Sau 5 năm nhìn lại, tôi cảm thấy mình cần làm những việc thiết thực hơn nữa. Tôi và nhóm nghiên cứu tại trường ĐHQT muốn cộng tác với nhiều nhà khoa học trong nước và quốc tế để tạo ra những sản phẩm cụ thể phục vụ cho người dân Việt Nam thay vì chỉ là những bài báo nghiên cứu.

PV: Chị có nhắn nhủ nào cho các nghiên cứu trẻ nếu như họ quyết định trở về Việt Nam?

PGS. TS. Lê Thị Lý: Mỗi người đều có một hướng đi, một lựa chọn riêng. Từ câu chuyện của mình, tôi nghĩ nếu các bạn quyết định quay về thì có lẽ nên về khi tuổi đời còn trẻ, khi sức còn dồi dào và vai còn rộng, các bạn sẽ có những trải nghiệm rất thú vị. Bạn sẽ là chủ của chính mình, sẽ có đất rộng cho sự sáng tạo và khám phá. Sẽ có lúc thử nghiệm của bạn không thành công, nhưng không nên nản chí. Diện mạo khoa học Việt Nam đang thay đổi từng ngày, các bạn đừng ngại không gặp được những người giỏi và năng động như mình. Nếu có điều kiện thì các bạn nên đi làm nghiên cứu sau tiến sĩ chừng 2 năm để tích lũy thêm kinh nghiệm, rèn luyện các kỹ năng và tạo nên một mạng lưới các cộng sự thật vững chắc. Giữ những mối liên hệ này để bạn vẫn có bài báo xuất bản trong 1-2 năm đầu mới về nước, khi phòng thí nghiệm còn xây dựng dở dang. Chắc chắn bạn sẽ gặp phải nhiều khó khăn, đặc biệt là điều kiện cơ sở vật chất, vậy nên hãy chọn cho mình một hướng nghiên cứu có ý nghĩa nhưng không quá phức tạp để thực hiện, phải đơn giản hóa phần nào các thí nghiệm của mình. Quan trọng hơn hết là tìm cách giữ được lửa đam mê, và tìm kiếm sinh viên kế thừa. Các sinh viên Việt Nam bây giờ rất giỏi, trong nhóm của tôi có những bạn xuất bản được tới 3 - 4 bài báo trên tạp chí uy tín. Tôi tin rằng với khả năng, niềm đam mê và quyết tâm của các bạn, nền khoa học Việt Nam sẽ sớm có những bước tiến dài.

Tạp chí khoa học Việt Nam rất cảm ơn những chia sẻ chân tình và hữu ích của PGS. TS. Lê Thị Lý. Chúc chị luôn thành công với những dự định của mình.



SCIENTIST PORTRAIT

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: “Cần một sự thay đổi mạnh mẽ trong tư duy quản lý Khoa học và Công Nghệ Việt Nam”Lăng Du¹, Hương Hà²¹ Virginia Tech² Stanford University

ABSTRACT

GS. TS Trương Nguyễn Thành, khoa Hóa học, đại học Utah Mỹ là một chuyên gia hàng đầu thế giới trong lĩnh vực hóa tính toán và phát triển hạ tầng cơ sở tính toán. Giáo sư cũng đang đảm nhiệm vị trí Viện Trưởng Khoa Học, Viện khoa học và công nghệ tính toán, TP.HCM. Ngoài ra, thầy cũng là người sáng lập trang ivanet.org, trang mạng xã hội tập hợp những khoa học gia gốc Việt trên toàn thế giới. Học trò của thầy có rất nhiều người thành danh trong khoa học và hiện đang công tác ở Việt Nam như PGS. TS. Lê Thị Lý, TS. Huỳnh Kim Lâm. Thầy Thành đã có những trao đổi hết sức cởi mở và thẳng thắn về tình hình khoa học trong nước cùng với những chính sách cần để phát triển Khoa Học và Công Nghệ (KH-CN) Việt Nam.



Ảnh: GS. TS Trương Nguyễn Thành, khoa Hóa học, đại học Utah, Hoa Kỳ

VJS: Chào thầy Thành. Trước tiên chúng em xin cảm ơn thầy đã nhận lời trao đổi cùng chuyên mục Chân Dung nhà Khoa học của VJS. Chúng em được biết thầy là thành viên sáng lập trang mạng ivanet.org, nơi tập hợp những người Việt làm khoa học trên toàn thế giới. Xin mời thầy giới thiệu cho độc giả VJS biết rõ hơn về tổ chức ivanet, phương thức hoạt động và mục tiêu hướng đến.

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Hồi trước tôi đảm nhiệm chức vụ Thư ký Hiệp hội Giáo sư gốc Việt ở Mỹ. Hội này hình thành từ những năm 90 thế kỷ trước, có khoảng chừng 40 thành viên là giáo sư gốc Việt đang làm việc ở Mỹ. Tuy nhiên do có nhiều khác biệt về cách nhận định các vấn đề ở Việt Nam nên cuối cùng hội cũng tan rã. Đó thật sự là một điều rất đáng tiếc vì nếu tập hợp lại chúng ta có thể cùng giúp đỡ nhau đạt được những vị trí cao hơn trong xã hội. Do đó, tôi đã lập trang ivanet.org với mục tiêu là tập hợp những người làm khoa học gốc Việt để các thế hệ đi trước có cơ hội giúp đỡ các thế hệ đi sau cùng phát triển. Hệ thống giáo dục ở nước ngoài thật sự rất là khó và có nhiều thử thách kể cả cho người bản xứ. Xin làm nghiên cứu sinh đã không dễ, sau khi có tiến sĩ xin vị trí postdoc thì khó hơn, rồi tìm được vị trí phó giáo sư (assistant professor) thì càng khó gấp bội, và để được làm giáo sư (tenure professor) ‘thực thụ’ thì trăm bề khó hơn nữa. Do đó việc thành lập hội này, để giúp đỡ người Việt Nam thành công hơn trong hệ thống giáo dục nước ngoài là rất cần thiết.

Ivanet hiện bao gồm các giáo sư, nghiên cứu sinh, người làm khoa học không chỉ ở nước ngoài mà còn có nhiều thành viên ở trong nước. Hiện giờ hội đã có hơn 2000 thành viên, đến từ những lĩnh vực khác nhau và thường xuyên bàn luận rất sôi nổi về nhiều vấn đề như môi trường làm việc, phương pháp nghiên cứu, tình hình khoa học trong nước. Năm sau, chúng tôi dự định sẽ tổ chức một hội nghị ở Việt Nam để các thành viên trong nhóm có điều kiện gặp mặt, trao đổi kinh nghiệm và tìm kiếm cơ hội hợp tác. Đó cũng là cơ hội để các nhà khoa học trong nước kết nối với các khoa học gia ở nước ngoài.

VJS: Ngoài ivanet, thầy có đang tham gia hoạt động nào khác để thúc đẩy sự phát triển của Khoa học Việt Nam không thưa thầy?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Từ khoảng 8 - 9 năm nay, tôi về Việt Nam thường xuyên, mỗi năm khoảng 2-3 tháng để giúp TP.HCM phát triển Viện Khoa học và Công nghệ (KHCN) Tính toán. Viện được thành lập nhằm thúc đẩy phát triển KHCN Tính toán, một lĩnh vực khoa học tương đối mới ở Việt Nam dựa trên lợi thế về chi phí đầu tư cho khoa học tính toán tương đối thấp hơn nhiều so với thực nghiệm, trong khi kết quả nghiên cứu có thể cạnh tranh được với các nước phát triển trên

thế giới. Nghiên cứu KHCN Tính toán phần lớn là mô phỏng và mô hình hóa các hệ thống phức tạp từ cơ chế phản ứng hóa học, tương tác phân tử thuốc với đối tượng bệnh (disease target), những vấn đề liên quan đến môi trường như chất lượng nước sông, cho đến thiết kế kỹ thuật, đồng thời phát triển phần mềm cho giáo dục và nghiên cứu. Viện trưởng Điều hành của Viện hiện giờ là PGS.TS Nguyễn Kỳ Phùng, PGĐ sở KHCN TPHCM. Tôi chỉ phụ trách phần chiến lược phát triển KHCN của Viện.

VJS: Cũng đã gắn bó với khoa học Việt Nam một thời gian khá lâu, thầy có đánh giá thế nào về tình hình KH&CN ở Việt Nam hiện nay? Theo thầy liệu có sự thay đổi đột phá cho Việt Nam về KH&CN trong thời gian tới?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành:

OECD (Organization for Economic Cooperation and Development - Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế) hợp tác với Ngân hàng Thế giới thực hiện một đánh giá về tình hình phát triển KHCN của Việt Nam và đã hoàn tất vào cuối năm 2014. Theo đó, Việt Nam đang đứng trước thử thách rất lớn, đó là có thể bị khóa vào một nền kinh tế công nghệ thấp với những giá trị gia tăng thấp và phát triển chủ yếu dựa trên tài nguyên. Nếu chậm thay đổi thì nguy cơ rất cao là Việt Nam sẽ rơi vào bẫy thu nhập trung bình. Với tình hình hiện nay, để có khả năng vượt qua thử thách này, khoa học và công nghệ có thể là chìa khóa tạo động lực phát triển kinh tế và xã hội.

Gần đây, chính sách về KH&CN ở Việt Nam đã có nhiều biến động tích cực. Tiêu biểu như dự án FIRST của World Bank, tài trợ gần 100 triệu đô la Mỹ để Việt Nam phát triển KH&CN. Quỹ Innova Fund với kinh phí hơn 1000 tỷ đồng Việt Nam cũng mới ra đời để thúc đẩy khởi nghiệp từ những sáng tạo trong khoa học. Rồi đầu tháng 9 này cũng vừa có buổi gặp mặt giữa thủ tướng với các nhà khoa học trẻ. Cùng với quỹ NAFOSTED hoạt động rất tích cực và cũng đã đem lại những thành công đáng kể trong mấy năm trở lại đây. Đó là những điểm sáng trong bức tranh KH&CN Việt Nam thời điểm hiện tại.

Tuy nhiên, liệu có sự thay đổi đột phá gì cho KH&CN của Việt Nam trong tương lai không? Câu trả lời của tôi là KHÔNG! Tại sao tôi lại nói như vậy?

Về mặt khoa học, nếu làm thí nghiệm theo quy trình cũ thì kết quả cũng sẽ không có gì khác hơn những gì đã nhận được. Bởi vậy, chỉ trừ khi chính phủ đưa ra những giải pháp mới, mạnh mẽ và quyết đoán thì tình hình KH&CN mới có thể đột phá được.

Bản chiến lược phát triển khoa học từ năm 2000 đến 2010, rồi từ 2011 đến năm 2020 đưa ra những hướng phát triển trọng điểm như ngành công nghệ thông tin-truyền

thông, công nghệ vật liệu tiên tiến, công nghệ sinh học, công nghệ tự động hóa và cơ điện tử, năng lượng nguyên tử và các dạng năng lượng mới, công nghệ vũ trụ. Chiến lược phát triển quả chung chung, không nói lên được những mục tiêu rõ ràng để cộng đồng khoa học có thể xây dựng lộ trình phát triển để đạt đến. Chính phủ Mỹ thì ngược lại, luôn đưa ra những bài toán hết sức cụ thể, như bài toán về giải mã bộ gen người mười mấy năm trước và gần đây tổng thống Obama đưa ra chiến lược phát triển siêu máy tính với mục tiêu tốc độ rõ ràng.

Việt Nam cần đề xuất những bài toán/vấn đề thực tế xuất phát từ việc phân tích nhu cầu phát triển kinh tế xã hội, khả năng cạnh tranh với thị trường trong nước và quốc tế cũng như tính khả thi. Qua những bài toán thực tế này, nhà lãnh đạo có thể đánh giá được tầm quan trọng của những hướng phát triển khác nhau, hiểu rõ rằng nhu cầu đầu tư cho mục tiêu dài hạn có thể có nhiều thách thức so với những đề xuất có lợi ích ngắn hạn tính khả thi cao nhưng không đáp ứng được nhu cầu phát triển cần thiết. Những bài toán thực tế này còn giúp đưa ra lộ trình phát triển rõ ràng, những tiêu chuẩn để đánh giá hiệu quả định kỳ; qua đó có thể để điều chỉnh kế hoạch phát triển kịp thời. Thêm vào đó, những bài toán thực tế thường đòi hỏi sự phối hợp đa ngành để cùng phát triển cũng như nâng cao hiệu quả đầu tư, tăng khả năng giải quyết những bài toán phức tạp. Ví dụ để phát triển thành công mẫu xe hơi điện Angkor EV của Campuchia đòi hỏi sự phối hợp liên ngành giữa công nghệ thông tin truyền thông, công nghệ vật liệu tiên tiến, công nghệ tự động hóa và cơ điện tử, các dạng năng lượng mới (chiếm 4 trong 6 ngành công nghệ trọng điểm trong chiến lược phát triển KHCN của Việt nam nói trên). Dựa trên tình hình hiện nay, tôi nghĩ có thể đặt ra những bài toán thực tế dựa trên cơ sở hạ tầng cũng như nhân lực ngành công nghệ thông tin mà từ mười mấy năm nay chúng ta đã tập trung phát triển.

Ngoài ra hạ tầng cơ sở cho nghiên cứu, khoa học Việt Nam cần phải được tái cơ cấu. Xưa nay chúng ta theo mô hình của Liên Xô, đó là các trường đại học chỉ đảm nhiệm việc dạy học, còn việc nghiên cứu thì để cho các viện hàn lâm khoa học. Chỉ có thời gian gần đây, chúng ta mới cho phép các viện hàn lâm mở các chương trình đào tạo sau đại học, rồi khuyến khích các đại học tham gia nghiên cứu khoa học. Nhưng hạ tầng cơ sở hiện giờ của các trường đại học chưa cho phép điều đó. Ở các trường đại học nổi tiếng trên thế giới, 90% cơ sở vật chất là dành cho nghiên cứu. Với hạ tầng cơ sở như bây giờ, cũng không ngạc nhiên khi người ta nói các trường đại học ở Việt Nam quá nặng về lý thuyết.

VJS: Có một vấn đề đối với Việt Nam đó là hiện chúng ta vẫn còn là một nước đang phát triển, nền kinh tế còn nhiều hạn chế. Nếu tập trung đầu tư vào hạ tầng cơ sở nghiên cứu thì liệu có quá sức với Việt Nam?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Thật ra mà nói thì chúng ta không cần dành quá nhiều tiền để đầu tư đâu. Tuy nhiên vấn đề là chúng ta phải biết đầu tư tập trung vào những mục tiêu rõ ràng, tránh dàn trải. Theo thống kê của Bộ KH&CN năm 2011, hiện nay cả nước có khoảng gần 700 đơn vị nghiên cứu khoa học (cấp trung ương và cấp bộ) và gần 1.000 đơn vị cấp địa phương. Với số lượng nhiều như thế thì chúng ta lấy đâu ra tiền để đầu tư đúng mức cho những hoạt động nghiên cứu thường xuyên có chất lượng. Trong khi đó cả nước Mỹ chỉ có 17 Phòng thí nghiệm quốc gia (National lab). Ngay cả ở Hàn Quốc, chỉ có 12 viện nghiên cứu cấp Bộ. Do đó, bài toán ở đây là liệu chính phủ có dám mạnh tay gộp 700 viện này thành 70 viện, rồi từ 70 thành 7 không? Theo tôi việc chúng ta xây dựng thêm một loạt các viện nghiên cứu mới cũng là tín hiệu tốt nhưng xét với tình hình kinh tế hiện nay đầu tư cho hoạt động nghiên cứu cho 700 viện so với 705 hay 710 viện thì việc này có nhiều khả năng đem lại hiệu quả không như mong đợi. Vấn đề là cần những giải pháp mạnh mẽ, đồng loạt, đôi khi là hơi độc đoán thì mới mong tình hình khác đi được.

Tôi xuất phát là một nông dân. Khi mà tôi trồng cải củ, ban đầu gieo hạt để cho tất cả các hạt có cơ hội phát triển. Sau một thời gian, tôi tỉa bỏ những cây yếu để rộng chỗ cho cây khỏe phát triển. Nếu tôi để tất cả các cây phát triển cùng nhau thì làm sao có được những củ cải to khỏe có khả năng cạnh tranh bán ngoài chợ được.

VJS: Theo thầy thì chính phủ cần có những bài toán cụ thể mới có thể thu hút được các nhà khoa học ở khắp nơi tham gia. Mặc dù vậy thầy cũng biết là trong cộng đồng người Việt ở nước ngoài tồn tại nhiều ý kiến bất đồng, trái chiều về tình hình chính trị trong nước. Vậy thì nếu chính phủ giao cho họ các nhiệm vụ cụ thể, có khi nào vì những khác biệt đó, các nhà khoa học Việt Nam ở nước ngoài sẽ từ chối tham gia?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Khác biệt chính trị ở đâu cũng có. Ngay cả ở Mỹ cũng thế thôi, người ủng hộ Đảng Dân Chủ và Đảng Cộng Hòa cũng khó thống nhất ý kiến về mặt chính trị. Nhưng những khác biệt đó không quá lớn và có thể sẵn sàng gạt bỏ sang một bên cho những mục đích cao hơn. Tôi đã tiếp xúc với nhiều nhà khoa học Việt Nam ở nước ngoài. Đa số họ đều yêu nước, rất mong muốn cống hiến cho quê hương. Nhưng vấn đề là chưa có môi trường với những cơ chế phù hợp và những bài toán cụ thể nên nhiều người vẫn loay hoay không biết giúp đỡ đất nước thế nào. Tôi tin là nếu Chính phủ tin tưởng tạo điều kiện cho các nhà khoa học cống hiến, chắc chắn số lượng người tham gia vào các dự án đó sẽ không phải là ít. Quan trọng nhất là chúng ta phải thay đổi tư duy.

VJS: Lại nói về đổi mới tư duy, thầy nghĩ sao về việc ĐH. Tôn Đức Thắng tự phong giáo sư thời gian

gần đây. Việc này giống cách làm của các ĐH nổi tiếng trên thế giới nhưng liệu có nên áp dụng ở Việt Nam thời điểm hiện nay?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Cũng đã có nhiều ý kiến trái chiều nhau về việc này. Số người ủng hộ cũng nhiều mà số người phản đối cũng không phải là ít. Cá nhân tôi nghĩ, Việt Nam cần có cái cách mạnh mẽ trong giáo dục. Trường đại học nên có được nhiều quyền tự chủ hơn, bao gồm cả việc bổ nhiệm và trả lương giáo sư. Chúng ta cần phải tạo ra được sự cạnh tranh giữa các trường đại học, không có cạnh tranh thì không thể phát triển được. Nếu trường ĐH Tôn Đức Thắng có đủ cơ sở vật chất để nghiên cứu, đủ tiền để trả cho những nhà khoa học tài ba thì tại sao lại không cho phép để họ quyền phong giáo sư, từ đó tạo nên một phong trào đổi mới trong giáo dục. Sự thay đổi này có mang lại kết quả gì không thì chưa biết, nhưng ít nhất nó tạo cơ hội cho các trường đại học cạnh tranh với nhau.

VJS: Một số ý kiến phản biện lại cho rằng, trường ĐH Tôn Đức Thắng làm như vậy là đánh tráo khái niệm, vì ở Việt Nam, chức danh giáo sư là một chức danh cao quý, phải qua quy trình sàng lọc nghiêm ngặt của hội đồng chức danh nhà nước. Thầy có cho rằng từ việc làm của trường ĐH Tôn Đức Thắng có thể dẫn đến các nơi khác, đâu đâu cũng tự phong giáo sư cho riêng mình, dẫn đến loạn giáo sư, không biết đâu là thật, đâu là giả?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Bao giờ cũng vậy thôi, khi đã chấp nhận thay đổi thì ban đầu sẽ luôn luôn có nhiều xáo trộn. Bạn có thể hiểu được những xáo trộn trong xã hội cũng như giáo dục khi Việt Nam đổi từ chữ Nôm qua chữ Quốc ngữ! Quyền tự chủ cho ĐH chỉ là một thay đổi nhỏ. Tôi đồng ý là bây giờ nếu cho các trường quyền phong giáo sư thì sẽ dẫn đến nhiều thay đổi và việc loạn giáo sư có thể xảy ra. Nhưng chúng ta cần xác định lại: Vị trí Giáo sư là để làm gì? Vai trò của giáo sư là để giảng dạy và nghiên cứu. Điều đó có nghĩa là giáo sư cần phải gắn liền với trường đại học hoặc viện nghiên cứu. Nếu giáo sư không đi dạy, hoặc không làm nghiên cứu thì không có lý do gì lại tiếp tục mang chức danh giáo sư cả. Và ngoài ra, chức danh giáo sư gắn liền với trường ĐH mà họ được cấp. Ở Mỹ, giáo sư ở trường đại học cao đẳng cộng đồng hoàn toàn khác với giáo sư ở trường Harvard. Điều đó sẽ hiện rõ trên bản lý lịch của mỗi giáo sư. Tôi từng hợp tác nghiên cứu với một số nhóm ở Thái Lan từ 1995. Hệ thống giáo dục của Thái Lan lúc ấy rất giống Việt Nam bây giờ. Vào những năm cuối của 1990's Thái Lan bắt đầu có những thay đổi hệ thống giáo dục của họ từ việc cho thêm quyền tự chủ cho ĐH. Giờ đây họ có 7 trường ĐH trong danh sách QS World University Top-200. Tại sao chúng ta không học những gì Thái Lan đã làm.

Do đó quay lại vấn đề chính, chúng ta nên để các trường đại học, cộng đồng khoa học gia chuyên môn, và kể cả các sinh viên đánh giá giáo sư. Chúng ta nên có can đảm để có những đột phá. Mặc dù việc phong giáo sư sẽ dẫn đến hỗn loạn ban đầu nhưng rồi cũng sẽ ổn định. Không thể để sợ hãi mà không dám làm việc cần phải làm để dẫn đến thay đổi nhận thức và mang lại một sự cạnh tranh bình đẳng trong môi trường học thuật. Không chỉ thế, làm như vậy cũng sẽ tạo động lực cho những người có học hàm giáo sư lúc nào cũng phấn đấu và tích cực trong nghiên cứu và giảng dạy.

VJS: Tuy nhiên thưa thầy, cũng có ý kiến cho rằng đúng là việc tự phong giáo sư ở các trường đại học là giống với quy trình ở các nước tiên tiến như Mỹ hay Canada. Mặc dù vậy, đó đều là các trường rất nổi tiếng với truyền thống lâu đời. Do đó việc phong giáo sư ở Việt Nam, nếu có, nên bắt đầu với những trường đại học lớn như ĐH Quốc Gia, ĐH Bách Khoa, ĐH Sư phạm ... chứ không nên là 1 trường nhỏ như trường ĐH Tôn Đức Thắng?

GS. TS. Trương Nguyễn Thành: Nhận định đó là hoàn toàn sai lầm. Hầu như tất cả các ý tưởng đột phá trên thế giới đều đến từ các doanh nghiệp khởi nghiệp (start-up) hoặc từ một vài cá nhân. Ở những tập đoàn lớn như Microsoft hay Google, họ thường đi mua những công ty start-ups có ý tưởng mới và đột phá. Khi họ khởi nghiệp thì họ có rất nhiều động lực để đột phá vì nếu không thì doanh nghiệp của họ tự khắc chết yểu. Nhưng khi đã trưởng thành, lớn mạnh rồi thì các thể chế đó thường mất đi động lực đột phá ban đầu.

Trường ĐH Quốc Gia, ĐH Bách Khoa không có động lực cạnh tranh vì tự bản thân họ đã là những trường đại học lớn và có danh tiếng rồi. Những trường ĐH nhỏ và mới như ĐH Tôn Đức Thắng hay ĐH Duy Tân cần những ý tưởng đột phá để có thể cạnh tranh và tồn tại. Mặc dù có thể những ý tưởng đó không giống với cách suy nghĩ bình thường ở Việt Nam, nhưng đó mới là nơi có động lực để tạo nên những đột phá.

Tạp chí Vietnam Journal of Science xin trân trọng cảm ơn thầy vì những chia sẻ thẳng thắn và chân thành về tình hình khoa học, công nghệ và giáo dục ở Việt Nam. VJS xin chúc thầy nhiều sức khỏe và mọi điều thuận lợi trên con đường nghiên cứu khoa học của thầy.



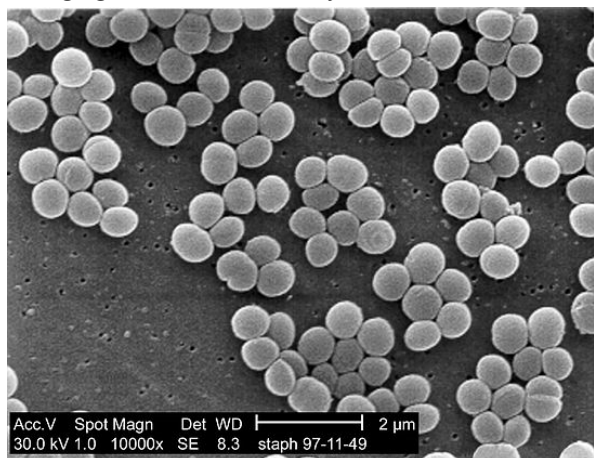
NEWS

Phát hiện nhóm hoạt chất có tính kháng vi khuẩn tụ cầu vàng

Hoa Phan

Nghiên cứu sinh Đại học Michigan, Bang Michigan, Hoa Kỳ

Staphylococcus aureus (*S. aureus* – vi khuẩn tụ cầu vàng/ tụ cầu khuẩn) là một chủng vi khuẩn thường gặp trên da hoặc niêm mạc mũi của 30% những người khỏe mạnh. Trong trường hợp này, vi khuẩn thường không gây hại và biểu hiện triệu chứng. Tuy nhiên, khi da bị tổn thương, trầy xước, tụ cầu khuẩn xâm nhập cơ thể và có thể gây ra một loạt các vấn đề từ nổi mụn nhẹ đến nhiễm khuẩn nặng, đặc biệt là ở trẻ em, người già, và những người có hệ miễn dịch yếu.



Hình 1: Vi khuẩn tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus* (chụp bằng kính hiển vi điện tử). Nguồn: Wikipedia

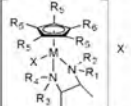
Hầu hết các chủng tụ cầu ban đầu nhạy cảm với kháng sinh nhóm beta-lactam như penicillin, methicillin. Tuy nhiên, song hành cùng với việc sử dụng kháng sinh là sự phát triển các chủng vi khuẩn đề kháng kháng sinh dưới áp lực chọn lọc tự nhiên. Việc sử dụng tràn lan và lạm dụng các loại thuốc kháng sinh, nhất là ở các nước đang phát triển như Việt Nam càng đẩy nhanh tốc độ chọn lọc và xuất hiện của các chủng kháng thuốc. Tình trạng kiểm soát nhiễm trùng chưa đạt tiêu chuẩn, điều kiện vệ sinh và các phương pháp xử lý thực phẩm không phù hợp càng tạo điều kiện phát tán các chủng vi khuẩn đề kháng này. Hiện nay, các chủng đề kháng methicillin

(gọi tắt là MRSA), một kháng sinh được coi là mạnh nhất trong nhóm beta-lactam đã phát triển một cách đáng lo ngại, nhất là trong các trường hợp nhiễm trùng tại bệnh viện.



Hình 2: Biểu hiện viêm da do nhiễm trùng MRSA: một vùng sưng đỏ nhỏ, thường có mủ. Vùng này có biểu hiện đỏ, đau, sưng và ấm nóng khi sờ vào, có thể chảy dịch. Nguồn: www.webmd.com.

Bệnh nhân trong phần lớn các trường hợp nhiễm trùng MRSA nghiêm trọng được điều trị với phác đồ kết hợp hai hoặc nhiều loại kháng sinh vẫn có hiệu quả chống MRSA như vancomycin, linezolid, rifampin, sulfamethoxazole – trimethoprim. Tuy nhiên, phác đồ điều trị thường kéo dài từ 7-10 ngày tại nhà hoặc nhập viện. Trong trường hợp nặng, kháng sinh sẽ được tiêm trực tiếp vào tĩnh mạch. Với phác đồ dài như vậy, người bệnh hoặc thân nhân có thể quên mất liều thuốc, tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển tính đề kháng mới. Vì vậy, việc nghiên cứu và phát triển các kháng sinh mới là rất cần thiết.



Cpd	R ₁ , R ₂ , R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	X	Ligand
1-Ir	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
2-Ir	H	H	CH ₃	C ₈ H ₁₇	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
3-Ir	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	cis-Cyclohexane
4-Ir	H	H	CH ₃	C ₈ H ₁₇	Cl	cis-Cyclohexane
5-Ir	H	H	CH ₃	C ₆ H ₁₃	Cl	cis-Cyclohexane
6-Ir	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	trans-Cyclohexane
7-Ir	H	H	CH ₃	C ₈ H ₁₇	Cl	trans-Cyclohexane
8-Ir	H	H	CH ₃	C ₁₂ H ₂₅	Cl	cis-Cyclohexane
9-Ir	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
10-Ir	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
11-Ir	H	C ₇ H ₇	CH ₃	CH ₃	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
12-Ir	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	C ₈ H ₁₇	Cl	-CH ₂ -CH ₂ -
13-Ir	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1,2-Bis(4-fluorophenyl)
14-Ir	H	H	CH ₃	CH ₃	Cl	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-1,2-Bis(4-methoxyphenyl)
15-Co	H	H	H	H	I	cis-Cyclohexane
16-Co	H	H	H	H	I	trans-Cyclohexane

Hình 3: Cấu trúc nhóm hoạt chất (M: kim loại, R: các nhóm thế).
 Nguồn: Karpin et al., 2015 (Med. Chem. Comm.)

Vừa qua, các nhà nghiên cứu hoá dược tại Đại học Kỹ thuật Virginia đã khám phá ra một nhóm hoạt chất mới có khả năng tiêu diệt MRSA. Nghiên cứu này vừa được công bố trên tạp chí Hoá dược học (Medicinal Chemistry Communications). Cấu trúc nhóm hoạt chất này bao hàm một phần là các kim loại như **iridium** hoặc **cobalt** có hoạt tính kháng *S. aureus* và MRSA rất mạnh: MIC = 4 µg/mL, MBC = 8 µg/mL và tiêu diệt 99 % vi khuẩn *S. aureus* trong vòng 6 giờ. (MIC: Minimum inhibition concentration – nồng độ ức chế tối thiểu, MBC: Minimum bactericidal concentration – nồng độ tiêu diệt tối thiểu). Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cho thấy các hoạt chất này không gây độc cho tế bào, không gây tán huyết mà thể hiện tính chọn lọc đối với vi khuẩn. Hiện tại, nhóm nghiên cứu đang tìm hiểu thêm cơ chế hoạt động của nhóm hoạt chất này và tiến hành thử nghiệm trên chuột cũng như trên tế bào người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Karpin J. W., Morris D. M. et al. 2015. Transition metal diamine complexes with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), Med. Chem. Comm. 6, 1471-1478.
2. http://www.emedicinehealth.com/mrsa_infection/article_em.htm
3. <http://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/ss/slideshow-closer-look-at-mrsa>

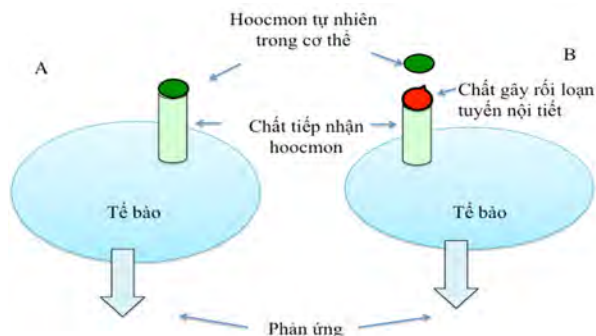
NEWS

Các hợp chất gây rối loạn tuyến nội tiết trong môi trường**Kỳ 1: Nguồn gốc và những ảnh hưởng của các chất gây rối loạn tuyến nội tiết đến môi trường và con người**

Hào Võ

Nghiên cứu sinh Đại học Arizona, Hoa Kỳ

Trong hai thập kỷ trở lại đây, sự hiện diện của các hợp chất gây rối loạn tuyến nội tiết, gọi tắt là EDCs (endocrine disrupting chemicals) trong môi trường đe dọa hệ sinh thái và sức khỏe con người. Hợp chất EDCs có thể gây ức chế (hoặc gây kích thích giả) đến tuyến nội tiết, gây mất cân bằng hoạt động của các loại hooc-môn (hormone), từ đó gây ra các phản ứng tiêu cực đến hoạt động bình thường trong cơ thể. EDCs có thể tích tụ trong cơ thể thông qua chuỗi thức ăn hoặc phơi nhiễm trực tiếp ví dụ như uống nước có dư lượng EDCs.



Hình 1: Cơ chế gây rối loạn tuyến nội tiết của các hợp chất EDCs trong cơ thể người và động vật. A: Hoocmon tự nhiên phản ứng với chất tiếp nhận hoocmon trong tế bào; B: EDCs gây kích thích giả lên tế bào do có cấu trúc tương đồng với hoocmon trong cơ thể^[1]

Đối với động vật, EDCs góp phần làm giảm khả năng sinh sản và sức đề kháng ở hải cẩu dọc bờ biển Baltic (Baltic) [2], có thể gây rối loạn giới tính ở các động vật xương sống như chim, bò sát, cá, và các loài lưỡng cư với nồng độ rất thấp từ khoảng từ pg/L* đến ng/L* [3].

Ở nam giới, EDCs là một trong những nguyên nhân làm giảm lượng tinh trùng, dị tật ẩn tinh hoàn, phát triển của các khối u ung thư tinh hoàn và ung thư tuyến tiền liệt [4]. Đối với nữ, EDCs được xem là nguy cơ tiềm ẩn làm phát triển các khối u ung thư vú, ung thư niêm mạc tử cung, và dị tật ở thai nhi [5].

Các hợp chất EDCs được thải ra môi trường từ nước thải sinh hoạt, nước thải công nghiệp và nước thải y tế ở hai dạng khác nhau: các hợp chất nội tiết tự nhiên được bài tiết từ cơ thể người, động vật, và từ hệ thực vật; các hợp chất tổng hợp là sản phẩm phụ phát sinh từ các quá trình sản xuất nhựa, dược phẩm, mỹ phẩm, thuốc bảo vệ thực vật, các sản phẩm tẩy rửa, hoá chất [7].



Hình 2: Ảnh hưởng các chất gây rối loạn tuyến nội tiết lên giới tính cá. A: Cá đực; B: Cá đực mang nhiều tính trạng của cá cái do bị nhiễm EDCs; C: Cá cái. (Ảnh: Adam Schwindt)

Dư lượng EDCs được tìm thấy trong các mẫu nước thải sau hệ thống xử lý nước thải (XLNT) truyền thống

[8], mẫu bùn thải, và mẫu đất nông nghiệp ở các trang trại, nơi mà chất thải của động vật, bùn thải được sử dụng làm phân bón hữu cơ [9]. Điều này cho thấy, XLNT bằng công nghệ truyền thống bao gồm ba bước cơ bản: cơ học, sinh học và khử trùng chưa mang lại hiệu quả loại bỏ EDCs.

Tại Việt Nam, việc đầu tư xây dựng hệ thống XLNT sinh hoạt, công nghiệp và y tế còn khá hạn chế và chủ yếu sử dụng công nghệ truyền thống nên hiệu suất xử lý EDCs rất thấp [10]. Điều này dẫn đến dư lượng EDCs khá cao trong một số mẫu nước thải, nước sông và mẫu trầm tích tại khu vực hạ lưu sông Sài Gòn và Đồng Nai [11]. Quá trình phân tích các hợp chất EDCs cần nhiều thời gian cũng như thiết bị hiện đại, phức tạp và chi phí cao. Vì vậy việc nghiên cứu phát hiện và xử lý các hợp chất này ở Việt Nam đang đối mặt với nhiều khó khăn và thách thức. Mời bạn đón xem kỳ II trong số tiếp theo của Vietnam Journal of Science với chủ đề: Tổng hợp một số phương pháp xử lý các hợp chất gây rối loạn tuyến nội tiết có trong nước thải, bùn thải đang phổ biến ở các quốc gia phát triển.

Chú thích: *pg/L: picogram/Liter; $1 \text{ pg/L} = 10^{-3} \text{ ng/L} = 10^{-9} \text{ mg/L}$

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Matisova E, Hrouzkov S (2012) Endocrine disrupting pesticides. Pesticides - Advances in Chemical and Botanical Pesticides.
2. Sørmo E et al. (2005) Thyroid Hormone Status In Gray Seal (*Halichoerus Grypus*) Pups From The Baltic Sea And The Atlantic Ocean In Relation To Organochlorine Pollutants. Environmental Toxicology and Chemistry Environ Toxicol Chem 24:3.
3. Brian J et al. (2005) Accurate Prediction of the Response of Freshwater Fish to a Mixture of Estrogenic Chemicals. Environ Health Perspect 113:721-728.
4. Diamanti-Kandarakis E et al. (2009) Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. Endocrine Reviews 30:293-342
5. Activistangler.com (2015) ActivistAngler - Journal - Scientists Find More Mutated Intersex Fish in Nation's Waters. Available at: <http://www.activistangler.com/journal/2014/8/4/scientists-find-more-mutated-intersex-fish-in-nations-waters.html> [Accessed September 21, 2015].
6. Bolong N, Ismail A, Salim M, Matsuura T (2009) A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. Desalination 239:229-246.
7. Kim S, Cho J, Kim I, Vanderford B, Snyder S (2007) Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. Water Research 41:1013-1021
8. Citulski J, Farahbakhsh K (2010) Fate of Endocrine-Active Compounds during Municipal Biosolids Treatment: A Review. Environmental Science & Technology 44:8367-8376.
9. Trần Hiếu Nhuệ (2012) Công nghệ xử lý nước, nước thải ở Việt Nam - Thực trạng và thách thức. Viện Kỹ thuật Nước và Công nghệ

- Môi trường IWEET), Hội Bảo vệ Thiên nhiên và Môi trường Việt Nam (VACNE).
10. Motthegioi.vn (2014) Xuất hiện chất gây rối loạn nội tiết ở nước sông Sài Gòn - Đồng Nai. Một Thế Giới. Available at: <http://motthegioi.vn/xa-hoi/moi-truong/xuat-hien-chat-gay-roi-loan-noi-tiet-o-nuoc-song-sai-gon-dong-nai-103174.html> [Accessed September 22, 2015].



NEWS

Phát hiện protein chữa lành tổn thương của cơ tim

Vân-Anh Bùi

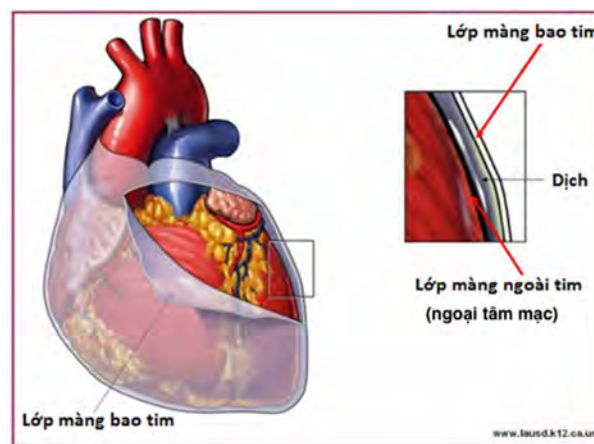
Nghiên cứu viên Phòng Thí nghiệm Nghiên cứu và Ứng dụng Tế bào Gốc, ĐH Khoa học Tự nhiên, TP. HCM

Bệnh tim mạch là bệnh có tỉ lệ tử vong cao nhất trên toàn thế giới, cao hơn cả bệnh ung thư. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization_WHO), mỗi năm có khoảng 17,5 triệu người tử vong do bệnh tim mạch, chiếm 31 % tổng các trường hợp tử vong trên toàn thế giới. Trong đó, bệnh mạch vành chiếm tỉ lệ cao nhất với 45 %. Theo ước đoán của AHA (American Heart Association_Hiệp hội tim mạch Mỹ), từ năm 2013 đến năm 2030, tỉ lệ các bệnh mạch vành sẽ tiếp tục tăng khoảng 18 %. Riêng ở Việt Nam, các bệnh tim mạch mỗi năm gây ra hàng ngàn cái chết và theo dự báo của hội Tim mạch Việt Nam, đến năm 2017, có 1/5 dân số Việt Nam mắc các bệnh về tim mạch. Hiện nay đã có nhiều liệu pháp ra đời trong việc chữa trị tim mạch, trong đó liệu pháp tế bào mang lại nhiều hy vọng với các ưu thế như không xâm lấn (so với phương pháp phẫu thuật), an toàn, cung cấp nguồn tế bào thay thế những tế bào cơ tim đã chết giúp khôi phục vùng mô bị tổn thương.

**Hình 1:** Tim bị tổn thương do tắc nghẽn mạch vành (2)

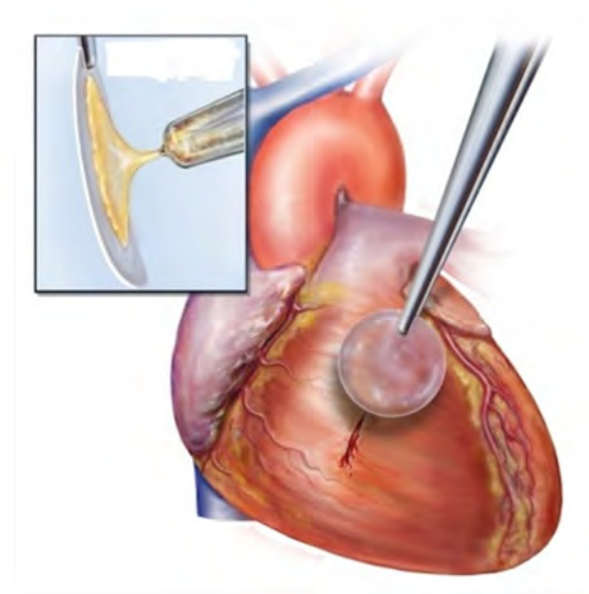
Mô cơ tim người được biết là có khả năng tái tạo rất thấp sau tổn thương. Trong suốt cuộc đời một người, chỉ có khoảng 45 % tế bào cơ tim được tái tạo, 55 % còn lại là những tế bào cơ tim duy trì từ lúc mới hình thành cho đến chết (1). Tỷ lệ tái tạo tế bào đó không đủ để sửa chữa

mô cơ tim sau nhồi máu hoặc đột quỵ. Mà thay vào đó, ở những vị trí tổn thương tế bào cơ tim chết đi để lại khoảng trống, nguyên bào sợi tăng sinh tạo thành mô sẹo (không có khả năng co bóp) để lấp đầy, làm giảm khả năng bơm máu của tim. Do đó, những liệu pháp sinh học tái tạo phải tập trung vào việc tìm ra nguồn tế bào ngoại sinh hoặc tự thân có khả năng chữa trị và làm lành mô cơ tim. Hiện nay, các nghiên cứu tập trung chủ yếu vào việc sử dụng tế bào cơ tim chưa trưởng thành thu nhận từ tế bào gốc người cho việc chữa trị bệnh tim. Tuy nhiên, trong một công trình mới đây trên tạp chí Nature, Wei và cộng sự đã trình bày một hướng tiếp cận mới đó là sử dụng protein follistatin-like 1 (Fstl1) hiện diện ở thượng tâm vị (lớp màng ngoài cùng của tim, còn được gọi là ngoại tâm mạc) trong trái tim khỏe mạnh thay cho việc sử dụng tế bào như các nghiên cứu hiện nay.

**Hình 2:** Cấu trúc phía ngoài của tim gồm lớp màng bao tim, dịch và màng ngoài tim (3)

Fstl1 được biết đến như một protein định hướng (modulator) quá trình phát triển tim và dấu hiệu nhận biết cho bệnh thiếu máu cơ tim, cao huyết áp, và giai đoạn cuối của suy tim. Protein Fstl1 có nhiều vai trò, và một vài chức năng trong số này có vẻ như đối lập nhau. Điều đáng chú ý là sự hiện diện của Fstl1 trong tim thường đi kèm với việc giảm kích thước vùng nhồi máu và phục hồi chức năng tim, điều này được cho là do nó đã thúc đẩy sự

hình thành mạch máu và tăng cường khả năng sống của tế bào chứ không phải là hình thành tế bào cơ tim mới.



Hình 3: Mảnh vá chứa protein được dính lên tim (3)

Wei và cộng sự đã cung cấp một cái nhìn mới và sâu sắc đối với chức năng sinh học của protein Fstl1. Điểm đáng chú ý của nghiên cứu này là tái thiết lập sự biểu hiện của Fstl1 ở màng ngoài tim có thể giúp mô cơ tim được tái sinh sau tổn thương. Họ giả thiết rằng sử dụng một mảnh vá (a patch) tiết Fstl1 ngoại tâm mạc đặt lên vùng mô cơ tim nhồi máu giúp cung cấp Fstl1 và kích thích sự tăng sinh của quần thể tế bào cơ tim ở đây. Để kiểm tra giả thiết này, họ dính mảnh collagen có Fstl1 ngoại tâm mạc lên mô cơ tim chuột đã được cảm ứng nhồi máu. Bốn tuần sau, tim chuột đã có những cải thiện rõ rệt về cả cấu trúc và chức năng tim. Đồng thời, mô sẹo ít được hình thành hơn và sự hình thành mạch máu tăng lên trong vùng mô được ghép. Những phát hiện này cho thấy thay vì phải cấy ghép tế bào thì chỉ cần sử dụng mảnh vá mang protein Fstl1 để kiểm soát sự sống của tế bào cơ tim hiện có và thúc đẩy tái tạo mô cơ.

Mặc dù cần phải tiến hành thêm những nghiên cứu trên động vật lớn để có thể khẳng định chắc chắn tác động của liệu pháp này, nhưng đây là một nghiên cứu cung cấp một hướng tiếp cận đầy hứa hẹn trong việc chữa trị nhồi máu cơ tim. Đồng thời, nó cũng gợi mở nhiều câu hỏi rất sâu về cơ chế hoạt động và chức năng của protein Fstl1 để các nghiên cứu trong tương lai giải quyết và sớm ứng dụng protein này trong thực tiễn lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vunjak-Novakovic, G., Cardiac biology: A protein for healing infarcted hearts. *Nature*, 2015. 525(7570): p. 461-462.
2. http://license.umn.edu/technologies/z02201_pegylated-fibrin-biomatrix-for-treatment-of-acute-myocardial-infarction
3. <http://drsvenkatesan.com/tag/epicardium/>
4. <http://www.karplab.net/portfolio-item/worm-inspired-glue-mends-broken-hearts>



CAREER

Mạng xã hội: công cụ mới dành cho nhà khoa học thế kỷ 21

Hương Hà

Nghiên cứu sinh Đại học Stanford, California, Hoa Kỳ

Trong bài viết này, tác giả sẽ lý giải lợi ích của việc dùng mạng xã hội, các trang mạng phổ biến cũng như tóm tắt một số điều cần lưu ý khi dùng các công cụ này.

Vì sao phải dùng mạng xã hội?

Trong những thế kỷ trước, nói đến nhà khoa học là nói đến những người mặc áo trắng ngồi trong phòng thí nghiệm cặm cụi nghiên cứu một mình. Điều này cũng được thể hiện qua việc các bài báo khoa học vào thời đó thường chỉ có một tác giả đứng tên. Ngay cả các công trình nghiên cứu có tầm ảnh hưởng lớn với nhân loại như thuyết tương đối hay phát hiện về các nguyên tố phóng xạ cũng thường là thành quả của một cá nhân.

Từ những năm 1920 đổ lại, các vấn đề khoa học công nghệ ngày càng trở nên hóc búa và phức tạp. Những dự án nghiên cứu và bài toán khó của thế kỷ thường yêu cầu nhiều chuyên gia ở các lĩnh vực khác nhau cùng hợp tác. Số lượng tác giả đóng góp vào mỗi công trình cũng ngày càng nhiều. Điển hình nhất là trong các lĩnh vực vật lý lượng tử, giải mã gene hoặc các thử nghiệm lâm sàng liên quốc gia, số lượng tác giả đóng góp vào mỗi công trình

có thể lên tới hàng trăm hay hàng ngàn. Một bài báo xuất bản trên tạp chí Physical Review Letters (tháng 5, 2015) lập kỷ lục với hơn 5000 tác giả. **Câu hỏi đặt ra là, làm thế nào những nhà khoa học này biết đến nhau và trở thành cộng sự trong các dự án siêu lớn này?** Trước đây, cách tốt nhất và phổ biến nhất để làm việc này là tham dự những hội thảo lớn, gặp gỡ và trò chuyện với các chuyên gia ngay tại đó. Với sự bùng nổ của mạng internet, ngày càng có nhiều tương tác giữa người với người được thực hiện trên mạng thay vì gặp mặt trực tiếp. Cũng như nhiều ngành nghề khác, một cuộc đối thoại ngắn 5 - 10 phút có thể giúp bạn làm quen thêm được với một đối tác tiềm năng cho công trình nghiên cứu mới của mình. Trong các thập niên trước, nhà khoa học chưa có một trang mạng xã hội cho riêng họ. Thay vào đó, họ sử dụng các trang như Yahoo360, Facebook hay Twitter để trao đổi thông tin với nhau, đồng thời giúp cho công chúng hiểu thêm về khoa học. Nhưng các trang mạng này



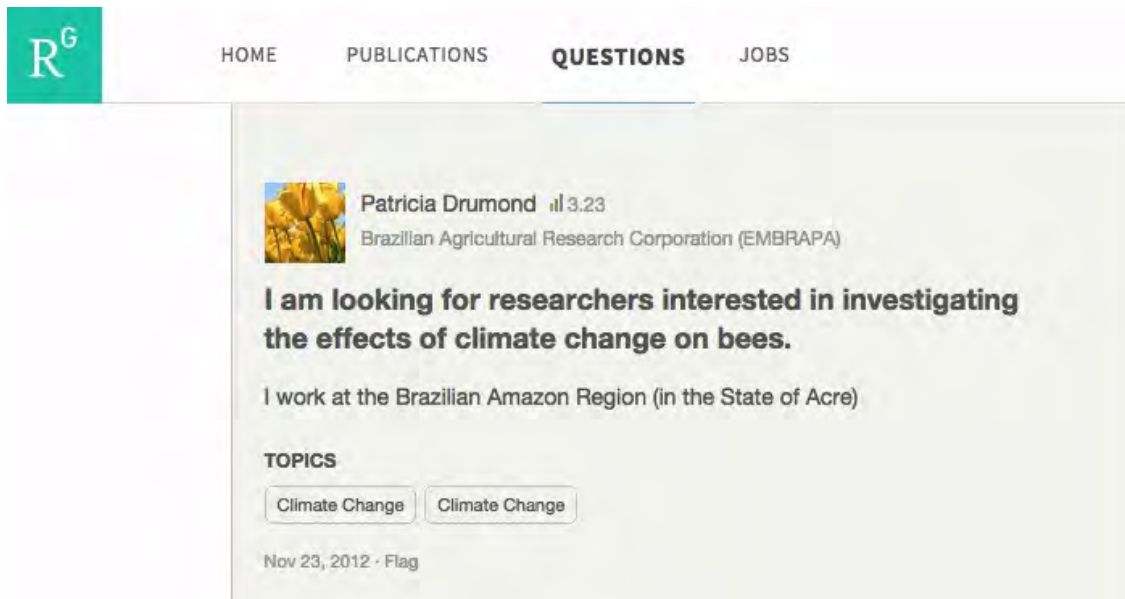
CLASSICS



Rays Emitted by Compounds of Uranium and of Thorium

Marie Skłodowska Curie (1867-1934)

Hình 1. Trái: Chân dung Marie Curie - người phụ nữ duy nhất nhận được hai giải Nobel, giải thưởng danh giá nhất dành cho các nhà khoa học (© Susan Marie Frontczak). Phải: Khám phá của Marie Curie về tia phóng xạ phát ra từ Uranium và Thorium được đăng lại trên tạp chí Resonance (2011) chỉ có một tác giả đứng tên.



Hình 2. Một nhà khoa học người Brazil đăng tin tìm kiếm cộng sự trên ResearchGate để cùng nghiên cứu về tác dụng của biến đổi khí hậu lên loài ong.

thường chứa quá nhiều các thông tin thuộc nhiều chủ đề khác và đôi khi khiến cho thông tin về khoa học bị chìm khuất. Vào khoảng 10 năm trở lại đây, các trang mạng xã hội dành riêng cho khoa học gia bắt đầu hình thành và trở nên phổ biến.

Theo một khảo sát mới đây của tạp chí Nature, ngày càng có nhiều nhà khoa học sử dụng các trang này và cho rằng chúng giúp họ được nhiều người trong cùng lĩnh vực biết tới, và hỗ trợ họ kết nối với các chuyên gia khác ở nhiều chuyên ngành hay nhiều quốc gia khác nhau. Bên dưới là ví dụ về 6 trang mạng xã hội phổ biến nhất cho nhà khoa học. Lưu ý là tất cả các trang này đều miễn phí.

Các trang mạng xã hội phổ biến

1. ResearchGate

<https://www.researchgate.net/home>

Đây là trang mạng phổ biến nhất hiện nay trong giới khoa học gia trên toàn thế giới. Mục tiêu của ResearchGate là kết nối các nhà nghiên cứu và thúc đẩy quá trình trao đổi kết quả, kiến thức và kinh nghiệm giữa họ với nhau. Sử dụng trang này, bạn có thể tạo "sơ yếu lý lịch khoa học" cho bản thân, tìm kiếm các công việc phù hợp với kỹ năng, kết nối và giữ liên lạc với các đồng nghiệp hay các khoa học gia cùng lĩnh vực hoặc yêu cầu bài báo từ tác giả. Một công cụ rất hữu ích của ResearchGate là mục "Hỏi đáp", cho phép bạn đặt câu hỏi

về một vấn đề khúc mắc trong quá trình nghiên cứu. Bản thân tác giả bài viết này cũng đã nhận được nhiều hỗ trợ về mặt kỹ thuật khoa học khi dùng ResearchGate. Bên cạnh đó ResearchGate còn có chức năng tìm kiếm việc làm thuận tiện.

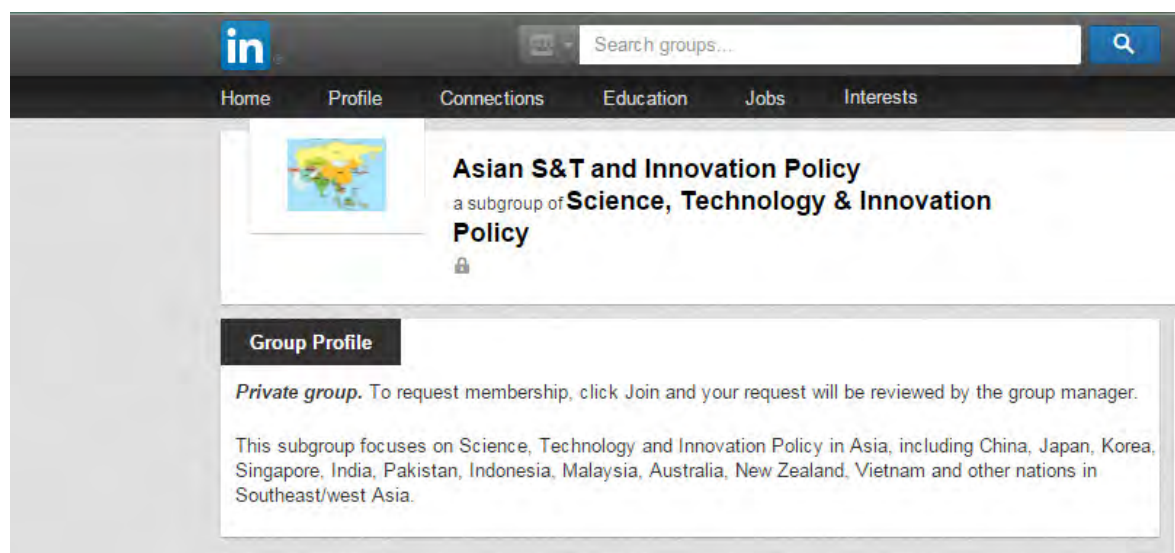
2. LinkedIn

<https://www.linkedin.com/>

Tuy không dành riêng cho nhà khoa học, người dùng LinkedIn có thể tạo và tham gia vào các nhóm nhỏ có nội dung và mối quan tâm tập trung hơn, chẳng hạn như hiệp hội của những người nghiên cứu cùng ngành với bạn. Một số nhà tuyển dụng cũng thường sử dụng LinkedIn để tìm hiểu về bạn vì hồ sơ trên LinkedIn thường chứa nhiều thông tin và dễ theo dõi hơn một bản sơ yếu lý lịch thông thường. Bạn có thể tạo một trang hồ sơ với định dạng linh hoạt, tùy chỉnh theo những kỹ năng của mình, thêm vào đường dẫn tới các trường đại học hay dự án mà bạn tham gia hoặc trích dẫn các bài báo mà bạn từng xuất bản. Dựa trên các thông tin này, LinkedIn dùng các thuật toán để gợi ý cho bạn những người có điểm chung hoặc các công việc phù hợp với hồ sơ của bạn.

3. Academia.edu

<https://www.academia.edu/>



Hình 3. Một trong những hiệp hội chuyên về khoa học và công nghệ trên LinkedIn.

Ý tưởng của Academia.edu xoay quanh trào lưu mới về open-access, nghĩa là các bài báo, các công trình khoa học miễn phí cho mọi đối tượng độc giả. Trang web này cho phép các tác giả chia sẻ những bài báo mà họ xuất bản với tất cả những thành viên khác. Thống kê của Academia.edu cho thấy lượng trích dẫn của các nghiên cứu tăng lên rất nhiều lần khi được chia sẻ ở đây. Làn trích dẫn (citation - số bài báo trích lại các kết quả trong một công trình khoa học) là một chỉ số quan trọng dùng để đánh giá mức độ làm việc hiệu quả của các nhà nghiên cứu, vì vậy khi có khá nhiều người tham gia Academia.edu đơn thuần vì mục đích này. Mặc dù không phổ biến bằng ResearchGate, Academia.edu hiện nay có tới 21 triệu thành viên đăng ký.

4. Mendeley

<https://www.mendeley.com/>

Ngoài các tính năng phổ biến như lưu trữ bài báo và thông tin về tác giả, Mendeley còn cho phép người sử dụng chia sẻ quyền quản lý nguồn tài liệu tham khảo chung để có thể hợp tác dễ dàng khi cùng viết một bài báo hay đề án xin ngân quỹ. Ngoài ra, công cụ quản lý tài liệu tham khảo Mendeley được phát hành miễn phí và đang được sử dụng rộng rãi.

5. ResearchID

<http://www.researcherid.com/Home.action>

Khi tham gia vào researchID, các thành viên sẽ được cấp cho một mã số mang tính duy nhất. Mã số này giúp cho các nhà nghiên cứu quản lý các bài báo mà họ xuất bản, theo dõi lượng trích dẫn, tìm kiếm các cộng sự tiềm năng và tránh bị nhầm lẫn với những người có cùng tên hay họ. Hiện nay (09/2015), 563 Việt Nam đang tham gia sử dụng trên trang web này.

6. Epernicus | Network

<https://www.epernicus.com/network>

Gần giống như ResearchGate, trang web này cho phép các nhà khoa học kết nối với những người cùng lĩnh vực hay cùng cơ quan nghiên cứu, tìm kiếm các công cụ, vật liệu hay chuyên môn cần thiết cho dự án của họ từ chính mạng lưới này.

7. Twitter

<https://twitter.com/?lang=en>



Hình 4. Trong một trao đổi hài hước trên Twitter, Neil Tyson viết “Vì sao khi nữ hoàng Elizabeth kế vị vua George vào năm 1952, vương quốc Anh không được đổi tên thành vương quốc...Chị?”

Bất kể sự ra đời của các trang mạng xã hội khác dành cho khoa học gia, Twitter vẫn là một công cụ khá tốt để trao đổi thông tin. Có khá nhiều nhà nghiên cứu nổi tiếng tham gia Twitter. Điển hình nhất là nhà vật lý- thiên văn học Neil deGrasse Tyson. Ông tham gia nhiều chương trình truyền hình về khoa học ở Mỹ, được ví von như minh tinh trong giới khoa học. Hiện nay ông có hơn 2 triệu người theo dõi (follower). Các khoa học gia dùng Twitter để đưa các tin ngắn về những bài báo, công trình nghiên cứu mới, các lời khuyên dành cho sinh viên... Một số ngành học như Sinh học tổng hợp hoặc Kỹ thuật gene có khá nhiều thành viên tham gia Twitter. Chỉ cần dõi theo các chuyên gia đầu ngành hoặc các tạp chí khoa học là bạn có thể được cập nhật thông tin cần thiết mà không cần quá nhiều nỗ lực.

Làm thế nào để sử dụng các trang mạng xã hội này một cách hiệu quả?

1. Lựa chọn kỹ càng trang mạng phù hợp nhất với nhu cầu và sở thích của bạn

Lựa chọn trang mạng phù hợp để tham gia khá quan trọng. Nếu bạn muốn tìm nơi để kết nối với các nhà khoa học khác, bất kỳ trang nào nói trên cũng đáp ứng được nhu cầu này. Nếu bạn chỉ muốn có người giúp đỡ và tư vấn về những trục trặc kỹ thuật hay các kiến thức khoa học, ResearchGate là nơi phù hợp nhất cho bạn. Còn với Academia.edu, bạn sẽ dễ dàng

tài được nhiều bài báo mà không cần trả phí cho các tạp chí, và cũng có thể làm tăng lượng trích dẫn cho công trình của mình.

2. Đầu tư xây dựng sơ yếu lý lịch khoa học trên trang mạng mà bạn lựa chọn

Nhớ ghi rõ thông tin về quá trình học tập và công tác, chủ đề nghiên cứu mà bạn đang theo đuổi, các công trình nghiên cứu và chuyên môn của bạn, những cơ hội mà bạn đang tìm kiếm. Quan trọng nhất là phải viết các thông tin này bằng ngôn ngữ dễ hiểu để công chúng, các nhà báo hoặc những người làm ở lĩnh vực khác đều có thể tiếp cận được. Tránh sử dụng các từ mang tính chuyên ngành quá sâu, chú thích rõ ràng thuật ngữ trong bài viết. Hoàn chỉnh tất cả các điểm trong hồ sơ và nhớ sử dụng một tấm hình chân dung nhìn thật chuyên nghiệp. Và nhớ là cập nhật hồ sơ này thật thường xuyên!

3. Hãy bắt tay xây dựng mạng lưới các cộng sự tiềm năng ngay từ bây giờ!

Kết nối một cách có chọn lọc với những người bạn biết ngoài đời hoặc biết đến thông qua một người khác, với những người có cùng mối quan tâm về khoa học công nghệ, hoặc có các chuyên môn, kỹ năng mà bạn cần. Nếu như bạn cảm thấy bắt đầu nhận được các thông tin không thực sự đáng quan tâm hoặc không liên quan thì có thể ngừng theo dõi

họ hoặc tìm cách tổ chức, sắp xếp lại các mối quan hệ trên mạng này.

Nên nhớ, số người mà bạn kết nối không quan trọng bằng độ bền chặt của từng mối liên hệ.

4. *Lưu ý cách thức và nội dung trong giao tiếp*

Cũng như trong các mối quan hệ ngoài đời thực, bạn cần phải tích cực trao đổi thông tin và tham gia các cuộc thảo luận để mọi người biết đến và hiểu hơn về bạn. Điều cần lưu ý là mỗi trang mạng xã hội, mỗi nhóm nhỏ, mỗi chủ đề thường có “văn hoá giao tiếp” riêng. Khi tham gia vào các cuộc đối thoại này, bạn cần phải hết sức để ý cách thức mà mọi người trao đổi thông tin với nhau để có thể hoà nhập dễ dàng hơn. Đặc biệt với ResearchGate, khi bạn đặt các câu hỏi, nên nhớ luôn cung cấp đủ các thông tin cần thiết để người đọc hiểu được bạn đang làm thí nghiệm gì, đã thử các cách nào, và kết quả hiện tại cho thấy điều gì, bạn muốn được giúp đỡ trong khía cạnh nào của vấn đề cụ thể nào. Ngôn ngữ càng ngắn gọn, dễ hiểu thì khả năng bạn nhận được câu trả lời chính xác càng cao. Và đừng quên gửi lời cảm ơn cũng như phản hồi lại các ý kiến của người khác. Hầu hết các trang mạng này đều trao đổi tiếng Anh, vì vậy nếu bạn không tự tin vào ngôn ngữ của mình thì có thể nhờ đồng nghiệp xem qua trước khi đưa thông tin lên.

5. *Thắt chặt các mối quan hệ trên mạng và mang chúng vào đời thực*

Khi bạn tìm được những đối tác tiềm năng cho dự án nghiên cứu hay ý tưởng thành lập công ty công nghệ của mình, đừng ngần ngại tìm cách gặp và trao đổi với họ trong đời thực. Nếu họ ở gần thì bạn có thể mời gặp ở một quán cà phê, còn nếu họ ở xa thì hãy tìm cách đi dự hội thảo chung. Gặp mặt trực tiếp vẫn là cách tốt nhất để bạn biến các mối liên kết tương đối lỏng lẻo này những quan hệ cộng tác thực sự.

6. *Lên kế hoạch rõ ràng và quản lý thời gian hiệu quả*

Cũng như khi tham gia nhiều trang mạng xã hội khác, bạn luôn phải tương tác và hoà mình vào các sự kiện diễn ra trên trang mạng của nhà khoa học. Nếu không chú ý, hoạt động này có thể chiếm rất nhiều thời gian của bạn. Vì vậy bạn nên dành ra một khoảng thời gian nhất định trong tuần cho việc này.

Thông qua bài viết này, hy vọng bạn hiểu thêm được các lợi ích của việc dùng mạng xã hội, cách thức sử dụng để chúng trở thành công cụ hỗ trợ bạn nghiên cứu khoa học

và phát minh ra công nghệ, ứng dụng mới. Một điều chưa được khai thác sâu trong bài viết này, đó là mạng xã hội cũng là phương tiện hiệu quả giúp nhà khoa học phổ biến phát minh và kiến thức cần thiết đến với công chúng. Tạp chí Vietnam Journal of Science đang hướng tới việc cung cấp các thông tin khoa học công nghệ cho độc giả phổ thông với trích dẫn rõ ràng và độ chính xác cao thông qua website và facebook. Hy vọng bạn đọc sẽ có được thêm một nguồn thông tin cần thiết giúp giải đáp các thắc mắc thường nhật liên quan tới sức khoẻ, thiên nhiên, vụ mùa, môi trường hay nhiều chủ đề khoa học công nghệ khác.

Mời độc giả gửi các phản hồi và trao đổi về chủ đề này trực tiếp đến địa chỉ email [huongha@veffa.org].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Online Social Networking for Scientists (Kendall Morgan)
<http://blog.addgene.org/tips-tools-online-social-networking-for-scientists>
2. LinkedIn tips for scientists
<http://blogs.nature.com/naturejobs/2012/12/20/linkedin-tips-for-scientists>



VIETNAM JOURNAL OF SCIENCE

Science for a better world

Copyright: Copyright © 2015 Vietnam Journal of Science. All rights reserved. All parts of this publication are copyright protected and cannot be republished in any forms or by any means without prior and official permission in writing from Vietnam Journal of Science (VJS). Any questions or requests regarding republishing the content of this publication should be addressed to core@vjsonline.org.

Disclaimer: VJS and Editors are not responsible for any consequences from the use of information published in this journal, including the content of each paper and advertisements. The points of view and opinions presented in our papers do not necessarily reflect those of VJS and Editors.

Access to VJS is available for free at www.vjsonline.org.

ISSN: 2374-8664 (Online)



VIETNAM JOURNAL OF SCIENCE
Science for a better world

More information about our project could be found at
www.vjsonline.org