

# Tạo và đánh giá khả năng loại bỏ tế bào Jurkat T của hạt từ miễn dịch anti-pan T

Huỳnh Kiến Quang<sup>1</sup>, Trần Văn Thuận<sup>1</sup>, Trần Nguyễn Thảo Sương<sup>1</sup>, Tạ Thị Kiều Hạnh<sup>2</sup>, Trần Văn Hiếu<sup>1,\*</sup>

## TÓM TẮT

Cấy ghép tế bào gốc tạo máu đang là phương pháp điều trị mang lại nhiều hi vọng cho các bệnh nhân ung thư máu. Tuy nhiên, khi được chỉ định cấy ghép, đặc biệt là cấy ghép tế bào gốc đồng loài, người bệnh có nguy cơ mắc biến chứng vật ghép chống chủ (GvHD). Nguyên nhân gây ra được xác định bởi sự hiện diện của các tế bào T trong mô ghép của người cho. Để khắc phục được khó khăn này, việc loại bỏ tế bào T trong mô ghép trước khi đưa vào cơ thể bệnh nhân là điều rất cần thiết. Hiện nay, kỹ thuật MACS ứng dụng hạt nano từ tính để loại bỏ tế bào T đang là giải pháp tiềm năng trong việc cấy ghép tế bào gốc tạo máu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo hạt từ miễn dịch nhằm phân tách tế bào Jurkat T ra khỏi dịch nuôi tế bào. Kháng thể kháng tế bào Jurkat T (anti-pan T) được gắn định hướng lên bề mặt hạt từ thông qua protein A/G, một protein bắt đặc hiệu vùng Fc của kháng thể. Việc gắn protein A/G lên bề mặt hạt từ được hình thành nhờ một liên kết cộng hóa trị giữa các gốc amine trên bề mặt hạt từ và protein thông qua chất xúc tác 3-(2-pyridyldithio) propionic acid -hydroxysuccinimide ester (SPDP). Hạt từ miễn dịch tạo thành có khả năng gắn kết khoảng 85 µg protein A/G và 21 µg kháng thể trên một mg hạt từ. Hiệu quả phân tách tế bào Jurkat T của hạt từ miễn dịch khoảng 53,3%.

**Từ khoá:** ghép tế bào gốc đồng loài, GvHD, hạt từ miễn dịch, MACS

<sup>1</sup>Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường, khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

<sup>2</sup>Bộ môn Vật liệu Từ và Y sinh, khoa Khoa học và Công nghệ Vật liệu, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

## Liên hệ

**Trần Văn Hiếu**, Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường, khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM.

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

## Lịch sử

- Ngày nhận: 03-12-2018
- Ngày chấp nhận: 24-4-2019
- Ngày đăng: 24-6-2019

## DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v3i2.802>



## Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



## GIỚI THIỆU

Cấy ghép tủy xương hay còn gọi là cấy ghép tế bào gốc tạo máu là phương pháp thay thế các tế bào gốc máu bị hư hỏng bằng các tế bào gốc tạo máu khỏe mạnh. Đây là phương pháp trị liệu đang được ứng dụng phổ biến trong điều trị ung thư hiện nay, đặc biệt là ung thư máu. Phương pháp này mang lại nhiều lợi ích hơn so với các phương pháp điều trị truyền thống như hóa trị và xạ trị do người bệnh hạn chế được những nguy cơ như nhiễm trùng, suy giảm miễn dịch hay tử vong. Khi được chỉ định điều trị bằng phương pháp cấy ghép tủy xương, người bệnh sẽ được xem xét và chọn lựa giữa việc cấy ghép tự thân hay cấy ghép đồng loài. Cấy ghép đồng loài đang là phương án đang được quan tâm hiện nay vì chúng giải quyết được các nhược điểm của cấy ghép tự thân, đồng thời trong giai đoạn khan hiếm tủy ghép như hiện nay thì cấy ghép đồng loài là phương pháp hứa hẹn mang lại nhiều hy vọng<sup>1</sup>. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của cấy ghép đồng loài chính là biến chứng vật ghép chống chủ (Graft versus Host Disease/GvHD). Nguyên nhân của biến chứng này là do các tế bào miễn dịch như lympho B, lympho T, đại thực bào, tế bào giết tự nhiên và các nhân tố kích thích như yếu tố hoại tử khối u (TNF), interleukin-1 (IL-1),... trong tủy của người cho nhận diện các tế bào của người nhận như một

kháng nguyên lạ, dẫn đến sự tấn công, làm thương tổn tế bào và mô của người nhận. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng sự hiện diện của tế bào lympho T của người hiến tặng trong mô ghép là nguyên nhân chính gây ra các đáp ứng miễn dịch không mong muốn cùng những triệu chứng có hại cho người nhận mô ghép<sup>2</sup>. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh sự hiện diện ở ngưỡng nhất định của các tế bào lympho T trong mô tủy ghép có khả năng gia tăng cơ hội đậu ghép cho bệnh nhân bởi sự hỗ trợ di cư các tế bào gốc tạo máu về đúng vị trí mong muốn cũng như có khả năng tiêu diệt các tế bào ung thư còn sót lại trong cơ thể người nhận. Do vậy, để khắc phục GvHD thì việc loại bỏ một phần tế bào lympho T là điều rất cần thiết.

Hiện nay có rất nhiều kỹ thuật phân tách tế bào đã và đang được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực y sinh như phân tách tế bào bằng cách nuôi cấy, phân tách bằng ly tâm, cột sắc ký ái lực, đánh dấu huỳnh quang, đánh dấu từ tính,...<sup>3</sup> Tùy thuộc vào mục đích của người nghiên cứu, kỹ thuật phân tách tế bào nào phù hợp sẽ được lựa chọn. Đối với mô ghép là các tế bào gốc máu, yêu cầu độ tinh sạch và đặc hiệu cao thì phương pháp phân tách tế bào bằng từ tính (MACS) là phương pháp thích hợp, đang được ứng dụng lâm sàng trong cấy ghép với nhiều ưu điểm nổi bật như sự tương thích sinh học, độ tinh sạch và hiệu suất thu hồi

**Trích dẫn bài báo này:** Quang H K, Thuận T V, Sương T N T, Hạnh T T K, Hiếu T V. **Tạo và đánh giá khả năng loại bỏ tế bào Jurkat T của hạt từ miễn dịch anti-pan T.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(2):74-81.

cao, thao tác đơn giản<sup>3,4</sup>. Kỹ thuật MACS dựa trên sự đánh dấu các tế bào mục tiêu bằng các kháng thể gắn với hạt nano có từ tính. Dịch huyền phù tế bào sau khi được đánh dấu sẽ được đặt trong một từ trường mạnh, các tế bào được đánh dấu từ trường sẽ di chuyển và tập trung tại nơi có năng lượng từ trường, từ đó có thể dễ dàng thu được tế bào mục tiêu.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo hạt từ miễn dịch nhằm phân tách tế bào Jurkat T ra khỏi dịch nuôi tế bào. Với các đặc điểm tương tự tế bào lympho T cùng khả năng tăng sinh mạnh, Jurkat T sẽ là dòng tế bào mô hình được sử dụng. Kháng thể kháng tế bào Jurkat T (anti-pan T)<sup>5</sup> được gắn định hướng lên bề mặt hạt từ thông qua protein A/G, một protein tái tổ hợp giữa protein A và protein G, có sáu vùng bắt đặc hiệu vùng Fc của kháng thể, làm vùng Fab kháng thể quay ra ngoài. Sau đó, việc đánh giá khả năng phân tách của hạt từ miễn dịch sẽ được tiến hành thông qua thử nghiệm bắt tế bào Jurkat T trong môi trường nuôi cấy.

## PHƯƠNG PHÁP

### Hoá chất, môi trường, dòng tế bào

Hạt nano từ tính  $Fe_3O_4@SiO_2-NH_2$  được cung cấp bởi Bộ môn Vật liệu từ và Y sinh, khoa Khoa học Vật liệu, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM<sup>6</sup>.

Dòng tế bào Jurkat T được cung cấp bởi Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường, khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM. Tế bào Jurkat T được nuôi trong môi trường RPMI-1640 (Himedia) có chứa 10% FBS (Sigma) ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

Kháng thể kháng tế bào T được cung cấp bởi Bộ môn Công nghệ Sinh học Phân tử và Môi trường, khoa Sinh học – Công nghệ Sinh học, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM<sup>5</sup>.

Thang protein phân tử lượng thấp (GE Healthcare) có kích thước lần lượt là 97, 66, 45, 30, 20.1 kDa.

### Khảo sát nồng độ, và thời gian phản ứng tạo liên kết giữa hạt từ và protein

Liên kết cộng hóa trị giữa nhóm chức amine trên bề mặt hạt từ  $Fe_3O_4@SiO_2-NH_2$  và nhóm amine trên protein A/G sẽ được tạo ra trong thử nghiệm này. Nhằm tiết kiệm protein A/G, trong các thử nghiệm khảo sát nồng độ và thời gian phản ứng, protein BSA (Himedia) sẽ được sử dụng thay thế cho protein A/G. Hạt từ trong 1 ml dung dịch PBS-EDTA (20 mM sodium phosphate, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,02% sodium azide, pH 7,5) với nồng độ 0,25 mg/ml và 1 ml protein BSA với các nồng độ lần lượt

là 20 µg/ml; 40 µg/ml; 60 µg/ml; 80 µg/ml; 100 µg/ml sẽ được xử lý với SPDP (3-(2-Pyridyldithio) propionic acid -hydroxysuccinimide ester, Sigma Aldrich) 20 mM. Sau đó, hạt từ sẽ được phản ứng với DTT (Biobasic) 50 mM để hình thành gốc -SH, hạt từ và protein sau khi được xử lý với SPDP được ủ 4°C trong thời gian 6 giờ và 18 giờ. Sự hình thành liên kết được kiểm tra bằng phương pháp điện di SDS-PAGE với 15 µl mẫu mỗi giếng, lượng protein BSA gắn trên hạt được định lượng thông qua phương pháp Bradford. Nguyên tắc của sự gắn kết hạt nano từ tính với protein thông qua SPDP được mô tả trong Hình 1. Cụ thể, đầu tiên hạt từ sẽ được phản ứng với SPDP, sau đó sẽ được cho phản ứng với DTT để tạo nhóm -SH trên bề mặt, nhóm -SH này sẽ dễ dàng phản ứng với protein hoạt hóa pyridyldithiol tạo thành cầu nối cộng hóa trị, gắn kết hạt từ và protein. Việc tạo liên kết giữa hạt từ và protein A/G (Biobasic) sẽ được tiến hành sau khi có bộ thông số tối ưu sau khi đã khảo sát với BSA.

### Tạo liên kết giữa hạt từ-A/G với kháng thể kháng tế bào Jurkat T (anti-pan T)

Chuẩn bị 0,25 mg hạt từ-A/G đã được rửa bằng dung dịch TBS-T (Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM, Tween-20 0,1%, pH 8,2) sau đó bổ sung 1 mL kháng thể nồng độ 50 µg/ml, sau đó đảo eppendorf chứa hạt và kháng thể ở 4°C trong thời gian 1 giờ, thu nhận pha hạt và tiến hành dung ly kháng thể bằng glycine 0,1 M, pH 2,5, vortex 20 phút. Tiến hành thu dịch dung ly và trung hòa bằng Tris-HCl 1,5 M, pH 9,0. Sự hình thành liên kết được kiểm tra bằng phương pháp điện di SDS-PAGE, lượng kháng thể gắn trên hạt được định lượng thông qua phương pháp Bradford.

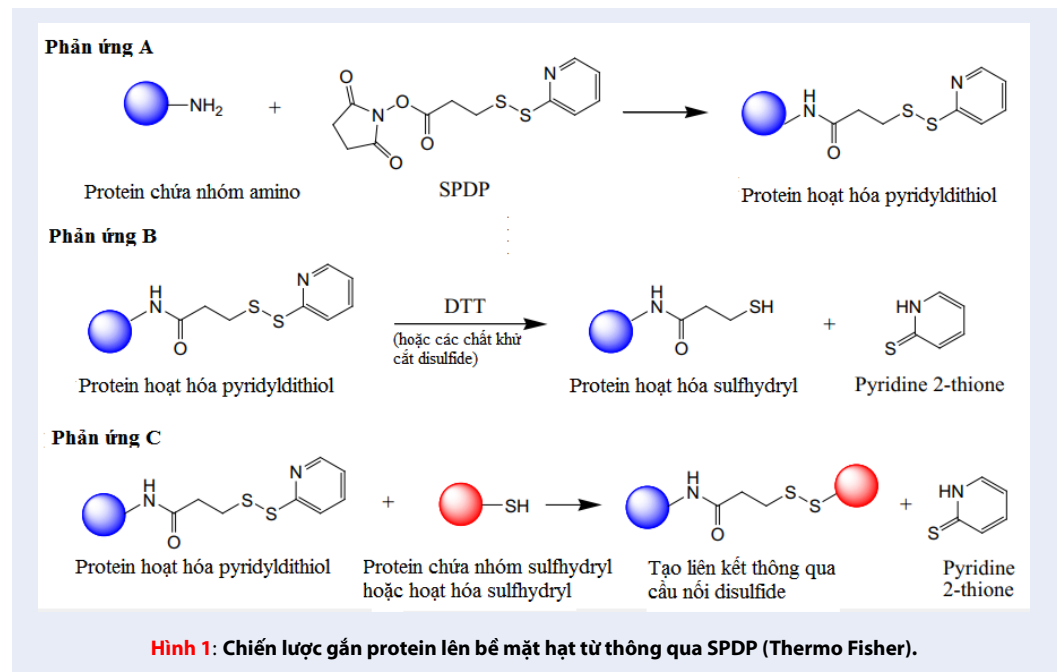
### Thử nghiệm khả năng phân tách tế bào Jurkat T

Hạt từ nồng độ 0,5 mg/ml sau khi được gắn với kháng thể được ủ với 1 ml tế bào Jurkat T với lượng  $3 \times 10^5$  tế bào/ml. Hỗn hợp tế bào và hạt từ được đảo ở điều kiện 4°C trong 40 phút. Sau đó dùng nam châm để tách hỗn hợp thành hai pha: pha hạt và pha dịch. Tiến hành đếm tế bào ở pha dịch, pha hạt bằng buồng đếm hồng cầu với sự hỗ trợ của dung dịch Trypan blue 0,4%.

## KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

### Khảo sát nồng độ và thời gian phản ứng tạo liên kết giữa hạt từ và protein

Trước khi gắn hạt từ với protein A/G, nồng độ protein sử dụng và thời gian phản ứng sẽ được khảo sát. Trong đó, protein A/G được thay thế bằng protein BSA, điều này tương đồng với nghiên cứu của Trịnh

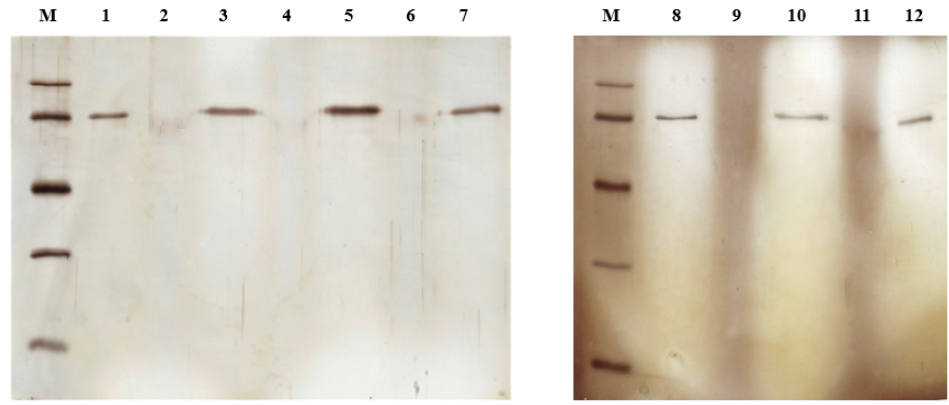


Minh Thượng và cộng sự<sup>6</sup>. Nồng độ protein BSA được sử dụng lần lượt là 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml. Việc đánh giá sự hình thành liên kết giữa hạt từ và protein được thực hiện bằng phương pháp điện di SDS-PAGE. Mẫu hạt từ đã gắn BSA sau khi đã được rửa sạch, mỗi nồng độ sẽ được xử lý đồng thời với dung dịch biến tính protein không bổ sung DTT và có bổ sung DTT. Đối với những mẫu không được xử lý với DTT, protein gắn kết trên bề mặt hạt từ không bị cắt ra nên bị giữ lại ở giếng vì kích thước của phức hợp hạt từ-BSA lớn hơn so với lỗ gel; còn những mẫu được xử lý với DTT thì protein sẽ bị cắt đứt ra khỏi hạt từ, vì thế sẽ xuất hiện vạch protein gắn kết với hạt từ trên bản gel (Hình 2). Kết quả SDS-PAGE hạt từ sau khi ủ với BSA cho thấy ở những giếng có mẫu hạt được xử lý với chất khử (giếng 3, 5, 7, 10, 12, Hình 2) có sự xuất hiện của vạch protein BSA (xấp xỉ 67 kDa, giếng 1, Hình 2). Đối với những giếng có mẫu hạt không được xử lý với chất khử (giếng 2, 4, 6, 9, 11, Hình 2) thì không có sự xuất hiện của vạch protein. Điều này chứng tỏ liên kết được hình thành giữa BSA và hạt từ là một liên kết bền, không bị đứt gãy dưới điều kiện chất tẩy mạnh và nhiệt độ cao. Liên kết này là liên kết cộng hóa trị hình thành bởi nhóm chức -NH<sub>2</sub> trên bề mặt hạt từ và gốc -NH<sub>2</sub> trên protein thông qua chất xúc tác SPDP.

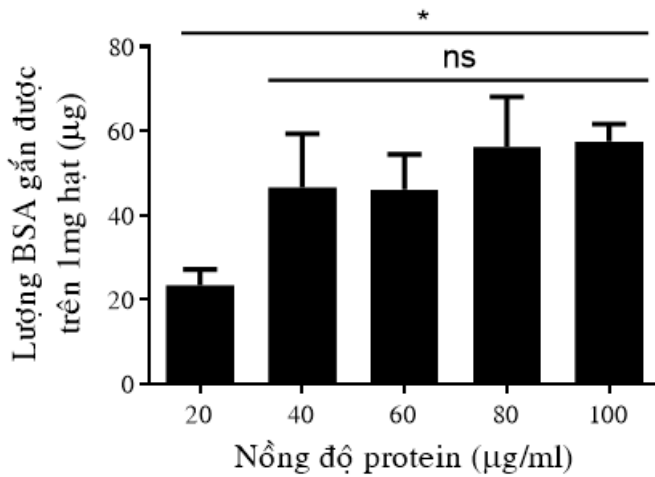
Để xác định nồng độ BSA phản ứng phù hợp, hạt từ được ủ với protein BSA với các nồng độ 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml. Phần dịch BSA sau khi ủ và rửa với hạt từ được định lượng bằng phương pháp Bradford. Lượng

BSA hấp thụ được tính bằng hiệu số của lượng BSA đầu vào và lượng BSA sau khi đã ủ và rửa với hạt từ. Từ kết quả định lượng BSA được thể hiện ở Hình 3 cho thấy lượng BSA hấp thụ cao nhất với nồng độ BSA là 100 µg/ml ( $58,35 \pm 4,43$  µg) và giảm dần tới nồng độ BSA 20 µg/ml ( $23,82 \pm 3,54$  µg). Tuy nhiên, khi phân tích số liệu bằng phương pháp thống kê *t-test* không bắt gặp về lượng protein BSA gắn trên bề mặt hạt từ giữa những nghiệm thức 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml cho kết quả không khác biệt mang ý nghĩa thống kê, có nghĩa là lượng BSA gắn trên bề mặt hạt từ ở bốn nồng độ trên là như nhau về mặt thống kê. Với mục tiêu tiết kiệm protein, nồng độ 40 µg/ml được chọn để tiến hành các thử nghiệm khảo sát thời gian.

Sau khi nồng độ protein tối ưu gắn trên bề mặt hạt từ được xác định, thời gian gắn hạt từ với protein cũng được khảo sát với hai mốc thời gian là 6 giờ và 18 giờ. Kết quả cho thấy lượng protein gắn lên bề mặt hạt từ ở hai thời điểm này là không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Lượng protein BSA gắn được ở nghiệm thức 6 giờ là  $48,21 \pm 5,22$  µg trên 1 mg hạt từ, nghiệm thức 18 giờ là  $46,72 \pm 4,21$  µg trên 1 mg hạt từ (Hình 4). Điều này chứng tỏ rằng sau 6 giờ phản ứng, lượng protein BSA gắn trên bề mặt hạt từ đã đạt ngưỡng tối đa, do đó protein không thể bám thêm lên bề mặt mặc dù thời gian phản ứng đã được tăng lên. Sau khi tiến hành khảo sát các thông số gắn kết protein tối ưu, protein A/G sẽ được gắn kết với hạt từ ở nồng độ 40 µg/ml và thời gian phản ứng là 6 giờ. Kết



**Hình 2:** Đánh giá sự gắn kết của protein và hạt từ bằng phương pháp SDS-PAGE. M, Thang; 1, 8, BSA; 2-3, Nghiệm thức 20 µg/ml BSA gắn lên 0,25 mg hạt từ; 4-5, Nghiệm thức 40 µg/ml BSA gắn lên 0,25 mg hạt từ; 6-7, Nghiệm thức 60 µg/ml BSA gắn lên 0,25 mg hạt từ; 9-10, Nghiệm thức 80 µg/ml BSA gắn lên 0,25 mg hạt từ; 11-12, Nghiệm thức 100 µg/ml BSA gắn lên 0,25 mg hạt từ; 2, 4, 6, 9, 11, Xử lý ở điều kiện không khử; 3, 5, 7, 10, 12, Xử lý ở điều kiện khử.



**Hình 3:** Lượng protein BSA gắn được trên 1 mg hạt (µg).

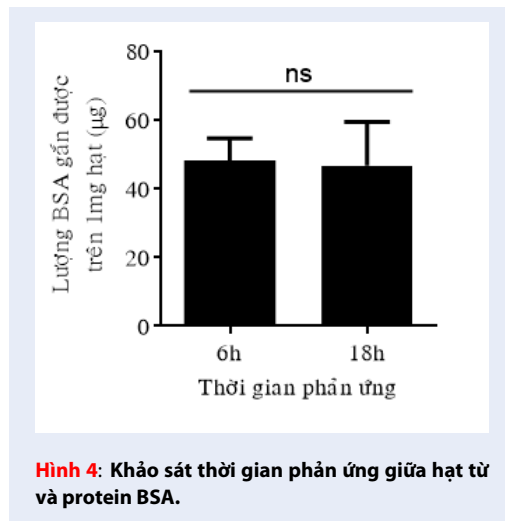
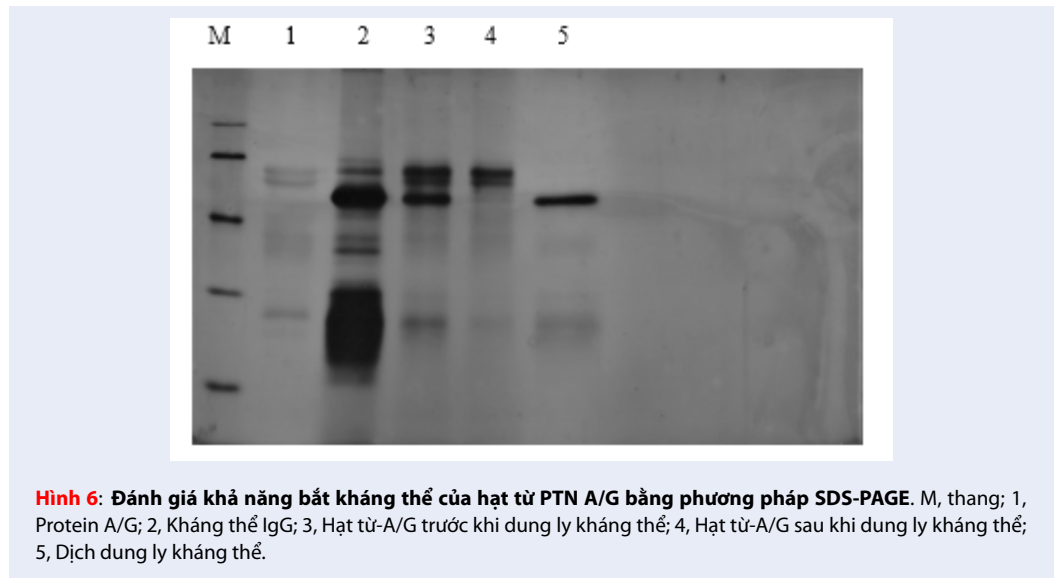
quả SDS-PAGE nhằm đánh giá liên kết giữa hạt từ và protein A/G được thể hiện ở Hình 5.

Kết quả cho thấy, có sự xuất hiện vạch protein A/G (xấp xỉ 50,5 kDa) ở giếng 1 tương đương với vạch protein ở giếng chứa protein A/G. Ở giếng 2, hạt không được xử lý ở điều kiện khử, do đó, không có vạch protein xuất hiện. Điều này chứng tỏ protein A/G đã được cố định trên bề mặt hạt từ thông qua liên kết cộng hóa trị hình thành nhờ chất xúc tác SPDP. Đồng thời, kết quả gắn kết protein cho thấy, hạt từ có khả năng gắn kết  $85,72 \pm 9,08$  µg protein A/G trên 1 mg

hạt.

### Gắn kết kháng thể lên hạt từ- A/G

Hạt từ-A/G được tiến hành ủ với kháng thể kháng tế bào Jurkat T. Sau khi được ủ với kháng thể, hạt từ được rửa sạch và tiến hành dung ly, mẫu hạt từ trước và sau khi dung ly cùng dịch dung ly được xử lý và điện di SDS-PAGE. Kết quả điện di được thể hiện ở Hình 6. Kết quả cho thấy sự xuất hiện những vạch protein tương ứng với những vạch kháng thể IgG thỏ bao gồm chuỗi nặng (50 kDa) và chuỗi nhẹ (25 kDa) ở giếng



chứa mẫu IgG đối chứng, giếng chứa hạt từ trước khi dung ly và giếng chứa dịch dung ly. Đồng thời, ở giếng chứa hạt từ sau khi dung ly không thấy sự hiện diện của vạch protein tương ứng với chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể mà chỉ thấy vạch protein tương ứng với protein A/G. Điều này đã khẳng định được sự gắn kết của kháng thể thỏ IgG trên bề mặt hạt từ. Lượng kháng thể gắn trên bề mặt hạt từ được định lượng bằng phương pháp Bradford. Kết quả định lượng cho thấy 1 mg hạt từ có thể gắn được  $21,87 \pm 1,69 \mu\text{g}$  kháng thể.

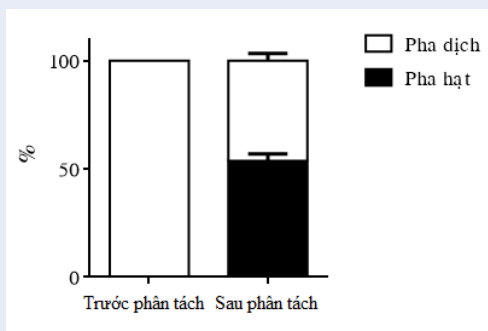
### Đánh giá khả năng phân tách tế bào Jurkat T từ môi trường nuôi cấy

Hạt từ miễn dịch sau khi được gắn với kháng thể được ủ với tế bào Jurkat T để kiểm tra khả năng phân tách tế bào. Kết quả đếm tế bào ở pha dịch và pha hạt được thể hiện ở Bảng 1.

Lượng tế bào thu được ở pha hạt tương đương với 53,3% so với tổng số tế bào trước khi phân tách ( $1,33$  so với  $2,5 \times 10^5$ ). Lượng tế bào có trong pha hạt chính

**Bảng 1:** Kết quả phân tách tế bào của hạt từ miễn dịch trong quần thể tế bào Jurkat T

Nghiệm thức	Số lượng tế bào ( $\times 10^5$ tế bào)			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3
Tổng tế bào trước khi phân tách		3,00	2,25	2,25
Số tế bào sau khi phân tách	Pha dịch	1,5	1,00	1,00
	Pha hạt	1,5	1,25	1,25



**Hình 7:** Hiệu suất phân tách riêng lẻ tế bào Jurkat T của hạt từ miễn dịch.

là khả năng phân tách tế bào của hạt từ với hiệu suất phân tách tế bào ra khỏi quần thể tế bào Jurkat T đạt 53,3% (Hình 7). Mặc dù hiệu suất này vẫn chưa cao, thấp hơn so với hiệu suất của hạt từ thương mại được gắn với kháng thể này (95,2% tế bào/0,5 mg hạt), nhưng đã cải thiện được hơn so với đề tài trước đó gần 16%<sup>6</sup>. Nguyên nhân hạt từ ở nghiên cứu trước cho hiệu suất phân tách thấp là do hạt được chức năng hóa bề mặt với gốc -CDI, không bền trong dung môi phân cực, làm cho việc gắn kết protein A/G không hiệu quả, dẫn đến việc phân tách tế bào T không đạt hiệu suất tốt. Trong nghiên cứu này, hạt từ -NH<sub>2</sub> được thay thế, nhóm này bền trong dung môi phân cực và dễ dàng phản ứng với protein thông qua SPDP. Điều này cho thấy được tiềm năng trong việc cải tiến và ứng dụng của hạt từ được chức năng hóa với nhóm -NH<sub>2</sub> cho mục tiêu phân tách tế bào lympho T trong hỗn hợp tế bào gốc máu.

### KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy đã tạo thành công hạt từ miễn dịch kháng tế bào Jurkat T và hạt từ miễn dịch này có khả năng nhận diện và phân tách 53,3% tế bào Jurkat T. Từ kết quả nghiên cứu trên, quy trình gắn protein lên hạt từ và gắn kháng thể lên hạt từ là những yếu tố có thể cần được cải tiến nhằm nâng cao

hiệu suất phân tách tế bào. Đồng thời cần tiến hành thí nghiệm đánh giá khả năng phân tách của hạt từ trong hỗn hợp tế bào Jurkat T và tế bào gốc tạo máu.

### DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

GvHD: Graft versus Host Disease  
 MACS: Magnetic-Activated Cells Sort  
 SPDP: 3-(2-pyridyldithio) propionic acid N-hydroxysuccinimide ester  
 CDI: Carbonyldiimidazole  
 BSA: Bovine serum albumin  
 DTT: Dithiothreitol  
 SDS-PAGE: sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis  
 TNF: Tumor Necrosis Factor

### XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả tuyên bố rằng họ không có xung đột lợi ích.

### ĐÓNG GÓP CỦA TÁC GIẢ

Huỳnh Kiến Quang và Trần Văn Hiếu tiến hành thiết kế thí nghiệm, thu thập số liệu, xử lý kết quả và tham gia viết bài.

Trần Văn Thuận, Trần Nguyễn Thảo Sương, và Tạ Thị Kiều Hạnh tiến hành thu thập số liệu và xử lý kết quả.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Passweg J, Baldomero H, Bader P, Bonini C, Cesaro S, Dreger P. Hematopoietic stem cell transplantation in Europe 2014: more than 40 000 transplants annually. Bone marrow transplantation.
2. Villa NY, Rahman MM, McFadden G, Cogle CR. Therapeutics for graft-versus-host disease: from conventional therapies to novel virotherapeutic strategies. *Viruses*;2016(8).
3. Plouffe BD, Murthy SK, Lewis LH. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review. *Physics*;2014(78). Reports on Progress in.
4. Lee W, Tseng P, Di-Carlo D. *Microtechnology for cell manipulation and sorting*. Springer; 2017.
5. Mai HTX, Thượng TM, Hiếu TV. Tạo và thu nhận chọn lọc kháng thể IgG kháng protein màng của tế bào T Jurkat. Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ. ĐHQG-HCM;2016(19).
6. Ta TKH, Trinh M-T, Long NV, Nguyen TTM, Nguyen TLT, Thuoc TL, et al. Synthesis and surface functionalization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub> core-shell nanoparticles with 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane and 1,1'-carbonyldiimidazole for bio-applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*;2016(504).

# Generation and assessment of immunomagnetic nanoparticles capable of T- cell removal

Kien-Quang Huynh<sup>1</sup>, Thuan Van Tran<sup>1</sup>, Thao-Suong Tran-Nguyen<sup>1</sup>, Kieu-Hanh Thi Ta<sup>2</sup>, Hieu Tran-Van<sup>1,\*</sup>

## ABSTRACT

Hematopoietic stem cells (HSCs) transplantation has been the potential treatment for hematopoietic disorder patients. However, once they were prescribed HSCs transplantation as the therapy, especially allogeneic transplantation, they would face Graft versus Host disease (GvHD), which causes by the presence of T cells in donor tissue. To deal with the risk of GvHD, removal T cells in donor tissue prior to transplant to recipient is extremely indispensable. Nowadays, MACS technique using immuno-magnetic nanoparticles in order to deplete T cells shows potential solution in the transplantation. In this study, we prepared immuno-magnetic nanoparticles for separation of Jurkat T cells from cell culture. Anti-Jurkat T antibodies were conjugated onto magnetic nanoparticles via recombinant protein A/G, an antibody's Fc-specific binding protein. The bonds between protein A/G and immuno-magnetic nanoparticles were covalently linked by amine groups on the surface of magnetic nanoparticles and the protein through 3-(2-pyridyldithio) propionic acid N-hydroxysuccinimide ester (SPDP). Approximately 85  $\mu\text{g}$  of protein A/G and 21  $\mu\text{g}$  of antibody were bound to one mg of magnetic beads. The immuno-magnetic nanoparticles were capable of isolating up to 53.3% of Jurkat T cells from culture medium.

**Key words:** Allogeneic hematopoietic stem cell transplant, GvHD, immunomagnetic nanoparticles, MACS

<sup>1</sup>Department of Molecular and Environmental Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM

<sup>2</sup>Department of Magnetic and Biomedical Materials, Faculty of Materials Science and Technology, University of Science, VNU-HCM

## Correspondence

**Hieu Tran-Van**, Department of Molecular and Environmental Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

## History

- Received: 03-12-2018
- Accepted: 24-4-2019
- Published: 24-6-2019

## DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjns.v3i2.802>



## Copyright

© VNU-HCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



**Cite this article :** Huynh K, Tran T V, Tran-Nguyen T, Ta K T, Tran-Van H. **Generation and assessment of immunomagnetic nanoparticles capable of T- cell removal.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 3(2):74-81.