

P-YD10: A HOMEMADE EXTRACTION METHOD FOR SMALL RNAs FROM PLASMA SAMPLE

Nguyen Huynh Ngoc Thu¹, Nguyen Thi Ngoc Thanh², Huynh Huu Luan², Nguyen Thi Hue^{2*}

¹ School of Biotechnology, International University - Vietnam National University HCMC - Vietnam

² Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science - Vietnam National University HCMC - Vietnam

SUMMARY

In recent years, the utility of miRNAs has proposed a dominant method to pre-diagnose and treat cancers. Although a variety of commercial kits for the extraction of RNAs are now available, they are cost-intensive, which does limit the studies of small-scale laboratories. Some others suggested different techniques like a Trizol-based method, which applies LiCl in the final precipitation step. However, previous studies proposed that LiCl cannot effectively precipitate small RNAs in contrast to MgCl₂. This project aims to modify and thus develop a more efficient homemade method for circulating small RNAs. After choosing the most suitable concentration of MgCl₂, the comparison between using MgCl₂, LiCl, and isolation kit (PureLink RNA Mini Kit) was also conducted. The methods were validated through testing the quantity and quality of recovered RNAs using concentration measurement, and the A260/A280 absorbance ratio. The primary result suggested that the final precipitation of small RNAs using the mixture of 0.5M MgCl₂ and ethanol provided the highest yield and quality of small RNAs, five times and ten times higher than LiCl and the isolation kit respectively. Additionally, the comparison between the developed method with the PureLink RNA Mini Kit showed that it exhibited a similar high purity range as the kit. As a result, it is promising that this method will be an effectively alternate way to extract small RNAs, which could reduce the dependence on using isolation kits.

Keywords: miRNA, plasma samples, MgCl₂, LiCl, isolation kit.

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP TÁCH CHIẾT RNAs NHỎ TỪ MẪU HUYẾT TƯƠNG

Nguyễn Huỳnh Ngọc Thu¹, ²Nguyễn Thị Ngọc Thanh², Huỳnh Hữu Luân², Nguyễn Thị Huệ^{2*}

¹ Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

² Bộ Môn Sinh lý học - Công nghệ Sinh học Động vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, phương pháp định lượng miRNA đã và đang được nhận được nhiều quan tâm trong chẩn đoán trước và điều trị ung thư. Mặc dù các bộ kit thu mẫu RNA được sử dụng rất phổ biến, chúng tốn nhiều chi phí và gây nhiều hạn chế cho các phòng thí nghiệm quy mô nhỏ. Từ đó, các kỹ thuật khác bao gồm sử dụng Trizol được đề xuất như một giải pháp hữu hiệu để thay thế. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy rằng LiCl trong phương pháp này không thể kết tủa các RNA nhỏ một cách hiệu quả như MgCl₂. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này đặt mục tiêu phát triển và tối ưu hoá phương pháp một cách hiệu quả hơn trong việc tách chiết các RNA nhỏ. Sau khi chọn nồng độ MgCl₂ phù hợp nhất, nghiên cứu thực hiện so sánh giữa việc sử dụng MgCl₂, LiCl và bộ kit thu mẫu. Hiệu năng của các phương pháp được xác thực thông qua kiểm tra chất lượng của các RNA tách chiết bằng cách sử dụng phép đo nồng độ và tỷ lệ hấp thụ A260 / A280. Kết quả cho thấy rằng sự kết tủa của các RNA nhỏ sử dụng hỗn hợp 0,5M MgCl₂ và ethanol mang lại năng suất cao nhất, cao hơn năm lần và mười lần so với LiCl và bộ kit tách chiết. Ngoài ra, so sánh giữa phương pháp mới được phát triển với bộ kit tách chiết cho thấy rằng phương pháp này không chỉ chiếm ưu thế về nồng độ RNA thu được mà còn về mức độ tinh sạch của mẫu. Như vậy, phương pháp trên hứa hẹn sẽ là một cách thay thế hiệu quả để tách chiết các RNA nhỏ, từ đó giảm sự phụ thuộc vào việc sử dụng bộ kit thu mẫu.

Từ khóa: miRNA, plasma samples, MgCl₂, LiCl, isolation kit.

* Author for correspondence: Tel: 0358290046; Email: thu.nglyl@gmail.com