

**O-YD04: NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO ARMORED RNA DÙNG LÀM CHUẨN TRONG ĐỊNH LƯỢNG VIRÚT VIÊM GAN C BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME PCR**

**Nguyễn Thị Lệ Thủy<sup>1\*</sup>, Nguyễn Minh Tuấn<sup>1,2</sup>, Thương Thị Thu Thủy<sup>1</sup>, Phạm Thị Kim Trâm<sup>1</sup>, Nguyễn Hoàng Chương<sup>3</sup>, Nguyễn Đăng Quân<sup>1</sup>, Dương Hoa Xô<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Trung tâm Công nghệ sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Đại học Bách khoa Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup> Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

**TÓM TẮT**

Chứng dương (hay chất chuẩn) là thành phần quan trọng không thể thiếu trong các xét nghiệm sinh học phân tử ứng dụng trong định lượng axit nucleic mục tiêu. Chất chuẩn thường được sử dụng phổ biến nhất là plasmid DNA, cDNA hay RNA trần với đặc tính kém bền và dễ bị phân hủy bởi các enzyme phân cắt acit nucleic tồn tại trong môi trường, vì vậy có thể ảnh hưởng tới độ chính xác của kết quả định lượng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thiết kế và tạo ra chất chuẩn có bản chất là một vùng trình tự RNA của virút viêm gan C (HCV) được đóng gói trong protein vỏ của thực khuẩn thể MS2 dựa theo công nghệ thiết kế Armored RNA. Vùng trình tự không mã hóa 5'UTR của HCV được khuếch đại và tạo dòng vào plasmid BH20. Armored RNA được cảm ứng biểu hiện trong tế bào *E. coli* BL21 (DE3) bằng bổ sung chất cảm ứng IPTG. Armored RNA được thu nhận bằng siêu ly tâm tỷ trọng sucrose, tinh sạch bằng cột sắc kí lọc gel Superdex 75 và được xác định nồng độ, đánh giá sự hình thành cấu trúc virus bằng quan sát dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM). Kết quả đánh giá độ bền khi xử lý với đồng thời hai enzyme DNase và RNase cho thấy Armored RNA duy trì được tính bền và ổn định tốt hơn so với plasmid DNA.

*Từ khóa:* Armored RNA, HCV, real-time PCR.

**PREPARATION OF ARMORED RNA USED AS STANDARD FOR HEPATITIS C VIRUS QUANTIFICATION BY REAL-TIME PCR**

**Nguyen Thi Le Thuy<sup>1\*</sup>, Nguyen Minh Tuan<sup>1,2</sup>, Thuong Thi Thu Thuy<sup>1</sup>, Pham Thi Kim Tram<sup>1</sup>, Nguyen Hoang Chuong<sup>3</sup>, Nguyen Dang Quan<sup>1</sup>, Duong Hoa Xo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

<sup>2</sup> Ho Chi Minh City University of Technology

<sup>3</sup> University of Science, Vietnam national university Ho Chi Minh City

**SUMMARY**

Positive control (or standard) is an indispensable ingredient in molecular biology assays for use in quantification of nucleic acid. The commonly used standard is plasmid DNA, cDNA or naked RNA, which is unstable and easily degraded by nucleases in the surrounding environment, thus might affect the accuracy of quantitative results. In this study, we designed and created a positive-control for hepatitis C virus (HCV) quantification based on Armored RNA technology. The 5'UTR non-encoding sequence of HCV was cloned into the BH20 plasmid. Armored RNA was induced for expression in *E. coli* BL21 (DE3) by addition of IPTG inducer. Armored RNA was collected by sucrose density gradient ultracentrifugation followed by gel filtration chromatography using Superdex 75 column. Control armored RNA was determined the concentration and examined the formation of viral structure by transmission electron microscopy (TEM). Stability assessment of standard sample to treated with DNase and RNase simultaneously showed that Armored RNA maintained better stability over plasmid DNA.

*Keywords:* Armored RNA, HCV, real-time PCR.

\* Author for correspondence: Tel: 0983397430; Email: lenacns2005@gmail.com