

THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

1. Họ và tên nghiên cứu sinh: Ngô Ngọc Trung
2. Giới tính: Nam
3. Ngày sinh: 26/12/1981
4. Nơi sinh: Bắc Ninh
5. Quyết định công nhận nghiên cứu sinh: Số 4860/QĐ-ĐHKHTN ngày 24/11/2014 của Hiệu trưởng Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.
6. Các thay đổi trong quá trình đào tạo: Quyết định gia hạn số 596/QĐ-ĐHKHTN ngày 06/3/2018 và số 4728/QĐ-ĐHKHTN ngày 28/12/2018 của Hiệu trưởng Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội.
7. Tên đề tài luận án: Nghiên cứu phát triển bộ kit phát hiện độc tố ricin dựa trên công nghệ aptamer.
8. Chuyên ngành: Hóa sinh học
9. Mã số: 9420101.16
10. Cán bộ hướng dẫn khoa học: Hướng dẫn chính: PGS.TS. Lê Quang Huân
Hướng dẫn phụ: PGS.TS. Nguyễn Đình Thắng

11. Tóm tắt các kết quả mới của luận án:

11.1 Kết quả nghiên cứu tách chiết và tinh sạch ricin từ hạt Thầu Dầu

- Tách ricin từ hạt Thầu dầu bằng phương pháp sử dụng axit acetic và kết tủa phân đoạn sử dụng muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 60%.

- Tinh sạch ricin qua 02 bước bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion (nhựa DEAE) và sắc ký lọc gel (Sephadex G-100) với độ sạch đạt 98,5%.

11.2 Kết quả sàng lọc aptamer đặc hiệu ricin

- Cải tiến quy trình SELEX bằng cách sử dụng Q sepharose để gắn kết ricin, kết hợp rửa giải bằng DMSO và tăng dần nồng độ Tween 20.

- Sàng lọc được 03 aptamer đặc hiệu độc tố ricin trong đó aptamer Ar5.9 có ái lực cao nhất với ricin, giá trị K_d đạt 0,83 nM.

11.3 Kết quả phát triển phương pháp và xây dựng quy trình sản xuất bộ kit phát hiện ricin dựa trên công nghệ aptamer

- Phát triển phương pháp phát hiện ricin dựa trên kỹ thuật ELAA (tương tự ELISA) với ngưỡng phát hiện: 45,8 ng/ml, giới hạn định lượng: 50,4 ng/ml, độ đặc hiệu, độ nhạy đạt 100%, độ không đảm bảo đo: $\pm 5,81\%$, thời gian ổn định trong 06 tháng.

- Phát triển phương pháp phát hiện ricin dựa trên kỹ thuật real-time PCR với ngưỡng phát hiện: 18,6 ng/ml, giới hạn định lượng: 50,4 ng/ml, độ đặc hiệu, độ nhạy đạt 100%, độ không đảm bảo đo: $\pm 4,71\%$, thời gian ổn định trong 06 tháng.

- Xây dựng quy trình sản xuất các thành phần bộ kit phát hiện ricin dựa trên phương pháp real-time PCR kết hợp aptamer Ar5.9 trong đó có 02 loại vật liệu tự phát triển được là aptamer Ar5.9 và đối chứng dương (ricin tinh sạch).

- Thử nghiệm phân tích ricin trong các loại mẫu nước, kết quả cho thấy bộ kit có độ ổn định cao, có thể ứng dụng được trong các tình huống thực tế. Tuy nhiên, bộ kit bị ảnh hưởng bởi các kim loại nặng, một số ion vô cơ và các chất tẩy rửa tổng hợp.

12. Khả năng ứng dụng thực tiễn: Các kết quả thu được từ luận án cho thấy bộ kit phát hiện ricin dựa trên công nghệ aptamer có thể ứng dụng thực tiễn khi phân tích các mẫu nước (nước sinh hoạt, nước mặt tại các ao hồ, sông, suối và nước ngầm). Đây là cơ sở quan trọng, làm tiền đề sản xuất các sinh phẩm phục vụ quốc phòng, an ninh. Bên cạnh đó, việc ứng dụng các aptamer thay thế kháng thể đơn dòng trong phát hiện các kháng nguyên gây bệnh cũng mở ra một hướng nghiên cứu mới có thể áp dụng với nhiều loại kháng nguyên gây bệnh khác.

13. Các hướng nghiên cứu tiếp theo:

- Tiếp tục nghiên cứu phát hiện ricin trong mẫu lương thực thực phẩm và mẫu đất, hoàn thiện sản phẩm để đưa vào sản xuất.

- Tiếp tục nghiên cứu ứng dụng công nghệ aptamer trong phát hiện các tác nhân sinh học nguy hiểm khác.

14. Các công trình công bố liên quan đến luận án:

[1]. Ngo Ngoc Trung, Nguyen Thi Tho, Bui Thi Thuy Dung, Hoang Thi My Nhung, Nguyen Dinh Thang (2016), “Effects of ricin extracted from seeds of the castor bean (*ricinus communis*) on cytotoxicity and tumorigenesis of melanoma cells”, *Biomedical Research and Therapy* 3(5), pp. 633-644.

[2]. Ngô Ngọc Trung, Lê Quang Huấn (2019), Nghiên cứu phát hiện ricin bằng phương pháp Enzym – Linked Aptamer Assay (ELAA), *Tạp chí nghiên cứu khoa học và công nghệ quân sự* (64), tr. 146-151.

[3]. Ngô Ngọc Trung, Lê Quang Huấn (2019), “Nghiên cứu phát hiện ricin bằng phương pháp real-time PCR sử dụng aptamer đặc hiệu ricin”, *Tạp chí Công nghiệp Hóa chất* (12), tr. 39-45.

Ngày tháng 8 năm 2020

Người hướng dẫn luận án

Nghiên cứu sinh

PGS.TS Lê Quang Huấn

Ngô Ngọc Trung

INFORMATION ON DOCTORAL THESIS

1. Full name: Ngo Ngoc Trung
2. Sex: Male
3. Date of birth: 26/12/1981
4. Place of birth: Bac Ninh
5. Admission decision number: No 4860/QĐ-ĐHKHTN, dated on 24/11/2014 by Rector of VNU University of Science
6. Changes in academic process: Decision No. 596/QĐ-ĐHKHTN date on 06/3/2018 and Decision No. 4728/QĐ-ĐHKHTN date on 28/12/2018
7. Official thesis title: Research and development of a kit to detect ricin toxin based on aptamer technology
8. Major: Biochemistry
9. Code: 9420101.16
10. Supervisors: Assoc.Prof.Dr. Le Quang Huan

Assoc.Prof.Dr. Nguyen Dinh Thang

11. Summary of the new findings of the thesis:

11.1 Results of extraction and purification of ricin from Castor oil seeds

- Succeeded in separating of ricin from castor seeds by dissolving in acetic acid and fractional precipitating in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ solution (60%).
- Succeeded in purifying of ricin (with purity of 98.5%) by using 02 consecutive chromatography methods of ion exchange (DEAE resin) and gel filtration (Sephadex G-100).

11.2 Results of ricin-specific aptamer screening

- Improved the SELEX procedure by using Q sepharose to bind ricin and eluting with DMSO solution in presence of Tween 20 with concentration gradient.
- Succeeded in screening of three ricin-specific aptamers, in which, aptamer Ar5.9 had the highest affinity for ricin with the K_d value of 0.83 nM.

11.3 Development of the method and the protocol for production of ricin detection kit based on aptamer technology

- Succeeded in developing the method for ricin detection based on ELAA technique (similar to ELISA) with detection threshold of 45.8 ng/ml, quantitative limit of 50.4 ng/ml, specificity of 100%, sensitivity of 100%, uncertainty of measurement of $\pm 5.81\%$, and time stability of 06 months.
- Succeeded in developing the method for ricin detection based on real-time PCR technique with detection threshold of 18.6 ng/ml, quantitative limit of 50.4 ng/ml, specificity of 100%, sensitivity of 100%, uncertainty of measurement of $\pm 4.71\%$, and time stability of 06 months.

- Succeeded in building the protocol for producing of components (aptamer Ar5.9 and purified ricin as positive control) of the ricin detection kit by using a combination of real-time PCR and aptamer techniques.

- This kit was stable and could be used for testing the presence of ricin in water samples. However, it was revealed that the kit had been affected by heavy metals, some inorganic ions and synthetic detergents.

12. Practical applicability: The results obtained from the thesis showed that the ricin detection kit based on aptamer technology can be applied for quick monitoring of ricin in water samples (domestic water, surface water in lakes, rivers, streams and underground water). This may be an important basis for production of biological products served in national defense and security. In addition, the application of aptamers to replace monoclonal antibodies in the detection of pathogenic antigens also opens up a new research direction that can be applied to many other types of disease antigens.

13. Further research directions, if any:

- Continuing research to detect ricin in food samples and soil samples, perfecting products for production.

- Continuing research and application of aptamer technology to detect other dangerous biological agents.

14. Thesis-related publications:

[1]. Ngo Ngoc Trung, Nguyen Thi Tho, Bui Thi Thuy Dung, Hoang Thi My Nhung, Nguyen Dinh Thang (2016), “Effects of ricin extracted from seeds of the castor bean (*ricinus communis*) on cytotoxicity and tumorigenesis of melanoma cells”, *Biomedical Research and Therapy* 3(5), pp. 633-644.

[2] Ngo Ngoc Trung, Le Quang Huan (2019), “Research on ricin detection by Enzyme method - Linked Aptamer Assay (ELAA)”, *Journal of military science and technology* 64, pp. 146-151.

[3] Ngo Ngoc Trung, Le Quang Huan (2019), “Research to detect ricin by real-time PCR using aptin-specific aptamer”, *Journal of Chemical Industry* 12, pp. 39-45.

Date: 28/8/2020

Supervisor

PhD Student

Assoc.Prof.Dr Le Quang Huan

Ngo Ngoc Trung