

- điểm mới về chẩn đoán và điều trị viêm mũi xoang", Tạp chí Y học Việt Nam, Tập 1, tr.90-93.
3. **Nguyễn Văn Hòa** (2016), "Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, vi khuẩn trong viêm mũi xoang mạn tính nhiễm khuẩn người lớn tại Bệnh viện tai mũi họng Trung Ương", Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
 4. **Bùi Thế Hưng, Trần Minh Trường** (2019), "Tình hình nhiễm khuẩn và đề kháng kháng sinh trong bệnh lý viêm xoang mạn tính có chỉ định phẫu thuật tại Bệnh viện Chợ Rẫy", Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, Tập 3, tr. 52-57.
 5. **Trịnh Thị Hồng Loan** (2003), "Viêm mũi xoang mạn tính và hiện tượng kháng kháng sinh hiện nay", Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ Đa khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
 6. **Chan J, H.J.** (2001), "The microbiology of chronic rhinosinusitis: results of a community surveillance study, Ear, Nose, and Throat Journal", pp. 143-145.
 7. **Fokkens, W. J., et al.** (2020), "Executive summary of EPOS 2020 including integrated care pathways", Rhinology. 58(2), pp. 82-111.
 8. **Pleis, J. R., Lucas, J. W., and Ward, B. W.** (2009), "Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey, 2008", Vital Health Stat 10(242), pp. 1-157.
 9. **Potter, G. D.** (1981), "Sinus anatomy and pathology", Bull N Y Acad Med. 57(7), pp. 591-604.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH BIỂU HIỆN ENZYM TÁI TỔ HỢP BR512, ỨNG DỤNG PHÁT HIỆN HUMAN PAPILOMAVIRUS TYPE 18 BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHUẾCH ĐẠI ĐẲNG NHIỆT

Đinh Thị Thảo¹, Nguyễn Cẩm Thạch¹, Nguyễn Phú Thành¹,
Ngô Tất Trung¹, Lê Hữu Song¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng quy trình biểu hiện enzym tái tổ hợp Br512 và ứng dụng phát hiện Human Papillomavirus type 18 bằng phương pháp khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp (LAMP). **Vật liệu và phương pháp:** Plasmid pKAR2-Br512 mã hoá enzyme BR512 được biến nạp vào tế bào E.coli BL21(DE3). Enzyme Br512 từ đó được biểu hiện bằng chất cảm ứng đặc hiệu (IPTG) sau đó được tinh sạch bằng phương pháp sắc ký ái lực. Đánh giá đặc tính của enzyme Br512 tự sản xuất, so sánh với enzyme Bst 2.0 (Biolab NewEngland) sử dụng phương pháp LAMP. **Kết quả:** Enzym Br512 có độ tinh sạch cao, có đầy đủ chức năng so với enzym thương mại Bst 2.0 của hãng New England Biolab, cả 2 enzym có khả năng phát hiện HPV18 ở nồng độ 10 bản sao/phần ứng. **Kết luận:** Xây dựng thành công quy trình biểu hiện enzym tái tổ hợp Br512, ứng dụng phát hiện HPV18 ở nồng độ 10 bản sao/phần ứng bằng phương pháp khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp.

Từ khoá: enzyme Br512, khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp, Human Papillomavirus type 18

SUMMARY

ESTABLISHING PROTOCOL OF EXPRESSION OF RECOMBINANT BR512 ENZYME AND ITS APPLICATION FOR THE DIAGNOSTICS OF HUMAN PAPILOMAVIRUS TYPE 18 USING LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION

¹Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Chịu trách nhiệm chính:

Email:

Ngày nhận bài: 11.4.2023

Ngày phản biện khoa học: 23.5.2023

Ngày duyệt bài: 19.6.2023

Objective: Establishing protocol to produce recombinant Br512 enzyme and investigate its capability in LAMP assay to detect Human Papillomavirus type 18 (HPV18). **Material and method:** E. coli BL21(DE3) cells was transformed with pKAR2-Br512 encoding plasmid then induced with specific inducer (IPTG); the expressed Br512 enzyme was purified by affinity chromatography; its enzymatic activity was evaluated and compared with commercial Bst 2.0 polymerase (Biolab NewEngland) for identifying HPV18 based on LAMP technique. **Result:** The in-house Br512 enzyme was highly pure enough and retains its LAMP activity in comparable with that of Bst 2.0 from New England Biolab; both products could sense HPV18 at 10 copies/reaction and with clear signals. **Conclusion:** The recombinant Br512 enzyme was in house produced successfully with relevant enzymatic activity for LAMP based assay to detect HPV18 at 10 copies/ reaction.

Keywords: Br512 polymerase, Loop-mediated Isothermal Amplification, Human Papillomavirus type 18

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Công nghệ khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp (Loop-mediated Isothermal Amplification - LAMP) là phương pháp khuếch đại các phân tử DNA đơn giản, hiệu quả được phát triển bởi Notomi và cộng sự vào năm 2000 [1]. Phương pháp này có thể thực hiện ở điều kiện nhiệt độ hằng định nhờ khả năng tự tách mạch đôi DNA và tổng hợp DNA của các enzyme Bst DNA polymerase. Phản ứng LAMP có thể tạo ra 10⁶ -10⁹ bản sao DNA trong thời gian từ 30 đến 60 phút ở điều kiện đẳng nhiệt trong khoảng 60°C đến 65°C. Do đó đây là phương pháp tổng hợp DNA tiềm năng ứng dụng chẩn đoán phát

hiện mầm bệnh tại những nơi có điều kiện xét nghiệm còn hạn chế [2].

Hiện nay đã có nhiều loại enzyme thương mại có thể khuếch đại các phân tử axit nucleic trong các điều kiện hằng nhiệt, như wild-type Bst DNA Pol, Bst large fragment, OmniAmp, Bsm, Bst 2.0, Bst 3.0 tuy nhiên giá thành các enzyme này còn cao [3, 4]. Gần đây, enzyme Br512 được phát triển thành công bởi nhóm tác giả Andrew D. Ellington bằng cách thêm đuôi HP47 và nhóm amino tận cùng của phân đoạn lớn của phân tử Bst-LF, tạo ra protein có hoạt tính enzyme mạnh mẽ, chính xác, vừa có hoạt tính tổng hợp DNA vừa có hoạt tính phiên mã ngược.

Chính vì vậy chúng tôi xây dựng quy trình biểu hiện và tinh sạch enzyme Br512 và đánh giá hoạt tính của enzyme, ứng dụng trong chẩn đoán virus HPV type 18.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu. Chuẩn dương RNA SARS-CoV-2 được Công ty Sao Thái Dương gửi tặng nhóm nghiên cứu. Plasmid pKAR2-Br512, chứa cấu trúc biểu hiện enzyme Br512, được mua từ Addgene (USA). Tế bào E. coli BL21(DE3) từ Labo Trung tâm Nghiên cứu Y học Việt – Đức, Bệnh viện TWQĐ 108.

Tất cả các hóa chất được mua từ Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), các enzym thương mại và dung dịch đệm liên quan đều được mua từ New England Biolabs (NEB, Ipswich, MA, USA) và bộ môi dùng trong phản ứng LAMP được mua từ Integrated DNA Technologies (IDT, Coralville, IA, USA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Quy trình biểu hiện, tinh sạch enzyme

Br512. Plasmid pKAR2-Br512 (Addgene, USA), mang trình tự gen mã hóa protein Br512 được biến nạp vào tế bào E. coli BL21(DE3). Khuẩn lạc được nuôi trong 10 mL môi trường LB (1% peptone, 1% NaCl, 0.5% cao nấm men) có bổ sung ampicillin qua đêm ở 37°C lắc 140 vòng/phút. Sau đó, 1 mL dịch nuôi được thêm vào thành 100 mL môi trường LB có bổ sung ampicillin, nuôi ở 37°C, lắc 140 vòng/phút cho đến khi OD600 đạt 0.6 – 0.8. Khảo sát tình trạng cảm ứng của tế bào biểu hiện enzyme Br512 bằng IPTG ở các nồng độ 0.5 – 1 – 2 mM ở 16°C hoặc 37°C trong 16 – 18h (qua đêm) lắc 140 vòng/phút. Sinh khối được thu bằng cách ly tâm 6000 x g trong 5 phút ở 4°C. Tiếp đó, sinh khối được hòa tan trong đệm ly giải lạnh (50 mM Phosphate Buffer, pH 7.5, 300 mM NaCl, 20 mM imidazole, 0.1% Igepal CO-630, 5 mM MgSO₄, 1

mg/mL DTT) bổ sung PMSF 1 mM. Sinh khối được siêu âm theo chương trình 10N-40FF, Amplitude 40% trong 4 phút ở trên đá. Dịch ly giải được ly tâm 10000 x g trong 20 phút tại 4°C. Dịch nổi được chuyển vào ống eppendorf sạch.

Protein thu được trong dịch ly giải được tinh sạch theo phương pháp ái lực ion bằng Ni-NTA Resin (Thermo Scientific, USA). Nhựa Ni-NTA được chuyển vào ống eppendorf, sau đó ly tâm 700 x g trong 2 phút, loại bỏ dịch nổi. Nhựa Ni-NTA được cân bằng bởi đệm cân bằng (50 mM Phosphate Buffer, pH 7.5, 300 mM NaCl, 10 mM imidazole), ly tâm 700 x g trong 2 phút, loại bỏ đệm. Mẫu được chuẩn bị bằng cách thêm 1:1 v/v đệm cân bằng. Sau đó, hỗn hợp được thêm vào ống chứa nhựa Ni-NTA, ủ lắc trên đá trong 30 phút. Hạt nhựa sau đó được rửa với tỷ lệ 2:1 v/v đệm rửa (50 mM Phosphate Buffer, pH 7.5, 300 mM NaCl, 50 mM imidazole), ly tâm 700 x g trong 2 phút. Nồng độ Imidazole dùng để rửa giải được khảo sát ở các nồng độ khác nhau 150-250-300 mM. Rửa giải protein với 150 µL đệm rửa giải (50 mM Phosphate Buffer, pH 7.5, 300 mM NaCl, 250 mM imidazole) bằng cách ly tâm 700 x g trong 2 phút.

Protein thu được sau rửa giải được kiểm tra bằng đo OD ở bước sóng 280 nm và điện di SDS-PAGE; thử hoạt tính trên phản ứng LAMP phát hiện HPV18.

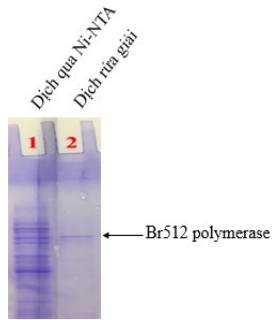
***Phản ứng LAMP phát hiện HPV18.** Phản ứng LAMP sử dụng Br512 pol trong thể tích hỗn hợp 25 µl bao gồm 2.5 µl buffer (20 mM Tris-HCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 150 mM KCl, 2 mM MgSO₄, 0.1% Tween 20, pH 8.8 at 25°C), 2.5 µl deoxynucleoside triphosphates (dNTPs) (10 mM; New England Biolabs, Ipswich, MA), 3 µl in-house Br512 polymerase, 1 µl of mỗi môi (F3 and B3, 5 pmol/l; BIP and FIP, 40 pmol/l; and LF and LB, 20 pmol/l) and 2 µl DNA (HPV18 plasmid). Hỗn hợp phản ứng được ủ ở 92°C trong 5 phút, sau đó hạ nhiệt độ xuống 63°C trong 70 phút.

Phản ứng LAMP sử dụng Bst 2.0 pol với tổng thể tích 25 µl bao gồm 2.5 µl isothermal amplification II buffer (NEB), 2.5 µl deoxynucleoside triphosphates (dNTPs) (10 mM; New England Biolabs, Ipswich, MA), 0.5 µl Bst 2.0 pol (NEB), 1 µl of mỗi loại môi (F3 and B3, 5 pmol/l; BIP and FIP, 40 pmol/l; and LF and LB, 20 pmol/l), 0.5M Betaine and 2 µl DNA (HPV18 plasmid). Hỗn hợp ủ ở nhiệt độ 65°C trong 60 phút.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Biểu hiện và tinh sạch enzyme

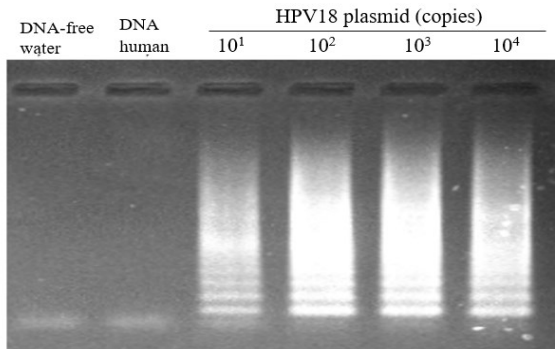
Br512. Nhóm nghiên cứu tiến hành khảo sát quá trình biểu hiện enzym Br512 trên ba yếu tố là nhiệt độ, nồng độ chất cảm ứng và thời gian cảm ứng. Br512 được khảo sát biểu hiện ở 2 nhiệt độ 12, 15 và 18°C, chất cảm ứng IPTG được khảo sát ở 3 nồng độ 0.5 – 1 – 2mM, và khoảng thời gian biểu hiện được đánh giá từ 18 – 20 – 22 giờ. Trong các điều kiện đã được thử nghiệm, điều kiện tốt nhất cho sinh tổng hợp protein tái tổ hợp là ở 15°C, cảm ứng với 1 mM IPTG và thời gian tối ưu là 18 giờ.



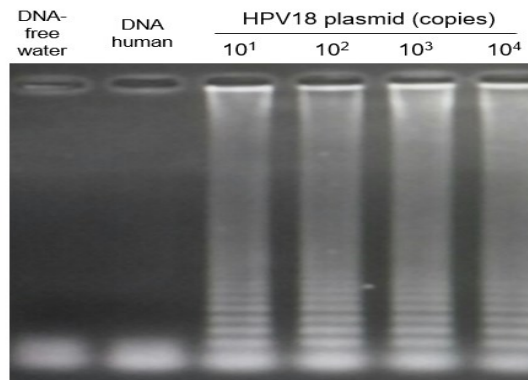
Hình 1. Điện di SDS-PAGE Br512 polymerase

Enzym Br512 tự sản xuất được điện di SDS-PAGE kiểm tra kích thước, độ tinh sạch. Kết quả phân tích SDS-PAGE (hình 01) cho thấy chỉ có một vạch protein duy nhất ở giếng trong dịch rửa giải, điều này chứng tỏ enzyme Br512 thu nhận được có độ tinh sạch cao, không tạp nhiễm các protein của vi khuẩn.

3.2. Đánh giá hoạt tính và sự ổn định của enzyme Br512. Phản ứng LAMP sử dụng enzyme Bst 2.0 và Br512 có thể phát hiện virus HPV type 18 ở nồng độ 10 bản sao sau 60 phút và 70 phút và không có tín hiệu dương tính giả (hình 2 và 3). Nhóm nghiên cứu tiến hành đánh giá độ ổn định của enzyme Br512 trong các khoảng thời gian 1, 2 và 3 tháng. Kết quả ghi nhận enzyme duy trì hoạt tính ổn định sau 3 tháng.



Hình 2. Độ nhạy của phản ứng LAMP sử dụng Br512 phát hiện HPV 18



Hình 3. Độ nhạy LAMP sử dụng Bst 2.0 phát hiện HPV 18

IV. BÀN LUẬN

Các xét nghiệm như PCR, realtime PCR có ưu điểm là có độ nhạy cao cho phép phát hiện mầm bệnh nhanh chóng nhưng có một số hạn chế như giá thành cao, cần có các máy móc thiết bị xét nghiệm phức tạp nên khó triển khai tại những nơi điều kiện kinh tế khó khăn. Gần đây, công nghệ khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp LAMP ra đời là phương pháp xét nghiệm mới phù hợp, khả thi triển khai tại những khu vực kém phát triển, mà không cần các thiết bị xét nghiệm phức tạp, đắt tiền. Tuy nhiên các enzyme thương mại dùng trong công nghệ LAMP giá thành cao và không sẵn có tại thị trường Việt Nam. Do đó, việc sản xuất enzyme Bst dùng trong công nghệ LAMP giúp chủ động nguồn hoá chất xét nghiệm và giảm giá thành xét nghiệm xuống. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành biểu hiện và tinh sạch enzyme Br512, đồng thời đánh giá hoạt tính của enzyme trên mô hình phát hiện virus HPV type 18.

Hiệu suất và độ tinh sạch của protein thu được phụ thuộc mức độ biểu hiện protein, cấu trúc và đặc điểm hoà tan của protein tái tổ hợp, do đó việc tối ưu các yếu tố ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện và độ hoà tan của protein là rất quan trọng [5]. Có nhiều tình huống có thể xảy ra khi biểu hiện protein trong tế bào E.coli, có thể là không tổng hợp protein, mức độ biểu hiện thấp, hình thành cấu trúc khó hoà tan, tạo ra các phân tử protein không có hoạt tính [5]. Để khắc phục các tình huống đó cần quan tâm tối ưu các điều kiện nhằm cải thiện độ hoà tan, mức độ biểu hiện của protein trong E.coli. Môi trường nuôi tế bào có ảnh hưởng quan trọng đến mức độ tổng hợp của protein và các yếu tố ảnh hưởng đến độ hoà tan của enzyme bao gồm thời gian cảm ứng, nhiệt độ nuôi cấy, nồng độ chất cảm ứng và buffer ly giải [6].

Các pha tăng trưởng của môi trường nuôi tế bào và thời điểm cảm ứng cũng đóng vai trò đáng kể ảnh hưởng đến sự hình thành cấu trúc và sự hoà tan của protein. Thời điểm cảm ứng thường thực hiện tại pha tăng trưởng sớm có báo cáo thực hiện ở pha muộn hoặc thậm chí ở pha tĩnh. Ở thời điểm khi mật độ tế bào cao hơn, hoạt động trao đổi chất của tế bào giảm do một số yếu tố như nồng độ chất dinh dưỡng ít hơn, tăng sản xuất acetate, ít lượng oxy hoà tan hơn, nồng độ carbon dioxide cao, do đó làm giảm biểu hiện của gen tái tổ hợp [6]. Vì mật độ tế bào trước khi cảm ứng có thể là yếu tố quan trọng đối với sự biểu hiện hoà tan của protein tái tổ hợp nên trong nghiên cứu này, thời gian cảm ứng được khảo sát tại thời điểm dung dịch môi trường nuôi cấy đo OD 600 có giá trị lần lượt là 0,4-0,6-0,8-1,0. Theo quan sát của chúng tôi, OD600 trong khoảng từ 0,4 đến 0,6 là thời điểm tối ưu để bắt đầu quy trình cảm ứng.

Hai trong số các yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến sự biểu hiện và/hoặc độ hoà tan của protein là nhiệt độ sau cảm ứng và thời gian cảm ứng. Thông thường, có thể tránh được sự hình thành thể vùi bằng cách giảm tốc độ tổng hợp protein do giảm nhiệt độ sau cảm ứng. Chiến lược này đã được chứng minh là có hiệu quả đối với một số protein khó. Ngược lại, nhiệt độ cao có thể thúc đẩy sự phát triển của tế bào, nhưng lại gây bất lợi cho sự biểu hiện protein vì tốc độ tăng trưởng cao hơn sẽ dẫn đến khả năng mất plasmid cao hơn và không phân biệt biểu hiện gen tái tổ hợp, đặc biệt đối với sự biểu hiện của tế bào mang plasmid [5]. Hơn nữa, sự biểu hiện của protein tái tổ hợp gây ra gánh nặng trao đổi chất cho vật chủ và có sự tích tụ protein đích trong các phân tử không hoà tan. Phản ứng tổng hợp nói chung được ưu tiên ở nhiệt độ cao hơn, do sự phụ thuộc mạnh mẽ vào nhiệt độ của các tương tác kỵ nước [6]. Ở vi khuẩn có một số protein được hưởng lợi rất nhiều từ quá trình cảm ứng chậm hơn, lâu hơn, thường đòi hỏi nhiệt độ thấp. Nếu protein quan tâm tập hợp dễ dàng và không thể biểu hiện quá mức trong một khung thời gian ngắn thì việc hạ nhiệt độ là điều cần thiết [5, 6]. Do đó, sự kết hợp tối ưu giữa nhiệt độ sau cảm ứng và thời gian cảm ứng được đánh giá ở 12 °C trong 22 giờ, 15 °C trong 20 giờ và 18 °C trong 18 giờ. Chúng tôi thấy rằng việc tạo ra Br512 ở 15 °C trong 20 giờ là lý tưởng để tối đa hoá sản lượng protein.

Ảnh hưởng của chất cảm ứng trong việc hình thành các thể vùi thường liên quan với hệ thống khởi động quá trình cảm ứng. Nồng độ chất cảm

ứng thấp có thể dẫn đến cảm ứng không hiệu quả, trong khi nồng độ chất cảm ứng quá cao có thể dẫn đến tác dụng độc hại, như giảm sự phát triển của tế bào hoặc giảm lượng protein tái tổ hợp được tạo ra [6]. Nồng độ chất cảm ứng cao hơn cũng có thể dẫn đến sự tích tụ protein tái tổ hợp hình thành các thể vùi do tốc độ tổng hợp protein quá nhanh khiến cho các phân tử protein không kịp hoàn thiện cấu trúc và chức năng [6]. Do đó nồng độ chất cảm ứng nên được tối ưu hoá để biểu hiện protein tái tổ hợp hiệu quả. Chúng tôi thấy rằng nồng độ IPTG trong khoảng từ 0,5 đến 1 mM không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của E.coli hay nồng độ tế bào trong môi trường nuôi cấy.

Tuy nhiên sự thay đổi các điều kiện không phải lúc nào cũng giải quyết được vấn đề hình thành các thể vùi và giảm độ hoà tan của protein. Một hướng giải quyết khác là các nhóm nghiên cứu gắn thêm đuôi dung hợp để tăng cường khả năng hoà tan của các protein được biểu hiện, đồng thời thúc đẩy sự hình thành cấu trúc không gian của protein tốt hơn [6]. Do sử dụng các đuôi dung hợp nên cần tối ưu hoá nồng độ imidazole trong dung dịch đệm cân bằng (buffer) nhằm tối đa hoá sản lượng protein thu được. Nồng độ imidazole 10-25 mM trong dung dịch cân bằng, đệm rửa và imidazole 250 mM trong dung dịch đệm rửa giải có hiệu quả đối với nhiều loại protein [7]; tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi, 50 mM imidazole trong dung dịch đệm rửa và 250 mM imidazole trong dung dịch đệm rửa giải là tối ưu để đạt được năng suất và độ tinh khiết của protein.

Để đánh giá hoạt tính của enzyme Br512, chúng tôi đã tiến hành các phản ứng LAMP phát hiện HPV18 sử dụng Br512 và so sánh kết quả với enzyme thương mại Bst2.0. Kết quả thu được thể hiện trong hình 2 và 3 cho thấy enzyme Br512 có đầy đủ hoạt tính và tính chính xác, cho phép phát hiện HPV18 ở nồng độ 10 bản sao/phản ứng. Bên cạnh đó, chúng tôi đánh giá độ ổn định của enzyme Br512 sau 1, 2 và 3 tháng. Với việc sử dụng 50% glycerol và bảo quản lạnh ở nhiệt độ - 20 °C, giúp cho enzyme Br512 duy trì hoạt tính chính xác trong 3 tháng đánh giá. Tuy vậy, nghiên cứu của chúng tôi vẫn còn một số hạn chế như cần đánh giá hoạt tính phiên mã ngược của enzyme Br512, đánh giá hoạt tính enzyme trên mẫu bệnh phẩm lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã sản xuất thành công enzyme Br512 ứng dụng cho phản ứng khuếch đại đẳng

nhệt LAMP phát hiện HPV18 với độ nhạy và độ chính xác rất cao tương tự như sử dụng enzyme thương mại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Notomi, T., et al.,** (2000), "Loop-mediated isothermal amplification of DNA" *Nucleic acids research*, 28(12): p. E63-E63.
2. **Becherer, L., et al.,** (2020), "Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) – review and classification of methods for sequence-specific detection". *Analytical Methods*, 12(6): p. 717-746.
3. **Chander, Y., et al.,** (2014), "A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification (LAMP)". *Front Microbiol*, 5: p. 395.
4. **Oscorbin, I.P., U.A. Boyarskikh, and M.L. Filipenko,** (2015), "Large Fragment of DNA Polymerase I from *Geobacillus* sp. 777: Cloning and Comparison with DNA Polymerases I in Practical Applications". *Mol Biotechnol*, 57(10): p. 947-59.
5. **Rosano, G.L. and E.A. Ceccarelli,** (2014), "Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges". *Front Microbiol*, 5: p. 172.
6. **Kaur, J., A. Kumar, and J. Kaur,** (2018), "Strategies for optimization of heterologous protein expression in *E. coli*: Roadblocks and reinforcements". *Int J Biol Macromol*, 106: p. 803-822.
7. **Scientific, T.,** (2021), "HisPur_NiNTA_Resin Instruction".
8. **Timasheff, K.G.a.S.N.,** (1981), "Mechanism of Protein Stabilization by Glycerol: Preferential Hydration in Glycerol-Water Mixtures", *Biochemistry*, 20: p. 4667-4676
9. **Vagenende, V., M.G. Yap, and B.L. Trout,** (2009), "Mechanisms of protein stabilization and prevention of protein aggregation by glycerol", *Biochemistry*, 48(46): p. 11084-96.
10. **Maranhao, A., et al.,** (2020), "An improved and readily available version of Bst DNA Polymerase for LAMP, and applications to COVID-19 diagnostics." medRxiv.

THỰC TRẠNG HỌC TỪ VỰNG TIẾNG ANH CỦA SINH VIÊN TRƯỜNG ĐẠI HỌC KỸ THUẬT Y TẾ HẢI DƯƠNG

Diêm Thị Hảo Tâm¹, Trần Thị Xuân¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã mô tả thực trạng học từ vựng Tiếng Anh của sinh viên trường Đại học Kỹ thuật Hải Dương với phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang. Đối tượng nghiên cứu 261 sinh viên học học phần tiếng Anh 1; 36 sinh viên đang học trong một lớp Anh 1 để tiến hành phương pháp thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu: 11.1% là thường sử dụng từ điển trong quá trình học tiếng Anh; 38.3% sinh viên hiếm khi sử dụng từ điển song ngữ hay đơn ngữ; 27.2% sinh viên có sử dụng đôi lần; 23% sinh viên chưa bao giờ sử dụng từ điển; 32% sinh viên thường xuyên áp dụng việc đoán nghĩa từ vựng qua các ngữ cảnh cụ thể và 3.8% luôn thực hiện đoán nghĩa từ; 38.3% sinh viên thỉnh thoảng, 20.7% sinh viên không bao giờ và 5.2% chưa bao giờ biết đến phương pháp học đoán từ trong cấu trúc câu và ngữ cảnh. 39.8% sinh viên thỉnh thoảng biết xếp loại từ vựng theo từ loại và chủ đề, có tới 8% sinh viên chưa bao giờ áp dụng phương pháp này.

Từ khóa: sinh viên, từ vựng, từ vựng Tiếng Anh

SUMMARY

STUDENTS' STATUS OF LEARNING ENGLISH VOCABULARY HAI DUONG MEDICAL ECHNOLOGY UNIVERSITY

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương
Chịu trách nhiệm chính: Diêm Thị Hảo Tâm
Email: tamkim193@gmail.com
Ngày nhận bài: 12.4.2023
Ngày phản biện khoa học: 24.5.2023
Ngày duyệt bài: 20.6.2023

This cross-sectional descriptive research indicates the situation of learning vocabulary of the students at Haiduong Medical Technical University. 261 students studying English module 1 were chosen as the subjects for the survey. A class of 36 students in English module 1 was carried out as the experimental method. The result shows that while learning English, 11% of the students usually use dictionary, 27.2 % sometimes, 38% rarely and 23% never use bilingual and monolingual dictionaries; in addition, 3.8% usually, 38.3% sometimes, 20.7% never try to guess the meanings of vocabulary based on structures and contexts. Vocabulary classification according to topics is considered one of the learning methods, however, only 39.8% of the students occasionally apply this method and as many as 8% have never known it.

Keywords: students. Vocabulary, English vocabulary.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ vựng là một trong những lĩnh vực kiến thức về ngôn ngữ, từ vựng đóng vai trò quan trọng cho người học trong việc tiếp thu ngôn ngữ. Kiến thức từ vựng Tiếng Anh thường được xem là một công cụ quan trọng đối với người học ngôn ngữ thứ hai. Vì vốn từ vựng hạn chế, sẽ cản trở giao tiếp thành công; chúng ta sẽ không thể sử dụng các cấu trúc và chức năng mà chúng ta có thể đã học để giao tiếp dễ hiểu. Ngoài các vấn đề liên quan đến các kỹ năng nghe, nói hay đọc thì từ vựng tiếng Anh còn giúp phát triển não bộ ở khả năng viết nhanh chóng, đúng ngữ