

THIẾT LẬP QUY TRÌNH PCR-RFLP XÁC ĐỊNH KIỂU GEN VI RÚT BK PHÂN LẬP TỪ BỆNH NHÂN GHEP THẬN

ĐINH THỊ THU HẰNG ⁽¹⁾, NGUYỄN THU TRANG ^(1,2), HOÀNG XUÂN SỬ ⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép thận được công nhận là một tiến bộ đáng kể của y học hiện đại và được xem là phương pháp điều trị thay thế hiệu quả cho những bệnh nhân suy thận mạn tính giai đoạn cuối. Điều này sẽ mang lại kết quả điều trị tích cực và kinh tế nhất cũng như sự cải thiện về chất lượng sống cho bệnh nhân so với chạy thận nhân tạo. Việc theo dõi điều trị bệnh nhân sau ghép thận đóng vai trò rất quan trọng trong duy trì chức năng thận ghép, giảm thiểu tối đa nguy cơ mất mô ghép hay suy chức năng thận ghép [1].

BK polyomavirus (BKV) là vi rút cơ hội phổ biến trong cộng đồng, lây nhiễm cho trẻ em thời thơ ấu qua đường hô hấp hoặc phân-miệng, có khả năng gây bệnh ít hoặc không triệu chứng và tồn tại ở trạng thái tiềm ẩn. Ở bệnh nhân ghép thận, việc sử dụng thuốc ức chế miễn dịch kéo dài là điều kiện thuận lợi cho BKV có thể dễ dàng tái hoạt động dẫn đến rối loạn chức năng thận ghép, có thể khiến cơ thể không nhận cấy ghép [1]. BKV có kích thước nhỏ, xấp xỉ 40-45 nm, dạng hình tròn hoặc hình cầu, không có vỏ ngoài được bao bởi capsid hình nhị thập diện gồm 72 capsomer pentameric [2]. Cấu trúc BKV bao gồm ba protein capsid VP1, VP2, VP3, và hệ gen là phân tử DNA sợi kép dạng vòng khép kín liên kết với các histon [3]. Hệ gen BKV-DNA có kích thước khoảng 5,1 kb, được phiên mã hai chiều, về mặt chức năng được chia thành ba vùng: kiểm soát sớm, kiểm soát muộn và kiểm soát không mã hóa. Trong đó, vùng kiểm soát muộn được tập trung nhiều trong nghiên cứu phân tử vi rút, đây là vùng mã hóa ba protein cấu trúc là capsid với VP1 là protein cấu trúc chính, chiếm xấp xỉ 80% toàn bộ protein vỏ. Sự đa dạng di truyền trong gen mã hóa protein VP1 cũng là căn cứ để phân loại các kiểu gen của BKV. BKV có bốn kiểu gen chính: I, II, III, IV, trong đó kiểu gen I là phổ biến nhất với tỷ lệ 80% và kiểu gen IV khoảng 15% [4]. Hai kiểu gen còn lại là II và III hiếm gặp hơn, được công bố ở một số quốc gia trên thế giới như Anh, Nhật Bản.

Việc xác định kiểu gen BKV giúp cung cấp những đặc điểm di truyền phân tử BKV có giá trị trong việc phát hiện nguồn gốc phát sinh, góp phần giám sát BKV, dự báo mối liên quan tiềm tàng giữa diễn biến gây bệnh của BKV và tiến triển của BKVN (BKV-associated Nephropathy, bệnh thận do BKV) ở bệnh nhân ghép thận. Hiện nay, việc xác định kiểu gen thường được thực hiện thông qua giải trình tự và xây dựng cây chủng loại phát sinh. Tuy nhiên vẫn cần thiết phải xây dựng quy trình xác định kiểu gen tối ưu khi rút ngắn thời gian với giá thành cạnh tranh mà vẫn bảo đảm độ tin cậy, độ chính xác cao. Vì vậy, chúng tôi thực hiện công trình này với mục tiêu thiết lập được quy trình PCR- RFLP xác định kiểu gen của các chủng BKV phân lập từ bệnh nhân ghép thận.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu bệnh phẩm gồm 30 mẫu nước tiểu dương tính BKV-DNA từ bệnh nhân đang theo dõi điều trị sau ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y được xét nghiệm định lượng BKV-DNA bằng kỹ thuật real-time PCR theo quy trình của Học viện Quân y với vùng gen đích *VPI* [12].

Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp thực nghiệm mô tả và phân tích trong phòng thí nghiệm, sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử, với các thiết bị thuộc Phòng Vi sinh và các mầm bệnh sinh học, Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y.

2.2. PCR khuếch đại và tinh sạch sản phẩm PCR của đoạn gen *VPI*

Mẫu nước tiểu thu thập trong ống falcon 50, ly tâm 3200 vòng/ phút trong 30 phút, thu cặn được sử dụng để tách chiết DNA tổng số theo quy trình bộ kit GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit. Vùng gen *VPI* của BKV được khuếch đại PCR sử dụng cặp mồi BK₋(S+AS) có trình tự BK₋S: 5'-ATCAAAGAACTGCTCCTCAAT-3' và BK₋AS: 5'-GCACTCCCTGCATTTCCAAGGG-3' tương ứng với vị trí nucleotide 1361-1381 và 1919-1940 (chủng Dunlop, mã số: V01108.1) cho sản phẩm có kích thước theo tính toán lý thuyết là 580 bp. Thành phần phản ứng PCR bao gồm: 1X GoTaq Master Mix (Promega- Mỹ); 0,1 μ M mồi xuôi, mồi ngược mỗi loại, 5 μ l DNA khuôn, nước khử ion vừa đủ thể tích 25 μ l. Quá trình khuếch đại được thực hiện trên máy PCR Eppendorf Mastercycler proS (Đức) với chu trình: (95°C/ 7 phút, (95°C/ 45 giây; 58°C/ 45 giây; 72°C/ 45 giây)x40, (72°C trong 7 phút).

Các sản phẩm PCR đúng kích thước theo tính toán lý thuyết được tinh sạch sử dụng bộ GeneJET PCR Purification Kit hoặc GeneJET Gel Extraction Kit. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1,2% trong đệm TBE 0,5X, điều kiện 110V/60 phút, nhuộm ethidium bromua, chụp ảnh và lưu kết quả trên máy UVP Eppendorf.

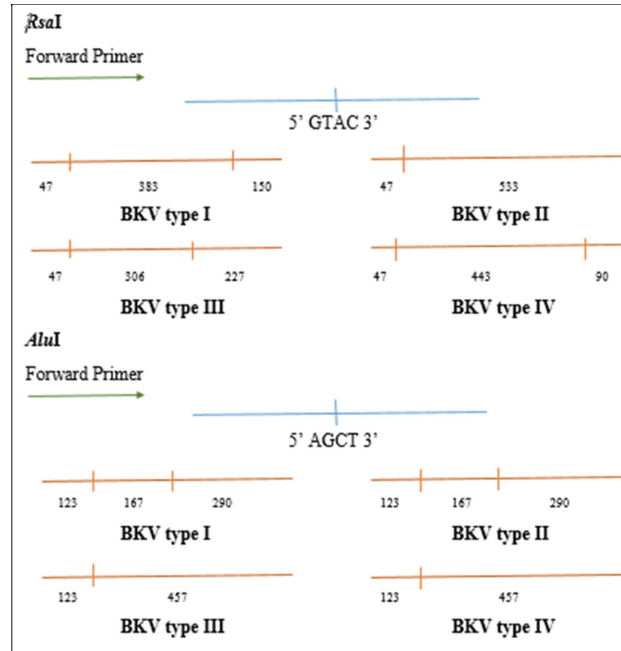
2.3. Thiết lập phản ứng PCR - RFLP định type BKV

Sản phẩm PCR đoạn gen *VPI* với cặp mồi BK₋(S+AS) sau khi tinh sạch được xác định kiểu gen bằng enzym giới hạn là *RsaI* và *AluI*. Thành phần phản ứng cắt bằng enzym giới hạn như sau: 1X Buffer (Thermo Scientific- Mỹ); 1 μ l enzym giới hạn mỗi loại, 1 μ l DNA sản phẩm tinh sạch, nước khử ion vừa đủ thể tích 20 μ l. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37°C trong 5 phút với Fast Digest Enzyme *RsaI* và 16 giờ với *AluI*. Hỗn hợp phản ứng cắt bằng enzym giới hạn được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2,0 %, đệm TBE 0,5X ở điều kiện 100V/ 70 phút.

Sơ đồ chiến thuật sử dụng enzym giới hạn trong xác định kiểu gen BKV, bao gồm:

- Vị trí cắt của hai enzym *RsaI* và *AluI*.
- Kích thước các băng cắt tương ứng phân biệt bốn kiểu gen BKV.

Bảng 1. Sơ đồ chiến thuật sử dụng enzyme giới hạn trong xác định kiểu gen BKV vùng gen *VPI* khuếch đại bằng cặp mồi BK_(S+AS)



TT	<i>RsaI</i>			<i>AluI</i>			Kiểu gen
	Số điểm cắt	Vị trí cắt	Kích thước sản phẩm (bp)	Số điểm cắt	Vị trí cắt	Kích thước sản phẩm (bp)	
1.	2	47/ 430	47; 150; 383	2	123/290	123; 167; 290	I
2.	1	47	47; 533	2	123/290	123; 167; 290	II
3.	2	47/353	47; 227; 306	1	123	123; 457	III
4.	2	47/490	47; 90; 443	1	123	123; 457	IV

2.4. Giải trình tự và xây dựng cây phát sinh chủng loại

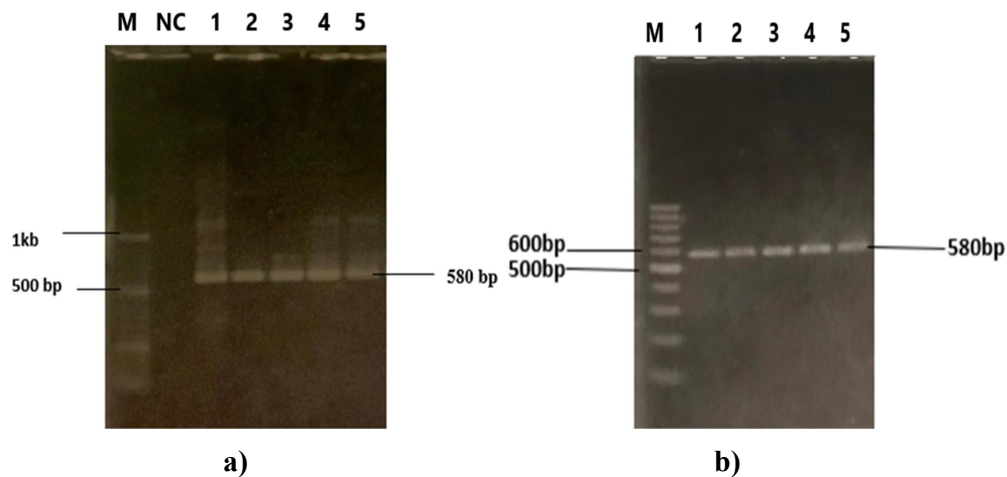
Đồng thời để khẳng định kết quả, kiểu gen BKV của các mẫu nghiên cứu được giải trình tự hai chiều sử dụng mồi BK__S/ BK__{AS}. Kết quả giải trình tự được kiểm tra và loại bỏ các vùng mơ hồ ở đầu và cuối bằng Bioedit, so sánh với trình tự trên Genbank bằng phần mềm BLAST (NCBI). Xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phần mềm Mega 11.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Thiết lập quy trình PCR- RFLP gen đích *VPI* xác định kiểu gen của các chủng vi rút BK

Các mẫu nước tiểu sau khi tách chiết DNA tổng số được định lượng nồng độ BKV-DNA bằng kỹ thuật real-time PCR nước tiểu theo quy trình của Học viện Quân y. Nồng độ BKV của các mẫu bệnh phẩm nghiên cứu được xác định đạt nồng độ từ 10^5 - 10^{10} copy/ml.

Với 30 mẫu DNA-BKV này, sử dụng kỹ thuật PCR để khuếch đại đoạn gen *VP1* của BKV bằng cặp mồi BK₋(S+AS) đều cho sản phẩm có kích thước đúng tính toán lý thuyết là 580 bp. Như vậy, đã khuếch đại thành công đoạn gen *VP1* từ 30/30 mẫu bệnh phẩm (hình 1).



Hình 1. Khuếch đại đoạn gen *VP1* bằng cặp mồi BK₋(S+AS)

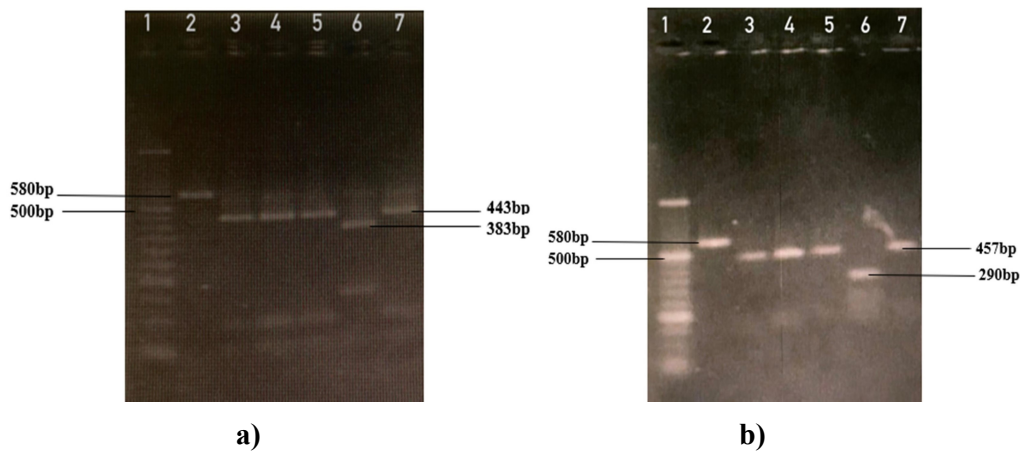
Chú thích: M-Marker 100bp; NC: Đối chứng âm là nước khử ion

a) 1-5: Sản phẩm PCR từ DNA mẫu bệnh phẩm BK272U, BK528U, BK334U, BK510U, BK572U

b) 1-5: Sản phẩm PCR tinh sạch mẫu bệnh phẩm BK272U, BK528U, BK334U, BK510U, BK572U

Kết quả hình 1 cho thấy các giếng đều lên băng đúng như tính toán, các băng sáng, đậm nét. Như vậy, đoạn gen *VP1* của 30 mẫu bệnh phẩm đã được khuếch đại và tinh sạch thành công. Các sản phẩm PCR đoạn gen *VP1* với cặp mồi BK₋(S+AS) sau khi tinh sạch được xác định kiểu gen bằng cắt bằng enzyme giới hạn là *RsaI* và *AluI*. Với enzyme giới hạn *RsaI*, các mẫu nghiên cứu cho ra hai nhóm sản phẩm cắt gồm nhóm 20 mẫu đồng loạt cho ba sản phẩm cắt có kích thước khoảng 47, 150, 383 bp và nhóm 10 mẫu cho ba sản phẩm cắt có kích thước 47, 90, 443 bp tương ứng thuộc kiểu gen I và IV của BKV theo sơ đồ chiến thuật cắt bằng enzyme giới hạn (hình 2a).

Để khẳng định kết quả, các mẫu này được tiếp tục cắt bằng enzyme giới hạn là *AluI* đều cho sản phẩm cắt có kích thước 290 bp (băng 123, 167 bp mờ) với 20 mẫu thuộc kiểu gen I và sản phẩm cắt có kích thước 457 bp (băng 123 mờ) với 10 mẫu còn lại thuộc kiểu gen IV (hình 2b).



Hình 2. Điện di kiểm tra sản phẩm cắt đoạn gen *VP1*-BKV bằng enzyme giới hạn

Chú thích: 1-Marker 50bp; 2- Đối chứng sản phẩm PCR-VP1 không cắt

a) 3-7: Sản phẩm cắt mẫu BK272U, BK334U, BK510U, BK528U, BK572U bằng enzyme giới hạn *RsaI*

b) 3-7: Sản phẩm cắt mẫu BK272U, BK334U, BK510U, BK528U, BK572U bằng enzyme giới hạn *AluI*

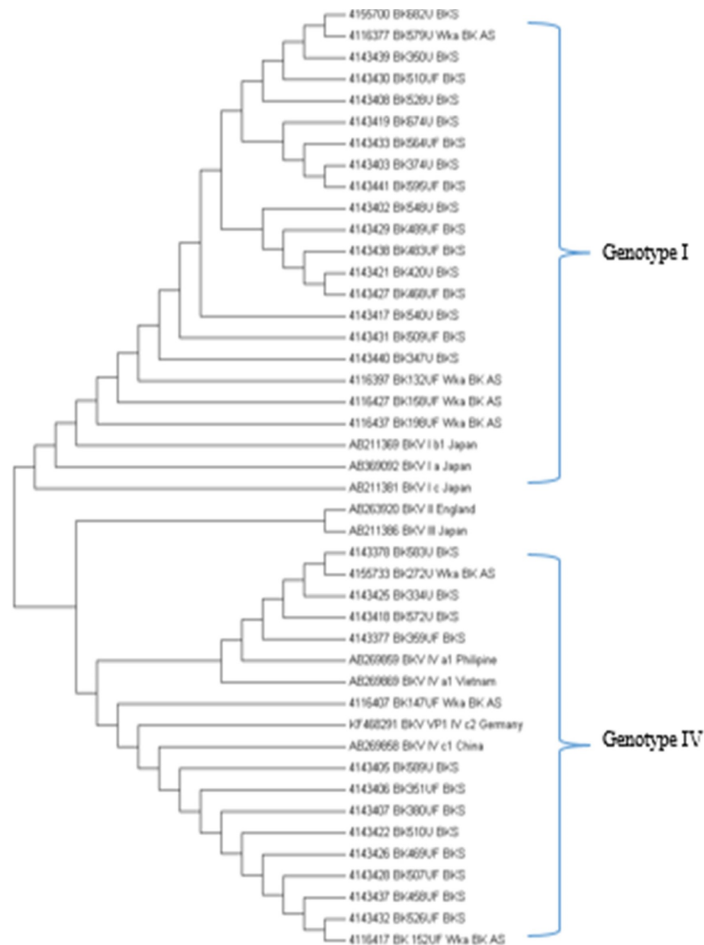
Khi sử dụng hai enzym cắt kiểm tra trên cùng mẫu, chúng tôi nhận được kết quả cùng kiểu gen. Kết quả minh họa ở hình 2 cho thấy, mẫu ở giếng 3,4,5,7 tương ứng là sản phẩm cắt các mẫu BK272U, BK334U, BK510U, BK572U thuộc kiểu gen IV, mẫu ở giếng 6 tương ứng là sản phẩm cắt của mẫu BK528U thuộc kiểu gen I. Như vậy, khi sử dụng đồng thời bằng hai enzym giới hạn là *RsaI* và *AluI*, bước đầu đã xác định được 20 mẫu mang kiểu gen I (chiếm 66,7 %) và 10 mẫu mang kiểu gen IV (chiếm 33,3%) trong 30 mẫu bệnh phẩm nghiên cứu.

3.2. Phân tích đặc điểm kiểu gen của các chủng vi rút BK phân lập từ bệnh nhân ghép thận

Từ kết quả giải trình tự và so sánh với các trình tự tham chiếu trên Genbank bằng công cụ BLAST cho thấy trình tự đoạn gen *VP1* nghiên cứu có độ tương đồng cao với các trình tự tham chiếu, đạt độ tin cậy 99%. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa vào phương pháp Neighbor Joining với hệ số bootstrap lặp lại 1000 lần (hình 3).

Kết quả xác định kiểu gen BKV-VP1 sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP với hai enzym giới hạn là *RsaI*, *AluI* và giải trình tự là đồng nhất 100%. Trong 30 mẫu bệnh phẩm, có 20 mẫu mang kiểu gen I (chiếm 66,7 %) và 10 mẫu mang kiểu gen IV (chiếm 33,3%).

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216139.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216130.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216128.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216125.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5145	LR216124.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216121.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	996	996	96%	0.0	99.82%	5146	LR216118.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	LR216152.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	LR216142.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5145	LR216138.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	LR216136.1
✓	Human polyomavirus 1 genome assembly_chromosome_BKPyV_complete_genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	LR216131.1
✓	Human polyomavirus 1 strain_VQY_BK16.01 VP2_VP3_and VP1 genes_partial cds	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	580	MF817711.1
✓	Human polyomavirus 1 isolate_VN_PBK185_complete genome	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5145	MW678842.1
✓	BK polyomavirus DNA_complete genome_strain_VNM-1	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	AB269867.1
✓	BK polyomavirus DNA_complete genome_strain_SWC-2	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	AB269864.1
✓	BK polyomavirus DNA_complete genome_strain_SWC-1	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	AB269863.1
✓	BK polyomavirus DNA_complete genome_strain_NWC-8	Human polyomavirus 1	990	990	96%	0.0	99.63%	5146	AB269858.1



Hình 3. So sánh trình tự đoạn gen *VP1* BKV bằng công cụ BLAST và cây phát sinh chủng loại

Đến nay, BKV kiểu gen I được xác định là kiểu gen chiếm chủ đạo trên toàn thế giới, tỷ lệ khoảng 80% ở bệnh nhân ghép thận có BKV dương tính trong nước tiểu. Tác giả Krumbholz đã báo cáo, ở Đức, các bệnh nhân nhiễm BKV chủ yếu là kiểu gen I. Điều này cũng đồng thuận với báo cáo của Ikegaya khi công bố kiểu gen I-BKV là chủ yếu với các tỷ lệ khác nhau trong cộng đồng Châu Âu. Trong khi đó, Nishimoto và cộng sự đã công bố kiểu gen IV có nguồn gốc từ Châu Á và phân bố với tỷ lệ khác nhau ở các quốc gia này. Nghiên cứu của Pastrana và cộng sự (2013) đã xác định BKV kiểu gen IV chiếm tỷ lệ cao hơn ở bệnh nhân BKNV sau ghép thận [5]. Theo nghiên cứu của Jin và cộng sự năm 1995, cả hai kỹ thuật PCR-RFLP và giải trình tự đều là những kỹ thuật đảm bảo độ nhạy và đáng tin cậy để xác định kiểu gen BKV trực tiếp từ các bệnh phẩm lâm sàng. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu đầy đủ và thống kê chính xác về sự đồng nhất giữa hai phương pháp này [6].

Bảng 2. So sánh kết quả kiểu gen khi sử dụng hai phương pháp

STT	Kí hiệu mẫu	Kết quả định type		
		Enzyme <i>RsaI</i>	Enzyme <i>AluI</i>	Giải trình tự
1.	BK269U	I	I	I
2.	BK272U	IV	IV	IV
3.	BK334U	IV	IV	IV
4.	BK374U	I	I	I
5.	BK350U	I	I	I
6.	BK420U	I	I	I
7.	BK510U	IV	IV	IV
8.	BK528U	I	I	I
9.	BK540U	I	I	I
10.	BK548U	I	I	I
11.	BK572U	IV	IV	IV
12.	BK579U	I	I	I
13.	BK589U	IV	IV	IV
14.	BK674U	I	I	I
15.	BK682U	I	I	I
16.	BK132UF	I	I	I
17.	BK152UF	IV	IV	IV
18.	BK158UF	I	I	I
19.	BK198UF	I	I	I
20.	BK458UF	IV	IV	IV
21.	BK468UF	I	I	I
22.	BK469UF	IV	IV	IV
23.	BK483UF	I	I	I
24.	BK489UF	I	I	I
25.	BK507UF	IV	IV	IV

STT	Kí hiệu mẫu	Kết quả định type		
		Enzyme <i>RsaI</i>	Enzyme <i>AluI</i>	Giải trình tự
26.	BK509UF	I	I	I
27.	BK510UF	I	I	I
28.	BK526UF	IV	IV	IV
29.	BK564UF	I	I	I
30.	BK595UF	I	I	I

Phương pháp giải trình tự là tiêu chuẩn vàng trong xác định kiểu gen cũng như các phân nhóm phụ trong cùng một kiểu gen của BKV và nhiều tác nhân vi sinh khác nhưng đòi hỏi chi phí và thời gian. Với kỹ thuật PCR-RFLP, chúng tôi bước đầu xác định chính xác kiểu gen BKV, tiết kiệm chi phí, thời gian, giúp chủ động hơn trong việc giám sát kiểu gen BKV ở bệnh nhân sau ghép thận.

4. KẾT LUẬN

Quy trình PCR- RFLP gen đích *VPI* xác định kiểu gen của các chủng BKV phân lập từ mẫu nước tiểu bệnh nhân ghép thận đã được thiết lập thành công. Các bước bao gồm: Tách chiết DNA-BKV từ mẫu nước tiểu và định lượng nồng độ BKV-DNA đảm bảo đạt khoảng 10^5 - 10^{10} copy/ ml; PCR khuếch đại, tinh sạch đoạn gen *VPI* của BKV kích thước 580 bp với cặp mồi BK_(S+AS). Sử dụng hai loại enzym giới hạn là *RsaI*, *AluI* cắt phân biệt sản phẩm tinh sạch đoạn gen *VPI* -BKV. Đã xác định thành công kiểu gen BKV của 30 mẫu nước tiểu của bệnh nhân sau ghép thận bằng PCR-RFLP, so sánh với giải trình tự cho kết quả đồng nhất 100%, trong đó có 20 mẫu thuộc kiểu gen I (66,7%) và 10 mẫu thuộc kiểu gen IV (33,3%).

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành nhờ sự tài trợ kinh phí của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (Nafosted) thông qua đề tài “Nghiên cứu kiểu gen *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* và xây dựng quy trình xác định nồng độ Tacrolimus để ứng dụng cho bệnh nhân ghép thận”. Mã số: 04/2020/TN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mitterhofer A. P., et al., *Role of BK virus infection in end-stage renal disease patients waiting for kidney transplantation-viral replication dynamics from pre- to post-transplant*, Clinical Transplantation, 2014, **28**(3):299-306.
2. Ambalathingal G. R., et al., *BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies*, Clinical microbiology reviews, 2017, **30**(2):503-528.
3. Guerrero-Latorre L., et al., *Quito's virome: Metagenomic analysis of viral diversity in urban streams of Ecuador's capital city*, Science of the Total Environment, 2018, **645**:1334-1343.
4. Bechert C. J., et al., *Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real-time PCR assays*, American journal of clinical pathology, 2010, **133**(2):242-250.

5. Dinh T. T. H. and X. S. Hoang, *BK polyomavirus genotypes in renal transplant recipients in Northern Vietnam*, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, 2018, **34**(1):89-95.
6. Jin L., et al., *Prevalence and distribution of BK virus subtypes in healthy people and immunocompromised patients detected by PCR-restriction enzyme analysis*, Clinical and Diagnostic Virology, 1995, **3**(3):285-295.

SUMMARY

ESTABLISHMENT OF A COST-EFFECTIVE AND ACCURATE PCR-RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM METHOD FOR GENOTYPING OF BK VIRUS IN KIDNEY TRANSPLANT PATIENTS

The monitoring and treatment of patients after kidney transplant is important in maintaining transplant kidney function, including BK polyomavirus surveillance. BKV is a common opportunistic pathogen in kidney transplant patients and can cause BKV-associated nephropathy, which represents a major problem for these patients, causing graft dysfunction and graft loss. BKV is classified into four genotypes, I, II, III and IV. Here, thirty urine samples from kidney transplant patients were collected and quantified BKV-DNA loads by real-time PCR, viral loads were 10^5 - 10^{10} copies/ml. We successfully amplified and purified the specific *VP1*-BKV region with 580 bp in length using primers BK_(S+AS). Additionally, we also identified BKV genotypes by PCR-RFLP using the restriction enzymes *RsaI* and *AluI*. In total 20 out of 30 cases (66.7%) were genotype I and 10 cases (33.3%) were genotype IV in collected urine samples. Comparing the obtained PCR-RFLP results with direct sequencing analysis achieved complete concordance (30/30, 100%). We successfully developed a cost-effective and accurate BKV genotyping assay using PCR-RFLP, that contributes to the monitoring of patients after kidney transplantation.

Keywords: *BK polyomavirus, kidney transplantation, PCR-restriction fragment length polymorphism, genotype, VP1, ghép thận, kiểu gen.*

Nhận bài ngày 01 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 10 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 28 tháng 10 năm 2022

⁽¹⁾ Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

⁽²⁾ Khoa Sinh học, Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Liên hệ: **Đinh Thị Thu Hằng**

Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

Số 222 Phùng Hưng, Hà Đông, Hà Nội

Điện thoại: 0904.194.391; Email: hangdinhbio@gmail.com