

DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.012

CẢI THIỆN CẢM BIẾN SINH HỌC NHẬN DIỆN NHÓM KHÁNG SINH ỨNG CHẾ SỰ TỔNG HỢP PROTEIN CỦA VI KHUẨN

Trần Thị Mỹ Duyên* và Trần Thị Tuyết Hoa

Khoa Bệnh học Thủy sản, Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trần Thị Mỹ Duyên (email: tmduyen@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/09/2022

Ngày nhận bài sửa: 22/10/2022

Ngày duyệt đăng: 23/10/2022

Title:

Improvement of biosensor for detecting antibiotics inhibiting bacterial protein synthesis

Từ khóa:

Cảm biến sinh học, chloramphenicol, erythromycin, gentamicin, nanoluciferase, paromomycin

Keywords:

Biosensor, chloramphenicol, erythromycin, gentamicin, nanoluciferase, paromomycin

ABSTRACT

The study was carried out to improve the sensitivity of paper-based biosensors for detecting antibiotics inhibiting bacterial protein synthesis. The biosensor was based on the detection of luminescence intensity of nanoluciferase protein (NanoLuc), which was synthesized on freeze-dried paper containing an *in vitro* transcription-translation system. NanoLuc was synthesized by applying water samples without antibiotics on freeze-dried paper, resulting in luminescent emission when combined with the Furimazine substrate. In contrast, in the presence of antibiotics, the luminescent intensity was lower due to the inhibition of NanoLuc synthesis. The luminescent intensity was recorded with a digital camera and quantified by ImageJ software. The estimated detection limits were 13,9; 0,23; 1,2 and 0,32 $\mu\text{g/mL}$ for gentamicin, chloramphenicol, erythromycin, and paromomycin, respectively. The sensitivity of luminescent paper-based biosensors was increased 2 or 3 folds depending on each antibiotic.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm cải thiện độ nhạy của cảm biến sinh học nhận diện nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein trên nền giấy. Cảm biến sinh học nhận diện kháng sinh dựa trên cường độ phát quang của protein nanoluciferase (NanoLuc) được tổng hợp trên nền giấy đông khô có chứa hệ thống phiên mã dịch mã trong điều kiện phòng thí nghiệm. Khi nhỏ nước lên nền giấy, protein NanoLuc được tổng hợp và phát sáng khi kết hợp với cơ chất Furimazine. Ngược lại, khi có kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn, sự tổng hợp protein NanoLuc bị cản trở dẫn đến cường độ phát sáng yếu. Cường độ phát sáng được ghi nhận bằng máy chụp ảnh kỹ thuật số và định lượng bằng phần mềm xử lý ảnh ImageJ. Giới hạn phát hiện kháng sinh được ghi nhận cho gentamicin, chloramphenicol, erythromycin và paromomycin lần lượt là 13,9; 0,23; 1,2 và 0,32 $\mu\text{g/mL}$. Độ nhạy của cảm biến sinh học được cải thiện 2 hoặc 3 lần tùy từng loại kháng sinh.

1. GIỚI THIỆU

Ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn là một trong những cơ chế hoạt động quan trọng của kháng

sinh nhằm kìm hãm sự sinh trưởng phát triển hoặc tiêu diệt tế bào vi khuẩn (Kapoor et al., 2017). Nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn theo 3 cơ chế, trong đó (i) gắn vào tiểu đơn vị 30S

(nhóm aminoglycoside, tetracycline), (ii) gắn trên tiểu đơn vị 50S (nhóm chloramphenicol) và (iii) gắn vào vị trí tổng hợp peptide trên tiểu đơn vị 50S (nhóm macrolide) (McCoy et al., 2011). Các nhóm kháng sinh này đều được sử dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản (Nguyen et al., 2014, 2020). Tuy nhiên, việc lạm dụng kháng sinh đã dẫn đến sự phát sinh vi khuẩn kháng kháng sinh (Schar et al., 2021), tồn lưu dư lượng kháng sinh trong sản phẩm thủy sản gây ảnh hưởng đến sức khoẻ người tiêu dùng (Liu et al., 2017), ảnh hưởng uy tín sản phẩm thủy sản xuất khẩu của Việt Nam.

Các phương pháp phát hiện kháng sinh trong môi trường hoặc sản phẩm thủy sản đang được áp dụng hiện nay gồm sắc ký lỏng cao áp (HPLC), sắc ký khối phổ (GC-MS) (Phu et al., 2015; Uchida et al., 2016). Ưu điểm của các phương pháp này là có giới hạn phát hiện thấp và độ nhạy cao, nhưng các phương pháp này đòi hỏi trang thiết bị chuyên dụng, hoá chất đắt tiền và người phân tích phải có kỹ thuật cao để thực hiện các quy trình chẩn đoán phức tạp trong các phòng thí nghiệm. Do đó, nhu cầu phát triển phương pháp phát hiện kháng sinh dễ sử dụng, thời gian phân tích nhanh và không phụ thuộc vào các thiết bị đắt tiền là việc làm cần thiết, đặc biệt cho các nước đang phát triển.

Gần đây, cảm biến sinh học đang được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm phát triển để nhận diện kháng sinh do có nhiều ưu điểm như chi phí thấp, thời gian phân tích nhanh, thân thiện với người sử dụng và không phụ thuộc vào trang thiết bị hiện đại (Mungroo & Neethirajan, 2014; Reder-Christ & Bendas, 2011; Zhou et al., 2021). Cảm biến sinh học nhận diện nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn đã được phát triển bằng cách tổng hợp protein tín hiệu β -galactosidase trong điều kiện *in-vitro* trên nền giấy đông khô, sử dụng hệ thống PURExpress *in vitro* protein synthesis kit (E6800, New England Biolabs, Mỹ) (Tran et al., 2017). Cảm biến sinh học này nhận diện kháng sinh bằng sự thay đổi màu sắc do β -galactosidase được tổng hợp và thủy phân cơ chất chlorophenol red β -D-galactopyranoside, dẫn đến sự thay đổi màu sắc từ vàng sang tím. Kết quả ghi nhận giới hạn phát hiện kháng sinh được báo cáo lần lượt là 0,5; 2,1; 0,8 và 6,1 $\mu\text{g/mL}$. Trong nghiên cứu này, cảm biến sinh học được cải thiện nhằm gia tăng giới hạn phát hiện (limit of detection – LOD) nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn thông qua việc đổi protein tín hiệu thành NanoLuciferase (NanoLuc), một protein phát quang sinh học mới có mức phát quang cao, tín hiệu phát quang ổn định và

khả năng duy trì tín hiệu phát quang bền hơn các protein phát quang sinh học trước đó (Griss et al., 2014; Lowell et al., 2015).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Kháng sinh

Dung dịch gốc (nồng độ 1 mg/mL) của paromomycin sulfate (Sigma Aldrich, Mỹ) và tetracycline hydrochloride, (Nacalai Tesque, Nhật Bản) được chuẩn bị bằng cách hòa tan trong nước cất. Chloramphenicol và erythromycin (Nacalai Tesque, Nhật Bản) được hoà tan trong ethanol (Merck, Đức), và sau đó tiếp tục pha loãng bằng nước cất.

2.1.2. Plasmid

Plasmid pET21a-NLuc mang gen mã hoá protein NanoLuc được cung cấp bởi PGS.TS. Hideyuki Matsuura, Đại học Osaka, Nhật Bản.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

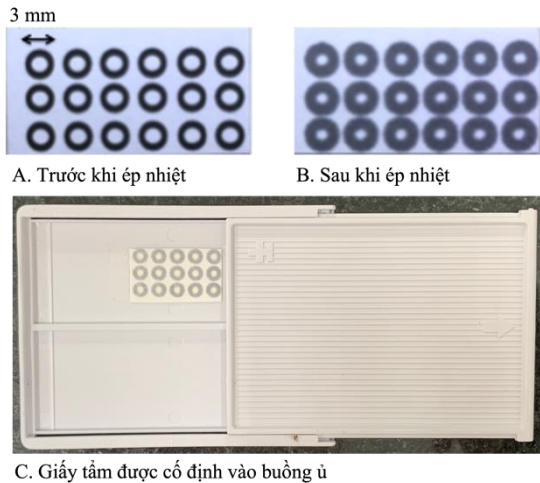
2.2.1. Chuẩn bị DNA khuôn cho quá trình biểu hiện protein NanoLuc trên nền giấy trong điều kiện *in vitro* (*in vitro* transcription translation system - IVTT):

đoạn DNA dùng làm mạch mã khuôn cho quá trình biểu hiện protein NanoLuc gồm vị trí gắn ribosome (ribosome binding site), gen mã hoá protein NanoLuc hoạt động dưới sự điều khiển của promoter T7 và trình tự của terminator T7 được khuếch đại bằng phương pháp PCR sử dụng cặp mồi T7 promoter 5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3' và T7 terminator 5'-GCTAGTTATTGCTCAGCGG-3'. Thành phần hoá chất và chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR được thực hiện theo Tran and Tran (2020). Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1% nhuộm bằng ethidium bromide trong dung dịch TAE 0,5X. Sau đó, sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit (Wizard SV gel and PCR clean up system, Promega, Mỹ). Sản phẩm PCR đã tinh sạch được dùng làm mạch mã khuôn cho quá trình biểu hiện protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro*.

2.2.2. Chuẩn bị đĩa giấy tẩm IVTT của protein NanoLuc:

sử dụng máy in mực sáp (ColorQube 8570, Xerox) để in mẫu thiết kế lên nền giấy cellulose (1442-150; Whatman, Anh) (Hình 1A). Giấy đã in được ép nóng ở 100°C trong 10 phút để làm tan chảy sáp nhằm tạo ra các hàng rào không thấm nước để chứa hỗn hợp phản ứng (Hình 1B).

Sau đó dán một lớp keo dính ở một mặt của giấy để tránh thấm hỗn hợp phản ứng. Giấy tẩm được cố định vào buồng ủ trước khi tẩm hệ thống tổng hợp protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro* (Hình 1C).



Hình 1. Đĩa giấy tẩm IVTT của protein NanoLuc

2.2.3. Chuẩn bị phản ứng IVTT của protein NanoLuc trên nền giấy:

thử nghiệm tổng hợp protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro* trên nền giấy sử dụng PUREfex 2.0 kit (Genefrontier, Nhật Bản) (Nishikawa & Ueda, 2001). Thành phần cho mỗi phản ứng (2 μ L) bao gồm 1 μ L dung dịch I; 0,1 μ L dung dịch II; 0,2 μ L dung dịch III và 20 ng DNA khuôn của gen mã hoá protein NanoLuc (sản phẩm PCR tinh sạch). Đối chứng âm là phản ứng không có chứa DNA khuôn của gen mã hoá protein NanoLuc. Sau khi chuẩn bị, 2 μ L hỗn hợp phản ứng được tẩm lên mỗi điểm trên giấy và giấy tẩm này được làm lạnh nhanh trong nitơ lỏng và đông khô lạnh trong ít nhất 3 giờ. Phản ứng tổng hợp được kiểm tra bằng cách nhỏ 2 μ L nước cất và ủ ở 37°C trong buồng ủ trong 2 giờ. Protein NanoLuc tổng hợp được kiểm tra thông qua khả năng phát sáng khi tác dụng với thuốc thử Nano-Glo Luciferase (Nano-Glo® Luciferase Assay System, Promega) (England et al., 2016).

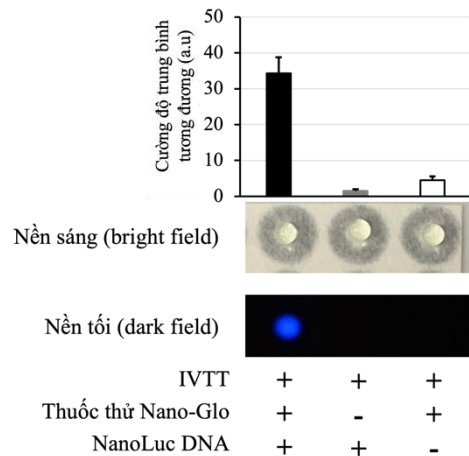
2.2.4. Thử nghiệm nhận diện nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn của IVTT protein NanoLuc trên nền giấy:

2 μ L dung dịch kháng sinh ở các nồng độ xác định hoặc nước cất được nhỏ lên mỗi điểm cho phản ứng trên giấy và ủ ở 37°C trong buồng ủ trong 2 giờ. Sau khi ủ, buồng ủ được để trên đá và nhỏ 2 μ L thuốc thử NanoGlo Luciferase (Promega, Mỹ) đã được pha loãng 5 lần trong dung dịch pha loãng đi

kèm. Sau đó, buồng ủ được đặt trong hộp tối và cường độ phát sáng từ các điểm phản ứng được ghi nhận bằng máy ảnh kỹ thuật số (Griss et al., 2014). Trong trường hợp có sự hiện diện của kháng sinh, sự tổng hợp protein NanoLuc sẽ bị ức chế, dẫn đến tín hiệu phát quang yếu hoặc không có tín hiệu phát quang. Tín hiệu phát quang được định lượng bằng phần mềm phân tích và xử lý ảnh ImageJ. Cường độ tín hiệu được đo trong mỗi vòng sáp (giếng phản ứng), đổi từ hệ thống màu RGB (RGB type) sang hệ thống đơn sắc (8-bit gray scale) và phân tích cường độ sáng của ảnh theo thang đo độ xám (grayscale). Giá trị thu được từ phản ứng không chứa mẫu DNA được sử dụng để trừ mẫu trắng. Giới hạn phát hiện (Limit of Detection – LOD) được xác định theo công thức $LOD = 3 \times SD/S$ trong đó S (Slope) là hệ số góc của đường chuẩn và SD (Standard Deviation) là độ lệch chuẩn của giá trị trung bình của mẫu trắng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Xác định sự tổng hợp protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro* trên nền giấy



Hình 2. Khả năng tổng hợp protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro* trên nền giấy

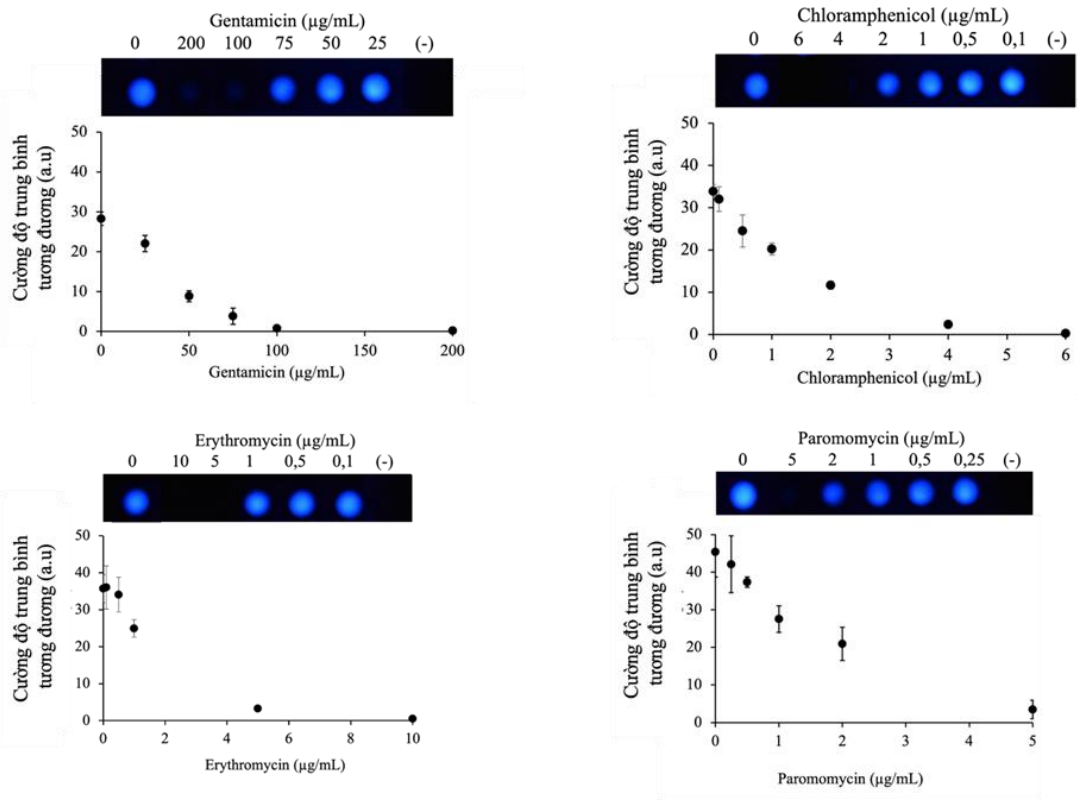
Để xác định khả năng tổng hợp protein NanoLuc trong điều kiện *in vitro* trên nền giấy, phản ứng phiên mã và dịch mã protein tín hiệu NanoLuc được chuẩn bị theo mô tả ở phương pháp nghiên cứu. Sau khi kích hoạt lại phản ứng bằng cách nhỏ 2 μ L nước cất và ủ phản ứng ở 37°C trong 2 giờ, kết quả cho thấy ở phản ứng có sự hiện diện của DNA khuôn, tín hiệu phát sáng được ghi nhận, ngược lại ở mẫu âm tính hoặc mẫu không có thuốc thử thì không ghi nhận được tín hiệu phát sáng. Cường độ phát sáng của protein NanoLuc được định lượng bằng phần mềm xử lý ảnh ImageJ (Hình 2). Các kết quả này

cho thấy protein NanoLuc đã được tổng hợp thành công trong điều kiện *in vitro* trên nền giấy.

3.1. Thử nghiệm khả năng nhận diện nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn bằng hệ thống IVTT của protein NanoLuc

Để chứng minh hệ thống IVTT của protein NanoLuc có tiềm năng phản ứng như một cảm biến sinh học, các phản ứng IVTT trên nền giấy được thử nghiệm khả năng ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn. Một số kháng sinh đại diện cho nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn được chọn gồm (i) gentamicin đại diện cho nhóm ức chế sự tổng hợp protein bằng cách gắn vào tiểu đơn vị 30S, (ii) chloramphenicol đại diện cho nhóm ức chế sự tổng hợp protein gắn trên tiểu đơn vị 50S và (iii) erythromycin đại diện gắn vào vị trí tổng hợp peptide trên tiểu đơn vị 50S. Ngoài ra, paromomycin, một aminoglycoside thuộc nhóm (1) được chọn để thử nghiệm thêm do ngoài khả năng kháng khuẩn, paromomycin còn có khả năng kháng ký sinh trùng như nhóm *Cryptosporidium*,

Entamoeba hoặc *Leishmania* (Kobets et al., 2012; Kikuchi et al., 2013) Các đĩa giấy đông khô được tẩm với hệ thống IVTT và NanoLuc DNA được nhỏ 2 µL dung dịch kháng sinh ở các nồng độ khác nhau và ủ ở 37°C trong 2 giờ. Kết quả cho thấy sự ức chế tổng hợp protein NanoLuc tỉ lệ thuận với nồng độ của từng loại kháng sinh, hay cường độ phát sáng giảm dần ở mẫu có nồng độ kháng sinh cao và ngược lại. Cường độ phát sáng được ghi nhận bằng máy ảnh kỹ thuật số và định lượng bằng phần mềm xử lý ảnh ImageJ. Giới hạn phát hiện LOD được tính theo công thức $LOD=3 \times SD/S$ cho kết quả LOD của gentamicin, chloramphenicol, erythromycin và paromomycin lần lượt là 13,9; 0,23; 1,2 và 0,32 µg/mL. Mỗi loại kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn tác động ở các giai đoạn khác nhau của quá trình phiên mã mRNA, điều này có thể ảnh hưởng đến giá trị LOD của các loại kháng sinh vừa thử nghiệm (McCoy et al., 2011). Kết quả này cho thấy tiềm năng của cảm biến sinh học sử dụng hệ thống IVTT của protein NanoLuc trên nền giấy.



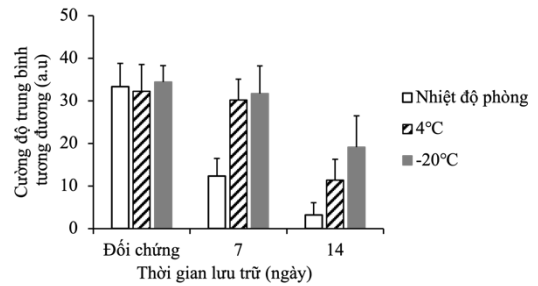
Hình 3. Khả năng nhận diện nhóm kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn

Ghi chú: Giá trị ghi nhận là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD) của 3 lần lặp lại thí nghiệm

Dựa trên nguyên lý của cảm biến sinh học nhận diện nhóm kháng sinh ức chế protein của vi khuẩn bằng sự thay đổi màu, cảm biến sinh học trên nền giấy phát quang đã được cải tiến thành công bằng cách thay thế gen mã hoá cho protein tín hiệu β -galactosidase thành gen mã hoá cho protein tín hiệu NanoLuc. NanoLuc là protein đã được gây đột biến để cải thiện cường độ phát quang với khả năng phát sáng cao hơn Firefly Luciferase (Fluc) và Renilla Luciferase (Rluc) 150 lần (Hall et al., 2012). Hơn nữa, tín hiệu phát sáng của NanoLuc được ghi nhận là ổn định và duy trì lâu hơn các protein phát quang sinh học trước đó. Khi sử dụng gen mã hoá protein NanoLuc như là thành phần nhận diện kháng sinh của cảm biến sinh học đã cải thiện được độ nhạy cao hơn, cụ thể giới hạn phát hiện của 3 loại kháng sinh gồm paromomycin, chloramphenicol và erythromycin giảm lần lượt gần 2, 4 và 5 lần so với nghiên cứu trước (Tran et al., 2017). Tuy nhiên, độ nhạy này vẫn cần cải thiện hơn nữa. Phương pháp chiết tách các thành phần cần thiết cho quá trình phiên mã, dịch mã trong điều kiện phòng thí nghiệm, hàm lượng ribosome hoặc RNA vận chuyển trong các hệ thống IVTT thương mại có thể là những yếu tố ảnh hưởng đến việc tổng hợp protein. Sử dụng hệ thống IVTT được kết hợp từ những thành phần riêng lẻ cần thiết cho quá trình phiên mã dịch mã sẽ dễ dàng chuẩn hoá độ nhạy của cảm biến sinh học hơn. Ngoài ra, sử dụng ribosome nhạy cảm cao với kháng sinh thay vì ribosome của vi khuẩn *Escherichia coli* ví dụ, ribosome có nguồn gốc từ các vi khuẩn khác nhau rất nhạy cảm với kháng sinh như *Staphylococcus aureus* NCTC 6571 hoặc *Streptococcus pneumonia* ATCC 49619 (Andrews, 2001) hoặc ribosome có đột biến làm tăng độ nhạy với kháng sinh cũng là một giải pháp để tăng độ nhạy của cảm biến sinh học.

Cảm biến sinh học trên nền giấy đông khô có thể hoạt động trong ít nhất một tuần khi bảo quản ở 4°C (ngăn mát tủ lạnh) hay -20°C (ngăn đông tủ lạnh). Điều này cho thấy khả năng chuẩn bị trước số lượng

cảm biến sinh học trên nền giấy đông khô để có thể sử dụng trong thời gian cho phép tại phòng thí nghiệm hoặc tại hiện trường thu mẫu. Bên cạnh đó, chi phí sản xuất thấp, nguyên liệu thân thiện với môi trường, dễ sử dụng cũng như không phụ thuộc vào trang thiết bị đắt tiền cũng là một số ưu điểm đáng lưu ý của cảm biến sinh học trên nền giấy.



Hình 4. Tính ổn định của cảm biến sinh học

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cải thiện được độ nhạy của cảm biến sinh học phát quang nhận diện kháng sinh ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn trên nền giấy. Tuy nhiên, độ nhạy của cảm biến sinh học vẫn cần chuẩn hoá thêm để cải thiện cũng như nghiên cứu thêm về các khả năng ứng dụng trong thực tế như ứng dụng nhận diện kháng sinh trên mẫu thực phẩm, sản phẩm chế biến thủy sản. Hơn nữa, với ưu điểm dễ sử dụng, không phụ thuộc vào trang thiết bị đắt tiền, chi phí sản xuất thấp và nguyên liệu thân thiện với môi trường, cảm biến sinh học trên nền giấy đông khô có thể ứng dụng như một biện pháp sàng lọc hàm lượng kháng sinh lưu tồn trong môi trường hay trong thực phẩm ở điều kiện thực tế, đặc biệt là ở những nước đang phát triển, chưa trang bị được nhiều phòng thí nghiệm đầy đủ trang thiết bị đắt tiền ở các địa phương.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở TS2021-126, Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 Suppl 1, 5–16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5

England, C. G., Ehlerding, E. B., & Cai, W. (2016). NanoLuc: A small luciferase is brightening up the field of bioluminescence. *Bioconjugate Chemistry*, 27(5), 95–121. <https://doi.org/10.1007/128>

Griss, R., Schena, A., Reymond, L., Patiny, L., Werner, D., Tinberg, C. E., Baker, D., & Johnsson, K. (2014). Bioluminescent sensor proteins for point-of-care therapeutic drug monitoring. *Nature Chemical Biology*, 10(7), 598–603. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1554>

Hall, M. P., Unch, J., Binkowski, B. F., Valley, M. P., Butler, B. L., Wood, M. G., Otto, P., Zimmerman, K., Vidugiris, G., MacHleidt, T., Robers, M. B., Benink, H. A., Eggers, C. T.,

- Slater, M. R., Meisenheimer, P. L., Klaubert, D. H., Fan, F., Encell, L. P., & Wood, K. V. (2012). Engineered luciferase reporter from a deep sea shrimp utilizing a novel imidazopyrazinone substrate. *ACS Chemical Biology*, 7(11), 1848–1857. <https://doi.org/10.1021/cb3002478>
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(3), 300–305. <https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP>
- Kikuchi, T., Koga, M., Shimizu, S., Miura, T., Maruyama, H., & Kimura, M. (2013). Efficacy and safety of paromomycin for treating amebiasis in Japan. *Parasitology International*, 62(6), 497–501. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.07.004>
- Kobets, T., Grekov, I., & Lipoldova, M. (2012). Leishmaniasis: Prevention, parasite detection and treatment. *Current Medicinal Chemistry*, 19(10), 1443–1474.
- Liu, X., Steele, J. C., & Meng, X. Z. (2017). Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution*, 223, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003>
- Lowell, A. N., Santoro, N., Swaney, S. M., McQuade, T. J., Schultz, P. J., Larsen, M. J., & Sherman, D. H. (2015). Microscale adaptation of in vitro transcription/translation for high-throughput screening of natural product extract libraries. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(6), 1331–1338. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12614>
- McCoy, L. S., Xie, Y., & Tor, Y. (2011). Antibiotics that target protein synthesis. *Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA*, 2(2), 209–232. <https://doi.org/10.1002/wrna.60>
- Mungroo, N., & Neethirajan, S. (2014). Biosensors for the Detection of Antibiotics in Poultry Industry—A Review. *Biosensors*, 4(4), 472–493. <https://doi.org/10.3390/bios4040472>
- Nguyen, Q. T., Maita, M., & Phú, T. M. (2020). Khảo sát tình hình sử dụng thuốc và hóa chất trong nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) ở tỉnh Trà Vinh. *Can Tho University Journal of Science*, 56, 70. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.040>
- Nguyen, Q. T., Tran, M. P., Huynh, S. N., Sebastien, Q., Do, T. T. H., Nguyen, T. P., Partrick, K., & Marie, L. S. (2014). Situation of chemicals used in rice-fish, striped catfish cultured in pond and red tilapia cultured in cage in Mekong Delta. *Can Tho University Journal of Science*, 2, 278–283.
- Nishikawa, K., & Ueda, T. (2001). Cell-free translation reconstituted with purified components. *Nature*, 19(August), 751–755.
- Phu, T. M., Phuong, N. T., Scippo, M.-L., Dalsgaard, A., Thinh, N., & Huong, D. (2015). Quality of antimicrobial products used in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Aquaculture in Vietnam. *PLOS ONE*, 10(4), e0124267. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124267>
- Reder-Christ, K., & Bendas, G. (2011). Biosensor applications in the field of antibiotic research—a review of recent developments. *Sensors*, 11(10), 9450–9466. <https://doi.org/10.3390/s111009450>
- Schar, D., Zhao, C., Wang, Y., Larsson, D. G. J., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2021). Twenty-year trends in antimicrobial resistance from aquaculture and fisheries in Asia. *Nature Communications*, 12(1), 6–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25655-8>
- Tran, T. M. D., Matsuura, H., Ujiie, K., Muraoka, M., Harada, K., & Hirata, K. (2017). Paper-based colorimetric biosensor for antibiotics inhibiting bacterial protein synthesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(1), 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.07.015>
- Tran, T. M. D., & Tran, T. T. H. (2020). Generating Nanoluciferase reporter protein for development of biosensor detecting antibiotics. *Can Tho University Journal of Science*, 56(2), 146. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.041>
- Uchida, K., Konishi, Y., Harada, K., Okihashi, M., Yamaguchi, T., Do, M. H. N., Thi Bui, L., Duc Nguyen, T., Do Nguyen, P., Thi Khong, D., Thi Tran, H., Nam Nguyen, T., Viet Le, H., Van Chau, V., Thi Van Dao, K., Thi Ngoc Nguyen, H., Kajimura, K., Kumeda, Y., Tran Pham, K., ... Yamamoto, Y. (2016). Monitoring of antibiotic residues in aquatic products in urban and rural areas of Vietnam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(31), 6133–6138. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00091>
- Zhou, C., Zou, H., Sun, C., & Li, Y. (2021). Recent advances in biosensors for antibiotic detection: Selectivity and signal amplification with nanomaterials. *Food Chemistry*, 361(November 2020), 130109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130109>