

P-VL10: BIỂU HIỆN HLA, LUKF-PV, LUKS-PV, CLFA TỪ STAPHYLOCOCCUS AUREUS TRONG E. COLI VÀ B. SUBTILIS VÀ TINH CHẾ NHÂM NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN VACCINE

Dương Ngọc Hồng Lan^{1,2}, Phan Thị Thu Hạnh^{1,2}, Nguyễn Ngọc Yên Nhi^{1,2}, Lê Dương Vương^{1,2}, Đoàn Thị Ngọc Thanh³, Võ Trí Nam^{1,2}, Phan Thị Phương Trang^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,4}, Diệp Bình⁵, Trần Linh Thuộc^{1,2}, Nguyễn Đức Hoàng^{1,2}

¹ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

² Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³ Trường Đại học Tiền Giang

⁴ Trường Đại học Bayreuth, CHLB Đức

⁵ University of California, San Francisco, US.

TÓM TẮT

Staphylococcus aureus là nguyên nhân chính gây nhiễm trùng áp xe da, viêm nội tâm mạc, nhiễm trùng khớp giả, viêm phổi và nhiễm trùng huyết. Các protein Hla (α -toxin), LukF-PV, LukS-PV (Panton-Valentine Leucocidin) và ClfA (Clumping factor A) là những kháng nguyên quan trọng, yếu tố quyết định độc lực của *S. aureus*. *E. coli* là chủng vi khuẩn chủ để biểu hiện và tinh chế protein tái tổ hợp được sử dụng khá phổ biến. *Bacillus subtilis* là chủng chủ quan trọng trong sản xuất protein tái tổ hợp và có tiềm năng sử dụng làm vector chuyển vaccine. Trong khuôn khổ báo cáo này, chúng tôi sử dụng hai chủng chủ *E. coli* và *B. subtilis* để biểu hiện các protein tái tổ hợp trên, tinh chế các protein được biểu hiện trong *E. coli* và tạo kháng thể đa dòng trên chuột. Chúng tôi đã có thể biểu hiện tất cả các protein tái tổ hợp trên trong *E. coli* và tinh chế protein với độ tinh sạch > 90% thông qua sắc ký ái lực kết hợp với trao đổi ion. Các protein này được dùng để tạo kháng thể đa dòng trên chuột và huyết thanh được tạo ra có titer lớn hơn 20.000. Đồng thời chúng tôi cũng đã biểu hiện các protein này trong tế bào chất của *B. subtilis*. Biểu thể của protein Hla, LukF-PV và LukS-PV có thể biểu hiện tốt, trong khi ClfA biểu hiện rất thấp. Khi khảo sát sự biểu hiện tiết của các protein này ở *B. subtilis*, kết quả cho thấy rõ là protein có thể tiết được vào trong môi trường nuôi cấy. Các kết quả này làm cơ sở quan trọng cho việc nghiên cứu sử dụng *B. subtilis* để phát triển vaccine kháng bệnh do *S. aureus* trong tương lai.

Cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.06-2019.11.

Từ khóa: Hla, LukF-PV, LukS-PV, biểu hiện protein tái tổ hợp, *B. subtilis*, vector chuyển vaccine.

EXPRESSION OF HLA, LUKF-PV, LUKS-PV, CLFA FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN E. COLI AND B. SUBTILIS AND PURIFICATION FOR VACCINE DEVELOPMENT STUDIES

Duong Ngoc Hong Lan^{1,2}, Phan Thi Thu Hanh^{1,2}, Nguyen Ngoc Yen Nhi^{1,2}, Le Duong Vuong^{1,2}, Doan Thi Ngoc Thanh³, Vo Tri Nam^{1,2}, Phan Thi Phuong Trang^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,4}, Diep Binh⁵, Tran Linh Thuoc^{1,2}, Nguyen Duc Hoang^{1,2}

¹ University of Natural Science, VNU-HCM

² Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³ Tien Giang University

⁴ Bayreuth University, Germany

⁵ University of California, San Francisco, US.

SUMMARY

Staphylococcus aureus is a major cause of skin abscess infection, endocarditis (heart valve infection), prosthetic joint infection, pneumonia and bacteremia. Hla (α -toxin), LukF-PV, LukS-PV (Panton-Valentine Leucocidin) and ClfA (Clumping factor A) are essential antigens and virulence determinants of *S. aureus*. *E. coli* is the most widely used bacterial host strain for recombinant protein expression. *Bacillus subtilis* is an essential workhorse for the production of recombinant proteins, and it has the potential to be used as a vaccine delivery vector. In this report, we investigate the protein expression mentioned earlier in *E. coli* and purify the proteins to generate polyclonal antibodies in mice. As a result, we were able to express all the recombinant proteins in *E. coli* and purify the protein with high purity, over 90% using affinity chromatography combined with ion exchange. These proteins were used to produce polyclonal antibodies in mice, and the serum had titer greater than 20,000. At the same time, we also studied the expression of these proteins in the cytoplasm of *B. subtilis*; variants of Hla, LukF-PV and

LukS-PV proteins can express well, while ClfA at low expression levels. When investigating the secretion expression of these proteins in *B. subtilis*, the results clearly showed that the protein could be secreted into the culture medium. These results are important for future studies on using *B. subtilis* to develop vaccines against diseases caused by *S. aureus*.

Acknowledgment: This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 108.06-2019.11.

Keywords: Hla, LukF-PV, LukS-PV, expression of recombinant proteins, B. subtilis, vaccine delivery vector.