

**P-VL12: PHÁT TRIỂN CÁC VECTOR SÁP NHẬP BIỂU HIỆN CẢM ỨNG IPTG VỚI CÁC PROMOTER *Pgrac* MẠNH ĐỂ SẢN XUẤT PROTEIN TÁI TỔ HỢP Ở *Bacillus subtilis***

**Chu Thị Bích Phượng<sup>1,3</sup>, Phan Thị Thu Hạnh<sup>1,2</sup>, Trương Thị Tinh Tươi<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Tâm<sup>1,2</sup>, Phan Thị Phượng Trang<sup>1,2</sup>, Nguyễn Đức Hoàng<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup> Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup> Đại học Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (HUTECH), Việt Nam

**TÓM TẮT**

*Bacillus subtilis* là một chủng chủ tiềm năng cho nghiên cứu cơ bản và ứng dụng công nghiệp. Nhiều chiến lược nhằm cải thiện sự biểu hiện protein trong *B. subtilis* đã được thực hiện bằng cách biến đổi chủng chủ và thiết kế vector biểu hiện. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tạo ra các vector biểu hiện cảm ứng IPTG sáp nhập gen mong muốn vào bộ gen của *B. subtilis* nhờ tái tổ hợp tương đồng. Từ 84 promoter khác nhau trong thư viện promoter *Pgrac*, chúng tôi chọn ra 4 promoter *Pgrac01*, *Pgrac57*, *Pgrac100* và *Pgrac212* có khả năng kiểm soát sự biểu hiện protein ở các mức độ khác nhau nhằm tạo ra các vector biểu hiện sáp nhập cảm ứng cho *B. subtilis*. Các vector biểu hiện mang các promoter *Pgrac* khác nhau để kiểm soát các protein chỉ thị được sáp nhập tại vị trí *amyE/lacA*. Kết quả SDS-PAGE cho thấy sự biểu hiện protein ở mức thấp đối với promoter *Pgrac01* cho GFP là 9,4% và BgaB là 9%; cao nhất đối với promoter *Pgrac212* cho GFP là 25% và BgaB là 30%. Dựa trên hoạt tính và SDS-PAGE về sự biểu hiện của GFP và BgaB cho thấy độ mạnh của promoter được thể hiện theo thứ tự: *Pgrac01* < *Pgrac57* < *Pgrac100* < *Pgrac212*. Khi sáp nhập 02 bản sao của cùng một gen chỉ thị vào cùng bộ gen của một chủng, mức độ biểu hiện tăng lên khoảng 180%. Sự biểu hiện GFP và BgaB đồng thời trong một chủng vi khuẩn đều thể hiện ở mức tương đương với việc biểu hiện từng protein riêng lẻ khi sáp nhập tại một vị trí. Các kết quả cho thấy có thể sử dụng các vector sáp nhập cảm ứng IPTG vào bộ gen *B. subtilis* để biểu hiện các protein tái tổ hợp khác nhau ở mức cao.

Từ khóa: Promoter *Pgrac01*, *Pgrac100*, *Pgrac212*, *Bacillus subtilis*, vector sáp nhập.

**DEVELOPMENT OF INDUCIBLE INTEGRATION EXPRESSION VECTOR USING STRONG PROMOTER *PgracS* FOR PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEIN IN *Bacillus subtilis***

**Chu Thị Bích Phượng<sup>1,3</sup>, Phan Thị Thu Hạnh<sup>1,2</sup>, Trương Thị Tinh Tươi<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Thanh Tâm<sup>1,2</sup>, Phan Thị Phượng Trang<sup>1,2</sup>, Nguyễn Đức Hoàng<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup> University of Science, VNU-HCM

<sup>2</sup> Vietnam National University, Ho Chi Minh City

<sup>3</sup> Ho Chi Minh City University of Technology (HUTECH), Vietnam

**SUMMARY**

*Bacillus subtilis* is a potential host strain both for the basic research and industrial applications. Up to now, many strategies to improve the protein expression level in *B. subtilis* have been established by modifying the bacterial strains and constructing the expression vectors. In this study, we created the IPTG – inducible expression vectors that integrated of desired genes into the *B. subtilis* genome by homologous recombination. From different 84 promoters in the *Pgrac*'s library, we choose the four promoters *Pgrac01*, *Pgrac57*, *Pgrac100* and *Pgrac212* which control the protein expression at different levels to provide a diverse collection of integration-based inducible expression vectors for *B. subtilis*. The results show that the expression vectors integrated at *amyE/lacA* locus with *Pgrac* promoters could be induced by IPTG. The SDS-PAGE results showed the lowest protein expression levels of the *Pgrac01* promoter with 9.4% for GFP and 9% for BgaB while the highest level of *Pgrac212* promoter with 25% for GFP and 30% for BgaB. Based on GFP and BgaB expression, the promoter strength was shown in the order: *Pgrac01* < *Pgrac57* < *Pgrac100* < *Pgrac212*. When two copies of the same marker were integrated, expression levels increased by about 180 percent. The simultaneous expression of GFP and BgaB in a bacterial strain was shown to be equivalent to the expression of individual proteins when integrated at one locus. The results showed that it is possible to use IPTG inducible integrated vectors into the *B. subtilis* genome to express the high levels of different recombinant proteins.

Keywords: Promoter *Pgrac01*, *Pgrac100*, *Pgrac212*, *Bacillus subtilis*, integration expression vector.

\* Author for corresponding: Tel. 0987823246; Email: ndhoang@hcmus.edu.vn