

P-VL13: BIỂU HIỆN VÀ TÍNH CHẾ PROTEIN TÁI TỔ HỢP TRONG CHỦNG CHỦ KHÔNG TẠO ĐỘC TỎ *BACILLUS SUBTILIS*

Lê Dương Vương^{1,2}, Trương Thị Tinh Tươi^{1,2}, Phan Thị Phượng Trang^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,2,3}, 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

³ Trường Đại học Bayreuth, CHLB Đức

TÓM TẮT

“Endotoxin” - nội độc tố, các lipopolysaccharide đính trên màng ngoài tế bào *E. coli* là một trong những vấn đề cần phải đối mặt khi tiến hành sản xuất protein tái tổ hợp trong chủng chủ này. Đây là những tác nhân gây độc và đòi hỏi tốn thời gian, chi phí để loại bỏ bằng những phương pháp như siêu lọc, than hoạt tính, sắc ký trao đổi anion... Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng *Bacillus subtilis*, chủng vi sinh vật không gây bệnh, không sinh nội độc tố kết hợp với các vector biểu hiện mang promoter mạnh *Pgrac212* để sản xuất các protein mô hình của quá trình tinh chế: protease có vị trí cắt chuyên biệt HRV3C (Human rhinovirus 3C protease) và hai protein cơ chất có trình tự nhận diện của protease này (LysSN-6xHis-HRV3C C/S-GFP, LysSN-6xHis-HRV3C C/S-BgaB). Kết quả cho thấy HRV3C protease có hoạt tính và hai protein cơ chất nêu trên đã được biểu hiện và thu nhận với độ tinh sạch cao. Sau phản ứng cắt bằng HVR3C để loại bỏ đuôi dung hợp, hai protein mô hình (GFP và Bgab) được tinh chế lần hai bằng cột HisTrap. Dựa vào phương pháp này, các mẫu protein được thu nhận hoàn toàn không có endotoxin. Kết quả của nghiên cứu này đã chứng minh khả năng sử dụng chủng vi khuẩn an toàn *B. subtilis* để sản xuất protein tái tổ hợp được biểu hiện trong tế bào chất, đồng thời chứng minh tiềm năng ứng dụng của HRV3C.

Từ khóa: Endotoxin-free, HRV3C, *Pgrac212*, *Bacillus subtilis*.

EXPRESSING AND PURIFYING RECOMBINANT PROTEINS IN *BACILLUS SUBTILIS*, AN ENDOTOXIN-FREE HOST STRAIN

Lê Dương Vương^{1,2}, Trương Thị Tinh Tươi^{1,2}, Phan Thị Phượng Trang^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,2,3}, Nguyễn Đức Hoàng^{1,2*}

¹ University of Science, VNU-HCM

² Vietnam National University, Ho Chi Minh City

³ University of Bayreuth, Germany.

SUMMARY

The “Endotoxin”, lipopolysaccharides binding to the outer membrane of *E. coli cells* is one of the main problems which must be solved while the production of recombinant proteins is conducted based on this model host strain. Endotoxin is a toxic component and requires removing by some extensive and costly methods such as ultrafiltration, activated carbon, or anion exchange chromatography... In this study, we used *Bacillus subtilis*-a nonpathogenic, endotoxin-free bacterium and some expression vectors having a strong promoter-*Pgrac212* for producing some model proteins in the purification process such as a highly specific-site cysteine protease-HRV3C (Human rhinovirus 3C) protease and two substrates having its recognition sequence (LysSN-6xHis-HRV3C C/S-GFP, LysSN-6xHis-HRV3C C/S-BgaB). The results demonstrate that the active HRV3C protease and those substrates were expressed and obtained with high purity. After cleaving and removing the fusion tag by HRV3C protease; two model proteins (GFP and BgaB) were secondly purified by HisTrap column. Based on this method, these model proteins obtained are endotoxin-free absolutely. Our study nicely proves the ability of *B. subtilis* to produce the intracellular recombinant proteins and the potential application of HRV3C protease.

Keywords: Endotoxin-free, HRV3C, *Pgrac212*, *Bacillus subtilis*.

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