

**P-VL14: NGHIÊN CỨU ĐUÔI DUNG HỢP ĐỂ TĂNG CƯỜNG SỰ BIỂU HIỆN PROTEIN TÁI TỔ HỢP TRONG TẾ BÀO CHẤT Ở *BACILLUS SUBTILIS***

Lê Thị Phương Ngân<sup>1,2</sup>, Phan Thị Thu Hạnh<sup>1,2</sup>, Wolfgang Schumann<sup>1,2,3</sup>,  
Phan Thị Phương 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> Trường Đại học Bayreuth, CHLB Đức.

**TÓM TẮT**

*Bacillus subtilis* là một mô hình nghiên cứu vi khuẩn Gram dương, không gây độc và được sử dụng rộng rãi trong sản xuất protein công nghiệp. Các vector biểu hiện hiệu quả rất cần thiết để biểu hiện các protein tái tổ hợp. Hai yếu tố quan trọng trong việc hình thành vector biểu hiện nội bào là promoter và đuôi dung hợp. Đuôi dung hợp cần thiết để tăng cường dịch mã và giúp vector biểu hiện ổn định khi biểu hiện các protein mục tiêu khác nhau. Nghiên cứu tạo ra các đuôi dung hợp để tăng khả năng hòa tan và hiệu quả biểu hiện hoặc để tinh chế các protein mục tiêu đã được áp dụng rộng rãi trên *E. coli*, nhưng việc sử dụng các đuôi dung hợp ở *B. subtilis* chưa được phổ biến. Nghiên cứu này tập trung vào các đuôi dung hợp nhằm tăng cường mức độ biểu hiện protein tái tổ hợp trong tế bào chất của *B. subtilis*. (1) Đánh giá các DNA mã hóa cho các đuôi His-tag hiện có và được thiết kế. (2) Sàng lọc thư viện DNA trình tự His-Strep-tag cho mức độ biểu hiện tương đối cao protein mục tiêu. (3) Đánh giá tác động của LysSN và Strep-tag trên mức độ biểu hiện của protein mục tiêu. (4) Kết hợp đuôi dung hợp làm tăng biểu hiện và tính tan của protein (LysSN) với đuôi ái lực dùng trong tinh chế (His-tag). Kết quả bước đầu cho thấy các protein biểu hiện cao như GFP+ với codon được tối ưu cho prokaryote và  $\beta$ -galactosidase (BgaB) từ *Bacillus stearothermophilus* khi kết hợp với His-tag ở đầu N làm giảm biểu hiện. Ngược lại, đối với các protein biểu hiện thấp như EGFP với các codon tối ưu cho tế bào động vật có vú, có sự gia tăng đáng kể trong biểu hiện, lên đến 15 lần khi dung hợp với His-tag. Mức độ biểu hiện trong *B. subtilis* của protein GFP và EGFP dung hợp với LysSN cao hơn Strep-tag.

Cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số B2019-18-10.

Từ khóa: Promoter Pgrac212, *Bacillus subtilis*, biểu hiện protein tái tổ hợp, đuôi dung hợp.

**STUDYING FUSION TAGS TO ENHANCE RECOMBINANT PROTEIN EXPRESSION IN THE CYTOPLASM OF *BACILLUS SUBTILIS***

Lê Thị Phương Ngân<sup>1,2</sup>, Phan Thị Thu Hạnh<sup>1,2</sup>, Wolfgang Schumann<sup>1,2,3</sup>, Phan Thị Phương Trang<sup>1,2,3</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> University of Bayreuth, Germany.

**SUMMARY**

*Bacillus subtilis* is a research model of Gram-positive bacterium, nontoxigenic and widely used in industrial protein production. Effective expression vectors are essential for expressing recombinant proteins. Two important factors in forming the intracellular expression vector are promoter and fusion tag. The fusion tag is necessary to enhance translation and to help the expression vector to stabilize when expressing different target proteins. Studies that produce fusion tags to increase solubility and expression efficiency, or to purify target proteins have been widely applied on *E. coli*, but the use of fusion tags in *B. subtilis* is not common. This report focuses on the study of fusion tags to enhance recombinant protein expression in the cytoplasm of *B. subtilis*. (1) Evaluation of DNA encoding for His-tag with existing and predicted sequences. (2) Screening His-Strep-tag DNA library for high expression levels of target proteins. (3) Evaluating the effects of LysSN and Strep-tag on the expression level of the target protein. (4) Fusing a tag enhances protein expression and solubility (LysSN) with an affinity tag for purification (His-tag). Initial results showed that high-expression proteins such as GFP+ with optimal codons for prokaryote and  $\beta$ -galactosidase (BgaB) from *Bacillus stearothermophilus* fusing with His-tag at the N-terminal reduce expression. Conversely, for low-expression proteins such as EGFP with optimal codons for mammalian cells, there is a significant increase in expression up to 15 times when fusing with His-tag. The expression levels in *B. subtilis* of GFP and EGFP protein fusing with LysSN was higher than Strep-tag.

Acknowledgment: This research is funded by Vietnam National University Ho Chi Minh City under grant number B2019-18-10.

Keywords: Promoter Pgrac212, *Bacillus subtilis*, recombinant protein expression, fusion tag.

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