

P-GE06: TẠO DÒNG VÀ BIỂU HIỆN GENE *BENCHWARMER (BNCH)* MANG ĐỘT BIẾN GLUTAMIC ACID 164 THÀNH LYSINE (E164K) TRÊN VECTOR pcDNA3.1

Nguyễn Hoàng Danh, Vũ Minh Thiết

Viện Kỹ Thuật Công nghệ cao Nguyễn Tất Thành, Trường Đại Học Nguyễn Tất Thành

TÓM TẮT

Benchwarmer (BNCH) là thành viên trong họ gene Major Facilitator Superfamily (MFS), biểu hiện ở hầu hết các tế bào trên cơ thể và được xác định là một kênh vận chuyển nằm trên màng lysosome. *BNCH* đóng vai trò quan trọng trong quá trình điều hòa trao đổi một số chất qua màng lysosome như: carbohydrate, lipid (ceramide và sphingosine); liên kết chặt chẽ với quá trình hình thành các cấu trúc vận chuyển nội bào như endosome và autolysosome. Cùng với đó, đột biến mất chức năng trên gene *BNCH* ảnh hưởng lớn đến hoạt động tập tính và chức năng thần kinh trên mô hình ruồi giấm (*Drosophila*). Tuy nhiên, chức năng sinh học và cơ chất của kênh vận chuyển này vẫn còn chưa được làm rõ; do đó, mục đích trong nghiên cứu này là tạo ra một đột biến mất chức năng của protein *BNCH* ở người. Đây sẽ là nguyên liệu cho các thí nghiệm tiếp theo để phân tích chức năng của gene *BNCH*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo ra đột biến thay thế axit glutamic 164 thành lysine (E164K) trên gene *BNCH (BNCH*)* bằng phương pháp gây đột biến định hướng điểm. Sau đó, gene *BNCH** được gắn vào plasmid pcDNA3.1 và plasmid mang gene *BNCH** (pcDNA3.1/ *BNCH**) được biến nạp vào dòng tế bào *E. coli* OmniMAX. Cuối cùng, plasmid pcDNA3.1/ *BNCH** được chuyển nhiễm và biểu hiện thành công ở tế bào HEK293.

Từ khóa: Tạo dòng, biểu hiện, plasmid pcDNA3.1, gene *benchwarmer*...

CLONING AND EXPRESSION OF GENE ENCODING HUMAN *BENCHWARMER (BNCH)* HARBOURING E164K IN VECTOR PCDNA3.1

Nguyen Hoang Danh, Vu Minh Thiet

Nguyen Tat Thanh Hi - Tech Institute, Nguyen Tat Thanh University

SUMMARY

Benchwarmer (BNCH) is a member of the Major Facilitator Superfamily (MFS), expressed in almost every cell in the body, defined as a putative transporter on the lysosomal membrane. *BNCH* plays an important role in regulating the metabolism of several substances across the lysosomal membrane, such as carbohydrates and lipids (ceramide and sphingosine); associated with the formation of intracellular transport structures, such as: endosomes and autolysosomes. Besides, mutation in *BNCH* gene greatly affects behavioral activity and nervous system function in *fruit fly*. However, the biological functions and substrate of *BNCH* are still unclear; therefore, the aim of study is to generate a dysfunctional mutation in the *BNCH* protein. It provides important material for the next experiments to analyze the effects and roles of the *BNCH* in human cell line. In the current study, we generated mutation Glutamic acid 164 changed Lysine (E164K) in *BNCH (BNCH*)* by site-directed mutagenesis method. Full-length *BNCH** was then inserted into plasmid pcDNA3.1 (pcDNA3.1/ *BNCH**) which was transformed into *E. coli* OmniMAX. Finally, plasmid pcDNA3.1 / *BNCH** was transfected and successfully expressed in HEK293 cells.

Keywords: Cloning, expression, plasmid pcDNA3.1, human *benchwarmer*...

* Author for correspondence: Tel: +84-966 884 981; Email: vmthiet@ntt.edu.vn