

O-GE07: BIỂU HIỆN PROTEIN Ở CÁC VỊ TRÍ KHÁC NHAU TRONG *BACILLUS SUBTILIS* VÀ ỨNG DỤNG LÀM VECTOR CHUYỂN VACCINE

Phan Thị Thu Hạnh^{1,2}, Nguyễn Ngọc Yến Nhi^{1,2}, Dương Ngọc Hồng Lan^{1,2}, Trương Thị Tinh Tươi^{1,2}, Trần Linh Thuộc^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,3}, Phan Thị Phượng Trang^{1,2}, Nguyễn Đức Hoàng^{1,2*}

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

²Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

³Trường Đại học Bayreuth, CHLB Đức

TÓM TẮT

Bacillus subtilis là một sinh vật mô hình cho vi khuẩn Gram dương, an toàn, được sử dụng phổ biến làm probiotics cho người và động vật và để sản xuất protein tái tổ hợp ở qui mô công nghiệp. Báo cáo này sẽ tập trung vào việc thiết kế các plasmid để biểu hiện các protein tái tổ hợp ở các vị trí khác nhau trong *B. subtilis* và tiềm năng sử dụng các plasmid này làm vector chuyển vaccine cho động vật. Đầu tiên chúng tôi đã tìm ra được khung plasmid bền về mặt cấu trúc để có thể sử dụng phát triển vector biểu hiện. Sau đó, chúng tôi đã dùng khung plasmid này để tạo các vector mang một họ promoter *Pgrac*, trong đó *Pgrac100* có nhiều đặc điểm thuận lợi để biểu hiện protein tái tổ hợp ở dạng cảm ứng bằng IPTG hoặc không cần sử dụng chất cảm ứng. Đồng thời, vector biểu hiện tiết protein tái tổ hợp vào trong môi trường cũng được phát triển bằng cách chèn một trình tự tín hiệu tiết vào sau promoter. Tiếp đến, hệ thống neo protein lên bề mặt tế bào của *B. subtilis* cũng đã được thiết lập. Sau cùng, ví dụ minh họa về việc sử dụng *B. subtilis* làm vector chuyển vaccine với độc tố LTB từ *E. coli* được sử dụng làm mô hình. Tóm lại, chúng tôi đã thiết kế các vector biểu hiện các protein ngoại lai ở các vị trí khác nhau: trong tế bào chất, tiết ra ngoài môi trường hoặc gắn lên bề mặt tế bào sinh dưỡng. Các hệ thống vector này có thể được sử dụng để phát triển *B. subtilis* làm vaccine chuyển vaccine cho động vật.

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: *Pgrac*, *Pgrac100*, biểu hiện protein tái tổ hợp, gắn bề mặt tế bào, vector chuyển vaccine.

EXPRESSION OF PROTEINS AT DIFFERENT LOCATIONS IN *BACILLUS SUBTILIS* AND APPLICATION AS VACCINE DELIVERY VECTOR

Phan Thị Thu Hạnh^{1,2}, Nguyễn Ngọc Yến Nhi^{1,2}, Dương Ngọc Hồng Lan^{1,2}, Trương Thị Tinh Tươi^{1,2}, Trần Linh Thuộc^{1,2}, Wolfgang Schumann^{1,3}, Phan Thị Phượng Trang^{1,2}, Nguyễn Đức Hoàng^{1,2*}

¹ University of Science, VNU-HCM

² Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³ University of Bayreuth, Germany

SUMMARY

Bacillus subtilis is a model organism for Gram-positive bacteria, which is considered as a GRAS organism and has been extensively used for probiotics for human and animals and to produce recombinant proteins at industrial scale by biotechnology companies. This report focuses on the construction of plasmid-based vectors for the expression of recombinant proteins in different locations in *B. subtilis* and its potential use as vaccine delivery vectors for animals. First, we investigated the use of plasmid-based vectors to develop expression vectors, which exhibit structural stability. Second, a new series of synthetic promoters, *Pgrac* family was generated, in which promoter *Pgrac100* could be useful for intracellular production of recombinant proteins in the presence or absence of the inducer. Third, the secretion expression vector for expression in the culture medium could be generated by introducing a secretion signal sequence after the promoter and ribosome binding site. Fourth, a system for covalent immobilization of recombinant proteins on the surface of *B. subtilis* cells could be established. Finally, an example of using *B. subtilis* as vaccine delivery vectors using LTB as an antigen model. In summary, we constructed vectors for expression of heterologous proteins at different locations, in the cytoplasm, as secretion in the culture medium and displaying recombinant proteins on the surface of vegetative cells. These tools could be used to develop *B. subtilis* as vaccine delivery vectors for animal vaccines.

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

Keywords: *Pgrac*, *Pgrac100* surface display, vaccine delivery vector.

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