

IV-O-3.7

CẤU TRÚC CHŨNG *Bacillus subtilis* BIỂU HIỆN MINI-PROINSULIN DẠNG TIẾT RA MÔI TRƯỜNG

Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Thị Minh Phượng, Võ Minh Trí, Trần Linh Thuộc
Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp.HCM,

Tóm tắt

Nhằm phát triển công nghệ sản xuất insulin tái tổ hợp để điều trị bệnh đái tháo đường ở Việt Nam, chúng tôi chọn phương án tạo insulin từ mini-proinsulin (MPI) tái tổ hợp được biểu hiện dạng tiết ở *Bacillus subtilis*. Đoạn DNA được khuếch đại bằng PCR mang gen mã hóa decahistidine-MPI (10xHis-MPI) được dòng hóa đồng khung với peptide tín hiệu tiết của gen *amyQ* trong plasmid pHT43 tạo plasmid tái tổ hợp pHAI. Các chủng *B. subtilis* B1012/pHAI, DB104/pHAI và WB800N/pHAI được nuôi cấy trong môi trường Luria-Bertani (LB) và cảm ứng với 1 mM IPTG. Phân tích phân đoạn tế bào chất và dịch môi trường bằng điện di SDS-PAGE và lai Western với kháng thể kháng insulin cho thấy chủng *B. subtilis* B1012/pHAI có hiệu quả tiết cao nhất với tốc độ tổng hợp 10xHis-MPI khoảng 2,31 $\mu\text{g/ml/giờ}$ và chiếm 38,5% tổng protein được tiết ra môi trường.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, biểu hiện tiết, mini-proinsulin, tái tổ hợp

ESTABLISHMENT OF *Bacillus subtilis* STRAIN FOR EXTRACELLULAR EXPRESSION OF MINI-PROINSULIN

Nguyen Tien Dat, Nguyen Thi Minh Phuong, Vo Minh Tri, Tran Linh Thuoc
Faculty of Biology, University of Science – VNU HCMC

Abstract

To develop a production process of recombinant insulin for the treatment of diabetes in Vietnam, the approach of making insulin from recombinant mini-proinsulin (MPI) extracellularly expressed in *Bacillus subtilis* was chosen. PCR-amplified DNA fragment containing the gene encoding decahistidine-MPI (10xHis-MPI) was cloned in frame with the secretory signal peptide sequence of *amyQ* in plasmid pHT43 to construct the recombinant plasmid pHAI. The *B. subtilis* B1012/pHAI, DB104/pHAI, and WB800N/pHAI strains were grown in LB medium and induced by 1 mM IPTG. Analysis of fraction of cytoplasm and culture medium using SDS-PAGE and Western blot with anti-insulin antibody showed that *B. subtilis* B1012/pHAI strain gave the highest secretory level of 10xHis-MPI achieving approximately 2.31 $\mu\text{g ml}^{-1}\text{h}^{-1}$ and representing 38.5% of the total protein secreted to the culture medium.

Key words: *Bacillus subtilis*, secretory expression, mini-proinsulin, recombinant.