

IV-O-3.5

BIỂU HIỆN VÀ THU NHẬN ENZYME T4 DNA LIGASE TÁI TỔ HỢP TRONG *Escherichia coli*

Dương Long Duy, Lương Văn Đức, Nguyễn Thị Phương Hiếu, Trần Thanh Hòa, Đặng Thị Phương Thảo, Trần Linh Thuộc

Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp.HCM

Tóm tắt

T4 DNA ligase là enzyme được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật di truyền, có vai trò xúc tác phản ứng hình thành liên kết phosphodiester giữa nhóm 5' phosphate và nhóm 3' OH giữa hai phân tử DNA. Trong nghiên cứu này chúng tôi trình bày kết quả cảm ứng biểu hiện và tinh chế thu nhận enzyme T4 DNA ligase tái tổ hợp. Plasmid tái tổ hợp pET16b-*T4Dnl* mang gen *gp30* mã hóa enzyme T4 DNA và thẻ 10xHis được gắn vào đầu N của protein T4 DNA ligase để hỗ trợ cho việc tinh chế thu nhận. Chúng tôi tiến hành biến nạp plasmid pET16b-*T4Dnl* vào tế bào *E. coli* BL21(DE3). Sau đó tiến hành cảm ứng biểu hiện protein 10xHis-*T4Dnl* bằng IPTG và tinh chế thu nhận bằng phương pháp sắc ký ái lực với cột Ni-NTA. Kết quả biểu hiện và tinh chế được xác nhận bằng SDS-PAGE và lai Western. Protein thu nhận được thử hoạt tính bằng phương pháp nối các đoạn DNA λ /*HindIII*.

Từ khóa: T4 DNA ligase, 10xHis-*T4Dnl*, *E. coli*, protein tái tổ hợp.

EXPRESSION AND PURIFICATION OF RECOMBINANT T4 DNA LIGASE IN *Escherichia coli*

Duong Long Duy, Luong Van Duc, Nguyen Thi Phuong Hieu, Tran Thanh Hoa, Dang Thi Phuong Thao, Tran Linh Thuoc

Faculty of Biology, University of Science – VNU HCMC

Abstract

T4 DNA ligase is an enzyme which widely used in genetic engineering. It catalyzes the reaction that forms the phosphodiester bond between 5' phosphate and 3' OH ends of two DNA molecules. In this study, we report results on the expression and purification of recombinant T4 DNA ligase. Plasmid pET16b-*T4Dnl* contains the *gp30* gene which encodes for T4 DNA ligase. The target protein is fused with 10xHis-tag to facilitate the purification and recovery. pET16b-*T4Dnl* was transformed into *E. coli* BL21(DE3) and then induced to express 10xHis-*T4Dnl* by IPTG. The recombinant protein was purified by Ni-NTA chromatography and confirmed by SDS-PAGE and Western blot. The activity of purified protein was tested by joining DNA λ /*HindIII* method.

Key words: T4 DNA ligase, 10xHis-*T4Dnl*, *E. coli*, recombinant protein.