

IV-O-5.6

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THU NHẬN INSULIN TÁI TỔ HỢP CÓ HOẠT TÍNH TỪ THỂ VÙI MINI-PROINSULIN BIỂU HIỆN Ở *Escherichia coli*

*Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Minh Tấn, Nguyễn Thị Mỹ Trinh,
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 trong tế bào chất *E. coli* BL21(DE3) dạng thể vùi. 10xHis-MPI biến tính trong dung dịch 6M Guanidine-Chloride và tinh sạch bằng cột sắc kí ái lực Ni-NTA được tái gấp cuộn bằng phương pháp pha loãng từng đợt để đạt nồng độ protein cuối cùng là 1mg/ml với cặp oxy hóa-khử 1 mM Cysteine/10 mM Cystine, tiếp theo được xử lý với Trypsin và Carboxypeptidase B. Insulin tái tổ hợp được thu nhận với hiệu suất thu hồi 11% khi được tinh sạch bằng phương pháp sắc kí trao đổi ion và sắc ký lọc gel. Hoạt tính sinh học của insulin được đánh giá trên chuột biểu hiện đái tháo đường sau khi tiêm dưới da với streptozotocin cho thấy hiệu quả làm giảm lượng glucose trong máu của insulin thu nhận được 129 ± 9 mg/dL so với insulin chuẩn (Công ty Sigma-Aldrich) là 173 ± 12 mg/dL sau 30 phút tiêm.

PRIMARYLY STUDY ON ACHIVEMENT OF BIOACTIVE RECOMBINANT INSULIN FROM EXPRESSED INSOLUBLE MINI-PROINSULIN IN *Escherichia coli*

*Nguyen Tien Dat, Nguyen Minh Tan, Nguyen Thi My Trinh,
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) expressed in the cytoplasm of *E. coli* BL21(DE3) as inclusion bodies was chosen. 10xHis-MPI denatured in 6M Guanidine-Chloride solution and purified by Ni-NTA affinity chromatography was refolded using pulse renaturation techniques to a final protein concentration of 1 mg/ml in the presence of 1 mM Cysteine/10 mM Cystine as a redox couple, subsequently treated with Trypsin and Carboxypeptidase B. Recombinant insulin was yielded with the recovery of 11% when purifying by ion exchange and size exclusion chromatography. The biological activity of insulin was evaluated using rendered-diabetic mice after subcutaneous injection of streptozotocin showed the hypoglycemic effect of the produced recombinant insulin is 129 ± 9 mg/dL, compared to the insulin standard (Sigma-Aldrich Company), that is 173 ± 12 mg/dL after subcutaneously treating 30 minutes.