

IV-O-5.12

CẤU TRÚC CHỦNG NẤM MEN *Pichia pastoris* BIỂU HIỆN MINI-PROINSULIN DẠNG TIẾT RA MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY

Ngô Thi Kim Hằng, Võ Minh Trí, Trần Linh Thuộc
Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp.HCM

Tóm tắt

Tiểu đường là một trong những căn bệnh đang rất được quan tâm hiện nay. Nhằm mục đích sản xuất insulin tái tổ hợp phục vụ điều trị bệnh tiểu đường, chúng tôi tiến hành dòng hóa và biểu hiện miniproinsulin trong *Pichia pastoris*. Đoạn DNA mang gene mã hóa 6xhis-miniproinsulin (MPI) được dòng hóa vào plasmid sát nhập pPICZ α A tạo plasmid pPICZ α A/*h-mpi* để cấu trúc chủng *Pichia pastoris* GS115::*h-mpi* biểu hiện MPI tái tổ hợp dạng tiết ra ngoài môi trường. Kiểu hình và kiểu gene của *Pichia pastoris* GS115::*zz-mpi* được xác định bằng phương pháp PCR và cắt hạn chế. MPI được biểu hiện ở dạng dung hợp với thể 6xhis khi cảm ứng với methanol với nồng độ cuối cùng 0,5% sau 96 giờ.

Từ khóa: biểu hiện, *Pichia pastoris*, mini-proinsulin, tế bào chất.

CONSTRUCTION OF YEAST *Pichia pastoris* EXPRESSING SECRETED MINI-PROINSULIN INTO CULTURE

Ngo Thi Kim Hang, Vo Minh Tri, Tran Linh Thuoc
Faculty of Biology, University of Science – VNU HCMC

Abstract

Diabetes is one of the diseases which has recently gained significant attention. In order to produce the recombinant insulin treated diabetics, we carried out cloning and expression of mini-proinsulin in *Pichia pastoris*. The fragment of DNA containing genes encoding fusion protein of 6xhis-miniproinsulin was cloned into integrative plasmid pPICZ α A resulting in pPICZ α A/*h-mpi* to construct strain of *Pichia pastoris* GS115::*h-mpi* expressing recombinant MPI as secreted protein into culture. Phenotype and genotype of *Pichia pastoris* GS115::*h-mpi* were confirmed using PCR technique and restriction pattern. MPI was expressed as fusion protein with 6xhis tag by supplementing methanol to final concentration of 0.5% in BMMY culture medium for 96 hours after inducing.

Key words: Cloning, expression, *Pichia pastoris*, mini-proinsulin.