IV-O-3.3

BIỂU HIỆN ENDOGLUCANASE A CỦA *CLOSTRIDIUM THERMOCELLUM* TRONG CÁC CHỦNG VI KHUẨN *BACILLUS SUBTILIS* 1012 VÀ WB800N

Phạm Lương Thắng[(1)(2)], Phan Thị Phượng Trang[(1)(2)], Trần Linh Thước[(2)], Nguyễn Đức Hoàng[(1)(2)]

(1) TT KH&CN Sinh học, Trường ĐH KHTN, ĐHQG-HCM

(2) Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân Tử, Trường ĐH KHTN, ĐHQG-HCM

Tóm tắt

Endoglucanase A (CelA) là thành phần có trong phức hệ cellulosome từ chủng vi sinh vật kỵ khí *Clostridium thermocellum*. Trong đó, CelA là enzyme cho khả năng phân giải cellulose cao nhất, có thể phân cắt ngẫu nhiên các liên kết β-1,4 glucoside từ bên trong các phân tử cellulose tạo thành các oligosaccharide. Do đó, CelA có ứng dụng trong một số ngành công nghiệp thực phẩm, chế biến thức ăn gia súc... Tuy nhiên, cellulase được sản xuất từ các chủng vi sinh vật kỵ khí thường không hiệu quả do thời nuôi cấy lâu và lượng enzyme được tạo ra thấp. *Bacillus subtilis* là chủng vi khuẩn Gram dương dùng trong công nghiệp sản xuất enzyme công nghiệp. Chính vì vậy, sử dụng chủng hiếu khí *B. subtilis* thay cho chủng kị khí *C. thermocellum* để sản xuất CelA là giải pháp hữu hiệu. Để tạo chủng *B. subtilis* có khả năng tiết CelA, đầu tiên, chúng tôi tiến hành thu nhận gen *celA* từ *C. thermocellum* bằng phản ứng PCR và chèn vào plasmid pHT43 ngay sau trình tự tín hiệu tiết SamyQ. Plasmid pHT43-celA được tạo thành sẽ được biến nạp vào chủng biểu hiện *B. subtilis* 1012 – có protease ngoại bào và *B. subtilis* WB800N – không có khả năng tiết protease. Tiếp theo, sự biểu hiện của CelA được cảm ứng bằng IPTG ở các nồng độ khác nhau. Tiến hành thu mẫu dịch tiết môi trường từ 2 h đến 24 h sau cảm ứng. Khả năng biểu hiện của chủng được đánh giá bằng SDS-PAGE và đo hoạt tính endo-β-1,4-glucanase.

PRODUCTION ENDOGLUCANASE A OF *CLOSTRIDIUM THERMOCELLUM* IN *BACILLUS SUBTILIS* 1012 AND WB800N

Abstract

Endoglucanase A (CelA) is a component of cellulosome which is produced by anaerobic bacterium *Clostridium thermocellum*. In this complex, CelA has the highest catalytic activity, it can cleave randomly β-1,4 glucosidic linkage of cellulose to smaller products – oligosaccharides. For that reason, CelA can be applied in many industrial branches such as foods and drinks, textile, paper, etc. However, producing cellulase in anaerobic bacterium is not always efficient, because of lengthy culturing and low quantity of cellulase product. *Bacillus subtilis*, the Gram positive bacterium is commonly used to produce industrial enzymes. Therefore, using of aerobic bacterium, *B. subtilis* as a replacement for anaerobic bacterium *C. thermocellum* in CelA production strategy is an efficient solution. To create *B. subtilis* strains which can secret recombinant CelA enzyme, *celA* gene was amplified using *C. thermocellum* DNA genome by PCR and inserted in the C-terminus of SamyQ signal peptide in plasmid pHT43 by ligation. The plasmid pHT43-*celA* was then transformed into *B. subtilis* 1012 which is able to produce extracellular proteases and WB800N is unable to produce extracellular proteases. Next, CelA production was induced by IPTG at different concentrations. Culture supernatant was collected every 2 h in 24 h after adding IPTG. The expression level was evaluated by SDS-PAGE and measuring endo- β-1,4-glucanase activity.

Email liên hệ: ***luongthang1908@gmail.com***