TÓM TẮT THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN

Tên đề tài luận án: **Biểu hiện lectin từ tôm thẻ chân trắng ở *Saccharomyces cerevisiae* và khảo sát khả năng gắn *Vibrio parahaemolyticus***

Ngành: Vi sinh vật học

Mã số ngành: 62420107

Họ tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Phương Thảo

Khóa đào tạo: K27/2017

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Trần Văn Hiếu

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

**1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN**:

Được chứng minh có khả năng gắn kết với glycoprotein hoặc glycolipid trên bề mặt vi sinh vật, lectin là ứng cử viên tiềm năng với vai trò là thụ thể nhận diện kiểu mẫu trong miễn dịch bẩm sinh. Nhiều lectin từ tôm thẻ chân trắng *Litopenaeus vannamei* được chứng minh giữ vai trò quan trọng trong các phản ứng miễn dịch bẩm sinh ở tôm. Chúng có khả năng nhận biết, loại bỏ vi sinh vật xâm nhiễm, và ngưng kết vi khuẩn Gram âm *Vibrio parahaemolyticus*, tác nhân gây hoại tử gan tụy cấp trên tôm. Hai loại lectin mới là LvLTLC1 (*L. vannamei* L‑type lectin) và LvLdlrCTL (*L. vannamei* Low‑Density Lipoprotein Receptor C‑type Lectin) được xác nhận có khả năng hỗ trợ hệ miễn dịch bẩm sinh của tôm trong việc chống lại tác động của một số vi khuẩn, trong đó có vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Sau khi được thu nhận từ mô tôm thẻ chân trắng, gen mã hóa cho protein LvLTLC1 và LvLdlrCTL *L. vannamei* được lần lượt dòng hóa vào vector pET22b và pGEX-5X-1 và tiến hành biểu hiện. Cả hai protein tái tổ hợp được xác nhận bằng SDS-PAGE và Western blot trước khi tinh sạch bằng phương pháp sắc ký ái lực. Trong thí nghiệm đánh giá tương tác protein sử dụng kỹ thuật dot blot, hai protein trên đều gắn được với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Trong thí nghiệm đánh giá khả năng ngưng kết với *V. parahaemolyticus*, protein LvLTLC1 cho kết quả tốt hơn LvLdlrCTL mặc dù LvLdlrCTL vẫn ngưng kết được vi khuẩn. Từ kết quả trên, tiến hành biểu hiện protein LvLTLC1 trên bề mặt nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Kết quả thu nhận cho thấy, nấm men *S. cerevisiae* lần đầu tiên trên thế giới biểu hiện thành công protein LvLTLC1 trên bề mặt, và có khả năng gắn và ngưng kết tốt với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Hiệu quả ngưng kết từ protein trên *S. cerevisiae* tương đương với protein LvLTLC1 tái tổ hợp, trong khi quá trình tạo và thu nhận với quy mô lớn là đơn giản hơn nhiều. Đây là nguồn nguyên liệu ban đầu cho các thử nghiệm tiếp theo nhằm mục đích phát triển chế phẩm lợi khuẩn bổ sung trực tiếp vào thức ăn của tôm. Chiến lược này đang và sẽ là cách tiếp cận đầy hứa hẹn, mang tính thời sự giúp phòng và hỗ trợ điều trị cấp bách bệnh AHPND do *V. parahaemolyticus* trong bối cảnh dịch bệnh đang diễn ra phức tạp hiện nay.

**2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN**:

* Thu nhận thành công hai lectin tái tổ hợp LvLdlrCTL và LvLTLC1 từ vi khuẩn *E. coli* BL21(DE3). Chứng minh được khả năng ngưng kết vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của LvLTLC1 cao hơn so vớiLvLdlrCTL.
* Tạo và biểu hiện thành công chủng nấm men *S. cerevisiae* biểu hiện lectin LvLTLC1 trên bề mặt, và cho thấy hiệu quả ngưng kết vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của chủng nấm men này.

**3.** **CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU**

Các kết quả cho thấy hiệu quả ngưng kết vi khuẩn của lectin LvLTLC1 trên bề mặt nấm men *S. cerevisiae.* Đây là cơ sở cho việc phát triển chế phẩm sinh học hỗ trợ phòng ngừa, điều trị AHPND. Tuy nhiên, nhằm ứng dụng thực tế, các thí nghiệm nhằm xác định hiệu suất ngưng kết, tỷ lệ ngưng kết vi khuẩn, hiệu quả ngưng kết trong điều kiện tự nhiên, cũng như hiệu quả hỗ trợ miễn dịch tôm cần được thực hiện.

 **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN NGHIÊN CỨU SINH**

 PGS.TS Trần Văn Hiếu Nguyễn Thị Phương Thảo

 **XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

 **HIỆU TRƯỞNG**

**THESIS INFORMATION**

Thesis title: **Expression of lectins from white-leg shrimp on *Saccharomyces cerevisiae* and investigation of *Vibrio parahaemolyticus* binding ability**

Speciality: Microbiology

Code: 62420107

Name of PhD Student: Phuong-Thao Thi Nguyen

Academic year: K27/2017

Supervisor: Assoc.Prof. Hieu Tran-Van

At: VNUHCM - University of Science

**1. SUMMARY**:

Lectins have been shown to bind to glycoproteins or glycolipids on the surface of microorganisms. Therefore, lectins are potential candidates for the role of pattern recognition receptors in innate immunity. Many lectins from the white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* have been shown to play an essential role in the innate immune responses in shrimp by recognizing and eliminating infectious microorganisms and agglutination of Gram-negative bacteria *V. parahaemolyticus*, causative agent of acute hepatopancreatic necrosis in shrimp. Specifically, two new lectins, LvLTLC1 (*L. vannamei* L-type lectin) and LvLdlrCTL *(L. vannamei* Low Density Lipoprotein Receptor C-type Lectin) were confirmed to be able to support the innate immune system of shrimp in against the action of some bacteria, including *V. parahaemolyticus*. Genes encoding LvLTLC1 and LvLdlrCTL proteins, after being obtained from white shrimp *L. vannamei* tissues, were cloned into pET22b and pGEX-5X-1 vectors for expression, respectively. Both recombinant proteins were confirmed with SDS-PAGE and Western blot before purifying by affinity chromatography. In the protein interaction assay using dot blot technique, the two proteins were bound to *V. parahaemolyticus*. In the agglutination test with *V. parahaemolyticus*, the LvLTLC1 protein gave better results than LvLdlrCTL although LvLdlrCTL still agglutinated bacteria. From the above results, LvLTLC1 protein expression was performed on the surface of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The obtained results showed that the yeast *S. cerevisiae* expressing LvLTLC1 protein on its surface has good binding and agglutination ability with *V. parahaemolyticus*, the agglutination efficiency is equivalent to that of the recombinant LvLTLC1 protein while the production process and large-scale isolation much simpler. This is the starting material for further trials aimed at developing probiotics that are added directly to shrimp feed. This strategy is and will be a promising approach to help prevent and support the treatment of AHPND caused by *V. parahaemolyticus*.

**2. NOVELTY OF THESIS**

- Successfully obtained two recombinant lectins LvLdlrCTL and LvLTLC1 from *E. coli* BL21(DE3). It has been demonstrated that LvLTLC1's *V. parahaemolyticus* agglutination ability wass higher than that of LvLdlrCTL.

- Successfully created and expressed the yeast strain *S. cerevisiae* expressing the LvLTLC1 lectin on the surface and showed the effective agglutination of *V. parahaemolyticus* of this strain.

**3**. **APPLICATIONS/ APPLICABILITY/ PERSPECTIVE**

The results showed the effect of LvLTLC1 lectin on the surface of yeast *S. cerevisiae* on bacterial agglutination. This was the basis for the development of probiotics to support the prevention and treatment of AHPND. However, for practical application, experiments to determine the agglutination efficiency, bacterial agglutination rate, agglutination efficiency under natural conditions, as well as the shrimp immune support effect need to be carried out.

 **SUPERVISOR PhD STUDENT**

 Hieu Tran-Van Phuong-Thao Thi Nguyen

**CONFIRMATION UNIVERSITY OF SCIENCE**

**PRESIDENT**