**TÓM TẮT THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: *Phát triển vector biểu hiện mang promoter Pgrac cảm ứng bằng IPTG được sáp nhập tại locus amyE và lacA trong Bacillus subtilis*

Ngành: Vi sinh vật học

Mã số ngành: 9420107

Họ tên nghiên cứu sinh: Chu Thị Bích Phượng

Khóa đào tạo: 2018

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Phan Thị Phượng Trang

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên- ĐHQG.HCM

1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN

Promoter P*grac,* một promoter mạnh cảm ứng IPTG được phát triển nhờ sự kết hợp giữa promoter P*groES* có nguồn gốc từ vi khuẩn *B. subtilis* và operator *lac* từ vi khuẩn *E. coli,* từ lâu đã được sử dụng phổ biến cho vi khuẩn *B. subtilis*. Đề tài này được thực hiện nhằm mục tiêu phát triển các hệ thống vector biểu hiện mang promoter P*grac* cảm ứng bằng IPTG sáp nhập gen mục tiêu tại locus *amyE*, *lacA* và kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein trong vi khuẩn *B. subtilis.* Các hệ thống biểu hiện pHT chứa promoter P*grac* cảm ứng có khả năng sáp nhập gen mục tiêu *gfp+* hoặc *bgaB* vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* tại vị trí *amyE* hoặc *lacA* và kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein bằng IPTG. Trong đó, các chủng *B. subtilis* được sáp nhập cassette P*grac*01-*gfp+,* P*grac*100-*gfp+,* P*grac*212-*gfp+* có khả năng biểu hiện hiệu quả protein GFP+ và đạt lần lượt khoảng 10%, 14% và 22% tổng số protein tế bào; các chủng *B. subtilis* sáp nhập cassette P*grac*01-*bgaB*, P*grac*100-*bgaB*, P*grac*212-*bgaB* có khả năng biểu hiện hiệu quả protein BgaB và đạt lần lượt khoảng 9%, 15% và 30% tổng số protein tế bào. Ngoài ra, các hệ thống biểu hiện pHT chứa promoter P*grac* cảm ứng có khả năng sáp nhập gen mục tiêu *gfp+* vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* đồng thời tại 2 vị trí *amyE* và *lacA* và kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein bằng IPTG. Các chủng *B. subtilis* được sáp nhập đồng thời 2 bản sao gen mục tiêu *gfp*+ tại vị trí *amyE* và *lacA* có mức độ biểu hiện protein GFP+ đạt 16,9%, 20,7% và 37,8% tổng số protein tế bào, cao gấp 1,7; 1,5 và 1,7 lần so với các chủng *B. subtilis* chỉ chứa 1 bản sao gen mục tiêu *gfp+* có cùng loại promoter P*grac*01, P*grac*100, P*grac*212 tương ứng. Tóm lại, các hệ thống vector tạo ra trong đề tài có khả năng kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein mục tiêu trong vi khuẩn *B. subtilis* nhờ chất cảm ứng IPTG ở các mức độ khác nhau từ thấp đến cao và có thể ứng dụng làm công cụ cho việc phát triển các sản phẩm liên quan đến công nghệ protein tái tổ hợp (enzyme, kháng thể, vaccine, …).

1. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN

Kết quả nghiên cứu của Luận án đã đóng góp những thông tin khoa học quan trọng trong lĩnh vực nghiên cứu vi sinh vật học:

- Hệ thống vector biểu hiện cảm ứng pHT chứa promoter P*grac* có khả năng sáp nhập gen mục tiêu vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* tại vị trí *amyE* hoặc *lacA*. Sự biểu hiện cảm ứng của gen mục tiêu sáp nhập trong tế bào *B. subtilis* có thể được kiểm soát chặt chẽ nhờ chất cảm ứng IPTG.

- Hệ thống vector biểu hiện cảm ứng pHT chứa promoter P*grac* có khả năng sáp nhập đồng thời hai gen mục tiêu vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* tại vị trí *amyE* và *lacA.* Sự biểu hiện protein mục tiêu của các chủng *B. subtilis* chứa gen đồng sáp nhập được tăng cường và được kiểm soát chặt chẽ nhờ chất cảm ứng IPTG.

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

Đề tài cung cấp bộ sưu tập các vector biểu hiện cảm ứng pHT chứa các loại promoter P*grac* khác nhau có khả năng sáp nhập gen mục tiêu vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* tại vị trí *amyE, lacA*. Các hệ thống vector này kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein mục tiêu trong vi khuẩn *B. subtilis* nhờ chất cảm ứng IPTG ở các mức độ khác nhau từ thấp đến cao và có thể ứng dụng làm công cụ cho việc phát triển các sản phẩm liên quan đến công nghệ protein tái tổ hợp (enzyme, kháng thể, vaccine, …).

|  |  |
| --- | --- |
| **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**  PGS. TS. Phan Thị Phượng Trang | **NGHIÊN CỨU SINH**  Chu Thị Bích Phượng |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**HIỆU TRƯỞNG**

**THESIS INFORMATION**

Thesis title: Development of expression vectors based on the IPTG-inducible P*grac* promoter integrated into the *B. subtilis* genome at the *amyE* and *lacA* loci

Speciality: Microbiology

Code: 9420107

Name of PhD Student: Chu Thi Bich Phuong

Academic year: 2018

Supervisor: Associate Prof., PhD. Phan Thi Phuong Trang

At: VNUHCM -University of Science

1. **SUMMARY:**

In this study, we constructed IPTG-inducible expression vectors containing strong P*grac* promoters that allow integration of the transgene at either the *amyE* or *lacA* locus, or both loci, in *Bacillus subtilis.* Our novel integrative expression vectors based on P*grac* promoters could control the repression of protein production in the absence and the induction in the presence of the inducer, IPTG. The GFP+ protein levels were about 10.0%, 14.0%, and 22.0% of the total cellular protein in the *B. subtilis* strains carrying single cassette P*grac*01-*gfp*+, P*grac*100-*gfp*+, or Pgrac212-*gfp*+, while the β-galactosidase (BgaB) protein levels were about 9.0%, 15.0%, and 30.0% of the total cellular protein in the *B. subtilis* strains carrying single cassette P*grac*01-*bgab*, Pgrac100-*bgab*, or P*grac*212-*bgab*, respectively. A dual integration of two copies of the *gfp+* gene into the *B. subtilis* genome at the *lacA* and *amyE* loci resulted in a yield of about 16.9%, 20.7%, and 37.8% of total cellular protein and a 1.7-fold, 1,5-fold, and 1,7-fold increase in GFP+ compared with single-integrated strains containing the same P*grac0*1, P*grac*100, and P*grac*212 promoter, respectively. In conclusion, these vector systems precisely control target protein expression in *B. subtilis* bacteria using the IPTG inducer at various levels ranging from low to high and can be used to produce products associated with recombinant protein technology (enzymes, antibodies, vaccines, etc.).

1. **NOVELTY OF THESIS:**

The thesis's research findings have made significant contributions to the field of microbiological study.

* The pHT inducible expression vector system contains the P*grac* promoter, which can integrate the target gene into the genome of *B. subtilis* bacteria at the *amyE* or *lacA* loci. The protein expression in *B. subtilis* cells could be tightly controlled by using an IPTG inducer.
* The pHT-inducible expression vector system includes the P*grac* promoter, which may dual integrate two target genes into the genome of *B. subtilis* bacteria at the both *amyE* and *lacA* loci. The recombinant protein expression level of *B. subtilis* strains containing two copies of the target gene was enhanced and tightly controlled by the inducer IPTG.

1. **APPLICATIONS/ APPLICABILITY/ PERSPECTINE**

The thesis provides a collection of pHT-inducible expression vectors, including several types of P*grac* promoters capable of integrating the target gene into the genome of *B. subtilis* bacteria at the *amyE* and *lacA* locations. These vector systems precisely control target protein expression in *B. subtilis* bacteria using the IPTG inducer at various levels ranging from low to high and can be used to produce products associated with recombinant protein technology (enzymes, antibodies, vaccines, etc.).

|  |  |
| --- | --- |
| **SUPERVISOR**  Associate Prof., PhD. Phan Thi Phuong Trang | **STUDENT**  Chu Thị Bích Phượng |

**CONFIRMATION UNIVERSITY OF SCIENCE**

**PRESIDENT**