

NÂNG QUY MÔ LÊN MEN VÀ THỬ NGHIỆM TĂNG SẢN LƯỢNG SẢN XUẤT PROTEIN rhPDGF-BB TRÊN ĐỐI TƯỢNG *Pichia pastoris*

Nguyễn Lê Hoài Bảo¹, Lê Trung Nghĩa², Lê Mai Hương Xuân³ Nguyễn Trí Nhân⁴

¹Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM.

²Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học,

[Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM.](#)

1415028@student.hcmus.edu.vn, ltnggia@hcmus.edu.vn, lmhxuan@hcmus.edu.vn,

ntrnhan@hcmus.edu.vn

Tóm tắt

Nhân tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu người hPDGF-BB với vai trò quan trọng trong quá trình làm lành vết thương có thể được ứng dụng trong điều trị biến chứng loét ở những bệnh nhân bệnh đái tháo đường. Nghiên cứu này thực hiện nhằm tăng sản lượng protein rhPDGF-BB thô để bước đầu nghiên cứu và cung cấp thuốc chữa trị cho các bệnh nhân đái tháo đường ở Việt Nam. Chủng *Pichia pastoris* tái tổ hợp mang gene mã hóa cho hPDGF-BB được nâng quy mô nuôi cấy theo phương pháp mẻ-bổ sung ở thể tích 7.5 L theo quy trình đã được công bố trước đó ở thể tích 0.5 L, đồng thời thử nghiệm đồng bổ sung cơ chất thứ hai trong quá trình cảm ứng bằng methanol để gia tăng hiệu quả lên men. Kết quả sản lượng trung bình của mẻ 7.5 L đạt được là 1661.29 ± 168.67 mg cao gấp 7.01 lần so với quy mô 0.5 L, tuy nhiên năng suất trung bình thấp hơn 2.13 lần, nguyên nhân có thể do hạn chế oxy hoà tan khi nâng quy mô dẫn đến tích lũy methanol gây độc cho tế bào. Việc phối hợp đồng bổ sung sorbitol:methanol tỉ lệ 1:3 và đồng bổ sung glycerol:methanol tỉ lệ 1:2 cho sản lượng rhPDGF-BB thu được lần lượt là 1981.14 mg và 2103.61 mg, năng suất gấp lần lượt là 1.19 và 1.27 lần so với không bổ sung cơ chất. Như vậy đồng bổ sung sorbitol và glycerol với methanol tỉ lệ thích hợp đã cho hiệu quả cải thiện năng suất và sản lượng protein rhPDGF-BB.

Từ khóa: *Pichia pastoris*, đái tháo đường, lên men mẻ-bổ sung, nâng quy mô, mixed-feed rhPDGF-BB

SCALE-UP A FERMENTATION PROCEDURE AND INCREASING PRODUCTION OF rhPDGF-BB IN *Pichia pastoris*

Nguyễn Lê Hoài Bảo¹, Lê Trung Nghĩa², Lê Mai Hương Xuân³, Nguyễn Trí Nhân⁴

¹University of Science, VNU-HCM

²Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM

1415028@student.hcmus.edu.vn, ltnghia@hcmus.edu.vn, lmhxuan@hcmus.edu.vn,

ntrnhan@hcmus.edu.vn

Abstract

The human platelet-derived growth factor, hPDGF-BB, has a role in wound healing process, could be used for the treating diabetic wounds. The aim of this study is to increase production of rhPDGF-BB protein for research and development of the wound-healing drug for the Vietnamese diabetes patients. The recombinant *Pichia pastoris* X33::*pdgf-b* clone cultured by fed-batch fermentation process in a 7.5 L scale bioreactor following the previous report of the 0.5 liter fermentation, simulatenously, the mixed-feed strategy was performed with sorbitol and glycerol with methanol in order to increase the productivity. The results showed that the average production yield of the 7.5 L fermentation was 1661.29 ± 168.67 mg of rhPDGF-BB, which was 7.01-fold higher than that of the 0.5 L fermentation, however, the average productivity of the 7.5 L one was less than 2.13-fold, that could be the stimulation of methanol result from the limitation of dissovled oxygen in scale up of fermentation. At different ratio with methanol, the results show that the ratio of 1:3 sorbitol:methanol and 1:2 glycerol:methanol enhanced the production yield of rhPDGF-BB to 1981.14 mg, 2103.61 mg protein rhPDGF-BB, respectively. In other words, they increased the productivity to 1.19 and 1.27-fold, respectively.

Key words: *Pichia pastoris*, diabet, fed-batch fermentation, scale-up, mixed-feed, rhPDGF-BB