

THỬ NGHIỆM CHIẾN LƯỢC ĐỒNG BỔ SUNG GLYCEROL-METHANOL VÀ SORBITOL-METHANOL TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT PROTEIN rhPDGF-BB BỞI *Pichia pastoris*

*Lê Trung Nghĩa**, *Trần Hà Lạc**, *Nguyễn Lê Hoài Bảo*, *Ân Tiến Đạt*, *Huỳnh Hiền Vinh*, *Đặng Hoàng Huy*, *Lê Đình Đông*, *Nguyễn Trí Nhân*

Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học,

Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG-HCM

ltnghia@hcmus.edu.vn, thlac@hcmus.edu.vn, nguyenlehoaibao17121996@gmail.com,
tiendatan1203@gmail.com, hhvvinh1905@gmail.com, danghoanghuy9.4@gmail.com,
ledinhdongdn96@gmail.com, ntrnhan@hcmus.edu.vn

*đồng tác giả chính

Tóm tắt

Protein rhPDGF-BB (recombinant human platelet-derived growth factor type BB) với khả năng kích thích tăng sinh tế bào và thúc đẩy quá trình làm lành vết thương đã được FDA chấp thuận trong điều trị loét chân do đái tháo đường. Ở Việt Nam, rhPDGF-BB đang được thử nghiệm sản xuất từ chủng chủ *Pichia pastoris* tái tổ hợp, sử dụng methanol làm nguồn carbon duy nhất và đồng thời là chất cảm ứng trong giai đoạn biểu hiện protein. Nếu không được kiểm soát nồng độ tốt, methanol có thể có tác dụng ức chế ngược lại lên sự tăng trưởng và biểu hiện protein của chủng chủ. Nhằm tối ưu hóa điều kiện cảm ứng biểu hiện protein, nghiên cứu này thử nghiệm chiến lược đồng bổ sung cơ chất, nghĩa là trong giai đoạn cảm ứng, chất cảm ứng methanol được bổ sung vào môi trường lên men đồng thời với một nguồn carbon khác là glycerol hoặc sorbitol, ở các tỉ lệ mol carbon khác nhau. Thử nghiệm được tiến hành ở thể tích lên men là 7,5 L. Kết quả cho thấy, trong hai loại hỗn hợp glycerol-methanol và sorbitol-methanol, ở ba tỉ lệ mol carbon khác nhau là 1:1, 1:2 và 1:3, thì hỗn hợp glycerol:methanol tỉ lệ 1:2 và sorbitol:methanol tỉ lệ 1:3 giúp cải thiện hiệu quả sản xuất rhPDGF-BB cao nhất, với năng suất biểu hiện đạt 280,48 mg/L và 264,15 mg/L, tăng 1,32 lần và 1,24 lần so với chiến lược nuôi cấy chỉ cảm ứng bằng methanol.

Từ khóa: đồng bổ sung cơ chất, lên men, methanol, glycerol, sorbitol, *Pichia pastoris*, rhPDGF-BB

STUDY OF GLYCEROL-METHANOL AND SORBITOL-METHANOL MIXED-FEEDING STRATEGIES ON THE PRODUCTION OF rhPDGF-BB IN *Pichia pastoris*

Le Trung Nghia, Tran Ha Lac, Nguyen Le Hoai Bao, An Tien Dat, Huynh Hien Vinh, Dang Hoang Huy, Le Dinh Dong, Nguyen Tri Nhan

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

ltnghia@hcmus.edu.vn, thlac@hcmus.edu.vn, nguyenlehoaibao17121996@gmail.com, tiendatan1203@gmail.com, hhvvinh1905@gmail.com, danghoanghuy9.4@gmail.com, ledinhdongdn96@gmail.com, ntrnhan@hcmus.edu.vn

Abstract

The recombinant human platelet-derived growth factor type BB (rhPDGF-BB) protein has been approved by FDA for diabetic foot ulcer treatment due to its function of stimulating cell proliferation and wound healing. In Vietnam, the production of rhPDGF-BB has been studied on the fermentation of recombinant *Pichia pastoris* in which methanol is used as an inducer and the sole carbon source for the induction phase. The excess methanol in the culture medium can affect the growth and the protein production of the host cell. In this study, the induction phase of rhPDGF-BB production in a 7.5 L fermentation was optimized by using the mixed-feed strategy, in which methanol was co-fed with glycerol or sorbitol at three different molar ratios (1:1, 1:2 and 1:3). The mixture of glycerol and methanol at the molar ratio 1:2 and the mixture of sorbitol and methanol at the molar ratio 1:3 increased the productivity of rhPDGF-BB 1.32-fold and 1.24-fold respectively higher than using only methanol.

Key words: fermentation, mixed-feed, methanol, glycerol, sorbitol, *Pichia pastoris*, rhPDGF-BB