

# Biểu hiện và tinh chế protein tái tổ hợp trong chủng chủ không tạo độc tố *Bacillus subtilis* dựa trên HVR3C protease

Lê Dương Vương<sup>1</sup>, Trương Thị Tinh Tuom<sup>1</sup>, Phan Thị Phương Trang<sup>1</sup>,  
Nguyễn Đức Hoàng<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Khoa học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,  
ĐHQG-HCM

[ldvuong@hcmus.edu.vn](mailto:ldvuong@hcmus.edu.vn), [tttuom@hcmus.edu.vn](mailto:tttuom@hcmus.edu.vn), [ptptrang@hcmus.edu.vn](mailto:ptptrang@hcmus.edu.vn)  
[,ndhoang@hcmus.edu.vn](mailto:ndhoang@hcmus.edu.vn)

## Tóm tắt

“Endotoxin” là một vấn đề cần phải đối mặt khi tiến hành sản xuất protein tái tổ hợp, đặc biệt khi sử dụng chủng chủ *E. coli*. Đây là những tác nhân gây độc và đòi hỏi tốn thời gian, chi phí để loại bỏ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng *Bacillus subtilis*- chủng vi sinh vật không gây bệnh, không sinh nội độc tố kết hợp với promoter mạnh *Pgrac212* để sản xuất các protein mô hình của quá trình tinh chế: protease có vị trí cắt chuyên biệt HRV3C và hai protein cơ chất có trình tự nhận diện của HRV3C (LysSN-6xHis-HRV3C C/S-GFP, LysSN-6xHis-HRV3C C/S-BgaB). Điều này đảm bảo sản phẩm tinh chế cuối sẽ không mang endotoxin. Kết quả cho thấy HRV3C protease đã được thu nhận với độ tinh sạch cao và có hoạt tính *in vitro* lẫn *in vivo*. Sau khi sử dụng HVR3C để loại đuôi dung hợp, hai protein mô hình (GFP và Bgab) được tinh sạch khi đi qua cột HisTrap. Nghiên cứu này là một minh chứng cho khả năng sử dụng chủng chủ *B. subtilis* để biểu hiện nội bào protein tái tổ hợp và tiềm năng ứng dụng của HRV3C.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, HRV3C, *Pgrac212*, endotoxin-free

# Expressing and purifying recombinant proteins in the endotoxin-free host strain, *Bacillus subtilis*, based on HRV3C protease

Le Duong Vuong<sup>1</sup>, Truong Thi Tinh Tuom<sup>1</sup>, Phan Thi Phuong Trang<sup>1</sup>,  
Nguyen Duc Hoang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centre of Bioscience and Biotechnology, University of Science, VNU-HCM

[ldvuong@hcmus.edu.vn](mailto:ldvuong@hcmus.edu.vn), [tttuom@hcmus.edu.vn](mailto:tttuom@hcmus.edu.vn), [ptptrang@hcmus.edu.vn](mailto:ptptrang@hcmus.edu.vn),  
[ndhoang@hcmus.edu.vn](mailto:ndhoang@hcmus.edu.vn)

## Abstract

The “Endotoxin” is one of the main problems which must be solved while the production of recombinant proteins is conducted, especially the model host strain, *E. coli*. Endotoxin is a toxic component and requires removal by some extensive and costly methods. In this study, we used *Bacillus subtilis*-a nonpathogenic, endotoxin-free bacterium and the strong promoter-*Pgrac212* for producing some model proteins in the purification process such as a highly specific-site cysteine protease- HRV3C (Human rhinovirus 3C) protease and two substrates having its recognition sequence (LysSN-6xHis-HRV3C C/S-GFP, LysSN-6xHis-HRV3C C/S-BgaB). This makes sure that the final purified products do not contain any endotoxin. The results demonstrate that the active HRV3C protease obtained with high purity and have both *in vitro* and *in vivo* activities. After cleaving and removing the fusion tag by HRV3C protease; two model proteins (GFP and BgaB) were secondly purified by HisTrap column. Our study nicely proves the ability of *B. subtilis* to produce the intracellular recombinant proteins and the potential application of HRV3C protease.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, HRV3C, *Pgrac212*, endotoxin-free