

PHÂN LẬP, BIỂU HIỆN, TINH SẠCH VÀ ĐÁNH GIÁ TÍNH CHẤT LÝ HÓA CỦA CHITINASE TỪ LECANICILLIUM LECANII 43H TRONG NẤM MEN PICHIA PASTORIS

Nguyễn Hữu Quân, Đỗ Thị Tuyên, Quyền Đình Thi

TÓM TẮT:

Chitinase là enzyme thủy phân liên kết 1,4--glycoside trong phân tử chitin và được sinh ra từ nhiều tổ chức cơ thể khác nhau. Chitinase đã được sử dụng để chống lại các loài nấm bệnh và côn trùng hại thực vật. Gần đây, gene mã hóa chitinase từ một số chủng vi sinh vật đã được nhân dòng và biểu hiện trong các cơ thể vật chủ khác nhau và enzyme tái tổ hợp này đã được tinh sạch; đánh giá tính chất lý hóa. Trong bài báo này, chúng tôi đã phân lập được gene mã hóa chitinase từ chủng *Lecanicillium lecanii* 43H có chiều dài 1269 bp mã hóa cho protein có khối lượng phân tử khoảng 45 kDa, gồm 423 amino acid, chứa 1 tín hiệu peptide (20 amino acid). Gene cDNA này được đăng kí trong GenBank với mã số JX665045 và biểu hiện trong nấm men *P. pastoris* X33 thông qua vector biểu hiện pPICZA. Dòng biến nạp (S18) có hoạt tính chitinase cao đã được lựa chọn. Chitinase tái tổ hợp (rChit) được sinh tổng hợp với hàm lượng cao nhất trong môi trường YP sau khi cảm ứng methanol 1,5% trong 96 h nuôi cấy. rChit được tinh sạch qua cột sắc kí trao đổi ion DEAE-Sephadex A-50 thu được một băng protein kích thước khoảng 45 kDa, hoạt tính riêng đạt 11,93 U/mg protein, độ sạch 1,8 lần. rChit hoạt động mạnh nhất ở 40°C và pH 5,5.