|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| VIỆN HÀN LÂMKHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC** |  | **CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM****Độc lập - Tự do - Hạnh phúc** *Hà Nội, ngày 24 tháng 10 năm 2017* |

**THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN ĐƯA LÊN MẠNG**

***Tên đề tài luận án***: Nghiên cứu biểu hiện kháng nguyên hemagglutinin (HA) tái tổ hợp của virus cúm A/H5H1 và đánh giá tinh sinh miễn dịch trên gà.

***Chuyên ngành***: Hóa sinh học ***Mã số***: 62 42 01 16

***Họ và tên Nghiên cứu sinh***: Võ Viết Cường

***Họ và tên cán bộ hướng dẫn***: GS. TS. Trương Nam Hải và PGS. TS. Trương Văn Dung

***Cơ sở đào*** ***tạo***: Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

**TÓM TẮT NHỮNG KẾT LUẬN MỚI CỦA LUẬN ÁN**

1. Đã biểu hiện thành công gen *ha1, ha1-2* của virus cúm A/H5N1 dưới dạng dung hợp với gen *trx* có vị trí cắt của enterokinase và thrombin (*trx-te-ha1, trx-te-ha1-2*) trong *E. coli* BL21. Ở quy mô bình tam giác, trong môi trường LB, nhiệt độ 30oC, nồng độ chất cảm ứng IPTG 0,5 mM. Protein TrxHA1E tái tổ hợp được tổng hợp chủ yếu ở dạng thể vùi, hàm lượng protein tái tổ hợp đạt 126 mg/l. Hiệu giá HI trung bình huyết thanh gà gây miễn dịch bằng TrxHA1E đạt 2,2-2,8 log2.
2. Đã biểu hiện thành công gen *ha1, ha1-2* dung hợp với gen *trx* trong nấm men *P. pastoris* dưới dạng có (*trx-te-ha1, trx-te-ha1-2*) và không có vị trí cắt của enterokinase và thrombin (*trxha1*, *trxha1-2*). Hiệu suất biểu hiện gen *trxha1, trxha1-2* cao hơn so với *trx-te-ha1, trx-te-ha1-2*. Khả năng sinh đáp ứng miễn dịch của các protein tái tổ hợp Trx-TE-HA1, TrxHA1, TrxHA1-2 tương đương nhau. Điều kiện thích hợp cho quá trình biểu hiện gen *trxha1*: môi trường BMMGY, pH 5-6, nồng độ methanol cảm ứng 1%. Hàm lượng TrxHA1 dịch lên men biểu hiện quy mô bình tam giác và trong nồi lên men 10 lít đạt 14 mg/L và 84 mg/L.
3. Với liều gây miễn dịch 100 µg protein tái tổ hợp, hiệu giá HI trung bình huyết thanh gà sau 2 tuần gây miễn dịch nhắc lại bằng đường tiêm đạt 7,0-7,2 log2, đường nhỏ mắt mũi đạt 6,6-7,0 log2.

|  |  |
| --- | --- |
| **Người hướng dẫn khoa học****GS. TS. Trương Nam Hải PGS. TS. Trương Văn Dung** | **Nghiên cứu sinh****Võ Viết Cường** |

**XÁC NHẬN**

**CỦA VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| VIETNAM ACADEMY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY** |  | **Socialist Republic of Vietnam****Independence - Freedom - Happiness***Hanoi, October 24th, 2017* |

**PhD THESIS BRIEF**

***(For publication on Internet)***

***Topic***: Expression of recombinant hemagglutin (HA) from avian influenza H5N1 virus and evaluation of the immunogenicity in chickens.

***Major***: Biochemistry ***No.***: 62 42 01 16

***Full name of PhD Student***: Vo Viet Cuong

***Full name of Instructor***: Prof. PhD. Truong Nam Hai, Assoc. Prof. PhD. Truong Van Dung

***Location of Research***: Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

**FINDINGS AND CONCLUSIONS**

1. The fusion proteins of TrxHA1E and TrxHAl-2E were expressed successfully in *E. coli* BL 21 cells in LB medium. TrxHA1E were synthesized in inclusion body at 30oC under induction of 0.5 mM IPTG with expression levels of TrxHA1E approximately 126 mg/l. HI titers of chickens sera after 2 weeks of booster immunization with TrxHA1E were 2.2-2.8 log2.
2. In *P. pastoris*, the recombinant TrxHA1 and TrxHA1-2 protein were produced with higher productivity and more stable in the form lacking two protease sites on linker's sequences. The ability of immune response in chickens of TrxHA1 and TrxHA1-2 was equal. Conditions for high expression levels of TrxHA1 in *P. pastoris* were BMMGY media, pH from 5 to 6, inducing with 1% methanol. The TrxHA1 concentration of the clarified broth in shake flasks and in the fed-batch fermentation at 10 L scale was found to be 14 mg/L and 84 mg/L respectively.
3. The doses of 100 μg TrxHA1 were immunized for two week-old chickens by subcutaneous injection or by intranasal administration for assessment of TrxHA1 immunogenicity. In subcutaneous injection chickens groups, haemagglutinin inhibition (HI) titer of chickens sera harvested after 2 weeks of booster immunization reached 7.0-7.2 log2. In intranasal immunization groups, HI titers were about 6.6-7.0 log2.

|  |  |
| --- | --- |
| **Instructor****Truong Nam Hai Truong Van Dung** | **PhD Student****Vo Viet Cuong** |

**CONFIRMATION OF INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY**