|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| VIỆN HÀN LÂM  KHOA 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 17 tháng 9 năm 2018* |

**THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN ĐƯA LÊN MẠNG**

***Tên đề tài***: Tách dòng, biểu hiện và nghiên cứu tính chất của endochitinase từ *Bacillus thuringiensis* phân lập ở Việt Nam

***Chuyên ngành***: Vi sinh vật học ***Mã số***: 9 42 01 07

***Họ và tên Nghiên cứu sinh***: Trịnh Thị Thu Hà

***Họ và tên cán bộ hướng dẫn***: PGS. TS. Ngô Đình Bính và PGS. TS. Đồng Văn Quyền

***Cơ sở đào*** ***tạo***: Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam

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

1. Đã sàng lọc và tuyển chọn được chủng *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* MSS1.1 sinh tổng hợp chitinase cao nhất (hoạt tính đạt 0,54 U/ml) từ 132 chủng *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* (Btk) phân lập ở Việt Nam.
2. Đã tách dòng, xác định trình tự nucleotide gen *chiA* từ chủng Btk MSS1.1 và đăng ký trong GenBank với mã số MF630994.
3. Đã biểu hiện thành công gen *chiA* trong *E. coli* BL21(DE3) với hiệu suất cao và cho hoạt tính cao. Chitinase tái tổ hợp (rChiA) thuộc họ glycosyl hydrolase 18 và được tiết ra khoang chu chất nhờ peptide tín hiệu của gen *chiA* được nhận biết bởi hệ thống biểu hiện trong *E. coli*.
4. Đã tinh sạch thành công rChiA, enzym này sau khi tinh sạch có khối lượng phân tử ~70 kDa, hoạt tính riêng đạt 72,11 U/mg protein với hiệu suất thu hồi 40,32%, độ tinh khiết 4,65 lần. rChiA hoạt động tốt nhất ở 40oC và pH 7; bền ở dưới 35oC và pH 7.
5. Đã chứng minh được các ion kim loại: Mn2+, Mg2+, Cu2+, Zn2+, Fe2+, Hg2+, Ag+ và EDTA làm giảm hoạt tính của rChiA và các ion: Ca2+, K+, Na+ làm tăng hoạt tính của rChiA. Các dung môi hữu cơ: ethanol, acetone, methanol, n-butanol và chất tẩy rửa (SDS) làm giảm hoạt tính của rChiA.
6. Đã chứng minh được: rChiA có khả năng ức chế sự sinh trưởng của nấm *Fusarium oxysporum* và *Rhizoctonia solani*; rChiA làm tăng hoạt tính diệt côn trùng của protein tinh thể Bt thể hiện ở giá trị LC50 giảm 8,04% và 6,80% tương ứng đối với sâu tơ và sâu khoang và rút ngắn thời gian gây chết của protein tinh thể Bt đối với sâu tơ (*Plutella xylostella*) và sâu khoang (*Spodoptera litura*) từ 72 giờ xuống còn 48 giờ (gây chết 100% đối với sâu tơ và 84,3% đối với sâu khoang).

|  |  |
| --- | --- |
| **Người hướng dẫn khoa học**  **PGS. TS. Ngô Đình Bính PGS. TS. Đồng Văn Quyền** | **Nghiên cứu sinh**  **Trịnh Thị Thu Hà** |

**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| VIETNAM ACADEMY OF  SCIENCE AND TECHNOLOGY  **INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY** |  | **Socialist Republic of Vietnam**  **Independence - Freedom - Happiness**  *Hanoi, October 17th 2018* |

**PhD THESIS BRIEF**

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

## Topic: Cloning, expression and characterization of endochitinase from Bacillus thuringiensis isolated in Vietnam

***Major***: Microbiology ***No.***: 9 42 01 07

***Full name of PhD Student***: Trinh Thi Thu Ha

***Full name of Instructor***: Assoc. Prof., Dr. Ngo Dinh Binh and Assoc. Prof., Dr. Dong Van Quyen

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

**FINDINGS AND CONCLUSIONS**

1. *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* MSS1.1 strain with the highest chitinase acitivity (activity was 0.54 U/ml) was selected from 132 strains of *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* (Btk) isolated in Vietnam.
2. *ChiA* gene from Btk MSS1.1 strain was cloning, nucleotide sequencing and deposited on GenBank with code MF630994.
3. *ChiA* gene was successfully expressed in *E. coli* BL21(DE3) with high efficiency and activity. Recombinant chitinase (rChiA) belongs to the family of glycosyl hydrolase 18 and was secreted into periplasm by the signal peptide of gene *chiA* recognized the expression system in *E. coli*.
4. The purified rChiA enzyme has a molecular weight of ~ 70 kDa and a specific activity of 72.11 U/mg protein with a recovery efficiency of 40.32%, a purity of 4.65 times. The recombinant ChiA worked best at 40oC and pH 7; Stable under 35oC and pH 7.
5. Metal ions: Mn2+, Mg2+, Cu2+, Zn2+, Fe2+, Hg2+, Ag+ and EDTA reduced the activity of the rChiA, while Ca2+, K+, Na+ ions increased the activity of the rChiA. Organic solvents: ethanol, acetone, methanol, n-butanol and detergents such as SDS all reduced the activity of the rChiA.
6. The recombinant chitinase A revealed potential to inhibit the growth of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*; The rChiA was shown synergy effect to increase insecticidal activity of the Bt crystal protein when using rChiA combined with crystal proteins from SP10.6 strain, the LC50 value decreased by 8.04% and 6.80%, for the *Plutella xylostella* and *Spodoptera litura* respectively, the killing time was reduced from 72 hours to 48 hours (100% lethal rate for *Plutella xylostella* and 84.3% for *Spodoptera litura*).

|  |  |
| --- | --- |
| **Instructor**  **Assoc. Prof., Dr. Ngo Dinh Binh Assoc. Prof., Dr. Dong Van Quyen** | **PhD Student**  **Trinh Thi Thu Ha** |

**CONFIRMATION OF INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY**