|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 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 28 tháng 12 năm 2018* |

**THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN ĐƯA LÊN MẠNG**

***Tên đề tài***: Nghiên cứu biểu hiện kháng nguyên (M, GP5, GP5ectoM) của virus gây Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn trong cây thuốc lá bằng phương pháp thẩm lọc nhờ *Agrobacterium*.

***Chuyên ngành***: Hoá sinh học ***Mã số***: 9 42 01 16

***Họ và tên Nghiên cứu sinh***: Nguyễn Thị Minh Hằng

***Họ và tên cán bộ hướng dẫn***: TS. Nguyễn Trung Nam, PGS. TS. Chu Hoàng Hà

***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 thiết kế thành công ba cấu trúc vector chuyển gen thực vật mang gen m/gp5opt/gp5ecto-m dung hợp ELP mã hoá cho 3 loại kháng nguyên M-ELP, GP5-ELP, GP5ectoM-ELP của chủng virus PRRS (VN07196) và tạo được các chủng A. tumefaciens mang các vector này.
2. Đã biểu hiện thành công protein M-ELP (52,4 mg/kg lá tươi), GP5-ELP (35,0 mg/kg lá tươi) và GP5ectoM-ELP (66,8 mg/kg lá tươi) trong lá cây thuốc lá bằng phương pháp thẩm lọc nhờ A. Tumefaciens với các điều kiên biểu hiện tạm thời được tối ưu được tối ưu (Sử dụng vector hỗ trợ pIBT-Hc-Pro PVY, nồng độ AS (450 µM), mật độ vi khuẩn (OD600 = 0,5), lá non và lá bánh tẻ của cây 6 tuần tuổi và thu hoạch lá sau 6 ngày biến nạp).
3. Cả ba kháng nguyên M-ELP, GP5-ELP và GP5ectoM-ELP đều kích thích tạo kháng thể IgG đặc hiệu kháng PRRSV trên chuột với liều lượng tiêm 5 µg/con. Kháng thể kháng M-ELP xuất hiện muộn nhất (ở ngày 35 sau 3 lần tiêm); Kháng thể kháng GP5-ELP và GP5ectoM-ELP xuất hiện sớm hơn (ở ngày 21 sau 2 lần tiêm).
4. Kháng nguyên GP5-ELP và GP5ectoM-ELP đều có tính sinh miễn dịch dịch thể cao trên lợn, sản sinh kháng thể kháng lại PRRSV tự nhiên. Hiệu giá kháng thể đạt giá trị bảo hộ cho lợn: GP5ectoM-ELP (hiệu giá kháng thể đạt giá trị cao nhất 2560 từ ngày 35) kích thích tạo kháng thể đặc hiệu kháng PRRSV tốt hơn GP5-ELP (hiệu giá kháng thể đạt 2560 ở ngày 49). Kháng nguyên GP5ectoM-ELP và GP5-ELP là ứng viên tiềm năng để sản xuất vaccine tiểu đơn vị phòng chống PRRS.

|  |  |
| --- | --- |
| **Người hướng dẫn khoa học**  **TS. Nguyễn Trung Nam PGS. TS. Chu Hoàng Hà** | **Nghiên cứu sinh**  **Nguyễn Thị Minh Hằng** |

**VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| VIETNAM ACADEMY OF  SCIENCE AND TECHNOLOGY  **INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY** |  | **Socialist Republic of Vietnam**  **Independence - Freedom - Happiness**  *Hanoi, December 28th 2018* |

**PhD THESIS BRIEF**

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

## Topic: Study on expression of antigens of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in leaves of Nicotiana benthamiana by agroinfiltration method.

***Major***: Biochemistry ***No.***: 9 42 01 16

***Full name of PhD Student***: Nguyen Thi Minh Hang

***Full name of Instructor***: Dr. Nguyen Trung Nam, Prof. Dr. Chu Hoang Ha

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

**FINDINGS AND CONCLUSIONS**

Design of transgenic plant vectors carrying m/ gp5opt / gp5ecto-m genes:

1) Amplification of the m gene (528 bp) coding for M antigen, gp5opt (510 bp) coding for GP5 antigen and the gp5ecto/m gene (742 bp) coding for the GP5ectoM antigen of PRRSV.

2) Construction of plant transformation vectors m / gp5opt / gp5ecto-m conjugate Elastin-like polypeptide coding for 3 types of M-ELP, GP5-ELP, GP5ectoM-ELP antigen of PRRSV (VN07196) including pCB301 35S-m-Histag-Cmyc-100xELP vector, pCB301 35S-gp5opt-Histag-Cmyc-100xELP vector, pCB301 35S-gp5ecto-m-Histag-Cmyc-100xELP vector.

3) Producion of A. tumefaciens strains carrying designed vectors.

Transient expression of gene:

1) Determination of optimal conditions for transient expression of recombinant proteins in tobacco leaves *N. benthamiana* via agroinfiltration including co-infection (A. tumefaciens carries the pIBT-Hc-Pro PVY support vector), the AS concentration (450 μM), the bacterial concentration (OD=0.5), the invasion of young leaves and leafy leaves (6-week-old plant) and the harvesting time for protein (6 days post-transformation).

2) Expression and purification of M-ELP, GP5-ELP and GP5ectoM-ELP proteins by mITC method with 52.4 mg M-ELP / kg fresh leaf, 35.0 mg GP5-ELP / kg fresh leaf and 66.8 mg GP5ectoM-ELP / kg fresh leaves.

|  |  |
| --- | --- |
| **Instructor**  **Dr. Nguyen Trung Nam Prof. Dr. Chu Hoang Ha** | **PhD Student**  **Nguyen Thi Minh Hang** |

**CONFIRMATION OF INSTITUTE OF BIOTECHNOLOGY**