

TĂNG CƯỜNG SINH TỔNG HỢP β -CAROTENE TRONG *ESCHERICHIA COLI* TÁI TỔ HỢP ĐƯỢC BỔ SUNG MỘT PHẦN CON ĐƯỜNG MEVALONATE

Vũ Hoài Nam¹, Dương Văn Cường^{1,2*}

¹Viện Khoa học sự sống - ĐH Thái Nguyên

²Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

β -carotene là một sắc tố thuộc nhóm carotenoid có giá trị thương mại. Với mục đích tăng cường sinh tổng hợp β -carotene trong *E. coli* tái tổ hợp, một phần con đường mevalonate được bổ sung thêm để tăng cường nguồn tiền chất IPP. Ba gen *mvaK1*, *mvaK2* và *mvaD* được tách dòng từ *Enterococcus faecium* phân lập tại Việt Nam và đưa vào vector biểu hiện pET28 tạo nên vector pET28-*mvaK1K2D*. Vector biểu hiện tái tổ hợp này sau đó được biến nạp vào dòng *E. coli* BL21(DE3) tái tổ hợp đã mang sẵn vector pRSET-iEIBY mã hóa cho các enzyme sinh tổng hợp β -carotene từ tiền chất IPP. Hai hệ vector được biểu hiện đồng thời tạo ra khuẩn lạc màu vàng đặc trưng của β -carotene. Đánh giá sơ bộ cho thấy dòng *E. coli* được bổ sung thêm một phần con đường mevalonate có khả năng sinh tổng hợp β -carotene mạnh hơn so với dòng không được bổ sung.

Từ khóa: β -carotene, *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*, mevalonate pathway

ĐẶT VẤN ĐỀ

β -carotene là một chất thuộc nhóm carotenoid, được tìm thấy chủ yếu ở một số loại thực vật như cà rốt, bí ngô, đậu Hà Lan,... [4]. β -carotene được biết đến với vai trò là tiền chất để tổng hợp vitamin A - một loại vitamin rất cần thiết cho mắt. Theo một số nghiên cứu chỉ ra rằng, β -carotene có khả năng làm chậm quá trình thoái hóa điểm vàng, từ đó giảm nguy cơ mù lòa [6], [9]. Bên cạnh đó, β -carotene được chứng minh là có khả năng chống oxy hóa mạnh, vì vậy có tác dụng ngăn ngừa bệnh ung thư và một số bệnh về tim mạch [2].

Do đó, β -carotene được sử dụng rộng rãi trong sản xuất công nghiệp dược phẩm, mỹ phẩm và thực phẩm [7]. Hiện nay, hơn 90% β -carotene thương mại được sản xuất bằng tổng hợp hóa học [10], tuy nhiên do mối lo ngại an toàn thực phẩm việc sử dụng β -carotene tổng hợp hóa học làm chất phụ gia đã bị kiểm soát chặt chẽ trong những năm gần đây. Trong khi đó việc khai thác β -carotene từ nguồn sẵn có trong tự nhiên có nhược điểm là phụ thuộc thời vụ, phức tạp trong xây dựng và quản lý vùng nguyên liệu. Điều này dẫn tới nhu cầu tìm

kiếm nguồn β -carotene tự nhiên bằng lên men vi sinh vật. Trong đó, kỹ thuật điều hướng trao đổi chất β -carotene trong các vi sinh vật không có khả năng sản sinh carotenoid đang được quan tâm hiện nay [8]. Đặc biệt, *E. coli* là một vật chủ thích hợp cho sản sinh β -carotene vì tốc độ chuyển hóa và tăng trưởng nhanh và nó đã được sử dụng thành công trong sản xuất các loại carotenoid khác như lycopene, astaxanthin và zeaxanthin [1], [3].

Quá trình sinh tổng hợp các hợp chất carotenoid được chia thành 2 giai đoạn. Giai đoạn thứ nhất là sự tổng hợp Isopentenyl diphosphate (IPP) - đơn vị cấu thành cơ bản của tất cả các hợp chất carotenoid. Hai con đường sinh tổng hợp IPP là mevalonate (MEV) và non-mevalonate (MEP). Giai đoạn thứ hai là dây chuyền tạo thành các carotenoid từ IPP. Trong *E. coli* chỉ tồn tại con đường MEP mà không tồn tại con đường MEV và *E. coli* thiếu các enzyme chuyển hóa từ IPP đến carotenoid. Để tăng khả năng sản xuất β -carotene trong *E. coli*, một phần con đường MEV không có trong *E. coli* tự nhiên có thể được bổ sung vào chủng *E. coli* biểu hiện β -carotene để tăng cường nguồn tiền chất IPP nhằm đảm bảo cân bằng trao đổi chất cho vật chủ, nâng cao và ổn định khả năng sản xuất β -carotene.

* Tel: 0913 804 003; Email: duongvancuong1980@yahoo.com

Xuất phát từ những luận điểm trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu bổ sung thêm các gene *mva* mã hóa cho các enzyme sinh tổng hợp tiền chất IPP vào trong vi khuẩn *E. coli* với mục đích tăng cường khả năng sinh tổng hợp β -carotene.

VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Vi khuẩn *Enterococcus faecium* chủng cấp bỏ Vietnam Type Culture Collection. Vi khuẩn *E. coli* DH5 α tại Viện Khoa học Sự sống - Đại học Thái Nguyên.

- Vi khuẩn *E. coli* BL21(DE3) mang vector pR-iEIBY là vector biểu hiện pRSET-A mang policistron gồm 5 gene *idi-crtE-crtI-crtB-crtY* mã hóa cho các enzyme tham gia vào quá trình xúc tác sinh tổng hợp β -carotene đã được thiết kế thành công trước đó.

- Vector tách dòng pLUG (LifeTechnology).

- Cặp mỗi khuếch đại các gene *mva* bao gồm: *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* được thiết kế dựa trên trình tự gene đã công bố trên ngân hàng gene NCBI mã số AF290095.1. Khi thiết kế trình tự mỗi, trình tự các enzyme giới hạn được thêm vào để thuận tiện cho việc thiết kế vector sau này. Trình tự cặp mỗi được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Thông tin trình tự cặp mỗi *mva*

Tên mỗi	Trình tự 5'-3'
K1-F	CCATGGATGGCAAACACTATGGCC AAG
K1-R	GAATTCTTAAACATAGGTATGTA CTCCT
K2-F	GAATTCATGATTGAAGTATCTGC ACCA
K2-R	GAGCTCTCATCGGTTTCCCTTCT TTGA
D-F	GAGCTCATGTTTAAAGCAAAG CACG
D-R	GCGGCCGCTTATTC AATAATCGC AATTCCTG

Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết DNA tổng số

DNA vi khuẩn *Enterococcus faecium* được tách chiết bằng CTAB 2% dựa theo phương

pháp tách chiết của Doyle và cs [5]. Sản phẩm DNA được dùng để làm nguyên liệu cho các nghiên cứu tiếp theo.

PCR các gene *mva*

Các gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* được khuếch đại từ genome vi khuẩn *E. faecium* nhờ cặp mỗi đặc hiệu (Bảng 1). Thành phần phản ứng bao gồm: 19,3 μ l nước cất khử ion, 1 μ l DNA, 2,5 μ l buffer 10X, 0,1 μ l enzyme Taq DNA polymerase, 0,5 μ l dNTP 10 mM, 0,5 μ l primer *mva-F* (10 pmol/l), 0,5 μ l primer *mva-R* (10 pmol/l). Chu trình nhiệt được thực hiện như sau: 95°C: 5 phút, 30 chu kỳ của (95°C: 45 giây; 55°C: 45 giây; 72°C: 1 phút), 72°C: 10 phút, bảo quản ở 4°C. Sản phẩm PCR kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%.

Gắn nối đoạn gene mong muốn lên vector

Đoạn gene mong muốn được gắn lên cấu trúc vector mở vòng nhờ enzyme T4 ligase, thành phần phản ứng gắn nối như sau: 3 μ l buffer ligase 10X, 5 μ l vector, 5 μ l đoạn xen và 1 μ l enzyme nối T4 ligase, 16 μ l nước. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 22°C trong 1 giờ. Sản phẩm phản ứng gắn nối được biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH5 α bằng phương pháp sốc nhiệt 42°C trong 90 giây. Sản phẩm biến nạp được cấy trải trên môi trường LB đặc có bổ sung kháng sinh chọn lọc.

Cảm ứng biểu hiện gene trong vi khuẩn *E. coli*

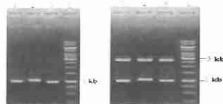
Vector biểu hiện được biến nạp vào vi khuẩn tế bào khả biến *E. coli* BL21(DE3) bằng phương pháp sốc nhiệt, sau đó cấy trải trên môi trường thạch LB có bổ sung kháng sinh. Khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch được nhặt nuôi riêng rẽ trong 5 ml LB lỏng có bổ sung ampicilin ở 37 °C qua đêm. Cấy chuyển 5 μ l mỗi dòng khuẩn nuôi trong 5 ml LB lỏng có bổ sung ampicilin, nuôi lắc 37 °C sau 2 giờ rồi đo OD₆₀₀ nm. Đến khi OD đạt 0,3 đến 0,5 bổ sung IPTG đến nồng độ cuối là 0,5 mM, nuôi lắc ở 37°C trong 6 giờ.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả tách dòng và xác định trình tự gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*

Sản phẩm khuếch đại các gene *mva* được điện di trên gel agarose (hình 1A), kết quả chỉ thu được một băng duy nhất với kích thước xấp xỉ 1kb tương ứng độ dài các gene *mva* theo lý thuyết (*mvaK1*: 945 bp, *mvaK2*: 1088 bp; *mvaD*: 978 bp). Điều này cho thấy chúng tôi đã khuếch đại thành công ba gene *mva*.

Sản phẩm PCR sau đó được gắn vào vector tách dòng pLUG và biến nạp vào vi khuẩn *E.coli* DH5a, sau đó cấy trải trên môi trường thạch LB có bổ sung ampicilin, X-gal và IPTG. Chọn các dòng khuẩn lạc trắng nuôi tăng sinh trong LB lỏng để tách chiết plasmid và kiểm tra kích thước vector. Những dòng khuẩn lạc có kích thước lớn hơn so với đối chứng (dòng chưa có đoạn chèn) được tiếp tục chọn lọc bằng enzyme giới hạn. Kết quả được thể hiện như trên hình 1B.



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR (A), sản phẩm cắt plasmid tái tổ hợp (B).

"MANYQGESSGKIIIMGEHAVVYGEPAIAFFPYATKVTAFLLEELDAMDQDLVSSYYSGNLAEPHALKNIKKLFTHLK
KQHDIQKNLQLTIESTIPAERGMGSSAAVATAVTRAFFDYLAFFPLSREIILENVQLSEKIAHGNPSSGIDAAATSSLQPI
YFTKGHPFDYFSLNIDAFILVADTGKKGQTRAVKDV AHLFETQPHREGMQIKGLYLTQAKQAI IENSPETLAQMTD
ESQSLEKLTISNDFLNLIIQTAKDTGALGAKLTGGGRGGCMIALAQTKTKAQEISQALEDAGAETWIQGLGVHTYV"

(A)

"MIEVSAPGKLYIAGEYAVVETGHPAVIAAVDQFVTVTVESARKVGSIQSAQYSGMPVVRTRRNGELVLDIRENPFHYI
LAAIRLTEKYAQEKNIILSFYDLKVTSELDNSNGRYGLGSSGAVTVATVKALNVFYALNLSQLEIFKIAALANLAVQD
NGSCGDIAASCYGGWIAFSTFDHPWLQEQETHSISELLALDWPGLSIEPLIAPEDLRLLIIGWTGSPASTSDLVDQVHR
SREDKMVAYQLFLKNSTECVNEMIKGFKENNVTLIQQMIRKRNRLHDLHLSAITGVVVIETPALNKLCLNAEQYEGAAKSS
GAGGGDCGIVIVDQKSGILPLMSAWEKAEITPLPLHVYSDQRKRN"

(B)

"MFKGARAYTNIALIKYWGKNEELILPMNNSLSLTLDAFYTETEVI FSDSYMVDEFYLDGTLQDEKATKVKVSQFLDLFRK
EAGLSLKASVISQNFVPTAAGLASSASGLAALAGACNTALKLGLDLSLRFARRGSGSACRSIFGGFVEWEGHDDLSSYA
KPVPSDSFEDDLAMVFLINDQKKEVSSRNGMRTVETSNFYQGWLDSEVGDLYLQKQAIKTDFQLLGETMERNGLMKHT
TLAAQPPFTYWSPNSLKAMDVQRKQKIPCYFTMDAGPNVKVLVENS H LSEVQETFTKFLFSKEQVITAHAGPGIAIE"

(C)

Hình 2. Kết quả dịch mã *In-silico* gene *mvaK1* (A), *mvaK2* (B) và *mvaD* (C)

(A) L: Thang chuẩn DNA GeneRuler™ 1kb; đường chạy 1-3: tương ứng với sản phẩm PCR các gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*

(B): L: Thang chuẩn DNA GeneRuler™ 1kb; đường chạy 1-3: tương ứng với sản phẩm cắt các gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*

Kết quả cho thấy sản phẩm cắt các dòng nghi ngờ đều có hai băng: Một băng có kích thước 3 kb tương đương kích thước vector pLUG và 1 băng kích thước xấp xỉ 1 kb tương đương kích thước các gene *mva*.

Tuy nhiên, để khẳng định chính xác hơn, đồng thời kiểm tra mức độ ổn định thông tin di truyền, các dòng plasmid tái tổ hợp này được dùng để giải trình tự. Sau khi giải trình tự, chiều dài các gene được bảo toàn: *mvaK1*: 945 bp; *mvaK2*: 1088 bp; *mvaD*: 978 bp. Sử dụng công cụ NCBI BLAST, trình tự gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* tách dòng trong nghiên cứu này có độ tương đồng 100% so với trình tự gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* của vi khuẩn *Enterococcus faecium* (mã số AF290095) đã được dùng để thiết kế mồi cho phản ứng PCR.

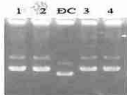
Kết quả dịch mã *In-silico* bằng công cụ trực tuyến EMBOSS Transeq cho thấy gene được dịch mã thành công, không xuất hiện các đột biến stop codon vô nghĩa (hình 2). Như vậy chúng tôi đã tách dòng thành công các gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*.

Kết quả thiết kế vector biểu hiện pET28-mvaK1K2D

- Gắn gene *mvaK1* vào vector biểu hiện pET28 tạo vector tái tổ hợp pET28-mvaK1

Sau khi gắn nối đoạn gene *mvaK1* vào vector pET28 mở vòng và biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* DH5 α . Kết quả sàng lọc các dòng plasmid tái tổ hợp được thể hiện như trên hình 3.

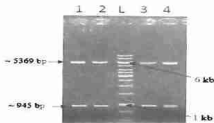
Kết quả tách chiết plasmid cho thấy các dòng khuẩn lạc thu được đều có kích thước cao hơn so với đường chạy ĐC (vector pET28), nên đây là những vector tái tổ hợp.



Hình 3. Plasmid các dòng có khả năng mang gene *mvaK1*

Đường chạy ĐC: plasmid pET28, Đường chạy 1-4: plasmid tái tổ hợp tách từ các dòng khuẩn lạc trắng

Khi cắt các dòng khuẩn lạc này với enzyme *Bam*HI và *Eco*RI đều cho hai băng sáng: Một băng kích thước xấp xỉ 5.3 kb tương đương kích thước vector pET28 và một băng kích thước xấp xỉ 1 kb tương đương kích thước đoạn gene *mvaK1* (hình 4). Như vậy đã gắn thành công đoạn gene *mvaK1* vào vector pET28.



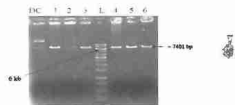
Hình 4. Sản phẩm cắt các dòng có khả năng mang gene *mvaK1*

L: Thang chuẩn DNA 1kb, Đường chạy 1, 2, 3, 4: Các dòng plasmid tái tổ hợp cắt bằng enzyme *Bam*HI và *Eco*RI

- Gắn gene *mvaK2* vào vector biểu hiện pET28-mvaK1 tạo vector tái tổ hợp pET28-mvaK1K2

Đoạn gene *mvaK2* và vector tái tổ hợp pET28-mvaK1 được cắt đồng thời bằng hai enzyme giới hạn là *Eco*RI và *Sac*I với mục đích thu đoạn gene *mvaK2* và mở vòng vector pET28-mvaK1.

Gene *mvaK2* sau đó được gắn nối vào vector pET28-mvaK1 và biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH5 α . Các khuẩn lạc được lựa chọn ngẫu nhiên, tách chiết plasmid để sàng lọc các dòng có khả năng mang đoạn chèn. Những dòng có kích thước băng plasmid cao hơn so với đối chứng (plasmid vector pET28-mvaK1) được tiếp tục sử dụng để kiểm tra sự có mặt của gene *mvaK2* bằng enzyme giới hạn (hình 5).



Hình 5. Sản phẩm cắt plasmid các dòng có khả năng mang gene *mvaK2*.

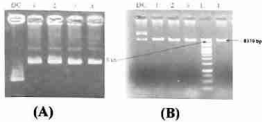
ĐC: Đối chứng vector pET28-mvaK1K2 không cắt; Đường chạy 1 -6: sản phẩm cắt tương ứng với các dòng 1, 2, 3, 4, 5, 6. Đường chạy L: Thang chuẩn DNA GeneRulerTM 1 kb.

Kết quả thu được trên hình 5 cho thấy, tất cả các dòng nghi ngờ đều có một băng duy nhất với kích thước xấp xỉ 7.4 kb (tương ứng với tổng kích thước đoạn gene *mvaK2* và vector pET28-mvaK1). Như vậy đoạn gene *mvaK2* đã được gắn thành công vào vector pET28-mvaK1 tạo vector tái tổ hợp pET28-mvaK1K2.

- Gắn gene *mvaD* vào vector biểu hiện pET28-mvaK1K2 tạo vector tái tổ hợp pET28-mvaK1K2D

Đoạn gene *mvaD* được chèn vào vector pET28-mvaK1K2D, các vector tái tổ hợp được biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* DH5 α . Các dòng khuẩn lạc được kiểm tra bằng so

sánh kích thước vector và sản phẩm cắt bằng enzyme giới hạn



Hình 6. Plasmid các dòng có khả năng mang gene *mvaD* (A); sản phẩm cắt chọn lọc các dòng mang gene *mvaK2* (B).

(A). Đường chạy DC: plasmid pET28-*mvaK1K2*, Đường chạy 1-4: plasmid tái tổ hợp tách từ các dòng khuẩn lạc trắng.

(B) *L. Thang chuẩn DNA 1kb*, Đường chạy 1, 2, 3, 4: Các dòng plasmid tái tổ hợp cắt bằng enzyme.

Kết quả trên hình 6A cho thấy các dòng khuẩn lạc được chọn đều có kích thước bằng plasmid lớn hơn so với đối chứng, đây có thể là các dòng mang đoạn chèn. Kết quả kiểm tra bằng enzyme giới hạn cũng cho thấy các dòng khuẩn lạc này đều có một băng duy nhất với kích thước khoảng 8.3 kb, tương đương với tổng kích thước của đoạn gene *mvaD* (978 bp) và vector tái tổ hợp pET28-*mvaK1K2* (7401 bp) (hình 6B).

Từ những kết quả trên chứng tỏ việc thiết kế vector biểu hiện mang policistron operon gồm 3 gene *mvaK1-mvaK2-mvaD* trên nền tảng vector pET28 đã thành công.

Biểu hiện hai hệ vector pRSET-iEIBY và pET28-*mvaK1K2D* trong *E. coli* BL21(DE3)

Để kiểm tra sự hoạt động của các gene *mva* trên cấu trúc vector pET28, đồng thời đánh giá sơ bộ ảnh hưởng của việc bổ sung một phần con đường mevalonate đến khả năng sinh tổng hợp β -carotene trong vi khuẩn *E. coli*, vector pET28-*mvaK1K2D* được biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* BL21(DE3) tái tổ hợp đã mang sẵn vector pRSET-iEIBY mã hóa cho các enzyme sinh tổng hợp β -carotene từ tiền chất IPP.



Hình 7. Kết quả biểu hiện của hai hệ vector pET28-*mvaK1K2D* và pRSET-iEIBY trong *E. coli* BL21(DE3)

(1) *E. coli* BL21 (DE3) không mang vector (đối chứng); (2) *E. coli* BL21 (DE3) mang vector pR-iEIBY (màu vàng nhạt); (3) *E. coli* BL21 (DE3) mang đồng thời hai hệ vector vector pET28-*mvaK1K2D* và pRSET-iEIBY (màu vàng đậm – màu đặc trưng của β -carotene);

Kết quả biểu hiện cho thấy, ống 1 không có sự biểu hiện màu sắc (cặn khuẩn màu trắng) do chủng vi khuẩn *E. coli* BL21(DE3) do không có mang các gene mã hóa quá trình sinh tổng hợp β -carotene. Ống số 2 và 3 cho cặn tế bào có màu vàng nhạt và vàng sậm là màu đặc trưng của β -carotene, như vậy các gene được biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* đều hoạt động.

Qua đánh giá bằng cảm quan màu sắc cho thấy ống số 3 (được tăng cường nguồn tiền chất IPP bằng việc bổ sung các gene *mva*) có sự sinh tổng hợp β -carotene mạnh hơn so với ống số 2. Như vậy việc bổ sung thêm một phần con đường mevalonate làm tăng hàm lượng β -carotene.

KẾT LUẬN

Đã tách dòng thành công 3 gene *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* có kích thước tương ứng lần lượt là 945 bp, 1088 bp, 978 bp.

Thiết kế thành công vector biểu hiện pET28-*mvaK1K2D* mang policistron gồm 3 genes *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD* mã hoá cho các enzyme xúc tác con đường sinh tổng hợp tiền chất IPP.

Cảm ứng biểu hiện hai hệ vector: Một hệ vector liên quan đến sinh tổng hợp tiền chất IPP, một hệ vector liên quan đến sinh tổng hợp β -carotene từ tiền chất IPP trong *E. coli*

BL21(DE3) thu được cặn khuẩn có màu vàng-màu đặc trưng của β -carotene. Qua đánh giá sơ bộ bằng cảm quan cho thấy việc bổ sung thêm hệ vector liên quan đến sinh tổng hợp tiền chất IPP trong *E. coli* để sản xuất β -carotene có hiệu quả cao hơn so với chỉ biểu hiện một hệ vector.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Albrecht M., Misawa N., Sandmann G. (1999), "Metabolic engineering of the terpenoid biosynthetic pathway of *Escherichia coli* for production of the carotenoids β -carotene and zeaxanthin", *Biotechnol Lett.*, 21, pp. 791-795.
- Britton, G. (1995), "Structure and properties of carotenoids in relation to function." *Faseb J.*, 9(15), pp. 1551-1558.
- Cheng Q. (2006), "Structural diversity and functional novelty of new carotenoid biosynthesis genes", *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 33, pp. 552 - 559.
- Desobry S. A., Netto F. M. and Labuza T. P. (1998), "Preservation of beta-carotene from carrots." *Crit. Rev. Food Sci/Nutr.*, 38(5), pp. 381 - 396.

- Doyle and Doyle, D. a. D., and Cullins (1987), "CTAB/Chloroform-Isoamyl Alcohol DNA Extraction Protocol", *Phytochemical Bulletin*, 19, pp.11-15.
- Gordon J. E. and Schooff M. (2002), "Can high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc slow the progression of macular degeneration?" *J. Fam. Pract.*, 51(2), p.105.
- Mehta B. J., Obratsova I. N., Cerdá-Olmedo E. (2003), "Mutants and intersexual heterokaryons of *Blakeslea trispora* for production of β -carotene and lycopene", *Appl. Environ. Microbiol.*, 7, pp. 4043 - 4048.
- Misawa N., Shimada H. (1998), "Metabolic engineering for the production of carotenoids in non-carotenogenic bacteria and yeasts", *J. Biotechnol.*, 59, pp. 169-181.
- Wolf G. (2001), "The discovery of the visual function of vitamin A", *J. Nutr.*, 131(6), pp 1647-1650.
- Yoon S H., Lee S. H., Das A., Ryu H. K., Jang H. J., Kim J. Y., Oh D. K., Keasling J. D., Kim S. W. (2009), "Combinatorial expression of bacterial whole mevalonate pathway for the production of β -carotene in *E. coli*", *J. Biotechnol.*, 140(3), pp. 218-221.

SUMMARY

ENHANCE BIOSYNTHESIS OF B-CAROTENE IN RECOMBINANT ESCHERICHIA COLI HARBORING A PART OF MEVALONATE PATHWAY

Vũ Hoài Nam¹, Dương Văn Cường^{1,2*}

¹University Agriculture and Forestry - TNU

²Institute of Life Sciences - TNU

β -carotene is a carotenoid pigment which has commercial value. In order to improve the biosynthesis of this compound in a recombinant *E. coli* strain, a part of mevalonate pathway was introduced for enhancing metabolic flow to isopentenyl diphosphate, the building block of all carotenoids. Three genes including *mvaK1*, *mvaK2*, and *mvaD* were cloned from *Enterococcus faecium* isolated in Vietnam and introduced into pET28 vector forming pET28-*mvaK1K2D*. Subsequently, this recombinant expression vector was transformed into a recombinant *E. coli* BL21 (DE3) containing pRSET-iEIBY vector encodes for enzymes responsible for biosynthesis of β -carotene from IPP. The two vectors were co-expressed, resulted in colonies in yellow - the color of β -carotene. Compared to the *E. coli* clone with pRSET-iEIBY only, β -carotene was synthesized stronger in the clone with the addition of a part of mevalonate pathway.

Keywords: β -carotene, *mvaK1*, *mvaK2*, *mvaD*, mevalonate pathway.

Ngày nhận bài: 28/3/2017; Ngày phản biện: 10/4/2017; Ngày duyệt đăng: 27/4/2017

* Tel: 0913 804 003, Email: duongvancuong1980@yahoo.com