

## THIẾT KẾ VÀ TẠO DÒNG VECTOR EPISOME MỚI ĐỂ BIỂU HIỆN Ở NẤM MEN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Hoàng Dương Thu Hương, Nguyễn Ngọc Lương\*

Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

\*Email: luongnguyenbio@husc.edu.vn; luongnguyenbio@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/6/2025; ngày hoàn thành phản biện: 30/6/2025; ngày duyệt đăng: 11/7/2025

### TÓM TẮT

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* là một trong những vật chủ phổ biến nhất để biểu hiện protein tái tổ hợp do kết hợp được những đặc trưng của một vi sinh vật và một sinh vật nhân chuẩn. YEp-GPD-Gal7TER, một loại vector episome đã được sử dụng để biểu hiện protein tái tổ hợp ở chủng nấm men 2805 và a7 trong nhiều nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên các thành phần của vector này chưa tối ưu cho biểu hiện protein. Nhằm cải thiện sự biểu hiện protein tái tổ hợp của vector này, chúng tôi thiết kế lại vector này để chứa một số yếu tố điều hoà được cho là cải thiện sự biểu hiện của protein tái tổ hợp ở nấm men nói riêng và nhiều loại vật chủ biểu hiện nói chung. Vector mới được đặt tên là rdYEp-GPD-Gal7TER được tổng hợp bằng PCR và tạo dòng ở *Escherichia coli*. Vector này sẽ là tiền đề để chúng tôi thiết kế tối ưu các yếu tố điều hoà biểu hiện khác nhằm tạo ra một hệ vector episome đa năng cho việc biểu hiện ở *S. cerevisiae*.

**Từ khoá:** Nấm men, thiết kế vector, PCR, yếu tố điều hoà

### MỞ ĐẦU

Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) đóng vai trò rất quan trọng trong công nghệ sinh học nói chung và công nghệ DNA tái tổ hợp nói riêng. Ví dụ *S. cerevisiae* là sinh vật mô hình cho các nghiên cứu sinh học phân tử ở sinh vật nhân chuẩn [1], biểu hiện protein tái tổ hợp để làm vaccine [2], sử dụng để tạo thư viện nấm men biểu hiện bề mặt để sàng lọc thuốc [3], và gần đây là sử dụng để sản xuất một số hợp chất thứ cấp có giá trị bằng cải tiến con đường chuyển hoá [4]. Với vai trò đa dạng như vậy, *S. cerevisiae* tiếp tục là một vật chủ được nhiều người quan tâm và thử nghiệm cho các ý tưởng mới trong các lĩnh vực y học, nông nghiệp và môi trường.

Ở nấm men *S. cerevisiae*, có ba nhóm vector plasmid chính thường được sử dụng để đưa gene vào tế bào: plasmid chứa tâm động (YCp) khai thác khả năng nhân đôi và tự phân ly của thành phần tâm động của nhiễm sắc thể nấm men; plasmid ngoài nhiễm sắc thể hay episome (YEp) là những plasmid chứa trình tự 2  $\mu$ m cho phép chúng tồn tại độc lập với nhiễm sắc thể nấm men, có khả năng tự nhân đôi và duy trì một số lượng bản sao khá lớn trong nhân; plasmid tích hợp (YIp) là những plasmid hoạt động bằng cách tích hợp vào nhiễm sắc thể nấm men thông qua cơ chế tái tổ hợp tương đồng. Phần lớn các vector này đều là vector con thoi: chúng hoạt động được ở cả nấm men *S. cerevisiae* lẫn *Escherichia coli* (*E. coli*), do đó người ta thường duy trì các plasmid này ở chủng *E. coli* và chỉ chuẩn bị với lượng lớn để biến nạp vào *S. cerevisiae* khi cần [5].

Trước đây vector episome YEp-GPD-Gal7TER đã được sử dụng để biểu hiện các kháng nguyên virus với mục đích biến *S. cerevisiae* thành vector mang kháng nguyên tái tổ hợp để phát triển vaccine đường tiêu hoá [6]. Tuy nhiên chúng tôi nhận thấy vector này còn có một số yếu tố điều hoà biểu hiện chưa tối ưu. Cụ thể, vùng khởi đầu dịch mã chưa chứa trình tự Kozak tối ưu. Bên cạnh đó vị trí ngược dòng của trình tự Kozak cũng chưa được tối ưu. Những trình tự điều hoà này được chứng minh là ảnh hưởng sâu sắc đến mức độ dịch mã của protein dị loài ở nấm men [7, 8].

Trong một nghiên cứu khác, trình tự xuôi dòng trình tự Kozak cũng được cho là đóng vai trò rất quan trọng trong điều hoà biểu hiện gene cấp độ dịch mã. Theo đó, mặc dù trình tự chứa mã bộ ba tối ưu để biểu hiện ở một vật chủ nhất định là quan trọng, nó có thể làm cho việc dịch mã quá thuận lợi làm polysome (nhiều ribosome) bị tắc nghẽn tại vị trí khởi đầu dịch mã. Để tránh điều này xảy ra, cần có một vài mã hiếm ở đầu 5' của trình tự polypeptide để ribosome có thể tách nhau ra ở một khoảng cách nhất định nhằm tránh bị tắc nghẽn ở phần còn lại của chuỗi polypeptide [9]. Vì promoter sử dụng trong vector YEp-GPD-Gal7TER là một promoter thường trực, phiên mã liên tục gene xuôi dòng, nên trong những trường hợp biểu hiện không tốt một số protein, nhiều khả năng là do hiệu quả dịch mã chưa tốt.

Nghiên cứu này tích hợp các tri thức nói trên để thiết kế lại vector YEp-GPD-Gal7TER chứa các yếu tố điều hoà tối ưu nhằm cải thiện sự biểu hiện của protein tái tổ hợp bằng vector episome này.

## PHƯƠNG PHÁP

### Chủng vi sinh vật và môi trường nuôi cấy

Chủng *E. coli* TOP10 được sử dụng như vật chủ tạo dòng cho toàn bộ nghiên cứu. *E. coli* TOP 10 được lưu trữ ở -80°C trong môi trường LB lỏng (1% NaCl, 1%

Tryptone, 0,5% Yeast extract) chứa 15% glycerol. Khi được biến nạp plasmid, chủng *E. coli* tái tổ hợp được duy trì trong môi trường LB lỏng bổ sung 50 µg Ampicillin/ml. Chủng nấm men *S. cerevisiae* 2805 (*MAT $\alpha$  pep4::HIS3 prb1- $\delta$  Can1 GAL2 his3 ura3-52*) được duy trì trong môi trường đầy đủ là YEPD (2% peptone, 1% Yeast extract, 2% glucose) trước khi biến nạp và trong môi trường khuyết dưỡng -Ura (0,4% Casamino acid, 5,36% Yeast Nitrogen Base, 1,6% glucose, và  $2 \times 10^{-5}$ % Tryptophan, Leucine, Histidine và Adenine hemisulfate) [6].

### Thiết kế plasmid

Plasmid được thiết kế trên phần mềm thao tác trình tự DNA Vector Snapgene. Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu này được cung cấp ở Bảng 1. Mồi được thiết kế theo nguyên tắc có tối thiểu 15 bp bắt cặp với khuôn. Trình tự Kozak phổ quát của nấm men *S. cerevisiae* được thu nhận từ nghiên cứu trước đây [7], trình tự ngược dòng Kozak được thu nhận dựa trên các nghiên cứu của các tác giả khác [7, 8]. Trình tự “đường tránh” xuôi dòng được thiết kế theo hướng dẫn của nhóm tác giả M Verma [9]. Các vị trí cắt hạn chế cho *Bam*HI, *Hind*III, *Xba*I, và *Sal*I được thiết kế nối tiếp nhau dựa trên trình tự của chúng. Bên cạnh đó, chúng tôi bổ sung một mã kết thúc kép TAATAG vào vector vì theo một số tác giả, mã kết thúc kép giúp ribosome tránh bỏ sót mã kết thúc [10]. Để tạo ra các yếu tố điều hoà nói trên, chúng tôi sử dụng phương pháp PCR tiêu chuẩn để tạo ra 2 đoạn DNA có kích thước khoảng 700 và 350 bp, sau đó nối hai đoạn này lại với nhau thành 1 đoạn DNA kích thước khoảng 1100 bp bằng phương pháp Overlapping extension PCR (OE-PCR).

Sử dụng các cặp mồi thiết kế, chúng tôi tiến hành tạo dòng các đoạn trình tự cần thiết để lắp ráp thành một trình tự gồm GPD, trình tự Kozak ngược dòng, trình tự Kozak, trình tự “đường tránh” xuôi dòng, vị trí cắt hạn chế cho 4 enzyme *Bam*HI, *Hind*III, *Xba*I, và *Sal*I và mã kết thúc kép. Quy trình PCR được tiến hành như sau: tổng thể tích phản ứng 50 µl, trong đó khuôn là plasmid YEp-GPD-Gal7TER, các cặp mồi tương ứng cho các trình tự, đệm, dNTP và enzyme có khả năng đọc lỗi Phusion (Thermofisher scientific). Điều kiện PCR gồm biến tính 98°C trong 30 giây, theo sau là biến tính 98°C 10 giây, gắn mồi ở 55°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây. Sau khi kết thúc phản ứng PCR, tiến hành kiểm tra kết quả trên gel agarose 1%.

### Tạo dòng plasmid

Sản phẩm PCR được gắn đuôi A và tạo dòng TA vào vector pGEMT-easy, sau đó giải trình tự để đảm bảo không chứa lỗi. Tiếp đến trình tự cuối cùng chứa vùng promoter GPD và terminator Gal7 được giải phóng khỏi vector pGEMT easy bằng cặp enzyme *Eco*RI và *Sph*I (*Pae*I), và sau đó tạo dòng vào vector YEp-GPD-Gal7TER bằng DNA ligase T4. Sản phẩm gắn được biến nạp vào tế bào *E. coli* TOP10 khả biến, sau đó chọn lọc trên đĩa LB agar chứa 50 µg/ml Ampicillin. Khuẩn lạc tái tổ hợp được sàng lọc bằng phương pháp One-step miniprep như đã mô tả trước đây [6] và plasmid tái tổ hợp được tách

chiết bằng kit Plasmid Miniprep của Favorgen. Kết quả tách chiết plasmid được kiểm tra trên gel agarose 1%. Plasmid thiết kế mới được đặt tên là rdYEp-GPD-Gal7TER.

Để kiểm tra khả năng hoạt động của rdYEp-GPD-Gal7TER, chúng tôi tạo dòng gen mã hoá protein phát huỳnh quang xanh eGFP vào vector này bằng cặp enzyme *Bam*HI/*Sall*, sau đó biến nạp vào chủng nấm men 2805. Tế bào biến nạp được chọn lọc trên môi trường khuyết dưỡng -Ura.

## NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Các nội dung nghiên cứu chính gồm thiết kế trên máy tính các trình tự điều hoà, và thiết kế plasmid bằng phần mềm Snapgene, sau đó thiết kế môi để tạo dòng các sản phẩm liên quan. Các sản phẩm này được tạo dòng bằng phương pháp khuếch đại chuỗi, tức PCR, sau đó chúng được lắp ráp bằng phương pháp OE-PCR. Sản phẩm cuối này sau khi được xác định không chứa trình tự lỗi được tạo dòng vào vector YEp-GPD-Gal7TER để tạo ra rdYEp-GPD-Gal7TER. rdYEp-GPD-Gal7TER được kiểm tra khả năng biểu hiện protein dị loài bằng cách thử nghiệm biểu hiện protein eGFP ở chủng nấm men 2805.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Thiết kế plasmid

YEp-GPD-Gal7TER là một vector episome chứa trình tự có khả năng tự sao chép 2 µm giúp plasmid sao chép và duy trì số lượng độc lập với nhiễm sắc thể nấm men, và hai chỉ thị chọn lọc là gene beta-lactamase giúp vi sinh vật kháng kháng sinh Ampicillin và gene mã hoá uracil để bổ khuyết cho chủng nấm men khuyết dưỡng gene này, ví dụ chủng nấm men 2805. Vector này sử dụng GPD làm promoter. Đây là một promoter biểu hiện thường trực rất mạnh, đã được khẳng định trong nhiều nghiên cứu trước đây [1]. Tuy nhiên nhược điểm của vector này là nó chưa chứa các trình tự tối ưu như Kozak, trình tự ngược dòng Kozak và trình tự “đường tránh”. Bên cạnh đó, nó cũng không chứa mã kết thúc, làm cho việc tạo dòng vào vector này thường đòi hỏi phải thiết kế các yếu tố điều hoà này trên gene tạo dòng. Mục đích của việc tạo ra rdYEp-GPD-Gal7TER là nhằm giảm tiện việc tạo dòng bằng cách tích hợp các trình tự điều hoà nói trên vào sẵn trong vector. Điều này được thực hiện bằng cách thay thế vùng tạo dòng (Multiple Cloning Site – MCS) của YEp-GPD-Gal7TER bằng một vùng MCS mới

Để thay thế MCS cũ, tiến hành thiết kế hai trình tự chồng lấp nhau, một trình tự chứa toàn bộ promoter GPD và một trình tự chứa toàn bộ terminator Gal7. Hai trình tự

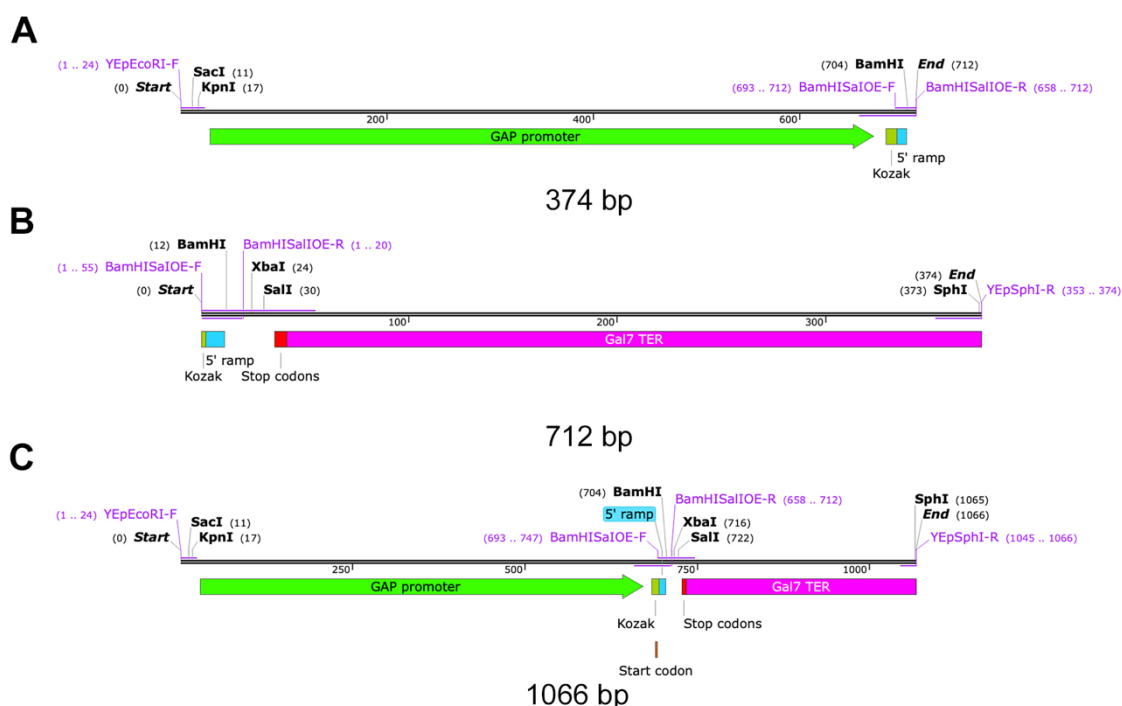
này sẽ được nối với nhau để tạo ra một trình tự mới chứa toàn bộ vùng promoter, vùng MCS mới và terminator. Vùng MCS mới chính là vùng chồng lấp giữa hai trình tự nói trên. Việc thay đổi nó được thực hiện bằng cách thiết kế phần không bắt cặp của mỗi chồng lấp. Do đó cặp mỗi chồng lấp và hai môi xuôi (F) và ngược (R) nằm ở hai đầu của promoter và terminator đã được thiết kế bằng phần mềm Snapgene. Các cặp mỗi được thiết kế được trình bày ở Bảng 1 dưới đây – trình tự gạch chân là trình tự enzyme cắt hạn chế được thiết kế vào trong mỗi, trình tự tô đậm là trình tự không bắt cặp của mỗi chồng lấp. Hình 1 là sơ đồ minh họa các đoạn trình tự cần tạo dòng – (A) là bản đồ đoạn trình tự chứa vùng promoter và phần trình tự chồng lấp với đoạn chứa trình tự vùng terminator; (B) là bản đồ đoạn trình tự chứa vùng terminator và phần trình tự chồng lấp với đoạn trình tự chứa vùng promoter; (C) là sản phẩm nối của A và B sử dụng cặp mỗi chồng lấp BamHISalIOE-R/ BamHISalIOE-F. Vị trí các cặp mỗi trong Bảng 1 cũng được ghi rõ trên Hình 1.

**Bảng 1.** Trình tự các cặp mỗi dùng để thiết kế YEp-GPD-Gal7TER

| STT | Tên mỗi       | Trình tự (5'→3')*                                           | Mục đích                                    |
|-----|---------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 1   | YEpEcoRI-F    | <u>GAATTC</u> GAGCTCGGTACCCTCGAG                            | Tạo dòng vùng promoter chồng lấp terminator |
| 2   | BamHISalIOE-R | CTTGGATCCGGAGAACTTAGACATCTT<br>GTATTTTTTTTTTTTCGAACTAAGTTCT | Tạo dòng vùng promoter chồng lấp terminator |
| 3   | BamHISalIOE-F | CTAAGTTCTCCGGATCCAAGCTTTCTAG<br>AGTCGACTAATGATTGAACGAACTTG  | Tạo dòng vùng terminator chồng lấp promoter |
| 4   | YEpSph1-R     | <u>GCATGC</u> CTAGAGGGGAACTTA                               | Tạo dòng vùng terminator chồng lấp promoter |

\*Trình tự gạch chân là trình tự cắt hạn chế của các enzyme cắt hạn chế được thiết kế vào mỗi.

Trình tự tô đậm là trình tự không bắt cặp của mỗi chồng lấp



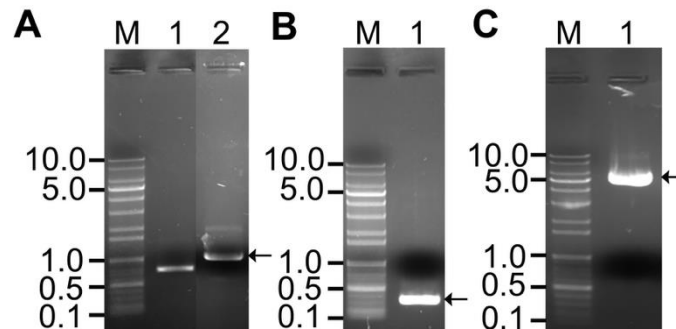
**Hình 1.** Sơ đồ minh hoạ thiết kế lại vùng MCS cho vector YEp-GPD-Gal7TER.

Xem chú thích chi tiết ở phần Kết quả và thảo luận.

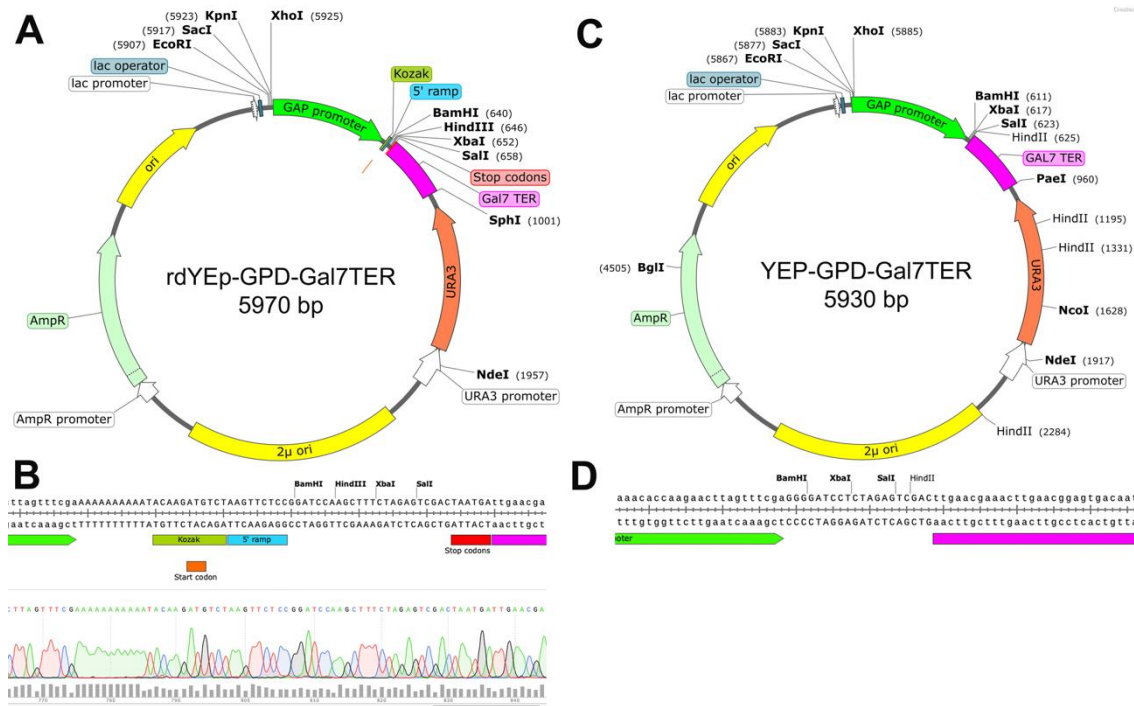
### Tạo dòng plasmid

Để tạo rdYEp-GPD-Gal7TER, các đoạn trình tự chứa vùng promoter và terminator được tạo dòng bằng PCR tiêu chuẩn sử dụng các cặp mồi YEpEcoRI-F/ BamHISalIOE-R và BamHISalIOE-F/ YEpSph1-R. Sản phẩm PCR được tinh sạch và sử dụng làm khuôn để nối chúng lại bằng cặp mồi YEpEcoRI-F/ YEpSph1-R, tạo ra sản phẩm (C) ở Hình 1 có kích thước 1066 bp. Sản phẩm PCR này được tinh sạch, gắn đuôi A và tạo dòng TA vào vector pGEMT easy. Vector pGEMT easy mang sản phẩm (C) được gửi đi giải trình tự hai chiều để kiểm tra lỗi. Đối với vector không chứa lỗi trình tự, giải phóng đoạn (C) từ pGEMT easy bằng cặp enzyme EcoRI/SphI và tạo dòng vào vector YEp-GPD-Gal7TER được mở vòng bằng cùng cặp enzyme nói trên. Kết quả điện di sản phẩm PCR được trình bày ở Hình 2. Hình 2 cho thấy thí nghiệm được thiết kế chặt chẽ và các sản phẩm PCR đều là đặc hiệu. Đường M là thang DNA chuẩn (Thermofisher scientific 1 kb Plus – Cat no 1078018). Đường chạy 1 ở Hình 2. A là kết quả điện di sản phẩm PCR chứa đoạn gene (A) ở Hình 1; đường chạy 1 ở Hình 2. B là kết quả điện di sản phẩm PCR chứa đoạn gene (B) ở Hình 1. Đường chạy 2 ở Hình 2. A là kết quả điện di sản phẩm PCR chứa đoạn gene (C) ở Hình 1. Hình 2. C là kết quả điện di vector rdYEp-GPD-Gal7TER. Vector này có kích thước mở vòng là 5790 và kích thước đóng vòng khoảng 4,6 kb.

Hình 3 so sánh cấu trúc của vector rdYEp-GPD-Gal7TER so với vector YEp-GPD-Gal7TER. Hình 3. A và C là bản đồ minh hoạ các đặc điểm chính của hai vector. Hình 3. B trình bày trình tự vùng MCS của rdYEp-GPD-Gal7TER cũng như kết quả giải trình tự. Hình 3. D trình bày trình tự vùng MCS của YEp-GPD-Gal7TER. Kết quả giải trình tự vùng MCS mới chính xác hoàn toàn so với trình tự lý thuyết. rdYEp-GPD-Gal7TER có ưu điểm so với YEp-GPD-Gal7TER ở chỗ muốn biểu hiện một protein dị loài nào, chỉ cần thiết kế gene mã hoá protein đó mang vị trí cắt *Bam*HI/*Sal*I ở đầu 5' và 3' thì có thể dễ dàng tạo dòng vào vector biểu hiện mà không cần thiết kế trình tự mã mở đầu và mã kết thúc. Điều này sẽ thuận tiện cho việc so sánh sự biểu hiện của các gene khác nhau.



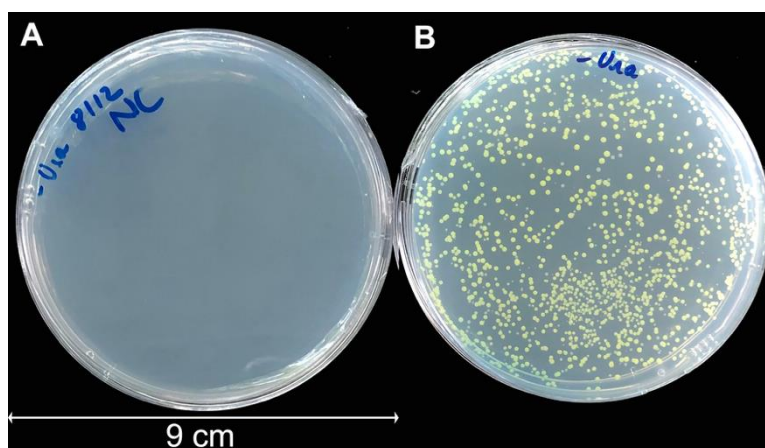
Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR các đoạn gen cần thiết (A-B) và vector rdYEp-GPD-Gal7TER (C).



Hình 3. So sánh cấu trúc của vector rdYEp-GPD-Gal7TER so với vector YEp-GPD-Gal7TER. Xem chú thích chi tiết ở phần Kết quả và thảo luận.

### Kiểm tra chức năng vector rdYEp-GPD-Gal7TER

Để thử nghiệm vector mới thiết kế, một gene mã hoá cho protein phát huỳnh quang xanh eGFP được tạo dòng bằng cặp enzyme *Bam*HI/*Sal*I vào vector rdYEp-GPD-Gal7TER. Vector tái tổ hợp được biến nạp vào chủng nấm men 2805. Kết quả biến nạp được trình bày ở Hình 4 – (A) đĩa ký hiệu NC chứa nấm men biến nạp bằng nước cất được sử dụng làm đối chứng âm và (B) đĩa chứa nấm men tái tổ hợp biến nạp bằng vector rdYEp-GPD-Gal7TER. Kết quả cho thấy gene eGFP được biểu hiện thành công ở vector mới. Trong nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi sẽ tiến hành so sánh sự biểu hiện của eGFP ở các vector YEp khác nhau.



**Hình 4.** Vector mới thiết kế rdYEp-GPD-Gal7TER có thể biểu hiện thành công gene eGFP ở chủng nấm men 2805.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu báo cáo kết quả thiết kế vector biểu hiện ở nấm men *S. cerevisiae*. Các trình tự điều hoà có khả năng tăng cường mức độ biểu hiện của gene quan tâm đã được thiết kế thành công *in silico* cũng như *in vitro* và tích hợp vào vector YEp-GPD-Gal7TER để tạo thành một vector mới là rdYEp-GPD-Gal7TER. Vector này sẽ là tiền đề cho các thí nghiệm khảo sát tối ưu các trình tự điều hoà khác như promoter và terminator.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học thuộc Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đề tài Đại học Huế mã số DHH2023-01-210.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. D Mumberg, R Müller, M Funk (1994) Regulatable promoters of *Saccharomyces cerevisiae*: comparison of transcriptional activity and their use for heterologous expression. *Nucleic Acids Research* 22(25):5767-5768.
- [2]. J Fu, W J VanDusen, D G Kolodin, D O O'Keefe, W K Herber, H A George (1996) Continuous culture study of the expression of hepatitis B surface antigen and its self-assembly into virus-like particles in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and bioengineering* 49(5):578-586.
- [3]. E T Boder and KD Wittrup (1997) Yeast surface display for screening combinatorial polypeptide libraries. *Nature Biotechnology* 15(6):553-557.
- [4]. X Z Luo, M A Reiter, L d'Espaux, J Wong, C M Denby, A Lechner, Y F Zhang, A T Grzybowski, S Harth, W Y Lin *et al* (2019) Complete biosynthesis of cannabinoids and their unnatural analogues in yeast. *Nature* 567(7746):123-126.
- [5]. R Gnügge and F Rudof (2017) *Saccharomyces cerevisiae* shuttle vectors. *Yeast* 34: 205-221.
- [6]. J Bal, NL Nguyen, J Park, KD Song, YS Jang, DH Kim (2018) Comparative immunogenicity of preparations of yeast-derived dengue oral vaccine candidate. *Microbial Cell Factories* 17(1):24.
- [7]. J Li, Q Liang, W J Song, M A Marchisio (2017) Nucleotides upstream of the Kozak sequence strongly influence gene expression in the yeast *S. cerevisiae*. *Journal of Biological Engineering* 11:25.
- [8]. J T Cuperus, B Groves, A Kuchina, A B Rosenberg, N Jojic, S Fields, G Seelig (2017) Deep learning of the regulatory grammar of yeast 5' untranslated regions from 500,000 random sequences. *Genome research* 27(12): 2015-2024.
- [9]. M Verma, J H Choi, K A Cottrell, Z Lavagnino, E N Thomas, S P Djuranovic, P Szczesny, D W Piston, H S Zaher, J D Puglisi, S Djuranovic (2019) A short translational ramp determines the efficiency of protein synthesis. *Nature Communications* 10(1): 5774.
- [10]. H Liang, A R O Cavalcanti, L F Landweber (2005) Conservation of tandem stop codons in yeast. *Genome Biology* 6(4):R31.

## DESIGNING AND CLONING OF A YEAST EPISOMAL VECTOR FOR *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* HETEROLOGOUS EXPRESSION

Hoang Duong Thu Huong, Nguyen Ngoc Luong\*

Faculty of Biology, University of Sciences, Hue University

\*Email: luongnguyenbio@husc.edu.vn; luongnguyenbio@hueuni.edu.vn

### ABSTRACT

*Saccharomyces cerevisiae* is one of the most popular hosts for recombinant protein expression, owing to its double advantages of being a microorganism and an eukaryotic organism. Yep-GPD-Gal7TER is an episomal plasmid that has been used to express recombinant proteins in the yeast strains 2805 and a7 in previous studies. However, the features of this vector have not been optimized for heterologous protein expression. To improve the expression capability of this vector, we redesigned it to incorporate several regulatory elements that have been proven to enhance recombinant protein expression in yeast, in particular, and more broadly, in various expression hosts. The new vector, designated as rdYEp-GPD-Gal7TER, was cloned using PCR and *Escherichia coli*. This vector is expected to serve as a lead for further optimization of other expression regulatory elements, aiming to create a versatile episomal vector system for expression in *S. cerevisiae*.

**Keywords:** Yeast, vector redesign, PCR, expression regulatory elements.



**Hoàng Dương Thu Hương** sinh ngày 30/04/1990. Năm 2013, bà tốt nghiệp Đại học chuyên ngành Công nghệ sinh học tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Năm 2015, bà tốt nghiệp Thạc sĩ chuyên ngành Công nghệ sinh học tại Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế. Từ năm 2013 đến nay là cán bộ giảng dạy tại Bộ môn Công nghệ sinh học, khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

*Lĩnh vực nghiên cứu:* Công nghệ sinh học môi trường, Vi sinh vật học.



**Nguyễn Ngọc Lương** sinh ngày 28/3/1977 tại Hà Tĩnh. Ông tốt nghiệp cử nhân Khoa học tại Đại học Melbourne Úc năm 2002, thạc sĩ Sinh học thực nghiệm tại Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế năm 2007, tiến sĩ Sinh học tại Đại học Quốc gia Jeonbuk năm 2014. Từ năm 2005 đến nay, ông công tác tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế.

*Lĩnh vực nghiên cứu:* Công nghệ sinh học vi sinh, di truyền động vật