

TẠO DÒNG, BIỂU HIỆN VÀ TINH SẠCH PROTEIN TÁI TỔ HỢP ĐOẠN ĐẦU PROTEIN TOXA CỦA *PASTEURELLA MULTOCIDA*

*Vũ Khắc Hùng¹, Trịnh Thị Thu Hằng¹,
Đỗ Thị Trung Anh², Nguyễn Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Xuân Trường¹*

TÓM TẮT

Những nghiên cứu trước đây đã chứng minh *toxA* là gen độc tố chính của *Pasteurella multocida*. Vì vậy protein ToxA là một yếu tố tiềm năng cho các nghiên cứu chế tạo vaccin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng lợn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành tạo dòng và biểu hiện đoạn gen 1,4kb của ToxA mã hóa trình tự axit amin từ 1 đến 487 (Tox1) trên vector biểu hiện pET32b trong *Escherichia coli* BL21 (DE3). Protein tái tổ hợp Tox1 được biểu hiện mạnh khi cảm ứng với IPTG 1mM và ethanol 3%. Sử dụng cột sắc ký ái lực Ni-NTA, chúng tôi đã tiến hành tinh sạch Tox1 sau khi hòa tan biến tính trong dung dịch đậm chứa urea 6M. Kết quả điện di SDS-PAGE và Western blot cho thấy, protein Tox1 đã được biểu hiện chính xác và tinh sạch, đạt tiêu chuẩn về độ tinh khiết. Đây sẽ là nguồn nguyên liệu ban đầu cho những nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi để chế tạo vaccin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng lợn do vi khuẩn *Pasteurella multocida* gây ra.

Từ khóa: Pasteurella multocida, vaccin tái tổ hợp, tạo dòng, biểu hiện, tinh sạch protein.

Cloning, expressing and purification of recombinant protein ToxA n-terminal in *Pasteurella multocida*

*Vu Khắc Hùng, Trịnh Thị Thu Hằng,
Do Thị Trung Anh, Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Xuân Trường*

SUMMARY

ToxA has been documented to be the main toxin of *Pasteurella multocida*. Therefore, it is a potential factor for the studies to produce recombinant vaccines against Pasteurellosis in pigs. In this study, we cloned and expressed Tox1 protein, a N-fragment of ToxA (from amino acid 1 to amino acid 487), in *Escherichia coli* BL21 with pET32b vector. The recombinant Tox1 protein was expressed well when induced with 1mM IPTG and 3% ethanol. The protein was denaturated and dissolved in lysis buffer containing 6M urea and purified via Ni-NTA column. The SDS-PAGE and Western blot results showed that Tox1 was correctly expressed and well-purified. This is the preliminary material for our further studies to produce recombinant vaccine against Pasteurellosis in pigs caused by *Pasteurella multocida*.

Keywords: Pasteurella multocida, recombinant vaccine, cloning, expressing, protein purification.

¹ Bộ môn Công nghệ sinh học, Phân viện Thú y miền Trung

² Trường Đại học Nha Trang