

TẠO DÒNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MÃ HÓA PROTEIN TIÊM MAO (FLIC) CỦA VI KHUẨN *EDWARDSIELLA ICTALURI* TRONG *E. COLI* BL21 (DE3)

Đông Hữu Rin¹, Nguyễn Thị Thu Thảo¹, Đặng Thị Hương¹, Nguyễn Thị Anh Đào¹, Lê Việt Tuấn Khanh¹, Đinh Thị Bích Lân^{1*}, Phùng Thăng Long²

*Tác giả liên hệ email: thuhuong@huaaf.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này là tạo dòng và biểu hiện thành công protein tiêm mao (FliC) của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* trong *Escherichia coli* BL21 (DE3). Gen *FliC* mã hoá cho protein tiêm mao của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* được phân lập từ mẫu cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nghi bị bệnh gan thận mù ở tỉnh An Giang, Việt Nam; sau đó tạo dòng vào vector pGEM[®]-T Easy và biểu hiện bởi vector pET200/D-TOPO trong tế bào *E. coli* BL21 (DE3). Kết quả giải trình tự cho thấy gen mã hóa cho kháng nguyên FliC của *Edwardsiella ictaluri* phân lập được có độ dài 1.071 bp, mã hoá một chuỗi polypeptide liên tục gồm 356 amino acid và tương đồng 100% so với trình tự chuỗi polypeptide của kháng nguyên FliC đã được công bố trên GenBank (mã số AVZ83424.1). Phân tích trên gel sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide (SDS-PAGE) 15% cho thấy protein dung hợp 6xHis-FliC được biểu hiện ở trong thể vùi, có khối lượng phân tử khoảng 41 kDa. Kết quả ELISA trực tiếp protein dung hợp được tinh sạch với kháng thể Anti-6xHis tag khẳng định rằng protein được biểu hiện là protein kháng nguyên tái tổ hợp 6xHis-FliC.

Từ khóa: *Edwardsiella ictaluri*, cá tra, FliC, tạo dòng và biểu hiện, protein tái tổ hợp, ELISA.

Cloning and expression of gene encoding flagellin protein (*FliC*) of *Edwardsiella ictaluri* in *E. coli* BL21 (DE3)

Dong Huu Rin, Nguyen Thi Thu Thao, Dang Thi Huong, Nguyen Thi Anh Dao, Le Viet Tuan Khanh, Dinh Thi Bich Lan, Phung Thang Long

SUMMARY

The aim of this study was to successfully clone and express flagellin protein (FliC) of *Edwardsiella ictaluri* in *Escherichia coli* BL21 (DE3). The gene encoding FliC protein of *Edwardsiella ictaluri* was isolated from tissue samples of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) suspecting with kidney, liver necrosis in An Giang province, Viet Nam, then it was cloned into vector pGEM[®]-T Easy and expressed with vector pET200/D-TOPO in *Escherichia coli* BL21 (DE3) cells. The results of sequencing showed that the nucleotide sequence of *FliC* gene was 1,071 bp in length, encoding a continuous polypeptide sequence of 356 amino acids, and was 100% similarity to the polypeptide sequence of published FliC protein in GenBank (accession number AVZ83424.1). Result of sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) analysis showed that the expressed flagellin protein was in inclusion body form, and the molecular weight of 6xHis-FliC fusion protein was about 41 kDa. Direct ELISA of purified 6xHis-FliC fusion protein with Anti-6xHis tag antibody confirmed that the expressed protein was the 6xHis-FliC recombinant protein.

Keywords: *Edwardsiella ictaluri*, pangasianodon hypophthalmus, FliC, cloning and expression, recombinant protein, ELISA.

¹ Công ty TNHH MTV TMDV và SX Minh Nhật Việt

² Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Huế