

BIỂU HIỆN GEN MÃ HÓA *IL-2* CỦA NGƯỜI VỚI CHAPERONE GROESL VÀ THIOREDOXIN TRONG TẾ BÀO *Escherichia coli* BL21 (DE3)

Lê Thị Lan Anh^{1*}, Lê Phương Hoàng Anh¹, Đào Trọng Khoa¹, Lê Thị Thu Hồng¹,
Phùng Thu Nguyệt¹, Nguyễn Hữu Đức², Nguyễn Thị Hằng², Trương Nam Hải¹

¹ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

² Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Email*: leanhbio@gmail.com

Ngày gửi bài: 26.04.2013

Ngày chấp nhận: 25.09.2013

TÓM TẮT

Interleukin-2 (IL-2) là một trong các cytokine đóng vai trò quan trọng trong hệ miễn dịch. IL-2 thúc đẩy sự hoạt hóa của các tế bào T, vì vậy thường được sử dụng trong điều trị ung thư bằng các liệu pháp miễn dịch như ung thư biểu mô thận ác tính và ung thư hắc tố. Gen mã hóa *il-2* cải biến thay thế Cys125 bằng Ser đã được đưa vào vector biểu hiện pET22b(+) có gắn trình tự tiết pelB (pelB signal sequence) để biểu hiện trong *E. coli* BL21 (DE3). Để tăng hiệu quả biểu hiện protein đúng cấu trúc và tính tan của protein, IL-2 được biểu hiện cùng với chaperone GroESL và thioredoxin (Trx). Kết quả cho thấy các protein IL-2 biểu hiện cùng GroESL và Trx có kích thước khoảng 20 kDa vẫn tồn tại ở dạng không tan trong tế bào chất và gắn với tín hiệu tiết pelB.

Từ khóa: Biểu hiện, chaperone, interleukin-2, thioredoxin, tín hiệu tiết pelB.

Co-expression of Human Interleukin-2 Gene with Chaperone GroESL and Thioredoxin in *Escherichia coli* BL21 (DE3)

ABSTRACT

Interleukin 2 (IL-2), one of the cytokines plays an important role for the immune response. IL-2 promotes the activation of T cells and so often used in immunotherapy such as kidney epithelial malignant and melanoma cancer. Gene encoding *il-2* modified Cys125 to Ser was inserted into pET22b(+) harboring pelB secret signal for expression in *E. coli* BL21(DE3) cells. To enhance the correct protein folding and solubility, IL-2 was simultaneously expressed with chaperone GroESL and thioredoxin (Trx). The results indicated that IL-2 proteins co-expressed with GroESL and Trx of 20 kDa were still existed in insoluble form and consisted of the pelB secret signal.

Keywords: Chaperone, expression, interleukin-2, thioredoxin, pelB secret signal.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gen mã hóa *il-2* người lần đầu tiên được tách dòng vào năm 1983 và cấu trúc của protein này đã được mô phỏng vào năm 1992. Cho đến nay, gen *il-2* của người đã được biểu hiện trong nhiều sinh vật chủ khác nhau như *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pichia pastoris* và trong tế bào động vật (Hyung et al., 2005). Tuy nhiên kết quả biểu hiện IL-2 cao nhất là trong tế bào *E. coli* và sản phẩm IL-2 tái tổ hợp có hoạt tính sinh học tương đương với IL-2 tự nhiên (Liang

et al., 2005). Các sản phẩm IL-2 tái tổ hợp thương mại hiện nay được FDA cấp phép sử dụng hỗ trợ điều trị ung thư chủ yếu sản xuất trong *E. coli* và đã được sử dụng trong nhiều thập kỷ qua.

IL-2 của người có trọng lượng phân tử khoảng 15 kDa gồm 133 axit amin. Trong trình tự này chứa 3 gốc Cys tại các vị trí 58, 105, 125, trong đó hai gốc Cys58 và Cys105 tạo cầu disulfide. Việc hình thành chính xác cầu disulfide này sẽ quyết định đến hoạt tính sinh học của IL-2. Để ngăn cản sự tạo thành cầu

disulfide không mong muốn giữa Cys125 với Cys58 và Cys105, đột biến thay thế Cys125 thành Ser đã được nghiên cứu. Ngoài ra, 3 axit amin đầu tiên tại đầu N của protein IL-2 là điểm glycosyl hóa được nhận biết bởi trình tự Ala-Pro-Thr. IL-2 trong tự nhiên tồn tại ở dạng glycosyl hóa có tính thấm cao với màng tế bào, vì vậy liều lượng lớn IL-2 sẽ gây nên độc tính của protein này trong cơ thể. Do đó, IL-2 dạng thương phẩm dùng làm thuốc tiêm cần được thiết kế mới để loại bỏ alanine ở đầu N và đột biến gốc Cys125 thành Ser.

Các protein tái tổ hợp biểu hiện trong *E. coli* được bắt đầu với formyl-methionine ở đầu N (Marcker and Sanger, 1964) và có thể ảnh hưởng đến chức năng của protein (Millan et al., 2007). Việc sử dụng peptide tín hiệu (signal peptide) biểu hiện protein trong khoang chu chất giúp protein tiết loại bỏ được methionin (Met) và cuộn xoắn đúng cấu trúc. Trong thí nghiệm này, đoạn tín hiệu tiết pelB được thiết kế phía trước trình tự protein IL-2 và biểu hiện kèm với chaperone GroESL và thioredoxin để tăng tính tan và hiệu quả cắt tín hiệu tiết pelB. Trình tự tín hiệu tiết pelB dự đoán sẽ bị cắt bỏ cùng với alanin (Ala) và Met ở đầu N trong quá trình chuyển từ tế bào chất ra khoang chu chất để tạo protein IL-2 trưởng thành.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và hóa chất

* *Chủng vi sinh vật*

Chủng *E. coli* DH10B được sử dụng làm chủng tách dòng gen; chủng *E. coli* BL21 (DE3) được sử dụng làm chủng biểu hiện gen.

* *Plasmid*

Plasmid pJET1/blunt được sử dụng làm vector tách dòng; plasmid pET22b(+) được sử dụng làm vector biểu hiện; plasmid pKY106 mang chaperon GroESL được biểu hiện kèm với IL-2; plasmid pET22-thio được sử dụng làm vector biểu hiện kèm với IL-2.

* *Hóa chất và enzyme dùng trong sinh học phân tử*: SDS, tris HCl, Acrylamide/Bis-

Acrylamide, TEMED, protein Marker (Fermentas, Đức), EDTA (Serva, Đức), X- Gal (Sigma, Mỹ), phenol, methanol, isoamylalcohol, EtBr, Glyxerol, IPTG, Ethanol, Chloroform (Rohde, Đức), agar (Fluka, Đức), ampicillin (Merck, Đức), agarose (Gibco, Mỹ), MgSO₄ (Bio-Labs, Mỹ), cao nấm men (Gibco, Mỹ), peptone, glucose, NaCl, CaCl₂, kháng thể kháng IL-2, kháng thể kháng chuột (Sigma, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế vector biểu hiện gen mã hóa il-2 có tín hiệu pelB

Trình tự gen *il-2* được thiết kế dựa trên trình tự gen *il-2* người trên Ngân hàng Dữ liệu Gen Quốc tế NCBI với số đăng kí NP_000577. Plasmid tái tổ hợp được thiết kế có trình tự đoạn gen *il-2* cải biến Cys125 thành Ser có gắn trình tự tín hiệu tiết pelB ở đầu N và được tổng hợp bởi hãng Gen Script (Mỹ).

Plasmid tái tổ hợp pET22_IL-2_pelB được biến nạp vào tế bào khả biến *E. coli* DH10B bằng sốc nhiệt. Chủng tái tổ hợp được sàng lọc trên môi trường LB chứa kháng sinh ampicillin (Amp) nồng độ cuối cùng 100 µg/ml và được nuôi cấy trong môi trường lỏng cho tách chiết DNA plasmid. Các plasmid tái tổ hợp này được cắt kiểm tra bằng cặp enzyme hạn chế *Not* I và *Nde* I đồng thời được tinh sạch để kiểm tra trình tự gen bằng phương pháp giải trình tự thế hệ mới (New Generation sequencing).

2.2.2. Thiết kế chủng biểu hiện *E. coli* BL21 mang plasmid tái tổ hợp pET22_IL-2_pelB và chaperone GroESL

Để tạo được chủng *E. coli* BL21 biểu hiện protein IL-2 và chaperone GroESL, trước hết chúng tôi biến nạp plasmid pKY106 mang chaperone GroESL vào tế bào *E. coli* BL21 và chọn lọc trên môi trường LB có tetracycline nồng độ 12,5 µg/ml để tạo chủng *E. coli* BL21 mang chaperone GroESL. Chủng *E. coli* tái tổ hợp này được sử dụng làm tế bào khả biến và biến nạp plasmid tái tổ hợp pET22IL-2 vào, và chọn lọc trên môi trường LB chứa 2 loại kháng sinh là ampicillin nồng độ 50 µg/ml và tetracycline nồng

độ 12,5 µg/ml. Chủng *E. coli* BL21 chứa cả 2 plasmid pKY106 và pET22IL-2 sẽ phát triển trên môi trường chứa cả hai loại kháng sinh trên.

2.2.3. Thiết kế chủng biểu hiện *E. coli* BL21 mang plasmid tái tổ hợp pET22_IL-2_pelB và thioredoxin

Để tạo được chủng *E. coli* BL21 biểu hiện protein IL-2 và thioredoxin, quá trình thực hiện cũng giống với thiết kế chủng *E. coli* BL21 biểu hiện protein IL-2 và chaperone GroESL. Trước hết chúng tôi biến nạp plasmid pET22thio mang Trx vào tế bào *E. coli* BL21 và chọn lọc trên môi trường LB có kanamycin nồng độ 25 µg/ml để tạo chủng *E. coli* BL21 mang Trx. Chủng *E. coli* tái tổ hợp này được sử dụng làm tế bào khả biến và biến nạp plasmid tái tổ hợp pET22IL-2 vào và chọn lọc trên môi trường LB chứa 2 loại kháng sinh là ampicillin nồng độ 50 µg/ml và kanamycin nồng độ 25 µg/ml. Chủng *E. coli* BL21 chứa cả 2 plasmid pET22thio và pET22IL-2 sẽ phát triển trên môi trường chứa cả hai loại kháng sinh trên.

2.2.4. Cầm ứng để biểu hiện protein tái tổ hợp

Nuôi cấy qua đêm một khuẩn lạc (sản phẩm biến nạp) trong môi trường LB lỏng có bổ sung Amp đến nồng độ cuối cùng là 100 µg/ml (môi trường LBamp) lắc 200 vòng/phút ở 37°C qua đêm. Dịch nuôi cấy được chuyển sang môi trường LBamp để đạt OD600 ban đầu là 0,1nm nuôi trong 2 giờ ở 37°C cho đến khi OD600 đạt 0,6 – 0,7nm, lấy mẫu ra tiến hành cảm ứng bằng 1mM IPTG. Mẫu được thu sau cảm ứng 4 giờ. Protein tổng hợp được kiểm tra bằng điện di protein trên gel polyacrylamide SDS-PAGE và kiểm tra tính bất cặp đặc hiệu với kháng thể kháng IL-2 bằng western blot.

2.2.5. Phương pháp thu protein tan và không tan

Dịch tế bào được ly tâm 5000 vòng/phút trong 5 phút loại dịch nổi. Tủa tế bào được hòa lại trong dung dịch đệm TE (Tris 20mM, EDTA 10mM, PMSF 0,05mM). Mẫu được để tủ lạnh - 80°C trong 1 giờ. Sau đó làm tan ở 50°C trong

30 phút. Tiếp đến, tiến hành siêu âm 3 lần mỗi lần 20 giây. Mẫu sau khi siêu âm được ly tâm ở 13000 vòng/phút trong 5 phút. Chuyển pha tan (phần dịch phía trên) sang ống eppendorf mới. Còn phần cặn tế bào (pha không tan) được hòa lại trong 100µl đệm TE. Tiếp đó, bổ sung 20µl đệm xử lý protein vào cả pha tan và pha không tan. Biến tính ở 100°C trong 15 phút. Cuối cùng, thu toàn bộ mẫu và chạy điện di protein.

2.2.6. Kỹ thuật Western blot

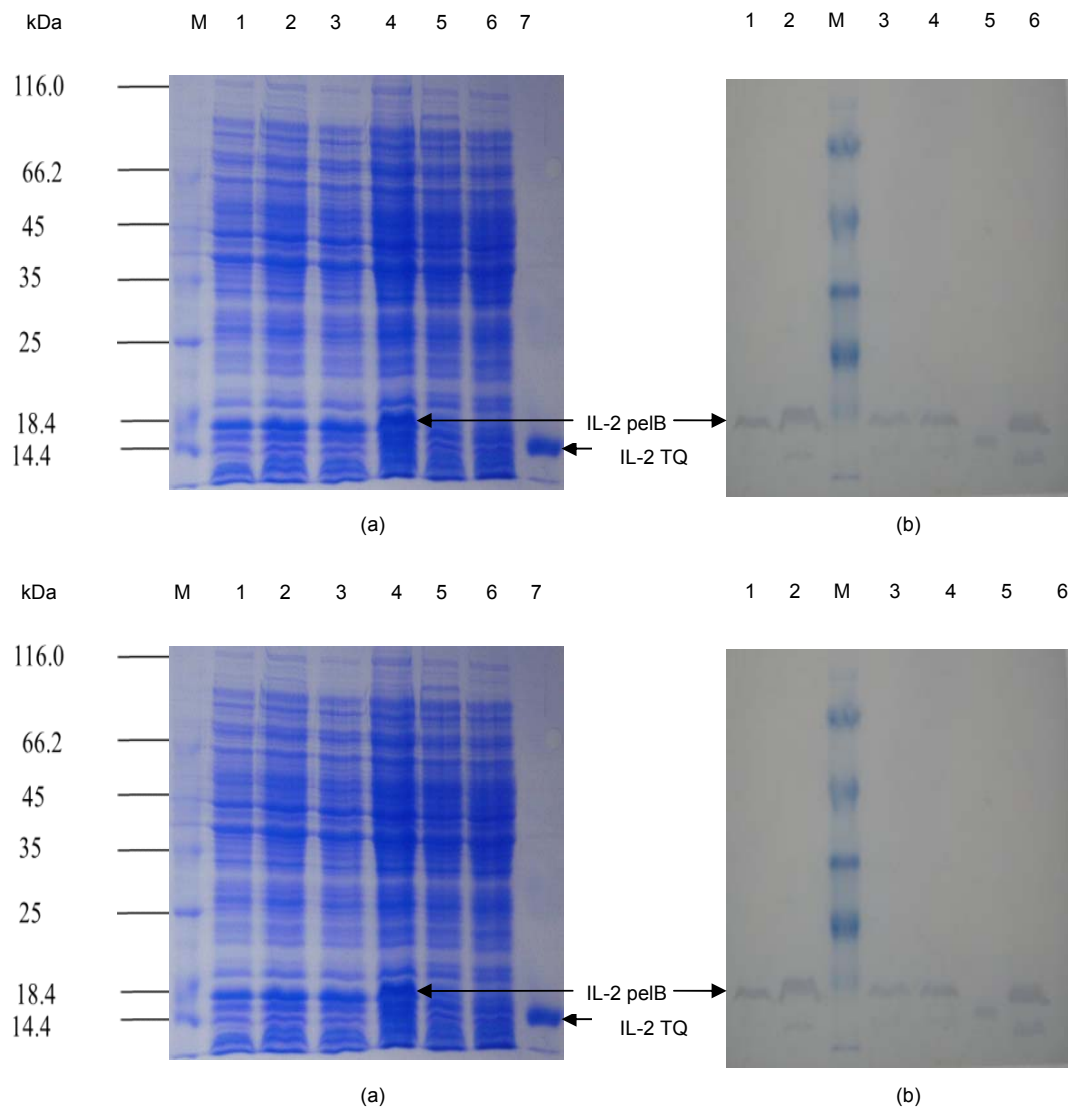
Chạy điện di biến tính protein bằng SDS-PAGE với các mẫu tương ứng. Sau đó chuyển protein sang màng PVDF trong dung dịch đệm (Tris-HCl 48mM, Glycine 39mM, ethanol 20%) để lạnh trong 15 phút ở 15 V. Màng sau khi chuyển được phủ trong dung dịch sữa đã tách bơ (skim milk) 5% trong dung dịch TBS1x (Tris-HCl 1M, pH = 7.5, NaCl 5M), ở 4°C qua đêm. Sau đó, tiến hành rửa màng bằng dung dịch TTBS 1x (TBS 1x bổ sung 0,1% Tween-20) 3 lần, mỗi lần 10 phút. Tiếp đó, rửa màng bằng dung dịch TBS 1x, rửa 3 lần mỗi lần 5 phút. Phủ kháng thể 1 (kháng thể kháng IL-2 của chuột) pha loãng 5000 - 10000 lần trong sữa skim milk 5%. Lắc ở nhiệt độ phòng (25°C) trong 1 giờ. Rửa màng một lần nữa lần lượt trong dung dịch TTBS 1x và TBS 1x. Phủ kháng thể 2 (kháng thể kháng chuột) trong 1 giờ. Rửa màng lần cuối và hiện màu bằng dung dịch hiện màu TMB (Tetramethylbenzidine (TMB) liquid substrate system for membranes).

3. KẾT QUẢ

3.1. Biểu hiện protein IL-2 gắn tín hiệu tiết pelB tái tổ hợp

Đoạn gen *il-2* được gắn thêm trình tự tín hiệu tiết pelB để giúp cho protein IL-2 sau khi tổng hợp được chuyển từ nhân qua màng và ra khoang chu chất. Trong quá trình vận chuyển, tín hiệu tiết pelB sẽ được cắt bởi các peptidase trên màng tế bào chất để tạo protein IL-2 dạng đơn không có methionine ở đầu N với kích thước khoảng 15 kDa.

Biểu hiện gen mã hóa IL-2 của người với chaperone groesl và thioredoxin trong tế bào *Escherichia coli* BL21 (DE3)



Hình 1. Điện di đồ kiểm tra protein tái tổ hợp IL-2 trên SDS-PAGE (a) và bằng kỹ thuật Western blot (b)

Ghi chú: a) M: Thang chuẩn protein (Fermentas); 1-4: Các dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET22_IL-2_pelB; 5: Dòng tế bào *E. coli* BL21 không mang plasmid tái tổ hợp; 6: Đối chứng âm (không cảm ứng bởi IPTG); 7: Đối chứng dương (IL-2 Trung Quốc).

b) M: Thang chuẩn protein (Fermentas); 1-4, 6: Các dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET22IL-2; 5: Đối chứng dương (IL-2 Trung Quốc).

Quan sát kết quả điện di trên hình 1a cho thấy, các protein IL-2 được tổng hợp đều có kích thước khoảng gần 20 kDa (đường chạy 1-4), cao hơn protein chuẩn Trung Quốc có kích thước khoảng 15 kDa (đường chạy số 7). Kết quả này cho thấy protein IL-2 được biểu hiện vẫn còn gắn với tín hiệu tiết pelB. Ngoài ra

kết quả kiểm tra bằng kỹ thuật Western blot cũng đã khẳng định protein IL-2 biểu hiện có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng thể kháng IL-2 của chuột. Một số dòng tế bào có hai băng protein biểu hiện (đường chạy 2, 8; hình 1b) có thể do protein IL-2 bị phân cắt trong quá trình biểu hiện.

3.2. Khảo sát tính tan của protein tái tổ hợp IL-2 trong *E. coli* BL21(DE3)

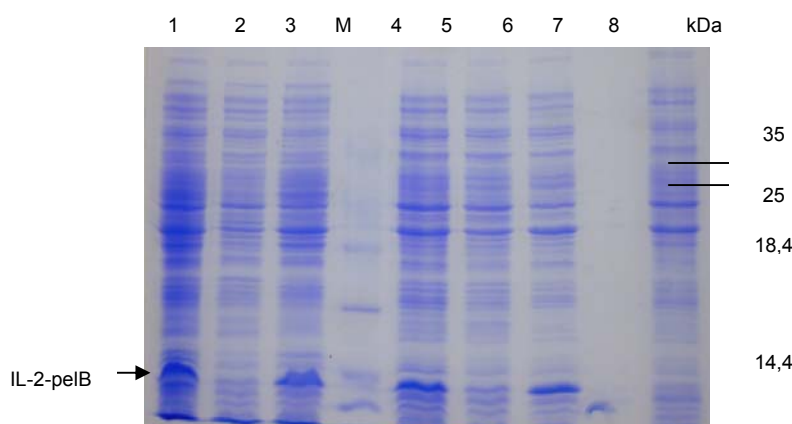
Protein IL-2 biểu hiện vẫn còn gắn tín hiệu tiết pelB có thể là do protein được biểu hiện ở dạng không tan (inclusion bodies), vì vậy protein khó có thể đi qua được màng tế bào chất nơi chứa các enzyme peptidase tham gia vào quá trình cắt tín hiệu tiết pelB. Do vậy, để khẳng định protein IL-2 biểu hiện vẫn còn gắn tín hiệu tiết pelB hay không, chúng tôi tiến hành khảo sát tính tan của IL-2. Kết quả kiểm tra được biểu hiện trên hình 2.

Kết quả điện di trên hình 2 cho thấy, toàn bộ protein tái tổ hợp được tổng hợp đều tồn tại ở dạng không tan (đường chạy số 3 và số 6) và không thấy xuất hiện băng protein IL-2 ở pha tan (đường chạy 2, 5). Kết quả này có thể được giải thích là do các protein biểu hiện có thể cuộn chặt vào nhau, vì vậy rất khó để vận chuyển qua màng ra ngoài chu chất. Để tăng khả năng biểu hiện protein ở dạng tan và giúp protein cuộn xoắn đúng cấu trúc, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu biểu hiện protein đích cùng với chaperone hoặc với Trx (Bazewicz et al., 2012).

3.3. Biểu hiện đồng thời plasmid tái tổ hợp pET22_IL-2_pelB và chaperon GroESL

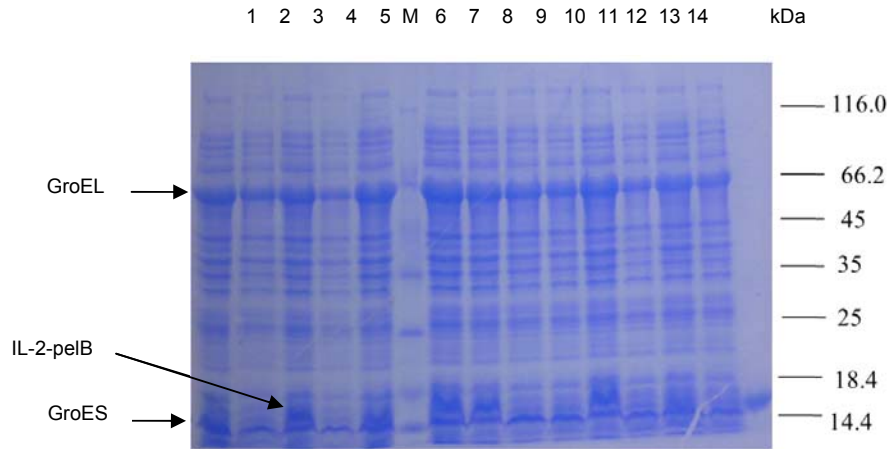
Sự biểu hiện quá mức của protein trong chủng chủ sẽ dẫn đến sự biểu hiện các protein sai cấu trúc và tồn tại dạng không tan. Chaperon heat shock GroESL đóng vai trò quan trọng biểu hiện cùng với protein đích làm tăng tính tan của protein biểu hiện dạng không tan trong *E. coli* và đã được chứng minh là đạt kết quả như mong muốn (Martinez et al., 2010). Trong thí nghiệm này, chúng tôi tiến hành biểu hiện kèm chaperone plasmid pKY106 (chứa 2 protein GroEL và GroES) cùng với plasmid pET22_IL-2_pelB trong dòng tế bào *E. coli* BL21. Kết quả biểu hiện được biểu hiện trong hình 3.

Kết quả điện di trên hình 3 cho thấy, cả hai protein GroEL và GroES đều biểu hiện ở mức cao và đúng kích thước khoảng 60 và 14 kDa cùng với IL-2 có kích thước khoảng 20 kDa (đường chạy 3, 5, 7, 8, 10). Kích thước phân tử của protein IL-2 chứng tỏ tín hiệu tiết pelB của protein này vẫn vẫn chưa được cắt. Điều này cho thấy mặc dù IL-2 đã được biểu hiện kèm với chaperon nhưng chưa làm tăng tính tan của IL-2, protein vẫn bị cuộn xoắn và chưa được vận chuyển ra ngoài màng tế bào, do vậy mà vẫn protein IL-2 biểu hiện vẫn chứa tín hiệu tiết pelB.



Hình 2. Điện di SDS-PAGE kiểm tra tính tan của protein tái tổ hợp IL-2

1-3: Dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET_IL-2_pelB dòng số 1 (1: protein tổng số; 2: protein tan; 3: protein không tan); 4-6: Dòng tế bào *E. coli* BL21(DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET_IL-2_pelB dòng số 2 (4: protein tổng số; 5: protein tan; 6: protein không tan); 7: Đối chứng dương (IL-2 Trung Quốc; 8: Dòng tế bào *E. coli* BL21(DE3) không mang plasmid tái tổ hợp.



Hình 3. Điện di đồ kiểm tra kết quả đồng biểu hiện protein IL-2 gắn tín hiệu tiết pelB và chaperone GroELS

1 – 13: Các dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) biểu hiện protein tái tổ hợp IL-2 gắn tín hiệu tiết pelB; 14: Đối chứng dương (IL-2 chuẩn Trung Quốc); M: Thang chuẩn protein.(fermentas).

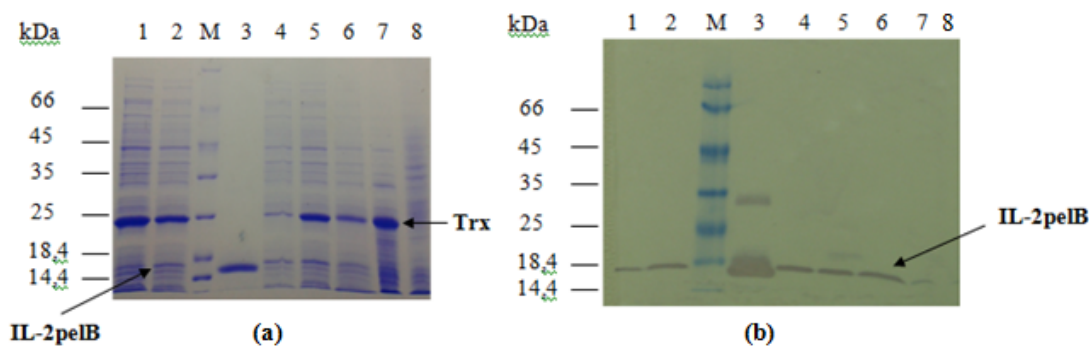
3.4. Biểu hiện đồng thời protein tái tổ hợp IL-2 với Trx

Ngoài việc biểu hiện cùng với chaperone GroESL, chúng tôi tiến hành biểu hiện protein đích cùng với Trx để nhằm nâng cao tính tan của protein khi biểu hiện trong *E. coli*. Hai vector pET22_IL-2_pelB và pET22thio-kanamycine chứa trình tự protein Trx được biến nạp đồng thời và biểu hiện trong tế bào *E. coli* BL21 (DE3). Kết quả phân tích protein trên gel SDS-PAGE trên hình 4a cho thấy, Trx được biểu hiện tốt có kích thước khoảng 25 kDa. Tuy nhiên, protein IL-2 vẫn được biểu hiện kèm với tín hiệu tiết pelB với kích thước khoảng 20 kDa (đường chạy 1-6), cao hơn so với đối chứng protein IL-2 IBT. Kết quả Western blot cũng khẳng định IL-2 đã được biểu hiện cùng với protein Trx trong *E. coli* (Hình 4b).

4. THẢO LUẬN

Các kết quả biểu hiện IL-2 với tín hiệu pelB trong *E. coli* BL21 (DE3) cho thấy protein này chủ yếu tồn tại ở dạng không tan trong tế bào chất. Các protein có nguồn gốc từ Eukaryote thường bị biểu hiện ở dạng không tan là một trong những bất lợi khi biểu hiện trong hệ vi

khuẩn. Để cải thiện tính tan của protein biểu hiện trong *E. coli* ngoài các phương pháp tối ưu điều kiện biểu hiện như nhiệt độ, môi trường nuôi cấy và nồng độ chất cảm ứng IPTG, một số nghiên cứu đã cho rằng việc biểu hiện protein kèm với một số chaperone làm tăng lượng protein biểu hiện đúng cấu trúc trong bộ máy vi khuẩn (Martinez, 2010) như DnaK (DnaK, DnaJ và GrpE) và GroESL (GroEL và GroES) giúp ngăn cản sự hình thành protein dạng không tan và giúp protein cuộn xoắn đúng cấu trúc. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mặc dù protein IL-2 đã biểu hiện đồng thời cùng với các chaperone GroESL và Trx nhưng tất cả protein IL-2 vẫn đều ở dạng không tan và tín hiệu cắt pelB vẫn chưa được loại bỏ. Kết quả này trái ngược với công bố của Takashi Yasukawa et al. (1995) cho rằng biểu hiện kèm với chaperones GroESL làm tăng tính tan của 4 trong 8 protein nghiên cứu khi biểu hiện trong *E. coli*, trong khi protein thioredoxin giúp làm tăng hiệu quả tính tan của 8 protein nghiên cứu. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Gabrielhe Halfmann et al. (1993) khi biểu hiện IL-2 gắn tín hiệu tiết OmpA hay PhoA đã



Hình 4. Kết quả biểu hiện protein IL-2 đồng thời với Trx (a) và Western blot (b)

1, 2, 4-7: Các dòng tế bào *E. coli* BL21 biểu hiện đồng thời hai protein IL-2 và Trx; 3: Mẫu IL-2 chuẩn Trung Quốc; M: Thang chuẩn protein (Fermentas); 8: Mẫu đối chứng âm không cảm ứng IPTG. Các đường chạy tương tự như bản điện di (a)

không làm tăng tính tan của protein khi biểu hiện kèm với chaperone GroESL. Như vậy, kết quả của chúng tôi có thể được giải thích do protein IL-2 cuộn xoắn quá nhanh sau khi tổng hợp, khiến các trình tự tín hiệu tiết không thể hướng protein đi vào bộ máy vận chuyển protein, do vậy chaperone và thioredoxin không kịp tham gia vào quá trình làm tan và cắt tín hiệu tiết pelB. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, với những protein có cầu nối disulfide như IL-2, khi được đồng biểu hiện với Trx sẽ tạo protein tan và có hoạt tính sinh học tốt hơn do Trx làm giảm tính khử trong khoang chu chất và giúp protein cuộn xoắn được tốt hơn. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng protein IL-2 tạo ra vẫn tồn tại dạng không tan và còn gắn trình tự tín hiệu tiết pelB. Mặc dù kết quả nghiên cứu này chưa làm tăng tính tan của protein IL-2 nhưng đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về việc biểu hiện protein này đồng thời với hai hệ thống chaperone GroESL và Trx, từ đó giúp cho việc định hướng và lựa chọn các hệ biểu hiện thích hợp đối với gen mã hóa *il-2* ở người.

5. KẾT LUẬN

Protein IL-2 được biểu hiện trong dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) có gắn tín hiệu tiết pelB ở dạng không tan trong tế bào chất. Sự biểu

hiện của protein IL-2 cùng với chaperone GroESL và thioredoxin vẫn không làm tăng tính tan của protein tái tổ hợp và không loại bỏ được tín hiệu tiết pelB khỏi cấu trúc của IL-2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hyung JC, H.S., Hye J.L., Hye S.C., Nimish N.D., Minh Q.P., William E.B. (2005). Comparative production of human interleukin-2 fused with green fluorescent protein in several recombinant expression systems. *Biochem Engin J.*, 24: 225-233.
- Liang, S.M., et al. (1985). Characterization of human interleukin 2 derived from *Escherichia coli*. *Biochem J*, 229(2): 429-439.
- Marcker, K. and Sanger F. (1964). N-Formyl-Methionyl-S-Rna. *J Mol Biol*, 8: 835-840.
- Fernandez-San Millan, A., et al. (2007). Expression of recombinant proteins lacking methionine as N-terminal amino acid in plastids: human serum albumin as a case study. *J Biotechnol*, 127(4): 593-604.
- Bazewicz, C.G., et al. (2012). Expanding the utility of 4-cyano-L-phenylalanine as a vibrational reporter of protein environments. *J Phys Chem B*, 116(35): 10824-10831.
- Martinez-Alonso, M., et al. (2010). Side effects of chaperone gene co-expression in recombinant protein production. *Microb Cell Fact*, 9: 64.
- Halfmann, G., et al. (1993). Targeting of interleukin-2 to the periplasm of *Escherichia coli*. *J Gen Microbiol*, 139(10): 2465-2473.