مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹
صفحات: ۱۴۷-۱۴۱

Kowsar Medical Journal
Vol. 15, No. 3, Fall 2010
Pages: 141-147

بهینه‌سازی بیان ژن و تخلیص پروتئین نوترکیب LTB باکتری *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک و تولید آنتی‌بادی علیه آن

راضیه خالصی [۱] *MSc*، شهرام نظریان [*] *MSc*، زهرا احصایی [۱] *BSc*، میثم منصوری [۱] *BSc*، جعفر امانی [۲] *MSc*،
جعفر سلیمیان [۱] *MSc*، سیدمحمد مؤذنی [۳] *PhD*

[*]گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین(ع)، تهران، ایران
[۱]گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه امام حسین(ع)، تهران، ایران
[۲]مرکز بیوتکنولوژی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران
[۳]گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

اهداف: ۷۰-۳۰٪ موارد اسهال ناشی از عفونت‌های باکتریایی است. شایع‌ترین باکتری به‌دست‌آمده، *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک یا ETEC است. امکان به‌وجود آمدن ایمنی حفاظتی علیه این بیماری وجود دارد و طراحی واکسن آن از اهداف سازمان جهانی بهداشت است. بیشتر سویه‌های این باکتری، مولد توکسین حساس به حرارت هستند. لذا زیرواحد B توکسین حساس به حرارت، برای تولید واکسن مطرح است. هدف مطالعه حاضر، بهینه‌سازی بیان ژن زیرواحد B توکسین حساس به حرارت به‌منظور بررسی ایمنی‌زایی بود.

مواد و روش‌ها: بهینه‌سازی بیان ژن زیرواحد B توکسین حساس به حرارت در مورد متغیرهای زمان، دما و غلظت IPTG انجام شد. پس از بیان، پروتئین مورد نظر از طریق ستون تمایلی نیکل تخلیص شد. برای تولید آنتی‌بادی، پروتئین زیرواحد B توکسین حساس به حرارت به‌صورت زیرجلدی در چهار نوبت به‌همراه ادجوان به موش‌ها تزریق شد. در فواصل تزریقات و پس از آخرین تزریق، از موش‌ها خونگیری به‌عمل آمد و واکنش الایزا انجام شد.

یافته‌ها: پس از بهینه‌سازی بیان، بهترین بیان پروتئین در زمان ۳ ساعت، دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و غلظت ۱ میلی‌مولار IPTG صورت گرفت. با استفاده از ستون نیکل، پروتئین با خلوص بیش از ۹۵٪ تخلیص شد. واکنش الایزا نیز نشان‌دهنده تولید بالای آنتی‌بادی علیه این پروتئین در موش‌ها بود.

نتیجه‌گیری: پروتئین زیرواحد B توکسین حساس به حرارت می‌تواند به‌عنوان مولکول ایمونوژن، یکی از اجزای مهم در تولید واکسن علیه ETEC باشد.

کلیدواژه‌ها: *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک، زیرواحد B توکسین حساس به حرارت، بهینه‌سازی بیان ژن، آنتی‌بادی، واکسن نوترکیب

Optimization of gene expression and purification of enterotoxigenic *Escherichia coli* recombinant LTB protein and antibody production against it

Khalesi R.[1] *MSc*, Nazarian Sh.[*] *MSc*, Ehsaei Z.[1] *BSc*, Mansouri M.[1] *BSc*, Amani J.[2] *MSc*, Salimian J.[1] *MSc*, Moazzeni S. M.[3] *PhD*

[*]Department of Biological Sciences, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University, Tehran, Iran
[1]Department of Biological Sciences, Faculty of Basic Sciences, Imam Hossein University, Tehran, Iran
[2]Applied Biotechnology Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3]Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: It has been estimated that gastroenteritis is caused by bacteria in 30-70% of cases. Enterotoxigenic *Escherichia coli* or ETEC is one of the most common agents causing diarrhea. Protective immunity may be induced against this disease. Designing and producing a vaccine against this disease is one of the purposes of World Health Organization. Vaccine candidate molecules have to induce protective immunity against a broad spectrum of ETEC bacteria. Most ETEC strains can produce labile toxin; therefore labile toxin may be a proper candidate for being used as a vaccine molecule. The aim of this study was to optimize Heat-labile Toxin B Subunit expression in order to investigate its immunological properties.

Materials & Methods: Optimizing of 3 parameters (IPTG concentration, time and temperature of promoter induction) was performed. Recombinant protein was purified with Ni-NTA column. Purified Heat-labile Toxin B Subunit was injected to mice subcutaneously in 4 sessions. Blood samples were taken during the interval between the injections and after last injection. Then, ELISA was performed.

Results: The optimum expression occurred at 1mM IPTG concentration, after 3 hours and at 37ºC. Recombinant protein was highly purified (>95%) with Ni-NTA column. Also, ELISA showed high titer of antibody production in mice.

Conclusion: Expressed Heat-labile Toxin B Subunit is an immunogenic protein and can be one of the important components in vaccine development against ETEC.

Keywords: Enterotoxigenic *Escherichia coli*, Heat-Labile Toxin B Subunit, Expression, Recombinant Vaccine, Antibody

---

نویسنده مسئول: شهرام نظریان. تمام درخواست‌ها باید به نشانی nazarian56@gmail.com فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۸/۹/۱۷ پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۲۰