

NGHIÊN CỨU TỐI ƯU ĐIỀU KIỆN BIỂU HIỆN INTERLEUKIN-3 NGƯỜI DUNG HỢP VỚI *PelB* TRONG *E. coli*

Dương Thu Hương, Nguyễn Thị Quý, Đặng Thị Ngọc Hà,
Lê Thị Thu Hồng, Trương Nam Hải*

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam, *tnhai@ibt.ac.vn

TÓM TẮT: Interleukin-3 người (IL-3) là một cytokine đa chức năng tham gia vào các quá trình tự đổi mới, nhân lên, biệt hóa và trưởng thành của nhiều loại tế bào máu. Sau khi đưa gen *il-3* gắn thêm tín hiệu tiết *pelB* vào vector pET22b(+) và tiến hành biểu hiện ở chủng *E. coli* BL21, chúng tôi nhận thấy IL-3 được tổng hợp ở mức rất thấp và còn gắn với *PelB*. Để thuận tiện cho khâu tinh sạch, vấn đề then chốt là nghiên cứu tìm ra các điều kiện phù hợp làm tăng lượng IL-3 được tổng hợp, đồng thời cắt được *PelB*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi so sánh khả năng sinh tổng hợp IL-3 của các chủng *E. coli* BL21, JM109, Soluble và Rossetta2; sau đó tối ưu hóa điều kiện biểu hiện gen *il-3* về thành phần môi trường, nhiệt độ, nồng độ IPTG, thời điểm cảm ứng và kiểm tra trạng thái tồn tại của IL-3. Kết quả thu được cho thấy gen *il-3* biểu hiện tốt và ổn định nhất ở chủng *E. coli* JM109. Dưới các điều kiện lên men thích hợp trong môi trường LB, ở 25°C, cảm ứng 0,05 mM IPTG tại OD₆₀₀=1, IL-3 biểu hiện tốt, cắt khỏi *PelB* và tồn tại ở trạng thái không tan trong tế bào chất. Sinh khối tế bào tăng lên khoảng 2,3 lần sau khi tối ưu. Kết quả này là tiền đề cho bước tinh sạch lượng lớn IL-3 cho nghiên cứu tính chất của protein.

Từ khóa: *Escherichia coli* JM109, biểu hiện protein, IL-3, *PelB*.

MỞ ĐẦU

Interleukin-3 người (IL-3) là một cytokine có bản chất là glycoprotein, được xem là có phổ tác dụng rộng nhất trong hệ tạo máu. Nó tham gia vào quá trình tự đổi mới, nhân lên và biệt hóa của các tế bào nguồn tạo máu, hoạt hóa chức năng của các bạch cầu trưởng thành [9]. Việc sản xuất sinh phẩm IL-3 theo con đường tái tổ hợp không chỉ giúp phục vụ điều trị bệnh mà còn sử dụng cho mục đích chẩn đoán và các nghiên cứu khác. Hiện nay, trên thị trường, nhiều công ty sinh học đã tạo ra sản phẩm rhIL-3 dựa trên một số hệ biểu hiện khác nhau như trong tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* [6], tế bào vi khuẩn [7], tế bào động vật [8] dành cho mục đích nghiên cứu nhưng với giá thành tương đối cao. Hệ biểu hiện *E. coli* được sử dụng nhiều nhất để tổng hợp protein tái tổ hợp do những ưu điểm như dễ nuôi cấy, tốc độ sinh trưởng nhanh, các đặc điểm di truyền đã được nghiên cứu đầy đủ, có nhiều loại vector tách dòng và chủng đột biến thương mại dành cho hệ này, và dễ dàng thu nhận protein mục tiêu.

Trong bài báo trước, chúng tôi đã công bố kết quả tạo chủng *E. coli* BL21 tái tổ hợp biểu

hiện gen *il-3* dung hợp với tín hiệu tiết *pelB* để định hướng protein IL-3 tiết ra khoang chu chất [11]. Tuy nhiên, IL-3 được tổng hợp ở mức thấp và chỉ một phần cắt khỏi *PelB*, ngoài ra sinh khối tế bào cũng không cao [11]. Để thuận tiện cho việc tinh sạch, protein IL-3 phải được tổng hợp tốt, ổn định và ở dạng không gắn với *PelB*, đồng thời sinh khối tế bào cần được cải thiện. Vì sự biểu hiện protein ngoại lai ở chủng chủ bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, trong đó điều kiện lên men có ảnh hưởng lớn, dẫn đến khả năng tổng hợp protein không hiệu quả, protein cuộn gập sai và không có chức năng sinh học [3]. Điều này có thể được khắc phục bằng cách kiểm soát chặt chẽ các thông số lên men. Trong bài báo này, chúng tôi khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng biểu hiện của gen *il-3* bao gồm chủng biểu hiện *E. coli*, các điều kiện lên men như môi trường, nồng độ chất cảm ứng, nhiệt độ biểu hiện, mật độ tế bào lúc cảm ứng và xác định trạng thái tồn tại của protein IL-3 được tổng hợp.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vector tái tổ hợp pET-pelB-*il3* do nhóm nghiên cứu Phòng Kỹ thuật di truyền, Viện

Công nghệ Sinh học thiết kế được dùng làm vector biểu hiện [11]. Các chủng *E. coli* BL21(DE3), JM109(DE3), Rosetta 2, Soluble (Invitrogen) được dùng làm chủng biểu hiện.

Protein marker được mua của Fermentas (Đức), IL-3 người chuẩn (Sigma) được dùng làm đối chứng dương. Tất cả các hóa chất khác được mua của Merck (CHLB Đức).

So sánh sự biểu hiện gen *il-3* ở chủng *E. coli*

Các chủng *E. coli* (xem phần vật liệu) được tạo khả biến để tiếp nhận vector tái tổ hợp pET-pelB-*il3* và tiến hành cảm ứng biểu hiện ở cùng điều kiện: môi trường LB chứa 100 µg/ml ampicilin, ở 30°C, cảm ứng 0,5 mM IPTG tại thời điểm OD₆₀₀ = 0,4-0,6. Sau 4 giờ cảm ứng, mật độ tế bào được đo lại; tế bào được thu lại từ dịch nuôi cấy bằng ly tâm và hòa vào nước để đạt OD 10/ml. Một lượng thể tích bằng nhau từ mỗi mẫu (8 µl) được phân tích trên gel SDS-PAGE 14%.

Tối ưu điều kiện biểu hiện gen *il-3*

Các thông số về môi trường lên men, nồng độ chất cảm ứng, nhiệt độ biểu hiện, mật độ tế bào lúc cảm ứng lần lượt được thay đổi để đánh giá khả năng tổng hợp IL-3 và sinh khối tế bào thu được. 9 thành phần môi trường khác nhau là LB (yeast extract 0,5%, peptone 1%, NaCl 1%), M9 (NaH₂PO₄ 0,6%, KH₂PO₄ 0,3%, NaCl 0,05%, NH₄Cl 0,1% và các yếu tố vi lượng), M9+1% glucose, M9+1% glycerol, M9+0,5% yeast extract, M9+1% glucose+0,5% yeast extract, M9+1% glycerol+0,5% yeast extract, TB (peptone 1,2%, yeast extract 2,4%, K₂HPO₄ 72 mM, KH₂PO₄ 17 mM, glycerol 0,4%) và SB (peptone 3,2%, yeast extract 2%, NaCl 0,5%). Nồng độ IPTG được khảo sát từ 0-2 mM. Nhiệt

độ biểu hiện được đánh giá tại 20°C, 25°C, 30°C, 37°C và 40°C. Mật độ tế bào lúc cảm ứng (OD₆₀₀) lần lượt là 0,4; 0,8; 1,0; 1,5 và 2,0.

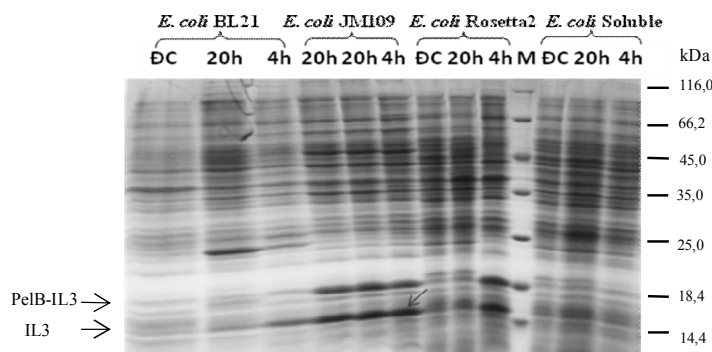
Xác định trạng thái protein IL-3

Quá trình lên men được thực hiện trong chủng biểu hiện lựa chọn và điều kiện lên men đã tối ưu để thu toàn bộ sinh khối tế bào. Hòa tế bào trong đệm Tris pH 7 và siêu âm đến khi dung dịch trở nên trong suốt. Ly tâm 13.000 vòng/phút trong 15 phút thu riêng pha nổi, pha cần được hòa trong đệm về thể tích ban đầu. Điện di cả hai pha trên gel SDS-PAGE 14% để xác định trạng thái biểu hiện của protein IL-3.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Biểu hiện gen *il-3* trong các chủng *E. coli* tái tổ hợp

Sau khi biểu hiện thử trên chủng *E. coli* BL21(DE3) từ bài báo trước và nhận thấy protein IL-3 vừa biểu hiện kém lại vừa không cắt hoàn toàn tín hiệu tiết, chúng tôi tiếp tục khảo sát khả năng tổng hợp protein ở một số chủng *E. coli*. Kết quả cho thấy, chủng BL21 và Soluble tổng hợp IL-3 kém, trong khi hai chủng JM109 và Rosetta 2 tổng hợp IL-3 ở cả dạng đơn (~15 kDa) và dạng gắn thêm PelB (~18 kDa) với tỉ lệ tương đương (hình 1). Mật độ tế bào (OD₆₀₀) sau 4 giờ cảm ứng ở cả hai chủng đồng đều nhau (lần lượt là 1,28 và 1,23). Tuy nhiên, IL-3 tạo ra từ chủng Rosetta 2 bị phân cắt không đặc hiệu bởi protease vật chủ theo thời gian nên băng IL-3 ở mẫu thu 20 giờ chỉ còn lại vệt mờ. Do đó chủng *E. coli* JM109 được lựa chọn làm chủng biểu hiện do protein IL-3 tổng hợp tốt và ổn định.



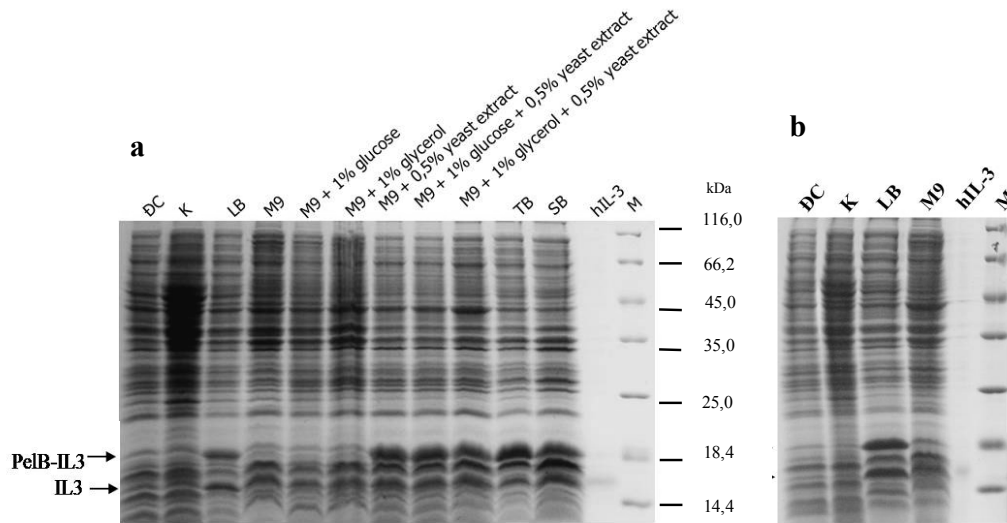
Hình 1. Protein tổng số của các chủng *E. coli* khác nhau

ĐC: đối chứng âm (không mang gen) tương ứng với mỗi chủng *E. coli*; 4h và 20h: mẫu thu sau 4 giờ và 20 giờ cảm ứng IPTG; M: thang protein chuẩn (Fermentas)

Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến sự biểu hiện protein IL-3

Mỗi một loại protein sẽ được tổng hợp ở mức độ khác nhau trong các môi trường nuôi cấy có thành phần dinh dưỡng khác nhau [4]. Chúng tôi đã khảo sát 9 công thức môi trường và nhận thấy sự biểu hiện gen *il-3* ở các môi trường có sự khác biệt. Môi trường LB, các môi trường M9 bổ sung thêm nguồn nitơ của cao nấm men, TB và SB đều thu được protein IL-3 ở dạng đơn (~15 kDa) và dạng chưa cắt khỏi *PelB* (~18 kDa) (hình 2). Trong khi ở các môi

trường M9 và M9 chỉ có nguồn carbon glucose hoặc glycerol, protein IL-3 chủ yếu được cắt khỏi tín hiệu tiết *PelB* nhưng lượng thu được trên tổng số tế bào không nhiều, sinh khối tế bào thấp (bảng 1). Môi trường LB được lựa chọn do lượng protein IL-3 tổng hợp nhiều nhất và ổn định, mật độ tế bào thu được cao nhất. Đây là môi trường cơ bản cho sự biểu hiện protein ngoại lai, dễ chuẩn bị, cung cấp đầy đủ các peptide, axit amin thiết yếu, các vitamin và muối natri cho sự sinh trưởng của vi khuẩn.



Hình 2. Protein tổng số ở các môi trường biểu hiện (a) và mẫu lên men kiểm tra lại môi trường LB và M9 (b)

hIL-3: protein IL-3 người chuẩn (Sigma); DC: đối chứng âm không mang gen; K: mẫu không cảm ứng IPTG; M: thang protein chuẩn (Fermentas).

Bảng 1. Mật độ tế bào lúc thu mẫu (OD₆₀₀) ở các môi trường khác nhau

Môi trường	LB	M9	M9+1 %glu	M9+1 %gly	M9+0,5 %YE	M9+1%glu +0,5%YE	M9+1%gly +0,5%YE	TB	SB
OD ₆₀₀	1,08	0,60	0,53	0,43	0,90	0,84	0,69	0,49	0,38

glu: glucose; gly: glycerol; YE: yeast extract.

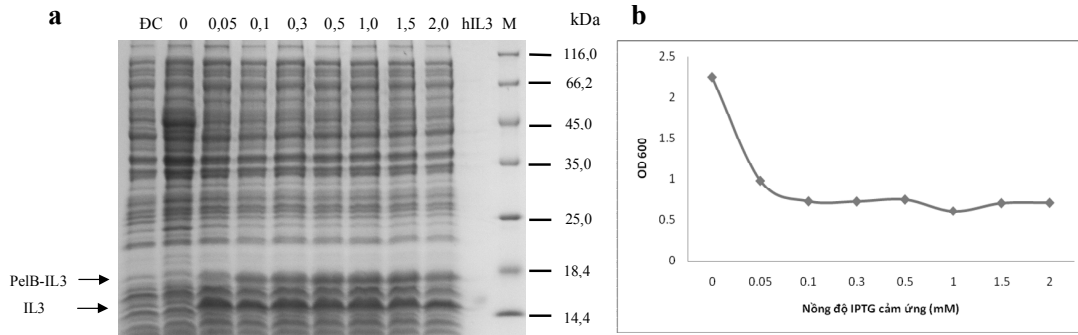
Ảnh hưởng của nồng độ IPTG đến sự biểu hiện protein IL-3

Protein IL-3 được điều khiển tổng hợp bởi promoter T7 trên vector pET22b+. Promoter này được cảm ứng bởi sự có mặt của IPTG trong môi trường nuôi cấy. Nồng độ IPTG cao có thể gây độc cho tế bào, ức chế vi khuẩn sinh trưởng [12]. Nồng độ IPTG quá thấp sẽ hạn chế

tốc độ phiên mã, ảnh hưởng đến năng suất tổng hợp protein. Xác định được nồng độ IPTG thích hợp là việc làm cần thiết. Chúng tôi khảo sát dải nồng độ IPTG từ 0-2 mM và nhận thấy, IL-3 không được tổng hợp khi không có chất cảm ứng; tại các nồng độ IPTG 0,05-1,5 mM, IL-3 được tổng hợp khá nhưng sự chênh lệch giữa các nồng độ không nhiều (hình 3a). Ngoài ra,

mật độ tế bào có xu hướng giảm khi nồng độ IPTG tăng (hình 3b). Nồng độ 0,05 mM IPTG được lựa chọn để cảm ứng biểu hiện do lượng IL-3 dạng đơn thu được nhiều, dạng gắn với

PelB ít hơn hẳn so với các mẫu cảm ứng nồng độ IPTG lớn hơn. Điều này cũng phù hợp với lợi ích kinh tế, do IPTG là hóa chất có giá thành cao.

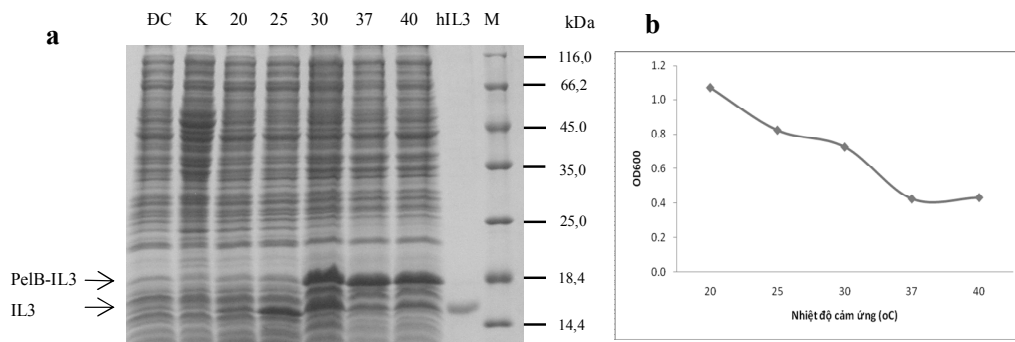


Hình 3. Protein tổng số (a) và mật độ tế bào lúc thu mẫu (b) ở các nồng độ IPTG hIL-3: protein IL-3 người chuẩn (Sigma); ĐC: đối chứng âm không mang gen; M: thang protein chuẩn (Fermentas)

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự biểu hiện protein IL-3

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất và chất lượng protein tái tổ hợp. Nhiệt độ càng cao, mRNA càng dễ bị phân hủy và khả năng đào thải plasmid càng lớn [10]. Hạ thấp nhiệt độ biểu hiện có thể hạn chế sự phân cắt protein đích bởi protease nội bào, tăng lượng protein tái tổ hợp có hoạt tính sinh học [1]. Chúng tôi khảo sát 5 điểm nhiệt độ và nhận thấy mật độ tế bào giảm dần theo chiều tăng của nhiệt độ (hình 4). Tế bào *E. coli* sinh trưởng

tốt nhất ở 20°C nhưng IL-3 biểu hiện kém nhất. Tại 30°C, IL-3 tổng hợp mạnh nhất nhưng vẫn còn một lượng lớn gắn với *PelB*. Từ 37-40°C, phần lớn IL-3 không được cắt khỏi *PelB*. Do đó, 25°C được lựa chọn làm nhiệt độ biểu hiện do IL-3 tổng hợp khá tốt, toàn bộ được cắt khỏi *PelB*. Nguyên nhân có thể do ở nhiệt độ thấp, các quá trình trong tế bào diễn ra chậm hơn, thuận lợi cho việc cuộn xoắn đúng cấu trúc, bộc lộ vùng nối giữa tín hiệu tiết và protein để enzyme nhận biết và cắt hiệu quả [5].

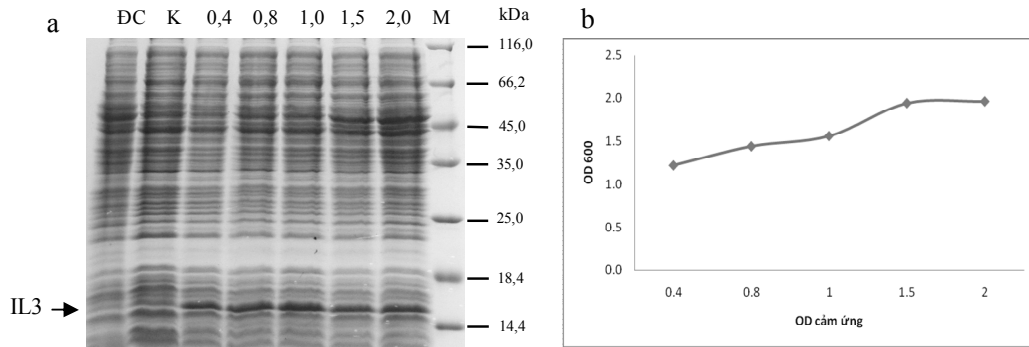


Hình 4. Protein tổng số (a) và mật độ tế bào thu mẫu (b) ở các nhiệt độ biểu hiện hIL-3: protein IL-3 người chuẩn (Sigma); ĐC: đối chứng âm không mang gen; K: mẫu không cảm ứng IPTG; M: thang protein chuẩn (Fermentas)

Ảnh hưởng của mật độ tế bào lúc cảm ứng đến sự biểu hiện protein IL-3

Việc cảm ứng biểu hiện protein ngoại lai thường thực hiện ở giữa-cuối pha lũy thừa của vi khuẩn để đảm bảo hiệu suất tổng hợp protein cũng như hạn chế biểu hiện các protease khi tế bào bước vào pha tĩnh. Chúng tôi khảo sát một số điểm cảm ứng và nhận thấy OD₆₀₀ = 0,4-1,0

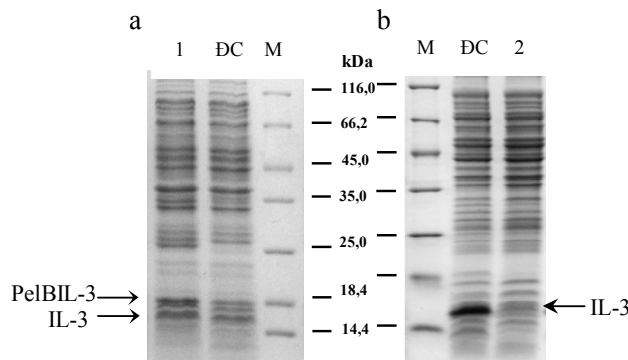
là thời điểm tế bào bắt đầu bước vào pha tổng hợp protein trong khi OD₆₀₀ = 1,5-2 là thời điểm tế bào bắt đầu bước vào pha cân bằng, sức sống giảm, mật độ tế bào cuối cùng không tăng lên (hình 5). Vì vậy, cảm ứng ở thời điểm OD₆₀₀ = 1,0 là thích hợp cho tế bào sinh tổng hợp IL-3 để thu được mật độ tế bào cuối cùng cao, lượng protein IL-3 tổng hợp nhiều.



Hình 5. Protein tổng số (a) và mật độ tế bào thu mẫu (b) cảm ứng biểu hiện ở các mật độ tế bào ĐC: đối chứng âm không mang gen; K: mẫu không cảm ứng IPTG; M: thang protein chuẩn (Fermentas)

Như vậy, sau khi tối ưu các điều kiện lên men phù hợp, sinh khối tế bào tăng lên khoảng 2,3 lần (hình 6). Protein IL-3 tổng hợp được cắt hoàn toàn khỏi *PeI/B*, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tách chiết và tinh sạch IL-3 ở các nghiên cứu tiếp theo, bởi vì việc tách hai phân

tử *PeI/B-IL3* và IL-3 có trọng lượng phân tử tương đương nhau không hề đơn giản. Kết quả này có thể được triển khai ở quy mô nhỏ lên men 5 lít, nơi dễ dàng kiểm soát tốt các điều kiện lên men để thúc đẩy sinh khối tế bào.



Hình 6. Protein tổng số trước (a) và sau (b) khi tối ưu điều kiện biểu hiện

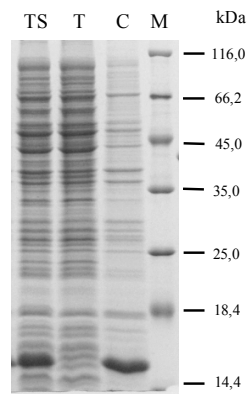
ĐC: đối chứng âm không mang gen; 1: Mẫu lên men điều kiện trước khi tối ưu; 2: Mẫu lên men điều kiện sau tối ưu; M: thang protein chuẩn (Fermentas)

Xác định trạng thái protein IL-3

Mặc dù chúng tôi thiết kế tín hiệu tiết *PeI/B* để định hướng biểu hiện protein IL-3 ở khoang chu chất, kết quả kiểm tra trạng thái lại cho thấy toàn bộ IL-3 biểu hiện đã được cắt khỏi *PeI/B* nhưng lại tồn tại ở dạng không tan và không

được vận chuyển ra khoang chu chất (đường chạy C) (hình 7). Hiện tượng protein sau khi được cắt khỏi tín hiệu tiết không di chuyển ra khoang chu chất của tế bào, bị “ách” và tồn tại bên trong tế bào chất dưới dạng các thể vùi không có hoạt tính hay hoạt tính bị suy giảm

này đã được tác giả Baneyx (1999) [3] đã đề cập. Sự kém hiệu quả trong việc giải phóng protein ngoại lai ra khỏi chu chất có thể bắt nguồn từ khả năng tiết hạn chế của bộ máy vận chuyển trong *E. coli*, kết quả là phần lớn protein biểu hiện ra dưới dạng thể vùi [2]. Sự tạo thành thể vùi thuận lợi cho quá trình tinh sạch nhưng cần có bước hồi tính để đưa protein về đúng cấu trúc, đảm bảo chức năng sinh học của protein.



Hình 7. Xác định trạng thái tồn tại của protein IL-3 tái tổ hợp

TS: protein tổng số; T: protein pha tan; C: protein pha không tan; M: thang protein chuẩn (Fermentas).

KẾT LUẬN

Điều kiện tối ưu cho biểu hiện protein IL-3 ở quy mô bình tam giác là: chủng biểu hiện *E. coli* JM109; môi trường LB; nhiệt độ biểu hiện 25°C; nồng độ IPTG 0,05 mM; thời điểm cảm ứng OD₆₀₀ = 1,0. Protein IL-3 được tổng hợp không còn gắn với *PeiB* nhưng tồn tại ở dạng không tan (thể vùi) trong tế bào chết, ngoài ra sinh khối tế bào tăng khoảng 2,3 lần sau khi tối ưu. Ưu điểm của protein ở dạng thể vùi thuận lợi cho quá trình tách chiết, tinh sạch khỏi các protein tạp của vật chủ. Kết quả nghiên cứu có thể ứng dụng ở quy mô lên men lớn hơn, nơi có thể kiểm soát tốt hơn các điều kiện lên men, thu được nhiều sinh khối tế bào, thuận lợi cho bước tinh sạch nhằm nghiên cứu tính chất của protein IL-3 trong các nghiên cứu tiếp theo.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài độc lập cấp nhà nước do Bộ Khoa học và Công nghệ quản lý “Nghiên

cứ sản xuất Interleukin-3 và Interleukin-11 tái tổ hợp chất lượng cao dùng trong y học (điều trị)” giai đoạn 2013 - 2015. Công trình sử dụng trang thiết bị của Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Gen tại Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrea P. R. G., 2009. Optimized bacterial expression and purification of the c-Src catalytic domain for solution NMR studies. *J. Biomol. NMR*, 44(2): 87-93.
2. Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J.A., Struhl K., 2003. *Current Protocols in Molecular Biology* (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.).
3. Baneyx F., 1999. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 10(5): 411-421.
4. Broedel S. E., Papciak S. M., and Jones W. R., 2001. The selection of optimum media formulations for improved expression of recombinant proteins in *E. coli*. *Athena Enzyme Systems. Technic. Bull.*, 2: 1-6.
5. Chou C. P., 2007. Engineering cell physiology to enhance recombinant protein production in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 76(3): 521-532.
6. Hermanrud C. E., Pathiraja V., Matar A., Duran-Struuck R., Crepeau R. L., Srinivasan S., Sachs D. H., Huang C. A., and Wang Z., 2012. Expression and purification of non-N-glycosylated porcine interleukin 3 in yeast *Pichia pastoris*. *Protein Expr. Purif.*, 82(1): 70-74.
7. Interleukin-3 human. IL-3, recombinant, expressed in *E. coli*, lyophilized powder, suitable for cell culture. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/i7389?lang=en®ion=VN>.
8. Interleukin-3 human. IL-3, recombinant, expressed in HEK 293 cells, HumanKine[®], suitable for cell culture. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/h7166?lang=en®ion=VN>

9. Kaushansky K., Shoemaker S. G., Broudy V. C., Lin N. L., Matous J. V., Alderman E. M., Aghajanian J. D., Szklut P. J., VanDyke R. E., Pearce M. K., 1992. Structure-function relationships of interleukin-3. An analysis based on the function and binding characteristics of a series of interspecies chimera of gibbon and murine interleukin-3. *J. Clin. Invest.*, 90(5): 1879-1888.
10. Lee S. J., Lee S. Y., 2002. Efficient high-level production of spider silk protein by fed-batch cultivation of recombinant *Escherichia coli* and its purification. *Theor. Appl. Chem. Eng.*, 8(2): 3969-3972.
11. Nguyễn Thị Quý, Dương Thu Hương, Lê Ngọc Giang, Lê Thị Thu Hồng, Đỗ Thị Huyền, Trương Nam Hải, 2013. Nghiên cứu tạo chủng *Escherichia coli* tái tổ hợp biểu hiện Interleukin-3 và Interleukin-11 người dưới dạng lai với PelB. *Tạp chí Sinh học*, 35(3se): 94-99.
12. Shin C. S., Hong M. S., Bae C. S., Lee J., 1997. Enhanced production of human mini proinsulin in fed-batch cultures at high cell density of *Escherichia coli* BL21(DE3)[pET-3aT2M2]. *Biotechnol. Prog.*, 13(3): 249-257.

OPTIMIZATION OF FERMENTATION CONDITIONS FOR THE EXPRESSION OF INTERLEUKIN-3 IN FUSION WITH *PelB* IN *E. coli*

Duong Thu Huong, Nguyen Thi Quy, Dang Thi Ngoc Ha, Le Thi Thu Hong, Truong Nam Hai

Institute of Biotechnology, VAST

SUMMARY

Interleukin-3 (IL-3) is a multifunctional cytokine which modulates the proliferation, differentiation and maturation of various types of hematopoietic cells. Gene coding for IL-3 linked with pelB signal were incorporated into pET22b(+) for expression of *il3* gene in *E. coli* BL21; but IL-3 was synthesized at very low levels and still in fusion with *PelB*. To facilitate purification process, finding the appropriate fermentation conditions plays a key role in order to enhance gene *il-3* expression and cleavage of *PelB*. In this study, we have optimized the conditions for the expression of IL-3, which included *E. coli* host strain JM109, LB cultivation medium, induction temperature was 25°C; induction with 0.05 mM IPTG at OD₆₀₀ = 1. The cell biomass increases at about 2.3 times after optimization. IL-3 protein was expressed in the form of inclusion body and the PelB signal was cleaved. This result is conducive for purification of large amount of IL-3 to determine characteristics of protein.

Keywords: *Escherichia coli* JM109, IL-3, PelB, protein expression.

Ngày nhận bài: 22-9-2015