IV-O-5.2

BIỂU HIỆN GEN LTB (ESCHERICHIA COLI HEAT-LABILE ENTEROTOXIN B SUBUNIT) TRONG CÂY RAU MÁ INVITRO

Nghiêm Văn Tùng, Nguyễn Bá Tư

Sở NN&PTNT tỉnh Bình Dương

Tóm tắt

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã biểu hiện thành công tiểu đơn vị B của độc tố đường ruột không bền nhiệt ở *E. coli* (LTB) trong cây rau má (*Centella asiatica* L.) chuyển gen. Gen mã hóa protein LTB biểu hiện tốt trong thực vật nhờ có sự dung hợp với trình tự SEKDEL và tạo dòng trong vector biểu hiện bên cạnh promoter CaMV 35S. Gen LTB sau đó được biến nạp vào cây rau má bằng kỹ thuật vi đạn (micro projectile). Kết quả khuếch đại PCR cho thấy gen LTB đã hiện diện trong DNA genome của lá rau má chuyển gen. Sự tổng hợp và lắp ráp của protein LTB thành cấu trúc pentamer (khối lượng phân tử khoảng 60 kDa) đã quan sát được trong dịch chiết cây chuyển gen nhờ kỹ thuật điện di SDS (SDS-PAGE) và phân tích Western blot. Lượng protein LTB được phát hiện trong lá rau má chuyển gen bằng kỹ thuật ELISA khoảng 0,54% protein tổng số. Phân tích GM1-ELISA cho thấy protein LTB đã liên kết với ganglioside-GM1, gợi ý rằng các tiểu đơn vị LTB đã tạo ra dạng pentamer có hoạt tính sinh học.

EXPRESSION OF ESCHERICHIA COLI HEAT-LABILE ENTEROTOXIN B SUBUNIT (LTB) IN PENNYWORT (CENTELLA ASIATICA L).

Abstract

In this paper, we have expressed successfully the B subunit of enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin (LTB) in trangenic pennywort plant (*Centella asiatica* L.). The LTB gene have expressed well in flora thanks to the fusion with sequence SEKDEL and the cloning in expression vector next to CaMV 35S promoter. The synthetic LTB (sLTB) gene was subsequently implanted into the pennywort (Centella asiatica) plant by the micro projectile method. The sesult from PCR amplification showed that LTB gene was presented in DNA genoma in the leaves of the trangenic pennywort plants. The synthesis and assembly of proteins into pentamer structures (molecular mass 60 kDa) was observed in extracts of transgenic plants by using a technique SDS (SDS-PAGE) and Western blot analysis. By using ELISA assay, we found the highest amount of LTB protein produced in trangenic pennywort leaf is 0,54% of the total soluble plant protein. GM1-ganlioside enzyme-linked immunosorbent assay indicated that plant synthesized LTB protein bound specifically to GM1-ganlioside, which is the receptor for biologically active LTB on the cell surface, suggesting that the plant-synthesized LTB subunits formed biologically active pentamers.

Email liên hệ: ***tunb@tdmu.edu.vn***