

Tạo dòng và biểu hiện Neutrophil-activating protein của *Helicobacter pylori* dung hợp với 6xHis trong *Escherichia coli*

Đoàn Thị Ngọc Thanh, Nguyễn Quang Hiếu, Đặng Tấn Thông

Tóm tắt—*Helicobacter pylori* (Hp) được xem là tác nhân gây ra viêm loét dạ dày, làm tăng nguy cơ dẫn đến ung thư dạ dày. Hiện chưa có vaccine hiệu quả cao để phòng bệnh do vi khuẩn Hp gây ra. Vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tạo dòng gene nạp từ *H. pylori* và biểu hiện vượt mức protein do gene này mã hóa trong vi khuẩn *E. coli*. Protein NAP (Neutrophil-activating protein) được chứng minh là một kháng nguyên quan trọng của Hp, có thể dùng trong sản xuất vaccine phòng bệnh. Kết quả đã tạo thành công dòng tế bào *E. coli* OmniMAX và *E. coli* BL21 (DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET11a-nap. Sự biểu hiện vượt mức của protein NAP mang đuôi dung hợp 6xHis trong *E. coli* được kiểm chứng bằng điện di SDS-PAGE và Western blot. Điều kiện nuôi cấy cảm ứng biểu hiện ở 37 °C; 0,5 mM IPTG cho kết quả biểu hiện cao nhất sau 6 giờ cảm ứng. Tỷ lệ protein mục tiêu được biểu hiện cao nhất là 29,73% tổng protein của tế bào. Đây là kết quả thành công bước đầu, tạo cơ sở cho việc thu nhận và tinh sạch protein Hp-NAP với số lượng lớn dùng trong sản xuất vaccine phòng và chẩn đoán bệnh viêm loét dạ dày do vi khuẩn này gây ra.

Từ khóa—*Helicobacter pylori*, Neutrophil-activating protein, protein tái tổ hợp.

1 GIỚI THIỆU

Mỗi năm, có hơn nửa triệu người chết do bệnh ung thư dạ dày. Tác nhân chính gây bệnh này là vi khuẩn *Helicobacter pylori* (Hp), một loại vi khuẩn sống trong dạ dày của hơn 50% dân số thế giới [1]. Trong số đó, khoảng 26% bệnh nhân đau dạ dày chuyển thành loét dạ dày và có thể tiến triển

tới ung thư dạ dày. Để điều trị nhiễm khuẩn Hp, các bác sĩ hiện nay sử dụng kết hợp các kháng sinh khác nhau. Tuy nhiên, các liệu pháp này có một số vấn đề, bao gồm sự xuất hiện chủng kháng kháng sinh, tác dụng phụ, nguy cơ tái nhiễm trùng và chi phí điều trị cao [2, 3]. Hiện nay, một số phương pháp mới điều trị nhiễm Hp như sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc từ thực vật, sử dụng probiotic, một số peptide và polysaccharide từ vi sinh vật [4]. Tuy nhiên tất cả các liệu pháp trên vẫn chưa hoàn toàn thành công trong việc loại trừ Hp và chưa bảo vệ vật chủ 100% [5].

Do đó, việc sản xuất vaccine phòng Hp là điều rất cần thiết. Khuyh hướng sản xuất vaccine phòng trị Hp theo Amin (2016) là tập trung vào việc tìm ra protein có tính kháng nguyên mới hiệu quả hơn và tá được thích hợp cho việc chế tạo vaccine [4]. Một vài kháng nguyên tiềm năng đã được báo cáo như urease, catalase, flagella, CagA, VacA... Tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có vaccine nào cho hiệu quả mong đợi [6].

NAP trong Hp là protein có kích thước 17 kDa, có tính bảo tồn cao giữa các chủng vi khuẩn, là một trong những kháng nguyên tiềm năng cho việc sản xuất vaccine. Protein NAP thu hút các bạch cầu trung tính tham gia vào phản ứng viêm dạ dày. Các phản ứng viêm và đặc tính điều hòa miễn dịch của Hp-NAP không chỉ làm cho nó đóng một vai trò quan trọng trong khả năng sinh bệnh mà còn là một ứng cử viên tiềm năng cho các ứng dụng lâm sàng như phát triển vaccine, chẩn đoán lâm sàng và phát triển thuốc [7]. Một nghiên cứu sử dụng Hp-NAP tái tổ hợp làm vaccine đường uống cho chuột thí nghiệm cho

thấy 80% số chuột được bảo vệ khỏi sự nhiễm khi công độc bằng vi khuẩn Hp [8]. Nếu chỉ sử dụng một loại kháng nguyên trong vaccine sẽ không thể bảo vệ vật chủ cao như mong đợi [6]. Do đó, việc kết hợp các kháng nguyên tiềm năng trong đó có Hp-NAP là điều cần nghiên cứu. Malfertheiner và cộng sự (2008) đã thực hiện nghiên cứu trên 57 tình nguyện viên không nhiễm Hp, họ được tiêm dưới da vaccine chứa 3 loại kháng nguyên trong đó có Hp-NAP tái tổ hợp, kết quả cho thấy 86% tình nguyện viên đáp ứng với cả 3 loại kháng nguyên [9]. Đây là kết quả bước đầu cho các nghiên cứu sâu hơn trong việc tối ưu hóa thành phần kháng nguyên và tá dược trong vaccine nhằm mang lại hiệu quả cao hơn [6].

Tóm lại, việc biểu hiện vượt mức protein Hp-NAP nhờ hệ thống biểu hiện *E. coli* là bước đầu cần được thực hiện trong quy trình nghiên cứu sản xuất vaccine cũng như sản xuất kháng thể dùng trong chẩn đoán nhanh Hp.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Chủng *E. coli* OmniMAX {F[proAB⁺lacIq lacZAM15 Tn10(TetR)TM Δ(ccdAB)] mcrA Δ(mrr-hsdRMS-mcrBC) F80lacZAM15 Δ(lacZYA-argF) U169 endA1recA1 supE44 thi1 gyrA96 relA1 tonA panD} được sử dụng làm tế bào chủ để nhân bản các plasmid.

Chủng *E. coli* BL21(DE3) [F-dcm ompT hsdSB (rB-mB-) gal met] dùng để biểu hiện protein mục tiêu NAP dưới sự cảm ứng của IPTG.

Plasmid pET11a, đoạn gene *nap* được tổng hợp tại công ty Macrogen, Hàn Quốc có mã truy cập tại NCBI là: KC616343.1

Tạo vector tái tổ hợp pET11a-nap

Gene *nap* sử dụng trong nghiên cứu được tổng hợp từ công ty Macrogen, Hàn Quốc, có nồng độ thấp và chưa gắn vị trí cắt giới hạn của hai enzyme *Bam*HI và *Nde*I. Do đó, cần sử dụng cặp mồi mang trình tự nhận biết của hai enzyme này trong phản ứng khuếch đại đoạn gene *nap* nhằm tạo dòng dễ dàng. Trình tự đoạn mồi:

NAP-F: 5'GGGGGGCATATGAAAACATTCGAAATTTTAA3'

NAP-R: 5' AAAGGATCCTTAAGCCAAATGGGCTTGCA 3'

Chu kỳ khuếch đại: biến tính 94 °C 5 phút, 30 chu kỳ (biến tính 94°C 1 phút, bắt cặp 55°C 45

giây, 72 °C 45 giây), 72 °C 10 phút. Sản phẩm theo lý thuyết có chiều dài là 435 bp. Song song đó, plasmid pET11a được tách chiết bằng bộ Kit GeneAll.

Plasmid pET11a và gene *nap* được xử lý với cùng enzyme cắt giới hạn *Bam*HI và *Nde*I, sản phẩm cắt được tinh chế bằng bộ Kit Expin (công ty GeneAll, Hàn quốc). Sản phẩm cắt được nối với nhau bằng enzyme *T4* DNA ligase theo tỷ lệ mol/L 1:3, ở 20 °C trong 1 giờ. Sản phẩm nối được biến nạp vào tế bào *E. coli* OmniMAX và trải trên môi trường LB-Amp. Sau khi ủ ở 37 °C 24 giờ, chọn 10 khuẩn lạc trên đĩa làm khuôn cho phản ứng PCR khuẩn lạc với cặp mồi như trên, đồng thời cấy vào 5 mL môi trường LB lỏng và đánh số tương ứng. Mẫu khuẩn lạc cho kết quả PCR phù hợp với kích thước gen *nap* được chọn và cấy chuyển để trữ cho thí nghiệm tiếp theo.

Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ IPTG đến sự biểu hiện protein NAP

Sau khi kiểm tra plasmid tái tổ hợp, pET11a-nap được biến nạp vào tế bào *E. coli* BL21 (DE3) và kiểm tra sự biểu hiện của protein mục tiêu. Phương pháp cảm ứng biểu hiện protein Hp-NAP được thực hiện như sau: nuôi *E. coli* BL21 (DE3) trong 5 ml môi trường LB (NaCl 10 g/L, Cao nấm men 5 g/L, Peptone 5 g/L) bổ sung Amp 50 µg/mL, lắc 250 vòng/phút qua đêm ở 37 °C. Chuyển một thể tích dịch nuôi cấy trên sang 50 mL môi trường LB-Amp mới sao cho OD_{600nm} khởi đầu là 0,1; lắc 250 vòng/phút ở 37°C. Khi OD_{600nm} khoảng 0,5; tiến hành cảm ứng với các nồng độ IPTG khảo sát (0 mM; 0,25 mM; 0,5 mM; 0,75 mM; 1 mM). Tại các thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ và 8 giờ sau cảm ứng, thu 1 mL dịch nuôi cấy và đun 100 °C trong 5 phút để thu protein tổng số. Điện di bằng SDS-PAGE để kiểm tra biểu hiện, sử dụng nồng độ gel 12%, hiệu điện thế 80 V. Sau 1 giờ điện di, tiến hành nhuộm gel bằng Coomassie Brilliant Blue R 250 (Merck, Đức) trong 30 phút và giải nhuộm bằng dung dịch giải nhuộm (40% methanol và 10% acetic acid) trong 30 phút, rửa lại bằng nước cất. Protein Hp-NAP tái tổ hợp hiện trên gel với kích thước lý thuyết là 27 kDa (do mang đuôi dung hợp 6xHis). Phương pháp

Western blot với kháng thể kháng polyHistine (hãng Invitrogen, Mỹ) được thực hiện song song để kiểm tra protein biểu hiện đúng là protein mục tiêu mang 6xHis. Phương pháp được tiến hành theo công bố trước đây [10]. Sau khi xác định sự hiện diện của protein mục tiêu trong chủng tái tổ hợp, tiến hành thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nồng độ IPTG và thời gian cảm ứng lên sự biểu hiện protein mục tiêu với 5 nồng độ IPTG khác nhau và 4 thời điểm sau cảm ứng, lặp lại thí nghiệm 3 lần. Tỷ lệ protein mục tiêu trong tổng số protein tế bào được xác định bằng phần mềm UN-SCAN-IT gel 7.1. So sánh tỷ lệ biểu hiện bằng kiểm định ANOVA trong phần mềm SPSS.

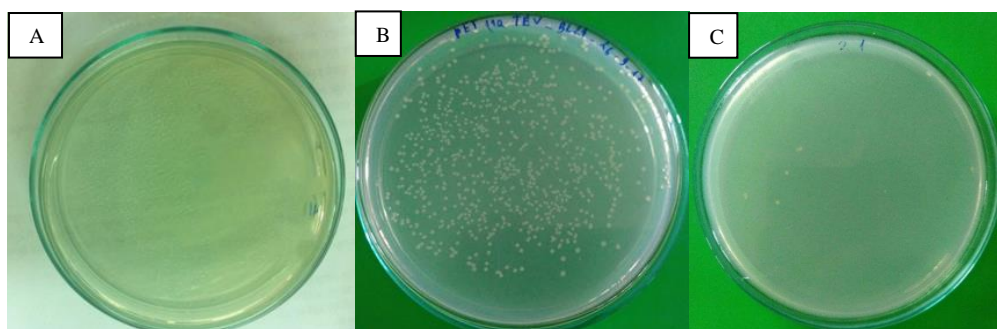
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tạo vector tái tổ hợp pET11a-*nap*

Plasmid pET11a và gene *nap* sau khi được thu nhận, xử lý và tinh chế sẽ được nối bằng enzyme *T4* DNA ligase để tạo ra vector tái tổ hợp pET11a-*nap*. Sản phẩm nối sau đó được biến nạp vào chủng

E. coli OmniMAX và sàng lọc bước đầu tiên trên môi trường LB-Agar-Amp, sử dụng đối chứng trong quá trình biến nạp là nước cất vô trùng. Kết quả biến nạp sản phẩm nối cho thấy, tế bào *E. coli* khả nạp không nhận được plasmid và không sống được trong môi trường LB có chứa kháng sinh Ampicillin (Hình 1 A). Đã đối chứng dương tế bào *E. coli* khả nạp nhận được plasmid pET11a nên sống được trong môi trường LB có chứa kháng sinh (Hình 1 B). Trong đĩa biến nạp sản phẩm nối có xuất hiện các khuẩn lạc mọc được trên môi trường có chứa kháng sinh (Hình 1 C). Điều này cho thấy quy trình biến nạp thành công và những khuẩn lạc *E. coli* mọc trên môi trường có khả năng chứa plasmid tái tổ hợp.

Các khuẩn lạc trên đĩa sau biến nạp được nuôi cấy và tách chiết plasmid. Kiểm tra sự hiện diện của gene *nap* bằng phản ứng PCR trên khuôn plasmid vừa thu nhận với cặp mồi NAP-F và NAP-R. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2%.



Hình 1. Kết quả biến nạp sản phẩm nối vào *E. coli* OmniMAX

Chú thích: (A) Chủng *E. coli* biến nạp với nước cất, (B) Chủng *E. coli* được biến nạp plasmid pET11a, (C) Chủng *E. coli* được biến nạp sản phẩm nối pET11a-*nap*



Hình 2. Sản phẩm PCR gene *nap* từ plasmid của *E. coli* OmniMAX sau biến nạp

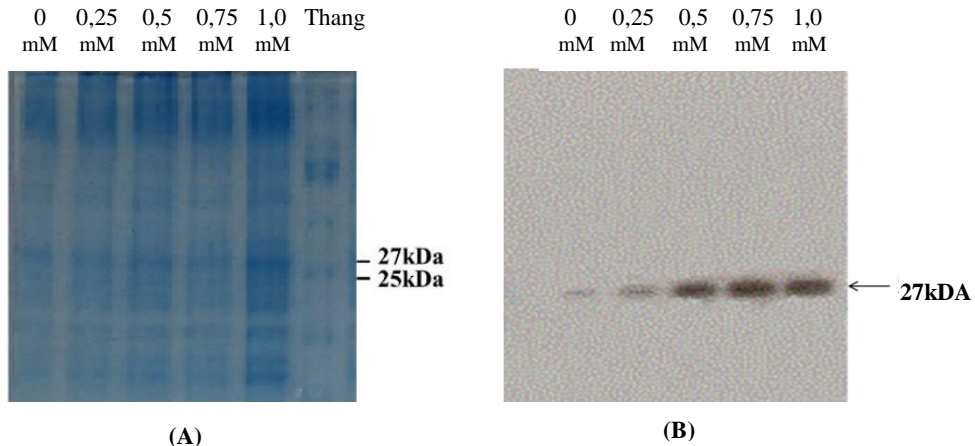
Chú thích: M, Thang DNA; (1) Đối chứng dương gene *nap*; (2) Đối chứng âm; (3)-(10): sản phẩm PCR từ plasmid của các khuẩn lạc sau biến nạp

Kết quả từ Hình 2 cho thấy, hai giếng (4) và (7) xuất hiện vạch sáng có kích thước khoảng

435 bp tương ứng với kích thước dự đoán lý thuyết. Điều này cho thấy đã tạo dòng thành công 2 chủng *E. coli* OmniMAX có mang vector tái tổ hợp pET11a-*nap*. Plasmid tái tổ hợp được biến nạp vào chủng *E. coli* BL21 (DE3), là chủng giúp biểu hiện protein ngoại lai tốt.

Kết quả khẳng định sự biểu hiện của Hp-NAP bằng SDS-PAGE và Western blot

Để khẳng định sự hiện diện của Hp-NAP được dung hợp với đuôi 6xHis, protein tổng của tế bào *E. coli* BL21 (DE3) sau 2 giờ cảm ứng được chạy điện di và kiểm tra bằng phương pháp Western blot. Kết quả được thể hiện ở Hình 3.



(A) (B)

Hình 3. Kết quả khẳng định sự biểu hiện của Hp-NAP

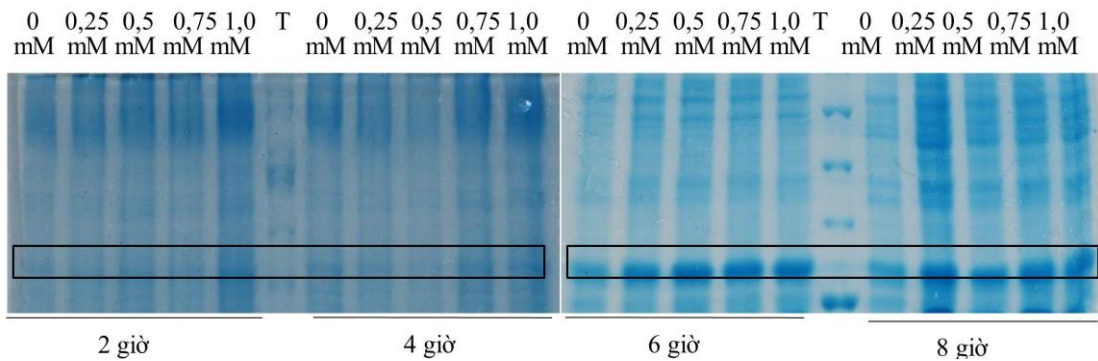
Chú thích: A. Protein tổng sau cảm ứng trên gel SDS-PAGE; B. Protein Hp-NAP mang 6xHis trên phim từ phương pháp Western blot

Ở nồng độ 0 mM IPTG, nghĩa là không sử dụng IPTG để cảm ứng, vẫn phát hiện protein mục tiêu. Điều này xảy ra do sự biểu hiện nền của *E. coli* và promoter T7 không kiểm soát sự biểu hiện chặt chẽ. Đây là khuyết điểm thường gặp của hệ thống biểu hiện này. Khi cảm ứng ở nồng độ IPTG từ 0,25 mM đến 0,75 mM, kết quả cho thấy sự biểu hiện của protein Hp-NAP tăng dần. Ở nồng độ IPTG 1 mM, lượng protein biểu hiện tương tự như ở nồng độ 0,75 mM. Kết quả được khẳng định bằng phương pháp Western Blot

(Hình 3B). Do đó cho thấy protein mục tiêu đã được biểu hiện thành công.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ IPTG đến sự biểu hiện protein NAP

Nồng độ IPTG khảo sát lần lượt là 0 mM, 0,25 mM, 0,5 mM, 0,75 mM và 1 mM với thời gian thu mẫu là 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ và 8 giờ sau cảm ứng. Tiến hành điện di SDS-PAGE các mẫu protein tổng sau khi thu và phá màng tế bào (Hình 4).



Hình 4. Kết quả điện di SDS-PAGE tại các thời điểm sau cảm ứng với nồng độ IPTG khảo sát

Trên bảng gel SDS-PAGE, xuất hiện vạch protein có kích thước 27 kDa, kích thước của Hp-NAP và đuôi dung hợp, vạch này ở các thời điểm 2, 4, 6, 8 giờ sau cảm ứng đậm hơn vị trí tương ứng ở thời điểm 0 giờ. Ở thời điểm 2 giờ và 4 giờ do thời gian cảm ứng ngắn nên protein chưa được biểu hiện nhiều nhưng vẫn đậm hơn các vạch còn

lại trong cùng một giếng, ở thời điểm 6 giờ và 8 giờ vạch đậm hơn nhiều so với thời điểm 2 giờ và 4 giờ. Khi phân tích tỷ lệ của protein mục tiêu được biểu hiện so với protein tổng của tế bào *E. coli* từ phần mềm UCAN-IT, kết quả được như ghi nhận trong Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ protein mục tiêu so với protein tổng của *E. coli* tái tổ hợp

Thời gian Nồng độ	2 giờ	4 giờ	6 giờ	8 giờ
0,00 mM	4,97±0,21 ^a	5,80±0,20 ^a	13,67±0,31 ^a	12,47±0,15 ^a
0,25 mM	5,67±0,15 ^b	6,03±0,15 ^{ab}	22,63±0,15 ^b	25,40±0,10 ^b
0,50 mM	6,13±0,15 ^c	6,20±0,10 ^b	29,73±0,15 ^c	27,53±0,15 ^c
0,75 mM	6,27±0,25 ^c	7,43±0,06 ^c	29,00±0,15 ^c	28,60±0,10 ^d
1,00 mM	8,13±0,15 ^d	8,60±0,10 ^d	29,30±0,20 ^c	28,90±0,10 ^e
F	**	**	**	**

Chú thích: Trong cùng một cột, các số có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê, **: khác biệt có ý nghĩa thống kê 1%

Kết quả phân tích tương quan hai nhân tố (nồng độ IPTG và thời gian) bằng phần mềm thống kê SPSS cho thấy chúng có tương quan nhau ($P < 0,01$). Trong đó, tỷ lệ protein khi cảm ứng ở 1 mM IPTG trong 6 giờ cho kết quả cao nhất và khác biệt có ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Tuy nhiên, khi so sánh nhân tố nồng độ IPTG ở thời điểm 6 giờ sau cảm ứng, cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ protein ở nồng độ 1 mM, 0,75 mM và 0,5 mM là không có ý nghĩa ($P > 0,05$). Do đó, để đảm bảo về mặt kinh tế, điều kiện cảm ứng có thể cho tỷ lệ protein tái tổ hợp Hp-NAP biểu hiện tốt nhất là 0,5 mM IPTG và thời gian cảm ứng là 6 giờ. Trong điều kiện này, có thể thu nhận được lượng protein mục tiêu chiếm 29,73% tổng số protein của tế bào. Tỷ lệ biểu hiện protein tái tổ hợp như trên được xem là cao so với hệ thống biểu hiện bằng plasmid pET11a thông thường nhưng thấp hơn so với nghiên cứu của Yu-Chi Yang. Năm 2015, tác giả trên đã biểu hiện Hp-NAP trong hệ thống biểu hiện *E. coli* với plasmid pET41a. Điều kiện biểu hiện tối ưu là 0,4 mM IPTG và thời gian biểu hiện đến 4 giờ sao cho OD_{600nm} đạt 1,7. Hàm lượng protein Hp-NAP sau tinh chế bằng cột sắc ký trao đổi anion cho thấy tỷ lệ protein biểu hiện chiếm 70% tổng số protein của tế bào [11]. Điều này cho thấy việc biểu hiện vượt mức protein NAP trong *E. coli* sẽ không gây độc cho tế bào.

4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tạo được plasmid tái tổ hợp pET11a mang gene *nap*; tạo dòng thành công tế bào *E. coli* OmniMAX và *E. coli* BL21 (DE3) mang plasmid tái tổ hợp pET11a-*nap*, sống ổn

định trong môi trường LB chứa kháng sinh Ampicillin; biểu hiện và chứng minh protein được biểu hiện là protein NAP của Hp thông qua chạy điện di SDS-PAGE và Western blot. Điều kiện nuôi cấy cảm ứng biểu hiện ở 37 °C, nồng độ IPTG 0,5 mM, thu nhận sau 6 giờ cảm ứng cho ra tỷ lệ protein biểu hiện cao nhất chiếm 29,73% trên tổng số protein của tế bào. Đây là kết quả bước đầu để biểu hiện và thu nhận protein tinh sạch hay nghiên cứu tính đáp ứng miễn dịch của protein tái tổ hợp trên chuột định hướng tạo vaccine và tạo Kit chẩn đoán bệnh.

Lời cảm ơn: Đề tài được thực hiện với sự tài trợ kinh phí từ Trường Đại học Tiền Giang. Nhóm tác giả cảm ơn TS. Lương Thị Mỹ Ngân đã cung cấp chủng vi khuẩn Hp trong quá trình kiểm tra sự hiện diện của gene *nap* trong vi khuẩn được phân lập tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.G. Khánh, N.V. Bằng, "Nhiễm *Helicobacter pylori* ở trẻ em lâm sàng và điều trị, Nhà xuất bản Y học Hà Nội, pp. 1–28, 2009.
- [2] L.Q. Nghĩa, Điều trị loét dạ dày - tá tràng do *Helicobacter pylori*, *Tạp chí Y học*, pp. 1–6, 2013.
- [3] N.K. Trách, "Đánh giá hiệu quả của một tuần điều trị kết hợp Nexium (Esomeprazole), Clarithromycine và Amoxicillin trong diệt trừ *Helicobacter pylori* và loét tá tràng", *Nội khoa*, no. 4, pp. 24–32, 2003.
- [4] A.T.B. Abadi, "Vaccine against *Helicobacter pylori*: Inevitable approach", *World Journal of Gastroenterology*, vol. 22, no. 11, pp. 3150–7, 2016.
- [5] G. Ayala, W.I. Escobedo-Hinojosa, C.F. de la Cruz-Herrera, I. Romero, "Exploring alternative treatments for *Helicobacter pylori* infection", *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 6, pp. 1450–69, 2014.

- [6] P. Sutton, J.M. Boag, “Status of vaccine research and development for *Helicobacter pylori*”, *Vaccine*, 2018, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.01.001>
- [7] H.W. Fu, “*Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein: From molecular pathogenesis to clinical applications”, *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 18, pp. 5294–301, 2014.
- [8] B. Satin, G. Del Giudice, V.D. Bianca, S. Dusi, C. Laudanna, F. Tonello, D. Kelleher, R. Rappuoli, C. Montecucco and F. Rossi, “The Neutrophil-Activating Protein (Hp-NAP) of *Helicobacter pylori* Is a Protective Antigen and a Major Virulence Factor”, *Journal of Experimental Medicine*, vol. 191, no. 9, pp. 1467–1476, 2000.
- [9] M. Schultze, R. Kaufmann, U. Novicki, N. Contorni, Peppoloni, B. Tornese, G. Palla, R. Scharschmidt, D. Giudice, “Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study”, *Gastroenterology*, vol. 135, no. 3, pp. 787–795, 2008.
- [10] N.T. Phước, Tạo dòng, biểu hiện và phân tích hoạt tính endoglucanase A (celA) dung hợp với cellulose binding module (cbm3a), *Luận văn thạc sĩ Vi sinh, Đại học Khoa học Tự nhiên*, 2014.
- [11] Y.C. Yang, T.Y. Kuo, Z.W. Hong, H.W. Chang, C.C. Chen, T.L. Tsai, H.W. Fu, “High yield purification of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein overexpressed in *Escherichia coli*”, *BMC Biotechnology*, pp. 1–7, 2015.

Cloning and expression of *Helicobacter pylori* Neutrophil-activating protein fused to the 6xHis tag in *Escherichia coli*

Doan Thi Ngoc Thanh*, Nguyen Quang Hieu, Dang Tan Thong

Tien Giang University

*Corresponding author: dtntanh@tgu.edu.vn

Received: 09-05-2018; Accepted: 15-11-2018; Published: 31-12-2018

Abstract—*Helicobacter pylori* (Hp) has been strongly implicated as a causative factor in peptic ulcer disease, and in significantly increasing the risk of developing gastric cancer. Commercial vaccines nowadays have shown less efficiency on preventing the disease caused by Hp. Therefore, this study was performed to clone nap gene from Hp and over-express the encoded protein (NAP) in *E. coli* cells. NAP (Neutrophil-activating protein) has been considered as a potential antigen of Hp, can be used to produce peptic ulcer prevention vaccine. The obtained results showed that *E. coli* OmniMAX and *E. coli* BL21 (DE3) strains

carrying recombinant plasmid pET11a-nap were cloned successfully and remained stable in medium supplemented with ampicillin. Over-expression of NAP protein fused with 6xHis in *E. coli* was demonstrated via SDS-PAGE and Western blot. The result revealed that the highest target protein production level (29.73%) was obtained in the medium added 0.5 mM IPTG at 37 °C after 6 hours of induction. This is the preliminary research for over-production and purification of Hp-NAP protein that may be used in further applications.

Keywords—*Helicobacter pylori*, Neutrophil-activating protein, recombinant protein