

BIỂU HIỆN GEN MÃ HÓA INTERLEUKIN-2 CỦA NGƯỜI TRONG TẾ BÀO *ESCHERICHIA COLI*

Trần Ngọc Tân¹, Vũ Minh Đức¹, Lê Thị Lan Anh², Bùi Khánh Chi¹, Trương Nam Hải¹

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo

TÓM TẮT

Interleukin-2 (IL-2) được biết tới như là kích thích tố cho dòng tế bào T. Nó có vai trò trung tâm trong hệ miễn dịch và là nhân tố tạo ra đáp ứng miễn dịch trung gian. Trong điều trị, việc sử dụng liều cao IL-2 đã được chứng minh là có hiệu quả cao trong các phương pháp điều trị bệnh ung thư ở người, đặc biệt trong điều trị ung thư thận và u hắc tố. Vì vậy, năm 1992, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã cho phép sử dụng thuốc IL-2 liều cao trong điều trị bệnh ung thư. Để có thể sản xuất được sản phẩm IL-2 tại Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành định hướng nghiên cứu mới tạo sản phẩm IL-2 từ tế bào *E. coli*. Định hướng này được dựa trên sản phẩm protein biểu hiện dưới dạng thể vùi và không dung hợp với bất kỳ protein nào khác. Sản phẩm IL-2 có thể thu nhận được bằng phương pháp tinh chế protein biến tính để giảm bớt các protein dạng tan khác cùng tồn tại trong sản phẩm biểu hiện của tế bào *E. coli*. Công trình này trình bày kết quả của việc biểu hiện gen *il-2mn*. Để có thể thiết lập một chiến lược hiệu quả cho tinh chế IL-2 tái tổ hợp, IL-2 được biểu hiện trong tế bào *E. coli* BL21 (DE3) dưới dạng đơn. Dựa vào trình tự DNA có sẵn trong vector pET32-Trx-IL2MN, gen *il-2mn* được nhân lên dễ dàng bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu và được tạo dòng trong vector pET22b(+). Sau khi biểu hiện trong môi trường LB, kết quả thí nghiệm đã chỉ ra điều kiện dễ tiết được sản phẩm IL-2 tái tổ hợp nên tiến hành tại nhiệt độ 37°C với nồng độ cuối cùng 1 mM của chất cảm ứng IPTG và thời điểm dễ cảm ứng tại mật độ tế bào cao (OD₆₀₀ từ 0,9 tới 1,2). Sản phẩm biểu hiện còn chứng minh rằng hầu hết lượng IL-2 biểu hiện được đều tồn tại dưới dạng không tan. Dạng sản phẩm này là hoàn toàn phù hợp với định hướng chiến lược tinh chế protein theo phương pháp biến tính sau này.

Từ khóa: Biểu hiện gen, *Escherichia coli* BL21, Interleukin-2, thể vùi, ung thư.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 1976, Morgan và đồng tác giả đã phát hiện ra Interleukin-2 trong quá trình nghiên cứu điều kiện sinh trưởng *in vitro* của dòng tế bào tủy xương người. Tuy nhiên, phải đến năm 1981, các đặc điểm về sự glycosyl hóa trong cấu trúc của IL-2 mới được phát hiện (Robb *et al.*, 1981). Sau đó, IL-2 được tách chiết (Smith *et al.*, 1983) và được tạo dòng gen mã hóa cho protein từ cDNA (Taniguchi *et al.*, 1983).

Hiện nay, IL-2 đã được tìm hiểu khá rõ về cấu trúc và chức năng đối với cơ thể người. Về cơ bản, IL-2 là cytokine đầu tiên tạo ra do quá trình đáp ứng miễn dịch với sự lan rộng, biệt hóa và sống sót của dòng tế bào T trình diện kháng nguyên. Nó cũng đóng vai trò quan trọng đối với các dòng tế bào khác như tế bào B, tế bào giết tự nhiên (NK) và các dòng tế bào T mang chức năng điều khiển khác để kích thích hệ miễn dịch của cơ thể (Stauber *et al.*, 2006). IL-2 đã được chứng minh là có hiệu quả cao trong việc điều trị bệnh, bao gồm ung thư phổi, ung thư

bạch cầu, ung thư buồng trứng... đặc biệt là ung thư thận và u hắc tố. Một vài mô hình nghiên cứu trên chuột đã cho thấy rằng, quá trình di căn ở gan, phổi, và da bị đẩy lùi sau khi xử lý với IL-2 (Vuký, Motzer, 2000). Ngoài ra, IL-2 không chỉ được sử dụng trong điều trị bệnh ung thư mà còn được sử dụng trong việc chữa trị cho người bị nhiễm virus HIV. Liệu pháp sử dụng IL-2 này giúp hỗ trợ cho hệ miễn dịch của bệnh nhân nhiễm HIV. Quá trình sử dụng IL-2 kéo dài giúp số lượng các dòng tế bào CD38+, CD8+ tăng lên. Do đó, tế bào CD4+ cũng tăng lên trong quá trình điều trị bệnh nhân với IL-2, đồng thời làm giảm sự chết của tế bào và kéo dài thời gian sống cho bệnh nhân (Vento *et al.*, 2006).

Năm 1992, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã cho phép sử dụng IL-2 tái tổ hợp trong việc chữa trị ung thư (Safar, Junghans, 2000). Kể từ đó đến nay, IL-2 đã được sản xuất dạng thương phẩm bởi nhiều công ty trên thế giới, ví dụ như IL-2 của công ty Chiron (Mỹ) có tên thương mại là Proleukin[®]IL-2. Tuy nhiên, với giá thành khá cao,

việc nhập khẩu để áp dụng sản phẩm IL-2 này vào điều trị gặp nhiều khó khăn, đặc biệt là với việc điều trị với liều lượng cao. Chính vì vậy, mục tiêu của công trình nghiên cứu này là biểu hiện sản phẩm IL-2 tái tổ hợp dưới dạng đơn để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tinh chế tạo sản phẩm IL-2 thương mại tại Việt Nam.

Cũng nhằm tạo sản phẩm IL-2 tái tổ hợp, trước đây chúng tôi tiến hành biểu hiện IL-2 trong tế bào *E. coli* dưới dạng dung hợp với thioredoxin (Đặng Trần Hoàng *et al.*, 2005). Tuy nhiên, hiệu suất thực tế để thu hồi được sản phẩm IL-2 dạng đơn là khá thấp, ảnh hưởng đến giá thành sản phẩm nếu được thương mại hóa. Do đó, để có thể tối ưu sản phẩm cuối cùng, công trình này tiến hành biểu hiện tạo IL-2 tái tổ hợp, không dung hợp với bất kỳ đoạn protein nào khác.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Chủng vi sinh vật

Trong nghiên cứu này, chủng *E. coli* BL21 (DE3) [*F-omp hsd SB (rBmB) gel dcm (DE3) plysS (CamI)*] (Novagen) được sử dụng làm tế bào biểu hiện.

DNA và hệ vector

Plasmid pET22b(+) được sử dụng làm vector biểu hiện gen trong tế bào *E. coli* BL21 (DE3) Plasmid pET32-Trx-IL2MN chứa trình tự DNA mã hóa cho gen *il-2mn* được sử dụng làm khuôn để nhân gen (Đặng Trần Hoàng *et al.*, 2005).

Thiết kế hệ vector biểu hiện mang gen *il-2mn* (pET22-IL2MN)

Từ vector pET32-Trx-IL2MN, gen *il-2mn* được nhân lên với số lượng lớn bằng kỹ thuật PCR. Trình tự DNA của cặp mồi trong kỹ thuật này do Amersham Pharmacia Biotech tổng hợp và được thể hiện chi tiết dưới đây. Kỹ thuật PCR cũng được tiến hành giống theo Đặng Trần Hoàng và đồng tác giả (2005).

Mồi xuôi:

5'ggtggtcatatggcacctacttcaagttct 3';

NdeI

Mồi ngược :

5'aggcggccgctcaagtagtggtgagatgatgctttgcgaaa3'.

NotI

Sản phẩm PCR được tinh sạch nhờ cột QIAquick (QIAGEN) và cắt bằng 2 enzyme hạn chế

NdeI và *NotI* (Fermentas). Ghép nối đoạn gen đã xử lý enzyme hạn chế trên với vector biểu hiện pET22b(+) bằng T4-ligase (Fermentas). Sản phẩm nối ghép được biến nạp vào tế bào *E. coli* BL21 để tiến hành chọn lọc dòng tế bào mang vector chứa gen mong muốn. Kiểm tra các dòng plasmid đã chọn lọc được bằng cặp enzyme hạn chế *NotI* và *PstI*. Sản phẩm cắt được kiểm tra trên gel 0,8% agarose để xác định kết quả nối ghép gen này.

Biểu hiện gen

Dòng tế bào biểu hiện *E. coli* BL21 mang vector có chứa gen *il-2mn* mong muốn được nuôi cấy trên môi trường LB lỏng để tiến hành kiểm tra khả năng biểu hiện protein tái tổ hợp. Sau khi nuôi cấy qua đêm, dòng tế bào này được cấy chuyển sang môi trường LB lỏng mới với tỷ lệ 1/100. Nuôi cấy tế bào biểu hiện ở nhiệt độ 37°C cho đến khi OD tại bước sóng 600 nm của môi trường nuôi cấy đạt giá trị từ 0,9 đến 1,2 thì cảm ứng. Chất cảm ứng với hệ biểu hiện này là IPTG với nồng độ cuối cùng là 1 mM. Nhiệt độ biểu hiện tối ưu để chúng tôi biểu hiện tiết protein tái tổ hợp là 30°C. Sản phẩm biểu hiện được kiểm tra trên gel 12,6% polyacrylamide.

Western blot

Sau khi điện di polyacrylamide để kiểm tra sản phẩm protein tái tổ hợp, protein này tiếp tục được kiểm tra khả năng gắn kết miễn dịch bằng phương pháp Western blot. Về cơ bản, kỹ thuật này giống như đã mô tả trước đây (Trần Ngọc Tân *et al.*, 20070). Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, kháng thể 1 được sử dụng là kháng thể kháng IL-2 của người và được sản xuất từ chuột. Độ pha loãng của kháng thể này là 10000 lần. Kháng thể thứ 2 là kháng thể kháng chuột đã được cộng hợp với alkaline phosphatase dùng để nhận biết. Độ pha loãng của kháng thể 2 cũng là 10000 lần. Cơ chất cho phản ứng hiện màu là BCIP (5-bromo-4chloro-3-indolyl phosphate) và NBT (nitro blue tetrazolium). Kết quả của kỹ thuật này được xác định trên thiết bị soi gel bằng ánh sáng thường.

KẾT QUẢ

Thiết kế hệ vector biểu hiện mang gen *il-2mn* (pET22-IL2MN)

Quá trình thiết kế được bắt đầu bằng việc nhân gen *il-2mn* bằng kỹ thuật PCR. Với cơ sở là vector mang gen *il-2mn* đã có sẵn, pET32-Trx-IL2MN, chúng tôi thiết kế trên cặp mồi đặc hiệu để tiến hành

nhân gen bằng kỹ thuật PCR. Hơn nữa, để tạo điều kiện chuyển gen trực tiếp vào vector biểu hiện từ sản phẩm PCR đồng thời xác định đúng chiều để nối gen, trên cặp môi xuôi ngược được thiết kế thêm với 2 điểm cắt của enzyme hạn chế *NdeI* và *NotI*. Kết quả nhân gen cho thấy đã nhân được đoạn DNA có kích thước khoảng phù hợp với chiều dài của gen *il-2mn*. Do đó, sản phẩm DNA này tiếp tục được tinh sạch để loại các thành phần không mong muốn trước khi cắt bằng cặp enzyme hạn chế *NdeI* và *NotI* cho phản ứng nối ghép gen.

Kết quả của quá trình nối ghép gen *il-2mn* vào vector pET22b(+) được xác định bằng cách biến nạp sản phẩm nối ghép gen vào tế bào *E. coli* BL21. Sau đó, tách chiết DNA plasmid để cắt và kiểm tra. Theo tính toán, khi cắt kiểm tra plasmid chứa gen *il-2mn* bằng hai enzyme hạn chế *PstI* và *NdeI* sẽ thu được đoạn DNA có kích thước khoảng 1,7 kb. Nếu vector không mang gen ngoại lai, khi cắt bằng hai enzyme trên sẽ thu được đoạn DNA chỉ có kích thước là 1,3 kb. Kết quả kiểm tra sản phẩm cắt đã khẳng định, gen *il-2mn* đã được nối ghép đúng trong vector pET22b(+) được đặt tên là pET22-IL2MN.

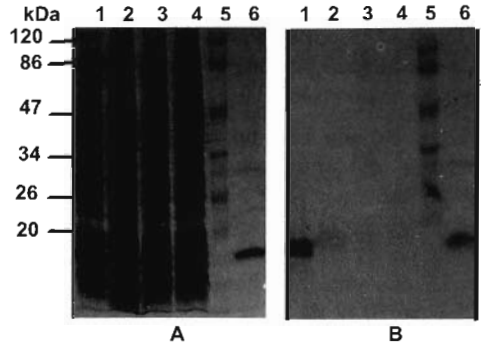
Biểu hiện gen *il-2mn* trong tế bào *E. coli* BL21

Sau khi thiết kế được vector biểu hiện gen pET22-IL2MN, các dòng tế bào mang vector này được tiếp tục biểu hiện trên môi trường LB. Quá trình biểu hiện như đã miêu tả ở phần phương pháp. Chọn ngẫu nhiên 4 dòng tế bào để biểu hiện thử. Sau đó, kiểm tra kết quả biểu hiện bằng điện di trên gel polyacrylamide và Western blot (Hình 1).

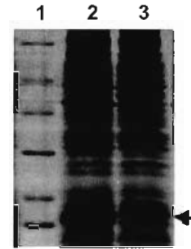
Với 4 dòng tế bào được chọn, dòng 1 (đường chạy 1) cho khả năng biểu hiện mạnh hơn cả. Thể hiện trên hình 1 là băng protein có kích thước mong muốn (khoảng 15 kDa), có độ đậm nét nhất cả trên điện di polyacrylamide (Hình 1A) và trên màng lai Western blot (Hình 1B). Dòng tế bào 2 và 3 cũng cho sản phẩm protein tái tổ hợp nhưng khả năng biểu hiện kém hơn. Với kết quả này, chúng tôi khẳng định đã biểu hiện thành công IL-2 tái tổ hợp dưới dạng đơn, đồng thời chọn dòng tế bào số 1 làm chủng gốc cho quá trình lên men, biểu hiện lượng lớn protein tái tổ hợp sau này.

Trong quá trình biểu hiện protein tái tổ hợp, một vấn đề quan trọng cần chú ý là tính tan của protein trong sản phẩm protein tổng số. Vì vậy, tính tan của sản phẩm biểu hiện IL-2 đã được kiểm tra trên hình 2. Kết quả cho thấy, băng protein đậm nét có kích thước khoảng 15 kDa ở đường chạy số 2 (protein

tổng số) lớn hơn ở đường chạy số 3 (protein dạng tan). Kết quả này đã cho phép khẳng định, hầu hết sản phẩm biểu hiện IL-2 tái tổ hợp tồn tại dưới dạng thể vùi, hay còn gọi là dạng không tan.



Hình 1. Kiểm tra sự biểu hiện gen *il-2mn*. A. Kết quả điện di trên gel 12,6% polyacrylamide. B. Kết quả Western blot. 1 - 4: Các dòng *E. coli* mang vector pET22-IL2MN; 5. Thang protein chuẩn; 6. IL-2 chuẩn.



Hình 2. Kiểm tra tính tan của sản phẩm biểu hiện IL-2 trên gel polyacrylamide 12,6%. 1. Thang protein chuẩn (Fermentas); 2. Protein tổng số; 3. Protein pha tan.

THẢO LUẬN

Trong công trình nghiên cứu này, trình tự gen *il2-mn* trong vector pET32-Trx-IL2MN là trình tự nucleotide đã tách dòng từ tế bào lách của người Việt Nam, được biến đổi so với gen gốc là *il-2* (Đặng Trần Hoàng *et al.*, 2005; Vũ Minh Đức *et al.*, 2005). Các biến đổi trong trình tự amino acid đều nhằm mục đích tối ưu cho sản phẩm IL-2 thương mại. Các vị trí biến đổi đó như sau: Ser²⁵ thành Leu²⁵, Cys¹²⁵ thành Ser¹²⁵, và Leu¹³⁰ thành Ser¹³⁰. Đặc biệt, vị trí biến đổi 125 có ý nghĩa quan trọng trong quá trình hình thành cấu trúc đúng của IL-2 mà vẫn giữ nguyên hoạt tính sinh học vốn có của protein tái tổ hợp này.

Vì IL-2 là protein có nguồn gốc từ người nên khi biểu hiện trong tế bào sinh vật nhân sơ là *E. coli*, khả năng biểu hiện thường không cao. Để khắc phục nhược điểm này, một số công trình nghiên cứu khác đã tiến hành biểu hiện dung hợp với một protein khác, ví dụ như dung hợp với thioredoxin (Đặng Trần Hoàng *et al.*, 2005), collagen (Hayashi *et al.*, 2005)... Sự dung hợp này đã giúp cho khả năng biểu hiện tạo sản phẩm protein lại.

Tuy nhiên, yêu cầu đặt ra với một sản phẩm protein tái tổ hợp sử dụng làm thuốc phẩm, đặc biệt là sử dụng làm thuốc tiêm trên cơ thể người, tính an toàn và công hiệu là điều kiện bắt buộc. Do vậy, để tạo ra sản phẩm IL-2 sử dụng làm thuốc tiêm, các protein lai đều phải tiến hành cắt bỏ phần protein dung hợp với IL-2 để có thể tạo ra sản phẩm IL-2 dạng đơn. Chiến lược này là hoàn toàn hợp lý nếu chỉ quan tâm đến sản phẩm IL-2 cuối cùng mà không quan tâm đến hiệu suất kinh tế để tạo ra IL-2 dạng đơn. Trong công trình nghiên cứu của Đặng Trần Hoàng và đồng tác giả (2005), mức độ biểu hiện vượt mức của protein lai là tốt. So sánh mức biểu hiện đó với mức biểu hiện này cho thấy mức độ biểu hiện là xấp xỉ nhau. Tuy nhiên, để tạo ra IL-2 dạng đơn, bắt buộc cần phải có quá trình tinh chế và cắt protein lai bằng enzyme có bản chất là protease (enterokinase). Đây là một enzyme đã được thương mại hóa nhưng có giá thành khá cao. Hơn nữa, thực tế thí nghiệm cũng cho thấy, khả năng cắt protein của enzyme này là thấp. Mặc dù sản phẩm cuối cùng vẫn cho ra sản phẩm IL-2 dạng đơn nhưng hiệu suất tạo ra sản phẩm này không cao.

Đối với quá trình biểu hiện IL-2 dạng đơn của công trình nghiên cứu này, chúng tôi đã đạt được kết quả khả quan. Để khắc phục nhược điểm gây độc với tế bào chủ *E. coli* của IL-2, protein này được tiến hành biểu hiện dưới dạng thể vùi. Dạng protein này là phù hợp với định hướng chiến lược tinh chế protein theo phương pháp biến tính sau này. Quá trình biểu hiện được tiến hành nhanh tại nhiệt độ sinh trưởng tối ưu của vi khuẩn *E. coli* (37°C). Hơn nữa, nồng độ chất cảm ứng IPTG (1 mM) và mật độ quang học của tế bào nuôi cấy khi tiến hành cảm ứng (0,9 - 1,2) đều cao hơn bình thường (0,6 - 0,8). Sự kết hợp các điều kiện biểu hiện đó là tốc độ biểu hiện tạo sản phẩm diễn ra nhanh và mạnh hơn. Do đó, sản phẩm protein tạo ra thường tồn tại ở dạng thể vùi. Sự biểu hiện như đã miêu tả trong phần kết quả đã cho thấy sự kết hợp các điều kiện trong biểu hiện là hợp lý. Sản phẩm protein thể vùi đúng với định hướng chiến lược tinh chế theo phương pháp biến tính (Weir, Sparks, 1987).

KẾT LUẬN

Như vậy, trong công trình này, để có thể biểu hiện gen *il-2mn* thành công dưới dạng đơn, sản phẩm IL-2 tái tổ hợp được kích thích biểu hiện ra dưới dạng thể vùi. Quá trình biểu hiện này được diễn ra nhờ sự kết hợp của các yếu tố khác nhau như nhiệt độ, nồng độ chất cảm ứng, và mật độ tế bào để cảm ứng.

Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện bằng sự tài trợ kinh phí của đề tài "Nghiên cứu đánh giá hiệu lực của Interleukin-2 tái tổ hợp sản xuất tại Việt Nam dùng trong hỗ trợ điều trị ung thư" mã số KC04.21/06-10, do PGS. TS. Trương Nam Hải làm chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đặng Trần Hoàng, Bùi Thị Huyền, Vũ Minh Đức, Đặng Thành Nam, Trần Thị Hương, Nguyễn Hồng Thanh, Phan Văn Chi, Trương Nam Hải (2005) Biểu hiện gen mã hóa Interleukin-2 của người (*rh-IL2MN*) trong *Escherichia coli* bằng hệ pET32 và nhận dạng protein tái tổ hợp bằng phương pháp khối phổ. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(4): 439-444.

Hayashi M, Tomita M, Yoshizato K (2002) Interleukin-2-collagen chimeric protein which liberates interleukin-2 upon collagenolysis. *Protein Eng* 15(5): 429-436.

Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R (1976) Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 193:1007-1008.

Robb RJ, Munck A, Smith KA (1981) T cell growth factor receptors. Quantitation, specificity, and biological relevance. *J Exp Med* 154:1455-1474.

Safar M, Junghans RP (2000) Interleukin 2 maintains biologic stability and sterility over prolonged time. *Immunopharmacology* 49: 419-423.

Smith KA, Favata MF, Oroszlan S (1983) Production and characterization of monoclonal antibodies to human interleukin 2: strategy and tactics. *J Immunol* 131: 1808-1815.

Stauber DJ, Debler EW, Horton PA, Smith KA, Wilson IA (2006) Crystal structure of the IL-2 signaling complex: Paradigm for a heterotrimeric cytokine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(8): 2788-2793.

Taniguchi T, Mtsui H, Fujita T, Takaoka C, Kashima N, Yoshimoto R, Hamuro J (1983) Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 302: 305-310.

Trần Ngọc Tân, Trần Mỹ Hạnh, Đỗ Thị Huyền, Trương

Nam Hải (2007) Biểu hiện gen mã hóa protein matrix 1 của virus cúm A/H5N1 trong tế bào *Escherichia coli*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 5(4): 425-430.

Vento S, Cainelli F, Temesgen Z (2006) Interleukin-2 therapy and CD4+ T cells in HIV-1 infection. *Lancet* 367: 93-95.

Vũ Minh Đức, Nguyễn Tiến Minh, Đặng Trần Hoàng, Trần Thị Hương, Nguyễn Hồng Thanh, Đinh Duy Kháng,

Trương Nam Hải (2005) Gây hồi biến thay thế serine 25 thành leucine và biểu hiện protein dung hợp thioredoxin-rhInterleukin-2 (Trx-rhIL2MN) trong *Pichia pastoris*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(4): 445-452.

Vuky J, Motzer RJ (2000). Cytokine therapy in renal cell cancer. *Urol Oncol* 5: 249-257.

Weir MP, Sparks J (1987) Purification and renaturation of recombinant human interleukin-2. *Biochem J* 245: 85-91.

EXPRESSION OF HUMAN IL-2 GENE IN *ESCHERICHIA COLI*

Tran Ngoc Tan¹, Vu Minh Duc¹, Le Thi Lan Anh², Bui Khanh Chi¹, Trương Nam Hải^{1,*}

¹*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Hanoi University of Agriculture, Vietnam Ministry of Education and Training*

SUMMARY

Interleukin-2 (IL-2) is historically known as a T-cell growth factor. It is a central regulator in the immune system and mediates its effects. Administration of high or intermediate doses of exogenous IL-2 has been used as an anti-tumor treatment in humans, especially for renal and melanoma. Therefore, in 1992, the high-dose of recombinant IL-2 was approved by the Food and Drug Administration (FDA) to use for cancer treatment. In order to develop recombinant IL-2 in Vietnam, we established a new strategy to express IL-2 protein from *E. coli*. In this strategy, IL-2 which was not fused with any other protein, was expressed as inclusion bodies. The recombinant protein was recovered efficiently by the method of denatured purification to separate recombinant IL-2 from other unexpected soluble proteins expressed in *E. coli* cells. In this report, the result of human *il-2mn* gene expression was shown. Based on the available pET32-Trx-IL2MN plasmid, the gene sequence was easy to amplify by PCR with specific primer pair and cloned into pET22b(+) vector in *E. coli* BL21 cell. After expression in LB medium, the experiment result showed that the optimal conditions to express recombinant IL-2 should be at 37°C with 1 mM final concentration of inducer isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside (IPTG) and the point to start induction at high cell density (OD₆₀₀ from 0.9 to 1.2). This result also demonstrated that most expressed recombinant IL-2 was in the form of inclusion bodies as the purifying strategy expected.

Keywords: Cancer, Expression, *Escherichia coli* BL21, Inclusion body, Interleukin-2

* Author for correspondence: Tel/Fax: 84-4-37562790; E-mail: tnhai@hn.vnn.vn