ได้ทำการผลิตโปรตีน cyclophilin (CyP) ในแบคทีเรีย เริ่มจากการสร้างสายดีเอ็นเอคู่สมด้วยวิธี reverse transcription (RT)-PCR และเพิ่มปริมาณด้วยวิธี RACE-PCR หลังจากนั้นโคลนชิ้นส่วนของจีน CyP เข้าสู่ เวกเตอร์ pET 43.1 b (+) ซึ่งเป็น expression vector แล้วนำเข้าสู่แบคทีเรีย *Escherichia coli* เพื่อผลิตโปรตีน โดยโปรตีนที่ผลิตได้จะมีชิ้นโพลีเปปไทด์ของโปรตีน NusA และ His tag ติดอยู่กับโปรตีน CyP ทางด้านปลาย N' และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 54 kDa โปรตีนที่สร้างขึ้นเมื่อรวมกับ CyP จะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 93 kDa เมื่อนำโปรตีนที่ได้จากเทคนิคดีเอ็นเอสายผสมนี้ไปใช้เป็นแอนติเจนในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วย โรคพยาธิตัวจี๊ด (gnathostomiasis) ด้วยวิธีอิมมูโนบลอท พบว่าปรากฏแถบโปรตีนที่น้ำหนักแอนติเจน 93 kDa ในขณะที่ไม่ปรากฏแถบโปรตีนดังกล่าวเมื่อทำปฏิกริยากับซีรั่มผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ปอด (paragonimiasis) ผู้ป่วยโรคพยาธิปอดหนู (angiostrongyliasis) และในคนปกติ

สรุปได้ว่าโปรตีน cyclophilin มีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนต่อภูมิคุ้มกันทางน้ำเหลืองของมนุษย์ที่สามารถจะพัฒนาเป็นชุดตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจี๊ดได้ต่อไป

ABSTRACT

226501

Gnathostoma spinigerum Cyclophilin gene (CyP) was the selected gene for cloning and expression. Full length cDNA of CyP was synthesized by using GeneRacer technique. CyP was subcloned into expression vector, pET 43.1b (+) and then transformed into Rosetta gami2 (DE3). Expression of recombinant protein was induced by 1 mM IPTG. The CyP gene fused with carrier protein, NusA, which facilitate the soluble expression, and His tag residues for making possible to purify by using Ni^{2+} chelate affinity column. The molecular weight of fusion protein is approximately of 93 kDa. Thereafter, the recombinant fusion protein was tested for the human antigenicity by western blotting. The results showed that the recombinant protein could react with sera from patients with proven gnathostomiasis but not with sera from proven paragonimiasis and angiostrongyliasis as well as with normal human sera. In conclusion, the recombinant cyclophilin protein is useful for the strategic planning of developing diagnostic kits for the immunodiagnosis of human gnathostomiasis.