

โรคอัลไซเมอร์ เป็นโรคที่เกิดจากการเสื่อมของเซลล์ประสาท ชนิดที่พบได้มากที่สุดในการบรรดาโรคสมองเสื่อม พยาธิสภาพที่สำคัญของโรคอัลไซเมอร์คือ มีการสะสมของอะไมลอยด์ เบต้า (amyloid beta; A β) การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเมื่อมีการ ซิด A β peptides ให้กับหนูที่เป็น model ของโรคอัลไซเมอร์จะเหนี่ยวนำให้หนูสร้างแอนติบอดีต่อ A β ขึ้น แต่เมื่อนำมาศึกษาในมนุษย์พบว่าผลข้างเคียงโดยมีการอักเสบเกิดขึ้น มีงานวิจัยหลายงานเกี่ยวกับอินเตอร์ลิวคิน-13 (interlukin-13; IL-13) พบว่าเป็นไซโตไคน์ที่ช่วยลดการอักเสบ และเหนี่ยวนำให้มีการผลิตแอนติบอดีได้ดีในระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะผลิตรีคอมบิแนนท์ A β IL-13 และ fusion protein โดยทำการสร้างรีคอมบิแนนท์ A β IL-13 และ fusion protein ใน pBAD vector และทำการ ผลิตโปรตีนใน *E. coli* นำโปรตีนที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Ni²⁺ NTA agarose resin และทดสอบโดยเทคนิค Western Blot จากนั้นทดสอบการแสดงออกของ proinflammatory cytokine และ cyclooxygenase ของรีคอมบิแนนท์โปรตีน A β IL-13 และ fusion protein ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง human neuroblastoma cells (SK-N-SH) โดยเปรียบเทียบกับ commercial protein จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสใน Genbank พบว่าเหมือนกัน 100 % สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างโปรตีน A β คือเหนี่ยวนำด้วยน้ำตาล arabinose 0.002 % ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ส่วนโปรตีน IL-13 และ fusion protein เหนี่ยวนำด้วยน้ำตาล arabinose 0.002 % ระยะเวลา 6 ชั่วโมง โปรตีน A β IL-13 และ fusion protein หลังจากทำให้บริสุทธิ์และทดสอบโดยเทคนิค Western Blot พบว่ามีขนาดของโปรตีน 22 kDa 32 kDa และ 36 kDa ตามลำดับ เมื่อทดสอบการแสดงออกของจีนพบว่าการแสดงออกของ recombinant protein ที่ผลิตได้และ commercial โปรตีนมีการแสดงออกของจีน proinflammatory cytokine และ cyclooxygenase ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจากการทดลองที่ได้ recombinant protein ที่ได้มีคุณสมบัติเบื้องต้นเหมือนกับ commercial โปรตีนซึ่งสามารถนำไปใช้ในการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไปและมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับโรคอัลไซเมอร์ต่อไปในอนาคตรวมทั้ง IL-13 มีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ในงานที่เกี่ยวข้องกับการลดการอักเสบของเซลล์

Alzheimer's disease (AD) is a progressive age related neurodegenerative disorder that is the most common form of dementia. The one of pathological hallmarks of the AD are deposits of aggregated beta-amyloid (A β) peptides. Active immunization with A β peptides can induce anti-A β antibody production in mouse model of AD. However, it is remarkable that inflammatory was observed in clinical trials, in which human were immunized with A β . There are many studies report about interleukin 13 (IL-13) which is cytokine related to reduce inflammation and stimulates antibody production in B-cells. Therefore, the purpose of this study is to evaluate expression of A β , IL-13 and IL-13/A β fusion recombinant proteins in *Escherichia coli*. A β and IL-13 genes have been cloned and their protein are produced in *E.coli* by the pBAD directional TOPO expression system. Ni²⁺ affinity chromatography was useful tool for purifying these recombinant proteins and analyzed by western blot. Effect of A β , IL-13 and IL-13/A β fusion recombinant proteins on proinflammatory cytokines and cyclooxygenase mRNA expression were tested in neuroblastoma cells (SK-N-SH) by Reverse transcription Polymerase chain reaction (RT-PCR), compare to A β and IL-13 commercial proteins. These results show that A β and IL-13 sequences are 100 % nucleotide sequence homology when compared with GenBank database. The optimal conditions to A β expression were 0.002 % (w/v) and 4 hours, while IL-13 and IL-13/A β fusion expression were 0.002 % (w/v) and 6 hours. The A β , IL-13 and IL-13/A β recombinant protein show corrected single band at approximate 22 kDa, 32 kDa and 36 kDa respectively. Proinflammatory cytokines and cyclooxygenase mRNA expression were not significant difference between A β and IL-13 recombinant proteins compare to A β and IL-13 commercial proteins. Thus, the A β and IL-13 recombinant proteins could lead to the more understanding of AD in the future. IL-13 recombinant protein may be further development of synthetic cytokine to reduce inflammation.