

Nghiên cứu khoa học

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT KHÁNG NGUYÊN E2 TÁI TỔ HỢP TỪ CHŨNG VIRUS DỊCH TẢ LỢN CỔ ĐIỂN THỰC ĐỊA, VN91 BẰNG HỆ THỐNG BIỂU HIỆN TRÊN TẾ BÀO CÔN TRÙNG

Lý Đức Việt¹, Nguyễn Thế Vinh¹, Nguyễn Thúy Duyên¹, Trương Anh Đức¹, Vũ Thị Hào¹, Nguyễn Thị Chinh¹, Chu Thị Như¹, Hoàng Văn Tuấn¹, Xengphavone Khomany², Kohtaroh Miyazawa³, Takehiro Kokuho³, Trần Thị Thanh Hà¹, Đặng Vũ Hoàng¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành tái tổ hợp protein E2 của virus dịch tả lợn cổ điển bằng hệ thống biểu hiện baculovirus trên tế bào côn trùng. Chủng virus VN91 phân lập tại Việt Nam được sử dụng làm khuôn mẫu để tái tổ hợp protein E2. Trình tự toàn bộ gen chủng virus VN91 đã được chúng tôi công bố năm 2018 (GenBank: LC374604). Kết quả nghiên cứu cho thấy protein E2 tái tổ hợp của virus dịch tả lợn có hoạt tính sinh học tự nhiên, được nhận diện bởi kháng thể kháng virus dịch tả lợn. Đồng thời, kết quả thu được cũng cho thấy kháng nguyên E2 tái tổ hợp là ứng cử viên tiềm năng để phát triển vaccin thể hệ mới phòng bệnh dịch tả lợn tại Việt Nam.

Từ khóa: Dịch tả lợn cổ điển, protein tái tổ hợp E2, giải trình tự gen, baculovirus.

Study on production of E2 recombinant antigen from field strain of Classical swine fever, VN91 by using insect cell expression system

Ly Duc Viet, Nguyen The Vinh, Nguyen Thuy Duyen, Truong Anh Duc, Vu Thi Hao, Nguyen Thi Chinh, Chu Thi Nhu, Hoang Van Tuan, Xengphavone Khomany, Kohtaroh Miyazawa, Takehiro Kokuho, Tran Thi Thanh Ha, Dang Vu Hoang

SUMMARY

In this study, we used baculovirus expression system to produce recombinant E2 protein in the insect cells. VN91 strain isolated in Viet Nam was used as “template” for amplification of the gene encoding E2 protein. The genome sequence of the VN91 strain has been published in GenBank (LC374604) in 2018. The studied results showed that the recombinant E2 protein possessed natural biological properties and was recognized by specific antibodies against classical swine fever virus. Additionally, the data obtained from this study suggested that recombinant E2 protein produced by baculovirus expression system is a potential candidate for development of new generation of vaccine against CSF in Viet Nam.

Keywords: Classical swine fever, recombinant E2, genome sequence, baculovirus.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, việc nghiên cứu

phát triển vaccin thể hệ mới phòng bệnh cho vật nuôi tại Việt Nam được đặc biệt quan tâm, trong đó phải kể đến phát triển vaccin sử dụng công nghệ protein tái tổ hợp. Hiện nay trên thế giới,

¹. Viện Thú y

². Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³. Viện Thú y Nhật Bản

các nhà nghiên cứu đang sử dụng 4 hệ thống biểu hiện protein khác nhau để phát triển các loại vaccin phòng bệnh cho vật nuôi, bao gồm hệ thống biểu hiện trên vi khuẩn *E.coli*, hệ thống biểu hiện nấm men, hệ thống biểu hiện thực vật (tái tổ hợp trong cây thuốc lá) và hệ thống biểu hiện trên tế bào côn trùng. Mỗi một hệ thống biểu hiện protein tái tổ hợp đều có những ưu điểm và nhược điểm riêng của nó. Tuy nhiên, việc lựa chọn hệ thống biểu hiện phù hợp với mỗi loại protein có ý nghĩa đặc biệt quan trọng, quyết định sự thành công của các sản phẩm protein tái tổ hợp được tạo ra.

Hệ thống biểu hiện protein sử dụng baculovirus (baculovirus expression system) đã được các nhà khoa học nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều năm qua, được sử dụng rộng rãi trong việc biểu hiện các protein đích sử dụng làm vaccin và chế phẩm sinh học dùng để chẩn đoán trong nhân y và thú y. Hệ thống này được dùng để tái tổ hợp của một hoặc nhiều loại protein khác nhau với số lượng rất lớn (Martijan và cs, 2007). Với một nguồn bacmid sẵn có, thêm vào đó là kỹ thuật tái tổ hợp baculovirus tương đối đơn giản và được thực hiện trên vi khuẩn *E.coli* đã thể hiện tính tối ưu của hệ thống này so với những hệ thống khác (Lin và cs, 2014). Khả năng biến nạp vào tế bào động vật khác nhau của baculovirus cũng đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu (Gould, 2004). Ngoài ra, khả năng sửa chữa sau dịch mã (post-translation modification) chính xác cũng được xem như một đặc tính quan trọng và ưu việt của hệ thống này. Trong những năm gần đây, hệ thống baculovirus được sử dụng nhiều như công cụ hữu dụng để sản xuất vaccin (Yu-Chen và cs, 2008). Hệ thống này cũng được sử dụng như một véc tơ biểu hiện để chế tạo vaccin chống lại virus SARS CoV (Bai và cs, 2008). Sự biểu hiện thành công glycoprotein E1 của virus gây bệnh dịch tả lợn cổ điển (Classical Swine Fever) bằng hệ thống biểu hiện baculovirus cũng đã được Hulst và cộng sự công bố trước đó (Hulst và cs, 1993). Ngoài ra, rất nhiều loại vaccin tiểu phần dùng cho thú y cũng được sản xuất trên tế bào côn trùng hiện đang được bán rộng rãi

trên thị trường như Porcine Pesti, Bayovac CSF E2 (Van Oers và cs, 2007). Chúng tôi đã thành công trong việc ứng dụng hệ thống baculovirus để tái tổ hợp protein của một số virus gây bệnh trên lợn như ORF2 của virus PCV2 (Đặng Vũ Hoàng và cs, 2016), GP5 của virus PRRS (Trần Thị Thanh Hà và cs, 2016). Các kết quả nghiên cứu được công bố trên tạp chí chuyên ngành thú y cho thấy: Kháng nguyên tái tổ hợp sản xuất bằng hệ thống biểu hiện baculovirus vẫn giữ được những đặc tính kháng nguyên trong tự nhiên mang hoạt tính sinh học và khả năng tạo đáp ứng miễn dịch cao cho vật chủ.

Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn, chúng tôi tiến hành “*Nghiên cứu tạo kháng nguyên E2 tái tổ hợp từ chủng virus dịch tả lợn cổ điển phân lập từ thực địa, VN91 bằng hệ thống biểu hiện trên tế bào côn trùng*”. Đây được xem là nguyên liệu quan trọng dùng làm sinh phẩm chẩn đoán và nghiên cứu phát triển vaccin thế hệ mới phòng bệnh dịch tả lợn tại Việt Nam.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Ứng dụng hệ thống biểu hiện baculovirus nhằm tái tổ hợp E2 của virus dịch tả lợn chủng VN91 phân lập tại thực địa.

- Đánh giá hoạt tính sinh học của protein tái tổ hợp E2 của virus dịch tả lợn bằng phương pháp IPMA và phương pháp lai miễn dịch Western Blot.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp tái tổ hợp protein sử dụng hệ thống biểu hiện baculovirus (Bac-to-Bac Expression System) của hãng Invitrogen, Mỹ theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Đánh giá hoạt tính sinh học của protein tái tổ hợp bằng phương pháp IPMA trên tế bào côn trùng TN5 theo quy trình đã được công bố của Đặng Vũ Hoàng và cộng sự (2016), Trần Thị Thanh Hà và cộng sự (2017) và phương pháp lai Western Blot.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

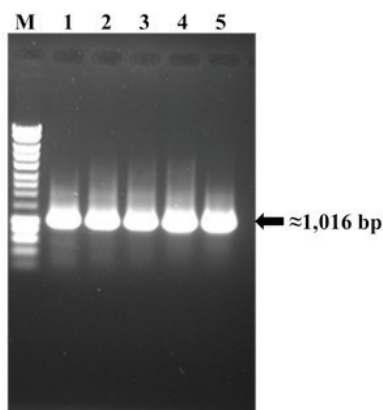
3.1. Thiết kế cặp mồi đặc hiệu và khuếch đại gen E2 của virus dịch tả lợn bằng phương pháp RT-PCR

Để thiết kế cặp mồi đặc hiệu gen E2 của virus dịch tả lợn, 30 trình tự gen E2 đã công bố trên ngân hàng dữ liệu NCBI được dùng để so sánh tìm ra trình tự đặc trưng. Phần mềm Lasergene DNA Star v.8 được sử dụng để tính toán các thông số của mồi, cho phép xác định được trình tự mồi phù hợp với các yêu cầu đặt ra.

CSFV-E2-F: CGGATCCATGCGGCTAGCC TGCAAGGAAGATTACA-3'

CSFV-E2-R: CAATCTGAGTGGCGGTCAGT-CACGTC-3'

Khuôn mẫu dùng cho PCR khuếch đại đoạn gen E2 là mRNA tách từ chủng virus dịch tả lợn VN91 phân lập từ thực địa. Trình tự toàn bộ gen của chủng gốc đã được chúng tôi công bố trước đây (Trần Thị Thanh Hà và cs, 2018). Kết quả PCR khuếch đại gen E2 của virus dịch tả lợn chủng VN91 được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Phổ điện di sản phẩm phản ứng RT-PCR

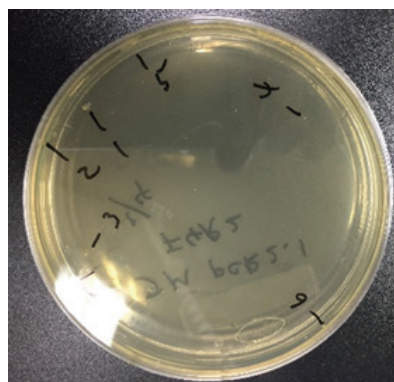
M, thang DNA chuẩn; giếng 1-4: sản phẩm RT-PCR từ khuôn mRNA mẫu chủng VN91

Kết quả ở hình 1 cho thấy xuất hiện một băng DNA khoảng 1000 bp trên cả năm đường chạy. Kích thước này là phù hợp với kích thước dự kiến của gen E2 virus dịch tả lợn cổ điển theo thiết kế khi được khuếch đại với cặp mồi

đặc hiệu. Sản phẩm PCR của gen E2 thu được sẽ được sử dụng làm nguyên liệu để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

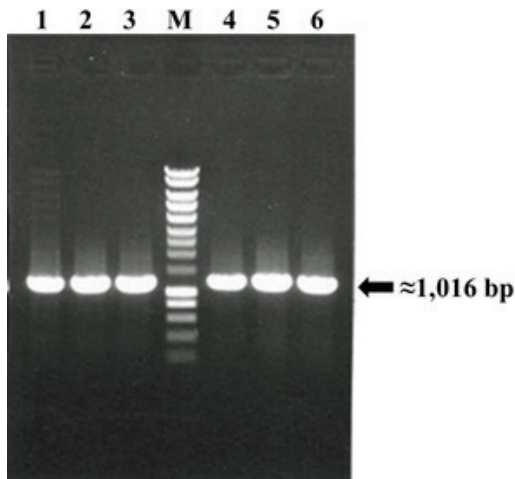
3.2. Tạo dòng gen E2 của virus dịch tả lợn trong véc tơ tách dòng pFastBac1/NT-TOPO

Hiện nay, véc tơ pFastBac/NT-Topo là véc tơ tách dòng phổ biến và hiệu quả để tạo cấu trúc tái tổ hợp, sau đó được biến nạp vào vi khuẩn *E.coli* DH10Bac tạo Bacmid tái tổ hợp. Sản phẩm sau đó được biến nạp vào chủng vi khuẩn *E.coli* MJ109 (Invitrogen) khả biến bằng phương pháp sốc nhiệt và được sàng lọc bước đầu trên môi trường đặc hiệu TY có bổ sung kháng sinh ampicillin nồng độ 50µg/ml. Trong nghiên cứu này, 6 khuẩn lạc ngẫu nhiên đã được lựa chọn để kiểm tra khả năng mang tổ hợp véc tơ pFastBac_E2 tái tổ hợp (hình 2).



Hình 2. Sáu khuẩn lạc ngẫu nhiên đã được lựa chọn để kiểm tra khả năng mang véc tơ pFastBac_E2 tái tổ hợp

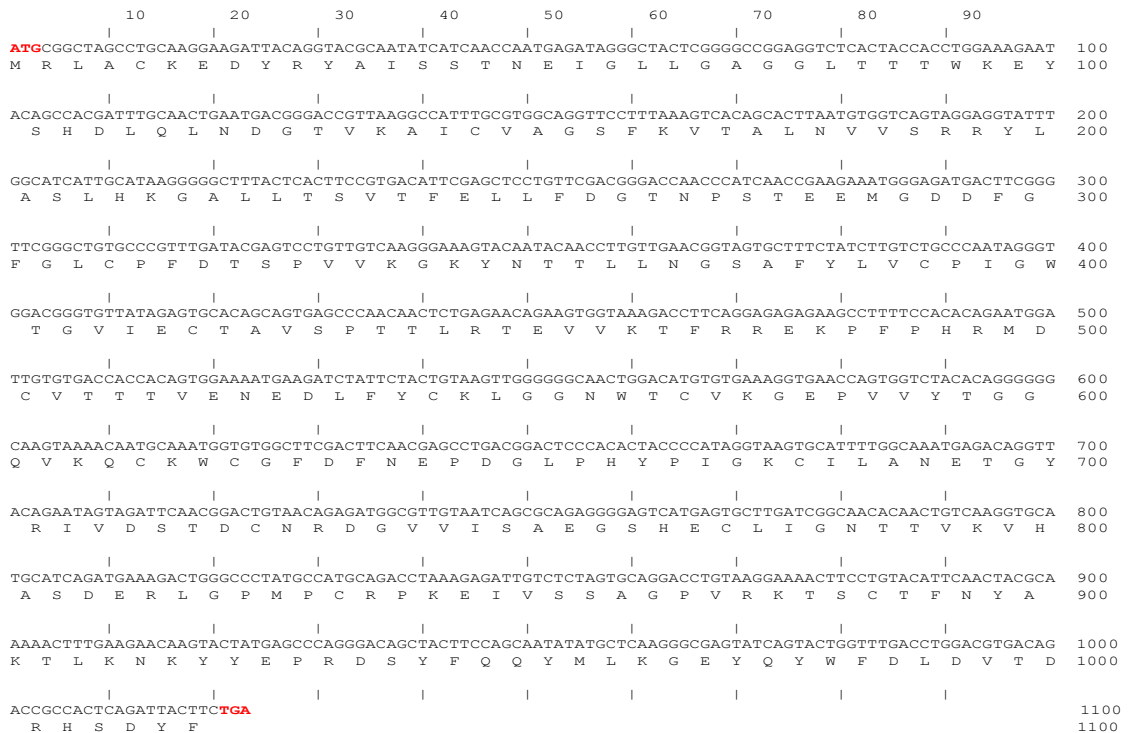
Để kiểm tra xem các plasmid thu được có mang gen E2 và đoạn gen có được gắn đúng chiều hay không, chúng tôi tiến hành phản ứng PCR sử dụng plasmid thu được làm khuôn với mồi xuôi bắt cặp đặc hiệu với véc tơ và mồi ngược đặc hiệu gen E2. Kết quả thu được trình bày ở hình 3. Kết quả cho thấy trong các khuẩn lạc được chọn lựa ngẫu nhiên đều xuất hiện băng DNA với kích thước mong đợi của gen E2 là khoảng 1.000 bp. Từ các kết quả thu được, chúng tôi kết luận các plasmid này đều mang gen E2 tái tổ hợp và được gắn vào véc tơ đúng chiều.



Hình 3. Phổ điện di sản phẩm PCR sử dụng mỗi đặc hiệu gen E2 trên khuôn plasmid từ các khuẩn lạc lựa chọn
M: thang DNA chuẩn; các giếng 1-6, sản phẩm PCR từ 6 khuôn plasmid tương ứng với 6 dòng lựa chọn

Để khẳng định sản phẩm đã tách dòng là đoạn gen mã hóa cho gen E2 của virus dịch tả lợn, các dòng 2, 4 và 6 được tiến hành xác định trình tự nucleotide trên máy đọc trình tự tự động ABI PRISM®3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) và sử dụng cặp primer đặc hiệu pFastBac Forward/Reverse theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Trình tự gen và khung đọc của đoạn gen E2 của virus dịch tả lợn đã được tách dòng được thể hiện trên hình 4. Kết quả cho thấy đoạn gen thu được có khung đọc mở từ mã đầu (mã ATG) và mã cuối (TGA) nằm ở véc tơ pFastBac/NT Topo. Kết quả này rất quan trọng, khẳng định được rằng gen E2 của virus dịch tả lợn đã được đưa vào véc tơ pFastBac/NT Topo thành công và xác định được khung đọc mở nối giữa véc tơ và gen đích.

Trình tự đoạn gen E2 của virus dịch tả lợn được sử dụng để so sánh với trình tự gen E2 của virus dịch tả lợn cổ điển công bố trên ngân



Hình 4. Trình tự gen và khung đọc gen E2 của virus dịch tả lợn chủng VN91 được tách dòng

hàng dữ liệu NCBI bằng phần mềm BLAST. Kết quả so sánh trình tự gen với các chủng tham chiếu được trình bày ở hình 5. Kết quả ở hình 5 cho thấy đoạn gen E2 của virus dịch

tả lợn được tách dòng trong nghiên cứu này có độ tương đồng 100% so với gen E2 của chủng virus dịch tả lợn VN91 được sử dụng làm khuôn mẫu.

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
✓	Classical swine fever virus VN91 genomic RNA, complete genome	1879	1879	99%	0.0	100.00%	LC374604.1
✓	Classical swine fever virus strain SM_1125 envelope glycoprotein E2 gene, partial cds	1873	1873	99%	0.0	99.90%	DQ907720.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-GZ-2009 E2 protein gene, partial cds	1868	1868	99%	0.0	99.80%	HQ380239.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-DH-2008 E2 protein gene, partial cds	1868	1868	99%	0.0	99.80%	HQ380235.1
✓	Classical swine fever virus strain JL1051, complete genome	1868	1868	99%	0.0	99.80%	EU497410.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-SS-2010 E2 protein gene, partial cds	1862	1862	99%	0.0	99.71%	HQ380242.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-PY-2009 E2 protein gene, partial cds	1862	1862	99%	0.0	99.71%	HQ380241.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-XT-2010 E2 protein gene, partial cds	1862	1862	99%	0.0	99.71%	HQ380233.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-DB-2009 E2 protein gene, partial cds	1862	1862	99%	0.0	99.71%	HQ380232.1
✓	Classical swine fever virus strain CSFV-GZ-2009, complete genome	1862	1862	99%	0.0	99.71%	HQ380231.1
✓	Hog cholera virus glycoprotein (gp55) mRNA, partial cds	1862	1862	99%	0.0	99.71%	U72047.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-FS-2009 E2 protein gene, partial cds	1857	1857	99%	0.0	99.61%	HQ380238.1
✓	Hog cholera virus strain Shimen, complete genome	1857	1857	99%	0.0	99.61%	AF092448.2
✓	Classical swine fever virus strain SWH, complete genome	1851	1851	99%	0.0	99.51%	DQ127910.1
✓	Classical swine fever virus strain CF114, complete genome	1851	1851	99%	0.0	99.51%	AF333000.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-DaB-2008 E2 protein gene, partial cds	1845	1845	99%	0.0	99.41%	HQ380237.1
✓	Classical swine fever virus isolate CSFV-PR-2008 E2 protein gene, partial cds	1845	1845	99%	0.0	99.41%	HQ380236.1

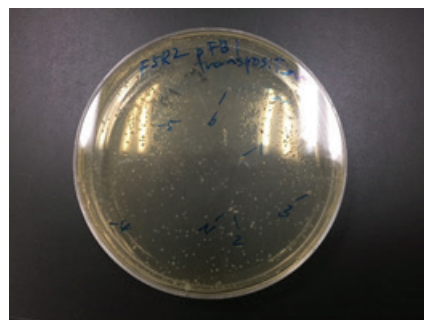
Hình 5. Kết quả so sánh trình tự gen và nhận diện loài sử dụng công cụ Blast giữa trình tự gen E2 virus dịch tả lợn và ngân hàng NCBI

3.3. Tạo baculovirus tái tổ hợp sử dụng tế bào côn trùng

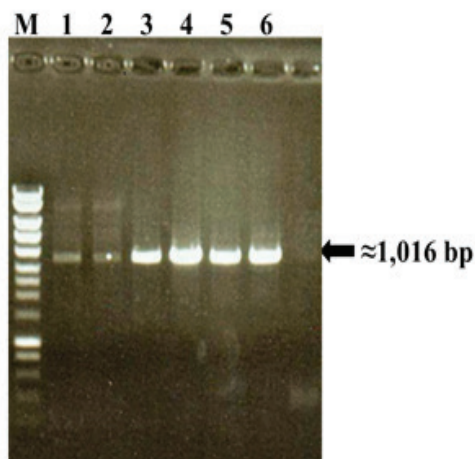
Véc tơ pFastBac/NT Topo được biến nạp vào chủng vi khuẩn *E.coli* DH10Bac bằng phương pháp sốc nhiệt. Trong vi khuẩn *E.coli* DH10Bac có chứa Bacmid và một plasmid trợ giúp. Khi véc tơ pFastBac_E2 được đưa vào *E.coli* DH10Bac, sẽ xảy ra hiện tượng bắt cặp và trao đổi chéo giữa pFastBac_E2 và Bacmid tại hai vị trí Tn7L và Tn7R để tạo thành thể Bacmid tái tổ hợp. Kết quả biến nạp cho thấy xuất hiện nhiều khuẩn lạc trắng trên môi trường chọn lọc. Các khuẩn lạc này có thể là các dòng chứa Bacmid tái tổ hợp. Chúng tôi tiến hành lựa chọn 6 khuẩn lạc để tiếp tục thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

Để kiểm tra, chúng tôi đã tiến hành nuôi cấy 6 khuẩn lạc này trong môi trường lỏng có bổ sung kháng sinh như trên môi trường thạch đĩa và tách Bacmid. Bacmid thu được được sử dụng làm khuôn để thực hiện phản ứng PCR với cặp

mồi đặc hiệu gen E2. Kết quả được thể hiện trên hình 7. Kết quả cho thấy cả 6 dòng lựa chọn đều xuất hiện băng DNA với kích thước mong đợi của gen E2. Từ các kết quả thu được, chúng tôi kết luận rằng đã tạo được 6 dòng mang Bacmid tái tổ hợp



Hình 6. Hình ảnh khuẩn lạc trên môi trường chọn lọc chứa kháng sinh và chất chỉ thị Bluo-gal và các khuẩn lạc này có thể là các dòng chứa Bacmid tái tổ hợp

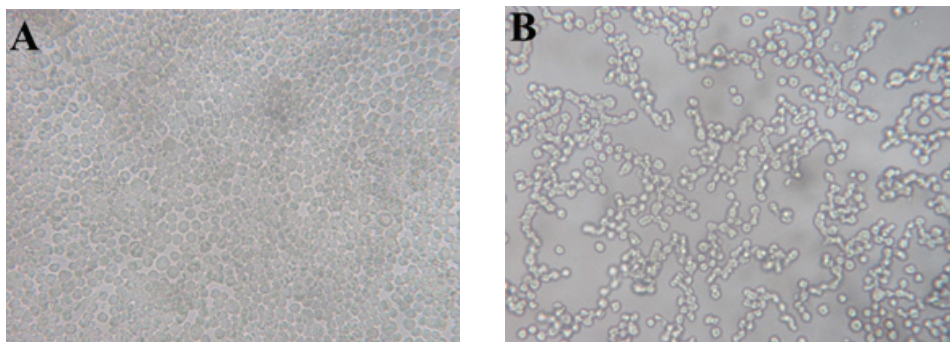


Hình 7. Phổ điện di sản phẩm PCR
M, thang DNA chuẩn; 1-6, sản phẩm PCR sử dụng Bacmid từ 6 dòng khuẩn lạc trắng

3.4. Kiểm tra khả năng biểu hiện của protein tái tổ hợp bằng phương pháp Immuno Peroxidase Monolayer Assay (IPMA) trên tế bào côn trùng và Western Blot

Để tạo baculovirus tái tổ hợp, dòng bacmid tái tổ hợp được sử dụng để chuyển nạp vào tế bào côn trùng SF21AE theo quy trình đã được công bố trước đây (Đặng Vũ Hoàng và cs, 2016; Trần Thị Thanh Hà và cs, 2017). Kết quả được thể hiện trên hình 8.

Kết quả ở hình 8 cho thấy xuất hiện các bệnh tích tế bào (CPE) sau 72 giờ nuôi cấy đối với các mẫu được gây nhiễm bởi Bacmid tái tổ hợp. Mẫu đối chứng không gây nhiễm với Bacmid tái tổ hợp phát triển bình thường và hoàn toàn không thấy xuất hiện CPE. Kết quả này cho thấy



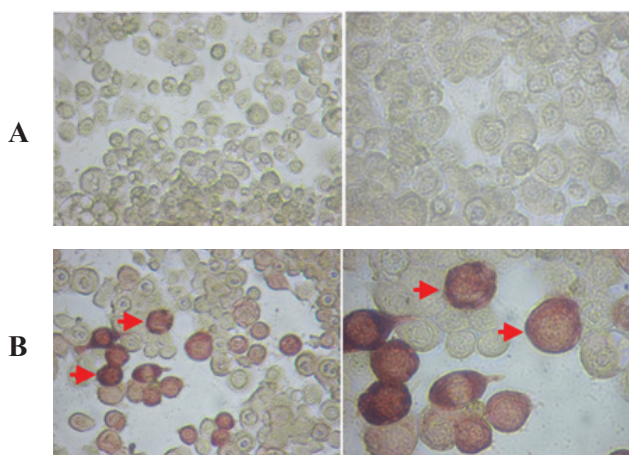
Hình 8. Hình ảnh tế bào côn trùng SF21AE không gây nhiễm (A) và sau gây nhiễm bởi Bacmid (B) và nuôi ở 27°C trong 72 giờ

đã tái tổ hợp thành công baculovirus mang gen E2 của virus dịch tả lợn vào tế bào côn trùng.

Để đánh giá, kiểm tra hoạt tính sinh học của protein E2 tái tổ hợp, chúng tôi tiến hành đánh giá bằng phương pháp IPMA sử dụng tế bào côn trùng dòng Hight FIVE (TN5) nhằm phát hiện sự có mặt của baculovirus mang protein E2 tái tổ hợp. Phương pháp IPMA sử dụng tế bào côn trùng được thiết lập như mô tả trong những nghiên cứu trước đây của chúng tôi (Đặng Vũ Hoàng và cs, 2016). Ưu điểm của dòng tế bào này là khả năng biểu hiện protein cao gấp nhiều lần các dòng tế bào khác như SF21AE hay SF9. Mặt khác, tế bào TN5 nuôi cấy không cần bổ sung huyết thanh, do

vậy sử dụng để đánh giá hoạt tính sinh học là rất phù hợp. Kết quả IPMA trình bày trong hình 9.

Từ hình 9 cho thấy, giếng sử dụng huyết thanh lợn sạch âm tính với virus dịch tả lợn khi nhuộm tế bào không bị bắt màu, ngược lại ở giếng sử dụng huyết thanh gây tối miễn dịch với virus dịch tả lợn thì các tế bào bắt màu nâu đỏ khi nhuộm. Từ đó có thể thấy protein E2 của virus dịch tả lợn tái tổ hợp phản ứng mạnh và được nhận diện bởi kháng thể tự nhiên kháng virus dịch tả lợn trong huyết thanh lợn, có thể khẳng định được rằng protein E2 của virus dịch tả lợn tái tổ hợp bằng hệ thống baculovirus mang hoạt tính sinh học tự nhiên.

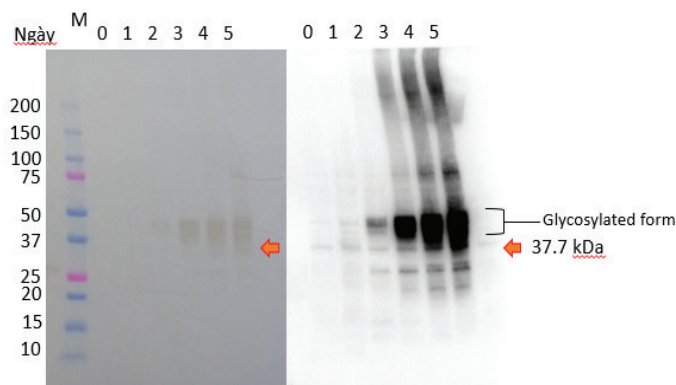


Hình 9. Kết quả IPMA sử dụng tế bào côn trùng Hight FIVE nhiễm baculovirus tái tổ hợp mang gen E2 virus dịch tả lợn

(A) Huyết thanh chuẩn âm: huyết thanh lợn sạch SPF (specific pathogen free pigs) âm tính với virus dịch tả lợn; (B) Huyết thanh chuẩn dương: huyết thanh lợn gây tối miễn dịch với virus dịch tả lợn

Trong quá trình biểu hiện và tinh khiết protein tái tổ hợp, một điểm thiết yếu cần xác định là protein biểu hiện có phải chính xác là protein mong muốn hay không. Để khẳng định điều đó, chúng tôi sử dụng kỹ thuật lai miễn dịch Western blot với kháng thể đặc hiệu kháng virus dịch tả lợn do Viện Thú y Nhật Bản cung cấp. Tế bào côn trùng được nuôi cấy cho đến khi tạo bệnh tích tế bào. Để khẳng định sự hiện diện của protein E2 tái tổ hợp, chúng tôi thu mẫu tế bào từ khi bắt đầu có bệnh tích cho tới khi 5 ngày và kiểm tra bằng

phương pháp lai miễn dịch Western Blot. Kết quả lai miễn dịch Western Blot thể hiện qua hình 10 cho thấy, ở đường chạy protein số 2, 3, 4 và 5 xuất hiện một băng màu đậm, rõ nét, có kích thước khoảng 37kDa và đậm nhất là giếng thứ 5, tương đương với sau 5 ngày gây nhiễm, là kích thước protein E2 của virus dịch tả lợn dung hợp với His-tag đúng như tính toán lý thuyết. Vậy một lần nữa khẳng định protein E2 tái tổ hợp biểu hiện bằng hệ thống baculovirus hoàn toàn mang đặc tính sinh học tự nhiên.



Hình 10. Kiểm tra biểu hiện gen E2 trong baculovirus tái tổ hợp bằng phương pháp Western Blot sử dụng kháng thể đơn dòng kháng virus dịch tả lợn do Viện Thú y Nhật Bản cung cấp; M: thang chuẩn (đơn vị kDa)

IV. KẾT LUẬN

Tái tổ hợp thành công protein E2 của virus dịch tả lợn bằng hệ thống biểu hiện baculovirus. Protein E2 tái tổ hợp mang hoạt tính sinh học tự nhiên (được nhận diện bởi kháng thể kháng virus dịch tả lợn).

Lời cảm ơn: Bài báo là sản phẩm khoa học thuộc Đề tài cấp Nhà nước: “Nghiên cứu sản xuất vaccin vô hoạt chứa tiểu phần E2 trên hệ thống baculovirus phòng bệnh Dịch tả lợn” trong Chương trình Công nghệ Sinh học Nông nghiệp và Thủy sản do TS. Trần Thị Thanh Hà, Viện Thú y làm chủ trì.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Thanh Hà, Nguyễn Thị Bích Thủy, Đặng Vũ Hoàng, Lý Đức Việt, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Lương, Đặng Thị Kiều Anh, Nguyễn Thúy Duyên, Nguyễn Thế Vinh và Takehiro KOKUHO. Đánh giá ảnh hưởng tiềm năng của Interferon alpha trong đáp ứng miễn dịch của lợn được tiêm kháng nguyên GP5 tái tổ hợp của virus tai xanh. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y* XXIV số 1 - 2017
2. Đặng Vũ Hoàng, Trương Quốc Phong, Trần Thị Thanh Hà, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Lương, Đặng Thị Kiều Anh, Nguyễn Thúy Duyên, Nguyễn Thế Vinh và Takehiro KOKUHO. Ứng dụng hệ thống biểu hiện baculovirus nhằm sản xuất protein ORF2 tái tổ hợp của virus PCV2. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y* XXIII số 2 năm 2016, trang 14-21.
3. Martijan AL, German RA, Klass M, Van GW (2007). Production of sumoylated proteins using a baculovirus expression system. *J. Virol. Methods*, 139: 189-194
4. Gould AR, 2004. Virus evolution: disease emergence and spread. *Aust. J. experim. Agric.*, 44: 1085-1094
5. Yu-Chen H, Kun Y, Tzong-Yuan W, 2008. Baculovirus as an expression and/or delivery vehicle for vaccine antigens. *Expert Review of Vaccines* 7: 363-371
6. Bai B, Lu X, Meng J, Hu Q, Mao P, Lu B, Chen Z, Yuan Z, Wang H (2008). Vaccination of mice with recombinant baculovirus expressing spike or nucleocapsid protein of SARS-like coronavirus generates humoral and cellular immune responses. *Mol Immunol.* 45: 868-75
7. Hulst MM, Westra DF, Wensvoort G, Moormann RJ. Glycoprotein E1 of hog cholera virus expressed in insect cells protects swine from hog cholera. *Virol.* 67:5435-5442, 1993
8. Van Oers MM, Vlak JM. baculovirus Genomics. *Current Drug Targets-Infectious Disorders* 8: 1051-1068, 2007
9. Lin S.Y, Chung Y.C, Hu Y.C (2014). Update on baculovirus as an expression and/or delivery vehicle for Vaccine antigens. *Expert. Rev. Vaccines*, 13, 1501-1521.
10. Tran HT, Dang HV, Nguyen DT, Miyazawa K, Kokuho T (2018). Complete Genome Sequencing of a Classical Swine Fever Virus Strain Endemic in Vietnam. *Genome Announc.* 2018 May 3;6(18).

Ngày nhận 24-5-2019

Ngày phản biện 28-7-2019

Ngày đăng 1-11-2019