

KẾT QUẢ TẠO VECTOR BIỂU HIỆN PET-21A (+) MANG ĐOẠN GEN MÃ HÓA EPITOPE KHÁNG NGUYÊN CYFRA21-1

Lê Đình Chấn¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nguồn gốc và sự phát triển của tế bào ung thư phổi (UTP) dạng không phải tế bào nhỏ, người ta nhận thấy ung thư có liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện hàm lượng các kháng nguyên đặc trưng CYFRA21-1 trong máu, nước mô, huyết thanh. Do vậy việc tìm và xác định trình tự được gen mã hóa kháng nguyên CYFRA21-1 là cần thiết, làm cơ sở cho việc biểu hiện, thu protein CYFRA21-1 tái tổ hợp để phục vụ cho việc tạo KIT chẩn đoán sớm ung thư phổi dạng không phải tế bào nhỏ nhằm đem lại nguồn sống cho bệnh nhân.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thành công trong việc nhân bản, xác định trình tự nucleotide, trình tự amino acid đoạn epitope của gen mã hóa kháng nguyên CYFRA21-1 với sự tương đồng là 100% với trình tự amino acid trên Ngân hàng dữ liệu quốc tế mang mã số K1C19- HUMAN-P08727 và đã thiết kế thành công vector biểu hiện pET-21a(+) mang đoạn gen mã hóa epitope của kháng nguyên CYFRA21-1 làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo.

Từ khóa: CYFRA21-1, ung thư phổi (UTP), kháng nguyên CYFRA21-1.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thực tế, trong y học đã có rất nhiều phương pháp được sử dụng để chẩn đoán UTP (sinh thiết phổi, nội soi phổi, thử đờm, chọc nước màng phổi, chụp quang tuyến cắt lớp...) và một số phương pháp điều trị UTP (hoá trị liệu, phẫu thuật, xạ trị ...) [4]. Tuy nhiên, khi phát hiện UTP thì thường đã muộn hoặc quá muộn, vì một số căn bệnh khác (viêm phế quản, viêm phổi, lao, ...) cũng có những triệu chứng tương tự UTP.

Nghiên cứu tế bào ung thư cũng như nguồn gốc và sự phát triển của tế bào ung thư, người ta nhận thấy ung thư có liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện hàm lượng các kháng nguyên đặc trưng ung thư trong máu, nước mô, huyết thanh [1], [5], [6]. Điều này đã mở ra hướng nghiên cứu mới trong chẩn đoán và điều trị ung thư trên thế giới và trong nước.

Hiện nay, nhiều chỉ thị kháng nguyên ung thư được biết đến và có thể sử dụng để phát hiện ung thư như: CEA, NES, CA125, CYFRA21-1, HER-2/neu ... [10], [12]. Trong đó, kháng nguyên CYFRA21-1 là một chỉ thị điển hình cho bệnh UTP dạng không

¹ Giảng viên khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Hồng Đức

phải tế bào nhỏ (non small cell lung carcinoma - NSCLC) do sự tăng hàm lượng CYFRA21-1 nhanh chóng trong dịch cơ thể khi tế bào biểu mô phổi tăng sinh bất thường [2], [3], [7], [8], [11]. Vì vậy, nếu phát hiện sớm được sự tăng hàm lượng CYFRA21-1 trong máu sẽ góp phần chẩn đoán sớm được UTP. Do đó, kháng nguyên CYFRA21-1 có thể được sử dụng như là một chỉ thị đặc hiệu để chẩn đoán sớm, từ đó định hướng điều trị hiệu quả UTP dạng NSCLC.

Do vậy, việc nghiên cứu tạo kháng nguyên tái tổ hợp CYFRA21-1 trong UTP là một trong những hướng nghiên cứu mới nhằm xây dựng bộ KIT chẩn đoán, theo dõi và định hướng điều trị kịp thời bệnh UTP dạng NSCLC, góp phần vào những thành tựu đáng kể trong y học và sinh học.

Từ những lý do trên, trong bài viết này, chúng tôi trình bày kết quả của việc tạo vector biểu hiện pET-21a(+)/CYFRA21-1 làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo.

2. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

Gen mã hóa kháng nguyên CYFRA21-1 (Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào Động vật, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) cung cấp.

Vector biểu hiện pET-21a(+) (hãng Novagen). Cặp mồi T7F/R để xác định gen ngoại lai gắn vào vector, trình tự như sau:

T7F: 5'-TTAATACGACTCACTATAGG-3'

T7R: 5'-CCGCTGAGCAATAACTAG-3'

Dòng tế bào *E. coli* BL21 (DE3) do Trung tâm Công nghệ Protein của Vương Quốc Anh (MRC-Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK) cung cấp. Cặp mồi LabF/R dùng để nhân bản, khuếch đại thư viện thực khuẩn sau mỗi vòng sàng lọc, trình tự cụ thể như sau:

LabF: 5'-CAGGAACAGCTATGAC- 3'

LabR: 5'-GAATTTTCTGTATGAGG- 3'

Các enzym: *Taq DNA polymease*, *Nde* I, *Eco*R I, *Xho* I, *ligase* ... Các sinh phẩm này do hãng BioLabs cung cấp.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Phương pháp nhân bản gen bằng PCR

Bảng 3.1. Thành phần phản ứng PCR

Thành phần phản ứng	Nồng độ	Thể tích(μl)
Dung dịch đệm	10X	2,5

Mồi xuôi	10 pmol/ μ l	1
Mồi ngược	10 pmol/ μ l	1
DNA khuôn	10-100 ng/ μ l	1
Taq-polymerase	5 unit/ μ l	0,5
dNTPs	10nM	2,5
MgCl ₂	25mM	2,5
BSA 1X	1mg/ml	4
Bổ sung H ₂ O		10

Chạy máy PCR với chu trình nhiệt sau: Biến tính DNA ở 94°C - 2 phút, thực hiện 30 chu kỳ phản ứng với chu trình nhiệt: 94°C - 45 giây, T_m 55°C - 45 giây, 72°C - 1 phút; kéo dài ở 72°C - 8 phút, để hoàn tất phản ứng; sau đó mẫu được giữ ở 4°C.

3.2. Phương pháp điện di

Trong điện trường theo chiều từ cực âm đến cực dương, các DNA có kích thước lớn hoặc mạch thẳng sẽ chuyển động chậm hơn các DNA dạng siêu xoắn hoặc kích thước bé. Trong một phạm vi nhất định của nồng độ gel agarose, kích thước phân tử tỉ lệ nghịch với quãng đường dịch chuyển của DNA trên gel agarose. DNA trên gel agarose được phát hiện bằng cách nhuộm với Ethidium Bromide (EtBr) và quan sát dưới tia UV.

3.3. Phương pháp xác định trình tự nucleotide

Đây là phương pháp sử dụng dideoxynucleotide (ddNTP) có đánh dấu huỳnh quang để làm ngừng các mạch đơn DNA đang được tổng hợp một cách ngẫu nhiên. Enzym *DNA - polymerase* xúc tác gắn các nucleotide vào mạch đơn DNA đang tổng hợp ở vị trí 3' - OH, khi gặp ddNTP (không có nhóm 3' - OH) thì phản ứng tổng hợp bị ngừng lại.

Kết quả phản ứng tổng hợp nên các đoạn DNA dài, ngắn khác nhau 1 nucleotide, có thể phân tách nhờ điện di trên gel agarose, phát hiện các ddNTP đã đánh dấu nhờ tia laser.

3.4. Phương pháp gắn sản phẩm PCR vào vector pET-21a(+)/CYFRA21-1

Nhằm tạo được vector biểu hiện pET-21a(+)/CYFRA21-1 để thu nhận protein CYFRA21-1 phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

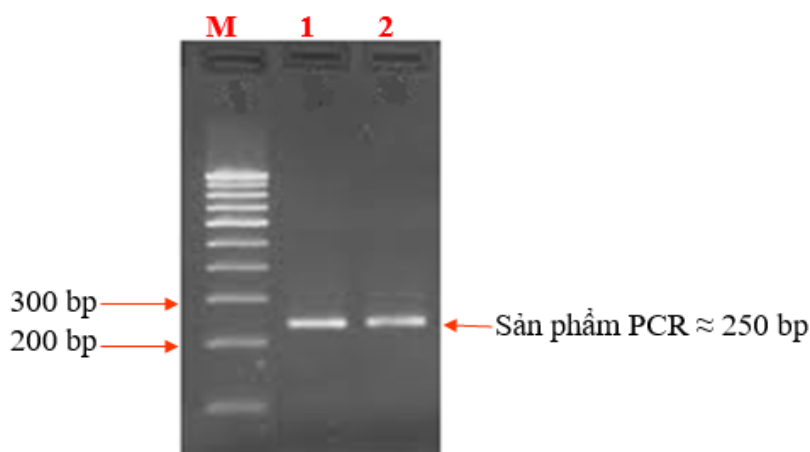
4.1. Nhân bản vùng mã hóa epitope kháng nguyên CYFRA21-1

Nghiên cứu CYFRA21-1 với vai trò là kháng nguyên đặc hiệu UTP dạng NSCLC, chúng tôi quan tâm chủ yếu đến phần epitope của kháng nguyên này. Từ kết quả nghiên cứu việc sử dụng các phân tử kháng thể để nhận ra vùng epitope kháng nguyên của Cytokeratin, người ta nhận thấy, vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1 nằm trong khoảng amino acid từ 311 đến 368 trên phân tử Cytokeratin 19. Kết quả này cũng đã được khẳng định trong một nghiên cứu sử dụng hai kháng thể đơn dòng: Ks 19.1 (kháng thể nhận biết các amino acid từ vị trí 311 đến 335 trên Cytokeratin 19) và BM19-21 (kháng thể nhận biết các amino acid từ vị trí 346 đến 367) (Kazutaka Dohmoto, 2000) [9].

Với những kết quả của các nghiên cứu trên và trên cơ sở trình tự nucleotide đoạn gen mã hóa CYFRA21-1 thu được cũng như vị trí vùng epitope kháng nguyên đã được xác định, chúng tôi thiết kế cặp mồi để nhân bản đoạn gen chứa vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1 làm cơ sở cho việc biểu hiện protein CYFRA21-1.

Thành phần của phản ứng nhân bản đoạn gen mã hóa epitope kháng nguyên CYFRA21-1 gồm:

DNA khuôn (Sản phẩm PCR có trình tự đã được xác định khoảng 400 bp thu được ở trên), dNTPs, mồi ExpcyF và ExpcyR, enzym *Taq*-DNA polymerase, dung dịch đệm, dung dịch $MgCl_2$, nước với tỷ lệ thích hợp trong tổng thể tích 25 μ l. Sau khi nhân bản đoạn gen chứa epitope kháng nguyên CYFRA21-1, chúng tôi tiến hành kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di trên gel agarose 0,8% (Hình 4.1).



Hình 4.1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR trên gel agarose

Làn chạy M: Thang DNA chuẩn 100 bp

Làn chạy số 1 và số 2: Sản phẩm PCR

Kết quả điện di trên gel agarose trên hình 4.1 cho thấy, trên làn chạy số 1 và số 2 có một băng sáng đậm với kích thước khoảng 250 bp. Kích thước này phù hợp với tính toán về đoạn gen chứa vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1.

Như vậy, chúng tôi cho rằng: đoạn gen mã hóa cho vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1 đã được nhân bản thành công với cặp mồi ExpcyF/R.

Để thuận lợi cho việc thiết kế vector biểu hiện và lưu giữ nguồn gen, chúng tôi tiến hành gắn đoạn gen thu được vào vector tách dòng.

4.2. Tách dòng đoạn gen mã hóa vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1

Nhờ hoạt tính của *Taq-polymerase*, sản phẩm PCR có thêm nucleotide A tự do ở hai đầu của gen. Vector tách dòng pCR2.1 được tạo ra dưới dạng mạch thẳng với hai nucleotide T tự do bổ sung với nucleotide A. Sau đó, đoạn gen mã hóa vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1 được xác định trình tự trên máy ABI PRISM® 3100-Avant Genetic Analyzer, trình tự nucleotide và trình tự amino acid của đoạn gen thu được trong vector tách dòng pCR2.1 được thể hiện trên hình 4.2.

```

CATATGGGCAGGTCCGAGGTTACTGACCTGCGGCGCACCCCTTCAGGGTCTTGAGATTGAGCTGCAGTCACAGCTG   75
  H M G R S E V T D L R R T L Q G L E I E L Q S Q L
AGCATGAAAGCTGCCTTGAAGACACACTGGCAGAAACGGAGGCGCGCTTTGGAGCCCAGCTGGCGCATATCCAG   150
  S M K A A L E D T L A E T E A R F G A Q L A H I Q
GCGCTGATCAGCGGTATTGAAGCCAGCTGGGCGATGTGCGAGCTGATAGTGAGCGGCAGAATCAGGAGTACCAG   225
  A L I S G I E A Q L G D V R A D S E R Q N Q E Y Q
CGGCTCATGGACCTCGAGTGA                               246
  R L M D L E *

```

Hình 4.2. Trình tự nucleotide và amino acid suy diễn của đoạn gen mã hóa vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1

Kết quả phân tích trình tự amino acid cho thấy, đoạn gen đã gắn vào vector tách dòng đúng theo tính toán và có độ tương đồng là 100% với trình tự amino acid trên Ngân hàng dữ liệu quốc tế mang mã số K1C19- HUMAN-P08727

Như vậy, chúng tôi cho rằng: việc tách dòng và xác định trình tự DNA của vùng gen mã hóa epitope kháng nguyên CYFRA21-1 đã được tiến hành thành công và có đủ độ tin cậy để biểu hiện và thu protein CYFRA21-1 phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo.

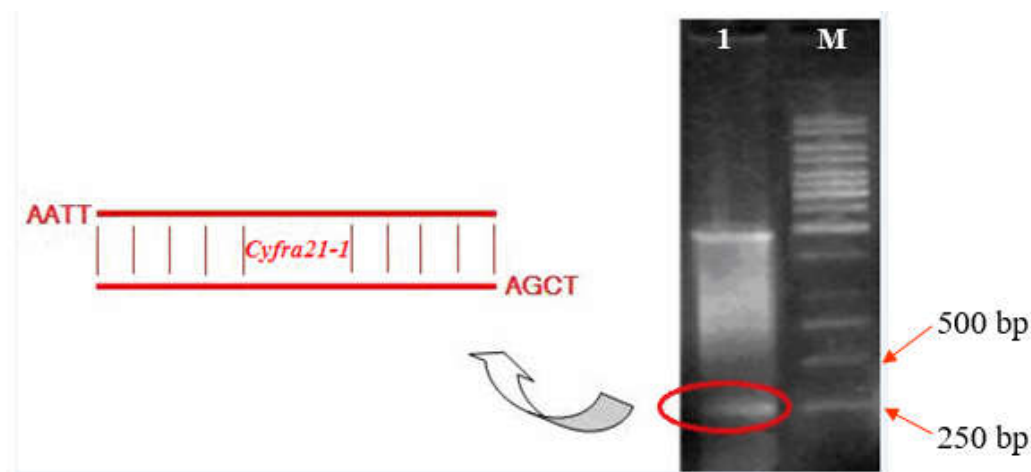
4.3. Thiết kế vector biểu hiện pET-21a(+)/CYFRA21-1

Để gắn được đoạn gen mã hóa vùng epitope kháng nguyên của CYFRA21-1 (gọi tắt là gen *CYFRA21-1*) vào vector biểu hiện pET-21a(+) khớp đúng chiều, đúng khung đọc, cả vector tách dòng mang gen *CYFRA21-1* và vector biểu hiện gốc pET-21a(+) sẽ được cắt với cùng hai enzym hạn chế là *Nde* I và *Xho* I, các enzym này sẽ cắt DNA plasmid tách dòng tái tổ hợp pCR2.1/CYFRA21-1 tạo ra gen *CYFRA21-1* ngoại bào có

hai đầu dính tương ứng, vector biểu hiện pET-21a(+) cũng được xử lý tương tự với hai enzym trên tạo ra hai đầu dính bổ sung và được tiến hành như sau:

Thu gen CYFRA21-1 có hai đầu dính của hai enzym Nde I và Xho I

Để thu gen *CYFRA21-1* này chúng tôi tiến hành cắt các plasmid pCR2.1-Topo/*CYFRA21-1* bằng hai enzym cắt hạn chế *Nde I* và *Xho I*. Sản phẩm thu được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8% (Hình 4.3).



Hình 4.3. Hình ảnh điện di vector tái tổ hợp cắt với hai enzym *Nde I* và *Xho I*

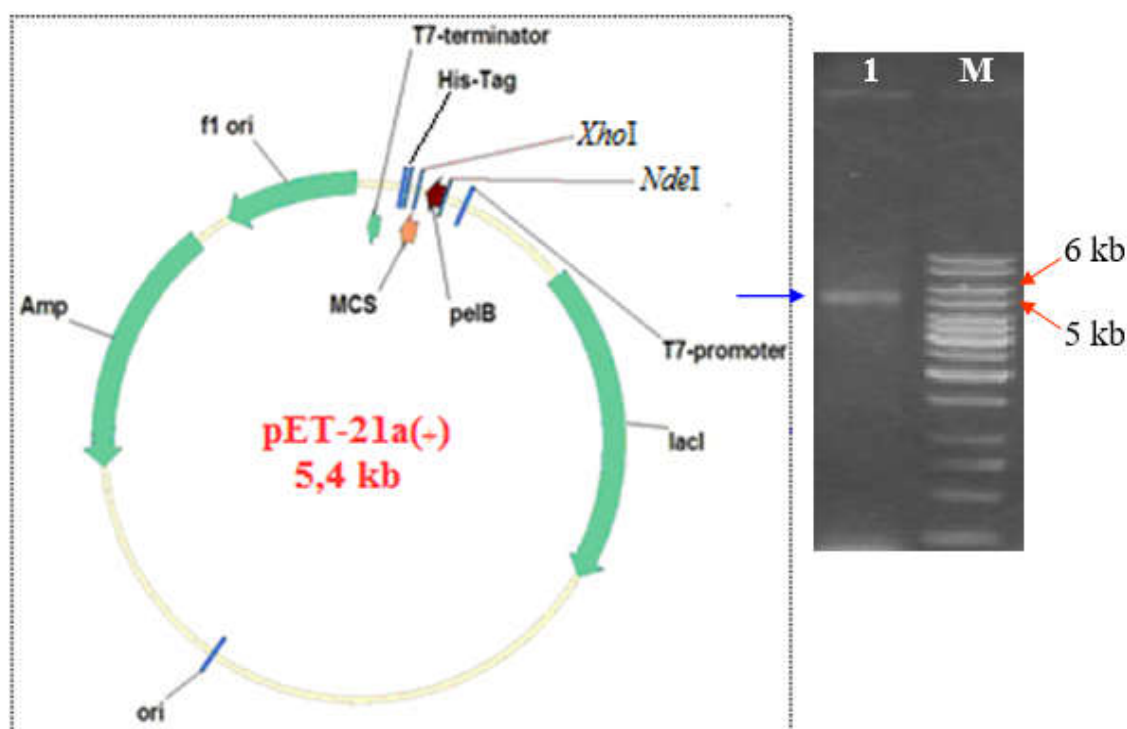
Làn chạy M: Thang DNA chuẩn 1 kb (Fermentas)

*Làn chạy số 1: Sản phẩm pCR2.1/*CYFRA21-1* cắt với hai enzym *Nde I* và *Xho I**

Từ hình ảnh điện di (Hình 4.3) cho thấy, trên làn chạy số 1, ngoài băng của vector pCR2.1 còn xuất hiện một băng có kích thước tương đương với kích thước gen *CYFRA21-1*. Như vậy, dưới tác dụng của các enzym cắt hạn chế, đoạn gen mã hóa cho vùng epitope kháng nguyên CYFRA21-1 đã được cắt rời ra khỏi vector tách dòng và có hai đầu dính tương ứng của hai enzym cắt hạn chế đã thiết kế sẵn sàng cho việc gắn vào vector biểu hiện. Tuy nhiên, để thu được đoạn gen *CYFRA21-1* tinh sạch có hai đầu dính, chúng tôi cắt thu vùng gel agarose chứa băng DNA *CYFRA21-1* và tiến hành tinh sạch thu đoạn gen *CYFRA21-1* bằng KIT QIAGEN. Kết quả lượng DNA thu được so với lượng DNA ban đầu không có sự chênh lệch lớn. Như vậy, chúng tôi đã có gen *CYFRA21-1* với hai đầu bổ sung được tạo bởi hai enzym *Nde I* và *Xho I*.

Tạo 2 đầu dính cho vector pET-21a(+)

Tiếp theo, vector pET-21a(+) cũng được xử lý với hai enzym cắt hạn chế là *Nde I* và *Xho I*. Sau đó, sản phẩm cắt được điện di trên gel agarose 0,8%. Kết quả thể hiện trên hình 4.4.



**Hình 4.4. Hình ảnh điện di sản phẩm cắt vector
pET-21a(+) với enzyme *Nde* I và *Xho* I**

Làn chạy M: Thang DNA chuẩn 1 kb (Fermentas)

Làn chạy số 1: Sản phẩm pET-21a(+) cắt với hai enzyme *Nde* I và *Xho* I

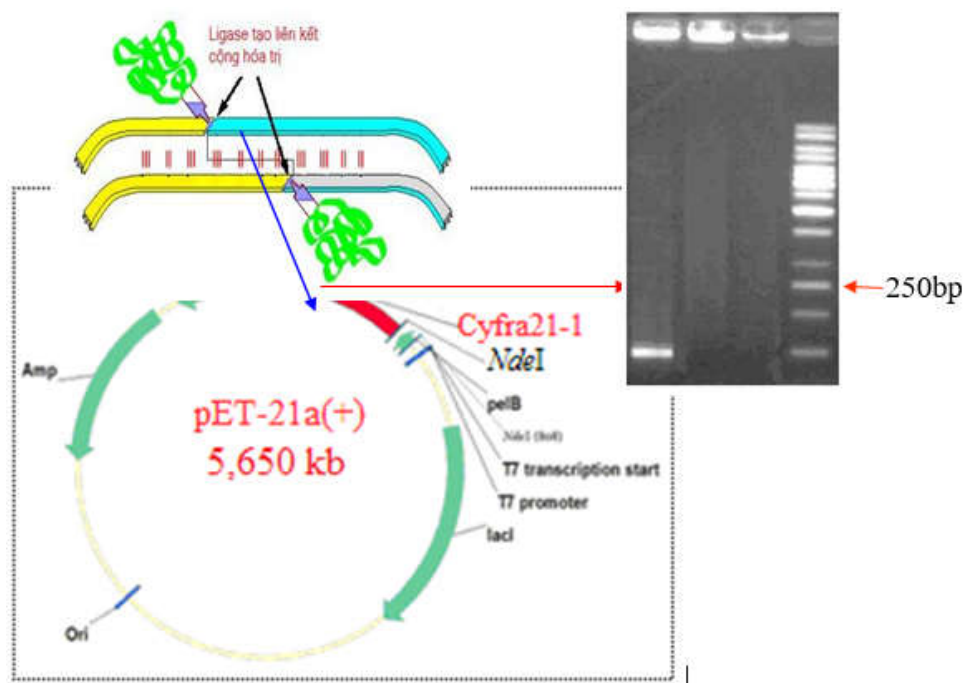
Hình ảnh điện di trên hình 4.4 cho thấy vector đã được mở vòng hoàn toàn đảm bảo cho việc gắn gen tạo vector biểu hiện.

Sau khi điện di, phần agarose chứa vector pET-21a(+) được thu lại và xử lý qua cột tinh sạch DNA từ gel của hãng QIAGEN. Như vậy, chúng tôi đã có sẵn nguyên liệu cho việc tạo vector biểu hiện.

Gắn gen *CYFRA21-1* vào vector pET-21a(+)

Sau khi gen *CYFRA21-1* được cắt khỏi vector tách dòng nhờ hai enzyme cắt hạn chế là *Nde* I và *Xho* I, chúng tôi chuyển sản phẩm cắt vào vector biểu hiện, dưới tác dụng của *T4-ligase*, gen *CYFRA21-1* được gắn vào vector biểu hiện tạo thành hệ thống biểu hiện hoàn chỉnh.

Quá trình chuyển gen *CYFRA21-1* từ vector tách dòng sang vector biểu hiện được mô tả trên hình 4.5. Sau phản ứng ghép nối gen, sản phẩm ghép nối được biến nạp vào tế bào *E. Coli* chủng Top10, quá trình chọn dòng diễn ra nhờ phương pháp PCR từ khuẩn lạc (Hình 4.5).



Hình 4.5. Sơ đồ mô tả quá trình gắn kết và chọn dòng vector pET-21a(+)/CYFRA21-1

Làn chạy M: Thang DNA chuẩn 1 kb (Fermentas)

Làn chạy số 1, số 2, số 3: Sản phẩm PCR với cặp môi T7F/R tương ứng từ các khuẩn lạc 1, 2, 3

Kiểm tra kết quả gắn gen CYFRA21-1 vào vector biểu hiện được thực hiện bằng cách sử dụng trực tiếp 3 khuẩn lạc chọn ngẫu nhiên từ đĩa nuôi cấy tiến hành PCR với cặp môi T7F/R của vector pET-21a(+).

Kết quả PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di (Hình 4.5), trên ảnh điện di cho thấy ở làn chạy số 1 xuất hiện một băng sáng đậm có kích thước khoảng 250 bp. Kích thước này là hoàn toàn phù hợp với tính toán về kích thước của đoạn gen *CYFRA21-1* với một phần của vector. Để kiểm tra chiều và khung đọc của gen, chúng tôi tiến hành tách chiết và xác định trình tự gen trong plasmid tái tổ hợp thu được.

Việc xác định trình tự gen tách dòng được tiến hành phản ứng bằng KIT “Big Dye Terminator sequencing KIT” (ABI, Mỹ), chạy trên máy ABI PRISM® 3100-Avant Genetic Analyzer và theo phương pháp của Sanger và cộng sự (1981) [13]. Với cách làm như vậy, chúng tôi thu được trình tự nucleotide và trình tự amino acid suy diễn của sản phẩm nhân bản RT-PCR đã được xác định cụ thể trên hình 4.6.

Kết quả xác định trình tự nucleotide trên hình 4.6 đã khẳng định việc thiết kế vector biểu hiện gen *CYFRA21-1* thành công, trình tự nucleotide và trình tự amino acid suy diễn cụ thể:

```

CATATGGGCAGGTCCGAGGTTACTGACCTGCGGCGCACCCCTTCAGGGTCTTGAGATTGAGCTGCAGTCACAGCTG 70
H M G R S E V T D L R R T L Q G L E I E L Q S Q L
AGCATGAAAGCTGCCTTGGGAAGACACACTGGCAGAAACGGAGGCGCGCTTTGGAGCCCAGCTGGCGCATATCCAG 140
S M K A A L E D T L A E T E A R F G A Q L A H I Q
GCGCTGATCAGCGGTATTGAAGCCCAGCTGGGCGATGTGCGAGCTGATAGTGAGCGGCAGAATCAGGAGTACCAG 210
A L I S G I E A Q L G D V R A D S E R Q N Q E Y Q
CGGCTCATGGACCTCGAGCACCACCACCACCACCACTGA 249
R L M D L E H H H H H H H *

```

Hình 4.6. Trình tự nucleotide và trình tự amino acid suy diễn của gen *CYFRA21-1* sau khi gắn vào vector biểu hiện pET-21a (+)

Kết quả phân tích trình tự amino acid (Hình 4.6) cho thấy, đoạn gen mã hóa epitope kháng nguyên CYFRA21-1 đã được gắn vào vector biểu hiện có khung đọc và chiều đúng theo tính toán lý thuyết. Hơn nữa, sản phẩm còn được gắn thêm đuôi *His-tag* giúp cho việc tinh sạch sản phẩm trên cột ái lực Ni-NTA ở bước nghiên cứu tiếp theo được dễ dàng.

5. KẾT LUẬN

Nhân bản và xác định thành công trình nucleotide và trình amino acid của đoạn gen mã hóa epitope kháng nguyên CYFRA21-1 có sự tương đồng 100% với trình tự amino acid trên Ngân hàng dữ liệu quốc tế mang mã số K1C19- HUMAN-P08727.

Đã thiết kế thành công vector biểu hiện pET-21a(+)/CYFRA21-1 làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo để tạo KIT chẩn đoán sớm ung thư phổi dạng không phải tế bào nhỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Alissa K., Greenberg M. D. (2007), *Biomarkers for lung cancer*, Current Opinion in Pulmonary Medicine, 13 (4), pp. 249 - 255.
- [2] Ando S., Suzuki M., Yamamoto N., Iida T. and Kimura H. (2004), *The prognostic value of both neuron-specific enolase (NSE) and CYFRA21-1 in small cell lung cancer*, Anticancer Research, 24. pp 1941 - 1946.
- [3] Barlési F., Gimenez C., Torre J. P., Doddoli C., Mancini J., Greillier L., Roux F. and Kleisbauer J. P. (2004), *Prognostic value of combination of CYFRA21-1, CEA and NSE in patients with advanced non-small cell lung cancer*, Respir. Med 98(4), pp. 357 - 362.
- [4] Bộ môn ung thư - Đại học Y Hà Nội (1999), *Ung thư học*, Nxb. Y học, Hà Nội.
- [5] Buccheri G., Ferrigno D. (2001), *Lung tumor markers of Cytokeratin origin: an overview*, Lung Cancer, 34(1 2), pp. 65 - 69.
- [6] Buccheri G., Ferrigno D. (2001), *Cytokeratin-derived markers of lung cancer*, Expert Rev Mol Diagn, 1(3), pp. 315 - 322.

- [7] Cabrera-Alarcon J. L., Carrillo-Vico A., Santotoribio J. D., Leon-Justel A., Sanchez-Gil R., Gonzalez-Castro A. and Guerrero J. M. (2011), *CYFRA21-1 as a tool for distant metastasis detection in lung cancer*, Clin. Lab, 57(11-12), pp. 1011 - 1014.
- [8] Cedrés S., Nuñez I., Longo M., Martinez P., Checa E., Torrejón D. and Felip E. (2011), *Serum tumor markers CEA, CYFRA21-1, and CA-125 are associated with worse prognosis in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC)*, Clin. Lung Cancer, 2(3), pp. 1720 - 1729.
- [9] Dohmoto K., Hojo S., Fujita J., Ueda Y., Bandoh S., Yamaji Y., Ohtsuki Y., Dobashi N. and Takahara J. (2000), *Mechanisms of the release of CYFRA21-1 in human lung cancer cell lines*, Lung Cancer, 30(1), pp. 55 - 63.
- [10] Gube M., Taeger D., Weber D. G., Pesch B., Brand P., Johnen G., Müller-Lux A., Gross IM., Wiethage T., Weber A., Raithel HJ., Kraus T. and Brüning T. (2011), *Performance of biomarkers SMRP, CA125, and CYFRA21-1 as potential tumor markers for malignant mesothelioma and lung cancer in a cohort of workers formerly exposed to asbestos*, Arch. Toxicol, 85(3), pp. 185 - 192.
- [11] Gu J., Wang X., Zhao H., Zhu S., Wen Y., Xu H., Li L., Chen J. and Zhou Q. (2010), *Diagnosis value of the detection of CYFRA21-1 in non-small cell lung cancer*, Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 13(12), pp.1118 - 1121.
- [12] Huang W. W., Tsao S. M., Lai C. L., Su C. C. and Tseng C. E. (2010), *Diagnostic value of Her-2/neu, CYFRA21-1, and carcinoembryonic antigen levels in malignant pleural effusions of lung adenocarcinoma*, Pathology, 42(3), pp. 224 - 228.
- [13] Sanger F., Schreier P. H., Smith A. J. H., Staden R. and Young I. G. (1981), *Sequence and organization of the human mitochondrial genome*, Nature 290, pp. 457 - 465.

THE RESULTS OF EXPRESSION VECTOR PET21A (+) CARRIED SEGMENT GENES ENCODING ANTIGENS EPITOPE CYFRA21-1

Le Dinh Chac

ABSTRACT

Study on the origin and the development of lung cancer cells form non-small cell, cancer was found closely associated with the emergence of concentrations of specific antigens in the blood CYFRA21-1, water tissues and serum. Therefore finding and sequencing the gene encoding the antigen CYFRA21-1 is necessary, as the basis for the

expression, obtained recombinant protein CYFRA21-1 to serve for creating KIT early diagnosis of lung cancer non-small cell types in order to bring about the source of life for patients. In this research, we have succeeded in cloning, nucleotide sequencing, amino sequencing of the epitope segment acid antigen encoding genes of which similarities CYFRA21-1 is 100% with the amino acid sequence in the international databank K1C19- HUMAN-P08727 code and have successfully designed pET-21a expression vector (+) which carries the gene segment encoding the antigen epitope CYFRA21-1 premising for the next study.

Keywords: *CYFRA21-1, lung cancer.*