

immunological evaluation of C-terminal of Intimin of *Escherichia coli* O157:H7 in animal model

Farzane khalouie ^{1*}, S Latif Mousavi¹, Poune Pourfarzam ¹, Shahram Nazariyan, ² Jafar Amani ³

¹Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

²Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, Imam Hossein University, Tehran, Iran

³Applied Biotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

*fkhaloyie@yahoo.com

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* serogroup O157:H7 (*E. coli* O157:H7) are causal agents of diarrhea, hemorrhagic colitis (HC), and hemolytic uremic syndrome (HUS). It is mainly a food borne pathogen and poses a serious challenge to public health worldwide. Like most mucosal pathogens, initiating process of EHEC infection is colonization at the mucosal sites. Intimin play a key role for *E. coli* O157:H7 colonization, the development of attaching and effacing epithelial lesions, and causing disease. Therefore preventing bacterial attachment restricts infection. The aim of this study was investigation of anti-Intimin antibody responses in EHEC infection.

Bioinformatics analysis predicted that C-terminal of Intimin is more antigenic than other parts. So last 1500bp of Intimin gene is cloned and expressed in *E. coli*, Mice were immunized subcutaneously with purified recombinant Intimin. Challenged mice with *E. coli* O157:H7, exhibited lower period of bacterial shedding than control group.

So Immunogenic properties of C-terminal Intimin showed that it can be a candidate vaccine against *E. coli* O157:H7.

Keywords :Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Intimin ,recombinant vaccine ,immunization, Cloning, Expression

بررسی ایمنی زایی انتهای کربوکسیلی Intimin در اشرشیاکلاهی O157:H7 در حیوان مدل

فرزانه خالویی^{۱*}، سید لطیف موسوی^۱، پونه پورفرزام^۱، شهرام نظریان^۲، جعفر امانی^۳

۱. گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. گروه علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه امام حسین، تهران، ایران

۳. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

اشرشیاکلاهی هموراژیک سروتیپ O157:H7 عامل اسهال، کولیت هموراژیک و سندروم همولیتیک دستگاه ادراری است. انتقال آن از طریق مواد غذایی و چالشی جدی برای بهداشت عمومی در جهان است. مانند اکثر پاتوژن های موکوزی شروع روند بیماری زایی EHEC از طریق اتصال و کلنی سازی در سطوح مخاطی است که پروتئین Intimin نقش کلیدی در این اتصال رابازی می کند و با ایجاد ضایعات اپی تلیالی باعث ایجاد بیماری می شوند. بنابراین در صورتیکه از اتصال این باکتری به سطح روده ممانعت شود، از ایجاد عفونت جلوگیری می شود. هدف از این مطالعه بررسی پاسخ آنتی بادی ضد Intimin در عفونت انتروهموراژیک میباشد.

با استفاده از آنالیزهای بیوانفورماتیکی انتهای کربوکسیلی این پروتئین به دلیل آنتی ژنیک بودن نسبت به نواحی دیگر برای این آزمایش انتخاب شد. بنابراین ۱۵۰۰ جفت باز انتهایی Intimin در اشرشیاکلاهی کلون، بیان و تخلیص شد. موش ها با تزریق Intimin به صورت زیرپوستی، ایمن شده و سپس با *E. coli* O157:H7 چالش صورت گرفت. نتایج حاکی از این بود که ریزش باکتری به مرور زمان نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است.

در نتیجه انتهای کربوکسیلی Intimin می تواند یک کاندید واکسن بر علیه *E. coli* O157:H7 باشد.

کلید واژه: *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, Intimin، کلونینگ، بیان، واکسن نو ترکیب، ایمن سازی