

Konstruksi Vektor Rekombinan pembawa Fragmen 140 pb Gen h5 Avian Influenza Virus A Subtipe H5N1

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20180984&lokasi=lokal>

Abstrak

Diagnosis infeksi avian influenza virus (AIV) subtipe H5N1 dengan teknik RT PCR dapat menghasilkan spesifisitas hingga 90%. Kendala yang dihadapi dalam implementasi teknik tersebut yaitu keterbatasan spesimen pasien maupun partikel virus hasil teknik kultur yang digunakan sebagai kontrol positif. Produksi RNA sintetik menggunakan teknik transkripsi in vitro memberikan suatu solusi untuk mengatasi masalah tersebut. Penelitian dilakukan di laboratorium Institute of Human Virus and Cancer Biology of University of Indonesia (IHVCB-UI) selama 8 bulan (Januari--Agustus 2008). Tujuan penelitian mengkonstruksi vektor pBluescript KS (+/-) rekombinan pembawa fragmen 140 pb gen hemagglutinin (h5) AIV sehingga dapat digunakan sebagai pola cetak transkripsi in vitro. Sumber gen diperoleh dari hasil RT PCR RNA AIV A subtipe H5N1 tahun isolat 2006. Fragmen HA (140 bp) kemudian diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan cetakan cDNA tersebut. Produk hasil PCR kemudian diligasi secara blunt end pada pBluescript KS (+/-) yang memiliki promotor T7 RNA polimerase. Identitas DNA sisipan dan orientasi dianalisis dengan teknik hot star PCR. Fragmen RNA sintetik telah diproduksi dengan transkripsi in vitro menggunakan cetakan pBluescript II KS (+/-) rekombinan hasil konstruksi. Molekul DNA cetakan kemudian dihilangkan dengan DNase free RNase dan produk RNA sintetik diverifikasi dengan teknik RT PCR dan hot star PCR untuk deteksi DNA dan RNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vektor pBluescript KS Konstruksi vektor..., Aditya Perkasa, FMIPA UI, 2008

iv

(+/-) rekombinan pembawa fragmen 140 pb gen h5 AIV telah berhasil disisipkan dalam orientasi yang diharapkan untuk transkripsi in vitro untai RNA sintetik dengan T7 RNA polimerase.