

Isolasi protein human granulocyte colony stimulating factor rekombinan dari escherichia coli

Dewi Rahmawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20181142&lokasi=lokal>

Abstrak

Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (HG-CSF) is a protein hormone that is categorized as human cytokine and has a very important therapeutic applications. as an important regulator in the formation of white blood cells (neutrophils) or granulopoiesis and some mature neutrophil granulocyte cell functions. Granulocyte Colony Stimulating Factor (GCSF) is a single polypeptide chain containing 174 amino acid residues, with molecular weight around 18,800 Da and isoelectric point (pI) 6.1, encoded by a single gene CSF3. Recombinant protein G-CSF is hydrophobic, easily aggregated and generally formed inclusion bodies precipitate.

The aim of this study is to obtain G-CSF proteins from E. coli BL21(DE3)pLysS containing pET 21b-CSF3syn plasmid. This studies started from inoculum preparation and cell culture, and solution extraction and then isolating the target protein by affinity chromatography using metal chelating matrix nickel (Ni-NTA). Isolation was also done for the soluble part is to using affinity chromatography with cobalt metal chelating matrix (Talon).

The results obtained from affinity chromatography were then analyzed to identify target proteins by SDS-PAGE and Western blot for protein G-CSF in E. coli BL21(DE3)pLysS. The results showed 18.8 kDa protein identified by the marker.

<hr>

Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (hG-CSF) adalah protein hormon manusia yang tergolong sebagai sitokin dan memiliki aplikasi terapeutik sangat penting. Protein tersebut merupakan regulator penting dalam pembentukan sel darah putih (neutrofil) atau granulopoiesis dan beberapa fungsi sel granulosit neutrofil matang. Granulocyte Colony Stimulating Factor (GCSF) merupakan sebuah rantai polipeptida tunggal yang mengandung 174 residu asam amino, dengan berat molekul sekitar 18.800 Da dengan titik isoelektrik (pI) 6,1, disandi oleh satu gen tunggal CSF3. Protein G-CSF rekombinan merupakan protein yang bersifat sangat hidrofobik, mudah teragregasi dan umumnya membentuk endapan sebagai badan inklusi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan protein G-CSF dari E. coli BL21(DE3)pLysS yang mengandung plasmid pET 21b-CSF3syn. Penelitian ini dimulai dari persiapan inokulum, kultur sel, ekstraksi pelarut dan kemudian mengisolasi protein target dengan kromatografi afinitas menggunakan matriks pengkhelat logam nikel (Ni-NTA). Isolasi juga dilakukan untuk bagian terlarut dengan menggunakan kromatografi afinitas menggunakan matriks pengkhelat logam kobalt (Talon).

Hasil yang diperoleh dari kromatografi afinitas dan kemudian dianalisa untuk mengidentifikasi protein

target G-CSF dengan SDS-PAGE dan Western blot dalam sel E. coli BL21(DE3)pLysS. Hasil penelitian menunjukkan 18,8 kDa telah diidentifikasi dengan penanda.