

Establishment of human sperm-specific voltage-dependent anion channel 3 recombinant vector for the production of a male contraceptive vaccine

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20332874&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar belakang: Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat konstruksi vektor rekombinan gen Voltage-Dependent Anion Channel isoform 3 (VDAC3) spesifik sperma manusia, untuk produksi antibody VDAC3 yang berpotensi sebagai bahan kontrasepsi laki-laki.

Metode: Fragmen target untuk pembuatan vektor rekombinan adalah gen VDAC3 spesifik sperma manusia, yang diperoleh dengan cara mengamplifikasi cDNA dari sperma manusia melalui metode PCR menggunakan primer spesifik gen VDAC3 exon 5 sampai dengan exon 8. Vektor rekombinan gen VDAC3 dikonstruksi dengan cara mengklon produk PCR tersebut (435 pb) ke vektor ekspresi pET101/D-TOPO (5753 pb). Selanjutnya bakteri E. coli TOP10 ditransformasi dengan vektor rekombinan di atas. Hasil klon gen VDAC3 pada vektor dikonfirmasi dengan pemotongan vektor rekombinan dengan enzim restriksi XbaI dan metode PCR colony pada bakteri yang tumbuh dengan menggunakan primer VDAC3 exon 5-8.

Hasil: Analisis BLAST dari amplifikasi gen VDAC3 sperma manusia dengan primer spesifik exon 5 sampai exon 8 menunjukkan 94% identik dengan data gene bank. Bakteri E. coli transforman yang berhasil tumbuh ada 12 klon. Hasil elektroforesis vektor rekombinan VDAC3 yang telah dipotong dengan enzim restriksi XbaI, dari 12 klon yang tumbuh menunjukkan pita berukuran 6181 pb pada 8 klon bakteri. Setelah dilakukan metode PCR colony diperoleh pita berukuran 435 pb selanjutnya setelah disekuensing diperoleh sekuen amplicon yang 94% identik dengan gen VDAC3 manusia.

Kesimpulan: Penelitian ini berhasil membuat konstruksi vektor rekombinan gen VDAC3 spesifik untuk sperma manusia, untuk pengembangan bahan kontrasepsi laki-laki di masa datang.

<hr>

Abstract

Background: The aim of this study was to construct a recombinant vector of human sperm specific VDAC3 gene for production of VDAC3 antibody, which is potential as male contraception vaccine.

Methods: Target fragment sequence of VDAC3 gene was obtained through amplification of human sperm VDAC3 cDNA with primers covering exon 5 to exon 8. Its PCR product in size of 435 bp was cloned to the pET101/D-TOPO expression vector (5753 bp). E. coli bacteria were transformed with this vector. Cloning of VDAC3 fragment gene to the vector was confirmed by the using of XbaI restriction enzyme and PCR colony method with primers covering exons 5-8 of the human VDAC3 gene.

Results: Alignment analysis of amplified fragment covering exon 5 to exon 8 of VDAC3 gene showed 94% homology to human VDAC3 gene from databank. After cloning to the expression vector and transformation to E. coli competent cells, twelve colonies could grow in culture media. Gel electrophoresis of sliced VDAC3 recombinant vector showed a single band in the size of 6181 bp in 8 colonies. After application of PCR colony and amplicon sequencing, the result showed a single band in the size of 435 bp and fragment sequence with 94% identity to human VDAC3 gene.

Conclusion: The construction of human sperm specific VDAC3 gene recombinant vector was established in

this study. In the future, this recombinant vector will be used to produce VDAC3 antibody for the development of a male contraception vaccine.