

# Kloning gen Human Interferon Alpha 2a pada vektor pET-32b[+] dan ekspresi pada *Escherichia coli*

Arizah Kusumawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20336060&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Interferon (IFN) merupakan sitokin yang diproduksi oleh berbagai tipe sel sebagai respon rangsangan terhadap stimulasi virus, bakteri, parasit, sel tumor, atau antigen lain. Interferon termasuk kelompok IFN tipe I yang mempunyai berbagai efek biologis yang meliputi antiviral, antitumor dan juga sebagai immunoterapeutik. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis protein rekombinan human IFN 2a melalui sistem ekspresi pada bakteri *E. coli* BL21(DE3). Pada gen human ifn 2a dilakukan penambahan situs pemotongan enzim restriksi Nco I dan Xho I menggunakan metode PCR, kemudian dilanjutkan dengan proses ligasi ke vektor pET-32b(+) dan selanjutnya ditransformasikan pada *E. coli* DH5.

Hasil sekuensing menunjukkan bahwa vektor rekombinan (pET-32b(+)-IFN 2a) memiliki urutan nukleotida yang benar. Vektor rekombinan ini selanjutnya ditransformasikan ke dalam *E. coli* BL21(DE3). Klon transforman yang diperoleh dikultur dan diinduksi dengan penambahan IPTG 1 mM sehingga mengekspresikan protein rekombinan human IFN 2a. Dari hasil isolasi, diperoleh protein rekombinan human IFN 2a dalam bentuk protein terfusi sehingga mempermudah proses deteksi dan purifikasi. Protein dikarakterisasi melalui metode SDS PAGE dilanjutkan dengan Western blot dan pewarnaan CBB. Pita protein rekombinan human IFN2a yang diperoleh berukuran 36 kDa. Hasil maksimal ditunjukkan ekspresi pada suhu 37C dengan waktu inkubasi 5 jam setelah induksi.

.....

Interferon (IFN) is a cytokine produced by various cell types as a response of stimulation to viruses, bacteria, parasites, tumor cells, or other antigens. Interferon type I IFN groups have various biological effects, including antiviral, antitumor and immunotherapeutic. The aim of this research is to synthesize recombinant human IFN 2a proteins through bacterial expression systems in *E. coli* BL21 (DE3). Addition genes of human IFN 2a, which are restriction enzyme cutting sites for Nco I and Xho I, are added through PCR method. This step is followed by ligation process to the pET-32b(+) vector and then transformed into *E. coli* DH5.

The recombinant vector (pET-32b(+)-IFN 2a) has a nucleotide right sequence after it was being sequenced, after was transformed into *E. coli* BL21 (DE3). Obtained transformant clones were cultured and induced by addition of IPTG 1 mM to produce the expression of recombinant human IFN 2a proteins. As result of isolation process, recombinant protein of human IFN 2a are collected in fused protein thus can simplify the detection and purification method. The proteins are characterized by the SDS PAGE method followed by Western blot and CBB staining. The results show that the recombinant human IFN 2a protein bands are exactly 36 kDa. The maximum expression results were obtained at 37C with 5 hours incubation after induction process.