

# Pengklonaran dan ekspresi gen *mce1A* (Rv0169) mycobacterium tuberculosis strain beijing dan H37Rv pada escherichia coli BL21 untuk pengembangan kandidat vaksin tuberkulosis = Cloning and expression of *mce1A* gene of mycobacterium tuberculosis beijing and h37rv strain in expression system escherichia coli bl21 for tuberculosis vaccine candidate development

Desi Indria Rini, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20365542&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Tuberkulosis sejak lama merupakan salah satu penyebab utama kematian manusia karena penyakit infeksi, terutama didaerah yang dilanda kemiskinan dan malnutrisi. Penyakit ini menyerang banyak organ pada tubuh manusia terutamanya adalah paru-paru. Peningkatan jumlah kasus tuberkulosis dipengaruhi oleh infeksi HIV dan resistensi terhadap berbagai macam kombinasi obat. Di Indonesia, infeksi *M. tuberculosis* oleh strain Beijing diyakini memiliki penyebaran yang paling luas dibandingkan dengan strain lainnya. BCG merupakan vaksin tunggal yang digunakan untuk pencegahan tuberkulosis, namun daya proteksi dan efikasinya berbeda-beda. Protein *Mce1A* merupakan protein yang diduga berperan penting pada hal invasi dan pertahanan *M. tuberculosis* didalam makrofag. Beberapa studi telah melakukan penelitian ini, namun di Indonesia belum pernah dilakukan penelitian mengenai ekspresi protein *Mce1A* Mycobacterium tuberculosis strain Beijing sebagai isolat lokal. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengklonaran dan ekspresi protein *Mce1A* Mycobacterium tuberculosis strain Beijing lokal dan strain standar H37Rv sebagai pembanding. Gen *Mce1A* *M. tuberculosis* strain Beijing dan H37Rv diampifikasi dengan teknik PCR dan diinsersikan kedalam vektor pET28a. *Escherichia coli* BL21 kemudian ditransformasi dengan plasmid rekombinan tersebut. Protein *Mce1A* rekombinan diekspresikan dengan induksi IPTG. *E. coli* BL21 berhasil ditransformasi dengan plasmid rekombinan yang mengandung sisipan gen *Mce1A* dengan arah orientasi dan kerangka baca yang benar. Tidak ada mutasi yang ditemukan pada asam amino yang menjadi epitope pengenalan sel B dan sel T. Hasil ekspresi protein *Mce1A* pada *E. coli* BL21 menunjukkan pita protein yang lebih tinggi dari seharusnya. Konfirmasi keberadaan protein dilakukan menggunakan teknik Western Blot dengan anti-his detector. Protein *Mce1A* rekombinan yang telah berhasil diekspresikan pada *E. coli* BL21 diduga berada dalam bentuk dimer. Hal ini dapat digunakan sebagai data awal kondisi ekspresi untuk pengembangan vaksin subunit pada penelitian berikutnya.

.....For past centuries until nowadays, tuberculosis remains the leading cause of death in the world from infectious disease wherever poverty, malnutrition and poor housing prevail. Tuberculosis is primarily a disease of the lungs, but may spread to other sites or proceed to a generalized infection. The wide spread of tuberculosis has been further aggravated by another infection disease such as HIV-AIDS and drug resistance. Many strain of Mycobacterium tuberculosis caused tuberculosis infection in Indonesia, but Beijing strain are the most. Bacille Calmette-Guerin (BCG) is the current vaccine for tuberculosis but it has different protection function and efficacy. According to function analysis, *mce1A* gene predicted has a role in host invasion by Mycobacterium tuberculosis and survival of the pathogen in human macrophages. Several studies abroad have done this research, but in Indonesia, study about protein expression of *Mce1A* gene of Mycobacterium tuberculosis Beijing strain as local isolates has not much being done. Therefore, in

this study we will performed cloning and protein expression of Mce1A gene Mycobacterium tuberculosis Beijing strain as local isolate and standard strain H37Rv as a comparison on expression vector Escherichia coli BL21. Mce1A gene from M. tuberculosis Beijing and H37Rv strain was amplified by PCR and inserted in the vector pET28a. E. coli BL21 then transformed with the recombinant plasmid. Mce1A recombinant protein then expressed with IPTG induction. This study indicate that E. coli BL21 succesfully transformed with a recombinant plasmid containing the Mce1A gene insertion with correct orientation and reading frame. There is no mutation found in the amino acids sequence for B and T cell epitope. Mce1A expression in E. coli BL21 showed protein bands that higher than expected. The protein was confirmed with western blotting using anti-his detector. We assume that Mce1A recombinant protein that have been expressed in E. coli BL21 is in dimeric form. This explanation should be valuable in further studies of expression at the protein level and exposure of proteins on the cell surface of M. tuberculosis under different experimental conditions.