

Karakterisasi asam-asam amino rekombinan apoptin yang diekspresikan dalam Escherichia coli DH5 = Recombinant amino acids characterization of apoptin expressed in Escherichia coli DH5

Alberto Christopher, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20385945&lokasi=lokal>

Abstrak

Apoptin merupakan protein dari virus anemia ayam yang dapat menginduksi apoptosis sel kanker. Penggunaannya sebagai senyawa antikanker dapat mengatasi kelemahan metode kemoterapi. Deteksi massa molekular apoptin dilakukan dengan SDS-PAGE memiliki keberagaman hasil dan asam-asam amino rekombinan dalam apoptin disinyalir menyadi penyebabnya. Karakterisasi asam-asam amino rekombinan dalam apoptin untuk membuktikan hipotesis tersebut dilakukan dengan dua variasi rekombinan plasmid, yakni modifikasi 12 histidin dan modifikasi 12 histidin-8 arginin yang ditransformasikan pada Escherichia coli DH5. Kedua variasi modifikasi plasmid ini mendapatkan perlakuan yang sama. Transformasi plasmid dalam penelitian ini menggunakan metode heat shock dengan suhu 42oC dan bantuan CaCl₂ dalam pembentukan sel Escherichia coli DH5 kompeten. Penentuan konsentrasi apoptin dilakukan dengan metode Lowry dan BSA sebagai protein standarnya. Deteksi massa molekular apoptin oleh metode SDS-PAGE dilakukan dengan konsentrasi gel sebesar 15% dan mendeteksi adanya pita protein di bawah 30 KDa. Uji karakterisasi asam amino yang dilakukan dengan Liquid Chromatography Mass Spectroscopy menunjukkan bahwa adanya konsentrasi asam amino berlebih dalam apoptin sehingga meningkatkan deteksi massa molekularnya oleh SDS-PAGE.

.....

Apoptin is a protein from chicken anemia virus which could induce tumor cell apoptotic. The use of apoptin as anticancer could overwhelm chemotherapy weaknesses. Apoptin molecular weight detection conducted by SDS-PAGE had various results while the recombinant amino acids are the suspects. Recombinant amino acids characterization of apoptin in order to prove the hypothesis was conducted by two variants of recombinant plasmid, which were 12 histidine modification dan 12 histidine-8 arginine modification, transformed into Escherichia coli DH5. These two variations were given the same treatment. Heat shock method was used in plasmid transformation at 42oC and CaCl₂ treatment was used in order to create Escherichia coli DH5 competent cells. Apoptin concentration determination was conducted by Lowry method and BSA was used as protein standard. Molecular weight detection of apoptin by SDS-PAGE was conducted using 15% gel concentration and there was protein band detected below 30 KDa. Amino acids characterization test conducted indicate that there are excess amino acids concentration in apoptin as the cause of increasing molecular weight detection by SDS-PAGE.