

## Analisis genetik dan pengklonaan gen nonstruktural 3 dengue virus serotype 4 ke dalam plasmid umvc4-a sebagai kandidat vaksin DNA = Genetic analysis and cloning of nonstructural 3 dengue virus serotype 4 into plasmid umvc4-a as a candidate DNA vaccine

Linlin Haeni, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20404338&lokasi=lokal>

---

### Abstrak

#### <b> ABSTRAK </b><br>

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) are viral diseases transmitted by mosquito vector spreads fastest in the world. Cause of dengue fever are RNA virus family Flaviviridae called dengue virus (DENV). DENV genome encodes three structural proteins, capsid (C), membrane proteins (prM), envelope protein (E) and seven nonstuktural protein NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4B, and NS5. NS3 protein contains many epitopes that can be recognized by the humoral and cellular immune system. Therefore NS3 protein is a potential target for development of dengue vaccines. This study begins by sequencing NS3 gene DENV-4 IDS 96/10. Phylogenetic analysis and epitope analysis were done from the result of sequencing.

Phylogenetic analysis showed IDS 96/10 are in one clade with strains isolated rom China (2010), Singapore (2010) and Thailand (2000). NS3 gene DENV-4 IDS 96/10 contained epitopes recognized by CD4+ T cell that is epitope # 3 on the position of amino acids (213-227), # 9A (243-257), # 4 (251-265), # 5 (258-272), # 6 (266-280), # 7 (273-287) which has the same amino acid sequence comparison between strains. At position # 8 epitope (281-295) there are variation of amino acid sequence . Amino acids at positions 500-508 is recognized by CD8 + lymphocytes have the same sequence between strains were compared, and the amino acids at positions 526-531 which recognised by has the same amino acid sequence comparison between strains. Recognition of these epitopes by T lymphocytes and B lymphocytes can be the basis for the development of vaccines, especially vaccines for the Indonesian strain. Cloning of NS3 gene IDS 96/10 were done by using 3 strategies, digestion sticky end of vector and insert, digestion blunt end of vector and digestion blunt end vector then didefosforilation using CIAP. Three of these strategies have not been able to produce a recombinant plasmid pUMVD-4aNS3. Further optimization needs to be done to obtain clones containing the recombinant plasmid.

<hr>

#### <b>ABSTRACT</b><br>

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan virus dengan vektor nyamuk yang paling cepat menyebar di dunia

Genom DENV terdiri dari tiga protein struktural yaitu capsid (C), protein membran (prM), dan protein envelop (E) serta tujuh gen protein nonstuktural yaitu NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b dan NS5. Protein NS3 mengandung epitop yang dapat dikenali oleh sistem imun humoral maupun selular. Oleh karena itu, protein NS3 merupakan target potensial bagi pengembangan vaksin dengue. Penelitian ini diawali dengan sekuensing pada gen NS3 DENV-4 IDS 96/10. Dari hasil sekuensing dilakukan analisis filogenetik dan analisis epitop. Analisis filogenetik menunjukkan gen NS3 IDS 96 /10 berada dalam satu clade dengan strain yang diisolasi dari Cina (2010), Singapore (2010) dan Thailand (2000). Pada gen NS3 DENV-4 IDS

96/10 terdapat epitop yang dapat dikenali oleh sel limfosit T CD4+ yaitu epitop #3 pada posisi asam amino (213-227) , #9A (243-257), #4 (251-265), #5 (258-272), # 6 (266-280), #7 (273-287) yang mempunyai urutan asam amino sama antar strain yang dibandingkan. Pada posisi epitop #8 (281-295) terdapat variasi urutan asam amino. Asam amino pada posisi CD8+ mempunyai urutan yang sama antar strain yang dibandingkan,

dan asam amino pada posisi 526-531 yang dikenali oleh limfosit B mempunyai urutan asam amino yang sama antar strain yang dibandingkan. Pengenalan epitop- epitop tersebut oleh limfosit T dan limfosit B menjadi dasar pengembangan vaksin khususnya vaksin yang khusus untuk strain Indonesia. Dilakukan pengklonaan gen NS3 IDS 96/10 dengan menggunakan 3 strategi, yaitu dengan digesti vektor dan insert dengan ujung sticky end, digesti vektor dengan ujung blunt end dan digesti vektor dengan ujung blunt end kemudian didefosforilasi menggunakan metode CIAP. Dengan ketiga strategi tersebut belum dapat menghasilkan plasmid rekombinan pUMVD-4aNS3. Perlu dilakukan optimasi lebih lanjut untuk mendapatkan klon yang berisi plasmid rekombinan.

Demam Berdarah Dengue (DBD)

. Penyebab DBD adalah

virus RNA famili flaviviridae yang disebut virus dengue (DENV).

500-508 dikenali oleh sel

limfosit TCD8+ mempunyai urutan yang sama antar strain yang dibandingkan,

dan asam amino pada posisi 526-531 yang dikenali oleh limfosit B mempunyai urutan asam amino yang sama antar strain yang dibandingkan. Pengenalan epitop- epitop tersebut oleh limfosit T dan limfosit B menjadi dasar pengembangan vaksin khususnya vaksin yang khusus untuk strain Indonesia. Dilakukan pengklonaan gen NS3 IDS 96/10 dengan menggunakan 3 strategi, yaitu dengan digesti vektor dan insert dengan ujung sticky end, digesti vektor dengan ujung blunt end dan digesti vektor dengan ujung blunt end kemudian didefosforilasi menggunakan metode CIAP. Dengan ketiga strategi tersebut belum dapat menghasilkan plasmid rekombinan pUMVD-4aNS3. Perlu dilakukan optimasi lebih lanjut untuk mendapatkan klon yang berisi plasmid rekombinan.