

Modifikasi dan optimasi kodon apoptin chicken anemia virus untuk ekspresi dalam inang escherichia coli = Modification and codon optimization of chicken anemia virus apoptin for expression in host escherichia coli

Mohamad Teguh Gumelar, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20411294&lokasi=lokal>

Abstrak

Menurut data statistik WHO, kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia, dengan 8,2 juta kematian dari 14 juta kasus kanker terhitung di tahun 2012. Lebih spesifik untuk wilayah Asia Tenggara, WHO mencatat 1,72 juta kasus dengan 1,17 juta kematian. Apoptin banyak diteliti sebagai protein dengan potensi terapi kanker, karena memiliki kemampuan menginduksi apoptosis di sel kanker secara spesifik. Potensi apoptin mendorong penelitian untuk apoptin dengan kemampuan penetrasi baik dan produksi dalam skala lebih besar. Dalam penelitian ini, telah dilakukan modifikasi apoptin dari chicken anemia virus dengan menggunakan affinity tag (His)₆, tag (Arg)₈ untuk peningkatan penetrasi dan (HlyA) untuk sekresi apoptin keluar dari sel inang Escherichia coli ke media pertumbuhan sel secara genetik. Penambahan affinity tag (His)₆ memungkinkan apoptin dipurifikasi dalam 1 langkah menggunakan kolom kromatografi nikel. Pelepasan (His)₆ dan HlyA tag dirancang untuk dilakukan dengan menggunakan situs proteolitik thrombin. Protein diekspresikan dalam sel Escherichia coli strain BL21 pLysS, dan BL21 CodonPlus pada suhu 37°C dan 28°C. Analisis dilakukan dengan SDS PAGE memberikan hasil bahwa protein terekspresi dengan ukuran antara 20-25 kDa. Konfirmasi protein dilakukan dengan purifikasi kromatografi afinitas Nikel.

.....

Based on WHO statistica data, cancer is one of the deadliest disease in the world, with 8,2 millions of deaths out of 14 million of cases in 2012. More specifically in South East Asia, WHO data showed 1,72 million of cases with 1,17 million of deaths. Apoptin intensively studied for its potential as a therapeutic protein for cancer treatment, since it able to induce apoptosis in cancer cells specifically. The apoptin potential drives researcher to produce apoptin in larger scale. In this research, chicken anemia virus apoptin have been modified by adding (His)₆ tag, (Arg)₈ tag and HlyA tag for purification, penetration and secretion from Escherichia coli to the growth media proposed. The addition of (His)₆ tag enable apoptin to be purified in 1 step using nickel chromatography column. Removal of (His)₆ tag and HlyA tag designed using specific thrombin proteolytic site. Protein expressed in Escherichia coli strain BL21 pLysS, and BL21 CodonPlus in temperature of 37°C and 28°C. Analysis done by SDS PAGE shows that the protein expressed with size between 20-25 kDa. Further confirmation done by Nickel affinity chromatography.