

Optimasi ekspresi dan pemurnian apoptin chicken anemia virus termodifikasi dalam produksi native apoptin = Optimization in expression and purification of modified apoptin chicken anemia virus in production of native apoptin

Anggoro Wiseso, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20429516&lokasi=lokal>

Abstrak

Kanker merupakan gangguan kesehatan yang menjadi sebuah masalah besar di dunia. Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Apoptin diketahui memiliki kemampuan untuk memicu apoptosis di sel kanker secara in vitro maupun in vivo, tetapi tidak pada sel normal. Apoptin merupakan protein dari Chicken Anemia Virus (CAV) yang pertama kali diperkenalkan di Jepang pada 1974. Produksi Apoptin dapat dilakukan pada inang *Escherichia coli* dengan memindahkan gen Apoptin melalui vektor plasmid pET9a. Gen Apoptin yang digunakan telah dimodifikasi untuk meningkatkan efisiensi dan kemudahan dalam proses purifikasinya dengan penambahan beberapa tag dan situs pemotongan Thrombin.

Purifikasi dilakukan menggunakan kromatografi afinitas ion logam (IMAC) nikel. Apoptin termodifikasi dengan HlyA-tag, (His)6-tag, (Arg)8-tag dan situs proteolitik thrombin berhasil diekspresikan dan dipurifikasi di dalam *E. coli* DH5 dan BL21 dengan analisis SDS-PAGE. Optimasi ekspresi dilakukan dengan variasi strain *E. coli* membuktikan BL21 Codon Plus merupakan inang paling baik, konsentrasi IPTG lebih optimal pada 1 mM dibandingkan 0.4 mM, dan pengaruh suhu antara 28o dan 37o tidak signifikan. Binding Buffer dan Elution Buffer, paling baik dilakukan dengan komposisi: 20 mM sodium phosphate, 500 mM NaCl, dan 40 mM (binding) / 500 mM (elution) imidazole, pada pH 7.4.

.....

Cancer is a health problem that is becoming a big problem in the world. Cancer is a disease caused by abnormal growth of tissue cells of the body that turn into cancer cells. Apoptin known to have the ability to trigger apoptosis in cancer cells in vitro and in vivo, but not in normal cells. Apoptin is a protein of Chicken Anemia Virus (CAV), which was first introduced in Japan in 1974. The production of Apoptin can be performed on the host *Escherichia coli* with gene transfer vector plasmid pET9a. Apoptin gene used has been modified to improve the efficiency and ease of purification process with the addition of a few tags and Thrombin proteolytic site.

Purification is done using ionic metal affinity chromatography (IMAC) nickel. Apoptin modified with HlyA-tag, (His)6-tag, (Arg)8-tag and thrombin proteolytic sites has been expressed and purified in *E. coli* DH5 and BL21 by SDS-PAGE analysis. Optimization conducted with several variation, expression in *E. coli* strain BL21 Codon Plus proved most optimum host, IPTG concentration at 1 mM given better expression than 0.4 mM, and the effect of temperature between 28o and 37o are insignificant. Binding buffer and the elution buffer, is best done with the composition: 20 mM sodium phosphate, 500 mM NaCl, and 40 mM (binding) or 500 mM (elution) imidazole in pH 7.4.