

Deteksi gen PIK3CA ekson 9 pada kanker payudara dengan metode PCR standar dan nested PCR = Detection of exon 9 PIK3CA gene in breast cancer with standard PCR and nested PCR methods

Dina Athariah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20444585&lokasi=lokal>

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk deteksi gen PIK3CA ekson 9 dengan pendekatan dua metode PCR dan membandingkan dua metode tersebut, agar menghindari deteksi positif palsu akibat keberadaan pseudogene pada kanker payudara. Sepuluh DNA genomik digunakan pada penelitian ini. Dua pasang primer digunakan untuk metode PCR standar dan Nested PCR untuk deteksi gen PIK3CA ekson 9 dengan ukuran produk PCR adalah 200 bp dan 400 bp diikuti dengan metode DNA sequencing. Optimasi dilakukan untuk menentukan suhu annealing PCR standard dan Nested PCR, serta jumlah siklus yang digunakan pada 1st nested PCR 15 siklus dan 25 siklus.

Hasil penelitian menunjukkan PCR standar set primer I dan II bekerja dengan suhu annealing optimum 60,7oC, diinterferensi oleh pseudogene dengan tingkat spesifisitas untuk masing-masingnya sebesar 20 dan 30. Nested PCR dengan kondisi optimum suhu annealing untuk pertama 55oC, suhu annealing kedua 60,7oC dengan 15x siklus PCR berhasil 100 dapat mendeteksi gen PIK3CA. Sampel mengandung satu mutasi substitusi pada basa 545 ekson 9, mengindikasikan perubahan asam amino dari asam glutamat E ke lisin K. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pseudogene terdapat pada kanker payudara. Metode Nested PCR spesifik digunakan untuk studi genotyping gen PIK3CA ekson 9.

.....

The aim of study is to detect of exon 9 PIK3CA gene with two PCR methods approach and comparing two methods, to avoid detection of false positives effect pseudogene exist in breast cancer. Ten genomics DNA were used in this experiment. Two pairs of primer Standard PCR and Nested PCR method used to detection of exon 9 PIK3CA genes with the size of PCR products is 200 bp and 400 bp followed with DNA sequencing method. Optimization was done to determine of annealing temperature of Standard PCR and Nested PCR, as well as the number of cycles used in the 1st nested PCR 15 cycles and 25 cycles.

The result of research was standard PCR using each primer pairs I and II with optimum annealing temperature 60,7oC, had interference by pseudogene with the degree of specificity for each them was 20 and 30. Nested PCR with optimum condition annealing temperature for the first round at 55oC, annealing temperature for the second round at 60,7oC with 15x PCR cycles 100 succeed to detect the true PIK3CA gene. Samples contain one substitution mutation at position 545 of exon 9, indicating amino acid changing from glutamate acid E to lysin K. The result was, pseudogene also exists in breast cancer. Nested PCR methods specifically used for genotyping studies exon 9 of PIK3CA gene.