

Pengembangan seed vaksin tuberculosis: konstruksi vaksin dna resuscitation-promoting factor d rpfD serta analisis respon imun humoral dan seluler pada mencit balb/c = The development of tuberculosis vaccine seed construction of resuscitation promoting factor d rpfD dna vaccine and analysis of humoral and cellular immune responses in balb c mice

Aprilia Rakhmawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20456082&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Vaksin baru sangat dibutuhkan untuk mengendalikan tuberculosis TB . Protein yang disekresikan oleh M.tuberculosis diketahui dapat menginduksi kekebalan protektif. Pada genom M.tuberculosis terdapat protein yang berperan dalam reaktivasi M.tuberculosis, protein tersebut bernama resuscitation promoting factor Rpf . RpfD merupakan salah satu dari keluarga Rpf yang telah terbukti imunogenik sehingga membuat RpfD cocok untuk digunakan sebagai vaksin TB. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkonstruksi vaksin DNA yang menyandi gen rpfD dan menginvestigasi imunogenisitas vaksin tersebut pada mencit. Gen rpfD M.tuberculosis diamplifikasi menggunakan teknik PCR. Gen rpfD dan plasmid pcDNA3.1 kemudian dipotong dengan enzim restriksi EcoRI dan HindIII kemudian diligasi dan ditransformasikan ke E.coli DH5?. Plasmid rekombinan pcDNA3.1-rpfD yang telah diuji kebenaran urutan asam amino dan orientasinya ditransfeksikan ke dalam sel CHO-K1. Selanjutnya, mencit Balb/c diimunisasi setiap dua minggu sekali secara intramuskular dengan pcDNA3.1-rpfD. Antibodi spesifik yang terdapat di serum mencit dideteksi dengan Western Blot. ELISA digunakan untuk mengukur tingkat IL-12, IFN- γ , IL-4, dan IL-10. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah terdeteksi antibodi yang spesifik terhadap pcDNA3.1-rpfD. Selain itu, vaksin DNA ini juga dapat menginduksi produksi IL-12 dan IFN- γ tetapi tidak pada IL-4 dan IL-10.

<hr>

ABSTRACT

Novel vaccines are needed to control tuberculosis TB . Proteins secreted by M.tuberculosis are known to induce the protective immunity. In the M.tuberculosis genome, there is protein for which a possible role in reactivation of M.tuberculosis, this protein called resuscitation promoting factor Rpf . RpfD is one of the Rpfs family which proved to be immunogenic as make it suitable to be used as TB vaccine. The aim of this study was to construct the DNA vaccine encoding rpfD gene and to investigate its immunogenicity in mice. The rpfD gene of M.tuberculosis was amplified using PCR techniques. The rpfD gene and pcDNA3.1 plasmid are then digested with restriction enzymes EcoRI and HindIII then ligated and transformed to E.coli DH5 . The recombinant plasmid pcDNA3.1 rpfD that has been tested the sequences and its orientation is transfected into CHO K1 cells. Furthermore, Balb c mice were immunized every two weeks intramuscularly with pcDNA3.1 rpfD. The specific antibodies in the serum detected by Western Blot. ELISA was applied to determine the levels of IL 12, IFN γ , IL 4, and IL 10. The result showed that the specific antibody was detected in the serum mice. Besides that, DNA vaccine can induce IL 12 and IFN γ but not in IL 4 and IL 10 production.