

Analysis of Recombinant VP22-OCT4 Fusion Protein Subcellular Location in HepG2 Cell Culture = Analisis Fusi Protein Rekombinan VP22-OCT4 pada Lokasi Subselular di Kultur Sel HepG2

Felix Lee, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20465401&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Saat ini terdapat banyak sekali studi yang sedang berjalan tentang sel punca pluripoten dan potensinya untuk menjadi terapi regeneratif pada masa yang akan datang. Sampai sekarang, sel punca embrionik adalah satu-satunya sumber untuk sel punca pluripoten yang telah dipelajari dengan baik. Akan tetapi, banyak sekali tantangan untuk memakai sel punca embrionik ini seperti masalah etik dan penolakan sistem imun tubuh. Belakangan ini, banyak sekali studi yang sedang berjalan dalam menginvestigasi cara baru dalam pemograman ulang reprogramming sel manusia untuk menjadi induced pluripotent stem cell iPSC . OCT4 Octamer-binding faktor transkripsi 4 adalah salah satu protein krusial yang bertanggung jawab atas pembaharuan self-renewal sel punca embrionik. Maka dari itu, studi ini bertujuan untuk menginvestigasi kemampuan OCT4, dengan bantuan VP22 viral protein , untuk dilokalisasi ke dalam sel manusia dewasa HepG2 , yang akhirnya dapat membuat pemograman ulang sel HepG2 menjadi iPSC. Pada penelitian ini, sel HepG2 diinkubasi dengan protein fusi rekombinan VP22-OCT4 selama 1 jam dan 6 jam. Kemudian, proses indirect immunofluorescence staining dilaksanakan yang mencakup inkubasi dengan mouse monoklonal IgG antibodi primer terhadap OCT4 Ab1 dan dilanjutkan dengan goat anti-mouse IgG antibodi sekunder, FITC konjugat Ab2 . Pengamatan dengan mikroskop confocal dilaksanakan untuk melihat adanya imunofluoresen. Pada hasil yang diperoleh, terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok eksperimen untuk kedua periode inkubasi $p=0.005$ untuk 1 jam dan $p=0,000$ untuk 6 jam , serta perbedaan bermakna juga terjadi antara kelompok sel HepG2 dengan VP22-OCT4 diinkubasi selama 1 jam dan 6 jam $p=0,044$. Untuk menyimpulkan hasil tersebut, protein rekombinan VP22-OCT4 dapat dilokalisasi ke dalam sel HepG2 dalam waktu inkubasi selama 1 jam dan 6 jam.

<hr>

ABSTRACT

There are many studies ongoing about the remarkable potential of pluripotent stem cell as the future regenerative therapy. Embryonic stem cell is the only source that has been studied well for it. However, many constraints arise regarding this matter like ethical problems and risk of cell transplantation rejection. Recently, there are many research undergone in exploring new approach through reprogramming somatic cell to become induced pluripotent stem cell iPSC . OCT4 Octamer binding transcription factor 4 is one of the proteins that is responsible for the self renewal of embryonic stem cell. Therefore, this study aimed to investigate the ability of OCT4 transcription factor, with the help of VP22 viral protein , to be localized into adult somatic cells HepG2 , which in turn could reprogram it into iPSC. In this study, HepG2 cells are isolated with VP22 OCT4 recombinant fusion protein for 1 hour and 6 hours, which then followed by isolating with mouse monoclonal IgG primary antibody against OCT4 Ab1 and goat anti mouse IgG secondary antibody, FITC conjugate Ab2 respectively for the indirect immunofluorescence staining function. Confocal microscope is utilized to observe the presence of immunofluorescence. The result of the

experiment showed a significant difference between the control and the experimental groups for both incubation period p 0.005 for 1 hour and p 0.000 for 6 hours . Moreover, there is also a significance difference between the group of HepG2 cells with VP22 OCT4 incubated for 1 hour and 6 hours p 0.044 . In conclusion, VP22 OCT4 recombinant protein can be translocated inside the HepG2 cells under 1 hour and 6 hours of incubation periods.