

Ekspresi dan karakterisasi protein E6 human papillomavirus (HPV) tipe 16 rekombinan yang diekspresikan pada escherichia coli BL21-codonPlus (DE3) = Expression and characterization of E6 human papillomavirus (HPV) type 16 recombinant protein which escherichia coli BL21-codonPlus (DE3)

Fani Suciyani, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20466471&lokasi=lokal>

Abstrak

Masih tingginya penderita kanker serviks dan keterbatasan vaksin profilaktik yang tidak memiliki efek terapeutik mendorong dikembangkannya vaksin Human Papillomavirus HPV yang bersifat terapeutik. Salah satu protein Human Papillomavirus HPV yang berpotensi sebagai vaksin terapeutik yaitu protein E6. Protein E6 yang bersifat alamiah diperlukan sebagai kontrol dalam uji keamanan vaksin. Studi ini bertujuan untuk mengekspresikan gen E6 yang sebelumnya telah diklona pada vektor pGEX-6P-1. Verifikasi plasmid rekombinan E6 dilakukan dengan elektroforesis gel agarosa, double digest, dan sekuensing. Ekspresi protein dilakukan pada sistem ekspresi prokariota yaitu Escherichia coli BL21-CodonPlus DE3. Ekspresi protein dilakukan pada suhu 37 C dan diinduksi IPTG dengan konsentrasi akhir 0,2 mM, 0,4 mM, dan 1 mM. Protein yang telah diperoleh divisualisasi dengan SDS-PAGE 12 dan dikarakterisasi dengan western blot. Analisis menggunakan perangkat lunak genscript menunjukkan bahwa ekspresi protein E6 memiliki laju ekspresi yang rendah dengan nilai Codon Adaptation Index CAI 0,57, kandungan GC 38,56, dan Codon Frequency Distribution CFD 20 . Keberadaan protein E6 dideteksi dengan western blot menggunakan antibodi poliklonal dan hasil western blot menunjukkan adanya protein E6 berukuran 44 kDa.

<hr>

The high prevalence of cervical cancer and the limited prophylactic vaccine that does not have a therapeutic effect encourage the development of the therapeutic Human Papillomavirus HPV vaccine. One of the proteins of Human Papillomavirus HPV which is potential as a therapeutic vaccine is E6 protein. A natural E6 protein is required as a control in vaccine safety testing. This study aims to express the previously cloned E6 gene in the pGEX 6P 1 vector. Verification of recombinant plasmid E6 was performed with agarose gel electrophoresis, double digest, and sequencing. Protein expression was performed on the prokaryotic expression system Escherichia coli BL21 CodonPlus DE3. Protein expression was performed at 37 C and induced with IPTG with a final concentration of 0.2 mM, 0.4 mM, and 1 mM and was characterized by western blot. The obtained protein was visualized with SDS PAGE 12. Analysis using genscript software showed that E6 protein expression had low expression rate with Codon Adaptation Index CAI 0,57, GC content 38,56, and Codon Frequency Distribution CFD 20. The presence of E6 protein was detected by western blot using polyclonal antibody and the western blot result indicated the presence of E6 protein at 44 kDa.