

Pengklonaan Gen pengeksresi Protein Tat dan Rev Human Immuno Deficiency Virus-1 (HIV-1) Subtipe B, C, CRF01_AE, dan CRF02_AG ke dalam Vektor Plasmid pTriex-4 = Cloning of Gene for Expression of HIV-1 Subtype B, C, CRF01_AE and CRF02_AG Tat and Rev into Plasmid Vector pTriEx-4

Faudina Nurilla Fitra, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20466765&lokasi=lokal>

Abstrak

Infeksi HIV-1 merupakan salah satu permasalahan kesehatan di Indonesia yang perlu diteliti untuk mendapatkan strategi intervensi yang sesuai dengan galur virus yang bersirkulasi di Indonesia. Untuk pengembangan kultur galur HIV Indonesia, diperlukan antibodi spesifik terhadap protein awal HIV-1 yaitu Tat dan Rev sebagai marka infeksi HIV pada sel yang terinfeksi HIV-1. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan plasmid pengeksresi bagian immunodominant protein fusi Tat dan Rev pada sistem ekspresi mamalia agar dapat dimanfaatkan untuk menginduksi pembentukan antibodi spesifik pada hewan coba mamalia. Susunan DNA penyandi protein fusi Tat dan Rev didapat dengan melakukan analisis optimasi kodon penyandi susunan asam amino protein fusi menggunakan piranti lunak GenScript, untuk mendapatkan nilai Codon Adaptation Index CAI > 0.80 pada sistem ekspresi mamalia. Susunan nukleotida yang diperoleh kemudian diberikan tambahan susunan nukleotida situs restriksi pada bagian 5' dan 3' untuk memudahkan pengklonaan ke dalam vektor ekspresi dan dipesan ke penyedia jasa sintesis asam nukleat. Potongan DNA sisipan TatRev, penyandi protein fusi TatdanRev diperoleh dari penyedia jasa sintesis dalam bentuk terklona dalam plasmid pUC19. Agar dapat terekspresi dalam sistem ekspresi mamalia, DNA sisipan dipotong dengan enzim restriksi KpnI dan HindIII dari plasmid pUC19 dan disubklona ke dalam situs restriksi KpnI dan HindIII pada plasmid pTriEx-4. Analisis restriksi enzim Kpn I dan Hind III plasmid rekombinan yang diperoleh dengan elektroforesis jel agarosa menunjukkan adanya dua pita yang bermigrasi sesuai ukuran plasmid pTriEx-4 dan DNA sisipan TatRev, yaitu sebesar 5000 pb dan 600 pb.

<hr>

HIV 1 infection is one of the health problems in Indonesia that is necessary to be studied in order to obtain intervention strategies that is in accordance with the circulating viral strains in Indonesia. In order to develop culture of Indonesian HIV strains, specific antibodies towards early proteins of HIV, namely Tat and Rev, that are markers of HIV infection in HIV 1 infected cells. This study is aimed at obtaining a plasmid for expression of immunodominant region of Tat and Rev fusion protein in mammalian expression system to be used for stimulation of specific antibody formation in mammals as experimental animal. Nucleotide sequence of DNA encoding the Tat and Rev fusion protein was obtained by codon optimization analysis of the amino acid sequence of the fusion protein using the GenScript software, to obtain a Codon Adaptation Index CAI 0.80 for mammalian expression system. The nucleotide sequence that is obtained was then added with recognition sequences for enzymatic restriction at the 5' and 3' end to facilitate cloning into expression vector, and requested to a service provider for nucleic acid synthesis. The TatRev insert DNA, encoding the fusion protein of Tat and Rev was obtained from the nucleic acid synthesis service provider in the formed of cloned DNA in the plasmid pUC19. For expression in mammalian expression

system, the insert DNA was restricted using restriction enzymes KpnI and HindIII from the pUC19 plasmid and subcloned into the KpnI and HindIII restriction sites in plasmid pTriEx 4. Agarose gel electrophoresis analysis of KpnI and HindIII enzymatic restriction of the resulting recombinant plasmid showed the presence of two bands that migrated according to the sizes of the plasmid pTriEx 4 and the TatRev insert DNA, namely 5000 bp and 600 bp.