

Kloning gen rantai penyusun Fab anti-NS1 DENV-3 dari sel hibridoma 44F pada plasmid pGEM-T easy dalam escherichia coli TOP10 = Cloning gene composing chain of Fab Anti-NS1 DENV-3 from hybridoma cell 44F on plasmid pGEM-T easy in escherichia coli TOP10

Tanaya Subiantistha, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20484743&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRACT

Indonesia merupakan salah satu wilayah endemik dari penyakit demam berdarah dengue (DBD). Negara ini memiliki jumlah infeksi dengue yang tinggi, dan terus meningkat setiap tahunnya. Oleh karena itu, mulai dilakukan pengembangan diagnostik dengue untuk menekan angka kematian dari infeksi dengue tersebut. Pengembangan diagnostik dengue dilakukan untuk menghasilkan kit antibodi dengan harga terjangkau dan mudah dalam produksinya. Pengembangan tersebut dilakukan dengan mengkloning fragment antigen binding (Fab) rantai berat (HC) dan rantai ringan (LC) yang berasal dari sel hibridoma 44F. Sel hibridoma 44F diproduksi dengan induksi sel rekombinan CHO-K1 yang kemudian digunakan untuk menghasilkan anti-NS1 dari virus dengue 3 (DENV-3) yang berasal dari Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh Fab 44F HC dan LC yang telah teramplifikasi serta transforman Escherichia coli TOP10 yang mengandung Fab 44F HC dan LC. Kloning Fab 44F HC dan LC dilakukan dengan menggunakan pGEM-T Easy dan sel inang Escherichia coli TOP10 dengan teknik heat shock, kemudian Fab 44F HC dan LC diverifikasi dengan proses isolasi plasmid rekombinan, digesti plasmid rekombinan, PCR plasmid, dan sekuensing. Hasil dari kloning tersebut menunjukkan Fab 44F HC dan LC berhasil teramplifikasi dan terverifikasi dengan ukuran 650 bp dan transforman E. coli TOP10 mengandung 44F HC dan LC berhasil diperoleh. Berdasarkan hasil tersebut kloning gen rantai penyusun Fab 44F telah berhasil dilakukan dengan menggunakan plasmid pGEM-T Easy.

<hr>

ABSTRACT

Indonesia is one of the endemic areas of dengue hemorrhagic fever (DHF). It has a high number of dengue infections and continues to increase every year. Therefore, the development of dengue diagnostics had been started with the aim of reducing the mortality rate of dengue infections. Dengue diagnostic development is carried out to produce antibody kits at affordable prices and are easy to produce. The development was carried out by cloning heavy chain (HC) and light chain (LC) fragments of antigen derived from 44F hybridoma cell which was then used to produce anti-NS1 from dengue virus 3 (DENV-3) originating from Indonesia. This study aimed to obtain Fab 44F HC and LC that have been amplified and Escherichia coli TOP10 transformants containing Fab 44F HC and LC. Cloning of Fab 44F HC and LC was performed using pGEM-T Easy and host cells of E. coli TOP10 with heat shock technique. Furthermore, Fab 44F HC and LC were verified by recombinant plasmid isoation, recombinant plasmid digestion, plasmid PCR, and sequencing. The results of the cloning showed Fab 44F HC and LC were successfully amplified and verified with a size of 650 bp and the E. coli TOP10 transformants containing 44F HC and LC were successfully obtained. Based on these results, the cloning of gene composing Fab chain was successfully

carried out using pGEM-T Easy plasmid.