

Kloning gen rantai penyusun fab anti-NS1 virus dengue dari sel hibridoma A6 pada vektor pTA2 dalam escherichia coli TOP10 = Cloning of chain gene composing anti-NS1 fab dengue virus from hybridoma A6 cell in pTA2 vector in escherichia coli TOP10

Sarah Adinda Puteri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20484965&lokasi=lokal>

Abstrak

Sebagai satu negara dengan aktivitas transmisi virus dengue (DENV) yang tinggi, Indonesia tercatat memiliki angka kematian (CFR) akibat infeksi DENV yang besar. Besarnya CFR dapat diatasi dengan pendeteksian dini menggunakan kit diagnostik yang pada umumnya berupa antibodi monoklonal. Akan tetapi, kit diagnostik yang berbasis antibodi monoklonal memiliki biaya produksi yang mahal, sehingga dibutuhkan alternatif lain yang lebih murah. Kit diagnostik yang berbasis antibodi rekombinan dapat dijadikan alternatif pendeteksi dini infeksi DENV. Penelitian ini bertujuan untuk memperbanyak gen rantai berat (heavy chain) dan rantai ringan (light chain) penyusun antibodi rekombinan dalam bentuk fragmen pengikat antigen (Fab) yang mampu mendeteksi protein NS1. Penelitian yang dilakukan mencakup proses sintesis cDNA dari RNA total, amplifikasi gen heavy chain dan light chain dari cDNA menggunakan metode PCR, serta kloning kedua gen tersebut ke dalam vektor kloning pTA2 menggunakan metode heat-shock. Produk PCR gen heavy chain dan light chain menghasilkan pita dengan ukuran bervariasi, yang salah satunya merupakan pita pada ukuran yang diharapkan. Sebanyak 14 koloni transforman hasil kloning masing-masing gen berhasil terseleksi dan terisolasi dari medium yang mengandung 75 µg/µl ampisilin. Hasil analisis tahap verifikasi hasil kloning menunjukkan gen heavy chain dan light chain hanya terintegrasi parsial (± 400 bp) pada vektor pTA2 dalam Escherichia coli TOP10.

As one of the countries with high dengue virus (DENV) transmission activity, Indonesia recorded has a large fatality rate (CFR) due to DENV infection. This can be reduced through early detection of the dengue using a diagnostic kit which is generally a monoclonal antibody. However, the diagnostic kits based on monoclonal antibodies have expensive production costs, so other cheaper alternatives are needed. Therefore, this study aims to multiply heavy chain and light chains genes in the form of fragmen antigen binding (Fab) recombinant antibodies capable of detecting NS1. This study involved the synthesis of cDNA from total RNA, the amplification of heavy chain and light chain genes from cDNA using the PCR method, and cloning these two genes into pTA2 vector cloning using heat-shock method. Heavy chain and light chain PCR products produce bands at various sizes, but a band at correct size was discovered. A total of 14 transformed colonies were successfully selected and isolated from a medium containing 75 µg/µl ampicillin. The results of the verification stage of cloning results showed that the heavy chain and light chain genes were partially integrated (± 400 bp) into the pTA2 vector in Escherichia coli TOP10.