

Transfeksi Gen Proinsulin Rekombinan Menggunakan Lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) pada Galur Sel Mamalia CHO-K1 = Recombinant Proinsulin Transfection utilizing Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) Lipopeptide in Mammalian Cell Line CHO-K1

Putra Mahanaim Tampubolon, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20502425&lokasi=lokal>

Abstrak

Transfeksi merupakan proses memasukkan materi genetik ke dalam sel mamalia, yang umumnya digunakan untuk keperluan terapi gen dan produksi obat-obatan berbahan biologis (biologics) dari kultur sel mamalia. Pengantaran materi genetik melalui senyawa lipid (lipofeksi) merupakan metode transfeksi paling diminati karena sifatnya yang tidak toksik, mudah digunakan, terjangkau, dan memiliki nilai efisiensi transfeksi yang baik. Lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) merupakan agen lipofeksi hasil pengembangan Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) yang diharapkan mampu menjadi kompetitor agen lipofeksi komersial yang sudah ada di pasar, akan tetapi kemampuannya dalam menginduksi produk biologis pada galur sel mamalia Chinese Hamster Ovary K1 (CHO-K1) belum terkarakterisasi dengan baik. Berkenaan dengan itu, proinsulin merupakan produk biologis bernilai tinggi yang pengembangannya juga sedang dilakukan oleh BPPT. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan klon plasmid proinsulin rekombinan serta mendeteksi produksi proinsulin hasil transfeksi plasmid yang menggunakan lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) pada galur sel mamalia CHO-K1. Deteksi dilakukan melalui metode immunofluorescence assay (IFA) dan western blotting (WB). Hasil menunjukkan bahwa telah didapat 6 klon plasmid proinsulin rekombinan, dengan 1 klon terbukti fungsional karena mampu menginduksi ekspresi proinsulin dengan ukuran protein yang benar di dalam sel CHO-K1. Uji IFA dari hasil transfeksi yang menggunakan lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara nilai Corrected Cell Total Fluorescence (CTCF) sel pasca transfeksi proinsulin rekombinan dan sel pasca transfeksi plasmid non-rekombinan pEGFP-N1. Uji pasca transfeksi yang menggunakan lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) konsisten dengan pengujian IFA dan WB pasca transfeksi yang menggunakan agen lipofeksi komersial TurboFect™. Dapat disimpulkan bahwa protein proinsulin berhasil diekspresikan pasca transfeksi menggunakan lipopeptida Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) pada galur sel mamalia CHO-K1.

.....The process of introducing genetic materials into mammalian cells is known by transfection, which holds value in gene therapy and the production of biologics in mammalian cell culture. Among methods of transfection, deliverance through lipid particles or lipofection is the most favorable one because of several advantages. Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) is a novel lipofection agent developed by the Agency for the Assessment and Application of Technology (BPPT) to compete with its successor in the field of lipofection, but its capability of inducing the production of biologics in CHO-K1 mammalian cell line was not characterized well. In the meantime, the same agency has been working on recombinant proinsulin, a highly valued biological product. The aims of this research are first to obtain clones of recombinant proinsulin and second to detect the presence of proinsulin in CHO-K1 cells post-transfected with recombinant proinsulin using Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS) lipopeptide. Protein detection is done through immunofluorescence assay (IFA) and western blotting (WB). Six plasmid clones of recombinant proinsulin have been obtained,

with one clone proved to be functional in expressing proinsulin with the correct size in CHO-K1 cells. Immunofluorescence assay of lipopeptide transfection results shows that there is a significant difference of Corrected Total Cell Fluorescence (CTCF) between cells post-transfected with recombinant proinsulin and cells post-transfected with non-recombinant plasmid pEGFP-N1. The result is consistent with previous IFA and WB testing of cells post-transfected with recombinant proinsulin using commercial lipofection agent TurboFect™. Therefore, proinsulin has been successfully expressed in CHO-K1 cells post-transfected with recombinant proinsulin using Pal-CK2H2-Tat(NLS)-TL(NLS).