

Kloning dan ekspresi gen Envelope 2 (E2) virus chikungunya menggunakan vektor pPICZaA pada *Pichia pastoris* = Cloning and expression of chikungunya virus Envelope 2 (E2) gene using pPICZaA as a vector in *Pichia pastoris*

Farah Shabihah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20510568&lokasi=lokal>

Abstrak

Chikungunya merupakan penyakit menular yang bersifat re-emerging atau penyakit lama yang dapat tersebar kembali. Penyakit yang disebabkan virus chikungunya ini memiliki manifestasi klinis non-spesifik sehingga dibutuhkan metode diagnosis yang cepat dan akurat. Protein E2 yang dikode oleh gen E2 pada virus chikungunya berperan penting sebagai pengikatan reseptor sehingga berpotensi untuk digunakan dalam proses diagnosis penyakit chikungunya. Penelitian ini bertujuan menghasilkan protein rekombinan E2 sebagai bahan dasar produksi antibodi monoklonal yang akan digunakan dalam pengembangan perangkat diagnostik penyakit chikungunya. Metode penelitian yang dilakukan mencakup pembentukan plasmid rekombinan pPICZaA-E2, transformasi plasmid rekombinan pada sel inang *Escherichia coli*, analisis koloni transforman, transformasi plasmid rekombinan pada sel inang ekspresi *Pichia pastoris* X-33, analisis fenotipe, hingga ekspresi protein rekombinan E2. Hasil penelitian menunjukkan 281 koloni *E. coli* transforman pPICZaA-E2 dapat tumbuh pada medium yang mengandung antibiotik zeocin. Hasil analisis PCR koloni transforman menunjukkan gen E2 dengan ukuran 1.260 bp berhasil ditransformasikan ke sel inang *E. coli* menggunakan vektor pICZaA dengan ukuran 3.569 bp. Hasil analisis PCR genom berhasil mengamplifikasi gen AOX1 berukuran 2,2 kb dan 1,8 kb yang menunjukkan plasmid rekombinan berhasil terintegrasi pada genom *P. pastoris* dan menghasilkan fenotipe Mut⁺. Pita protein berukuran 40 kDa pada hasil SDS-PAGE menunjukkan protein E2 berhasil terekspresi.

Chikungunya is known as an infectious, re-emerging disease. Because of the non-specific clinical manifestation, chikungunya needs a rapid and accurate diagnostic method for its detection. Envelope 2 (E2) protein coded by E2 gene in the genome of the virus has an important role as an attachment receptor to a cell that made it potential to be used for diagnosis. This research is aimed to obtain E2 recombinant protein as a basic material for monoclonal antibody production in chikungunya rapid diagnostic test kit development. Chikungunya E2 gene is amplified and ligated with pPICZaA vector to make recombinant DNA clones from *E. coli*. The clones then isolated and used for protein expression in *P. pastoris*. The result shows 281 transformants of *E. coli* colonies can grow on a selection medium that contains zeocin. Analysis of direct colony PCR show E2 gene was transformed and cloned using pPICZaA vector. Analysis of genomic PCR shows 2,2 kb and 1,8 kb bands formed that indicate AOX1 gene was amplified and the integration of recombinant plasmid pPICZaA to *P. pastoris* genome was successful. Visualization of protein electrophoresis shows protein band was formed at the size of 40 kDa that indicate the protein expression was successful.