

Karakterisasi produk cDNA penyandi autoimmune infertility related (AIR) protein

Ana Lucia Ekowati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=75266&lokasi=lokal>

Abstrak

Ruang Lingkup dan Cara Penelitian: Antibodi antisperma (antisperm antibody, ASA) telah diketahui dapat menyebabkan infertilitas pada manusia. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan pada kelompok penelitian kami, telah diidentifikasi dua antigen sperma (BM 66 dan 88 kDa) yang bereaksi dengan ASA dalam serum pasien pria infertil EIS 07 dan diisolasi klon cDNA penyandi antigen tersebut [cDNA Autoimmune Infertility Related Protein (cDNA AIRP)]. cDNA AIRP ini merupakan cDNA yang "novel" dengan panjang 2,3 kb dan menyandi suatu protein dengan panjang 567 asam amino. Separuh ujung amino protein AIRP (AIRP N') ini bersifat hidrofilik, sehingga juga antigenik dan separuh ujung karboksi bersifat hidrofobik. Karakterisasi lebih lanjut dilakukan untuk menjelaskan fungsi protein tersebut pada proses fertilisasi dan hubungannya dengan infertilitas imunologis. Tujuan penelitian ini adalah: (1) membuktikan bahwa protein AIRP merupakan antigen sperma native yang dikenali oleh serum EIS 07 (2) memperoleh gambaran awal fungsi protein AIRP dengan menentukan lokasi protein tersebut pada sperma manusia.

Pada penelitian ini pertama-tama cDNA AIRP N' disubklon ke dalam vektor plasmid pGEX dan diekspresikan pada bakteri E.coli dalam bentuk protein fusi. Protein rekombinan dimurnikan dengan menggunakan kolom kromatografi glutation dan hasilnya dianalisa dengan SDS-PAGE. Antigenisitas protein rekombinan tersebut diuji dengan mereaksikannya dengan serum pasien infertil pada Western immunoblotting. Protein rekombinan tersebut kemudian disuntikkan ke mencit untuk membuat antibodi poliklonal yang selanjutnya dipakai sebagai pelacak pada analisa imunohistokimia untuk menentukan lokasi protein AIRP tersebut pada sperma manusia.

Hasil dan Kesimpulan : cDNA AIRP N' sepanjang 469 pb berhasil disubklon ke dalam plasmid pGEX-4T-3 dan diekspresikan dalam bentuk protein fusi dengan GST. Protein fusi GST-AIRP N' berhasil dipurifikasi namun peptida AIRP N' tidak dapat dipisahkan dari protein GST karena tidak stabil. Serum pasien infertil (EIS 07) yang telah digunakan sebagai pelacak untuk skrining cDNA AIRP bereaksi sangat kuat dengan protein GST-AIRP N' namun tidak bereaksi sama sekali dengan protein GST. Hasil tersebut menunjukkan bahwa serum EIS 07 hanya mengenali epitop AIRP N' pada protein GST-AIRP N'. Reaksi AIRP N' dengan EIS 07 bersifat sangat spesifik karena AIRP N' tidak dikenali oleh serum dari pasien infertil yang lain maupun serum kontrol yang berasal dari individu normal.

Hasil tersebut sesuai dengan beberapa laporan terdahulu bahwa infertilitas imunologis dapat melibatkan beberapa macam antigen dan antigen ini dapat berbeda pada setiap kasus. Dengan menggunakan teknik kompetisi pada Western blotting, dibuktikan bahwa reaksi serum EIS 07 dengan antigen sperma native dapat dihambat oleh protein GST-AIRP N', tetapi tidak oleh protein GST, secara dose dependent. Antibodi poliklonal terhadap peptida AIRP N' maupun serum EIS 07 bereaksi dengan antigen sperma manusia pada

bagian post acrosomial. Hasil imunohistokimia ini tidak hanya menunjukkan lokasi dari protein AIRP tetapi juga memprediksi fungsi protein ini yang mungkin berhubungan langsung dengan reaksi akrosom atau penetrasi dan fusi sperma ke dalam ovum.