

Apakah DNA ekstrakromosom sebesar 6 KB pada parasit malaria merupakan genom yang fungsional?

Cattleya S. Leksmono, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=80860&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Ruang Lingkup dan Cara Penelitian: Terdapat dua molekul DNA ekstrakromosom pada berbagai spesies Plasmodium: elemen DNA linier sebesar 6 kb dan elemen DNA sirkuler 35 kb. Elemen 6 kb pada *P. falciparum* dan *P. yoelii* telah lengkap disekuens dan dapat diidentifikasi 3 ORF yang menunjukkan homologi dengan gen *cyb*, *COI* dan *COAT* pada DNA mitokondria, tapi elemen ini tidak memiliki gen *tRNA* dan hanya memiliki (ragmen *rRNA*). Peran dan fungsi elemen DNA ekstrakromosom ini belum diketahui secara pasti dan sebagai langkah awal untuk mengetahui dan memahaminya adalah dengan membuktikan bahwa elemen 6kb ini diekspresi. Pendekatan yang dilakukan adalah berdasarkan pada penggunaan antibodi yang spesifik sebagai pelacak terhadap produk putatif gen *cyb* pada elemen 6 kb. Tujuan penelitian ini adalah: (1) mendesain peptida berdasarkan urutan asam amino dad produk putatif gen *apovitrom b* yang sesuai sebagai imunogen, (2) membuat antibodi anti-peptida yang spesifik dan (3) menggunakan antibodi anti-peptida sebagai pelacak untuk mencari produk gen dengan teknik western immunoblotting. Antibodi yang ideal harus dapat mengenali protein asli, karena itu peptida dibuat mewakili daerah unik dan mempunyai antigenisitas tinggi. Untuk menginduksi produksi antibodi, peptida sintetik yang telah dikonjugasi dengan protein pembawa disuntikkan pada kelinci. Titer antibodi terhadap peptida ditentukan dengan teknik ELISA Direk. Spesifisitas antibodi anti-peptida ditentukan dengan teknik ELISA Direk dan slot blot. Antibodi dengan spesifisitas tinggi digunakan sebagai pelacak untuk mencari produk putatif dengan teknik western immunoblotting. Hasil dan Kesimpulan: Berdasarkan beberapa kriteria dipilih dua daerah dari rangkaian asam amino yang diprediksi dari sekuens gen *cyb* pada elemen 6 kb, masing-masing mewakili ujung amino (terdiri dad 10 asam amino) dan karboksi (terdiri.dari 12 asam amino). Reaktivitas antiserum terhadap masing-masing konjugat memperlihatkan bahwa ujung karboksi lebih imunogenik jika dibandingkan dengan ujung amino. Hasil karakterisasi keempat antibodi anti-peptida menunjukkan hanya anti KLH-Cyb 365.376 mempunyai spesifisitas tinggi terhadap peptida, sehingga dipilih untuk digunakan dalam penelitian selanjutnya. Karakterisasi lebih lanjut dengan slot blot menunjukkan bahwa anti KLH-Cyb 365.376 bereaksi spesifik dengan protein *P. falciparum*.. Dengan teknik western immunobloifing memperlihatkan reaksi spesifik anti KLH-Cyb 365.376 dengan polipeptida yang mempunyai mobilitas elektroforetik 66-70 kDa.