Universitas Indonesia Library >> UI - Tesis Membership

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

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 Iangkah 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 apositokrom b yang sesuai sebagai imunogen, (2) membuat antibodi antipeptida yang spesifik dan (3) menggunakan antibodi antipeptida sebagai pelacak untuk mencari produk gen dengan teknik western immunoblofting. Antibodi yang ideal harus dapat mengenali protein asli, karena itu peptida dibuat mewakili daerah unik dam 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 antipeptida 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 Iebih imunogenik jika dibandingkan dengan ujung amino. Hasil karakterisasi keempat antibodi antipeptida 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.