

Expression of HIV-1 Recombinant Protein Pol ID2 in pQE-80L Plasmid of Escherichia coli for Development of HIV-1 Diagnostic System = Eksresi Rekombinan Protein HIV-1 POL ID2 Menggunakan Plasmid pQE-80L pada Escherichia coli untuk Pengembangan Sistem Diagnostic HIV-1

Made Ayu Gitagayatri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920516187&lokasi=lokal>

Abstrak

Protein pol termasuk dalam tiga gen signifikan yang mengkode protein struktural HIV-1. Namun, sebagian besar tes diagnostik HIV hanya melibatkan dua produk HIV yang signifikan yaitu, protein Env atau Gag, yang berarti bahwa sebagian besar tes diagnosa HIV dilakukan atau dikembangkan menggunakan antigen yang sama. Hal ini pada akhirnya dapat menghasilkan hasil positif palsu yang berulang jika ada antibodi yang bereaksi silang karena sebagian besar tes disiapkan hanya dengan antigen umum yang sama. Solusi untuk masalah ini adalah mengembangkan uji diagnostik alternatif yang berbeda menggunakan antigen utama lain, seperti protein Pol. Salah satu produk protein Pol, enzim Integrase, termasuk dalam salah satu protein imunogenik HIV, yang berarti dapat digunakan untuk meningkatkan spesifisitas tes diagnostik HIV. Menggunakan protein Pol Immunodominant 2 (Pol ID2), sebuah protein yang terdiri dari Integrase dan RNase H, yang sudah dikembangkan sebelumnya menggunakan subtype HIV-1 yang paling menonjol di Indonesia (HIV-1 CRF01_AR), penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pengetahuan tentang kondisi optimal untuk mengekspresikan protein rekombinan Pol ID2 dalam plasmid pQE-80L Escherichia coli (E. coli) dengan harapan dapat berkontribusi terhadap pengembangan dan peningkatan kemandirian tes diagnostik HIV-1 di Indonesia.

Metode: Penelitian ini dilakukan menggunakan metode desain studi eksperimental analitik. Dalam penelitian ini, protein rekombinan Pol Immunodominant 2 (ID2) dalam plasmid pQE-80L E. coli diekspresikan pada beberapa variabel media kultur, konsentrasi penginduksi, dan waktu induksi. Kultur ekspresi divisualisasikan menggunakan elektroforesis SDS PAGE dan didokumentasikan menggunakan mesin ImageQuant Las 4000. Meskipun tidak ada analisis statistik yang dilakukan, software analisis gel Image Lab 6.1 digunakan untuk menganalisis, mengukur, dan mendapatkan rasio kuantitas absolut dari konsentrasi protein pada setiap variabel.

Hasil: Protein rekombinan Pol ID2 yang diperoleh dari HIV-1 subtype CFR01_AE dapat diekspresikan secara optimal menggunakan media Terrific Broth dengan menggunakan 1mM Isopropil- beta-D-thiogalactopyranoside (IPTG) selama 3 jam induksi.

Kesimpulan: Dapat disimpulkan bahwa plasmid pQE80L-Pol ID2 yang sebelumnya sudah dikembangkan di laboratorium PRVKP FKUI-RSCM dapat mengekspresikan protein rekombinan Pol ID2 dari HIV-1 subtype CFR01_AR yang dikembangkan di bawah laboratorium yang sama. Protein dapat diekspresikan secara optimal dalam media kultur Terrific Broth menggunakan IPTG 1mM selama 3 jam induksi pada suhu 37oC.

.....Background: Pol protein is included in the three significant genes that encode a structural protein of HIV-1. However, most HIV diagnostic tests involve only the two significant HIV products, Env or Gag protein, which means that most manufacturers use the same antigen sequence to develop these tests. This may eventually result in repetitive false-positive results if there is any cross-reacting antibody since the test

is prepared only with the same common antigens. A solution to this problem is developing a different alternative diagnostic assay using a different major antigen such as Pol genes. One of the Pol gene products, viral enzyme integrase, is included in one of the immunogenic proteins of HIV, meaning that it may be used to improve the specificity of HIV diagnostic assays. Using a previously generated Pol Immunodominant 2 (Pol ID2) protein, comprised of Integrase and RNaseH, obtained from the most prominent HIV-1 subtype in Indonesia (HIV-1 CRF01_AR), this research aims to gain knowledge regarding the optimal conditions to express Pol ID2 recombinant protein in pQE-80L plasmid of Escherichia coli (E. coli) in hopes to contribute towards the development and self-reliance of HIV-1 diagnostic tests in Indonesia. Experimental, analytical study design was used for this research. The Recombinant Pol Immunodominant 2 (ID2) protein in the pQE-80L plasmid of E. coli was expressed under several variables of culture media, inducer concentration, and induction time. The expression culture was visualized using SDS PAGE and documented using ImageQuant Las 4000 machine. Although no statistical analysis was done, Image Lab 6.1 gel analysis software was used to analyze, quantify, and obtain the absolute quantity ratio of protein concentration of each variable. Result: Pol ID2 recombinant protein obtained from HIV-1 subtype CFR01_AE are optimally expressed using Terrific Broth media using 1mM Isopropyl-beta-D-thiogalactopyranoside (IPTG) for 3 hours of induction.

Conclusion: It could be concluded that pQE80L-Pol ID2 plasmid previously developed in IHVCB FMUI-RSCM Laboratory can express Pol ID2 recombinant protein from HIV-1 subtype CFR01_AR that is constructed under the same laboratory. The protein expression is optimized in Terrific Broth culture media using 1mM IPTG inducer for 3 hours of induction in 37oC.