

Optimasi Metode PCR untuk Deteksi Gen TP53 Pada Sampel Jaringan Tumor Otak dalam Blok Parafin Terfiksasi Formalin = Optimization of PCR Methods for Detection of the TP53 Gene in Formalin-Fixed Paraffin Embedded (FFPE) Samples of Brain Tumor Tissues

Trixie Putri Padita, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920519394&lokasi=lokal>

Abstrak

Tumor supresor gen p53 (TP53) merupakan salah satu marker yang digunakan untuk mendeteksi terjadinya mutasi pada sel kanker. Sampel Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) merupakan metode penyimpanan sampel untuk jangka panjang. Sampel FFPE mengandung materi genetik dan protein. Namun, DNA yang terkandung pada sampel FFPE sering mengalami degradasi yang menyebabkan rendahnya konsentrasi DNA yang dapat diamplifikasi dengan metode PCR. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal PCR dalam amplifikasi gen target TP53 pada sampel FFPE yang telah tersimpan lebih dari satu tahun. Terdapat dua primer yang digunakan pada penelitian ini, yaitu primer referensi dari penelitian sebelumnya dan primer yang dirancang sendiri. Kemampuan deteksi dari primer referensi dievaluasi menggunakan satu kali PCR. Kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi gen target TP53 menggunakan dua metode PCR yaitu nested PCR dan two round PCR. Selanjutnya dilakukan perbandingan ketebalan pita ampikon pada kedua metode tersebut. Evaluasi primer referensi menunjukkan bahwa primer dapat digunakan untuk mendeteksi ekson 2 hingga 11 dari gen TP53. Hasil visualisasi produk PCR dari metode nested PCR yang dibandingkan dengan metode two round PCR menunjukkan bahwa pita ekson gen TP53 lebih tebal apabila deteksi dilakukan dengan menggunakan metode two round PCR.

.....Tumor suppressor gene p53 (TP53) is one of the markers used to detect mutations in cancer cells. Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) samples are a method of storing samples for the long term. FFPE samples contain genetic material and protein. However, the DNA contained in FFPE samples is often degraded which causes a low concentration of DNA that can be amplified by the PCR method. This study was conducted to determine the optimal PCR conditions for the amplification of the TP53 target gene in FFPE samples that have been stored for more than one year. There were two primers used in this study, namely reference primers from previous studies and self-designed primers. The detectability of the reference primers was evaluated using one-time PCR. Then continued with the amplification of the TP53 target gene using two PCR methods, namely nested PCR and two round PCR. Furthermore, a comparison of the thickness of the amplicon tape in the two methods was carried out. Evaluation of the reference primers showed that the primers could be used to detect exons 2 through 11 of the TP53 gene. The results of visualization of PCR products from the nested PCR method compared with the two round PCR method showed that the exon band of the TP53 gene was thicker when the detection was carried out using the two round PCR method.