

Pengklonaran dan ekspresi gen HA1 virus influenza H1N1 pandemi 2009 (H1N1pdm09) galur Indonesia pada sistem ekspresi *Pichia pastoris* untuk pengembangan kandidat vaksin influenza = Cloning and expression of HA1 gene of H1N1 influenza virus 2009 pandemic (H1N1pdm09) Indonesia strain in the *Pichia pastoris* expression system for the development of influenza vaccine

Asri Sulfianti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920535284&lokasi=lokal>

Abstrak

Hemagglutinin 1 (HA1) adalah glikoprotein permukaan virus influenza yang banyak dikembangkan sebagai vaksin subunit rekombinan. Hal tersebut dikarenakan HA1 mampu menginduksi antibodi penetralisasi. Sejauh ini, vaksin influenza yang diproduksi di embrio telur ayam tidak efektif, khususnya dalam mengatasi masalah pandemik. Protein rekombinan yang diekspresikan di *E. coli* juga tidak efektif, sedangkan sel mamalia dan insekta membutuhkan keahlian khusus dan biaya yang mahal. Pada penelitian ini, dilakukan ekspresi protein HA1 pada ragi *P. pastoris* yang sudah diketahui memiliki banyak keuntungan dalam ekspresi protein rekombinan. Fragmen HA1 diperoleh dari galur Indonesia DKI271/2011 yang diamplifikasi dengan teknik PCR. Fragmen gen HA1 kemudian diinsersikan dalam vektor pPICZ-A dan ditransformasikan ke dalam *P. pastoris*. Protein HA1 diekspresikan dengan menginduksi sel ragi tersebut dengan metanol. Hasil menunjukkan bahwa *P. pastoris* yang berhasil ditransformasi dengan plasmid rekombinan mengandung sisipan gen HA1 dengan arah orientasi dan kerangka baca yang benar. Mutasi juga tidak ditemukan pada sekuens asam amino yang menjadi epitope pengenalan oleh sel T dan B. Konfirmasi ekspresi pada kultur *P. pastoris* melalui western blot menunjukkan bahwa pita protein sesuai dengan besar HA1. Protein tersebut selanjutnya dapat digunakan dalam pengembangan vaksin influenza subunit rekombinan.

.....Hemagglutinin 1 (HA1) of influenza virus is a surface glycoprotein that has been developed as a recombinant subunit vaccine. It is because HA1 subunit was able to induce neutralizing antibodies. So far, influenza vaccines that are produced in chicken eggs embryos is not effective especially in addressing pandemic influenza. Recombinant proteins expressed in *E. coli* was also not effective, while mammalian and insect cells requires special skills and high cost. In this study, HA1 expressed in the yeast *P. pastoris* were already known to have many advantages in the expression of recombinant proteins. HA1 gen fragment was obtained from Indonesian strain DKI271/2011 throughout PCR technique. This fragment then inserted in the vector pPICZ-A and transformed to *P. pastoris*. HA1 recombinant proteins was expressed by induced yeast with methanol. The results indicate *P. pastoris* which is successfully transformed by recombinant plasmid containing the HA1 gene insertion with good orientation and correct reading frame. It is also found no mutations in the amino acids sequence into cell epitope recognition by T and B. Confirmation HA1 recombinant protein in *P. pastoris* culture throughout western blot showed protein bands as expected. HA1 recombinant proteins that have been successfully expressed in *P. pastoris* can be used in the development of subunit influenza vaccines.