Ekspresi protein rekombinan transduksi sinyal dalam escherichia coli

Andriani Setyowati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20179924&lokasi=lokal>

Abstrak

Transduksi sinyal merupakan proses penyampaian informasi dari luar sel sampai ke dalam inti sel melewati protein-protein yang bekerja secara berantai. ERK2 termasuk dalam golongan enzim MAP Kinase yang berada dalam rantai bagian atas proses transduksi sinyal. STAT3 adalah protein yang berada paling bawah dalam proses ini yang punya kemampuan berikatan dengan DNA untuk dapat mengatur ekspresi gen yang dikode DNA itu. STAT3 dan ERK2 berasal dari sel eukariot. Untuk mempelajari aspek biokimia dan biofisika diperlukan protein STAT3 dan ERK2 dalam jumlah banyak yang dapat diperoleh dengan menggunakan DNA rekombinan. Organisme yang membawa DNA rekombinan akan mensintesis protein. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan ekspresi protein rekombinan transduksi sinyal STAT3 dan ERK2 dengan menggunakan IPTG sebagai induser dalam E. coli DH5 dalam skala produksi 500 mL. Untuk mendapatkan proteinnya, maka sel pelet bakteri harus dipecah. Supernatan yang didapat dipurifikasi (dimurnikan) dengan menggunakan kolom terbuka metode kromatografi penukar anion (DEAE- Sepharose) dan kromatografi kolom hidrofobik (Phenyl -Sepharose). Hasil elusi selanjutnya dikonfirmasi dengan menggunakan SDS PAGE. Dari hasil percobaan, protein rekombinan STAT3 dan ERK2 berhasil diekspresikan dalam sel inang E.coli DH5 dan berada dalam supernatan. Pita rekombinan STAT3 dengan berat molekul sebesar 66 kDa dan ERK2 sebesar 41 kDa yang telah dimurnikan dengan matriks DEAE-Sepharose dan Phenyl-Sepharose belum dalam bentuk pita tunggal.