

Ekspresi protein rekombinan NS1 dengue Serotipe 4 strain Indonesia pada vektor ekspresi Pichia pastoris sebagai reagen immunodiagnostik pendeteksi antigen NS1 dengue = Expression of NS1 dengue Serotype 4 strain Indonesia recombinant protein using Pichia pastoris vector as immunodiagnostic reagen for NS1 dengue antigen detection / Wahyu Hidayati

Wahyu Hidayati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20330320&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Infeksi dengue merupakan salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia. Perubahan manifestasi klinis yang cepat dari ringan hingga berat bahkan kematian menyebabkan perlunya pendeteksian dini infeksi dengue. Salah satu metode deteksi yang potensial untuk diterapkan sebagai pendeteksian dini adalah pendeteksian antigen NS1 dengue. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan protein rekombinan NS1 dengue serotipe 4 strain Indonesia dengan menggunakan sistem Pichia pastoris yang dapat digunakan untuk pembuatan antibodi anti-NS1. Sampel yang digunakan adalah RNA virus dengue serotipe 4 strain Indonesia IDS 96/10. Metode penelitian adalah ekperimental yang meliputi pembuatan cDNA, pengklonaan pada bakteri Escherichia coli, skринing sel transforman, sekuensing, transformasi sel P. pastoris strain X-33, analisa fenotipe, dan ekspresi protein. Diperoleh 6 koloni P. pastoris strain X-33 rekombinan dengan fenotipe Mut+ dan terdeteksi protein rekombinan NS1 dengue serotipe 4 dengan ukuran antara 72 hingga 95 kDa pada protein standard, diperkirakan berukuran 80 kDa. Hasil analisa nukleotida dan asam amino menunjukkan tidak terjadi mutasi pada gen NS1 dan terletak pada in frame yang sesuai pada vektor pPICZ#945;B. Protein NS1 yang diperoleh diharapkan dapat merangsang terbentuknya antibodi anti-NS1 yang selanjutnya dapat digunakan untuk mendeteksi antigen NS1 pada serum pasien.

<hr>

ABSTRACT

Dengue infection is a major health problem in Indonesia. Clinical manifestation rapidly changing from mild to severe even death. Therefore early detection becomes very important. One of potential detection methods to be applied as an early detection is NS1 dengue antigen detection. The aim of this research was to express NS1 recombinant protein of dengue virus serotype 4 strain Indonesia using Pichia pastoris. Dengue virus RNA from infected pasien serum IDS 96/10 was used in this research. To get recombinant protein we constructed NS1 recombinant plasmid in vector P. pastoris. First, we amplified NS1 gene and cloned it to Escherichia coli. We selected transformant cells and recombinant

plasmid was transfected to yeast by electroporation. We selected yeast transformants and analyzed the phenotype. Methanol was used to induce expression recombinant protein. Protein expression was determined by SDS-PAGE and Western Blot. By Western Blot using antibody to dengue viruses, we found protein recombinant with molecular weight around 72-95 kDa. This size was similar with dimer of NS1 size. In the future, this recombinant protein can be used to produce antibody anti-NS1 that able to detect NS1 antigen in patient sera.