

Pengklonan dan ekspresi gen non struktural 3 virus dengue serotipe 4 strain 081 Indonesia pada vektor pQE80L = Cloning and expression of non structural 3 dengue virus serotype 4 081 Indonesia strain in vector pQE80L

Siregar, Tegar Adriansyah Putra, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20388925&lokasi=lokal>

Abstrak

Infeksi yang disebabkan oleh virus dengue (DENV) menimbulkan spektrum luas penyakit dari sindrom virus ringan, demam dengue klasik dan penyakit perdarahan berat yaitu demam berdarah dengue (DBD) hingga Dengue Shock Syndrom (DSS). Antibodi terhadap protein struktural E dari serotipe DENV yang heterolog pada infeksi primer dan sekunder tidak dapat menetralkan virus, sehingga walaupun kompleks antibodi-virus difagositosis oleh monosit, DENV tetap dapat bereplikasi di dalam monosit. Kondisi meningkatnya infeksi virus pada sel target diperantarai antibodi ini dikenali sebagai antibody-dependent enhancement (ADE). Protein NS3 merupakan protein terbesar kedua yang dikode oleh genom DENV dan sekuens asam amino primernya merupakan yang paling lestari diantara serotipe DENV yang berguna menghindari ADE. Protein NS3 ditemukan menginduksi respon antibodi dan respon sel T CD4+ dan CD8+, kebanyakan sel T tersebut bereaksi silang antar serotipe. Dilakukan analisis pada epitop sel T dan sel B protein NS3 DENV4 081 yang selanjutnya dilakukan pengklonan dan ekspresi gen NS3 DENV4 081. Ditemukan posisi epitop sel B 537-544 NS3 DENV4 081 identik dan lestari dengan 124 strain DENV4 di dunia dan dengan keempat serotipe strain Indonesia. Gen NS3 DENV4 081 berhasil diamplifikasi dengan teknik PCR dan berhasil diinsersikan kedalam vektor pQE80L dengan orientasi yang benar. Plasmid rekombinan yang mengandung gen NS3 DENV4 081 ditransformasikan ke dalam E. coli BL21 dan diekspresikan dengan induksi IPTG. Hasil ekspresi protein NS3 DENV4 081 yang ditunjukkan dengan terlihatnya dot yang berwarna lebih pekat pada Dot Blot yang dideteksi dengan detektor anti-His merupakan protein rekombinan NS3 DENV4 081. Hasil Western Blot menunjukkan ekspresi protein rekombinan NS3 yang rendah, sehingga masih perlu penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan ekspresi protein rekombinan NS3 pada vektor pQE80L.

Infections caused by dengue virus (DENV) cause a broad spectrum of disease from mild viral syndrome, classic dengue fever to severe hemorrhagic diseases which are dengue hemorrhagic fever (DHF) and Dengue Shock Syndrome (DSS). Antibodies against E protein of heterologous DENV serotypes in primary and secondary infections can not neutralize the virus, although the antibody-virus complexes were phagocytes by monocytes, DENV still replicate inside monocytes. A condition increasing antibody-mediated viral infection on target cell was identified as antibody-dependent enhancement (ADE). NS3 protein is the second largest protein encoded by the genome of DENV and the primary amino acid sequence is the most conserved among DENV serotypes. NS3 protein was found to induce antibody, CD4+ and CD 8+ T cell responses, most of the T cells were cross-reactive between serotypes. Analysis was performed on the T and B cell epitope of NS3 DENV4 081 protein then continue with gene cloning and expression of NS3 DENV4 081. Position of B cell epitope 537-544 NS3 DENV4 081 protein was found identical and conserved to NS3 protein of 124 DENV4 strains around the world and all four serotypes of Indonesia strain. NS3 DENV4 081 gene was successfully amplified by PCR and successfully inserted into the vector pQE80L

with the correct orientation. Recombinant plasmid containing NS3 DENV4 081 gene was transformed into E. coli BL21 and expressed by IPTG induction. Results of NS3 DENV4 081 protein expression was indicated by the colored dot produced on Dot Blot detected with anti-His detector. Western Blot result show low NS3 recombinant protein expression, so further research is needed to optimize the NS3 expression in vector pQE80L.</i>