

Karakterisasi dan produksi protein recombinan resuscitation promoting factor B (rpfB) mycobacterium tuberculosis strain Beijing dan H37Rv = Characterization and production of mycobacterium tuberculosis resuscitationpromoting factor b rpfb protein beijing strain and h37rv strain

Arfi Kurniawan, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20404327&lokasi=lokal>

Abstrak

Penyakit tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Infeksi TB telah menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Peningkatan jumlah kasus TB disebabkan oleh munculnya TB yang resisten terhadap obat (MDR-TB/ Multi Drugs Resistant) dan koninfeksi dengan HIV. BCG merupakan vaksin yang tersedia saat ini, efisien melindungi manifestasi penyakit parah pada anak, tetapi vaksin ini tidak mencegah pembentukan TB laten atau reaktivasi penyakit paru pada orang dewasa. Protein rpfB *M.tuberculosis* merupakan faktor virulensi dan resusitasi dari dormansi *M. tuberculosis*. Protein ini diketahui berperan dalam pemecahan peptidoglikan dari dinding sel bakteri dan menstimulasi pertumbuhan bakteri dan resusitasi dari keadaan laten. Hal ini menjelaskan bahwa protein rpfB mempunyai sifat imunogenik yang tinggi dan berpotensi untuk dikenali oleh sistem imun dan dikembangkan strategi vaksin yang berbasis vaksin subunit yang dapat digunakan untuk menstimulasi sel T. Strain yang digunakan pada penelitian ini adalah strain Beijing yang diisolasi di Indonesia dan strain H37Rv sebagai kontrol. Strain Beijing diketahui bersifat lebih virulen, relatif resisten terhadap obat dan cenderung menyebabkan penyakit paru pada orang dewasa dibandingkan strain lain. Gen rpfB strain Beijing dan H37Rv diamplifikasi dengan teknik PCR dan diinsersikan ke dalam vector pGEX-6P-1. Plasmid rekombinan pGEX 6P-1-rpfB ditransformasi ke *E.coli* BL21 untuk diekspresikan. Protein rpfB diekspresikan dengan induksi IPTG. *E.coli* BL21 berhasil ditransformasi dengan plasmid rekombinan dengan arah orientasi yang benar. Analisis epitop sel T CD4+ dan CD8+ memperlihatkan tidak ada mutasi yang ditemukan pada asam amino yang menjadi epitop pengenalan sel T CD4+ dan CD8+. Protein rpfB rekombinan berhasil diekspresikan pada *E.coli* BL21. Hasil ekspresi protein rpfB menunjukkan pita protein yang berada pada ukuran 66 kDa. Analisis western blot mengkonfirmasi kebenaran protein rpfB dengan antibodi anti-GST.

.....Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* pathogen. TB infection has been a major threat to global health. The wide spread of TB cases attributed by TB drug resistant (MDR-TB/ Multi Drugs Resistant) and HIV coinfection. BCG is a current available vaccine for TB, is efficient for protection manifestations of childhood disease, but it has failed to prevent latently TB form or reactivation adult pulmonary. rpfB protein need for virulent and resuscitation from dormant *Mtb*. rpfB protein is known to involved in peptidoglycan cleavage from bacteria cell wall and stimulate bacteria growth and resuscitation of latently. It suggests that rpfB protein has highly immunogenic characteristic and potent to recognized immune respons and to be developed vaccine strategy based on subunit vaccine which can use to stimulate T cells.

Strains that used in this research, consist of Beijing strain that isolated from Indonesia and H37Rv strain as control. Beijing strain is known more virulent, relatively resistant to drug and tend to caused adult

pulmonary disease compared to other strain. rpfB gene of Beijing strain and H37Rv amplify by PCR and insert to pGEX-6P-1 vector. Recombinant plasmid (pGEX-6P-1-rpfB) is transformed to Escherichia coli BL21 for protein expression. rpfB protein expressed by IPTG induction. E.coli BL21 was succeeded to transformed with recombinant plasmid in correctly orientation. Epitope analysis of CD4⁺ T cell and CD8⁺ T cell shown no mutation found in amino acid that encoded recognized epitope of CD4⁺ T cell and CD8⁺ T cell. Recombinant protein has been expressed in E.coli BL21. The result of expression showed the molecular weight of protein band is in 66 kDa. Western blot analysis confirmed correct rpfB protein using anti-GST antibody.