

Analisis rekombinan vp22-sox2 fusi protein lokasi subselular di kultur hepg2 sel = Analysis of recombinant vp22 sox2 fusion protein subcellular location in hepg2 cell culture

Andre Elton Heryanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20429320&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Sel menembus peptida (CPP) adalah sel permeabel protein yang membantu memfasilitasi molekul kedap ke dalam sel. VP22 adalah salah satu CPP dengan mekanisme memfasilitasi protein ke dalam sel dengan non-klasik Golgi-independen. SOX2 adalah salah satu gen untuk mengkodekan anggota dari SRY terkait HMG-box (SOX) keluarga faktor transkripsi yang baik terkait dengan regulasi perkembangan sel embrio.

Rekombinan VP22 fusi protein diharapkan dapat mentranslokasi protein ke dalam sel. Antibodi terhadap SOX2 bertindak sebagai penanda fluoresensi untuk menentukan apakah VP22-SOX2 dapat dilokalisasi ke dalam sel. sel HepG2 digunakan dalam tes untuk menentukan kemanjuran dari sel menembus peptida. VP22-SOX2 pertama ditentukan dengan menggunakan Western Blot, di mana ia akan menampilkan pita yang terlihat. Ada 2 kelompok utama: sel HepG2 dengan VP22-SOX2 diinkubasi selama 6 jam dan 1 jam, di mana keduanya disertai dengan kelompok kontrol tanpa adanya VP22-SOX2. Kedua menjalani immunostaining menggunakan metode indirect immunostaining. Pengamatan akan dilakukan dengan menggunakan mikroskop confocal. Untuk analisis protein, analisis bioinformatika dilakukan untuk menentukan sifat fisik dan kimia dari protein. Berdasarkan statistik, tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok Percobaan - 6 jam dan Kontrol - 6 jam. Selain itu, tidak ada perbedaan yang signifikan antara Percobaan - 6 jam dan Percobaan - 1 jam. Oleh karena itu, masa inkubasi tidak berpengaruh pada tingkat translokasi protein dan VP22-SOX2 tidak bisa translokasi ke dalam sel.

<hr>

ABSTRACT

Cell penetrating peptides (CPPs) are cell permeable proteins that help facilitate impermeable molecules into the cells. VP22 is one of the CPP with mechanism of facilitating proteins into the cells by non-classical Golgi-independent. SOX2 is one of the gene to encode a member of the SRY-related HMG-box (SOX) family of transcription factors that are well associated with the regulation of the development of embryonic cells. Recombinant fusion protein VP22 is hoped to be able to translocate the protein into the cell. Antibody against SOX2 act as fluorescence marker to determine whether the VP22-SOX2 can be localized into the cell. HepG2 cells are used in the test to determine the efficacy of the cell penetrating peptide. VP22-SOX2 is first determined using Western Blot, where it will show visible band. There are 2 main groups: HepG2 cells with VP22-SOX2 incubated for 6 hours and 1 hours, where both are accompanied with the control group in the absence of VP22-SOX2. Both undergo immunostaining using indirect immunostaining method.

Observation will be done using confocal microscope. For protein analysis, bioinformatics analysis is conducted to determine the physical and chemical properties of the protein. Based on statistic, there is no significant difference between the groups Experiment ? 6 hour and Control ? 6 hour. In addition, there is no significant difference between Experiment ? 6 hour and Experiment ? 1 hour. Therefore, incubation period has no effect in the rates of protein translocation and VP22-SOX2 do not achieve protein translocation.;