

Konstruksi plasmid rekombinan penyandi onkoprotein E7 wild type HPV tipe 16 dan ekspresinya pada escherichia coli BL21 codon plus = Construction of recombinant plasmid encoding oncoprotein E7 wild type HPV type 16 and its expression in escherichia coli BL21 codon plus

Aditya Chandra Nugraha, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20458966&lokasi=lokal>

Abstrak

Pengobatan kanker serviks selama ini masih bergantung pada pemberian vaksin profilaktik yang bersifat preventif. Vaksin tersebut tidak dapat menyembuhkan pasien yang telah menderita kanker. Sebuah strategi baru dibuat dengan tujuan menyembuhkan pasien yang telah terinfeksi HPV. Strategi tersebut ialah pemberian vaksin terapeutik yang memiliki kemampuan kuratif. Onkoprotein E7 HPV Tipe 16 dibutuhkan sebagai studi untuk merancang vaksin terapeutik yang efektif dan aman. Onkoprotein E7 nantinya akan digunakan sebagai kontrol positif onkogenitas vaksin terapeutik yang dibuat. Produksi onkoprotein E7 dilakukan dengan membuat konstruksi plasmid rekombinan penyandi onkoprotein E7 wild type wt HPV tipe 16. Fragmen DNA E7 wt diklona ke plasmid pQE80L pada situs SacI dan HindIII. Analisis fragmen DNA E7 wt pada plasmid rekombinan dilakukan dengan metode PCR dan restriksi. Plasmid rekombinan ditransformasi ke dalam sel *Escherichia coli* BL21 Codon Plus cp dengan metode heat shock. Ekspresi onkoprotein E7 wt oleh sel *E. coli* transforman dilakukan dengan pemberian induksi IPTG 1 mM selama 4 jam. Plasmid rekombinan pQE80L-E7 wt mampu mengekspresikan onkoprotein E7 wt di dalam sel *E. coli* BL21 cp dengan berat molekul 35 KDa. Konfirmasi western blotting menunjukkan sebuah pita dengan ukuran 35 KDa yang sesuai dengan berat molekul onkoprotein E7 wt yang diekspresi.

.....

Treatment of cervical cancer during this time is still dependent on the provision of preventive prophylactic vaccine. The vaccine can not cure patients who have had cancer. A new strategy is created with the aim of curing patients who have been infected with HPV. The strategy is giving a therapeutic vaccine that has curative ability. Oncoprotein E7 HPV Type 16 is needed as a study to design effective and safe therapeutic vaccines. Oncoprotein E7 will then be used as a positive control of the oncogenicity of the therapeutic vaccine made. The production of oncoprotein E7 was carried out by constructing a recombinant plasmid encoding of a wild type wt E7 oncoprotein HPV type 16. The E7 wt DNA fragment was cloned to a pQE80L plasmid on SacI and HindIII sites. Analysis of E7 wt DNA fragment on recombinant plasmid was done by PCR method and restriction. Recombinant plasmid is transformed into *Escherichia coli* BL21 Codon Plus cp cells by heat shock method. Expression of oncoprotein E7 wt by transformant *E. coli* cells was performed by induction of 1 mM IPTG for 4 hours. Recombinant plasmid pQE80L E7 wt is capable of expressing the E7 wt oncoprotein in the *E. coli* BL21 cp cell with 35 KDa molecular weight. The western blotting confirmation result shows a band of size 35 KDa corresponding to the weight of the expressed E7 wt oncoprotein molecule.