

Ekspresi dan purifikasi protein faktor transkripsi SOX2 dari plasmid rekombinan pQE-80L SOX2 untuk identifikasi sifat kepuncaan sel = Expression and purification of SOX2 transcription factor protein from pQE 80L SOX2 recombinant plasmid for identification of stem cell pluripotency

Aldo Al Deanov, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20466161&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Salah satu permasalahan yang dihadapi oleh pengobatan regeneratif menggunakan sel punca adalah metode verifikasi sifat pluripotensi terhadap sel punca yang telah diperoleh. Verifikasi sifat pluripotensi dilakukan dengan menggunakan antibodi untuk mengenali protein marka sel punca yang dihasilkan oleh sel tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengekspresikan dan mempurifikasi salah satu protein marka sel punca, yaitu SOX2 sehingga dapat digunakan untuk memproduksi antibodi yang dapat digunakan untuk proses verifikasi tersebut. Ekspresi protein SOX2 dilakukan pada sistem ekspresi Escherichia coli BL21 codon plus dengan menggunakan plasmid rekombinan pQE-80L Sox2, kemudian protein SOX2 diverifikasi secara kualitatif dengan menggunakan SDS-PAGE dan Western blot. Hasil menunjukkan bahwa SOX2 telah berhasil diekspresikan pada sistem ekspresi yang digunakan, namun kodon gen sintetik Sox2 yang belum teroptimasi untuk beradaptasi pada sistem ekspresi menyebabkan jumlah protein yang dihasilkan sedikit. Purifikasi SOX2 juga telah berhasil dilakukan dengan menggunakan sistem purifikasi Ni-NTA dalam keadaan terdenaturasi.

<hr>

ABSTRACT

One of the problems faced by the use of stem cells in regenerative medicine is to find a proper method for verifying the pluripotency of a stem cell obtained. Verification of the cell pluripotency can be accomplished by using an antibody to identify the stem cell protein marker produced by the cell. The purpose of this research is to express and purify one of the stem cell marker protein, SOX2, in order to produce the antibody that can be used in the verification process. SOX2 protein expression was accomplished by using Escherichia coli BL21 codon plus expression system as host with pQE 80L Sox2 recombinant plasmid. The protein SOX2 obtained then was qualitatively verified by using SDS PAGE and Western blotting. Result showed that SOX2 has been successfully expressed by the expression system used. However, the unoptimized codon of the synthetic Sox2 gene causing the codon unable to adapt properly to the expression system, therefore may affect the translation process and lower the protein yield. Purification of SOX2 protein was also has been successfully conducted by using Ni NTA purification system in denatured protein condition.