

Pengaruh internal ribosomal entry site HIV-1 terhadap peningkatan ekspresi DNA eksogen pada monosit manusia in vitro = Effect of HIV-1 internal ribosomal entry site on increase of exogenous DNA expression in human monocytes in vitro

Cintera Rahmagiarti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20467926&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

DNA eksogen merupakan DNA asing yang diintroduksi ke dalam sel dan sebagai dasar pengembangan vaksin DNA. Ekspresi gen pada DNA eksogen masih rendah dalam antigen presenting cell APC yang merupakan target utama dalam penerapan vaksin DNA, seperti monosit. Salah satu cara dalam meningkatkan ekspresi gen pada DNA eksogen adalah menyisipi sekuen internal inisiasi translasi yaitu IRES HIV-1. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penambahan sekuen IRES HIV-1 pada hulu gen DNA eksogen yang akan diekspresikan di sel monosit manusia. DNA IRES HIV-1_eGFP diamplifikasi dari pcDNA5FRT/TO dan disubkloning ke pcDNA3.1. DNA ditransfeksi ke kultur primer monosit dari darah manusia sehat. Sel berfluoresen, persentase sel, dan intensitas fluoresen diamati masing-masing dengan mikroskop fluoresen, Tali cytometer, dan Glomax. Plasmid pcDNA3.1_IRES HIV-1_eGFP berhasil dikonstruksi dan gen egfp berhasil diekspresikan pada sel monosit manusia. Persentase monosit berfluoresen dibandingkan sel kontrol meningkat dari 5 menjadi 11,54 kelompok pcDNA3.1_eGFP dan 12,9 kelompok pcDNA3.1_IRES HIV-1_eGFP $p=0,297$. Intensitas fluoresen eGFP pada kelompok dengan IRES HIV-1 dalam total sel monosit 2,33 dan per monosit 0,069 meningkat signifikan dibandingkan kelompok pcDNA3.1_eGFP dalam total sel monosit 0,08 dan per monosit 0,001 $p=0,001$. Oleh karena itu, penambahan IRES HIV-1 terbukti mampu meningkatkan ekspresi gen pada sel monosit secara signifikan.

<hr>

ABSTRACT

Exogenous DNA is an transient DNA that is introduced into cells and as a basis for developing DNA vaccines. Gene expression in exogenous DNA is still low in antigen presenting cells APC, which is a major target in the application of DNA vaccines, such as monocytes. One way to increase the expression of gene in exogenous DNA is to insert the internal sequence of translation initiation such as IRES HIV 1. Therefore, in this research, the addition of IRES HIV 1 sequence in the upstream gene of exogenous DNA to be expressed in human monocytes cells. IRES HIV 1 eGFP amplified from pcDNA5FRT TO and subcloned to pcDNA3.1. DNA were transfected into the primary culture of monocytes from healthy human blood. Fluorescent cells, cell percentages, and fluorescent intensity were observed with fluorescent microscope, Tali cytometer, and Glomax respectively. The pcDNA3.1 IRES HIV 1 eGFP successfully constructed and transfected in human monocytes cells. The percentage of fluorescent monocytes compared with control cells increased from 5 to 11.54 pcDNA3.1 eGFP group and 12.9 pcDNA3.1 IRES HIV 1 eGFP $p 0.297$. The intensity of fluorescent eGFP in the group with IRES HIV 1 in total monocyte 2.33 and each monocyte 0.069 increased significantly compared to pcDNA3.1 eGFP group in total monocyte cell 0.08 and per monocyte 0.001 $p 0.001$. Therefore, the addition of IRES HIV 1 has been shown to increase gene expression in monocyte cells significantly