



**Eksresi Gen VP1 Food and Mouth Disease Virus Menggunakan pEGFP-C1 pada Sel HeLa dengan Sistem Pengantaran Fosfolipid**

### **Intisari**

Penyakit mulut dan kuku (PMK) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus PMK dan menginfeksi hewan berkuku belah. Hingga saat ini, pengobatan yang digunakan adalah vaksin inaktif yang menggunakan virus asli. Risiko kurang maksimalnya vaksin inaktif menjadikan vaksin DNA rekombinan sebagai solusi alternatif yang menggunakan gen spesifik. Gen VP1 merupakan salah satu gen penyandi pembentukan kapsid virus PMK, berpotensi sebagai kandidat vaksin DNA rekombinan karena memiliki tingkat imunogenisitas yang tinggi. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan dan efektivitas pEGFP-C1 sebagai vektor dan mengetahui ekspresi gen VP1 sebagai DNA rekombinan yang dikombinasikan dengan agen pengantaran fosfolipid. Penelitian dimulai dari optimasi gen *VP1* yang kemudian dikonstruksi dalam vector plasmid pEGFP-C1. Transformasi dengan metode *heat shock* ke dalam sel kompeten *E.coli* DH5 $\alpha$  yang digunakan sebagai vektor kloning untuk memperbanyak plasmid DNA rekombinan. Isolasi plasmid DNA rekombinan dilakukan untuk konfirmasi keberhasilan transformasi, yang dibuktikan dengan restriksi menggunakan enzim *BglIII* dan *EcoRI* serta sekuensing terhadap gen target *VP1*. Transfeksi dilakukan menggunakan sel HeLa sebagai vektor ekspresi dan model sel eukariot dengan metode kimia berbasis fosfolipid, menggunakan *Lipofectamine*<sup>TM</sup> 3000 sebagai agen pengantaran dan diinkubasi selama 24 jam. Konfirmasi keberhasilan transfeksi dilakukan dengan menggunakan mikroskop konfokal dengan melihat ekspresi protein yang menghasilkan warna hijau serta uji ekspresi gen pada tingkat mRNA dengan RT-qPCR. Hasil penelitian ini menyebutkan bahwa pEGFP-C1 berhasil membentuk DNA rekombinan dengan gen *VP1*. Keberhasilan transformasi ditunjukkan dengan tumbuhnya bakteri transforman *E.coli* DH5 $\alpha$  pada medium selektif kanamisin. Hasil sekuensing menunjukkan adanya gen *VP1* serta hasil restriksi membentuk dua pita yang sesuai dengan panjang pEGFP-C1 dan gen *VP1*. Terdapat pendaran hijau hasil ekspresi protein *egfp* pada kultur sel HeLa setelah inkubasi pasca transfeksi. Uji ekspresi tingkat mRNA didapati hasil bahwa terjadi peningkatan ekspresi sebanyak 94,35 kali dengan menggunakan agen pengantaran fosfolipid dibandingkan dengan pelakuan plasmid DNA rekombinan tanpa menggunakan agen pengantaran.

**Kata Kunci:** PMK, Vaksin DNA Rekombinan, Ekspresi Gen, pEGFP-C1, Gen VP1



***Expression of Foot and Mouth Disease VP1 Gene Using pEGFP-C1 in HeLa Cells with Phospholipid Delivery System***

***Abstract***

*Foot and mouth disease (FMD) is an disease caused by FMD virus and infects cloven-hoofed animals. Until now, the treatment used is an inactivated vaccine that uses the original virus. The risk of less than optimal inactivated vaccines makes recombinant DNA vaccines an alternative solution that uses specific genes. The VP1 gene is one of gene encoding the formation of FMD virus capsids, potentially as a candidate for recombinant DNA vaccines because it has a high level of immunogenicity. The purpose of this study was to determine the ability and effectiveness of pEGFP-C1 as a vector and determine the expression of VP1 genes as recombinant DNA combined with phospholipid delivery agents. The research started from the optimization of the VP1 gene which was then constructed in the pEGFP-C1 plasmid vector. Transformation by heat shock method into competent E.coli DH5a cells used as vector cloning to multiply recombinant DNA plasmids. Isolation of recombinant DNA plasmids was performed to confirm the success of transformation, as evidenced by restriction using BglII and EcoRI enzymes and sequencing of VP1 target genes. Transfection was carried out using HeLa cells as expression vectors and eukaryote cell models with phospholipid-based chemical methods, using Lipofectamine™ 3000 as a delivery agent and incubated for 24 hours. Confirmation of transfection success was done using confocal microscopy by looking at the expression of proteins that produce green color and gene expression test at the mRNA level with RT-qPCR. The results of this study stated that pEGFP-C1 succeeded in forming recombinant DNA with the VP1 gene. The success of transformation was shown by the growth of E.coli DH5a transformant bacteria on kanamycin selective medium. The sequencing results showed the presence of the VP1 gene and the restriction results formed two bands corresponding to the length of the pEGFP-C1 and VP1 genes. There was a green glow of egfp protein expression results in HeLa cell culture after post-transfection incubation. The mRNA level expression test found that there was an increase in expression by 94.35 times using phospholipid delivery agents compared to recombinant DNA plasmids without using delivery agents.*

***Keywords: FMD, Recombinant DNA Vaccine, Gene Expression, pEGFP-C1, VP1 Gene***