

DETEKSI MUTASI Cd 26 (G→A) GEN PENGKODE β-GLOBIN PADA PEMBAWA HbE DENGAN METODE Tm-SHIFT REAL-TIME PCR

Chintya Putri

14/364893/BI/9250

INTISARI

Hemoglobin E (HbE) merupakan varian struktur hemoglobin yang umum ditemukan di Asia Tenggara. Terdapat mutasi pada kodon 26 (G → A) pada gen pengkode β-globin yang menyebabkan substitusi asam glutamat menjadi lisin. HbE dapat muncul dalam kondisi homozigot, heterozigot, serta kombinasi kondisi heterozigot lain seperti HbE/β-thalassemia dan *sickle cell*/HbE. Pembawa HbE memiliki penurunan MCH dan MCV. Nilai HbA₂ melebihi kondisi normal, namun kadar HbF dapat berada dalam kondisi normal atau lebih tinggi. Pemeriksaan secara molekular dapat dilakukan untuk mengetahui adanya mutasi pada pembawa HbE. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi mutasi pada kodon 26 ekson 1 gen pengkode β-globin pada pembawa HbE menggunakan metode *Tm-shift real-time PCR* dan mengkonfirmasi fenotip pembawa HbE dengan genotip hasil deteksi menggunakan metode tersebut. Sampel darah yang digunakan merupakan arsip koleksi darah di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada sejumlah 21 sampel yang dinyatakan sebagai pembawa HbE secara hematologis, satu sampel normal, dan satu sampel positif pembawa HbE yang telah dikonfirmasi dengan metode RFLP. Tahap pertama adalah isolasi DNA dari sampel darah, kemudian dilakukan elektroforesis gel agarosa dan spektrofotometri untuk mengetahui kualitas dan kuantitas DNA, selanjutnya dilakukan *real-time PCR*, dilanjutkan dengan analisis *Tm-shift* berdasarkan perbedaan *melting temperature* (T_m) yang dihasilkan. T_m yang dihasilkan pada pembawa HbE adalah 85,1°C ± 0,12 untuk alel normal dan 83,2°C ± 0,19 untuk alel mutan. Pola *peak* yang dihasilkan adalah *peak* ganda untuk sampel pembawa HbE dan *peak* tunggal untuk sampel normal. Dari 21 sampel tersebut, 90,5% terdeteksi sebagai pembawa HbE. Terdapat dua sampel pembawa HbE secara hematologis yang terdeteksi sebagai sampel normal.

Kata kunci: mutasi kodon 26 ekson 1 gen pengkode β-globin, pembawa HbE, *Tm-shift real-time PCR*, *melting temperature*

DETECTION OF Cd 26 (G→A) MUTATION IN THE β-GLOBIN CODING GENE OF HbE CARRIERS BY USING T_m-SHIFT REAL-TIME PCR

Chintya Putri
14/364893/BI/9250

ABSTRACT

Hemoglobin E (HbE) is a variant hemoglobin commonly found in Southeast Asia. A mutation at codon 26 (G → A) in the β-globin coding gene causes a substitution of glutamic acid into lysine. HbE may appears in homozygous, heterozygous, and other heterozygous conditions such as HbE / β-thalassemia and sickle cell / HbE. HbE carriers have decreased MCH and MCV. HbA₂ values exceed in normal conditions, but HbF levels may normal or higher. A molecular examination can be performed to determine the presence of mutations in the HbE carrier. The aims of this study are to determine the mutation at codon 26 exon 1 β-globin gene on HbE carrier using real-time PCR T_m-shift method and to confirm the phenotype of HbE carrier and its genotype using this method. Samples used were blood collection from Genetics and Breeding Laboratory, Faculty of Biology Universitas Gadjah Mada. 21 samples expressed as carriers HbE, one normal sample, and one positive sample of RFLP-confirmed HbE carriers. The first stage was DNA isolation from blood sample, followed by electrophoresis gel agarose and spectrophotometry to analyze the quality and quantity of DNA. Real-time PCR was applied and then analysis of T_m-shift based on the difference of melting temperature (T_m) were performed. We found that T_m of HbE carrier were 85.1 ° C ± 0.12 for the normal allele and 83.2 ° C ± 0.19 for the mutant allele. The double peak was showed for HbE carriers and single peak was showed for normal samples. Among 21 samples, 90.5% were detected as HbE carriers. Two haematological samples of HbE carriers were detected as normal samples.

Keywords: codon 26 exon 1 of β-globin coding gene mutation, HbE carriers, T_m-shift real-time PCR, melting temperature