

Cloning gen NS1 dengue ke dalam vektor ekspresi pET-21d(+).

Rita Damayanti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20175519&lokasi=lokal>

Abstrak

Penelitian bertujuan memperoleh clone gen NS1 DEN-3 strain CH53489 pada vektor ekspresi pET-21d(+) agar gen tersebut dapat diekspresikan oleh *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biopharming, Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Serpong selama 12 bulan (Maret 2006--Maret 2007). Gen NS1 dengue berukuran 1.050 pb diperbanyak dengan polymerase chain reaction (PCR) menggunakan pasangan primer spesifik (NS1-F dan NS1-R). Vektor ekspresi pET-21d(+) (berukuran 5.440 pb) diperbanyak melalui teknik cloning dalam *E. coli* DH5. Produk PCR dan vektor ekspresi pET-21d(+) didigesti dengan BamHI dan XhoI, kemudian diligasi secara *in vitro* dan ditransformasi dengan kejutan panas ke dalam sel kompeten *E. coli* DH5. Sebanyak 129 koloni diperoleh pada medium seleksi SOB ampisilin agar. Sebanyak 26 dari 129 koloni kandidat rekombinan dipilih secara acak untuk diverifikasi menggunakan enzim restriksi (BamHI, XhoI, dan NcoI) dan selanjutnya dilakukan PCR. Verifikasi menghasilkan 3 koloni positif rekombinan. Clone 6D pembawa gen NS1 dengue diverifikasi lebih lanjut melalui sequencing dengan primer T7 promoter. Hasil sequencing dibandingkan dengan data referensi dalam database DNA GenBank melalui pencarian homologi BLASTN. Hasil BLAST menunjukkan sekuens dari clone gen NS1 dengue memiliki homologi sebesar 99% dengan sekuens DEN-3 strain FW06 no. AY858041.1. Clone gen NS1 dengue dalam vektor ekspresi pET-21d(+) telah berhasil diperoleh, namun dengan tingkat keberhasilan yang rendah.