

Sintesis dan pengklonaan Fragmen Gen tat (transaktivator) HIV-1 ke dalam Vektor Ekspresi Prokariot pQE-80L

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20180983&lokasi=lokal>

Abstrak

Telah dilakukan penelitian selama 9 bulan (Februari--Oktober 2008) di Laboratorium Mikrobiologi Klinik FKUI dengan tujuan memperoleh klon pembawa fragmen gen tat HIV-1 strain pNL43. Gen tersebut menyandikan protein Tat yang berperan dalam meningkatkan ekspresi gen-gen HIV. Sintesis fragmen gen tat HIV-1 dilakukan melalui PCR overlapping. Fragmen gen tat HIV-1 (326 pb) dan vektor plasmid pQE-80L (4700 kb) yang telah dipotong dengan enzim XmaI dan SalI kemudian diligasi menggunakan T4 DNA ligase. Hasil ligasi ditransformasi secara kejut panas ke dalam Escherichia coli TOP10 dan diseleksi pada medium LB agar (+ampisilin). Sebanyak 15 koloni transforman dari 81 koloni yang berhasil diperoleh, kemudian diisolasi DNA plasmidnya dan dianalisis digesti serta diverifikasi melalui PCR. Hasil analisis digesti menunjukkan terdapat 4 koloni pembawa plasmid rekombinan yang ditunjukkan oleh visualisasi pita DNA berukuran 316 pb. Verifikasi PCR dengan primer pQE-forward dan Ex2-TatpNL4C menunjukkan bahwa fragmen gen tat HIV-1 berhasil disisipkan dan diklonakan ke dalam E.coli TOP10.