

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 diklona ke dalam *E.coli* TOP10.