

Subkloning dan ekspresi gen L-Asparaginase dari bacillus circulans ke escherichia coli DH5 di bawah kontrol promoter xyn AQ1 = Subcloning and gene expression of L-Asparaginase from Bacillus circulans into escherichia coli DH5 under the control of xyn AQ1 promoter

Annisa Fauziah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20313806&lokasi=lokal>

Abstrak

Enzim L-asparaginase merupakan enzim yang menghidrolisis L-asparagin menjadi asam L-aspartat dan ammonia. Enzim tersebut berfungsi untuk kemoterapi penyakit Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). Penelitian bertujuan untuk melakukan subkloning dan ekspresi gen L-asparaginase yang berasal dari bakteri Bacillus circulans ke Escherichia coli DH5 di bawah kontrol promoter xyn AQ1. Gen yang mengkode L-asparaginase dari Bacillus circulans yang digabungkan dengan promoter xyn AQ1 diamplifikasi dengan menggunakan metode overlap PCR. Produk PCR berhasil disubkloning ke vektor pGEM®-T Easy di dalam E. coli DH5.

Hasil sekuensing menunjukkan bahwa gen sisipan memiliki persentase kemiripan sebesar 100 % dengan sekuen B. subtilis strain AQ1 endoxylanase glycosyl hydrolase family 11 (yang merupakan bagian promoter xyn AQ1) dan 99 % kemiripan dengan gen L-asparaginase dari B. subtilis BSn5. Aktivitas enzim L-asparaginase dari E. coli yang mengandung plasmid dengan promoter xyn AQ1 dan open reading frame (ORF) L-asparaginase dari B. circulans lebih tinggi daripada plasmid yang hanya mengandung ORF L-asparaginase dari B. circulans

<hr>

L-Asparaginase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of L-asparagine to L-aspartic acid and ammonia. It has important role in treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). The purpose of this research is to subclone the encoding gene of L-asparaginase and to express this gene in Escherichia coli DH5 under the control of xyn AQ1 promoter. The gene encoding for L-asparaginase from Bacillus circulans combined with xyn AQ1 promoter have been amplified using overlap PCR. The PCR product successfully subcloned into pGEM®-T Easy vector in E. coli DH5.

The sequencing results showed that the insert had 100% homology with sequence of B. subtilis strain AQ1 endoxylanase glycosyl hydrolase family 11 (part of xyn AQ1 promoter) and 99 % homology with L-asparaginase gene from B. subtilis BSn5. The activity of L-asparaginase enzyme from E. coli containing plasmid with xyn AQ1 promoter and L-asparaginase open reading frame (ORF) from B. circulans was higher than plasmid with L-asparaginase ORF from B. circulans only.