Kloning vektor rekombinan pembawa gen penyandi bakteriosin 1 dari weissella confusa mbf8-1 dengan metode gateway = Cloning of recombinant vector encoding bacteriocin 1 gene from weissella confusa mbf8-1 by gateway method

Elita Yuliantie, author

Abstrak

Bakteri Weissella confusa MBF 8-1 yang diisolasi dari produk ampas kacang kedelai terfermentasi telah diteliti memiliki aktivitas Bacteriocin Like Inhibitory Substance (BLIS) terhadap bakteri Leuconostoc mesenteroides. W. confusa MBF8-1 menyandikan tiga jenis bakteriosin yaitu bakteriosin 1 (Bac1), 2 (Bac2), dan 3 (Bac3). Di masa depan, diharapkan bakteriosin tersebut dapat digunakan sebagai peptida antimikroba baru maupun sebagai komplemen antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan vektor rekombinan pembawa gen bakteriosin 1 (bac1) yang dapat diintroduksi ke inang yang sesuai. Vektor rekombinan dikloning dengan metode rekombinatorial Gateway®. Amplifikasi bac1 dengan teknik PCR menggunakan primer yang didesain spesifik dari sekuens bac1 dengan tag attB. Produk PCR disisipkan ke plasmid pDONRTM221 lewat reaksi BP. Plasmid rekombinan selanjutnya ditransformasikan ke sel inang Escherichia coli DH5. Keberadaan bac1 pada plasmid rekombinan diverifikasi dengan sekuensing. Transformasi yang dilakukan berhasil mengkloning bac1 ke vektor rekombinan, sehingga diperoleh plasmid pENT_Wcbac1 yang dapat digunakan untuk proses selanjutnya dalam ekspresi Bac1.
<hr>Weissella confusa MBF 8-1 was isolated from waste of fermented soya and showed Bacteriocin Like Inhibitory Substance (BLIS) activity against bacteria Leuconostoc mesenteroides. There are three types of bacteriocin produced by W. confusa MBF8-1: bacteriocin 1 (Bac1), 2 (Bac2), and 3 (Bac3). In the future, bacteriocin is potent either to be a new antimicrobial peptide or as antibiotics complement. This experiment was conducted to clone recombinant vector containing bacteriocin 1 gene (bac1) that later can be introduced to suitable expression system. Recombinant vector was cloned by Gateway® recombinatorial technique. First, bac1 was amplified by PCR, using specifically designed primers from bac1 sequence added with attB tag. The PCR product then inserted into pDONRTM221 by BP recombination reaction. Finally, the resulting recombinant plasmid was transformed to Escherichia coli DH5. The bac1 was verified by sequencing. The transformation successfully cloned bac1 into recombinant vector, named pENT_Wcbac1, which later can be used in the next step of Bac1 expression.