

Analisis fungsional dua glikosiltransferase dalam biosintesis kanamysin

Hilda Sucipto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=123993&lokasi=lokal>

Abstrak

Kanamysin adalah salah satu antibiotik aminoglikosida terkenal yang banyak digunakan sebagai agen anti-tuberkulosis. Kanamysin mengandung sebuah aminosiklitol 2-deoksistreptamin (DOS) yang unik sebagai pusat aglikon, dilengkapi dengan kanosamin pada C-6 dan 6-amino-6- deoksiglukosa atau neosamin C atau glukosamin pada C-4. Pada tahun 2004, kluster gen biosintesis kanamysin diidentifikasi dari mikroorganisme produser *Streptomyces kanamyceticus* dan ada dua glikosiltransferase putatif yaitu Orf14 dan Orf20 yang diperkirakan terlibat dalam pembentukan ikatan glikosida.

Dalam studi ini, analisis fungsional dari Orf14 dan Orf20 dilakukan melalui protein rekombinan. Diawali dengan melakukan variasi kondisi ekspresi *Escherichia coli* (vektor dan temperatur induksi). Sebagai hasilnya, Orf14 didapatkan sebagai protein yang larut ketika ekspresi dilakukan pada suhu 15°C, sedangkan Orf20 tidak. Kemudian, Orf14 dipurifikasi sebagian dengan fraksinasi amonium sulfat (10-40%) dan reaksi enzimatis diinvestigasi dengan substrat yang telah diprediksi kecocokannya.

Setelah dilakukan derivatisasi dinitrofenil, analisis HPLC menunjukkan adanya puncak baru pada campuran antara paromamin dan uridin 5'-difosfo(UDP)-glukosa dengan Orf14. Selanjutnya, analisis NMR dan MS dari produk reaksi Orf14 memastikan terjadinya pembentukan pseudotrisakarida. Oleh karena itu Orf14 dikarakterisasi sebagai UDP-glukosa : paromamin glikosiltransferase dalam biosintesis kanamycin.