

Subcloning daerah imunodominan Gen env Human Immunodeficiency Virus-1 ke dalam Vektor Ekspresi pMET-C

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20180981&lokasi=lokal>

Abstrak

Penelitian subcloning daerah imunodominan gen env HIV-1 ke dalam vektor ekspresi pMET-C telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UI dari Januari--September 2008. Tujuan penelitian menghasilkan subklona daerah imunodominan gen env HIV-1 pada vektor ekspresi pMET-C. Daerah imunodominan gen env HIV-1 (505 pb) diperoleh dari hasil PCR dengan primer forward pIMUDMT dan reverse IMUDMTc1. Daerah imunodominan gen env HIV-1 diligasi dengan vektor ekspresi pMET-C yang didigesti dengan BamHI dan SalI. Hasil ligasi ditransformasi ke dalam *Escherichia coli* TOP10 dan ditumbuhkan pada medium LB padat (+ampisilin). Koloni tumbuh sebanyak 32 dan 10 di antaranya diisolasi. Sepuluh koloni tersebut didigesti dengan EcoRI dan SacII. Sebanyak 3 koloni menunjukkan pita DNA berukuran 552 pb (DNA sisipan) dan 7.953 pb (vektor). Selanjutnya dilakukan PCR terhadap 3 koloni tersebut dan menghasilkan pita DNA berukuran 505 pb. Analisis BLASTN menunjukkan bahwa sekuen sisipan (187 pb) memiliki persentase kemiripan (identity) 98% (185/187) dengan human immunodeficiency virus type 1, NY5/BRU (LAV-1) recombinant clone pNL4-3 [Acc. No. M19921.1]. Hasil tersebut menunjukkan telah diperoleh subklona daerah imunodominan gen env HIV-1 di dalam vektor ekspresi pMET-C. Akan tetapi, perlu dilakukan sequencing ulang guna mengetahui seluruh basa DNA sisipan agar hasilnya dapat lebih dipercaya.