

Konstruksi plasmid overekspresi gen sgfpS65T berbasis vektor binary pCAMBIA1305.1 untuk studi aktivitas promoter = The construction of overexpressed sgfpS65T reporter gene using binary vector pCAMBIA1305.1 to study promoter activity

Dwi Widyajyantie, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20289667&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Keberhasilan suatu transformasi dalam kloning molekular untuk mengetahui apakah suatu gen telah tersisipi atau terekspresi dalam populasi sel atau organisme dapat diketahui melalui gen pelapor. Salah satu gen pelapor adalah sgfpS65T yang menyandi kemampuan menghasilkan warna/perpendaran cahaya lebih baik dengan bantuan sinar biru di antara varian gfp lainnya dan efisien karena tidak membutuhkan substrat untuk mengetahui ekspresinya, sehingga tidak bersifat toksik dan mempercepat proses seleksi transforman. Vektor kloning yang akan digunakan untuk membawa gen sgfpS65T ini adalah vektor binary pCAMBIA1305.1 yaitu vektor pembawa gen gusPlus sebagai gen pelapornya dan vektor yang umum digunakan untuk transformasi ke tanaman. Karena untuk mengetahui ekspresi dari gen gusPlus membutuhkan substrat yang dapat bersifat toksik terhadap sel transforman, maka dilakukan substitusi gen pelapor gusPlus pada pCAMBIA1305.1 dengan sgfpS65T dari pNU400 melalui konstruksi plasmid. Dari hasil penelitian ini diperoleh konstruksi plasmid pCAMBIA1305.1 pembawa fragmen sgfpS65T (pDWJ3) dengan panjang 720 bp, namun pada fragmen tersebut terdapat mutasi (substitusi basa) pada posisi 294 bp dan 710 bp. Pada posisi 294 bp menyandi asam amino yang sama dengan sequence acuan yaitu threonine dan pada posisi 710 bp menyandi asam amino yang berbeda yaitu phenylalanin, yang seharusnya menyandi asam amino leusin. Jadi, kemungkinan pDWJ3 tidak dapat mengekspresikan gen sgfpS65T dan diperlukan analisis lebih lanjut dan memastikan kembali mutasi yang terjadi pada fragmen tersebut.

<hr>

ABSTRACT

The success of a clone transformation can be identified by reporter gene. This gene can detect whether a particular gene has been inserted and expressed in cells or organisms, one of which is sgfpS65T that encode the ability to produce color better than other gfp variants and efficient because it does not require a substrate to determine the expression, non toxic and accelerate the selection process transformant. pCAMBIA1305.1 is cloning vectors that will be used to carry sgfpS65T. pCAMBIA1305.1 binary vector carrying reporter gene gusPlus and commonly used for plant transformation. Due to determine the expression of gusPlus requires a substrate that can be toxic to the cell transformant, then performed reporter gene substitution gusPlus contained in pCAMBIA1305.1 with sgfpS65T from pNU400 through the construction of plasmid. This study has obtained pCAMBIA1305.1 containing 720 bp sgfpS65T (pDWJ3), but these fragments contained mutation (base substitution) at position 294 bp and 710 bp. At position 294 bp encode the same amino acid sequence of reference threonine, at position 710 bp encode a different amino acid that is phenylalanin, which should encode the amino acid leucine. Thus, the possibility can not express sgfpS65T (pDWJ3) and required further analysis and ensure that mutations occur in these fragments.