

Subkloning gen sintetik *Candida antarctica* Lipase B (CalBsyn) dan Fusi Gen CalBsyn-egfp ke dalam Vektor Ekspresi pGAPZ pada *Escherichia coli* TOP10F = Subcloning of *Candida antarctica* Lipase B Synthetic (CalBsyn) Gene and CalBsyn-egfp Fusion Gene into pGAPZ Expression Vector on *Escherichia coli* TOP10F

Maya Ulfah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20332222&lokasi=lokal>

Abstrak

Gen CalBsyn telah dikonstruksi untuk mengkode *Candida antarctica* lipase B (CalB). Enzim tersebut memiliki peranan penting sebagai biokatalis yang efektif di bidang bioteknologi dan industri. Sekuens gen CalBsyn telah dimodifikasi dengan menambahkan mutasi pada tiga asam amino untuk meningkatkan termostabilitas enzim tersebut. Gen enhanced green fluorescent protein (egfp) telah digunakan sebagai reporter gene untuk memvisualisasikan ekspresi gen CalBsyn. Penelitian bertujuan untuk mensubkloning gen CalBsyn dan fusi gen CalBsyn-egfp ke dalam vektor ekspresi pGAPZ pada *Escherichia coli* TOP10F'. Gen CalBsyn telah diisolasi dari vektor pJ912-CalBsyn dengan teknik digesti menggunakan enzim restriksi XhoI. Fragmen gen CalBsyn yang berukuran 1136 bp kemudian diligasikan pada vektor ekspresi pGAPZ dan ditransformasikan ke dalam *E. coli* TOP10F' untuk mendapatkan vektor rekombinan pGAPZ-CalBsyn. Fragmen gen egfp yang berukuran 750 bp telah diisolasi dari vektor pTZ-egfp menggunakan teknik PCR, kemudian diligasikan ke dalam vektor rekombinan pGAPZ-CalBsyn dan ditransformasikan ke dalam *E. coli* TOP10F' untuk mendapatkan vektor rekombinan pGAPZ-CalBsyn-egfp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua vektor rekombinan pGAPZ-CalBsyn dan pGAPZ-CalBsyn-egfp telah berhasil ditransformasikan ke dalam *E. coli* TOP10F' dengan nilai efisiensi transformasi sebesar $4,11 \times 10^3$ cfu/g DNA plasmid dan $3,10 \times 10^4$ cfu/g DNA plasmid di dalam medium seleksi mengandung zeocin [25 g/ml].

.....The CalBsyn gene was constructed to encode *Candida antarctica* lipase B (CalB). The enzyme has important role as the effective biocatalyst in biotechnology and industrial fields. The sequence of CalBsyn gene has been modified by mutation at three amino acids to improve thermostability of the enzyme. The enhanced green fluorescent protein (egfp) gene was used as reporter gene to visualize the expression of the CalBsyn gene. This research was aimed to subclone both CalBsyn gene and CalBsyn-egfp fusion gene into pGAPZ expression vector on *Escherichia coli* TOP10F'. The CalBsyn gene was isolated from pJ912-CalBsyn vector by digestion using XhoI restriction enzyme. The 1136 bp fragment of CalBsyn gene then was ligated to pGAPZ expression vector and transformed into *E. coli* TOP10F' in order to obtain recombinant vector pGAPZ-CalBsyn. The 750 bp fragment of egfp gene that was isolated from pTZ-egfp vector using PCR technique was ligated to recombinant vector pGAPZ-CalBsyn and transformed into *E. coli* TOP10F' to obtain pGAPZ-CalBsyn-egfp recombinant vector. The result showed that both recombinant vectors pGAPZ-CalBsyn and pGAPZ-CalBsyn-egfp were successfully transformed into *E. coli* TOP10F' with transformation efficiency values $4,11 \times 10^3$ cfu/g plasmid DNA and $3,10 \times 10^4$ cfu/g plasmid DNA respectively in the selection medium containing zeocin [25 g/ml].