

Kloning gen NS-1 virus Dengue pada vektor ekspresi pGEX-6P1 dalam Escherichia coli BL21 STAR™(DE3)

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20340778&lokasi=lokal>

Abstrak

Penelitian yang bertujuan menghasilkan klon gen NS1 virus dengue pada vektor ekspresi pGEX-6P1 dalam Escherichia coli BL21 Star™(DE3) telah dilakukan di Laboratorium Biologi Molekular, LAPTIAB, BPPT, Serpong selama Januari--November 2008. Gen NS1 dengue diamplifikasi dengan primer spesifik d3-2336sbam (forward) dan d3-NS1-1056c (reverse). Produk PCR gen NS1 (1.160 pb) yang telah dipurifikasi, didigesti dengan enzim BamHI-XhoI (double digestion) kemudian diligasikan pada vektor ekspresi pGEX-6P1. Reaksi ligasi ditransformasikan ke dalam sel kompeten E. coli BL21 Star™(DE3). Sebanyak 19 koloni diisolasi secara acak dari 162 koloni yang tumbuh pada medium seleksi ampisilin. Hasil verifikasi dengan digesti dan PCR menunjukkan koloni 1b3 sebagai koloni positif rekombinan. Hasil sequencing terhadap 356 basa pertama gen NS1 menggunakan primer spesifik d3-2716c, menunjukkan bahwa plasmid rekombinan 1b3 mengandung gen NS1. Analisis BLASTN terhadap database DNA pada GenBank menunjukkan homologi 96% dengan sekuen DEN-3 strain KJ71 (accession number AY858044.2). Kloning gen NS1 dengue pada vektor pGEX-6P1 dalam E. coli BL21 Star™(DE3) berhasil dilakukan.