

Amplifikasi in vitro Gen cobU Pseudomonas denitrificans Schlegel BioMCCB12F942/288

Retno Lestari, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=89580&lokasi=lokal>

Abstrak

Gen cobU *Pseudomonas denitrificans* merupakan salah satu gen yang berperan dalam tahap akhir sintesis vitamin B12. Gen cobU menyandi enzim nicotinate nucleotide: dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase (NN: DMB1 PRT). Gen cobU *Pseudomonas denitrificans* Schlegel BioMCC B12 F942/288 telah diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer-primer spesifik, cobU5 (23 mer) dan cobU6 (23 mer). Kedua primer tersebut memiliki suhu leleh 54° C dan kandungan GC sebesar 56%. Primer-primer didisain berdasarkan publikasi Cameron dkk. (1991). DNA diisolasi dari *Pseudomonas denitrificans* Schlegel BioMCC B12 F942/288 menggunakan Wizard Genomic DNA Purification Kit*. Kondisi amplifikasi dioptimasi pada suhu annealing, pada kisaran 50-55° C, suhu optimal yang diperoleh adalah 52° C. Produk amplifikasi dianalisis dengan teknik elektroforesis gel agarosa 1%. Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa proses amplifikasi berjalan kurang spesifik, terdapat pita gen cobU dengan ukuran yang diharapkan (1.124 pb) dan pita-pita lainnya. Hasil tersebut kemudian dipurifikasi untuk digunakan dalam pengklonan gen cobU.