

Validasi ekspresi protein rekombinan pengeksresi spike SARS-CoV-2 varian delta pada galur sel mamalia 293T = Validation of recombinant protein spike of SARS-CoV-2 delta variant expression in mammalian cell line 293T

Muhammad Alif Salman Al Farisy, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20520982&lokasi=lokal>

Abstrak

Pembuatan Stable Cell Line sendiri membutuhkan proses pengantaran materi genetik untuk mencapai tahap ekspresi gen rekombinan secara berkelanjutan. Metode ini menggunakan transfeksi untuk membantu mencapai tahapan tersebut. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Indonesia telah berhasil membuat konstruksi plasmid rekombinan pengeksresi protein Spike SARS-CoV-2. Namun, belum dilakukan penelitian lebih lanjut terkait penggunaan konstruksi plasmid rekombinan tersebut. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk memvalidasi ekspresi protein rekombinan dari plasmid rekombinan pengeksresi Spike SARS-CoV-2 yang akan digunakan dalam pembuatan Stable Cell Line pada galur sel mamalia 293T. Validasi ekspresi dari empat protein SARS-CoV-2 (Spike Full, Subunit S1, Subunit S2, dan Receptor Binding Domain) dilakukan melalui metode Immunofluorescence Assay (IFA) dan Western Blot (WB). Hasil menunjukkan bahwa dari empat ragam protein (Spike Full, Subunit S1, Subunit S2, dan Receptor Binding Domain) terbukti fungsional secara ekspresi dan sesuai dengan ukuran protein yang sesuai. Uji IFA menunjukkan bahwa terdapat dua nilai rata-rata Corrected Total Cell Fluorescence (CTCF) yang unggul yaitu pada protein Spike Full dan Subunit S2 (118.813 dan 264.159 CTCF) sel pasca transfeksi yang menandakan bahwa terdapat perbedaan kemampuan ekspresi dari masing-masing protein. Uji western blot telah membuktikan dua protein (Spike Full dan Subunit S2) memiliki ukuran molekul yang sesuai (142,5 dan 66,0 kDa). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa plasmid rekombinan yang dikonstruksi oleh BRIN terbukti fungsional dan dapat dilanjutkan ke dalam penggunaannya untuk pembuatan Stable Cell Line.

.....Making a Stable Cell Line requires a process of delivering genetic material to reach the continuous recombinant gene expression stage. This method uses transfection to help achieve this stage. The National Research and Innovation Agency of Indonesia (BRIN) has successfully constructed a recombinant plasmid expressing the SARS-CoV-2 Spike protein. However, no further research has been carried out regarding using these recombinant plasmid constructs. Therefore, this study aimed to validate the expression of recombinant proteins from the SARS-CoV-2 Spike-expressing recombinant plasmid to manufacture Stable Cell Line in mammalian cell line 293T. Validation of the expression of four SARS-CoV-2 proteins (Spike Full, Subunit S1, Subunit S2, and Receptor Binding Domain) was carried out using Immunofluorescence Assay (IFA) and Western Blot (WB) methods. The results showed that the four protein variants (Spike Full, S1 Subunit, S2 Subunit, and Receptor Binding Domain) were functional in expression and according to the appropriate protein size. The IFA test showed two superior Corrected Total Cell Fluorescence (CTCF) values: the Spike Full protein and the S2 Subunit (118.813 and 264159 CTCF) of post-transfection cells, which indicated that there were differences in the expression ability of each protein. The Western Blot test has proven that two proteins (Spike Full and Subunit S2) have the appropriate molecular size (142.5 and 66.0 kDa). Thus, it can be concluded that the recombinant plasmid constructed by BRIN is proven to be functional and can be used to manufacture Stable Cell Lines.