

Kloning, ekspresi, dan purifikasi protein nukleokapsid severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) untuk serodiagnosis SARS

Andi Yasmon, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=79613&lokasi=lokal>

Abstrak

Severe acute respiratory syndrome (SARS) adalah penyakit infeksi pernafasan akut berat yang disebabkan oleh koronavirus baru, dinamakan SARS-Coronavirus (SARSCoV). Tiga uji diagnostik telah dikembangkan untuk deteksi infeksi SARS-CoV, menggunakan kultur sel, uji serologi, dan molekuler. Ketika wabah SARS dari November 2002 sampai 2003, sebagian besar diagnostik laboratorium menggunakan kultur sel baik untuk isolasi virus maupun produksi protein sebagai antigen untuk uji serologi. Penerapan teknik kultur sel untuk diagnosis infeksi SARS tersebut tidak dapat diterapkan di laboratorium yang tidak memiliki fasilitas BSL 3 (Biosafety Level 3), karena virus dapat ditularkan melalui udara dan jalur transmisi lainnya yang belum sepenuhnya diketahui, sehingga perlu dikembangkan sistem diagnosis yang tidak tergantung pada fasilitas BSL 3, khususnya dalam produksi antigen untuk reaksi serologi. Produksi antigen virus tanpa melalui kultur virus dapat dilakukan dengan menerapkan teknik protein rekombinan dan protein virus yang dipilih sebaiknya bersifat antigenik. Dalam penelitian ini, untuk mendapatkan protein nukleokapsid SARS-CoV, dilakukan insersi dan ekspresi gen nukleokapsid SARS-CoV pada sistem ekspresi protein fusi tag Gst (pGEX-6P1) sehingga diperoleh vektor rekombinan pGEX-6PI-N. pGEX-6P1-N ditransformasi ke dalam *Escherichia coli* BL21 untuk ekspresi protein Glutathione-S transferase (Gst)-Nukleokapsid SARS-CoV (Gst-N). Protein fusi Gst-N utuh dengan berat molekul yang sesuai (72,84 kDa) berhasil diekspresikan dalam *E. coli* BL21 dan dapat dipurifikasi menggunakan sistem yang berdasarkan pada afinitas Gst dengan glutathione.