

Perbandingan Karakterisasi Hasil Ekspresi Gen Pengkode PLpro-CoV2 di Plasmid pET21d(+) pada E. coli BL21(DE3) dengan Kodon Optimasi dan Tanpa Optimasi = Comparison of the Characterization of Gene Expression PLpro-CoV2 in pET21d(+) on E. coli BL21(DE3) with Codon Optimization and Non-Optimization

Maimunah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920529751&lokasi=lokal>

Abstrak

COVID-19 merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 atau SARS-CoV-2. Penyakit ini telah menjadi pandemi sejak Desember 2019 dan menyebabkan dampak yang besar bagi kehidupan manusia. Meskipun saat ini kasus penyakit sudah mulai menurun, penyakit ini tetap menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat. Oleh karena itu, diperlukan manajemen jangka panjang salah satunya dengan penggunaan terapi anti-virus yang potensial. Papain-like-protease (PLpro) adalah salah satu protease pada SARS-CoV-2 yang memiliki dua peran penting dalam siklus hidup virus sehingga inhibisi pada protein ini dapat menjadi agen terapi yang potensial. Proses penemuan agen terapeutik ini membutuhkan sejumlah protein yang soluble dan murni. Salah satu cara untuk mendapatkan protein adalah teknologi rekombinan dengan menyisipkan gen PLpro ke dalam bakteri. Agar proses tersebut dapat berlangsung secara efektif dan efisien, proses ekspresi harus dilakukan pada kondisi yang optimal diikuti dengan modifikasi sistem ekspresi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ekspresi pET21d(+)-PLpro pada *Escherichia coli* BL21(DE3) antara kodon yang dioptimasi dan tanpa optimasi serta mengetahui kondisi yang optimal saat proses ekspresi protein. Proses diawali dengan memperbanyak plasmid, verifikasi plasmid, dan transformasi ke *E. coli* BL21(DE3). Ekspresi PLpro dilakukan pada beberapa parameter dengan hasil yang optimal pada suhu inkubasi 19°C, induksi IPTG 0,1 mM selama 18 jam inkubasi. Hasil proses purifikasi PLpro sebesar 0,466 mg/mL (optimized) dan 0,738 mg/mL (non-optimized). Berdasarkan hasil pengamatan SDS-PAGE dan Western-Blot, masalah yang ada pada PLpro tanpa optimasi kodon, seperti leaky expression, degradasi protein, jumlah protein yang tidak konsisten, dan ekspresi insoluble protein yang berlebihan dapat diatasi dengan proses optimasi kodon.

.....COVID-19 was a disease caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 or SARS-CoV-2. This disease has become a pandemic since December 2019 and had a major impact on human life. Although cases have started to decrease, this disease remains a public health problem. Therefore, long-term management was needed, one of which was the use of potential anti-viral therapy. Papain-like protease (PLpro) was one of the proteases in SARS-CoV-2 and has two crucial roles in the viral life cycle, so inhibition of this protein can be a potential therapeutic agent. The process of discovering these therapeutic agents required a large amount of pure, soluble protein. One way to obtain this was through recombinant technology, which involves inserting the PLpro gene into bacteria. For the process to take place effectively and efficiently, the expression must be carried out under optimal conditions, followed by a modification of the expression system. This study aimed to compare the expression of pET21d(+)-PLpro in *Escherichia coli* BL21(DE3) between optimized and non-optimized codons and to determine the optimal conditions during the protein expression process. It begins with plasmid amplification, verification, and transformation to *E. coli* BL21(DE3). PLpro expression was carried out on several

parameters with optimal results at an incubation temperature of 19°C and 0.1 mM IPTG induction for 18 hours of incubation. The results of the PLpro purification were 0.466 mg/mL (optimized) and 0.738 mg/mL (non-optimized). Based on the result in SDS-PAGE and Western-Blot observations, problems that exist in PLpro without codon optimization, such as leaky expression, protein degradation, inconsistent amounts of protein, and excessive expression of insoluble protein, can be overcome by codon optimization.