

Optimasi Ekspresi Gen Papain-Like-Protease Dari Sars-Cov-2 Pada Escherichia Coli, Produksi, Purifikasi, Dan Karakterisasinya = Optimization of the SARS-CoV-2 Papain-Like-Protease Gene Expression in Escherichia coli, Production, Purification, and Characterization

Napitupulu, Riswanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920566963&lokasi=lokal>

Abstrak

COVID-19 yang telah menyebabkan 6,9 juta korban jiwa di dunia, telah dapat dikendalikan melalui upaya vaksinasi dan pengembangan obat antivirus. Namun, infeksi ini masih memiliki resiko tinggi terutama untuk sebagian orang yang rentan secara klinis. Tiga obat antivirus telah disetujui secara klinis dengan mekanisme sebagai inhibitor 3-Chymotrypsin-like protease (3CLpro) dan inhibitor RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). Protease terbukti menjadi reseptor target potensial untuk COVID-19. Selain 3CLpro, protease lainnya yaitu Papain-Like-Protease (PLpro) pada SARS-CoV-2, berperan dalam pemotongan dan maturasi protein dalam proses replikasi virus, dan juga memiliki aktivitas menekan sistem imun. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekspresi PLpro pada Escherichia coli yang tidak aktif karena dalam bentuk badan inklusi. Chaperonin dan fusi dengan Maltose binding protein (MBP) diketahui dapat meningkatkan kelarutan protein rekombinan. Tujuan penelitian ini adalah mengoptimasi ekspresi gen PLpro dalam bentuk soluble dengan merekonstruksikan dengan suatu Chaperonin dan memfusikan MBP, serta dengan cara mengoptimasi kodon preferensi. Strategi ini menggunakan tahap konstruksi in silico dan sintetik. Purifikasi rekombinan PLpro dilakukan menggunakan kromatografi afinitas Ni-NTA, dilanjutkan dengan pemekatan dan eliminasi garam dengan ultrafiltrasi. Hasil diperoleh berupa rekombinan PLpro soluble murni dengan aktivitas enzimatis yang tinggi, dan memiliki potensi untuk dapat diaplikasikan sebagai protein target dalam pencarian obat antivirus.

.....COVID-19, which has claimed the lives of 6.9 million people, has been effectively managed through vaccination and the development of antiviral therapeutics. Nonetheless, the infection remains considerably poses a significant risk, particularly for individuals with clinical vulnerabilities. To combat the virus, three antiviral drugs have been granted clinical approval, acting as inhibitors of 3-Chymotrypsin-like protease (3CLpro) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). The significance of proteases as potential targets for COVID-19 has been recognized, wherein Papain-Like-Protease (PLpro) in SARS-CoV-2 plays crucial role in protein cleavage and maturation during viral replication and immune system suppression. Prior studies have highlighted the expression of PLpro in Escherichia coli, albeit in inclusion bodies. To enhance its solubility, this study aimed to optimize the expression of PLpro in a soluble form by employing chaperonin-assisted reconstruction and fusion with Maltose binding protein (MBP). Codon preference optimization was carried out as part of this in-silico and synthetic construction approach. PLpro recombinant purification was carried out using Ni-NTA affinity chromatography, followed by concentration and salt elimination steps by ultrafiltration. The result is a pure soluble PLpro with high enzymatic activity that has the potential to be applied as a target protein in the search for antiviral drugs.