

EKSPRESI DAN PURIFIKASI PROTEIN REKOMBINAN *Receptor-binding Domain* (RBD) SARS-CoV-2 PADA *E. coli* BL21(DE3)

INTISARI

Pandemi COVID-19 yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 tercatat telah mengakibatkan lebih dari 7 juta kematian di seluruh dunia. Salah satu strategi efektif yang dilakukan untuk menangani pandemi COVID-19 yakni dengan vaksinasi untuk mencegah infeksi yang lebih luas. Pengembangan vaksin dapat dilakukan menggunakan protein imunogenik dari virus SARS-CoV-2, salah satunya yaitu *receptor-binding domain* (RBD) pada subunit 1 spike glycoprotein yang berperan penting dalam pengikatan reseptor ACE2 pada sel inang. Pada penelitian ini, gen RBD yang telah dioptimasi diujikan secara *in silico* untuk mengetahui pemodelan struktur protein, karakteristik fisikokimia, antigenisitas hingga prediksi epitopnya. Sekuen gen RBD kemudian disisipkan pada vektor plasmid pET-15b untuk ditransformasi dan diekspresikan proteinnya pada sistem ekspresi prokariotik yaitu *Escherichia coli* BL21(DE3). Plasmid rekombinan pET-15b-S1 ditransformasi pada *E. coli* BL21(DE3) dengan metode *heat-shock*. Protein rekombinan RBD lalu diekspresikan dengan induksi IPTG untuk selanjutnya diisolasi dan dipurifikasi dengan kolom kromatografi afinitas Ni-NTA serta analisis *western blotting*. Berdasarkan prediksi yang diperoleh secara komputasional, protein rekombinan RBD bersifat antigenik dan non alergen serta dapat diekspresikan pada *E. coli* dalam bentuk tidak terlarut. Protein RBD juga berhasil ditransformasi dan diekspresikan dengan konsentrasi protein murni mencapai 106 mg/L pada kultur *E. coli* BL21(DE3). Analisis *western blotting* juga menunjukkan bahwa protein dapat terdeteksi dengan antibodi primer anti His-tag pada berat molekul yang sesuai dengan prediksi secara *in silico* yaitu 25 kDa. Kajian mengenai protein RBD pada SARS-CoV-2 ini dapat digunakan dalam pengembangan kandidat vaksin maupun diagnosis berbasis serologis pada COVID-19.

Keywords: *Receptor-binding domain*; protein rekombinan; SARS-CoV-2; COVID-19

EXPRESSION AND PURIFICATION OF RECEPTOR-BINDING DOMAIN (RBD) OF SARS-CoV-2 ON *E.coli* BL21(DE3)

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus has caused COVID-19 pandemic that caused more than 7 million deaths worldwide. One effective strategy used to deal with the COVID-19 pandemic is vaccination to prevent wider infections. The vaccine can be developed using the immunogenic protein of the SARS-CoV-2 virus, one of which is the receptor-binding domain (RBD) on the 1 subunit spike glycoprotein which plays an important role in ACE2 receptor binding on host cells. In this study, the optimized RBD gene was predicted in silico to know the protein structure modeling, physiochemical characteristics, antigenicity and its epitopic prediction. The sequence of the RBD gene then inserted into the plasmid vector pET-15b to be transformed and expressed in the prokaryotic expression system, *Escherichia coli* BL21.(DE3). The recombinant plasmid pET-15b-S1 was transformed into *E. coli* by heat-shock method. The recombinant protein RBD is then expressed by IPTG induction for further isolation and purification with Ni-NTA affinity chromatography columns and western blotting analysis. Based on computational predictions, the recombinant protein RBD is antigenic and non-allergic and can be expressed in *E. coli* in insoluble form. The RBD protein was also successfully transformed and expressed at a concentration of pure protein of 106 mg/L in *E. coli* culture. Western blotting analysis also showed that proteins could be detected with primary anti-His-tag antibodies at molecular weight that corresponds to the in silico prediction of 25 kDa. This study of RBD proteins in SARS-CoV-2 can be used in the development of vaccine candidates as well as serological-based diagnoses on COVID-19.

Keywords: Receptor-binding domain; recombinant protein; SARS-CoV-2; COVID-19