

Purifikasi antibodi monoklonal anti-spike SARS-CoV-2 menggunakan metode kromatografi afinitas dengan protein G dan kromatografi penukar ion = Purification of anti-spike SARS-CoV-2 monoclonal antibody using affinity chromatography with protein G and ion exchange chromatography

Mar`atul Azizah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20521085&lokasi=lokal>

Abstrak

Penerapan antibodi monoklonal (mAb) anti-spike untuk digunakan dalam diagnosis SARS-CoV-2 memerlukan suatu proses purifikasi untuk mendapatkan suatu antibodi yang murni dan homogen sehingga dapat mendeteksi suatu patogen spesifik secara optimal. Penelitian ini bertujuan untuk memurnikan mAb terhadap protein spike SARS-CoV-2 dan membandingkan hasil purifikasi terbaik dari metode kromatografi afinitas dengan protein G dan kromatografi penukar ion sehingga diperoleh metode yang paling optimal dalam purifikasi mAb terhadap protein spike SARS-CoV-2. Purifikasi mAb anti-spike SARS-CoV-2 dilakukan menggunakan kromatografi afinitas dengan protein G dan kromatografi penukar ion. Hasil purifikasi dari kedua metode kromatografi dikarakterisasi dan diuji fungsionalitasnya menggunakan SDS-PAGE, pengukuran konsentrasi protein, ELISA indirect, dan western blot (WB). Hasil profil SDS-PAGE menunjukkan mAb hasil purifikasi menggunakan protein G pada fraksi 19GD dan 20GD memiliki profil pita protein dengan dua pita, yaitu heavy chain ~50 kDa dan light chain ~25 kDa dengan tingkat kemurnian mencapai 96%. Uji fungsionalitas dengan ELISA indirect menunjukkan fraksi 19GD dan 20GD memiliki nilai absorbansi sebesar 1,015 dan 1,021. Uji fungsionalitas dengan WB menunjukkan adanya pengikatan mAb fraksi 19GD terhadap protein RBD pada ukuran ~38 kDa. Hasil karakterisasi dan uji fungsionalitas mAb fraksi hasil purifikasi dengan resin penukar ion menunjukkan profil pita protein kontaminan, nilai absorbansi dari 0,49—0,82, dan tidak terbentuk pita protein pada uji WB. Berdasarkan hasil tersebut, mAb anti-spike SARS-CoV-2 berhasil dimurnikan menggunakan kromatografi afinitas dengan protein G secara optimal.

.....The application of anti-spike monoclonal antibody (mAb) for use in the diagnosis of SARS-CoV-2 requires a purification process to obtain a pure and homogeneous antibody so that it can detect a specific pathogen optimally. This research aims to purify anti-spike SARS-CoV-2 mAb and compare the best purification results from affinity chromatography with protein G and ion-exchange chromatography methods in order to obtain the most optimal method of purification of anti-spike SARS-CoV-2 mAb. Purification of anti-spike SARS-CoV-2 mAb was carried out using affinity chromatography with protein G and ion exchange chromatography. The purification results from both chromatographic methods were characterized and tested for functionality using SDS-PAGE, measurement of protein concentration, indirect ELISA, and western blot (WB). The results of SDS-PAGE profile showed that mAb purified using protein G in the 19GD and 20GD fractions had a protein band profile with two bands, namely heavy chain ~50 kDa and light chain ~25 kDa with a purity level of 96%. The functionality test with indirect ELISA showed that 19GD and 20GD fractions had OD values of 1.015 and 1.021. Functionality test with WB showed the binding of mAb fraction 19GD to RBD protein at ~38 kDa. The results of characterization and functionality test of purified mAb fraction with ion exchange resin showed a contaminant protein band profile, absorbance

values from 0.49—0.82, and no protein band was formed in the WB test. Based on these results, anti-spike SARS-CoV-2 mAb was successfully purified using affinity chromatography with protein G optimally.