

Dampak pemberian siRNA MnSOD terhadap kepuncaan dan viabilitas sel punca kanker payudara (ALDH1+) = The effect of siRNA MnSOD to breast cancer stem cell (ALDH1+) viability and stemness

Dimas Ramadhian Noor, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20497469&lokasi=lokal>

Abstrak

Breast cancer stem cells (BCSCs) dengan petanda Aldehida dehidrogenase 1-positif (ALDH1+) merupakan populasi minor dari sel-sel tumor dengan kemampuan tumorigenik yang tinggi dan bertahan terhadap stres oksidatif. Manganese superoksida dismutase (MnSOD) merupakan pertahanan utama terhadap superoksida yang diekspresikan spesifik di mitokondria, yang merupakan salah satu sumber utama stres oksidatif di dalam sel. Sejauh ini, belum diketahui peranan MnSOD terhadap ketahanan hidup dan kepuncaan BCSC. Transfeksi in vitro pada BCSC (ALDH1+) dilakukan dengan menggunakan siRNA MnSOD spesifik dalam kondisi kultur standar. Total RNA dan protein diekstraksi dengan menggunakan TriPure® Isolation Reagent dan RIPA® lysis buffer. Viabilitas sel diukur dengan menggunakan trypan exclusion assay. Ekspresi relatif mRNA MnSOD dan OCT4 dianalisis dengan menggunakan one-step qRT-PCR. Aktivitas MnSOD diukur dengan menggunakan uji inhibisi xantin oksidase (RanSOD® kit). Kadar superoksida sel diukur dengan menggunakan uji dihidroetidium dan tumorigenik diukur dengan menggunakan mammosphere-forming unit. Setelah diinkubasi selama 48 jam dengan menggunakan siRNA dengan menggunakan dosis 80 pmol. Ekspresi relatif mRNA MnSOD mengalami penekanan sejumlah 0,17-kali ($p < 0,01$), penurunan aktivitas spesifik MnSOD sebesar 70,4 %, peningkatan kadar superoksida sel menjadi 1,13-kali, penurunan ekspresi OCT4 menjadi 1,08-kali ($p < 0,05$) dan penurunan mammosphere forming unit efficiency menjadi 36,5 % ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif. Viabilitas BCSC (ALDH1+) menurun sebanyak 75 % ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol negatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penekanan ekspresi MnSOD dapat menjadi target yang menjanjikan untuk menurunkan kepuncaan dan tumorigenitas BCSC (ALDH1+).

.....Aldehyde dehydrogenase 1-positive (ALDH1+) breast cancer stem cells (BCSCs) are a small population of tumor cells with high capacity of tumorigenicity and oxidative stress. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) is specifically expressed in mitochondria as the primary defense against superoxides, which are one of the causes of oxidative stress in cells. The aim of this study was to determine the impact of suppressing MnSOD expression using small interfering RNA (siRNA) on the stemness, tumorigenicity, and viability of BCSCs. In vitro transfection of ALDH1+ BCSCs was performed using 33 and 66 μ M specific MnSOD siRNA under standard culture conditions. Total RNA and protein were extracted from the transfected cells using TriPure® Isolation Reagent and RIPA® lysis buffer. Cell viability was measured using a trypan blue exclusion assay. The relative expression of MnSOD and OCT4 mRNAs was analyzed by one step qRT-PCR. MnSOD activity was determined by xanthine oxidase inhibition assay (RanSOD® kit). Cellular superoxides were measured using a dihydroethidium assay and tumorigenicity was observed with mammosphere-forming unit. After siRNA incubation for 48 hours, MnSOD was suppressed by 0.176-fold ($p < 0.01$), MnSOD enzyme specific activity was reduced 70.4%, cellular superoxide levels increased by 1.13-fold, OCT4 expression was suppressed by 1.98-fold ($p < 0.05$), and mammosphere-forming unit decreased by 36.5% ($p < 0.05$) compared with the corresponding negative controls. The viability of the ALDH1+ BCSCs was reduced 75% ($p < 0.05$). Our results suggest that suppression of MnSOD expression

may be a promising target to reduce stemness and tumorigenicity of ALDH1+ BCSCs.