

Evaluasi Dampak Knockout Gen Survivin terhadap Peningkatan Apoptosis dan Penghambatan Proliferasi Sel TNBC BT549 = The impact of survivin gene knockout on the increase of apoptosis and the inhibition of proliferation in BT549 TNBC cells

Silviatun Nihayah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920519237&lokasi=lokal>

Abstrak

Pendahuluan: Tingkat kematian pasien kanker payudara menempati posisi tertinggi dunia dan umum terjadi pada wanita. TNBC merupakan jenis kanker payudara yang memiliki prognosis buruk. Selain tidak memiliki reseptor hormonal (ER, PR, dan HER2), TNBC memiliki kemampuan yang tinggi dalam mempertahankan hidup dan menolak apoptosis. Hal ini berkaitan dengan tingginya ekspresi gen Survivin, sebagai protein IAP (inhibitor apoptosis protein) yang berperan dalam menghambat apoptosis dan meningkatkan proliferasi.

Studi terbaru menunjukkan bahwa CRISPR/Cas9 merupakan pendekatan yang sesuai untuk mengedit gen yang berpotensi besar dalam terapi kanker.

Bahan dan Metode: Sel TNBC BT549 yang telah ditransfeksi dengan Cas9 dan sgRNA. Analisis molekuler dimulai dengan analisis aktifitas pembelahan gen menggunakan (PCR), efisiensi pengeditan genom (Sanger Sequencing), ekspresi mRNA Survivin (qRT-PCR), dan analisis ekspresi protein Survivin (westernblot).

Analisis fenotipe dilakukan dengan uji apoptosis (flowcytometry) dan proliferasi (tripan-blue exclusion assay). Analisis bioinformatika dilakukan dengan menganalisis struktur protein (PyMoL) dan analisis interaksi protein (Cytoscape).

Hasil: CRISPR/Cas9 berhasil menghilangkan fungsi gen Survivin pada sel TNBC BT549. Penurunan ekspresi mRNA dan protein Survivin signifikan, peningkatan apoptosis dan penghambatan proliferasi pada sel TNBC BT549.

Kesimpulan: Penelitian ini merupakan riset pertama kali yang berhasil membuktikan efek dari KO Survivin pada apoptosis dan proliferasi sel TNBC BT549.

.....Introduction: Breast cancer has the highest mortality rate in the world and is most common in women. TNBC is a type of breast cancer with a poor prognosis. TNBC, in addition to lacking hormonal receptors (ER, PR, and HER2), has a high ability to maintain life and resist apoptosis. This is due to the high expression of the Survivin gene, an apoptotic inhibitor protein that plays a role in inhibiting apoptosis and increasing proliferation. Recent research has shown that CRISPR/Cas9 is a suitable approach for gene editing with great potential in cancer therapy.

Materials and Methods: Cas9 and sgRNA were transfected into BT549 TNBC cells. Molecular analysis with PCR, genome editing efficiency (Sanger Sequencing), Survivin mRNA expression (qRT-PCR), and protein expression analysis (westernblot). Phenotypic analysis were carried out by apoptosis (flowcytometry) and proliferation (trypan-blue exclusion assay). Protein structure were studied using (PyMoL) and protein interaction (Cytoscape).

Results: CRISPR/Cas9 successfully eliminated the function of the Survivin gene in BT549 TNBC cells. Significant reduction in Survivin mRNA and protein expression, increased apoptosis, and inhibition of proliferation in BT549 TNBC cells.

Conclusion: This study is the first to demonstrate the effect of Survivin knockout on apoptosis and

proliferation of TNBC BT549 cells.