

Pengeditan Ekson 2 Gen Survivin Menggunakan Sistem Crispr/Cas9 Dalam Menurunkan Agresivitas Kanker: Kajian Studi In Vitro Pada Galur Sel Kanker Payudara Triple Negative Bt549 Dan Studi Preliminary In Vivo Pada Tikus Dengan Induksi Dmba = Survivin Exon 2 Genome Editing Using Crispr/Cas9 System For Cancer Aggressiveness Attenuation: In Vitro Study On Triple Negative Breast Cancer Cell Line Bt549 And Preliminary In Vivo Study On Dmba-Induced Rat

Resda Akhra Syahrani, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920571580&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar Belakang: Survivin merupakan inhibitor protein apoptosis yang diekspresikan sangat tinggi pada kanker payudara dan berkaitan dengan agresivitas kanker yang ditandai oleh progresi cepat dan prognosis buruk. Peran utama survivin adalah untuk mengatur pembelahan sel dan mencegah apoptosis. Namun, mekanisme survivin lainnya sangat kompleks dan belum sepenuhnya dipahami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek knockout survivin terhadap agresivitas kanker yang berkaitan dengan mekanisme proliferasi, apoptosis, stemness, respons stres seluler, dan metastasis, serta volume nodul tumor payudara.

Metode: Sistem CRISPR/Cas9 digunakan untuk knockout survivin pada studi in vitro dan in vivo. Pada studi in vitro, sel knockout dan wild-type digunakan untuk menganalisis efek hilangnya survivin dalam berbagai mekanisme biologis. Protein yang berkaitan dengan apoptosis, pluripotensi, dan stres seluler diperiksa menggunakan proteomik array. Siklus sel, apoptosis, dan ekspresi penanda sel punca kanker payudara dianalisis menggunakan flowcytometry. Penanda yang berkaitan dengan metastasis dievaluasi melalui qRT-PCR. Pada studi in vivo, plasmid CRISPR/Cas9 diberikan melalui injeksi intratumor sebanyak tiga kali dengan rentang tiga hari antar injeksi. Tikus dikorbankan 14 hari setelah injeksi terakhir, kemudian nodul diukur dan diisolasi untuk validasi tingkat DNA dan protein.

Hasil: Sel knockout survivin menunjukkan laju proliferasi yang lebih lambat dan persentase apoptosis yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel wild-type. Sel knockout survivin juga menunjukkan persentase penanda sel punca kanker payudara yang lebih kecil, mendorong perubahan aktivasi respons terhadap stres seluler, seperti stres genotoksik, hipoksik, dan oksidatif, serta penurunan ekspresi protein dan mRNA yang berkaitan dengan metastasis. Selain itu, knockout survivin menunjukkan penghambatan pertumbuhan tumor mencapai 50%.

Kesimpulan: Ketidakhadiran survivin menyebabkan penurunan agresivitas kanker payudara dengan menghambat proliferasi, menginduksi apoptosis, menekan stemness, mengubah berbagai respons stres seluler, dan menurunkan protein yang berkaitan dengan metastasis. Selain itu, ketidakhadiran survivin juga menyebabkan penurunan volume tumor nodul payudara.

.....Introduction: Survivin, an inhibitor of apoptosis proteins, is highly expressed in breast cancer and

closely associated with its aggressiveness, characterized by its rapid progression and poor prognosis. The main role of survivin is to regulate cell division and prevent apoptosis. However, other survivin mechanisms are complex and not fully understood. The aim of this study was to evaluate the effects of knocking out survivin on cancer aggressiveness relating to mechanisms of proliferation, apoptosis, stemness, cellular stress response, and metastasis, as well as volume of nodule breast tumor.

Method: The CRISPR/Cas9 system was utilized to establish knockout survivin both in the in vitro and in vivo study. In in vitro study, knockout and wild-type cells were used to analyse the loss of survivin in various biological mechanisms. Apoptosis-, pluripotency-, and cellular stress-related proteins were examined using proteomic arrays. Cell cycle, apoptosis, and expression of breast cancer stem cell markers were analyzed via flow cytometry. Metastasis-related markers were evaluated via qRT-PCR. In in vivo study, CRISPR/Cas9 plasmid was given as intratumor injection three times with an interval of three days between injections. The rat was sacrificed 14 days after the last injection, then the nodule was measured and isolated for validation in DNA and protein levels.

Results: Knockout survivin cells exhibited slower proliferation rate and higher percentage of apoptosis. Knockout survivin cells also showed smaller percentage of breast cancer stem cells markers, promoted a shift toward activation response to cellular stress, such as genotoxic, hypoxic, and oxidative stress, as well as decreased of protein and mRNA expression-related metastasis. Additionally, survivin knockout demonstrated around 50% of the tumor growth inhibition.

Conclusion: The absence of survivin leads to attenuation of breast cancer aggressiveness by inhibiting proliferation, inducing apoptosis, suppressing stemness, altering various cellular stress response, and reducing protein related to metastasis. Moreover, the absence of survivin also leads to a reduced volume of nodule breast tumor.