

INTISARI

Latar Belakang: MikroRNA let-7a diketahui mengalami disregulasi pada berbagai malignansi, termasuk kanker payudara. Penurunan regulasi mir-let-7a menyebabkan ekspresi berlebih gen-gen terkait kesintasan sel kanker seperti *MYC* dan *WNT1* yang berperan dalam pensinyalan proliferasi. Terapi pengembalian fungsi miRNA tumor supressor menggunakan mimik miRNA sudah banyak dilakukan, salah satunya menggunakan penghantar berupa nanopartikel. Kitosan merupakan salah satu polimer alami yang dapat diformulasi menjadi nanokompleks dengan miRNA terkait sifat kationik yang dimilikinya.

Tujuan Penelitian: Penelitian bertujuan mengeksplorasi mekanisme miRNA let-7a-5p dalam meregulasi ekspresi *MYC* dan *WNT1* pada pensinyalan proliferasi lini sel kanker payudara T47D menggunakan mimik mir-hsa-let-7a-5p (let-7a) yang dihantarkan oleh nanopartikel kitosan (ChNP).

Metode: Sediaan kompleks let-7a/ChNP dibuat dengan metode gelasi ionik. Kompleks yang terbentuk dikarakterisasi menggunakan elektroforesis, DLS, dan NanoQuant. Uji sitotoksitas dengan *MTT assay* dilakukan untuk menentukan nilai IC50 sediaan let-7a/ChNP. Analisis *in silico* dengan StarMirDB dan RT-PCR dilakukan untuk menentukan pengaruh transfeksi let-7a/ChNP pada lini sel T47D.

Hasil Penelitian: Hasil karakterisasi kompleks let-7a/ChNP menunjukkan bahwa nanokompleks yang terbentuk berukuran $202,633 \pm 1,05$ nm dengan indeks polidispersitas sebesar $0,458 \pm 0,07$ dan potensial zeta sebesar $+12,9 \pm 0,52$ mV serta mampu mengenkapsulasi sebesar 80,2% mimik mir-let-7a-5p. Hasil *MTT assay* menunjukkan bahwa IC50 kompleks let-7a/ChNP secara signifikan lebih rendah dibandingkan *naked* mimik mir-hsa-let-7a-5p ($p=0,004$; $p<0,05$). Analisis *in silico* menunjukkan bahwa mir-hsa-let-7a-5p mampu menarget *MYC* dan *WNT1* melalui *seedless match*. Hasil RT-PCR menunjukkan bahwa rerata ekspresi *MYC* dan *WNT1* pada tiga kelompok perlakuan $1/4IC_{50}$, $1/2IC_{50}$, dan IC_{50} lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

Kesimpulan: Kompleks let-7a/ChNP dapat digunakan sebagai sistem penghantar mimik mir-hsa-let-7a-5p ke dalam lini sel kanker payudara T47D dan menginduksi terjadinya sitotoksitas yang disebabkan perubahan regulasi ekspresi *MYC* dan *WNT1* pada jalur pensinyalan proliferasi.

Kata Kunci: kanker payudara, lini sel T47D, mimik mir-hsa-let-7a-5p, *MYC*, nanopartikel kitosan, *WNT1*.

ABSTRACT

Background: Let-7a microRNA is known to be dysregulated in various malignancies, including breast cancer. Downregulation of mir-let-7a leads to overexpression of cancer cell survival-related genes such as *MYC* and *WNT1* that play a role in proliferation signaling. There have been a lot of research regarding tumor suppressor miRNA replacement therapy using miRNA mimics, one of them is the use of nanoparticles as a delivery system. Chitosan is one of the natural polymers that can be formulated into nanocomplexes with miRNA due to its cationic properties.

Research Objective: The aim of this study was to explore the mechanism of miRNA let-7a-5p on regulating *MYC* and *WNT1* expression in T47D breast cancer cell line proliferation signaling using miRNA-hsa-let-7a-5p mimics (let-7a) delivered by chitosan nanoparticles (ChNP)

Methods: The let-7a/ChNP complex was prepared by ionic gelation method. The complex formed was characterized using electrophoresis, DLS, and NanoQuant. Cytotoxicity test with MTT assay was performed to determine the IC₅₀ value of let-7a/ChNP complex. In silico analysis with StarMirDB and RT-PCR was performed to determine the effect of let-7a/ChNP transfection on the T47D cell line.

Results: The results of the let-7a/ChNP complex characterization showed that the nanocomplex formed was $202,633 \pm 1.05$ nm in size with a polydispersity index of 0.458 ± 0.07 and a zeta potential of $+12.9 \pm 0.52$ mV and able to encapsulate 80,2% mir-let-7a-5p mimic. The MTT assay results showed that the IC₅₀ of let-7a/ChNP complex was significantly lower than the naked mir-hsa-let-7a-5p mimic ($p=0.004$; $p<0.05$). In silico analysis showed that mir-hsa-let-7a-5p was able to target *MYC* and *WNT1* through seedless matches. RT-PCR results showed that the mean expression of *MYC* and *WNT1* in three IC₅₀ value treatment groups 1/4IC₅₀, 1/2IC₅₀, and IC₅₀ was lower than the control group.

Conclusion: The let-7a/ChNP complex can be used as mir-hsa-let-7a-5p mimic delivery system into the T47D breast cancer cell line and induce cytotoxicity through deregulation of *MYC* and *WNT1* expression in the proliferation signaling pathway.

Keywords: breast cancer, chitosan nanoparticles, mir-hsa-let-7a-5p mimic, *MYC*, T47D cell line, *WNT1*