

ABSTRACT

Background: *Glutathione S-Transferase M1 (GSTM1)* is one of the variants of *Glutathione S-Transferase (GST)* gene. *GSTM1* is important for detoxification of oxidative stress, carcinogens, environmental toxics, etc. However, polymorphism of *GSTM1* gene has been reported, which is *GSTM1* null genotype. This deletion may affect the body detoxification function. Decrease of detoxification will lead to higher inflammatory state in the body, due to high Reactive Oxygen Species (ROS). *GSTM1* null genotype is connected with higher chance in developing malignancy, neurodegenerative disease, etc. as a result of failure in detoxification. The mechanism of *GSTM1* null genotype in affecting macrophage M1 activity should be observed, whether it increase the macrophage M1 proliferation as a pro-inflammatory macrophage or not. MCP-1 is going to be used as a marker of M1 macrophage activity.

Objective: The aim of this study is to investigate the effect of the *GSTM1* knock out on MCP-1 mRNA expression in RAW 264.7 macrophage cells.

Methods: The *GSTM1* gene was knocked out from RAW 264.7 macrophage cells using CRISPR-Cas9. Then, the MCP-1 expression was obtained by extracting and isolating RNA, producing cDNA, and performing conventional PCR. The intensity of mRNA expression then was visualized using electrophoresis. The data was analyzed using ImageJ. The result between the knocked out and wild type cells were compared using the Independent-T test.

Result: The results obtained showed that the MCP-1 mRNA expression in *GSTM1* knocked out RAW 264.7 macrophage cell has lower results when compared to normal RAW 264.7 macrophage cell (wild type) gene but not significant statistically ($p > 0.05$).

Conclusion: The *GSTM1* null genotype showed minimal effect on MCP-1 mRNA expression in RAW 264.7 macrophage cells. This study showed that there was no difference in MCP-1 expression in RAW 264.7 macrophage cells which *GSTM1* was knocked out and those which were not.

Keywords: Inflammation; *GSTM1*; CRISPR-Cas-9; macrophage M1; MCP-1

INTISARI

Latar Belakang: *Glutathione S-Transferase M1 (GSTM1)* merupakan salah satu varian gen *Glutathione S-Transferase (GST)*. *GSTM1* penting untuk detoksifikasi stres oksidatif, karsinogen, racun lingkungan, dll. Namun, polimorfisme gen *GSTM1* telah dilaporkan, yaitu *GSTM1* nol genotipe. Penghapusan ini dapat mempengaruhi fungsi detoksifikasi tubuh. Menurunnya proses detoksifikasi akan menyebabkan peningkatan inflamasi dalam tubuh akibat tingginya *Reactive Oxygen Species (ROS)*. *GSTM1* nol genotipe dikaitkan dengan kemungkinan lebih tinggi terkena keganasan, penyakit neurodegeneratif, dll. akibat kegagalan detoksifikasi. Mekanisme *GSTM1* nol genotipe dalam mempengaruhi aktivitas makrofag M1 perlu diamati, apakah meningkatkan proliferasi makrofag M1 sebagai makrofag pro-inflamasi atau tidak. MCP-1 akan digunakan sebagai penanda aktivitas makrofag M1.

Tujuan: Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *GSTM1* nul genotipe terhadap ekspresi mRNA MCP-1 pada sel makrofag RAW 264.7.

Metode: Gen *GSTM1* di-*knock out* dari sel makrofag RAW 264.7 menggunakan CRISPR-Cas9. Kemudian, ekspresi MCP-1 diperoleh dengan mengekstraksi dan mengisolasi RNA, memproduksi cDNA, dan melakukan PCR konvensional. Intensitas ekspresi mRNA kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis. Data dianalisis menggunakan *ImageJ*. Hasil antara sel tipe *knock out* dan *wild type* dibandingkan menggunakan uji *Independent-T*.

Hasil: Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekspresi mRNA MCP-1 pada sel makrofag RAW 264.7 *knock out GSTM1* memiliki hasil yang lebih rendah jika dibandingkan dengan gen sel makrofag RAW 264.7 normal (*wild type*) namun tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$).

Kesimpulan: *GSTM1* nul genotipe menunjukkan efek minimal terhadap ekspresi mRNA MCP-1 pada sel makrofag RAW 264.7. Studi ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan perbedaan ekspresi MCP-1 pada sel makrofag RAW 264.7 yang *GSTM1*-nya di-*knock out* dan yang tidak.

Kata Kunci: Inflamasi; *GSTM1*; CRISPR-Cas-9; makrofag M1; MCP-1