

POTENSI NANOPARTIKEL *POLY- ϵ -CAPROLACTONE* (PCL) DALAM PENGEMBANGAN AGEN PENGHANTARAN GEN *rE* VEKTOR pEGFP-N1 SECARA *IN VITRO* SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN DENGUE.

INTISARI

Virus dengue (DENV) merupakan ancaman kesehatan global yang menyebabkan sekitar setengah dari populasi dunia berisiko terinfeksi, terutama di daerah tropis dan subtropis. Virus dengue (DENV) merupakan virus multiserotipe. Belum adanya obat antivirus multiserotipe yang mencakup keseluruhan serotipe DENV. Pengembangan vaksin dengue menjadi sangat penting dalam pencegahan, dan pengendalian penyakit ini. Sekuen *recombinant* E (EDIIIIF atau *rE*) dari empat serotipe DENV memiliki potensi sebagai kandidat vaksin DNA. Kelemahan vaksin DNA adalah kurang stabil dan mudah terdegradasi, sehingga diperlukan agen penghantaran yang dapat meningkatkan imunogenisitas vaksin DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi nanopartikel polimer *Poly- ϵ -caprolactone* (PCL) sebagai sistem penghantaran gen *rE* dengan vektor pEGFP-N1 pada sel HeLa. DNA diperbanyak dengan cara di kloning di dalam *E.coli* DH5 α . Kompleks nanopartikel PCL di formulasikan dalam beberapa rasio berat PCL banding PVA dan DNA. Kompleks nanopartikel dikarakterisasi dengan uji retardasi gel, fisikokimia terkait pengukuran potensial zeta, ukuran dan indeks dipersitas, serta dilanjutkan dengan uji stabilitas terhadap *DNAse* I dan serum. Kompleks nanopartikel dianalisis viabilitasnya terhadap sel HeLa dengan uji MTT. Keberhasilan kompleks nanopartikel yang membawa gen *rE* dianalisis dengan melihat ekspresi protein pEGFP dengan mikroskop konfokal yang ditandai dengan pendaran hijau dan dilanjutkan uji ekspresi relatifnya menggunakan RT-qPCR. Formula optimal perbandingan PCL:PVA:DNA adalah 2,5:2%:2 untuk uji lanjut. Berdasarkan formula optimum didapatkan nanopartikel berukuran 234,5 nm dengan potensial zeta -10,4 mV dan indeks dipersitas 0,276. Hasil pengamatan mikroskopi konfokal menunjukkan adanya pendaran hijau pada sel HeLa yang ditransfeksikan dengan PCL-pEGFP-N1-rE. Analisis ekspresi gen relatif dengan qPCR menunjukkan bahwa gen *rE* diekspresikan 5,14 kali lebih banyak dibandingkan kontrol sel tanpa perlakuan. Hasil ini membuktikan bahwa PCL mampu membawa gen *rE* masuk ke dalam sel dan PCL menjadi nanomaterial potensial untuk agen penghantaran DNA pada pengembangan vaksin DNA dengue.

Kata kunci : Gen *rE*, DENV, Nanopartikel, *Poly- ϵ -caprolactone*, pEGFP-N1

THE POTENTIAL OF POLY- ϵ -CAPROLACTONE (PCL) NANOPARTICLES AS A DELIVERY SYSTEM IN THE DEVELOPMENT DELIVERY AGENTS OF rE GENE USING THE pEGFP-N1 VECTOR AS CANDIDATES OF DENGUE VACCINES

ABSTRACT

Dengue virus (DENV) is a global health threat causing about half of the worldwide population to be at risk of infection, especially the people living in tropical and subtropical areas. The dengue virus (DENV) is multiple serotypes viral. The four closely related DENV serotypes are caused infection diseases difficult to prevent. A dengue vaccine that can protect against all four viruses is a public health need. Recombinant E (EDIIIIF or rE) sequences from the four DENV serotypes have been identified as potential candidates for DNA vaccines. However, DNA vaccines are inherently unstable and prone to degradation, necessitating the use of delivery agents to enhance their immunogenicity. This study aimed to explore the potential of Poly- ϵ -caprolactone (PCL) polymer nanoparticles as a gene delivery system for recombinant E using the pEGFP-N1 vector in HeLa cells. DNA was amplified by cloning in *E. coli* DH5 α . PCL nanoparticle complexes were formulated at various weight ratios of PCL to PVA and DNA. The complexes were characterized through gel retardation assays, zeta potential measurements, size, and polydispersity index analysis, followed by stability tests against *DNAse* I and serum. The viability of nanoparticle complexes was assessed on HeLa cells using MTT assays. The efficacy of nanoparticle complexes carrying rE was assessed through the observation of pEGFP protein expression using confocal microscopy, marked by green fluorescence, and further evaluated for relative expression using RT-qPCR. The optimal PCL:PVA:DNA ratio is 2,5:2%:2 was chosen for further tests. The nanoparticle has a size of 234,5 nm, zeta potential of -10,4 mV, and 0,276 of polydispersity index. Confocal microscopy observations revealed green fluorescence in HeLa cells transfected with PCL-pEGFP-N1-rE. Relative gene expression analysis by qPCR showed a 5,14-fold increase in rE expression compared to untreated control cells. These results demonstrate the ability of PCL to deliver rE genes into cells, establishing PCL as a potential nanomaterial for DNA delivery in dengue DNA vaccine development.

Keyword: rE gene, DENV, Nanoparticle, Poly- ϵ -caprolactone, pEGFP-N1