

ABSTRAK

Judul : Identifikasi Sel Punca dan Sel Endoderm pada Sel Fibroblas Manusia berdasarkan Amplifikasi Gen SOX2 dan CXCR4 menggunakan RT-PCR
Nama : Farah Zafirah Putri
Program Studi : Bioteknologi

Kemampuan dalam beregenerasi dan berdiferensiasi pada sel fibroblas manusia, ditandai dengan kemunculan ekspresi gen *Sex-determining region Y [SRY]-box 2* (SOX2). SOX2 sendiri merupakan faktor transkripsi inti dalam menginduksi kemampuan pluripoten (beregenerasi menjadi berbagai jenis sel dewasa) pada *human induced Pluripotent Stem cell* (hiPS). Sedangkan untuk proses diferensiasi hiPS menjadi sel urothelial dapat dilakukan identifikasi pada proses pembentukan (*Definitive Endoderm*) DE yang ditandai dengan ekspresi dari *C-X-C chemokine receptor type 4* (CXCR4) sebagai faktor transkripsi DE. Sel fibroblas digunakan sebagai sampel karena dapat diinduksi menjadi hiPS dengan pemrograman ulang. Analisis ekspresi dari kedua gen tersebut pada sel fibroblas manusia untuk menganalisis kemampuan sel dalam beregenerasi dan berdiferensiasi dapat dilakukan dengan menggunakan *real-time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Metode riset pada sampel sel fibroblas manusia dilakukan kultur sel dan dilanjutkan isolasi RNA. Optimasi suhu annealing pada primer yang telah didesain secara *In silico*. Identifikasi tingkat ekspresi gen secara kuantitatif dengan $2^{-\Delta\Delta CT}$ serta analisis ekspresi tambahan dengan elektroforesis. Hasil desain primer gen SOX2 dan CXCR4 menunjukkan hasil yang spesifik pada gen target, dengan suhu annealing 50°C menggunakan RT-PCR. Pembentukan kurva satu *peak* pada analisis *melting curve* menunjukkan spesifisitas primer. Hasil tingkat ekspresi gen menunjukkan bahwa nilai *mean* dari $2^{-\Delta\Delta CT}$ pada masing-masing primer yaitu untuk SOX2 sebesar 3,66, CXCR4 Primer 1 sebesar 3,65 dan CXCR4 Primer 2 sebesar 0,92. Primer yang telah dirancang berpotensi untuk digunakan dalam identifikasi ekspresi gen SOX2 dan CXCR4 baik pada sel punca (hiPS) maupun sel endoderm dari sel fibroblas dalam pengembangan rekayasa jaringan.

Kata Kunci: fibroblas, *tissue engineering*, sel punca, sel endoderm, pluripotent.

ABSTRACT

Title : *Identification of Stem Cells and Endoderm Cells in Human Fibroblast Cells based on SOX2 and CXCR4 Gene Amplification using RT-PCR*

Name : Farah Zafirah Putri

Study Program : *Biotechnology*

The ability to regenerate and differentiate in human fibroblast cells is indicated by the appearance of the expression of the Sex-determining region Y [SRY]-box 2 (SOX2) gene. The SOX2 itself is a core transcription factor in inducing pluripotency (regenerate into various types of mature cells) in human induced pluripotent stem cells (hiPS). Meanwhile, the process of differentiation of hiPS into urothelial cells can be identified in the process of formation (Definitive Endoderm) DE which is characterized by the expression of C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4) as a transcription factor for DE. Fibroblast cells are used as samples because they can be induced into hiPS by reprogramming. Analysis of the expression of these two genes in human fibroblast cells to analyze the cell's ability to regenerate and differentiate can be carried out using real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). The research method on samples of human fibroblast cells was carried out by cell culture and continued with RNA isolation. Optimization of annealing temperature on primers that have been designed in silico. Quantitative identification of gene expression levels by $2^{-\Delta\Delta CT}$ and additional expression analysis by electrophoresis. The results of the SOX2 and CXCR4 gene primer designs showed specific results on the target gene, with an annealing temperature of 50°C using RT-PCR. The formation of a one peak curve on the melting curve analysis indicates the specificity of the primer. The results of gene expression levels showed that the mean value of $2^{-\Delta\Delta CT}$ for each primer was 3,66 for SOX2, 3,65 for CXCR4 Primer 1, and 0,92 for CXCR4 Primer 2. The primers that have been designed have the potential to be used in the identification of SOX2 and CXCR4 gene expression in both stem cells (hiPS) and endoderm cells from fibroblast cells in the development of tissue engineering.

Keywords: *fibroblast, tissue engineering, stem cell, endoderm cell, pluripotent.*