

ABSTRAK

DETEKSI Fc γ RI PADA *STEM CELL* YANG DIISOLASI DARI DARAH TEPI

Cynthia Winarto, 2009.

Pembimbing I : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D.

Pembimbing II : Lusiana Darsono, dr., M.Kes.

Penelitian terhadap *stem cell* meningkat dalam beberapa tahun terakhir ini karena potensi *human stem cell* yang dapat memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi sel spesifik. Hal ini yang menyebabkan *stem cell* dijadikan sebagai *cell-based therapy* untuk berbagai penyakit. Namun, pengetahuan akan imunogenisitas *stem cell* khususnya yang diisolasi dari darah tepi (*peripheral blood*) masih sangat sedikit dan penelitian tentang interaksi imunoglobulin dengan reseptor pada *stem cell* belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro laboratory experiment* yang untuk mendeteksi ekspresi Fc γ RI pada *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi. Fc γ RI merupakan reseptor IgG yang berpotensi mengaktivasi fagositosis dalam sistem imun sehingga deteksi ekspresi Fc γ RI berguna untuk memahami lebih jauh tentang imunogenisitas *stem cell* dalam sistem imun.

Objek penelitian ini adalah *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi. Pertama, sel mononuklear diisolasi dari darah tepi dengan menggunakan *Ficoll-Paque. Sel mononuklear* yang telah diisolasi dilanjutkan dengan proses *magnetic activating cell sorting* (MACS) untuk mendapatkan *hematopoietic stem cell* (HSC). Kemudian dilakukan proses *flow cytometry* untuk memastikan didapatkannya populasi HSC yang homogen dengan analisis ekspresi CD34. Setelah itu, dilakukan isolasi mRNA dari HSC. Terakhir, dilanjutkan dengan proses *Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction* (RT-PCR) dengan menggunakan primer *forward* dan *reverse* spesifik Fc γ RI dan β -actin. Hasil RT-PCR tersebut dievaluasi dengan elektroforesis dan kemudian dianalisis.

Hasil RT-PCR menunjukkan bahwa mRNA Fc γ RI terdeteksi pada *stem cell* darah tepi. Berdasarkan hal ini, dapat disimpulkan bahwa Fc γ RI diekspresikan pada *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi.

Kata kunci: *Stem cell*, Fc γ RI, Darah tepi, Imunoglobulin G

ABSTRACT

DETECTION OF Fc γ RI ON STEM CELL ISOLATED FROM PERIPHERAL BLOOD

Cynthia Winarto, 2009.

Supervisor I : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D.

Co-Supervisor : Lusiana Darsono, dr., M.Kes.

Stem cell research has been expanding within the last few years because human stem cell has potential of renewing themselves and inducing to become cells with special functions. Based on that, stem cell has been chosen as cell-based therapy to treat several diseases. However, an understanding about stem cell immunogenicity especially from peripheral blood has been very limited. Moreover, little has been known about the possible interaction between stem cell and immunoglobulin.

This study was conducted as an in vitro experimental laboratory work. The objective of this study is to detect Fc γ RI expression on stem cell isolated from peripheral blood. Fc γ RI is IgG receptor with a function to initiate phagocytosis. Thus, detection of Fc γ RI expression will lead the further understanding of stem cell immunogenicity in immune system.

Stem cell isolated from peripheral blood was used through out this study. First of all, mononuclear cells (MNCs) were isolated from peripheral blood by using Ficoll-Paque. Isolated MNCs was processed by magnetic activating cell sorting (MACS) to obtain hematopoietic stem cell (HSC). Then, flow cytometry assay was done to confirm homogenous HSC population, marked by CD34 expression. From the HSC, mRNA was isolated. Last, Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) was done by using forward and reverse specific primer of Fc γ RI and β -actin. The result of RT-PCR was evaluated by electroforesis and then analyzed.

RT_PCR results have shown that Fc γ RI mRNA was detected on peripheral blood stem cell. Based on this finding, it can be concluded that Fc γ RI expressed on stem cell isolated from peripheral blood.

Key words: *Stem cell, Fc γ RI, Peripheral blood, Immunoglobulin G*

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	1
1.3 Maksud dan Tujuan	2
1.4 Kegunaan Penelitian	2
1.5 Kerangka Pemikiran	2
1.6 Metode Penelitian	3
1.7 Lokasi dan Waktu Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Stem Cell</i>	4
2.1.1 <i>Jenis Stem Cell</i>	4
2.1.2 <i>Sumber Stem Cell</i>	6
2.1.2.1 <i>Embryonic Stem Cell</i>	6
2.1.2.2 <i>Adult Stem Cell</i>	8
2.1.3 <i>Hematopoietic Stem Cell (HSC)</i>	9
2.1.3.1 <i>Hematopoietic Stem Cell Marker</i>	10
2.1.3.2 <i>Peran Hematopoietic Stem Cell dalam Terapi</i>	12
2.2 <i>Fc Receptor</i>	14
2.2.1 <i>Kelas Fc receptor</i>	15
2.2.2 <i>Fungsi Fc receptor</i>	15
2.2.3 <i>Mekanisme Sinyal Fc receptor</i>	15
2.2.4 <i>Fc-gamma receptor (FcγR)</i>	16
2.2.5 <i>FcγRI</i>	17
2.3 <i>Isolasi Mononuclear Cell (MNC) dengan Ficoll-Paque</i>	17
2.4 <i>Magnetic activated Cell Sorting (MACS)</i>	18
2.5 <i>Flow Cytometry</i>	20
2.6 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	21
2.7 <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i>	25

BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Objek Penelitian	26
3.2 Metode Penelitian	26
3.3 Alat dan Bahan.....	26
3.3.1 Alat.....	26
3.3.2 Bahan	27
3.4 Diagram Penelitian.....	28
3.5 Cara Kerja	29
3.5.1 Isolasi <i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i> (PBMC)	29
3.5.2 Separasi Sel CD34 ⁺ dengan MACS	29
3.5.2.1 <i>Magnetic Labeling</i>	29
3.5.2.2 <i>Magnetic Separation</i>	29
3.5.3 Deteksi Sel CD34 ⁺ dengan <i>Flow Cytometry</i>	30
3.5.4 Isolasi mRNA.....	30
3.5.5 RT-PCR.....	31
3.5.6 Elektroforesis	33
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi PBMC (<i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i>)	34
4.2 Separasi Sel CD34 ⁺ dengan MACS	35
4.3 Deteksi Sel CD34 ⁺ dengan <i>Flow Cytometry</i>	35
4.4 Deteksi Ekspresi mRNA FcγRI pada <i>Hematopoietic Stem Cell</i> (HSC)	36
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
 DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	46
RIWAYAT HIDUP	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Pembagian <i>Fc-gamma Receptor</i> 16
Tabel 3.1	<i>Master Mix One Step</i> RT-PCR dengan Primer β -actin dan Fc γ RI 32
Tabel 3.2	Program One Step RT-PCR dengan Primer β -actin dan Fc γ RI 32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Jenis <i>stem cell</i> berdasarkan potensi.....	5
Gambar 2.2 Sumber dan diferensiasi dari <i>embryonic stem cell</i>	7
Gambar 2.3 Sifat platisitas dari <i>adult stem cell</i>	8
Gambar 2.4 Diferensiasi <i>hematopoietic stem cell</i>	10
Gambar 2.5 Interaksi <i>Fc receptor</i> dengan antibodi	14
Gambar 2.6 Isolasi MNC dengan <i>Ficoll-Paque</i>	18
Gambar 2.7 Tahapan proses MACS	19
Gambar 2.8 Struktur molekul FITC	20
Gambar 2.9 <i>Flow cytometry</i>	21
Gambar 2.10 Tahap-tahap PCR	23
Gambar 2.11 Penggandaan gen secara eksponensial pada PCR.....	24
Gambar 2.12 Analisis hasil PCR dengan elektroforesis gel agarosa	25
Gambar 4.1 Isolasi sel mononuclear dengan <i>Ficoll-Paque</i>	34
Gambar 4.2 Hasil <i>flow cytometry</i> sebelum MACS dan setelah MACS.....	36
Gambar 4.3 Hasil produk <i>one-step</i> RT-PCR pada gel Agarosa 2,5 %	39
Gambar 4.4 Hasil produk PCR untuk pemeriksaan kontaminan DNA.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran Foto Alat	46