

ABSTRAK

DETEKSI FcγRIIa PADA *STEM CELL* YANG DIISOLASI DARI DARAH TEPI

Jessie Theresia Caroline, 2008.

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

Pembimbing Pendamping : dr. Lusiana Darsono, M.kes

Latar belakang: Untuk memberikan pemahaman yang lebih terhadap imunogenisitas *stem cell*, maka perlu diketahui ada atau tidaknya *Fc-gamma receptor*, dalam hal ini FcγRIIa pada *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi.

Tujuan: Ingin mengetahui ada atau tidaknya FcγRIIa pada *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi.

Metode Penelitian: Penelitian laboratorium eksperimental dengan objek penelitian adalah *hematopoietic stem cell* yang diisolasi dari darah tepi.

Hasil: Pada visualisasi *amplicon Reverse Transcriptase* PCR (RT-PCR) dengan menggunakan primer yang mentarget mRNA FcγRIIa, didapatkan *band* dengan ukuran antara 300 bp dan 400 bp. Hal ini sesuai dengan ukuran primer FcγRIIa yaitu 346 bp.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil RT-PCR pada mRNA darah tepi *stem cell* terdeteksi adanya ekspresi FcγRIIa. Hal ini merupakan informasi yang mengindikasikan adanya interaksi antara *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi dengan Imunoglobulin G melalui reseptornya yaitu FcγRIIa.

Saran: Penting dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui interaksi antara Imunoglobulin G dengan FcγRIIa pada *stem cell*, dengan FcγRIIa pada *stem cell* yang diisolasi dari darah tepi.

Kata kunci: FcγRIIa, *stem cell*, darah tepi, Imunoglobulin G.

ABSTRACT

DETECTION OF *FcγRIIa* AT STEM CELL WHICH IS ISOLATED FROM PERIPHERAL BLOOD

Jessie Theresia Caroline, 2008.

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

Co-supervisor : dr. Lusiana Darsono, M.kes

Backgrounds: Immunogenicity of stem cell has not been fully characterized. A better understanding of stem cell immunogenicity can be obtained through detection of Immunoglobulin Receptor i.e. *FcγR*. This study explored the detection of *FcγRIIa* on peripheral blood stem cell.

Objectives: To detect the expression of *FcγRIIa* on peripheral blood stem cell.

Research Methods: This study was conducted as an experimental research of laboratory using stem cell isolated from peripheral blood.

Results: A band sized between 300 bp and 400 bp was visualized after the Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) using primer set targeting. This result was in accordance to the expected size of *FcγRIIa* amplicon i.e. 346 bp.

Conclusions: Based on the result from RT-PCR on mRNA from peripheral blood stem cell, *FcγRIIa* expression was detected. This finding informed there is an indication of interaction between stem cell and Immunoglobulin G through one of it's receptors, *FcγRIIa*.

Suggestion: It will be important to conduct further assays to characterize the interaction between Immunoglobulin G and *FcγRIIa* on peripheral blood stem cell.

Keywords: *FcγRIIa*, stem cell, peripheral blood, Immunoglobulin G.

DAFTAR ISI

JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Metode Penelitian	3
1.6 Lokasi dan Waktu	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Stem Cell</i>	4
2.1.1 Klasifikasi <i>Stem Cell</i>	4
2.1.1.1 <i>Embryonic Stem Cell</i>	5
2.1.1.2 <i>Adult Stem Cell</i>	7
2.1.2 <i>Hematopoietic Stem Cell</i> (HSC)	9
2.1.2.1 <i>Marker HSC</i>	10
2.1.2.2 <i>Sumber HSC</i>	11
2.1.2.3 <i>Peran HSC</i>	11
2.1.3 HSC yang diisolasi dari darah tepi	12
2.2 <i>Fc Receptor</i> (FcR)	12
2.2.1 Fungsi <i>Fc Receptor</i>	14
2.2.2 <i>Fc-gamma receptors</i> (FcγR)	14
2.2.3 Mekanisme Sinyal <i>Fcy Receptor</i>	16
2.2.4 <i>Fc-gamma receptors IIa</i> (FcγRIIa)	17
2.3 <i>Ficoll-Paque PLUS</i>	18
2.5 <i>Magnetic-Activated Cell Sorting</i> (MACS)	19
2.6 <i>Flow cytometry</i>	20
2.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	22
2.7.1 PCR DNA	22
2.7.2 RT-PCR	25

BAB III BAHAN dan METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian	27
3.2 Metode Penelitian	27
3.3 Alat dan Bahan	27

3.3.1 Alat	27
3.3.2 Bahan	28
3.4 Diagram Penelitian.....	30
3.5 Cara Kerja.....	31
3.5.1 Isolasi <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> (PBMCs)	31
3.5.2 <i>Magnetic Activating Cell Sorting</i> (MACS) dengan miniMACS.....	31
3.5.2.1 <i>Magnetic Labeling</i>	31
3.5.2.2 <i>Magnetic Separation</i>	32
3.5.3 Analisis dengan <i>Flow cytometry</i> menggunakan FACS	32
3.5.4 Isolasi mRNA.....	33
3.5.5 <i>One step</i> RT-PCR.....	35
3.5.6 Elektroforesis	36
 BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi PBMCs (<i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>).....	37
4.2 Separasi Sel CD34 ⁺ dan Konfirmasi Kemurnian CD34 ⁺	38
4.3 <i>One step</i> RT-PCR.....	39
4.3.1 Deteksi ekspresi mRNA FcγRIIa pada <i>Peripheral Blood</i>	41
4.3.2 Deteksi kontaminan terhadap mRNA.....	42
 BAB V KESIMPULAN dan SARAN	
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran.....	46
 DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	50
RIWAYAT HIDUP	52

DAFTAR GAMBAR

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Gambar 2.1 <i>Human Embryonic Stem Cell Colony</i>	5
Gambar 2.2 <i>Pluripotent Embryonic Stem Cell</i>	6
Gambar 2.3 Proses Kultur <i>Human Embryonic Stem Cell</i>	7
Gambar 2.4 <i>Adult Stem Cell</i>	8
Gambar 2.5 Kemampuan Diferensiasi <i>Hematopoietic Stem Cell</i>	9
Gambar 2.6 Fragmen Antibodi	13
Gambar 2.7 <i>Fc Receptor</i>	13
Gambar 2.8 Mekanisme Sinyal <i>Fcy Receptor</i>	17
Gambar 2.9 <i>miniMACS Separator</i>	20
Gambar 2.10 <i>Flow cytometry</i>	21
Gambar 2.11 PCR	22
Gambar 2.12 Tahap-Tahap PCR.....	24
Gambar 2.13 Penggandaan Gen Secara Eksponensial Dengan PCR.....	25

BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN

Gambar 4.1 Isolasi sel mononuklear (interfase) dari darah tepi menggunakan <i>Ficoll-Paque</i>	37
Gambar 4.2 Hasil PBMC sebelum MACS dan setelah MACS	38
Gambar 4.3 Hasil produk <i>one step</i> RT-PCR dengan primer β <i>actin</i> , FcyRIIa dan DNA <i>ladder</i>	42
Gambar 4.4 Hasil produk PCR DNA dengan primer FcyRIIa dan hasil produk <i>one step PCR</i> dengan primer mRNA darah tali pusat, darah tepi, dan <i>mesenchymal</i> adiposa	44

DAFTAR TABEL

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Tabel 2.1 Pembagian <i>Fc-gamma Receptors</i>	15
---	----

BAB III BAHAN dan METODE PENELITIAN

Tabel 3.1 <i>Master Mix one step</i> RT-PCR yang digunakan dalam reaksi RT-PCR dengan primer β -actin dan Fc γ RIIa.....	35
---	----

BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN

Tabel 4.1 Program <i>one step</i> RT-PCR Fc γ RIIa	39
Tabel 4.2 Program <i>one step</i> RT-PCR β actin	39
Tabel 4.3 Primer yang digunakan	40