

ABSTRAK

DETEKSI Fc γ RIIb PADA STEM CELL YANG DIISOLASI DARI *LIPOASPIRATE*

Albert, 2009. Pembimbing I : Caroline Tan Sardjono, dr. PhD.

Pembimbing II : Laella Kinghua Liana, dr. SpPA. MKes.

Aplikasi *Mesenchymal stem cells* (MSCs) dalam terapi regeneratif telah diselidiki secara luas. Belakangan ini diketahui bahwa MSCs memiliki sifat supresi sistem imun yang memungkinkan penggunaan MSCs untuk mengobati penyakit autoimun dan *Graft versus host disease* (GVHD). Namun, profil imunogenisitas dari sel ini belum sepenuhnya diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi ekspresi reseptor imunoglobulin G (dalam hal ini Fc γ RIIb) dari MSCs yang diisolasi dari *lipoaspirate*. Fc γ RIIb merupakan reseptor inhibisi, yang berikatan dengan Imunoglobulin G dengan afinitas rendah terhadap monomer IgG namun menunjukkan *aviditas* yang tinggi terhadap kompleks IgG. Pada sel inflamasi, IgG telah dilaporkan memiliki peran penting dalam menghambat respon inflamasi melalui sifat inhibisinya terhadap reseptor aktivasi lainnya. Keberadaan Fc γ R akan mengindikasikan interaksi yang mungkin akan terjadi antara MSCs dengan kompleks imun. Penelitian ini dilakukan dengan mempergunakan MSCs yang diisolasi dari *lipoaspirate* yang berasal dari operasi *liposuction* kosmetik elektif. Untuk mendeteksi kemungkinan adanya Fc γ RIIb, dilakukan RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) pada mRNA dari MSCs. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat amplicon Fc γ RIIb yang mengindikasikan tidak dimilikinya reseptor ini oleh MSCs.

Kata Kunci : *Mesenchymal stem cells* (MSCs), *lipoaspirate*, *imunopresi*, Fc γ RIIb, Imunoglobulin G

ABSTRACT

Fc γ RIIb DETECTION IN STEM CELL ISOLATED FROM LIPOASPIRATE

Albert 0510084,2009 1st Supervisor: Caroline Tan Sardjono, dr. PhD.

2nd Supervisor: Laella Kinghua Liana, dr. SpPA. MKes.

Application of Mesenchymal stem cells (MSCs) in regenerative therapy has been explored extensively. Recently, it has been discovered that MSCs have immunosuppressive properties which facilitate the utilization of MSCs to treat autoimmune diseases and Graft versus host diseases (GVHD). However immunogenicity profile of these cells has not been fully characterized. The purpose of this study is to detect the immunoglobulin G receptor (i.e. Fc γ RIIb) expression on MSCs isolated from lipoaspirate. Fc γ RIIb is an inhibitory receptor for Immunoglobulin G with low affinity to monomeric IgG but exhibits high avidity towards complexed IgG. Fc γ RIIb on inflammatory cells has been reported to be important in inhibiting the inflammatory response through its inhibition properties toward the other activating receptors. The presence of Fc γ Rs will indicate the possible interaction between MSCs to immune complexes. This study was conducted using MSCs isolated from lipoaspirate following an elective cosmetic liposuction surgery. To detect the possible presence of Fc γ RIIb, the mRNA from MSCs were subjected to RT_PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction). The results shown that there was no amplicon for Fc γ RIIb which indicate the absence of this receptor.

Keywords: Mesenchymal stem cells (MSCs), lipoaspirate, immunosuppression, Fc γ RIIb, Immunoglobulin G.

DAFTAR ISI

JUDUL	i
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.....	2
1.3 Maksud dan Tujuan.....	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Penelitian	3
1.6 Metode Penelitian	4
1.7 Lokasi dan Waktu	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. <i>Stem cell</i> (sel punca).....	5
2.2. <i>Mesenchymal stem cell</i> (MSC) dan potensinya	8
2.3. <i>Stem cell mesenchymal</i> yang diisolasi dari <i>lipoaspirate</i>	11
2.4. Reseptor imunoglobulin G Fc γ RIIb	13

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Metode penelitian	16
3.2. Alat dan bahan	17
3.2.1. Bahan	17
3.2.2. Alat	27
3.3. Cara kerja.....	27
3.3.1.a <i>Thawing PLA cells</i>	27
3.3.2.b <i>Thawing peripheral blood mononuclear cells</i> (PBMCs).....	28
3.3.2. Analisis <i>flowcytometry</i> dengan menggunakan <i>fluorescent activated cell sorting</i> (FACS)	28
3.3.3. Isolasi mRNA.....	29
3.3.4. RT_PCR (<i>Reverse transcriptase polymerase chain reaction</i>)	30
3.3.5. Deteksi kontaminan DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i>	33

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN

4.1. Seleksi MSC dari <i>lipoaspirate</i>	35
4.2. Analisa ekspresi CD45 pada <i>processed lipoaspirate cells</i>	37
4.3. Deteksi ekspresi mRNA FcγRIIb pada PLA <i>cells</i>	41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA	50
-----------------------------	----

LAMPIRAN FOTO	55
----------------------------	----

RIWAYAT HIDUP	57
----------------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Primer yang digunakan.....	18
Tabel 3.2	<i>Master Mix one step</i> RT-PCR β -actin dan Fc γ RIIb.....	31
Tabel 3.3	Program <i>one step</i> RT-PCR β -actin.....	31
Tabel 3.4	Program <i>one step</i> RT-PCR Fc γ RIIb.....	32
Tabel 3.5	Program <i>one step</i> RT-PCR CD45.....	32
Tabel 3.6	<i>Master Mix</i> PCR Fc γ RIIa.....	33
Tabel 3.7	Program PCR Fc γ RIIa.....	34
Tabel 4.1	Ekspresi <i>common stem cell surface marker</i> pada <i>mesenchymal stem cell</i>	37
Tabel 4.2	Daftar <i>amplicon</i> RT-PCR yang diharapkan berserta ukuran.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema sederhana diferensiasi <i>stem cell</i> embrional.....	7
Gambar 4.1 Hasil kultur PLA.....	36
Gambar 4.2 Struktur molekul FITC.....	39
Gambar 4.3 histogram hasil analisa <i>flow cytometry</i> CD34 pada kultur PLA, PBMC, dan <i>isotype control</i>	40
Gambar 4.4 Visualisasi hasil <i>one step</i> RT-PCR CD45 dan Fc γ RIIb.....	42
Gambar 4.5 Visualisasi hasil <i>one step</i> RT-PCR sampel UCB dengan primer Fc γ RIIb.....	42
Gambar 4.6 Visualisasi hasil <i>one step</i> RT-PCR β -actin pada MSC.....	45
Gambar 4.7 Visualisasi hasil PCR Fc γ RIIb pada MSC	46
Gambar 4.8 Visualisasi PCR Fc γ RIIa dari DNA darah tepi	46