

ABSTRAK
EKSPRESI FC RIIB YANG DIISOLASI DARI SEL PUNCA DARAH
TALI PUSAT

Elvine, 2009

Pembimbing I : Caroline Tan Sardjono,dr., PhD
Pembimbing II: DR. Susi Tjahjani,dr., M.Kes

Penggunaan sel punca sebagai *cell based therapy* akhir – akhir ini mulai banyak dilakukan. Sel punca merupakan sel yang mampu mereplikasi dirinya dengan cara beregenerasi, mempertahankan, dan menggantikan sel yang mengalami kerusakan. Sel punca dapat diperoleh dari berbagai sumber antara lain adalah dari darah tali pusat. Sel punca darah tali pusat memiliki beberapa keistimewaan, diantaranya yaitu daya imunogenisitas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan sel punca sumsum tulang maupun sel punca dari darah perifer. Hal ini menyebabkan sel punca darah tali pusat memiliki tingkat risiko yang relatif rendah terhadap rejeksi pada tranplantasi secara alogenik. Namun sayangnya masih sedikit pengetahuan mengenai sifat imunogenitas dari sel punca darah tali pusat ini. Karakterisasi imunogenisitas sel punca akan menjadi informasi yang penting dalam menyusun strategi terapi dengan sel punca dalam mencegah reaksi rejeksi maupun pada pengobatan terapi penyakit auto imun.

Sistem imun merupakan suatu rangkaian yang terdiri dari banyak faktor. Dalam penelitian ini akan dideteksi adanya ekspresi reseptor antibodi imunoglobulin G yaitu Fc γ RIIb dari sel punca yang diisolasi dari darah tali pusat.

Sampel yang digunakan adalah mRNA dari sel punca darah tali pusat yang telah diseleksi terlebih dahulu dengan molekul penanda CD34. Amplikasi dilakukan dengan RT-PCR lalu dianalisa dengan elektroforesis.

Hasil penelitian dalam studi ini menunjukkan adanya amplikon Fc γ RIIb berupa band berukuran 541 bp pada analisis dengan elektroforesis yang mengindikasikan adanya ekspresi Fc RIIB pada sel punca darah tali pusat.

Kata kunci : sel punca, darah tali pusat, Fc γ RIIb, Reseptor Fc, *Imunoglobulin*

ABSTRACT

EXPRESSION OF Fc RIIB ON UMBILICAL CORD BLOOD STEM CELLS

Elvine, 2009

Supervisor I : Caroline Tan Sardjono,dr., PhD
Co-Supervisor: DR. Susi Tjahjani,dr., M.Kes

Utilization of stem cell as a cell-based therapy has been increasing lately. Stem cells are cells with a capability to replicate, regenerate, conserve, and to replenish damaged cells.

Stem cells can be isolated from several sources including umbilical cord blood. Umbilical cord blood stem cells have several advantages compared to stem cells from bone marrow or from peripheral blood. This, results in the less risk of rejection in the allogenic transplantation.

However, there has been very little known about the background of umbilical cord blood immunogenicity. Characterizations of stem cell immunogenicity will be important in determining a strategy to prevent rejection and also in the treatment of autoimmune diseases.

Immune system works as a network that involves many components. In this study, detection of the Fc γ RIIb expression a receptor for Immunoglobulin G, was conducted on umbilical cord blood stem cell.

Pre-selected stem cells from umbilical cord blood using CD34 as a marker was used to detect the presence of Fc γ RIIb mRNA. Amplification was done using RT_PCR assay and the analysis was done after the electrophoresis.

This study shown that there was Fc γ RIIb amplicon present as a band with size of 541bp after an analysis using electrophoresis. This result indicates the expression of Fc γ RIIb on umbilical cord blood stem cells.

Key words :

stem cell, umbilical cord blood, Fc γ RII, Fc Receptor, Immunoglobulin

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Maksud dan Tujuan.....	3
1.4 Manfaat karya tulis ilmiah.....	3
1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis Penelitian	
1.5.1 Kerangka Pemikiran.....	3
1.5.2 Hipotesis penelitian.....	5
1.6 Metodologi penelitian.....	5
1.7 Lokasi dan Waktu.....	5

BAB II Tinjauan Pustaka

2.1 Sel Punca.....	6
2.1.1 Sel Punca Embrionik.....	6

2.1.2 Sel Punca Dewasa.....	8
2.2 Sel punca dari darah tali pusat (<i>Umbilical Cord Blood -UCB</i>).....	10
2.2.1 Pengambilan sampel UCB.....	12
2.3 FcR (<i>Fc Receptor</i>).....	13
2.3.1 Fc RII (CD 32).....	15
2.3.2 Fc RIIB.....	15
2.4 ITAM (<i>Immunoreceptor Tyrosine based Activation Motif</i>).....	18
2.5 ITIM (<i>Immunoreceptor Tyrosine based Inhibitory Motif</i>).....	19
2.6 CD 34 ⁺	20
2.7 Ficoll.....	22
2.8 MACS.....	23
2.9 <i>Flow cytometry</i>	23
2.10 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	24
2.11 RT-PCR (<i>Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction</i>).....	28

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Objek penelitian.....	31
3.2 Metode penelitian.....	31
3.3 Alat dan Bahan	
3.3.1 Alat.....	31
3.3.2 Bahan.....	32
3.4 Cara Kerja	
3.4.1 Isolasi sel MN darah tali pusat.....	34
3.4.2 Pemisahan sel CD 34 ⁺ dengan MACS.....	34
3.4.2.1 Proses <i>Magnetic Labeling</i>	34
3.4.2.2 Proses <i>Magnetic Separation</i>	35

3.4.3 <i>Flowcytometry Assay</i>	35
3.4.4 Isolasi mRNA.....	36
3.4.5 Amplifikasi cDNA dnegan primer Fc RIIB dan <i>Actin</i>	37
3.4.6 Elektroforesis dan visualisasi.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi MNC.....	39
4.2 Seleksi sel dengan <i>Mini MACS</i>	40
4.3 Isolasi mRNA.....	41
4.3.1 Deteksi ekspresi mRNA Fc RIIB pada UCB.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	49

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR 2.1 Proses pengkulturan sel punca embrionik.....	6
GAMBAR 2.2 Gambar struktur Fc γ RIIB manusia secara keseluruhan.....	16
GAMBAR 2.3 Gambar dari komplek Fc R-IgG.....	17
GAMBAR 3.1. Perangkat MACS.....	34
GAMBAR 3.2. Perangkat FACS.....	36
GAMBAR 4.1. Isolasi MNC dengan menggunakan metode densitas <i>gradient</i>	40
GAMBAR 4.2. UCB sebelum dan sesudah MACS.....	41
GAMBAR 4.3 Visualisasi hasil <i>one step RT-PCR</i> pada <i>gel</i> agarosa 2.5%.....	43
GAMBAR 4.4 Visualisasi hasil <i>one step RT-PCR</i> primer <i>actin</i>	44
GAMBAR 4.5 Visualisasi hasil <i>PCR</i> DNA yg dirun dengan primer Fc RIIA dan hasil <i>one step PCR</i> primer RNA UCB dan PB	45