

ABSTRAK

DETEKSI Fc RI PADA *STEM CELL* YANG DIISOLASI DARI DARAH TALIPUSAT

Thomas Alphasera W.,2008 Pembimbing I : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D

Pembimbing II: Rimonta F. Gunanegara, dr., sp.OG

Terapi *Stem Cell* adalah metode medis baru yang sedang berkembang dan menjanjikan pengobatan pada banyak masalah kesehatan yang belum terpecahkan. Walaupun demikian, imunogenitas dari sel tersebut belum banyak diketahui. Karakterisasi dari reseptor *Immunoglobulin G* (FcγRs) dan keberadaannya pada *stem cell* tentunya akan memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai profil imunogenisitas dari *stem cell*. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi ekspresi Fc RI, yang merupakan reseptor dari *Immunoglobulin G*. Keberadaan dari reseptor ini mengindikasikan adanya potensi dari *stem cell* di dalam terapi penyakit yang berhubungan dengan imunogenisitas. Sampel yang digunakan adalah *stem cell* yang telah diseleksi berdasarkan marker CD34+ dengan metode *Magnetic-Activated Cell Separation* (MACS) dan kemurniannya dikonfirmasi dengan *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS). mRNA dari sel CD34+ kemudian diisolasi dan dilakukan RT-PCR untuk mendeteksi adanya ekspresi Fc RI.

Kata Kunci : *Stem cell*, Fc RI, *Immunoglobulin G*

ABSTRACT

DETECTION OF Fc RI IN STEM CELL ISOLATED FROM UMBILICAL CORD BLOOD

*Thomas Alphasera W, 2008 First Tutor : Caroline Tan Sardjono, dr., Ph.D
Second Tutor : Rimonta F. Gunanegara, dr., sp. OG*

Stem Cell therapy is a new developing medical method which promises treatment to many unresolved medical problems. However, little has been known about the immunogenicity of these cells. Characterization of the Immunoglobulin G Receptors (FcγRs) and their existence on stem cells clearly will provide a better understanding on stem cell immunogenicity profiles. The main objective of this study is to detect the expression of Fc RI, a receptor for Immunoglobulin G. The presence of this receptor will indicate whether there is any potentiation of stem cells in immunogenicity based disease therapy. The samples used in this study were stem cells from umbilical cord blood mononucleated cells, selected using CD34 marker by Magnetic-Activated Cell Separation (MACS) Assay whereas the purity were analyzed using Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS). Furthermore, mRNA from the CD34+ selected cells was isolated and subjected to RT-PCR to detect the Fc RI expression.

Keyword: Stem cell, Fc RI, Immunoglobulin G

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUANii
SURAT PERNYATAANiii
ABSTRAKiv
ABSTRACTv
KATA PENGANTARvi
DAFTAR ISIviii
DAFTAR GAMBARxi
DAFTAR TABELxii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Identifikasi Masalah.....	2
1.3. Maksud dan Tujuan.....	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	2
1.5. Metode Penelitian.....	3
1.6. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Stem Cell</i>	4
2.2 <i>Hematopoietic Stem Cell</i>	7
2.3 <i>Umbilical Cord Blood Stem Cell</i>	8
2.4 <i>Fc Receptor</i>	9
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	11
2.6 <i>Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction</i>	12

2.7	<i>Magnetic-Activated Cell Separation</i>	13
2.8	<i>Flow Cytometry</i>	14

BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1.	Objek Penelitian.....	16
3.2.	Metode Penelitian.....	16
3.3.	Alat, Bahan, dan Cara kerja	
3.3.1	Isolasi MNC.....	16
3.3.2	Seleksi <i>CD34+</i> cell (<i>MACS</i>).....	17
3.3.3	<i>Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)</i>	18
3.3.4	Isolasi mRNA (<i>Genelute Direct</i>).....	19
3.3.5	Deteksi <i>RNA Fc RI</i> dengan metode <i>One Step RT PCR</i>	21
3.3.6	Elektroforesis pada <i>gel Agarose</i>	24

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1.	Isolasi <i>Mononuclear Cell (MNC)</i>	26
4.2.	Separasi sel mononuklear <i>CD34+</i> (stem cell) dengan metode <i>Magnetic-Activated Cell Separation (MACS)</i>	26
4.3.	Konfirmasi kemurnian dengan <i>Flow Cytometry</i>	26
4.4.	Isolasi mRNA (<i>Genelute Direct</i>).....	27
4.5.	RT-PCR dengan menggunakan primer <i>Fc RI</i> dan primer <i>-actin</i>	27

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1.	Kesimpulan.....	31
5.2.	Saran.....	31

DAFTAR PUSTAKA	32
-----------------------------	----

LAMPIRAN	34
-----------------------	----

RIWAYAT HIDUP.....36

DAFTAR GAMBAR

BAB III ALAT, BAHAN, METODE PENELITIAN

- 3.1. Flowchart penelitian.....26

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

- 4.1. Hasil FACS sebelum dan sesudah MACS28
4.2. Hasil visualisasi elektroforesis29
4.3. Hasil elektroforesis kontrol positif dan kontrol negatif dengan PCR..31

DAFTAR TABEL

BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. komposisi <i>Master Mix</i>	23
3.2. Primer yang dipakai di dalam penelitian	24
3.3. Program <i>one step RT-PCR β-actin</i> dan Fc γ RI	24