

Perbandingan tahapan maturasi kultur diferensiasi sel Natural Killer (NK) dari Sel Punca Hematopoietik (SPH) yang dikultur dan hasil isolasi darah tali pusat = Comparison of maturation stages of Natural Killer (NK) cell differentiation culture from Hematopoietic Stem Cells (HSC) cultured and derived from freshly isolated umbilical cord blood

Samuel Febrian Wijaya, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20522114&lokasi=lokal>

Abstrak

Sel Natural Killer (NK) adalah sel pelepas granul sitotoksik yang melisis patogen intracytoplasmic (yaitu infeksi virus atau bakteri) dan sel tumor/kanker sebagai bagian dari imunitas bawaan. Sel NK berasal dari diferensiasi sel punca hematopoietik (SPH) di jalur Common Lymphoid Progenitor (CLP). SPH diperoleh dari darah tali pusat, dengan jumlah SPH yang lebih tinggi daripada sumsum tulang. Berbagai protokol diferensiasi telah dilaporkan dengan jumlah sel NK dan fenotipe yang berbeda. Studi perbandingan efektivitas diferensiasi sel NK dengan sampel SPH yang dikultur dan SPH yang baru diisolasi masih minim. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan tahapan maturasi diferensiasi sel NK yang dihasilkan antara sampel SPH yang dikultur dan baru diisolasi menggunakan modifikasi protokol Dezell dkk. dengan menggunakan interleukin-2 (IL-2) tanpa keberadaan feeder cell. Kultur SPH dilakukan selama dua minggu sebelum diferensiasi untuk sampel SPH yang dikultur. Hasil kultur diferensiasi sel NK selama lima minggu dianalisis menggunakan flow cytometry untuk mengetahui keberadaan reseptor NKp46, pengamatan Giemsa untuk mengetahui tahapan maturasi sel NK, dan qRT-PCR untuk mengetahui ekspresi gen perforin dan granzyme B. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel SPH yang dikultur menghasilkan jumlah sel NK di tahap dewasa (tahap 5) yang lebih tinggi dibandingkan sampel SPH yang diisolasi melalui pengamatan Giemsa. Hasil flow cytometry menunjukkan nilai MFI NKp46 yang berbeda signifikan pada kedua sampel, dengan keberadaan reseptor aktivasi NKp46 yang lebih tinggi dijumpai pada sampel isolasi di hari ke-35. Hal ini disebabkan oleh aktivitas ROS pada kultur SPH dan regulasi mikroRNA. Oleh karena itu, sampel SPH yang dikultur dan sampel SPH yang baru diisolasi mampu menghasilkan populasi sel NK yang dewasa.

.....Natural Killer (NK) cells are cytotoxic-granule-releasing cells which lysis intracytoplasmic pathogens (ie. virus or bacteria infection) and tumor/ cancer cells as part of innate immunity. NK cells originate from differentiation of hematopoietic stem cells (HSCs) in the Common Lymphoid Progenitor (CLP) pathway. HSCs can be obtained from umbilical cord blood, with a higher number of HSCs than bone marrow. Various differentiation protocols have been reported with different NK cell yields and phenotypes obtained. Comparative studies on the effectiveness of NK cell differentiation with cultured HSC samples and freshly isolated HSC are still minimal. The aim of this study was to compare the different stages of NK cell differentiation produced between cultured and newly isolated SPH samples using a modified protocol of Dezell et al. using interleukin-2 (IL-2) in the absence of feeder cells. For expanded HSC samples, cultures were carried out for two weeks before differentiation. The results of the differentiation culture for five weeks were then analyzed using flow cytometry to determine the presence of NKp46 receptors, Giemsa observations to determine the stages of NK cell maturation, and qRT-PCR to determine the expression of perforin and granzyme B genes. The results show that cultured HSC samples can produce a higher number of NK cells with a more mature stage than freshly isolated HSC samples by Giemsa's

observations which showed the presence of NK cells at stages 5. The results of flow cytometry showed that the MFI NKp46 values were significantly different in the two samples, with a higher NKp46 activation receptor found in the isolated samples on day 35. This is due to ROS activity on SPH culture and microRNA regulation. Therefore, the cultured HSC samples and freshly isolated HSC samples were able to produce mature NK cell populations.