

Effect of adipose tissue processing procedures in culture result: a study preliminary

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20333041&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar belakang: Ada berbagai cara pemrosesan jaringan lemak sebelum dikultur, tergantung jenis sampelnya yang dapat mempengaruhi hasil kultur. Penelitian ini bertujuan membandingkan berbagai modifikasi prosedur kultur dan subkultur jaringan lemak yang disesuaikan dengan kondisi lab yang ada.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilakukan di Makmal Terpadu Imunologi dan Endokrinologi, Universitas Indonesia, mulai Oktober 2009 sampai April 2010. Kami membandingkan tiga cara pemrosesan, berbagai jumlah sel yang ditanam yang tergantung jumlah perolehan sel, dan dua cara subkultur, lalu membandingkan hasilnya dalam hal jumlah sel yang dihasilkan dan waktu yang diperlukan. Pada cara pemrosesan pertama, pencernaan dengan collagenase-1 dilakukan selama 30 menit dan jumlah sel yang ditanam adalah 24.000 dan 36.000 sel per wadah kultur; pada cara kedua, pencernaan dengan collagenase-1 dilakukan selama 60 menit dan jumlah sel yang ditanam adalah 24.000, 48.000, dan 72.000 per wadah kultur; dan pada cara ketiga, sisa jaringan lemak dari pemrosesan pertama dicerna kembali selama 45 menit dan jumlah sel yang ditanam adalah 74.000 dan 148.000 per wadah kultur. Perbedaan cara subkultur adalah pada ada atau tidaknya tahap pencucian.

Hasil: Prosedur -1 menghasilkan jumlah sel yang paling sedikit, dan sesudah dikultur, selnya tumbuh sangat lambat, dan terkontaminasi sebelum panen kultur primer. Prosedur-2 dan -3 berhasil menumbuhkan kultur primer. Beberapa kultur terkontaminasi, sehingga tidak dapat dilanjutkan dengan subkultur, dan hanya satu cara pemrosesan (prosedur-2: pencernaan collagenase-1 selama 60 menit tanpa penggunaan dapar pelisis, dan jumlah sel yang ditanam 48.000 dan 72.000) yang berhasil menyelesaikan semua proses yang direncanakan sampai subkultur ketiga. Walaupun beberapa prosedur tidak mencapai subkultur ketiga, hasilnya tetap dapat disimpulkan. Kesimpulan: Penelitian pendahuluan ini menunjukkan bahwa pencernaan collagenase-1 selama 60 menit dipadu dengan goyangan berkala setiap 5 menit dan jumlah sel yang ditanam sekitar 50.000 atau lebih, diikuti dengan cara subkultur tanpa tahap pencucian memberi hasil yang terbaik.

<hr>

Abstract

Background: There are various methods of processing adipose tissue before culture, depending on the adipose tissue samples. The aim of this study is to compare several modifications of culturing and subculturing procedures of adipose tissue to fit the condition in our laboratory.

Method: This is a descriptive study that was done in the Immunology and Endocrinology Integrated Laboratory, University of Indonesia, from October 2009 to April 2010. Three adipose tissue processing procedures, various amount of seeding and two subculture methods were compared in term of cell yield and time needed. In the first procedure, collagenase-1 digestion was done in 30minutes, cell seeding were

24,000 and 36,000 per fl ask; in the second procedure, collagenase-1 digestion was done in 60minutes, cell seeding were 24,000, 48,000, and 72,000 per fl ask; and in the third procedure, the adipose tissue remnants from the first procedure were again digested for another 45 minutes, cell seeding were 74,000, and 148,000 per fl ask. Difference in subculture methods were the presence or absence of washing step.

Result: Procedure 1 yielded the lowest amount of cell, and after culture, the cells grew very slow, and was contaminated before harvest of primary culture. Procedure-2 and -3 succeeded to yield primary cultures. Some of the cultures were contaminated, so that further subculture was not applicable, and only one tissue processing procedure (procedure 2: 60 minute collagenase-1 digestion, without lysis buffer, cell seeding 48,000 and 72,000) could complete the three subcultures. Though some of the procedures could not be completed, final result could be concluded.

Conclusion: In this preliminary study, 60 minute collagenase-1 digestion with intermittent shaking every 5 minutes and cell seeding around 50,000 or more, followed by subculture method without washing step gave the best result.