

CFSE sebagai Penanda Fluoresen untuk Pemantauan Proliferasi Limfosit secara In Vitro dan In Vivo

Fatiha Kamilah

fatihakamilah@apps.ipb.ac.id

Respons imun adaptif merupakan kemampuan klonal limfosit yang spesifik terhadap antigen untuk mengalami proliferasi dan berdiferensiasi secara cepat menjadi sel-sel efektor. Oleh karena itu, pemantauan respons imun memerlukan metode yang mampu menilai proliferasi limfosit secara akurat, baik secara in vitro maupun in vivo, dengan gangguan minimal terhadap viabilitas dan fungsi sel. Salah satu metode yang banyak digunakan untuk tujuan tersebut adalah pelabelan sel menggunakan pewarna fluoresen intraseluler carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE). Sejak pertama kali diperkenalkan oleh Lyons dan Parish pada tahun 1994, CFSE telah menjadi prosedur standar di berbagai laboratorium untuk memantau proliferasi limfosit. Teknik ini telah diaplikasikan secara luas, baik pada studi in vivo menggunakan model hewan seperti tikus, maupun pada kultur in vitro limfosit tikus dan manusia. Selain untuk menilai proliferasi sel, CFSE memiliki keunggulan tambahan dalam melacak migrasi dan distribusi limfosit di dalam jaringan dan organ limfoid. Pada awalnya, pewarna ini memang dikembangkan untuk tujuan pelacakan sel in vivo, karena kemampuannya memberikan label yang stabil sehingga memungkinkan pemantauan limfosit selama berbulan-bulan. Sel yang diberi label CFSE juga telah banyak digunakan dalam berbagai uji sitotoksitas, baik secara in vivo maupun in vitro.

CFSE bekerja dengan cara melabeli molekul intraseluler secara stabil, di mana setiap pembelahan sel akan menyebabkan intensitas fluoresensi berkurang setengahnya. Dengan demikian, proliferasi limfosit dapat dipantau menggunakan flow cytometry hingga sekitar delapan kali pembelahan, sebelum sinyal fluoresensi CFSE menurun hingga mendekati latar belakang sel yang tidak berlabel. Keunggulan penting dari teknik ini adalah kemampuannya untuk dikombinasikan dengan analisis ekspresi penanda permukaan sel dan protein intraseluler, seperti isotipe imunoglobulin dan sitokin, menggunakan antibodi berlabel fluoresen dengan spektrum emisi yang berbeda. Dengan pendekatan ini, proliferasi berbagai subpopulasi limfosit dalam campuran sel yang kompleks dapat dianalisis secara simultan menggunakan flow cytometry, berdasarkan ekspresi penanda permukaan sel yang spesifik. Secara kimiawi, CFSE pada awalnya berada dalam bentuk non-fluoresen karena keberadaan dua gugus asetat, yang membuat molekul ini bersifat permeabel terhadap membran sel. Setelah memasuki sel, gugus asetat tersebut dengan cepat dihidrolisis oleh esterase intraseluler, menghasilkan CFSE yang bersifat fluoresen dan terperangkap di dalam sel akibat menurunnya permeabilitas membran. Gugus suksinimidil pada CFSE kemudian bereaksi dengan gugus amino protein intraseluler pada pH netral, membentuk ikatan kovalen yang sangat stabil. Sebagian kecil konjugat fluoresen yang terbentuk dapat keluar dari sel atau mengalami degradasi, namun sebagian besar konjugat CFSE bersifat sangat stabil dan dapat bertahan di dalam sel selama berbulan-bulan. Selama proses pembelahan, pewarna ini akan terdistribusi secara merata ke sel anak, sehingga memungkinkan analisis kuantitatif proliferasi limfosit secara akurat menggunakan flow cytometry.

Carboxyfluorescein succinimidyl ester (CFSE) merupakan penanda fluoresen yang sangat efektif dan andal untuk menganalisis proliferasi limfosit dalam kultur jaringan sel hewan. Keunggulan utama CFSE terletak pada kemampuannya memberikan pelabelan intraseluler yang stabil tanpa mengganggu viabilitas maupun fungsi sel, serta memungkinkan pemantauan pembelahan sel secara kuantitatif melalui pengenceran sinyal fluoresensi pada setiap siklus

pembelahan. Selain itu, CFSE dapat dikombinasikan dengan analisis penanda permukaan sel dan protein intraseluler menggunakan flow cytometry, sehingga memungkinkan kajian proliferasi subpopulasi limfosit dalam populasi sel yang kompleks. Kemampuan CFSE untuk melacak proliferasi, migrasi, dan distribusi sel secara in vitro maupun in vivo menjadikannya sebagai metode yang sangat bernilai dalam studi respons imun adaptif dan aplikasi penelitian kultur jaringan sel hewan.

Referensi

1. Quah, B. J. C., & Parish, C. R. (2010). The use of carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) to monitor lymphocyte proliferation. *Journal of Visualized Experiments*, (44), 2259.
2. Durward, M., Harms, J., & Splitter, G. (2010). Antigen specific in vivo killing assay using CFSE labeled target cells. *Journal of Visualized Experiments*, (45), 2250.
3. Quah, B. J. C., & Parish, C. R. (2012). The use of CFSE-like dyes for measuring lymphocyte proliferation: Experimental considerations and biological variables. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 7(1), 53–64.
4. Quah, B. J. C., Warren, H. S., & Parish, C. R. (2012). New and improved methods for measuring lymphocyte proliferation in vitro and in vivo using CFSE-like fluorescent dyes. *Journal of Immunological Methods*.