بررسی اثر فاکتور رشد NGF، RA، Shh بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش به سلول‌های عصبی و الیگوسیتی

هدیه جهان‌بخت (M.Sc.)[1]، کاظم پریور (Ph.D.)[1]، محمد مهدی آخوندی (Ph.D.)[2]، محمود جدی تهرانی (Ph.D.)[3]، محمد حسین مدرسی (M.D., PhD.)[4,5]، محمد رضا صادقی (Ph.D.)[3]، محمد کرامتی پور (Ph.D.)[5]، امیر حسن زرنانی (Ph.D., D.M.T.)[4]، شیدا صالح‌خو (B.Sc.)[2]

۱- گروه زیست‌شناسی جانوری، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا، تهران، ایران.

۳- مرکز تحقیقات آنتی بادی منوکلونال، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا، تهران، ایران.

٤- مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی زیستی، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن سینا، تهران، ایران.

٥- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سلول‌های بنیادی جنینی (ES) سلول‌های همه توانی هستند که توانایی تمایز به انواع سلول‌های تخصصی بالغ را دارا می‌باشند و در حال حاضر و آینده نزدیک امکان استفاده از این سلولها در درمان بسیاری از بیماریها با روش سلول درمانی وجود دارد. به نظر می‌رسد در آینده بتوان برخی بیماری‌های سیستم عصبی را با استفاده از فاکتورهای مؤثر بر تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های عصبی و گلیالی درمان نمود، لذا در این تحقیق سلول‌های بنیادی جنینی موش به صورت همه توان و تمایز نیافته کشت و تکثیر داده شد و سپس تأثیرات فاکتورهای رشد NGF، Shh، RA به منظور القای تمایز این سلولها به سلول‌های عصبی و گلیالی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: سلول‌های بنیادی جنینی (از موش نژاد 129 بنام CCB) را روی فیبروبلاست جنینی موش نژاد C57/BL6 کشت و تکثیر داده و با روش قطرات معلق از آنها اجسام جنینی (EBs) تهیه شد. بعد از انتقال و کشت کلونی‌های EBs بر روی پلیت کشت پوشانیده با فیبرونکتین، فاکتورهای القایی NGF وShh به ترتیب با غلظت‌های ۵۰*ng/ml* و ۱۰۰، ۳۰۰*ng/ml* و ۵۰۰ و RA با غلظت ۱*μM*و در گروه‌های دیگر bFGF با غلظت ۲۰*ng/ml* به محیط کشت اختصاصی سلول‌های پیش‌ساز عصبی اضافه شد تا سلولها به سمت تمایز عصبی هدایت شوند. به منظور بررسی تمایز به انواع سلول‌های عصبی و گلیالی با روش RT-PCR بیان ژن‌های اختصاصی سلول‌های عصبی شامل S100، Olig-2، Nurr-1، Nkx2.2 و Nestin ارزیابی شد و علاوه بر این از روش ایمونوسیتوشیمی برای تأیید حضور پروتئین MAP-2 استفاده شد.

نتایج: در این تحقیق، بررسی‌های مولکولی نشان داد که هر یک از این فاکتورهای رشد با تأثیر در بیان ژن‌های اختصاصی سلول‌های عصبی یک یا چند مسیر مولکولی را فعال می‌کنند که در تمایز سلول‌های مختلف سیستم عصبی نقش اساسی دارند. رنگ‌آمیزی اختصاصی این سلولها با آنتی‌بادی MAP-2 نشان داد که سلول‌های حاصل دارای زوائد دندریتی خاص سلول‌های عصبی یا نورون هستند.

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های این تحقیق سلول‌های بنیادی جنینی همه توان و تمایز نیافته در حضور فاکتورهای رشد RA، NGF، Shh به سلول‌های عصبی و اولیگودندروسیتی تمایز می‌یابند؛ به‌طوریکه هر یک از این عوامل در مسیر خاص تمایزی سلول‌های تخصصی سیستم عصبی مؤثر بوده و حتی میزان غلظت افزوده شده عوامل فوق نیز بر چگونگی تمایز یافتن این سلولها مؤثر می‌باشد.

کلید واژگان: سلول‌های بنیادی جنینی موشی، تمایز، نورون، رتینوئیک اسید، فاکتور رشد نورونی، Shh.

مسئول مکاتبه: دکتر محمدمهدی آخوندی، گروه غدد تولیدمثل و جنین شناسی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن سینا، اوین، صندوق پستی: ۱۷۷-۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: akhondi@avesin.ac.ir

Downloaded from http://www.jri.ir