

مطالعه تاثیر فاکتورهای رشد TGF-β2 و BMP-2 بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی

به کار دیومیوسیت

الهام صفرپور (M.Sc.)^۱، کاظم پریور (Ph.D.)^۲، محمد مهدی آخوندی (Ph.D.)^۳، محمود جدی تهرانی (Ph.D.)^۴، فاضل شکری (Ph.D.)^۵، امیر حسن زرنانی (Ph.D.)^۶، محمد کرامتی پور (Ph.D.)^۷، شنیدا صالح‌خو (B.Sc.)^۳، لیلا عینی (B.Sc.)^۴، محمد رضا صادقی (Ph.D.)^۶

۱- دانشجوی دکتری تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

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

۴- مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران.

۵- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران، تهران، ایران.

۶- مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی زیستی، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران.

۷- گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی ایران، تهران، ایران.

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

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات در زمینه سلول‌های بنیادی و کاربردهای بالقوه آنها نویدی برای درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج از جمله آسیب‌های قلب فراهم نموده است. در این رابطه تمایز هدایت شده و تحت کنترل سلول‌های بنیادی به سلول‌های میوکاردی در خارج از بدن و حتی در موضع بافت آسیب‌دیده حائز اهمیت است. با توجه به نقش دو فاکتور TGF-β2 و BMP-2 از خانواده بزرگ فاکتورهای رشد TGF-β در رشد، تمایز، مهاجرت و سایر اعمال سلولی طی تکامل جنینی، در مطالعه حاضر اثرات این دو فاکتور بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به کار دیومیوسیت مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: سلول‌های بنیادی جنینی موش نژاد 129 از رده CCB برای تولید کار دیومیوسیتها مورد مطالعه قرار گرفتند. در این روش به منظور تأثیر هرچه بیشتر فاکتورهای فوق، کلونی سلول‌های بنیادی در گروه‌های تجربی بر روی فیبروبلاست غیرفعال کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت با محیط کشت تمایزی حاوی ۸ ng/ml فاکتور TGF-β2 و ۸ ng/ml فاکتور BMP-2 همراه با کاهش سرم از ۲۰٪ به ۷/۵٪ تغذیه شدند. سپس از این سلولها اجسام جنینی ۸۰۰ سلولی در قطرات معلق و سوسپانسیون تهیه گردید و سپس اجسام جنینی در پلیت‌های ژلاتینه کشت داده شدند. با تداوم کشت سلول‌های بنیادی به سلول‌های ضربان‌دار تمایز یافتند. به منظور تأیید تأثیر فاکتورها بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به کار دیومیوسیت، بیان فاکتورهای رونویسی اولیه MEF-2 و NKx2.5 و ژن‌های تخصصی سلول‌های قلبی MHC، ANF و MLC-2v با روش RT-PCR نیمه کمی و بیان پروتئین دسمین و آلفا اکتینین در کار دیومیوسیت‌های تمایز یافته به روش Western-blot و حضور کار دیومیوسیت‌های تمایز یافته بوسیله رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی با آنتی‌بادی اولیه ضد دسمین بررسی شد.

نتایج: پس از طی مراحل تمایزی، از اطراف اجسام جنینی پلیت شده سلول‌های تمایز یافته دوکی شکل ضربان‌دار در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل به وضوح قابل مشاهده بود. با توجه به مقایسه کمی باندهای حاصله از RT-PCR اجسام جنینی پلیت شده در محیط‌های با فاکتورهای مختلف مشاهده گردید که فاکتور TGF-β2 از فاکتور BMP-2 و هر دو فاکتور به صورت همزمان از هر یک به تنهایی، اثر افزایشی بیشتری بر تمایز کار دیومیوسیتها از سلول‌های بنیادی جنینی دارد. این امر با اندازه‌گیری کمی باندهای RT-PCR حاصله از بیان ژن‌های تخصصی قلبی در سلول‌های کار دیومیوسیت‌های تمایز یافته نشان داده شد. همچنین در اجسام جنینی پلیت شده در محیط با هر دو فاکتور پس از تمایز، بیان دو پروتئین دسمین و آلفا اکتینین توسط Western-blot و نیز حضور سلول‌های کار دیومیوسیت توسط نشانگذاری پروتئین دسمین با روش ایمنوهیستوشیمی تأیید شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تأثیر همزمان دو فاکتور TGFβ2، BMP-2 همراه با کاهش سرم در طی زمان کشت و جسم جنینی، هدایت سلول‌های بیماری جنینی را در جهت تمایز به کار دیومیوسیتها افزایش می‌دهد.

کلید واژگان: سلول‌های بنیادی جنینی، تمایز، کار دیومیوسیت، TGF-β2، BMP-2.

مسئول مکاتبه: دکتر محمدرضا صادقی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا،

اوین، صندوق پستی: ۱۷۷-۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: sadeghi@avesina.ac.ir