ایجاد سلول‌های القایی پرتوان از سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف انسان

مهداد عبدی[۱]، سونا زارع[۲]، فردین فتحی[۳]،سید هادی انجم روز[۴]،محمد جعفر رضایی[۴]،جلال رستم‌زاده[۵]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی،گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲. کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی ، گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم ، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳.استاد علوم تشریحی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران،(مؤلف مسؤول): تلفن ثابت: ۶۱۳۱۳۷۷-۰۸۷۱، farfath@gmail.com

۴.دانشیار علوم تشریحی ،مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۵.استادیار ژنتیک،گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

چکیده

زمینه و هدف: در این مطالعه کلنی هایی مشابه کلنی های متشکل از سلول‌های القایی پرتوان از سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف انسان ایجاد شدند.

روش بررسی : در این مطالعه که از نوع تجربی بود با استفاده از آنزیم کلاژناز نوع۴، سلول‌های بنیادی مزانشیمی از جدار ورید بند ناف استخراج و کشت داده شدند. این سلول‌ها در پاساژ ۵ با پلاسمید حاوی ژن‌های خودبازسازی سلولهای بنیادی Oct4 و Sox2 به روش الکتروپوریشن ترانسفکت گردیدند. بعد از گذشت ۹ روز کلنی‌هایی شبیه به کلنی های سلول‌های پرتوان القایی ظاهر شدند. ماهیت سلولهای مذکور از نظر بیان مارکرهای ویژه سلولهای بنیادی جنینی با استفاده از ارزیابیهای ایمونوسیتوشیمی و بررسی فعالیت آلکالین فسفاتاز بررسی شد.

یافته‌ها: ارزیابی‌های ایمونوسیتوشیمی حاکی از وجود مارکرهای پرتوانی مانند؛ SSEA4،TRA1-60،TRA1-81 و Oct4 و مثبت بودن فعالیت آلکالین فسفاتاز در کلنی‌های بدست آمده بود.

نتیجه گیری:نتایج این تحقیق نشان داد که بیان موقت ژنهای خودبازسازی OCT4و SOX2 منجر به ایجاد کلنیهای مشابه کلنیهای متشکل از سلول‌های پرتوان القایی از سلولهای بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف می شود.

کلید واژه‌ها: سلول‌های بنیادی القایی پرتوان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف، بازبرنامه‌ریزی، ژنهای خود بازسازی

وصول مقاله :۹۲/۲/۲۳ اصلاحیه نهایی:۹۲/۴/۳۰ پذیرش:۹۲/۶/۳

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]

مقدمه

سلول‌های بنیادی جنینی[1] (ESCs)، سلول‌هایی هستند پرتوان[2] که از توده سلول داخلی[3] (ICM) و یا اپی‌بلاست بلاستوسیست‌ها مشتق می‌شوند. این سلول‌ها علاوه بر اینکه توان تمایزی خود را حفظ می‌کنند، می‌توانند به صورت نامحدود نیز تکثیر شوند(۲و۱). بازبرنامه‌ریزی هسته‌ای[4]، فرآیندی است که در آن سلول‌های تمایز یافته به حالت جنینی بازگردانده می‌شوند. تاکنون چندین استراتژی برای بازبرنامه‌ریزی هسته‌ای شناخته شده، که مهمترین آنها انتقال هسته[5]، ادغام سلولی[6] و بازبرنامه‌ریزی با فاکتورهای رونویسی است(۴و۳). بازبرنامه‌ریزی هسته با فاکتورهای رونویسی، برای اولین بار توسط Takahashi و همکاران گزارش شد(۵). آنها چهار فاکتور رونویسی OCT4، SOX2، Klf4 و c-Myc را توسط وکتور ویروسی به داخل فیبروبلاست‌های جنینی موش انتقال دادند. حاصل این کار کلنی‌هایی بود که از نظر مورفولوژی و بیان ژن، شبیه سلول‌های بنیادی جنینی (ESC) بودند. پژوهشگران فوق این سلول‌ها را "سلول‌های پرتوان القایی[7]" نام‌گذاری کردند(۵). سلول‌های پرتوان القایی (iPSc)، از لحاظ پتانسیل تمایزی، پرتوان می‌باشند و توانایی ایجاد موجود کایمرا را دارند(۶). مطالعات اخیر حاکی از آن است که بعضی از این سلول‌ها، در صورتیکه به داخل بلاستوسیست تتراپلوئید تزریق شوند، می‌توانند موجود کامل را ایجاد کنند(۸و۷). این سلول‌ها در سلول‌درمانی، ایجاد مدل بیماری‌های انسانی و ارزیابی داروهای جدید می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند(۱۰و۹). گرچه تاکنون سلول‌های مختلف انسانی مانندکراتینوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های بنیادی عصبی بازبرنامه‌ریزی شده‌اند، با این وجود محققین کماکان در پی بهترین منبع سلولی برای بازبرنامه‌ریزی هستند(۱۳-۱۱). بررسی‌ها نشان داده که فاکتورهایی مانند نوع سلول، سن و منشأ آن در بازبرنامه‌ریزی تأثیر دارند (۱۴). تا کنون پروتکل‌های مختلفی برای بازبرنامه‌ریزی ارائه گردیده، ولی پروتکلی مطلوب است که علاوه بر موارد ذکر شده، پارامترهایی مانند زمان بازبرنامه‌ریزی و تعداد فاکتورهای رونویسی را نیز مد نظر قرار داده باشد(۱۵). اکثر مطالعات در زمینه سلولهای پرتوان القائی، توسط وکتورهای ویروسی صورت گرفته است . با اینکه کارایی باز برنامه‌ریزی با این وکتورها بالاست ولی ادغام[8] توالی ویروسی آنها در ژنوم میزبان احتمال ایجاد تومور و نقائص ژنتیکی را بالا برده است(۱۷و۱۶). از جمله وکتورهایی که بیش از همه توجه محققین را به خود جلب کرده، پلاسمیدها[9] می‌باشند. پلاسمیدها نسبت به ویروسها امکان درج درون ژنومیشان کمتر می‌باشد؛ ولی عیب بزرگ این وکتورها، بیان ناپایدار و گذرای آنها می‌باشد که این موضوع بازدهی آنها را در ایجاد سلولهای پرتوان القائی به شدت پایین آورده است(۱۸). سلول‌های بنیادی مزانشیمی[10] (MSCs) سلول‌های چند توانی[11] هستند که در اغلب بافت‌های بزرگسالان مانند کبد، مغزاستخوان و بافت چربی یافت می‌شوند. این سلولها توانایی مهاجرت به نواحی آسیب دیده و شرکت در ترمیم ضایعه را دارند(۲۰و۱۹). بند ناف انسان یک منبع غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌باشد. مطالعات نشان داده که این سلول‌ها را می‌توان از ماتریکس، خون و ورید بند ناف استخراج کرد(۲۱). پتانسیل تمایزی سلولهای چند توان در مقایسه با سلولهای پرتوان کمتر بوده و فقط به تعداد محدودی از سلولهای سازنده بدن تبدیل می شوند؛ در حالیکه تمامی سلولهای سازنده بدن را می توان از سلولهای پرتوان ایجاد کرد. لذا در این مطالعه از سلول‌های

[1] Embryonic Stem Cells
[2] Pluripotent
[3] Inner Cell Mass
[4] Nuclear Reprogramming
[5] Nuclear transferring
[6] Cell Fusion
[7] Induced pluripotent stem cells

[8] Integration
[9] Plasmid
[10] Mesenchymal stem cells
[11] Multipotent

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]

بنیادی مزانشیمی وریـد بنـد نـاف (hUCV-MSC[12]) بـه عنوان یکی از منابع سلولهای مزانشیمی و چنـد تـوان جهـت ایجاد سلولهای پرتوان القائی iPSc استفاده شد و سلولهای حاصله از جنبه های سلولی ومولکولی ارزیابی شدند.

روش بررسی

جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی از ورید بنـد ناف انسان

در این مطالعه که از نوع تجربی بود، بند نـاف نـوزادان تـازه متولد شده از بیمارستان بعثت سنندج تهیـه شـد و درون بـافر HBSS[13] حـــاوی پنـــی ســـیلین-استرپتومایســـین و فـانگیزون[14](جهـت جلـوگیری از رشـد عوامـل میکربـی و قارچی) به آزمایشگاه منتقل گردیـد. درآزمایشـگاه ابتـدا بـا بافرHBSS بند ناف شستشو داده شده و سپس وریـد آن بـه مدت ۲۰ دقیقـه در دمـای ۳۷ درجـه تحـت تیمـار بـا آنـزیم کلاژنـاز۴ قـرار گرفـت. در مرحلـه بعـد وریـد بـا محـیط DMDEM[15] low glucose سرم دار شستشو داده شـد. سوسپانسیون سـلولی بدسـت آمـده سـانتریوفیوژ گردیـد. بـه رسوب سلولی بدست آمده از مرحله قبل ۵ سی سی محـیط DMEM low glucose، حاوی ۱۵٪ FBS[16]، EGF[17] و bFGF[18] اضـــافه شـــده و بعـــد از چنـــد پیپتـــاژ آرام سوسپانسیون سلولی به فلاسک‌های T25 منتقل شد . بعد از گذشت ۴۸ ساعت محیط کشت سلول‌ها تعویض شد(۲۲).

الکتروپوریشن سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف بـا پلاسمید حامل ژنهای OCT4و SOX2

سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف تا پاساژ ۵ کشـت داده شدند. در پاساژ ۵ زمانی که سلول‌هـا حـدود ۸۰٪ کـف فلاسک را پر کرده بودند توسط تریپسین0/05%[19] از کف فلاسک جدا شده و با دور 1000rpm سـانتریوفیوژ شـدند. بعد از اتمام سانتریوفیوژ، محیط رویی سلول‌ها برداشته شـده و ســلول‌هــا در 790µl بــافر هایپواســمولار[20] بــه حالــت سوسپانسیون درآمدند. سلول‌های مزانشیمی همراه با بـافر بـه کووت[21] مخصوص الکتروپوریشن منتقل شده و به آنهاµg 15 پلاســـمید pSIN4-EF2-O2S در حجـــم ۱۰ میکرولیتر اضافه شد. بعد از سه بار پیپتـاژ آرام، سوسپانسـیون سلولی به مدت ۱۰دقیقه در دمای اتاق قرار داده شـد. بعـد از ۱۰دقیقه، کووت در دستگاه مولتی‌پوریتور[22] قـرار داده شـده و یـک پـالس بـا ولتـاژ 600 v و زمـان پـالس100 µs بـه سلولها اعمال شد. بعد از اعمال پـالس، سـلول‌هـا دوبـاره ۱۰ دقیقـه در دمـای اتـاق گذاشـته شـدند، سـپس بـه آرامـی بـه فلاسک حاوی محیط کشت سلول‌های مزانشـیمی بنـد نـاف منتقل شدند.

ارزیابی ایمونوسیتوشیمی

سلولهای بدسـت آمـده بایـد مارکرهـای سـلول‌هـای بنیـادی جنینی انسانی را بیان کننـد. از جملـه مارکرهـایی پرتـوانی[23] OCT4،SSEA4،TRA1-60،TRA1-81 مـی‌باشـند. بـرای ارزیـابی ایمونوسیتوشـیمی از پلیـت‌هـای ۹۶چـاهکی استفاده شد. سلول‌ها ابتدا با بـافر فسـفات PBS[24] ، شستشـو داده شده و سپس با پارافرمالدهید ۴٪ به مدت ۲۰ دقیقه ثابت شدند. بعد از ۲۰ دقیقه پارافرمالدئید برداشته شده و دو بار به مدت ۱۰ دقیقه با بافر فسفات شستشـو داده شـدند، در مـورد OCT4 ، تراوایی سلول‌ها قبل از شستشو، بـا اضـافه کـردن محلول بافر فسفات حـاوی تریتـون X ۰/۱ ٪، افـزایش داده شد. بعد از شستشو، محلول مسدود کننده به مدت ۳۰ دقیقـه به چاهک حاوی سلولها اضافه شـد. محلـول مسـدود کننـده

[12] Human Umbilical Cord Vein – Mesenchymal Stem Cell
[13] Hanks Balanced Salt Solution
[14] Fungizone
[15] Dulbico modified eagle medium
[16] Fetal bovine serum
[17] Epidermal Growth Factor
[18] Basic Fibroblast Growth Factor
[19] Trypsin - EDTA
[20] Hypoosmolar buffer
[21] Cuvette
[22] Multiporator (eppendorf Germany)
[23] Stage Specific Embryonic Antigen
[24] Phosphate Buffered Saline

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]
[DOI: 10.22102/19.1.78]

تخلیه شد و به هر چاهک یکی از آنتی بادیهای اولیه بر علیه SSEA4،TRA1-60،TRA1-81،OCT4 به مدت ۱ ساعت اضافه شد. محلول آنتی بادی اولیه برداشته شده و بعد از شستشو به چاهک مربوطه آنتی‌بادی ثانویه به مدت ۴۵ دقیقه اضافه شد. در نهایت سلول‌ها بعد از شستشو، با میکروسکوپ فلوروسنت بررسی شدند. لازم به ذکر است که در این روش از سلول‌های NT2 که مارکرهای مذکور را بیان می کنند ، به عنوان کنترل مثبت سلولهای بنیادی جنینی انسانی استفاده شد.

ارزیابی آلکالین فسفاتاز

یکی دیگر از مارکرهای پرتوانی وجود آنزیم آلکالین فسفاتاز در سلول‌های پرتوان می‌باشد. برای ارزیابی آلکالین فسفاتاز از کیت شرکت میلی پور[25]، استفاده شد. ابتدا سلول‌های iPS با محلول پارافرمالدهید ۴٪ ثابت شده و سپس بر طبق پروتوکل همراه کیت مخلوطی از Fast red violet، Naphthol و آب به نسبت ۱:۱:۲ به چاهکها اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی انکوبه شدند. سپس محلول فوق را برداشته ، سلول‌ها را با PBS شستشو داده و با استفاده از میکروسکوپ ارزیابی و عکسبرداری شدند.

نتایج

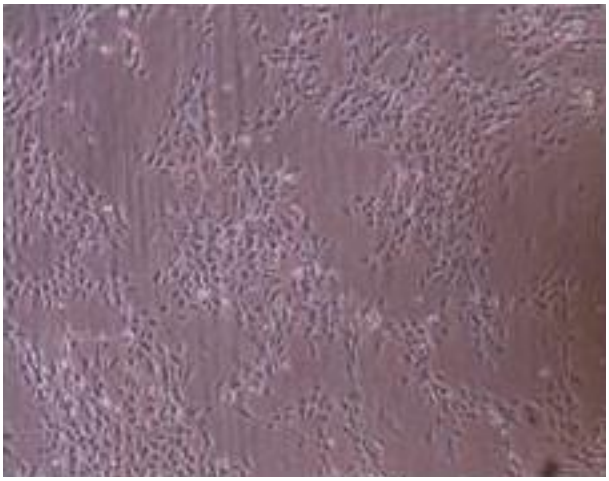
سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف انسان، ۴۸ ساعت بعد از استخراج تعویض محیط شدند. سلول‌های مزانشیمی در ابتدا به صورت کلنیهای سلولی کوچکی دیده شدند . بتدریج با گذشت حدود ۷ روز سلولهای دوکی شکل با مشخصه سلولهای مزانشیمی حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد از کف فلاسک را پر کردند(شکل ۱). از آنجائیکه بهتر است سلول‌ها قبل از الکتروپوریشن پاساژ داده شوند و نیز به منظور حذف سلولهای ناخواسته در محیط کشت ، از سلولهای در پاساژ ۵ برای ترانسفکشن استفاده شد. بعد از ترنسفکت کردن سلول‌ها با پلاسمید pSIN4-EF2-O2S ، به محیط کشت مخصوص خود در پلیت‌های ۱۲ چاهکی منتقل شدند. سلول‌ها در روز پنجم تریپسینه شده و بر روی سلولهای فیبروبلاست جنینی[26](MEF) بعنوان لایه تغذیه کننده ، که با استفاده از مایتومایسین[27] تقسیم میتوز در آنها متوقف شده بود ، منتقل شدند. تعویض محیط سلول‌ها به فاصله یک روز در میان به همراه تیمار با والپوریک اسید[28] با غلظت یک میلی مولار انجام گرفت. کلنی‌های سلولهای پرتوان القائی از حدود روز نهم ظاهر شدند(شکل-۲).کلنی های بدست آمده ظاهری صاف با حاشیه‌ی روشن داشتند. بر روی کلنی‌های بدست آمده ارزیابیهای ایمونوسیتوشیمی، صورت گرفت. در ارزیابی ایمونوسیتوشیمی حضور مارکرهای پرتوانی SSEA4، TRA1-60، TRA1-81و OCT4 در کلنیها مشاهده شد (شکل ۳). همچنین جهت اطمینان بیشتر از کلنی‌های بدست آمده، بر روی آنها ارزیابی آلکالین فسفاتاز صورت گرفت. یافته‌های بدست آمده حاکی از وجود این آنزیم در سلول‌های بدست آمده بود(شکل۴).نتایج این مطالعه در سه آزمایش متوالی یکسان بود.

[25] millipore

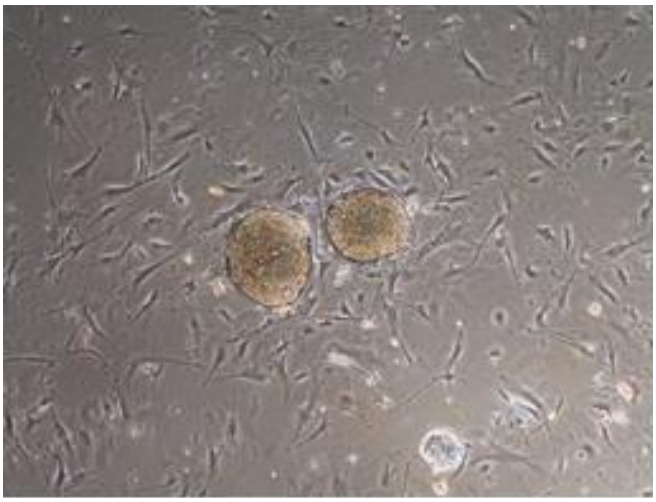
[26] Mouse Embryonic Fibroblast
[27] Mitomycin
[28] Valporic acid

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]



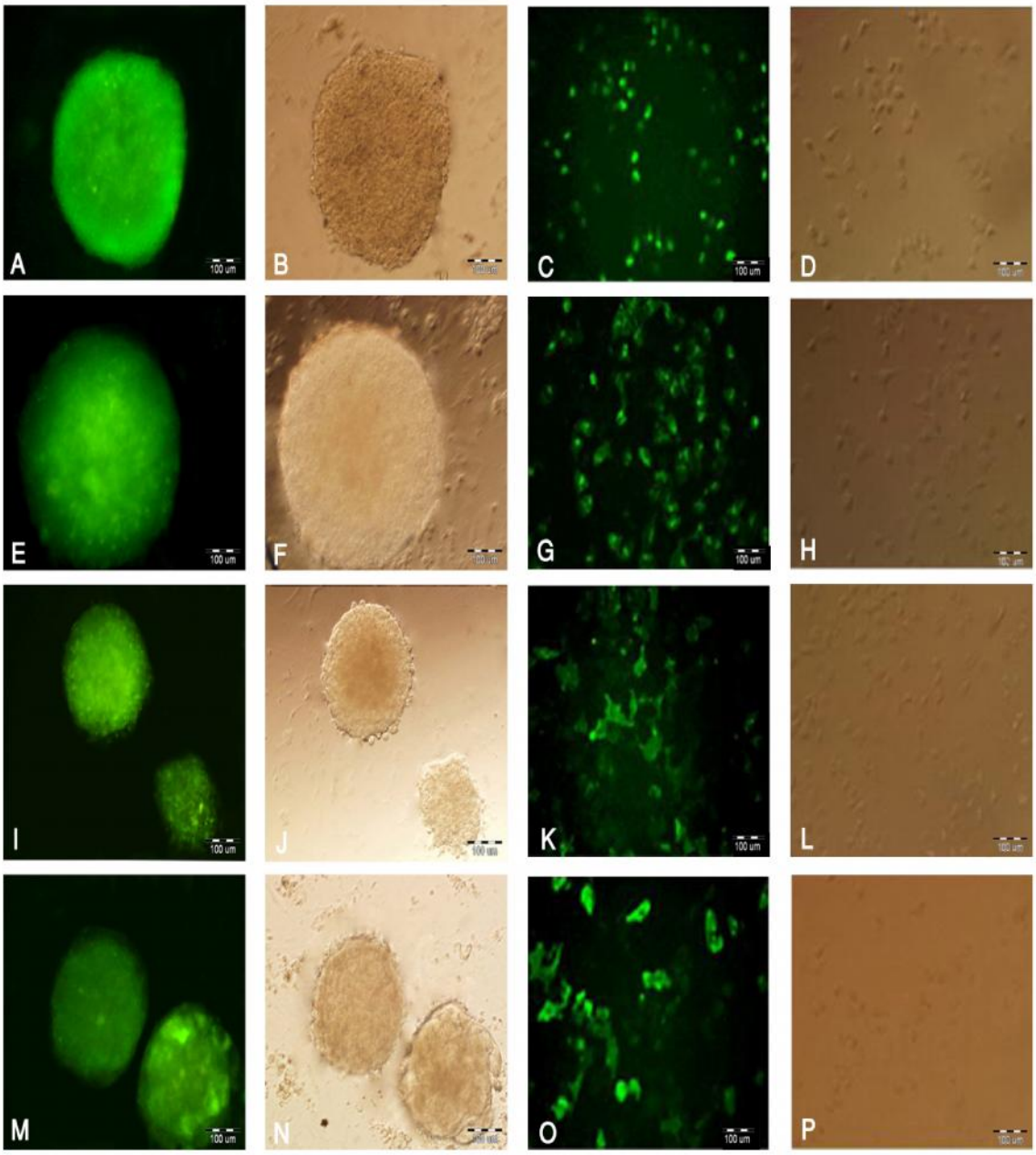
شکل ۱:سلول‌های بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف انسان ۴۸ ساعت بعد از استخراج بزرگنمایی ۴۰×



شکل ۲:کلنی‌های تشکیل شده از سلولهای مزانشیمی ورید بند ناف که بدنبال بیان موقت ژنهای دو فاکتور رونویسی Oct-4 و Sox-2 در روز ۹ تشکیل شده اند .بزرگنمایی ۱۰۰×

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

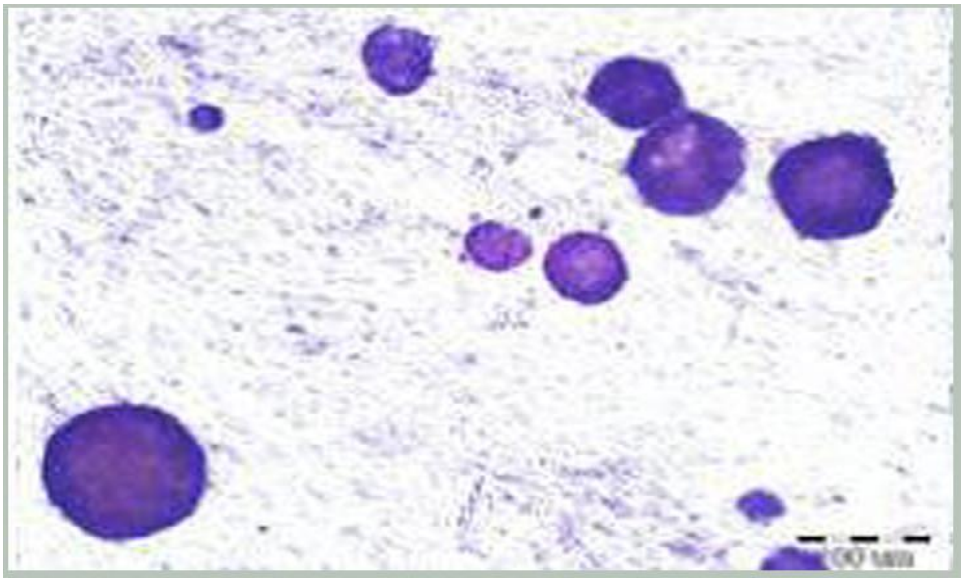
[DOI: 10.22102/19.1.78]



شکل۳: واکنش مثبت کلنی‌های متشکل از سلولهای پرتوان القائی منشاء گرفته از سلولهای مزانشیمی ورید بند ناف انسانی به ارزیابی ایمونوفلورسنت انجام شده برای مارکرهای ویژه سلولهای بنیادی جنینی انسانی: Oct4 (A)، SSEA4(E&F)، TRA1-60 (I) و TRA1-80(M) . تصاویر C،G،KوO مربوط به بیان آنتی ژنهای مذکور در سلولهای NT2 است که بعنوان کنترل مثبت استفاده شدند. در سمت راست هر تصویر فلورسنت تصاویر فاز کنتراست کلنیهای سلولهایی پرتوان(B،F،JوN) یا سلولهای NT2 (D،H،Lو P) دیده می شوند. .

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]



شکل ۴:بررسی بیان آنزیم آلکالین فسفاتاز در کلنی‌های سلولهای پرتوان القائی منشاء گرفته از سلولهای مزانشیمی ورید بند ناف انسانی. بزرگنمایی ۱۰۰×

بحث

در این مطالعه با استفاده از بیان موقت دو فاکتور رونویسی Oct4 و Sox2 سلولهای بنیادی مزانشیمی بند ناف به سلولهای پرتوان القایی باز برنامه ریزی شدند و ماهیت آنها با انجام ارزیابی ایمونوسیتوفلورسنت تایید شد.سلول‌های پرتوان القائی(iPSs cells) ابزاری با ارزش برای مطالعه‌ی مکانیسم‌های مولکولی تکامل موجودات و نحوه ایجاد بیماری محسوب می شوند. تولید این سلول‌ها زمانی اهمیت پیدا می‌کند که عملا در درمان بیماریها کار برد پیدا کنند. از جمله اهداف محققان علم بیولوژی در عصر حاضر ایجاد سلول‌های پرتوان القائی عاری از ژن خارجی است. از سه روش می توان برای ایجاد سلول‌های پرتوان القائی عاری از ترانسژن استفاده کرد. یکی از این روشها به کار بردن وکتورهایی است که وارد ژنوم میزبان نمی‌شوند. روش دوم بکارگیری وکتورهایی است که وارد ژنوم میزبان می‌شوند ولی بعداً حذف می‌شوند. همچنین استفاده از وکتورهایی غیر از نوکلئیک اسیدها نیز مورد توجه واقع شده است(۲۴و۲۳). اولین سلول‌های پرتوان القائی بدون ادغام ژنی از سلول‌های هپاتوسیت موش بالغ با استفاده از وکتور آدنوویروسی و سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش با بکارگیری وکتور پلاسمیدی بدست آمدند(۲۵).مطالعات فوق این ایده را مطرح کرد که بیان گذرای فاکتورهای رونویسی ویژه خودبازسازی برای بازبرنامه‌ریزی کافی است. استفاده از وکتورهایی که درون ژنوم میزبان ادغام نمی‌شوند به شدت بازده بازبرنامه‌ریزی را پایین می‌آورد، علت این امر آن است که بیان فاکتورهای فوق به حدی نیست که تغییرات اپی‌ژنتیکی لازم برای بازبرنامه‌ریزی را موجب شود. یکی از ابزارهای مهم در ایجاد سلول‌های پرتوان القائی تعداد فاکتورهای رونویسی مورد استفاده در بازبرنامه‌ریزی هسته‌ای می باشند. تاکنون مطالعات متعددی با استفاده از فاکتورهای رونویسی مختلف صورت گرفته است. اولین بار Okita و همکاران موفق به بازبرنامه‌ریزی سلول‌های MEF با چهار فاکتور رونویسی توسط وکتور پلاسمیدی شدند.پژوهشگران فوق سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش را با پلاسمید حاوی فاکتورهای رونویسی OCT4،SOX2،klf4 وcMyc ترنسفکت کردند. حاصل کار کلنی‌هایی شبیه سلول‌های بنیادی جنینی موش بودند(۲۶). انتظار میرود سلولهای بنیادی بالغ که چند توان یا

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]

چند استعدادی هستند با بیان تعداد کمتری از فاکتورهای رونویسی تبدیل به سلولهای پرتوان القائی شوند.اگرچه تاکنون در خصوص بازبرنامه ریزی سلولهای مزانشیمی جدار ورید بند ناف گزارشی ارائه نشده است که بتوان از طریق مقایسه با آن ، نتایج این مطالعه را مورد بحث قرار داد، اما گزارشهایی از باز برنامه ریزی سلولهای بنیادی بالغ وجود دارد که از جهات مختلف قابل مقایسه با مطالعه حاضر هستند. در سال ۲۰۰۹ ،Hester و همکاران، سلولهای بنیادی عصبی انسانی را بعنوان یکی از انواع سلولهای بنیادی بالغ با وکتور رتروویروسی حاوی دو فاکتور رونویسی OCT4وKlf4 به سلولهای پرتوان القایی تبدیل کردند. در مطالعه ما هم از دو فاکتور رونویسی استفاده شد اما جهت افزایش کارائی بازبرنامه ریزی سلولهای مورد مطالعه با استفاده از پلاسمید از والپروئیک اسید استفاده شد.در مطالعه Hester و همکاران از والپروئیک اسید استفاده نشد که این مسئله احتمالا می تواند به دلیل بالاتر بودن کارائی ترانسفکشن و بازبرنامه ریزی سلولها با استفاده از ویروس باشد. از نقطه نظر اهمیت سلولهای مورد استفاده در دو مطالعه مورد مقایسه، می توان به محدودیت دسترسی به سلولهای بنیادی عصبی انسان در مقایسه با سلولهای بند ناف و نیز ویژگی استفاده از وکتورهای پلاسمیدی بعنوان وکتورهای فاقد توالی ویروسی اشاره کرد که بعد از ادغام در ژنوم سلولهای باز برنامه ریزی شده می توانند منبع بالقوه ای از مشکلات ناشی از توالی ویروسی باشند(۲۷).

در سال ۲۰۱۳، Okita و همکاران موفق به بازبرنامه ریزی سلول‌های بنیادی بالغ هماتوپویتیک خون بند ناف انسان با استفاده از وکتور اپی‌زومال، بعنوان وکتورهای ویروسی که قابل ادغام در ژنوم نیستند،شدند. وکتور مورد استفاده آنها حاوی شش فاکتور رونویسیOCT4 ، SOX2، KLF4، c-MYC، Line28و TP53 بود.این گروه از محققین هم همانند گروه قبلی از والپوریک اسید استفاده نکردند اما در مقایسه با مطالعه حاضر تعداد بیشتری از فاکتورهای رونویسی را به داخل سلولها منتقل کردند(۲۸).

درمطالعه‌ای دیگر سلول‌های بنیادی چربی انسانی با استفاده از وکتور پلاسمیدی حاوی فاکتورهای رونویسی OCT4،SOX2،klf4 وcMyc به سلول‌های پرتوان القایی بازبرنامه‌ریزی شدند. در مطالعه مذکور هم از والپوریک اسید جهت افزایش کارائی بازبرنامه ریزی در سلولها استفاده نشد(۲۹).

در یک مطالعه دیگر با استفاده از رتروویروس سلول‌های بنیادی خون بند ناف توسط فاکتورهای رونویسی OCT4 و SOX2 به کلنی‌های متشکل از سلول‌های پرتوان القایی تبدیل شدند(۳۰). مطالعات فوق و بهمراه سایر مطالعات (۱۳و۶) نشان می‌دهند که ژن OCT4 بالا دستی‌ترین ژن و اصلی ترین عامل در شبکه ارتباطی مولکولی لازم جهت ایجاد حالت پرتوانی سلولهای بنیادی می‌باشد و سایر عوامل باعث تسریع و افزایش بازده بازبرنامه‌ریزی می‌شوند. نتایج مطالعات انجام گرفته قبلی نشان می دهند که بعضی از ترکیبات شیمیایی در فرآیند بازبرنامه‌ریزی تاثیرگذار هستند. تیمار سلول‌های فیبروبلاست جنینی با 5-azacytidine و dexamethasone ، بازده بازبرنامه‌ریزی را ۲۵ برابر افزایش می‌دهد. تیمار سلول‌های فیبروبلاست جنینی با والپوریک اسید که یک بازدارنده هیستون داستیلاز است، کارایی بازبرنامه‌ریزی را ۱۰۰برابر می‌کند(۳۱). در این مطالعه هم اگرچه از والپروئیک اسید برای افزایش بازبرنامه ریزی سلولها استفاده شد اما ارزیابی کمی جهت بررسی میزان تاثیر آن صورت نگرفت.

نتیجه گیری

از نتایج بدست آمده از این مطالعه می توان نتیجه گرفت که احتمالا بیان موقت دو فاکتور رونویسی Oct4 و Sox2 جهت بازبرنامه ریزی سلولهای بنیادی مزانشیمی ورید بند ناف کافی می باشد که این می تواند به دلیل بالا بودن پتانسیل باز برنامه ریزی سلولهای مذکور بعنوان نمونه ای از سلولهای بنیادی بالغ باشد. در دسترس بودن سلولهای مزانشیمی ورید بند ناف اهمیت آنها را جهت بکارگیری در

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]

مطالعات سلول درمانی افزایش می دهد. انجام بررسیهای بیشتر جهت ارزیابی دقیقتر کلنیهای بدست آمده و نیز تهیه رده سلولی نامیرا، بعنوان سلولهای پرتوان القایی، از آنها، ضروری است بگونه ای سلولهای پرتوان حاصله قادر باشند به سلولهای مختلف سازنده بدن از جمله سلولهای کبدی، قلبی و عصبی تبدیل شوند.

تشکر و قدردانی

بودجه این تحقیق که حاصل یک پایان نامه کارشناسی ارشد است از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان تأمین شده است که بدینوسیله قدردانی می‌شود.

Reference

1.Young RA. Control of the Embryonic Stem Cell State. Cell. 2011;144:940-54.
2.Orkin SH, Hochedlinger K. Chromatin Connections to Pluripotency and Cellular Reprogramming. Cell. 2011;145:835-50.
3.Yamanaka S, Blau HM. Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. Nature. 2010;465:704-12.
4.Pasque V, Jullien J, Miyamoto K, Halley-Stott RP, Gurdon JB. Epigenetic factors influencing resistance to nuclear reprogramming. Trends Genet. 2011;27:516-25.
5.Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. 2006;126:663-76.
6.Huangfu D, Osafune K, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, Chen S, et al. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. Nat Biotechnol. 2008;26:1269-75.
7.Kang L, Wang J, Zhang Y, Kou Z, Gao S. iPS cells can support full-term development of tetraploid blastocyst-complemented embryos. Cell stem cell. 2009;5:135-8.
8.Zhao XY, Li W, Lv Z, Liu L, Tong M, Hai T, et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. Nature. 2009;461:86-90.
9.Gurdon JB, Melton DA. Nuclear reprogramming in cells. Science. 2008;322:1811-5.
10.Amabile G, Meissner A. Induced pluripotent stem cells: current progress and potential for regenerative medicine. Trends in molecular medicine. 2009;15:59-68.
11.Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007;131:861-72.
12.Aasen T, Raya A, Barrero MJ, Garreta E, Consiglio A, Gonzalez F, et al. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. Nat Biotechnol. 2008;26:1276-84.
13.Kim JB, Greber B, Arauzo-Bravo MJ, Meyer J, Park KI, Zaehres H, et al. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. Nature. 2009;461:649-3.
14.Eminli S, Utikal J, Arnold K, Jaenisch R, Hochedlinger K. Reprogramming of neural progenitor cells into induced pluripotent stem cells in the absence of exogenous Sox2 expression. Stem Cells. 2008;26:2467-74.
15.Kim JB, Zaehres H, Wu G, Gentile L, Ko K, Sebastiano V, et al. Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. Nature. 2008;454:646-50.
16.Aoi T, Yae K, Nakagawa M, Ichisaka T, Okita K, Takahashi K, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. Science. 2008;321:699-702.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]

17.Wernig M, Meissner A, Foreman R, Brambrink T, Ku M, Hochedlinger K, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature. 2007;448:318-24.
18.Kaji K, Norrby K, Paca A, Mileikovsky M, Mohseni P, Woltjen K. Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. Nature. 2009;458:771-5.
19.Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, et al. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. Experimental hematology. 2005;33:1402-16.
20.Hou LL, Zheng M, Wang DM, Yuan HF, Li HM, Chen L, et al. [Migration and differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in the rat brain]. Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]. 2003;55:153-9.
21.Secco M, Zucconi E, Vieira NM, Fogaca LL, Cerqueira A, Carvalho MD, et al. Multipotent stem cells from umbilical cord: cord is richer than blood Stem Cells. Stem Cells. 2008;26:146-50.
22.Kermani AJ, Fathi F, Mowla SJ. Characterization and genetic manipulation of human umbilical cord vein mesenchymal stem cells: potential application in cell-based gene therapy. Rejuvenation research. 2008;11:379-86.
23.Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. Cell. 2009;136:964-77.
24.Shao LJ, Wu WS. Gene-delivery systems for iPS cell generation. Expert Opin Biol Th. 2010;10:231-42.
25.Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, Weir G, Hochedlinger K. Induced Pluripotent Stem Cells Generated Without Viral Integration. Science. 2008;322:945-9.
26.Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. Science. 2008;322:949-53..
27.Hester ME, Song S, Miranda CJ, Eagle A, Schwartz PH, Kaspar BK. Two factor reprogramming of human neural stem cells into pluripotency. PloS one. 2009;4:e7044.
28.Okita K, Yamakawa T, Matsumura Y, Sato Y, Amano N, Watanabe A, et al. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells. Stem Cells. 2013;31:458-66.
29.Qu X, Liu T, Song K, Li X, Ge D. Induced pluripotent stem cells generated from human adipose-derived stem cells using a non-viral polycistronic plasmid in feeder-free conditions. PloS one. 2012;7:e48161.
30.Giorgetti A, Montserrat N, Aasen T, Gonzalez F, Rodriguez-Piza I, Vassena R, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from human cord blood using OCT4 and SOX2. Cell stem cell. 2009;5:353-7.
31.Huangfu DW, Maehr R, Guo WJ, Eijkelenboom A, Snitow M, Chen AE, et al. Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds. Nat Biotechnol. 2008;26:795-7.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-02]

[DOI: 10.22102/19.1.78]