Archive Of SID

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال نوزدهم، شماره ۵، صفحه ۹۳۰– ۹۱۲ (آذر و دی ۱۳۹۵)

Iran South Med J 2016; 19(5): 912-930

کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی: دورنمای زیست فناوری سلول‌های بنیادی دریایی

ریحانه ظهیری [۱]، ماریا ظهیری [۲ و ۳*]

[۱] گروه بیوتکنولوژی دریایی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان
[۲] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۳] گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۵/۶- پذیرش مقاله: ۹۵/۷/۳)

چکیده

از آنجایی که بی‌مهرگان دریایی به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ارزشمند، کاربرد بسیاری در طب و علوم مختلف زیستی و دارویی دارند، طی سالیان اخیر مطالعات مربوط به کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. سلول‌های بنیادی به عنوان سلول‌های اجدادی بدن محسوب می‌شوند. کشت این سلول‌ها در واقع کشت سلولی توسعه یافته‌ای می‌باشد که توانایی تکثیر را در تمام طول زندگی از تولد تا مرگ حفظ می‌کنند و همچنین این سلول‌های بنیادی قادر به تمایز به انواع سلول‌های مختلف می‌باشند. متآسفانه تحقیقات مرتبط با سلول‌های بنیادی در بی‌مهرگان دریایی با سرعت مشابه با پستانداران پیش نرفته است و علی‌رغم تلاش‌های صورت گرفته، هنوز رده سلولی مانا از این موجودات حاصل نشده است. این امر می‌تواند به دلیل اندک بودن منابع در دسترس و همچنین مناسب نبودن شرایط حفظ و نگهداری کشت باشد که این امر نیز عمدتاً به علت عدم وجوداطلاع کافی از مکانیسم‌ها و سیستم‌های دخیل در حفظ بنیاختگی آنها می‌باشد. تاکنون شواهدی مربوط به حضور سلول‌های بنیادی در برخی بی‌مهرگان دریایی شامل مرجانیان، سخت پوستان، خارپوستان و طنابداران حقیقی گزارش شده است. شناخت شرایط مناسب کشت و درک نیازمندی‌ها و فراهم نمودن ریز محیط مناسب سلولی، راهگشای استفاده از این منابع ارزشمند خواهد بود. این مقاله مروری بر مفاهیم و فعالیت‌های انجام گرفته در ارتباط با سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی خواهد داشت.

واژگان کلیدی: بی‌مهرگان دریایی، سلول‌های بنیادی، کشت سلولی، زیست فناوری

* بوشهر، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
Email: m.zahiri@bpums.ac.ir

www.SID.ir

Archive Of SID

مقدمه

از دیرباز تاکنون یکی از جذاب‌ترین مسائل زیست شناسی، درک چگونگی بازآفرینش سلول‌ها و احیای بافت‌ها و ارگان‌های موجود زنده بوده است. در پی شناخت سلول‌های بنیادی به عنوان سلول‌هایی با توانایی[1] خاص که در بدن تمام ارگانیسم‌ها وجود دارند، توجه به مکانیسم عمل این سلول‌ها و نقشی که در حیات موجودات زنده ایفا می‌کنند مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. بدون شک یکی از مهم‌ترین دستاوردهای بشر در قرن ۲۰ دستیابی به رده‌های سلولی کشت شده مانا از سلول‌های بنیادی می‌باشد. این سلول‌ها کاربردهای بسیاری در علوم زیستی، پزشکی و دارویی دارند (۱ و ۲). سرعت پیشرفت و گسترش فناوری زیستی جدید موجب شده است که به منظور دستیابی به منابع غذایی و دارویی و صنعتی بیشتر، پهنهٔ بیکران آبی نیز مورد توجه و بهره‌برداری قرار گیرد (۳). اهمیت استفاده از منابع آبی به منظور دستیابی به فرآورده‌های ارزشمند دارویی و بهره‌وری حاصل از منابع موجودات آبزی، اهمیت کشت و پروش این موجودات و شناسایی منشأ سلولی آنها به منظور تهیه رده‌های سلولی مانا و مفید را آشکار می‌سازد. برای نیل به این هدف استفاده از منابع سلولی دریایی و یافتن تکنیک‌های مناسب برای کشت آنها حائز اهمیت است (۴).

هدف این مطالعه مروری بر تحقیقات مرتبط با سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی و بررسی عوامل مؤثر در کشت داخل آزمایشگاهی آنها می‌باشد.

تاریخچه تحقیقات مرتبط با سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

اقیانوس‌ها بیش از ۷۰ درصد کره زمین را تشکیل می‌دهند. این پهنهٔ بیکران آبی منبعی غنی از طیف گسترده‌ای از مواد بیولوژیک و بیوشیمیایی می‌باشند. تنوع وسیع اکوسیستم‌های آبی، بستر مناسبی جهت حضور گونه‌های مختلف گیاهی و جانوری فراهم آورده است. پیدایش حیات از اقیانوس‌ها موجب شده است که اکثر موجودات دریایی نسبت به ساکنین خشکی پیکر ساده‌تری داشته باشند (۳). گونه‌های حیوانی دریایی در تحقیقات علمی همواره پیشرو محسوب شده و اساس مفاهیم پایه تکنولوژی سلول‌های بنیادی نوین را تشکیل می‌دهند. از میان جانوران دریایی، بی‌مهرگان دریایی بیش از ۳۰ درصد تمام گونه‌های دریایی را شامل می‌شوند. آنها منابع غنی از ترکیبات زیست فعال می‌باشند. با توجه به ظرفیت بالای زیست فناوری، بی‌مهرگان دریایی مورد توجه و مطالعه بسیاری از محققین قرار دارند (۵).

تاریخچهٔ استفاده از مدل‌های حیوانی آبی به تحقیق بر روی هیدر آب شیرین برمی‌گردد. ترمبلی (Trembley) مشاهده کرد که قطعه‌ای کوچک از هیدر[2] قادر به بازسازی یک موجود کامل می‌باشد. در آن زمان این مسئله چیزی در حد معجزه و جادو تصور می‌شد. الگوی بازسازی پیکر این موجود، زمینه تحقیقات مرتبط با دانش باز آفرینشی و نقش حیاتی سلول‌های بنیادی را فراهم نمود (۶). یک قرن بعد، هکل (Haeckel) مطالعات خود را بر روی فنجان زیان[3] آغاز نمود. این موجودات علاوه بر دارا بودن خصوصیات

[1] Potency
[2] Hydra
[3] Scyphozoa

www.SID.ir

Archive Of SID

زیبایی‌شناسی، به دلیل خصوصیات چند ریختی[4] که دارند، به عنوان ابزاری برای مطالعه تأثیرات محیط بر الگوی تکاملی جنین و وراثت مورد استفاده قرار می‌گرفتند (۷). هکل نشان داد که تغییرات اندک در دمای آب، شدت و مدت تابش نور، شوری و اشباع هوا قادر به ایجاد تأثیرات عمده‌ای بر روی الگوهای ساختاری اندام‌های مختلف می‌باشد. تحقیقات وی پیش درآمد اهمیت نقش عوامل مختلف محیطی بر روی کشت و تمایز سلولی و مسیرهای پیام‌رسانی می‌باشد (۸). بسیاری از بی‌مهرگان دریایی از اسفنج‌ها[5] تا طنابداران حقیقی[6] مجموعه‌های بزرگی از سلول‌های بنیادی پرتوان[7] را در بزرگسالی حفظ می‌کنند و شواهد فراوانی گواه این است که این سلول‌ها نقش مهمی در نگهداری، ترمیم و کلونینگ غیر جنسی ایفا می‌کنند. در برخی از بی‌مهرگان مانند اسفنج‌ها، هیدر و کرم‌های پهن[8] سلول‌های بنیادی در تمام شرایط مشاهده نمی‌شوند بلکه در زمان رشد یا ترمیم کل بدن به وفور یافت می‌شوند (۸ و ۹).

لزوم کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

بی‌مهرگان دریایی در زمینه‌های تحقیقاتی مختلف مانند تحقیقات زیست دارویی، تولیدات زیستی و تحقیقات پایه و بیولوژی تکاملی کاربرد دارند (۸). باید توجه داشت که بسیاری از این موجودات دارای تولید مثل فصلی می‌باشند و جنین این موجودات و سلول‌های حاصل از آن برای انجام مطالعات و تحقیقات همواره در دسترس نمی‌باشد. از طرفی ممکن است تولید مواد زیست فعال حاصل از بی‌مهرگان دریایی وابسته به یک بافت یا اندام مشخص باشد و کل پیکر جاندار برای تولید آن محصول مورد نیاز نباشد. با توجه به موارد ذکر شده و همچنین با در نظر گرفتن دشواری و هزینه تولید و پرورش یک گونه نسبت به کشت سلول‌های آن در شرایط داخل آزمایشگاه و همچنین اهمیت حفظ ذخایر بیولوژیک بی‌مهرگان دریایی، کشت سلول‌های بنیادی آنها، جایگزین مناسبی به عنوان منبع فعال بیولوژیک، جهت سنتز محصولات زیست فعال و پرورش این جانداران می‌باشد (۹). کشت داخل آزمایشگاهی سلول‌های بی‌مهرگان دریایی به محققان اجازهٔ کنترل و بهینه‌سازی شرایط را داده و به علاوه منبع در دسترس سلولی را برای تحقیقات مختلف فراهم می‌نماید. بررسی الگوهای متفاوت عملکردی و حضور سلول‌های بنیادی در این موجودات می‌تواند کاستی‌های موجود در درک شرایط مناسب برای کشت و بهره‌برداری از این سلول‌های ارزشمند در گونه‌هایی که به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند را رفع کند (۱۰).

دستیابی به سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

به منظور دست‌یابی به سلول‌های مناسب جهت کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی، توجه به راهکارهای مورد استفاده برای کشت سلول‌های پستانداران راه‌گشا خواهد بود. نخستین راه، استفاده از سلول‌های بنیادی بالغ[9] در بی‌مهرگان دریایی است. بسیاری از بی‌مهرگان دریایی در مرحلهٔ بزرگسالی میزان قابل ملاحظه‌ای سلول بنیادی تولید می‌کنند. شواهد نشان می‌دهد که این سلول‌ها در اسفنج‌ها، کرم‌های پهن،

[4] Polymorphism
[5] Sponges
[6] Urochordata
[7] Pluripotent stem cell
[8] Platy helmet
[9] Adult stem *Cell*

www.SID.ir

Archive Of SID

مرجانیان[10]، سخت پوستان[11]، نرمتنان[12]، خارپوستان[13] و آبپاش‌های دریایی[14] نقش مهمی در تعمیر، نگهداری ، تکثیر و بازسازی ایفا می‌کنند که این کار مشابه عمل سلول‌های بنیادی سرطانی در مهره‌داران می‌باشد (۱۱). مسیر دوم مورد هدف قرار دادن سلول‌های سوماتیک خفته و دستکاری آنها برای تبدیل به سلول‌های بنیادی پرتوان القایی[15] می‌باشد. هنگامی که سلول‌های بالغ و القایی حاصل از بی‌مهرگان دریایی در داخل آزمایشگاه کشت داده می‌شوند، می‌توانند در مرحلهٔ اولیه باقی بمانند و بدون اینکه به سلول‌های دیگری تمایز پیدا کنند مورد بهره‌برداری قرار بگیرند. این امر موجب تحت کنترل قرار دادن توانایی ذاتی سلول‌های بنیادی جهت خود تجدیدی[16] می‌شود و بجای تمایز یافتن به سلول‌های دیگر، رده‌های نامیرا ایجاد می‌شود (۱۲).

یکی از اهداف اصلی تحقیقات روی سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی در وهله نخست تولید رده‌های سلول‌های نامیرا می‌باشد و به نظر می‌رسد که این مهم تحقیقات و مطالعات بسیاری را در برگرفته و قادر به برطرف کردن نیازهای بسیاری خواهد بود.

چالش‌های پیش رو در کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

بی‌مهرگان دریایی بالغ بر بیست شاخه مختلف را شامل می‌شوند و از سال ۱۹۷۰ تاکنون تلاش‌های پراکنده‌ای در خصوص کشت سلول‌های این موجودات انجام شده است (۱۱). امروزه بیش از ۵۰۰ رده سلولی از بافت‌های مختلف حشرات و بی‌مهرگان زمینی موجود است. اما این پیشرفت در خصوص بی‌مهرگان دریایی صدق نمی‌کند و هنوز هیچ ردهٔ سلولی تکثیر شوندهٔ دائمی برای هیچ‌کدام از بی‌مهرگان دریایی وجود ندارد (۱۳). علی‌رغم تلاش‌های متعدد، هیچ رده سلولی مانا از کشت بی‌مهرگان دریایی به‌دست نیامده و کشت‌ها تنها محدود به چند پاساژ اولیه بوده و پس از چند بار تکثیر افت قابل توجهی در میزان تکثیر ماده ژنتیکی و متابولیسم سلولی ایجاد شده است (۱۴).

مرحله خاموشی، مرحله‌ایست که تقریباً برای تمام سلول‌ها اتفاق می‌افتد و چنانچه این فاز به کمک فاکتورها و سیگنال‌های مختلف داخل و خارج سلولی رفع شود، سلول‌ها وارد فاز تکثیری خود می‌شوند و فعالیت‌های متابولیسمی خود را از سر گرفته و قادر به تمایز و تولید انواع مختلف سلول‌های دیگر می‌باشند (۹).

توقف کشت سلولی بی‌مهرگان دریایی در داخل آزمایشگاه می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. یکی از مهم‌ترین دلایل این است که شرایط بهینهٔ ریز محیط[17] مورد نیاز برای کشت بی‌مهرگان دریایی هنوز به خوبی مشخص نشده است. برای فراهم نمودن شرایط یک کشت سلولی مطلوب، می‌بایست نیازهای سلولی در نظر گرفته شوند. قابل توجه اینکه در ارتباط با نیازمندی‌های کشت بی‌مهرگان دریایی هنوز اطلاعات روشنی وجود ندارد (۱۵). همچنین اطلاعات ما در خصوص طبقه‌بندی و شناسایی سلول‌های بی‌مهرگان دریایی ناکافی است. این دسترسی محدود به بی‌مهرگان دریایی مرتبط با این است که ژورنال‌های علمی از چاپ

[10] Cnidaria
[11] crustaceans
[12] Molluscs
[13] Echinodermata
[14] ascidians
[15] Induced pluripotent stem cells
[16] Self-renew
[17] Microenvironment

www.SID.ir

Archive Of SID

تجربیاتی که با نقص مواجه شده‌اند خودداری می‌کنند. از بین تعداد محدودی چاپ‌هایی که موجود است، معمولاً شرایط کشت داخل آزمایشگاهی آنها بخوبی مشخص نشده است و مطالعات معمولاً به شیوه‌هایی که منحصر بفرد می‌باشند تکیه دارند تا به شرایطی که همه جانبه باشد (۱۲، ۱۶ و ۱۷).

یکی دیگر از عوامل مؤثر در عدم موفقیت کشت داخل آزمایشگاهی سلول‌های بی‌مهرگان دریایی، مقایسه شرایط کشت آنها با موجودات دیگر می‌باشد. محیط کشت باید براساس نیازهای تغذیه‌ای هر گونه طراحی شود. محیط‌های مورد استفاده برای کشت این موجودات ارزشمند عموماً محیط‌هایی می‌باشند که به‌طور اولیه برای کشت سلول‌های حیوانات مهره‌دار و حشرات مورد استفاد قرار گرفته‌اند. این امر با توجه به قرارگیری این بی‌مهرگان در اکوسیستم متفاوت و احتیاجات منحصر به فردی که دارند، عدم موفقیت در کشت سلول‌های این موجودات را در پی داشته است (۱۸). تمام سلول‌های رده‌های مختلف در یک سلسلهٔ حیوانی نیازهای تغذیه‌ای مشابهی دارند و توسط مسیرهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مشابهی کنترل می‌شوند و تحت تأثیر روندهای مشابهی از بیان ژن قرار می‌گیرند؛ در صورتی که در خصوص بی‌مهرگان دریایی این امر صدق نمی‌کند (۹).

مسأله دیگر که موجب عدم پایداری کشت‌های سلولی به دست آمده از بی‌مهرگان دریایی می‌گردد، آلودگی است. آلودگی‌های میکروبی، بیشترین آلودگی است که محیط کشت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با توجه به شرایط متنوع اکوسیستم‌های آبی، میکروب‌های موجود در این اکوسیستم‌ها نیز ویژگی‌ها و متابولیسم‌های متفاوتی دارند و نوع متابولیت‌های حاصل از آنها نیز منحصر بفرد می‌باشد (۹). به دلیل دانش کم در خصوص میکروب‌های دریایی، زدودن این آلودگی‌ها از محیط کشت امری دشوار محسوب می‌شود. متأسفانه میکروب‌ها بسیار سریع‌تر از سلول‌های هدف تکثیر شده و مواد غذایی را مصرف می‌کنند. برخی از گونه‌های بی‌مهرگان دریایی حتی گاهی با میکروب‌ها یا پروتوزوئرها[18] همزیستی دارند که تولید متابولیت‌های خاص آنها به کمک این همزیست‌ها میسر می‌باشد. اما حضورشان باعث مستعد شدن کشت سلولی به آلودگی می‌شود (۱۰). اسمولاریته، PH و دما از مهم‌ترین عواملی می‌باشند که جهت فراهم نمودن شرایط ایده‌ال برای کشت سلولی باید مورد توجه قرار گیرند. تغییرات اکوسیستم دریایی و اقیانوسی همواره شرایط اسمزی حاکم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. فشار اسمزی عامل تحریک کننده‌ای برای موجودات ساکن در این محیط‌ها می‌باشد. بنابراین توجه به شرایط کشت سلولی و فراهم نمودن نیازهای سلول‌های ارگانیسم از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد (۱۱ و ۱۲).

راهکارهای رفع مشکلات کشت سلول‌های بنیادی دریایی

بیشترین توسعهٔ کشت سلول‌های بی‌مهرگان دریایی در ده سال گذشته انجام شد. به طوریکه از سال ۲۰۱۱ رینکویچ (Rinkevich) تحقیقات پیرامون سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی را مجدداً به طور متمرکز آغاز نمود. او از سلول‌های سوماتیک اولیه برخی از بی‌مهرگان دریایی شامل نرم‌تنان و سخت پوستان به عنوان منبعی برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی[19] استفاده نمود و شیوه‌های متفاوتی را به منظور

[18] Protozoa
[19] Induced Pluripotent Stem Cell

www.SID.ir

Archive Of SID

جلوگیری از خاموشی یا توقف چرخه سلولی بدون استفاده از تغییر شکل دهنده تومورزا[20] را مورد استفاده قرار داد (۱۲). این امر موجب گسترش ظرفیت تکثیر در کشت‌های آزمایشگاهی گردید. همچنین موجب حفظ عملکرد سلول اولیه و در نتیجه در اختیار داشتن مقدار کافی از سلول‌های تمایز نیافته برای مطالعات آتی گردید. هدف استفاده از کشت، تنها کسب سلول‌های اختصاصی بافت‌های بی‌مهرگان دریایی نمی‌باشد؛ بلکه سلول‌های بنیادی خاص در شرایط مناسب قادر به تولید سوبستراهای فعال بیولوژیک نیز خواهند بود (۹ و ۱۰). برای دستیابی به ایده‌ال‌ترین شرایط کشت استفاده از فاکتورهای رشد، کنترل عوامل دخیل در آپوپتوز، سوبستراهای طبیعی و مصنوعی و ترکیبات فعال زیستی خاص در نظر گرفته شده است. مجموع این عوامل و فعالیت‌ها موجب شبیه‌سازی ریز محیط‌ها برای کشت سلولی و استخراج و بهره‌برداری از مواد و متابولیت‌های حاصل از آنها می‌شود.

همان‌گونه که اشاره شد آلودگی میکروبی همواره یک معضل بزرگ در کشت سلول‌های دریایی بوده است (۱۹). بنابراین انواع غلظت‌های مختلف آنتی بیوتیک‌ها و ضد قارچ‌ها در کشت سلولی بی‌مهرگان دریایی استفاده می‌شود. باید توجه داشت که غلظت بالای آنتی‌بیوتیک‌ها یا ضد قارچ‌ها می‌تواند برای سلول‌های تحت کشت نیز مضر باشد (۲۰). از طرفی غلظت‌های پایین آنتی بیوتیک‌ها قادر به حذف میکروب‌ها نیست. بنابراین استفاده از مقدار مناسب آنها از اهمیت بالایی برخوردار است. نوع آنتی بیوتیک هم مهم است چرا که در حضور برخی آنتی بیوتیک‌ها، ساختارهای اولیه که پیش درآمد تکثیر سلول‌های بنیادی می‌باشند، شکل نمی‌گیرد (۲۱).

به دلیل اینکه ارگان‌های متفاوت جمعیت‌های متفاوتی از میکروب‌ها را دارند، انتخاب آنتی بیوتیک مناسب برای حذف انواع پاتوژن‌ها مشکل است و معمولاً آنتی بیوتیک‌ها به صورت ترکیبی استفاده می‌شوند (۲۲). ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیک‌ها روش مناسبی برای پیدا کردن مناسب‌ترین آنها می‌باشد. استفاده از تکنیک آلوده نمودن نمونه و بررسی تأثیر آنتی بیوتیک‌های مختلف و یا استفاده از تکنیک رقیق‌سازی براث[21] هم غلظت مهاری حداقلی را ایجاد می‌کند که در معرفی بهترین آنتی بیوتیکی کمک می‌کند (۹).

همچنانکه اشاره شد که توجه به اسمولاریته، PH و دمای محیط کشت نیز حائز اهمیت می‌باشد. میزان اسمولاریته‌ای که بی‌مهرگان دریایی با آن مواجه می‌باشند بین ۷۲۰ تا ۱۱۰۰ میلی‌اسمول بر کیلوگرم گزارش شده است. بی‌مهرگان دریایی رده‌های پایین‌تر عموماً مایل به رشد در محیط‌هایی هستند که اندکی آلکالینی باشد. از این رو PH محیط کشت این موجودات بین ۷ تا ۸/۵ متغیر می‌باشد.

سلول‌های متفاوت نیاز دمایی متفاوتی دارند و با دماهای مختلفی سازگاری پیدا کرده‌اند. دمای محیط کشت با توجه به دمای اکوسیستمی که بی‌مهرگان از آن جمع‌آوری می‌شوند، انتخاب و تنظیم می‌شود و بین ۸ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد متغیر می‌باشد (۱۲-۱۰).

نوع سلول و بافت مورد استفاده برای کشت

اولین گام در راه‌اندازی کشت اولیه سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی، انتخاب سلول و بافت مناسب است. برای این منظور تاکنون بافت‌های مختلفی تحت بررسی قرار گرفته‌اند. دارا بودن سلول‌های متنوع و بافت‌های

[20] oncogenic transformation
[21] Broth

www.SID.ir

Archive Of SID

مختلف موجب انعطاف‌پذیری شکلی و ساختاری بالایی در بی‌مهرگان دریایی شده است. سلول‌های پیکر این موجودات خصوصیات بازسازی مختلفی دارند (۱۲). بافت‌های انتخابی به منظور کشت آزمایشگاهی لازم است دارای سلول‌هایی با چرخه سلولی فعال و ظرفیت رشد بالا باشند. بنابراین یکی از نکات مهم در کشت داخل آزمایشگاهی سلول‌های بی‌مهرگان دریایی توجه به نوع سلول فعال می‌باشد. کشت سلول‌های اولیه چندین نوع سلول از بی‌مهرگان دریایی به‌طور موفقیت‌آمیزی شروع شده است. به طور مثال در خصوص اسفنج‌ها تعلیقات سلولی دارای آرکئوسیت‌ها[۲۲] حائز اهمیت می‌باشند. آرکئوسیت‌ها تنها سلول‌هایی‌اند که ظرفیت چندتوانی دارند و غالباً به عنوان سلول‌های بنیادی پرتوان اسفنج محسوب می‌شوند این سلول‌ها از نظر چرخه سلولی فعال بوده و قادر به تمایز به رده‌های سلولی دیگر می‌باشند (۲۳).

گروهی از محققان نوک شاخه راسی مرجانیان[۲۳] را به دلیل دارا بودن ظرفیت رشد سریع مورد توجه قرار داده‌اند. در سخت پوستان همولنف، بافتی است که غالباً برای کشت سلولی مورد استفاده قرار گرفته است. در دیگر بی‌مهرگان دریایی به منظور تهیه کشت سلولی مناسب از سلول‌های بافت‌های دیگری استفاده شده است. به‌طور مثال در کشت سلولی نرم‌تنان، از همولنف، گانگلیون، غده هضمی، آبشش و جنین استفاده شده است (۲۴). در خارپوستان، جنین و روده جهت کشت سلولی مناسب‌ترین بافت می‌باشند. جدا از انواع سلولی که در بالا اشاره شد، پیناکوسیت‌ها[۲۴]، آرکئوسیت‌ها[۲۵]، کوانوسیت‌ها[۲۶]، اسکلروسیت‌ها[۲۷]، و پری مورف‌های روزن داران[۲۸]، سلول‌های اسکلت‌ساز[۲۹]، سلول‌های اندودرم، سلول‌های کالیکوبلاستیک[۳۰] و اپیتلیو موسکولارهای مرجانیان همگی می‌توانند به عنوان کشت سلولی اولیه مورد استفاده قرار بگیرند. سلول‌های حاصل از بافت‌های مختلف مورفولوژی متفاوتی دارند. برای مثال سلول‌های تخمدان دارای شکل قلوه سنگی هستند و انتروسایت‌ها مشابه سلول‌های اپی تلیالی تیپیک می‌باشند (۹).

سلول‌های جنینی به دلیل ویژگی‌های منحصر بفرد برای کشت بی‌مهرگان دریایی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته‌اند. این سلول‌ها بر اساس مرحله جنینی که جداسازی سلولی طی آن صورت می‌گیرد، ظرفیت تکثیری متفاوتی را بروز می‌دهند. برای مثال ظرفیت تکثیری سلول‌های جنینی خاموش نوعی سخت پوست به نام آرتمیا[۳۱] ضعیف است (۱۵). بنابراین مراحل جنینی مختلف گونه‌های متفاوت باید به‌طور جداگانه به منظور بررسی اینکه کدام یک مناسب است بررسی شود. شواهد حاکی از آن است که سلول‌های جنینی کشت داده شده نسبت به سایر سلول‌های تحت کشت از طول عمر بیشتری بهره‌مند هستند. بنابراین با آگاهی از

[22] Archeocyte
[23] Cnidaria
[24] pynacocyte
[25] Archeocyte
[26] choanocytes
[27] sclerocyte
[28] Profira
[29] sclerogenic
[30] calicoblastic
[31] *Artemia*

www.SID.ir

Archive Of SID

ویژگی‌های سلول‌های بنیادی و محل و منشأ آنها در بافت‌های بی‌مهرگان دریایی می‌توان از این منبع بالقوه در مطالعات مختلف بهره‌مند گردید.

تکنیک‌های مورد استفاده به منظور تأیید ماهیت سلول‌های بنیادی بی مهرگان دریایی

در مقایسه با مطالعات قبلی طی سال‌های اخیر بیشتر مطالعات مرتبط با کشت سلول‌های بی‌مهرگان دریایی، بررسی‌های ملکولی را جهت اثبات بنیادینگی سلول‌ها استفاده نموده‌اند (۱۱). به‌طور مثال به دلیل اینکه طبقه‌بندی اسفنج به خوبی شناخته شده نیست، ارتباطات فیلوژنیک آنها با استفاده از ۱۸s rDNA و ۲۸ s توالی‌یابی شد. بر این اساس محققان این تئوری را مطرح کردند که تجمعات سلولی اولیهٔ سلول‌های جداسازی شدهٔ دمواسپونج دریایی از نظر تاکسونومی اختصاصی می‌باشند. در سال ۲۰۰۸ جزئیات ریخت‌شناسی و ژنوتیپی هموسایت‌های اولیهٔ نوعی نرم‌تن دریایی تک کفه‌ای[32] گزارش شد. در این تحقیق از فلوسایتومتری و میکروسکوپ نوری و الکترونی استفاده شد (۲۵). این موفقیت منجر به امکان‌پذیر شدن خصوصیات عملکردی و هیستوشیمیایی این سلول‌های نادر شد. محققان یک رسپتور لامینین همولوگ از نوعی صدف خوراکی آب شور[33]، کلون و توالی‌یابی کرده‌اند. آنها یافتند که این رسپتور در اتصال سلولی و آپوپتوز دخالت دارد و اتصال بین آن و لامینین منجر به مهار آپوپتوز در کشت سلولی اولیه می‌شود. بنابراین این رسپتورها احتمالاً در ایجاد یک ردهٔ سلولی دائمی نقش دارند. نتایج این مطالعه به ارتقای کشت سلول‌های اولیه بی‌مهرگان دریایی کمک چشمگیری نموده است (۲۶).

حیات و نامیرایی سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

اعتقاد بر این است که ژن‌های مرتبط با نامیرایی برای تولید یک ردهٔ سلولی در محیط داخل آزمایشگاه مؤثر می‌باشند. ارتقا سرعت رشد در سلول‌های سخت پوستان به کمک SV40-LT[34] میسر است (۲۷). طولانی کردن حیات سلول و افزایش سطح بیان ژن‌های تنظیم کنندهٔ رشد سلول در سلول‌های خارپوستان ترانسفکت شده با Gal-4[35] که یک فعال کنندهٔ نسخه‌برداری است دیده شده است (۲۸).

Ras یک فاکتور تومورزا است که در حضور محرک‌های رشد خارج سلولی، رشد سلولو تمایز و حیات آن را تنظیم می‌کند. جهش در این ژن انتقال سیگنال بین سلول‌ها را حتی در عدم حضور سیگنال‌های خارج سلولی به شدت مهار می‌کند. Ras و ژن‌های وابسته در اسفنج دریایی شناخته شده است. هر چند ژن Ras طبیعی و نوع موتانت آن به سلول‌های اسفنجی اولیه ترانسفکت شده، این تلاش‌ها منجر به ایجاد رده‌های سلولی نشده است (۲۹). برخی سلول‌ها تکثیر مداوم خودشان را به کمک فعال کردن ترانس کریپتاز معکوس تلومراز (TERT)[36] به پایان می‌رسانند. حضور تلومراز و بیان نابجای TERT در سلول‌های انسانی منجر به طویل شدن تلومر و نامیرایی انواعی از سلول‌ها می‌باشد. بر این اساس احتمالاً TERT یک ژن کاندید نوید بخش برای نامیرا کردن سلول‌های بی‌مهرگان است. به‌طور مثال گزارش شده که فعالیت تلومراز در کشت اولیهٔ

[32] Abalone
[33] *Meretrix meretrix*
[34] Simian virus 40 large T
[35] Galatians 4
[36] Telomerase reverse transcriptase

www.SID.ir

Archive Of SID

سلول‌های لنفوئیدی میگوی پینائید حفظ شده است. عمده‌ترین فایده استفاده از TERT این است که می‌تواند سلول‌های بی‌مهرگان را بدون آغاز نمودن تغییر شکل‌های بدخیم نامیرا کند. شناسایی TERT اختصاصی گونه هم اهمیت زیادی دارد.

با این وجود فعالیت تلومراز تنها پیش نیاز نامیرایی سلول‌های بی‌مهرگان دریایی نیست و ژن‌های نامیرایی بیشتری باید در کشت این سلول‌ها بررسی شوند (۳۰). ویروس پاپیلومای انسانی نوع ۱۶ (HPV16)[۳۷] دو انکوپروتئین را تولید می‌کند که توسط ژن‌های E7، E6 کد می‌شود. پروتئین E7 منجر به ارتقای پیشرفت سیکل سلولی می‌شود. در حالی که E6 تخریب پروتئین P53 را تحریک کرده و به واسطه فعال کردن TERT با نامیرایی مرتبط است. مطالعات نشان داد که بیان این دو انکوپروتئین به طور مؤثر منجر به نامیرایی انواع مختلف سلول‌های سوماتیک می‌شود. در پی این امر کلایدون (Claydon) و همکاران ژن این دو را به سلول‌های نوعی خرچنگ ترانسفکت کردند و موفق به ایجاد سلول‌هایی با طول عمر بالا شدند (۳۱). توجه به تغییرات ژنتیک و اپی ژنتیک و بیان کلی ژن در سلول‌های داخل بدن و در شرایط کشت آزمایشگاهی نتایج مهمی را در ارتباط با خاموشی سلول فراهم می‌کند. برای مثال با استفاده از تکنیک نقشه‌برداری وسیع ژنی و ارزیابی موقعیت و عملکرد لوکوس‌های چندین مسیر آغازگر سیگنالینگ، می‌توان پیری سلول را تحت بررسی قرار داد. نتایج حاصل از این مطالعات می‌تواند در درک وقایع اصلی مربوط به تکثیر سلول و نامیرایی آن مورد استفاده قرار گیرد (۲۸).

شیوه‌های جداسازی سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

سلول‌های گونه‌های مختلف با روش‌های متفاوتی تحت جداسازی قرار می‌گیرند. توجه به نوع بافت و شیوه جداسازی سلول‌ها برای کشت سلولی اولیه بسیار ضروری است. به‌طور مثال جداسازی آرکئوسیت‌های اسفنج پس از هضم آنزیمی با استفاده از غربال‌های مختلف و گرادیان‌های غلظتی انجام می‌شود. برای هضم بافتی در سخت پوستان از کلاژناز نوع ۱ استفاده شده است. در خارپوستان نیز هضم آنزیمی مورد استفاده قرار گرفته است (۳۲).

شرایط و محیط کشت

نیازمندی‌های تغذیه‌ای بی‌مهرگان دریایی هنوز بخوبی شناخته شده نیست. از ابتدا محیط کشت مورد استفاده در آزمایشگاه برای کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی همان محیط‌های مفید برای سلول‌های حیوانات مهره‌دار و همچنین سلول‌های حشرات بود. تقریباً در نیمی از این مطالعات از آب دریای استریل یا آب دریای مصنوعی به عنوان بافر پایه استفاده شده است (۳۳). محیط دیگری که غالباً استفاده می‌شود L15[۳۸] است. همچنین محیط کشت حشرات به نام Grace نیز برای کشت سلول‌های مرجانیان و سخت پوستان استفاده شده است (۳۴ و ۳۵). محیط‌های کشت دیگر مانند DMEM[۳۹]، F12[۴۰] و M199[۴۱] هم مورد استفاده قرار گرفته است. سرم جنین گاوی[۴۲] و سرم جنین گوساله[۴۳] به‌طور گسترده برای کشت سلول‌های پستانداران استفاده شده است. هر چند سرم در تمام

[37] Human papillomavirus
[38] Leibovitzs
[39] Dulbecco's Modified Eagle's medium
[40] Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient F-12 Ham
[41] Medium 199
[42] *Fetal Bovine Serum*
[43] *fetal calf serum*

www.SID.ir

Archive Of SID

مطالعات روزنه‌داران استفاده نشده است، گزارش شده که افزودن سرم برای اتصال سلول‌های اسفنج مناسب نیست و همچنین مانع حیات سلول‌های خونی سخت‌پوستان می‌شود. از غلظت پایین سرم برای کشت سلولی مرجانیان استفاده شده است. همچنین در کشت سلولی سخت پوستان نیز از ۱۰ تا ۲۰ درصد سرم جنین گاو استفاده شده است (۳۶ و ۳۷). در گزارش دیگری از افزودن ۵ تا ۱۰ درصد سرم خرچنگ نعل اسبی به کشت سخت پوستان خبر داده شد. به نظر می‌رسد که بی‌مهرگان رده‌های بالاتر به مقدار سرم بیشتری نسبت به رده‌های پایین‌تر نیاز دارند (۳۸).

به منظور بهینه‌سازی شرایط کشت بی‌مهرگان دریایی، افزودنی‌های دیگری نیز به محیط پایه اضافه شد. بطور مثال تحقیقات نشان دادند که افزودن فاکتورهای رشد دارای اثرات مثبتی بر روی بقاء و تکثیر سلول‌ها می‌باشند. ترکیبات غیر ارگانیک مانند سیلیکات‌ها و آهن نیز به‌طور وسیع برای کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگانی مانند اسفنج استفاده شد (۳۹). فیتوهماگلوتینین که یک میتوژن پستانداران است، منجر به تحریک تقسیم سلول‌های اسفنج می‌شود (۴۰). گلوکز به عنوان منبع کربن برای تکثیر اسفنج، سخت پوستان و سلول‌های نرمتنان به کار گرفته شده است (۴۱). کلسترول، آمینواسیدها، ویتامین C، انسولین و ترانسفرین هم برای کمک به حیات سلول‌های اسفنج استفاده شده است (۴۲). رتینوئیک اسید و نیتریک اکساید به منظور ارتقای تکامل عصبی در بی‌مهره‌ها استفاده شده و گزارش شده است که باعث ارتقای تکثیر و تمایز عصبی در کشت سلولی مرجانیان می‌شود (۳۸ و ۴۳). مشخص شده که استیل کولین استراز به عنوان یک فاکتور رشد برای نورون‌های حسی بویایی وابسته عمل می‌کند که باعث ارتقای حیات آنها در محیط کشت می‌شود (۴۴). آنزیم هیدرولیزات، لاکتالبومین، ویتامین‌ها، گلوتامین، فاکتور رشد شبه انسولینی و فاکتور رشد فیبروبلاستی پایه[44] هم به عنوان مکمل‌های کشت سلول‌های سخت پوستان استفاده شد (۴۵). گلوتامین، ویتامین و انسولین برای کشت سلول‌های خارپوستان (به عنوان مکمل) استفاده شد (۲۸، ۳۷ و ۴۶). در نتیجه می‌توان چنین استنباط کرد که سلول‌های حیوانات شاخه‌های پایین‌تر تمایل به کشت در محیط‌های ساده‌تری دارند. برای مثال سلول‌های اسفنج در آب دریای مصنوعی بدون سرم یا خیلی از افزودنی‌های دیکر کشت داده شده است. سلول‌های حیوانات کلاس‌های بالاتر در محیط‌های تجاری با افزودنی‌های مربوط به حشرات و سلول‌های مهره‌داران کشت داده شده است.

نقش ماتریکس در کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی

اسفنج‌ها ارگانیسم‌های حساسی می‌باشند که به صورت متصل به سوبسترای جامد زندگی می‌کنند. تحقیقات نشان داده که کشت سلول‌های اسفنج در حضور ذرات شیشه‌ای می‌تواند مؤثر باشد (۴۷). همچنین کشت سه بعدی پری مورف‌های اسفنج در یک محفظه، در حضور یک صفحه صخره‌ای کوارتزی منجر به رشد بهتر می‌شود (۴۸). اخیراً ماتریکس‌های سلول‌زدایی شده[45] به‌طور وسیع در بیولوژی سلولی و به منظور بازسازی بافت پستانداران مورد استفاده قرار گرفته شده‌اند (۴۹). این بافت‌های سه بعدی به طور عمده از مولکول‌های ماتریکس خارج سلولی با حفظ ساختار طبیعی تشکیل شده‌اند. شناسایی و استفاده از ماتریکس خارج سلولی اختصاصی بافت یا اجزاء آن می‌تواند به بازسازی بستر

[44] *Basic fibroblast growth factor*
[45] *Acellular*

www.SID.ir

Archive Of SID

سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان در محیط داخل آزمایشگاهی کمک کند.

بحث

کشت سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی کلید درک روند تکاملی پیکر این موجودات و شناخت و بهینه‌سازی شرایط لازم جهت استفاده بهینه از فراورده‌های حاصل از این موجودات می‌باشد. در این قسمت ضمن ارائه معرفی کوتاه از انواع بی‌مهرگان دریایی و بیان اهمیت کشت داخل آزمایشگاهی آنها به تفکیک، نتایج برخی از شاخص‌ترین تحقیقات حاصل از کشت آنها ارائه شده است.

اسفنج‌ها (روزن داران)

اسفنج‌ها جزو قدیمی‌ترین بی‌مهرگان پرسلولی می‌باشند که توانایی تکثیر جنسی و غیرجنسی را دارا می‌باشند. اسفنج‌ها به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ارزشمند تجاری و صنعتی مورد توجه بسیاری قرار دارند. در کشت سلول‌های اسفنج، بافت‌ها با استفاده از تکنیک‌های فیزیکی یا شیمیایی و آنزیمی خاصی به صورت تعلیق درآمده و برای بررسی‌های آتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. جداسازی سلول‌های اسفنج به کمک سانتریفیوژ گرادیان غلظتی انجام می‌شود. به کمک فیلتر نیز می‌توان سلول‌ها و بافت‌های قطعه قطعه شده را جمع‌آوری نمود. اسفنج‌ها سلول‌های تمایز نیافته‌ای به نام آرکئوسیت‌ها دارند که قادر به تمایز به هر نوع سلول می‌باشند. این سلول‌ها همراه با سیلیکات‌ها و یون‌های آهن القاء شده و به سلول‌های اسکلتی که اسپیکول‌ها را می‌سازند، تمایز می‌یابند (۵۰). این سلول‌ها قابلیت تکثیر و فاگوسیتوز و مهاجرت را دارند. کوانوسیت‌ها هم به سلول‌های بنیادی شباهت دارند. از آنجایی که اسفنج بیشترین میزان تنوع ترکیبات زیستی را در میان موجودات دریایی دارد، تعداد مقالاتی که به کشت سلول‌های اسفنج پرداخته است، طی سال‌های اخیر افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان داده است (۵۱). در محیط کشت با افزایش مقدار منیزیوم و کلسیم سلول‌های اسفنج جداسازی شده تجمعات کروی کوچکی را تشکیل می‌دهند (۵۲). فعالیت تکثیری سلول‌های بنیادی اسفنج و تمایز مستقیم می‌تواند توسط اکتین‌ها القا شود. در کشت اولیه، آرکئوسیت‌ها با فیتوهم آگلوتینین که یک موتاژن طبیعی پستانداران است، تحریک شده و طی ۳۶ ساعت ۲ برابر می‌شوند (۵۳). در اسفنج‌ها تعداد سلول‌های بنیادی به میزان قابل توجهی بالا است. بسیاری از محققان در صدد تهیه کشت سلولی مانا از آرکئوسیت‌های اسفنج بوده‌اند. اما با این حال تاکنون هیچ ردهٔ سلولی مداومی مانند سایر گروه‌ها از این بی‌مهرگان دریایی حاصل نشده است (۵۴).

مرجانیان (نیداریا)

مطالعات نشان داده است که روند ترمیم و باز تولید در مرجانیان از طریق کنترل جمعیت سلول‌های بنیادی صورت می‌گیرد. در کشت سلول‌های مرجانیان، کل پیکر مرجان یا پولیپ‌های اوتوزوئید[۴۶] و یا نوک شاخه راسی به دلیل رشد بالای سلول‌ها، بخشی است که به‌طور مرسوم به منظور کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد. لایه سلولی اپی تلیالی مرجانیان مشابه با آب سانان[۴۷] و گل سان زیان[۴۸] و فنجان زیان[۴۹] می‌باشد. فرانک (Frank) و همکاران در آب سانان دریایی سلول‌های بینابینی را به عنوان سلول‌های بنیادی در نظر

[46] autozooid polyp
[47] Hydrozoa
[48] Anthozoa
[49] Scyphozoa

www.SID.ir

Archive Of SID

گرفته‌اند (۵۵). در مرجانیان تقابلات سلول با سوبسترا برای تعیین فعالیت تقسیم سلولی در کشت‌های سلولی مورد بررسی قرار گرفته است (۵۶). همچنین مکانیسم‌های ملکولی تمایز توسط ماتریکس خارج سلولی و فاکتورهای اتصالی جهت دهی می‌گردد. سلول‌های مرجان‌های نرم و سخت به سرعت بر روی یک سطح با شارژ مثبت اتصال یافته و بعد از یک هفته شروع به سنتز کلاژن و دیگر پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی می‌نماید. افزودن اسید اسکوربیک روزانه باعث افزایش ۴۰ درصدی سنتز کلاژن می‌شود (۵۷). افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز و رسوب کربنات کلسیم تنها در حالتی که سلول‌های این حیوانات به‌صورت متصل باشند، ایجاد می‌شود (۵۸ و ۵۹).

در فنجان زیان تمایز مستقیم سلول‌های معمولی به سلول‌های بنیادی گزارش شده است. طی این روند یک سلول سوماتیک بالغ تغییر شکل داده و به سلول بالغ سوماتیک دیگر تبدیل می‌شود، بدون اینکه موقعیت پرتوانی حد واسط را طی کند. به عبارتی نوعی از متاپلازی می‌باشد. از نوعی عروس دریایی سلول‌های ماهیچه‌ای مخطط تک هسته‌ای جدا شده که قادر به انجام ترانس دیفرانسیون هستند. مطالعات نشان داده است که همولوگ ژن Piwi به نام Cniwi هنگام جوانه زنی پولیپ تحت رونویسی قرار می‌گیرد و تصور می‌شود نقش بسزایی در رویدادهای بنیاختگی این گونه‌ها ایفا می‌کند (۶۰ و ۶۱).

خارپوستان (اکینودرماتا)

توالی ژنی همولوگ ژن‌های Nanog و Oct که مربوط به پرتوانی می‌باشند در برخی بی‌مهرگان دریایی از جمله توتیای دریایی نشان داده شده است. کارنوالی (Carnevali) و همکاران موفق به کشت سلول‌های این گروه از بی‌مهرگان آبزی شدند (۶۲). پس از یک دورهٔ تقسیم کوتاه (یک تا دو روز) توده‌های سلولی معمولاً شروع به تمایز داشتند و سطح سنتز DNA طی دهمین روز کشت سلولی به صفر می‌رسید. جهت رفع این مشکل از یکسری سازه‌های ژنی به همراه فاکتورهای رشد و یا انواع خاصی از ملکول‌های لکتین حاصل از کوزه‌داران[50] به عنوان محرک القای رشد و تمایز سلول‌های جنینی خارپوستان استفاده شده است.

پس از انکوبه نمودن جنین‌های مرحله گاسترولای ستاره دریایی با ۰/۶ مولار گلایسین به مدت ۲۴ ساعت، تنها سلول‌های مزانشیمی زنده می‌مانند و در حضور انسولین شبکه‌هایی را تشکیل می‌دهند و بعد از یک هفته سلول‌های عضلانی در میان این سنسشیوم مزانشیمی ظهور می‌یابند. هر چند سلول‌های بنیادی بالغ در خارپوستان خیلی شناخته شده نیست، ولی ماحصل فرایندهای بیولوژیکی حاکی از وجود آنها می‌باشد (۶۳ و ۶۴).

نرم تنان

در نرمتنان سه لایه زایا شناسایی شده است. وقتی که ۴ بخش میکرومری روی قطب حیوانی این موجودات ایجاد می‌شود، القای حالت رویشی سلول‌های بنیادی رخ می‌دهد و ماکرومرهای سه بعدی تشکیل می‌شوند. وقتی که به مرحله ۲۴ سلولی رسید تکامل سلول‌های بنیادی مزودرمی در بخش مرکزی این ماکرومرها انجام می‌شود. در این حالت بین ماکرومرها و میکرومرهایی که در نهایت به سلول‌های بنیادی مزودرمی تبدیل می‌شوند، اتصال برقرار است. در نرم‌تنان سلول‌هایی مانند سلول‌های عضلانی، سلول‌های غدد گوارشی و هموسیت‌ها در دو کفه‌ای‌ها که

[50] ascidian

www.SID.ir

Archive Of SID

تکثیر بالایی دارند به عنوان سلول‌های بنیادی احتمالی در نظر گرفته می‌شوند (۶۵).

به دلیل اینکه این اتفاقات بسیار زود رخ می‌دهد، به‌دست آوردن سلول‌های در حال تقسیم بسیار دشوار است. با این حال در کشت‌های طولانی مدت (۵ تا ۶ ماه) از اسکالوپ mizuchopecten yessoensis (۶۶) و ماهی مرکب meretrix lusorya (۶۷) حضور این سلول‌ها مشخص شده است (۶۸).

سوبسترا مهم‌ترین عامل تعیین کننده در این روند است. بر روی یک سوبسترای حاوی کلاژن سلول‌های جنینی نرم‌تنان فعالانه تقسیم می‌شوند، ولی بزودی مراحل نهایی تقسیم صورت می‌گیرد.

در نرم‌تنان سلول‌های مخطط برای اولین بار در مراحل اولیه تمایز میوژنیک در شرایط کشت شناسایی شدند. نشان داده شد که سلول‌های بنیادی آنها در شرایط کشت قادر به تمایز به سلول‌های عضلانی مشتق از مزودرم و سلول‌های عصبی مشتق از اکتودرم می‌باشند (۱۰).

طنابداران حقیقی

فعالیت‌های میتوزی طنابداران حقیقی با عواملی از جمله افزودن و تغییر نوع فاکتورهای رشد مختلف تحریک می‌شود (۶۹). می‌توان رشد را توسط لکتین اختصاصی جدا شده که خصوصیات فاکتورهای رشد را دارد، القا نمود. بنابراین رشد و تکامل سلول‌ها تحت تأثیر عاملی است که به محیط کشت اضافه می‌شود (۷۰).

اطلاعات کلی نشان می‌دهد که طنابداران حقیقی حداقل دو سیستم سلول‌های بنیادی مستقل اپی تلیالی و خونی دارند. این سلول‌ها به طور قابل توجهی در پروسه‌های جوانه زدن شرکت می‌کنند (۷۷ و ۷۸).

گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد سلول‌های بنیادی مقیم در کوزه‌داران ممکن است انگل باشند (۷۴-۷۱).

سخت پوستان

سلول‌های بنیادی بالغ خیلی کمی در بندپایان شناخته شده است. در سخت پوستان بافتی که غالباً از سلول‌های آن جهت کشت استفاده می‌شود همولنف می‌باشد. این انتخاب به این علت است که سلول‌های خونی اغلب در کشت به صورت منفرد می‌باشند و به راحتی دچار آلودگی نمی‌گردند. سلول‌های بنیادی در این گروه از بی‌مهرگان دریایی به واسطه بیان انتخابی آلکالین فسفاتازها و آنتی ژن‌های تکثیری هسته که مارکر سلول‌های بنیادی جنینی مهره‌داران هستند، در انتخاب روند تولید مثل جنسی و غیرجنسی تأثیر می‌گذارند. به طور مثال در این راستا ظرفیت تکثیری بافت‌های میگوی مختلف بر اساس حضور فعالیت تلومرازی مورد غربالگری قرار گرفته است (۳۰). کشت‌های اولیه بافت‌های سخت پوستان اغلب از میگوی جنس Penaeus حاصل شده است. این کشت‌ها عموماً به مدت یک ماه پایدار می‌باشد. همچنین کشت بافت تخمدان این سخت پوست نیز تا ۱۷ ماه حفظ شده است (۷۵). در سرریشه‌ها[51] بخشی از بافت‌های لاروی به سلول بنیادی تبدیل می‌گردد که نشانه حضور سلول‌های بنیادی خاص اندام در سخت پوستان می‌باشد. ریزوسفالون‌ها، انگل‌های خرچنگ‌های ده پا می‌باشند که به عنوان اجداد سلول‌های سوماتیک و جنسی محسوب می‌شوند (۷۶). این یک وضعیت منحصر بفرد است که در واقع بخشی از بافت‌ها و ارگان‌های لاروی به سلول بنیادی تبدیل می‌شود. این سلول‌های بنیادی آلکالین فسفاتاز مثبت بوده و همچنین همهٔ ویژگی‌های

[51] rhizocephalon

www.SID.ir

Archive Of SID

سلول‌های بنیادی را بیان می‌کنند. تمایز و رشد سلول‌های بنیادی هماتوپوئتیک خرچنگ دراز آب شیرین[۵۲] به کمک پلاسمای بدون سلول عاری از هموسیانین انجام شد (۷۷).

مطالعات نشان داده است که ظرفیت تکثیری سلول‌ها در این گروه از بی‌مهرگان دریایی وابسته به فعالیت تلومرازی بافت‌های لنفوئیدی، عضله، قلب، هماتوپانکراس، هیستوکل‌ها و تخمدان می‌باشد که از میان آنها بافت تخمدانی دارای بیشرین فعالیت تلومرازی می‌باشد (۷۸). طی کشت بافت لنفوئیدی میگو سطح فعالیت تلومرازی افزایش نشان می‌دهد و بعد از ۲۰ روز از کشت به حداکثر می‌رسد. این میزان در بافت لنفوئید دو۲ برابر می‌شود (۷۹).

کرم‌های پهن

دو گروه از کرم‌های پهن که دارای پیکر نرم و انعطاف‌پذیر می‌باشند، شامل کرم‌های پهن و بدون سلوم‌ها[۵۳]، دارای مجموعه‌های بزرگی از سلول‌های بنیادی می‌باشند. در واقع تنها سلول فعال از لحاظ تقسیم در این ارگانیسم‌ها نئوبلاست‌ها[۵۴] می‌باشند (۸۰). این سلول‌ها قادر به تولید انواع مجموعه‌های مختلف سلول‌های جنسی و سوماتیک از طریق فرایندهای القایی بوده و غالباً جهت ترمیم و تولید بخش‌های از دست رفته بدن بکار می‌روند. از نظر ریخت‌شناسی، نئوبلاست‌ها صفات مشترک زیادی با سلول‌های بنیادی موجودات دیگر دارند. هنگامی که این ساختارها مهاجرت و تمایز را آغاز می‌کنند، پروفایل‌های خاصی از بنیاختگی ژنی مانند رونویسی Piwi را ارائه می‌دهند.

این خاصیت در کرم‌های خاکی[۵۵] که از اعضای شاخه حلقوی تباران[۵۶] می‌باشد بیشتر مورد بررسی و شناسایی قرار گرفته است (۷۹ و ۸۱).

دورنما

باوجود اینکه هنوز هیچ رده سلولی مانا از سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی حاصل نشده است، در دهه گذشته پیشرفت‌های زیادی در خصوص رویکردهای مولکولی و تغییراتی در محیط کشت حاصل شده است. طی سال‌های گذشته تلاش‌های بسیاری به منظور فراهم نمودن شرایط بهینه کشت مانا و دستیابی به رده سلولی این موجودات انجام گرفته است (۱۱). به علاوه طی سال‌های اخیر ابزار تحقیقات مولکولی بیشتری مورد استفاده قرار گرفته است. با این وجود محققان هنوز مسیر دشواری را در این راستا پیش رو دارند. شناخت و بررسی ریز ملکول‌ها و شرایط خاص هر گونه برای نیل به این هدف ضروری می‌باشد. در گام نخست ریز محیط‌های سلولی مناسب برای کشت هر رده سلولی باید در نظر گرفته شود (۱۲). ریز محیط سلول‌های گونه‌های مختلف در شرایط داخل آزمایشگاه با حالت طبیعی حاضر در بافت‌های موجود زنده بسیار متفاوت است. اسمولاریتی، فاکتورهای تغذیه‌ای، PH، دمای بهینه رشد، سوبستراها و ماتریکس خارج سلولی مناسب باید لحاظ شود. به عبارتی بازسازی بستر سلولی مناسب برای بی‌مهرگان آبزی در آزمایشگاه برای کشت داخل آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی این موجودات ضروری می‌باشد (۱۰).

---

[52] cryfish
[53] Asoela
[54] *neoblast*
[55] *Oligochaeta*
[56] annelids

www.SID.ir

Archive Of SID

بنابراین به نظر می‌رسد محیط اختصاصی شاخه‌ها یا گونه‌های مختلف باید توسعه یابند. به دلیل تنوع فاکتورهای حیاتی موجودات آبزی، غنی‌سازی محیط‌های رشد با مکمل‌ها و فاکتورهای رایج به تنهایی کافی نیست و به منظور شناسایی پروتئین‌های این جانداران، آنالیزهای اختصاصی لازم است. این امر می‌تواند منجر به انتخاب فاکتورهای رشد یا سیتوکین‌ها و در نهایت ایجاد محیط کشت مناسب به منظور کشت دائمی سلول‌های بنیادی بی‌مهرگان دریایی شود (۹).

نتیجه‌گیری

طی سالیان اخیر توجه به منابع دریایی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. از بین موجودات دریایی، بی‌مهرگان به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ارزشمند، کاربرد بسیاری در علوم مختلف بیولوژی، پزشکی و دارویی و صنایع به خود اختصاص داده‌اند. سلول‌های بنیادی این موجودات خاصیت خودنوزایی و تمایز به انواع سلول‌ها را دارند. این ویژگی نویدبخش استفاده از این سلول‌ها برای اهداف درمانی و استفاده از فراورده‌های حاصل در زمینه‌های مختلف می‌باشد. گرچه کشت سلول‌های بی‌مهرگان دریایی و تهیه رده سلولی مانا تاکنون با مشکلاتی همراه بوده است، شناخت شرایط مناسب کشت و درک نیازمندی‌ها و فراهم نمودن ریز محیط سلولی مناسب راهگشای استفاده از این منابع ارزشمند خواهد بود.

این پژوهش تحت حمایت هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نمی‌باشد.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. cell 2006; 126(4): 663-76.
2.Zahiri M, Shafikhodaii S, Keshavarz H. Stem cells in review. Iran South Med J 2014; 17(4): 733-47. (Persian)
3.Naganuma T, Degan BM, Horikoshi K, et al. Myogenesis in primary cell cultures from larvae of the abalone, Haliotis rufescens. Mol Mar Biol Biotech 1994; 3(3): 131-40.
4.Rocha J, Peixe L, Gomes NC, et al. Cnidarians as a source of new marine bioactive compounds-an overview of the last decade and future steps for bioprospecting. Mar Drugs 2011; 9(10): 1860-86.
5.Haeckel E. Remarks on the protoplasm theory. Q J Microsc Sci 1869; 10: 223-9.
6.Haeckel E. Remarks on the protoplasm theory. Q J Microsc Sci 1869; 10: 223-9.
7.Barut BA, Zon LI. Realizing the potential of zebrafish as a model for human disease. Physiol Genomics 2000; 2(2): 49-51.
8.Orlova VV, Drabsch Y, Freund C, et al. Functionality of endothelial cells and pericytes from human pluripotent stem cells demonstrated in cultured vascular plexus and zebrafish xenografts. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2014; 34(1): 177-86.
9.Cai X, Zhang Y. Marine invertebrate cell culture: a decade of development. J Oceanogr 2014; 70(5): 405-14.
10.Odintsova NA. Stem cells of marine invertebrates: Regulation of proliferation and induction of differentiation in vitro. Cell Tissue Biol 2009; 3(5): 403-8.
11.Rinkevich B. Marine invertebrate cell cultures: new millennium trends. Mar Biotechnol 2005; 7(5): 429-39.
12.Rinkevich B. Cell cultures from marine invertebrates: new insights for capturing endless stemness. Mar Biotechnol 2011; 13(3): 345-54.
13.Jayesh P, Seena J, Singh IS. Establishment of shrimp cell lines: perception and orientation. Indian J Virol 2012; 23(2): 244-51.
14.Rinkevich Y, Paz G, Rinkevich B, et al. Systemic bud induction and retinoic acid signaling underlie whole body regeneration in

www.SID.ir

Archive Of SID

urochordate Botrylloides leachi. PLoS Biol 2007; 5(4): e71.
15.Jiang G, Xu X, Jing Y, et al. Comparative studies on sorting cells from Artemia sinica at different developmental stages for in vitro cell culture. In Vitro Cell Dev Biol Anima 2011; 47(5-6): 341-5.
16.Crane MS. Mutagensis and cell transformation in cell culture. Methods Cell Sci 1999; 21(4): 245-53.
17.Coller HA, Sang L, Roberts JM. A new description of cellular quiescence. PLoS Biol 2006; 4(3): e83.
18.Rinkevich B. Cell cultures from marine invertebrates: obstacles, new approaches and recent improvements. J Biotechnol 1999; 70(1): 133-53.
19.Pomponi SA. Biology of the Porifera: cell culture. Can J Zool 2006; 84(2): 167-74.
20.van der Merwe M, Auzoux-Bordenave S, Niesler C, et al. Investigating the establishment of primary cell culture from different abalone (Haliotis midae) tissues. Cytotechnology 2010; 62(3): 265-77.
21.Sipkema D, van Wielink R, van Lammeren AA, et al. Primmorphs from seven marine sponges: formation and structure. J Biotechnol 2003; 100(2): 127-39.
22.Zhao Q, Zhang W, Jin M, et al. Formulation of a basal medium for primary cell culture of the marine sponge Hymeniacidon perleve. Biotechnology Prog 2005; 21(3): 1008-12.
23.Funayama N. The stem cell system in demosponges: insights into the origin of somatic stem cells. Dev growth Differ 2010; 52(1): 1-14.
24. Zhao Y1, Wang DO, Martin KC. Preparation of Aplysia sensory-motor neuronal cell cultures. J Vis Exp 2009; 8(28): e1355.
25.Travers MA, Mirella da Silva P, Le Goïc N, et al. Morphologic, cytometric and functional characterisation of abalone (Haliotis tuberculata) haemocytes. Fish Shellfish Immunol 2008; 24(4): 400-11.
26.You Y, Huan P, Wang X, et al. The potential roles of a laminin receptor in adhesion and apoptosis of cells of the marine bivalve Meretrix meretrix. PloS one 2012; 7(10): e47104.
27.Hu GB, Wang D, Wang CH, et al. A novel immortalization vector for the establishment of penaeid shrimp cell lines. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2008; 44(3-4): 51-6.
28.Bulgakov VP, Odintsova NA, Plotnikov SV, et al. Gal4-gene-dependent alterations of embryo development and cell growth in primary culture of sea urchins. Mar Biotechnol 2002; 4(5): 480-6.
29.Grasela JJ, Pomponi SA, Rinkevich B, et al. Efforts to develop a cultured sponge cell line: revisiting an intractable problem. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2012; 48(1): 12-20
30.Lang GH, Wang Y, Nomura N, et al. Detection of telomerase activity in tissues and primary cultured lymphoid cells of Penaeus japonicus. Mar Biotechnol 2004; 6(4): 347-54.
31.Claydon K, Owens L. Attempts at immortalization of crustacean primary cell cultures using human cancer genes. In Vitro Cell Dev Biol Animal 2008; 44(10): 451-7.
32.Maeda M, Mizuki E, Itami T, et al. Ovarian primary tissue culture of the kuruma shrimp Marsupenaeus japonicus. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2003; 39(5-6): 208-12.
33.Domart-Coulon IJ, Sinclari CS, Hill Rt, et al. A basidiomycete isolated from the skeleton of Pocillopora damicornis (Scleractinia) selectively stimulates short-term survival of coral skeletogenic cells. Mar Biol 2004; 144(3): 583-92.
34.Hurton LV, Berkson JM, Smith SA. Selection of a standard culture medium for primary culture of Limulus polyphemus amebocytes. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2005; 41(10): 325-9.
35.George SK, Dhar AK. An improved method of cell culture system from eye stalk, hepatopancreas, muscle, ovary, and hemocytes of Penaeus vannamei. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2010; 46(9): 801-10.
36.Wang C, Zhang S, Su F, et al. Initiation of primary cell culture from amphioxus Branchiostoma belcheri tsingtauense. Chinese J Oceanol Limnol 2009; 27: 69-73.
37.Cai X, Wang H, Huang L, et al. Establishing primary cell cultures from Branchiostoma belcheri Japanese. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2013; 49(2): 97-102.
38.Joshi B, Chatterji A, Bhonde R. Long-term in vitro generation of amoebocytes from the Indian horseshoe crab Tachypleus gigas (Müller). In Vitro Cell Dev Biol Anim 2002; 38(5): 255-7.
39.Krasko A, Schröder HC, Batel R, et al. Iron induces proliferation and morphogenesis in primmorphs from the marine sponge Suberites domuncula. DNA Cell Biol 2002; 21(1): 67-80.
40.Richelle-Maurer E, Gomez R, Braekman JC, et al. Primary cultures from the marine sponge Xestospongia muta (Petrosiidae, Haplosclerida). J Biotechnol 2003; 100(2): 169-76.

www.SID.ir

Archive Of SID

41.Cao A, Mercado L, Ramos-Martinez JI, et al. Primary cultures of hemocytes from Mytilus galloprovincialis Lmk.: expression of IL-2Rα subunit. Aquaculture 2003; 216(1): 1-8.
42.Sun L, Song Y, Qu Y, et al. Purification and in vitro cultivation of archaeocytes (stem cells) of the marine sponge Hymeniacidon perleve (Demospongiae). Cell Tissue Res 2007; 328(1): 223-37.
43.Estephane D, Anctil M. Retinoic acid and nitric oxide promote cell proliferation and differentially induce neuronal differentiation in vitro in the cnidarian Renilla koellikeri. Dev Neurobiol 2010; 70(12): 842-52.
44.Stepanyan R, Hollins B, Brock SE, et al. Primary culture of lobster (Homarus americanus) olfactory sensory neurons. Chem Senses 2004; 29(3): 179-87.
45.Jose S, Jayesh P, Sudheer NS, et al. Lymphoid organ cell culture system from Penaeus monodon (Fabricius) as a platform for white spot syndrome virus and shrimp immune-related gene expression. J Fish Dis 2012 35(5): 321-34.
46.Odintsova NA, Dolmatov IY, Mashanov VS. Regenerating holothurian tissues as a source of cells for long-term cell cultures. Mar Biol 2005; 146(5): 915-21.
47.Zhao Q, Jin M, Müller WE, et al. Attachment of marine sponge cells of Hymeniacidon perleve on microcarriers. Biotechnol Prog 2003; 19(5): 1569-73.
48.Pozzolini M, Valisano L, Cerrano C, et al. Influence of rocky substrata on three-dimensional sponge cells model development. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2010; 46(2): 140-7.
49.Faulk DM, Johnson SA, Zhang L, et al. Role of the extracellular matrix in whole organ engineering. J Cell Physiol 2014; 229(8): 984-9.
50.Ilan M, Contini H, Carmeli S, et al. Progress towards cell cultures from a marine sponge that produces bioactive compounds. J Mar Biotechnol 1996; 4: 145-9.
51.Custódio MR, Hajdu E, Muricy G. Cellular dynamics of in vitro allogeneic reactions of Hymeniacidon heliophila (Demospongiae: Halichondrida). Mar Biol 2004; 144(5): 999-1010.
52.Müller WE, Böhm M, Batel R, et al. Application of cell culture for the production of bioactive compounds from sponges: synthesis of avarol by primmorphs from Dysidea avara. J Nat Prod 2000; 63(8): 1077-81.
53.Willoughby R, Pomponi SA. Quantitative assessment of marine sponge cells in vitro: development of improved growth medium. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2000; 36(3): 194-200.
54.Zhang X, Le Pennec G, Steffen R, et al. Application of a MTT assay for screening nutritional factors in growth media of primary sponge cell culture. Biotechnol Prog 2004; 20(1): 151-5.
55.Frank U, Plickert G, Müller WA. Cnidarian interstitial cells: the dawn of stem cell research. Stem cells in marine organisms. New York: Springer, 2009, 33-59.
56.Frank U, Rinkevich B. Scyphozoan jellyfish's mesoglea supports attachment, spreading and migration of anthozoans' cells in vitro. Cell Biol Int 1999; 23(4): 307-11.
57.Helman Y, Natale F, Sherrell RM, et al. Extracellular matrix production and calcium carbonate precipitation by coral cells in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(1): 54-8.
58.Domart-Coulon IJ, Elbert DC, Scully EP, et al. Aragonite crystallization in primary cell cultures of multicellular isolates from a hard coral, Pocillopora damicornis. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98(21): 11885-90.
59.Rinkevich B. Do reproduction and regeneration in damaged corals compete for energy allocation. Mar Ecol progr Ser 1996; 143(1): 297-302.
60. Schmid V, Alder H. Isolated, mononucleated, striated muscle can undergo pluripotent transdifferentiation and form a complex regenerate. Cell 1984; 38(3): 801-9.
61.De Mulder K, Kuales G, Pfister D, et al. Characterization of the stem cell system of the acoel Isodiametra pulchra. BMC Dev Biol 2009; 9(1): 69.
62.Candia Carnevali MD, Bonasoro F, Patruno M, et al. Cellular and molecular mechanisms of arm regeneration in crinoid echinoderms: the potential of arm explants. Dev Genes Evol 1998; 208(8): 421-30.
63.Carnevali, MC. Regeneration in Echinoderms: repair, regrowth, cloning. Inver Survival J 2006; 3: 64-76.
64.Rinkevich Y, Paz G, Rinkevich B, et al. Systemic bud induction and retinoic acid signaling underlie whole body regeneration in the urochordate Botrylloides leachi. PLoS Biol 2007; 5(4): e71.
65.Fang Z, Feng Q, Chi Y, et al. Investigation of cell proliferation and differentiation in the mantle of Pinctada fucata (Bivalve, Mollusca). Mar Biol 2008; 153(4): 745-54.

www.SID.ir

Archive Of SID

66.Odintsova NA, Khomenko AV. Primary cell culture from embryos of the Japanese scallop Mizuchopecten yessoensis (Bivalvia). Cytotechnology 1991; 6(1): 49-54.
67.Chen SN, Wang CS. Establishment of cell lines derived from oyster, Crassostrea gigas Thunberg and hard clam, Meretrix lusoria Röding. Methods Cell Sci 1999; 21(4): 183-92.
68.Naganuma T, Degnan BM, Horikoshi K. Myogenesis in primary cell cultures from larvae of the abalone, Haliotis rufescens. Mol Mar Biol Biotechnol 1994; 3(3): 131-40.
69.Rabinowitz C, Rinkevich B. In vitro delayed senescence of extirpated buds from zooids of the colonial tunicate Botryllus schlosseri. J Exp Biol 2004; 207(Pt9): 1523-32.
70.Kawamura K, Fujiwara S. Establishment of cell lines from multipotent epithelial sheet in the budding tunicate, Polyandrocarpa misakiensis. Cell Struct Funct 1995; 20(1): 97-106.
71.Rinkevich Y, Matranga V, Rinkevich B. Stem cells in aquatic invertebrates: common premises and emerging unique themes. Stem Cells in Marine Organisms. New York: Springer, 61-103.
72.Manni L, Zaniolo G, Cima F, et al. Botryllus schlosseri: a model ascidian for the study of asexual reproduction. Dev Dyn 2007; 236(2): 335-52.
73.Mukai H, Koyama H, Watanabe H. Studies on the reproduction of three species of Perophora (Ascidiacea). Biol Bull 1983; 164(2): 251-66.
74.Rosner A, Paz G, Rinkevich B. Divergent roles of the DEAD-box protein BS-PL10, the urochordate homologue of human DDX3 and DDX3Y proteins, in colony astogeny and ontogeny. Dev Dyn 2006; 235(6): 1508-21.
75.Fraser CA, Hall MR. Studies on primary cell cultures derived from ovarian tissue of Penaeus monodon. Methods Cell Sci 1999; 21(4): 213-8.
76.Shukalyuk A, Isaeva V, Kizilova E, et al. Stem cells in the reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala). Inver Reprod Dev 2005; 48(1-3): 41-53.
77.Söderhäll I, Bangyeekhun E, Mayo S, et al. Hemocyte production and maturation in an invertebrate animal; proliferation and gene expression in hematopoietic stem cells of Pacifastacus leniusculus. Dev Comp Immunol 2003; 27(8): 661-72.
78.Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. Science 1994; 266(5193): 2011-5.
79.Chen SN, Wang CS. Establishment of cell culture systems from penaeid shrimp and their susceptibility to white spot disease and yellow head viruses. Methods Cell Sci 1999; 21(4): 199-206.
80.De Mulder K, Kuales G, Pfister D, et al. Characterization of the stem cell system of the acoel Isodiametra pulchra. BMC Dev Biol 2009. 9(1): 69.
81.Toledo A, Cruz C, Fragoso G, et al. In vitro culture of Taenia crassiceps larval cells and cyst regeneration after injection into mice. J Parasitol 1997; 83(20): 189-93.

www.SID.ir

Archive Of SID

Iran South Med J 2016; 19(5): 912-930

Review Article

Marine Invertebrate's Stem Cell Culture: Biotechnology Prospects of Marine Stem Cells

R. Zahiri [1], M. Zahiri [2,3]*

[1] Department of Marine Biotechnology, School of Basic Science, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

[2]The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[3] Department of Anatomical Sciences, School of Medical Sciences, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 27 Jul, 2016 Accepted 24 Aug, 2016)

Abstract

Since marine invertebrate have many applications in medicine and biological sciences and pharmaceuticals because of valuable metabolites, in recent years related studies to marine invertebrate's stem cells culture have dramatically increased. Stem cells Stem cells are considered as the progenitor cells of the body. In fact, culturing of these cells is a developed cell culture that maintains ability to proliferate throughout adult life from birth to death and also these stem cells are able to differentiate into different cell types. Unfortunately related researches to stem cells in marine invertebrates didn't develop in the same manner of mammals and despite many efforts; mana cell lines have been not derived from these organisms yet. This would be due to the paucity of available resources as well as lack of maintaining of culture conditions that this is mainly due to lack of sufficient knowledge about the mechanisms and systems involved in maintaining their stemness. Many evidences have been reported about the presence of marine invertebrates' stem cells in hydrozoans, crustaceans, echinoderms and real chordate so far. Understanding the suitable culture conditions and understanding the needs and providing appropriate cellular microenvironment will be the prospect of using this valuable resource. This systematic review will be present an overview of the concepts and activities related to marine invertebrates stem cells.

Key words: Marine invertebrate, stem cells, cell culture, biotechnology

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Zahiri R, Zahiri M. Marine Invertebrate's Stem Cell Culture: Biotechnology Prospects of Marine Stem Cells. Iran South Med J 2016; 19(5): 912-930

Copyright © 2016 Zahiri, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

*Address for correspondence: The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: m.zahiri@bpums.ac.ir

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

www.SID.ir