Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه رویان

دانشکده علوم پایه و فناوری‌های نوین زیستی

پایان نامه دوره دکتری تخصصی (PhD) زیست شناسی جانوری گرایش تکوینی

افزایش پتانسیل ترمیم انگشت موش C57Bl/6 با استفاده از سلول‌های شبه بلاستمای حاصل از بیش‌بیان ژن‌های *Msx1* و *Msx2* در سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان

نگارش

لیلا تقی‌یار

استاد راهنما

دکتر محمدرضا باغبان اسلامی‌نژاد

استاد مشاور

دکتر ناصر اقدمی

اسفند ماه ۱۳۹۵

www.SID.ir

Archive of SID

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه علم و فرهنگ

وابسته به جهاد دانشگاهی

اداره خدمات آموزشی و تکمیلات تکمیلی

فرم ۸۰/د

بسمه تعالی

صورتجلسه دفاع از رساله

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر(عج) جلسه دفاع از رساله **خانم لیلا تقی یار** تحت عنوان : **"افزایش پتانسیل ترمیم در نوک انگشت موش c57 با استفاده سلول‌های شبه بلاستمای حاصل از سلول های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان القاء شده با ژن MSX1 و MSX2** "در تاریخ **۹۵/۱۲/۱۸** با حضور هیأت داوران در دانشگاه علم و فرهنگ برگزار گردید. بدینوسیله، ارزشیابی نهایی رساله به شرح ذیل است.

□ قبول با نمره ۲۰ به حروف: بیست درجه (عالی) □ دفاع مجدد □ مردود

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما اول:	دکتر محمد رضا باغبان اسلامی نژاد	استاد	
۲- استاد راهنمادوم:-			
۳- استاد مشاوراول:	دکتر ناصر اقدمی		
۴- استاد مشاوردوم:-			
۵- استاد داورداخلی ۱:	دکتر عباس پیریایی		
٦- استاد داورداخلی ۲:	آقای دکتررضا مقدس علی		
۷- استاد داورخارجی ۱:	دکترعلی صمدی کوچکسرایی		
۸- استاد داورخارجی ۲:	دکتر محمود تلخابی		
۹- نماینده تحصیلات تکمیلی:	دکتر علیرضا یوسف زاده		

اداره خدمات آموزشی و تحصیلات تکمیلی

بر اساس ماده ۲۰ آیین‌نامه آموزشی درجه ارزشیابی رساله به شرح زیر است:

الف: مردود (کمتر از ۱۶)

ب: نمره از ۱۹ تا ۲۰ عالی

نمره از ۱۸ تا ۱۸/۹۹ خوب

نمره از ۱۶ تا ۱۷/۹۹ قبول (با درجه خوب)

ضروری است که یک نسخه تکمیل شده این فرم مطابق شیوه نامه تدوین رساله در ابتدای رساله الصاق می گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

تقدیم‌به

همسر مهربان و فداکارم مهندس شاهین حسینی، که گذشت و مهربانیش برای من ستودنی است.

و به پسر عزیزتر از جانم یزدان‌مهر حسینی که از پروردگار مهربان خواهان ملاقات با والاترین استادان اخلاق و بهترین تجربه‌ها در زندگیش هستم.

www.SID.ir

Archive of SID

تقدیر و تشکر

سپاس بیکران یزدان پاک را که من اجازه داد طعم مهر ، قهر و بزرگیش را بچشم.

از استادان بزرگوارم جناب آقای دکتر اسلامی و دکتر بهاروند که همواره در محضرشان درس علم و عمل آموخته‌ام.

از پدر و مادر بزرگ قدرم که با و جدیت و تمام توان، در تمام مراحل زندگی پشتیبان و یاورم بوده و هستند.

از تمامی همکاران و دوستان عزیزم که مرا در به سر انجام رسیدن این پایان‌نامه یاری نمودند.

www.SID.ir

Archive of SID

چکیده

هدف: قطع انگشت/اندام‌حرکتی انسان یکی از رویدادهای رایج در اثر تصادف و یا بیماری‌هایی مثل دیابت است. به‌طور طبیعی برخلاف دوزیستان، توانایی ترمیم انگشت/اندام‌حرکتی در پستانداران بالغ وجود ندارد؛ ایجاد سلول‌های بلاستما(Blastema Cells (BCs از فرایندهای کلیدی در ترمیم اندام‌حرکتی دوزیستان است. این سلول‌ها، سلول‌های مزانشیمی با توانایی تولید تمام بافت‌های ازدست‌رفته است، ژن‌های *Msx1* و *Msx2* ژن‌های اصلی این سلول‌هاست که در ترمیم اندام‌حرکتی از طریق تکثیرسلولی (Fgf8) و تمایز به استخوان(Bmp4) نقش عمده‌ای دارند. در حالت طبیعی، دسترسی به این سلول‌ها بسیار مشکل است و از طرفی ویژگی اطلاعات مکانی(positional information) که از مهم‌ترین خصوصیات این سلول‌هاست، جایگزینی آن‌ها با سایر منابع سلولی از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی Mesenchymal stem cells (MSCs) را مشکل کرده است؛ بنابراین در این طرح ما بر آن بودیم تا با تولید سلول‌های شبیه بلاستمایی Blastema-like Cells (BlCs)، منبع سلولی جدیدی معرفی کنیم، که علاوه بر توانایی ترمیم انگشت قطع شده‌ی موش C57BL/6، که در حالت طبیعی توانایی ترمیم ندارد، گامی بیش‌تر در جهت شناسایی خصوصیات سلول‌های BCs در in vitro بردارد.

روش کار: برای این منظور با استفاده از بیش‌بیان ژن‌های *Msx1* و *Msx2* در سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده از مغز استخوان موش C57BL/6، mouse Bone marrow-derived Mesenchymal Stem Cells (mBMSCs) که به ترتیب با ژن‌های GFP و dtTomato همسانه‌سازی شده بودند، سلول‌های BlCs تولید شد. سپس خصوصیات تکثیری، کلونی‌زایی، بیان ژن‌های *Msx1*، *Msx2*، *Fgf8* و *Bmp4* و هم‌چنین توانایی تمایز آن به دودمان‌های اسکلتی بررسی و با سلول‌های BCs جدا شده از انگشت موش ۳ روزه و سلول‌های mBMSCs (گروه کنترل) مقایسه شد.

نتایج: سلول‌های BlCs به‌طور معنی‌داری توانایی تکثیر و ایجاد کلونی‌زایی بیش‌تری نسبت به سلول‌های mBMSCs و BCs نشان داد. هم‌چنین این سلول‌ها، ژن‌های *Bmp4* و *Fgf8* را به ترتیب ۳۵۰ و ۱۵۰ برابر سلول‌هایmBMSCs بیان کردند. سپس با بررسی مارکرهای اختصاصی BCs در

www.SID.ir

Archive of SID

BlCs ماهیت بلاستمایی آن تایید شد. در ادامه، توانایی ترمیم مدل انگشت قطع‌شده‌ی موش C57BL/6 توسط سلول‌های BlCs (گروه‌های MSX2, MSX1 وMSX1/2) بررسی شد. نتایج بافت‌شناسی نشان داد، بیش‌ترین میزان ترمیم از نظر ایجاد بافت استخوان طبیعی، ناخن، درم و بافت هم‌بند به‌ترتیب در گروه MSX1/2، MSX1 و MSX2 نسبت به گروه mBMSCs و BCs مشاهده شد. طول استخوان رشد کرده در گروه MSX1/2 به‌طور معنی‌داری ۴-۳ برابر گروه mBMSCs بود(***P<0.001). بررسی بلوغ استخوان ۱۰ هفته بعد از تزریق سلولی، تشکیل استخوان بالغ ترابکولار را نشان داد.

نتیجه‌گیری: در مجموع در مطالعه حاضر، برای اولین‌بار BlCs به عنوان یک منبع سلولی جدید معرفی شد، که قابلیت ترمیم انگشت قطع شده‌ی موش را دارد، از طرفی این منبع سلولی جدید قابل جایگزین و دسترس برای اهداف آتی ترمیم اندام‌حرکتی است. در آینده با انجام بهینه‌سازی‌های لازم، برای درمان اندام‌حرکتی/انگشت قطع شده‌ی انسان در کلینیک نیز کاربرد دارد.

کلید واژگان: ژن‌های *Msx1 و Msx2*، سلول‌های mBMSCs ، سلول‌های شبه بلاستما(BlCs) ، سلول‌های بلاستما (BCs)، ترمیم.

www.SID.ir