

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده علوم پایه و فناوری‌های نوین زیستی

رساله دوره دکتری تخصصی (PhD) زیست‌شناسی تکوینی گرایش جانوری

آنالیز بیانی و عملکردی microRNAها در طی تولید و نگهداری سلول‌های بنیادی جنینی موشی در حضور کوچک‌مولکول‌های مهارکننده پیام‌رسانی $TGF-\beta$ و ERK (کشت R2i)

نگارش:

شریف مرادی

استاد راهنما:

دکتر حسین بهاروند

بهمن ماه ۱۳۹۵



بسمه تعالی
صور تجلسه دفاع از رساله

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر (عج) جلسه دفاع از رساله آقای شریف مرادی تحت عنوان: "آنالیز بیانی و عملکردی microRNA طی تولید و نگهداری سلول‌های بنیادی جنینی موشی در محیط کشت R2i" در تاریخ ۱۳۹۵/۱۱/۰۹ با حضور هیأت داوران در پژوهشگاه رویان برگزار گردید. بدینوسیله، ارزشیابی نهایی رساله به شرح ذیل است.

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

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱- استاد راهنما اول:	جناب آقای دکتر حسین بهاروند	استاد	
۲- استاد راهنما دوم:			
۳- استاد مشاور اول:			
۴- استاد مشاور دوم:			
۵- استاد داور داخلی ۱:	سرکار خانم دکتر مریم شاه‌حسینی	دانشیار	
۶- استاد داور داخلی ۲:	سرکار خانم دکتر سیده نفیسه حسینی	استاد	
۷- استاد داور خارجی ۱:	جناب آقای دکتر سید جواد مولا	استاد	
۸- استاد داور خارجی ۲:	جناب آقای دکتر مسعود سلیمانی		
۹- نماینده تحصیلات تکمیلی:	جناب آقای دکتر عبدالحسین شاهرودی	استاد	

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 می‌گردد.

منجی عالم بشریت، حضرت ولی عصر عجل الله تعالی فرجه

الشریف، روحی فداه؛

همان که همان را از عدل و داد پر خواهد کرد،

همان کونه که از ظلم و جور پر شده بود...

از خداوند رحمان، آفریننده ام و همه امیدم، سپاسگزارم که مرا عزت بخشید و با وجود ناملایمات بسیار، حمایت کرد.

از استاد پایان نامه و آموزگارم جناب آقای پروفور حسین بهاروند متشکرم که در طول انجام رساله دکترای بنده، زحمت بسیار برایم کشیدند و راهنمای راهم بودند. امیدوارم خداوند بزرگ، پانخ شایسته ای به حمایت ها و کمک های خالصانه ایشان بدهد.

از پروفور توماس براون رئیس دپارتمان قلب در موسسه ماکس پلانک آلمان شهر بادنوبایم ممنونم که حمایت علمی بسیار کردند و امکانات و فضای آزمایشگاهی برایم فراهم آوردند.

از آقایان پروفور ساسان عسکری (از دانشگاه کویترنند استرالیا)، دکتر شریفی زارچی، دکتر سالکده، دکتر کوتتر، دکتر کیون، دکتر جودسان، الکساندر استابنول، پویاتوکل، بهروز عسکری، و همچنین از خانم ها دکتر سیده نفیسه حسنی، ملا محمدی، سوزان کروتر، زونیا کروگر و نیز کارشناسان محترم آزمایشگاه ها در پژوهشگاه سلول های بنیادی پژوهشگاه رویان و موسسه ماکس-پلانک و همه

عزیزانی که به هر نحوی در پیشبرد این پروژه و حمایت از بنده نقش داشتند، صمیمانه سپاسگزاری می‌کنم.

شکر ویژه تعلق می‌گیرد به:

- پدر و مادر و خانواده عزیزم بخاطر همه آن‌چه که برای رشد و بالندگی ام صرف کردند.
- و همسر مهربانم که در طول این پروژه سختی‌های بسیاری بخاطر در دسترس نبودن من متحمل شدند و «صبر جمیل» کردند. خدا به ایشان اجر و عزت روز افزون دهد. همچنین خداوند بلند مرتبه را شاکرم که فرشته کوچکی که او را «طهورا» نام نهادیم، روزی ما کرد که به زندگی مان، گرمای افزون تر و رونق و برکت بیشتری بخشید. طهورای زیبا، در روز دفاع من (۹ بهمن ۱۳۹۵)، دو روزه بود...

و آخر دعوانا ان الحمد لله رب العالمین...

سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌هایی هستند که علاوه بر خودنوزایی نامحدود، قادرند به همه رده‌های زایا (مشتقات اکتودرم، مزودرم و آندودرم) تمایز پیدا کنند. بخاطر این دو ویژگی کلیدی، سلول‌های بنیادی جنینی کاربردهای فراوانی در مطالعه تکوین جنین، تولید سلول‌های موردنظر برای سلول‌درمانی، غربال‌گری داروها و مدل‌سازی بیماری‌ها دارند. خودنوزایی و پتانسیل تمایزی هنگفت سلول‌های بنیادی جنینی، توسط شبکه‌ای سازمان‌یافته از مولکول‌ها شامل عوامل رونویسی و همچنین مولکول‌های RNA غیررمزگردان نظیر microRNAها ایجاد و حفظ می‌شوند. ما در این مطالعه نشان دادیم که microRNAها با الگوهای متفاوتی در سلول‌های بنیادی جنینی حالت پایه (ground state) و سلول‌های حالت سرم بیان می‌شوند. ما دریافتیم که لوکوس اثرگذاری شده *Dlk1-Dio3* که اهمیت تکوینی بالایی دارد، بیشتر microRNAهای خاص حالت پایه را بیان می‌کند. آنالیز کامپیوتری پیش‌بینی کرد که microRNAهای حالت پایه مسیرهای متعدد تمایزی و تکوینی را هدف قرار می‌دهند. ارزیابی عملکردی microRNAهای کاندید حالت پایه (miR-541-5p، miR-410-3p و miR-381-3p) نشان داد که این microRNAها با پیشبرد خودنوزایی و مهار تمایز، به حفظ و تقویت حالت پایه پرتوانی کمک می‌کنند. همچنین آنالیز عملکردی microRNAهای فراوان در همه شرایط کشت (miR-148-3p و miR-30d-5p) نشان داد که این microRNAها ضمن پیشبرد خودنوزایی و تغییر در پتانسیل تمایزی سلول‌های بنیادی جنینی، قادرند بازده تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPS) را نیز افزایش دهند. همچنین ما با استفاده از small RNA sequencing، الگوی بیانی جامع microRNAها را در طی تولید رده‌های سلولی بنیادی جنینی در محیط R2i برای اولین بار تعیین کردیم. مشاهده شد که microRNAها با الگوهای متغیر و پویایی در طی تولید سلول‌های بنیادی جنینی بیان می‌شوند. روی هم رفته، ما توانستیم برای نخستین بار الگوی بیانی microRNAها را در سلول‌های بنیادی جنینی حالت پایه و همچنین در طی تولید سلول‌های بنیادی جنینی از جنین‌های بلاستوسیست در محیط پیشبرنده حالت پایه پرتوانی، مشخص کنیم و از لحاظ عملکردی نشان دهیم که microRNAها از طریق مهار تمایز و پیشبرد جنبه‌های مختلف خودنوزایی، باعث پیشبرد حالت پایه پرتوانی می‌شوند.

کلیدواژه‌ها: جایگاه *Dlk1-Dio3*، پرتوانی حالت پایه، microRNA، توالی‌یابی small RNA و تمایز