مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره چهاردهم، بهار ۱۳۹۳

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی مولکولی ژن های ANF، MLC-2a و MLC-2v به عنوان مارکرهای سلولی سلول های اندوتلیال سیستم عروقی

اکرم سادات طباطبائی پناه*[۱]، رضا اکبرزاده نجار[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق ، تهران، ایران
[۲] گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه وهدف: سلول های بنیادی جنینی انسانی[۱] (hESC) سلول هایی بوده که می توانند به عنوان یک منبع بالقوه و نامحدود از سلول هایی که قادر به بازیابی بافت ها و اندام های بیمار هستند، مورد استفاده قرار گیرند. کاردیومیوسیت های مشتق شده از hESC ها می توانند در بازیابی عملکرد قلب پس از سکته قلبی با نارسائی قلبی موثر باشند. در این مطالعه سه ژن اختصاصی کاردیومیست ها به عنوان مارکرهای سلولی سلول های اندوتلیال سیستم عروقی در این سلول های بنیادی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها: پس از کشت سلول های بنیادی، الگوی بیان ژن های اختصاصی کاردیومیوسیت ها به نام ANF[۲] ، MLC-2a[۳] و MLC-2v[۴] در EB انسانی[۵] (hEB) از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز- رونویسی معکوس[۶] (RT-PCR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن MLC-۲a در EB ۱۵ و ۲۰ روزه، بیشترین بیان را داشته است. همچنین بررسی های این تحقیق مشخص کرد که بیان ژن MLC-2v در EB ۴۵روزه و بیان ANF , در EB ۲۰ روزه، افزایش یافته است.

نتیجه گیری : سلول های بنیادی جنینی انسانی ابزاری مفید جهت بررسی جنین زایی به طور کلی و ت‌کامل سیستم قلبی- عروقی به طور خاص هستند.

کلمات کلیدی: کاردیومیست ها، اجسام جنینی، بیان ژن، ANF، MLC-2a ، MLC-2v

مقدمه

سکته قلبی، یکی از عمده ترین علل مرگ ومیر در سرتاسر جهان است. توانایی محدود بازیابی سلول های قلبی جهت تکثیر پس از حمله ایسکمی باعث آسیب قلب شده که آن را جهت تغییر شکل نامطلوب و نارسایی قلبی مستعد می سازد (۸). در حال حاضر، راهکارهای دارویی نارسایی قلب تنها راه حفظ حیات میوکاردیوم پس از حمله ایسکمی بوده و بنابراین فقط فرایند نارسایی قلبی را کند می سازد. در نهایت، پیوند قلب تنها گزینه درمان حیاتی برای بیماران در مراحل نهایی نارسایی قلبی است. جهت بازیابی قلب و نه تنها حفظ عملکرد قلبی، بلکه بازیابی ماهیچه های بیمار یا از کارافتاده، درمان بوسیله سلولهای بنیادی راه درمان امیدوارکننده ای جهت بیماری قلبی به وجود آورده است. چرا که می تواند عملا تعداد نامحدودی از کاردیومیست ها، سلولهای اندوتلیالی و دیگر انواع سلولهای تمایز یافته را به وجود آورد. امید می رود این سلولها جهت جایگزینی میوکاردیوم بیمار و بازگشت قلب به حالت قبل بیماری، مورد استفاده قرار گیرند که در غیر اینصورت به نارسایی سریع قلبی منجر می شود(۳). اخیرا سلولهای جنینی بنیادی انسانی[۱] (hESCs) به دلیل قابلیت آنها در بازتولید خود و پرتوانی آنها مورد توجه خاصی قرار گرفته است. در مفهوم عملی، hESC ها می توانند به طور نامحدود در محیط *Ex vivo* کشت داده شده و عملا به هر گونه سلولی در بدن یک فرد بالغ

آدرس نویسنده مسئول : تهران، جاده خاوران، شهرک قیامدشت، خیابان شهید باهنر، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شرق
Email :tabatabaeipanah@gmail.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۱/۱۸
تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۷

1 Human embryonic stem cell
1 Human embryonic stem cell
2 atrial natriuretic factor
3 myosin light chain atrial
4 myosin light chain ventricular
5 Human embryoid bodies
6 Reverse transcriptase-polymerase chain reaction

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]

متمایز شوند(۴و۱۹). بنابراین hESC ها منبعی مفید برای ایجاد تعداد زیادی از سلولها هستند که می توانند در ترمیم بافت های مختلف و درمان های جایگزینی سلولی مورد استفاده قرار گیرند. با اینحال، پس از پیوند موجودات زنده، hESC های تمایز نیافته می توانند خود به خود تومورهای به سرعت تکثیر شونده به وجود آورند که هر سه لایه ژرمینال را تحت تاثیر قرار می دهند(۱۹). با این وجود، تحت شرایط مناسب، hESC ها در *Ex vivo* می توانند از طریق یک جسم جنینی واسطه (EB) به کاردیومیست های ضربان دار متمایز شوند(۴و ۷). متعاقبا زیر مجموعه کاردیومیست ها می توانند با استفاده از جداسازی شیب چگالی ناپیوسته تا چندین برابر غنی شوند(۱۰ و ۱۵). بنابراین تبدیل hESC ها به کاردیومیست ها جهت کاربردهای درمانی یک راهکار جدید و عملی است که می تواند خطر رفتار غیر معقول سلولی و تشکیل تومور را کاهش دهد(۶ ، ۱۱ و ۲۰). سه ژن مهم که در طی ایجاد قلب بیان می شوند، ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v می باشد.ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v به عنوان مارکرهای سلولی برای سلول های اندوتلیال سیستم عروقی و پیش ساز آنها مورد استفاده قرار می گیرند. بیان این ژن ها نقش مهمی در نمو عروقی جنین های موش بازی می کند. ANF و MLC-۲a در سلول های hES تمایز نیافته بیان می شوند و خیلی آهسته در طی تمایز، افزایش پیدا می کنند. MLC-۲v فقط در اجسام جنینی ضربان‌دار یافت می شوند و از این نظر که پس از انقباضات خودبخودی ایجاد می گردند، با دو ژن دیگر ذکر شده متفاوت است(۵). هدف از انجام این مطالعه، بررسی زمان بیان ژن های قلبی ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v در طی ایجاد قلب در یک مدل آزمایشگاهی (*in vitro*) است. این سه ژن به عنوان مارکرهای سلولی برای سلولهای اندوتلیال سیستم عروقی و پیش سازهای آن انتخاب شده است.

مواد و روش ها:

کشت سلول

سلول های بنیادی انسانی کلون H۹.۲ شمارش و درصد حیات آنها به روش tripan blue exclusion مشخص شد. سپس درمحیط کشت DMEM حاوی ۲۰٪ FBS کشت داده شده و تکثیر یافتند. اجسام جنینی در سوسپانسیون به مدت یک هفته رشد داده شده و سپس به پلیت های ۲۴ خانه پوشیده شده با ژلاتین منتقل شدند، به طوریکه هر جسم جنینی در یک خانه قرار گرفت. هر جسم جنینی به طور متوسط دارای ۱۰۰۰۰ سلول بود. تعیین نواحی ضربان دار خودبخودیEB[7] توسط مشاهدات میکروسکوپی روزانه انجام شد. گاهی اوقات رشد بیش از حد سلول های دیگر که از جسم جنینی متمایز شده اند با ضربان این نواحی تداخل می کنند. به دلیل ایجاد شدن توانایی در تشخیص نواحی ضربان‌دار با گذشت زمان، این نواحی به طور مکانیکی هر ۱۴-۷ روز جداسازی شده و دوباره در پلیت ها قرار داده شدند.

استخراج mRNA

استخـراج mRNA[8] از کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته به شکل سوسپانسیون، با استفاده از کیت استخراج mRNA (Invitrogen, California, USA) در زمان های مختلف، انجام گرفت.

ساخت cDNA از روی mRNA استخراج شده

تولید cDNA با توجه به نحوه دستوالعمل کیت(Invitrogen, California, USA) با استفاده از پرایمرهای Oligo dt انجام شد. ابتدا با توجه به میزان جذب mRNA از هر نمونه، مقداری از mRNA برداشته می شود که حاوی ۱ میکروگرم از mRNA باشد. این حجم به یک میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتری انتقال داده شد و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰ میکرولیتر رسید. سپس میکروتیوب حاوی mRNA در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۲/۵ تا ۳ دقیقه در حرارت ۹۰°C قرار گرفت. این کار باعث می‌شود تا پیچ خوردگی‌های mRNA باز شود. پس از گذشت این زمان میکروتیوب بلافاصله در ظرف یخ قرار گرفت تا دوباره حالت پیچ خوردگی در mRNA برقرار نشود.

RT-RCR

بیان سه ژن ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v و همچنین ژن گلیسر آلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*) ارزیابی گردید. پرایمرهای(تکاپوزیست، ایران) و غلظت های مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از(۱۴) :

(10 pmol/µl) ANF

Forward (5'-3'): GAACCAGAGGGGAGAGACAGA

Reverse (5'-3'): CCCTCAGCTTGCTTTTTAGGAG

7 Spontaneous pulsatile areas
8 mRNA Extraction

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]

(10 pmol/µl) MLC-2a

Forward (5'-3'): GAGGAGAATGGCCAGCAGGAA

Reverse (5'-3'): GCGAACATCTGCTCCACCTCA

(10 pmol/µl) MLC-2v

Forward (5'-3'): GCGCCAACTCCAACGTGTTCT

Reverse (5'-3'): GTGATGATGTGCACCAGGTTC

(10 pmol/µl) GAPDH

Forward

(5'-3'):CATGACCACAGTCCATGCCATCACT

Reverse(5'-3')

TGAGGTCCACCACCCTGTTGCTGTA

PCR Buffer (۱۰X), Mgcl۲ (۲۵ Mm),Dntp (۱۰Mm) و Taq polymerase (۵ U/µl) (که همگی از شرکت Roche,Germany بودند). PCR دو مرحله ای به شکل زیر انجام شد: (a): ۹۵°C به مدت ۱۲ دقیقه (۱ چرخه) ، (b): ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه و (c): ۶۰°C به مدت ۱ دقیقه (۴۰ چرخه). همه نمونه ها با *GAPDH*، مقایسه گردیدند. پس از انجام PCR نمونه‌ها به روی ژل آگارز ۲٪ برده شدند و نتیجه مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام ارزیابی نیمه کمی، نتایج PCR بوسیله دنسیتومتری (Lab Works) که دستگاهی است که به شکل نیمه کمی، شدت و ضعف باندهای موجود در ژل الکتروفورز را نشان داده و می توان با آن مقادیر بیان ژن های مورد نظر را در زمان های مختلف مقایسه کرد، اندازه گیری شده و با ژن GAPDH از همان نمونه، کنترل گردید. بیان مارکرهای ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v در کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بیان این ژن های قلبی در اجسام جنینی با توجه به اینکه جسم جنینی انسانی می تواند به عنوان یک مدل جهت بیان ژن در طی تکامل قلب انسان مورد استفاده قرار بگیرد مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۰ جسم جنینی در سوسپانسیون در زمان های مختلف جمع آوری گردید. mRNA از هر جسم جنینی جداسازی گردید و به دنبال آن RT-PCR انجام گرفت. جهت انجام ارزیابی نیمه کمی، نتایج PCR بوسیله دنسیتومتری اندازه گیری شده و با ژن GAPDH از همان نمونه کنترل گردید.

یافته ها :

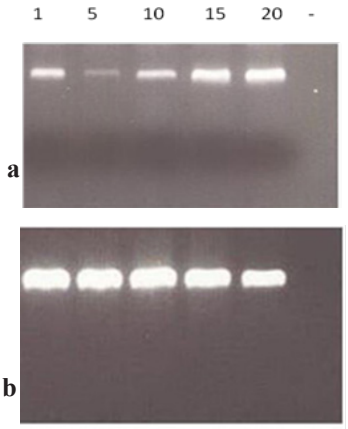
پس از کشت اجسام جنینی در سوسپانسیون، مشاهده روزانه وجود ضربان در اجسام جنینی نشان داد که یک روز پس از کشت، ۴٪ از آنها دارای ضربان خود به خودی بودند. بیشتر اجسام جنینی پس از گذشت ۱۷ روز ضربان دار شدند. ضربان در برخی از اجسام جنینی از روز ۲۸ آغاز گردید. نواحی ضرباندار در ۵۰-۲۵٪ از اجسام جنینی مشاهده گردید. درصد نواحی ضرباندار در اجسام جنینی مشتق شده از سلول های بنیادی جنینی انسانی که پس از ذوب شدن بیشتر از ۱۰ بار پاساژ داده شده بودند نسبت به حدود ۱۰٪ در چند پاساژ اولیه افزایش نشان داد. از آنجا که سلول های بنیادی جنینی انسانی نسبت به ترکیبات محیط کشت حساس بوده و نسبتا قدرت زیست خود را پس از انجماد از دست می دهند، آغاز دیرهنگام ضربان احتمالا به علت بازیابی آهسته ویژگی های فیزیولوژیکی سلول ها پس از ذوب شدن می باشد. نواحی ضرباندار حدود mm ۱/۱-۰/۱ قطر داشته و در حاشیه ها قرار گرفته بودند. نواحی ضرباندار در محیط کشت به شدت تا ۴ ماه و به میزان متوسط ۸±۹۹ ضربان در دقیقه ادامه یافت اما این نواحی رشد بیشتری نداشتند.

بیان اولیه MLC-۲a در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روزهای ۱۵ و ۲۰ افزایش یافت. بیان اولیه MLC-۲v در اجسام جنینی ۳ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۴۵ افزایش یافت. همچنین بیان اولیه ANF , در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۲۰ افزایش یافت. MLC-۲a افزایش بیان را در روزهای ۱۵ و ۲۰ نشان داد. این ژن قبل از رخداد انقباض بیان می شود و از این نظر متمایز است. (شکل ۱). بیان اولیه MLC-۲v در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۴۵ افزایش یافت. نتایج نشان داد که MLC-۲v با گذشت زمان در EB تمایز یافته، افزایش پیدا می کند. این افزایش بیشتر در روزهای ۳۵-۴۵ مشاهده گردید. MLC-۲v فقط در سلول های منقبض شده رخ می دهد (شکل ۲). بیان اولیه ANF , در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۲۰ افزایش یافت. این ژن افزایش بیان را در روز ۲۰ نشان داد. ANF ,قبل از رخداد انقباض بیان می شود. به طور کلی نتایج ما نشان داد کهANF , مارکری است که در EB ۲۰ روزه، بیشترین افزایش بیان را نشان می دهد (شکل ۳). قطعه آمپلیکون تکثیر یافتهANF ، ۴۰۶ جفت

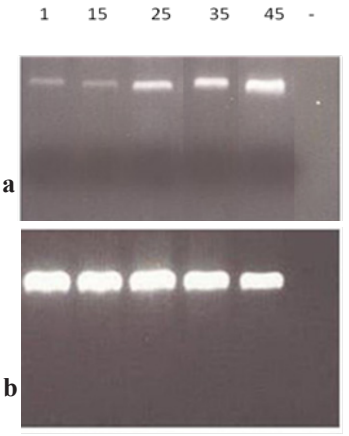
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]

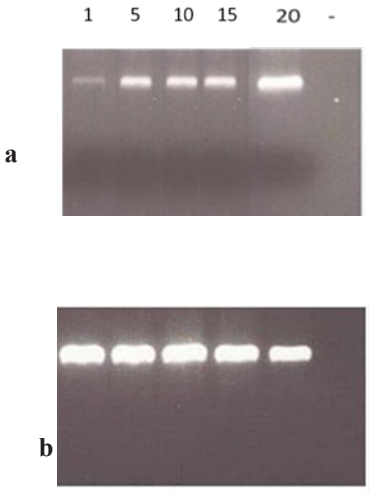
باز، MLC-۲a، ۴۴۹ جفت باز ، MLC-۲v، ۴۴۴ جفت باز و GAPDH ، ۴۶۱جفت باز است.



شکل ۱. بیان ژن MLC-۲a (a)و GAPDH (b) در روزهای ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ و کنترل



شکل ۲. بیان ژن MLC-۲v (a)و GAPDH (b) در روزهای ۱، ۱۵، ۲۵، ۳۵ و۴۵ و کنترل



شکل ۳. بیان ژن ANF (a)و GAPDH (b) در روزهای ۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ و کنترل

بحث:

استفاده از قابلیت های عملکردی کاردیومایوسیت های مشتق شده از سلول های hES در گذشته مورد مطالعه قرار گرفته است. پتانسیل استفاده درمانی از این کاردیومایوسیت ها، زیاد بوده که از جمله می توان به استفاده پیوندی از آنها جهت بهبود یا درمان نارسائی مایوکاردیال اشاره نمود. این سلولها ابزار جدیدی را جهت کشف تمایز کاردیومایوسیت ها و ژنها و فاکتورهای دخیل در این فرایند به وجود می آورند(۱، ۹ و ۱۴). استفاده از سلول های hES ، میانگینی از ۲۱/۵ در صد از EB ها، نواحی انقباضی را به وجود می آورند(۱۶ و ۱۸). این موضوع نشان می دهد که کشت های قدیمی که بیشتر از ده پاساژ پس از ذوب شدن رشد می کنند و همچنین میزان کم EB های کم پلیت شده با درصد بالای نواحی ضربان دار درون EB در ارتباط است(۲،۱۲ و ۱۳). در این مطالعه پس از ۷ روز کشت در سوسپانسیون، EB ها به طور جداگانه بر روی دیش های کشت پوشیده شده با ژلاتین قرار داده شدند. یک تا هفت ناحیه ضربان دار از روز ۸ تا ۲۱ کشت به وجود آمد. این نواحی با شدت ضربان خود را در کشت تا پس از ۴ ماه (طولانی ترین مدت مورد مطالعه) به طور متوسط ۸±۹۹ ضربان در دقیقه ادامه دادند.

با استفاده از RT-PCR و تشخیص مورفولوژیکی بافت ضربان دار، سلول های ضربان دار خودبخودی ویژگی هایی شبیه به کاردیومایوسیت هایی که قبلا از سلول های ES موشی به دست آمده بود، نشان دادند. بعلاوه این مطالعه الگوی بیان ژنهای خاص کاردیومایوسیتی در EB تولید شده نشان داد. نتایج ما نشان داد که سلول های مشتق شده از نواحی ضربان دار hEB پروتئین های درون سلولی قلبی را بیان کرده و ساختاری سارکومری دارد. سلول های منفرد و سلول های شبه کاردیومایوسیتی در بخش های نواحی ضربان دار هیستولوژی شبیه به کاردیومایوسیت ها را نشان داد. هسته های گرد یا بیضی، عموما دو هسته ای ،در مرکز قرار گرفته بودند. سلول های جدا شده ساختار سلولی کاردیومایوسیتی ظاهری دوکی شکل، گرد، سه گوشه یا چندهسته ای داشته که شبیه به کاردیومایوسیت های جنین های موشی، مایوکاردیوم بالغ موش و EB ضربان دار موشی بودند. نواحی ضربان دار مشتق شده از سلول های hES ژن های متعدد اختصاصی کاردیومایوسیت ها را بیان کرده که این ژنها تکامل کاریومایوسیت ها را از سلول های پیش ساز قلبی ابتدایی تا سلول های کاملا تمایز یافته، باعث می شوند. ایجاد سیستم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]

تمایزی کاردیومایوسیتی مشتق شده از hES می تواند به عنوان یک ابزار بالقوه جدید برای درک تکامل و عملکرد قلب و همچنین طراحی راهکارهای جدید درمانی ممکن مورد استفاده قرار بگیرد و سلول های hES همچنین منبع مناسبی برای پیوند سلولی هستند. در موش سلول های ES که با یک وکتور دارای پروموتور مقاوم به نئومایسین آلوده شده است. سلول هایی را به وجود می آورند که به قلب موش پیوند زده شده و نشانی از بهبود عملکرد آن دارد. علوم ناشی از چنین مطالعاتی می تواند جهت ساخت حامل هایی برای انتخاب کاریومایوسیت ها و ارزیابی زمان خاص مورد نیاز برای چنین انتخابی را به وجود آورد . بیان مارکرهای ANF ، MLC-۲a و MLC-۲v در کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

MLC-۲a به عنوان یک مارکر سلولی برای سلول های اندوتلیال سیستم عروقی و پیش ساز آنها، افزایش بیان را در روزهای ۱۵ و ۲۰ نشان داد. نتایج محققین در سال ۲۰۰۵ نشان می دهد که ژن MLC-۲a در روز ۱، ۲۵ درصد، در روز ۱۰، ۸۰ درصد و در روز ۱۵، ۱۰۰ درصد افزایش بیان داشته است(۵) که به نتایج ما بسیار نزدیک است. همچنین نتایج محققین دیگری در سای ۲۰۰۳ نشان داد که این ژن بیشترین بیان خود را در روز ۱۵ نشان داده است که با نتایج ما هماهنگ است(۱۴). نتایج نشان داد که MLC-۲v با گذشت زمان در EB تمایز یافته، افزایش پیدا می کند. این افزایش بیشتر در روزهای ۳۵-۴۵ مشاهده گردید. نتایج سایر محققین هم این مساله را تائید کرد. در بیشتر مطالعات، MLC-۲v در روز ۴۵ افزایش بیان داشته است و به عنوان یک مارکر زودهنگام و مفید برای کاردیومیست ها شناخته می شود (۵). مطالعات نشان می دهند که همانطور که کاردیومیست ها در این مرحله تمایز، تکثیر پیدا می کنند، MLC-۲v هم تکثیر شده و این تکثیر احتمالا ناشی از افزایش در سلول های عضله قلبی در EB بوده است(۱۷). نتایج ما نشان داد که مارکر سلولیANF , در سلول های hES تمایز نیافته بیان می شود و خیلی آهسته در طی تمایز، افزایش پیدا می کند. این ژن افزایش بیان را در روز ۲۰ نشان داد. نتایج Segev و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که ژن ANF , در روز ۱، ۲۵ درصد، در روز ۱۰، ۸۰ درصد و در روز ۱۸، ۱۰۰ درصد افزایش بیان داشته است(۵) که به نتایج ما نزدیک است. همچنین نتایج Mummery و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که ژن ANF پس از روز ۱۵ افزایش بیان را نشان داده است که نتایج ما را تائید می کند (۱۴). به طور کلی نتایج ما نشان داد که-MLC ۲a مارکری است که در EB ۱۵ و ۲۰ روزه، بیشترین افزایش بیان را نشان می دهد. همچنین نتایج ما نشان داد کهMLC-۲v مارکری است که بیشترین افزایش بیان را در EB ۴۵ روزه، نشان می دهد. به طور کلی می توان گفت کاردیومایوسیت های بدست آمده در کشت حاصل از سلول های hES به دنبال دور تکاملی جنین های انسانی را تقلید کرده و بنابراین می تواند به عنوان یک سیستم مدلی موثر جهت درک فرایندهای تکاملی و عملکردی قلب انسان مورد استفاده قرار بگیرد. آنها همچنین ابزار بالقوه ای را در زمینه هایی چون ساخت و تست داروهای تکامل اولیه قلب و درمان بالینی مبتنی بر پیوند سلولی و مهندسی بافت به وجود می آورند.

سپاسگزاری:

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق جهت تامین مالی این پروژه، تقدیر و تشکر می گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]

منابع

(1) Boheler KR ,Czyz J, Tweedie D, Yang HT, Anisimov SV, Wobus AM. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into cardiomyocytes. Circ Res. 2002 ,91:189-201
(2) Delcarpio JB, Claycomb WC. Cardiomyocyte transfer into the mammalian heart. Cell-to-cell interactions in vivo and in vitro. Ann N Y Acad Sci., 1995,752:267-85
(3) Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature, 1981,292:154-6
(4) Grepin C, Nemer G, Nemer M. Enhanced cardiogenesis in embryonic stem cells overexpressing the GATA-4 transcription factor. Development, 1997,124:2387-95
(5) Hanna Segev,1, Dorit Kenyagin-Karsenti,1,2, Bettina Fishman,1,2, Sharon Gerecht-Nir,1,3 Anna Ziskind,1,2 Michal Amit,1,2 Raymond Coleman2 and Joseph Itskovitz-Eldor. Molecular analysis of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. Develop. Growth Differ, 2005,47: 295–306
(6) He JQ, Ma Y, Lee Y, Thomson JA, Kamp TJ. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential characterization. Circ , 2003,93:9-3
(7) Hescheler J, Fleischmann BK, Lentini S, Maltsev VA, Rohwedel J, Wobus AM, et al. Embryonic stem cells: a model to study structural and functional properties in cardiomyogenesis. Cardiovasc Res., 1997,36:149-62
(8) Icardo JM. Developmental biology of the vertebrate heart. J Exp Zool, 1996, 275:144-61
(9) Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. Mol Med., 2000,6: 88-95
(10) Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest, 2001,108:407-14
(11) Kehat I, Gepstein A, Spira A, Itskovitz-Eldor J, Gepstein L. High-resolution electrophysiological assessment of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: a novel in vitro model for the study of conduction. Circ Res, 2002,91:659-6
(12) Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-term survival of AT-1 cardiomyocyte grafts in syngeneic myocardium. Am J Physiol, 1993,264: 1727-33h GY, Soonpaa MH, Klug MG, Pride HP, Cooper BJ, Zipes DP, et al. Stable fetal cardiomyocyte grafts in the hearts of dystrophic mice and dogs. J Clin Invest, 1995,96:2034-42
(13) Mummery C, Ward-van Oostwaard D, Doevendans P, Spijker R, van den Brink S, Hassink R, et al. Differentiation of human embryonic stem cells to cardiomyocytes: role of coculture with visceral endoderm-like cells. Circulatio, 2003,33: 27-40
(14) Narita N, Bielinska M, Wilson DB. Cardiomyocyte differentiation by GATA-4-deficient embryonic stem cells. Development, 1997,124:3755-64
(15) Olson EN, Srivastava D. Molecular pathways controlling heart development. Science, 1996,272:671-6
(16) Roell W, Lu ZJ, Bloch W, Siedner S, Tiemann K, Xia Y, et al. Cellular cardiomyoplasty improves survival after myocardial injury. Circulation, 2002,105:2435-41
(17) Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. Nat Biotechnol, 2000,18:399-404
(18) Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science, 1998,282 :1145-7
(19) Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. Circ Res, 2002,91:501-8

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1393.4.14.2.7]