مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هفتم، شماره بیست و پنجم - زمستان ۱۳۹۵

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی بیان ژن های *OCT-4, CD-34* و *Brachyury* کاردیومیست های مشتق شده از سلول های بنیادی جنینی

اکرم سادات طباطبائی پناه*[1]، رضا اکبرزاده [2]

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 و هدف: در طی جنین زایی ابتدائی، سیستم قلبی- عروقی یکی از اولین سیستم هایی است که تشکیل می شود. سلول-های بنیادی جنینی انسانی[1] (hESC) مدلی را به وجود می آورد که می توان از طریق آن مراحل تکاملی این سیستم را بررسی نمود. زمانی که این سلول ها از لایه مغذی خود جدا می شوند، hESC ها اجسام جنینی[2] (EB) را به وجود می آورند که پس از کشت، ناحیه‌هایی از سلول های ضربان دار در ۲۱/۵٪ از EB ایجاد می شوند.

مواد و روش ها: پس از کشت سلول‌های بنیادی و تعیین نواحی ضربان دار، استخـراج mRNA[3] کاردیومیوسیت های اولیه در زمان‌های مختلف پس از تمایز انجام شد. سپس الگوی بیان ژن‌های اختصاصی کاردیومیوسیت ها به نام OCT-4, CD-34 و Brachyury در EB انسانی[4] (hEB) از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- رونویسی معکوس[5] (RT-PCR) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج این مطالعه نشان داد که ژن CD-34 در EB ۲۱ روزه، بیش‌ترین بیان را داشته است. هم چنین بررسی های این تحقیق مشخص کرد که بیان ژن OCT-4 در EB ۵ روزه، مشاهده و بیان ژن Brachyury در روز ۲۱ افزایش یافته است.

نتیجه گیری : سلول‌های 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، سلول های بنیادی جنینی

مقدمه

در طی جنین زایی، اولین سیستمی که تشکیل می گردد سیستم قلبی- عروقی است که این فرایند به وسیله میان-کنش با سلول‌های هایپوبلاستیک اندودرم اولیه آغاز می گردد (۹). سلول‌های بنیادی جنینی (ES) جدا شده از توده سلولی داخلی[1] بلاستوسیست ها می توانند به عنوان لایه سلولی زایای مداوم مورد استفاده قرار بگیرند (۲۰، ۴). سلول‌های ES قابلیت ساخته شدن مجدد خود را به مدت طولانی حفظ می کنند و ظرفیت تشکیل بافت های مختلف را دارند (۲۰، ۴).

نویسنده مسئول :
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شرق ، تهران، ایران
پست الکترونیکی:pardis_tab@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۲
تاریخ پذیرش:۱۳۹۵/۰۲/۲۲

سلول‌های ES موشی، مدلی را جهت بررسی مراحل اولیه تکامل قلب به وجود آورده‌اند (۱۶، ۸، ۵) و مطالعه‌های اخیر این مطلب را در مورد سلول‌های ES های انسانی نیز نشان داده‌اند(۲۱، ۱۵، ۱۲، ۱۱، ۷). برداشت سلول‌های متمایز نشده از لایه مغذی و کشت آنها در سوسپانسیون باعث تشکیل اجسامی جنین مانند می شوند که اجسام جنینی (EB) نامیده می شوند(۱۰) و ممکن است به طور خود به خودی به سلول هایی با ویژگی های کاردیومیوسیتی متمایز شوند.

این سلول ها زمانی که در پلیت کشت قرار می گیرند، ممکن است به طور خود به خودی نواحی ضربان دار ایجاد کنند (۲۱، ۱۲، ۷) که این نواحی دارای سلول‌هایی هستند که ویژگی‌های ساختاری و عملکردی مراحل ابتدایی کاردیومیوسیت ها را دارند(۱۲). تمایز بیش‌تر کاردیومیوسیت ها از سلول‌های hES

1-Human embryonic stem cell
2- Embryoid bodies
3-RNA Extraction
4- Human embryoid bodies
5- Reverse transcriptase-polymerase chain reaction

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

ممکن است از طریق کاهش حجم EB کشت شده(۲۱) یا به وسیله تیمار سلول ها با ترکیب ۵-آزا-دوکسی سایتیدین به وجود آید (۲۱). به علاوه، تمایز کاردیومیوسیت های مشتق شده از سلول های hES از طریق کشت هم زمان با سلول های اندودرم نیز امکانپذیر است(۲۳، ۱۵،۶). چنین سیستم کشت هم‌زمانی نیازی به تشکیل EB جهت تولید کاردیومیوسیت ها ندارد.

بیان ژن قلبی در EB تمایز یافته با استفاده از سلول های ES موشی به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. کاردیومیوسیت های مشتق شده از سلول های ES، mRNA ژن های اختصاصی قلب را به صورت یک فرایند تکاملی کنترل شده بیان می کنند. اطلاعات کمی در مورد ژن ها و پیام های مولکولی دخیل در تکامل قلب جنینی انسانی موجود است (۲۲، ۱۷).

عدم توانایی قلب در پمپ کافی خون جهت حفظ عملکردهای فیزیولوژیکی باعث ایجاد نارسایی قلبی که یکی از معمول ترین بیماری های قلبی- عروقی در جهان است، می گردد. بیماری قلبی به وسیله کاهش عملکرد کاردیومیوسیت‌ها به وجود آمده که باعث نارسایی قلبی می گردد. از آنجا که کاردیومیوسیت های بالغ قابلیت بازتولید ندارند، تنها درمان موثر بیمارانی که دچار نارسایی قلبی شدید هستند پیوند عضو است.

مطالعه‌های حیوانی در دهه گذشته باعث به وجود آمدن شواهد زیادی در رابطه با پیوند کاردیومیوسیت های جداسازی شده یا به عبارت دیگر کاردیومیوپلاستی[۶] گردید که می تواند یک راه‌کار جایگزین برای درمان نارسایی شدید قلبی باشد. اگرچه بسیاری از مطالعه‌های حیوانی پیوند موفق میوسیت‌های قلبی به قلب بالغ را نشان می دهند (۱۹، ۱۴، ۱۳، ۳)، فاکتور محدود کننده درمان بیماری‌های قلبی- عروقی، تعداد ناکافی سلول‌های منتقل شونده است. به علت وجود مسائل اخلاقی، درمان نارسایی قلبی در انسان‌ها به وسیله کاردیومیوپلاستی امکان‌پذیر نیست. بنابراین در سال های گذشته بسیاری از تلاش ها در جهت ایجاد راه‌کارهای تمایز کاردیومیوسیت های اولیه از سلول‌های بنیادی جنینی و انتخاب رده سلولی متمرکز شده است (۲۴).

با توجه به اهمیت استفاده از سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌هایی مانند نارسائی‌های قلبی که درمان آنها ناممکن و یا بسیار مشکل می باشد، کاربرد این سلول‌ها می تواند کمک شایانی به دورنمای درمان این بیماری ها کند. این مطالعه یک مدل آزمایشگاهی (*in vitro*) جهت بررسی و مطالعه زمان بیان ژن های قلبی *CD-34* , *OCT-4* و *Brachyury* در طی ایجاد قلب است. این دو ژن به عنوان مارکرهای سلولی برای سلول‌های اندوتلیال سیستم عروقی و پیش سازهای آن انتخاب شده است.

مواد وروش ها:

کشت سلول

سلول‌های بنیادی شمارش و درصد حیات آن‌ها به روش tripan blue exclusion مشخص شد. سپس در محیط 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 طوری که هر جسم جنینی در یک خانه قرار گرفت. هر جسم جنینی به طور متوسط دارای ۱۰۰۰۰ سلول بود.

تعیین نواحی ضربان دار

پلیت ها روزانه توسط میکروسکوپ بررسی و نواحی ضربان دار خود به خودی EB تعیین شد.

استخراج mRNA

استخراج mRNA[۷] کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان های مختلف (۱، ۵، ۷ ،۱۵، ۲۱، ۳۰ روز پس از تمایز)، با استفاده از کیت استخراج mRNA (Invitrogen, California, USA) انجام گرفت.

ساخت cDNA از روی mRNA استخراج شده

تولید cDNA با توجه به نحوه دستوالعمل کیت(Invitrogen, California, USA) با استفاده از پرایمرهای الگو- 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.

7-Cardiomyoplasty

8. RNA Extraction

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

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

RT-RCR

بیان ژن *CD-34* , *OCT-4* و *Brachyury* و هم‌چنین ژن گلیسر آلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*) ارزیابی گردید. نحوه انجام PCR با توجه به مطالعه‌های قبلی در این مطالعه صورت گرفت (۶). توالی و غلظت پرایمرها (تکاپو زیست، ایران) در جدول ۱ ارائه شده است) (۱۹).

غلظت های مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از: بافر PCR (۱۰ x)، $Mgcl_2$ (۲۵ mM)، dNTP (۱۰ mM)، آنزیم 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 ۱۰ دقیقه (۱ چرخه) ، (b): ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه و (c): ۶۰°C به مدت ۱ دقیقه ۴۵ چرخه). همه نمونه‌ها با *GAPDH*، مقایسه گردیدند.

پس از انجام PCR نمونه‌ها به روی ژل آگارز ۲٪ برده شدند و نتیجه مورد بررسی قرار گرفت. روش ارزیابی در این مطالعه به صورت نیمه کمی بود به این ترتیب که عکس های حاصل از این ژل ها را پس از اسکن در کامپیوتر با نرم افزار Lab works مورد ارزیابی قرار داده و بر اساس شدت باند حاصل از ژن ها عدد نسبی به‌دست آمد.

جدول ۱. غلظت و توالی پرایمرهای مورد استفاده(۱۹).

ژن	نوع پرایمر	غلظت پرایمر	توالی پرایمر
CD-34	Forward	(10 pmol/µl)	5′CATCACAGAAACGA CAGTCAA-3′
	Reverse	(10 pmol/µl)	5′ACTCCGCACAGCTGG AGG-3′
OCT-4	Forward	(10 pmol/µl)	5′TAGGTGAGCCGTCTT TCCAC3′
	Reverse	(10 pmol/µl)	5′GCTTAGCCAGGTTCG AGGAT3′
Brachyury	Forward	(10 pmol/µl)	5′GCTTCAAGGAGCTAA CTAACGAG 3′
	Reverse	(10 pmol/µl)	5′CCAGCAAGAAAGAG TACATGGC 3′
GAPDH	Forward	(10 pmol/µl)	5′CATGACCAAGTCCAT GCCATCACT 3′
	Reverse	(10 pmol/µl)	5′TGAGGTCCCCACCCT GTTGCTGTA 3′

یافته ها

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 ضربان‌دار 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 سلول‌های 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. نواحی ضربان‌دار حدود mm ۰/۱-۱/۱ قطر داشته و در حاشیه ها قرار گرفته بودند. نواحی ضربان‌دار در محیط کشت به شدت تا ۴ ماه و به میزان ۱۰±۱۰۰ ضربان در دقیقه ادامه یافت اما این نواحی رشد بیش‌تری نداشتند. گاهی اوقات رشد بیش از حد سلول‌های 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.

بیان *CD-34* , *OCT-4* و *Brachyury* در کاردیومیوسیت های اولیه در اجسام جنینی رشد یافته در سوسپانسیون در زمان‌های مختلف مختلف (۱، ۵، ۷ ،۱۵، ۲۱، ۳۰ روز پس از تمایز)، مورد بررسی قرار گرفت. mRNA از هر جسم جنینی جداسازی گردید و به دنبال آن RT-PCR انجام گرفت و با ژن *GAPDH* از همان نمونه کنترل گردید. نتایج نشان داد که بیان اولیه *CD-34* در اجسام جنینی ۷ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۲۱ افزایش یافت (شکل ۱).

بیان اولیه و شدت بیان *OCT-4* در اجسام جنینی ۵ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۳۰ کاهش یافت (شکل ۲). هم‌چنین بیان اولیه *Brachyury* در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۲۱ افزایش یافت(شکل ۳) بنابراین نتایج این مطالعه نشان می دهد که بیان اولیه و افزایش بیان ژن های *CD-34* ، *OCT-4* و *Brachyury* با هم متفاوت است (شکل ۴).

بحث:

درصد نواحی ضربان‌دار در اجسام جنینی مشتق شده از سلول‌های 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 سلول‌های بنیادی جنینی انسانی نسبت به ترکیب‌های محیط کشت حساس بوده و به نسبت قدرت زیست خود را پس از انجماد از دست می-دهند، آغاز دیر هنگام ضربان به احتمال به علت بازیابی آهسته ویژگی‌های فیزیولوژیکی سلول ها پس از ذوب شدن می باشد. *CD-34* به عنوان یک مارکر رگ‌زایی اولیه موش در سلول-های اجدادی و سلول‌های بنیادی هماتوپویتیک و اندوتلیال بیان می شود و همراه با رشد محیط کشت، بیانش افزایش می‌یابد. این ژن افزایش بیان را در روز ۲۱ نشان داد.

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

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

مطالعه‌های دیگر محققین نشان داده که *CD-34* در تمایز EB انسان افزایش یافته و به روزهای ۱۵-۱۳ می رسد. هم-چنین نشان داده شده است که این ژن در hEB افزایش معنی داری دارد (۲۲،۱۹).

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که*CD-34* , مارکری است که در EB ۲۱ روزه، بیش‌ترین افزایش بیان را نشان می دهد. در روزهای ۱۳-۱۵ که سایر محققین اشاره به بیان این ژن دارند نیز بیان مشاهده شد. اما بیش‌ترین بیان در روز ۲۱ به دست آمد. نتایج این مطالعه، نتایج سایر محققین را تأئید می کند.

بیان اولیه *OCT-4* در اجسام جنینی ۵ روزه مشاهده گردید که به شدت در همان‌روز ۵ افزایش یافت. تعداد ۱۰ جسم جنینی در سوسپانسیون در زمان‌های مختلف جمع آوری گردید.

نتایج نشان داد که *OCT-4* با گذشت زمان در EB تمایز یافته، قابل مشاهده است و بیش‌تر در روز۵ افزایش یافته و در روز ۳۰ کم می شود.

نتایج سایر محققین هم این مساله را تأئید کرد (۲۱). در بیش‌تر مطالعه ها، *OCT-4,* در روز ۵ افزایش بیان داشته است و به عنوان یک مارکر زود هنگام و مفید برای کاردیومیست ها شناخته می شود (۱۹). این ژن یک مارکر سلول‌های غیر تمایز یافته است و این مسأله، ناپدید شدن سلول‌های غیر تمایز یافته را به عنوان ادامه فرآیند تمایز نشان می‌دهد. درصد مارکر تمایز یافته را به عنوان ادامه فرآیند تمایز نشان می دهد. درصد مارکر*OCT-4* با ادامه رشد محیط کشت تغییری نداشت.

به طور کلی نتایج نشان داد *OCT-4* مارکری است که در EB ۵ روزه، بیش‌ترین افزایش بیان را نشان می دهد که به طور کامل با نتایج تحقیقات سایر محققین هماهنگ است.

بیان اولیه *Brachyury* در اجسام جنینی ۱ روزه مشاهده گردید که به شدت در روز ۲۱ افزایش یافت.

Brachyury , مارکری برای تشخیص تمایز ضروری است که در گاسترولاسیون بیان می شود و در مراحل بعدی در نوتوکورد مشاهده می گردد. این ژن همان طور که تمایز پیش می رود به عنوان یک مارکر مزودرمی بیانش در موش افزایش می یابد. ژن *Brachyury* به طور کلی به عنوان یک مارکر شکل گیری مزودرم اولیه شناخته می شود که به شکل ناپایدار در مزودرم در حال پیدایش و مزودرم اولیه در حال مهاجرت بیان می گردد (۲۱).

به طور کلی این مطالعه نتایج نشان داد که*Brachyury* , مارکری است که در EB ۲۱ روزه، بیش‌ترین افزایش بیان را نشان می دهد. بررسی های محققین دیگر افزایش بیان این ژن را در روز ۲۱ نشان داد که به طور کامل با نتایج این مطالعه منطبق است.

در مجموع، دسترسی به رده های سلولی hES دریچه ای نو رو به امکانپذیر شدن مطالعه تکامل قلب انسانی و بیان ژن های جدید در طی تکامل جنینی گشوده است (۲۳،۲۰،۱۸). به طور خاص، تحقیق‌ها در این رابطه باعث بیش‌تر شدن انگیزه بررسی پتانسیل سلول‌های hES جهت تولید بافت‌های قلبی جدید با اهداف درمانی گردیده است. این سلول‌ها می-توانند به روشن شدن فرآیندهای پیچیده دخیل در تکامل قلب انسان و ایجاد یک سیستم سلولی مناسب جهت مطالعه تکامل و تمایز بافت ها در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) کمک کرده و ممکن است سرانجام باعث ایجاد قابلیت تولید سلول-های انسانی تمایز یافته با اهداف درمانی گردد.

نتیجه گیری:

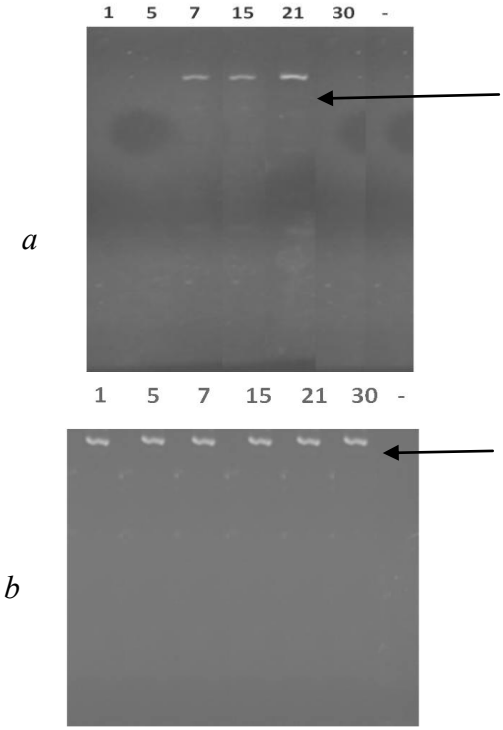
پیوند کاردیومیوسیت های جداسازی شده یا کاردیومیوپلاستی یک راه‌کار جایگزین برای درمان نارسایی شدید قلبی است. به علت وجود مسائل اخلاقی، درمان نارسایی قلبی در انسان ها به وسیله کاردیومیوپلاستی امکان‌پذیر نیست. بنابراین در سال‌های گذشته بسیاری از تلاش‌ها در جهت ایجاد راه‌کارهای تمایز کاردیومیوسیت‌های اولیه از سلول‌های بنیادی جنینی و انتخاب رده سلولی متمرکز شده است. با توجه به اهمیت استفاده از سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌هایی مانند نارسائی‌های قلبی که درمان آنها ناممکن و یا بسیار مشکل می‌باشد، کاربرد این سلول‌ها می تواند کمک شایانی به دورنمای درمان این بیماری ها کند.

سپاسگزاری:

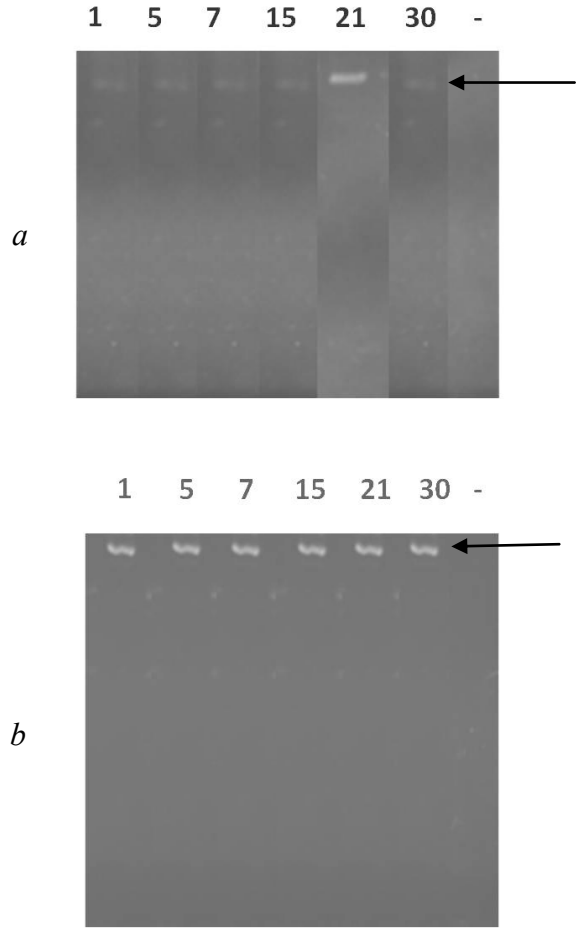
نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی- واحد تهران شرق جهت حمایت مالی از این پروژه تقدیر و تشکر می نمایند.

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

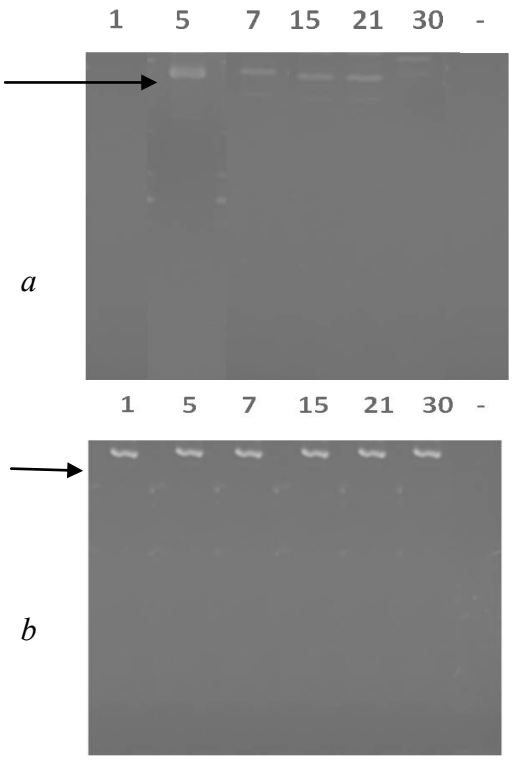
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]



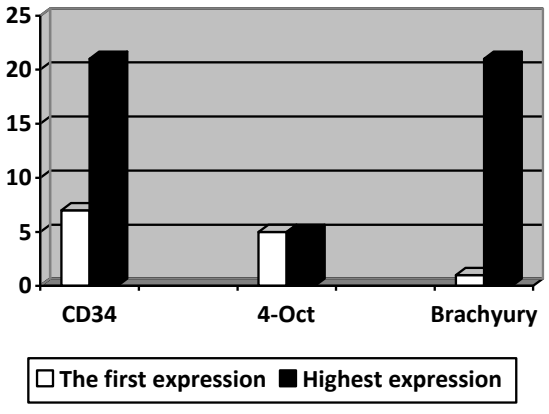
شکل ۱. بیان ژن *CD-34* (a)
و *GAPDH* (b) در روزهای ۱، ۵، ۷ ،۱۵، ۲۱، ۳۰ و کنترل



شکل ۳. بیان ژن *Brachyury* (a)
و *GAPDH* (b) در روزهای ۱، ۵، ۷ ،۱۵، ۲۱، ۳۰ و کنترل



شکل ۲. بیان ژن *OCT-4* (a)
و *GAPDH* (b) در روزهای ۱، ۵، ۷ ،۱۵، ۲۱، ۳۰ و کنترل



شکل ۴. مقایسه اولین و بیشترین بیان ژن های *CD34*، *OCT-4* و *Brachyury* .

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

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

منابع

1.Antin PB, Taylor RG, Yatskievych T. Precardiac mesoderm is specified during gastrulation in quail. Dev Dyn, 1994; 2:4-14.

2.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.

3.Delcarpio JB, Claycomb WC. Cardiomyocyte transfer into the mammalian heart. Cell-to-cell interactions in vivo and in vitro. Ann N Y Acad Sci, 2008; 752:267-85.

4.Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature, 1981, 292:154-6.

5. Grepin C, Nemer G, Nemer M. Enhanced cardiogenesis in embryonic stem cells overexpressing the GATA-4 transcription factor. Development, 1997; 124:2387-95.

6. 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.

7.He JQ, Ma Y, Lee Y, Thomson JA, Kamp TJ. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential characterization. Circulation, 2003; 93:9-3.

8.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.

9.Icardo JM. Developmental biology of the vertebrate heart. J Exp Zool, 1996; 275:144-61.

10.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.

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.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.

13.Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-term survival of AT-1 cardiomyocyte grafts in syngeneic myocardium. Am J Physiol, 1993; 264:1727-33.

14.Koh 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.

15.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. Circulatin, 2003; 33:27-40.

16.Narita N, Bielinska M, Wilson DB. Cardiomyocyte differentiation by GATA-4-deficient embryonic stem cells. Development, 1997; 124:3755-64.

17.Olson EN, Srivastava D. Molecular pathways controlling heart development. Science, 1996; 272:671-6.

18.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.

19.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.

20.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.

21.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 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

22. Laurie C, Anis F, Alessandro B, Olivier I, Outi H, Marisa J,Human Pluripotent Stem Cells Differentiated in Fully Defined Medium Generate Hematopoietic $CD34^{+}$ and $CD34^{-}$ Progenitors with Distinct Characteristics. PLoS One. 2011; 6(2): e14733.
23. Xiaojun Lian**,** Xiaoping Bao,Abraham Al-Ahmad, Jialu Liu, Yue Wu, Wentao Dong, Kaitlin K. Dunn, Eric V. Shusta, Sean P. Palecek.Efficient Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells to Endothelial Progenitors via Small-Molecule Activation of WNT Signaling..Stem cell reports.2014,3:814-816.
24. Sanna Toivonen, Marisa Ojala, Anu Hyysalo, Tanja Ilmarinen, Kristiina Rajala, Mari Pekkanen-Mattila, Riikka Äänismaa, Karolina Lundin, Jaan Palgi, Jere Weltner, Ras Trokovic, Olli Silvennoinen, Heli Skottman, Susanna Narkilahti, Katriina Aalto-Setälä, and Timo OtonkoskComparative Analysis of Targeted Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells (hiPSCs) and Human Embryonic Stem Cells Reveals Variability Associated With Incomplete Transgene Silencing in Retrovirally Derived hiPSC Lines, Stem Cells Transl Med. 2013 Feb; 2(2): 83–93

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

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.7.25.14.8] [Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-11]