مجله ایمنی زیستی
دوره ۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳

تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (مروری اجمالی بر روش‌ها وتکنیک‌ها)

محسن شیخ حسن[۱*]، ناصر کلهر[۱]، رضا طباطبائی قمی[۱]، هدی فضائلی[۱]، مهدیه قیائی[۱]
۱- مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری جهاد دانشگاهی واحد قم- آزمایشگاه سلول های بنیادی، قم، ایران

Mahdieh.ghiasi1360@gmail.com

چکیده

امروزه سلول درمانی یکی از استراتژی های مهم و امیدوارکننده در زمینه درمان بیماری‌ها به شمار می‌رود. با توجه به قابلیت‌های منحصر به فرد، سلول‌های بنیادی می‌توانند به عنوان منبع ارزشمندی در تحقیقات علوم پایه و پزشکی، جهت پژوهش و درمان استفاده شوند. در حالی‌که استفاده از سلول‌های بنیادی با توجه به مشکلات اخلاقی مربوط به آن کاربرد این سلول‌ها را محدود کرده است. یکی از دغدغه‌های مهم دانشمندان برای توسعه و استفاده بیشتر از این علم، در نتیجه نیاز به یافتن یک جایگزین جهت تولید این سلول‌ها، به شمار می‌رود. ایجاد سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (Induced pluripotent stem cell) یکی از مهمترین روش‌ها در نیل به این هدف محسوب می‌شود. در این رابطه روش‌های مختلفی که توانایی تغییر پروفایل‌های بیان ژن و پروتئین‌ها را دارند، که نتیجه آن تغییر مورفولوژی و عملکرد سلول‌ها در جهت برگشت به حالت نامتمایز و ایجاد سلول‌های بنیادی است، در حال توسعه می‌باشند. این روش‌ها شامل انتقال هسته، استفاده از عصاره سلولی و مولکول‌های مصنوعی، بیان اجباری ژن‌های مشخص و تغییرات سطوح سیتوپلاسمی می‌باشد. امروزه پیشرفت‌هایی در روش‌های غیرادغام شونده در ژنوم سلول‌ها وجود دارد که با این وجود در مورد افزایش کارایی این روش‌ها پژوهش‌های زیادی در حال انجام است. در این مقاله مروری، سعی شده است که تکنیک‌ها، مزیت‌ها و فرصت‌های پیش رو در زمینه تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی مورد بررسی قرار گیرد.

کلمات کلیدی: سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، iPS، تکنیک‌های تمایززدایی

مقدمه

سلول‌های بنیادی قادر به ایجاد هر نوع سلول در بدن هستند. آن‌ها می‌توانند تحت تاثیر عوامل رشد مختلف در محیط کشت به سلول‌هایی با عملکردهای اختصاصی مانند سلول‌های ماهیچه قلب یا سلول‌های تولید کننده انسولین، پانکراس و غیره تبدیل شوند. به این قابلیت پرتوانی اطلاق می‌شود. سلول‌های پرتوان علاوه بر توانایی تکوین به ۲ لایه جفتی، قادرند به سه لایه زاینده (اندودرم، مزودرم و اکتودرم) نیز تکوین یابند (۱). بر اساس این حقیقت که در پستانداران

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

عالی دستیابی به قابلیت همه توانی مشکل است (۲)، جهت حل این مشکل و جایگزینی آن، تمایزیابی به سمت پرتوانی و چند توانی در حال مطالعه می‌باشد. بطوری‌که قسمت عمده تلاش‌های علمی جهت نائل شدن به این هدف تمرکز یافته‌اند. سلول‌های بنیادی چندتوان آن‌هایی هستند که قادرند به رده‌های چندگانه اما محدود تمایز پیدا کنند. سلول‌های بنیادی پرتوان را می‌توان به عنوان یک حالت ژنومی در نظر گرفت که در طی تکوین ایجاد می‌شود، بطوری‌که ای‌ها می‌توانند به هر کدام از ۳ نوع لایه در ۳ رده زاینده تبدیل شوند (۱و۳). این سلول‌ها مسئول حفظ هموستازی بافتی هستند، بطوری‌که سلول‌های آسیب دیده و یا پیر را با سلول‌های جدید جایگزین می‌کنند (٤). در طی سال‌های اخیر، سلول‌های بنیادی پرتوان جنینی از توده سلولی داخلی جنین انسان مشتق شده‌اند (۲). با این حال، استفاده از این روش در اهداف تحقیقاتی محدود بوده و به لحاظ اجتماعی و اخلاقی آن‌چنان پذیرفته شده نیست. به همین دلیل، ضرورت داشتن منابع متفاوتی از سلول‌های بنیادی که بتوان از آن‌ها در مطالعات تشخیصی یا درمانی استفاده کرد، یک زمینه مطالعاتی وسیع و جدیدی را ایجاد می‌کند.

القای پرتوانی در سلول‌های تمایزیافته

این موضوع به معنی عقب‌گرد در حوزه تکوین به منظور کسب سلول‌های بنیادی از سلول‌هایی است که به صورت کامل یا جزئی تمایز یافته‌اند. در این زمینه نتایج دلگرم کننده‌ای به دست آمده است. تاکنون، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPS) از سلول‌های سوماتیک انسان و موش مشتق شده‌اند. اگر چه این سلول‌ها به خوبی در شرایط آزمایشگاهی تکوین می‌یابند، با این حال آزمایشاتی که در شرایط حیاتی صورت می‌پذیرند همیشه نتایج مورد قبول را ارائه نمی‌دهند، بطوری‌که سلول‌های iPS را می‌توان به اندام‌های هدف مختلف پیوند زد، اما قابلیت تکثیر و تمایز در برخی از قسمت‌ها و نه همه قسمت‌های اندام را ایجاد می‌کنند (۱). علاوه بر این، بر اساس توانایی آن‌ها در ایجاد هر کدام از سلول‌های لایه زاینده، پیوند این سلول‌ها می‌تواند با میزان بالای ایجاد تومور در اندام‌ها همراه باشد. یک تکوین موفق که بر اساس پروسه کارآمد و مطمئن تمایززدایی سلول اتفاق می‌افتد، راهی را ایجاد می‌کند که می‌تواند جایگزین پیوندهای ناموفق شده و امید به زندگی را برای هزاران فرد در سراسر جهان افزایش دهد. هدف این مقاله بازنگری کلی موضوع تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی است که مهمترین و امیدبخش ترین روش‌های تمایززدایی مورد استفاده در گروه‌های مختلف تحقیقی را در سراسر جهان تشکیل می‌دهد. امروزه در حیوانات نیز از سلول‌های تمایزیافته مختلف برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی استفاده شده است که به صورت خلاصه به همراه کلیات روش ها در جدول شماره ۱ آمده است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

جدول ۱- تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی در حیوانات

نام حیوان	نوع سلول مورد استفاده	ژن های فاکتورهای پرتوانی	روش مورد استفاده	منبع
خوک تبتی	سلول‌های فیبروبلاست	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc موشی	سیستم بیانی رتروویروسی	Esteban و همکاران (۲۰۰۹)
خوک	سلول‌های فیبروبلاست جنینی	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc انسانی	سیستم بیانی رتروویروسی	Ezaschi و همکاران (۲۰۰۹)
خوک	سلول بالغ خوک	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc موشی	سیستم بیانی لنتی ویروسی القا شونده با دارو(داکسی سیکلین)	Wu و همکاران (۲۰۰۹)
خوک	سلول‌های بنیادی مزانشیمی خوک	Sox2,Klf4,Oct4,C-انسانی myc,Nanog,Line28	سیستم بیانی رتروویروسی	West و همکاران (۲۰۱۰)
گاو	سلول‌های فیبروبلاست جنینی گوساله	Sox2,Klf4,Oct4,C-گاوی myc,Nanog,Line28	سیستم بیانی رتروویروسی	Han و همکاران (۲۰۱۱)
گوسفند	سلول‌های فیبروبلاست	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc انسانی	سیستم بیانی لنتی ویروسی القا شونده با آنتی یوتیک تتراسایکلین	Li و همکاران (۲۰۱۱)
گوسفند	سلول‌های سوماتیک گوسفند	Sox2,Klf4,Oct4,C-انسانی myc,Nanog,Line28, SV40 large T و hTERT	سیستم بیانی لنتی ویروسی القا شونده با دارو	Bao و همکاران (۲۰۱۱)
بز	سلول‌های فیبروبلاست گوش	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc انسانی	سیستم بیانی لنتی ویروسی القا شونده با دارو(داکسی سیکلین)	Ren و همکاران (۲۰۱۱)
اسب	سلول‌های فیبروبلاست	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc انسانی	سیستم بیانی مبتنی بر ترانسپوزون Piggy Bac	Nagy و همکاران (۲۰۱۱)
سگ	سلول‌های فیبروبلاست بالغ	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc انسانی	سیستم بیانی رتروویروسی	Luo و همکاران (۲۰۱۱)
موش	سلول‌های فیبروبلاست گوش سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی	Sox2,Klf4,Oct4,C-myc موشی	سیستم بیانی غیرویروسی القاشونده	Merkl و همکاران (۲۰۱۳)

روش‌های القای پرتوانی:

نزدیک به ۱۰ سال است که پروتکل‌های پژوهشی مرتبط با این موضوع به صورت گسترده‌ای در حال پیشرفت هستند. در حالی که Evans و Kauffman اولین مطالعات را در مورد تولید سلول‌های بنیادی جنینی حدود ۳۰ سال پیش آغاز کردند (٤). رده‌های

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

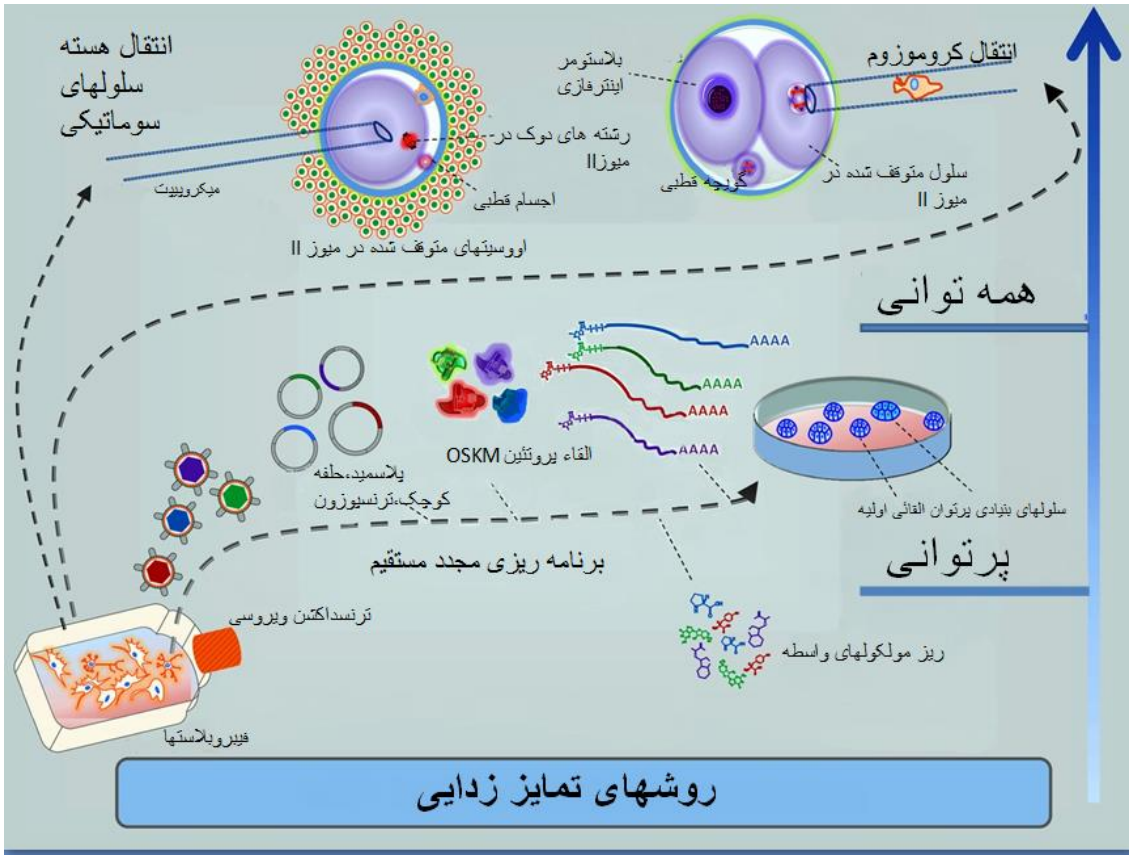
متفاوت سلول انسان، رت و موش جهت آنالیز ژن‌های دخیل در فرآیند تمایز و حفظ حالت پرتوانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اطلاعات اندکی در رابطه با مکانیسم‌های برنامه‌ریزی مجدد (Reprogramming) یا تمایززدایی وجود دارد، ولی به صورت قاطع بازآرایی کروماتین، یک گام کلیدی در این فرآیند است. پس از تکمیل شدن فرایند تمایززدایی، مسیرهای سیگنال‌دهی LIF، Wnt و BMP که گروهی از مسیرهای انتقال سیگنال پروتئینی هستند و سیگنال‌ها را از طریق گیرنده‌های سطحی سلول از بیرون سلول به داخل آن هدایت می‌کنند، برای حفظ سلول‌های بنیادی در فرایند خودنوزایی درگیر می‌شوند (۷). فرآیند تمایززدایی می‌تواند در مراحل مختلف ارزیابی شود. طی این فرایند، بیان ژن‌های سلول مورد نظر معکوس شده و در نتیجه از یک سو فعالیت ژن‌های مرتبط با تکوین سلول خاموش شده و از سوی دیگر ژن‌های مربوط به تمایززدایی فعال می‌شوند. در سطح پروتئین نیز تغییراتی در بیان به وجود می‌آید که از جمله این تغییرات، بیان بیشتر پروتئین‌های سلول‌های پیش‌ساز و بیان کمتر پروتئین‌های مربوط به سلول‌های تمایز یافته می‌باشد. در این فرآیند، مورفولوژی سلول‌ها نیز دستخوش تغییراتی قرار می‌گیرد که طی آن سلول‌های تمایزنیافته، کوچکتر از سلول‌های تمایز یافته به نظر رسیده و از لحاظ کاریوپلاسم و اندامک‌ها نیز به‌ترتیب میزان بالاتر و میزان کمتری را در مقایسه با سلول‌های تمایز یافته دارا می‌باشند. در سطوح عملکردی، سلول‌های تمایزنیافته توانایی بیشتری جهت تبدیل شدن به انواع وسیعی از سلول‌ها، نسبت به سلول های تمایز یافته دارند (۸). با این حال، مشکل زمانی بروز می‌کند که روش برنامه‌ریزی مجدد باید مورد انتخاب واقع شود. چندین راه برای بازگرداندن مجدد تمایز وجود دارد، اما هیچ‌کدام از آن‌ها توانایی انجام این کار را بدون استفاده از وکتورهای ویروسی، الحاق سلولی یا با امنیت تضمین شده مانند آن‌چه که در شرایط حیاتی رخ می دهد، ندارند.

روش‌های تمایززدایی

روش‌های متفاوتی جهت انجام برنامه‌ریزی مجدد تاکنون شناسایی شده‌اند. (شکل ۱ و جدول ۲). در این زمینه تحقیقات زیادی در مورد تعیین کارآمدترین رده سلولی در رابطه با از بین رفتن تمایز انجام گرفته است.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]



شکل ۱- روش های تمایززدایی جهت تولید سلول های بنیادی پرتوان القایی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

جدول ۲- روش های تولید سلول های بنیادی پرتوان القایی

روش	تکنیک	مزایا	معایب	کارایی
انتقال هسته سلول سوماتیک	هسته سلول سوماتیک با یک اووسیت بدون هسته امتزاج داده می‌شود	رده‌های سولی انسان می‌توانند به همراه امتزاج همولوگ ایجاد شوند	نتایج برنامه‌ریزی اپی‌ژنتیکی مجدد جهت پیش بینی، ناکارآمد می‌باشد	-
عصاره سلولی	به منظور بیان پروفایل‌های سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های تمایز یافته با آن-ها مخلوط و کشت می‌شوند	این روش علاوه بر این که امکان آنالیزهای بیوشیمیایی و کینتیکی برنامه‌ریزی مجدد را فراهم می‌سازد، امکان استفاده از نتایج حاصله جهت شناسایی فاکتورهای دخیل در برنامه-ریزی را نیز مهیا می‌کند	در صورتی که پروفایل بیانی پروتئین سلول هدف با تولید پروتئین عصاره سلولی مرتبط باشد، باعث ایجاد مشکل می‌شود	-
بیان اجباری فاکتورهای مشخص	انتقال و بیان ترکیبی از سری فاکتورهای ایجاد کننده پرتوانی از جمله oct4,sox2 و ... درسلول‌های بنیادی جنینی	روشی است که بیشترین مطالعات با استفاده از آن صورت پذیرفته و دارای بالاترین کارایی در میان روش‌های مورد استفاده در تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی می‌باشد	استفاده از رتروویروس و آدنوویروس زمانی که آن‌ها به درون ژنوم میزبان تلفیق شوند، می‌تواند به فعال‌سازی مجدد ژن‌های سرطانی منجر شود	کارایی این روش بسته به رده سلولی بین ۰/۰۰۱ تا ٤/٤٪ محاسبه شده است.
مولکول‌های سنتتیک	ترکیبات دارای وزن مولکولی پایین، به عنوان معرف برنامه‌ریزی مجدد بکار می‌روند	به عنوان ابزاری مناسب جهت کنترل سرنوشت سلول‌های بنیادی و جهت درک بهتر فرایندهای تکاملی به کار می‌رود	ترکیب منفرد از مولکول‌های سنتتیک قابلیت تولید سلول-های بنیادی پرتوان القایی را ندارد	استفاده از ترکیبات با وزن مولکولی پایین، امکان افزایش ۲/٦ تا ۱۰۰ برابر کارایی برنامه‌ریزی مجدد را زمانی که با بیان اجباری فاکتورهای مشخص همراه شوند میسر می‌سازد
میکرو RNA	هدف این روش تغییر پروفایل ساخت پروتئین سلولی با استفاده از میکروRNA می‌باشد	هنگامی که با بیان اجباری ژن‌های مشخص همراه شوند، mir290 می‌تواند جایگزین c-Myc شود	برهمکنش‌های بین میکروRNAها و فاکتورهای نسخه‌برداری به خوبی شناخته نشده است	-

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

انتقال هسته‌ای

انتقال هسته سلول‌های سوماتیک، فرآیندی است که طی آن هسته یک سلول سوماتیک به یک اووسیت بالغ فاقد هسته انتقال می‌یابد. این انتقال، یک بازآرایی ناکامل اپی‌ژنتیکی در هسته‌های سلول سوماتیک ایجاد می‌کند که سلول را بدون برنامه‌ریزی مجدد که به طور طبیعی طی تکوین اتفاق می‌افتد، به سمت تشکیل حالت پرتوانی سوق می‌دهد (۹و۱۰). توانایی اووسیت جهت برنامه‌ریزی مجدد، به نوع سلول‌های اهداکننده بستگی دارد. هسته سلول‌هایی که تمایز کمتری پیدا کرده‌اند، در مقایسه با سلول‌های تمایزیافته‌تر، تکوین بهتری را نشان می‌دهند. با توجه به این موضوع که برنامه‌ریزی مجدد در طی فرآیند کلونینگ، به‌صورت تصادفی اتفاق می‌افتد، بنابراین بسیاری از نقص‌ها زمانی پدیدار می‌شوند که فرآیند به صورت کامل انجام نپذیرد. در این میان نقصی که در نشانه‌گذاری، متیلاسیون DNA و یا به صورت ژنتیکی در یک ژن خاص و یا در توالی‌های تکراری و به صورت اپی‌ژنتیکی شامل تغییرات وسیع در بیان ژن، استیلاسیون و متیلاسیون هیستون‌ها دیده می‌شود می‌تواند بر روی فعال‌سازی کروموزوم X تاثیرگذار باشد (۱۰). تنها هسته‌هایی که تحت برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی قرار گرفته‌اند، قادر به تولید سلول‌های بنیادی جنینی به روش SCNT هستند (۹).

عصاره‌های سلولی

این تکنیک شامل استفاده از عصاره سلول تمایزیافته، سلول‌های بنیادی پرتوان و یا سلول‌های بنیادی جنینی است (۱۱). نتایج حاصل از این تکنیک بسیار جالب می‌باشند، بطوری‌که امکان خالص‌سازی ترکیبات پروتئینی با قابلیت برنامه‌ریزی مجدد را فراهم می‌کنند (۱۲). آزمایشاتی که با استفاده از عصاره تخم زنوپوس انجام گرفته، نشان دادند که کارایی بازآرایی بخش کروماتینی هسته تمایزیافته بستگی به در معرض قرار گرفتن با عصاره تخم میتوزی دارد که همانندسازی DNA جنینی را تسهیل می‌کند (۱۲و۱٤). Bru و همکاران (۱۵)، ژن‌های Oct4، Sox2، Klf4 و cMyc (OSKM) را پس از قرار دادن فیبروبلاست‌ها در معرض عصاره سلول‌های بنیادی جنینی به درون ژنوم فیبروبلاست انتقال دادند. Freberg و همکاران (۱۱)، با انتقال ژن‌های Oct4 و Nanog به سلول‌های کلیه جنینی انسان که از طریق مواجهه آن با عصاره سلول‌های کارسینومای جنینی انجام پذیرفت، توانستند موفق به انجام برنامه‌ریزی متیلاسیون DNA و تغییرات هیستونی بر روی ناحیه تنظیمی این ژن‌ها شوند. فیبروبلاست‌هایی که در معرض عصاره سلول‌های بنیادی جنینی موش قرار گرفتند، نشان دادند که یک القای قدیمی ژن Oct4 در آن‌ها وجود داشته است که بیان آن باعث دمتیلاسیون DNA و نگه داشتن آن در حد پایه می‌شود (۱۳). یکی از معایب این روش، مشکل بودن نتیجه‌گیری در مدت زمان کوتاه است که بتوان تشخیص داد که آیا الگوی بیان پروتئین سلول هدف با تولید پروتئین خود سلول بر اساس فعال‌سازی مجدد ژن‌های حالت پایه‌ای یکسان است یا خیر، و یا این‌که آیا این الگوی بیان در سلول‌های در حال رشد، نتیجه بیان‌گذرای ژن‌هایی است که در عصاره وجود دارند یا خیر (۱۱). از طرف دیگر مشخص نیست که این سلول‌ها بطور کامل از لحاظ رونویسی و ظرفیت تمایزی قادر به ایجاد ۳ لایه زاینده پرتوان هستند یا خیر. بنابراین Cho و همکارانش (۱٦) با تیمار سلول‌های سوماتیک ابتدایی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

با یک عصاره پروتئینی مشتق شده از سلول‌های بنیادی جنینی توانستند پروتئین‌های سلول‌های IPS را که خصوصیات سلول‌های بنیادی جنینی از قبیل عملکرد آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و پتانسیل تکوینی آن‌ها در شرایط حیاتی را شبیه‌سازی می‌کنند، ایجاد نمایند.

بیان اجباری ژن‌های مشخص

انتقال ژن‌های Oct4، Sox2، Klf4 و cMyc (OSKM) به سلول‌های سوماتیک و جنینی، باعث ایجاد خصوصیات شبیه به سلول‌های بنیادی می‌شوند (۹و۱۷). ترکیبات متفاوت ژنی از جمله Nanog (۳و۹و۱۸)، Stat3 (۳)، LIN28 (۱۸و۱۹)، Esrrb (۲۰)، Sv40LT، (۲۱-۲۳)، UTF-1 (۲۴و۲۵)، P53، SiRNA (۲۴)، hTERT (۲۳)، WNT3a (۲۶) و Nr5al (۲۷) در آزمایش‌های مختلف، مورد استفاده قرار گرفته‌اند که ثابت شده برخی از آن‌ها کارآمدی برنامه‌ریزی مجدد را افزایش می‌دهند، یا این‌که قادرند جایگزین یکی از ژن‌های OSKM شوند. برای انتقال این ژن‌ها از روش‌های الحاقی و غیرالحاقی استفاده شده است که در جدول شماره ۳ به این روش‌ها و مزایا و معایب آن‌ها به صورت کلی اشاره شده است.

جدول ۳- روش‌های تلفیقی و غیرتلفیقی در تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی

روش		مزایا	معایب
روش تلفیقی	رتروویروس‌ها لنتی ویروس‌ها	کارا و قابل تکثیر	الحاق به ژنوم
	RNA خطی	عاری از وکتور	احتمال الحاق به ژنوم و کارآیی متوسط
	ترانسپوزون PiggyBac	حذف وکتور احتمالی	کند و کارآیی پایین و احتمال الحاق ژنومی
روش غیرتلفیقی	آدنوویروس	هیچ الحاق ژنومی وجود ندارد	کند و غیرکارا
	پلاسمیدهای اپیزومال	هیچ الحاق ژنومی وجود ندارد	رقت دوز ژن ها و ناکارامدی و احتمال الحاق به ژنوم
	پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک	عاری از ترانسژن	ناکارآمدی و کندی
	mRNA	عاری از ترانسژن و کارا	دوز بالای ژن های پیش سرطان‌زا و نیاز به عوامل ترانسفکشن چندگانه
	miRNA	عاری از ترانسژن	معمولادر ترکیب با دیگر روش‌ها ایجاد موفقیت می‌نماید

روش‌های الحاقی

مشکل اصلی این روش استفاده از ناقل‌های رتروویروسی ، لنتی‌ویروسی یا آدنوویروسی برای وارد کردن ژن‌های تمایززدا می‌باشد. رتروویروس‌ها زمانی‌که به طور کامل به داخل ژنوم سلول راه می‌یابند می‌توانند سبب فعال‌سازی مجدد ژن‌های سرطانی شوند (۲۸و۲۹). ازطرف دیگر وکتورهای آدنوویروسی توانایی راهیابی و تلفیق به داخل ژنوم سلول میزبان را به میزان بسیار پایین‌تری دارند که این مسئله، دلیل احتمالی میزان پایین کارایی گزارش شده در رابطه با

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

آن‌ها می‌باشد (۳۰و۳۱). راه اندازهای القاپذیر و ثابت لنتی‌ویروسی، همانند وکتورهای لنتی‌ویروسی با قابلیت حذف از ژنوم و القاپذیری با آنتی‌بیوتیک داکسی‌سایکلین مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸و۳۲ و۳۳). بدون شک کاری که در سال ۲۰۰٦ به‌وسیله Takashi و همکاران گزارش شد که طی آن سلول‌های سوماتیک موشی را با استفاده از OSKM به سلول‌های IPS تبدیل کردند، جهشی بزرگ در علم سلول‌های بنیادی تلقی می‌شود (۱۷). یک سال بعد آن‌ها موفقیت خودشان را با استفاده از فیبروبلاست‌های انسانی تکرار کردند (۳٤). گروه‌های مختلفی بر روی روش‌های کاهش تعداد ژن‌های دخیل در فرآیند تمایززدایی کار می‌کنند. با این وجود اگرچه این روش‌ها تعداد ژن‌های دخیل در این فرآیند را کاهش می‌دهند، اما از طرفی نیاز به این‌که سلول در مراحل ابتدایی‌تری از تکوین قرار داشته باشد را افزایش می‌دهند (۳۰و۳۵و۳۸). پس مساله نهایی که باقی می‌ماند، یافتن تعداد حداقل ژن‌های لازم که بتوانند سلول های سوماتیک را به مرحله پرتوانی برسانند، می‌باشد. تاکنون در این تحقیقات از سلول‌های مختلفی شامل سلول‌های کبدی موشی (۱۷)، فیبروبلاست‌های جنینی یا بالغ موشی (۲۸و۳٤ و۳۷و۳۹) یا فیبروبلاست‌های جنینی و بالغ انسانی (۲۳و۳۰و۳۱و۳۳و۳۷و۳۸و٤۰و٤۱)، کراتینوسیت‌ها (۳۳و۳۵)، لنفوسیت‌ها (٤۲)، هپاتوسیت‌ها (۱۳)، بافت چربی (٤۳و٤۵)، سلول‌های مغز (٤٦)، طحال (۲۸)، پیش‌سازهای عصبی، غدد آدرنال، سلول‌های عضلانی، سلول‌های اپیتلیوم روده، سلول‌های بنیادی مزانشیمی،سلول‌های استرومای مزانشیمی، سلول‌های آمنیونی، سلول‌های بندناف، سلول‌های بنیادی پالپ دندان و سلول‌های بتای پانکراس برای این آزمایش‌ها استفاده شده است. بهترین نتیجه با سلول‌های چربی و کراتینوسیت‌ها به دست آمد، بطوری‌که کارآمدی تمایززدایی بیش از ۰,۱ درصد بود، که به میزان ۱۰۰ برابر کارآمدتر و دو برابر سریع‌تر از برنامه‌ریزی مجدد فیبروبلاست‌های انسانی با استفاده از وکتورهای DNA بود (۳۵). استفاده از وکتورهای رتروویروسی، لنتی‌ویروسی و آدنوویروسی به تنهایی می‌توانند موضوعی برای تمرکز کردن باشند. Sommer و همکاران (٤۷) ناقل لنتی‌ویروسی را با استفاده از پپتید 2A و تکنولوژی جایگاه داخلی ورودی ریبوزوم و چهار فاکتور رونویسی (OSKM) طراحی کردند که کارآیی آن ۱۰ برابر پژوهش‌های قبلی بود و میزان کارآیی آن به بیش از ۰,۵درصد رسید. در ادامه آن تحقیقاتی با استفاده از روش‌های پلی‌سیسترونیک و نوترکیبی‌های همولوگ نیز گزارش شده است که کارایی آن‌ها ۵ برابر بیشتر از روش‌های مونوسیسترونیک با وکتورهای تک ژنی است (٤۱و ٤۸). استفاده از سیستم‌های نوترکیب همولوگ که از جایگاه‌های LoxP برخوردار می‌باشند گام‌های ابتدایی به سمت روش‌های غیر الحاق شونده را نمایان می‌کند. این روش‌ها خطرات انکوژنیک را با حذف ترانس‌ژن رفع می‌کنند. Kaji و همکاران (٤۹) در تحقیقاتشان توانستند با به کاربردن یک وکتور غیرویروسی منحصر به فرد با استفاده از ترکیب پپتید 2A و سیستم ترانسپوزون piggyback و فاکتورهای رونویسی، به طور کارآمدی سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش (MEF) و فیبروبلاست‌های انسان را تمایززدایی کنند. کارایی برنامه‌ریزی مجدد این کار بیش از ۲,۵ درصد بود.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

روش‌های غیر تلفیقی (Non-integrative) در ژنوم

سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، برای نخستین بار توسط انتقال چهار فاکتور مشخص به وسیله ناقلین رتروویروسی تولید شدند که روشی موثر و کارآمد می‌باشد. با این وجود، می‌بایستی جهت کاربردهای بالینی حدالامکان از ادغام ویروس به ژنوم جلوگیری به عمل آید که علت این امر فعال شدن غیرمنتظره ترانسژن‌های سرطانی یا تخریب ژنوم می‌باشد که در اثر تشکیل تومور احتمالی رخ می‌دهد. بسیاری از تحقیقات حاکی از فائق آمدن بر این مشکل می‌باشند. Soldner و همکاران با استفاده از ناقل لنتی ویروسی که توانایی آلوده کردن سلول‌هایی که در حال تقسیم و تکثیر نباشند را دارا می‌باشند و حاوی توالی loxP در ناحیه تکراری انتهایی (LTR) ′۳ بود، جهت انتقال فاکتورهای تمایززدایی به سلول استفاده کردند. در این مطالعه، پس از اتمام فرآیند تمایززدایی در سلول، توالی loxP که ناحیه ترانسژن در میان آن قرار داشت توسط آنزیم Cre recombinase شناسایی و حذف شد. پس از ترکیب و رفع توالی‌های ترانسژن، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی حالت پرتوانی خود را حفظ کردند. چهار روش جهت غلبه بر خطرات حاصل از روش تلفیقی شناسایی شده‌اند که شامل ویروس‌های غیرادغام شونده به ژنوم و پلاسمیدهای اپیزومی و سیستم‌های تحویل RNA و پروتئین می‌باشند (۵۱و۵۲). در روش‌های غیرتلفیقی از آدنوویروس ایجاد کننده نقص در همانندسازی یا وکتورهای ویروسی سندایی F-deficient استفاده می‌کنند. روش‌های غیرتلفیقی اپیزومال غیرهمانند ساز (۵۵و۵۷) یا همانندساز (۲۱) امکان تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی فاقد پلاسمید را تضمین نمی‌کند. بطوری‌که با استفاده از اپیزومال غیرهمانندساز و همانندساز، تنها ۳۳ و ۸ درصد از کل سلول‌های القا شده هیچ اثری از تلفیق پلاسمید را نشان ندادند. همچنین پلاسمیدهای دیگر مورد استفاده پلاسمیدهای مبتنی بر ویروس ابشتین-بار بوده که پایداری آن‌ها بیشتر بوده و می‌توانند جهت بیان عوامل برنامه‌ریزی شده مجدد برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی مورد استفاده قرار گیرند. مساله مهمی که در رابطه با این پلاسمیدها وجود دارد، استفاده از پروتئین سرطانی SV40LT به عنوان عامل برنامه‌ریزی مجدد می‌باشد که احتمال ایجاد سرطان‌زایی را بالا می‌برد (۲۱). یک روش جایگزین این تکنیک توسط jia و همکاران پیشنهاد شد که در آن با استفاده از ناقل‌های مینی‌حلقوی غیرالحاقی به ژنوم که اندازه آن‌ها در مقایسه با اپیزوم کوچک‌تر می‌باشد، میزان کارایی در تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی که در مدت ١٤-١٦ روز ایجاد شدند افزایش چشمگیری یافت (۵۷). به‌منظور حذف کامل وکتورهای ویروسی یا پلاسمیدی، یک روش پیشنهادی تبدیل RNA بود که کارآیی این روش با استفاده از فیبروبلاست به بیش از ٤/٤ درصد رسید (۵۸). این میزان بالاترین میزان کارآیی بدست آمده تا کنون است. با این حال میزان ژن مورد نیاز جهت انتقال آن‌ها آنقدر زیاد است که می‌تواند احتمال بروز خطرات سرطان‌زایی را افزایش دهد. سلول‌های بدست آمده طی این روش به عنوان pIPS (partially induced pluripotent stem cells) شناخته می‌شود. در این روش، پروتئین‌های نوترکیب با پپتیدهای واسطه‌گر انتقال در حضور (۵۱) یا غیاب والپوریک اسید (vpa) تولید می‌شوند (۵۲). اما این روش از لحاظ کینتیکی کند بوده و کارآیی پایینی دارد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

علاوه بر این تولید پروتئین و خالص‌سازی آن یک فرآیند پیچیده است که قابلیت تجدید آزمایشگاهی آن‌را تضمین نمی‌کند.

مولکول‌های مصنوعی

شناسایی ترکیباتی با وزن مولکولی پایین که به عنوان عوامل برنامه‌ریزی مجدد عمل می‌کنند، یکی از موضوعات مرتبط با شیمی در مبحث کشت سلول‌های بنیادی است که می‌تواند راهی مطمئن، سریع و کارآمد برای برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های سوماتیک با کاربردهای حیاتی باشد. استفاده از ترکیب کوچکی به نام Reversia قابلیت القای برنامه‌ریزی مجدد سلولی در میوبلاست های C2C12 را نشان می‌دهد که سلول‌هایی با قابلیت تمایزی استخوان‌ساز (osteogenic) و چربی‌ساز (adipogenic) را ایجاد می‌کند (۷و۹و ۵۹). در سال‌های اخیر به طور عمده‌ای ممانعت کننده‌های DNA متیل‌ترانسفراز و هیستون داستیلاز (HDAC) جهت افزایش کارایی برنامه‌ریزی مجدد با استفاده از بیان اجباری ژن‌های مشخص و یا تکنیک‌های انتقال هسته سلول‌های سوماتیک به کار می‌روند. رایج‌ترین ممانعت کننده‌های HDAC عبارتند از suberoylanide hidroxamic acid (SAHA)، trichostatin A (TSA) و والپروئیک اسید می باشند. حتی معروف‌ترین ممانعت کننده DNA متیل ترانسفراز که 5´ Azacitidine, RG108 و BIX-01294 هستند، به منظور یافتن میزان کارایی‌شان هنوز مورد تحقیق می‌باشند (۶۰و۶۱). همچنین استروئید گلوکوکورتیکوئید دگزامتازون، ممانعت کننده TGF-β A-83-01 (۶۲) و L-type calcium agonist BayK8644 (۶۰) در حال مطالعه می‌باشند. مهمترین این ترکیبات و عملکرد آن‌ها در جدول شماره ٤ آمده است. در آزمایشاتی که بیان اجباری ژن‌های Oct4، Sox2، Klf4 و cMyc درون سلول‌های Mouse embryonic fibroblast (MEF) انجام شد، با استفاده از 5´ azaC و دگزامتازون، کارآیی برنامه‌ریزی مجدد به ترتیب ۱۰ و ۲,٦ برابر افزایش یافت. از طرف دیگر زمانی‌که از vpa استفاده شد، کارآیی آزمایش را ۱۰۰ برابر بیشتر از آزمایش‌های کنترل در حالت وابسته به دوز رسانید. ممکن است vpa یک مرحله کنترل کننده‌ی سرعت را در برنامه‌ریزی مجدد کنترل کند، اما به تنهایی برای برنامه‌ریزی مجدد MEF کافی نیست (۳۰). هنگامی که ۳ ژن مورد استفاده قرار می‌گیرند، 5´ azaC برنامه‌ریزی مجدد را ۳ برابر بهبود می‌بخشد، در حالی‌که vpa بیش از ۵۰ برابر آن را بهبود می‌بخشد. زمانی که تکنیک Knock Out مورد استفاده قرار می‌گیرد، RG108 کارآیی را نزدیک به ۳۰ برابر و BayK8644 آن را ۱۰ برابر افزایش می‌دهد. اخیرا Li و همکاران (۳٦) قادر به ایجاد سلول‌های IPS از فیبروبلاست جنینی و بالغ موشی در حضور Oct4 به تنهایی و ترکیبی از مولکول‌های مصنوعی شدند. ترکیبات با وزن مولکولی پایین، برای کنترل سرنوشت سلول‌های بنیادی و نیز برای درک بیشتر فرآیندهای تکوینی می‌توانند مفید باشند (۷). اما این سوال همچنان باقی می‌ماند که آیا روزی خواهد رسید که برنامه‌ریزی مجدد سلول با استفاده از یک روش شیمیایی خالص انجام شود؟

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

جدول ۴- ترکیبات سنتتیک و عملکرد آن‌ها

ترکیب	عملکرد
Valproic acid	مهارکننده هیستون داستیلاز
Trichostatin A	مهارکننده هیستون داستیلاز
Sodium Butyrate	مهارکننده هیستون داستیلاز
BIX-01294	مهارکننده هیستون متیل ترانسفراز
Pamate	مهارکننده هیستون دمتیلاز
5-azacytidine	مهارکننده DNA متیل ترانسفراز
RG108	مهارکننده DNA متیل ترانسفراز
SB431542+PD0325901	مهارکننده ALK5+ مهارکننده MEK
A-83-01	مهارکننده پذیرنده TGFβ
CHIR99021	مهارکننده GSK3
RepSox	مهارکننده Tgfbr1 کیناز
PS48	فعال کننده PDK1
Vitamin C	ماده غذایی ضروری

miRNA

هدف این روش، تغییر الگوی سنتز پروتئین‌های سلول است. با کشف RNAهای کوچک (MicroRNAs)، یک افق جدید در مسیرهای تمایزی که توسط آن‌ها به انجام می‌رسد، نمایان شد (۹). هنوز به درستی درک نشده که چگونه فاکتورهای رونویسی و miRNA با هم میانکنش دارند. اعتقاد بر این است که miRNA، حالت پایدار فیزیولوژیکی سلول‌های تمایزیافته را حفظ می‌کند تا این‌که تمایز سلول را راه‌اندازی کنند. پاسخ سلولی به فاکتورهای خارجی که بیان ژن را برنامه‌ریزی مجدد می‌کنند، با تغییر بارگذاری آن‌ها می‌تواند بهبود یابد، که سبب سازگاری بیشتر سلول برای کسب حالت پرتوانی می‌شود (۹). آزمایشاتی با استفاده از میکروRNA mir-302 در رده‌های سلول‌های سرطانی PC3 و Colo انجام شده است.

بطوری‌که سلول‌های بنیادی پرتوان القایی توسط miRNA که تمایز در آن‌ها از بین رفته بود، قادر به تمایز به سلول‌های پیش‌ساز شبه نورونی، غضروفی، فیبروبلاستی و اسپرماتوگونی بودند (٦٣). مجموعه mir-290 در MEFها مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش‌ها نشان می‌دهند که این مجموعه، کارآیی تمایززدایی را با بیان اجباری ژن OSK افزایش می‌دهد. شاید miRNA بتواند جایگزین ژن c-Myc در پیش برد تمایززدایی سلول‌های بنیادی شود. RNAهای کوچک می‌توانند جایگزین فاکتورهای اضافی شوند که در حقیقت جایگزین استفاده از عناصر DNA انتقال یافته را فراهم می‌سازند (٦٤). بیان افزایش یافته miRNA-145 از خودنوزایی سلول‌های بنیادی جنینی انسان جلوگیری می‌کند، همچنین بیان ژن‌های پرتوانی را سرکوب کرده و تمایز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

مجدد رده سلولی را القا می‌کند (٦٥). اگر بازدهی آلودگی با miRNAها افزایش یابد و همچنین یک مجموعه استانداردی از miRNAهای دخیل در فرآیند برنامه‌ریزی مجدد شناسایی شوند، این روش می‌تواند روش امیدوار کننده‌ای برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی محسوب شود.

چشم اندازهای آینده

روش‌های بسیار زیادی تاکنون شناسایی شده‌اند، اما تا شناسایی بهترین روش هنوز نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد. بدون شک، قسمت عمده تلاش‌ها به فرآیندهای سریعتر، مطمئن‌تر و کارآمدتر تمرکز یافته‌اند. بیان اجباری ژن‌های مشخص، روشی است که بیش از بقیه مورد مطالعه قرار گرفته است. بیشترین تلاش‌های تحقیقاتی بر مکانیسم‌های غیرتلفیقی و بهینه‌سازی ترکیب ژنی مورد نیاز برای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی متمرکز شده‌اند (٦٦). با این‌که استفاده از پروتئین نوترکیب مطمئن‌تر است، اما نتایجی که تاکنون بدست آمده امیدوارکننده نیستند. بطوری‌که این روش غیرکارآمد با سرعت پایین عمل می‌کند (٥١و٥٢). با این‌که ثابت شده فعالیت مولکول‌های مصنوعی کارئیی را افزایش می‌دهد، اما شیمیدان‌ها و بیولوژیست‌ها باید برای تولید یا شناسایی گروهی از مولکول‌های با وزن مولکولی پایین که بتوانند به عنوان فاکتورهای رونویسی عمل کنند و جایگزین عصاره‌های پروتئینی شوند، با هم کار کنند تا بتوانند سلول‌های بنیادی پرتوان القایی را بدون استفاده از ژن‌ها تولید کنند. استفاده از miRNA هنوز یک پیشنهاد امیدوارکننده است. زمانی‌که درک دقیق‌تری از این نوع RNA و نقش آن در فرایند تمایززدایی بدست بیاید، مشکل روش غیرتلفیقی با استفاده از این تکنیک حل می‌شود. کارآیی و مشکلات مربوط به روش غیرتلفیقی به عنوان عمده‌ترین مشکلات مطرح است. خصوصیات سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، همچون بازآرایی اپی‌ژنتیک، قابلیت پایداری، خصوصیت رونویسی و الحاق ژنومی، نبایستی دست کم گرفته شوند و باید پتانسیل تومورزایی آن‌ها مورد آنالیز قرار گیرد. پس می‌توان گفت که IPS، در واقع سلول‌های بنیادی جنینی را شبیه‌سازی می‌کند و می‌تواند به عنوان جایگزین آن‌ها، برای استفاده در سلول درمانی به کار رود (٦٧و٦٩).

نتیجه‌گیری

برای رسیدن به سطح کاربردی و کلینیکی این تکنیک مشکلات زیادی باقی مانده‌اند که حل نشده‌اند. امیدوار کننده‌ترین روش، بیان اجباری ژن‌ها است. عمده‌ترین قسمت تلاش‌های تحقیقاتی بر این موضوع تمرکز یافته‌اند. بزرگترین مشکل استفاده از وکتورهای ویروسی این است که آن‌ها قادر به فعال‌سازی مسیرهای انکوژنیک هستند و از طرفی روش‌های غیر تلفیقی با تمامی مزایای خود هنوز قادر نیستند نتایج کارآیی را ارائه دهند. جستجوی راه‌حل‌های اجرائی اخلاقی و اقتصادی برای مشکلات زیست درمان جهانی که مرتبط با ترمیم بافت هستند، برجسته‌ترین مفهومی است که تلاش‌های گروه‌های تحقیقاتی را در سراسر جهان به این شبکه معطوف می‌دارد. تکنیک‌های گوناگونی شناخته شده و نتایج نویدبخشی به دست آمده‌اند. بر اساس این نتایج، پژوهش‌ها باید دوباره تنظیم شوند. بیان اجباری ژن‌های مشخص و مولکول‌های مصنوعی، بالاترین پتانسیل را در این زمینه دارا می‌باشند، اما لازم است که آن‌ها را باز کنیم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

و از نقطه نظرهای دیگر به مشکلات آن‌ها نگاه کنیم. کارهای بسیار زیادی در دست انجام هستند. پژوهش‌های بیشتری جهت حل کردن مشکلات مکانیسم‌های سلولی و مولکولی پرتوانی سلول‌های بنیادی وجود دارد، مثل درک بهتر بازآرایی الگوی داخلی سلول که می‌تواند پاسخ بسیاری از سوالات موجود باشد. این تکنیک باعث می‌شود که رده‌های خاصی از سلول‌های بنیادی یک بیمار، برای مطالعه مکانیسم‌های بیماری متفاوت مورد استفاده قرار بگیرند و می‌تواند کارآمدی کشف دارو را افزایش دهد. این روش یک ابزار برای آزمایش‌های سم شناسی بوده و غربالگری بیمار و درمان‌های ترمیمی را ممکن می‌سازد و همچنین از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌تر است. دانشمندان در مقابل یک راه حل بسیار چالش برانگیز قرار دارند. در واقع، تمام تلاش‌های خلاصه‌بندی شده، در نهایت یک رویکرد کلینیکی را حاصل می‌نماید که می‌تواند مسیر درمان بیماری‌ها را تغییر دهد.

فهرست منابع

References

1- Smith, A. (2006). A glossary for stem-cell biology. *Nature*, *441*(7097), 1060.

2- Pan, G. J., Chang, Z. Y., Schöler, H. R., & Duanqing, P. E. I. (2002). Stem cell pluripotency and transcription factor Oct4. *Cell research*, *12*(5), 321.

3- Boiani, M., & Schöler, H. R. (2005). Developmental cell biology: Regulatory networks in embryo-derived pluripotent stem cells. *Nature reviews Molecular cell biology*, *6*(11), 872.

4- Evans, M. J., & Kaufman, M. H. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *nature*, *292*(5819), 154.

5- Ellis, J., Baum, C., Benvenisty, N., Mostoslavsky, G., Okano, H., Stanford, W.L., Porteus, M. and Sadelain, M., (2010). Benefits of utilizing gene-modified iPSCs for clinical applications. *Cell Stem Cell*, *7*(4), pp.429-430.

6- Inoue, H. and Yamanaka, S., (2011). The use of induced pluripotent stem cells in drug development. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *89*(5), pp.655-661.

7- Sartipy, P., Strehl, R., Björquist, P. and Hyllner, J., (2008). Low molecular weight compounds for in vitro fate determination of human embryonic stem cells. *Pharmacological research*, *58*(2), pp.152-157.

8- Cai, S.A., Fu, X. and Sheng, Z., (2007). Dedifferentiation: a new approach in stem cell research. *AIBS Bulletin*, *57*(8), pp.655-662.

9- Alberio, R., Campbell, K.H. and Johnson, A.D., (2006). Reprogramming somatic cells into stem cells. *Reproduction*, *132*(5), pp.709-720.

10- Morgan, H.D., Santos, F., Green, K., Dean, W. and Reik, W., (2005). Epigenetic reprogramming in mammals. *Human molecular genetics*, *14*(suppl_1), pp. R47-R58.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

11- Freberg, C.T., Dahl, J.A., Timoskainen, S. and Collas, P., (2007). Epigenetic reprogramming of OCT4 and NANOG regulatory regions by embryonal carcinoma cell extract. *Molecular biology of the cell*, *18*(5), pp.1543-1553.

12- Hochedlinger, K. and Jaenisch, R., (2006). Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature*, *441*(7097), p.1061.

13- Taranger, C.K., Noer, A., Sørensen, A.L., Håkelien, A.M., Boquest, A.C. and Collas, P., (2005). Induction of dedifferentiation, genomewide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Molecular biology of the cell*, *16*(12), pp.5719-5735.

14- Hansis, C., Barreto, G., Maltry, N. and Niehrs, C., (2004). Nuclear reprogramming of human somatic cells by xenopus egg extract requires BRG1. *Current Biology*, *14*(16), pp.1475-1480.

15- Bru, T., Clarke, C., McGrew, M.J., Sang, H.M., Wilmut, I. and Blow, J.J., (2008). Rapid induction of pluripotency genes after exposure of human somatic cells to mouse ES cell extracts. *Experimental cell research*, *314*(14), pp.2634-2642.

16- Cho, H.J., Lee, C.S., Kwon, Y.W., Paek, J.S., Lee, S.H., Hur, J., Lee, E.J., Roh, T.Y., Chu, I.S., Leem, S.H. and Kim, Y., (2010). Induction of pluripotent stem cells from adult somatic cells by protein-based reprogramming without genetic manipulation. *Blood*, pp. blood-2010.

17- Takahashi, K. and Yamanaka, S., (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *cell*, *126*(4), pp.663-676.

18- Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., Antosiewicz-Bourget, J., Frane, J.L., Tian, S., Nie, J., Jonsdottir, G.A., Ruotti, V., Stewart, R. and Slukvin, I.I., (2007). Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *science*, *318*(5858), pp.1917-1920.

19- Liao, J., Wu, Z., Wang, Y., Cheng, L., Cui, C., Gao, Y., Chen, T., Rao, L., Chen, S., Jia, N. and Dai, H., (2008). Enhanced efficiency of generating induced pluripotent stem (iPS) cells from human somatic cells by a combination of six transcription factors. *Cell research*, *18*(5), p.600.

20- Feng, B., Jiang, J., Kraus, P., Ng, J.H., Heng, J.C.D., Chan, Y.S., Yaw, L.P., Zhang, W., Loh, Y.H., Han, J. and Vega, V.B., (2009). Reprogramming of fibroblasts into induced pluripotent stem cells with orphan nuclear receptor Esrrb. *Nature cell biology*, *11*(2), p.197.

21- Yu, J., Hu, K., Smuga-Otto, K., Tian, S., Stewart, R., Slukvin, I.I. and Thomson, J.A., (2009). Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences. *Science*, *324*(5928), pp.797-801.

22- Mali, P., Ye, Z., Hommond, H.H., Yu, X., Lin, J., Chen, G., Zou, J. and Cheng, L., (2008). Improved efficiency and pace of generating induced pluripotent stem cells from human adult and fetal fibroblasts. *Stem cells*, *26*(8), pp.1998-2005.

23- Park, I.H., Zhao, R., West, J.A., Yabuuchi, A., Huo, H., Ince, T.A., Lerou, P.H., Lensch, M.W. and Daley, G.Q., (2008). Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*, *451*(7175), p.141.

24- Zhao, Y., Yin, X., Qin, H., Zhu, F., Liu, H., Yang, W., Zhang, Q., Xiang, C., Hou, P., Song, Z. and Liu, Y., (2008). Two supporting factors greatly improve the efficiency of human iPSC generation. *Cell stem cell*, *3*(5), pp.475-479.

25- Pfannkuche, K., Fatima, A., Gupta, M.K., Dieterich, R. and Hescheler, J., (2010). Initial colony morphology-based selection for iPS cells derived from adult fibroblasts is substantially improved by temporary UTF1-based selection. *PloS one*, *5*(3), p. e 9580.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

26- Marson, A., Foreman, R., Chevalier, B., Bilodeau, S., Kahn, M., Young, R.A. and Jaenisch, R., (2008). Wnt signaling promotes reprogramming of somatic cells to pluripotency. *Cell stem cell*, *3*(2), pp.132-135.

27- Heng, J.C.D., Feng, B., Han, J., Jiang, J., Kraus, P., Ng, J.H., Orlov, Y.L., Huss, M., Yang, L., Lufkin, T. and Lim, B., (2010). The nuclear receptor Nr5a2 can replace Oct4 in the reprogramming of murine somatic cells to pluripotent cells. *Cell stem cell*, *6*(2), pp.167-174.

28- Jiang, Y., Jahagirdar, B.N., Reinhardt, R.L., Schwartz, R.E., Keene, C.D., Ortiz-Gonzalez, X.R., Reyes, M., Lenvik, T., Lund, T., Blackstad, M. and Du, J., (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, *418*(6893), p.41.

29- Zaehres, H. and Schöler, H.R., (2007). Induction of pluripotency: from mouse to human. *Cell*, *131*(5), pp.834-835.

30- Huangfu, D., Osafune, K., Maehr, R., Guo, W., Eijkelenboom, A., Chen, S., Muhlestein, W. and Melton, D.A., (2008). Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature biotechnology*, *26*(11), p.1269.

31- Stadtfeld, M., Nagaya, M., Utikal, J., Weir, G. and Hochedlinger, K., (2008). Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science*, *322*(5903), pp.945-949.

32- Blelloch, R., Venere, M., Yen, J. and Ramalho-Santos, M., (2007). Generation of induced pluripotent stem cells in the absence of drug selection. *Cell stem cell*, *1*(3), pp.245-247.

33- Maherali, N., Ahfeldt, T., Rigamonti, A., Utikal, J., Cowan, C. and Hochedlinger, K., (2008). A high-efficiency system for the generation and study of human induced pluripotent stem cells. *Cell stem cell*, *3*(3), pp.340-345.

34- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K. and Yamanaka, S., (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *cell*, *131*(5), pp.861-872.

35- Aasen, T., Raya, A., Barrero, M.J., Garreta, E., Consiglio, A., Gonzalez, F., Vassena, R., Bilić, J., Pekarik, V., Tiscornia, G. and Edel, M., (2008). Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nature biotechnology*, *26*(11), p.1276.

36- Li, Y., Zhang, Q., Yin, X., Yang, W., Du, Y., Hou, P., Ge, J., Liu, C., Zhang, W., Zhang, X. and Wu, Y., (2011). Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules. *Cell research*, *21*(1), p.196.

37- Nakagawa, M., Koyanagi, M., Tanabe, K., Takahashi, K., Ichisaka, T., Aoi, T., Okita, K., Mochiduki, Y., Takizawa, N. and Yamanaka, S., (2008). Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nature biotechnology*, *26*(1), p.101.

38- Wernig, M., Meissner, A., Foreman, R., Brambrink, T., Ku, M., Hochedlinger, K., Bernstein, B.E. and Jaenisch, R., (2007). In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *nature*, *448*(7151), p.318.

39- French, A.J., Adams, C.A., Anderson, L.S., Kitchen, J.R., Hughes, M.R. and Wood, S.H., (2008). Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. *Stem cells*, *26*(2), pp.485-493.

40- Lowry, W.E., Richter, L., Yachechko, R., Pyle, A.D., Tchieu, J., Sridharan, R., Clark, A.T. and Plath, K., (2008). Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(8), pp.2883-2888.

41- Chang, C.W., Lai, Y.S., Pawlik, K.M., Liu, K., Sun, C.W., Li, C., Schoeb, T.R. and Townes, T.M., (2009). Polycistronic lentiviral vector for "hit and run" reprogramming of adult skin fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Stem cells*, *27*(5), pp.1042-1049.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

42- Brown, M.E., Rondon, E., Rajesh, D., Mack, A., Lewis, R., Feng, X., Zitur, L.J., Learish, R.D. and Nuwaysir, E.F., (2010). Derivation of induced pluripotent stem cells from human peripheral blood T lymphocytes. *PloS one*, *5*(6), p. e11373.

43- Jia, F., Wilson, K.D., Sun, N., Gupta, D.M., Huang, M., Li, Z., Panetta, N.J., Chen, Z.Y., Robbins, R.C., Kay, M.A. and Longaker, M.T., 2010. A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. *Nature methods*, *7*(3), p.197.

44- Sugii, S., Kida, Y., Berggren, W.T. and Evans, R.M., (2011). Feeder-dependent and feeder-independent iPS cell derivation from human and mouse adipose stem cells. *Nature protocols*, *6*(3), p.346.

45- Sun, N., Panetta, N.J., Gupta, D.M., Wilson, K.D., Lee, A., Jia, F., Hu, S., Cherry, A.M., Robbins, R.C., Longaker, M.T. and Wu, J.C., (2009). Feeder-free derivation of induced pluripotent stem cells from adult human adipose stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(37), pp.15720-15725.

46- Kim, J.B., Zaehres, H., Wu, G., Gentile, L., Ko, K., Sebastiano, V., Araúzo-Bravo, M.J., Ruau, D., Han, D.W., Zenke, M. and Schöler, H.R., (2008). Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature*, *454*(7204), p.646.

47- Sommer, C.A., Stadtfeld, M., Murphy, G.J., Hochedlinger, K., Kotton, D.N. and Mostoslavsky, G., (2009). Induced pluripotent stem cell generation using a single lentiviral stem cell cassette. *Stem cells*, *27*(3), pp.543-549.

48- Carey, B.W., Markoulaki, S., Beard, C., Hanna, J. and Jaenisch, R., (2009). Single-gene transgenic mouse strains for reprogramming adult somatic cells. *Nature methods*, *7*(1), p.56.

49- Kaji, K., Norrby, K., Paca, A., Mileikovsky, M., Mohseni, P. and Woltjen, K., (2009). Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. *nature*, *458*(7239), p.771.

50- Woltjen, K., Michael, I.P., Mohseni, P., Desai, R., Mileikovsky, M., Hämäläinen, R., Cowling, R., Wang, W., Liu, P., Gertsenstein, M. and Kaji, K., (2009). piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature*, *458*(7239), p.766.

51- Zhou, H., Wu, S., Joo, J.Y., Zhu, S., Han, D.W., Lin, T., Trauger, S., Bien, G., Yao, S., Zhu, Y. and Siuzdak, G., (2009). Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell stem cell*, *4*(5), pp.381-384.

52- Kim, D., Kim, C.H., Moon, J.I., Chung, Y.G., Chang, M.Y., Han, B.S., Ko, S., Yang, E., Cha, K.Y., Lanza, R. and Kim, K.S., (2009). Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell stem cell*, *4*(6), p.472.

53- Zhou, W. and Freed, C.R., (2009). Adenoviral gene delivery can reprogram human fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Stem cells*, *27*(11), pp.2667-2674.

54- Fusaki, N., Ban, H., Nishiyama, A., Saeki, K. and Hasegawa, M., (2009). Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, *85*(8), pp.348-362.

55- Okita, K., Nakagawa, M., Hyenjong, H., Ichisaka, T. and Yamanaka, S., (2008). Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*, *322*(5903), pp.949-953.

56- Gonzalez, F., Monasterio, M.B., Tiscornia, G., Pulido, N.M., Vassena, R., Morera, L.B., Piza, I.R. and Belmonte, J.C.I., (2009). Generation of mouse-induced pluripotent stem cells by transient expression of a single nonviral polycistronic vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(22), pp.8918-8922.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]

57- Jia, F., Wilson, K.D., Sun, N., Gupta, D.M., Huang, M., Li, Z., Panetta, N.J., Chen, Z.Y., Robbins, R.C., Kay, M.A. and Longaker, M.T., (2010). A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells. *Nature methods*, *7*(3), p.197.

58- Warren, L., Manos, P.D., Ahfeldt, T., Loh, Y.H., Li, H., Lau, F., Ebina, W., Mandal, P.K., Smith, Z.D., Meissner, A. and Daley, G.Q., (2010). Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell stem cell*, *7*(5), pp.618-630.

59- Chen, S., Zhang, Q., Wu, X., Schultz, P.G. and Ding, S., (2004). Dedifferentiation of lineage-committed cells by a small molecule. *Journal of the American Chemical Society*, *126*(2), pp.410-411.

60- Shi, Y., Desponts, C., Do, J.T., Hahm, H.S., Schöler, H.R. and Ding, S., (2008). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. *Cell stem cell*, *3*(5), pp.568-574.

61- Shi, Y., Do, J.T., Desponts, C., Hahm, H.S., Schöler, H.R. and Ding, S., (2008). A combined chemical and genetic approach for the generation of induced pluripotent stem cells. *Cell stem cell*, *2*(6), pp.525-528.

62- Li, W., Wei, W., Zhu, S., Zhu, J., Shi, Y., Lin, T., Hao, E., Hayek, A., Deng, H. and Ding, S., (2009). Generation of rat and human induced pluripotent stem cells by combining genetic reprogramming and chemical inhibitors. *Cell stem cell*, *4*(1), pp.16-19.

63- Lin, S.L., Chang, D.C., Chang-Lin, S., Lin, C.H., Wu, D.T., Chen, D.T. and Ying, S.Y., (2008). Mir-302 reprograms human skin cancer cells into a pluripotent ES-cell-like state. *Rna*.

Generation of induced pluripotent stem cells (IPSCs) (A glancing review about methods and techniques)

Mohsen Sheykh hasan[1*], Naser Kalhor[1], Reza Tabatabaei Qomi[1], Hoda Fazaeli[1], Mahdieh Ghiasi[1]
1- Highly Specialized Jihad Daneshgahi Infertility Center, Stem cell laboratory, Qom, Iran

Mahdieh.ghiasi1360@gmail.com

Abstract
Cell therapy is one of the most principle and promising science in relation to treatment of many diseases. By attention to unique capability of stem cells, these cells can be for treatment as a valuable source in science and medical researches. However, there are a lot of problems in relation with use of embryonic stem cells, which has limited their use. Thus, requirement to find an alternative technique to produce these cells, is one of the most important concerns of scientists to improve and use of this science. Induced pluripotent stem cells, is one of these technologies. Different methods which have the ability of altering gene expression profile and cell proteins, cause to change cell morphology and function in reverse way to undifferentiated cells and generation of stem cells, are developing. These methods include nuclear transfer, use of cell extract and synthetic molecules, forced expression of defined genes and change in cytoplasmic levels. Nowadays, there are development in nonintegration ways, but about increasing efficiency of these methods, many researches are ongoing. In this article techniques, advantages and ahead opportunities in generation of ips cells are examined.

Keywords: induced Pluripotent Stem Cells, iPS, dedifferentiation

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1393.7.1.2.0]