



مقایسه دو روش جداسازی سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان خرگوش

دلارام زمانی مزده^۱، پژمان میرشکرایی^{۲*}، محمدرضا امامی^۲، علی میرشاهی^۲، ایرج کریمی^۳

^۱ دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۳ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهر کرد، ایران

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: mirshokraei@um.ac.ir

هدف: مقایسه بین دو روش شیب غلظتی فایکول و کشت مستقیم مغز استخوان به منظور جداسازی سلول های بنیادی مزانشیمی

طرح مطالعه: مطالعه مقطعی

حیوانات: در این مطالعه از ۱۰ قطعه خرگوش نر استفاده شد.

روش کار: با استفاده از سوزن جمشیدی و سرنگ حاوی ۵۰۰۰ واحد هپارین انجام و در حدود ۴ میلی لیتر مغز استخوان اخذ شد و به دو گروه تقسیم شد. ۲/۵ میلی لیتر از مغز استخوان اخذ شده با ۵ میلی لیتر محیط DMEM حاوی حاوی ۱۵ درصد FBS و ۱۰۰ واحد پنی سیلین و استرپتومایسین رقیق شد. محلول حاصل به مدت ۳ دقیقه با RCF ۲۰۰ سانتریفوژ شد. پلیت سلولی با ۱ میلی لیتر محیط کشت، معلق و در یک فلاسک ۷۵ سانتی متری کشت داده شد. سلول ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد CO₂ تحت انکوباسیون قرار گرفت. سه روز پس از آغاز کشت، محیط سلول ها تعویض شد و سپس هر ۲ روز یک بار تعویض محیط کشت انجام گرفت. ۲/۵ میلی لیتر از مغز استخوان اخذ شده بر روی ۵ میلی لیتر گرادیان فایکول ریخته و به مدت ۴۰ دقیقه با RCF ۱۲۰۰ سانتریفوژ شد. سلول های معلق بر روی سطح لوله به میزان ۱/۵ میلی لیتر برداشت شده، سپس سه بار با محیط کشت شستشو داده شد. پلیت سلولی کف لوله با ۱ میلی لیتر محیط کشت، معلق و کشت داده شد. پس از آن تعویض محیط ها مشابه گروه قبل انجام شد.

نتایج: در گروه گرادیان فایکول از ۱۰ نمونه مغز استخوان چهار نمونه دارای کلنی مشخص بود و در گروه کشت مستقیم در تمامی فلاسک ها کلنی تشکیل شد. اختلاف مشاهده شده بین دو گروه از نظر آماری معنی دار بود.

نتیجه گیری و کاربرد بالینی: با توجه به نتایج حاضر، استفاده از روش کشت مستقیم سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان خرگوش روشی کارآمدتر از جداسازی به روش گرادیان فایکول می باشد.

کلید واژگان: خرگوش، سلول بنیادی مزانشیمی، گرادیان فایکول