جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش به رده لنفوئیدی با فاکتورهای رشد مشخص

مجید مصاحبی محمدی[۱]، دکتر سعید کاویانی[۲]، دکتر مسعود سلیمانی[۳]
دکتر عباس حاجی فتحعلی[۴]، دکتر زهرا ذنوبی[۵]، دکتر سعید آبرون[۲]
دکتر غلامرضا خمیسی‌پور[۶]، مینا صوفی زمرد[۱]

چکیده

زمینه و هدف: سلول‌های بنیادی جنینی از طریق دو ویژگی منحصر به فرد شناخته می‌شوند. اولاً، این سلول‌ها می‌توانند به صورت جمعیت خالص از سلول‌های تمایز نیافته تکثیر و نگهداری شوند، که این ویژگی به عنوان خاصیت خود نوسازی شناخته می‌شود. ثانیاً، این سلول‌ها قادر هستند که تمام انواع سلول‌های بدن را ایجاد کنند. در مطالعه حاضر، تمایز سلولهای بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی در شرایط فاقد لایه تغذیه کننده به کمک IL-7 و FLT-3 Ligand انجام گرفت.

روش بررسی: سلول‌های جنینی موشی تکثیر شده بر روی از لایه پشتیبان جدا گردید و بعد از تشکیل اجسام شبه جنینی با استفاده از فاکتورهای رشد لیگاند FLT-3، اینترلوکین-۷ تمایز انجام گرفت. در روز ۷ و ۱٤ به منظور نشان دادن تمایز به رده لنفوئیدی بیان مارکرهای CD25، CD19 و CD3 با استفاده از تکنیک RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی‌های انجام گرفته با استفاده از تکنیک RT-PCR نشان داد که بعد از ۱٤ روز تمایز به رده لنفوئیدی با استفاده از فاکتورهای رشد یاد شده بیان مارکرهای CD25 و CD19 مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: در تمامی مطالعات گذشته، تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی با استفاده از سلول‌های تغذیه کننده OP9 انجام گرفته است. در مطالعه حاضر، تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی در شرایط فاقد لایه تغذیه کننده انجام گرفت. امید است مطالعه حاضر بتواند دیدگاه‌های جدیدی را در درمان سلولی اختلالات مربوط به رده لنفوئیدی بگشاید.

واژه های کلیدی: سلول‌های بنیادی جنینی، رده لنفوئیدی، لیگاند FLT-3، اینترلوکین-۷

* نویسنده مسئول :
دکتر سعید کاویانی؛
دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
Email :
Kavianis@modares.ac.ir

- دریافت مقاله : خرداد ۱۳۹۰ - پذیرش مقاله : بهمن ۱۳۹۰

مقدمه

کشت سلولهای بنیادی جنینی موش در بیش از ۲۰ سال گذشته پیشرفت بزرگی را در بیولوژی و پزشکی به وجود آورده است(۱).

سلول‌های بنیادی قادر به تمایز به رده‌های مختلف سلولی و خود نوسازی می‌باشند. طیف وسیعی از سلول‌های بنیادی با توجه به توانایی طولانی مدت در حفظ ویژگی‌های مشابه سلول‌های بنیادی در شرایط آزمایشگاه و شرایط بدن و همچنین تعداد و نوع مشتقات سلولی، توصیف گردیده است(۲). سلول‌های بنیادی جنینی سلول‌های چند قوه‌ای به حساب می‌آیند، که قادر به تمایز به تمام سلول‌های مشتق از هر سه لایه جنینی مزودرم، آندودرم و اکتودرم

[۱] کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[۲] استادیار گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[۳] دانشیار گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[٤] دانشیار گروه داخلی بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[٥] استادیار گروه زنان و زایمان بیمارستان مهدیه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[٦] استادیار گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

می‌باشند(٤و٣). این سلول‌ها از توده داخل سلولی بلاستوسیت روز ۳/۵ منشاء می‌گیرد(٦و٥). در بیشتر مطالعات از سیستم کشت مشترک با سلول‌های استرومایی موش جهت تمایز سلول‌های بنیادی به رده دلخواه استفاده گردیده است. از آنجایی که این سیستم کشت سلولی همراه با معایبی می‌باشد، بنابراین محققان در تلاش برای حذف لایه پشتیبان یا تغذیه کننده برآمدند. این معایب شامل امکان انتقال آلودگی از سلول‌های لایه پشتیبان به سلول‌های بنیادی تمایز یافته و ترشح فاکتورهای نامشخص و ناشناخته از این سلول‌ها که سبب عدم توانایی در شناخت فاکتورهای دخیل در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی می‌گردد، می‌باشند. از آنجایی که یکی از کاربردهای سلول‌های بنیادی جنینی استفاده از خود این سلول‌ها و مشتقات آنها(ازجمله گلبول‌های قرمز، پلاکت‌ها و سلول‌های لنفوسیتی) در سلول درمانی و برای پیوند می‌باشد، عدم استفاده از لایه تغذیه کننده این امکان را فراهم می‌کند که تاثیر عوامل ناخواسته بر مکانیسم‌های مولکولی و سلولی تمایز حذف گردیده و به جای آن اثر عواملی مانند فاکتورهای رشد، داروها و یا سایر مواد شیمیایی مورد بررسی قرار گیرد(۸و۷).

در بیشتر مطالعات از سیستم کشت مشترک رده سلولی OP9، که رده سلولی استرومایی مشتق از موش بوده و فاقد قدرت ترشح M-CSF می‌باشد، جهت تمایز به رده لنفوئیدی استفاده شده است(۱۱-۹). لنفوپوئز به پروسه‌ای اطلاق می‌گردد که طی آن اجزای سلولی سیستم ایمنی یعنی سلول‌های B، T و سلول‌های کشنده طبیعی و سلول‌های دندریتیک خاص، طی تمایز هماتوپوئتیک ایجاد می‌شوند. این سلول‌ها مسئول تولید آنتی بادی، کشندگی وابسته به سلول مستقیم سلول‌های توموری و آلوده به ویروس و تنظیم پاسخ ایمنی می‌باشند. در لنفوپوئز موش بالغ اینترلوکین-۷ سایتوکاینی ضروری برای تکامل لنفوسیت B و T به حساب می‌آید و به عنوان سایتوکاین لنفوهماتوپوئتیک شناخته می‌شود(۱۳و۱۲). اینترلوکین-۷ در سال ۱۹۸۸ در نتیجه اثرش در افزایش رشد پیش‌سازهای سلول‌های B در شرایط آزمایشگاه کشف گردید(١٤). موش‌هایی که از لحاظ ژنتیکی دارای نقص در بیان اینترلوکین-۷ و یا ژن‌های IL-7R هستند فاقد سلولهای B و T می‌باشند.

سلول‌های B، T و NK از پیش‌سازهای مشتق از مغز استخوان منشاء می‌گیرند(١٦و١٥). پیش سازهای که به تیموس مهاجرت کرده و پیام‌هایی را از طریق گیرنده‌های Notch دریافت می‌کنند، به رده سلولی T متعهد می‌شوند(۱۷). در مطالعه حاضر بر روی تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش به رده لنفوئیدی در محیط فاقد لایه تغذیه کننده با استفاده از فاکتورهای رشد اینترلوکین-۷ و لیگاند FLT3 تاکید شده است.

روش بررسی

در این مطالعه از سلول‌های بنیادی جنینی موشی CGR8(stem cell technology research center ,Iran) استفاده گردید.

جهت کشت این سلول‌ها از محیط کشت DMEM-F12 (Invitrogen,USA) حاوی ۱۰٪ (KSR) Knockout Serum replacement(Invitrogen ,USA)۲mM ال‌گلوتامین(Invitrogen ,USA)، ۰/۱ میلی مولار بتا مرکاپتواتانول، ۰/۱ میلی مولار اسیدهای آمینه غیرضروری(Invitrogen,USA)، 100U/ml استرپتومایسین و 100µg/ml پنی سیلین (Invitrogen ,USA) و U/ml۱۰۰۰ فاکتور ممانعت از تمایز (LIF) (Leukemia Inhibitory Factor) (Sigma,USA) استفاده گردید. سلول‌های مذکور در فلاسک T۲۵ آغشته شده به ژلاتین ۰/۲٪ بر روی لایه تغذیه کننده از جنس فیبروبلاست جنینی موش (Mouse Embryonic Fibroblast(MEF)) غیر فعال شده

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

از نظر میتوزی کشت گردیدند. تعویض محیط هر ۲٤ ساعت یکبار انجام می‌گرفت.

سلول‌های فیبروبلاست جنینی موش از موش روز ۱۰/۵ حاملگی بر اساس پروتکل جدا گردید. این سلولها در محیط کشت High Glucose Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) همراه با ۱۰٪ Fetal Bovine Serum(FBS) (Invitrogen,USA) نگهداری گردید. پاساژ سلول‌های بنیادی جنینی هر ۵-۳ روز یکبار انجام می‌گرفت.

سلول‌های بنیادی جنینی در شرایط عدم وجود فاکتور ممانعت از تمایز، ساختارهای سه بعدی را تشکیل می‌دهند که تحت عنوان اجسام شبه جنینی اطلاق می‌گردد. تشکیل اجسام شبه جنینی گامی اساسی در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به حساب می‌آید. بعد از اینکه سلول‌های جنینی موش به مرحله پاساژ رسید سلول‌های مذکور جهت تشکیل اجسام شبه جنینی به روش قطره آویزان مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ۱۰۰۰-٤۰۰ عدد از سلول‌های بنیادی جنینی در قطراتی در پلیت‌های کشت باکتریال تشکیل گردید. بعد از ٤۸ ساعت این قطرات به وضعیت سوسپانسیون به مدت ۷-۵ روز در محیط فاقد فاکتور ممانعت از تمایز کشت داده شد.

اجسام شبه جنینی تشکیل شده بعد از روز ۷ به پلیت ۲٤ خانه انتقال یافت. تمایز در ٤ گروه مختلف در روزهای ۷ و ۱٤ به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت:

۱) اینترلوکین-۷

۲) اینترلوکین-۷ + FLT-3

۳) FLT-3

٤) گروه کنترل منفی که هیچگونه فاکتور رشدی دریافت نکردند.

محیط مورد استفاده در تمایز محیط IMDM(PAA ,Austria) به همراه ۱۵٪ FBS و ۲ میلی مولار اسید آمینه غیرضروری است.

بعد از تمایز استخراج RNA با استفاده از کیت کیازول(Qiazole ,CA) بر طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. به دنبال آن سنتز cDNA با استفاده از کیت(Takara ,Japan) بر طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. RNA استخراج شده در روزهای ۷ و ۱٤ جهت بررسی مارکرهای CD25 و CD19و CD3 به عنوان مارکرهای رده لنفوئیدی به کمک روش RT-PCR مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در RT-PCR

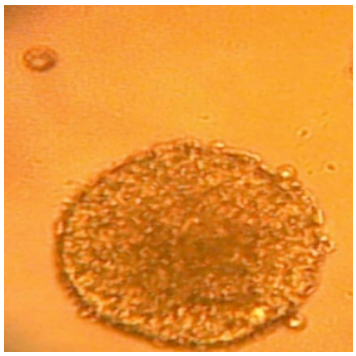
Primer	Forward Sequence	Reverse Sequence	Product size
CD19	TTGGGGGTCTCTTCTGCTTC	TCATTCGCTTCCTTTTCCTTC	256 bp
CD3	ATGGCCAAGAGCTGC	AGAATACAGGTCCCGCT	384bp
CD25	AGCAGGATGGAGAATTACAG	TCAGAGCCCTTTAGTTTTAC	227bp
β-actin	GTGGGCCGCTCTAGGCACCA	CTCTTTGATGTCACGCACG	170bp

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

یافته ها

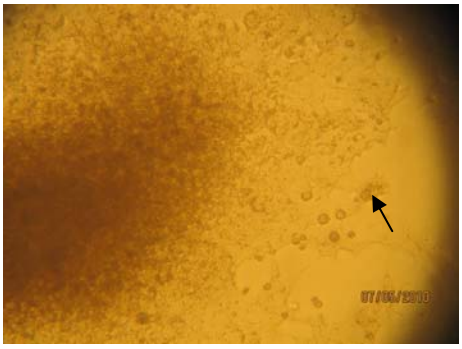
تشکیل اجسام شبه جنینی: اجسام شبه جنینی بعد از گذشت ۷ روز در وضعیت سوسپانسیون جمع آوری گردیدند و جهت تمایز به پلیت ۲٤ خانه انتقال یافتند. شکل ۱ تصویری از اجسام شبه جنینی در روز ۷ را نمایش می‌دهد.



شکل ۱: اجسام شبه جنینی بعد از ۷ روز از زمان جدا کردن سلول‌های از روی لایه تغذیه کننده

شواهدی از تمایز سلول‌های جنینی موش به سلول‌های هماتوپوئتیک

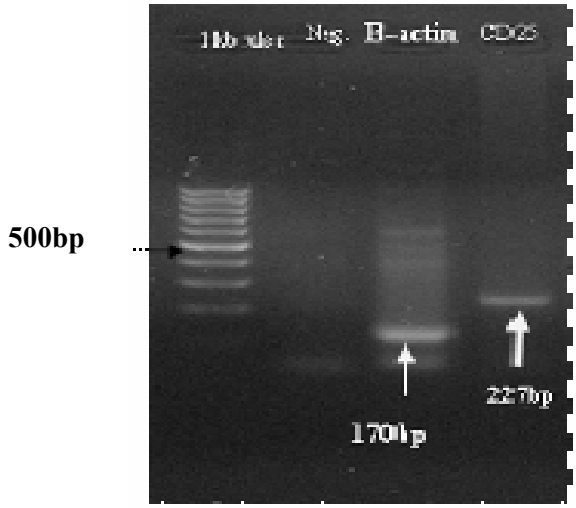
اجسام شبه جنینی انتقال یافته بـه پلیت بـه کف پلیت چسبیده و در روز ۷ شواهدی از تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده هماتوپوئتیک مشاهده گردید(شکل۲).



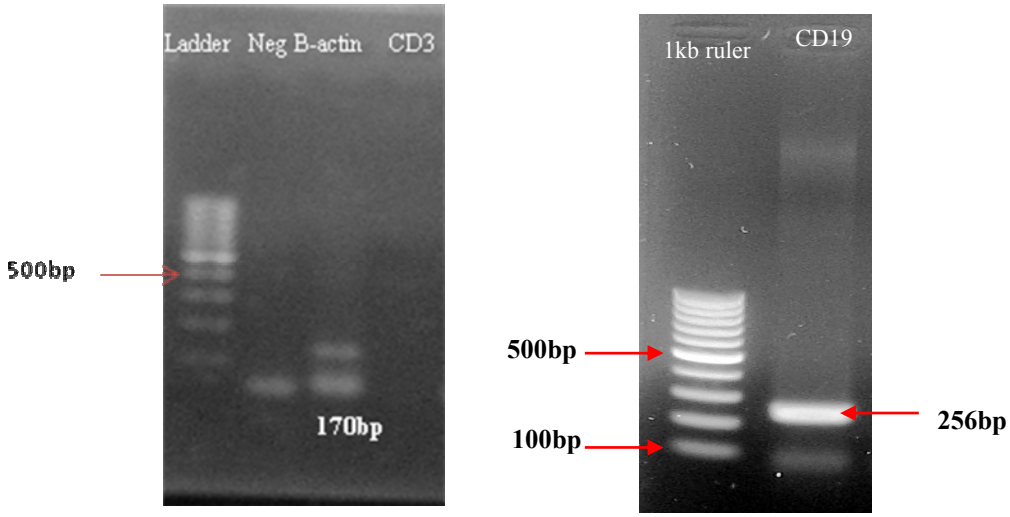
شکل ۲ : سلول های گرد شده از کنار توده سلولی نشان دهنده سلول های هماتوپونتیک می باشد. سلول های گرد شده با فلش نشان داده شده است.

تمایز به سلول‌های رده لنفوئیدی

بررسی‌های انجام گرفته بر روی RNA استخراج شده از سلول‌های تمایز یافته به کمک تکنیک RT-PCR در روزهای ۷ و ١٤ نشان داد کـه بیـان CD25 و CD19 بعد از ١٤ روز مثبت می‌گردد(شکل ۳ و ٤-الف). بررسی مربوط به CD3 در شکل ٤-ب آورده شده است.



شکل۳: تصویر مربوط به باند CD25 بعد از ۱۴ روز تمایز. β-actin به عنوان کنترل داخلی استفاده گردیده است



شکل ۴: الف- تصویر مربوط به باند CD19 در روز ۱۴ تمایز، ب- عدم مشاهده باند مربوط به CD3 باند 170 bp مربوط به β-Actin می‌باشد. β-Actin به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفته است

بحث

این مطالعه با هدف تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی صورت گرفته است. در این مطالعه برای ایجاد تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش به رده لنفوئیدی از محیط کشت فاقد لایه تغذیه کننده استفاده گردید. در حالیکه در مطالعات گذشته برای تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به سلول‌های خونساز از سلول‌های استرومایی به عنوان لایه تغذیه کننده انجام شده است.

در تمامی مطالعات انجام شده از سلول‌های استرومایی OP9 به عنوان لایه تغذیه کننده استفاده گردیده است(۲۰-۱۸). رده OP9 به علت عدم توانایی در تولید M-CSF با استفاده از دستکاری ژنتیکی سبب

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

تمایز بیشتری از سایر سلول‌های استرومایی مغز استخوان دست نخورده به سلول‌های خونساز می‌شود. القای تمایز توسط سلول‌های تغذیه کننده بوسیله بر هم‌کنش سلول- سلول انجام نمی‌گیرد، بلکه سلول‌های تغذیه کننده با آزاد کردن فاکتورهای محلول نامشخصی سبب القای تمایز می‌گردد. در مطالعه حاضر از هیچ یک از سلول‌های تغذیه کننده استفاده نشد و تمایز سلول‌های بنیادی جنینی با استفاده از فاکتورهای رشد در محیط کشت مایع انجام گرفت. از جمله مزیت‌های این روش کشت در مقایسه با سایر روش‌های تمایز این است که در روش‌های دیگر مانند استفاده از یک لایه تغذیه کننده برای حمایت از سلول‌های بنیادی جنینی فاکتورهای تمایز دهنده مترشحه از سلول‌های تغذیه کننده مشخص نشده و مورد بررسی قرار نگرفته است. این در حالی است که در این روش می‌توان اثر هر یک از فاکتورهای رشد مورد استفاده را بررسی کرد و از طریق آن مکانیسم‌های مولکولی انتقال دهنده پیام داخل سلولی را مورد بررسی قرار داد. مزیت دیگر استفاده از این روش تمایز حذف احتمالی انتقال آلودگی از رده سلول‌های تغذیه کننده به سلول‌های بنیادی جنینی برای پیوند و استفاده در سلول درمانی است. حذف کردن یا به حداقل رساندن احتمال آلودگی بوسیله پاتوژن‌ها دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. علاوه بر این استفاده از لایه تغذیه کننده ممکن است خود به عنوان یک منبع ناخواسته تغییرپذیری در آزمایشات و تحقیقات باشد.

در مطالعه انجام گرفته توسط Gutiereez-Ramos و همکارانش در سال ۱۹۹۲، این گروه از سیستمی استفاده نمودند که در آن از کشت همزمان سلول‌های بنیادی جنینی با سلول‌های مغز استخوان رده RP010 به همراه مخلوطی از اینترلوکین‌های ۳،٦ و۷ نوترکیب با منشا خارجی می‌گردید(۲۱).

سلول‌های ایجاد شده به این روش دارای منشا Pro-B و Pro-T بوده و قادر به نوسازی اجزای لنفوئیدی موش‌های دارای نقص SCID بودند. در مطالعه دیگری که در سال De Pooter۲۰۰۳ و همکارانش انجام گرفت از کشت همزمان سلول‌های بنیادی جنینی با سلول‌های استرومایی OP9 استفاده گردید و این گروه نشان دادند که سلول‌های OP9 به شکل کارآمدی قادر به حمایت از لنفوپوئز در شرایط آزمایشگاه می‌باشد. این سلول‌های ایجاد شده از طریق مارکر سطحی FLK-1(VEGFR-2) شناسایی می-گردند(۲۲).

مطالعه دیگری که توسط Juan Carlos–Pflucker و همکارانش(۲۰۰٤) انجام گرفت، نیز از همان سیستم کشت مشترک سلول‌های بنیادی جنینی با سلول‌های استرومایی استفاده گردید(۲۳). این گروه از سلول‌های OP9 که قادر به بیان لیگاند Delta-1(DL-1)، رسپتورهای Notch بودند استفاده نمودند. مسیر پیام‌رسانی Notch فاکتور ضروری در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی به حساب می‌آیند. در این مطالعه نشان داده شد که تولید سلول‌های T وابسته به بیان DL-1 می‌باشند.

در سال ۲۰۰٦ در مقاله مروری که در رابطه با تمایز سلول‌های بنیادی جنینی توسط Olsen و همکارانش منتشر گردیده، تنها راه ایجاد سلول‌های رده لنفوئیدی را از سلول‌های بنیادی جنینی استفاده از سیستم کشت مشترک با سلول‌های استرومال بیان نموده است(۹).

در سال ۲۰۰۹ مطالعه‌ای بر روی تمایز سلول‌های پرتوان القایی(iPS) به رده سلولی T صورت گرفت. در این مطالعه نیز از سلول‌های استرومال OP9 جهت تمایز این سلول‌ها به رده T استفاده گردید. این سلول‌ها نیز به عنوان سلول‌های شبه جنینی به حساب می‌آیند(۲٤).

نتیجه گیری

در بررسی حاضر نشان داده شد، که سلول‌های بنیادی جنینی موش دارای این توانایی هستند که در شرایط فاقد لایه تغذیه کننده در حضور فاکتورهای رشد اینترلوکین–۷، FLT-3 ligand به سلول‌های رده لنفوئیدی تمایز یابد. هیچگونه گزارشی از تمایز این سلول‌ها به رده لنفوئیدی در شرایط فاقد لایه تغذیه کننده وجود ندارد و در تمام موارد این تمایز در حضور لایه تغذیه کننده انجام گرفته است.

از این روش می‌توان در درمان اختلالات مربوط به رده لنفوئیدی استفاده کرد. در مطالعات بعدی میتوان از مقایسه دو روش کشت مشترک با رده سلول استرومایی و بدون استفاده از لایه تغذیه کننده در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به رده لنفوئیدی استفاده نمود. همچنین می‌توان بیان کمی مارکرهای رده لنفوئیدی را با استفاده از qRT-PCR ارزیابی نمود.

منابع

1. Keller G. Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. Genes Dev 2005 May 15; 19(10): 1129-55.

2. Denham M, Conley B, Olsson F, Cole TJ & Mollard R. Stem cells: An overview. Available at: http://www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refId-cb2301.html. 2005.

3. Keller GM. In vitro differentiation of embryonic stem cells. Curr Opin Cell Biol 1995 Dec; 7(6): 862-9.

4. Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. Annu Rev Cell Dev Biol 2001; 17(1): 435-62.

5. Evans MJ & Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 1981 Jul 9; 292(5819): 154-6.

6. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 1981 Dec; 78(12): 7634-8.

7. Wobus AM & Boheler KR. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. Physiol Rev 2005 Apr; 85(2): 635-78.

8. Ying QL, Wray J, Nichols J, Batlle-Morera L, Doble B, Woodgett J, et al. The ground state of embryonic stem cell self-renewal. Nature 2008 May 22; 453(7194): 519-23.

9. Olsen AL, Stachura DL & Weiss MJ. Designer blood: creating hematopoietic lineages from embryonic stem cells. Blood 2006 Feb 15; 107(4): 1265-75.

10. Awong G, Herer E, La Motte-Mohs RN & Zuniga-Pflucker JC. Human CD8 T cells generated in vitro from hematopoietic stem cells are functionally mature. BMC Immunol 2011; 12(1): 22.

11. Mohtashami M, Shah DK, Nakase H, Kianizad K, Petrie HT & Zuniga Pflucker JC. Direct comparison of Dll1- and Dll4-mediated Notch activation levels shows differential lymphomyeloid lineage commitment outcomes. J Immunol 2010 Jul 15; 185(2): 867-76.

12. Fry TJ & Mackall CL. The many faces of IL-7: from lymphopoiesis to peripheral T cell maintenance. J Immunol 2005 Jun 1; 174(1): 6571-6.

13. Akashi K, Reya T, Dalma-Weiszhausz D & Weissman IL. Lymphoid precursors. Curr Opin Immunol 2000 Apr; 12(2): 144-50.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012

14. Namen AE, Lupton S, Hjerrild K, Wignall J, Mochizuki DY, Schmierer A, et al. Stimulation of B-cell progenitors by cloned murine interleukin-7. Nature 1988 Jun 9; 333(6173): 571-3.

15. Milne CD & Paige CJ. IL-7: a key regulator of B lymphopoiesis. Semin Immunol 2006 Feb; 18(1): 20-30.

16. Jensen CT, Kharazi S, Boiers C, Cheng M, Lubking A, Sitnicka E, et al. FLT3 ligand and not TSLP is the key regulator of IL-7-independent B-1 and B-2 B lymphopoiesis. Blood 2008 Sep 15; 112(6): 2297-304.

17. Ohishi K, Katayama N, Shiku H, Varnum-Finney B & Bernstein ID. Notch signalling in hematopoiesis. Semin Cell Dev Biol 2003 Apr; 14(2): 143-50.

18. Nakano T. In vitro development of hematopoietic system from mouse embryonic stem cells: a new approach for embryonic hematopoiesis. Int J Hematol 1996 Dec; 65(1): 1-8.

19. Takakura N, Kodama H & Nishikawa S. Preferential proliferation of murine colony-forming units in culture in a chemically defined condition with a macrophage colony-stimulating factor-negative stromal cell clone. J Exp Med 1996 Dec 1; 184(6): 2301-9.

20. Kodama H, Nose M, Niida S & Nishikawa S. Involvement of the c-kit receptor in the adhesion of hematopoietic stem cells to stromal cells. Exp Hematol 1994 Sep; 22(10): 979-84.

21. Gutierrez-Ramos JC & Palacios R. In vitro differentiation of embryonic stem cells into lymphocyte precursors able to generate T and B lymphocytes in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 1992 Oct 1; 89(19): 9171-5.

22. De Pooter RF, Cho SK, Carlyle JR & Zuniga-Pflucker JC. In vitro generation of T lymphocytes from embryonic stem cell-derived prehematopoietic progenitors. Blood 2003 Sep 1; 102(5): 1649-53.

23. Schmitt TM, de Pooter RF, Gronski MA, Cho SK, Ohashi PS & Zuniga-Pflucker JC. Induction of T cell development and establishment of T cell competence from embryonic stem cells differentiated in vitro. Nat Immunol 2004 Apr; 5(4): 410-7.

24. Lei F, Haque R, Weiler L, Vrana KE & Song J. T lineage differentiation from induced pluripotent stem cells. Cell Immunol 2009; 260(1): 1-5.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ on Tuesday, July 10, 2012