ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تغییر شکل فاکتور رشد بیماری وکاهش تزریق دگزامتازون وبیان ژن تترانکتین در درون بدن انسان osteoblastic SV-HFO در طی معدنی سازی سلول

چکیده

در این مطالعه ،تنظیم بیان ژن تترانکتین از یک سلول استئوبلاستی انسان،SV-HFO، استفاده می کند که تحت درمان با دگزامتازون، معدنی می شود. نفهمیدیم که بیان تترانکتین، وآلکالن فسفاتاز mRNA، به وسیله با درمان دگزامتازون، القا شد. وقتی فاکتور تغییر رشد B1 به دگزامتازون به کاشت سلول SV-HFO اضافه شد، فرایند معدنی سازی فرو نشانده شد وبیان تترانکتین، وآلکالن فسفاتاز،به صورت دوز وابسته به میزان پایین تنظیم شد.این نتایج نشان می دهد که بیان تترانکتین، در این سلولهای استئوبلاستیک توسط دگزامتازون و 1 [/ -TGF تنظیم می شود و بیان ترترانکتین به شدت با روند کانی سازی ارتباط دارد.

1.مقدمه

فاکتور تغییر رشد B1، یک عامل چند کاره است که بر الگوی تکثیر، تمایز و بیان ژن از چندین سلول، از جمله استوبلاست تاثیر می گذارد.استخوان منبع فراوانی از TGFofll [1،2]است و مطالعات در آزمایشگاه نشان داده است که TGF-fll یک تنظیم کننده معمول در تشکیل استخوان است. در سیستم های کشت سلولی استئوبلاست، -TGF fll روند فرایند کانی سازی و بیان مارکر های استئوبلاستیک را شامل می شود، از جمله آلکالن فسفاتاز، (I) 1 ~ c پروکولاژن، استئوتونپین، استئونکتین و استئوکالسین [22-22].

اخیرا یک سلول استوبلاستیک انسان، SV-HFO،را بوسیله فنا ناپذیر کردن سلول معمولی جنین انسانی با ویروس 40 سایمن (SV-40) تولید کرده ایم.این سلول ها ویژگی های مورفولوژیکی و فراصوتی مشخصه های استئوبلاست ها را داشتند و سطوح پایین نشانگرهای استئوبلاستیک مانند آلکالن فسفاتاز و استئوکالسین را تولید کردند.سلول های SVH FO استئوبلاستیک به عوامل استئوتروپیک 1-، 25-دی هیدروکسوییتامین D3، اسید رتینوئیک و -TGF

flj پاسخ دادند [24].اثر مستقیم TGF-fll روی سلولهای SV-HFO شامل کاهش مقدار قلیایی فسفاتاز و استئوکالسین بود [24]. اخیراًبیان کردیم که سلولها تحت درمان با گلوکوکورتیکوئیدها قرار می گیرند [25].در مطالعه اخیر، این استوبلاستیک های انسانی را در سیستم مدل آزمایشگاهی ، برای شروع تجزیه و تحلیل تنظیم بیان ژن تترانکتین، در طول معدنی سازی، به کار بردیم. تترانکتین پروتئینی است که از پلاسما به دست آمده است که در استخوان در یک زمان و فضای هماهنگ با کانی سازی در محیط آزمایشگاهی و در بدن انسان کشف شده است. گزارش کردیم که درمان دگزامتازون با بیان تترانتکین و ار ان ای، القا شده است و TGF-fl~ مانع از معدن سازی و تلقین تترانکتین آر ان ای شده است.

2.مواد و روش ها

2.1. کشت سلول

سلول های انسانی SV-HFO استئوبلاستی ایجاد شده، کلون شده و نگهداری شده است .همانطور که قبلا در 37 درجه سانتیگراد در یک رطوبت هوا 95٪ هوا و 5٪ CO2 [23] توصیف شده است. سلول ها در قطعه ۱۴ در تراکم سلولی 1 4 10 x سلول / cm2 در ظروف کشت 35 یا 100 میلیمتر(Corning Glass Works، کورنینگ، نیویورک) در c-min-medium ضروری،(c ~ MEM؛ آزمایشگاه GIBCO، جزیره گرند، نیویورک) کاشته شده، و با 10٪ سرم جنین گاوی FBS)، HR Bioscience، Lenexa، (KS، 10 و mM fl- glycerophosphate (FL-GP؛ سیگما، سنت لوئیس، MO)، 100 U / ml پنی سیلین و 100 / Ig / ml استرپتومایسین (آزمایشگاه های زیستی ایمونولوژیک،Fujioka، ژاپن) و 20 میلی مولار N-2-هیدروکسی اتیل پیپرازین-N'-اتان اسید سولفونیک (Hepes؛ سیگما) تکمیل شده اند. پس از 6 روز کشت، سلول ها به همپیوندی رسیده و دگزامتازون (10 -6 M؛ Orgadrone، Sankyo، Tokyo، Japan) به این سلول ها به تنهایی یا همراه با TGF-fll (TGF-fl6 Sigma حاصل از پلاکت انسان) در غلظت های مختلف (0.5 یا 5 نانوگرم در میلی لیتر) اضافه می شود. کشت برای 7 یا 21 روز دیگر نگهداری می شود و سپس توسط von Kossa رنگ آمیزی

وبرای اندازه گیری های مواد معدنی، کلسیم (کلسیم) و فسفات (P) مورد بررسی قرار میگیرد و برای جداسازی کل RNA مورد استفاده قرار میگیرد. محیط کشت کامل هر دو روز تجدید میشود.

2.2. شناسایی هیستوشیمی مواد معدنی

سلولها با PBS شستشو داده شدند، در یک و نیم ساعت فرمالین 20٪ ثابت شدند رنگ آمیزی توسط تکنیک von Kossa برای تشخیص مواد معدنی انجام شده است[28].

2.3. تشخیص بیوشیمیایی مواد معدنی

سلول ها با محلول نمکی متعادل Hank (pH 7.4) و مواد معدنی ذخیره شده در ماتریکس خارج سلولی با 0.8 میلی لیتر اسید پرکلریکیک ۵ درصد در دمای 4 درجه سانتیگراد استخدام شده است.

مقدار کلسیم توسط اسپکتروفتومتریک با استفاده از روش مجتمع شدهٔ O-CRESOLPHATTE مجتمع شد (29) و مقدار P با روش eolorimetric از Chen و همکاران تعریف شد. [30].

2.4. جداسازی RNA و تجزیه و تحلیل نقطه شمالی

کل RNA ازبافت ها با استفاده از گوانیدین تک مرحله ای جدا شده و روش استخراج فنول کلروفرم تیو سینات [31] با تغییراتی که شرح داده شده است، می باشد [32]. برای الکتروفورز، 10 ¢ tg کل RNA در یک ژل آگارز 1٪ حاوی 0،5 میلی گرم اتیل بوریدیم بر میلی لیتر جدا شد.RNA به صورت مویرگی بر روی غشاهای نایلون (Hybond-N، Amersham، Amersham، UK) × سدیم سیترات سدیم 20 (SSC)و نور cross-linkedwith UV برداشته شده است.

کاوش های DNA انسانی به صورت زیر است:

-پروکولاگن که توسط پروفسور یاسکو کشیهرا (بخش تحقیقات بایوسیگنال موسسه متروپولیتن جئوناتولوژی توکیو)- استئوکالسین [34] توسط دکتر شینتارو نومورا (گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه اوزاکا)، آلکالن فسفاتاز و TGF-fll از مجموعه آمریکایی تایپ کالچر و تترانکتین انسانی. این کارواش ها برچسب p32 خورده‌اند که از بسته ی سیستم DNA چند منظوره استفاده کرده اند. این بلوک ها در محلول حاوی 50٪ فرمامید، 0.9 M NaC1،

(pH 7.4) 0.1M NaPO4، 0.1٪ سدیم داودسیل سولفات (SDS)، DNA 10 pg / ml اسپرین و محلول 5 × دوناردت در دمای 42 درجه سانتیگراد برای 4 ساعت وسپس در یک شب در دمای 4 درجه سانتیگراد در همان محلول p32 هیبریده شده اند.غشاها در معرض فیلم تشخیصی کداک (Eastman Kodak، Rochester، NY) و یک تصویربرداری و با استفاده از آنالیزور BAS 2000 Bioمورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند(Fujix، Tokyo، Japan).

2.5.تجزیه و تحلیل اماری

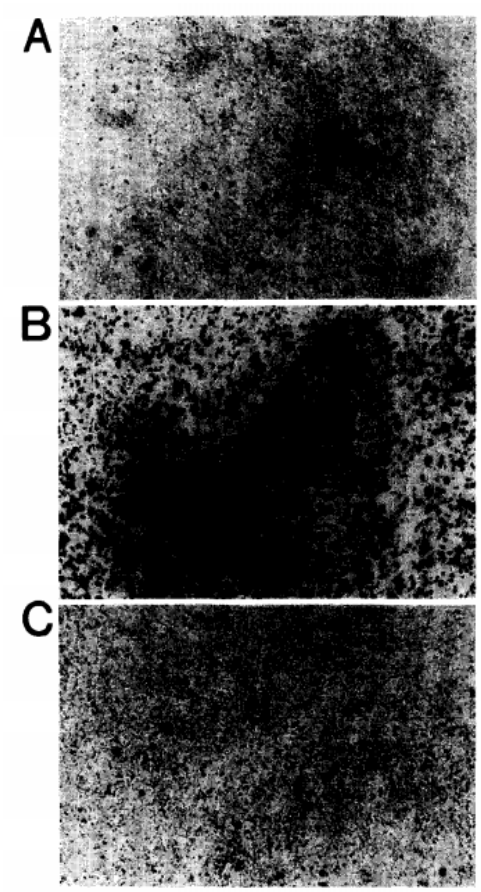
داده ها از نظر آماری با استفاده ازT تست دو طرفه ناهمگن تجزیه و تحلیل شده اند. همه داده ها میانگین ۴ بخش متفاوت را نشان می دهند.

3. نتایج

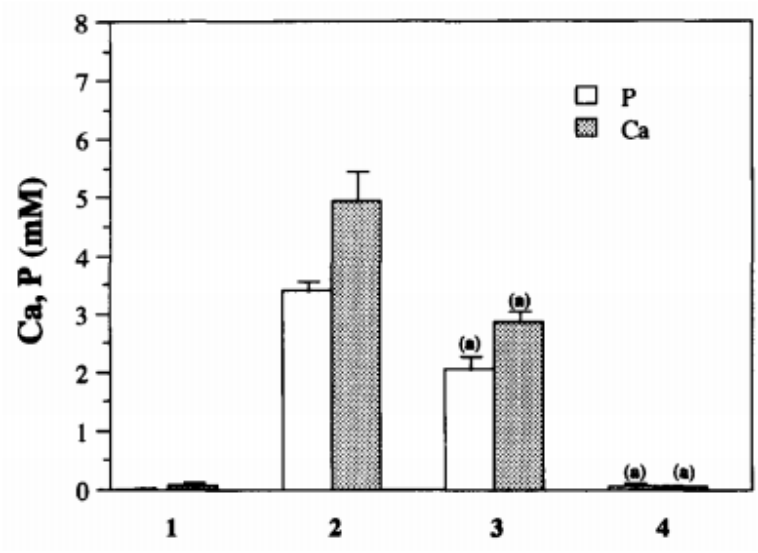
خطوط سلول‌های استوبلاستیک انسانی،SV-HFO ، معدنی سازی در آزمایشگاه تحت درمان با گلوکوکورتیکوئید، و همچنین دگزامتازون را مورد آزمایش قرار می دهد. همانطور که رنگ کردن برای مواد معدنی توسط Kossa،نشان داده شده است (شکل A.B۱). هنگامی که سلول های مخلوط SV-HFO به مدت 21 روز در حضور دگزامتازون وTGF-flx (پنج نانوگرم در میلی لیتر) رشد کرد، مهار شدید معدنی سازی مشاهده شد (شکل C1). اثر مهارکننده ی TGFfll ، با اندازه گیری مقدار کلسیم (کلسیم) و فسفات (P) ذخیره شده، اندازه گیری شد و به میزان وابسته به دوز یافت شد.همانطور که در شکل 2 نشان داده شده است افزودن 0.5 نانوگرم در میلی لیتر TGFfit به کشت باعث کاهش مقدار کلسیم و پتاسیم به میزان 30٪ (P <0.001) شده و در حالی که 5 نانوگرم در میلی لیتر TGF-fll باعث مهار تقریبا کامل P <0.001) و رسوب Ca و Pشده است.

تأثیر دگزامتازون و TGF-fl در بیان یک سری پروتئین نشاندار استخوان توسط سلولهای استئوبلاستیک SV-HFOبه وسیله نقطهی شمالی مورد بررسی قرار گرفت (شکل A3، B). سطح بیان mRNA آلکالن فسفاتاز ناشی از درمان با دگزامتازون با استفاده از TGF-flj درغلظت هر دو 0.5 و 5 نانوگرم در میلی لیترمی باشد (شکل A3). در حالی که سطح بیان پرولاکلین q (I)0، استئوکالسین و TGF-fll اندوژن در سلولهای درمان شده با دگزامتازون،

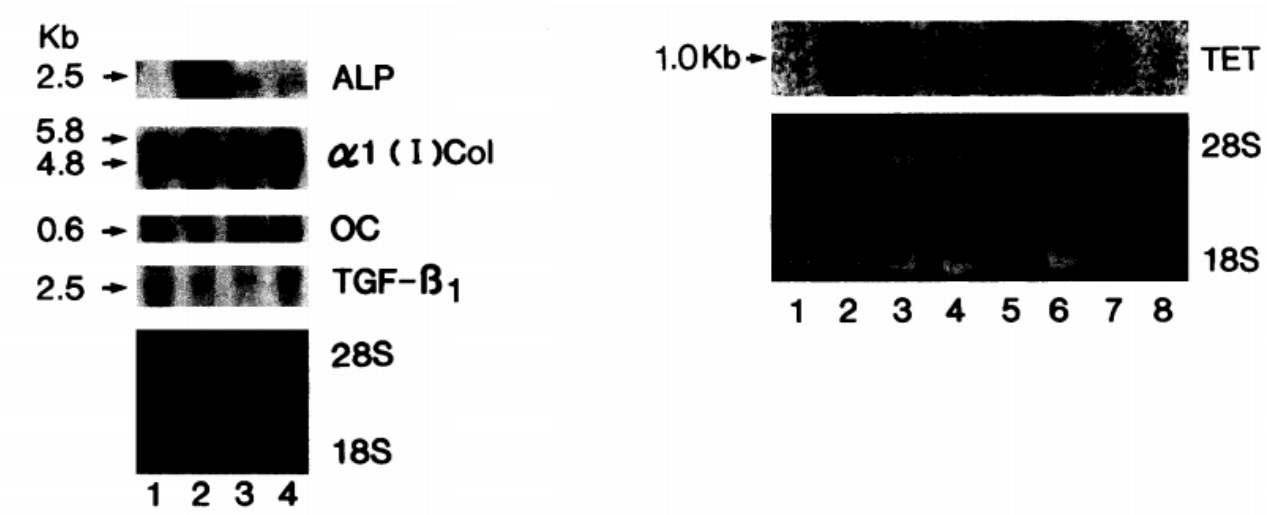
توسط TGF-fll تأثیری نداشت (شکل A3).پس از آن، بیان تنترانکتین، پروتئینی که اخیرا نقش بالقوه ای در معدنی سازی بازی کرد، مورد بررسی قرار گرفت [27].بیان mRNA تترانکتین بوسیله افزودن دگزامتازون (M 6-10) به بافتهای سلولی بوجود آمد (شکل B3، cf خطوط 1 با 2 و خطوط 5 با 6) .در کشت های درمان شده با دگزامتازون و 0.5 نانوگرم در میلی لیتر TGF-fll به مدت 7 روز، mRNA تترانکتین موجود بود (شکل B3، خط 3)، در حالی که بعد از 21 روز قرار گرفتن در معرض هر دو ترکیب، هیچ تتراکتین mRNA ای را نمی توان تشخیص داد (شکل B3، خط 6).هنگامی که دوزهای بالاتری از TGF-fll(پنج نانوگرم در میلیلیتر) به کار گرفته شد، تزریق mRNA تترانکتین به طور کامل، در هر دو نقطه زمانی لغو شد (شکل B3، خطوط 4 و 8)، و این نشان داد که اثر بازدارنده ی TGF-fll ،دگزامتازون القا شده به mRNA تترانکتین،وابسته به دوز و زمان بود.



شکل 1



شکل 2



شکل 3

4. بحث و گفتگو

در این مطالعه نشان دادیم که بیانmRNA تترانکتین، در طی معدنی سازی ناشی از دگزامتازون سلول استئوبلاستی انسان ،SVHFO ، در شرایط آزمایشگاهی تنظیم شده است.

این اثر القایی دگزامتازون بر بیان تترانکتین توسط TGF-fll با یک روش وابسته به دوز مهار شده است. تغییرات بیان mRNA تترانکتین با تغییرات در بیان ژن آلکالن فسفاتاز و فرایند معدنی سازی برابر شده است.نتایج ما بینش

جدیدی را در تنظیم احتمالی بیان تترانکتین طی معدنی سازی در استئوژنز ارائه می دهد و نشان می دهد که بیان تترانکتین به شدت با فرایند معدنی سازی ارتباط دارد.

شناختن نوسان فنوتیپ استئوبلاستیک در توجه به نقش مهم آن، به عنوان مثال، تشکیل استخوان جدید در طول شکستگی استخوان و نیز حفظ استخوان های موجود برای جلوگیری از پوکی استخوان، مورد توجه است [2].علاوه بر این، سلول های کارسینوما اثر متفاوتی بر متابولیسم استخوانی، از جمله تشکیل متاستاز استئولیتیک و استئوسکلروز دارند [36].واضح است که خانواده ژن عالی TGF-fl ،نقش مهمی را برای سلول های استئوبلاستیک سلولی ایفا می کند تا بتواند کاتالوگ کامل فنوتیپ های آن را در طول استیوژنزیس نشان دهد.در سیستم های مختلف تجربی برای مطالعه تشکیل استخوان، نتایج متناقضی در مورد اینکه آیا TGF-fll باعث افزایش یا مهارتشکیل ماتریکس استخوان، معدنی سازی و بیان پروتئین های نشاندار استخوان می شود، به دست آمده است.این امر تا حدی با تفاوت در منبع و نوع سلول ها، مرحله بلوغ استئوآرتریت، شرایط کشت و حضور سیتوکین های دیگر و گیرنده های آنها توضیح داده شده است.سیستم سلولی مورد استفاده در مطالعه حاضر شامل یک سلول استئوبلاستی انسان (SV-HFO) مشتق شده از SV-40 [23] است که تحت تمایز قرار می گیرد و پس از درمان با دگزامتازون بوسیله ی معدنی سازی اثبات شده است [25].نتایج ماحاکی از آن است که TGF-fl- مهار بیان و معدنی سازی آلکالن فسفاتاز مطابق با مطالعات قبلی است که نشان می دهد TGF-fll به عنوان بازدارنده ی تشکیل استخوان و معدنی سازی ندول های استخوانی در بافت استئوبلاست است.[8-10،13،37].برخی از مدل های نمایشگاهی تولید شده است و بارها نشان داده شده است که تزریق TGF-fl باعث ایجاد استخوان شده است [4-7]. اگرچه تا زمانی که تزریق TGF-fl متوقف نشده است تشکیل استخوان اندوکوندرال رخ نداده است. بر اساس تمام آزمایشات آزمایشگاهی و درون سلولی انسان، بعضی از نویسندگان بیان می کنند که اگرچهTGF-fll تکثیر، تمایز و سنتز ماتریکس خارج سلولی سلولهای استخوانی، را آغاز می‌کند، TGF-fll ممکن است مراحل بعدی osteogenesis یعنی معدنی سازی را در واقع مهار کند یا کمتر درگیر شود. پاسخ های بیولوژیکی به TGF-fl می تواند توسط محصول ژن رتینوبلاستوما [38] واسطه شود،

که به آنتی ژن SV-40 T متصل می شود و بنابراین اثر بیان آنتیژن T توسط سلول SV-HFO برمسیر انتقال سیگنال TGF-fllنیاز به تجزیه و تحلیل بیشتر دارد.

مهار معدنی سازی سلول های SV-HFO با تزریق دگزامتازون توسط TGF-fll با بازدارندگی شدید بیان ژن تترانکتین همچنین فسفاتاز قلیایی همراه است. بر اساس مطالعات قبلی، این نشان می دهد که بیان تترانکتین به شدت با معدنی سازی ارتباط دارد. [27]. اگر چه عملکرد بیولوژیکی تترانکتین ناشناخته است، ولی به چهارمین دامنه پلاسمینوژن متصل می شود [25] و دارای همخوانی با لکتین های نوع C است که نشان دهنده وابستگی کلسیم به کربوهیدرات ها است [39،40].cDNA های انسان و موش کلون شده اند [35،41،42] و

ساختار ژن تترانکتین انسان تعیین شده است.هنوز اطلاعاتی در مورد تنظیم ژن تترانکتین موش یا انسان پیدا نشده است.ارتقا دهنده های برخی از ژن های مربوط به استخوان شامل یک سایت پیوند AP-L است و برای استئوکلسین نشان داده شده است که این سایت ممکن است اثر TGF-fl را به وسیله اتصال به مجموعه ی fos-jun، مورد واسطه قرار دهد. بنابراین، علاقه مند خواهد بود که تعیین کند که آیا ژن تترانکتین حاوی الگوهای نظارتی مشابه آنچه در سایر ژن های مرتبط با استخوان یافت می شود،می باشد. یکی دیگر از جنبه هایی که مستلزم بررسی بیشتر است، کشف اثر TGF-fll در بیان ژن تترانکتین در دیگر سیستم های مدل های استخوانی در آزمایشگاه و در سلولهای انسانی می باشد. در نتیجه، مطالعه ما اولین شواهد را ارائه می دهد که تنظیم ژن تترانکتین نتایج بیولوژیکی مهمی دارد.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی