تنظیم‌کنندهٔ کلیدی سلول‌های بنیادی:

miRNA

خانوادهٔ let-7

ESC سطوح پایینی از let-7 دارند که در انواع سلول های تمایز یافته و اکثر (اگر نه همه) سلول های بالغ، به شدت بیان می شود. تنظیم نشدن let-7 نیز با سرطان های متعدد مرتبط است. نشان داده شده است که سطوح Let-7g توسط LIN28، ژنی که به شدت در سلول های پرتوان بیان می شود، تنظیم می شود. این ژن پردازش Pre-let-7 به let-7 بالغ به واسطه Dicer را مهار می‌کند. فاکتورهای رونویسی پرتوان هسته، ژن LIN28 مرتبط با حفظ خودنوزایی و پرتوانی را فعال می کنند و در عین حال let-7g را سرکوب می کنند تا مانع تمایز شوند.

خوشهٔ miR-17-92

این خوشه به شدت در ESC بیان می شود و با تمایز کاهش می یابد و در کروموزوم 13 قرار دارد. این خوشه یک OncomiR شناخته شده است که سبب تکثیر سلولی را در چندین شکل سرطان می‌شود. این خوشه توسط c-Myc (مهار کنندهٔ دیگر microRNA ها مانند miR-15 و let-7) فعال می شود. گمان می‌رود miR-20a در تکثیر سلولی و مهار آپوپتوز در انتقال G1 به S نقش داشته باشد. نقش c-Myc همراه با Oct4، Sox2 و Klf4 در القای سلول های سوماتیک به سلول های بنیادی پرتوان القایی نشان می دهد که microRNA های مرتبط نقش کلیدی در تجدید سلول های بنیادی و پرتوانی دارند.

خوشهٔ miR-302-367

یکی دیگر از خوشه های microRNA ویژه ESC، خوشه miR302-367 است که نشان داده شده است که به شدت و به طور خاص در ESC تمایز نیافته بیان می شود. این خوشه که توسط کروموزوم 4 انسانی کدگذاری شده است، از 9 microRNA مختلف تشکیل شده است: miR-302a و *miR-302a و miR-302b و *miR-302b و miR-302c و *miR-302c و miR-302d و *miR-302d. فاکتورهای رونویسی ویژه ESC، Oct4، Nanog، Sox2 و Rex 1، تنظیم کننده‌های مثبت پروموتر miR-302-367 هستند. miR-302-367 تنظیم پس از رونویسی سایکلین D1 و Cdk4 را انجام می‌دهند که بر پیشرفت چرخه سلولی تأثیر می گذارد. miR-302-367 علاوه بر نقش در خود نوسازی و تکثیر، می‌تواند سلول ها را در حالت تمایز نیافته نگه دارد.

انتقال miR-302 ها به سلولی سرطانی انسان منجر به تبدیل سلول‌ها به حالت پرتوان می‌شود و نشانگرهای کلیدی ESC مانند Oct3/4، Sox2 و Nanog در آن بیان می‌شود. همچنین ژنوم آن بسیار دی متیله شده و مشابه ژنوم زیگوتیک بازبرنامه‌ریزی می‌شود. بیان بیش از حد miRNAهای اختصاصی ESC در سلول‌های سوماتیک با موفقیت سلول‌ها را به مرحله سلول‌های بنیادی تمایز زدایی کرد.

MicroRNAها

MicroRNAها (miRNAs) مولکول‌های کوتاه) RNAمعمولاً شامل 20-26 نوکلئوتید) غیر رمزگذار هستند که از DNA ژنومی تولید می‌شوند. در هسته، miRNA های رونویسی شدهٔ اولیه (pri-miRNAs) بریده شده و حالت لوپ (کیرهٔ مو) به خود می‌گیرند. سپس نوعی آنزیم RNase III به نام Drosha این لوپ‌ها را جدا کرده و پیش miRNA ها (pre-miRNAs) را تشکیل می‌دهند. پیش miRNA ها سپس توسط exportin-5 به سیتوپلاسم صادر می‌شوند و در نهایت توسط Dicer پردازش و بریده می‌شوند تا miRNA های بالغ تشکیل شوند. miRNA ها به عنوان تنظم‌کننده‌های پس از ترجمه و بیان ژن در گونه‌های مختلف دیده می‌شوند.

microRNAها همراه با خانواده پروتئین‌های Argonaute (Ago) بخشی از کمپلکس القا کننده خاموشی RNA یا به طور خلاصه RISC(RNA-induced silencing complex) را تشکیل می‌دهند که می‌تواند سبب تخریب شود، ترجمه رونوشت ژنی ژن‌های هدف را مهار یا فعال کند، فرآیندهای بیولوژیکی مانند تکوین، تقسیم سلولی، آپوپتوز، متابولیسم و سرطان را تنظیم می‌کنند. miRNA بالغ در کمپلکس RISC گنجانده می‌شوند تا با جفت شدن بازها با ناحیه ترجمه نشده ´3 (3´-UTR) بیان ژن را پس از رونویسی تنظیم کنند.

miRNA ها اغلب به صورت خوشه‌هایی در ژنوم کدگذاری می‌شوند. اعضای خانواده‌های miRNA دارای توالی‌های هومولوگ هستند، اما لزوماً از یک ناحیهٔ ژنومی رونویسی نمی‌شوند. تجزیه و تحلیل MicroRNA مشخص کرده که سلول‌های بنیادی جنینی و PSCها در مقایسه با سلول‌های سوماتیک تمایز یافته الگوی بیان miRNA متفاوتی دارند. به عبارتی سلول‌های بنیادی محتوای مجزایی از miRNA دارند. برای مثال سلول ESC انسان سرشار از خانوادهٔ miR-302 است.

خوشهٔ miR-290 و miR-371

خوشه miR-290 شامل شش میکروRNA است(miR-290 تا miR-295) و همه در سطوح بالایی در سلول های تمایز نیافته بیان می شوند. همچنین با تمایز سلول های بنیادی جنینی موش کاهش می یابد. هومولوگ انسانی خوشه miR-290 در کروموزوم 19 شامل miR-371 تا miR-373 و miR-373* است. این خانواده از microRNA ها نقش مستقیی در تنظیم پرتوانی و تمایز ESC دارند. این نقش با تنظیم منفی Oct4 از طریق هدف قرار دادن DNA سرکوبگر ایی ژنتیک آن، متیل ترانسفرازها (DNMTs) مانند ایفا می شود. اخیراً نشان داده شده است که هستهٔ تنظیمی رونویسی ES، متشکل از Oct4، Sox2 و Nanog ، از نظر فیزیکی با پروموتورهای این microRNA ها در ارتباط هستند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که این خوشه از طریق سرکوب مهارکنندهٔ Oct4، سبب پایداری پرتوانی می‌شود، که به نوبه خود بیان این خوشه را از طریق اتصال به پروموتر نشان می‌دهد. همچنین پیشنهاد شده است که خوشه miR-290-295 در رشد اولیه سلول های زاینده و اسپرماتوژنز نقش داشته باشد.

مکانیسم مولکولی

مکانیسم مولکولی در پس عملکرد سلول‌های پرتوان تعاملی پیچیده میان عوامل رونویسی و تنظم‌کننده‌های اپی‌ژنتیک و مسیرهای مختلف سیگنالینگ است. iPSC ها با بیان بیش از حد فاکتورهای رونویسی Oct4، Sox2، Klf4 و c-Myc تولید می‌شوند. شبکه رونویسی اصلی شامل Oct4، Nanog و Sox2 است. هر سه فاکتور رونویسی در ICM، اپی بلاست و ESCهای تمایز نیافته شدیدا بیان می‌شوند. اختلال در هر یک از این ژن‌ها در موش منجر به مرگ و میر زود هنگام جنینی می‌شود. c-Myc و Klf4 در برخی از رویکردهای برنامه‌ریزی مجدد استفاده می‌شوند ولی به نظر مایی‌رسد که بخشی از شبکه رونویسی اصلی در ESCها نیستند. در واقع Oct4 به تنهی هم قادر به برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های عصبی آکودرمی موش‌ها و انسان‌ها است.

MicroRNAها بخش جدایی ناپذیر از این شبکه تنظیمی هستند و در نگهداری، تکثیر و تمایز سلول‌های پرتوان نقش‌های اساسی دارند. در ادامه خواهیم دید که فاکتورهای رونویسی پرتوان در سلول های بنیادی ، به وضوح با گروه هایی از microRNA ها تعامل دارند. سیستم همکاری می‌کند تا ژن های دخیل در نگهداری سلول پرتوان را فعال و ژن‌های دخیل در تکوین و تمایز را سرکوب کنند. در واقع، microRNAهای خاص سلول های پرتوان سعی می‌کنند حالت پرتوانی خود را با مهار ژن‌هایی که به تمایز کمک می‌کنند یا ژن هایی که باعث خروج سلول‌ها از چرخه سلولی می‌شوند (معمولا محرکی برای تمایز سلول است) حفظ کنند.

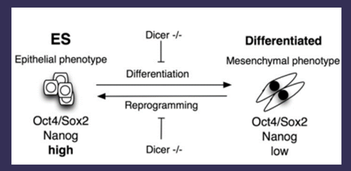
سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی، سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که می‌توانند به چند دودمان سلولی تمایز یابند. به طور کلی این سلول‌ها در 3 گروه طبقه‌بندی می‌شوند: سلول‌های بنیادی بالغ، سلول‌های بنیادی جنینی (ESC) و سلول‌های بنیادی پرتوان القایی(iPSC). نام‌گذاری سلول‌های بنیادی بالغ با توجه به بافتی که از آن منشا گرفته‌اند، انجام می‌شود؛ مانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC)، سلول‌های بنیادی خونساز (HSC)، سلول‌های بنیادی قلبی، سلول‌های بنیادی عصبی (NSC)، سلول‌های بنیادی اندوتلیال و غیره . ESCها پرتوان هستند که از سلول‌های بنیادی موجود در توده داخلی بلاستوسیست یا جنین در مرحله مرولا در بافت اپی‌بلاست بدست می‌آیند. iPSCها مستقیماً از طریق برنامه‌ریزی مجدد (reprogramming) سلول‌های سوماتیک تولید می‌شوند.

توانایی سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی پرتوان در تجدید و تمایز به انواعی از سلول ها، از جمله ویژگی‌های منحصر به فرد این نوع سلول هاست. سلول‌های بنیادی جنینی انسان (hESC) مشتق شده از توده سلولی داخلی جنین در حال تکوین هستند و می‌توانند به طور نامحدود تکثیر شوند. سلول‌های بنیادی پرتوان به دلیل توانایی در ترمیم و تمایز در پزشکی بازساختی استفاده فراوانی دارند.

اولین بررسی‌ها

اولین بررسی های اهمیت عملکرد microRNA در سلول‌های بنیادی در Danio، C. elegans، Drosophila و موش انجام شده است. در این جانداران اختلال در آنزیم‌های پردازشگر microRNA مانند Dicer منجر به نقص در تکثیر سلولی و رشد جنین می‌شود. در موش، انواع Dicer-null سبب مرگ جنین می‌شوند که نقش حیاتی این فاکتور را در رشد اولیه جنین نشان می‌دهد . با این حال، ESC موش فاقد Dicer زنده است، هرچند نقص‌هایی در تکثیر و تمایز این سلول دیده می‌شود. چرخه سلولی ESCهای Dicer -null با سلول‌های عادی متفاوت است؛ فازهای G_0 و G_1 در نوع ناقص طولانی‌تر است و می‌تواند بر فرآیندهای دیگر مانند تمایز تأثیر بگذارد. همچنین افزایش نوترکیبی تلومراز و کاهش سطح متیلاسیون DNA و DNA متیل ترانسفرازها در دیگر سلول‌هایی با کمبود Dicer مشاهده می‌شود. نقص در متیلاسیون DNA منجر به خاموش شدن ژن پرتوان Oct4 می‌شود و به دنبال آن عدم تمایز اتفاق می‌افتد.



تمایز سلول‌های بنیادی جنینی. سلول‌های بنیادی جنینی توسط یک شبکه رونویسی شامل فاکتورهای رونویسی Oct4، Sox2 و Nanog تمایز می‌یابند که در بسیاری از انواع سلول‌ها در طول تمایز تنظیم می‌شوند. فرآیند معکوس (برنامه‌ریزی مجدد) را می‌توان با بیان اجباری برخی از این عوامل در ترکیب با فاکتورهای دیگری مانند c-Myc و Klf4 آغاز کرد. به نظر می‌رسد که هر دو فرآیند به microRNAها متکی هستند، زیرا حذف Dicer هر دو فرآیند را مهار می‌کند.

شواهد محکم تری مبنی بر ضرورت microRNA در برنامه‌ریزی مجدد سلول و تمایز ESC از کمبود DGCR8 در ESC بدست می‌آید. DGCR8 یک پروتئین متصل شونده به RNA است و در فرایند پردازش microRNA ها نقش دارد. اگر این پروتئین در ESC موش حذف شود، فنوتیپی شبیه به موش با کمبود Dicer دیده می‌شود؛ کاهش تکثیر سلولی، تنظیم غیرطبیعی چرخه سلولی و نقص در تمایز. ESC فاقد DGCR8 در فاز G_1 متوقف می‌شود. این اتفاق نشان می‌دهد که microRNA در گذر از فاز G_1 به S چرخه سلولی ES نقش دارد. این سلول‌ها نمی‌توانند به طور کامل بیان ژن‌های مربوط به برنامه‌ریزی مجدد (مانند Oct4، Rex1، Nanog و Sox2) را خاموش کنند و در نتیجه تمایز در این سلول‌ها کاهش می‌یابد. این مطالعات نقش تنظیمی ضروری microRNAها را در تکثیر ESC، چرخه سلولی و تمایز تایید می‌کنند.

برنامه‌ریزی مجدد (Reprogramming)

در این فرآیند یک سلول سوماتیک تمایز یافته دوباره برنامه‌ریزی می‌شود و به حالت پرتوان باز می‌گردد یا حتی در شرایط خاص ممکن است یک سلول جدید ایجاد کند. برنامه‌ریزی مجدد شامل تغییرات سریع و مشخص در فنوتیپ سلولی است که معمولاً شامل افزایش تکثیر، انتقال از طریق فنوتیپ اپیتلیال، تغییر در متیلاسیون DNA و کاهش آپوپتوز است. بسیاری از miRNAهایی که در PSCها به شدت بیان می‌شوند، مسبب این تغییرات هستند.

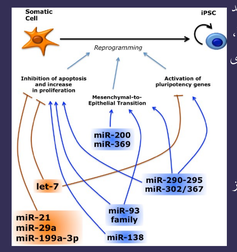
تبدیل سلول های دیگر به پرتوان

علاوه بر استخراج ESCها از ICM جنین‌های اولیه، سلول‌های پرتوان می‌توانند با بیان بیش از حد فاکتورهای رونویسی Oct4، Sox2، Klf4 و c-Myc نیز تولید شوند. سلول‌های سوماتیک را می‌توان توسط این عوامل به سلول‌های بنیادی پرتوان القایی برنامه‌ریزی کرد. مطالعات تاکنون نشان داده است که القای پرتوانی توسط تنها miRNAها هم امکان پذیر است. شایان ذکر است، بازده برنامه‌ریزی مجدد توسط miRNAها در مقایسه با روش معمول با استفاده از Oct4، Klf4، Sox2 و c-Myc دو برابر قدرتمندتر است.

بیان بیش از حد خانواده miR-290 یا خانواده miR-302 باعث افزایش کارایی برنامه‌ریزی مجدد می‌شود. miRNAها می‌توانند به طور شگفت انگیزی سلول‌های سوماتیک را مستقیماً به iPSCها برنامه‌ریزی مجدد کنند. به عنوان مثال، خوشه miR-302 می‌تواند سلول‌های سرطانی پوست انسان را به حالت پرتوان برنامه‌ریزی مجدد کند . همچنین خانواده miR-200c، miR- 302 و miR-369 دو رشته ای بالغ می‌تواند سلول‌های سوماتیک موش و انسان را به حالت‌های پرتوان برنامه‌ریزی مجدد کند.

مقابله با سرطان

در مقابل افزایش تولید PSCها، برخی از خانواده‌های miRNA(مانند miR-34، miR- 21 و miR-29a) در برنامه‌ریزی مجدد مداخله می‌کنند. مهار این miRNAها منجر به افزایش کارایی برنامه‌ریزی مجدد می‌شود. MEFها با نقص ژنتیکی miR-34aکارایی بالاتری در برنامه‌ریزی مجدد نشان می‌دهد که خود بیانگر تداخل miR-34a در این فرایند است. این miRNA با سرکوب بیان Nanog، Sox2 و N-Myc، برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های سوماتیک را سرکوب می‌کند. CSCها را می‌توان حاصل از فرآیند تمایز زدایی سلول‌های سوماتیک در نظر گرفت. این فرایند مشابه برنامه‌ریزی مجدد سلول است. بنابراین برای سرکوب تشکیل CSC، پیشنهاد شده است از miRNAهایی استفاده شود که می‌توانند برنامه‌ریزی مجدد سلولی را کاهش دهند.



نام و نام خانوادگی: محرو حاجی محمدی
شمارهٔ دانشجویی: 610498118
رشته: زیست فناوری
استاد: جناب آقای دکتر زیملی
آبان 1400

References

1. MicroRNAs in pluripotency, reprogramming and cell fate induction (2013) - Patrick Lüningschrör, Stefan Hauser, Barbara Kaltschmidt , Christian Kaltschmidt 2. MicroRNA in pluripotent stem cells (2010) - Uma Lakshmipathy, Jonathan Davila, and Ronald P. Hart 3. MicroRNA biogenesis and their functions in regulating stem cell potency and differentiation (2016) - Shaomian Yao 4. The functions of microRNAs in pluripotency and reprogramming (2019) - Trevor R. Leonardo, Heather L. Schultheisz, Jeanne F. Loring 5. microRNAs: important regulators of stem cells (2017) - Na Li, Bo Long, Wei Han , Shumin Yuan and Kun Wang