

تأثیر EGF در محیط دو مرحله‌ای کشت آزمایشگاهی رویان گاو بر نرخ تولید بلاستوسیست

آزاده زحمتکش^۱، محمود امیری رودبار^۲، مرتضی دلیری جوپاری^۳

¹ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، ² گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، ³ گروه بیوتکنولوژی دام و آبزیان، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیستفناوری، تهران، ایران

a.zahmatkesh@ag.iut.ac.ir: آزاده زحمتکش

حکیمہ

استفاده از فاکتور رشد اپیدرم (EGF) باعث افزایش نرخ بلاستوسیت در کشت آزمایشگاهی رویان گاو می‌شود. نیازهای تغذیه‌ای رویان پستانداران طی نمو در مرحله‌ی پیش از لانه‌گزینی تغییر می‌کند که با تغییرات در ترشحات دستگاه تولید مثلی ماده هم‌مان است. بنابراین برای نمو بهینه‌ی رویان‌های پستانداران استفاده از محیط‌های دو مرحله‌ای که با تغییر نیازهای تغذیه‌ای رویان‌ها در پیش از لانه‌گزینی متناسب باشد، پیشنهاد می‌شود. موضوع این تحقیق بررسی اثر EGF در محیط دو مرحله‌ای بر نرخ کلیواژ و نرخ تولید بلاستوسیست می‌باشد. تخمک‌ها از فولیکول‌هایی با قطر ۲-۶ میلی‌متر آسپیره شدند و وارد محیط بلوغ شدند و پس از ۲۴ ساعت، تخمک‌های بالغ وارد محیط لقاح شدند. تخمک‌های بارور شده‌ی احتمالی در دو گروه تیماری از محیط‌های کشت دوم مرحله‌ای جنین انسانی G1 و G2 یکی بدون EGF و دیگری دارای ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر EGF در هر دو مرحله به مدت ۹ روز برای به دست آمدن بلاستوسیت‌ها کشت داده شدند. آزمایش در سه تکرار صورت گرفت و نتایج به صورت درصد کلیواژ و نرخ تولید بلاستوسیست به ازای هر کلیواژ ثبت شد. بررسی آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و به کمک نرم‌افزار SAS و با رویه‌ی GLM انجام شد و مقایسات بر اساس LSMEANS و آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ صورت گرفت. EGF در محیط کشت دوم مرحله‌ای بر نرخ کلیواژ مؤثر نبود ($p > 0/05$) ولی بر نرخ تولید بلاستوسیست اثر معنی‌دار داشت ($p < 0/05$). این اثر می‌تواند به دلیل اهمیت تغذیه‌ای آن در سنتز پروتئین و یا تحریک تقسیمات میتوzی رویان باشد.

و ازهای کلیدی: EGF، کلیواز، یلاستوسیست، محیط کشت دومر حله‌ای

مقدمة

استفاده از EGF باعث افزایش نرخ بلاستوسیت در کشت آزمایشگاهی رویانهای گاوی می‌شود (۹). با توجه به اینکه بیان PDGF-b در اویداکت گاو به اثبات رسیده، به احتمال بسیار زیاد این فاکتورهای رشد، در رشد طبیعی رویان نقش دارند (۱۰). احتمالاً بین FGF و EGF در صورت افروده شدن به محیط کشت رویان، یک اثر تعاضی مثبت برای رشد رویان وجود دارد (۷). در یک آزمایش که اثر چندین فاکتور رشد مورد بررسی قرار گرفت مشخص شد که این فاکتورها اثر معنی‌داری بر رشد رویان‌ها در مراحل ابتدایی جنینی در محیط فاقد سرم دارند (۹). وجود mRNA گیرنده‌های EGF از مرحله‌ی دو سلولی تا بلاستوسیست در رویان گاو اثبات شده است، و نشان دهنده‌ی اثر مثبت در مراحل ابتدایی نمو رویان است. نیازهای تغذیه‌ای رویان پستانداران در طی نمو در مرحله‌ی پیش از لانه‌گزینی تغییر می‌کنند که با تغییرات در ترشحات دستگاه تولید مثلی جنس ماده از اویداکت به رحم هم‌زمان است. بنابراین برای نمو بهینه‌ی رویان‌های پستانداران استفاده از محیط‌های دو یا چند مرحله‌ای که با تغییر نیازهای تغذیه‌ای رویان‌ها در پیش از لانه‌گزینی متناسب باشد، پیشنهاد می‌شود (۳). با توجه به این یافته‌ها یک محیط کشت دو مرحله‌ای توسط گاردنر و لان برای رویان‌های انسان تهیه شد (۵). بلاستوسیستهای حاصل با استفاده از این محیط‌ها دارای کیفیت پهتری نسبت به روش هم‌کشتی با سلول‌های سوماتیک بودند (۶). این محیط دو مرحله‌ای بر اساس تغییرات نیازهای