بسم الله

وزارت علوم،تحقیقات وفناوری

دانشگاه دامغان
دانشکده زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد

زیست شناسی (گرایش سلولی-تکوینی)

جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست موش تازه متولد ۰-۳ روزه

توسط:
ناهید شیخانی

استاد راهنما :
دکترمریم حاج قاسم کاشانی

استادان مشاور:
دکترتقی لشکربلوکی
دکتر فریبا اسماعیلی

شهریور ماه ۱۳۹۰

وزارت علوم،تحقیقات وفناوری

دانشگاه دامغان
دانشکده زیست شناسی
پایان نامه ی کارشناسی ارشد

زیست شناسی (گرایش سلولی-تکوینی)

جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست موش تازه متولد ۰-۳ روزه

توسط:
ناهید شیخانی

استاد راهنما :
دکترمریم حاجی قاسم کاشانی

استادان مشاور:
دکترتقی لشکربلوکی
دکتر فریبا اسماعیلی

شهریور ماه ۱۳۹۰

به نام خدا

جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست موش تازه متولد ۰-۳ روزه

توسط :

ناهید شیخانی

پایان نامه ی :

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه ی کارشناسی ارشد

در رشته ی :

زیست شناسی (گرایش سلولی-تکوینی)

از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تأیید شده توسط کمیته پایان نامه با درجه ی:

دکتر مریم حاجی قاسم کاشانی استادیار رشته ی ....گرایش .....دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان(استادراهنما)
دکتر فریبا اسماعیلی استادیار رشته ی.....گرایش ..... دانشکده زیست شناسی دانشگاه شهرکرد(استاد مشاور)
دکتر تقی لشکربلوکی استادیار رشته .....گرایش.....دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان(استاد مشاور)
دکترمحمدتقی قربانیان استادیار رشته ی .....گرایش .....دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان (داور اول)
دکتر محمود اله دادی سلمانی استادیار رشته ی.....گرایش..... دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان(داور دوم)
دکترمهدی خورشیدی استادیار رشته ی.....گرایش.....دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان (نماینده تحصیلات تکمیلی)

شهریور ماه ۱۳۹۰

تقدیم به :

تمام کسانی که می کوشند تا گره از کلاف سردرگم کره ی خاکی گشوده شود ....

سپاسگزاری :

تشکر می کنم از:

از خدای قادر و توانا که به من هیجان زندگی و علم داد که بدون او هیچ یک از این دو ممکن نبود ...

از خانواده ام به خصوص مادر و پدر و برادر مهربانم که به من همه چیز دادند تا زندگی کنم و بیاموزم ...

از همسر عزیزم به خاطر تلاش و کمک بسیار من در این کار ...

از استاد راهنمای عزیزم به خاطر راهنمایی و حمایت علمی ...

واز دوستان خوبم که وجودشان دلگرمی بود برای پیشرفت کارم ...

در آخر صادقانه از تمامی کسانی که در این طرح نقشی داشتند و سهواً نامشان از قلم افتاد، عذرخواهی می کنم.

چکیده

جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست موش تازه متولد ۰-۳ روزه

به وسیله ی:
ناهید شیخانی

مقدمه و هدف: کراتینوسیت های اپی درمی، به طور مکانیکی و آنزیمی از موش های تازه متولد ۰-۳ روزه جدا شده و روی سوبسترای کشت فیبرونکتین-کلاژن قرار گرفتند. سلول های بنیادی اپی درمی به وسیله ی اتصال سریع در بازه ی زمانی ۱۰ دقیقه روی این ماتریکس مرکب از فیبرونکتین و کلاژن انتخاب شدند، سلول های نچسبیده دور ریخته شدند و سلول های چسبیده در essential minimal eagle medium(EMEM) محیط کشت فاقد کلسیم ، حاوی ۰.۰۵ میلی مولار کلسیم، ۹٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۵۰٪ محیط کشت ثانویه (conditional medium)، فاکتور رشد اپی درمی (EGF) و کلراتوکسین کشت داده شدند. برای نشان دادن بنیادی بودن این سلول ها از آنالیز ایمونوسیتوشیمی بتا ۱- اینتگرین استفاده کردیم.

یافته ها: نتایج نشان داد که اتصال سریع سلول ها باعث ۵۰٪ خلوص آن ها می شود. با استفاده از این روش سلول های بنیادی بدون هیچگونه تغییری در ویژگی های سلولی به طور متوالی پاساژ داده شدند. سلول های بنیادی اپی درم بین فولیکولی نشان گر وِیژه ی این سلول ها را که بتا ۱- اینتگرین است، در سطح بالایی بیان کردند، که طبیعت بنیادی بودن آنها را نشان داد.

نتیجه گیری: این روش جدید، سلول های بنیادی خالص و زنده ای را به دست می دهد که می توانند برای پزشکی ترمیمی و سلول درمانی مورد استفاده قرار گیرند. ما توانستیم این سلول ها را با استفاده از روشی بهبود یافته جداسازی کرده و کشت دهیم. سلول های بنیادی اپی درمی، بر اساس نتایج ایمونوسیتوشیمی سطوح بالاتری از بتا ۱- اینتگرین را نسبت به سایر کراتینوسیت ها بیان کردند.

کلید واژگان: سلولهای بنیادی اپی درم بین فولیکولی، پوست نوزاد موش، جداسازی و تشخیص، کشت سلول

فهرست مطالب

فهرست مطالب ذ

فهرست شکل ها س

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱- مقدمه ۱

۱-۱ ساختار پوست ۲

۱-۱-۱ اپی درم ۴

۱-۱-۲ اپی درم بین فولیکولی ۶

۱-۱-۳ اپی درم فولیکولی ۸

۱-۱-۴ سلول های بنیادی اپی درم بین فولیکولی ۱۰

۱-۱-۵ سلول های بنیادی اپی درم فولیکولی ۱۳

۱-۱-۶ پلاستیسیته ی سلولی و کاربردهای درمانی سلول های بنیادی اپی درمی ۱۴

۱-۱-۷ نشان گرهای سلول های بنیادی اپی درم ۱۶

۱-۱-۸ تنظیم سرنوشت سلول های بنیادی اپی درم ۱۹

۱-۱-۸ تکوین اپی درم و ضمائم پوستی ۲۱

۱-۱-۱۰ درم ۲۶

۱-۱-۱۱ سلول های بنیادی موجود در درم ۲۷

۱-۲ پروسه ی التیام زخم ۲۷

۱- ۳ اهداف و فرضیات تحقیق ۲۹

۲ مواد و روش ها ۳۱

۲-۱ تهیه و نگهداری حیوان مورد آزمایش ۳۳
۲-۲ نمونه برداری ۳۳
مراحل تحقیق ۳۳
۲-۳ جداسازی و کشت فیبروبلاست های لایه ی درم نوزاد موش جهت تهیه ی محیط کشت ثانویه به روش کشت بافت ۳۳
۲-۳-۱ تهیه ی محیط رشد فیبروبلاست ۳۴
۲-۳-۲ تهیه ی محیط کم کلسیم EMEM ۳۵
۲-۳-۳ آماده سازی محیط کشت ثانویه جهت استفاده در محیط رشد کامل کراتینوسیت ها ۳۵
۲-۴ آنالیز RT-PCR ژن فیبریلین در فیبروبلاست های کشت داده شده جهت تأیید طبیعت این سلول ها ۳۵
۲-۴-۱ استخراج RNA کل از سلول های کشت داده شده ۳۶
۲-۴-۲ تعیین غلظت RNA استخراج شده ۳۷
۲-۴-۳ تهیه ی CDNA ۳۸
۲-۴-۴ واکنش PCR ۳۹
۲-۴-۵ الکتروفورز ژل آگارز ۴۱
۲-۴-۵-۱ روش تهیه ی بافر الکتروفورز ۴۲
۲-۴-۵-۲ روش تهیه ی محلول EDTA ۰.۵ مولار ۴۲
۲-۴-۵-۳ روش تهیه ی بافر سنگین کننده (۶X) ۴۲
۲-۴-۶ روش تهیه ی ژل آگارز ۴۳
۲-۵ جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست نوزاد موش ۴۴
۲-۵-۱ تهیه ی محیط رشد کامل کراتینوسیت ها ۴۵
۲-۵-۲ تیمار سرم با chelex جهت حذف کلسیم موجود در سرم ۴۵
۲-۵-۳ coating (پوشاندن) پلیت های ۶۰ میلی متری با استفاده از محلول فیبرونکتین و کلاژن نوع ۱ ..... ۴۶
۲-۶ تأیید بنیادی بودن سلول های اپی درمی کشت داده شده با استفاده از آنالیز ایمونوسیتوشیمی بتا ۱- اینتگرین ۴۶

۲-۷ تهیه ی section های ۵ میکرومتری از پوست و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین ۴۷
۲-۷-۱ ثبوت بافت (fixation) ۴۷
۲-۷-۲ فرآوری (processing) ۴۸
۲-۷-۳ رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین ۵۰
۲-۸ آنالیز ایمونوهیستوشیمی بتا ۱- اینتگرین به همراه DAPI به عنوان کنترل مثبت بر روی section های ۵ میکرومتری ۵۲
۳ نتایج ۵۴
۳-۱ جداسازی و کشت فیبروبلاست های درمال جهت تهیه ی محیط شرطی ۵۵
۳-۲ آنالیز مولکولی RT-PCR ژن فیبریلین در فیبروبلاست های کشت داده شده جهت تایید طبیعت این سلول ها ۵۶
۳-۳ جداسازی و کشت کراتینوسیت های اپی درم پوست نوزاد موش ۵۶
۳-۴ آنالیز ایمونوسیتوشیمی بتا ۱- اینتگرین جهت تایید بنیادی بودن سلول های اپی درمی جدا شده ۵۷
۳-۵ تهیه ی Section های ۵ میکرومتری از پوست و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین ۵۷
۳-۶ تهیه ی Section های ۵ میکرومتری از اپی درم و ایمونوهیستوشیمی بتا ۱-اینتگرین به همراه DAPI به عنوان کنترل مثبت ۵۷
۴ بحث و نتیجه گیری ۶۳
۴-۱ کشت سلول های بنیادی اپی درم ۶۴
۴-۲ علت استفاده از محیط کشت ثانویه ۶۶
۴-۳ انواع روش های جداسازی سلول های بنیادی اپی درم بین فولیکولی ۶۶
۵ فهرست منابع ۷۰

فهرست شکل ها

شکل ۱-۱ ساختار پوست و لایه های تشکیل دهنده ی آن ۳

شکل ۱-۲ ساختار اپی درم پوست ۶

شکل ۱-۳ فازهای مختلف سیکل مو ۹

شکل ۱-۴ مراحل تکوین لایه های اپی درم پوست ۲۵

شکل ۱-۵ لایه های تشکیل دهنده ی درم پوست ۲۶

شکل ۳-۱ کشت بافت اولیه ی فیبروبلاست های پوست نوزاد موش ۵۸

شکل ۳-۲ بیان ژن فیبریلین در فیبروبلاست های جدا شده از پوست نوزاد موش به روش ...۵۹

شکل ۳-۳ جداسازی و کشت سلول های بنیادی اپی درم پوست نوزاد موش ۶۰

شکل ۳-۴ تشخیص و شناسایی سلول های بنیادی اپی درم ۶۱

شکل ۳-۵ section های کنترل مثبت اپی درم ۶۲

فصل اول

مقدمه

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

مقدمه

اپی درم خارجی ترین لایه در بدن است که در تماس مستقیم با محیط خارج می باشد. اپی درم به طور ممتد تجدید شده و شامل کراتینوسیت هایی است که درجات متفاوتی از تمایز را نشان می دهند [۲,۱]. درون اپی درم، تکثیر در لایه ی قاعده ای اتفاق می افتد، جایی که کراتینوسیت ها به غشای پایه متصل شده اند. وقتی سلول ها متحمل تمایز می شوند، از طریق لایه های فوق قاعده ای مهاجرت کرده و در نهایت به عنوان سلول های مرده از سطح پوست ریزش می یابند[۳]. سه جمعیت از کراتینوسیت های قاعده ای و با استفاده از آنالیز کینتیک سلولی تعریف شده اند[۴]. سلول های بنیادی[۱]، سلول های تقسیم شونده ی گذرا[۲] و سلول های post-mitotic. سلول های بنیادی اپی درم یک زیر جمعیت کوچک از سلول های نسبتاً خاموش slow-cycling هستند[۵]، که توسط ظرفیت خودتجدیدی، بیان بالای β۱-integrin و اتصال سریع به پروتئین های ماتریکس خارج سلولی[۳] تشخیص داده می شوند[۶]. سلول های بنیادی اپی درمی همچنین نقش مهمی را در بازسازی سلولی و التیام زخم بازی می کنند[۷]. سلول های بنیادی اپی درمی بین ۱ تا ۱۰٪ سلول های لایه ی قاعده ای را تشکیل می دهند که به روش جداسازی مورد استفاده، بستگی دارد[۸]. اعتقاد بر این است که سلول های بنیادی اپی درمی به صورت نامتقارن تقسیم می شوند که تبدیل به سلول های بنیادی دیگر و سلول های تقسیم شونده ی گذرا می شوند[۹]. سلول های تقسیم شونده ی گذرا پس از تعداد محدودی از تقسیمات سلولی، تمایز می یابند. آن ها سطوح پائین تری از β۱-integrin را بیان می کنند و آهسته تر از سلول های بنیادی به پروتئین های ماتریکس خارج سلولی متصل می شوند[۱۰]. جداسازی و تشخیص سلول های بنیادی اپی درمی مفروض، همچنان

[۱] Stem cells
[۲] Transit amplifying cells
[۳] Extra cellular matrix (ECM)

چالشی در بیولوژی سلولی و پزشکی است که به طور عمده مربوط به غیاب نشان گرهای سطح سلولی این سلول هاست. یکی از بهترین نشان گرهای سطح سلولی مطالعه شده در سلول های بنیادی اپی درمی، خانواده ی β۱-integrin هاست. بیان این پروتئین جهت تفکیک سلول های بنیادی اپی درمی و سایر کراتینوسیت ها مورد استفاده قرار می گیرد[۱,۱۱]. با این وجود، بخش عمده ی سلول های لایه ی قاعده ای در اپی درم، بیان این پروتئین را نشان می دهند. لذا روشی جدید برای جداسازی سلول های بنیادی اپی درمی باید کشف می شد. تلاش ها با استفاده از رنگ های متابولیک مانند رودامین ۱۲۳ انجام شد تا سلول های بنیادی را از سایر کراتینوسیت ها تفکیک کند[۱۲]. سلول های بنیادی اپی درمی همچنین از روی اندازه ی کوچک و granularity پائین قابل تشخیص هستند که با استفاده از پارامترهای نوری flow cytometer تأیید شده اند[۱۳]. همچنین نشان داده شده است که سلول های بنیادی اپی درم موش، قادرند دودمان های سلولی متعدد را طی تکوین تولید کنند[۱۴].

در این مطالعه، جداسازی و تشخیص سلول های بنیادی اپی درم بین فولیکولی از پوست موش های تازه متولد صورت گرفت. سلول های بنیادی مفروض توسط اتصال سریع به سوبسترای کلاژن نوع ۱ و فیبرونکتین انتخاب شده و در محیط رشد ویژه ی کراتینوسیت ها کشت داده شدند. سپس با استفاده از آنالیز ایمونوسیتوشیمی β۱-integrin ، سلول های بنیادی تشخیص داده شدند[۱۵].

۱-۱ ساختار پوست

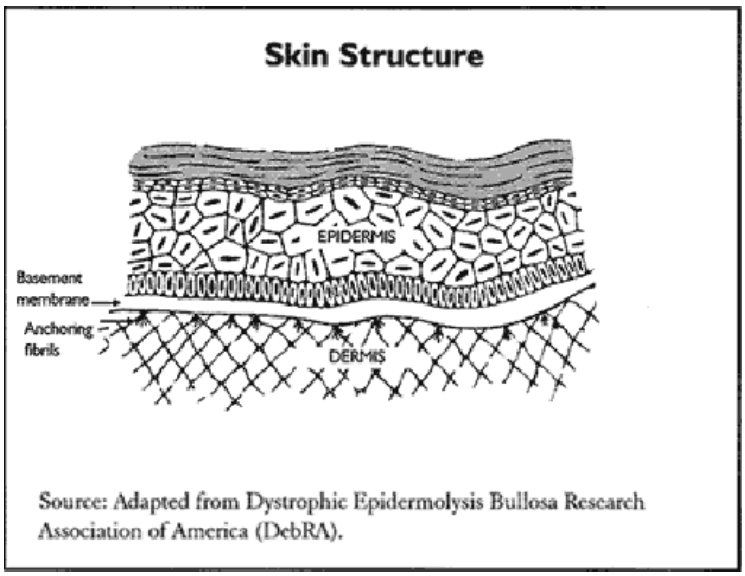
پوست[۴] و مشتقات آن سیستم پوششی[۵] را تشکیل می دهند. پوست، پوشش خارجی بدن را شکل می دهد و بزرگ ترین ارگان در بدن محسوب می شود، به طوری که ۱۵ تا ۲۰ درصد کل توده ی بدن را تشکیل می دهد. پوست شامل دو لایه ی اصلی است [۱۶].(شکل ۱-۱)

- اپی درم، از یک اپی تلیوم مطبق کراتینی تشکیل شده است که به طور ممتد رشد می کند، اما ضخامت طبیعی آن توسط پروسه Desquamation ، حفظ می شود. اپی درم از اکتودرم مشتق شده است.

[۴] Cutis, integument
[۵] Integumentary system

- درم زیرین، که از یک بافت همبند متراکم تشکیل شده است و در حمایت مکانیکی، کشیدگی و ضخامت پوست نقش دارد و توسط یک غشای پایه از اپی درم رویی تفکیک شده است. درم از مزودرم مشتق شده است [۱۷].

هیپودرم[۶] شامل مقادیر متنوعی از بافت چربی است که به صورت لوبول هایی که به وسیله ی دیواره های بافت همبند از هم جدا شده اند، سازمان یافته است. این لایه در عمق درم قرار گرفته است و معادل با یک لایه ی زیر پوستی است. در افرادی که تغذیه ی خوبی دارند و در مناطق سردسیر زندگی می کنند، بافت چربی می تواند کاملاً ضخیم باشد.



شکل ۱-۱ ساختار پوست و لایه های تشکیل دهنده ی آن

پوست و مشتقات آن، یک ارگان پیچیده را تشکیل می دهد که از انواع متفاوت سلول ها تشکیل شده است. تنوع این سلول ها و توانایی همکاری با هم، عملکردهای متعددی را باعث می شود که به فرد اجازه می دهد تا با محیط اطراف خود مواجه شود. از جمله این عملکردها می توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱) پوست به عنوان یک سد دفاعی عمل می کند که، ارگانیسم را در برابر عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک موجود در محیط خارجی محافظت می کند.

[۶] Hypodermis

۲) پوست، اطلاعات ایمونولوژیکی فراهم می کند که طی پروسه ی ارائه ی آنتی ژن به سلول های عامل مناسب در بافت لنفاوی به دست می آید.

۳) پوست به وسیله ی تنظیم دمای بدن و جلوگیری از هدر رفتن آب بدن، در هموستئاز مشارکت می کند.

۴) پوست اطلاعات حسی در مورد محیط خارج را به سیستم عصبی منتقل می کند.

۵) پوست عملکردهای اندوکرین[۷] را توسط ترشح هورمون ها، سیتوکین ها و فاکتورهای رشد انجام می دهد و مولکول های پیش ساز را به مولکول های فعال تبدیل می کند.

۶) به عمل دفع، از طریق ترشح اگزوکرین[۸] عرق و غدد آپوکرین[۹] کمک می کند.

مشتقات اپی تلیالی پوست[۱۰]، شامل ساختارهای زیر و تولیدات پوششی است:

- فولیکول مو[۱۱] و مو
- غدد عرق[۱۲]
- غدد چربی[۱۳]
- ناخن[۱۴]
- غدد پستانی[۱۵][۱۶]

۱-۱-۱ اپی درم

اپی درم، یک اپیتلیوم مطبق مکعبی، خارجی ترین لایه ی پوست است که از ۴ لایه ی متفاوت از کراتینوسیت ها تشکیل شده است [۱۸،۱۶،۱۳].(شکل ۱-۲)که به ترتیب از عمق به سطح شامل:

- لایه ی قاعده ای[۱۶]

---

[۷] Endocrine
[۸] Exocrine
[۹] Apocrine
[۱۰] Epithelial skin appendages
[۱۱] Hair follicle
[۱۲] Sweat(sudoriferous) glands
[۱۳] Sebaceous glands
[۱۴] Nail
[۱۵] Mammary glands
[۱۶] Stratum basale (germinativum)

به علت حضور سلول های فعال از نظر میتوز که همان سلول های بنیادی هستند، لایه ی زاینده نامیده شده است.

- لایه ی خاردار[۱۷]

به علت ظاهر ویژه میکروسکوپ نوری زوائد کوتاهی که از سلولی به سلول دیگر گسترده شده است به این نام خوانده می شود.

- لایه ی دانه دار[۱۸]

شامل گرانول های متعددی است که به شدت رنگ آمیزی می شوند.

- لایه ی سطحی[۱۹]

از سلول های کراتینی شده ی بی هسته تشکیل شده است[۱۶].

سلول های تشکیل دهنده ی اپی درم شامل ۴ گروه متفاوت می باشند:

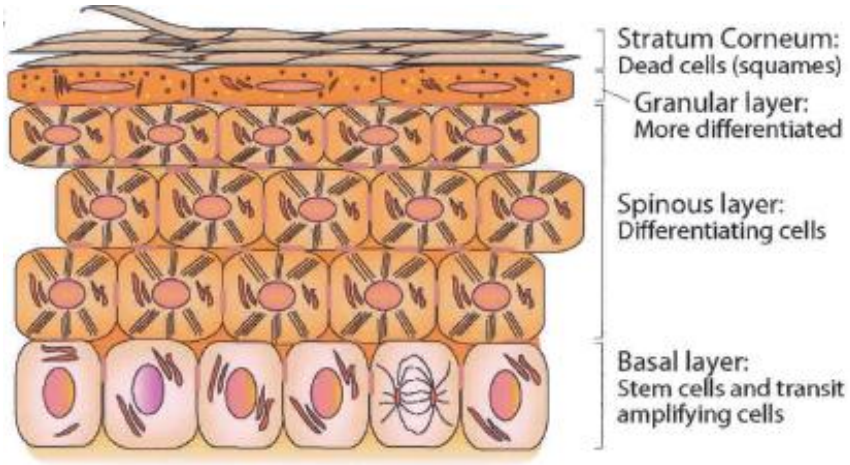
۱) کراتینوسیت ها، سلول اصلی تشکیل دهنده ی اپی درم

۲) ملانوسیت ها، دارای منشأ ستیغ عصبی[۲۰] بوده و در لابه لای سلول های لایه ی قاعده ای پراکنده هستند.

۳) سلول های مرکل، که نوعی سلول تغییر یافته ی اپی درمی می باشند و در مناطقی که حس قوی تر است، فراوان ترند.

۴) سلول های لانگرهانس، سلول های ارائه کننده ی آنتی ژن هستند [۱۶].

[۱۷] Stratum spinosum or prickle cell layer
[۱۸] Stratum granulosum
[۱۹] Stratum corneum
[۲۰] Neural crest



شکل ۱-۲ ساختار اپی درم پوست

۱-۱-۲ اپی درم بین فولیکولی[۲۱]

اپی درم بین فولیکولی پوست، یک اپی تلیوم مطبق مکعبی چندلایه است که در طول زندگی جاندار به طور ممتد تجدید می شود[۱۹]. لایه ی قاعده ای، تک لایه ای از سلول های کوچک، مکعبی و اندکی ستونی است. سلول های این لایه نسبت به سلول های لایه های بالایی دارای سیتوپلاسم کمتری هستند و نسبت هسته به سیتوپلاسم در آن ها بالا است. سلول های لایه ی قاعده ای از طریق اتصالات دسموزومی به سلول های مجاور و از طریق اتصالات همی دسموزومی به غشای پایه متصل می شوند. کراتینوسیت های جدیدی که توسط تقسیمات سلولی این لایه به وجود می آیند به سمت لایه های بالایی حرکت می کنند. این پروسه زمانی پایان می یابد که سلول در حال تقسیم تبدیل به یک سلول بالغ کراتینی می شود که در نهایت از سطح پوست ریزش می یابد[۱۶].

اپی درم بین فولیکولی، هموستئاز را توسط تکثیر کراتینوسیت ها در لایه ی قاعده ای که به غشای پایه ی زیرین متصل شده اند، حفظ می کند. وقتی سلول های لایه ی قاعده ای از غشای پایه جدا می شوند، از سیکل سلولی فاصله گرفته و برنامه ی تمایز نهایی را آغاز می کنند تا تدریجاً به سطح پوست نزدیک شوند. به دنبال آغاز برنامه ی تمایزی کراتینوسیت ها طی مراحل متفاوت، لایه های مجزای اپی درم شکل می یابد. جایگزینی بخش تمایزی بستگی به تکثیر زیر جمعیتی از سلول ها

[۲۱] Interfollicular epidermis

در لایه ی قاعده ای دارد با نام سلول های بنیادی[۲۲]. نحوه ی تقسیم سلول های بنیادی در لایه ی قاعده ای از نوع نامتقارن می باشد. مدارک خوبی وجود دارد برای تأیید حضور جمعیت سلول های بنیادی مجزا درون اپی درم بین فولیکولی. مطالعات genetic labelling نشان داد، در حالی که سلول های بنیادی چند توان[۲۳] در منطقه ی bulge فولیکول مو، ترمیم فولیکول مو را حمایت می کنند، در حفظ اپی درم بین فولیکولی نقشی ندارند. علاوه بر این، حذف سلول های bulge در یک مدل موش transgene منجر به فقدان همه ی ساختارهای فولیکول مو می شود، درصورتی که هیچ گونه تغییری در اپی درم بین فولیکولی ایجاد نمی شود. تحریک سلول های بنیادی اپی درمی[۲۴] با سیگنال های مناسب مزانشیمی، تمایز به کراتینوسیت های لایه های فوقانی و یا سلول های چربی[۲۵] را تحریک می کند، لذا نشان می دهد که سلول های بنیادی اپی درمی قادرند به دودمان های متعدد پوست موش تمایز یابند. این امر جذب سلول های بنیادی اپی درمی را برای کاربردهای درمانی و به عنوان مخزنی برای سلول های بنیادی بالغ در موارد کلینیکی دیگر افزایش می دهد. درک جایگاه سلول های بنیادی اپی درمی درون لایه ی قاعده ای اپی درم و تشخیص مولکول های نشان گر ارزشمند که جهت جداسازی و خلوص این جمعیت از سلول های بنیادی مورد استفاده قرار می گیرد، نیز امر مهمی است.

سال ها قبل، مطالعه روی اپی درم موش و انسان، نشان داد که سلول های بنیادی با طول عمر بالا[۲۶] که درون لایه ی قاعده ای قرار دارند، سلول های تقسیم شونده ی گذرا و پیش ساز در حال تمایزی را تولید می کنند که منجر به تولید ستونی از کراتینوسیت ها می شود که از یک سلول بنیادی قاعده ای تا سطح بافت کشیده شده است. یک چنین ساختاری، واحد تکثیری اپیدرم یا EPU[۲۷] نامیده شد. مدل EPU منجر به ایجاد این فرضیه شد که یک سلول بنیادی واحد، توسط دسته ای از سلول های تقسیم شونده ی گذرا در لایه ی قاعده ای به همراه لایه های سلولی تمایز یافته و لایه های فوق قاعده ای احاطه شده است و یک واحد فضایی مجزا را در بافت موش و انسان ایجاد کرده است. مدل EPU نشان می دهد که تعداد سلول های بنیادی کمی درون لایه ای

[۲۲] Stem cell compartment
[۲۳] Multipotent stem cells
[۲۴] Epidermal stem cells (ESCs)
[۲۵] Sebocytes
[۲۶] Long- lived
[۲۷] Epidermal Proliferative Unit (EPU)

قاعدهای وجود دارد، به طوری که هر سلول بنیادی توسط یک niche، که همه ی سیگنال های مورد نیاز فعالیت و تجدید سلول های بنیادی را فراهم می کند، احاطه شده است. مدل EPU اخیراً توسط آزمایشات ردیابی دودمان که روی پوست دم موش صورت گرفته، به چالش کشیده شد، به طوری که نشان داده شد که یک جمعیت سلولی اجدادی متفاوت با ویژگی های مجزا درون اپی درم بین فولیکولی انسانی از سلول های بنیادی خاموش اولیه تا سلول های تمایز یافته تر و سلول های پیش ساز فعال شده وجود دارد. در in vivo، تفاوت های موجود در سطوح بیان نشان گرهای سلول های بنیادی، حضور جمعیت های مجزای سلولی که تأیید کننده ی مدل EPU است، را نشان می دهد[۱۹].

۱-۱-۳ اپی درم فولیکولی

مو و فولیکول های مو تقریباً تمام سطح بدن را پوشانده اند، اما در بعضی از مناطق بدن مانند جوانب و کف دست ها، جوانب و کف پاها، لب ها، و مناطق اطراف منافذ ادراری- تناسلی وجود ندارند. توزیع مو در بدن تا حد قابل توجهی تحت تأثیر هورمون های جنسی است. از جمله اثرات این هورمون ها در جنس نر، موهای ضخیم و تیره ی سطحی است که در دوران بلوغ شروع به رشد در ناحیه ی شرمگاهی می کنند و موهای زیر بغل که در هر دو جنس و در دوران بلوغ نیز شروع به رشد می کنند.

فولیکول مو، مسئول تولید و رشد مو می باشد. رنگ مو نیز مربوط به محتوا و نوع ملانینی می باشد که در مو وجود دارد.

فولیکول مو از لحاظ بافت شناسی به سه بخش تقسیم می شود :

- قیف[۲۸] : از بازشدگی سطحی فولیکول تا سطح بازشدگی غده ی چربی، که بخشی از کانال pilosebaceous است و مسیری است برای خارج شدن چربی.
- دهانه[۲۹] : از قیف تا سطح ورود عضله ی arrector pili امتداد دارد.

[۲۸] Infundibulum
[۲۹] Isthmus