بسم الله الرحمن الرحیم

۲۴۶۴

الحمد لله رب العالمین و صلی الله علی سیدنا محمد و آله الطاهرین

۱۳۸۷ /۲/ ۲۳

۹۶۴۷۷

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده پزشکی

رساله دوره دکتری (PhD) ایمنی شناسی

بررسی اثرسلول های توموری سرطان پستان (Human Breast Ductal Carcinoma) حرارت دیده در تمایز و فعالیت سلول های دندریتیک مشتق از سلول های بنیادی خون بندناف

نگارش

مرضیه ابراهیمی

استاد راهنما

دکتر زهیر محمد حسن

اساتید مشاور

دکتر سید محمد موذنی

دکتر جمشید حاجتی

۱۳۸۷ /۱۲/ ۲۳

آبان ۱۳۸۶

۹۶۴۷۷

دانشگاه تربیت مدرس

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم / آقای **مرضیه ابراهیمی** رساله دکتری واحدی خود را با عنوان: "بررسی اثر سلول های توموری سرطان پستان حرارت دیده در تمایز فعالیت سلولهای دندریتیک مشتق از سلولهای خون بندناف"
در تاریخ ۸۶/۹/۱۴ ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اصلی	جناب آقای دکتر زهیر صراف	استاد	
۲- استاد راهنمای دوم			
۳- استاد مشاور اول	جناب آقای دکتر سیدمحمد موذنی	استاد	
۴- استاد مشاور دوم	جناب آقای دکتر جمشید حاجتی	دانشیار	
۵- استاد ناظر	سرکار خانم دکتر نریمان مصفا	استاد	
۶- استاد ناظر	جناب آقای دکتر کامران علی مقدم	استادیار	
۷- استاد ناظر	جناب آقای دکتر احمد زواران حسینی	استاد	
۸- استاد ناظر	جناب آقای دکتر علی اکبر پورفتح اله	استاد	
۹- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	جناب آقای دکتر علی اکبر پورفتح اله	استاد	

آئین نامه پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه .چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی- پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر" دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) ، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته ..... است که در سال ۱۳۸۶ ..... در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی ..... مشاوره ..... از آن دفاع شده است."

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به" دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ٤: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ٦ : اینجانب مرضیه ابراهیمی دانشجوی رشته امنی سیاسی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی مرضیه ابراهیمی

تاریخ و امضا

۸۶/۱۰/۲

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگی: مرضیه ابراهیمی
تاریخ و امضاء:
۸۶/۱۰/۶

حالا که صدای سخن عشق در سراسر آینه می پیچد و آینه ها پر از انعکاس صدا می شوند؛ حالا که نمونه قابل باوری از آن همه عظمت در نمایی نزدیک در فضایی قابل لمس روبروی چشمان من قرار می گیرد؛

تنها حسی که مرا در برمی گیرد احساس عشق و غروری است که از داشتن شما نصیب من می شود.

پس این ناچیز را تقدیم می کنم به

به مادر عزیزم و پدر بزرگوارم

و

به خواهران و برادران مهربانم

ناهید ، محمد ابراهیم، مریم، مهدی و مصطفی

تقدیم به

استاد دانشمند و فرزانه

جناب آقای دکتر زهیر محمد حسن

که با زحمات خالصانه و بی شائبه شان در طول انجام این تحقیق، مرا از ارشادات وراهنمایی های پدرانه خویش بهره مند نمودند.

و به روح بزرگ جناب آقای دکتر سعید کاظمی آشتیانی

که راز جاودانه ماندن را به من آموختند

روحشان قرین رحمت الهی ، یادشان مستدام و راهشان پاینده باد.

سپاسگزاری

بارالها، تو راسپاس که توانم دادی با دلی روشن به عشقت و ضمیری آگاه به توانائیت، برای رضای تو در راه دانش گام نهم.

خدایا برای اندیشه ای سبز، قلبی پر عطوفت و اراده ایی پویا تنها به حکمت و کرم تو امیدوارم؛ باشد که یاد تو؛ وسیله و خواست تو؛ مایه موفقیتم گردد.

بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خویش را از اساتید محترم؛

- جناب آقای دکتر سید محمد موذنی و جناب آقای دکتر جمشید حاجتی اساتید محترم مشاور
- اساتید محترم گروه، جناب آقای دکتر احمد زواران حسینی، جناب آقای دکتر علی اکبر پورفتح الله و سرکار خانم دکتر معصومه ابتکار
- جناب آقای دکتر حسین بهاروند، مدیر محترم گروه سلول های بنیادی پژوهشکده رویان
- جناب آقای دکتر حمید گورابی، ریاست پژوهشکده رویان، آقای دکتر احمد وثوق دیزجی، معاون پشتیبانی و امور تخصصی پژوهشکده رویان و آقای دکتر عبدالحسین شاهوردی ،معاون آموزشی و پژوهشی پژوهشکده رویان
- سرکار خانم دکتر مهناز اشرفی و دکتر اشرف معینی، اعضاء هیات علمی پژوهشکده رویان
- کارشناسان محترم گروه ایمنی شناسی، خانم ها عاطفه اسکافی و مرضیه فدایی
- کارشناس محترم بخش فلوسیتومتری مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران سرکار خانم پریسا حیات و گروه ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران
- کارشناس محترم آزمایشگاه پیوند گروه سلول های بنیادی پژوهشکده رویان، جناب آقای احسان تقی آبادی
- سرکار خانم خدیجه سجاد و پرسنل خوب و مهربان اتاق عمل بخش زایمان بیمارستان آتیه
- همکار محترم سرکار خانم شعبانی که در بخش آمار این تحقیق مرا یاری دادند
- دوستانم در گروه ایمنولوژی پژوهشکده رویان، آقایان دکتر علی شمسی ، دکتر حاج ملاحسینی و خانم سمیه شاهرخی

و دوستان و همکاران خوبم در پژوهشکده رویان

خانم ها: نرگس زارع، عادله طائی، هانیه جعفری، سپیده ملامحمدی، مریم حاتمی، لاله خدادادی، مهرناز نمیری، سحر کیانی، نغمه احمدیان کیا و الهه افضل

آقایان: احسان تقی آبادی، دکتر ناصر اقدمی و بهشاد پورنصر

و تمامی دوستان و همکاران خوبم در بانک خون بندناف رویان

چکیده فارسی

سلول های دندریتیک (DCs) در مقادیر بسیار کم در بافت ها یا در جریان خون وجود دارند و بسیاری از اعمال لنفوسیت ها را کنترل می کنند. یکی از کاربردهای DC، ایمنوتراپی سرطان است چرا که سبب عرضه آنتی ژن های توموری و فعال شدن ایمنی بواسطه سلول T می شوند. دو مسیر تکاملی برای تولید DC وجود دارد. مسیر منوسیتی که سبب تولید DC هموژن می گردد و سلول های $CD34^+$ که زیر مجموعه های متفاوتی از پیش سازهای DCتولید می کنند. یکی از اهداف مهم ایمنوتراپی های سرطان یافتن راههایی است که به انتقال موثر آنتی ژنهای توموری به درون سلول های دندریتیک بیانجامد و سبب ایجاد DC فعال شود که قدرت برانگیختن پاسخ های سلولی و کشنده ضد توموری گردد.

پروتئین های شوک حرارتی (HSPs) مشتق از سلول های سرطانی و سلول های آلوده به ویروس ها ایمنی اختصاصی مناسبی ضد سلول های سرطانی و آلوده ویروسی فراهم می آورند. این ایمنوژنیسیتی به آنتی ژن همراه HSP وابسته است که به سمت مولکول های MHCI منتقل شده و در آن جای می گیرد.

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر عصاره سلول های توموری حرارت یافته بر تمایز و فعالیت سلول های دندریتیک مشتق از سلول های بنیادی خون بندناف بدون مراحل خالص سازی می باشد. لذا DC ها از سلول های تک هسته ایی خون بندناف تهی شده از سلول های T و در ۴ گروه مختلف (MDA-TNF، MDA-Heat، MDA-Heat-TNF، LPS، TNF+ و TNF-) حاصل شد. کشت به مدت ۱۴ روز در محیط RPMI حاوی سیتوکاین های SCF، Flt3L، GM-CSF و IL-4 صورت گرفت و DC ها در حضور عوامل بلوغ مختلف (LPS, TNF و لیزات توموری غنی از HSP)در مدت ۴ روز بالغ شدند.

نتایج این مطالعه نشان داد که (A) سلول های دندریتیک میلوئیدی ($CD1a^+$, $CD11c^+$ و یا $CD14^+$) می تواند از هر دو مسیر CD14 و CD1a از سلول های تک هسته ایی خون بندناف خالص نشده در محیط کشت RPMI حاوی سیتوکاین های GM-CSF, Flt3L, SCF و IL-4 تولید شود. (B) HSP60

و HSP70 در سلول های توموری MDA-MB468 در حرارت ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ دقیقه و انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت افزایش می یابد. (C) DCهای پالس شده با عصاره سلول های حرارت دیده توموری، شاخص های بلوغ DC (CD80, CD83, CD86) را در مقایسه با گروه تیمار نشده با سلول های حرارت ندیده بیشتر بیان کرده و پاسخ MLR آلوژن بیشتری ایجاد می کند. (D) HSP ها سیگنال کافی برای بلوغ DC را فراهم کرده و TNF برای بلوغ تهایی نیست. (E) گروههای LPS، MDA-heat و MDA-heat-TNF سبب آزاد سازی مقادیر زیاد IL-12(p70) و مقادیر کم IL-10 در مقایسه با گروه MDA-TNF می شود و (F) سوپ کشت سلول های T در گروه تیمار شده با MDA-TNF مقادیر زیاد IFN-γ، IL-4 و IL-10 را تولید می کند. هم چنین سیتوکاین های پیش التهابی و یا تیپ I و نیز مقادیر کمتر سیتوکاین های تیپ II در گروههای تیمار شده با LPS و با عصاره های سلول های حرارت دیده توموری، ترشح می شود.

در نهایت نتایج ما نشان داد که عصاره سلول های توموری حرارت دیده توموری سبب تولید DC میلوئیدی بالغ از سلول های تک هسته ایی خون بندناف خالص نشده می گردد که سبب تغییر پاسخ سیتوکاینی به سمت Th1 می گردند.

گل واژگان: سلول دندریتیک، خون بندناف، پروتئین های شوک حرارتی، پاسخ ایمنی

فهرست عناوین

عنوان **شماره صفحه**

چکیده فارسی V

چکیده انگلیسی VI

فهرست عناوین VII

علائم و نشانه ها XII

فهرست جداول XIV

فهرست نمودارها و تصاویر XV

فصل۱: مقدمه و مروری بر مطالعات XVII

۱-۱- سلول های دندریتیک ۳

۱-۱-۱- انواع سلول های دندریتیک ۴

۱-۱-۱-۱- سلول های دندریتیک در موش ۴

۱-۱-۱-۲- سلول های دندریتیک در انسان ۵

۱-۱-۲ شاخص های سلول های دندریتیک ۸

۱-۱-۳- سلول های دندریتیک و پاسخ سیستم ایمنی ۸

۱-۱-۳-۱ سلول های دندریتیک در ایمنی ذاتی ۹

۱-۱-۳-۲- سلول های دندریتیک و پاسخ ایمنی اکتسابی ۱۰

۱-۱-۳-۲-۱- پاسخ سلول T و سلول های دندریتیک ۱۱

۱-۱-۳-۲-۲- میانکش سلول های B و سلول های دندریتیک ۱۲

۱-۱-۴- فاکتورهای ترشحی سلول های دندریتیک ۱۲

۱-۱-۵- نقش سلول دندریتیک در تولرانس ۱۳
۱-۱-۶- منابع تولید سلول دندریتیک ۱۴
۱-۱-۶-۱- منوسیت ها ۱۴
۱-۱-۶-۲- سلول های پروژنیتور $CD۳۴^+$ ۱۵
۱-۱-۶-۳- سلول دندریتیک میلوئیدی مشتق از خون محیطی ۱۶
۱-۱-۷- مقایسه سلول دندریتیک مشتق از منوسیت ها وسلولهای $CD۳۴^+$ خون بندناف ۱۶
۱-۱-۸- کاربرد سلول های دندریتیک در ایمنوتراپی سرطان ها ۱۷
۱-۱-۸-۱- استراتژی های متفاوت برای عرضه آنتی ژن به سلول های دندریتیک ۱۹
۱-۱-۹- روش های تجویز واکسن های DC ۲۲
۱-۲- پروتئین های شوک حرارتی ۲۴
۱-۲-۱ - انواع پروتئین های شوک حرارتی ۲۵
۱-۲-۱-۱- پروتئین های شوک حرارتی سیتوپلاسمی ۲۵
۱-۲-۱-۲- پروتئین های شوک حرارتی شبکه آندوپلاسمیک ۲۶
۱-۲-۱-۳- پروتئین های شوک حرارتی میتوکندریایی ۲۷
۱-۲-۲- عمل پروتئین های شوک حرارتی ۲۷
۱-۲-۳- پروتئین های شوک حرارتی و سیستم ایمنی ۲۷
۱-۲-۳-۱- میانکش پروتئین های شوک حرارتی با سلول های عرضه کننده آنتی ژن ۲۹
۱-۲-۳-۲- پروتئین های استرسی بعنوان پیام های خطر ۳۰
۱-۲-۳-۳- پروتئین های شوک حرارتی و بیان مولکول های چسبان و کمک تحریکی ۳۲
۱-۲-۴- پاسخ ایمنی به پروتئین های شوک حرارتی در بیماریهای اتوایمیون ۳۲
۱-۲-۵-استفاده از پروتئین های شوک حرارتی در ایمنوتراپی های سرطان ۳۳

۱-۲-۶- واکسن های مشتق از پروتئین های شوک حرارتی ۳۵

فصل۲: مواد و روش ها XVIII

۲-۱- بافرها و محیط های کشت ۳۷

۲-۱-۱- بافر شوینده سلولهای بندناف ۳۷

۲-۱-۲- بافر لیزکننده سلولهای قرمز بندناف ۳۸

۲-۱-۳- محلول تریپال بلو ۳۸

۲-۱-۴- محیط کشت RPMI1640 ..... ۳۹

۲-۱-۵- محلول آلسیویو ۳۹

۲-۱-۶- محلول AET ۴۰

۲-۲- جمع آوری و جداسازی سلولهای تک هسته ایی خون بند ناف ۴۰

۲-۲-۱-خونگیری از بندناف ۴۰

۲-۲-۲- جداسازی لکوسیت های خون بندناف ۴۱

۲-۲-۳- جداسازی سلول های تک هسته ایی خون بندناف ۴۲

۲-۳- تهی سازی سلولهای تک هسته ایی خون بند ناف از سلولهای T ۴۳

۲-۴- کشت سلول های دندریتیک مشتق از سلولهای تک هسته ایی خون بند ناف ۴۵

۲-۵- القاء بلوغ در سلول های دندریتیک کشت شده ۴۶

۲-۶- بررسی فنوتیپی سلولهای کشت شده توسط فلوسیتومتری ۴۸

۲-۷-کشت سلول های توموری MDA-MB468 ..... ۵۰

۲-۸- القاء بیان پروتئین های شوک حرارتی در سلولهای توموری MDA-MB468 ..... ۵۱

۲-۹- تهیه عصاره سلولی ۵۲
۲-۱۰- سنجش غلظت پروتئین ها به روش برادفورد ۵۳
۲-۱۱- وسترن بلات ۵۵
۲-۱۱-۱- الکتروفورز ژل SDS Page ۵۵
۲-۱۱-۲- ایمنوبلات ۵۸
۲-۱۳- واکنش مختلط لکوسیتی آلوژن (MLR) ۶۰
۲-۱۴- سنجش سیتوکاین ها ۶۲
۲-۱۵- آنالیز آماری ۶۳

فصل سوم : یافته ها XIX

۳-۱- مشخصات نمونه های خون بندناف جمع آوری شده ۶۴
۳-۲- کشت سلول های تک هسته ایی خون بندناف ۶۴
۳-۳- بررسی وضعیت شاخص های سلول های دندریتیک طی کشت در محیط انتخابی ۷۵
۳-۴- تولید سلول های دندریتیک نابالغ ۷۸
۳-۴-۱- بررسی تعداد سلول ها در زمان های متفاوت ۷۹
۳-۴-۲- بررسی فنوتیپ سلول های دندریتیک در زمان های متفاوت ۸۰
۳-۴-۳- بررسی واکنش مختلط لکوسیتی در زمان های متفاوت ۸۲
۳-۵- افزایش بیان پروتئین های شوک حرارتی در سلول های توموری MDA-MB468 ..... ۸۴
۳-۶- تعیین غلظت بهینه عصاره سلول توموری MDA-MB468 بر بقاء MNC ۸۷
۳-۷- بررسی اثر عصاره توموری حرارت دیده و ندیده بر تولید DC بالغ ۸۹
۳-۷-۱- بررسی تعداد و درصد سلول های زنده دندریتیک بالغ در گروههای مختلف ۸۹

۳-۷-۲- بررسی فنوتیپ DC بالغ در حضور ترکیبات مختلف القاء کننده بلوغ ۹۲
۳-۷-۳- بررسی پاسخ تکثیری T آلوژن توسط سلول های دندریتیک بالغ ۱۰۳
۳-۷-۴- بررسی پاسخ های سیتوکاینی ایجاد شده بواسطه سلول های دندریتیک ۱۰۴
۳-۷-۴-۱- بررسی سیتوکاین های مترشحه از سلول های دندریتیک ۱۰۵
۳-۷-۴-۱-۱- سنجش IL-12 تولید شده توسط DC های بالغ ۱۰۵
۳-۷-۴-۱-۲- سنجش IL-10 در سلول های دندریتیک بالغ ۱۰۶
۳-۷-۴-۲- بررسی سیتوکاین های مترشحه از سلول های T ۱۰۷
۳-۷-۴-۲-۱- بررسی سیتوکاین IL-4 مترشحه از سلول T فعال شده با DC ۱۰۷
۳-۷-۴-۲-۲- تولید سیتوکاین IFNγ مترشحه از سلول T فعال شده با DC ۱۰۸

فصل۴: بحث و نتیجه گیری XX

۴-۱- مقایسه سلولهای خون بندناف و خون محیطی افراد بالغ ۱۱۰
۴-۲- اثر محیط حاوی GMCSF, SCF, FLT3 و IL-4 بر کشت MNC ۱۱۲
۴-۳- بررسی وضعیت فنوتیپی سلول ها در محیط انتخابی ۱۱۸
۴-۴- محاسبه زمان مناسب پالس آنتی ژنی سلول ها ی دندریتیک نابالغ ۱۱۹
۴-۵-افزایش بیان پروتئین های شوک حرارتی توسط تیمار دمایی ۱۲۳
۴-۶-تهیه عصاره توموری و تعیین غلظت بهینه عصاره برای کشت DC نابالغ ۱۲۵
۴-۷- اثر پروتئین های شوک حرارتی بر بلوغ سلول دندریتیک ۱۲۶
۴-۸- نتیجه گیری کلی ۱۳۳
۴-۹- پیشنهادات ۱۳۵

منابع ۱۳۶

فهرست علائم و نشانه ها

APC	Antigen Presenting Cell
BM	Bone Marrow
CD	Cluster Differentiation
CPDA	Citrate Phosphate Dextrose Adenine
CR	Complement Receptor
CTL	Cytotoxic T Lymphocyt
DC	Dendritic Cell
DC-LAMP	DC- Lysosome Associated Membrane Glycoprotein
DNA	Deoxy Ribo Nucleic Acide
EDTA	Ethylene Di Amine Tetra acetic Acid
FCS	Fetal Calf Serum
GC-DC	Germinal Center Dendritic Cell
GM-CSF	Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor
Grp	Glucose related protein
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Human Immunodeficiency virus
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSF	Heat Shock Factor
HSP	Heat shock protein
ICAM	Inter Molecular Adhesion Molecule
IFN	Interferon
IgG	Immunogluboline G
IL-3	Interleukin 3
imDC	immature DC
Lin-	Lineage –

LPS	Lipopolysacharide
MCM	Monocyte Culture Medium
MHC	Major Histo Compatibility Complex
MLR	Mixed Leukocyte Reaction
MMR	Mannose Macrophage Receptor
MNC	Mono nuclear Cell
NK	Natural Killer Cell
NKT	Natural killer T cell
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern
PBS	Phosphate Buffer Saline
PGE2	Prostaglandin E2
PPR	Pathogen Pattern Receptor
SCF	Stem Cell Factor
SRBC	Sheep Red Blood Cell
TAA	Tumor Associated Antigen
TCR	T cell Receptor
TGF-B	Tumor Growth Factor B
Th	T helper
TLR	Toll like Receptor
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor
VCAM-1	Vascular Chemo Attractant Molecule

فهرست جداول

جدول ۲-۱- مشخصات آنتی بادی های مورد استفاده ۴۹

جدول ۲-۲: رسم منحنی استاندارد در روش برادفورد ۵۴

جدول۲-۳: ترکیبات ژل بالا و پایین ۵۷

جدول ۳- ۱- مشخصات نمونه های خون بندناف جدا شده ۶۵

جدول ۳-۲- تعداد سلول های زنده تک هسته ایی خون بندناف در روزهای متوالی کشت ۶۹

جدول۳- ۳: بررسی فنوتیپ سلول های دندریتیک طی ۲۱ روز کشت ۷۶

جدول۳- ۴: تعداد سلول های imDC و mDC در روزهای متفاوت کشت ۸۰

جدول ۳-۵: بررسی شاخص های سطحی سلول ها دندریتیک در زمان های متفاوت کشت سلول های دندریتیک ۸۱

جدول ۳-۶ بررسی پاسخ تکثیری سلول های T آلوژن ۸۳

جدول ۳-۷- بررسی پاسخ MLR در سلول های دندریتیک بالغ شده ۸۴

جدول ۳-۸: بررسی درصد سلول های بیان کننده پروتئین های HSP۷۰، HSP۶۰ و HSP۹۰ در سلول های توموری MDA-MB468 توسط فلوسیتومتری ۸۶

جدول ۳-۹: بررسی اثر غلظت های مختلف از عصاره توموری (حرارت ندیده) بر بقاء سلول های دندریتیک نابالغ مشتق از سلول های تک هسته ایی خون بندناف ۸۸

جدول ۳-۱۰: تعداد سلول های زنده در گروههای مختلف سلول های دندریتیک ۹۱

جدول ۳-۱۱: بررسی شاخص های سطحی سلول های دندریتیک توسط فلوسیتومتری ۹۵

جدول ۳-۱۲: نتایج شمارش در دقیقه (CPM) سلول های T تحریک شده با DC ۱۰۴

جدول ۳-۱۳: میزان IL-12 بر حسب Pg/ml در سوپ کشت سلول های دندریتیک ۱۰۵

جدول ۳-۱۴: میزان ترشح IL-10 بر حسب Pg/ml در سوپ کشت سلول های دندریتیک ۱۰۶

جدول ۳-۱۵: میزان ترشح IL-4 (Pg/ml) در سوپ کشت MLR ۱۰۸

جدول ۳-۱۶: میزان ترشح IFN (Pg/ml)در سوپ کشت MLR ۱۰۹

فهرست نمودارها و تصاویر

شکل ۱-۱- انواع سلول های دندریتیک انسانی ۷

شکل ۲-۱- : نمایی از اتصال و چینش لایه ها در بلات ۵۹

شکل ۳-۱: مجموعه های روزتی ۶۶

شکل ۳-۲: یک نمونه از نتایج ایمنوفنوتیپ سلول های T جداشده بوسیله روش روزت ۶۷

شکل ۳-۳: نمودار افزایش تعداد سلول های تک هسته ایی خون بندناف در محیط کشت حاوی سیتوکاین های IL-4, GM-CSF, FLT3L, SCF در روز های متفاوت ۷۰

شکل ۳-۴: بررسی سلول های تک هسته ایی خون بندناف توسط میکروسکوپ معکوس ۷۱

شکل۳-۵: انواع سلول های تکثیر شونده سلول های تک هسته ایی خون بندناف توسط میکروسکوپ معکوس ۷۲

شکل ۳-۶: بررسی سلول های تک هسته ایی خون بندناف توسط میکروسکوپ معکوس پس از ۳۰ روز کشت ۷۳

شکل۳-۷: نمایی از سلول های چسبیده به ته پلیت کشت پس از ۱۴ روز کشت ۷۴

شکل ۳-۸: بررسی فنوتیپ سلول های تک هسته ایی کشت شده در حضور محیط انتخابی در زمان های متفاوت کشت ۷۷

شکل۳-۹: بررسی شاخص های بلوغ DC (CD۸۰، CD۸۳، CD۸۶ و HLA-DR) بر سطح سلول های تک هسته ایی کشت شده در محیط انتخابی و طی روز های متفاوت ۷۸

شکل۳-۱۰: مقایسه گروههای مختلف دندریتیک نابالغ و بالغ در زمان های متفاوت کشت ۷۹

شکل ۳-۱۱: مقایسه فنوتیپ سطحی سلول های دندریتیک نابالغ و بالغ ۸۱

شکل ۳-۱۲: پاسخ تکثیری سلول های T آلوژن به غلظتهای متفاوت از سلول های دندریتیک ۸۳

شکل ۳-۱۳ – مقایسه درصد اندکس تحریکی سلول های دندریتیک مشتق از MNC خون بندناف ۸۴

شکل ۳-۱۴: نتیجه ایمنوبلات و الکتروفورز سلول های MDA-MB468 حرارت دیده..... ۸۶
شکل۳-۱۵: اثر عصاره سلول توموری بر بقاء سلولهای دندریتیک نابالغ مشتق از MNC خون بندناف. ۸۸
شکل ۳-۱۶: مقایسه تعداد سلول های دندریتیک پس از بلوغ در گروههای مختلف ۹۱
شکل ۳-۱۷: منحنی کشت سلول های دندریتی‌ک طی دوره بلوغ ۹۲
شکل ۳-۱۸: مقایسه شاخص های سطحی سلول های دندریتیک پس از بلوغ ۹۶
شکل ۳-۱۹: سلول های دندریتیک نابالغ (im DC) پس از ۱۴ روز کشت ۹۷
شکل ۳-۲۰: سلول های دندریتیک نابالغ پالس نشده با عامل بلوغ (-TNF) ۹۸
شکل ۳-۲۱: سلول های دندریتیک نابالغ پالس شده با عصاره سلول های حرارت ندیده توموری ۹۹
شکل ۳-۲۲: سلول های دندریتیک نابالغ پالس شده با عصاره سلول های حرارت دیده توموری ۱۰۰
شکل ۳-۲۳: سلول های دندریتیک نابالغ پالس شده با LPS ۱۰۱
شکل ۳-۲۴: سلول های دندریتیک نابالغ پالس شده با TNF (+TNF) ۱۰۲
شکل ۳-۲۵: مقایسه درصد اندکس تحریکی سلول های T در گروههای مختلف DC ۱۰۴
شکل ۳-۲۶: مقایسه تولید IL-12 توسط سلول های دندریتیک در گروههای مختلف DC ۱۰۶
شکل ۳-۲۷: مقایسه تولید IL-10 (Pg/ml) توسط سلول های دندریتیک در گروههای مختلف ... ۱۰۷
شکل ۳-۲۸: مقایسه تولید IL-4 در سوپ کشت MLR در گروههای مختلف DC ۱۰۸
شکل ۳-۲۹: مقایسه تولید IFN-γ (Pg/ml) در سلول های T ۱۰۹