Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ)
Summer 2010; 13(2): 55-62

Original Article

The effect of short time exposure to 4ºC temperature on the expression profiles of mono-carboxylic transporter genes 1, 2, 3, and 4 in 4-cell mouse embryos

Ramezani M [1*], Hosseini A [2], Kazemi B [3], Janan A[4]

1- Assistant professor, PhD of Developmental Biology, Biology Department, Islamic Azad University of Ashtian, Ashtian, Iran
2- Professor, PhD of Embryology, Anatomy Department, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3-Assistant professor, PhD of Genetics, Cellular and Molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- MSc of Zoology, Department of Biology, Payame Noor University of Tehran, Tehran, Iran

Received 9 Dec 2009 Accepted 20 Jan 2010

Abstract

Background: One way of embryo preservation is cryopreservation, but this process may damage and lead to the loss of the embryos, and bring about chromosomal abnormality. This has led researchers to seek techniques for short term preservation of embryos in 0-10 ºC temperatures. The aim of this study was to determine the effect of short time exposure to 4°C temperature on the expression profiles of mono-carboxylic transporter genes 1,2 ,3, and 4(MCT1-4) in 4-cell mouse embryos.

Materials and Methods: In this fundamental study, forty 4-cell mouse embryos from NMRI strain were randomly divided into two groups. The first group consisted of fresh 4-cell embryos, and the second group included 4-cell mouse embryos that were exposed to 4°C temperature for 24 hours. After RT-PCR, the samples were electro-phoresised for expressing the MTC1-4 genes.

Results: The expression of MCT 1-3 was observed in the first group, but the obtained results did not indicate their expression in the second group.

Conclusion: Preservation of 4-cell embryos in 4°C for 24 hours inhibits the expression of MCT 1-3 genes. Keeping embryos in 4°C temperature is not a proper way for their short time preservation.

Keywords: Four-cell embryo, Mice, Mono-carboxylic transporter genes, PCR

*Corresponding author:
Email: mina.ramezani@gmail.com
Address: Biology Department, Islamic Azad University, Ashtian, Iran

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال 13، شماره 2 (شماره پیاپی 51)، تابستان 1389، 62-55

اثر کوتاه مدت دمای 4 درجه سانتی گراد بر پروفایل بیان ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1، 2، 3 و4 در جنین‌های 4 سلولی موش

دکتر مینا رمضانی[1*]، دکتر احمد حسینی[2]، دکتر بهرام کاظمی[3]، ارغوان جانان [4]

1- استادیار، دکترای تخصصی سلولی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحدآشتیان، آشتیان، ایران

2- استاد، دکترای تخصصی جنین شناسی، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

3- استادیار، دکترای تخصصی ژنتیک، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران ، ایران

4 - کارشناسی ارشد علوم جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور مرکز تهران، تهران ، ایران

تاریخ دریافت 88/9/28، تاریخ پذیرش88/10/30

چکیده

زمینه و هدف: یکی از روش‌های نگهداری جنین، انجماد است ولی این فرایند خود می‌تواند سبب از دست رفتن جنین و ایجاد ناهنجاری کروموزومی شود؛ این امر باعث گرایش محققان به تکنیک‌هایی برای حفظ جنین در دمای صفر تا 10 درجه سانتی‌گراد به صورت کوتاه مدت شده است. هدف این پژوهش تعیین اثر کوتاه مدت دمای 4 درجه سانتی‌گراد بر پروفایل بیان ژن‌های انتقال دهنده‌های مونوکربوکسیلیک 1 ،2، 3 و4 در جنین 4 سلولی موش است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش بنیادی تعداد 40 جنین 4 سلولی موش کوچک آزمایشگاهی از نژاد ان ماری به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل جنین‌های 4 سلولی موش به صورت تازه و گروه دوم شامل جنین‌های 4 سلولی موش بودند که به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از RT-PCR و سپس واکنش زنجیره پلی مراز، نمونه‌ها برای بیان ژن‌های فوق الکتروفورز شدند.

یافته ها: بیان ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1، 2 و 3 در گروه اول مشاهده شد ولی در گروه دوم نتایج حاکی از عدم بیان این 4 ژن بود.

نتیجه‌گیری: نگهداری جنین‌های 4 سلولی به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، سبب عدم بیان ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1، 2 و 3 می‌شود. نگهداری جنین ها در این شرایط روش مفیدی برای نگهداری کوتاه مدت آن نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: جنین 4 سلولی، موش، ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

***نویسنده مسئول:** آشتیان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی

Email:mina.ramezani@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

مقدمه

اسیدهای مونوکربوکسیلیک نقش مهمی در متابولیسم سلول بازی می‌کنند زیرا در pH سلولی، اسید لاکتیک تولید شده به آنیون لاکتات تبدیل می‌شود و این مولکول باردار که با انتشار آزاد قادر به عبور از سلول نیست، به مکانسیم خاصی نیاز دارد که همان وجود انتقال دهنده‌های مونوکربوکسیلیک (Monocarboxylic Transporter Genes- MCTs) است که از باکتری تا انسان وجود دارند(1، 2).

این انتقال دهنده‌ها انتشار تسهیل شده لاکتات را با پروتون کاتالیز می‌کنند و هیچ انرژی دیگری به جز شیب غلظت لاکتات و پروتون ندارند، به طوری که افزایش pH سلولی انتقال لاکتات را تسریع می‌کند(3). MCT ها بیشتر لاکتات را انتقال می‌دهند ولی برای انتقال تعدادی از مونوکربوکسیلیک‌های دیگر مانند پیروات، کتون بادی استو استات، بتا هیدروکسی بوتیرات و استات ضروری می‌باشند، بنابراین نقش مهمی در متابولیسم پستانداران و ارتباط متابولیکی بین سلول‌ها دارند(4). تا به امروز 14 پروتئین MCT شناخته شده است و از بین آنها فقط MCT1,2,3,4 به خوبی بررسی شده‌اند(5). این گروه همچنین شامل دو عضو است که اسیدهای آمینه آروماتیک و هورمون‌های تیروئیدی را انتقال می‌دهند(6).

MCT1 و MCT4 در بیشتر بافت‌های بدن بیان می‌شوند، درحالی‌که فراوانی MCT2 محدودیت بیشتری دارد(7). MCT1 پروتئینی است با وزن مولکولی 55 کیلو دالتون که 12 قسمت داخل غشایی دارد(8، 9). در عضله اسکلتی، ماهیچه قلب، مغز، شبکیه، اسپرماتوزوآ، قشر کلیه، معده، کبد، جفت، کولون و روده دیده شده است(10، 11).

MCT2 60 درصد مشابه MCT1 است، دارای تمایل زیادی به مونوکربوکسیلات‌ها است ودر لوله‌های پروگزیمال کلیه، نورون‌ها، دم اسپرم و میوسیت‌های قلبی وجود دارد(12، 13).

MCT3 یک انتقال دهنده مونوکربوکسیلات متصل به پروتون است و انتقال لاکتات و یون هیدروژن را به خارج از رتینا تسهیل می‌نماید، بنابراین می‌تواند نقش مهمی در هومئوستازی pH در خارج از شبکیه داشته باشد(14).

MCT4 یک انتقال دهنده با تمایل کم است که جهت آزاد کردن لاکتات از سلول‌های گلیکولایتیک مثل عضلات سفید، سلول‌های سفید خونی و سلول‌های توموری سازش یافته است(12). این ایزوفرم در قلب و ماهیچه‌های دستگاه گوارش وجود دارد(15).

MCT ها ممکن است نقش مهمی در تبادل اطلاعات بین سلول‌ها داشته باشند و قادر به انتقال متابولیت‌های لاکتات و پیروات باشند و در نتیجه پتانسیل تعادلی سیتوزول را فراهم کنند(16). همچنین MCT ها در تنظیم بیوسنتز هورمون‌های متفاوت در غده آدرنال پر اهمیت هستند. این ژن‌ها به عنوان استاندارد داخلی، معرف میزان بیان نسبی سایر ژن‌ها هستند و به منظور سنجش‌های کمی بیان ژن‌ها به کار می‌روند(17).

یکی از روش‌های متداول در نگهداری جنین، انجماد است. در دمای پایین متابولیسم سلولی کاهش یافته و تقسیمات سلولی متوقف می‌شوند به طوری که این سلول‌ها پس از بازیابی از شرایط فوق و قرار گرفتن در محیط کشت، قادر به ادامه رشد هستند؛ هرچند انجماد می‌تواند سبب کشته شدن جنین‌ها و یا ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی(18)، از هم گسیختگی میکروتوبول‌ها(19)، اختلال در کلیواژ(20) و اختلال در رشد(21) شود. مطالعات نشان داده که انجماد جنین گونه‌هایی مانند خوک (22) و یا انجماد جنین در بعضی از مراحل رشد با این روش مشکل است(23).

به دنبال آسیب‌های وارده شده به جنین در روش‌های انجمادی و همچنین وقت گیر و پر هزینه بودن آن، توجه عده‌ای از محققان به روش‌های غیر انجمادی و نگهداری جنین در دمای صفر تا 10 درجه سانتی‌گراد برای نگهداری‌های کوتاه مدت، معطوف شد. نخستین بار روش غیر انجمادی توسط مور و بیلتون در سال 1973 برای نگهداری جنین گوسفند انجام شد(24). گزارش شده که نگهداری کوتاه مدت جنین در دمای پایین به همراه تکنیک‌های انتقال جنین، می‌تواند روشی ارزشمند برای

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

حفظ گونه‌های ژنتیکی، پرورش و تولید مثل حیوانات اهلی، نگهداری گونه‌های کمیاب و در معرض خطر و نیز در درمان ناباروری در انسان باشد(26-24). اما برخی محققان بر این عقیده‌اند که در حین نگهداری جنین در دمای پایین به سبب طولانی شدن زمان نگهداری آن در محیط کشت، میزان رشد و توانایی جنین‌ها در لانه گزینی کاهش یافته که این امر ممکن است به دلیل تغییر بیان ژن‌ها باشد(27).

بنابر این در پژوهش حاضر ما به دنبال یافتن تاثیر کوتاه مدت دمای4 درجه سانتی‌گراد (که به راحتی توسط نگهداری در یخچال معمولی تامین می‌شود) بر پروفایل بیان ژن‌های MCT1,2,3,4 در جنین‌های 4 سلولی موش هستیم. به عبارت دیگر آیا این دما سبب روشن و یا خاموش شدن ژن‌های مورد نظر در جنین‌های 4 سلولی می‌گردد و یا این که اثر قابل توجهی را در مقایسه با دمای معمولی از خود نشان نمی‌دهد؟

مواد و روش ها

جهت این مطالعه بنیادی موش‌های نر و ماده از نژاد ان ماری (NMRI) و با سن بین 6 تا8 هفته از انستیتو پاستور خریداری شده و در قفس‌های مخصوص نگهداری حیوانات، تحت شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت در حیوانخانه نگهداری شدند. با استفاده از تایمر اتوماتیک برقی، تناوب نوری 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی فراهم و دمای اتاق در شرایط 2±21 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در تمام مدت نگهداری، حیوانات از آب و غذای کافی برخوردار بودند و در کلیه مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کاملا رعایت گردید.

جهت تحریک تخمک گذاری، تزریق 10 واحد بین المللی هورمون PMSG (Pregnant Mare's Serum Gonadotropin) و سپس 48 ساعت بعد10 واحد هورمون HCG (Human Chorionic Gonadotropin) به موش‌های ماده انجام شد و پس از تزریق دوم، موش ماده در قفس موش نر قرار گرفت. وجود پلاک واژینال در روز بعد، شاخص اصلی برای تعیین جفت‌گیری بود. 60-56 ساعت پس از تزریق دوم، جنین‌ها به مرحله 4 سلولی رسیدند. پس از کشتن موش به روش قطع نخاع، جنین‌ها از اینفاندیبولوم اویداکت به طریقه فلاشینگ خارج شدند. جنین‌های به دست آمده در محیط کشت KSOM نگهداری شده و به دو گروه تقسیم گردیدند. گروه اول یا گروه کنترل که شامل 12 جنین 4 سلولی بود که بیان ژن‌های انتقال دهنده‌های مونوکربوکسیلیک 1، 2، 3 و 4 در آنها بررسی شد و گروه دوم یا گروه آزمایش، شامل 12 جنین 4 سلولی که به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا جهت بررسی بیان ژن‌های فوق مورد آزمایش قرار گیرند. سپس جنین‌ها به لوله‌های اپندرف حاوی بافر نگهدارنده مخصوص کیت استخراج RNA منتقل شدند. در مرحله بعد استخراج RNA توسط کیت RNasy Mini Kit (Qiagen, Germany) صورت گرفت. به این ترتیب که در ابتدا لوله‌های حاوی نمونه(12 جنین 4 سلولی) در دور 10000 و دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس به محلول رویی بافر تجزیه کننده اضافه شد. پس از گذشت 5 دقیقه و سانتریفوژ مجدد، الکل 70 درجه به آن اضافه کرده و عمل پیپتینگ صورت گرفت. سپس محلول واکنش تهیه شده را به ستون کیت اضافه نموده و در دور 10000 و دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. پس از دور ریختن محلول زیری، به میزان600 میکرولیتر RW1 به ستون اضافه شد و مجددا سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد به همان میزان بافر RW2 به ستون اضافه شد و سانتریفوژ گردید. پس از جدا کردن الکل با اضافه کردن آب به ستون و سانتریفوژ کردن RNA از ستون کنده می‌شود. در ادامه از مخلوط واکنش ساخته شده برای پروسه Reverse) (Transcription RT ، Bafer، برابر 3 میکرولیتر EnzRT ، برابر 3 میکرولیترdNTP ، برابر 30 میکرولیترBuffer ، برابر 15 میکرولیتر RNA ، برابر 18 میکرولیترD.W ، برابر 6 میکرولیتر Primer oligi-dt و برابر 1 میکرولیتر Rnase inhibitor به میزان 10 میکرولیتر به هر لوله واکنش اضافه شده و عمل سانتریفوژ تکرار شد. پس از این مرحله لوله

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

واکنش به مدت 1 ساعت در دمای42 درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرار گرفت.

مرحله بعدی شامل روند واکنش زنجیره پلی مراز (Polymerase Chain Reaction- PCR) بود. برای انجام این پروسه ابتدا مخلوط واکنش به ترتیب زیر ساخته شد:

برابر 5 میکرولیتر DNA ، برابر 115 میکرولیتر D.W ، برابر 3 میکرولیتر dNTP ، برابر 6 میکرولیتر Mgcl2، برابر 6 میکرولیتر بافر 18 میکرولیتر، آنزیم 15 میکرولیتر و پرایمر 2 میکرولیتر. سپس به هر لوله مقادیر مورد نیاز مخلوط واکنش همراه با پرایمر اختصاصی اضافه گردید. برای PCR از دستگاه Primus و CORBEIT استفاده شد(جدول 1).

جدول 1. شرایط تنظیم شد دستگاه هایPrimvs وCORBEIT برای انجام عمل PCR

دما	MCT1 45 درجه C	MCT2,3,4,ß-57actin: درجه C
دناتوره کردن	94 درجه C	2 دقیقه
*دناتوره کردن	94 درجه C	30 ثانیه
Annealing*	45 درجه C	30 ثانیه
Extention*	72 درجه C	30 ثانیه
Final extention	72 درجه C	5 دقیقه

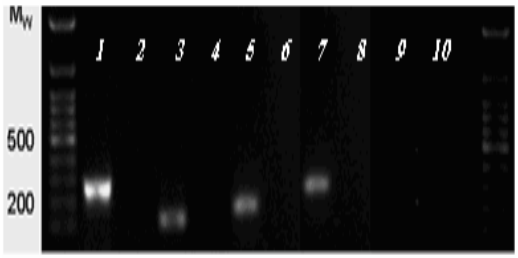
سیکلPCR ، 30 بار تکرار شد(سه مرحله‌ای که با ستاره مشخص شده است).

جهت الکتروفورز نمونه‌ها، ژل 3 درصد آگارز تهیه شد و رنگ Sybergreen به همراه نمونه‌ها در چاهک‌های ژل ریخته شده و با 83 ولت load شد. سپس ژل در دستگاه UV- Transiluminator قرار گرفت و تصویر آشکار شده برای ارایه نتایج ذخیره گردید.

از آب بدون DNA و RNA به عنوان کنترل و از پرایمر بتا اکتین برای اطمینان از استخراج RNA استفاده شد.

یافته ها

هر سه ژن MCT1 ، MCT2 و MCT3 در جنین‌های 4 سلولی موش به صورت تازه (گروه کنترل) بیان شدند ولی ژن MCT4 بیان نگردید(شکل 1).



شکل1. پروفایل بیان MCT1 در جنین‌های 4 سلولی موش به صورت تازه روی ژل الکتروفورز. ستون اول: ژن بتا اکتین(243 جفت باز)، ستون‌های دوم، چهارم، ششم، هشتم و دهم: نمونه‌های کنترل، ستون سوم: ژن انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1 (149 جفت باز)، ستون پنجم: ژن انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 3 (199 جفت باز)، ستون هفتم: ژن انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 2 (249 جفت باز) و ستون نهم: ژن انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 4 که بیان نشد.

هیچ کدام از چهار ژن انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1، 2، 3 و 4 در جنین‌های 4 سلولی که به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه بوده‌اند (گروه آزمایش) بیان نگردید(شکل 2). برای نمونه‌های کنترل منفی ازآب بدون DNA و RNA استفاده شد. همچنین برای اطمینان از استخراج RNA بتا اکتین به عنوان کنترل مثبت به کار گرفته شد.

شکل2. پروفایل بیان ژن‌های MCT2 در جنین‌های 4 سلولی در دمای 4 درجه سانتی‌گراد روی ژل الکتروفورز. ستون اول: ژن بتا اکتین(243 جفت باز)، ستون های دوم، چهارم، ششم، هشتم و دهم: نمونه‌های کنترل، ستون سوم، پنجم، هفتم و نهم به ترتیب: ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1 تا 4 که هیچکدام بیان نشدند.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

بحث

تحقیقات نشان می‌دهند که سلول‌ها ایزوفرم‌های مختلف MCT را متناسب با نقش فیزیولوژیک خود بیان می‌کنند. ژن‌های MCT در طی تکامل اووسیت و جنین‌های قبل از لانه گزینی موش بیان می‌شوند(28).

MCT1 در اکثر بافت‌های بدن به صورت گسترده حضور دارد(9، 10). در مراحل اولیه تکامل قبل از لانه گزینی موش، فعال بودن آنزیم لاکتات دهیدروژناز و حضور MCT1 تبدیل لاکتات به پیروات را تسهیل می‌کند. MCT2 نیز که مشابه MCT1 است درجنین‌های قبل از لانه گزینی بیان می‌شود(29) که نتایج این مطالعه نیز بیان آن را تأیید می‌نماید.

MCT3 یک انتقال دهنده مونوکربوکسیلات متصل به پروتون است و انتقال لاکتات را به خارج از شبکیه تسهیل می‌کند(10). مطالعات هروبل و همکاران در سال 2002 نشان داد که این ژن در هیچ کدام از اووسیت‌های لقاح یافته و لقاح نیافته و مراحل قبل از لانه گزینی جنین موش بیان نمی‌شود(12) ولی مطالعات هاردینگ و همکاران بیان این ژن را در مراحل جنینی قبل از لانه گزینی نشان داد که نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌کند(29).

MCT4 یک انتقال دهنده با تمایل کم است که برای آزاد سازی لاکتات در عضلات سفید و گلبول‌های سفید سازش یافته است(12). در این مطالعه مشاهده شد که این انتقال دهنده در هیچ یک از گروه‌ها بیان نشد، بنابر این به نظر می‌رسد که نقش مهمی در انتقال مونوکربوکسیلات‌ها در جنین 4 سلولی موش ندارد. همچنین نتایج سایر مطالعات نشان می دهدکه MCT4 در جنین‌های مرحله دو سلولی، مورولا و بلاستوسیست نیز بیان نمی‌شود(28) و احتمالاً در جنین موش قبل از جایگزینی عمل نمی‌کند.

در این مطالعه اثر نگهداری کوتاه مدت جنین(24 ساعت) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بر روی بیان ژن‌های MCT1-3 بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که جنین‌های 4 سلولی موش در حالت تازه این انتقال دهنده را بیان می‌کنند که تأییدی بر مطالعات انجام شده توسط پول و هالتسرپ است(4).

همان طور که قبلا اشاره شد به علت این که روش نگهداری جنین به صورت انجماد می‌تواند سبب ایجاد اختلال در کلیواژ، رشد و از هم گسیختگی میکروتوبول‌ها شود(21-19) عده‌ای از محققین به سمت روش‌های غیر انجمادی برای نگهداری‌های کوتاه مدت روی آوردند که اولین بار توسط مور و بیلتون انجام شد(24).

در آزمایشی که توسط بختیاری و همکاران انجام شد، تأثیر دمای 4 درجه سانتی‌گراد بر روی رشد و لانه گزینی جنین 8 سلولی موش مورد بررسی قرار گرفت که مشخص شد نگهداری طولانی جنین‌ها در این دما باعث کاهش رشد و لانه گزینی جنین می‌شود و ممکن است تغییر بیان ژن‌ها در این مسئله دخیل باشد اما هیچ گونه بررسی ژنتیکی انجام نشد(27).

مطالعه حاضر عدم بیان ژن‌های MCT را جنین 4 سلولی موش پس از نگهداری کوتاه مدت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تایید کرد.

نتیجه گیری

نتیجه این تحقیق نشان می‌دهد که ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلات 1، 2 و 3 در انتقال مونوکربوکسیلات‌ها از جمله لاکتات و پیروات نقش مهمی دارند و در مراحل قبل از لانه گزینی جنین موش بیان می‌شوند. اما ژن MCT4 در جنین‌های 4 سلولی تازه موش بیان نمی‌گردد.

دمای کوتاه مدت 4 درجه سانتی‌گراد اثر بازدارنده جهت بیان ژن‌های انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک 1 تا 4 دارد به طوری که جنین‌های 4 سلولی موش در این دما هیچ گونه بیانی برای این ژن‌ها نداشتند؛ بنابراین روش نگهداری کوتاه مدت جنین‌های موش در دمای4 درجه سانتی‌گراد، به علت اثر بازدارنده‌ای که روی بیان ژن‌های مونوکربوکسیلات دارد برای جنین 4 سلولی موش پیشنهاد نمی‌شود.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی خانم ارغوان جانان است. بدینوسیله از زحمات ایشان و کارکنان محترم مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی و آناتومی دانشکده پزشکی شهید بهشتی به ویژه آقایان دکتر عابد، دکتر نجات بخش، دکتر گازر، خانم‌ها دکتربنده پور و دکتر برهانی به دلیل حمایت مالی، تهیه امکانات و هم یاری در انجام این پژوهش قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Dimmer K, Friedrich B, Lang F, Deitmer J, Bröer S. The low-affinity monocarboxylate transporter MCT4 is adapted to the export of lactate in highly glycolytic cells. Biochem J. 2000 Aug;350 Pt 1:219-27.
2. Merezhinskaya N, Fishbein W. Monocarboxylate transporters: past, present, and future. Histol Histopathol. 2009 Feb; 24(2): 243-64.
3. Halestrap AP, Price NT. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. Biochem J. 1999 Oct 15;343 Pt 2:281-99.
4. Poole R, Halestrap A. Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. Am J Physiol. 1993 Apr;264(4 Pt 1):C761-82.
5. Juel C, Halestrap AP. Lactate transport in skeletal muscle - role and regulation of the monocarboxylate transporter. J Physiol. 1999 Jun 15;517 (Pt 3):633-42.
6. Galić S, Schneider H, Bröer A, Deitmer J, Bröer S. The loop between helix 4 and helix 5 in the monocarboxylate transporter MCT1 is important for substrate selection and protein stability. Biochem J. 2003 Dec;376(Pt 2):413-22.
7. Visser W, Friesema E, Jansen J, Visser T. Thyroid hormone transport by monocarboxylate transporters. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2007 Jun;21(2):223-36.
8. Kirk P, Wilson M, Heddle C, Brown M, Barclay A, Halestrap A. CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression. EMBO J. 2000 Aug;19(15):3896-904.
9. Halestrap A, Meredith D. The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. Pflugers Arch. 2004 Feb;447(5):619-28.
10. Philp N, Ochrietor J, Rudoy C, Muramatsu T, Linser P. Loss of MCT1, MCT3, and MCT4 expression in the retinal pigment epithelium and neural retina of the 5A11/basigin-null mouse. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003 Mar;44(3):1305-11.
11. Pinheiro C, Longatto-Filho A, Scapulatempo C, Ferreira L, Martins S, Pellerin L, et al. Increased expression of monocarboxylate transporters 1, 2, and 4 in colorectal carcinomas. Virchows Arch. 2008 Feb; 452(2):139-46.
12. Hérubel F, El Mouatassim S, Guérin P, Frydman R, Ménézo Y. Genetic expression of monocarboxylate transporters during human and murine oocyte maturation and early embryonic development. Zygote. 2002 May;10(2):175-81.
13. Lin R, Vera J, Chaganti R, Golde D. Human monocarboxylate transporter 2 (MCT2) is a high affinity pyruvate transporter. J Biol Chem. 1998 Oct;273(44):28959-65.
14. Zhao C, Wilson M, Schuit F, Halestrap A, Rutter G. Expression and distribution of lactate/monocarboxylate transporter isoforms in pancreatic islets and the exocrine pancreas. Diabetes. 2001 Feb;50(2):361-6.
15. Kirat D, Sallam K, Hayashi H, Miyasho T, Kato S. Presence of ten isoforms of monocarboxylate transporter (MCT) family in the bovine adrenal gland. Mol Cell Endocrinol. 2009 Jan;298(1-2):89-100.
16. Daniele L, Sauer B, Gallagher S, Pugh EJ, Philp N. Altered visual function in monocarboxylate transporter 3 (Slc16a8) knockout mice. Am J Physiol Cell Physiol. 2008 Aug;295(2):C451-7.
17. Wang Y, Tonouchi M, Miskovic D, Hatta H, Bonen A. T3 increases lactate transport and the expression of MCT4, but not MCT1, in rat skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2003 Sep;285(3): E622-8.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 12:02 +0330 on Sunday February 18th 2018

18. Mazur P, Rall W, Leibo S. Kinetics of water loss and the likelihood of intracellular freezing in mouse ova. Influence of the method of calculating the temperature dependence of water permeability. Cell Biophys. 1984 Sep; 6(3): 197-213.
19. Trounson A, Kirby C. Problems in the cryopreservation of unfertilized eggs by slow cooling in dimethyl sulfoxide. Fertil Steril. 1989 Nov;52(5):778-86.
20. Ruiz de Assín R, Clavero A, Gonzalvo M, Ramírez J, Zamora S, Fernández A, et al. Comparison of methods to determine the assigned value in an external quality control programme for embryo evaluation. Reprod Biomed Online. 2009 Dec;19(6):824-9.
21. Ramezani M, Valojerdi M, Parivar K. Effect of three vitrification methods on development of two-cell mouse embryos. Cryo Letters. 2005 2005 Mar-Apr;26(2):85-92.
22. Yoshino J, Kojima T, Shimizu M, Tomizuka T. Cryopreservation of porcine blastocysts by vitrification. Cryobiology. 1993 Aug; 30(4): 413-22.
23. Check J. Advances in oocyte cryopreservation--part II: rapid cooling using vitrification. Clin Exp Obstet Gynecol. 2009; 36(1): 5-9.
24. Moore N, Bilton R. The storage of fertilized sheep ova at 5 degrees C. Aust J Biol Sci. 1973 Dec; 26(6):1421-7.
25. Miyoshi I, Ishikawa K, Kasai M, Kasai N. Useful short-range transport of mouse embryos by means of a nonfreezing technique. Lab Anim Sci. 1992 Apr;42(2):198-201.
26. Kasai M. Nonfreezing technique for short-term storage of mouse embryos. J In Vitro Fert Embryo Transf. 1986 Feb;3(1):10-4.
27. Bakhtiyari M, Sato E, Hosseini A, Sadeghi Y, Karimipour M. The effect of 4 c temperature on development and implantation rate of mouse embryo. Yakhteh. 2002;4(15):141-5.
28. Esmaeilpour T. The expression profile of MCT1, MCT2, MCT3 and MCT4, in mouse embryo. tehran: Shahid Beheshti University; 2006.
29. Harding E, Day M, Gibb C, Johnson M, Cook D. The activity of the H+-monocarboxylate cotransporter during pre-implantation development in the mouse. Pflügers Archiv European Journal of Physiology. 1999;438(3):397-404.