خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۲ شماره ۲ تابستان ۹۴ (۱۴۲-۱۳۵)

مقاله پژوهشی

جداسازی و تعیین خصوصیات میکرووزیکول‌های جدا شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی جفت

فاطمه میرزائیان[۱]، ناصر امیری‌زاده[۲]، مهین نیکوگفتار ظریف[۳]، کامران عطاردی[۴]، مژده نخلستانی[۵]

چکیده

سابقه و هدف

سلول‌های بنیادی مزانشیمی(MSC) از طریق ترشح فاکتورهای محلول، تماس سلول با سلول و غیره، عملکرد بنیادی سلول‌های بنیادی خونساز(HSC) را حفظ می‌کنند. به تازگی مشخص شده است که MSC قطعات غشایی به نام میکرووزیکول و یا میکروپارتیکل را تولید می‌کند که در انتقال پیام آن نقش دارد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۳ عدد جفت که تحت شرایط استریل به دست آمده بودند، استفاده شد. سلول‌های مزانشیمی و سپس میکرووزیکول‌های آن‌ها توسط اولترا سانتریفوژ در دور g ۱۰۰،۰۰۰ جدا گردید. غلظت میکرووزیکول‌ها در ۲ نمونه، با روش بردفورد تعیین و خصوصیات آن‌ها توسط فلوسیتومتری و میکروسکوپ الکترونی تعیین شد.

یافته‌ها

سلول‌های مزانشیمی جفت در روز ۱۴ پس از جداسازی به پاساژ اول رسیدند که در مقایسه با سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان زمان بیشتری برای رشد اولیه‌شان، لازم بود. میکرووزیکول‌ها دارای اندازه‌های متفاوت، حدود ۴۰ تا ۱۶۰ نانومتر بودند. میانگین غلظت آن‌ها µg/mL ۱۲۵ بود(حداقل غلظت µg/mL ۱۰۰ و حداکثر µg/mL ۱۵۰) و شاخص‌های CD44 ، CD29 ، CD73 و CD105 را بر سطح خود بیان می‌کردند.

نتیجه گیری

میکرووزیکول‌ها، مارکرهای سلول مزانشیمی را که برای چسبندگی به سلول‌های دیگر لازم است، بیان می‌کنند و بنابراین می‌توانند در اعمال اثرات سلول مزانشیمی در کشت‌های مختلف از جمله هم کشتی با سلول بنیادی خونساز نقش داشته باشند.

کلمات کلیدی: سلول‌های مشتق از میکروپارتیکل‌ها، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، جفت

تاریخ دریافت: ۹۳/ ۲/ ۶
تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۶

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- PhD هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۵- پزشک عمومی ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

مقدمه

MSC یکی از سلول‌های استرومایی مهم در مغز استخوان می‌باشد. این سلول قادر به بازسازی محیط مغز استخوان بوده و با ارتباط نزدیکی که با سلول‌های مغز استخوان برقرار می‌کند، از آن‌ها حمایت می‌کند(۱). به همین دلیل از این سلول به عنوان تغذیه‌کننده(feeder) برای تکثیر HSC استفاده می‌شود. MSC از طریق ترشح فاکتورهای محلول، تماس سلول با سلول و غیره عملکرد بنیادی HSC را حفظ می‌کند(۲، ۱).

امروزه به قطعات غشایی کروی که میکروویزیکول (MV) نامیده می‌شوند و سال‌های زیادی نادیده گرفته می‌شدند، توجه شده است(۳). MVها اگزوزوم‌هایی با قطر ۳۰-۱۰۰۰nm هستند که در شرایط نرمال و پاتولوژیک، از غشاء پلاسمایی انواع مختلف سلول‌ها از جمله سلول‌های خونی، سلول‌های بنیادی و پیش‌سازها آزاد می‌شوند(۷-۴). تشکیل MVها یک پدیده فیزیولوژیک است اما افزایش سطح آن‌ها در بیماری‌های مختلفی مانند سندرم حاد قلبی، افزایش فشار خون، بیماری‌های التهابی، اتوایمنی، آترواسکلروز، عفونت، سرطان یا بیماری‌های قلبی عروقی دیده می‌شود(۹، ۸). MVها به عنوان مکانیسم جدید ارتباط سلول‌ها با هم در نظر گرفته می‌شوند، با توجه به سلول منشا و شرایط از نظر ترکیب با هم متفاوتند و آنتی‌ژن‌های سلول منشا را بیان می‌کنند(۱۰، ۷، ۵). از آن‌جایی که هنگام ترشح شدن، مقداری از سیتوپلاسم سلول را بر می‌دارند، ممکن است دارای سایتوکاین، پروتئین‌های سیگنالینگ، miRNA و mRNA های مشتق از سلول باشند(۸). بر طبق مطالعه‌های انجام شده، MVها شامل miRNA هایی هستند که در اثرات بیولوژیک آن‌ها نقش دارند و بعد از ورود MVها به سلول هدف، وارد سلول شده و اثرات خود را ایفا می‌کنند. به عنوان مثال، MVهای مشتق از MSC باعث بهبود آسیب حاد کلیوی در موش SCID شده است(۱۱، ۵). نظر به این که از MSC به عنوان تغذیه‌کننده برای کشت HSC استفاده می‌شود، احتمالاً MVها در ایجاد اثرات آن نقش دارند.

هدف از این مطالعه، جداسازی میکروویزیکول ها از منبع جفت به جای مغز استخوان، تعیین خصوصیات و سپس استفاده از آن‌ها در مطالعه‌های هم کشتی با HSC بود.

مواد و روش‌ها

جداسازی سلول بنیادی مزانشیمی:

در یک مطالعه تجربی، نمونه جفت با کسب رضایت از اهداکنندگان سالم بیمارستان میلاد، تحت شرایط استریل گرفته و در محلول PBS-EDTA که حاوی ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین بود، به آزمایشگاه آورده شد. زیر هود لامینار، نمونه در پلیت استریل با تیغ بیستوری کاملاً ریز شده و در لوله فالکون ۵۰ ریخته شد و سپس با ۲۰ میلی‌لیتر PBS به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ rpm شستشو داده شد. به رسوب حاصل، ۲۵ میلی لیتر محلول کلاژناز (آمریکا، سیگما) اضافه شده، با ورتکس کاملاً مخلوط و به مدت ۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO_2 قرار داده شد تا بافت حل شود. سپس محلول را از صافی گذرانده، ۳-۲ بار با PBS شستشو داده شده و گلبول‌های قرمز باقی‌مانده توسط محلول هایپوتون کلرید آمونیوم(آمریکا، فارمین ژن) لیز و پس از ۱۰ دقیقه مجدداً شستشو شد. در نهایت پلیت سلولی، درون فلاسک T75 برده شد، ۱۰ mL محیط Dulbecco's Modified Eagle Medium-Low Glucose) DMEM ، آمریکا، گیبکو) حاوی ۱۰٪ FBS (آمریکا، گیبکو) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک اضافه شد و در انکوباتور، قرار داده شد. پس از دو روز محیط تعویض شد تا سلول‌های غیر چسبنده خارج شوند و پس از آن هر ۴ روز یک بار تا زمانی که سلول‌ها برای پاساژ آماده شدند، محیط سلول‌ها تعویض شد. در روز ۱۴ کشت، چندین کلنی در نقاط مختلف فلاسک رشد کرده بود، برای تحریک رشد بهتر، سلول‌ها پاساژ داده شدند و پس از پاساژ دوم، رشد سلول‌ها به صورت فزاینده‌ای افزایش یافت.

ایمونوفنوتیپ سلول‌های مزانشیمی:

جهت تائید هویت سلول‌های مزانشیمی، از آنتی‌بادی‌های CD45-FITC ، CD34-PE ، CD44-FITC (آمریکا، فارمین ژن)، CD166-PE ، CD105-FITC ، CD73-

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

PE ، CD29-FITC ، CD90-PE (دانمارک، داکو) و ایزوتیپ کنترل‌های IgG1-FITC ، IgG1-PE (آمریکا، فارمین ژن) استفاده شد.

تمایز سلول‌های مزانشیمی به استخوان و چربی:

10^5 سلول در هر چاهک پلیت ۶ خانه کشت داده شد. وقتی تراکم سلول‌ها به ۹۰٪ رسید، محیط DMEM-LG را خارج کرده و سلول‌ها با PBS به آرامی شسته شدند و سپس به چاهک‌ها محیط استئوژنیک و آدیپوژنیک، اضافه شد و هر ۳ روز یک بار تعویض محیط صورت گرفت. به موازات، نمونه کنترل در محیط DMEM-LG کشت داده شد. محیط تمایز استئوسیتی شامل محیط(Dulbecco's Modified Eagle Medium-DMEM-HG High Glucose ، گیبکو) همراه با ۱۰٪ FBS و ۱۰ میلی‌مولار در لیتر دگزامتازون، ۱۰ نانو مولار در لیتر ویتامین D3 و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسید آسکوربیک و محیط تمایز آدیپوسیتی شامل DMED-HG به همراه ۱۰٪ FBS و ۱ میکرو مولار در لیتر دگزامتازون، ۱۰ میکرو مولار در لیتر انسولین و ۲۰۰ میکرو مولار در لیتر ایندومتاسین بود. پس از گذشت ۱۲ روز، سلول‌ها در محیط استئوژنیک، تغییر شکل داده و متراکم شدند. در این زمان، رنگ‌آمیزی آلیزارین رد جهت تایید رده استخوانی انجام شد. هم چنین درون سیتوپلاسم سلول‌ها در محیط آدیپوژنیک، واکوئل‌های چربی مشاهده و برای تایید آن، رنگ‌آمیزی Oil-Red-O انجام شد.

جداسازی میکروویزیکول‌ها:

سلول‌های مزانشیمی جدا شده از جفت در طی چند هفته پاساژ داده شدند. زمانی که سلول‌های پاساژ ۶ ، به تراکم ۹۰٪ رسیدند، محیط روی آن‌ها تخلیه و با RPMI دارای ۰/۵٪ BSA جایگزین شد.

پس از ۱۸ ساعت محیط رویی سلول‌ها جدا و با دور g ۳۵۰ ، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، برای حذف دبری و بقایای سلولی سانتریفوژ شد. مجدداً مایع رویی را برداشته و این بار با دور g ۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید و در نهایت سوپ رویی به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور g ۱۰۰،۰۰۰ سانتریفوژ(آمریکا، L5-50 بکمن) شد. پلیت میکروویزیکولی برای انجام ایمونوفنوتایپ در محیط ۱۹۹ و جهت بررسی با میکروسکوپ الکترونی، در گلوتارالدئید ۲/۵٪ حل شد.

تعیین خصوصیات میکروویزیکول‌های جدا شده از سلول‌های مزانشیمی بافت جفت:

۱- عکس برداری توسط میکروسکوپ الکترونی:

برای این منظور میکروویزیکول‌ها در ۳۰ میکرولیتر گلوتارالدئید ۲/۵٪ شناور شده و برای بررسی و عکس‌برداری به بخش میکروسکوپ الکترونی دانشگاه ایران، تحویل داده شد.

۲- تعیین غلظت میکروویزیکول‌ها با روش بردفورد:

برای این کار، رقت‌های مختلفی از(۷۰۰ µg/mL) BSA ساخته شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول بردفورد را درون ۶ چاهک ریخته و ۱۰ میکرولیتر از رقت‌های تهیه شده به آن اضافه گردید و جذب نوری در طول موج ۵۹۵ nm خوانده و توسط آن منحنی استاندارد کشیده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت میکروویزیکول‌ها تعیین شد(غلظت میکروویزیکول‌ها تنها تا رقت ۱/۸ اندازه‌گیری شد)(جدول ۱).

جدول ۱: غلظت میکرو وزیکول‌ها با روش برد فورد

رقت / جذب نوری	۱	۱/۲	۱/۴	۱/۸	۱/۱۶	۱/۳۲
جذب نوری BSA (۵۹۵ nm)	۲/۷۱	۱/۹۹	۱/۵۲	۱/۳۸	۱/۰۸	۱/۰۲
غلظت BSA (µg/mL)	۷۰۰	۳۵۰	۱۷۵	۸۷/۵	۴۳/۷۵	۲۱/۸۵
جذب نوری MV ها (۵۹۵ nm)	۱/۳۵	۱/۱۹	۱/۰۶	۰/۹۸	–	–
غلظت MV ها (µg/mL)	۱۲۵	۶۲	۳۱	۱۵/۵	–	–

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

۳- ایمونوفنوتایپ میکروویزیکول‌ها توسط فلوسیتومتری:

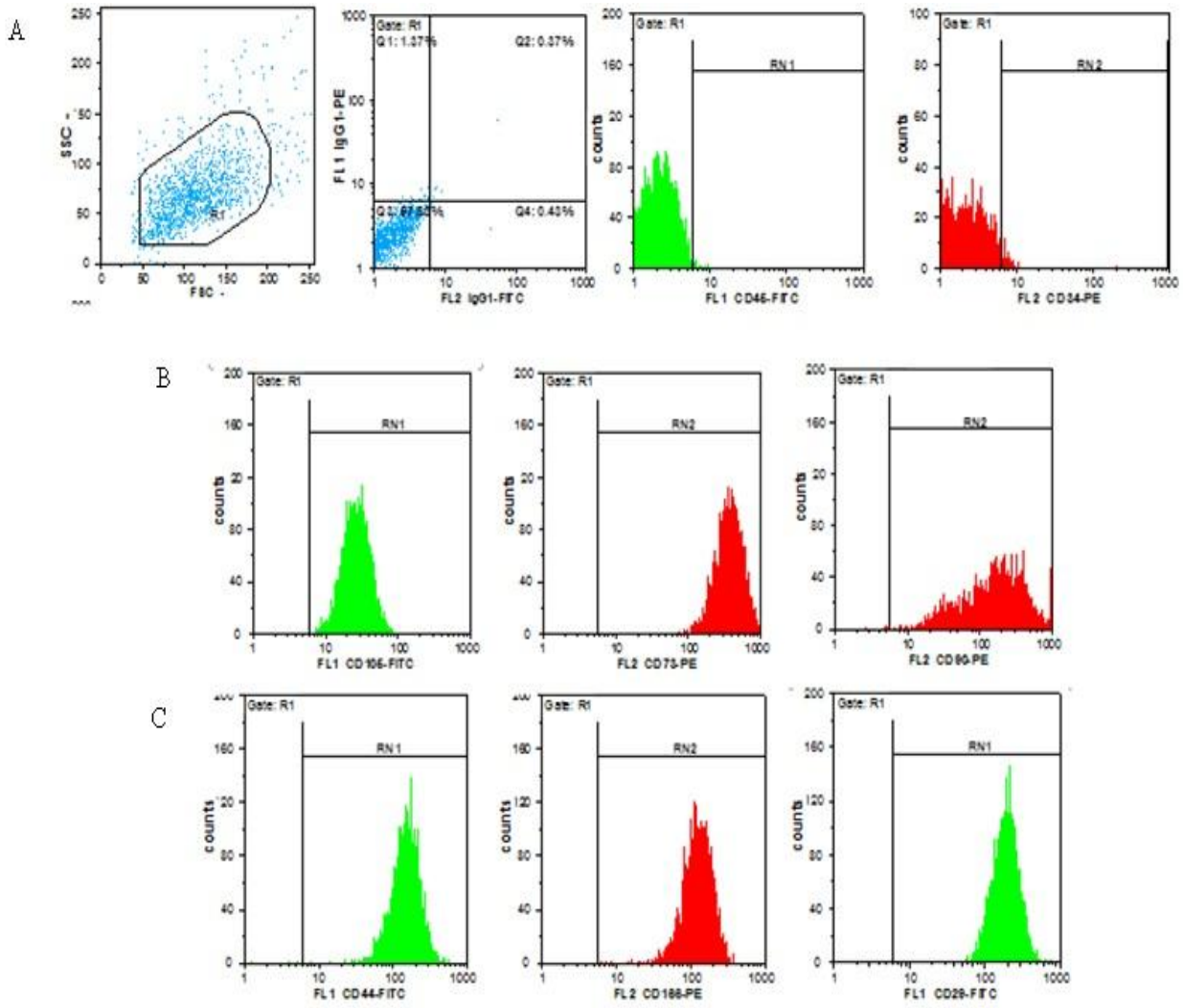
میکروویزیکول‌ها از نظر وجود مارکرهای CD29 ، CD105 ، CD44 و CD73 بررسی گردیدند. بدین صورت که در لوله‌های آزمایش و کنترل منفی، (۲۰ µg/mL) µL ۵۰ میکروویزیکول، ریخته و به لوله‌ها µg ۳ آنتی‌بادی‌های مربوطه، اضافه و توسط روش فلوسیتومتری ارزیابی شدند. در ضمن از بیدهای ۱ میکرون کونژوگه به FITC جهت تعیین سایز و محل قرارگیری تقریبی MVها استفاده شد.

یافته‌ها

تایید هویت سلول‌های مزانشیمی جدا شده از بافت جفت:

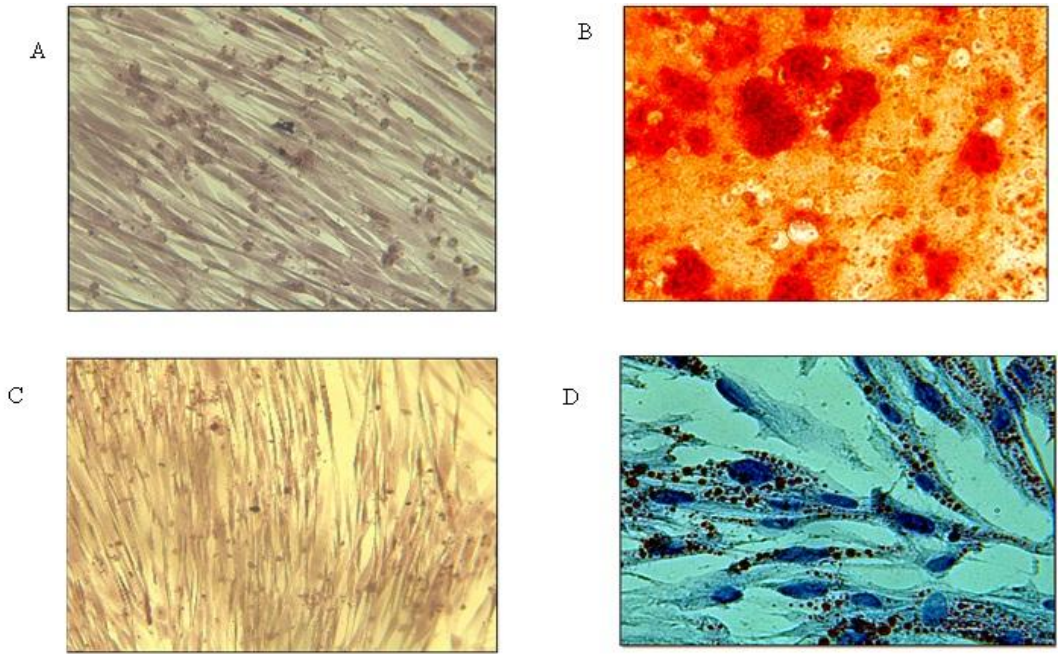
۱- بررسی ایمونوفنوتیپ سلولی:

سلول‌های مزانشیمی جدا شده از جفت، شاخص‌های CD29 ، CD44 ، CD90 ، CD73 ، CD105 و CD166 را به طور قوی بیان کردند ولی از نظر بیان شاخص‌های CD34 و CD45 منفی بودند(شکل ۱).

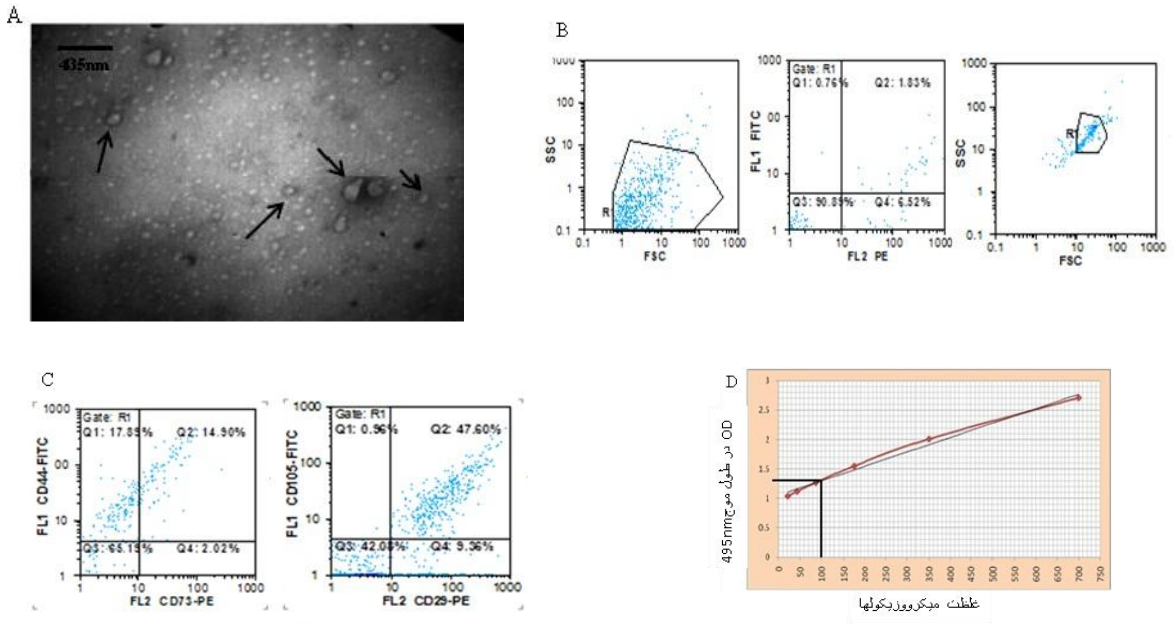


شکل ۱: بررسی خصوصیات ایمونوفنوتیپی سلول‌های مزانشیمی جدا شده از بافت جفت، A : از چپ به راست: پراکندگی سایز و گرانولیتی، کنترل ایزوتیپ، گراف‌های منفی از نظر شاخص‌های(۱/۵٪) CD45 و (۲/۳٪) CD34 ، B : به ترتیب از چپ به راست مثبت از نظر: (۹۹٪) CD105 ، (۹۹٪) CD73 ، (۹۹٪) CD90 ، C : به ترتیب از چپ به راست مثبت از نظر: (۹۹٪) CD44 ، (۹۹٪) CD166 ، (۹۹٪) CD29 .

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]



شکل۲: رنگ‌آمیزی اختصاصی بر روی سلول‌های تحت کشت در محیط تمایزی و کنترل، A و B : رنگ‌آمیزی Alizarian Red ، A : محیط کنترل، B : در محیط تمایز استئوسیتی، C و D : رنگ آمیزی Oil-Red-O ، C : محیط کنترل، D : در محیط آدیپوسیتی.



شکل ۳ : تعیین خصوصیات میکروویزیکول‌های جدا شده از سلول‌های مزانشیمی بافت جفت، A : میکروویزیکول‌های جدا شده، دارای اندازه‌های متفاوت(حدود ۴۰ تا ۱۶۰ نانومتر) بودند، B : از چپ به راست، پراکندگی سایز و گرانولیتی میکروویزیکول‌ها، کنترل ایزوتیپ، گراف مربوط به بیدهای ۱ میکرون کونژوگه شده با FITC ، C : میکروویزیکول‌ها از نظر بیان شاخص‌های(۴۹٪) CD105 ، (۵۶٪) CD29 ، (۱۶٪) CD73 ، (۳۳٪) CD44 مثبت بودند، D: روش بردفورد، منحنی بالا غلظت میکروویزیکول‌ها را در یکی از دفعات جداسازی نشان می‌دهد، غلظت میکروویزیکول‌ها، ۱۰۰ µg/mL است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

۲- بررسی خصوصیات تمایزی:

پس از گذشت ۱۲ روز، سلول‌ها در محیط استئوسیتی تغییر شکل واضح داده، متراکم و سنگ‌فرشی شدند که به علت رسوب کلسیم با رنگ آلیزارین رد به رنگ قرمز در آمدند. هم چنین درون سلول‌های محیط آدیپوسیتی پس از ۱۲ روز واکوئل‌های چربی مشاهده شد که با رنگ Oil-Red-O واکوئل‌های چربی به رنگ قرمز درآمدند. در حالی که تغییری در سلول‌های کنترل مشاهده نشد(شکل۲).

تعیین خصوصیات میکرووزیکول‌ها:

تجزیه و تحلیل با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، وزیکول‌هایی با سایزهای متفاوت، در رنج ۴۰ تا ۱۶۰ نانومتر را نشان داد(شکل A ۳)، میکرووزیکول‌ها در مقایسه با بیدهای ۱ میکرون، کوچک‌تر و هتروژن‌تر بودند(شکل B ۳)، شاخص‌های CD105 ، CD29 ، CD44 و CD73 ، را بیان کردند(شکل C ۳) و میانگین غلظت آن‌ها در طی ۲ بار جداسازی ۱۲۵ µg/mL بود، منحنی یکی از دفعات جداسازی در شکل آورده شده است(شکل D ۳).

بحث

یکی از مکانیسم‌های ارتباط سلولی، میکرووزیکول‌ها می‌باشند. از میکرووزیکول‌های به دست آمده از مغز استخوان، در چندین مطالعه استفاده شده است(۱۳-۱۱ ، ۵). MVها یا در نزدیکی سلول منشاشان باقی می‌مانند و یا این که وارد مایعات بیولوژیک مانند پلاسما، ادرار، شیر، مایع مغزی - نخاعی، مایع آمنیوتیک، ترشحات تومووری، لنف یا مایعات دیگر شده و به سلول‌های دیگر با فاصله‌ی زیاد می‌رسند(۹، ۳). اطلاعات خود را منتقل می‌کنند و بدین‌وسیله فعال‌سازی سلول، اصلاحات فنوتیپی و برنامه‌ریزی مجدد عملکرد سلول را میانجی‌گری می‌کنند(۱۴، ۸، ۳). از آن جا که مشخص شده، سلول‌های مزانشیمی بافت‌های جنینی مانند بافت جفت، شباهت فنوتیپی با سلول مزانشیمی مغز استخوان دارند و از طرفی تهیه بافت جفت نسبت به مغز استخوان بسیار آسان‌تر و مقرون به صرفه‌تر است، در این مطالعه، از سلول‌های مزانشیمی بافت جفت برای تهیه میکرووزیکول‌ها استفاده شد. رشد اولیه سلول‌ها کند بود و زمان بیشتری برای رسیدن به پاساژ اول نیاز داشت، برای این منظور در روز ۱۴ پس از جداسازی، سلول‌ها پاساژ داده شدند تا به رشد تصاعدی آن‌ها کمک شود. پس از پاساژ ۲، سلول‌ها رشد چشمگیری داشتند که نسبت به سلول‌های مغز استخوان قابل توجه بود. به این موضوع در مطالعه بارلو و همکارانش نیز اشاره شده است(۱۶).

اندازه میکرووزیکول‌ها از ۴۰ تا ۱۶۰ نانومتر متغیر بود که نشان‌دهنده منشا متفاوت این وزیکول‌ها بود(۸). در تحقیق برونو و همکارانش میانگین سایز میکرووزیکول‌های جدا شده از مغز استخوان ۱۳۵ nm عنوان شده است(۱۱).

میانگین غلظت میکرووزیکول‌ها ۱۲۵ µg/mL بود. شاخص‌های CD29 ، CD44 ، CD73 ، CD105 بر سطح میکرووزیکول‌ها بیان شد، در مطالعه برونو و همکارانش این شاخص‌ها بر سطح میکرووزیکول‌های به دست آمده از مزانشیم مغز استخوان بیان شدند که این موضوع، شباهت وزیکول‌های جدا شده از ۲ منبع مجزا را نشان می‌دهد(۱۱).

از طرفی این موضوع نشانگر اهمیت نقش چسبندگی این وزیکول‌ها و اعمال اثرات مختلف بر دیگر سلول‌ها می‌باشد زیرا در مطالعه برونو و همکارانش، حذف مارکرهای سطحی به وسیله تریپسین، ورودشان به سلول‌های اپی‌تلیال کلیوی را مهار کرد(۱۱).

به هر حال به دلیل کشف اهمیت استفاده از میکرووزیکول‌ها، در سال‌های اخیر مطالعه‌های بسیاری در این زمینه، انجام شده است و به دنبال این تحقیق، ما استفاده از سلول‌های مزانشیمی بافت جفت را به جای سلول‌های مغز استخوان، به عنوان منبع میکرووزیکول‌ها پیشنهاد می‌کنیم.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده میکرووزیکول‌های جداشده از سلول مزانشیمی جفت ، تشابه زیادی با انواع جدا شده از سلول مزانشیمی مغزاستخوان دارند و می‌توانند

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

در ارتباطات سلولی و اعمال اثرات سلول مزانشیمی نقش داشته باشند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد هماتولوژی مصوب مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از مرکز تحقیقات بیوشیمی ـ بیوفیزیک دانشگاه تهران و بخش میکروسکوپ الکترونی دانشگاه ایران قدردانی می‌نمایند.

References :

1- Wagner W, Saffrich R, Ho AD. The Stromal Activity of Mesenchymal Stromal Cells. Transfus Med Hemother 2008; 35(3): 185-93.
2- Jing D, Fonseca AV, Alakel N, Fierro FA, Muller K, Bornhauser M, *et al*. Hematopoetic stem cell in co-culture with mesenchymal stromal cell--modeling the niche compartment *in vitro*. Haematologica 2010; 95(4): 542-50.
3- Camussi G, Deregibus MC, Bruno S, Grange C, Fonsato V, Tetta C. Exosome/microvesicle-mediated epigenetic reprogramming of cells. Am J Cancer Res 2011; 1(1): 98-110.
4- Ratajczak J, Miekus K, Kucia M, Zhang J, Reca R, Dvorak P, *et al*. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoetic progenitors.evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. Leukemia 2006; 20(5): 847-56.
5- Collino F, Deregibus MC, Bruno S, Sterpone L, Aghemo G, Viltono L, *et al*. Microvesicles derived from adult human bone marrow and tissue specific mesenchymal stem cells shuttle selected pattern of miRNAs. PLoS One 2010; 5(7): e11803.
6- Skog J, Würdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Sena-Esteves M, *et al*. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. Nat Cell Biol 2008; 10(12): 1470-6.
7- Yuan A, Farber EL, Rapoport AL, Tejada D, Deniskin R, Akhmedov NB, *et al*. Transfer of micrRNAs by embryonic stem cell microvesicles. PLoS One 2009; 4(3): e4722.
8- Mause SF, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. Circ Res 2010; 107(9): 1047-57.
9- Lee TH, D'Asti E, Magnus N, Al-Nedawi K, Meehan B, Rak J. Microvesicles as mediators of intercellular communication in cancer-the emerging science of cellular 'debris'. Semin Immunopathol 2011; 33(5): 455-67.
10- Deregibuss MC,Cantaluppi V,Calogero R, *et al*. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. Blood 2007; 110(7): 2440-8.
11- Bruno S, Grange C, Deregibus MC, Calogero RA, Saviozzi S, Collino F, *et al*. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury. J Am Soc Nephrol 2009; 20(5): 1053-67.
12- Bruno S, Grange C, Collino F, Deregibus MC, Cantaluppi V, Biancone L, *et al*. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury. PLoS One 2012; 7(3): e33115.
13- Mokarizadeh A, Delirezh N, Morshedi A, Mosayebi G, Farshid AA, Mardani K. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells. potent organelles for induction of tolerogenic signaling. Immunol Lett 2012; 147(1-2): 47-54.
14- Mrvar-Brecko A, Sustar V, Jansa V, Stukelj R, Jansa R, Mujagić E, *et al*. Isolated microvesicles from peripheral blood and body fluids as observed by scanning electron microscope. Blood Cells Mol Dis 2010; 44(4): 307-12.
15- Battula VL, Treml S, Abele H, Bühring HJ. Prospective isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human placenta using a frizzled-9-specific monoclonal antibody. Differentiation 2008; 76(4): 326-36.
16- Barlow S, Brooke G, Chatterjee K, Price G, Pelekanos R, Rossetti T, *et al*. Comparison of human placenta-and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cells. Stem Cells Dev 2008; 17(6): 1095-107.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 12(2): 135-142

Original Article

Isolation and characterization of Placenta- MSC derived microvesicles

Mirzaian F.[1], Amirizadeh N.[1], Nikougoftar Zarif M.[1], Atarodi K.[1], Nakhlestani M.[1]

[1]Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Mesenchymal stem cells (MSCs) are the key elements of bone marrow and facilitate HSC maintenance in an *in vitro* co-culture system through the secretion of soluble factors and cell-cell contact. Cell-derived microvesicles (MVs) or microparticles have been described as a new mechanism of cell to cell communication.

Materials and Methods

In this experimental study, we obtained three placenta tissues from mothers with the informed consent under sterile condition. MSCs were isolated from the placentas; after several passages, MVs were obtained from MSC-culture-conditioned media by ultracentrifugation. Thje MVs concentration was determined in two samples by Bradford method; then, we characterized them by Transmission Electron microscopy and flowcytometer.

Results

At day 14 of the isolation, placenta-MSCs were passaged with more time for their growth required compared to BM-MSC. A different size range of microvesicles, within 40 to 160nm, was observed. The mean concentration was 125µg/mL (minimum 100µg/mL and maximum 150µg/mL) and they expressed CD29, CD44, CD73, and CD105 on their surface such as BM-MSC derived microvesicles.

Conclusions

Microvesicles express mesenchymal cell markers that are required for adhesion to other cells. So they can contribute to the effects of mesenchymal stem cells in various cultures such as co-culture with hematopoetic stem cells.

Key words: Cell-Derived Microparticles, Mesenchymal Stem Cells, Placenta

Received: 26 Apr 2014
Accepted: 17 Nov 2014

Correspondence: Amirizadeh N., PhD of Hematology and Blood Banking. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601599; Fax : (+9821) 88601599
E-mail: *n.amirizadeh@ibto.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-06-18]