فصلنامه (علمی)

زیست شناسی تکوینی

سال پانزدهم، شماره ۳، تابستان ۱۴۰۲ ص. ۴۰-۳۵

مقاله پژوهشی

مقایسه سلول‌های فیبروبلاست مشتق شده از جنین جوجه و بلدرچین بر اساس توانایی تکثیر و بقا

الهام حویزی[۱]*، علی آقائی[۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۲] گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): e.hoveizi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۱

DOI: 10.30495/jdb.2023.1960635.1310 https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.3.4.6

چکیده

سلول‌های بنیادی ماکیان مدل‌های درون آزمایشگاهی فوق العاده‌ای در آموزش‌های تکوینی و دارویی محسوب می‌شوند. این سلول‌ها دارای ظرفیت‌های بالایی در خودنوزایی و تمایز بوده و می‌توانند به عنوان فناوری ارزشمندی در صنعت طیور مورد توجه قرار گیرند. هدف از این پژوهش استحصال، کشت و مقایسه سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه و بلدرچین با درنظر گرفتن زمان دوبرابر شدن تعداد سلولی (PDT) و میزان بقای سلولی در طول دوره‌های مختلف پاساژ بود. در این پژوهش تجربی، سلول‌های فیبروبلاست با روش هضم آنزیمی از تخم‌های لقاح یافته جدا و در محیط کشت DMEM محتوی ۱۰درصد سرم FBS برای پاساژهای مختلف کشت شدند. زمان دو برابر شدن تعداد سلول‌ها و بقای سلولی با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو و تستMTT بررسی گردید. داده‌ها نشان داد که هر دو نوع سلول در محیط کشت DMEM محتوی ۱۰درصد سرم FBS و در دمای ۳۸ درجه دارای حداکثر تکثیر بودند. براساس نتایج ما PDT برای هر دونوع سلول حدود ۲±۱۶ ساعت در طول پاساژهای اول تا سوم محاسبه گردید، اما در طی پاساژهای چهارم تا ششم PDT برای سلول‌های فیبروبلاست جوجه به ۲±۲۸ ساعت و برای سلول‌های فیبروبلاست بلدرچین ۲±۳۶ ساعت محاسبه گردید ($p<0.05$)؛ همچنین نتایج تست بقای سلولی مطابق با نتایج PDT بود. این پژوهش توانایی خودنوزایی و بقای سلول‌های فیبروبلاست بلدرچین به‌عنوان منبعی جدید از سلول‌های بنیادی ماکیان را توصیف می‌کند و استفاده ازین سلول‌ها در کاربردهای فناوردی در آینده را پیشنهاد می‌کند.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های بنیادی ماکیان، سرعت رشد، بقای سلولی، بلدرچین.

مقدمه

امروزه اهمیت پژوهش در مورد سلول‌های بنیادی برکسی پوشیده نیست. از نظر کاربردی سلول‌های بنیادی در موارد مختلفی اهمیت دارند از جمله در مطالعات بنیادی و تولید دانش، در تولید و بررسی اثربخشی داروهای جدید و از همه مهم‌تر در سلول‌درمانی به عنوان ابزاری ارزشمند در جایگزین کردن

سلول‌های آسیب دیده و از دست رفته کاربرد دارند [۱, ۲]. علاوه بر اهمیت سلول‌های بنیادی در مطالعات انسانی می‌توان به کاربردهای ارزشمند علوم سلولی در سایر مطالعات حیوانی و در اینجا به‌طور ویژه به اهمیت آن در مطالعات ماکیان اشاره کرد [۳, ۴]. در دنیای پرندگان جنین جوجه به عنوان مدلی مناسب و بهینه مورد توجه بوده و در بسیاری از مطالعات فیزیولوژی، تکوین، بیوشیمی و فارماکولوژی کاربرد دارد، همچنین در سال‌های اخیر بلدرچین به عنوان طیوری با ویژگی های ارزشمند مورد توجه قرار گرفته است. در سال ۱۹۶۱ بلدرچین به عنوان یک مدل برای مطالعات آزمایشگاهی مطرح بود اما به تدریج برای تولید گوشت و تخم مورد توجه قرار گرفت و پرورش آن گسترش یافت. پرورش بلدرچین در ایران از دو دهه‌ی گذشته آغاز شده و با توجه به شرایط اقلیمی کشور و سازگاری خوب بلدرچین به آب و هوای گرم و پرورش آسان‌تر آن نسبت به سایر طیور، تمایل برای پرورش این پرنده در حال افزایش است [۵-۷]، همچنین با توجه به که جنین پرندگان در مراحل تکوینی شباهت‌های زیادی به پستانداران دارند گاهی به عنوان مطالعات تکمیلی مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ به عنوان نمونه همزمان با توسعه فناوری تولید پستانداران تراریخت، این فناوری در تولید جوجه‌های تراریخت رشد قابل توجهی داشته است [۵, ۸]. امروزه روش‌های مختلفی بر پایه علوم سلولی در تولید پرندگان تراریخت استفاده می‌گردد که می‌توان به بلاستودرم، سلول‌های بنیادی جنین و زایای اولیه اشاره داشت. به علاوه در بررسی‌های سیستم ایمنی و مقاومت طیور در برابر بیماری‌های مختلف، تهیه‌ی واکسن و بررسی ویروس‌های متنوع از جمله ویروس‌های انفولانزا و پایش‌های مولکولی درگیر، سلول‌های بنیادی می‌توانند کاربردهای با ارزشی داشته باشند [۹, ۱۰]. به علاوه جنین جوجه و برخی ماکیان و سلول‌های بنیادی حاصل از آن‌ها را می‌توان به سهولت کشت داد که راه را برای بسیاری از پژوهش‌های دارویی و بیوشیمیایی هموار ساخته است. در شرایط کشت آزمایشگاهی دست‌رسی آسان به یک منبع سلولی از ارکان اصلی محسوب می‌شود و همچنین قدرت بقا، سرعت تکثیر و حفظ حیات سلول‌ها از سایر ارکان به حساب می‌آیند [۱۱]؛ لذا دست‌یابی به منابع سلولی آسان، به صرفه اقتصادی، به دور از مشکلات اخلاقی، بدون تومورزایی و با قدرت تکثیر بالا بسیار ارزشمند است. جنین پرندگانی مانند جوجه و یا بلدرچین حاوی سلول‌های شبه فیبروبلاستی با خاصیت چسبندگی، قدرت تکثیرمناسب و در دسترس بوده که خواص سلول‌های مزانشیمی را نشان می‌دهند [۱۲]. با توجه به اهمیت کشت سلول‌های پرندگان و کاربرد و علاقه‌مندی پژوهشگران در کاربرد این سلول‌ها در زمینه‌های مختلف، در این پژوهش به بررسی و مقایسه روش جداسازی و سرعت تکثیر و حفظ حیات دو منبع سلولی مختلف از جنین جوجه و بلدرچین پرداخته شده است.

مواد و روش کار

در پژوهش حاضر از تخم مرغ در روز ۱۰ جنینی و تخم بلدرچین در روز ۷ جنینی استفاده شد که در دستگاه جوجه کشی با دمای ۳۸ درجه نگه‌داری شدند. در روزهای ذکر شده تخم‌مرغ‌ها به اتاق کشت سلول منتقل شده و پس از ضدعفونی در هود آزمایشگاهی شکسته و جنین‌ها خارج شدند. جنین‌ها از تخم خارج و اندام‌های جنینی به‌همراه ارگان‌های داخلی آن‌ها جدا شدند. هضم مکانیکی با تیغه اسکالپل انجام گرفت. به‌منظور هضم آنزیمی لاشه‌ی جنین‌ها به‌مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در تریپسین (Gibco, USA) غوطه‌ور و انکوبه شدند. سپس محتویات لوله از صافی استریل عبور داده شد و سوپ جنین به‌دست آمده در فلاسک (SPL, Korea) محتوی محیط کشت DMEM (Gibco, USA) حاوی ۱۰% سرم جنین گاوی((Gibco, USA) FBS,) ریخته شده و فلاسک به انکوباتور منتقل شد. فلاسک‌ها روزانه با میکروسکوپ اینورت از نظر رشد، تقسیم سلولی، تراکم پدید آمده، مورفولوژی سلولی و همچنین کنترل آلودگی باکتریایی و قارچی مورد بازدید قرار گرفتند. سلول‌ها تا پاساژ ششم کشت شدند و سلول‌ها برای پاساژ با استفاده از آنزیم ترپسین (Gibco, USA) جدا شدند. برای بررسی بقای سلولی، سلول‌ها با تعداد $۱۰^{۴}$ ×۱ در هر پلیت (کره، SPL) ۹۶ خانه کشت و بقای سلولی در روز دوم در پاساژهای اول تا پنجم انجام شد. برای انجام این تست، محلول MTT (Gibco, USA) حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پودر MTT در تاریکی تهیه شد (به‌عنوان استوک اصلی)، سپس محلول را با محیط کشت DMEMبه نسبت ۹:۱ (۹ قسمت محیط کشت و ۱ قسمت محلولMTT) ترکیب کرده و در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از

محلول مذکور اضافه و پلیت به‌مدت ۴-۳ ساعت انکوبه شد. پس از آن، مجددا چاهک‌ها را تخلیه کرده و در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر DMSO که برای حل کردن رسوبات است اضافه شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد، سپس محتویات هر چاهک ۱ بار به آرامی با سمپلر پیپتاژ شد و در نهایت جذب هر چاهک با استفاده از الایزا (FAX Stat, USA) و طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد، همچنین سنجش قابلیت حیات و رشد سلول‌ها با روش‌های مختلفی انجام می‌شود از آن جمله روش تریپان بلو (Sigma, USA) است که روشی آسان برای ارزیابی یک‌پارچگی غشای سلول‌ها و در نتیجه تکثیر یا مرگ آن‌هاست. غشای سلول‌های زنده اجازه‌ی ورود رنگ‌های غیر الکترولیت را به درون سلول نمی‌دهد، اما سلول‌های مرده به خوبی رنگ می‌گیرند. برای انجام این تست هر دو رده‌ی سلولی در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت داده شدند و برای شش پاساژ (روز دوم بعد از هر پاساژ) میزان رشد و تعداد سلول‌ها با این روش سنجیده شد به این صورت که پس از گذشت زمان مورد نظر محیط رویی سلول‌ها خارج، با تریپسین از کف پلیت جدا شدند. سپس از سوسپانسیون سلولی هر گروه ۵۰ میکرولیتر برداشته با ۵۰ میکرولیتر رنگ تریپان بلو ۴% ترکیب و بعد از گذشت ۱ دقیقه، ۱۰ میکرولیتر از مخلوط روی لام نئوبار ریخته و زیر میکروسکوپ اینورت (Biorad, USA) شمارش سلولی انجام شد. سلول‌های مرده و آپوپتوز یافته به رنگ آبی، و سلول‌های زنده شفاف دیده می‌شوند، سپس به کمک فرمول زیر درصد فعالیت حیاتی مورد محاسبه قرار گرفت.

$$\text{رشد } 100 \times \frac{\text{تعداد سلول‌ها زنده}}{\text{تعداد کل سلول‌ها}} =$$

به منظور بررسی و مقایسه سرعت رشد دو نوع سلول، زمان دو برابر شدن این سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد. در این رابطه PDT تعداد دوبرابر شدن جمعیت سلول‌ها، N0 تعداد سلول‌ها در زمان شروع کشت، N تعداد سلول‌ها در پایان کشت و CT مدت زمان دوره کشت است.

$$PDT = \frac{C.T}{Log\frac{N}{N_0} \times 3.31}$$

نتایج با نرم‌افزار SPSS(Ver.16) و آزمون‌های آماری ANOVA و Tukey به صورت (Mean±SEM) ارزیابی شد. رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel 2016 انجام گرفت و تفاوت‌هایی با $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

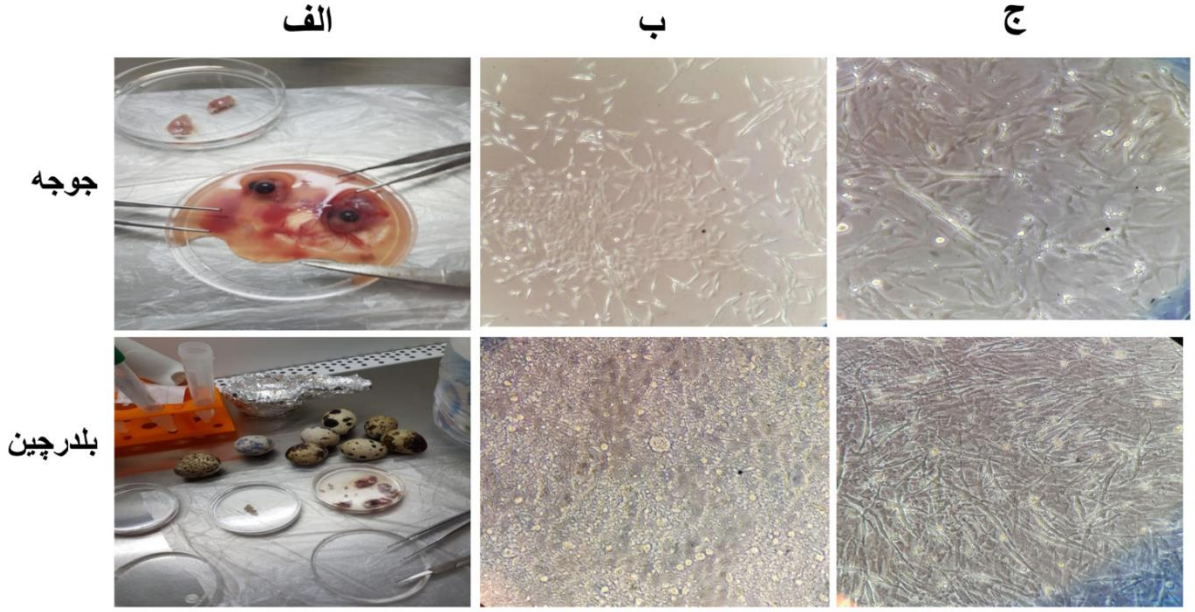
نتایج

نتایج نشان داد که هر دو نوع سلول دارای شکل دوکی، قدرت چسبندگی و توانایی تقسیم هستند. سلول‌های استحصال شده‌ای که به فلاسک کشت ریخته شدند به صورت شناور، گرد و شفاف بوده و در هر دو نوع سلول در کشت اولیه۴ تا۶ ساعت طول کشید تا به کف فلاسک چسبیده و شروع به تغییر شکل و کشیده شدن کردند و تمام کف فلاسک با سلول احاطه گردید که بعد از ۱۲ ساعت کاملا به کف فلاسک چسبیده و به طور تیپیک دوکی شکل شده بودند. بعد از پاساژ اول هم در سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه و هم جنین بلدرچین کلونی‌های سلولی ایجاد و شروع به رشد و گسترش کردند و در هر دونوع سلول پس از گذشت ۲۴ تا ۴۸ ساعت کف فلاسک تا بالای ۸۰% پر شد، همچنین در پاساژ سوم کلیه ناخالصی‌های سلولی برطرف و سلول‌ها کاملا یک‌نواخت و کاملا دوکی شدند و به علاوه ظرافت، میزان کشیدگی و باریک شدن بدنه سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین نسبت به جنین جوجه بیش‌تر و مشخص‌تر بود (شکل ۱).

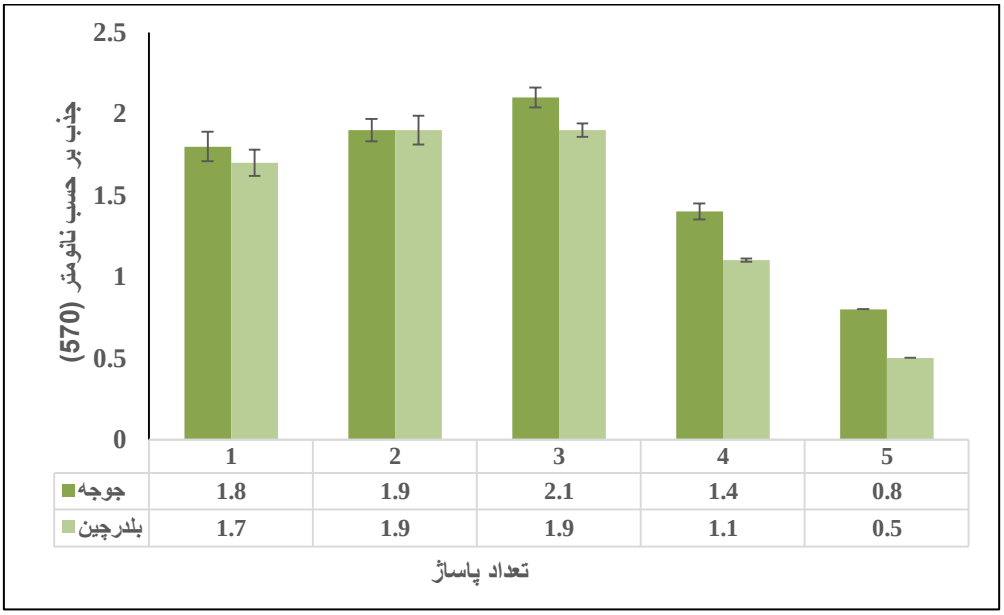
همچنین براساس نتایج به دست آمده زمان دو برابر شدن سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه و بلدرچین در پاساژهای اول تا سوم حدود ۲±۱۶ ساعت بود که سرعت رشد بعد از پاساژ سوم به طور چشم‌گیری در هر دونوع سلول کاهش یافته به طوری که در سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه در پاساژهای چهارم تا ششم حدود ۲±۲۸ و در مورد زمان دوبرابر شدن سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین به ۲±۳۶ افزایش یافت ($p\leq0/05$). این یافته‌ها همچنین نشان داد که در پاساژهای بالاتر سرعت رشد سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین به طور معنی داری نسبت به سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه کاهش یافت، بعلاوه بقای سلولی با تست MTT تا پاساژ پنجم (دو روز بعد از هر پاساژ) بررسی گردید. هیچ گونه اختلاف معنی‌داری از پاساژ اول تا سوم در بقای سلولی بین دو سلول فیبروبلاست‌های جوجه و بلدرچین وجود نداشت، اما در هر دو سلول اختلاف معنی‌داری ($p\leq0/05$) بین بقای سلولی در پاساژ چهارم و پنجم دیده شد و بقای سلولی در روز دوم از سلولی پاساژ سوم تا پنجم بشدت

کاهش یافت، همچنین بعد از پاساژ سوم اختلاف معنی‌داری در بقای سلولی بین سلول‌های فیبروبلاست‌های جوجه و بلدرچین وجود داشت (شکل ۲).

برای بررسی میزان تکثیر و رشد سلولی، سلول‌ها با رنگ تریپان بلو رنگ آمیزی و در هر پاساژ با لام نئوبار شمارش شدند و نتایج این شمارش‌ها در تایید نتایج حاصل از بقای سلولی بوده به‌طوری‌که در پاساژهای اول تا سوم تفاوت معنی‌داری در تعداد سلول‌ها در پاساژها و همچنین در مقایسه با دو نوع سلول نبوده ولی طی پاساژهای چهارم تا ششم به شدت و به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱).



شکل۱- مشاهده مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست جنینی جوجه و بلدرچین با میکروسکوپ اینورت. الف- مراحل استخراج جنین از تخم و آماده سازی برای استحصال سلولی ب- سلول‌های فیبروبلاست جنینی جوجه و بلدرچین در پاساژ اول ج- سلول‌های فیبروبلاست جنینی جوجه و بلدرچین در پاساژ سوم که سلول‌ها کاملا یک‌نواخت و دوکی شکل بوده و میزان کشیدگی سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین نسبت به جنین جوجه بیش‌تر و مشخص‌تر دیده می‌شود. (تصاویر با عدسی ۲۰X گرفته شده است).



شکل ۲- نمودار بررسی بقای سلولی با روش MTT. میزان بقای سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه و بلدرچین در پاساژهای اول تا پنجم(دو روز بعد از هر پاساژ) بر حسب جذب در ۵۷۰ نانومتر.

بحث

امروزه با توجه به اهمیت پرورش و بهبود روند زندگی در تولید، ازدیاد، نگه‌داری، بهداشت و تغذیه طیور که خوراک غالب جامعه را تشکیل می‌دهند و با توجه به نقش طیور در اقتصاد کشور، هر پژوهش علمی در این زمینه بسیار ارزشمند و قابل توجه است. در این پژوهش سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه و بلدرچین با روش آنزیمی استحصال و کشت شدند و مورفولوژی، روند تکثیر، بقا و سرعت رشد آن‌ها باهم مقایسه گردید. همان‌گونه که نتایج این پژوهش نشان داد سرعت رشد و تکثیر در طی پاساژهای اولیه تفاوت معنی‌داری بین دو نوع سلول نشان نداد اما درطی پاساژهای چهارم تا ششم سرعت تکثیر و بقای سلولی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین در پاساژهای بالا با تفاوت معنی‌داری سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین رشد کندتری نسبت به سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه نشان دادند، همچنین از نظر موفولوژی هر دو نوع سلول‌ها ظاهر کشیده و دوکی داشته اگرچه سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین شکلی کشیده‌تر داشت. به‌علاوه ارزیابی زمان دوبرابر شدن تعداد سلولی نشان داد که طی پاساژهای اول تا سوم تفاوت معنی‌داری دیده نشد ولی در چهارم تا ششم سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه به طور معنی‌داری با سرعت بیش‌تری نسبت به سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین بوده به طوری که در طی ۲۸ ساعت یک بار تعداد این سلول‌ها دوبرابر شده درحالی که در سلول‌های فیبروبلاست جنین بلدرچین این زمان ۳۶ ساعت بود.

امروزه ویژگی‌های مناسب و در دسترس بودن ماکیانی مانند جوجه و بلدرچین سبب انتخاب آن‌ها به عنوان مدل‌های تکاملی یا ژنتیکی گردیده است. با توجه به آن که فناوری‌هایی مانند ایجاد موجودات تراریخت و دست‌کاری‌های ژنتیکی انقلابی را در صنعت پرندگان ایجاد کرده است [۱۳, ۱۴]. لذا مطالعات سلولی و مولکولی در زمینه طیوری مانند مرغ و بلدرچین بسیار ضروری است، همچنین به دلیل این‌که این پرندگان مدل‌های حیوانی مناسبی برای مطالعات بیماری‌های انسانی و مدل‌هایی برای پژوهش‌های دارویی و جیره‌های غذایی و تهیه واکسن هستند، بسیار سودمند است [۳, ۷]، به عنوان مثال در سال ۲۰۱۳ طی پژوهشی Abdolmaleki و همکاران سلول‌های فیبروبلاست و کبدی جوجه را استحصال کرده و به بررسی تاثیرات وانادیوم بر تکثیر و بقای آن‌ها پرداختند [۱۵]، همچنین Morin و همکاران در سال ۲۰۱۷ سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه را استحصال و کشت دادند و به بررسی تاثیرات کریسپر در مطالعات ژنتیکی در این سلول‌ها پرداختند [۱۶]. بعلاوه Li و همکاران در سال ۲۰۱۷ از سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه به عنوان مدل مناسبی برای بررسی پاسخ‌های پروتئوم این سلول‌ها در برابر ویروس‌های آنفولونزا استفاده کردند [۱۷]، همچنین Shittu و همکاران در سال ۲۰۱۶ با روش آنزیمی سلول‌های فیبروبلاست جنین جوجه را استخراج ن و سپس رده‌ی جدیدی از سلول‌های پرتوان القا شونده تولید کردند که دارای ویژگی‌های مناسبی بود و برای تولید واکسن و مطالعات بیماری نیوکاسل -که از مهم‌ترین بیماری‌های آسیب زننده به طیور است- مورد استفاده قرار دادند [۱۸].

در این پژوهش به دلیل محدودیت‌های موجود بیان ژن‌های پرتوانی در این سلول‌ها بررسی و مقایسه نگردید لذا پیشنهاد می‌شود برای تکمیل پژوهش انجام شده پژوهش‌های بیان ژنی و بررسی کاریوتایپ در این سلول‌ها و مقایسه با سایر سلول‌ها انجام گیرد، همچنین به دلیل نرم بودن بافت جنینی این پرندگان توصیه می‌شود روش‌های غیر آنزیمی و ساده‌تر برای استحصال این سلول‌ها بررسی گردد.

قدردانی و تشکر

هزینه این پژوهش از پژوهانه‌ی سال ۱۳۹۹ تامین گردیده است. نویسندگان این مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Tawk M, Vriz S. [Regeneration of vertebrate appendage: an old experimental model to study stem cells in the adult]. Med Sci (Paris). 2003; 19(4): 465-71.

[2] Hoveizi E, Ebrahimi-Barough S. Embryonic stem cells differentiated into neuron-like cells using SB431542 small molecule on nanofibrous PLA/CS/Wax scaffold. Journal of cellular physiology. 2019; 234(11): 1956-1973.

[3] Tolik D, Polawska E, Charuta A, Nowaczewski S, Cooper R. Characteristics of egg parts, chemical

composition and nutritive value of Japanese quail eggs--a review. Folia Biol (Krakow). 2014; 62(4): 287-92.
[4] Intarapat S, Stern CD. Chick stem cells: current progress and future prospects. Stem Cell Res. 2013;11(3): 1378-92.
[5] Farzaneh M, Hassani SN, Mozdziak P, Baharvand H. Avian embryos and related cell lines: A convenient platform for recombinant proteins and vaccine production. Biotechnology journal. 2017; 12(5).
[6] Abdolmaleki A, Zahri S. Comparison of toxicity and teratogenic effects of salen and vo-salen on chicken embryo. Drug Chem Toxicol. 2016; 39(3): 344-9. Epub 2015/12/25.
[7] Morin V, Veron N, Marcelle C. CRISPR/Cas9 in the Chicken Embryo. Methods Mol Biol. 2017; 1650: 113-23.
[8] Kwon MS, Koo BC, Kim D, Nam YH, Cui XS, Kim NH, et al. Generation of transgenic chickens expressing the human erythropoietin (hEPO) gene in an oviduct-specific manner: Production of transgenic chicken eggs containing human erythropoietin in egg whites. PloS one. 2018; 13(5): e0194721.
[9] Farzaneh M, Attari F, Mozdziak PE, Khoshnam SE. The evolution of chicken stem cell culture methods. Br Poult Sci. 2017; 58(6): 681-6.
[10] Davey MG, Balic A, Rainger J, Sang HM, McGrew MJ. Illuminating the chicken model through genetic modification. Int J Dev Biol. 2018; 62(1-2-3): 257-64.
[11] Shittu I, Zhu Z, Lu Y, Hutcheson JM, Stice SL, West FD, et al. Development, characterization and optimization of a new suspension chicken-induced pluripotent cell line for the production of Newcastle disease vaccine. Biologicals. 2016; 44(1): 24-32.
[12] Li Y, Ming F, Huang H, Guo K, Chen H, Jin M, et al. Proteome Response of Chicken Embryo Fibroblast Cells to Recombinant H5N1 Avian Influenza Viruses with Different Neuraminidase Stalk Lengths. Scientific reports. 2017; 7:40698.
[13] Vargas-Sanchez RD, Ibarra-Arias FJ, Torres-Martinez BDM, Sanchez-Escalante A, Torrescano-Urrutia GR. Use of natural ingredients in the Japanese quail diet and their effect on carcass and meat quality. Review. Asian-Australas J Anim Sci. 2019: 1641-56.
[14] Pramod RK, Lee BR, Kim YM, Lee HJ, Park YH, Ono T, et al. Isolation, Characterization, and In Vitro Culturing of Spermatogonial Stem Cells in Japanese Quail (Coturnix japonica). Stem cells and development. 2017;26(1):60-70.
[15] Sobhani A, Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadiani S, et al. Multipotent Stem Cell and Current Application. Acta Med Iran. 2017; 55(1): 6-23.
[16] Wood SM, Wood JN. A chicken model for studying the emergence of invariant object recognition. Front Neural Circuits. 2015; 9:7.
[17] Zheng D, Wang X, Xu RH. Concise Review: One Stone for Multiple Birds: Generating Universally Compatible Human Embryonic Stem Cells. Stem Cells. 2016; 34(9): 2269-75.
[18] Farzaneh M, Attari F, Khoshnam SE, Mozdziak PE. The method of chicken whole embryo culture using the eggshell windowing, surrogate eggshell and ex ovo culture system. Br Poult Sci. 2018; 59(2): 240-4.

Journal of Developmental Biology
Vol. 15, No.3, Summer 2023

A Comparison of Chicken-Derived Fibroblast Cells and Quail Cells Based on Proliferation and Viability Potential

Hoveizi E.[1*], Aghaei A.[2]

[1] Associate professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
[2] Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Sciences, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.

* (Corresponding author): e.hoveizi@scu.ac.ir

DOI: 10.30495/jdb.2023.1960635.1310 https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.3.4.6

Received: June 2022 Accepted: January 2023

Abstract

The avian stem cells are excellent in vitro model for development and pharmacology educations. These cells have the potential for self-renewal and differentiation and can be considered as a valuable technology in the poultry industry. The purpose of this study was the derivation, culture, and comparison of chicken fibroblast cells to quail cells, regarding cell doubling time and the rate of cell viability during various cell passages. In this experimental study, fertilized eggs were obtained and fibroblasts were isolated with an enzymatic digestion method and of cultured in DMEM medium including 10% FBS for various passages. Population doubling time (PDT) and cell viability were evaluated by trypan blue staining and MTT assay. Data indicated that both cells had a maximum proliferation when cultured in a DMEM containing 10% FBS at 38 C°. Based on our results, PDT was measured 16±2 h for both two cells during the first o third passages. But, the population of the chicken fibroblasts was doubled in number each 28±2 h, while this value was 36±2.1 h for quail cell population ($p<0.05$) during the third to sixth passages. Also, cell viability results were according to PDT results. This study demonstrated a potential of self-renewal and cell viability of quail fibroblast cells as a new avian cell source and suggested to use of these cells in future manufacturing applications.

Keywords: Avian stem cells, Growth rate, Cell viability, Quail.