بسم الله الرحمن الرحيم

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب زهرا خصوصی فخرآبادی دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی
دانشکده‌ی علوم پایه دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۴۲۲۳۶۴۱۰۹ که در تاریخ
از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان بررسی رشد و تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی برروی داربست الکتروریسی شده‌ی نانوکامپوزیت زیستی
دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.
۲) مسئولیت صحّت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.
۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.
۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.
۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.
۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.
۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: زهرا خصوصی فخرآبادی
امضا
تاریخ

دانشکده‌ی علوم پایه
گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد
در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش سلولی و مولکولی

عنوان:

بررسی رشد و تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی برروی داربست الکتروریسی شده‌ی نانوکامپوزیت زیستی

استاد (اساتید) راهنما:
دکتراسداله اسدی

استاد (اساتید) مشاور:
دکترمحمد محمدزاده

پژوهشگر:
زهرا خصوصی فخرآبادی

فصل اسفند سال۱۳۹۶

دانشکده‌ی علوم پایه

گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد
در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش سلولی و مولکولی

عنوان:

بررسی رشد و تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی برروی داربست الکتروریسی شده‌ی نانوکامپوزیت زیستی

پژوهشگر:
زهرا خصوصی فخرآبادی

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی .....

نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی علمی	سمت	امضاء
دکتراسداله اسدی		استاد راهنما و رییس کمیته‌ی داوران	
دکترمحمد محمدزاده		استاد مشاور	
دکتر ابوالفضل بایرامی		داور	

اسفند –۱۳۹۶

تقدیم به:

سپاسگزاری:

نام خانوادگی دانشجو: **خصوصی فخرآبادی** نام: **زهرا**

عنوان پایان‌نامه: **بررسی رشد و تمایز استئوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی برروی داربست الکتروریسی شده‌ی نانوکامپوزیت زیستی**

استاد (اساتید) راهنما:**دکتر اسداله اسدی**

استاد (اساتید) مشاور: **دکتر محمد محمدزاده**

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: **زیست شناسی**

گرایش: **سلولی و مولکولی** دانشگاه: **محقق اردبیلی**

دانشکده: **علوم پایه** تاریخ دفاع: ۹۶/۱۲/۲۲ تعداد صفحات:۸۹

چکیده: نانوداربست‌ها نقش حمایت از رشد وتمایز انواع متعدد سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی را دارند. در این پروژه سلول‌های بنیادی مزانشیمی پس از استخراج از مغزاستخوان رت، به سمت استخوان تمایز داده شدند. برای تهیه نانوداربست زیستی مناسب، ماتریکس زیستی مشتق از بافت مثانه‌ی گوسفندی پس از سلول‌زدایی به روش شیمیایی و فیزیکی، استخراج گردیده و پس از لیوفیلیزاسیون بوسیله‌ی نانوآسیاب پودر شد و نانوپودر حاصل جهت تولید نانوداربست کامپوزیتی پلیمری استفاده گردید. نانوداربست کامپوزیت حاصل از ترکیب PCL/نانوپودر زیستی، به روش الکتروریسی تهیه شد. سپس ویژگی‌های نانوداربست کامپوزیتی تهیه شده از لحاظ زیستی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان‌دهنده‌ی خصوصیات سطحی مناسب داربست بود. ترکیبات شیمیایی نانوداربست حاصل توسط FTIR مورد بررسی قرار گرفت. بررسی زیست‌سازگاری داربست‌ها بوسیله‌ی آزمون MTT نشان‌دهنده سطح بهتر نانوداربست کامپوزیتی، جهت رشد و تکثیر سلول‌ها نسبت به نانوداربست PCL بود. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغزاستخوان، پس از استخراج از ناحیه‌ی ران و درشت نی رت، برروی نانوداربست کامپوزیتی حاصل کشت داده شد و از لحاظ مورفولوژی و نحوه‌ی اتصال سلول‌ها برروی داربست، به وسیله‌ی تصاویر میکروسوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت. و در نهایت به منظور بررسی توان تمایزی سلول‌های کشت شده برروی نانوداربست، سلول‌ها به مدت ۲۱ روز تحت تیمار با محیط تمایزی استئوبلاستی قرار گرفتند. روند تمایز توسط رنگ آمیزی آلیزارین رد بررسی شد که نتایج نشان‌دهنده‌ی تمایز بهتر سلول‌ها برروی نانوداربست کامپوزیتی بود. در نهایت نتایج به دست آمده نشان داد که نانوداربست کامپوزیتی حاصل از کار ما، می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای استفاده در مهندسی بافت استخوان باشد.

کلید واژه‌ها: ۱-الکتروریسی ۲-نانوداربست زیستی۳-سلول بنیادی ۴-تمایز

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب — صفحه

فصل اول:کلیات پژوهش

۱- مقدمه ۲
۱-۱ - سلول‌های بنیادی ۲
۱-۱-۱ -سلول‌های بنیادی رویانی(ESCs) ۴
۱-۱-۲ -سلول‌های بنیادی بالغ(ASCs) ۵
۱-۲ -منابع و کاربردهای بالینی سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۶
۱-۳ -منابع سلول‌های بنیادی برای مهندسی بافت استخوان ۷
۱-۴-مهندسی بافت ۹
۱-۵ -مهندسی بافت استخوان ۱۰
۱-۶ -نقش فاکتورهای رشد در مهندسی بافت استخوان ۱۲
۱-۶-۱ -TGF-β (Transforming Growth Factor-β) ۱۲
۱-۶-۲ -BMPs (Bone Morphogenetic Proteins) ۱۲
۱-۶-۳ -PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ۱۳
۱-۶-۴ -FGF (Fibroblast Growth Factor) ۱۳
۱-۶-۵ -IGFs (Insulin-like Growth Factor) ۱۳
۱-۶-۶ -VEGFs (Endothelial Growth Factor Vascular) ۱۳
۱-۷ -بافت استخوان ۱۴
۱-۸ -داربست ۱۵
۱-۹ -انواع موادزیستی برای ساخت داربست ۱۶
۱-۹-۱ -مواد زیستی طبیعی بر پایه پروتئین ۱۷
۱-۹-۱-۱ -ابریشم ۱۷
۱-۹-۱-۲ -کلاژن ۱۷
۱-۹-۱-۳ -فیبرین ۱۸
۱-۹-۲ -مواد زیستی طبیعی مبتنی بر پلی‌ساکارید ۱۸
۱-۹-۲-۱ -هیالورونان ۱۸
۱-۹-۲-۲ -آگارز ۱۹
۱-۹-۲-۳ -کیتوزان ۱۹

۱-۹-۳-سلول‌زدایی از بافت برای تهیه داربست‌های طبیعی ۲۰
۱-۹-۳-۱-روش فیزیکی ۲۰
۱-۹-۳-۲-روش شیمیایی ۲۱
۱-۹-۳-۳-روش آنزیمی ۲۱
۱-۱۰-مواد زیستی مصنوعی ۲۲
۱-۱۰-۱-پلی‌لاکتون‌ها ۲۳
۱-۱۰-۱-۱-مسیرهای سیگنالینگ ۲۴
۱-۱۱-سیستم کشت سه‌بعدی ۲۴
۱-۱۱-۱-داربست متخلخل ۲۵
۱-۱۱-۲-داربست هیدروژل ۲۵
۱-۱۱-۳-داربست فیبری ۲۶
۱-۱۱-۴-داربست‌های میکروسفر ۲۶
۱-۱۱-۵-داربست‌های فاقد سلول ۲۶
۱-۱۲-روش‌های ساخت داربست‌ها ۲۷
۱-۱۲-۱-الکتروریسی ۲۷
۱-۱۳-پیشینه‌ی پژوهش ۲۹
۱-۱۴-اهداف پژوهش ۳۰

فصل دوم:مواد و روش‌های پژوهش

۲-مواد و روش‌ها ۳۲
۲-۱-ابزار و مواد مورد استفاده در پژوهش ۳۲
۲-۲-تهیه مواد و محلول‌های مورد استفاده ۳۴
۲-۲-۱-تهیه بافر نمکی فسفات (PBS) ۳۴
۲-۲-۲-محیط کشت DMEM ۳۴
۲-۲-۳-آنتی‌بیوتیک ۳۵
۲-۲-۳-۱-آمفوتریپسین B ۳۵
۲-۲-۴-تریپانبلو ۳۵
۲-۲-۵-تهیه محلول MTT ۳۵
۲-۲-۶-تهیه محلول ۱٪ SDS ۳۵
۲-۲-۷-تهیه محلول پارافرمالدهید ۴٪ ۳۶
۲-۳-روش‌های آزمایشگاهی ۳۶
۲-۳-۱-استخراج و کشت اولیه سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان رت ۳۶

۲-۳-۲- تعویض محیط کشت ۳۷
۲-۳-۳- پاساژ دادن کشت اولیه و تولید رده‌ی سلولی ۳۷
۲-۳-۴- ذخیره و نگهداری طولانی مدت سلول‌های بنیادی ۳۸
۲-۳-۵- روش دفریزکردن سلول‌ها ۳۹
۲-۳-۶- شمارش سلول‌ها با تریپان بلو ۳۹
۲-۳-۷- تست MTT ۴۰
۲-۳-۸- تهیه داربست ۴۱
۲-۳-۸-۱-آماده‌سازی بافت مثانه و روند سلول‌زدایی ۴۱
۲-۳-۸-۲- تهیه‌ی پودر نانو از قطعات مثانه‌ی سلول‌زدایی شده ۴۲
۲-۳-۸-۳- ساخت نانوفیبر PCL توسط روش الکتروریسی ۴۳
۲-۳-۸-۴- ساخت نانوفیبر PCL/پودربافتی مثانه توسط روش الکتروریسی ۴۴
۲-۳-۹-بررسی ویژگی‌های داربست‌ها ۴۵
۲-۳-۹-۱-مطالعات میکروسکوپ الکترونی ۴۵
۲-۳-۹-۲-بررسی توزیع اندازه‌ی منافذ ۴۵
۲-۳-۹-۳-بررسی زیست سازگاری نانوداربست‌ها ۴۶
۲-۳-۹-۴-طیف سنجیFTIR ۴۶
۲-۳-۹-۵-بررسی ویژگی‌های پودر بافتی با روش XRD ۴۷
۲-۳-۹-۶- تخلخل‌سنجی(BET) ۴۷
۲-۳-۱۰-۱-کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی رت بر روی نانوداربست‌ها ۴۸
۲-۳-۱۰-۲ بررسی اتصال سلول بر روی نانوداربست‌ها ۴۸
۲-۳-۱۰-۳- تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به استئوبلاست برروی نانوداربست‌ها ۴۹
۲-۳-۱۱-تایید تمایز استئوبلاستی سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۴۹
۲-۳-۱۱-۱-رنگ آمیزی آلیزارین قرمز ۴۹
۲-۳-۱۱-۲-بررسی نانوداربست‌های حاوی سلول‌های تمایزیافته ۴۹

فصل سوم:نتایج و یافته‌های پژوهش

۳-نتایج ۵۱
۳-۱- خصوصیات داربست‌ها ۵۱
۳-۱-۱- مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره ۵۱
۳-۱-۲- توزیع اندازه‌ی منافذ داربست‌ها ۵۴
۳-۱-۳- طیف سنجی FTIR ۵۷
۳-۱-۴-بررسی ساختار و ویژگی‌های نانو پودر زیستی مثانه باXRD ۶۰

۳-۱-۵-تخلخل‌سنجی نانو پودر ونانو داربست‌ها با روش BET ۶۱
۳-۱-۶- زیست‌سازگاری نانوداربست‌ها ۶۲
۳-۲- استخراج سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان رت ۶۳
۳-۳- کشت سلول بر روی نانوداربست‌ها ۶۴
۳-۴- بررسی تمایز استئوبلاستی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت ۶۴
۳-۴-۱-تایید تمایز به استخوان توسط رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز ۶۵
۳-۴-۲-بررسی تمایز به استخوان توسط تصاویر میکروسکوپ الکترونی ۶۵

فصل چهارم:بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- بحث ۶۷
۴-۲-پیشنهادات ۷۲
فهرست منابع و مآخذ ۷۳

فهرست جدول‌ها

شماره و عنوان جدول — صفحه

جدول ۲-۱: دستگاههای مورد استفاده ۳۲
جدول ۲-۲: مواد مورد استفاده در پژوهش ۳۳
جدول ۲-۳: مواد و میزان مورد استفاده در تهیه بافرفسفات ۳۴
جدول ۳-۱:تعداد، مساحت و درصد منافذ موجود در سطح داربست ۵۴
جدول ۳-۲: تعداد، مساحت و درصد منافذ موجود در سطح داربست ۵۶
جدول ۳-۳:موقعیت پیکهای FTIR برای نانوداربستهای PCL/پودربافتی مثانه ۵۷
جدول ۳-۴:خواص فیزیکی نانو پودر زیستی مثانه ۶۱

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل — صفحه

۱-۱:چندتوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی ۴
۱-۲:تصویر شماتیک از مهندسی بافت..... ۱۰
۱-۳:تصویر شماتیکی از بافت استخوان..... ۱۵
۱-۴:تصاویر میکروسکوپی از بافت‌های مختلف پس از سلول‌زدایی..... ۲۲
تخمدان C) کبد B) ماهیچه A)
۱-۵:تصویر شماتیک از ساختار شیمیایی پلیمر PCL..... ۲۴
۱-۶:تصویر شماتیک از دستگاه الکترواسپاینینگ..... ۲۹
۲-۱:تصویر مراحل تشریح رت و استخراج سلول‌های بنیادی مغزاستخوان ۳۷
۲-۲:تصویر شماتیک از لام نئوبار..... ۴۰
۲-۳:تست MTT..... ۴۱
۲-۴:داربست طبیعی حاصل از مثانه‌ی سلول‌زدایی شده..... ۴۲
۲-۵:A) دستگاه آسیاب بلوطی B) محفظه‌های بلوطی شکل C) پودر نانو حاصل از بافت سلول‌زدایی شده‌ی مثانه ۴۳
۲-۶:تصویر میکروسکوپ نوری از نانوداربست‌ها A) نانوداربست پودربافتی/PCL..... ۴۴
B) نانوداربست PCL..... ۴۴
۲-۷:دستگاه الکترواسپاینینگ ۴۵
شکل ۳-۱:تصاویر SEM از نانوداربست کامپوزیتی PCL/ پودربافتی مثانه A) بزرگنمایی ۵۰۰ x..... ۵۲
B) بزرگنمایی ۳۰۰۰۰x ۵۲
شکل ۳-۲: تصاویر SEM از نانوداربست PCL A) بزرگنمایی ۵۰۰x..... ۵۳
B) بزرگنمایی ۲۰۰۰۰x..... ۵۳
شکل ۳-۳: تصویر گرافیکی چگونگی توزیع منافذ در سطح نانوداربست کامپوزیتی PCL/پودربافتی مثانه A)تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از نانوداربست کامپوزیتی PCL/پودربافتی مثانه B) تصویر گرافیکی توضیع مناسب پس از تعیین تعداد و مساحت منافذ توسط نرم افزار ImageJ..... ۵۴
شکل ۳-۴: نمودار تعداد و توزیع مساحت منافذ در سطح نانوداربست کامپوزیتی PCL/پودربافتی مثانه ۵۵
شکل ۳-۵: تصویر گرافیکی چگونگی توزیع منافذ در سطح نانوداربست PCL A) تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از داربست PCL B) تصویر گرافیکی توضیع مناسب پس از تعیین تعداد و مساحت منافذ توسط نرم افزار ImageJ..... ۵۶
شکل ۳-۶:نمودار تعداد و توزیع مساحت منافذ در سطح نانوداربست PCL..... ۵۷
شکل ۳-۷: طیف سنجی FTIR مربوط به نانوداربست‌های PCL/پودربافتی مثانه..... ۵۸
شکل ۳-۸:طیف سنجی FTIR مربوط به نانوداربست‌های PCL/پودربافتی مثانه..... ۵۹
شکل ۳-۹: دیاگرام XRD از نانو پودر زیستی مثانه..... ۶۰

شکل ۳-۱۰: نمودار جذب و واجذب نیتروژن نانو پودر زیستی مثانه ۶۱
شکل ۳-۱۱: بررسی زیست‌سازگاری سلول‌ها بر روی نانوداربست PCL و نانوداربست PCL /پودربافتی مثانه در تست MTT روز سوم ۶۲
شکل ۳-۱۲: مقایسه توان زنده ماندن سلول‌ها بر روی نانوداربست PCL و نانوداربست PCL /پودربافتی مثانه در تست MTT روز سوم ۶۳
شکل۳-۱۳: تصویر میکروسکوپ Invert از سلول‌های بنیادی مزانشیمی استخراج شده از مغزاستخوان رت A) پاساژ دوم B) پاساژ چهارم ۶۴
شکل ۳-۱۴: تصویر میکروسکوپ Invert از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغزاستخوان در روز هفتم ۶۵

فهرست علائم اختصاری (در صورت لزوم)

مفهوم یا توضیح	علامت اختصاری
Fourier transform infrared spectroscopy	FTIR
Scanning Electron Microscopy	SEM
Dublecco Modified Eagle Medium-low Glucose	DMEM-LG
Dimethyl Sulphoxide	DMSO
Ethylendiamine Tetra Acetic Acid	EDTA
Fetal Bovin Serum	FBS
Phosphate Buffer Saline	PBS

فصل اول:

کلیات پژوهش

۱- مقدمه

۱-۱- سلول‌های بنیادی

محققین طی بررسی‌های گسترده در زمینه تکوین انسان و حیوانات به سلول‌هایی دست پیدا کردند که قادر به تمایز به انواع سلول‌های مختلف بدن بودند. به این سلول‌ها که قابلیت خودتجدیدی و تمایز به دودمان‌های سلولی متعدد را دارا می‌باشند، سلول بنیادی گفته می‌شود. سلول‌های بنیادی از مراحل اولیه تشکیل انسان تا پایان عمر، در بدن یافت می‌شوند. این سلول‌ها، سلول‌های فناناپذیری می‌باشند که می‌توان آن‌ها را از جنین یا فرد بالغ استخراج کرد. سلول‌های بنیادی جنینی تمام‌توان(totipotent) بوده و در همان مراحل اولیه رشد جنین می‌توانند به جهت استفاده‌های درمانی مورد بهره‌برداری قرار بگیرند، در حالی که سلول‌های بنیادی بالغ، چندتوان(multipotent) بوده و به جهت استفاده‌های درمانی در آینده مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند. به طور کلی، سلول‌های بنیادی تا زمانیکه یک پیام مناسب برای تکامل و ایجاد یک سلول تمایزیافته دریافت نکند بصورت سلول غیرمتعهد به حیات خود ادامه می‌دهند [Avasthi et al., 2008] .

در دهه ۱۹۶۰ نشان داده شد که یک نوع نادر از تومور به نام تراتوکارسینوما، حاوی سلول‌هایی است که هم پرتوان بوده و هم قادر به خود نوسازی بودند[Kleinsmith and Pierce, 1964]. پرتوانی به معنای ظرفیت سلول‌های منفرد، برای ایجاد تمامی سلول‌های دیگر بدن و سلول‌های رده‌ی جنسی می‌باشد. خودتجدیدی توانایی تولید سلول‌های یکسان دختری است در حالی که همچنان توانایی تمایز خود را حفظ می‌کنند. این ویژگی مشخص‌کننده یک سلول بنیادی است. مطالعه سلول‌های بنیادی تراتوکارسینوما منجر به کشف شرایط منحصربه فردی از کشت شد که به این سلول‌ها اجازه‌ی تکثیر و گسترش بدون نیاز به تمایز، در داخل بدن را می‌داد. در سال ۱۹۸۱ Evans، Kaufman و Martin دریافتند تعدادی از سلول‌های استخراج شده از جنین اولیه‌ی موش پس از قرار گرفتن در یک محیط کشت مشابه، از تکثیر باز ایستاده در حالیکه باقی‌مانده‌ی سلول‌ها به تکثیر خود ادامه دادند. در این سال Martin وEvans موفق شدند روش‌های کشت سلول‌های بنیادی رویانی موش از توده سلولی داخلی بلاستوسیست را گزارش کنند[Evans and Kaufman, 1981-Martin, 1981]. جداسازی و کشت یک جمعیت منحصر به فرد از سلول‌های بنیادی جنینی از توده‌ی سلولی داخل بلاستوسیست‌های انسانی (hESCs)، برای اولین بار در سال ۱۹۹۴ توسط گروه Ariff Bongso انجام شد [Bongso et al., 1994]. در اواسط سال ۱۹۹۰سلول‌های بنیادی جنینی از دو پستانداران غیرانسان(دو پریمات)