

مبانی کشت سلولی



دکتر مهدی حقی

(استادیار دانشگاه تبریز)

رعنا مددی راد

محمد حیدر نژاد اصل

(دانشجویان دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی دانشگاه تبریز)

www.ketab.ir

انتشارات حکیم نظامی گنجهای



مبانی کشت سلولی



دکتر مهدی حق

(استادیار دانشگاه تبریز)

رعنا مددی راد - محمد حیدر نژاد اصل

(دانشجویان دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی دانشگاه تبریز)

سرشناس: حق، مهدی، ۱۳۵۷-

عنوان و نام پدیدآور: مبانی کشت سلولی / مهدی حق، رعنا مددی راد،

محمد حیدر نژاد اصل

مشخصات نشر: تبریز: انتشارات حکیم نظامی گنجهای، ۱۴۰۰.

مشخصات ظاهری: ۱۴۰ ص.: مصور، جدول.

شابک: ۵-۳۵-۷۸۰۴-۶۲۲-۹۷۸، قیمت: ۱۲۰۰۰۰ تومان

وضعیت فهرست نویسی: فیپا

یادداشت: کتابنامه: ص. [۱۳۵] - ۱۳۹.

موضوع: یاختمها -- کشت

Cell culture

یاختمها -- کشت -- دستنامه‌های آزمایشگاهی

Cell culture-- Laboratory manuals

شناسه افزوده: مددی راد، رعنا، ۱۳۶۹ -

شناسه افزوده: حیدر نژاد اصل، محمد، ۱۳۷۵ -

رده بندی کنگره: QH۵۸۵/۲

رده بندی دیویی: ۵۷۱/۶۳۸

شماره کتابشناسی ملی: ۸۷۳۴۲۷۱

اطلاعات رکورد کتابشناسی: فیپا

فهرست

پیشگفتار

فصل اول: تعریف و تاریخچه‌ی کشت سلول

مقدمه

اهمیت کشت سلول

کاربردهای کشت سلول

مدل‌سازی سیستم‌ها در سلامت و بیماری

توسعه و بررسی دارو

ویروس‌شناسی و تولید واکسن

بازسازی و پیوند بافت

مهندسی ژنتیک و ژن‌درمانی

محدودیت‌های کشت سلول

مغایرت بین محیط‌های سلولی *In Vitro* و *In Vivo*

تفاوت بین بیان ژن در سلول‌های اولیه و سلول‌های نامیرا

تاریخچه‌ی کشت سلول

ایمنی آزمایشگاه کشت سلول

راهنمای ایمنی کار در آزمایشگاه کشت سلولی

مدیریت ایمن خطوط سلولی

روش‌های کشت سلول آسپتیک

ایجاد محیط کار آسپتیک

استفاده از معرف‌های آسپتیک و محیط کشت برای کشت سلول

آلودگی‌های مرتبط با کشت سلول

آلودگی باکتریایی

آلودگی فارچی

آلودگی ویروسی

از بین بردن آلودگی‌های کشت سلول

فصل دوم: تجهیزات و شرایط لازم برای کشت سلول

تجهیزات آزمایشگاه کشت سلولی

شرایط لازم برای کشت سلول

عناصر مهم در تکنیک آسپتیک

ایمنی ظروف شیشه‌ای

محیط کشت سلول

طبقه‌بندی انواع محیط کشت

انواع محیط کشت بر اساس حالت فیزیکی

انواع محیط‌های کشت بر اساس منشأ تهیه

شرایط و اجزای رایج محیط کشت سلولی

سیستم بافری طبیعی

HEPES

۵۴	فنول رد
۵۴	نقش و تاثیر فنول رد در محیط کشت سلول
۵۵	راهنمای رنگ محیط کشت و وضعیت سلامت و رشد سلول ها
۵۵	سیستم بافری بیکربنات
۵۶	تنظیم درصد CO_2 و رطوبت انکوباتور
۵۷	نقش بافری بیکربنات سدیم در محیط کشت
۵۷	تنظیمات دما، O_2 ، CO_2 و pH
۵۸	pH مورد نیاز سلول
۵۸	درصد بهینه CO_2 برای محیط کشت های مختلف
۵۹	دمای بهینه برای کشت انواع سلول های جانوری
۶۱	فصل سوم: انواع رده های سلولی و محیط کشت
۶۳	مورفولوژی سلول ها در کشت سلول
۶۴	سلول های اولیه
۶۵	سلول های ترنسفرم شده
۶۵	سلول های خود تجدیدپذیر
۶۶	کشت سلولی ریز محیط ها
۶۶	ترکیبات محیط های کشت سلولی
۶۸	سیستم بافری طبیعی
۶۸	HEPES
۶۸	فنول رد
۶۹	انواع محیط کشت سلولی
۷۰	انواع محیط کشت بر اساس حالت فیزیکی
۷۰	محیط کشت جامد
۷۰	محیط کشت نیمه جامد
۷۰	محیط کشت مایع
۷۱	انواع محیط کشت رایج در آزمایشگاه
۷۳	RPMI 1640
۷۳	سرم در کشت سلول
۷۴	نکات انتخاب محیط کشت سلولی
۷۵	آماده سازی انواع محیط کشت
۷۵	محیط های سنتزی و طبیعی
۷۶	انتخاب محیط اختصاصی
۷۶	پاساژ سلولی یا ساب کالچر
۷۸	انتخاب سیستم های کشت سلول
۷۸	آماده سازی سیستم های کشت سلولی
۷۹	شرایط کشت سلول
۷۹	نگهداری از سلول ها در کشت سلول
۸۰	دستکاری سلول های کشت شده

۸۰	پروتکل‌های مهم در حفظ کشت سلول
۸۱	جداسازی سلول‌های چسبنده از ظروف کشت برای ساب کالچر
۸۲	ساب کالچر کشت‌های سوسپانسیون سلولی
۸۲	گلولة کردن سلول‌ها
۸۳	کمیت سلول‌ها و تعیین زیست‌پذیری آنها
۸۵	فریز و دفریز سلول‌ها در کشت سلول
۸۵	ذوب سلول‌های فریز شده
۸۶	بهبود تکرارپذیری در کشت سلول
۸۹	بررسی روزانه کشت سلول
۹۰	اطمینان از زنده ماندن سلول
۹۱	انواع کشت سلول
۹۵	فصل چهارم: انواع محیط کشت‌های باکتری، گیاه، قارچ و جلبک
۹۷	انواع محیط کشت باکتری
۹۸	انواع محیط‌های کشت باکتریایی بر اساس کاربرد
۹۸	محیط کشت‌های عمومی
۹۸	محیط کشت غنی شده
۹۹	محیط‌های کشت انتخابی
۱۰۰	محیط کشت افتراقی
۱۰۰	محیط کشت انتقالی
۱۰۱	محیط‌های کشت سنجشی
۱۰۲	انواع محیط کشت گیاهی
۱۰۲	درشت مغذی‌ها
۱۰۲	ریز مغذی‌ها
۱۰۳	مکمل‌های ارگانیک
۱۰۳	ویتامین‌ها
۱۰۳	میونینوزیتول
۱۰۴	آمینو اسیدها
۱۰۴	عصاره‌های ارگانیک
۱۰۴	عوامل جامد کننده
۱۰۵	اکسین
۱۰۵	سیتوکینین
۱۰۶	ژیبرلین
۱۰۶	آبسزینک اسید
۱۰۶	انواع محیط‌های کشت گیاهی
۱۰۶	محیط Murashige و Skoog یا (MS)
۱۰۷	محیط Linsmaier و Skoog یا (LS)
۱۰۷	محیط Gamborg یا (B5)
۱۰۷	محیط White's

۱۰۸	نحوه‌ی انتخاب محیط کشت گیاهی
۱۰۸	انواع محیط کشت قارچ‌ها
۱۰۹	محیط آگار دانه پرنده
۱۰۹	محیط عصاره‌ی مغز و قلب آگار
۱۱۰	محیط CHROMagar Candida
۱۱۰	محیط آرد ذرت
۱۱۰	محیط Czapek-Dox آگار
۱۱۰	محیط درماتوفیت تست (DTM)
۱۱۰	محیط مهارکننده کپک آگار (IMA)
۱۱۱	محیط Mycosel/mycobiotic آگار
۱۱۱	محیط سیب زمینی دکستروز آگار
۱۱۱	محیط آگار پوسته سیب زمینی
۱۱۱	محیط نشاسته برنج آگار
۱۱۲	محیط سابورو دکستروز آگار
۱۱۲	انواع محیط کشت جلبک‌ها
۱۱۵	فصل پنجم: شمارش سلولی
۱۱۷	اهمیت شمارش سلولی
۱۱۸	نکات مربوط به لام نتوبار
۱۱۹	روش کار شمارش سلولی
۱۲۱	خطاهای مهم در شمارش سلولی با لام نتوبار
۱۲۱	سایر روش‌های شمارش سلولی
۱۲۲	روش MTT
۱۲۳	الایزا ریدر
۱۲۴	خطاهای دستگاه الایزا ریدر
۱۲۵	تست MTT بر روی سلول‌های چسبیده به پلیت
۱۲۷	تهیه‌ی منحنی استاندارد
۱۲۷	سنجش میزان اثر سمیت مواد با روش MTT
۱۲۹	فلوسایتومتری
۱۲۹	اجزای دستگاه فلوسایتومتری
۱۳۱	کاربردهای فلوسایتومتری
۱۳۲	روش انجام فلوسایتومتری
۱۳۵	منابع

پیشگفتار

با توجه به افزایش پروژه‌های زیست و پزشکی در آزمایشگاه‌ها، کشت سلول به منظور کاهش تعداد تلفات جانوری و تسهیل تکنیک‌ها، مورد استقبال محققین واقع شده است. برای بررسی بیماری‌های مختلف و همچنین درمان آنها، استفاده از خود موجود زنده و تلف شدن تعداد زیادی از آن جانداران در طول آزمایشات مختلف، امری بسیار هزینه‌بر و تا حدودی غیراخلاقی است. مخصوصاً در رابطه با انسان که این امر عملاً امکان‌پذیر نیست و نمی‌توان برای یافتن درمان یک بیماری، داروهای مختلف را مستقیماً روی انسان آزمایش کرد. با توجه به اهمیت کشت سلول در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی، بر خود واجب دانستیم تا گامی هرچند کوچک در جهت ارانای این تکنیک سودمند برداریم. باشد که این کتاب راهگشای دانشجویان انواع گرایش‌های زیست‌شناسی، ژنتیک و پزشکی و پیراپزشکی باشد. کتابی که پیش رو دارید بر اساس معتبرترین منابع کشت سلول و بافت و با تمرکز بر اصول کلی کشت و ایمنی کشت سلول نگاشته شده است. در نگارش این اثر سعی شده است در عین اختصار و پرهیز از ورود به جزئیاتی که قطعاً در هر مبحثی وجود دارد، جامعیت مطالب حفظ شود و بتواند جوابگوی نیازهای دانشجویان مقاطع مختلف دانشگاهی از جمله کارشناسی، کارشناسی ارشد و دکتری در زمینه‌ی کشت سلولی اعم از کشت سلول‌های جانوری، گیاهی، باکتری و قارچ باشد.

این کتاب در پنج فصل تنظیم شده است و مفاهیم کلی کشت سلولی، تجهیزات و دستگاه‌های مرتبط با کشت سلولی، ایمنی زیستی و ممانعت از آلودگی در آزمایشگاه کشت سلولی و معرفی انواع محیط کشت ورده‌های سلولی را دربرمی‌گیرد.

در پایان از حمایت‌های مالی و معنوی «شرکت زینو آراز ویرا زیست» مستقر در مرکز رشد و فناوری دانشگاه تبریز و همچنین «انجمن زیست‌شناسی دانشگاه تبریز» و «انتشارات حکیم نظامی گنجه‌ای» که ما را در چاپ و نشر این مجلد یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم و از کلیه‌ی اساتید معزز و دانشجویان گرامی تقاضا داریم اشکالات و کاستی‌های احتمالی موجود و هرگونه پیشنهاد و انتقاد خود را که باعث افزایش کیفی این اثر می‌شود با ایمیل mehdihaghi@tabrizu.ac.ir در میان بگذارند.

با تشکر

گروه مولفان

www.ketab.ir