

مقدمات کشت سلولی

Basics of Cell Culture

دکتر ناهید عین‌الهی

(عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران)

مصطفی صابریان

(مدرس دانشگاه علوم پزشکی تهران)

الهام شهیدی - لشد - محدثه برزویی

پروانه صفری - نسرن ابراهیمی کیا



- عنوان و نام پدیدآور : مقدمات کشت سلولی = Basis of cell culture / نویسندگان مصطفی صابریان... [و دیگران].
مشخصات نشر : تهران: مصطفی صابریان، ۱۳۹۵.
مشخصات ظاهری : م، ۱۸۵ ص.: مصور، جدول.
شابک : 978-600-04-5467-8
وضعیت فهرست نویسی : فیا
داداشت : نویسندگان مصطفی صابریان، ناهید عین الهی، الهام شهیدی دلشاد، محدثه برزویی، پروانه صفری، نسترن ابراهیمی کیا.
داداشت : کتابنامه.
داداشت : نامه.
موضوع : پاخته‌ها -- کشت
موضوع : Cell culture
شناسه افروز : صابریان، مصطفی، ۱۳۶۵ -
رده بندی کنگره : QH۵۸۵/۳/۷ ۱۳۹۵
رده بندی دیویی : ۶۳۸/۵۷
شماره کتابشناسی : ۲۳۲-۶۰۵
ملی :
تاریخ درخواست : ۱۳۹۵/۱/۲۴
تاریخ پاسخگویی :
کد پیگیری : ۴۱۰۹۸۱۵

نام اثر: مقدمات کشت سلولی
نویسندگان: مصطفی صابریان، دکتر ناهید عین الهی، الهام شهیدی دلشاد، محدثه برزویی، پروانه صفری، نسترن ابراهیمی کیا
شابک: 978-600-04-5467-8
ناشر: مولف
ویراستار ادبی: دکتر مهدی داداشی آرانی
طراحی جلد: سارا پردل
لیتوگرافی: دانش
صحافی و چاپ: دانش
تاریخ انتشار: تابستان ۱۳۹۵
نوبت چاپ: اول- ۱۳۹۵
تیراژ: ۵۰۰ جلد
قیمت: 200,000 ریال
- نشانی: تهران-خیابان قدس-کوچه شفیعی-انتشارات دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران، تلفن:
۰۲۱-۶۶۴۹۷۷۲۲

حق چاپ محفوظ است

پیشگفتار

بیولوژی سلولی و مولکولی به عنوان یکی از شاخه های اصلی علوم پایه از اهمیت ویژه ای برخوردار است. شناخت علوم سلولی و مولکولی و رشته های مرتبط با آن منجر به کسب دستاوردهای بی نظیری در زمینه علوم طبیعی و کشف مکانیسم های بیماری ها شده است. در این میان تحقیقات بر روی سلولهای مختلف گسترش چشمگیری داشته است. یکی از اولین روش های تحقیق بر روی بافت های مختلف برای شناخت عملکرد آنها، استفاده از روش کشت سلولی در شرایط *in vitro* است. لذا محققین و دانشمندان با این کار توانسته اند شناخت زیادی از بیولوژی سلونها بدست آمده است. در حال حاضر کشت سلول به عنوان یک پایه برای کشف مکانیسم ها سرطان، پیوند، مکانیسم اثر داروها، ژن درمانی و غیره کاربرد فراوانی دارد. با این تفاسیر وجود منابع معتبر برای تشریح روش های کشت سلول بسیار ضروری است. در حال حاضر کتاب کشت سلولهای حیوانی نوشته R.Ion Freshney به عنوان یک منبع معتبر در این زمینه معرفی شده است. با توجه به اینکه این منبع در سال های گذشته منتشر شده و علوم بیولوژی با سرعت زیادی در حال پیشرفت است، لذا گردآورندگان این اثر تصمیم به جمع آوری یک کتاب خلاصه و مفید که حاوی نکات ضروری و پایه ای از کتب و مقالات بروز در زمینه کشت سلولی نموده اند. به علاوه سعی ما بر این بوده است که چهارچوب این اثر بر طبق منبع معتبر کشت سلولهای حیوانی *Freshney* باشد تا نکات با ارزش ارائه شده را حفظ شود. با توجه به اینکه روش های کشت سلول و بافت در درمان بیماری های مختلف کاربرد دارد، استفاده از تکنیک هایی که دارای بالاترین بهره وری باشد اجتناب ناپذیر است. در این اثر در بخش پایانی کتاب پرمکاسان که از چند منبع اقتباس شده، آورده شده است تا به عنوان راهنمایی در دست محققین باشد. امید است این کتاب مورد توجه اساتید این رشته واقع شده و گامی هرچند کوچک برای درمان بیماری های صعب العلاج باشد.

مصطفی صابریان

تابستان ۱۳۹۵

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱-۱- مقدمه، پیشینه ی تاریخی	۱
۲-۱- مرآبای کشت بافت	۱۱
۱-۲-۱- کنترل محیط	۱۰
۲-۲-۱- صیف و یکنواختی نمونه	۱۱
۳-۲-۱- تصاد، مقیاس، مکانیزه کردن	۱۲
۴-۲-۱- مدل سازی شایع بدن جاندار در آزمایشگاه	۱۲
۳-۲-۱- محدودیت ها	۱۲
۱-۳-۱- تخصیص	۱۲
۲-۳-۱- کمیت	۱۲
۳-۳-۱- تمایززدایی و انتخاب	۱۳
۴-۳-۱- منشأ سلولها	۱۳
۵-۳-۱- بیشبانی	۱۳
۴-۱- تفاوتهای عمده کشت <i>in vitro</i> و <i>in vivo</i>	۱۳
۵-۱- انواع کشت بافت	۱۴
۱-۲- محیط کشت	۱۹
۲-۲- چسبندگی سلولی	۱۹
۱-۲-۲- مولکول های چسبندگی سلولی (CAM)	۲۰
۲-۲-۲- اتصالات بین سلولی	۲۲

- ۳۳ ۳-۲-۲- ماتریکس خارج سلولی (ECM)
- ۳۴ ۴-۲-۲- اسکلت سلولی
- ۳۵ ۵-۲-۲- حرکت سلولی
- ۳۵ ۳-۲- تکثیر سلولی
- ۳۵ ۱-۳-۲- چرخه ی سلولی
- ۳۷ ۲-۳-۲- کنترل تکثیر سلولی
- ۳۸ ۴-۲- تمایز
- ۳۹ ۱-۴-۲- حفظ تمایز
- ۳۹ ۲-۴-۲- تمایز زدایی
- ۳۹ ۵-۲- پیام رسانی سلولی
- ۳۴ ۶-۲- متابولیسم انرژی
- ۳۴ ۷-۲- شروع کشت
- ۳۵ ۸-۲- تکامل سل لاین ها
- ۳۵ ۱-۸-۲- پیر شدن سلولها
- ۳۷ ۹-۲- رشد و تکثیر سل لاین های ادامه دار
- ۳۸ ۱۰-۲- منشأ سلول های کشت شده
- ۴۱ ۱-۳- توسعه ی محیط
- ۴۱ ۱-۱-۳- pH
- ۴۲ ۲-۱-۳- CO₂ و بیکربنات
- ۴۴ ۳-۱-۳- شرایط بافبری برای کشت باید به دو صورت ایجاد شود:

۴۴	۳-۱-۴- اکسیرین
۴۵	۳-۱-۵- اسفولایت
۴۶	۳-۱-۶- دما
۴۷	۳-۱-۷- ویسکوزیته
۴۸	۳-۱-۸- کشش سطحی و امکان ایجاد کف
۴۸	۳-۲- محلول های مکی متعادل کننده
۴۹	۳-۳- محیط کشت کامل
۵۰	۳-۳-۱- اسیدی آمین
۵۰	۳-۳-۲- ویتامین ها
۵۰	۳-۳-۳- نمک ها
۵۱	۳-۳-۴- گلوکز
۵۱	۳-۳-۵- مکمل های ارگانیک
۵۱	۳-۳-۶- هورمون ها و فاکتورهای رشد
۵۲	۳-۳-۷- آنتی بیوتیک ها
۵۴	۳-۴- انتخاب محیط بدون سرم (Serum free)
۵۴	۳-۴-۱- عوامل موثر در رشد
۵۴	۳-۴-۲- هورمون ها
۵۴	۳-۴-۳- مواد مغذی و متابولیت ها
۵۵	۳-۴-۴- لیپیدها
۵۵	۳-۴-۵- مواد معدنی

۵۵	۳-۴-۶- مهار کننده ها
۵۵	۳-۴-۷- انتخاب محیط کشت و سرم
۶۱	۳-۵-۱- دسته بندی
۶۱	۳-۵-۲- تست سرم
۶۲	۳-۵-۳- غیر فعال سازی با حرارت
۶۳	۳-۶-۱- دیگر نکات ها
۶۳	۳-۶-۱-۱- هیدرولیز آنتیژن
۶۳	۳-۶-۲- عصاره ای
۶۳	۳-۶-۳- محیط کشت مشترک
۶۶	۴-۱- آماده سازی معرف ها و مواد
۶۶	۴-۲- استریل کردن دستگاه ها و مایعات مختلف
۶۹	۴-۳- دستگاه ها
۶۹	۴-۳-۱- ظروف شیشه ای
۷۲	۴-۳-۲- پیت های شیشه ای
۷۵	۴-۳-۳- دربیج ظروف
۷۸	۴-۳-۴- انتخاب مواد شویته
۷۸	۴-۳-۵- تجهیزات متفرقه
۷۹	۴-۳-۶- فیلترهای استریلایزاسیون با قابلیت استفاده مجدد
۸۰	۴-۴- معرف ها و محیط های کشت
۸۰	۴-۴-۱- آب

۸۲	۴-۴-۲- محلول نمک متعادل کننده
۸۳	۴-۴-۳- آماده سازی و استرلیزاسیون محیط ها
۸۵	۴-۴-۴- محیط های پودری
۸۶	۴-۴-۵- محیط های سفارشی
۸۶	۴-۵-۵- استرلیزاسیون محیط ها
۸۶	۴-۵-۱- محیط های قابل اتوکلاو شدن
۸۷	۴-۵-۲- استریل کردن به وسیله فیلتراسیون
۹۲	۴-۵-۳- سرم
۹۵	۴-۵-۴- آماده سازی و استرلیزاسیون سایر معرف ها
۹۵	۴-۶-۷- کنترل و نگهداری محیط های کشت
۹۵	۴-۶-۱- کنترل کیفی
۹۶	۴-۶-۲- تست استرلیزاسیون
۹۷	۴-۶-۳- تست کشت
۹۹	۴-۶-۴- ذخیره سازی
۱۰۱	۵-۱- منابع آلودگی
۱۰۱	۵-۱-۱- تکنیک های کاربر
۱۰۲	۵-۱-۲- محیط آزمایشگاه
۱۰۲	۵-۱-۳- روش استفاده و نگهداری هود لامینار
۱۰۷	۵-۱-۴- انکوباتورهای مرطوب
۱۰۸	۵-۱-۵- نگهداری زنجیره ی سرد

- ۱-۱-۶- مواد استریل ۱۰۸
- ۱-۱-۷- انتقال سل لاین ها و بیروسی ها ۱۰۸
- ۱-۱-۸- قرنطینه ۱۰۸
- ۲-۲- تیب های آلودگی میکروبی ۱۰۹
- ۳-۳- مشاهده آلودگی ۱۰۹
- ۱-۳-۱- آلودگی های میکروبی قابل مشاهده ۱۱۰
- ۲-۳-۱- مایکوپلازما ۱۱۱
- ۳-۳-۱- رنگ آمیزی فلورسنت ای تشخیص مایکوپلازماها ۱۱۲
- ۴-۳-۱- PCR برای تشخیص مایکوپلازما ۱۱۳
- ۵-۳-۱- روش های جایگزین برای شناسایی مایکوپلازما ۱۱۵
- ۶-۳-۱- آلودگی های ویروسی ۱۱۶
- ۴-۴- ریشکن کردن آلودگی ۱۱۶
- ۱-۴-۱- باکتری ها، قارچ ها و مخمرها ۱۱۶
- ۲-۴-۱- ریشه کن کردن مایکوپلازما ۱۱۷
- ۳-۴-۱- ریشه کن کردن آلودگی ویروسی ۱۱۷
- ۴-۴-۱- آلودگی های مقاوم ۱۱۷
- ۵-۵- آلودگی های متقاطع ۱۱۸
- ۱-۶-۱- دلیل اساسی و منطقی برای منجمد کردن ۱۲۱
- ۲-۶-۱- به دست آوردن سل لاین و نگهداری آن ۱۲۱
- ۳-۶-۱- اصول نگهداری به صورت منجمد ۱۲۳

- ۱۲۳..... ۱-۳-۶- تنوری منجمد کردن سلول
- ۱۲۳..... ۲-۳-۶- غلظت سلول
- ۱۲۴..... ۳-۳-۶- محیط کشت مورد استفاده برای منجمد کردن سلولها
- ۱۲۴..... ۴-۳-۶- سرعت سرد کردن
- ۱۲۸..... ۵-۳-۶- منجمد کننده
- ۱۳۳..... ۶-۳-۶- اطلاعات فریزرها
- ۱۳۴..... ۷-۳-۶- دوب کردن سلولهای منجمد شده
- ۱۳۷..... ۸-۳-۶- طراحی و بررسی فریزرهای ذخیره کننده
- ۱۳۷..... ۱-۴-۶- کنترل فهرست فریزرها
- ۱۳۸..... ۲-۴-۶- جایگزینی پشت سر هم سلولهای ذخیره شده
- ۱۳۸..... ۵-۶- بانکهای سلولی
- ۱۳۹..... ۶-۶- انتقال سلولها
- ۱۳۹..... ۱-۶-۶- آمبولهای منجمد شده
- ۱۴۰..... ۲-۶-۶- کشت زنده