

اصول و روش‌های کشت

سلول‌های جانوری

پروفسور شاپور حسن‌زاده

"عضو هیئت علمی دانشگاه ارومیه"

دکتر فرزانه بنیادی

"دارای بورس تخصصی بافت‌شناسی"

حسن زاده، شاپور.

اصول و روش‌های کشت سلول‌های جانوری / گردآوری و تدوین شاپور حسن زاده و فرزانه بنیادی. - ارومیه: انتشارات دانشگاه ارومیه، ۱۳۹۵.

۱۵۳ ص: مصور، جدول، نمودار. - انتشارات دانشگاه ارومیه، ۱۹۹۰.

تألیف.

۱. یاخته‌ها: کشت، دستنامه آزمایشگاهی. ۲. بافت‌ها: کشت - دستنامه آزمایشگاهی. الف.

بنیادی، فرزانه، مترجم. - فرست. ج. عنوان.

شماره ملی: ۴۲۷۵۱۹۳ - ده کنگره ۱۳۹۵ الف ۵/۲، QH.۵۸۵



عنوان: اصول و روش‌های کشت سلول‌های جانوری

گردآورنده: شاپور حسن زاده و خانم فرزانه بنیادی

ناشر: دانشگاه ارومیه، سری ۱۹۹

سال نشر: ۱۳۹۵

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۶۶۴۸-۸۸-۰

قیمت: ۲۵۰۰۰ تومان

پیش‌گفتار

بیشرفت‌های بدست آمده در زمینه علوم بیولوژی سلولی و مولکولی، فراهم شدن روش‌های نوین کشت سلول‌های جانوری، پیشرفت‌های حاصل در خصوص ژنتیک و مهندسی ژنتیک و به دنبال آن فراهم شدن امکان دستکاری‌های مطلوب ژنتیکی آن‌ها، باعث شده است که دانش بشر شتاب بیشتری بگیرد. یکی از نیازهای اساسی در زمینه کشت سلول‌های جانوری، دستیابی به تکنیک‌های تعدیل و کامل شده جهت تهیه کشت، نگهداری، ایجاد بانک‌های رده‌های سلولی و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی در جهت ایجاد بهترین شرایط کشت است. این کتاب با هدف جبران کمبودهای موجود در زمینه کتب کشت سلول به زبان فارسی و نیز ارائه مطالب جدیدتر در زمینه کشت سلول‌های جانوری، گردآوری و تألیف شده است و شامل بخش مجزا و ۱۷ فصل است که در آن‌ها به مفاهیم و اصطلاحات پایه کشت سلولی، بیولوژی سلولی، نحوه آماده‌سازی آزمایشگاه کشت سلول، محیط‌های کشت و بسترهای مورد نیاز برای کشت و در نهایت نحوه کشت پایه انواع سلول‌ها، پرداخت شده است. در کل تلاش این مجموعه بر ارائه اصول کشت و تکنیک‌های نکات ارزشمند آزمایشگاهی بوده است.

برای تهیه این مجموعه از آخرین منابع اطلاعات علمی اعم از کتب و مقالات مربوطه استفاده شده است که در پایان بخش‌ها به صورت مرجع آورده شده‌اند. امید می‌رود این کتاب مورد توجه تمامی علاقه‌مندان به علوم سلولی، محققان و دانشجویان قرار گرفته و مفید واقع گردد.

با توجه به وجود واژه‌های علمی و تخصصی بسیار در زمینه علوم کاربردی و کشت سلول‌های جانوری، از واژه‌های فارسی معادل مناسبی در این مجموعه استفاده شده است و برای درک بهتر مفاهیم واژه‌ای، فهرستی از اختصارات ذکر شده در متن کتاب، در ابتدای کتاب آورده شده است.

با وجود تلاش و توجه بسیاری که برای جلوگیری از اشتباه در انتشار این کتاب صورت پذیرفته است، امکان اشتباه در هر زمان همچنان وجود دارد. بنابراین از تمامی خدایان محترم تقاضا می‌گردد در صورت برخورد با چنین اشتباهاتی، با ارسال نظرات خود موجب رفع اشتباهات در چاپ‌های بعدی گردند.

فهرست مطالب

بخش اول: کلیات

فصل اول: مقدمه و پیشینه نگری علم کشت سلول

۱	مقدمه
۱	تعریف
۲	پیشینه تاریخی

فصل دوم: آشنایی با اصطلاحات رایج در تکنیک‌های کشت سلول و بافت

۹	اصطلاحات رایج در کشت سلول
۱۳	اصطلاحات مرتبط با زیست‌شناسی سلول‌ها در کشت
۱۴	اصطلاحات مرتبط با انبساط و انقباض
۱۵	خصوصیات سلول‌ها در تغییر شکل یافته
۱۸	رفتار رشد سلول در شرایط آزمایشگاهی

فصل سوم: مزیت‌ها و محدودیت‌های کشت سلول و بافت

۲۱	مزیت‌های کشت سلول و بافت
۲۲	محدودیت‌های کشت سلول و بافت
۲۴	منابع

بخش دوم: بیولوژی سلولی

فصل اول: کلیاتی درباره سلول

۲۶	سلول چیست
۲۶	نظریه سلولی
۲۸	اندازه سلول‌ها
۲۹	ساختار سلول
۳۱	نظر بیوشیمیست‌ها درباره سلول
۳۲	شیمی سلول

فصل دوم: روش‌های بیوشیمیایی مطالعه سلول

۳۵	جداسازی اجزاء سلول
۳۶	کروماتوگرافی
۳۷	۱- کروماتوگرافی فیلتراسیون ژلی
۳۷	۲- کروماتوگرافی تمایلی
۳۸	۳- کروماتوگرافی تعویض یونی

۴۰	انورادیوگرافی
۴۰	کشت سلول
۴۱	سیتوشیمی
۴۱	الکتروفورز
۴۲	۱- ژل الکتروفورز تکبعدی
۴۲	۲- ژل الکتروفورز دو بعدی
۴۳	۳- ژل الکتروفورز پالسی فیلد
۴۳	۴- ژل الکتروفورز میدان معکوس
۴۴	فلوسایتتری

فصل سوم: چرخه سلولی

۴۶	اغزایش جرم در جریان چرخه سلولی
۴۷	فازهای چرخه سلول
۴۸	تنظیم چرخه سلولی
۴۹	تقسیم میتوز
۵۱	تاثیر نقص چرخه سلولی در ایجاد سرطان

فصل چهارم: مرگ سلولی

۵۳	آپوپتوز
۵۴	نقش ارگانل های سیتوپلاسمی در آپوپتوز
۵۸	مسیرهای آپوپتوزی
۵۸	۱- مسیر خارجی آپوپتوز با آپوپتوز الفاء شده توسط گیرنده های مرگ
۵۹	۲- مسیر داخلی با مسیر میتوکندریایی آپوپتوز
۶۰	نکروز
۶۲	تفاوت نکروز با آپوپتوز
۶۴	اتوفازی
۶۵	منابع

بخش سوم: آزمایشگاه کشت سلولی

فصل اول: تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه های کشت سلول

۶۸	۱- وسایل ضروری اتاق کشت
۶۸	۲- وسایل وابسته یا سودمند
۶۹	۳- وسایل متفرقه یا مفید
۶۹	الف) دستگاه های مورد نیاز در آزمایشگاه کشت سلول
۸۱	ب) لوازم مصرفی

۸۶..... (ج) مواد مصرفی

فصل دوم: آماده‌سازی و استرلیزاسیون آزمایشگاه کشت سلولی

۸۸..... طراحی اتاق تمیز (اتاق بدون پاتوژن).

۹۱..... رده‌بندی اتاق تمیز (اتاق بدون پاتوژن).

۹۲..... بهداشت شخصی در آزمایشگاه کشت سلول.

۹۲..... ایمنی عمومی در آزمایشگاه‌های کشت سلول.

۹۴..... استرلیزاسیون.

۹۵..... چگونه شرایط استریل را در آزمایشگاه کشت سلول برقرار کنیم؟

۹۷..... استریل‌سازی وسایل و ظروف.

فصل سوم: آلودگی در آزمایشگاه‌های کشت سلولی

۱۰۱..... آلودگی‌های بین و دوره‌ای در آزمایشگاه کشت سلول.

۱۰۲..... روش‌های جلوگیری از آلودگی‌ها.

۱۰۳..... انواع آلودگی‌های کشت سلول.

۱۰۳..... ۱- آلودگی باکتریایی.

۱۰۷..... ۲- آلودگی با مایکوپلازماها.

۱۰۸..... الف) رنگ‌آمیزی فلوروست برای تشخیص میکوپلازماها.

۱۱۰..... ب) آزمون PCR برای تشخیص مایکوپلازما.

۱۱۲..... ج) رنگ‌آمیزی با DAPI.

۱۱۲..... د) روش‌های بیوشیمیایی برای تشخیص مایکوپلازما.

۱۱۳..... ۳- آلودگی با ویروس‌ها.

۱۱۵..... ۴- آلودگی با پروتوزوا.

۱۱۵..... ۵- آلودگی‌های متقاطع با دیگر سلول‌ها.

۱۱۵..... ۶- آلودگی فارجی.

۱۱۷..... ۷- آلودگی با مخمر.

۱۱۸..... منابع.

بخش چهارم: بسترها و محیط‌های کشت سلول

فصل اول: بسترهای کشت سلول

۱۱۹..... موادی که می‌توانند به عنوان بستر کشت سلول استفاده شوند.

۱۲۰..... بسترهای مناسب برای کشت‌های سوسپانسیون.

۱۲۱..... بسترهای مناسب برای سلول‌های تحت تیمار.

۱۲۲..... عواملی که در انتخاب محیط کشت مناسب موثرند.

فصل دوم: محیط کشت سلول

۱۲۷	پیشینه تهیه و استفاده از محیط‌های کشت
۱۲۸	منابع محیط‌های کشت
۱۲۸	اعمال عناصر عمده اضافه شده به محیط‌های کشت
۱۳۶	ساخت دستی محیط‌های کشت
۱۳۷	سایر محلول‌های مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلولی
۱۳۷	۱- بافر HEPES یک مولار
۱۳۸	۲- تریتون بلو ۰/۴ درصد
۱۳۸	۳- تریتون بلو ۰/۴ درصد
۱۳۸	۴- تریسین ۰/۲۵ درصد
۱۳۹	۵- تریسین ۰/۲۵ درصد
۱۳۹	۶- ورس (EDTA) ۰/۵۲۶ میلی مولار
۱۴۰	۷- محلول فریز
۱۴۰	۸- استوک معرف MTT
۱۴۰	۹- بافر گلابین و اسید کلریدریک
۱۴۰	۱۰- بافر TBS
۱۴۰	کنترل کیفیت محیط‌های کشت
۱۴۳	محیط‌های پایه

فصل سوم: سرم

۱۴۵	محیط‌های کشت
۱۴۶	مواد مغذی سرم
۱۴۷	انواع سرم
۱۴۸	منبع سرم تهیه شده
۱۴۹	نست یخ
۱۵۰	۱- نست یخ برای سلول‌های سوسپانسیون
۱۵۰	۲- نست یخ برای کشت‌های مونولایر (تک‌لایه)
۱۵۱	نحوه ذخیره‌سازی سرم
۱۵۲	تخلیص سرم
۱۵۳	۱- روش ستون سفادکس
۱۵۳	۲- روش دیالیز
۱۵۶	محیط‌های کشت فاقد سرم
۱۵۷	معایب کشت‌های فاقد سرم
۱۶۱	منابع

بخش پنجم: تکنیک‌های کشت انواع سلول‌های جانوری

فصل اول: تکنیک‌های معمول در آزمایشگاه‌های کشت سلول

۱۶۲	کلونینگ سلولی
۱۶۳	روش‌های شمارش سلول
۱۶۳	۱- لام هموسیتر
۱۶۵	۲- شمارشگر سلولی الکترونیکی
۱۶۶	مقایسه دو روش شمارش سلول‌ها
۱۶۷	ذخیره سلول‌ها
۱۷۲	نحوه بازیافت لامل‌ها، نیتروژن مایع
۱۷۳	بانک‌های سلولی، سیوه حمل سلول‌ها
۱۷۴	تکنیک پاساژ سلولی
۱۷۵	تهیه کاربوتایپ
۱۷۸	انتقال ژن به سلول
۱۷۸	۱- روش کسبیم فسفات
۱۸۰	۲- لیبوزوم‌ها
۱۸۱	۳- الکتروپوریشن
۱۸۱	مشاهده سلولی
۱۸۲	۱- میکروسکوپ فاز کنتراست
۱۸۵	۲- میکروسکوپ فلوروسانس
۱۸۶	۳- میکروسکوپ زمینه تاریک
۱۸۷	بررسی سمیت، شمارش و تکنیک سلول‌ها با استفاده از روش MT _۱

فصل دوم: کشت‌های اولیه

۱۸۹	اصول مهم برای جداسازی بافت
۱۹۰	نیازهای اولیه و مشترک برای تمامی کشت‌های اولیه
۱۹۱	جداسازی و کشت انواع سلول‌ها
۱۹۱	۱- لنفوسیت‌ها
۱۹۴	۲- سلول‌های مالتوسین پوست انسان
۱۹۶	۳- کشت استروبلاست‌ها
۱۹۸	۴- کشت سلول‌های جنینی رت
۲۰۰	۵- کشت سلول‌های جنینی جوجه
۲۰۲	۶- کشت سلول‌های کبدی جوجه
۲۰۳	۷- کشت سلول‌های قرنیه انسان

۲۰۴	۸- کشت سلول‌های هیپاتوسیت رت
۲۰۵	۹- کشت اولیه سلول‌های کلیه
۲۰۶	۱۰- کشت سلول‌های اندوتلیال
۲۰۶	۱۱- کشت سلول‌های اپی‌تلیوم نای و نایزه
۲۰۸	۱۲- کشت سلول‌های اپی‌تلیالی پستانداران
۲۰۸	۱۳- کشت سلول‌های اپی‌تلیالی کولون
۲۰۸	۱۴- کشت سلول‌های اپی‌تلیوم پروستات
۲۰۹	۱۵- کشت سلول‌های ماهیچه اسکلتی رت یا جوجه
۲۱۰	۱۶- کشت سلول‌های عضله صاف
۲۱۱	۱۷- کشت سلول‌های مایه و فای موش
۲۱۲	۱۸- کشت سلول‌های آستروسیت
۲۱۳	۱۹- کشت سلول‌های چربی
۲۱۳	نتیجه‌گیری

فصل سوم: سلول‌های بنیادی

۲۱۶	ویژگی‌های اساسی سلول‌های بنیادی
۲۱۸	اپی‌ژنتیک سلول‌های بنیادی
۲۱۹	مدل‌های مطرح در تنظیم اپی‌ژنتیکی سلول‌های بنیادی
۲۲۱	انواع سلول‌های بنیادی
۲۲۲	۱- سلول‌های بنیادی جنینی (ES)
۲۲۵	تکنیک‌های کشت سلول‌های بنیادی جنینی
۲۲۵	۱- طراحی آزمایشگاه
۲۲۶	۲- تولید سلول‌های بنیادی جنینی
۲۲۷	۳- استفاده از لام هموستیومتر برای تعیین تعداد سلول‌ها
۲۲۸	۴- دفروز کردن سلول‌های بنیادی جنینی
۲۲۸	۵- پاساژ سلول‌های بنیادی جنینی
۲۲۹	۶- متجمد کردن سلول‌های بنیادی جنینی
۲۳۰	۷- الکتروپوریشن سلول‌های بنیادی جنینی
۲۳۱	۸- انتخاب کلون سلول‌های بنیادی جنینی
۲۳۱	۹- جداسازی کلنی‌های سلول‌های بنیادی جنینی برای رشد با فریز
۲۳۲	۱۰- فریز کلنی‌های سلول‌های بنیادی جنینی
۲۳۲	۱۱- آماده‌سازی DNA
۲۳۳	۱۲- ذوب کلنی‌های سلول‌های بنیادی جنینی (در پلیت‌های ۲۴ خانه)
۲۳۳	۱۳- آماده‌سازی سلول‌های بنیادی جنینی برای تزریق بلاستوسیت

۲۳۴	۲- سلول‌های بنیادی بالغ
۲۳۵	الف) سلول‌های بنیادی مزانشیمال (MSC)
۲۳۸	جداسازی و تخلیص سلولی
۲۳۸	نانوفیرها و داربست‌های سلولی
۲۳۹	کاربرد در طب ترمیمی
۲۴۱	تکنیک‌های کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمال
۲۴۱	۱- کشت سلول‌ها
۲۴۵	۲- دفریز کردن سلول‌های مزانشیمال فریز شده
۲۴۶	۳- پاساژ سلول
۲۴۷	۴- فریز و ذخیره سلول‌های بنیادی مزانشیمال
۲۴۷	۵- تشکیل کلت
۲۴۸	۶- تعیین هویت سلول‌های بنیادی مزانشیمال
۲۴۹	۷- انتقال ژن به سلول‌های بنیادی مزانشیمال
۲۵۴	ب) سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک حرساز (HSC)
۲۵۶	منابع تهیه سلول‌های بنیادی حرساز
۲۵۸	انتقال سلول‌های بنیادی تهیه شده
۲۵۸	استفاده از سلول‌های HSC برای درمان سرطان
۲۵۹	تکنیک‌های کشت سلول‌های بنیادی خون‌ساز
۲۵۹	۱- کشت سلول‌های بنیادی خون‌ساز حاصل از خون بند ناف
۲۶۰	۲- کشت سلول‌های بنیادی خون‌ساز حاصل از بافت جفت سسانی
۲۶۲	۳- کشت سلول‌های بنیادی خون‌ساز حاصل از خون محیطی
۲۶۳	۴- کشت سلول‌های بنیادی خون‌ساز حاصل از مغز استخوان
۲۶۶	تفاوت سلول‌های بنیادی جنینی با سلول‌های بنیادی بالغ
۲۶۷	کنترل رفتار سلول‌های بنیادی

فصل چهارم: سلول‌های سرطانی و رده‌های سلولی

۲۷۲	انواع تومور
۲۷۳	ارتباط بین تومور و سرطان
۲۷۳	آنژیوژنز و سرطان
۲۷۵	دسته‌بندی انواع سرطان بر حسب بافت آلوده
۲۷۶	رده‌های سلول سرطانی
۲۷۷	نقش رده‌های سلولی و موارد استفاده آن‌ها
۲۷۸	روش‌های ایجاد رده‌های سلولی
۲۷۹	ویژگی‌های رشدی رده‌های سرطانی

۲۸۰	کلکسیون سلول‌های سرطانی
۲۸۱	ایجاد رده‌های سلولی جدید یا استفاده از رده‌های سلولی موجود
۲۸۱	نحوه نام‌گذاری و شناخت رده‌های سلولی
۲۸۲	معیارهای انتخاب رده سلولی
۲۸۲	تکنیک‌های کشت رده‌های سلول سرطانی
۲۸۲	۱- تهیه رده سلول سرطانی از تومور سرطانی
۲۸۳	۲- نگهداری و غذادهی روتین سلول‌های سرطانی
۲۸۴	۳- تیم ساب‌الچر از سلول‌ها
۲۸۵	۴- اجتناب‌سازی
۲۸۶	۵- شمارش سلول‌ها
۲۸۷	۶- فریز و نگهداری سلول‌ها
۲۸۸	۷- بررسی حساسیت سلولی به روش استاندارد کلونوزتیک
۲۹۰	۸- سنجش سیتوتوکسیسیته بر اساس تشخیص کلنی
۲۹۱	۹- بررسی آپوپتوز با استفاده از روش Annexin V
۲۹۴	۱۰- بررسی آپوپتوز با استفاده از رنگ‌آمیزر انکسین و پروپیدیم یدید (PI)
۲۹۶	۱۱- سنجش آنژیوژنز
۲۹۷	۱۲- تشخیص پیری در سلول‌های سرطانی
۳۰۲	۱۴- آنالیز DNA رده‌های سلولی سرطان انسانی توسط فلوسایتومتری
۳۰۶	منابع
۳۱۲	پیوست‌ها
۳۲۴	ایندکس موضوعی