



عنوان و نام پدیدآور	روش‌های پیشرفته در کشت سلولی/گردآورندگان مصطفی صابریان ... [و دیگران]:
مشخصات نشر	ویراستار ادبی مهدی داداشی‌آرانی.
مشخصات ظاهری	تهران: مصطفی صابریان، ۱۳۹۷.
شابک	۲۶۳ص.: مصور، جدول، نمودار.
وضعیت فهرست نویسی	۳۸۰۰۰۰ریال00-1654-978-622 : ۹78
یادداشت	فیا
یادداشت	ص.ع به انگلیسی: Mostafa Saberian [...ed].The Advanced Methods in Cell Culture.
یادداشت	گردآورندگان مصطفی صابریان، ناهید عین‌الهی، الهام شهیدی‌دلشاد، مینا غلامی، سمیرا محمدزاده، زهرا ظهیری، الهه الهیاری.
یادداشت	کتابنامه.
موضوع	یاخته‌ها -- کشت
موضوع	Cell culture
موضوع	یاخته‌ها -- کشت -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Cell culture-- Laboratory manual
شناسه افزوده	صابریان، مصطفی، ۱۳۶۵ -
رده بندی کنگره	Q۵۸۸۵/۳/ ۱۱۲
رده بندی دیویی	۷۷۱ ۶۳۸
شماره کتابشناسی ملی	۵۲۵ ۳۸
تاریخ درخواست	۱۳۹۷/۰۸/۳۰
تاریخ پاسخگویی	
کد پیگیری	۵۴۵۷۱۹۳

نام اثر: روش‌های پیشرفته در کشت سلولی (The Advanced Methods in Cell Culture)

نویسندگان: مصطفی صابریان، دکتر ناهید عین‌الهی، الهام شهیدی‌دلشاد، مینا غلامی، سمیرا محمدزاده، زهرا ظهیری، الهه الهیاری

شابک: ۹۷۸-۶۲۲-۰۰-۱۶۵۴-۰۰

ناشر: مولف

ویراستار ادبی: دکتر مهدی داداشی‌آرانی

طراحی جلد: فهیمه صابریان

لیتوگرافی: فراز

صحافی و چاپ: دانش

تاریخ انتشار: پاییز ۱۳۹۷

نوبت چاپ: اول- ۱۳۹۷

تیراژ: ۵۰۰ جلد

قیمت: ۳۸۰۰۰۰ ریال

- نشانی: تهران-بلوار کشاورز-خیابان نادری-کوچه حجت دوست؛ تلفن: ۰۹۱۲۵۲۱۲۰۸۴

حق چاپ محفوظ است

عنوان..... صفحه

فصل اول: کشت اولیه سلول

- ۱-۱- انواع کشت اولیه سلول ۱
- ۲-۱- جداسازی بافت ۲
- ۱-۲-۱- جنین موش ۳
- ۲-۲-۱- جنین جوجه ۳
- ۳-۲-۱- بیوپسی بافت های انسانی ۴
- ۳-۱- کشت اولیه مول ۹
- ۱-۳-۱- برون کاشت های اولیه ۹
- ۲-۳-۱- جداسازی تجزیه سلول به روش آنزیمی ۱۳
- ۳-۳-۱- تریپسین گرم ۱۵
- ۴-۳-۱- تریپسینه کردن با تریپسین سرد ۱۷
- ۵-۳-۱- مقدمات کشت اندام های جنینی ۱۸
- ۶-۳-۱- روش های آنزیمی دیگر ۲۱
- ۷-۳-۱- کلاژناز ۲۴
- ۸-۳-۱- جداسازی تجمعات سلولی به روش مکانیکی ۲۶
- ۹-۳-۱- جدا کردن سلول های زنده از سلول های مرده ۲۸
- ۱۰-۳-۱- خلاصه کشت اولیه سلول ۲۸
- ۱۱-۳-۱- ثبت اطلاعات اولیه ۲۹

فصل دوم: ساب کالچر و سل لاین

- ۱-۲- ساب کالچر و تکثیر سلولی ۳۲
- ۲-۲- مجموعه اصطلاحات ۳۲
- ۳-۲- سن کشت ۳۶
- ۴-۲- نام گذاری سل لاین ها ۳۷

- ۳۸..... ۵-۲- انتخاب یک سل لاین
- ۳۹..... ۶-۲- روش روتین نگهداری
- ۳۹..... ۶-۲-۱- مفهوم مورفولوژی سلول
- ۴۰..... ۶-۲-۲- تعویض محیط کشت
- ۴۲..... ۷-۲- ساب کالچر
- ۴۵..... ۷-۲-۱- شاخص های ساب کالچر
- ۴۷..... ۷-۲-۲- چرخه رشد و سرعت تقسیم شدن
- ۵۰..... ۷-۲-۳- غلظت سلولی در ساب کالچر
- ۵۰..... ۷-۲-۴- تکثیر در سوسپانسیون
- ۵۱..... ۷-۲-۵- ساب کالچر دادن بازل های در حال رشد در کشت سوسپانسیونی
- ۵۳..... ۷-۲-۶- استاندارد نمودن شش کشت
- ۵۴..... ۷-۲-۷- استفاده از آنتی بیوتیک ها
- ۵۴..... ۷-۲-۸- ثبت داده ها:

فصل سوم: تمایز سلولی

- ۵۸..... ۳-۱- بیان فنوتایپ سلول ها در شرایط *in vivo*
- ۵۸..... ۳-۱-۱- تمایز زدایی
- ۵۹..... ۳-۱-۲- انتخاب دودمان سلولی
- ۵۹..... ۳-۲- مراحل تمایز
- ۶۰..... ۳-۳- رشد و تمایز
- ۶۱..... ۳-۴- متعهد شدن دودمان سلولی
- ۶۳..... ۳-۵- انعطاف پذیری سلول بنیادی
- ۶۵..... ۳-۶- ویژگی های تمایز
- ۶۵..... ۳-۷- القای تمایز
- ۶۶..... ۳-۷-۱- واکنش سلولی
- ۶۸..... ۳-۷-۲- فاکتورهای سیستمی یا اگزوزنز:

۷۰	۳-۷-۳- میانکنش های ماتریکس- سلول
۷۳	۳-۷-۴- قطبیت و شکل سلول
۷۴	۳-۷-۵- فشار اکسیژن
۷۴	۳-۸- تمایز و بدخیمی ها
۷۴	۳-۹- جنبه های عملی

فصل چهارم: سنجش های کمی

۷۷	۴-۱- شمارش سلولی
۷۷	۴-۱-۱- هموسایتومتر
۸۲	۴-۱-۲- شمارش الکترونیکی سلول ها
۸۵	۴-۱-۳- تک لا های رنگ آمیزی شده
۸۶	۴-۲- وزن سلول
۸۶	۴-۳- محتوای DNA
۸۷	۴-۴- پروتئین ها
۸۷	۴-۴-۱- حل کردن نمونه
۸۸	۴-۵- مقدار سنتز
۸۸	۴-۵-۱- سنتز DNA
۸۹	۴-۵-۲- سنتز پروتئین
۸۹	۴-۶- آماده سازی نمونه ها برای سنجش آنزیمی و ایمنوآسی
۹۰	۴-۷- سایتومتری
۹۰	۴-۷-۱- نشان دار سازی درجا
۹۰	۴-۷-۲- فلوسایتومتری
۹۱	۴-۸- تکرار نمونه ها
۹۲	۴-۸-۱- جمع آوری اطلاعات
۹۲	۴-۸-۲- تجزیه و تحلیل اطلاعات
۹۳	۴-۹- تکثیر سلولی

۹۳	۱-۹-۴- طراحی تجربی
۹۵	۲-۹-۴- چرخه رشد
۹۶	۳-۹-۴- آنالیز منحنی های رشد تک لایه
۹۹	۴-۹-۴- حجم کشت، غلظت و دانسیته سلولی
۱۰۰	۵-۹-۴- کشت های سوسپانسیونی
۱۰۱	۶-۹-۴- فازهای چرخه رشد
۱۰۴	۷-۹-۴- مشتقات منحنی رشد
۱۰۵	۱۰-۴- بازده
۱۰۷	۱-۱۰-۴- تحلیل و بررسی، وند تشکیل کلنی
۱۰۷	۲-۱۰-۴- شمارش کای با دستگاه الکترونیکی
۱۰۸	۱۱-۴- شاخص نشان گذاری
۱۰۹	۱-۱۱-۴- فرکشن رشد
۱۱۰	۲-۱۱-۴- شاخص میتوزی
۱۱۲	۳-۱۱-۴- شاخص تقسیم
۱۱۳	۱۲-۴- مدت زمان چرخه سلولی
۱۱۳	۱۴-۴- مهاجرت سلولی

فصل پنجم: سمیت سلولی

۱۱۵	۱-۵- زیست پذیری، سمیت و بقای سلولی
۱۱۶	۲-۵- محدودیت های کار در شرایط <i>in vitro</i>
۱۱۷	۳-۵- روش های سنجش
۱۱۸	۱-۳-۵- زیست پذیری
۱۱۹	۲-۳-۵- حیات سلولی
۱۲۵	۳-۳-۵- سنجش بر مبنای تکثیر سلولی
۱۲۶	۴-۳-۵- سنجش های سمیت متابولیکی
۱۲۶	۵-۳-۵- آزمایش های میکروتیتراسیون

- ۱۳۲.....۵-۳-۶- مقایسه روش میکروتیتراسیون با بقای سلولی در روش کلونژنیک
- ۱۳۴.....۵-۳-۷- اثر تقابلی داروها
- ۱۳۴.....۵-۴-۴- ابزارهای سنجش سمیت سلولی
- ۱۳۴.....۵-۴-۱- غربالگری داروهای ضد سرطان
- ۱۳۴.....۵-۴-۲- آزمایش پیش بینی دارو برای تومورها
- ۱۳۵.....۵-۴-۳- آزمایش های دارویی
- ۱۳۶.....۵-۵- ترانسفورماسیون و جهش زایی
- ۱۳۶.....۵-۵-۱- سنجش های جهش زایی با استفاده از تبادل کروماتیدهای خواهری
- ۱۳۷.....۵-۵-۲- سرطان: رایج
- ۱۳۹.....۵-۶- التهاب

فصل ششم: کشت سلول های توموری

- ۱۴۲.....۶-۱- موانع و مشکلات کشت سلول های توموری
- ۱۴۴.....۶-۲- نمونه برداری
- ۱۴۵.....۶-۳- جداسازی تجمعات سلولی
- ۱۴۶.....۶-۴- کشت اولیه سلول ها
- ۱۴۷.....۶-۶- تعیین هویت سلول ها
- ۱۴۸.....۶-۶- گسترش سل لاین ها
- ۱۴۹.....۶-۶-۱- سل لاین های پیوسته
- ۱۵۰.....۶-۷- کشت انتخابی سلول های توموری
- ۱۵۰.....۶-۷-۱- محیط کشت انتخابی
- ۱۵۱.....۶-۷-۲- لایه های تغذیه کننده دارای تلاقی
- ۱۵۳.....۶-۷-۳- کلونی زایی در سوسپانسیون
- ۱۵۳.....۶-۷-۴- کشت هیستوتیپیک
- ۱۵۴.....۶-۷-۵- زئوگرفت ها
- ۱۵۵.....۶-۷-۶- ویژگی های کشت سلول های توموری

- ۶-۷-۷- نگاهداری بافت به روش فریز کردن ۱۵۵
- ۶-۸-۱- انواع تومورهای خاص ۱۵۵
- ۶-۸-۱- پستان ۱۵۶
- ۶-۸-۲- ریه ۱۵۶
- ۶-۸-۳- معده ۱۵۷
- ۶-۸-۴- کولون ۱۵۷
- ۶-۸-۵- پانکراس ۱۶۰
- ۶-۸-۶- تخمدان ۱۶۱
- ۶-۸-۷- پروستات ۱۶۲
- ۶-۸-۸- مثانه ۱۶۲
- ۶-۸-۹- پوست ۱۶۲
- ۶-۸-۱۰- سرویکس ۱۶۳
- ۶-۸-۱۱- گلیوما ۱۶۴
- ۶-۸-۱۲- نورویلاستوما ۱۶۵
- ۶-۸-۱۳- سمینوما ۱۶۶
- ۶-۸-۱۴- لنفوم و لوکمی ۱۶۶

پروتکل ها

- پروتکل ۱-۱- جداسازی جنین های موش ۱۶۸
- پروتکل ۲-۱- جدا کردن جنین جوجه ۱۷۱
- پروتکل ۳-۱- بیوپسی های انسانی ۱۷۳
- پروتکل ۴-۱- برون کاشت اولیه ۱۷۴
- پروتکل ۵-۱- باز کردن تجمعات بافت با استفاده از آنزیم تریپسین گرم ۱۷۶
- پروتکل ۶-۱- جداسازی تجمعات سلولی با تریپسین سرد ۱۷۹
- پروتکل ۷-۱- مقدمات کشت جنین جوجه ۱۸۱
- پروتکل ۸-۱- جداسازی تجمعات سلولی با استفاده از کلاژنار ۱۸۴

- پروتکل ۱-۹- جداسازی مکانیکی سلول ها به روش الک کردن ۱۸۶
- پروتکل ۱-۱۰- غنی سازی سلول های زنده ۱۸۸
- پروتکل ۲-۱- تغذیه نمودن کشت تک لایه ای: ۱۹۰
- پروتکل ۲-۲- محیط کشت ثانویه برای سلول های تک لایه: ۱۹۲
- پروتکل ۲-۳- ساب کالچر کردن کشت سوسپانسیون: ۱۹۶
- پروتکل ۴-۱- شمارش سلولی بوسیله هموسایتومتر ۱۹۸
- پروتکل ۴-۲- شمارش الکترونیکی سلول بوسیله مقاومت الکتریکی: ۲۰۱
- پروتکل ۴-۳- تخمین مقدار DNA بوسیله Hoechst 33258 ۲۰۳
- پروتکل ۴-۴- تخمین مقدار پروتئین به وسیله روش برادفورد ۲۰۴
- پروتکل ۴-۵- تخمین مقدار سنتز DNA به وسیله [^3H] تیمیدین نشان دار ۲۰۵
- پروتکل ۴-۶- سنتز پروتئین ۲۰۷
- پروتکل ۴-۷- منحنی رشد کشت تک لایه ای در فلاسک ۲۰۹
- پروتکل ۴-۸- منحنی رشد یک تک لایه در پلیت های چند چاهکی ۲۱۱
- پروتکل ۴-۹- منحنی رشد با سلول های موجود در سوسپانسیون ۲۱۳
- پروتکل ۴-۱۰- تعیین بازده پلیت ۲۱۴
- پروتکل ۴-۱۱- شاخص نشان گذاری با $(^3\text{H})\text{THYMIDINE}$ ۲۱۷
- پروتکل ۴-۱۲- تعیین فرکشن رشد ۲۲۰
- پروتکل ۵-۱- تخمین زیست پذیری با روش ممانعت از ورود رنگ ۲۲۱
- پروتکل ۵-۲- تخمین زیست پذیری با جذب رنگ ۲۲۳
- پروتکل ۵-۳- آزمایشات کلونوزنتیک برای سلول های چسبیده شده ۲۲۵
- پروتکل ۵-۴- سنجش سمیت سلولی بر اساس روش MTT ۲۲۸
- پروتکل ۵-۵- تبادل کروماتیدهای خواهری ۲۳۲
- پروتکل ۶-۱- رشد بر روی لایه های تغذیه کننده دارای تلاقی ۲۳۶
- پروتکل ۶-۲- فریز کردن بافت ها ۲۳۸
- پروتکل ۶-۳- کشت تومورهای کولورکتال ۲۳۹

پیش گفتار

با رشد روز افزون دانشجویان و حجم بالای تحقیقات آزمایشگاهی در کشور، نیاز به داشتن منبعی جامع، درعین حال کم حجم و قابل درک، افزایش یافته است. فراگیری روش های کشت سلول از اصول شروع فرآیند تحقیقات برون تنی، درون تنی و حتی بالینی است. کتابی که پیش رو دارید به تلاش گروهی از اساتید و دانشجویان در دانشگاه علوم پزشکی تهران تالیف و گردآوری شده است که به نظر اینجانب در راستای اعتلای دانش در علاقمندان گامی موثر است. این نگاشته برای فردی مبتدی تا فردی که مدت ها در آزمایشگاه ها مشغول به فعالیت های مرتبط با سلول بوده کارآمد است .

کتاب حاضر در ۲۰ فصل و ۶ فصل است که فصل اول آن خواننده را با مفاهیم پایه ای کشت سلول و روشهای فراهم کردن رده های سلولی به روش های مختلف فیزیکی و شیمیایی آشنا می کند. نکته درخور توجه این فصل، گزیده وجود انتهایی فصل به همراه جدول ثبت و گزارش فعالیت هاست. طبق تجارب اینجانب، این روش ثبت فعالیت را ازما شگاه از ضروری ترین موارد است که می تواند به عنوان لاگ بوک مورد استفاده قرار گیرد. فصل ۲ روش های نگهداری سلول و ساب کالچر را تا زمانی که سلول ها برای هدف مورد نظر آماده شوند، تشریح کرده است و در فصل سوم خواننده با سلول های بنیادی، القای تمایز و تمایز زدایی آشنا می شود. سنجش های کمی و محاسبه تعداد سلول های مورد نظر از رده های مختلف، یک بخش بسیار مهم و حساس است که توسط ابزارهای گوناگونی هم چون پلیت ها و لام ها و ... انجام می گردد که پس از مطالعه ی فصل چهارم می توان با این روش ها آشنا شد. فصل پنجم ارایه دهنده ی عوامل سمی و کشنده ی سلول، میزان بقا و سنجش های کنترل کننده بقا بوده و در نهایت فصل ششم انواع روش های کشت سلول های سرطانی را آموزش می دهد. در پایان کتاب بخش تحت عنوان پروتکل ها، روش های نام برده شده در فصول ۱ تا ۶ را با جزئیات ذکر کرده تا فراگیر را در کوتاه ترین زمان ممکن به دستیابی روش مورد نیاز رهنمون گردد. کلام آخر این که داشتن این چنین منبعی رای به کسانی که در تکاپوی آموزش اصولی و انجام اصولی روش های کشت سلولی هستند توصیه می گردد. تلاش های بی شائبه ی نگارنده را ارج می نهم و توفیق روز افزون ایشان را در اعتلای دانش کشورم از خداوند یکتا خواستارم.