

مبانی بانک سلول‌های پستانداران

(Basic of Mammalian Cell Banking)

مؤلف:

دکتر مهدی زین‌الدینی

با همکاری:

مهندس وحید صادقی

سرشناسه: زین‌الدینی، مهدی، ۱۳۵۲-

عنوان و نام پدیدآور: مبانی بانک سلول‌های پستانداران - Basic of Mammalian Cell Banking / مولف مهدی زین‌الدینی با همکاری

وحید صادقی. مشخصات نشر: تهران: دانشگاه صنعتی مالک اشتر، ۱۳۹۱. مشخصات ظاهری: ب، ۱۸۶ ص.

وضعیت فهرست نویسی: فایده. موضوع: یاخته‌ها- کشت موضوع: پستانداران

شناسه افزوده: صادقی، وحید، ۱۳۳۸- شناسه افزوده: دانشگاه صنعتی مالک اشتر

رده بندی کنگره: ۱۳۹۱/م۹/۲/۹۸۵۸۵ QH رده بندی دیویی: ۵۷۱/۶۳۸ رده بندی ملی: ۳۰۶۷۵۷۳



انتشارات دانشگاه صنعتی مالک اشتر



دانشگاه صنعتی مالک اشتر
پژوهشکده علوم و فناوری زیستی

عنوان کتاب: مبانی بانک سلول‌های پستانداران

مولف: دکتر مهدی زین‌الدینی با همکاری وحید صادقی

ناشر: انتشارات دانشگاه صنعتی مالک اشتر

طرح روی جلد: فریناز عسگری

لیتوگرافی، چاپ و صحافی: انتشارات دانشگاه صنعتی مالک اشتر

صفحه‌آرایی رایانه‌ای: مهدی ملایی

ویراستار ادبی: امین پژوهش جهرمی

شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

نوبت چاپ: اول، زمستان ۹۱

قیمت: ۱۳۵۰ ریال

ISBN: 978-600-5665-46-8

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۵۶۶۵-۴۶-۸

کلیه حقوق چاپ برای ناشر محفوظ است.

نقل مطالب فقط با ذکر مشخصات کامل کتاب و با اشاره به نام ناشر مجاز است.

آدرس: تهران، لویزان، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، مرکز فناوری اطلاعات و مدیریت دانش.

مدیریت انتشارات، تلفن: ۲۲۹۳۲۸۹۱

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	۱
فصل اول: طراحی آزمایشگاه کشت سلول.....	۳
۱-۱- مقدمه.....	۳
۲-۱- اتاق پاک.....	۵
۳-۱- محیط پاک.....	۷
۴-۱- هود زیستی.....	۸
۵-۱- اتاق گرم.....	۱۶
فصل دوم: ایمنی زیستی در آزمایشگاه کشت سلول.....	۲۳
۱-۲- مقدمه.....	۲۳
۲-۲- حفاظت از سطوح.....	۲۴
۱-۲-۲- درب‌ها.....	۲۴
۲-۲-۲- پنجره‌ها.....	۲۵
۳-۲-۲- سطوح دیوار، سقف و کف اتاق‌ها.....	۲۵
۴-۲-۲- اتاق‌های تعویض.....	۲۶
۳-۲- امکانات سودمند.....	۲۶
۱-۳-۲- نور.....	۲۶
۲-۳-۲- آب.....	۲۶
۳-۳-۲- جریان هوا.....	۲۷
۴-۲- طبقه‌بندی مناطق مختلف کاری.....	۲۹
۵-۲- جریان کارکنان و مواد.....	۳۲
۶-۲- فرآیندهای با انرژی زیاد.....	۳۲
۷-۲- ضد عفونی کردن تسهیلات و تجهیزات.....	۳۳

۳۴	۲-۸-رفع مواد زاید
۳۶	۲-۹-هودهای ایمنی زای ریززستی
۳۶	۲-۹-۱-استانداردهای لازم برای هودهای ایمنی‌زا
۴۰	۲-۹-۳-حذف آلودگی از یک هود ایمنی ریززستی (MSC II)
۴۱	۲-۱۰-ارزیابی خطرپذیری
۴۲	۲-۱۰-۱-ریسک و هازارد
۴۲	۲-۱۰-۲-مراحل آنالیز خطر
۴۳	۲-۱۰-۱-۲-ارزیابی خطر و روش‌های کنترل
۴۳	۲-۱۰-۲-۲-محیط آزمایشگاه
۴۷	فصل سوم: امکانات و تجهیزات مورد نیاز برای کشت سلولی
۴۷	۳-۱-مقدمه
۴۹	۳-۲-حداقل تجهیزات
۴۹	۳-۲-۱-گرم‌خانه
۴۹	۳-۲-۲-گرم‌خانه دی‌اکسید کربن
۵۲	۳-۲-۳-دستگاه‌های پاک‌کننده
۵۳	۳-۲-۴-یخچال‌ها و فریزرها
۵۴	۳-۲-۵-میکروسکوپ معکوس
۵۶	۳-۲-۶-سامانه شستشو
۵۸	۳-۲-۷-دستگاه خالص‌سازی آب
۵۹	۳-۲-۸-سانتریفوژها
۵۹	۳-۲-۹-دستگاه انجماد سلول
۶۱	۳-۳-تجهیزات قابل توصیه و تجهیزات مفید
۶۱	۳-۳-۱-هود لامینار
۶۳	۴-۳-۲-شمارش گر سلولی

۶۵	 ۳-۳-۳- شمارش گر کلنی ها
۶۶	 ۴-۳-۳- دستگاه خلا
۶۷	 ۵-۳-۳- ماشین شستشوی شیشه آلات
۶۸	 ۶-۳-۳- وسایل معمول مصرفی

فصل چهارم: محیط های کشت سلولی ۷۱

۷۱	 ۱-۴- مقدمه
۷۱	 ۲-۴- بستر کشت سلول
۷۲	 ۳-۴- بسترهای ساختگی
۷۲	 ۱-۳-۴- شیشه
۷۲	 ۲-۳-۴- پلاستیک های یک بار مصرف
۷۳	 ۳-۳-۴- میکرو کریرها (حاملین ریز)
۷۴	 ۴-۳-۴- بسترهای مصنوعی
۷۴	 ۵-۳-۴- آماده سازی بستر
۷۶	 ۴-۴- لایه مغذی
۷۷	 ۵-۴- بسترهای سه بعدی
۷۷	 ۶-۴- بسترهای غیر چسبده
۷۸	 ۷-۴- فضای بینایی ژل - محلول یا محلول - محلول
۷۸	 ۸-۴- ظروف کشت
۸۱	 ۹-۴- فضای گازی
۸۱	 ۱-۹-۴- اکسیژن
۸۱	 ۲-۹-۴- گاز انیدرید کربنیک
۸۴	 ۱۰-۴- درجه حرارت انکوباسیون
۸۵	 ۱۱-۴- محیط کشت و مواد مکمل
۸۸	 ۱۲-۴- اجزای تشکیل دهنده ضروری محیط های کشت
۸۹	 ۱-۱۲-۴- نمک های معدنی

۸۹	۴-۱۲-۲- سامانه بافری
۹۰	۴-۱۲-۳- اسمولالیت
۹۱	۴-۱۲-۴- کربوهیدرات‌ها
۹۲	۴-۱۲-۵- ویتامین‌ها
۹۲	۴-۱۲-۶- پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه
۹۴	۴-۱۲-۷- اسیدهای چرب و لیپیدها
۹۴	۴-۱۲-۸- هورمون‌ها
۹۴	۵-۱۲-۹- عناصر کمیاب
۹۸	۴-۱۳- سرم
۱۰۰	۴-۱۴- محیط‌های کشت عاری از سرم
۱۰۵	۴-۱۵- انتخاب محیط کشت و سرم
۱۰۹	فصل پنجم: دودمان‌های سلولی
۱۰۹	۵-۱- منابع کشت سلولی
۱۱۰	۵-۲- ریخت‌شناسی کشت
۱۱۵	۵-۳- ایجاد یک کشت سلولی
۱۱۸	۵-۴- تفرق‌ناپذیری
۱۲۵	فصل ششم: روش‌های کنترل کیفی در کشت سلولی
۱۲۵	۶-۱- مقدمه
۱۲۶	۶-۲- تهیه ۱۰ لیتر محیط مایع از پودر بدون آب
۱۲۷	۶-۳- فیلتراسیون و جمع‌آوری محیط
۱۳۱	۶-۴- سامانه تقسیم بذرها
۱۳۲	۶-۵- ذخیره‌سازی کشت‌های سلولی در نیتروژن مایع
۱۳۳	۶-۵-۱- مواد محافظ سرمایی
۱۳۶	۶-۵-۲- میزان و محدوده سرد شدن

۱۴۰	 ۶-۵-۳- تهیه آمپول
۱۴۱	 ۶-۵-۴- تهیه محیط فریز
۱۴۱	 ۶-۵-۵- روش پخش شدگی
۱۴۳	 ۶-۵-۶- مهر و موم کردن آمپول
۱۴۳	 ۶-۵-۷- فریز کردن آمپول
۱۴۷	 ۶-۵-۸- بازیافت سلول‌های منجمد شده (تشکیل دوباره)
۱۴۹	 ۶-۵-۹- تعیین میزان سلول‌های بازیافت شده
۱۴۹	 ۶-۶-۱- باید‌ها و نباید‌ها در کشت سلولی
۱۵۰	 ۶-۶-۱-۱- مواردی که باید انجام شود
۱۵۱	 ۶-۶-۲- مواردی که نباید انجام شود
۱۵۲	 ۶-۷- پروتکل ۱- روش ضد عفونی و کارکرد صحیح کشت سلولی (GMP)
۱۵۳	 ۶-۸- پروتکل ۲- ذوب کردن رده‌های سلولی فریز شده
۱۵۶	 ۶-۹- پروتکل ۳- تعویض و تجدید کشت رده‌های سلولی چسبنده
۱۵۹	 ۶-۱۰- پروتکل ۴- تجدید کشت رده‌های سلولی نیمه چسبنده
۱۶۱	 ۶-۱۱- پروتکل ۵- تعویض کشت رده‌های سلولی محلول (سپانسیون)
۱۶۳	 ۶-۱۲- پروتکل ۶- شمارش سلولی
۱۶۷	 ۶-۱۳- پروتکل ۷- ذخیره‌سازی و فریز رده‌های سلولی
۱۷۰	 ۶-۱۴- پروتکل ۸- آزمایش آلودگی باکتری و قارچ
۱۷۳	 ۶-۱۵- پروتکل ۹- تشخیص مایکوپلازما از طریق کشت
۱۷۶	 ۶-۱۶- پروتکل ۱۰- آزمایش حضور مایکوپلازما با استفاده از رنگ‌آمیزی
۱۸۵	 منابع

پیش‌گفتار

در حوزه‌های مختلف فناوری زیستی، سلول‌های زنده به عنوان مدل و ابزاری برای آزمایش مواد زیستی تولیدی در خارج بدن^۱ شناخته می‌شوند. با توجه به ناپایداری سلول‌ها در اثر تعداد کشت‌های متوالی، ذخیره‌سازی آن‌ها به عنوان یکی از اولویت‌ها و ضرورت‌ها به حساب می‌آید. از سوی دیگر با توجه به ناپایدار بودن سلول‌های معمولی و جدا شده از بدن موجودات، امروزه دانشمندان به سلول‌های زنده پایدار به صورت ژنتیکی، متمایل شده‌اند. کشت‌های مداوم و متوالی، زمان‌بر بوده و به آلودگی یا توده‌ای شدن ژنتیکی به صورت قطعات کوچک و کوچک‌تر از جمعیت انتخاب شده، منجر می‌شوند. با وجود این، تعداد زیادی از آن‌ها را می‌توان در قالب جمعیتی از سلول‌ها، در دماهای پایین ذخیره کرده و پایدار نگه داشت. به عبارت دیگر، برای تمامی فرضیات ممکن، زمان را می‌توان برای این سلول‌ها متوقف کرد. پایداری سلول‌ها در دماهای پایین، که ذخیره‌سازی سرمایی^۲ نامیده می‌شود، با به کارگیری جنبه‌های زندگی سرمایی^۳ و مطالعه زندگی در دمای پایین، به دست می‌آید. مزایای فناوری ذخیره‌سازی سرمایی، منتهی به روش‌هایی می‌شود که اجازه نگهداری انواع متفاوتی از سلول‌ها در دمای پایین را می‌دهد. روش‌های مربوطه برای ذخیره‌سازی ریزاندامگان‌ها^۴، سلول‌های بافت استخراج

1- In Vitro

2- Cryopreservation

3- Cryobiology

4- Microorganism

شده، اندامگان‌های چندسلولی کوچک و حتی اندامگان‌های بسیار پیچیده‌ای نظیر جنین، می‌تواند به کار گرفته شود.

در این کتاب تلاش شده است افزون بر آشنایی خوانندگان با اصول تهیه سلول‌های حیوانی به صورت ذخیره‌سازی سرمایی، با مبانی تهیه بانک سلول‌های حیوانی و روش‌های که برای کشت سلول مورد نیاز محققان مربوطه خواهد شد، آشنایی کلی را ارائه دهد. همچنین در این کتاب در صورت امکان سعی شده از واژه‌های متداول فارسی استفاده شود ولی گاهی برای رفع اشکال و شبهات، ناگزیر از اصلاحات و تلفظ انگلیسی استفاده شده است.

دکتر مهدی زین الدینی