

تولید و کشت آزمایشگاهی جنین

موش

Mouse In Vitro Embryo Production and Culture

مؤلف:

دکتر روح‌الله فرحی (عضو هیئت علمی گروه جنین‌شناسی)

همکاران تألیف (بر اساس رتبه‌بندی):

وحید اسماعیلی برزآبادی

سمیه توانا

مریم جهانگیری

اعظم دالمن

لیلا راشکی قلعه‌نو

رویا فاتحی

ناهید نصیری

مهدی هادی

تصویر روی جلد:

جنین آزمایشگاهی موش در مرحله‌ی خروج از زونایلوئوسیدا

(گلکار و همکاران، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران)



پژوهشگاه رویان

پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولیدمثل پژوهشگاه

رویان جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولیدمثل،

گروه جنین‌شناسی، تهران، ایران

سرشناسه :	فتحی، روح‌الله، ۱۳۵۸ -
عنوان و نام پدیدآور :	تولید و کشت آزمایشگاهی جنین موش = Mouse in vitro embryo production and culture / روح‌الله فتحی ؛ همکاران تألیف براساس حروف الفبا وحید اسماعیلی برزآبادی... (و دیگران).
مشخصات نشر :	تهران: پژوهشگاه رویان، انتشارات، ۱۳۹۶.
مشخصات ظاهری :	۶۸ص: مصور(رنگی).
شابک :	۹۷۸-۶۰۰-۸۴۸۶۰-۲-۲ ۳۵۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست نویسی :	فیا
یادداشت :	همکاران تألیف براساس حروف الفبا وحید اسماعیلی برزآبادی، سمیه توانا، مریم جهانگیری، اعظم دالمن، لیلا راشکی قلعه‌نو، رویا فاتحی، ناهید نصیری، مهدی هادی.
یادداشت :	کتابنامه: ص: ۶۸.
موضوع :	موش‌های آزمایشگاهی -- رویان
موضوع :	Mice as laboratory animals -- Embryos
موضوع :	جنین آزمایشگاهی
موضوع :	Fertilization in vitro
شناسه افزوده :	اسماعیلی برزآبادی، وحید، ۱۳۶۲ -
شناسه افزوده :	پژوهشگاه رویان
رده‌بندی کنگره :	۱۳۹۶ / ۸۴۸۶۲ / ۳۲۰۷
رده‌بندی دی‌سی :	۶۳۶ / ۸۸۵
شماره کتابشناسی ملی :	۶۰۰۸۴۸۶۰۲۰۲۰۲



تشریفات
پژوهش رویان

تولید و کشت جنین آزمایشگاهی موش

مؤلف	دکتر روح‌الله فتحی
همکاران تألیف (بر اساس حروف الفبا)	وحید اسماعیلی برزآبادی، سمیه توانا، مریم جهانگیری، اعظم دالمن، لیلا راشکی قلعه‌نو، رویا فاتحی، ناهید نصیری، مهدی هادی
ناشر	انتشارات پژوهشگاه رویان، وابسته به پژوهشگاه رویان
نوبت چاپ	اول / ۱۳۹۵
ویراستاری و کارشناسی امور چاپ و نشر	شهره روحانی
صفحه‌آرایی	مهرناز خرمی
طراحی جلد	سعدی نقی‌زاد
لیتوگرافی و چاپ	قائم چاپ، بروجرد
صحافی	عطوف
شابک	۹۷۸-۶۰۰-۸۴۸۶۰-۲-۲
شمارگان	۱۰۰۰ نسخه
قیمت	۳۵۰۰۰۰ ریال

مسئولیت علمی مطالب این اثر بر عهده‌ی نویسندگان است.
استفاده از مطالب این اثر با کسب اجازه‌ی کتبی از ناشر و ذکر منبع، بلامانع است.
حق چاپ اثر برای ناشر محفوظ است.
تمامی حقوق مادی و معنوی برای ناشر محفوظ است. این کتاب مشمول قانون حمایت از مؤلفان، مصنفان، مترجمان و هنرمندان مصوب ۱۳۴۸ و قانون ترجمه و تکثیر کتب، نشریات و آثار صوتی مصوب ۱۳۵۰ است.
هیچ بخش یا جزئی از کتاب به هر شکل از جمله فتوکپی، تکثیر، بازنویسی، خلاصه‌برداری در هر قالب (از جمله کتاب، لوح فشرده، مجلات و...) بدون اجازه‌ی کتبی ناشر مجاز نیست و موجب پیگرد قانونی می‌شود.

نشانی: تهران، ۳۵ متری رسالت، خیابان بنی‌هاشم، میدان بنی‌هاشم، خیابان بنی‌هاشم شمالی، خیابان حافظ شرقی، پژوهشگاه رویان، انتشارات پژوهشگاه رویان (وابسته به جهاد دانشگاهی)، صندوق پستی: ۱۴۸-۱۶۶۳۵، تلفن: ۲۶۳۱۹۲۵۶-۲۱.

Web: www.royaninstitute.org
Email: publication@royaninstitute.org

در جهان امروز که پیشرفت در زمینه‌های مختلف علم به‌خصوص علوم زیستی با سرعتی غیرقابل توصیف به وقوع می‌پیوندد و با توجه به گستره‌ی نامحدود دانش الهی که بخش کوچکی از آن در اختیار آدمی قرار گرفته است؛ لزوم یادگیری روش‌های علمی روز دنیا برای رسیدن به نتایج مطلوب همچنین کسب مهارت لازم برای حرکت به‌سوی جایگاهی قابل اطمینان در عرصه جهانی، جزء جدانشدنی حرکت یک جامعه‌ی علمی به‌سوی کمال است. ازسویی دیگر عرصه‌ی علوم نوپا و مؤثر در پیشرفت و ارتقاء سطح کیفی و سلامت جامعه‌ی جهانی از سوی کشورهای پیشرفته و توسعه‌یافته به‌صورت لحظه به لحظه و فروش دستاوردها و نتایج آن به جوامع کمتر توسعه یافته با هزینه‌ای خراف و سنگین؛ لزوم ایجاد دیدگاه علمی قوی و آینده پژوه را در میان دانشجویان و پژوهشگران عرصه‌ی علوم زیستی افزایش می‌دهد.

از آنجایی که دانشر بنیادینی در جنبه‌های مختلف برای اهل تحقیق و پژوهش، مسائل قابل بررسی و بحث‌برانگیز دارد از -ذاتیب- اهمیت خاصی برخوردار است. جنین‌شناسی علمی است که فرایند تکامل یک موجود تک -ولی- را با عملکرد دستگاه‌های پیشرفته و پُر سلول بدن موجودی کامل پیوند می‌زند و به‌طور نزدیکی با علوم پزشکی، زیست‌شناسی، سلول‌های بنیادی، فیزیولوژی، بیوشیمی، بیوفیزیک و حتی با شاخه‌هایی از مهندسی آمیخته است. چنین ویژگی‌های شاخص و منحصر به فردی، علم جنین‌شناسی را به دانشی بین رشته‌ای تبدیل کرده و نام دانشمندان بزرگی را بر پهنه‌ی خویش حک کرده است.

در این میان بروز ناهنجاری‌ها و اختلالات عملکردی -اختزری- در سلول‌های جنسی حتی به‌میزان ناچیز سبب تولید و تولد یک موجود ناقص می‌شود. چنین مسائلی منجر به از دست دادن توان باروری و تولید نسل در یک موجود زنده می‌شود که این امر را ادی بسیار مسئله‌آمیز و پررنگ بوده و جوانب مختلفی از زندگی او را درگیر کرده است. اتخاذ روش‌های درمانی بسیار پیچیده و حساس که صرف هزینه و انرژی زیادی را به خود اختصاص می‌دهد، نشانگر اهمیت بروز یک اختلال کوچک با آثار فراوان آن است.

لقاح آزمایشگاهی که در میان عموم جامعه با عنوان لقاح آزمایشگاهی (IVF) شناخته می‌شود، ازجمله روش‌های درمانی بسیار مؤثر و پرفروغ در زمینه‌ی جنین‌شناسی بوده که کمک شایانی به بشریت و ارتقاء سطح کیفی سلامت آن کرده است. اگرچه به‌نظر می‌رسد که IVF ابتدا به‌منظور کمک به زوج‌های نابارور بروز یافته است و اساس فعالیت‌های جنین‌شناسی بالینی

را شکل می‌دهد؛ اما یادگیری آن به‌عنوان مدل‌سازی فرایند تشکیل و تکامل جنین تک‌سلولی در محیط بدن در جایگاهی خارج از آن (محیط آزمایشگاه)، برای تحقیقات مختلف سلولی یا شناخت مسیرهای مولکولی درگیر در آن و حتی پی بردن به نحوه‌ی ایجاد بیماری‌ها و شیوه‌ی درمان آنها ضروری و پر اهمیت است. از این رو طی این دوره قصد داریم تا دانشجویان و پژوهشگران با انگیزه و علاقه‌مند به تحقیق در زمینه‌ی جنین‌شناسی را با روش‌های پیچیده‌ی تولید جنین: روشی در محیط آزمایشگاه آشنا کنیم. باشد که در انجام وظیفه‌ی آموزشی خود در این مهم موفق باشیم، آمین یا رب العالمین.

محققان گروه جنین‌شناسی پژوهشگاه رویان

فصل اول: اصول کار در آزمایشگاه و آشنایی با تجهیزات کاربردی (GLP: Good Laboratory Practice)

۲	معرفی تجهیزات راهبردی آزمایشگاه تحقیقات جنین‌شناسی
۲	هود لامینار
۴	الزامات قبل و حین کار کردن با هودهای لامینار
۴	انکوباتور CO ₂
۶	میکروسکوپ
۸	تانک نیتروژن
۸	الزامات قبل و حین کار کردن با تانک نیتروژن
۸	سانتریفیوژ
۸	نکات لازم در استفاده از سانتریفیوژ
۸	صفحه‌ی حرارتی
۱۰	ترازوی دیجیتال
۱۰	pH متر
۱۲	پیتور و سمبلر

فصل دوم: آشنایی با موش آزمایشگاهی و نتایج دست‌آورد مثل آن

۱۵	علم حیوانات آزمایشگاهی
۱۵	تاریخچه‌ی آزمایش روی حیوانات
۱۶	میزان استفاده از حیوانات آزمایشگاهی
۱۶	طبقه‌بندی حیوانات به‌عنوان مدل‌های حیوانی
۱۷	اصول اخلاقی در استفاده از حیوانات تحقیقاتی
۱۹	موش کوچک آزمایشگاهی
۲۰	روش کار با موش در تحقیقات جنین‌شناسی
۲۰	باز کردن حفره‌ی شکمی و مکان‌یابی اندام‌های تناسلی
۲۰	روش جدا کردن بافت تخمدان
۲۱	روش جدا کردن اویداکت برای گرفتن تخمک بالغ
۲۴	روش جدا کردن بافت بیضه و نمونه‌گیری اسپرم از ابی‌دیدیم

فصل سوم: بررسی پارامترهای اسپرم موش

۲۹	تحرك اسپرم (Sperm Motility)
۲۹	انواع حرکت اسپرم
۲۹	استفاده از دستگاه CASA برای ارزیابی حرکت و تعداد اسپرم
۲۹	آماده‌سازی نمونه

۳۰	اصطلاحات علمی CASA
۳۱	نکات ضروری در رابطه با بررسی تحرک اسپرم
۳۲	بررسی حیات و زنده بودن اسپرم
۳۲	بررسی حیات اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی الوزین
۳۲	روش رنگ آمیزی الوزین
۳۳	مواد شیمیایی برای رنگ آمیزی الوزین
۳۳	مورفولوژی اسپر
۳۳	آماده سازی لا مورف، ری
۳۳	روش تهیهی گره یا اسپیر
۳۴	رنگ آمیزی Sperm Blue

فصل چهارم: بلوغ آزمایشگاهی در موش

۳۸	روش های جداسازی مجموعه تخمک (COC)
۳۹	تهیهی محیط کشت ها و قطره گذاری
۳۹	تهیهی محلول MEM-a حاوی هورمون ها
۳۹	شست و شوی روغن معدنی
۳۹	تهیهی ابزار مورد نیاز انتقال تخمک و جنین
۴۰	قطره گذاری برای استحصال تخمک
۴۱	قطره گذاری برای تشریح تخمدان
۴۲	آماده سازی پیپت برای جابه جا کردن تخمک
۴۳	روش جابه جا کردن تخمک با استفاده از پیپت دهانی
۴۳	جمع آوری تخمک

فصل پنجم: لقاح آزمایشگاهی در موش

۴۶	تاریخچهی لقاح آزمایشگاهی
۴۷	مراحل انجام لقاح آزمایشگاهی در موش
۴۷	تهیهی محیط های کشت و قطره گذاری
۴۷	روش تهیهی ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت T6
۴۸	آماده سازی محیط ظرفیت یابی اسپرم
۴۸	آماده سازی محیط IVF
۴۸	آماده سازی محیط تکوین جنین
۴۸	شست و شوی روغن معدنی
۴۸	مواد مورد نیاز برای تهیهی محلول شست و شوی روغن معدنی (محلول M199)
۴۹	قطره گذاری برای استحصال تخمک
۵۰	تجربک تخمک گذاری

۵۰	دوز و زمان تزریق گنادوتروپین
۵۱	روش تحریک تخمک گذاری
۵۱	تزریق داخل صفاقی
۵۲	مراحل نمونه گیری اسپرم از اپی دیدیم

فصل ششم: کشت و تکوین جنین موش

۵۶	آماده کردن جنین ها برای انتقال
۵۶	انتقال جنین
۵۶	جمع آوری جنین های دو سلولی تا مرحله ی مورولا
۵۸	جمع آوری بلاستوسیست
۵۹	کشت و تکوین جنین
۶۰	اجزای محیط کشت
۶۱	تربوه رات ها
۶۱	آمینواسید ها
۶۱	آمونوم
۶۱	ماکرومولکول ها
۶۲	عوامل مؤثر در رشد
۶۲	نکاتی در خصوص کشت جنین
۶۳	محیط کشت
۶۳	کربوهیدرات
۶۳	اسیدهای آمینه
۶۴	آب
۶۴	نمک های معدنی
۶۴	ویتامین ها
۶۴	سیستم بافری
۶۵	سرم
۶۵	آنتی بیوتیک ها
۶۶	دما
۶۶	شرایط کشت