

ابزارها و روش‌ها در زیست‌شناسی سلولی

مؤلفان:

گری کرتز
فنی جولین
سدريک اسپنل

مترجمين:

دکتر محمد نبیونی
زهرة قمبری
لطيفه کریم زاده باردی

ابزارها و روش‌ها در زیست‌شناسی سلولی / مولفین [صحیح: ویراستاران] گری کریتزر، فنی جولین، سدریک اسپنل؛ مترجمین محمد نبیونی، زهره قمبری، لطیفه کریم‌زاده باردیی.	عنوان و نام پدیدآور
تهران: نشر نهر، ۱۳۹۶.	مشخصات نشر
۳۵۷ ص: مسمور.	مشخصات ظاهری
۳۹۰۰۰ ریال 7-27-600-978 :	شابک
فیپا :	وضعیت فهرست نویسی
عنوان اصلی: Cell biology assays : essential methods, 2009.	یادداشت
پاخته‌شناسی :	موضوع
Cytology :	موضوع
نبیونی، محمد، ۱۳۴۶ - مترجم	شناسه افزوده
قمبری، زهره، ۱۳۶۷ - مترجم	شناسه افزوده
کریم‌زاده باردیی، لطیفه، ۱۳۶۴ - مترجم	شناسه افزوده
گری کریتزر، گری	شناسه افزوده
Kreitzer, Geri ویراستار	شناسه افزوده
ژولن، فانی	شناسه افزوده
Jaulin, Fanny ویراستار	شناسه افزوده
اسپنل، سدریک، ویراستار	شناسه افزوده
Espenel, Cedric	شناسه افزوده
الف: ۱۳۹۶ ۲QH۵۸۱	رده بندی کنگره
۵۷۱/	رده بندی دیویی
۳۹۰۰۰	شماره کتابشناسی ملی



آدرس ناشر و بخش: تهران - میدان توحید - خیابان ستارخان - کوچه محمدی پلاک ۲۱ - تلفن: ۶۶۹۰۰۱۸۱

انتشارات	نهر :
عنوان	ابزارها و روش‌ها در زیست‌شناسی سلولی :
مولفین	گری کریتزر، فنی جولین، سدریک اسپنل :
مترجمین	دکتر محمد نبیونی، زهره قمبری، لطیفه کریم‌زاده باردیی :
شمارگان	۱۰۰ :
تاریخ انتشار	۱۳۹۶ :
نوبت چاپ	اول :
شابک:	۷-۲۷-۶۰۰-۹۷۸-۷۴۲۱ :
تعداد صفحات	۳۵۸ :
قیمت	۳۹۰۰۰ تومان :

کلیه حقوق این اثر متعلق به مترجمین کتاب به زبان فارسی می‌باشد و هرگونه استفاده از این کتاب (کپی، تکثیر، استفاده در کارگاه‌های آموزشی) بدون اجازه کتبی پیگرد قانونی دارد.

فهرست مطالب

فصل اول: سلول‌های نفوذپذیر شده اپیتلیالی در مطالعات انتقال غشایی اگزوسیتوز

۱۵	مقدمه
۱۶	مواد و ابزارها
۱۶	روش‌ها
۱۶	بخش اول: استانداردسازی SLO
۱۸	بخش دوم: آماده‌سازی سیتوزول‌ها
۲۰	بخش سوم: آزمایش‌های انتقال
۲۸	توضیحات و مشکلات

فصل دوم: مطالعه خروج راننش‌های واسطه‌های انتقال POST-GOLGI با استفاده از روش‌های بسته‌بندی *In vitro* و سلول زنده

۳۰	مقدمه
۳۲	مواد و ابزارها
۳۳	روش‌ها
۳۳	بخش اول: انتقال آدنو ویروس
۳۵	بخش دوم: آلودگی سلول‌های MDCK با ویروس‌های RNA پوشش‌دار
۳۶	بخش سوم: نشان‌دار کردن متابولیکی با مواد رادیواکتیو و تجمع پروتئین‌های مارکر در TGN
۳۸	بخش چهارم: جوانه زدن وزیکول از TGN در سلول‌های نیمه دست‌نخورده
۴۲	بخش پنجم: جوانه‌زنی وزیکول از غشاهای غنی شده با TGN
۴۳	بخش ششم: بیان cDNA با استفاده از میکرواینجکشن
۴۴	بخش هفتم: هم‌زمانی انتقال از میان مسیر پیوستری
۴۶	بخش هشتم: کینتیک انتقال پروتئین از میان مسیر ترشحی
۴۷	بخش نهم: اندازه‌گیری تحویل حامل‌های پساگلژی به غشا پلاسمایی

فصل سوم: استفاده از ماست سل‌ها در آنالیز اگزوسیتوز تنظیمی

۵۱	مقدمه
۵۲	مواد و ابزارها
۵۳	روش‌ها
۵۳	بخش اول: آماده‌سازی ماست سل‌های صفافی رت
۵۵	بخش دوم: نفوذپذیر کردن
۵۶	بخش سوم: تیمار اولیه و شروع
۵۷	بخش چهارم: سنجش ترشح
۵۹	بخش پنجم: رنگ‌آمیزی ایمنی پیش از تثبیت
۶۱	بخش ششم: رنگ‌آمیزی ایمنی پس از ترشح
۶۲	توضیحات
۶۳	مشکلات

فصل چهارم: بیوتینیلایسیون سطح سلول و سایر روش‌های تعیین قطبیت سطحی تک لایه‌های اپیتلیالی

۶۵	مقدمه
۶۶	مواد
۶۷	روش‌ها
۶۷	بخش اول: بیوتینیلایسیون سطح سلول
۶۸	بخش دوم: آزمایش هدف قرار دادن بیوتین
۷۰	بخش سوم: سنجش هدف‌گیری به وسیله نشان‌دار کردن ایمنی سطح
۷۱	بخش چهارم: سنجش بیوتین برای اندوسیتوز
۷۳	بخش پنجم: بیوتینیلایسیون انتخابی دمن رنگ‌دانه شبکه سلول‌های اپیتلیال در شرایط <i>In Situ</i>
۷۵	بخش ششم: استخراج و ایمونوپرسیپیتیشن پروتئین‌های بیوتینیل شده
۷۶	بخش هفتم: لکه‌گذاری استرئوآویدین

۷۶	بخش هشتم: کمی سازی توزیع قطبی شده با روش تصویربرداری میکروسکوپ هم کانون
۷۷	بخش نهم: تعیین قطبیت پروتئین غشا پلاسمایی پس از میکرواینجکشن درون هسته‌ای cDNA آن
۸۰	توضیحات
۸۰	مشکلات/توصیه‌ها

فصل پنجم: آزمایش‌های اندازه‌گیری انتقالات غشایی در مسیر درون سلولی

۸۳	مقدمه
۸۵	مواد و ابزارها
۸۵	روش‌ها
۸۵	بخش اول: ورود مارک های درون سلولی به درون اندوزوم‌های اولیه‌ی سلول‌های BHK
۸۷	بخش دوم: درونی سازی نشا گرهای درون سلولی به درون وزیکول‌های اندوزومی حامل و تأخیری
۸۸	بخش سوم: هموژناسیون و تفکیک سائل ۱
۹۰	بخش چهارم: اندازه‌گیری نهفتگی و صفحه تعادل برای گرادیان‌ها
۹۱	بخش پنجم: آماده‌سازی سیتوزول سلولی BHK
۹۲	بخش ششم: آماده‌سازی دانه‌های آنتی آویدین برای سنجش الحاق <i>in-vitro</i>
۹۳	بخش هفتم: سنجش الحاق وزیکول اندوسیتوزی در شرایط <i>in-vitro</i>
۹۶	توضیحات
۹۶	مشکلات

فصل ششم: آزمایشی بر پایه میکروزوم‌ها برای آنالیز انتقال از شبکه آندوپلاسمی به گلژی در سلول‌های پستانداران

۹۸	مقدمه
۹۹	مواد و ابزارها
۹۹	روش‌ها
۹۹	بخش اول: آماده‌سازی سیتوزول
۱۰۰	بخش دوم: آماده‌سازی میکروزوم‌ها

۱۰۲	بخش سوم: آماده‌سازی غشاهای گلزی پذیرنده
۱۰۳	بخش چهارم: اجرای مجدد روند انتقال از ER به گلزی
۱۰۴	بخش پنجم: سنجش تشکیل وزیکول
۱۰۵	بخش ششم: سنجش الحاق دو مرحله‌ای
۱۰۵	توضیحات

فصل هفتم: انتقال و ترجمه همزمان پروتئین‌ها به میکروزوم‌های مشتق شده از شبکه آندوپلاسمی زیر در سلول‌های پستانداران

۱۰۹	مقدمه
۱۰۹	مواد و ابزارها
۱۱۰	روش‌ها
	بخش اول: آماده‌سازی مواد مورد نیاز برای انتقال روتین از میان میکروزوم‌های زیر مشتق از ER در شرایط
۱۱۰	آزمایشگاهی بدون نیاز به حضور سلول
۱۱۵	بخش دوم: سنجش ترجمه و جابه‌جایی در شرایط آزمایشگاهی
۱۱۷	بخش سوم: آزمایش‌هایی برای ویژگی بایی محصولات جابه‌جایی
۱۲۱	توضیحات

فصل هشتم: لودینگ سرنگ: روشی برای بررسی عملکرد غشا پلاسمایی با عنوان بازتابی از لودینگ مکانیکی سلول‌های القا شده

۱۲۳	مقدمه
۱۲۶	مواد و ابزارها
۱۲۶	روش‌ها
۱۲۶	بخش اول: آماده‌سازی سلول‌های کشت بافت برای لودینگ سرنگ
۱۲۸	بخش دوم: پروتوکل لودینگ سرنگ
۱۳۰	بخش سوم: آنالیز فلوسایتومتری فلورسنت نشان‌دار دوگانه
۱۳۲	توضیحات
۱۳۳	مشکلات

فصل نهم: انتقال پروتئین به میتوکندری

۱۳۶	مقدمه
۱۳۷	مواد و ابزارها
۱۳۷	روش‌ها
۱۳۸	بخش اول: رونویسی با استفاده از پلیمراز SP6
۱۴۰	بخش دوم: ترجمه با استفاده از عصاره رتیکولوسیت
۱۴۱	بخش سوم: دناتوره کردن پروتئین پیش ساز نشان‌دار شده با مواد رادیواکتیو
۱۴۲	بخش چهارم: ورود پروتئین‌های پیش ماده دناتوره شده نشان‌دار با مواد رادیواکتیو
۱۴۴	بخش پنجم: تیمار پروتئین‌های میتوکندری‌های دست نخورده
۱۴۵	بخش ششم: مقاومت ذاتی پروتئین‌ها در استقرار یافته به پروتئازها
۱۴۶	بخش هفتم: پردازش نهایی نمونه‌ها در آمالیزه ساز، پروتئین پیش ساز استاندارد:
۱۴۶	بخش هشتم: الکتروفورز ژل SDS و پردازش ژل
۱۴۷	توضیحات
۱۴۷	مشکلات

فصل دهم: آزمایش‌های پولاروگرافیکی عملکرد میتوکندری‌ها

۱۵۰	مقدمه
۱۵۰	مواد و ابزارها
۱۵۲	روش‌ها
۱۵۲	بخش اول: آماده‌سازی محلول‌ها
۱۵۴	بخش دوم: آزمایش آنزیمی غلظت ADP
۱۵۴	بخش سوم: کالیبراسیون غلظت اکسیژن
۱۵۵	بخش چهارم: تعیین میزان مصرف اکسیژن و نسبت ADP/O در میتوکندری‌های سالم
۱۵۶	توضیحات، مشکلات، و توصیه‌ها

فصل یازدهم: آنالیز هسته‌ای ورود و خروج پروتئین در سلول‌های نفوذپذیر شده با دیژیتونین

۱۶۰	مقدمه
۱۶۱	مواد و ابزارها
۱۶۴	روش‌ها
۱۶۴	بخش اول: آماده‌سازی سیتوزول
۱۶۶	بخش دوم: آماده‌سازی سوبسترای استقراری FITC-BSA-NLS
۱۶۸	بخش سوم: آماده‌سازی سوبسترای ورودی Cy2- یا Cy5-BSA-NLS
۱۶۸	بخش چهارم: آزمایش انتقال پروتئین هسته‌ای
۱۷۰	بخش پنجم: آزمایش خروج پروتئین هسته‌ای
۱۷۳	توضیحات

فصل دوازدهم: هتروکاریون‌ها: آنالیزی برای انتقالات نوکلئوسیتوبلاسمی

۱۷۶	مقدمه
۱۷۹	مواد و ابزارها
۱۸۰	روش‌ها
۱۸۰	بخش اول: هتروکاریون‌های HeLa x SL2
۱۸۲	بخش دوم: هتروکاریون‌های HeLa x 3T3
۱۸۴	توضیحات
۱۸۶	مشکلات

فصل سیزدهم: Ca^{2+} یک پیام‌رسان ثانویه: گزارش‌های جدید از Ca^{2+} (Cameleons and Camgaroos)

۱۸۸	مقدمه
۱۸۹	مواد و ابزارها
۱۹۰	روش‌ها
۱۹۰	بخش اول: سازه‌های مهندسی کاملئون
۱۹۲	بخش دوم: بیان بالا و خالص‌سازی کاملئون‌ها

۱۹۳	بخش سوم: اسپکتروسکوپی فلورسانس کاملتون در شیشه
۱۹۵	بخش چهارم: تصویربرداری فلورسانس از کاملتون سلول زنده
۱۹۷	بخش پنجم: روش های دیگر
۱۹۷	سایر ملاحظات و مشکل ها

فصل چهاردهم: پریکم تناسبی

۲۰۳	مقدمه
۲۰۴	مواد
۲۰۸	روش ها
۲۱۱	توضیحات
۲۱۱	۱. pH و فوتوکرومیسم ابزار برای ملاحظات عملی
۲۱۳	۲. استفاده از مونوکروماتور شبکه ها با سرعت بالا
۲۱۳	۳. ناپایداریهای کلسیم در میتوکندریهای منحرک

فصل پانزدهم: مسیرهای تشریحی؛ الکتروپوریشن در جا در مطالعه انتقال سیگنال و ارتباطات اتصالات ماصله دار

۲۱۵	مقدمه
۲۱۶	مواد و ابزارها
۲۱۷	روش ها
۲۱۸	بخش اول: الکتروپوریشن پیتیدها در تعداد زیادی از سلول ها به منظور آزمایش های بیوشیمیایی در مقیاس وسیع: استفاده از اسلایدهای کاملاً رسانا
۲۲۴	بخش دوم: الکتروپوریشن برای مطالعه اثرات مورفولوژیکی یا تغییرات بیوشیمیایی در جا: استفاده از اسلایدهای نیمه رسانا
۲۲۷	بخش سوم: الکتروپوریشن روی یک اسلاید نیمه رسانا برای ارزیابی ارتباطات بین سلولی اتصالات گپ
۲۲۹	توضیحات
۲۳۵	مشکلات

فصل شانزدهم: الکتروپوریشن درجا نوکلئوتیدهای رادیواکتیو: بررسی فعالیت Ras یا نشان‌دار کردن پروتئین‌های سلولی با ^{32}P

۲۳۸	مقدمه
۲۳۹	مواد و ابزارها
۲۴۰	روش‌ها
۲۴۳	بخش اول: الکتروپوریشن $[\alpha^{32}\text{P}]\text{GTP}$ برای اندازه‌گیری فعالیت Ras
۲۴۷	بخش دوم: $[\gamma^{32}\text{P}]\text{ATP}$ برای نشان‌دار سازی پروتئین‌های سلولی
۲۴۹	توضیحات
۲۵۱	مشکلات

فصل هفدهم: ردیابی کروموزومی خاص با مجموعه آرایه‌های جایگاه‌های lac^{op} و مهار کننده GFP-laci: بررسی موفقیت و بی‌ایر لوکوس‌های کروموزومی در ساکاروماپسس سروریزه

۲۵۴	مقدمه
۲۵۵	مواد و ابزارها
۲۵۵	روش‌ها
۲۵۵	بخش اول: آماده‌سازی‌ها
۲۵۹	بخش دوم: گرفتن تصویر
۲۶۲	بخش سوم: آنالیز تصویر
۲۶۶	توضیحات
۲۶۷	مشکلات

فصل هجدهم: آزمایش پویایی میکروتوبول‌ها

۲۶۹	مقدمه
۲۶۹	مواد و ابزارها
۲۷۶	روش‌ها
۲۷۶	بخش اول: میکروتوبول‌های پایدار شده با تاکسول
۲۷۸	بخش دوم: آماده‌سازی سلول‌های شناور

۲۷۸	بخش سوم: جذب سطحی موتور
۲۷۹	بخش چهارم: تنظیمات میکروسکوپ
۲۸۰	بخش پنجم: ثبت داده
۲۸۰	بخش ششم: آنالیز کالیبراسیون داده
۲۸۱	توضیحات
۲۸۲	مشکلات

فصل نوزدهم: آزمایش‌های تشکیل دوک‌های مینوزی و عملکرد آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی

۲۸۳	مقدمه
۲۸۴	مواد و ابزارها
۲۸۵	روش‌ها
۲۸۵	بخش اول: آماده‌سازی عصاره‌های CSF و سرم و زنبوپوس
۲۸۸	بخش دوم: آماده‌سازی دانه‌های DNA
۲۸۹	بخش سوم: تشکیل دوک و استر در شرایط آزمایشگاهی
۲۹۴	بخش چهارم: مطالعات عملکردی پروتئین‌های درگیر در تجمع دوک
۲۹۷	مشکلات

فصل بیستم: سنجش‌های حرکت با استفاده از اکتین در شرایط *in-vitro*

۲۹۹	مقدمه
۳۰۰	مواد و ابزارها
۳۰۰	روش‌ها
۳۰۰	بخش اول: ساختار فلوسل‌ها
۳۰۱	بخش دوم: آماده‌سازی اکتین نشان‌دار شده با روییدیوم-خالوئیدین
۳۰۱	بخش سوم: آماده‌سازی نمونه برای سنجش تحرک
۳۰۳	بخش چهارم: ثبت و کمی‌سازی داده‌های مراحل و تجهیزات
۳۰۵	بخش پنجم: ارائه داده

فصل بیست و یکم: استفاده از عصاره سیتوزولی مغز برای مطالعه حرکت وابسته به اکتین در لیستریا مونوسیژنز

۳۰۹	مقدمه
۳۱۰	مواد و ابزارها
۳۱۱	روش‌ها
۳۱۱	بخش اول: جداسازی مغزهای موش
۳۱۲	بخش دوم: آماده‌سازی عصاره سیتوزولی
۳۱۳	بخش سوم: آماده‌سازی باکتری
۳۱۳	بخش چهارم: سنجش حرکت لیستریا
۳۱۶	توضیحات و مشکلات

فصل بیست و دوم: تشکیل پدیده‌های وابسته به *E. Coli* پاتوژنی: مدلی برای مطالعه انتقال سیگنال به اکتین اسکلت سلولی

۳۱۸	مقدمه
۳۲۱	مواد و ابزارها
۳۲۱	رده سلولی، سوش‌های پاتوژن باکتریایی و معرف‌های محیط‌های کشت
۳۲۲	ساختارها و عوامل لازم برای بیان پروتئین میزبان تگ شده با GFP
۳۲۲	ظروف پلاستیکی و عوامل موردنیاز دیگر
۳۲۳	ابزارها و تجهیزات آزمایشگاهی
۳۲۴	روش‌ها
۳۲۵	بخش اول: پروتوکل پایه: آلوده کردن تک لایه‌های سلولی با EPEC یا EHEC
۳۲۷	بخش دوم: پروتوکل جایگزین: آلودگی‌های موقت تک لایه‌های سلولی ترانسفکت شده با EPEC و EHEC
۳۲۸	بخش سوم: روش میکروسکوپی ایمونوفلورسانس
۳۲۹	توضیحات کلی درباره آنالیز ایمونوفلورسانس سلول‌های آلوده با EPEC و EHEC

فصل بیست و سوم: لیستریا مونوسیٹوزنز: روش‌هایی برای آنالیز عفونت باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی

۳۳۲	مقدمه
۳۳۳	مواد و ابزارها
۳۳۴	روش‌ها
۳۳۴	بخش اول: اندازه‌گیری تهاجم باکتریایی
۳۳۷	بخش دوم: اندازه‌گیری تهاجم باکتریایی
۳۴۲	بخش سوم: مشاهده برهمکنش لیستریا با گیرنده‌های E-کادهرین و C-MET خود
۳۴۴	بخش چهارم: مشاهده آمدگی‌ها و دم‌های دنباله‌دار اکتین ناشی از لیستریا

فصل بیست و چهارم: اندازه‌گیری نیروهای انقباضی سلولی به کمک قالب الاستومری

۳۴۷	مقدمه
۳۴۸	مواد و آزمایش
۳۴۹	روش‌ها
۳۴۹	بخش اول: لیتوگرافی
۳۵۰	بخش دوم: بسترهای الاستومر
۳۵۱	بخش سوم: سنجش میکروسکوپی
۳۵۱	بخش چهارم: کالیبراسیون ویژگی‌های الاستیکی الاستومر
۳۵۳	بخش پنجم: آنالیز تصویر
۳۵۵	بخش ششم: محاسبه نیروها
۳۵۶	مشکلات