

آزمایشگاه کشت سلول

(تجهیزات، مواد و تکنیک‌های پایه)

نویسندگان:

سونا زارع

دانشجوی دکترای تخصصی علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان
مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
شرکت زیست ساخت بنیان پارس

فائزه جهانگیری

مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

ایوب رستم زاده

عضو هیئت علمی گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

با همکاری:

دکتر حمیدرضا فتاح

مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر بهیا سعیدی

شرکت دانش بنیان تولیدی پژوهشی سیناسل

دکتر ناهید یکخواه

عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

زیر نظر:

دکتر محمدعلی نبیل فر

استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

ریاست مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی

مشاور امور توسعه فناوری‌های سلامت و ریاست کارگروه پوست و ترعیم معاون علمی و فناوری ریاست جمهوری

ریاست انجمن متخصصین پوست ایران

دکتر عبدالرضا محمدنیا

مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و

بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

گروه بیوتکنولوژی و پزشکی مولکولی دانشکده فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دکتر رحیم احمدی

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان

دکتر نفیسه بهرامی

معاون پژوهشی مرکز تحقیقات جراح‌های فک و صورت دانشگاه علوم پزشکی تهران

عضو هیئت علمی گروه جراحی فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سرشناسه	زارع، سونا، ۱۳۶۳ -
عنوان و نام پدیدآور	آزمایشگاه کشت سلول (تجهیزات، مواد و تکنیک‌های پایه) / نویسندگان سونا زارع، فائزه جهانگیری، ایوب رستم‌زاده؛ با همکاری حمیدرضا فتاح، پوریا سعیدی، ناهید نیکخواه؛ زیر نظر محمدعلی نیلفروش‌زاده... او دیگران.
مشخصات نشر	تهران: انتشارات عمارت، ۱۳۹۶.
مشخصات ظاهری	۲۲۱ص: مصور، جدول.
شابک	978-600-8128-16-8
وضعیت فهرست نویسی	فیا
یادداشت	زیر نظر محمدعلی نیلفروش‌زاده، عبدالرضا محمدنیا، رحیم احمدی، نغمه بهرامی.
موضوع	یاخته‌ها -- کشت
موضوع	Cell culture
موضوع	یاخته‌ها -- کشت -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Cell culture-- Laboratory manuals
شناسه افزوده	جهانگیری، فائزه، ۱۳۶۶ -
شناسه افزوده	رستم‌زاده، ایوب، ۱۳۶۸ -
شناسه افزوده	فتاح، حمیدرضا، ۱۳۶۶ -
شناسه افزوده	سعیدی، پوریا، ۱۳۶۶ -
شناسه افزوده	نیکخواه، ناهید، ۱۳۶۲ -
شناسه افزوده	نیلفروش‌زاده، محمدعلی، ۱۳۴۲ -
رده بندی کنگره	QH585/2/21 ۱۳۹۶
رده بندی دیویی	۵۷۱.۳۱
شماره کتابشناسی ملی	۱۷۳۵۲۳

آزمایشگاه کشت سلول (تجهیزات، مواد، تکنیک‌های پایه)

تألیف:	سونا زارع - فائزه جهانگیری - ایوب رستم‌زاده
با همکاری:	دکتر حمیدرضا فتاح - پوریا سعیدی - ناهید نیکخواه
زیر نظر:	دکتر محمدعلی نیل فروش‌زاده - دکتر عبدالرضا محمدنیا - دکتر رحیم احمدی - دکتر نغمه بهرامی
ناشر:	انتشارات عمارت
نوبت چاپ:	اول / ۱۳۹۶
تیراژ:	۱۱۰۰ نسخه
حروفچینی:	موسسه مهراد
لیتوگرافی:	باختر
چاپخانه:	مهر
صفحات:	مهر
شابک:	۹۷۸-۶۰۰-۸۱۲۸-۱۶-۸
قیمت:	۱۸۰۰۰ تومان

کلیه حقوق این اثر برای انتشارات عمارت محفوظ است.

انتشارات عمارت: خیابان انقلاب- ابتدای خیابان فخررازی

پلاک ۸۵- واحد ۷- تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۱۱۷۳۰-۶۶۴۸۸۵۱۶

مقدمه

یکی از ویژگی‌های اغلب موجودات چند سلولی بودن یا به عبارت دیگر تشکیل شدن آن‌ها از چندین نوع سلول مختلف است. در چنین حالتی سلول‌ها اغلب جنبه تخصصی به خود می‌گیرند. هر چند قادر به انجام تمامی فعالیت‌های مورد نیاز موجود زنده به تنهایی نیستند. نتیجه این تخصصی شدن سلول‌ها این است که موجودات از تعدادی سلول مختلف با اندازه، شکل، ساختار و عملکرد ویژه خود تشکیل می‌شوند. بسیاری از سلول‌های موجودات مختلف تحت شرایط خاص قادرند در خارج از اندام و یا بافت اصلی خود به رشد و تکثیر خود ادامه دهند. سلول‌های ایزوله شده، بافت‌ها یا اندام‌ها را می‌توان با درجه حرارت‌ها تعریف شده که در انکوباتور ایجاد می‌شود نگهداری و تکثیر داد، در عین حال که با یک محیط حاوی مواد مغذی و فاکتورهای رشد سلولی تغذیه می‌شوند. کشت در شرایط آزمایشگاهی اندام‌ها، بافت‌ها و سلول‌ها مجموعه‌ای تحت عنوان کشت بافت نامیده می‌شود که در بسیاری از شاخه‌های علمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پیشرفت تکنیک‌های کشت بافت مدیون دو شاخه اصلی از تحقیقات پزشکی یعنی مطالعات سلطانی و ویروس‌شناسی است.

کشت سلول یا بافت یک تکنیک جدید نیست. در متون علمی منابعی وجود دارد که تاریخ آن به سال ۱۸۸۵ بر می‌گردد. یک چنین تناسلی، توانست چنین جوجه را به مدت چند روز در ظرف محتوی محلول بافر نمکی گرم نگهداری نماید. این اولین مورد ثبت شده از موفقیت در رشد و تکثیر یک بافت در خارج از بدن بود. چون در آزمایشات اولیه قسمت‌هایی از بافت مورد مطالعه قرار می‌گرفتند، عنوان کشت بافت به آن اطلاق شد. معنای اصطلاح کشت بافت زمانی که سلول‌ها برای مدتی بیش از ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند مورد استفاده قرار می‌گیرد. در آغاز قرن بیستم دانشمندان توانستند سلول‌های بافت پیوندی قلبی چنین جوجه را به مدت طولانی کشت دهند. در سال ۱۹۵۲ از سرطان رحم، اولین لاین سلول انسانی، نام HeLa را بدست آوردند که انقلابی را در زمینه کشت سلول به وجود آورد. در سال‌های بعد دانشمندان دیگر قادر شدند محیط‌های کشت مناسب، فاکتورهای اتصال و لایه تغذیه کننده برای سلول را بسازند. کشت و به این ترتیب فرمولاسیون‌های مواد مغذی جایگزین فراورده‌های بیولوژیک مثل سرم و لئف گردید. در این اواخر ترکیبات محیط کشت بدون سرم برای سلول عصبی را نیز مشخص نمودند و بعدها تحقیقات زیادی با استفاده از تکنیک‌های کشت سلولی گسترش یافت. از همین جا است که اهمیت وجود بانک‌های سلولی و آزمایشگاه‌های کشت سلولی آشکار می‌گردد تا بتوان بسته به نوع پژوهش، نیازهای خود را در امر پژوهش برطرف ساخت.

پیش گفتار

ورود دانشجویان و محققان جدید به آزمایشگاه کشت سلول و بافت، چه برای انجام پایان نامه و چه برای انجام پروژه تحقیقاتی همواره نیازمند آموزش بوده است که این آموزش نیازمند صرف وقت و هزینه زیادی است. در کتاب آزمایشگاه کشت سلول جهت تحقیقات سلول درمانی سعی کردم مهارت‌های لازم جهت این کار در آزمایشگاه را ارائه دهم.

این کتاب ۲۴ فصل تشکیل شده است. در فصل ۱ تا ۴ مفهوم کشت سلول و اهداف آن، تاریخچه، انواع سلول‌ها، مراحل رشد سلول در طی کشت ارائه می‌گردد. در فصل ۵ تا ۹ معرفی آزمایشگاه کشت سلول، تجهیزات مورد نیاز، محیط‌های کشت سلول و مواد ظروف و وسایل مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول ارائه می‌گردد. فصل ۱۰ تا ۱۲ اصول کار در آزمایشگاه کشت سلول، استریلیزاسیون تجهیزات و وسایل در آزمایشگاه کشت سلول و روش تهیه و آماده مواد ارائه می‌گردد. در فصل ۱۳ تا ۱۶ مفهوم چسبندگی سلول‌ها به ستر و حرکت سلولی، تکثیر و تمایز سلولی، کشت اولیه، لاین سلولی و اصطلاحات مورد استفاده در کشت سلول و مفهوم ارائه می‌گردد.

فصل ۱۷ تا ۲۰ تکنیک‌های پایه کشت و نگهداری رده‌های سلولی، اصول و مبانی کشت اولیه، کنترل کیفی سلول‌ها و ترانسفکشن سلول‌ها ارائه می‌گردد. در فصل ۲۱ تا ۲۴ آشنایی با روش‌های مختلف شناسایی، پیگیری و درمان آلودگی‌های مختلف در کشت سلولی، استریلیزاسیون در آزمایشگاه کشت سلول، نگهداری و ایمنی تجهیزات آزمایشگاه کشت سلول و ایمنی در آزمایشگاه کشت سلول و نگهداری آن ارائه می‌گردد.

سونا زارع

ایبستان ۹۶

فهرست

فصل اول - مفهوم کشت سلول و اهداف آن.....	۹
فصل دوم - تاریخچه کشت سلول.....	۱۵
فصل سوم - انواع سلول‌ها.....	۱۹
فصل چهارم - مراحل رشد سلول در طی کشت.....	۲۹
فصل پنجم - معرفی آزمایشگاه کشت سلول.....	۳۳
فصل ششم - تجهیزات مورد نیاز آزمایشگاه کشت سلول.....	۳۹
فصل هفتم - محیط‌های کشت مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول.....	۶۷
فصل هشتم - مواد مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول.....	۷۹
فصل نهم - ظروف و وسایل مورد استفاده در آزمایشگاه کشت سلول.....	۹۵
فصل دهم - سول‌کار در آزمایشگاه کشت سلول.....	۱۱۱
فصل یازدهم - استریلیزاسیون تجهیزات و وسایل در آزمایشگاه کشت سلول.....	۱۲۱
فصل دوازدهم - تهیه رسانه کشت و مواد، محیط‌های کشت و محلول‌ها و آماده‌سازی ظروف مورد نیاز جهت کشت سلول.....	۱۲۹
فصل سیزدهم - مفهوم چسبندگی سلول‌ها به بست و تحرک سلولی.....	۱۳۵
فصل چهاردهم - مفهوم تکثیر و تمایز سلول.....	۱۴۱
فصل پانزدهم - اصطلاحات مورد استفاده در کشت سلول.....	۱۴۵
فصل شانزدهم - مفهوم کشت اولیه و لاین سلولی.....	۱۵۱
فصل هفدهم - تکنیک‌های پایه کشت و نگهداری رده‌های سلولی.....	۱۵۷
فصل هجدهم - آشنایی با اصول و مبانی کشت اولیه.....	۱۶۳
فصل نوزدهم - کنترل کیفی سلول‌ها.....	۱۶۹
فصل بیستم - ترانسفکشن سلول‌ها.....	۱۷۳
فصل بیست و یکم - آشنایی با روش‌های مختلف شناسایی، پیشگیری و درمان آلودگی‌های مختلف در کشت سلولی.....	۱۷۹
فصل بیست و دوم - استریلیزاسیون در آزمایشگاه کشت سلول.....	۱۸۹
فصل بیست و سوم - نگهداری و کار با تجهیزات آزمایشگاه کشت سلول.....	۲۰۵
فصل بیست و چهارم - مسائل ایمنی مربوط به مواد سمی و زباله عفونی در آزمایشگاه کشت سلول.....	۲۱۷
منابع.....	۲۲۱