

## فهرست مطالب

پیشگفتار.....	ج
<b>فصل اول: معرفی آزمایش های ارزیابی قابلیت حیات سلولی یا ارزیابی سمیت سلولی.....</b>	<b>۱</b>
۱-۱- اهمیت آزمایش های ارزیابی قابلیت حیات سلولی.....	۲
۲-۱- تاریخچه استفاده از روش های ارزیابی قابلیت حیات سلولی.....	۳
۳-۱- طبقه بندی روش های ارزیابی قابلیت حیات سلولی.....	۴
۴-۱- معرفی روش های متداول بررسی قابلیت حیات سلول.....	۶
۱-۴-۱- آزمایش ATP.....	۷
۲-۴-۱- روش قرمز خنثی.....	۹
۳-۴-۱- روش الایزا.....	۹
۴-۴-۱- روش کلسئین.....	۱۰
۵-۴-۱- روش کلونوزنیک.....	۱۲
۶-۴-۱- آزمایش اتیدیوم هومویدیمر.....	۱۴
۷-۴-۱- روش اوانز آبی.....	۱۵
۸-۴-۱- روش هیدرولیز فلوروسین دی استات/رنگ آمیزی پروپیدیوم یویدید (FDA/رنگ آمیزی PI).....	۱۷
۹-۴-۱- روش سایتومتری جریان.....	۱۸
۱۰-۴-۱- روش های مبتنی بر فورمازان (MTT/XTT).....	۲۱
۱۱-۴-۱- روش پروتئین فلوروسنت سبز.....	۲۲
۱۲-۴-۱- آزمایش لاکتات دهیدروژناز.....	۲۴
۱۳-۴-۱- آزمایش متیل بنفش.....	۲۵
۱۴-۴-۱- آزمایش پروپیدیوم یویدید.....	۲۶
۱۵-۴-۱- آزمایش رسازورین.....	۲۸
۱۶-۴-۱- آزمایش تریپان آبی.....	۲۹
۱۷-۴-۱- آزمایش تانل (TUNEL).....	۳۱
تابع و مراجع فصل اول.....	۳۳

**فصل دوم: مقایسه روش MTT با برخی روش های ارزیابی قابلیت حیات سلولی ..... ۳۷**

- ۱-۲- خصوصیات MTT و سایر نمک های تترازولیوم ..... ۳۸
- ۲-۲- مقایسه MTT با سایر نمک های تترازولیوم ..... ۴۰
- ۳-۲- مقایسه تست MTT و تریپان آبی ..... ۴۰
- ۴-۲- مقایسه تست MTT و ATP ..... ۴۰
- ۵-۲- نتیجه گیری ..... ۴۱
- منابع و مراجع فصل دوم ..... ۴۲

**فصل سوم: کار در آزمایشگاه کشت سلولی ..... ۴۳**

- ۱-۳- ویژگی های آزمایشگاه کشت سلولی ..... ۴۴
- ۲-۳- دستورالعمل کار در اتاق کشت سلولی ..... ۴۵
- ۳-۳- دستگاه ها و تجهیزات موجود در آزمایشگاه ..... ۴۶
- ۱-۳-۳- هود لمینار ..... ۴۶
- ۲-۳-۳- انکوباتور ..... ۴۷
- ۳-۳-۳- سانتریفیوژ ..... ۴۸
- ۴-۳-۳- میکروسکوپ ..... ۴۹
- ۵-۳-۳- دستگاه میکروپلیت ریدر ..... ۵۰
- ۶-۳-۳- دستگاه اتوکلاو ..... ۵۰
- ۷-۳-۳- دستگاه شیکر روتاتور الایزا ..... ۵۱
- ۴-۳- وسایل مورد نیاز جهت انجام کشت سلولی ..... ۵۲
- ۵-۳- تعاریف و اصطلاحات کشت سلول ..... ۵۴
- ۱-۵-۳- محیط های کشت ..... ۵۴
- ۲-۵-۳- محیط کشت کامل ..... ۵۵
- ۳-۵-۳- محیط کشت پایه ..... ۵۵
- ۴-۵-۳- سیستم بافری ..... ۵۶
- ۵-۵-۳- سرم ..... ۵۸
- ۶-۵-۳- آنتی بیوتیک ها ..... ۵۹
- ۷-۵-۳- محلول تریپسین ..... ۵۹
- ۸-۵-۳- محلول تریپان بلو ..... ۶۰
- ۹-۵-۳- کنترل مثبت در تست MTT ..... ۶۱
- ۱۰-۵-۳- MTT (۳-۵و۴-دی متیل-۲-تيازولیل)-۲-۵و۲-دیفنیل-۲H-تترازولیوم بروماید) ..... ۶۱
- ۱۱-۵-۳- بافر سورنسن - گلايسين ..... ۶۲

- ۶۳-۶-۳- نحوه ساخت محلول های مورد نیاز برای انجام کشت سلولی ..... ۶۲
- ۳-۶-۱- تهیه محیط کشت RPMI 1640 کامل ..... ۶۲
- ۳-۶-۲- محلول PBS یا همان محلول بافر فسفات ..... ۶۳
- ۳-۶-۳- محلول آنتی بیوتیک پنی سیلین- استرپتومایسین ..... ۶۴
- ۳-۶-۴- محلول تریپسین ..... ۶۴
- ۳-۶-۵- محلول تریپان بلو ۴٪ ..... ۶۵
- ۳-۶-۶- محلول یک میلی مولار (1 mM) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (کنترل مثبت در تست MTT) ..... ۶۵
- ۳-۶-۷- محلول MTT ..... ۶۵
- ۳-۶-۸- بافر سورنسن- گلايسين ..... ۶۶
- ۳-۶-۹- الکل ۷۰٪ ..... ۶۶
- ۳-۷-۷- محل نگهداری مواد مورد استفاده در کشت سلولی ..... ۶۷
- ۳-۷-۱- موادی که در تانک نیتروژن نگهداری می شوند ..... ۶۷
- ۳-۷-۲- موادی که در فریزر ۸۰- نگهداری می شوند ..... ۶۷
- ۳-۷-۳- موادی که در فریزر ۲۰- نگهداری می شوند ..... ۶۸
- ۳-۷-۴- موادی که در یخچال (۴-۸°C) نگهداری می شوند ..... ۶۸
- ۳-۷-۵- موادی که در دمای اتاق نگه داری می شوند ..... ۶۸
- ۳-۸-۸- روش های ضد عفونی (گندزدایی) (۵) ..... ۶۹
- ۳-۸-۱- حرارت خشک (فور) ..... ۶۹
- ۳-۸-۲- حرارت مرطوب (اتوکلاو) ..... ۶۹
- ۳-۸-۱-۲- شرایط مناسب اتوکلاو برای اغلب مقاصد ..... ۶۹
- ۳-۸-۲-۲- بارکردن اتوکلاو ..... ۷۰
- ۳-۸-۲-۳- احتیاطات لازم در هنگام استفاده از اتوکلاوها ..... ۷۰
- ۳-۸-۳- مواد شیمیایی استریل کننده ..... ۷۱
- ۳-۸-۱-۳- گلو تار آلدهید ..... ۷۱
- ۳-۸-۲-۳- هیدروژن پر اکساید (آب اکسیژنه) ..... ۷۱
- ۳-۸-۳-۳- هیپوکلریت سدیم (آب ژاول) در غلظت های بالا ..... ۷۲
- ۳-۸-۳-۴- پراستیک اسید ..... ۷۲
- ۳-۸-۴- شعله ..... ۷۲
- ۳-۸-۵- جوشاندن ..... ۷۳
- ۳-۸-۶- سوزاندن ..... ۷۳
- ۳-۹-۹- رعایت نکات مهم در اتاق کشت ..... ۷۴
- ۳-۹-۱- نکات قبل از شروع کار در اتاق کشت سلولی ..... ۷۴
- ۳-۹-۲- نکات مربوط به استریلیزاسیون اتاق کشت ..... ۷۴

۷۵	۳-۹-۳- پوشش مناسب جهت انجام کشت سلولی
۷۶	۳-۹-۴- تقسیم کردن محلول‌ها و مواد در حجم‌های کوچک‌تر (الیکوت کردن)
۷۶	منابع و مراجع فصل سوم
<b>۷۷</b>	<b>فصل چهارم: مراحل انجام کار کشت سلولی</b>
۷۸	۴-۱- ذوب کردن سلول‌های منجمد یا احیای مجدد سلول‌ها
۷۹	۴-۲- جدا نمودن سلول‌های چسبیده از سطح فلاسک و نسل‌گردانی آنها (پاساژ سلولی)
۸۰	۴-۳- شمارش سلولی به وسیله لام هموسایتومتر و میکروسکوپ
۸۱	۴-۴- انجماد و ذخیره نمودن سلول‌ها
<b>۸۳</b>	<b>فصل پنجم: مراحل انجام تست MTT</b>
۸۵	۵-۱- کلیات روش MTT
۸۶	۵-۲- احیای MTT
۸۷	۵-۳- مکانیسم عمل تست MTT
۸۹	۵-۴- الزامات انجام تست MTT
۸۹	۵-۴-۱- رده‌های سلولی
۸۹	۵-۴-۲- طراحی مراحل اولیه تست MTT
۹۰	۵-۴-۳- آماده سازی داروهای استاندارد، کنترل‌ها، ترکیبات مورد مطالعه
۹۱	۵-۴-۴- ارزیابی سمیت سلولی حلال دی متیل سولفواکساید (DMSO) توسط تست MTT
۹۲	۵-۵- مراحل انجام ارزیابی سمیت سلولی به روش MTT
۹۲	۵-۵-۱- کاشت سلول‌ها در پلیت‌های ۹۶ خانه
۹۳	۵-۵-۲- بارگذاری غلظت‌های دارویی روی سلول‌های کاشت شده در پلیت ۹۶ خانه (Treatment)
۹۵	۵-۵-۳- تهیه محلول MTT و مواجهه‌ی سلول‌ها با آن
۹۶	۵-۵-۴- اتمام مواجهه‌ی سلول‌ها با محلول MTT و قرائت میزان جذب
۹۷	۵-۵-۵- آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش MTT
۱۰۷	منابع و مراجع فصل پنجم
<b>۱۰۸</b>	<b>فصل ششم: نکات انجام تست MTT</b>
۱۰۹	۶-۱- نکات مربوط به اتاق کشت
۱۰۹	۶-۲- نکات مربوط به کشت سلولی
۱۱۰	۶-۳- نکات مربوط به تست MTT
<b>۱۱۲</b>	<b>فصل هفتم: مشکلات احتمالی در حین انجام تست MTT و راه حل‌های پیشنهادی جهت رفع آن مشکلات ...</b>
<b>۱۱۹</b>	<b>نمایه</b>