

اجزای محیط کشت

**TABLE 9.6.** Selecting a Suitable Medium

Cells or cell line	Medium	Serum
3T3 cells	MEM, DMEM	CS
Chick embryo fibroblasts	Eagle's MEM	CS
Chinese hamster ovary (CHO)	Eagle's MEM, Ham's F12	CS
Chondrocytes	Ham's F12	FB
Continuous cell lines	Eagle's MEM, DMEM	CS
Endothelium	DMEM, M199, MEM	CS
Fibroblasts	Eagle's MEM	CS
Glial cells	MEM, DMEM/F12	FB
Glioma	MEM, DMEM/F12	FB
HeLa cells	Eagle's MEM	CS
Hematopoietic cells	RPMI 1640, Fischer's, $\alpha$ MEM	FB
Human diploid fibroblasts	Eagle's MEM	CS
Human leukemia	RPMI 1640	FB
Human tumors	L15, RPMI 1640, DMEM/F12	FB
Keratinocytes	$\alpha$ MEM	FB
L cells (L929, LS)	Eagle's MEM	CS
Lymphoblastoid cell lines (human)	RPMI 1640	FB
Mammary epithelium	RPMI 1640, DMEM/F12	FB
MDCK dog kidney epithelium	DMEM, DMEM/F12	FB
Melanocytes	M199	FB
Melanoma	MEM, DMEM/F12	FB
Mouse embryo fibroblasts	Eagle's MEM	CS
Mouse leukemia	Fisher's, RPMI 1640	FB, HoS
Mouse erythroleukemia	DMEM/F12, RPMI 1640	FB, HoS
Mouse myeloma	DMEM, RPMI 1640	FB
Mouse neuroblastoma	DMEM, DMEM/F12	FB
Neurons	DMEM	FB
NRK rat kidney fibroblasts	MEM, DMEM	CS
Rat minimal-deviation hepatoma (HTC, MDH)	Swim's S77, DMEM/F12	FB
Skeletal muscle	DMEM, F12	FB, HoS
Syrian hamster fibroblasts (e.g., BHK 21)	MEM, GMEM, DMEM	CS

سلول ها در یک محیط مایع شیمیایی مناسب کشت می شوند.

فرمولاسیون محیط های استاندارد زیادی که برای رشد انواع سلول ها توسعه پیدا کرده اند، وجود دارد.

برای تعیین این که کدام محیط برای لاین سلولی ویژه مناسب است، توصیه می شود:  
۱- به نوشته های قبلی مراجعه شود.

۲- مطالعه رشد با استفاده از ۳ یا ۴ فرمولاسیون مختلف

بعضی از محیط ها مانند DMEM غلظت بالایی از آمینواسیدها و ویتامین ها را دارند و برای رشد طولانی سلول ها مناسب هستند.

محیط هایی مانند Ham's F-12 حاوی محدوده وسیعی از ترکیبات مختلف هستند که برای برآورده کردن نیاز بعضی از لاین های سلولی مورد نیاز است.

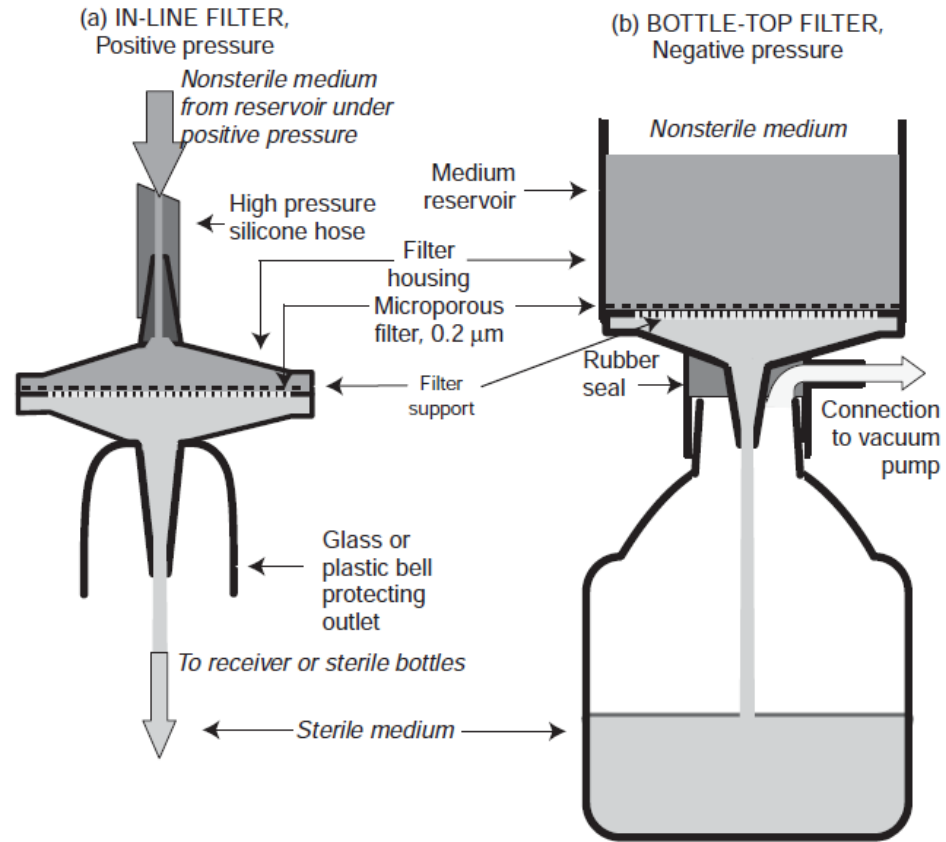
گاهی می توان از ترکیبی از فرمولاسیون های استاندارد برای رشد سلول استفاده کرد. مثلا یک نسبت حجمی یک به یک DMEM و Ham's F12 به عنوان یک محیط بازال خوب برای فرمولاسیون های بدون سرم مناسب است.

## انواع شکل های محیط کشت

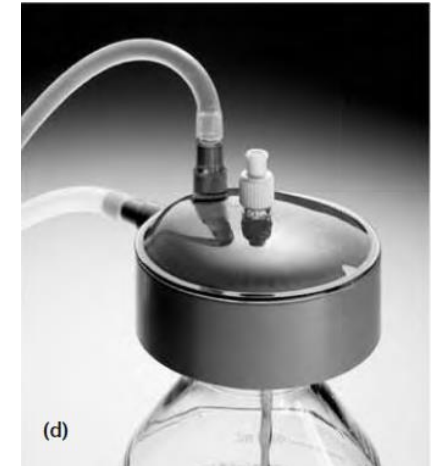
۱- به صورت تجاری و آماده

۲- تغلیظ شده به حالت مایع

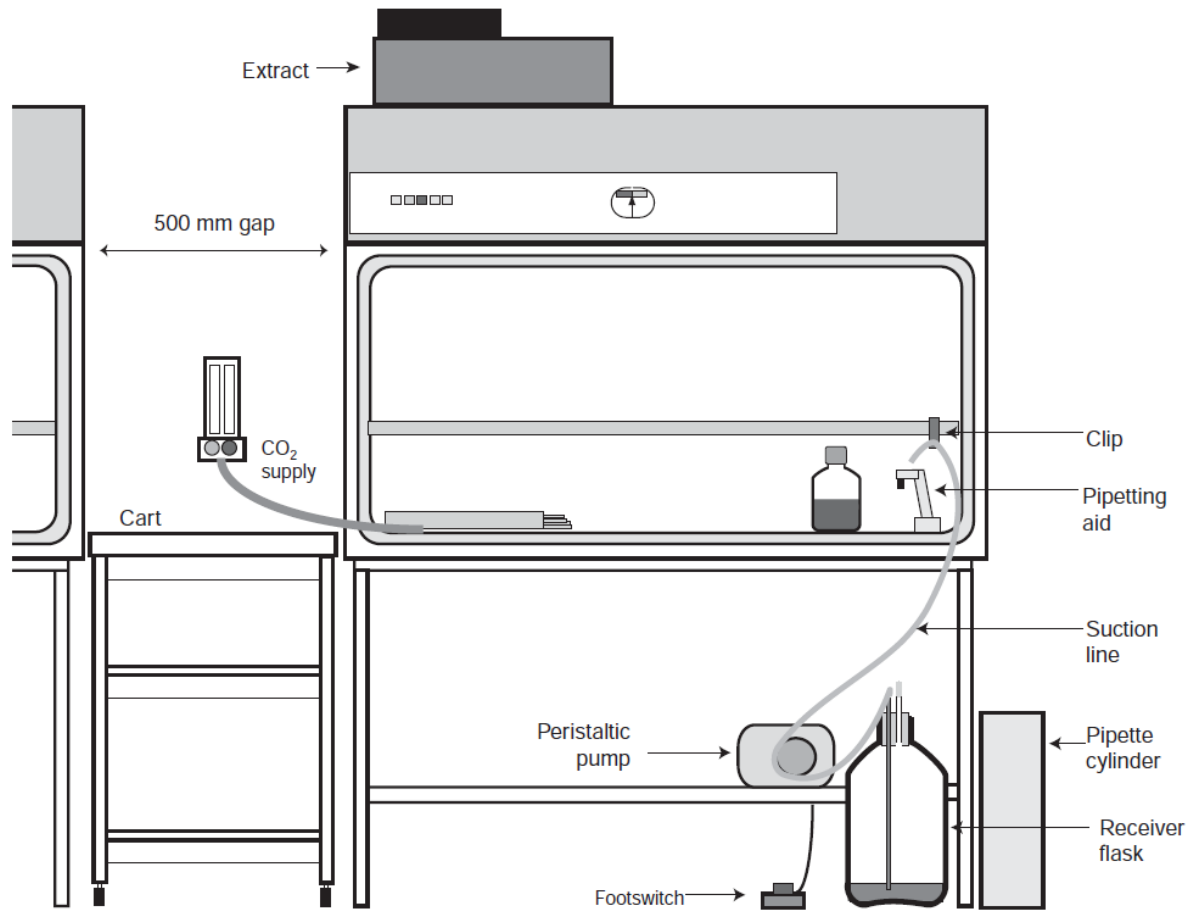
۳- تغلیظ شده به حالت پودر



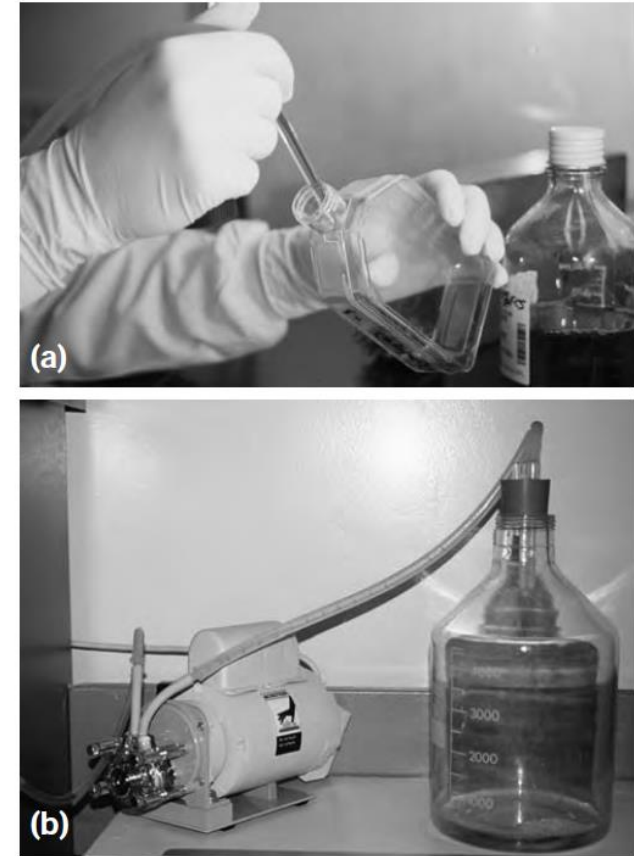
**Fig. 11.11. Sterile Filtration.** (a) In-line filter. Nonsterile medium from pump or pressure vessel. (b) Bottle-top filter or filter flask (designs are similar). Medium added to upper chamber and collected in lower. Lower chamber can be used for storage.



# Aspiration Pump



*Fig. 5.1. Laminar-Flow Hood.* A peristaltic pump, connected to a receiver vessel, is shown on the right side below the hood, with a foot switch to activate the pump. The suction line from the pump leads to the work area, and a delivery tube from a gas mixer provides a supply of CO<sub>2</sub> mixed in air.



*Fig. 5.2. Withdrawing Medium by Suction.* (a) Pipette connected via tube to a peristaltic pump being used to remove medium from a flask. (b) Peristaltic pump on the suction line from the hood leading to a waste receiver.

## اجزای محیط کشت

**کربوهیدرات ها:** **گلوکز** معمولاً با غلظت  $10 - 25 \text{ M}$  در بیشتر فرمولاسیون ها برای فراهم کردن انرژی و همچنین به عنوان پیش ساز بیوسنتز استفاده می شود. اسید لاکتیک فرآورده عمده گلیکولیز است و میزان رشد سلول را کاهش می دهد. کربوهیدرات های انتخابی دیگر **فروکتوز**، **گالاکتوز** یا **مالتوز** هستند که باعث کاهش تولید اسید لاکتیک و با ثبات شدن pH کشت می شوند.

**اسیدهای آمینه:** با غلظت  $0.1 - 0.2 \text{ mM}$  به عنوان پیش ساز برای سنتز پروتئین به محیط کشت اضافه می شود.

**گلوتامین** معمولاً در غلظت های بالاتری ( $1 - 5 \text{ mM}$ ) اضافه می شود. گلوتامین یک پیش ساز مهم سنتز پورین ها، پیریمیدین ها، قندهای آمینه و آسپاراژین است. واسطه چرخه اسید تری کربوکسیلیک است. مسیر متابولیک برای مصرف گلوتامین، گلوتامینولیز گفته می شود. از دامیناسیون متابولیک گلوتامین، آمونیاک تولید می شود که در محیط کشت تا  $2 - 4 \text{ mM}$  تجمع پیدا می کند و می تواند اثر مهارى روی رشد سلول داشته باشد. گلوتامین به طور خودبخودی در محیط کشت با سرعت  $0.1 \text{ mM}$  در روز در دمای  $37$  درجه تجزیه می شود. شدت مهار رشدی آمونیاک در pH بالاتر بیشتر است و همچنین به لاین سلولی وابسته است.

- جایگزین کردن یک منبع دیگر کربن مانند گلوتامات به جای گلوتامین
- اضافه کردن مداوم غلظت های کم گلوتامین به محیط کشت
- استفاده از دی پپتیدهای حاوی گلوتامین مانند گلوتاماکس

اسیدهای آمینه دیگر: آلانین، سرین، اسید آسپارتیک و اسیدهای آمینه حاوی گوگرد مانند متیونین و سیستئین در محیط کشت ضروری هستند.

## اجزای محیط کشت

نمک ها: به محیط اضافه می شوند تا محلول ایزوتونیک باشد و با محتوای داخل سلولی اختلافی در اسمولاریته نداشته باشد.

بیکربنات: فعالیت به عنوان یک سیستم بافری در عمل متقابل با اتمسفر گازی ۵ تا ۱۰ درصد تامین شده به وسیله انکوباتور

ویتامین ها و هورمون ها: در فورمولاسیون های محیط در مقادیر میکرومولار وجود دارند و به عنوان کوفاکتورهای متابولیکی استفاده می شوند.

قرمز فنول: به عنوان شاخص pH به محیط اضافه می شود.

## مکمل های محیط

سرم: معمولاً با غلظت ۱۰ درصد برای پیشبرد رشد سلول به محیط کشت اضافه می شود.  
سرم ماده رویی و شناور خون لخته شده است که محتوای مواد نامعلوم برای تکثیر سلول است.  
سرم گاوی یا اسبی متداول ترین سرم ها هستند. سرم جنینی گوساله

# مکمل های محیط

سرم: معمولاً با غلظت ۱۰ درصد برای پیشبرد رشد سلول به محیط کشت اضافه می شود.  
سرم ماده رویی و شناور خون لخته شده است که محتوای مواد نامعلوم برای تکثیر سلول است.  
سرم گاوی یا اسبی متداول ترین سرم ها هستند:

**donor horse serum , donor calf serum ,newborn calf serum ,Fetal Bovine Serum (FBS) ,Fetal Calf Serum (FCS)**

سرم اسب از سرم گوساله پایدارتر است زیرا آنزیم پلی آمین اکسیداز کمتری دارد و پلی آمین ها را کمتر متابولیزه می کند.

سرم حاوی فاکتورهای رشد است که تکثیر سلول ها را به جلو می اندازد و فاکتورهای اتصال و فعالیت آنتی تریپسینی برای اتصال سلول فراهم می کند.

سرم منبع مواد معدنی، لیپیدها و هورمون ها است که تعداد زیادی از آن ها به پروتئین متصل می شوند.

گاهی از سرم انسان برای بعضی از لاین های سلولی استفاده می شود.

تیمارهای ویژه سرم:

- اشعه گاما
- غیرفعال کردن گرمایی
- حذف گاماگلوبولینها
- دیالیز

# مکمل های محیط

معایب سرم:

- ناشناخته بودن اجزا
- گران بودن
- اختلال ناشی از پروتئین های سرم
- مستعد آلودگی با عوامل عفونت زا مانند ویروس ها و پریون ها

مکمل های محیط بدون سرم: انسولین، ترانسفرین، اتانول آمین و سلنیت

**هر نوع آلودگی در محیط با پروتئین پایین، برای سلول ها سمی تر است.**

آنتی بیوتیک ها: جهت کاهش خطر آلودگی شامل پنی سیلین، استرپتومایسین و آمفوتریسین B

غلظت مطلوب آن ها به طور تجربی مشخص می شود.  
ممکن سیتوتوکسیک باشند.